

- 法检测代森锰锌在花生中的残留量[J]. 农药学报, 2007, 9(3): 297-300.
- [12] 韦 婕, 宋世明, 李雪生. 高效液相色谱法检测番茄中乙撑硫脲和丙撑硫脲的残留[J]. 农药, 2016, 55(12): 912-914.
- [13] 石利利, 单正军, 金 怡, 等. 荔枝中代森锰锌及其代谢产物乙撑硫脲残留量的气相色谱测定[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 92-94; 97.
- [14] 冯义志, 潘金菊, 刘 伟. 超高效液相色谱质谱联用检测苹果和土壤中丙撑硫脲的残留分析方法[J]. 农药科学与管理, 2015, 36(1): 31-33.
- [15] 叶孟亮, 聂继云, 徐国锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水果中乙撑硫脲残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(11): 1276-1280.
- [16] Ripolles C, Sancho J V, Lopez F J, *et al.* Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the residue determination of ethylenethiourea (ETU) and propylenethiourea (PTU) in water [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1243(22): 53-61.
- [17] Lemes V R R, Martins-Junior H A, de Souza S V C J, *et al.* Ethylenethiourea in fruits: optimization and in-house validation of a method by liquid chromatography tandem mass spectrometry, occurrence and dietary exposure assessment [J]. *Food Control*, 2014, 42(1): 321-328.
- [18] 叶 倩, 黄聪灵, 高毓文, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中乙撑硫脲残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(4): 382-386.
- [19] Tran K, Mactal L P, Cromer M R, *et al.* Development and validation of ethylenethiourea determination in foods using methanol-based extraction, solid-phase extraction cleanup and LC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2013, 140(1-2): 340-342.

不同储藏年限地黄化学成分分析

宋琳琳, 薛淑娟, 王利丽, 张 飞, 陈随清*
(河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要: 目的 分析不同储藏年限地黄的化学成分。方法 对地黄中氨基酸含有量进行分析, 硫酸-苯酚法测定地黄总多糖含有量, HPLC法测定毛蕊花糖苷、环烯醚萜苷类、单糖、寡糖含有量。结果 随着储存时间增加, 总氨基酸含有量下降, 其中碱性氨基酸赖氨酸和精氨酸幅度较大; 棉籽糖、水苏糖、总多糖含有量逐年降低, 果糖、葡萄糖、蔗糖、甘露三糖含有量呈现先增后减的趋势, 蜜二糖含有量基本平稳; 单糖中半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖随着储存时间的增加含有量逐年增加, 环烯醚萜苷类成分梓醇、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷随着储藏年限的延长, 成分逐渐降低; 毛蕊花糖苷含有量也是下降的。结论 随着地黄储藏年限的增加, 断面越来越黑, 大多数成分含有量在储藏3年后趋于平稳。

关键词: 地黄; 化学成分; 储藏年限; 硫酸-苯酚法; HPLC

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2661-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.024

Analysis of chemical constituents from *Rehmannia glutinosa* with different storage years

SONG Lin-lin, XUE Shu-juan, WANG Li-li, ZHANG Fei, CHEN Sui-qing*

(School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT: **AIM** To analyze the chemical constituents from *Rehmannia glutinosa* Libosch with different storage years. **METHODS** The content of amino acids in *R. glutinosa* was analyzed, and the content of total

收稿日期: 2019-10-05

基金项目: 国家自然科学基金 (81973477)

作者简介: 宋琳琳 (1994—), 女, 硕士生, 从事中药学研究。Tel: 15236333805, E-mail: 15236333805@163.com

* 通信作者: 陈随清 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中药资源与中药质量评价研究。Tel: (0371) 65676686, E-mail: suiqingchen@163.com

polysaccharides was determined by sulfuric acid-phenol method. HPLC was established to determine the content of verbascoside, cycloene terpenoids, monosaccharides and oligosaccharides. **RESULTS** With increasing the storage years, the total amino acid content decreased, among which the basic amino acids lysine and arginine had a larger decline, and the contents of raffinose, stachyose, and total polysaccharides decreased year by year. The content of fructose, glucose, sucrose and manninotriose increased first then decreased, and the content of melibiose was basically stable. With increasing the storage years, the contents of galactose, mannose and arabinose in monosaccharides increased year by year, and the contents of cyclic allene terpenoids catalpol, digoxigenin D, digoxigenin A, and motherwort glycosides, as well as verbascoside decreased dgradually. **CONCLUSION** With the storage years increasing of *R. glutinosa*, the cross section becomes dark increasingly, and the contents of most chemical constituents have stabilized after three storage years.

KEY WORDS: *Rehmannia glutinosa* Libosch; chemical constituents; storage years; sulfuric acid-phenol method; HPLC

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Li-bosch的新鲜或干燥块根,列为上品,秋季采挖,除去芦头、须根及泥沙,鲜用,或将地黄缓缓烘焙至干,前者习称“鲜地黄”,后者习称“生地黄”^[1],始载于《神农本草经》。清代陈嘉谟在《本草蒙荃》^[2]中解释道:“江浙壤地种者,受南方阳气,质虽光润而力微,怀庆山产者,禀北方纯阴,皮有疙瘩而力大”,怀庆为河南焦作一带,至今仍以河南“怀地黄”为道地药材,为“四大怀药”之一,故本研究药材皆收集于河南。

地黄的化学成分大多为苷类,其中又以环烯醚萜苷类为主,从鲜地黄及干地黄中已分离鉴定出20多种,如梓醇、二氢梓醇、乙酰梓醇、益母草苷、桃叶珊瑚苷、单蜜力特苷、蜜力特苷、益母草苷A、B、C、D等;从地黄愈伤组织甲醇提取物中分离鉴定了4种酚性苷类和8种糖,如水苏糖、棉籽糖、葡萄糖、蔗糖、果糖、甘露三糖、毛蕊花糖及半乳糖^[3];李更生等^[4]报道,地黄从鲜品加工成生地黄及熟地黄过程中,颜色从淡黄色变成黑色,梓醇含量约降低至原来的1/7,而地黄苷A、地黄苷D含量变化不显著。

地黄经长时间放置后,断面亦会越来越黑;新鲜烘焙出的地黄断面的颜色通常为棕黄色、棕褐色、外黄内棕等,少见黑色,若呈黑色则大多为烘焦所致,且传统用药习惯认为生品烘焙好存放以3~5年为佳,但其中成分不稳定,如按现有指标则不足以全面评价药材质量。因此,本研究在2015年版《中国药典》检查项目的基础上,增加氨基酸、糖类、环烯醚萜苷类等评价指标,全面了解不同储藏时间下地黄化学成分的变化规律,以期为其贮藏、加工提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪(配置 RI 检测器)、岛津 UV-2600 紫外分光光度计(日本岛津公司); Waters2695 高效液相色谱仪(配置 2998 紫外检测器,美国 Waters 公司); 电热恒温鼓风干燥箱(黄石市恒丰医疗器械有限公司); KQ-500DV 数控超声清洗器(昆山市超声器有限公司); 恒温水浴锅(上海比朗仪器有限公司); 分析天平(十万分之一)、ALC-210.4 电子天平(万分之一)(德国赛多利斯公司)。

1.2 试剂与样品 梓醇(17030904)、毛蕊花糖苷(13042401)、地黄苷 D(16091306)、地黄苷 A(16072802)、果糖(140811)、半乳糖(16070K01)对照品均购于四川省维克奇生物科技有限公司; 益母草苷(L10A6Y2298)、棉籽糖(BBT0177)、水苏糖(K03D6S6823)、阿拉伯糖(Z2907H23894)、甘露糖(A1606L4546)、甘露三糖(15122402)、蜜二糖(K23M7S15176)对照品均购于上海源叶生物科技有限公司。石油醚(天津市富宇精细化工有限公司); 乙酸乙酯(天津市致远化学试剂有限公司); 磷酸、浓硫酸(北京化工厂); 双蒸水(实验室自制)。甲醇、乙腈(美国 Fisher 公司)。样品具体信息见表 1。

2 方法

2.1 氨基酸含量测定 将 25 份样品送于河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究中心,采用氨基酸分析仪,根据国家标准 GB5009.124—2016(具体方法见附录 I)测定了 16 种游离氨基酸的含有量及其总和。

2.2 梓醇、毛蕊花糖苷的含有量测定 按 2015 年版《中国药典》方法测定,色谱图见图 1~2。

表 1 样品信息
Tab. 1 Information of samples

编号	来源	采集年份
1-1	温县吴德镇宋庄	2012
1-2	温县夏庄	
1-3	武陟西陶镇古凡村	
1-4	武陟东唐郭村	
1-5	孟州南开仪村	
2-1	三门峡灵宝	2013
2-2	孟州殷家洼	
2-3	禹州药材市场	
2-4	宛西制药加工	
2-5	温县吴德镇东张相	
3-1	武陟县大封镇寨上村	2015
3-2	孟州化工镇东光村	
3-3	温县温泉镇长庄村	
3-4	温县祥云镇苍头村	
3-5	武陟县小南张村	
4-1	温县滩陆庄	2016
4-2	孟州南开仪村	
4-3	武陟东唐郭村	
4-4	孟州堤北头村	
4-5	孟州西田丈村	
5-1	保和堂一批	2017
5-2	保和堂二批	
5-3	保和堂三批	
5-4	保和堂四批	
5-5	保和堂五批	

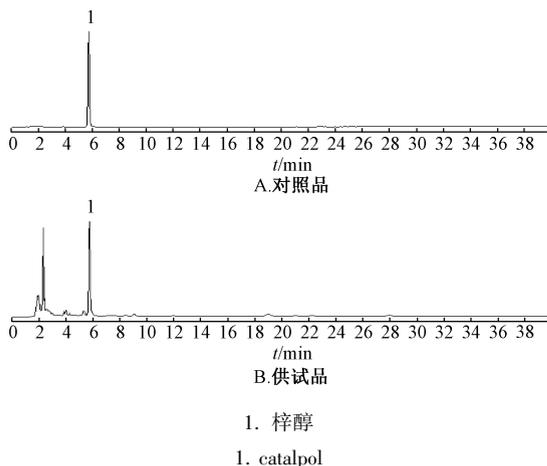


图 1 梓醇 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of catalpol

2. 3 寡糖棉籽糖、蔗糖、水苏糖、果糖含有量测定

2. 3. 1 原理 由于糖类成分在正常的紫外区域和可见光范围内没有吸收，也无荧光，故不经过衍生的糖不适合使用紫外检测器和荧光检测器，应选择示差折光检测器。另外，糖类物质极性较大，因此选择 NH₂ 色谱柱进行分离。

2. 3. 2 色谱条件 Inertsil NH₂ 色谱柱 (4. 6 mm ×

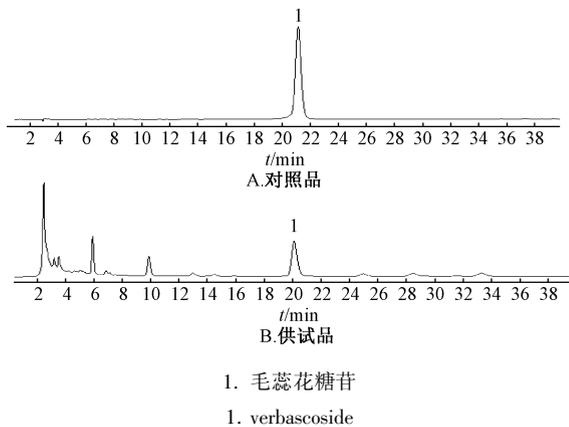


图 2 毛蕊花糖苷 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of verbascoside

250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (70 : 30); 体积流量 1 mL/min, 色谱图见图 3。

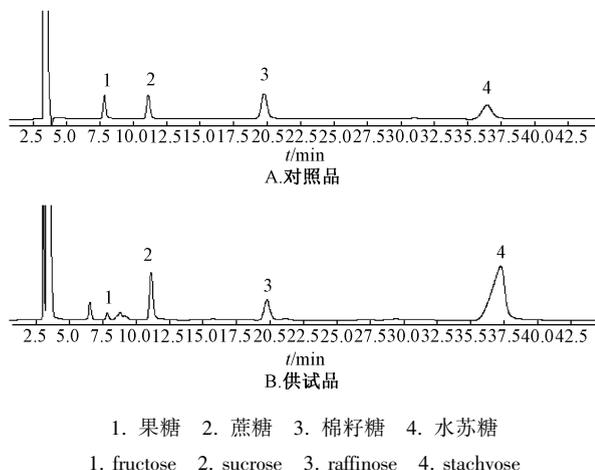


图 3 单糖、寡糖 HPLC 色谱图 (I)

Fig. 3 HPLC chromatograms of monosaccharides and oligosaccharides (I)

2. 3. 3 对照品溶液制备 精密称取对照品棉子糖 5. 06 mg、蔗糖 3. 41 mg、水苏糖 9. 83 mg、果糖 4. 97 mg, 置于 1 mL 量瓶中, 加水溶解至刻度, 即得 (四者质量浓度分别为 5. 06、3. 41、9. 83、4. 97 mg/mL)。

2. 3. 4 供试品溶液制备 精密称定 60 °C 下烘 72 h 后粉碎成粗粉 (过 2 号筛) 的地黄 1. 50 g, 置于锥形瓶中, 50 mL 蒸馏水回流 2 h, 取出放至冷却, 蒸馏水补足减失质量, 滤过, 取续滤液 20 mL, 用等量石油醚和乙酸乙酯分别萃取 2 次, 取下层溶液, 过 0. 22 μm 微孔滤膜备用。

2. 4 葡萄糖、半乳糖、甘露三糖、蜜二糖、阿拉伯糖、甘露糖含有量测定

2. 4. 1 原理 为了尽可能多的检测糖的种类, 对其进行柱前衍生化法处理。糖类物质极性较大, 缺

乏光学吸收基团，而衍生化可以使糖链结构带上紫外或者荧光基团。PMP 衍生试剂和糖链末端的反应在弱碱性介质中进行，具有条件温和、衍生产物稳定、无立体异构体，紫外吸收强的特点，适用于多种糖链分析。

2.4.2 色谱条件 Waters XBridge® shield C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 葡萄糖和半乳糖流动相乙腈 (A) -20 mmol/L 乙酸铵 (B); 甘露三糖、蜜二糖、阿拉伯糖、甘露糖流动相乙腈 (A) -0.1% 甲酸 (B), 梯度洗脱, 程序见表 2; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 245 nm, 色谱图见图 4~5。

表 2 梯度洗脱程序

Tab. 2 Gradient elution programs

时间/min	A 乙腈/%	B 0.1% 甲酸/%
0 ~ 5	17	83
5 ~ 15	17 ~ 20	83 ~ 80
15 ~ 20	20 ~ 23	80 ~ 77
20 ~ 25	23 ~ 24	77 ~ 76
25 ~ 30	24 ~ 17	76 ~ 83
30 ~ 32	17	83

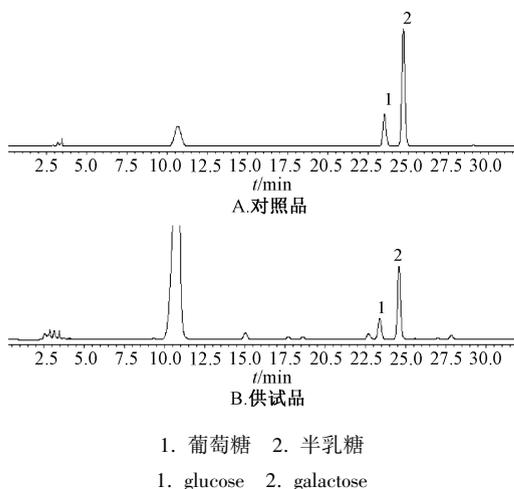
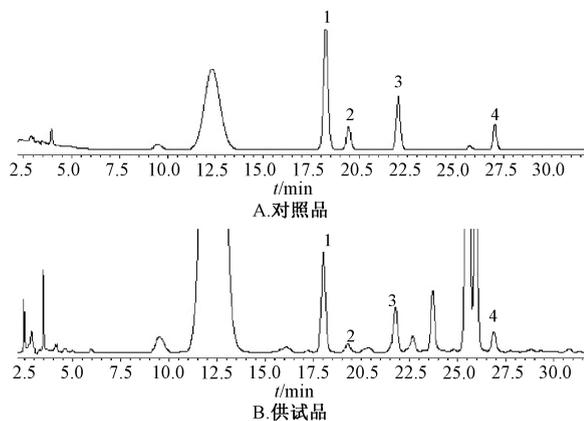


图 4 葡萄糖、半乳糖 HPLC 色谱图 (II)

Fig. 4 HPLC chromatograms of glucose and galactose (II)

2.4.3 对照品溶液制备 精密称取对照品葡萄糖 4.86 mg、半乳糖 4.98 mg、甘露三糖 4.79 mg、甘露糖 4.79 mg、蜜二糖 5.41 mg、阿拉伯糖 8.29 mg, 置于 1 mL 量瓶中, 加水溶解至刻度, 即得 (五者质量浓度分别为 4.86、4.98、4.79、4.79、5.41、8.29 mg/mL)。

2.4.4 供试品溶液 PMP 衍生 取“2.3.4”项下供试品溶液 100 μL, 依次加 100 μL 0.3 mol/L NaOH 溶液、0.5 mol/L 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP) 甲醇溶液至离心管中, 混匀后于 70 °C 下 2664



1. 甘露三糖 2. 甘露糖 3. 蜜二糖 4. 阿拉伯糖
1. manninotriose 2. mannose 3. melibiose 4. arabinose

图 5 单糖、寡糖 HPLC 色谱图 (II)

Fig. 5 HPLC chromatograms of monosaccharides and oligosaccharides (II)

反应 30 min, 冷却后加入等量 0.3 mol/L HCl 溶液反应, 400 μL 氯仿离心萃取 10 min, 取上层溶液进行 HPLC 分析。

2.5 多糖含有量测定

2.5.1 原理 苯酚-硫酸法是利用多糖在硫酸的作用下先水解成单糖, 并迅速脱水生成糖醛衍生物, 然后与苯酚生成橙黄色化合物, 它在 490 nm 波长处有最大吸收, 再以比色法测定含糖量。

2.5.2 对照品溶液制备 取无水葡萄糖对照品 10.47 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 蒸馏水溶解稀释至刻度, 即得 (质量浓度为 0.104 7 mg/mL)。

2.5.3 最大吸收波长测定 吸取“2.5.2”项下无水葡萄糖对照品溶液 2 mL, 依次加入 1 mL 5% 苯酚溶液、5 mL 浓硫酸, 摇匀后放置 5 min, 水浴 15 min 后冰浴至室温, 进行 200~800 nm 全波长扫描。结果显示, 其在 490 nm 波长处有最大吸收, 因此确定检测波长为 490 nm。

2.5.4 生地黄多糖提取 取样品粉末 100 g 于圆底烧瓶中, 500 mL 石油醚回流提取 1 h, 重复操作 1 次, 滤过, 滤渣挥干后加 500 mL 80% 乙醇回流提取 1 h, 重复操作 1 次, 滤过, 滤渣挥干后加 1 000 mL 蒸馏水回流提取 1 h, 重复操作 1 次, 趁热滤过后合并滤液, 减压浓缩至 150 mL, 加入硅藻土过滤, 滤液加乙醇使其含醇量超过 80%, 置冰箱中静置 12 h, 弃上清液, 沉淀用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤离心 3 次, 50 °C 烘干, 即得。

2.5.5 换算因子测定 取 5.1 mg 地黄多糖, 置于 50 mL 量瓶中, 蒸馏水溶解定容, 摇匀后取 2 mL, 测定吸光度, 依据标准曲线算出多糖浓度, 换算因

子 f 计算公式为 $f=W/(C \times D)$,其中 W 为多糖质量(mg), C 为多糖稀释液中葡萄糖质量浓度(mg/mL), D 为多糖稀释因素。

2.5.6 供试品溶液制备与测定 取0.1 g样品粉末,置于100 mL锥形瓶中,加50 mL 95%乙醇振荡3 h,取出过滤,滤渣加50 mL 80%乙醇振荡2 h,滤渣挥干,加50 mL蒸馏水,60 °C浸泡3 h,滤过,取2.3 mL滤液,蒸馏水定容至10 mL量瓶中,即得。取2 mL供试品溶液于试管中,依次加入5%苯酚溶液1 mL、浓硫酸5 mL,摇匀后静置5 min,水浴15 min,取出冰浴至室温,测其吸光度。

2.6 地黄苷A、地黄苷D、益母草苷含有量测定

2.6.1 原理 环烯醚萜苷类化合物易溶于极性较大的溶剂中,一般采用溶剂提取法,利用超声波产生的强烈震动、较高的加速度、强烈的空化效应、搅拌作用,可以加速溶剂渗入药材中,促使环烯醚萜溶解。

2.6.2 色谱条件 Aichrombond-AQ C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水(3:97); 体积流量1 mL/min; 柱温30 °C; 检测波长203 nm; 进样量20 μL, 色谱图见图6。

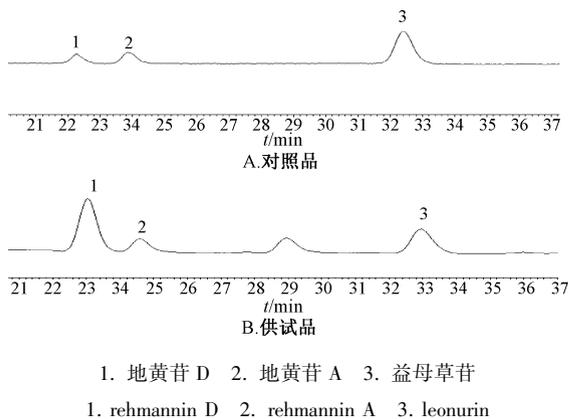


图6 环烯醚萜苷类HPLC色谱图

Fig. 6 HPLC chromatograms of cyclic allene terpenoids

2.6.3 对照品溶液制备 分别称取地黄苷A、益母草苷、地黄苷D对照品0.42、0.10、0.58 mg,加双蒸水溶解摇匀,即得(三者质量浓度分别为0.42、0.10、0.058 mg/mL)。

2.6.4 供试品溶液制备 称取样品粉末2.0 g,置于锥形瓶中,加入60%甲醇100 mL,称定质量,超声提取40 min,取出冷却至室温,60%甲醇补足缺失的质量,滤过,弃去初滤液,量取20 mL续滤液减压浓缩至近干,流动相溶解定容至5 mL量瓶中,0.22 μm微孔滤膜过滤,即得,冷藏备用。

2.7 方法学考察 梓醇、毛蕊花糖苷、地黄苷A、地黄苷D、益母草苷、果糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖、甘露三糖、蜜二糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖、总多糖在各自范围内线性关系良好($r>0.9980$),精密度、稳定性、重复性、加样回收率试验结果均良好。

3 结果与分析

3.1 地黄中氨基酸含有量变化 随着储藏时间延长,总氨基酸含有量及天冬氨酸、丙氨酸、赖氨酸、精氨酸含有量逐年下降,其中赖氨酸、精氨酸属于碱性氨基酸,见表3、图7。

3.2 地黄中化学成分含有量变化 随着储存时间延长,棉籽糖、水苏糖、总多糖含有量逐年降低,蔗糖、甘露三糖含有量先增后减,蔗糖在储存1年后含有量最高,甘露三糖在储存2年后含有量较高,蜜二糖含有量基本平稳;单糖中半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖含有量也有所增加,果糖、葡萄糖含有量先增后减;环烯醚萜苷类成分(梓醇、地黄苷D、地黄苷A、益母草苷)含有量下降;毛蕊花糖苷含有量有小幅下降,但相对稳定。见表4、图8~10。

4 讨论

传统经验认为,地黄以块大、体质量、断面乌黑者为佳,地黄刚烘焙好时通常呈现棕黄、棕褐色等,随着储藏年限增加断面颜色会逐渐变黑,是逐渐发生美拉德反应的过程。地黄中含有丰富的美拉德反应底物,影响因素不仅包括糖类和氨基酸,还有温度、时间、pH、水分活度等^[5],储存时间的延长会促进美拉德反应,所以储藏时间长的生品断面颜色逐渐加深,直至变成乌黑色,美拉德反应的程度也逐渐加深。作为参加美拉德反应的反应物,碱性氨基酸含有量降低,与吴正善^[6]、倪慕云^[7]、龚跃新等^[8]研究结果一致,同时棉籽糖、水苏糖、总多糖持续水解^[9];水苏糖水解为甘露三糖或棉籽糖^[10],棉籽糖水解为蜜二糖或蔗糖、半乳糖^[11],总多糖水解为阿拉伯糖和甘露糖,所以水苏糖含有量下降,阿拉伯糖、甘露糖含有量升高;甘露三糖、蜜二糖、蔗糖、乳糖等寡糖水解为葡萄糖、半乳糖、果糖等单糖^[12],所以还原糖含有量的变化趋势较为特殊,一方面从反应体系颜色的变化和氨基酸组分含有量的降低,可以判断美拉德反应的进行,部分还原糖参加反应被消耗;另一方面体系中又生成了大量的还原糖,2个反应平衡的最终结果是体系中的还原糖含有量有升有降。甘露

表3 不同储藏年限样品中氨基酸含有量测定结果 (g/kg, $\bar{x}\pm s$, n=5)

Tab. 3 Results of amino acid content determination in samples with different storage years (g/kg, $\bar{x}\pm s$, n=5)

氨基酸	2017年	2016年	2015年	2013年	2012年
天冬氨酸	1.63±0.10	1.84±0.08	2.12±0.31	2.27±0.43	2.58±0.18
苏氨酸	0.62±0.04	0.68±0.02	0.80±0.13	0.81±0.18	0.66±0.06
丝氨酸	0.77±0.04	0.77±0.02	0.93±0.13	0.97±0.22	0.73±0.07
谷氨酸	9.62±0.91	9.48±2.37	11.90±0.63	15.15±3.01	18.71±2.66
甘氨酸	0.89±0.05	0.97±0.02	1.09±0.14	1.04±0.19	0.90±0.08
丙氨酸	1.06±0.06	1.22±0.09	1.37±0.15	1.44±0.30	1.74±0.10
缬氨酸	1.86±0.07	1.96±0.05	2.09±0.12	2.07±0.19	1.85±0.08
蛋氨酸	0.65±0.02	0.66±0.03	0.69±0.04	0.66±0.05	0.53±0.02
异亮氨酸	0.87±0.04	0.94±0.05	1.07±0.12	1.03±0.14	0.85±0.07
亮氨酸	1.29±0.07	1.42±0.05	1.60±0.20	1.54±0.28	1.29±0.11
酪氨酸	0.25±0.06	0.26±0.06	0.28±0.07	0.31±0.07	0.30±0.02
苯丙氨酸	1.01±0.04	1.06±0.02	1.17±0.11	1.19±0.16	1.11±0.07
赖氨酸	0.65±0.03	0.81±0.09	0.85±0.24	0.94±0.18	1.08±0.08
精氨酸	0.22±0.18	2.67±1.00	2.85±1.09	4.00±0.72	4.87±0.27
组氨酸	0.57±0.02	0.61±0.06	0.66±0.10	0.67±0.09	0.62±0.05
脯氨酸	0.63±0.06	0.66±0.05	0.69±0.16	0.63±0.10	0.54±0.04
总和	24.59±1.44	26.02±3.64	30.15±2.62	34.71±4.77	28.38±3.04

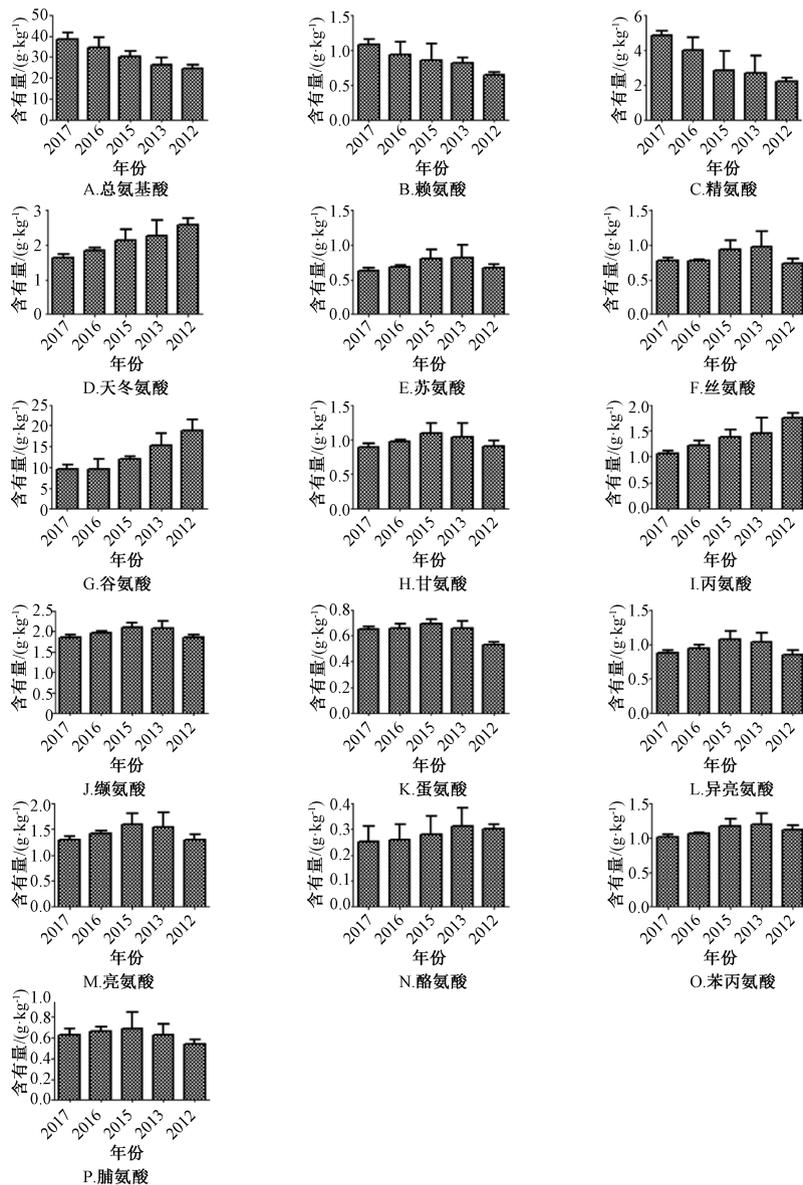


图7 不同储藏年限样品中氨基酸含有量变化

Fig. 7 Variations of amino acid contents in samples with different storage years

表4 不同储藏年限样品中各成分含有量测定结果(%, $\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab. 4 Results of content determination of various constituents in samples with different storage years(%, $\bar{x} \pm s$, $n=5$)

成分	2017年	2016年	2015年	2013年	2012年
梓醇	2.194±0.704	1.740±0.662	0.832±0.545	0.450±0.404	0.024±0.011
毛蕊花糖苷	0.082±0.040	0.066±0.034	0.054±0.021	0.056±0.025	0.054±0.015
地黄苷A	0.060±0.027	0.026±0.011	0.077±0.034	0.046±0.020	0.012±0.005
地黄苷D	0.506±0.049	0.392±0.083	0.318±0.059	0.316±0.036	0.324±0.037
益母草苷	0.202±0.025	0.120±0.033	0.046±0.033	0.046±0.020	0.026±0.008
果糖	0.418±0.044	10.572±5.876	5.046±5.863	4.942±6.256	3.714±4.177
葡萄糖	2.442±0.367	4.446±1.040	7.302±3.646	6.502±1.634	5.768±0.480
半乳糖	1.778±0.543	1.886±0.355	1.980±1.254	2.116±0.556	2.806±0.294
甘露糖	0.054±0.008	0.108±0.050	0.134±0.066	0.134±0.019	0.162±0.021
阿拉伯糖	0.028±0.008	0.032±0.004	0.036±0.008	0.046±0.015	0.048±0.040
甘露三糖	0.718±0.132	1.596±0.385	3.174±1.793	2.080±1.091	1.956±0.361
蜜二糖	0.420±0.391	0.404±0.090	0.424±0.194	0.398±0.093	0.456±0.212
棉籽糖	6.884±0.379	6.164±0.844	5.856±0.644	5.846±0.466	5.614±0.132
蔗糖	9.020±1.110	18.708±8.794	15.248±9.919	12.228±7.047	12.038±5.839
水苏糖	36.460±1.698	31.050±2.600	29.640±4.930	29.250±1.454	28.660±2.233
地黄多糖	8.928±0.673	8.584±0.728	8.016±0.982	6.806±0.896	6.400±0.686

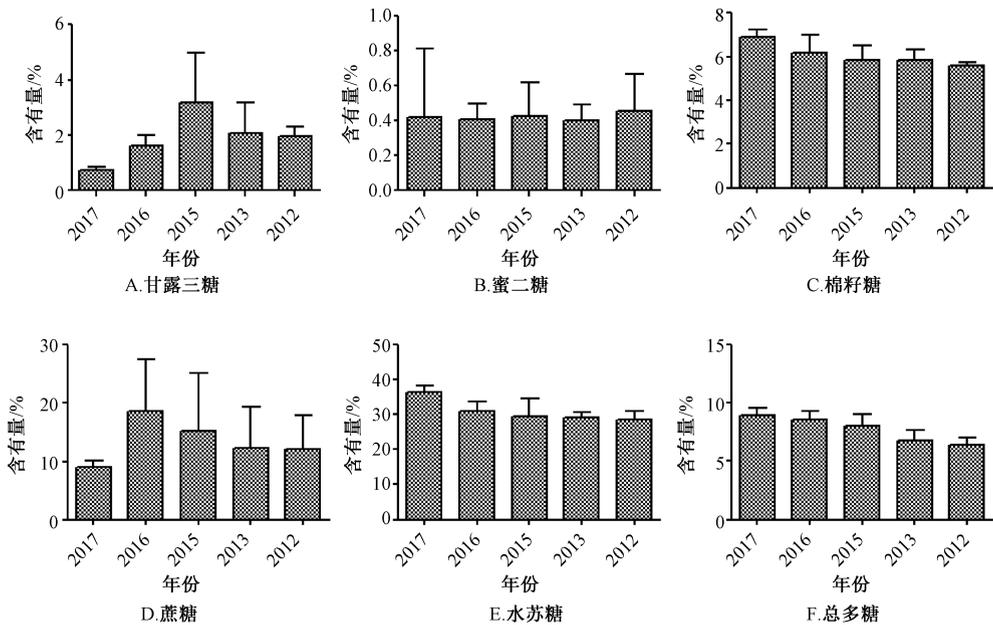


图8 不同储藏年限样品中寡糖及总多糖含有量变化

Fig. 8 Variations of oligosaccharide and total polysaccharides contents in samples with different storage years

三糖的含有量先增加后减少,上升阶段可能是由于水苏糖的水解产生了甘露三糖,下降阶段可能是由于其生成的速率要低于其自身的水解速率;蔗糖含有量上升阶段可能也是由于其大部分来源于棉子糖的水解,下降阶段是因为自身水解成了单糖,水解速率要高于生成速率;蜜二糖的含有量基本稳定,上升幅度较小,可能是其生成速率与水解速率基本

一致。在美拉德反应的初级阶段,体系中游离氨基与游离羰基发生缩合生成不稳定的亚胺衍生物-薛夫碱,随即环化为N-葡萄糖基胺,后者在酸的催化下经过Amadori分子重排,生成果糖基胺(1-氨基-1-脱氧-2-酮糖)^[13-14],此时葡萄糖与果糖都参与了美拉德反应,所以含有量下降。据报道,美拉德反应可导致体系中积累一定量的甲酸和乙酸,使体

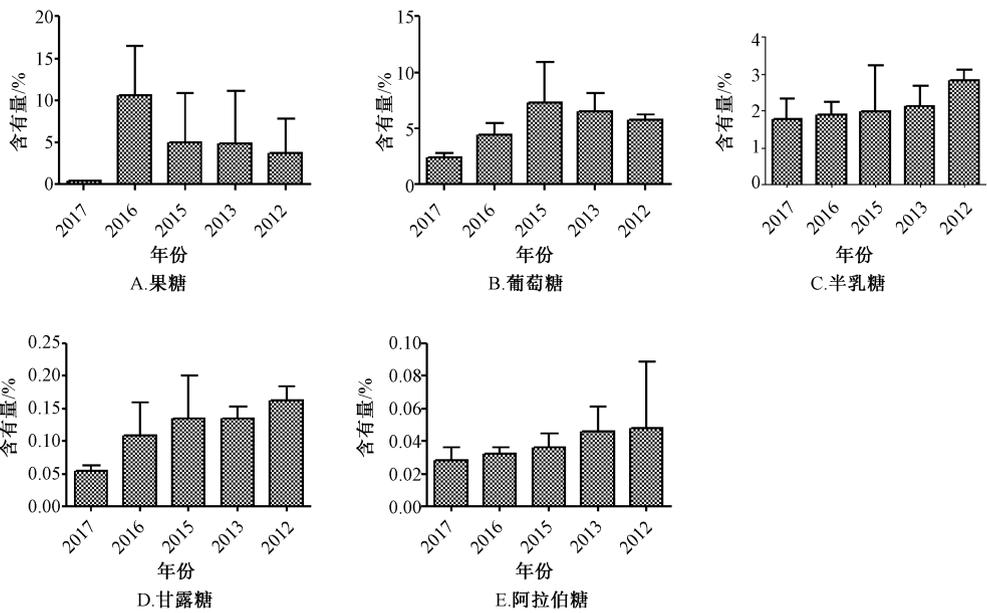


图9 不同储藏年限样品中单糖含有量变化

Fig. 9 Variations of monosaccharide contents in samples with different storage years

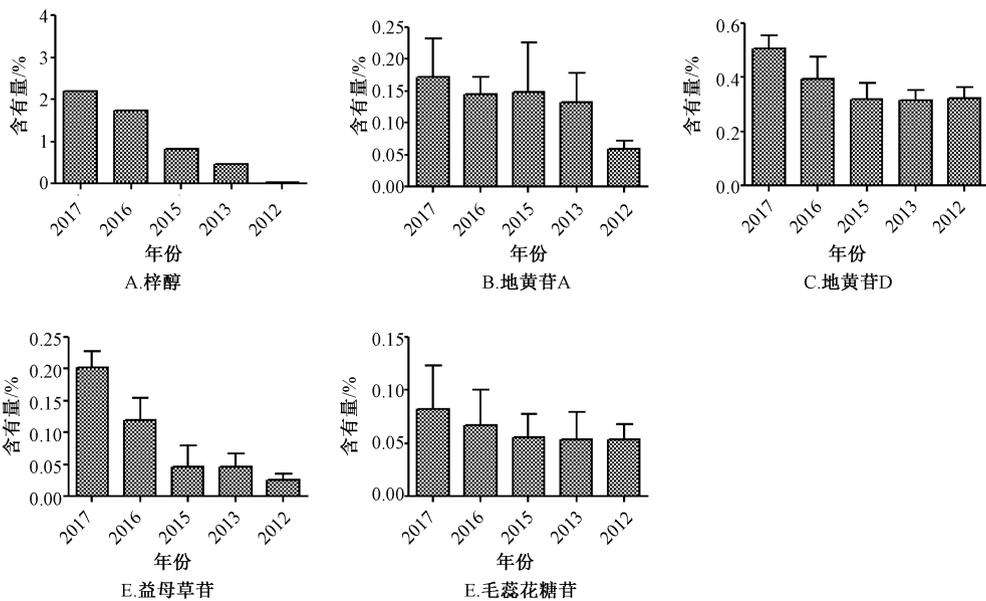


图10 不同储藏年限样品中环烯醚萜苷类及毛蕊花糖苷含有量变化

Fig. 10 Variations of cyclic allene terpenoid and verbascoside contents in samples with different storage years

系酸化^[15]呈弱酸性，果糖基胺进行1, 2-烯醇化反应，再经过脱水、脱氨最后生成羟甲基糠醛，单糖中果糖、葡萄糖的含有量先增后减，其中果糖的变化趋势大于葡萄糖，可见其反应性大于后者^[16]。

环烯醚萜苷是地黄中的主要化学成分，其极性相对较大，易溶于水，但热稳定较差^[17]。王宏洁等^[18]发现，梓醇在酸碱条件下极不稳定；有文献表明，结合糖越多的环烯醚萜苷类成分越稳定，梓醇为单糖苷，容易发生反应^[19]，所以在体系酸化后其含有量下降幅度很大，而地黄苷A、D，益母

草苷属于双糖苷，下降幅度略小。另外，毛蕊花糖苷含有量下降可能是由于反应时体系酸化，发生可逆的酯化反应^[20]，如毛蕊花糖苷可转化为异毛蕊花糖苷^[21-22]。

综上所述，储藏时间越久，地黄断面颜色不断加深；寡糖含有量虽然会呈现先增后减的趋势，但总体还是下降的；总多糖、环烯醚萜苷类含有量逐渐降低；大多数化学成分经过3年储藏后，其含有量都趋于平稳。薛淑娟等^[23]研究不同商品规格中地黄化学成分的变化规律，发现随着断面颜色逐渐

加深, 环烯醚萜类、寡糖类成分含有量逐渐降低, 而单糖类含有量逐渐升高, 与本研究结果基本一致。因此, 可将断面颜色作为依据来对不同品质的地黄进行区分, 可为工业生产及医院用药提供参考依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[2] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988.

[3] 李更生, 于震, 王慧森, 等. 地黄化学成分与药理研究进展[J]. 国外医学(中医中药分册), 2004, 26(2): 74-78; 104.

[4] 李更生, 刘明, 王慧森, 等. 地黄药材炮制过程中环烯醚萜苷类成分动态变化的研究[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(6): 440-442.

[5] 阚建全. 食品化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.

[6] 吴正善. 美拉德反应对地黄成分及生理活性的影响[D]. 福州: 福州大学, 2010.

[7] 倪慕云, 边宝林, 姜莉. 地黄及其炮制品中游离氨基酸的分析比较[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(3): 21-22.

[8] 龚跃新. 十味补益药中游离的氨基酸分析[J]. 中草药, 1987, 18(11): 37.

[9] 王佳, 魏晓峰, 任晓航, 等. 中药寡糖生物活性及炮制过程中化学反应研究概况[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(1): 128-131.

[10] Montilla A, Olano A, Martínez-Villaluenga C, et al. Study of influential factors on oligosaccharide formation by fructosyltransferase activity during stachyose hydrolysis by Pectinex Ultra SP-L[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(19): 10705-10711.

[11] Zhang W, Du F, Wang L, et al. Hydrolysis of oligosaccharides by a thermostable α -galactosidase from *Termitomyces eurhizus* [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12): 29226-29235.

[12] Gajendragadkar C N, Gogate P R. Ultrasound assisted acid catalyzed lactose hydrolysis: understanding into effect of operating parameters and scale up studies [J]. *Ultrason Sonochem*, 2017, 37: 9-15.

[13] Jalbout A F, Shipar M A H. Formation of pyrazines in hydroxyacetaldehyde and glycine nonenzymatic browning maillard reaction: A computational study [J]. *Food Chem*, 2007, 103(4): 1208-1216.

[14] 付莉, 李铁刚. 简述美拉德反应[J]. 食品科技, 2006, 31(12): 9-11.

[15] 张春丽, 徐江, 李纲, 等. 不同干燥方法对地黄与玄参中环烯醚萜苷类成分含量的影响[J]. 解放军药学报, 2010, 26(5): 424-426.

[16] 郭艳霞. 美拉德反应与地黄炮制机理的关系研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.

[17] 卫冰, 杨云. 地黄环烯醚萜苷类化学成分的研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(24): 130-133.

[18] 王宏洁, 边宝林, 杨健, 等. 地黄中梓醇变化条件的探讨[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(7): 408-409.

[19] 倪慕云, 边宝林. 地黄化学成分的研究概况[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(7): 41-43.

[20] 倪沛洲. 有机化学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 377.

[21] 姜秋, 蒋海强, 李慧芬, 等. 女贞子酒蒸过程中5种苯乙醇类成分的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 60-63.

[22] Ma Z, Yang Z, Lu D, et al. Determination of bioactive components of *Cistanche deserticola* (Roucongong) by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detectors [J]. *Anal Lett*, 2014, 47(17): 2783-2794.

[23] 薛淑娟, 王利丽, 陈随清, 等. 地黄商品规格及其质量特性研究[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2017, 19(3): 497-507.