DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251229006
引用格式: 李铭, 朱子媛, 黄曦, 等. 穿心莲饮片霉变前后的 4 种内酯类成分含量变化[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(7): 334–342.
LI M, ZHU ZY, HUANG X, *et al*. Changes in the content of 4 kinds of lactones components in *Andrographis herba* decoction pieces before and after mold contamination [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(7): 334–342. (in Chinese with English abstract).

穿心莲饮片霉变前后的 4 种内酯类成分含量变化

李　铭, 朱子媛, 黄　曦, 朱飞如, 李　峰, 刘莉丽, 叶有芳,
黄梓霞, 梁国华, 黄海婷*

(北海市公共检验检测中心, 北海　536000)

摘　要: 目的　研究穿心莲饮片霉变前后 4 种穿心莲内酯类成分含量变化, 分析不同霉变程度对穿心莲饮片 4 种内酯类成分含量的影响。**方法**　参照 2020 年版《中国药典》四部通则 1108“中药饮片微生物限度检查: 微生物计数法”进行霉菌和酵母菌计数方法的建立和验证, 采用建立的方法对霉变前后的穿心莲饮片进行霉菌计数; 采用高效液相色谱法测定霉变前后穿心莲饮片中 4 种穿心莲内酯成分含量。**结果**　穿心莲饮片对方法适应性验证的黑曲霉和白色念珠菌抑制作用均较小, 采用样品(1:10)稀释度时有杂菌干扰影响检测, 当样品稀释到 1:100 时杂菌干扰减少, 2 种试验菌回收率比值都在 0.5~2.0 范围内故可采用样品(1:100)或以上稀释级做霉菌及酵母菌计数并采用平皿倾注法进行检验。4 种穿心莲内酯成分含量高效液相色谱法测定采用制定好的色谱条件下 4 种成分在相应浓度区间线性良好(r>0.9999), 回收率为 95.31%~104.14%, 相对标准偏差小于 5% (n=6); 20 批次穿心莲饮片霉变后脱水穿心莲内酯含量平均减少最大, 为 62%, 新穿心莲内酯含量平均减少其次, 为 69%, 穿心莲内酯含量平均减少为 75%, 去氧穿心莲内酯含量平均减少最少, 为 88%。**结论**　在穿心莲饮片霉变后对去氧穿心莲内酯含量减少较少, 而对穿心莲内酯、新穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含量减少较大, 故要对穿心莲饮片的储存过程中要定期监控, 保证其免受微生物(霉菌)污染, 保证用药的安全性和有效性。同时, 通过研究霉变对穿心莲饮片有效活性成分含量的影响, 为建立更完善的穿心莲饮片质量标准提供依据。

关键词: 穿心莲饮片; 穿心莲内酯; 霉菌污染; 高效液相色谱法

Changes in the content of 4 kinds of lactones components in *Andrographis herba* decoction pieces before and after mold contamination

LI Ming, ZHU Zi-Yuan, HUANG Xi, ZHU Fei-Ru, LI Feng, LIU Li-Li, YE You-Fang,
HUANG Zi-Xia, LIANG Guo-Hua, HUANG Hai-Ting*

(*Beihai Public Inspection and Testing Center*, *Beihai* 536000, *China*)

收稿日期: 2025-12-29
基金项目: 广西壮族自治区市场局自筹课题项目(GSJKJZC2025-6)
第一作者: 李铭(1975—), 男, 副主任药师, 主要研究方向为药物和食品及化妆品分析。E-mail: 2394323403@qq.com
***通信作者:** 黄海婷(1978—), 女, 副主任药师, 主要研究方向为药物和食品及化妆品分析。E-mail: 68776072@qq.com

ABSTRACT: Objective　To investigate the changes in the content of 4 kinds of andrographolide components in *Andrographis herba* decoction pieces before and after mold contamination, and analyze the impacts of different mold contamination degrees on the content of these 4 kinds of lactones. **Methods**　According to the general principle 1108 microbial limit test for traditional Chinese medicine decoction pieces: Microbial enumeration tests in volume IV of the *Chinese pharmacopoeia* (2020 Edition), the method for enumeration of molds and yeasts was established and validated. The established method was used to count molds in *Andrographis herba* decoction pieces before and after mold contamination. High performance liquid chromatography was employed to determine the content of 4 kinds of andrographolide components in *Andrographis herba* decoction pieces before and after mold growth. **Results**　*Andrographis herba* decoction pieces showed weak inhibitory effects on *Aspergillus niger and Candida albicans* during the method suitability test. When the sample was diluted at 1:10, miscellaneous bacterial interference affected the detection. When the sample dilution reached 1:100, the interference was reduced, and the recovery ratios of the 2 kinds of test strains were both within the range of 0.5–2.0. Therefore, a sample dilution of 1:100 or higher could be used for the enumeration of molds and yeasts, with the plate pour plate method adopted for the test. In the high performance liquid chromatography determination of the 4 kinds of andrographolide components under the established chromatographic conditions, the 4 kinds of components exhibited good linearity in their respective concentration ranges (r>0.9999), with recoveries ranging from 95.31% to 104.14% and relative standard deviations less than 5% (n=6). After 20 batches of andrographolide slices were moulded, the content of dehydrated andrographolide was reduced by 62% on average, the content of new andrographolide was reduced by 69% on average, the content of andrographolide was reduced by 75% on average, and the content of deoxyandrographolide was reduced by 88% on average. **Conclusion**　After mold contamination of *Andrographis herba* decoction pieces, the content of deoxyandrographolide decreases slightly, while the content of andrographolide, neoandrographolide and dehydroandrographolide decrease significantly. Therefore, regular monitoring during the storage of *Andrographis herba* decoction pieces is necessary to ensure they are free from microbial (mold) contamination and to guarantee the safety and effectiveness of medication. Meanwhile, this study on the impact of mold contamination on the content of active components in *Andrographis herba* decoction pieces provides a basis for establishing a more comprehensive quality standard for *Andrographis herba* decoction pieces.

KEY WORDS: *Andrographis herba* decoction pieces; andrographolide; mold contamination; high performance liquid chromatography

0　引　言

穿心莲(*Andrographis herba*)为爵床科穿心莲属的药食同源类草本植物, 全草入药, 味苦、寒, 入心、肺、胃、大肠经[1]。主要活性成分有穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、新穿心莲内酯及 14-去氧-11,12-二去氢穿心莲内酯(又称脱水穿心莲内酯)等二萜内酯类成分[2], 具有清热解毒、凉血消肿等功能。穿心莲味极苦不宜直接食用[3–4], 但通过现代提取分离技术获得的穿心莲内酯等精制提取物可以制成膳食补充剂, 显著提高穿心莲内酯等活性成分的生物利用度[5–8], 例如穿心莲制成饮片后可通过热水冲泡制成茶饮, 有缓解轻度上火等保健功效。因其成分二萜内酯为脂溶性成分[9], 溶出性能较差, 对穿心莲饮片进行粉碎处理, 可提高其主要活性成分穿心莲内酯等的溶出度[10]。

穿心莲等叶类可食用药材因兼具营养供给与药用调理的双重属性, 在功能性食品开发、慢病辅助干预等领域备受关注[11–13]。这类可食用药材的叶片组织大多结构疏松、水分与营养物质含量丰富, 在运输和贮藏过程中, 受温度、潮湿或干燥等多种环境因素影响, 会出现霉菌污染, 不仅会破坏食材的活性成分、降低食用价值, 其代谢产生的毒素还会对人体健康构成潜在威胁[14–18]。已有研究者从穿心莲中分离出了多种污染真菌, 说明穿心莲饮片存在极大受霉变污染的可能[19–20]。但目前国内对穿心莲饮片霉变后有效成分含量变化的研究报道较少。

本研究以穿心莲饮片为原料, 以中国药典 2020 年版四部 1108 中药饮片微生物限度中霉菌总数测定法[21]并参考其他文献[22]和采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)[23–26], 以穿心莲饮片中霉菌总数、穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量作为考察指标, 并通过人工使霉菌污染

穿心莲饮片，在适宜培养条件下让穿心莲加快霉变，然后用中国药典 2020 版霉菌总数测定法测定穿心莲霉变后霉菌总数，用高效相液相色谱法测定穿心莲霉变后的 4 种二萜内酯类成分含量[27−31]，实现对穿心莲的 4 种二萜内酯类成分穿心莲霉变前后含量变化的测定，从整体上完善对穿心莲饮片的质量控制，为提高穿心莲的质量标准提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

LMQ.C-50T 型立式高压蒸汽灭菌器(山东新华医疗器械股份有限公司)；MJ-150-I 型霉菌培养箱(无锡玛瑞特科技有限公司)；安捷伦 1260 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器，美国安捷伦科技有限公司)；安捷伦 XDB-C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)(美国安捷伦科技有限公司)；XA205DU 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)；JM-23D-40 超声波清洗仪(深圳市洁盟清洗设备有限公司)；BHC-1300IIA/B2 生物安全柜(苏州净化设备有限公司)

1.2 试剂与材料

1.2.1 培养基及试剂

沙氏葡萄糖琼脂培养基(sabouraud medium, SDA)、沙氏葡萄糖液体培养基(广东环凯微生物科技有限公司)；磁珠菌种保存管(青岛海博微生物科技有限公司)。

1.2.2 标准菌种

白色念珠菌[CMCC(F) 98001]、黑曲霉[CMCC(F) 98003]均为定量工作菌株，含菌量均为 1000~10000 cfu，菌种均购自温州维科生物科技有限公司。

1.2.3 对照品

穿心莲内酯标准品(批号：110797-202010，纯度：99.6%)(中国食品药品检定研究院)；去氧穿心莲内酯标准品(批号：2415553，纯度：98.0%)、脱水穿心莲内酯标准品(批号：2415546，纯度：98.0%)、新穿心莲内酯标准品(批号：Y346001，纯度：98.6%)(上海安谱科技有限公司)。

1.2.4 穿心莲饮片来源

20 批次来源于不同单位的穿心莲饮片样品信息见表 1。

1.3 试验方法

1.3.1 霉菌、酵母菌总数计数方法

霉菌总数按《中国药典》2020 版四部通则 1108 中药饮片微生物限度检查：微生物计数法中霉菌、酵母菌总数计数法，建立穿心莲饮片微生物计数方法。

(1)含黑曲霉的菌悬液制备

接种黑曲霉菌至沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基中，经 20~25 ℃培养 5~7 d，用沙氏葡萄糖液体培养基溶液 2 mL，将孢子洗脱。然后，吸出孢子悬液至无菌小试管中，制成含黑曲霉的菌悬液，备用。

表 1 不同单位的穿心莲饮片信息表

Table 1 Information table of *Andrographis herba* decoction pieces from different units

单位	批号/采样日期	编号
广西圣民药业有限公司	2024-08-15	T1
广西慧宝源药业有限公司	2024-04-02	T2
广西北部湾药业有限公司	2024-07-12	T3
广西金贝药业有限公司	2024-01-15	T4
广西能信中药有限公司	2025-03-01	T5
广西众泰制药有限公司	2024-08-05	T6
广西钦州饮片厂	2024-07-01	T7
广西世彪药业有限公司	2024-08-18	T8
广西众森药业有限公司	2023-11-26	T9
广西上思十万山制药厂	2025-03-19	T10
广西北海市百姓大药房	2024-11-05	T11
广西北海市一心堂药店	2024-02-25	T12
广西北海市佳禾大药房	2024-10-21	T13
广西北海市桂中大药房	2024-10-25	T14
广西北海市大参林药店	2024-06-11	T15
广西北海市立康大药房	2023-12-21	T16
广西北海市济仁大药房	2024-05-17	T17
广西北海市珠城药店	2024-03-11	T18
广西北海市康平药店	2024-02-15	T19
广西北海市春天大药房	2024-04-17	T20

(2)定量黑曲霉和白色念珠菌的菌悬液制备

使用前将 2 种不同菌的定量工作菌株(小菌球)的西林瓶平衡至室温，将西林瓶内的小菌球加入到装有 1.1 mL 无菌生理盐水的小试管中，涡旋混合 1 min，使小菌球充分溶解混匀，分别制成含菌数量约为 100~1000 cfu/mL 的定量黑曲霉菌悬液和定量白色念珠菌的菌悬液。

(3)供试液的制备

将穿心莲饮片约 50 g 置于用酒精棉球擦拭过的万能粉碎机中，粉碎，过筛(用酒精棉球擦拭过)，用灭菌的药匙将穿心莲粉末移至灭菌自封袋中备用。取 5 g 于无菌 50 mL 离心管中，加入 45 mL 无菌生理盐水，充分振摇，制成 1:10 (*m*:*m*)供试液。取 1:10 供试液 1 mL 加入 9 mL 无菌生理盐水中制成 1:100 稀释液。并依次制作 1:1000 稀释液。

(4)霉菌、酵母菌总数计数方法适用性试验

试验组：分别移取 1:10、1:100、1:1000 供试液 9.9 mL 于灭菌试管中，加入制备好的定量黑曲霉及白色念珠菌菌液 0.1 mL，使其终浓度为每 1 mL 供试液中含菌量不大于 100 cfu。从试管中移取 1 mL 至灭菌平皿中，立刻倾注沙氏

葡萄糖琼脂培养基, 待其凝固后倒置于霉菌培养箱中 20~25 ℃培养 7 d。每个菌种平行制备 2 个平皿, 测定试验组菌落数。

供试品对照组: 分别移取 1:10、1:100、1:1000 供试液 9.9 mL 于灭菌试管中, 加入 0.1 mL 无菌生理盐水, 其余按试验组操作。测定供试品对照组菌落数。

菌液对照组: 取 9.9 mL 无菌生理盐水于灭菌试管中, 加入与试验组相同的定量黑曲霉及白色念珠菌菌液 0.1 mL, 使其终浓度为每 1 mL 供试液中含菌量不大于 100 cfu, 其余按试验组操作。测定菌液对照组菌落数, 进行微生物回收试验。

阴性对照组: 移取 1 mL 无菌生理盐水于灭菌平皿中, 其余按试验组操作。平行制备 2 个平皿。

根据测出定供试品对照组、菌液对照组和阴性对照组菌落数。按比值=[(试验组平均菌落数-供试品对照组平均菌落数)/菌液对照组平均菌落数]计算比值。根据 2020 年版《中国药典》, 采用平皿法时, 比值应在 0.5~2.0 范围内。

(5)含黑曲霉供试品的制备

取磁珠菌种保存管 1 支(内含 12~14 粒红色小磁珠)弃去管内保护液, 加入 0.8 mL 含黑曲霉的菌悬液, 充分振摇, 然后置 20~25 ℃培养 5 d, 备用。按 1.3.1(3)制备穿心莲粉末。取穿心莲粉末 10 g 于无菌离心管中, 加入磁珠菌种保存管内经培养后已经吸附了黑曲霉的红色小磁珠, 混匀, 置 20~25℃培养 7 d, 让黑曲霉在穿心莲粉末中充分生长, 加速穿心莲粉末霉变, 加快试验进程。培养完后即可制得含黑曲霉的供试品。

(6)含黑曲霉供试液的制备

取霉变后的穿心莲粉末 5 g 于无菌 50 mL 离心管中, 加入 45 mL 无菌生理盐水, 制成 1:10 霉变后的供试液。取 1:10 霉变后的供试液 1 mL 加入 9 mL 无菌生理盐水中制成 1:100 稀释液。并依次做 10 倍递增。

1.3.2　HPLC 测定穿心莲饮片中 4 种内酯类成分含量的方法

(1)色谱条件

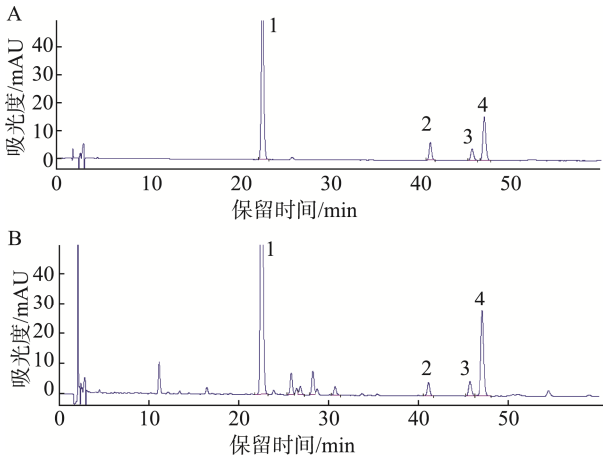
色谱柱: 安捷伦 XDB-C_{18} 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(18:82, *V*:*V*), 梯度洗脱, 0~60 min 时 18% A→40% A; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 5~10 μL; 检测波长: 226 nm; 柱温: 30 ℃。照上述色谱条件, 取混合对照品溶液和供试品溶液分别注入液相色谱仪, 记录色谱图见图 1。

(2)对照品溶液制备

分别取穿心莲内酯(*A*)对照品、新穿心莲内酯(*B*)对照品、去氧穿心莲内酯(*C*)对照品和脱水穿心莲内酯(*D*)对照品适量, 精密称定, 置 20 mL 容量瓶中, 加适量甲醇超声震荡溶解后用 70%甲醇至刻度, 摇匀, 制成质量浓度分别为 1085.64、621.18、333.32、480.20 μg/mL 的对照品储备液, 备用。

(3)供试品溶液制备

取样品粉末 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 70%甲醇溶液, 称定重量, 超声处理 45 min(功率为 200 W, 频率为 40 kHz); 放冷, 称定重量, 用 70%甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过; 精密量取续滤液 10 mL, 置中性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径为 1.5 cm, 上样前预先用 5 mL 70%甲醇溶液淋洗柱子)上, 用 15 mL 70%甲醇溶液洗脱(每次 5 mL, 共 3 次); 收集洗脱液, 置 25 mL 容量瓶中, 加 70%甲醇溶液至刻度线, 摇匀, 即得供试品溶液。



注: 1. 穿心莲内酯; 2. 新穿心莲内酯; 3. 去氧穿心莲内酯; 4. 脱水穿心莲内酯。

图 1　混合对照品溶液(A)和穿心莲饮片样品(B)的色谱图

Fig 1　Chromatogram of mixed control solution (A) and *Andrographis herba* sample (B)

(4)人工污染黑曲霉供试品溶液制备

取按 1.3.1(5)项下制备出的穿心莲霉变样品, 取霉变样品粉末 0.5 g, 精密称定, 然后按 1.3.2(3)项下“置具塞锥形瓶中”的后续步骤制备黑曲霉霉变供试品溶液。

1.4　数据处理

安捷伦高效液相色谱仪数据工作站。方法学考察数据处理、样品的含量采用 Excel 2021 软件。霉变前后样品霉菌数变化和 4 个内酯成分含量变化显著性差异采用 SPSS (statistics 25)软件做显著性差异分析, 显著性水平为 P<0.05。

2　结果与分析

2.1　穿心莲霉菌、酵母菌总数计数方法适用性试验结果

取编号 T2、T4、T6 的穿心莲样品按 1.3.1(3)项下制备供试液, 按 1.3.1(4)项下作方法适用性试验, 结果见表 2, 可得出黑曲霉、白色念珠菌需稀释至 1:100 就能达到比值要求。说明样品在采用(1:100)或以上稀释级时就能符合霉菌及酵母菌计数要求。

表 2 霉菌、酵母菌总数计数方法适用性试验结果

Table 2 Test results of applicability of counting methods for total mold and yeast counts

方法	黑曲霉			白色念珠菌		
	T2	T4	T6	T2	T4	T6
1:10 比值	/	/	/	/	/	/
1:100 比值	0.95	1.20	0.78	0.94	1.00	0.73
1:1000 比值	1.04	0.92	1.09	0.98	0.92	0.73

注: /表示有杂菌干扰影响计数结果。

2.2 20 批穿心莲饮片霉变前后样品霉菌总数测定结果

取按 1.3.1(3)项下制备的霉变前各批次供试液 1 mL 至灭菌平皿中, 平行做 2 个皿, 另取按 1.3.1(6)项下制备的霉变后各批次供试液 1 mL 至灭菌平皿中, 平行做 2 个皿, 分别倾注 45 ℃左右 20 mL SDA 培养基, 20~25 ℃培养 7 d, 计霉菌数, 取 2 平皿平均值作为霉变前后计数结果。穿心莲样品霉变前后不同霉菌总数见表 3。

2.3 HPLC 法测定穿心莲饮片中 4 种内酯类成分含量方法学考察

2.3.1 线性关系考察

分别精密吸取 1.3.2(2)项下的对照品储备液(0.05、0.10、0.25、0.50、1.00、1.50 mL), 置 10 mL 容量瓶中, 加入 70%甲醇稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液 1~6。按拟定色谱条件进样 10μL 测定, 以混合对照品溶液质量浓度(*X*, μg/mL)横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归, 分别得穿心莲内酯、新穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯的回归方程(表 4)。测定结果 4 种内酯类成分相关系数均大于 0.9999, 表明线性关系很好。

2.3.2 精密度试验

取 2.3.1 项下的混合对照品溶液 4, 按拟定色谱条件, 连续进样 6 次, 测定峰面积。结果 4 个内酯成分峰面积的(relative standard deviation, RSD)分别为 1.22%、1.06%、1.90%、1.72% (*n*=6), 表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验

取同一批(T6)样品粉末 0.5 g, 精密称定, 按 1.3.2(3)项制备供试品溶液, 按拟定色谱条件进样, 于 0、2、8、10、24、26 h 时测定峰面积。结果 4 个内酯成分峰面积的 RSDs 分别为 0.46%、2.17%、0.90%、0.68%, 表明供试品溶液在 26 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性试验

取同一批(T6)样品粉末 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 按 1.3.2(3)项制备供试品溶液, 并测定 4 种内酯含量。结果 4 个内酯成分穿心莲内酯、新穿心莲内酯、去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含量的 RSD 分别为 1.18%、3.02%、1.65%、2.40% (*n*=6), 表明方法重复性良好。

2.3.5 加样回收试验

取穿心莲饮片样品(T6)粉末 6 份, 精密称定, 分别加入穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、新穿心莲内酯和去氧穿心莲内酯对照品储备溶液各 0.5 mL, 精取加入 18 mL 70%甲醇, 并按 1.3.2(3)项下“精密称定”项下依法制备供试品溶液, 按拟定色谱条件进样测定, 并计算回收率。结果见表 5。检测结果回收率在 95.31%~104.14%, RSD<5% (*n*=6), 表明方法的准确性良好。

表 3 穿心莲样品霉变前后霉菌总数

Table 3 Total mold count before and after mold growth on *Andrographis herba* samples

样品编号	霉变前霉菌数/(cfu/g)	霉变后霉菌数/(cfu/g)
T1	2400	2400000
T2	1300	3800000
T3	100	8000000
T4	350	740000
T5	<100	480000
T6	950	3300000
T7	4300	1800000
T8	3300	1300000
T9	3100	2200000
T10	2300	1400000
T11	1400	1700000
T12	900	2700000
T13	1300	3300000
T14	3300	2100000
T15	5600	2900000
T16	3400	2500000
T17	2500	1800000
T18	4300	3000000
T19	3300	1500000
T20	4600	2200000

表 4 穿心莲 4 种内酯的线性关系和范围

Table 4 Linear relationship and range of 4 kinds of lactones in *Andrographis herba*

成分	标准曲线回归方程	相关系数(*r*)	线性范围/(μg/mL)
穿心莲内酯	*Y*=20.891*X*–2.286	1.0000	5.43~162.85
新穿心莲内酯	*Y*=3.578*X*+0.573	1.0000	3.11~93.18
去氧穿心莲内酯	*Y*=5.037*X*+0.305	1.0000	1.67~49.98
脱水穿心莲内酯	*Y*=13.361*X*–0.472	1.0000	2.40~72.03

表 5　回收率结果(n=6)

Table 5　Results of recovery (n=6)

成分	取样量/g	对照品加入量/μg	样品含量/μg	测得量/μg	回收率/%	$\bar{X}$/%	RSDs/%
A	0.3213	542.82	3953.46	4491.37	99.10	95.31	2.44
	0.3015	542.82	3709.83	4223.08	94.55		
	0.3205	542.82	3943.61	4464.09	95.88		
	0.2988	542.82	3676.61	4199.14	96.26		
	0.3006	542.82	3698.75	4206.08	93.46		
	0.3220	542.82	3962.07	4464.57	92.57		
B	0.3213	310.59	721.62	1035.87	101.18	97.83	3.10
	0.3015	310.59	677.15	992.55	101.55		
	0.3205	310.59	719.83	1019.10	96.36		
	0.2988	310.59	671.09	963.21	94.05		
	0.3006	310.59	675.13	979.97	98.15		
	0.3220	310.59	723.20	1020.50	95.72		
C	0.3213	166.60	642.53	795.07	91.56	95.35	2.82
	0.3015	166.60	602.93	766.28	98.05		
	0.3205	166.60	640.93	796.06	93.12		
	0.2988	166.60	597.53	761.32	98.31		
	0.3006	166.60	601.13	759.33	94.96		
	0.3220	166.60	643.93	804.00	96.08		
D	0.3213	240.10	1444.71	1701.49	106.95	104.14	2.40
	0.3015	240.10	1355.68	1607.93	105.06		
	0.3205	240.10	1441.12	1695.50	105.95		
	0.2988	240.10	1343.54	1591.47	103.26		
	0.3006	240.10	1351.64	1600.82	103.79		
	0.3220	240.10	1447.86	1687.64	99.87		

2.3.6　霉变前后样品中 4 个内酯成分含量测定结果

霉变前穿心莲饮片测定: 精密称取穿心莲饮片粉末 0.5 g, 按照 1.3.2(3)方法处理后测定 20 批穿心莲饮片中 4 种内酯含量; 霉变后穿心莲饮片测定: 精密称取霉变后穿心莲饮片粉末 0.5 g, 按照 1.3.2(4)方法处理后测定 20 批穿心莲饮片中 4 种内酯含量。穿心莲饮片霉变前后 4 种内酯类成分含量测定结果和含量变化见表 6。对 20 批次霉变后穿心莲饮片霉菌计数结果及穿心莲 4 种内酯含量变化做

表 6　霉变前后的穿心莲饮片中 4 种内酯成分含量及其含量的变化

Table 6　Content and changes in content of 4 kinds of lactones components in *Andrographis herba* slices before and after mold contamination

样品编号	霉变前 4 种内酯成分含量/(mg/g)				霉变后 4 种内酯成分含量/(mg/g)				霉变前后 4 种成分含量变化/%			
	$A_{前}$	$B_{前}$	$C_{前}$	$D_{前}$	$A_{后}$	$B_{后}$	$C_{后}$	$D_{后}$	$A_{后}/A_{前}$	$B_{后}/B_{前}$	$C_{后}/C_{前}$	$D_{后}/D_{前}$
T1	10.06	4.29	4.55	4.58	9.44	3.52	3.91	3.95	94	82	86	86
T2	5.82	2.19	1.08	4.52	5.45	1.73	0.99	3.56	94	79	92	79
T3	19.11	3.79	1.95	8.07	11.05	2.05	1.20	4.59	58	54	62	57
T4	7.89	2.78	2.33	5.39	5.77	2.01	1.99	3.62	73	72	85	67
T5	7.06	2.57	1.64	4.94	4.76	1.71	1.11	2.64	67	67	68	53
T6	12.32	2.23	2.00	4.48	7.50	0.63	1.91	1.61	61	28	96	36
T7	7.11	3.18	2.76	9.25	5.98	2.82	2.42	7.46	84	89	88	81
T8	5.90	3.25	1.93	5.03	5.50	2.90	1.91	4.52	93	89	99	90

表 6(续)

样品编号	霉变前 4 种内酯成分含量/(mg/g)				霉变后 4 种内酯成分含量/(mg/g)				霉变前后 4 种成分含量变化/%			
	$A_{前}$	$B_{前}$	$C_{前}$	$D_{前}$	$A_{后}$	$B_{后}$	$C_{后}$	$D_{后}$	$A_{后}/A_{前}$	$B_{后}/B_{前}$	$C_{后}/C_{前}$	$D_{后}/D_{前}$
T9	8.34	3.63	3.17	10.66	6.11	2.51	2.98	6.39	73	69	94	60
T10	7.45	3.97	2.38	6.03	5.00	2.63	1.99	3.03	67	66	84	50
T11	7.97	3.79	3.17	10.39	5.90	2.51	3.03	6.22	74	66	96	60
T12	7.12	4.10	2.38	5.85	4.84	2.65	1.97	2.92	68	65	83	50
T13	7.24	4.22	2.35	5.92	5.20	3.02	2.07	3.57	72	72	88	60
T14	8.04	3.91	3.26	10.55	5.91	2.58	3.01	6.25	74	66	92	59
T15	7.14	4.31	2.43	5.96	4.83	2.91	2.09	3.02	68	68	86	51
T16	7.82	3.83	3.21	10.38	6.05	2.77	3.05	6.69	77	72	95	64
T17	7.82	3.93	3.27	10.49	5.80	2.63	3.07	6.17	74	67	94	59
T18	6.98	4.09	2.41	5.87	5.37	3.30	2.22	3.68	77	81	92	63
T19	6.81	4.22	2.38	5.71	4.68	2.71	2.02	2.86	69	64	85	50
T20	7.98	4.07	3.39	10.77	6.24	2.95	3.26	6.97	78	72	96	65
平均值									75	69	88	62

关系图，图 2。通过研究发现，20 批次穿心莲饮片霉变后脱水穿心莲内酯含量平均减少最大，为 62%，新穿心莲内酯含量平均减少其次，为 69%，穿心莲内酯含量平均减少为 75%，去氧穿心莲内酯含量平均减少最少，为 88%。

2.3.7 霉变前后样品霉菌数变化和 4 个内酯成分含量变化显著性差异检验

采用 SPSS (statistics 25)做显著性差异分析，显著性水平为 $P<0.05$。分析结果见表 7。

从表 7 中可看出霉变后的穿心莲饮片中霉菌数和穿心莲内酯(A)、新穿心莲内酯(B)、脱水穿心莲内酯(D)含量均出现显著性变化，而去氧穿心莲内酯(C)含量显著性 P 为 0.237>0.05，所以霉变后的穿心莲饮片中去氧穿心莲内酯(C)含量减少变化不大。

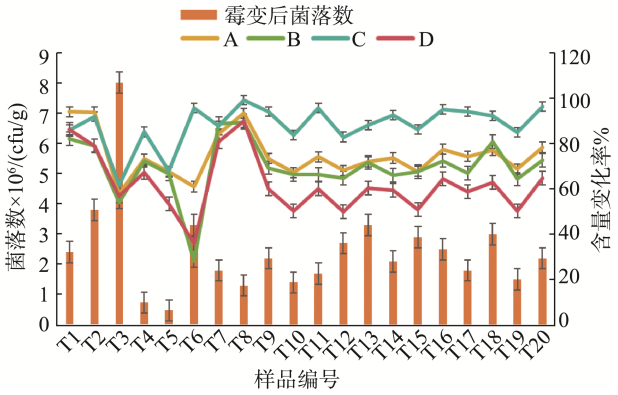


图 2 霉变前后的穿心莲饮片中 4 种内酯成分的含量变化与霉变后霉菌总数的关系

Fig.2 Relationship between content changes of 4 kinds of lactone components in *Andrographis herba* pieces before and after mildew and total mold count after mildew

表 7 霉变前后的穿心莲饮片中霉菌数变化和 4 种内酯成分含量变化显著性差异分析结果

Table 7 Analysis results of significant differences in mold count changes and the content changes of 4 kinds of lactones components in *Andrographis herba* slices before and after mold contamination

分组		平方和	自由度	均方	F	显著性
霉菌数	组间	114661559808097.000	1	114661559808097.000	12.588	0.001
	组内	337013862999210.000	37	9108482783762.440		
	总计	451675422807308.000	38			
A	组间	49.729	1	49.729	9.055	0.005
	组内	208.693	38	5.492		
	总计	258.422	39			
B	组间	11.892	1	11.892	27.020	0.000
	组内	16.725	38	0.440		
	总计	28.616	39			
C	组间	0.853	1	0.853	1.441	0.237
	组内	22.478	38	0.592		
	总计	23.330	39			
D	组间	75.955	1	75.955	16.611	0.000
	组内	173.762	38	4.573		
	总计	249.717	39			

3　讨论与结论

试验结果表明黑曲霉及白色念珠菌采用 1:10 常规平皿法进行方法适用性验证时, 菌落中有较多数量的杂菌干扰, 难以计数, 该稀释级别不适合作为穿心莲饮片的霉菌和酵母菌数计数方法。而试验中选用 1:100、1:1000 两个稀释度来进行穿心莲饮片的霉菌和酵母菌数计数的方法学验证试验结果比值均达到 0.5~2.0, 说明穿心莲饮片稀释至 1:100 级别或以上级别就可以消除杂菌干扰影响, 达到回收率(比值)要求。

试验中穿心莲饮片微生物方法学验证按《中国药典》2020 版四部通则 1108 中药饮片微生物限度检查: 微生物计数法中霉菌、酵母菌总数计数法, 对霉菌和酵母菌都进行了验证, 但本研究主要是考察穿心莲饮片霉变前后中 4 种穿心莲内酯的含量变化, 所以在对 20 批穿心莲饮片的微生物计数时只计数霉菌数, 不计酵母菌数。

试验中在制备人工污染霉变的穿心莲饮片时, 如果直接在穿心莲饮片粉末中加入黑曲霉菌悬液, 那么会使穿心莲饮片粉末受潮, 经 25 ℃培养后经微生物检测生长出的全是酵母菌, 不是霉菌, 后采用吸附了黑曲霉的小磁珠加入到穿心莲饮片粉末中, 小磁珠表面只有少量培养液, 不会使穿心莲饮片粉末受潮, 经 25 ℃培养后穿心莲饮片粉末表面能看见长白毛(发霉), 经微生物检测生长出的全是霉菌, 说明穿心莲饮片粉末已经霉变, 也说明用吸附了黑曲霉的小磁珠使穿心莲饮片粉末霉变可行, 故采用该方法制备霉变的穿心莲饮片。

本研究参考文献[23]采用水-乙腈(82:18, *V*:*V*)的流动相梯度洗脱方法, 发现 4 种穿心莲内酯均分离良好, 故采用该比例的流动相进行测定, 另外考察了不同提取试剂: 40%甲醇、70%甲醇、70%乙醇的提取效果, 试验结果显示 3 种提取试剂提取效率差不多, 但考虑到 70%的甲醇和 70%乙醇对微生物都有抑制和杀菌作用, 另外 70%甲醇在中性氧化铝柱洗脱时要比 70%乙醇洗脱时间快, 减少了分析检验时间, 综合考虑选用 70%甲醇作为提取试剂。最后分别考察不同提取时间: 15、30、45、60、75 min 的提取效果, 结果表明 45 min 时已提取完全。

通过对 20 批次霉变后穿心莲饮片霉菌计数结果及穿心莲 4 种内酯含量变化研究发现, 20 批次穿心莲饮片霉变后脱水穿心莲内酯含量平均减少为 62%, 新穿心莲内酯含量平均减少为 69%, 穿心莲内酯含量平均减少为 75%, 去氧穿心莲内酯含量平均减少最少, 为 88%。说明在穿心莲饮片霉变后霉菌代谢产酸, 降低 pH, 水分升高, 加速穿心莲内酯的非酶促水解与氧化, 造成穿心莲饮片主要有效成分含量下降。故要对穿心莲饮片的储存过程中要实时监控, 保证其免受微生物(霉菌)污染, 保证用药的安全性和有效性。同时, 通过研究霉变对穿心莲饮片药效成分含量的影响, 发现霉变后去氧穿心莲内酯含量减少不大, 其原因仍有待进一步研究, 为建立更完善的穿心莲饮片质量标准提供依据。

参考文献

[1] 徐国钧. 中国药材学. 上[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996.
XU GJ. Chinese materia medica (Volume 1) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 1996.

[2] 王林丽, 愈稼. 穿心莲及其制剂的药理作用和临床研究进展[J]. 中国药业, 2003(10): 72–73.
WANG LL, YU J. Research progress on pharmacological effects and clinical applications of *Andrographis paniculata* and its preparations [J]. China Pharmaceuticals, 2003, 12(10): 72–73.

[3] 韩向阳, 张宝海, 屈广琪, 等. 蔬菜新宠—花蔓草(“穿心莲”)[J]. 中国蔬菜, 2012(9): 42–43.
HAN XY, ZHANG BH, QU GQ, *et al*. A new favorite vegetable: *Andrographis paniculata* [J]. China Vegetables, 2012(9): 42–43.

[4] 彭光德. 药用蔬菜新品种穿心莲的栽培与食用[J]. 北京农业, 2012(10): 16–17.
PENG GD. Cultivation and consumption of a new medicinal vegetable variety: *Andrographis paniculata* [J]. Beijing Agriculture, 2012(10): 16–17.

[5] SONGVUT P, AKANIMANEE J, SURIYO T, *et al*. Non-linear oral bioavailability and clinical pharmacokinetics of high-dose *Andrographis paniculata* ethanolic extract: Relevant dosage implications for COVID-19 treatment [J]. Pharmaceutical Biology, 2025, 63(1): 42–52.

[6] CASAMONTI M, RISALITI L, VANTI G, *et al*. 载有穿心莲内酯的微乳液和纳米乳液制剂—改善“苦味之王”的生物利用度、靶组织分布及功效[J]. Engineering, 2019, 5(1): 150–164.
CASAMONTI M, RISALITI L, VANTI G, *et al*. Microemulsion and nanoemulsion formulations loaded with andrographolide: Improving bioavailability, target tissue distribution and efficacy of the “king of bitters” [J]. Engineering, 2019, 5(1): 150–164.

[7] 苏欣. 穿心莲及其制剂的药理作用和临床研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2015(9): 11.
SU X. Research progress on pharmacological effects and clinical applications of *Andrographis paniculata* and its preparations [J]. Heilongjiang Science and Technology Information, 2015(9): 11.

[8] 万新军. 穿心莲内酯及其衍生物的药理研究进展[J]. 中医临床研究, 2017, 9(30): 144–145.
WAN XJ. Research progress on pharmacology of andrographolide and its derivatives [J]. Journal of Clinical Chinese Medicine, 2017, 9(30): 144–145.

[9] 刘开永, 张敏, 李道敏, 等. 微粉化穿心莲中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的溶出特性[J]. 中成药, 2010, 32(4): 673–675.
LIU KY, ZHANG M, LI DM, *et al*. Dissolution characteristics of andrographolide and dehydroandrographolide in micronized *Andrographis paniculata* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2010, 32(4): 673–675.

[10] 陆晓晖, 唐芳瑞, 马志林, 等. 穿心莲粉末饮片颗粒度适宜性研究[J]. 江西中医药, 2015, 46(4): 57–60.
LU XH, TANG FR, MA ZL, *et al*. Study on the suitability of particle size of *Andrographis paniculata* powder decoction pieces [J]. Jiangxi Journal

of Traditional Chinese Medicine, 2015, 46(4): 57–60.

[11] 姜超. 实用中医营养学: 饮食养身治病指导[M]. 北京: 解放军出版社, 1985.
JIANG C. Practical traditional chinese medicine nutrition: Guidance on diet for health preservation and disease treatment [M]. Beijing: PLA Press, 1985.

[12] 宋向飞, 雷雅坤, 刘宁, 等. 药食同源花叶类植物对高尿酸血症的功效及机理研究进展[J]. 华北农学报, 2021, 36(S1): 195–201.
SONG XF, LEI YK, LIU N, *et al*. Research progress on efficacy and mechanism of medicinal and edible flower and leaf plants in hyperuricemia [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2021, 36(S1): 195–201.

[13] 王桂真. 药食同源——蒲公英[J]. 中国果菜, 2016, 36(5): 16–17.
WANG GZ. Homology of medicine and food: *Taraxacum mongolicum* [J]. China Fruit & Vegetable, 2016, 36(5): 16–17.

[14] 王燕, 章红, 段和祥, 等. 14 种易霉变饮片微生物污染状况及其表面真菌多样性研究[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(7): 571–578.
WANG Y, ZHANG H, DUAN HX, *et al*. Study on microbial contamination status and surface fungal diversity of 14 easily moldy decoction pieces [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2024, 59(7): 571–578.

[15] 韦岳正, 熊春媚, 范桂红, 等. 高温瞬时灭菌工艺对中药穿心莲粉质量影响的研究[J]. 广东化工, 2024, 51(11): 144–146, 132.
WEI YZ, XIONG CM, FAN GH, *et al*. Study on the effect of high-temperature instantaneous sterilization process on the quality of traditional Chinese medicine *Andrographis paniculata* powder [J]. Guangdong Chemical Industry, 2024, 51(11): 144–146, 132.

[16] 漆凤梅, 饶小勇, 何雁, 等. 中药饮片真菌污染现状与分析[J]. 江西中医药大学学报, 2023, 35(5): 123–128.
QI FM, RAO XY, HE Y, *et al*. Current status and analysis of fungal contamination in traditional Chinese medicine decoction pieces [J]. Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2023, 35(5): 123–128.

[17] 邓桃, 袁青松, 周涛, 等. 中药材中玉米赤霉烯酮毒素污染现状及其脱毒研究进展[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(16): 5–9.
DENG T, YUAN QS, ZHOU T, *et al*. Research progress on zearalenone contamination status and detoxification in Chinese medicinal materials [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2022, 50(16): 5–9.

[18] 赵祥升. “药食同源”南药—益智中外源性污染物检测及防霉变储藏规范研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
ZHAO XS. Detection of exogenous pollutants and research on mold-proof storage specifications of “homology of medicine and food” southern medicine-*Alpinia oxyphylla* [D]. Peking: Peking Union Medical College, 2016.

[19] 王文丽. 15 种中药材表面污染真菌的分离鉴定及产毒性能分析[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
WANG WL. Isolation, identification and toxin-producing ability analysis of surface-contaminating fungi from 15 Chinese medicinal materials [D]. Guangzho: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2013.

[20] NESSA F, SHAMSI S, NOMAN MAA. Morphological and molecular characterization of endophytic fungi isolated from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees and *Centella asiatica* (L.) urban [J]. Bangladesh Journal of Plant Taxonomy, 2023, 30(1): 111–122.

[21] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people’s republic of China (Volume IV) [M]. Beijing: China Medical Press, 2020.

[22] 杨瑞琦, 王西, 陈慧荣, 等. 肉豆蔻饮片微生物计数检查方法研究及其在霉变过程中菌落总数的测定[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(2): 248–253.
YANG RQ, WANG X, CHEN HR, *et al*. Study on microbial count method of *Myristica fragrans* decoction pieces and determination of total bacterial count during mold growth [J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2019, 21(2): 248–253.

[23] 张峻淞, 曾令杰, 崔丹丹, 等. 穿心莲饮片的特征图谱及主要内酯成分的含量测定[J]. 中国药业, 2020, 29(19): 19–22.
ZHANG JS, ZENG LJ, CUI DD, *et al*. Specific chromatogram and determination of main lactone components in *Andrographis paniculata* decoction pieces [J]. China Pharmaceuticals, 2020, 29(19): 19–22.

[24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people’s republic of China (Volume I) [M]. Beijing: China Medical Press, 2020.

[25] 袁建华. 穿心莲片中的穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯检测方法研究[J]. 江西化工, 2022, 38(3): 18–22.
YUAN JH. Study on detection methods of andrographolide and dehydroandrographolide in *Andrographis paniculata* tablets [J]. Jiangxi Chemical Industry, 2022, 38(3): 18–22.

[26] 滕云霞, 张飞宇, 毛鑫, 等. 复方穿心莲片 HPLC 含量测定方法研究[J]. 广东化工, 2023, 50(13): 201–204.
TENG YX, ZHANG FY, MAO X, *et al*. Study on HPLC content determination method of compound *Andrographis paniculata* tablets [J]. Guangdong Chemical Industry, 2023, 50(13): 201–204.

[27] MADHUSUDHAN K, SRINIVAS PV, SASHIDHAR RB. Simultaneous determination of four andrographolides in *Andrographis paniculata* Nees by silver ion reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1203(2): 217–222.

[28] SIRIAMORNPUN S, SUTTAJIT M. HPLC-PDA determination of bioactive diterpenoids from plant materials and commercial products of *Andrographis paniculata* [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2005, 28(13): 2039–2052.

[29] PHOLPHANA N, RANGKADILOK N, SATAYAVIVAD J. Changes in the contents of four active diterpenoids at different growth stages in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees [J]. Phytochemical Analysis, 2004, 15(3): 170–175.

[30] ZHANG H, ZHANG Y, CHEN SL, *et al*. Determination of andrographolide in commercial andrographis (*Andrographis paniculata*) products using HPLC with evaporative light scattering detection [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(5): 2828–2832.

[31] SINGH P, KUMAR A, SINGH SK, *et al*. Simultaneous quantification of major bio-active diterpenoid lactones and flavonoids in *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees: LC-ESI-MS/MS method validation [J]. Chemistry Select, 2023, 8(21): e202301855.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)