

## 基于HS-GC-MS考察建昌帮炆法对何首乌气味形成的影响

张涛<sup>1</sup>, 邓亚玲<sup>1</sup>, 陈西勇<sup>2</sup>, 叶先文<sup>1</sup>, 刘敏敏<sup>1</sup>, 谢亚婷<sup>1</sup>, 刘颖<sup>1</sup>, 黄敏<sup>1</sup>,  
万全<sup>1</sup>, 张青<sup>2</sup>, 姚方程<sup>2\*</sup>, 张金莲<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 建昌帮药业有限公司, 江西抚州 344700)

**[摘要]** 目的:通过比较不同产地何首乌经江西建昌帮炆法和2020年版《中华人民共和国药典》收录的蒸法炮制前后饮片挥发性成分的差异,考察炮制方法对何首乌气味形成的影响。方法:采用顶空气相色谱-质谱法(HS-GC-MS)检测3个产地不同炮制方法共30批何首乌样品的挥发性成分,气相色谱条件为程序升温(起始温度40℃,以5℃·min<sup>-1</sup>升至150℃,再以10℃·min<sup>-1</sup>升至195℃),载气高纯度氦气,分流比10:1;质谱条件为电子轰击离子源(EI),检测范围 $m/z$  50~650,利用峰面积归一化法计算各组分的相对质量分数;运用精密色差仪测定不同炮制品的色度值,采用OriginPro 2021探讨色度值与挥发性成分相对含量的相关性;运用SIMCA 14.1对各样品数据进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),根据变量重要性投影(VIP)值>1.5的原则筛选得到不同炮制品之间的差异性成分,探究何首乌及其炮制品不同气味形成的物质基础。结果:共鉴定出59种挥发性成分,其中何首乌34种、炆何首乌33种、制何首乌27种;参数红绿色值( $a^*$ )、黄蓝色值( $b^*$ )、总色度值( $E^*ab$ )与各挥发性成分相对含量均无显著相关性;而明度值( $L^*$ )与2-甲基-2-丁烯醛、2-甲基四氢呋喃-3-酮和2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮的相对含量存在明显负相关( $P<0.05$ )。PCA及OPLS-DA结果表明,何首乌及其不同炮制品之间存在明显差异,但同一炮制方法不同产地的样品之间差异不明显。己酸、壬酸、合成樟脑等刺激性臭味成分在炮制后含量降低;而2-甲基-2-丁烯醛、糠醛、5-羟甲基糠醛、甲基麦芽酚、糠醇等成分具有甜香味,在炮制后含量升高。糠醛、5-甲基-2-呋喃甲醇、5-羟甲基糠醛等香味成分的含量在炆何首乌中显著高于制何首乌。结论:不同炮制方法对何首乌气味的影响大于产地;颜色参数 $L^*$ 与挥发性成分相对含量存在显著相关性;何首乌的“生”味可能与己酸、壬酸、合成樟脑等挥发性成分有关,炮制后的“香味”与2-甲基-2-丁烯醛、糠醛、5-羟甲基糠醛、甲基麦芽酚、糠醇等的含量升高有关。

**[关键词]** 何首乌; 顶空气相色谱-质谱法(HS-GC-MS); 炆法; 挥发性成分; 色度值; 中药炮制

**[中图分类号]** R22;R28;R943.1;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)14-0134-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211857 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210817.1346.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-08-17 16:10

## Effect of Jianchangbang Braising Method on Formation of Odor of Polygoni Multiflori Radix Based on HS-GC-MS

ZHANG Tao<sup>1</sup>, DENG Yaling<sup>1</sup>, CHEN Xiyong<sup>2</sup>, YE Xianwen<sup>1</sup>, LIU Minmin<sup>1</sup>, XIE Yating<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1</sup>,  
HUANG Min<sup>1</sup>, WAN Quan<sup>1</sup>, ZHANG Qing<sup>2</sup>, YAO Fangcheng<sup>2\*</sup>, ZHANG Jinlian<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;  
2. Jianchangbang Pharmaceutical Co. Ltd., Fuzhou 344700, China)

**[Abstract]** **Objective:** By comparing the difference of volatile components of the decoction pieces before and after being processed by braising method of Jianchangbang and steaming method included in the 2020

**[收稿日期]** 2021-06-24

**[基金项目]** 江西省重点研发计划项目(20192BBG70073);国家自然科学基金项目(82060724);2020年国家级大学生创新创业训练计划项目(202010412007);江西省卫生健康委员会科技计划项目(202120015);江西省中药学一流学科专项科研基金项目(JXSYLXK-ZHYAO039/141)

**[第一作者]** 张涛, 硕士, 从事中药炮制研究, E-mail: 1512337515@qq.com

**[通信作者]** \* 张金莲, 博士, 教授, 从事中药学及中药炮制学的教学及科学研究, Tel: 0791-87118995, E-mail: jxjzzjl@163.com;

\* 姚方程, 工程师, 从事中药生产及炮制技术研究工作, Tel: 0794-7222866, E-mail: 398639920@qq.com

edition of *Chinese Pharmacopoeia*, the influence of processing methods on the flavor formation of *Polygoni Multiflori Radix* (PMR) was compared. **Method:** Headspace-gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS) was used to detect the volatile components of 30 batches of PMR samples from 3 origins with 3 processing methods. The GC was performed under programmed temperature (starting temperature of 40 °C, rising to 150 °C at 5 °C·min<sup>-1</sup>, and then rising to 195 °C at 10 °C·min<sup>-1</sup>) with high purity helium as carrier gas and the split ratio of 10:1. Mass spectrometry conditions were electron impact ion source (EI) and the detection range of *m/z* 50-650, the peak area normalization method was used to calculate the relative mass fraction of each component. The chromaticity values of different processed products were measured by a precision colorimeter, the relationship between chromaticity values and relative contents of volatile components was investigated by OriginPro 2021, principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were performed on the sample data by SIMCA14.1. The differential components of different processed products of PMR were screened according to the principle of variable importance in the projection (VIP) value>1.5, and the material basis of different odor formation of PMR and its processed products was explored. **Result:** A total of 59 volatile components were identified, among which 34 were raw products, 33 were braised products, and 27 were steamed products. PCA and OPLS-DA results showed that there were significant differences between the three, but there was no significant difference between samples from different origins of the same processing method. Color parameters of *a*<sup>\*</sup>, *b*<sup>\*</sup>, *E*<sup>\*</sup>*ab* had no significant correlation with contents of volatile components, while *L*<sup>\*</sup> was negatively correlated with contents of 2-methyl-2-butenal, 2-methyltetrahydrofuran-3-one and 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one (*P*<0.05). The contents of pungent odor components such as caproic acid, nonanoic acid and synthetic camphor decreased after processing, while the contents of sweet flavor components such as 2-methyl-2-butenal, furfural and 5-hydroxymethylfurfural increased after processing, and the contents of furfural, 5-methyl-2-furanmethanol, 5-hydroxymethylfurfural and other aroma components in the braised products were significantly higher than that in the steamed products. **Conclusion:** HS-GC-MS can quickly identify the volatile substance basis that causes the different odors of PMR and its processed products. The effect of processing methods on the odor is greater than that of origin. There is a significant correlation between the color parameter of *L*<sup>\*</sup> and contents of volatile components, the "raw" taste of PMR may be related to volatile components such as caproic acid, pelargonic acid and synthetic camphor, the "flavor" after processing may be related to the increase of the contents of 2-methyl-2-butenal, furfural, 5-hydroxymethylfurfural, methyl maltol and furfuryl alcohol.

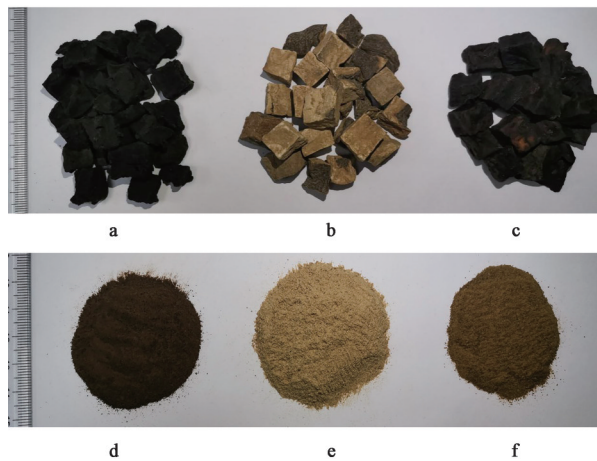
**[Keywords]** *Polygoni Multiflori Radix*; headspace-gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS); braising method; volatile components; chromaticity values; processing of traditional Chinese medicine

何首乌性微温,味苦、甘、涩<sup>[1]</sup>。其在我国甘肅南部、陝西南部、浙江、河南、广东等地均有分布,主产于广东、云南、贵州等<sup>[2]</sup>。李时珍<sup>[3]</sup>在《本草纲目》载何首乌“此物气温味苦涩,苦补肾,温补肝,能收敛精气,所以能养血益肝,固精益肾,健筋骨,乌发,为滋补良药,不寒不燥,功在地黄、天门冬诸药之上。”现代研究表明,何首乌在抗氧化<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、神经保护<sup>[6]</sup>、提高学习和记忆能力<sup>[7]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[8]</sup>、抑制色素沉积<sup>[9]</sup>等方面具有显著的药理作用。

目前,何首乌化学成分的研究多集中在二苯乙烯类、蒽醌类、黄酮类、磷脂类等非挥发性成分上,而对何首乌挥发性成分及炮制前后相应成分变化

的研究却鲜有报道。气味和色泽是中药重要的性状特征,老药工常根据二者来判断饮片的炮制程度,经验丰富的药材采购人员也可根据气味和色泽来判别饮片的真伪和优劣。观察何首乌、炒何首乌、制何首乌饮片及其药粉的形态、颜色,发现何首乌粉末呈黄棕色,久闻具有一定刺激性的“生味”;制何首乌粉末为棕黄色,有淡淡的香甜味,而炒何首乌粉末颜色更深,呈棕褐色且闻起来香味更浓郁,见图1。然而,何首乌及其炮制品的颜色与气味之间是否存在联系、三者气味不同的物质基础目前均尚不明确。顶空气相色谱-质谱法(HS-GC-MS)采用顶空进样方式直接对药材进行分析,具有操作

简单、检测快速、灵敏度高等优点,被广泛用于中药不同产地、不同部位、不同炮制品挥发性成分的比较研究<sup>[10-13]</sup>。因此,本研究拟采用HS-GC-MS对何首乌、炆何首乌、制何首乌进行比较分析,并结合色度值与挥发性成分的相关性分析,探讨不同产地何首乌经不同方法炮制加工后其挥发性成分的变化,以及其与气味、色泽变化的联系,以便更全面地表征何首乌炮制前后的挥发性物质基础、探讨不同炮制方法对其饮片气味形成的影响,为何首乌及其炮制品的质量评价提供参考。



注:a,d. 炆何首乌;b,e. 生何首乌;c,f. 制何首乌

图1 何首乌及其炮制品的样品形态和颜色

Fig. 1 Sample morphology and color of Polygoni Multiflori Radix and its processed products

## 1 材料

7890A型气相色谱-5975C型质谱联用仪[美国Agilent公司,配置化学工作站积分器和美国国家标准与技术研究院(NIST)17.L标准质谱检索库],CP214型1/1万电子天平(美国Ohaus公司),HP-200型精密色差仪(上海汉谱光电科技有限公司)。何首乌饮片购自江西省建昌帮药业有限公司,经江西中医药大学中药资源教研室葛菲教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* 的干燥块根;取相应批次何首乌各9 kg,分别按2008年版《江西省中药饮片炮制规范》<sup>[14]</sup>中炆何首乌[取净何首乌块,浸泡过夜至内无干心,与黑豆放入炆药罐内,加入40~50℃温水,上盖,移至围灶内,罐四周放置木炭和干糠(每100 kg何首乌,用木炭5 kg、干糠80 kg)点燃后炆24 h,至糠尽灰冷,取出;65℃烘箱干燥至七成干;再用剩余药汁和黄酒拌匀,待吸尽后蒸6 h,停火密闭一夜,取出,置烘箱干燥至干。每100 kg何首乌,用黑豆10 kg、黄酒20 kg]和2020年版《中

华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)<sup>[1]</sup>中制何首乌[取何首乌块,照蒸法(通则0213),加入黑豆汁拌匀吸尽后,连续蒸制使饮片内外均呈棕褐色,取出,置65℃烘箱干燥至干。每100 kg何首乌,用黑豆10 kg。黑豆汁制法为取黑豆10 kg,加水适量,煮约4 h,熬汁约15 kg,豆渣再加水煮约3 h,熬汁约10 kg,合并得黑豆汁约25 kg]项下规定加工制作成相应饮片。以上样品均留样于江西中医药大学中药炮制实验室,样品信息见表1。

表1 何首乌及其炮制品的样品信息

Table 1 Sample information of Polygoni Multiflori Radix and its processed products

何首乌		炆何首乌		制何首乌		产地
编号	批号	编号	批号	编号	批号	
S1	Y025-200801	W1	2008001	Z1	2012001	广东肇庆
S2	Y025-200802	W2	2008002	Z2	2012002	广东肇庆
S3	Y025-200803	W3	2008003	Z3	2012003	广东肇庆
S4	Y025-200804	W4	2008004	Z4	2012004	广东肇庆
S5	Y025-200805	W5	2008005	Z5	2012005	云南曲靖
S6	Y025-200806	W6	2009001	Z6	2012006	云南曲靖
S7	Y025-200807	W7	2009002	Z7	2012007	云南曲靖
S8	Y025-200808	W8	2009003	Z8	2012008	贵州都匀
S9	Y025-200809	W9	2009004	Z9	2012009	贵州都匀
S10	Y025-200810	W10	2009005	Z10	2012010	贵州都匀

## 2 方法和结果

2.1 样品制备 取何首乌、炆何首乌、制何首乌样品适量,粉碎后过三号筛,备用。

2.2 色度值测定 取适量何首乌及其炮制品粉末于培养皿中,高度约2 mm,压制平整,采用精密色差仪平行测定10次,计算各颜色参数的相对标准偏差(RSD)均<3%,说明仪器精密度良好;记录样品颜色空间参数明度值( $L^*$ )、红绿色值( $a^*$ )和黄蓝色值( $b^*$ ),并根据公式总色度值( $E^*ab$ )= $(L^{*2}+a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ 计算样品的 $E^*ab$ ,见表2。结果发现何首乌、炆何首乌、制何首乌的 $L^*$ 和 $E^*ab$ 依次降低,说明样品表观亮度由明至暗、颜色逐渐加深。

表2 何首乌及其炮制品的色度值测定( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Table 2 Determination of chromaticity values of Polygoni Multiflori Radix and its processed products ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

样品	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$
何首乌	64.745±0.210	9.301±0.111	18.665±0.251	68.021±0.236
制何首乌	38.141±0.350	15.248±0.229	24.463±0.625	47.813±0.382
炆何首乌	26.491±0.060	9.694±0.159	12.061±0.087	30.680±0.090

### 2.3 HS-GC-MS检测条件

**2.3.1 顶空进样条件** 分别精密称取各批何首乌、炆何首乌、制何首乌粉末 1.0 g 于 20 mL 顶空瓶中,密封后放于样品盘中,根据顶空进样条件(样品瓶加热温度 110 °C,定量环温度 120 °C,传输线温度 130 °C,样品瓶平衡时间 15 min)进行分析。

**2.3.2 GC 条件** 采用 HP-5 石英毛细管色谱柱 (0.25 mm×30 m, 0.25 μm),进样口温度 260 °C,传输线温度 250 °C,载气为氦气,溶剂延迟 3.0 min,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,分流比 10:1,顶空进样。程序升温(起始温度 40 °C,以 5 °C·min<sup>-1</sup>升至 150 °C,再以 10 °C·min<sup>-1</sup>升至 195 °C)。

**2.3.3 MS 条件** 电子轰击离子源(EI),电子碰撞

能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,加速电压 34.6 V,倍增器电压 1.388 kV,分辨率设定 2 500,扫描范围 *m/z* 50~650,扫描数 4.45 次/s。

**2.4 挥发性成分分析** 各样品按 2.3 项下条件检测,得总离子流图,见增强出版附加材料。将生成的各样品图谱导入 Data Analysis 2013 软件,与 NIST17.L 标准图谱库进行比对检索,导出成分鉴定结果。为了更加全面地表征何首乌及其炮制品的挥发性成分物质基础,选取匹配度>80%的成分<sup>[15]</sup>,结果共鉴定得到了 59 种挥发性成分,其中何首乌有 34 种、炆何首乌 33 种、制何首乌 27 种。根据面积归一化法计算各成分在不同样品中的相对质量分数,见表 3。

表3 何首乌、炆何首乌、制何首乌中挥发性成分的HS-GC-MS鉴定

Table 3 Identification of volatile components in Polygoni Multiflori Radix and its processed products by HS-GC-MS

No.	<i>t<sub>R</sub></i> /min	化合物	化学式	CAS号	相对质量分数/%		
					何首乌	炆何首乌	制何首乌
1	3.38	2-甲基-2-丁烯醛	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O	1115-11-3	23.48	46.01	37.73
2	4.22	吡啶	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N	110-86-1	-	0.37	0.53
3	4.27	正己醛	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	66-25-1	2.92	0.35	-
4	4.42	2-甲基四氢呋喃-3-酮	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3188-00-9	0.65	0.76	0.73
5	4.93	糠醛	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	98-01-1	-	6.50	1.80
6	4.94	3,5-二甲基吡啶	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>	67-51-6	1.01	-	-
7	5.40	2-甲基丁酸	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	116-53-0	-	-	4.59
8	5.74	糠醇	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	98-00-0	-	1.47	0.83
9	6.63	乙二醇单丁醚	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	111-76-2	1.36	-	-
10	7.91	5-甲基-2-呋喃甲醇	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	3857-25-8	-	0.31	-
11	8.06	苯甲醛	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	100-52-7	1.17	0.57	0.39
12	8.15	5-甲基呋喃醛	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	620-02-0	-	0.89	0.21
13	8.58	己酸	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	142-62-1	2.71	-	0.68
14	8.78	2,4-dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	10230-62-3	-	0.58	-
15	8.92	2-正戊基呋喃	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	3777-69-3	2.08	0.15	0.20
16	9.14	1,1,3,3,5,5,7,7-octamethyl-7-(2-methylpropoxy)-tetrasiloxan-1-ol	C <sub>12</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>4</sub>	1000364-61-2	0.61	-	-
17	9.24	正辛醛	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	124-13-0	1.14	-	-
18	9.54	2-吡咯甲醛	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> NO	1003-29-8	-	0.37	-
19	9.98	右旋萜二烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5989-27-5	1.84	0.16	0.19
20	10.05	3-甲基环戊烷-1,2-二酮	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	765-70-8	-	0.18	-
21	10.10	2-乙酰基吡啶	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO	1122-62-9	-	0.17	-
22	10.23	苯甲醇	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	100-51-6	1.77	-	-
23	10.42	苯乙醛	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	122-78-1	0.66	0.85	0.41
24	10.96	2-乙酰基吡咯	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NO	1072-83-9	4.09	3.44	5.24
25	11.19	pentyl-cyclopropane	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	2511-91-3	0.52	-	-
26	11.89	2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	25773-40-4	1.58	-	-
27	12.17	壬醛	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	124-19-6	6.32	0.63	0.60

续表 3

No.	$t_R$ /min	化合物	化学式	CAS号	相对质量分数/%		
					何首乌	炆何首乌	制何首乌
28	12.45	甲基麦芽酚	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	118-71-8	-	0.93	0.64
29	12.77	3-吡啶甲醇	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NO	100-55-0	-	0.17	-
30	13.29	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	28564-83-2	6.50	10.53	9.11
31	13.36	合成樟脑	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	76-22-2	1.79	-	-
32	13.97	合成右旋龙脑	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	464-45-9	0.73	-	-
33	14.44	3,5-二羟基-2-甲基-4H-吡喃-4-酮	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	1073-96-7	-	0.43	0.40
34	15.07	癸醛	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	112-31-2	1.66	0.24	0.17
35	15.68	5-羟甲基糠醛	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	67-47-0	-	0.30	-
36	16.80	壬酸	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	112-05-0	1.98	0.15	0.29
37	18.06	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	7786-61-0	0.57	-	0.14
38	20.27	十四烷	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	629-59-4	0.56	-	-
39	21.38	丹皮酚	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	552-41-0	3.41	-	1.21
40	22.54	dichloroacetic acid, tridecyl ester	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1000280-48-3	0.40	-	-
41	22.72	正十九烷	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	629-92-5	0.22	-	-
42	22.77	1,2-二苯氧基乙烷	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	104-66-5	-	0.84	1.05
43	23.01	2,4-二叔丁基苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	96-76-4	-	0.13	-
44	23.01	2,6-二叔丁基苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	128-39-2	0.70	-	-
45	23.06	2,6-二叔丁基对甲酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	128-37-0	0.54	0.16	-
46	24.19	棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	57-10-3	-	-	4.18
47	24.50	<i>n</i> -propyl 9-octadecenoate	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	1000336-71-6	-	-	1.45
48	24.63	正十六烷	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	544-76-3	1.64	-	-
49	25.37	邻苯二甲酸二异丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	84-69-5	6.33	-	-
50	25.63	亚麻酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	506-21-8	-	0.36	-
51	25.64	undec-10-ynoic acid, undec-2-en-1-yl ester	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	1000406-96-8	0.55	-	-
52	25.75	亚油酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	60-33-3	-	0.28	0.86
53	25.90	9-methyl-Z, Z-10, 12-hexadecadien-1-ol acetate	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1000130-89-6	-	0.11	-
54	25.98	氯代十八烷	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> Cl	3386-33-2	-	-	0.74
55	26.05	(Z)-9-eicosenoic acid	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	29204-02-2	-	-	0.65
56	26.12	甘油单油酸酯	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	111-03-5	-	1.46	-
57	26.16	2-hexadecanone	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O	18787-63-8	1.12	-	-
58	26.24	<i>N</i> -[4-bromo- <i>n</i> -butyl]-2-piperidinone	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> BrNO	195194-80-0	-	0.28	-
59	26.38	十五醛	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O	2765-11-9	1.13	-	-

注: - 未检出或匹配度<80%

## 2.5 主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)

**2.5.1 PCA** 将HS-GC-MS分析何首乌、炆何首乌、制何首乌所得的挥发性成分数据导入SIMCA 14.1软件,进行无监督的PCA处理,其模型解释率参数 $R^2X=0.795$ ;预测能力参数 $Q^2=48.2\%$ 。由PCA得分散点图可知,除样品S9和W9外,所有样品均分布在95%置信区间内,何首乌、炆何首乌、制何首乌分

别聚集在某个区域,具有明显的区分,说明何首乌经炮制后,其挥发性成分发生明显的变化,且不同炮制方法对其挥发性成分的影响具有差异性,见增强出版附加材料。同时,由PCA聚类分析可知,除制何首乌中的样品Z9与何首乌聚为一类之外,其他样品均各自聚为一类,提示何首乌与制何首乌的挥发性成分相似,而与炆何首乌区别较大,见增强出版附加材料。

**2.5.2 OPLS-DA** 为寻找炆何首乌与何首乌、制何首乌之间的差异性成分,在PCA基础上,去除样品S9和W9数据后进行有监督的OPLS-DA处理,模型解释率参数 $R^2X$ 和 $R^2Y$ 分别为0.694、0.957;模型预测能力参数 $Q^2=0.908$ ,对模型的预测能力为90.8%,说明该模型稳定可靠,散点图、聚类分析图和置换检验图见增强出版附加材料。结果发现何首乌、炆何首乌、制何首乌各自聚集,呈现明显的三类,再次说明何首乌炮制后,其挥发性成分发生了明显变化,且不同炮制方法对其挥发性成分的影响具有差异性,但不同产地何首乌的挥发性成分无明显差别,提示产地对何首乌挥发性成分的影响不大。利用变量重要性投影(VIP)值>1.5的原则筛选炆何首乌与何首乌、制何首乌之间的差异性成分,见表4。

**2.6 色度值与挥发性成分含量的相关性分析** 将

表4 何首乌及其炮制品之间的差异性成分

Table 4 Differential constituents between Polygoni Multiflori Radix and its processed products

类别	化合物	何首乌-炆何首乌 <sup>1)</sup>		制何首乌-炆何首乌 <sup>2)</sup>	
		VIP值	趋势	VIP值	趋势
醛类	2-甲基-2-丁烯醛	2.01	↑	-	-
	糠醛	2.60	↑	1.71	↑
	5-甲基呋喃醛	2.56	↑	1.75	↑
	2-吡咯甲醛	1.79	↑	-	-
	苯乙醛	1.80	↑	-	-
	5-羟甲基糠醛	1.93	↑	1.70	↑
醇类	糠醇	1.74	↑	-	-
	5-甲基-2-呋喃甲醇	2.04	↑	1.63	↑
	3-吡啶甲醇	-	-	1.60	↑
酸类	己酸	1.54	↓	-	-
	壬酸	1.51	↓	-	-
	棕榈酸	-	-	1.54	↓
酚类	甲基麦芽酚	2.13	↑	-	-
酮类	2-甲基四氢呋喃-3-酮	1.64	↑	-	-
	3,5-二羟基-2-甲基-4H-吡喃-4-酮	1.58	↑	-	-
	吡啶类	3,5-二甲基吡啶	2.56	↓	-
呋喃类	2-正戊基呋喃	1.57	↓	1.55	↓
	萜烯合成樟脑	1.70	↓	-	-
吡嗪类	2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	2.23	↓	-	-

注: - .差异无统计学意义; ↑ .相对质量分数增加; ↓ .相对质量分数降低;<sup>1)</sup>炆何首乌与何首乌比较;<sup>2)</sup>炆何首乌与制何首乌比较

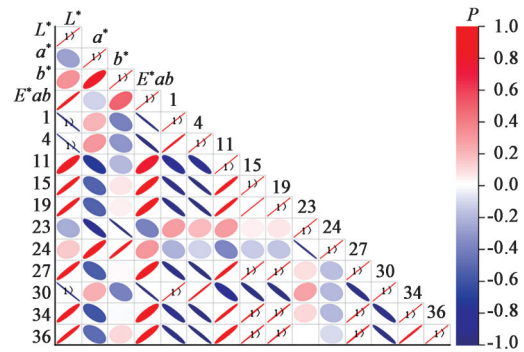
何首乌及其炮制品的11个共有成分的相对质量分数与色度值参数 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*ab$ 数据输入OriginPro 2021软件进行Pearson相关分析并绘制可视化热图,见表5和图2。结果发现 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $E^*ab$ 与挥发性成分的相对含量无显著相关性;而 $L^*$ 与2-甲基-2-丁烯醛、2-甲基四氢呋喃-3-酮和2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮3个挥发性成分有显著负相关性( $P<0.05$ )。

表5 何首乌及其炮制品色度值与挥发性成分含量的相关性分析

Table 5 Correlation analysis between chromaticity values and volatile component contents of Polygoni Multiflori Radix and its processed products

No.	$L^*$		$a^*$		$b^*$		$E^*ab$	
	$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$
1	-1.00	0.04 <sup>1)</sup>	0.21	0.87	-0.40	0.74	-0.99	0.07
4	-1.00	0.02 <sup>1)</sup>	0.31	0.80	-0.30	0.81	-0.98	0.13
11	0.87	0.33	-0.72	0.49	-0.18	0.88	0.77	0.44
15	0.96	0.18	-0.53	0.64	0.06	0.96	0.90	0.29
19	0.96	0.18	-0.54	0.64	0.05	0.97	0.90	0.29
23	-0.22	0.86	-0.88	0.32	-0.99	0.07	-0.39	0.75
24	0.14	0.91	0.91	0.27	0.98	0.13	0.31	0.80
27	0.95	0.19	-0.55	0.63	0.03	0.98	0.89	0.31
30	-1.00	0.03 <sup>1)</sup>	0.23	0.86	-0.38	0.75	-0.99	0.08
34	0.94	0.22	-0.58	0.60	0.30	1.00	0.87	0.33
36	0.97	0.15	-0.49	0.67	0.11	0.93	0.92	0.26

注:<sup>1)</sup> $P<0.05$ ;  $r$  .相关系数; 序号表示的化合物同表3(图2同)



注:<sup>1)</sup> $P<0.05$

图2 何首乌及其炮制品色度值与挥发性成分含量的Person相关系数热分析

Fig. 2 Heat map of Person correlation coefficient between chromaticity values and volatile component contents of Polygoni Multiflori Radix and its processed products

**3 讨论**

江西“建昌帮”是我国炮制“十三药帮”之一,具有工具辅料独特、工艺取法烹饪等炮制特色,其生产的饮片形色气味俱佳,毒性低、疗效高。炆法是

“建昌帮”独有的一种传统炮制方法,而炆何首乌是其代表饮片之一<sup>[14]</sup>。与2020年版《中国药典》所载制何首乌的工艺相比,炆何首乌包含了炆制和蒸制2个过程,且炮制辅料增加了黄酒。炆法使用的器具是陶坛砂罐,忌铜、铁,用糠火烧四边,有文火慢煮之功,传统认为可使饮片纯真滋补力胜,现代研究证明远志、地黄等经炆制后可显著降低不良反应,增强药效<sup>[16-18]</sup>;而黄酒是中药炮制中常用的辅料之一,可起到引药上行、增加溶解度、缓和药性等作用<sup>[19]</sup>。

气味、颜色均是辨别中药真假、优劣的重要性状指标,同时中药气味也是确定中药药味的最初依据。药味,即是药物真实味道的反映,更是长期对药物作用的高度概括。炮制是中药独有的制药技术,中药在临床应用前,必须采用净制、切制、炮炙等方式对原药材进行炮制加工,不仅能起到增效减毒、引药归经、矫臭矫味等效果外,还能改变药味以扩大用药范围,如豨莶草经酒蒸后,苦、咸味下降,辛味增加,其“清泻、燥湿”等苦味的功效降低,“温通”辛味的功效增强<sup>[20]</sup>。何首乌经炆法等炮制后,真实的味道由嗅觉的“生”、口尝的“苦”转变为“香甜味”,这与传统认为何首乌经炮制后,其性味由“苦、平”转为“甘、温”是一致的<sup>[21]</sup>,但其炮制前后气味变化的物质基础尚不明确。本文通过HS-GC-MS技术对何首乌及其炮制品的挥发性成分进行分析,并结合色度值与挥发性成分相对含量的相关性分析,旨在探讨何首乌炮制前后气味变化的物质基础,以及挥发性成分与气味、色泽变化的联系,找出炆法炮制何首乌的优势所在。

本研究从何首乌、炆何首乌、制何首乌分别鉴定出了34、33、27个化合物,三者共有成分11个。其中2-甲基-2-丁烯醛、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮、2-乙酰基吡咯、壬醛、右旋萹二烯是主要挥发性成分。何首乌经过炮制后,其挥发性成分发生显著变化,根据VIP值>1.5的原则,发现何首乌与炆何首乌存在17个差异性成分,炆何首乌与制何首乌存在7个差异性成分。在差异性成分中,醛类化合物占比较大。据报道,醛类化合物具有较低的感官滋味阈值,对药物挥发性滋味影响较大<sup>[22]</sup>。相关风味研究表明2-甲基-2-丁烯醛具有青香、坚果香,并带有水果的味道;糠醛具有烤香、甜香味<sup>[23]</sup>;5-甲基-2-呋喃甲醇具有甜味<sup>[24]</sup>;5-羟甲基糠醛、甲基麦芽酚和糠醇均具有甜味、焦糖味<sup>[24]</sup>。此外,己酸具有奶酪腐臭和油脂腥臭等气味<sup>[25]</sup>;壬

酸属于水生环境Ⅲ级毒性物质,具有一定的刺激性<sup>[26]</sup>;合成樟脑具有刺激性臭味。传统认为何首乌有明显的“生”味,久闻会产生一定的刺激性,炮制后“生”味消失,散发出令人愉悦的香甜味。故其“生”味可能与炮制过程中减少或消失的成分有关,如己酸、壬酸、合成樟脑等;而2-甲基-2-丁烯醛、糠醛、5-羟甲基糠醛、甲基麦芽酚、糠醇等增加的成分可能是炆何首乌、制何首乌“香味”的物质基础。在炆何首乌与制何首乌7个差异性成分中,糠醛、5-甲基-2-呋喃甲醇、5-羟甲基糠醛等香味成分在炆何首乌中的含量高于制何首乌可能是炆何首乌中的优势“香味”成分。

从样品粉末颜色来看,何首乌呈黄棕色,制何首乌为棕黄色,而炆何首乌颜色更深,呈棕褐色;三者的颜色参数 $L^*$ 和 $E^*ab$ 为依次降低的趋势,表明三者的表现亮度由明至暗,颜色逐渐加深。进一步说明了颜色量化方法实用性强,可应用于何首乌的色泽鉴别。本研究发现3种饮片中炆何首乌的颜色最深,其2-甲基-2-丁烯醛、糠醛等主要“香味”成分的含量最高。古人认为黑色入肾,是否颜色越深、“香味”成分含量越高者,其补肝肾、乌须发的效果越好,有待于进一步研究。

综上所述,本文采用HS-GC-MS快速鉴定了何首乌及其炮制品的挥发性成分,并通过化学计量学分析表明产地对何首乌挥发性成分影响不大但炮制方法对其具有明显影响。研究发现颜色参数 $L^*$ 与挥发性成分具有显著相关性。根据HS-GC-MS研究结果结合风味相关资料确定了形成何首乌“生”味和炆何首乌、制何首乌“香味”的物质基础,以及炆何首乌中的优势“香味”成分,可为特色品种炆何首乌的质量研究提供参考。为全面、准确地表征何首乌炮制前后的药味变化,后续将利用电子鼻、电子舌等生物感官模拟技术和液质联用技术深入探讨何首乌及其炮制品药味的物质基础,阐明“建昌帮”炆法对何首乌药味影响的科学内涵,为何首乌不同炮制品的临床合理用药提供参考。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:183.
- [2] 黄和平,王键,黄璐琦,等. 何首乌资源现状及保护对策[J]. 海峡药学,2013,25(1):40-42.
- [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,1985:1288.

- [4] LIU M Z, LI X J, LIU Q, et al. Preparative isolation and purification of 12 main antioxidants from the roots of *Polygonum multiflorum* Thunb. using high-speed countercurrent chromatography and preparative HPLC guided by 1, 1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl-HPLC[J]. J Sep Sci, 2020, 43: 1415-1422.
- [5] ZHU W L, XUE X P, ZHANG Z J. Structural, physicochemical, antioxidant and antitumor property of an acidic polysaccharide from *Polygonum multiflorum* [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 96: 494-500.
- [6] AHN S M, KIM H N, KIM Y R, et al. Emodin from *Polygonum multiflorum* ameliorates oxidative toxicity in HT22 cells and deficits in photothrombotic ischemia [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 188: 13-20.
- [7] WANG T, YANG Y J, WU P F, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside, a plant-derived cognitive enhancer, promotes hippocampal synaptic plasticity[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 650: 206-214.
- [8] 魏雪梅, 李丽英, 靳文军, 等. 何首乌总苷对载脂蛋白E基因缺陷小鼠动脉粥样硬化斑块稳定性的影响[J]. 河北中医药学报, 2009, 24(3): 34-35.
- [9] KIM M O, PARK Y S, NHO Y H, et al. Emodin isolated from *Polygonum multiflorum* Ramulus inhibits melanogenesis through the liver X receptor-mediated pathway[J]. Chem Biol Interact, 2016, 250: 78-84.
- [10] 陈凌霄, 张帅, 胡德俊, 等. 顶空-气相色谱/质谱联用分析比较雪菊不同产地和部位的挥发性成分[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(2): 251-255.
- [11] 司雨, 刘云鹤, 王钟瑶, 等. 国内外产西洋参挥发性成分的HS-SPME/GC-MS比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(18): 130-138.
- [12] 谭鹏, 朱薇, 包晓明, 等. 基于HS-SPME/GC-QQQ-MS/MS的冬虫夏草“腥气”辨识方法建立与应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 100-111.
- [13] 刘晓梅, 张存艳, 刘红梅, 等. 基于电子鼻和HS-GC-MS研究地龙腥味物质基础和炮制矫味原理[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(12): 154-161.
- [14] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008.
- [15] 宋琬, 常叶, 金小丹, 等. HS-GC-MS结合化学计量学方法快速鉴别木香及其纸煨品的实验研究[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(5): 916-926.
- [16] 易炳学, 钟凌云, 龚千锋. 江西建昌帮炒法特色炮制及其现代研究思路[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(7): 1755-1756.
- [17] 张金莲, 张文然, 刘明贵, 等. 多指标正交法优选建昌帮炒远志炮制工艺[J]. 江西中医药大学学报, 2018, 30(2): 59-62.
- [18] 易炳学, 周毅, 颜干明, 等. 正交试验优选建昌帮炒熟地炮制工艺研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(23): 14-16.
- [19] 戴冰, 黄雍, 张嘉妮, 等. 中药炮制辅料黄酒的研究概况[J]. 中医药导报, 2018, 24(20): 114-116.
- [20] 付智慧, 李淑军, 胡慧华, 等. 基于电子舌技术的豨莶草炮制前后滋味比较[J]. 中草药, 2017, 48(4): 673-680.
- [21] 成颜芬, 聂欣, 谭睿, 等. 基于经典“九蒸九晒”法不同炮制程度何首乌的化学质量概貌评价[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5151-5158.
- [22] 游刚, 牛改改, 张自然, 等. Maillard反应前后方格星虫酶解物挥发性风味成分和感官特性的变化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(2): 39-45, 58.
- [23] 范梦蝶, 王天泽, 杜文斌, 等. 山西老陈醋晾晒前、后挥发性香味物质比较分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(12): 229-242.
- [24] 郭梦瑶, 王道君, 孟琦, 等. 老抽酱油储存期间关键气味物质分析及其滋味特征的变化[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 259-266.
- [25] 陈贤双, 李科, 李震宇, 等. 基于SPME-GC-MS结合多元统计的不同产地黄芪挥发性成分差异分析[J]. 药学学报, 2020, 55(5): 979-986.
- [26] 高云霓, 武静, 刘占杰, 等. 植物化感物质壬酸和焦酚对大型溞生长繁殖的毒性效应[J]. 环境科学学报, 2021, 41(2): 689-695.

[责任编辑 刘德文]