

## 黄精炮制二氯甲烷组分 Maillard 反应产物及抗氧化活性研究

王 淳, 宋志前, 宁张弛, 梁东蕊, 马新玲, 万晓莹, 刘振丽\*

中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700

**摘要:** 目的 研究黄精炮制二氯甲烷组分 Maillard 反应产物及抗氧化活性。方法 以《中国药典》2015 年版收载的 3 个品种黄精为研究对象制备酒黄精。采用 UV-Vis 法和 pH 计测定褐变程度和酸度, GC-MS 法分析 Maillard 反应产物, 以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 法评价抗氧化活性。**结果** 随炮制时间延长酒黄精二氯甲烷组分在 280 nm 吸光度值逐渐增加, pH 值降低; 3 个品种黄精炮制 16 h 后呈现相同的 280 nm 吸光度和酸度变化趋势, 显示 Maillard 反应物理化学特征。GC-MS 分析检测到酒黄精中 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮、5-羟甲基糠醛等特征性 Maillard 反应产物。DPPH 自由基清除活性显示, 随着炮制时间的延长抗氧化活性增强, 至 16 h 达到最高随后趋于稳定。**结论** 黄精炮制产生特征性 Maillard 反应产物, 抗氧化活性增强。

**关键词:** 黄精; 炮制; GC-MS; Maillard 反应产物; 抗氧化活性; 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮; 5-羟甲基糠醛  
**中图分类号:** R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)03-0604-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.03.011

## Comparative analysis of Maillard reaction products and anti-oxidant activity of dichloromethane extraction from *Polygonati Rhizoma* after processing

WANG Chun, SONG Zhi-qian, NING Zhang-chi, LIANG Dong-rui, MA Xin-ling, WAN Xiao-ying, LIU Zhen-li  
Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To investigate the Maillard reaction products and anti-oxidant activity of dichloromethane extraction from *Polygonati Rhizoma* (PR) after processing. **Methods** Three species of PR were prepared by different processing time according to the preparation process of *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. The colour changes of Maillard reaction characteristics during the processing of PR were detected by UV-Vis; The pH changes were detected by pH detector; GC-MS was used to analyze the change of Maillard reaction products (MRPs); DPPH radical scavenging activity was used as the evaluation index of anti-oxidant activity. **Results** With the increase of processing time, the MRPs and Browning degree increased, the pH value decreased, and the anti-oxidant activity increased. After processing for 16 h, three species of PR had the same change, showing the characteristics of Maillard reaction. GC-MS analysis detected multiple characteristic MRPs, including 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one and 5-hydroxymethylfurfural. The DPPH radical scavenging activities of three species of PR were significantly increased after processing for 16 h. **Conclusion** During the processing, PR have the characteristic products in Maillard reaction, and with the extension of processing time, the anti-oxidant activity increases regularly. These provide a basis for the material basic research of PR. **Key words:** *Polygonati Rhizoma*; processing; GC-MS; Maillard reaction; anti-oxidant activity; 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one; 5-hydroxymethylfurfural

黄精为百合科黄精属植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *P. sibiricum* Red. 或多花黄精 *P. cyrtoneuma* Hua 的干燥根茎。具有补气养阴、健脾、润肺、益肾的功效<sup>[1]</sup>。黄精主要成分有多糖、甾体皂苷、蒽醌、黄酮及氨基酸类等。以

其炮制品酒黄精用于临床,通过炮制以消除其麻味,减轻对咽喉的刺激,并增强补脾润肺、益肾作用<sup>[2]</sup>。黄精采用蒸法炮制,药材本身含有大量的糖类和氨基酸类成分,笔者在前期研究中,在酒黄精薄层色谱中检识到 Maillard 反应标志性产物 5-羟甲基糠

收稿日期: 2018-10-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81603294)

作者简介: 王 淳 (1981—), 女, 博士, 中药化学专业。E-mail: chuner-2006@hotmail.com

\*通信作者 刘振丽, 研究员, 博士生导师, 中药质量标准研究。Tel: (010)64089020 E-mail: zhenli\_liu@sina.com

醛<sup>[3]</sup>, 提示黄精炮制过程可能发生 Maillard 反应。

Maillard 反应是指氨基化合物和羰基化合物之间发生的非酶促反应<sup>[4]</sup>, 反应过程非常复杂, 会产生不同结构的小分子和大分子的 Maillard 反应产物 (MRPs)<sup>[5]</sup>。反应伴随物理化学特征如颜色变化<sup>[6]</sup>和 pH 值降低<sup>[7]</sup>。反应体系颜色的变化常采用 UV-vis 法分析, 通过 280 nm 吸光度值表征产物特征<sup>[8-9]</sup>。随着 MRPs 的生成反应体系酸度降低, 因此 pH 检测也是确定 Maillard 反应发生的重要指标。GC-MS 法是最常用的分析 MRPs 小分子化合物的方法<sup>[10]</sup>。研究表明, MRPs 具有抗氧化活性, 通常使用比色法检测 MRPs 对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基的清除率, 以表征其抗氧化活性<sup>[11]</sup>。

目前《中国药典》2015 年版中黄精和酒黄精均采用苯酚硫酸法测定多糖含量作为质量控制指标, 特异性不足。同时, 黄精炮制缺乏规范性, 全国各地黄精炮制时间不等<sup>[12-14]</sup>。本实验从黄精酒炙过程中 Maillard 反应物理化学特征、小分子 MRPs 以及抗氧化活性角度, 确定黄精酒炙发生 Maillard 反应, 并对反应产物和抗氧化活性随炮制过程的变化进行分析, 寻找黄精与酒黄精差异性成分, 以期黄精与酒黄精质量评价方法和炮制规范提供基础。

## 1 仪器与材料

Agilent 8453 紫外可见分光光度计, 美国 Agilent 公司; GC-MS-QP2010 型气相-质谱联用仪, 日本岛津公司; Rxi-5ms 石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 美国 Restek 公司; 3520 型便携式酸度计, 英国 Jenway 公司; FW-80 微型高速万能试样粉碎机, 天津市泰斯特仪器有限公司; TCQ-250 超声波清洗器, 北京医疗设备二厂; CP225D 电子天平, 220 g/0.01 mg, 德国 Sartorius 公司; 超纯水系统, 美国 Thermo Scientific 公司。

C<sub>8</sub>~C<sub>20</sub> 正构烷烃混合标准品购自美国 Sigma 公司, 批号 1443129; 氦气购自北京兆格气体科技有限公司; 二氯甲烷, 分析纯。绍兴黄酒, 瓜渚湖黄酒, 绍兴县第三酒厂, 2010.11.20 生产; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH), 美国 Sigma 公司; 还原型谷胱甘肽 (批号 140706-200702, 质量分数为 98.9%) 对照品为含量测定用, 购自中国食品药品检定研究院; 其他试剂均为分析纯。3 个品种的黄精鲜品均采自贵州省黔西南布依族苗族自治州兴仁县, 经北京中医药大学中药学院刘春生教授鉴定, 分别为百合科植物滇黄精 *Polygonatum kingium*

Coll. et Hemsl.、黄精 *P. sibiricum* Red. 和多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua 的根茎, 晒干。

## 2 方法与结果

### 2.1 炮制品制备<sup>[1]</sup>

黄精除去杂质, 洗净, 略润, 切厚片 (2~4 mm), 烘箱 50 °C 吹风干燥, 即得。

酒黄精为取上述黄精饮片, 加黄酒 (100 kg 黄精用黄酒 20 kg), 拌匀, 闷润过夜至酒吸尽, 置适宜容器内, 隔水加热, 分别炖至不同时间取出, 干燥, 即得。

### 2.2 供试品溶液的制备

取各供试品粉末 (过 60 目筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入二氯甲烷 100 mL, 称定质量, 30 °C 以下超声处理 (功率 250 W, 频率 30 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用二氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 得到二氯甲烷组分。根据各项分析需要, 适当稀释或浓缩。

### 2.3 紫外-可见光吸光度测定

**2.3.1 黄精吸光度随炮制不同时间的变化** 以多花黄精为研究对象, 对不同炮制时间黄精二氯甲烷组分的紫外吸收光谱变化进行研究。取供试品溶液, 以溶剂为空白, 在紫外区 200~400 nm 扫描, 最大吸收波长 280 nm 处测吸光度 ( $A_{280}$ ) 值结果见表 1。结果显示, 多花黄精二氯甲烷组分  $A_{280}$  随炮制时间的延长而增加。

**2.3.2 不同品种黄精  $A$  值变化** 全国各地黄精炮制时间为 12~24 h<sup>[12-14]</sup>, 因此对《中国药典》2015 年版收载 3 个品种滇黄精、黄精及多花黄精炮制相同时间 (16 h), 得到不同品种酒黄精, 测定二氯甲烷组分  $A_{280}$ , 结果见表 2。结果显示, 《中国药典》2015 年版收载的 3 个品种黄精经炮制 16 h 后,  $A_{280}$  都增

表 1 多花黄精及其酒黄精  $A_{280}$  随炮制时间的变化  
Table 1  $A_{280}$  changes of *Polygonati Rhizoma* (PR) and processed PR with processing time

样品	$A_{280}$	倍数
黄精	0.230	
酒黄精 4 h	0.252	1.1
酒黄精 8 h	0.310	1.3
酒黄精 16 h	0.626	2.7
酒黄精 24 h	1.060	4.6
酒黄精 32 h	2.841	12.4

倍数 =  $A_{\text{酒黄精}}/A_{\text{黄精}}$ , 下同

Fold =  $A_{\text{processed PR}}/A_{\text{PR}}$ , same as below

表 2 不同品种黄精炮制前后  $A_{280}$  变化

Table 2  $A_{280}$  changes before and after processing of different varieties of PR

品种	名称	$A_{280}$	倍数
滇黄精	黄精	0.074	1.6
	酒黄精	0.121	
黄精	黄精	0.136	15.7
	酒黄精	2.136	
多花黄精	黄精	0.230	2.7
	酒黄精	0.626	

加, 显示 Maillard 反应特征, 但各品种增加的幅度不同。来源于滇黄精、黄精和多花黄精的黄精, 炮制 16 h 得到的酒黄精  $A_{280}$  分别是生品的 1.6、15.7、2.7 倍。显示各品种黄精存在一定的成分差异。

### 2.4 pH 值变化

**2.4.1** 黄精炮制不同时间二氯甲烷组分 pH 值变化 采用酸度计测定不同炮制时间多花黄精二氯甲烷组分 pH 值, 精确至  $\pm 0.01$ , 结果见图 1。随着炮制时间的延长, 多花黄精二氯甲烷组分 pH 值呈降低的趋势, 由生品的 4.66, 降至 16 h 时最低的 3.43, 随后变化缓慢。

**2.4.2** 不同品种黄精炮制相同时间后二氯甲烷组分 pH 值变化 以来源于滇黄精、黄精及多花黄精的样品为研究对象, 对这 3 个品种黄精炮制相同时间 (16 h) 酒黄精二氯甲烷组分的 pH 值变化进行了研究。表 3 显示, 3 个品种黄精炮制 16 h 得到的酒黄精, 二氯甲烷组分 pH 值与生品比较都呈现酸性变化趋势。但各品种变化程度不同, 多花黄精变化幅度最大, 显示品种之间存在成分差异。

### 2.5 GC-MS 法分析黄精小分子 MRPs

#### 2.5.1 GC-MS 色谱条件

(1) 气相色谱条件: Restek Rxi-5ms 石英毛细

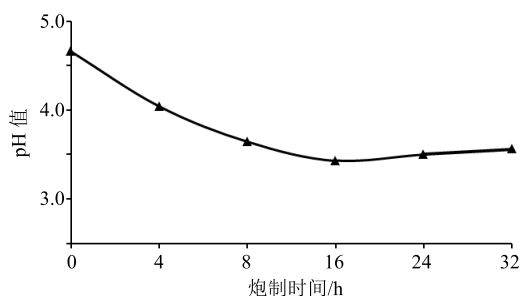


图 1 多花黄精不同炮制时间酒黄精二氯甲烷组分的 pH 值变化

Fig. 1 Changes of pH values of three species of PR with different processing time

表 3 3 个品种黄精及其 16 h 酒黄精二氯甲烷组分 pH 值变化  
Table 3 Changes of pH values of three species of PR and its processed products

品种	名称	pH 值	变化量
滇黄精	黄精	3.90	-0.17
	酒黄精	3.73	
黄精	黄精	3.96	-0.21
	酒黄精	3.75	
多花黄精	黄精	4.12	-1.02
	酒黄精	3.10	

$$\text{变化量} = \text{pH}_{\text{酒黄精}} - \text{pH}_{\text{黄精}}$$

$$\text{variation} = \text{pH}_{\text{processed PR}} - \text{pH}_{\text{PR}}$$

管柱 (30 m  $\times$  0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ); 进样口温度为 220  $^{\circ}\text{C}$ ; 程序升温: 起始温度为 41  $^{\circ}\text{C}$ , 以 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 160  $^{\circ}\text{C}$ , 保留 1 min, 再以 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 250  $^{\circ}\text{C}$ , 保留 2 min, 再以 8  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 300  $^{\circ}\text{C}$ , 再保留 8 min; 进样量为 4  $\mu\text{L}$ , 分流比为 1 : 20, 载气为氦气。

(2) 质谱条件: 电离方式为 EI, 离子源温度 200  $^{\circ}\text{C}$ , 接口温度为 220  $^{\circ}\text{C}$ , 电子能量 70 eV, 电离电压 1 760 V, 质量扫描范围  $m/z$  45~550。按上述气相及质谱条件对供试品分析, 得其总离子流图, 见图 2。

**2.5.2 GC-MS 分析** 对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到各组分的质谱图, 经过质谱计算机数据检索系统 (质谱数据库 NIST05.LIB、NIST05s.LIB、NIST08.LIB、NIST08s.LIB 和 Wiley9.LIB) 仅计算匹配度大于 80% 的鉴定结果, 同时参考  $\text{C}_8 \sim \text{C}_{20}$  正构烷烃混合标准品在此实验条件下的保留指数 (retention index, RI) [15], 用峰面积归一化法计算样品中各组分的相对质量分数, 从而确定黄精和

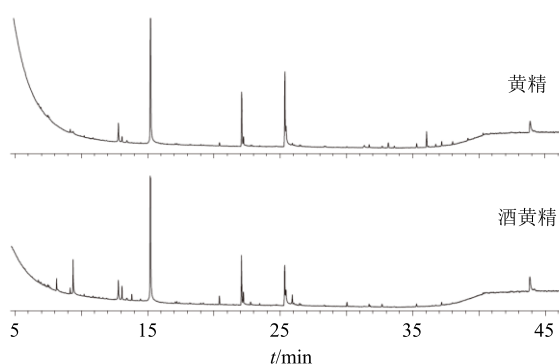


图 2 黄精及酒黄精 GC-MS 总离子流图

Fig. 2 GC-MS total ion chromatogram of PR and processed PR

不同炮制时间酒黄精中的化学成分以及各化学成分相对质量分数。从黄精与 4、8、16、24、32 h 酒黄精中，分别鉴定出 15、17、18、18、25、22 个化合物。这些化合物为杂环类、酸类、酯类、烷烃类、醇类、酮类和烯烃类等。黄精与不同炮制时间酒黄

精共同含有 12 个化合物。5 个不同炮制时间酒黄精共新产生了 15 个化合物（表 4），其中 4、8、16、24、32 h 酒黄精分别有 5、6、6、13、10 个。依据成分含量随炮制时间的变化趋势可分为 3 类：第 1 类成分随着炮制时间的延长含量呈现增加趋势的化

表 4 炮制不同时间酒黄精新产生的成分及相对质量分数

Table 4 New products and its relative percentages of PR at different processing time

编号	成分名称	RI	相对质量分数/%					
			生品	4 h	8 h	16 h	24 h	32 h
1	5-甲基-2(5H)-呋喃酮	948	—	—	—	—	0.19	—
2	正己酸	987	—	—	—	—	0.19	15.58
3	3-羟基二氢-2(3H)-呋喃酮	1 002	—	—	—	—	0.10	4.20
4	呋喃基羟甲基甲酮	1 099	—	—	—	—	0.74	—
5	2-呋喃甲酸甲酯	1 100	—	—	—	—	—	0.24
6	3-甲基丁基甲酸酯	1 105	—	—	—	—	0.31	—
7	3,5-二羟基-6-甲基-2,3-二氢-4H-吡喃-4-酮	1 159	—	—	1.54	3.32	3.98	1.54
8	4-羟基二氢-2(3H)-呋喃酮	1 166	—	—	—	—	0.29	0.37
9	5-(羟甲基)二氢-2(3H)-呋喃酮	1 200	—	—	—	—	0.24	—
10	5-羟甲基糠醛	1 240	—	0.88	1.75	13.17	23.32	25.39
11	4-甲基-2,6-二叔丁基苯酚	1 531	—	2.34	3.56	1.77	1.29	1.31
12	乙基邻苯二甲酸酯	2 003	—	0.80	1.17	1.00	1.07	0.74
13	乙基亚油酸酯	2 166	—	2.22	4.17	3.04	3.46	2.76
14	2-乙基己基草酸己酯	2 378	—	1.08	2.48	1.72	0.12	—
15	己二酸双(2-乙基己基)酯	2 378	—	—	—	—	—	1.50

—未检测到

—not detected

合物有 4 个，包括正己酸、3-羟基二氢-2(3H)-呋喃酮、4-羟基二氢-2(3H)-呋喃酮和 5-羟甲基糠醛；第 2 类成分先升高后下降的化合物为 3,5-二羟基-6-甲基-2,3-二氢-4H-吡喃-4-酮、4-甲基-2,6-二叔丁基苯酚和 2-乙基己基草酸己酯；第 3 类成分呈现起伏变化，为乙基邻苯二甲酸酯、乙基亚油酸酯和 2-乙基己基草酸己酯。

### 2.6 黄精炮制前后二氯甲烷组分的抗氧化活性变化

参考文献方法<sup>[16]</sup>，采用无水乙醇配制 DPPH 0.1 mmol/L 溶液，避光保存。取适量供试品溶液 2 mL 加入具塞试管中，加入 DPPH 溶液 2 mL，摇匀，密闭放置 30 min 后，以 80%乙醇溶液为空白，在 517 nm 处测定其吸光度 ( $A_2$ )；取供试品溶液 2 mL 加入具塞试管中，加入 80%乙醇溶液 2 mL，摇匀，密闭放置 30 min 后，测定其吸光度 ( $A_0$ )；取 80%乙醇溶液 2 mL 加入具塞试管中，加入 DPPH 溶液 2 mL，摇匀，密闭放置 30 min 后，测定其吸光度 ( $A_1$ )；

按照清除率 =  $1 - (A_2 - A_0) / A_1$  计算清除率，清除率越大，抗氧化能力越强。

相同生药质量浓度 (40 mg/mL) 的多花黄精及不同炮制时间的酒黄精 DPPH 自由基清除率结果 (图 3) 显示，随着炮制时间的延长，二氯甲烷组分 DPPH 自由基清除率呈递增趋势，黄精清除率为 33.31%，炮制至 16 h 达到最高为 67.21%，随后炮制 24 h 和 32 h 趋于稳定。

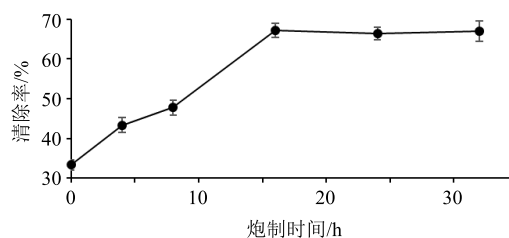


图 3 DPPH 自由基清除率随炮制时间变化的趋势图

Fig. 3 Trend graph of DPPH free radical scavenging rate with processing time

不同质量浓度的多花黄精及其 16 h 酒黄精的二氯甲烷组分 DPPH 自由基清除率结果(表 5)显示,酒黄精二氯甲烷组分 DPPH 清除率随生药量的增加而增加;黄精 DPPH 半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值为 64.24 mg/mL,酒蒸 16 h 后的为 23.41 mg/mL。IC<sub>50</sub> 值越低,抗氧化能力越强,可见酒黄精的抗氧化能力强于黄精。

相同生药质量浓度(40 mg/mL)的不同品种黄精炮制 16 h 后酒黄精, DPPH 自由基清除率变化(表 6)显示,经炮制后,滇黄精 DPPH 自由基清除率从 18.89% 增加至 49.20% ( $P < 0.05$ ),黄精从 36.89% 增加至 68.58% ( $P < 0.05$ ),多花黄精从 33.21% 增加至 66.16% ( $P < 0.05$ ),3 个品种黄精的二氯甲烷组分 DPPH 自由基清除率均明显增加。

表 5 不同浓度二氯甲烷组分的 DPPH 自由基清除率及 IC<sub>50</sub>  
Table 5 DPPH radical scavenging rate and IC<sub>50</sub> of different concentrations of dichloromethane components

样品	$\rho$ /(mg·mL <sup>-1</sup> )	清除率/%	IC <sub>50</sub> /(mg·mL <sup>-1</sup> )
黄精	40.74	18.47	64.24
	54.32	29.20	
	67.90	58.92	
酒黄精	16.32	37.11	23.41
	27.20	56.90	
	40.79	65.91	
	48.95	75.71	

表 6 不同品种黄精炮制前后 DPPH 自由基清除率变化  
( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Changes of DPPH free radical scavenging rate before and after processing of different species of PR  
( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

品种	清除率/%	
	黄精	酒黄精
滇黄精	18.89 ± 0.94	49.20 ± 2.40*
黄精	36.89 ± 1.08	68.58 ± 1.42*
多花黄精	33.21 ± 1.01	66.16 ± 1.81*

与同种黄精比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs same kind of PR

### 3 讨论

#### 3.1 Maillard 反应物理化学特征分析

Maillard 反应中间产物的紫外特征吸收波长是 280 nm 或 294 nm<sup>[8,17]</sup>。根据全波长扫描结果,选取最大吸收波长 280 nm 作为黄精及酒黄精的检测波长。黄精及酒黄精的二氯甲烷组分在 280 nm 波

下的紫外吸光结果显示,黄精经炮制后  $A_{280}$  增加,且随炮制时间的延长,  $A_{280}$  呈递增的趋势。表明黄精炮制过程中 Maillard 反应中间产物增加。滇黄精、黄精和多花黄精 3 个品种黄精炮制相同时间  $A_{280}$  分别是生品的 1.6、15.7、2.7 倍,显示不同变化程度,可能与 3 个品种黄精的化学成分差异有关,因为 MRPs 与反应底物糖及氨基酸、反应条件等密切相关<sup>[18]</sup>。

有研究以 DPPH 自由基清除率为指标,考察黄精中含量最高的氨基酸缬氨酸与葡萄糖/果糖发生 Maillard 反应时时间、温度、初始 pH 值和氨基与羰基物质的量比的影响,结果缬氨酸与 2 种单糖呈现了不同的最佳反应条件<sup>[19]</sup>。同时,黄精炮制后 280 nm 波长紫外  $A$  值的变化除了与 MRPs 有关,也可能与黄精中其他成分在炮制过程中的变化相关,还需要深入研究确定。

体系酸度降低是 Maillard 反应的特征<sup>[20]</sup>。黄精炮制过程中二氯甲烷组分的 pH 值测定结果显示,黄精炮制后 pH 值降低,且随着炮制时间的延长而呈递减趋势。Maillard 反应过程中 pH 值降低,是由于氨基酸的碱性基团-氨基在加热过程中不断地与还原糖的羰基进行缩合,使得游离的氨基被封闭,致使体系的 pH 值不断下降<sup>[21]</sup>。当达到偏酸环境时, pH 值下降速度减缓,因为中间阶段产生了缓冲液,包括有机酸、乙酰丙酸、丙酮酸等<sup>[22]</sup>。因此,推测黄精在炮制 16 h 后 Maillard 反应速率降低。

#### 3.2 炮制后 MRPs 分析

二氯甲烷是最常用的提取小分子 MRPs 的溶剂。Maillard 反应很复杂,可产生不同种类的 MRPs,起始阶段形成 Amadori 化合物<sup>[23]</sup>,中间阶段产生咪喃类、吡喃类、糠醛类、吡咯类、吡啶类等化合物<sup>[24]</sup>,终产物是蛋白黑素类<sup>[23]</sup>。分析显示,黄精炮制既有新的成分产生,也有之前存在成分消失,同时,各成分比例也发生了变化。具有 MRPs 特征的成分有 3-羟基二氢-2(3H)-咪喃酮、4-羟基二氢-2(3H)-咪喃酮、5-羟甲基糠醛、3,5-二羟基-6-甲基-2,3-二氢-4H-吡喃-4-酮。后 2 个成分是 Maillard 反应标志性成分<sup>[25]</sup>,在何首乌炮制品制何首乌中也检测到这 2 个成分<sup>[26]</sup>。5-羟甲基糠醛是 16、24、32 h 酒黄精中占比最高的成分。反应产物在黄精及酒黄精质量评价的应用,还需深入研究。

#### 3.3 炮制后抗氧化活性变化

研究表明大多数 MRPs 都具有抗氧化活性<sup>[27]</sup>,

而检测 DPPH 自由基的清除情况, 可以评价样品的抗氧化活性, 清除率越大, 抗氧化活性越强。结果显示, 随着炮制时间的延长, 多花黄精二氯甲烷组分 DPPH 自由基清除率呈递增趋势, 至 16 h 达到最高然后趋于平稳。

多花黄精及其 16 h 酒黄精的二氯甲烷组分 DPPH IC<sub>50</sub> 比较显示, 黄精炮制后 IC<sub>50</sub> 值降低, 抗氧化活性增强; 3 个品种黄精经炮制后, 其二氯甲烷组分的 DPPH 自由基清除率明显增强。Maillard 反应中产生的一些小分子挥发性物质具有抗氧化活性, Eiserich 等<sup>[28]</sup>发现二氯甲烷提取的半胱氨酸与葡萄糖的 MRPs 中, 有 3 种物质都拥有抗氧化活性, 主要是噻唑类和呋喃酮类化合物。Maillard 反应产生的一些挥发性产物, 比如吡咯和吡嗪等都表现出了较好的抗氧化活性<sup>[29-30]</sup>。

综上, 研究结果提示黄精在炮制过程中发生了 Maillard 反应, 使得酒黄精中含有特征性的 MRPs 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮、5-羟甲基糠醛等。随着炮制时间的延长, 酒黄精抗氧化活性增强, 至 16 h 达到最高随后趋于稳定。研究为黄精与酒黄精质量控制与炮制工艺规范化提供参考。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016.
- [3] 刘振丽. 何首乌炮制后化学成分的变化及中药中的 Maillard 反应 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [4] Yu M, He S, Tang M, *et al.* Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate [J]. *Food Chem*, 2018, 243: 249-257.
- [5] Yen G, Tsai L. Antimutagenicity of a partially fractionated Maillard reaction product [J]. *Food Chem*, 1993, 47(1): 11-15.
- [6] Hofmann T. Studies on the relationship between molecular weight and the color potency of fractions obtained by thermal treatment of glucose/amino acid and glucose/protein solutions by using ultracentrifugation and color dilution techniques [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46(10): 3891-3895.
- [7] Rufián-Henares J A, Delgado-Andrade C, Morales F J. Occurrence of acetic acid and formic acid in breakfast cereals [J]. *J Sci Food Agric*, 2006, 86(9): 1321-1327.
- [8] Bekedam E K, De Laat M P F C, Schols H A, *et al.* Arabinogalactan proteins are incorporated in negatively charged coffee brew melanoidins [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(3): 761-768.
- [9] Chen X M, Kitts D D. Antioxidant and anti-inflammatory activities of Maillard reaction products isolated from sugar-amino acid model systems [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(20): 11294-11303.
- [10] Guo X X, Zhang Z, Hai J P. Preparation and GC/MS analysis of Maillard reaction products of *Perinereis aibuhitensis* [J]. *Adv Mater Res*, 2012, 554/556: 1602-1606.
- [11] Benjakul S, Visessanguan W, Phongkanpai V, *et al.* Antioxidative activity of caramelisation products and their preventive effect on lipid oxidation in fish mince [J]. 2005, 90(1/2): 231-239.
- [12] 邓来送, 刘荣禄. 实用中药炮制学 [M]. 北京: 中国中医出版社, 1993.
- [13] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [14] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区中药饮片炮制规范 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2007.
- [15] 梅国荣, 郭 换, 刘 飞, 等. GC-MS-AMDIS 结合保留指数分析不同炒制程度花椒饮片挥发性成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(12): 70-74.
- [16] 李珊珊, 祁玉丽, 华 梅, 等. 北五味子多糖的分离纯化及抗氧化活性研究 [J]. 食品工业, 2018, 39(4): 233-237.
- [17] Echavarría A, Pagán J, Ibarz A. Kinetics of color development in glucose/amino acid model systems at different temperatures [J]. *Sci Agropec*, 2016, 7(1): 15-21.
- [18] 钱 敏, 白卫东, 赵文红, 等. 不同氨基酸和糖对美拉德反应产物的影响 [J]. 食品科学, 2016, 37(13): 31-35.
- [19] 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.
- [20] Ledl F, Schleicher E. New aspects of the Maillard reaction in foods and in the human body [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1990, 29(6): 565-594.
- [21] 沈军卫, 樊金玲, 朱文学, 等. 模式美拉德反应产物的抗氧化性与反应进程的关系研究 [J]. 食品科技, 2010, 35(3): 253-257.
- [22] Gu F, Kim J M, Hayat K, *et al.* Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system [J]. 2009, 117(1): 48-54.

- [23] Zhang Q, Ames J M, Smith R D, *et al.* A perspective on the Maillard reaction and the analysis of protein glycation by mass spectrometry: Probing the pathogenesis of chronic disease [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(2): 754-769.
- [24] 王超, 王淳, 李青, 等. Maillard 反应在中药领域的研究进展 [J]. *中国药房*, 2011, 22(11): 1038-1040.
- [25] Davidek T, Clety N, Aubin S, *et al.* Degradation of the Amadori compound *N*-(1-deoxy-*D*-fructos-1-yl) glycine in aqueous model systems [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(19): 5472-5479.
- [26] Liu Z, Chao Z, Liu Y, *et al.* Maillard reaction involved in the steaming process of root of *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. *Planta Medica*, 2009, 75(1): 84-88.
- [27] Yu X, Zhao M, Liu F, *et al.* Antioxidants in volatile Maillard reaction products: Identification and interaction [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2013, 53(1): 22-28.
- [28] Eiserich J P, Macku C, Shibamoto T. Volatile antioxidants formed from an *L*-cysteine/*D*-glucose Maillard model system [J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40(10): 1982-1988.
- [29] Yanagimoto K, Lee K G, Ochi H, *et al.* Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(19): 5480-5484.
- [30] Ludwig I A, Sánchez L, De Peña M P, *et al.* Contribution of volatile compounds to the antioxidant capacity of coffee [J]. *Food Res Int*, 2014, 61: 67-74.