基于“黑如漆、甘如饴”的地黄炮制过程质量评价研究

周添慧[1, 2, 3]，周　佳[1, 2, 3]，吕思霖[1, 2, 3]，王　祎[4]，李　科[1, 2]，范三红[5]，柳惠武[6]，高晓霞[1, 2, 3*]，秦雪梅[1, 2, 3*]

1. 山西大学 中医药现代研究中心，山西 太原　030006
2. 山西大学 化学生物学与分子工程教育部重点实验室，山西 太原　030006
3. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室，山西 太原　030006
4. 山西药科职业技术学院，山西 太原　030031
5. 山西大学生命科学学院，山西 太原　030006
6. 山西广誉远国药有限公司，山西 太谷　030800

摘　要：目的　探究地黄 *Rehmanniae Radix* 蒸制过程中外观性状、内部成分随蒸晒次数的变化规律，为熟地黄质量控制提供新的依据。**方法**　应用图像处理技术、色差计和质构仪等观察地黄九蒸九晒炮制过程中的性状变化；采用 UPLC/ESI-Q-TOF MS 对生地黄、自制九蒸九晒熟地黄的化学成分进行测定，采用 HPLC-ELSD 对一蒸一晒至九蒸九晒得到的地黄寡糖类成分含量进行动态测定；采用多元统计分析，对地黄的性状、化学成分和寡糖类成分进行相关性分析。**结果**　色黑如漆：随着蒸晒次数的增加，熟地黄的亮暗度（L^*）、红绿度（a^*）、黄蓝度（b^*）以及综合色差值（E^*）均呈下降趋势，颜色逐渐变深。研究发现颜色改变与柠檬酸、6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇、daredoside A、地黄苷/异地黄苷/同分异构体等内部化学成分有一定相关性。味甘如饴：共鉴定出 10 个色谱峰，其中 3、6、8、10 号峰含量呈降低趋势（推测为二糖、三糖、四糖、五糖），含量呈增加趋势的色谱峰有 6 种，分别是 1、2、4、5、7、9 号峰，其中 5、7 号峰（推测为二糖、甘露三糖），可能作为评价九蒸九晒熟地黄质量更优的标志物。在地黄九蒸九晒的过程中，内部多种化学成分发生变化。地黄内部化学成分、糖类的变化与颜色、硬度、黏附性、咀嚼性的关联性分析结果表明，以上几者间存在一定的相关性。**结论**　通过分析不同蒸晒次数熟地黄外观及成分的动态变化，进一步阐释不同蒸晒次数地黄炮制品的科学内涵，为“黑如漆、甘如饴”提供一定的实验依据。

关键词：熟地黄；炮制；质量评价；颜色；性状；糖类；化学成分；相关性分析；UPLC/ESI-Q-TOF MS；HPLC-ELSD；柠檬酸；6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇；daredoside A；地黄苷；异地黄苷

中图分类号：R283.6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)07 - 2344 - 12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.07.011

Quality evaluation in processing of *Rehmanniae Radix* based on “black as paint and sweet as maltose”

ZHOU Tianhui[1, 2, 3], ZHOU Jia[1, 2, 3], LYU Silin[1, 2, 3], WANG Yi[4], LI Ke[1, 2], FAN Sanhong[5], LIU Huiwu[6], GAO Xiaoxia[1, 2, 3], QIN Xuemei[1, 2, 3]

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
2. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
3. Shanxi Key laboratory of Effective Substances Research and Utilization of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

收稿日期：2024-11-11

基金项目：山西省中央引导地方科技发展资金项目（YDZJSX2021C033）；地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室（202105D121009）；名优晋药再开发山西省重点实验室（202104010910001）；山西省中医药创新团队（zyytd2024020）；国家中医药管理局全国老药工传承工作室建设项目；山西中医药产业发展现代化支撑项目（2025zyycy01）

作者简介：周添慧（1998—），女，硕士研究生，研究方向为中药药理学。Tel: 13285453566　E-mail: zhoutianhui1101@163.com

***通信作者：**高晓霞，女，教授，博士生导师，主要从事中药药动学、山西经典名方二次开发研究。Tel: (0351)7019297　E-mail: gaoxiaoxia@sxu.edu.cn

秦雪梅，女，博士生导师，教授，从事中药质量控制与活性成分研究、中医药代谢组学研究。Tel: (0351)7011501　E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

4. Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China
5. College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China
6. Shanxi Guangyuyuan Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Taigu 030800, China

Abstract: Objective To study the changes of appearance and internal composition of Dihuang (*Rehmanniae Radix*, RR) during steaming, so as to provide a new basis for quality control of RR. **Methods** The morphological changes of RR were observed by image processing technology, colorimeter, and texture analyzer during the nine steaming and nine sun-drying process. UPLC/ESI-Q-TOF MS was used to determine the chemical constituents of raw RR and self-made nine steaming and nine sun-drying RR. The content of oligosaccharides obtained from one steaming and one sun-drying to nine steaming and nine sun-drying was determined dynamically by HPLC-ELSD. The correlation analysis was conducted by using multivariate statistical analysis to investigate the correlation between the morphological characteristics, chemical components, and oligosaccharides of RR. **Results** Black as paint: With the increase of steaming and drying times, L^*, a^*, b^* and E^* of *Rehmanniae Radix Praeparata* (RRP) showed a downward trend, and the color gradually became darker. It was found that the change of color had a certain correlation with the internal chemical components such as citric acid, 6-*O*-*E*-feruloylajugol, daredoside A, martynoside/isomartynoside/isomer. Sweet as maltose: A total of 10 peaks were identified, among which the content of peaks 3, 6, 8 and 10 decreased (which were disaccharide, trisaccharide, tetrasaccharide and pentaose, respectively), while the content of six components increased, which were respectively peaks 1, 2, 4, 5, 7 and 9, among them, peak 5 and peak 7 (speculated to be disaccharide and manninotriose) may be used as more superior markers to evaluate the quality of nine steaming and nine sun-drying RR. In the process of RR reaching nine steaming and nine sun-drying, a variety of internal chemical components changed. The correlation analysis results of the changes of chemical composition and carbohydrate in RR with color, gloss, hardness, adhesion and chewiness showed that there were some correlations among the above. **Conclusion** This study analyzed the dynamic changes in the appearance and components of RR with different steaming and sun-drying times, further elucidating the scientific connotation of different steaming and sun-drying times of RR, providing certain experimental basis for the saying “black as paint and sweet as maltose”.

Key words: *Rehmanniae Radix Praeparata*; processing; quality evaluation; color; properties; sugars; chemical composition; correlation analysis; UPLC/ESI-Q-TOF MS; HPLC-ELSD; citric acid; 6-*O*-*E*-feruloylajugol; daredoside A; martynoside; isomartynoside

地黄 *Rehmanniae Radix*（RR），始载于《神农本草经》，为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch.的新鲜或干燥块根，具有清热生津、凉血、止血的功效[1]。将地黄缓缓烘焙至约八成干，即可得生地黄，而熟地黄则是生地黄的炮制加工品[1]。传统认为[2]生地黄性寒，可清热凉血、养阴生津，用于治疗阴虚发热、血热出血、虚劳吐血不止等症，如地黄煎、四生丸（《妇人大全良方》）及地黄散（《圣惠方》）等。炮制后，药性由寒转温，功能由清转补，多治疗肾虚梦遗、阴虚消渴等症，如六味地黄丸（《药证》）、地黄饮子（《宣明论方》）等[2]。现代医学研究表明，熟地黄可用于治疗糖尿病、老年精血不足、贫血、老年痴呆等，也可治疗化疗损伤[3]。

熟地黄 *Rehmanniae Radix Praeparata*（RRP）的炮制工艺较为复杂，但其并没有一个较全面的炮制标准。现有的地黄炮制研究方法，没有科学阐明“黑如漆、甘如饴”的特点，未提出明确的质量诊断方法。《中国药典》2020 年版规定的熟地黄炮制标准仅为“质柔软而带韧性，不易折断，断面乌黑色。气微，味甜”[1]，而《本草图经》记载：“其地黄当光黑如漆，味甘如饴糖”[4]，多数饮片厂则是根据老药工的经验进行生产，导致炮制工艺不规范，产品质量参差不齐，使得临床疗效难以保障[5]。

随着时代发展，中药在守护民众健康方面的作用愈发凸显，然而当下中药质量方面仍存在一些亟待解决的问题。为突破困境、助力中药事业迈向新高峰，《“十四五”中医药发展规划》精准发力，指出需加强中药安全监管，提升药品检验机构中药质量评价的能力，并建立健全中药质量全链条安全监管机制。有效成分定量测定法和传统鉴别法为中药质量的主要评价方法，两者各有优劣。前者主要在于成分鉴定而忽视了性状差异；后者存在主观意识，以经验论优劣，不具有统一标准，故需结合二者的优势，才能以更全面客观的方式对中药的优劣进行评价[6]。

色差计、质构仪、图像处理技术能够通过多种测试模式表征药物的表观物理性状和特征参数，结果客观、灵敏、准确，现已被广泛应用于中药材的质量表征体系建立，具有便捷、高效、可视化的优

点。因此，本研究结合色差计、图像处理技术、质构仪、UPLC/ESI-Q-TOF MS、HPLC-ELSD 等多种分析方法，研究了地黄蒸制过程中的外观性状、内部成分随蒸晒次数的变化规律，为熟地黄质控提供了新的依据。并利用多元统计分析对数据进行了深入挖掘，揭示了性状、成分之间的相关性，为基于“黑如漆、甘如饴”的熟地黄炮制工艺过程提供新依据，并为地黄炮制过程中的质量评价提供借鉴。

1 仪器与材料

1.1 仪器

CTH01 型不锈钢蒸锅，潮安区彩塘镇鹏发不锈钢制品厂；CE2112 型电磁炉，艾美特电器有限公司；搪瓷罐；量筒；扁形称量瓶；干燥器；M50 Mark II 数码照相机，佳能（中国）有限公司；NS800 型分光测色仪，广东三恩时科技有限公司；1S-1034-03 TMS-Pro 型专业研究级物性分析仪，美国 FTC 公司；ACS-3-JZ 型电子秤，太行仪表厂；CP214 型万分之一分析天平，奥豪斯仪器（常州）有限公司；DFY-200C 型粉碎机，温岭市林大机械有限公司；DHG-9030 型电热鼓风干燥箱，上海一恒科学仪器有限公司；KQ5200E 型超声波清洗器，昆山舒美超声仪器有限公司；SC-3610 型低速离心机，安徽中科中佳科学仪器有限公司；Milli-Q 型纯水仪，默克化工技术（上海）有限公司；RE-25 型旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器公司；HH-S6 型数显恒温水浴锅，常州国宇仪器制造有限公司；Waters e2695 型高效液相色谱仪，配置 6000 蒸发光检测器，美国 Waters 公司；ZX-LGJ-18 型真空冷冻干燥机，上海知信实验仪器技术有限公司。

1.2 试剂

甲醇，分析纯，天津市大茂化学试剂厂；乙腈、甲酸，质谱级，购于美国赛默飞世尔科技公司；蒸馏水、超纯水，Milli-Q 纯水制备仪制备；绍兴古越龙山黄酒，酒精度≥10.0% vol，批号 GB/T13662；寡糖对照品，包含葡聚二糖（质量分数≥98%）、葡聚三糖（质量分数≥99%）、葡聚四糖（质量分数≥97%）、葡聚五糖（质量分数≥97%）、葡聚六糖（质量分数≥95%）、葡聚七糖（质量分数≥95%）、葡聚八糖（质量分数≥90%）、葡聚九糖（质量分数≥90%），批号 GY1107，日本 Glycarbo 公司；对照品毛蕊花糖苷（批号 11530-201914，质量分数以 95.2% 计）、松果菊苷（批号 111670-201907，质量分数以 91.8%计），中国食品药品检定研究院；对照品地黄苷 D（批号 190319，质量分数≥98%）、5-羟甲基糠醛（批号 190607，质量分数≥98%），上海融禾医药科技有限公司。

1.3 药材

新鲜生地黄药材，批号 201903，来源于山西省运城市药材种植基地，经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定，为玄参科地黄属植物地黄 *R. glutinosa* Libosch.的新鲜块根；熟地黄炮制过程中各样品自制。

2 方法与结果

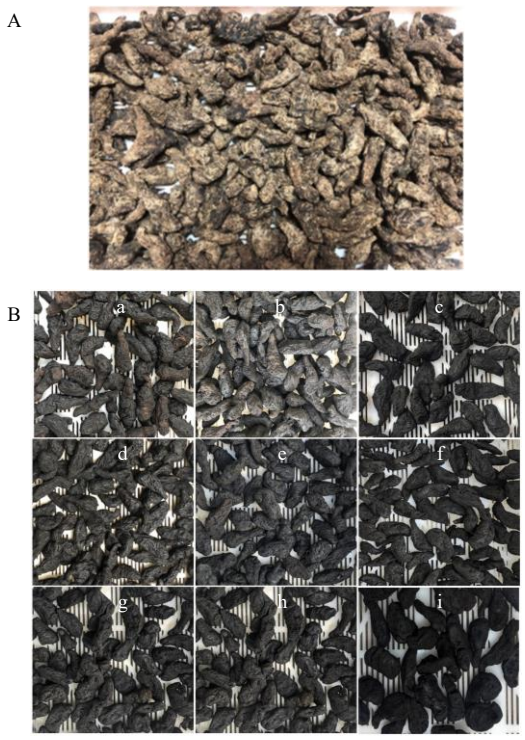
2.1 地黄样品制备方法

实验室自制九蒸九晒熟地黄，3 批炮制样品平行进行。生地黄放入水池中，弃去浮于水面的地黄，沉于水底的留用。用软毛刷轻轻刷去地黄表面残留的泥土，放至阴凉处晾干。参考《中国药典》2020 年版一部熟地黄制法[7]对地黄进行蒸制[8-9]，挑选个头接近的生地黄，称定质量，用搪瓷罐盛装，加入黄酒（地黄-黄酒 5∶2，每 100 千克生地黄用黄酒 30～50 kg）搅拌均匀，盖好盖子闷润，使黄酒充分渗透进地黄内部。每 4 h 翻动 1 次，直至容器中黄酒被全部吸尽（约 24 h）。地黄闷润后，将装有地黄的搪瓷罐置于蒸锅内蒸制，先用武火蒸至锅冒白气，后转文火蒸 6 h，蒸制过程中的地黄汁存留于搪瓷容器底部，收集得到的地黄汁。蒸制结束后，于室温晾凉，平铺于食品级塑料盘中，置于自然阳光下，晒至约八成干，用手轻捏不粘手，此为“一蒸一晒”。取一部分留样，剩余地黄拌入收集的地黄汁，搅拌均匀后进行第 2 次蒸制，循环往复，直至“九蒸九晒”，所有蒸晒次数均保留部分地黄样品，备用。

2.2 地黄样品外观性状及颜色测定[10]

2.2.1 外观性状变化　采用图像处理技术对每个阶段的熟地黄及对应的生地黄药材进行了系统的图像采集工作，此过程确保了地黄样本的图像数据能够被精确记录和分析，结果如图 1-A、B 所示。从图 1-B 中可以看出，熟地黄在炮制过程中随着蒸晒次数的增加，逐渐皱缩变小，颜色逐渐加深。

2.2.2 样品颜色测定　根据中医基础理论的五行学说[11]，黑归属肾经，而熟地黄色黑，归肝、肾经，与其颜色对应的五行归属相同，且熟地黄的炮制标准之一为“黑如漆”，故可通过测定其颜色对熟地黄的质控进行佐证。对各蒸晒次数熟地黄的颜色进行测定，将现有的熟地黄样品及对应的生地黄药材分



a～i-一蒸一晒～九蒸九晒熟地黄。
a—i-one steaming and one sun-drying to nine steaming and nine sun-drying RRP.

图 1　生地黄 (A) 和熟地黄 (B) 外观

Fig. 1　Appearance of RR (A) and RRP (B)

别加工成小块，置于鼓风干燥箱中，于 60 ℃下干燥 12 h，过程中颜色无明显变化，再用高速粉碎机粉碎，即得样品粉末。经色差仪黑白校正后，将各地黄样品粉末压入测色皿内，记录 L^*、a^*、b^*值，其中 L^*值代表亮暗度，a^*值代表红绿度，b^*值代表黄蓝度，并以“+”“−”表示对每份样品重复测量 5 次，删除最大值和最小值，取平均值，计算综合色差值［E^*，$E^*=(L^{*2}+a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$］。测量结果如表 1 所示，结果发现，与生地黄相比，炮制后的熟地黄 L^*、a^*、b^*以及 E^*值均呈下降趋势，表明地黄颜色逐渐加深。

2.3　水分及内部质地测定

2.3.1　水分测定　精密称定各炮制阶段熟地黄样品各 2.00 g，置于恒定质量的扁形称量瓶中，样品厚度不超过 5 mm[1,10]，精密称定质量，将瓶盖开启，置于 100～105 ℃的干燥箱中干燥 5 h，随后密封盖好，移至干燥器中，冷却 0.5 h 后取出，称定质量，再放回干燥箱中，在相同条件下干燥 1 h，冷却后称定质量，重复以上操作，直至连续 2 次称定质量差异不超过 5 mg，结束操作。减失的总质量与样品原质量的比值即为含水量。“一蒸一晒”至“九蒸九晒”熟地黄在蒸制过程中的含水量变化规律见表 2。结果表明，随着蒸晒次数的增加，3 批样品的含水量均呈上升趋势。第 1、2、3 批熟地黄的含水量分别由 17.74%增加至 29.58%、由 15.19%增加至 22.00%、由 17.96%增加至 27.31%。

表 1　3 批不同蒸晒次数地黄样品颜色测定结果 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 1　Color measurement results of three batches of RR samples with different steaming times ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

蒸晒	第1批				第2批				第3批			
次数	L^*	a^*	b^*	E^*	L^*	a^*	b^*	E^*	L^*	a^*	b^*	E^*
0	37.02±0.09	4.67±0.47	5.45±0.69	37.48±0.15	35.11±0.18	4.87±0.09	6.41±0.11	36.03±0.17	37.15±0.09	3.74±0.10	5.49±0.28	37.74±0.09
1	25.08±0.21	3.34±0.30	2.33±0.18	25.25±0.23	25.33±0.39	3.67±0.43	5.56±0.36	26.19±0.33	25.39±0.16	3.43±0.16	4.17±0.10	25.96±0.15
2	24.31±0.54	2.06±0.13	2.80±0.47	24.51±0.52	23.20±0.25	2.36±0.26	3.96±0.07	23.66±0.25	24.07±0.14	2.67±0.21	2.49±0.14	24.34±0.15
3	23.47±0.55	2.44±0.22	1.47±0.48	23.57±0.51	22.41±0.43	2.33±0.12	1.73±0.14	22.60±0.40	23.38±0.16	2.36±0.27	2.28±0.13	23.61±0.15
4	23.02±0.26	3.27±0.21	1.70±0.24	23.15±0.24	20.33±0.22	3.39±0.23	2.09±0.08	20.72±0.18	22.65±0.13	3.32±0.15	1.24±0.14	22.92±0.11
5	24.96±0.15	4.22±0.33	1.81±0.09	25.11±0.14	21.82±0.82	3.45±0.20	2.16±0.13	22.19±0.82	23.47±0.25	3.21±0.16	1.51±0.14	23.74±0.23
6	22.81±0.20	2.98±0.40	2.38±0.52	23.00±0.26	22.42±0.25	3.19±0.26	2.27±0.18	22.76±0.24	22.44±0.11	3.41±0.24	2.26±0.16	22.81±0.11
7	23.05±0.23	3.33±0.54	2.94±0.43	23.31±0.35	22.30±0.22	3.52±0.26	1.45±0.11	22.62±0.20	22.40±0.22	3.27±0.16	1.26±0.04	22.68±0.23
8	23.62±0.35	3.85±0.23	2.52±0.28	23.84±0.35	22.78±0.36	2.63±0.40	1.20±0.06	22.96±0.32	22.72±0.15	2.59±0.22	1.09±0.24	22.89±0.13
9	23.34±0.49	4.31±0.14	0.97±0.84	23.45±0.47	22.49±0.13	3.51±0.31	0.92±0.23	22.78±0.16	22.23±0.21	3.29±0.18	1.01±0.34	22.49±0.20

2.3.2　内部质地测定　由于生地黄没有经过蒸制，含水量少且过硬，超过了质构仪的测定范围，且在蒸制后才会有黏度等指标，故生地黄不进行内部质地测定。将各熟地黄样品平放，沿垂直线切开，取样品中心的剖面，均制成厚度为 1 cm 的圆柱形，进行熟地黄内部质地测定，包括硬度、黏附性、最大黏附力、内聚性、弹性、胶黏性、咀嚼性等。

设置物性分析仪的参数：选择圆柱形检测探头（型号 TMS 5 mm steel），测试模式为 TPA（质构剖面分析）模式，探头距离测试样品的高度为 30 mm，

表 2　3 批不同蒸晒次数熟地黄含水量和内部质地测定结果 (n = 3)

Table 2　Water contents and internal textures determination results of three batches of RRP samples with different steaming times (n = 3)

蒸晒	第1批							
次数	含水量/%	硬度/N	最大黏附力/N	黏附性/(N·mm)	内聚性/ratio	弹性/mm	胶黏性/N	咀嚼性/mJ
1	17.40	65.19	−6.85	13.84	0.31	4.50	19.91	89.79
2	17.74	58.30	−6.44	19.40	0.33	3.75	19.33	72.37
3	18.96	53.33	−4.23	10.54	0.34	3.51	18.01	64.05
4	19.41	49.71	−5.29	13.58	0.33	3.40	16.36	56.87
5	21.85	33.52	−3.88	6.45	0.26	1.97	8.58	17.02
6	23.40	29.35	−3.42	3.92	0.20	1.79	5.83	10.47
7	23.56	24.48	−2.27	8.33	0.32	3.10	7.95	25.43
8	25.25	23.57	−3.32	8.65	0.31	2.52	7.20	18.12
9	29.58	11.56	−1.16	1.66	0.19	1.66	2.20	3.67
蒸晒	第2批							
次数	含水量/%	硬度/N	最大黏附力/N	黏附性/(N·mm)	内聚性/ratio	弹性/mm	胶黏性/N	咀嚼性/mJ
1	15.19	63.18	−6.65	9.77	0.27	3.09	17.29	53.96
2	15.22	52.42	−6.04	14.52	0.29	3.70	14.95	55.34
3	15.73	49.11	−5.54	15.68	0.33	3.79	16.12	61.98
4	15.97	42.57	−3.73	12.20	0.31	3.41	13.15	46.39
5	17.92	26.09	−3.83	23.18	0.44	6.05	11.47	69.72
6	19.29	27.09	−2.77	7.00	0.29	3.23	7.62	24.04
7	19.41	27.29	−3.22	9.37	0.34	3.15	9.36	30.53
8	19.27	23.32	−3.42	7.06	0.25	2.38	5.96	14.57
9	22.00	20.00	−3.42	5.61	0.22	2.04	4.42	9.04
蒸晒	第3批							
次数	含水量/%	硬度/N	最大黏附力/N	黏附性/(N·mm)	内聚性/ratio	弹性/mm	胶黏性/N	咀嚼性/mJ
1	17.96	54.38	−5.59	17.54	0.35	4.46	18.81	84.05
2	17.96	38.00	−5.74	26.90	0.44	4.86	16.68	81.16
3	19.50	31.72	−4.03	9.09	0.25	2.74	7.99	23.29
4	23.41	24.48	−2.32	4.86	0.27	2.31	6.53	14.73
5	22.62	32.07	−3.17	3.42	0.21	1.63	6.86	11.24
6	23.77	30.51	−2.42	3.31	0.21	2.03	6.42	13.02
7	25.42	23.37	−2.57	4.73	0.25	2.17	5.73	12.62
8	24.83	19.35	−2.22	4.37	0.25	2.12	4.87	10.30
9	27.31	16.74	−1.36	1.78	0.19	1.75	3.26	5.95

起始力为 1.5 N，形变量为 60%，测试速度为 60 mm/min。每个样品重复测量 5 次，并去除最大值与最小值，取平均值[10]。熟地黄质地检测结果如表 2 所示，熟地黄的硬度、黏附性、胶黏性以及咀嚼性均随着蒸晒次数的增加呈下降趋势，到九蒸九晒时各参数达到最低值；内聚性、弹性虽有一定下降的趋势，但变化不明显。

2.4　基于 UPLC/ESI-Q-TOF MS 的化学成分鉴定与分析

2.4.1　供试品溶液的制备　根据“2.2.1”项下方法制备熟地黄粉末，随后称取 0.5 g，精密称定，置于具塞试管中，加入 5.0 mL 甲醇，超声提取 25 min 后，加入 5.0 mL 水，再次进行超声提取 25 min，以 3 500 r/min 离心（离心半径为 55 mm）5 min，将所得溶液的上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即为供试品溶液[12]。

2.4.2　对照品溶液的制备　分别精密称定松果菊苷、毛蕊花糖苷、地黄苷 D、5-羟甲基糠醛对照品适量，分别置于 5 mL 量瓶中，加 50%甲醇制成 1 mg/mL 对照品储备液。分别取各对照品储备液适量

置于 5 mL 量瓶中，加 50%甲醇溶液定容至刻度，即得混合对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）；以 0.1%甲酸水溶液-乙腈为流动相，梯度洗脱：0～1 min，2%乙腈；1～4 min，2%～12%乙腈；4～11 min，12%～20%乙腈；11～13 min，20%～30%乙腈；12～18 min，30%～60%乙腈；18～25 min，60%～98%乙腈；25～26 min，98%～2%乙腈；26～28 min，2%乙腈；体积流量 0.3 mL/min；进样量 5 μL；柱温 35 ℃；自动进样器温度设置为 10 ℃。

2.4.4 质谱条件 采用电喷雾离子源（ESI），设定为喷雾电压正极 5.5 kV，负极−4.5 kV 进行扫描。扫描范围为 *m*/*z* 100～2 000，正、负离子切换采集模式；雾化气温度为 450 ℃，毛细管电压为 4.5 kV，雾化气（GS1）和辅助加热气（GS2）压力均为 379.212 kPa（55 psi），设置气帘气为 206.843 kPa（30 psi）；分布电压（DP）为 60 V；碰撞电压（CE）为 35 V。

2.4.5 色谱成分分析 生地黄、九蒸九晒熟地黄各自正、负离子模式的总离子流图（total ion chromatogram，TIC）如图 2 所示。上述 2 种地黄样品的质谱分析结果如表 3 所示。根据相关文献报道，以及比对准分子离子、二级碎片离子等信息，初步鉴定出 43 个化合物，其中，包括 13 个环烯醚萜苷类成分、12 个苯乙醇苷类成分、2 个有机酸类成分、2 个紫罗兰酮类成分、5 个糖类及核苷类成分、9 个其他类成分。

2.4.6 化学成分分析 本实验采用峰面积的变化趋势描述地黄在九蒸九晒炮制过程中化学成分含量的变化，选用了蒸晒过程中变化较为明显的 11 种成分进行相关性分析，结果见表 4。结果表明，有机酸类成分柠檬酸从生地黄到六蒸六晒的蒸晒过程中含量降低，之后变化不大，但总体上是下降的趋势。熟地黄中的环烯醚萜苷类物质 6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇随着蒸晒次数的增加一直下降，在 6 次蒸晒之后几乎检测不到。Daredoside A、毛蕊花糖苷在地黄蒸晒炮制过程中呈现出波动变化；在蒸晒炮制过程中，地黄苦苷元、焦地黄苯乙醇苷 A1/A2、焦地黄苯乙醇苷 B1/B2、连翘酯苷 A、焦地黄苯乙醇苷 D、松果菊苷等苯乙醇苷类成分整体为下降趋势，随着蒸晒次数的增加，峰面积减少，含量降低。地黄苷/异地黄苷或同分异构体经 2 次蒸晒后含量急剧降低，且随着蒸晒次数的增加，峰面积一直呈下降趋势，九次蒸晒后到达最低点。

2.5 基于 HPLC-ELSD 技术测定地黄寡糖类成分

2.5.1 地黄多糖的提取 称取“2.3.1”项下各地黄样品粉末 5.0 g，精密称定，根据文献方法进行多糖提取[10,18-19]。

2.5.2 供试品溶液的制备 精密称取制备好的地黄多糖粉末 25 mg，加入蒸馏水定容至 5 mL，过 0.22 μm 微孔滤膜，即得供试品试液。

2.5.3 对照品溶液的制备 称取寡糖对照品（依次为 2～9 个葡萄糖组成）制为混合对照品溶液，质量浓度为 5 mg/mL。

2.5.4 色谱条件 华谱 X Amide 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为水-乙腈，梯度洗脱：0～44 min，85%～57%乙腈；44～46 min，57%～85%乙腈；46～49 min，85%乙腈；体积流量 1 mL/min；柱温 35 ℃；进样量 20 μL；ELSD 漂移管温度 105 ℃；载气体积流量 2.5 L/min。

2.5.5 寡糖特征图谱分析 生地黄到九蒸九晒熟地黄炮制过程中的不同蒸晒次数的叠加图谱见图 3-A，图中共出现 10 个色谱峰，采用 1～10 对色谱峰进行标记。以寡糖对照品（图 3-B）为参考，根据相对分子质量及聚合度种类，可大致推测出寡糖的种类，并以单个峰的峰面积在总峰面积中的占比描述寡糖类成分在炮制过程中的变化规律。根据现有文献报道及寡糖对照品的聚合度，对地黄中的寡糖成分进行推测。由于在 16 min 处时 2 分子寡糖出峰，推测 16 min 前出峰的物质可能为单糖，即 1、2 号峰可能为单糖成分，而其余峰均在寡糖对照品的出峰时间内。3～5 号峰在 2 聚合度寡糖峰附近，推测均为二糖；以此类推，6、7 号峰推测为三糖；8 号峰推测为四糖；9、10 号峰推测为五糖。

2.5.6 寡糖类成分含量变化分析 熟地黄在炮制过程中共有峰峰面积占比变化趋势如表 5 所示。结果表明，地黄炮制前后成分差异较大。在生地黄中 1 号峰含量较低，但 2 次蒸制后，其含量急剧上升（$P<0.01$），并在四蒸四晒时达到峰值，随后含量呈下降趋势，但总体为上升趋势；2 号峰在生地黄中的含量同样较低，在蒸制过程中含量显著上升（$P<0.01$），但为波动变化。而 3、6、8、10 号峰经炮制后含量快速降低，直至无法检测。4、5 号峰是在炮制过程中出现的新成分，4 号峰随着炮制次数的增加，含量逐渐升高，并在七蒸七晒中达到峰值，之后呈下降趋势，总体呈上升趋势；5 号峰则是在九

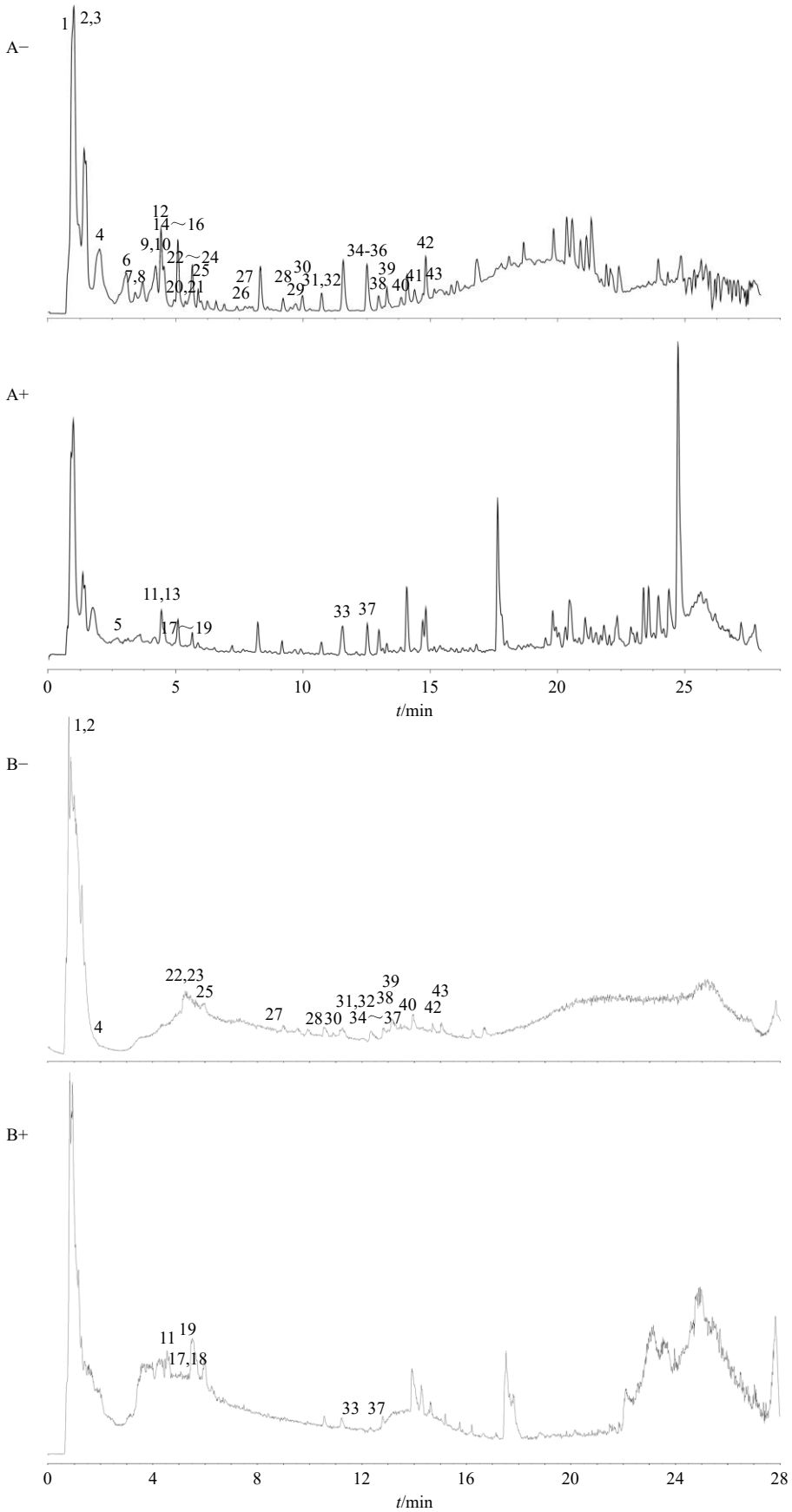


图 2　负 (−)、正 (+) 离子模式下生地黄 (A)、九蒸九晒熟地黄样品 (B) 的 TIC 图

Fig. 2　TIC of RR (A), RRP (B) in negative (−), positive (+) ion mode

表 3 生地黄、九蒸九晒熟地黄中化学成分指认结果

Table 3 Results of identification of chemical components in RR and “nine steaming and nine sun-drying” RRP

序号	t_R/min	化学成分	分子式	一级碎片 (*m*/*z*) 测定值	理论值	偏差(×10^{-6})	离子模式	二级碎片 (*m*/*z*)	生地黄	熟地黄
1	0.92	甘露三糖[13]	$C_{18}H_{32}O_{16}$	503.160 7	504.168 8	−1.6	$[M-H]^-$	383.116 5, 221.065 0	+	+
2	1.47	棉子糖[13]	$C_{18}H_{32}O_{16}$	503.161 0	504.168 8	−1.5	$[M-H]^-$	341.106 3	+	+
3	1.47	荻菲醇-3-*O*-芸香糖苷[13]	$C_{27}H_{30}O_{15}$	593.156 0	594.158 0	8.1	$[M-H]^-$	340.084 2	+	−
4	1.91	柠檬酸[14]	$C_6H_8O_7$	191.019 8	191.019 7	0.4	$[M-H]^-$	173.008 1, 129.018 8, 111.008 4	+	+
5	2.67	单密力特苷[15]	$C_{15}H_{22}O_{10}$	380.154 9	380.153 6	−0.5	$[M+NH_4]^+$	165.053 2	+	−
6	3.02	梓醇[14]	$C_{15}H_{22}O_{10}$	407.119 1	407.119 5	1.0	$[M-H+HCOOH]^-$	361.111 1, 199.058 9, 181.05, 169.049 5	+	−
7	3.14	蜜二糖[13]	$C_{12}H_{22}O_{11}$	341.108 5	342.115 8	−1.2	$[M-H]^-$	281.086 1, 221.063 2, 179.054 8	+	−
8	3.23	腺苷[13]	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	266.086 5	267.096 7	0.2	$[M-H]^-$	134.044 0	+	−
9	4.15	桃叶珊瑚苷[16]	$C_{15}H_{22}O_9$	391.123 6	391.124 6	2.4	$[M-H+HCOOH]^-$	345.113 2, 183.062 4, 165.052 1	+	−
10	4.19	地黄氯化臭蚁醛苷[16]	$C_{15}H_{23}ClO_{10}$	443.095 4	443.096 2	1.7	$[M-H+HCOOH]^-$	397.087 7, 197.019 8	+	−
11	4.42	地黄苷D*[15]	$C_{27}H_{42}O_{20}$	704.260 6	704.257 8	−0.3	$[M+NH_4]^+$	489.158 8, 471.147 7	+	+
12	4.53	密力特苷[16]	$C_{21}H_{32}O_{15}$	569.172 2	569.172 3	0.2	$[M-H+HCOOH]^-$	523.167 1, 365.113 2, 343.102 3	+	−
13	4.54	地黄苷A[16]	$C_{21}H_{32}O_{15}$	542.207 7	542.205 7	−0.4	$[M+NH_4]^+$	345.114 6, 183.064 7	+	−
14	5.06	京尼平苷酸[16]	$C_{16}H_{22}O_{10}$	747.235 6	747.235 3	0.4	$[2M-H]^-$	373.111 4, 211.060 1, 149.059 9	+	−
15	5.08	益母草苷[16]	$C_{15}H_{24}O_9$	393.139 4	393.140 2	2.2	$[M-H+HCOOH]^-$	347.132 5, 167.069 7	+	−
16	5.22	丁香酸[13]	$C_9H_{10}O_5$	197.045 5	198.052 7	−0.1	$[M-H]^-$	151.039 4, 123.045 1	+	−
17	5.23	1,2,4-苯三酚[13]	$C_6H_6O_3$	127.039 1	126.031 5	0.7	$[M+H]^+$	109.027 8	+	+
18	5.23	5-羟甲基糠醛*[13]	$C_6H_6O_3$	127.039 1	126.031 1	0.7	$[M+H]^+$	109.027 8	+	+
19	5.29	5-羟甲基-2-呋喃甲酸[13]	$C_6H_6O_4$	143.033 9	142.026 1	−0.1	$[M+H]^+$	143.032 5	+	+
20	5.37	8-表番木鳖酸/同分异构体[17]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	375.129 6	375.130 0	0.3	$[M-H]^-$	213.074 5, 169.085 2, 151.075 8	+	−
21	5.53	水晶兰苷[16]	$C_{16}H_{22}O_{11}$	389.108 5	389.108 9	1.1	$[M-H]^-$	345.117 4	+	−
22	5.61	脱咖啡酰基毛蕊糖苷[13]	$C_{20}H_{30}O_{12}$	461.165 8	462.173 9	−1.3	$[M-H]^-$	315.108 7, 135.044 2	+	+
23	5.64	玉叶金花苷酸[15]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	375.129 3	375.124 6	−1.1	$[M-H]^-$	213.076 0, 169.085 4, 151.075 5	+	+
24	5.65	8-表番木鳖酸/同分异构体[17]	$C_{16}H_{24}O_{10}$	375.129 3	375.130 0	4.6	$[M-H]^-$	213.076, 169.085 4, 151.075 5	+	−
25	5.99	肉苁蓉苷F[13]	$C_{21}H_{28}O_{13}$	487.144 7	488.152 8	−2.0	$[M-H]^-$	179.033 7, 135.044 8, 133.029 9	+	+
26	7.61	丁香酸-4-*O*-α-*L*-鼠李糖苷[15]	$C_{15}H_{20}O_9$	343.103 7	343.026 2	0.8	$[M-H]^-$	197.043 7	+	−
27	7.71	daredoside A[16]	$C_{21}H_{32}O_{12}$	475.181 8	475.174 7	−0.5	$[M-H]^-$	161.045 8	+	+
28	9.21	松果菊苷*[13]	$C_{35}H_{46}O_{20}$	785.251 6	785.263 3	0.9	$[M-H]^-$	623.217 6, 461.160 6, 161.023 0	+	+
29	9.71	脱咖啡酰基毛蕊糖苷[15]	$C_{20}H_{30}O_{12}$	461.065 6	461.159 2	−1.8	$[M-H]^-$	161.041 8	+	−
30	9.96	地黄苦苷元[16]	$C_{10}H_{16}O_3$	183.102 8	183.102 7	0.8	$[M-H]^-$	139.110 1	+	+
31	10.71	焦地黄苯乙醇苷A1/A2[13]	$C_{36}H_{48}O_{20}$	799.267 4	799.257 0	1.0	$[M-H]^-$	623.217 8, 315.105 8	+	+
32	10.71	肉苁蓉苷A[13]	$C_{36}H_{48}O_{20}$	799.267 4	800.276 6	1.0	$[M-H]^-$	623.217 8, 160.017 0, 135.043 7	+	+
33	11.58	地黄紫罗兰苷A[15]	$C_{19}H_{34}O_8$	391.232 8	408.257 4	0.5	$[M+H]^+$	193.153 5	+	+
34	12.50	异类叶升麻苷[13]	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.198 0	624.205 8	−0.3	$[M-H]^-$	461.164 6, 315.108 5, 297.094 9	+	+
35	12.50	异毛蕊花糖苷[15]	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.198 0	623.186 5	−0.3	$[M-H]^-$	461.164 6, 315.108 5, 251.055 4, 179.033 3, 161.023 3	+	+
36	12.51	连翘酯苷A[15]	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.198 0	623.186 5	−0.3	$[M-H]^-$	477.138 5, 443.153 5, 315.108 5, 179.033 3, 161.023 3	+	+
37	12.53	异麦角甾苷[15]	$C_{29}H_{36}O_{15}$	642.239 8	642.238 0	0.9	$[M+NH_4]^+$	325.092 7	+	+
38	12.95	焦地黄苯乙醇苷B1/B2[15]	$C_{37}H_{50}O_{20}$	813.284 3	813.272 9	2.5	$[M-H]^-$	491.172 6, 193.049 7, 175.039 0	+	+
39	13.28	毛蕊花糖苷*[16]	$C_{29}H_{36}O_{15}$	623.198 0	623.198 1	0.3	$[M-H]^-$	461.164 1, 161.023 1	+	+
40	13.83	焦地黄苯乙醇苷D[17]	$C_{30}H_{38}O_{15}$	637.214 4	637.213 8	1.0	$[M-H]^-$	461.165 1, 175.038 9	+	+
41	14.37	6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇[11]	$C_{25}H_{32}O_{12}$	523.182 0	532.182 1	0.1	$[M-H]^-$	193.049 8, 175.037 5	+	−
42	14.81	地黄苷/异地黄苷/同分异构体[11]	$C_{31}H_{40}O_{15}$	651.229 6	651.229 5	0.2	$[M-H]^-$	475.179 7, 193.049 8, 175.039 2	+	+
43	15.14	地黄苷/异地黄苷/同分异构体[11]	$C_{31}H_{40}O_{15}$	651.229 8	651.229 4	0.6	$[M-H]^-$	475.178 8, 193.048 7, 175.038 7	+	+

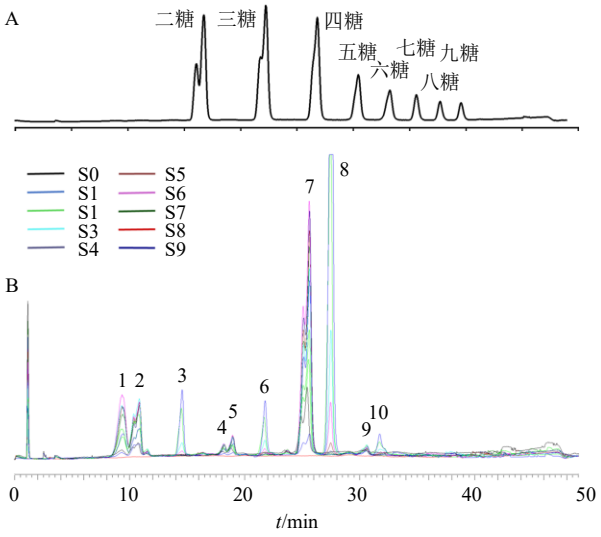
*为通过对照品比对的化合物，“+”表示可以检测到，“−”表示不能检测到。

* is a compound that has been compared by a reference, “+” means detectable, “−” means undetectable.

表 4　地黄样品蒸晒过程中主要化学成分的变化

Table 4　Variation of main chemical constituents in steaming and drying process of RR

蒸晒次数	归一化峰面积值										
	柠檬酸	6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇	darendoside A	松果菊苷	地黄苦苷元	焦地黄苯乙醇苷A1/A2	连翘酯苷A	焦地黄苯乙醇苷B1/B2	毛蕊花糖苷	焦地黄苯乙醇苷D	地黄苷/异地黄苷/同分异构体
0	3.087 66	0.431 78	0.170 20	0.532 70	0.764 84	0.639 46	2.673 53	0.481 85	0.449 43	0.290 24	1.478 30
1	2.509 48	0.136 97	0.463 64	0.581 95	1.163 43	0.711 20	2.708 63	0.473 40	0.920 98	0.305 42	1.024 89
2	1.997 62	0.077 19	0.311 72	0.829 12	0.957 06	1.423 02	2.563 24	0.587 17	1.347 61	0.368 01	0.538 24
3	3.175 34	0.026 25	0.397 20	0.524 76	1.046 77	0.869 19	2.109 81	0.576 29	1.319 41	0.235 62	0.719 36
4	2.598 76	0.008 53	0.271 40	0.439 96	0.761 79	0.728 87	3.005 47	0.394 08	2.013 62	0.256 11	0.521 41
5	2.835 32	0.003 67	0.379 49	0.606 60	0.653 43	0.803 64	2.466 83	0.418 52	1.976 79	0.253 46	0.602 25
6	2.670 92	0.001 32	0.409 42	0.611 02	0.740 93	0.966 91	2.118 81	0.508 49	2.047 10	0.296 97	0.628 11
7	3.014 70	0.000 00	0.513 47	0.538 95	0.595 96	0.839 35	2.033 55	0.516 50	2.077 53	0.215 64	0.654 35
8	3.261 84	0.000 00	0.454 84	0.605 03	0.571 20	0.879 48	1.876 70	0.511 43	1.960 14	0.224 23	0.655 10
9	3.603 81	0.000 00	0.463 24	0.549 51	0.544 22	0.998 89	1.609 31	0.503 18	1.929 57	0.218 67	0.579 60



S0～S9 代表不同蒸晒次数样品；1、2-单糖；3、4、5-二糖；6、7-三糖；8-四糖；9、10-五糖。

S0 — S9 represent samples with different steaming times; 1, 2-monosaccharide; 3, 4, 5-disaccharide; 6, 7-trisaccharide; 8-tetrasaccharide; 9, 10-pentaose.

图 3　2～9 聚合度寡糖对照品（A）和生地黄到九蒸九晒地黄（B）的典型色谱图

Fig. 3　Typical chromatograms of oligosaccharide reference standards with varying degrees of polymerization (A) and RR from its raw form to processed form after nine steaming and nine sun-drying (B)

蒸九晒中达到峰值。7 号峰在生地黄中占比不高，但随着蒸晒次数的增加，含量升高，并在九蒸九晒时达到最高。据文献报道，甘露三糖在熟地黄中含量较高[20]，而 7 号峰在 3 聚合度寡糖附近，故推测其为甘露三糖；9 号峰随着炮制过程，占比缓慢上升，七蒸七晒后变化较缓，但仍是上升的趋势。

地黄炮制过程中寡糖类成分含量发生了显著变化，其中有 4 个寡糖峰面积含量降低，占总糖峰面积的约 16.3%；另一方面，经炮制后含量上升的寡糖有 6 个，占总寡糖峰面积总和的 83.7%。熟地黄炮制过程中含量上升的寡糖要远高于含量下降的寡糖，揭示了熟地黄“甘如饴”的科学内涵。

2.6　数据分析

2.6.1　外观性状及内部质地多元统计分析　使用 SIMCA 14.1 软件对数据进行统计分析。将颜色、硬度、水分等各性状参数导入 SIMCA 14.1 软件中作地黄九蒸九晒过程的 V-S-plot 图。由图 4-A 可以看出，黏附性、硬度、咀嚼性[变量重要性投影（variable importance projection，VIP）＞1] 3 个性状参数是熟地黄炮制前后变化的主要因素，可以作为鉴别熟地黄品质好坏的辅助参考指标。

2.6.2　寡糖类多元统计分析　将糖类成分数据导入 SIMCA 14.1 软件进行多元统计分析，并做 PCA 得分图。将生地黄、九蒸九晒熟地黄样品作 V-S-plot 图，由图 4-B 可以看出（VIP＞1），7、8 号峰是地黄蒸晒过程中影响糖类成分变化的主要因素，该结果与“2.5.6”项下数据相符。

由图 5 可以看出，各蒸晒次数地黄样品的离散程度，随着蒸晒次数的增加，熟地黄（1～9）沿着 t[1]、t[2]一直在逐渐变化，说明在糖类成分方面存在差异，有一定的变化规律。

2.6.3　外观性状与化学成分的相关性分析　采用 SPSS 22.0 软件作自制地黄的化学成分、寡糖成分与外观性状的相关性分析，使用微生信数据分析和可视化在线平台（https://www.bioinformatics.com.cn）

表 5 地黄样品在蒸晒过程中 10 个共有峰峰面积占比（$\bar{x} \pm s$, $n = 3$）

Table 5 Proportion of 10 common peak-peak areas in steaming and drying process of RR ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

蒸晒次数	峰面积占比/%									
	1号峰	2号峰	3号峰	4号峰	5号峰	6号峰	7号峰	8号峰	9号峰	10号峰
0	0.96±0.46	3.02±0.48	10.29±0.08	0	0	8.22±0.45	4.97±0.23	66.94±0.69	1.32±0.16	4.29±0.36
1	5.23±0.90	8.08±0.85**	4.29±2.09**	0.69±0.13	1.21±0.29**	4.91±1.03**	28.30±10.76**	42.63±9.64**	1.74±0.44	2.92±0.44**
2	11.14±1.03**	13.07±1.15**	1.10±0.68**	1.19±0.15**	2.36±0.23**	1.98±0.55**	54.28±6.34**	12.84±4.47**	2.05±0.12	−
3	11.52±3.67**	11.15±1.03**	−	1.14±0.09**	2.56±0.12**	−	69.39±4.06**	2.19±0.76**	2.06±0.52	−
4	12.08±2.32**	14.03±1.14**	−	1.35±0.20**	2.86±0.24**	−	67.31±2.45**	−	2.20±1.00	−
5	10.11±3.45**	11.29±0.83**	−	1.27±0.21**	2.75±0.18**	−	72.42±3.25**	−	2.16±0.73	−
6	9.35±2.76*	12.93±1.72**	−	1.40±0.14**	2.99±0.33**	−	71.18±3.64**	−	2.16±0.67	−
7	8.35±4.10	13.51±0.72**	−	1.80±0.62**	2.98±0.29**	−	70.30±3.60**	−	3.07±1.71	−
8	7.74±1.15	11.67±0.51**	−	1.40±0.19**	3.31±0.55**	−	72.77±1.29**	−	3.11±1.20	−
9	6.65±2.65	13.15±0.62**	−	1.17±0.22**	3.38±0.34**	−	72.60±2.68**	−	3.05±0.55	−

与生地黄相比较：*P<0.05 **P<0.01；“−”无法检出.

*P < 0.05 **P < 0.01 *vs* compared with RR; “−” unable to check out.

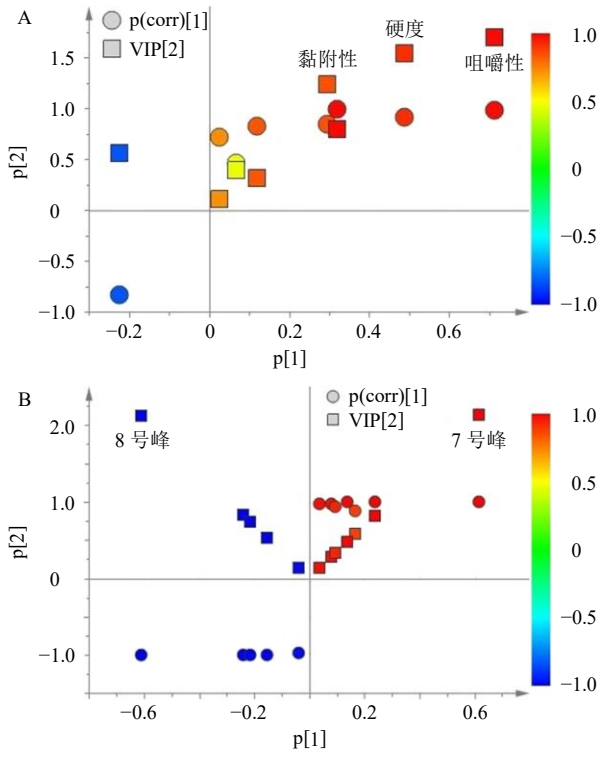


图 4 基于性状分析 (A) 和糖类成分分析 (B) 的熟地黄炮制过程中的 V-S-plot 图

Fig. 4 V-S-plot diagram of RRP processing based on character analysis (A) and sugar components analysis (B)

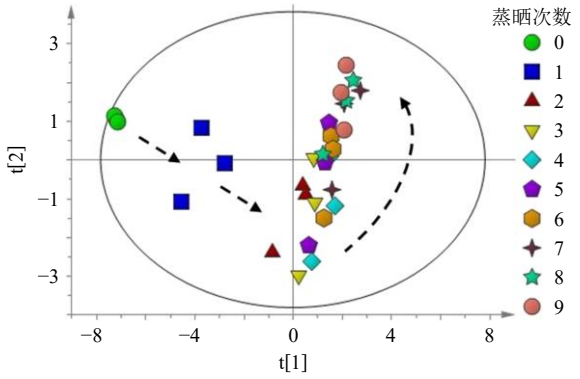


图 5 基于糖类成分分析的熟地黄炮制过程 PCA 图

Fig. 5 PCA diagram of processing process of RRP based on carbohydrate composition analysis

绘制热图，以明确化学成分、寡糖成分与外观性状三者的相关性，结果见图 6。由图 6 可知，E^*与柠檬酸、6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇、地黄苷/异地黄苷/同分异构体呈显著正相关（P<0.05、0.01），与 daredoside A 呈负相关（P<0.05），与毛蕊花糖苷呈显著负相关（P<0.01），与其他成分无显著相关性；a^*与 daredoside A 呈负相关（P<0.05）；b^*与柠檬酸、6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇、连翘酯苷 A、地黄苷/异地黄苷/同分异构体呈显著正相关（P<0.01），与松果菊苷、地黄苦苷元、焦地黄苯乙醇苷 B1/B2、焦地黄苯乙醇苷 D 呈正相关（P<0.05）；含水量与柠檬酸、6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇、地黄苷/异地黄苷/同分异构体呈显著负相关（P<0.01），与连翘酯苷 A 呈负相关（P<0.05）；内部质地主要对黏附性、硬度、咀嚼性进行相关性分析，结果得出咀嚼性与地黄苦苷元呈显著正相关（P<0.01）。而 L^*、E^*与 1、2、4、5、7 号峰呈显著负相关（P<0.01），与 9 号峰呈负相关（P<0.05），与 3、6、8、10 呈显著正相关（P<0.01）；a^*与 10 号峰呈正相关（P<0.05），与 1 号峰呈显著负相关（P<0.01）；b^*与 3、6、8、10 号峰呈显著正相关（P<0.01），与 2、4、5、7、9 号峰呈显著负相关（P<0.01），与 1 号峰呈负相

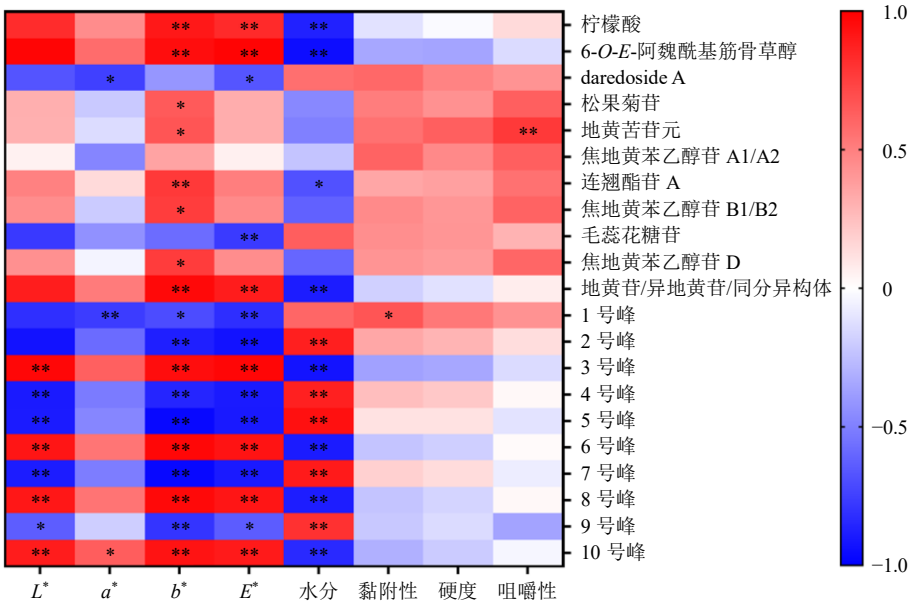


图 6　性状与化学成分、糖类成分的相关性分析

Fig. 6　Correlation analysis of traits with chemical components and carbohydrate components

关（$P<0.05$），含水量与 2、4、5、7、9 号峰呈显著正相关（$P<0.01$），与 3、6、8、10 号峰呈显著负相关（$P<0.01$）；黏附性与 1 号峰呈正相关（$P<0.05$）。

3　讨论

熟地黄制法各异，品质较高的熟地黄以“九蒸九晒”为制作要求，以“黑如漆、甘如饴”为评价特点[21]。生地黄炮制后，性由寒转温，味由苦转甘，功效由清转补，其外观也有明显变化。本研究基于图像采集的数据，详细呈现熟地黄在不同蒸晒次数的动态变化过程，为进一步研究和分析地黄炮制的科学问题奠定了基础。孟祥龙等[22]共鉴定出 19 种与地黄颜色变化相关的化学成分，其中包括本研究中鉴定出的梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷等环烯醚萜苷类成分，甘露三糖等糖类，柠檬酸等有机酸类及毛蕊花糖苷等成分。本研究发现，熟地黄的颜色还可能与 6-*O*-*E*-阿魏酰基筋骨草醇、daredoside A、地黄苷/异地黄苷/同分异构体等化学成分相关。随着蒸晒次数的增加，内部化学成分发生变化，糖类物质发生化学反应[23]，地黄颜色逐渐加深，变为棕黑色，最后为黑色，即“黑如漆”。寡糖类成分中的 5 号峰（推测为二糖），7 号峰（推测为甘露三糖），可能作为九蒸九晒地黄更优越的标志物，熟地黄炮制过程中含量上升的糖类成分要远高于含量下降的糖类成分，揭示了熟地黄“甘如饴”的科学内涵。

中药的质量优劣需将传统鉴别法和有效成分定量测定法结合进行评价[24]。中药成分繁杂、整体性强，实际运用中，仅靠成分评判中药质量实验流程长、操作繁琐、成本高昂，需要大量人力成本及时间[25]。传统经验鉴别历史悠久，凝聚历代从业者实践智慧，为把控中药品质提供了久经考验的方法，是评价中药质量的重要方式，中药工作者常依中药材及饮片的外形、颜色、气味鉴别，但人为主观判断有个体差异和不确定性，且传承断层，高水平从业者稀缺[26]。本研究采用质构仪、色差仪能将主观因素较强的经验式判断进行量化表征，初步探究蒸制过程中地黄质地的变化规律。随后结合色谱、质谱分析方法，将外观性状与内部成分项结合，进行相关性分析。结果表明，颜色、含水量与寡糖类成分有较强的相关性，内部化学成分与糖类成分对黏附性、硬度、咀嚼性也有一定影响。故建议对熟地黄进行质量评价时，除颜色、甜度进行测定外，还可对硬度、黏附性和咀嚼性进行标准化考察。该方法准确可靠，可用于地黄质量评价研究，为地黄九蒸九晒炮制过程中的性状测量提供了一定的参考。本研究中寡糖部分的色谱峰只采用了部分寡糖对照品进行比对，由于糖类成分的复杂性，后期可增加其他单糖及多糖对照品进行参考，对地黄的外观性状与其他糖类成分之间的联系进一步分析，为熟地黄的质控标准提供更加全面的科学依据。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 陈金鹏, 张克霞, 刘毅, 等. 地黄化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1772-1784.

[2] 赵新梅, 张威, 李莹莹, 等. 基于指纹图谱和多指标定量分析鲜地黄不同加工方式后化学成分变化 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4020-4031.

[3] 丁齐又, 徐坤元, 杨浩宇, 等. 熟地黄的临床应用及其用量 [J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(2): 228-230.

[4] 宋·苏颂编撰. 尚志钧辑校. 本草图经 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994: 81.

[5] 陈青垚, 雷星, 高亚珍, 等. 基于“色如漆，甘如饴”的砂仁陈皮制熟地黄炮制过程质量评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(4): 154-162.

[6] 徐文娟, 董海鹏, 韩婷, 等. 蒸制工艺对酒女贞子外观性状和主要成分的影响 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(8): 1437-1443.

[7] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 125.

[8] 沈丽琴, 杨晗, 李胜华, 等. 地黄不同工艺炮制过程中主要活性成分的变化规律研究 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(10): 75-79.

[9] 河南省中药饮片炮制规范 [S]. 2005: 75.

[10] 吕思霖. 基于性状、化学成分的地黄九蒸九晒炮制科学性研究 [D]. 太原: 山西大学, 2021.

[11] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 129-130.

[12] 赵晖, 苗艳艳, 苗明三. 中药九蒸九晒的分析与思考 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(11): 2713-2714.

[13] 朱徐东, 姚伟, 严斐霞, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速分析樟帮九蒸九晒地黄的化学成分及固体辅料缓解地黄“滋腻碍脾”的功能研究 [J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(10): 1332-1342.

[14] 张波泳, 江振作, 王跃飞, 等. UPLC/ESI-Q-TOF MS 法分析鲜地黄、生地黄、熟地黄的化学成分 [J]. 中成药, 2016, 38(5): 1104-1108.

[15] Li H Y, Fang J J, Shen H D, *et al*. “Quantity-effect” research strategy for comparison of antioxidant activity and quality of *Rehmanniae Radix* and *Rehmannia Radix Praeparata* by on-line HPLC-UV-ABTS assay [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 16.

[16] Xu J D, Mao Q, Shen H, *et al*. Ultra-high performance liquid chromatography coupled with photo-diode array and quadrupole/time-of-flight mass spectrometry based chemical profiling approach to evaluate the influence of preparation methods on the holistic quality of Qiong-Yu-Gao, a traditional complex herbal medicine [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1304: 154-168.

[17] 赵婷秀, 曹迪, 茆文莉, 等. HPLC-QTOF-MS 分析六味地黄丸不同部位的化学成分 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(4): 489-496.

[18] 秦梅颂, 周丽丽, 邹宇. 正交试验法优选地黄多糖的提取工艺 [J]. 安徽农学通报: 上半月刊, 2011, 17(7): 33-35.

[19] 石丽霞, 李科, 秦雪梅, 等. 基于糖特征图谱的不同柴胡的品种鉴别 [J]. 药学学报, 2020, 55(12): 2968-2975.

[20] 连晓岚, 胡海燕, 许言午, 等. 熟地甘露三糖对小鼠骨髓造血干/祖细胞体外扩增的影响 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1590-1591.

[21] 高家荣, 朱梦情, 汪小莉, 等. UPLC-Q-TOF-MS^{E} 技术结合 UNIFI 软件分析黄地安消胶囊化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2395-2405.

[22] 孟祥龙, 王勃, 胡聪, 等. 基于 HPLC-MS 及网络药理学探讨熟地黄炮制过程与美拉德反应的相关性 [J]. 中药材, 2020, 43(1): 61-70.

[23] 张文婷, 何佳, 郭增喜, 等. HPLC-ELSD 特征图谱分析地黄炮制过程成分变化 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16): 3877-3882.

[24] 刘文龙, 赵靖, 李原华, 等. 中药宏观质量的评价与控制理论体系的建立与应用研究 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 613-620.

[25] 秦雪梅, 孔增科, 张丽增, 等. 中药材“辨状论质”解读及商品规格标准研究思路 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2093-2098.

[26] 尚超凡, 周巧, 朱娟娟, 等. 电子感官技术在中药质量辨识及炮制的应用概况 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8654-8663.

[责任编辑 郑礼胜]