

基于电子鼻技术的白术气味与内酯类成分的相关性研究

梅桂林^{1,2}, 陈娜^{1,2}, 姚洁^{1,2}, 夏成凯^{1,2}, 方成武³

(1. 亳州职业技术学院, 安徽 亳州 236800; 2. 安徽中医药科学院 亳州中医药研究所, 安徽 亳州 236800;
3. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230012)

摘要:为了对白术药材的气味信号值与内酯类成分含量进行相关性分析,为白术药材品质的快速评价提供依据。利用电子鼻技术对白术药材粉末进行气味检测,高效液相色谱法测定白术药材中白术内酯 I、II、III 含量,利用统计软件对电子鼻信号值与三种化学成分含量进行相关性分析。结果显示,电子鼻传感器 W3S 与白术内酯 I 的含量具有显著相关性,传感器 W5S 与白术内酯 II 的含量显著相关。因此,通过电子鼻 W5S 与 W3S 传感器信号值可快速判定白术药材中白术内酯 II 与白术内酯 I 的含量,为白术性状鉴别的标准化与现代化提供依据,电子鼻技术可作为快速鉴别白术品质的新方法加以开发利用。

关键词:白术;电子鼻;高效液相色谱法;相关性分析

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1009-9735(2020)05-0081-05

白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎,为常用大宗中药,始载于《神农本草经》,被列为上品。白术性温、味甘,入脾、胃二经,具有健脾益气、燥湿利水、固表止汗、安胎之功效^{[1](P103-104)}。现代医学研究证明白术具有调节肠胃运动,增强免疫及抗肿瘤等作用^[2-3]。白术主要有效成分为挥发油和多糖,挥发油中主要成分为苍术酮、苍术醇及内酯类成分等^[4-6]。近年来,基于质量标志物的概念,有学者通过白术化学成分生源途径及成分特异性分析、药效、药性和药动学研究综合推断其药效物质基础,推测其可能的质量标志物,确定白术内酯 I、II、III 成分为白术质量标志物^[7-9]。

气味是中药重要的性状特征,也是传统用于推断药物性质的基本依据,随着对中药质量研究的深入,化学成分被证实为中药防病治病的物质基础,中药气味特征与所含化学成分密切相关,能直接反映其内在质量^[10]。白术的传统经验鉴别中特别重视“气味”的差异。但传统经验鉴别不可避免地会受到主观差异的影响,且描述比较简单,客观性和准确性难以保证,很难对其进一步传承、发展和应用。

仿生电子鼻技术模拟人体嗅觉系统,能快速准确地检测分析混合气体,液体或固体样品,灵敏度高,重

现性好,现已广泛应用于中药质量控制的各个阶段^[11-14]。目前有关白术药材电子鼻检测与内酯类成分的相关性研究尚未见文献报道,本实验运用电子鼻技术实现白术药材气味的数字化表达,并与白术内酯类成分的含量进行相关性分析,以实现对白术药材品质的快速鉴别,为白术气味性状标准化建立提供依据。

1 实验器材

1.1 仪器

安捷伦 1260 高效液相色谱仪(美国);电子鼻系统(PEN3,德国 AIRSENSE);101-E 型电热鼓风干燥箱(上海科恒实业发展有限公司);WB500UC 型数控超声波清洗器(上海望标仪器有限公司);奥豪斯电子天平 DV215CD(美国);Direct-Q 5UV 超纯水机;高速粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂);标准筛(新乡市金禾有限公司)。

* 收稿日期:2020-03-26

基金项目:亳州职业技术学院重点科研项目(BYK1708);安徽省科技重大专项(16030801113);安徽省自然科学基金项目(KJ2019A1175)。

作者简介:梅桂林(1985-),女,安徽寿县人,助教,硕士,研究方向:中药资源与质量控制。

1.2 材料

白术内酯 I, 白术内酯 II, 白术内酯 III 对照品(成都普菲生物技术有限公司, 批号: 18101804 18022606 18082201); 乙腈(美国), 甲醇(美国), 实验用水均使用超纯水。实验用药材于 2019 年 11 月采集于安徽太和、亳州谯城区十八里、大杨、十九里、魏岗等乡镇, 具体样品信息见表 1, 所有样品经安徽中医药大学方成武教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的根茎。

表 1 白术样品信息

编号	产地	药材规格	编号	产地	药材规格
S1	太和县	两年生	S11	十九里镇	两年生
S2	太和县	两年生	S12	十九里镇	两年生
S3	太和县	两年生	S13	十八里	两年生
S4	十八里	两年生	S14	十八里	两年生
S5	十八里	两年生	S15	十八里	两年生
S6	十八里	两年生	S16	十八里	两年生
S7	大杨镇	两年生	S17	十八里	两年生
S8	大杨镇	两年生	S18	十八里	两年生
S9	大杨镇	两年生	S19	魏岗镇	两年生
S10	十九里镇	两年生	S20	魏岗镇	两年生

2 实验方法

2.1 白术内酯类成分检测

2.1.1 对照品溶液的制备

分别精密称取白术内酯 I, 白术内酯 II, 白术内酯 III 对照品 0.01029 g、0.00995 g、0.00986 g 置于 10 mL 容量瓶中, 加适量甲醇溶解, 分别定容至 10 mL, 制成浓度分别为 1.029 g/L、0.995 g/L、0.986 g/L 的单一对照品储备液; 分别精密量取对照品储备液 1 mL 于 25 mL 容量瓶中, 定容得到混合对照品溶液, 其中白术内酯 I, 白术内酯 II, 白术内酯 III 的浓度分别为 0.04116 g/L、0.0398 g/L、0.03944 g/L。

2.1.2 供试品溶液的制备

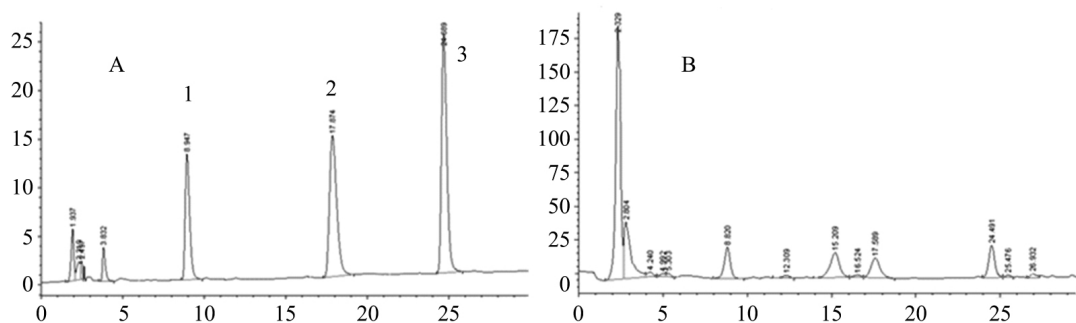
白术药材粉碎过 80 目筛, 精密称定白术粉末 0.5 g, 置于 50 mL 的具塞锥形瓶中, 用移液管精密量取 25 mL 甲醇于锥形瓶中并称重记录, 适当振摇加速溶解。将锥形瓶置于超声波清洗仪超声 1 h。待锥形瓶中溶液冷却后称重, 滴加甲醇以补足超声过程中挥发的量。将超声后的溶液用滤纸过滤, 滤液置于另一 50 mL 的具塞锥形瓶中, 再使用 0.45 μm 微孔滤膜滤过置于进样瓶中, 备用。

2.1.3 色谱条件

色谱柱: 碳十八柱(5 μm, 250 mm×4.6 mm); 流动相: 乙腈(A)和水(B)洗脱; 梯度洗脱程序: 0 至 15 min: B—45%、A—55%; 15 至 30 min: B—20%、A—80%; 检测波长: 0 至 19 min: 波长 220 nm; 19 至 20 min: 波长 276 nm; 20 至 30 min: 波长 276 nm。其中白术内酯 I、白术内酯 III 检测波长为 220 nm, 白术内酯 II 的检测波长为 276 nm。进样量: 20 μL; 流速: 1.0 μL/min; 柱温: 30 °C。

2.1.4 线性关系考察

精密量取不同体积的混合对照品溶液于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 配制成一系列不同浓度梯度的白术内酯 I, 白术内酯 II, 白术内酯 III 的混合对照品溶液, 在上述色谱条件下分别进行检测, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得到白术内酯 I, 白术内酯 II, 白术内酯 III 线性回归方程, 分别为 $Y=0.0195x-0.3332$ ($r=0.9994$) $Y=0.0146x-0.1006$ ($r=0.9985$); $Y=0.0195x-0.3332$ ($r=0.9995$)。白术内酯 I, 白术内酯 II 和白术内酯 III 分别在 0.00014116 mg~0.00112928 mg、0.0000398 mg~0.0003184 mg、0.00003944 mg~0.00031552 mg 范围内线性良好。



(1: 白术内酯 III; 2: 白术内酯 II; 3: 白术内酯 I)

图 1 A: 对照品白术内酯 I, II, III 的 HPLC 色谱图; B: 白术样品 HPLC 色谱图

2.1.5 精密度考察

按照上述色谱条件,将混合对照品溶液重复进样 5 次,每次进样量为 20 μ L,白术内酯 I,白术内酯 II,白术内酯 III 的含量 RSD 值分别为:0.4%、0.3%、0.5%。表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性实验

取同一批次白术药材粉末,精密称定 5 份,每份为 0.5 g,按照 2.1.2 项下方法制得供试液,按上述色谱条件检测,测得 5 次白术内酯 I,白术内酯 II,白术内酯 III 含量的 RSD 值分别为:2.5%、3.2%、2.8%,实验重复性良好。

2.1.7 稳定性试验

将上述白术供试品溶液,分别在第 0、2、4、6、8、10、24 小时后进样检测,测得白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 的含量的 RSD 值分别为:2.1%、1.9%、2.9%,可见供试品溶液在 24 内稳定性良好。

2.2 白术气味检测

2.2.1 供试品制备

将白术药材打粉后过 80 目筛,精密称取 2 g 白术粉末,置于同规格顶空进样瓶内,室温 25 $^{\circ}$ C 条件下孵化 10 min,测量时用电子鼻进样针针头插入进样瓶中固定位置,进行样品气味信号采集,每个样品重复测定 3 次,记录 120 s 时的信号值,取平均值。

2.2.2 检测条件

通过预实验确定最佳仪器检测参数,建立最优检测方法:室温 25 $^{\circ}$ C,称样量 2 g,空气流速 300 mL/min,数据获取持续时间 120 s,清洗时间 100 s。

2.2.3 电子鼻精密度考察

PEN3 型电子鼻有 10 根金属传感器,其编号及敏感成分为:W1C 对芳香成分敏感,W5S 对氮氧化物敏感,W3C 对氨水、芳香成分敏感,W6S 对氢气

有选择性,W5C 对烷烃、芳香成分敏感,W1S 对甲烷敏感,W1W 对含硫氧化物敏感,W2S 对乙醇敏感,W2W 对芳香成分及有机硫化物敏感,W3S 对烷烃类敏感。电子鼻输出的检测信号是 10 条不同颜色曲线,以采样时间为横坐标,响应信号值为纵坐标,标示出 10 根传感器在响应时间 120 s 内的信号变化,见图 2,为考察仪器精密度,对同一样品重复测定 6 次,结果显示各传感器响应值 RSD < 2.0%,说明仪器精密度良好。

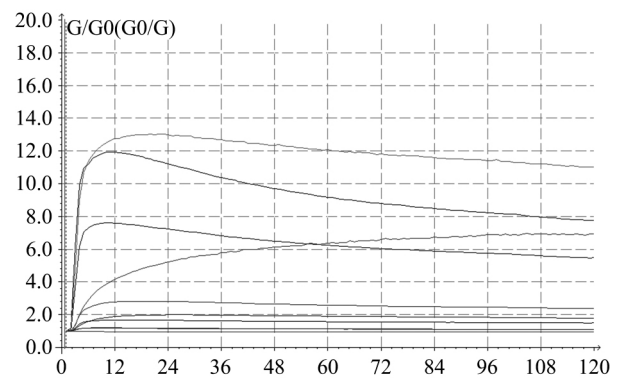


图 2 白术样品电子鼻信号曲线

3 结果与分析

3.1 实验结果

按照上述 2.1 项下实验条件对白术样品中白术内酯 I、白术内酯 II 和白术内酯 III 的含量检测结果见表 2;按照上述 2.2 项下实验条件对白术样品的气味检测信号值见表 3。

3.2 相关性分析

利用 SPSS19.0 软件对白术气味电子鼻信号值与白术内酯类成分含量进行相关性分析,采用双变量 pearson 分析法,结果见表 4。

表 2 白术样品中白术内酯类成分检测结果 (%)

编号	白术内酯 I	白术内酯 II	白术内酯 III	编号	白术内酯 I	白术内酯 II	白术内酯 III
S1	0.51	0.27	0.76	S11	0.48	0.29	0.74
S2	0.39	0.26	0.60	S12	0.68	0.43	0.81
S3	0.31	0.27	0.55	S13	0.62	0.46	0.85
S4	0.55	0.39	0.78	S14	0.48	0.39	0.65
S5	0.63	0.42	0.78	S15	0.72	0.26	1.01
S6	0.50	0.41	0.80	S16	0.66	0.44	1.33
S7	0.94	0.42	1.72	S17	0.81	0.41	1.31
S8	0.57	0.37	0.81	S18	0.52	0.43	1.02
S9	0.53	0.38	0.79	S19	0.84	0.41	1.04
S10	0.57	0.31	0.73	S20	0.75	0.32	0.98

表 3 白术样品气味的电子鼻信号值(R)

编号	W1C	W5S	W3C	W6S	W5C	W1S	W1W	W2S	W2W	W3S
S1	1.192	4.310	1.254	1.123	1.052	2.163	11.266	1.151	9.381	1.037
S2	1.103	2.404	1.168	1.132	1.028	1.159	9.362	1.033	7.046	0.916
S3	1.078	2.788	1.146	1.128	1.017	1.455	9.228	1.008	6.345	0.928
S4	1.221	3.803	1.22	1.129	1.042	2.278	9.021	1.207	8.021	1.025
S5	1.195	5.281	1.24	1.152	1.044	2.295	10.178	1.141	8.896	1.005
S6	1.127	4.073	1.216	1.130	1.031	1.633	10.625	1.020	9.113	0.896
S7	1.146	3.976	1.200	1.135	1.037	1.197	9.311	1.096	7.651	1.010
S8	1.090	3.240	1.197	1.126	1.032	1.537	9.281	0.998	8.115	0.909
S9	1.164	3.407	1.198	1.160	1.035	1.843	9.963	1.105	7.801	0.974
S10	1.169	3.825	1.257	1.143	1.043	1.830	11.108	1.083	9.709	0.957
S11	1.142	3.996	1.203	1.140	1.038	1.692	8.918	1.057	8.294	0.928
S12	1.238	4.173	1.244	1.133	1.043	2.158	12.962	1.171	9.115	0.998
S13	1.264	4.842	1.281	1.200	1.047	2.337	14.387	1.218	10.943	1.063
S14	1.156	3.336	1.224	1.141	1.036	1.844	10.669	1.085	8.687	0.938
S15	1.155	3.247	1.181	1.143	1.032	1.887	9.519	1.125	7.083	1.020
S16	1.144	6.129	1.238	1.147	1.041	2.069	10.990	1.123	9.483	1.048
S17	1.103	3.270	1.242	1.25	1.044	1.729	9.338	1.025	8.716	0.951
S18	1.118	3.451	1.220	1.162	1.033	1.689	11.494	1.051	8.646	0.969
S19	1.174	3.243	1.209	1.118	1.038	1.941	9.343	1.121	7.495	1.002
S20	1.126	2.917	1.160	1.086	1.022	1.699	8.587	1.084	6.248	0.995

表 4 相关性分析结果

编号	W1C	W5S	W3C	W6S	W5C	W1S	W1W	W2S	W2W	W3S
白术内酯 I	0.210	0.181	0.187	0.152	0.287	0.095	-0.064	0.281	0.004	0.480*
白术内酯 II	0.262	0.520*	0.275	0.306	0.241	0.312	0.205	0.304	0.214	0.409
白术内酯 III	-0.072	0.269	0.106	0.255	0.177	-0.155	-0.101	0.059	0.015	0.393

* 在 0.05 级别(双侧),相关性显著。

由表 4 结果可知,除了 W1W 传感器以外,其余 9 个传感器与白术内酯 I 的含量呈正相关,其中白术内酯 I 与 W3S 传感器信号值相关性达到显著性水平,说明 W3S 传感器信号值越高,样品中白术内酯 I 的含量越高;白术内酯 II 含量与 10 个传感器信号值均成正相关,其中与 W5S 传感器信号值相关性达到显著性水平,说明 W5S 传感器信号值越高,样品中白术内酯 II 含量越高;白术内酯 III 与 10 个传感器的相关性均未达到显著性水平。

4 讨论

性状与化学成分含量是评价中药品质的两个重要指标,目前在中药的气味分析方面依然以传统的人工鉴别为主,缺乏客观指标,无法进行中药性状的标准化建设。电子鼻技术可实现中药的“气味”特征数

字化表达,检测速度快、灵敏度高。本实验采用仿生电子鼻技术,实现了白术“气味”特征的数字量化表达;并对白术气味电子鼻信号值与白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III 的含量进行了相关性分析。结果表明,W3S 与 W5S 传感器信号值分别与白术内酯 I、白术内酯 II 的含量呈显著正相关,传感器响应值越高,样品中对应的内酯类成分含量越高。因此通过电子鼻 W5S 与 W3S 传感器信号值可快速判定白术样品中白术内酯 II 与白术内酯 I 的含量,为白术性状鉴别的标准化与现代化提供依据,电子鼻技术可作为快速鉴别白术品质的新方法加以开发利用。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

- [2]李伟,文红梅,崔小兵,等.白术健脾有效成分研究[J].南京中医药大学学报,2006,22(6):366-367.
- [3]王涵,杨娜,谭静,等.白术化学成分、药理作用及临床应用的研究进展[J].甘肃医药,2018,37(1):23-26.
- [4]崔庆新,董岩,王怀生.白术挥发油化学成分的GC/MS分析[J].药物分析杂志,2006,26(1):124-126.
- [5]龙全江,徐雪琴,胡昀.白术的化学、药理与炮制研究进展[J].中国中医药信息杂志,2004,11(11):1033-1034.
- [6]丁采苒.白术及其提取物免疫调节功能和机制研究[D].开封:河南大学(硕士学位论文),2016.
- [7]刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9):1443-1457.
- [8]姚兆敏,陈卫东,仰忠华,等.白术研究进展及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J].中草药,2019,50(19):4796-4807.
- [9]许海玉,候文彬,李珂,等.基于整合药理学的中药质量标志物发现与应用[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(6):1-8.
- [10]张程荣,曹岗,丛晓东,等.白术化学成分和质量控制研究进展[J].中华中医药杂志,2011,26(10):2328-2331.
- [11]崔治家,夏鹏飞,张启立,等.电子鼻技术区分不同产地不同采收时间不同处理方法的枸杞子研究[J].时珍国医国药,2019,30(9):2163-2166.
- [12]许舜军,杨柳,谢培山,等.中药气味鉴别的研究现状与展望[J].中药新药与临床药理,2011,22(2):228-231.
- [13]彭华胜,程铭恩,张玲,等.基于电子鼻技术的野生白术与栽培白术气味比较[J].中药材,2010,4(33):503-506.
- [14]韩邦兴,赵杨阳,朱志祥,等.基于电子鼻技术的不同产地大白菊鉴别研究[J].现代中药研究与实践,2012,26(1):16-18.

Correlation between the Odor of *Atractylodes Macrocephala* and Lactones based on Electronic Nose Technology

MEI Guilin^{1,2}, CHEN Na^{1,2}, YAO Jie^{1,2}, XIA Chengkai^{1,2}, FANG Chengwu³

(1. Bozhou Vocational and Technical College, Bozhou Anhui 236800, China;

2. Bozhou Institute of Chinese Medicine, Anhui Academy of Chinese Medicine, Bozhou 236800, China;

3. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

Abstract: Objective: To analyze the correlation between the odor signal value and lactone content of *Atractylodes macrocephala* by electronic nose technology, so as to provide the basis for the rapid evaluation of the quality of *Atractylodes macrocephala*. Methods: The odor of Baizhu powder was detected by electronic nose technology, and the contents of Baizhu lactone I, II and III were determined by HPLC. The correlation between the signal value of electronic nose and the contents of three chemical components was analyzed by statistical software. Results: There was a significant correlation between w3s and atractylode I, w5s and atractylode II. Conclusion: The signal value of w5s and w3s sensors can be used to determine the content of atractylode II and atractylode I in *Atractylodes macrocephala*, and provide basis for standardization and modernization of *Atractylodes macrocephala* character identification. The electronic nose technology can be used as a new method to identify the quality of *Atractylodes macrocephala*.

Key words: *Atractylodes macrocephala*; electronic nose; HPLC; correlation analysis