

白术麸炒过程中 5-羟甲基糠醛的含量变化规律及其与饮片温度、颜色变化的相关性分析

张乐, 潘欢欢, 刘飞, 刘肖, 李雪莲, 陈林, 刘友平*, 陈鸿平*

(成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:** 研究白术麸炒过程中 5-羟甲基糠醛的含量变化规律及其与饮片温度、颜色变化的相关性, 为阐明白术炮制原理及其炮制工艺的优选提供实验依据。**方法:** 采用炒药机炒制白术, 于不同时间点取样, 得麸炒白术样品; 采用 HPLC 测定 5-羟甲基糠醛的含量, 流动相甲醇-水 (5:95), 检测波长 284 nm。采用二维红外成像仪测量麸炒不同时间点的饮片温度; 采用色差计测量麸炒不同时间点的饮片颜色。**结果:** 白术生品未检出 5-羟甲基糠醛; 随着麸炒时间延长, 5-羟甲基糠醛含量缓慢增加, 至饮片炒至 15 min 左右, 饮片温度达到 150 °C 左右时, 5-羟甲基糠醛含量突然急剧升高, 此时饮片颜色 b* (颜色的黄蓝程度) 进入显著下降阶段。**结论:** 白术麸炒过程中 5-羟甲基糠醛含量呈规律性变化, 且与饮片温度、颜色变化具有相关性。

[关键词] 白术; 麸炒炮制; 5-羟甲基糠醛; 饮片; 温度; 颜色

[中图分类号] R283.4; R284.1; R943.1; Q983+.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)17-0011-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016170011

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160705.1438.012.html>

[网络出版时间] 2016-07-05 14:38

Content Variation of 5-hydroxymethylfurfural in Bran-frying Process of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and Its Correlation with Temperature and Color Changes of Decoction Pieces

ZHANG Le, PAN Huan-huan, LIU Fei, LIU Xiao, LI Xue-lian, CHEN Lin,
LIU You-ping*, CHEN Hong-ping*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study oncontent variation of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) in bran-frying process of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, and investigate its correlation with temperature and color changes of decoction pieces. **Method:** *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* was fried with stir-frying machine, and sampled at different time points. HPLC was applied to determine the content of 5-HMF with mobile phase of methanol-water (5:95) and detection wavelength at 284 nm. Two-dimensional infrared imager was adopted to measure the temperature of decoction pieces at different time points; color difference meter was employed to measure the color of decoction pieces at different time points. **Result:** 5-HMF in raw products of *Atractylodis*

[收稿日期] 20151008(016)

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81303226); 四川省中医药管理局中医药科学技术研究专项(2016C061)

[第一作者] 张乐, 在读博士, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:13540608320, E-mail: zhangle_only@163.com

[通讯作者] * 刘友平, 博士生导师, 从事中药化学成分与质量标准研究, E-mail: liuyouping@163.com;

* 陈鸿平, 硕士生导师, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:13982283303, E-mail: chen_hongping@126.com

Macrocephalae Rhizoma was not detected. As bran-frying time extended, 5-HMF content increased slowly, when stir-frying about 15 min and temperature of decoction pieces at 150 °C, 5-HMF content sudden rise sharply, and at this time, the color b^* values of decoction pieces entered a significant decline phase. **Conclusion:** The content of 5-HMF changes regularly in the bran-frying process of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*, and it has a remarkable correlation with temperature and color changes of decoction pieces.

[Key words] *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*; bran-frying; 5-hydroxymethylfurfural; decoction pieces; temperature; color

白术具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的功效^[1]。目前,白术的炮制方法繁多,但以麸炒为主^[2]。文献研究多为白术麸炒前后主要成分如白术内酯、挥发油等的含量变化及以之为指标优化炮制工艺的报道^[3-6]。5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)是一种糖的热降解产物,在含糖的中药炮制过程中都有可能生成,与炮制时间和温度密切相关,是一种可用于指示炮制程度的物质,现已成为中药炮制原理研究的活性成分^[7-8]。白术含有多糖、单糖等糖类成分,在炮制过程中可发生美拉德反应^[9],生成典型产物 5-HMF^[10],同时多糖自身也可发生水解、脱水反应生成 5-HMF。目前关于白术不同炮制品中 5-HMF 含量的比较已有文献报道^[11],而炮制过程中 5-HMF 含量变化及其与炮制火力、火候的相关性研究尚未见报道。本实验拟通过研究白术麸炒过程中 5-HMF 含量的变化规律,探讨其与饮片温度、颜色变化的相关性,为阐明白术炮制机制和优选其炮制工艺提供参考。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),380Lc 型二维红外成像仪(德国 DIAS 公司),CY-900 型炒药机(南京宏钢盛机械设备厂),CM-5 型分光测色计(柯尼卡美能达有限公司),UPT-I-10T 优谱系列超纯水器(成都超纯科技有限公司),FA2000 型 1/1 万电子天平(上海民侨精密科学仪器有限公司),BP211D 型 1/10 万电子天平(德国赛多利斯公司)。

白术药材购自四川新荷花饮片公司,经成都中医药大学标本中心卢先明教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎;辅料蜜麸也购自于四川新荷花饮片公司。5-羟甲基糠醛(5-HMF, 成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-131110805),水为超纯水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

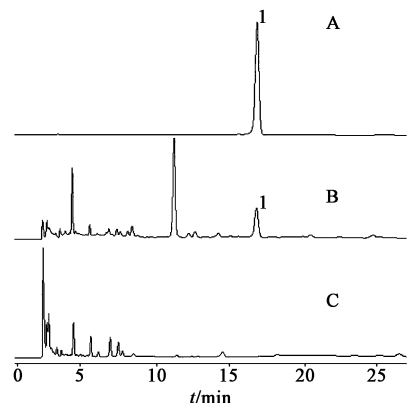
2.1 白术炮制样品的制备

2.1.1 蜜麸炒白术 采用四川新荷花饮片公司麸炒白术炮制工艺制备白术炮制样品。将炒药机空转加热,采用二维红外成像仪监测锅内温度,待温度约达 280 °C 时,投入蜜炙麦麸 5 kg,待冒烟时,迅速投入白术片约 50 kg(其中批号 141010-2 投料 80 kg),分别于不同时间点取样,一直取到白术片表面呈焦黑色为止。每次取样约 1 kg,共炮制 2 个产地 4 个批次麸炒品,批号分别为 140506-1(浙江产),140506-2(浙江产),141010-1(四川产),141010-2(四川产)。

2.1.2 清炒白术 采用四川新荷花饮片公司清炒白术炮制工艺制备白术炮制样品。将炒药机空转加热,采用二维红外成像仪监测锅内温度,待温度达 280 °C 左右时,投入白术片约 50 kg,于不同时间点取样,一直取到白术片表面呈焦黑色为止。每次取样约 1 kg,得不同时间点白术清炒样品,批号 141010-3(四川产)。

2.2 白术麸炒过程中 5-HMF 含量测定及变化规律

2.2.1 色谱条件 Sepax HP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(5:95),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,检测波长 284 nm。见图 1。



A. 对照品; B. 麸炒品; C. 生品; 1. 5-HMF

图 1 白术 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取各白术样品

粉末(过三号筛)1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加入水 25 mL,称定质量,室温下以 150 r·min⁻¹振荡提取 30 min,取出,放冷,称定质量,加水补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取 5-HMF 对照品适量,置棕色量瓶中,加甲醇制成 70 mg·L⁻¹的对照品溶液,低温、避光、密封保存。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 0.5,1,2,5,8,10 μL,按 2.2.1 项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 7\,713X + 40.05$ ($r = 0.999\,9$),线性范围 35.3 ~ 705.6 ng。

2.2.5 精密密度试验 精密吸取 5-HMF 对照品溶液 5 μL,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算峰面积的 RSD 0.7%,表明仪器精密密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8 h 按 2.2.1 项下色谱条件进样 10 μL,结果峰面积的 RSD 0.6%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批麸炒白术样品 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果峰面积 RSD 1.1%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取麸炒白术样品 6 份,每份约 0.5 g,精密加入 5-HMF 对照品 52.92 μg,按 2.2.2 项下制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果平均回收率 101.94%,RSD 0.7%。

2.2.9 样品测定 取不同时间点的白术炮制样品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,见表 1。结果发现白术生品未检出 5-HMF;白术麸炒样品和清炒样品都检出了 5-HMF,且随着炮制时间延长,5-HMF 含量大致呈现不断增加的趋势。

2.3 饮片温度变化及其与 5-HMF 含量变化的相关性 采用二维红外在线成像仪测定白术麸炒过程中饮片表面温度,见表 1。结果发现随着炮制时间的延长,白术饮片表面温度呈逐渐升高趋势。以炮制过程中取样点饮片温度为横坐标,5-HMF 含量为纵坐标,绘制曲线,见图 2。结果发现当饮片温度达 150 ℃左右时,5-HMF 含量突然急剧升高。表明在炮制过程中 5-HMF 含量与饮片温度密切相关。

2.4 饮片颜色变化及其与 5-HMF 含量变化的相关性 采用色彩色差计测定饮片颜色,以 L*, a*, b* 对颜色进行量化表征。其中 L* 表示颜色的亮度,

表 1 白术样品的表面颜色色度、温度及 5-HMF 含量

Table 1 Color values and temperature of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* and its 5-HMF content

批号	炮制时间 /min	L*	a*	b*	温度 /℃	5-HMF /mg·g ⁻¹
140506-1	0	58.39	6.53	25.59	25.00	0
140506-1	3	56.90	8.13	29.79	74.50	0.013 9
140506-1	6	52.06	9.74	31.08	98.40	0.031 7
140506-1	9	50.82	11.94	34.07	106.40	0.054 9
140506-1	12	46.45	12.24	32.27	113.90	0.067 5
140506-1	15	37.61	13.13	25.38	148.80	0.069 1
140506-1	18	28.88	10.13	16.04	171.00	0.653 5
140506-2	0	58.39	6.53	25.59	25.00	0
140506-2	3	54.61	9.09	31.05	80.26	0.020 5
140506-2	6	49.08	11.09	31.45	99.15	0.045 5
140506-2	9	45.10	12.07	30.65	122.62	0.065 4
140506-2	12	39.25	13.48	27.25	139.40	0.051 3
140506-2	15	36.17	12.43	23.53	153.86	0.075 5
140506-2	18	30.64	10.74	18.33	164.83	0.477 1
141010-1	0	57.97	7.02	22.30	25.00	0
141010-1	2	57.72	7.73	28.57	63.00	0.017 0
141010-1	4	53.91	10.03	32.36	79.90	0.026 3
141010-1	6	52.97	11.45	34.54	97.40	0.039 2
141010-1	8	47.39	13.57	34.19	104.10	0.114 1
141010-1	10	47.88	14.39	34.27	114.60	0.108 5
141010-1	12	42.48	15.43	31.01	125.50	0.085 4
141010-1	14	40.42	13.66	27.28	146.50	0.096 5
141010-1	16	36.19	12.60	22.44	153.40	0.111 4
141010-1	18	30.65	10.32	16.85	164.30	0.515 5
141010-1	20	29.24	9.23	15.17	175.60	2.667 6
141010-2	0	59.35	7.27	27.18	25.00	0
141010-2	2	56.97	7.57	28.84	55.93	0.024 8
141010-2	4	56.35	9.37	32.22	74.52	0.023 1
141010-2	6	51.89	12.26	35.50	83.16	0.064 9
141010-2	8	52.03	12.12	35.52	91.66	0.077 9
141010-2	10	48.24	12.75	33.44	97.27	0.113 3
141010-2	12	47.45	13.05	33.01	101.04	0.113 1
141010-2	14	45.96	13.02	31.84	104.26	0.117 5
141010-2	16	45.63	13.06	31.23	116.06	0.163 4
141010-2	18	44.16	13.05	30.44	126.10	0.092 4
141010-2	20	40.30	12.29	26.85	132.06	0.080 4
141010-2	22	38.07	12.66	25.08	140.68	0.080 4
141010-2	24	36.64	12.49	23.62	147.90	0.158 2
141010-2	26	34.15	11.45	20.20	162.04	0.421 5
141010-2	28	28.23	9.15	14.43	168.72	2.068 1
141010-2	30	27.35	9.14	13.80	176.92	6.118 3
141010-3	0	57.97	7.02	22.30	25.00	0
141010-3	2	56.88	5.77	23.73	63.77	0.004 2
141010-3	4	49.09	6.66	23.33	86.68	0.010 6
141010-3	6	50.78	7.16	24.75	108.43	0.026 1
141010-3	8	46.96	8.09	26.71	130.07	0.054 1
141010-3	10	42.05	8.00	26.23	142.14	0.074 6
141010-3	12	39.28	9.05	24.23	148.23	0.078 8
141010-3	14	37.21	10.05	23.68	154.79	0.079 9
141010-3	16	36.62	9.50	22.41	158.45	0.130 4
141010-3	18	36.99	9.54	23.06	162.14	0.251 9
141010-3	20	37.32	9.94	22.88	165.57	0.616 0

注:L*表示颜色的亮度,a*表示颜色的红绿程度,b*表示颜色的黄蓝程度。

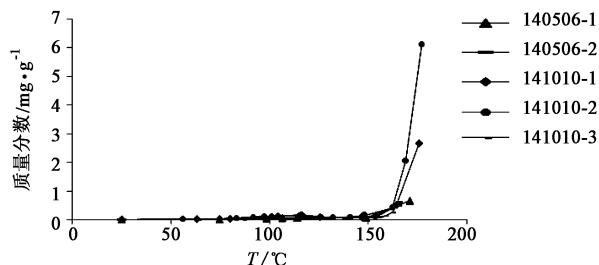


图 2 白术麸炒过程中 5-HMF 含量随饮片温度的变化
Fig. 2 Curves of temperature and 5-HMF content in bran-frying process of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*

L^* 越大,说明饮片的颜色越亮; a^* 表示颜色的红绿程度, a^* 越大,说明饮片的颜色越偏红; b^* 表示颜色的黄蓝程度, b^* 越大,说明饮片颜色越偏黄,见表 1。结果发现随着炮制时间延长,白术饮片颜色 L^* 逐渐降低,即饮片颜色由亮变暗, a^* 和 b^* 呈现先增加后降低的规律。以炮制过程中取样时间为横坐标,5-HMF 含量和颜色 b^* 为纵坐标作图,见图 3。结果显示 4 批麸炒样品变化规律相同, b^* 出现最大值的时间为 8 ~ 12 min,最大值的平均值 33.83, RSD 5.1%,表明白术在麸炒过程中黄色逐渐增加,8 ~ 12 min 后黄色减退。当颜色 b^* 进入显著下降阶段后,5-HMF 含量开始急剧增加。

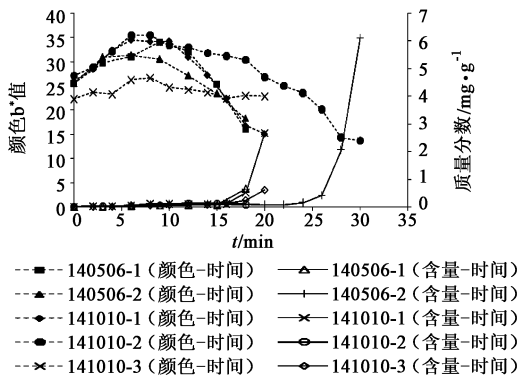


图 3 白术麸炒过程中 5-HMF 含量和颜色 b^* 随炮制时间的变化
Fig. 3 Changes of 5-HMF content and b^* values of color with processing time in bran-frying process of *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*

3 讨论

白术生品未检出 5-HMF,而清炒白术检出了 5-HMF,且随着炮制时间的延长呈现含量不断升高的趋势,说明加热可促进 5-HMF 的产生及加热程度对 5-HMF 含量的影响极大;麸炒白术(批号 141010-1,四川产)中 5-HMF 含量在同一时间及温度段内明显高于清炒白术(批号 141010-3,四川产),说明蜜麸可促进 5-HMF 的产生,这可能与蜜麸中的蜂蜜自身含有或受热分解产生 5-HMF 有关。

对麸炒白术样品而言,当麸炒时间 15 min 左右和饮片表面温度达到 150 °C 左右时,5-HMF 含量突然急剧增加;然批次 141010-2 麸炒品的 5-HMF 含量在 24 min 之后才急剧增加,此批药材投料较大(80 kg),表明在炮制工艺研究中不能单纯规定炮制时间的长短,还与炮制火力(温度)及投料量密切相关。

本研究表明白术在炮制过程中其黄色值呈先加深后减退的规律,其转折变化的时间在 8 ~ 12 min,这与本课题组在四川新荷花饮片公司炮制样品过程中老药工判断麸炒白术到最佳火候的时间一致。由图 3 可知,当麸炒白术 b^* 进入显著下降阶段后,5-HMF 含量开始急剧增加。而清炒白术在该过程内与麸炒白术表现出同样的变化趋势,表明 5-HMF 含量变化与饮片颜色密切相关。而麸炒白术(批号 141010-1,四川产)中 b^* 在同一时间段内明显高于清炒白术(批号 141010-3,四川产),说明蜜麸可促进白术饮片颜色的加深,这可能与蜜麸中的蜂蜜受热颜色加深而使白术颜色加深或受其他成分的影响有关。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:95-96.
- [2] 吴皓,胡昌江. 中药炮制学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:171.
- [3] 赵文龙,吴慧,贾天柱. 麸炒白术的炮制工艺优化[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):7-10.
- [4] 赵文龙,吴慧,单国顺,等. 麸炒白术“减酮减碱,增酯增效”炮制理论的再印证[J]. 中国中药杂志,2013,38(20):3493-3497.
- [5] 吴慧,单国顺,赵文龙,等. 不同麦麸对白术炮制品质量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(6):55-60.
- [6] 崔小兵,单晨啸,文红梅,等. 基于 UFLC/Q-TOF-MS 分析麸炒白术的物质基础[J]. 中国中药杂志,2013,38(12):1929-1933.
- [7] 曲欣楠,郑毅男,刘文丛. 中药活性小分子 5-羟甲基糠醛生物活性研究进展[J]. 特产研究,2014,1(5):72-76.
- [8] 刘月新,潘雪,邹茜,等. 探讨 5-羟甲基糠醛在中药及复方中的存在意义[J]. 中国现代药物应用,2013,7(15):3-4.
- [9] 王超,王淳,李青,等. Maillard 反应在中药领域的研究进展[J]. 中国药房,2011,22(11):1038-1040.
- [10] Bakhiya N, Monien B, Frank H, et al. Renal organic anion transporters OAT1 and OAT3 mediate the cellular accumulation of 5-sulfooxymethylfurfural, a reactive, nephrotoxic metabolite of the Maillard product 5-hydroxymethylfurfural[J]. Biochem Pharmacol, 2009, 78(4):414-419.
- [11] 崔小兵,李伟,文红梅,等. UPLC 法测定白术不同炮制品中 5-羟甲基糠醛及糠醛的含量[J]. 南京中医药大学学报,2012,28(5):477-478.

[责任编辑 刘德文]