• 药剂与工艺 •

基于智能感官技术结合多元统计分析的酒乌梢蛇炮制程度快速辨识研究

万 毅1, 吴杨倩1, 张小兰1, 李铭轩1, 陆兔林1,2, 赵晓莉1*

- 1. 南京中医药大学 药学院, 江苏 南京 210023
- 2. 国家教育部中药炮制规范化及标准化教育部工程研究中心, 江苏 南京 210023

摘 要:目的 通过研究酒乌梢蛇 Ptyas 在不同炮制程度下颜色、气味和核苷类成分的差异及动态变化规律,辨识不同炮制程度的酒乌梢蛇饮片。方法 采用 HPLC 法测定不同炮制程度酒乌梢蛇饮片内在质量成分尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷的含量;分别采用高清相机和超快速气相电子鼻采集不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的颜色和气味信息,结合偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discriminant analysis,PLS-DA)、贝叶斯判别分析(Bayesian discriminant analysis,BDA)和正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)等多元统计分析方法,建立判别模型,区分不同炮制程度的酒乌梢蛇饮片。结果 含量测定结果显示不同炮制程度的酒乌梢蛇核苷成分变化复杂,模型分类效果差;以高清图像 RGB 量化提取和电子鼻气味采集分别建立的 OPLS-DA 模型稳定可靠,适用于不同炮制程度酒乌梢蛇的分类及预测判别;其中醋酸乙酯、3-乙酰吡啶、1-戊烯-3-酮、正癸烯、2-乙氧基丁烷、2-壬烯醛等成分可能为区分不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的气味差异标志物。结论 建立的颜色及气味辨别模型可用于不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的快速区分,为乌梢蛇炮制过程中的质量控制及"辨状论质"提供依据。

关键词: 乌梢蛇; 炮制程度; 智能感官; RGB; 超快速气相电子鼻; 快速辨识; 尿嘧啶; 次黄嘌呤; 黄嘌呤; 肌苷; 鸟苷中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2025)20 - 7309 - 12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.005

Research on rapid identification of yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees based on intelligent sensory technology combined with multivariate statistical analysis

WAN Yi¹, WU Yangqian¹, ZHANG Xiaolan¹, LI Mingxuan¹, LU Tulin^{1, 2}, ZHAO Xiaoli¹

- 1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
- 2. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To identify the yellow rice wine-processing Wushaoshe (*Ptyas*) with different processing degrees by studying the differences and dynamic change patterns of color, odor and nucleoside components of the yellow rice wine-processing *Ptyas* under different processing degrees. Methods In this study, HPLC was used to determine the contents of the intrinsic quality components uracil, hypoxanthine, xanthine, inosine and guanosine in the decoction pieces of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees. High-definition cameras and ultra-fast gas-phase electronic nose acquisition were respectively adopted to collect the color and odor information of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees. Combined with multivariate statistical analysis methods such as partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA), Bayesian discriminant analysis (BDA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), a discrimination model was established to distinguish the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees. Results The content determination results show that the nucleoside components of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees change complexly, and the classification effect of the model is poor. The OPLS-DA models established respectively by RGB quantization extraction of high-definition images and

收稿日期: 2025-05-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFC3504200)

作者简介: 万 毅 (1999—), 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 20230747@njucm.edu.cn

^{*}通信作者: 赵晓莉, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 310636@njucm.edu.cn

electronic nose odor collection are stable and reliable, and are suitable for the classification, prediction and discrimination of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees. Components such as ethyl acetate, 3-acetylpyridine, 1-penten-3-one, 1-decene, sec-butyl ethyl ether, and non-2-enal may be the odor difference markers for differentiating the decoction pieces of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees. **Conclusion** The color and odor discrimination model established in this study can be used for the rapid distinction of the yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees, providing a basis for the quality control and "judging the appearance and quality" during the processing of the *Ptyas*.

Key words: *Ptyas dhumnades* (Cantor); degree of processing; intelligent perception; RGB; ultra-fast gas phase electronic nose; quick identification; uracil; hypoxanthine; xanthine; inosine; guanosine

乌梢蛇为游蛇科鼠蛇属动物乌梢蛇 Ptyas dhumnades (Cantor)的干燥体。性甘,味平,归肝经,具祛风、通络、止痉之功,常用于风湿顽痹、麻木拘挛、中风口眼㖞斜、半身不遂、抽搐痉挛等病症[1]。乌梢蛇药用历史悠久,历代文献收载其炮制方法有水煮、酒浸、火焙、酒蒸等几十余种[2],其中酒炙法应用最为广泛且收载于历年版《中国药典》。乌梢蛇经酒炙后可增强祛风活络的功效,且具有引药上行、缓和药性、除臭矫味的作用。

中药炮制承载着历代医家通过千百年临床实 践凝练而成的独特制药技艺,在世代传承中不断精 进,形成了药性调控、毒性削减与疗效提升于一体 的精深炮制工艺体系。明代陈嘉谟在《本草蒙筌》 明确提出了"凡药制造,贵在适中,不及则功效难 求,太过则气味反失",确立炮制工艺的质量控制框 架,可见炮制程度把控对中药饮片质量尤为重要[3]。 长期以来,炮制程度及炮制终点的判断主要依赖人 工眼观、鼻闻、手捏等对饮片的颜色、气味、质地 等进行评价,较为主观,缺乏客观可量化的指标, 这种以人为经验以及终端离线检测的质量检测模 式不易确保饮片批间的质量稳定性,也不利于饮片 的在线质量控制。此外,动物药因为属别、生长环 境及年龄的不同,常出现外观上的个体差异,影响 炮制过程中人工判别的准确性。为确保酒乌梢蛇质 量和临床疗效的稳定, 亟须建立一套快速、灵敏、 客观、智能化的质量评价方法。

新质生产力背景下,智能感官技术结合人工智能分析可实现饮片多维质量表征。现代智能感官分析技术如电子眼和电子鼻等将中药饮片的外观性状进行客观量化并结合多元分析已成为评判饮片质量的新思路^[4-5]。

电子眼是通过模拟人眼和光反射原理对样品的外观颜色进行数字化表征的智能感官技术,其通过引入明亮度 (L^*) 、红绿 (a^*) 和黄蓝 (b^*) 3 个指标,实现物体颜色数据的客观量化[6-8]。高像素相机

可在线对目标饮片进行图像采集,通过融合深度相机采集的高清图像和相关代码,对饮片表型特征进行数值化提取,并通过模型分析进行样品的分类估算和预测[9-10],实现饮片炮制过程的在线实时监测和数字化快速无损质控检测。超快速气相电子鼻(ultra-fast gas phase electronic nose)通过结合气相色谱技术和传感器阵列来模拟人体嗅觉进行气味分析,可实现气味的数字化表达[11-12]。

本研究通过高效液相技术、高清图像 RGB 值提取和超快速气相电子鼻结合 MATLAB RGB 值提取算法、偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discriminant analysis,PLS-DA)、贝叶斯判别分析(Bayesian discriminant analysis,BDA)、正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)等分析方法,成功建立了不同炮制程度酒乌梢蛇的快速识别模型,为中药饮片生产在线质量控制奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司; EOS 5DS R 型佳能相机,日本佳能公司; Heracles NEO 型快速气相电子鼻,配有 PALRSI 型全自动顶空进样器,法国 Alpha MOS 公司; HL-350型高速多功能粉碎机,上海塞耐机械进出口有限公司; TD10002C型电子天平,0.01g,天津天马衡基仪器有限公司; Milli-Q Synthesis 超纯水仪,美国Millipore公司; C21-HT2117HM型多功能电磁炉,广东美的生活电器制造有限公司。

1.2 试剂

对照品鸟苷(批号 J09CB154303)、肌苷(批号 Y13J12C137495)、黄嘌呤(批号 M06GB140821)、次黄嘌呤(批号 T13J11X107944)、尿嘧啶(批号 N23IB23292),质量分数均 \geq 98.0%,上海源叶生物 科技有限公司;正构烷烃 $nC_6 \sim nC_{16}$ 混合对照品,批号 A10142930,美国 RESTEK 公司;黄酒(15%

vol), 批号 20240819,绍兴吴越酿酒有限公司;甲醇,色谱纯,批号 24126150,美国天地公司;冰乙酸,分析纯,批号 C16837262,上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.3 饮片

15 批乌梢蛇生饮片,分别收集于安徽省(AH240722-1~5)、江西省(JX240722-1~5)和四川省(SC240722-1~5),其质量均符合《中国药典》2025 年版标准,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定,均为游蛇科鼠蛇属动物乌梢蛇 P. dhumnades (Cantor)饮片。

2 方法与结果

2.1 不同炮制程度酒乌梢蛇饮片制备

按照《中国药典》2025 年版酒乌梢蛇项下的炮制方法,制备 15 批不同炮制程度的酒乌梢蛇饮片,每 100 千克乌梢蛇加入黄酒 20 kg,黄酒闷润 2 h,于文火(90~130 ℃)下炒炙 90 min,每隔 10 min 取样 1 次,摊开晾凉。共计得到 135 批不同炮制程度酒乌梢蛇饮片。炒炙 10~30 min 的样品表面湿润,蛇肉呈浅黄色且质较软,酒味明显,经测定水分均大于 13%; 炒炙 40~60 min 的样品蛇肉颜色转为棕

黄色,质坚硬,略有酒气,水分均小于 13%; 炒炙 70~90 min 的样品蛇肉为棕褐色,质地脆,具焦肉味,水分为 8%~10%。经老药工进一步鉴别,炒炙 40~60 min 的样品外观性状与《中国药典》2025 年版描述基本相符,故将 150 批的乌梢蛇饮片样品分为 4 大类,分别为生饮片、炮制不及(炒炙 10~30 min)、炮制适中(炒炙 40~60 min)、炮制太过(炒炙 70~90 min)。将各批样品粉碎,过 3 号筛,备用。生品及不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的批次信息见表 1,酒乌梢蛇饮片炮制过程的性状变化见图 1。

表 1 生品及不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的批次信息 Table 1 Batch information for raw herb and yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees

产地	4- П	不同炮制程度酒乌梢蛇饮片					
	生品	炮制不及	炮制适中	炮制太过			
安徽	AH240722-1~5	AHBJ6∼20	AHSZ21~35	AHTG36∼50			
江西	JX240722-1 \sim 5	JXBJ6 \sim 20	JXSZ21~35	JXTG36~50			
四川	SC240722-1~5	$SCBJ6{\sim}20$	SCSZ21~35	SCTG36~50			

AH-安徽; JX-江西; SC-四川; BJ-炮制不及; SZ-炮制适中; TG-炮制太过。

AH-Anhui; JX-Jiangxi; SC-Sichuan; BJ-less processed; SZ-processed products; TG-processed too much.

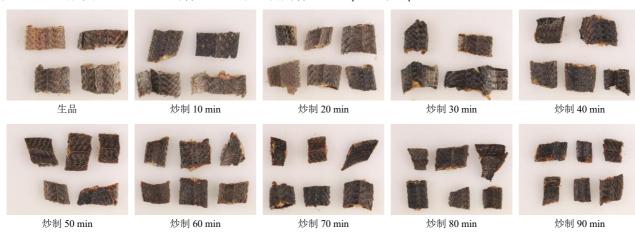


图 1 酒乌梢蛇饮片炮制过程的性状变化

Fig. 1 Changes in traits of Ptyas during processing

2.2 不同炮制程度酒乌梢蛇饮片中化学成分含量 测定及分析

- 2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称取尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷对照品适量,置于20 mL量瓶中,加超纯水定容至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为31.75、111.08、46.16、93.69、23.62 mg/L 的混合对照品储备液,备用。
- 2.2.2 供试品溶液的制备 取各批样品,粉碎并过3号筛,取粉末约0.5g,精密称定,置具塞锥形瓶
- 中,精密加入超纯水 25 mL, 称定质量,密塞,超声处理 30 min (功率 300 W、频率 40 kHz),放置至室温,再称量并补足减失的质量,摇匀,滤过,即得供试品溶液。
- 2.2.3 色谱条件 Hedfera C₁₈K 色谱柱 (250 mm× 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.3%醋酸水溶液-甲醇, 梯度洗脱: 0~13 min, 1%甲醇; 13~28 min, 1%~15%甲醇; 28~30 min, 15%~40%甲醇; 30~40 min, 40%甲醇; 40~45 min, 40%~1%甲醇; 45~

60 min, 1%甲醇; 体积流量 0.7 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 20 μL; 检测波长 254 nm。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取混合对照品储备液适量,加超纯水稀释制成不同质量浓度梯度的系列对照品溶液,进样 $20\,\mu$ L 测定,记录峰面积。以进样质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y) 绘制标准曲线并计算回归方程,结果分别为尿嘧啶Y=35.037~X-1.429,r=1.000~0,线性范围 $1.98\sim31.75~mg/L$;次黄嘌呤 Y=37.378~X+0.931~9,r=1.000~0,线性范围 $6.94\sim111.08~mg/L$;黄嘌呤 Y=16.049~X+6.551~3,r=0.999~8,线性范围 $2.88\sim46.16~mg/L$;肌苷 Y=20.386~X+0.806~1,r=1.000~0,线性范围 $1.48\sim23.62~mg/L$;结果显示,5种核苷类成分在线性范围内 r值均大于 0.999~5,表明各成分的进样质量浓度与峰面积在相应范围内具有良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取"2.2.1"项下配制好的对照品溶液,稀释,按照"2.2.3"项下色谱条件重复进样 6次,记录峰面积并计算其 RSD 值。尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷的 RSD 分别为 0.64%、0.23%、0.51%、0.09%、0.38%, RSD 均小于 3.0%,表明该仪器精密度良好。

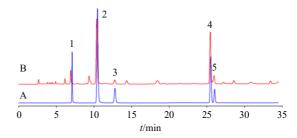
2.2.6 稳定性试验 取 AH240722-1 样品粉末,按照 "2.2.2" 项下方法制备 1 份供试品溶液,分别在制备后第 0、2、4、8、12、24 h 按照 "2.2.3" 项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算其 RSD 值。尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷的 RSD 分别为 0.88%、0.21%、1.25%、0.28%、1.50%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取 AH240722-1 样品粉末,按照 "2.2.2" 项下方法制备 6 份供试品溶液,按照 "2.2.3" 项下色谱条件进样分析,记录峰面积,记录峰面积并计算各成分质量分数的 RSD 值。尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷质量分数的 RSD 分别为 0.64%、0.86%、1.04%、0.82%、0.98%, RSD 均小于 3.0%,显示该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取 AH240722-1 样品粉末,根据尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷含量,精密加入等量的对照品,按照 "2.2.2" 项下方法制备供试品溶液,后按照 "2.2.3" 项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并分别计算各成分的加样回收率和 RSD 值。尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、

鸟苷的平均加样回收率分别为 98.17%、103.93%、103.08%、97.84%、99.22%, RSD 分别为 0.66%、0.39%、1.45%、0.54%、2.13%, 表明该方法准确度良好。

2.2.9 样品测定 按照 "2.2.3" 项下色谱条件,测定 15 批乌梢蛇生饮片和 135 批不同炮制程度的酒乌梢蛇中尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷的含量,色谱图见图 2。



1-尿嘧啶; 2-次黄嘌呤; 3-黄嘌呤; 4-肌苷; 5-鸟苷。 1-uracil; 2-hypoxanthine; 3-xanthine; 4-inosine; 5-guanosine.

图 2 混合对照品 (A) 和乌梢蛇样品 (B) 的 HPLC 图 Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A) and *Ptyas* sample (B)

2.2.10 炒炙程度对酒乌梢蛇化学成分的影响 根 据样品的含量测定结果,分别将各产地的生品和各 批次炮制不及、炮制适中和炮制太过的酒乌梢蛇样 品的核苷类成分含量取平均值,分析在不同炒炙时 间里各成分的变化趋势,结果见表 2。安徽、江西 和四川产地的各批次样品的尿嘧啶、次黄嘌呤、黄 嘌呤、肌苷、鸟苷含量变化没有明显的规律性。此 外,由表2可见,各产地不同批次的生品与对应的 不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的核苷类成分含量对 比无显著变化规律。通过以上核苷类成分含量检测 研究可见, 炒炙时间对酒乌梢蛇的核苷成分的含量 影响较为复杂。为了能够更直观地可视化这些成分 的复杂变化,将含量测定的结果建立了 PLS-DA 模 型,结果见图 3。从 PLS-DA 模型的散点图可见, 不同炮制程度的酒乌梢蛇样品相互混杂,没有明显 的区分、判别效果。上述研究表明,根据核苷类成 分的含量无法有效地区分酒乌梢蛇的炮制程度。

2.3 不同炮制程度酒乌梢蛇饮片颜色客观量化

2.3.1 基于 MATLAB 软件的 RGB 算法数据提取 采用高像素相机对不同炮制程度的酒乌梢蛇进行高清图像采集,使用 macro100 mm 镜头,调整快门 1/50,光圈 14,感光度 ISO 1250 时的拍摄效果较好,后续以此条件进行统一的图像采集,将采集到的高清图像运用 Adobe Illustrator 2024 软件进行抠

表 2 生品及不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的核苷类成分含量测定结果

Table 2 Detection results of nucleoside components in raw products and different degrees of processing of yellow rice wineprocessing *Ptyas*

样品	程度	尿嘧啶	次黄嘌呤		<u>,</u> 肌苷	鸟苷	样品	程度	尿嘧啶	次黄嘌呤		<u>,</u> 肌苷	 鸟苷
AH240722-1~5			1 258.03				JX240722-4	炮制不及		914.98	982.45		312.71
AH240722-1	炮制不及				1 659.74			炮制适中			749.68		283.68
	炮制适中				1 545.01			炮制太过		908.36	847.07		261.79
	炮制太过						JX240722-5	炮制不及		907.82	754.22		234.38
AH240722-2	炮制不及				1 404.29			炮制适中		918.57	1 067.17		345.91
	炮制适中				1 998.85			炮制太过		852.99	655.56		271.09
	炮制太过	247.04	1 251.29	275.84	1 530.89	280.81	SC240722-1~5	生品	447.97	1 056.50	607.64	902.65	318.81
AH240722-3	炮制不及	182.01	1 205.98				SC240722-1	炮制不及	411.00	1 080.93	588.36	1 144.92	330.10
	炮制适中	205.79	1 291.53	274.58	1 702.34	277.69		炮制适中	427.87	1 143.65	646.04	919.11	283.32
	炮制太过	334.85	1 333.76	371.25	1 192.02	301.97		炮制太过	451.29	972.49	714.70	726.15	277.54
AH240722-4	炮制不及	337.95	1 201.10	366.95	1 388.15	369.19	SC240722-2	炮制不及	366.84	856.45	589.94	549.06	173.97
	炮制适中	295.22	1 416.82	454.65	1 546.79	332.09		炮制适中	556.54	1 003.08	1 040.28	885.56	245.54
	炮制太过	222.90	1 244.48	267.34	1 349.52	290.14		炮制太过	464.46	991.28	704.52	712.36	270.52
AH240722-5	炮制不及	206.57	1 276.43	274.10	1 384.91	284.82	SC240722-3	炮制不及	378.02	939.02	531.16	632.10	177.32
	炮制适中	225.70	1 306.37	228.25	1 659.48	299.59		炮制适中	455.68	1 145.89	746.67	788.98	279.51
	炮制太过	240.86	1 199.46	228.99	1 610.41	287.68		炮制太过	480.89	1 024.60	796.23	788.81	290.83
JX240722-1~5	生品	655.68	941.97	988.48	605.47	250.44	SC240722-4	炮制不及	363.19	786.15	470.29	621.42	210.09
JX240722-1	炮制不及	570.60	894.40	1 038.13	663.63	263.82		炮制适中	413.01	1 072.32	505.06	877.96	379.42
	炮制适中	612.23	1 056.33	974.86	540.47	228.64		炮制太过	473.60	1 117.98	574.21	759.96	296.65
	炮制太过	684.70	892.43	1 164.02	529.20	322.91	SC240722-5	炮制不及	380.09	832.92	514.42	651.05	218.61
JX240722-2	炮制不及	615.42	871.24	1 138.95	506.17	194.65		炮制适中	540.59	1 054.02	687.19	922.42	355.88
	炮制适中	594.18	837.69	1 193.42	855.37	401.24		炮制太过	505.92	1 104.89	614.05	791.86	401.83
	炮制太过	501.48	986.51	904.95	630.23	254.95							
JX240722-3	炮制不及	697.65	952.53	1 257.45	554.14	234.15							
	炮制适中	625.68	962.31	1 282.64	826.51	411.97							
	炮制太过	523.54	1 078.49	1 142.13	747.80	276.03							

图处理去除背景,并通过 MATLAB R2024b 软件运用 RGB 算法对图像进行 R 值(红色, red)、G 值(绿色, green)、B 值(蓝色, blue)提取。

2.3.2 酒乌梢蛇饮片炮制程度颜色变化分析 RGB 值越大代表图片越亮,颜色越接近白色;反之越暗,颜色越接近黑色。依据检测结果,绘制了颜色参数随炒制时间的变化曲线,结果见图 4。3 个不同产地的乌梢蛇随着炮制时间的延长,R值、G值、B值总体均呈下降趋势,表明样品颜色开始变暗,与主观观察到炮制过程中样品表面颜色渐变焦黄色相符合。炮制 40~60 min 与 10~30 min 比较,样品总体颜色偏棕,符合蛇肉浅棕黄色至黄褐色的性状描述,与老药工经验鉴别结果一致,为炮制最适程度。炮制 70 min 后,样品呈焦褐色且整体偏暗,与性状描述不符。

2.3.3 RGB 贝叶斯判别及 OPLS-DA 区分不同炮制程度酒乌梢蛇 本研究进一步尝试采用 SPSS 26.0 建立贝叶斯判别式区分不同炮制程度的酒乌梢蛇。贝叶斯判别是一种基于贝叶斯理论的统计分类方法,通过计算样本属于不同类别的后验概率,选择概率最大的类别作为预测结果。其核心思想是将分类问题转化为概率决策问题,结合先验知识和观测数据做出最优判断。计算结果显示 R、G、B 值的判定系数 P<0.05,表明判定分类有显著性意义,各类别贝叶斯判别式见表 3。

将不同产地的未知样本的 R、G、B 值代入各自函数中,比较其 Y 值的大小,MAX($Y_{\text{性局, }}$ $Y_{\text{地间还, }}$ $Y_{\text{地间还, }}$) 值所属的炮制程度则对应着未知样品的类别。贝叶斯判别分析结果显示,不同产地乌梢蛇的不同炮制程度的定性判别准确度分别为

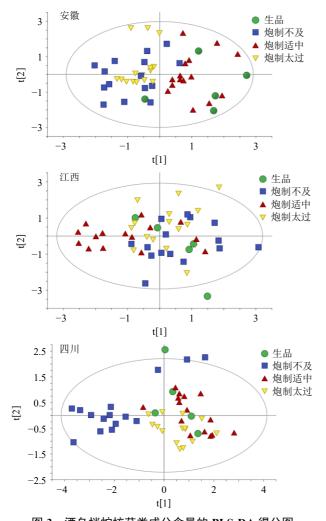


图 3 酒乌梢蛇核苷类成分含量的 PLS-DA 得分图 Fig. 3 PLS-DA score charts of nucleoside component content of yellow rice wine-processing *Ptyas*

94%、90%和 92%,所建立的快速判别式准确可靠,分离效果良好,能够用来快速区分不同炮制程度的酒乌梢蛇。贝叶斯判别分析结果提示,不同炮制程度的酒乌梢蛇在颜色上存在明显差异,进一步采用OPLS-DA 模型来可视化这种差异,OPLS-DA 得分图见图 5。OPLS-DA 是一种结合了正交信号校正(orthogonal signal correction,OSC)和偏最小二乘回归(partial least squares regression,PLSR)的多变量统计分析方法,通过将数据矩阵(X)分解为与响应变量(Y)相关的预测成分和无关的正交成分,从而去除无关噪声,使组内差异弱化,组间差异最大化凸显,使得组间样本分离效果更佳,提高模型对组间差异的解析能力。

前期将 150 批样品分为生品、炮制不及、炮制适中、炮制太过 4 大类,将其测色信息导入 SIMCA 14.1 软件中,以 R、G、B 作为因变量,不同炮制程

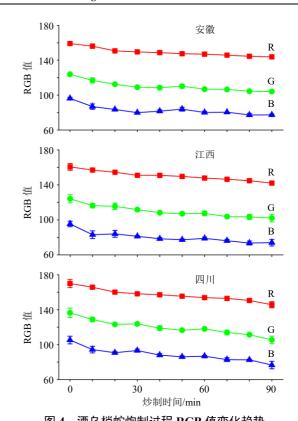


图 4 酒乌梢蛇炮制过程 RGB 值变化趋势
Fig. 4 Trend chart of RGB values during process of yellow rice wine-processing *Ptyas*

表 3 RGB 贝叶斯判别式 Table 3 RGB Bayesian discriminant

产地	炮制程度	贝叶斯判别函数
安徽	生品	Y = 44.439 R - 1.723 G - 12.205 B - 2843.237
	炮制不及	Y = 44.769 R - 1.919 G - 13.900 B - 2717.906
	炮制适中	<i>Y</i> =43.738 R−2.943 G−12.738 B−2 546.182
	炮制太过	Y = 42.993 R - 2.970 G - 12.848 B - 2426.712
江西	生品	Y = 26.732 R - 3.635 G + 5.191 B - 2170.593
	炮制不及	Y = 26.167 R - 2.871 G + 3.027 B - 1979.022
	炮制适中	Y = 25.850 R - 3.510 G + 3.102 B - 1865.930
	炮制太过	Y = 25.090 R - 3.448 G + 2.866 B - 1742.700
四川	生品	Y = 17.920 R - 7.131 G + 5.879 B - 1348.050
	炮制不及	Y = 17.551 R - 6.014 G + 3.626 B - 1.208.960
	炮制适中	Y = 17.388 R - 6.323 G + 3.459 B - 1 130.680
	炮制太过	Y = 17.287 R - 6.562 G + 3.122 B - 1.059.740

度(生品、炮制不及、炮制适中、炮制太过)作为自变量。从 OPLS-DA 模型的散点图得知,150 批不同炒炙时间的酒乌梢蛇样品相互分离,分离效果较好,结果见图 5,可见根据上述 RGB 值结合 OPLS-DA 能够有效判别酒乌梢蛇的不同炮制程度。在上述散点图中,生品及炮制不及、炮制适中、炮制太过的酒乌梢蛇各自聚集在一起,表明建立的 OPLS-

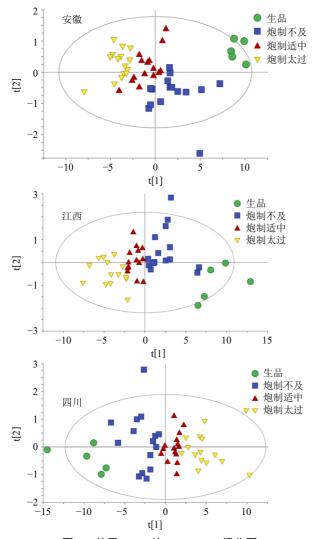


图 5 基于 RGB 的 OPLS-DA 得分图 Fig. 5 RGB OPLS-DA score chart based on RGB

DA模型能实现乌梢蛇不同炮制程度的区分。此外,OPLS-DA载荷图和 VIP 值被用来寻找对分组贡献度较大的颜色参数,在载荷图(图 6)中,距离原点越远,对分组贡献度越高;在 VIP 值表中,VIP值超过 1 的变量对分组贡献度较大,结果见表 4。因此,在安徽、江西和四川 3 个产地的样品中,分类贡献度最大的分别是 B、B、G 值。

2.4 不同炮制程度酒乌梢蛇饮片气味分析

2.4.1 电子鼻检测条件 乌梢蛇样品粉碎并过 3 号筛,按以下条件进行测定:取样量 1 g; 进样量 4.000 mL; 孵化温度 90 °C; 孵化时间 10 min; 进样流速 125 μ L/s; 进样口温度 200 °C; 捕集时间 18 s; 柱温的初始温度 40 °C; 初始炉温 50 °C; 柱温程序升温方式为初始炉温 50 °C; 2 °C/s 至 150 °C、5 °C/s 至 250 °C保持 10 s; 采集时间 85 s; 检测器温度 260 °C。

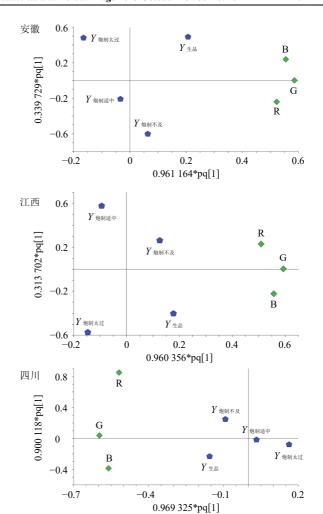
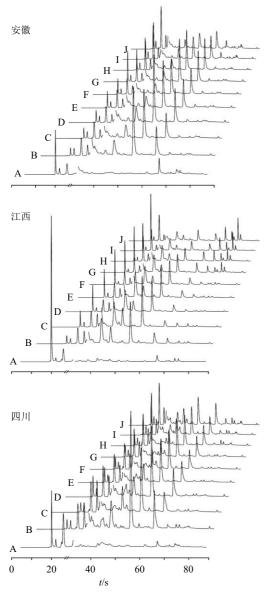


图 6 基于 RGB 的 OPLS-DA 载荷图
Fig. 6 OPLS-DA load chart based on RGB
表 4 基于 RGB 的 OPLS-DA 的 VIP 值
Table 4 VIP values of OPLS-DA based on RGB

产地 颜色 VIP值 产地 颜色 VIP值 安徽 R 0.9985 ± 0.0424 四川 R 0.9627 ± 0.0685 G 0.9596 ± 0.0368 G 1.0444 ± 0.0488 1.0402 ± 0.0479 0.9912 ± 0.0368 0.9766 ± 0.0409 江西 R 1.0023 ± 0.0575 G 1.0205 ± 0.0716

2.4.2 气味信息采集及处理 按照 "2.4.1" 项下分析条件,对乌梢蛇生饮片及不同炮制程度酒乌梢蛇进行气味检测。基于 Heracles NEO 快速气相电子鼻分析结果,以 MXT-WAX 色谱柱采集信号为主,用Origin 2024 绘图软件得到不同炮制程度酒乌梢蛇饮片气味色谱峰,结果见图 7。通过色谱瀑布图可以看出生品与酒乌梢蛇饮片在气味上存在显著差异,40~60 s 新增多个气味峰,且生品经酒炙后在 65 s 左右的峰明显降低;进一步比较可见,不同炮制程



A-生品; B~J-炒制 10、20、30、40、50、60、70、80、90 min。 A-raw product; B—J-fried for 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 min.

图 7 酒乌梢蛇饮片气味色谱瀑布图

Fig. 7 Waterfall chromatogram of odor of yellow rice wine-processing *Ptyas*

度酒乌梢蛇饮片在气味上存在较大差异,不同炮制程度的酒乌梢蛇在20 s 附近的峰随炮制时间增加而增大,50~60 s 附近的峰逐渐减小,70~80 s 的峰逐渐增大。

2.4.3 乌梢蛇生饮片与不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的气味差异分析 采用正构烷烃标准溶液 $(nC_6 \sim nC_{16})$ 进行校准,将测得的不同炮制程度酒乌梢蛇饮片色谱峰的保留时间 (t_R) 转化为 Kovats 保留指数(retention index,RI)进行定性,通过电子鼻仪器自带的 AroChemBase Nist 标准数据库及文献查阅[13-14]等,筛选得出部分可能存在的气味化

合物与相应的感官描述息,结果见表 5。美拉德反应是发生在还原糖与氨基酸、多肽、蛋白质等含有游离氨基化合物之间的非酶促褐变反应,常发生在食品加工和中药炮制等涉及加热的过程中。美拉德反应过程中会产生酮类、醛类、含氮杂环类等化合物[15-16]。酒乌梢蛇在炮制过程中产生的挥发性物质的变化可能与美拉德反应有关。炮制过程中鉴定出的成分包含醛类、酮类、呋喃、吡嗪、烯烃、醇类、酯类等,均为挥发性物质,主要分为6种不同的主观感知类别,大部分化合物被感知为"甜的""水果",少数感知为"酒精""辛辣",与《中国药典》2025 年版乌梢蛇项下"味甘""略有酒气"的感官描述相一致,部分"油""烤""肉的""肥的"可能为含肉类炮制品独有的气味成分。

使用 SIMCA 14.1 软件分别建立不同炮制程度表 5 酒乌梢蛇饮片中可能存在的气味化合物及感官信息描述

Table 5 Potential odor compounds and sensory information description of yellow rice wine-processing *Ptyas*

-		F	RI		†u ₩			
序号	分子式	MXT-	MXT-	可能的化合物	相关	感官描述		
		WAX	5		指数			
1	C_6H_{14}	593	616	正己烷	94.76 烷	完烃; 大气; 汽油; 煤油		
2	$C_6H_{14}O$	705	603	2-乙氧基丁烷	82.62 券	 果;植物的;木头味		
3	C_8H_{18}	803	778	正辛烷	90.37 水	K果;杂醇;汽油;甜的		
4	C_5H_6O	859	593	2-甲基呋喃	91.74 炒	然烧;瓦斯;金属;霉味		
5	$C_4H_8O_2$	900	616	醋酸乙酯	97.84 形	g性的;黄油;焦糖;辛辣的		
6	C_2H_6O	950	445	乙醇	88.71 浬	雪精;乙醇;辛辣的;强烈的		
7	C_5H_8O	991	702	1-戊烯-3-酮	93.23 鱼	鱼腥;大蒜;辛辣的;腐烂的		
8	$C_4H_6O_2$	1 000	593	2,3-丁二酮	88.91 黄	黄油; 焦糖; 奶油的; 辛辣的		
9	$C_{10}H_{20}$	1 029	982	正癸烯	95.36 叻	咖啡;爆米花;熟大米;烤		
10	C4H9N	1 043	694	四氢吡咯	94.75 硝	域性的; 胺; 含氨的; 动物		
11	$C_5H_8O_2$	1 080	696	2,3-戊二酮	87.41 燃	然烧; 焦糖; 奶酪; 坚果的		
12	$C_6H_{12}O$	1 108	817	正己醛	84.71 服	巴的;鱼腥;强烈的;牛油		
13	$C_6H_{10}O_2$	1 131	803	3,4-己二酮	94.23 耆	5仁;黄油;坚果的;烤的		
14	$C_{10}H_{21}N \\$	1 144	1 046	异亚戊基异戊胺	93.76 鱼	0.		
15	$C_4H_4N_2$	1 213	736	吡嗪	92.77 苦	吉味;玉米;烤榛子;坚果的		
16	C7H9N	1 241	894	2,6-二甲基吡啶	85.43 耳	丁可;霉味;坚果的;木头味		
17	$C_8H_{16}O$	1 314	1 028	正辛醛	90.48 服	巴的; 煮肉; 辛辣的; 腐臭; 炖		
18	$C_5H_{10}O_3$	1 355	817	乳酸乙酯	91.35 黄	黄油;奶油糖果;水果		
19	$C_8H_{12}N_2$	1 459	1 098	2,3-二乙基吡嗪	95.99 香	昏油;青椒;坚果的;胡椒		
20	C9H16O	1 536	1 171	2-壬烯醛	92.96 服	巴的; 牛油		
21	$C_4H_8O_2$	1 560	784	异丁酸	95.58 醇	g味;乳制品;肥的;腐臭		
22	C ₈ H ₈ O	1 638	1 090	苯乙酮	86.37 耆	5仁;植物的;山楂;霉味		
23	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	1 648	1 470	异戊酸正辛酯	86.05 草	苹果;植物的;蜂蜜;淡味的		
24	C7H7NO	1 829	1 121	3-乙酰吡啶	92.26 雪	雪茄;爆米花;强烈的;木头味		

酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 模型及生品与炮制品、炮制不及与炮制适中和炮制适中与炮制太过酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 模型。150 批生品及不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 结果见图 8, 其中,图 8-b 的接收者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线显示,不同炮制程度的ROC 曲线下的面积(AUC,每一类的 AUC 值大小代表其诊断效果)均大于 0.95,说明模型在区分类别时兼顾高灵敏性和低误判率,能精准分类样本,具有极强区分能力,结果表明不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 模型具有优秀的稳健性。

为探究不同炮制程度酒乌梢蛇饮片之间的气味差异标记物,分别建立了生品与炮制品、炮制不及与炮制适中、炮制适中与炮制太过酒乌梢蛇饮片

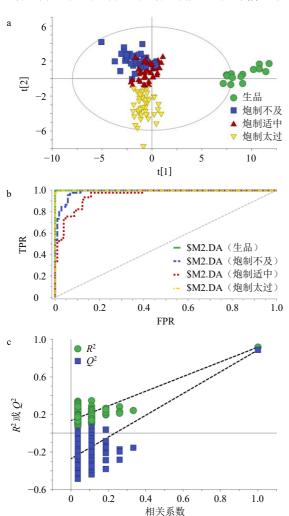


图 8 生品及不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 得分图 (a)、ROC 曲线图 (b) 和置换检验图 (c) Fig. 8 OPLS-DA score graphs (a), ROC curve graphs (b) and replacement test graphs (c) of yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees

的 OPLS-DA 模型,见图 9-a~11-a,可见不同炮制程度酒乌梢蛇饮片能较好地区分开,并对各模型进行置换检验(200 次)验证。一般认为 R^2 拟合直线在 Y 轴的截距小于 0.3,说明该模型较为拟合可信, Q^2 拟合直线在 Y 轴的截距小于 0.05,说明该模型预测有效。结果(图 9-b~11-b)表明,4 个模型的拟合度良好,均未出现过拟合现象。

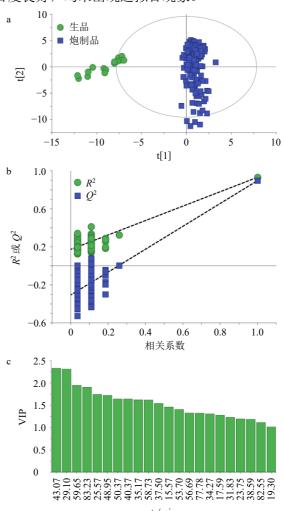


图 9 生品与各炮制程度酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 得分图 (a)、置换检验图 (b) 和 VIP 图 (c)

Fig. 9 OPLS-DA score graphs (a), replacement test graphs (b) and VIP graphs (c) of yellow rice wine-processing *Ptyas* with different processing degrees

进一步对各 VIP 图 (图 9-c~11-c)进行分析筛选,得出生品与酒炙品的气味差异标志物可能为醋酸乙酯、3-乙酰吡啶、乳酸乙酯、异亚戊基异戊胺、四氢吡咯等成分;1-戊烯-3-酮、正癸烯、正己醛、正己烷、2,3-丁二酮等成分可能为炮制不及与炮制适中酒乌梢蛇饮片的气味差异标志物;2-乙氧基丁烷、2-壬烯醛、异丁酸、苯乙酮、2-甲基呋喃等成分

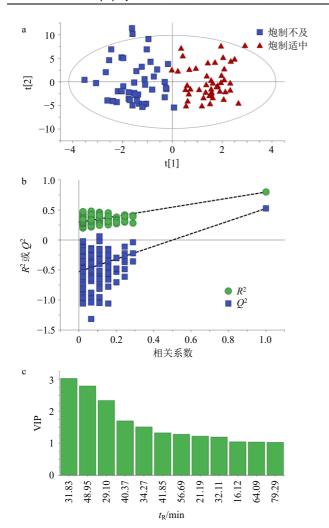


图 10 炮制不及与炮制适中酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 得 分图 (a)、置换检验图 (b) 和 VIP 图 (c) Fig. 10 OPLS-DA score graphs (a), replacement test

graphs (b) and VIP graphs (c) of yellow rice wineprocessing *Ptyas* with different processing degrees

可能为炮制适中与炮制太过酒乌梢蛇饮片的气味差异标志物,其中吡嗪为上述的共同气味差异物,乙醇、正己醛为生品与炮制品、炮制不及与适中的共同气味标志物,正辛烷、3,4-己二酮为炮制不及与适中、炮制适中与太过的共同气味标志物。

2.5 外观性状-内在成分关联分析

在 Origin 2024 软件中,采用 Correlation Plot 插件,将样品表面 RGB 值、鉴定的气味成分与内在化学成分进行 Pearson 相关性分析并绘制热图,结果见图 12。尿嘧啶、黄嘌呤与电子鼻气味成分 2、21 呈正相关性,次黄嘌呤、肌苷与气味成分 2、21 呈负相关性,此外肌苷与气味成分 3、5 也均呈较强的负相关性。次黄嘌呤与黄嘌呤也呈显著负相关。RGB值多与气味成分呈负相关。上述成分均 P<0.05,具

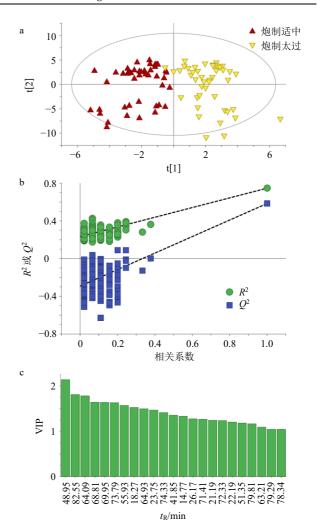


图 11 炮制适中与炮制太过酒乌梢蛇饮片的 OPLS-DA 得分图 (a)、置换检验图 (b) 和 VIP 图 (c) Fig. 11 OPLS-DA score graphs (a), replacement test

graphs (b) and VIP graphs (c) of yellow rice wineprocessing *Ptyas* with different processing degrees

有显著的统计学意义。

3 讨论

传统中药饮片炮制程度的判断,主要依靠人工根据气味、颜色、质地变化而定,外观性状的描述较为主观模糊,缺乏客观,采用人为操作或离线生产检测,饮片质量稳定性难以科学把控[17],导致市场上饮片质量层次不齐。而智能感官在线检测技术如高像素图像色值提取、超快速电子鼻等,将传统"经验鉴别"转化为数据驱动的科学分析,为中药现代化提供了创新的技术工具。随着结合人工智能优化算法,深化多技术联用,其应用潜力将进一步释放,为中药传统经验鉴别提供科学化、数据化的解决方案。本研究分别从外观颜色、气味成分和核苷类化合物含量对不同炮制程度的酒乌梢蛇饮片进行

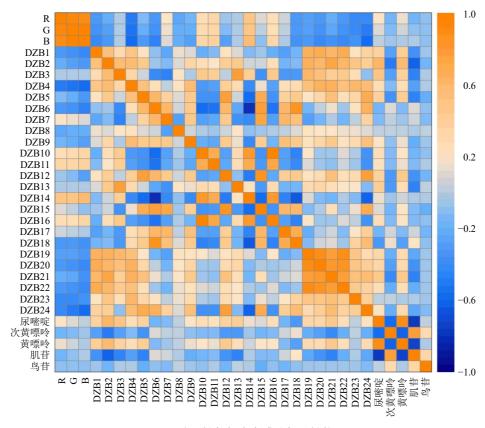


图 12 外观性状与内在成分相关性热图

Fig. 12 Heat map of correlation between appearance traits and intrinsic components

了定性辨识,成功建立了高清图像颜色提取和气味成分采集2种不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的判别模型,适用于酒乌梢蛇炮制程度适中的判断。

乌梢蛇酒炙必然带来了外观颜色的变化。本研究以高像素相机采集样品高清图像,并借助 Matlab R2024b 软件对样品高清图像的 RGB 颜色特征进行数字化表达。由颜色测定数据可知,随着炮制程度加深,RGB 值降低,样品颜色加深。后采用贝叶斯判别式对所得的 RGB 值进行判别分析,3 个产地不同炮制程度酒乌梢蛇的定性判别准确率分别高达94%、90%、92%;建立的 OPLS-DA 模型可靠,适用于判别或预测不同炮制程度的酒乌梢蛇饮片。

 究基于气味信息建立的 OPLS-DA 模型,能够实现对不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的快速辨识,并能够推测识别出不同炮制程度酒乌梢蛇的气味差异标志物。结合外观性状与内在成分进行关联性分析,发现尿嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、肌苷的含量与2-乙氧基丁烷、异丁酸均具有较强的相关性。这2种气味成分或能作为炮制过程中关键质量标志物,实现酒乌梢蛇不同炮制程度的快速区分。此外,RGB值多与气味成分是负相关,即 RGB值越大颜色越深,气味成分越淡,可能是炮制太过导致气味挥发丢失。次黄嘌呤与黄嘌呤呈显著负相关,推测在乌梢蛇炮制过程中次黄嘌呤发生氧化转化为黄嘌呤。

文献研究表明,乌梢蛇含有多种氨基酸、核苷、脂肪、蛋白质及微量元素等成分^[18]。目前文献报道的乌梢蛇成分分析多通过 HPLC 法以核苷类成分和氨基酸作为指标进行含量测定^[18-19]。核苷酸作为生物学功能的重要小分子,内源性合成的核苷无法满足免疫细胞迅速更新的需求,所以外源性核苷的摄入与机体免疫功能存在密切联系^[20]。核苷的抗炎活性对机体具有重要的免疫系统影响,肌苷能减轻分泌促炎介质,鸟苷可增强巨噬细胞的释放^[21]。马哲

龙等[22]证实了乌梢蛇提取物中水溶性部位比醇溶性部位明显具有更好的抗炎、镇痛作用,而水溶性部位中主要含核苷类成分。此外,多个酒乌梢蛇配方颗粒的地方标准均以次黄嘌呤为含量测定指标。以《中国药典》为代表的质量标准已经确立了"从单指标向多指标、从指标性成分向药效成分控制"的发展方向,因此,本实验结合文献研究和地方酒乌梢蛇配方颗粒的地方标准,选取尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、肌苷、鸟苷5种核苷类成分作为乌梢蛇含量测定的指标性成分。基于核苷类成分含量建立的不同炮制程度酒乌梢蛇判别模型,无法对4种不同炮制程度进行有效区分,推测可能的原因为乌梢蛇个体差异较大或产地预加工不完全,导致其体内核苷类成分含量参差不齐,建立的PLS-DA模型分类样品间相互混杂,区分度差。

智能检测技术实际应用于企业动态生产过程 还需要根据具体生产设备进行调整,建立对应的分 类判别式或辨别模型。本研究是基于实验室静态样 品信息采集,客观量化酒乌梢蛇饮片的颜色特征和 气味差异,建立的不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的 2 种判别模型,可实现不同炮制程度酒乌梢蛇饮片的 快速区分,为企业生产炮制适中的酒乌梢蛇提供在 线检测的技术支撑。

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. 2025: 82-83.
- [2] 朱春晓,谢明,李昶,等. 乌梢蛇的本草考证研究 [J]. 中国现代中药,2018,20(12):1573-1578.
- [3] 史亚博, 傅饶, 李铭轩, 等. 基于电子感官技术的醋香附饮片不同炮制程度判别及炮制终点量化研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(18): 5003-5013.
- [4] Shi Y B, He T Y, Zhong J J, et al. Classification and rapid non-destructive quality evaluation of different processed products of *Cyperus rotundus* based on near-infrared spectroscopy combined with deep learning [J]. *Talanta*, 2024, 268(Pt 1): 125266.
- [5] 马景余, 孙涛, 王彦荣, 等. 基于电子舌和电子眼信息融合的贝母品种快速辨识方法 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(18): 9-18.
- [6] Zhang Q, Xue R, Su L L, et al. Quality difference analysis of raw and vinegar-processed products of Qingpi based on color and component correlation [J]. J Pharm Biomed Anal, 2024, 241: 115968.
- [7] Guo F Q, Yang C Y, Zang C, et al. Comparison of the

- quality of Chinese ginger juice powders prepared by different drying methods [J]. *J Food Process Eng*, 2019, 42(7): e13252.
- [8] Tu Y H, Li D Q, Fan L J, et al. DOXC-class 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase in safflower: Gene characterization, transcript abundance, and correlation with flavonoids [J]. Biochem Syst Ecol, 2018, 80: 14-20.
- [9] 黄年昌, 杨阳, 张强, 等. 基于深度学习的 RGB-D 图 像显著性目标检测前沿进展 [J]. 计算机学报, 2025, 48(2): 284-316.
- [10] 陆声链,李沂杨,李帼,等. 基于 RGB 与深度图像融合的生菜表型特征估算方法 [J]. 农业机械学报, 2025, 56(1): 84-91.
- [11] Li Y, Fei C H, Mao C Q, et al. Physicochemical parameters combined flash GC e-nose and artificial neural network for quality and volatile characterization of vinegar with different brewing techniques [J]. Food Chem, 2022, 374: 131658
- [12] Chen C, Liu Z, Zhou W Y, et al. Comparison of the fermentation activities and volatile flavor profiles of Chinese rice wine fermented using an artificial starter, a traditional JIUYAO and a commercial starter [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 716281.
- [13] 应金琴, 袁恩, 张金莲, 等. 乌梢蛇酒炙矫臭原理研究 [J]. 中药材, 2021, 44(8): 1856-1863.
- [14] 应金琴. 酒蟾酥及酒乌梢蛇炮制原理研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [15] 彭佩瑾, 闫媛, 安广涛, 等. 中药美拉德反应研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(11): 121-129.
- [16] 彭佩瑾, 闫媛, 安广涛, 等. 中药的美拉德反应综述: 机制、历程、产物、药理或毒理、分析与调控 [J/OL]. 辽宁中医药大学学报, (2025-04-11) [2025-09-29]. https://link.cnki.net/urlid/21.1543.R.20240410.1758.006.
- [17] 李林,李伟东,苏联麟,等."新质生产力"背景下的中药炮制智能化转型升级发展新路径探讨 [J]. 南京中医药大学学报,2024,40(7):653-660.
- [18] 陈宏,徐保利. HPLC 法测定乌梢蛇中六种核苷类成分含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(1): 13-16.
- [19] 黄文琦, 林葵, 黄岛平, 等. 乌梢蛇氨基酸图谱研究 [J]. 蛇志, 2015, 27(1): 4-6.
- [20] 王楠, 蔡夏夏, 李勇. 外源核苷酸与免疫功能研究进展 [J]. 食品科学, 2016, 37(5): 278-282.
- [21] 丁兴杰,熊亮,周勤梅,等.天然核苷类成分的化学结构和药理活性研究进展 [J].成都中医药大学学报,2018,41(2):102-108.
- [22] 马哲龙,梁家红,陈金印,等. 乌梢蛇的抗炎镇痛作用 [J]. 中药药理与临床,2011,27(6):58-60.

[责任编辑 郑礼胜]