

不同炮制时间醋艾炭的色度值与 HPLC 特征图谱的相关性研究

谢翡翡^{1,2}, 卢晓莹², 郑蓉慧^{1,2}, 邓香华^{2,3}, 李振雨², 张 勋², 罗文汇^{4,5*}

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006

2. 广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 广东 佛山 528244

3. 南方医科大学 中医药学院, 广东 广州 510515

4. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006

5. 江西一方天江药业有限公司, 江西 南昌 330000

摘要: **目的** 研究醋艾炭炮制过程中饮片粉末色度值与高效液相色谱 (HPLC) 特征图谱的相关性。**方法** 测定不同炮制时间醋艾炭饮片的特征图谱和色度值 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*), 并对成分和色度值进行相关性分析和多元统计分析。**结果** 随着炮制时间的延长, 醋艾炭较艾叶特征图谱相似度逐渐降低; 峰 6、峰 13 单位峰面积先升高后下降, 其余色谱峰单位峰面积呈下降趋势; L^* 、 b^* 、 E^* 值逐渐减小, a^* 值趋于稳定, ΔE^* 逐渐增大。异泽兰黄素与 L^* 、 E^* 值呈极显著正相关, 绿原酸与 a^* 值呈极显著负相关, 与 b^* 值呈极显著正相关, 棕矢车菊素与 E^* 值呈极显著正相关。正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 结果显示峰 6、峰 2、峰 13、峰 8、夏佛塔苷、咖啡酸和隐绿原酸是醋艾炭饮片炮制过程中产生质量差异的主要指标。**结论** 不同炮制时间醋艾炭饮片的色度值与 HPLC 特征图谱密切相关, 为醋艾炭炮制过程化学成分动态监测和质量评价提供手段。

关键词: 醋艾炭; 炮制; HPLC 特征图谱; 色度值; 相关性; 异泽兰黄素; 隐绿原酸; 正交偏最小二乘法判别分析

中图分类号: R283.1; R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)07-1664-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.07.008

Correlation between chromaticity value and HPLC characteristic chromatogram of different processing time of vinegar-processed *Artemisiae Argyi Folium Carbonisata*

XIE Feifei^{1,2}, LU Xiaoying², ZHENG Ronghui^{1,2}, DENG Xianghua^{2,3}, LI Zhenyu², ZHANG Xun², LUO Wenhui^{4,5}

1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granules Enterprise, Foshan 528244, China

3. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

4. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

5. Jiangxi Yifang Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Nanchang 330000, China

Abstract: Objective To research the correlation between the chromaticity value of and HPLC characteristic chromatogram of vinegar-processed *Artemisiae Argyi Folium Carbonisata* (VAFC). **Methods** The characteristic chromatograms and chromaticity values (L^* , a^* , b^* , E^*) were determined at different processing times, and the correlation analysis and multivariate statistical analysis were carried out to analyze the relationship between chromaticity values and chemical components. **Results** With the prolongation of processing time, the similarity of the characteristic chromatograms of VAFC gradually decreased compared with *Artemisiae Argyi Folium*. The unit peak area of peak 6 and peak 13 increased first and then decreased, while other chromatographic peaks decreased. The values of L^* , b^* , and E^* decreased gradually, the values of a^* tended to be stable, and the values of ΔE^* increased gradually. There were significant positive correlations between eupatilin and L^* and E^* values, significant negative correlations between chlorogenic acid and a^* values, significant positive correlations between chlorogenic acid and b^* values, and significant positive correlations between jaceosidin and E^* values. The results of orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) showed that peak 6, peak 2, peak 13, peak 8, schaftoside, caffeic acid, and cryptochlorogenic acid were the main indexes of quality difference during the

收稿日期: 2025-03-21

基金项目: 江西省中医药标准化研究项目 (2023A15)

作者简介: 谢翡翡 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量评价。E-mail: mtxffa@163.com

*通信作者: 罗文汇, 男, 主任中药师, 硕士生导师, 从事中药饮片、中药配方颗粒研究。E-mail: acid123@126.com

processing of VAFC. **Conclusion** The chromaticity values of VAFC at different processing time are closely related to the HPIC characteristic chromatograms, which provides a reference for the dynamic monitoring of chemical components and quality evaluation of VAFC during processing.

Key words: vinegar-processed *Artemisiae Argyi Folium Carbonisata*; processing; HPLC characteristic chromatogram; chromaticity value; correlation; eupatilin; cryptochlorogenic acid; discriminant analysis by orthogonal partial least square

艾叶入药始载于《名医别录》，是菊科植物 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. 的干燥叶，辛、苦，温，有小毒，归肝、脾、肾经，夏季花未开时采摘，除去杂质，晒干，内服温经止血、散寒止痛，外用祛湿止痒，是中医妇科的常用药^[1]。《中国药典》2020 年版一部艾叶项下仅收载其炮制品醋艾炭，呈不规则的碎片，表面黑褐色，有细条状叶柄，有醋香气，可温经止血^[1]。艾叶经炮制后药性、药效发生改变，经醋炒后偏性得到纠正，醋艾叶温而不燥，可增强逐寒止痛功效^[2]。艾叶炮制为醋艾炭后温经止血功效增强，用于治疗虚寒性出血。研究表明艾叶中主要化学成分有挥发油、黄酮类、萜类、苯丙素类、甾体类、多糖类和微量元素等^[2-4]。经炮制为醋艾炭后，成分组成会发生不同变化，可能是造成炮制前后质量和临床疗效差异的主要原因。历版《中国药典》、北京市、四川省、陕西省中药饮片炮制规范中均收载醋艾炭，但对炮制终点的规定均为“炒至表面焦黑色”或“炒至焦褐色”，存在较强的主观性。目前《中国药典》2020 年版一部艾叶项下仅对醋艾炭的外观性状、薄层色谱鉴别项作出规定，缺乏具体的量化评价标准，导致醋艾炭饮片的质量存在不稳定性。色度分析仪用于客观描述样品颜色空间数值，可对传统的颜色指标进行准确、客观量化^[5-6]。HPLC 特征图谱是一种快速、有效的分析方法，可提供丰富的化学成分信息，分析的准确性和结果的可信度高，常用于中药材质量评价研究中，具有应用范围广、灵敏度高等优势^[7-8]。本研究将醋艾炭炒炭过程中的 HPLC 特征图谱变化与饮片粉末色度值变化情况相联系，并结合多元统计分析对不同炮制时间醋艾炭饮片的色度值与特征图谱进行比较，探究不同炮制时间醋艾炭饮片成分与颜色的动态变化规律，阐明实际生产中引起质量稳定性差异的原因，为高效、科学地进行醋艾炭炮制过程中化学成分动态监测和质量评价提供手段。

1 材料

Waters H-Class 超高效液相色谱仪(美国沃特世有限公司)，TS7700 型分光测色仪(深圳三恩时科

技有限公司)，ME204E 万分之一天平、XP26 百万分之一天平(梅特勒-托利多公司)，HWS-28 电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司)，Milli-Q Direct 8/16 system 超纯水机(默克股份有限公司)。

新绿原酸(批号 ST06230120，质量分数以 98% 计)、隐绿原酸(批号 ST07850120，质量分数以 98% 计)、异绿原酸 B(批号 ST06590120，质量分数以 98% 计)对照品均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司；绿原酸(批号 110753-202119，质量分数以 96.3% 计)、咖啡酸(批号 110885-201703，质量分数以 99.7% 计)、夏佛塔昔(批号 111912-202204，质量分数以 94.9% 计)、芦丁(批号 100080-202012，质量分数以 91.6% 计)对照品均购自中国食品药品检定研究院；异绿原酸 A(批号 wkq23010903，质量分数以 98% 计)、异绿原酸 C(批号 wkq23011207，质量分数以 98% 计)、异泽兰黄素(批号 wkq22062813，质量分数以 98% 计)对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司；棕矢车菊素(批号 Z05801909018，质量分数以 98% 计)对照品均购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司。乙醇、甲醇(西陇科学股份有限公司)均为分析纯；磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司，色谱纯)，乙腈(默克股份有限公司，色谱纯)，水为超纯水(实验室自制)。米醋(佛山市海天调味食品股份有限公司)。

实验所用的艾叶药材经广东一方制药有限公司夏天瑞副主任药师鉴定为菊科植物艾 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. 的干燥叶，编号 AY1~AY9 产地为河南南阳，编号 AY10~AY18 产地为湖北黄冈。

2 方法与结果

2.1 不同炮制时间醋艾炭饮片样品的制备

取编号 AY3 艾叶药材，按《中国药典》2020 年版一部艾叶项下的炮制方法进行。取净艾叶，揉散备用，800 W 炒锅预热至 300 ℃ 后，投入净艾叶，在 300 ℃ 下分别炒制 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30 min，将米醋按照醋水比例为 1:1 稀释，喷洒并翻拌均匀，低温炒干。100 kg 艾叶，用醋 15 kg，放凉，即得不同炮制

时间的醋艾炭饮片，对应的饮片编号依次为 C1~C16（生品艾叶标记为 C1）。

2.2 HPLC 特征指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 Waters Cortecs C₁₈ 色谱柱（150 mm×4.6 mm, 2.7 μm），流动相为乙腈（A）-0.2% 甲酸溶液（B），梯度洗脱（0~10 min, 8%~10% A；10~18 min, 10%~14% A；18~27 min, 14%~20% A；27~32 min, 20%~21% A；32~50 min, 21%~40% A；50~62 min, 40%~70% A）；检测波长 325 nm；体积流量 0.4 mL/min；柱温为 25 ℃；进样量 2 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、芦丁、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、棕矢车菊素、异泽兰黄素对照品适量，加甲醇溶解，并制成含各成分均为 10 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取醋艾炭饮片粉末（过三号筛）约 1.0 g，精密加入 70% 甲醇 25 mL，超声处理（功率 300 W、频率 40 kHz）30 min，取出，放冷，滤过，取续滤液，即得。

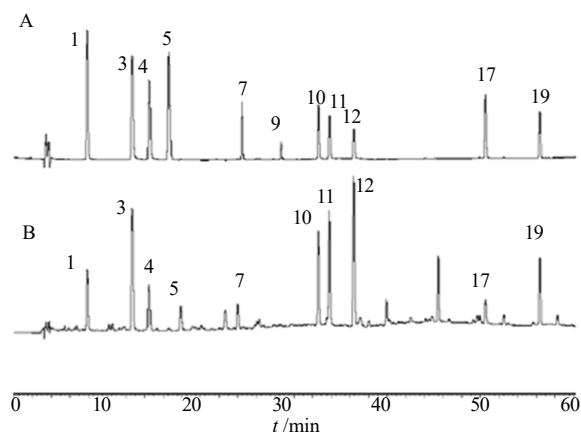
2.2.4 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液，进行分析，见图 1。结果表明，供试品色谱在与对照品色谱相对应的保留时间内有相同的色谱峰。

2.2.5 精密度试验 取供试品溶液，重复测定 6 次，以异绿原酸 C 为参照峰，计算共有峰的相对保留时间 RSD 值<0.68%，相对峰面积 RSD 值<3.42%。

2.2.6 重复性试验 取醋艾炭饮片粉末（过三号筛），平行制备 6 份供试品溶液，进样分析，以异绿原酸 C 为参照峰，计算共有峰的相对保留时间 RSD 值<0.26%，相对峰面积 RSD 值<3.39%。

2.2.7 稳定性试验 取供试品溶液，分别在 0、3、6、9、12、24 h 进样分析，以异绿原酸 C 为参照峰，计算得共有峰的相对保留时间 RSD 值<0.72%，相对峰面积的 RSD 值<3.45%，说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 特征图谱分析 取 18 批艾叶（编号 AY1~AY18）和不同炮制时间的醋艾炭样品（编号 C1~C16），制备供试品溶液，进样测定，使用《中药色谱指纹图谱相似度评价软件（2012 年版）》分别对 18 批艾叶、16 批不同炮制时间的醋艾炭饮片特征图谱进行数据匹配，设置编号 AY1、C1 样品色谱图作为参照图谱，采用多点校正法进行峰匹配，建立 HPLC 叠加特征图谱，见图 2。



1-新绿原酸, 3-绿原酸, 4-隐绿原酸, 5-咖啡酸, 7-夏佛塔苷, 9-芦丁, 10-异绿原酸 B, 11-异绿原酸 A, 12-异绿原酸 C, 17-棕矢车菊素, 19-异泽兰黄素。

1-neochlorogenic acid, 3-chlorogenic acid, 4-cryptochlorogenic acid, 5-caffeic acid, 7-schaftoside, 9-rutin, 10-isochlorogenic acid, 11-isochlorogenic acid A, 12-isochlorogenic acid C, 17-jaceosidin, 19-cupatilin.

图 1 混合对照品 (A)、炮制 16 min 的醋艾炭样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance (A) and processed 16 min vinegar-processed *Artemisiae Argyi Folium Carbonisata* (VAFC) sample (B)

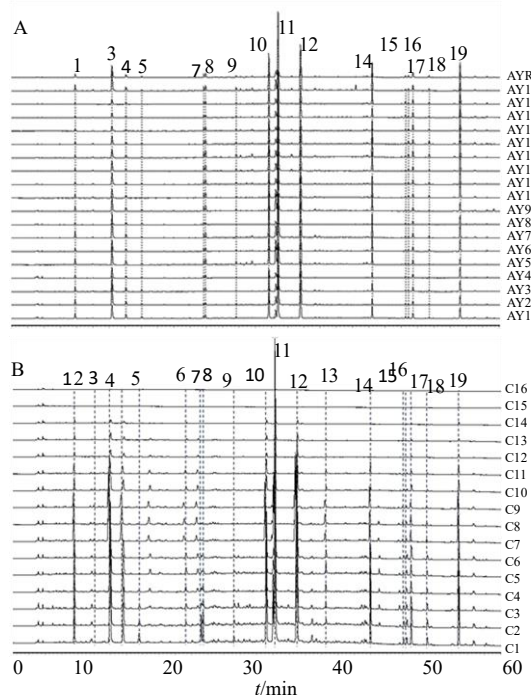


图 2 艾叶生品 (A) 和不同炮制时间醋艾炭样品 (B) HPLC 特征图谱

Fig. 2 HPLC characteristic chromatograms of *Artemisiae Argyi Folium* (A) and VAFC at different processing times (B)

18 批艾叶饮片共标定 16 个共有峰,不同炮制时间的醋艾炭饮片共标定 19 个共有峰。通过对照品指认出其中 11 个色谱峰,包括新绿原酸(峰 1)、绿原酸(峰 3)、隐绿原酸(峰 4)、咖啡酸(峰 5)、夏佛塔苷(峰 7)、芦丁(峰 9)、异绿原酸 B(峰 10)、异绿原酸 A(峰 11)、异绿原酸 C(峰 12)、棕矢车菊素(峰 17)、异泽兰黄素(峰 19)。通过高分辨质谱鉴定峰 6 可能为咖啡酰莽草酸、峰 13 可能为 3,4-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯。其中色谱峰 2、6、13 为炮制后新检出,可能是艾叶醋制炒炭后新产生成分,可作为区分艾叶与醋艾炭的关键指标。

16 批不同炮制时间醋艾炭样品的相似度分别为 0.969~0.201,C1~C5 号样品的相似度均大于

0.90,炮制时间达 12 min 后,相似度低于 0.40,表明经过炮制后艾叶的化学成分含量及组成发生明显变化。当醋艾炭样品炮制 2 min 后,醋艾炭样品特征图谱中新检出峰 6;炮制 4 min 后新检出峰 2;炮制 16 min 时,夏佛塔苷、峰 8、芦丁已无法检测出;炮制 22 min 时咖啡酸、峰 16 已无法检出;炮制 30 min 时,所有色谱峰均无法检测出。

采用 Origin 2021 软件以不同炮制时间醋艾炭特征图谱的单位色谱峰面积为纵坐标,炮制时间为横坐标进行曲线回归分析,结果见表 1。炮制时间越长,峰 2、6、13 单位峰面积呈先增大后减小的趋势,其余色谱峰总体均呈下降趋势,且炮制时间为 0~12 min 时,下降程度较大。

表 1 醋艾炭特征图谱单位峰面积与炮制时间的回归分析结果

Table 1 Regression analysis results of chromatographic unit peak area and processing time in the process in VAFC

峰号	单位峰面积范围	回归方程	R ²
1	0~434 943	$Y=499\,323-34\,694\,X+589.8\,X^2$	0.941 9
2	0~58 892	$Y=120\,4+6\,415\,X-231.3\,X^2$	0.783 3
3	0~2 044 826	$Y=2\,072\,885-87\,327\,X+441.9\,X^2$	0.966 8
4	0~539 311	$Y=514\,196-842\,X-629.2\,X^2$	0.935 4
5	0~252 565	$Y=177\,745-17\,555\,X+411.1\,X^2$	0.818 5
6	0~183 851	$Y=51\,598+16\,097\,X-658.2\,X^2$	0.761 9
7	0~227 496	$Y=157\,937-17\,179\,X+423.1\,X^2$	0.798 7
8	0~350 953	$Y=271\,911-28\,335\,X+679.1\,X^2$	0.891 1
9	0~118 206	$Y=126\,160-11\,310\,X+242.9\,X^2$	0.942 4
10	0~1 761 874	$Y=1\,653\,014-114\,854\,X+2022\,X^2$	0.973 5
11	0~4 973 044	$Y=4\,357\,815-377\,331\,X+8056\,X^2$	0.950 0
12	0~3 826 279	$Y=3\,817\,073-236\,434\,X+3525\,X^2$	0.974 5
13	0~186 328	$Y=59\,137+11\,663\,X-517.7\,X^2$	0.665 5
14	0~922 613	$Y=865\,948-66\,310\,X+1282\,X^2$	0.884 5
15	0~107 827	$Y=101\,207-4\,727\,X+39.98\,X^2$	0.924 3
16	0~128 172	$Y=128\,730-6\,109\,X+51.70\,X^2$	0.966 7
17	0~381 800	$Y=360\,473-16\,985\,X+151.7\,X^2$	0.938 4
18	0~139 987	$Y=143\,151-7\,102\,X+70.62\,X^2$	0.969 5
19	0~1 006 415	$Y=956\,925-55\,551\,X+780.9\,X^2$	0.961 9

2.3 不同炮制时间醋艾炭饮片粉末色度值测定

2.3.1 测定方法 分别取适量编号 C1~C16 的不同炮制时间醋艾炭饮片粉末(过 3 号筛),置于载玻片上,压制为厚度约 1 mm 的圆形薄片。使用分光测色仪测定各饮片粉末色度值,设置测定条件为光源 D65,观测角度 10°、孔径 4 mm,进行黑白校正

后测定各样品粉末的色度值 L^* 、 a^* 、 b^* ,平行测定 3 次,取平均值。

2.3.2 方法学考察 取醋艾炭样品粉末,在同一时间点连续测定 6 次,结果色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 的 RSD 值分别为 0.01%、0.03%、0.06%。取同批次醋艾炭样品粉末 6 份,重复测定 6 次,结果色度值 L^* 、 a^* 、

b^* 的 RSD 值分别为 0.01%、0.03%、0.06%。取醋艾炭样品粉末，放置 0、2、4、8、16、24 h 和 0、1、2、3、4、5 d 后，进样测定，结果色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 的 RSD 值分别为 0.01%、0.03%、0.08% 和 0.01%、0.04%、0.09%。

2.3.3 艾叶炮制过程中色度值的动态变化 Lab 颜色系统中， L^* 代表明度值， a^* 代表红绿色相， b^* 表示黄蓝色相^[9]。以编号 C1 的艾叶饮片为对比项，计算平均总色度值 $E^* = \sqrt{L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}}$ ，总色差值 $\Delta E^* = \sqrt{(L_T^* - L_A^*)^2 + (a_T^* - a_A^*)^2 + (b_T^* - b_A^*)^2}$ ^[10]，色度值测定结果见表 2。

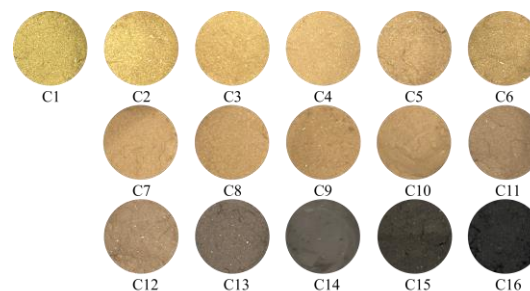
表 2 不同时间醋艾炭炮制品粉末的色度值测定结果

Table 2 Results of different processing time on chromaticity values of VAFC powder

编号	t/min	L^*	a^*	b^*	E^*	ΔE^*
C1	0	37.81	3.51	21.28	43.53	
C2	2	31.37	2.89	17.60	36.09	7.44
C3	4	31.14	4.19	19.17	36.81	7.02
C4	6	24.07	3.34	14.19	28.14	15.46
C5	8	20.54	3.20	11.75	23.88	19.73
C6	10	19.08	3.80	11.80	22.76	20.99
C7	12	18.68	3.01	11.63	22.21	21.43
C8	14	18.05	3.58	11.47	21.68	22.06
C9	16	16.23	5.35	2.65	18.00	26.70
C10	18	13.48	5.18	-0.20	14.44	32.50
C11	20	13.74	5.29	-0.47	14.73	32.49
C12	22	10.84	5.32	-4.01	12.72	37.02
C13	24	9.96	5.32	-4.42	12.12	37.94
C14	26	6.92	5.14	-7.25	11.26	42.08
C15	28	4.02	5.03	-7.35	9.77	44.31
C16	30	3.98	5.08	-7.40	9.82	44.38
平均值		18.39	4.08	6.52	21.12	27.44
最小值		4.02	0.51	-7.35	9.77	7.02
最大值		31.37	5.35	19.17	36.81	44.38

随着炒制时间的增加，艾叶的 L^* 逐渐下降，说明颜色逐渐由亮变暗； a^* 无明显变化，说明红绿色相稳定，饮片颜色始终微偏向红色； b^* 逐渐下降，且由正值变为负值，说明饮片逐渐由偏黄变为偏蓝； E^* 逐渐下降，说明饮片炒制时间越长颜色越深，且 ΔE^* 均 > 3.5 ，说明肉眼可见艾叶在炒制过程中的颜色变化，逐渐由黄棕色向黑褐色转变，不同炒制时间的艾叶炮制品粉末见图 3。《中国药典》2020 年

版一部规定醋艾炭的炮制程度为“炒至表面焦黑色”，性状描述为“呈不规则的碎片，表面黑褐色，有细条状叶柄。具醋香气”，当炮制时间为 16 min 时，性状最接近焦黑色、黑褐色，此时色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 分别为 16.23、5.35、2.65，此时可能为醋艾炭饮片的炮制终点。



C1-生品艾叶，C2-炮制 2 min，C3-炮制 4 min，C4-炮制 6 min，C5-炮制 8 min，C6-炮制 10 min，C7-炮制 12 min，C8-炮制 14 min，C9-炮制 16 min，C10-炮制 18 min，C11-炮制 20 min，C12-炮制 22 min，C13-炮制 24 min，C14-炮制 26 min，C15-炮制 28 min，C16-炮制 30 min。

C1-raw *Artemisiae Argyi Folium*, C2-processed for 2 min, C3 processed for 4 min, C4-processed for 6 min, C5 processed for 8 min, C6-processed for 10 min, C7-processed for 12 min, C8-processed for 14 mins, C9-processed for 16 min, C10-processed for 18 min, C11-processed for 20 min, C12-processed for 22 min, C13-processed for 24 min, C14-processed for 26 min, C15-processed for 28 min, C16-processed for 30 min.

图 3 不同炒制时间的艾叶炮制品粉末

Fig. 3 Color image of *Artemisiae Argyi Folium* powder at different processing times

2.4 炮制过程中醋艾炭色度值与特征图谱共有峰的关联性分析

2.4.1 相关性分析 将 16 批不同炮制时间醋艾炭饮片粉末的色度值 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*) 和 19 个特征图谱共有峰的单位峰面积导入 SPSS 26.0 进行 Pearson 相关性分析并作热图 (图 4)。红色表示两者为负相关，绿色表示两者为正相关，有统计学意义的 Pearson 相关系数已标注。结果表明，峰 1 (新绿原酸)、峰 3 (绿原酸)、峰 4 (隐绿原酸)、峰 9 (芦丁)、峰 10 (异绿原酸 B)、峰 11 (异绿原酸 A)、峰 12 (异绿原酸 C)、峰 14、峰 15、峰 16、峰 17 (棕矢车菊素)、峰 18、峰 19 (异泽兰黄素) 与 L^* 、 b^* 、 E^* 均呈极显著正相关，与 a^* 呈极显著负相关，峰 5 (咖啡酸)、峰 7 (夏佛塔苷)、峰 8 与 L^* 、 b^* 、 E^* 均呈极显著正相关，与 a^* 呈显著负相关，峰 6 与 b^* 呈显著负相关；峰 13 与 a^* 呈显

著负相关、与 b^* 呈显著正相关。表明炮制过程中醋艾炭的颜色变化与其成分组成和含量的变化存在显著的相关性，通过观察或测量颜色的变化可在一定程度上间接反映成分的变化情况。

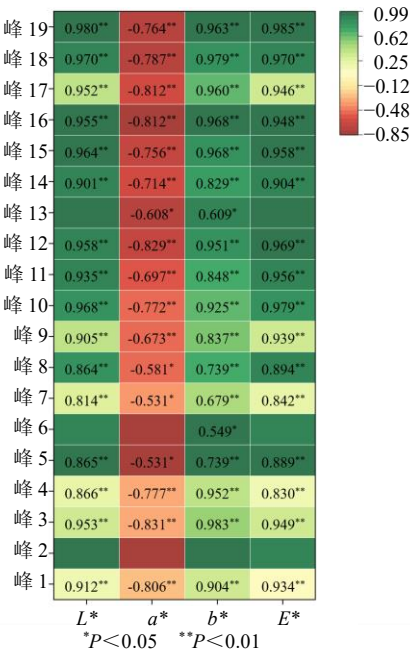


图 4 不同炮制时间醋艾炭样品色谱峰单位峰面积与色度值的相关性

Fig. 4 Correlations between unit peak areas and chromaticity values of VAFC at different processing time

2.4.2 逐步回归分析 逐步回归的基本思想是逐

步引入那些对因变量有显著影响的自变量，同时剔除那些无意义的自变量，从而更准确地揭示自变量与因变量之间的关系^[3]。由于新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、峰 8、芦丁、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、峰 14、峰 15、峰 16、棕矢车菊素、峰 18、异泽兰黄素与 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^* 均呈显著相关，峰 6 与 b^* 呈显著负相关；峰 13 与 a^* 、 b^* 呈显著相关。以不同炮制时间醋艾炭样品色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^* 为因变量，以呈相关关系的色谱峰单位峰面积为自变量，采用 SPSS 26.0 软件进行逐步线性回归分析，结果见表 3。判定系数 (R^2) 表示模型拟合优度，当 $R^2>0.4$ 时，模型拟合良好^[11]。结果显示， L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^* 的回归模型调整后 R^2 分别为 0.957、0.669、0.963、0.982， R^2 均大于 0.4，表明模型拟合度良好。根据表 3 的回归分析结果显示，异泽兰黄素与 L^* 、 E^* 值呈正相关，绿原酸与 a^* 值呈负相关，与 b^* 值呈正相关，棕矢车菊素与 E^* 值呈正相关。在 95.7% 的程度上可通过异泽兰黄素对 L^* 进行预测，在 66.9% 的程度上可通过绿原酸对 a^* 进行预测，在 95.3% 的程度上可通过绿原酸对 b^* 进行预测，在 98.2% 的程度上可通过异泽兰黄素和棕矢车菊素对 E^* 进行预测。反之，在已知艾叶生品中绿原酸、异泽兰黄素、棕矢车菊素的含量情况下，通过比较生品与不同程度炮制品的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^* ，可利用相关关系在一定程度上判断醋艾炭炮制品中绿原酸、棕矢车菊素、异泽兰黄素的含量。

表 3 色度值的逐步回归分析结果
Table 3 Regression analysis results of chromaticity values

因变量	模型	未标准化系数	标准化系数	R	R ²	调整后 R ²	显著性
L [*]	异泽兰黄素	3.036×10 ⁻⁵	0.980	0.980	0.960	0.957	0.000
a [*]	绿原酸	-1.117×10 ⁻⁶	-0.831	0.831	0.691	0.669	0.000
b [*]	绿原酸	1.395×10 ⁻⁵	0.983	0.983	0.965	0.963	0.000
E [*]	异泽兰黄素	5.207×10 ⁻⁵	1.589	-	-	-	0.000
	棕矢车菊素	-5.217×10 ⁻⁵	-0.615	0.992	0.985	0.982	0.005

2.4.3 正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 为了进一步筛选引起不同炮制时间醋艾炭样品质量差异的因素，采用 SIMCA 14.1 软件对 16 批不同炮制时间醋艾炭饮片粉末的色谱峰单位峰面积、色度值进行有监督的 OPLS-DA 二维数据分析，结果见图 5。各样品的聚集现象与聚类分析基本一致。建立的 OPLS-DA 模型共筛选 2 个主成分，其模型累

计解释能力参数 R^2_X 、 R^2_Y 为 0.951、0.820，预测能力参数 Q^2 为 0.709，提示该模型稳定性强和预测能力良好。结果显示，存在离群值为炮制 0 min 的样品，说明艾叶生品与炮制品存在较大的质量差异，并且随着炮制时间增加，各醋艾炭饮片呈规律性分布。以 $VIP>1$ 为标准，进一步筛选得到对模型中组间分类贡献较大的 7 个变量 (图 6)，即峰 6、峰

2、峰 13、峰 8、峰 7（夏佛塔苷）、峰 5（咖啡酸）和峰 4（隐绿原酸），可能是引起醋艾炭炮制过程中质量差异性的主要原因。

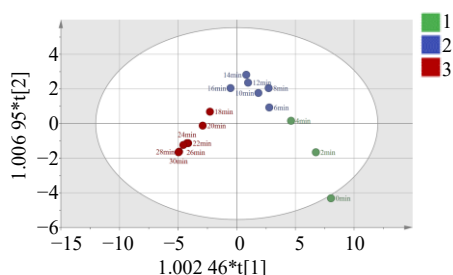


图 5 不同炮制时间醋艾炭样品的 OPLS-DA 得分图
Fig. 5 OPLS-DA score plot of VAFC at different processing times

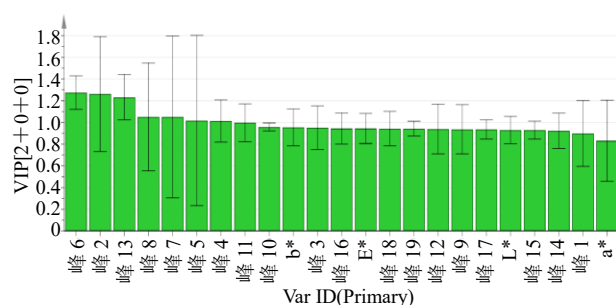


图 6 不同炮制时间醋艾炭样品的 VIP 值图
Fig. 6 VIP plot of VAFC at different processing times

3 讨论

艾叶在未经炮制时，主要用于温经散寒、散寒止痛，而经过炒炭醋制后，偏性缓和，温经止血的功效增强。炭药在炮制时讲究“存性”，即药物的炭性与功效应处于某一适度范围内，不能太过，也不能不及，因此判断适宜的炒炭程度尤为重要^[12]。

本研究通过 HPLC 特征图谱对不同炮制时间的醋艾炭饮片的成分变化情况进行分析，发现在炮制过程中醋艾炭饮片与艾叶饮片的相似度逐渐降低。经过炒炭醋制后，新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、夏佛塔苷、芦丁、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、棕矢车菊素、异泽兰黄素的含量大幅度下降，峰 6、13 经历了先增加后减少的变化过程。这些色谱峰的差异性变化为醋艾炭炮制过程中的不同阶段提供了区分依据。同时，化学成分的变化是炮制后药理作用变化的潜在原因。

在实际生产中，辨状论质是传统鉴别的主要手段，然而，性状鉴别往往需要从业人员多年的工作经验，并且依赖人的感官判断，容易受主观感受的

影响，对饮片的最终评价会造成不可避免的误差，重复性差，存在一定的局限性。为了解决这一问题，本研究建立了醋艾炭色度值测定方法，利用量化颜色指标 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^* 对不同炮制阶段的醋艾炭粉末的颜色进行描述。研究表明，随着炮制时间的延长，醋艾炭粉末的颜色逐渐加深， L^* 、 b^* 值总体呈下降趋势，而 ΔE^* 值则逐渐增大，粉末由黄褐色逐渐转变为黑褐色。通过相关性分析发现，色度值 (L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*) 与新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、峰 6、夏佛塔苷、峰 8、芦丁、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、峰 13、峰 14、峰 15、峰 16、棕矢车菊素、峰 18、异泽兰黄素的含量呈显著相关性，说明通过颜色的变化可间接反映炮制过程中主要成分的变化情况。接着剔除无显著影响的自变量，进行逐步回归分析，发现绿原酸、异泽兰黄素及棕矢车菊素的含量与醋艾炭粉末色度值的回归方程具有统计学意义，说明通过测量醋艾炭饮片中绿原酸、异泽兰黄素、棕矢车菊素含量可在一定程度对炮制品的色度值进行预测。最后，通过化学计量学可将不同炮制程度的醋艾炭饮片进行区分，峰 6、峰 2、峰 13、峰 8、夏佛塔苷、咖啡酸和隐绿原酸可作为不同炮制时间的醋艾炭饮片的质量差异标志物。

综上所述，醋艾炭饮片颜色与其内在化学成分紧密相关，色度值可作为在线监控醋艾炭饮片的炮制程度的指标之一，为高效、科学进行醋艾炭炮制过程中化学成分动态监测和质量评价提供了有效的手段。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 91.
- [2] 瞿燕, 秦旭华, 潘晓丽. 艾叶和醋艾叶炭止血、镇痛作用比较研究 [J]. 中药药理与临床, 2005(4): 46-47.
- [3] 张雪琳, 陈新旺, 吴毅明. 近 10 年来艾叶挥发油的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(5): 111-118.
- [4] 袁林祥, 吴航宇, 邱彩玲. 艾叶的药物活性成分、药理作用及临床应用浅析 [J]. 当代医药论丛, 2020, 18(2): 171-173.
- [5] 潘玲, 邓李红, 等. 基于 UPLC 指纹图谱与色度值的桑白皮生品和炮制品的鉴别及炮制终点研究 [J]. 中国药房, 2021, 32(1): 56-63.
- [6] 陈丹燕, 王瑜婷, 潘玲, 等. 姜炭炮制过程中化学成分与粉末色泽关联性分析 [J]. 药物分析杂志, 2023,

- 43(10): 1800-1810.
- [7] 姚建标, 金辉辉, 何厚洪, 等. 西红花特征图谱研究及真伪鉴别 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1378-1380.
- [8] 王新桂, 朱田密. 深绿卷柏的显微鉴别和高效液相色谱特征图谱研究 [J]. 中南药学, 2023, 21(3): 758-763.
- [9] 洪婉敏, 方朝缙, 纪玉华, 等. 当归不同药用部位炒焦过程中颜色与化学成分的变化规律研究 [J]. 中药材, 2022, 45(3): 586-593.
- [10] 杨琳琳, 辛洁萍, 李千, 等. 乌梅炭炮制过程中颜色与内在质量的相关性及其炮制终点研究 [J]. 中国药房, 2023, 34(3): 289-293.
- [11] 胡佳莉, 刘林, 李钟, 等. 黄精发酵过程中有效成分含量与色泽的相关性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(15): 169-176.
- [12] 朱志凯, 杨洁, 朱玉泉. 中药“炒炭存性”研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(19): 76-77.

【责任编辑 解学星】