

九蒸九制对鸡头黄精理化性质及抗氧化性的影响

王俊楠^{1,2}, 卢琪¹, 薛淑静¹, 陈晓春³, 张春兰^{2*}, 杨德^{1*}

(1. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064) (2. 塔里木大学食品科学与工程学院, 新疆阿拉尔 843300) (3. 恩施州源惠科技开发有限公司, 湖北恩施 445000)

摘要: 为了探究蒸制处理对鸡头黄精有效成分及代谢物种类和含量影响, 采用低场核磁、苯酚-浓硫酸法、高效液相色谱-蒸发光散射检测法 (HPLC-ELSD) 和液相色谱-质谱技术 (LC-MS) 等对其中的水分分布、多糖含量、单糖组成和代谢产物等进行分析。结果表明, 多次蒸制后, 鸡头黄精结合水的含量、多糖含量逐渐降低, 水提液 pH 值逐渐降低呈弱酸性达到 4.07, 还原糖、总酚、黄酮含量逐渐升高分别达到 28.69%、10.02 mg/g 和 0.69%, 抗氧化性逐渐增强, ABTS 抗氧化能力在 7 制达到最高为 0.73 mmol/L, 较 1 制增加 0.35 mmol/L, DPPH 自由基清除率和 FRAP 值在 8 制达到最高分别为 81.95%, 1.97 mmol/L, 较 1 制分别增加 50.92%, 1.72 mmol/L; 同时蔗糖逐渐水解从 18.53 mg/g 到 7.62 mg/g, 葡萄糖和果糖含量提高, 分别由 1 制 0.00 和 11.30 mg/g, 达到 9 制 17.25 和 230.89 mg/g。选取一制与九制黄精进行代谢物差异分析, 在正离子模式下共检测到 1 310 种代谢物, 差异代谢物有 176 种 (按其特性分为 38 类), 在负离子模式下共检测到 1 841 种代谢物, 差异代谢物有 148 种 (按其特性分为 26 类)。黄精经蒸制后有效成分差异性显著, 对鸡头黄精炮制加工提供科学依据。

关键词: 鸡头黄精; 九蒸九制; HPLC-ELSD; LC-MS; 代谢组学分析

文章编号: 1673-9078(2024)02-231-245

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0036

Effects of Nine Steaming-nine Drying on the Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of *Polygonatum sibiricum* Red

WANG Junnan^{1,2}, LU Qi¹, XUE Shujing¹, CHEN Xiaochun³, ZHANG Chunlan^{2*}, YANG De^{1*}

(1. Institute of Agricultural Product Processing and Nuclear-agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China) (2. College of Food Science and Engineering, Tarim University, Alair 843300, China) (3. Enshizhou Yuanhui Technology Development Co, Ltd., Enshi 445000, China)

Abstract: To explore the effects of steaming and drying treatments on the types and content of the active ingredients and metabolites of *Polygonatum sibiricum* Red., low-field nuclear magnetic resonance, the phenol-sulfuric acid method, high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection, and liquid chromatography-mass spectrometry were used to analyze moisture distribution, polysaccharide content, monosaccharide composition, and metabolites. The results show that, after multiple steaming and drying treatments, the bound water and polysaccharide content decreased gradually. The pH of the aqueous extract also declined gradually, reaching 4.07 (indicating weak acidity). The reducing sugar,

引文格式:

王俊楠, 卢琪, 薛淑静, 等. 九蒸九制对鸡头黄精理化性质及抗氧化性的影响[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 231-245.

WANG Junnan, LU Qi, XUE Shujing, et al. Effects of nine steaming-nine drying on the physicochemical properties and antioxidant activity of *Polygonatum sibiricum* Red [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 231-245.

收稿日期: 2023-01-10

基金项目: 湖北省科技攻关项目 (2021BAB121); 恩施州科技计划项目 (D20220063)

作者简介: 王俊楠 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工技术, E-mail: 940324443@qq.com

通讯作者: 张春兰 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品化学及天然产物, E-mail: zcl790225@163.com; 共同通讯作者: 杨德 (1981-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 农产品加工技术, E-mail: yde0537@163.com

total phenol, and flavonoid content increased slowly to 28.69%, 10.02 mg/g, and 0.69%, respectively. The antioxidant activity also increased gradually. The ABTS scavenging activity peaked at 0.73 mmol/L after *P. sibiricum* was dried seven times, which was 0.35 mmol/L higher than that after drying only once. The DPPH scavenging activity and FRAP value reached maximums of 81.95% and 1.97 mmol/L, respectively, by the eighth drying treatment, which were 50.92% and 1.72 mmol/L higher, respectively, than those after drying only once. Moreover, sucrose was gradually hydrolyzed, and its content reduced from 18.53~7.62 mg/g. The glucose and fructose content increase from 0.00 and 11.30 mg/g (after the first drying treatment) to 17.25 and 230.89 mg/g, respectively (after the ninth drying treatment). *Polygonatum sibiricum* samples that were dried once and nine times were compared for their differential metabolites. A total of 1310 metabolites were detected in positive ion mode, and 176 of these were differential metabolites (comprising 38 categories according to their characteristics). A total of 1841 metabolites were detected in negative ion mode, and 148 of these were differential metabolites (comprising 26 categories according to their characteristics). The active components of *P. sibiricum* vary significantly after steaming and drying. The findings provide a scientific basis for the processing of *P. sibiricum*.

Key words: *Polygonatum sibiricum* Red.; nine steaming-nine drying; high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection; liquid chromatography-mass spectrometry; metabolomics analysis

黄精为百合科植物,广泛分布于南方热带外的地区,资源丰富。经研究发现黄精中含有多糖、总酚、黄酮、皂苷、木脂素、氨基酸等多种对人体有益的化学成分。中医认为,黄精味甘、平,补气益肾、耐寒暑、助筋骨,可作久服补养之品,并且无大补温燥之品可能带来的副作用。现代药理研究也证明,黄精具有抗自由基、延缓衰老、提高自身免疫力、改善记忆力、降血糖、降血脂、防止动脉粥样硬化等功效^[1,2],在保健食品中被广泛应用^[3],具有广阔的市场前景。生黄精具有麻舌感、咽喉刺激性,不宜直接食用,通过炮制可消除其原有刺激性和致敏性,减轻其毒副作用,使有效成分积累,增强药效^[4,5]。黄精炮制方法众多,有单蒸、酒制、九蒸九制、重蒸、发酵等,主要以“九蒸九制”为代表,这些炮制方法对黄精有效成分均有一定影响,但对炮制过程中功效成分变化的研究较少。

代谢组学是继基因组学、转录组学、蛋白质组学之后又一重要研究方向,可对生物体或细胞中的所有小分子量代谢物进行定量、定性的分析研究。可以利用代谢组技术迅速获取生物体代谢组信息,并对样本进行分类,在食品加工理化特性方面应用广泛。利用非靶向代谢组对黄精细胞内外的全部代谢物进行了定性和半定量的研究,得到了其体内和体外的全部代谢物的信息。

本文采用常压蒸制结合热泵干燥法进行炮制,并探究随着蒸制次数增加其黄精中有效成分含量变化规律,并利用非靶向代谢组学的方法及高效液相色谱串联质谱技术,检测分析始末蒸次黄精代谢物组分及变化规律,为深入挖掘黄精功能成分及药理

作用机制,提高黄精利用率和开发功能性黄精产品提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄精:取自四年生鸡头黄精块茎;果糖、葡萄糖、蔗糖、Vc、芦丁(标准品>98%),上海源叶生物科技有限公司;ABTS⁺·试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司;Folin-Ciocalteu 试剂、2,2-二苯基-1-苦基肼基(DPPH)、1,3,5-三(2-吡啶基)-2,4,6-三嗪(TPTZ),上海源叶生物科技有限公司;DNS 试剂,索莱宝生物科技有限公司;香草醛、冰醋酸、碳酸钠、盐酸、高氯酸、浓硫酸、无水乙醇、福林酚、六水合三氯化铁等均分析纯试剂,国药化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Multiskan GO 酶标仪,美国 Thermo Fisher 公司;XHF-DY 高速均质机,宁波新芝生物科技有限公司;KQ5200DE 超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;CR-400 色差仪,日本 Minolta Camera 公司;LC-20AT 高效液相色谱仪,日本岛津公司;DHG-9140 热泵干燥机,上海一恒科学仪器有限公司;Thermo Vanquish UHPLC 超高效液相色谱仪、Q-Exactive HF 高分辨质谱,美国 Thermo Fisher 公司;Zorbax Eclipse C18 (1.8 μm ×2.1 mm×100 mm) 色谱柱,Agilent technologies 公司;TGL-16M 离心机,长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司;JXFSTPRP-48 全自动样品快速研磨仪,上海

净信实业发展有限公司; FD-IA-50 冷冻干燥机, 上海比朗仪器制造有限公司; NMI20-025V-1 核磁共振成像仪, 苏州纽迈分析仪器股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备及感官评价

选取品质良好、无霉变的鸡头黄精生品, 洗净、去除根须, 100 °C 常压蒸制 2 h 后于 60 °C 热泵干燥机中干燥使其水分含量达到 20% 左右, 即得一蒸一制黄精, 如此反复九次即得九蒸九制次黄精样品, 记录并描述其感官特征^[6]。

1.3.2 色度分析

将制得的黄精样品用多功能粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 备用。色差仪^[7]测定黄精粉条件: 光源 D65, 口径 30 mm, 标准观察角 10°, 使用前用黑白比色板校准, 取一定量样品平铺于培养皿进行测定, 记录 L^* (颜色亮度)、 a^* (红绿色值)、 b^* (黄蓝色值) 相应值, 测量 5 次, 取其平均值, 计算总色差值 E^*ab 。

$$E^*ab = \sqrt{(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

1.3.3 水分形态

将九蒸九制后的黄精切成长宽 1 cm 左右的厚片, 采用低场核磁共振成像仪对黄精样品中水分形态进行分析, CPMG 序列参数如下: SW (kHz) = 100, SF (MHz) = 20, P1 (us) = 8.00, P2 (us) = 15.52, DRG1 = 3, PRG = 1, TW (ms) = 1 500.000, TE (ms) = 0.300, NECH = 5 000, NS = 4, 重复三次扫描, 弛豫时间范围为 0.001~10 000 ms, 反演个数 = 200, 迭代次数 = 1 000 000, 根据弛豫时间 (T_2) 和振幅面积 (S) 进行分析。

1.3.4 还原糖含量测定

参照吴丰鹏等^[8]的方法制备黄精还原糖、多糖待测液。配置葡萄糖标准溶液 (1.00 mg/mL), 参考文献^[9]的方法测定, 得线性回归方程为: $Y = 2.519X - 0.0416$ ($R^2 = 0.9993$), 在 0.1~0.6 mg/mL 范围内线性关系良好。

1.3.5 多糖含量测定

配置葡萄糖标准溶液 (1.00 mg/mL), 参照潘东梅^[10]方法测定, 得标准曲线为: $Y = 3.4591X + 0.0333$ ($R^2 = 0.9988$), 在 0.0~0.7 mg/mL 范围内线性关系良好。

1.3.6 单糖组分分析

1.3.6.1 色谱条件

色谱柱: Shodex NH2P-50-4E (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 保护柱: NH2P-50G 4A (4.6 mm×10 mm), 流动相为水 (A 相) 和乙腈 (B 相), A:B=25:75, 流速: 0.8 mL/min, 柱温: 30 °C, 进样量 5 μL, ELSD 参数: 雾化管温度 = 40 °C, 载气流速 = 2.5 L/min。

1.3.6.2 标准溶液的配制

精密称取 D- 果糖、D- 葡萄糖、D- 蔗糖标准品用超纯水定容于 2 mL 容量瓶中, 得混合标准溶液 (果糖 2.0 mg/mL、葡萄糖 2.5 mg/mL、蔗糖 2.4 mg/mL)。

1.3.6.3 供试样品的制备

精密称取 0.1 g 黄精粉, 加 2 mL 超纯水, 涡旋混匀后用细胞破碎机 8 000 r/min, 破碎 1 min, 离心, 取上清液, 经 0.45 μm 微孔水相滤膜过滤, 作为黄精粉中单糖待测液。

1.3.7 水提液 pH 值测定

参照徐明锋等^[11]的方法略作修改, 取九蒸九制后的黄精粉 0.5 g, 加 12.5 mL 蒸馏水, 沸水浴回流 2.5 h, 冷却至室温, 抽滤, 补足所失水分, 测定各个水提液 pH 值, 重复测定三次, 取其平均值。

1.3.8 总酚含量 (TPC) 测定

总酚含量的测定采用 Folin-Ciocalteu 法^[11], 样品总酚含量以每克干样品中没食子酸毫克数表示 (mg GAE/g DW)。所得标准曲线: $Y = 0.0079X + 0.0759$ ($R^2 = 0.9991$), 在 10~200 mg/L 范围内线性关系良好。

1.3.9 总黄酮含量 (TFC) 测定

参照文献^[12]的最优方案, 并略作修改。称取一定量的黄精粉末, 加入 20 倍体积的 $\varphi = 80\%$ 乙醇溶液, 于 70 °C 下超声 1 h, 提取 2 次, 合并滤液。按照文献^[10]的测定方法进行黄酮含量的测定并计算含量, 得标准曲线 $Y = 0.8643X + 0.0027$ ($R^2 = 0.9983$)。

1.3.10 抗氧化性研究

ABTS 自由基清除能力参照试剂盒说明书进行操作^[13-15], 样品抗氧化能力 (Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC) 来表示, 结果表示为 mmol/L。所得标准曲线: $Y = 0.7793X - 0.0035$ ($R^2 = 0.9995$), 在 0.15~1.5 mmol/L 浓度范围内线性关系良好。

DPPH 自由基清除能力测定参照王若男等^[16]的方法测定。

FRAP 铁离子还原 / 抗氧化能力测定参照

Tang 等^[17]和 Wang 等^[18]的方法, 略作修改, 结果用 Vc 标品浓度 (mmol/L) 定义 FRAP 值。得线性回归方程为: $Y=0.002\ 8X+0.261$ ($R^2=0.999\ 1$), 在 0.12~0.6 mmol/L 浓度范围内线性关系关系良好。

1.3.11 色谱-质谱分析

1.3.11.1 样品提取

分别称取一制 (对照) 和九制 (九蒸) 的样品 100 mg 置于 2 mL 离心管中加入 1.0 mL $\varphi=70\%$ 甲醇和 3 mm 规格钢珠, 用全自动样品快速研磨仪 (JXFSTPRP-48, 70 Hz) 震荡破碎 3 min, 冷却后低温超声 (40 kHz) 10 min。4 ℃低温下 12 000 r/min 离心 10 min, 取上层清液稀释 2~100 倍, 过 0.22 μm PTFE 滤头上机检测。

1.3.11.2 色谱-质谱分析条件

色谱柱: C18 色谱柱 (Zorbax Eclipse C18, 1.8 $\mu\text{m}\times2.1\ \text{mm}\times100\ \text{mm}$), 流动相组成为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B), 流动相洗脱程序: 0~2 min, 5% B; 2~7 min, 30% B; 7~14 min, 78% B; 14~20 min, 95% B; 20~25 min, 5% B, 柱温: 30 ℃; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 2 μL , 自动进样器温度 4 ℃。

正、负模式: 加热器温度 325 ℃; 鞘气流速: 45 arb; 辅助气流速: 15 arb; 吹扫气流速: 1 arb; 电喷雾电压: 3.5 kV; 毛细管温度: 330 ℃; S-Lens RF Level: 55%。

1.3.12 数据统计分析

对以上实验重复三次取其平均值, 结果以平均值 $\pm$ 标准偏差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。采用 Duncan 分析对比样品间差异显著性 (IBM SPSS Statistics 20.0)。对质谱分析后得到代谢物相关的数据矩阵, 利用

Thermo mzCloud 在线数据库, Thermo mzValut 本地数据库, Chem Spider 数据库等进行物质鉴定, 利用归一化后的数据矩阵进行多元统计分析, 并结合单变量统计分析 (Student's Test) 的方法筛选差异代谢物, 将得到的样本差异代谢物进行 KEGG 通路注释及富集分析。

2 结果与讨论

2.1 感官评价

由图 1 可以看出, 黄精在九蒸九制过程中色泽逐渐变深, 并且伴有一定的焦香、香甜味。麻舌感逐渐降低, 苦味上升, 质地变软, 内部孔隙逐渐变大。表 1 从色泽、气味、口感和组织状态对黄精蒸制过程中的变化进行记录, 发现蒸制 5~6 次黄精开始无麻口, 口感微甜, 蒸制 6 次后焦糊味和苦味增强。《实用中药炮制学》中也曾提到黄精蒸制终点“蒸至药物黑透或蒸至药物质地变软”^[19], 并没有对黄精蒸制次数的要求, 因此建议黄精炮制 6 次即可。



图 1 1~9 蒸制黄精
Fig.1 Polygonatums steamed for 1~9 times

表 1 1~9 次蒸制黄精感官性状描述

Table 1 Sensory characteristics of Polygonatum steamed for 1~9 times				
蒸制次数	色泽	气味	风味	组织状态
1	淡黄色	微香	味淡微甜, 麻舌感较重	紧密, 无孔隙, 质地较硬
2	棕黄色	焦香味	微甜, 有麻舌感	紧密, 无孔隙, 质地硬而有韧
3	深棕色	焦香味	较甜, 有轻微麻舌感	紧密无孔隙
4	棕咖色	焦香味	较甜, 有微弱麻舌感	紧密无孔隙
5	红褐色	焦糊味	味甜, 无苦味, 无麻舌感	中间有细微孔隙
6	黑透棕	焦糊味	味甜, 无苦味, 无麻舌感	中间有轻微孔隙, 质地较硬
7	黑透棕	焦糊味	味道较甜, 微苦, 无麻舌感	孔隙较小, 质地较为柔软, 有一定韧劲
8	黑褐色	焦糊味	味道偏苦, 轻微回甜, 无麻舌感	孔隙较大, 质地柔软
9	黑褐色	焦糊味	味道较苦, 几乎无甜味, 无麻舌感	孔隙较大, 质地柔软

2.2 色泽变化

实验测得 1~9 蒸次黄精的 a^* (红绿值)、 b^* (黄蓝值)、 L^* (颜色亮度) 及 E^*ab (总色差值) 见表 2。从测定结果可以看出, 随着蒸制次数的增加, a^* 从一制到七制逐渐增加, 八九制略有下降, 呈显著上升趋势 ($P<0.05$) 与蒸制过程中样品颜色由淡黄色转变为黑褐色外观变化基本保持一致。 L^* 整体呈现递减趋势, 从一制 49.67 到九制 10.97, 四制和七制明度值相较于前一制有所提高分别为 40.12 和 28.61, 从二制开始各个蒸制品的明度有明显差异, 呈显著下降趋势 ($P<0.05$)。总色差有着明显的差异, 总体大小的趋势逐渐降低 ($P<0.05$)。蒸制次数对黄精 a^* 、 b^* 、 L^* 及 E^*ab 值均有显著性差异 ($P<0.05$)。黄精颜色随着蒸制时间的增加逐渐加深, 可能与炮制过程中美拉德反应有关, 致使黄精内部类黑精含量增加, 该结论与 Jin 等^[20]研究结果相似。

表 2 1~9次蒸制黄精色度值

Table 2 The chroma value of *Polygonatum* for 1~9 times

蒸制次数	a^*	b^*	L^*	E^*ab
1	-0.17±0.03 ^h	10.21±0.16 ^d	49.67±0.29 ^a	50.71±0.30 ^b
2	0.94±0.06 ^g	15.72±0.61 ^c	49.38±0.48 ^a	51.83±0.42 ^a
3	4.16±0.20 ^f	19.70±1.37 ^b	32.28±1.40 ^d	38.08±0.97 ^d
4	9.67±0.25 ^e	29.93±0.50 ^a	40.12±0.79 ^b	50.98±0.63 ^{ab}
5	10.13±0.49 ^c	30.54±1.24 ^a	35.17±0.75 ^c	47.68±0.92 ^c
6	11.02±0.31 ^b	15.90±0.58 ^c	19.28±0.98 ^f	27.32±0.91 ^e
7	14.35±0.79 ^a	19.10±0.52 ^b	28.61±1.13 ^c	37.29±0.86 ^d
8	8.23±0.40 ^d	7.89±0.70 ^e	17.66±0.62 ^g	21.03±0.76 ^f
9	7.33±0.36 ^e	7.49±0.43 ^c	10.97±1.33 ^h	15.20±0.86 ^g

注：同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。

2.3 水分形态分析

核磁中弛豫时间 (T_2) 反映了样品内氢质子的约束力和自由度, 与食品中的自由水含量有着密切关系, 即弛豫时间越长, 水分活度越高, 自由水含量也随之增加^[21,22]。如图 2 所示, 经多次蒸制后弛豫时间 (T_2) 向左偏移, 表明蒸制后黄精水分自由度降低; 并且随着蒸制次数的增加, 黄精横向弛豫时间缩短, 信号振幅也显著性降低, 说明在干燥初期黄精中游离水流动性较大, 大分子物质束缚作用较低, 弛豫时间较长, 后期蒸制次数增加, 水流动性降低, 黄精中水分子与蛋白质、多糖等结合, 使

其弛豫时间缩短。表明随着蒸制次数的增加, 黄精样品中水分活度和含量显著降低, 这种变化可能和蒸制过程中大分子变化有关, 这与李芷芊等^[23]研究的微波干燥过程中黄精切片水态和组织结构变化结论一致。

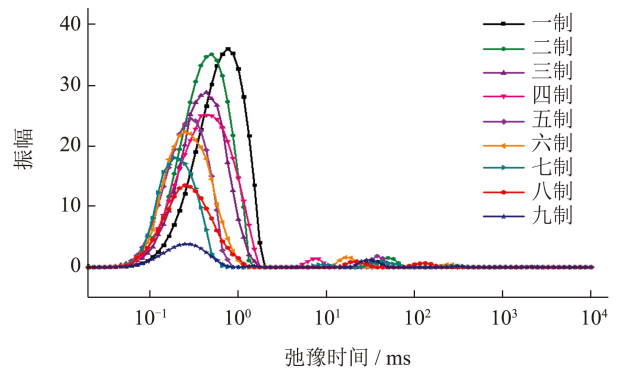


图 2 1~9 次蒸制黄精水态分析
Fig.2 Water status of *Polygonatum* for 1~9 times

2.4 还原糖含量变化

如图 3 所示, 随着蒸制次数的增加, 还原糖含量总体呈现递增趋势, 还原糖含量由 1.99% 增加到 28.69%, 还原糖含量增加了约 14 倍, 可能是由于黄精经炮制后黏多糖大量水解成低聚糖、单糖。马灵珍等^[24]也研究发现熟地黄还原糖含量随着蒸制次数增加呈波动式上升, 与本研究得到的结果类似。因此还原糖可以作为黄精质量控制指标之一。

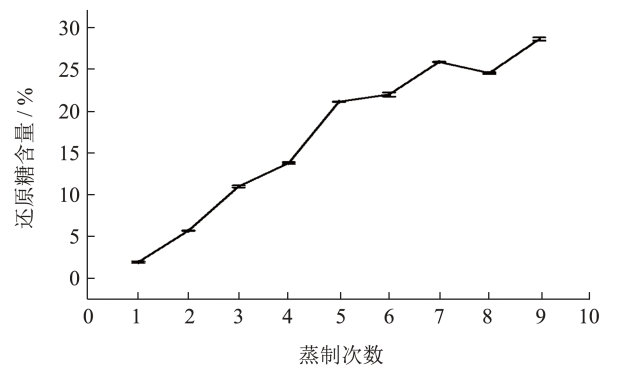


图 3 1~9 制黄精还原糖含量变化
Fig.3 Reducing sugar content changes of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

2.5 多糖含量变化

如图 4 所示, 多糖的含量随蒸制次数的增加而降低, 三制后多糖的含量趋于稳定, 从六制到九制中间有所起落。多糖含量增加可能是由于黄精经多次蒸制后质量下降, 且黄精多糖分子中含有大量羟基, 分子间相互作用形成不同程度聚集体, 进而导

致多糖含量增加。多糖含量的逐渐递减是由于在蒸制过程中黄精处于高温高湿状态下，使其水解成单糖和低聚糖，这与吴丰鹏等^[8]和陈瑞瑞等^[10]对九蒸九制多糖含量变化研究结果一致。且部分糖类成分随着蒸制溶于水中，造成一定量损失。单佳乐^[25]研究表明在蒸制过程中黄精多糖不仅发生降解还有聚集。

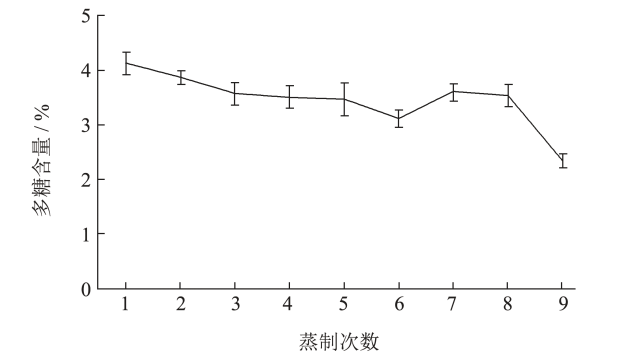


图 4 1~9 制黄精多糖含量变化

Fig.4 Polysaccharide content Changes of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

2.6 单糖分析

2.6.1 线性回归方程和相关系数

吸取 5、10、15、20 μL 混合标准品，分别进样分析，得到以峰面积对数 (Y) 为纵坐标，进样质量对数 (X) 为横坐标的线性回归方程 (表 3)，色谱图见图 5。

表 3 4 种单糖线性回归方程、相关系数和线性范围			
Table 3 Regression equation, correlation coefficient and linear range for four monosaccharides			
种类	线性方程	相关系数 (r^2)	线性范围/ μg
果糖	$Y=1.199\ 7X+2.456\ 5$	0.999 8	10~40
葡萄糖	$Y=1.296\ 2X+2.275\ 9$	0.999 7	12.5~50
蔗糖	$Y=1.294X+2.102\ 7$	0.999	12~48

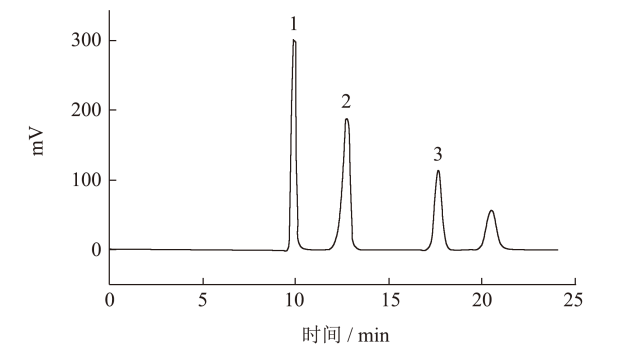


图 5 混合标准溶液的 HPLC-ELSD 分离色谱图

Fig.5 HPLC-ELSD separation chromatogram of mixed standard solution

注：1 果糖，2 葡萄糖，3 蔗糖。图 6 同。

2.6.2 样品含量检测

取待测样液 5 μL，重复测定 2 次，按照 1.3.6.1 色谱条件测定并记录相应峰面积，代入标准回归方程得出各种糖含量，结果见表 4，色谱图见图 6。

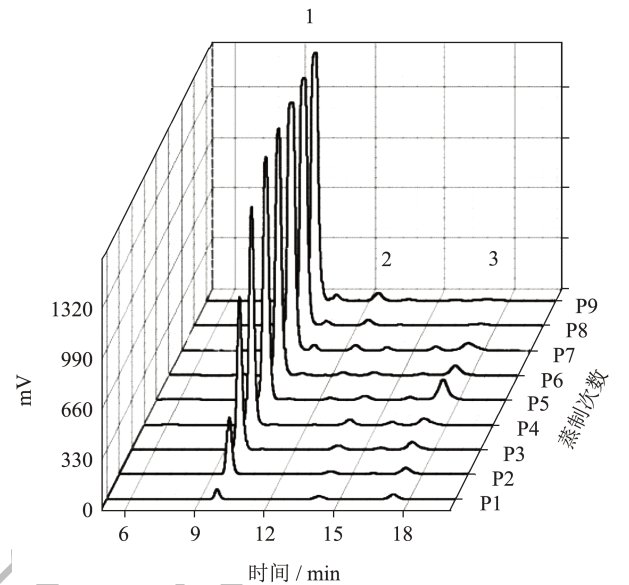


图 6 1~9 制黄精 HPLC-ELSD 分离色谱图

Fig.6 HPLC-ELSD separation chromatogram of *Polygonatum* for 1~9times

表 4 1~9 制水溶性糖分析结果			
Table 4 Analysis results of 1~9 water-soluble sugars ($n=2$, mg/g)			
蒸制次数	果糖	葡萄糖	蔗糖
1	11.30	—	18.53
2	49.21	1.29	24.84
3	114.90	2.02	28.77
4	155.36	1.90	24.93
5	174.38	5.95	59.60
6	197.96	8.48	33.62
7	247.72	11.77	32.20
8	220.78	13.78	7.75
9	230.89	17.25	7.62

在蒸制过程中，随着蒸制次数增加，果糖含量逐渐增加，在七制时达到峰值 247.72 mg/g，随后果糖含量小幅度起伏，黄精中葡萄糖含量大体呈现逐步递增趋势，在四制时有小幅度下降约为 0.12 mg/g，此现象说明在高温条件下，黄精细胞壁遭到破坏，使其糖类物质释放。并且随着时间延长，黄精中的多糖组分经过水解，变成果糖、葡萄糖等一系列的单糖。果糖和葡萄糖含量在蒸制过程中出现小幅度下降可能是由于单糖成分与氨基酸类成分发生美拉德反应所导致^[26]，使其发生异构化和降解，吴丰鹏

等^[8]也研究时发现葡萄糖含量在前两次蒸制出现降低,但随着蒸制次数的增加其含量也逐步提高,与本实验结果相似。另外黄精中蔗糖含量随着蒸制次数的增加呈现先增大后降低的趋势^[25]。詹慧慧等^[27]也在对黄精、滇黄精和多花黄精中游离糖含量测定动态中发现黄精在炆制不同时间后发现蔗糖含量也出现先增加后降低的现象,表明蔗糖含量因水解作用降低,而作为水解产物的葡萄糖和果糖含量随之增大。

2.7 水提液pH值变化

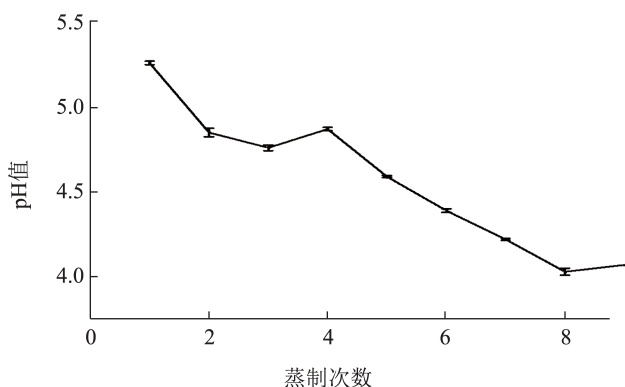


图 7 1~9 次蒸制黄精水提液 pH 值

Fig.7 pH value of extract of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

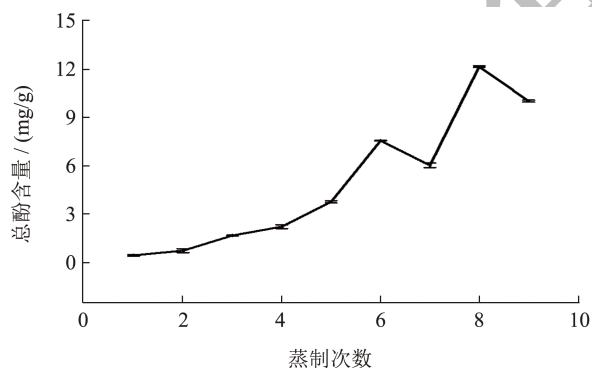


图 8 1~9 次蒸制黄精总酚含量

Fig.8 Total phenolic content of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

如图 7 所示,随着蒸制次数的增加,黄精水提液 pH 值不断减小,从一制的 5.26 到九制 4.07,在八制时水提液 pH 值达到最低值 4.03。研究表明美拉德反应过程中 pH 值的大小与碱性氨基酸含量及甲酸、乙酸等有关^[28,29]。

2.8 总酚含量变化

如图 8 所示,随着蒸制次数的增加,总酚提取量呈波动式上升。在第八次蒸制后总酚含量达到最

大为 12.16 mg/g,九制达到 10.02 mg/g,其中在第七次和第九次蒸制后总酚提取量较前一次有小幅度的降低,但总体上仍呈现上升趋势。这是因为在热处理工艺中,某些细胞成分和细胞壁组分发生,或通过高温作用而降解,从而加速了游离态多酚的释放。李芷芊等^[23]研究表明,适当的提高蒸制时间并对样品进行热风干燥处理有利于提高黄精切片中多酚含量的结果一致。张忠义等^[30]研究表明大蒜经蒸汽热处理后会提高 TPC 含量。

2.9 黄酮含量变化

如图 9 所示,随着蒸制次数的增加,黄酮含量呈现波动式增长,变化范围为 0.10%~0.82%,在第八制时达到最大含量 0.82%。可能是由于高温条件下,黄精细胞壁被破坏,使内部黄酮类物质溶解释放。郭旭琴^[31]研究表明温度调节因子是影响黄酮类化合物合成的首要因子,且与样品处理时间有很大关系。

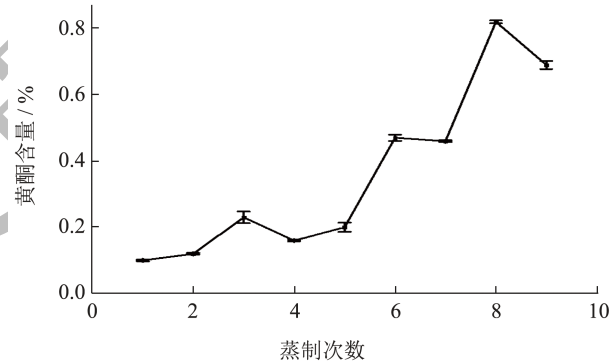


图 9 1~9 次蒸制黄精黄酮含量

Fig.9 Flavonoid content of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

2.10 抗氧化性与总酚、黄酮等的相关性分析

ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 ABTS⁺,并能在一定程度上抑制其生成。如图 10a 所示,蒸制次数越多,清除 ABTS⁺的能力越强,总抗氧化能力范围在 0.38~0.73 mmol/L。从一制到五制样品总抗氧化能力呈跨越式增长,五制之后总抗氧化能力趋于平缓,小幅度增长,在七制时抗氧化能力最强为 0.73 mmol/L。

DPPH 自由基与抗氧化剂发生反应,使其被还原成非自由基,可以通过吸光度变化范围来定量^[32]。如图 10b 所示,不同蒸制次数均有清除 DPPH 自由基的作用,且清除效率呈现显著性量效关系,即随

着蒸制次数的增加,对 DPPH 自由基清除的能力越强,清除率变化范围在 31.03%~81.95%,在八制时清除率达到最大为 81.95%。

FRAP 体现了抗氧化剂的还原性,利用单电子转移 (SET) 的原理^[33]。如图 10c 所示,经不同蒸制次数处理得到的黄精样品 FRAP 值,蒸制次数大体上与 FRAP 值呈现正相关关系,FRAP 结果变化范围为 0.25~1.97 mmol/L,在第七制时相较于前一制略有下降达到 1.18 mmol/L,在第八制时达到最大值为 1.97 mmol/L。

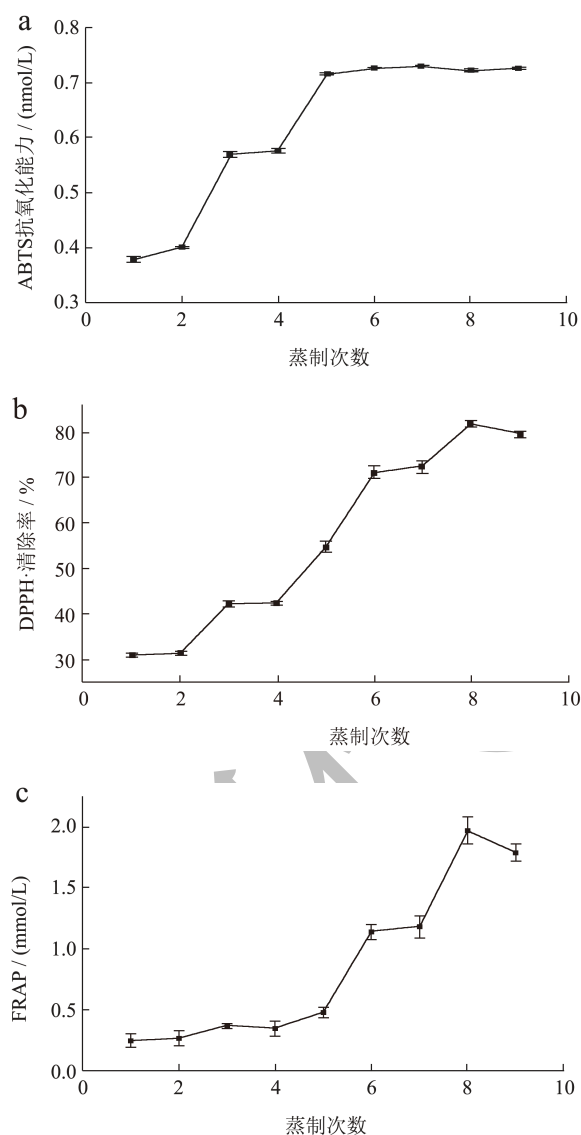


图 10 1~9 次蒸制黄精抗氧化活性

Fig.10 Antioxidant activity of *Polygonatum* steamed for 1~9 times

综上所述可以看出随着蒸制次数的增加,黄精中总酚与总黄酮含量成正相关,且其含量与抗氧化能力也呈正比,在 Tang 等^[17]和 Wang 等^[18]的研究中结论

相似。此外,已有研究显示,有研究表明黄精经过炮制后得到的类黑精成分具有较好的抗氧化性、抗自由基、补肾健脾的功效^[34]。

2.11 色谱-质谱分析

2.11.1 代谢物定量分析

2.11.1.1 QC 样本 TIC 总离子流图重叠分析

使用 Compound Discoverer 3.3 进行保留时间校正、峰识别、峰提取、峰积分、峰对齐等,并通过 Thermo mzCloud 在线数据库, Thermo mzValut 当地数据库, Chem Spider 数据库等来完成样品的鉴别对待测样品进行定量分析得出在正离子模式下共检测到 1 310 种代谢物;在负离子模式下共检测到 1 841 种代谢物。

质控样本 (QC) 是将样本提取物混合配制,以保证样品在同一工艺条件下的重现性,混样质控 QC 样本的总离子流图 (Total Ions Current, TIC),横坐标为代谢物检测的保留时间 (Retention Time, Rt),纵坐标为离子检测的离子流强度。图 11 依次为正、负离子模式下的质控样本 TIC 重叠图。发现不同时间下的 QC 样本 TIC 重叠效果比较好,说明机器的稳定性比较好。

2.11.1.2 主成分分析 (PCA)

通过观察质控样本间的离散度,可以得知仪器分析的稳定性和可靠性,所有样本的主成分分析结果如图 12 所示,分别为黄精一制样品与九制样品正、负离子模式下 PCA 分析图,累计 $R^2X > 0.5$,说明 PCA 模型拟合效果好,可用于数据主成分分析。质控样本 QC 组数据点较为集中,所有样品数据点均处于 95% 置信区内,一制样品与九制样品完全分离,差异性明显,且每组样品组内差异性小,说明仪器和方法稳定性和准确性较好。

2.11.2 多元统计分析

2.11.2.1 差异代谢物筛选

采取将差异倍数 (Fold Change) 和 P 值相结合的方法来筛选差异代谢物。代谢物在对照组和实验组中差异为 2 倍以上或 0.5 以下,则认为差异显著;VIP 值表示对应代谢物的组间差异在模型中各组样本分类判别中的影响强度。在上述的基础上,使用 t -Test 假设检验选取 P -value ≤ 0.05 ,表示显著性差异。

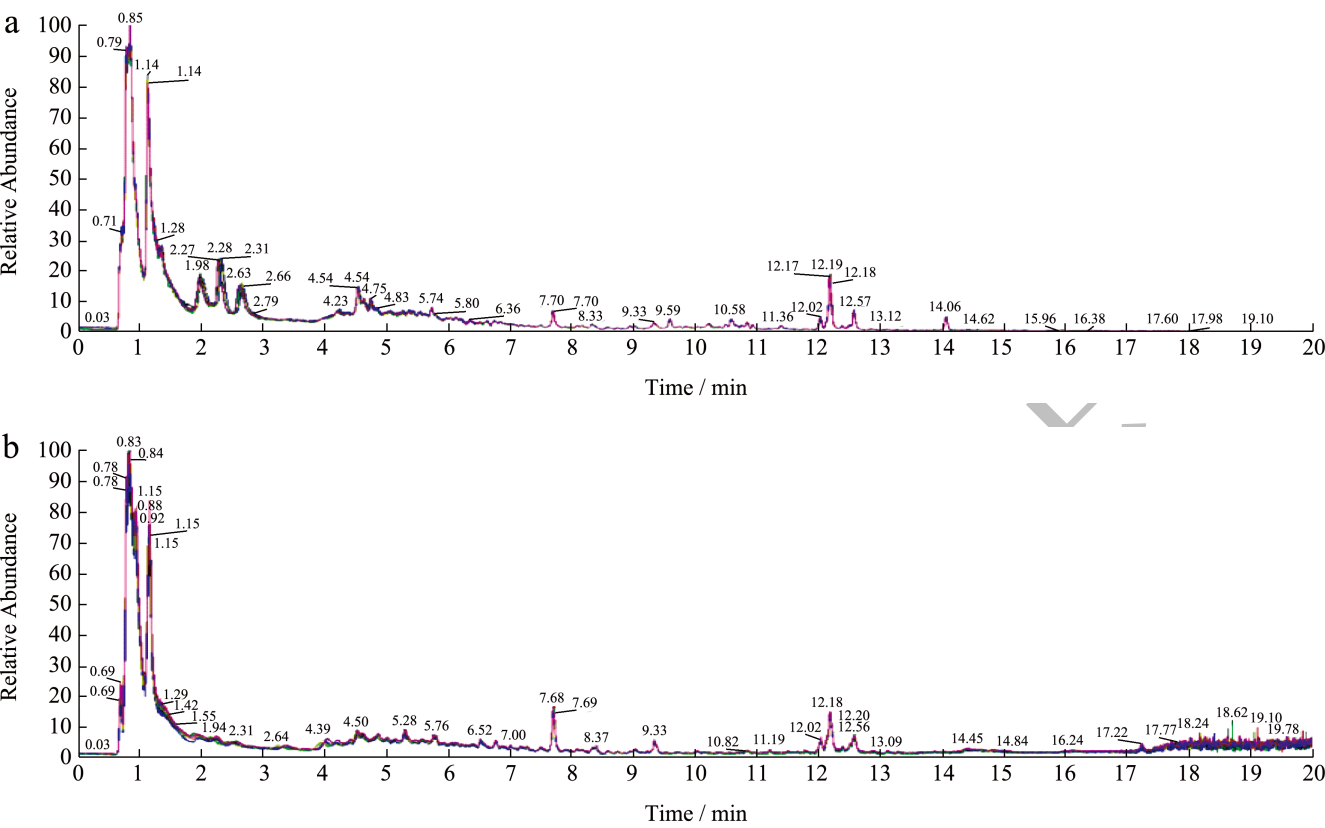


图 11 质控样本 TIC 重叠图

Fig.11 TIC overlap chart of QC samples

注：(a) 为正离子模式，(b) 为负离子模式。下图同。

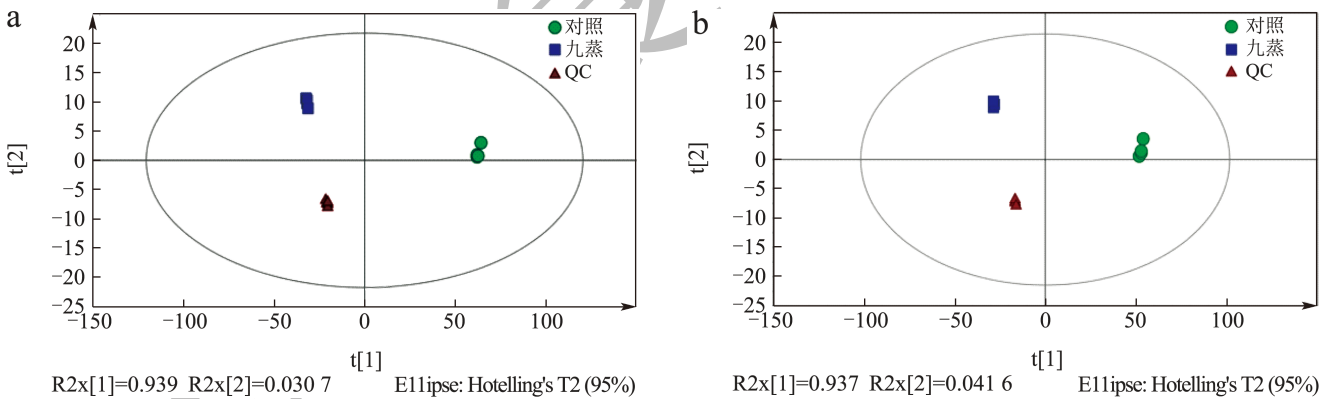


图 12 样本 PCA 分析图

Fig.12 PCA analysis chart of samples

利用火山图（Volcano Plot），可以迅速查看两组代谢物的表达水平和差异的统计学意义，从而更好地筛选出不同的代谢物。

火山图中每个点代表一个代谢物，横坐标代表该组对比各物质的倍数变化，纵坐标表示 student's *t* 检验的 *P*-value，散点大小代表 OPLS-DA 模型的 VIP 值，散点越大 VIP 值越大，所筛选出的差异表达代

谢物也就更可信。图 13 中绿色、红色、黑色点分别代表下调差异表达代谢物、上调差异表达代谢物和差异不显著的代谢物^[35]。

筛选得到差异代谢产物如下表 5、表 6 所示，在正离子模式下共有 176 个显著差异代谢物，其中有 5 个上调表达代谢物，分别为苯及其取代衍生物（1）、吡咯烷（1）、羧酸及其衍生物（2）、其它

类 (1), 171 个下调表达代谢物主要有羧酸及其衍生物 (44)、吡啶及其衍生物 (9)、苯及其取代衍生物 (8)、有机氮化合物 (8)、吡啶及其衍生物 (6)、有机氧化合物 (5)、其它类 (45) 等。负离子模式下共有 148 个显著差异代谢物, 其中有 15 个上调表达代谢物, 羧酸及其衍生物 (4)、苯及其取代衍生物 (2)、有机氧化合物 (2)、脂肪酰类 (1)、黄酮类化合物 (1)、吡咯烷 (1)、其它类 (4), 133 个下调表达代谢物主要有羧酸及其衍生物 (19)、有机氧化合物 (12)、苯及其取代衍生物 (7)、脂肪酰类 (5)、甘油磷脂 (3)、吡啶及其衍生物 (2)、黄酮类化合物 (2)、拟肽类 (2)、咪唑嘧啶类 (2)、肉桂酸及其衍生物 (2)、其它类 (63) 等。

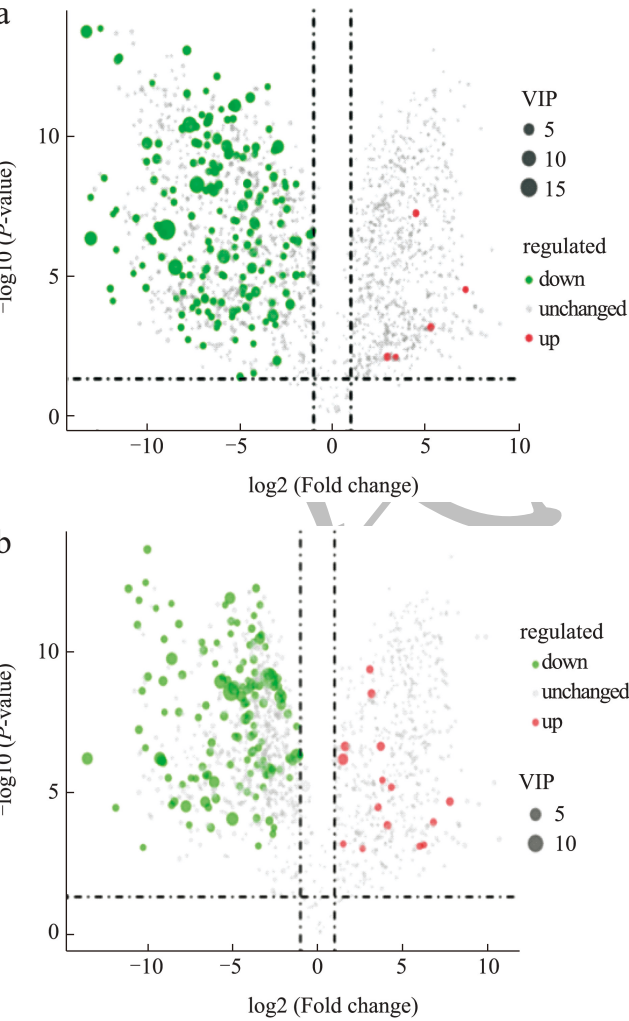


图 13 样本差异代谢物火山图

Fig.13 Volcanic plot of sample differential metabolites

表 5 正离子模式下差异代谢产物统计表

Table 5 Statistical table of metabolite quantity in positive ion mode

编号	分类	总数目	上调数目	下调数目
1	5'脱氧核糖核苷	1	0	1
2	苯并呋喃	2	0	2
3	苯及其取代衍生物	9	1	8
4	吡啶及其衍生物	9	0	9
5	吡咯烷	1	1	0
6	吡喃	1	0	1
7	氮杂环戊烷	1	0	1
8	恶嗪烷	1	0	1
9	恶烷	1	0	1
10	二氮杂萜	1	0	1
11	二恶烷	1	0	1
12	二嗪	1	0	1
13	二氢噻吩	1	0	1
14	甘油磷脂	3	0	3
15	核苷和核苷酸类似物	1	0	1
16	黄酮类化合物	1	0	1
17	喹啉及其衍生物	2	0	2
18	类固醇和类固醇衍生物	2	0	2
19	咪唑嘧啶类	3	0	3
20	萜类	2	0	2
21	哌啶	3	0	3
22	嘌呤核苷	2	0	2
23	嘌呤核苷酸	1	0	1
24	肉桂醛	1	0	1
25	肉桂酸及其衍生物	3	0	3
26	羧酸及其衍生物	46	2	44
27	酮酸及其衍生物	2	0	2
28	香豆素及其衍生物	1	0	1
29	亚磺酸及其衍生物	1	0	1
30	吡啶及其衍生物	6	0	6
31	有机氮化合物	8	0	8
32	有机二硫化物	1	0	1
33	有机磺酸及其衍生物	1	0	1
34	有机碳酸及其衍生物	1	0	1
35	有机氧化合物	5	0	5
36	孕烯醇酮脂类	1	0	1
37	脂肪酰类	3	0	3
38	其它	46	1	45

表 6 负离子模式下差异代谢产物统计表
Table 6 Statistical table of metabolite quantity in negative ion mode

编号	分类	总数目	上调数目	下调数目
1	羧酸及其衍生物	23	4	19
2	羟基酸及其衍生物	1	0	1
3	吡啶及其衍生物	2	0	2
4	苯及其取代衍生物	9	2	7
5	脂肪酰类	6	1	5
6	有机氧化合物	14	2	12
7	硫醚	1	0	1
8	黄酮类化合物	3	1	2
9	吲哚及其衍生物	1	0	1
10	甘油磷脂	3	0	3
11	喹啉及其衍生物	1	0	1
12	吡咯烷	1	1	0
13	单宁	1	0	1
14	有机硫酸及其衍生物	1	0	1
15	呋喃	1	0	1
16	蝶啶及其衍生物	1	0	1
17	二嗪	1	0	1
18	异喹啉及其衍生物	1	0	1
19	拟肽类	2	0	2
20	苯酚醚	1	0	1
21	孕烯醇酮脂类	1	0	1
22	咪唑啉啉类	2	0	2
23	嘌呤核苷	1	0	1
24	肉桂酸及其衍生物	2	0	2
25	吡咯	1	0	1
26	其它	67	4	63

表 7 组间差异代谢物数量统计表
Table 7 Statistical table of metabolite quantity between groups

离子模式	上调	下调	差异代谢物总数
正离子	5	171	176
负离子	15	133	148

2.11.2.2 聚类热图分析

聚类分析（Cluster Analysis）是对样品或指标进行分类的一种多元统计分析方法，通常能简单、直观的观察数据特征^[36,37]。图 14 中右侧区域代表表达量较高的差异代谢物，左侧区域代表表达量较低

的差异代谢物，通过进一步筛选对两组样本进行聚类分析，由图 14 所示对照组样品主要集中在右侧高表达区域，九制样品主要集中在左侧低表达区域，即对照组样品中差异代谢物含量远远高于九制样品。

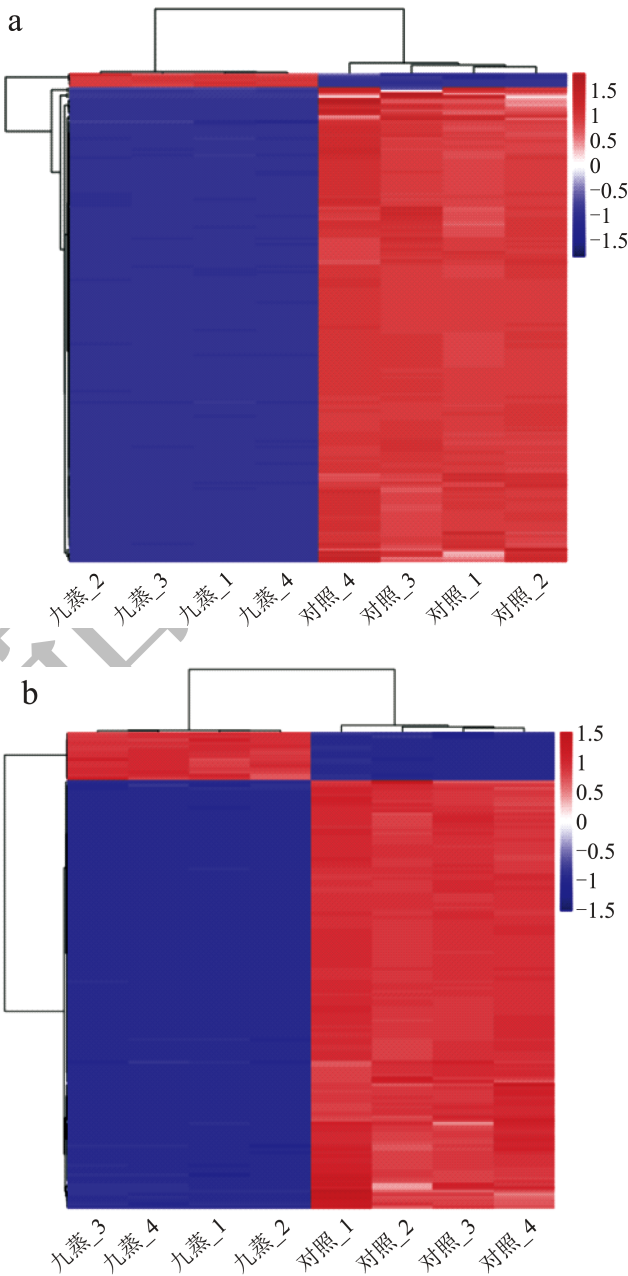


图 14 差异代谢物聚类热图

Fig.14 The clustering heat map of differential metabolities

2.11.3 代谢通路分析

2.11.3.1 差异代谢物 KEGG 功能注释

利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释，部分结果如表 8 所示。

表 8 样本差异代谢物KEGG功能注释正离子模式统计表

Table 8 Statistical table of KEGG pathway informtion of sample in positive ion mode

编号	通路 ID	通路描述	中文通路描述	代谢物数目
1	Ko00130	Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	泛醌和其他萜类化合物 - 醌生物合成	2
2	Ko00220	Arginine biosynthesis	精氨酸生物合成	2
3	Ko00230	Purine metabolism	嘌呤代谢	5
4	Ko00250	Alanine, aspartate and glutamate metabolism	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	2
5	Ko00270	Cysteine and methionine metabolism	半胱氨酸和蛋氨酸代谢	2
6	Ko00280	Valine, leucine and isoleucine degradation	缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	3
7	Ko00290	Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成	3
8	Ko00310	Lysine degradation	赖氨酸降解	3
9	Ko00330	Arginine and proline metabolism	精氨酸和脯氨酸代谢	4
10	Ko00340	Histidine metabolism	组氨酸代谢	1
11	Ko00350	Tyrosine metabolism	酪氨酸代谢	2
12	Ko00360	Phenylalanine metabolism	苯丙氨酸代谢	2
13	Ko00400	Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成	2
14	Ko00460	Cyanoamino acid metabolism	氰基氨基酸代谢	4
15	Ko00480	Glutathione metabolism	谷胱甘肽代谢	1
16	Ko00564	Glycerophospholipid metabolism	甘油磷脂代谢	2
17	Ko00600	Sphingolipid metabolism	鞘脂代谢	1
18	Ko00650	Butanoate metabolism	丁酸代谢	1
19	Ko00750	Vitamin B6 metabolism	维生素 B6 代谢	1
20	Ko00760	Nicotinate and nicotinamide metabolism	烟酸盐和烟酰胺代谢	3
21	Ko00770	Pantothenate and CoA biosynthesis	泛酸和辅酶 A 生物合成	1
22	Ko00908	Zeatin biosynthesis	玉米素生物合成	3
23	Ko00940	Phenylpropanoid biosynthesis	苯丙烷类生物合成	2
24	Ko00941	Flavonoid biosynthesis	类黄酮生物合成	1
25	Ko00950	Isoquinoline alkaloid biosynthesis	异喹啉生物碱生物合成	2
26	Ko00960	Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	托烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成	6
27	Ko00965	Betalain biosynthesis	甜菜碱生物合成	1
28	Ko00966	Glucosinolate biosynthesis	芥子油苷生物合成	5
29	Ko00970	Aminoacyl-tRNA biosynthesis	氨酰生物合成	8

表 9 样本差异代谢物KEGG功能注释负离子模式统计表

Table 9 Statistical table of KEGG pathway informtion of sample in negative ion mode

编号	通路 ID	通路描述	中文通路描述	代谢物数目
1	Ko00020	Citrate cycle (TCA cycle)	柠檬酸盐循环 (TCA 循环)	1
2	Ko00030	Pentose phosphate pathway	磷酸戊糖途径	2
3	Ko00052	Galactose metabolism	半乳糖代谢	2
4	Ko00220	Arginine biosynthesis	精氨酸生物合成	3
5	Ko00230	Purine metabolism	嘌呤代谢	2
6	Ko00240	Pyrimidine metabolism	嘧啶代谢	1
7	Ko00250	Alanine, aspartate and glutamate metabolism	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	3
8	Ko00330	Arginine and proline metabolism	精氨酸和脯氨酸代谢	2
9	Ko00340	Histidine metabolism	组氨酸代谢	2
10	Ko00350	Tyrosine metabolism	酪氨酸代谢	1
11	Ko00360	Phenylalanine metabolism	苯丙氨酸代谢	2
12	Ko00400	Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成	2
13	Ko00460	Cyanoamino acid metabolism	氰基氨基酸代谢	1
14	Ko00480	Glutathione metabolism	谷胱甘肽代谢	1
15	Ko00500	Starch and sucrose metabolism	淀粉和蔗糖的代谢	1
16	Ko00630	Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	乙醛酸和二羧酸代谢	4
17	Ko00650	Butanoate metabolism	丁酸代谢	1
18	Ko00740	Riboflavin metabolism	核黄素代谢	1
19	Ko00910	Nitrogen metabolism	氮代谢	2
20	Ko00940	Phenylpropanoid biosynthesis	苯丙烷类生物合成	1
21	Ko00950	Isoquinoline alkaloid biosynthesis	异喹啉生物碱生物合成	1
22	Ko00960	Tropane, piperidine and pyridine alkaloid biosynthesis	托烷、哌啶和吡啶生物碱生物合成	1
23	Ko00965	Betalain biosynthesis	甜菜碱生物合成	1
24	Ko00966	Glucosinolate biosynthesis	芥子油苷生物合成	1
25	Ko00970	Aminoacyl-tRNA biosynthesis	氨酰生物合成	5

2.11.3.2 差异代谢物富集分析

根据注释结果，利用 Metabo Analyst R 进行 KEGG 通路富集^[38,39]，结果展示如下：其中正离子模式下差异代谢物共有 29 条通路（表 8），在筛选出来的 176 个显著差异代谢物中被 KEGG 注释到的有 75 个，且全部显著下调，主要分布在 30 条代谢途径中（图 15a）。负离子模式下差异代谢物共有 25 条通路

（表 9），在筛选出来的 148 个显著差异代谢物中被 KEGG 注释到的有 44 个，其中 43 个显著下调，1 个显著上调（苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成：预酪氨酸），主要分布在 26 条代谢途径中（图 15b）。图中 Fold enrichment 值越大表示富集程度越大，P-value 值其越接近于 0，表示富集越显著，图中点的大小代表富集到相应通路上的差异显著代谢物个数。

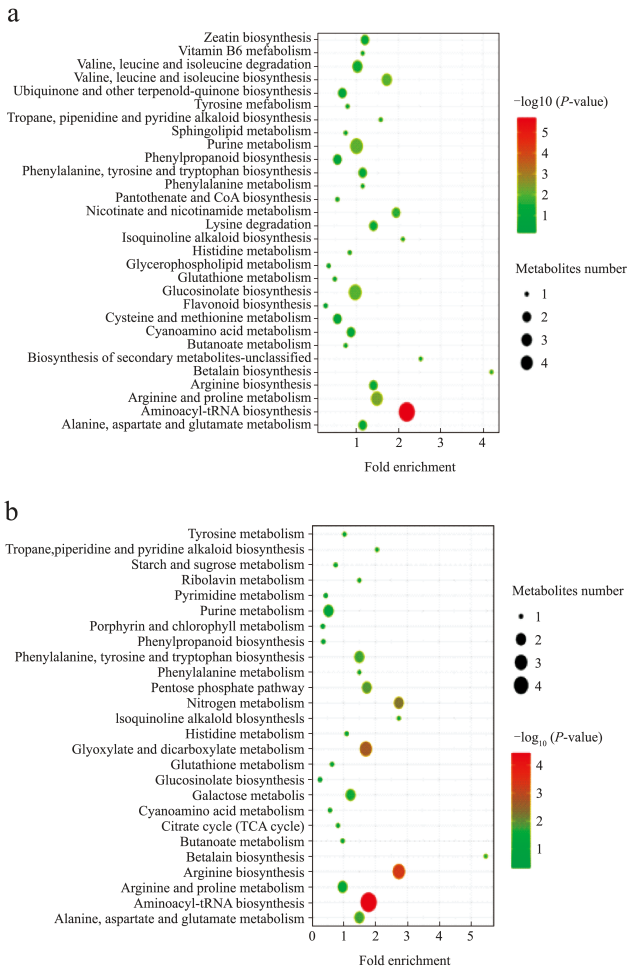


图 15 样本差异代谢物 KEGG 富集图

Fig.15 KEGG enrichment analysis of differentially expressed metabolites sample

3 结论

结果表明随着蒸制次数增加，黄精外观颜色由浅黄色转变为黑褐色，质地柔韧，麻舌感逐渐消失，多糖含量减少，还原糖、总酚、黄酮等成分富集含量增加，抗氧化活性增强，多糖分子量发生变化，改变单糖组成比例，果糖、葡萄糖含量逐渐增加，蔗糖水解，经过九次蒸制后黄精水提液呈现弱酸性 pH 值由 5.26 下降到 4.03。这可能是由于高温高湿条件下，发生 Maillard 和焦糖化反应，引起糖的异构化和降解，使其在炮制过程中多糖和还原糖发生转化分解作用，产生的甲酸和乙酸等物质使水提液酸性增强，且该反应涉及羰基化合物和氨基化合物间反应，对黄精色泽和风味产生决定性作用。

采用 LF-NMR 分析黄精水分迁移状况，蒸制后的黄精水分形态主要以结合水形式存在，以氢键形式与蛋白质分子紧密结合，蒸制时间越长水分与大分子物质结合越紧密，并于 6、7 制时水分相态趋于稳定，

选取一制和九制黄精进行全面代谢组学分析，结果发现，用 PCA 和 OPLS-DA 均可显著区分两组样品差异性。筛选其差异代谢物发现苯及其取代衍生物、吡啶及其衍生物、羧酸及其衍生物、有机氮化合物、有机氧化合物、脂肪酰类等物质差异性较为显著，为黄精活性成分的筛选与品质评价奠定了基础。

根据黄精蒸制色泽、风味、水分含量、还原糖等指标发现鸡头黄精蒸制次数达到第 7 次即可达到最佳，由于炮制方法不同，对黄精最佳蒸次也不尽相同。本文针对湖北四年生鸡头黄精进行代谢组学分析，对其他不同产地、品种、生长年限黄精蒸制前后差异代谢物是否不同及其炮制过程中有效成分含量的变化与其功效性是否存在相关性有待实验验证。本研究对鸡头黄精进行炮制处理，为黄精最佳功效蒸制次数提供新思路，为研究鸡头黄精炮制工艺、作用机制具有参考性意义。

参考文献

[1] 涂明锋,叶文峰,彭靖,等.不同产地多花黄精化学成分含量比较分析[J].安徽农业科学,2020,48(8):198-200.

[2] 钱华丽,赵琪,徐哲,等.不同产地黄精的皂苷和多糖含量[J].贵州农业科学,2022,50(3):96-102.

[3] 刘怡菲.不同干燥方式对黄精生理生化指标的影响[J].吉林林业科技,2019,48(4):11-14.

[4] 王天梅,王华磊,李丹丹,等.不同炮制处理对多花黄精有效成分含量的影响[J].时珍国医国药,2022,33(4):866-869.

[5] 鲁苗.黄精“九蒸九晒”炮制对活性成分的影响研究[J].绿色科技,2020,18:182-183,186.

[6] 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.

[7] QI L, HUANG X J, LV S Y, et al. Carotenoid profiling of red navel orange “Cara Cara”harvested from five regions in China [J]. Food Chemistry, 2017, 232: 788-798.

[8] 吴丰鹏,李芹英,吴彦超,等.九蒸九制对黄精多糖单糖组成及其抗氧化性的影响[J].食品工业科技,2021, 42(2):42-46.

[9] WU Y X, XU L S, YIN Z Y, et al. Transcription factor VmSeb1 is required for the growth, development, and virulence in *Valsa mali* [J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 123: 132-138.

[10] 陈瑞瑞,祖艳红,石丁夫,等.多花黄精从生粉到九蒸九晒过程中多糖的变化[J].安徽农业科学,2019,47(18):181-182.

[11] LU Q, LV S Y , PENG Y, et al. Characterization of phenolics and antioxidant abilities of red navel orange “Cara Cara” harvested from five regions of China [J]. International Journal of Food Properties, 2018, 21(1): 1107-1116.

[12] 钱森和,金浩然,魏明,等.响应面法优化黄精黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J].安徽工程大学学报,2017,

- 32(4):8-13,25.
- [13] LUO J G, LI L, KONG L Y. Preparative separation of phenylpropenoid glycerides from the bulbs of *Lilium lancifolium* by high-speed counter-current chromatography and evaluation of their antioxidant activities [J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 1056-1062.
- [14] ZHANG D Y, LUO M, WANG W, et al. Variation of active constituents and antioxidant activity in pyrola (*P. Incarnata* Fisch.) from different sites in Northeast China [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2213-2219.
- [15] ZHAO P, DUAN L, GUO L, et al. Chemical and biological comparison of the fruit extracts of *Citrus wilsonii* Tanaka and *Citrus medica* L [J]. Food Chemistry, 2015, 173: 54-60.
- [16] 王若男,钱程,郑鹏,等.黄精发酵液制备工艺优化及其抗氧化活性分析[J].中国酿造,2022,41(5):153-158.
- [17] TANG Y, LI X H, ZHANG B, et al. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 380-388.
- [18] WANG Q, REHMEN M, PENG D X, et al. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity of leaf extracts from ten ramie cultivars [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 122: 430-437.
- [19] 张帆.九蒸九制过程中黄精感官品质形成规律及主要活性物质变化研究[D].南宁:广西大学,2022.
- [20] JIN J, LAO J, ZHOU R, et al. Simultaneous identification and dynamic analysis of saccharides during steam processing of rhizomes of *polygonatum cyrtoneura* by HPLC(-)QTOF(-)MS/MS [J]. Molecules, 2018, 23(11): 2855.
- [21] FENG Y B, YU X J, YAGOUBA E, et al. Vacuum pretreatment coupled to ultrasound assisted osmotic dehydration as a novel method for garlic slices dehydration [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 50: 363-372.
- [22] LV C, TIAN H F, ZHANG X, et al. LF-NMR analysis of the water mobility, state and distribution in sorbitol plasticized polyvinyl alcohol films [J]. Polymer Testing, 2018, 70: 67-72.
- [23] 李芷芊,李占明,吴雨凌,等.微波一步固化脱水多花黄精切片的植物化学成分、水分状态及形态研究[J].中国果菜, 2021,41(6):80-87.
- [24] 马灵珍,沈嘉慧.九蒸九制熟地黄内还原糖变化规律研究[J].辽宁中医药大学学报,2018,20(8):59-62.
- [25] 单佳乐.黄精炮制工艺和质量标准的研究[D].吉林:吉林化工学院,2022.
- [26] 常亮,陈珍珍,吴毅,等.HPLC-ELSD法测定黄精炮制过程中四种糖的含量[J].中国现代中药,2016,18(12):1653-1656,1665.
- [27] 詹慧慧,姚方程,易斌,等.基于糖类成分探究黄精炮制前后差异[J].中草药,2022,53(9):2687-2696.
- [28] LIU Z, XIA J, WANG C Z, et al. Remarkable impact of acidic ginsenosides and organic acids on ginsenoside transformation from fresh ginseng to red ginseng [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(26): 5389-5399.
- [29] RUFIAN HENARES J A, DELGADO-ANDRADE C, MORALES F J. Occurrence of acetic acid and formic acid in breakfast cereals [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(9): 1321-1327.
- [30] 张中义,张攀攀,张品峰.高温发酵和蒸汽处理对大蒜抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2014,35(13):53-56.
- [31] 郭旭琴.温度和水分对银杏叶黄酮合成的影响[D].南京:南京林业大学,2012.
- [32] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等.DPPH法评价抗氧化活性研究进展[J].食品科学,2014,35(9):317-322.
- [33] 卢琪,薛淑静,杨德,等.不同加工方式对大球盖菇水提液挥发性风味成分和抗氧化能力的影响[J].食品工业科技, 2021,42(23):41-48.
- [34] 吴良发,宁火华,岳翊熠,等.正交设计研究黄精炮制中美拉德反应产物的抗氧化活性[J].中国药师,2015,18 (6):916-919.
- [35] CHEN R J, ZENG Y, XIAO W B, et al. LC-MS-Based untargeted metabolomics reveals early biomarkers in STZ-Induced diabetic rats with cognitive impairment [J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 665309.
- [36] GARCIA ANTONIA, BARBAS CORAL. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)-based metabolomics [J]. Humana Press 2011, 708: 191-204.
- [37] THÉVENOT ETIENNE A, ROUX AURELIE, XU YING, et al. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses [J]. Journal of Proteome Research, 2015, 14(8): 3322-3335.
- [38] CHEN W, GONG L, GUO Z L, et al. A novel integrated method for Large-Scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: Application in the study of rice metabolomics [J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [39] CHONG J, XIA J G. Metabo Analyst R: An R package for flexible and reproducible analysis of metabolomics data [J]. Bioinformatics, 2018, 34(24): 4313-4314.