

地黄真空冷冻干燥工艺的优化

谭丽媛¹, 翟康欣¹, 卫春红², 王 堃¹, 李 敏¹, 张淑蓉^{1*}
(1. 山西中医药大学, 山西 晋中 030600; 2. 山西振东安特生物制药有限公司, 山西 晋中 030600)

摘要: **目的** 优化地黄真空冷冻干燥工艺。**方法** 以外观性状为指标, 对切片方式进行考察; 以共晶点和共熔点为指标, 对预冻温度和时间进行研究; 以梓醇、毛蕊花糖苷含量及含水量为指标, 对物料厚度、冷冻干燥时间进行研究。**结果** 最佳条件为药材横切双层, 切片厚度 2~4 mm, 预冻温度-30 ℃, 预冻时间 2 h, 真空冷冻干燥时间 28 h, 梓醇、毛蕊花糖苷含量明显升高, 药材外观和品质明显改善。**结论** 该方法稳定可行, 重复性好, 可用于真空冷冻干燥地黄。
关键词: 地黄; 真空冷冻干燥工艺; 梓醇; 毛蕊花糖苷
中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)12-2845-03
doi: 10. 3969/j.issn.1001-1528. 2019. 12. 004

Optimization of vacuum freeze-drying process for *Rehmanniae Radix*

TAN Li-yuan¹, ZHAI Kang-xin¹, WEI Chun-hong², WANG Kun¹, LI Min¹, ZHANG Shu-rong^{1*}
(1. Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030600, China; 2. Shanxi Zhendong Ante Biological Pharmaceutical Co., Ltd, Jinzhong 036000, China)

KEY WORDS: *Rehmanniae Radix*; vacuum freeze-drying process; catalpol; verbascoside

地黄是玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 临床常用鲜地黄、生地黄和熟地黄, 三者因炮制方法不同, 功效也有所差异^[1-2]。临床应用最多的生地黄性寒, 味甘, 归心、肝、肾经, 以清热凉血、养阴生津为主, 主要含环烯醚萜苷类(梓醇、益母草苷、桃叶珊瑚苷等)、苯乙醇苷类(毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、红景天苷等)、紫罗兰酮类、糖类等多种活性成分^[3], 但它在炮制过程中环烯醚萜苷类成分易发生水解, 苷元聚合变黑, 从而严重影响其外观和品质^[4-5], 而且变得质韧, 不易折断, 难以使用。

真空冷冻干燥是先将干燥物进行冷冻, 再于低温减压条件下利用冰的升华性能使其低温脱水, 从而达到干燥效果的一种方法, 以该方法处理的中药具有不易变质、能长期储存、脱水彻底、易复水再生、利于保持热敏性成分活性、减少挥发性成分损失等优点^[6]。因此, 本实验对地黄真空冷冻干燥工艺进行优化, 以期改善该药材外观、品质而便于临床使用, 并为其进一步加工利用提供新思路。

1 材料

1.1 试药 地黄主要采集于山西、河南等地, 经山西中医药大学中药鉴定教研室裴香萍副教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜块根。对照品梓醇(批号 110808-200104)、毛蕊花糖苷(批号 111530-201208)均购于中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯(美国 Tedia 公司); 磷酸等其他试剂均为分析纯; 水为双蒸水。
1.2 仪器 101A-2 电热恒温鼓风干燥箱(海亚明热处理设备有限公司); FA1004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司); DW-40L262 低温冰箱(上海天呈科技有限公司); TC-400DD 真空包装机(上海星贝包装机械有限公司); LGJ-10C 冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂有限公司); FD-8 冷冻干燥机(丹麦 Heto 公司); GZLY-10 真空冷冻干燥机(北京松源华兴生物技术有限公司)。

2 方法与结果

2.1 冻干工艺流程 取鲜药材→净制→切片→平铺摆盘→预冻结→真空冷冻干燥→包装→成品。

收稿日期: 2019-01-24

基金项目: 山西省中药材中药饮片地方标准研究—地黄(冻干地黄)(2011028A); 晋药综合开发利用协同创新中心项目(2017-JYXT-04); 山西中医药大学科技创新团队项目(2018TD-008)

作者简介: 谭丽媛(1995—), 女, 硕士生, 从事中药活性成分分析及质量标准研究。Tel: 18435166733, E-mail: 935304417@qq.com

* 通信作者: 张淑蓉(1962—), 女, 教授, 硕士生导师, 从事中药活性成分分析及其药效物质基础研究。Tel: 13935110348, E-mail: zhangsr62@163.com

2.2 切片工艺研究

2.2.1 切片方式 鲜药材洗净晾干，分别进行横切（2 mm）、斜切（2 mm）或切块（10 mm），真空冷冻干燥后包装。结果，从切制操作看，切片比切块方便易行；从包装效果看，切片包装表面平整，优于切块包装；从冷冻干燥品外观看，横切片呈规则类圆形，而斜切片呈不规则状，故切片方式最终确定为横切。

2.2.2 切片厚度 鲜药材洗净晾干，分别横切成薄片（1~2 mm）、厚片（2~4 mm），真空冷冻干燥后包装。结果，从冷冻干燥品外观看，薄片和厚片无明显差异，但在操作及真空包装过程中前者易破碎，故切片厚度选择厚片，与《中国药典》^[7]一致。

2.3 预冻工艺研究

2.3.1 共晶点、共熔点测定 采用电阻法测定^[8]，结果见图 1。由图 1A 可知，当温度降至-11℃时，电阻值开始缓慢变化，-11→-17℃随温度下降变化较小，-17→-24℃随温度下降明显增大，-24℃时发生突变，此时的温度即为共晶点；由图 1B 可知，当温度升至-22℃时，电阻值发生突变，电阻明显变小，此时的温度即为共熔点。因此，确定共晶点为-24℃，共熔点为-22℃。

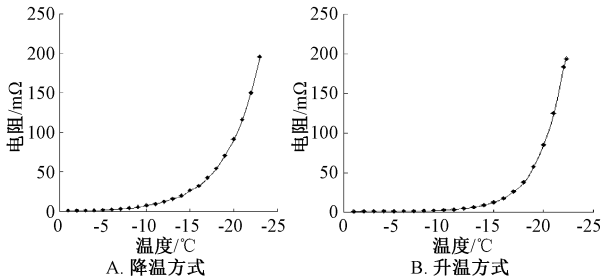


图 1 温度-电阻关系图

Fig. 1 Plots for temperature-electrical resistance relationship

2.3.2 预冻温度、预冻时间考察 冻结温度常以物料共晶点为依据，在冷冻过程中物料温度必须低于其共晶点，否则不能保证物料全部冻结；干燥时物料冷冻层温度以其共熔点为依据，物料干燥层温度必须低于其共熔点，否则不能保证水分全部以汽化的形式去除^[9]。本实验通过测定共晶点、共熔点来确定预冻温度与预冻时间，由于安全的冻结温度应低于其共晶点 5~10℃左右^[10-12]，故确定预冻温度为-30℃，而且达到该温度所需时间为 2 h，故确定预冻时间为 2 h。

2.4 物料厚度、冷冻干燥时间研究

2.4.1 梓醇、毛蕊花糖苷含有量测定 梓醇色谱条件为 Waters Xterra C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 0.1% 磷酸-水，等度洗脱；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；检测波长 210 nm；进样量 20 μL。毛蕊花糖苷色谱条件为 Diamonsil C₁₈ 色谱柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相甲醇（A）-0.1% 磷酸（B），梯度洗脱（0~5 min，40%~43% A；5~10 min，43%~56% A；10~20 min，56%~60% A；20~25 min，60%~40% A）；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 334 nm；进样量 20 μL。

2.4.2 冻干曲线绘制 鲜药材洗净晾干，横切成 3 mm 左右厚片，分别均匀平铺成 1 层（3 mm）、2 层（6 mm）、3 层（9 mm），置于低温冰箱中预冻 2 h，取出，再置于冷冻干燥机中 30 h，得冻干曲线图，见图 2。由图 2A 可知，单层物料干燥完成所需时间为 23 h，0~1.5 h 为降温阶段，1.5~12 h 为升华干燥阶段，13~23 h 为解吸干燥阶段，23 h 后干燥结束；由图 2B 可知，双层物料干燥完成所需时间为 28 h，0~2.5 h 为降温阶段，2.5~18 h 为升华干燥阶段，18~28 h 为解吸干燥阶段，28 h 后干燥结束。另外，3 层物料冷冻 30 h 后，上层干燥完全，中层部分干燥，下层干燥不完全，不符合实验要求，故不予以考虑。

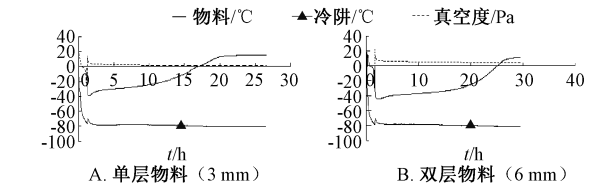


图 2 物料冻干曲线

Fig. 2 Freeze-drying curves for materials

然后，测定了温度趋于稳定时（单层物料 19~24 h、双层物料 25~29 h）物料的含水量，发现单层、双层物料含水量分别在 22、28 h 基本恒定，与图 2 一致，见表 1~2。

表 1 单层物料含水量测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab. 1 Results of content determination of water in single-layer materials ($\bar{x}\pm s, n=3$)

干燥时间/h	含水量/%
19	6.59±0.12
20	6.25±0.14
21	5.49±0.19
22	5.42±0.15
23	5.41±0.08
24	5.43±0.10

表 2 双层物料含水量测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab.2 Results of content determination of water in double-layer materials ($\bar{x}\pm s, n=3$)

干燥时间/h	含水量/%
25	8.91±0.12
26	7.26±0.14
27	6.67±0.07
28	6.32±0.12
29	6.33±0.08

再取同一批药材进行真空冷冻干燥后,测定梓醇、毛蕊花糖苷含有量,结果见表 3。由表可知,双层物料 2 种成分含有量高于单层物料,而且其一次冷冻干燥产品质量是后者的 1.8 倍。

表 4 放大试验结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab.4 Results of scale-up tests ($\bar{x}\pm s, n=3$)

采集地点	采集时间	鲜地黄/g	冻干地黄		梓醇/(mg·g ⁻¹)		毛蕊花糖苷/(mg·g ⁻¹)	
			质量/g	含水量/%	生地黄	冻干地黄	生地黄	冻干地黄
山西浮山 ^a	2012.10.20	350	97	6.24±0.06	18.65±0.12	24.51±0.16	0.61±0.07	0.82±0.01
河南焦作 ^a	2012.10.19	350	96	6.33±0.01	18.37±0.12	24.72±0.19	0.97±0.10	1.10±0.01
山西襄汾 ^a	2012.11.15	350	97	6.21±0.06	15.49±0.11	19.78±0.10	0.58±0.02	1.13±0.03
山西临猗 ^b	2013.11.10	1 760	486	6.45±0.07	13.65±0.13	17.92±0.08	0.33±0.01	0.57±0.01
山西永济 ^{1b}	2013.11.11	1 760	490	6.34±0.01	19.58±0.10	24.56±0.12	0.36±0.01	0.43±0.05
山西永济 ^{2b}	2013.11.13	1 760	488	6.71±0.03	16.54±0.09	23.18±0.12	0.70±0.03	0.51±0.02

注:a 为采用 FD-8 冷冻干燥机,b 为采用 GZLY-10 冷冻干燥机。生、冻干地黄中梓醇、毛蕊花糖苷含有量均按干燥品计算

3 讨论

本实验考察了冻干地黄真空包装工艺,发现用材质聚氯乙烯+聚乙烯的真空包装,封口温度中温,封口时间 3 s,抽真空时间 20~30 s,真空度 -0.1 MPa 时,封口不融化、不跑气,药材性状完整,包装美观。

然后,比较冻干地黄、生地黄中有效成分含有量,发现前者梓醇、毛蕊花糖苷分别为后者的 1.32、1.29 倍(均按干燥品计),与小试结果基本一致^[13],表明冷冻干燥可减少两者损失。

冷冻干燥后,地黄颜色呈鲜黄色或略发白,质地酥松,含水量少。与传统方法比较,该方法在有效保留药材活性成分的基础上外观品质得到明显改善,储存、入药也更简便。

参考文献:

[1] 王宏洁,金亚红,李鹏跃,等.鲜、生、熟地黄药材中 3 种活性成分含量的比较[J].中国中药杂志,2008,33(15):1923-1925.

[2] 李计萍,马 华,王跃生,等.鲜地黄与干地黄中梓醇、糖类成分含量的比较[J].中国药学杂志,2001,36(5):300-302.

表 3 各成分含有量测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab.3 Results of content determination of various constituents ($\bar{x}\pm s, n=3$)

物料厚度	含水量/%	梓醇/(mg·g ⁻¹)	毛蕊花糖苷/(mg·g ⁻¹)
单层(3 mm)	5.41±0.04	18.52±0.17	0.36±0.04
双层(6 mm)	6.32±0.05	21.21±0.09	0.38±0.03

最终确定,最优工艺为为药材横切双层,切片厚度 2~4 mm,预冻温度 -30 ℃,预冻时间 2 h,真空冷冻干燥时间 28 h。

2.5 放大试验 采用 FD-8、GZLY-10 冷冻干燥机,按“2.4.2”项下优化工艺进行放大试验,结果见表 4,可知工艺稳定可行。

[3] 叶永山,汤明杰,张 旗,等.生地黄药效物质基础研究进展[C]//中华中医药学会中药化学分会第八届学术年会论文集.北京:中华中医药学会中药化学分会,2013:156-163.

[4] 张 科,郭建华,田成旺,等.不同处理方法及影响因素对地黄中梓醇量的影响[J].中草药,2013,44(7):896-899.

[5] 李更生,于 震,王慧森.地黄化学成分与药理研究进展[J].国外医学(中医中药分册),2004,26(2):74-78;104.

[6] 闫家福,全 燕,王锦玉,等.冷冻干燥技术及其在中药研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(12):65-69.

[7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015 年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:124.

[8] 邢 华,周国燕,蓝 浩.食品冷冻干燥物料共晶点、共融点测量[J].食品与机械,2012,28(1):19-21;49.

[9] 程远霞,陈素芝,谢秀英.食品共晶点和共熔点试验研究[J].食品工业,2004(1):49-50.

[10] 郭树国,李成华,王丽艳.人参真空冷冻干燥工艺参数优化[J].中国农机化,2012(2):172-174;182.

[11] 桑迎迎,周国燕,王爱民,等.中药材干燥技术研究进展[J].中成药,2010,32(12):2140-2144.

[12] 赵鹤皋,林秀成.冷冻干燥技术[M].武汉:华中理工大学出版社,1990.

[13] 陈 瑾,谭丽媛,李 敏,等.冻干鲜地黄生地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量比较[J].时珍国医国药,2018,29(7):1625-1627.