

## 基于 Heracles NEO 超快速气相色谱电子鼻对温郁金醋制前后气味差异标志物的快速识别研究

秦宇雯<sup>1</sup>, 费程浩<sup>1#</sup>, 苏联麟<sup>1</sup>, 季德<sup>1</sup>, 李昱<sup>1</sup>, 张伟<sup>1,2</sup>, 姜梁钰<sup>1</sup>, 毛春芹<sup>1,3\*</sup>, 陆兔林<sup>1,3\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

3. 江苏省中医外用开发与应用工程研究中心, 江苏 南京 210023

**摘要:** 目的 基于 Heracles NEO 超快速气相色谱电子鼻对温郁金醋制前后气味差异标志物进行快速识别研究, 拟建立一种基于气味的有效快速识别方法。方法 通过建立生、醋温郁金的 Heracles NEO 检测方法, 结合 Arochembase 数据库, 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA)、判别因子分析 (discriminant factor analysis, DFA) 和变量投影重要性指标 (variable importance in projection, VIP) 方法, 对其色谱峰进行数据处理和分析。结果 经 Heracles NEO 检测, 温郁金共 18 个色谱峰, 利用 Arochembase 数据库表征出 17 个气味成分, 采用 PCA、DFA 均能将生、醋温郁金准确区分, 通过 OPLS-DA 模型中 VIP 值分析, 在 MXT-5 和 MXT-1701 色谱柱下, 5、6、10 号色谱峰的 VIP 均 > 1.0, 推测  $\gamma$ -松油烯、芳樟醇、乙酸癸酯是生、醋温郁金的潜在气味差异标志物。结论 Heracles NEO 可应用于生、醋温郁金的气味差异标志物快速识别, 具有重要的应用价值。

**关键词:** 温郁金; 醋制; Heracles NEO; 气味差异标志物; 快速识别;  $\gamma$ -松油烯; 芳樟醇; 乙酸癸酯

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)05-1313-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.05.004

## Rapid identification of odor difference markers in *Curcuma wenyujin Rhizoma* before and after vinegar with processing based on ultrafast gas chromatography electronic nose

QIN Yu-wen<sup>1</sup>, FEI Cheng-hao<sup>1</sup>, SU Lian-lin<sup>1</sup>, JI De<sup>1</sup>, LI Yu<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>1,2</sup>, JIANG Liang-yu<sup>1</sup>, MAO Chun-qin<sup>1,3</sup>, LU Tu-lin<sup>1,3</sup>

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

3. Jiangsu Provincial Engineering Research Center of TCM External Medication Development and Application, Nanjing 210023, China

**Abstract: Objective** In order to establish an effective and fast recognition method based on odor, Heracles Neo ultra-fast gas chromatography electronic nose was used to study the rapid identification of odor difference markers in *Curcuma wenyujin Rhizoma* before and after vinegar with processing. **Methods** Through the establishment of Heracles Neo detection method for raw *Curcuma wenyujin Rhizoma* pieces and vinegar *Curcuma wenyujin Rhizoma* pieces, combined with arochembase database, principal component analysis (PCA), discriminant factor analysis (DFA) and variable importance in the projection (VIP) were used to process and analyze the chromatographic peak data. **Results** According to Heracles Neo, there were 18 chromatographic peaks in *Curcuma wenyujin Rhizoma* pieces, 17 odor components were characterized by arochembase database. PCA and DFA could distinguish raw and vinegar *Curcuma wenyujin Rhizoma* pieces accurately. Through the analysis of VIP value in opsls-da model, the VIP of No. 5, No. 6 and No. 10

收稿日期: 2021-07-06

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1707000); 国家自然科学基金项目 (81973483)

作者简介: 秦宇雯, 博士研究生, 研究方向为中药炮制。Tel: 15951875721 E-mail: 1343991665@qq.com

\*通信作者: 陆兔林, 博士, 教授, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。Tel: 13951636763 E-mail: ltl2021@njucm.edu.cn

毛春芹, 女, 正高级实验师, 主要从事新药研发及药物制剂研究。Tel: 13851500946 E-mail: 300555@njucm.edu.cn

#共同第一作者: 费程浩, 男, 博士研究生, 主要从事中药炮制机制研究。Tel: 15295516587 E-mail: feichenghao108@163.com

chromatographic peaks were > 1.0 under MXT-5 and MXT-1701 chromatographic columns. Therefore, it was speculated that  $\gamma$ -terpinene, linalool and decyl acetate are potential odor markers of raw and vinegar *Curcuma wenyujin* Rhizoma pieces. **Conclusion** Heracles Neo can be applied to the rapid identification of odor difference markers in raw and vinegar *Curcuma wenyujin* Rhizoma pieces, which has important application value.

**Key words:** *Curcuma wenyujin* Rhizoma; processing with vinegar; Heracles NEO; odor difference markers; rapid identification;  $\gamma$ -terpinene; linalool; decyl acetate

温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎具有行气破血、消积止痛功效，被誉为“气中血药”<sup>[1-2]</sup>。其临床常见的饮片有生品和醋制品<sup>[3]</sup>。生品药性峻猛，长于行气止痛，多用于食积胃痛、瘀积腹痛等；醋制品入肝经血分，可缓其药性，更善破血化瘀，常用于瘀滞经闭、胁下癥瘕痞块等气滞血瘀证<sup>[4-6]</sup>。《中国药典》2020 年版一部明确要求使用醋制品的中成药制剂共 16 种，约占其中成药制剂总数的 39%<sup>[1]</sup>，其临床功效以活血化瘀为主<sup>[3]</sup>。因此，其生品和醋制品的准确区分对临床科学合理使用炮制品和提高临床疗效至关重要。

大多数中药中含有挥发性物质，所以特殊气味成为中药性状鉴别的重要特征之一<sup>[7]</sup>。“辛香”是温郁金非常具有特色的气味，但其生品和醋制品气味上有差异，如《中国药典》2020 年版载生品“气微香”，醋制品“微有醋香气”<sup>[1]</sup>，此描述较为主观和模糊。随着仿生技术的快速发展，电子鼻技术打破了传统经验鉴别的局限，能客观量化气味，体现在各个传感器响应值组成的中药气味指纹图谱的差异上，据此可控制中药材炮制过程的质量，亦可快速准确区分不同炮制方法下的中药，这为气味的客观化、量化、标准化评价提供了新思路<sup>[8-9]</sup>。因此，本研究基于 Heracles NEO 技术结合 Arochembase 数据库对比分析，采用主成分分析（principal component analysis, PCA）、判别因子分析（discriminant factor analysis, DFA）、变量投影重要性指标（variable importance in projection, VIP）等多变量统计分析方法对温郁金的干燥根茎醋制前后气味差异标志物进行快速识别，以为生、醋温郁金的质量控制提供参考依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与设备

Heracles NEO 快速气相色谱电子鼻（配备进样器 PAL RSI 全自动顶空进样器）、非极性色谱柱 MXT-5、中极性色谱柱 MXT-1701，法国 Alpha MOS 公司；GH-380N 型高纯氢发生器、GA-380N 型低噪音空气泵，北京中兴汇利科技有限公司；FA1104N

型电子分析天平，上海菁海仪器有限公司；H-350 型高速多功能粉碎机，上海耐塞机械有限公司。

### 1.2 材料与试剂

10 批温郁金采购于浙江省瑞安市通明温郁金专业合作社，经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为姜科姜黄属植物温郁金 *C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎，样品来源信息见表 1。

表 1 样品来源信息

Table 1 Sample source information

| 编号       | 产地 | 基原  | 采集时间    | 加工炮制时间     |
|----------|----|-----|---------|------------|
| W1~W5    | 温州 | 温郁金 | 2020-02 | 2020-04-06 |
| W6~W10   | 温州 | 温郁金 | 2020-03 | 2020-04-06 |
| WC1~WC5  | 温州 | 温郁金 | 2020-02 | 2020-04-10 |
| WC6~WC10 | 温州 | 温郁金 | 2020-03 | 2020-04-10 |

正构烷烃  $nC_6 \sim nC_{16}$  混合对照品，美国 Restek 公司；芳樟醇，批号 Y01D7Y17500，质量分数  $\geq 98\%$ ，上海源叶生物科技有限公司；异丙醇，批号 1401101，质量分数  $> 99.7\%$ ，上海申博化工有限公司；恒顺镇江香醋，批号 20200301，总酸  $\geq 55.0$  mg/mL，江苏恒顺醋业股份有限公司。

## 2 方法

### 2.1 温郁金的炮制

将温郁金的干燥根茎按《中国药典》2020 年版一部莪术项下收载生品、醋制品的炮制方法<sup>[1]</sup>，分别炮制成生温郁金 10 批（编号 W1~W10）、醋温郁金 10 批（编号 WC1~WC10），供实验研究用。

### 2.2 温郁金供试品的制备

将各批次生、醋温郁金分别粉碎，过五号筛，密封冷藏备用。

### 2.3 温郁金气味检测方法的建立

**2.3.1 孵化温度考察** 精密称定 W1 样品 0.2 g，孵化时间 20 min，进样体积 2000  $\mu$ L，考察孵化温度 45、50、55、60、65、70、75  $^{\circ}$ C，每个水平平行 3 次<sup>[10]</sup>。最终得出，60  $^{\circ}$ C 时色谱峰峰形良好，且在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积 RSD 值最小、最稳定。其中，在 60  $^{\circ}$ C 条件下，MXT-5 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.05%、0.03%、0.03%、

0.02%、0.05%、0.03%、0.02%，峰面积 RSD 值为 4.70%、1.90%、1.20%、2.24%、2.61%、1.20%、2.02%；MXT-1701 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.04%、0.04%、0.04%、0.05%、0.06%、0.06%，峰面积 RSD 值为 3.90%、1.09%、2.49%、2.45%、1.72%、2.00%、2.38%。若继续升高温度，则影响其真实气味的分析。因此，选取 60 °C 作为最优的孵化温度。

**2.3.2 孵化时间考察** 精密称定 W1 样品 0.2 g，孵化温度 60 °C，进样体积 2000  $\mu$ L，考察孵化时间 5、10、15、20、25 min，每个水平平行 3 次<sup>[10]</sup>。最终得出，15 min 后色谱峰无明显变化，表明在 15 min 后其气味已趋于饱和稳定，且在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积 RSD 值最小、最稳定。其中，在 15 min 条件下，MXT-5 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.21%、0.18%、0.18%、0.22%、0.22%、0.23%、0.19%，峰面积 RSD 值为 1.46%、0.37%、1.30%、2.02%、2.65%、3.14%、3.8%；MXT-1701 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.24%、0.20%、0.22%、0.27%、0.29%、0.24%、0.24%，峰面积 RSD 值为 0.9%、0.86%、2.41%、2.46%、3.26%、5.33%、3.96%。因此，选择 15 min 作为最优的孵化时间。

**2.3.3 称样量考察** 孵化温度 60 °C，孵化时间 15 min，进样体积 2000  $\mu$ L，考察称样量 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g，每个水平平行 3 次<sup>[10]</sup>。最终得出，0.3 g 后色谱峰无明显变化，且在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积 RSD 值最小、最稳定。其中，在 0.3 g 条件下，MXT-5 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.11%、0.09%、0.09%、0.07%、0.06%、0.09%、0.11%，峰面积 RSD 值为 3.49%、0.95%、1.68%、1.46%、2.12%、2.27%、3.39%；MXT-1701 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.09%、0.07%、0.02%、0.03%、0.02%、0.09%、0.09%，峰面积 RSD 值为 3.43%、1.28%、1.32%、2.27%、2.65%、3.40%、3.54%。因此，选择 0.3 g 作为最优的称样量。

**2.3.4 进样体积考察** 精密称定 W1 样品 0.3 g，孵化温度 60 °C，孵化时间 15 min，考察进样体积 1000、2000、3000、4000、5000  $\mu$ L，每个水平平行 3 次<sup>[10]</sup>。最终得出，2000  $\mu$ L 后色谱峰无明显变化，表明 2000  $\mu$ L 时其气味基本趋于饱和稳定，且在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积 RSD 值最小、最稳定。其中，在 2000  $\mu$ L 条件下，MXT-5 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.10%、0.11%、0.11%、0.15%、0.15%、0.13%、0.15%，峰面积 RSD

值为 1.28%、1.41%、1.96%、0.41%、0.93%、0.95%、3.04%；MXT-1701 色谱柱的保留时间 RSD 值为 0.10%、0.08%、0.08%、0.15%、0.16%、0.16%、0.16%，峰面积 RSD 值为 0.85%、1.66%、1.15%、1.47%、1.34%、0.85%、3.33%。因此，选择 2000  $\mu$ L 作为最优的进样体积。

## 2.4 电子鼻检测参数的确定

通过单因素考察确定生、醋温郁金的 Heracles NEO 检测条件：样品瓶 20 mL；孵化温度 60 °C，捕集阱初始温度 40 °C，捕集阱最终温度 250 °C，进样口温度 200 °C，检测器温度 260 °C；孵化时间 15 min，孵化炉转速 500 r/min，进样体积 2000  $\mu$ L，进样体积流量 125  $\mu$ L/s，进样持续时间 21 s，捕集阱分流速率 10 mL/min，捕集持续时间 26 s，柱温的初始温度 40 °C，柱温程序升温方式 4 °C/s 至 130 °C、1 °C/s 至 140 °C、2 °C/s 至 175 °C、0.5 °C/s 至 205 °C、4 °C/s 至 250 °C，保持 60 s；采集时间 150 s；称样量 0.3 g；FID 增益 12。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 精密度考察** 取同一供试品粉末 0.3 g，置 20 mL 顶空进样瓶中，加盖密封，置自动进样器上，按“2.4”项下条件进行检测分析，平行 6 次。结果（表 2）在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积的 RSD 最大值分别为 0.25%、3.25%，表明仪器

表 2 精密度、重复性、稳定性考察结果 ( $n = 6$ )

Table 2 Method validation of precision, repeatability and stability of five identified components ( $n = 6$ )

| 色谱柱      | 峰号 | 精密度 RSD/% |      | 重复性 RSD/% |      | 稳定性 RSD/% |      |
|----------|----|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
|          |    | 保留时间      | 峰面积  | 保留时间      | 峰面积  | 保留时间      | 峰面积  |
| MXT-5    | 1  | 0.22      | 3.25 | 0.10      | 2.26 | 0.21      | 4.31 |
|          | 2  | 0.22      | 1.54 | 0.07      | 0.91 | 0.21      | 4.25 |
|          | 3  | 0.22      | 1.40 | 0.07      | 0.46 | 0.20      | 4.92 |
|          | 4  | 0.23      | 3.01 | 0.07      | 2.16 | 0.19      | 3.52 |
|          | 5  | 0.23      | 1.44 | 0.07      | 1.53 | 0.19      | 3.57 |
|          | 6  | 0.23      | 2.50 | 0.07      | 1.49 | 0.20      | 3.65 |
|          | 7  | 0.23      | 1.78 | 0.08      | 2.43 | 0.18      | 3.95 |
| MXT-1701 | 1  | 0.23      | 3.02 | 0.11      | 2.41 | 0.18      | 4.16 |
|          | 2  | 0.20      | 1.32 | 0.08      | 0.60 | 0.19      | 4.40 |
|          | 3  | 0.24      | 1.90 | 0.07      | 2.22 | 0.19      | 3.71 |
|          | 4  | 0.25      | 1.47 | 0.08      | 1.61 | 0.20      | 3.47 |
|          | 5  | 0.24      | 2.90 | 0.08      | 1.51 | 0.21      | 3.03 |
|          | 6  | 0.24      | 1.54 | 0.10      | 1.86 | 0.22      | 4.52 |
|          | 7  | 0.25      | 1.72 | 0.08      | 2.57 | 0.22      | 4.24 |

精密度良好。

**2.5.2 重复性考察** 取同一批样品,按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品粉末,分别精密称定粉末 0.3 g,置 20 mL 顶空进样瓶中,加盖密封,置自动进样器上,按“2.4”项下条件进行检测分析,平行 6 次。结果(表 2)在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积的 RSD 最大值分别为 0.11%、2.57%,表明该方法重复性良好。

**2.5.3 稳定性考察** 取同一供试品粉末 0.3 g,置 20 mL 顶空进样瓶中,加盖密封,置自动进样器上。分别于 0、4、8、12、16、24 h,按“2.4”项下条件进行检测分析。结果(表 2)在 2 个色谱柱下 7 个共有峰的保留时间和峰面积的 RSD 最大值分别为 0.22%、4.92%,结果表明供试品粉末在 24 h 内稳定性良好。

## 2.6 温郁金电子鼻检测

按“2.4”项下 Heracles NEO 最佳检测条件对生、

醋温郁金各 10 批样本进行检测,每批平行 3 次。

## 2.7 温郁金粉末气相色谱图

Heracles NEO 具有非极性色谱柱 MXT-5 和中极性色谱柱 MXT-1701,扣去空白参考后,生、醋温郁金粉末色谱图见图 1。

## 2.8 温郁金气味差异标志物分析

采用正构烷烃标准溶液( $nC_6 \sim nC_{16}$ )进行校准,将保留时间转化为保留指数,然后通过 Kovats 保留指数定性,在 Arochembase 数据库中对化合物进行定性分析<sup>[11]</sup>。图 1 和表 3 结果表明,生温郁金表征出 15 个气味成分,而醋温郁金表征出 17 个气味成分。其中生、醋温郁金共有气味成分有 15 个,为异丙醇、月桂烯<sup>[12]</sup>、 $\beta$ -蒎烯<sup>[13]</sup>、 $\gamma$ -松油烯<sup>[12]</sup>、芳樟醇<sup>[13]</sup>、樟脑<sup>[13]</sup>、2-(4-甲基苯基)丙-2-醇<sup>[12]</sup>、庚基苯、乙酸癸酯、 $\beta$ -石竹烯<sup>[13]</sup>、 $\alpha$ -瑟林烯<sup>[13]</sup>、月桂酸甲酯、灭线磷、二糠基二硫、肉桂酸丁酯等,其中月桂烯、芳樟醇、 $\beta$ -石竹烯、肉桂酸丁酯具有辛辣气味,这与

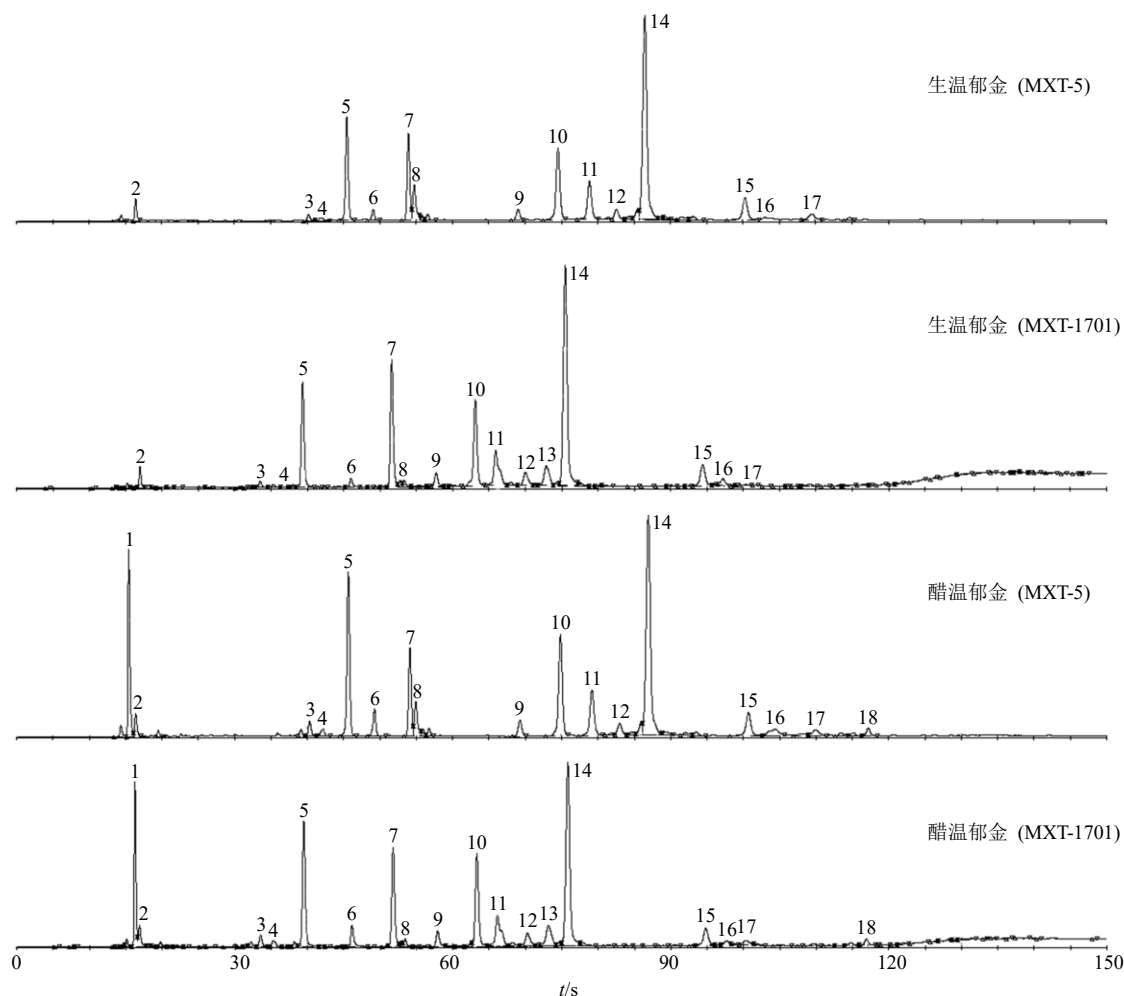


图 1 生、醋温郁金粉末气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatography of *Curcuma wenyujin* Rhizoma powder

表 3 温郁金中可能化合物及感官描述信息

Table 3 Possible compounds and sensory description information in *Curcuma wenyujin* Rhizoma

| 序号 | 分子式                                                           | RI    |          | 可能的化合物          | 相关指数  | 气味信息               | 生郁金 | 醋郁金 |
|----|---------------------------------------------------------------|-------|----------|-----------------|-------|--------------------|-----|-----|
|    |                                                               | MXT-5 | MXT-1701 |                 |       |                    |     |     |
| 1  | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O                               | 490   | 584      | 丙醛              | 92.12 | 辛辣等气味              | —   | +   |
| 2* | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O                               | 513   | 603      | 异丙醇             | 94.95 | 乙醇、丙酮等气味           | +   | +   |
| 3  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                               | 972   | 1003     | β-蒎烯            | 91.86 | 松脂等气味              | +   | +   |
| 4  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                               | 1001  | 1034     | 月桂烯             | 97.04 | 树脂、辣等气味            | +   | +   |
| 5  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                               | 1050  | 1104     | γ-松油烯           | 93.62 | 桔子、柠檬等气味           | +   | +   |
| 6* | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                             | 1107  | 1216     | 芳樟醇             | 97.78 | 柠檬等水果味、玫瑰等花香、甜辣等气味 | +   | +   |
| 7  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                             | 1174  | 1303     | 樟脑              | 74.60 | 樟脑等气味              | +   | +   |
| 8  | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                             | 1185  | 1395     | 2-(4-甲基苯基)丙-2-醇 | 95.34 | 果味(甜)等气味           | +   | +   |
| 9  | C <sub>13</sub> H <sub>20</sub>                               | 1361  | 1400     | 庚基苯             | 92.93 | —                  | +   | +   |
| 10 | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>                | 1418  | 1470     | 乙酸癸酯            | 98.13 | 橙子等水果味             | +   | +   |
| 11 | C <sub>17</sub> H <sub>28</sub>                               | 1456  | 1456     | β-石竹烯           | 95.89 | 辣味、木头等气味           | +   | +   |
| 12 | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                               | 1493  | 1550     | α-蒎烯            | 90.26 | 琥珀等气味              | +   | +   |
| 13 | —                                                             | —     | —        | —               | —     | —                  | +   | +   |
| 14 | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>                | 1521  | 1605     | 月桂酸甲酯           | 91.71 | 椰子等气味              | +   | +   |
| 15 | C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub> | 1633  | 1811     | 灭线磷             | 95.38 | —                  | +   | +   |
| 16 | C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub> | 1658  | 1846     | 二糠基二硫           | 94.82 | 肉味、咖啡等气味           | +   | +   |
| 17 | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>                | 1712  | 1847     | 肉桂酸丁酯           | 97.80 | 可可、甜辣等气味           | +   | +   |
| 18 | C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 1771  | 2056     | 2,3-二氯-1,4-萘醌   | 89.86 | —                  | —   | +   |

“+”表示检出成分，“—”表示未检出成分，\*表示该成分经对照品识别后确认

“+” indicates the detected component, “—” indicates that the component is not detected; \* indicates that the component is confirmed after being identified by reference substance

其传统气味描述一致；而醋温郁金新增 2 个气味成分，分别为丙醛、2,3-二氯-1,4-萘醌。通过对照品进行所识别的气味成分色谱图验证，明确 2 号和 6 号色谱峰是异丙醇和芳樟醇，结果与 Arochembase 数据库匹配一致。

## 2.9 多变量统计分析

**2.9.1 PCA** 将 Heracles NEO 所分离的色谱峰作为影响因子，建立 PCA 模型，得出主成分 1 (PC1)、主成分 2 (PC2) 和主成分 3 (PC3) 的累积贡献率 90.828% (图 2)，能较好地反映生、醋温郁金中气味信息。由图 2 可知，在 PCA 模型中，生、醋温郁金可明显分为 2 个区域 (正方形为生温郁金，三角形为醋温郁金)，表明生、醋温郁金之间存在较大的气味差异，PCA 能准确识别温郁金不同炮制品。

**2.9.2 DFA** DFA 以 PCA 为基础，缩短组内样品的间距，增大组间的距离<sup>[11]</sup>。因此，采用 DFA 对各批次生、醋温郁金进行分析，判别因子 100% 和验证得分 97 (图 3)，表明 DFA 能更好地显示出生、醋温

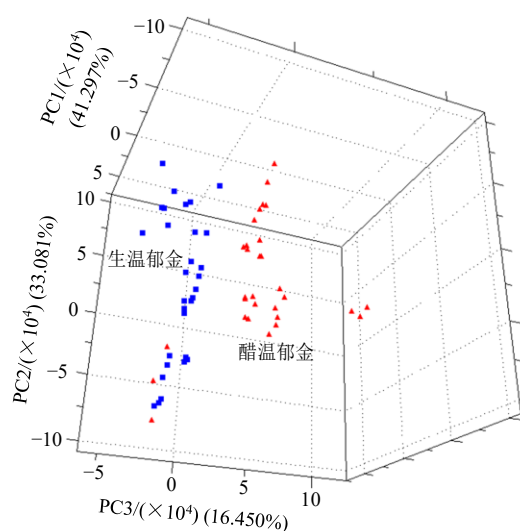


图 2 温郁金的 PCA 图

Fig. 2 PCA of *Curcuma wenyujin* Rhizoma

郁金之间的的气味差异，且进一步验证了 PCA 结果。由图 3 可知，在 DFA 模型中，2 区域 (正方形为生温郁金，三角形为醋温郁金) 之间没有重叠的部分，

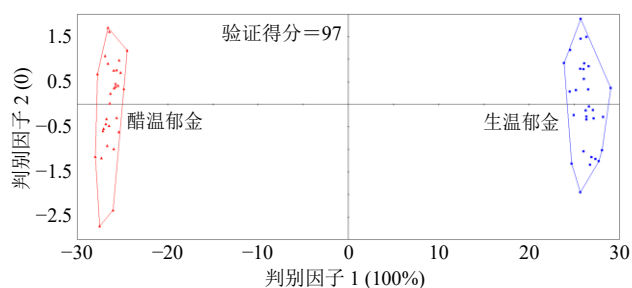


图 3 温郁金的 DFA 图

Fig. 3 DFA of *Curcuma wenyujin* Rhizoma

且相距较远,说明 Heracles NEO 可快速识别生、醋温郁金。

**2.9.3 VIP** 以 18 个色谱峰的峰面积为变量,采用 Simca-P14.1 软件构建生、醋温郁金的 OPLS-DA 模型,分析得 18 个色谱峰的 VIP 值如图 4 所示, VIP 值越大,表明该色谱峰对于生、醋温郁金的分类贡献越大,也即为最能导致生、醋温郁金相区分的差异成分。其中 MXT-5 色谱图的 VIP 值大于 1.0 的有 4 个色谱峰,按 VIP 值大小依次为 1、5、10、6 号色谱峰;MXT-1701 色谱图的 VIP 值大于 1.0 的有 5 个色谱峰,按 VIP 值大小依次为 5、9、6、10、12 号色谱峰。因此,5、6、10 号色谱峰可能是导致生、

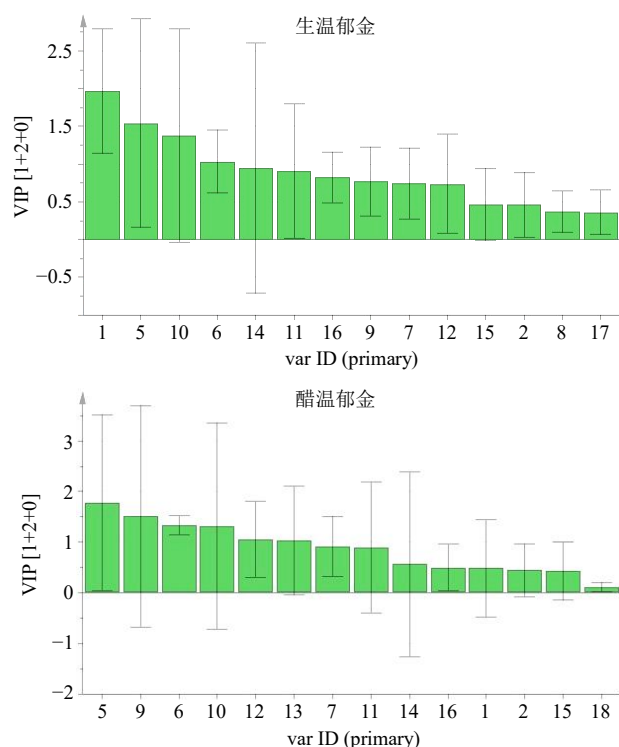


图 4 生、醋温郁金 OPLS-DA 模型中 18 个色谱峰的 VIP 值

Fig. 4 VIP value of 18 chromatographic peak in OPLS-DA model of raw and vinegar *Curcuma wenyujin* Rhizoma

醋温郁金相区分的差异成分。

### 3 讨论

温郁金含有较多的挥发性成分,辛香气味强烈,但对其气味感官描述仍停留在传统经验评价,具有主观性、经验性、模糊性,缺乏客观量化的评价方法。Heracles NEO 作为新兴现代仿生技术,具有样品前处理简单、仪器操作简单、检测速度快、环境污染小,且能提供被测样品的综合气味信息,可应用于中药的气味分析、快速鉴别和质量控制等领域<sup>[8]</sup>。因此,该研究通过 Heracles NEO 采集各批次样品粉末的气味数据,结果表明生、醋温郁金可能成分及感官描述信息基本相同。生温郁金有 15 个色谱峰,其可能为异丙醇、 $\beta$ -蒎烯、月桂烯等气味成分,其中  $\beta$ -蒎烯具有杀菌抗炎等药理作用<sup>[14]</sup>;月桂烯具有抗氧化等药理作用<sup>[15]</sup>;芳樟醇常用作芳香剂和调味剂,并且有抗菌抗炎、抗肿瘤、抗高血压等药理作用<sup>[16]</sup>;  $\beta$ -石竹烯具有抗炎镇痛、保护神经、抗肿瘤、保肝等药理作用<sup>[17]</sup>。

与生温郁金相比,醋温郁金新增了 1、18 号色谱峰,且 5、6 号等 7 个色谱峰所代表的气味成分相对含量升高,这些可能是导致生、醋温郁金相区分的差异成分。通过生、醋温郁金 OPLS-DA 模型中 VIP 值分析 18 个色谱峰的分类贡献度,结果表明,在 MXT-5 和 MXT-1701 色谱柱下,5、6、10 号色谱峰的 VIP 均  $>1.0$ ,因此,推测  $\gamma$ -松油烯、芳樟醇、乙酸癸酯可能是导致生、醋温郁金相区分的差异成分。这些气味成分的变化可能与醋制过程中的成分转化密切相关。醋中含有酯类、醇类、醛类和有机酸类等成分<sup>[18]</sup>,通过 Heracles NEO 对实验中使用的恒顺镇江香醋进行气味成分分析,结果表明其可能的气味成分有乙醛、乙醇、丙烯醛、2-甲基-2-丙醇、乙酸甲酯丁烷-2,3-二酮、2-丁醇乙酸乙酯、2-丁醇、醋酸乙酯、乙偶姻、反式-2-丁烯酸乙酯、糠醛、2-甲基丁酸、甲硫醇、苯甲醛、1-辛烯-3-醇、己酸、醋酸。在醋制过程中,醋中的丙烯醛可能发生加氢反应生成丙醛;温郁金中的  $\beta$ -蒎烯和醋中的乙醇可反应生成  $\gamma$ -松油烯;温郁金中的  $\beta$ -蒎烯在高温条件下转化为月桂烯,再经过一系列反应生成芳樟醇;醋中的乙醛、乙醇等分别经过一系列反应生成乙烯,乙烯经控制聚合后再经水解、分离得癸醇,乙烯还可与醋酸、氧气在气相中反应生成醋酸乙烯,而癸醇与醋酸乙烯可反应生成乙酸癸酯。综上,推测  $\gamma$ -松油烯、芳樟醇、乙酸癸酯是生、醋温郁金的潜在

气味差异标志物。

在所有气味成分中(表 3),有芳樟醇等 5 个辛辣气味成分,这与其传统性味鉴别描述一致。此外,通过多变量统计分析(图 2),Heracles NEO 实现了生、醋温郁金快速识别,将其应用于生产实际,可对温郁金炮制过程进行在线、准确的气味质量控制,保证温郁金不同炮制品的气味质量稳定,体现其重要的应用价值。该研究中表征的灭线磷、2,3-二氯-1,4-萘醌等成分,是否为外源性农残物质,需后期收集不同产地或不同基原的温郁金样品以及相应对照品进行验证,采用新的统计学分析进一步完善温郁金气味成分数据库和质量控制体系,逐步将此技术推广于中药饮片企业的工业化生产及质量控制中,推动中药饮片产业的良性发展。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 286.
- [2] 廖婉, 林美斯, 高天慧, 等. 川产道地药材蓬莪术醋制前后挥发油的大鼠肠吸收差异研究 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4232-4237.
- [3] 童黄锦, 于梦婷, 陆兔林, 等. 含莪术成方制剂归类及其临床应用分析 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 731-735.
- [4] 郝敏, 童黄锦, 张季, 等. 中药饮片质量标志物(Q-marker)研究: 莪术饮片质量评价研究及质量标准探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4673-4682.
- [5] Hao M, Ji D, Li L, et al. Metabolic profiling analysis of three processed rhizomes of *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling by ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Pharmacogn Mag*, 2019, 15(60): 164-171.
- [6] Tong H J, Yu M T, Fei C H, et al. Bioactive constituents and the molecular mechanism of *Curcuma Rhizoma* in the treatment of primary dysmenorrhea based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Phytomedicine*, 2021, 86: 153558.
- [7] 吴敏南, 朱华. 中药鉴定学 [M]. 第 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 45.
- [8] 费程浩, 戴辉, 苏杭, 等. 电子鼻技术的研究进展及其在中药行业中的应用 [J]. 世界中医药, 2019, 14(2): 257-262.
- [9] John A T, Murugappan K, Nisbet D R, et al. An outlook of recent advances in chemiresistive sensor-based electronic nose systems for food quality and environmental monitoring [J]. *Sensors*, 2021, 21(7): 2271.
- [10] Fei C H, Ren C C, Wang Y L, et al. Identification of the raw and processed *Crataegi Fructus* based on the electronic nose coupled with chemometric methods [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1849.
- [11] 武文奇, 毛怡宁, 李虹, 等. Heracles II 超快速气相电子鼻对金银花粉末质量的鉴别研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5129-5133.
- [12] Sun W, Wang S, Zhao W W, et al. Chemical constituents and biological research on plants in the genus *Curcuma* [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(7): 1451-1523.
- [13] 蓝振威, 王绿虹, 李琦婷, 等. 基于 GC-MS 与化学计量学的不同种莪术特征性挥发油成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(14): 3614-3624.
- [14] 马银宇, 卢金清, 彭博. HS-SPME-GC-MS 分析温郁金不同炮制品的挥发性成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 136-141.
- [15] Xanthis V, Fitsiou E, Voulgaridou G P, et al. Antioxidant and cytoprotective potential of the essential oil *Pistacia lentiscus* var. *chia* and its major components myrcene and  $\alpha$ -pinene [J]. *Antioxidants*, 10(1): 127.
- [16] 梅佳林, 李婷婷, 张星晖, 等. 芳樟醇对三文鱼源莓实假单胞菌的抑菌机理 [J]. 食品科学, 2021, <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210619.1450.002.html>.
- [17] 张季林, 魏惠珍, 张洁.  $\beta$ -石竹烯生物学功能的研究进展 [J]. 山东医药, 2018, 58(38): 110-112.
- [18] 袁仲, 谢银军. GC/MS 分析镇江恒顺香醋香味成分 [J]. 农产品加工: 学刊, 2011(8): 93-95.

[责任编辑 郑礼胜]