

电子鼻区分牛膝及其不同炮制品气味的初步研究^Δ

胡婷婷*,张振凌#,张娟,赵丹(河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心,郑州450046)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0384-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.27

摘要 目的:建立区分牛膝及其不同炮制品气味的方法。方法:制备牛膝生品、黄酒炙牛膝、白酒炙牛膝、盐水炙牛膝、清水炙牛膝,并按相应炮制方法制成泛糖牛膝炮制品。采用电子鼻分析上述牛膝及其炮制品气味;数据获取持续时间为200 s,获取周期为1 s,延滞时间为1 080 s,空气流速为150 mL/min,进样体积为2.5 mL,进样速度为500 μL/s,孵化时间为300 s,孵化温度为40 ℃,冲洗时间为120 s,进样器温度为50 ℃,搅动速度为500 r/min。结果:与牛膝生品比较,4种炮制品的气味存在显著差异;盐水炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最近,白酒炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最远。可根据气味的相对距离判断(泛糖)牛膝炮制品的工艺是否相同。结论:电子鼻能够快速区分牛膝及其不同炮制品的气味。

关键词 电子鼻;气味;牛膝;炮制品

Preliminary Study on Distinguishing the Odor of *Achyranthes bidentata* and Its Different Processed Products by Electronic Nose

HU Tingting, ZHANG Zhenling, ZHANG Juan, ZHAO Dan (Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & New Drug Development of Henan Province, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for distinguishing the odor of *Achyranthes bidentata* and its different processed products. METHODS: *A. bidentata*, rice wine processed *A. bidentata*, liquor processed *A. bidentata*, saline processed *A. bidentata* and clean water *A. bidentata* were processed. Floating sugar *A. bidentata* were processed by the method. Electronic nose was used to analyse smell of the products: the data acquisition duration is 200 s, acquisition period was 1 s, the delay time is 1 080 s, the air flow rate is 150 mL/min, the injection volume was 2.5 mL, 500 μL/s injection speed and hatching time is 300 s, the incubation temperature is 40 ℃, the flushing time is 120 s, the injector temperature is 50 ℃, stirring moving speed is 500 r/min. RESULTS: Compared with *A. bidentata*, there was significant difference in the odor of other 4 processed products; saline processed *A. bidentata* showed the nearest relative distance of odor with *A. bidentata*, liquor processed *A. bidentata* showed the largest relative distance of odor with *A. bidentata*. Whether the processing method of (floating sugar) *A. bidentata* was the same can be judged by the relative distance of odor. CONCLUSIONS: Electronic nose can rapidly distinguish the odor of *A. bidentata* and its different processed products of *A. bidentata*.

KEYWORDS Electronic nose; Odor; *Achyranthes bidentata*; Processed product

牛膝,又称怀牛膝,系苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根,其为临床常用的大宗中药,是河南省地道药材,始载于《神农本草经》,列为上品,具有补肝肾、强筋骨、活血逐瘀、引血下行之功效^[1]。根据临床需求,可采用不同工艺将牛膝制成不同炮制品,如白酒炙牛膝、盐水炙牛膝等^[2-3]。目前对牛膝炮制品的鉴别主要依靠经验判断其外观性状,如“本品形如牛膝段,表面色略深,偶见焦斑,微有酒香气”^[4]。传统经验鉴别历史悠久,有其实用、简便的优点,但主要依靠人进行判断,

结果主观性较强、重复性较低。因此,寻求一种快速有效鉴别牛膝不同炮制品的方法势在必行。

电子鼻是利用气体传感器阵列响应图来识别气味的电子系统,可以在几小时、几天、甚至数月的时间内连续、实时监测特定对象的气味状况。其工作原理为当传感器和气味相互作用时会使活性材料的导电性(电阻)发生变化,即为信号^[5]。仪器分析提供了客观的数据,提高了人工分析的可靠性,让风味感官检测和品控成为了客观、可靠、可行的重要手段。电子鼻目前主要应用于食品、茶叶、烟草、环境的检测,在中药材中的应用也逐渐开始普及。气味有望成为鉴别中药材不同炮制品的一项重要可量化指标^[6]。

本研究通过电子鼻对牛膝及其不同炮制品气味进行检验和区分,以期通过该技术能客观描述中药材炮制品外观性状,为其鉴别研究提供一定参考。

1 材料

Δ 基金项目:国家中医药管理局科技基础性工作专项课题(No.2014FY111100-7);河南中医学院研究生科研苗圃工程项目(No.MP2015-86);呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心研究生科研创新基金项目(No.教科技[2013]638号)

* 硕士研究生。研究方向:中药饮片。E-mail:992902083@qq.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药饮片及新药研发。电话:0371-65680970。E-mail:zzlhnzy@126.com

1.1 仪器

FOX4000型电子鼻(法国 Alpha Mos公司);SZ-93型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试剂

黄酒(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司,批号:20150127);食盐(河南省卫群多品种盐有限公司,批号:1412041701942539);沁源酒府型白酒(焦作市易生元酒业股份有限公司,批号:20090629,于实验室放置2年,度数:45°);水为纯化水。

1.3 药材

牛膝药材购自于河南省武陟县大丰乡驾步四村(商品规格为当年生头肥),经河南中医药大学学生药学教研室陈随清教授鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 牛膝炮制品的制备

参照文献[7],将牛膝药材切成3 mm厚片,于60℃下烘干制成饮片,备用。

2.1.1 牛膝生品 取牛膝饮片,筛去碎屑,即得^[8]。

2.1.2 黄酒炙牛膝 取牛膝饮片100 g,加黄酒10 g,闷润1 h后炒15 min,即得^[8]。

2.1.3 白酒炙牛膝 取牛膝饮片100 g,加白酒10 g,闷润1 h后炒15 min,即得^[8]。

2.1.4 盐水炙牛膝 取牛膝饮片100 g,加盐水(含量:20%)10 g,闷润1 h后炒15 min,即得^[8]。

2.1.5 清水炙牛膝 取牛膝饮片100 g,加水10 g,闷润1 h后炒15 min,即得^[8]。

2.1.6 泛糖牛膝 取牛膝饮片于高温高湿(温度:40℃,湿度:75%)条件下放置1个月,得颜色发黑、变黏的牛膝饮片即为泛糖牛膝饮片^[9],按“2.1.1”~“2.1.5”项下炮制方法制成泛糖牛膝炮制品,详见表1。

表1 牛膝炮制品编号

Tab 1 Number of *A. bidentata* processed products

编号	样品	编号	样品
A	牛膝生品	B	泛糖牛膝
A1	黄酒炙牛膝	B1	清水炙泛糖牛膝
A2	白酒炙牛膝	B2	白酒炙泛糖牛膝
A3	盐水炙牛膝	B3	黄酒炙泛糖牛膝
A4	清水炙牛膝	B4	盐水炙泛糖牛膝

2.2 检测条件的选择

通过对牛膝生品响应曲线(见图1,每条曲线代表1个传感器在200 s内的响应值变化)分析,检测条件优化尽可能使样品的响应曲线处于0.3~0.8范围内。最终获得电子鼻参数包括两部分:分析参数(数据获取持续时间:200 s,获取周期:1 s,延滞时间:1 080 s,空气流速:150 mL/min,进样体积:2.5 mL,进样速度:500 μL/s)和自动进样器参数(孵化时间:300 s,孵化温度:40℃,冲洗时间:120 s,进样器温度:50℃,搅动速度:500 r/min)。电

子鼻含有3个高效传感器室,共18根传感器(Sensors chamber 1:LY2、LG、LY2/G、LY2/AA、LY2/GH、LY2/gCTI; Sensors chamber 2:T30/1、P10/1、P10/2、P40/1、T70/2、PA/2; Sensors chamber 3:P30/1、P40/2、P30/2、T40/2、T40/1、TA/2),即每个样品有18组数据。

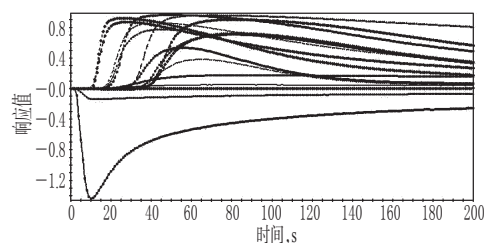


图1 牛膝生品电子鼻传感器响应曲线

Fig 1 Electronic nose sensor corresponding curve of *A. bidentata*

2.3 重复性试验

取牛膝生品及其炮制品平行测定3次,记录传感器响应值。结果,各传感器响应值的RSD均<3%,表明数据稳定可靠。

2.4 牛膝炮制品主成分(PCA)分析

通过电子鼻传感器响应值可得1个矩阵,该矩阵是以牛膝不同炮制品作为矩阵的行,以电子鼻传感器响应曲线中的响应值作为矩阵的列,利用该矩阵即可进行PCA分析,详见图2。图2中PCA区分指数(Differentiation Index, DI)为95,区分指数框为绿色,表明区分有效。第一PCA(PC1)的累积贡献率为96.167%,PC1和第三PCA(PC3)的累积贡献率之和为99.894%,表明牛膝不同炮制品气味的差异主要由PC1决定。

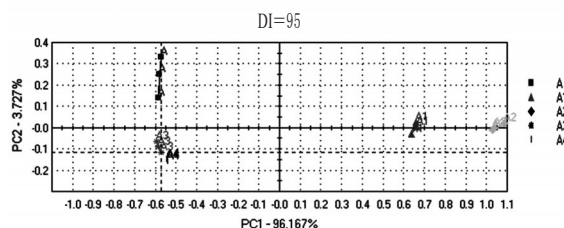


图2 牛膝炮制品气味PCA图

Fig 2 PCA of processed products of *A. bidentata*

由图2可知,牛膝生品与其不同炮制品比较,气味存在显著差异;4种牛膝不同炮制品也存在一定差异,说明炮制工艺对药材气味有显著影响。

DI是电子鼻区分样品程度的表征,由下列公式计算而来^[10]:(1)当组群之间没有叠加时,DI为正值。DI=100×(1-每个组群空间面积的总和/包容所有组群的总空间面积)。(2)当组群之间有叠加时,DI为负值,表明样品之间不能完全区分。DI=-100×(组群叠加部分空间面积的总和/包容所有组群的总空间面积)。DI的最大值为100;80~100表明有效区分,其值越大,区分越好。

根据图2得出牛膝不同炮制品气味的相对距离(见表2),相对距离越近,则气味越相近,反之亦然。结果表明,盐水炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最近(0.33),即其气味与牛膝最相近;白酒炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最远(1.65),即其气味与牛膝生品差别最大。

表2 牛膝炮制品气味的相对距离

Tab 2 The relative distance of processed products of

A. bidentata

样品编号	参考样品	相对距离
A3	A	0.33
A4	A	0.40
A1	A	1.26
A2	A	1.65

载荷图中传感器上的响应值可代表各样品的特征用以识别不同样品。从牛膝不同炮制品的载荷图(见图3)可看出每个样品在18根传感器中响应值不同。

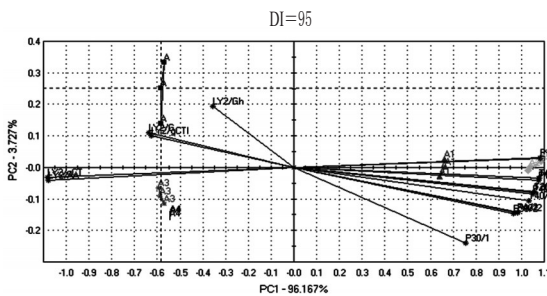


图3 牛膝炮制品载荷图

Fig 3 Loading diagram of processed products of *A. bidentata*

2.5 泛糖牛膝炮制品PCA分析

泛糖牛膝炮制品PCA分析见图4。由图4可见,PC1和PC2的累积贡献率之和达到了99.517%(80%以上即可代表样品的大部分信息),表明该图能很好地反映样品的实际情况,样品在PCA图上的DI达到97,表明电子鼻能区分全部样品。根据PCA图中的相对距离远近可以看出,A2与B2、A1与B3、A3与B4、A4与B1的相对距离较近,与表1的样品信息吻合,进一步也说明了无论是泛糖牛膝还是牛膝都可以根据综合气味的相对距离来判断是否为相同工艺炮制。

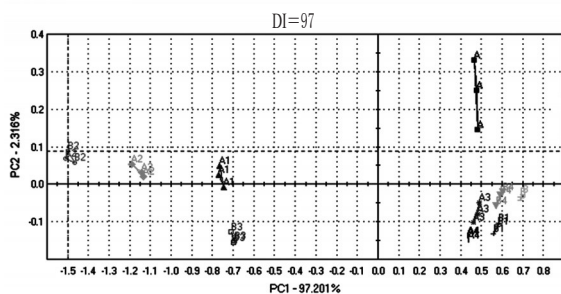


图4 泛糖牛膝炮制品PCA图

Fig 4 PCA of processed products of floating sugar *A. bidentata*

3 讨论

相比于传统气味鉴别方法,电子鼻技术具有样品无需前处理、无污染、分析速度快、结果准确等优点,不足之处就是对牛膝与泛糖牛膝的具体成分区分及成分的定量分析时,仍需要联合气相色谱仪进一步结合大量试验数据和训练电子鼻建立数据库,才能更好地应用于中药不同炮制品的具体区分^[10]。

由本试验结果可知,与牛膝生品比较,4种牛膝炮制品的气味存在显著差异:盐水炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最近,白酒炙牛膝与牛膝生品气味的相对距离最远;并且可根据气味的相对距离判断(泛糖)牛膝炮制品工艺是否相同。

随着中医药现代化的发展,中医药理论基础下的传统中药鉴别、配伍以及炮制等多方面的经验亟需现代科学技术进行验证,以充分证明传统中药辨药、用药经验的正确性与合理性。电子鼻的诞生刚好适应了中医药现代化的发展需求。就目前的使用状况而言,电子鼻仅处于识别不同炮制品的初级阶段,而对于不同炮制品的定量分析进而鉴别出最佳炮制工艺的较高级阶段,还需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 廖彭莹,王东,杨崇仁,等. 苋科牛膝资源植物的化学成分研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(14): 2019-2021.
- [2] 罗懿妮,林华,林丽薇. 正交试验优选酒牛膝微波炮制工艺[J]. 中药材, 2014, 37(8): 1353-1355.
- [3] 姜海,匡海学,王秋红,等. 牛膝盐炙前后化学成分研究[C]//中华中医药学会中药炮制分会2011年学术年会论文集, 2011: 320-323.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 72.
- [5] 孔繁瑶,邵露,胡慧华. 应用电子鼻方法区分不同产地豨莶草[J]. 中国药房, 2014, 25(19): 1793-1795.
- [6] 杜瑞超,冯怡,徐德生,等. 电子鼻技术及其在中药行业中的应用前景[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 348-351.
- [7] 芦锰,王一硕,张振凌. 牛膝饮片切片工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2817-2820.
- [8] 张振凌,陈红,王一硕,等. 正交设计法研究牛膝酒炙工艺[J]. 中成药, 2010, 32(2): 247-249.
- [9] 张爱婷,王一硕,张振凌,等. 牛膝、酒牛膝饮片色度的研究及限度标准的建立[J]. 中医学报, 2010, 25(4): 689-691.
- [10] 薛婷,岳进,邓云,等. 不同烘烤度橡木片陈酿葡萄酒的电子鼻快速区分[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2014, 32(3): 45-48.

(收稿日期:2016-04-27 修回日期:2016-07-15)

(编辑:张静)