不同干燥方式对祁菊花品质的影响Δ

史佳一*，潘罗星，陶宜红，赵　清#（河北大学中医学院，河北 保定　071000）

中图分类号　R283　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）19-2365-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.19.08

摘　要　目的　考察不同干燥方式对祁菊花品质的影响，为祁菊花的采收加工提供依据。**方法**　采用7类共25种干燥方式对祁菊花鲜品进行干燥得到25种样品，以其外观性状及含水量为淘汰指标，去除不合格样品；以6种有效成分（绿原酸、木犀草苷、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素、黄芩苷）的含量为指标，结合主成分分析（PCA）及偏最小二乘法-判别分析（PLS-DA），以及PCA综合得分排名及每类干燥方式所得的最佳样品，综合选择6种实验样品；以氧化相关酶（多酚氧化酶、过氧化物酶）活性、稳定性及花瓣表面微观形态为指标，对上述6种样品进行质量评价。**结果**　PCA与PLS-DA结果表明，不同干燥方式所得样品的质量存在明显差异，绿原酸、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、黄芩苷这3种成分可能是导致样品产生差异的主要原因，100 ℃蒸汽杀青1 min后再以50 ℃烘干4 h所得样品中有效成分的综合得分最高。经微波功率800 W杀青1 min后再以50 ℃鼓风干燥4 h与100 ℃蒸汽杀青1 min后再以50 ℃烘干4 h这2种联合干燥方式处理的祁菊花中氧化相关酶完全失活，稳定性优于其他干燥方式所得样品；花瓣表面微观形态观察结果显示，以微波功率400 W烘干6 min所得样品与上述2种样品的完整度、平整度最高。**结论**　从成品质量及干燥效率来看，以100 ℃蒸汽杀青1 min后再以50 ℃烘干4 h是祁菊花的最佳干燥方式。

关键词　祁菊花；产地加工；干燥方式；绿原酸；3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸；黄芩苷

Effects of different drying methods on the quality of *Chrysanthemum morifolium*

SHI Jiayi，PAN Luoxing，TAO Yihong，ZHAO Qing（School of Traditional Chinese Medicine，Hebei University，Hebei Baoding 071000，China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of different drying methods on the quality of *Chrysanthemum morifolium*，and to provide a basis for the harvesting and processing of *C. morifolium*. **METHODS** Twenty-five samples were obtained by drying the fresh products using 7 types and 25 kinds of drying methods，and the unqualified samples were removed by taking their appearance and moisture content as elimination indexes. The contents of six active ingredients（chlorogenic acid，luteoloside，3，5-*O*-dicaffeoylquinic acid，quercetin，lignoceroside，baicalin）were used as indicators，and combined with principal component analysis（PCA），partial least square method-discriminant analysis（PLS-DA），PCA comprehensive score ranking and the best samples obtained from each drying method to select 6 experimental samples comprehensively. The quality of 6 kinds of samples was evaluated using the activities and stability of oxidation-related enzymes（polyphenol oxidase，peroxidase）and the microscopic morphology of the petal surface as evaluation indexes. **RESULTS** The results of PCA and PLS-DA showed significant differences in the quality of samples obtained by different drying methods，and chlorogenic acid，3，5-*O*-dicaffeoylquinic acid and baicalin might be the main reasons for the differences among the samples. The herbs treated with 100 ℃ steam fixation for 1 min combined with blast drying at 50 ℃ for 4 hours had the highest comprehensive score of active ingredients. The oxidation-related enzymes in *C. morifolium* treated with microwave 800 W fixation for 1 minute followed by 50 ℃ air drying for 4 hours and 100 ℃ steam sterilization for 1 minute followed by 50 ℃ drying for 4 hours were completely inactivated，and the stability was better than that of samples obtained by other drying methods. The observation results of the microstructure of the petal surface showed that the sample obtained by drying at a microwave power of 400 W for 6 minutes had the highest integrity and flatness compared to the above two samples. **CONCLUSIONS** From the perspective of finished product quality and drying efficiency，100 ℃ steam fixation for 1 min combined with blast drying at 50 ℃ for 4 hours is the best drying method for *C. morifolium*.

KEYWORDS　*Chrysanthemum morifolium*；origin processing；drying method；chlorogenic acid；3，5-*O*-dicaffeoylquinic acid；baicalin

菊花是我国的传统中药，为菊科植物菊*Chrysanthemum morifolium* Ramat.的干燥头状花序，具有疏散风热、平肝明目、清热解毒的功效，多用于临床治疗风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛、疮痈肿毒等病症[1]。菊花产地众多，《中药志》载称“产于河北安国者，称为‘祁菊’”。

Δ**基金项目**　河北省重点研发计划项目（No.22372504D）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药饮片炮制工艺及炮制机制。E-mail：sjyhbu17@163.com

＃**通信作者**　副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药饮片炮制工艺及炮制机制。E-mail：wshxr2003@163.com

祁菊花具有“质轻浮于水，叠瓣不粘连，味甘气清香，花冠似玉盘”的特点[2]，是著名的“八大祁药”之一，被《神农本草经》列为上品。然而，本课题组经实地考察后发现，与其他产地药用菊花相比，祁菊花因价格较低致使当地药农种植热情不高、栽培面积较小，加之缺乏对药材质量的综合评价，导致祁菊花的质量与均一性无法得到保障，使得祁菊花的市场推广及当地的产业发展受限[3]。

祁菊花具有花期短、新鲜花材水分含量高、酶种类丰富、存放过程易褐变等特点，因此采收后需及时进行干燥，以延长其在销售淡季的保存期。菊花的传统干燥方式主要有阴凉干燥[4]、硫磺熏蒸[5]和热风干燥[6]，但2015年版《中国药典》（一部）已禁止使用硫磺熏蒸来干燥菊花。近些年研究者开始采用现代技术对菊花进行干燥或干燥前处理，包括冻干[7]、蒸汽或105 ℃热风杀青后热风干燥[8]等。本研究拟基于药材的外观性状、水分含量、6种有效成分（绿原酸、木犀草苷、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素、黄芩苷）的含量、氧化相关酶的活性、稳定性及花瓣表面微观形态6种指标，综合评价不同干燥方式对祁菊花质量的影响，优选祁菊花的干燥方式，为祁菊花的市场推广及安国地区的产业发展提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括UltiMate3000型高效液相色谱（HPLC）仪、Multiskan SkyHigh型酶标仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），DHG-9146A型电热恒温鼓风干燥箱（上海精宏实验设备有限公司），G80F20CN2L-B8（R0）型微波炉（佛山市格兰仕微波炉电器有限公司），MIRA LMS型扫描电子显微镜（捷克Tescan公司）等。

1.2 主要药品与试剂

祁菊花药材于2023年11月3日采自河北中医药大学祁州校区药材基地，经河北大学中医学院梁宪茂讲师鉴定为菊科植物菊*C. morifolium* Ramat.的头状花序。木犀草素对照品（批号PS010346）、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸对照品（批号PS001052）、左旋多巴（批号PS020713）、愈创木酚（批号PS020182）、曲拉通X-100（批号PS231129-13）、聚乙烯比咯烷酮（polyvinyl pyrrolidone，PVP）（批号PS231130-15）均购自成都普思生物科技股份有限公司，纯度均不低于98%；绿原酸对照品（批号B20782）、木犀草苷对照品（批号B20887）、黄芩苷对照品（批号B20570）、槲皮素对照品（批号B20527）均购自上海源叶生物科技有限公司，纯度均不低于98%；甲醇（分析纯）、无水乙醇（分析纯）购自天津市富宇精细化工有限公司；磷酸（色谱纯）购自天津市永大化学试剂开发中心；甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）购自天津福晨化学试剂有限公司；纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

2 方法与结果

2.1 药材干燥方式及外观性状观察

取新鲜祁菊花，捡除杂质，按表1中方式进行干燥，每种干燥方式制备3批样品。

表1 祁菊花的不同干燥方式及对应样品编号

样品编号	干燥方法	具体过程
S1	自然阴干	将新鲜祁菊花摊平后置于阴凉干燥通风处10 d，每天观察药材状态，隔天翻面1次，直至干燥完全
R1	恒温热风烘干1	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为40 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，4 h后将药材取出
R2	恒温热风烘干2	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为40 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，5 h后将药材取出
R3	恒温热风烘干3	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为40 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，6 h后将药材取出
R4	恒温热风烘干4	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为50 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，4 h后将药材取出
R5	恒温热风烘干5	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为50 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，5 h后将药材取出
R6	恒温热风烘干6	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为50 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，6 h后将药材取出
R7	恒温热风烘干7	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为60 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，2 h后将药材取出
R8	恒温热风烘干8	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为60 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，3 h后将药材取出
R9	恒温热风烘干9	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为60 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内恒温烘干，4 h后将药材取出
B1	梯度热风烘干1	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为70 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内先以70 ℃烘10 min，后降至60 ℃恒温烘2 h
B2	梯度热风烘干2	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为80 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内先以80 ℃烘10 min，后降至60 ℃恒温烘2 h
B3	梯度热风烘干3	将新鲜祁菊花平摊于托盘上；设置鼓风干燥箱温度为90 ℃，当温度达到设定值后，将托盘放入鼓风干燥箱内先以90 ℃烘10 min，后降至60 ℃恒温烘2 h
W1	微波干燥1	将新鲜祁菊花平摊于托盘上，放入微波炉内以功率480 W烘5 min
W2	微波干燥2	将新鲜祁菊花平摊于托盘上，放入微波炉内以功率400 W烘6 min
W3	微波干燥3	将新鲜祁菊花平摊于托盘上，放入微波炉内以功率320 W烘7 min
ZS1	蒸汽杀青烘干1	将新鲜祁菊花放在笼屉上，用100 ℃蒸汽杀青30 s后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
ZS2	蒸汽杀青烘干2	将新鲜祁菊花放在笼屉上，用100 ℃蒸汽杀青1 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
ZS3	蒸汽杀青烘干3	将新鲜祁菊花放在笼屉上，用100 ℃蒸汽杀青1.5 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
WS1	微波杀青烘干1	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于微波炉内以功率800 W杀青30 s后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
WS2	微波杀青烘干2	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于微波炉内以功率800 W杀青1 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
WS3	微波杀青烘干3	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于微波炉内以功率800 W杀青1.5 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
RS1	烘箱杀青烘干1	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于烘箱内用105 ℃热风杀青30 s后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
RS2	烘箱杀青烘干2	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于烘箱内用105 ℃热风杀青1 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h
RS3	烘箱杀青烘干3	将新鲜祁菊花放在托盘上，置于烘箱内用105 ℃热风杀青1.5 min后取出，均匀平摊在滤纸上，放入鼓风干燥箱内以50 ℃恒温烘4 h

对25种祁菊花干燥样品的外观性状进行评价，结果如下：样品S1的花瓣皱缩，易掉落；R1～R6的花瓣湿软，花朵形态差；R7的花瓣皱缩；R8、R9的花瓣皱缩、轻微发黄；B1～B3的花瓣皱缩、部分发黄；W1～W3的花瓣轻微发黄、平整度高、质地较脆；ZS1发生褐变，ZS2、ZS3的花瓣轻微粘连；WS1～WS3的花瓣轻微发黄、平整度高；RS1～RS3的花瓣湿软，花朵形态差。根据上述结果可知，样品ZS1发生褐变；R1～R6、RS1～RS3水分含量疑超标，且外观性状较差。因此，以上样品对应的10种干燥方法应被淘汰，其余样品外观性状均合格。

2.2 祁菊花水分测定

按照2020年版《中国药典》（四部）通则“0832第二法”[9]测定各干燥样品的水分。每种样品测定3次，取平均值，结果详见表2。结果显示，样品R1～R6、ZS1及RS1～RS3的水分含量不合格，后续储存易霉变，对应的10种干燥方法应被淘汰，其余样品水分测定均合格（满足药典中水分不得超过15.0%的要求）。结合“2.1”项下结果，本研究选择除样品R1～R6、ZS1及RS1～RS3外的15种样品进行后续研究。

表2　25个祁菊花样品的水分测定结果（$n=3$，%）

样品编号	水分含量	样品编号	水分含量
S1	7.65	W1	11.05
R1	75.21	W2	11.33
R2	72.84	W3	10.93
R3	71.81	ZS1	15.25
R4	68.84	ZS2	14.86
R5	67.93	ZS3	14.49
R6	58.24	WS1	3.17
R7	14.71	WS2	2.93
R8	13.46	WS3	2.90
R9	13.11	RS1	59.10
B1	14.51	RS2	49.52
B2	14.22	RS3	45.95
B3	13.89		

2.3 祁菊花有效成分含量测定及多元统计分析

采用HPLC法测定。按照2020年版《中国药典》（一部）规定，选择绿原酸、木犀草苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸作为祁菊花质量评价的决定性成分，按干燥品计算，三者含量分别不得少于0.20%、0.08%、0.70%。查阅相关文献后，另外再选择槲皮素[10]、木犀草素[11]、黄芩苷[12]作为有效成分评价指标。

2.3.1 混合对照品溶液的制备

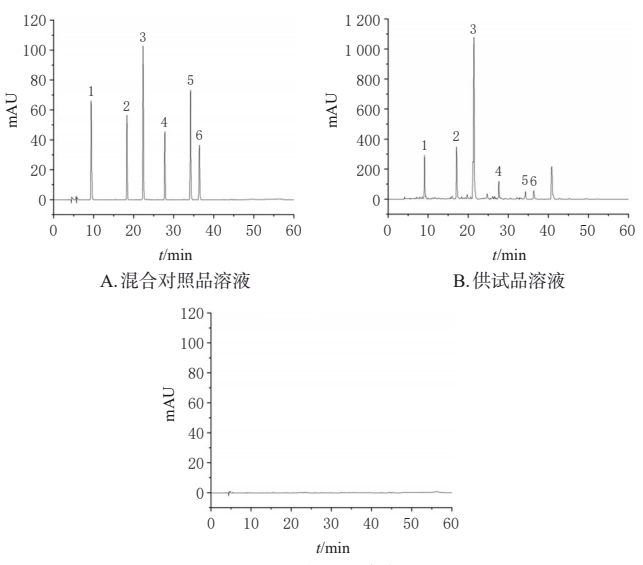
精密称取6种对照品，用70%甲醇配制成绿原酸、木犀草苷、黄芩苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素质量浓度分别为0.106 04、0.102 48、0.100 08、0.110 40、0.112 40、0.099 64 mg/mL的单一对照品溶液。吸取上述6种单一对照品溶液各200 μL，制成上述成分质量浓度分别为0.017 67、0.017 08、0.016 68、0.018 40、0.018 73、0.016 61 mg/mL的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备

将祁菊花药材粉碎，过一号筛。精密称取上述粉末2.0 g，置于50 mL锥形瓶中，加入70%甲醇25 mL，称定质量，超声（功率40 W，频率40 kHz，下同）提取40 min，冷却至室温；再次称定质量，用70%甲醇补足减失的质量，摇匀，取上清液过0.45 μm微孔滤膜，即得。

2.3.3 色谱条件与系统适用性实验

色谱柱为Sharpsil-AR ODS（250 mm×4.6 mm，5 μm）柱，以0.1%磷酸溶液（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～5 min，85%A→80%A；5～7 min，80%A；7～22 min，80%A→70%A；22～30 min，70%A→65%A；30～34 min，65%A；34～40 min，65%A→60%A；40～45 min，60%A→40%A；45～50 min，40%A→85%A；50～60 min，85%A）；流速为0.8 mL/min；检测波长为327 nm；柱温为25 ℃；进样量为10 μL。取“2.3.1”项下混合对照品溶液、“2.3.2”项下供试品溶液和阴性对照溶液（70%甲醇），按上述色谱条件进样测定。结果显示，各待测成分色谱峰与相邻色谱峰间的分离度均大于1.5，理论板数按3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸峰计不低于8 000，且阴性对照对测定无干扰。色谱图见图1。



A.混合对照品溶液　B.供试品溶液　C.阴性对照溶液

1：绿原酸；2：木犀草苷；3：黄芩苷；4：3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸；5：槲皮素；6：木犀草素。

图1　各溶液的HPLC图

2.3.4 方法学考察

（1）线性关系考察。取适量“2.3.1”项下混合对照品溶液，分别稀释1、2、4、8、16倍，制成5个系列质量浓度的线性工作液。取上述线性工作液，按“2.3.3”项下色谱条件进样测定，以峰面积（x）为横坐标、质量浓度（y）为纵坐标拟合标准曲线方程。结果显示，各待测成分在各自进样质量浓度范围内线性关系均良好，R^2均不低于0.999。结果见表3。

表3　绿原酸等6种成分的线性关系考察结果

化合物	标准曲线	线性范围/(mg/mL)	R^2
绿原酸	y=0.122 9x−0.067 5	0.001 10~0.017 67	0.999 8
木犀草苷	y=0.181 9x−0.028 6	0.001 07~0.017 08	0.999 6
黄芩苷	y=0.087 4x−0.077 1	0.001 04~0.016 68	0.999 7
3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸	y=0.236 2x−0.055 3	0.001 15~0.018 40	0.999 5
槲皮素	y=0.117 0x−0.000 2	0.001 17~0.018 73	0.999 6
木犀草素	y=0.200 6x−0.000 6	0.001 04~0.016 61	0.999 9

（2）精密度试验。精密称取祁菊花（样品编号ZS2）粉末2.0 g，按“2.3.2”项下方法制成供试品溶液，按“2.3.3”项下色谱条件连续进样6次，记录色谱图。结果显示，绿原酸、木犀草苷、黄芩苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素6种成分峰面积的RSD分别为1.85%、1.94%、1.86%、2.04%、1.82%、2.03%（n=6），表明该方法的精密度良好。

（3）稳定性试验。精密称取祁菊花（样品编号ZS2）粉末2.0 g，按“2.3.2”项下方法制成供试品溶液，分别在室温下放置0、2、4、8、12、24 h时，按“2.3.3”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，绿原酸、木犀草苷、黄芩苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素峰面积的RSD分别为1.54%、1.89%、1.76%、1.71%、1.85%、1.98%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

（4）重复性试验。精密称取6份祁菊花粉末（样品编号ZS2），各2.0 g，分别按“2.3.2”项下方法制成供试品溶液，按“2.3.3”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，并根据“2.3.4（1）”项下标准曲线计算各成分的含量。结果显示，绿原酸、木犀草苷、黄芩苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素含量的RSD分别为1.67%、1.76%、1.82%、1.37%、1.93%、1.75%（n=6），表明该方法的重复性良好。

（5）加样回收率试验。精密称取已知含量的祁菊花供试品溶液（样品编号ZS2）6份，按照成分含量1∶1的比例加入相应对照品溶液，分别按“2.3.2”项下方法制成供试品溶液，按“2.3.3”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，并计算各成分的平均加样回收率。结果显示，绿原酸、木犀草苷、黄芩苷、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸、槲皮素、木犀草素的平均加样回收率分别为100.05%、99.31%、100.01%、99.72%、100.12%、99.18%，RSD分别为2.03%、1.84%、2.01%、1.90%、1.86%、1.73%（n=6），表明该方法的准确度较好。

2.3.5　有效成分含量测定

精密称取15种祁菊花样品粉末各2.0 g，分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.3”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并采用各成分标准曲线方程计算样品中6种有效成分的含量。每种样品测定3次，结果取平均值，详见表4。根据表4结果可知，样品WS1中3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸含量不合格（低于0.70%），其对应干燥方法应被淘汰，其余样品中指标性成分含量均合格（绿原酸不低于0.20%、木犀草苷不低于0.08%、3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸不低于0.70%）。样品R8的绿原酸、木犀草苷含量均为最高，B1的3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸含量最高，ZS2的木犀草素含量最高，W2的黄芩苷含量最高，S1的槲皮素含量最高。

表4　15种祁菊花样品中绿原酸等6种有效成分的含量测定结果（n=3，%）

样品编号	绿原酸	木犀草苷	3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸	黄芩苷	木犀草素	槲皮素
S1	3.509 0	1.551 6	7.452 3	12.140 4	0.649 6	1.050 7
R7	4.279 6	1.560 1	7.899 9	13.999 4	0.262 9	0.553 0
R8	4.991 5	1.976 6	8.911 1	17.271 0	0.376 7	0.734 9
R9	4.454 7	1.331 9	7.945 9	14.232 1	0.201 5	0.525 5
B1	2.761 3	1.788 6	11.030 1	10.156 2	0.852 3	0.616 0
B2	2.543 5	1.564 6	10.696 2	6.430 4	0.707 5	0.693 2
B3	2.549 9	1.617 7	9.626 7	9.424 1	0.830 4	0.497 5
W1	4.123 7	1.243 1	8.264 5	9.967 4	0.411 0	0.426 7
W2	4.805 7	1.806 1	8.329 9	19.174 1	0.419 3	0.880 9
W3	4.334 6	1.455 7	7.533 1	15.092 3	0.387 5	0.687 4
ZS2	4.668 7	1.745 7	9.236 1	13.014 6	1.256 8	0.906 1
ZS3	4.621 5	1.500 2	7.506 0	14.056 0	0.265 4	0.709 6
WS1	4.031 1	1.281 7	0.697 5	16.199 1	0.272 3	0.421 8
WS2	4.204 2	1.489 7	7.184 7	15.464 9	0.238 4	0.524 7
WS3	3.811 3	1.434 1	7.093 7	14.778 1	0.217 6	0.444 7

2.3.6　多元统计分析

（1）主成分分析。以14种样品中的6种有效成分含量作为变量，应用SPSS 27与SIMCA 14.1软件进行主成分分析（principal component analysis，PCA）。PCA结果显示，当提取到第2个主成分时，累计方差贡献率达到全部方差贡献率的80.70%（第1主成分的方差贡献率为48.48%，第2主成分的方差贡献率为32.22%），说明前2个主成分可以综合反映不同干燥方法所得祁菊花样品的大部分成分信息。

对14种祁菊花样品的主成分综合得分进行排名（表5），可见综合得分排前3名的样品依次为ZS2、R8、S1，各类干燥方式下综合排名最高的样品分别为S1、R8、B2、W2、ZS2、WS2。为探讨不同干燥方式对制得的祁菊花样品多个指标的影响，更深入了解不同干燥方式应用于祁菊花的优缺点，本研究选择综合得分排前3名的3个样品（ZS2、R8、S1）以及其他类干燥方式下综合排名最高的样品（编号B2、W2、WS2）进行后续考察。

表5　主成分综合得分及排名

组别	综合得分	排名	组别	综合得分	排名
S1	0.823	3	W1	0.685	7
R7	0.650	8	W2	0.735	5
R8	0.827	2	W3	0.685	6
R9	0.592	9	ZS2	1.152	1
B1	0.461	12	ZS3	0.800	4
B2	0.522	11	WS2	0.573	10
B3	0.441	14	WS3	0.459	13

（2）偏最小二乘法-判别分析。以14种样品中的6种有效成分含量作为变量导入SIMCA 14.1软件进行偏最小二乘法-判别分析（partial least square method-discriminant analysis，PLS-DA），结合变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值[13]分析（图2），以VIP值＞1为标准筛选不同样品间的差异性标志物。结果显示，绿原酸（VIP值为1.347 4）、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸（VIP值为1.285 71）、黄芩苷（VIP值为1.195 22），可能是导致样品间产生差异的主要原因。

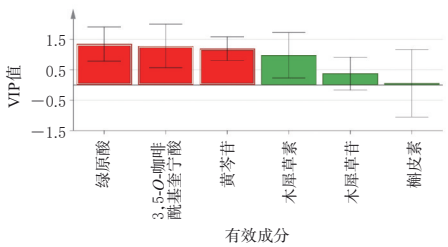


图2　绿原酸等6种有效成分的VIP值得分图

2.4　氧化相关酶活性测定

参考崔莉等[14]所用方法，对样品S1、R8、B2、W2、ZS2和WS2中多酚氧化酶（polyphenol oxidase，PPO）、过氧化物酶（peroxidase，POD）的活性进行测定。

2.4.1　酶液提取

称取上述6种祁菊花样品各1.00 g，置于研钵中，用20 mmol/L的Tris-HCl缓冲液（pH7.5，含3%曲拉通X-100和1%PVP）10 mL冰浴研磨提取。将提取物在4 ℃下以10 000 r/min离心10 min，收集上清液作为粗酶液，置于4 ℃冰箱中保存备用。

2.4.2　PPO、POD活性测定

（1）PPO活性测定：该酶促反应以左旋多巴为底物，反应体系包括2.95 mL 5 mmol/L的左旋多巴溶液（用20 mmol/L Tris-HCl缓冲液配制）和0.05 mL粗酶液。使用酶标仪测定475 nm波长处吸光度（*A*）的变化，在室温下反应20 min后开始记录，每隔20 s记录1次，连续测定5 min。实验重复3次，结果取平均值。以每分钟*A*增加0.001为1个PPO活性单位。（2）POD活性测定：该酶促反应以愈创木酚为底物，反应体系包括2.95 mL 10 mmol/L的愈创木酚溶液、0.02 mL 10 mmol/L的H_2O_2溶液（用20 mmol/L Tris-HCl缓冲液配制，pH7.5）和0.03 mL粗酶液。使用酶标仪测定470 nm波长处*A*的变化，室温下反应20 min后开始记录，每隔20 s记录1次，连续测定5 min。实验重复3次，结果取平均值。以每分钟*A*增加0.001为1个POD活性单位。结果见图3。

结果显示，样品ZS2、WS2中PPO活性丧失，其余样品中PPO活性大小依次为S1＞R8＞B2＞W2；除样品R8外，其余样品中POD活性均已完全丧失。由此可知，杀青干燥可能是灭活样品中PPO和POD的最佳方法。

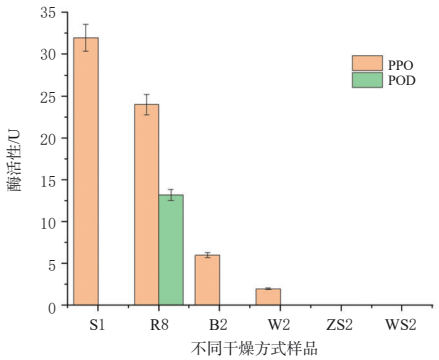


图3　不同干燥方式样品中PPO、POD活性测定结果

2.5　稳定性测试

取样品S1、R8、B2、W2、ZS2和WS2，置于阴凉干燥处放置1个月，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，然后按“2.3.5”项下方法测定样品中6种有效成分的含量。每份样品测定3次，结果取平均值（表6）。结合表4结果对放置1个月前后样品中6种有效成分含量的差异进行比较，含量变化倍数结果见图4。

表6　放置1个月后样品中绿原酸等6种有效成分的含量测定结果（*n*=3，%）

样品编号	绿原酸	木犀草苷	3,5-*O*-咖啡酰基奎宁酸	黄芩苷	木犀草素	槲皮素
S1	0.436 9	0.202 6	1.029 5	1.655 7	0.103 4	0.107 7
R8	0.699 3	0.236 2	1.202 4	2.593 5	0.070 1	0.076 0
B2	0.396 2	0.252 5	1.565 2	1.616 0	0.162 8	0.081 3
W2	0.816 5	0.350 9	1.685 8	3.609 6	0.170 3	0.138 3
ZS2	0.748 2	0.359 0	1.972 6	2.680 4	0.576 4	0.148 6
WS2	0.789 5	0.325 6	1.688 3	3.216 6	0.135 2	0.092 8

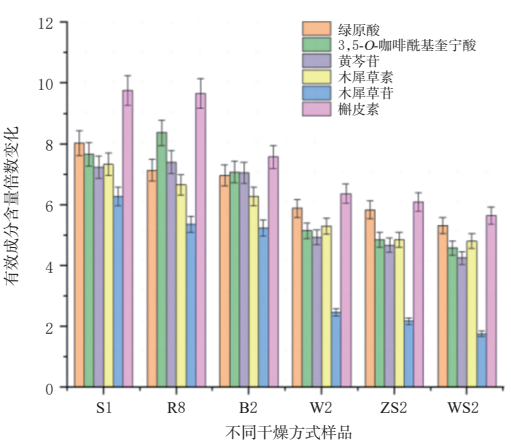


图4　放置1个月前后样品中绿原酸等6种有效成分含量倍数的变化

结果显示，6个样品中绿原酸、木犀草苷、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸含量依然符合药典要求，且6个样品在放置1个月后其中的6种有效成分含量均不同程度减少。

2.6　表面微观形态检查

将S1、R8、B2、W2、ZS2和WS2样品分别粉碎成小于2 mm的碎片，置于样品架上并涂上金钯，使用扫描电子显微镜（scanning electron microscope，SEM）在5 kV加速电压下观察各干燥花瓣表面的微观形貌，详见图5。

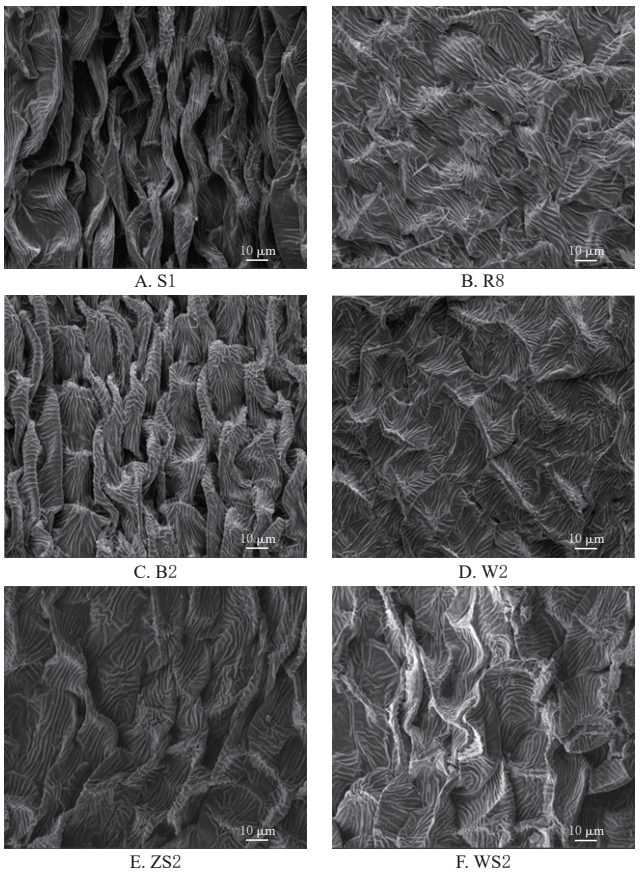


图5　6个祁菊花样品的表面微观形态

结果显示，样品S1表面自然收缩、褶皱较深；样品R8表面出现细小碎裂，样品B2最接近自然阴干状态，且这2种样品表面的褶皱均较深；样品W2、ZS2和WS2的表面平整度、完整度最高。

3　讨论

新鲜的祁菊花含有丰富的水分和酶类，在存放过程中极易发生变质及褐变，因此及时对其进行干燥具有重要意义。祁菊花中的活性成分主要包含多酚类及黄酮类化合物等[15]，而干燥过程中多酚类化合物极易在PPO、POD等酶的催化下发生氧化，产生褐变[16－17]，进而影响祁菊花的颜色和有效成分含量。因此，选择能高效灭活PPO和POD的干燥方式对祁菊花质量和储存过程中的稳定性极为重要。此外，新鲜祁菊花在干燥过程中通常会发生收缩，成品花瓣松脆易碎，影响其外观和质量[18]。作为常被用于茶饮的花类药材，祁菊花的外观质量极大地影响了消费者的选择，花瓣的皱缩程度可用于评价不同干燥方式对样品外观性状的影响，菊花的皱缩程度越小外观越好[19]。

本研究比较了7类干燥方式处理后的祁菊花质量。PCA、PLS-DA结果均表明，不同干燥方式所得样品的质量存在明显差异。PCA结果表明，蒸汽杀青1 min后再以50 ℃烘干4 h所得样品（编号ZS2）的综合得分最高；PLS-DA结果表明，绿原酸、黄芩苷、3，5-*O*-咖啡酰基奎宁酸这3种成分可能是导致样品之间产生差异的主要原因。氧化相关酶活性与稳定性实验结果表明，相同温度下，微波杀青1 min结合鼓风干燥与蒸汽杀青1 min结合鼓风干燥2种方式能够缩短样品干燥时间，有效灭活样品中氧化相关酶PPO和POD，减少样品发生褐变；表面微观形态检测结果显示，不同干燥方式祁菊花样品的表面微观形态不同，微波干燥处理、微波杀青1 min结合鼓风干燥和蒸汽杀青1 min结合鼓风干燥3种方式均能减少药材的微观形态收缩，降低花瓣皱缩程度，从而提高饮片的外观品质。

综上所述，蒸汽杀青1 min后再以50 ℃烘干4 h所得样品的各项指标评价结果最优，为祁菊花的最佳干燥方式。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[M]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：323.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China：volume 1 [M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2020：323.

[2] 王玉田，曹丽芳，杨哲，等.基于FTIR，FT-Raman的脱毒繁育和硫磺熏制祁菊花的药用成分分析研究和光谱表征[J].光谱学与光谱分析，2016，36(9)：2780-2783.
WANG Y T，CAO L F，YANG Z，et al. Research on the medicinal effective component and characterization of virus-free breeding and sulfur-smoked Qi *Chrysanthemum* based on FTIR and FT-Raman[J]. Spectrosc Spectr Anal，2016，36(9)：2780-2783.

[3] 赵喜进，赵帅.祁菊花的市场情况与种植要点[J].特种经济动植物，2014，17(1)：40.
ZHAO X J，ZHAO S. Market situation and planting points of *Chrysanthemum morifolium*[J]. Spec Econ Anim Plant，2014，17(1)：40.

[4] 刘文泰，黄辉，方红，等.本草品汇精要[M].北京：中国中医药出版社，2013：1.
LIU W T，HUANG H，FANG H，et al. Compendium of herbal products[M]. Beijing：China Traditional Chinese Medicine Press，2013：1.

[5] DING K，CAO G，XU Z W，et al. Quantitative analysis coupled with toxic evaluation to investigate the influence of sulfur-fumigation on the quality of *Chrysanthemum morifolium*[J]. Nat Prod Commun，2014，9(9)：1357-1358.

[6] 王珊，李友连，苏靖，等.中国药用菊花品种及加工方法变迁的研究[J].中国药学杂志，2017，52(7)：539-542.
WANG S，LI Y L，SU J，et al. Review of the changes of the species and processing methods of *Chrysanthemum morifolium*[J]. Chin Pharm J，2017，52(7)：539-542.

[7] 潘芸芸，王庆，冉聪，等. 加工及贮藏方式对菊花品质的影响[J]. 食品与机械，2017，33(5)：141-144，177.
PAN Y Y，WANG Q，RAN C，et al. Effects of processing and storage methods on the quality of *Chrysanthemum* [J]. Food Mach，2017，33(5)：141-144，177.

[8] SHI X F，CHU J Z，ZHANG Y F，et al. Nutritional and active ingredients of medicinal *Chrysanthemum* flower heads affected by different drying methods[J]. Ind Crops Prod，2017，104：45-51.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：32.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China：volume 4 [M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2020：32.

[10] 王春花，曲雪嘉，孔令钰，等. 基于系统药理学菊花清热解毒功效的分子机制研究[J]. 湖北农业科学，2021，60(10)：137-142.
WANG C H，QU X J，KONG L Y，et al. Study on mechanism of heat-clearing and detoxifying efficacy of Flos Chrysanthemi based on systems pharmacology[J]. Hubei Agric Sci，2021，60(10)：137-142.

[11] 彭贵龙，周光明，秦红英. HPLC同时测定药用白菊花中绿原酸、木犀草素、芹菜素和金合欢素[J]. 天然产物研究与开发，2014，26(7)：1067-1071.
PENG G L，ZHOU G M，QIN H Y. Simultaneous determination of chlorogenic acid，luteolin，apigenin and acacetin in medicinal *Chrysanthemum morifolium* by HPLC [J]. Nat Prod Res Dev，2014，26(7)：1067-1071.

[12] 雷康藤，龙娟娟，杨琳妹，等. 菊花黄酮化合物组成、抗氧化活性及相关性分析[J]. 山东化工，2020，49(1)：53-55.
LEI K T，LONG J J，YANG L M，et al. Compositions，antioxidant activities and correlation analysis of flavonoids in *Chrysanthemums*[J]. Shandong Chem Ind，2020，49(1)：53-55.

[13] 何佳，黄文康，马相锋，等. 基于主成分分析与PLS-DA分析研究浙麦冬道地性与等级评价标准[J]. 中国药学杂志，2021，56(4)：285-292.
HE J，HUANG W K，MA X F，et al. Geoherbalism and grand evaluation of Zhejiang *Ophiopogon japonicas* based on PCA and PLS-DA[J]. Chin Pharm J，2021，56(4)：285-292.

[14] 崔莉，宋双双，刘峰，等. 不同干燥方法对菊花褐变相关酶及活性成分的影响研究[J]. 食品科技，2015，40(2)：39-44.
CUI L，SONG S S，LIU F，et al. Effects of different drying methods on the enzyme activities and active compounds contents from *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. Food Sci Technol，2015，40(2)：39-44.

[15] 邓晓颜，王小兰，李孟，等. 怀菊花总黄酮富集纯化工艺优化及其抗炎活性、成分组成研究[J]. 中成药，2023，45(9)：2815-2821.
DENG X Y，WANG X L，LI M，et al. Optimization of enrichment and purification process for total flavonoids from Huai *Chrysanthemum* and their anti-inflammatory activity，component composition[J]. Chin Tradit Pat Med，2023，45(9)：2815-2821.

[16] JIANG G H，KIM Y M，NAM S H，et al. Enzymatic browning inhibition and antioxidant activity of pear juice from a new cultivar of Asian pear（*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Sinhwa）with different concentrations of ascorbic acid [J]. Food Sci Biotechnol，2016，25(1)：153-158.

[17] GHEYSARBIGI S，MIRDEHGHAN S H，GHASEMNEZHAD M，et al. The inhibitory effect of nitric oxide on enzymatic browning reactions of in-package fresh pistachios（*Pistacia* vera L.）[J]. Postharvest Biol Technol，2020，159：110998.

[18] LI Y H，WU Z F，WANG X C，et al. Effects of combined infrared and steam blanching on enzyme inactivation and product quality of *Chrysanthemum indicum* L. flower[J]. J Food Process Preserv，2019，43(10)：e14119.

[19] 王莹. 菊花、当归和黄芪3种中药加工炮制机制及标准化研究[D]. 天津：天津大学，2019.
WANG Y. Study on processing mechanism and standardization of *Chrysanthemum*，*Angelica* and *Astragalus*[D]. Tianjin：Tianjin University，2019.

（收稿日期：2024-05-09　修回日期：2024-08-09）
（编辑：林　静）