

基于化学计量法和指纹图谱对生姜不同处理方法的成分差异研究

汪 杰¹, 刘宇洁¹, 张 静¹, 左池靖¹, 刘 艳¹, 梁万徽¹, 余卫东¹, 黄子豪¹, 彭 灿^{1,2,3,4,5*}, 俞 浩^{1,6*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

2. 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽 合肥 230012

3. 安徽省乡村振兴协同技术服务中心, 安徽 合肥 230012

4. 安徽省现代中药产业共性技术研究中心, 安徽 合肥 230012

5. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012

6. 亳州学院中药学院, 安徽 亳州 236800

摘 要: **目的** 采用 UPLC 建立生姜 *Zingiber officinale* 在冷提、回流 2 种不同处理方法的指纹图谱, 再利用化学计量学和灰度关联分析法对不同处理方法下的生姜进行成分差异研究, 采用电子舌技术找寻与生姜风味相关的关键性成分。 **方法** 利用 UPLC 建立生姜不同处理方法的指纹图谱, 筛选共有峰, 以 Orbitrap-Exploris 质谱对共有峰成分进行鉴定, 再运用 SIMCA、SPSS 等软件进行化学计量学分析, 通过层次聚类分析 (hierarchical clustering analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 和灰度关联分析评价不同处理方法下生姜的成分差异。 **结果** 从生姜指纹图谱中识别出 10 个共有峰, 各批次的相似度在 0.972~1.000; Orbitrap-Exploris 质谱共鉴定出 9 个共有峰成分; HCA 和 PCA 的结果显示, 冷提法和回流法处理的生姜可以各自聚类, OPLS-DA 确证了 6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚是不同处理方法下生姜差异性的关键性成分; 灰度关联分析结果表明, 冷提法处理生姜可以得到更多姜酚类, 姜烯酚类成分; 电子舌结果表明, 处理方法对生姜的风味并无显著影响, 而 6-姜酚与生姜诸多味觉信息呈显著性相关。 **结论** 利用 UPLC 指纹图谱结合化学计量学可以评估生姜的质量和风味物质的含量, 可有效区分冷提法和回流法处理的生姜并筛选出差异性成分, 为生姜的处理方式的选择提供了可靠的方法, 并且利用电子舌技术得出 6-姜酚是生姜味觉信息变化的关键性成分。

关键词: 生姜; 指纹图谱; Orbitrap-Exploris 质谱; 化学计量学; 6-姜酚; 8-姜酚; 8-姜二酮; 10-姜酚; 1,4-去二氢-8-姜酚; 1,4-去二氢-10-姜酚

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)09-3107-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.09.024

Compositional differences of different treatments of *Zingiber officinale* based on chemometric and fingerprinting methods

WANG Jie¹, LIU Yujie¹, ZHANG Jing¹, ZUO Chijing¹, LIU Yan¹, LIANG Wanhui¹, YU Weidong¹, HUANG Zihao¹, PENG Can^{1,2,3,4,5}, YU Hao^{1,6}

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

2. MOE-Anhui Joint Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials, Hefei 230012, China

3. Anhui Province Rural Revitalization Collaborative Technology Service Center, Hefei 230012, China

4. Anhui Province Modern Chinese Medicine Industry Common Technology Research Center, Hefei 230012, China

5. Anhui Province Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Hefei 230012, China

6. College of Traditional Chinese Medicine, Bozhou University, Bozhou 236800, China

Abstract: Objective UPLC was used to establish the fingerprints of Jiang (*Zingiber officinale* Rosc.) in two different treatments of

收稿日期: 2023-10-01

基金项目: 安徽省科技重大专项 (202103a07020001); 安徽省高校协同创新项目 (GXXT-2022-084, GXXT-2022-075, GXXT-2020-025)

作者简介: 汪 杰 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: 1918283102@qq.com

*通信作者: 彭 灿 (1984—), 男, 教授, 博士, 研究方向为药物制剂新技术与药物体内外分析。E-mail: pengcankang@hotmail.com

俞 浩 (1975—), 男, 教授, 博士, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: yhz_1230@163.com

cold extraction and reflux, and then chemometrics and gray correlation analysis were used to investigate the differences in the composition of *Z. officinale* under different treatments. **Methods** The fingerprints of different treatments of *Z. officinale* were established by UPLC, the common peaks were screened, the common peak components were identified by Orbitrap-Exploris mass spectrometry, and then chemometric analysis was performed by SIMCA and SPSS. Hierarchical Clustering Analysis (HCA), Principal Component Analysis (PCA), Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis (OPLS-DA) and Grayscale Correlation Analysis were used to evaluate the compositional differences of *Z. officinale* under different treatment methods. **Result** Ten shared peaks were identified from the *Z. officinale* fingerprint profile, with similarities between 0.972 and 1.000 for each batch. Nine shared peak components were identified by Orbitrap-Exploris mass spectrometry. The results of HCA and PCA showed that *Z. officinale* treated by cold extraction and reflux methods could be clustered individually, and OPLS-DA confirmed that 6-gingerol, 6-gingerenol, 8-gingerdione, 8-gingerol, 1,4-desdihydro-8-gingerol, and 1,4-desdihydro-10-gingerol were the key components for the variability of *Z. officinale* under different treatments. The results of the gray-scale correlation analysis showed that the treatment of *Z. officinale* by cold extraction method could yield more curcumin, gingerolenic components. **Conclusion** UPLC fingerprinting combined with chemometrics can assess the quality and flavor content of *Z. officinale*, which can effectively distinguish between *Z. officinale* treated by cold extraction and reflux methods and screen out the differential components, providing a reliable method for the selection of *Z. officinale* treatment.

Key words: *Zingiber officinale* Rosc.; fingerprint; Orbitrap-Exploris mass spectrometry; chemometrics; 6-gingerol; 8-gingerol; 8-gingerdione; 10-gingerol; 1,4-desdihydro-8-gingerol; 1,4-desdihydro-10-gingerol

生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎^[1], 含有多种功能成分, 包括姜酚、精油、脂肪油、树脂、戊聚糖、蛋白质、微量矿物质等^[2]。作为常用的调味料之一, 生姜中不具有挥发性的姜酚类成分, 赋予了其独特的辛辣味, 这类物质的含量对生姜制品的品质和风味具有影响^[3-4]。同时, 作为一种药食同源药材, 生姜也是一种著名的中药, 姜酚是其主要的药理活性成分, 具有抗氧化和清除自由基、抗凝血和抗血栓形成、降血糖、调血脂和抗动脉硬化、抑菌和抗炎、镇静止吐、抗肿瘤和增强免疫等多种药理作用^[5-9]。姜酚因其特有的疗效, 应用前景较为广阔, 不论是在食品领域, 还是在中药领域, 生姜在使用时都需进行处理, 由于姜酚中的酚类物质的不稳定性^[10], 不恰当的处理方式会造成生姜中的有效成分流失, 故需要一种处理生姜的方法减少其成分的流失, 而指纹图谱^[11-13]正是寻找这种处理方法的关键。目前, 对于生姜的指纹图谱的建立还停留在不同产地的维度, 如宋叶等^[14]、郭家刚等^[15]采用不同的方法建立不同产地的生姜指纹图谱, 虽然能够筛选出不同产地生姜的差异化化合物, 但是并未对其进行鉴定; 针对生姜的处理方法, 文献多见报道探究其挥发性成分^[16-17]或者某一类成分^[18-20]的区别, 并未系统地对生姜不同处理方法造成生姜成分差异进行研究。目前, 国内外研究对于生姜电子舌的研究还停留在生姜作为调味料的阶段^[21-22], 更多的学者使用电子鼻技术去探究生姜挥发性成分和其风味之间的关系^[23-24], 并未

提及生姜中非挥发性成分对其风味的影响。

基于以上情况, 本实验使用了 2 种方法对生姜的有效成分进行提取, 并建立了生姜不同提取方式的 UPLC 的指纹图谱, 结合相似度评价软件和化学计量学^[25-27]比较 2 种不同提取方式的生姜的风味成分及含量差异, 采用 UPLC-Orbitrap 质谱^[28]联用技术对相关指标成分和其他共有化学成分进行鉴定, 采用电子舌检测生姜的风味信息, 用以评价不同提取方式之间质量差异情况, 从而为保留生姜独特的风味和其作为药食同源中药的使用提供理论基础。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQITY Arc 系统 (美国 Waters 公司)、Orbitrap Exploris120 质谱仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司) DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (中国巩义市予华仪器有限公司)、台式高速离心机 (中国常州市万丰仪器制造有限公司)、YL-060S 型超声波清洗机 (中国济南巴克超声波科技有限公司)、BT25S 型十万分之一电子天平 (中国北京赛多利斯仪器有限公司)、RZ-688D 型榨汁机 (合肥荣事达三洋电器股份有限公司)、TS-5000Z 型味觉分析系统 (日本 INSENT 公司)。

1.2 试剂与药物

甲醇 (色谱纯, 西格玛奥德里上海有限公司, 批号 34860-4L-R); 乙腈 (色谱纯, 北京百灵威科技有限公司, 批号 134752); 甲酸 (分析纯, 上海润捷化学试剂有限公司); 三氟乙酸 (色谱

级, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 L1803273); 6-姜酚对照品 (中国食品药品鉴定研究所, 批号 111833-201806); 对照品 8-姜酚 (成都克洛玛生物科技有限公司, 批号 CHB180305)、10-姜酚 (成都克洛玛生物科技有限公司, 批号 CHB 180311); 所有对照品质量分数均大于 98%; 浓盐酸 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20180223); 氯化钾 (KCl, 天津致远化学试剂有限公司, 批号 20211001830); 氢氧化钾 (KOH) (天津市大茂化学试剂厂, 批号 20181101); 酒石酸 (西陇化工股份有限公司, 批号 210722); 实验所用生姜均采自云南省, 经安徽中医药大学药学院杨青山副教授鉴定为姜 *Zingiber officinale* Rose. 的新鲜根茎, 共 9 批生姜药材, 具体信息见表 1。

表 1 生姜样品信息来源

Table 1 Sample information source

编号	采集日期	处理方法
S1	2022-05	回流
S2	2022-04	
S3	2022-05	
S4	2022-06	
S5	2022-03	
S6	2022-04	
S7	2022-05	
S8	2022-04	
S9	2022-05	
S10	2022-05	冷提
S11	2022-04	
S12	2022-05	
S13	2022-06	
S14	2022-03	
S15	2022-04	
S16	2022-05	
S17	2022-04	
S18	2022-05	

2 方法与结果

2.1 生姜指纹图谱的建立及相关的指标成分的鉴定

2.1.1 对照品溶液的配制 分别精密称取 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚对照品各 4.05、3.98、4.02 mg 于 20 mL 量瓶中, 用甲醇溶液溶解并定容, 制成 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚混合对照品溶液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 备用。

2.1.2 供试品溶液的配制 将样品生姜剥皮, 冲洗干净, 用捣蒜器将生姜处理成碎末。称取 200 g 生姜, 平均分成 2 份, 分别加入 75% 甲醇 500 mL, 称定质

量。分别回流 (50 $^{\circ}\text{C}$) 30 min、冷提 (以额定功率为 50 W 的榨汁机榨汁处理) 30 min。放冷, 再称定质量, 用 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液为供试品溶液。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为 Hypersil GOLD 柱 (100 mm $\times$ 2.1mm, 1.9 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B) 为流动相, 洗脱梯度 (0~3 min, 95% A; 3~3.01 min, 95%~85% A; 3.01~12 min, 85%~80% A; 12~67 min, 80%~25% A; 67~67.01 min, 25%~95% A; 67.01~70 min, 95%~85% A) 进样量为 20 μL , 体积流量为 0.25 mL/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.4 质谱条件 离子源: 热喷雾离子源 (H-ESI); 扫描方式: 正、负离子扫描; 正、负离子电压: 3.5 kV; 鞘气压力: 45 L/min, 辅助气压力: 15 L/min, 吹扫气压力: 2 L/min; 离子传输管温度: 320 $^{\circ}\text{C}$, 离子源温度: 360 $^{\circ}\text{C}$; 扫描方式: Full MS/ddMS², 一级质谱扫描范围 m/z 80~1 200, 分辨率: 60 000 Hz, 碎裂能量: 20、40、60 eV; 动态扣除时间: 3 s; 使用 EASY-ICTM。

2.1.5 精密度试验 取生姜样品 (S1), 按照“2.1.2”项的方法配制供试品溶液, 按照“2.1.3”项的液相色谱条件连续进样 6 次, 以 3 号峰为参照峰, 计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 4-姜烯酚、6-姜酮酚、6-姜酚、1,4-去二氢-6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚的相对峰面积的 RSD 分别为 1.04%、1.99%、1.08%、2.80%、1.01%、1.72%、1.03%、2.33%、2.24%, 均小于 3%; 相对保留时间的 RSD 分别为 0.50%、0.09%、0.08%、0.40%、0.13%、0.11%、0.13%、0.13%、0.13% 均小于 1%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取生姜样品 (S1), 按照“2.1.2”项的方法平行配制 6 份供试品溶液, 按照“2.1.3”项的液相色谱条件连续进样, 以 3 号峰为参照峰, 计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示, 4-姜烯酚、6-姜酮酚、6-姜酚、1,4-去二氢-6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚的相对峰面积的 RSD 分别为 1.54%、1.93%、1.37%、0.88%、1.69%、2.87%、1.71%、1.46%、2.24%, 均小于 3%; 相对保留时间的 RSD 分别为 0.07%、0.10%、0.07%、0.03%、0.07%、0.05%、0.08%、0.05%、0.05%, 均

小于 1%，表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取生姜样品 (S1)，按照“2.1.2”项的方法配制供试品溶液，按照“2.1.3”项的液相色谱条件连续进样测定，分别于配制后的 0、2、4、8、16、24 h 进样测定，以 3 号峰为参照峰，计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示，4-姜烯酚、6-姜酮酚、6-姜酚、1,4-去二氢-6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚的相对峰面积的 RSD 分别为 1.34%、1.70%、1.09%、2.85%、1.38%、2.60%、1.07%、2.14%、1.80%，均小于 3%；相对保留时间的 RSD 分别为 0.47%、0.04%、0.06%、0.02%、0.11%、0.10%、0.11%、0.12%、0.12%，均小于 1%，表明生姜供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 指纹图谱的建立及相似度评价 取 18 批生姜的供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定并对数据整理记录，将其导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”处理数据，以 S1 号样品色谱图作为参照图谱，采用平均数法生成共有模式，设置时间窗宽度为 0.1 s，之后对 18 批样品进行多点校正和 Mark 峰匹配，建立 18 批生姜不同处理方法的 UPLC 指纹图谱及对照图谱 (图 1)，共标定 10 个共有峰，通过与对照品 (图 1-C) 比对，指出其中 3 个成分。由于 3 号峰具有较好的峰形且峰面积较为稳定，故以 3 号峰为参照峰，各共有峰相对保留时间的平均 RSD 值均低于 1.0%。相似度评价结果表明 (表 2)，表明 18 批生姜药材整体质量稳定，18 批生姜样品指纹图谱相似度在 0.972~1.000，但不同方法处理的生姜样品在化学成分上存在一定的差异。

2.1.9 共有峰的指认与归属 应用优化过的 UPLC-Orbitrap-Exploris 条件对生姜样品进行检测鉴定，正、负离子模式下总离子流色谱图 (TIC) 见图 2。通过化合物的色谱保留时间、MS² 碎片信息和精确相对分子质量，结合相关文献数据、数据库及对照品的质谱信息，鉴定出 9 个共有峰成分，分别为 4-姜烯酚、6-姜酮酚、6-姜酚、1,4-去二氢-6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚，具体结果见表 3。其中化合物 3、6、8 与对照品进行了比对验证。

2.2 基于化学计量学筛选相关的潜在指标成分

以 10 个共有峰的峰面积为变量，采用 SIMCA 软件对不同处理方法的生姜样品进行聚类分析

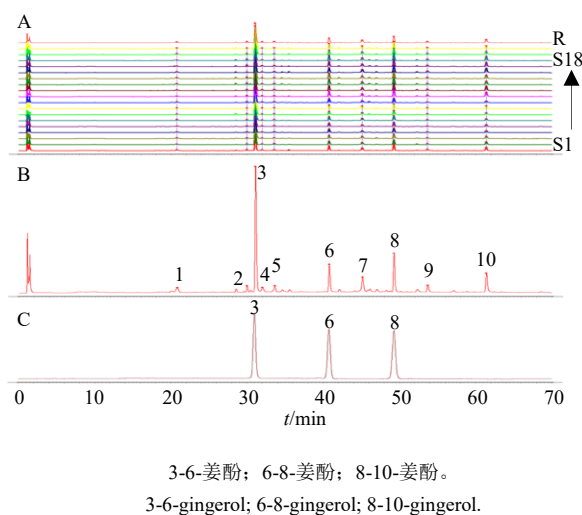


图 1 生姜样品的指纹图谱 (A)、对照图谱 (B) 和对照品 (C) 色谱图

Fig. 1 Fingerprints (A), control charts (B) and control (C) of different treatments of *Z. officinale*

(hierarchical clustering analysis, HCA)、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-discriminant analysis, OPLS-DA) 分析，再将 18 批生姜样品的 10 个共有峰的峰面积导入 SPSS 软件进行 PCA，旨在筛选出 2 种不同处理方法下的生姜的潜在指标成分。

2.2.1 HCA 当类间距大于 60 时，不同处理方法的生姜样品主要分为 2 类 (图 3)，冷提处理的样品组 (S1~S9) 聚为一类，回流处理的样品 (S10~S18) 聚为另一类。通过 HCA 结果分析，发现生姜的活性成分和风味物质的含量会随着处理方法的改变而改变，但该类成分具体是如何变化的，还有待进一步研究。

2.2.2 PCA 从 18 批生姜样品的 PCA 得分图中，可知 18 批样品分为 2 类；从 SPSS 分析结果中提取得到 3 个主成分，并得到主成分初始特征值及累积方差贡献率为 92.116%，说明 3 个主成分即可代表样品的信息。通过图 4-B 碎石图中折线的变化度，可知前 3 个成分的变化较大，表明 18 批生姜样本之间的活性成分的含量方面存在些许差异。根据表 4 和表 5，计算各个样本的主成分得分，得到综合得分模型为 $Y = 0.6904 Y_1 + 0.1291 Y_2 + 0.1017 Y_3$ (Y_1 、 Y_2 、 Y_3 为 3 个主成分的得分，系数为 3 个主成分的累积方差贡献率)，综合得分结果及排名见表 6。结果表明，冷提处理的方法由于回流方法，提示冷提的方法可以更好地将生姜中的有效成分提取并保留。

表 2 不同处理方法生姜样品指纹图谱相似度评价结果

编号	相似度																		R
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	
S1	1.000	0.999	0.999	0.997	0.997	0.997	0.993	0.998	0.990	0.999	0.999	0.998	0.997	0.998	0.999	0.998	0.999	0.998	0.999
S2	0.999	1.000	0.998	0.994	0.994	0.993	0.989	0.997	0.985	0.999	1.000	0.995	0.995	0.999	0.999	0.999	0.997	0.994	0.998
S3	0.999	0.998	1.000	0.999	0.999	0.998	0.997	0.999	0.994	0.998	0.997	0.999	0.999	0.997	0.996	0.996	1.000	0.998	1.000
S4	0.997	0.994	0.999	1.000	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.994	0.993	1.000	1.000	0.992	0.993	0.992	0.998	0.998	0.999
S5	0.997	0.994	0.999	1.000	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.994	0.993	1.000	1.000	0.992	0.993	0.992	0.998	0.998	0.999
S6	0.997	0.993	0.998	0.999	0.999	1.000	0.998	0.998	0.997	0.994	0.992	0.999	0.998	0.992	0.993	0.992	0.998	1.000	0.998
S7	0.993	0.989	0.997	0.999	0.999	0.998	1.000	0.997	0.999	0.990	0.988	0.998	0.998	0.988	0.988	0.988	0.996	0.997	0.996
S8	0.998	0.997	0.999	0.998	0.998	0.998	0.997	1.000	0.994	0.996	0.996	0.998	0.998	0.997	0.995	0.995	0.998	0.998	0.999
S9	0.990	0.985	0.994	0.998	0.998	0.997	0.999	0.994	1.000	0.985	0.983	0.996	0.996	0.983	0.984	0.983	0.992	0.995	0.994
S10	0.999	0.999	0.998	0.994	0.994	0.994	0.990	0.996	0.985	1.000	1.000	0.996	0.996	0.999	0.999	0.999	0.998	0.995	0.998
S11	0.999	1.000	0.997	0.993	0.993	0.992	0.988	0.996	0.983	1.000	1.000	0.994	0.994	0.999	0.999	0.999	0.997	0.993	0.997
S12	0.998	0.995	0.999	1.000	1.000	0.999	0.998	0.998	0.996	0.996	0.994	1.000	1.000	0.994	0.994	0.994	0.999	0.998	0.999
S13	0.997	0.995	0.999	1.000	1.000	0.998	0.998	0.998	0.996	0.996	0.994	1.000	1.000	0.994	0.994	0.994	0.999	0.998	0.999
S14	0.998	0.999	0.997	0.992	0.992	0.992	0.988	0.997	0.983	0.999	0.999	0.994	0.994	1.000	0.998	0.998	0.997	0.993	0.997
S15	0.999	0.999	0.996	0.993	0.993	0.993	0.988	0.995	0.984	0.999	0.999	0.994	0.994	0.998	1.000	1.000	0.996	0.994	0.997
S16	0.998	0.999	0.996	0.992	0.992	0.992	0.988	0.995	0.983	0.999	0.999	0.994	0.994	0.998	1.000	1.000	0.996	0.993	0.997
S17	0.999	0.997	1.000	0.998	0.998	0.998	0.996	0.998	0.992	0.998	0.997	0.999	0.999	0.997	0.996	0.996	1.000	0.998	1.000
S18	0.998	0.994	0.998	0.998	0.998	1.000	0.997	0.998	0.995	0.995	0.993	0.998	0.998	0.993	0.994	0.993	0.998	1.000	0.999
R	0.999	0.998	1.000	0.999	0.999	0.998	0.996	0.999	0.994	0.998	0.997	0.999	0.999	0.997	0.997	0.997	1.000	0.999	1.000

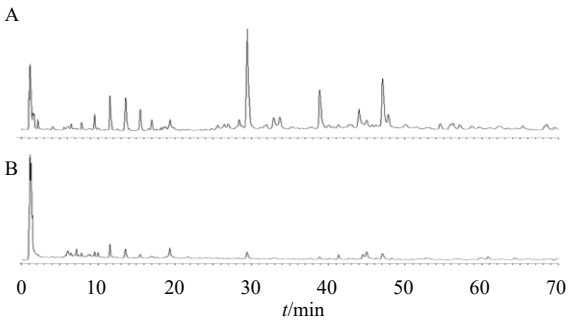


图 2 生姜正 (A)、负 (B) 离子模式下 UPLC-Orbitrap-Exploris 的总离子流图 (TIC)

Fig. 2 Total ion flow diagram (TIC) of UPLC-Orbitrap-Exploris in positive (A) and negative (B) ion modes of *Z. officinale*

2.2.3 OPLS-DA OPLS-DA 模型解释能力参数 R^2_X 为 0.985 和 R^2_Y 为 0.937，预测能力参数 Q^2 为 0.637，充分说明所建的 OPLS-DA 模型良好，预测能力强，具有统计学意义。OPLS-DA 的分类结果与 PCA 结果一致，分析生成各个共有峰的投影变量权重值 (very important person, VIP) (图 5)。在分析模型中，以 VIP 值 > 1 认为该变量对样本分组有显著性贡献。通过分析，筛选得到 6 个贡献值较大的差异性成分，分别为 6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚，1,4-去二氢-10-姜酚，可作为不同处理方法下的生姜质量评价的标志性成分。

表 3 UPLC-Orbitrap-Exploris 鉴定生姜的共有峰成分

Table 3 Identification of shared peak components of <i>Z. officinale</i> by UPLC-Orbitrap-Exploris								
共有峰号	化合物	分子式	tr/min	模式	理论值 (m/z)	测量值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级碎片
1	4-姜烯酚	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	18.58	[M+H] ⁺	249.148 5	249.148 5	0	179.070 1, 177.090 9, 145.064 8, 137.059 7, 117.069 8
2	6-姜酮酚	C ₁₇ H ₂₆ O ₃	28.40	[M+H] ⁺	279.195 5	279.196 1	2.149	261.184 8, 229.158 4, 177.090 9, 163.075 3, 137.059 6, 131.049 1, 103.054 1, 95.085 4, 81.069 8
4	未知		31.95	[M+H] ⁺				
5	1,4-去二氢-6-姜酚	C ₁₇ H ₂₂ O ₄	44.94	[M+H] ⁺	291.159 1	291.159 1	0	291.159 1, 273.1486, 177.0546, 99.0804, 71.085 5
7	8-姜二酮	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	43.97	[M+H] ⁺	321.206 0	321.205 9	-0.311	261.184 8, 229.158 5, 207.137 8, 191.106 4, 177.090 9, 163.075 3, 137.059 7, 81.069 8
9	1,4-去二氢-8-姜酚	C ₁₉ H ₂₆ O ₄	52.83	[M+H] ⁺	319.190 4	319.190 3	-0.288	319.190 3, 177.054 6, 137.059 7, 127.111 7, 57.069 9
10	1,4-去二氢-10-姜酚	C ₂₁ H ₃₀ O ₄	59.73	[M+H] ⁺	347.221 6	347.221 5	1.204	347.221 5, 329.210 9, 297.184 8, 177.054 6, 71.085 5
3	6-姜酚	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	29.41	[M-H] ⁻	293.175 8	293.176 5	2.388	275.129 3, 175.040 3, 193.050 9, 135.045 3
6	8-姜酚	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	38.86	[M-H] ⁻	321.207 1	321.208 3	3.736	321.208 3, 303.198 1, 135.045 5, 125.097 6
8	10-姜酚	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	47.06	[M-H] ⁻	349.238 4	349.239 3	2.578	349.239 3, 331.228 9, 177.056 0, 135.045 5

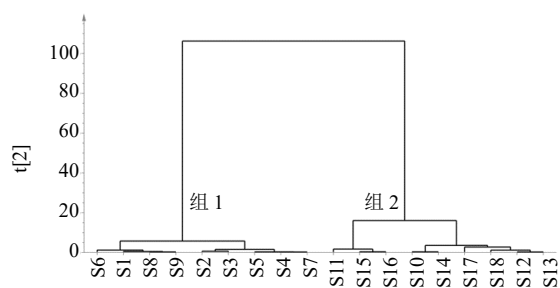


图 3 不同处理方法的生姜层次聚类分析图

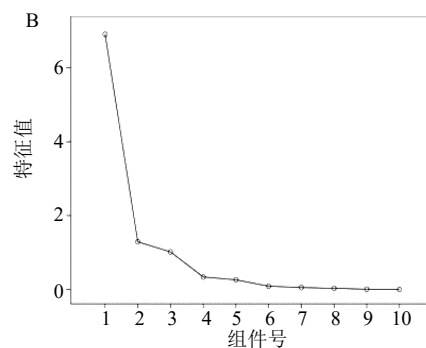
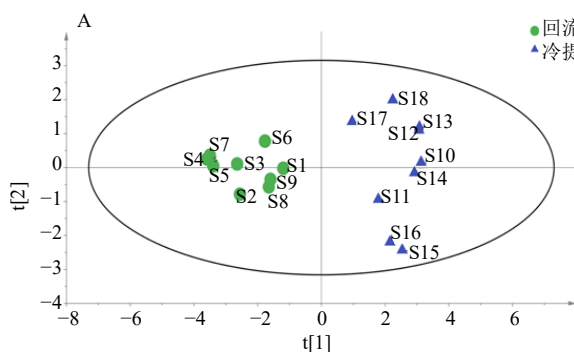
Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of *Z. officinale* with different treatments

图 4 PCA 得分图 (A) 和主成分碎石图 (B)

Fig. 4 PCA score plot (A) and principal component gravel plot (B)

表 4 主成分矩阵

Table 4 Principal component matrix

共有峰编号	载荷			共有峰编号	载荷		
	1	2	3		1	2	3
8	0.965	0.094	-0.108	4	0.855	-0.401	0.132
6	0.946	0.184	0.156	3	0.847	0.435	0.226
7	0.904	0.032	-0.349	5	0.820	-0.400	0.142
10	0.867	-0.252	-0.251	1	0.494	0.799	0.041
9	0.861	-0.066	-0.461	2	0.636	-0.173	0.702

表 5 主成分特征值及方差贡献率

Table 5 Principal component eigenvalues and variance contribution

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	总计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	6.905	69.046	69.046	6.905	69.046	69.046
2	1.290	12.905	81.951	1.290	12.905	81.951
3	1.017	10.166	92.116	1.017	10.166	92.116

的数据, N_{ik} 为原始数据, N_k 为第 X 个样品第 k 个指标的均值, 其中 $i=1, 2, 3, \dots, X$, $X=18$; $k=1, 2, 3, \dots, n$, $n=10$ 。采用指纹图谱峰面积作为指标进行灰色关联度分析, 以 18 批不同处理方法

2.3 基于灰色关联度模型评价不同处理方法下的生姜质量

灰色关联度分析法是一种根据事物的发展趋势来判定因素关联程度的一种分析方法^[30]。根据其高度一致的关联分析和其趋势和走向一般不易偏离轨道, 可以较为准确地去探究多指标、多靶点的规律性, 解决药食同源药材中活性成分较多, 多指标成分评价等较为困难的问题。

由于生姜各评价指标间的数据存在差异, 则对生姜原始数据变量进行无量纲化中的均值法处理, 公式为 $M_{ik}=N_{ik}/N_k$ ^[30], 式中 M_{ik} 为无量纲化处理后

的生姜样品作为评价项, 选择各指标峰面积的最大值为最优参考序列, 最小值为最差参考序列, 采用 SPSSPRO 在线分析网站以指纹图谱峰面积为评价指标, 计算各评价指标相对于最优、最差参考序列

表 6 生姜样本的主成分得分及排名

Table 6 Principal component scores and composite scores of *Z. officinale* samples

编号	Y1	Y2	Y3	Y	排名
S13	3.07	1.20	1.62	2.44	1
S12	3.07	1.10	1.60	2.42	2
S10	3.15	0.16	-0.48	2.15	3
S14	2.94	-0.15	-2.05	1.80	4
S18	2.24	2.01	-0.86	1.72	5
S15	2.54	-2.42	0.75	1.52	6
S16	2.16	-2.18	0.58	1.27	7
S11	1.80	-0.92	-0.64	1.06	8
S17	0.97	1.36	-0.53	0.79	9
S1	-1.20	-0.02	-0.61	-0.89	10
S9	-1.61	-0.34	1.46	-1.01	11
S6	-1.78	0.78	-0.03	-1.13	12
S8	-1.66	-0.57	-1.12	-1.33	13
S3	-2.65	0.10	-0.45	-1.86	14
S2	-2.56	-0.78	-0.78	-1.94	15
S5	-3.40	0.05	0.67	-2.27	16
S7	-3.50	0.36	0.34	-2.34	17
S4	-3.59	0.25	0.52	-2.39	18

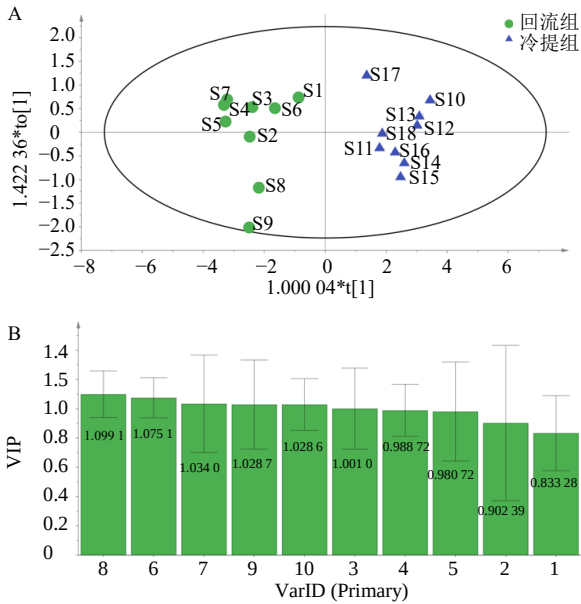


图 5 OPLS-DA 得分图 (A) 和 VIP 值 (B)
Fig. 5 OPLS-DA score plot (A) and VIP values (B)

的关联度和关联系数，并计算各评价指标的相对关联度，之后以最优参考序列为母序列，计算生姜样品间相对关联度，最后通过相对关联度大小对评价项进行排序，得到优劣评价结果，见表 7。结果表明，不同处理方法下生姜相对关联度为 0.441~0.550，质量排名前 3 的样品分别是 S13（冷提法）、S12（冷提法）、S10（冷提法），冷提处理的和回流法处理的生姜样品相对关联度平均值分别为 0.456、0.534，结果表明，冷提处理可以保留生姜更多的活性成分，而回流处理可能由于温度升高

表 7 不同处理方法的生姜样品相对关联度及质量优劣排序结果

Table 7 Relative correlation and quality ranking results of *Z. officinale* samples with different treatment methods

批次	相对最优关联度	相对最差关联度	相对关联度	排名
S13	0.940	0.768	0.550	1
S12	0.936	0.769	0.549	2
S10	0.928	0.766	0.548	3
S18	0.923	0.781	0.542	4
S14	0.910	0.776	0.540	5
S15	0.880	0.794	0.526	6
S16	0.874	0.800	0.522	7
S11	0.868	0.804	0.519	8
S17	0.855	0.813	0.513	9
S1	0.800	0.872	0.478	10
S6	0.787	0.890	0.469	11
S8	0.783	0.898	0.466	12
S9	0.782	0.906	0.463	13
S3	0.768	0.921	0.455	14
S2	0.766	0.947	0.447	15
S7	0.755	0.938	0.446	16
S5	0.753	0.950	0.442	17
S4	0.751	0.952	0.441	18

的原因，导致部分有效物质流失，影响生姜的使用。

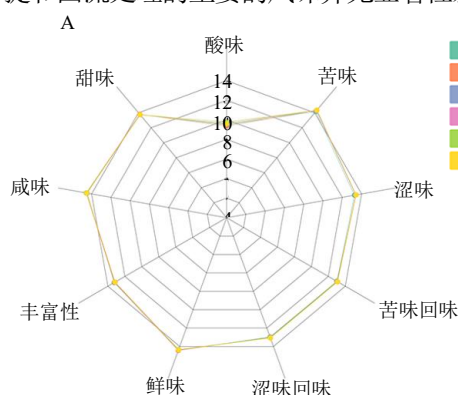
2.4 基于电子舌技术的生姜风味研究

2.4.1 样品前处理 将样品生姜剥皮，冲洗干净，用捣蒜器将生姜处理成碎末。称取 30 g 生姜，平均分成 2 份，分别加入 75%的甲醇 50 mL，称定质量。分别水浴回流（50 ℃）30 min、冷提（额定功率 50 W）30 min。放冷，再称定质量，用 75%甲醇补足减失的质量，离心 15 min（3 500 r/min）后取上清液 5 mL，加 100 mL 纯净水搅拌均匀，进行测试。

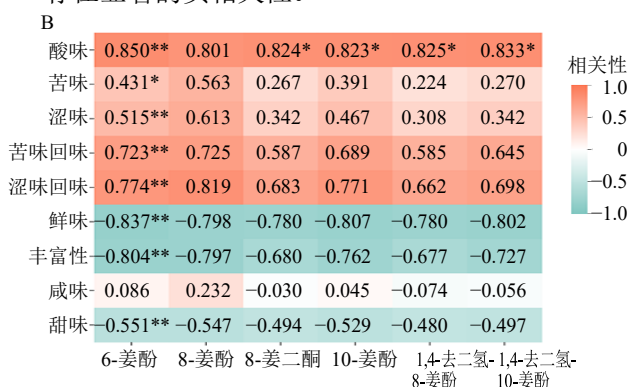
2.4.2 测试用液 Reference 溶液（基准液）：30

mmol/L 的 KCl 溶液和 0.3 mmol/L 酒石酸（基准液：用于传感器保存液、稳定液、洗涤液。也是味觉传感器的预处理溶液）；负极清洗液：100 mmol/L 盐酸+30%体积乙醇；正极清洗液：10 mmol/L 氢氧化钾+100 mmol/L 氯化钾+30%体积乙醇（正负极清洗液：用于对传感器的清洗）。

2.4.3 电子舌测试及结果 采用电子舌技术对不同处理方法下的生姜味觉进行测定，收集测试数据，结果见图 6-A。通过雷达图及 SPSS 独立 *t* 检验分析，发现冷提和回流处理的生姜的风味并无显著性差异。



2.4.4 不同处理方法下的生姜标志性成分和味觉成分的相关性分析 为了了解不同处理方法下生姜的生姜标志性成分和味觉成分之间的关联，将生姜中 6 个标志性成分与生姜味觉传感器测定值进行皮尔逊 (Pearson) 相关性分析。结果表明 (图 6-B)，6-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚与酸味存在显著的正相关性；6-姜酚与酸味、涩味、苦味、苦味回味、涩味回味存在显著的正相关性，与鲜味、丰富性、甜味存在显著的负相关性。



P*<0.05; *P*<0.01。

图 6 不同处理方法下生姜电子舌味觉信息雷达图 (A) 和味觉信息与生姜标志性成分相关性分析结果 (B)

Fig. 6 Radar map of *Z. officinale* electronic tongue taste information under different processing methods (A) and results of correlation analysis between taste information and signature components of *Z. officinale* (B)

3 讨论

本实验采用 UPLC 指纹图谱结合化学计量学和电子舌技术对生姜质量和风味进行评价，并应用 Orbitrap-Exploris 对质量标志物进行鉴定，分别为 6-姜酚、8-姜酚、8-姜二酮、10-姜酚、1,4-去二氢-8-姜酚、1,4-去二氢-10-姜酚，提示该模式可快速、全面评定不同处理方法对生姜活性成分保留的能力以及中药质量的优良性和稳定性。UPLC 指纹图谱结合化学计量学和电子舌技术为生姜的加工方法筛选提供标志性成分，灰色关联度分析结果对生姜加工方式的选择提供研究基础。其中，6-姜酚既是生姜不同处理方法的指标成分，又是生姜味道变化的关键性物质，其还具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和调节脂质代谢的作用^[31-32]，提示 6-姜酚可作为生姜在治疗疾病的过程中的首要成分。后续还将进行生姜的气相色谱分析，旨在全面地了解影响不同处理方法对生姜的活性成分的影响，为生姜作为中药的质量标准评价建立基础。

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: 104.
- [2] Unuofin J O, Masuku N P, Paimo O K, *et al.* Ginger from farmyard to town: Nutritional and pharmacological applications [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 779352.
- [3] 刘怡妙, 凌悦, 徐旭, 等. 生姜的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(9): 2912-2928.
- [4] Marak N R, Malemnganbi C C, Marak C R, *et al.* Functional and antioxidant properties of cookies incorporated with foxtail millet and ginger powder [J]. *J Food Sci Technol*, 2019, 56(11): 5087-5096.
- [5] Ballester P, Cerd X; B, Arcusa R, *et al.* Effect of ginger on inflammatory diseases [J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7223.
- [6] 吴嘉澜, 王笑园, 王坤立, 等. 生姜营养价值及药理作用研究进展 [J]. *食品工业*, 2019, 40(2): 237-240.
- [7] 王欢欢, 孔巧丽, 郭琴, 等. 生姜的古代文献沿革分析及现代药理研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(10): 1582-1590.
- [8] Zheng J, Zhou Y, Li Y, *et al.* Spices for prevention and treatment of cancers [J]. *Nutrients*, 2016, 8(8): 495.
- [9] Toda K, Takeda S, Hitoe S, *et al.* Enhancement of energy

- production by black ginger extract containing polymethoxy flavonoids in myocytes through improving glucose, lactic acid and lipid metabolism [J]. *J Nat Med*, 2016, 70(2): 163-172.
- [10] Mi H B, Guo X, Li J R. Effect of 6-gingerol as natural antioxidant on the lipid oxidation in red drum fillets during refrigerated storage [J]. *LWT*, 2016, 74: 70-76.
- [11] 何微微, 晋玲, 王莉. 不同包装、储藏处理羌活饮片的 UPLC 指纹图谱 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 144-151.
- [12] 杜义龙, 李艳荣, 洪霞, 等. 基于指纹图谱和多组分定量分析的半枝莲质量评价研究 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 670-676.
- [13] Manninen M, Karonen M, Salminen J P. Chemotaxonomic markers for the leaf buds of common Finnish trees and shrubs: A rapid UHPLC MS fingerprinting tool for species identification [J]. *Molecules*, 2022, 27(20): 6810.
- [14] 宋叶, 罗宇琴, 李国卫, 等. 基于多元化学模式识别分析的生姜 UPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国药师, 2022, 25(7): 1173-1178.
- [15] 郭家刚, 杨松, 丁思年, 等. 基于气相离子迁移谱的不同产地生姜挥发性有机物指纹图谱分析 [J]. 食品科学, 2021, 42(24): 236-241.
- [16] 张蓓, 王亦若, 黄珂, 等. 不同提取方法对生姜挥发性成分的影响研究 [J]. 中国调味品, 2022, 47(6): 151-154.
- [17] 晏菲, 王开亮, 张小飞, 等. 五种方法提取生姜挥发油的比较研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 1999-2010.
- [18] 于泽, 韩肖洋, 陈静, 等. 生姜中姜辣素的提取与功能研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2023, 44(3): 219-224.
- [19] 周洁, 覃竹山, 吴金平, 等. 生姜品质成分及姜辣素的比较 [J]. 中国调味品, 2021, 46(12): 151-154.
- [20] 朱艺佳, 唐泽群, 陈可可, 等. 不同提取工艺对生姜提取物及化学组成的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(2): 113-119.
- [21] Duan W, Liang L, Huang Y, et al. Effect of ginger on chemical composition, physical and sensory characteristics of chicken soup [J]. *Foods*, 2021, 10(7): 1456.
- [22] Liang L, Duan W, Zhang J C, et al. Characterization and molecular docking study of taste peptides from chicken soup by sensory analysis combined with nano-LC-Q-TOF-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132455.
- [23] Yu D X, Guo S, Wang J M, et al. Comparison of different drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* roscoe) by HS-GC-MS coupled with fast GC E-nose [J]. *Foods*, 2022, 11(11): 1611.
- [24] Nam D G, Kim M, Choe J S, et al. Effects of high-pressure, hydrothermal, and enzyme-assisted treatment on the taste and flavor profile of water-soluble ginger (*Zingiber officinale*) extract [J]. *Foods*, 2022, 11(4): 508.
- [25] 郝壮壮, 曹宇欣, 刘朦朦, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分测定结合化学计量学的不同商品规格山慈姑质量差异分析 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1935-1945.
- [26] 刘少璞, 周志磊, 俞红波, 等. GC×GC-TOFMS 结合化学计量学解析传统型半干黄酒的挥发性陈化标志物质 [J]. 食品科学, 2023, 44(18): 249-258.
- [27] Bansal A, Chhabra V, Rawal R K, et al. Chemometrics: A new scenario in herbal drug standardization [J]. *J Pharm Anal*, 2014, 4(4): 223-233.
- [28] Voynikov Y, Nedialkov P, Gevrenova R, et al. UHPLC-orbitrap-MS tentative identification of 51 oleraceins (cyclo-dopa amides) in *Portulaca oleracea* L. cluster analysis and MS² filtering by mass difference [J]. *Plants*, 2021, 10(9): 1921.
- [29] Jiao Y J, Gong C K, Wang S S, et al. The influence of air pollution on pulmonary disease incidence analyzed based on grey correlation analysis [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2022, 2022: 4764720.
- [30] 严露, 蒲婧哲, 杨勇, 等. 基于指纹图谱联合化学计量学评价不同产地百蕊草质量的研究 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(1): 141-152.
- [31] Wu S L, Zhu J X, Wu G H, et al. 6-gingerol alleviates ferroptosis and inflammation of diabetic cardiomyopathy via the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 3027514.
- [32] Hong M K, Hu L L, Zhang Y X, et al. 6-Gingerol ameliorates sepsis-induced liver injury through the Nrf2 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106196.

[责任编辑 时圣明]