

九蒸九制工艺过程中黄精理化品质特征及多糖组分的演变

张帆¹, 钟伟华¹, 吕春秋², 梁钦梅¹, 王捷¹, 林莹^{1*}

(1. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530000) (2. 南宁海关技术中心, 广西南宁 530021)

摘要: 采用感官分析结合色度仪、气相色谱-质谱联用仪、电子舌、扫描电镜对蒸制过程中黄精“色、香、味、形”进行描述。利用尺寸排阻凝胶色谱、离子色谱、傅里叶红外光谱分析多糖的分子质量分布、单糖组成、多糖结构。结果发现: 蒸制过程中, 黄精由黄白变为黑褐色, 苦味值、甜味降低, 于五次蒸制出现苦味; 内部于第二次蒸制出现孔隙, 组织结构由致密变得疏松多孔。黄精生品中的多糖分子量集中在 12.8 ku 左右; 九蒸九制工艺使黄精多糖的分子量分布范围增大, 出现分子量大于 670 ku 和分子量 2 000 u 左右的组分。经第一次蒸制, 黄精多糖的单糖组成出现 D-核糖、半乳糖醛酸两种单糖, 葡萄糖醛酸、岩藻糖分别于第三、四次蒸制后消失。红外光谱显示, 0~9 次蒸制黄精的多糖均在 3 410 cm⁻¹、2 930 cm⁻¹ 处均有较强的糖类特征吸收峰, 1 200~1 000 cm⁻¹、880 cm⁻¹ 处吸收峰提示多糖中吡喃糖及 β-糖苷键的存在。通过研究九蒸九制过程中黄精理化品质形成及多糖变化规律, 为黄精九蒸九制工艺标准化、质量标准制定提供参考。

关键词: 黄精; 九蒸九制; 理化品质; 黄精多糖

文章编号: 1673-9078(2022)09-171-180

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.9.1184

Physicochemical Characteristics of *Polygonatum sibiricum* Root and Evolution of Its Polysaccharide Components during the Nine-steam-nine-bask Process

ZHANG Fan¹, ZHONG Weihua¹, LYU Chunqiu², LIANG Qinmei¹, WANG Jie¹, LIN Ying^{1*}

(1.College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530000, China)

(2.Nanning Customs Technology Center, Nanning 530021, China)

Abstract: Sensory evaluation combined with colorimeter, gas chromatography-mass spectrometry, electronic tongue and scanning electron microscope were used to describe the "color, aroma, taste and shape" of *Polygonatum sibiricum* root. The molecular weight distribution, monosaccharide composition and structure of the polysaccharides were analyzed by size exclusion gel chromatography, ion chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy. The results showed that during the steaming process, the *Polygonatum sibiricum* root changed from yellowish white to dark brown. The bitterness score and sweetness score decreased, and the bitterness appeared after being steamed five times. Internal pores appeared during the second steaming, with the tissue structure changing from dense to loose and porous. The molecular weight of polysaccharide in the raw *Polygonatum sibiricum* root was about 12.8 ku. The molecular weight distribution of the *Polygonatum sibiricum* root polysaccharides increased after the nine-steam-nine-dry-bask process, leading to the presence of fractions containing components with molecular weights greater than 670 ku and around 2 000 u. D-ribose and galacturonic acid were found in the monosaccharides from the *Polygonatum* root

引文格式:

张帆,钟伟华,吕春秋,等.九蒸九制工艺过程中黄精理化品质特征及多糖组分的演变[J].现代食品科技,2022,38(9):171-180

ZHANG Fan, ZHONG Weihua, LYU Chunqiu, et al. Physicochemical characteristics of *Polygonatum sibiricum* Root and evolution of its polysaccharide components during the nine-steam-nine-bask process [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 171-180

收稿日期: 2021-10-24

基金项目: 高值中草药系列产品研发 (BB30500075)

作者简介: 张帆 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 2237141778@qq.com

通讯作者: 林莹 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: ly9a9@126.com

steamed once, whilst the glucuronic acid and fucose disappeared after the third and fourth steaming, respectively. The IR spectra showed relatively strong characteristic absorption at $3\ 410\ \text{cm}^{-1}$ and $2\ 930\ \text{cm}^{-1}$ for the polysaccharides from the *Polygonatum* root steamed for 0–9 times, and the absorption peaks at $1\ 200\text{--}1\ 000\ \text{cm}^{-1}$ and $880\ \text{cm}^{-1}$ indicated the occurrence of pyranose and β -glycosidic bonds in the polysaccharides. Investigations on the development of the physicochemical quality of *Polygonatum* root and the changing trend of its polysaccharide during the nine-steam-nine-bask process allow us to provide a reference for the standardization of nine-steam-nine-bask process and the establishment of quality standards.

Key words: *Polygonatum sibiricum* roots; nine-steam-nine-bask; physicochemical quality; *Polygonatum sibiricum* polysaccharide

黄精, 百合科多年生草本植物, 又名气精、黄芝、笔管菜、野仙姜^[1], 是一种传统的药食同源植物, 其味甘、性平, 养阴润肺、补气益精。黄精药材一般是指滇黄精 (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.)、黄精 (*Polygonatum sibiricum* Delarb. ex Redoute) 或多花黄精 (*Polygonatum cyrtoneuma* Hua) 的干燥根茎。经现代分析技术分析, 发现黄精中含有多糖、黄酮、皂苷、木脂素、氨基酸等多种化学成分^[2], 其中, 以多糖类物质含量最为丰富。有研究表明, 黄精多糖具有提高机体免疫力^[3]、抗肿瘤^[4]、预防抑郁^[5]的功效。

黄精生食具有麻舌感, 需要经过炮制以降低其刺激性之后食用。从古至今, 记载的黄精炮制方法有九蒸九制、酒制、蜜制、发酵等多种。“发酵”是利用现代微生物技术以除去黄精不良滋味、赋予其独特口感和质地的方法, 有研究发现, 在发酵底物中添加适量黄精可促进红曲菌产生更多洛伐他汀^[6]。“九蒸九制”是历史最为悠久、延续至今的传统炮制方法。北宋《本草图经》记载:“(黄精)根如嫩生姜, 黄色。二月采根, 蒸过曝干用。山中人九蒸九曝, 作果卖, 甚甘美, 而黄黑色”^[1]。可见, 早在北宋时期就有“九蒸九曝黄精以食之”的先河。蒸制过程不仅消减了黄精的刺激性及不良口感, 也对黄精的“色、香、味、形”、内在化学成分产生了显著影响。目前, 大量研究主要集中在黄精化学成分的提取和功能活性方面, 鲜少对传统九蒸九制过程中黄精理化品质形成、多糖的变化及规律进行系统研究。本研究旨在探究九蒸九制对黄精理化品质形成及多糖变化规律的影响, 为黄精九蒸九制工艺标准化、质量指标制定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

滇黄精 (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.), 由广西昭平县滇黄精种植基地提供; 葡聚糖标准品、岩藻糖 (Fuc)、甘露糖 (Man)、鼠李糖 (Rha)、D-核糖 (Rib)、果糖 (Fru)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal)、阿拉伯糖 (Ara)、木糖 (Xyl)、葡萄糖醛酸 (Glc-UA)、

半乳糖醛酸 (Gal-UA), 色谱纯, 北京索莱宝科技有限公司; 其余试剂为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

CM-3600d 分光测色计, 日本柯尼卡美能达公司; SA402B Controller 智能味觉分析系统-电子舌, 日本 Intelligent Sensor 公司; 7890B/5977A 气质联用仪, 安捷伦科技(上海)有限公司; F16502 扫描电镜, 荷兰 PHENOM 公司; AIIANCE 凝胶渗透色谱仪, 美国 WATERS 公司; E 2695 高效液相色谱仪, 美国 WATERS 新加坡公司; ICS-5000 离子色谱仪, 美国戴安公司; Infinite M200PRO 光栅型多功能微孔板检测仪, 奥地利 TECAN 公司; Frontier 傅里叶红外光谱仪, 美国 PE 公司; RE-5205 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 九蒸九制黄精的制备及感官性状观察

选取完整、无霉变的黄精生品, 剔除须根、洗净, 置于蒸锅中常压隔水蒸制 6 h, 取出, 50 °C 鼓风干燥即得一蒸一制黄精, 再置于蒸锅中蒸制, 取出干燥。如此反复九次即得 1~9 次蒸制黄精^[7], 分别记为 S1~S9, 黄精生品记为 S0, 记录并描述其感官性状。

1.3.2 黄精色度值的测定

利用色度仪对黄精的色泽进行测定。光源 D 65, 标准观察角度 2 °, 照明口径 50 mm, 仪器误差 ΔE^*ab 0.6 以内, 重复性标准偏差 ΔE^*ab 0.07 以内, 以色空间 $L^*a^*b^*$ 进行色泽量化^[8]。

1.3.3 黄精滋味的测定

分别采用感官评定、电子舌滋味分析系统^[9]对黄精滋味变化进行测定。电子舌测定条件: 测定时间: 30 s; 清洗时间: 3 s; 测试回味时间: 30 s, 重复 4 次, 结果取均值。

1.3.4 黄精挥发性成分的测定

采用顶空-气相色谱-质谱联用^[10]测定蒸制过程中黄精挥发性成分的变化。称取 S0~S9 粉末各 3.0 g, 置于 15 mL 顶空瓶中, 密封, 固定在 70 °C 恒温水浴锅

中,平衡 20 min。平衡结束后,将装有萃取头的进样柄插入顶空瓶,推出纤维头,萃取 30 min。萃取结束后,收回纤维头,插入 GC-MS 仪器进样口,推出纤维头,解析 5 min,解析结束后收回纤维头、拔出进样柄,经过老化后进行下一样品的萃取与检测。

色谱条件: HP-5MS 弹性石英毛细管柱 (30 mm×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度: 250 °C; 载气: 氦气; 流速: 1.0 mL/min; 分流比: 10:1; 程序升温: 起始温度 50 °C, 保持 2 min, 以 5 °C/min 的速度升温至 250 °C, 保持 15 min; 进样量: 1 μL。

质谱条件: 电离电压: 70 eV; 离子源: EI; 离子阱温度: 230 °C; 传输线温度: 280 °C; 荷质比扫描范围: 50~550 u 之间。

1.3.5 黄精组织结构的观察

取厚度约为 0.5 cm 的干燥黄精切片, 折断, 采用扫描电镜观察横截面组织结构。

1.3.6 黄精多糖的制备与纯化

1.3.6.1 黄精多糖的制备

参考李玲^[11]黄精多糖的制备过程, 采用水提醇沉法获取黄精粗多糖。

1.3.6.2 黄精多糖的纯化

采用 Sevage^[12]法脱蛋白, 至多糖溶液在 200~400 nm 扫描范围内无明显蛋白质吸收峰。采用活性炭吸附法^[13,14]脱去部分色素。经过脱蛋白、脱色即得精制黄精多糖, 将其分别命名为 PSP-0~PSP-9。

1.3.7 黄精多糖的纯度、糖醛酸、蛋白质含量测定

分别采用苯酚-硫酸法^[15]、间羟基联苯法^[16]、考马斯亮蓝法^[17]测定 0~9 次蒸制黄精的多糖纯度、糖醛酸、蛋白质含量。

1.3.8 黄精多糖分子质量测定

以不同相对分子质量的葡聚糖 (5、12、25、80、150、270、410、670 ku) 为标准品, 采用尺寸排阻凝胶色谱^[18]测定黄精多糖分子量及其分布。

色谱条件: 色谱柱: SB-804 HQ 色谱柱 (8.0×300 mm, 10 μm); 流动相: 超纯水; 进样量: 10 μL; 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测时间: 40 min; 检测器: 示差检测器。

1.3.9 黄精多糖单糖组成分析

采用离子色谱法^[19]测定蒸制过程对黄精多糖单糖组成的影响。称取各多糖 PSP-0~PSP-9, 加水配制成 5 mg/mL 的溶液, 移取 0.5 mL 于水解管中, 加入等体积 4 mol/L 三氟乙酸, 摇匀, 于 110 °C 烘箱酸水

解 2 h。吹氮气至挥发酸完全, 加入纯水溶解残渣并定容至 10 mL, 过 0.22 μm 滤膜即得供试品溶液。称取 Fuc、Man、Rha、Rib、Fru、Glc、Gal、Ara、Xyl、Glc-UA、Gal-UA 11 种单糖标准品配制成梯度浓度标准工作液。

色谱条件: 色谱柱: DionexCarbopacTMPA20 (3×150); 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 10 μL; 柱温: 30 °C; 检测器: 电化学检测器。流动相 A: 超纯水; 流动相 B: 15 mmol/L NaOH 溶液; 流动相 C: 15 mmol/L NaOH、100 mmol/L NaAC 溶液; 流动相 D: 200 mmol/L NaOH 溶液。洗脱程序: 0~20 min: 60% A, 40% B; 20.1~30 min: 90% A, 10% D; 30.1~46 min: 100% C。

1.3.10 黄精多糖红外光谱分析

准确称取 PSP-0~PSP-9 各 1 mg, 分别与 100 mg 干燥至恒重的 KBr 混匀, 研磨, 压片, 以空白 KBr 做扫描背景, 在 4 000~400 cm⁻¹ 波段内进行扫描^[20]。

1.4 数据处理

实验操作均重复三次, 结果以平均值±标准偏差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。采用 Excel 2010、SPSS 23.0 进行数据处理与显著性分析, 采用 Origin 2021 绘图。

2 结果与讨论

2.1 九蒸九制黄精制备结果



图 1 0~9 次蒸制的黄精

Fig.1 *Polygonatum* steamed for 0~9 times

0~9 次蒸制黄精切片及感官性状表征如图 1、表 1 所示, 黄精生品切片黄中透白, 于一蒸一制时变为棕褐色, 两蒸两制时色泽乌黑, 经六次蒸制后外观出现褐色, 至八蒸八制后为黑褐色。黄精外观色泽在九蒸九制过程中经历了“黄-棕褐-乌黑-黑褐”的变化过程, 具有明显的焦香气味。

表1 0~9次蒸制黄精感官性状表征

Table 1 Sensory characteristics of *Polygonatum* steamed for 0~9 times

样品编号	色泽	气味	滋味	组织结构
S0	黄中透白	无特殊气味	味苦, 涩	结构致密
S1	棕褐色	焦香气味	焦香, 味甜	结构致密
S2	乌黑	焦香气味	焦香, 味甜	中部有微小孔隙
S3	乌黑	焦香气味	焦香, 微甜	中部有微小孔隙
S4	乌黑	焦香气味	焦香, 微甜	中部有微小孔隙
S5	乌黑	焦香气味	焦香, 微苦	孔隙较大, 疏松多孔
S6	黑中透褐色	焦香气味	焦香, 微苦	孔隙较大, 疏松多孔
S7	黑中透褐色	焦香气味	味苦, 微酸, 涩	孔隙较大, 疏松多孔
S8	黑褐色	焦香气味	味苦, 酸, 涩	孔隙较大, 疏松多孔
S9	黑褐色	焦香气味	味苦, 酸, 涩	孔隙较大, 疏松多孔

注: S0~S9: 0~9次蒸制黄精。

2.2 九蒸九制工艺过程中黄精色度值

表2 0~9次蒸制黄精的色度值

Table 2 The chroma value of *Polygonatum* steamed for 0~9 times

样品编号	L^*	a^*	b^*	E^*ab
S0	40.54 ^a	-0.84 ^b	6.74 ^a	41.11 ^a
S1	29.71 ^b	3.93 ^a	5.44 ^a	30.46 ^b
S2	25.73 ^c	0.21 ^b	0.21 ^b	25.73 ^c
S3	25.20 ^c	0.17 ^b	0.09 ^b	25.20 ^c
S4	25.23 ^c	0.03 ^b	-0.10 ^b	25.23 ^c
S5	25.41 ^c	0.07 ^b	-0.08 ^b	25.41 ^c
S6	25.66 ^c	0.15 ^b	-0.01 ^b	25.66 ^c
S7	25.26 ^c	0.16 ^b	-0.03 ^b	25.26 ^c
S8	24.77 ^c	0.40 ^b	0.36 ^b	24.77 ^c
S9	25.08 ^c	0.28 ^b	0.17 ^b	25.08 ^c

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($p < 0.05$); S0~S9: 0~9次蒸制的黄精。

L^* 代表样品的明暗程度, a^* 代表红绿色值, b^* 代表黄蓝色值。 L^* 为正值, 说明样品比标准板亮; a^* 为正值说明样品较标准板偏红, 反之则偏绿; b^* 为正值说明样品较标准板偏黄, 反之则偏蓝。从表2测定结果可以看出, 与标准板相比, 样品 S0 明度最大, 随着蒸制次数增加, L^* 减小, 说明黄精颜色在蒸制过程中加深, 感官观察也得到黄精颜色由黄白色变为黑褐色的结果。黄精生品 S0 的 L^* 为 40.54, 一蒸一制后 L^* 为 29.71, 从两蒸两制开始, 各炮制品颜色明暗程度没有显著差异 ($p > 0.05$)。对比表1、表2可以发现, S8、S9 的 a^* 、 b^* 值较 S2~S7 大, 说明两者较标准板更加偏红、偏黄, 这就使得整体呈现出黑褐色, 整体色度变化与 L^* 、 a^* 、 b^* 值变化相符合, 色度测定结果

与实际色泽的感官评价结果相符。

黄精颜色加深可能与其内部“类黑精”含量增加有关。类黑精存在于 Maillard 反应后期, 是一类棕色大分子物质。黄精含有丰富的碳水化合物和含氮化合物, 高温高湿的蒸制环境促进 Maillard 反应产生, 从而导致“类黑精”这类棕色物质积累、表现颜色加深。

2.3 九蒸九制工艺过程中黄精挥发性成分

从不同蒸制次数的黄精中鉴定出烃类、杂环类、醇类、醛类、酸类、酚类等挥发性成分, 经过与谱库匹配、 C_7 ~ C_{40} 正构烷烃标准品保留指数比对 (匹配度 $> 80\%$, 保留指数 $RI=979$), 并采用峰面积归一法计算 5-HMF 在各样品总挥发性成分中的相对百分含量, 结果发现, 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 是黄精蒸制过程中相对含量变化最大的化合物。黄精生品中 5-HMF 仅占总挥发性成分的 1%左右, 经过八蒸八制, 其在总挥发性成分中的相对含量达 70%以上。因此, 将 5-HMF 作为重要挥发性化学成分进行分析。

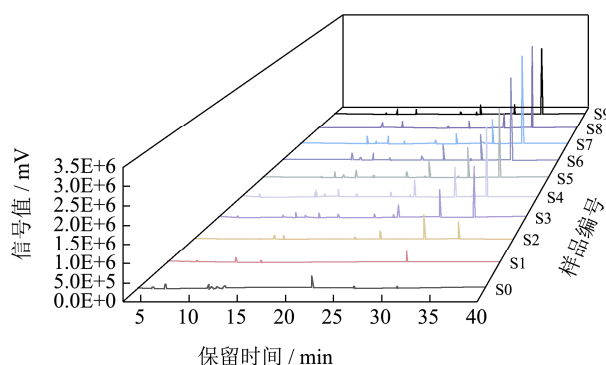


图2 0~9次蒸制黄精的挥发性成分 GC-MS 离子流图

Fig.2 GC-MS ion flow diagram of volatile components of *Polygonatum* steamed for 0~9 times

注: S0~S9: 0~9次蒸制的黄精。

表 3 0~9 次蒸制黄精的 5-HMF 相对含量

Table 3 The relative contents of 5-HMF in *Polygonatum* steamed for 0~9 times

样品编号	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
5-HMF 相对含量/%	1.13	4.89	22.63	45.39	51.73	54.62	65.72	66.08	73.09	69.70

注: S0~S9: 0~9 次蒸制的黄精。

表 4 0~9 次蒸制黄精的滋味响应值

Table 4 The taste response value of *Polygonatum* steamed for 0~9 times

样品	酸味	苦味	涩味	苦味回味	涩味回味	鲜味	丰富性	咸味	甜味
S0	-24.77 ^j	14.35 ^a	1.05 ⁱ	-0.29 ^b	0.15 ^g	6.74 ^a	1.47 ^a	-17.66 ^b	12.23 ^a
S1	-20.82 ⁱ	12.16 ^c	0.30 ^j	-1.15 ^e	0.09 ^h	6.28 ^b	1.31 ^d	-19.35 ^c	10.27 ^b
S2	-16.07 ^h	13.57 ^b	2.11 ^h	0.53 ^a	0.24 ^f	4.93 ^c	1.34 ^c	-20.41 ^g	8.14 ^c
S3	-10.34 ^g	9.87 ^d	2.79 ^f	-0.88 ^c	0.30 ^e	3.46 ^e	1.38 ^b	-20.21 ^f	4.62 ^d
S4	-9.81 ^f	9.75 ^e	4.08 ^c	-0.94 ^d	0.39 ^c	3.50 ^d	1.28 ^e	-19.90 ^e	4.55 ^e
S5	-7.05 ^e	8.83 ^f	4.44 ^b	-1.30 ^h	0.43 ^b	2.77 ^f	1.33 ^c	-19.87 ^d	2.76 ^f
S6	-5.44 ^d	8.46 ^g	2.31 ^g	-1.32 ⁱ	0.30 ^e	2.11 ^g	1.31 ^d	-20.87 ⁱ	2.08 ^g
S7	-4.63 ^c	8.39 ⁱ	2.99 ^d	-1.35 ^j	0.35 ^d	1.96 ^h	1.27 ^{ef}	-20.93 ^j	1.79 ^h
S8	-1.40 ^a	7.47 ^j	9.63 ^a	-1.18 ^f	0.65 ^a	0.80 ^j	1.19 ^g	-16.15 ^a	-0.45 ^j
S9	-4.29 ^b	8.41 ^h	2.87 ^e	-1.27 ^g	0.38 ^c	1.75 ⁱ	1.26 ^f	-20.58 ^h	1.34 ⁱ

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($p < 0.05$); S0~S9: 0~9 次蒸制的黄精。

5-HMF 是一种兼具毒性和药理活性的化合物, 黄精生品中几乎检测不到其存在, 但在蒸制后的黄精中有较高含量^[21], 5-HMF 在八蒸八制黄精的挥发性成分中占有最大比例。魏征等^[10]也在炮制前后的黄精中检测到 5-HMF 的存在, 其含量随着炮制时间延长而增加。食品中存在游离氨基酸、二肽、还原糖、甘油三酯及其衍生物, 在加热过程中会发生 Maillard 反应, 这些杂环类化合物多属于 Maillard 反应的中间产物, 具有焙烤香气的气味特征, 是形成食品特征风味的组成成分之一^[22]。糠醛又称为呋喃甲醛, 可由食品中的戊糖脱水产生, 鼠李糖受热降解可产生美拉德反应产物之一 5-HMF^[23]。黄精中含有丰富的多糖、寡糖、单糖等糖类物质以及多种游离氨基酸。经过高温蒸制后, 黄精中的糖类物质降解或与含氮化合物发生 Maillard 反应, 产生具有焦味、糊味、焙烤味的杂环类物质, 这些物质可能是黄精蒸制过程中焦香气味的来源。

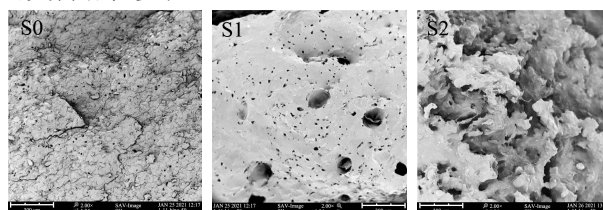
2.4 九蒸九制工艺过程中黄精滋味

由测定结果可知, S0、S1、S2 不具有人类能够感觉出的酸味; S0~S9 不具有咸味, 但具有苦味、涩味、鲜味和甜味等滋味。与其他味觉响应值相比, S0~S9 苦味和甜味的响应值较大, 分别在 7.47~14.35、-0.45~12.23 之间。其中, S0 的苦味和甜味响应值最大, 分别为 14.35 和 12.23, 这与赵丽蓉等^[9]的研究结果一致, 即生黄精的主要滋味为苦味和甜味。随着蒸制次

数增加, 黄精苦味值和甜味值均降低, 这可能是因为不良滋味在反复蒸制过程中被消减, 呈甜味的糖类物质也因高温处理而降解。氨基酸、有机酸等是重要的鲜味呈味物质, 黄精九蒸九制过程中鲜味响应值逐渐减小, 这可能与蒸制过程中上述两类物质的减少有关。有研究发现, 皂苷的种类、含量与苦涩味之间有一定的联系^[24], 如, 藜麦表皮中的皂苷使藜麦带有一定的苦涩味^[25]。黄精九蒸九制过程中, 涩味响应值呈降低-升高-降低的变化趋势, 这种变化趋势是否与黄精九蒸九制过程中皂苷含量或种类的变化有关, 还需要做进一步的探究。

2.5 九蒸九制工艺过程中黄精组织结构

扫描电镜 200 倍观察结果如图 3 所示。黄精生品 S0 横截面组织结构致密、无明显孔隙; 经过一次蒸制后, S1 横截面出现了明显的圆形孔洞。经过两次蒸制后, S2 中孔洞进一步扩大、结构崩溃, 产生不规则的孔隙。S3~S9 横截面均有较大的孔隙, 结构疏松多孔。以上结果说明九蒸九制可使黄精的内部组织结构由致密变得疏松多孔。



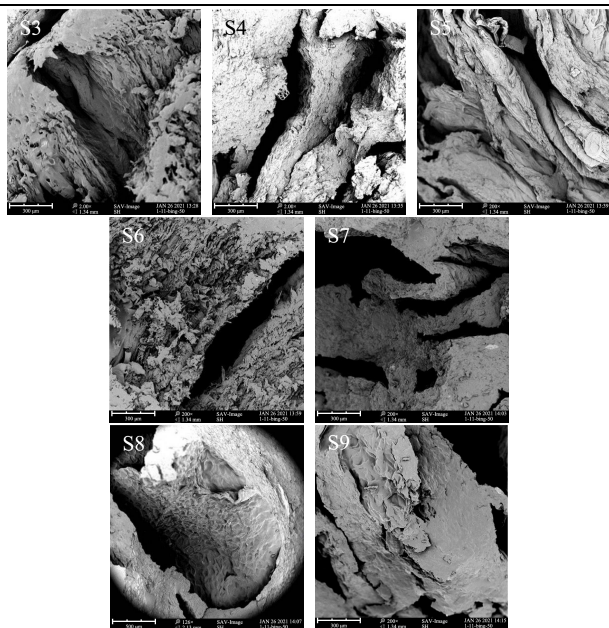


图3 0~9次蒸制黄精的内部微观结构

Fig.3 The internal microstructure of *Polygonatum* steamed 0~9 times

注: S0~S9: 0~9次蒸制的黄精。

2.6 黄精多糖纯化与化学成分测定结果

2.6.1 黄精多糖纯化结果

从不同蒸制次数的黄精中得到的多糖经过脱蛋白、脱色后纯度如表5所示,多糖纯度均在80%以上,可用于后续分析实验。

表5 0~9次蒸制黄精多糖的纯度(%)

Table 5 Purification results of polysaccharides from *Polygonatum* steamed for 0~9 times (%)

样品编号	纯化前	纯化后
PSP-0	68.77±2.63	88.66±1.89
PSP-1	65.23±1.66	85.19±1.77
PSP-2	62.44±2.21	83.92±1.96
PSP-3	62.28±1.85	80.07±1.11
PSP-4	63.59±1.47	81.58±1.23
PSP-5	63.88±1.90	81.75±1.53
PSP-6	60.25±1.87	83.91±2.07
PSP-7	58.57±1.56	83.27±1.85
PSP-8	59.62±1.98	82.55±1.68
PSP-9	57.96±2.01	81.14±1.21

注: PSP-0~PSP-9: 0~9次蒸制黄精的多糖,下同。

2.6.2 黄精多糖化学成分测定

PSP-0~PSP-9 化学成分测定结果如表6所示, PSP-0~PSP-9 中均含有一定量的糖醛酸, 经过脱蛋白处理后, PSP-0~PSP-9 中仍有少量的蛋白质存在。

表6 0~9次蒸制黄精多糖的化学成分(%)

Table 6 chemical constituents of polysaccharides from *Polygonatum* steamed 0~9 times (%)

样品编号	糖醛酸	蛋白质
PSP-0	3.18±0.01	1.88±0.02
PSP-1	4.88±0.01	1.87±0.02
PSP-2	4.91±0.01	2.33±0.04
PSP-3	6.40±0.01	3.52±0.04
PSP-4	6.26±0.04	3.73±0.05
PSP-5	5.95±0.01	3.65±0.04
PSP-6	6.12±0.01	3.29±0.01
PSP-7	6.18±0.02	2.29±0.03
PSP-8	6.24±0.01	1.92±0.02
PSP-9	6.21±0.09	1.16±0.01

2.7 黄精多糖分子量分布

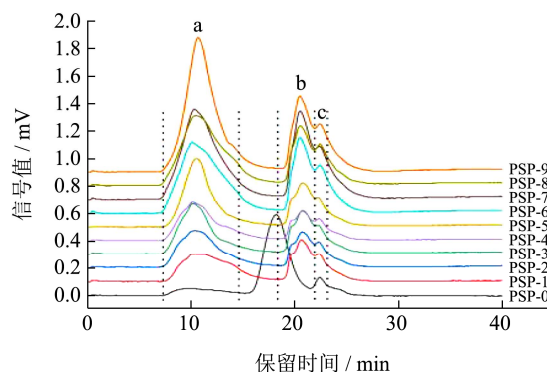


图4 0~9次蒸制黄精的多糖分子量分布

Fig.4 Molecular weight distribution of polysaccharides from *Polygonatum* steamed 0~9 times

尺寸排阻凝胶色谱测定结果如图所示, 峰 a、b 为信号峰, 峰 c 为溶剂峰。经过计算, PSP-0 中色谱峰对应的分子量在 12.8 ku 左右。峰 a 对应的分子量大于标准品中分子量最大的葡聚糖, 超出色谱柱线性范围, 即大于 670 ku, 峰 b 对应的分子量在 2 000 u 左右。生品黄精多糖 PSP-0 只有一个分子量片段, 出峰时间为 18.2 min, 相对分子量约为 12.8 ku。这可能是因为 PSP-0 中多糖分子量分布范围较窄, 多集中于 12 ku 左右。经过一蒸一制, 出现了分子量大于 670 ku 和分子量 2 000 u 左右的组分, 之后, PSP-1~PSP-9 的分子量分布范围主要集中在上述两个片段。九蒸九制工艺过程使黄精多糖的分子量分布范围变大, 后续将寻找合适的色谱柱以确定色谱峰 a 部分对应的确切分子量。此外, 有学者在酒制的黄精多糖^[26,27]、蒸制的何首乌多糖^[28]中也发现了分子量增大的现象。

2.8 黄精多糖单糖组成分析

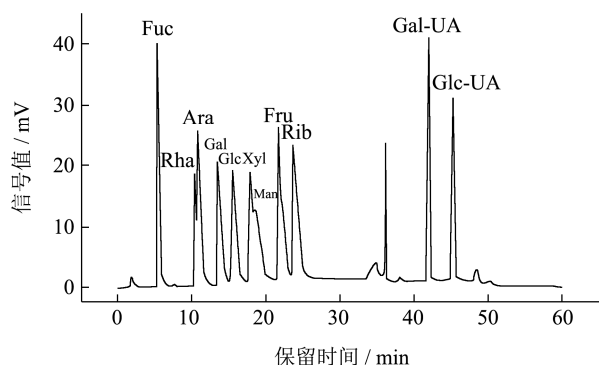


图5 11种单糖标准品离子色谱图

Fig.5 Ion chromatograms of 13 monosaccharide standards

以单糖峰面积为纵坐标轴 (y), 以单糖质量浓度为横坐标轴 (x) 进行线性回归, 得到回归方程、相关

系数如表所示, 相关系数均在 0.993~0.999 7 之间, 线性关系良好。标准工作液连续进样 6 次, 测定 11 种单糖峰面积 RSD 值在 1.51%~4.12%之间。

未经蒸制的生品黄精多糖与蒸制后的黄精多糖在单糖组成及比例方面有明显差异。PSP-0 中半乳糖、果糖含量较少, 未检测到 D-核糖的存在。经过第一次蒸制后, PSP-1 中半乳糖、果糖含量陡增, 两者分别在八蒸八制、一蒸一制黄精多糖中有最大摩尔比例。SUN T^[26]等发现: 在酒制黄精的多糖中, 半乳糖含量也有所增加, 摩尔比例由 29.63 增至 78.77。PSP-1~PSP-9 中均检测到一定含量的 D-核糖, 其含量在九种多糖之间无明显变化。葡萄糖醛酸、岩藻糖在蒸制过程中摩尔比例减小, 分别在第三、第四次蒸制时无法检测到。

表7 各单糖标准品保留时间及其线性方程

Table 7 Retention time and linear equation of monosaccharide standards

序号	单糖	t/min	线性方程	R ²	RSD% (n=6)
1	Fuc	5.48	y=0.228 6x+0.747 9	R ² =0.993 0	4.12
2	Rha	10.41	y=0.155 2x+0.458 6	R ² =0.993 4	3.03
3	Ara	11.00	y=0.285 5x+0.588 5	R ² =0.996 7	2.31
4	Gal	13.65	y=0.335 9x+0.698 8	R ² =0.996 7	1.88
5	Glc	15.52	y=0.437 8x+1.217	R ² =0.993 9	3.15
6	Xyl	17.93	y=0.373x+1.104 5	R ² =0.994 2	2.79
7	Man	18.57	y=0.317 7x+0.299 9	R ² =0.999 4	3.29
8	Fru	21.81	y=0.148 4x+0.041 9	R ² =0.999 7	1.51
9	Rib	23.77	y=0.300 5x+0.209	R ² =0.999 6	2.36
10	Gal-UA	42.06	y=0.168 2x-0.060 6	R ² =0.999 2	2.71
11	Glc-UA	45.30	y=0.292 5x-0.025 5	R ² =0.999 5	2.95

表8 0~9次蒸制黄精的多糖单糖组成及摩尔比例

Table 8 Monosaccharide composition and molar ratio of polysaccharides from *Polygonatum* steamed for 0~9 times

样品编号	单糖组成及摩尔比例										
	Fuc	Rha	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man	Fru	Rib	Gal-UA	Glc-UA
PSP-0	20.15	1	2.73	3.08	15.27	11.65	48.62	3.69	-	-	12.42
PSP-1	6.21	8.92	36.86	94.86	50.5	1	55.29	108.86	6	1.86	2.79
PSP-2	3.1	5.85	27.45	107.05	14.35	1.9	50.6	60.6	5.1	3.45	1
PSP-3	1	2.44	13.65	75.85	6.73	1.21	27.68	29.35	2.38	2.91	-
PSP-4	-	2.03	11.68	81.32	9.90	1	18.65	32.19	2.65	3.26	-
PSP-5	-	3.03	11.92	112.46	24.85	1	22.23	31.27	3.31	5.35	-
PSP-6	-	1.81	11.08	62.10	16.52	1	11.29	15.96	1.77	2.65	-
PSP-7	-	2.62	6.66	104.52	5.45	1	17.10	21.45	2.93	4.83	-
PSP-8	-	5	6.58	139.81	7.04	1	18.81	22.23	3	6.5	-
PSP-9	-	2.69	3.13	78.98	5.85	1	10.59	9.17	1.41	3.15	-

注: “-”表示未检测出。

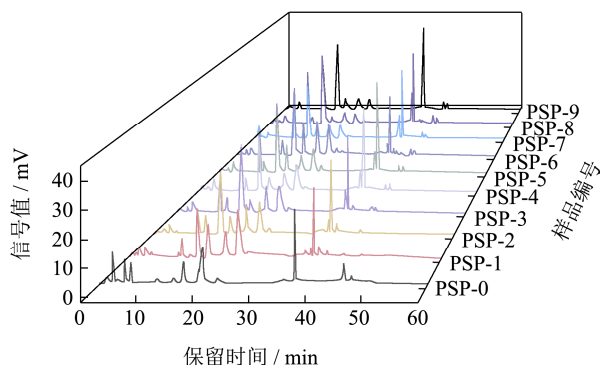


图 6 0~9 次蒸制黄精的多糖单糖组成离子色谱图

Fig.6 Ionic chromatograms of monosaccharides of polysaccharide from *Polygonatum* steamed for 0~9 times

果糖在植物细胞壁中含量丰富，提示蒸制过程可能破坏了黄精细胞壁，从而使细胞壁中的糖类物质被提取出来。推测黄精多糖的单糖组成及比例变化可能与黄精蒸制过程中发生的 Maillard 反应有关，一些糖类物质在 Maillard 反应过程中发生异构化和降解^[28]，具体将进一步设计实验加以验证。

2.9 黄精多糖红外光谱分析

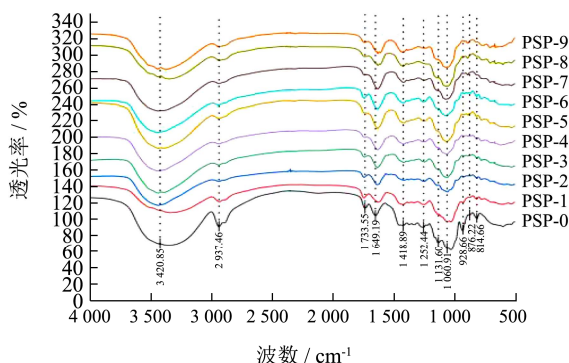


图 7 0~9 次蒸制黄精的多糖红外扫描光谱

Fig.7 Infrared scanning spectra of polysaccharides from *Polygonatum* steamed for 0~9 times

PSP-0~PSP-9 在 4 000~400cm⁻¹ 波长范围内红外扫描结果如图 9 所示。结果表明: PSP-0~PSP-9 在 3 420、2 937 cm⁻¹ 处均有较强的吸收峰, 这两个吸收峰分别由多糖的 O-H、C-H 伸缩振动产生^[29,30], 是糖类物质的特征吸收峰, 说明 PSP-0~PSP-9 均为多糖类物质。1 733、1 649 cm⁻¹ 处吸收峰分别是由乙酰基 C=C、-CHO 的 C=O 振动产生^[31], 且在 1 420 cm⁻¹ 处也有明显的-COOH 振动吸收峰^[31], 表明 PSP-0~PSP-9 均含有一定的乙酰化或酯化糖醛酸, 这与 PSP-0~PSP-9 化学成分测定结果相符。1 200~1 000 cm⁻¹ 处 C-O 吸收峰^[31,32] 提示吡喃糖的存在, 符合 PSP-0~PSP-9 单糖组成测定结果。880 cm⁻¹ 处吸收峰是由 β-糖苷键振动产生, 提示 PSP-0~PSP-9 中含有 β-糖苷键^[33]。

3 结论

九蒸九制工艺可使黄精颜色加深, 呈现“黄白-棕褐-乌黑-黑褐”的变化规律, 于一蒸一制后变为棕褐色, 两蒸两制后变为黑色, 于六蒸六制后表现出现褐色。黄精的苦味和甜味响应值呈先减小后增大的变化规律, 于八蒸八制时有最小苦味值和甜味值。5-HMF 相对含量呈先增大后减小的变化规律, 八蒸八制后, 在总挥发性成分中有最大相对含量 (73.09%)。九蒸九制工艺使黄精组织结构由致密变得疏松多孔。

蒸制过程可使黄精多糖的分子量分布范围增大, 改变其单糖组成及比例。生黄精中的多糖分子量主要集中在一个片段 (12.8 ku), PSP-1~PSP-9 分子量分布范围主要分布在大于 670 ku、2 000 u 两个片段。经过一蒸一制后, 黄精的多糖组成中出现 D-核糖、半乳糖醛酸两种单糖, 在蒸制过程中分别呈现先增大后减小、逐渐增大的变化规律; 葡萄糖醛酸、岩藻糖分别于三蒸三制、四蒸四制后消失。4 000~400 cm⁻¹ 波段红外光谱扫描结果显示不同蒸制次数黄精的多糖没有新的特征吸收峰产生, 多糖在黄精九蒸九制过程中未产生新的官能团。

通过查阅资料和相关文献, 推测九蒸九制工艺过程中黄精品质形成及多糖变化与 Maillard 反应有关。黄精多糖中出现的大分子量片段有待进一步提取、鉴定, 从而对蒸制过程中多糖变化机制进行探索研究。5-HMF 是兼具药理和毒理作用的化学物质, 其在黄精九蒸九制过程中相对含量的变化是否与黄精功效的改变存在联系, 有待进一步设计实验验证, 以期为进一步开发黄精药用价值提供参考。全面深入研究黄精蒸制过程中品质及化学成分的演变, 可为黄精九蒸九制工艺提供基础工艺参数, 有利于为黄精九蒸九制工艺规范化管理、质量标准制定提供参考。

参考文献

[1] 马存德,常晖,杨祎辰,等.经典名方中黄精的本草考证[J].中国实验方剂学杂志,1-16[2021-10-20]. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211865
MA Cunde, CHANG Hui, YANG Yichen, et al. Textual research on the classic famous recipe *Polygonatum* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Formulae, 1-16[2021-10-20]. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211865
[2] 李玲,黄玉玲,杨玉玲,等.滇黄精不同部位理化指标与化学成分差异性研究[J].农学学报,2021,11(8):70-75
LI Ling, HUANG Yuling, YANG Yuling, et al. Study on the difference of physicochemical indexes and chemical

- constituents of different parts of *Dipterocarpus polygonatum* [J]. *Acta Agriculturae Sinica*, 2021, 11(8): 70-75
- [3] Wang Y, Liu N, Xue X, et al. Purification, structural characterization and in vivo immunoregulatory activity of a novel polysaccharide from *Polygonatum sibiricum* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 160: 688-694
- [4] Tingting L, Zijing L, Jingchuan S, et al. Corrigendum to "Polygonatum sibiricum polysaccharides play anti-cancer effect through TLR4-MAPK/NF-κB signaling pathways" [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 127: 813-821
- [5] Shen F, Song Z, Xie P, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharide prevents depression-like behaviors by reducing oxidative stress, inflammation, and cellular and synaptic damage [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114164
- [6] 胡佳莉.红曲黄精发酵工艺及免疫调节和降血脂作用研究 [D].广东:广东药科大学,2020
- HU Jiali. Fermentation technology of monascus flavin and study on immune regulation and hypidemia lowering effects [D]. Guangdong: Guangdong Pharmaceutical University, 2020
- [7] 林雨,余亮,魏馨瑶,等.黄精炮制前后的化学成分变化及其减毒增效研究[J].*中药材*,2021,6:1353-1359
- LIN Yu, SHE Liang, WEI Xinyao, et al. Study on chemical composition changes and detoxification and synergism of *Polygonatum* before and after processing [J]. *Chinese Medicinal Materials*, 2021, 6: 1353-1359
- [8] 胡佳莉,刘林,李钟,等.黄精发酵过程中有效成分含量与色泽的相关性[J].*中国实验方剂学杂志*,2020,26(15):169-176
- HU Jiali, LIU Lin, LI Zhong, et al. Correlation between the content of effective components and color of *Polygonatum* fermentation [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Chinese Medicine*, 2020, 26(15): 169-176
- [9] 赵丽蓉,张虹,方文韬,等.应用电子舌技术对多花黄精药材“味”的测定与分析[J].*现代中药研究与实践*,2019,33(6):5-9
- ZHAO Lirong, ZHANG Hong, FANG Wentao, et al. Determination and analysis of "flavor" of *Polygonum polygonum* by electronic tongue technology [J]. *Research & Practice of Modern Chinese Materia Medica*, 2019, 33(6): 5-9
- [10] 魏征,曾林燕,宋志前,等.顶空-气相色谱-质谱联用分析黄精炮制过程化学成分的变化[J].*中国实验方剂学杂志*,2012, 18(20):115-118
- WEI Zheng, ZENG Linyan, SONG Zhiqian, et al. Analysis of chemical constituents of *Radix polygonatum* during processing by headspace-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Experimental Formulae*, 2012, 18(20): 115-118
- [11] 李玲.连续制备的多花黄精多糖的理化性质及活性研究 [D].合肥:合肥工业大学,2018
- LI Ling. Physicochemical properties and activity of *Polygonum* polysaccharide prepared continuously [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018
- [12] Long X, Yan Q, Cai L, et al. Box-Behnken design-based optimization for deproteinization of crude polysaccharides in *Lycium barbarum* berry residue using the sevag method [J]. *Heliyon*, 2020, 6(5): 3888
- [13] Xiaoqiang C, Jianchun X, Wei H, et al. Comparative analysis of physicochemical characteristics of green tea polysaccharide conjugates and its decolored fraction and their effect on HepG2 cell proliferation [J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 131: 243-249
- [14] Shu X, Zhang Y, Jia J, et al. Extraction, purification and properties of water-soluble polysaccharides from mushroom *Lepista nuda* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 128: 858-869
- [15] 陈钢,陈红兰,苏伟,等.响应面分析法优化黄精多糖提取工艺参数[J].*食品科学*,2007,7:198-201
- CHEN Gang, CHEN Honglan, SU Wei, et al. Optimization of extraction parameters of *Polygonatum* polysaccharide by response surface methodology [J]. *Food Science*, 2007, 7: 198-201
- [16] 许会生,张铁军,赵广荣,等.一种测定酸性多糖中糖醛酸和中性糖含量的改良方法[J].*食品工业科技*,2007,7:197-199
- XU Huisheng, ZHANG Tiejun, ZHAO Guangrong, et al. An improved method for determination of uronic acids and neutral sugars in acidic polysaccharides [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 7: 197-199
- [17] Mohammed J K, Mahdi A A, Ahmed M I, et al. Preparation, deproteinization, characterization, and antioxidant activity of polysaccharide from *Medemia argun* fruit [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 919-926
- [18] 尹震花,张娟娟,陈林,等.补骨脂多糖的分离纯化、结构鉴定及其对RAW264.7巨噬细胞活力的影响[J].*食品科学*,2019, 40(24):27-32
- YIN Zhenhua, ZHANG Juanjuan, CHEN Lin, et al. Isolation, purification, structure identification and effect of Psorpectin on RAW264.7 macrophage activity [J]. *Food Science*, 2019, 40(24): 27-32

- [19] 乐胜锋,王尉,王雅萱,等.离子色谱-脉冲安培法测定芦荟多糖中7种单糖的含量[J].色谱,2019,37(3):319-324
LE Shengfeng, WANG Wei, WANG Yaxuan, et al. Determination of seven monosaccharides in aloe polysaccharide by ion chromatography-pulse amperometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(3): 319-324
- [20] 胡爱军,李杨,郑捷,等.鹰嘴豆非淀粉多糖的分离纯化及结构表征[J].食品科学,2019,40(8):22-26
HU Aijun, LI Yang, ZHENG Jie, et al. Isolation, purification and structural characterization of non-starch polysaccharides from chickpea [J]. Food Science, 2019, 40(8): 22-26
- [21] 曾林燕,宋志前,魏征,等.黄精炮制过程中新产生成分分离及含量变化[J].中草药,2013,44(12):1584-1588
ZENG Linyan, SONG Zhiqian, WEI Zheng, et al. Separation and content changes of new components produced in the processing of huangjing [J]. Chinese Traditional and Herbal Medicines, 2013, 44(12): 1584-1588
- [22] Capuano E, Ferrigno A, Acampa I, et al. Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies [J]. Food Research International, 2009, 42(9): 1295-1302
- [23] 张玉玉,宋弋,李全宏.食品中糠醛和5-羟甲基糠醛的产生机理、含量检测及安全性评价研究进展[J].食品科学,2012,33(5):275-280
ZHANG Yuyu, SONG Yi, LI Quanhong. Research progress on the mechanism, determination and safety evaluation of furfural and 5-hydroxymethylfurfural in food [J]. Food Science, 2012, 33(5): 275-280
- [24] Dawid C, Hofmann T. Quantitation and bitter taste contribution of saponins in fresh and cooked white asparagus (*Asparagus officinalis* L.) [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 427-436
- [25] Suárez-Estrella D, Borgonovo G, Buratti S, et al. Sprouting of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): effect on saponin content and relation to the taste and astringency assessed by electronic tongue [J]. LWT, 2021, 144: 111234
- [26] Sun T, Zhang H, Li Y, et al. Physicochemical properties and immunological activities of polysaccharides from both crude and wine-processed *Polygonatum sibiricum* [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 143: 255-264
- [27] 徐如静,梁娟,俞年军,等.九华黄精炮制前后多糖类成分结构变化研究[J].安徽中医药大学学报,2021,40(2):91-96
XU Rujing, LIANG Juan, YU Nianjun, et al. Study on the structure changes of polysaccharides in Jiuhua Huangjing before and after processing [J]. Journal of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 40(2): 91-96
- [28] Zhenli L, Zhimao C, Yuanyan L, et al. Maillard reaction involved in the steaming process of the root of *Polygonum multiflorum* [J]. Planta Med, 2009, 75(1): 84-88
- [29] Ji H, Liu C, Dai K, et al. The extraction, structure, and immunomodulation activities *in vivo* of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza* [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 173: 114085
- [30] Bagchi S, Jayaram Kumar K. Studies on water soluble polysaccharides from *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. seeds [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 138: 215-221
- [31] Chai Y, Zhao M. Purification, characterization and anti-proliferation activities of polysaccharides extracted from *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 149: 121-130
- [32] Kačuráková M, Capek P, Sasinková V, et al. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses [J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 43(2): 195-203
- [33] ZHAO K, LI B, HE D, et al. Chemical characteristic and bioactivity of hemicellulose-based polysaccharides isolated from *Salvia miltiorrhiza* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 2475-2483