

## 基于HS-SPME-GC-MS比较壁虎炮制前后挥发性成分变化

郑旭亚, 孙菲菲, 杜莉杰, 黄亚森, 张振凌\*

(河南中医药大学药学院, 河南省中药特色炮制技术工程研究中心,  
呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046)

**[摘要]** **目的:**在感官评价基础上,比较壁虎炮制前后挥发性成分变化,探讨壁虎不同炮制方法的矫臭作用。**方法:**分别制备壁虎生品、炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品与滑石粉烫后喷白酒品,请10位气味评定人员依次对6种样品进行感官评价评分。采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(HS-SPME-GC-MS)结合相对气味活度值(ROAV)分析出关键臭气成分,并利用多元统计学方法分析生品与炮制品中挥发性成分的差异。以水溶性浸出物和蛋白质含量为内在指标,感官评价评分与差异性成分含量排序为外在指标,分别赋予其权重0.25,计算壁虎生品与炮制品综合得分,以评价各炮制方法的矫臭作用强弱。**结果:**壁虎生品、炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品与滑石粉烫后喷白酒品的感官评价平均评分分别为1.6、5.2、6.2、6.1、7.2、8.0分。ROAV结果表明影响壁虎气味的关键成分为2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、异戊醛、三甲胺、1-辛烯-3-醇、正辛醛、壬醛、2-甲基萘、 $\gamma$ -辛内酯、2-庚酮与苯酚。主成分分析(PCA)将生品与炮制品显著区分。正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)结果显示,生品与炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品、滑石粉烫后喷白酒品之间分别存在16、13、16、16、16个差异成分;其中共有差异成分4种,即差异臭气成分2-甲基萘与2-乙基对二甲苯的含量均降低,差异香气成分2-癸酮与2,3,5-三甲基吡嗪的含量则均升高。综合评分结果显示,各炮制品的矫臭作用由高到低为滑石粉烫品>酒炙品>醋炙品>炒黄品>滑石粉烫后喷白酒品。**结论:**滑石粉烫法为改善壁虎臭气较优的方法,可为壁虎的炮制矫臭提供实验依据。

**[关键词]** 壁虎; 炮制品; 臭气; 感官评价; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(HS-SPME-GC-MS); 相对气味活度值(ROAV); 主成分分析(PCA); 正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)

[中图分类号] R22;R28;R943.1;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)15-0145-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212448 [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.20211203.2233.007.html>

[网络出版日期] 2021-12-06 18:34

### Comparison on Changes of Volatile Components in Gecko Before and After Processing by HS-SPME-GC-MS

ZHENG Xuya, SUN Feifei, DU Lijie, HUANG Yasen, ZHANG Zhenling\*

(Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-constructed by Henan Province and Ministry of Education, Henan Engineering Research Center of Chinese Traditional Medicine Special Processing Technology, School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**[Abstract]** **Objective:** On the basis of sensory evaluation, the changes of volatile components in gecko before and after processing were compared, and the odor correction effect of different processing methods of gecko was discussed. **Method:** Raw products, fried yellow products, vinegar processed products, wine processed products, talcum powder scalding products and white wine sprayed products after scalding talcum powder of gecko were prepared, and 10 odor assessors were invited to evaluate the 6 samples in turn by sensory evaluation. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS)

[收稿日期] 2021-08-07

[第一作者] 郑旭亚,在读硕士,从事中药饮片质量及炮制作用机制研究,E-mail:15136908741@163.com

[通信作者] \*张振凌,教授,从事中药饮片质量及炮制作用机制研究,E-mail:zhangzl6758@163.com

and relative odor activity value (ROAV) were used to analyze the key odor components, and multivariate statistical methods were used to analyze the difference of volatile components between raw and processed products of gecko. Taking water-soluble extract and protein contents as internal indicators, sensory evaluation score and content ranking of differential components as external indicators, and assigning a weight of 0.25 to them respectively, the comprehensive scores of raw products and processed products of gecko were calculated to evaluate the odor correction effect of each processing method. **Result:** The average sensory evaluation scores of the raw products, fried yellow products, vinegar processed products, wine processed products, talcum powder scalding products and white wine sprayed products after scalding talcum powder of gecko were 1.6, 5.2, 6.2, 6.1, 7.2 and 8.0, respectively. ROAV results showed that key components affecting odor of gecko were 2-ethyl-3, 5-dimethylpyrazine, isovaleraldehyde, trimethylamine, 1-octen-3-ol, *n*-octanal, nonanal, 2-methylnaphthalene,  $\gamma$ -octanolide, 2-heptanone and phenol. Principal component analysis (PCA) significantly distinguished raw products from processed products. Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) results showed that there were 16, 13, 16, 16, 16 differential components between raw products, fried yellow products, vinegar processed products, wine processed products, talcum powder scalding products and white wine sprayed products after scalding talcum powder of gecko. Among these differential components, there were 4 common components, namely, the contents of different odor components (2-methylnaphthalene and 2-ethyl-*p*-xylene) decreased, while the contents of different flavor components (2-decanone and 2,3,5-trimethylpyrazine) increased. The comprehensive scoring results showed that the odor correction effect of each processed products was in the order of talcum powder scalding products>wine processed products>vinegar processed products>fried yellow products>white wine sprayed products after scalding talcum powder. **Conclusion:** Talcum powder scalding is a better method to improve the odor of gecko, and it can provide an experimental basis for the processing of gecko to correct the odor.

**[Keywords]** gecko; processed products; odor; sensory evaluation; headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS); relative odor activity value (ROAV); principal components analysis (PCA); orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA)

壁虎为壁虎科动物无蹼壁虎 *Gekko swinhonis*、多疣壁虎 *G. japonicus* 或蹼趾壁虎 *G. subpalmatus* 等的全体,别名守宫、辟宫子、蝎虎等,性寒味咸,有小毒,功善祛风定惊、通络止痛、解毒散结<sup>[1]</sup>。其化学成分有脂类<sup>[2]</sup>、氨基酸<sup>[3]</sup>、多糖<sup>[2]</sup>、无机元素<sup>[3]</sup>、维生素、马蜂毒相似的有毒物质及组织胺<sup>[4]</sup>等。据报道,壁虎有抗菌<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>、抗炎<sup>[7]</sup>、预防骨质疏松<sup>[8]</sup>与镇静催眠<sup>[9]</sup>作用,但临床上患者服用壁虎易恶心呕吐,使得患者依从性较差且不利于其药效发挥。

目前,国内外尚无壁虎气味分析及矫臭方法研究的报道,而其他动物药已开展了相关研究,例如,地龙与美洲大蠊等利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(HS-SPME-GC-MS)研究炮制前后挥发性成分变化,从而找出改善不良气味的炮制方法,可为壁虎的相关研究提供借鉴。查阅历版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)与各省市炮制规范、中药材标准发现,壁虎的炮制方法有3种,分别

为炒黄法、滑石粉烫法与滑石粉烫后喷白酒法;而其他动物药可通过酒炙与醋炙显著降低其不良气味的的影响。基于此,本研究拟采用炒黄法、醋炙法、酒炙法、滑石粉烫法与滑石粉烫后喷白酒法分别炮制对壁虎,在感官评价基础上,用HS-SPME-GC-MS测定壁虎生品与炮制品的挥发性成分,利用相对气味活度值(ROAV)分析壁虎的关键臭气成分,并通过主成分分析(PCA)区分壁虎生品与炮制品,正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)分析壁虎生品与炮制品差异成分,比较各炮制方法的矫臭效果,为壁虎矫臭提供实验依据。

## 1 材料

1310/8000型气相-质谱联用仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],UV-3200S型紫外分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),GTR16-2型高速冷冻离心机(北京时代北利离心机有限公司),DHG-9076A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备

有限公司),FW100型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),BSA224S-CW型1/1万电子天平(德国Sartorius公司,量程0.01~220 g)。

手动SPME进样手柄与57310-U型萃取纤维头[65 μm,聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)]均购自美国Supelco公司,DB-FastFAME气相色谱柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm)购自安捷伦科技(中国)有限公司,牛血清白蛋白(BSA)对照品溶液(质量浓度5 g·L<sup>-1</sup>,批号20190930)和考马斯亮蓝G250(批号6104-58-1)均购自北京索莱宝科技有限公司,醋(统万珍极食品有限公司,批号20200327),黄酒(绍兴柯桥第三酒厂,批号GB/T13662-2008),白酒(内蒙古宁城牧牛酒业有限公司,批号GB/T10781.2),滑石粉由河南中医药大学中药炮制实验室提供;壁虎药材购自安徽亳州药材市场,经河南中医药大学张振凌教授鉴定为壁虎科动物无蹼壁虎*G. swinhonis*的干燥全体。

## 2 方法与结果

### 2.1 壁虎不同炮制品的制备

**2.1.1 生品** 取壁虎药材100 g,除杂,粉碎,过三号筛,即得。

**2.1.2 炒黄品** 参照2020年版《中国药典》(四部)清炒法炮制。取生品100 g,置炒制容器内,用文火炒干,取出,放凉,粉碎,过三号筛,即得。

**2.1.3 醋炙品** 参照2020年版《中国药典》(四部)醋炙法炮制。取生品100 g,加醋20 g拌匀,闷透,置炒制容器内,用文火炒干,取出,放凉,粉碎,过三号筛,即得。

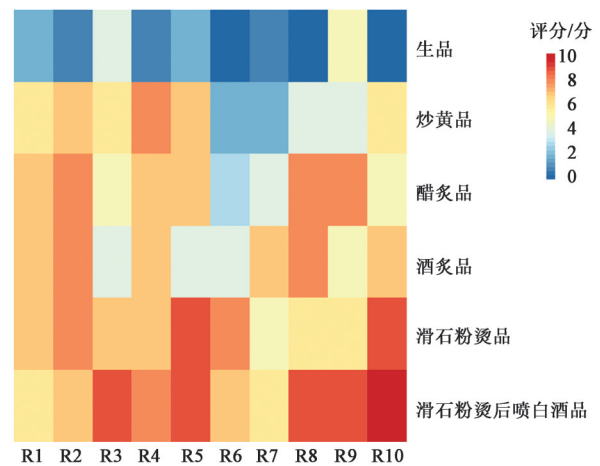
**2.1.4 酒炙品** 参照2020年版《中国药典》(四部)酒炙法炮制。取生品100 g,加黄酒20 g拌匀,闷透,置炒制容器内,用文火炒干,取出,放凉,粉碎,过三号筛,即得。

**2.1.5 滑石粉烫品** 参照2020年版《中国药典》(四部)滑石粉烫炮制。取滑石粉置炒制容器内,用中火加热至灵活状态时,投入生品100 g,翻炒至酥脆时,迅速取出,筛去滑石粉,放凉,粉碎,过三号筛,即得。

**2.1.6 滑石粉烫后喷白酒品** 按滑石粉烫法制备后筛去滑石粉后立即喷洒白酒,晾干后放凉,粉碎,过三号筛,即得。

**2.2 壁虎臭气的感官评价** 选择10位身体健康状况良好、无鼻类疾病、嗅觉正常的气味评定人员评价壁虎样品。在评价前5 h,评定人员勿沾染、食用有严重气味的东西。评分采用10分制,0分表示有

无法忍受的臭气或焦糊气,(0,2]分表示臭气或焦糊气重,(2,4]分表示臭气或焦糊气明显,(4,6]分表示臭气或焦糊气弱,(6,8]分表示臭气或焦糊气极弱,9分表示无臭气含焦糊气,10分表示无臭气和焦糊气。分别称取生品与炮制品3 g于自封袋中,密封30 min后评定,评定人员评价样品后休息10 min再评价下一份样品,评分见图1。滑石粉烫品与滑石粉烫后喷白酒品多处于中、高丰度,炒黄品、酒炙品和醋炙品多处于中、低丰度,说明5种炮制方法均可在一定程度上降低壁虎臭气影响。壁虎生品、炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品、滑石粉烫后喷白酒品的感官评价结果平均评分分别为1.6、5.2、6.2、6.1、7.2、8.0分。



注:R1~R10.10位评价人员;热图的丰度由低到高依次为蓝、黄、红,丰度越高则评分越高

图1 壁虎生品与炮制品的感官评价分析

Fig. 1 Sensory evaluation of raw products and processed products of gecko

### 2.3 壁虎臭味的HS-SPME-GC-MS分析

**2.3.1 HS-SPME条件** 精密称量样品0.5 g置于顶空瓶中,用安装有57310-U型萃取纤维头的进样手柄插入顶空瓶中,升温至60℃后平衡10 min,压缩手柄伸出萃取头萃取30 min,弹回萃取头后取出,立即插入气相色谱进样口解析5 min,采集GC-MS图谱。

**2.3.2 GC-MS条件** GC条件为初始温度50℃,于4℃·min<sup>-1</sup>升温至78℃,保持5 min,继续升温至114℃;于2℃·min<sup>-1</sup>升温至130℃;于4℃·min<sup>-1</sup>升温至174℃。分流比5:1,流速1 mL·min<sup>-1</sup>,载气为氦气。MS条件为电子轰击离子源(EI),离子源温度230℃,进样口温度250℃,扫描范围*m/z* 40~450。

**2.3.3 挥发性成分的鉴别** 按2.3.1项下条件处理

壁虎生品与炮制品,按2.3.2项下条件进样,总离子流图见增强出版附加材料。经NIST MS Search 2.2质谱库检索,取可信度≥80%的成分,并结合相关文献确定化学成分,采用峰面积归一化法计算各成分

的相对质量分数,见表1。结果从6种炮制品中共鉴定出55种挥发性成分,其中生品与炒黄品各44种,醋炙品、酒炙品与滑石粉烫后喷白酒品各40种,滑石粉烫品42种。

表1 壁虎生品与炮制品中挥发性成分的相对质量分数

Table 1 Relative contents of volatile components in raw products and processed products of gecko

No.	成分	气味描述	气味阈值 <sup>[10]</sup> /mg·m <sup>-3</sup>	相对质量分数/%						生品 ROAV
				生品	炒黄品	醋炙品	酒炙品	滑石粉 烫品	滑石粉烫后 喷白酒品	
1	三甲胺	鱼腥味 <sup>[11]</sup>	0.002	10.16	11.97	7.53	14.84	19.21	20.28	83.87
2	三乙胺	强烈氨水气味 <sup>[12]</sup>	0.022	1.04	1.88	0.45	1.74	3.38	2.15	0.78
3	异戊醛	油炸食品味 <sup>[13]</sup>	0.000 35	2.01	2.53	1.96	2.51	2.04	-	94.69
4	正己醛	青草气和鱼腥气 <sup>[14]</sup>	0.23	7.58	7.82	5.75	5.57	4.30	4.83	0.54
5	正戊醇	杂醇气味 <sup>[15]</sup>	0.153	4.27	3.26	2.97	2.59	2.84	2.77	0.46
6	乙酸	-	-	0.87	0.68	11.46	0.78	0.83	0.66	-
7	2-戊基呋喃	炒籽、谷香 <sup>[16]</sup>	0.019	0.99	0.67	1.47	1.47	1.39	0.71	0.86
8	3-乙基甲苯	-	-	1.25	2.88	5.85	2.04	2.37	2.75	-
9	偏三甲苯	独特的芳香气味 <sup>[12]</sup>	-	3.04	3.98	0.47	0.66	0.99	0.68	-
10	庚醛	油脂、金属味 <sup>[17]</sup>	0.26	1.74	1.97	2.22	1.75	1.17	0.73	0.11
11	2-庚酮	轻微的药香气味及特有的香蕉样甜香 <sup>[18]</sup>	0.023	1.86	1.85	1.70	1.88	2.46	2.40	1.34
12	异丙苯	-	-	0.84	-	-	-	-	-	-
13	1,3,5-三甲苯	独特的芳香气味 <sup>[12]</sup>	-	3.44	-	-	2.98	2.83	3.24	-
14	正己醇	淡青嫩枝叶气息,微带酒香、果香和脂肪气息 <sup>[19]</sup>	0.034	1.17	1.66	1.52	1.36	1.49	1.04	0.57
15	2,5-二甲基吡嗪	巧克力味 <sup>[20]</sup>	1.82	0.89	1.73	1.43	1.67	2.36	2.78	0.01
16	3-丙基甲苯	-	-	1.49	-	-	1.34	1.45	1.05	-
17	2-乙基对二甲苯	-	-	10.49	4.57	7.02	4.52	4.41	7.72	-
18	正辛醛	油炸食品味 <sup>[13]</sup>	0.000 35	1.55	2.23	2.08	1.88	1.46	0.97	72.94
19	仲辛酮	肥皂味、汽油味 <sup>[21]</sup>	-	0.76	0.72	0.75	0.73	0.93	0.55	-
20	4-乙基邻二甲苯	-	-	2.16	0.84	0.79	1.57	0.31	0.61	-
21	2,3-辛二酮	-	-	0.27	0.90	-	-	-	-	-
22	2,6-二甲基-3-异戊基吡嗪	-	-	0.53	0.26	-	-	-	-	-
23	1-辛烯-3-醇	油腻味、土腥味、蘑菇味 <sup>[22]</sup>	0.001	4.84	5.11	4.41	4.77	3.65	4.22	79.97
24	4-乙烯基-1,2-二甲苯	-	-	1.92	2.05	1.59	2.80	1.89	2.31	-
25	3,5-二乙基甲苯	-	-	1.79	2.41	2.45	1.41	1.78	2.16	-
26	1,2,4,5-四甲苯	樟脑样气味 <sup>[12]</sup>	-	6.92	6.29	5.92	4.22	3.61	-	-
27	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	-	0.000 04	0.24	0.74	1.61	-	-	-	100.00
28	叔戊基苯	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-
29	壬醛	油脂气 <sup>[23]</sup>	0.003 1	1.97	2.32	5.33	3.59	2.20	2.09	10.47
30	(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮	果香 <sup>[24]</sup>	-	2.25	1.92	1.83	2.05	1.70	2.11	-
31	萘	刺激性、樟木气 <sup>[25]</sup>	0.45	4.78	5.03	4.44	4.21	5.18	7.19	0.18
32	γ-丁内酯	-	-	1.72	-	1.27	2.32	3.26	3.10	-

续表 1

No.	成分	气味描述	气味阈值 <sup>[10]</sup> /mg·m <sup>-3</sup>	相对质量分数/%						生品 ROAV
				生品	炒黄品	醋炙品	酒炙品	滑石粉 烫品	滑石粉烫后 喷白酒品	
33	γ-戊内酯	-	-	0.25	-	-	-	-	-	-
34	2-丁基-2-辛烯醛	-	-	2.71	-	2.64	3.23	2.58	2.63	-
35	2-甲基萘	-	0.004	1.34	-	-	-	-	-	5.52
36	γ-己内酯	牛奶、奶油香气 <sup>[16]</sup>	0.375	3.72	3.15	-	2.69	2.57	1.68	0.16
37	苯酚	-	0.021	1.40	1.66	1.43	2.18	1.44	1.95	1.10
38	邻甲酚	-	-	1.52	1.53	1.50	1.99	1.64	1.00	-
39	间甲酚	-	-	0.85	1.06	0.98	1.40	0.35	0.72	-
40	2,3-二甲苯酚	-	-	0.49	0.54	-	-	-	-	-
41	1,7-二甲基萘	-	-	0.63	0.39	0.11	-	0.16	0.32	-
42	γ-辛内酯	-	0.001 8	0.47	0.56	0.44	0.54	0.17	0.35	4.32
43	γ-十二内酯	桃子香气	-	0.94	0.28	1.27	-	1.48	1.62	-
44	2,3-二甲基吡嗪	坚果味、可可味 <sup>[12]</sup>	0.88	-	0.28	-	-	-	-	-
45	2-乙基-6-甲基吡嗪	-	-	-	0.40	-	-	0.91	0.62	-
46	2,3,5-三甲基吡嗪	-	-	-	1.57	1.48	1.33	1.92	2.37	-
47	2-乙基-3,6-二甲基吡嗪	-	-	-	0.95	0.71	-	1.39	0.94	-
48	3,5-辛二烯-2-醇	-	-	-	1.37	1.41	1.38	-	-	-
49	苯甲醛	油脂气 <sup>[23]</sup>	-	-	2.17	-	1.99	2.65	2.92	-
50	2-癸酮	果味、辛辣气味 <sup>[12]</sup>	0.11	-	2.17	1.76	2.03	2.29	2.62	-
51	1-甲基萘	刺激性气味 <sup>[25]</sup>	-	0.79	2.38	1.40	-	0.37	0.77	-
52	γ-壬内酯	-	0.004 5	-	1.27	-	1.13	-	-	-
53	2,5-二甲基苯酚	-	0.000 5	-	-	0.55	0.69	0.60	0.39	-
54	1,4-二甲基萘	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-
55	苯乙醇	-	-	-	-	-	2.19	-	-	-

注：-，未检出

**2.3.4 壁虎生品与炮制品的气味成分分析** 生品与炮制品共有9个类别成分,胺类中三甲胺和三乙胺阈值低且为鱼腥味<sup>[11]</sup>的主要来源;醛类主要来源于脂肪氧化与降解且气味阈值较低,为香肠<sup>[26-27]</sup>、鱼<sup>[28]</sup>等食物及美洲大蠊<sup>[29]</sup>、冬虫夏草<sup>[21]</sup>、地龙<sup>[30]</sup>等药物的主要臭气成分,低等碳链(C1-C5)饱和醛气味具有令人不适的刺激气味,中等碳链(C6-C9)醛产生脂肪、苦或油腻气味,碳链为C8-C9的2-烯醛有坚果的、牛脂的或黄瓜的香气<sup>[31]</sup>,因此异戊醛、正己醛、庚醛、正辛醛、壬醛对臭气的贡献较大;芳烃类是鱼肉中令人不愉快成分<sup>[32]</sup>,烃类阈值高,对臭气贡献小,但其总量较高,故对生品气味的的影响大。醇类与酮类成分可能来自于脂肪氧化<sup>[30]</sup>,羰基化合物对肉制品气味的形成具有极大作用。酯类<sup>[33]</sup>成分多具香气。酚类成分是典型的烟熏风味成分<sup>[34]</sup>,酸类成分可由脂肪酸降解生成,对气味有修饰作

用<sup>[35]</sup>,两者的总量较低,对生品气味影响较小。杂环类成分具有坚果或巧克力气味,属于香气成分<sup>[20]</sup>。因此,推测胺类、醛类与芳烃类成分组成壁虎臭气,部分醇类、酮类、酯类和杂环类为炮制后新增香气成分。

**2.3.5 关键臭气成分分析** 壁虎气味主要取决于挥发性成分的气味阈值与相对质量分数,故采用ROAV量化气味影响,以确定关键臭气成分<sup>[36]</sup>。生品中2-乙基-3,5-二甲基吡嗪气味阈值较低,故定义其为对臭气贡献最大的成分,即 $ROAV_{max}=100$ ,按公式 $ROAV_i=100C_iT_{max}/(C_{max}T_i)$ ( $C_i$ 与 $T_i$ 分别表示挥发性成分*i*的相对质量分数与气味阈值, $C_{max}$ 与 $T_{max}$ 分别表示对臭气贡献度最大成分的相对质量分数与气味阈值)计算其他成分的ROAV,该值越大,说明其对壁虎臭气的贡献度越大。结果发现生品所有成分的ROAV均 $\leq 100$ 。当 $ROAV \geq 1$ 时,说明该成分

为壁虎的关键气味成分;  $0.1 \leq ROAV < 1$  时, 说明该成分对壁虎整体气味有重大的修饰作用; 当  $ROAV < 0.1$  时, 说明该成分对壁虎臭气贡献较低。生品中构成壁虎臭气的关键成分为2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、异戊醛、三甲胺、1-辛烯-3-醇、正辛醛、壬醛、2-甲基萘、 $\gamma$ -辛内酯、2-庚酮与苯酚, 具有修饰作用的成分为2-戊基呋喃、三乙胺、正己醇、正己醛、正戊醇、萘、 $\gamma$ -己内酯与庚醛。

**2.3.6 PCA** 采用SIMCA 14.1软件对壁虎生品与炮制品中挥发性成分的相对质量分数进行PCA处理, 共提取出6个主成分, 其累积解释率0.962。由图2可知, 生品与炮制品明显分离, 表明生品与炮制品中挥发性成分的种类及含量均存在显著差异。

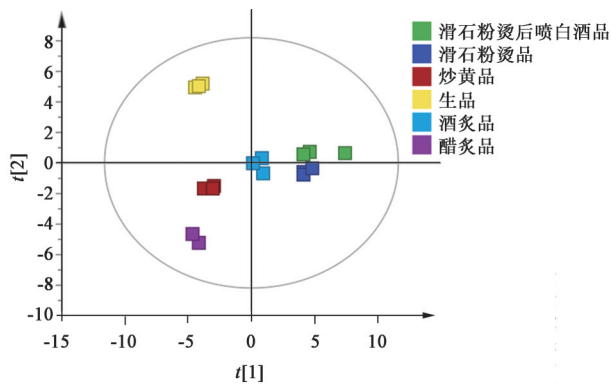


图2 壁虎生品与炮制品中挥发性成分的PCA得分

Fig. 2 PCA scores of volatile components in raw products and processed products of gecko

**2.3.7 OPLS-DA** 在PCA基础上, 采用SIMCA 14.1软件以OPLS-DA建模分析, 以S-plot图确定差异成分, 见增强出版附加材料。生品与炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品、滑石粉烫后喷白酒品OPLS-DA模型的 $R^2(\text{cum})$ (模型对矩阵的解释率)分别为0.914、0.940、0.928、0.900、0.970,  $Q^2(\text{cum})$ (模型的预测能力)分别为0.998、0.992、0.997、1.000、0.997; 证明OPLS-DA模型良好, 可概括解释成分差异。以变量重要性投影(VIP)值 $>1$ 、 $P_{\text{corr}} > 0.9$ 为标准筛选出差异成分。由S-plot图可知, 生品与炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品、滑石粉烫后喷白酒品分别有16、13、16、16、16个差异成分, 共有的差异成分为2-乙基对二甲苯、2-甲基萘、2,3,5-三甲基吡嗪和2-癸酮。

**2.3.8 差异成分的含量对比** 由表1可知, 与壁虎生品比较, 炮制品中差异成分2-甲基萘与2-乙基对二甲苯的含量均降低, 2-癸酮与2,3,5-三甲基吡嗪的含量则均升高, 见增强出版附加材料。其中2-甲

基萘既为生品与炮制品的差异成分, 又为壁虎臭气的关键成分, 其在炮制后含量均大幅度降低; 2-癸酮与2,3,5-三甲基吡嗪属于香气成分, 可在一定程度上掩盖壁虎臭气。综合臭气与香气成分变化情况可知, 壁虎不同样品的气味排序为滑石粉烫品 $>$ 酒炙品 $>$ 炒黄品 $>$ 醋炙品 $>$ 滑石粉烫后喷白酒品 $>$ 生品。

## 2.4 样品的含量测定

**2.4.1 水溶性浸出物** 取适量壁虎生品, 按2020年版《中国药典》(四部)通则2201项下方法测定, 结果冷浸法的水溶性浸出物、醇溶性浸出物质量分数分别为 $(40.89 \pm 0.08)$ 、 $(36.78 \pm 0.73) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 热浸法的水溶性浸出物、醇溶性浸出物质量分数分别为 $(116.65 \pm 0.71)$ 、 $(65.51 \pm 0.70) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 表明热浸法的水溶性浸出物含量最高, 故选择此法测定样品的浸出物含量。结果发现6种样品中水溶性浸出物含量由高到低排序为醋炙品 $>$ 滑石粉烫后喷白酒品 $>$ 炒黄品 $>$ 滑石粉烫品 $>$ 生品 $>$ 酒炙品, 见表2。

表2 壁虎生品及炮制品中蛋白质及水溶性浸出物的质量分数 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Protein and extract contents of raw products and processed products of gecko ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

壁虎样品	蛋白质	水溶性浸出物
生品	$24.33 \pm 1.73$	$116.65 \pm 0.71$
炒黄品	$16.97 \pm 1.18^{2)}$	$120.71 \pm 0.50^{2)}$
醋炙品	$18.84 \pm 2.39^{1)}$	$131.97 \pm 0.61^{2)}$
酒炙品	$16.68 \pm 0.67^{2)}$	$103.05 \pm 0.84^{2)}$
滑石粉烫品	$15.08 \pm 0.89^{2)}$	$118.66 \pm 0.38^{1)}$
滑石粉烫后喷白酒品	$14.03 \pm 1.36^{2)}$	$125.32 \pm 0.67^{2)}$

注: 与生品比较  $^{1)} P < 0.05, ^{2)} P < 0.01$

**2.4.2 蛋白质含量测定** 精密吸取BSA对照品溶液0.1 mL, 加水稀释至5 mL, 得 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液。精密量取BSA对照品溶液0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL于7支试管中, 编号1~7, 各加去离子水至1 mL, 加考马斯亮蓝G250 5 mL, 染色5 min。选择第1支试管中的溶液为空白对照, 于595 nm处测定吸光度A。以BSA质量浓度为横坐标, A为纵坐标, 制作标准曲线, 得回归方程 $Y = 41.209X + 0.0601$  ( $r = 0.9956$ ), 线性范围 $1.6667 \sim 16.6667 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。精密称取壁虎生品与炮制品各1 g于100 mL锥形瓶中, 加入去离子水20 mL, 于50 °C超声80 min (100 W, 50 Hz), 于4 °C离心 ( $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 10 min, 离心半径10 cm)。取上清液60  $\mu\text{L}$ 于试管中, 加水稀释至1 mL作为供试品溶液, 染色后于595 nm处测定A。结果发现与生品比较, 各炮制品中蛋白质的含量均

下降,质量分数由高到低排序为醋炙品>炒黄品>酒炙品>滑石粉烫品>滑石粉烫后喷白酒品,见表2。

**2.5 综合评价** 以壁虎生品与炮制品的感官评价评分、差异成分含量排序为外在评价,蛋白质与水溶性浸出物含量为内在指标,分别赋予权重0.25,计算综合评分,公式为综合评分=0.25×(感官评价评分/感官评价评分<sub>max</sub>+差异成分含量排序/差异成分含量排序<sub>max</sub>+蛋白质含量/蛋白质含量<sub>max</sub>+水溶性浸出物含量/水溶性浸出物含量<sub>max</sub>)×100,结果生品、炒黄品、醋炙品、酒炙品、滑石粉烫品与滑石粉烫后喷白酒品的综合评分分别为56.26、73.22、76.23、76.56、85.47、71.49分。

### 3 讨论

壁虎明确入药始于《太平圣惠方》<sup>[37]</sup>,主要以鲜品<sup>[38]</sup>、生品<sup>[39]</sup>、焙品<sup>[40]</sup>、炙品<sup>[37,41-42]</sup>、炒制品<sup>[43-44]</sup>、煨制品及辅料制品<sup>[45]</sup>治疗破伤风、惊痫、疟疾、疟疾、疟疾等;现代炮制规范中炮制方法主要有炒黄法、滑石粉烫法与滑石粉烫后喷白酒法<sup>[46-48]</sup>,炮制后主要用于中风、惊痫、小儿疳积、破伤风、血积成块、疟疾瘰疬与肿瘤等疾病。壁虎的药用价值高但其气味患者难以接受,因而在临床使用上受限。动物药多具有不良气味,不易被患者接受,现代动物药矫臭研究主要采用主观、客观评价量化气味影响,并结合多元统计分析找出组成不良气味的关键成分,同时以其主要化学成分含量为指标保证动物药质量,综合评价其矫臭效果。

本研究通过感官评价可知,壁虎气味改善程度的排序为滑石粉烫后喷白酒品>滑石粉烫品>醋炙品>酒炙品>炒黄品>生品,表明炮制后壁虎臭气影响减弱。ROAV可用于评价不同挥发性成分对总体气味的贡献程度,进而确定关键成分<sup>[49]</sup>,结果表明构成壁虎生品的关键成分为2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、异戊醛、三甲胺、1-辛烯-3-醇、正辛醛、壬醛、2-甲基萘、 $\gamma$ -辛内酯、2-庚酮与苯酚。PCA模型能将壁虎生品与炮制品明确区分,并且除滑石粉烫品与滑石粉烫后喷白酒品外,各炮制品之间区分亦明显。OPLS-DA确定了挥发性成分的差异成分,经不同方法炮制后其差异臭气成分含量均降低。炒黄品差异臭气成分含量的减少推测可能是炒制时温度升高使其逸出;醋炙品差异臭气成分含量较生品低但较炒黄品高,推测可能在一定程度上由于醋加入后使炮制温度降低,成分逸出较少;酒炙品差异臭气成分含量较生品减少且较醋炙品低,推测可能其能溶于乙醇,在高温下随乙醇挥发;滑石粉烫品差异

臭气成分含量的减少推测可能是由于高温环境下滑石粉包裹壁虎使其受热均匀,并使挥发性成分逸出时带出臭气成分;滑石粉烫后喷白酒品差异臭气成分含量减少但较滑石粉烫品高,推测可能在滑石粉烫后臭气仍在逸出,喷洒白酒可在一定程度上阻止其逸出。综上所述,5种炮制方法均可在一定程度上除去臭气成分,且综合评分结果表明滑石粉烫法可在降低臭气影响的同时保证壁虎质量。目前,壁虎基原有3种,本文只研究了市场主流基原的无蹼壁虎,未考察其他2个基原;同时,浸出物与蛋白质含量并不能完全代表壁虎样品的整体质量,尚需药理实验验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:400.
- [2] 郑晓珂. 生物化学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2016:7-51.
- [3] 黄筱美. 蛤蚧与壁虎化学成分比较[J]. 中成药研究,1987(2):29-30.
- [4] 骆和生,周岱翰. 常用抗肿瘤中草药简介(三)[J]. 新中医,1978(3):39-41.
- [5] 田叶红,邱晓伟,姜欣,等. 从壁虎的临证运用探析黄金昶教授“以毒攻毒”治癌经验[C]//中华中医药学会. 第三届肿瘤阳光论坛暨中华中医药学会肿瘤创新共同体第二届会议论文集,2018年卷. 杭州:出版者不详,2018:59-64.
- [6] 黄金昶. “以毒攻毒”“温阳”“破淤”“通利二便”四法治疗肿瘤之我见[J]. 中国临床医生,2005,33(10):51-52.
- [7] 李国豪,徐邦牢,雷秀霞,等. 壁虎粉对哮喘豚鼠模型干预作用的实验研究[J]. 热带医学杂志,2007,36(2):143-144,168.
- [8] 刘益善,任东青,郭伟,等. 应用骨量及骨强度变化评估壁虎提取物改善骨质疏松大鼠的生物效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(23):4516-4519.
- [9] 廖大宏,张翔,杜正文. 天龙I号对中枢神经系统的作用及其毒性的初步研究[J]. 南充医学学报,1980(1):1-3.
- [10] 里奥·范海默特. 化合物香味阈值汇编[M]. 刘强,冒德寿,汤峨,译. 北京:科学出版社,2018:4-198.
- [11] 王玉,赵延宁,薛勇,等. 基于电子鼻与SPME-GC-MS法分析咸鳊鱼加工过程挥发性风味成分变化[J]. 食品工业科技,2018,39(24):266-272.
- [12] 美国国家生物技术信息中心. 国立医学图书馆[EB/

- OL]. (2019-01-01) [2021-08-04]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [13] 王亘,翟增秀,耿静,等. 40种典型恶臭物质嗅阈值测定[J]. 安全与环境学报,2015,15(6):348-351.
- [14] 苏怡,姜启兴,夏文水. 不同脱腥方法对鲟鱼肉脱腥效果的比较研究[J]. 食品科技,2019,44(10):138-146.
- [15] 闫晓琴. 马油挥发性成分分析及其脱腥方法的研究[D]. 太原:山西大学,2020.
- [16] 于文龙,郝楠,吴凯晋,等. HS-SPME-GC-MS-O联用分析不同加工工艺亚麻籽油特征香气成分[J]. 食品科学,2019,40(18):266-272.
- [17] 张晶晶,王锡昌,施文正. 白姑鱼和小黄鱼肉中挥发性风味物质的鉴定[J]. 食品科学,2019,40(14):206-213.
- [18] 孙洁雯,李燕敏,杨克玉,等. 干黄芪中挥发性成分的提取与分析[J]. 化学研究与应用,2015,27(9):1361-1366.
- [19] 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.
- [20] 赵东,郑佳,彭志云,等. 利用顶空固相微萃取、液液萃取和香气分馏技术鉴定糠壳的挥发性成分[J]. 酿酒科技,2016(12):31-39.
- [21] 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.
- [22] 梁志理,杨昭,黄佳佳,等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析大鲵不同部位挥发性成分[J]. 食品科技,2020,45(3):307-314.
- [23] 王晓谦,秦小明,郑惠娜,等. 基于HS-SPME-GC-MS法的超高压处理牡蛎肉中挥发性成分分析[J]. 食品与发酵工业,2015,41(5):160-166.
- [24] 张亚,李卫芳,肖斌. 25个湖南、陕西茯砖茶样品挥发性成分的HS-SPME-GC-MS分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2017,45(2):151-160.
- [25] 胡静,刘庆贺,邓维钧. 基于GC-O和GC-MS对皮革特征气味的研究[J]. 中国皮革,2018,47(12):35-42,48.
- [26] 张旭,王卫,白婷,等. 四川浅发酵香肠加工进程中挥发性风味物质测定及其主成分分析[J]. 现代食品科技,2020,36(10):274-283.
- [27] 吴倩蓉,周慧敏,李素,等. 风干肠贮藏过程中挥发性风味物质的变化及异味物质分析[J]. 食品科学,2019,40(20):208-216.
- [28] 庞一扬,余远江,袁桃静,等. 腌鱼腌制过程中挥发性成分的变化分析[J]. 现代食品科技,2020,36(8):281-289.
- [29] 邓雨娇,许润春,曾陈娟,等. HS-SPME-GC-MS分析美洲大蠊不同炮制品的腥臭味物质[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(24):84-90.
- [30] 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.
- [31] 文志勇,孙宝国,梁梦兰,等. 脂质氧化产生香味物质[J]. 中国油脂,2004(9):41-44.
- [32] 王璐,王锡昌,刘源. 草鱼不同部位气味研究[J]. 食品科学,2010,31(6):158-164.
- [33] 张晓梅,全令君,迟雪露,等. 奶牛乳、水牛乳与牦牛乳的挥发性风味物质分析[J]. 食品研究与开发,2017,38(18):126-131.
- [34] 钟映茹,陈新欣,周辉,等. 烟熏材料对湘西腊肉品质的影响[J]. 现代食品科技,2016,32(5):240-252.
- [35] 席嘉佩,詹萍,田洪磊,等. 基于SPME-GC-MS和PCA的不同萃取头对新疆烤羊肉香气成分萃取效果比较[J]. 食品科学,2018,39(10):234-241.
- [36] 邓雨娇,李燕,贺亚男,等. 基于主客观嗅觉评价结合挥发性成分分析优选美洲大蠊去腥矫臭炮制方法[J]. 中草药,2020,51(2):338-347.
- [37] 王怀隐. 太平圣惠方[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:1517-2073.
- [38] 鲁伯嗣. 婴童百问[M]. 上海:第二军医大学出版社,2005:230.
- [39] 苏敬. 新修本草[M]. 尚志钧,辑校. 北京:北京科学技术出版社,2019:431.
- [40] 张文平. 卫生宝鉴精要[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2008:163.
- [41] 虞传. 医学正传[M]. 郭瑞华,点校. 北京:中医古籍出版社,2002:39.
- [42] 林玉友. 本草辑要[M]. 滕佳林,校注. 北京:中国中医药出版社,2015:243.
- [43] 佚名. 小儿卫生总微论方[M]. 吴康健,点校. 北京:人民卫生出版社,1986:340.
- [44] 李时珍. 本草纲目[M]. 吴少祯,主编. 北京:中国医药科技出版社,2016:1873.
- [45] 严洁,施雯,洪炜. 得配本草[M]. 北京:中国中医药出版社,2008:227.
- [46] 湖南省卫生厅. 湖南省中药材炮制规范[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1983:330-331.
- [47] 河北省食品药品监督管理局. 河北省中药饮片炮制规范[M]. 北京:学苑出版社,2004:184.
- [48] 安徽省食品药品监督管理局. 安徽省中药饮片炮制规范[M]. 安徽:安徽科学技术出版社,2005:488.
- [49] 刘登勇,周光宏,徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法:“ROAV”法[J]. 食品科学,2008,29(7):370-374.

[责任编辑 刘德文]