

饮片粉碎度对诃子多酚类成分和涩味的影响及机制研究

陈思情¹, 陈娅玲¹, 樊习铤¹, 杨璐¹, 杨鑫¹, 吴星熠^{1,2*}, 韩雪^{1*}

1. 成都医学院药学院, 四川 成都 610500

2. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203

摘要: **目的** 通过分析不同粉碎度诃子 *Chebulae Fructus* 的多酚类成分、涩味程度、呈涩机制及其内在相关性, 为诃子的进一步开发研究奠定基础。**方法** 将诃子粉碎为 6 种粒度 (原饮片、超大颗粒、大颗粒、中颗粒、小颗粒、细粉) 样品, 采用 HPLC 法测定其中诃黎勒酸、没食子酸、诃子酸、鞣花酸、柯里拉京和 1,3,6-三没食子酰葡萄糖含量; 通过指纹图谱分析 6 种粒度诃子样品主要化学成分群的差异。通过视觉模拟评分法 (visual analogue scale, VAS) 评价样品的涩味强度, 并分析粉碎度、多酚成分和涩味强度三者间的相关性, 并运用 SDS-PAGE 技术从蛋白作用层面揭示其呈涩机制。**结果** 各样品中 6 种多酚总含量存在明显差异, 从高到低顺序为中颗粒 > 超大颗粒 > 细粉 > 大颗粒 > 小颗粒 > 原饮片; 指纹图谱分析结果显示, 6 种粒度诃子样品所含的主要化学成分群基本相同。涩味评价结果显示, 不同粉碎度可影响涩味程度, 涩味程度从高到低排序为细粉 > 小颗粒 > 中颗粒 > 大颗粒 > 超大颗粒 > 原饮片。相关性分析表明, 没食子酸与柯里拉京的含量变化是关联粉碎度与涩味感知的关键变量。SDS-PAGE 分析证实, 诃子涩味形成机制在于多酚成分与唾液蛋白的结合, 其中细粉表现出最强的蛋白结合能力。**结论** 粉碎度是调控诃子多酚成分溶出与涩味强度的关键工艺参数。粒径 4.75~6.70 mm 的中颗粒诃子的多酚成分含量最高, 而粒径 0.15~0.18 mm 细粉样品的涩味最为强烈。将诃子粉碎至中颗粒 (4.75~6.70 mm) 是平衡多酚类成分溶出与口服依从性的最优策略。该研究可为诃子炮制工艺标准化及产品开发提供关键的科学依据。

关键词: 诃子; 粉碎度; 多酚类成分; 涩味; 相关性; HPLC; 诃黎勒酸; 没食子酸; 诃子酸; 鞣花酸; 柯里拉京; 1,3,6-三没食子酰葡萄糖; SDS-PAGE 技术

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)02-0438-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.006

Effect of comminution degree of pieces on polyphenolic components and astringency of *Chebulae Fructus* and its mechanism

CHEN Siqing¹, CHEN Yaling¹, FAN Xijuan¹, YANG Lu¹, YANG Xin¹, WU Xingyi^{1,2}, HAN Xue¹

1. School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

2. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective By systematically analyzing the polyphenolic composition content, astringency intensity, astringency mechanism, and their inherent correlations in Hezi (*Chebulae Fructus*, CF) pieces with different comminution degrees, this study aims to lay a foundation for its further development and research. **Methods** The CF was processed into six granule sizes (original granule, extra large granule, large granule, median granule, small granule, fine powder) for sampling. HPLC was employed to quantify the contents of chebulagic acid, gallic acid, chebulinic acid, ellagic acid, corilagin, and 1,3,6-tri-*O*-galloyl- β -*D*-glucose. The main chemical composition groups and differences of six kinds of particle size CF samples were analyzed by fingerprint. The astringency intensity of the samples was sensorially evaluated using a visual analogue scale (VAS). These data were utilized to analyze the correlations among comminution degree, polyphenolic composition, and astringency intensity. Furthermore, SDS-PAGE technology was applied to elucidate the underlying astringency mechanism through the protein interaction. **Results** The total content of six kinds of polyphenolic components displayed significant variation across different granule sizes in the following descending order: median

收稿日期: 2025-08-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003955); 成都医学院科技基金 (CYZZD24-02); 大学生创新训练计划项目 (S202413705046)

作者简介: 陈思情 (2003—), 女, 研究方向为中药制剂新技术。Tel: (028)62739556 E-mail: chensiqing@163.com

*通信作者: 吴星熠, 男, 研究方向为中药制剂与分析。Tel: (028)62739556 E-mail: wxy000909@163.com

韩雪, 女, 副教授, 研究方向为中药制剂新技术。Tel: (028)62739556 E-mail: hanxuetcm@126.com

granule > extra large granule > fine powder > large granule > small granule > original granule. The results of fingerprint analysis showed that the main chemical composition groups of the six samples were basically the same. Sensory evaluation revealed that different comminution degrees considerably influenced the perceived astringency intensity, which decreased sequentially as: fine powder > small granule > median granule > large granule > extra large granule > original granule. Correlation analysis identified gallic acid and corilagin as key variables linking comminution degree with astringency perception. SDS-PAGE confirmed that the astringency mechanism primarily involves binding interactions between polyphenolic components and salivary proteins, with the fine powder demonstrating the strongest protein-binding capacity. **Conclusion** Comminution degree serves as a critical processing parameter governing the dissolution of polyphenolic components and astringency intensity in CF. The sample with a particle size of 4.75—6.70 mm demonstrated the highest content of polyphenolic compounds, whereas the sample with a particle size of 0.15—0.18 mm elicited the most intense perception of astringency. Processing CF to a median granule size (4.75—6.70 mm) is therefore identified as the optimal strategy for balancing polyphenolic component dissolution and oral compliance. This study provides key scientific evidence to support the standardization of CF processing techniques and related product development.

Key words: *Chebulae Fructus*; comminution degree; polyphenolic components; astringency; correlation; HPLC; chebulagic acid; gallic acid; chebulinic acid; ellagic acid; corilagin; 1,3,6-tri-*O*-galloyl- β -*D*-glucose; SDS-PAGE technology

诃子 *Chebulae Fructus* (CF), 别名诃黎勒、随风子, 为使君子科榄仁属植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 或其变种绒毛诃子 *T. chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt. 的干燥成熟果实^[1]。主产于我国云南西部及广东、广西等地, 越南、老挝等东南亚国家均有分布。诃子具有涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽的功效。主治久泻久痢、便血脱肛、肺虚喘咳、久嗽不止、咽痛音哑等症^[2]。现代研究表明, 诃子具有抗氧化、抗炎、抗糖尿病、调血脂、保肝、抗菌、强心、免疫调节等多种药理活性^[3-6]。在藏药与蒙药体系中, 诃子的应用频率位居各类药材之首, 被誉为“藏药之王”“蒙药之王”^[2-3]。这些广泛的生物活性与独特的临床地位, 共同显示出诃子巨大的开发价值与市场前景。诃子的化学成分主要分为酚酸、鞣质及三萜类^[7]。以酚酸、鞣质为代表的多酚类成分是诃子主要的药效物质, 但其亦是引发涩味感知的关键因素^[8-9]。涩味是一种因上皮细胞暴露于明矾或鞣质溶液中而引起的收缩、拉伸或起皱的综合感觉^[10]。强烈的涩味刺激会显著降低患者的服药依从性, 从而间接影响药物的最终治疗效果^[11]。因此, 如何平衡其药效与口感, 是诃子现代制剂开发的关键问题之一。

饮片粒度是决定成分提取率的关键参数^[12-13]。理论上, 减小粒径, 增大比表面积可促进有效成分的溶出^[14-15]。这在本草典籍对诃子需“细锉^[16]”“捣罗为末^[17]”“锉焙^[18]”“研末^[19]”及《中国药典》2025 年版“用时打碎^[1]”的规定中得以体现。然而, 这些传统表述仍停留在定性描述层面, 且存在明显的模糊性, 导致针对诃子粉碎度的现代研究几近空白。此种量化标准的缺失, 不仅制约了诃子的质量控

制, 也使得诃子在开发过程中难以精准调控因其多酚类成分而引发的强烈涩味刺激。本研究通过分析不同粉碎度诃子的多酚类成分含量、涩味强度、呈涩机制及其内在相关性, 旨在明确多酚溶出与涩味刺激之间的最佳平衡点, 为推进诃子炮制工艺标准化及产品开发提供关键科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-2030C 3D Plus 型高效液相色谱仪, 日本岛津公司; Advantage XL-70 型冷冻干燥机, 美国 SP Scientific 公司; CPA225D 型电子天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; S10P 型超声波清洗器, 致微(厦门)仪器有限公司; UPL-IV-30EZ 型超纯水机, 四川优普超纯科技有限公司; 800C 型多功能粉碎机, 永康市红太阳机电有限公司; GelDoxXR 型凝胶成像系统、MiniP4 型电泳仪, 美国 BIO-RED 公司。

1.2 材料与试剂

1.2.1 药材 诃子(批号 221101), 购自四川中唐药业有限公司, 经成都医学院游元元教授鉴定, 为使君子科榄仁属植物诃子 *T. chebula* Retz. 的干燥成熟果实。

1.2.2 试剂 对照品 1,3,6-三没食子酰葡萄糖(批号 AF20062103)、没食子酸(批号 AF20050701)、柯里拉京(批号 AF20082906)、诃黎勒酸(批号 AF21072609)、鞣花酸(批号 AF21051602)、诃子酸(批号 AF20012511), 质量分数均 $\geq 98.0\%$, 均购于成都埃法生物科技有限公司。

甲醇, 色谱级, 批号 WXB7833V, 购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司; 凝胶制备试剂

盒,批号 20210728,购于美国 Solarbio 公司;磷酸,色谱级,批号 20210110,购于天津科密欧化学试剂有限公司;彩色预染蛋白(M,相对分子质量 $1.0\times 10^4\sim 1.7\times 10^5$),批号 011624240628,购于上海碧云天生物技术股份有限公司;SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×),批号 03124,购于江苏康为世纪生物科技股份有限公司;考马斯亮蓝 R-250,批号 3550210002,购于美国 Solarbio 公司;其余试剂为分析纯;实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

结合相关文献报道^[20-22]确定诃子的 6 种粉碎度。原饮片,为诃子砸破去核后的颗粒;超大颗粒,为原饮片经药臼捣碎处理后的颗粒;大颗粒,为原饮片经药臼粉碎处理后,全部过 2 目筛,但混有通

过 3 目筛不超过 20%的颗粒;中颗粒,为原饮片经药臼粉碎处理后,全部过 3 目筛,但混有通过 4 目筛不超过 20%的颗粒;小颗粒,为原饮片经药臼粉碎处理后,全部过 4 目筛,但混有通过一号筛不超过 20%的颗粒;细粉,为原饮片经粉碎机粉碎处理后,全部通过五号筛,并含能通过六号筛不少于 95%的粉末。6 种粒度诃子样品粒径见表 1,外观性状见图 1。

表 1 6 种粒度诃子样品粉碎粒径

Table 1 Comminution particle size of six CF samples					
样品 编号	样品 名称	样品粒径/ mm	样品 编号	样品 名称	样品粒径/ mm
S1	原饮片	15.00~40.00	S4	中颗粒	4.75~6.70
S2	超大颗粒	10.00~15.00	S5	小颗粒	2.00~4.75
S3	大颗粒	6.70~8.00	S6	细粉	0.15~0.18



图 1 6 种粒度诃子样品外观性状

Fig. 1 Appearance characteristics of six particle size CF samples

称取不同粉碎度诃子,加入 10 倍量水浸泡 30 min,回流煎煮 1.5 h,滤过;药渣加 8 倍量水,回流煎煮 1.5 h,合并 2 次水提液。减压浓缩,冷冻干燥,即得。

2.2 多酚类成分分析

由于《中国药典》2025 年版尚未建立诃子的含量测定标准。基于课题组前期研究成果^[23],没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸及 1,3,6-

三没食子酰葡萄糖为诃子的主要涩味来源和药效物质基础,故将其作为指标性成分进行定量分析。

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Ultimate AQ-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱程序:0~8 min, 5%~10%甲醇;8~15 min, 10%~15%甲醇;15~35 min, 15%~20%甲醇;35~42 min, 20%~21%甲醇;42~45 min, 21%甲醇;45~50 min, 21%~22%甲醇;50~

60 min, 22%甲醇; 60~63 min, 22%~30%甲醇; 63~78 min, 30%甲醇; 78~83 min, 30%~37%甲醇; 83~85 min, 37%~43%甲醇; 85~88 min, 43%~45%甲醇; 88~98 min, 45%~12%甲醇; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样体积 20 μL; 检测波长 270 nm

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸、1,3,6-三没食子酰葡萄糖对照品, 加入 50%甲醇制成含没食子酸 100 μg/mL、柯里拉京 55 μg/mL、诃黎勒酸 109 μg/mL、诃子酸 34 μg/mL、鞣花酸 54 μg/mL 和 1,3,6-三没食子酰葡萄糖 302 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取按照“2.1”项下方法制备的样品, 加入 50%甲醇超声处理 15 min, 放冷, 用 50%甲醇补足减失的质量, 制成含诃子提取物 1.00 mg/mL 的样品溶液, 以 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量, 用 50%甲醇稀释后, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定。以对照品进样质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线,

进行线性回归, 得 6 种成分的回归方程与线性范围, 分别为没食子酸 $Y=2 \times 10^6 X-104\,006$, $r=0.999\,7$, 线性范围 0.141~1.500 μg/mL; 柯里拉京 $Y=2 \times 10^6 X-13\,720$, $r=0.999\,9$, 线性范围 0.041~0.990 μg/mL; 诃黎勒酸 $Y=6 \times 10^5 X+1\,605$, $r=0.999\,5$, 线性范围 0.545~2.725 μg/mL; 诃子酸 $Y=7 \times 10^5 X+33\,174$, $r=0.999\,7$, 线性范围 0.500~6.680 μg/mL; 鞣花酸 $Y=3 \times 10^6 X+2\,371$, $r=0.999\,0$, 线性范围 0.027~1.350 μg/mL; 1,3,6-三没食子酰葡萄糖 $Y=9 \times 10^5 X-8\,812$, $r=0.999\,8$, 线性范围 1.098~6.040 μg/mL。结果表明, 各成分在各自质量浓度范围内线性关系良好。

2.2.5 多酚类成分的定量测定 取“2.1”项下制备的 6 种粒度诃子样品, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样检测。检测结果 (表 2) 表明, 多酚类成分总含量在各样品间差异明显, 由高到低排序依次为中颗粒>超大颗粒>细粉>大颗粒>小颗粒>原饮片。1,3,6-三没食子酰葡萄糖、诃子酸与诃黎勒酸在多酚类成分中占绝对主导, 其中 1,3,6-三没食子酰葡萄糖的含量尤为突出。

表 2 6 种粒度诃子样品中多酚类化合物的含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Comparison of contents of polyphenols in six CF samples ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	没食子酸	柯里拉京	诃黎勒酸	诃子酸	鞣花酸	1,3,6-三没食子酰葡萄糖
S1	46.223±0.482	18.723±0.096	47.776±0.263	59.940±0.532	5.319±0.226	104.396±0.084
S2	33.124±1.107*	26.450±0.269*	93.098±0.743*	70.592±1.024	7.702±1.035	133.022±4.452*
S3	53.740±0.935*	26.750±0.136*	70.572±0.432*	58.865±1.468	5.422±0.492	113.046±0.099*
S4	53.360±0.039*	36.242±0.063*	122.882±0.257*	130.793±0.505*	3.885±0.166*	179.596±0.184*
S5	54.748±0.847*	33.567±0.022*	64.902±2.706*	43.995±0.202*	3.343±0.297*	110.565±1.403*
S6	57.111±2.277*	35.566±1.318*	78.815±0.291*	54.692±3.207	6.008±0.081	128.958±0.205*

与 S1 比较: * $P<0.05$; 表 5 同。

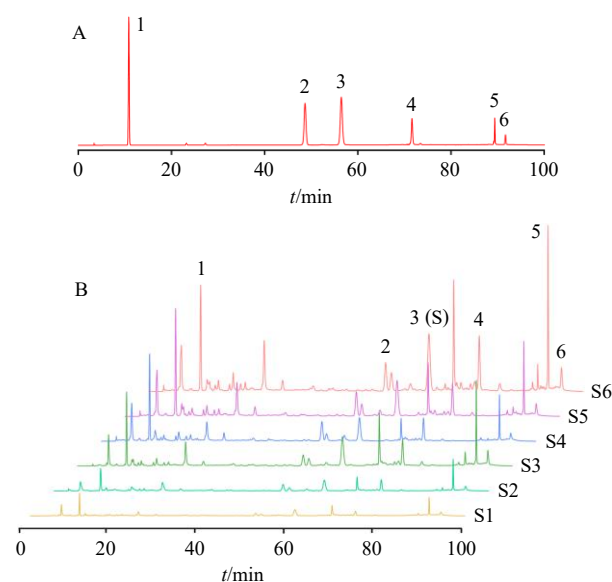
* $P<0.05$ vs S1; Same as table 5.

2.3 指纹图谱研究

2.3.1 指纹图谱的建立及相似度评价 混合对照品色谱图与各样品色谱图见图 2。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版) 建立 6 种粒度诃子样品的指纹图谱^[23]并计算其相似度。结果 (表 3) 显示, 各样品的指纹图谱相似度均在 0.9 以上, 说明尽管粉碎度存在差异, 但各样品所含的主要化学成分群基本相同, 其化学轮廓具有高度一致性。因此, 后续研究中观察到的涩味差异, 可主要归因于粉碎度对特定成分溶出效率及感官特性的影响, 而非物质基础的改变。

2.3.2 参照峰的选择 如图 2-B 所示, 发现 3 号峰保留时间和大小适中, 分离度较好, 故选择 3 号峰为参照峰 (S)。与混合对照品图谱 (图 2-A) 比对, 结果表明, 样品中 3 号峰保留时间与 1,3,6-三没食子酰葡萄糖对照品一致, 故将样品中 1,3,6-三没食子酰葡萄糖定为参照峰。

2.3.3 精密度试验 取诃子饮片适量, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定 6 次, 记录各共有峰峰面积并计算其 RSD。结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸和 1,3,6-三没食子酰葡萄糖峰面积的



1-没食子酸; 2-柯里拉京; 3-1,3,6-三没食子酰葡萄糖; 4-诃黎勒酸; 5-诃子酸; 6-鞣花酸。

1-gallic acid; 2-corilagin; 3-1,3,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose; 4-chebulagic acid; 5-chebulinic acid; 6-ellagic acid.

图2 混合对照品 (A) 和 6 种粒度诃子样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference substances (A) and six CF samples (B)

表 3 指纹图谱相似度评价结果

Table 3 Evaluation results of fingerprint similarity

样品	相似度						R
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
S1	1.000	0.961	0.987	0.941	0.983	0.976	0.988
S2	0.961	1.000	0.973	0.951	0.980	0.976	0.987
S3	0.987	0.973	1.000	0.913	0.972	0.993	0.989
S4	0.941	0.951	0.913	1.000	0.976	0.916	0.958
S5	0.983	0.980	0.972	0.976	1.000	0.975	0.994
S6	0.976	0.976	0.993	0.916	0.975	1.000	0.992
R	0.988	0.987	0.989	0.958	0.994	0.992	1.000

R 为对照指纹图谱。

R is reference fingerprint.

RSD 分别为 1.24%、0.51%、1.70%、2.26%、1.56%、1.26%；以 3 号峰（1,3,6-三没食子酰葡萄糖）为参照，计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均≤0.03%，相对峰面积的 RSD 均≤3.00%，结果表明该仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取诃子供试品溶液，分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h 进样测定，记录峰面积并计算其 RSD。结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸和 1,3,6-三没食子酰葡萄糖峰面积的 RSD 分别为 0.95%、0.43%、2.27%、2.70%、2.42%、2.33%；以 3 号峰（1,3,6-三没食子酰葡萄糖

糖）为参照，计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均≤0.03%，相对峰面积的 RSD 均≤3.00%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取诃子饮片适量，按照“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积并计算其 RSD。结果没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸和 1,3,6-三没食子酰葡萄糖质量分数的 RSD 分别为 0.95%、2.66%、2.52%、1.32%、2.90%、2.43%；以 3 号峰（1,3,6-三没食子酰葡萄糖）为参照，计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均≤0.04%，相对峰面积的 RSD 均≤3.00%，结果表明该实验重复性良好。

2.4 涩味评价

2.4.1 评价方法 药物口感是影响口服制剂成药性和其临床应用的关键因素之一^[24]。本实验采用口尝评价结合视觉模拟评分法（visual analogue scale, VAS）^[25-26]对 6 种粉碎度诃子样品进行涩味品评。所有实验流程均经成都医学院伦理委员会批准（批准号：成医伦理 2022NO.10）。参与评价的志愿者年龄为 20~23 岁，味觉正常，无吸烟、酗酒史，且在实验开始前 12 h 内未摄入辛辣刺激性食物。正式评价前，首先采用酸（柠檬酸）、苦（硫酸奎宁）、甜（蔗糖）、咸（氯化钠）、鲜（谷氨酸钠）、涩（鞣酸）6 种基本味觉溶液对志愿者进行味觉灵敏度测试，随后，使用不同质量浓度鞣酸水溶液^[27-28]对志愿者进行涩味强度感知训练，使其熟悉评价标准（表 4）。最终共 11 名志愿者通过筛选并参与正式评价。评价在室温环境下进行，以 6.00 mg/mL 的各样品溶液为对象，每次口尝量为 10 mL，入口含漱 15 s^[29]后吐出并评分。每完成 1 个样品评价后，志愿者以纯水充分漱口，待口腔中无涩感残留后方可进行下一样品的评价。

表 4 鞣酸质量浓度与涩味强度

Table 4 Tannic acid concentration and degree of astringency

鞣酸/(mg·mL ⁻¹)	涩味感知强度	涩味 VAS 标准评分
0.25	无涩味	0
0.50	略有涩味	2
1.00	轻微涩味	4
2.00	涩味明显	6
4.00	强烈涩味	8
8.00	剧烈涩味	10

2.4.2 评价结果 使用 SPSS 25.0 软件分析志愿者涩味 VAS 评价数据,采用单因素方差分析进行组间比较。结果如图 3 所示,诃子的涩味强度会随其粉碎度的增大而增加,大颗粒、中颗粒、小颗粒、细粉的涩味强度与原饮片相比均存在显著差异。

2.4.3 涩味强度与粉碎度、多酚成分的相关性分析 以各样品的粉碎度为横坐标 (x),涩味 VAS 评分为纵坐标 (y) 进行线性拟合。结果如图 4 所示,诃子

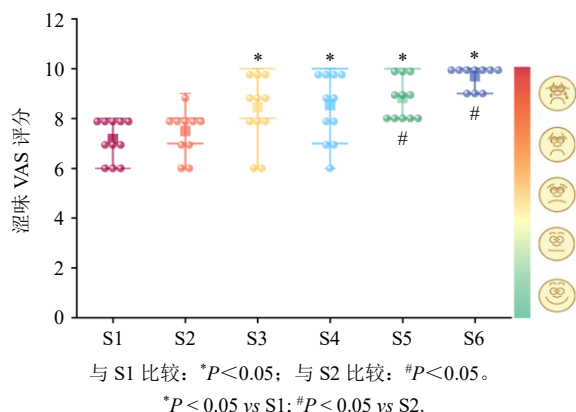


图 3 诃子样品涩味的 VAS 得分 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Fig. 3 Comparison of VAS scores of astringency of CF samples ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

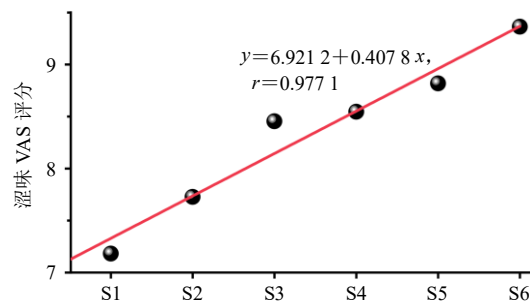


图 4 诃子样品粉碎度与涩味评分的线性拟合结果

Fig. 4 Linear fitting results of VAS score and comminution degree

的粉碎度与其涩味强度呈高度正相关,线性拟合方程为 $y = 6.9212 + 0.4078x$, $r = 0.9771$ 。

以各样品的涩味 VAS 评分为横坐标 (x),多酚类成分含量为纵坐标 (y) 进行线性拟合。结果如图 5 所示,不同多酚类成分对涩味强度的贡献程度存在明显差异。没食子酸、柯里拉京、诃黎勒酸及 1,3,6-三没食子酰葡萄糖的含量与涩味强度均呈正相关,其中没食子酸与柯里拉京表现出高度正相关;而鞣花酸与诃子酸的含量则与涩味强度呈负相关。相关性分析结果表明,没食子酸和柯里拉京的含量是影响诃子涩味强度的主要因素之一。

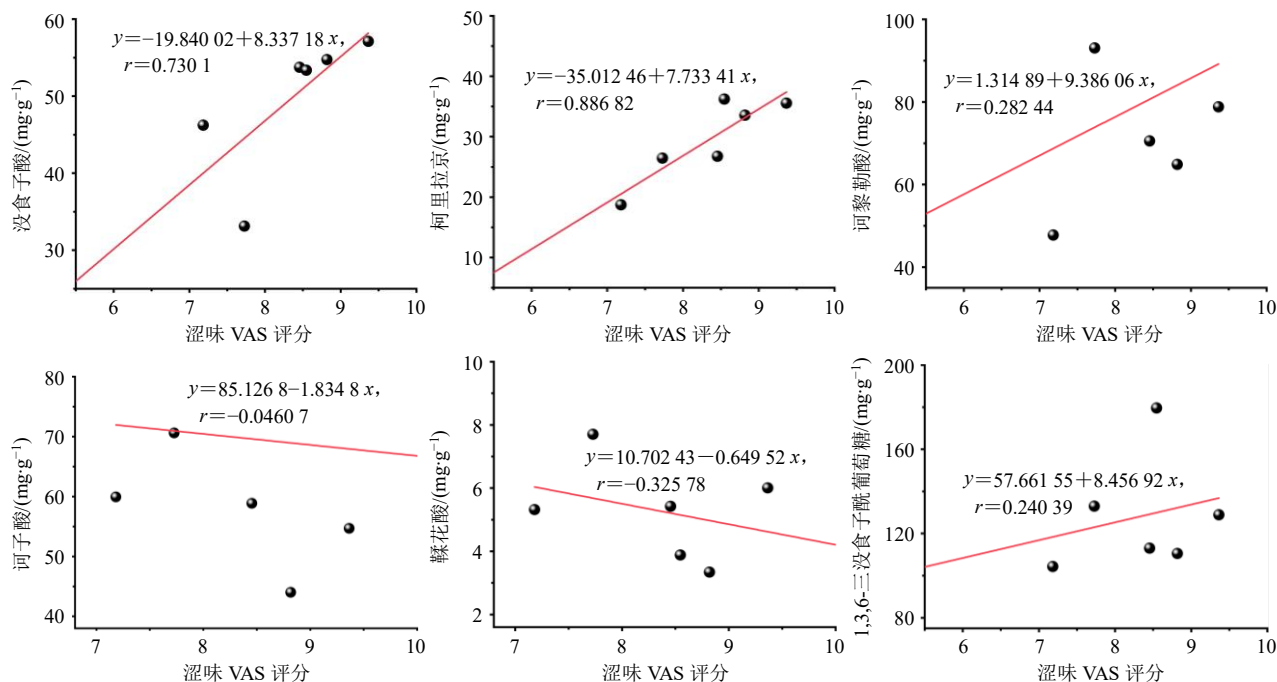


图 5 6 种多酚类成分含量与涩味评分的线性拟合结果

Fig. 5 Linear fitting results of six polyphenolic components content and VAS scores

2.5 SDS-PAGE 电泳分析

2.5.1 唾液的收集与处理 唾液样本采集自数名健康志愿者(无吸烟、酗酒史),参照标准流程于空腹

2 h 后进行。收集所得的唾液样本取 10 mL,在 4 °C 条件下以 $8\,000 \times g$ 离心 5 min,收集上清液,即得全唾液样品(HS)。

2.5.2 电泳分析样品的制备 精密称取细粉、小颗粒、中颗粒、大颗粒、超大颗粒和原饮片，加水提取得制成 4 mg/mL 样品。

2.5.3 涩味相互作用的蛋白电泳 将唾液蛋白与各样品溶液按 2:1 的体积比混合（平行 3 份）。混合液于 37 ℃ 水浴反应 10 min，随后在 4 ℃ 条件下以 10 000 r/min 离心 5 min。取上清液，与 5× 还原型蛋白上样缓冲液按 5:1 体积比混合，95 ℃ 加热 15 min 使蛋白变性。将处理后的样品上样至由 5% 浓缩胶和 12% 分离胶组成的 SDS-PAGE 凝胶中进行电泳。电泳结束后，凝胶经 0.25% 考马斯亮蓝 R250 染色，再以无水乙醇-10% 冰醋酸-水体系脱色至背景透明。使用凝胶成像系统采集图像，并通过 Image J 软件分析图像数据。计算相对分子质量在 $4.5 \times 10^4 \sim 5.5 \times 10^4$ 的蛋白条带密度降低百分比，定义为唾液蛋白沉淀指数（saliva precipitation index, SPI）^[30]，计算公式如下。

$$SPI = (\text{全唾液组的蛋白密度} - \text{不同粉碎度样品与唾液反应后的蛋白密度}) / \text{不同粉碎度样品与唾液反应后的蛋白密度}$$

2.5.4 电泳结果分析 图 6 显示了诃子与唾液蛋白相互作用后的 SDS-PAGE 结果。HS 中可辨识出约 12 条蛋白条带，根据文献报道^[31]，相对分子质量约 8.0×10^4 为乳铁蛋白， 6.9×10^4 与 6.6×10^4 为碱性富脯氨酸蛋白（basic proline-rich protein, PRPb）， $4.5 \times 10^4 \sim 5.5 \times 10^4$ 为 α -淀粉酶， $2.2 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^4$ 为低相对分子质量碱性富脯氨酸蛋白（PRPbIB），约 1.5×10^4 为胱抑素。加入不同粉碎度诃子样品后，乳铁蛋白、碱性糖基化富脯氨酸蛋白（PRPbg）、 α -淀粉酶、PRPbIB、胱抑素的蛋白条带密度均下降，表明诃子与唾液蛋白形成了不溶性复合物。

结果（表 5）显示，不同蛋白条带的 SPI 由高到低均为细粉 > 小颗粒 > 中颗粒 > 大颗粒 > 超大颗粒 > 原饮片。SPI 越高，表明多酚与蛋白结合越

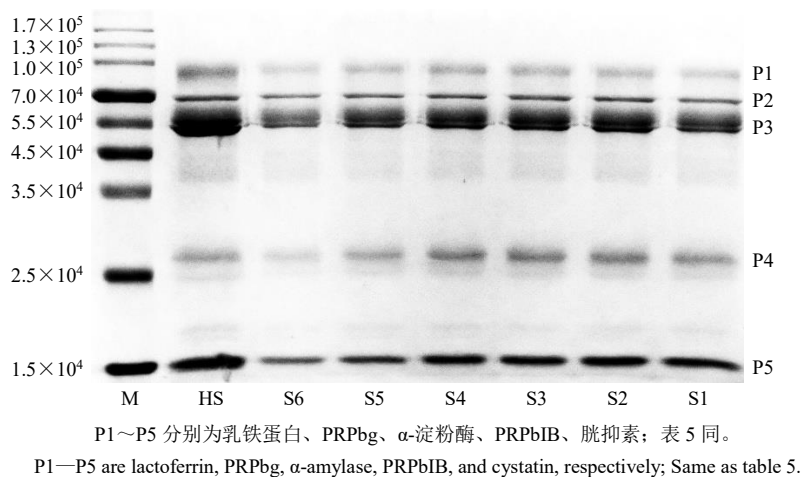


图 6 不同粉碎度诃子样品电泳条带图

Fig. 6 Electrophoretic bands of CF samples

表 5 SPI 计算结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Results of SPI calculation ($\bar{x} \pm s$)

样品	SPI/%				
	P1	P2	P3	P4	P5
S1	19.95±0.55	4.47±0.35	31.49±2.08	11.82±3.60	18.18±3.18
S2	25.47±1.49*	5.03±0.91	33.48±2.03	14.39±2.29	27.14±2.81*
S3	32.29±1.51*	6.26±1.04*	44.53±7.21*	20.18±2.53*	28.76±2.99*
S4	33.86±6.68*	8.04±1.96*	45.73±9.13*	23.37±2.08*	31.45±5.19*
S5	42.61±2.08*	10.09±0.90*	50.11±14.16	28.70±2.91*	36.00±3.61*
S6	47.17±1.49*	11.27±0.29*	52.48±15.99	33.08±0.91*	42.55±1.55*

多，涩味越强。细粉的 SPI 最高，其结合唾液蛋白能力最强，涩味也最强烈。该结果与志愿者感官评

价结果一致，证明随着诃子粉碎度增加，其与唾液蛋白结合作用增强，涩味强度也随之上升。

3 讨论

3.1 诃子粉碎炮制的历史沿革与现代研究启示

诃子在历代的炮制技术有净制、切制、炒制、煨制、蒸制、加辅料制等方法，较为混乱多变，对诃子粉碎的相关记载多为炮制后去核。诃子的粉碎方法首见于《金匱要略》，其记载：“治气痢，以诃黎勒十枚，面裹煨灰火中煨之，令面黄熟，去核，细研为末^[32]”。南北朝时期对诃子粉碎操作可见《雷公炮炙论》中“凡修事诃黎勒，先于酒内浸，然后蒸一伏时，其诃黎勒以刀削路，细锉，焙干用之^[17]”

的表述。唐代对诃子的粉碎方法主要是加热处理后去核，并粉碎为末。如《颅凶经》中有“炮半熟去核”；《外台秘要》有“炮去核”“去核煨”“去核，熬为末”；《经效产宝》有“蒸去核焙”等方法^[33]。宋代对诃子的粉碎方法主要为煨制后并去核，如《普济本事方》载有“煨去核^[34]”；《政和本草》则载有“面裹煨灰中煨之，令面黄熟去核”“湿纸裹煨，纸干即剥去核”^[35]。此外，在《太平惠民和剂局方》中也载有“凡使，先于煨灰中炮，去核取肉，酒蒸一伏时，取出焙干，方入药用”之法^[33]；在《妇人良方》中载有“炒去核”，《小儿卫生总微方论》中对诃子的粉碎方法也有“去核”^[36]的相关记载。在金元时期，诃子的炮制方法主要沿用了唐宋时期的炮制方法和理论，如《汤液本草》继承了“面煨、去核捣细用”之法^[33]。在明代，诃子去核的炮制方法除了沿用前人的煨、炒后去核等方法外，还增添了酒浸后去核。如《本草纲目》载有“凡用诃黎勒，酒浸一伏时，刀削去路，取肉锉焙用”，也有“用核则去肉”“半生半熟煨、去核”^[37]等方法。此外，《医宗必读》还有“蒸去核焙”的记载^[38]。而《普济方》对诃子的粉碎工具作了较为具体的表述，其记载“捣罗为末^[18]”，即先将诃子捣碎，再经细箩筛处理后得到细末。此外，同时期的《本草通玄》记载诃子“生用则能清金行气，煨用则能暖胃固肠^[39]”，这是对诃子生熟异治的最早记载。而除了炮制后去核用以外，《本草汇言》《医林集要》中还有连核用的记载，如“酒润，草纸裹煨熟，肉与核共捣细”^[36]。清代对诃子的粉碎方法主要为酒蒸去核和面裹煨后去核。如《本草求真》载有“酒蒸去核用肉”^[40]；《本草述钩元》载有“酒浸蒸去核，焙干”“面包裹煨熟去核”^[41]；《本草害利》载有“刀削去皮肉，锉焙用^[18]”等。

在近现代时期，诃子的炮制方法主要沿袭传统，在其粉碎程度上始终缺乏明确、统一的规范。目前可查的权威文献中，仅《中国药典》规定“除去杂质，洗净，干燥，用时打碎”和“净诃子，稍浸，闷润，去核，干燥^[1]”，而《中华本草藏药卷》中亦仅提及“研末^[20]”。此类描述仍停留在定性层面，未能对粉碎粒度作出具体量化规定，反映出诃子炮制标准化进程中存在的关键问题。

诃子炮制方法的历史演变为本实验奠定了重要的理论与实践基础。通过对历代典籍的梳理可以明确：诃子的炮制方法始终遵循“炮制后去核并粉

碎”的核心工艺传统。这一发展脉络揭示了 2 个关键问题。首先，传统经验肯定了粉碎处理对诃子药效成分溶出的重要意义。其次，古代典籍记载的“细研”“捣碎”等定性描述与《中国药典》中“用时打碎”的模糊标准，均暴露了量化标准缺失这一制约诃子现代化发展的瓶颈。基于古今方法衔接的现实需求，本研究在继承“粉碎入药”传统经验的基础上，通过设置涵盖原饮片至细粉的连续粒度梯度，确定既能保证药效成分溶出又可兼顾服药口感的适宜粉碎范围。这一研究思路将传统的经验性描述转化为具有可操作性的现代工艺参数，可为诃子的规范化炮制与产品开发提供科学依据。

3.2 感官评价存在的局限性

由于样品浓度过高，使用电子舌评价容易损伤传感器。本研究采用感官评价结合 VAS 量表的方法，评价不同粉碎度诃子样品的涩味程度。该结果与 SDS-PAGE 分析的 SPI 具有良好的一致性，从而相互印证了结果的可靠性。但本研究的感官评价仍存在一定的局限之处。首先，尽管所有志愿者均经过严格的筛选和训练，且评价流程已标准化，但个体的味觉敏感度与耐受性差异是固有的生物学变量，可能为结果带来变异性。其次，本实验样本量 ($n=11$) 虽然已达到感官评价的基本要求，但更大的样本量将有助于进一步提高数据的稳健性。在后续研究中，将扩大志愿者规模，并纳入更广泛年龄段的受试者，以提升结果的准确性。

3.3 粉碎度-多酚成分-涩味的关系

6 种多酚的总含量随着粒径减小呈先增后降的趋势，依次为中颗粒 (526.76 mg/g) > 超大颗粒 (363.99 mg/g) > 细粉 (361.15 mg/g) > 大颗粒 (328.40 mg/g) > 小颗粒 (311.12 mg/g) > 原饮片 (282.38 mg/g)。这一现象可从界面传质与粒子团聚的机制角度阐释：适度粉碎（如从原饮片至中颗粒）通过增大药材与溶媒的接触面积，显著提高了传质效率与溶出速率^[42-43]；而过度粉碎（如细粉）则因粒子表面能急剧升高产生团聚效应，形成稳定聚集体阻碍溶媒渗透，同时部分多酚在过度破碎的细胞结构中更易发生氧化或形成不溶性复合物，共同导致溶出量降低，这与黄芩^[44]相关研究结果一致。与之形成对比的是，涩味强度随粒径减小呈现持续增强的规律：细粉 > 小颗粒 > 中颗粒 > 大颗粒 > 超大颗粒 > 原饮片。当粉碎度达到中颗粒后，涩味强度的增加趋于平缓。这种差异揭示了在诃子粉碎操作

中存在一个最佳的粉碎度窗口,即将诃子粉碎至中颗粒(4.75~6.70 mm)既能最大化多酚类成分的溶出,又能将涩味强度控制在适中水平,有效避免了细粉带来的强烈涩味刺激。

本研究通过分析饮片粉碎度对诃子涩味和多酚成分的影响,发现粒径4.75~6.70 mm中颗粒诃子多酚成分含量最高,而粒径0.15~0.18 mm细粉样品的涩味程度最强。因此,将诃子粉碎至中颗粒(4.75~6.70 mm)是平衡多酚类成分与口服依从性的最优策略。该研究首次从多酚成分、感官评价与分子机制3个维度揭示了粉碎度对诃子饮片品质的调控规律,为诃子的炮制工艺标准化、质量控制指标选择以及口感导向型的产品开发提供了关键的科学依据和参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 201-202.
- [2] 董婉绒, 崔雨, 刘恬恬, 等. 诃子化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2024, 46(4): 1237-1245.
- [3] 常玉清, 普学富, 朱新焰, 等. 诃子化学成分与药理活性研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(8): 120-127.
- [4] Hassan Bulbul M R, Uddin Chowdhury M N, Naima T A, et al. A comprehensive review on the diverse pharmacological perspectives of *Terminalia chebula* Retz. [J]. *Heliyon*, 2022, 8(8): e10220.
- [5] 王涛, 陈家顺, 姚康, 等. 诃子及其提取物研究进展及畜牧业应用潜力展望 [J]. 饲料工业, 2023, 44(22): 29-33.
- [6] Liu J, Li B, Liu J, et al. Phenolic acids from *Fructus Chebulae Immaturus* alleviate intestinal ischemia-reperfusion injury in mice through the PPAR α /NF- κ B pathway [J]. *Molecules*, 2022, 16, 27(16): 5227.
- [7] 李华爽, 刘永建, 杨洪柳, 等. 诃子化学成分、药理作用机制、质量控制及炮制研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2130-2141.
- [8] Nigam M, Mishra A P, Adhikari-Devkota A, et al. Fruits of *Terminalia chebula* Retz.: A review on traditional uses, bioactive chemical constituents and pharmacological activities [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(10): 2518-2533.
- [9] 韦雅杰, 高彦祥. 茶汤滋味物质及其调控研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2022, 43(11): 189-197.
- [10] Gambuti A, Rinaldi A, Pessina R, et al. Evaluation of aglianico grape skin and seed polyphenol astringency by SDS-PAGE electrophoresis of salivary proteins after the binding reaction [J]. *Food Chem*, 2006, 97(4): 614-620.
- [11] 肖珍, 李周, 孙杨杨, 等. 中成药掩味技术研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 333-339.
- [12] 刘芳, 张礼欣, 束雅春, 等. 不同粒度的炒牛蒡子煮散工艺比较 [J]. 药学与临床研究, 2022, 30(6): 515-517.
- [13] 张利恒, 陈新, 邱智东. 不同粉碎粒度对人参败毒标准汤物理指纹图谱和多指标成分含量的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1429-1438.
- [14] 刘甜甜, 巩颖, 顾媛媛, 等. 从中医经典方剂剂型转变分析中药饮片处方总剂量 [J]. 中国药物警戒, 2022, 19(10): 1103-1106.
- [15] 焦其树, 郝丽霞, 吴治丽, 等. 经典名方中煮散和散剂粒度探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 1-6.
- [16] 南朝宋·雷敫撰著, 清·张骥补辑, 施仲安校注. 雷公炮炙论 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1985: 69.
- [17] 明·朱橚等. 普济方 [M]. 北京: 人民卫生出版社(据四库抄本印), 1959: 3135.
- [18] 清·凌奂. 本草害利 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 79-80.
- [19] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(藏药卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 198-199.
- [20] 张琦, 高艳, 王彦, 等. 以泻白散为例探讨经典名方中锉散粒度及煎煮工艺的研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 878-883.
- [21] 姜云耀, 刘楠. 关于古代经典名方中“粗末”的考证 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(6): 2129-2133.
- [22] 路立峰, 闫方杰, 胡高升. 中药煮散应用优势、质量控制、质量评价的研究进展 [J]. 中成药, 2021, 43(7): 1830-1833.
- [23] Zheng Y, Xu W H, Xiao Y, et al. Study on the astringent mechanism of *Chebulae Fructus* [J]. *Food Chem X*, 2025, 29: 102825.
- [24] 刘倩, 范红, 邓雨娇, 等. 药物制剂口感评价方法及其在中药制剂中的应用进展 [J]. 中成药, 2022, 44(5): 1531-1534.
- [25] 李佳欣, 仇敏, 宋娇, 等. 中药复杂苦辣口感体系的矫掩味技术研究: 以吴茱萸汤为例 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(19): 5382-5392.
- [26] Wan J Y, Long Y, Zhang Y L, et al. A novel technology to reduce astringency of tea polyphenols extract and its mechanism [J]. *Chin Herb Med*, 2021, 13(3): 421.
- [27] 韩雪, 姜红, 林俊芝, 等. 基于动物偏好指数与电子舌评价关联的中药涩味整体量化表征方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 486-492.
- [28] 郑玉, 谢兴亮, 刘俊, 等. 基于 pH 调控多酚-唾液蛋白结合作用的三果汤含片涩味掩蔽方法研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3953-3961.
- [29] Valentova H, Skrovankova S, Panovska Z, et al. Time-

- intensity studies of astringent taste [J]. *Food Chem*, 2002, 78(1): 29-37.
- [30] Rinaldi A, Gambuti A, Moio L. Application of the SPI (saliva precipitation index) to the evaluation of red wine astringency [J]. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2498-2504.
- [31] Brandão E, Silva MS, García-Estévez I, *et al*. Inhibition mechanisms of wine polysaccharides on salivary protein precipitation [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(10): 2955-2963.
- [32] 东汉·张仲景. 金匱要略方论 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1991: 92.
- [33] 盛书贵, 蒋纪洋, 孙龙宇. 诃子古今炮制研究初探 [J]. 时珍国医国药, 1998, 9(6): 81-82.
- [34] 宋·许叔微. 普济本事方 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1959: 4, 30.
- [35] 宋·唐慎微. 重修政和经史证类备用本草 (卷四) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1957: 342.
- [36] 孙红祥. 诃子炮制历史沿革研究 [J]. 中药材, 1991, 14(5): 31-33.
- [37] 明·李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 2027.
- [38] 明·李中梓. 医宗必读 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 124.
- [39] 明·李中梓撰著; 付先军等校注. 本草通玄 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 62.
- [40] 清·黄宫绣. 本草求真 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010: 93.
- [41] 清·杨时泰. 本草述钩元 [M]. 北京: 科学卫生出版社, 1958: 504.
- [42] 梁笑. 不同粒径三七粉体外溶出及体内药动力学评价 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [43] 张德斌, 翟文姣, 刘国香, 等. 不同粒径对蛹虫草活性成分溶出量的影响 [J]. 食品科技, 2021, 46(12): 204-209.
- [44] 黄昆. 黄芩煎煮工艺及最佳粉碎粒度的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2005.

[责任编辑 郑礼胜]