

不同色泽红参与水分和5-羟甲基糠醛含量的相关性分析

吴翠, 徐靓, 马玉翠, 李瑞琦, 巢志茂*

(中国中医科学院 中药研究所, 国家中药材产业技术体系贮藏与包装岗位, 北京 100700)

[摘要] **目的:** 探讨不同红参样品的色泽与水分和5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量的相关性。**方法:** 以白纸为背景日光下观察色泽;采用色差仪测定色度值,并计算色差值;采用烘干法测定水分;建立高效液相色谱法(HPLC)测定5-HMF的含量;采用 Spearman 和 Pearson 系数进行相关性分析。**结果:** 红参的色泽呈黄白、土黄、棕黄色。色差仪测定和计算的 L^* , a^* , b^* , ΔE^* 有一定的范围,可以体现红参色泽。水分在 4.02% ~ 8.31%,符合 2015 年版《中国药典》的规定。5-HMF 的含量从低于检测限($1.985 \times 10^{-4} \mu\text{g}$)到 $78.97 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。相关性分析结果认为, L^* , a^* , b^* 和 ΔE^* 值均与水分含量存在极显著的相关性,即色泽越深水分含量越高;而与 5-HMF 的含量无显著相关性。**结论:** 作为炮制品的红参,其色泽的差异与其中的水分含量有关,而与中药材中普遍存在的色泽与 5-HMF 含量相关的现象不一致,说明药材经炮制后色泽的深浅与药材本身色泽变化的原因具有本质区别。因此,控制水分含量,对于保证红参色泽的稳定具有重要意义。该文应用色差仪对红参进行色泽的测定,系统地测定了其中 5-HMF 的含量,并提出水分含量对红参色泽的影响。

[关键词] 红参; 色泽; 水分; 5-羟甲基糠醛; 相关性分析

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0136-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191615

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190508.1114.001.html>

[网络出版时间] 2019-05-09 13:24

Correlation Between Color and Contents of Water and 5-Hydroxymethylfurfural in Ginseng Radix et Rhizoma Rubra

WU Cui, XU Liang, MA Yu-cui, LI Rui-qi, CHAO Zhi-mao*

(Institute of Chinese Materia Medica, Storage & Packaging Position, Chinese Medicinal Material China Agriculture Research System, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the correlation between colors and contents of water and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) in Ginseng Radix et Rhizoma Rubra (GRRR). **Method:** The colors were observed under sunlight on a sheet of white paper. The chroma value and color difference were determined and calculated by a colorimeter. Water content was determined by the oven-drying method. An HPLC method was established and used to determine the content of 5-HMF. The correlation was analyzed by the Spearman and Pearson analysis. **Result:** The colors of GRRR were yellowish-white, ocher-yellow, and yellowish-brown. The values of L^* , a^* , b^* , and ΔE^* had a certain range, and could reflect the colors of GRRR. The content of water ranged from 4.01% to 8.31% and was in accordance with the requirement the *Chinese Pharmacopoeia*. The content of 5-HMF ranged from below the limit of detection ($1.985 \times 10^{-4} \mu\text{g}$) to $78.97 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. The results of correlation analysis shows significant correlations between L^* , a^* , b^* , ΔE^* values and water content, that is to say, the deeper the color was, the higher the content of water was, but with no significant correlation with 5-HMF content. **Conclusion:** The color of processed GRRR was related to water content but not related to 5-HMF content, which

[收稿日期] 20181219(017)

[基金项目] 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-21)

[第一作者] 吴翠,在读博士,从事中药材贮藏与包装研究,E-mail:wucuidalian@163.com

[通信作者] *巢志茂,研究员,博士生导师,从事中药材贮藏与包装研究,E-mail:chaozhimao@163.com

was not consistent with the correlation between color and 5-HMF content that generally existed in a series of raw Chinese medicinal materials. It indicated an essential difference between the color shade of processed Chinese medicinal materials and the cause of color change of raw Chinese medicinal materials. Therefore, it was significant to control water content for ensuring the stability of GRRR. This study determined the colors of GRRR by a colorimeter, systematically determined 5-HMF content, and proposed the effect of water contents on the color of GRRR.

[**Key words**] Ginseng Radix et Rhizoma Rubra; color; water; 5-hydroxymethylfurfural; correlation analysis

红参为五加科植物人参的栽培品经蒸制后的干燥根和根茎。具有大补元气,复脉固脱,益气摄血的功效,用于体虚欲脱,肢冷脉微,气不摄血,崩漏下血等证^[1]。研究表明,红参中主要含有多糖、皂苷类^[2]等成分。皂苷类成分对大鼠中枢神经化学物质的量具有调节作用,进而改善记忆、脑部疲劳等^[3]。其中精氨酸双糖苷具有对抗强迫性游泳诱发的小鼠疲劳现象^[4]。水提取物可以减轻哮喘小鼠模型的气道炎性反应程度而达到治疗作用^[5]。

色差仪采用的 CIE-Lab 色度空间系统,利用 L^* , a^* , b^* 三个不同的坐标轴,指示色泽在几何坐标图中的位置和代号。其中 L^* 代表亮度, L^* 越大表示越白, L^* 越小表示越黑; a^* 代表从红色到绿色的范围,正值为红色方向,负值为绿色方向。 b^* 代表从黄色到蓝色的范围,正值为黄色方向,负值为蓝色方向。以这 3 个数据计算的总色差值(ΔE^*)可以客观地表示人眼区分不同物质色泽的能力,数值越大,说明样品与参照物的色泽差异越明显^[6-7]。

5-羟甲基糠醛(5-HMF)是麦拉德反应的典型产物之一^[8],一方面具有抗氧化^[9]、抑制肿瘤细胞增殖^[10]等药理活性,另一方面则具有中等细胞毒性^[11]、对上呼吸道、人眼部、皮肤和黏膜具有刺激性^[12]、可造成动物横纹肌麻痹和内脏损害^[13]、以及 DNA 损伤^[14]等不良作用,与牛膝^[15]、山萸肉^[16]、龙眼肉^[17]、大枣^[18]、五味子^[19]、瓜蒌^[20]等中药材的色泽改变具有显著的相关性。文献显示,红参在加工过程中有 5-HMF 的产生^[21],但其色泽的改变是否与 5-HMF 的含量有关尚未见文献报道。

本文从药材市场和各药店收集了 11 份红参样品,色泽参差不齐,笔者采用色差仪测定了色值的数据,采用烘干法测定了水分含量,采用高效液相色谱法测定了 5-HMF 的含量^[15],找出了色泽差异的相关因素,为红参质量标准的完善奠定了基础。

1 材料

Shimadzu LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛

津公司,配有 SIL-20A 型自动进样器, DGU-20A 型自动脱气机, LC-20AT 型泵, SPD-M20A 型二极管阵列检测器, CTD-10ASvp 柱温箱, LC-solution 色谱工作站); NH310 型三恩驰便携式色差仪(三恩驰科技有限公司); Ohaus CP224C 型 1/1 万电子天平[奥豪斯(上海)仪器有限公司]; XS105 Dual Range 型 1/10 万电子分析天平(Mettler Toledo 仪器系统有限公司); DFT-50A 型手提式高速粉碎机(温岭市林大机械有限公司); KQ-100E 型超声波清洗器(100 W, 40 kHz, 昆山市超声仪器有限公司)。5-HMF 对照品(美国 Sigma-Aldrich 公司,纯度 $\geq 99.09\%$); 甲醇、乙腈为色谱纯[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; 水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

红参样品购自药材市场及药店,经中国中医科学院巢志茂研究员鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* 根茎的蒸制品。

2 方法与结果

2.1 色泽观察 各样品外观呈深浅不同的红棕色。粉碎,过四号筛,取适量样品粉末置于白纸上,在日光下观察色泽,色泽差异明显,呈黄白、土黄或棕黄色,结果见图 1 和表 1。

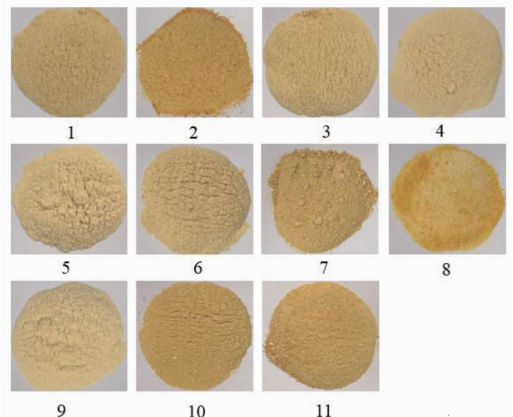


图 1 各红参样品粉末

Fig.1 Pictures of Ginseng Radix et Rhizoma Rubra samples powder

表 1 红参的样品信息、色泽、色泽测定、水分和 5-HMF 的含量色泽测定

Table 1 Samples information, color, colors determination, and water and 5-HMF contents in Ginsen Radix et Rhizoma Rubra

No.	样品信息	色泽	色度值			ΔE^*	水分/%	5-HMF / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
			L^*	a^*	b^*			
1	衡南吉泰大药房	土黄	75.72	6.46	19.03	59.24	6.66	-
2	通化御参堂人参股份有限公司(未加糖)	棕黄	57.19	8.07	18.33	70.00	7.74	-
3	大连药房	黄白	78.22	6.22	18.71	56.89	6.33	1.855
4	西安广济堂	土黄	80.30	5.19	17.80	48.27	4.94	1.875
5	安国药材市场	黄白	82.66	4.64	16.96	45.22	4.96	2.059
6	通化御参堂人参股份有限公司(加糖)	土黄	78.79	5.87	18.25	54.18	6.62	2.290
7	北京天罡普仁大药房	土黄	75.86	7.47	20.54	67.34	6.89	2.312
8	北京同仁堂新开河参	棕黄	77.28	7.44	23.36	74.69	8.31	3.194
9	安国药材市场	黄白	80.96	4.24	14.85	39.31	4.02	3.787
10	南宁康全药业	土黄	75.54	8.56	23.16	79.43	7.53	23.950
11	济南圣爱中医馆	土黄	75.21	7.67	21.77	71.70	7.40	78.970

注: - 表示低于检测限。

2.2 色泽测定 采用国际照明委员会(CIE)认可的 D65 光源(相当于自然日光,6 504 K)。首先进行黑白校正,测定白色 A4 打印纸的色度值 L_0^* , a_0^* , b_0^* 并作为参照,取 2.1 项下的样品粉末约 3.5 g,置于粉末测试盒(光距长 1.0 cm)中,压实,测定色度值为 L^* , a^* , b^* ,重复测定 3 次,取平均值,按如下公式计算各样品的 ΔE^* ,结果见表 1。由表 1 可知,3, 5, 9 号样品的 L^* 值较其他样品大, ΔE^* 值均较小,即与参照物 A4 纸的色泽差异小,即色泽较浅。2, 8, 10, 11 号样品的 L^* 值较小,即色泽偏暗, ΔE^* 值较大,即色泽较深。

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

2.3 水分测定 取 2.1 项下粉末约 2.0 g,精密称定,按 2015 年版《中国药典》通则 0832 项下烘干法测定水分,结果见表 1。由表 1 可知,各样品水分差异明显。

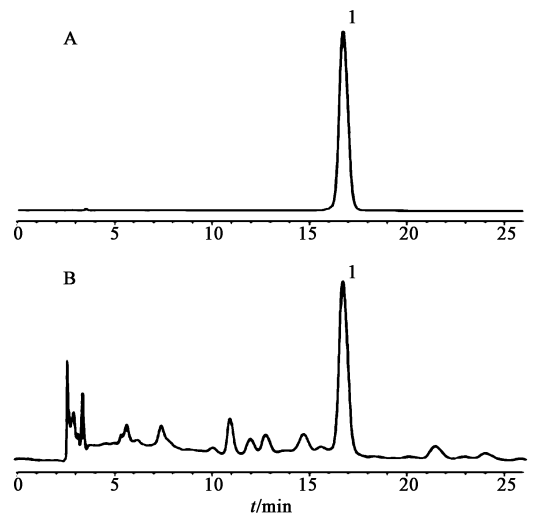
2.4 5-HMF 含量测定

2.4.1 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(5:95),检测波长 284 nm,进样 10 μL ,流速 1 mL · min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2 对照品溶液的制备 称定 5-HMF 对照品 3.97 mg,置于 10 mL 棕色量瓶中,以 50% 的甲醇溶解,定容,制成质量浓度为 0.397 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下粉末 1.0 g,精密称定,置于 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加

入 50% 甲醇 25 mL,超声 25 min(100 W, 40 kHz),取出放至室温,补足失重,滤过,取续滤液,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液即得。供试品与对照品溶液的色谱见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 5-HMF

图 2 对照品及红参供试品 HPLC

Fig. 2 HPLC of reference substance and samples of Ginsen Radix et Rhizoma Rubra

2.4.4 方法学考察 线性关系考察:将对对照品溶液,以 50% 甲醇稀释,配制成质量浓度为 0.039 7, 0.145 7, 0.198 5, 0.397, 0.794, 3.97 mg · L⁻¹ 的系列对照品溶液,分别进样 10 μL ,按 2.4.1 项下的色谱条件测定 5-HMF 峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,计算线性方程为 $Y = 8\ 228\ 519X + 679$

($r^2 = 0.9993$), 进样量在 $0.000397 \sim 0.0397 \mu\text{g}$ 与峰面积线性关系良好。

检测限和定量限:按 2.4.1 项下色谱条件,将 5-HMF 对照品溶液逐级稀释,进样测定,最终确定检测限($S/N = 3$)为 $1.985 \times 10^{-4} \mu\text{g}$,定量限($S/N = 10$)为 $6.525 \times 10^{-4} \mu\text{g}$ 。

精密度试验:精密吸取 5-HMF 对照品溶液 ($19.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),连续进样 6 次,每次 $10 \mu\text{L}$,测定 5-HMF 峰面积,计算精密度的 RSD 0.5%,表明仪器的精密度良好。

稳定性试验:精密吸取供试品溶液(11 号样品),室温放置,分别在 0,2,4,8,12,24 h 分别进样,每次进样 $10 \mu\text{L}$,测定 5-HMF 峰面积,计算溶液稳定性的 RSD 0.9%,表明溶液的稳定性良好。

重复性试验:取同一供试品(11 号样品)粉末 6 份,每份约 1.0 g,精密称定,按照 2.4.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件进行测定,测得干品中 5-HMF 的平均质量分数为 $78.74 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.3%。

加样回收率试验:取同一样品粉末(11 号样品)6 份,每份约 0.5 g,精密称定,分别精密加入 5-HMF 对照品溶液 ($39.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 1.0 mL ,按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算平均加样回收率为 102.29%,RSD 1.9%,结果见表 2。

表 2 红参中 5-HMF 的加样回收率试验

Table 2 Recovery test of 5-HMF in Ginsen Radix et Rhizoma Rubra

称样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.5002	0.03647	0.07641	100.59	102.29	1.9
0.5006	0.03650	0.07689	101.73		
0.5020	0.03660	0.07821	104.79		
0.5004	0.03649	0.07669	101.27		
0.5010	0.03653	0.07649	100.66		
0.5022	0.03662	0.07818	104.68		

注:加入量均为 0.0397 mg 。

2.4.5 样品含量测定 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算干品中的含量,结果见表 1。由表 1 可知,各样品中 5-HMF 的含量差异明显,1 和 2 号样品的含量低于检测限;3~9 号样品中的含量有所升高,为 $1.855 \sim 3.787 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;10 和 11 号样品的含量较高,为

23.95 和 $78.97 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;11 号样品的含量是 3 号样品含量的 42.1 倍。

2.5 双变量相关性分析 经正态性检验, L^* 和 5-HMF 没有显著性差异,不服从正态分布; a^* , b^* , ΔE^* 和水分含量具有显著性差异($P < 0.05$),服从正态分布。所以在进行双变量相关性分析时,对于不服从正态分布的变量采用 Spearman 相关系数进行评价;服从正态分布的变量采用 Pearson 相关系数进行评价,结果见表 3。

表 3 不同影响因素的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of different influence factor

影响因素	相关系数	
	5-HMF 含量	水分
L^*	-0.032	-0.809 ¹⁾
a^*	0.173	0.921 ¹⁾
b^*	0.346	0.863 ¹⁾
ΔE^*	0.301	0.942 ¹⁾
水分	0.155	1.000 ¹⁾

注:¹⁾ $P < 0.01$ 。

由表 3 的结果可知,5-HMF 的含量与 L^* , a^* , b^* , ΔE^* 及水分含量之间的相关性不显著。 L^* , a^* , b^* , ΔE^* 与水分含量之间的相关系数分别为 -0.809, 0.921, 0.863 和 0.942, 均呈极显著相关,说明红参样品色泽的差异主要与水分有关,色泽越深水分含量越高。

3 讨论

红参为人参根和根茎经过浸湿、清洗、蒸、晒、烘干等多道工序蒸制加工而成,由黄白色转变成了红棕色。但是,外表体现出来的深浅不同的红棕色与内部的色泽还是有一定的区别的,所以样品在粉碎后表现出了不同的色泽。

采用色差仪对红参进行色度的测定,并进行色泽不等的原因分析,尚未见文献的报道。本文指出了炮制品色泽的深浅与水分含量具有极显著的相关性。

对于牛膝^[15]、山萸肉^[16]、龙眼肉^[17]、大枣^[18]、五味子^[19]、瓜蒌^[20]等中药材来说,色泽的加深在于产生了较多的 5-HMF,色泽与含量之间存在显著的相关性。对于炮制品的红参来说,在蒸制过程中已经产生了一定量的 5-HMF^[21],由于蒸制环节的时间和温度的不等,Maillard 反应造成了各样品中 5-HMF 含量的高低不等(表 1),所以本文未能统计出色泽与 5-HMF 含量之间的相关性。说明,炮制品色

泽的深浅与药材色泽深浅的原因是具有本质区别的。

来源于通化御参堂人参股份有限公司的红参,未加糖蒸制加工的 2 号样品和加糖蒸制加工的 6 号样品,出现了 5-HMF 含量的高低,原因在于糖的加入使得 Maillard 反应产生了更多的 5-HMF。

本文测定的红参样品,水分含量从 4.02% 到 8.31%,尽管都符合 2015 年版《中国药典》不得高于 12% 的规定,但是,由于水分的含量能够反映红参的色泽,而固定的色泽对于判断红参的质量具有重要的意义,因此,控制水分的含量,对于保证红参的质量具有更大的指导价值。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:154.

[2] 刘丹,濮社班,钱士辉,等. 中国红参化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(4):462-464.

[3] 李帅坪,黄鑫,张勇,等. 红参皂苷组分对大鼠血浆中神经化学物质的影响[J]. 中草药,2017,48(14):2918-2924.

[4] 黄宝亮,丁传波,王佳奇,等. 红参中精氨酸双糖苷对小鼠的抗疲劳作用[J]. 吉林大学学报:医学版,2017,43(5):897-902.

[5] 黄丽,靳庆霞. 红参水提物对哮喘气道炎症小鼠的治疗作用及其机制研究[J]. 医学研究杂志,2017,46(11):161-164.

[6] Hidayat W, Qi Y, Jang J H, et al. Color change and consumer preferences towards color of heat-treated Korean white pine and royal paulownia woods [J]. J Korean Wood Sci Tech, 2017, 45(2):213-222.

[7] 吕新广,赵美京. CIELAB 色度空间的均匀性研究[J]. 郑州大学学报:理学版,2002,34(1):69-73.

[8] Fallico B, Arena E, Zappala M. Degradation of 5-hydroxymethylfurfural in honey [J]. J Food Sci, 2008, 73(9):C625-631.

[9] LI M M, WU L Y, ZHAO T, et al. The protective role of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) against acute hypobaric hypoxia [J]. Cell Stress Chaperon, 2011, 16(5):529-537.

[10] ZHAO L, CHEN J, SU J, et al. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(44):10604-10611.

[11] Janzowski C, Glaab V, Samimi E, et al. 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione [J]. Food Chem Toxicol, 2000, 38(9):801-809.

[12] Uubricht R J, Northup S J, Thomas J A. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions [J]. Fundam Appl Toxicol, 1984, 4(5):843-853.

[13] Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update [J]. Mol Nutr Food Res, 2005, 49(7):663-672.

[14] Durling L J, Busk L, Hellman B E. Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases [J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(4):880-884.

[15] 吴翠, 王玉翠, 晋文慧, 等. 简易库和冷藏库贮藏中牛膝理化指标的月动态变化研究[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(24):2151-2156.

[16] 于莉, 吴晓毅, 梁曜华, 等. 山萸肉不同仓储时间与 5-羟甲基糠醛含量的相关性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(6):95-98.

[17] 吴翠, 唐春风, 王玉翠, 等. 不同色泽龙眼肉中 5-羟甲基糠醛的含量测定及相关性分析[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(1):42-44.

[18] 吴翠, 刘超, 巢志茂. 大枣色泽与 5-羟甲基糠醛含量相关性分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(8):83-86.

[19] 吴翠, 高岳瑞, 巢志茂, 等. 五味子中 5-羟甲基糠醛含量与仓储和色泽的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15):24-27.

[20] 孙文, 巢志茂, 王淳, 等. HPLC 对市售瓜蒌中 5-羟甲基糠醛的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18):73-76.

[21] 初红梅, 曲桂武, 戴胜军, 等. 红参中美拉德反应产物研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9):86-89.

[责任编辑 顾雪竹]