

基于主客观嗅觉评价结合挥发性成分分析优选美洲大蠊去腥矫臭炮制方法

邓雨娇, 李 燕, 贺亚男, 张定堃, 许润春*, 马鸿雁*

成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 通过主客观评价结合分析挥发性成分变化, 筛选美洲大蠊去腥矫臭的炮制方法, 研究去腥矫臭作用机制。**方法** 分别制备美洲大蠊生品、醋炙品、酒炙品与麸炒品, 采用志愿者感官评价法结合电子鼻系统评价美洲大蠊生品与炮制品的腥臭气味差异, 筛选较优炮制品种类。采用顶空-固相微萃取-气相-质谱联用 (HS-SPME-GC-MS) 结合相对气味活度值 (ROAV) 分析关键性腥臭气味成分, 并采用面积归一化法结合多元统计分析方法分析生品与炮制品挥发性成分差异, 探究炮制去腥矫臭的作用机制。**结果** 志愿者评分结果显示生品、醋炙品、酒炙品与麸炒品的平均评分分别为 3.38、1.25、2.88 与 3.04。电子鼻结果显示, 醋炙品、酒炙品、麸炒品与生品间的欧式距离分别为 7.34、3.77、1.60, 但醋炙品的散点分布方向与酒炙品、麸炒品方向相反, 提示可能作用机制有异。整合分析主客观评价数据, 确定醋炙为最优去腥矫臭炮制方法。ROAV 法确认美洲大蠊关键性腥臭气味成分为 3-甲基丁醛、己醛、壬醛、庚醛、癸醛、苯乙醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、2-戊基呋喃、(+)-柠檬烯、肉豆蔻醛。挥发性成分的 PCA 结果显示, 4 种炮制品可被明显区分开, 挥发性成分及含量存在差异。正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 结果表明, 生品与醋炙品中存在 7 个差异性成分, 分别为己醛、棕榈酸、油酸、油酸乙酯、醋酸、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯, 醋炙品含量较生品均有减少, 其中关键性腥臭成分己醛减少最为明显。**结论** 醋炙为改善美洲大蠊腥臭气味的较优方法, 其炮制机制是通过降低己醛等挥发性腥臭成分实现的。

关键词: 美洲大蠊; 炮制; 去腥矫臭; 腥臭气味成分; 顶空-固相微萃取-气相-质谱联用; 醋炙; 己醛

中图分类号: R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)02-0338-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.009

Optimization of processing methods for deodorizing *Periplaneta americana* based on subjective and objective smell evaluation combined with analysis of volatile components

DENG Yu-jiao, LI Yan, HE Ya-nan, ZHANG Ding-kun, XU Run-chun, MA Hong-yan

State Key Laboratory of Characteristic Chinese Drug Resources in Southwest China, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To screen a processing method suitable for deodorizing of *Periplaneta americana* (PA) through subjective and objective evaluation combined with changes in volatile components, and explore the mechanism of deodorization. **Methods** Raw, vinegar-processed, wine-processed, wheat bran-processed products of PA were prepared respectively. Volunteer sensory evaluation combined with electronic nose system was used to evaluate the odor difference between raw and processed products to screen a better processed product. HS-SPME-GC-MS and ROAV were used to analyze the key odorous components of PA. The peak area normalization method combined with multivariate statistical analysis were used to analyze the difference of volatile components between raw and processed products to explore the mechanism of processing. **Results** Volunteer scores showed that the average scores of raw, vinegar-processed, wine-processed, wheat bran-processed products were 3.38, 1.25, 2.88, and 3.04, respectively. The results of the electronic nose showed that the Euclidean distance between the raw and vinegar-processed, wine-processed, wheat bran-processed products were 7.34, 3.77 and 1.60, respectively, but the direction of scatter of vinegar-processed product was opposite to that of wine-processed product and wheat bran-processed product, suggesting that the mechanism of deodorization may be different.

收稿日期: 2019-07-26

基金项目: 四川省科技厅杰出青年人才项目 (2019JCQN009)

作者简介: 邓雨娇 (1995—), 女, 在读硕士, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 13548048037 E-mail: 823437591@qq.com

*通信作者 许润春, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药炮制研究。Tel: (028)61800127 E-mail: 309786953@qq.com

马鸿雁, 博士, 副教授, 从事药物分析研究。Tel: (028)61800127 E-mail: 253557538@qq.com

Vinegar processing was determined as the optimum method for deodorizing by comprehensive analysis of subjective and objective evaluation data. The key odor components of PA were 3-methyl butanal, hexanal, nonyl aldehyde, heptaldehyde, decyl aldehyde, phenyl acetaldehyde, (*E,E*)-2,4-nonadienal, 2-pentylfuran, (+)-limonene, and myristic aldehyde. The PCA result of volatile components showed that four kinds of processed products can be clearly distinguished, and there were differences in volatile components and content. There were seven differential chemical components between raw and vinegar-processed products, including hexanal, palmitic acid, oleic acid, acetic acid, ethyl oleate, ethyl palmitate, and ethyl linoleate. The content of vinegar-processed products was lower than that of raw products, especially the key odorous component hexanal. **Conclusion** The vinegar processing is a better method to improve the odor of PA, and its mechanism may be associated with reducing odorous components such as hexanal.

Key words: *Periplaneta americana* L.; processing; deodorizing; odorous components; HS-SPME-GC-MS; vinegar processing; hexanal

美洲大蠊 *Periplaneta americana* L. 是颇具特色的中药与民族药, 具有活血化瘀、清热解毒、消积、生肌等功效^[1]。美洲大蠊疗效可靠, 粉末入药在临床上已有上千年的应用历史。据古代医书及民间典籍记载粉末入药时, 常焙干后吞服、好酒送服、开水或药汁冲服, 用于治疗儿疳初起、疔疮、吐血、臃胀等病症^[2-4]。如今, 好医生药业已将其开发成美洲大蠊精粉、美洲大蠊研末上市销售, 主要功能为抗肿瘤、调节免疫功能, 治疗皮肤损伤、胃溃疡、急性肝损伤等^[5-9]。美洲大蠊精粉与美洲大蠊研末为患者带瘤生存带来新希望, 在临床上获得了专家及患者的认可与推崇, 已经成为临床治疗肿瘤的重要辅助药物。

尽管美洲大蠊精粉、美洲大蠊研末疗效确切, 但其属于昆虫类药材, 腥臭气味突出, 患者接受度不高, 服用时极易产生恶心呕吐等不良反应。因此, 亟需对其进行去腥矫臭研究, 提高患者服药顺应性, 更好地发挥疗效。炮制是动物药去腥矫臭的重要手段, 临床上常用酒炙、醋炙、麸炒、清炒等方法来矫正蛇类、地龙、僵蚕、九香虫等药材的臭味, 以利于患者服用^[10-11]。

本研究采用主客观结合的评价手段, 从麸炒法、酒炙法与醋炙法优选美洲大蠊去腥矫臭炮制方法。利用顶空-固相微萃取-气相-质谱联用 (HS-SPME-GC-MS) 结合相对气味活度值 (ROAV) 法分析美洲大蠊关键性腥臭气味成分, 并通过 OPLS-DA 分析生品与不同炮制品差异性成分, 探究炮制机制, 为美洲大蠊去腥矫臭提供新思路。

1 仪器与试剂

SuperNose-14 型电子鼻, 美国 Isenso Group 公司; BT125D 分析天平, 德国 Satorius 公司; 6890N-G5795B 型气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦公司;

50 μm /30 μm DVB/CAR on PDMS 萃取纤维头, 美国 Supelco 公司; TU-1810 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器责任有限公司; 丙氨酸对照品, 质量分数大于 98.0%, 成都克洛玛生物科技有限公司, 批号 CHB160920; 黄酒, 批号 20180517D, 浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司; 米醋, 批号 CC115302B, 佛山市海天调味食品股份有限公司; 麦麸, 批号 20181205, 邯郸市北留望天峰米面加工厂; 美洲大蠊药材购自云峰美洲大蠊 (药用蟑螂) 养殖基地, 经成都中医药大学胡昌江教授鉴定为蜚蠊科大蠊属动物美洲大蠊 *Periplaneta americana* L. 干燥全体。

2 方法与结果

2.1 美洲大蠊不同炮制品的制备

2.1.1 生品 取美洲大蠊药材 300 g, 去除杂质后打粉过二号筛, 即得。

2.1.2 麸炒品 参考相关文献方法^[11]并结合前期实验筛选结果对炮制条件做一定调整后, 进行炮制得到炮制品。先将锅用加热至 300 $^{\circ}\text{C}$, 均匀撒入麦麸 45 g, 即刻烟起, 投入美洲大蠊生品 300 g, 迅速拌炒 5 min, 筛去麸皮, 晾凉后打粉过二号筛, 再置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱内烘制 3.5 h, 即得。

2.1.3 酒炙品 参考相关文献方法^[11]并结合前期实验筛选结果对炮制条件做一定调整后, 进行炮制得到炮制品。取美洲大蠊生品 300 g, 加入黄酒 60 g, 拌匀后闷润 4.5 h, 至已预热炒制容器内, 120 $^{\circ}\text{C}$ 炒制 40 min, 取出, 晾凉后打粉过二号筛, 再置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱内烘制 3.5 h, 即得。

2.1.4 醋炙品 参考相关文献方法^[12]并结合前期实验筛选结果对炮制条件做一定调整后, 进行炮制得到炮制品。取美洲大蠊生品 300 g, 加入米醋 60 g, 拌匀后闷润 4.5 h, 至已预热炒制容器内, 120 $^{\circ}\text{C}$ 炒

制 40 min, 取出, 晾凉后打粉过二号筛, 再置于 60 °C 烘箱内烘制 3.5 h, 即得。

2.2 美洲大蠊腥臭气味感官评价

经过培训及筛选后, 选择了身体健康、无鼻炎、嗅觉正常、无不良嗜好的 12 名评定员组成评定小组对本次实验进行感官评定。在评定前 4 h, 评定员不得抽烟饮酒, 不得食用具有严重气味的食物, 不得使用带有气味的化妆品、香水等。本研究腥臭气味评定采用 5 分制, 0 分: 无腥臭气味; (0~1] 分: 略有腥臭气味; (1~2] 分: 腥臭气味较弱; (2~3] 分: 腥臭气味明显; (3~4] 分: 腥臭气味极重; (4~5] 分: 无法忍受的腥臭气味。分别称取生品、麸炒品、酒炙品与醋炙品各 3.0 g, 装入样品杯内, 密闭 30 min 后进行评定, 样品评定结束后休息 10 min 再进行下一份样品的评定。

采用 HemI 软件对感官评定结果进行热图分析, 如图 1-A 所示, 其中 V1~V12 分别代表 12 名评定员, 图中蓝、绿、红分别表示低、中、高丰度, 丰度越高表明感官评分得分越高。热图中生品、麸炒品得分多处于高、中丰度, 酒炙品得分主要处于中、低丰度, 醋炙品均处于低丰度, 说明酒炙品、醋炙品感官评分低于生品。图 1-B 为 12 名评定员对 4 种炮制品感官评分的平均分, 生品、麸炒品、酒炙品、醋炙品平均分分别为 3.38、3.04、2.88、1.25, 生品、麸炒品腥臭气味极重, 酒炙品腥臭气味明显, 醋炙腥臭气味较弱。

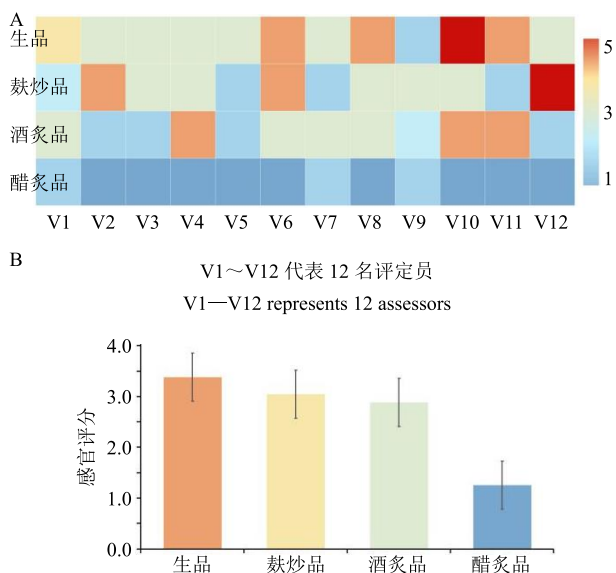


图 1 感官评定热图 (A) 及感官评分 (B) 结果

Fig. 1 Results of sensory evaluation hot map (A) and sensory score (B)

2.3 电子鼻系统评价

SuperNose-14 型电子鼻包含 14 个具有不同性质的金属氧化物半导体传感器, 不同传感器对不同的挥发性物质有特殊的识别。称取 5.0 g 样品, 置于顶空瓶中, 附上封口膜, 静置 30 min, 于室温 (25 °C) 进行数据采集。样品采集参数: 载气为干燥空气, 气体体积流量 1 L/min, 清洗体积流量 6 L/min, 测试时间 40 s, 等待时间 10 s, 进样体积 10 mL。每个样品平行测定 3 次, 选取每根传感器感应值的最大值进行数据分析。

2.3.1 主成分分析 (PCA) 采用 Simca 13.0 软件对原始数据进行标准化处理, 进行 PCA, 结果如图 2 所示。结果表明, 对数据进行降维后, 共提取得到 2 个主成分, 第 1 主成分贡献率为 91.8%, 第 2 主成分贡献率为 6.5%, 二者总贡献率为 98.3%, 基本可以代表样品的全部信息。美洲大蠊生品、麸炒品、酒炙品、醋炙品分布于不同的区域, 互相无重叠, 表明 4 者气味存在明显差异, 电子鼻可以对美洲大蠊不同炮制品进行良好地区分。

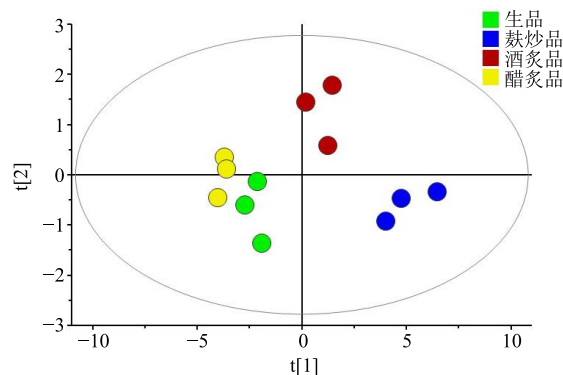


图 2 美洲大蠊不同炮制品电子鼻 PCA 得分图

Fig. 2 PCA diagram of electronic nose from different processed products of PA

欧式距离 (Euclidean distance, D) 是 m 维空间中 2 个点的真实距离, 常用来表征样品间的相似度。2 维与 3 维空间中欧式距离计算公式如下。

$$D = \left[\sum_{i=1}^k (x_i - y_i)^2 \right]^{1/2}$$

k 表示每个样本有 k 个变量, x_i 为第 1 个变量在 i 个变量上的取值, y_i 为第 2 个变量在 i 个变量上的取值

按上述公式计算得醋炙品、酒炙品与麸炒品与生品间的欧式距离分别为 7.34、3.77、1.68, 但从图 2 中 PCA 散点分布图来看, 麸炒品与酒炙品位于生品右侧, 醋炙品位于生品左侧, 分布方向相反, 提示可能作用机制有异。

2.3.2 主客观综合分析模型 采用偏最小二乘回归法 (PLS) 建立美洲大蠊腥臭气味综合分析模型, 以美洲大蠊腥臭气味感官评价结果为横坐标, 电子鼻传感器响应值为纵坐标, 将主客观评价结果结合分析, 结果如图 3 所示。感官评价结果与电子鼻测定结果相关系数为 0.901 7, 说明电子鼻检测腥臭气味结果与感官评价结果较为一致。因此, 综合感官评价与电子鼻评价系统结果, 确定醋炙为较优去腥矫臭炮制方法。

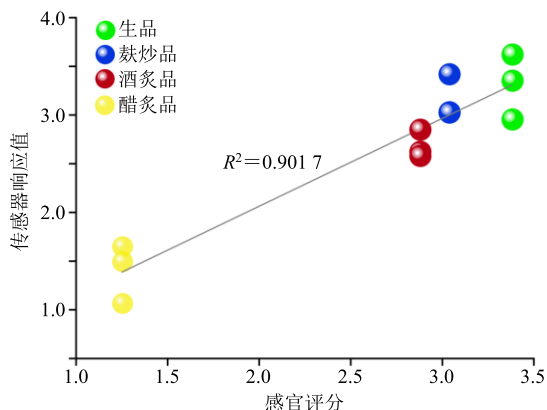


图 3 主客观评价 PLS 分析

Fig. 3 PLS analysis of subjective and objective evaluation

2.4 顶空-固相微萃取-气相-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 分析腥臭味成分

2.4.1 HS-SPME 条件 分别称取美洲大蠊生品、醋炙品、酒炙品、麸炒品 3.0 g 样品于顶空瓶中, 加入 3 mL 饱和氯化钠溶液迅速密封。用带有 50 μm/30 μm DVB/CAR on PDMS (二乙烯苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷) 萃取纤维头的手动进样器插入瓶内于 70 °C 水浴下平衡 30 min, 再压缩手柄伸出萃取头萃取 30 min, 取出, 立即插入气相色谱仪进样口 (250 °C), 进样口解吸 5 min。

2.4.2 GC-MS 条件 (1) GC 条件: HP-5MS 石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 升温程序: 初始柱温 35 °C 保持 2 min, 以 5 °C/min 升至 230 °C 保持 5 min; 载气为高纯度氦气, 载气体积流量 1.0 mL/min, 进样口温度为 250 °C, 不分流进样。(2) MS 条件: 电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 230 °C, 四级杆温度 180 °C, 电子能量 70 eV, 检测范围 *m/z* 35~550; 质谱库: NIST05a。总离子流如图 4 所示。

2.4.3 挥发性成分鉴定 通过 NIST05a 谱库检索, 取匹配度大于 80% 的成分为目标成分, 采用面积归一化法, 计算各成分相对百分含量, 鉴定结果如表

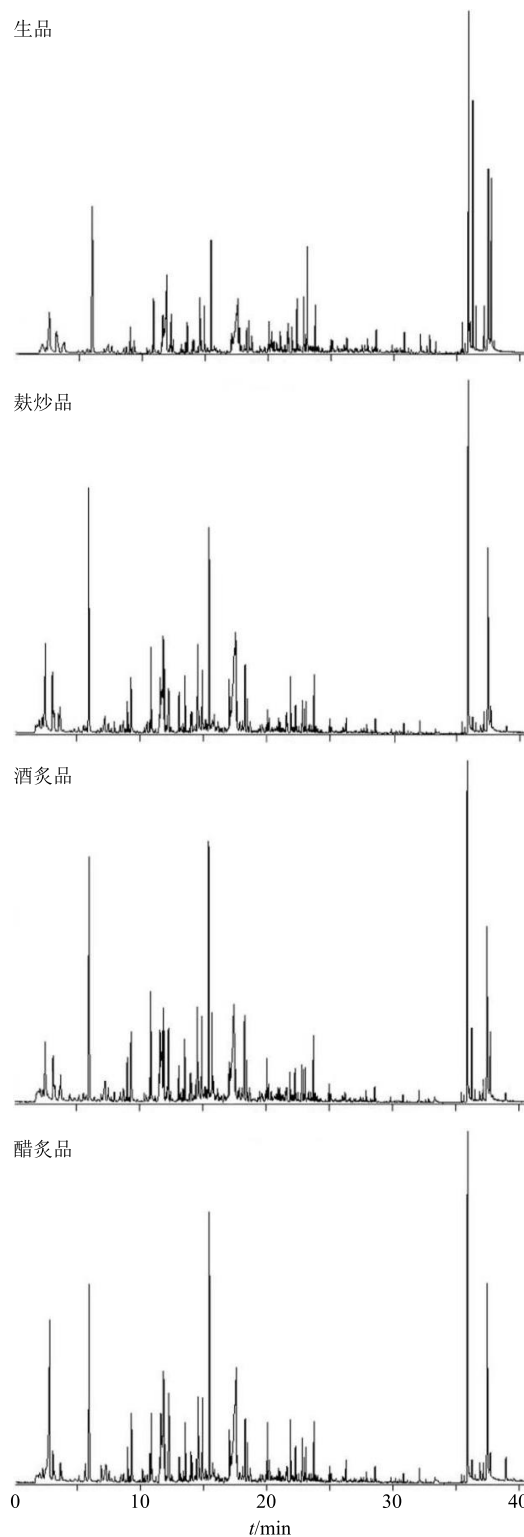


图 4 美洲大蠊不同炮制品 HS-SPME-GC-MS 总离子流图
Fig. 4 Total ion flow diagram of volatile components in different processed products of PA

1 所示。从 4 种炮制品中共鉴定出 55 种化合物, 其中生品 34 种、麸炒品 34 种、酒炙品 36 种、醋炙品 41 种。

表1 美洲大蠊不同炮制品挥发性成分及相对百分含量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Components and content of volatile components in different processed products of PA ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	化合物名称	分子式	相对百分含量/%				嗅觉阈值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ROAV
			生品	麸炒品	酒炙品	醋炙品		
1	3-甲基丁醛 (3-methyl butyraldehyde)	C ₅ H ₁₀ O	2.05±0.74	3.29±0.94	2.33±0.31	1.00±0.87	0.20	100.00
2	戊醛 (pentanal)	C ₅ H ₁₀ O	—	—	—	1.02±0.14	—	—
3	己醛 (hexanal)	C ₆ H ₁₂ O	11.48±1.90	11.50±1.90	9.21±1.37	7.79±0.90	5.00	24.89
4	庚醛 (heptaldehyde)	C ₇ H ₁₄ O	1.27±0.11	1.27±0.18	1.21±0.20	1.17±0.15	10.00	1.24
5	辛醛 (octyl aldehyde)	C ₈ H ₁₆ O	—	—	3.11±0.39	—	—	—
6	壬醛 (nonyl aldehyde)	C ₉ H ₁₈ O	4.35±1.05	7.82±1.28	6.70±0.61	7.83±0.88	3.50	12.12
7	糠醛 (furfural)	C ₅ H ₄ O ₂	—	—	—	0.96±0.16	—	—
8	癸醛 (decyl aldehyde)	C ₁₀ H ₂₀ O	1.27±0.35	1.45±0.29	1.39±0.08	1.16±0.13	5.00	2.48
9	(Z)-2-庚烯醛 [(Z)-2-heptenal]	C ₇ H ₁₂ O	—	0.52±0.45	0.72±0.10	0.82±0.18	—	—
10	苯甲醛 (benzaldehyde)	C ₇ H ₆ O	2.85±0.24	4.38±0.73	3.93±0.32	2.52±0.31	300.00	0.09
11	苯乙醛 (phenyl acetaldehyde)	C ₈ H ₈ O	2.34±0.46	2.95±0.31	2.48±0.16	2.39±0.28	9.00	2.54
12	2-丁基-2-辛烯醛 (2-butyl-2-octenal)	C ₁₂ H ₂₂ O	2.96±1.22	1.24±0.13	1.15±0.14	1.07±0.12	—	—
13	(E,E)-2,4-壬二烯醛 (E,E-2,4-nonadienal)	C ₉ H ₁₄ O	0.55±0.15	0.68±0.12	0.68±0.03	0.60±0.06	0.09	59.62
14	(E)-2-辛烯-1-醛 [(E)-2-octen-1-al]	C ₈ H ₁₄ O	—	0.83±0.06	—	0.92±0.12	—	—
15	(E)-2-癸醛 [(E)-2-necenal]	C ₁₀ H ₁₈ O	0.90±0.36	—	—	1.48±0.31	—	—
16	反-2-壬烯醛 (trans-2-nonenal)	C ₉ H ₁₆ O	—	—	—	0.92±0.12	—	—
17	反-2-癸烯醛 (trans-2-decenal)	C ₁₀ H ₁₈ O	—	1.10±0.32	—	—	—	—
18	(E,E)-2,4 癸二烯醛 (E,E-2,4-decadienal)	C ₁₀ H ₁₆ O	0.78±0.67	—	—	—	—	—
19	肉豆蔻醛 (myristic aldehyde)	C ₁₄ H ₂₈ O	0.51±0.46	—	—	—	14.00	0.36
20	2,6-二甲基吡嗪 (2,6-dimethylpyrazine)	C ₆ H ₈ N ₂	0.91±0.23	3.64±0.34	2.97±0.30	3.36±0.43	—	—
21	2,3,5-三甲基吡嗪 (2,3,5-trimethylpyrazine)	C ₇ H ₁₀ N ₂	—	—	—	0.86±0.76	—	—
22	四甲基吡嗪 (tetramethylpyrazine)	C ₈ H ₁₂ N ₂	2.39±0.59	2.60±0.42	2.55±0.24	2.71±0.33	—	—
23	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪 (3-ethyl-2,5-dimethyl-pyrazine)	C ₈ H ₁₂ N ₂	—	0.73±0.08	0.56±0.02	—	—	—
24	2-乙酰基吡咯 (2-acetyl pyrrole)	C ₆ H ₇ NO	—	0.82±0.09	0.59±0.02	0.57±0.07	—	—
25	吲哚 (indole)	C ₈ H ₇ N	0.84±0.31	0.71±0.05	—	—	140.00	0.06
26	2,3-丁二醇 (2,3-butanediol)	C ₄ H ₁₀ O ₂	—	—	—	1.59±0.67	—	—
27	1-辛醇 (1-octyl alcohol)	C ₈ H ₁₈ O	—	—	—	0.43±0.37	—	—
28	苯乙醇 (phenylethyl alcohol)	C ₈ H ₁₀ O	—	—	2.45±0.17	—	—	—
29	苯酚 (phenol)	C ₆ H ₅ OH	1.65±0.44	1.94±0.24	1.88±0.10	2.28±0.55	—	—
30	对甲酚 (p-cresol)	C ₇ H ₈ O	3.28±0.12	4.68±0.49	4.11±0.02	3.93±0.55	—	—
31	2-戊基呋喃 (2-pentylfuran)	C ₉ H ₁₄ O	2.91±1.45	2.34±0.52	1.83±0.28	1.04±0.91	4.80	5.92
32	(+)-柠檬烯 [(+)-limonene]	C ₁₀ H ₁₆	0.60±0.15	2.15±0.38	1.37±0.14	1.19±0.10	10.00	58.00
33	十二烷 (dodecane)	C ₁₂ H ₂₆	1.19±0.18	2.37±0.44	2.19±0.13	1.84±0.17	2.04×10 ³	0.01

续表 1

编号	化合物名称	分子式	相对百分含量/%				嗅觉阈值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ROAV
			生品	麸炒品	酒炙品	醋炙品		
34	十四烷 (tetradecane)	C ₁₄ H ₃₀	1.47 ± 0.54	1.17 ± 0.11	2.05 ± 0.25	1.75 ± 0.19	1.10 × 10 ⁵	1.00 × 10 ⁻³
35	十六烷 (hexadecane)	C ₁₆ H ₃₄	0.52 ± 0.47	—	—	0.51 ± 0.06	—	—
36	十七烷 (heptadecane)	C ₁₇ H ₃₆	0.47 ± 0.42	—	—	—	—	—
37	3-甲基十三烷 (3-methyltridecane)	C ₁₄ H ₃₀	0.44 ± 0.38	0.81 ± 0.11	0.88 ± 0.11	—	—	—
38	3-甲基十四烷 (3-methyltetradecane)	C ₁₅ H ₃₂	—	—	—	0.68 ± 0.06	—	—
39	2,2,4,6,6-五甲基庚烷 (2,2,4,6,6-pentamethyl-heptane)	C ₁₂ H ₂₆	—	2.87 ± 0.51	2.14 ± 0.73	—	—	—
40	N-壬基环戊烷 (N-nonylcyclopentane)	C ₁₄ H ₂₈	—	0.60 ± 0.07	0.65 ± 0.08	0.53 ± 0.05	—	—
41	六甲基环三硅氧烷 (hexamethylcyclotrisiloxane)	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	0.39 ± 0.35	—	—	—	—	—
42	间二甲苯 (m-xylene)	C ₈ H ₁₀	—	0.53 ± 0.07	—	—	—	—
43	辛酸 (octanoic acid)	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.74 ± 0.66	—	—	—	500.00	0.01
44	壬酸 (nonanoic acid)	C ₉ H ₁₈ O ₂	0.53 ± 0.54	0.84 ± 0.05	0.80 ± 0.10	—	—	—
45	肉豆蔻醛 (myristaldehyde)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	—	0.34 ± 0.30	—	0.56 ± 0.12	—	—
46	棕榈酸 (palmitic acid)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	13.37 ± 7.76	10.42 ± 2.03	10.47 ± 2.66	10.47 ± 1.41	>1.0 × 10 ⁸	<1.30 × 10 ⁻⁶
47	亚油酸 (linoleic acid)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	—	1.11 ± 0.20	1.15 ± 0.20	1.24 ± 0.28	—	—
48	油酸 (oleic acid)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	16.67 ± 21.65	5.17 ± 1.01	5.45 ± 0.97	5.49 ± 1.19	>1.0 × 10 ⁸	<1.62 × 10 ⁻⁶
49	硬脂酸 (stearic acid)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	—	0.52 ± 0.50	—	0.94 ± 0.37	—	—
50	醋酸 (acetic acid)	C ₂ H ₄ O ₂	4.86 ± 4.26	—	3.24 ± 0.41	—	>2.2 × 10 ⁴	<2.16 × 10 ⁻³
51	4-甲基戊酸 (4-methylvaleric acid)	C ₆ H ₁₂ O ₂	—	0.87 ± 0.13	—	—	—	—
52	油酸甲酯 (stearic acid)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.45 ± 0.53	—	—	—	>1.0 × 10 ⁸	<4.39 × 10 ⁻⁸
53	油酸乙酯 (ethyl oleate)	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	3.04 ± 1.52	—	1.59 ± 0.29	0.66 ± 0.24	—	—
54	棕榈酸乙酯 (ethyl palmitate)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.49 ± 2.19	—	1.45 ± 0.29	—	—	—
55	亚油酸乙酯 (ethyl linoleate)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	2.89 ± 1.79	—	1.32 ± 0.24	—	—	—

“—”表示未检测出

“—” means that the components have not been detected

2.4.4 关键腥臭气味物质分析 各挥发性物质的嗅觉阈值^[13-17]及质量浓度决定了美洲大蠊的气味,为进一步确定关键性腥臭气味物质,参考相关文献方法^[18],采用相对气味活度值(relative odor activity value, ROAV)量化对总体气味贡献最大的成分。

在生品中,3-甲基丁醛相对含量较高且嗅觉阈值很低,将其定义为对腥臭气味贡献最大的成分,ROAV_{max} = 100,则其他挥发性成分 ROAV_i = 100 C_iT_{max}/(C_{max}T_i), C_i和 T_i分别为各挥发性成分的相对百分含量和相对应的嗅觉阈值, C_{max}和 T_{max}分别为对腥臭气味贡献最大的成分的相对百分含量和对腥

臭气味贡献最大的成分的感觉阈值。所有成分的 ROAV 均 ≤ 100,且 ROAV 值越大的成分对整体腥臭气味贡献越大。一般认为 ROAV ≥ 1 的成分为样品的关键气味物质,0.1 ≤ ROAV < 1 的成分对样品的整体气味具有重要的修饰作用。生品中各成分 ROAV 值见表 1。结果显示 3-甲基丁醛、己醛、壬醛、庚醛、癸醛、苯乙醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、2-戊基呋喃、(+)-柠檬烯是构成美洲大蠊腥臭气味物质的关键性物质,肉豆蔻醛对腥臭气味的修饰有重要作用。

2.4.5 PCA 采用 Simca 13.0 软件对美洲大蠊不同

炮制品中鉴定出的挥发性成分含量进行 PCA 分析, 共提取 4 个主成分, 方差累积贡献率为 84.55%, 其得分图如图 5 所示。根据散点图分布位置, 所有炮

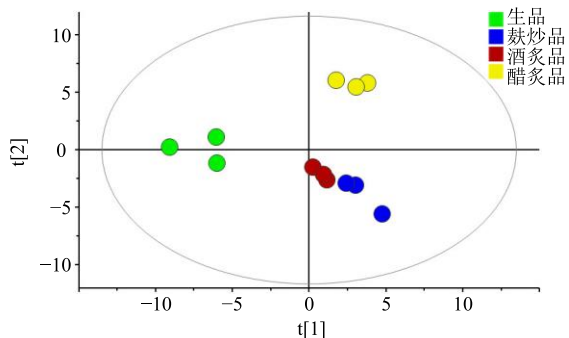


图 5 美洲大蠊不同炮制品挥发性成分 PCA 得分图

Fig. 5 PCA diagram of volatile components from different processed products of PA

制品均可区分开, 表明不同炮制品挥发性气味成分及含量存在明显差异。

2.4.6 正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 为进一步确定生品与麸炒品、酒炙品、醋炙品成分的差异性, 采用 Simca 13.0 软件进行 OPLS-DA 建模分析, 利用 S-plot 图确定其差异化合物。生品与不同炮制品的 OPLS-DA 得分图与 S-plot 图如图 6 所示。生品与麸炒品 OPLS-DA 模型 $R^2=0.999$, $Q^2=0.998$; 生品与酒炙品 OPLS-DA 模型 $R^2=0.999$, $Q^2=0.993$; 生品与醋炙品 OPLS-DA 模型 $R^2=0.995$, $Q^2=0.819$, 表明模型建立良好, 能较好地概括解释成分的差异。OPLS-DA 模型中符合 $VIP > 1.0$, $P_{corr} > 0.4$ 的化合物确认为差异化合物。

从图 6 的 OPLS-DA 得分图中得出, 生品与麸

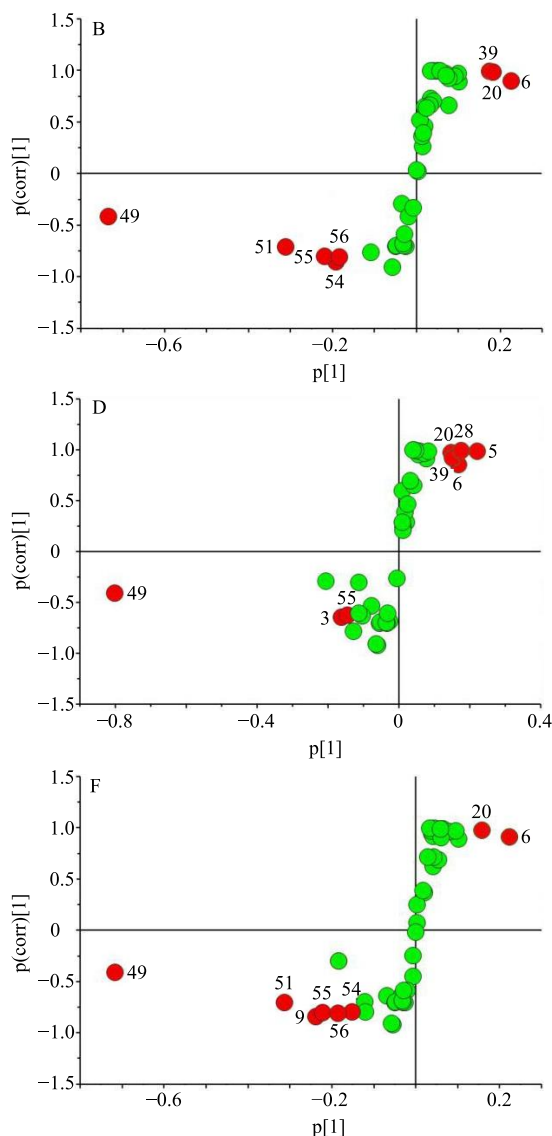
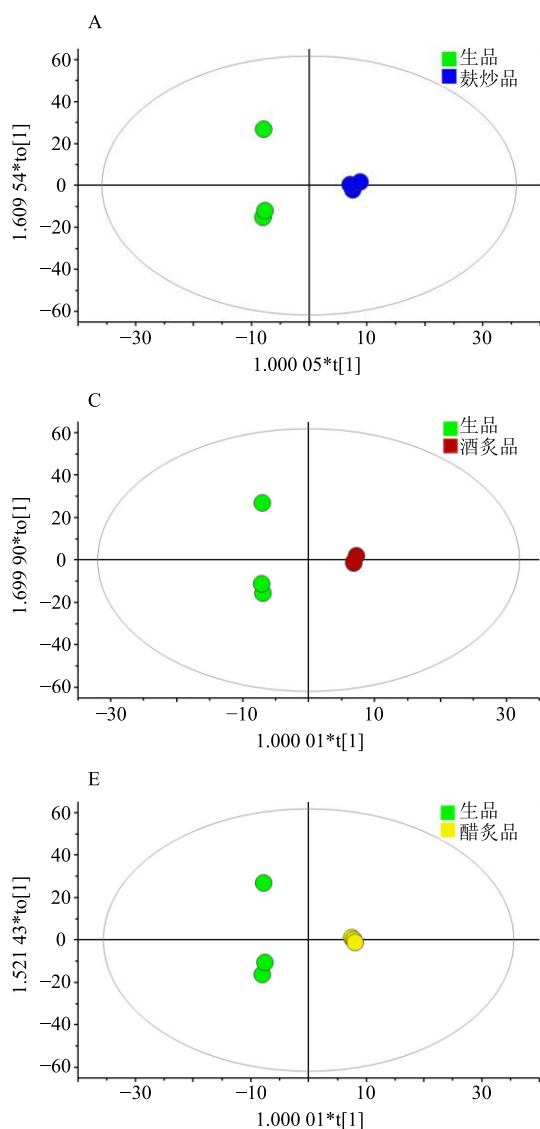


图 6 生品与不同炮制品 OPLS-DA 得分图 (A、C、E) 和 S-plot 图 (B、D、F)

Fig. 6 OPLS-DA (A, C, E) and S-plot diagram (B, D, F) from raw and different processed products of PA

炒品、生品与酒炙品、生品与醋炙品分别处于不同区域，可被区分开，说明生品与不同炮制品成分存在明显差异，同时结合图 6 中 S-plot 图，确定差异化合物。

图 6-A、B 分析得出生品与麸炒品中存在 8 种差异化合物：壬醛、油酸、2,6-二甲基吡嗪、2,2,4,6,6-五甲基庚烷、油酸乙酯、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯、醋酸。图 6-C、D 分析得出生品与酒炙品中存在 8 种差异化合物：壬醛、己醛、辛醛、苯乙醇、2,2,4,6,6-五甲基庚烷、油酸、2,6-二甲基吡嗪、棕榈酸乙酯。图 6-E、F 分析得出生品与醋炙品中存在 8 种差异化合物：己醛、壬醛、2,6-二甲基吡嗪、油酸、醋酸、油酸乙酯、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯。

2.4.7 差异性成分含量比较 对生品与 3 种不同炮制品中鉴定出差异化合物的相对含量进行对比分

析，结果如图 7 所示。结果表明，麸炒品中差异性成分油酸、醋酸、油酸乙酯、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯含量减少，壬醛、2,6-二甲基吡嗪、2,2,4,6,6-五甲基庚烷含量增加。酒炙品中己醛、油酸、棕榈酸乙酯含量减少，壬醛、辛醛，苯乙醇、2,6-二甲基吡嗪、2,2,4,6,6-五甲基庚烷含量增加。醋炙品中己醛、醋酸、油酸乙酯、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯含量减少，壬醛、2,6-二甲基吡嗪含量增加。

差异化合物中，己醛为美洲大蠊关键性腥臭味成分，麸炒品与生品含量无明显差异，在酒炙品与醋炙品含量减少，且醋炙品中减少更为明显。2,6-二甲基吡嗪在 3 种炮制品中均有增加，且麸炒品与醋炙品中增加量大于酒炙品。该物质具有烘烤坚果的香味^[19]，且嗅阈值较低，因此对于掩盖美洲大蠊腥臭气味有一定贡献。

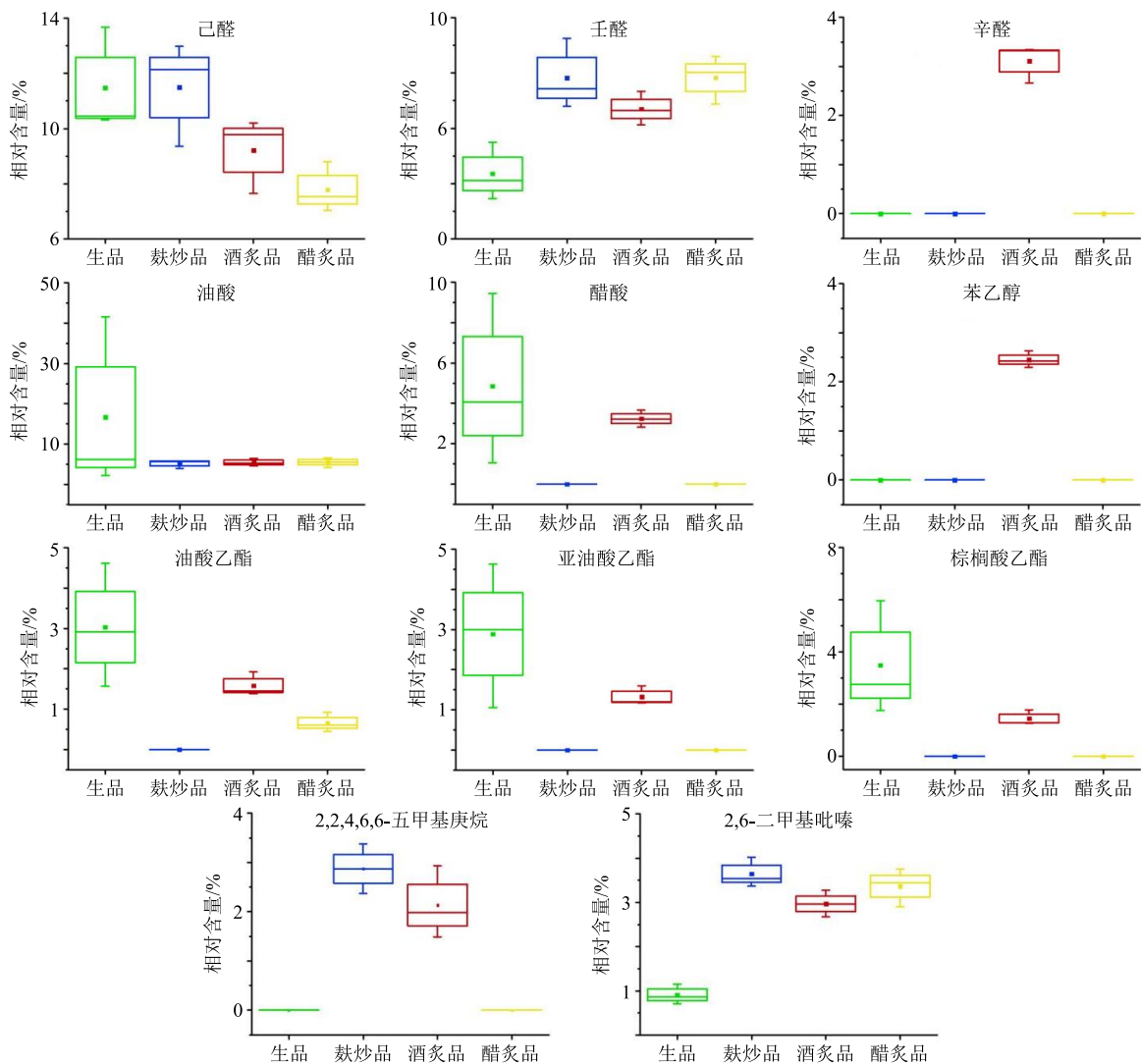


图 7 美洲大蠊不同炮制品差异化合物的相对含量

Fig. 7 Relative content of marker compounds in different processed products from PA

综上所述, 麸炒品中关键性腥臭气味成分含量并未出现差异, 但 2,6-二甲基吡嗪含量的增加起到一定矫正气味的作用, 因此, 腥臭气味略有改善但效果不佳。酒炙品中与醋炙品中 2,6-二甲基吡嗪含量的增加且关键性腥臭气味成分己醛减少, 使得腥臭气味有所改善。醋炙品中 2,6-二甲基吡嗪的增加量与己醛减少量高于酒炙品, 因此醋炙品腥臭气味的减轻更为明显。

2.5 总氨基酸含量测定^[20]

2.5.1 对照品溶液制备 精密称取丙氨酸对照品适量, 用水稀释得到质量浓度为 25.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.5.2 线性关系考察 精密量取丙氨酸对照品溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 分别置于 10 mL 具塞量瓶中, 加水使成 1.0 mL。加 0.2 mol/L 枸橼酸缓冲液(pH 5.0)1.0 mL, 1%抗坏血酸溶液 0.1 mL, 茚三酮乙二醇甲醚试液 3.0 mL, 摇匀, 置沸水浴中加热 15 min。取出, 放冷, 再加 80%乙醇 3.0 mL, 摇匀, 在 570 nm 波长处测定吸光度 (A) 值, 以 A 值为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=0.2622X+0.0482$, $r^2=0.9992$ 。结果表明丙氨酸在 5.006~25.030 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2.5.3 供试品溶液的制备 取美洲大蠊生品粗粉 5 g, 至锥形瓶中, 加乙醇 100 mL, 水浴上回流提取 3 h, 滤过, 残渣加乙醇 100 mL, 再次提取 1 h, 滤过。合并滤液, 回收乙醇至干, 残渣加水 40 mL, 水浴上加热 10 min 使溶解。放冷, 滤过, 滤液转移至 50 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL, 至 50 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.5.4 精密度试验 取氨基酸对照品溶液, 显色后连续测定 6 次, 计算 A 值的 RSD 为 0.13%, 表明仪器精密度良好。

2.5.5 重复性试验 取同一批美洲大蠊生品 6 份, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 显色后测定 A 值, 计算 A 值的 RSD 为 2.89%, 表明该方法重复性良好。

2.5.6 稳定性试验 取美洲大蠊生品粗粉, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 显色后每隔 1 h 测定 A 值, 共测定 5 h, 计算 A 值的 RSD 为 1.38%, 表明供试品溶液在 5 h 内稳定性良好。

2.5.7 加样回收率试验 取已知总氨基酸含量的美

洲大蠊生品粗粉 6 份, 加入等量丙氨酸对照品, 按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 显色后测定 A 值, 计算其 RSD 为 1.50%, 表明加样回收率良好。

2.5.8 样品测定 分别取美洲大蠊不同炮制品按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液, 显色后测定 A 值, 结果如表 2 所示。结果表明, 与生品相比, 醋炙品与酒炙品氨基酸含量明显增加, 麸炒品氨基酸含量显著减少。

表 2 不同炮制品总氨基酸及醇溶性浸出物含量比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Comparison of total amino acids and alcohol-soluble extract in different processed products ($\bar{x} \pm s, n=3$)

种类	总氨基酸/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	醇溶性浸出物/%
生品	6.01 \pm 0.17	17.78 \pm 0.38
醋炙品	7.01 \pm 0.13*	19.75 \pm 0.29*
酒炙品	6.56 \pm 0.19*	20.43 \pm 0.86*
麸炒品	5.26 \pm 0.38*	18.39 \pm 0.22

与生品比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs raw products

2.6 醇溶性浸出物含量测定

以乙醇为溶剂, 参照《中国药典》2015 年版一部中醇溶性浸出物测定法(通则 2201)进行测定, 结果如表 2 所示。结果表明, 与生品相比, 醋炙品与酒炙品醇溶性浸出物含量明显增加, 麸炒品浸出物无明显变化。

3 讨论

美洲大蠊以粉末入药历史悠久, 现已开发出美洲大蠊精粉、美洲大蠊研末 2 种产品上市销售, 但其腥臭气味严重的问题尚未探寻到良好的解决方式。本实验通过志愿者感官评价、电子鼻检测、HS-SPME-GC-MS 分析及含量测定, 最终筛选出醋炙更适宜于美洲大蠊的去腥矫臭。在粉末状态下对美洲大蠊进行去腥矫臭, 对美洲大蠊精粉、美洲大蠊研末 2 种产品的品质提升具有重要意义。在临床应用上, 有望于提高患者接受度, 更好地发挥药效。

HS-SPME-GC-MS 结合 ROAV 法分析得出美洲大蠊关键性腥臭味成分, 其中绝大部分为醛类物质, 醛类物质通常嗅阈值低, 具有特殊气味, 因此在腥臭味组成中有独到的贡献。经 PCA、OPLS-DA 分析, 比较生品与麸炒品、酒炙品、醋炙品挥发性成分差异, 结果表明麸炒品中关键性腥臭气味成分无明显差异, 酒炙品与醋炙品中关键性腥臭气味成分己醛含量降低。己醛是一种常见的油脂氧化分解的

产物,其含量越高,油脂氧化程度越大^[21]。美洲大蠊体内含有大量的油脂^[22],经高温炮制可加速油脂的氧化^[23],而麸炒温度高于酒炙、醋炙,可能会分解产生更多的己醛,使得挥发不完全,这可能是造成麸炒品中己醛含量与生品中含量无明显差异,而酒炙与醋炙己醛含量降低的原因。更深入的炮制机制还有待进一步研究。

本实验参照《四川省中药材标准》2010年版中美洲大蠊项下质控标准,同时测定了氨基酸及醇溶性浸出物含量。醋炙品中二者含量均高于生品,说明醋炙可增加有效成分的含量,这可能是由于醋和高温的催化,促进了有效成分的溶出。但加入辅料醋及高温炮制是否会影响其他有效成分和药效有待考证。

参考文献

- [1] 李奇娟,王战国,刘巧,等.美洲大蠊研究现状及其中关键问题分析与展望[J].中国中药杂志,2018,43(7):1507-1516.
- [2] 赵学敏.本草纲目拾遗[M].北京:人民卫生出版社,1957.
- [3] 江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海人民出版社,1986.
- [4] 何建疆,黄晴岚.中国哈尼族医药[M].昆明:云南民族出版社,1999.
- [5] 林喆,李全学,徐静,等.美洲大蠊化学成分和生物活性研究进展[J].中草药,2017,48(17):3645-3649.
- [6] 甘平,张旭强,何旭,等.美洲大蠊醇提物对小鼠急性肝损伤的保护作用[J].现代药物与临床,2011,26(2):123-128.
- [7] 李辉,武斌.美洲大蠊研末对胃癌患者血清VEGF和MMP-3水平的影响[J].特别健康,2017,7(16):246-247.
- [8] 王婷,王潇,李佳鑫,等.美洲大蠊药渣中多糖制备工艺优化及促创面愈合的综合利用研究[J].中草药,2019,50(10):2339-2346.
- [9] 庄玲,王慧敏.康复新液和美洲大蠊研末联合德莫林在头颈部肿瘤放射性皮肤损伤的应用研究[J].实用药物与临床,2019,22(1):53-56.
- [10] 龚千峰.中药炮制学[M].北京:中国中医药出版社,2012.
- [11] 中国药典.一部[S].2015.
- [12] 李钟,黄艳玲,李文珊.炮制对广地龙次黄嘌呤和肌苷含量的影响[J].中药材,2009,32(1):31-33.
- [13] Zhang Y R, Zhang S W, Fan W X, et al. Identification of volatile compounds and odour activity values in quinoa porridge by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Sci Food Agr*, 2019, 99(8): 3957-3966.
- [14] 王瑞花,陈健初,叶兴乾,等.黄酒对猪肉炖煮过程挥发性风味物质变化的影响[J].现代食品科技,2015,31(12):406-415.
- [15] 刘登勇,周光宏,徐幸莲.确定食品关键风味化合物的一种新方法:“ROAV”法[J].食品科学,2008,29(7):370-374.
- [16] 王丹,丹彤,孙天松,等.SPME-GC-MS结合ROAV分析单菌及复配发酵牛乳中关键性风味物质[J].食品科学,2017,38(8):153-160.
- [17] 姬雪可,杨璐,郑丽敏.应用气相色谱-质谱联用与感官评价分析猪肉丸子风味[J].肉类研究,2017,31(7):44-49.
- [18] Zhuang K, Wu N, Wang X, et al. Effects of 3 feeding modes on the volatile and nonvolatile compounds in the edible tissues of female Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Food Sci*, 2016, 81(4): S968-S981.
- [19] 高晓玲.花生中香味成分的研究与分析[J].生物技术世界,2012,10(2):41-43.
- [20] 四川省中药材标准[S].成都:四川科学技术出版社,2010.
- [21] 周玮婧,江小明,王澍.静态顶空与顶空固相微萃取-气相色谱法测定食用油中正己醛含量比较[J].食品工业科技,2016,37(19):311-313.
- [22] 李江维,许润春,王鹏飞.去油制霜炮制程度对美洲大蠊防治CCl₄致肝损伤作用的影响[J].中药材,2016,39(12):2753-2757.
- [23] 孙旭媛,刘元法,李进伟.HS-SPME-GC-MS分析4种植物油加热氧化挥发性产物[J].中国油脂,2018,43(10):27-32.