

## 槟榔在不同储藏条件下的药效组分变化

周文菊<sup>1,2</sup>, 骆骄阳<sup>2</sup>, 刘洪美<sup>3</sup>, 赵明<sup>1\*</sup>, 欧阳臻<sup>1</sup>, 杨美华<sup>2\*</sup>

- (1. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013;  
2. 北京协和医学院中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193;  
3. 北京农业质量标准与检测技术研究中心, 北京 100097)

**[摘要]** 目的:以总酚、总黄酮、多糖、槟榔碱、槟榔次碱和去甲基槟榔次碱 4 类药效组分为评价指标,基于紫外分光光度法、超高效液相色谱-二极管阵列检测法(UPLC-PDA),外观性状变化和水分含量检查联合探讨不同储藏环境和包装材料对槟榔质量的影响。方法:分别采用福林-酚法、三氯化铝显色法和苯酚-硫酸法显色,在 775,510,489 nm 波长下利用紫外分光光度法测定槟榔中总酚、总黄酮和多糖含量;三氯甲烷-甲醇(4:1)超声提取,以 BEH HILIC 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm),乙腈-10 mmol·L<sup>-1</sup>乙酸铵水梯度洗脱,利用 UPLC-PDA 法在 215 nm 波长下定量 3 种指标性生物碱含量。结果:不同储藏环境和包装材料下贮藏 1 年,槟榔外观颜色加深,水分含量增加,上述 4 类药效组分含量均随储藏时间延长而降低,其中,高温高湿( $P < 0.01$ )和常温常湿( $P < 0.01$ ),编织袋( $P < 0.01$ )和牛皮纸( $P < 0.01$ )因素影响显著,低温低湿和自封袋( $P < 0.05$ )储藏条件对药效组分的含量影响较小。结论:建议可将槟榔用自封袋包装储存在低温低湿环境中,以延长槟榔储藏时间,保证槟榔质量。

**[关键词]** 槟榔; 储藏环境; 包装材料; 总酚; 总黄酮; 多糖; 生物碱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)19-0056-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017190056

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170711.1418.072.html>

**[网络出版时间]** 2017-07-11 14:18

## Change of Pharmacological Components of Arecae Semen Under Different Storage Conditions

ZHOU Wen-ju<sup>1,2</sup>, LUO Jiao-yang<sup>2</sup>, LIU Hong-mei<sup>3</sup>, ZHAO Ming<sup>1\*</sup>,  
OUYANG Zhen<sup>1</sup>, YANG Mei-hua<sup>2\*</sup>

- (1. College of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;  
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;  
3. Beijing Research Center for Agriculture Standards and Testing, Beijing 100097, China)

**[Abstract]** **Objective:** Total phenolics, total flavonoids, polysaccharide, arecoline, arecaidine and guvacine were selected as target compositions, and meanwhile, ultraviolet spectrophotometry and ultra-performance liquid chromatography-diode array detector (UPLC-PDA) were used and combined with the changes of appearance traits and moisture content to investigate the effects of different storage environments and packaging materials on the quality of Arecae Semen. **Method:** The methods including folin-phenol method, aluminum trichloride coloring

**[收稿日期]** 20170217(016)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2014ZX09304307-002);海南省重大科技项目(ZDZX2013008)

**[第一作者]** 周文菊,在读硕士,从事中药质量评价及中药资源开发,Tel:15910440206,E-mail:zhouwenju19@163.com

**[通讯作者]** \*赵明,主任中药师,硕士生导师,从事中药活性成分研究及新药开发,Tel:13775376661,E-mail:anchorage8@162.com;

\*杨美华,博士,研究员,博士生导师,从事中药质量分析与安全性研究,Tel:010-57833277,E-mail:yangmeihua15@hotmail.com

method and phenol-sulfuric acid method were adopted, and the contents of total phenolics, total flavonoids and polysaccharides were detected with a wavelength of 775, 510, 489 nm, respectively. The samples were extracted by ultrasonic approach with trichloromethane-methanol (4 : 1) as extracted solvent. Then, the analysis was performed on a BEH HILIC column (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm) with acetonitrile-10 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium acetate solution as the mobile phase for gradient elution. Finally, the contents of three alkaloids in Arecae Semen were determined at 215 nm by the established UPLC-PDA method. **Result:** After storage for 1 year under different storage conditions and packaging materials, areca appearance color was deepened, moisture content was increased, and the contents of total phenolics, total flavonoids, polysaccharide and alkaloids were reduced with the increase of storage time. In addition, their contents were significantly affected by high temperature and high humidity ( $P < 0.01$ ), normal temperature and humidity ( $P < 0.01$ ) and packaging materials of woven bags ( $P < 0.01$ ) and kraft paper ( $P < 0.01$ ), while low temperature and humidity ( $P < 0.05$ ) and self-sealed bags ( $P < 0.05$ ) showed little effect on the content of target compositions. **Conclusion:** Arecae Semen is recommended to be stored in self-sealed bags under low temperature and low humidity conditions for longer storage time and quality.

**[Key words]** Arecae Semen; storage environments; packaging materials; total phenolics; total flavonoids; polysaccharide; alkaloids

槟榔为棕榈科植物,原产于马来西亚,作为“四大南药”之首,在我国主要分布于海南、台湾、云南河口及西双版纳热带雨林间,由于气候适宜,广西、广东及福建也有少量分布<sup>[1]</sup>。槟榔果为其主要药用部位,同时花、壳亦可入药,其性味苦、辛、温,有降气行滞、截疟驱虫、行水化湿之功效。槟榔果在我国已有 1 700 年的药用历史<sup>[2]</sup>,不仅可单独使用还常与其他中药配伍治疗腹胀、疼痛<sup>[3]</sup>等。槟榔在国外临床治疗中也得到广泛应用,如印度利用槟榔果助消化、止泻和治疗痛经等<sup>[4]</sup>;柬埔寨将这种传统药物用于痢疾、肝损伤等;马来亚将其用于治疗腰痛和腹胀<sup>[5]</sup>。目前,槟榔已成为海南省仅次于橡胶的第二大经济作物和支柱产业<sup>[6]</sup>。并且槟榔也是仅次于尼古丁、乙醇和咖啡因的世界第四大嗜好物品<sup>[7]</sup>。因此,安全有效的槟榔品质是保障其庞大市场空间和价值的重要基石。

研究表明,中药质量除与来源、引种、产地、加工炮制等有关外,在储藏过程因温度、湿度、包装材料等因素造成中药虫蛀、霉烂等现象,也严重影响着其质量安全<sup>[8]</sup>。由于槟榔适宜高温高湿的生长环境,并且营养成分如多糖、黄酮、生物碱等物质丰富<sup>[9]</sup>,这一生长条件和丰富的养分无疑为霉菌甚至某些剧毒霉菌的繁殖提供有利基础<sup>[10]</sup>。从散种药农到药材市场、零售药店、医院药房、大型中药厂等包装储藏环境、包装条件水平参差不齐的情况如若控制不当,极易引起槟榔霉变生虫,药效成分损失严重,均将殃及槟榔的质量。目前较多的研究主要集中在槟榔贮藏保鲜技术<sup>[11]</sup>和加工炮制对槟榔品质的影响,

且都以槟榔碱的含量作为评价指标<sup>[12]</sup>,对槟榔药材的储藏和包装研究较少。

生物碱是槟榔中主要活性成分,也是毒性成分,主要包括槟榔碱、槟榔次碱和去甲基槟榔次碱。除此之外,槟榔中还含有大量的酚类、黄酮类、多糖等成分,同样是槟榔中的活性成分,具有抗氧化、抗衰老等作用<sup>[6]</sup>。此外,研究发现药材在储藏期间黄酮类、酚类、生物碱类等化合物的含量均会发生变化<sup>[8]</sup>。基于此,本研究采用紫外分光光度法和超高效液相色谱-二极管阵列检测法(UPLC-PDA)考察槟榔在 3 种储藏环境(高温高湿、常温常湿、低温低湿)和 3 种常用包装材料(自封袋、编织袋、牛皮纸)下储藏 1 年后,其多种药效组分(总酚、总黄酮、多糖、槟榔碱、槟榔次碱、去甲基槟榔次碱)含量的变化,以期为保证槟榔质量,建立科学合理的槟榔储藏规范奠定依据。

## 1 材料

Carry-100 型变温紫外分光光度仪(北京京科瑞达科技有限公司),ACQUITY H-Class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),HW-SY21-K 型电热恒温水浴锅(北京市长凤仪器仪表公司),KQ-500 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司),AB135-S 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),Anke TGL-16C 型离心机(上海安亭科学仪器厂),石英比色皿(江苏新力科技实业有限公司)。

11 批槟榔饮片(S1 ~ S11)均购买于河北安国药材市场,产地分别为广西、广西、越南、湖南、广西、广西、广西、广西、广西、广西、广西,经中国医学科学院

药用植物研究所林余霖教授鉴定为棕榈科植物槟榔的 *Areca catechu* 的干燥成熟果子,置于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱避光储存。

儿茶素,芦丁,葡萄糖,槟榔碱 (arecoline, arl), 去甲基槟榔次碱 (guvacine, guc), 槟榔次碱 (arecaidine, ard) 对照品均购于四川成都克洛玛生物技术股份有限公司,纯度均  $>98\%$ ,批号分别为 141224, 150104, 160422, 131110, 205868 和 150630。无水乙醇、氢氧化钠 (NaOH) 和浓硫酸均购自北京化工厂,实验用水(杭州娃哈哈集团有限公司)。福林-酚试剂(江莱生物),无水碳酸钠、氨水、乙醚、三氯甲烷、乙酸铵等均购自国药集团化学试剂有限公司,亚硝酸钠、六水合三氯化铝、苯酚均购买于西陇化工股份有限公司。

## 2 方法与结果

**2.1 槟榔药材的储藏** 将 S11 中的一部分样品,分成 6 份,每份 100 g,其中 3 份自封袋包装后分别置于高温高湿(将过饱和的氯化钾置于密闭环境中保持温度  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度  $90\%$ ),常温常湿(室温自然环境下),低温低湿(调节温度  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度  $60\%$ ) 3 种不同环境下储藏 12 个月,另外 3 份分别用自封袋、牛皮纸和编织袋 3 种不同包装材料包装后置于常温常湿条件下储藏 12 个月。储藏结束后,取样充分粉碎,待测。

### 2.2 外观和水分含量

**2.2.1 外观** 相比储藏前,槟榔药材在不同储藏环境和包装材料下储藏 12 个月后颜色加深(图 1)。此外,所有样品均未发生霉变和虫蛀现象。

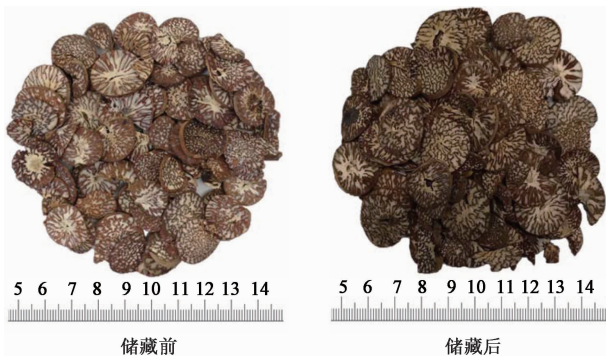


图 1 槟榔(S11)储藏前后外观的变化

Fig. 1 Change of appearance of *Arecae Semen* (S11) before and after storage

**2.2.2 水分** 采用 2015 年版《中国药典》<sup>[13]</sup> 中水分测定法第二法(烘干法)对 2.1 项不同储藏条件下槟榔的水分进行测定。结果发现,储藏前槟榔中

的含水量  $7.09\%$ ,不同条件下储藏后的槟榔中的含水量分别为  $9.14\%$  (高温高湿),  $8.97\%$  (低温低湿),  $8.87\%$  (常温常湿),  $8.87\%$  (自封袋),  $10.48\%$  (编织袋),  $8.56\%$  (牛皮纸),均比储藏前的含水量高。其中,编织袋储藏 12 个月后槟榔中的含水量超过了 2015 年版《中国药典》<sup>[13]</sup> 规定的限度标准 ( $10\%$ ),其他条件下储藏的药材中的水分均在  $10\%$  以下,符合规定。

### 2.3 总酚、总黄酮及多糖检测

**2.3.1 对照品溶液配制** 分别取儿茶素、芦丁及葡萄糖对照品适量,精密称定,分别用  $70\%$  乙醇,  $70\%$  乙醇和蒸馏水溶解稀释成质量浓度分别为  $0.224$ ,  $2.000$ ,  $0.748\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.3.2 供试品溶液制备** 总酚和总黄酮供试品溶液制备:准确称取槟榔药材粉末  $1.0\text{ g}$  至  $100\text{ mL}$  圆底烧瓶中,精密加入  $70\%$  乙醇  $20\text{ mL}$ ,加热回流  $2\text{ h}$ ,滤过,取滤液,重复上述操作 1 次。合并滤液,用  $70\%$  乙醇定容至  $50\text{ mL}$ ,即得(供试品溶液 1)。

多糖供试品溶液制备:将提取完供试品溶液 1 后剩下的滤渣和滤纸一并放入烧瓶中,加入蒸馏水  $30\text{ mL}$ ,  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴回流  $3.5\text{ h}$ ,滤过,滤液放置冷却,加入 4 倍量无水乙醇,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中放置过夜。离心 ( $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $10\text{ min}$ ),弃去上清液,将沉淀用适量  $80\%$  乙醇洗涤 1 次,将  $80\%$  乙醇溶液挥干,用蒸馏水溶解残渣,定容于  $50\text{ mL}$  量瓶,即得(供试品溶液 2)。

**2.3.3 检测波长选择** 总酚:取儿茶素对照品溶液  $500\text{ }\mu\text{L}$  置于  $10\text{ mL}$  量瓶中,加入福林-酚试剂  $1\text{ mL}$ ,摇匀,放置  $3\text{ min}$ ,加入  $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_2\text{CO}_3$  溶液  $1\text{ mL}$ ,混匀,蒸馏水定容至  $10\text{ mL}$ ,同法制备空白和样品对照。室温下避光放置  $1\text{ h}$  后,测定波长  $500\sim 800\text{ nm}$  的吸光度  $A$ ,结果显示儿茶素在  $775\text{ nm}$  处有最大吸收(图 2A, D),因此确定为总酚的检测波长。

总黄酮<sup>[6]</sup>:移取芦丁对照品溶液  $500\text{ }\mu\text{L}$ ,置  $25\text{ mL}$  量瓶中,加入  $5\%$   $\text{NaNO}_2$  溶液  $1\text{ mL}$ ,摇匀,放置  $6\text{ min}$  后。加入  $10\%$   $\text{AlCl}_3$  溶液  $1\text{ mL}$ ,摇匀,放置  $6\text{ min}$ 。加入  $4\%$   $\text{NaOH}$  溶液  $10\text{ mL}$ ,摇匀,并用蒸馏水定容至  $25\text{ mL}$ ,同法制备空白和样品,室温下放置  $15\text{ min}$  后,测定波长  $400\sim 700\text{ nm}$  的  $A$ 。结果显示,芦丁在  $510\text{ nm}$  处有最大吸收(图 2B, E),因此选定为总黄酮的检测波长。

多糖:移取葡萄糖对照品溶液  $500\text{ }\mu\text{L}$ ,置试管中,加入蒸馏水  $1.5\text{ mL}$ ,加入  $5\%$  苯酚溶液  $1\text{ mL}$ ,摇匀后,加入浓硫酸溶液  $5\text{ mL}$ ,摇匀,同法制备空白和

样品。沸水浴中加热 15 min 后取出,室温冷却,测定 400 ~ 600 nm 波长的光谱。结果显示,葡萄糖在

489 nm 处有最大吸收,因此选定为多糖的检测波长(图 2C,F)。

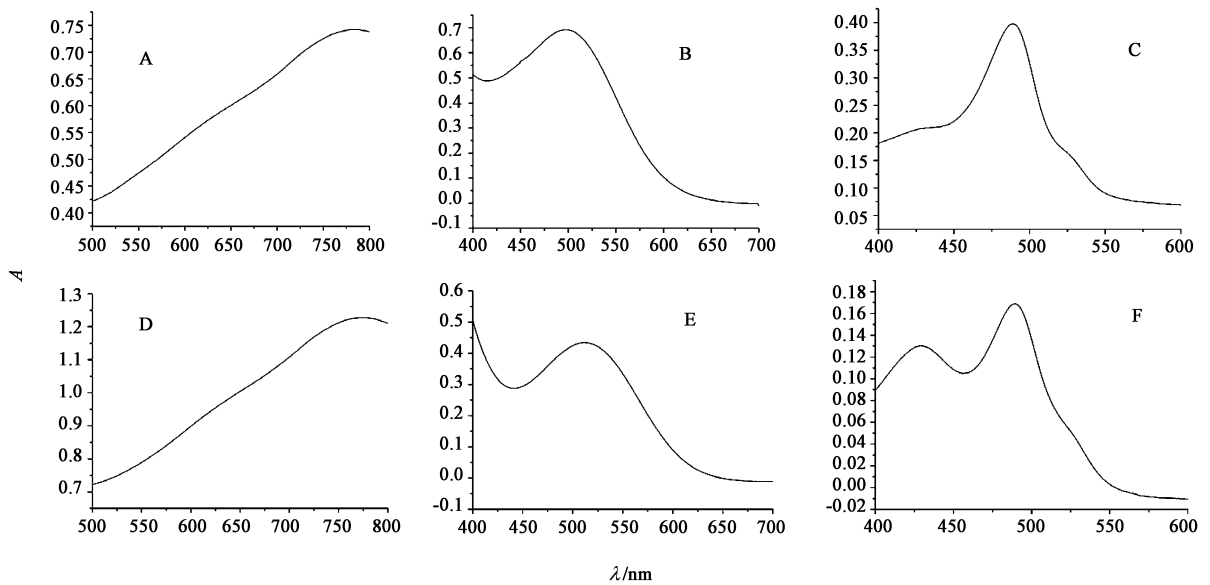


图 2 儿茶素(A),芦丁(B),葡萄糖(C)和样品 S11 中总酚(D),总黄酮(E),多糖(F)的紫外光谱

Fig. 2 UV spectra of catechins (A), rutin (B), glucose (C) and total phenolics (D), total flavonoids (E) polysaccharides (F) in S11

**2.3.4 标准曲线绘制** 总酚:分别精密移取儿茶素对照品溶液 0,100,200,400,600,800,1 200  $\mu\text{L}$  置于 10 mL 量瓶中,显色,测定 775 nm 处 A。绘制标准曲线,得线性方程  $Y = 75.4X - 0.01474$  ( $r = 0.9996$ ),线性范围为 4.68 ~ 37.40  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

总黄酮:分别精密移取芦丁对照品溶液 0,0.1,0.2,0.4,0.8,1.6,3.2,4 mL 于 25 mL 量瓶中,显色,测定 510 nm 处 A。绘制标准曲线,得线性方程  $Y = 12.738X - 0.0715$  ( $r = 0.9995$ ),线性范围为 4.80 ~ 76.8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

多糖:分别精密移取葡萄糖对照品溶液 0,50,100,200,400,600,800,1 000  $\mu\text{L}$  于试管中,蒸馏水补足至 2 mL,显色,测定 489 nm 处 A。绘制标准曲线,得线性方程  $Y = 0.0335X - 0.04308$ , ( $r = 0.9995$ ),线性范围为 4.68 ~ 56.10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.3.5 精密度考察** 分别精密移取儿茶素、芦丁、葡萄糖对照溶液各 6 份,分别为 600  $\mu\text{L}$ ,1.6 mL,600  $\mu\text{L}$ ,按 2.3.3,2.3.4 项下方法测定 A,并计算 RSD。总酚、总黄酮、多糖 RSD 分别为 2.3%,1.3%,2.3%,均 < 2.5%,表明精密度良好。

**2.3.6 重复性试验** 分别精密移取总酚(供试品溶液 1),总黄酮(供试品溶液 1),多糖(供试品溶液 2)供试品溶液各 6 份,分别为 100  $\mu\text{L}$ ,1,2 mL,按 2.3.3,2.3.4 项下方法测定 A,并计算 RSD。总酚、总黄酮、多糖 RSD 分别为 2.5%,1.9%,1.5%,均 <

2.5%,表明重复性良好。

**2.3.7 稳定性考察** 分别精密移取总酚、总黄酮和多糖供试品溶液 100  $\mu\text{L}$ ,1,2 mL,按 2.3.3,2.3.4 项下方法反应并每隔 15 min 测其 A,计算 RSD。总酚、总黄酮及多糖 RSD 分别为 2.3%,2.4%,1.1%,表明总酚、总黄酮和多糖分别在 1.5 h,50 min 和 3 h 内稳定性良好。

**2.3.8 样品测定** 对收集的 11 批槟榔药材,不同储藏环境和包装条件下槟榔中总酚、总黄酮和多糖含量按 2.3.2,2.3.3,2.3.4 项下方法进行测定。总酚含量以儿茶素的质量分数来计算,总黄酮含量以芦丁的质量分数来计算。多糖含量(由于此多糖不是纯品,未进行校正因子测定) =  $(CD/W_{\text{样}}) \times 100\%$ ,式中 C 为多糖浓度( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),D 为多糖稀释倍数, $W_{\text{样}}$  为样品质量(g)。11 批市售槟榔中总酚、总黄酮和多糖含量测定结果见表 1。

由于 S11 中 4 类药效组分含量均较高,因此,以 S11 储藏后的样品中的药效组分含量为参考来考察不同储藏环境和包装材料对槟榔质量的影响。采用 SPSS 20.0 统计分析软件对在 3 种储藏环境和 3 种包装材料下储藏的槟榔中总酚、总黄酮和多糖的含量进行单因素方差分析,分别以总酚、总黄酮和多糖的含量为观测变量,分别以 3 种储藏环境和 3 种包装材料为控制变量。见表 2。结果表明,不同储藏环境和包装材料对槟榔中总酚、总黄酮和多糖含量

表 1 市售 11 批槟榔中总酚、总黄酮及多糖的含量测定

Table 1 Content of total phenolics, total flavonoids and polysaccharides in 11 batches of Semen Arecae %

编号	总酚	总黄酮	多糖
S1	8.34	16.46	0.196
S2	8.81	21.89	0.194
S3	8.95	22.37	0.193
S4	8.59	18.85	0.403
S5	10.78	25.94	0.718
S6	7.41	15.76	0.545
S7	9.15	19.93	0.359
S8	8.69	20.15	0.506
S9	8.88	21.15	0.379
S10	9.75	22.35	0.700
S11	8.79	21.99	0.657

差异显著 ( $P < 0.05$ )。相比储藏前, 3 类组分含量在不同的储藏环境和包装材料中贮藏 1 年, 含量均降低, 含量降低程度为高温高湿 > 常温常湿 > 低温低湿, 牛皮纸 > 编织袋 > 自封袋。

表 2 不同储藏环境和包装材料下槟榔中多酚、总黄酮、多糖的含量  
Table 2 Contents of polyphenols, total flavonoids and polysaccharides in Semen Arecae under different storage environments and packaging materials %

编号	储藏环境 / 包装材料	多酚	总黄酮	多糖
C1	高温高湿	6.612 <sup>2)</sup>	13.296 <sup>2)</sup>	0.193 <sup>2)</sup>
C2	低温低湿	6.776 <sup>1)</sup>	14.590 <sup>1)</sup>	0.338 <sup>1)</sup>
C3	常温常湿	6.718 <sup>2)</sup>	13.587 <sup>2)</sup>	0.246 <sup>2)</sup>
C4	自封袋	6.716 <sup>1)</sup>	17.819 <sup>1)</sup>	0.425 <sup>1)</sup>
C5	编织袋	5.594 <sup>2)</sup>	16.602 <sup>2)</sup>	0.297 <sup>2)</sup>
C6	牛皮纸	5.149 <sup>2)</sup>	12.127 <sup>2)</sup>	0.154 <sup>2)</sup>

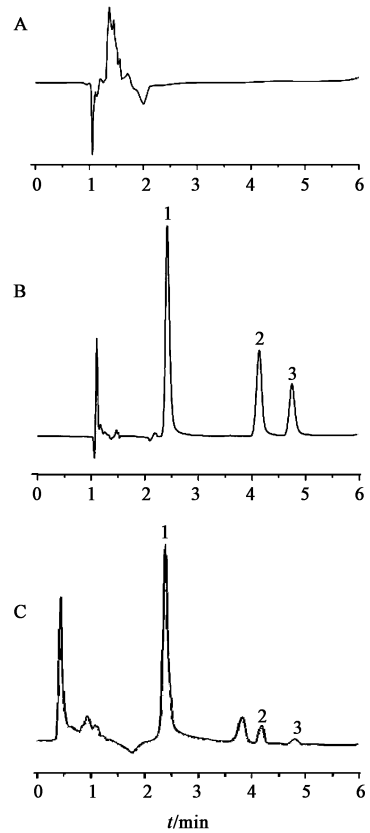
注: 与 S11 相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与 S11 相比<sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 6 同)。

## 2.4 生物碱检测

**2.4.1 对照品溶液配制** 分别精确称取 arl, guc, ard 对照品适量, 用甲醇溶解并定容至 1 mL 制备单个对照品储备液。移取各储备液, 用甲醇制成 arl, guc 及 ard 质量浓度分别为 293.5, 95.6, 40.75  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的混合对照品溶液。

**2.4.2 UPLC 色谱条件** 采用 BEH HILIC 色谱柱 (2.1 mm  $\times$  100 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ), 流动相乙腈 (A) - 10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸铵水 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 2 min, 80% ~ 70% A; 2 ~ 6 min, 70% ~ 40% A), 流速

0.2  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ , 进样体积 2  $\mu\text{L}$ , 检测波长 215 nm。色谱图见图 3。



1. 槟榔碱; 2. 去甲基槟榔次碱; 3. 槟榔次碱

图 3 空白溶剂 (A), 混合对照品 (B) 和样品 S11 (C) 的 UPLC

Fig. 3 UPLC of blank solvent (A), mixed reference substance (B) and sample S11 (C)

**2.4.3 供试品溶液制备** 称取药材粉末 0.5 g 至 100 mL 锥形瓶中, 加氨水 1 mL 浸润 30 min, 然后加三氯甲烷-甲醇 (4:1) 的混合溶液 40 mL, 混匀, 水浴超声处理 30 min, 放冷, 过滤, 取 20 mL 续滤液, 低温挥干, 残渣加甲醇溶解并定容至 10 mL, 过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 备用。

**2.4.4 线性关系、检出限和定量限考察** 精密吸取上述混合对照品溶液, 并以 2 倍比逐级稀释成 6 份系列浓度对照品溶液, 进样, 记录色谱图。计算峰面积。以质量浓度为横坐标 ( $X, \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 峰面积积分为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线, 以  $S/N = 3$  和  $S/N = 10$  计算检测限和定量限, 汇总结果见表 3。

**2.4.5 精密度试验** 取一定浓度混合对照品溶液, 连续进样 6 次考察日内精密度, arl, guc 和 ard 峰面积 RSD 分别为 0.7%, 0.8% 和 0.7%。取一定浓度混合对照品溶液, 连续进样 6 d 考察日间精密度, arl, guc 和 ard 峰面积 RSD 分别为 0.7%, 0.7% 和 0.8%。日内、日间精密度 RSD 均 < 1.0%, 表明

表 3 槟榔中 3 种生物碱的回归方程、线性范围及检测限、定量限

Table 3 Regression equation, linear range, limit of detection and limit of quantification and of three alkaloids in Semen Arecae

成分	线性方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$	检测限/ $\mu\text{g}$	定量限/ $\mu\text{g}$
arl	$Y = 30\ 219X + 80\ 088$	0.999 8	0.000 58 ~ 0.587	0.000 14	0.000 58
guc	$Y = 19\ 643X + 24\ 754$	0.999 7	0.000 75 ~ 0.191	0.000 20	0.000 75
ard	$Y = 17\ 634X + 2\ 883.7$	0.999 9	0.000 64 ~ 0.082	0.000 16	0.000 64

仪器精密度良好。

**2.4.6 重复性和稳定性试验** 取同一产地槟榔药材 6 份,按 2.4.3 项下方法平行制备供试品溶液,进样考察重复性。arl, guc 和 ard 的平均质量分数分别为 5.009, 0.373, 0.224  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 1.2%, 0.8% 和 1.3%, 均 < 2.0%, 表明方法重复性良好。

取同一份供试品溶液分别在 0, 2, 4, 8, 16, 32, 48 h 进样, 记录峰面积, 考察供试品溶液稳定性, arl, guc 和 ard 峰面积 RSD 分别为 1.2%, 2.0% 和 2.0%, 均 < 2.5%, 表明供试品溶液稳定性良好。

**2.4.7 回收率试验** 取已知含量的槟榔药材粉末约 0.25 g, 精密称定, 精密加入 3 个水平 (80%, 100% 和 120%) 的混合对照品溶液, 每个水平平行制备 3 份, 进样测定, 计算平均回收率, 结果见表 4, 表明该法回收率良好。

表 4 槟榔中 3 种生物碱的加样回收率试验 ( $\bar{x}, n=3$ )

Table 4 Recovery of three alkaloids in Semen Arecae ( $n=3$ )

成分	加入量/ $\text{mg}$	回收率/%	RSD/%
arl	1.00	94.46	1.9
	1.25	96.41	1.2
	1.50	98.12	1.5
guc	0.07	94.62	2.2
	0.09	95.25	1.7
	0.11	96.96	2.2
ard	0.04	93.50	1.5
	0.06	94.22	2.1
	0.07	96.48	1.8

**2.4.8 样品测定** 取 11 批不同储藏环境和包装材料下的槟榔药材粉末 0.5 g, 精密称定, 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液, 在 2.4.2 项色谱条件下进样分析, 11 批市售槟榔生物碱测定结果见表 5。以 S11 储藏后的样品中药效组分含量为参考来考察不同储藏环境和包装材料对槟榔质量的影响。采用 SPSS 20.0 统计分析软件对在 3 种储藏环境和 3 种包装材料下储藏的槟榔中生物碱的含量进行单因素方差分析, 分别以槟榔碱、槟榔次碱和去甲基槟榔

次碱的含量为观测变量, 分别以 3 种储藏环境和 3 种包装材料为控制变量。结果见表 6, 储藏环境和包装材料对槟榔中的生物碱含量具有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 3 种生物碱的含量均减少, 含量减少程度为高温高湿 > 常温常湿 > 低温低湿, 牛皮纸 > 编织袋 > 自封袋。

表 5 市售 11 批槟榔中的 3 种生物碱质量分数

Table 5 Contents of three alkaloids in 11 batches of Semen Arecae

编号	arl	guc	ard	总量
S1	3.453 8	0.150 1	0.133 2	3.737 1
S2	4.440 7	0.146 1	0.082 1	4.668 9
S3	3.942 1	0.138 5	0.055 3	4.135 9
S4	4.588 7	0.234 5	0.182 8	5.006 0
S5	4.576 2	0.315 6	0.311 1	5.202 9
S6	4.592 6	0.102 7	0.028 0	4.723 3
S7	3.355 5	0.771 5	0.169 8	4.296 8
S8	5.148 9	0.815 6	0.332 5	6.297 0
S9	2.370 2	0.108 9	0.085 1	2.564 2
S10	3.262 9	0.113 8	0.082 6	3.459 3
S11	5.132 9	0.453 5	0.235 7	5.822 1

表 6 不同储藏环境和包装材料下槟榔中 3 种生物碱的质量分数

Table 6 Contents of three alkaloids in Semen Arecae under different storage environments and packaging materials

编号	储藏环境 / 包装材料	arl	guc	ard	总量
C1	高温高湿	1.610 4 <sup>2)</sup>	0.078 6 <sup>2)</sup>	0.023 9 <sup>2)</sup>	1.712 9
C2	低温低湿	3.163 4 <sup>1)</sup>	0.193 2 <sup>1)</sup>	0.156 2 <sup>1)</sup>	3.518 2
C3	常温常湿	1.847 9 <sup>2)</sup>	0.159 6 <sup>2)</sup>	0.023 3 <sup>2)</sup>	2.030 8
C4	自封袋	2.858 0 <sup>1)</sup>	0.208 5 <sup>1)</sup>	0.023 6 <sup>2)</sup>	3.090 1
C5	编织袋	2.012 0 <sup>2)</sup>	0.151 3 <sup>2)</sup>	0.081 2 <sup>1)</sup>	2.244 5
C6	牛皮纸	1.970 2 <sup>2)</sup>	0.082 1 <sup>2)</sup>	0.071 1 <sup>2)</sup>	2.123 4

### 3 结论与讨论

**3.1 总酚、总黄酮和多糖的提取** 根据文献报道<sup>[6]</sup>, 本研究以 70% 乙醇为提取溶剂, 采用加热回流法提取槟榔中总酚和总黄酮, 提取效果较好。

目前,对槟榔中多糖的研究较少。以往研究常采用水提醇沉法提取多糖,然而槟榔中含有大量极易溶于水、乙醇等极性溶剂<sup>[14-15]</sup>的槟榔红色素,因此本法对槟榔中多糖检测干扰严重。通过实验对总酚和总黄酮提取残渣进一步提取,获得纯度更高的多糖,则会显著降低槟榔红色素的干扰,然而这也在一定程度上造成了多糖的损失,但确保所有样品平行操作,则不会对各储藏方法的评价和比较产生影响。

**3.2 生物碱提取条件优化<sup>[16-22]</sup>** 氨水-乙醚,三氯甲烷-甲醇(4:1),甲醇,盐酸-甲醇(1:100),异丙醇-乙酸乙酯(1:1)等溶剂体系均可用于生物碱的提取。本实验考察了不同溶剂提取方法对槟榔中 3 种生物碱的提取效率,提取工艺见表 7,含量测定结果见图 4,比较发现(氨水 + 三氯甲烷 40 mL)-甲醇(方法 2)提取效果最佳,因此选择方法 2 作为提取方法。

表 7 生物碱的不同提取工艺

Table 7 Different extraction processes of alkaloids

方法	步骤 1	步骤 2	步骤 3	步骤 4	文献
1	氨水 2 mL + 乙醚 20 mL	超声 30 min	滤过,乙醚洗涤 2 次,每次 10 mL,合并滤液和洗涤液	低温挥干,残渣用甲醇复溶,定容至 10 mL	[16]
2	(氨水 1 mL + 三氯甲烷 40 mL)-甲醇(4:1),浸润 30 min	超声 30 min	放冷,滤过,取滤液 20 mL	低温挥干,残渣用甲醇复溶,定容至 10 mL	[17]
3	(氨水 1.5 mL + 异丙醇 25 mL)-乙酸乙酯(1:1)(称定质量)	超声 30 min	放冷,称定重量,用提取溶剂补足缺失重量(方法 3 过滤,取滤液 25 mL)	低温挥干,残渣用甲醇复溶,定容至 10 mL	[18]
4	盐酸 20 mL-甲醇(1:100)(称定质量)	超声 30 min	放冷,称定重量,用提取溶剂补足缺失重量(方法 3 过滤,取滤液 25 mL)	-	[19-20]
5	20 mL 甲醇(称定质量)	超声 30 min	放冷,称定重量,用提取溶剂补足缺失重量(方法 3 过滤,取滤液 25 mL)	-	[21]
6	碳酸盐缓冲液 3 mL + 乙醚 50 mL,放置 30 min	超声 20 min,取上清液至盛有 1 mL 磷酸溶液的蒸发皿	残渣分别加 30, 20 mL 乙醚超声 10 min,取上清液,合并上清液	低温挥干,加 50% 乙腈 10 mL 复溶	[13]
7	氨水 1 mL + 乙醚 50 mL,放置 30 min	超声 20 min,取上清液至盛有 1 mL 磷酸溶液的蒸发皿	残渣分别加 30, 20 mL 乙醚超声 10 min,取上清液,合并上清液	低温挥干,加 50% 乙腈 10 mL 复溶	[22]

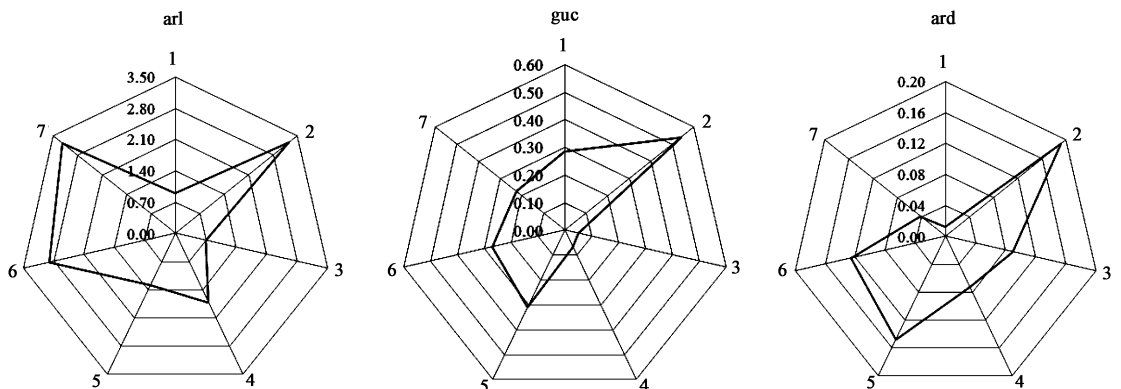


图 4 不同溶剂提取法对生物碱含量的影响

Fig. 4 Effects of different solvent extraction methods on content of alkaloids

由于槟榔碱和槟榔次碱具有挥发性,槟榔碱又易随水蒸气挥发,所以超声提取法相比于回流法更

适合于槟榔中生物碱的提取<sup>[21,23]</sup>。古桂花等<sup>[20]</sup>考察了氨水-乙醚和甲醇 2 种溶剂,发现甲醇提取的效

率高、损失小和 HPLC 杂质峰少。但是,本研究发  
现,纯甲醇提取并非最佳提取溶剂。槟榔碱、槟榔  
次碱等易溶于三氯甲烷<sup>[24]</sup>,三氯甲烷和甲醇的混合  
溶剂能够提取极性相差较大的生物碱,且提取效率  
高。因此,三氯甲烷-甲醇混合溶剂可用于生物碱的  
提取,本研究也验证了此方法。

**3.3 储藏环境对槟榔质量的影响** 高湿环境下,药  
材会吸潮变软,使有效成分降解,含量降低,而且为  
微生物的繁殖提供了水分<sup>[25-26]</sup>,多糖等又可为霉菌  
的生长创造营养物质条件,尤其是相对湿度在 75%  
以上,药材的含水量较高时,微生物尤其是霉菌类最  
易繁殖。高温条件下,槟榔碱和槟榔次碱极易挥发,  
造成含量损失,因此高温高湿环境(40℃,相对湿度  
90%)非常不利于槟榔储藏。常温常湿条件是指室  
温自然环境,南北方温度和湿度差异大,北方夏季炎  
热多雨,冬季寒冷干燥,温湿度年差较大;而南方夏  
季高温多雨、冬季温和湿润,特别是梅雨季节,湿度  
特别高,最容易造成微生物繁殖。因此,常温常湿对  
槟榔组分的具体影响需进一步研究。目前,多数研  
究集中在槟榔保鲜方面,研究发现低温有利于槟榔  
的储存<sup>[27]</sup>。低温低湿环境不仅可以减少水分的流  
失,还在一定程度上可减少某些成分的挥发,有研究  
表明当温度低于 10~15℃,相对湿度低于 65%~  
70%时,可以抑制霉菌的生长<sup>[28]</sup>。此外,刘洪美  
等<sup>[29]</sup>研究表明,湿度<90%,温度低于 25℃的储藏  
条件下,槟榔药材不易霉变产毒。所以,在低温低湿  
环境下,使用自封袋可更好地储藏槟榔药材。

**3.4 包装材料对槟榔质量的影响** 包装材料在槟  
榔储藏中扮演着极其重要的角色。目前较为普遍的  
包装材料有自封袋、编织袋和牛皮纸。编织袋的透  
气性好,但在储存过程中易受空气、温度、湿度和自  
身特性的影响使药材发生质变,牛皮纸又易吸潮,易  
引起槟榔发生霉变。自封袋密封性和防潮性能好,  
还能防雨淋、防尘、防污染,故认为使用自封袋包装  
槟榔较适宜。但自封袋透气性差<sup>[30]</sup>,尤其在雨季空  
气湿度大,夏日温度较高时,导致自封袋内水分含量  
增加,利于霉菌生长,会导致多糖等营养成分减少。  
因此,建议用自封袋包装前,可去除药材中水分或抽  
出包装袋内的空气,或在储存过程中及时晾晒、加强  
通风或采用科学的保存方法,将现代仓储管理的先  
进理念、方法和技术应用到槟榔贮藏方面,如气调养  
护技术、计算机技术和 Co<sub>60</sub> 辐射技术等。

另外,根据文献报道,药材颜色加深或变浅都会  
影响到药材中的有效成分的含量。观察不同储藏环

境和包装材料下储藏的槟榔药材,研究发现颜色加  
深,也会降低槟榔中各种活性组分的含量<sup>[31]</sup>。

槟榔作为药食两用中药,其质量受到广泛关注,  
本实验采用紫外分光光度法和 UPLC-PDA 考察了槟  
榔中总酚、总黄酮、多糖和生物碱含量随储藏环境和  
包装材料对槟榔质量的变化。在储藏槟榔过程中,  
温度和湿度是影响槟榔组分含量的关键因素,高温  
高湿和常温常湿都不利于槟榔的储藏,低温低湿环  
境中温湿度较恒定,适合槟榔的储藏。与此同时,包  
装材料对槟榔质量也有影响,牛皮纸和编织袋 2 种  
包装材料密封性差,易吸潮,而自封袋与之相反,适  
合槟榔储藏。因此,建议可用自封袋包装槟榔后储  
藏在低温低湿环境中,并在储藏过程中采取现代化  
手段监控温度和湿度,利用一些快速检测技术如胶  
体金免疫色谱法、免疫生物传感器技术、蛋白芯片技  
术检测槟榔在储藏过程中是否发霉产毒素,以保证  
槟榔的质量和安全性。

[参考文献]

- [1] 胡四琴,徐仿周,高文平,等. 槟榔生物碱提取分离及  
检测方法的研究进展[J]. 中药材, 2009, 32(2):  
308-311.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 8  
卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 439-648.
- [3] Bhandare A M, Kshirsagar A D, Vyawahare N S, et al.  
Potential analgesic, anti-inflammatory and antioxidant  
activities of hydroalcoholic extract of *Areca catechu* L.  
nut [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(12):  
3412-3417.
- [4] PENG W, LIU Y J, WU N, et al. *Areca catechu* L.  
(Arecaceae): a review of its traditional uses, botany,  
phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. J  
Ethnopharmacol, 2015, 164(22): 340-356.
- [5] Amudhan M S, Begum V H, Hebbar K B. A review on  
phytochemical and pharmacological potential of *Areca*  
*catechu* L. seed [J]. Int J Pharm Sci Res, 2012, 14  
(1): 4151-4157.
- [6] 韩林. 槟榔中抗氧化成分的提取及分离研究[D].  
海口: 海南大学, 2010.
- [7] 郑锦星, 李忠海, 袁列江, 等. 槟榔生理效应研究进展  
[J]. 食品科技, 2006, 31(9): 302-305.
- [8] 杨磊, 朱青, 曹臣. 中药材储藏过程中的质量变化及  
其影响因素[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(6):  
95-97.
- [9] 牟肖男, 杨文强, 王文婧, 等. 槟榔的化学成分[J]. 暨  
南大学学报: 自然科学与医学版, 2014, 35(1):  
56-60.
- [10] 胡一晨, 孔维军, 刘秋桃, 等. 黄曲霉感染对黄芪质量

- 的影响及其储藏条件研究[J]. 中国现代中药, 2015, 17(11): 1133-1138.
- [11] 王锡彬, 王裕灿. 槟榔贮藏保鲜技术研究[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 1994, 12(1): 20-24.
- [12] 汪锦飘, 林晓珊, 刘永茂. 不同炮制方法对槟榔中活性成分槟榔碱含量的影响[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(9): 35-36.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 365.
- [14] 韩林, 张海德, 万婧, 等. 槟榔红色素的提取工艺优化及稳定性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 1-5.
- [15] 郑亚军, 陈卫军, 李艳, 等. 槟榔红色素提取工艺的研究[J]. 热带作物学报, 2010, 31(1): 141-145.
- [16] 邓广海, 林华, 龚又明. 草乌及其炮制品中6种生物碱类成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 35-38.
- [17] 刘芳, 张浩, 青琳森. 黄连 HPLC 数字化指纹图谱研究及7种生物碱含量测定[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 3713-3719.
- [18] 耿志鹏, 郑海杰, 张艺, 等. RP-HPLC 测定不同产地黄连中6种生物碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2576-2580.
- [19] 高建莉, 陈兆飞, 石俊敏, 等. 延胡索中5种生物碱的含量测定及稳定性研究[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1386-1388.
- [20] 古桂花, 胡虹, 曾薇, 等. 槟榔不同工艺处理品中3种生物碱的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 44-47.
- [21] 蒋荡, 侯大斌, 徐敏, 等. HPLC-MS 测定江油附子中三种生物碱的含量[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(9): 1874-1876.
- [22] 黄林芳, 陈士林, 刘辉, 等. HPLC-ELSD 测定不同加工方法川贝母中3种生物碱[J]. 中成药, 2009, 31(10): 1560-1564.
- [23] Chavan Y, Singhal R S. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu* L.) and optimization study using response surface methodology[J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2013, 17(17): 106-113.
- [24] 王冲之, 孙健, 李萍. 贝母类药材生物碱及生物碱苷含量测定方法学研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(6): 415-418.
- [25] 王赞英. 贮藏对中药质量的影响及防治措施[J]. 海峡药学, 2002, 14(3): 75-76.
- [26] 邹洪来. 贮藏中的外界因素对中药质量的影响[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(10): 17-18.
- [27] 李洪立. 温度对槟榔保鲜的影响[J]. 安徽农业科学, 2013, 40(36): 17738-17739.
- [28] 李学鑫, 陈刚, 李月英. 花椒防霉原理浅析[J]. 中药材, 1998, 21(6): 30-32.
- [29] 刘洪美, 孔维军, 胡一晨, 等. 响应面分析用于槟榔储藏条件考察的研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(8): 1129-1132.
- [30] 张建玲. 包装材料对中药饮片质量的影响[J]. 贵州科技工程职业学院学报, 2009, 4(1): 20.
- [31] 周燕, 单云岗. 金银花的外观色泽变化对其绿原酸含量的影响[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(5): 1156-1157.

[责任编辑 顾雪竹]