

续断炮制时间、饮片色度值及指纹图谱的相关性研究

张雪兰^{1,2}, 罗毓^{1,2}, 钟志奎^{1,2}, 林伟雄^{1,2}, 黄贵发^{1,2}, 胡懿^{1,2}, 梁志毅^{1,2*}, 刘晓彤^{1,2,3}(1.广东一方制药有限公司, 广东 佛山 528244; 2.广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244; 3.广东药科大学中药学院, 广州 510006)

摘要: 目的 研究续断炮制时间、饮片色度值与 UPLC 指纹图谱的相关性。方法 建立续断饮片 UPLC 指纹图谱, 监测酒续断、盐续断炮制过程中化学成分的变化, 利用分光测色仪对续断不同炮制品炮制过程中饮片色度进行客观量化, 运用 SPSS 20.0、SIMCA 14.0 软件分析炮制时间与饮片色度值和指纹图谱之间的相关程度。结果 酒续断、盐续断炮制过程中, 饮片粉末颜色加深, 粉末色度值(L^* 、 b^* 、 E^*)值均降低; 通过相关性分析得出饮片炮制时间与饮片色度值和指纹图谱之间呈显著性相关。结论 建立的 UPLC 指纹图谱方法稳定、可靠, 结合续断炮制品色度作客观判别分析, 为更好地规范酒续断、盐续断炮制工艺及全面评价饮片质量奠定基础。

关键词: 酒续断; 盐续断; 指纹图谱; 色度值; 炮制工艺

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)16-2231-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223019

引用本文: 张雪兰, 罗毓, 钟志奎, 等. 续断炮制时间、饮片色度值及指纹图谱的相关性研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2231-2236.

Research on Relationship Between Processing Time, Chroma Value and Fingerprint of Dipsaci Radix

ZHANG Xuelan^{1,2}, LUO Yu^{1,2}, ZHONG Zhikui^{1,2}, LIN Weixiong^{1,2}, HUANG Guifa^{1,2}, HU Yi^{1,2}, LIANG Zhiyi^{1,2*}, LIU Xiaotong^{1,2,3}(1.Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China; 2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule, Foshan 528244, China; 3.School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the correlation between processing time, chroma value and UPLC fingerprint map of Dipsaci Radix. **METHODS** Established the UPLC fingerprint of Dipsaci Radix. Monitored the changes of chemical components in the processing process of wine and salt processed Dipsaci Radix, spectrophotometer was used to objectively quantify the chroma value of different processed products. SPSS 20.0 and SIMCA 14.0 statistical software was used to analyze the correlation between processing time and chroma value and fingerprint. **RESULTS** In the process of processing, the decoction pieces color of the powder deepened and L^* , b^* and E^* values decreased. The correlation analysis showed that the processing time was significantly correlated with the chroma value and fingerprint of decoction pieces. **CONCLUSION** The method of UPLC fingerprint is stabled and reliabled, combines with the objective discriminant analysis of the chroma value of the Dipsaci Radix processed products, which lay the foundation for standardizing the processing technology of wine and salt processed products and evaluating the quality of Dipsaci Radix.

KEYWORDS: wine-processed Dipsaci Radix; salt-processed Dipsaci Radix; fingerprint; chroma value; processing technology

续断为川续断科植物川续断 *Dipsaci Radix* Wall. ex Henry 的干燥根, 亦名属折、接骨、龙豆、南草。具有补肝肾, 强筋骨, 续折伤, 止崩漏的功效^[1]。临床上酒续断多用于跌扑损伤, 筋骨折伤, 盐续断则常用于腰膝酸软。中国药典 2020 年版对续断炮制品的性状要求为酒续断“表面浅黑色或灰褐色, 略有酒香气”, 盐续断“表面黑褐色, 味微咸”, 无具体量化指标及炮制参数的限定, 难以保证炮制品饮片质量的均一性和稳定性。

在传统中药研究中, 续断加工及炮制多为操

作人员凭经验进行, 饮片的质量评价多以累积经验及感官判断为主, 因无具体的技术参数, 标准尚缺乏统一, 以致饮片质量参差不齐, 对此续断及其炮制品的相关研究陆续报道^[2-4]; 随着色彩分析技术的发展, 部分学者将主观判断的颜色客观量化^[5-7], 引入中药材及饮片的质量评价, 在中药领域中应用日趋广泛。

目前, 续断指纹图谱分析研究^[4,8-9], 分析仪器多为普通液相色谱仪, 检测耗时较长。因此, 有必要建立灵敏度更高、在更短时间内即可达到分

基金项目: 产业技术基础公共服务平台项目(2019-00902-1-2)

作者简介: 张雪兰, 女, 中药师 E-mail: zhangxl0689@163.com

*通信作者: 梁志毅, 男, 副主任中药师 E-mail: liangzy112@163.com

析效果的 UPLC 检测方法。本实验以续断炮制品为研究对象,考察续断炮制过程中酒续断、盐续断饮片色泽与指纹图谱之间的变化规律,以探究续断炮制品颜色表征和指纹图谱与中药质量评价的相关性,为规范续断炮制工艺提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

H-class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);TS7600 分光测色仪(深圳市三恩时科技有限公司);Milli-Q Direct 8 型超纯水系统(德国默克股份有限公司);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);H22-X3 型电陶炉(杭州九阳生活电器有限公司);ME204E 万分之一天平、XP26 百万分之一天平均购自 METTLER TOLEDO。

1.2 试剂和药材

马钱苷酸(批号:111865-201704;纯度:97.4%)、绿原酸(批号:110753-202018;纯度:96.1%)、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(批号:111782-201807;纯度:94.3%)、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸(批号:111894-201102;纯度:94.1%)、川续断皂苷VI(批号:111685-201908;纯度:94.3%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;新绿原酸(批号:wkq18030107)、隐绿原酸(批号:wkq19120203)、异绿原酸 B(批号:wkq21022206)、5-羟基甲糠醛(批号:wkq20041311)对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司,纯度均为 98%;液相用甲醇、乙腈、磷酸为色谱级(默克股份有限公司),其余试剂均为分析纯,水为实验室自制超纯水。

12 批续断药材样品信息见表 1,经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定为川续断科植物川续断 *Dipsaci Radix* Wall. ex Henry 的干燥根,符合中国药典 2020 年版一部“续断”项下相关规定。

2 方法与结果

2.1 续断及其炮制品饮片的制备

按中国药典 2020 年版一部“续断”项下饮片炮制方法炮制酒续断和盐续断饮片;取续断药材,洗净,润透,切厚片,干燥,得续断饮片(S1~S10);取续断饮片(S5),分别照酒炙法和盐炙法炮制饮片^[10]。炮制过程饮片取样:按酒炙法和盐炙法闷润好续断饮片,饮片投入锅中,炒干,炒制过程进行取样,酒续断样品编号 JXD1~JD10,盐续断样品编号 YXD1~YXD10。

表 1 12 批续断药材来源信息

Tab. 1 Sample source information of 12 batches of *Dipsaci Radix*

批次编号	药材批号	采集时间	产地
S1	Y170701	2017 年 7 月	四川
S2	Y190602	2019 年 6 月	贵州
S3	Y190703	2019 年 7 月	贵州
S4	Y200304	2020 年 3 月	四川
S5	Y200405	2020 年 4 月	云南
S6	Y200906	2020 年 9 月	四川
S7	Y201207	2020 年 12 月	云南
S8	Y210108	2021 年 1 月	云南
S9	Y210209	2021 年 2 月	四川
S10	Y210210	2021 年 2 月	湖北
S11	Y210311	2021 年 3 月	四川
S12	Y210312	2021 年 3 月	四川

2.2 UPLC 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件 选用 HSS T3 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~22 min, 7%→40%A; 22~29 min, 40%→7%A);检测波长为 220 nm;进样量为 5 μL;流速为 0.3 mL·min⁻¹;柱温为 30 ℃。

2.2.2 对照品溶液的制备 取马钱苷酸、绿原酸、3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、川续断皂苷VI、新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、5-羟基甲糠醛对照品适量,精密称定,加 20%甲醇制成每 1 mL 各含 100 μg 的混合对照品溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取饮片粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 20%甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 KHz) 30 min,取出,放冷,再称定质量,用 20%甲醇补足减失质量,摇匀,离心,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.2.4 仪器精密度考察 精密称取续断饮片粉末(S5),按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件重复进样 6 次,记录色谱图,以川续断皂苷VI为参照峰,计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, RSD 值分别在 0.01%~0.62%, 0.09%~2.11%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性考察 精密称取续断饮片粉末(S5) 6 份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,以川续断皂苷VI为参照峰,计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积, RSD 值分别在 0.01%~1.42%,

0.32%~2.53%，表明方法重复性良好。

2.2.6 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液，分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，以川续断皂苷 VI 为参照峰，计算各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积，RSD 值分别在 0.01%~0.83%，0.11%~2.13%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 UPLC 指纹图谱的建立 取 12 批续断饮片及酒续断和盐续断炮制过程饮片，按“2.2.1”项下方法测定并记录色谱图，将其色谱图分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”进行分析，并生成对照指纹图谱，结果显示，12 批续断饮片确定了 19 个共有峰，叠加图谱结果见图 1，混合对照品色谱图见图 2。10 批酒续断饮片、盐续断饮片指纹图谱共确定 21 个共有峰，叠加图谱结果见图 3~4。

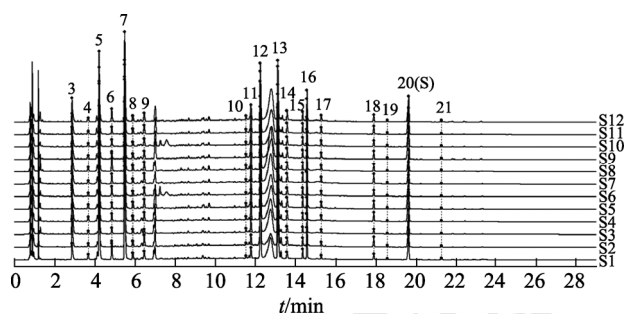


图 1 12 批续断饮片 UPLC 叠加指纹图谱
Fig. 1 UPLC superimposed fingerprint of 12 batches of Dipsaci Radix

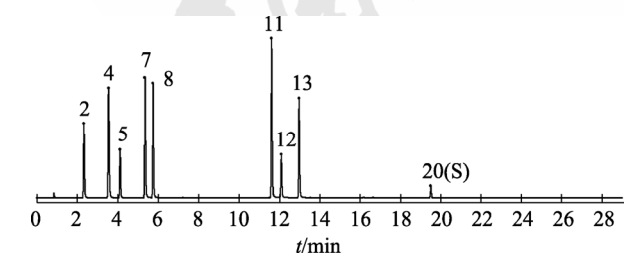


图 2 混合对照品色谱图
2-5-羟甲基糠醛；4-新绿原酸；5-马钱苷酸；7-绿原酸；8-隐绿原酸；11-异绿原酸 B；12-3,5-O-二咖啡酰奎宁酸；13-4,5-O-二咖啡酰奎宁酸；20-川续断皂 VI。

Fig. 2 Chromatogram of mixed reference substances
2-5-hydroxymethylfurfural; 4-neochlorogenic acid; 5-loganic acid; 7-chlorogenic acid; 8-cryptochlorogenic acid; 11-isochlorogenic acid B; 12-3,5-O-dicafeylquinic acid; 13-4,5-O-dicafeylquinine acid; 20-saponin VI.

2.2.8 续断及其炮制品饮片相似度评价 以续断及其炮制品饮片的对照指纹图谱为参照，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”分别进行相似度评价分析，结果显示 12 批续断饮片的

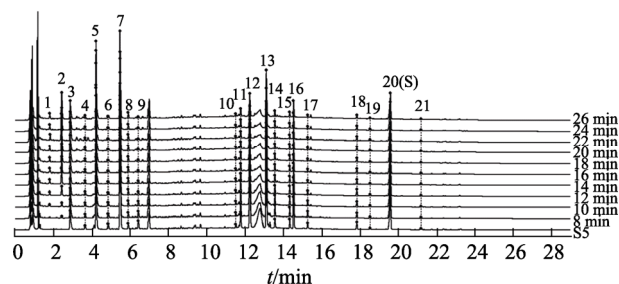


图 3 酒续断炮制过程中饮片 UPLC 叠加指纹图谱
Fig. 3 UPLC superimposed fingerprint of wine-processed Dipsaci Radix with processing procedure

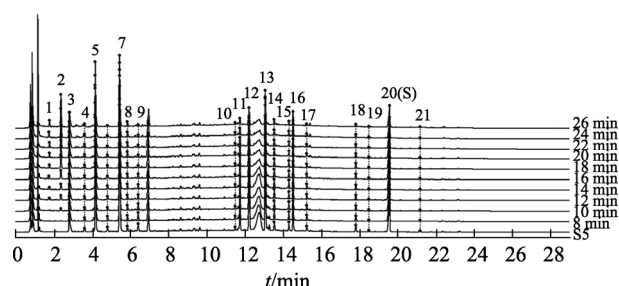


图 4 盐续断炮制过程中饮片 UPLC 叠加指纹图谱
Fig. 4 UPLC superimposed fingerprint of salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

相似度为 0.974~0.998，10 批酒续断饮片的相似度为 0.993~0.998，10 批盐续断饮片的相似度为 0.983~0.999，表明续断及其炮制品饮片样品间主要化学成分基本一致。

2.2.9 酒续断、盐续断炮制过程中指纹图谱共有峰的动态变化 随炮制时间的持续，酒续断与盐续断各指纹峰峰面积整体变化规律相近，峰 1 和 2(5-羟甲基糠醛)随炮制时间的延长逐渐显现，酒续断炒制 22 min 后峰面积相对稳定，盐续断在整个炮制过程中，峰面积持续增加，趋势较明显。峰 6 和峰 9~19 峰面积持续下降，其中酒续断在炒制 12 min 后峰面积急剧下降，出现明显拐点，盐续断呈现明显拐点在炒制 16 min 后。酒续断炮制过程中色谱峰 20(川续断皂 VI)、峰 21 峰面积虽有波动但大体上相对稳定，盐续断炒制 16 min 后峰面积下降明显，且下降趋势峰 21>峰 20(川续断皂 VI)。

2.3 酒续断、盐续断炮制过程中饮片色度值测定 续断不同炮制品经炒制后，颜色变化明显，随着炮制程度加深，表面灰褐色或黄褐色渐渐呈现浅黑色或灰褐色(酒续断)、黑褐色(盐续断)，炮制过程饮片颜色呈现肉眼可见的明显变化，见图 5。采用分光测色仪，黑白校正后，分别取酒续断、盐续断炮制过程饮片粉末(过 50 目筛)置于测试盒中，读取饮片粉末色度值(L^* 、 a^* 、 b^*)，每个

样品平行测定 3 次, 记录色度值结果, 取平均值。以续断饮片 S5 为参比(炮制时间为 0 min), 不同炮制品炮制过程中, 饮片粉末颜色明亮度(L^*)与总色度值(E^*)均呈下降趋势, ΔE^* 值则逐渐升高。

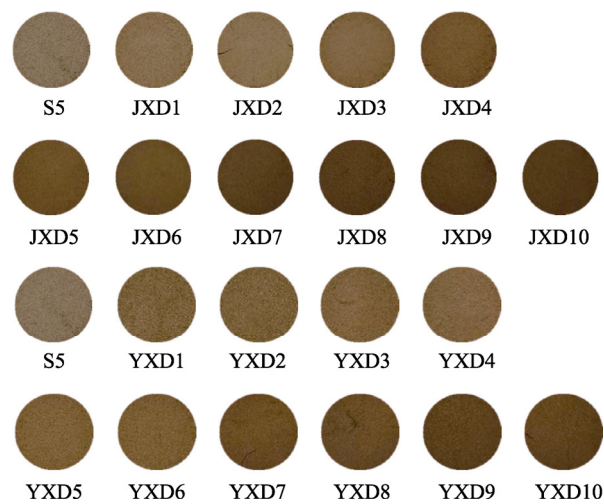


图 5 酒续断、盐续断炮制过程饮片粉末色彩图
Fig. 5 Powder color map of wine-processed Dipsaci Radix and salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

2.4 相关性分析

2.4.1 饮片炮制时间与其色度值的相关性分析 酒续断、盐续断炮制时间与饮片样品粉末色度值 ΔE^* 导入 SPSS 20.0 软件进行曲线拟合, 并作相关系数检验, 饮片炮制时间与饮片粉末色度值 ΔE^* 两者幂模型均呈极显著性正相关, 说明饮片粉末色度值可作为炮制时间的评价指标, 结果见表 2。

表 2 酒续断、盐续断炮制时间与色度值的相关性分析
Tab. 2 Correlation analysis between processing time and chroma value of wine-processed Dipsaci Radix and salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

炮制饮片	方程	R^2	P 值
酒续断	$Y=0.147X^{1.387}$	0.896	0.01
盐续断	$Y=1.940X^{0.524}$	0.868	0.01

2.4.2 偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 将不同炮制饮片样品各色谱峰峰面积和色度值(L^* 、 a^* 、 b^*)结果导入 SIMCA 14.0 软件中进行 OPLS-DA 分析, 在主成分分析模型构建的基础上进一步构建的 OPLS-DA 模型能更清晰区分炮制品, 见图 6。OPLS-DA 模型参数累积贡献率(R^2)为 0.931, 预测优度系数(Q^2)为 0.776, R^2X 为 0.838, R^2Y 为 1, 均>0.5; OPLS-DA 分布图显示续断不同炮制品随炮制时间的延长, 呈规律性分布; 图 7 结果显示,

筛选出对酒续断、盐续断炮制饮片分组具有显著贡献的重要变量, VIP 值>1 有 11 个, 分别为峰 3, 5, 13, 11, 12, 9, 6, 17, a^* , 14, 8, VIP 值分别为 1.793 7, 1.267 9, 1.233 6, 1.232 9, 1.212 1, 1.141 1, 1.110 0, 1.091 8, 1.016 5, 1.009 4, 1.001 8。

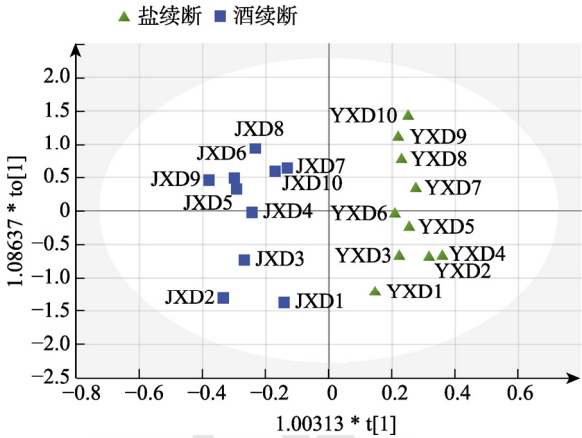


图 6 酒续断、盐续断炮制过程中饮片 OPLS-DA 分布图
Fig. 6 OPLS-DA distribution plot of wine-processed Dipsaci Radix and salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

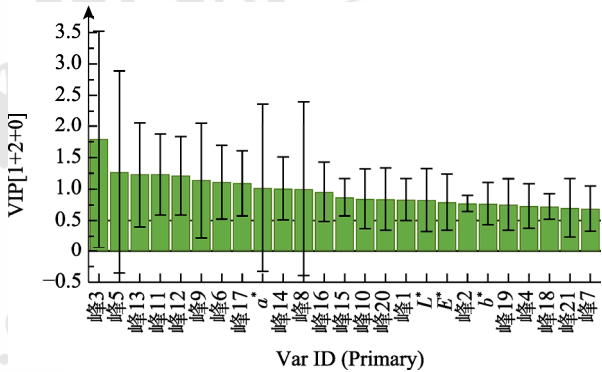


图 7 酒续断、盐续断炮制过程中饮片 VIP 得分图
Fig. 7 VIP score plot of wine-processed Dipsaci Radix and salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

2.4.3 酒续断、盐续断炮制过程中饮片色度值与指纹图谱中重要成分变量的相关性分析 将炮制过程饮片色谱图中 VIP>1 的化学成分峰面积结果与饮片粉末颜色的色度值导入 SPSS 20.0 软件进行 Pearson 相关性分析, 见表 3。结果表明, 酒续断和盐续断炮制过程中, 峰 6、峰 11(异绿原酸 B)、峰 12(3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 13(4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 14、峰 17 与色度值 L^* 、 b^* 、总色值 E^* 间均呈极显著性正相关, 与色度值 a^* 变化呈负相关, 其中峰 17 为极显著负相关; 续断炮制过程中, 随着炮制时间延长, 总色值 E^* 呈下降趋势, 峰 3、峰 5(马钱苷酸)峰面积波动不明显, 峰 6、峰 9、峰 11(异绿原酸 B)、峰 12(3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰

13(4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 14、峰 17 随颜色的加深峰面积减小。

表 3 酒续断、盐续断炮制过程中化学成分与色度值的相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis between chemical component and chroma value of wine-processed Dipsaci Radix and salt-processed Dipsaci Radix with processing procedure

炮制饮片	重要成分变量	L^*	a^*	b^*	E^*
酒续断	峰 3	0.367	-0.554	0.206	0.348
	峰 5(马钱苷酸)	0.016	-0.142	-0.035	0.009
	峰 6	0.958 ²⁾	-0.779 ²⁾	0.870 ²⁾	0.949 ²⁾
	峰 8	-0.365	0.305	-0.366	-0.366
	峰 9	0.928 ²⁾	-0.801 ²⁾	0.886 ²⁾	0.923 ²⁾
	峰 11(异绿原酸 B)	0.969 ²⁾	-0.706 ¹⁾	0.900 ²⁾	0.963 ²⁾
	峰 12(3,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸)	0.970 ²⁾	-0.771 ²⁾	0.901 ²⁾	0.963 ²⁾
	峰 13(4,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸)	0.916 ²⁾	-0.721 ¹⁾	0.843 ²⁾	0.909 ²⁾
	峰 14	0.956 ²⁾	-0.770 ²⁾	0.911 ²⁾	0.951 ²⁾
	峰 17	0.901 ²⁾	-0.823 ²⁾	0.839 ²⁾	0.894 ²⁾
盐续断	峰 3	0.064	-0.483	0.033	0.049
	峰 5(马钱苷酸)	0.437	-0.601	0.246	0.407
	峰 6	0.886 ²⁾	-0.668 ¹⁾	0.767 ²⁾	0.874 ²⁾
	峰 8	-0.085	-0.394	-0.340	-0.128
	峰 9	0.797 ²⁾	-0.922 ²⁾	0.611	0.768 ²⁾
	峰 11(异绿原酸 B)	0.973 ²⁾	-0.682 ¹⁾	0.882 ²⁾	0.966 ²⁾
	峰 12(3,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸)	0.979 ²⁾	-0.656 ¹⁾	0.910 ²⁾	0.975 ²⁾
	峰 13(4,5- <i>O</i> -二咖啡酰奎宁酸)	0.917 ²⁾	-0.413	0.941 ²⁾	0.930 ²⁾
	峰 14	0.952 ²⁾	-0.718 ¹⁾	0.874 ²⁾	0.945 ²⁾
	峰 17	0.913 ²⁾	-0.788 ²⁾	0.815 ²⁾	0.901 ²⁾

注: ¹⁾ $P<0.05$ 表示相关性达显著水平; ²⁾ $P<0.01$ 表示相关性达极显著水平。

Note: ¹⁾ $P<0.05$ indicated significant level of correlation; ²⁾ $P<0.01$ indicated the correlation reached a highly significant level.

2.4.4 酒续断、盐续断炮制过程中饮片色度值与指纹图谱中重要成分变量回归方程建立 炮制过程饮片色谱图中 VIP>1 的化学成分峰面积结果与饮片粉末颜色的色度值导入 SPSS 20.0 软件,以色度值 L^* 、 b^* 、 a^* 、总色值 E^* 为自变量,以 VIP>1 的峰 3、峰 5(马钱苷酸)、峰 6、峰 8(隐绿原酸)、峰 9、峰 11(异绿原酸 B)、峰 12(3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 13(4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 14、峰 17 为因变量,进行回归分析,建立饮片色度值与指纹图谱中重要成分变量回归方程,以进入法进行分析剔除自变量 L^* 。结果显示,不同炮制饮片除色谱峰 3、峰 5(马钱苷酸)、峰 8,其余色谱峰与自变量 b^* 、 a^* 、总色值 E^* 对应 R 均>0.9, P 值均<0.01,证明建立

的回归模式极为显著。色度值与指纹图谱中重要成分变量回归方程见表 4。

表 4 色度值与指纹图谱中重要成分变量回归分析结果

Tab. 4 Results of chroma value and fingerprint of important component variables regression coefficient

炮制饮片	重要成分变量	回归方程		
		a^*	b^*	E^*
酒续断	峰 6	$Y=-20.021-0.429a$	$Y=-20.021-1.034b$	$Y=-20.021+0.690E$
	峰 9	$Y=2.322-1.502a$	$Y=2.322+0.763b$	$Y=2.322-0.011E$
	峰 11	$Y=-30.946-0.166a$	$Y=-30.946-1.338b$	$Y=-30.946+1.002E$
	峰 12	$Y=-107.656-4.596a$	$Y=-107.656-3.907b$	$Y=-107.656+3.849E$
	峰 13	$Y=-104.310-2.912a$	$Y=-104.310-5.582b$	$Y=-104.310+4.261E$
	峰 14	$Y=-4.431-1.169a$	$Y=-4.431+0.356b$	$Y=-4.431+0.213E$
	峰 17	$Y=-0.035-1.328a$	$Y=-0.035+0.244b$	$Y=-0.035+0.134E$
盐续断	峰 6	$Y=-35.165-0.451a$	$Y=-35.165-0.827b$	$Y=-35.165+0.914E$
	峰 9	$Y=-8.579-3.465a$	$Y=-8.579-1.059b$	$Y=-8.579+0.935E$
	峰 11	$Y=-51.260-0.725a$	$Y=-51.260-0.566b$	$Y=-51.260+1.241E$
	峰 12	$Y=-264.769-3.754a$	$Y=-264.769-0.196b$	$Y=-264.769+5.538E$
	峰 13	$Y=-224.098+2.128a$	$Y=-224.098+5.437b$	$Y=-224.098+2.828E$
	峰 14	$Y=-18.464-0.990a$	$Y=-18.464+0.191b$	$Y=-18.464+0.475E$
	峰 17	$Y=-11.821-1.346a$	$Y=-11.821+0.237b$	$Y=-11.821+0.353E$

2.4.5 酒续断、盐续断炮制过程中饮片色度值与色谱峰 1、峰 2 回归方程建立 由色谱图图 1、图 3、图 4 及色谱图峰面积变化规律可知,峰 1、峰 2 为饮片炮制后产生,且随炮制程度的加深,峰面积呈上升趋势,故以色度值 L^* 、 b^* 、 a^* 、总色值 E^* 为自变量,以峰 1、峰 2 为因变量,进行回归分析,建立饮片色度值与色谱峰 1、峰 2 回归方程,结果表明, R 、 R^2 均>0.9, 色谱峰 1 对应的标准估算误差值均<0.5, 色谱峰 2 均<2.0, P 值均<0.01, 炮制品饮片粉末与色谱峰 1、峰 2 呈极显著线性关系,可预测性较强。

3 讨论

本实验按中国药典 2020 年版“续断”项下饮片炮制方法炮制酒续断和盐续断饮片,在线监测各饮片样品颜色,当 2 个样品间的 ΔE^* 为 6~12 个色差单位(即 $1\Delta E^*=1NBS$)时,样品间色差可被肉眼识别,当 $\Delta E^*>12$ 时,则色差显著^[11]。由饮片粉末色度检测结果可知,随着炮制程度的加深,饮片颜色逐渐加深, L^* 、 b^* 、 E^* 值逐渐降低;酒续断炮制过程饮片的 ΔL^* 为 -1.75~10.17、 Δa^* 为 1.49~2.41、 Δb^* 为 1.08~2.09、 ΔE^* 为 2.54~10.66,表明酒续断炮制后与续断饮片的色差变化可被肉眼识别,炮制时间为 16 min 时,肉眼即可观察到。盐续断炮制过程饮片的 ΔL^* 为 -6.09~11.28、 Δa^* 为 1.86~3.02、 Δb^* 为 -0.17~1.97、 ΔE^* 为 6.37~11.84, ΔL^* 、 ΔE^* 色差单

位接近 6, 表明盐续随炮制时间的延长, 与续断饮片的色差变化肉眼略难识别。

利用 SPSS 20.0 软件对酒续断、盐续断饮片炮制时间与饮片粉末色度作幂模型, 其结果分别为 $Y=0.147X^{1.387}$, $R^2=0.896$, $P<0.01$; $Y=1.940X^{0.524}$, $R^2=0.868$, $P<0.01$, 两者均呈极显著性正相关, 说明饮片粉末色度值可作为炮制时间的评价指标。

利用 SIMCA 14.0 软件对各饮片色度与各色谱峰峰面积结果, 建立 OPLS-DA 模型, OPLS-DA 分布图显示酒续断、盐续断饮片随炮制程度的加深, 呈规律性分布, 且不同炮制品间无交集, 酒续断炮制 14 min 后的饮片分布于得分图左上象限, 盐续断炮制 20 min 后的饮片则分布于右上象限, 由此可对不同炮制品加以区分。各饮片色度与各色谱峰峰面积 VIP 值>1 的重要变量有 11 个, 分别为峰 3、峰 5(马钱苷酸)、峰 13(4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 11(异绿原酸 B)、峰 12(3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 9、峰 6、峰 17、色度值 a^* 、峰 14 和峰 8(隐绿原酸), 表明这 11 个指标可作为影响酒续断、盐续断炮制过程中饮片质量变化的重要标志物。以上述重要变量的各成分峰面积与饮片色度结果进行线性回归, 进一步分析相关性, 结果表明, 不同炮制饮片色度值与指纹图谱峰 6、峰 9、峰 11(异绿原酸 B)、峰 12(3,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 13(4,5-*O*-二咖啡酰奎宁酸)、峰 14、峰 17 峰面积建立的回归模式极为显著, 随色差值 E^* 逐渐减小, 其峰面积呈下降趋势, 这一特征可作酒续断、盐续断炮制饮片过程的监测关键点。

实验研究发现, 峰 1、峰 2 为酒续断、盐续断炮制过程所产生, 且随炮制程度的加深, 峰面积逐渐增大, 经对照品指认峰 2 为 5-羟甲基糠醛。相关研究表明, 氨基化合物(蛋白质和氨基酸)和羰基化合物(还原糖类成分)在一定条件下, 可发生美拉德反应而生成 5-羟甲基糠醛^[12], 中药中的糖类成分亦可在酸性环境下受热分解产生。续断炮制品峰 1、峰 2 与色度间 R 均>0.97, 两者 P 值均<0.01, 表明酒续断、盐续断炮制过程中峰 1、峰 2 与其饮片色度相关性极为显著, 这一特征亦可作为炮制饮片颜色差异变化的标志物, 可作为炮制时间的

评价指标, 峰 1 的产生机制尚需进一步研究。

酒续断色度差异变化肉眼可识别, 盐续断炮制过程样品与原续断饮片间的色差变化肉眼较难观察到, 针对这一实验现象, 后续需全面研究续断炮制品内外在质量的相关性, 为其炮制过程在线技术指导提供数据参考, 更好地规范炮制工艺及全面评价饮片质量。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2020: 343-344.
- [2] LI Y, WANG J K, WANG X C, et al. Cutting process optimization for *Dipsaci Radix*[J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2019, 41(4): 732-735.
- [3] WANG X J, LI W, DU H Z, et al. Optimization of processing techniques of *Himalayan teasel* root[J]. *Guizhou Sci*(贵州科学), 2020, 38(2): 5-8.
- [4] PAN J, LI Z M, WU L H, et al. HPLC fingerprints and chemometrics of *Dipsaci Radix* with different processing[J]. *Southwest China J Agric Sci*(西南农业学报), 2021, 34(3): 529-534.
- [5] LI R Q, WU C, XU L, et al. Correlation between color and contents of chemical constituents in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*[J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2019, 39(7): 1315-1322.
- [6] XIAO J L, LIU Y C, LIU Y Y, et al. Study on process optimization and judgment standard of quantitative of cooked *Rhei Radix et Rhizoma*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2017, 48(8): 1571-1576.
- [7] ZHANG X L, WANG M, LUO Y Q, et al. Study on processing technology of wine dogwood meat based on exterior-interior correlation[J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2021, 44(1): 69-75.
- [8] AI G L, AI Q Q, YANG X Y. HPLC fingerprint analysis of *Dipsaci asperoids* produced from different regions[J]. *Strait Pharm J*(海峡药学), 2022, 34(4): 69-73.
- [9] YANG C G, GONG A H, ZHANG C G, et al. Simultaneous determination of 7 components in *Dipsaci Radix* by HPLC[J]. *China Pharm*(中国药房), 2022, 33(6): 680-684.
- [10] 中国药典. 四部[S]. 2020: 31-32.
- [11] ZHANG X, LI X Q, WANG Y, et al. Dynamic correlation between constituents detected by HPLC and colors of samples in stir-frying process of *Gardeniae Fructus Praeparatus*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2018, 49(17): 4029-4037.
- [12] XU F H, HU Z C, YI X Y, et al. Application status of 5-hydroxymethylfurfural in quality standard of traditional Chinese medicine[J]. *China Med Her*(中国医药导报), 2017, 14(15): 47-50.

收稿日期: 2022-08-25

(本文责编: 沈倩)