

基于性状-成分-活性关联性比较多花黄精九蒸九制过程中质量变化规律

王佳^{1,2}, 董宁^{1,2*}, 陈酉^{1,2}, 李旭博^{1,2}, 张飞宇^{3,4}, 田连起¹, 初雷霞^{1,2}, 杨林林^{1,2}, 乔璐^{1,2}, 董诚明^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046
2. 河南省地道药材生态种植工程技术研究中心, 河南 郑州 450046
3. 河南中医药大学中医药科学院, 河南 郑州 450046
4. 西峡县人民医院博士后创新实践基地, 河南 西峡 474550

摘要:目的 针对黄精 *Polygonati Rhizoma* “九蒸九制”工艺终点判断缺乏客观标准的问题, 通过量化炮制过程中性状与成分的动态变化, 结合斑马鱼抗氧化活性实验, 揭示其品质演变规律, 科学界定综合品质最优的炮制终点。方法 以多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* 为研究对象, 利用色差仪、质构仪、电子舌系统量化九蒸九制过程中样品(S0~S9)的色泽、质地、滋味等物理性状; 通过紫外分光光度法(ultraviolet-visible spectrophotometry, UV-Vis)与HPLC法测定多糖、还原糖、氨基酸、5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)等关键成分含量; 通过层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)与主成分分析(principal component analysis, PCA)解析炮制阶段规律, 结合Pearson相关性分析、CRITIC权重分析法及斑马鱼抗氧化实验进行综合评价。结果 随着蒸制进行, 黄精色泽参数(E_{ab}^* 、 L^* 和 b^*)持续下降, 质地参数(硬度、咀嚼性、胶着性)显著降低, 含水量上升; 苦味与涩味与第3次蒸制(S3)时显著减弱, 甜味增强。化学成分上, 5-HMF持续积累, 还原糖在S3时达到峰值(1.38%), 氨基酸与多糖含量于S3后趋于稳定。相关性网络图分析表明, 性状指标、化学成分与活性三者间存在显著关联($P < 0.05$)。多元统计分析将炮制过程划分为3个阶段, 其中, S1~S3为品质形成的关键转化期。CRITIC法综合评分显示, S3样品综合品质得分最高(65.41), 此时5-HMF适度积累, 还原糖含量达峰值, 氨基酸维持高值平台期, 样品呈黑褐色($a^* = 11.13$), 质地柔韧(弹性=0.647), 麻舌感消失, 滋味甘甜微苦(甜味=4.50, 苦味值=5.55), 且抗氧化能力明显增强。结论 明确三蒸三制(S3)为多花黄精“九蒸九制”的优化炮制终点, 建立了一套以“外观性状-内在成分-生物活性”为核心的多维度可量化质控标准, 为黄精炮制工艺的规范化和精准质控提供了科学依据。

关键词: 多花黄精; 九蒸九制; 炮制终点; 多指标量化; 质量控制; 抗氧化活性; 色泽; 质地; 滋味; 多糖; 还原糖; 氨基酸; 5-羟甲基糠醛; 层次聚类分析; 主成分分析; CRITIC权重分析法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)11-4158-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.008

Trait-component-activity correlation analysis of quality changes during nine-steaming and nine-drying process of *Polygonatum cyrtonema*

WANG Jia^{1,2}, DONG Ning^{1,2}, CHEN You^{1,2}, LI Xubo^{1,2}, ZHANG Feiyu^{3,4}, TIAN Lianqi¹, CHU Leixia^{1,2}, YANG Linlin^{1,2}, QIAO Lu^{1,2}, DONG Chengming^{1,2}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
2. Henan Provincial Ecological Planting Engineering Technology Research Center of Authentic Medicinal Materials, Zhengzhou 450046, China
3. Academy of Chinese Medical Science, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
4. Postdoctoral Innovation Practice Base of Xixia People's Hospital, Xixia 474550, China

Abstract: Objective In response to the lack of objective standards for the nine-steaming and nine-drying process of Huangjing

收稿日期: 2025-12-29

基金项目: 河南省重点研发专项(231111312700); 河南省博士后科研专项(HN2025075); 河南省国际科技合作项目(252102520068); 国家自然科学基金资助项目(32401226)

作者简介: 王佳, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: wj07280328@163.com

*通信作者: 董宁, 博士, 研究方向为中药活性物质及作用机制研究。E-mail: dongning@hactcm.edu.cn

董诚明, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药材种植与药用植物学。E-mail: dcm371@hactcm.edu.cn

(*Polygonati Rhizoma*), this study quantified the dynamic changes in traits and components during processing, combined with zebrafish antioxidant activity experiments, to identify the optimal stage for comprehensive quality and provide a scientific basis for establishing modern quality control methods. **Methods** Using the decoction pieces of *Polygonatum cyrtonea* as the object of study, a colorimeter, texture analyzer, and electronic tongue were employed to quantify the color, texture, and taste of samples from different steaming cycles (S0—S9). Polysaccharide content, reducing sugars and amino acids was determined by UV-Vis, while 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) were measured using HPLC. Hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were used to identify patterns in the processing stages. Pearson correlation analysis, the CRITIC objective weighting method, and zebrafish antioxidant experiments were integrated for comprehensive evaluation. **Results** As steaming progressed, color parameters (E_{ab}^* , L^* and b^*) continuously decreased, texture parameters (hardness, chewiness, gumminess) significantly declined, and moisture content increased. In terms of taste, bitterness and astringency markedly decreased by the third steaming cycle (S3), while sweetness increased. Chemically, 5-HMF accumulated continuously, reducing sugars peaked at S3 (1.38%), and amino acid and polysaccharide contents stabilized after S3. The correlation network analysis revealed significant relationships among trait indicators, chemical components, and bioactivity ($P < 0.05$). Multivariate statistical analysis divided the processing into three stages, with the early stage (S1—S3) identified as the critical transition period for quality formation. The comprehensive evaluation using the Criteria importance through intercriteria correlation method indicated that sample S3 achieved the highest overall quality score (65.41). At this stage, the sample was characterized by moderate 5-HMF accumulation, peak reducing sugar content, and maintenance of amino acids at a high level. It exhibited blackish-brown color (a^* was 11.13), with a soft and flexible texture (springiness was 0.647), and a disappearance of the numbing sensation. Its taste was sweet with slight bitterness (sweetness value was 4.50, bitterness value was 5.55), accompanied by a significantly enhanced antioxidant capacity. **Conclusion** This study establishes the third steaming cycle (S3) as the optimized processing endpoint for the nine-steaming and nine-drying process of *P. cyrtonea* and established a multi-dimensional quantifiable quality control system centered on “appearance properties-intrinsic components-bioactivity”. These findings provide a scientific basis for the standardization and precise quality control of this processing method.

Key words: *Polygonatum cyrtonea* Hua; nine-steaming and nine-drying process; processing endpoint determination; multi-dimensional quantification; quality control; antioxidant activity; color; texture; taste; polysaccharide; reducing sugar; amino acids; 5-hydroxymethylfurfural; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; CRITIC weight analysis method

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. cyrtonea* Hua 的干燥根茎，具有补气养阴、健脾、润肺、益肾的功效^[1]。现代药理研究进一步表明，其活性成分在抗氧化、抗炎、免疫调节等方面作用显著^[2]。然而生品黄精具有麻舌感，可刺激口咽，故临床多以炮制品入药^[3]。

“九蒸九制”作为黄精最具特色的炮制方法之一^[4]，通过反复蒸晒与辅料拌制，能有效消除其刺激性，并促进多糖等大分子物质降解转化为更易吸收的小分子糖类，从而增强其补益作用^[5-8]。然而，现行《中国药典》仅收录黄精与酒黄精的质量标准，对工艺复杂的九蒸九制黄精缺乏统一、客观的质控规定。生产中普遍依赖“色黑如漆，味甘如饴”的经验性判断，主观性强，易导致炮制程度不一、质量波动巨大，甚至出现蒸制不足而麻舌感残留，或蒸制过度导致有效成分降解与潜在有害物质，如5-羟甲基糠醛（5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF）积累等问题，严重制约了该特色炮制品的临床安全性与质量均一性^[9]。

近年来，虽然有研究者尝试运用色差仪、质构仪、电子舌等现代分析技术，对炮制过程进行量化表征^[10-12]，但多数研究仍聚焦于单一维度指标，未能从“性状-成分”协同变化的角度，系统阐明不同炮制阶段黄精的品质演变规律，特别是未能明确界定适度炮制的临界节点。此外，为降低成本而普遍采用的一次性蒸透工艺，其科学性存疑，也难以保证药效物质的充分转化与产品质量的稳定均一。斑马鱼作为一种国际新兴的脊椎模式生物，与人类具有高达87%基因同源性，且斑马鱼作为整体动物，便于直观精准地观察整体表型，已被广泛应用于药物活性物质筛选和药理研究中^[13]，因此本研究以斑马鱼为模式生物，对不同蒸制次数的黄精水提物的抗氧化活性进行探究，以明确炮制过程中的药效变化规律。

本研究以多花黄精为研究对象，系统量化其“九蒸九制”全过程中色泽、质地、滋味等感官属性与美拉德反应关键成分（还原糖、氨基酸、5-HMF）及多糖的动态变化。通过多元统计分析揭示性状、成分及活性之间的内在关联，并引入 CRITIC 客观

赋权法进行综合评价,旨在科学判定炮制终点,为黄精适度炮制提供量化依据,构建一套量化的工艺与质控标准提供数据支撑和实践指南。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪,美国沃特世公司;A5 系列双光束紫外可见分光光度计,翱艺仪器有限公司;KQ-500DV 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;Varioskan LUX 型多功能微孔板读数仪,Thermo Fisher Scientific 公司;MD-300 型电气两用蒸药箱,杭州海善制药设备股份有限公司;Meta Vue 型色差仪,爱色丽上海色彩科技有限公司;C207572139 型 pH 计,上海梅特勒-托利多仪器有限公司;ASTREE 电子舌系统,法国 Alpha MOS 公司;Rapid TA+型质构仪,上海腾拔仪器科技有限公司;SZX10 型体式显微镜,日本奥林巴斯公司;BX53F2 型荧光显微镜,日本奥林巴斯公司。

1.2 试剂

黄酒,批号 20240110,湖北房珍鲜酿生态食品有限公司;氯化钾,批号 181017,郑州派尼化学试剂厂;无水葡萄糖标准品,质量分数 $\geq 99.0\%$,批号 50-99-7,上海麦克林生化科技有限公司;苯酚,批号 20200908,青岛海洋化工有限公司;硫酸,批号 20200908,青岛海洋化工有限公司;酒石酸钾钠(批号 1288-2011)、茛三酮(批号 1295-2012)、氢氧化钠(批号 13-011-00029)购自天津风船化学试剂公司;3,5-二硝基水杨酸(DNS),批号 609-99-4,上海易恩化学技术有限公司;*N*-乙酰-*L*-半胱氨酸(*N*-acetylcysteine, NAC, 批号 616-91-1)、*L*-精氨酸(质量分数 $\geq 99.0\%$,批号 74-79-3)、2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐(2,2'-azobis-2-methylpropionamide-dihydrochloride, AAPH, 批号 2997-92-4)、5-HMF(质量分数 $\geq 98.0\%$,批号 67-47-0)、活性氧检测试剂盒(批号 2600010001),购自北京索莱宝科技有限公司;无水硫酸钠,批号 7757-83-7,天津市大茂化学试剂厂;色谱甲醇,批号 67-56-1,阿法埃莎化学有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.3 药材及动物

多花黄精药材,采自河南省信阳市平桥区黄精种植基地,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为百合科黄精属植物多花黄精 *P. cyrtoneura* Hua 的干燥根茎。

实验用 AB 品系野生成年斑马鱼,购自上海费

曦生物科技有限公司,按照斑马鱼饲养繁殖标准饲养,饲养条件为光暗周期为 14:10,温度(28.0 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。繁殖实验时,挑选健康成鱼按雌雄比 1:1 转入专用产卵缸,用隔板分开过夜,次日 8:00 将隔板抽离在光照刺激下进行交配产卵,受精后 2 h 收集受精卵,28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养用于下一步实验,本研究经河南中医药大学实验动物伦理委员会批准,审批号 DWLL202202104。

2 方法与结果

2.1 “九蒸九制”黄精炮制品的制备

结合课题组前期实验研究基础^[14],取生黄精饮片,按大小分档后切制,切成 5 mm 的厚片,洗净,称定质量,用 20%黄酒拌匀,室温闷润至透,置于(90 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 蒸药箱内隔水蒸制 9 h。取出后,立即于(60 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 鼓风干燥箱中干燥 8 h,得第 1 次蒸制品(S1)。取部分 S1 样品检测,剩余样品重复蒸制-干燥循环:每次于(90 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 蒸制 4 h,再于(60 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 干燥 6 h,循环操作至第 9 次,得第 2~9 次蒸制品(S2~S9)。每次蒸制后,冷却至室温,分别从上、中、下 3 层随机取样,混合,粉碎,过四号筛,依次编号为 S1~S9,置于干燥器中密封保存,备用。

2.2 黄精样品感官性状评价

2.2.1 外观性状 采用图像采集系统对各炮制阶段黄精样品进行图像采集,用于外观形态分析,结果见图 1。

2.2.2 感官评价 参照药典“色黑如漆,味甘如饴”的描述,制定九蒸九制多花黄精性状评价标准。由 10 名经培训的评价员组成小组,对随机编号样品的外观、气味、口感进行综合评价并记录,结果汇总于表 1。随着蒸制次数的增加,黄精样品的外观性状发生系统性改变(图 1)。具体表现为颜色逐步加深,由生品(S0)的黄白色,依次转变为棕黄色(S1)、棕褐色(S2)、黑褐色(S3),最终变为亮黑色(S9),且样品皱缩、体积减小。感官评价结果(表 1)进一步显示,质地由脆硬渐趋软糯,麻舌感于 S4 后完全消失。

2.3 样品色度值分析

2.3.1 色度值测定 采用 MetaVue 型色差仪进行测定^[15]。测定前经黑白比色板校准。将各黄精样品粉末平铺于培养皿中,测定其 L^* (亮度)、 a^* (红绿色度)、 b^* (黄蓝色度)值,平行测量 6 次。按照公式 $E_{ab}^*=(L^{*2}+a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ 计算总色差值 E_{ab}^* 以及与生品的色差值 ΔE_{ab}^* 。



S0-新鲜多花黄精; S1~S9-一蒸一制~九蒸九制多花黄精。

S0-fresh *P. cyrtonema*; S1—S9-one—nine-steaming and drying process of *P. cyrtonema*.

图1 九蒸九制黄精炮制品外观性状演变

Fig. 1 Evolution of macroscopic appearance of *Polygonati Rhizoma* during nine-steaming and nine-drying process

表1 多花黄精在不同蒸制阶段的感官评价结果

Table 1 Sensory evaluation results of *P. cyrtonema* at different steaming cycles

样品	色泽	质地	口感	气味
S0	黄白色	质地脆硬	麻舌感强, 且甜	无
S1	棕黄色	质硬	麻舌感强, 且甜	微有焦香味
S2	棕褐色	稍硬	麻舌感强, 且甜	微有焦香味
S3	黑褐色	稍硬	麻舌感弱, 且甜	有焦香味
S4	漆黑色	稍硬而韧	无麻舌感, 甘甜微苦	焦香味浓郁
S5	漆黑色	稍硬而韧	无麻舌感, 甘甜微苦	焦香味浓郁
S6	漆黑色	稍硬而韧	无麻舌感, 甘甜微苦	焦香味浓郁
S7	亮黑色	稍硬而韧	无麻舌感, 味苦	焦香味浓郁
S8	亮黑色	软糯黏腻	无麻舌感, 味苦	焦糊味
S9	亮黑色	软糯黏腻	无麻舌感, 味苦	焦糊味

2.3.2 色度值动态变化 利用色差仪进行的量化分析表明(表2), 样品的明亮度(L^* 值)在整个炮制过程中呈持续下降趋势。黄蓝色度(b^* 值)在炮制过程中在呈先升高后降低的趋势, 红绿色度(a^* 值)在S2阶段达到峰值(12.87 ± 0.33)后波动下降。总色差 E_{ab}^* 从S0的 86.79 ± 0.41 显著降至S9的 32.87 ± 0.97 , 降幅62.13%, 客观揭示了炮制过程引发了深刻的褐变。

2.4 水分及质地测定

2.4.1 水分测定 参照《中国药典》2025年版四部通则0832第二法(烘干法)测定^[16]。精密称取样品粉末2.00 g, 置于已恒定质量的扁形称量瓶中, 100~105 °C干燥至恒定质量, 计算含水量。平行3次。结果见表3。结果显示, 蒸制过程使药材持续吸收水分, 随着蒸制次数的增多, 多花黄精的含水量越高, 由S0的(16.58 ± 0.32)%持续上升至S9的(27.40 ± 0.30)%。

2.4.2 质地测定 采用Rapid TA+质构仪及P/36R柱形探头进行全质构分析(texture profile analysis, TPA)^[17]。将样品切为1 cm×1 cm×1 cm立方体, 测试参数设定为测试速度1.0 mm/s, 形变30%, 触发力6 gf, 2次压缩间隔时间3 s。每个样品平行测定3次。TPA结果(表3)显示, 炮制过程显著软化了黄精的质地。硬度、咀嚼性及胶着性均随蒸制次数增加而显著降低($P < 0.05$), 其中硬度由S0的1 929.9 N急剧下降至S9的212.4 N。值得注意的是, 样品的弹性与回复性在S3阶段均维持在较高水平(分别为0.647和0.295), 表明此时质地处于“柔韧有弹性”的理想状态。

表2 多花黄精九蒸九制过程中色度参数的动态变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Dynamic changes of color parameters during nine-steaming and nine-drying process of *P. cyrtonema* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	a^*	b^*	L^*	E_{ab}^*	ΔE_{ab}^*	样品	a^*	b^*	L^*	E_{ab}^*	ΔE_{ab}^*
S0	4.27 ± 0.05^e	20.60 ± 0.24^c	84.20 ± 0.39^a	86.79 ± 0.41^a	—	S5	10.18 ± 0.13^{cd}	15.54 ± 0.36^e	34.26 ± 0.15^f	38.97 ± 0.26^e	50.55 ± 0.37^d
S1	10.91 ± 0.11^b	27.60 ± 0.34^a	55.33 ± 0.72^b	62.78 ± 0.75^b	30.44 ± 0.96^b	S6	8.21 ± 0.35^f	11.29 ± 0.74^g	34.63 ± 0.24^{ef}	37.35 ± 0.35^f	50.59 ± 0.58^d
S2	12.87 ± 0.33^a	23.35 ± 1.08^b	43.30 ± 0.64^c	50.86 ± 1.09^c	41.91 ± 0.84^c	S7	9.74 ± 0.58^d	11.19 ± 0.76^g	31.29 ± 0.82^h	34.64 ± 0.38^g	54.03 ± 0.44^b
S3	11.13 ± 0.39^b	18.63 ± 0.91^d	38.02 ± 0.48^d	43.78 ± 0.50^d	46.74 ± 0.57^f	S8	8.83 ± 0.50^e	13.62 ± 1.22^f	32.57 ± 0.20^g	36.40 ± 0.52^f	52.32 ± 0.39^c
S4	10.31 ± 0.07^c	14.51 ± 0.42^{ef}	35.49 ± 0.94^e	39.70 ± 0.86^e	49.47 ± 1.19^e	S9	8.35 ± 0.29^f	10.75 ± 0.71^g	29.91 ± 0.77^i	32.87 ± 0.97^h	55.33 ± 0.56^a

同列数据后不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异具有统计学意义; 表3、5同。

Different lowercase letters within the same column indicate significant differences at $P < 0.05$; Same as tables 3, 5.

表3 不同蒸制次数多花黄精样品的含水量、质地剖面分析参数及 pH 值 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Moisture contents, texture profile analysis parameters and pH values of *P. cyrtonema* samples with different steaming cycles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	含水量/%	硬度/N	弹性/mm	咀嚼性/mJ	胶着性/N	内聚性	回复性	pH值
S0	16.58±0.32 ^j	1 929.90±42.00 ^a	0.628±0.030 ^a	707.57±18.14 ^a	1 126.23±7.41 ^a	0.606±0.024 ^b	0.192±0.013 ^g	6.75±0.10 ^a
S1	18.99±0.97 ⁱ	1 092.50±37.62 ^b	0.653±0.051 ^a	384.95±19.87 ^b	639.64±26.38 ^b	0.556±0.015 ^c	0.221±0.022 ^f	5.31±0.02 ^b
S2	19.20±0.02 ^h	928.40±1.98 ^c	0.651±0.014 ^a	283.21±8.06 ^c	437.57±34.40 ^c	0.604±0.014 ^b	0.175±0.024 ^g	4.69±0.01 ^c
S3	20.59±0.01 ^g	768.80±10.18 ^d	0.647±0.014 ^a	238.45±3.42 ^d	466.24±15.26 ^d	0.606±0.010 ^b	0.295±0.094 ^a	4.52±0.02 ^d
S4	20.97±0.07 ^f	692.40±14.99 ^e	0.516±0.004 ^{de}	230.39±9.07 ^d	382.87±10.63 ^e	0.680±0.030 ^a	0.242±0.030 ^c	4.43±0.02 ^e
S5	21.66±0.32 ^e	581.90±30.97 ^f	0.602±0.021 ^b	197.73±9.78 ^e	352.68±45.74 ^f	0.584±0.022 ^{bc}	0.251±0.021 ^b	4.36±0.01 ^f
S6	22.35±0.05 ^d	456.90±58.12 ^g	0.571±0.013 ^c	145.10±6.65 ^f	254.06±7.01 ^g	0.585±0.021 ^{bc}	0.211±0.021 ^g	4.34±0.02 ^f
S7	23.90±0.19 ^c	371.00±21.35 ^h	0.593±0.012 ^{bc}	132.89±1.70 ^f	224.07±5.20 ^h	0.471±0.041 ^d	0.222±0.011 ^e	4.21±0.04 ^g
S8	25.31±0.59 ^b	344.20±30.12 ⁱ	0.553±0.020 ^d	135.70±6.72 ^f	208.40±2.10 ⁱ	0.606±0.032 ^b	0.260±0.012 ^b	4.24±0.01 ^g
S9	27.40±0.30 ^a	212.40±4.67 ^j	0.511±0.030 ^e	79.82±1.12 ^g	144.33±5.72 ^j	0.553±0.034 ^c	0.276±0.004 ^b	4.15±0.02 ^h

2.5 pH 值测定

精密称取样品粉末 10.00 mg, 加纯水定容至 10 mL, 配制成 1.00 mg/mL 的溶液, 滤过, 取滤液用 pH 计测定, 平行测定 3 次。pH 值变化结果如表 3 所示, 样品水溶液的 pH 值由 S0 的弱酸性显著下降至 S9 的酸性, 且该变化在 S3 后趋于平缓。

2.6 电子舌测定

采用 ASTREE 电子舌系统进行测定。称取各黄精样品粉末 1.00 g, 加 100 mL 超纯水, 静置 30 min 后, 于超声清洗器 40 kHz、100 W 功率下室温超声提取 30 min, 冷却, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上

清液作为供试品溶液。按仪器操作规程, 经传感器活化、清洗、平衡后, 对样品进行检测, 每个样品平行测定 6 次。

电子舌分析清晰地捕捉到了炮制过程中滋味的动态变化规律(表 4)。其中, 苦味与涩味这 2 种不愉悦的味感在炮制前期(S0~S3)显著减弱, 苦味值于 S3 降至最低, 而涩味值则持续下降。与之相反, 代表愉悦感的甜味整体呈上升趋势, 并在 S9 达到最高。此外, 反映整体风味强度的浓郁度指标在 S3 阶段达到峰值, 提示此时样品的风味轮廓最为鲜明。

表4 基于电子舌技术的多花黄精炮制过程味觉值变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Changes in taste values during processing of *P. cyrtonema* based on electronic tongue technology ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	味觉响应值								
	涩味	酸味	苦味	甜味	鲜味	咸味	浓郁度	苦味余味	酸味余味
S0	6.69±0.40	-27.41±0.00	6.51±0.15	1.67±0.17	7.14±0.14	-14.10±0.80	0.73±0.03	-0.19±0.04	0.24±0.04
S1	5.40±0.48	-20.10±0.72	5.81±0.19	4.47±0.11	5.36±0.04	-10.90±0.05	0.98±0.01	0.08±0.02	0.45±0.02
S2	5.25±0.17	-17.80±0.68	5.68±0.21	4.77±0.16	4.85±0.07	-4.60±0.05	1.13±0.01	0.13±0.03	0.58±0.03
S3	4.91±0.18	-14.30±0.72	5.55±0.24	4.50±0.24	4.12±0.06	-1.25±0.14	1.19±0.02	0.24±0.02	0.59±0.02
S4	4.51±0.26	-10.71±0.94	5.90±0.17	5.78±0.11	3.36±0.08	-7.77±0.04	1.07±0.03	0.31±0.03	0.54±0.03
S5	2.62±0.42	-10.15±0.84	5.92±0.19	5.72±0.15	3.21±0.07	-5.69±0.04	1.02±0.02	0.30±0.02	0.57±0.02
S6	2.49±0.27	-12.22±0.78	6.16±0.20	6.15±0.16	3.72±0.02	-10.50±0.05	0.94±0.02	0.18±0.03	0.55±0.03
S7	0.93±0.54	-10.30±0.96	6.13±0.16	6.13±0.07	3.15±0.07	-7.94±0.14	1.03±0.02	0.32±0.03	0.54±0.03
S8	0.50±0.16	-11.79±0.86	5.89±0.20	5.89±0.18	3.46±0.04	-7.36±0.03	1.05±0.04	0.26±0.04	0.56±0.04
S9	0.28±0.12	-11.16±1.03	6.41±0.20	6.41±0.15	3.22±0.09	-9.84±0.06	1.06±0.03	0.32±0.03	0.52±0.03

2.7 多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法^[18]测定。

2.7.1 对照品溶液的制备 精密称取无水葡萄糖标准品 10.00 mg, 加蒸馏水定容于 100 mL 量瓶中, 得质量浓度为 0.10 mg/mL 的葡萄糖标准品溶液。

2.7.2 供试品溶液的制备 精密称定 S0~S9 样品粉末约 0.250 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 80%乙醇 150 mL, 回流提取 1 h。趁热滤过, 残渣以 80%热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL。将残渣及滤纸转移至烧瓶中, 加入蒸馏水 150 mL, 回流提取 1 h, 趁热

滤过，残渣及烧瓶用热水洗涤4次，每次10 mL。合并滤液与洗液，冷却后定容至250 mL量瓶中，即得供试品溶液。

2.7.3 线性关系考察 分别精密量取“2.7.1”项下对照品溶液0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL，置于10 mL具塞刻度试管中，加蒸馏水补至1.0 mL，摇匀。随后依次加入0.5 mL 5%苯酚溶液及2.5 mL浓硫酸，摇匀，立即置于沸水浴中加热15 min后，于冷水浴中冷却至室温，以蒸馏水作为空白对照，使用分光光度计测定490 nm下吸光度值。以葡萄糖质量浓度为横坐标(X)，吸光度为纵坐标(Y)，进行线性回归分析，得回归方程为 $Y=9.3496X-0.0245$ ， $R^2=0.9973$ 。结果表明，葡萄糖在10.19~101.90 μg/mL线性关系良好。

2.7.4 精密度考察 精密吸取S6样品粉末，按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取供试品溶液0.5 mL，加蒸馏水至1.0 mL，按照“2.7.3”项下方法操作，测定其吸光度，连续测定6次，记录吸光度值，计算得其RSD为1.88%，表明此仪器精密度良好。

2.7.5 稳定性考察 精密称取S6样品粉末，按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取供试品溶液0.5 mL，加蒸馏水至1.0 mL，按照“2.7.3”项下方法操作，分别于制备后0、2、4、6、8、12、16、24 h测定供试品溶液的吸光度值，计算得其RSD为1.67%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7.6 重复性考察 精密称取S6样品粉末共6份，按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取供试品溶液0.5 mL，加蒸馏水至1.0 mL，按照“2.7.3”项下方法操作，测定其吸光度，根据测定所得吸光度值计算其质量分数的RSD值为1.57%，表明该方法重复性良好。

2.7.7 加样回收率考察 精密称定S6样品粉末共6份，每份0.125 g，按照样品中多糖含量的1:1比例，分别加入葡萄糖标准品溶液，按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，精密量取供试品溶液0.5 mL，加蒸馏水至1.0 mL，按照“2.7.3”项下方法操作，测定其吸光度，计算得到葡萄糖的平均加样回收率为98.10%，RSD为1.74%，表明此方法具有可行性。

2.7.8 样品测定 称取一定量的S0~S9样品粉末，按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液，使用紫外分光光度计测定490 nm下的吸光度，根据回归方

程计算多糖含量，结果见表5。黄精多糖含量在炮制过程中呈波动性下降，生品(S0)中多糖质量分数最高，为(9.03±0.07)%，经第1次蒸制(S1)后，多糖质量分数大幅下降至(3.63±0.05)%，S4降至最低值(2.16±0.06)%，后期趋于稳定。

表5 多花黄精炮制过程中主要化学成分含量变化($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 5 Changes in content of main chemical components during processing of *P. cyrtonema* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	多糖/%	总还原糖/%	总氨基酸/%	5-HMF/%
S0	9.03±0.07 ^a	0.05±0.00 ^g	1.34±0.02 ^a	0.00±0.00 ^h
S1	3.63±0.05 ^b	1.00±0.02 ^f	1.20±0.05 ^b	0.01±0.00 ^h
S2	2.46±0.06 ^f	1.32±0.02 ^b	0.72±0.01 ^d	0.02±0.00 ^h
S3	3.15±0.15 ^d	1.38±0.03 ^a	0.77±0.01 ^{cd}	0.05±0.00 ^g
S4	2.16±0.06 ^g	1.29±0.01 ^b	0.74±0.01 ^c	0.16±0.00 ^f
S5	3.44±0.09 ^c	1.24±0.02 ^e	0.60±0.01 ^e	0.20±0.00 ^e
S6	2.81±0.09 ^e	1.19±0.03 ^d	0.58±0.00 ^e	0.47±0.01 ^d
S7	2.81±0.06 ^e	1.10±0.01 ^e	0.57±0.00 ^e	0.59±0.01 ^c
S8	2.92±0.05 ^e	1.11±0.00 ^e	0.58±0.01 ^e	0.71±0.01 ^b
S9	2.83±0.06 ^e	1.09±0.02 ^e	0.51±0.00 ^f	0.83±0.03 ^a

2.8 还原糖含量测定

采用DNS法^[19]测定。

2.8.1 对照品溶液的制备 精确称取葡萄糖标准品6.25 mg，加蒸馏水定容于25 mL量瓶中，得质量浓度为0.25 mg/mL的对照品溶液。

2.8.2 供试品溶液的制备 精密称定S0~S9样品粉末各0.50 g，置于50 mL具塞锥形瓶中，精密加入蒸馏水25 mL，密塞并称定质量后，于超声清洗器40 kHz、300 W、室温条件下超声提取30 min。冷却后补足减失的质量，摇匀后滤过，取续滤液作为供试品溶液。

2.8.3 DNS显色剂的制备 称取酒石酸钾钠46.25 g，精密称定，加适量蒸馏水溶解后，置于45℃水浴中保温；随后分别称取氢氧化钠5.25 g、DNS 1.58 g、苯酚1.25 g及无水亚硫酸钠1.25 g，加少量蒸馏水搅拌溶解后，加入酒石酸钾钠溶液，边加边搅拌。混合液冷却至室温后，转移并定容至250 mL棕色量瓶中，置于暗处保存7 d，即得DNS显色剂。

2.8.4 线性关系考察 分别精密量取“2.8.1”项下对照品溶液0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL，置于10 mL具塞试管中，加蒸馏水补至2 mL，摇匀；再分别加入DNS显色剂2 mL，混匀后于沸水浴中加热5 min后，立即冰水浴冷却至室温。以蒸馏水作

为空白对照。使用分光光度计测定 540 nm 下吸光度。以葡萄糖质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=8.3703X-0.0352$, $R^2=0.9992$, 结果表明葡萄糖在 70.6~177.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.8.5 精密度考察 精密吸取 S6 样品粉末, 按照“2.8.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 0.2 mL, 按照“2.8.4”项下方法测定吸光度, 并连续测定 6 次, 记录吸光度值, 计算得其 RSD 为 0.79%, 表明此仪器精密度良好。

2.8.6 稳定性考察 精密称取 S6 样品粉末, 按照“2.8.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 0.2 mL, 按照“2.8.4”项下方法, 分别于制备后 0、2、4、6、8、12、16、24 h 测定供试品溶液的吸光度值, 计算得其 RSD 为 1.97%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8.7 重复性考察 精密称取 S6 样品粉末共 6 份, 按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 0.2 mL, 按照“2.8.4”项下方法测定吸光度, 并根据回归方程计算样品中扣除水分后的总还原糖含量, 计算其质量分数的 RSD 值为 1.69%, 表明该方法重复性良好。

2.8.8 加样回收率试验 精密称取 S6 样品约 0.25 g, 分为 3 组, 每组 3 份, 共 9 份; 分别精密加入相当于样品中还原糖含量 80%、100%、120%的葡萄糖标准品溶液; 按照“2.8.2”项下方法制备供试品溶液; 精密量取供试品溶液 0.2 mL, 按照“2.8.4”项下方法测定吸光度, 并根据回归方程计算样品中扣除水分后的总还原糖含量, 计算得到葡萄糖的平均加样回收率为 99.35%, RSD 为 1.82%, 表明该方法具有可行性。

2.8.9 样品测定 称取一定量的 S0~S9 样品粉末, 按照“2.8.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 0.2 mL, 按照“2.8.4”项下方法使用紫外分光光度计测定 540 nm 下的吸光度, 并根据回归方程计算样品中扣除水分后的总还原糖含量, 结果见表 5。生品 (S0) 中总还原糖含量极低, 仅为 $(0.05\pm 0.00)\%$ 。蒸制后还原糖急剧升高, S3 达到峰值 $(1.38\pm 0.03)\%$, S3 之后随蒸制次数增加, 还原糖呈缓慢下降趋势 S9 降至 $(1.09\pm 0.02)\%$ 。

2.9 氨基酸含量测定

采用茚三酮显色法^[20]测定。

2.9.1 对照品溶液的制备 精密称取 L-精氨酸对

照品 8.05 mg, 加蒸馏水定容于 25 mL 量瓶中, 配制成质量浓度为 0.322 mg/mL 的对照品溶液。

2.9.2 供试品溶液的制备 精密称取 S0~S9 样品粉末约 0.20 g, 加入 60%乙醇 30 mL, 于超声清洗器 40 kHz、400 W、室温条件下超声提取 2 次, 每次 45 min, 滤过, 合并滤液, 滤液经减压浓缩至无醇味后, 加蒸馏水定容至 50 mL 量瓶中, 即得供试品溶液。

2.9.3 线性关系考察 分别精密吸取“2.9.1”项下对照品溶液 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL, 依次加入 2%茚三酮溶液 1.0 mL 及磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 6.8) 1.0 mL, 摇匀, 于沸水浴中加热 20 min。取出后冷却至室温, 以蒸馏水定容于 10 mL 量瓶中。以蒸馏水作为空白对照, 使用分光光度计测定波长 568 nm 下的吸光度值。以 L-精氨酸质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=0.0701X-0.6456$, $R^2=0.9969$, 结果表明, L-精氨酸在 0.507~1.640 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.9.4 精密度考察 精密吸取 S6 样品粉末, 按照“2.9.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 2 mL, 按照“2.9.3”项下方法测定吸光度, 连续测定 6 次, 记录吸光度值, 计算得其 RSD 为 0.85%, 表明此仪器精密度良好。

2.9.5 稳定性考察 精密称取 S6 样品粉末, 按照“2.9.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 2 mL, 按照“2.9.3”项下方法, 分别于制备后 0、2、4、6、8、12、16、24 h 测定供试品溶液的吸光度值, 计算得其 RSD 为 1.88%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9.6 重复性考察 精密称取 S6 样品粉末共 6 份, 按“2.9.2”项下方法制备供试品溶液, 精密量取供试品溶液 2 mL, 按照“2.9.3”项下方法测定吸光度, 据此计算扣除水分后的总氨基酸含量, 计算其质量分数的 RSD 值为 1.93%, 表明该方法重复性良好。

2.9.7 加样回收率试验 精密称取 S6 样品约 0.10 g, 分为 3 组, 每组 3 份, 共 9 份。分别精密加入相当于样品中氨基酸含量 80%、100%、120%的 L-精氨酸对照品溶液; 按照“2.9.2”项下方法制备供试品溶液; 精密量取供试品溶液 2 mL, 按照“2.9.3”项下方法测定吸光度, 据此计算扣除水分后的总氨基酸含量, 计算得到 L-精氨酸的平均加样回收率为 100.35%, RSD 为 1.47%, 表明该方法具有可行性。

2.9.8 样品测定 称取一定量的S0~S9样品粉末,按照“2.9.2”项下方法制备供试品溶液,精密量取供试品溶液2 mL,按照“2.9.3”项下方法使用紫外分光光度计测定568 nm下的吸光度,据此计算扣除水分后的总氨基酸含量,结果见表5。反复高温蒸制使氨基酸不断分解,含量持续降低。由S0的(1.34±0.02)%持续下降至S9的(0.51±0.00)%。

2.10 美拉德反应相关成分5-HMF含量测定

采用HPLC法^[21]测定。

2.10.1 HPLC 色谱条件 仪器采用Waters e2695型高效液相色谱仪;色谱柱为Agilent Zorbax-SB C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(8:92);体积流量1.0 mL/min;检测器为紫外-可见光检测器;检测波长280 nm;柱温35 ℃;进样量10 μL;计算理论塔板数为3 698,大于3 000,符合含量测定要求,色谱图见图2。

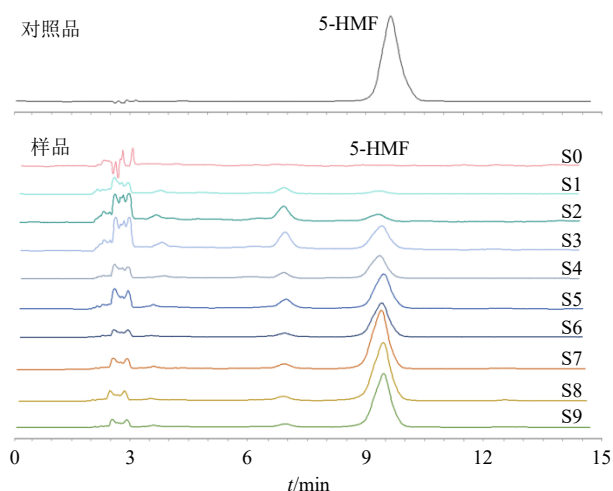


图2 5-HMF对照品与多花黄精样品的HPLC图

Fig. 2 HPLC of 5-HMF reference substance and *P. cyrtonema* samples

2.10.2 对照品溶液的制备 精密称定5-HMF对照品50 mg置于烧杯中,加适量甲醇溶解,定容至10 mL,得含5-HMF 5.0 mg/mL的对照品母液。

2.10.3 供试品溶液制备 精密称定多花黄精S0~S9粉末各0.20 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,加入20 mL甲醇,于超声清洗器40 kHz、300 W、室温条件下超声提取30 min,滤过,转移至25 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得供试品溶液^[22]。

2.10.4 线性关系考察 将“2.10.2”项下对照品母液分别稀释至781.25、1 562.50、3 125.00、6 250.00、12 500.00、25 000.00、50 000.00、100 000.00 ng/mL,过0.22 μm滤膜,备用。按照“2.10.1”项下色谱条

件进样分析,记录各质量浓度下的峰面积。以峰面积为纵坐标(Y),对照品的质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,进行线性回归,得到回归方程 $Y=86.131X+6.7725$, $R^2=0.9999$,结果表明,5-HMF在781.25~100 000.00 μg/mL线性关系良好。

2.10.5 精密度考察 精密吸取5-HMF对照品溶液,按照“2.10.1”项下色谱条件进样分析,连续测定6次,记录峰面积,计算得其RSD为2.55%,表明此仪器精密度良好。

2.10.6 稳定性考察 精密称取S6样品粉末,按照“2.9.3”项下方法制备供试品溶液,分别于制备后0、2、4、6、8、12、16、24 h,按照“2.10.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算得其RSD为2.32%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.10.7 重复性考察 精密称取S6样品粉末共6份,按照“2.10.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.10.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,计算得其质量分数的RSD为2.62%,结果表明该测定方法重复性良好。

2.10.8 加样回收率试验 取S6样品粉末6份,每份0.10 g,按照样品中5-HMF含量的1:1比例,加入5-HMF对照品溶液,按照“2.10.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,计算加样回收率,结果5-HMF的平均加样回收率为102.36%,RSD为0.97%,表明该方法具有可行性。

2.10.9 样品测定 称取一定量的S0~S9样品粉末,按照“2.10.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.10.1”项下色谱条件进样分析,根据回归方程计算各样品中5-HMF的含量。美拉德反应关键成分的测定结果(表5)显示,其特征性产物5-HMF色谱图见图2,从生品(S0)的未检出状态开始,随炮制进行而持续积累,至S9含量最高,达(0.83±0.03)%。

2.11 多元统计分析

为筛选出对炮制过程贡献最大的性状指标,计算了变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值。结果(图3)显示,回复性、弹性、内聚性、苦味、涩味、咸味、 b^* 值及浓郁度这8个指标的VIP值均大于1,它们被认为是驱动黄精炮制过程中性状变化的核心指标。

2.12 基于CRITIC法的炮制终点综合评判

2.12.1 CRITIC 权重系数及综合得分的计算 利用SPSS PRO在线软件(<https://spsspro.com>)先对数据

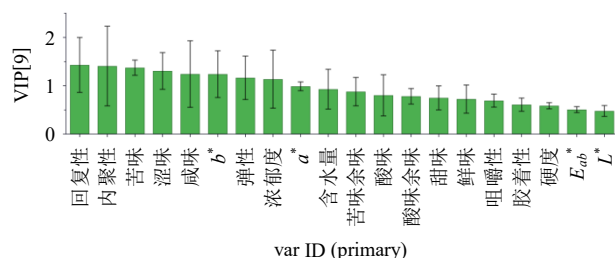


图3 不同蒸制次数多花黄精样品色泽、质地及滋味指标的VIP值

Fig. 3 VIP scores for color, texture, and taste indicators of *P. cyrtonema* samples with different steaming cycles

表6 多花黄精炮制过程关键指标数据量纲化处理结果

Table 6 Normalization results of key indicators during processing of *P. cyrtonema*

样品	指标数据量纲化处理后												
	回复性	弹性	内聚性	b^*	涩味	苦味	咸味	浓郁度	pH值	多糖	氨基酸	还原糖	5-HMF
S0	0.08	0.86	0.67	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00	0.00	1.00
S1	0.33	1.00	0.43	1.00	0.20	0.73	0.25	0.54	0.45	0.21	0.83	0.71	0.99
S2	0.00	1.00	0.62	0.75	0.22	0.86	0.74	0.87	0.21	0.04	0.25	0.95	0.98
S3	1.00	1.00	0.67	0.47	0.28	1.00	1.00	1.00	0.14	0.14	0.32	1.00	0.94
S4	0.50	0.07	1.00	0.22	0.34	0.64	0.49	0.74	0.11	0.00	0.28	0.93	0.81
S5	0.58	0.64	0.52	0.28	0.63	0.61	0.65	0.63	0.08	0.19	0.10	0.89	0.76
S6	0.25	0.43	0.57	0.03	0.66	0.36	0.27	0.46	0.07	0.09	0.09	0.85	0.43
S7	0.33	0.57	0.00	0.03	0.90	0.40	0.48	0.65	0.02	0.09	0.08	0.79	0.29
S8	0.67	0.29	0.67	0.17	0.97	0.45	0.52	0.70	0.03	0.11	0.08	0.80	0.14
S9	0.83	0.00	0.38	0.00	1.00	0.18	0.33	0.33	0.00	0.10	0.00	0.78	0.00

客观赋权法构建了综合评价模型。计算得到回复性、弹性、内聚性、 b^* 、涩味、苦味、咸味、浓郁度、pH值、多糖、氨基酸、还原糖、5-HMF的权重系数分别为8.41%、8.02%、6.13%、6.99%、12.46%、6.07%、6.20%、6.43%、7.94%、8.09%、8.25%、7.29%、7.71%，各炮制阶段样品的综合得分依次为S0(47.75)、S1(57.35)、S2(53.80)、S3(65.41)、S4(44.56)、S5(50.30)、S6(35.92)、S7(37.88)、S8(44.41)、S9(35.99)。其中，S3样品的综合品质得分显著高于其他阶段，表明其为最佳炮制节点。

2.12.2 炮制过程的阶段划分 基于上述8个关键性指标与美拉德反应成分数据进行的多元统计分析，一致地将炮制过程划分为3个特征明确的阶段。层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)结果(图4-A)显示，S0(生品)自成一类；S1~S3聚为一类；S4~S9聚为另一类。PCA模型(图4-C，累积贡献率86.90%， $R^2=0.869$ 、 $Q^2=0.542$)清晰地展示了样品沿PC1轴的空间分布，呈现出从S0(生品)到S3，再到S4~S9的连续演变轨迹，

进行量纲化处理，正向指标按公式(1)计算，负向指标按公式(2)计算，关键指标量纲化结果见表6。再进行CRITIC分析，根据公式(3)进行计算不同蒸制次数黄精的综合得分。

$$x_{ij}' = (x_{ij} - \min x_j) / (\max x_j - \min x_j) \quad (1)$$

$$x_{ij}'' = (\max x_j - x_{ij}) / (\max x_j - \min x_j) \quad (2)$$

$$Y_j = \sum_{i=1}^n \omega_j x_{ij} \quad (3)$$

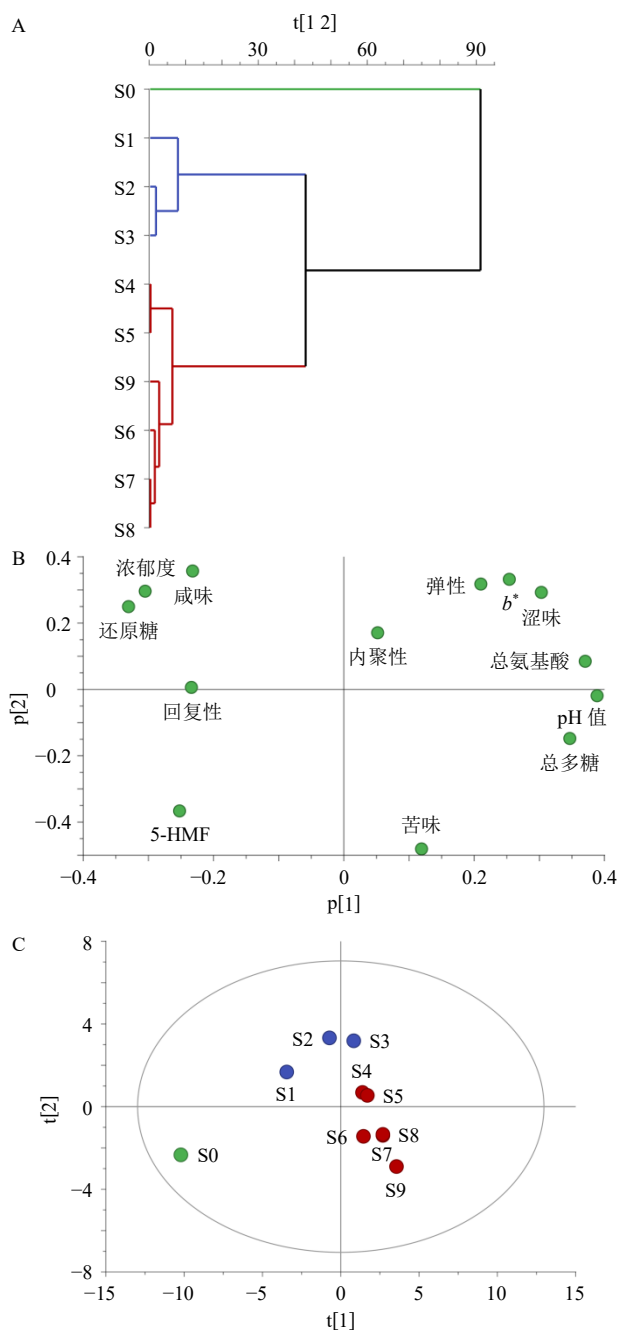
ω_j 是第j个指标的权重， x_{ij} 是第i项在第j个指标上的得分，n是评价指标个数

为进一步精准判定最优炮制终点，引入CRITIC

与HCA结果相互印证。结合载荷图(图4-B)与主成分分析(principal component analysis, PCA)得分图(图4-C)进行分析，品质最优的样品S3位于第1象限，该区域与弹性、内聚性、涩味、 b^* 以及总氨基酸呈高度正相关，而与苦味、5-HMF等指标呈负相关。这表明，S3的优秀品质主要源于其保留了良好的质构特性(弹性、内聚性)、特定的风味成分(涩味)以及适度的颜色积累(b^*)，同时此时的苦涩底物及美拉德反应副产物(5-HMF)的生成较少。这表明在蒸制过程中，S3是一个关键的拐点。此阶段黄精的质构、风味和外观品质实现综合品质最优化，同时有效避免了因过度热处理而产生的苦味和潜在风险成分(5-HMF)，这为后续确定最佳蒸制时间提供了实验基础。

2.13 斑马鱼抗氧化活性实验

2.13.1 不同蒸制次数黄精水提物的制备及药物的配制 取干燥的S0~S9粉末，按料液比1:10加热回流1h后，趁热滤过取上清，重复2次，合并2次滤液，浓缩后冷冻干燥即得水提物粉末^[23]。称



A-层次聚类分析; B-载荷图; C-主成分分析得分图。
A-hierarchical cluster analysis; B-loading scatter plot; C-principal component analysis score plot

图4 基于关键指标对不同蒸制次数多花黄精样品的多元统计分析

Fig. 4 Multivariate statistical analysis of *P. cyrtonea* samples with different steaming cycles based on key indicators

量 S0~S9 水提取物, 实验前用斑马鱼胚胎培养液稀释成所需浓度; AAPH 和 NAC 分别溶于斑马鱼胚胎培养液, 配制成 10、200 mmol/L 贮备液, -20 °C 避光保存, 临用时稀释成所需浓度即可。

2.13.2 黄精水提取物急性毒性实验 体视显微镜下选取受精后 24 h (24 h post-fertilization, 24 hpf) 的野生型健康斑马鱼按 15 个胚胎/孔分配至 12 孔板中; 每孔加入待测化合物溶液 4 mL。给药组 S0、S4、S9 水提取物, 分别设置 7 个质量浓度梯度 (0.4、0.8、1.6、3.2、6.4、12.8、25.6 mg/mL), 另设空白组 (斑马鱼胚胎培养液)。每组设置 3 个平行, 于 28 °C 恒温培养箱中继续避光培养 72 h。在实验终点, 于体式显微镜下观察斑马鱼给药后的形态变化, 计算胚胎孵化率、死亡率以及畸形率。

胚胎孵化率 = 孵化的胚胎数量 / 总胚胎数量

胚胎死亡率 = 死亡的胚胎数量 / 总胚胎数量

胚胎畸形率 = 畸形的胚胎数量 / 总胚胎数量

由于不同蒸制阶段样品的化学组成存在一定差异, 为保证后续抗氧化实验给药质量浓度的安全性及结果的可比性, 本研究选取蒸制前期 (S0)、中期 (S4) 及后期 (S9) 样品作为代表, 进行斑马鱼胚胎毒性预实验。由表 7 可知, S0、S4、S9 水提取物对斑马鱼的孵化率均随着质量浓度的升高而呈下降趋势。当水提取物质量浓度 ≤ 1.6 mg/mL 时, 胚胎孵化率高达 85% 以上, 且无致畸现象; 当水提取物质

表 7 不同质量浓度的多花黄精水提取物对斑马鱼孵化率、死亡率及畸形率的影响

Table 7 Effects of different concentrations of *P. cyrtonea* aqueous extracts on hatching rate, mortality rate, and malformation rate of zebrafish

样品	孵化率/%						
	0.4 mg·mL ⁻¹	0.8 mg·mL ⁻¹	1.6 mg·mL ⁻¹	3.2 mg·mL ⁻¹	6.4 mg·mL ⁻¹	12.8 mg·mL ⁻¹	25.6 mg·mL ⁻¹
S0	93.3	91.1	88.9	55.5	8.9	4.4	0.0
S4	95.6	95.6	93.3	66.7	15.6	6.7	0.0
S9	93.3	88.9	86.7	62.2	13.3	4.4	0.0
样品	死亡率/%						
	0.4 mg·mL ⁻¹	0.8 mg·mL ⁻¹	1.6 mg·mL ⁻¹	3.2 mg·mL ⁻¹	6.4 mg·mL ⁻¹	12.8 mg·mL ⁻¹	25.6 mg·mL ⁻¹
S0	6.7	8.9	11.1	44.5	91.1	95.6	100.0
S4	4.4	4.4	6.7	33.3	84.4	93.7	100.0
S9	6.7	11.1	13.3	37.8	86.7	95.6	100.0
样品	畸形率/%						
	0.4 mg·mL ⁻¹	0.8 mg·mL ⁻¹	1.6 mg·mL ⁻¹	3.2 mg·mL ⁻¹	6.4 mg·mL ⁻¹	12.8 mg·mL ⁻¹	25.6 mg·mL ⁻¹
S0	0	0	0	8.9	33.3	100.0	100.0
S4	0	0	0	6.7	24.4	100.0	100.0
S9	0	0	0	8.9	28.9	100.0	100.0

量浓度为 3.2 mg/mL 时, 3 组胚胎均出现不同程度的致畸现象, 当质量浓度达到 25.6 mg/mL 时, 斑马鱼胚胎畸形率为 100%且全部死亡; 上述结果表明, 1.6 mg/mL 对斑马鱼胚胎无明显毒性, 可作为后续实验的安全给药质量浓度。因此, 为保证不同蒸制阶段样品间抗氧化活性比较的统一性与可比性, 后续斑马鱼抗氧化实验均采用 1.6 mg/mL 作为处理质量浓度。

2.13.3 黄精水提物对斑马鱼抗氧化活性的测定
体视显微镜下, 选取 24 hpf 的野生型健康斑马鱼于 12 孔板中, 每孔 15 条, 采用 AAPH 诱导构建斑马鱼胚胎氧化应激模型^[24]。根据最大安全质量浓度筛选结果, 选择 1.6 mg/mL 作为给药质量浓度, 分别

加入对应体积的药物贮备液和 2 mL AAPH 贮备液, 并用斑马鱼胚胎培养液补至 4 mL; 同时设置空白组 (4 mL 斑马鱼胚胎培养液)、模型组 (4 mL AAPH 贮备液) 和阳性对照组 (0.004 mL NAC 贮备液和 3.996 mL AAPH 母液)。每组设置 4 个平行, 各实验组置于 28 °C 培养箱恒温避光培养 48 h。参照活性氧检测试剂盒说明书通过 CM-H2DCFDA 荧光探针对斑马鱼体内活性氧进行染色。在实验终点, 各实验组从表型和行为正常的斑马鱼中随机选取 30 条, 0.25 mg/mL 三卡因麻醉, 用 1% 甲基纤维素固定于载玻片上, 于荧光显微镜下采集图片 (图 5), 并使用 Image J 图像分析软件统计各组斑马鱼胚胎的活性氧荧光强度^[25]。

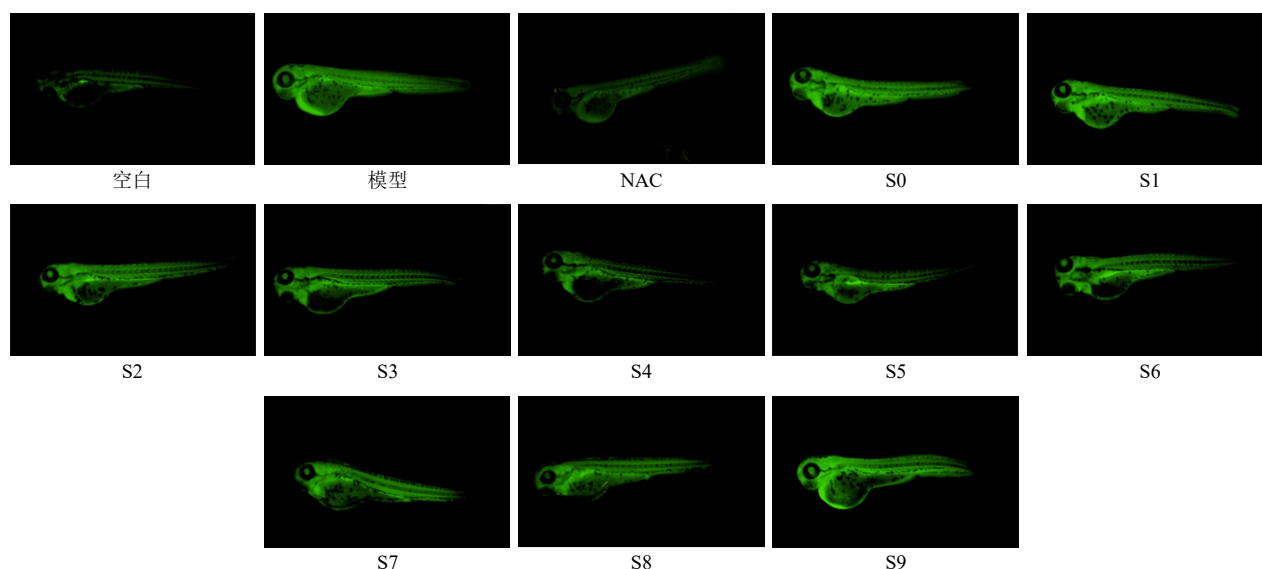


图 5 不同炮制品多花黄精水提物对斑马鱼氧化应激情况的影响

Fig. 5 Effects of aqueous extracts from differently processed *P. cyrtoneuma* products on oxidative stress in zebrafish

由不同处理组的相对模型组的荧光强度 (表 8) 可知, 不同炮制阶段的黄精提取物均具有一定的抗氧化能力。模型组斑马鱼的活性氧相对荧光强度为 1.00 ± 0.04 , 与空白组 (0.62 ± 0.09) 相比增加 0.38 倍 ($P < 0.01$), 说明斑马鱼氧化应激模型构建成功。在相同条件下, 经不同炮制品黄精水提物处理后, 斑马鱼活性氧相对荧光强度较模型组均有所下降, 其中 S4 和 S5 水提物表现出较强的抗氧化能力, 其活性氧相对荧光强度分别为 0.77 ± 0.02 和 0.79 ± 0.03 , 与模型组相比显著降低 ($P < 0.01$), 而在后续的 S6 至 S9 阶段, 水提物的抗氧化能力逐渐减弱, 整体来说, 随着炮制次数的增加, 黄精多糖在蒸制初期 (S1~S2) 抗氧化能力较弱, 在 (S3~S5) 展现出显著的抗氧化能力提升趋势, 而进入蒸制后期

表 8 多花黄精水提物对斑马鱼活性氧相对荧光强度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Table 8 Effects of aqueous extract of *P. cyrtoneuma* on relative fluorescence intensity of reactive oxygen species in zebrafish ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

组别	相对荧光强度	组别	相对荧光强度
空白	0.62 ± 0.09	S4	$0.77 \pm 0.02^{**}$
模型	$1.00 \pm 0.04^{##}$	S5	$0.79 \pm 0.03^{**}$
NAC	0.73 ± 0.04	S6	$0.82 \pm 0.02^{**}$
S0	0.96 ± 0.05	S7	$0.83 \pm 0.02^{**}$
S1	0.93 ± 0.05	S8	$0.85 \pm 0.03^{**}$
S2	$0.88 \pm 0.02^{**}$	S9	$0.86 \pm 0.04^{**}$
S3	$0.81 \pm 0.03^{**}$		

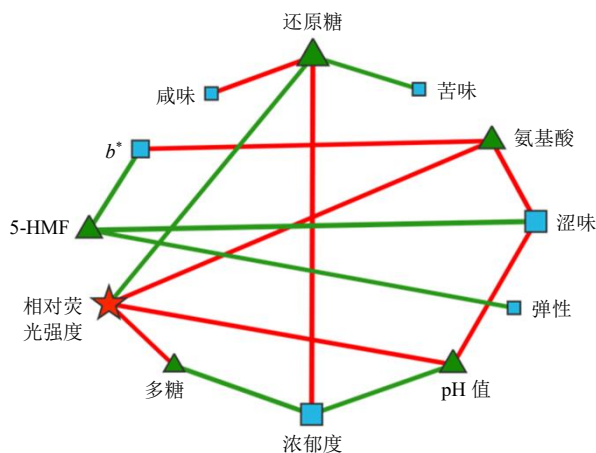
与空白组比较: $^{##}P < 0.01$; 与模型组比较: $^{**}P < 0.01$ 。

$^{##}P < 0.01$ vs blank group; $^{**}P < 0.01$ vs model group.

(S6~S9) 则趋于减弱。

2.14 “性状-成分-活性”的 Pearson 相关性分析

为进一步揭示性状指标、化学成分及抗氧化活性之间的相关性，进行了 Pearson 相关性分析。相关性网络图如图 6 所示，节点大小代表该物质的连通度（即与该物质相关性显著的物质个数），连通度越高节点越大；连线粗细代表相关性绝对值的大小，相关性绝对值越大连线越粗。



红色连线表明指标间为正相关关系；绿色连线表明指标间为负相关关系；各指标间相关性均达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Red lines indicate positive correlations between indicators, while green lines indicate negative correlations. All correlations between indicators reached a significant level ($P < 0.05$).

图 6 “性状-成分-活性”的 Pearson 相关性网络图

Fig. 6 Pearson correlation network diagram of “trait-component-activity”

结果表明，还原糖与相对荧光强度的连通度最大，相对荧光强度越小则代表样品的抗氧化活性越强。抗氧化活性与氨基酸、pH 值、多糖及氨基酸呈显著负相关，与还原糖呈显著正相关；还原糖与咸味呈正相关，与苦味呈负相关；弹性与 5-HMF 呈现显著负相关；浓郁度与多糖呈显著负相关，与还原糖呈显著正相关。这些关联性表明，黄精的物理性状（浓郁度、弹性、 b^* 等）与内部化学成分（还原糖、5-HMF、氨基酸等）的动态变化高度耦合，并最终影响其抗氧化活性。

3 讨论

本研究通过多维量化指标与客观数学模型，系统解析了多花黄精九蒸九制的炮制规律，确定了其综合品质最优的炮制终点，并通过斑马鱼抗氧化活性实验比较不同蒸制次数黄精的活性，从现代科学角度揭示了适度炮制的内在科学原理。

黄精在炮制过程中色泽的加深表现为 L^* 、 b^* 值

系统性下降，同时美拉德反应特征产物 5-HMF 的持续积累提示美拉德反应是驱动黄精炮制外观变化的潜在化学机制^[26]。质地特性由脆硬向软糯的转变（硬度、咀嚼性显著下降，含水量上升），与多糖的降解以及植物细胞结构在湿热处理下的破坏密切相关。炮制过程中，还原糖的峰值积累以及高分子多糖的降解使甜味增强，而氨基酸的消耗及美拉德反应导致苦涩味底物的减少，同时伴随刺激性成分的转化和物理结构的软化。氨基酸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，可能与此物质的减少有关。

同时，本研究对传统“九蒸九制”工艺进行了现代科学阐释。传统工艺强调多次循环，但炮制“不及”或“太过”均达不到良好的药效程度。本研究通过 CRITIC 客观赋权法的综合评价明确指出，三蒸三制（S3）是综合品质最优的节点，而非次数最多的 S9。该节点不仅综合评分最高，且其感官属性与化学成分呈现出理想特征：色泽黑褐、质地柔韧、滋味协调（苦味最低而甜味显著），同时还原糖含量达到峰值而 5-HMF 仅适度生成。S3 阶段恰好实现了“解毒”（麻舌感基本消失）与“增效”（还原糖达峰值，甜味凸显）的关键平衡。而后续蒸制则更多表现为美拉德反应的过度深化（色泽继续加深至亮黑）及潜在不良转化的加剧（5-HMF 持续升高至较高水平，滋味转苦）。

针对炮制过程中 5-HMF 的积累及其潜在安全性问题，本研究基于现有文献进行了评估，Abraham 等^[27]的综述中指出，5-HMF 在动物实验中的无可见有害作用水平为 80~100 mg/kg，而人类通过日常饮食（如咖啡、干果）的每日摄入量为 5~30 mg。依据《中国药典》2025 年版^[1]规定的黄精饮片日服用量（9~15 g）及本研究 S3 样品中实测 5-HMF 含量（0.05%）计算，人体每日通过 S3 黄精摄入的 5-HMF 最多约为 7.5 mg，仅占日常膳食总暴露量的极小比例（<30%）。综上，在本研究确定的优化炮制终点（S3）下，5-HMF 的积累水平处于明确的安全食品范围内，长期服用风险极低。这一结果体现了“适度炮制”的科学理念，即炮制的目标在于追求核心成分转化的最优化而非最大化，以避免有效成分的过度消耗或潜在有害物质的过量生成。

有关黄精“九蒸九制”炮制终点已有较多报道，但因基原、产地、炮制参数及评价指标不同，不同研究所明确的最佳蒸晒次数并不完全一致。本研究

并非单纯考察某一类成分随蒸制次数的变化,而是围绕传统炮制终点缺乏客观判断标准的问题,通过色差、质构、电子舌等技术将“色泽加深、质地柔软、滋味甘甜、麻舌感减弱”等传统经验性指标转化为可量化数据,并结合多糖、5-HMF等关键成分变化及斑马鱼体内抗氧化活性,构建了外观性状-内在成分-生物活性相结合的综合评价体系,结果表明S3样品综合评分最高,提示三蒸三制为最优炮制终点,为黄精炮制终点由经验判断向客观化、标准化和可重复评价转变提供了实验依据,也为避免过度蒸制、提高炮制效率和稳定产品质量提供参考。郑梅霞等^[28]研究指出,最佳炮制终点出现在九蒸之前的七蒸七制阶段,然而,该研究的工艺强度(如蒸制条件)与本实验结果存在差异,本研究的S3过程的物质转化程度可能已达到与该文献中S7相当的水平,同时由于评价指标的不同,对“最优炮制终点”的判定也会存在差异,两者均表明,炮制次数仅反映工艺进程,决定炮制终点的关键应是样品性状、成分和活性的综合转化程度。

本研究所确定的“三次”为最佳炮制节点与传统“九次”蒸制之间的差异,可能源于古今工艺条件的不同。古代受限于生产条件(如蒸汽温度、压力及均匀性),单次蒸制强度可能不足,需通过增加次数以实现成分的充分转化;而现代工艺通过精准控制参数(如温度、时间及湿度),可在较少次数内高效完成美拉德反应、多糖降解等核心转化。这表明“九蒸九制”传统工艺的本质目的在于实现成分与性状的理想转化,而非拘泥于固定的“九次”形式。本研究结果正是从现代科学角度阐释了这一传统工艺的内在原理,为在规范化生产条件下实现炮制过程的优化与标准化提供理论依据。在味觉指标分析中,电子舌测得S3苦味值为5.55,虽高于S4与S5,但与感官评价中S3“微苦”,S4、S5“味苦”的描述差异,体现了量化感知与综合感知的复杂性。这可能是由于电子舌的特定传感器对某些苦味物质具有超高灵敏度,而人的味觉感知是一个多种味感相互掩蔽与协调的综合结果。这一差异不仅体现了量化仪器在捕捉细微化学变化方面的优势,也侧面说明S3可能是一个滋味协调的“黄金窗口期”,此时不愉悦的味感被有效抑制,而愉悦的甜味显著增强,从而在整体上给人最佳的味觉体验。

此外,CRITIC权重分析显示,涩味在炮制过程中影响最大(权重12.46%),其在S1~S3阶段迅速

下降,是“解毒”过程快速推进的关键信号。尽管S9涩味值最低,但S3阶段涩味已得到显著改善,且此时其他关键指标(如浓郁度、还原糖)达峰值,综合评分最高。这说明S3为“解毒基本完成、滋味与成分处于最佳平衡”的质变节点,后续蒸制对涩味的改善程度已不具显著的品质增益价值。

本研究采用的斑马鱼模型进行整体生物活性评价,不仅能反映药物的直接抗氧化作用,更能综合体现药物在生物体内的吸收、代谢、利用度及潜在毒性。进一步证实了S3阶段可能已经到达了药效提升的关键转折点,炮制前期样品的抗氧化能力相对较弱,从S3阶段开始,抗氧化能力明显增强,其中S4样品的抗氧化能力最强,而在后续S6~S9阶段可能生成了具有生物毒性或代谢负担的物质,导致活性降低。

Pearson相关性分析网络图证实了利用快速的物理指标来间接监测化学转化进程及活性变化的可行性。例如,通过监测色泽(a^* 值)、质地(弹性)和滋味(甜味/苦味值)的变化,即可有效追踪美拉德反应进程与内部成分的转化,为优化九蒸九制工艺、建立基于快速检测指标的实时质量监控体系提供了理论依据。结合PCA与HCA结果,炮制过程被明确划分为3个阶段,其中S0为生品阶段,S1~S3为品质形成的关键转化期,S4~S9品质稳定转变为品质下降。S3作为关键转化期的结束节点,被判定为最优炮制阶段,该结论与上述阶段划分高度吻合,可为生产过程中的在线质量监控与阶段性终点判断提供理论框架。

综上所述,在本研究条件下,以外观性状、色泽、质地、滋味、主要成分及斑马鱼体内活性为综合评价指标,推测三蒸三制为“适度炮制”的最优节点,构建了一套可用于实际质控的指标组合,为《中国药典》补充九制黄精的质量标准提供了直接、可操作的实验依据。在实际应用中,可以结合具体生产设备及工艺条件炮制样品,并参考本研究所确立的S3阶段的关键量化参数(如 a^* 值为11.13,含水量为20.59%,弹性为0.647,甜味值为4.50),对参数范围进行适度验证与校准,以便建立适用于不同生产环境的内部质量控制标准,保证黄精炮制品的质量。

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: 328.

- [2] Zhao X, Patil S, Qian A R, *et al.* Bioactive compounds of *Polygonatum sibiricum*-therapeutic effect and biological activity [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2022, 22(1): 26-37.
- [3] 滕欢欢, 王仁中, 吴德玲, 等. 多花黄精炮制前后不同极性部位抗氧化与降血糖活性研究 [J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(8): 70-75.
- [4] Wang R, Li P, Chen S Y, *et al.* Elucidating the effects of nine-steaming-nine-drying on the morphology, metabolomic profile, and active ingredients of *Polygonatum sibiricum* Redouté [J]. *Food Sci Tech*, 2025, doi: 10.3389/FRFST.2025.1666149.
- [5] Cheng R Q, Liao X Y, Addou A M, *et al.* Effects of “nine steaming nine sun-drying” on proximate composition, oil properties and volatile compounds of black sesame seeds [J]. *Food Chem*, 2021, 344: 128577.
- [6] 马慕秣, 董英杰, 雷珊珊, 等. 黄精不同炮制品对气阴两虚模型大鼠的药效研究 [J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(10): 83-89.
- [7] 林雨. 滇黄精炮制前后对肺、肾阴虚小鼠的改善作用及机制研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021.
- [8] 陈杨杨, 胡慧玲, 奉关妹, 等. 多花黄精炮制前后对游泳力竭小鼠抗疲劳抗氧化的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(2): 92-96.
- [9] Zhou L, Xu J D, Zhou S S, *et al.* Integrating targeted glycomics and untargeted metabolomics to investigate the processing chemistry of herbal medicines, a case study on *Rehmanniae Radix* [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1472: 74-87.
- [10] 林莹. 泰山黄精炮制前后外观性状、有效成分及刺激性物质变化相关性研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2023.
- [11] 曹林, 刘福, 韩丽. 基于电子舌技术分析多花黄精炮制过程中“味”的变化 [J]. 中医药导报, 2023, 29(2): 50-53.
- [12] 王倩, 冀乐园, 常芝妮, 等. 基于质构特性、内在指标和生物活性评价不同蒸晒次数的多花黄精炮制品质量 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(5): 1151-1160.
- [13] Oh J Y, Kim E A, Kang S I, *et al.* Protective effects of fucoidan isolated from celluclast-assisted extract of *Undaria pinnatifida* sporophylls against AAPH-induced oxidative stress *in vitro* and *in vivo* zebrafish model [J]. *Molecules*, 2020, 25(10): 2361.
- [14] 董宁, 陈西, 李旭博, 等. 基于颜色-多糖-抗氧化活性关联分析探究黄精九蒸九制质量变化 [J]. 中草药, 2025, 56(2): 476-486.
- [15] 徐若愚. 九蒸九制工艺对黄精及黄精多糖品质影响的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2023.
- [16] 中国药典 [S]. 四部. 2025: 132.
- [17] 任新乐, 李长春, 孙斐, 等. 基于电子舌和质构仪的不同品种樱桃滋味及质地差异分析 [J]. 中国果菜, 2023, 43(2): 66-71.
- [18] 杨勤, 谷文超, 周浓, 等. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定地参多糖的比较研究 [J]. 食品科技, 2020, 45(1): 343-350.
- [19] 张韵. 山楂炒焦机理及其焦香气味物质基础研究 [D]. 成都: 西南交通大学, 2016.
- [20] 方乐霞, 郭宣宣, 张玲, 等. 可见分光光度法测定不同产地黄精中总氨基酸含量 [J]. 安徽中医药大学学报, 2018, 37(5): 71-74.
- [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.
- [22] 朱晓慧. 原料预处理及不同蒸制工艺对黄精品质的影响研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2023.
- [23] Liang H W, Zhang R Q, Zhou L, *et al.* Corn stigma ameliorates hyperglycemia in zebrafish and GK rats of type 2 diabetes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 325: 117746.
- [24] 李琳, 陈丹, 范晓禹, 等. 英国红芸豆抗氧化肽对氧化应激斑马鱼的保护作用研究 [J]. 中国粮油学报, 2024, 39(2): 70-79.
- [25] 陈西, 王素娟, 张飞宇, 等. 基于斑马鱼模型的丹参花中酚酮类成分美白及抗氧化效果探究 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35(8): 1868-1871.
- [26] 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 Res Int*, 2009, 42(9): 1295-1302.
- [27] Abraham K, Gürtler R, Berg K, *et al.* Toxicology and risk assessment of 5-hydroxymethylfurfural in food [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55(5): 667-678.
- [28] 郑梅霞, 刘伟, 侯国华, 等. 九蒸九制多花黄精化学成分、抗氧化活性及挥发性风味的动态变化及其机制 [J]. 中草药, 2025, 56(20): 7332-7343.

[责任编辑 郑礼胜]