

广东省分析测试协会团体标准
《新会陈皮陈化年份鉴定 高效液相色谱-高分辨质谱法》

编制说明

《新会陈皮陈化年份鉴定 高效液相色谱-高分辨质谱法》

编制组

2024 年 07 月

目录

| | |
|--------------------------------|----|
| 一、项目背景 | 1 |
| 二、工作简况 | 2 |
| 2.1 任务来源 | 2 |
| 2.2 主要工作过程 | 2 |
| 三、标准编制原则 | 2 |
| 四、方法研究 | 3 |
| 4.1 不同年份陈皮样品的收集 | 3 |
| 4.2 样品前处理 | 4 |
| 4.3 液相色谱-高分辨质谱条件 | 4 |
| 4.4 年份计算方法的建立 | 5 |
| 4.5 准确度评价 | 11 |
| 4.6 精密度、重复性与稳定性 | 12 |
| 4.7 方法适用性 | 13 |
| 4.8 陈皮生产年份的计算 | 19 |
| 4.9 目标物的确认 | 19 |
| 五、与现行相关法律、法规和强制性标准的关系 | 20 |
| 六、预期的社会效益及贯彻实施标准的要求和措施建议 | 21 |
| 6.1 预期的社会效益 | 21 |
| 6.2 贯彻实施标准的要求和措施建议 | 21 |
| 七、结论 | 21 |
| 八、参考文献 | 22 |

新会陈皮陈化年份鉴定 高效液相色谱-高分辨质谱法

一、项目背景

陈皮(Pericarpium Citri Reticulatae)是芸香科植物橘(Citrus reticulata Blanco)及其栽培变种的干燥成熟果皮^[1]。新会陈皮是广东道地药材,位居“广东三宝”之首。2023年,新会陈皮全产业链总产值达230亿元,新会陈皮发展已成为江门产业发展的重要组成部分。

陈皮陈化年份越长,其价格越高。《绍兴本草》曾报道“唯橘皮以陈久者佳”。中医理论也认为随着陈皮贮藏年限的增加,其药用价值更高^[2]。由于高年份的陈皮价格高昂,有的不法商人用新陈皮做旧冒充老陈皮,损害了消费者利益,扰乱了陈皮市场,影响陈皮产业的发展。因此,迫切需要建立陈皮陈化年份的鉴定方法,以维护公平竞争及消费者权益。

目前,陈皮年份鉴别方法包括近红外光谱^[3,4]、拉曼光谱^[5]、高光谱成像^[6]、太赫兹光谱^[7]、气相色谱-质谱^[8]、及液相色谱-高分辨质谱^[9]等方法。红外光谱、拉曼光谱、高光谱成像、太赫兹光谱主要通过不同年份陈皮表面光谱特征的变化对陈皮年份进行鉴定。气相色谱-质谱、液相色谱-高分辨质谱分别对挥发性和难挥发性成分进行分析。

本标准项目通过研究陈皮样品中的多个特征化学成分在陈化过程中的转化规律,构建了成分转化因子计算陈化年份的计算模型,排除了因样品个体化学成分含量差异引起的误差,极大提升了鉴定结果的准确性。

二、工作简况

2.1 任务来源

陈皮年份是评价陈皮质量的重要指标。目前，国内尚无新会陈皮年份鉴定的统一标准。根据《广东省分析测试协会团体标准制修订计划项目》要求，由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）负责制订《陈皮生产年份鉴别方法 高效液相色谱-高分辨质谱法》标准。

广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）承担制定的《陈皮生产年份鉴别方法 高效液相色谱-高分辨质谱法》标准，是广东省分析测试协会2023年团体标准制修订计划项目，项目批文号为：粤测协字 [2023] 33号，项目计划编号为：GAIA/JH20230204，任务书起止时间为：2023年10月至2024年10月。

2.2 主要工作过程

- （1）收集不同年份的代表性陈皮样品；
- （2）寻找不同年份陈皮代表性成分；
- （3）建立陈皮年份计算模型；
- （4）本标准经北京市科学技术研究院分析测试研究所（北京市理化分析测试中心）、广州海关技术中心、广东一方制药有限公司验证，验证结果符合要求，可以用新会陈皮年份的鉴定。
- （5）根据广东省分析测试协会团体标准研究相关规定，形成了标准征求意见稿。

三、标准编制原则

本标准是依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草编写的。

四、方法研究

4.1 不同年份陈皮样品的收集

本项目通过与江门市新会区动物防疫监督所（江门市新会区农产品质量安全监督检验测试中心）合作，共收集了 190 个已知年份的样品。样品信息见表 1。

表 1 样品信息

| 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 |
|----|----|----|----|----|----|-----|----|-----|----|
| 1 | 1 | 39 | 2 | 77 | 4 | 115 | 6 | 153 | 8 |
| 2 | 1 | 40 | 2 | 78 | 4 | 116 | 6 | 154 | 8 |
| 3 | 1 | 41 | 2 | 79 | 4 | 117 | 6 | 155 | 8 |
| 4 | 1 | 42 | 2 | 80 | 4 | 118 | 6 | 156 | 8 |
| 5 | 1 | 43 | 2 | 81 | 4 | 119 | 6 | 157 | 8 |
| 6 | 1 | 44 | 2 | 82 | 5 | 120 | 6 | 158 | 8 |
| 7 | 1 | 45 | 2 | 83 | 5 | 121 | 6 | 159 | 8 |
| 8 | 1 | 46 | 3 | 84 | 5 | 122 | 6 | 160 | 8 |
| 9 | 1 | 47 | 3 | 85 | 5 | 123 | 6 | 161 | 8 |
| 10 | 1 | 48 | 3 | 86 | 5 | 124 | 6 | 162 | 8 |
| 11 | 1 | 49 | 3 | 87 | 5 | 125 | 7 | 163 | 8 |
| 12 | 1 | 50 | 3 | 88 | 5 | 126 | 7 | 164 | 8 |
| 13 | 1 | 51 | 3 | 89 | 5 | 127 | 7 | 165 | 8 |
| 14 | 1 | 52 | 3 | 90 | 5 | 128 | 7 | 166 | 8 |
| 15 | 1 | 53 | 3 | 91 | 5 | 129 | 7 | 167 | 8 |
| 16 | 1 | 54 | 3 | 92 | 5 | 130 | 7 | 168 | 8 |
| 17 | 1 | 55 | 3 | 93 | 5 | 131 | 7 | 169 | 8 |
| 18 | 1 | 56 | 3 | 94 | 5 | 132 | 7 | 170 | 8 |
| 19 | 1 | 57 | 3 | 95 | 5 | 133 | 7 | 171 | 8 |
| 20 | 1 | 58 | 3 | 96 | 5 | 134 | 7 | 172 | 9 |
| 21 | 2 | 59 | 3 | 97 | 6 | 135 | 7 | 173 | 9 |
| 22 | 2 | 60 | 4 | 98 | 6 | 136 | 7 | 174 | 9 |

| 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 | 编号 | 年份 |
|----|----|----|----|-----|----|-----|----|-----|----|
| 23 | 2 | 61 | 4 | 99 | 6 | 137 | 7 | 175 | 9 |
| 24 | 2 | 62 | 4 | 100 | 6 | 138 | 7 | 176 | 9 |
| 25 | 2 | 63 | 4 | 101 | 6 | 139 | 7 | 177 | 9 |
| 26 | 2 | 64 | 4 | 102 | 6 | 140 | 7 | 178 | 9 |
| 27 | 2 | 65 | 4 | 103 | 6 | 141 | 7 | 179 | 10 |
| 28 | 2 | 66 | 4 | 104 | 6 | 142 | 7 | 180 | 10 |
| 29 | 2 | 67 | 4 | 105 | 6 | 143 | 7 | 181 | 10 |
| 30 | 2 | 68 | 4 | 106 | 6 | 144 | 7 | 182 | 10 |
| 31 | 2 | 69 | 4 | 107 | 6 | 145 | 7 | 183 | 10 |
| 32 | 2 | 70 | 4 | 108 | 6 | 146 | 7 | 184 | 10 |
| 33 | 2 | 71 | 4 | 109 | 6 | 147 | 7 | 185 | 10 |
| 34 | 2 | 72 | 4 | 110 | 6 | 148 | 7 | 186 | 10 |
| 35 | 2 | 73 | 4 | 111 | 6 | 149 | 7 | 187 | 10 |
| 36 | 2 | 74 | 4 | 112 | 6 | 150 | 8 | 188 | 10 |
| 37 | 2 | 75 | 4 | 113 | 6 | 151 | 8 | 189 | 10 |
| 38 | 2 | 76 | 4 | 114 | 6 | 152 | 8 | 190 | 10 |

注：表格中1年样品为2023年采集的新皮。按照新会地区陈皮产业的规定，当年采摘的新皮为1年皮。

4.2 样品前处理

室温保存的陈皮样品经粉碎、过筛后，称取样品0.5 g（精确到0.0001 g），置于50 mL锥形瓶中，加入70%甲醇溶液20 mL，涡旋振荡，使试样与提取溶剂充分混匀。超声提取30 min，摇匀，静置至室温，用70%甲醇溶液补重，以10 000 r/min转速离心10 min，取上清液经0.22 μm有机滤膜过滤，滤液作为供试品溶液备用（供试品溶液可根据实际浓度进行适当稀释）。

4.3 液相色谱-高分辨质谱条件

色谱柱：Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD（2.1 mm×150 mm，1.8 μm）；

流速：0.3mL/min；柱温：35℃；进样量：1.0 μL。流动相：A为0.1%甲酸溶液，B为乙腈，梯度如下：

表2 流动相梯度

| 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|----------|-----------|-----------|
| 0.0 | 90 | 10 |
| 1.0 | 90 | 10 |
| 10.0 | 20 | 80 |
| 15.0 | 5 | 95 |
| 17.0 | 5 | 95 |
| 17.1 | 90 | 10 |
| 20.0 | 90 | 10 |

离子源：可加热电喷雾离子源（HESI）；扫描方式：全扫描（Full Scan）；扫描模式：正离子模式（Positive）；喷雾电压：3500 V；鞘气（N₂）温度：350 °C；鞘气（N₂）流量：50 Arb；辅助气流速：10 Arb；离子传输管温度：325 °C；质谱扫描范围： m/z 100-1000；分辨率：60 000。

4.4 年份计算方法的建立

4.4.1 特征成分的选择

前期研究^[1]结果表明，陈皮陈化过程中，6个分子式为C₂₀H₂₂O₇的化合物发生相互转化。随着陈化时间的延长，其中，化合物4、5、6的相对含量逐渐升高，而化合物1、2、3的相对含量逐渐降低（图1）。因此，选择这6个化合物为年份鉴定的特征成分。

4.4.2 提取方法的选择

新会陈皮样品通过改变提取溶剂、提取方法和提取时间进行提取方法优化，最终选择70%甲醇溶液，超声提取30 min进行提取，该方法能够实现6个特征成分的有效提取。

4.4.3 转化因子的计算

在全扫描谱图中，通过提取分子式 $C_{20}H_{22}O_7$ 的精确质量数 m/z 375.1438 的提取离子色谱图，得到分子式为 $C_{20}H_{22}O_7$ 的 6 个同分异构体的峰面积。分别为 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 、 A_5 、 A_6 （图 2）。按照公式（1）计算转化因子（S）。190 批次陈皮样品的转化因子见表 3。

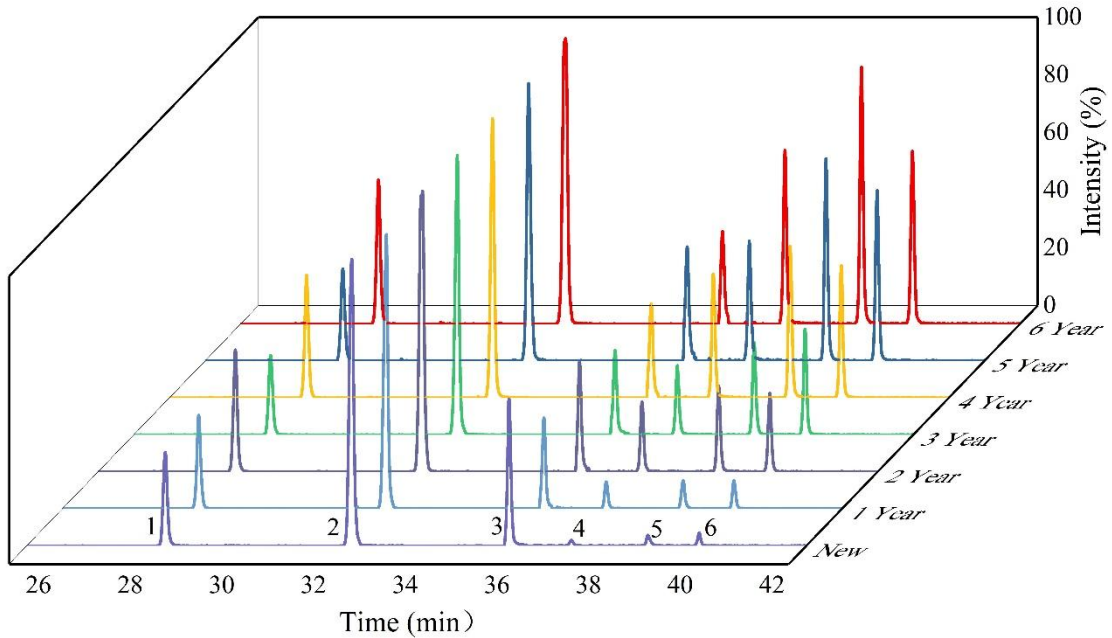


图 1 6 个同分异构体的提取离子色谱图

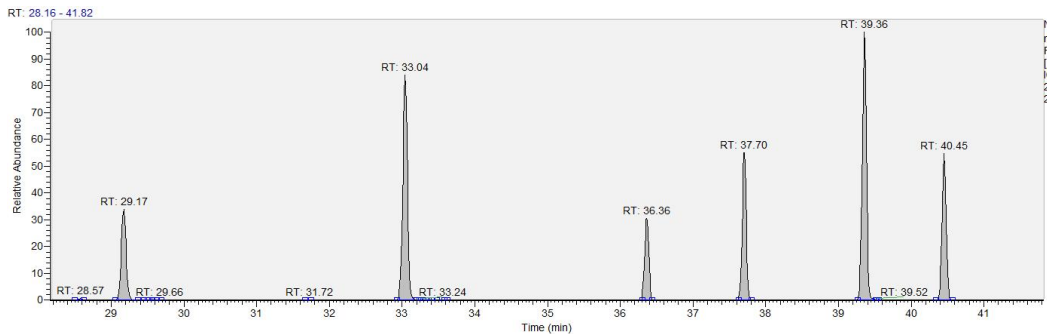


图 2 分子式为 $C_{20}H_{22}O_7$ 的 6 个同分异构体提取离子色谱图

$$S = \frac{\sqrt{A_4^2 + A_5^2 + A_6^2}}{\sqrt{A_1^2 + A_2^2 + A_3^2}} \quad (1)$$

表 3 190 批次样品的转化因子

| 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 |
|----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 1 | 0.032 | 39 | 0.409 | 77 | 0.619 | 115 | 1.001 | 153 | 1.127 |
| 2 | 0.042 | 40 | 0.494 | 78 | 0.779 | 116 | 1.252 | 154 | 1.191 |
| 3 | 0.107 | 41 | 0.408 | 79 | 0.704 | 117 | 1.265 | 155 | 1.288 |
| 4 | 0.035 | 42 | 0.476 | 80 | 0.726 | 118 | 1.105 | 156 | 1.227 |
| 5 | 0.036 | 43 | 0.423 | 81 | 0.700 | 119 | 1.180 | 157 | 1.274 |
| 6 | 0.041 | 44 | 0.466 | 82 | 0.981 | 120 | 1.128 | 158 | 1.280 |
| 7 | 0.034 | 45 | 0.377 | 83 | 1.016 | 121 | 1.268 | 159 | 1.207 |
| 8 | 0.048 | 46 | 0.450 | 84 | 1.048 | 122 | 1.078 | 160 | 1.166 |
| 9 | 0.041 | 47 | 0.440 | 85 | 0.951 | 123 | 1.185 | 161 | 1.116 |
| 10 | 0.044 | 48 | 0.430 | 86 | 0.820 | 124 | 0.968 | 162 | 1.124 |
| 11 | 0.041 | 49 | 0.505 | 87 | 0.838 | 125 | 1.294 | 163 | 1.166 |
| 12 | 0.030 | 50 | 0.429 | 88 | 0.747 | 126 | 1.270 | 164 | 1.122 |
| 13 | 0.046 | 51 | 0.564 | 89 | 0.962 | 127 | 1.308 | 165 | 1.425 |
| 14 | 0.041 | 52 | 0.612 | 90 | 0.991 | 128 | 1.075 | 166 | 1.220 |
| 15 | 0.039 | 53 | 0.561 | 91 | 1.024 | 129 | 1.172 | 167 | 1.186 |
| 16 | 0.049 | 54 | 0.579 | 92 | 1.095 | 130 | 1.240 | 168 | 1.404 |
| 17 | 0.035 | 55 | 0.637 | 93 | 0.886 | 131 | 1.132 | 169 | 1.320 |
| 18 | 0.029 | 56 | 0.647 | 94 | 0.999 | 132 | 1.244 | 170 | 1.192 |
| 19 | 0.048 | 57 | 0.733 | 95 | 1.155 | 133 | 1.248 | 171 | 1.329 |
| 20 | 0.048 | 58 | 0.625 | 96 | 1.186 | 134 | 1.119 | 172 | 1.389 |
| 21 | 0.371 | 59 | 0.695 | 97 | 1.126 | 135 | 0.995 | 173 | 1.358 |
| 22 | 0.317 | 60 | 0.578 | 98 | 1.169 | 136 | 0.979 | 174 | 1.269 |
| 23 | 0.306 | 61 | 0.581 | 99 | 1.150 | 137 | 1.206 | 175 | 1.326 |
| 24 | 0.433 | 62 | 0.672 | 100 | 0.963 | 138 | 1.183 | 176 | 1.341 |
| 25 | 0.422 | 63 | 0.704 | 101 | 1.127 | 139 | 1.217 | 177 | 1.388 |
| 26 | 0.377 | 64 | 0.571 | 102 | 1.055 | 140 | 1.106 | 178 | 1.445 |
| 27 | 0.380 | 65 | 0.950 | 103 | 1.041 | 141 | 1.213 | 179 | 1.535 |
| 28 | 0.394 | 66 | 0.891 | 104 | 1.109 | 142 | 1.250 | 180 | 1.370 |
| 29 | 0.401 | 67 | 0.789 | 105 | 0.993 | 143 | 1.116 | 181 | 1.433 |
| 30 | 0.399 | 68 | 0.714 | 106 | 1.191 | 144 | 1.231 | 182 | 1.363 |
| 31 | 0.453 | 69 | 0.794 | 107 | 0.930 | 145 | 1.088 | 183 | 1.322 |
| 32 | 0.428 | 70 | 0.729 | 108 | 1.164 | 146 | 1.156 | 184 | 1.494 |
| 33 | 0.430 | 71 | 0.743 | 109 | 1.123 | 147 | 1.119 | 185 | 1.291 |
| 34 | 0.317 | 72 | 0.820 | 110 | 1.256 | 148 | 1.295 | 186 | 1.291 |
| 35 | 0.306 | 73 | 0.783 | 111 | 0.896 | 149 | 1.320 | 187 | 1.408 |
| 36 | 0.433 | 74 | 0.670 | 112 | 1.208 | 150 | 1.423 | 188 | 1.422 |

| 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 | 编号 | 转化因子 |
|----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 37 | 0.422 | 75 | 0.731 | 113 | 1.046 | 151 | 1.189 | 189 | 1.436 |
| 38 | 0.377 | 76 | 0.729 | 114 | 1.183 | 152 | 1.333 | 190 | 1.366 |

4.4.4 年份计算模型的建立

从 190 个批次样品中选取约 70% 的样品（133 个）作为模型组，采用 Origin 软件进行年份与转化因子的相关关系拟合（图 3）。由图可知，较短年份的陈皮样品中 6 种特征性成分变化较快，转化因子随年份变化速率较大。而年份越长，其变化速率越低。因此，采用非线性的模型进行拟合。比较不同的非线性拟合方程发现，采用 Log2P2 的对数模型结果较好，具体结果见图 3。其中 $S=\ln(0.35322Y+0.74963)$ ，以此得到年份计算公式（2）。

$$Y = \frac{e^S - 0.74963}{0.35322} \quad (2)$$

依据得到的计算模型对模型组样品进行年份预测，结果见表 4。所有样品预测年份与实际值误差不超过 2 年。

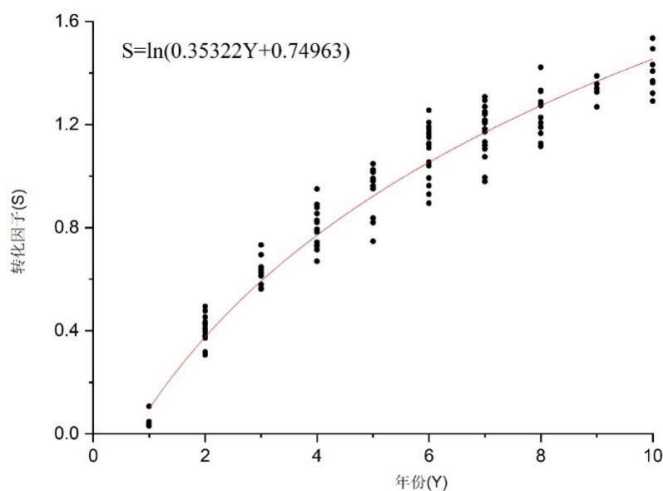


图 3 陈皮年份与转化因子相关关系图

表 4 模型组样品预测结果

| 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|-----|------------|------------|--------------|
| 1 | 1 | 0.80 | 0.20 | 46 | 4 | 3.74 | 0.26 | 91 | 7 | 7.66 | 0.66 |
| 2 | 1 | 0.83 | 0.17 | 47 | 4 | 3.83 | 0.17 | 92 | 7 | 6.66 | 0.34 |
| 3 | 1 | 1.03 | 0.03 | 48 | 4 | 4.31 | 0.31 | 93 | 7 | 7.70 | 0.70 |
| 4 | 1 | 0.81 | 0.19 | 49 | 4 | 4.07 | 0.07 | 94 | 7 | 7.74 | 0.74 |
| 5 | 1 | 0.81 | 0.19 | 50 | 4 | 3.41 | 0.59 | 95 | 7 | 6.55 | 0.45 |
| 6 | 1 | 0.83 | 0.17 | 51 | 4 | 3.76 | 0.24 | 96 | 7 | 5.53 | 1.47 |
| 7 | 1 | 0.81 | 0.19 | 52 | 4 | 3.75 | 0.25 | 97 | 7 | 5.41 | 1.59 |
| 8 | 1 | 0.85 | 0.15 | 53 | 4 | 4.33 | 0.33 | 98 | 7 | 7.34 | 0.34 |
| 9 | 1 | 0.83 | 0.17 | 54 | 4 | 4.36 | 0.36 | 99 | 7 | 7.12 | 0.12 |
| 10 | 1 | 0.84 | 0.16 | 55 | 4 | 4.54 | 0.54 | 100 | 7 | 7.44 | 0.44 |
| 11 | 1 | 0.83 | 0.17 | 56 | 4 | 4.69 | 0.69 | 101 | 7 | 6.43 | 0.57 |
| 12 | 1 | 0.80 | 0.20 | 57 | 5 | 5.43 | 0.43 | 102 | 7 | 7.40 | 0.40 |
| 13 | 1 | 0.84 | 0.16 | 58 | 5 | 5.70 | 0.70 | 103 | 7 | 7.76 | 0.76 |
| 14 | 1 | 0.83 | 0.17 | 59 | 5 | 5.95 | 0.95 | 104 | 8 | 9.62 | 1.62 |
| 15 | 2 | 1.98 | 0.02 | 60 | 5 | 5.21 | 0.21 | 105 | 8 | 7.18 | 0.82 |
| 16 | 2 | 1.77 | 0.23 | 61 | 5 | 4.30 | 0.70 | 106 | 8 | 8.62 | 0.62 |
| 17 | 2 | 1.72 | 0.28 | 62 | 5 | 4.42 | 0.58 | 107 | 8 | 6.62 | 1.38 |
| 18 | 2 | 2.24 | 0.24 | 63 | 5 | 3.85 | 1.15 | 108 | 8 | 7.19 | 0.81 |
| 19 | 2 | 2.19 | 0.19 | 64 | 5 | 5.29 | 0.29 | 109 | 8 | 8.14 | 0.14 |
| 20 | 2 | 2.00 | 0.00 | 65 | 5 | 5.51 | 0.51 | 110 | 8 | 7.54 | 0.46 |
| 21 | 2 | 2.02 | 0.02 | 66 | 5 | 5.76 | 0.76 | 111 | 8 | 8.00 | 0.00 |
| 22 | 2 | 2.08 | 0.08 | 67 | 6 | 6.61 | 0.61 | 112 | 8 | 8.06 | 0.06 |
| 23 | 2 | 2.10 | 0.10 | 68 | 6 | 6.99 | 0.99 | 113 | 8 | 7.35 | 0.65 |
| 24 | 2 | 2.09 | 0.09 | 69 | 6 | 6.82 | 0.82 | 114 | 8 | 6.96 | 1.04 |
| 25 | 2 | 2.33 | 0.33 | 70 | 6 | 5.29 | 0.71 | 115 | 8 | 6.52 | 1.48 |
| 26 | 2 | 2.22 | 0.22 | 71 | 6 | 6.61 | 0.61 | 116 | 8 | 6.59 | 1.41 |
| 27 | 2 | 2.23 | 0.23 | 72 | 6 | 6.01 | 0.01 | 117 | 8 | 6.96 | 1.04 |
| 28 | 2 | 2.14 | 0.14 | 73 | 6 | 5.90 | 0.10 | 118 | 8 | 6.57 | 1.43 |
| 29 | 2 | 2.52 | 0.52 | 74 | 6 | 6.46 | 0.46 | 119 | 8 | 8.57 | 0.57 |
| 30 | 2 | 2.13 | 0.13 | 75 | 6 | 5.52 | 0.48 | 120 | 9 | 9.24 | 0.24 |
| 31 | 2 | 2.44 | 0.44 | 76 | 6 | 7.20 | 1.20 | 121 | 9 | 8.88 | 0.12 |
| 32 | 3 | 2.85 | 0.15 | 77 | 6 | 5.05 | 0.95 | 122 | 9 | 7.94 | 1.06 |
| 33 | 3 | 3.10 | 0.10 | 78 | 6 | 6.95 | 0.95 | 123 | 9 | 8.54 | 0.46 |
| 34 | 3 | 2.84 | 0.16 | 79 | 6 | 6.58 | 0.58 | 124 | 9 | 8.70 | 0.30 |
| 35 | 3 | 2.93 | 0.07 | 80 | 6 | 7.81 | 1.81 | 125 | 10 | 11.02 | 1.02 |

| 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|-----|------------|------------|--------------|
| 36 | 3 | 3.23 | 0.23 | 81 | 6 | 4.81 | 1.19 | 126 | 10 | 9.02 | 0.98 |
| 37 | 3 | 3.29 | 0.29 | 82 | 6 | 7.35 | 1.35 | 127 | 10 | 9.74 | 0.26 |
| 38 | 3 | 3.77 | 0.77 | 83 | 6 | 5.93 | 0.07 | 128 | 10 | 8.94 | 1.06 |
| 39 | 3 | 3.16 | 0.16 | 84 | 6 | 7.12 | 1.12 | 129 | 10 | 8.50 | 1.50 |
| 40 | 3 | 3.55 | 0.55 | 85 | 6 | 7.14 | 1.14 | 130 | 10 | 10.49 | 0.49 |
| 41 | 4 | 5.20 | 1.20 | 86 | 7 | 8.20 | 1.20 | 131 | 10 | 8.18 | 1.82 |
| 42 | 4 | 4.78 | 0.78 | 87 | 7 | 7.95 | 0.95 | 132 | 10 | 8.17 | 1.83 |
| 43 | 4 | 4.11 | 0.11 | 88 | 7 | 8.35 | 1.35 | 133 | 10 | 9.45 | 0.55 |
| 44 | 4 | 3.66 | 0.34 | 89 | 7 | 6.17 | 0.83 | - | - | - | - |
| 45 | 4 | 4.14 | 0.14 | 90 | 7 | 7.01 | 0.01 | - | - | - | - |

注：因样品分析时间为11-12月，与陈皮采收时间一致，因此，实际年份以整数计。

4.4.5 模型验证

以剩余 57 个样品为验证组，根据 6.2 中得到的计算模型预测样品年份，结果见表 5。除 30 号样品误差为 2.15 年，其余样品误差不超过 2 年。

表 5 验证组样品预测结果

| 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|
| 1 | 1 | 0.82 | 0.18 | 20 | 4 | 3.69 | 0.31 | 39 | 6 | 5.33 | 0.67 |
| 2 | 1 | 0.85 | 0.15 | 21 | 4 | 3.13 | 0.87 | 40 | 7 | 6.52 | 0.48 |
| 3 | 1 | 0.81 | 0.19 | 22 | 4 | 4.05 | 0.05 | 41 | 7 | 7.57 | 0.57 |
| 4 | 1 | 0.79 | 0.21 | 23 | 4 | 3.60 | 0.40 | 42 | 7 | 6.28 | 0.72 |
| 5 | 1 | 0.85 | 0.15 | 24 | 4 | 3.73 | 0.27 | 43 | 7 | 6.87 | 0.13 |
| 6 | 1 | 0.85 | 0.15 | 25 | 4 | 3.58 | 0.42 | 44 | 7 | 6.55 | 0.45 |
| 7 | 2 | 2.20 | 0.20 | 26 | 5 | 6.34 | 1.34 | 45 | 7 | 8.22 | 1.22 |
| 8 | 2 | 2.39 | 0.39 | 27 | 5 | 4.74 | 0.26 | 46 | 7 | 8.47 | 1.47 |
| 9 | 2 | 2.00 | 0.00 | 28 | 5 | 5.57 | 0.57 | 47 | 8 | 9.65 | 1.65 |

| 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|----|------------|------------|--------------|
| 10 | 2 | 2.32 | 0.32 | 29 | 5 | 6.86 | 1.86 | 48 | 8 | 7.47 | 0.53 |
| 11 | 2 | 2.27 | 0.27 | 30 | 5 | 7.15 | 2.15 | 49 | 8 | 7.14 | 0.86 |
| 12 | 2 | 2.23 | 0.23 | 31 | 6 | 5.58 | 0.42 | 50 | 8 | 9.40 | 1.40 |
| 13 | 2 | 2.57 | 0.57 | 32 | 6 | 7.78 | 1.78 | 51 | 8 | 8.48 | 0.48 |
| 14 | 2 | 2.22 | 0.22 | 33 | 6 | 7.91 | 1.91 | 52 | 8 | 7.20 | 0.80 |
| 15 | 3 | 2.92 | 0.08 | 34 | 6 | 6.42 | 0.42 | 53 | 9 | 9.22 | 0.22 |
| 16 | 3 | 2.94 | 0.06 | 35 | 6 | 7.09 | 1.09 | 54 | 9 | 9.89 | 0.89 |
| 17 | 3 | 3.42 | 0.42 | 36 | 6 | 6.62 | 0.62 | 55 | 10 | 9.61 | 0.39 |
| 18 | 3 | 3.60 | 0.60 | 37 | 6 | 7.94 | 1.94 | 56 | 10 | 9.78 | 0.22 |
| 19 | 3 | 2.89 | 0.11 | 38 | 6 | 6.20 | 0.20 | 57 | 10 | 8.97 | 1.03 |

4.5 准确度评价

模型组与验证组计算误差统计结果见表 6。

表 6 模型计算结果准确度

| | 误差范围 | 样品数 | 占比/% | 准确度 |
|-----|----------|-----|------|------|
| 模型组 | 误差≤1 年 | 111 | 83.5 | 100 |
| | 1≤误差≤2 年 | 22 | 16.5 | |
| | 误差>2 年 | 0 | 0 | |
| 验证组 | 误差≤1 年 | 46 | 80.7 | 98.2 |
| | 1≤误差≤2 年 | 10 | 17.5 | |
| | 误差>2 年 | 1 | 1.8 | |

注：准确度以误差不超过 2 年计算。

由表 6 可知，模型组中 100%的样品误差在 2 年内，其中 83.5%的样品误差在 1 年内。验证组中 98.2%的样品误差在 2 年之内。其中 80.7%的样品误差在 1 年之内。仅一个样品误差超过 2 年，为 2.15 年。说明模

型预测结果准确。

4.6 精密度、重复性与稳定性

取陈化时间为 1 年、5 年和 10 年的陈皮样品各 1 个，每个平行称取 3 份样品，进行年份测定。按照 6.2 建立的模型进行计算，考察方法精密度、重复性与稳定性。结果分别见表 7，表 8 和表 9。不同陈化年份样品的精密度 RSD 皆小于 1.59%，重复性 RSD 皆小于 1.07%，24h 内不同时间测定结果 RSD 皆小于 1.09%。说明方法精密度、重复性与稳定性好，满足要求。

表 7 精密度结果

| 样品 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | RSD% |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 年陈皮 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.16 |
| 5 年陈皮 | 5.72 | 5.59 | 5.45 | 5.66 | 5.66 | 5.71 | 1.59 |
| 10 年陈皮 | 9.89 | 10.0 | 10.1 | 10.1 | 9.75 | 9.98 | 1.21 |

表 8 重复性结果

| 样品 | 1 | 2 | 3 | RSD% |
|--------|------|------|------|------|
| 1 年陈皮 | 0.84 | 0.84 | 0.82 | 1.07 |
| 5 年陈皮 | 5.50 | 5.58 | 5.51 | 0.67 |
| 10 年陈皮 | 9.96 | 9.81 | 9.80 | 0.75 |

表 9 稳定性结果

| 样品 | 0h | 6h | 12h | 24h | RSD% |
|--------|------|------|------|------|------|
| 1 年陈皮 | 0.84 | 0.82 | 0.82 | 0.83 | 0.77 |
| 5 年陈皮 | 5.65 | 5.58 | 5.58 | 5.68 | 0.82 |
| 10 年陈皮 | 9.96 | 9.89 | 9.88 | 10.2 | 1.09 |

4.7 方法适用性

由于不同品牌、类型和型号的高效液相色谱-高分辨质谱仪的灵敏度各异，6个目标化合物在不同的高效液相色谱-高分辨质谱仪中响应值不同，导致不同实验仪器中采集的6个目标化合物的峰面积比值及其转化因子存在差异。因此，当不同仪器进行检测时，无法使用同一拟合曲线进行年份计算。另外，由于6个目标化合物为同分异构体，不同品牌、填料和型号色谱柱分离效果的差异影响了目标化合物在质谱中的响应值，因此，在使用不同色谱柱进行分离时亦无法使用同一拟合曲线进行准确的年份计算

为了提高本方法的适用性，更好地推广本标准的应用，本研究在已进行大样本检测、模型建立与模型验证的研究基础上，从模型组样品中各年份拟合较好的一个样品作为陈皮对照品，并抽取1年，4年和8年的样品各一份作为验证组，建立子模型，分别考察本方法对于不同流动相梯度、色谱柱、高效液相色谱-高分辨质谱仪以及不同实验室间对比的适用性。

4.7.1 不同流动相梯度比较

将子模型的模型组与验证组样品依据4.2样品处理和测试方法，按如下梯度进行试验：

表10 流动相梯度

| | | | | | | | |
|-------|----|----|----|----|----|------|----|
| t/min | 0 | 1 | 10 | 15 | 17 | 17.1 | 20 |
| B% | 10 | 10 | 80 | 95 | 95 | 10 | 10 |

利用 Origin 软件以 Log2P2 的对数模型对模型组样品进行年份与转化

因子的相关关系拟合（图 4），得年份与转化因子的计算模型：
 $S=\ln(0.33289Y+0.83143)$ 。

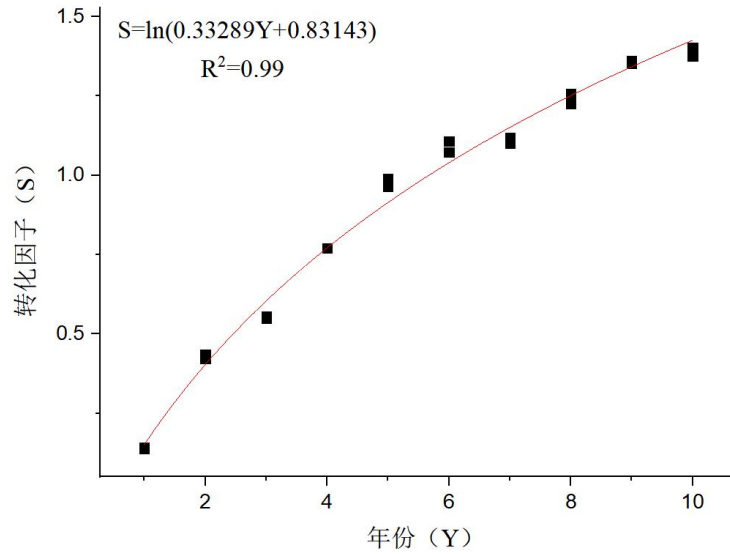


图 4 陈皮年份 (Y) 与转化因子 (S) 相关关系图

依据得到的计算模型对模型组和验证组样品进行年份预测，所有样品预测年份与实际值误差不超过 1 年，结果见表 11。

表 11 模型组和验证组样品预测结果

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|----|---------|---------|-----------|
| 模型组 | 1A | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 1B | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 2A | 2 | 2.1 | 0.1 |
| | 2B | 2 | 2.1 | 0.1 |
| | 3A | 3 | 2.7 | 0.3 |
| | 3B | 3 | 2.7 | 0.3 |
| | 4A | 4 | 4.0 | 0.0 |
| | 4B | 4 | 4.0 | 0.0 |
| | 5A | 5 | 5.4 | 0.4 |
| | 5B | 5 | 5.6 | 0.6 |
| | 6A | 6 | 6.6 | 0.6 |
| | 6B | 6 | 6.3 | 0.3 |

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|-----|---------|---------|-----------|
| | 7A | 7 | 6.5 | 0.5 |
| | 7B | 7 | 6.7 | 0.3 |
| | 8A | 8 | 8.1 | 0.1 |
| | 8B | 8 | 7.7 | 0.3 |
| | 9A | 9 | 9.2 | 0.2 |
| | 9B | 9 | 9.1 | 0.1 |
| | 10A | 10 | 9.4 | 0.6 |
| | 10B | 10 | 9.7 | 0.3 |
| | 1A | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 1B | 1 | 1.0 | 0.0 |
| 验证组 | 4A | 4 | 3.7 | 0.3 |
| | 4B | 4 | 3.8 | 0.2 |
| | 8A | 8 | 8.2 | 0.2 |
| | 8B | 8 | 8.3 | 0.3 |

4.7.2 不同色谱柱比较

将子模型的模型组与验证组样品依据 4.2 样品处理和测试方法，使用 BEH C₁₈ (100mm×2.1mm, 1.8μm) 进行试验。

利用 Origin 软件以 Log2P2 的对数模型对模型组样品进行年份与转化因子的相关关系拟合 (图 5)，得年份与转化因子的计算模型： $S=\ln(0.22943Y+0.89254)$ 。

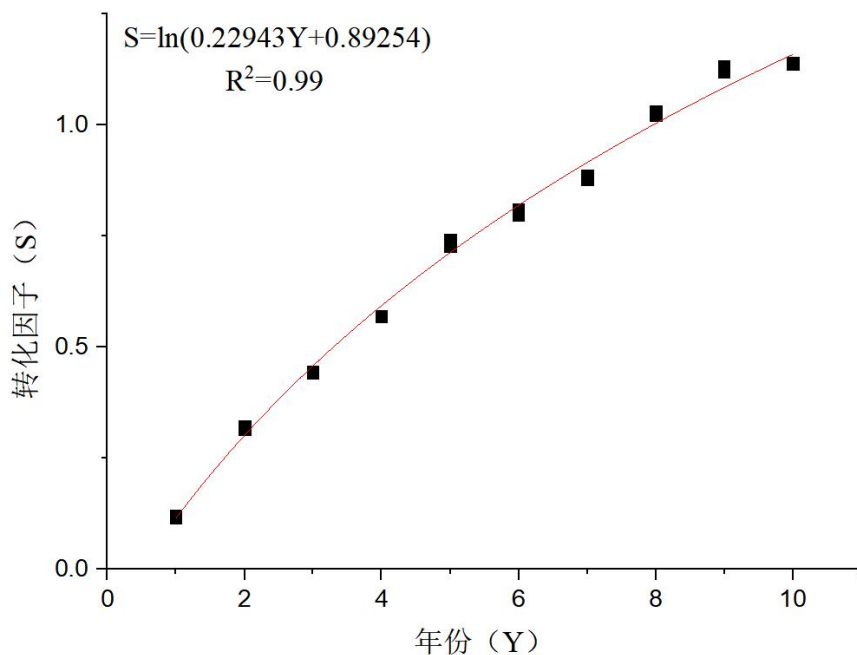


图 5 陈皮年份 (Y) 与转化因子 (S) 相关关系图

依据图 5 得到的计算模型对模型组和验证组样品进行年份预测，所有样品预测年份与实际值误差不超过 1 年，结果见表 12。

表 12 模型组和验证组样品预测结果

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|----|---------|---------|-----------|
| 模型组 | 1A | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 1B | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 2A | 2 | 2.1 | 0.1 |
| | 2B | 2 | 2.1 | 0.1 |
| | 3A | 3 | 2.9 | 0.1 |
| | 3B | 3 | 2.9 | 0.1 |
| | 4A | 4 | 3.8 | 0.2 |
| | 4B | 4 | 3.8 | 0.2 |
| | 5A | 5 | 5.1 | 0.1 |
| | 5B | 5 | 5.3 | 0.3 |
| | 6A | 6 | 5.9 | 0.1 |
| | 6B | 6 | 5.8 | 0.2 |
| | 7A | 7 | 6.7 | 0.3 |

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|-----|---------|---------|-----------|
| | 7B | 7 | 6.6 | 0.4 |
| | 8A | 8 | 8.3 | 0.3 |
| | 8B | 8 | 8.2 | 0.2 |
| | 9A | 9 | 9.6 | 0.4 |
| | 9B | 9 | 9.5 | 0.5 |
| | 10A | 10 | 9.7 | 0.3 |
| | 10B | 10 | 9.8 | 0.2 |
| 验证组 | 1A | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 1B | 1 | 1.0 | 0.0 |
| | 4A | 4 | 3.7 | 0.3 |
| | 4B | 4 | 3.7 | 0.3 |
| | 8A | 8 | 8.1 | 0.1 |
| | 8B | 8 | 8.0 | 0.0 |

4.7.3 不同仪器比较

将子模型的模型组与验证组样品按照 4.2 样品处理方法，利用高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱按照如下方法进行试验：

色谱柱：BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)；流速：0.3 mL/min；柱温：35 °C；进样量：1.0 μL。流动相：A为0.1%甲酸溶液，B为乙腈，梯度如下：

表13 流动相梯度

| t/min | 0 | 1 | 10 | 15 | 17 | 17.1 | 20 |
|-------|----|----|----|----|----|------|----|
| B% | 10 | 10 | 80 | 95 | 95 | 10 | 10 |

离子源：电喷雾离子源 (ESI)；扫描方式：全扫描 (Full Scan)；扫描模式：正离子模式 (Positive)；喷雾电压：3500 V；鞘气 (N₂) 温度：350 °C；鞘气 (N₂) 流量：11 L/min；干燥气 (N₂) 温度：300 °C；干燥气流速：8 L/min；离子传输管温度：325 °C；质谱扫描范围：m/z

100~1000，扫描速率：1 spectra/S。

利用 Origin 软件以 Log2P2 的对数模型对模型组样品进行年份与转化因子的相关关系拟合（图 5），得年份与转化因子的计算模型：

$$S=\ln(0.22943Y+0.89254)。$$

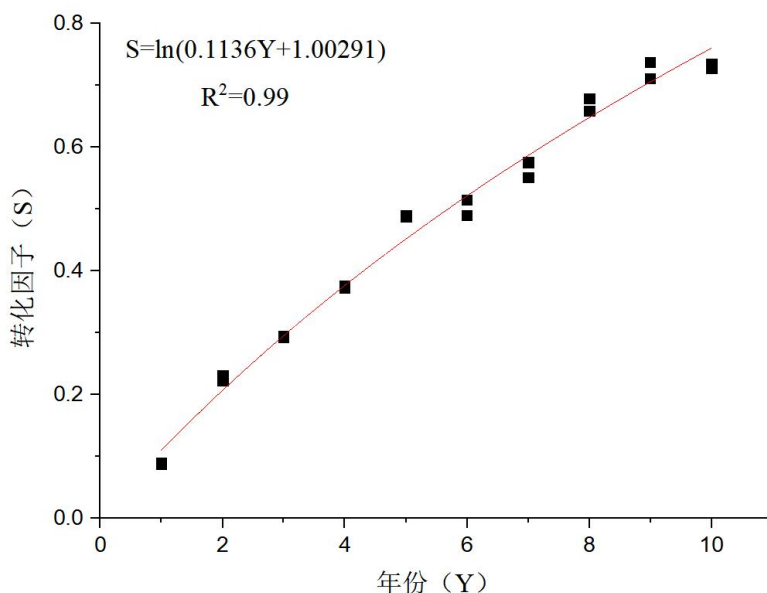


图 6 陈皮年份 (Y) 与转化因子 (S) 相关关系图

依据图 6 得到的计算模型对模型组和验证组样品进行年份预测，所有样品预测年份与实际值误差不超过 1 年，结果见表 14。

表 14 模型组和验证组样品预测结果

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|----|---------|---------|-----------|
| 模型组 | 1A | 1 | 0.8 | 0.2 |
| | 1B | 1 | 0.8 | 0.2 |
| | 2A | 2 | 2.2 | 0.2 |
| | 2B | 2 | 2.3 | 0.3 |
| | 3A | 3 | 3.0 | 0.0 |
| | 3B | 3 | 3.0 | 0.0 |
| | 4A | 4 | 4.0 | 0.0 |
| | 4B | 4 | 4.0 | 0.0 |
| | 5A | 5 | 5.5 | 0.5 |
| | 5B | 5 | 5.5 | 0.5 |

| 组别 | 编号 | 实际值 (年) | 预测值 (年) | 误差绝对值 (年) |
|-----|-----|---------|---------|-----------|
| | 6A | 6 | 5.9 | 0.1 |
| | 6B | 6 | 5.5 | 0.5 |
| | 7A | 7 | 6.4 | 0.6 |
| | 7B | 7 | 6.8 | 0.2 |
| | 8A | 8 | 8.2 | 0.2 |
| | 8B | 8 | 8.5 | 0.5 |
| | 9A | 9 | 9.1 | 0.1 |
| | 9B | 9 | 9.6 | 0.6 |
| | 10A | 10 | 9.4 | 0.6 |
| | 10B | 10 | 9.5 | 0.5 |
| 验证组 | 1A | 1 | 0.7 | 0.3 |
| | 1B | 1 | 0.7 | 0.3 |
| | 4A | 4 | 3.7 | 0.3 |
| | 4B | 4 | 3.7 | 0.3 |
| | 8A | 8 | 8.0 | 0.0 |
| | 8B | 8 | 7.8 | 0.2 |

4.8 陈皮生产年份的计算

模型组中 1 年样品实际为 2023 年的新皮，且数据在 2023 年采集。因此，陈皮生产年份的计算公式如下：

$$X=Y'-Y+1$$

其中，X 为样品采集年份，Y'为样品分析时的公元纪年。Y 为实验计算得到的年份经四舍五入后的数值。如，样品在 2024 年检测，计算结果为 5 年陈皮，则样品生产年份为 2024-5+1=2020 年。

4.9 目标物的确认

4.9.1 仪器条件

色谱柱：BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)；流速：0.3 mL/min；柱温：35 °C；进样量：1.0 μL。流动相：A为0.1%甲酸溶液，B为乙腈，梯度如下：

表15 流动相梯度

| | | | | | | | |
|-------|----|----|----|----|----|------|----|
| t/min | 0 | 1 | 10 | 15 | 17 | 17.1 | 20 |
| B% | 10 | 10 | 80 | 95 | 95 | 10 | 10 |

离子源：电喷雾离子源 (ESI)；扫描方式：目标二级扫描 (Target MSMS)；扫描模式：正离子模式 (Positive)；喷雾电压：3500 V；鞘气 (N₂) 温度：350 °C；鞘气 (N₂) 流量：11 L/min；干燥气 (N₂) 温度：300 °C；干燥气流速：8 L/min；离子传输管温度：325 °C；目标一级离子 m/z 375.143 8；碰撞能 10 eV、20 eV、40 eV；扫描范围 m/z 50~1 000；扫描速率：MS，1 spectra/s；MS/MS：2 spectra/s。

4.9.2 结果

6 个目标物的特征二级碎片见表 16。化合物 1、2、4、5 的特征碎片为 m/z 211.0601、 m/z 191.0708，化合物 3、6 的特征碎片为 m/z 211.0601、 m/z 226.0472。可作为目标化合物的定性依据。

表16 特征性二级碎片离子

| 化合物 | 二级碎片 (m/z) |
|-----|----------------------|
| 1 | 211.060 1, 191.070 8 |
| 2 | 211.060 1, 191.070 8 |
| 3 | 241.070 7, 226.047 2 |
| 4 | 211.060 1, 191.070 8 |
| 5 | 211.060 1, 191.070 8 |
| 6 | 241.070 7, 226.047 2 |

五、与现行相关法律、法规和强制性标准的关系

符合现行相关法律、法规和强制性标准的规定，目前没有相关的国

际标准、国家标准、行业标准和地方标准。

六、 预期的社会经济效益及贯彻实施标准的要求和措施建议

6.1 预期的社会经济效益

“陈皮年份鉴别方法 高效液相色谱-高分辨质谱法”团体标准的制定和发布，为陈皮的质量监控提供了一个科学的检测方法，有利于政府相关部门对陈皮市场的质量监控，保护消费者利益，促进新会陈皮产业发展。

6.2 贯彻实施标准的要求和措施建议

本标准发布后，建议起草单位和广东省分析测试协会联合向食品检测及相关检测机构开展标准的培训，并向新会陈皮企业标准宣贯；同时，建议政府相关部门在陈皮质量监控中，增加本标准检测项目，作为陈皮质量控制指标。

七、 结论

本标准项目通过研究陈皮样品中的多个特征化学成分在陈化过程中的转化规律，构建了成分转化因子计算陈化年份的计算模型，制定了陈皮年份鉴别方法。模型组与验证组的准确度分别为 100%与 98.2%。方法经北京市科学技术研究院分析测试研究所（北京市理化分析测试中心）、广州海关技术中心、广东一方制药有限公司验证（验证报告另附），表明本方法可用于陈皮年份的鉴别。

八、参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 199-200.
- [2] 刘丽娜, 徐玉娟, 肖更生, 等. 不同年份陈皮黄酮成分分析及抗氧化活性评价[J]. 南方农业学报, 2020, 51(03): 623-629.
- [3] 余梅, 李嘉仪, 范伟, 等. 基于近红外光谱仪与模式识别方法的不同年份陈皮无损鉴别研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(19): 171-178.
- [4] LI P, ZHANG X X, ZHENG Y, et al. A novel method for the nondestructive classification of different-age Citri Reticulatae Pericarpium based on data combination technique[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 9(2): 943-951.
- [5] 李静敏, 辛志昂, 聂青青, 等. 基于拉曼光谱的广陈皮年份检测方法[J]. 食品工业, 2023, 44(1): 279-285.
- [6] 鲍一丹, 吕阳阳, 朱红艳, 等. 陈皮年份的高光谱技术鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(6): 1866-1871.
- [7] 杨少壮, 李灿, 李辰, 等. 不同贮存年限陈皮的太赫兹光谱和成像的差异分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35 (12): 258-266.
- [8] 刘丽娜, 傅曼琴, 徐玉娟, 等. 基于GC-MS技术分析不同贮藏年份陈皮挥发性成分差异[J]. 广东农业科学, 2020, 47(09): 114-120.
- [9] LUO Y, ZENG W, HUANG K E, et al. Discrimination of Citrus reticulata Blanco and Citrus reticulata ‘Chachi’ as well as the Citrus reticulata ‘Chachi’ within different storage years using ultra high performance liquid chromatography quadrupole/time-of-flight mass spectrometry based metabolomics approach[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 171: 218-231.