

初加工对牛大力中高丽槐素质量分数的影响^①

杨玺文¹, 王德立², 张兴翠¹, 方 草³

1. 西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400715;

2. 中国医学科学院药用植物研究所海南分所, 海南 万宁 571533; 3. 海南省农垦总医院, 海口 571103

摘要: 药材初加工在中药生产环节中起着关键作用. 为筛选牛大力块根的最佳初加工方法, 该文采用 RP-HPLC 法测定了不同初加工方法处理的牛大力块根中高丽槐素的质量分数, 并观察记录了牛大力外观性状和干燥时间. 研究结果显示, 60 ℃ 烘干牛大力横断面呈灰黄色, 质地也较密实且硬, 高丽槐素质量分数最高, 为 0.100 4 mg/g, 其次为 30 ℃ 烘干和晒干处理的, 烘干温度高于 60 ℃ 时随温度升高高丽槐素质量分数降低; 蒸煮处理中以蒸 45 min 处理的牛大力中高丽槐素质量分数最高, 但其质量分数仅为 0.007 1 mg/g, 煮处理的质量分数显著低于蒸处理. 牛大力最适宜的初加工方法为趁鲜切片 60 ℃ 烘干.

关键词: 牛大力; 初加工; 高丽槐素; RP-HPLC

中图分类号: Q949.751.9

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)05-0052-06

牛大力为豆科蝶形花亚科崖豆藤属植物美丽崖豆藤 *Millettia speciosa* Champ. 的干燥块根^[1], 又名土人参、猪脚笠、山莲藕、大力薯等. 其性平味甘, 具有补虚润肺、强筋活络的功效, 主要治疗气血两虚、腰肌劳损、风湿性关节炎、肺结核、慢性支气管炎、遗精、白带、心脑血管等疾病^[2]. 主要分布于我国广西、广东、海南, 此外越南北部等地区亦有少量分布. 牛大力为著名南药和壮药^[1], 集药用价值和保健功能于一体, 是中国南方地区民间广泛采用的药食两用药材^[3]. 牛大力块根中含有黄酮类、苯丙素类、萜类和多糖等成分^[4-7], 其中黄酮类化合物以高丽槐素为主要成分^[4]. 据文献报道牛大力的乙醇提取物具有较明显的抗炎、免疫调节及抗氧化和清除自由基作用^[8], 其中高丽槐素对白血病细胞(HL-60)和大鼠嗜碱性细胞白血病细胞(RBL-2H3)具有细胞毒活性^[9].

药材的化学成分种类和质量分数决定其药理活性, 化学成分种类和质量分数与药材的加工工艺密切相关. 药材初加工处理的目的, 一方面为了避免药材出现发霉、腐烂变质的现象以利于贮藏; 另一方面保证药材中的有效成分在贮存过程中质量分数稳定、尽量减少损失^[10]. 高丽槐素是牛大力中的主要活性成分, 其质量分数的高低可以作为衡量牛大力初加工方法优劣的一个重要指标. 目前, 牛大力初加工方法的研究还处于空白, 饮片质量难以保证. 本文比较分析了不同干燥方法、烘干温度及蒸煮处理对牛大力中高丽槐素质量分数的影响, 为牛大力质量控制和产后初加工提供了科学依据.

1 仪器与试药

1.1 仪 器

Waters 1525 高效液相色谱仪(美国 waters 公司)、XS105DU 电子分析天平(梅特勒-托利多有限公司, 上海)、Mill-Q Advantage A 10 超纯水器(Advantage A10 USA)、金腾 0.45 μm 微孔滤膜(美国 PALL 原

① 收稿日期: 2014-03-25

基金项目: 海南省自然科学基金(813242); 海南省中药现代化专项资金(ZY201316).

作者简介: 杨玺文(1988-), 男, 甘肃省武威市, 硕士研究生, 主要从事药用植物学研究.

通信作者: 张兴翠, 副研究员.

产膜)、KQ-500DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、UV-2450 紫外可见分光光度计(日本津岛),DK-S26 型电热恒温水浴锅(上海森信试验仪器有限公司)、FD-24A 型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)、DGG-9240B 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信试验仪器有限公司)。

1.2 试 剂

牛大力新鲜块根采自海南兴隆镇,凭证标本存于中国医学科学院药用植物研究所海南分所。
甲醇、乙醇、乙腈(色谱纯, Sigma-Aldich)、冰醋酸(分析纯)、高丽槐素对照品(19908-48-6, 上海源叶科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 不同干燥方法

选择大小均一的鲜牛大力根茎,切成厚度为 2~3 mm 的薄片,随机分为质量相近的 8 组,分别采用处理方法(表 1)中各项干燥方法进行干燥处理,干燥至恒定质量。牛大力各干燥方法所需的时间和牛大力外观性状见表 2。

表 1 处理方法

处 理	方 法
S	晒干:置于太阳下晒干,每隔 24 h 测定质量 1 次
F	阴干:置于通风的室内放置至干,每隔 24 h 测定质量 1 次
H-30	30 ℃恒温烘干:置于 30 ℃恒温干燥箱中干燥至恒定质量
H-45	45 ℃恒温烘干:置于 45 ℃恒温干燥箱中干燥至恒定质量
H-60	60 ℃恒温烘干:置于 60 ℃恒温干燥箱中干燥至恒定质量
H-75	75 ℃恒温烘干:置于 75 ℃恒温干燥箱中干燥至恒定质量
H-90	90 ℃恒温烘干:置于 90 ℃恒温干燥箱中干燥至恒定质量
LD	冷冻干燥:置于冷冻干燥机中干燥至恒定质量

表 2 干燥方法所需的时间和牛大力的外观性状

处 理	干燥时间	横断面外观性状	质 地
S	15 d	灰白色	较密实且硬
F	28 d	灰白色	较密实且硬
H-30	29 h	灰黄色	较密实且硬
H-45	23 h	灰黄色	较密实且硬
H-60	14 h	灰黄色	较密实且硬
H-75	9 h	浅灰褐色	密实且硬
H-90	6 h	浅灰褐色	松泡
LD	15 h	灰白色	松泡

2.2 蒸煮处理

选择大小均一的鲜牛大力根茎,切成厚度为 2~3 mm 的薄片,随机分为质量相近的 8 组,取 4 组分别蒸制 15,30,45,60 min(以“圆汽”开始计时),另取 4 组分别煮制 15,30,45,60 min. 然后置于 60 ℃恒温烘箱中干燥至恒定质量。

2.3 高丽槐素质量分数测定

采用 RP-HPLC 测定牛大力中高丽槐素质量分数^[11-13]。

2.3.1 溶液的配制

对照品储备液
精密称取高丽槐素对照品 2.7 mg 置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。
供试品溶液
将处理后的牛大力薄片粉碎,取样品粉末(过 50 目筛)1.0 g,精密称定,置 50 mL 圆底烧瓶中,精密

加入70%乙醇15 mL,测定质量,85℃水浴加热回流提取45 min,超声提取(400 W,400 kHz)45 min,放冷至室温,以甲醇补足减失的质量,过滤,精密吸取续滤液7.5 mL,水浴浓缩至干,残渣用甲醇溶解并转移至2 mL容量瓶中,以甲醇定容至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.3.2 色谱条件与系统适应性试验

Symmetry® C₁₈(4.6 mm×150 mm,5.0 μm)型号色谱柱;流动相为乙腈-0.1%冰醋酸水溶液(30:70);流速1.0 mL/min;柱温30℃;进样量10 μL;检测波长以高丽槐素计为310 nm。高丽槐素对照品和牛大力样品色谱图见图1。

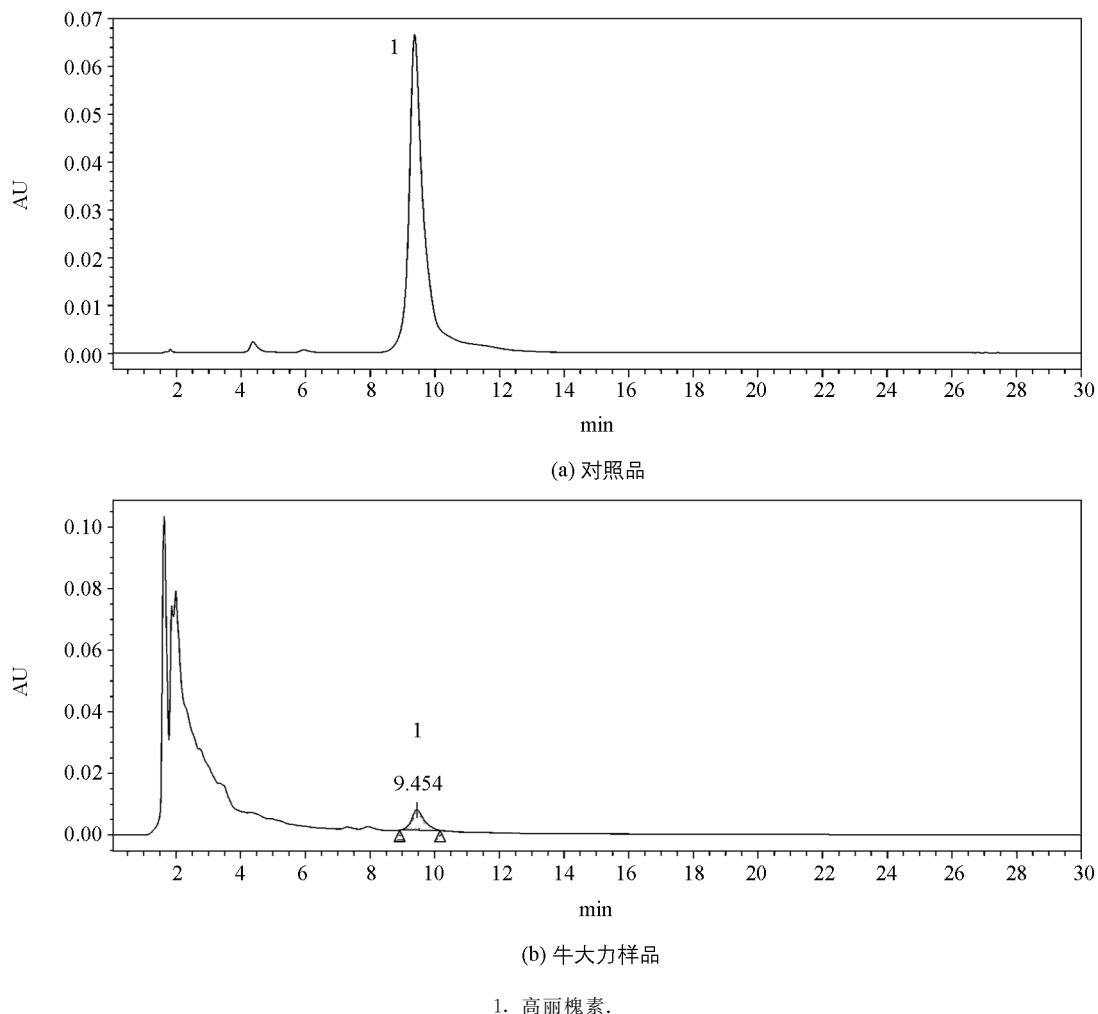


图1 对照品(A)和牛大力样品(B)的HPLC色谱图

2.3.3 线性关系考察

分别精密吸取高丽槐素对照品储备液适量,用甲醇分别稀释为27.0,13.5,6.75,3.375,1.688,0.844 μg/mL的系列对照品溶液,摇匀。精密吸取上述对照品溶液各10 μL注入HPLC色谱仪。以峰面积Y为纵坐标,对照品的进样量X(μg)为横坐标,用最小二乘法作线性回归,得出回归方程 $Y=1.05285 \times 10^6 X - 5345.853$, $R^2=0.9993$ 。结果表明,高丽槐素进样量在0.0084~0.2700 μg之间与峰面积有良好的线性关系。

2.3.4 精密度、稳定性、重复性试验

精密吸取高丽槐素对照品储备液适量,用甲醇稀释至10.8 μg/mL,连续进样6次,分别测定高丽槐素的峰面积,其RSD(relative standard deviation)为0.91%(n=6);取同一份供试品溶液,分别于配置后0,2,4,6,8,10,12 h进样,测定高丽槐素的峰面积,其RSD为0.86%(n=7);取同一批次药材,共6份,按供试品溶液制备方法制备,测定高丽槐素的峰面积,其RSD为1.0%(n=6)。

2.2.5 加样回收试验

精密称取已知质量分数的样品粉末 1.0 g, 共 6 份, 分别精密加入已知质量浓度的高丽槐素对照品溶液 1 mL, 按供试品溶液制备方法制备, 进样 10 μ L, 分别测定其峰面积, 计算得高丽槐素回收率为 99.8%, RSD 为 1.2%($n=6$).

2.3.6 样品的测定

取样品, 按供试品方法制备供试品溶液, 注入色谱仪, 记录各供试品中高丽槐素的峰面积, 按外标法计算供试品中高丽槐素的质量分数, 结果见表 2.

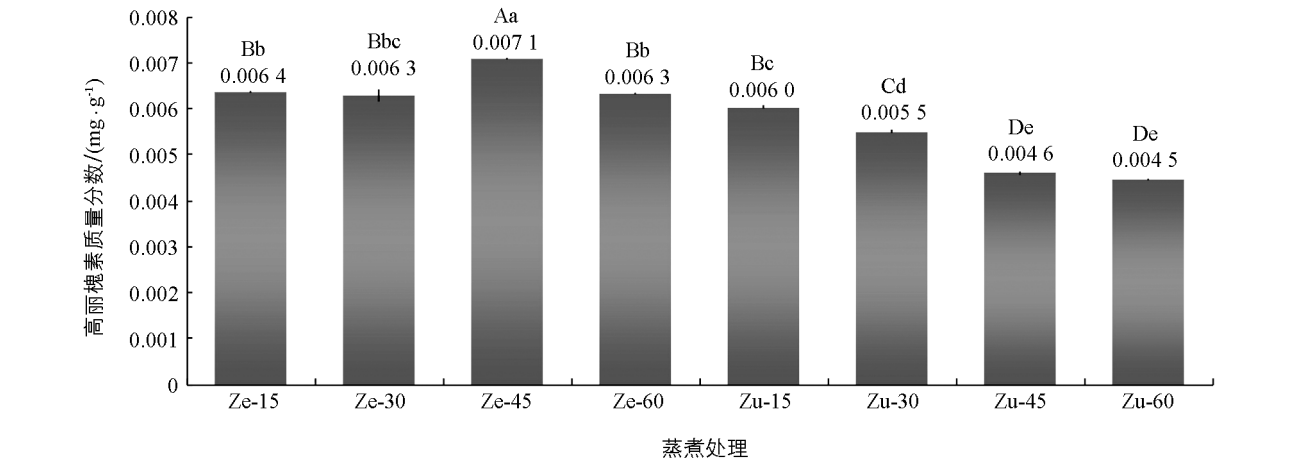
表 2 不同干燥方法处理牛大力中高丽槐素质量分数($n=5$)

处 理	高丽槐素质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	较 S 的增减量/ %	处 理	高丽槐素质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	较 S 的增减量/ %
S	0.094 9 Aa	0.00	H-60	0.100 4 Aa	5.75
F	0.043 8 Dd	-53.84	H-75	0.054 0 Cc	-43.08
H-30	0.096 0 Aa	3.22	H-90	0.016 9 Ee	-82.19
H-45	0.070 4 Bb	-25.87	LD	0.041 2Dd	-56.59

注: 采用 Duncan 法检验, 每一列的数据间不同小写字母表示有差异具有统计学意义($p \leq 0.05$), 大写字母表示差异极具统计学意义($p \leq 0.01$).

由表 2 结果显示, 经不同干燥方法处理后牛大力药材高丽槐素质量分数在 0.016 9~0.100 4 mg/g 之间, 其中 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干处理的高丽槐素质量分数为最高, 可达 0.100 4 mg/g, 较传统干燥方法——晒干法(S)高出 5.75%; 30 $^{\circ}\text{C}$ 处理的次之, 为 0.096 0 mg/g, 较 S 处理高出 3.22%, 但 S, H-30, H-60 处理高丽槐素质量分数间差异不具有统计学意义($p \leq 0.05$); LD 处理高丽槐素质量分数仅为 0.041 2 mg/g. 不同干燥处理中, 牛大力药材高丽槐素质量分数的大小顺序依次为 H-60>H-30>S>H-45>H-75>F>LD>H-90, 其中 H-60, H-30 和 S 处理与 H-45, H-75, F, H-90 处理间高丽槐素质量分数差异极具统计学意义($p \leq 0.01$).

牛大力经不同蒸煮处理后其中高丽槐素质量分数有差异, 如图 2 所示. 蒸制处理组的牛大力中高丽槐素质量分数高于煮制处理组的, 且差异具有统计学意义($p \leq 0.05$)(除蒸制 30 min 与煮制 15 min 处理). 蒸制 45 min 处理的最高, 质量分数为 0.007 1 mg/g; 煮制 45, 60 min 处理的质量分数较低. 蒸制 45 min 处理与其他各处理间差异极具统计学意义($p \leq 0.01$).



采用 Duncan 法检验, 不同小写字母间差异具有统计学意义($p \leq 0.05$), 不同大写字母间差异极具统计学意义($p \leq 0.01$).

图 2 蒸煮处理对牛大力中高丽槐素质量分数的影响($n=3$)

3 分析与讨论

3.1 不同干燥方法所需时间及对牛大力外观性状的影响

干燥时间随温度的升高而缩短, 其中阴干所需时间较长近 1 个月, 晒干需 15 d 左右, 而烘干法仅在 1 d

内就可以干燥, 60 ℃ 烘干法干燥只需要 14 h, 大大提高了牛大力的干燥效率. 阴干和晒干均耗时较长, 而且占用空间大、卫生条件差、劳动力耗费多, 不利于中药材现代化生产. 阴干、晒干、冷冻干燥品横断面呈灰白色, 30 ℃, 45 ℃, 60 ℃ 烘干品横断面呈灰黄色, 75 ℃, 90 ℃ 烘干品横断面呈浅灰褐色, 由于牛大力中含有多糖类成分如淀粉^[6], 随着干燥温度升高, 淀粉炭化颜色加深. 90 ℃ 烘干和冷冻干燥法干燥时水分散失较快, 干制品质地变得松泡.

3.2 不同干燥方法对牛大力中高丽槐素质量分数的影响

本试验采用 RP-HPLC 测定了经不同干燥方法及烘干温度干燥处理的牛大力药材中高丽槐素质量分数存在的差异. 牛大力高丽槐素质量分数以 60 ℃ 烘干最高, 30 ℃ 烘干次之, 其均较产区传统干燥方法——晒干法、阴干法处理的高. 牛大力烘干时要严格控制烘干温度, 烘干温度高于 60 ℃ 高丽槐素质量分数随温度升高呈显著降低趋势. 高丽槐素属于黄酮类化合物^[4], 温度高于 60 ℃ 可能会加快高丽槐素的氧化, 有待进一步考证. 45 ℃ 烘干处理高丽槐素质量分数介于 30 ℃, 60 ℃ 烘干处理之间, 这可能是由于 45 ℃ 烘干处理温度缓和, 出现了回潮, 致使高丽槐素质量分数下降.

真空冷冻干燥基本上在 0 ℃ 以下的温度进行, 干燥时先预冻使药材中的水结成冰, 然后在真空条件下使水直接升华出来. 而在本试验中对牛大力进行低温冷冻干燥, 高丽槐素质量分数较其他干燥方法处理的低, 说明低温冷冻不利于牛大力干燥, 这与王冬梅等^[14]对胡黄连干燥方法研究的结果相似. 低温冷冻干燥在药材的干燥处理中需谨慎考虑^[15].

3.3 蒸煮处理对牛大力中高丽槐素质量分数的影响

蒸、煮制加工工艺广泛应用于以根或块茎入药的药材, 如天麻、地黄、红参等都需经过蒸制处理. 蒸制后天麻中天麻素质量分数显著高于未加工天麻中天麻素质量分数^[16], 这是因为在新鲜天麻的炮制过程中, 同时存在酶解和缩合两种相反的作用, 而蒸的过程有杀酶作用, 破坏了酶解^[17]. 对于牛大力药材蒸制 45 min 后再烘干, 其高丽槐素质量分数高于蒸制 15, 30, 60 min 处理和煮制处理, 但相对未经蒸制直接 60 ℃ 烘干处理的有所降低, 在蒸煮过程中高丽槐素在沸水中溶出, 高丽槐素质量分数损耗了近 92.9%. 因此依据高丽槐素质量分数作为指标, 表明牛大力不适合蒸煮处理, 同时也说明了牛大力加工饮片时应趁鲜切片, 以防止干燥后润透切片的过程中有效成分损失.

牛大力初加工过程中, 生理活性物质发生着显著变化. 不同的干燥方法、蒸煮处理对牛大力高丽槐素质量分数有影响. 牛大力以 60 ℃ 烘干最为适宜, 经蒸煮处理牛大力中高丽槐素质量分数显著降低, 不适于牛大力加工. 本研究为牛大力饮片生产提供了科学的初加工方法, 推进了牛大力产业的现代化发展.

参考文献:

[1] 广东中药志编辑委员会. 广东中药志 [M]. 广州: 广东科技出版社, 1994.

[2] 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.

[3] 王茂媛, 赖富丽, 王建荣, 等. 牛大力茎的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(1): 53—55.

[4] 王春华, 王 英, 王国才, 等. 牛大力的化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 972—975.

[5] 王祝年, 赖富丽, 王茂媛, 等. 牛大力根的化学成分研究 [J]. 热带作物学报, 2011, 32(12): 2378—2380.

[6] 郑元升. 牛大力多糖的提取及其药理活性研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2009.

[7] 宗鑫凯, 赖富丽, 王祝年, 等. 牛大力化学成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(4): 520—521.

[8] 王呈文, 纪明慧, 舒火明, 等. 牛大力总黄酮提取工艺及不同萃取物的抗氧化活性研究 [J]. 化学研究与应用, 2013, 25(5): 713—717.

[9] UCHIYAMA T, FURUKAWA M, ISOBE S, et al. New Oleanane-Type Triterpene Saponins from *Millettia speciosa* [J]. Heterocycles, 2003, 60(3): 655—661.

[10] 卫莹芳. 中药鉴定学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2010.

[11] 陈 勇, 谢 臻, 巫繁菁, 等. HPLC 测定广西牛大力药材中芒柄花素和高丽槐素的含量 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, 15(2): 260—263.

[12] 王春华, 王 勇, 王 英, 等. RP-HPLC 法测定牛大力药材中高丽槐素的含量 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1735—1737.

- [13] 郑 敏, 彭敬东, 王丽峰. 金银花和金银花露中绿原酸和 4 种黄酮含量的测定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 30(1): 45—48.
- [14] 王冬梅, 唐 志, 程轩轩, 等. 同干燥方法对岩黄连药材中脱氢卡维汀含量的影响 [C]. 南京市: 第六届中国药学会学术年会论文集, 2006 年.
- [15] ABASCAL K, GANORA L, YARNELL E. The Effect of Freeze-Drying and Its Implications for Botanical Medicine: a Review [J]. *Phytotherapy Research: PTR*, 2005, 19(8): 655—660.
- [16] 李瑞洲, 刘守金. 天麻采集加工方法考察 [J]. *安徽中医学院学报*, 2000, 19(6): 44—45.
- [17] 季晓晖. 天麻的采收加工及其指纹图谱技术研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

Effects of Primary Processing on the Content of Maackiain in Root of *Millettia Speciosa*

YANG Xi-wen¹, WANG De-li², ZHANG Xing-cui¹, FANG Cao³

1. School of Agronomy and Biotechnology Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences &
Peking Union Medical College, Wanning Hainan 571533, China;

3. Hainan Provincial Nongken Hospital, Haikou 571103, China

Abstract: Primary processing plays a key role in the production chains of traditional Chinese medicine. To explore suitable processing method for the root of *Millettia Speciosa*, the content of maackiain in root of *Millettia Speciosa* treated by different processing method was determined by RP-HPLC. At the same time, we also observed the with appearance character and recorded the drying time. The results indicated that the highest content of maackiain in the root of *Millettia Speciosa* treated by oven-drying 60℃ was 0.100 4 mg/g, and the cross-section showed grayish yellow and denser, and followed by *Millettia Speciosa* with sun-drying and oven-drying on 30 ℃. With increasing temperature, maackiain content decreased when the drying temperature is over 60 ℃. The suitable steaming and boiling method with highest content of maackiain was treated by steaming method for 45min, but the content only was 0.007 1 mg/g. The maackiain content of *Millettia Speciosa* treated by boiled is significantly lower than the steaming treatment's. Furthermore, the optimized processing method for the root of *Millettia Speciosa* sliced in fresh crude is oven-drying at constant 60 ℃.

Key words: *Millettia Speciosa*; processing method; maackiain; RP-HPLC

责任编辑 夏 娟

