

基于 HS-GC-IMS 技术分析款冬花蜜炙前后挥发性有机物的差异性

杨冰月^{1,2}, 罗 瑶^{1,2}, 姬海月^{1,2}, 净易尧^{1,2}, 陈国良³, 张 岗^{1,2}, 颜永刚^{1,2}, 胡本祥^{1,2}, 彭 亮^{1,2*}

1. 陕西中医药大学药学院 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

2. “秦药”研发重点实验室, 陕西 西安 712046

3. 陕西广济堂医药集团, 陕西 榆林 719000

摘要: 目的 获得款冬花 *Farfarae Flos* 炮制前、后生品和蜜炙品中挥发性有机物的特征及其变化规律。方法 采用顶空-气相色谱-离子迁移质谱 (HS-GC-IMS) 测定款冬花生品和蜜炙品的挥发性有机物, 构建 HS-GC-IMS 指纹图谱, VOCal 软件对检测到的成分进行定性和定量分析, 运用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和邻近距离法对样品进行差异性分析。结果 基于 HS-GC-IMS 技术从款冬花生品和蜜炙品中共获得了 61 种挥发性有机物, 定性鉴别出 53 种; 构建了款冬花生品和蜜炙品的 HS-GC-IMS 指纹图谱, 通过 PCA 和邻近距离法分析可将款冬花生品与蜜炙品进行区分, 甲硫醚 (dimethyl sulfide)、2-甲基丙烯醛 (2-methyl-2-propenal) 等 9 种物质可作为款冬花生品的特征性成分; 乙酸 D (acetic acid D)、乙酸 M (acetic acid M) 等 14 种物质可作为款冬花蜜炙品的特征性成分。结论 HS-GC-IMS 指纹图谱可用于识别与评价款冬花生品和蜜炙品挥发性有机物的种类和差异, 为款冬花饮片的质量控制及临床应用提供参考。

关键词: 款冬花; 生品; 蜜炙品; 顶空-气相色谱-离子迁移谱; 甲硫醚; 2-甲基丙烯醛; 乙酸 D; 乙酸 M

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)06-1854-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.06.029

Analysis of volatile organic compounds of raw and honey baked *Farfarae Flos* based on headspace-gas-chromatography ion-mobility spectrometry

YANG Bing-yue^{1, 2}, LUO Yao^{1, 2}, JI Hai-yue^{1, 2}, JING Yi-yao^{1, 2}, CHEN Guo-liang³, ZHANG Gang^{1, 2}, YAN Yong-gang^{1, 2}, HU Ben-xiang^{1, 2}, PENG Liang^{1, 2}

1. Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

2. Key Laboratory for Research of "Qin Medicine" of Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

3. Shaanxi Guangjitang Pharmaceutical Group, Yulin 719000, China

Abstract: Objective To study and obtain the characteristics and changes of volatile organic compounds in raw and honey baked Kuandonghua (*Farfarae Flos*). **Methods** The volatile organic compounds of raw and honey baked *Farfarae Flos* were determined by headspace gas chromatography ion-migration mass spectrometry (HS-GC-IMS). Then, the HS-GC-IMS fingerprint of raw and honey baked *Farfarae Flos* was constructed, and the samples were qualitatively and quantitatively analyzed by vocal software. The differences among the samples were analyzed by principal component analysis (PCA) and proximity distance method. **Results** The HS-GC-IMS fingerprint of *Farfarae Flos* was successfully constructed, a total of 61 volatile organic compounds were detected, and 53 volatile organic compounds were qualitatively identified. PCA and proximity distance method results demonstrated obvious distinction between the raw and honey baked *Farfarae Flos*. Nine constituents, such as dimethyl sulfide and 2-methyl-2-propenal could be used as the characteristic components of raw *Farfarae Flos*. Fourteen constituents, including acetic acid M and acetic acid D can be used as characteristic components of honey baked *Farfarae Flos*. **Conclusion** The HS-GC-IMS fingerprint can be used to identify and evaluate the types and differences of volatile organic compounds between raw and honey baked *Farfarae Flos*, which provides scientific basis for the quality control and clinical application of *Farfarae Flos* decoction pieces.

Key words: *Farfarae Flos*; raw product; honey baked product; headspace-gas-chromatography; dimethyl sulfide; 2-methyl-2-propenal; acetic acid D; acetic acid M

收稿日期: 2021-08-09

基金项目: 陕西省科技厅项目 (2021JQ-733); 公益性行业 (中医药) 科研专项经费项目 (201507002); 2018 年医疗服务与保障能力提升补助资金 (中医药事业传承与发展部分) “全国中药资源普查项目” (财社 [2018] 43 号); 陕西中医药大学校级课题 (2020GP06); 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发学科创新团队项目 (2019-QN01)

作者简介: 杨冰月, 博士, 副教授, 研究方向为中药品种、质量及资源开发研究。E-mail: 304951774@qq.com

***通信作者:** 彭 亮, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药资源评价与利用, 分子生药学。E-mail: ppengliang@126.com

款冬花 *Farfarae Flos* 为菊科植物款冬 *Tussilago farfara* L. 的干燥花蕾, 始载于《神农本草经》, 列为中品。款冬花系我国常用中药材, 具有润肺下气、止咳化痰的功效, 饮片分为生品和蜜炙品, 临床上多用蜜炙品, 以增强其润肺止咳的作用^[1]。款冬花在我国分布广泛, 主产于甘肃、山西、陕西、河北、重庆等地, 现代研究表明其含有倍半萜类、酚类、黄酮类、生物碱类和挥发油等多种类型成分^[2-3], 对呼吸系统、消化系统等疾病的防治效果良好^[4-5]。目前, 关于款冬花的炮制研究多集中在采用 HPLC、HPLC-ESI-ITMS、LC-MS、NMR 等方法测定生、炙款冬花饮片的吡咯里西啶生物碱含量^[6-7]、多指标成分含量^[8-9], 建立炙款冬花饮片的指纹图谱^[10]及质量评价体系^[11]。感官评价方面, 课题组发现蜜炙后, 款冬花生品原有的气味变淡, 出现明显的蜜香味, 与文献报道相似^[12]。

款冬花性温, 味辛、微苦, 归肺经, 挥发性成分是其主要的成分类型之一, Norani 等^[13]对伊朗 7 个款冬居群叶片和花序的挥发油进行了成分及抗氧化活性分析, 共鉴定了 45 种挥发性成分且抗氧化活性较好。药理研究也证实款冬花挥发油能够改善肺纤维化大鼠的肺功能^[14]。但关于款冬花蜜炙前后挥发性有机物的变化未见报道。款冬花挥发油的传统提取效率较低, 提取和检测过程也可能会影响其挥发性成分的测定, 而顶空-气相色谱-离子迁移质谱 (HS-GC-IMS) 技术是一种基于气相色谱和离子迁移质谱的技术, 采用顶空进样法可以精确和无损检测痕量挥发性有机物, 且结合了气相色谱的高分离能力和离子迁移质谱的高灵敏度监测系统^[15], 已成功应用于中药材品种鉴别^[16]、干燥方式^[17]、炮制处理^[18-19]、贮藏^[20]等方面。基于此, 本研究采用 HS-GC-IMS 对款冬花生品和蜜炙品进行挥发性有机物的定性分析和差异性识别, 以期揭示蜜炙对款冬花挥发性有机物的影响, 获得款冬花生品和蜜炙品的特征性挥发性有机物, 为款冬花蜜炙品的功效物质基础挖掘和工艺研究提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

FlavourSpec[®]气相色谱-离子迁移谱联用仪 (山东海能科学仪器有限公司); 电热鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); XS-02 型多功能高速粉碎机 (上海兆申科技有限公司); FA2104 型十万分之一电

子分析天平 (上海民桥精密科学仪器有限公司)。

1.2 试药

5 批款冬花生品采自陕西、甘肃、山西等地, 见表 1, 由陕西中医药大学中药鉴定教研室胡本祥教授鉴定为菊科植物款冬 *T. farfara* L. 的干燥花蕾, 标本凭证保存于陕西省秦岭中草药工程中心。本实验主要考察款冬花蜜炙前后挥发性成分的差异, 款冬花蜜炙品样品为取 5 批不同款冬花生品, 照《中国药典》2020 年版蜜炙法 (通则 0213) 用蜜水炒至不粘手^[1]。

表 1 款冬花生品与蜜炙品信息

Table 1 Sample information of raw and honey baked *Farfarae Flos*

编号	名称	来源	收集或炮制时间
KD1	款冬花	陕西省榆林市榆阳区	2020-11
KD2	款冬花	陕西省铜川市耀县	2020-11
KD3	款冬花	甘肃省定西市陇西县	2020-11
KD4	款冬花	河北省张家口市蔚县	2020-11
KD5	款冬花	内蒙古乌兰察布市兴和县	2020-11
MKD1	蜜款冬花	实验室自制	2021-07
MKD2	蜜款冬花	实验室自制	2021-07
MKD3	蜜款冬花	实验室自制	2021-07
MKD4	蜜款冬花	实验室自制	2021-07
MKD5	蜜款冬花	实验室自制	2021-07

2 方法

2.1 检测条件

气相-离子迁移谱单元: 色谱柱为 FS-SE-54-CB-1 (15 m×0.53 mm, 1 μm), 分析时间 30 min, 柱温 60 °C, 载气/漂移气 N₂, IMS 温度 45 °C。自动顶空进样单元: 孵化温度 60 °C, 孵化时间 20 min, 进样体积 200 μL, 进样针温度 85 °C, 孵化转速 500 r/min。气相色谱条件: E1 漂移气体积流量 0~30 min, 150 mL/min; E2 气相载气体积流量 0~2 min, 2 mL/min; 2~10 min, 10 mL/min; 10~20 min, 100 mL/min; 20~30 min, 150 mL/min。

2.2 样品制备

精密称取 100 mg 款冬花生品或蜜炙品粉末 (过 5 号筛), 直接置于 20 mL 顶空进样瓶中, 80 °C 孵育 20 min 后按“2.1”项方法进行测定。

2.3 数据处理分析

利用 VOCal 软件查看分析谱图和数据的定性定量, 采用 VOCal 软件内置 NIST 和 IMS 数据库对物质进行定性分析, 谱图中获得的每一个点代表一

种挥发性有机物, 对其建立标准曲线后可进行定量分析; Reporter 插件对比样品之间的谱图差异 (三维谱图、二维俯视图和差异谱图); Gallery Plot 插件进行指纹图谱对比, 直观且定量地比较不同样品之间的挥发性有机物差异; Dynamic PCA 插件进行动态 PCA 分析以及快速确定未知样品的种类。

3 结果与分析

3.1 气相离子迁移谱分析

利用 VOCal 软件内置的 Reporter 插件对所获得的款冬花生品和蜜炙品图谱进行分析, 结果见图 1, 横坐标为离子迁移时间, 其 1.0 处红色竖线为经归一化处理后的反应离子峰 (RIP 峰), 纵坐标为气相色谱的保留时间。RIP 峰 2 侧的每 1 个点代表 1 种挥发性有机物, 颜色示意有机物浓度, 白色表示浓度较低, 红色表示浓度较高, 颜色越深表示浓度越大。由图 1 可知, 款冬花生品和蜜炙品均可检测到大量的挥发性有机物成分, 且差异明显。

以款冬花生品谱图作为参比, 蜜炙品谱图扣减参比后再比较款冬花炮制前后的挥发性有机物差异, 结

果见图 2。图中款冬花生品和蜜炙品测得成分一致时, 扣减后为白色, 红色示意蜜款冬花中所测成分浓度高于生品, 蓝色示意蜜款冬花中浓度低于生品。可见与生品相比, 蜜款冬花中大多数挥发性有机物含量有所下降, 但也获得了一些生品中未检出的成分。

3.2 定性鉴别分析

气相离子迁移谱分析从款冬花生品和蜜炙品共检测出 61 种挥发性有机物, 其中二者检测出共有成分 50 种, 蜜炙后, 缺失 1 种, 新增 10 种。进一步与 NIST 数据库和 IMS 数据库比对后, 鉴定了 53 种挥发性有机物, 5 批生品与 5 批蜜炙品各自峰面积的平均值见表 2。其中, 款冬花生品中相对含量较高的挥发性有机物有 2-甲基丁醛 (2-methylbutanal)、己醛 T (hexanal T)、丙酮 (2-propanone)、乙醇 (ethanol)、己醛 M (hexanal M)、2-甲基丙烯醛 (2-methyl-2-propenal) 等; 款冬花蜜炙品中相对含量较高的挥发性有机物有乙酸 M (acetic acid M)、2-甲基丁醛 (2-methylbutanal)、乙酸 D (acetic acid D)、丙酮 (2-propanone)、乙醇 (ethanol)、己醛 T (hexanal T) 等。

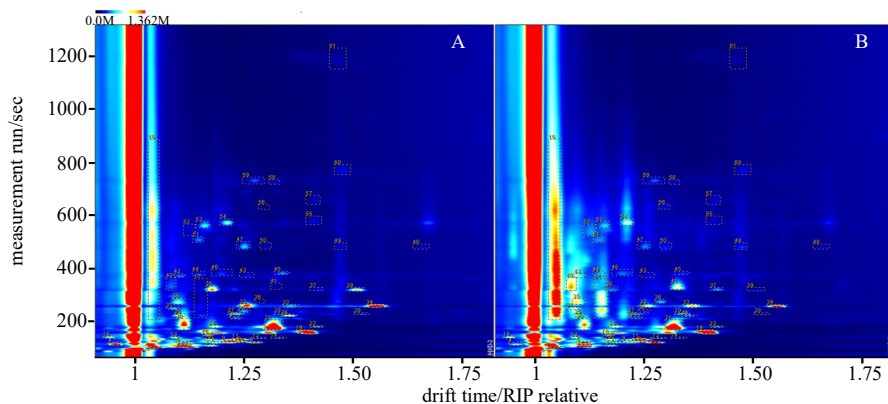


图 1 款冬花生品 (A) 与蜜炙品 (B) 气相离子迁移图

Fig. 1 HS-GC-IMS diagram plots of raw (A) and honey baked *Farfarae Flos* (B)

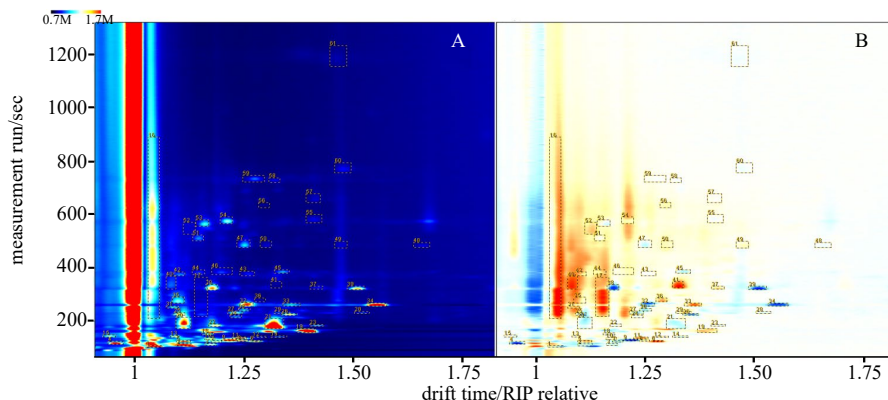


图 2 款冬花生品 (A) 和蜜炙 (B) 样本气相色谱离子迁移谱差异图

Fig. 2 Difference HS-GC-IMS diagram plots of raw (A) and honey baked *Farfarae Flos* (B)

表 2 款冬花生品与蜜炙品中挥发性有机物定性分析

Table 2 Identification of volatile organic compounds in raw and honey baked *Farfarae Flos*

序号	化合物	分子式	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	峰面积平均值	
							生品	蜜炙品
1	乙醇	C ₂ H ₆ O	46.1	526.4	104.292	1.045 88	1 953.79	1 665.14
2	丙酮	C ₃ H ₆ O	58.1	538.0	109.153	1.112 33	2 303.08	2 029.87
3	1	/	/	542.5	111.033	1.177 62	303.44	281.56
4	甲硫醚	C ₂ H ₆ S	62.1	556.0	116.711	0.958 45	1 111.33	374.63
5	丁醛 M	C ₄ H ₈ O	72.1	568.2	121.826	1.115 07	631.03	757.84
6	丁醛 D	C ₄ H ₈ O	72.1	569.8	122.520	1.280 75	423.67	849.72
7	2	/	/	569.6	122.431	1.188 09	351.60	216.77
8	1-丙醇	C ₃ H ₈ O	60.1	576.1	125.132	1.248 97	275.55	258.12
9	2-甲基丙醛	C ₄ H ₈ O	70.1	579.1	126.405	1.218 53	1 212.68	491.68
10	2,3-丁二酮	C ₄ H ₆ O ₂	86.1	591.8	131.749	1.175 03	260.08	298.45
11	2-丁酮	C ₄ H ₈ O	72.1	598.2	134.438	1.241 02	732.22	1 095.86
12	异丙醇	C ₄ H ₈ O	72.1	607.2	138.225	1.286 57	94.10	114.59
13	醋酸乙酯 M	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	613.0	140.648	1.093 56	213.68	195.58
14	醋酸乙酯 D	C ₄ H ₈ O ₂	88.1	611.7	140.089	1.331 69	124.93	95.27
15	3	/	/	618.8	143.097	0.945 44	237.59	234.41
16	乙酸 M	C ₂ H ₄ O ₂	60.1	642.7	153.115	1.049 30	/	28 663.82
17	乙酸 D	C ₂ H ₄ O ₂	60.1	621.7	144.285	1.152 38	/	4 656.23
18	2-甲基-1-丙醇	C ₄ H ₁₀ O	74.1	633.4	149.203	1.169 54	222.70	161.72
19	2-甲基丁醛	C ₅ H ₁₀ O	86.1	668.2	163.837	1.393 64	3 845.84	4 767.49
20	4	/	0	696.8	179.012	1.111 98	3 359.49	2 526.81
21	5	/	0	694.9	177.453	1.319 12	7 981.20	6 960.70
22	戊醛 M	C ₅ H ₁₀ O	86.1	701.4	182.683	1.184 50	422.20	409.30
23	戊醛 D	C ₅ H ₁₀ O	86.1	700.0	181.587	1.413 70	218.76	267.04
24	2-甲基丁醇	C ₅ H ₁₂ O	88.1	741.6	215.133	1.235 01	149.36	92.267
25	(E)-2-戊烯醛 M	C ₅ H ₈ O	84.1	753.1	224.429	1.102 70	233.06	/
26	(E)-2-戊烯醛 D	C ₅ H ₈ O	84.1	752.5	223.882	1.355 76	408.77	181.39
27	2-甲基戊醛 M	C ₆ H ₁₂ O	100.2	760.9	230.672	1.230 94	394.41	261.81
28	2-甲基戊醛 D	C ₆ H ₁₂ O	100.2	759.9	229.842	1.525 26	95.56	80.42
29	环戊酮	C ₅ H ₈ O	84.1	760.5	230.395	1.338 32	/	251.27
30	1-戊醇	C ₅ H ₁₂ O	88.1	771.8	239.515	1.252 51	198.25	78.55
31	3-甲基-2-丁烯醛	C ₅ H ₈ O	84.1	785.0	250.296	1.092 27	/	289.10
32	己醛 M	C ₆ H ₁₂ O	100.2	794.3	260.370	1.259 32	1 284.22	759.55
33	己醛 D	C ₆ H ₁₂ O	100.2	794.4	260.471	1.360 14	446.46	1 156.34
34	己醛 T	C ₆ H ₁₂ O	100.2	794.0	259.993	1.549 49	2 882.31	1 444.68
35	6	/	/	805.9	272.900	1.100 52	552.15	1 035.37
36	2-甲基-1-戊醇	C ₆ H ₁₄ O	102.2	808.0	275.178	1.289 22	/	213.51
37	7	/	/	850.5	321.013	1.419 23	108.30	217.01
38	2-己烯-1-醇 M	C ₆ H ₁₂ O	100.2	852.3	322.895	1.175 00	1 211.39	310.85
39	2-己烯-1-醇 D	C ₆ H ₁₂ O	100.2	850.7	321.254	1.512 79	948.44	154.23
40	2-呋喃甲醛 M	C ₅ H ₄ O ₂	96.1	865.5	337.118	1.085 76	464.05	1 823.87
41	2-呋喃甲醛 D	C ₅ H ₄ O ₂	96.1	860.9	332.195	1.328 65	/	764.89
42	糠硫醇	C ₅ H ₆ OS	114.2	896.9	374.356	1.104 38	/	417.56
43	2-庚酮	C ₇ H ₁₄ O	114.2	897.6	375.502	1.263 35	177.76	163.61
44	(Z)-4-庚烯醛	C ₇ H ₁₂ O	112.2	901.0	381.460	1.147 48	/	275.27
45	庚烯醛	C ₇ H ₁₄ O	114.2	901.6	382.522	1.342 20	284.42	151.60
46	乙二醇单丁醚	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.2	901.7	382.835	1.203 02	380.26	433.45
47	(E)-2-庚烯醛 M	C ₇ H ₁₂ O	112.2	959.4	484.818	1.248 44	746.07	603.87
48	(E)-2-庚烯醛 D	C ₇ H ₁₂ O	112.2	956.4	479.347	1.659 66	177.29	185.53
49	3-甲硫基丙醇	C ₄ H ₁₀ OS	106.2	958.8	483.721	1.473 73	141.22	332.96
50	DL-2-甲基戊酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.2	959.3	484.523	1.303 46	161.61	247.34
51	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	106.1	973.4	509.434	1.151 28	295.23	134.05
52	5-甲基呋喃醛	C ₆ H ₆ O ₂	110.1	990.8	540.220	1.126 34	/	284.32
53	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	128.2	1 004.5	566.289	1.162 30	567.29	368.80
54	γ-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136.2	1 008.9	575.078	1.215 67	802.14	849.72
55	2-乙基-1-己醇	C ₈ H ₁₈ O	130.2	1 010.3	577.871	1.413 36	263.62	224.43
56	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.2	1 038.0	633.279	1.298 23	/	97.30
57	丁酸正戊酯	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.2	1 048.9	655.163	1.412 47	194.48	207.33
58	(E)-2-辛烯醛	C ₈ H ₁₄ O	126.2	1 083.8	725.092	1.323 30	104.12	83.92
59	8	/	0	1 087.1	731.559	1.273 88	493.27	469.00
60	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	142.2	1 106.1	769.627	1.482 39	375.45	312.85
61	乙酸香茅酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198.3	1 310.1	1 177.946	1.467 13	365.04	319.28

“/” 为未检出 1~8-未鉴定, 下同

“/” means unchecked 1~8-unidentified, same as below

3.3 款冬花生品和蜜炙品的 HS-GC-IMS 指纹图谱

基于 HS-GC-IMS 获得的挥发性有机物响应特征构建了款冬花生品和蜜炙品的 HS-GC-IMS 指纹图谱, 见图 3。图中从上往下所在行为 KD1-5 和 MKD1-5 中所有挥发性有机物的信号峰, 每一列则示意同一挥发性有机物在款冬花生品和蜜炙品中的信号峰, 颜色示意响应浓度。由图 3 可知, 款冬花

生品和蜜炙品组内差异主要为相对含量存在差异, 而款冬花蜜炙后挥发性有机物的数量和相对含量相比生品均呈现出显著差异。

综合表 2 和图 3、4 分析显示, 甲硫醚(dimethyl sulfide)、2-甲基丙烯醛(2-methyl-2-propenal)、化合物 2、(E)-2-戊烯醛 M [(E)-2-pentenal M]、(E)-2-戊烯醛 D [(E)-2-pentenal D]、1-戊醇(1-pentanol)、

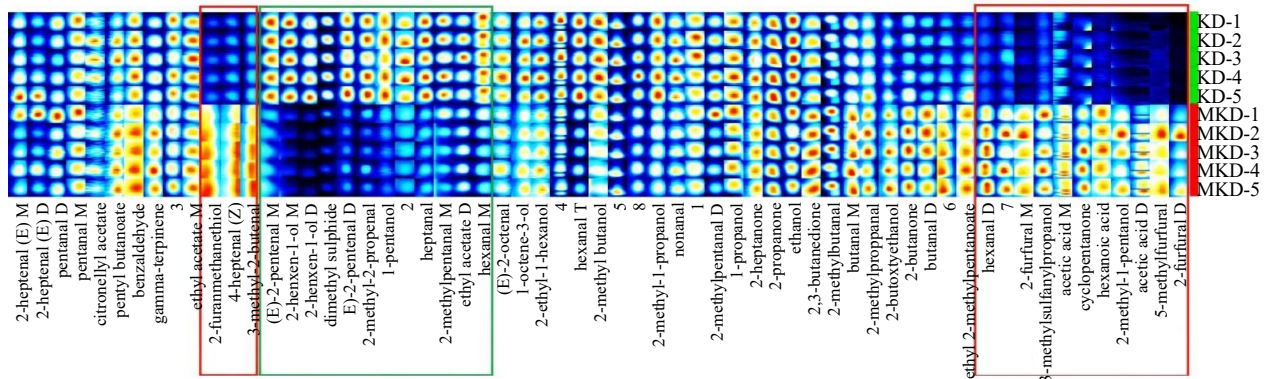
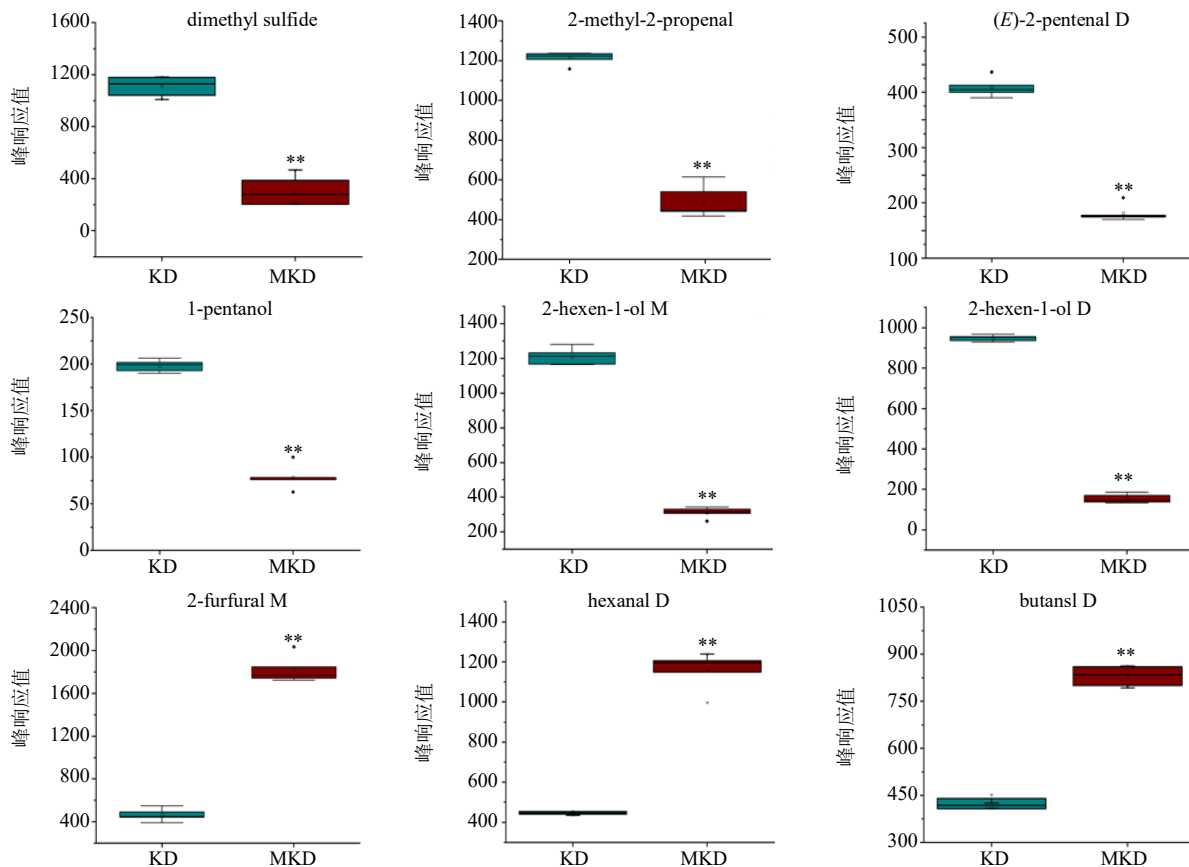


图 3 款冬花和蜜炙品挥发性有机物指纹图谱

Fig. 3 Comparison of fingerprints of volatile organic compounds of raw and honey baked *Farfarae Flos*



** $P < 0.01$

图 4 款冬花生品和蜜炙品部分特征性成分箱型图

Fig. 4 Box diagram of some characteristic components of raw and honey baked *Farfarae Flos*

2-己烯-1-醇 M (2-hexen-1-ol M)、2-己烯-1-醇 D (2-hexen-1-ol D)、庚烯醛 (heptanal) 等 9 个物质含量在款冬花生品中表现出优势, 远高于蜜炙品, 可作为识别生品的特征性成分; 乙酸 D (acetic acid D)、乙酸 M (acetic acid M)、环戊酮 (cyclopentanone)、3-甲基-2-丁烯醛 (3-methyl-2-butenal)、己醛 D (hexanal D)、2-甲基-1-戊醇 (2-methyl-1-pentanol)、2-呋喃甲醛 D (2-furfural D)、2-呋喃甲醛 M (2-furfural M)、糠硫醇 (2-furanmethanethiol)、(Z)-4-庚烯醛 [4-heptenal(Z)]、3-甲硫基丙醇 (3-methylsulfanypropanol)、5-甲基呋喃醛 (5-methylfurfural)、己酸 (hexanoic acid) 等 14 个物质含量在款冬花蜜炙品中表现出优势, 远高于生品, 可作为识别蜜炙品的特征性成分。

3.4 PCA 及邻近分析

将 10 批款冬花生品和蜜炙品中 61 个挥发性有机物的峰体积作为变量, 得到 10×61 阶数据矩阵, 导入 SIMCA-P19.0 软件进行 PCA, 前 2 个主成分的累计贡献率达到 83.37%, 说明前 2 个因子在反映款冬花蜜炙前后挥发性有机物的相互关系中起主导作用, 能够很好的区分款冬花生品和蜜炙品的

挥发性有机物差异。根据主成分结果, 构建款冬花生品和蜜炙品的得分图 (图 5), 款冬花生品和蜜炙品能够得到明显区分。

根据 HS-GC-IMS 获得的挥发性有机物强度对款冬花生品和蜜炙品进行邻近分析, 计算每两个样本之间的欧氏距离, 并通过检索最小距离来找到“最近邻”, 结果见表 3 和图 6。由邻近分析可知, 款冬花生品和蜜炙品按照距离聚为独立的两类, 且蜜炙前后距离较远。同时, 款冬花生品的正态分布较蜜炙品更为集中, 表明蜜炙对款冬花中挥发性有机物存在一定程度的影响。

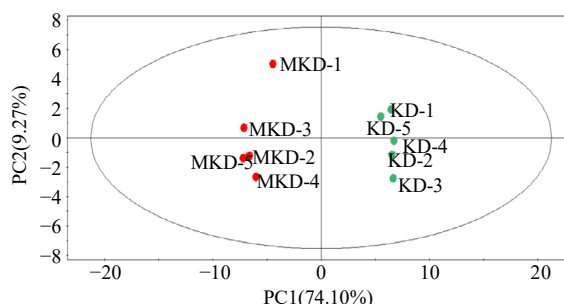


图 5 PCA 分析图

Fig. 5 Score plot of PCA

表 3 款冬花生品和蜜炙品间欧氏距离

Table 3 Euclidean distance between raw and honey baked *Farfarae Flos*

样品	欧氏距离									
	KD-1	KD-2	KD-3	KD-4	KD-5	MKD-1	MKD-2	MKD-3	MKD-4	MKD-5
KD-1	0	87 494	206 330	138 522	197 932	4 180 048	6 525 414	5 972 227	5 472 637	6 352 705
KD-2	87 494	0	70 631	56 728	173 936	4160598	6 342 643	5 840 075	5 313 515	6 190 930
KD-3	206 330	70 631	0	104 887	275 027	4038642	6 112 248	5 675 066	5 091 735	5 977 427
KD-4	138 522	56 728	104 887	0	98 279	4 030 496	6 220 308	5 720 579	5 150 042	6 063 954
KD-5	197 932	173 936	275 027	98 279	0	3 891 248	6 090 719	5 543 785	4 973 191	5 885 623
MKD-1	4 180 048	4 160 598	4 038 642	4 030 496	3 891 248	0	728 018	517 903	524 215	729 805
MKD-2	6 525 414	6 342 643	6 112 248	6 220 308	6 090 719	728 018	0	219 132	336 935	165 532
MKD-3	5 972 227	5 840 075	5 675 066	5 720 579	5 543 785	517 903	219 132	0	149 017	72 125
MKD-4	5 472 637	5 313 515	5 091 735	5 150 042	4 973 191	524 215	336 935	149 017	0	113 092
MKD-5	6 352 705	6 190 930	5 977 427	6 063 954	5 885 623	729 805	165 532	72 125	113 092	0

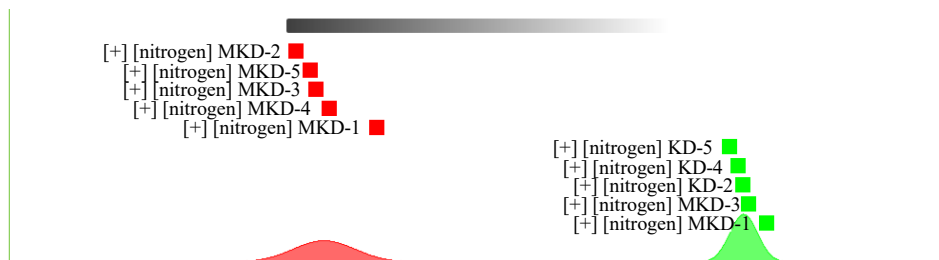


图 6 款冬花生品和蜜炙品最邻近图

Fig. 6 Nearest distance between raw and honey baked *Farfarae Flos*

4 讨论

HS-GC-IMS 技术具有无破坏性、环保、快速、简单等优点,近年来在分析和鉴定食品风味物质^[21]、食品安全性^[22]、中药材真伪及加工^[23]等方面取得了一系列的研究成果。蜜炙是中医药的传统炮炙加工工艺之一,通过改变生品药材的化学成分,从而增强其止咳功效^[24]。研究证实,蜜炙同样会影响中药材中挥发性有机物的种类和含量,周倩等^[25]通过 GC-IMS 对蜜炙前后甘草挥发性有机物的分析表明,该法可以快速判别甘草及蜜炙甘草,并获得了它们的特征性成分;龚敏等^[26]通过 HS-SPME-GC-MS 从百部及其蜜炙品中分离鉴定了 34 种挥发性有机物,共有成分仅 14 种。本研究旨在阐释蜜炙对款冬花挥发性有机物的影响,采集 5 个款冬花主产区的生品,并制得其蜜炙品,运用 HS-GC-IMS 从款冬花生品和蜜炙品中共检测到 61 种挥发性有机物,获得了它们的相对含量。通过数据库比对,定性鉴别出 2-甲基丁醛等 53 种挥发性有机物。

本实验构建的款冬花生品及其蜜炙品 HS-GC-IMS 指纹图谱反应出不同主产地款冬花生品及蜜炙品组内具有极高的相似度,组间则差异明显,可以直观判别待测样品类型是生品还是蜜炙品。同时,通过观察图谱中代表化合物信息的样点大小及颜色变化可以快速比较不同产地款冬花生品及其蜜炙品挥发性有机物的种类及含量,获得变化规律。炮制后,款冬花蜜炙品挥发性有机物的种类、含量与生品相比呈现差异,(E)-2-戊烯醛 M 成分未检出,甲硫醚、苯甲醛、2-甲基丙烯醛、庚醛等具有强烈刺激性的成分含量下降,丁醛 D、丁醛 M、2-呋喃甲醛 M 等可作为香料原料的成分含量增加;由于蜂蜜的加入,检出了乙酸 D、乙酸 M、环戊酮、3-甲基-2-丁烯醛、2-甲基-1-戊醇、2-呋喃甲醛 D、(Z)-4-庚烯醛、糠硫醇、5-甲基呋喃醛、己酸等成分,分析其原因可能是蜂蜜本身所含有或受热后产生的成分及款冬花在蜜炙过程中挥发性成分发生了转变^[27]。

PCA 和邻近分析结果表明,款冬花生品和蜜炙品在图上区分明显,能很好地根据前 2 个主成分的分值和欧氏距离进行判定。综上,款冬花蜜炙前后挥发性有机物的指纹图谱、成分种类及其含量变化在一定程度上证实了蜜炙可影响款冬花中的挥发性成分,也反映了款冬花生品和蜜炙品在临床应用中的功效差异。本研究通过 HS-GC-IMS 技术测定与分析款冬花生品蜜炙前后的挥发性有机物,为快速

识别款冬花生品及其炮制品提供了科学依据,同时为款冬花饮片的质量控制及临床应用提供参考。

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: 31, 346.
- [2] Song X Q, Yu J H, Sun J, *et al.* Bioactive sesquiterpenoids from the flower buds of *Tussilago farfara* [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 107: 104632.
- [3] Song K, Ha I J, Kim Y S. A strategy for identification and structural characterization of oplopane- and bisabolane-type sesquiterpenoids from *Tussilago farfara* L. by multiple scan modes of mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1602: 188-198.
- [4] Chen S J, Dong L, Quan H F, *et al.* A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L. (coltsfoot) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 267: 113478.
- [5] Ryoo G H, Moon Y J, Choi S, *et al.* Tussilagone promotes osteoclast apoptosis and prevents estrogen deficiency-induced osteoporosis in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 531(4): 508-514.
- [6] 吴笛, 雷昌, 唐林. HPLC-ESI-ITMS 法分析蜜炙前后款冬花中毒性成分克氏千里光碱的变化 [J]. *中成药*, 2019, 41(3): 694-697.
- [7] 李宁, 姚令文, 刘丽娜, 等. UPLC-MS/MS 法测定款冬花炮制前后 3 个吡咯里西啶生物碱的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(7): 1262-1267.
- [8] 李娟, 张松, 秦雪梅, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的款冬花生品与蜜炙品化学成分比较 [J]. *中草药*, 2015, 46(20): 3009-3016.
- [9] 李红军, 王增绘, 李文涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析款冬花蜜炙前后的化学成分变化 [J]. *中国药房*, 2015, 26(6): 792-794.
- [10] 彭亮, 杨冰月, 张琳, 等. 基于 HPLC 特征指纹图谱分析不同生长阶段款冬花有效成分积累特征 [J]. *中草药*, 2018, 49(21): 5018-5023.
- [11] 颜爽, 何宇新, 毛正睿, 等. 蜜炙款冬花质量标准研究 [J]. *西华大学学报: 自然科学版*, 2019, 38(3): 68-72.
- [12] 宋艺君, 郭涛, 王民波, 等. 响应面法优化蜜炙款冬花微波炮制工艺研究 [J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(6): 692-700.
- [13] Norani M, Ebadi M T, Ayyari M. Volatile constituents and antioxidant capacity of seven *Tussilago farfara* L. populations in Iran [J]. *Sci Hortic*, 2019, 257: 108635.
- [14] 滕云, 杨斌, 周积德, 等. 款冬花挥发油对肺纤维化大鼠肺功能及肺组织羟脯氨酸含量的影响 [J]. *中国临床研究*, 2012, 25(7): 632-634.

- [15] Wang S Q, Chen H T, Sun B G. Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) [J]. *Food Chem*, 2020, 315: 126158.
- [16] Yuan Z Y, Qu H Y, Xie M Z, *et al.* Direct authentication of three Chinese materia medica species of the *Lilii Bulbus* family in terms of volatile components by headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2019, 11(4): 530-536.
- [17] Liu Y J, Qian Y Y, Shu B, *et al.* Effects of four drying methods on *Ganoderma lucidum* volatile organic compounds analyzed via headspace solid-phase microextraction and comprehensive two-dimensional chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2021, 166: 106258.
- [18] 石典花, 戴衍朋, 卢琪, 等. 基于 GC-IMS 气味检测辨识侧柏叶炒炭程度研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(21): 6510-6517.
- [19] 林秀敏, 岳丽丹, 张振凌, 等. GC-IMS 法比较不同方法炮制酒当归特异气味成分差异 [J]. *中草药*, 2020, 51(17): 4464-4472.
- [20] Leng P, Hu H W, Cui A H, *et al.* HS-GC-IMS with PCA to analyze volatile flavor compounds of honey peach packaged with different preservation methods during storage [J]. *LWT*, 2021, 149: 111963.
- [21] Fan X J, Jiao X, Liu J G, *et al.* Characterizing the volatile compounds of different *Sorghum* cultivars by both GC-MS and HS-GC-IMS [J]. *Food Res Int*, 2021, 140: 109975.
- [22] Gu S, Chen W, Wang Z H, *et al.* Rapid detection of *Aspergillus* spp. infection levels on milled rice by headspace-gas chromatography ion-mobility spectrometry (HS-GC-IMS) and E-nose [J]. *LWT*, 2020, 132: 109758.
- [23] Feng X Y, Wang H W, Wang Z R, *et al.* Discrimination and characterization of the volatile organic compounds in eight kinds of Huajiao with geographical indication of China using electronic nose, HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. *Food Chem*, 2022, 375: 131671.
- [24] 梁丹, 韦春蕾, 冷静, 等. 不同炮制法对对叶百部中对叶百部碱含量及药效的影响 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(8): 3883-3892.
- [25] 周倩, 戴衍朋, 郭威, 等. 基于顶空-气相色谱-离子迁移谱的生、炙甘草饮片挥发性有机物指纹图谱分析 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(16): 3857-3862.
- [26] 龚敏, 卢金清, 肖宇硕, 等. HS-SPME-GC-MS 分析百部及其蜜炙品挥发性成分 [J]. *中国药师*, 2019, 22(1): 68-71.
- [27] 汪思凡, 曹振辉, 潘洪彬, 等. 蜂蜜化学成分及其主要生物学功能研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(1): 176-181.

[责任编辑 时圣明]