

基于气相色谱-离子迁移谱技术的白及及伪品玉竹饮片的快速鉴别

李海洋¹, 王艳丽², 岳佑淞¹, 李 涵¹, 侯富国¹, 范雪花¹, 姚 静^{2,3,4,5}, 施钧瀚^{2,3,4,5}, 桂新景^{1,2,3,4,5*}, 刘瑞新^{2,3,4,5*}

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046
2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000
3. 河南省中药临床应用 评价与转化工程研究中心, 河南 郑州 450000
4. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046
5. 河南省中药临床药学中医药重点实验室, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 基于气相色谱-离子迁移谱 (GC-IMS) 技术建立白及 *Bletilla striata* 饮片及其常见伪品饮片的挥发性有机物指纹图谱, 探索用于快速鉴别白及饮片真伪的新方法。方法 以常见伪品玉竹 *Polygonatum odoratum* 饮片为例, 基于 GC-IMS 检测白及饮片和玉竹饮片的挥发性有机物, 采用直观法和指纹图谱法对比两者挥发性有机物的差异, 并对其进行定性分析, 再基于指纹图谱筛选的差异峰建立多种辨识模型, 以评价 GC-IMS 技术用于白及饮片快速真伪鉴别的可行性, 最后根据正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial leastsquares-discrimination analysis, OPLS-DA) 模型的变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 和 *P* 值筛选两者的差异标志物。结果 2 种饮片挥发性有机物的峰强度存在一定的差异, 结合指纹图谱进一步对比两者的挥发性有机物含量差异发现白及和玉竹各有 53 和 38 个特征挥发性有机物; 以筛选的差异峰峰体积作为变量建立分类模型, 发现 OPLS-DA、K 最邻近等模型分类预测的准确率均为 100%, 最后根据 VIP 值和 *P* 值还确定了 4-甲基-2-戊酮 (二聚体) 等 21 种用于快速鉴别 2 种饮片的差异标志物, 并基于差异标志物提出了一种快速鉴别白及和玉竹的新方法。结论 基于 GC-IMS 技术可快速检测白及饮片与玉竹饮片的挥发性有机物, 通过对比其差异, 并借助化学计量学方法可实现白及饮片与玉竹饮片的快速、准确鉴别, 为白及饮片的快速质量评价提供了新的思路。

关键词: 白及; 玉竹; 气相色谱-离子迁移谱; 4-甲基-2-戊酮 (二聚体); 2-庚酮; 苧烯; 反-2-辛烯醛 (单体)

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)02-0605-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.026

Rapid identification of *Bletilla striata* and its counterfeit *Polygonatum odoratum* decoction pieces based on gas chromatography-ion mobility spectroscopy

LI Haiyang¹, WANG Yanli², YUE Yousong¹, LI Han¹, HOU Fuguo¹, FAN Xuehua¹, YAO Jing^{2,3,4,5}, SHI Junhan^{2,3,4,5}, GUI Xinjing^{1,2,3,4,5}, LIU Ruixin^{2,3,4,5}

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China
3. Henan Engineering Research Center for Clinical Application, Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China
4. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine Prevention and Treatment of Respiratory Diseases by Henan & Ministry of Education, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
5. Henan Engineering Laboratory for Clinical Evaluation Technology of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

收稿日期: 2023-08-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81773892); 国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703400); 国家重点研发计划中医药现代化重点专项课题 (2017YFC1703401, 2017YFC1703402); 河南省中药拔尖人才培养项目 (重点项目) (2019ZYBJ07); 河南省高层次人才特殊支持“中原千人计划”-“中原青年拔尖人才”项目 (ZYQR201912158); 河南省卫生健康中青年学科带头人专项 (HNSWJW-2020014); 河南省科技攻关项目 (222102310377); 河南省卫生健康委员会国家中医临床研究基地科研专项课题 (2021JDZY104)

作者简介: 李海洋, 硕士, 研究方向为中药质量评价及临床应用研究。E-mail: lihaiyang1998@163.com

***通信作者:** 刘瑞新, 主任药师, 研究生导师、博士后合作导师, 从事中药饮片临床应用现代化关键技术研究。

Tel: (0371)66233562 E-mail: liuruixin7@163.com

桂新景, 主管药师, 在读博士, 从事中药质量评价及临床应用研究。Tel: (0371)66233562 E-mail: guixinjing1991@126.com

Abstract: Objective To establish the fingerprint of volatile organic compounds in *Bletilla striata* decoction pieces and its common counterfeit decoction pieces based on gas chromatography-ion mobility spectroscopy (GC-IMS), and explore a new method for rapid identification of *B. striata*. **Methods** Taking the common counterfeit products *Polygonatum odoratum* decoction pieces as an example, the volatile organic compounds (VOCs) in *B. striata* and *P. odoratum* decoction pieces were detected based on GC-IMS. The differences of VOCs in the two kinds of decoction pieces were compared by the intuitive method and fingerprinting method, and a qualitative analysis was carried out to identify these volatile organic compounds. Then, a variety of identification models were established based on the differential peak screened by fingerprint to evaluate the feasibility of GC-IMS technology for rapid authenticity identification of *B. striata* decoction pieces. Finally, the differential marker was screened according to the variable importance projection (VIP) and *P*-value of the orthogonal partial least-squares discrimination analysis (OPLS-DA) model. **Results** Through preliminary analysis, it can be observed that the peak intensity of VOCs in two kinds of decoction pieces has a certain difference. Combined with fingerprint, it was found that there were 53 and 38 characteristic VOCs in *B. striata* and *P. odoratum*, respectively. The classification model was established with the selected differential peak volume as a variable. It was found that the accuracy of the OPLS-DA and K-Nearest Neighbor model was 100%. Finally, according to the VIP value and *P*-value, 21 kinds of differential markers such as 4-methyl-2-pentanone (dimer) were determined for rapid identification of two kinds of decoction pieces, and a new method for rapid identification of *B. striata* and *P. odoratum* was proposed based on the differential markers. **Conclusion** The VOCs of *B. striata* decoction pieces and *P. odoratum* decoction pieces can be rapidly detected based on GC-IMS. By comparing the differences of VOCs, and combined with chemometrics methods, the rapid and accurate identification of *B. striata* decoction pieces and *P. odoratum* decoction pieces can be realized, which can provide a new idea for the rapid quality evaluation of *B. striata* decoction pieces.

Key words: *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f; *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce; gas chromatography-ion mobility spectroscopy; 4-methyl-2-pentanone (dimer); 2-heptanone; camphene; *trans*-2-octenal (monomer)

白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f 为兰科植物白及属多年生草本植物, 以干燥块茎入药^[1], 始载于《神农本草经》: “主痈肿, 恶疮, 败疽, 伤阴, 死肌, 胃中邪气, 赋风, 鬼击, 痲缓, 不收”^[2]; 《中国药典》2020 年版记载白及具有收敛止血、消肿生肌的功效, 用于治疗咯血、吐血、外伤出血、疮疡肿毒, 皮肤皲裂等症^[1]。现代研究表明白及有止血、促进伤口愈合、抗菌、抗肿瘤、保护黏膜等药理作用^[3-4]。作为一种常用的止血药, 白及对育种和生态环境的要求较高^[5], 2017 年以前白及的人工栽培技术并不完善, 白及药材也主要以野生资源为主^[6], 但长期的掠夺式采挖导致其生态环境遭到了严重破坏^[7-8], 以至于后来被列入了中国珍稀濒危植物名录 (<http://www.iplant.cn/rep/protlist>)。随着近几年组织培养技术的进一步发展, 白及育种困难的问题也得到了有效改善^[9], 白及药材的产量也在稳定增长, 但前期大范围的盲目引种导致其出现了品种混乱、品质参差不齐的问题^[6,10], 还有一些不法商家为牟取更高的利润, 在白及饮片中掺入同属的黄花白及、小白及等饮片^[6-7], 甚至是掺入其他形状类似的饮片如玉竹、黄精等^[11], 导致中药市场一片混乱。如玉竹饮片, 因价格较白及饮片低且性状较相似, 是白及饮片常见的掺伪品, 但其与白及饮片的药效

完全不同, 掺入到白及饮片中药效必然大打折扣, 甚至还可能会引发用药安全事故。因此, 开展白及饮片的真伪鉴定研究十分有必要。

现有白及饮片的真伪鉴定方法主要包括经验鉴别方法、显微鉴别方法、药典的理化鉴别等方法^[11], 也有研究人员将分子鉴定技术应用于白及饮片的真伪鉴定^[12], 拓宽了鉴别方法与手段, 为中药的鉴定提供了更多的选择, 而不同方法各有所长, 如传统经验鉴别和显微鉴别速度快, HPLC 鉴定技术准确可量化, 分子鉴定技术溯源更准确、可靠, 但也普遍存在一些局限性, 如经验鉴别主观性强, 显微鉴别专属性不强, HPLC 鉴定操作繁琐耗时^[13], 分子鉴定技术难度相对较高, 且目前常用的 DNA 提取和特异性 PCR 技术耗时较长等^[14]。因此, 亟需根据白及饮片的特性 (挥发性成分复杂多样^[15]) 探索新的快速、准确的真伪鉴定方法, 这对于完善中药饮片的快速鉴别体系也有重要的意义。

气相离子迁移谱 (gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 是一种痕量挥发性有机物快速分析技术, 其结合了气相色谱的高分离性能和离子迁移谱快速响应、高灵敏度的优势, 且仪器操作简单, 样品前处理简便快捷^[16], 目前在食

品、医药等领域已有广泛应用^[17-19]，在中药材年份区分^[20]、品种鉴别^[16]、炮制工艺优化^[21]、不同花期中药的成分分析^[22]等方面也发挥了重要的作用。基于此，本实验以常见伪品玉竹饮片为例，运用 GC-IMS 技术开展白及饮片和玉竹饮片的挥发性有机物的差异对比研究，探索适合白及饮片的快速真伪鉴别方法。

1 材料

1.1 仪器

FlavourSpec®风味分析仪 [德国 GAS 公司，配有分析软件包括 Laboratory Analytical Viewer (LAV) 和 Reporter、Gallery Plot、Dynamic PCA 三款插件以及 GC×IMS Library Search Software 定性软件]，QUINTIX224-1CN 型万分之一电子分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]。

1.2 试药

5 批白及饮片和 5 批玉竹饮片购自于河南中医药大学第一附属医院、河南中医药大学第三附属医院、1 家药店及成都荷花池中药材市场，样品产自云南、贵州、湖南等地，具体信息见表 1，经河南中医药大学第一附属医院施钧瀚等多名主任/副主任药师共同鉴定，样品白及饮片为兰科植物白及 *B. striata* (Thunb.) Reichb. f 块茎的炮制品，样品玉竹饮片为百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 根茎的炮制品。

2 方法

2.1 样品处理

分别精密称取各样品 (粗粉) 1.0 g，置于 20 mL 顶空瓶中，80 ℃ 孵育 20 min 后进样 500 μL。每个样品平行进样 2 次。

表 1 白及饮片和玉竹饮片信息与来源

Table 1 Information and sources of *B. striata* decoction pieces and *P. odoratum* decoction pieces

编号	饮片名称	产地	来源
BJ4	白及	贵州	安徽德昌药业股份有限公司
BJ14	白及	云南	四川新荷花中药饮片股份有限公司
BJ24	白及	贵州	安徽人民中药饮片有限公司
BJ34	白及	云南	成都荷花池中药材专业市场益康堂中药行
BJ44	白及	云南	成都荷花池中药材专业市场益康堂中药行
YZ76	玉竹	湖南	成都荷花池中药材专业市场
YZ77	玉竹	湖南	成都荷花池中药材专业市场
YZ78	玉竹	湖南	成都荷花池中药材专业市场
YZ79	玉竹	湖南	成都荷花池中药材专业市场
YZ80	玉竹	湖南	成都荷花池中药材专业市场

2.2 检测条件

顶空进样条件：孵化温度 80 ℃；孵化时间 20 min；孵化转速 500 r/min；进样针温度 85 ℃；进样体积 500 μL。气相色谱条件：色谱柱 FS-SE-54-CB-1 15 m ID:0.53 mm，柱温 60 ℃，载气流量：0~2 min，2 mL/min；2~20 min，2~100 mL/min；20~30 min，100 mL/min。IMS 条件：载气/漂移气为 N₂，IMS 温度 45 ℃，漂移气体积流量 150 mL/min。

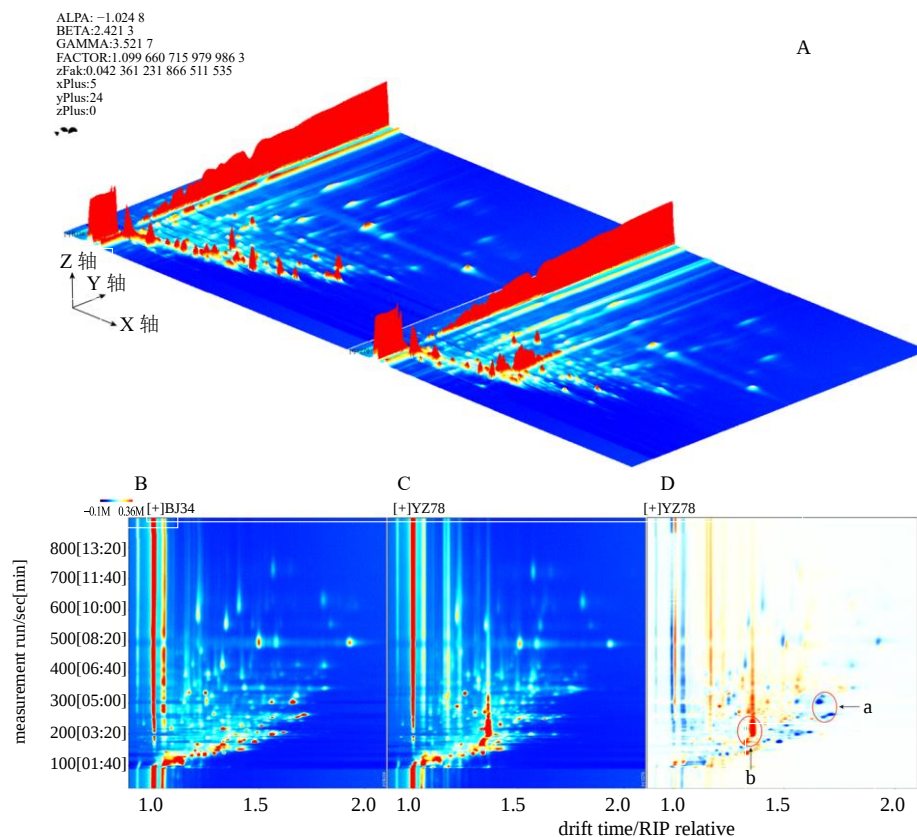
2.3 数据处理与分析

使用 Microsoft Office Excel 2016 统计数据；基于 Laboratory Analytical Viewer (LAV) 分析软件，根据组分特征峰对应的保留时间和迁移时间，利用内置 NIST 数据库和 IMS 数据库对样品挥发性有机物进行定性，结合 Reporter 插件、Gallery Plot 插件对样品挥发性有机物进行分析，并采用 SIMCA14.1 对指纹图谱筛选的差异峰进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares-discrimination analysis, OPLS-DA)；使用 Matlab 2016b 的 classification_toolbox_6.0 工具箱中的 K 最邻近 (K-nearestneighbor, KNN) 分类算法和支持向量机 (support vector machine, SVM) 二分类方法，基于筛选的差异峰开展 2 种饮片的分类预测。

3 结果与分析

3.1 白及饮片与玉竹饮片 GC-IMS 谱图的初步对比分析

基于 GC-IMS 法采集到样品挥发性有机物信息，通过生成三维谱图 (图 1-A) 和二维俯视图 (图 1-B 和图 1-C)，可直接对比样品间的挥发性有机物差异，其中三维图的 X、Y、Z 轴分别代表迁移时间、保留时间和峰强度；俯视图的横、纵坐标分别为离子迁移时间 (归一化处理)、气相色谱的保留时间，横坐标 1.0 处红色竖线为反应离子峰 (Reactive ion peak, RIP，经归一化处理)，RIP 峰两侧的每一个点代表一种挥发性有机物，颜色代表有机物的浓度，颜色越深表示浓度越大，白色表示浓度较低，红色表示浓度较高^[23]。基于 Matlab 语言的随机数选取语法，随机选取 BJ34 和 YZ78 对比白及饮片和玉竹饮片的 GC-IMS 三维谱图和俯视图，从图中可以看出白及饮片和玉竹饮片之间挥发性有机物的种类和含量存在一定程度的差异。为更直观地对比不同样品的差异，



A-三维气相离子迁移谱比较图；B、C 分别为白及和玉竹的二维气相离子迁移谱图；D-白及和玉竹的比较差异谱。

Acomparison of three-dimensional GC-IMS diagram plots of *B. striata* and *P. odoratum*; B, C-two-dimensional GC-IMS diagram plots of *B. striata* and *P. odoratum*; D-comparative difference diagram plots of *B. striata* and *P. odoratum*.

图 1 样品的气相离子迁移谱图及差异图

Fig. 1 GC-IMS diagram plots and difference diagram plots of samples

以 BJ34 的谱图作为参比，YZ78 的谱图扣减参比后再比较两者的挥发性有机物差异，结果如图 1-D。如果二者挥发性有机物一致，则扣减后的背景为白色，蓝色代表该物质的浓度低于参比，如区域 a；红色代表该物质的浓度高于参比，如区域 b。从图 1-D 中可以看出 BJ34 与 YZ78 的多种挥发性有机物在含量上均存在较大的差异，这与三维谱图和俯视图的观察到的结果一致。

3.2 白及饮片与玉竹饮片挥发性有机物的定性分析

采用软件内置的 NIST 和 IMS 数据库分别对白及饮片和玉竹饮片的挥发性有机物进行定性分析，共确定了 61 种挥发性有机物，见图 2 与表 2。其中，醇类化合物共有 15 种，占 24.59%，醛类化合物共有 15 种，占 24.59%，酯类化合物有 5 种，占 8.20%，酮类化合物共有 17 种，占 27.87%，另外还有酸类、烷烃类、烯烃类、吡嗪类、吡啶类、噻唑类、呋喃类化合物，占 14.75%。同时，还发现

有 10 种挥发性有机物同时存在单体和二聚体，如图 2 中序号 3、序号 4 代表的化合物正戊醇具有相同的保留时间，其中序号 3 代表化合物的单体，序号 4 代表化合物的二聚体，研究发现二聚体或多聚体的形成与相关化合物的浓度等有关^[24]，目前普遍认为当单体、二聚体同时出现时可更加精准地对化合物进行定性^[25-26]。

3.3 白及饮片与玉竹饮片挥发性有机物指纹图谱整体对比与分析

为更直观对比不同饮片挥发性有机物的差异，使用 LAV 软件的 Gallery Plot 插件对 2 种中药饮片进行指纹图谱分析。结果见图 3，图中每一行代表一个样品中选取的全部信号峰，每一列代表同一挥发性有机物在不同样品中的信号峰，从图中可以看出每种样品的完整挥发性有机物信息以及样品之间挥发性有机物的差异。通过对比 5 个不同批次白及饮片和玉竹饮片的挥发性有机物的峰强度，结合表

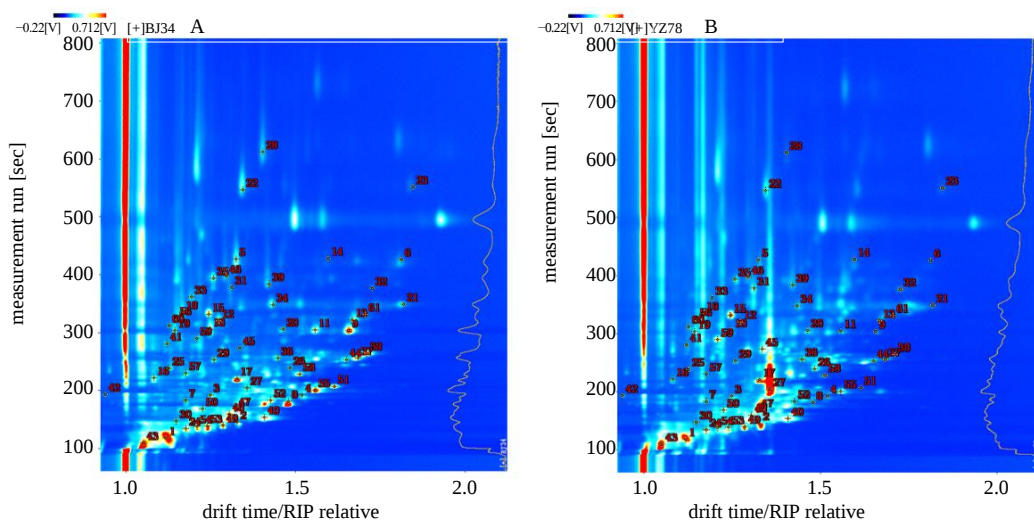


图 2 白及饮片 (A) 和玉竹饮片 (B) 气相离子迁移谱图

Fig. 2 GC-IMS diagram plots of *B. striata* decoction pieces (A) and *P. odoratum* decoction pieces (B)

2 的峰体积均值, 可以看出 2 种饮片的部分挥发性有机物的含量存在明显差异, 如区域 B 的大部分挥发性有机物; 同时还发现同一饮片不同批次间的含量差异也比较大, 如区域 A 的化合物在不同批次白及间的含量差异较显著, BJ4 和 BJ14 中的含量明显高于其他批次; 同样地, 区域 D 的化合物 30、5 等在不同批次玉竹的含量差异也比较显著, 推测可能是产地不同、储存条件不一致、储存年限不同等导致同种饮片挥发性有机物存在较大的差异, 但也不排除饮片本身的质量参差不齐的可能。同时, 区域 A、B 的化合物在白及中的含量相对玉竹的含量整体较高, 即以上区域所包含的 2,3-戊二酮、4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮(二聚体)、甲基庚烯酮、糠醇(单体)、反式-2-壬烯醛、2-庚酮、4-甲基-2-戊酮(二聚体)和未知化合物 22、11、24、3 等共计 53 种化合物可作为识别白及饮片的特征挥发性有机物; 区域 D 所包含的化合物在玉竹中的含量明显更高, 可作为玉竹的特征挥发性有机物, 即 1-辛烯-3-醇、糠(基)硫醇、顺-2-戊烯-1-醇、异戊酸、3-辛酮、5-甲基呋喃醛、苡烯、醋酸乙酯和未知化合物 14、15、58、37、38、46 等共计 38 种化合物可作为识别玉竹饮片的特征挥发性有机物。而在区域 C 的挥发性有机物在 2 种中药饮片的含量差异较小, 难以作为区分 2 种饮片的挥发性有机物。

3.4 基于化学计量学分析方法的白及饮片与玉竹饮片的分类辨识

为判断通过指纹图谱中含量差异筛选的白及饮片和玉竹饮片特征挥发性有机物的准确性, 进一

步评价 GC-IMS 技术用于白及饮片快速真伪鉴别的可行性。将筛选出含量差异较大的 91 种挥发性有机物的峰体积作为变量, 导入 SIMCA14.1 软件进行无指导的 PCA 和有指导的 OPLS-DA, 并借助 Matlab 2016b 的 classification_toolbox_6.0 工具箱中的 KNN 分类算法和 SVM 二分类方法, 基于筛选的差异峰对 2 种饮片进行分类预测。通过 PCA 的得分图(图 4-A)发现白及饮片和玉竹饮片间有较好的分离, 前 2 个主成分的贡献率分别是 40.00%和 31.70%, 模型前 7 个主成分的累积贡献率 R^2_{Xcum} 是 0.980, 模型的预测能力 Q^2_{cum} 是 0.881, 说明模型的预测性能良好。在 PCA 的基础上建立有指导的 OPLS-DA 模型进行分析(图 4-B), 表征模型性能的参数 R^2_{Ycum} 和 Q^2_{cum} 分别是 0.991 和 0.987, 且模型的分类预测正判率为 100%, 说明模型具有极好的分类效果, 采用 Permutation Test 对 OPLS-DA 模型进行置换检验($n=200$ 次), 判断模型的预测性能, 结果如图 4-C, 可以看出所有左侧的 Q^2 、 R^2 值都比右边的原始点低, Q^2 的回归线与纵轴(左边)相交于 0.05 以下, 且 R^2 值均大于 0, 表明建立模型的预测能力良好, 即上述筛选的含量差异较大的 91 种挥发性有机物可作为辨识白及饮片和玉竹饮片的参考指标。不同挥发性有机物峰体积的 OPLS-DA 模型的变量重要性投影(variable importance projection, VIP)见图 4-D, VIP 值越大表明该有机物峰体积差异对两者分类的贡献越高。

表 2 气相离子迁移谱图定性结果

Table 2 Qualitative results of GC-IMS diagram plots

序号	种类	化合物名称	化合物 CAS 号	分子式	保留指数	保留时间/s	相对迁移时间	峰体积	
								白及饮片	玉竹饮片
1	醇类	正戊醇 (单)	C71410	C ₅ H ₁₂ O	762.3	193.006	1.251 6	439.86	734.10
2		正戊醇 (二)	C71410	C ₅ H ₁₂ O	760.8	192.408	1.520 9	310.01	239.07
3		5-甲基-2-呋喃甲醇 (单)	C3857258	C ₆ H ₈ O ₂	952.2	309.270	1.249 7	343.25	91.73
4		5-甲基-2-呋喃甲醇 (二)	C3857258	C ₆ H ₈ O ₂	951.8	308.880	1.560 4	816.53	370.10
5		糠醇 (单)	C98000	C ₅ H ₆ O ₂	856.7	238.095	1.129 3	153.06	229.10
6		2-辛醇	C123966	C ₈ H ₁₈ O	999.3	347.656	1.435 9	483.42	468.60
7		2-庚醇	C543497	C ₇ H ₁₆ O	900.0	264.170	1.712 9	144.50	108.12
8		2-乙基己醇	C104767	C ₈ H ₁₈ O	1 028.5	383.774	1.424 5	110.65	60.62
9		乙醇	C64175	C ₂ H ₆ O	421.3	109.433	1.053 0	3 194.85	3 096.39
10		3-庚醇	C589822	C ₇ H ₁₆ O	882.1	252.622	1.652 1	126.92	167.57
11		糠(基)硫醇	C98022	C ₅ H ₆ OS	911.6	272.735	1.337 5	748.07	224.34
12		桉叶油醇	C470826	C ₁₀ H ₁₈ O	1 038.5	397.003	1.297 7	263.64	250.70
13		顺-2-戊烯-1-醇	C1576950	C ₅ H ₁₀ O	763.1	192.802	0.941 1	22.75	57.98
14		3-甲基-3-丁烯-1-醇	C763326	C ₅ H ₁₀ O	738.1	183.323	1.428 6	364.74	83.99
15		1-辛烯-3-醇	C3391864	C ₈ H ₁₆ O	975.0	324.593	1.151 5	97.38	43.43
16	醛类	反-2-辛烯醛 (单)	C2548870	C ₈ H ₁₄ O	1 059.8	427.371	1.326 8	758.64	287.30
17		反-2-辛烯醛 (二)	C2548870	C ₈ H ₁₄ O	1 059.3	426.769	1.814 6	241.32	60.17
18		糠醛 (单)	C98011	C ₅ H ₄ O ₂	825.3	222.221	1.084 0	297.43	278.10
19		糠醛 (二)	C98011	C ₅ H ₄ O ₂	824.5	221.796	1.329 2	1 192.01	1 828.76
20		苯甲醛 (单)	C100527	C ₇ H ₆ O	950.1	307.424	1.146 0	243.71	334.62
21		苯甲醛 (二)	C100527	C ₇ H ₆ O	952.1	309.151	1.466 1	252.87	548.20
22		2-己烯醛 (单)	C505577	C ₆ H ₁₀ O	841.8	229.986	1.178 2	143.56	81.41
23		2-己烯醛 (二)	C505577	C ₆ H ₁₀ O	838.6	228.308	1.514 5	477.22	191.77
24		反-2-庚烯醛	C18829555	C ₇ H ₁₂ O	950.7	307.925	1.658 9	310.69	378.17
25		反式-2-壬烯醛	C18829566	C ₉ H ₁₆ O	1 166.3	611.470	1.405 0	585.45	215.71
26		异戊醛	C590863	C ₅ H ₁₀ O	637.8	153.297	1.410 5	1 277.71	1 598.25
27		苯乙醛	C122781	C ₈ H ₈ O	1 036.2	393.819	1.260 8	386.82	403.81
28		丁醛	C123728	C ₄ H ₈ O	577.3	139.529	1.288 4	638.92	706.69
29		2-甲基丙烯醛	C78853	C ₄ H ₆ O	568.1	137.532	1.211 5	493.09	330.34
30		5-甲基呋喃醛	C620020	C ₆ H ₆ O ₂	960.3	311.802	1.129 1	79.78	92.17
31	酯类	醋酸乙酯	C141786	C ₄ H ₈ O ₂	602.6	145.161	1.330 2	512.23	757.60
32		乙酸叶醇酯	C3681718	C ₈ H ₁₄ O ₂	999.7	348.169	1.820 2	114.85	123.46
33		戊酸乙酯	C539822	C ₇ H ₁₄ O ₂	886.9	255.396	1.686 5	401.58	378.56
34		醋酸丁酯	C123864	C ₆ H ₁₂ O ₂	795.4	206.446	1.616 3	303.81	73.46
35		异丁酸乙酯	C97621	C ₆ H ₁₂ O ₂	783.1	200.725	1.560 1	857.01	1 125.97
36	酮类	4-甲基-2-戊酮 (单)	C108101	C ₆ H ₁₂ O	737.2	183.296	1.178 9	88.72	85.70
37		4-甲基-2-戊酮 (二)	C108101	C ₆ H ₁₂ O	731.7	181.312	1.480 7	2 196.88	396.62
38		1-辛烯-3-酮 (单)	C4312996	C ₈ H ₁₄ O	969.8	325.272	1.276 3	161.07	171.80
39		1-辛烯-3-酮 (二)	C4312996	C ₈ H ₁₄ O	971.7	326.982	1.669 9	177.84	83.97
40		樟脑 (单)	C464493	C ₁₀ H ₁₆ O	1 132.7	545.773	1.346 2	780.87	918.24
41		樟脑 (二)	C464493	C ₁₀ H ₁₆ O	1 135.3	550.672	1.848 1	208.38	304.61
42		4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮 (二)	C3658773	C ₆ H ₈ O ₃	1 060.5	428.282	1.599 1	326.63	174.36
43		2-乙酰基-1-吡咯啉 (单)	C85213225	C ₆ H ₉ NO	921.5	280.290	1.123 2	764.60	812.66
44		丙酮	C67641	C ₃ H ₆ O	468.8	123.110	1.120 3	3 570.73	4 161.74
45		甲基庚烯酮	C110930	C ₈ H ₁₄ O	986.5	341.482	1.168 6	618.57	338.51
46		2,3-丁二酮	C431038	C ₄ H ₆ O ₂	552.5	134.228	1.178 3	492.16	282.50
47		3-羟基-2-丁酮	C513860	C ₄ H ₈ O ₂	694.2	167.799	1.324 5	1 453.44	1 191.53
48		1-戊烯-3-酮	C1629589	C ₅ H ₈ O	662.3	159.258	1.306 6	485.87	585.68
49		2,3-戊二酮	C600146	C ₅ H ₈ O ₂	696.8	168.676	1.228 4	199.10	273.12
50		2-丁酮	C78933	C ₄ H ₈ O	571.9	138.349	1.241 3	246.13	216.61
51		2-庚酮	C110430	C ₇ H ₁₄ O	883.1	253.212	1.261 5	1 399.71	198.92
52		3-辛酮	C106683	C ₈ H ₁₆ O	982.3	331.228	1.708 4	88.64	202.76
53	酸类	异戊酸	C503742	C ₅ H ₁₀ O ₂	858.9	239.333	1.485 2	71.54	122.36
54		乙酸	C64197	C ₂ H ₄ O ₂	611.6	147.166	1.150 4	75.99	52.66
55	烷烃类	1,4-桉叶素 (单)	C470677	C ₁₀ H ₁₈ O	1 023.7	377.609	1.313 9	192.37	292.58
56		1,4-桉叶素 (二)	C470677	C ₁₀ H ₁₈ O	1 022.9	376.595	1.727 4	276.62	291.32
57	烯烃类	蒽烯	C79925	C ₁₀ H ₁₆	933.3	289.529	1.211 3	303.95	1 033.15
58	吡嗪类	2-乙基-5-甲基吡嗪	C13360640	C ₇ H ₁₀ N ₂	1 010.5	361.085	1.195 8	104.07	116.86
59	吡啶类	2,6-二甲基吡啶	C108485	C ₇ H ₉ N	887.5	255.784	1.449 5	40.14	46.76
60	噻唑类	4-甲基噻唑	C693958	C ₄ H ₅ NS	790.2	203.995	1.358 7	4 802.69	4 590.74
61	呋喃类	2-戊基呋喃	C3777693	C ₉ H ₁₄ O	982.6	337.594	1.246 8	713.60	662.35

化合物名称中“单”和“二”分别表示其单体和二聚体，峰体积为样品的平均值。

In the compound name, “mono” and “di” respectively represent their monomers and dimers, and the peak volume is the average value of the sample.

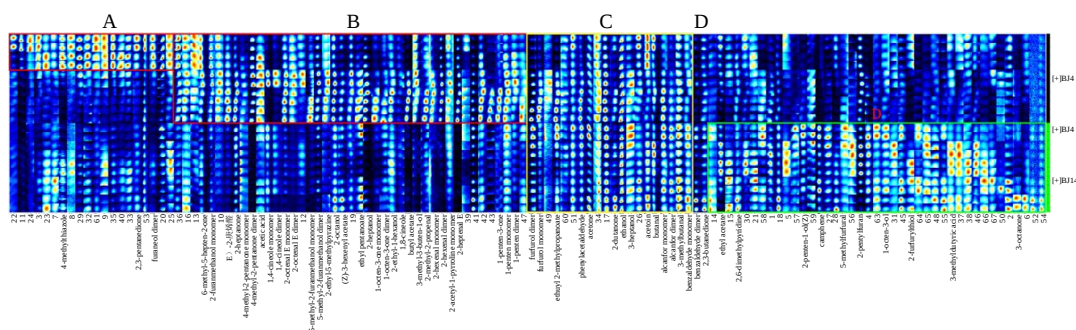
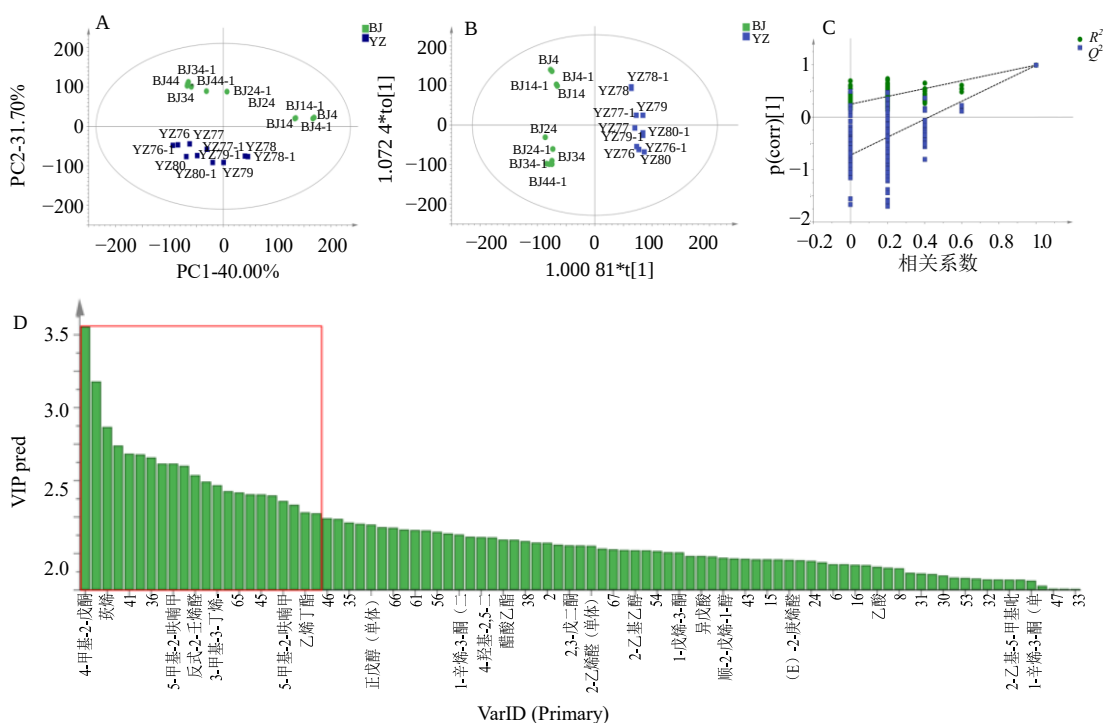


图 3 白及饮片和玉竹饮片的挥发性有机物指纹图谱

Fig. 3 Fingerprint chromatogram of volatile organic compounds in *B. striata* decoction pieces and *P. odoratum* decoction pieces



A-PCA 得分图; B-OPLS-DA 得分图; C-OPLS-DA 模型的 Permutation Test 图; D-OPLS-DA 模型的 VIP 值。

A-PCA score chart; B-OPLS-DA score chart; C-OPLS-DA model Permutation Test diagram; D-VIP value of OPLS-DA model.

图 4 白及饮片和玉竹饮片挥发性组分差异峰的多元统计分析图

Fig. 4 Multivariate statistical analysis of difference peaks of volatile components in *B. striata* decoction pieces and *P. odoratum* decoction pieces

结果显示 VIP 值 >1 且 $P<0.05$ 的挥发性有机物共有 21 种 (红框标注, 化合物 11 的 VIP 值 >1 但 $P=0.08$), 其中能够定性识别的挥发性有机物共有 13 个, 包括 4-甲基-2-戊酮 (二聚体)、2-庚酮、苧烯、反-2-辛烯醛 (单体)、糠 (基) 硫醇、5-甲基-2-呋喃甲醇 (二聚体)、反式-2-壬烯醛、3-甲基-3-丁烯-1-醇、2-己烯醛 (二聚体)、甲基庚烯酮、5-甲基-2-呋喃甲醇 (单体)、反-2-辛烯醛 (二聚体)、

醋酸丁酯; 未定性挥发性有机物 8 种, 分别是化合物 41、36、18、4、65、27、45、64。上述 21 种挥发性有机物可作为白及饮片和玉竹饮片分类辨识的重要指标, 可为 2 种饮片的快速真伪鉴定提供参考。另外, 经 SVM 和 KNN 方法进行二分类模型预测, 结果显示 2 种饮片分类的正判率均为 100%。综上, 基于指纹图谱的含量差异筛选的差异峰进行化学计量学分析后, 可实现 2 种饮片极好的分类效果, 即

GC-IMS 方法可用于白及饮片和玉竹饮片的快速真伪鉴定。那么如何充分利用 GC-IMS 技术快速、痕量检测的优势,从而快速实现未知中药饮片/中药材的快速鉴别是一个亟待解决的问题,下面作者就现有实验数据为基于 GC-IMS 技术的中药快速鉴别研究提供方法和思路借鉴。

基于本研究测定的实验数据,首先选取 2 个对 2 种饮片分类辨识贡献率高、且分别在 2 种饮片中共具有较高含量的代表性挥发性有机物成分建立快速判别参考指标。经筛选,选用 4-甲基-2-戊酮(二聚体, BJ 中含量高)和茨烯(YZ 中含量高)2 种挥发性有机物的峰体积做为参比($n=5$, 2 次平行进样取平均值),其中 BJ 饮片 4-甲基-2-戊酮与茨烯的峰体积比值的均值为 7.69 ± 2.17 ($n=5$), YZ 饮片 4-甲基-2-戊酮与茨烯的峰体积比值的均值为 0.42 ± 0.16 ($n=5$)。在置信水平为 95%的条件下,计算 BJ 和 YZ 饮片 4-甲基-2-戊酮和茨烯比值的置信区间分别为[4.99, 10.38]和[0.22, 0.62],即在置信水平为 95%时,当一种未知饮片的上述 2 种成分峰体积比值位于[4.99, 10.38]之间时,该饮片可能是白及;2 成分比值位于[0.22, 0.62]之间时,该饮片可能是玉竹,反之当上述 2 种成分峰体积比值在以上 2 个区间范围外时,判断该饮片应为白及和玉竹以外的其他饮片。基于本实验得到的数据,作者为快速鉴别白及饮片和玉竹饮片提供了一个参比指标,上述方法基于 GC-IMS 技术为快速鉴别白及饮片和玉竹饮片提供了新的思路,同时基于本思路还可为其他饮片的真伪鉴别甚至是掺伪鉴别等研究提供借鉴。

4 讨论

基于“气味”信息的中药快速鉴别是中药传统性状鉴别方法的重要组成部分^[27],如鱼腥草有强烈的鱼腥味、香加皮有特殊的香味,经验丰富的药工可直接根据中药的独特气味及气味厚薄程度快速鉴别其真伪甚至评价其优劣,凭借其快速、便捷的优势,这类方法作为一种传统的鉴别技术流传至今,但对于一些气味信息不丰富、甚至是气味微弱的饮片,可能难以通过传统“鼻闻”的方法快速实现中药的鉴别。GC-IMS 技术作为一种挥发性有机物痕量检测技术,巧妙地将传统性状鉴别的快速和现代仪器分析精准、量化的优势结合起来,可用于快速、精准检测中药挥发性有机物的信息,实现了传统技艺的传承与发展。目前该技术在食品、农业和医药

等领域已有较多应用,主要用于样品挥发性有机物的快速检测与定性,以及不同样品间挥发性有机物含量差异的对比分析,且已有较多研究表明 GC-IMS 技术可用于 2 种/多类样品的鉴别或分类^[20, 23],但目前仍未见相关研究提出用于快速鉴别 2 类样品的方法或思路。本研究基于该技术,以白及饮片和玉竹饮片为例,借助化学计量学等方法探索了一种可用于白及饮片快速真伪鉴别的参考方法。

本研究基于 GC-IMS 技术,在玉竹饮片和白及饮片中快速检测出了 126 种挥发性有机物,并获取了它们的相对含量信息,经软件内置的 NIST 和 IMS 数据库定性出 61 种挥发性有机物,结合指纹图谱对比两者挥发性有机物的种类和含量差异,发现区域 A 和区域 B 的绝大多数挥发性有机物在白及中的含量明显高于玉竹饮片,区域 D 的挥发性有机物在玉竹中的含量更高,这些成分都是鉴别 2 种饮片的重要参考指标。然后通过 VIP 值和 P 值明确了 21 种可用于白及饮片和玉竹饮片分类辨识的差异标志物,并借助统计学分析手段,基于选定的差异标志物的比值为白及饮片和玉竹饮片的快速真伪鉴定提供了参考指标及范围,提出了一种用于白及饮片快速真伪鉴别的方法,为中药饮片的快速质量评价提供了新的借鉴思路。另外,通过分析指纹图谱还发现同一饮片不同批次间存在明显的差异,如区域 A 的化合物在 BJ4 和 BJ14 中的含量与其他批次的白及饮片存在较大的差异,玉竹饮片的组内差异也比较突出,仅有个别挥发性有机物的含量具有较高的相似性,如图 3 区域 D 的未定性化合物 18、27、4、63、65、48。而造成挥发性有机物差异的原因,可能是由于产地或生长年限不同造成的影响,另一方面也可能是储存条件或储存年限不一致导致的。尽管挥发性有机物不是两者的最主要药效成分,但仍是饮片整体质量的重要体现,挥发性有机物出现含量差异的同时其他成分是否也会受到影响暂不能确定,以及挥发性有机物的差异是否直接或间接影响药物疗效也需进一步研究探索。

尽管本实验设计的样本量整体较少,可能一定程度上影响 2 种饮片挥发性有机物含量差异分析的结果,但通过 OPLS-DA、KNN、SVM 等方法建立的分类辨识模型的预测准确率比较理想,且经过留一法交互验证(20 样本)得到 KNN、SVM 模型的预测准确率均为 100%,同时为避免样品平行 2 次测定的数据会对模型的构建产生一定的影响(即机

器学习模型时出现数据泄露的风险),故将 2 次平行进样的峰体积求得平均值后,再次经留一法交互验证(10 样本)检测模型的预测性能,模型分类辨识的正判率仍为 100%,表明本研究建立的模型可以实现两饮片的准确鉴别,后续也将考虑通过增加样本量的方式进一步完善此类研究方法。

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: 106-107.
- [2] 清·顾观光辑. 杨鹏举校注. 神农本草经 [M]. 第 3 版. 北京: 学苑出版社, 2007: 251.
- [3] Xu D L, Pan Y C, Chen J S. Chemical constituents, pharmacologic properties, and clinical applications of *Bletilla striata* [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1168.
- [4] Wang W, Jiang S, Wang M Y, et al. Medicinal plant of *Bletilla striata*: A review of its chemical constituents, pharmacological activities, and quality control [J]. *World J Tradit Chin Med*, 2020, 6(4): 393.
- [5] 曹琦, 王学平. 药用白芨的生物学特性及其保护 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(18): 175-176.
- [6] 张曼, 韩亭亭, 胡春芳, 等. 白芨产业现状及可持续发展策略 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 5103-5108.
- [7] 陈美君, 李峰庆, 陈鸿平, 等. 中药白芨与黄花白芨的 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中药与临床, 2017, 8(5): 8-14.
- [8] 李明华, 程显隆, 李宁新, 等. 白芨的质量问题及真伪鉴别方法 [J]. 中国药事, 2018, 32(11): 1490-1499.
- [9] 周斌, 朱艳, 舒童, 等. 铜仁市白芨药材野生品与栽培品中白芨多糖含量对比研究 [J]. 山东化工, 2021, 50(24): 106-108.
- [10] 林立. 白芨种质资源评价及种子种苗质量标准研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.
- [11] 李正坤. 白芨药材质量评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [12] 罗颖, 赵之丽, 陈科力, 等. 基于 ITS2 序列鉴定白芨与其伪品小白芨 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(5): 841-845.
- [13] 金亮, 郭方其, 付曼曼, 等. 中药材白芨及分子鉴定研究进展 [J]. 分子植物育种, 2025, 35: 1-7.
- [14] 蒋超, 赵群, 金艳, 等. 快速 PCR 技术鉴别中药材蛤蚧的方法研究 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(1): 21-25.
- [15] 熊光华, 周细根, 肖凤. 药用植物白芨块茎挥发油组分的 GC-MS 分析及成分鉴定 [J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2020, 41(6): 46-50.
- [16] 杨姝, 王学峰, 高适, 等. 气相-离子迁移谱法检测沙林气体的方法研究 [J]. 分析仪器, 2022, 4: 58-64.
- [17] 丁习林, 王桂瑛, 邹颖玲, 等. 基于气相色谱-离子迁移谱结合多元统计学分析 KCl 部分替代 NaCl 对宣威火腿挥发性风味化合物的影响 [J]. 食品科学, 2020, 41(24): 190-198.
- [18] Li Q, Li X J, Ren Z Y, et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of Maillard reaction products derived from *Dioscorea opposita* polysaccharides [J]. *LWT*, 2021, 149: 111833.
- [19] Daulton E, Wicaksono A N, Tiele A, et al. Volatile organic compounds (VOCs) for the non-invasive detection of pancreatic cancer from urine [J]. *Talanta*, 2021, 221: 121604.
- [20] 梁天一, 杨娟, 董浩, 等. 基于 GC-IMS 技术鉴别不同年份新会陈皮中的挥发性风味物质 [J]. 中国调味品, 2020, 45(4): 168-173.
- [21] 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.
- [22] 冯靖雯, 郭小红, 李丹, 等. HPLC-CAD 法测定不同产地和花期闹羊花中闹羊花毒素 II、III、V [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7624-7629.
- [23] 杨冰月, 罗瑶, 姬海月, 等. 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 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1854-1861.
- [24] Arroyo-Manzanares N, Martín-Gómez A, Jurado-Campos N, et al. Target vs spectral fingerprint data analysis of Iberian ham samples for avoiding labelling fraud using headspace -gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. *Food Chem*, 2018, 246: 65-73.
- [25] 葛帅, 陈宇昱, 彭争光, 等. 基于顶空-气相色谱-离子迁移谱法研究干燥方式对小米椒挥发性风味物质的影响 [J]. 激光生物学报, 2020, 29(4): 368-378.
- [26] Rodríguez-Maecker R, Vyhmeister E, Meisen S, et al. Identification of terpenes and essential oils by means of static headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(28): 6595-6603.
- [27] 卢一. 基于“气味”信息分析的中药饮片快速鉴别研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.

[责任编辑 时圣明]