

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

刘晓梅, 张存艳, 刘红梅, 刘娟汝, 刘雨诗, 袁明昊, 魏霏玲, 叶强, 郭力*
(成都中医药大学 药学院, 西南特色中药资源重点实验室, 成都 611137)

[摘要] 目的:对生地龙、炒地龙、甘草泡地龙、醋地龙和酒地龙中的腥味成分进行分析和比较,探讨地龙腥味物质基础和炮制矫味原理。方法:采用Heracles II型超快速气相色谱电子鼻结合化学计量学对地龙及其炮制品的挥发性成分进行整体分析。利用顶空-气质联用技术(HS-GC-MS)对地龙及其炮制品的挥发性成分进行分析与鉴定,气相色谱条件为程序升温(初始温度60℃,保持5 min,以3℃·min⁻¹升温至120℃,再以10℃·min⁻¹升温至230℃),进样口温度280℃,载气高纯度氮气,载气流速1 mL·min⁻¹,分流比20:1;质谱条件为电子轰击离子源(EI),离子源温度230℃,四极杆温度150℃,电子能量70 eV,检测范围 m/z 50~550。利用峰面积归一法计算各组分的相对质量分数。结果:电子鼻的主成分分析(PCA)和判别因子分析(DFA)均显示地龙及其炮制品能较好地地区分,其中生地龙与炒地龙、甘草泡地龙差异小,但与醋地龙、酒地龙差异大。采用HS-GC-MS从生地龙、炒地龙、甘草泡地龙、醋地龙和酒地龙中分别鉴定出了25,27,22,26,33种化合物,五者共有成分13种,包括醛类4种(异戊醛,2-甲基丁醛,己醛,苯甲醛),酮类2种(2-庚酮,2-十三酮),羧酸类1种(月桂酸),杂环类4种(2-甲基吡嗪,2,5-二甲基吡嗪,2-正戊基咪唑,2-乙基-6-甲基吡嗪),胺类1种(三甲胺)和醇类1种(1-辛烯-3-醇)。结论:地龙腥味成分主要为醛类(异戊醛,2-甲基丁醛,异丁醛,2-乙基己醛,己醛)和胺类(三甲胺),炒制、甘草泡制、醋炙、酒炙均能减少地龙腥味成分,并且酒炙还能增加杂环类和酯类香气成分来掩盖其不良气味,为地龙炮制矫味提供了科学依据,同时可为其他动物药腥臭气味分析与矫正提供参考。

[关键词] 地龙; 炮制品; 电子鼻; 顶空-气质联用技术; 腥味成分; 矫味; 物质基础

[中图分类号] R22;R28;R9;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)12-0154-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201074

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200225.1207.004.html>

[网络出版日期] 2020-2-25 15:02

Study on Material Basis and Processing Principle of Fishy Smell of *Pheretima aspergillum* by Electronic Nose and HS-GC-MS

LIU Xiao-mei, ZHANG Cun-yan, LIU Hong-mei, LIU Juan-ru, LIU Yu-shi, YUAN Ming-hao,
WEI Ai-ling, YE Qiang, GUO Li*

(Key Laboratory of Characteristic Chinese Medicine Resources in Southwest China, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze and compare the fishy components in raw, stir-fried, liquorice-processed, vinegar-processed and wine-processed products of *Pheretima aspergillum*, and explore the material basis and processing principle of fishy smell of *P. aspergillum*. **Method:** Heracles II ultra-fast gas chromatography electronic nose technology combined with chemometrics was used for the overall analysis of volatile components in raw *P. aspergillum* and its processed products. Headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS) was used to analyze and identify the volatile compositions in the raw products and

[收稿日期] 20200115(014)

[基金项目] 成都中医药大学中药学学科特色创新科研团队项目(CXTD2018012);四川省科技基础条件平台项目(2019JDPT0032)

[第一作者] 刘晓梅,在读硕士,从事中药物质基础与质量标准研究,E-mail:2904895060@qq.com

[通信作者] *郭力,博士,教授,从事中药化学成分及质量标准化研究,E-mail:gli64@sina.com

processed products. Gas chromatographic conditions were as following: temperature program (initial temperature at 60 °C, kept for 5 min, up to 120 °C with the heating rate of 3 °C·min⁻¹, and then up to 230 °C with the heating rate of 10 °C·min⁻¹ and finished), the inlet temperature at 280 °C, high purity helium as the carrier gas, the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the split ratio of 20:1. Mass spectrum conditions were as following: electron impact ionization (EI), electron collision energy of 70 eV, ion source temperature of 230 °C, quadrupole temperature at 150 °C, scanning range of *m/z* 50-550. The relative content of each component was calculated by peak area normalization. **Result:** Principal component analysis (PCA) and discriminant factor analysis (DFA) of the electronic nose showed that the raw products and its processed products could be clearly distinguished from each other. Among them, the difference between raw products and stir-fried, liquorice-processed products was small, but the difference between raw products and vinegar-processed, wine-processed products was large. A total of 25, 27, 22, 26 and 33 components were respectively identified from raw, stir-fried, liquorice-processed, vinegar-processed and wine-processed products of *P. aspergillum*, there were 13 common components in these products, including 4 aldehydes (isovaleraldehyde, 2-methylbutyraldehyde, hexanal, benzaldehyde), 2 ketones (2-heptanone, 2-tridecanone), 1 carboxylic acid (lauric acid), 4 heterocyclic compounds (2-methylpyrazine, 2, 5-dimethyl pyrazine, 2-pentylfuran, 2-ethyl-6-methyl pyrazine), 1 amine (trimethylamine) and 1 alcohol (1-octen-3-ol). **Conclusion:** The odorous components in the raw products are mainly derived from aldehydes (isovaleraldehyde, 2-methylbutyraldehyde, isobutyraldehyde, 2-ethylhexanal, hexanal) and amines (trimethylamine). Odorous components of *P. aspergillum* can be reduced effectively by stir-fried and liquorice, vinegar, wine processing, while flavoring substances can be increased by wine processing to cover its ugly odor. This paper can provide scientific basis for the deodorization of *P. aspergillum* by processing, and also provide reference for the analysis and correction of ugly odor of other animal medicines.

[Key words] *Pheretima aspergillum*; processed products; electronic nose; headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS); fishy components; correction of odor; material basis

地龙为我国常用动物类中药,来源于钜蚓科动物参环毛蚓、通俗环毛蚓、威廉环毛蚓或栉盲环毛蚓的干燥体,前一种习称“广地龙”,后三种习称“沪地龙”,具有清热定惊、通络、平喘、利尿的作用^[1]。现代研究表明,地龙含蛋白质、氨基酸、核苷、酶类等成分,具有平喘、降压、解热镇静、促创面愈合、抗凝血和血栓等药理作用^[2-5],其药用价值已在临床中得到广泛验证。

目前,地龙多以煎煮和粉末冲服形式使用,但地龙具有特殊的腥味,使得患者服用时容易出现恶心呕吐的不良反应,导致患者服用依从性不佳。中药炮制广泛应用于动物类中药,主要起到减毒、增效、去腥矫味等作用^[6],目前临床中地龙常用的炮制方法有炒制、甘草炮制、醋炙和酒炙等,这些炮制方法在增效的同时均可以有效矫正地龙的不良气味,便于服用。但目前关于地龙炮制的研究较少,且主要集中在炮制工艺^[7-8]、炮制前后核苷类成分含量变化^[9-10]、炮制品指纹图谱的建立^[11]等方面,尚未见关于地龙腥味物质基础及炮制矫味原理研究的相关

报道。

Heracles II型超快速气相色谱电子鼻是一种新型的气味分析仪器,可将物质挥发成分的整体信息与数据库中的信号做出比较和判断,从而得出样品气味综合判断结果,常用于食物、药材等不同挥发性物质的区别判定^[12-14]。顶空-气质联用技术(HS-GC-MS)集采集、富集、进样为一体,是挥发性样品中成分比较和定性分析的重要手段,因其操作简单、分析迅速、重复性高而广泛应用于各种挥发性成分的鉴定和分析,如柴胡、厚朴和香薷^[15-17]。本研究选取市场主流品种广地龙,参照其炮制的相关标准及文献,进行炒制、甘草炮制、醋炙、酒炙,采用Heracles II型超快速气相色谱电子鼻结合HS-GC-MS,从整体气味轮廓和具体气味成分两方面对地龙及其炮制品的腥味成分进行研究,以探寻地龙腥味物质基础和炮制矫味的原理,为地龙药材的炮制矫味提供科学依据,并为其他动物药的腥臭气味分析与矫正提供参考。

1 材料

Heracles II型超快速气相色谱电子鼻(法国Alpha MOS公司,包括HS-100型自动进样器),7890A-5975C型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司,包括7897A型顶空进样器),BP121S型电子分析天平(德国Sartorius公司),HX-200K型扣式中药粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂),101-2AB型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司)。米醋(佛山市海天调味食品股份有限公司,批号20190120),黄酒(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司,批号20190108);甘草饮片(四川国强中药饮片有限公司,批号19060102),地龙饮片(北京同仁堂药材有限责任公司,采收地广西壮族自治区,批号17091201),均经成都中医药大学李敏教授鉴定分别为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根及根茎和钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* 的干燥体。

2 方法与结果

2.1 样品制备

2.1.1 生地龙 取地龙饮片100 g,粉碎过二号筛,备用。

2.1.2 炒地龙^[18] 取地龙饮片,置锅内,文火炒至表面色泽变深,取出,放凉,粉碎,过二号筛,备用。

2.1.3 甘草泡地龙^[19] 取地龙饮片,放入温甘草水中泡2 h(每100 g地龙,用甘草20 g加水600 mL煮汤,冷却至常温),捞起,干燥,粉碎,过二号筛,备用。

2.1.4 醋地龙^[9] 称取地龙饮片100 g,加入米醋15 g,拌匀后闷透,至炒制容器内,文火加热,炒至颜色加深,取出,放凉,粉碎,过二号筛,备用。

2.1.5 酒地龙^[20] 取地龙饮片100 g,加入黄酒12.5 g,拌匀后闷润,至炒制容器内,文火加热,炒干,取出,晾凉,粉碎,过二号筛,备用。

2.2 电子鼻方法学考察 地龙具有特殊腥味,条件不同时,气味色谱图可能存在较大差异,为了得到较好的分析效果,需进行方法学考察,选取生地龙为样品,分别对取样量、进样体积、振摇温度及振摇时间进行单因素试验考察,以确定最佳检测条件。

2.2.1 进样体积 固定取样量0.2 g,振摇温度50℃,振摇时间10 min,取样量水平分别设定1,3,5 mL。结果发现随着进样体积的增加,气相色谱电子鼻的峰面积逐渐增大,5 mL为气相色谱电子鼻极限进样体积,故选择进样体积5 mL。

2.2.2 取样量 固定进样体积3 mL,振摇温度50℃,振摇时间10 min,取样量水平设定0.1,0.3,0.5 g。结果发现随着取样量的增加,气相色谱电子鼻的峰面积逐渐增加,当取样量达到0.3 g时,峰面积趋于平衡,故选择取样量0.3 g。

2.2.3 振摇温度 固定取样量0.3 g,振摇时间设定10 min,进样体积选择5 mL,振摇温度水平设定40,50,60℃。结果发现随着温度增高,气相色谱电子鼻色谱峰面积逐渐增加,但50℃时色谱峰峰型良好,已适用于分析,若继续升高温度,会破坏样品成分,不利于其真实气味的分析,故选取振摇温度50℃。

2.2.4 振摇时间 固定取样量0.3 g,振摇温度50℃,进样体积5 mL,振摇时间水平分别设定5,10,15 min。结果发现随着振摇时间的延长,气相色谱电子鼻的峰面积逐渐增加,当时间达到10 min时,峰面积趋于平衡,且10 min时色谱峰峰型良好,色谱峰信息稳定,故选取振摇时间10 min。

2.3 电子鼻检测 通过单因素试验方法学考察,确定电子鼻试验参数对样品进行分析,每个样品平行3次。具体条件及参数为取地龙及其炮制品各0.3 g,置20 mL顶空进样瓶中,压盖密封。以50℃振摇10 min,再以0.125 mL·s⁻¹速度进样5 mL,进样持续40 s。柱温采用程序升温的方式(初始温度50℃,以3.0℃·s⁻¹升温至240℃,保持),进样口温度200℃,检测器温度260℃,火焰离子化检测器(FID)增益10,捕集阱初始温度40℃,捕集阱分流速率10 mL·min⁻¹,捕集持续50 s,数据采集110 s。

2.4 地龙及其炮制品的气味分析

2.4.1 气味信息雷达图 Heracles II型超快速气相色谱电子鼻具有2根色谱柱,即MXT-5(低极性)以及MXT-1701(中极性),一次进样,双柱分析,出现2个色谱图。采用此系统对地龙及其炮制样品气味成分进行检测分析,气味信息雷达图见图1。

2.4.2 主成分分析(PCA) 在PCA模型中,识别指数85,主成分1和主成分2累计贡献率99.156%,表明地龙及其炮制品中挥发性成分气味信息具有明显差异,Heracles II型超快速气相色谱电子鼻能将其快速区分,见图2。不同样品间的差异可以通过PCA图上的距离表征,由图2可知,生地龙与炒地龙、甘草泡地龙在气味上比较接近,但三者与醋地龙和酒地龙差异比较明显。

2.4.3 判别因子分析(DFA) 进一步将气味信息分组,建立了判别因子分析模型,见图3。判别因子

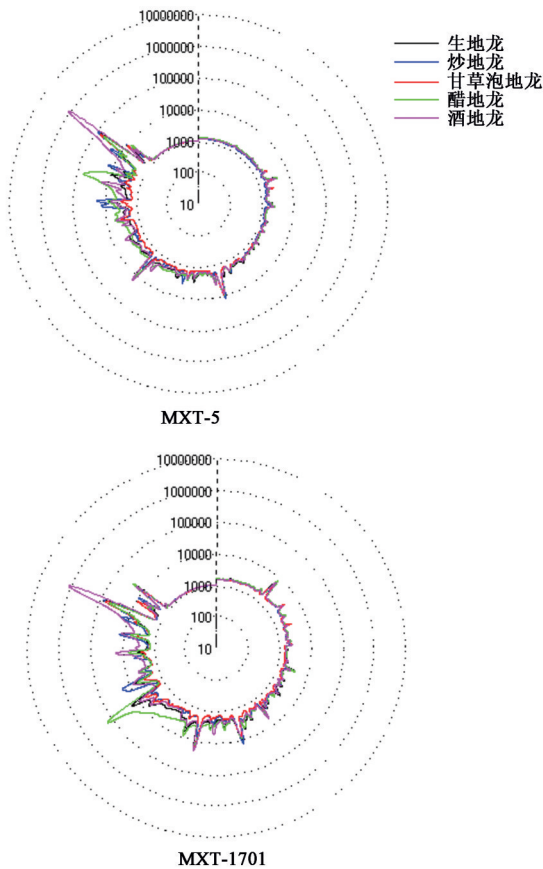
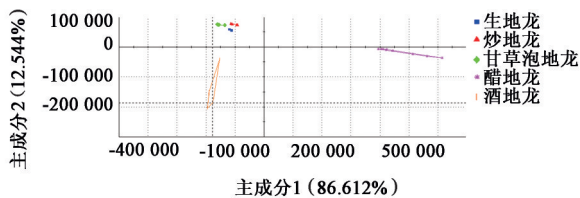


图1 地龙及其炮制品的气味信息雷达分析
Fig. 1 Odor information radar analysis of raw *Pheretima aspergillum* and its processed products



生地龙1批,其他炮制品各3批,每批样品平行测定3次(图3同)
图2 地龙及其炮制品的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of raw *Pheretima aspergillum* and its processed products

1和判别因子2的累积贡献度92.087%,该模型区分效果良好,进一步验证了PCA的结果,说明地龙及其炮制品可通过Heracles II型超快速气相色谱电子鼻进行快速鉴别。

表1 地龙及其炮制品的挥发性成分分析

Table 1 Analysis of volatile components in raw *Pheretima aspergillum* and its processed products

类型	t_R /min	化学成分	分子式	相对质量分数/%				
				生地龙	炒地龙	甘草泡地龙	醋地龙	酒地龙
醛类	1.58	异丁醛	C_4H_8O	6.51	6.32	-	4.75	6.15
	1.66	2-乙基己醛	$C_8H_{16}O$	2.55	2.65	1.53	-	-
	1.88	异戊醛 ¹⁾	$C_5H_{10}O$	18.27	18.46	15.48	13.87	16.76

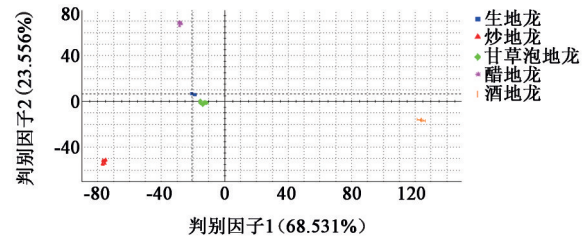


图3 地龙及其炮制品的判别因子分析

Fig. 3 Discriminant factor analysis of raw *Pheretima aspergillum* and its processed products

2.5 HS-GC-MS检测

2.5.1 顶空进样条件 精密称取地龙及其炮制品各1.0 g,置20 mL顶空进样瓶中,压盖密封。加热箱温度130 °C,定量环温度150 °C,传输线温度170 °C,平衡30 min,气相循环50 min。

2.5.2 GC条件 采用HP-5MS石英毛细管柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm),程序升温(初始温度60 °C,保持5 min,以3 °C·min⁻¹升温至120 °C,再以10 °C·min⁻¹升温至230 °C),进样口温度280 °C,载气高纯度氦气,载气流速1 mL·min⁻¹,分流比20:1。

2.5.3 MS条件 电子轰击离子源(EI),离子源温度230 °C,四极杆温度150 °C,电子能量70 eV,检测范围 m/z 50~550。

2.6 基于HS-GC-MS的地龙及其炮制品的气味分析 通过化学工作站进行数据处理并利用峰面积归一化法对生地龙、炒地龙、甘草泡地龙、醋地龙及酒地龙的总离子流图中各组分的相对质量分数进行计算,使用美国国家标准与技术研究院(NIST)14L质谱数据库对各峰的质谱图进行检索,确定各个组分。

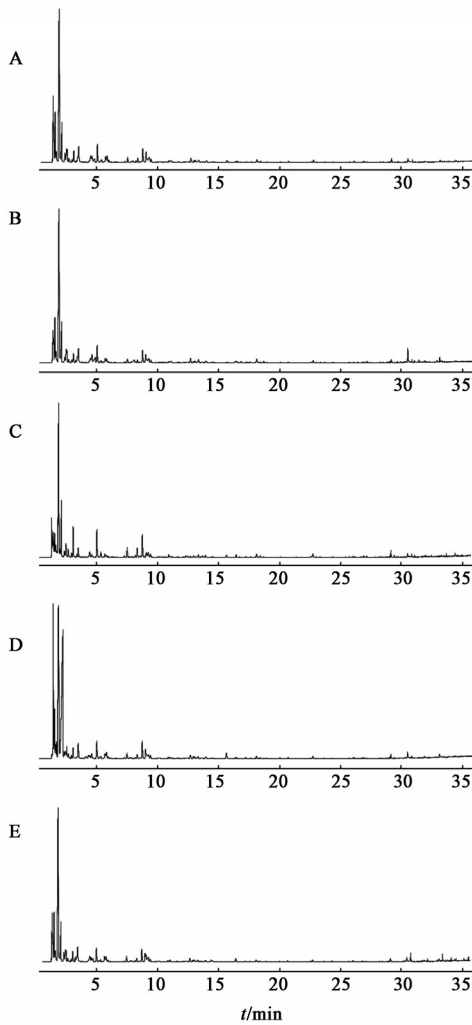
结果从生地龙、炒地龙、甘草泡地龙、醋地龙和酒地龙分别鉴定出了25,27,22,26,33种成分,五者共有成分13种,包括醛类4种(异戊醛,2-甲基丁醛,己醛,苯甲醛),酮类2种(2-庚酮,2-十三酮),羧酸类1种(月桂酸),杂环类4种(2-甲基吡嗪,2,5-二甲基吡嗪,2-正戊基咪喃,2-乙基-6-甲基吡嗪),胺类1种(三甲胺)和醇类1种(1-辛烯-3-醇),见表1。同时,总离子流图见图4。

续表 1

类型	t_R /min	化学成分	分子式	相对质量分数/%				
				生地龙	炒地龙	甘草炮地龙	醋地龙	酒地龙
酮类	1.92	2-甲基丁醛 ¹⁾	C ₅ H ₁₀ O	16.40	17.29	16.69	11.22	16.11
	3.10	己醛 ¹⁾	C ₆ H ₁₂ O	2.08	1.86	4.40	1.32	1.86
	5.37	庚醛	C ₇ H ₁₄ O	0.48	-	1.27	-	0.45
	7.51	苯甲醛 ¹⁾	C ₇ H ₆ O	0.99	0.85	1.84	0.72	1.02
	2.96	2-己酮	C ₆ H ₁₂ O	0.38	-	0.61	0.34	0.31
	5.04	2-庚酮 ¹⁾	C ₇ H ₁₄ O	3.29	3.30	5.75	2.46	2.85
	13.33	2-壬酮	C ₉ H ₁₈ O	-	0.90	-	-	-
	15.65	樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	-	-	0.82	0.56	-
	18.10	2-癸酮	C ₁₀ H ₂₀ O	0.43	0.74	0.77	0.33	-
	22.74	2-十一酮	C ₁₁ H ₂₂ O	-	0.50	0.82	0.15	-
烃类	29.11	2-十三酮 ¹⁾	C ₁₃ H ₂₆ O	0.29	0.26	0.65	0.24	0.31
	30.82	2-十四酮	C ₁₄ H ₂₈ O	0.25	0.31	-	0.19	-
	9.09	八甲基环四硅氧烷	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	-	0.85	1.15	-	4.25
羧酸类	16.44	十甲基环五硅氧烷	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	-	-	-	-	0.88
	24.34	十二甲基环六硅氧烷	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	-	-	-	-	0.51
	2.58	丙酸	C ₃ H ₆ O ₂	1.61	0.89	-	1.05	1.39
酯类	3.43	丁酸	C ₄ H ₈ O ₂	-	1.00	0.43	-	1.00
	4.14	3-甲基丁酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	-	-	-	-	-
	4.80	2-甲基丁酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	0.95	2.07	-	-	0.89
	30.46	月桂酸 ¹⁾	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0.55	2.18	0.65	0.47	0.82
	33.09	肉豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	-	0.72	-	0.34	0.45
	30.77	月桂酸乙酯	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	-	-	-	-	0.47
	32.15	十三酸乙酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	-	-	-	-	0.21
	33.37	十四酸乙酯	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	-	-	-	-	0.49
	33.79	反油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	-	-	-	-	0.66
	34.08	ethyl 13-methyl-tetradecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	-	-	-	-	0.25
杂环类	35.13	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	-	-	-	-	0.28
	2.37	吡嗪	C ₄ H ₄ N ₂	-	-	-	1.15	-
	2.39	嘧啶	C ₄ H ₄ N ₂	-	-	0.92	1.22	2.14
	3.51	2-甲基吡嗪 ¹⁾	C ₅ H ₆ N ₂	3.30	2.71	1.82	2.16	3.37
	5.70	2,5-二甲基吡嗪 ¹⁾	C ₆ H ₈ N ₂	1.07	0.87	0.58	0.75	1.11
	5.82	2-乙基吡嗪	C ₆ H ₈ N ₂	1.28	0.77	-	0.95	1.26
	8.76	2-正戊基咪唑 ¹⁾	C ₉ H ₁₄ O	2.84	1.78	5.18	2.46	2.49
	9.01	2-乙基-6-甲基吡嗪 ¹⁾	C ₇ H ₁₀ N ₂	2.65	1.78	0.38	1.94	1.68
	9.28	2-乙基-3-甲基吡嗪	C ₇ H ₁₀ N ₂	1.83	1.02	-	0.92	1.76
	12.69	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	C ₈ H ₁₂ N ₂	0.96	1.02	-	0.60	0.89
胺类	1.42	三甲胺 ¹⁾	C ₃ H ₉ N	9.51	5.25	3.20	7.02	7.86
	13.05	4,5-二甲基-1,2-苯二胺	C ₈ H ₁₂ N ₂	0.36	-	-	-	-
醇类	8.34	1-辛烯-3-醇 ¹⁾	C ₈ H ₁₆ O	0.77	0.55	1.72	0.56	0.78

注: ¹⁾地龙及其炮制品的共有物质。

2.6.1 生地龙气味的物质基础分析 生地龙中共 检出挥发性成分 25 种,包括醛类、杂环类、胺类、酮



A. 生地龙; B. 炒地龙; C. 甘草泡地龙; D. 醋地龙; E. 酒地龙
图4 地龙及其炮制品中挥发性成分的HS-GC-MS总离子流

Fig. 4 Total ion chromatograms of volatile components in raw *Pheretima aspergillum* and its processed products by HS-GC-MS

类、羧酸类、醇类等。醛类化合物气味阈值普遍较低,是水质^[21],鱼类等食物^[22-23],美洲大蠊、水蛭等药材^[24-25]主要的腥味物质成分。在生地龙中检出多种醛类物质,其中异戊醛和异丁醛表现出焦糊味和油炸食品气味,己醛表现出刺激、辛辣气味^[26],说明醛

类物质是地龙腥味物质的主要成分之一。胺类物质气味阈值较高,但其相对质量分数较大,多为水产品^[27]和动物药^[24-25]中的腥味物质主要成分。在生地龙中检出2种胺类物质,其中三甲胺含量很高,有明显鱼腥的氨气味,说明胺类是地龙腥味物质主要成分之一。杂环类物质主要为呋喃、吡嗪类,气味阈值较低,为地龙的主要香气成分。酮类、羧酸类、醇类相对质量分数不高,对气味影响不大。提示生地龙挥发性成分主要为醛类、杂环类、胺类、酮类、羧酸类等,其中醛类(异戊醛,2-甲基丁醛,异丁醛,2-乙基己醛,己醛)和胺类(三甲胺)为主要腥味成分,杂环类为香气成分。

2.6.2 地龙与其炮制品的挥发性成分相对质量分数比较 采用GraphPad Prism 8.2.1软件对地龙及其炮制品中挥发性成分的相对质量分数数据进行处理,见表2。

结果发现生地龙经过炒制、甘草泡制、醋炙、和酒炙后,总挥发性成分的种类和含量均有一定变化。经过炒制后,杂环、胺类和醇类成分的相对质量分数较生品显著减少,分别减少3.98%,4.62%,0.22%;酮类、羧酸类和烃类成分的相对质量分数较生品显著增加,分别增加1.37%,3.75%,0.85%。经过甘草泡制后,醛类、羧酸类、杂环类和胺类成分相对质量分数较生品显著减少,分别减少6.07%,2.03%,5.05%,6.67%;酮类、烃类和醇类成分的相对质量分数较生品显著增加,分别增加4.78%,1.15%,0.95%。经过醋炙后,醛类、羧酸类、杂环类、胺类和醇类成分的相对质量分数较生品显著减少,分别减少15.4%,1.25%,1.78%,2.85%,0.21%,没有相关成分的含量增加。经过酒炙后,醛类、酮类和胺类成分的相对质量分数较生品显著减少,分别减少4.93%,1.17%,2.01%;烃类、酯类和羧酸类成分的相对质量分数较生品显著增加,分别增加5.64%,2.36%,1.44%。

表2 地龙与其炮制品中挥发性成分相对质量分数的比较

Table 2 Comparison of relative contents of volatile components in raw *Pheretima aspergillum* and its processed products

样品	相对质量分数/%									
	醛类	酮类	烃类	羧酸类	酯类	杂环类	胺类	醇类	醛类+胺类(腥味)	杂环类+酯类(香味)
生地龙	47.28	4.64	-	3.11	-	13.93	9.87	0.77	57.15	13.93
炒地龙	47.43	6.01 ²⁾	0.85 ²⁾	6.86 ²⁾	-	9.95 ²⁾	5.25 ²⁾	0.55 ¹⁾	52.68 ²⁾	9.95 ²⁾
甘草泡地龙	41.21 ²⁾	9.42 ²⁾	1.15 ²⁾	1.08 ²⁾	-	8.88 ²⁾	3.20 ²⁾	1.72 ²⁾	44.41 ²⁾	8.88 ²⁾
醋地龙	31.88 ²⁾	4.27	-	1.86 ²⁾	-	12.15 ¹⁾	7.02 ²⁾	0.56 ¹⁾	38.90 ²⁾	12.15 ¹⁾
酒地龙	42.35 ²⁾	3.47 ²⁾	5.64 ²⁾	4.55 ²⁾	2.36 ²⁾	14.70	7.86 ²⁾	0.78	50.21 ²⁾	17.06 ²⁾

注:与生地龙相比¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01。

醛类和胺类为地龙主要的腥味物质,而杂环类为香味物质,另酯类化合物多表现出香气,也为香味物质。故对地龙及其炮制品中腥味物质(醛类、胺类)和香味物质(杂环类、酯类)的相对质量分数进行分析,发现生地龙经过炮制后,醛类和胺类物质的种类和含量较生品均降低,使得腥味有所减轻,各种炮制品对腥味的减轻效果依次为醋地龙>甘草泡地龙>酒地龙>炒地龙。而对于杂环类和酯类2种香气成分而言,生地龙经过炒制、甘草泡制、醋炙后二者的总相对质量分数均降低,而酒炙后则会增加,说地龙酒炙会增加香气成分,可以掩盖地龙的不良气味。

3 讨论

电子鼻的PCA和DFA模型能将地龙及其炮制品准确区分,且在PCA图中地龙与炒地龙、甘草泡地龙距离比较接近,但与醋地龙、酒地龙距离较远。2015年版《中国药典》对生地龙的气味描述为“气腥”^[1],炒地龙^[18]和甘草泡地龙^[19]在各地地方标准中气味描述均为“气腥”,三者的气味差别并不明显;而醋地龙为“略具醋气”^[6],酒地龙为“微弱酒香”^[20],两者与生地龙气味差异比较明显,表明建立的PCA模型符合2015年版《中国药典》,各地方标准及文献中对地龙及其炮制品的气味描述。HS-GC-MS确定了生地龙中的腥味成分主要为醛类和胺类,经过不同方法炮制后,腥味均有显著改善。醋地龙腥味物质较生地龙显著减少,推测可能是乙酸作为辅料加入在一定程度上抑制了地龙因为脂肪分解而产生的腥味;甘草泡地龙腥味物质较生地龙显著减少,推测可能是甘草中含有的甘草甜素可以矫正地龙的腥味;酒地龙腥味物质较生地龙显著减少,推测可能是醛和胺类物质能溶于乙醇,高温作用下可随乙醇挥发而减少,与此同时,酒地龙还会增加大量杂环类和酯类香气物质,增香的同时也有效掩盖了地龙本身的不良气味,故达到了不错的矫味效果。

综上所述,采用Heracles II型超快速气相色谱电子鼻可以成功实现地龙及其炮制品的气味信息客观化,并从整体气味角度对地龙及其炮制品进行鉴别区分。采用HS-GC-MS确定了地龙主要腥味物质为醛类(异戊醛,2-甲基丁醛,异丁醛,2-乙基己醛,己醛)和胺类(三甲胺),炒制、甘草泡制、醋炙和酒炙均能有效改善地龙的腥味,且酒炙还能增加杂环类、酯类香气成分掩盖其不良气味。本实验揭示了地龙腥味物质基础和炮制矫味的原理,为地龙药材的炮制矫味提供了科学依据,并为其他动物药腥

臭气味分析与矫正提供参考。但本研究还存在一些不足,例如,2015年版《中国药典》规定地龙基原有4个品种,本实验仅选取了市场主流基原广地龙进行研究,而未考察其他3个地龙基原;各炮制品的制备工艺也还需要进一步研究,细化炮制工艺参数。此外,后续本课题组将结合药理实验研究地龙炮制增效的原理。

[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,2015:122-123.
- [2] 黄庆,李志武,马志国,等. 地龙的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(13):220-226.
- [3] 张晓晨. 地龙药理与临床研究进展[J]. 中成药,2011,33(9):1574-1578.
- [4] 何红,车庆明,孙启时,等. 广地龙提取物的抗凝血作用[J]. 中草药,2007,38(5):733-735.
- [5] 褚襄萍,徐朝晖,战光绪,等. 药对麻黄广地龙配比及平喘作用机制的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(3):236-239.
- [6] 吴皓,李飞. 中药炮制学[M]. 北京:人民卫生出版社,2017:38.
- [7] 李焕平. 正交试验优选酒炙广地龙炮制工艺[J]. 中医临床研究,2011,3(9):98-99.
- [8] 罗文英,吴志坚,朱启亮,等. 岭南特色饮片甘草泡地龙的工艺优化研究[J]. 中药材,2019,42(6):1288-1291.
- [9] 李钟,黄艳玲,李文娜. 炮制对广地龙次黄嘌呤和肌苷含量的影响[J]. 中药材,2009,32(1):31-33.
- [10] 利红宇,李钟,黄艳玲,等. 不同炮制的广地龙平喘化痰止咳药效比较[J]. 时珍国医国药,2010,21(6):1464-1465.
- [11] 谭玲龙,钟凌云,宋嫵,等. 广地龙炮制品HPLC指纹图谱的建立及5种成分测定[J]. 中成药,2018,40(10):2238-2243.
- [12] 高雅慧,徐良,董亚欣,等. 基于Heracles II超快速气相色谱电子鼻对不同加工方式牛奶的快速鉴别研究[J]. 食品工业科技,2019,40(14):260-263,269.
- [13] 陈修红,欧克勤,汪厚银,等. Heracles快速气相色谱电子鼻对花椒油气味指纹分析研究[J]. 食品科技,2016,41(12):255-261.
- [14] 卢一,解达帅,吴纯洁. 基于Heracles II超快速气相色谱电子鼻的硫熏麦冬快速鉴别研究[J]. 中药材,2017,40(5):1070-1073.
- [15] 叶耀辉,张博文,郑红梅,等. 顶空进样GC-MS分析柴胡不同炮制品的挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(18):11-14.

- [16] BERNARDO M S, GONÇALVES M, LAPA N, et al. Determination of aromatic compounds in eluates of pyrolysis solid residues using HS-GC-MS and DLLME-GC-MS[J]. *Talanta*, 2009, 80(1):104-108.
- [17] 张依欣, 龚千锋, 何雁, 等. 姜制香薷的炮制工艺优选及其挥发性成分的HS-GC-MS分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(14):162-167.
- [18] 山东省食品药品监督管理局. 山东省中药饮片炮制规范[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2012:239.
- [19] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药饮片炮制规范: 第一册[M]. 广州: 广东科技出版社, 2011:121.
- [20] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药材饮片炮制规范[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2015:92-93.
- [21] 刘斌, 孙红梅, 郭庆园. 某水厂深度处理工艺对鱼腥味及醛类物质的控制效果研究[J]. *环境科技*, 2018, 31(5):11-14.
- [22] 卢祺, 刘津延, 刘方芳, 等. 鱼类腥味物质及脱腥技术研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(8):285-291.
- [23] 刘灵杰, 陈卫卫, 梁迪, 等. 螺旋藻营养保健作用及脱腥味的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(2):213-219.
- [24] 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.
- [25] 范建伟, 刘武占, 李艳芳, 等. 制剂用水蛭原粉掩味前后主要腥臭异味物质的变化分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(6):22-25.
- [26] 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.
- [27] 李兆杰. 水产品化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007:101-102.

[责任编辑 刘德文]