

# 枸杞子贮藏过程中水分等生理活性变化与“走油”的相关性

卢俊宇, 陈鸿平, 胡媛, 刘珈羽, 梁乙川, 刘友平\*, 陈林\*

(成都中医药大学药学院, 中药资源系统研究与开发利用省部级  
共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** **目的:**研究枸杞子贮藏过程中水分含量、活性氧自由基清除酶超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD)活性和脂质氧化终产物丙二醛(MDA)含量变化与“走油”的相关性, 为阐明枸杞子“走油”机制, 建立其科学贮藏方法提供依据。**方法:**将枸杞子药材分别在 40 ℃ 湿度 75% 和 4 ℃ 湿度 60% 2 种条件下贮藏, 于 0, 20, 40, 60 d 取样, 观测其外观性状, 测定其多糖、水分、MDA 含量和 SOD, POD 活性。多糖和水分的含量测定采用 2010 年版《中国药典》枸杞子项下方法, MDA 含量测定采用 TBA 法, SOD 活性测定采用氯化硝基四氮唑蓝光还原法, POD 活性测定采用愈创木酚法。**结果:**在 40 ℃ 湿度 75% 条件下贮藏的枸杞子在第 20 天即开始“走油”, 随着贮藏时间的延长, “走油”程度逐渐加深, 水分不断增加, SOD, POD 活性相应降低, MDA 的含量不断升高。而在 4 ℃ 湿度 60% 条件下贮藏的枸杞子外观性状, 水分, 多糖, MDA 含量及 SOD, POD 活性均无明显变化。**结论:**“走油”是外在贮藏条件不当, 致使内在水分含量增加, 活性氧自由基增多, 细胞结构和功能受损, 细胞膜脂过氧化, 失去选择透性的结果。

**[关键词]** 枸杞子; 水分; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 走油

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0063-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130063

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160512.1623.030.html>

**[网络出版时间]** 2016-05-12 16:23

## Changes of Moisture and Relativity of ‘Oil-spilling’ During Storage of Lycii Fructus

LU Jun-yu, CHENG Hong-ping, HU Yuan, LIU Jia-yu, LIANG Yi-chuan,  
LIU You-ping\*, CHEN Lin\*

(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Breeding Base of State Key of Research and Development of Traditional Chinese Herbal Medicine Co-constructed by Ministry of Science and Technology and Sichuan Province, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the changes of the water content, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and lipid oxidation end-products of malondialdehyde (MDA) during the storage of Lycii Fructus, to study the mechanism of ‘Oil-spilling’, and establish its scientific storage methods. **Method:** Two storage methods, including temperature at 40 ℃, humidity of 75%, temperature at 4 ℃, humidity of 60%, respectively. Observed the appearance of Lycii Fructus at 0, 20, 40, 60 days. While measured polysaccharide and water by *Chinese Pharmacopoeia* 2010 edition under the medlar method. MDA was tested by TBA method, SOD activity was measured by nitroblue tetrazolium reduction blue, POD was measured by nordihydroguaiaretic phenol method. **Result:** ‘Oil-spilling’ was started from 20 day at the storage of 40 ℃, humidity of 75%, inhibited time-

**[收稿日期]** 20160306(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(8140140928)

**[第一作者]** 卢俊宇, 在读硕士, 从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:15982058082, E-mail:410984194@qq.com

**[通讯作者]** \*刘友平, 研究员, 博士生导师, 从事中药质量标准化及药效物质基础研究, Tel:028-61800103, E-mail:lyp@cdutcm.edu.cn;

\*陈林, 博士, 副教授, 从事中药品质评价及质量标准化研究, Tel:18080019009, E-mail:chen\_lin0000@qq.com

dependent, while the moisture and MDA content were increased, SOD and POD activities were decreased. At the same time, there's no significantly changes under the storage of 4 °C, humidity of 60%. **Conclusion:** Imoroer storage and the water content and reactive oxide species of wolfberry increased. Result in the cell structure and function damaged, cell membrane lipid peroxidated, or permeability changed.

[ **Key words** ] Lycii Fructus; water content; malondialdehyde; peroxidase; superoxide dismutase; Oil-spilling

枸杞子<sup>[1]</sup>始载于《神农本草经》,列为上品,具有滋补肝肾,益精明目的功效。现代研究表明枸杞子具有增强免疫功能、降血糖<sup>[2]</sup>、降血脂、保肝及抗菌、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒<sup>[3]</sup>等药理作用<sup>[4]</sup>,其主要化学成分包括糖类、生物碱类、类胡萝卜素及色素、黄酮类及氨基酸等成分<sup>[5]</sup>。是卫生部第一批公布的药食两用品种<sup>[6]</sup>。

“走油”指中药所含的挥发油、脂肪油、糖类等因受热或受潮而在其表面出现油状物质的变质现象,常伴随药材返软、发黏、颜色变深、发出油败气味等现象,严重影响药材内在质量<sup>[7]</sup>。目前关于“走油”原因的解釋笼统归为药材在贮藏过程中温度、湿度升高,药材中所含的挥发油、脂肪油、糖类等成分外渗,在氧及酶作用下易发生氧化、分解、聚合等反应而造成药材质变<sup>[8-10]</sup>。枸杞子“走油”是贮藏过程中易发、多发的变质现象,其严重影响枸杞子性状、化学、效用品质及临床用药安全性。目前对枸杞子贮藏养护的科学研究多集中在外部贮藏养护条件<sup>[11]</sup>、包装材料等<sup>[12]</sup>对药材质量的影响和变质前后主要有效成分含量变化上<sup>[13]</sup>,而关于各种质变现象发生、发展机制的研究相对较少。

本实验小组通过前期研究发现枸杞子“走油”过程中水分的变化与“走油”发生时间和程度密切相关。因此结合植物原理和活性氧自由基衰老假说提出枸杞子“走油”发生机制可能为在外界环境因素的影响下,药材含水量增加,细胞代谢速率增强从而产生的过量活性氧自由基破坏细胞结构和功能进而导致细胞膜透性增大引发内含物外渗<sup>[14-15]</sup>,即发生“走油”。阐明枸杞子贮藏过程中活性氧自由基清除酶活性及膜透性变化规律,是阐明枸杞子“走油”发生机制的关键环节。本研究参照《中药、天然药物稳定性研究技术指导原则》放置于恒温稳定箱中,控制高温(温度 40 °C),高湿(RH 75%)条件下贮藏进行加速试验。于不同时间点取样检测的方式,研究枸杞子贮藏过程中“走油”发生时间、程度与内在水分、丙二醛(MDA)含量、活性氧自由基清除超氧化歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD)活性变

化的相关性,为阐明枸杞子“走油”发生机制、建立易“走油”中药材科学贮藏养护方法提供科学依据。

## 1 材料

枸杞子药材购于宁夏省中宁县、泾源县、银川市,经成都中医药大学中药标本中心卢先明教授鉴定为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* 的干燥成熟果实。

Nanodrop 2000 型分光光度计(Thermo Fisher Scientific),BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Sartorius 公司),8453 型紫外分光光度计(美国安捷伦公司),SB25-12D 型超声波清洗器(宁波新艺超声设备有限公司),WHP150 型药品稳定性试验箱(重庆英博实验仪器有限公司),SC-316 型立式冷藏柜(海尔),TGL-16 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),Tissuelyser-48 型全自动样品快速研磨仪(上海净信试验设备科技部)。

MDA 试剂盒(南京建成生物工程研究院,编号 A001-2),SOD 试剂盒(侧分型,南京建成生物工程研究所,编号 A084-3),POD 试剂盒(植物,南京建成生物工程研究院,编号 A003-3),D-无水葡萄糖(中国食品药品检定研究院,批号 0833-9501)。

## 2 方法与结果

**2.1 样品贮藏与取样方法** 将 3 个产地枸杞子药材分别放入恒温恒湿箱(贮藏条件①温度 40 °C,湿度 75%)和冷藏柜(贮藏条件②温度 4 °C,湿度 60%)中进行保存。分别于 0,20,40,60 d 进行取样检测,结果见表 1,图 1。

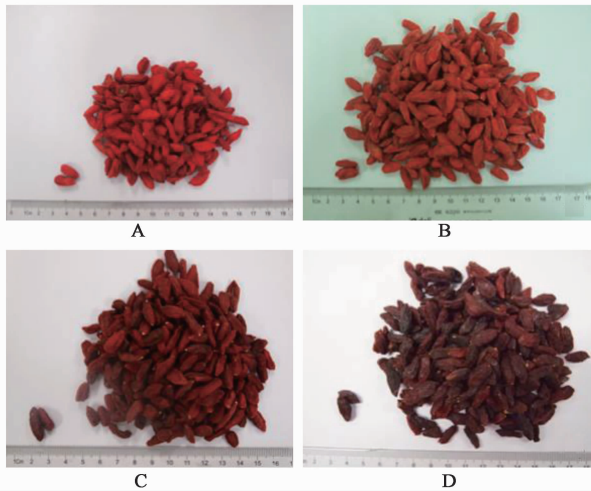
从试验结果可以看出,枸杞子在 40 °C 湿度 75% 条件下贮藏 20 d 性状已开始发生变化,贮藏 40 d 即出现明显的“走油”,质地变松软并黏结成块,且随着贮藏时间延长,“走油”逐渐严重,而在 4 °C 湿度 60% 条件下贮藏的样品性状则无明显变化。

**2.2 不同贮藏下枸杞多糖含量变化规律** 通过本实验小组前期研究,枸杞子中多糖作为其主要成分且在“走油”过程中多糖含量有明显的变化。因此本实验选取枸杞子多糖含量作为主要的指标成分,参照 2010 年版《中国药典》一部枸杞子项下枸杞多

表 1 不同贮藏条件下枸杞子药材性状和多糖含量变化规律

Table 1 Under different storage conditions medicinal of Lycii Fructus properties and polysaccharide content variation

样品产地	贮藏天数 /d	药材性状		枸杞子多糖质量分数/%	
		贮藏条件 1	贮藏条件 2	贮藏条件 1	贮藏条件 2
中宁县	0	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.90	1.92
	20	药材性状无明显变化,少量果皮紫红色	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.84	1.98
	40	约 50% 左右药材质地松软,泛油光,果皮紫红或暗红	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.22	1.89
	60	绝大部分药材质地松软且粘连,泛油光,果皮呈暗红色	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,部分质地松软	0.99	1.82
泾源县	0	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	2.40	2.33
	20	药材性状无明显变化,少量果皮紫红色	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.91	2.45
	40	约 50% 左右药材质地松软,泛油光,果皮紫红或暗红	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.59	2.39
	60	绝大部分药材质地松软且粘连,泛油光,果皮呈暗红色	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,部分质地松软	1.38	2.42
银川市	0	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	2.38	2.33
	20	绝大部分药材性状无明显变化,少量果皮紫红色	类纺锤形有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	2.09	2.41
	40	约 70% 左右药材质地松软,泛油光,果皮紫红或暗红	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,质地柔软	1.52	2.45
	60	约 90% 的药材质地松软且粘连,泛油光,果皮呈暗红色	类纺锤形稍有褶皱,果皮鲜红,部分质地松软	1.02	2.29



A. 第 0 天; B. 第 20 天; C. 第 40 天; D. 第 60 天

图 1 中宁县枸杞子样本不同时间取样记录

Fig. 1 Medicinal of Lycii Fructus sampling of Zhongning of different time's

糖的含量测定方法<sup>[2]</sup>,测定不同“走油”程度枸杞子药材中多糖含量。

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取 D-无水葡萄糖对照品 25 mg,精密称定,置于 250 mL 棕色量瓶中,加水使其溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得(含 D-无水葡萄糖 0.1 g·L<sup>-1</sup>)。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取枸杞子药材粗粉约 0.5 g,精密称定,加入乙醚 100 mL,加热回流 1 h,静置,放冷,弃去乙醚液,将药渣置恒温水浴上挥干,然后加入 80% 乙醇 100 mL,加热回流 1 h 后,趁热过滤,用 80% 的乙醇 30 mL 分多次洗涤滤渣与滤器,滤渣连同滤纸置圆底烧瓶中,加蒸馏水 150 mL,加热回流 2 h。趁热过滤,用少量热水洗涤滤器,合并滤液与洗液,放冷,移至 250 mL 量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2.3 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 mL 分别置具塞试管中,分别加蒸馏水补至 2 mL,各精密加入 5% 的苯酚溶液 1 mL,摇匀,迅速精密加入浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mL,摇匀,放置 10 min,置 40 °C 水浴中保温 15 min,取出,迅速冷却使其至室温,以相应试剂为空白,在 489 nm 处测定吸光度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程  $Y = 61.878X + 0.0651$  ( $r = 0.9995$ ),表明 D-无水葡萄糖在 0.001 57 ~ 0.015 7 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.2.4 样品枸杞多糖含量测定** 精密量取供试品溶液 1.0 mL,置于具塞试管中,加水 1.0 mL,按照 2.2.3 项下的方法,自“各精密加入 5% 苯酚溶液 1

mL”起,依法测定吸光度,计算枸杞多糖含量(按干燥品计)。结果见表 1。

结果表明,枸杞子在 40 ℃ 湿度 75% 条件下,多糖随着贮藏时间延长、外观“走油”程度的加深,含量显著降低,而同时在 4 ℃ 湿度 60% 条件下贮藏的样品多糖含量则无明显变化。

表 2 枸杞子水分,MDA 含量及 SOD,POD 活性

Table 2 Medicinal of Lycii Fructus's moisture, MDA content and SOD, POD activity

样品产地	贮藏天数 /d	水分/%		SOD/U·mg <sup>-1</sup>		POD/U·mg <sup>-1</sup>		MDA/nmol·g <sup>-1</sup>	
		贮藏条件 1	贮藏条件 2	贮藏条件 1	贮藏条件 2	贮藏条件 1	贮藏条件 2	贮藏条件 1	贮藏条件 2
中宁	0	9.48	9.44	1.862 7	1.845 2	0.781 65	0.782 55	71.857 0	65.898 8
	20	13.24	9.33	1.480 1	1.832 2	0.282 62	0.791 12	430.082 2	68.516 6
	40	14.92	8.89	1.479 0	1.799 8	0.241 21	0.784 22	574.249 7	74.233 1
	60	15.78	9.12	1.478 3	1.814 4	0.191 80	0.786 65	613.252 7	71.023 2
泾源	0	9.12	8.99	2.145 2	2.098 8	0.826 35	0.856 23	150.187 6	140.018 9
	20	12.95	9.02	1.478 0	2.211 5	0.181 76	0.844 15	405.260 6	155.897 7
	40	14.65	9.00	1.406 3	2.077 9	0.095 58	0.798 86	454.781 1	144.512 3
	60	15.60	9.23	0.964 1	2.065 2	0.037 10	0.799 62	683.745 1	153.253 2
银川	0	10.24	9.89	2.003 4	2.010 3	0.723 51	0.742 23	346.643 2	340.125 4
	20	13.56	9.22	1.401 8	2.223 5	0.361 76	0.712 35	482.681 4	332.582 3
	40	15.03	9.15	1.397 3	1.998 7	0.043 72	0.732 32	863.310 0	352.856 6
	60	16.86	9.42	1.165 7	2.115 2	-	0.754 56	904.593 0	339.466 3

注:“-”表示该物质未被检出或该物质检出为痕量。

从上表可知,在 40 ℃ 湿度 75% 贮藏条件下,枸杞子样品水分随贮藏时间延长逐渐增高,而同时在 4 ℃ 湿度 60% 贮藏条件下枸杞样品水分无明显变化,表明枸杞子水分与“走油”存在明显相关性,随着水分的增加枸杞子“走油”的程度不断加深。

**2.4 不同贮藏条件下 SOD,POD 活性及 MDA 含量变化规律** 本研究采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光还原法和愈创木酚法分别测定 SOD 与 POD 的活性;采用 TBA 法测定 MDA 含量。结果见表 2。

**2.4.1 POD 测定方法** 精确称量枸杞子样本 0.1 g,将样本放入液氮中低温处理后迅速充分研磨,按照质量(g)-体积(mL)(1:9)加入 9 倍量生理盐水后使用涡旋仪进行混匀。随后将样本放入低温冷冻离心机中离心取上清液 0.1 mL 加入 POD 试剂盒反应试剂在 37 ℃ 水浴中准确反应 30 min,最后加入反应终止试剂并再次离心取上清液于 420 nm 处进行测定。

**2.4.2 SOD 测定方法** 精确称量枸杞子样本 0.1 g,将样本放入液氮中低温处理后迅速充分研磨,按

**2.3 不同贮藏条件下枸杞子水分变化规律** 前期研究结果表明枸杞子药材水分与“走油”发生密切相关,而且药材中水分与植物组织生理活性功能密切相关。因此本研究对贮藏过程中枸杞子水分变化进行研究,采取 2010 年版《中国药典》一部枸杞子项下水分测定方法进行,温度 80 ℃。结果见表 2。

照质量(g)-体积(mL)(1:9)加入 9 倍量生理盐水后使用涡旋仪进行混匀。随后将样本放入低温冷冻离心机中离心取 30 μL 上清液[取样量需预先考察控制(对照管吸光度-测定管吸光度)/对照管吸光度的值控制在 0.15~0.55]加入 SOD 试剂盒反应试剂在 37 ℃ 水浴中准确反应 40 min,最后加入显色剂静置 10 min,于 550 nm 处进行测定。

**2.4.3 MDA 测定方法** 准确称量枸杞子样本质量,将样本放入液氮中低温处理后迅速充分研磨,按照质量(g)-体积(mL)(1:9)加入 9 倍量提取液后使用涡旋仪进行混匀。随后将样本放入低温冷冻离心机中离心取上清液 50 μL 加入 MDA 试剂盒工作液 1 mL,放入水浴锅中 95 ℃ 以上金属浴中反应 20 min,遂取出用流动水进行冷却终止其反应,取样本 0.25 mL 加入 96 孔板中,使用酶标液于 530 nm 处进行测定。

结果在 40 ℃ 湿度 75% 贮藏条件下,枸杞子样品 SOD,POD 活性在前 20 d 显著降低,以后随贮藏时间延长缓慢降低,MDA 含量随贮藏时间延长含量

显著升高。而同时在 4 ℃ 湿度 60% 贮藏条件下枸杞样品 SOD, POD 活性和 MDA 含量则无明显变化, 表明枸杞子“走油”与枸杞子活性氧自由基代谢变化及细胞膜功能变化存在相关性。

### 3 讨论

本文从枸杞子内在生理活性变化的角度, 提出枸杞子“走油”发生机制假说, 并测定了不同贮藏条件下枸杞子外观性状、多糖含量及内在含水量、活性氧自由基清除酶活性及 MDA 含量变化情况。结果表明, 枸杞子“走油”与枸杞子活性氧自由基代谢变化及细胞膜功能变化存在相关性: 在外界贮藏条件不当的情况下, 随着枸杞子贮藏时间的延长, 枸杞子体内活性氧自由基清除酶 SOD, POD 的活性下降, 细胞的结构和功能受到一定破坏, 使其膜脂过氧化, 从而导致 MDA 含量不断增加, 导致“走油”发生。该研究结果为本文提出的中药材“走油”发生机制假说提供了支撑依据, 对阐明枸杞子“走油”发生机制具有重要意义。

本研究结果显示, 枸杞子在 40 ℃ 湿度 75% 贮藏条件下, 第 20 天即出现“走油”, 多糖含量明显降低, 而在 4 ℃ 湿度 60% 贮藏条件下, 到第 60 天未发生“走油”, 表明药材“走油”的发生是外在因素(温度、湿度等)致使内在因素变化(药材自身物理、化学和生理活性变化)共同作用的结果, 提示在枸杞子贮藏过程中应注意贮藏条件, 避免高温、高湿, 科学贮藏。

课题组前期研究和本实验结果均表明枸杞子“走油”后, 多糖含量逐渐降低, 结合本实验研究结果, 分析其原因在于贮藏条件不当, 致内在水分含量增加, 活性氧自由基清除酶活性降低, 其内在自由基平衡系统被打破, 活性氧自由基产生加快, 无法被及时清除, 细胞结构和功能被破坏、使膜脂过氧化, 透性增大, 多糖发生“外渗”出现“走油”、粘连、松软等现象, 再进一步发生分解、氧化等反应, 从而使枸杞子多糖含量明显下降, 但其变化规律和机制还需进一步深入研究。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 232.
- [2] Zhu J, Liu W, Yu J, et al. Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L[J]. Carbohydr Polym, 2013, 98(1): 8-163.
- [3] Wang J, Hu Y, Wang D, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide inhibits the infectivity of newcastle disease virus to chicken embryo fibroblast[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46(2): 212.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 七册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 267-274.
- [5] 张云霞, 王萍, 刘敦华. 枸杞活性成分的研究进展[J]. 农业科学研究, 2008, 29(2): 79-83.
- [6] 邢世瑞. 宁夏中药志. 下卷[M]. 银川: 宁夏人民出版社, 2006: 322-329.
- [7] 徐良. 中药养护学[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [8] 吴启南, 钱大玮, 段金廛. 中药材贮藏过程中的质量变化机制探讨[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1904-1908.
- [9] 李静. 中药走油与变色原因浅析[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(6): 523.
- [10] 彭平建. 泛油药材的质检及对症处理[J]. 基层中药杂志, 1993(3): 34-36.
- [11] 杨娟英, 马久太, 郑伶俐, 等. 薄荷饮片不同材料包装稳定性研究[J]. 陕西中医, 2010(11): 1525-1527.
- [12] 崔代军, 马骥, 庞其昌, 等. 湿度变化对西洋参品质动态影响及可逆性的光谱成像检测[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(14): 1080-1083.
- [13] 金玉青, 洪远林, 李建蕊, 等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2013, 4(3): 44-48.
- [14] 李名迪, 魏冬, 杨平, 等. 水稻叶片的活性氧代谢及衰老调控[J]. 江西农业学报, 2005, 17(4): 112-116.
- [15] 华春, 王仁协. 杂交稻及三系叶片衰老过程中 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的变化[J]. 西北植物学报, 2003, 23(3): 406-409.

[责任编辑 顾雪竹]