

响应面法优化栽培川贝母热风干燥工艺

种叶敏¹, 李巧¹, 杨转珍¹, 杨永泓¹, 蒋孟莲¹, 蔡晓洋¹, 李敏^{1*}, 黄勇²

¹成都中医药大学药学院/现代中药产业学院 省部共建西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137;

²四川绿林川贝母种植有限公司, 凉山彝族自治州 615000

摘要: 本文基于响应曲面法以优化人工栽培川贝母的热风干燥工艺, 采用单因素实验方法考察水分转换点, 在此基础上利用响应面法设计优化栽培川贝母二段式变温热风干燥加工工艺, 采用 HPLC 建立栽培川贝母核苷类成分的含量测定方法, 以药材性状得分、总生物碱、总淀粉、总核苷含量归一化值 (OD 值) 为指标建立模型对药材质量评价。通过对比恒温干燥与分段式热风烘干药材的外在性状与内在质量, 对筛选得到的最佳分段式热风干燥工艺进行验证。最终得到栽培川贝母的最佳热风干燥工艺: 60 °C 干燥至含水量 45%, 取出放置 12 h, 于 50 °C 干燥至含水量 ≤ 15.0%。实验结果表明该工艺具有可靠性与稳定性, 在此条件下, 加工得到的栽培川贝母外观性状及内在质量均较优, 可用于栽培川贝母药材实际生产。

关键词: 栽培川贝母; 分段式变温; 热风干燥; 响应面设计; 核苷; 加工工艺

中图分类号: R282.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)1-0095-13

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.1.011

Optimization of hot air drying technology of cultivated *Fritillaria cirrhosa* D. Don by response surface methodology

CHONG Ye-min¹, LI Qiao¹, YANG Zhuan-zhen¹,

YANG Yong-hong¹, JIANG Meng-lian¹, CAI Xiao-yang¹, LI Min^{1*}, HUANG Yong²

¹State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy/ School of Modern Chinese Medicine Industry, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;

²Sichuan Lulin *Fritillariae Cirrhosae Bulbu* Planting Co., Ltd., Liangshan Yi Autonomous Prefecture 615000, China

Abstract: In this paper, based on response surface method to optimize the hot air drying process of cultivated *Fritillaria cirrhosa* D. Don, moisture transition point by single factor experiment, on the basis of the response surface method is used to design optimization cultivated *F. cirrhosa* two-stage variable warm wind drying process, the use of HPLC to establish cultivated *F. cirrhosa* nucleoside compounds content determination method, a model was established to evaluate the quality of medicinal materials by taking the character score of medicinal materials, the normalized (OD value) of the contents of total alkaloids, total starch and total nucleosides as indicators. By comparing the external characters and internal quality of the medicinal materials of constant temperature drying and sectional hot air drying, the optimal sectional hot air drying process was verified. Finally, the best hot air drying process of cultivated *F. cirrhosa* was obtained: drying at 60 °C to 45% water content, taking out and placing for 12 h, drying at 50 °C to less than 15.0% water content. The experimental results showed that the process was reliable and stable. Under this condition, the appearance and internal quality of cultivated *F. cirrhosa* were better, which could be used in the actual production of cultivated *F. cirrhosa*.

Key words: cultivation of *F. cirrhosa*; segmented temperature change; hot air drying; response surface design; nucleoside; processing technology

川贝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don 为中药材川贝母的基原之一, 又称为卷叶贝母, 收载于《中华人民

共和国药典》2020年版(后简称《中国药典》), 具有清热润肺、化痰止咳、散结消痈的功效^[1]。目前川贝母药材的加工方式仍较为传统, 不适用于栽培川贝母的产业化发展。课题组前期对比了传统晒干与3种现代干燥方法在外观性状及内在质量的利弊,

收稿日期: 2022-07-26

接受日期: 2022-10-21

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2020YFS0303)

* 通信作者 Tel: 86-013980038316; E-mail: 028limin@163.com

发现热风干燥方法可广泛应用于栽培川贝母的产地加工^[2],此法可较好保持药材的外观性状,减少有效成分损失,可为栽培川贝母规模化生产节约时间成本,但同时观察到热风干燥所得药材外观性状易受温度变化的影响,因此有待进一步对热风干燥工艺进行优化。

目前川贝母药材尚未形成统一、科学的产地加工规范,盲目、随意的干燥过程会导致川贝母药材质量不一,分段式变温干燥可缩短干燥时间、提高干燥速率、改善干燥品质,已应用于如西洋参^[3]、太子参^[4]等中药材^[5]及食品^[6-11]产业中。课题组前期实验发现间歇二段式干燥所得药材表面颜色较白,皱缩程度及粗糙感较轻,外观性状相比恒温干燥得到较大改善。因此本文对栽培川贝母热风干燥进一步进行工艺优化,以响应面法设计优选最佳分段式热风干燥工艺,同时比较恒温干燥与分段式变温干燥对栽培川贝母药材的影响,以期为其规范化产地加工提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品为4~5年生的栽培卷叶贝母,采挖自四川绿林川贝母种植有限公司生产基地,经成都中医药大学李敏教授鉴定为百合科川贝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don 的鳞茎(标本号:LV5134332105200002LY)。挑选无腐烂损伤、直径1.0~1.5 cm的鲜鳞茎作为试验样品。

1.2 仪器与试剂

Nikon SMZ745 体视显微镜(尼康公司);CR-400 色彩色差计(日本美能达公司);A580 紫外可见光度计(上海翱艺仪器有限公司);HY-4A 数显调速多用振荡器(金坛市城东新瑞仪器厂);BC0 705 淀

粉含量检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);Varioskan LUX 多功能酶标仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);Ultimate 3 000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。

三氯甲烷、溴甲酚绿、磷酸二氢钾、氢氧化钠为分析纯;对照品西贝母碱(批号 wkq19 051 302,纯度 $\geq 98\%$)、腺苷(批号 110 879-201 703,纯度 $\geq 99.7\%$)、肌苷(批号 140 669-201 606,纯度 $\geq 98.6\%$)均购自中国食品药品检定院;腺嘌呤(批号 wkq21 060 210,纯度 $\geq 98\%$)、尿苷(批号 wkq21 081 905,纯度 $\geq 98\%$)、鸟苷(批号 wkq21 042 810,纯度 $\geq 98\%$)、尿嘧啶(批号 wkq21 101 205,纯度 $\geq 98\%$)、胸腺嘧啶(批号 wkq20 121 703,纯度 $\geq 98\%$)、2'-脱氧腺苷(批号 wkq21 031 909,纯度 $\geq 98\%$)、胞苷(批号 wkq19 011 101,纯度 $\geq 98\%$)、次黄嘌呤(wkq21 060 210,纯度 $\geq 98\%$)均购自四川省维克奇生物科技有限公司;胸苷(BCBSZ979V,纯度 $\geq 99\%$)购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;甲醇为色谱纯,水为超纯水。

1.3 单因素实验

水分转换点考察:对于二段式干燥,水分转换点是干燥过程中的关键,同时在课题组前期实验发现50℃热风干燥在一定程度上虽加快了干燥速率,但是与自然晒干比较,性状上仍有一定差异,药材表面颜色略黄,断面粉性略差,不同方法对药材性状至关重要,所以此实验以性状作为评价指标考察其水分转换点。

经预实验测得卷叶贝母鲜鳞茎含水量为70%,取新鲜鳞茎,分别在50℃干燥至含水量为30%、40%、50%、60%(见图1A~1D)后,取出放置12 h,再继续干燥至安全水分。

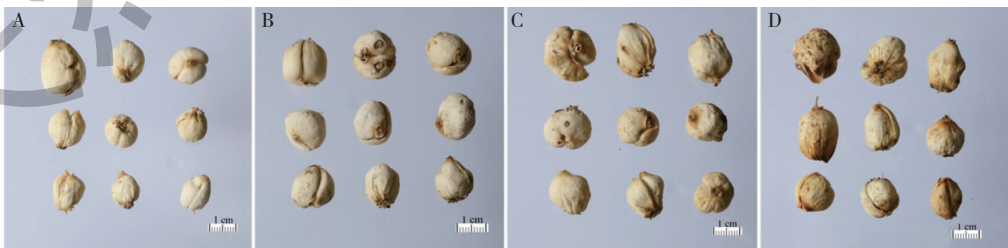


图1 不同水分转换点药材图

Fig. 1 Diagram of medicinal materials at different moisture transition points

不同水分转换点药材外观性状见图1,由结果可知,当转换水分含量越高时,其干燥后药材性状越

差,这与传统日晒中干燥至表皮出现粉白色即可翻动有关。说明干燥过程的含水量变化对其外观性状

至关重要,其中含水量为 60% 时药材性状最差,故选用含水量为 30% ~ 50% 作为后期工艺筛选因素。

1.4 响应面曲线筛选工艺

1.4.1 热风干燥实验方法

以第一阶段温度(X_1)、水分转换点(X_2)、第二

阶段温度(X_3)为参数,设计筛选工艺表(见表 1)。在进行干燥试验时,每隔 1 h 对卷叶贝母药材进行称重,依次记录卷叶贝母的重量变化情况,直到干燥,迅速取出放在干燥器中冷却,然后进行下一组试验。每组试验重复 3 次。

表 1 分段式干燥参数设定

Table 1 Setting parameters of stage-changed drying

| X_1 : 第一阶段温度 X_1 : First stage temperature(°C) | X_2 : 水分转换点 X_2 : Moisture transition point(%) | X_3 : 第二阶段温度 X_3 : Second stage temperature(°C) |
|---|---|--|
| 40 | 30 | 40 |
| 50 | 40 | 50 |
| 60 | 50 | 60 |

1.4.2 验证实验

取卷叶贝母新鲜鳞茎,以“1.4.1”筛选得出的最佳二段式热风干燥工艺制备 3 批药材,测定药材外观性状及内在质量,计算归一值(normalized value, OD 值)。

1.4.3 恒温干燥与二段式干燥药材品质比较

取新鲜卷叶贝母鳞茎,分别设置 60、50、40 °C 恒温干燥与二段式干燥处理,设置鼓风风速 0.15 m/s,热风干燥,分别每隔 1 h 取样一次进行称重,绘制干燥曲线,即含水量(MR)随时间(T)的变化曲线,并对恒温干燥与二段式干燥所得药材进行外观性状与内在质量品质评价。

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_o - M_e} \times 100\%$$

式中, M_t 指时刻含水量, M_o 指初始含水量, M_e 指平衡状态下含水量。

1.5 药材性状测定

按照课题组前期实验方法^[2],对所得药材表面、断面分别评分,两者之和为药材性状得分。

1.6 总淀粉含量测定

根据课题组前期实验方法^[2]对不同处理下栽培卷叶贝母药材总淀粉含量进行测定。

1.7 总生物碱含量测定

参照《中国药典》2020 年版第一部川贝母项下紫外-可见分光光度法测定。

1.8 总核苷含量测定

1.8.1 供试品溶液的制备

精确称取栽培卷叶贝母粉末 0.5 g,分别精密加入水 5 mL,称定重量,超声 45 min,取出冷却,补足

重量,摇匀,取部分供试液于离心管中,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

1.8.2 混合对照品溶液的制备

精确称取尿嘧啶、胞苷、次黄嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、肌苷、鸟苷、腺嘌呤、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷适量于 10 mL 容量瓶,以水溶解并定容,即为各核苷类成分的对照品储备液。再取各核苷类储备液适量,置于 10 mL 容量瓶中,以水稀释并定容至刻度线,即混合对照品溶液。

1.8.3 色谱条件

色谱柱为 Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);以甲醇为流动相 A,水为流动相 B,梯度洗脱,洗脱程序为:0 ~ 4.0 min,1.0% A;4.0 ~ 4.1 min,1.0% → 5.5% A;4.1 ~ 12.5 min,5.5% → 14.5% A;12.5 ~ 18.0 min,14.5% → 20.0% A;18 ~ 24 min,20.0% A;24 ~ 28 min,20.0% → 1.0% A;28 ~ 30 min,1.0% A;柱温 35 °C;检测波长为 260 nm;进样量 20 μL;体积流量为 0.8 mL/min,样品与混合对照品溶液色谱图见图 2。

1.8.4 方法学考察

1.8.4.1 线性关系考察

分别精密吸取混合对照品溶液 1 000、500、250、100、50 μL 至 1 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,得到 5 个不同浓度的混合对照品溶液。按“1.8.3”色谱条件测定,记录峰面积,以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得到线性回归方程,同时以信噪比(S/N)大于 10 为定量限,大于 3 为检出限,结果见表 2。

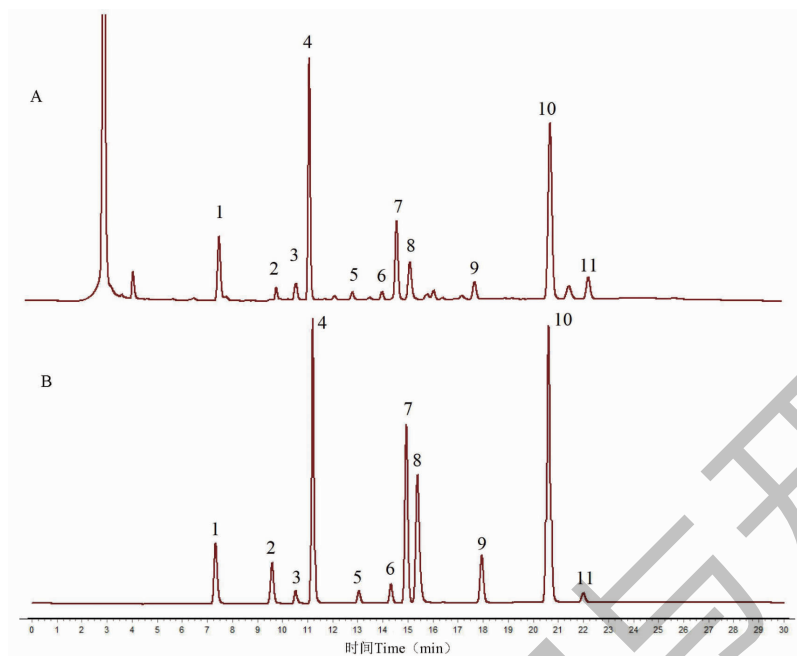


图2 样品溶液(A)与混合对照品溶液(B)的HPLC图

Fig. 2 HPLC chromatograms of sample solution (A) and mixed reference substance solution (B)

注:1. 尿嘧啶;2. 胞苷;3. 次黄嘌呤;4. 尿苷;5. 胸腺嘧啶;6. 肌苷;7. 鸟苷;8. 腺嘌呤;9. 胸苷;10. 腺苷;11. 2'-脱氧腺苷。Note:1. Uracil; 2. Cytidine;3. Hypoxanthine;4. Uridine;5. Thymine;6. Inosine;7. Guanosine;8. Adenine;9. Thymidine;10. Adenosine;11. 2'-Deoxyadenosine.

表2 线性回归方程及相关系数

Table 2 Linear regression equation and correlation coefficient

| 成分 Component | 线性回归方程 Linear regression equation | R^2 | 线性范围 Linear range ($\mu\text{g/mL}$) | 定量限 Quantification limit ($\mu\text{g/mL}$) | 检出限 Detection limit ($\mu\text{g/mL}$) |
|---------------------------|--------------------------------------|--------|--|---|--|
| 尿嘧啶 Uracil | $y = 1.2883x - 0.1559$ | 0.9993 | 0.3 ~ 15 | 0.146 | 0.129 |
| 胞苷 Cytidine | $y = 0.6453x - 0.1275$ | 0.9997 | 1 ~ 50 | 0.333 | 0.238 |
| 次黄嘌呤 Hypoxanthine | $y = 1.1883x - 0.0142$ | 1 | 0.1 ~ 5 | 0.082 | 0.033 |
| 尿苷 Uridine | $y = 0.7104x + 0.0119$ | 0.9999 | 3 ~ 150 | 0.376 | 0.002 |
| 胸腺嘧啶 Thymine | $y = 1.0617x + 0.014$ | 1 | 0.2 ~ 10 | 0.012 | 0.001 |
| 肌苷 Inosine | $y = 0.478x - 0.0025$ | 0.9999 | 0.2 ~ 10 | 0.054 | 0.032 |
| 鸟苷 Guanosine | $y = 0.7338x - 0.0052$ | 1 | 3 ~ 150 | 0.048 | 0.019 |
| 腺嘌呤 Adenine | $y = 1.6544x - 0.0258$ | 0.9999 | 0.6 ~ 30 | 0.039 | 0.030 |
| 胸苷 Thymidine | $y = 0.5568x - 0.0107$ | 0.9999 | 0.5 ~ 25 | 0.093 | 0.041 |
| 腺苷 Adenosine | $y = 0.9595x - 0.0385$ | 1 | 3 ~ 150 | 0.086 | 0.054 |
| 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine | $y = 0.797x - 0.0042$ | 0.9999 | 0.1 ~ 5 | 0.057 | 0.021 |

1.8.4.2 精密度考察

取同一药材粉末,按照“1.8.1”项下方法制备供试品,按照“1.8.3”项下色谱方法进行检测,连续进样6次,记录主要色谱峰的峰面积。结果见表3,可知主要核苷类成分的峰面积RSD范围为0.57%~2.90%,表明仪器精密度良好。

1.8.4.3 重复性考察

精密称取同一药材粉末6份,按照“1.8.1”项供试品溶液制备方法制备6份供试品溶液,按照“1.8.3”项下色谱方法进行检测,记录主要色谱峰的峰面积,数据结果见表4,其表明主要核苷类成分的含量RSD范围为0.70%~3.06%,说明该方法重现性好。

表3 核苷类成分精密度考察

Table 3 Precision investigation of nucleosides

| 编号 No. | 峰面积 Peak area(mAU · min) | | | | | | | | | | |
|--------|--------------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine |
| JM1 | 40.398 | 3.875 | 1.390 | 40.695 | 2.836 | 14.800 | 21.636 | 3.394 | 5.880 | 41.953 | 5.187 |
| JM2 | 42.314 | 3.879 | 1.420 | 40.066 | 2.783 | 14.588 | 21.185 | 3.581 | 5.870 | 41.163 | 5.174 |
| JM3 | 42.489 | 3.936 | 1.430 | 39.471 | 2.827 | 14.754 | 21.084 | 3.327 | 5.901 | 41.234 | 5.195 |
| JM4 | 42.352 | 3.950 | 1.470 | 39.137 | 2.867 | 14.767 | 20.774 | 3.319 | 5.897 | 40.107 | 5.165 |
| JM5 | 42.098 | 3.930 | 1.470 | 38.759 | 2.876 | 14.796 | 20.406 | 3.350 | 5.913 | 39.518 | 5.118 |
| JM6 | 42.456 | 4.008 | 1.470 | 38.897 | 3.052 | 15.232 | 20.394 | 3.358 | 5.986 | 39.276 | 5.138 |
| RSD(%) | 1.92 | 1.25 | 2.34 | 1.89 | 3.25 | 1.45 | 2.31 | 2.90 | 0.70 | 2.63 | 0.57 |

表4 核苷类成分重复性考察

Table 4 Repeatability investigation of nucleosides

| 编号 No. | 称样量 Weigh the sample (g) | 含量 Content(μg/g) | | | | | | | | | | |
|-----------|-----------------------------------|------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| | | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine |
| CF1 | 0.999 9 | 213.07 | 60.48 | 22.99 | 750.27 | 8.16 | 37.25 | 410.62 | 45.57 | 42.10 | 557.92 | 21.57 |
| CF2 | 1.000 3 | 213.02 | 60.46 | 23.06 | 740.77 | 8.30 | 39.58 | 409.01 | 46.36 | 43.30 | 559.63 | 20.99 |
| CF3 | 1.000 5 | 211.11 | 57.99 | 22.84 | 739.21 | 8.34 | 39.72 | 403.28 | 43.91 | 41.32 | 555.66 | 21.49 |
| CF4 | 1.000 2 | 212.47 | 58.17 | 22.50 | 729.85 | 8.28 | 38.48 | 399.77 | 43.66 | 41.34 | 554.21 | 21.32 |
| CF5 | 1.000 0 | 215.24 | 58.54 | 23.79 | 731.69 | 8.05 | 39.63 | 399.91 | 46.12 | 39.92 | 548.85 | 22.51 |
| CF6 | 1.000 1 | 218.51 | 62.13 | 24.44 | 736.00 | 8.12 | 39.39 | 404.61 | 46.75 | 42.30 | 552.46 | 22.49 |
| RSD(%) | | 1.22 | 1.22 | 2.78 | 3.06 | 1.00 | 1.37 | 2.50 | 1.12 | 2.88 | 2.74 | 0.70 |

1.8.4.4 稳定性考察

取同一份药材粉末,按照“1.8.1”项下方法制备供试品溶液,在室温下放置,分别于0、2、4、6、8、12 h按照“1.8.3”项下方法进行检测,记录主要色

谱峰的峰面积,其结果见表5,在12 h内,主要核苷类成分的峰面积RSD范围为0.72%~3.66%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

表5 核苷类成分稳定性考察

Table 5 Stability investigation of nucleosides

| 编号 No. | 峰面积 Peak area(mAU · min) | | | | | | | | | | |
|-----------|--------------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine |
| 0 | 26.554 | 3.739 | 0.850 | 52.501 | 0.881 | 7.545 | 29.529 | 1.838 | 2.465 | 52.897 | 1.674 |
| 2 | 27.296 | 3.616 | 0.910 | 52.433 | 0.896 | 7.243 | 29.916 | 1.890 | 2.401 | 53.562 | 1.669 |
| 4 | 27.055 | 3.882 | 0.930 | 52.552 | 0.899 | 7.605 | 29.602 | 1.897 | 2.291 | 53.304 | 1.695 |
| 6 | 27.574 | 3.817 | 0.890 | 51.991 | 0.869 | 7.709 | 29.340 | 1.892 | 2.292 | 52.624 | 1.790 |
| 8 | 27.997 | 3.725 | 0.890 | 52.303 | 0.876 | 7.697 | 29.688 | 1.880 | 2.345 | 52.975 | 1.788 |
| 12 | 28.844 | 3.627 | 0.900 | 51.564 | 0.850 | 7.648 | 29.287 | 1.802 | 2.496 | 52.580 | 1.709 |
| RSD(%) | 2.89 | 2.79 | 2.98 | 0.73 | 2.06 | 2.29 | 0.78 | 2.04 | 3.66 | 0.72 | 3.18 |

1.8.4.5 加样回收率试验

取已知核苷类成分含量的样品,分别加入一定量的对照品,测定其含量并计算回收率,11个核苷

类成分的平均回收率在 91.5% ~ 107.9% 之间, RSD \leq 5.0%, 表明回收率良好,具体结果见表 6。

表 6 加样回收率测定结果 ($n = 6$)

Table 6 Determination results of sample recovery rate ($n = 6$)

| 成分 Component | 样品含量 Sample content (μg) | 加入量 Adding amount (μg) | 检出量 Detection amount (μg) | 回收率 Recovery rate (%) | RSD (%) |
|---------------------------|---|---|--|-----------------------------|------------|
| 尿嘧啶 Uracil | 39.8 | 19.9 | 60.8 | 105.4 | 1.6 |
| 胞苷 Cytidine | 24.8 | 18.1 | 41.6 | 92.8 | 4.7 |
| 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 6.0 | 4.4 | 10.6 | 105.7 | 0.1 |
| 尿苷 Uridine | 130.6 | 66.6 | 202.2 | 107.6 | 0.7 |
| 胸腺嘧啶 Thymine | 4.2 | 4.4 | 8.9 | 107.4 | 0.1 |
| 肌苷 Inosine | 6.4 | 5.5 | 11.5 | 93.2 | 3.5 |
| 鸟苷 Guanosine | 160.7 | 177.1 | 331.0 | 96.2 | 1.8 |
| 腺嘌呤 Adenine | 8.0 | 3.6 | 11.4 | 94.7 | 1.2 |
| 胸苷 Thymidine | 6.7 | 7.5 | 13.6 | 91.5 | 3.6 |
| 腺苷 Adenosine | 95.6 | 49.6 | 144.0 | 97.7 | 0.2 |
| 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine | 4.4 | 5.0 | 9.8 | 107.9 | 4.2 |

1.8.4.6 耐用性考察

取同一份样品,按照上述方法制备供试品溶液,分别采用色谱柱 1: Inertsil ODS-3 C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)、色谱柱 2: Ultimate AQ- C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)、色谱柱 3: Waters HSS T3 (4.6 mm \times

250 mm, 5 μm) 色谱柱按照上述色谱方法进行检验,结果见表 7。结果表明,不同色谱柱所得成分 RSD 范围在 0.71% ~ 2.95%, 说明该方法色谱柱耐用性良好。

表 7 谱柱耐用性考察

Table 7 Column durability investigation

| 色谱柱 Column | 含量 Content ($\mu\text{g}/\text{g}$) | | | | | | | | | | |
|---------------|---------------------------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|
| | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyadenosine |
| 1 | 195.69 | 62.10 | 7.86 | 708.11 | 7.96 | 150.78 | 400.73 | 11.49 | 40.27 | 554.90 | 21.57 |
| 2 | 207.48 | 61.02 | 7.70 | 731.69 | 7.58 | 148.78 | 395.34 | 11.21 | 40.63 | 547.77 | 22.48 |
| 3 | 203.00 | 59.69 | 7.70 | 705.11 | 7.74 | 148.45 | 396.50 | 11.28 | 41.95 | 543.13 | 22.31 |
| RSD (%) | 2.95 | 1.98 | 1.19 | 2.04 | 2.46 | 0.84 | 0.71 | 1.30 | 2.16 | 1.08 | 2.17 |

1.8.5 评价指标

按以上方法测定所得药材总生物碱、总淀粉及总核苷含量,以 Hassan 法将各指标进行归一化处理,以 OD 值作为评价指标。

1.8.6 数据处理

数据采用 Excle 2019 进行处理,响应面图形采用 Design Expert 8.0.6 软件绘制,其余图形由 origin 2022 软件绘制。

2 实验结果

2.1 响应面曲线筛选工艺

2.1.1 响应面法优化热风联合干燥实验结果

利用 Design-Expert 8.0.6 软件按照 Box-Behnken 的中心组合实验设计,选择 3 个中心实验点,得到 17 个实验点,进行 3 因素 3 水平试验,具体实验设计见表 8。

表 8 分段式干燥实验设计方案及结果

Table 8 Design scheme and results of segmented drying experiment

| 编号 No. | 第一阶段温度 First stage temperature(℃) | 水分转换点 Moisture transition point(%) | 第二阶段温度 Second stage temperature(℃) |
|--------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| T1 | 40 | 50 | 50 |
| T2 | 50 | 30 | 60 |
| T3 | 50 | 50 | 60 |
| T4 | 50 | 40 | 50 |
| T5 | 50 | 40 | 50 |
| T6 | 40 | 40 | 60 |
| T7 | 50 | 40 | 50 |
| T8 | 40 | 40 | 40 |
| T9 | 50 | 40 | 50 |
| T10 | 60 | 40 | 40 |
| T11 | 60 | 50 | 50 |
| T12 | 50 | 50 | 40 |
| T13 | 50 | 40 | 50 |
| T14 | 60 | 40 | 60 |
| T15 | 60 | 30 | 50 |
| T16 | 40 | 30 | 50 |
| T17 | 50 | 30 | 40 |

2.1.2 质量测定结果

17 组处理药材性状及总生物碱、总淀粉含量测

定结果与各指标计算所得 OD 值见表 9,核苷类成分

测定结果见表 10。

表 9 药材外观性状及总生物碱、总淀粉含量($\bar{x} \pm s$)Table 9 Appearance properties and total alkaloid and total starch content of medicinal materials($\bar{x} \pm s$)

| 编号 No. | 表面得分 Surface score | 断面得分 Section score | 总得分 Total score | 含量 Content | | | |
|-----------|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------------------|----------------------------|---|---------|
| | | | | 总生物碱 Total alkaloids (%) | 总淀粉 Total starch (%) | 总核苷 Total nucleosides ($\mu\text{g/g}$) | OD |
| T1 | 5 | 6.5 | 11.5 | 0.135 ± 0.002 | 50.7 ± 0.88 | 1 189.29 | 0.478 2 |
| T2 | 3 | 5 | 8.0 | 0.129 ± 0.002 | 36.67 ± 0.44 | 693.17 | 0.135 7 |
| T3 | 6.5 | 8 | 14.5 | 0.147 ± 0.005 | 59.24 ± 0.23 | 1 316.57 | 0.699 4 |
| T4 | 9 | 9 | 18.0 | 0.162 ± 0.005 | 56.4 ± 0.88 | 1 591.24 | 0.902 5 |
| T5 | 7 | 8 | 15.0 | 0.151 ± 0.002 | 67.77 ± 2.74 | 1 394.01 | 0.820 5 |
| T6 | 5 | 5.5 | 10.5 | 0.113 ± 0.001 | 61.31 ± 3.56 | 1 362.11 | 0.473 7 |
| T7 | 8 | 8.5 | 16.5 | 0.149 ± 0.002 | 69.02 ± 2.27 | 1 378.12 | 0.842 9 |
| T8 | 5 | 5.5 | 10.5 | 0.133 ± 0.001 | 47.97 ± 0.11 | 1 210.37 | 0.431 7 |
| T9 | 7.5 | 9 | 16.5 | 0.153 ± 0.003 | 66.73 ± 0.00 | 1 564.19 | 0.898 3 |
| T10 | 4 | 5.5 | 9.5 | 0.133 ± 0.002 | 42.68 ± 0.30 | 850.22 | 0.275 0 |
| T11 | 7 | 7 | 14.0 | 0.157 ± 0.006 | 49.51 ± 0.42 | 1 531.45 | 0.725 3 |
| T12 | 4 | 5.5 | 9.5 | 0.134 ± 0.006 | 42.25 ± 0.70 | 702.94 | 0.239 1 |
| T13 | 8 | 8.5 | 16.5 | 0.153 ± 0.009 | 66.46 ± 0.37 | 1 566.79 | 0.896 7 |
| T14 | 5 | 5.5 | 10.5 | 0.137 ± 0.001 | 43.73 ± 0.65 | 1 224.41 | 0.425 2 |
| T15 | 4 | 4 | 8.0 | 0.119 ± 0.001 | 43.38 ± 1.52 | 645.24 | 0.123 9 |
| T16 | 5.5 | 6 | 11.5 | 0.132 ± 0.001 | 53.12 ± 0.27 | 1 133.99 | 0.469 4 |
| T17 | 3 | 3 | 6.0 | 0.138 ± 0.002 | 51.87 ± 0.23 | 918.92 | 0.315 4 |

注:总核苷指标 $n = 2$,其余指标 $n = 3$ 。

Note: $n = 2$ for total nucleoside indicators, $n = 3$ for other indicators.

表 10 核苷类成分含量($n = 2$)
Table 10 Nucleoside content ($n = 2$)

| 编号 No. | 含量 Content($\mu\text{g/g}$) | | | | | | | | | | | 总含量 Total content |
|-----------|-------------------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------------------------|-------------------------|
| | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyade nosine | |
| T1 | 34.55 | 11.17 | 2.50 | 459.19 | 2.27 | 9.07 | 244.96 | 19.84 | 15.14 | 336.90 | 53.70 | 1 189.29 |
| T2 | 188.97 | 6.90 | 4.51 | 193.79 | 1.50 | 27.22 | 52.59 | 46.08 | 11.13 | 112.59 | 47.90 | 693.17 |
| T3 | 10.10 | 8.24 | 2.24 | 538.36 | 4.63 | 8.81 | 277.93 | 12.53 | 21.49 | 371.05 | 61.20 | 1 316.57 |
| T4 | 4.05 | 15.20 | 2.30 | 670.12 | 6.33 | 9.50 | 356.67 | 12.87 | 40.08 | 401.61 | 72.52 | 1 591.24 |
| T5 | 11.75 | 14.47 | 3.84 | 587.96 | 3.18 | 9.89 | 286.12 | 13.16 | 17.27 | 388.80 | 57.56 | 1 394.01 |
| T6 | 6.65 | 8.20 | 1.24 | 574.66 | 6.02 | 6.97 | 300.11 | 9.96 | 26.61 | 362.46 | 59.23 | 1 362.11 |
| T7 | 4.90 | 8.47 | 1.43 | 572.59 | 6.08 | 7.29 | 301.45 | 9.13 | 29.05 | 371.15 | 66.57 | 1 378.12 |
| T8 | 15.25 | 10.47 | 2.37 | 473.39 | 4.74 | 12.97 | 251.53 | 15.50 | 17.84 | 349.27 | 57.04 | 1 210.37 |
| T9 | 3.17 | 11.35 | 1.50 | 670.80 | 8.37 | 5.45 | 341.92 | 10.56 | 50.92 | 395.44 | 64.71 | 1 564.19 |
| T10 | 85.85 | 5.09 | 2.54 | 316.36 | 1.49 | 12.76 | 136.93 | 33.28 | 8.27 | 200.79 | 46.85 | 850.22 |
| T11 | 3.23 | 16.27 | 0.96 | 649.58 | 7.03 | 3.36 | 342.53 | 10.95 | 40.25 | 396.58 | 60.72 | 1 531.45 |
| T12 | 90.75 | 10.80 | 6.16 | 287.45 | 0.86 | 38.70 | 69.63 | 38.20 | 6.94 | 109.25 | 44.20 | 702.94 |
| T13 | 4.28 | 9.34 | 1.04 | 668.42 | 6.89 | 6.40 | 342.84 | 10.22 | 44.11 | 398.97 | 74.28 | 1 566.79 |
| T14 | 19.23 | 19.55 | 3.05 | 483.16 | 3.32 | 10.50 | 250.76 | 13.72 | 15.07 | 353.84 | 52.22 | 1 224.41 |
| T15 | 179.88 | 7.50 | 5.11 | 186.85 | 1.58 | 6.12 | 45.91 | 52.28 | 7.57 | 110.44 | 42.01 | 645.24 |
| T16 | 17.76 | 17.56 | 3.48 | 436.93 | 2.62 | 8.20 | 225.04 | 16.34 | 11.96 | 340.42 | 53.67 | 1 133.99 |
| T17 | 37.78 | 5.78 | 3.71 | 321.12 | 7.22 | 16.88 | 153.95 | 18.18 | 13.52 | 294.11 | 46.67 | 918.92 |

2.1.3 统计学分析

利用 Design Expert 8.0.6 软件对第一阶段温度、水分转换点、第二阶段温度进行二项式拟合,得拟合方程为 $OD = 0.872 - 0.038X_1 + 0.137X_2 + 0.059X_3 + 0.148X_1X_2 + 0.027X_1X_3 + 0.160X_2X_3 - 0.185X_1^2 - 0.238X_2^2 - 0.286X_3^2$ 。相关系数 $R^2 =$

0.991 7,模型的 $P < 0.000 1$,说明模型高度显著,可用于栽培川贝母干燥工艺的分析 and 预测。由表 11 可知,回归方程失拟性检验 $P = 0.479 5 (> 0.05)$,无显著性差异,说明该方程与实际情况拟合良好,模型的残差可能是随机误差产生,可用此模型来分析预测最佳分段式干燥工艺条件。

表 11 方差分析结果
Table 11 ANOVA results

| 方差来源 Source of variance | 偏差平方和 Deviation sum of squares | 自由度 Degrees of freedom | F | P |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------|--------|----------|
| 模型 | 1.19 | 9 | 92.59 | <0.000 1 |
| X_1 | 0.01 | 1 | 8.04 | 0.025 2 |
| X_2 | 0.15 | 1 | 105.21 | <0.000 1 |
| X_3 | 0.03 | 1 | 19.52 | 0.003 1 |
| X_1X_2 | 0.09 | 1 | 61.32 | 0.000 1 |
| X_1X_3 | 0.00 | 1 | 2.05 | 0.195 5 |
| X_2X_3 | 0.10 | 1 | 71.52 | <0.000 1 |
| X_1^2 | 0.14 | 1 | 100.12 | <0.000 1 |
| X_2^2 | 0.24 | 1 | 167.24 | <0.000 1 |

续表 11 (Continued Tab. 11)

| 方差来源 Source of variance | 偏差平方和 Deviation sum of squares | 自由度 Degrees of freedom | F | P |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------|--------|----------|
| $X3^2$ | 0.35 | 1 | 241.02 | <0.000 1 |
| 残差 Residual | 0.01 | 7 | 1.00 | 0.479 5 |
| 失拟项 Lack of fit | 0.00 | 3 | | |
| 误差 Error | 0.01 | 4 | | |
| 总离差 Cor total | 1.20 | 16 | | |

根据方差分析结果,影响 OD 值的工艺参数主次排序为 $X2 > X3 > X1$,即水分转换点 > 第二阶段温度 > 第一阶段温度,显著性分析发现 $X2$ 对 OD 值的影响达极显著水平 ($< 0.000 1$),交互作用项 $X2X3$ 对 OD 值达到极显著水平 ($< 0.000 1$)。

根据模型分析结果,采用 Design Expert 8.0.6

软件绘制任意 2 个因素对 OD 值影响的响应面图,详见图 3。响应面较为直观地反映了两两因素对响应 OD 值的影响,等高线说明了两两因素间交互作用的显著,各因素对 OD 值响应的顺序为:水分转换点、第二阶段温度、第一阶段温度,与方差分析结果相同。

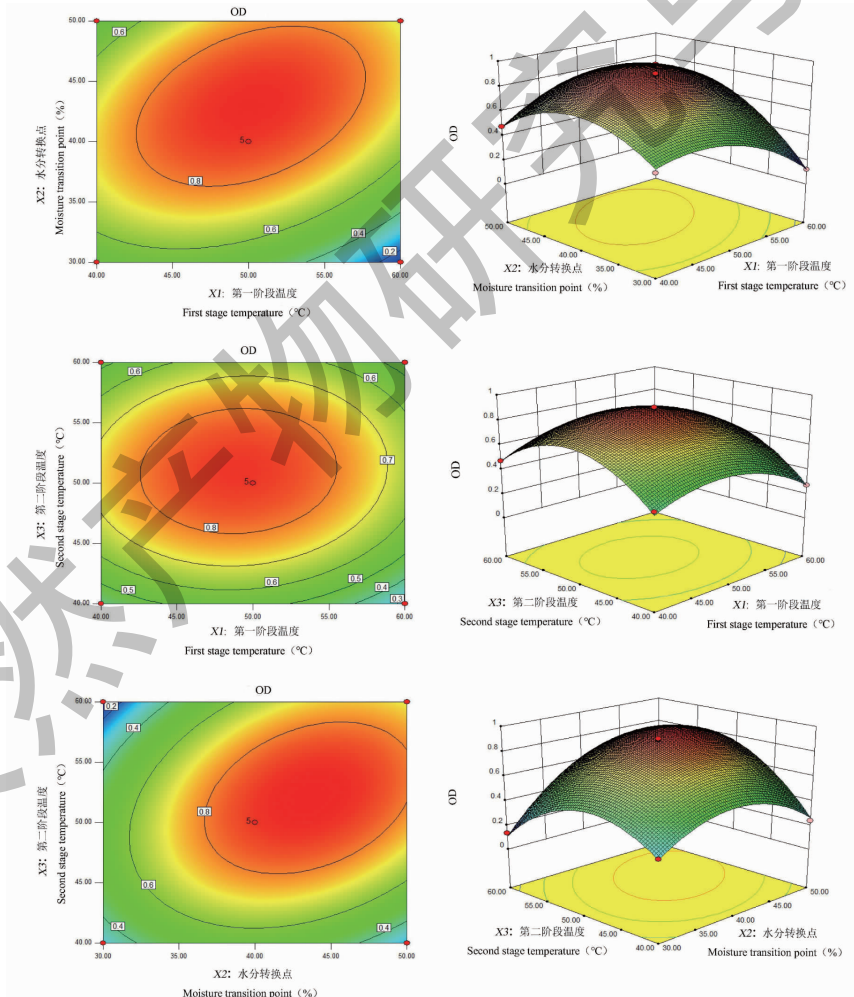


图 3 各因素交互作用的响应面图

Fig. 3 Response surface diagram of the interaction of various factors

2.1.4 最优热风干燥工艺的确定

采用 Design Expert 8.0.6 软件对拟合方程进行求解,得到栽培卷叶贝母二段式干燥工艺为:第一阶段干燥温度为 60 ℃,干燥至含水量为 47.16%,取出放置 12 h,于 53.5 ℃干燥至含水量 ≤15.0%,预测 OD 值为 0.767 0。根据实际操作,最终确定最优二段式干燥工艺为第一阶段干燥温度为 60 ℃,干燥至含水量为 45%,取出放置 12 h,于 50 ℃干燥至含

水量 ≤15.0%。

2.2 验证实验结果

按照响应面曲线设计得到的最优热风干燥工艺制备 3 批药材,得到 3 批二段式干燥药材的外观性状及内在质量测定结果(见表 12、13),其平均 OD 值为 0.785 5,与预测 OD 值 0.767 0 偏差为 0.013 (RSD 为 1.58%),可见,采用响应面优选出的最佳二段式工艺具有可靠性与稳定性。

表 12 核苷类成分含量测定结果 ($n=2$)

Table 12 Determination results of nucleosides content ($n=2$)

| 编号 No. | 含量 Content($\mu\text{g/g}$) | | | | | | | | | | | 总含量 Total content |
|-----------|-------------------------------|----------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------------------------|-------------------------|
| | 尿嘧啶 Uracil | 胞苷 Cytidine | 次黄嘌呤 Hypoxanthine | 尿苷 Uridine | 胸腺嘧啶 Thymine | 肌苷 Inosine | 鸟苷 Guanosine | 腺嘌呤 Adenine | 胸苷 Thymidine | 腺苷 Adenosine | 2'-脱氧腺苷 2'-Deoxyade nosine | |
| P1 | 22.81 | 6.04 | 9.45 | 551.00 | 8.59 | 8.88 | 282.73 | 19.25 | 49.54 | 338.77 | 107.86 | 1 404.92 |
| P2 | 25.34 | 5.52 | 11.16 | 546.33 | 9.39 | 9.35 | 277.68 | 20.97 | 53.62 | 333.20 | 110.46 | 1 403.02 |
| P3 | 27.18 | 5.22 | 13.42 | 545.16 | 11.55 | 11.76 | 273.05 | 24.55 | 57.06 | 328.68 | 116.28 | 1 413.91 |

表 13 验证结果

Table 13 Verification results

| 批次 Batch | 总得分 Total Score | 总生物碱 Total alkaloids(%) | 总淀粉 Total starch(%) | 总核苷 Total nucleosides($\mu\text{g/g}$) | OD |
|---------------|--------------------|----------------------------|------------------------|---|---------|
| P1 | 16.5 | 0.140 ± 0.002 | 65.27 ± 1.95 | 1 404.92 | 0.777 3 |
| P2 | 16 | 0.146 ± 0.002 | 62.64 ± 2.91 | 1 403.02 | 0.779 2 |
| P3 | 16 | 0.153 ± 0.006 | 60.56 ± 1.34 | 1 413.91 | 0.799 8 |
| 均值 Mean value | 16.17 | 0.146 | 62.83 | 1 407.28 | 0.785 5 |
| RSD(%) | 1.79 | 4.55 | 4.42 | 0.41 | 1.58 |

2.3 二段式干燥与恒温干燥药材品质比较

2.3.1 干燥曲线

测定结果见图 4,随着温度的升高,干燥时间缩短,到达安全水分时间分别为 40、85、140、85 h,其中

二段式干燥达到水分转化点 45% 耗时约 10 h,取出放置时间为 12 h,实际干燥时间少于 50 ℃ 恒温干燥、远少于 40 ℃ 恒温干燥。

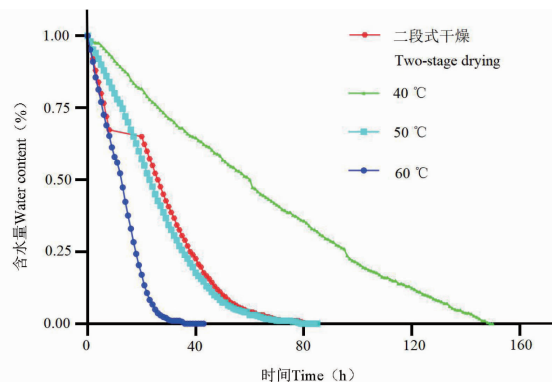


图 4 干燥曲线

Fig. 4 Drying curve

2.3.2 外观性状

由图5可见,相较于二段式干燥方法,40~60℃恒温干燥所得药材性状较差,且随着干燥温度的升高,角质化程度增加形成类似“油子”的性状,同时鳞叶开裂情况加深,断面粉性减弱,出现角质化颗粒。这可能是由于贝母富含淀粉,在长时间高温条

件下淀粉易变性糊化引起,同时断面粉性变差。而40℃干燥耗时长,部分药材表面发生褐变,使得表面颜色偏暗,皱缩明显。50℃虽表面颜色较均匀,角质化程度少,但相较于二段式干燥其开裂程度及表面粗糙感增加。

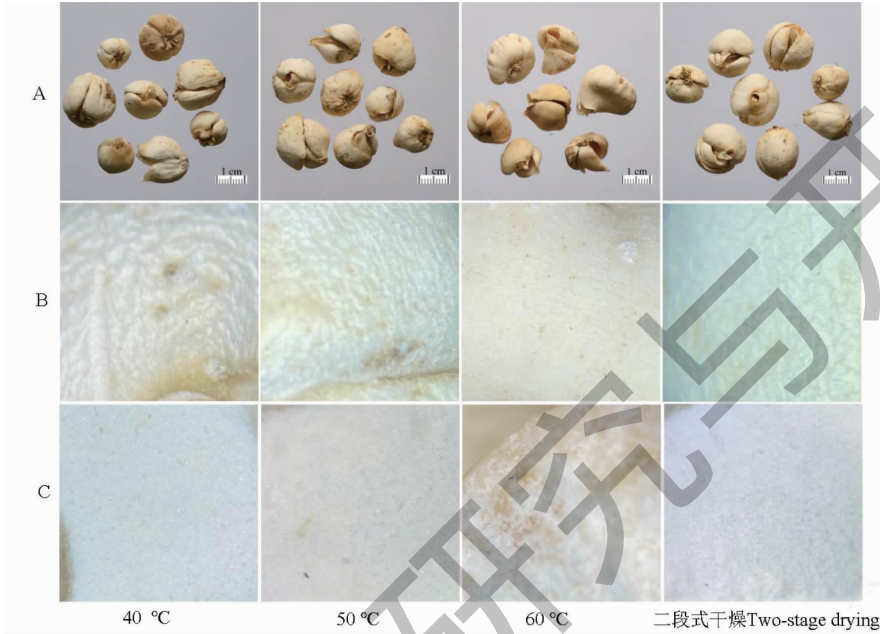


图5 药材性状比较图

Fig. 5 Comparison of medicinal properties

注:A. 药材图;B. 表面特征;C. 断面特征。Note: A. Medicinal material diagram; B. Surface features; C. Section features.

2.3.3 内在质量

40、50、60℃恒温干燥与二段式干燥处理得到的药材总生物碱、总淀粉含量测定结果见图6,由结果可知,二段式干燥药材在总生物碱、总淀粉含量上具有一定优势,远高于40、60℃恒温干燥药材($P <$

0.05)。核苷类成分测定结果见图7,其结果显示,二段式干燥所得药材总核苷含量高于40、60℃恒温处理下药材,略低于50℃恒温处理,但在尿嘧啶、次黄嘌呤、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胸苷等成分上均具有明显优势。

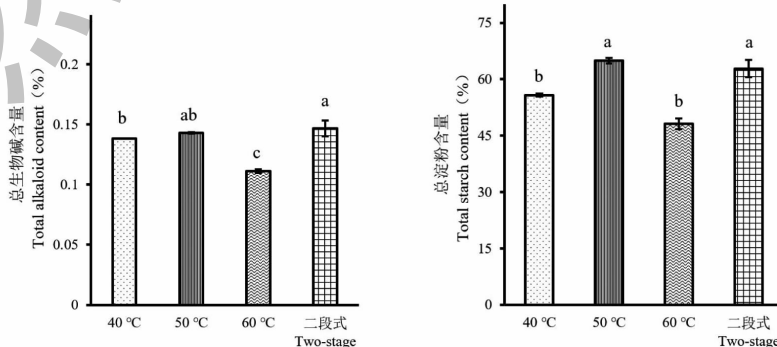


图6 总生物碱、总淀粉含量

Fig. 6 Total alkaloid and total starch content

注:图中不同小写字母代表不同处理组间的差异显著($P < 0.05$)。Note: Different lowercase letters in the figure represent significant differences among different treatment groups ($P < 0.05$).

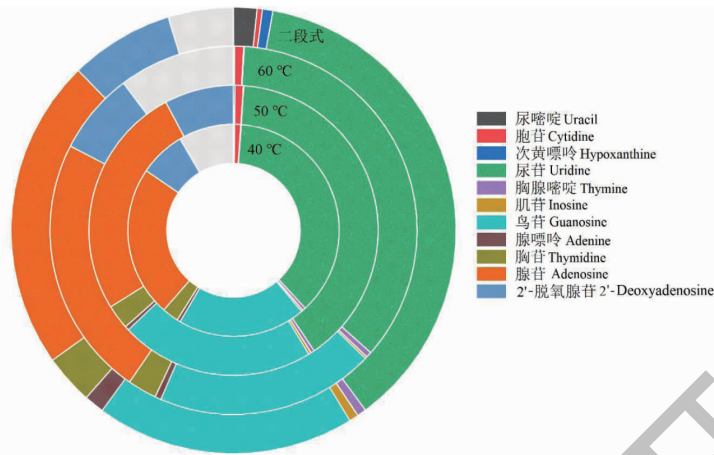


图7 核苷类成分比较结果

Fig. 7 Comparison results of nucleosides

3 结论与讨论

目前川贝母药材在市场上以野生品为主,但由于人们过度采挖、自然环境下种子发芽率低、生长条件苛刻等原因,野生资源日益减少,人工栽培兴起,与此出现的栽培品形状变异已成为普遍但目前仍无法解决的问题,优质的外观性状及内在品质对川贝母药材的用处至关重要,亦会影响其经济价值。同时如果产地加工不当,药材极易出现糊化、变色等现象,严重影响川贝母药材性状,导致药材销售困难。川贝母药材内主要含有生物碱、核苷及淀粉类等成分^[12-14],课题组前期实验发现浸出物含量越高,川贝母药材性状越差,因此本实验并未采用浸出物作为考察指标,而以药材性状、淀粉、总生物碱及总核苷含量归一化处理后对川贝母药材质量进行综合评价。

关于贝母类药材的加工工艺目前已有较多文献报道^[15-18],有部分研究针对普通烘干法进行优化,如利用紫外烘晒^[19]、过热蒸汽^[20]、热风-微波联合^[21]等干燥技术,采用变温和联合干燥的方法,对贝母类药材的加工工艺进行提升,但这些方法是否适用于川贝母药材尚无相关研究,同时介入联合设备亦会增加药材的生产成本。川贝母的产地加工方法目前仍主要以恒温烘干为主,但文献报道^[22-25]的烘干温度、时间各不相同,课题组前期^[2]基于此进行实验研究,实验结果表明以50 °C恒温烘干药材外观性状及内在质量较佳,本文继续对川贝母药材热风干燥进一步进行工艺筛选,以第一阶段干燥温度(X1),水分转换点(X2),第二阶段干燥温度(X3)3个因素,进行3因素3水平响应面实验,得到二段式

干燥最佳工艺为:60 °C干燥至含水量为45%,取出放置12 h,于50 °C干燥至含水量≤15.0%。经验证并与40~60 °C恒温干燥药材对比,二段式干燥所得药材颜色偏白、质量优,同时降低了栽培川贝母药材的干燥时间,节省了加工成本,内在成分可较大程度得到保留。

通过响应面法的设计及优化,本研究对栽培卷叶贝母的热风烘干工艺进行进一步研究,对川贝母药材加工方法拓展,为其规范化、规模化、标准化生产提供数据支撑。有研究表明不同大小的川贝母烘干时间差异显著^[22],因此对大、中、小不同规格的川贝母鲜品建立相对应的二段式干燥方法是否可以节省更多的加工成本还有待研究。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 38.
- 2 Li Q, Zhong YM, Chen YX, et al. Appearance characters and internal quality of cultivated *Fritillaria cirrhosa* D. Don under different drying methods[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022, 34:916-924.
- 3 Wu XH, Ma YB, Ning XD, et al. Construction of staged hot-air drying dynamic model for American ginseng [J]. Trans Chin Soc Agr Eng(农业工程学报), 2020, 36:318-324.
- 4 Jiang JY. Research on drying process and quality evaluation of *Pseudostellaria Radix* decoction pieces [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine(福建中医药大学), 2021.

- 5 Xin LD. Research on microwave vacuum-hot air sectional drying process of *Panax notoginseng* [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology (昆明理工大学), 2021.
- 6 Wu QF, Su GC, Zhou CY. Study on hot-air drying technology of sections temperature-changing of oyster by response surface methodology [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2015, 41: 158-162.
- 7 Wu ZH, Li WL, Zhao LJ, et al. Drying characteristics and product quality of *Lycium barbarum* under stages-varying temperatures drying process [J]. Trans Chin Soc Agr Eng (农业工程学报), 2015, 31: 287-293.
- 8 Guo XL, Rozi AMT. Experimental study on temperature variable drying of little white apricot [J]. Grain Oil Proces (粮油加工), 2015: 52-54.
- 9 Wang QH, Li ZX, Yang JS, et al. Dried characteristics of cherry tomatoes using temperature and humidity by stages changed hot-air drying method [J]. Trans Chin Soc Agr Eng (农业工程学报), 2014, 30: 271-276.
- 10 Peng X, Zhao LJ, Lei XQ, et al. Effects on the drying characteristics and quality of *Diospyros lotus* L. by the technology of thermostatic and subsection temperature changing hot air drying [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2021, 42: 92-96.
- 11 Lu YP, Wang CX, Yi WY, et al. Experimental study on hot-air drying of *Morchella* under stages-varying temperatures process [J]. J Chin Agr Mech (中国农机化学报), 2020, 41: 111-116.
- 12 Xu SL. Study on the determination method and extraction technology of alkaloid *Fritillaria chuanensis* [D]. Xining: Qinghai Normal University (青海师范大学), 2021.
- 13 Zhang FL, Liu W, Mao JF, et al. Nucleosides-based identification model for *Fritillariae Cirrhosae Bulbus* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2021, 46: 3337-3348.
- 14 Wang SJ. Research on starch in Chinese medicine *Fritillaria* and Chinese yam rich in starch [D]. Tianjin: Tianjin University (天津大学), 2006.
- 15 Li Q, Wang M, Wan ZY, et al. Harvesting and primary processing in *Fritillaria* medicinal materials: a review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2022, 28: 269-276.
- 16 Li X, Gao KL, Zong CY, et al. Research progress on cultivation and processing technology of *Fritillaria thunbergii* [J]. South Chin Agr (南方农业), 2021, 15: 51-53.
- 17 Wei YJ, Xu XF, Wang XJ, et al. The suitable processing method and the study of its temperature in *Fritillaria ussuriensis* Maxim [J]. Spec Wild Econ Animal Plant Res (特产研究), 2006, 3: 27-28.
- 18 Liu XQ, Chang WC. Processing technology of *Fritillariae Palidiflorae Bulbus* [J]. Spec Wild Econ Animal Plant Res (特产研究), 1990, 2: 55-56.
- 19 Lu DC, Peng Y, Zhang HF, et al. Analysis on the processing technology of *Fritillaria thunbergii* based on UV drying technology [J]. J Zhejiang Agric Sci (浙江农业科学), 2022, 63: 590-591.
- 20 Li Y, Yuan MY, Yang Q, et al. The effects of different drying process on volatile components and bacteriostatic activity of flowers of *Fritillaria hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia [J/OL]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报): 1-10 [2022-07-18]. DOI: 10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2021.0303.
- 21 Liu QM, Wang JZ, Liang YT, et al. Study on the drying technology of *Fritillaria* by hot air and microwave combination [J]. J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报), 2013, 13: 141-146.
- 22 Jiang Y, Liu Y, Wang S. Research of original processing and the best drying conditions on *Bulbus Fritillariae Cirrhosae* [J]. West Chin J Pharm Sci (华西药学杂志), 2011, 26: 65-66.
- 23 Ma J. Preliminary investigation on the quality control of *Fritillaria cirrhosa* D. Don cultivation [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (成都中医药大学), 2015.
- 24 Huang LF, Chen SL, Liu H, et al. Determination of 3 alkaloids in *Fritillaria cirrhosa* D. Don with different processing methods by HPLC-ELSD [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2009, 31: 1560-1564.
- 25 Liu H. Study on the adaptability analysis of *Fritillaria cirrhosa* D. Don origin and the method of harvesting and processing based on component analysis [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (成都中医药大学), 2008.