

基于5-羟甲基糠醛和外观色差判别新会陈皮的陈化方式研究

陈明权, 商雪莹, 张怀, 何风雷, 覃仁安

(广州白云山陈李济药厂有限公司, 广东广州 510288)

摘要:【目的】建立一种新会陈皮陈化方式的判别方法。【方法】以不同来源、不同陈化年份、不同处理方式等49批陈皮样品为研究对象。根据陈皮高温加速陈化会发生Maillard反应的特点, 建立灵敏度高、重复性好的高效液相色谱(HPLC)-QDa质谱检测器联用测定5-羟甲基糠醛含量的方法; 制定可以有效判别出高温加速陈化陈皮的5-羟甲基糠醛含量限度; 在此基础上, 引入色差分析仪对陈皮外观色泽进行客观的数据量化, 分析非高温加速样品的总色差值 ΔE 变化范围, 制定可以有效判别出煮茶染色加速陈皮的 ΔE 值限度。【结果】不同来源陈皮的5-羟甲基糠醛含量存在明显差异, 其中, 自然陈化陈皮5-羟甲基糠醛含量均 $< 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 高温加速陈化陈皮的5-羟甲基糠醛含量均 $\geq 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 而煮茶染色处理样品的含量也小于 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结合总色度值 ΔE 进一步研究发现, 自然陈化陈皮的 ΔE 值均 > 68 , 而煮茶染色加速陈皮的 ΔE 值均 ≤ 68 。【结论】以双指标5-羟甲基糠醛含量 $\geq 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $\Delta E \leq 68$ 可作为判定加速陈化陈皮的依据。该判定方法同时控制外观色泽及含量限度, 可以准确、客观地对陈皮陈化方式进行判别。

关键词: 新会陈皮; 5-羟甲基糠醛; 外观色差; 加速陈化

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)07-1454-08

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.07.027

Study on Aging Mode of *Xinhui* Pericarpium Citri Reticulatae Based on 5-Hydroxymethylfurfura and Appearance Color

CHEN Ming-Quan, SHANG Xue-Ying, ZHANG Huai,
HE Feng-Lei, QIN Ren-An

(Guangzhou Baiyunshan Pharmaceutical Co. Chenliji, Guangzhou 510288 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for distinguishing the aging mode of Pericarpium Citri Reticulatae from *Xinhui*. **Methods** Forty-nine batches of *Xinhui* Pericarpium Citri Reticulatae with different sources, different aging years and different treatments were set up as object of study. Firstly, a high performance liquid chromatography (HPLC)-QDa mass detector method was developed for the highly selective and sensitive determination of 5-hydroxymethylfurfura content based on high temperature catalyzed effect on Maillard reaction in Pericarpium Citri Reticulatae. The limitation standards of 5-hydroxymethylfurfura content was established as discrimination method for high temperature accelerated aging Pericarpium Citri Reticulatae. On this basis, colorimeter was used to quantify the appearance color of Pericarpium Citri Reticulatae to analyze range of chromatic value ΔE on non-high temperature accelerated samples, and then the limited standards of the ΔE value was established for tea water dyeing accelerated aging Pericarpium Citri Reticulatae. **Results** There were significant differences in 5-hydroxymethylfurfura content among different sources samples. 5-hydroxymethylfurfura content $< 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in naturally aged Pericarpium Citri Reticulatae samples, $\geq 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in high temperature accelerated aging Pericarpium Citri Reticulatae, and $< 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ in tea water dyeing accelerated aging Pericarpium Citri Reticulatae. Combined with ΔE values, it was found that $\Delta E > 68$ in naturally aged Pericarpium Citri Reticulatae samples, while $\Delta E \leq 68$ in tea water dyeing accelerated aging Pericarpium Citri Reticulatae.

收稿日期: 2020-08-26

作者简介: 陈明权(1988-), 男, 硕士, 工程师; E-mail: g729cmq@126.com

通讯作者: 张怀(1982-), 男, 硕士, 工程师; E-mail: 85739378@qq.com

基金项目: 广州市科技计划项目珠江科技新星专题(编号: 201710010122)

Conclusion In this study, the two parameters (5-hydroxymethylfurfura content $\geq 0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and ΔE value ≤ 68) was used to distinguish the accelerated aging of *Xinhui Pericarpium Citri Reticulatae*. The method determination method is effective for simultaneously controlling appearance color and content limitation, for accurately and objectively distinguishing the aging mode of *Xinhui Pericarpium Citri Reticulatae*.

Keywords: *Xinhui Pericarpium Citri Reticulatae*; 5-hydroxymethylfurfura; appearance color; accelerated aging

2020年版《中华人民共和国药典》^[1]规定陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种(如茶枝柑 *Citrus reticulata* ‘Chachi’ 等)的成熟果皮,主要有陈皮、广陈皮2个品种,其中,广陈皮(*Citrus reticulata* ‘Chachi’)主产于广东新会,新会陈皮最为道地^[2]。中医药理论及历代本草论述^[3]中均认为陈皮“陈久者良”,是指陈皮需放置陈化后才能作为药用,且陈化时间越久的陈皮药效越好。广东省地方标准《DB44/T 604-2009 地理标志产品 新会陈皮》定义“陈皮”为在自然陈化环境下保存时间3年或以上的茶枝柑皮^[4]。

目前的陈皮市场中,对于高年份陈皮的追捧一直热度不减,且陈化年份对陈皮的价格具有决定性的影响,不良商贩为了追求高利润采用各种“加速陈化工艺”对新皮进行加速处理,例如将新皮放入电烤箱、洒水湿闷或煮茶染色,以使新皮表皮颜色快速变深用以冒充高年份的陈皮售卖,也导致了“虚假陈化年份”的市场乱象。而对于陈皮年份的鉴定,国家没有统一的标准,基本靠陈皮厂商自律和采购者的经验鉴别,“工艺皮”极大地混淆了陈皮市场。因此,建立鉴别自然陈化陈皮和人工加速陈化陈皮的方法对于维护陈皮市场的良好生态显得尤为重要。

一方面,色泽是鉴定药材最直观的方式,也是陈皮陈化年份的重要判别标志,但是通过肉眼区分色泽的方法缺乏客观性,且不能进行有效推广。鉴于此,本试验引入色差分析仪^[5]对药材的色泽进行数据量化,可以对外观色泽有更加客观的表述。另一方面,大多数中药在炮制或者储存过程中,其色泽均有加深的迹象,绝大多数含有氨基酸及糖类成分的中药,在加热的条件下,会加速 Maillard 反应^[6]的进行。Maillard 反应又称为非酶褐变反应,是指羰基化合物(主要为还原糖类)与氨基化合物(如氨基酸、蛋白质等)之间发生的反应。反应生成多种产物,5-羟甲基糠醛是 Maillard

反应的经典产物。现代研究^[7-10]表明百部、五味子、天冬、大枣等中药材在储藏过程中色泽加深均与5-羟甲基糠醛有直接的相关性,且何首乌^[11]、山茱萸^[12]、白术^[13]在炮制后均产生了5-羟甲基糠醛,说明经过高温处理中药材的5-羟甲基糠醛含量会增加,同时药材色泽也会加深。

本研究以不同来源、不同陈化年份的多批次新会陈皮为研究对象,先建立测定内在指标5-羟甲基糠醛含量的高效液相色谱(HPLC)仪与 QDa 质谱仪联用方法,通过比较不同来源样品中5-羟甲基糠醛的含量,以制定能有效判别“高温加速陈化陈皮”的指标限度。再利用色差仪对判别为“非高温加速陈化陈皮”样品的外观色泽进行客观数据量化。同样,通过比较不同来源样品中总色差值 ΔE 的大小,以制定能有效判别“煮茶染色加速陈皮”的指标限度。最终根据5-羟甲基糠醛与 ΔE 的限度范围,建立一种可靠、客观的陈皮陈化方式的判别方法。同时,本研究可为中药质量评价方法的完善提供一种新的思路与方法。

1 材料

1.1 仪器 NH310 型三恩驰便携式电脑色差仪(深圳市三恩驰科技有限公司); Waters ACQUITY Arc - QDa 高效液相色谱-质谱联用仪及 Empower 3 软件处理器, X Select[®] HSS T3 色谱柱(2.5 μm , 3.0 \times 150 mm)(美国沃特世公司); XPR 26/A 百万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Sartorius BS110S 万分之一电子天平、TGL-15B 离心机(上海安亭科学仪器厂); Milli-Q Reference 纯水机(法国 Millipore 公司); SB-5200 DT 超声波清洗仪(宁波新芝生物科技股份有限公司); WXJ 型粉碎机(上海凯旋中药机械制造有限公司)。

1.2 试剂 5-羟甲基糠醛对照品(纯度 $\geq 98\%$, 中国广州分析测试中心科力技术开发公司产品,批号:19060403); 色谱级甲醇(德国 Merck 公司);

超纯水、色谱级甲酸(纯度 > 98%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.3 试验样品 本研究的49个试验样品, 分别为定向采购样品(编号: D1~D15), 市售样品(编号: S16~S26), 新会产区购置样品(编号: C27~C30), 基地采集自然陈化至今的样品(编号: J31~J41、J45), 以及自制加速陈化陈皮样品(编号: W42~W44、W46~W48, R49), 其中自制加速陈化陈皮样品的处理方式: (1)将2007年11月采集的大红皮(J41, 自然陈化)分别制成不同的自制加速陈化样品: ①高温110℃、高湿加速陈化(W42); ②高温130℃加速陈化30 min(W43);

③高温150℃加速陈化30 min(W44)。(2)将2007年10月采集的青皮(J45, 自然陈化)制成不同的自制加速陈化样品: ①高温110℃、高湿加速陈化(W46); ②高温130℃加速陈化30 min(W47); ③高温150℃加速陈化30 min(W48)。(3)将2003年当年新皮用煮开的普洱茶水浸泡染色并晾干, 自制成煮茶染色加速样品(R49)。

以上样品均经广州中医药大学中药鉴定教研室主任黄海波副教授鉴定为芸香科植物茶枝柑 *Citrus reticulata* 'Chachi' 的果皮。样品具体信息见表1。

表1 新会陈皮样品信息表

Table 1 Information of *Xinhui* Pericarpium Citri Reticulatae samples

编号	获得途径	来源	采集时间	陈化方式	陈化年份(年)
D1	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	6
D2	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	9
D3	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	11
D4	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	12
D5	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	14
D6	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	15
D7	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	20
D8	定向采购	江门市新会区柑满园食品有限公司	—	自然陈化	33
D9	定向采购	江门市蓬江区高品农业发展有限公司	—	自然陈化	6
D10	定向采购	江门市蓬江区高品农业发展有限公司	—	自然陈化	12
D11	定向采购	江门市蓬江区高品农业发展有限公司	—	自然陈化	16
D12	定向采购	江门市蓬江区高品农业发展有限公司	—	自然陈化	21
D13	定向采购	江门市新会区新宝堂陈皮有限公司	—	自然陈化	9
D14	定向采购	江门市新会区新宝堂陈皮有限公司	—	自然陈化	11
D15	定向采购	江门市新会区会城茶坑村银洲围 新会陈皮村 A32 铺	—	自然陈化	8
S16	市售	陈皮专营店1	—	—	13
S17	市售	陈皮专营店1	—	—	11
S18	市售	陈皮专营店2	—	—	6
S19	市售	陈皮专营店2	—	—	8
S20	市售	陈皮专营店2	—	—	10
S21	市售	陈皮专营店2	—	—	12
S22	市售	陈皮专营店3	—	—	30
S23	市售	陈皮专营店3	—	—	17
S24	市售	陈皮专营店3	—	—	26
S25	市售	陈皮专营店4	—	—	19
S26	市售	陈皮专营店4	—	—	36
C27	新会产区购置	广东省江门市新会区三江镇	—	自然陈化	21
C28	新会产区购置	广东省江门市新会区古井镇	—	自然陈化	28
C29	新会产区购置	广东省江门市新会区天六镇	—	自然陈化	33
C30	新会产区购置	广东省江门市新会区古井镇	—	自然陈化	39
J31	基地采集	22°23'25"N, 113°7'15"E	2017.11	自然陈化	2

(续表1)

编号	获得途径	来源	采集时间	陈化方式	陈化年份(年)
J32	基地采集	22°20'00"N, 113°6'44"E	2017.11	自然陈化	2
J33	基地采集	22°28'49"N, 113°3'10"E	2016.11	自然陈化	3
J34	基地采集	22°19'59"N, 113°6'42"E	2016.10	自然陈化	3
J35	基地采集	22°23'25"N, 113°7'15"E	2015.10	自然陈化	4
J36	基地采集	22°20'00"N, 113°6'44"E	2015.10	自然陈化	4
J37	基地采集	22°28'49"N, 113°3'12"E	2015.10	自然陈化	4
J38	基地采集	22°20'00"N, 113°6'44"E	2014.11	自然陈化	5
J39	基地采集	22°23'25"N, 113°7'16"E	2014.11	自然陈化	5
J40	基地采集	22°28'53"N, 113°3'09"E	2014.11	自然陈化	5
J41	基地采集大红皮	22°28'49"N, 113°3'10"E	2017.11	自然陈化	2
W42	高温加速处理	—	—	J41 高温(110 ℃)、 高湿加速陈化	2
W43	高温加速处理	—	—	J41 高温(130 ℃) 加速陈化 30 min	2
W44	高温加速处理	—	—	J41 高温(150 ℃) 加速陈化 30 min	2
J45	基地采集青皮	22°20'0"N, 113°6'44"E	2017.10	自然陈化	2
W46	高温加速处理	—	—	J45 高温(110 ℃)、 高湿加速陈化	2
W47	高温加速处理	—	—	J45 高温(130 ℃) 加速陈化 30 min	2
W48	高温加速处理	—	—	J45 高温(150 ℃) 加速陈化 30 min	2
R49	煮茶染色处理	—	—	将2003年当年新皮用煮开的 普洱茶水浸泡染色并晾干	17

注：“—”代表信息不详。编号代码D1~D15为定向采购样品，S16~S26为市售样品，C27~C30为新会产区购置样品，J31~J41、J45为基地采集样品，W42~W44、W46~W48为高温加速陈化样品，R49为煮茶染色加速样品。(编号代码字母由“样品来源代码”+“样品序号”构成)

2 方法与结果

2.1 5-羟甲基糠醛含量测定

2.1.1 HPLC 及质谱条件 HPLC 色谱条件：Waters X Select® HSS T3 色谱柱(2.5 μm, 3.0 mm × 150 mm)；以甲醇-0.1%甲酸水为流动相进行梯度洗脱，洗脱程序：2%~8%甲醇(0~12 min)，8%~10%甲醇(12~20 min)；流速0.5 mL·min⁻¹；柱温35 ℃；进样量：1 μL。

质谱条件：采用负离子模式。质谱参数设置：采用电喷雾离子源(ESI 源)，离子源温度(Probe)为600 ℃；正离子检测，选择性离子监测(SIM)；毛细管电压0.8 kV，锥孔电压15 V，以质荷比(*m/z*)127.04为测定离子(5-羟甲基糠醛)。

2.1.2 标准品溶液的制备 精密称取对照品5-羟甲基糠醛 20 mg，置于100 mL容量瓶中，加入

10% 甲醇充分溶解并稀释至刻度线作为储备液，储存于4 ℃冰箱中。

2.1.3 供试品溶液的制备 取陈皮样品粉末0.5 g(过65目筛)，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入25 mL 10%甲醇，称质量，超声处理45 min(功率300 W，频率40 kHz)；放冷后称质量，用10%甲醇补足质量；离心10 min(10 000 r·min⁻¹，离心半径3.5 cm)，取上清，过0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.1.4 专属性考察 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和溶剂(10%甲醇，空白样品)各1 μL，注入液相色谱-质谱联用仪进行测定，记录色谱图。样品色谱图与对照品色谱图峰保留时间一致，且溶剂无干扰。色谱及质谱图分别见图1、2。样品色谱图中出现与对照品色谱图中保留时间

(RT)一致的色谱峰(RT=10.11 min),无陈皮的阴性样品对测定无干扰。

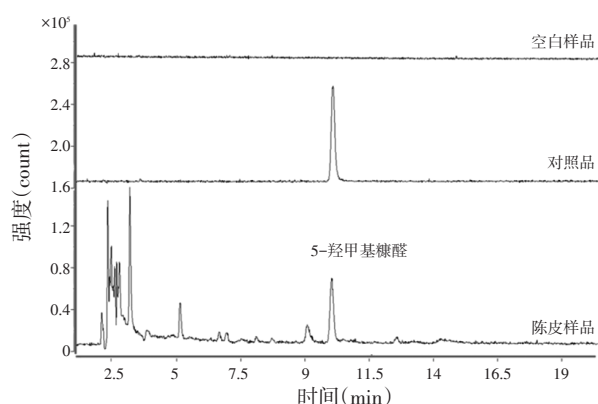


图1 陈皮样品、对照品及空白样品离子通道色谱图
(m/z 127.04)

Figure 1 Comparison of TIC chromatogram of Pericarpium Citri Reticulatae samples, reference substances, and blank samples (m/z 127.04)

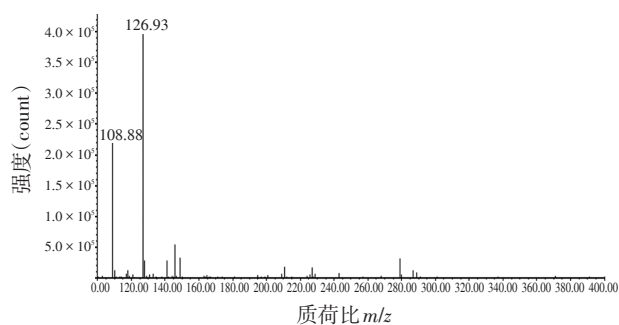


图2 5-羟甲基糠醛质谱图

Figure 2 Spectrum chromatogram of 5-hydroxymethylfurfura

2.1.5 线性关系考察 取标准品储备液依次稀释并制成6个质量浓度分别为25.00、6.26、1.56、0.39、0.09、0.04 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准品溶液。按照“2.1.1”项下色谱-质谱条件测定峰面积,以对照品浓度 $X(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标,以峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,求得5-羟甲基糠醛回归方程为 $Y = 6.92 \times 10^5 X + 4.60 \times 10^5 (r = 0.9998)$ 。结果表明,5-羟甲基糠醛的进样浓度在0.04 ~ 25.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间与峰面积值呈现良好的线性关系。

2.1.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液1 μL ,按照“2.1.1”项下色谱-质谱条件连续进样6次,测得5-羟甲基糠醛的峰面积积分值,计算相对标准偏差(RSD)。结果显示,5-羟甲基糠醛的RSD值为2.15%,表明仪器的精密度良好。

2.1.7 重复性试验 精密称取同一供试样品(J31)6份,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,按

照“2.1.1”项下色谱-质谱条件进行检测。测得5-羟甲基糠醛含量分别为0.023、0.024、0.023、0.025、0.021、0.024 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,计算RSD,结果显示,其RSD值为4.60%,表明方法重复性良好。

2.1.8 定性试验 取供试品溶液,分别在0、2、4、8、12、24 h按照“2.1.1”项下色谱-质谱条件进行测定,记录峰面积,计算得5-羟甲基糠醛的RSD值为3.11%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.1.9 加样回收率 取已测定的陈皮样品(D5)粉末0.50 g,精密称定9份,分为3组,每组3份;分别加入5-羟甲基糠醛的0.5、1、1.5倍量对照品,按照上述供试品制备方法及色谱-质谱条件进样测定,测其峰面积,计算回收率。结果显示,5-羟甲基糠醛平均回收率为96.30%,RSD值为2.77%($n = 6$)。结果见表2。

表2 5-羟甲基糠醛加样回收结果

Table 2 Sample recovery results of 5-hydroxymethylfurfura

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	实测总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD(%)
0.032	0.015	0.046	93.33	96.30	2.77
0.031	0.015	0.046	100.00		
0.033	0.015	0.047	93.33		
0.029	0.030	0.058	96.67		
0.033	0.030	0.061	93.33		
0.029	0.030	0.058	96.67		
0.031	0.045	0.075	97.78		
0.028	0.045	0.071	95.56		
0.030	0.045	0.075	100.00		

2.1.10 含量测定 取不同来源陈皮样品,分别按照“2.1.3”项下条件制备供试品溶液,按照“2.1.1”项下条件测定含量,结果见表3、图3。

从表3可知,不同来源陈皮的5-羟甲基糠醛含量存在明显差异。自然陈化样品(D、C、J)中的5-羟甲基糠醛含量介于0.003 ~ 0.213 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,自制的高温加速陈化样品(W)的5-羟甲基糠醛含量(0.434 ~ 7.516 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)均大于0.25 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;而煮茶染色加速样品(R49)的5-羟甲基糠醛含量仅为0.022 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,远低于高温加速陈化样品的。同时还可以发现,4个不同陈皮专营店购买的市售样品(S)之间的5-羟甲基糠醛含量差异也较明显,其中除了从“陈皮专营店3”购买的样品(S22 ~ S24)的5-羟甲基糠醛含量小于0.25 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,其他市售

样品的含量均大于0.25 mg·g⁻¹, 特别是从“陈皮专营店2”购买的市售样品(S18~S21)中5-羟甲基糠醛含量(0.257~1.133 mg·g⁻¹), 与自制的高温加速陈化样品(W)的含量范围存在交集, 说明市售样品(S18~S21)可能经过高温加速处理。据此类推, 市售样品(S16~S17, S25~S26)也可能是经过高温加速处理的。

结合图3可知, 当5-羟甲基糠醛含量 ≥ 0.25 mg·g⁻¹时, 可以将高温加速处理样品与其他样品区分开来。一方面, 从“陈皮专营店3”购买的市售样品(S22~S24)中的5-羟甲基糠醛含量范围

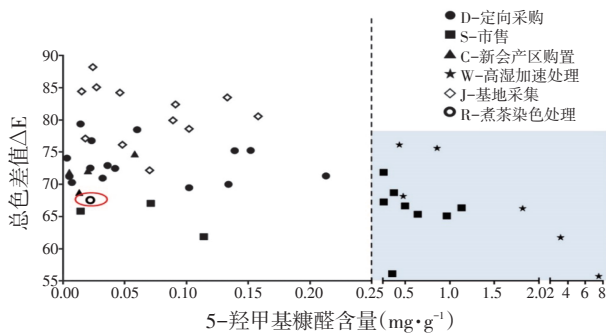
为0.014~0.114 mg·g⁻¹, 根据判别指标5-羟甲基糠醛仅可推测市售样品(S22~S24)未经过高温加速处理; 另一方面, 煮茶染色加速样品(R49)的5-羟甲基糠醛含量(0.022 mg·g⁻¹)在自然陈化样品(D、C、J)5-羟甲基糠醛含量(0.003~0.213 mg·g⁻¹)范围内, 表明判别指标5-羟甲基糠醛无法将“煮茶染色加速样品”鉴别出来。

以上结果表明, 仅凭判别指标5-羟甲基糠醛含量及限度, 可以有效判断出“高温加速陈化陈皮”, 而不能将“煮茶染色加速陈皮”鉴别出来, 需要结合外观色差等其他指标进一步研究。

表3 不同来源陈皮中5-羟甲基糠醛含量测定结果

Table 3 Results for the determination of 5-hydroxymethylfurfura content (n = 2, mg·g⁻¹)

编号	5-羟甲基糠醛	编号	5-羟甲基糠醛	编号	5-羟甲基糠醛	编号	5-羟甲基糠醛	编号	5-羟甲基糠醛
D1	0.152	D11	0.022	S21	0.641	J31	0.024	J41	0.091
D2	0.014	D12	0.007	S22	0.014	J32	0.015	W42	0.476
D3	0.139	D13	0.102	S23	0.114	J33	0.027	W43	1.819
D4	0.023	D14	0.134	S24	0.071	J34	0.158	W44	7.516
D5	0.060	D15	0.042	S25	0.497	J35	0.046	J45	0.133
D6	0.032	S16	0.258	S26	0.353	J36	0.089	W46	0.434
D7	0.003	S17	0.372	C27	0.058	J37	0.048	W47	0.858
D8	0.005	S18	0.257	C28	0.005	J38	0.102	W48	3.196
D9	0.213	S19	1.133	C29	0.020	J39	0.018	R49	0.022
D10	0.036	S20	0.967	C30	0.013	J40	0.070		



注: ○, 是煮茶染色加速样品(R49)的5-羟甲基糠醛含量(0.022 mg·g⁻¹)在自然陈化样品(D、C、J)5-羟甲基糠醛含量(0.003~0.213 mg·g⁻¹)范围内, 即判别指标5-羟甲基糠醛无法将“煮茶染色加速样品”鉴别出来

图3 49种陈皮样品5-羟甲基糠醛含量散点图

Figure 3 Scatter plot of 5-hydroxymethylfurfura content in 49 Pericarpium Citri Reticulatae samples

2.2 陈皮外观色差测定

2.2.1 测定方法 采用国际照明委员会(CIE)认

可的D65光源(相当于自然日光, 6 504 K), 并进行黑白校正。陈皮样品粉碎过65目筛, 取约3.5 g, 置于粉末测试盒(光距长1.0 cm), 压实, 测定样品的色度值为L*, a*, b*, 按如下公式计算各样品本身的总色度值ΔE^[5]。

$$\text{公式: } \Delta E = \sqrt{L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}}$$

色度仪利用的是L*, a*, b* 3个不同的坐标轴, 指示颜色在几何坐标图中的位置及代号。a*和b*表示不同的色调方向。a*表示红绿方向, +a*表示红方向, -a*表示绿方向; b*表示黄蓝方向, +b*表示黄方向, -b*表示蓝方向; L*表示明度, L*越大亮度越高。以这3个数值计算的ΔE可以客观地表示不同样品的色泽能力, ΔE数值越大, 其色泽越浅; 反之, ΔE数值越小, 其色泽越深。

2.2.2 测定结果

在陈皮样品5-羟甲基糠醛含量测定结果的基础上, 针对除W、S16~S21, S25~S26等14个高温加速处理样品之外的35个陈皮样

品,采用色差仪测定其 L^* 、 a^* 、 b^* 3个色度值,每个样品重复测定3次,并计算总色度值 ΔE 。结果见表4、图4。

从表4可以看出,不同来源的同一陈化年份样品的总色度值 ΔE 存在明显的差异。其中,自然陈

化样品(D、C、J)的色差值 ΔE 介于68.74~88.21之间,而市售样品(S22~S24)的 ΔE 值范围为61.87~67.04,煮茶染色加速样品(R49)的 ΔE 值67.56;三者之间的 ΔE 值并不存在交集。

表4 新会陈皮样品总色度值 ΔE 测定结果

Table 4 Results for the determination of total chromatic value ΔE of Pericarpium Citri Reticulatae samples ($n = 2$)

编号	色度值			总色度值 ΔE	编号	色度值			总色度值 ΔE	编号	色度值			总色度值 ΔE
	L^*	a^*	b^*			L^*	a^*	b^*			L^*	a^*	b^*	
D1	72.69	8.78	17.43	75.27	S18	69.70	8.21	15.47	71.87	J35	81.74	6.87	19.23	84.25
D2	77.01	7.49	17.75	79.38	S19	64.29	9.14	13.66	66.36	J36	77.35	7.60	18.75	79.95
D3	72.65	8.84	17.41	75.23	S20	63.27	8.76	12.64	65.11	J37	73.25	8.37	19.06	76.15
D4	74.24	8.16	17.87	76.79	S21	63.52	8.64	12.67	65.35	J38	75.88	9.39	18.32	78.62
D5	76.33	7.90	16.51	78.50	S22	64.31	8.06	11.62	65.84	J39	74.22	9.16	18.83	77.12
D6	69.14	8.14	13.78	70.97	S23	60.35	8.08	10.97	61.87	J40	69.67	9.23	16.52	72.19
D7	72.39	7.05	14.05	74.08	S24	65.20	8.58	12.99	67.04	J41	79.51	8.32	20.03	82.42
D8	69.58	7.48	13.26	71.23	S25	64.33	9.17	14.80	66.65	W42	65.49	9.93	16.04	68.15
D9	69.23	7.92	15.16	71.31	S26	55.18	6.01	8.33	56.13	W43	63.46	10.84	15.65	66.25
D10	71.04	7.37	14.73	72.92	C27	72.03	9.75	17.29	74.72	W44	54.79	6.83	7.49	55.72
D11	70.55	8.16	14.73	72.53	C28	69.94	8.14	14.29	71.85	J45	81.44	5.53	17.67	83.51
D12	68.47	7.91	13.78	70.29	C29	69.69	9.41	16.02	72.12	W46	73.50	7.98	18.23	76.14
D13	67.06	8.94	15.80	69.48	C30	66.76	8.83	13.79	68.74	W47	72.68	9.00	18.78	75.61
D14	67.73	8.62	15.48	70.01	J31	85.43	5.88	21.18	88.21	W48	59.98	8.61	11.90	61.75
D15	70.11	8.42	16.33	72.48	J32	81.93	6.75	19.28	84.44	R49	65.93	8.16	12.30	67.56
S16	64.84	9.46	15.21	67.27	J33	81.20	9.66	23.52	85.08					
S17	66.14	9.41	16.04	68.71	J34	77.85	8.49	18.94	80.57					

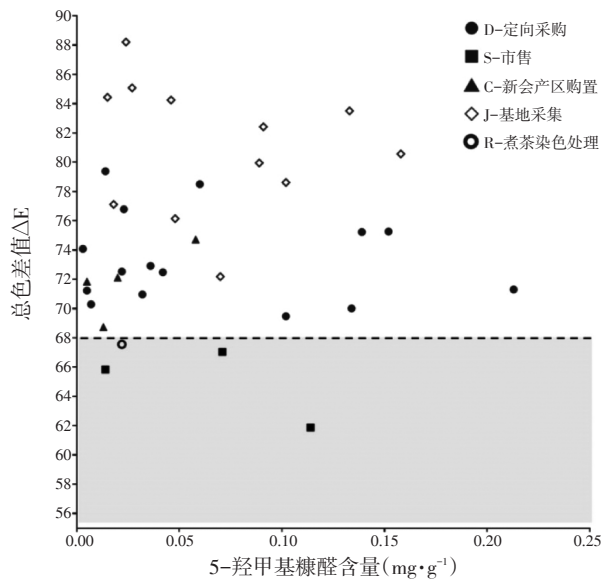


图4 35个陈皮样品总色度值 ΔE 散点图

Figure 4 Scatter plot of total chromaticity value ΔE in 35 Pericarpium Citri Reticulatae samples

一方面,按照新会陈皮陈化年份越久,其外

观色泽越深、色差值 ΔE 越小的变化趋势;而市售样品(S22~S24)的陈化年份(17~30年)低于自然陈化样品(C30)的陈化年份(39年),其总色度值 ΔE (61.87~67.04)却小于自然陈化样品C30(68.74)的,这不符合新会陈皮自然陈化的变化规律,表明市售样品(S22~S24)的陈化方式不是自然陈化。另一方面,市售样品(S22~S24)的 ΔE 值也均小于煮茶染色加速样品(R49)的。由此可以推测,市售样品(S22~S24)可能也经过煮茶染色处理。

结合图4可知,当总色度值 $\Delta E \leq 68$ 时,可以有效判断出“煮茶染色加速陈皮”;而自然陈化的陈皮样品总色度值 $\Delta E > 68$ 。

以上结果表明,在一定的陈化年份范围内,以总色度值 ΔE 作为判别指标,可以有效判断出“煮茶染色加速陈皮”。

3 讨论

根据广东省地方标准《DB44/T 604-2009 地理

标志产品《新会陈皮》规定,陈皮烘干时最高温度不超过45℃,且2020年版《中华人民共和国药典》中亦有规定陈皮应晒干或低温干燥而成。一方面,自然陈化的陈皮样品不会经过高温处理,而人工加速陈化的陈皮一般会通过高温、高湿处理,根据Maillard反应的原理,高温会导致其经典产物5-羟甲基糠醛的含量显著增加,因此,以5-羟甲基糠醛含量作为判别“高温加速陈化陈皮”的指标是科学的;另一方面,陈皮经过煮茶染色处理后,其外观色泽变黑,较同年份的自然陈化陈皮的色泽深,因此,以外观色差值 ΔE 作为判别“煮茶染色加速陈皮”的指标是可行的。

本研究以不同来源、不同陈化年份、不同处理方式等49批陈皮样品为研究对象,首先根据陈皮高温加速陈化会发生Maillard反应的特点,建立了灵敏度高、重复性好的HPLC-QDa联用测定5-羟甲基糠醛含量的方法,并制定了可以有效判别出“高温加速陈化陈皮”的5-羟甲基糠醛含量限度($\geq 0.25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。在此基础上,引入色差分析仪对陈皮外观色泽进行客观的数据量化,分析非高温加速样品的总色度值 ΔE 变化范围,制定了可以有效判别出“煮茶染色加速陈皮”的 ΔE 值限度(≤ 68)。由此可见,先后通过指标5-羟甲基糠醛含量、总色度值 ΔE 的综合判断,可以有效鉴别出陈皮的陈化方式。

本研究首次提出以双指标5-羟甲基糠醛含量、 ΔE 判断陈皮的陈化方式,并规定其限度。该双指标可以同时监控陈皮外观色泽与含量限度,可以客观、准确地判定陈皮陈化方式,同时可以为传统陈皮陈化年份鉴定提供规范化的评价方法,对维护陈皮市场稳定、健康发展具有重要的意义。

与制备前的样品(J41、J45)相比,自制的高温加速陈化样品中5-羟甲基糠醛含量会随着处理温度的升高而增加。经110、130、150℃高温加速后,大红皮加速样品(W42~W44)中5-羟甲基糠醛的含量由加速陈化前的 $0.091 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 分别增加至 0.476 、 1.819 、 $7.516 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,而青皮(W46~W48)中5-羟甲基糠醛的含量由加速陈化前的 $0.133 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 分别增加至 0.434 、 0.858 、 $3.196 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,其5-羟甲基糠醛含量变化程度较大红皮的小。从侧面可以反映出,在相同加速条件下,大红皮发生Maillard反应的程度较青皮的快。究其原因,可能是大红皮中多糖类物质较青皮多^[14-15],而Maillard

反应以糖类为反应底物,以致大红皮在高温加速Maillard反应时得到的产物5-羟甲基糠醛比青皮的多,外观色泽变得也较青皮的深。

以总色度值 ΔE (≤ 68)作为判别指标判别“煮茶染色加速陈皮”时,按照新会陈皮随陈化年份越久,各相近年份陈皮之间的外观色差值变化越小的规律,可以推测,该值的指标限度也应该适用于50年以内的自然陈化陈皮。但该推断是否可行,还有待以40~50年的自然陈化陈皮样品作进一步验证。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2020.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社, 2005: 1666.
- [3] 王智磊, 张鑫, 刘素娟, 等. 陈皮“陈久者良”历史沿革和研究现状[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(10): 2580-2584.
- [4] 广东质量技术监督局. DB44/T 604-2009 地理标志产品 新会陈皮[S]. 北京:中国标准出版社, 2009.
- [5] 刘杰, 徐佳, 杨瑶珺, 等. 基于色度分析原理的防风有效成分含量与颜色值相关性研究[J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(2): 20-25.
- [6] 王超, 王淳, 李青, 等. Maillard反应在中药领域的研究进展[J]. 中国药房, 2011(11): 1038-1040.
- [7] 吴翠. 中药变色和贮藏过程中5-羟甲基糠醛等理化指标的分析研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2018.
- [8] 吴翠, 刘超, 巢志茂. 大枣色泽与5-羟甲基糠醛含量相关性分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(8): 83-86.
- [9] 吴翠, 高岳瑞, 巢志茂, 等. 五味子中5-羟甲基糠醛含量与仓储和色泽的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15): 24-27.
- [10] 吴翠, 马玉翠, 徐靓, 等. 天冬走油的相关因素分析及限量标准的制定[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 106-111.
- [11] 刘振丽, 李林福, 宋志前, 等. 何首乌炮制后新产生成分的分离和结构鉴定[J]. 中药材, 2007, 30(12): 1505-1507.
- [12] 杜伟锋, 丁霞, 蔡宝昌. 山茱萸炮制前后5-羟甲基糠醛的含量变化研究[J]. 中成药, 2007, 29(12): 1801-1803.
- [13] 张乐, 潘欢欢, 刘飞, 等. 白术麸炒过程中5-羟甲基糠醛的含量变化规律及其与饮片温度、颜色变化的相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 11-14.
- [14] 王洋. 不同采收期及贮存时间广陈皮药材主要成分含量的动态变化研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2009.
- [15] 刘荣, 杨丽, 李雪莲, 等. 同一植株橘果皮不同生长期多糖的动态积累研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1472-1475.

【责任编辑:侯丽颖】