

原创研究型文章

# 高压蒸制不同条件下熟地多糖理化特性及苷类成分变化研究

贾亚辉, 文春南, 刘淼, 阮元, 钱艳艳, 麻兵继\*, 王丽\*

中药材系, 河南农业大学, 郑州市 450002, 河南省, 中国

\* 通讯作者: 麻兵继, [mbj123@sina.com](mailto:mbj123@sina.com); 王丽, [wanglihuina@163.com](mailto:wanglihuina@163.com)

## 引用格式

贾亚辉, 文春南, 刘淼, 等. 高压蒸制不同条件下熟地多糖理化特性及苷类成分变化研究. 食品营养化学. 2024; 2(2): 99.

<https://doi.org/10.18686/zhfnc.v2i2.99>

Jia Y, Wen C, Liu M, et al. Study on physicochemical properties of polysaccharides and glycosides from *Rehmannia glutinosa* under different processing conditions (Chinese).

Journal of Food Nutrition Chemistry. 2024; 2(2): 99.

<https://doi.org/10.18686/zhfnc.v2i2.99>

## 文章信息

收稿日期: 2023-12-15

录用日期: 2024-04-07

发表日期: 2024-05-15

## 版权信息



版权 © 2024 作者。

《食品营养化学》由 Universe

Scientific Publishing 出版。本作品采用知识共享署名 (CC BY) 许可协议进行许可。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

English edition of this article is available online at <https://cae.usp-pl.com/index.php/fnc/article/view/168>

**摘要:** 目的: 对高压蒸制不同条件所得熟地多糖理化特性和苷类成分变化进行研究。方法: 将蒸制温度、时间、次数和鲜地黄切片厚度作为考察因素, 以熟地蒸制得率、多糖提取率、梓醇和地黄苷D含量等作为评价指标, 对不同蒸制条件所得熟地黄中多糖的理化性质及其降血糖活性进行研究。结果: 熟地多糖得率较高时工艺参数为: 高压蒸制温度110 °C, 时间4 h, 蒸制次数2次, 厚度1.0–1.5 cm。熟地多糖 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率最高时高压蒸制工艺参数为: 温度120 °C, 时间2 h。高压蒸制的熟地多糖表面形貌均呈不规则碎片状, 以葡萄糖与半乳糖为主。不同高压蒸制温度和时间条件下, 熟地多糖 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率在低浓度 (0.05 mg/mL) 时均达到60%。

**关键词:** 地黄; 高压蒸制; 多糖; 苷类

## 1. 引言

地黄为玄参科植物地黄 (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) 的新鲜或干燥块根, 具有滋阴补肾作用, 在《神农本草经》中被称为“上品”。根据炮制方法不同, 地黄可分为三种: 鲜地黄、生地黄和熟地黄。化学成分是中药药效物质基础, 地黄炮制后, 化学成分的改变, 引起其药性的转变 (由寒转温), 其中, 糖类 (如低聚糖和多糖) 和苷类化合物是地黄中的主要活性成分 [1], 熟地多糖具有提高机体抗氧化能力和免疫力、抗焦虑、抗疲劳以及降血糖等作用 [2]。本实验室前期研究发现鲜地黄、生地黄、生地黄高压蒸制熟地黄、九蒸九晒熟地的多糖提取率分别是 0.61%、0.64%、3.45%和 7.29%, 炮制后熟地中多糖含量增高, 且熟地的多糖免疫活性高于生地多糖和鲜地多糖 [3,4]。高压蒸制作为现代地黄炮制方法, 具有效率高、时间短和环境友好型等优点, 被广泛应用于工业化生产 [5]。然而, 高压蒸制法没有特定的标准可参考, 因此, 考察高压蒸制条件下多糖和苷类含量、组成及多糖活性的变化, 对于完善高压蒸制标准尤其重要。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 仪器

立式压力蒸汽灭菌器 (上海申安医疗器械厂, 型号: LDZF-50KB), 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂, 型号: RE-52AA) 全波长酶标仪 (美国伯腾仪器有限公司, 美国, 型号: Epoch), 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 科技公

司, 美国, 型号: Agilent1100), 百万分之一天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司, 瑞士, 型号: XP204)。

## 2.2. 试剂

梓醇标准品 (成都瑞凡思生物科技有限公司, 批号: L04J12Y136474, 纯度 $\geq 98\%$ ), 地黄苷 D 标准品 (都必思得生物科技有限公司和中国科学院成都生物仪器, 批号: MUST-21052010, 纯度 $\geq 99.19\%$ ), 毛蕊花糖苷标准品 (上海源业生物技术有限公司, 批号: W14010C100217, 纯度 $\geq 98\%$ ) 异毛蕊花糖苷标准品 (成都爱发生物科技有限公司, 批号: AF20020206, 纯度 $\geq 98\%$ ),  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (上海源业生物技术有限公司, 批号: R31D10Y107277, 浓度 $\geq 70$  万 U/mL), 乙腈 (Merck 公司, 德国, 批号: I1133829105)。其他化学试剂为分析纯。

## 2.3. 分析样品

鲜地黄购自河南省焦作武陟县, 品种为金九, 由河南农业大学农学院文春南博士鉴定为怀地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch。

## 2.4. 实验方法

### 单因素试验

在鲜地黄片厚度 1.0 cm (加 40%量黄酒, 浸泡 2 h)、蒸制温度 126 °C、蒸制时间 2.0 h、蒸制次数 1 次的蒸制条件基础上, 根据表 1 分别考察高压蒸制温度、时间、次数、样品厚度四个参数对熟地黄蒸制得率、多糖提取率和苷类含量的影响。每组单因素试验均重复 3 次, 取平均值。

表 1. 单因素试验因素水平表。

Table 1. Level table of factors in single-factor experiments.

水平	因素			
	温度 (°C)	时间 (h)	次数 (次)	厚度 (cm)
1	105	1.5	1	0.1
2	110	2.0	2	0.5
3	120	2.5	3	1.0
4	130	4.0	4	1.5
5	134	6.0	6	2.0

## 2.5. 粗多糖提取

采用 Qian 等 [3]的方法, 对多糖进行提取。将熟地黄切成大小均匀的块状, 准确称取 100 g, 加入 2 L 蒸馏水煮沸提取 3.0 h, 提取 2 次。将提取液混合, 使用旋转蒸发器 45 °C 浓缩至 100 mL, 缓慢加入无水乙醇至乙醇体积分数为 75%, 置于 4 °C 冰箱静置过夜, 3500 rpm 离心 10 min, 取沉淀物用适量蒸馏

水溶解，透析，即得到多糖溶液。置于电热鼓风干燥箱中，40 °C烘干称重，计算多糖提取率。

## 2.6. 苷类测定

### 2.6.1. 色谱条件

Waters sunfire™ C18 色谱柱（4.6 mm × 250 mm, 5 μm）；柱温为 30 °C；检测波长为 0–30 min: 203 nm（梓醇和地黄苷 D），30–50 min: 334 nm（毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷）；流速为 1 mL/min；进样量为 10 μL；流动相为乙腈（A）-0.1%磷酸溶液（B），梯度见表 2。

表 2. 流动相梯度。

Table 2. Mobile phase gradient.

时间 (min)	A 相 (%)	B 相 (%)
0–12	1	99
12–20	1–15	99–85
20–30	15–19	85–81
30–50	19–20	81–80
50–52	20–100	80–0
52–60	100	0

### 2.6.2. 对照品溶液的制备

分别精密称取梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖对照品适量，置于烧杯中，加适量流动相溶液（0.1%磷酸-水:乙腈 = 99:1, v/v）溶解后，置于 20 mL 容量瓶中，加流动相定容至刻度线，混匀，即得每 1 mL 分别含梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷 0.25 mg、0.125 mg、0.125 mg、0.125 mg 的混合对照品溶液，作为对照品母液备用。

### 2.6.3. 供试品溶液的制备

取蒸制熟地黄切成大小均匀的块状，准确称取 1.0 g 至三角瓶中，加入甲醇 50 mL，在 200 W 的超声功率下对其中的苷类进行提取，每提取 30 min 暂停 10 min，共计提取 60 min，放至室温，用甲醇补足减失的重量 [6]。移液管准确吸取续滤液 20 mL，采用旋转蒸发仪在 40 °C 条件下浓缩续滤液，用流动相溶解后，转入 5 mL 容量瓶中，定容至刻度线，摇匀后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，备用。

### 2.6.4. 专属性实验

取对照品溶液和供试品溶液，按“2.6.1”项下色谱条件进行分析，结果各组分峰形良好，无干扰成分。

### 2.6.5. 线性关系考察

采用流动相对混合对照品母液进行稀释，得到一系列浓度梯度（梓醇 0.0078–1.0 mg/mL；地黄苷 D、毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷 0.0039–0.5 mg/mL），作标准曲线，以标准品浓度为横坐标，峰面积的积分值为纵坐标，计算得到四种成分的回归方程： $Y_{\text{梓醇}} = 7480.8X - 52.869$  ( $R^2 = 0.9993$ )、 $Y_{\text{地黄苷 D}} = 9843.1X + 29.667$  ( $R^2 = 0.9997$ )、 $Y_{\text{毛蕊花糖苷}} = 29101X + 26.293$  ( $R^2 = 1$ )、 $Y_{\text{异毛蕊花糖苷}} = 22744X + 18.752$  ( $R^2 = 1$ )，由回归方程  $R^2$  值可见各成分在其相应的范围内呈良好的线性关系。

### 2.6.6. 中间精密度实验

取对照样品和供试样品溶液，按照“2.6.1”项色谱条件连续测定 6 次，结果显示梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷峰面积相对标准偏差 (Relative Standard Deviation, RSD) 分别为 0.07%、0.90%、1.00%、0.15%，表明仪器精密度良好。

### 2.6.7. 供试品溶液稳定性实验

取对照样品和供试样品溶液，依法测定，结果表明梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷峰面积 RSD 分别为 0.20%、0.33%、0.77%、0.06%，表明供试样品溶液在 10 h 内稳定性良好。

### 2.6.8. 重复性实验

取相同批次对照样品和供试样品溶液，分别按“2.6.1”项色谱条件进行检测分析，梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷峰面积 RSD 分别为 1.06%、0.51%、0.44%、0.63%，表明该方法重复性良好。

## 2.7. 粗多糖理化性质检测

采用苯酚-硫酸法测定多糖含量；采用 Bradford 法测定可溶性蛋白质含量 [7]。Folin-Ciocalteu 法进行多酚含量检测；采用氨基酸含量检测试剂盒进行氨基酸含量测定。

糖的单糖组成参考 Ruan 等 [8] 的方法稍作修改。精确称量 10.0 mg 的 CV-1，与 3 mL 浓度为 4 mol/L 三氟乙酸 (Trifluoroacetic acid, TFA) 混匀，121 °C 水解 6 h 后，加入 10 mL 甲醇，减压旋蒸除去多余 TFA，加入 5 mL 浓度为 50 mmol/L 的 NaOH 水溶液，溶解得到 CV-1 溶液。用 0.45 μm 水系滤膜过滤，上机检测。红外光谱 (Fourier Transform infrared spectroscopy, FTIR) 测量使用傅里叶变换红外光谱仪 (icolet iS10, 美国) 在 4000–500 cm<sup>-1</sup> 范围内扫描。用 X 射线衍射仪 (Miniflex 600, 日本) 采集图谱，扫描角度范围为 5–80°，步长为 0.02°。采用环境扫描电子显微镜 (Environmental scanning electron microscopy, ESEM) (FEI Q45, 美国) 进行检测，加速电压为 5kv。

## 2.8. α-葡萄糖苷酶抑制作用

参考 Wang 等 [9] 的方法，以阿卡波糖作为阳性对照物，研究不同蒸制温度和时间的熟地多糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用。

### 3. 结果

#### 3.1. 多糖得率分析

现代研究表明,地黄炮制过程,低聚糖含量急剧降低,而多糖含量显著增加,且在熟地有效成分中含量最高,因此考察高压蒸制条件对多糖得率影响至关重要 [10]。由图 1 可知,随着蒸制温度、时间、次数的增加,熟地中粗多糖得率呈现先增加后减少的趋势,与蒸制成品得率变化趋势相似。由粗多糖得率推荐高压蒸制熟地的条件为:蒸制温度为 105–110 °C,蒸制时间为 4.0–5.0 h,蒸制次数为 2–3 次,鲜地黄切片厚度为 1.0–1.5 cm。

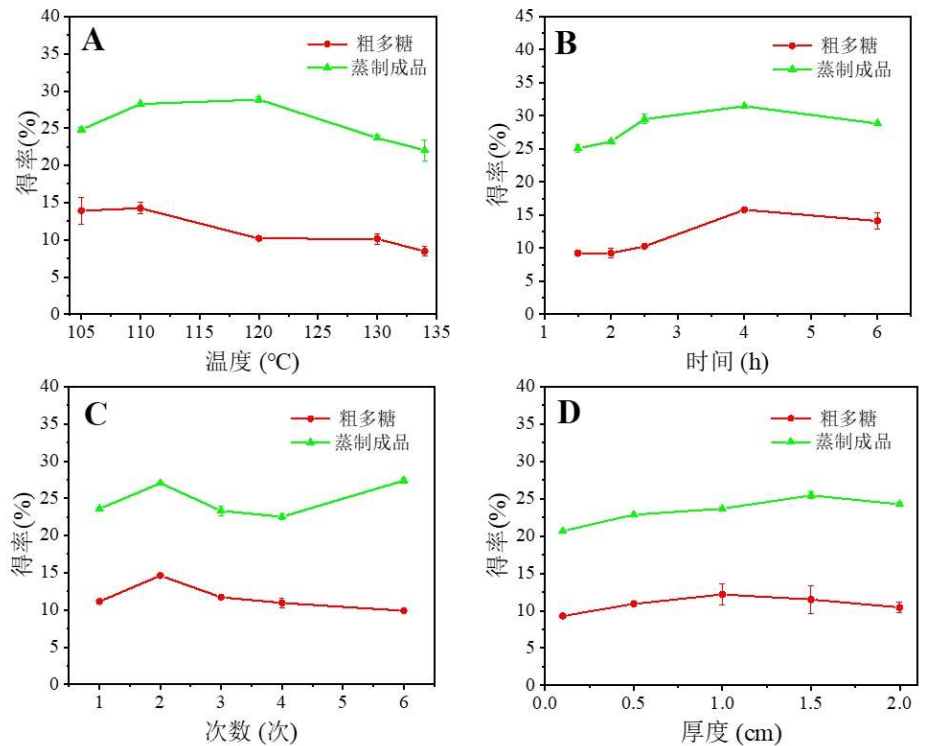


图 1. 熟地黄蒸制得率与多糖提取得率结果: (A) 温度、(B) 时间、(C) 次数和 (D) 片厚度。

Figure 1. *Rehmannia glutinosa* yields and polysaccharide extraction yields: (A) steaming temperature, (B) steaming time, (C) steaming frequency, and (D) slice thickness.

备注: 粗多糖得率(%) = 醇沉物质量/熟地黄质量 × 100

蒸制成品得率(%) = 熟地黄质量/鲜地黄质量 × 100

#### 3.2. 苷类含量分析

通过考察不同蒸制温度和时间对熟地中主要苷类的影响,结果见图 2。鲜地中的梓醇、地黄苷 D、毛蕊花糖苷含量分别为  $2.34 \pm 0\%$ 、 $0.06 \pm 0.50\%$ 、 $0.005 \pm 0.00\%$ ,异毛蕊花糖苷超出检测范围未被检测到。梓醇是地黄中的主要苦味成分,炮制后梓醇含量下降,可能与该类成分的化学结构稳定性较差,加热导致酯键断裂有关,苦寒之性转为甘温的重要原因之一 [11]。随着熟地蒸制

温度、时间和次数的增加, 梓醇含量明显下降, 与 Yan 等 [12] 研究结果一致, 蒸制 4.0 h 后和蒸制 2 次之后梓醇含量基本保持稳定。研究表明地黄烘制过程中, 梓醇可以发生  $\beta$ -葡萄糖苷酶促降解和酸水解 [13]。在不同鲜地黄切片厚度条件下, 1.0 cm 鲜地黄片蒸制所得熟地中梓醇含量最低 (0.63%), 原因可能是, 在切制过程中, 鲜地中的细胞核核膜和液泡膜破裂, 从而使  $\beta$ -葡萄糖苷酶与梓醇接触, 促使其降解, 由于切块较小的鲜地黄受破坏较强烈, 梓醇降解的速度较快 [14]。厚度最薄 (0.1 cm) 的鲜地黄片蒸制所得熟地中的梓醇含量较高, 原因可能是炮制时, 薄的鲜地黄片内部升温较快促进  $\beta$ -葡萄糖苷酶的灭活。在不同蒸制条件下, 地黄苷 D 含量变化不大, 均符合《中国药典》的规定。

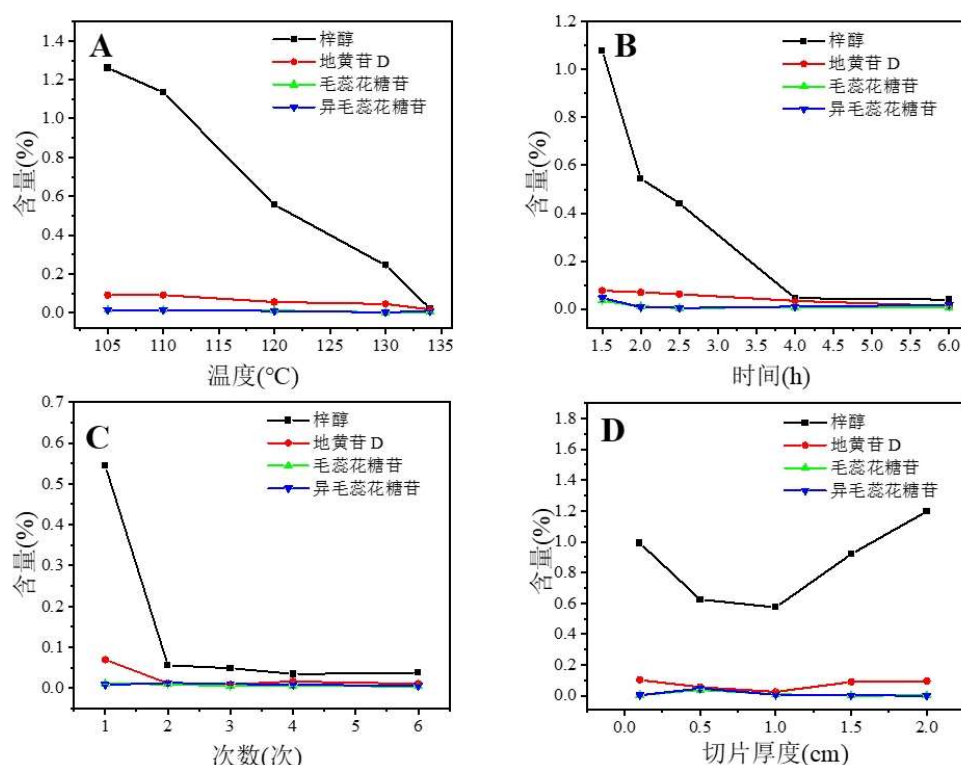


图 2. 不同蒸制(A) 温度、(B) 时间、(C) 次数和(D) 切片厚度, 熟地黄苷类含量检测结果。

**Figure 2.** Glycoside contents in *Rehmannia glutinosa* at different (A) steaming temperatures, (B) steaming times, (C) steaming frequencies and (D) slice thicknesses.

### 3.3. 粗多糖理化特性分析

#### 3.3.1. 化学组成

细胞壁主要成分是高分子量多糖, 一般不溶于水, 因此利用高温高压炮制对细胞壁的破碎作用促进多糖溶出 [15,16]。从不同炮制工艺所得熟地中提取粗多糖, 糖含量范围为 60%–90%, 蛋白质范围为 10%–20%, 多酚、氨基酸含量均小于 10%。

### 3.3.2. 单糖组成分析

单糖组成结果如表 3 所示, 不同蒸制温度和时间所得熟地中的多糖主要由葡萄糖和半乳糖组成, 且含少量果糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸, 与 Lu 等 [17] 研究结果一致。随着蒸制时间的增加, 葡萄糖含量逐渐降低, 半乳糖含量逐渐升高。在不同蒸制条件下, 各多糖组分的葡萄糖与半乳糖含量总和均在 79%–92% 之间, 随着蒸制温度和时间增加, 葡萄糖与半乳糖含量总和基本呈现先升高后降低的趋势, 110 °C 蒸制熟地多糖中的葡萄糖与半乳糖总和 (91.27%) 占比高于其他蒸制温度的占比, 2.5 h 蒸制熟地多糖中的葡萄糖与半乳糖总和 (89.56%) 占比高于其他蒸制时间的占比。原因可能是葡萄糖与半乳糖为同分异构体, 两种成分在炮制过程中发生异构化。果糖含量随蒸制温度升高而增加, 可能与炮制后熟地甜度增加有关 [18]。

表 3. 多糖成分单糖组成。

Table 3. Composition of monosaccharides in polysaccharide components.

摩尔比(Molar ratio)	岩藻糖 (Fuc)	鼠李糖 (Rha)	阿拉伯糖 (Ara)	半乳糖 (Gal)	葡萄糖 (Glc)	木糖 (Xyl)	甘露 (Man)	果糖 (Fru)	半乳糖醛酸 (GalA)	葡萄糖醛酸 (GlcA)
105 °C	-	-	0.19	20.22	68.76	-	-	9.61	0.06	1.16
110 °C	-	-	-	38.69	52.58	-	0.04	5.25	0.91	2.54
120 °C	-	-	-	22.80	67.46	-	-	7.93	0.73	1.08
130 °C	6.42	-	0.03	31.35	57.32	-	-	2.87	0.33	1.68
134 °C	5.15	-	-	32.76	53.70	-	0.37	4.32	1.92	1.77
1.5 h	6.93	-	0.09	25.95	61.16	-	2.35	1.83	0.48	1.20
2.0 h	10.88	-	-	24.89	60.71	-	-	1.76	1.38	0.39
2.5 h	5.00	1.75	0.00	36.69	52.87	-	-	3.20	0.16	0.33
4.0 h	4.67	-	0.44	35.90	45.83	-	-	6.54	5.91	0.72
6.0 h	6.56	0.07	0.32	38.13	41.84	-	3.34	8.29	0.59	0.86

注: “-” 为未检测到。

### 3.3.3. 红外光谱分析

红外光谱法主要用于不同糖的鉴别、糖构型的确定、取代基的识别等 [19]。如图 3 所示, 红外光谱图在 3400  $\text{cm}^{-1}$  附近有较强的由 -OH 伸缩振动引起的吸收峰, 表明样品中存在分子内或分子间氢键, 2930  $\text{cm}^{-1}$  处有强的 -CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>、-CH 等的 C-H 伸缩振动吸收峰, O-H 和 C-H 是多糖的特征基团。1734  $\text{cm}^{-1}$  为酯化糖醛酸, 1618  $\text{cm}^{-1}$  为糖醛酸自由羧基的羰基振动特征吸收峰, 表明多糖组分中存在羧基 [20]。官能团为甲基 (-CH<sub>3</sub>)、次甲基 (-CH<sub>2</sub>-) 的 C-H 变形振动峰在 1420  $\text{cm}^{-1}$  处出现。1020  $\text{cm}^{-1}$  和 1235  $\text{cm}^{-1}$  左右为吡喃糖环上 C-O-C 和 C-O-H 的两种 C-O 伸缩振动吸收峰, 该结果与单糖组成分析结果一致 [21]。

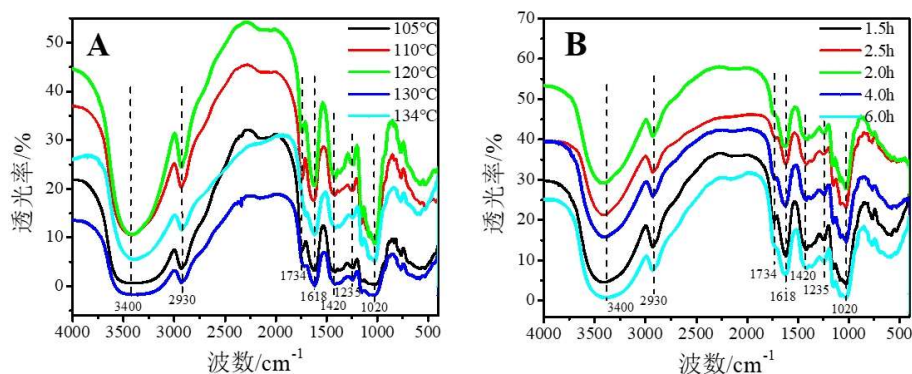


图 3. 不同蒸制(A) 温度和(B) 时间的熟地多糖的红外光谱图。

**Figure 3.** Infrared spectra of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides at different (A) steaming temperatures and (B) steaming time.

### 3.3.4. X 射线衍射 (X-ray Diffraction, XRD) 分析

对不同蒸制温度和时间所得熟地中的多糖进行 XRD 检测, 通过 Jade6.5 进行分析, 结果如图 4 所示, 鲜地黄高压蒸制 105 °C、110 °C、120 °C、130 °C 和 134 °C 的结晶度依次为 16.18%、16.54%、16.42%、18.91% 和 17.09%, 130 °C 及以上温度蒸制获得的熟地多糖的结晶度高于 130 °C 以下的样品, 说明样品经过高温处理, 其中灰分和碳含量相对比例增加。鲜地黄高压蒸制 1.5 h、2 h、2.5 h、4.0 h 和 6.0 h 的结晶度依次为 20.61%、16.49%。物质的结晶度与物质的稳定性有关。

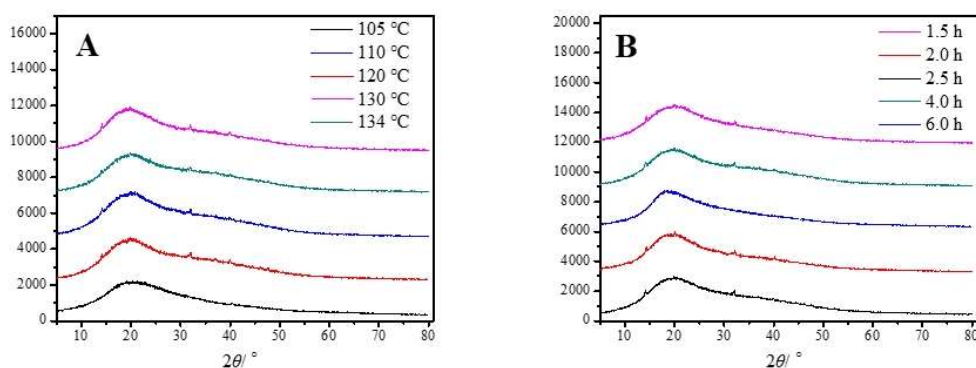


图 4. 不同蒸制(A) 温度和(B) 时间的熟地多糖 X 射线衍射图。

**Figure 4.** X-ray diffraction patterns of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides at different (A) steaming temperatures and (B) steaming times.

### 3.3.5. ESEM 分析

不同蒸制温度和时间所得熟地中多糖的 ESEM 结果见图 5, 各多糖样品均呈片状结构。不同蒸制温度所得熟地的多糖在 500 倍放大条件下, 碎片状明显, 130 °C 和 134 °C 多糖碎片尺寸大, 但表面有明显孔洞。1500 倍放大条件下多糖表面较平整。在 1500 倍放大条件下, 蒸制 2.0 h 的熟地, 其多糖表面有明显裂纹, 蒸制 2.5 h 时, 多糖表面有孔洞, 而蒸制 4.0 h 时, 多糖表面有较多明显的粗糙凹痕, 表明随着蒸制时间的延长, 熟地中的多糖受破坏程度有所不同。蒸制 6.0 h 熟地多糖的片状结构较厚, 表明其分子聚集程度较高 [22]。



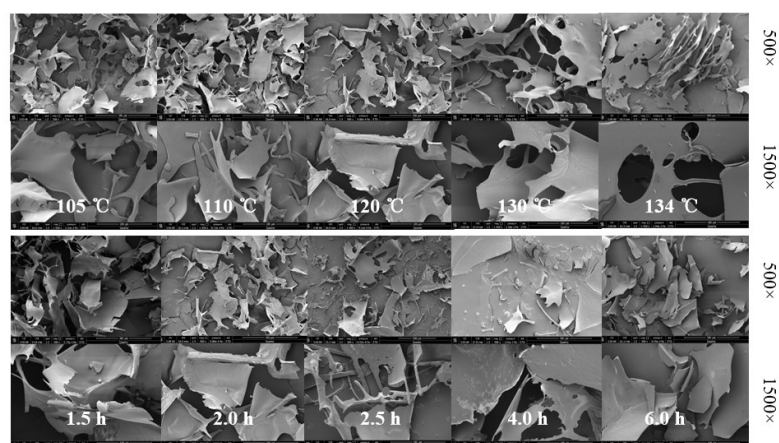


图 5. 不同蒸制温度和时间的熟地黄多糖的扫描电镜显微图片。

**Figure 5.** Scanning electron microscopy images of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides at different steaming temperatures and steaming times.

### 3.3.6. $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用

熟地多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用结果见图 6，不同蒸制温度和时间所得熟地的多糖在较低的试验浓度（0.05 mg/mL）下均对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶表现出较强的抑制作用（抑制率均已达 60%），且呈现浓度相关性。Yu 和 Li [23]对南瓜多糖研究表明，半乳糖、葡萄糖含量较高的南瓜多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有显著的抑制作用，与本研究结果相似。在 0.05 mg/mL 和 2.00 mg/mL 的浓度下，130 °C 蒸制熟地多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性优于其他蒸制温度的熟地多糖，而当样品浓度升高至 5.00 mg/mL 时，120 °C、130 °C 和 134 °C 蒸制获得熟地多糖的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率已达 90% 以上。

在 0.05 mg·mL<sup>-1</sup> 的浓度下，蒸制 1.5 h 熟地的多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性优于其他蒸制时长的熟地多糖；在 2.00 mg/mL 的浓度下，蒸制 1.5 h、2.0 h 和 2.5 h 熟地多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率均在 70% 以上，优于其他蒸制时长的熟地多糖；在 5.00 mg/mL 的浓度下，蒸制 2.0 h 熟地多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性较优，抑制率达到 95%。

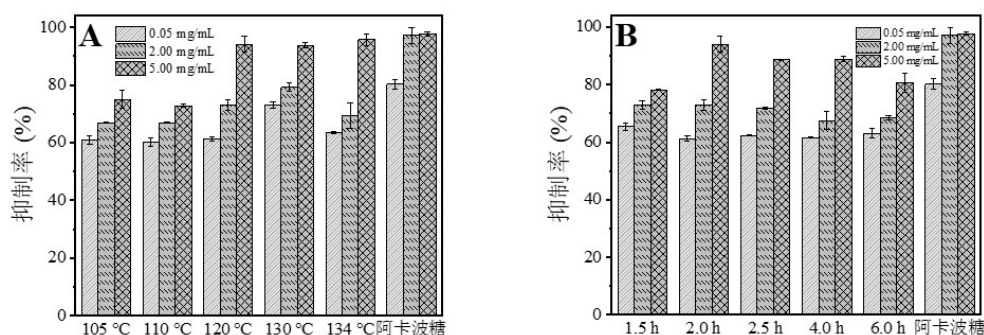


图 6. 不同蒸制(A) 温度和(B) 时间的熟地黄多糖抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性结果。

**Figure 6.** Result of  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides at different (A) steaming temperatures and (B) steaming times.

## 4. 讨论

多糖和苷类是地黄中的主要有效成分，本研究采用现代化高压蒸制的方法对鲜地黄进行蒸制，将蒸制成品粗多糖和苷类作为评价指标，考察高压蒸制不同条件下，多糖成分的动态变化，进一步研究不同工艺参数所得熟地黄的多糖的体外降血糖活性。结果表明，随着蒸制温度、时间、次数的增加，熟地中粗多糖与蒸制成品得率较优时均有对应的工艺参数，各蒸制条件所得熟地黄的多糖均有较好的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。

中药材产地趁鲜切制加工是道地药材得以发展壮大的大势所趋。另外，古时至清代多次出现以鲜地黄为原料蒸晒熟地的记载，但历版《中国药典》均规定，熟地为生地黄的炮制加工品，而不是鲜地黄的炮制品 [24]。熟地被认为是中药治疗糖尿病的有效药物，其中，梓醇、地黄苷 D、低聚糖和多糖等发挥重要作用 [25–27]。本研究以鲜地黄为原料，采用高压蒸制法炮制地黄，符合河南省药品监督管理局发布的《河南省规范中药材产地趁鲜切制加工指导意见》[28]，以成品多糖、苷类和多糖抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性作为考察指标，探究高压蒸制炮制工艺。提取过程前期，由于高温高压作用，促使部分细胞壁裂解，释放出大量多糖，而蒸制温度超过 110 °C、时间超过 4.0 h、次数超过 2 次时，粗多糖得率下降，原因可能是随着蒸制强度的增加，粗多糖水解为低聚糖和单糖 [3]。毛蕊花糖苷含量较低且比较稳定，任翔等 [29]研究表明，毛蕊花糖苷含量在鲜地加工过程中出现不同程度的下降，据此推断毛蕊花糖苷热稳定性欠佳，或是与异毛蕊花糖苷发生转换。于文娜等 [30]的研究表明，鲜地黄在一定温度及时间下，加工炮制后会产生异毛蕊花糖苷，且地黄中异毛蕊花糖苷的含量会随炮制时间不同而产生变化，地黄中异毛蕊花糖苷的产生及变化受时间及温度的影响较大。

课题组前期研究发现高压蒸制获得的熟地黄多糖免疫作用优于鲜地黄多糖和生地黄多糖。由于高压蒸制方法具有绿色、高效和环保的特点，逐渐被现代化企业所采纳，然而，高压蒸制地黄没有完善的标准。依据熟地蒸制得率、熟地有效成分结构及活性，优化高压蒸制多因素条件，对于提升高压蒸制熟地品质至关重要，更多的研究有待于开展。与传统蒸煮工艺相比，高压蒸制法在一定程度上节约时间和资源，且需要的设备较简单，从本质上实现了饮片的参数化炮制，具有一定生产指导意义。本研究响应河南省药品监督管理局号召，为河南省产地趁鲜切制加工中药材的发展提供理论支持。

## 5. 结论

研究表明，熟地中粗多糖得率与蒸制成品得率的变化趋势基本一致，从炮制品中提取得到的多糖纯度在 60%–90%之间。高压蒸制后熟地的梓醇含量明显降低，地黄苷 D 含量均符合药典标准，毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷含量较低。不同高压蒸制条件的熟地多糖在降血糖方面表现出潜在的应用价值。随着蒸制温度、时间、次数的增加，熟地中粗多糖与蒸制成品得率较优时均有对应

的工艺参数, 各蒸制条件所得熟地黄的多糖均有较好的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。

**作者贡献:** 概念化, 王丽; 方法学, 钱艳艳; 软件, 贾亚辉; 验证, 贾亚辉; 形式分析, 王丽; 调查, 麻兵继和刘淼; 资源, 麻兵继; 数据整理, 贾亚辉; 写作—原稿准备, 贾亚辉; 写作—审阅和编辑, 王丽、麻兵继和文春南; 可视化, 刘淼; 监督, 阮元; 项目管理, 麻兵继; 经费获取, 王丽和麻兵继。所有作者均已阅读并同意手稿的出版版本。

**基金项目:** 这项工作得到了河南省高等学校重点科研项目 (23A230006)、河南省科技研发计划联合基金项目 (232301420101)、河南省科技攻关项目 (232102110117) 的支持。

**利益冲突:** 本文章作者声明没有任何利益冲突。

## 参考文献

- Jia J H, Chen J F, Wang G L, et al. Progress of research into the pharmacological effect and clinical application of the traditional Chinese medicine *Rehmanniae Radix*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 168: 115809. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115809
- Li J N, Long H, Cai Z, et al. Study on anti-fatigue effect of *Rehmannia glutinosa* polysaccharide. *Biological Chemical Engineering*. 2021; 7(5): 71-74. doi: 10.3969/j.issn.2096-0387.2021.05.018
- Qian Y, Wang L, Zhang Z, et al. Physical-chemical properties of heteropolysaccharides from different processed forms of *Rehmanniae Radix*. *Process Biochemistry*. 2022; 121: 481-492. doi: 10.1016/j.procbio.2022.07.032
- Wang L, Wen C, Qian Y, et al. Preparation Method of High-Molecular-Weight *Rehmannia* Polysaccharide and Method for Steaming Fresh *Rehmannia* Under High Pressure to Obtain Prepared *Rehmannia* Root. CN112870271A, 1 June 2021.
- Gao Y, Hu H, Yang H, et al. Study on industrialization process of prepared Radix *Rehmanniae*. *Guangzhou Chemical Industry*. 2021; 49(15): 101-103. doi: 10.3969/j.issn.1001-9677.2021.15.030
- Hua Y, Yao W, Ji P, et al. Integrated metabonomic-proteomic studies on blood enrichment effects of *Angelica sinensis* on a blood deficiency mice model. *Pharmaceutical Biology*. 2017; 55(1): 853-863. doi: 10.1080/13880209.2017.1281969
- Wang L, Zhao Z, Zhao H, et al. Pectin polysaccharide from Flos *Magnoliae* (Xin Yi, *Magnolia biondii* Pamp. flower buds): Hot-compressed water extraction, purification and partial structural characterization. *Food Hydrocolloids*. 2022; 122: 107061. doi: 10.1016/j.foodhyd.2021.107061
- Ruan Y, Niu C, Zhang P, et al. Acid-Catalyzed Water Extraction of Two Polysaccharides from *Artemisia argyi* and Their Physicochemical Properties and Antioxidant Activities. *Gels*. 2021; 8(1): 5. doi: 10.3390/gels8010005
- Wang L, Zhang P Z, Shen J W, et al. Physicochemical properties and bioactivities of original and Se-enriched polysaccharides with different molecular weights extracted from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019; 141: 150-160. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.250
- Ren X, Liu C, Zhang Z, et al. Different factors affecting the content of Verbascoside content in *Rehmannia Glutinosa*. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*. 2022; 20(17): 144-146. doi: 10.3969/j.issn.1672-2779.2022.17.052
- Li X, Xing YD, Li SS, Liu H. Effect of different processing methods on the contents of seven chemical components in *Rehmanniae Radix Praeparata*. *Journal of Bengbu Medical College*. 2020; 45(05): 634-637, 643.
- Yan Z, Xie Y, Chen C, et al. Research progress on chemical composition changes and pharmacological effects of *Rehmannia glutinosa* during processing. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*. 2021; 32(10): 2493-2495.
- Wei G, Gao S. Study on hot-air drying characteristics and catalpol content for *Radix Rehmanniae* slices. *Farm Products Processing*. 2022; 14: 18-23. doi: 10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2022.07.034
- Wei GD, Wen XS. Characteristics and kinetics of catalpol degradation and the effect of its degradation products on free radical scavenging. *Pharmacognosy Magazine*. 2014; 10(Suppl 1): S122-S129. doi: 10.4103/0973-1296.127360
- 钱艳艳. 地黄不同炮制品糖类成分理化特性及高压蒸制条件优化研究 [硕士学位论文]. 河南农业大学; 2022.

- Qian Y. Study on the Physical and Chemical Properties of Sugar Components in Different Processed *Rehmannia Glutinosa* Products and Optimization of High-pressure Steaming Conditions (Chinese) [Master's thesis]. Henan Agricultural University; 2022.
16. Granum E, Myklestad SM. A simple combined method for determination of  $\beta$ -1,3-glucan and cell wall polysaccharides in diatoms. *Hydrobiologia*. 2002; 477(1): 155-161. doi: 10.1023/A:1021077407766
17. Lu MK, Chang CC, Chao CH, et al. Structural changes, and anti-inflammatory, anti-cancer potential of polysaccharides from multiple processing of *Rehmannia glutinosa*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 206: 621-632. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.02.112
18. Niu B. The sweetest sugar—Levulose. *Chemical Technology Market*. 2002; 8: 12-14, 19.
19. Yang Y, Wang Y, Ma Y, et al. Preparation and structural characteristics of sulfated polysaccharides from *Aralia chinensis* root-bark and its antioxidant activity. *Guihaia* 2018; 38(7): 911-923. doi: 10.11931/guihaia.gxzw201709014
20. Qian JY, Chen W, Zhang WM, et al. Adulteration identification of some fungal polysaccharides with SEM, XRD, IR and optical rotation: A primary approach. *Carbohydrate Polymers*. 2009; 78(3): 620-625. doi: 10.1016/j.carbpol.2009.05.025
21. Ma J, Qiao Z, Xia X. Optimisation of extraction procedure for black fungus polysaccharides and effect of the polysaccharides on blood lipid and myocardium antioxidant enzymes activities. *Carbohydrate Polymers*. 2011; 84(3): 1061-1068. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.12.068
22. Qian Y, Wang L, Wen C, et al. Purification, physicochemical property and antioxidant activity analysis of oligosaccharides from the fresh roots of *Rehmannia glutinosa* Libosch. *Natural Product Research and Development*. 2021; 33(9): 1470-1477. doi: 10.16333/j.1001-6880.2021.9.004
23. 于斐, 李全宏. 南瓜多糖主要成分对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用. *食品科技*. 2011; 36(09): 202-206. doi: 10.13684/j.cnki.spkj.2011.09.015
- Yu F, Li QH. The inhibiting activity of pumpkin polysaccharide on  $\alpha$ -glucosidase (Chinese). *Food Science and Technology*. 2011; 36(09): 202-206. doi:10.13684/j.cnki.spkj.2011.09.015
24. 吴仪络. 本草从新. 上海科学技术出版社; 1982. pp. 63-64.
- Wu Y. *New Compilation of Materia Medica* (Chinese). Shanghai Scientific & Technical Publishers; 1982. 63-64.
25. 耿晓桐. 地黄化学成分及药理作用的研究进展. *黑龙江科学*. 2022; 13(24): 51-53. doi: 10.3969/j.issn.1674-8646.2022.24.015
- Geng X. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Rehmannia Glutinosa* (Chinese). *Heilongjiang Science*. 2022; 13(24): 51-53. doi: 10.3969/j.issn.1674-8646.2022.24.015
26. Bian Z, Zhang R, Zhang X, et al. Extraction, structure and bioactivities of polysaccharides from *Rehmannia glutinosa*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2023; 305: 116132. doi: 10.1016/j.jep.2022.116132
27. Chen S, Li J, Wu X, et al. Advances in pharmacology of *Rehmannia glutinosa*. *Chemical Engineer Journal*. 2019; 33(11): 46-50. doi: 10.16247/j.cnki.23-1171/tq.20191146
28. 河南省药品监督管理局. 河南省药品监督管理局关于发布《河南省规范中药材产地趁鲜切制加工指导意见（试行）》的通告. 在线获取: <https://yjj.henan.gov.cn/2022/08-25/2567636.html> (2024年4月16日查阅).
- Henan Medical Products Administration. Notice from the Henan Provincial Food and Drug Administration on the issuance of the “Guidance on Standardizing the Fresh Cutting and Processing of Chinese Medicinal Materials in Henan Province (Trial)” (Chinese). Available online: <https://yjj.henan.gov.cn/2022/12-15/2657501.html> (accessed on 16 April 2024).
29. Ren X, Liu C, Zhang Z, et al. Different factors affecting the content of Verbascoside content in *Rehmannia Glutinosa*. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*. 2022; 20(17): 144-146. doi: 10.3969 /j.issn.1672-2779.2022.17.052
30. Yu WN, Zhang ZL, Li KK, et al. Determination of the content of iridoid glycoside in from different parts of the fresh *Rehmanniae* flowers. *Food Research and Development*. 2017; 38(14): 134-137. doi: 10.3969/j.issn.1005-6521.2017.14.028

Article

## Study on physicochemical properties of polysaccharides and glycosides from *Rehmannia glutinosa* under different processing conditions

Yahui Jia, Chunnan Wen, Miao Liu, Yuan Ruan, Yanyan Qian, Bingji Ma\*, Li Wang\*

Department of Traditional Chinese Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

\* Corresponding authors: Bingji Ma, mbj123@sina.com; Li Wang, wanglihuina@163.com

---

**Abstract:** AIM: The physicochemical properties of polysaccharides and changes in the glycoside composition under different processing conditions of *Rehmannia glutinosa* were studied. METHODS: High-pressure processing temperature, processing time, processing frequency, and thickness of fresh *Rehmannia glutinosa* slices were taken as factors, and the contents of polysaccharides, catalpol, and rehmannioside D were taken as evaluation indexes. The physicochemical properties and the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase were characterized via ion chromatography, Fourier transform infrared spectroscopy, and environmental scanning electron microscopy. RESULTS: The parameter values for the highest polysaccharide content were as follows: processing temperature of 110 °C, processing time of 4 h, processing frequency of 2 times, and slice thickness of 1.0–1.5 cm. The parameter values for the highest  $\alpha$ -glucosidase inhibition rate were as follows: processing temperature of 120 °C and processing time of 2 h. The surface morphology of polysaccharides from *Rehmannia glutinosa* showed irregular fragments, and glucose and galactose were dominant. The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of polysaccharides from processed *Rehmannia glutinosa* reached 60% at a low concentration of 0.05 mg/mL.

**Keywords:** *Rehmannia glutinosa*; high-pressure processing process; polysaccharides; glycosides