

• 药剂与工艺 •

一测多评法与电子眼和电子舌技术相结合优化山茱萸蒸制时间

段金芳, 肖 洋, 刘 影, 宋洪伟, 窦志英*

天津中医药大学, 天津 300193

摘 要: **目的** 建立山茱萸药材及饮片的一测多评法 (QAMS), 并将此法与电子眼和电子舌技术相结合, 优选山茱萸最佳蒸制时间。**方法** 以山茱萸药材及饮片为研究对象, 采用 HPLC 法测定没食子酸、5-羟甲基糠醛 (5-HMF)、莫诺苷、山茱萸新苷、马钱苷量; 通过建立没食子酸、5-HMF、莫诺苷、山茱萸新苷与内参物马钱苷之间的相对校正因子 (RCF), 计算各种成分的量; 运用电子眼和电子舌技术进行颜色与滋味测定, 所得数据用主成分分析 (PCA) 法进行分析; 综合分析 3 种方法所得结果, 对山茱萸最佳蒸制时间进行优选。**结果** 被测定的 5 种成分色谱峰均有良好的分离度, 方法精密度、重复性的 RSD 均小于 2%, 在室温条件下 24 h 内稳定性良好, 各成分均有较宽的线性范围和良好的线性关系 ($r \geq 0.999\ 6$), 平均加样回收率为 98%~100.1%, RSD 均 < 2%; 在一定线性范围内马钱苷与没食子酸、5-HMF、莫诺苷、山茱萸新苷间的 RCF 分别为 0.560、1.344、1.255、0.972。电子眼和电子舌 PCA 中, 主成分之和分别为 94.618% 和 94.98%, 识别指数 (DI) 分别为 98 和 93, 说明山茱萸全部样品能够通过电子眼和电子舌很好地区分出来。综合分析 3 种方法所得结果, 优选出山茱萸最佳蒸制时间为 4 h。**结论** 通过 QAMS 分析指标成分量, 与电子眼和电子舌技术进行颜色与滋味测定的结合应用, 能够优选出山茱萸最佳蒸制时间。

关键词: 一测多评法; 电子眼; 电子舌; 山茱萸; 马钱苷; 没食子酸; 5-羟甲基糠醛; 莫诺苷; 山茱萸新苷; 蒸制; HPLC; 相对校正因子; 颜色; 滋味; 主成分分析; 识别指数

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)06-1108-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.06.010

Optimization of steaming time of *Cornus officinalis* by QAMS combined with electronic-eye and electronic-tongue techniques

DUAN Jin-fang, XIAO Yang, LIU Ying, SONG Hong-wei, DOU Zhi-ying

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To establish a method of quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) for medicinal materials and pieces of *Cornus officinalis*. This method was used in combination with electronic-eye and electronic-tongue technique, and the best steaming time of *Cornus officinalis* was selected. **Methods** Medicinal materials and pieces of *C. officinalis* were used as the research objects. The contents of five components were determined by establishing the relative correction factor (RCF) of gallic acid, 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF), morroniside, cornuside, and internal reference loganin in *C. officinalis*. Color and taste were measured by electronic eye and electronic tongue technique. The data were analyzed by principal component analysis (PCA), and the best steaming time was optimized by analyzing the results of three methods. **Results** The five compounds were well separated. The RSD values of precision and reproducibility were all less than 2%. The stability was good in 24 h. The linear relationship among the concentration and peak areas of the five compounds was all linear ($r \geq 0.999\ 6$). The average recoveries were between 98% and 100.1% and the RSD values were all less than 2%; The RCFs of loganin with the other four compounds were 0.560, 1.344, 1.255, and 0.972 in a linear range. In the principal component analysis (PCA), the sums of main components were 94.618% and 94.98% and the discrimination indexes (DI) were 98 and 93, which indicated that all the samples of *C. officinalis* could

收稿日期: 2016-11-06

基金项目: 国家科技基础性工作专项 (2014FY111100)

作者简介: 段金芳, 女, 在读硕士研究生, 从事中药炮制和质量控制研究。Tel: (022)23052241 E-mail: djfzb369@163.com

*通信作者 窦志英, 女, 教授, 从事中药炮制和质量控制研究。Tel: (022)23052241 E-mail: zhiyingdou@163.com

be distinguished well by the electronic-eye and the electronic-tongue. The results showed that the optimum steaming time of *C. officinalis* was 4 h. **Conclusion** The best steaming time of *C. officinalis* can be optimized by the combination of QAMS with electronic-eye and electronic-tongue techniques.

Key words: QAMS; electronic-eye; electronic-tongue; *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.; loganin; gallic acid; 5-HMF; morroniside; cornuside; steaming; HPLC; relative correction factor; color; taste; principal component analysis; discrimination index

山茱萸 *Corni Fructus* 为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。《中国药典》2015 年版收载的山茱萸饮片有山茱肉和酒茱肉, 酒茱肉采用酒炖法或酒蒸法炮制^[1]。但是, 对酒炖或酒蒸的时间没有明确规定, 仅提到炖或蒸至酒被吸尽^[1]。长期以来, 中药饮片的质量控制方法都是根据广大药工长期积累的实践经验进行感官评判, 缺少数据支持和理论依据^[2-3]。虽有学者对酒制山茱萸炮制工艺进行了考察, 但采用的指标仅有有效成分量^[4]。为此, 本研究旨在建立一套较为科学、合理的方法, 优选出酒茱肉最佳蒸制时间, 期待能为制定山茱萸饮片质量标准提供数据依据。

山茱萸含有环烯醚萜苷类、有机酸类、多糖类等有效成分, 由于对照品价格昂贵、难以获得等原因, 使得多成分同时测定难以在实际工作中广泛应用^[5]。本实验采用一测多评法(QAMS)^[6-7], 以廉价易得的马钱苷为内参物, 通过建立其与没食子酸等多成分之间的相对校正因子(relative correction factor, RCF), 同时测定 5 种成分, 并将所建立的方法在蒸制不同时间的山茱萸中应用^[8-10]。对于蒸制所引起的颜色和滋味无法量化的性状鉴别指标, 本研究引入电子眼和电子舌^[11]技术给予数据分析代替感官评价。电子眼是分析样品颜色、颜色分布等视觉参数的重要的、快速的仪器, 操作简单。电子眼能提供稳定的图像攫取环境, 保证图像能够在相同条件下分析, 使其具有可比性。电子舌是专门针对味觉分析技术而设计的, 其分析原理和人类味觉完全类似^[12-13]。基于传感器阵列技术和模式识别技术, 电子舌可以敏感地识别味道指纹及其变化。本实验首次将 QAMS 与电子眼和电子舌结合应用于山茱萸最佳蒸制时间优选, 可以全面、科学、系统地分析山茱萸随着蒸制时间多指标变化情况, 实验结果更具可信性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

岛津 LC-2010AHT 液相色谱仪; 岛津 LC-20A 液相色谱仪; IRIS VA400 电子眼、Astree 电子舌, 法国 Alpha MOS 公司; 色谱柱: Phenomenex Luna

C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent 5 TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Waters symmetry C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); FW100 型高速万能粉碎机, 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 试药及药材

马钱苷(批号 111640-200604, 质量分数以 100% 计)、没食子酸(批号 110831-200302, 质量分数以 100% 计)、5-羟甲基糠醛(5-HMF, 批号 111626-201509, 质量分数以 97.8% 计)购于中国食品药品检定研究院; 莫诺苷(批号 140301, 质量分数以 98% 计)、山茱萸新苷(批号 131015, 质量分数以 98% 计)购于天津一方科技有限公司; 乙腈、甲醇、磷酸为色谱纯, 水为哇哈哈纯净水。山茱萸生品购于河南洛阳、陕西商洛、安徽亳州、河北安国, 山茱萸炮制品购于安徽亳州、天津、河北安国、湖南廉桥, 经天津中医药大学李天祥教授鉴定为山茱萸科山茱萸属植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。药材由于有的直接从生产基地采集没有批号。

2 方法与结果

2.1 炮制样品的制备

2.1.1 山茱萸生品(SS) 分别取用河北安国、河南洛阳、浙江临安购买的山茱萸药材, 净选, 去除霉烂及杂质, 即得 SS。

2.1.2 山茱萸炮制品(SP) 分别精密称取 6 等份以上 3 批已净选的山茱萸药材, 每份平行称取等量的 3 份, 每份 50 g, 按单因素考察试验进行炮制, 黄酒用量和闷润时间选用文献中已考察的最优工艺的因素水平, 每份加 25% 的黄酒(即每 100 克药材取用 25 g 黄酒; 黄酒为浙江绍兴瓜渚湖产, 酒精体积分数为 14.5%), 搅拌均匀, 放入密闭容器中闷润 2 h^[14-15], 置于蒸锅内隔水蒸, 分别蒸制 1、2、3、4、5、6 h, 取出后摊开放凉, 置 70 °C 烘箱中干燥至恒定质量, 即得, 分别编号为 SP1~SP6。

2.2 指标成分分析方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.1% 磷酸水

溶液-乙腈,梯度洗脱程序:0~5 min, 7%乙腈;5~35 min, 7%~15%乙腈;35~55 min, 15%~35%乙腈;55~60 min, 35%~7%乙腈;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 ℃;检测波长 240 nm;进样量 10 μ L。理论板数按马钱苷峰计算不低于 5 000。色谱图见图 1。

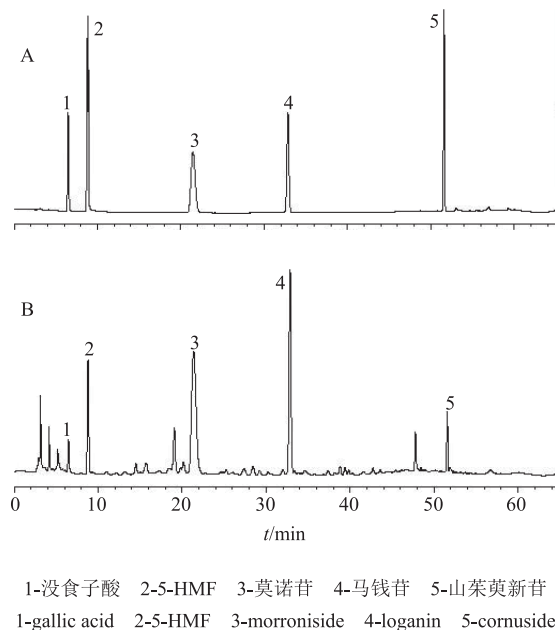


图 1 混合对照品 (A) 和山茱萸样品 (B) 的 HPLC

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and *C. officinalis* sample (B)

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷对照品 0.996、1.000、0.990、0.996、1.018 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 用 80% 甲醇溶液溶解并定容至刻度, 摇匀, 配成 99.6、100.0、99.0、99.6、101.8 μ g/mL 的混合对照品溶液, 备用。分别精密量取上述混合对照品溶液 1.0、0.8、0.6、0.5、0.4、0.2、0.05 mL, 置 1 mL 棕色量瓶中, 加 80% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液, 备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 取山茱萸粉末 (过 3 号筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声震荡 (功率 600 W, 频率 40 kHz) 45 min, 放置室温, 再称定质量, 用 80% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 5 000 r/min 离心 8 min, 取上清液, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取上述不同质量浓度的混合对照品溶液 10 μ L, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样分析。以对照品质量浓度为横坐标

(X), 峰面积积分为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 计算得各成分的回归方程、相关系数 (r) 和线性范围分别为没食子酸 $Y=8\,202.1X+5\,789$, $r=0.999\,9$, 线性范围 4.98~99.6 μ g/mL; 5-HMF $Y=19\,007X+60\,431$, $r=0.999\,9$, 线性范围 5~100 μ g/mL; 莫诺苷 $Y=18\,703X+8\,501.6$, $r=0.999\,8$, 线性范围 4.95~99 μ g/mL; 马钱苷 $Y=14\,877X+7\,597.5$, $r=0.999\,6$, 线性范围 4.98~99.6 μ g/mL; 山茱萸新苷 $Y=13\,733X+33\,072$, $r=0.999\,7$, 线性范围 5.09~101.8 μ g/mL。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液 (没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷 5 种成分质量浓度分别为 49.8、50.0、49.5、49.8、50.9 μ g/mL) 10 μ L, 连续进样 6 次, 测定各成分峰面积, 计算峰面积 RSD 值分别为 0.27%、0.17%、0.29%、0.26%、0.45%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取河北安国购买的山茱萸药材, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、12、24 h 进样, 每次 10 μ L, 测定峰面积, 计算各成分 (没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷) 峰面积 RSD 值分别为 1.12%、1.62%、0.38%、0.53%、0.56%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品 (河北安国) 6 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 测定峰面积, 计算各成分 (没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷) 的平均质量分数分别为 1.16、3.51、7.94、7.77、1.28 mg/g, RSD 值分别为 1.28%、1.51%、0.35%、1.05%、1.29%, 结果表明方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份已测定的酒萸肉粉末 (河北安国, 过 3 号筛) 约 0.1 g, 分别加入各成分对照品适量, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项下色谱条件分析, 计算回收率。结果 5 种成分 (没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷) 的平均回收率分别为 100.1%、99.8%、100.0%、100.1%、98.0%, RSD 分别为 1.81%、1.82%、1.06%、1.54%、1.75%, 表明该方法准确度良好。

2.3 QAMS 的建立与应用

2.3.1 待测组分 RCF 的测定 取混合对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件分别进样 1、2、4、5、10、20、30、40、50 μ L, 测定 5 种成分的峰面积。根据

RCF 计算公式^[16-17], 分别计算没食子酸(A)、5-HMF (B)、莫诺苷(C)、山茱萸新苷(D)对内参物马钱苷(s)间的 RCF ($f_{s/A}$ 、 $f_{s/B}$ 、 $f_{s/C}$ 、 $f_{s/D}$), 结果见表 1。

$$f_{s/k}=f_s/f_k=C_sA_k/(C_kA_s)$$

A_s 为内参物 s 对照品峰面积, C_s 为内参物 s 对照品质量浓度, A_k 为供试品中待测成分 k 对照品峰面积, C_k 为供试品中待测成分 k 对照品质量浓度

2.3.2 RCF 的重现性考察

(1) 仪器对 RCF 的影响: 采用 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 分别考察了 3 台高效液相色谱仪对山茱萸中待测指标的 $f_{s/k}$ 的影响, 结果表明没食子酸、5-HMF、莫诺苷、山茱萸新苷对内参物马钱苷间的 $f_{s/k}$ 重现性良好, RSD<5%, 结果见表 2。

(2) 色谱柱对 RCF 的影响: 采用岛津 LC-20A 高效液相色谱系统, 考察了 4 种不同品牌的色谱柱对山茱萸中待测指标的 $f_{s/k}$ 的影响, 结果表明没食子

表 1 以马钱苷为参照的没食子酸、5-HMF、莫诺苷、山茱萸新苷的 $f_{s/k}$ 值

Table 1 $f_{s/k}$ Values of gallic acid, 5-HMF, morronside, and cornuside with loganin as reference

进样体积/μL	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$
1	0.560	1.334	1.242	0.958
2	0.551	1.322	1.250	0.973
4	0.551	1.365	1.249	0.970
5	0.556	1.366	1.253	0.973
10	0.553	1.356	1.255	0.967
20	0.555	1.361	1.256	0.967
30	0.563	1.328	1.266	0.977
40	0.572	1.312	1.272	0.959
50	0.576	1.354	1.251	1.004
平均值	0.560	1.344	1.255	0.972
RSD/%	1.61	1.51	0.73	1.40

表 2 不同仪器测得 $f_{s/k}$ 值

Table 2 $f_{s/k}$ Values of different instruments

仪器	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$
岛津 LC-20A-1	0.563	1.356	1.265	0.977
岛津 LC-20A-2	0.560	1.328	1.250	0.972
岛津 LC-2010AHT	0.551	1.354	1.242	0.959
平均值	0.558	1.346	1.252	0.969
RSD/%	1.09	1.16	0.91	0.97

酸、5-HMF、莫诺苷、山茱萸新苷对内参物马钱苷间的 $f_{s/k}$ 重现性良好, RSD<5%, 结果见表 3。

表 3 不同色谱柱测得 $f_{s/k}$ 值

Table 3 $f_{s/k}$ Values of different columns

色谱柱	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$
Phenomenex Luna C ₁₈	0.553	1.356	1.266	0.961
Agilent 5 TC-C ₁₈	0.551	1.330	1.250	0.949
Waters symmetry C ₁₈	0.561	1.368	1.272	0.967
Kromasil 100-5C ₁₈	0.543	1.349	1.249	0.939
平均值	0.552	1.351	1.259	0.954
RSD/%	1.36	1.17	0.92	1.32

2.3.3 待测组分色谱峰的定位 分别计算各待测组分与内参物马钱苷(s)的相对保留值($r_{k/s}$)和保留时间差(Δt_{ks})^[16-17], 2 种参数作为色谱峰定位标准, 并考察其不同仪器和不同品牌色谱柱中的重现性。结果表明 $r_{k/s}$ 波动较小, Δt_{ks} 波动较大, 因此选用 $r_{k/s}$ 作为目标色谱峰的定位指标较为合理, 且其不同仪器和不同品牌色谱柱中的重现性良好, RSD<5%, 结果见表 4。

$$r_{k/s}=t_k/t_s$$

$$\Delta t_{ks}=t_k-t_s$$

2.3.4 QAMS 与外标法(ESM)测定结果的比较 各取 5 批不同批次 SS 和 SP, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 采用 QAMS 与 ESM 分别计算各批次样品中 5 种成分的量, 并将 2 种方法所得结果进行比较, 以验证 QAMS 用于山茱萸中各待测成分多指标质量评价的准确性。结果表明, 2 种方法测得的成分量没有显著性差异, 相对偏差(RD)<5%, 说明建立的 QAMS 具有较好的可信度, 结果见表 5。

2.4 QAMS 在不同蒸制时间山茱萸样品定量测定中的应用

取“2.1”项下 3 批(河北安国、河南洛阳、浙江临安)SS 和 SP 各约 0.2 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 运用以上建立的 5 种成分的 $f_{s/k}$ 计算没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷的量。结果见表 6。分析结果表明, 测得的山茱萸样品中 SS 含莫诺苷和马钱苷的总量大于 1.2%, SP 中莫诺苷和马钱苷的总量都大于 0.7%, 符合《中国药典》2015 年版的规定。

表 4 不同仪器和不同色谱柱测得 $r_{k/s}$ 值和 Δt_{ks} 值Table 4 $r_{k/s}$ and Δt_{ks} Values of different instruments and columns

仪器	色谱柱	$r_{A/s}$	$r_{B/s}$	$r_{C/s}$	$r_{D/s}$	Δt_{As}	Δt_{Bs}	Δt_{Cs}	Δt_{Ds}
岛津 LC-20A-1	Phenomenex Luna C ₁₈	0.150	0.237	0.615	1.581	-27.775	-24.909	-12.578	18.986
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.150	0.247	0.627	1.604	-27.279	-24.180	-11.963	19.384
	Waters symmetry C ₁₈	0.151	0.247	0.628	1.602	-27.306	-24.204	-11.956	19.367
	Kromasil 100-5C ₁₈	0.149	0.246	0.652	1.597	-27.348	-24.222	-11.186	19.183
岛津 LC-20A-2	Phenomenex Luna C ₁₈	0.151	0.240	0.628	1.614	-27.446	-24.550	-12.026	19.828
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.151	0.247	0.640	1.592	-27.433	-24.335	-11.634	19.125
	Waters symmetry C ₁₈	0.152	0.247	0.629	1.607	-27.326	-24.263	-11.975	19.574
	Kromasil 100-5C ₁₈	0.149	0.246	0.626	1.592	-27.428	-24.305	-12.043	19.089
岛津 LC-2010AHT	Phenomenex Luna C ₁₈	0.150	0.246	0.642	1.600	-27.385	-24.275	-11.542	19.312
	Agilent 5 TC-C ₁₈	0.152	0.240	0.629	1.577	-27.243	-24.405	-11.906	18.540
	Waters symmetry C ₁₈	0.145	0.244	0.627	1.560	-27.630	-24.436	-12.049	18.110
	Kromasil 100-5C ₁₈	0.149	0.243	0.626	1.583	-27.428	-24.401	-12.043	18.785
	平均值	0.150	0.244	0.631	1.592	-27.419	-24.374	-11.908	19.107
	RSD/%	1.25	1.39	1.50	0.93	-0.55	-0.82	-2.84	2.43

表 5 QAMS 与 ESM 测定山茱萸药材及饮片中 5 种成分量结果比较 ($n=3$)Table 5 Comparison on five components of *C. officinalis* and pieces by QAMS and ESM ($n=3$)

样品	来源	马钱苷/ (mg·g ⁻¹)		没食子酸/ (mg·g ⁻¹)		RD/%		5-HMF/ (mg·g ⁻¹)		RD/%		莫诺苷/ (mg·g ⁻¹)		RD/%		山茱萸新苷/ (mg·g ⁻¹)		RD/%	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
SP	安徽亳州	6.77	1.48	1.47	0.92	6.50	6.60	-1.57	6.40	6.43	-0.50	1.05	1.05	0.28					
	天津-1	7.92	1.70	1.68	0.92	4.98	5.06	-1.57	4.45	4.48	-0.50	1.05	1.05	0.28					
	天津-2	8.32	1.90	1.88	0.92	6.21	6.30	-1.57	6.89	6.93	-0.50	1.08	1.08	0.28					
	河北安国	7.69	1.15	1.14	0.92	3.31	3.36	-1.57	7.88	7.92	-0.50	1.30	1.30	0.28					
	湖南廉桥	7.10	1.69	1.68	0.92	6.23	6.33	-1.57	4.15	4.17	-0.50	0.74	0.74	0.28					
SS	安徽亳州	6.32	0.22	0.22	0.92	0.05	0.06	-1.57	7.32	7.35	-0.50	1.33	1.33	0.28					
	陕西商洛-1	8.02	0.25	0.25	0.92	0.20	0.21	-1.57	11.95	12.01	-0.50	2.31	2.31	0.28					
	陕西商洛-2	9.95	0.21	0.21	0.92	0.01	0.01	-1.57	19.05	19.15	-0.50	2.40	2.40	0.28					
	河北安国	8.07	0.26	0.25	0.92	0.00	0.00	0.00	8.27	8.31	-0.50	1.48	1.48	0.28					
	河南洛阳	11.57	0.19	0.19	0.92	0.01	0.01	-1.57	17.72	17.81	-0.50	2.23	2.23	0.28					

2.5 不同蒸制时间山茱萸样品 5 种指标成分聚类分析

实验选取 5 种指标成分做聚类分析, 将表 6 中 3 批药材的 5 种成分平均值代入 SPSS 23.0 软件进行聚类分析, 结果见图 2。由图 2 可以看出, 7 组样品基本被分成 2 大类, 即 SS 和 SP1、SP2、SP3 为一类, SP4、SP5、SP6 为一类。其中 SS 和 SP1 可以聚为一类, SP2 和 SP3 又聚为一类, 说明这 2 类间的样品成分量比较接近。

2.6 电子眼技术对颜色的测定

2.6.1 电子眼检测条件 开机后稳定 5 min, 待光照稳定后 (仪器指示绿灯后) 开始测试。使用 24 色色彩校正板进行校正, 使用 5 mm 光圈, 同时打开上下背光灯, 消除背景。光源 D65, 标准观察角度 2°。

2.6.2 样品测定及结果分析 将“2.1”项下河北安国的 7 个样品 (SS 及 SP1~SP6) 粉碎过 3 号筛, 取样品均匀放置于表面皿中, 放置厚度一致, 电子

表 6 山茱萸药材及不同蒸制时间饮片的定量测定结果 (n = 3)
Table 6 Determination of content of medicinal materials and pieces in different steaming time (n = 3)

编号	产地	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		没食子酸	均值	5-HMF	均值	莫诺昔	均值	马钱苷	均值	山茱萸新苷	均值
SS	河北安国	0.47	0.47	0.10	0.03	8.23	11.06	8.05	10.23	1.44	1.80
	河南洛阳	0.15		0.00		12.72		11.57		2.23	
	浙江临安	0.80		0.00		12.23		11.07		1.72	
SP1	河北安国	0.88	1.26	0.40	0.31	8.27	11.01	8.04	10.14	1.39	1.69
	河南洛阳	1.09		0.23		12.53		11.38		2.12	
	浙江临安	1.82		0.31		12.21		11.02		1.56	
SP2	河北安国	1.13	1.69	0.96	0.68	8.23	11.34	7.97	10.12	1.38	1.65
	河南洛阳	1.66		0.52		13.40		11.47		2.04	
	浙江临安	2.28		0.55		12.40		10.94		1.53	
SP3	河北安国	1.40	1.96	1.72	1.12	8.29	11.40	7.94	10.01	1.33	1.61
	河南洛阳	1.93		0.78		13.74		11.59		2.04	
	浙江临安	2.56		0.85		12.18		10.52		1.46	
SP4	河北安国	1.45	2.20	2.16	1.58	8.42	11.11	7.81	9.80	1.32	1.55
	河南洛阳	2.16		1.35		12.74		10.98		1.91	
	浙江临安	3.00		1.24		12.16		10.60		1.42	
SP5	河北安国	1.63	2.43	3.11	2.16	8.42	11.06	7.67	9.86	1.27	1.54
	河南洛阳	2.55		1.65		12.67		11.43		1.95	
	浙江临安	3.10		1.72		12.10		10.47		1.39	
SP6	河北安国	1.79	2.58	3.72	2.62	8.44	11.18	7.69	9.74	1.21	1.51
	河南洛阳	2.57		2.33		12.88		11.05		1.87	
	浙江临安	3.37		1.81		12.21		10.49		1.46	

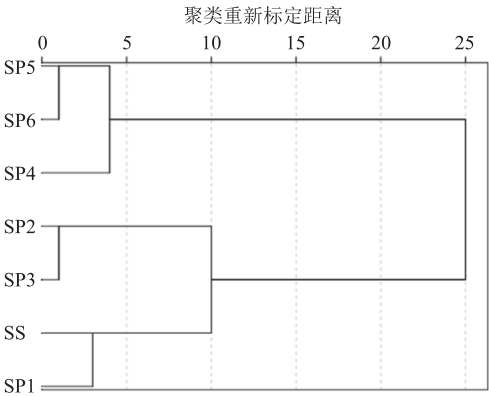


图 2 山茱萸药材及不同蒸制时间饮片 5 种成分量的聚类分析树状图

Fig. 2 Cluster analysis of five components contents of *C. officinalis* and pieces in different steaming time

眼经过校正后对样品逐个采集图像，每个样品变换位置采集 3 次图像。所得数据进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)，山茱萸 7 个

样品颜色数据分析见表 7，PCA 图见图 3。由表 7 和图 3 分析可知，主成分之和为 94.618%，PCA 的识别指数 (discrimination index, DI) 为 98，说明 7 组样品能够通过电子眼很好地区分开来。SS 和 SP1 在一个区域，但二者距离相对较远，并由色度值可知二者间颜色存在一定差异，共同颜色为浅棕色；SP2 和 SP3 距离比较近，其色度值也相似，为中棕色；SP4、SP5、SP6 分布于同一个区域，其颜色在紫红到深褐色之间。

2.7 电子舌技术对滋味的测定

电子舌检测条件：电子舌是由自动进样系统，传感器阵列及数据处理系统 3 部分组成^[18]。本实验采用第 5 套传感器系统，包括 SRS、GPS、STS、UMS、SPS、SWS、BRS 共 7 根传感器 (其中 SRS 为酸味传感器、STS 为咸味传感器、UMS 为鲜味传感器、SWS 为甜味传感器、BRS 为苦味传感器，GPS、SPS 为 2 个交叉互感型、综合型的传感器)，

表 7 山茱萸主要颜色汇总

Table 7 Main color summary of *C. officinalis*

样品编号	色号	L*	a*	b*	颜色描述
SP4、SP5、SP6	1 620	33.07	4.36	12.67	深褐色
SP2、SP3、SP4、SP5、SP6	1 876	35.08	12.11	15.73	中棕色
SP4、SP5、SP6	1 877	35.48	14.39	5.77	紫红色
SP2、SP3	2 132	37.35	19.72	19.13	中红棕色
SP2	2 148	41.72	9.68	24.73	中棕色
SP2、SP3	2 149	42.03	11.57	15.20	中棕色
SP1	2 404	43.85	17.38	27.85	深棕色
SP1	2 405	44.14	18.99	18.40	中红棕色
SS	2 660	46.17	24.85	31.20	深棕色
SP1、SS	2 677	50.52	16.60	27.13	浅棕色

L*为亮度值, a*为红绿色度坐标, b*为黄蓝色度坐标

L* is the brightness value, a* for the red-green degree coordinates, b* for the yellow-blue chromaticity coordinates

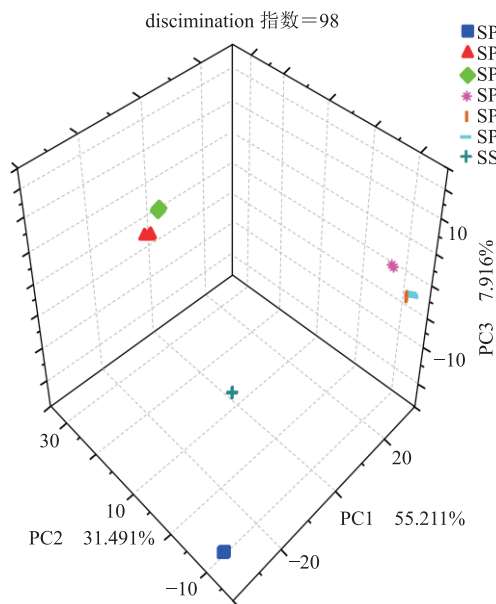


图 3 山茱萸样品电子眼 PCA 三维图

Fig. 3 3D diagram PCA of *C. officinalis* sample by electronic-eye

选择 Ag/AgCl 作为参比电极, 传感器经活化、校正后测样。

本实验取用“2.1”项下河北安国的 7 个样品(SS 及 SP1~SP6) 粉碎过 3 号筛, 称取 5 g 样品, 加入 70~80 °C 的蒸馏水 50 mL 混合均匀, 冷却静置后取上清液滤过后直接放置于电子舌专用烧杯(25 mL) 中待测。所得数据进行滋味分析和 PCA, 结果见图 4 和 5。

从图 4 中可以直观地看出 SS 在苦味传感器上信号相对较强, SP2~SP6 号苦味信号明显较弱, 这

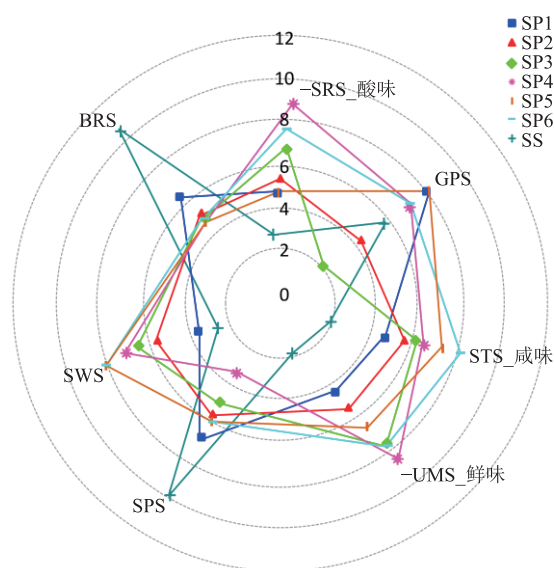


图 4 山茱萸样品的滋味雷达图

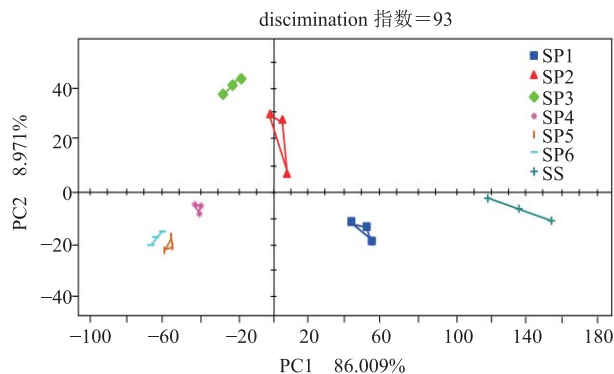
Fig. 4 Taste-based radar image of *C. officinalis*

图 5 山茱萸样品电子舌 PCA 图

Fig. 5 PCA Diagram of *C. officinalis* by sample electronic-tongue

正与《中国药典》2015 年版中对 SS 和酒萸肉药味的界定相一致,《中国药典》2015 年版规定山茱萸药材味酸、涩、微苦,规定酒萸肉味酸、涩。图 5 可以看出,主成分之和为 94.98%,DI 为 93,说明山茱萸样品的滋味能够被电子舌很好地辨别开来。SP1 与 SS 的滋味距离相对最近;SP2 和 SP3 滋味距离比较近;SP4、SP5、SP6 分布于同一个区域,说明这 3 个样品的滋味相近。

3 讨论

不同的色谱系统、检测波长的选择、RCF 建立过程中使用对照品的纯度等都会为 QAMS 的建立带来误差^[19],本实验建立的 QAMS 在不同实验条件下各成分间的 RCF 重现性良好,测得成分量的计算值与外标法测得实测值间没有显著性差异。说明本实验建立的 QAMS 在对照品缺乏的前提下,可以作为一种简便、快速、全面的方法应用于山茱萸药材中多种成分量的同时测定。电子眼和电子舌 PCA 中,主成分之和都大于 90%,能很好地反映样品的实际情况。且样品的 PCA 的 DI 都大于 90,说明山茱萸全部样品能够通过电子眼和电子舌很好地区分开来。

本实验 QAMS 测得的山茱萸药材及饮片 5 种指标成分的量,通过聚类分析基本被分成 3 类,与电子眼和电子舌测得 PCA 图中呈现的分类结果基本一致。即在成分量、颜色和滋味上 SS 与蒸制 1 h 没有太大区别;蒸制时间在 2 h 和 3 h 相似;蒸制 4、5、6 h 基本可归为一类。结合本实验测得的一系列实验结果分析可得,山茱萸药材经过不同时间的酒蒸后所测样品含莫诺苷和马钱苷的总量均大于 0.7%,能达到《中国药典》2015 年版的规定;蒸制 4~6 h 基本可呈现《中国药典》对酒萸肉表面呈紫黑色或黑色的要求;蒸制 2~6 h 酒萸肉具有《中国药典》2015 年版规定的酸、涩味。综上所述,山茱萸蒸制时间可以控制在 4~6 h,结合实际操作及经济因素考虑,认为山茱萸最佳蒸制时间确定为 4 h。

本实验首次将 QAMS 与电子眼和电子舌技术结合并很好地应用于山茱萸最佳蒸制时间的优选。QAMS 可以在节省多个对照品的前提下,同时测得多个成分的量^[20],电子眼与电子舌的引入使得颜色和滋味传统经验描述指标客观化、数量化,从而用较为稳定、客观的实验仪器来辅助个体间差异大、繁琐的人工感官评价体系,建立更为客观的评价体系^[21-22]。本研究采用的 QAMS 有其简洁、高效、成

本低等优点,但是也有一定的局限性,例如需要色谱分离比较完善、所需定量的化合物明确及其纯度要求比较高等,除此之外,在建立方法过程中误差来源比较多,需要研究者操作精准^[23]。本实验电子眼的进样形态为粉末状,未对外部颜色进行评价分析,所以结果只能代表山茱萸样品内部颜色。另外,电子舌测定的只是药物的滋味,并不能对药味进行全面地反映^[24]。因此,仍需进一步实验研究,使其更具代表性,为制定饮片质量标准提供更充实的理论依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 殷放宙, 吴晓燕, 李 林, 等. 炮制火候对饮片颜色的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2252-2256.
- [3] 黄学思, 李文敏, 吴纯洁, 等. 基于色彩色差计和电子鼻的槟榔炒制火候判别及其指标量化研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(14): 1786-1791.
- [4] 许甜甜, 聂松柳, 沈炳香, 等. 正交试验优选加压酒制山茱萸炮制工艺 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2339-2343.
- [5] 常增荣, 李 姣, 郭洪祝, 等. 中药山茱萸炮制前后特征化学成分的分析 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 338-343.
- [6] 梁文仪, 袁永兵, 陈文静, 等. 一测多评技术在 3 种丹参制剂质量控制中的可行性分析 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4179-4185.
- [7] 张 婷, 郑 夺, 王文彤, 等. 指纹图谱结合一测多评模式在参芎养心颗粒质量评价中的应用研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1920-1925.
- [8] Yang X, Zhang X, Yang S P, et al. Preliminary antibacterial evaluation of the chemical compositions in herba pogostemonis oil [J]. Pak J Pharm Sci, 2013, 26(6): 1173-1176.
- [9] Yang X, Wang B C, Zhang X, et al. Simultaneous determination of nine flavonoids in *Polygonum hydropiper* L. samples using nanomagnetic powder three-phase hollow fibre-based liquid-phase microextraction combined with ultrahigh performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 54(2): 311-315.
- [10] 王晓燕, 李振国, 霍甜甜, 等. 一测多评法测定酒萸肉中 5 种环烯醚萜苷类成分的含量 [J]. 中药材, 2016, 39(7): 1587-1591.
- [11] 刘瑞新, 李慧玲, 李学林, 等. 基于电子舌的穿心莲水煎液的掩味效果评价研究 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2240-2245.

- [12] Gupta H, Sharma A, Kumar S, *et al.* E-tongue: A tool for taste evaluation [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2010, 4(1): 82-86.
- [13] 曹 煌, 张铁军, 张静雅, 等. 基于电子鼻和电子舌技术的辛味中药气-味的表征研究 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1962-1967.
- [14] 胡 荣. 酒制山茱萸的炮制工艺研究 [J]. 山西农业科学, 2016, 44(1): 77-79.
- [15] 王晓明, 刘华亮, 袁 珂. 酒制山茱萸炮制工艺优选 [J]. 中药材, 2009, 32(5): 682-684.
- [16] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657-658.
- [17] 何 兵, 刘 艳, 杨世艳, 等. HPLC 一测多评法同时测定双青咽喉片中 10 种成分 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 974-981.
- [18] Toko K. Taste sensor with global selectivity [J]. *Mat Sci Eng C-Mater*, 1996, 4(2): 69-73.
- [19] 林 青, 匡艳辉, 王智民, 等. 一测多评法测定穿心莲及其制剂中内酯类成分 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2406-2411.
- [20] Gao X Y, Jiang Y, Lu J Q, *et al.* One single standard substance for the determination of multiple anthraquinone derivatives in rhubarb using high-performance liquid chromatography-diode array detection [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2118-2124.
- [21] Zheng J Y, Keeney M P. Taste masking analysis in pharmaceutical formulation development using an electronic tongue [J]. *Int J Pharm*, 2006, 310(1/2): 118-122.
- [22] Shah P P, Mashru R C. Formulation and evaluation of taste masked oral reconstitutable suspension of primaquine phosphate [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2008, 9(3): 1025-1028.
- [23] 高慧敏, 宋宗华, 王智民, 等. 适合中药特点的质量评价模式——QAMS 研究概述 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 405-416.
- [24] 高学敏. 中药学 [M]. 新世纪第 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007.