

基于电子眼技术和化学指纹图谱的陈皮与蒸陈皮 质量差异分析

陈晓旭, 刘聪, 王丽霞, 杨晓芸, 高佩云, 吴宏伟, 唐力英*, 王祝举*
(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:探究蒸陈皮与陈皮2种饮片间的质量差异。方法:基于15批陈皮及15批蒸陈皮的自身对照样本,利用电子眼技术从外观角度测定陈皮和蒸陈皮的色度,通过明度值(L^*)、黄蓝值(b^*)、红绿值(a^*)和总色值(E_{ab}^*)客观表征陈皮及蒸陈皮的质量差异;在此基础上,采用超高效液相色谱法(UPLC)建立指纹图谱评价方法,流动相乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 5%A; 5~30 min, 5%~20%A; 30~60 min, 20%~52%A),检测波长270 nm,流速0.3 mL·min⁻¹,柱温30 °C,从化学成分角度比较陈皮及蒸陈皮间的质量差异,并利用相关性分析揭示外观颜色差异与内在化学成分差异之间的相关性。结果:陈皮蒸制后整体颜色加深,其中 L^* 、 b^* 和 E_{ab}^* 整体呈下降趋势,说明陈皮蒸制后颜色变暗加深且由黄向蓝转变但仍偏向黄色, a^* 整体呈上升趋势,说明陈皮蒸制后颜色更偏向红色。在陈皮和蒸陈皮的指纹图谱中共确定了24个色谱峰,并对其中13个主要色谱峰进行了鉴定。精密度、稳定性、重复性考察显示,与参照峰(峰14, 橙皮苷)比较,其余色谱峰相对峰面积及相对保留时间的相对标准偏差(RSD)均<3.0%。指纹图谱化学计量学统计分析结果表明,陈皮与蒸陈皮之间存在一定差异,并确定了7个主要差异性成分,其中5-羟基麦芽酚和5-羟甲基糠醛为蒸陈皮特征成分;相关性分析结果表明,除以上2种特征成分外,峰4、峰10(维采宁-2)、峰23(桔皮素)和峰24(5-去甲基川陈皮素)4个成分与样品颜色变化(E_{ab}^*)亦存在明显相关性($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:陈皮蒸制前后不仅化学成分发生了变化,颜色也发生了改变。将陈皮蒸制前后的化学成分差异特征峰与颜色差异特征峰比较后发现,5-羟基麦芽酚、5-羟甲基糠醛和峰4为共有的特征差异成分,可为建立蒸陈皮特征性质量控制方法、快速评价陈皮和蒸陈皮饮片质量差异提供参考。

[关键词] 陈皮; 蒸制; 电子眼技术; 色度值; 饮片; 超高效液相色谱法(UPLC)指纹图谱; 相关性分析

[中图分类号] R22;R28;R943.1;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)10-0202-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230248

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail//11.3495.R.20221209.1533.002.html>

[网络出版日期] 2022-12-12 14:44:04

Quality Difference Analysis of Raw and Steamed Products of Citri Reticulatae Pericarpium Based on Electronic Eye Technique and Chemical Fingerprint

CHEN Xiaoxu, LIU Cong, WANG Lixia, YANG Xiaoyun, GAO Peiyun,
WU Hongwei, TANG Liying*, WANG Zhuju*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the quality differences between steamed products and raw products of Citri Reticulatae Pericarpium (CRP). **Method:** The color of steamed products and raw products of CRP was determined from the perspective of appearance by electronic eye technique, and the quality differences between them was objectively characterized by the luminous value (L^*), yellow-blue value (b^*), red-green value (a^*) and total chromatic value (E_{ab}^*). Based on this, ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) was used to

[收稿日期] 2022-09-02

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1707106);山东省重点研发计划项目(2021SFGC1202)

[第一作者] 陈晓旭,在读硕士,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:sanecxx@126.com

[通信作者] *唐力英,副研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:bjtangliying@163.com;

*王祝举,研究员,从事饮片化学成分及炮制原理研究,E-mail:wangzhuju@sina.com

establish a fingerprint evaluation method with the mobile phase of acetonitrile(A)-0.1% formic acid aqueous solution(B) for gradient elution(0-5 min, 5%A; 5-30 min, 5%-20%A; 30-60 min, 20%-52%A), detection wavelength at 270 nm, flow rate of 0.3 mL·min⁻¹ and column temperature of 30 °C. The quality differences between steamed products and raw products of CRP were compared from the perspective of chemical composition, and correlation analysis was used to reveal the correlation between the difference in appearance color and the difference in internal chemical composition. **Result:** After being steamed, L^* , b^* and E_{ab}^* of CRP showed an overall decreasing trend, indicating that the color of the steamed products darkened and deepened from yellow to blue but still tended to be yellow, while a^* showed an overall increasing trend, indicating that the color of the steamed products tended to red. A total of 24 peaks were identified in the fingerprint profiles of raw products and steamed products of CRP, and 13 of the main peaks were identified. The precision, stability and repeatability studies showed that compared with the reference peak (peak 14, hesperidin), the relative standard deviations(RSDs) of the relative peak area and relative retention time of the remaining peaks were<3.0%. The results of chemometric statistical analysis showed that there were some differences between raw products and steamed products of CRP, and 7 main differential components were identified, among which 5-hydroxymaltol (peak 1) and 5-hydroxymethylfurfural(peak 2) were the characteristic components of steamed products. The correlation analysis results showed that, in addition to the above two characteristic components, four components of peak 4, peak 10 (vicenin-2), peak 23 (tangeretin) and peak 24 (5-demethylnobiletin) also correlated significantly with the color change (E_{ab}^*) of the samples ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Before and after steaming, not only the chemical composition changes, but also the color. Comparing the characteristic peaks of chemical composition difference and color difference before and after steaming of CRP, it is found that 5-hydroxymaltol, 5-hydroxymethylfurfural and peak 4 are common characteristic difference components, which can provide a reference for establishing the characteristic quality control method of steamed products, and quickly evaluating the quality difference between raw products and steamed products of CRP.

[Keywords] Citri Reticulatae Pericarpium; steaming; electronic eye technique; chromatic value; decoction pieces; ultra-high performance liquid chromatography(UPLC) fingerprint; correlation analysis

陈皮可理气燥湿消痰,常用于治疗胸腹胀满不下、呕吐反胃和脾虚痰多^[1],主要化学成分包括黄酮类、挥发油、生物碱类、柠檬苦素类等^[2]。现代药理表明,其具有调节胃肠功能、平喘止咳、提高心血管功能等功效。临床上以生用为主,炮制后可缓和燥性,温中止咳^[3]。2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)收录的陈皮炮制方法为净制、润透后切制,但在各地方炮制规范中还记载了蒸制、炒制、蜜制、盐制等炮制方法。其中蒸制法为岭南地区的特色炮制方法^[4-6],在广东、广西、四川等地应用较为广泛,这些地区的气候特点为潮湿闷热,人们体质多为湿热阴虚,故常将药材蒸制后使用,这样可缓和药性,避免伤及脾胃。蒸陈皮作为陈皮的1个炮制品种,其制法在2015年版《四川省中药饮片炮制规范》中有具体描述^[7]。2020年版《中国药典》所载成方制剂蛇胆陈皮胶囊和蛇胆陈皮散的处方中使用的是蒸陈皮^[1]。蒸陈皮虽常被应用于临床处方中,但现对蒸陈皮的研究多集中于挥发油

和主要黄酮类成分,但有关其与陈皮的整体化学成分差异,以及这一差异与颜色外观差异是否存在关联尚有待深入研究。

饮片炮制前后,其性状外观、性味、升降浮沉、归经、理化性质等都会发生不同程度的变化,其中外观性状的变化最为直观。然而,由于人对颜色和气味的判断具有主观性,不能对细微差异做出准确客观的判断,故近年来有学者将电子感官设备应用于饮片外观性状的质量客观化评价研究^[8-11]。其中电子眼是一种可模拟人眼的电子视觉分析系统,可以对样品的外观、颜色及形状进行鉴别检测。因此,本研究拟通过电子眼技术快速、直观地记录陈皮蒸制前后的外观颜色,并通过超高效液相色谱法(UPLC)建立指纹图谱,比较陈皮生品和蒸制品的内在化学成分差异,对陈皮蒸制前后的整体化学成分变化进行表征;同时,结合化学计量学方法对所得数据进行统计分析,探讨陈皮蒸制前后外观颜色与内在化学成分之间的关联性,为快速评价陈皮和

蒸陈皮饮片质量、建立蒸陈皮特征性质量控制方法提供依据。

1 材料

LC-30AD型超高效液相色谱仪(日本岛津公司),DFT-50A型手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司),XS205DU型十万分之一电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司),BSA124S-CW型万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],JY-5002型电子天平(上海衡平仪器仪表厂),VA400型IRIS视觉分析仪[阿默思(上海)仪器贸易有限公司]。

芸香柚皮苷、橙皮苷、川陈皮素、桔皮素、维采宁-2、橙皮素、异甜橙黄酮、甜橙黄酮、异黄芩配基甲醚、3,3',4',5,6,7,8-七甲氧基黄酮、5-去甲基川陈皮素、5-羟甲基糠醛对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为CHB180917、CHB201220、CHB180529、CHB190125、CHB190217、CHB180524、CHB180126、CHB180126、CHB190106、CHB180120、CHB180321、CHB180118,纯度均≥98%),5-羟基麦芽酚对照品[中科华检(北京)科技有限公司,批号4307-089A8,纯度≥98%],水为娃哈哈纯净水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。15批陈皮药材[产地分别为四川省成都市双流区(编号C1~C5)、湖南省益阳市(编号C6~C10)、湖北省宜昌市当阳市(编号C11~C15),采收时间均为2020年9月]由广州采芝林药业有限公司提供,经中国中医科学院中药研究所王祝举研究员鉴定为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* 的干燥成熟果皮。

2 方法与结果

2.1 陈皮饮片的制备 按2020年版《中国药典》(一部)“陈皮”项下炮制方法制备陈皮饮片,即取陈皮药材(编号C1~C15)100 g,去除杂质,洗净,加水100 mL闷润约1 h,润透后切丝,晾干,得陈皮饮片(编号A1~A15)。参考2015年版《四川省中药饮片炮制规范》中记载方法制备蒸陈皮,即取陈皮,除去杂质,湿润后按照蒸法(《四川省中药饮片炮制规范》中通则0213)蒸透,具体操作为取陈皮药材(编号C1~C15)100 g,加水100 mL闷润约1 h,待药材湿润完全(容器内的水完全被药材吸收)后,100 °C蒸制30 min,蒸透后取出,切丝,晾干,得蒸陈皮饮片(编号B1~B15)。

2.2 陈皮蒸制前后的颜色差异分析 仪器开机稳定后,将24色色彩校正板置于仪器中校正,调整到合适的镜头曝光度和焦距,使用5 nm光圈,光源

D65,同时使用顶部及底部照明,单一快照模式拍照。将粉碎过三号筛的陈皮及蒸陈皮样品均匀放置表面皿中采集图像,平行采集3次后取平均值,记录各样品的色号及比例。以明度值(L^*)、红绿值(a^*)和黄蓝值(b^*)3个指标来表示每个色号,计算总色值(E_{ab}^*)^[12]。其中 L^* 的范围由0~100对应表示颜色由黑到白; a^* 由正到负对应表示颜色由红到绿; b^* 由正到负对应表示颜色由黄到蓝,计算公式为 $E_{ab}^* = [(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$, E_{ab}^* 越大,颜色越浅。除此之外,可用总色差值(ΔE_{ab}^*)^[12]表示2个色号之间的色差,但其不能表示颜色的偏向,计算公式为 $\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ 。样品A1~A15和B1~B15的色度值见表1,电子眼图像见图1。

表1 陈皮和蒸陈皮样品的色度值

Table 1 Chromatic values of raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

编号	色度值				编号	色度值			
	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*		L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*
A1	77.602	4.903	45.213	89.946	B1	78.311	4.460	44.960	90.410
A2	79.524	4.327	45.187	91.567	B2	78.316	5.048	43.318	89.640
A3	80.785	4.032	45.394	92.753	B3	82.279	3.704	42.263	92.572
A4	84.998	3.194	46.115	96.755	B4	80.622	3.641	39.571	89.883
A5	76.939	4.961	45.658	89.604	B5	69.208	5.434	40.078	80.159
A6	81.263	3.832	45.062	93.000	B6	79.549	4.186	39.382	88.863
A7	83.005	3.400	43.282	93.673	B7	80.677	4.018	41.058	90.612
A8	80.150	4.032	46.093	92.547	B8	80.692	4.135	40.836	90.531
A9	83.712	3.375	44.628	94.925	B9	77.217	4.366	43.238	88.606
A10	79.308	4.564	44.083	90.851	B10	81.337	4.153	39.057	90.324
A11	85.472	2.869	39.311	94.123	B11	81.392	4.425	36.437	89.286
A12	85.628	3.336	40.331	94.709	B12	81.134	4.262	36.907	89.236
A13	83.066	3.464	43.567	93.862	B13	81.636	4.221	39.198	90.658
A14	84.064	3.194	40.861	93.524	B14	80.128	4.258	40.895	90.061
A15	84.564	3.234	41.031	94.049	B15	77.829	4.200	40.853	87.999

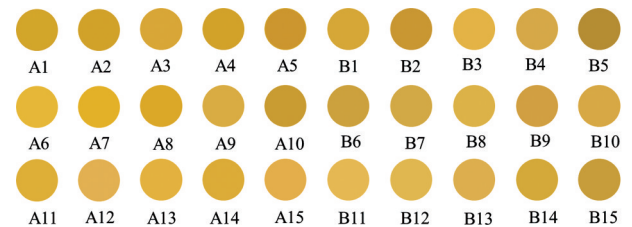


图1 陈皮与蒸陈皮样品的电子眼图像

Fig. 1 Electronic eye pictures of raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

由表1可知,陈皮、蒸陈皮的 L^* 分别为76.939~85.628、69.208~82.279, a^* 分别为2.869~4.961、

3.641~5.434, b^* 分别为 39.311~46.115、36.437~44.960, E_{ab}^* 分别为 89.604~96.755、80.159~92.572。提示陈皮蒸制后, L^* 整体呈下降趋势, 说明陈皮蒸制后颜色更暗; a^* 整体呈上升趋势且为正值, 说明陈皮蒸制后颜色更偏向红色; b^* 整体呈下降趋势但仍为正值, 说明陈皮蒸制后颜色由黄向蓝转变但仍偏向黄色; 蒸制后 E_{ab}^* 整体呈下降趋势, 说明陈皮蒸制后颜色加深。即陈皮蒸制后, 整体上明度变暗、红色度值升高、黄色度值降低、颜色变深, 与图1基本相符。在此基础上, 计算15批陈皮蒸制前后的 ΔE_{ab}^* 分别为 0.873、2.339、3.485、7.885、9.546、5.944、3.278、5.286、6.715、5.436、5.227、5.725、4.658、4.078、6.807。一般规定当 $\Delta E_{ab}^* > 1.5$ 时, 表示待测样品颜色有明显差异^[13]。说明除样品 C1 蒸制前后颜色差别较小外, 其他样品蒸制前后颜色发生了明显变化。

2.3 陈皮蒸制前后 UPLC 指纹图谱分析

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取维采宁-2、橙皮素、芸香柚皮苷、川陈皮素、桔皮素、橙皮苷、异甜橙黄酮、甜橙黄酮、异黄芩配基甲醚、3,3',4',5,6,7,8-七甲氧基黄酮、5-去甲基川陈皮素、5-羟甲基糠醛、5-羟基麦芽酚对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.246、0.272、0.242、0.075 8、0.085 8、0.976、0.233、0.277、0.222、0.262、0.244、0.353、0.382 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的单一对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取不同陈皮饮片粉末(过三号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声 45 min (250 W, 40 kHz), 放冷, 再称定质量, 加 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.3.3 色谱条件 采用 Shim-pack GIST C_{18} 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm, 2 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 5%A; 5~30 min, 5%~20%A; 30~60 min, 20%~52%A), 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 270 nm, 流速 0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 3 μL 。

2.4 UPLC 指纹图谱方法学考察

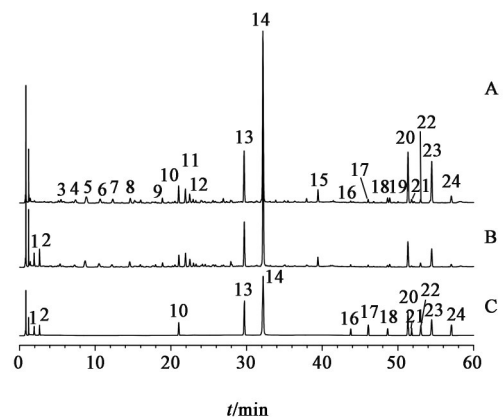
2.4.1 精密度试验 取样品 A3 适量, 按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.3 项下色谱条件连续进样 6 次, 参照峰选择 14 号峰, 计算各色谱峰相对保留时间和相对峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为 0.01%~0.1%、0.3%~2.8%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取样品 A3 的供试品溶液适量, 分别于制备后 0、4、8、12、16、24 h 按 2.3.3 项下色

谱条件测定, 参照峰选择 14 号峰, 计算各色谱峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.02%~0.3%、0.6%~2.7%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取样品 A3 共 6 份, 精密称定, 按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3.3 项下色谱条件测定, 参照峰选择 14 号峰, 计算各色谱峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别为 0.02%~0.4%、0.4%~2.8%, 表明该方法重复性良好。

2.4.4 样品测定 按 2.3.2 项下方法制备陈皮和蒸陈皮的供试品溶液各 15 批, 按 2.3.3 项下色谱条件测定, 将所得数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)进行分析。参照图谱选择样品 A1, 时间窗宽度 0.1 min, 采用中位数法对全谱峰进行匹配。通过图谱对比, 发现峰 1、峰 2 为蒸陈皮的特有峰, 其余 22 个峰为陈皮与蒸陈皮的共有峰, 见图 2。对陈皮及蒸陈皮样品指纹图谱进行共有峰和特征峰的指认, 最终确定色谱峰为 24 个, 将对照品与样品的保留时间和光谱图进行比对, 指认了其中 13 个色谱峰, 见图 2。



注: A. 陈皮样品; B. 蒸陈皮样品; C. 混合对照品; 1. 5-羟基麦芽酚; 2. 5-羟甲基糠醛; 10. 维采宁-2; 13. 芸香柚皮苷; 14. 橙皮苷; 16. 橙皮素; 17. 异甜橙黄酮; 18. 甜橙黄酮; 20. 川陈皮素; 21. 异黄芩配基甲醚; 22. 3,3',4',5,6,7,8-七甲氧基黄酮; 23. 桔皮素; 24. 5-去甲基川陈皮素

图2 陈皮和蒸陈皮的 UPLC 指纹谱

Fig. 2 UPLC fingerprint of raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

2.5 化学计量学统计分析^[14]

2.5.1 主成分分析(PCA) 运用 SIMCA-P 14.1 对陈皮和蒸陈皮中 24 个量化后的色谱峰峰面积进行 PCA 处理, 模型参数为 R^2X (表示模型的累积解释率)=0.68, Q^2 (指该模型的累积预测率, $Q^2 > 0.5$ 说明该模型预测能力较好)=0.718, 得分图见图 3。结果

发现第1和第2主成分对区分这两类样品的贡献率分别为48.6%和19.4%,说明在这种无监督的识别模式下,除个别样本外,样品基本可以被区分为两类,一类为陈皮,另一类为蒸陈皮,提示陈皮蒸制后化学指纹发生了较为明显的变化。

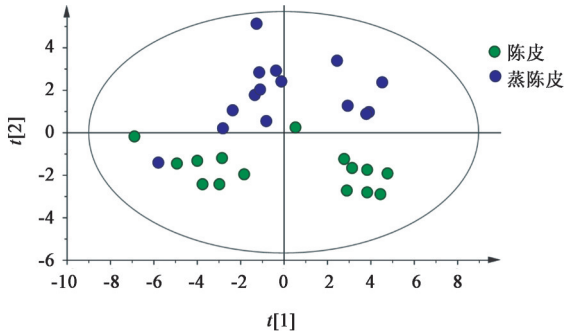
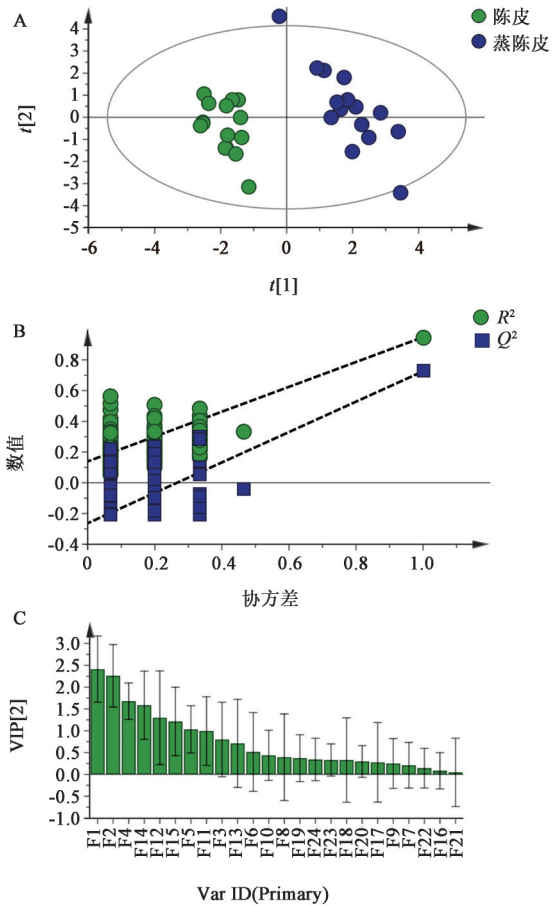


图3 陈皮和蒸陈皮样品的PCA得分
Fig. 3 PCA score plot of raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

2.5.2 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA) 为了进一步区分蒸陈皮和陈皮,找出反映二者差异的特征峰及相应化学成分,运用有监督的模式识别方法对量化后的峰面积数据进行PLS-DA,见图4。结果发现陈皮和蒸陈皮被明显区分为两类,模型参数为 $R^2X=0.187$, R^2Y (表示模型的可解释率)=0.871, $Q^2=0.713$ 。PLS-DA模型置换检验结果显示,左侧所有的 Q^2 点均低于最右侧原始的 Q^2 点且 Q^2 点的回归线与纵坐标的交叉点 <0 ,说明PLS-DA模型没有过拟合。此外,绘制了各色谱峰的变量重要性投影(VIP)值图来更直观地体现每个色谱峰对区分这两类样品的重要性。VIP值的大小与变量对分类的重要程度成正比关系,VIP值越大,说明该变量对分类的贡献越大,选择VIP值 >1.0 的色谱峰为区分陈皮和蒸陈皮样品的变量,即峰1(5-羟基麦芽酚)、峰2(5-羟甲基糠醛)、峰4、峰14(橙皮苷)、峰12、峰15、峰5。其中峰1和峰2为蒸陈皮特有峰。

2.6 色度值与指纹图谱的相关性分析 将30批样品量化后的24个色谱峰峰面积与其4个色度值(L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab})导入SPSS 26.0软件进行Pearson相关性分析,制作热图,见图5。蓝色表示两者呈负相关,红色表示两者呈正相关,图中标注了两者差异有统计学意义的Pearson相关系数。结果显示,峰1(5-羟基麦芽酚)、峰7和峰23(桔皮素)的峰面积与 L^* 呈显著负相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品颜色变暗;峰4、峰10(维采宁-2)、峰13(芸香柚皮苷)、峰16(橙皮素)和峰22(3,3',4',5,6,7,

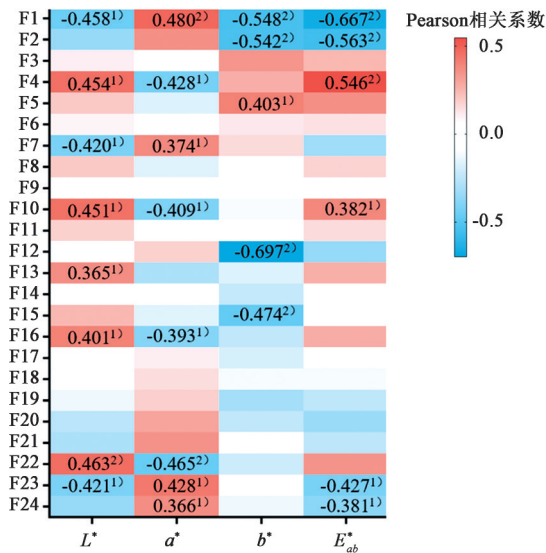


注:A.得分图;B.置换检验;C.VIP值;F1~F24.峰1~24(图5同)
图4 陈皮和蒸陈皮样品的PLS-DA
Fig. 4 PLS-DA for raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

8-七甲氧基黄酮)的峰面积与 L^* 呈显著正相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品颜色变亮。峰4、峰10、峰16和峰22的峰面积与 a^* 呈显著负相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品红色度值则降低;峰1、峰7、峰23和峰24(5-去甲基川陈皮素)的峰面积与 a^* 呈显著正相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品红色度值升高。峰1、峰2(5-羟甲基糠醛)、峰12和峰15的峰面积与 b^* 呈显著负相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品黄色度值降低;峰5的峰面积与 b^* 呈显著正相关,说明其对应的化学成分含量增加,样品黄色度值升高。峰1、峰2、峰23和峰24的峰面积与 E^*_{ab} 呈显著负相关,说明这些色谱峰对应的化学成分含量增加,样品颜色更深,峰4和峰10的峰面积与 E^*_{ab} 呈显著正相关,说明该色谱峰对应的化学成分含量增加,样品颜色更浅。

3 讨论

药材的颜色在炮制前后往往会发生变化,经验



注: ¹⁾P<0.05; ²⁾P<0.01

图5 陈皮和蒸陈皮样品色谱峰峰面积与色度值的相关性分析
Fig. 5 Correlation analysis between chromatic values and chromatographic peak areas of raw products and steamed products of Citri Reticulatae Pericarpium

丰富的药工会通过颜色来判断药材的炮制程度。但这种方法存在一定主观性,较难形成统一标准,致使饮片质量参差不齐。电子眼技术可以将颜色量化,可通过色差值表示药材炮制前后的颜色变化程度,还可用色度值参数表示颜色的变化趋向,更为准确和客观,具有较好的可重复性。在本研究中,除个别样品外,陈皮蒸制前后的 $\Delta E^*_{ab} > 1.5$,说明样品蒸制前后在外观颜色上发生了明显变化;蒸制后 L^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 整体呈下降趋势, a^* 则整体呈上升趋势,表明陈皮蒸制后明度变暗、红色度值升高、黄色度值降低,整体颜色变深,与肉眼观察结果基本相符。

比较15批陈皮与15批蒸陈皮的指纹图谱,发现蒸制前后化学成分发生了一定变化,陈皮蒸制后产生了5-羟基麦芽酚和5-羟甲基糠醛2种新成分,二者可作为区分陈皮生品与蒸制品的指标性成分。初步推测这2个成分可能来源于陈皮中多糖类成分发生的美拉德反应^[15-16],即含游离氨基的化合物和还原糖或羰基化合物在常温或加热时发生的聚合、缩合等反应。美拉德反应还会生成还原酮、醛和杂环化合物,这些物质是食品色泽和风味的主要来源。在化学计量学的统计结果中,PCA结果表明陈皮的生品和蒸品有一定的区分趋势,进一步说明炮制前后陈皮的化学成分整体上发生了变化;采用PLS-DA并通过VIP值的排序确定了7个对区分陈皮与蒸陈皮贡献较大的化学成分,可为筛选用于鉴

别两者的化学标志物提供参考。

为探究陈皮蒸制前后颜色变化与内在化学成分变化的关系,将陈皮和蒸陈皮量化后的色谱峰峰面积与4个色度值进行相关性分析,发现部分色谱峰量化后的峰面积与色度值存在显著相关性,说明这些化学成分的含量与样品的颜色有一定关联。其中峰1(5-羟基麦芽酚)、峰2(5-羟甲基糠醛)、峰4、峰10(维采宁-2)、峰23(桔皮素)、峰24(5-去甲基川陈皮素)量化后的峰面积与 E^*_{ab} 存在显著相关性,可作为从颜色角度区分陈皮与蒸陈皮的差异性成分。进一步将指纹图谱中蒸制前后差异显著的特征色谱峰与对样品颜色变化影响较大的特征色谱峰进行综合比较后发现,峰1、峰2和峰4为共有特征成分。说明这3个成分在化学成分和颜色2个方面都对区分陈皮和蒸陈皮具有贡献,可作为后续研究的重点。

本实验探究了陈皮蒸制前后的颜色差异与化学成分变化的内在联系。据报道,陈皮蒸制后新产生的5-羟基麦芽酚具有抗氧化活性,5-羟甲基糠醛具有改善血液流变学、抗炎等作用 and 一定的遗传毒性、凋亡作用^[17-19],说明此类反应产物的药效与副作用均需加强研究,并在此基础上考虑是否对这些成分的含量加以控制。目前,饮片的炮制工艺缺乏统一的标准,不同地方炮制规范对同一药材炮制工艺的规定存在较大差异。炮制程度讲求“适中”,“不及”和“太过”都会对饮片质量产生影响,结合本研究的实验结果,建议可将色度值量化后的范围、指标成分及其含量作为炮制规范制定的参考。在此基础上,可进一步开展将色度值用于判断饮片适宜“炮制终点”可行性的质量控制研究,以及筛选饮片炮制过程质量标志物的研究工作,为饮片的临床应用提供依据。

[利益冲突] 本研究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,2020:199-200.
[2] 邓锋,梁蔚阳. 陈皮质量研究进展[J]. 今日药学, 2012,22(10):638-640.
[3] 李皓翔,梅全喜,赵志敏,等. 陈皮广陈皮及新会陈皮的化学成分药理作用和综合利用研究概况[J]. 时珍国医国药,2019,30(6):1460-1463.
[4] 张晓婷,张英,张戴英,等. 陈皮的炮制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(17):267-274.
[5] 孟江,张英,曹晖,等. 中药蒸法的历史沿革分析[J].

- 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(10): 176-183.
- [6] 孟江, 张英, 曹晖, 等. 岭南中药炮制特色探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 193-200.
- [7] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药饮片炮制规范[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2016: 41-42.
- [8] 刘瑞新, 李慧玲, 李学林, 等. 基于电子舌的穿心莲水煎液的掩味效果评价研究[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2240-2245.
- [9] 段金芳, 肖洋, 刘影, 等. 一测多评法与电子眼和电子舌技术相结合优化山茱萸蒸制时间[J]. 中草药, 2017, 48(6): 1108-1116.
- [10] 张晓, 吴宏伟, 于现阔, 等. 基于电子眼技术的穿心莲质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(1): 189-195.
- [11] 刘振东, 兰金旭, 陈随清. HPLC结合电子眼技术分析不同采收期的枸橼药材质量[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(20): 5253-5259.
- [12] 张雪, 李晓庆, 王云, 等. 焦栀子炒制过程中HPLC图谱变化与外观颜色的动态关联研究[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4029-4037.
- [13] 滕秀金, 邱迦易, 曾晓栋. 颜色测量技术[M]. 北京: 中国计量出版社, 2007: 46.
- [14] 王宇卿, 庄果, 张须学, 等. 多元统计分析比较宛艾及31个产地艾叶HPLC指纹图谱[J]. 中成药, 2018, 40(3): 653-658.
- [15] 钱晓东, 周桂芬, 吕圭源. 不同产地当归炮制前后多糖与新产生成分5-HMF和DDMP含量变化规律性研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1320-1323.
- [16] MA Z, YANG Z, LU D, et al. Determination of bioactive components of *Cistanche deserticola* (Roucongong) by high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detectors[J]. Anal Lett, 2014, 47(17): 2783-2794.
- [17] YU X, ZHAO M, LIU F, et al. Identification of 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one as a strong antioxidant in glucose-histidine maillard reaction products[J]. Food Res Int, 2013, 51(1): 397-403.
- [18] 耿放, 王喜军. 5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF)在中药复方中的研究现状及相关药效探讨[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2005, 7(6): 52-56.
- [19] 王梅, 王越欣, 武英茹, 等. 5-羟甲基糠醛在中药加工过程中的变化及药理作用研究概况[J]. 药物评价研究, 2020, 43(11): 2319-2327.

[责任编辑 刘德文]