

# 中药炮制辅料米醋的指纹图谱研究

陆金兰, 朱星宇, 刘玲, 张希琼, 徐柳, 陈志鹏, 李伟东\*

(南京中医药大学药学院, 江苏省中药炮制重点实验室, 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210023)

**摘要:**目的 通过对不同产地和品牌的米醋进行指纹图谱研究, 为建立中药炮制辅料米醋的药用质量标准提供基础。方法 收集 33 批米醋, 采用 HPLC 方法, 通过对流动相种类、色谱柱、洗脱程序、流动相 pH 的考察, 优化米醋 HPLC 指纹图谱的分析方法, 并对其中 20 批黑醋指纹图谱进行相似度、聚类分析和主成分分析。结果 米醋浓度以 1:3 稀释进样, 色谱条件为色谱柱: Thermo Hypersil GOLD(5  $\mu\text{m}$ , 250 mm $\times$ 4.6 mm), 流动相: 0.07% 磷酸水 (pH=2.28~2.38)-甲醇梯度洗脱, 流速: 1 mL/min, 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量: 10  $\mu\text{L}$ 。此时特征峰分离效果最佳。米醋分白醋和黑醋, 其指纹图谱差异较大, 白醋几乎只有一个醋酸峰, 单从 HPLC 方面无法判断配制白醋和酿造白醋的区别; 20 批黑醋指纹图谱相似度差异较大, 聚类分析和主成分将其聚为几类。将同一品牌恒顺不同类型的米醋进行相似度比较, 发现相似度较高, 可见同一品牌内的米醋由于酿造工序、原料相似, 品质比较均一稳定。结论 市场上的米醋种类繁多, 质量也参差不齐, 实验选择 20 批常用黑醋进行指纹图谱分析, 比较不同种类米醋的差异, 为中药炮制辅料米醋的药用质量标准提供参考。

**关键词:** 米醋; 指纹图谱; HPLC; 药用质量标准

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2017)05-0463-07

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2017.0463

## Study on Fingerprints of Traditional Chinese Medicine Processing Accessories of Rice Vinegar

LU Jin-lan, ZHU Xing-yu, LIU Ling, ZHANG Xi-qiong, XU Liu, CHEN Zhi-peng, LI Wei-dong\*

(School of Pharmacy, Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To provide the basis for the medicinal quality standard of Chinese medicine processing accessories of rice vinegar through analysis with fingerprints of different kinds of origin and brand of rice vinegar. **METHODS** 33 batches of vinegar were collected. The mobile phase, column, elution, the mobile phase pH were investigated and the analysis method of HPLC fingerprint was optimized. Among them, 20 batch of rice vinegar fingerprint were chosen to perform the similarity, cluster analysis and principal component analysis. **RESULTS** The concentration of rice vinegar was diluted at 1:3 when it was injected. Chromatographic column was Thermo Hypersil GOLD (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm $\times$ 4.6 mm); the mobile phase was composed of methanol and 0.07% phosphoric acid aqueous solution and a gradient elution program at flow rate of 1 mL/min was applied. The column temperature maintained at 30  $^{\circ}\text{C}$ . The injection volume was 10  $\mu\text{L}$ . Then, the separation of characteristic peaks was optimum. Rice vinegar was divided into black vinegar and white vinegar. Furthermore, there was a big difference between black vinegar and white vinegar. The white vinegar almost showed only one peak of acetic acid, so, it's impossible to distinguish between brewing white vinegar and formulated white vinegar by HPLC. Similarity evaluation showed that 20 batch of white vinegar's fingerprints had palpable difference. Besides, clustering analysis and principal component analysis splited them into several categories. Different types of Hengshun vinegar indicated high similarity. Hence it could be seen that the quality of rice vinegar from the same brand was uniform and stable because of similar brewing processes and similar materials. **CONCLUSION** There are varieties of rice vinegar on the market with extensive source and uneven quality. 20 batches of black rice vinegar were chosen to compare the differences by HPLC fingerprints analysis, which provides reference for the medicinal quality control standard of traditional Chinese medicine processing accessories of rice vinegar.

收稿日期: 2017-05-11; 修稿日期: 2017-08-01

基金项目: 国家自然科学基金(81373970)

作者简介: 陆金兰(1994-), 女, 江苏苏州人, 南京中医药大学 2016 级硕士研究生。\* 通信作者: liweidong0801@163.com

**KEY WORDS:**rice vinegar; fingerprints; HPLC; medicinal quality standard

中药炮制作为我国的传统制药技术,2006 年入选第一批国家级非物质文化遗产名录。“生熟异治”“复方入药”是中药炮制的两大特色。炮制通过改变中药药性,扩大了中药对疾病的适应范围,为患者带来便利。中药炮制辅料包括液体辅料和固体辅料,其中醋是最重要的液体辅料之一。米醋味酸,苦,性温,入肝、胃经。其主要成分是醋酸,含有多种氨基酸<sup>[1]</sup>及脂类等营养成分,具有开胃消食,缓解疲劳、抗氧化、调节血糖、改善脂质等保健作用<sup>[2-3]</sup>。醋制在中药炮制中一般有如下几种:炙法如醋甘遂、蒸法如醋五味子、煅淬法如煅自然铜等。醋制后,使得药物质地酥脆,利于有效成分煎出,如煅自然铜;降低药物毒性,如醋芫花、醋狼毒;去除药物的不良臭味,利于患者服用,如动物粪便类五灵脂、树脂类乳香、没药;还能引药入肝,使药物疗效增强,如香附<sup>[4]</sup>、柴胡<sup>[5]</sup>;此外,醋还有杀菌防腐等作用。

米醋的酿造与使用历史悠久,一直以来,醋有黑醋和白醋,但古代并未明确划分黑醋与白醋,古籍中只强调米醋用于中药的炮制,以陈醋为佳。2015 年版《中国药典》注明为米醋,对中药炮制用醋也未明确规定。有研究发现,陈醋炮制药物优于米醋<sup>[6]</sup>,且《中药炮制学》<sup>[7]</sup>等相关炮制书籍也优选陈醋。与黑醋相比,白醋被作为炮制辅料应用比较少,且外用居多通过文献研究发现,使用白醋时会特别注明,并且通常炮制中药的米醋沿用至今一般都是黑醋,几乎不使用白醋,由此推断古籍中所说的醋应该是指黑醋。现代,白醋多应用于食物调味、熏蒸杀毒、清洁以及保健等方面,作为中药炮制辅料并不多见,可能是由于白醋除醋酸外,不含或少含其他成分,成分单一,缺乏营养,故米醋并且是黑醋最适合作为炮制辅料应用,且陈酿更佳。

现在,常用的醋制饮片约 40 余种。2015 年版《中国药典》(一部)收载醋制中药饮片 25 种,成方制剂还收载醋五灵脂、醋艾叶、醋地榆等 10 种醋制中药,共计 35 种醋制中药,其中醋制方法包括醋炙、醋蒸、醋煮、醋砂炒和醋煅淬。随着疾病的多样化,人们对于中药饮片的需求增加,对醋的需求也增大。如今,中药的品质愈加受到重视,中药炮制辅料作为中药饮片的一部分,对中药饮片的质量具有显著影

响<sup>[8]</sup>。现在,中药饮片质量标准体系已经初步形成,尽管中药饮片有了国家标准,但是包括建立炮制辅料等在内的标准体系等问题有待完善<sup>[9]</sup>。目前醋虽然有相关食品级标准如《食醋卫生标准》《酿造食醋》《配制食醋》《食品添加剂使用标准》《中华人民共和国国家标准(大米)》等,但尚缺乏醋的相关药用辅料质量标准,导致在中药炮制方面使用的醋品质参差不齐,标准不一<sup>[10]</sup>,对于中药品质评价、中药物质基础研究甚至是中药的现代化将造成很大的影响。因此,建立醋的药用质量标准,对完善中药饮片质量标准体系具有重要意义。

实验收集了 33 批米醋,分为黑醋和白醋,用指纹图谱特征性地鉴别米醋的优劣差异,区分黑醋与白醋的差异,并考察各批黑醋的相似度,筛选出几个特征性共有峰,为中药炮制辅料醋的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

EPED 超纯水机(南京易普易达科技发展有限公司);超纯水仪(南京汉隆实验器材有限公司);BT125D 电子天平(sartorius 科学仪器有限公司);Waters2695 高效液相色谱仪、DAD 检测器、UV 检测器(美国 Waters 公司)。

### 1.2 试药与试剂

L-乳酸(批号:A22J7L18282,HPLC $\geq$ 98%)、L-酪氨酸(批号:WXBB0881V,HPLC $\geq$ 99%)、冰乙酸(醋酸,批号:Y16M8Y5370,HPLC $\geq$ 98%)均购自上海源叶生物科技有限公司;超纯水(实验室自制);磷酸(分析纯);甲醇(TEDIA)。

### 1.3 米醋样品收集

从市场收集总共 33 批米醋,包括 13 批白醋和 20 批黑醋,样品信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 分析方法

2.1.1 色谱条件的建立 色谱柱:Thermo Hypersil GOLD(250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu$ m)。流动相:A 相为 0.07%磷酸水溶液(pH2.28~2.38),B 相为甲醇,按表 2 中规定的程序进行梯度洗脱,检测波长为 220 nm;流速 1 mL/min,柱温 30  $^{\circ}$ C,进样量 10  $\mu$ L。

表 1 33 批米醋编号及来源

编号	品牌	产品名称	批次	产地	生产商	原料
HT	海天	香醋	20170324B	广东佛山	佛山市海天(高明)调味食品有限公司	大米、麦麸
LH1	鲁花	黑糯米醋	20170414	山东烟台	莱阳鲁花醋业食品有限公司	黑糯米、小麦麸
LH2	鲁花	鲁花白醋	20170412	山东烟台	莱阳鲁花醋业食品有限公司	大米
GD1	古燈	山西陈醋	20160112	山西太原	太原市古灯调味品有限公司	玉米、大米、高粱、麸皮、 大麦、豌豆
GD2	古燈	白醋	20170307	山西太原	太原市古灯调味品有限公司	玉米、大米
JSS1	金山寺	白醋	20170304	江苏镇江	镇江市恒康调味品厂	大米
JSS2	金山寺	镇江香醋	20170209	江苏镇江	镇江市恒康调味品厂	糯米、麦麸、大曲
JSS3	金山寺	9°米醋	20161213	江苏镇江	镇江市恒康调味品厂	糯米
DH	东湖	精酿老陈醋 五年陈酿	20170331	山西晋中	山西福源昌老陈醋有限公司	高粱、大麦、豌豆、麸皮、谷糠
ZJ1	振晋	山西老陈醋 十年陈酿	20161025	山西晋中	山西恒顺老陈醋有限公司	高粱、麸皮、大麦、豌豆
ZJ2	振晋	山西陈醋	20170428	山西晋中	山西恒顺老陈醋有限公司	高粱、玉米、麸皮、大麦、豌豆
ZJ3	恒顺振晋	八年老陈醋	20170220	山西晋中	山西恒顺老陈醋有限公司	高粱、麸皮、大麦、豌豆
ST1	水塔	水塔老陈醋	20170105	山西太原	山西水塔醋业股份有限公司	高粱、麸皮、大麦、豌豆
ST2	水塔	6°水塔老陈醋	20160509	山西太原	山西水塔醋业股份有限公司	高粱、大麦、豌豆、麸皮
ST3	水塔	山西陈醋-3年陈酿	20161124	山西太原	山西水塔醋业股份有限公司	高粱、麸皮、大麦、豌豆
ST4	水塔	9°米醋	20170103	山西太原	山西水塔醋业股份有限公司	大米、玉米
BGS	北固山	镇江香醋	20170102	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸、大米、大曲
LCC	老才臣	白醋(配制食醋)	20170331	北京	北京市老才臣食品有限公司	水、食用酒精、食用盐
JH1	杰亨	镇江香醋	20170412	江苏镇江	镇江春光醋业有限公司	糯米、麸皮、大米、炒色用米、 大曲
JH2	杰亨	酿造白醋	20170328	江苏镇江	镇江春光醋业有限公司	大米
HXD	湖西岛	有机酿造黑醋	20161201	北京	北京和田宽食品有限公司	有机小麦麸、有机大米
XH1	欣和	醃官醋(原浆米醋)	20170406	山东济南	济南宜和食品有限公司	大米
XH2	欣和	禾然有机糙米醋	20170413	山东济南	济南宜和食品有限公司	有机糙米
CB	厨邦	9°米醋王	20170315	广东中山	广东美味鲜调味食品有限公司	大米
HS1	恒顺	镇江陈醋	20170124	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸、大米、大曲
HS2	恒顺	恒顺陈醋	20170316	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸
HS3	恒顺	镇江香醋-三年陈	20170224	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸、大米、大曲
HS4	恒顺	金优香醋	20170401	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸
HS5	恒顺	镇江香醋-六年陈	20161105	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸、大米、大曲
HS6	恒顺	恒顺陈醋	20170215	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米、麦麸
HS7	恒顺	9°糯米醋	20170107	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	糯米
HS8	恒顺	6°白醋	20160805	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	大米
HS9	恒顺	恒顺白醋	20170427	江苏镇江	江苏恒顺醋业股份有限公司	玉米、大米

表 2 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	98	2
30	67	33
40	51.5	48.5

### 2.1.2 对照品溶液的制备

1) 醋酸对照品溶液 精密称取醋酸对照品 10.0 mg, 以流动相配成浓度为 10.0 mg/mL 的醋酸对照品溶液。

2) 乳酸对照品溶液 精密称取乳酸对照品 4.16 mg, 以流动相配成浓度为 4.16 mg/mL 的乳酸对照品溶液。

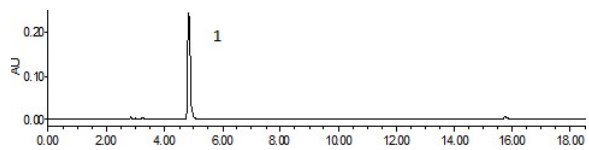
3) 酪氨酸对照品溶液 精密称取酪氨酸对照品 2.00 mg, 以流动相配成浓度为 0.2 mg/mL 的酪氨酸对照品溶液。

4) 混合对照品溶液 精密称取醋酸对照品 10.0 mg、乳酸对照品 4.12 mg 和酪氨酸对照品 0.24 mg 于 1 mL 容量瓶中, 以流动相定容至刻度, 摇匀, 配

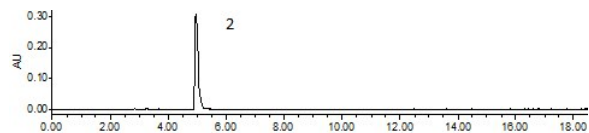
成含醋酸浓度为 10.0 mg/mL, 乳酸浓度为 4.12 mg/mL 和酪氨酸浓度为 0.24 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密量取样品 3 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 0.07% 磷酸水溶液至刻度, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。

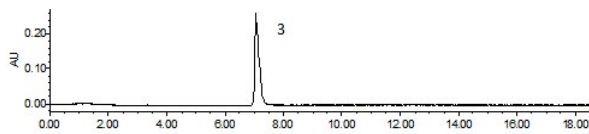
2.1.4 测定方法 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪检测, 记录 40 min 色谱图, 即得。在建立的色谱条件下对照品和样品 40 min HPLC 图谱见图 1~2。在供试品指纹图谱中共有 8 个共有峰, 其中 4、5、6 号色谱峰分别为乳酸、醋酸和酪氨酸。



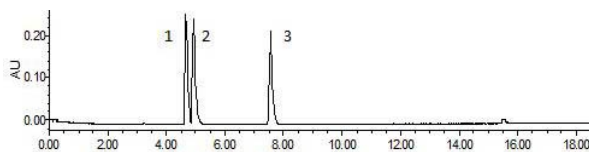
乳酸对照品



醋酸对照品



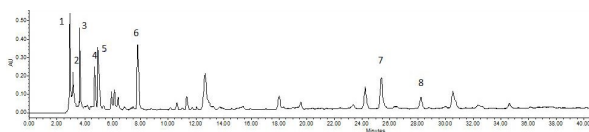
酪氨酸对照品



混合对照品

1. 乳酸; 2. 醋酸; 3. 酪氨酸

图 1 对照品的 HPLC 色谱图



4. 乳酸; 5. 醋酸; 6. 酪氨酸

图 2 样品的 HPLC 色谱图

### 2.2 方法学考察

1) 精密度试验 取编号为 HS3 的黑醋样品, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次, 以醋酸峰 5 为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的

RSD 值, 考察进样精密度。结果显示各共有峰的相对保留时间的 RSD 均不多于 0.16%, 相对峰面积的 RSD 均不多于 1.47%, 表明仪器的精密度良好。

2) 重复性试验 取编号为 HS3 的黑醋样品, 按“2.2”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样, 结果显示各共有峰的相对保留时间的 RSD 均不多于 0.20%, 相对峰面积的 RSD 均不多于 1.66%, 表明方法重复性良好。

3) 稳定性试验 取编号为 HS3 的黑醋样品, 按 2.2 项下制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别于第 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 结果显示各共有峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.47%, 相对峰面积的 RSD 均小于 1.76%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 2.3 米醋 HPLC 指纹图谱的建立

实验发现白醋成分单一, 几乎只含有醋酸峰, 如下图 3 所示, 其中 LCC 老才臣白醋为配制食醋, 指纹图谱发现它与其他白醋并无差异, 因此不能单单通过液相图谱区分配制白醋和其它白醋。而黑醋, 包括香醋、陈醋、糯米醋等, 来自不同产地的醋由于年份和产地原因指纹图谱略有差异, 其中本文指纹图谱是用 20 批黑醋建立的指纹图谱, 如图 4~5 所示。

将 20 批黑醋色谱图的 cdf 文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版》, 以 HS3 为参照图谱, 自动匹配, 采用平均数法生成对照图谱, 计算样品与对照图谱之间的相似度, 并根据软件生成的匹配数据在对照图谱上标定 20 批黑醋的共有峰, 共有 25 个共有峰, 通过方法学考察选择了其中 8 个主峰为特征峰, 其相对保留时间及相对峰面积见表 3~4。

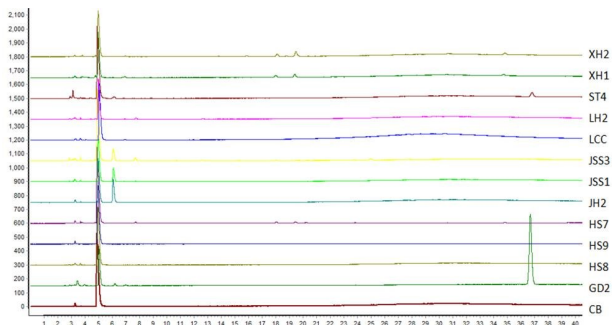


图 3 13 批白醋样品指纹图谱



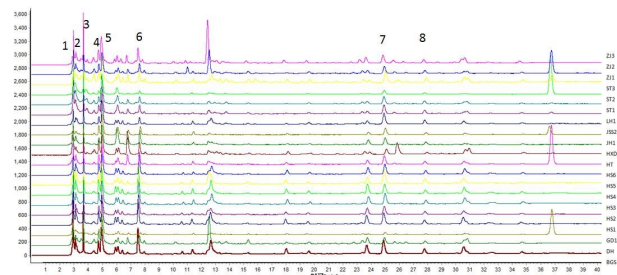
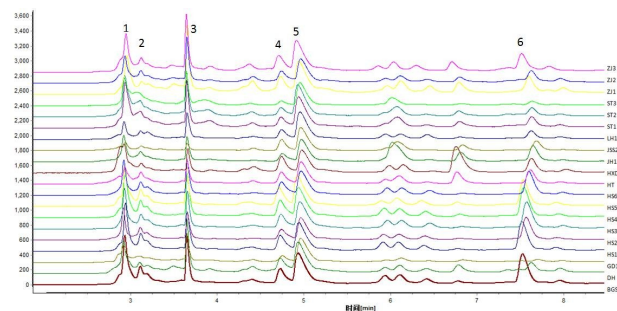


图4 20批黑醋样品指纹图谱



峰4:乳酸;峰5:醋酸;峰6:酪氨酸

图5 20批黑醋样品指纹图谱 0~8 min

表3 20批黑醋指纹图谱共有峰相对保留时间

样品	共有峰相对保留时间							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ZJ3	0.600	0.635	0.741	0.958	1.000	1.528	5.052	5.639
ZJ2	0.591	0.628	0.735	0.955	1.000	1.536	5.023	5.602
ZJ1	0.599	0.634	0.740	0.958	1.000	1.538	5.065	5.649
ST2	0.595	0.630	0.740	0.960	1.000	1.548	5.052	5.633
ST3	0.591	0.620	0.735	0.957	1.000	1.542	5.031	5.612
ST1	0.595	0.630	0.739	0.959	1.000	1.545	5.046	5.627
LH1	0.591	0.629	0.737	0.958	1.000	1.539	5.028	5.609
JSS2	0.593	0.629	0.736	0.955	1.000	1.548	5.039	5.617
JH1	0.588	0.627	0.735	0.956	1.000	1.538	5.028	5.606
HXD	0.589	0.627	0.736	0.953	1.000	1.532	5.029	5.607
HT	0.591	0.628	0.735	0.954	1.000	1.532	5.018	5.596
HS6	0.588	0.627	0.735	0.955	1.000	1.529	5.027	5.608
HS5	0.596	0.633	0.741	0.957	1.000	1.530	5.062	5.650
HS4	0.595	0.631	0.740	0.957	1.000	1.527	5.055	5.639
HS3	0.591	0.630	0.738	0.956	1.000	1.528	5.043	5.624
HS2	0.587	0.627	0.736	0.955	1.000	1.523	5.022	5.601
HS1	0.596	0.631	0.740	0.957	1.000	1.521	5.037	5.620
GD1	0.586	0.626	0.736	0.958	1.000	1.552	5.037	5.613
DH	0.592	0.630	0.740	0.959	1.000	1.546	5.057	5.639
BGS	0.595	0.631	0.740	0.958	1.000	1.525	5.044	5.630
平均值	0.592	0.629	0.738	0.957	1.000	1.535	5.040	5.621
RSD/%	0.64	0.53	0.32	0.19	0.00	0.59	0.28	0.29

表4 20批黑醋指纹图谱共有峰相对峰面积

样品	共有峰相对峰面积							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ZJ3	0.625	0.435	0.536	0.361	1.000	0.442	0.508	0.305
ZJ2	0.789	0.658	0.823	0.521	1.000	0.625	0.564	0.256
ZJ1	0.557	0.424	0.572	0.374	1.000	0.431	0.436	0.187
ST5	0.733	0.621	0.452	0.234	1.000	0.231	0.345	0.160
ST3	0.849	0.985	0.595	0.200	1.000	0.182	0.285	0.114
ST1	0.822	0.655	0.576	0.272	1.000	0.268	0.422	0.205
LH1	0.378	0.277	0.464	0.260	1.000	0.251	0.608	0.260
JSS2	0.341	0.190	0.154	0.342	1.000	0.355	0.448	0.161
JH1	0.697	0.565	0.456	0.288	1.000	0.671	0.470	0.203
HXD	0.978	0.445	0.457	0.563	1.000	0.575	0.511	0.248
HT	0.694	0.572	0.594	0.417	1.000	0.536	0.587	0.222
HS6	0.698	0.564	0.625	0.419	1.000	0.809	0.642	0.257
HS5	0.687	0.498	0.509	0.438	1.000	0.673	0.753	0.365
HS4	0.829	0.512	0.607	0.412	1.000	0.795	0.432	0.177
HS3	0.701	0.485	0.589	0.379	1.000	0.751	0.638	0.321
HS2	0.767	0.636	0.617	0.445	1.000	0.948	0.696	0.300
HS1	0.836	0.551	0.611	0.409	1.000	0.929	0.530	0.209
DH3	0.591	0.254	0.489	0.367	1.000	0.271	0.320	0.149
BGS	0.796	0.505	0.635	0.349	1.000	0.715	0.567	0.211
GD1	0.528	0.451	0.501	0.263	1.000	0.155	0.277	0.152
平均值	0.695	0.514	0.543	0.366	1.000	0.531	0.502	0.223
RSD/%	22.69	33.17	23.28	25.60	0.00	47.94	26.69	29.32

### 2.4 相似度分析

20批不同产地以及不同品牌的黑醋各色谱峰相似度在0.638~0.923,幅度较大,相似度较差。其中东湖和恒顺的几个黑醋样品相似度在0.9以上,其余黑醋相似度均在0.9以下,并且HT、JSS2和ST3相似度在0.6左右,与对照指纹图谱相似度较差。20批不同产地以及不同品牌的黑醋相似度结果见表5。把6批恒顺米醋的色谱峰做了相似度评价,与对照指纹图谱相似度均在0.9以上,见表6。说明不同产地,不同品牌以及同一品牌不同类别(年份、原料不同)的黑醋存在一定差异,尤其是不同产地和不同品牌生产的黑醋由于酿造工艺、习惯等不同,差异尤为明显,而同一品牌的黑醋差异相对来说较小,相似度差别不大。

### 2.5 聚类分析

采用SPSS23.0数据统计软件,用欧氏距离对20批黑醋进行聚类分析,如下图6所示。根据黑醋的HPLC特征图谱聚类分析,当类间距离为10时,20批黑醋样品被聚为4类:HS1、HS3、HS4、HS5、BGS聚为第I类,DH、ZJ1、ZJ3聚为第II类,ST1、ST2被聚为第III类,HT、JH1、HS2、HS6、ZJ2、

GD1、LH1、JSS2、ST3、HXD 被聚为第Ⅳ类。

### 2.6 主成分分析

采用 SPSS 23.0 数据统计软件,对 20 批黑醋进行主成分分析,以成分特征值和成分累计贡献率来确定主成分。数据结果通过降维,前 3 个成分的累计贡献率达 80.95%,第 1 主成分特征值为 13.693,方差贡献率为 54.774%;第 2 主成分特征值为 4.133,方差贡献率为 16.531%;其中第 3 主成分特

征值为 2.410,方差贡献率为 9.641%,选取这 3 个主成分,分别为 X、Y、Z 轴来建立坐标系,进行投影即得样本的 PCA 三维得分图,见图 7。

主成分结果将 20 批黑醋分为四类,HS1、HS2、HS3、HS4、HS5、HS6、BGS 聚为第Ⅰ类,ZJ1、ZJ2、ZJ3、GD1、LH1、ST1、ST2、DH 聚为第Ⅱ类,HT、JH1、JSS2、ST3、HXD 被聚为第Ⅲ类。

表 5 20 批黑醋相似度评价

样品	BGS	DH	GD1	HS1	HS2	HS3	ZJ3	HS5	HS6	HS4	HT	HXD	JH1	JSS2	LH1	ST1	ST3	ST2	ZJ1	ZJ2	对照	
BGS	1																					
DH	0.852	1																				
GD1	0.531	0.587	1																			
HS1	0.804	0.799	0.446	1																		
HS2	0.706	0.682	0.417	0.854	1																	
HS3	0.742	0.764	0.551	0.700	0.604	1																
ZJ3	0.851	0.881	0.518	0.758	0.669	0.688	1															
HS5	0.892	0.881	0.571	0.829	0.785	0.775	0.875	1														
HS6	0.736	0.741	0.526	0.889	0.789	0.733	0.670	0.758	1													
HS4	0.905	0.895	0.571	0.851	0.730	0.821	0.826	0.909	0.801	1												
HT	0.462	0.483	0.840	0.546	0.489	0.443	0.431	0.500	0.562	0.481	1											
HXD	0.552	0.657	0.536	0.569	0.487	0.799	0.530	0.573	0.632	0.644	0.465	1										
JH1	0.662	0.676	0.604	0.606	0.531	0.718	0.570	0.669	0.684	0.742	0.474	0.675	1									
JSS2	0.551	0.532	0.575	0.564	0.698	0.449	0.486	0.597	0.617	0.542	0.619	0.449	0.565	1								
LH1	0.690	0.755	0.585	0.796	0.730	0.756	0.658	0.738	0.866	0.763	0.568	0.675	0.709	0.598	1							
ST1	0.791	0.819	0.665	0.657	0.595	0.731	0.714	0.793	0.684	0.825	0.521	0.689	0.815	0.598	0.727	1						
ST3	0.429	0.450	0.871	0.337	0.295	0.419	0.385	0.436	0.375	0.463	0.860	0.403	0.513	0.548	0.436	0.597	1					
ST2	0.810	0.754	0.535	0.614	0.565	0.595	0.734	0.727	0.594	0.747	0.419	0.559	0.700	0.541	0.629	0.843	0.490	1				
ZJ1	0.702	0.805	0.636	0.679	0.599	0.829	0.679	0.745	0.689	0.761	0.557	0.812	0.675	0.531	0.741	0.749	0.493	0.656	1			
ZJ2	0.755	0.786	0.766	0.661	0.611	0.619	0.777	0.789	0.596	0.769	0.724	0.494	0.560	0.602	0.594	0.706	0.723	0.662	0.683	1		
对照	0.886	0.911	0.750	0.849	0.771	0.849	0.847	0.910	0.843	0.923	0.690	0.752	0.797	0.691	0.848	0.886	0.638	0.805	0.866	0.851	1	

表 6 恒顺 7 批黑醋样品指纹图谱相似度

样品	相似度	样品	相似度
HS1	0.963	HS4	0.970
HS2	0.929	HS5	0.949
HS3	0.905	HS6	0.936
对照指纹图谱	1		

### 3 讨论

经过实验得到优化的 HPLC 条件,最终选取米醋的稀释比例为 1 : 3,以 0.07%磷酸水溶液(pH=2.28~2.38)-甲醇为流动相,流速为 1 mL/min,波长为 220 nm,柱温 30 ℃,进样量 10 μL。在此色谱条件下,得到的 40 min 的米醋色谱图各特征峰分离度佳,且重现性、精密度、稳定性良好,可用于中药炮制辅料米醋的成分研究。

实验收集了 33 批米醋,其中 20 批黑醋和 13 批

白醋,通过建立优化的 HPLC 色谱条件,建立米醋的指纹图谱。分析发现白醋成分单一,营养物质较少,几乎只有一个醋酸峰,不适合作为辅料用于中药的炮制。13 批白醋中有 1 批为配置白醋,与其它白醋的 HPLC 没有很大差异,因此不能单从 HPLC 方面判断配制白醋和酿造白醋的区别。分析发现黑醋中含有多种成分,对这 20 批黑醋进行指纹图谱相似度的分析,结果发现不同品牌、不同产地黑醋的化学成分存在一定差异,不同品牌、不同产地的黑醋由于谷物来源、环境、酿造工艺不同,其中的有机酸、营养物质及其含量都有所差异。黑醋的聚类分析和主成分分析结果具有一致性,发现同一品牌内如恒顺牌黑醋质量比较稳定,相似度高,并聚为一类,如主成分分析结果中的第Ⅰ类 HS1、HS2、HS3、HS4、HS5、HS6、BGS,其中 BGS 与其他几批米醋都是由

江苏镇江的江苏恒顺醋业股份有限公司生产,BGS则是恒顺的子品牌。乳酸是传统酿造食醋中的主要呈味物质之一,在固态发酵食醋中占总有机酸的比例较高,仅次于醋酸<sup>[11]</sup>。乳酸是米醋中主要的不挥发性酸,也是判断醋的重要指标,醋中乳酸的含量高低可以一定程度上说明醋的品质优劣<sup>[12]</sup>。米醋 ZJ1 是十年陈醋,米醋 ZJ3 是八年陈酿,陈醋 DH 是五年米醋,米醋 HS5 是六年陈醋,聚类分析和主成分分析将这几批陈醋 ZJ1、ZJ3 和 DH 聚为一类,发现 ZJ1 的乳酸峰的峰面积最大,DH 其次,接着是 HS5 和 ZJ3,说明陈醋和普通黑醋具有一定品质差异。米醋中的有机酸是评价食醋的重要指标之一,如要对其进行质量评定,不仅要测其总酸含量,还需进一步测定其相关有机酸的含量。

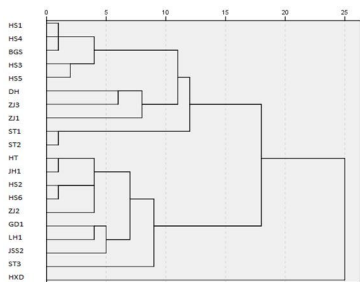


图6 20批黑醋 HPLC 特征图谱聚类分析

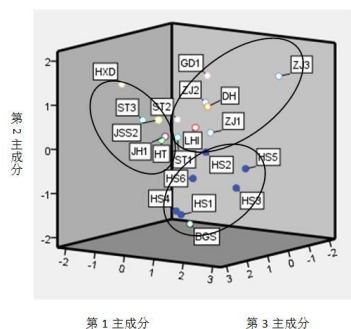


图7 20批黑醋主成分得分图

通过比较米醋中黑醋和白醋的 HPLC 图谱,发现白醋成分单一,几乎不含营养物质,其中配制白醋与酿造白醋从图谱方面不能很好区分开,配制白醋为合成产品,不利于健康,并且配制食醋不属于米醋,且不符合集聚谷物之气的中医理论,起不到引药入经的作用,不适宜炮制药物。而黑醋有机酸等营养成分丰富,谷气全,其中陈醋和普通米醋存在品质差异,可能是其氨基酸等有机酸含量有所不同,因此黑醋尤其是陈醋,更适宜作为中药炮制的辅料。实验建立了 20 批不同产地、不同品牌的黑醋指纹图谱,分析得到 25 个共有峰,筛选出其中 8 个特征峰作为用于中药炮制不同地域醋的定性鉴别和质量控

制指标,为建立中药炮制辅料醋的药用标准提供参考。

#### 参考文献:

- [1] 王修宁,韩丽,张浩,等.食醋氨基酸指纹图谱的建立及特征分析[J].理化检验(化学分册),2016,52(9):1095-1099.  
WANG XN, HAN L, ZHANG H, et al. Institution of fingerprint of Amino Acids of table vinegar and its application to characterization of table vinegar[J]. Physic test Chem Anal Part B (Chem Anal), 2016,52(9):1095-1099.
- [2] 李先端,顾雪竹,毛淑杰.醋的历史沿革及其保健功能[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):295-297.  
LI XR, GU XZ, MAO SJ. The history and health function of vinegar[J]. Chin J Exper Tradit Med Form, 2011,17(18):295-297.
- [3] ANUAR S, AZRINA A, AMIN I. Therapeutic effects of vinegar: a review[J]. Curr Opin Food Sci, 2016,8:56-61.
- [4] 盛菲亚,周莉江,严鑫,等.香附醋制前后对肝气郁滞模型大鼠的影响[J].中成药,2016,38(1):156-159.  
SHENG FY, ZHOU LJ, YAN X, et al. Effects of Vinegar Processed *Rhizoma Cyperi* on hepatic-qi stasis type Rat[J]. Chin Tradit Pat Med, 2016,38(1):156-159.
- [5] 汪巍,陈映辉,王丽娜,等.柴胡与醋柴胡疏肝解郁作用比较研究[J].中成药,2014,36(3):617-619.  
WANG W, CHEN YH, WANG LN, et al. Comparative study of soothing the liver and relieving depression of *Bupleurum* and Vinegar-processed *Bupleurum* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2014,36(3):617-619.
- [6] 孙慧敏.柴胡醋制前后的化学及药理比较研究[D].山西:山西大学,2015.  
SUN HM. Chemical and Pharmacological Comparison of Raw and Vinegar-baked Radix Bupleuri [D]. Shanxi: Shanxi University, 2015.
- [7] 陆逸林,胡昌江.中药炮制学[M].北京:中国医药科技出版社,2014:54.  
LU TL, HU CJ. Science of Processing of Chinese Materia Medica [M]. Beijing: China medical science and technology press, 2014:54.
- [8] 杨春雨,曹晖,王孝涛.我国炮制用辅料标准现状研究及工作建议[J].中国中药杂志,2017,42(7):1401-1406.  
YANG CY, CAO H, WANG XT. Status and suggestions for adjuvant standard for Chinese materia medica processing in China [J]. China J Chin Mater Med, 2017,42(7):1401-1406.
- [9] 秦昆明,蔡宝昌.中药饮片质量标准研究中的几个关键问题[J].中国中药杂志,2014,16(3):519-525.  
QIN KM, CAI BC. Some key problems during quality standard research of pieces of chinese crude drugs [J]. China J Chin Mater Med, 2014,16(3):519-525.
- [10] 毛淑杰,戴明辉.中药炮制辅料醋应用情况调查[J].中国中药杂志,2005,30(17):1385-1388.  
MAO SJ, DAI MH. Investigation on the application of vinegar in preparation of Chinese herbal medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2005,30(17):1385-1388.
- [11] 余永建.镇江香醋有机酸组成及乳酸合成的生物强化[D].无锡:江南大学,2014.  
YU YJ. Organic Acids Analysis and Enhanced Lactic Acid Synthesis of Zhenjiang Aromatic Vinegar [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [12] 陈琳,吴皓,王媚.中药炮制辅料醋中总酸和乳酸的含量测定[J].中国中医药信息杂志,2010,17(9):52-54.  
CHEN L, WU H, WANG M. Determination of total acid and lactic acid in processing drugs adjuvant vinegar [J]. Chin J Inform Tradit Chin Med, 2010,17(9):52-54.