

# 硫磺熏蒸和鼓风烘制对鲜品白术药材中白术内酯 I 和白术内酯 III 含量的影响

孙学, 文红梅, 陆兔林, 李伟, 崔小兵\*  
(南京中医药大学药学院, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:建立 HPLC-PDA 同时测定白术中白术内酯 I 和白术内酯 III 含量的方法,比较不同温度鼓风烘制与硫熏白术中这 2 种成分的含量,探究代替硫磺熏蒸的最佳温度鼓风烘制保存的加工方法。方法:不同温度鼓风烘制和硫磺熏蒸的白术提取物的分析采用 Inertsil® ODS-SP 色谱柱,流速  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,流动相乙腈-水(52:48),检测波长 220 nm。结果:白术内酯 I 和白术内酯 III 的线性范围分别为 20.4 ~ 326.4, 20.9 ~ 334.4 ng ( $r > 0.9995$ ),加样回收率分别为 99.43% 和 99.20%,RSD 分别为 0.2% 和 0.3%。70 °C 烘制的白术中白术内酯 I 和白术内酯 III 的含量最高。结论:高温鼓风烘制及硫磺熏蒸均会减少白术内酯 I 和白术内酯 III 的含量,建议采用 70 °C 鼓风烘制法替代硫磺熏蒸作为白术的加工方法,该方法便捷、可靠、安全,为白术的质量控制提供参考。

**[关键词]** 白术; 烘制温度; 硫熏; 白术内酯 I; 白术内酯 III

**[中图分类号]** R943.1;R283.3;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0010-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016160010

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160707.1542.006.html>

**[网络出版时间]** 2016-07-07 15:42:32

## Influence of Sulfur-fumigation and Ventilation Baking on Contents of Atractylenolide I and III in Fresh Products of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

SUN Xue, WEN Hong-mei, LU Tu-lin, LI Wei, CUI Xiao-bing\*  
(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC-PDA method for simultaneous determination of atractylenolide I and III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, compare contents of these two constituents under sulfur-fumigation and ventilation baking, then explore a ventilation baking method to substitute sulfur-fumigation as the best processing method. **Method:** Analysis of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma extract under sulfur-fumigation and ventilation baking was performed on Inertsil® ODS-SP column, mobile phase was acetonitrile-water (52:48), flow rate was  $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , column temperature was maintained at 40 °C and chromatograms were monitored at 220 nm. **Result:** Good linear relationships of atractylenolide I and III were in the ranges of 20.4-326.4 ng and 20.9-334.4 ng with  $r > 0.9995$ , their average recoveries were 99.43% and 99.20% with RSD of 0.2% and 0.3%, respectively. Contents of atractylenolide I and III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma baked at 70 °C was the highest. **Conclusion:** High temperature baking and sulfur fumigation will reduce contents of atractylenolides, baking at 70 °C is the best processing method to substitute sulfur-fumigation for Atractylodis Macrocephalae Rhizoma. The method is convenient, reliable and safe.

**[Key words]** Atractylodis Macrocephalae Rhizoma; baking temperature; sulfur-fumigation; atractylenolide I; atractylenolide III

**[收稿日期]** 20160112(004)

**[基金项目]** 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201307008);江苏省中药学优势学科开放课题(YS2012ZYX309)

**[第一作者]** 孙学,在读硕士,从事中药成分分析与质量控制研究, Tel:15861812711, E-mail:xuexue\_2013726@163.com

**[通讯作者]** \* 崔小兵,博士,副教授,从事中药炮制及新药质量标准研究, Tel:025-85811839, E-mail:xiaobingcui@163.com

白术性温,气清香,味甘苦,具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎之功效<sup>[1]</sup>,含有内酯类<sup>[2-3]</sup>、多糖类<sup>[4-5]</sup>、苷类<sup>[6-7]</sup>、低分子糖<sup>[8]</sup>、氨基酸<sup>[9]</sup>等成分。传统的白术加工方法有烘干和晒干 2 种。烘干的称炕术,晒干的称为生晒术,一般以炕术为主<sup>[10]</sup>。然而,传统加工方法需要较长时间且效率低,故许多商家在将白术药材制备成饮片的过程中,大多先采用硫磺熏蒸,再稍加晒干的处理方法,以达到快速有效地装箱贩卖的目的,导致市售药材的质量参差不齐。虽然中药材经硫磺熏蒸后,具有干燥、增白、防霉、防虫、防腐的功能,且已在中药材及饮片的加工储存中普遍应用<sup>[11]</sup>,但大量研究表明该加工方法会严重影响药材饮片的质量<sup>[12-13]</sup>,大量使用硫磺会引起人体肝脏等器官的损伤<sup>[14]</sup>。为了减少加工过程中有效物质的损失,确保疗效,研究人员不断寻找中药材的最佳替代加工方法,但关于白术的替代加工技术研究尚无报道。

白术内酯 I 和白术内酯 III 是白术健脾益气、止汗安胎的活性物质<sup>[15]</sup>,而硫熏前后药材中化学成分种类和含量的变化是影响药材功效和质量可控的关键。本实验通过探究硫磺熏蒸及不同温度鼓风烘制对白术药材中白术内酯 I 和白术内酯 III 含量的影响,寻找并逐步建立更为科学、简便、易行的白术质量评价方法,制定其量化标准,以实现白术质量的安全、有效、稳定和可控。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱系统和 2998 型紫外检测器(美国 Waters 公司),TGL-16B 型离心机(上海安亭科学仪器厂),MS105 型 1/10 万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FW100 型万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),MUL-9000 系列超纯水系统(美国 Millipore 公司),DHG-9143BS-III 型电热恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

白术药材(江阴天江药业有限公司,批号 1405014,产于浙江磐安县大磐镇林丰村,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎),白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 20131109,20131120),硫磺(天津渤海化工集团供销有限公司),水为自制超纯水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

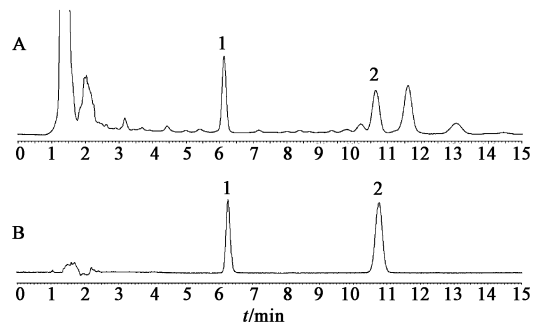
### 2.1 药材的前处理

白术内酯不稳定,高温会发生

转化<sup>[16]</sup>。为避免白术内酯的转化、分解,将药材控制在温度  $\leq 100\text{ }^{\circ}\text{C}$  进行鼓风烘制。白术药材分别用 30, 50, 60, 70, 80, 100  $^{\circ}\text{C}$  鼓风烘制<sup>[17]</sup>,硫磺熏蒸及硫磺熏蒸(洗)处理,得 8 个品种。取适量净制生白术根茎(批号 1405014,下同),置于烘箱中,30  $^{\circ}\text{C}$  烘 10 h,取出,室温下回软,置于烘箱中烘制 10 h,取出,室温下回软,重复上述操作,直至白术不再回软,切块,打粉(过 24 目筛,下同),得 30  $^{\circ}\text{C}$  烘白术;取生白术根茎,分别按上述方法在相应温度烘至白术不再回软,切块,打粉,得 50, 60, 70, 80, 100  $^{\circ}\text{C}$  烘白术;取适量生白术药材,加适量水浸润表面,放于铁桶的蒸架上,引燃蒸发皿(半碗)中的硫磺,盖上桶盖,熏制(1 次可熏 2 h),再焖 4 h,重复上述操作 2 次,切块,打粉,得硫磺熏蒸白术;取上述处理好的硫熏白术适量,用水洗净(尽可能减少表面  $\text{SO}_2$  残留),通风晒干,切块,打粉,得硫熏(洗)白术。

### 2.2 色谱条件

Inertsil<sup>®</sup> ODS-SP 色谱柱(4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,流动相乙腈-水(52:48),检测波长 220 nm,进样量 20  $\mu\text{L}$ 。见图 1。



A. 供试品; B. 对照品; 1. 白术内酯 III; 2. 白术内酯 I

图 1 白术药材的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma

### 2.3 溶液的配制

精密称取白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品 2.04, 2.09 mg, 分别加甲醇定容至 10 mL, 得对照品储备液。量取白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品储备液各 5.0 mL, 加甲醇定容至 50 mL, 得质量浓度分别为 20.40, 20.90 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。精密称取白术药材粗粉 0.20 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇 6 mL, 超声处理(250 W, 50 kHz) 60 min, 过滤; 向滤渣中加入甲醇 4 mL, 超声 60 min, 过滤; 合并滤液, 加甲醇定容至 10 mL, 取适量过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 得供试品溶液。

### 2.4 线性关系考察

精密吸取混合对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL, 分别置于 10 mL 量

瓶中,加甲醇定容,按 2.2 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得白术内酯 I 和白术内酯 III 回归方程分别为  $Y = 85\ 146X - 9\ 143.7$  ( $r = 0.999\ 9$ ),  $Y = 52\ 989X + 838.03$  ( $r = 0.999\ 7$ ), 线性范围依次为 20.4 ~ 326.4, 20.9 ~ 334.4 ng。

**2.5 精密度试验** 精密吸取白术内酯 I 和白术内酯 III 混合对照品溶液适量,按 2.2 项下色谱条件连续进样 5 次,结果白术内酯 I 和白术内酯 III 峰面积的 RSD 分别为 1.2% 和 0.4%,表明仪器性能良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取 70 °C 鼓风烘制的白术药材粗粉 0.20 g,平行 6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算白术内酯 I 和白术内酯 III 含量的 RSD 分别为 1.6% 和 1.7%,表明该方法重复性较好。

**2.7 稳定性试验** 取 70 °C 鼓风烘制的白术供试品溶液适量,分别于制备后 0,2,4,6,8,10,12 h 按 2.2 项下色谱条件测定,计算白术内酯 I 和白术内酯 III 的峰面积 RSD 分别为 0.3% 和 0.5%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

**2.8 最低检测限、定量限试验** 分别进样白术内酯 III ( $204.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和白术内酯 I ( $209.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各 8  $\mu\text{L}$ ,均满足  $S/N = 3$ ,即白术内酯 III 和白术内酯 I 的检测下限分别为 1.63,1.67 ng;分别进样白术内酯 III ( $408.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和白术内酯 I ( $418.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各 12  $\mu\text{L}$ ,均满足  $S/N = 10$ ,即二者的定量下限依次为 4.90,5.02 ng。

**2.9 加样回收率试验** 精密称取 70 °C 鼓风烘制的白术药材 9 份,3 份为 1 组,每份约 0.1 g,置于 10 mL 量瓶中,分别精密加入相当于生白术药材中白术内酯 III 和白术内酯 I 质量 80%,100%,120% 的对照品储备液适量,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算白术内酯 III 和白术内酯 I 平均回收率分别为 99.20% 和 99.43%,RSD 依次为 0.3% 和 0.2%,见表 1。

**2.10 样品测定** 精密称取白术药材样品粗粉 0.20 g,平行 3 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,结果见表 2。

### 3 讨论

预试验对提取方式(超声法、回流法),提取溶剂(甲醇,95%乙醇),提取次数(1,2,3次),提取时间(30,60,90 min)等进行单因素试验考察。综合考虑各个因素,最终确定用甲醇超声提取 2 次,每次 60 min。采用 HPLC-PDA 考察了多个色谱柱,包括 Inertsil® ODS-SP(4.6 mm × 150 mm,5  $\mu\text{m}$ ),Hedera

表 1 白术内酯 III 和白术内酯 I 的加样回收率试验

成分	称样量 /g	样品中量 /ng	加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	平均值 (RSD) /%
白术内酯 III	0.106 31	89.92	71.06	160.25	98.97	99.20
	0.107 32	89.92	71.06	160.56	99.41	(0.3)
	0.105 73	89.92	71.06	160.13	98.80	
	0.104 45	89.92	89.87	179.21	99.35	
	0.105 61	89.92	89.87	179.32	99.48	
	0.108 20	89.92	89.87	179.46	99.63	
	0.102 43	89.92	108.7	197.52	98.99	
	0.103 46	89.92	108.7	197.63	99.09	
	0.101 72	89.92	108.7	197.59	99.05	
	白术内酯 I	0.106 31	49.67	40.80	90.26	99.49
0.105 73		49.67	40.80	90.12	99.14	(0.2)
0.104 45		49.67	40.80	90.18	99.29	
0.105 61		49.67	51.00	100.55	99.76	
0.102 38		49.67	51.00	100.25	99.18	
0.103 72		49.67	51.00	100.37	99.41	
0.102 64		49.67	61.20	110.48	99.36	
0.105 29		49.67	61.20	110.64	99.62	
0.104 13		49.67	61.20	110.61	99.58	

表 2 不同温度鼓风烘制及硫磺熏蒸白术中白术内酯 III 及白术内酯 I 的含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品	白术内酯 III	白术内酯 I
白术	310.24 ± 0.086	260.52 ± 0.092
30 °C 烘白术	174.93 ± 0.153	164.42 ± 0.061
50 °C 烘白术	411.68 ± 0.131	382.58 ± 0.115
60 °C 烘白术	617.16 ± 0.128	439.65 ± 0.053
70 °C 烘白术	899.24 ± 0.086	496.73 ± 0.092
80 °C 烘白术	174.25 ± 0.118	230.27 ± 0.121
100 °C 烘白术	327.07 ± 0.145	225.02 ± 0.155
硫熏白术	299.76 ± 0.191	259.88 ± 0.128
硫熏(洗)白术	225.84 ± 0.132	196.87 ± 0.166

ODS-3(4.6 mm × 150 mm,5  $\mu\text{m}$ ),Kromasil C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm,5  $\mu\text{m}$ ),结果表明 Inertsil® ODS-SP 色谱柱(4.6 mm × 150 mm,5  $\mu\text{m}$ )能较好地分离色谱峰,出峰时间比较适当,分离度好。考察了乙腈-水和甲醇-水 2 种流动相体系对白术内酯类成分的检测情况,结果发现前者具有更好的分离效果。分别

对柱温 (38, 40, 42 °C), 流速 (0.9, 1.0, 1.1 mL·min<sup>-1</sup>), 仪器 (Waters 2695 型和 Agilent 1260 型高效液相色谱系统) 等进行了考察, 综合考虑各个因素, 确定了最终的色谱条件。

硫磺熏蒸作为传统中药材加工方法, 虽然具有有效的干燥、增白、防霉、防虫、防腐作用, 被广泛用于药材甚至食品的加工处理, 但若长期接触, 会存在二氧化硫残留, 对人体的肝、肺、肾、心等器官有严重损伤<sup>[14]</sup>。本文采用 HPLC-PDA 测定硫磺熏制和非硫磺熏制白术药材中白术内酯 I 及白术内酯 III 的含量, 以探索硫磺熏蒸的替代加工工艺。通过比较不同温度鼓风烘制的白术中白术内酯 I 和白术内酯 III 的含量, 发现烘制的温度过高或过低都会对白术内酯类成分的含量产生影响, 其中 70 °C 烘制的白术药材中内酯含量最高, 硫熏(洗)白术的白术内酯类成分含量比硫熏白术低, 70 °C 鼓风烘制品的白术内酯含量远比硫磺熏蒸的高。故建议 70 °C 鼓风烘制代替硫磺熏蒸方法对白术药材进行加工保存。

硫磺熏蒸白术中白术内酯 I 和白术内酯 III 含量下降的原因可能是 SO<sub>2</sub> 的还原性及硫磺与水形成 H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 与白术内酯上双键发生加成反应, 致使含量下降。若加水洗净, 硫磺熏蒸后白术内酯类成分下降更明显, 说明水与 SO<sub>2</sub> 形成 H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 更容易; 烘干温度慢慢增加到 70 °C, 苍术酮转化为白术内酯<sup>[18]</sup>, 使得白术内酯含量逐渐增加。温度 > 70 °C 烘制, 高温脱水及氧化分解导致白术内酯类成分含量下降。因此, 建议采用鼓风烘干法 (70 °C 鼓风烘制), 该方法简便易行且稳定可靠、重复性较好。将 70 °C 鼓风烘制用于生产过程时, 可尽可能减少药材中白术内酯类有效成分的丢失。

[参考文献]

[1] 李家实. 中药鉴定[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 202.  
[2] Li C Q, He L C, Dong H Y, et al. Screening for the anti-inflammatory activity of fractions and compounds from *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114(2): 212-217.  
[3] Ding H Y, Liu M Y, Chang W L, et al. New sesquiterpenoids from the rhizomes of *Atractylodes macrocephala*[J]. Chin Pharm J, 2005, 57(1): 37-42.

[4] 池玉梅, 李伟, 文红梅, 等. 白术多糖的分离纯化和化学结构研究[J]. 中药材, 2001, 24(9): 647-648.  
[5] 曹岗, 张晓炎, 丛晓东, 等. 白术多糖的研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2009, 23(3): 14-18.  
[6] Han J H, Kim J, Kim S, et al. Anti-oxidative compounds from the aerial parts of *Atractylodes macrocephala* Koidz. [J]. Yakhak Hoeji, 2007, 51(2): 88-95.  
[7] 李伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1460-1462.  
[8] 王建成. 白术中白术内酯 I, II, III 提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(9): 28-30.  
[9] 张程荣, 曹岗, 丛晓东, 等. 白术化学成分和质量控制研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(10): 2328-2331.  
[10] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 6752.  
[11] Kan W L, Ma B, Lin G, et al. Sulfur fumigation processing of traditional Chinese medicinal herbs: beneficial or detrimental? [J]. Front Pharmacol, 2011, doi:10.3389/fphar.2011.00084.  
[12] 毛春芹, 季琳, 陆兔林, 等. 中药材硫磺熏蒸后有害物质及其危害研究进展[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2801-2806.  
[13] Guo A L, Chen L M, Wang Y M, et al. Influence of sulfur fumigation on the chemical constituents and antioxidant activity of buds of *Lonicera japonica* [J]. Molecules, 2014, 19(10): 16640-16655.  
[14] 许靖. 中草药中二氧化硫的使用研究现状(综述)[J]. 中国城乡企业卫生, 2011(1): 117-119.  
[15] 梁志远, 冉晓燕, 周进康. 白术内酯 I、II、III 的化学研究进展[J]. 贵州师范学院学报, 2013, 29(9): 29-33.  
[16] 李伟, 文红梅, 崔小兵, 等. 白术的炮制机理及其倍半萜成分转化的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(19): 1600-1603.  
[17] 安开龙, 李德坤, 周大铮, 等. 不同干燥方法对五味子药材品质的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2900-2906.  
[18] Shan G S, Zhang L X, Zhao Q M, et al. Metabolomic study of raw and processed *Atractylodes macrocephala* Koidz by LC-MS[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, doi: 10.1016/j.jpba.2014.05.010.

[责任编辑 刘德文]