

基于“表里关联”的大黄炭炮制过程颜色和成分变化关系研究

杨 丽, 龚焱婷, 许铭珊, 杨 乐, 陈建波*, 董 玲*

北京中医药大学, 北京 102488

摘 要: **目的** 研究大黄炭炮制过程颜色特征与化学成分的关联性规律, 为建立基于颜色量化值的大黄炭炮制过程控制方法和终点判断标准奠定基础。**方法** 分别在不同温度和时间下制备大黄炭样品, 以大黄炭炮制的经验判断为依据, 利用视觉分析仪与紫外-可见光谱仪量化大黄炭不同炮制条件的粉末和饮片颜色。同时采用 HPLC 指纹图谱的方法评价大黄炭炮制过程中化学成分动态变化, 利用多元统计学方法对大黄炭炮制过程样品颜色量化值与特征成分进行关联分析。**结果** 在大黄炭炮制过程中, 随着炭化程度的增大, 样品表现颜色由淡黄棕色逐渐加深至焦黑色, 样品饮片和粉末的明度值 (L^*)、红绿色值 (a^*)、黄蓝色值 (b^*) 之间高度相关。HPLC 指纹图谱上 26 个特征峰的面积与色度值均有不同程度的相关性, 其中随炭化程度加深而含量递减的 5 个结合蒽醌类成分 (芦荟大黄素-8- O - β -D-葡萄糖苷、大黄酸-8- O - β -D-葡萄糖苷、大黄酚-8- O - β -D-葡萄糖苷、大黄素-8- O - β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8- O - β -D-葡萄糖苷) 和 2 个番泻苷类成分 (番泻苷 A、番泻苷 B) 与色度值呈线性相关关系, 含量先增后减的 5 个游离蒽醌类成分 (芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚)、没食子酸和 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 与色度值呈二次相关关系。**结论** 大黄炭炮制过程中的颜色主观判断与量化检测的分析结果一致, 颜色量化值与 14 种已知化学成分的含量具有显著的相关性, 初步推断颜色量化值可作为大黄炭炮制过程的质量控制和终点判定指标, 以提高大黄炭饮片的质量水平及其一致性。

关键词: 表里关联; 大黄炭; 炮制; 色度; 多元统计分析; HPLC; 指纹图谱; 关联分析; 没食子酸; 5-羟甲基糠醛; 芦荟大黄素-8- O - β -D-葡萄糖苷; 番泻苷 B; 大黄酸-8- O - β -D-葡萄糖苷; 番泻苷 A; 大黄酚-8- O - β -D-葡萄糖苷; 大黄素-8- O - β -D-葡萄糖苷; 大黄素甲醚-8- O - β -D-葡萄糖苷; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)22-5705-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.006

Research on relationship between color and composition changes in processing of rhubarb charcoal based on “external and internal correlation”

YANG Li, GONG Yi-ting, XU Ming-shan, YANG Le, CHEN Jian-bo, DONG Ling

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To study the relationship between the quantitative color value of the powder and the known component content of rhubarb charcoal, and lay the foundation for the establishment of the rhubarb charcoal processing process control and endpoint judgment based on the color quantitative value. **Methods** Rhubarb charcoal samples were prepared at different temperatures and time. Based on the empirical judgment of the rhubarb charcoal processing, the visual analyzer and UV-Vis were used to quantify the color of the pieces and powder of rhubarb charcoal under different processing conditions. At the same time, the HPLC fingerprint method was used to evaluate the dynamic changes of chemical components during the processing of rhubarb charcoal, and the quantitative value of the color of the sample during the processing of rhubarb charcoal was correlated with the characteristic components of the HPLC fingerprint using the multivariate statistical method. **Results** During the processing of rhubarb charcoal, as the degree of carbonization increased, the apparent color of the sample changed from light yellowish brown to burnt black. There was a high correlation between the lightness value (L^*), red-green value (a^*) of the sample pieces and powder and the yellow and blue values (b^*).

收稿日期: 2020-09-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003943); 国家中药标准化项目: 大黄等 6 种中药饮片标准化建设 (ZYBZH-Y-GS-10-B)

作者简介: 杨 丽, 女, 硕士研究生。E-mail: 13718169620@163.com

*通信作者 董 玲, 女, 研究员, 博士生导师, 从事中药标准化、中药生物药剂学、中药制剂新技术等方面研究。

Tel: (010)64286752 E-mail: dongling@bucm.edu.cn

陈建波, 助理研究员, 主要从事中药分析与质量评价。Tel: (010) 53912177 E-mail: chenjianbo@bucm.edu.cn

The area of the 26 characteristic peaks had varying degrees of correlation with the chromaticity value. Among the 14 known components, five bound anthraquinones (aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucoside, rhein-8-*O*- β -*D*-glucoside, chrysophanol-8-*O*- β -*D*-glucoside, emodin-8-*O*- β -*D*-glucoside, physcion-8-*O*- β -*D*-glucoside), and two sennosides (sennoside A, sennoside B) had a linear positive correlation with the chromaticity value. The content of five free anthraquinones (aloe-emodin, rhein, chrysophanol, emodin, and physcion), gallic acid and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), whose contents increased first and then decreased, showed a quadratic correlation with the chromaticity value. **Conclusion** The subjective judgment of rhubarb charcoal in the processing process is consistent with the quantitative color value analysis. The quantitative color value has a clear correlation with the content of 14 active chemical components. It is preliminarily inferred that the color quantitative value can be used as the quality of the rhubarb charcoal processing process control and end-point determination indicators to achieve efficient and rapid identification of the processing quality of rhubarb charcoal, which can provide new ideas for the monitoring and quality control of the rhubarb charcoal processing process.

Key words: external and internal correlation; rhubarb charcoal; processing; color; multivariate statistical analysis; HPLC; fingerprint; correlation analysis; gallic acid; 5-hydroxymethyl furfural; aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucoside; sennoside B; rhein-8-*O*- β -*D*-glucoside; sennoside A; chrysophanol-8-*O*- β -*D*-glucoside; emodin-8-*O*- β -*D*-glucoside; physcion-8-*O*- β -*D*-glucoside; aloe-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; physcion

大黄为蓼科 (Polygonaceae) 植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 和药用大黄 *R. officinale* Baill. 的根和根茎。大黄记载于《神农本草经》，为临床常用泻下药，用于治疗大便秘结、瘀血经闭、目赤肿痛、血热吐衄等症，同时经炮制后也用于其他疾病。大黄的炮制品种类繁多^[1]，临床上常用的有酒大黄、熟大黄、大黄炭等，其中大黄经炭制后泻下作用微弱，以凉血、化瘀止血为主，临床上多用于治疗消化性溃疡、慢性肾功能衰竭、胃部等炎症性疾病。现代研究表明^[2]，经炮制后的大黄其性味、化学分会发生相应的变化，而具有不同的药理作用^[3]。

“炒炭存性”是传统的中药制炭的质量要求，但缺乏量化指标；而炭药炮制前后化学成分变化复杂，也是其临床不同应用的物质基础，加强该方面的研究对于炭药炮制工艺及其炮制品质量控制具有重要的意义。在传统中药研究中，随着测量技术及色差分析仪器的的发展，色差分析技术应用越来越广泛。部分学者将该测定技术引入中药领域，实现了对中药材、中药饮片及其粉末颜色的客观量化^[4-6]，为中药饮片的炮制程度及其质量控制提供技术支持和借鉴^[7]。目前，应用视觉分析仪客观量化饮片表征，进一步研究其表征与指标性成分之间的关联性报道逐渐增多^[8-11]，但研究其表征与 HPLC 指纹图谱变化的动态关联性报道较少^[6]。此类研究把中药饮片的直观性及经验性鉴别转化为标准客观化数据，具有明显的可行性及参考价值。

本课题组前期研究发现大黄炭炮制过程的颜色变化与蒽醌类等重要活性成分可能具有一定的内在关联^[12]，因此本研究进一步通过多元统计的方法挖

掘大黄炭的颜色与化学成分的具体关系，为建立基于颜色量化值的炮制过程控制和终点判断标准奠定基础。

1 仪器与样品

1.1 仪器和设备

DHG-9070C 烘箱，上海培因实验仪器有限公司；BJ-800A 拜尔多功能粉碎机、BT-25S 电子分析天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；KH7200DB 型数控超声波清洗器，昆山超声仪器有限公司；CM-5 型分光色测仪，日本柯尼卡美能达公司；UV-Vis-NIR 紫外-可见-近红外分光光度计，珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司。

1.2 样品收集与鉴定

原药材采集于甘肃省甘南州卓尼县，采集前均经过厂家阴干处理。经中国中药协会首席科学家张世臣教授鉴定为蓼科植物唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. 的干燥根和根茎。

2 方法与结果

2.1 大黄炭饮片制备

参照北京市中药饮片炮制规范（2008）“取大黄片，用武火 180~220 °C 炒至表面焦黑色、内部焦褐色”的规定进行样品的前处理。为减少样品内部水分受温度和湿度的影响，在同一天之内进行了所有条件下大黄炭的烘烤。加热前先测量样品的直径在 4.0~7.0 cm 不等，厚度在 0.3~0.5 cm。取同一批次 18 份大黄原药材 35 g 平铺于不锈钢圆盘中使其受热均匀，分别用实验室烘箱在 180、200、220 °C 的温度下烘烤 10~60 min 获得不同的药材，另取 1 份不经加热的原药材与加热样品作以对比。最后根据专家经验鉴别加热后样品的表面和断面颜

色判断其炭化的程度，其中样品处理后的表现颜色如图 1 所示。

2.2 大黄炭饮片表面色度值测定

运用 UV-Vis-NIR 反射光谱仪，以 150 mm 插入式积分球附件（8°反射角，InGaAs 检测器），块状样品直接置于积分球反射测量窗口。光谱扫描范围 380~780 nm，狭缝宽度 2 nm 或 4 nm，数据点间隔 1 nm 或 2 nm，积分时间 1 s，根据样品最高吸光度

调节参比光束衰减，使用 Spectralon 参考白板进行光谱背景校正，校正结束后将不同炮制条件的大黄炭饮片放入测量仪中，变换位置，平行 3 次拍照，计录样品颜色的 L^* 、 a^* 、 b^* 值。其中 L^* 表示明度， a^* 和 b^* 表示不同的色调方向。 L^* 值越大明度越大，色泽越白；反之越暗。 a^* 表示红绿方向， $+a^*$ 表示红方向， $-a^*$ 表示绿方向。 b^* 表示黄蓝方向， $+b^*$ 表示黄方向， $-b^*$ 表示蓝方向。



图 1 不同加热温度和时间制备的大黄炭饮片

Fig. 1 Rhubarb charcoal samples prepared under different heating temperatures and time

2.3 大黄炭粉末色度值测定

将紫外可见分光光度计起止波长设为 780~380 nm；扫描速度设为 60 nm/min；狭缝宽度设为 1 nm；照明光源设为 D65；视场选择 10°视角进行测量。测量时按设定的条件进行基线校正操作，将标准白板分别放入色度测量仪中积分球的参比和样品处进行校正，校正完成后取出样品处的标准白板，取适量大黄炭炮制过程样品粉末（过五号筛）压制于石英测色皿中（以装满测色皿为基准），压制厚度约为 1 mm，盖上石英玻璃片，用封口膜封口以防粉末漏出。然后将石英玻璃片与石英皿外侧用擦镜纸擦拭干净放入测量仪中进行测量，变换位置，平行 3 次拍照，计录样品颜色的 L^* 、 a^* 、 b^* 数值。得到大黄炭的饮片和色度测定结果如表 1 所示，由表可知，相对于炒制零点，大黄炭炮制过程中，样品饮片和粉末颜色 L^* 、 a^* 、 b^* 、总色值（ E^*_{ab} ）都呈下降趋势，表明样品表现颜色变深，亮度由明至暗。大黄炭炮制过程中，以大黄炭粉末为例，在 180 °C 加热 10 min 与初始饮片色差值 E^*_{ab} 大于 10，随着后期加热温度和时间升高， E^*_{ab} 值逐渐降低。当 E^*_{ab} 值为 7~14、19~34、41~48 个色差单位（NBS）

时，样品色差可被肉眼识别，因此大黄炭炮制过程样品外观和断面的颜色变化可被肉眼明显识别。

2.4 大黄炭 HPLC 指纹图谱与成分含量测定

大黄炭样品的 HPLC 指纹图谱与 14 种化学成分含量测定方法和结果，见本课题组已发表的文献报道^[13]。

2.5 大黄炭 HPLC 指纹图谱与色度的灰色关联度分析

基于大黄炭各样品指纹图谱的动态分析，将大黄炭的色度 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 值与大黄炭样品中共有成分进行灰色关联度分析。分别以 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 值为参考序列，以成分共有峰的峰面积为比较序列，对于参考数列 X_0 有若干个比较数列 X_1 ， X_2 ，……， X_n ，各比较数列与参考数列的关联系数 $\xi_i(k)$ ，可由 $\xi_i(k) = [\Delta_{\min} + \rho \Delta_{\max}] / [\Delta 0_i(k) + \rho \Delta_{\max}]$ 算出，其中 ρ 为分辨系数，一般在 0~1，通常取 0.5； $\Delta 0_i(k)$ 表示比较数列与参考序列的绝对差； $\Delta_{\min}$ 和 $\Delta_{\max}$ 分别表示所有比较序列绝对差中的最小值与最大值。比较序列 X_i 对参考序列 X_0 的灰关联度计算公式为

$$r_i = \sum_{k=1}^n \xi_i(k) / n, \text{ 式中 } n \text{ 为共有峰的数量。}$$

表 1 不同炮制程度大黄炭样品的色度测定结果 ($n=3$)Table 1 Chroma determination results of different processing degrees of rhubarb charcoal ($n=3$)

样品	外观、断面颜色	大黄炭饮片				大黄炭粉末			
		L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}	L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}
大黄原药材 (S0)	黄棕色、淡黄棕色	41.76	16.58	29.10	53.53	59.77	10.18	33.30	69.17
180 °C-10 min 炮制样品 (S1)	棕色、淡黄棕色	35.53	10.59	19.90	42.08	61.51	11.68	40.88	74.77
180 °C-20 min 炮制样品 (S2)	棕色、淡黄棕色	28.93	10.20	16.59	34.87	55.98	10.64	38.46	68.75
180 °C-30 min 炮制样品 (S3)	棕色、黄棕色	29.69	9.65	15.74	34.96	47.21	11.98	31.36	57.93
180 °C-40 min 炮制样品 (S4)	深棕色、棕色	29.79	7.19	13.28	33.40	44.17	9.50	22.97	50.68
180 °C-50 min 炮制样品 (S5)	深棕色、棕色	26.00	7.49	13.15	30.08	42.73	9.77	24.30	50.12
180 °C-60 min 炮制样品 (S6)	深棕色、棕色	24.73	5.73	9.60	27.14	42.12	9.36	22.73	48.77
200 °C-10 min 炮制样品 (S7)	棕色、淡黄棕色	32.37	12.26	18.09	39.06	51.44	12.04	33.38	62.49
200 °C-20 min 炮制样品 (S8)	棕色、黄棕色	38.35	10.24	21.02	44.92	48.06	9.63	26.54	55.74
200 °C-30 min 炮制样品 (S9)	深棕色、棕色	27.41	5.66	11.88	30.41	38.57	8.82	21.93	45.24
200 °C-40 min 炮制样品 (S10)	深棕色、棕色	23.77	4.12	8.85	25.70	32.37	8.39	16.85	37.45
200 °C-50 min 炮制样品 (S11)	深棕色、棕色	23.84	3.28	6.15	24.84	32.51	7.57	13.22	35.90
200 °C-60 min 炮制样品 (S12)	深棕色、棕色	21.75	2.61	4.47	22.36	29.49	7.27	10.65	32.19
220 °C-10 min 炮制样品 (S13)	棕色、黄棕色	33.46	10.78	20.47	40.68	47.35	10.14	29.17	56.53
220 °C-20 min 炮制样品 (S14)	深棕色、棕色	26.54	5.13	11.07	29.21	34.19	7.79	15.12	38.19
220 °C-30 min 炮制样品 (S15)	深棕色、棕色	20.91	3.10	5.98	21.97	28.49	5.42	6.69	29.76
220 °C-40 min 炮制样品 (S16)	焦黑色、深棕色	22.33	1.86	3.59	22.69	25.48	5.38	5.37	26.59
220 °C-50 min 炮制样品 (S17)	焦黑色、焦黑色	20.63	1.64	3.11	20.93	25.45	4.96	4.23	26.27
220 °C-60 min 炮制样品 (S18)	焦黑色、焦黑色	21.78	2.19	3.63	22.19	28.08	4.21	3.32	28.59

3 结果与讨论

3.1 不同炮制程度大黄炭饮片与粉末颜色量化分析

将 19 个样品的饮片和粉末颜色量化结果导入 JMP 10.0 软件进行多元统计分析 (表 2)。由相关性分析结果可知, 大黄炭饮片与粉末、饮片与饮片、粉末与粉末之间的 L^* 、 a^* 、 b^* 值两两均呈正相关关

系, 即随着炮制程度的加深, 大黄炭饮片与粉末的明度、红色程度、黄色程度均呈相同的下降趋势; 大黄炭饮片和粉末的 E^*_{ab} 之间亦呈正相关关系, 表明饮片和粉末的颜色变化都可反映大黄炭的炮制颜色的变化程度。而大黄炭饮片与粉末的总色值 E^*_{ab} 与各自色 L^* 、 a^* 、 b^* 之间呈负相关关系, 说明大黄

表 2 大黄炭饮片与粉末色值相关性分析

Table 2 Correlation analysis of color value of pieces and powder of rhubarb charcoal

指标	大黄炭粉末				大黄炭饮片			
	$L^*_{粉}$	$a^*_{粉}$	$b^*_{粉}$	$E^*_{ab粉}$	$L^*_{饮}$	$a^*_{饮}$	$b^*_{饮}$	$E^*_{ab饮}$
$L^*_{饮}$	0.879***	0.940***	0.922***	-0.920***	1.000	0.886***	0.972***	-0.977***
$a^*_{饮}$	0.735***	0.835***	0.804***	-0.794***	0.886***	1.000	0.954***	-0.929***
$b^*_{饮}$	0.807***	0.895***	0.874***	-0.864***	0.972***	0.954***	1.000	-0.973***
$E^*_{ab饮}$	-0.879***	-0.958***	-0.938***	0.931***	-0.977***	-0.929***	-0.973***	1.000
$L^*_{粉}$	1.000	0.934***	0.970***	-0.984***				
$a^*_{粉}$	0.934***	1.000	0.980***	-0.979***				
$b^*_{粉}$	0.970***	0.980***	1.000	-0.997***				
$E^*_{ab粉}$	-0.984***	-0.979***	-0.997***	1.000				

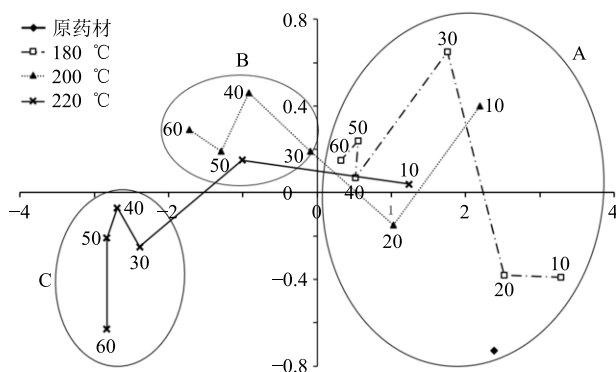
*** $P < 0.001$ 表示极显著性相关

*** $P < 0.001$ highly significantly relevant

炭颜色的总色值随着炮制过程中的明度、红色、黄色的下降而上升。

3.2 基于粉末颜色的大黄炭炮制程度评价

因大黄炭饮片和粉末的色度值呈现极显著相关性,且粉末的颜色变化较饮片均一,以大黄炭粉末的色度为例进行如下统计分析:将 19 个样品粉末颜色色号结果导入 SIMCA-P13.0 软件进行分组分析(图 2)。由分析结果可知,大黄炭加热过程中样品可分为 3 个组别,即 A、B 和 C。A 组样品为 180 °C 加热 10~50 min、200 °C 加热 10~20 min、220 °C 加热 10 min,粉末 L^* 、 a^* 、 b^* 和 E^*_{ab} 值分别在 42~61、9~12、24~40、50~74; B 组样品为 180 °C 加热 60 min、200 °C 加热 30~60 min、220 °C 加热 20 min, L^* 、 a^* 、 b^* 和 E^*_{ab} 分别在 29~62、7~9、10~22、35~48; C 组样品为 220 °C 加热 30~60 min, L^* 、 a^* 、 b^* 和 E^*_{ab} 分别在 25~28、4~5、3~6、26~29。



图中数字代表样品加热时间
the number in the figure represents the sample heating time

图 2 大黄炭粉末颜色的分组聚类分析

Fig. 2 Color distribution of sample (powder) during heating process of rhubarb charcoal

结合传统经验鉴别的分析可知, C 组 220 °C 加热 40 min 的样品方可达到大黄炭“表面焦黑色、内部焦褐色”性状要求, 对应 L^* 、 a^* 、 b^* 和 E^*_{ab} 分别为 25.48、5.38、5.37、26.59。由 3 个组别的色度范围可知, L^* 值在任一组内的变化幅度最大, b^* 次之, a^* 变化最小, 总色度 E^*_{ab} 的范围即主要由明度 L^* 值的变化决定。色度变化结果说明在大黄炭炮制过程中的颜色主要是由明到暗的变化, 样品的总色度值也是由大黄炭明度值减小的程度所决定。由于饮片的外观颜色总是先于内部颜色变化, 故饮片 L^* 、 a^* 和 b^* 总是较粉末的值低, 而无论是测定饮片还是粉末的色度, 理论上二者都可在一定程度上监测大黄

炭的炮制过程。鉴于在实际生产中, 大黄炭饮片的表观颜色受炮制过程的受热面积、检测区域等的影响, 不能很好的反映大黄炭饮片的颜色变化情况, 而大黄炭粉末具有良好的均一性和稳定性, 所以检测粉末的色度更能客观的控制大黄炭的炮制过程。此外。因本研究对于大黄炭的加热方式与传统方式不同, 因此符合传统性状的色度范围还需结合大黄炭炮制饮片的实际生产进行实时监测。

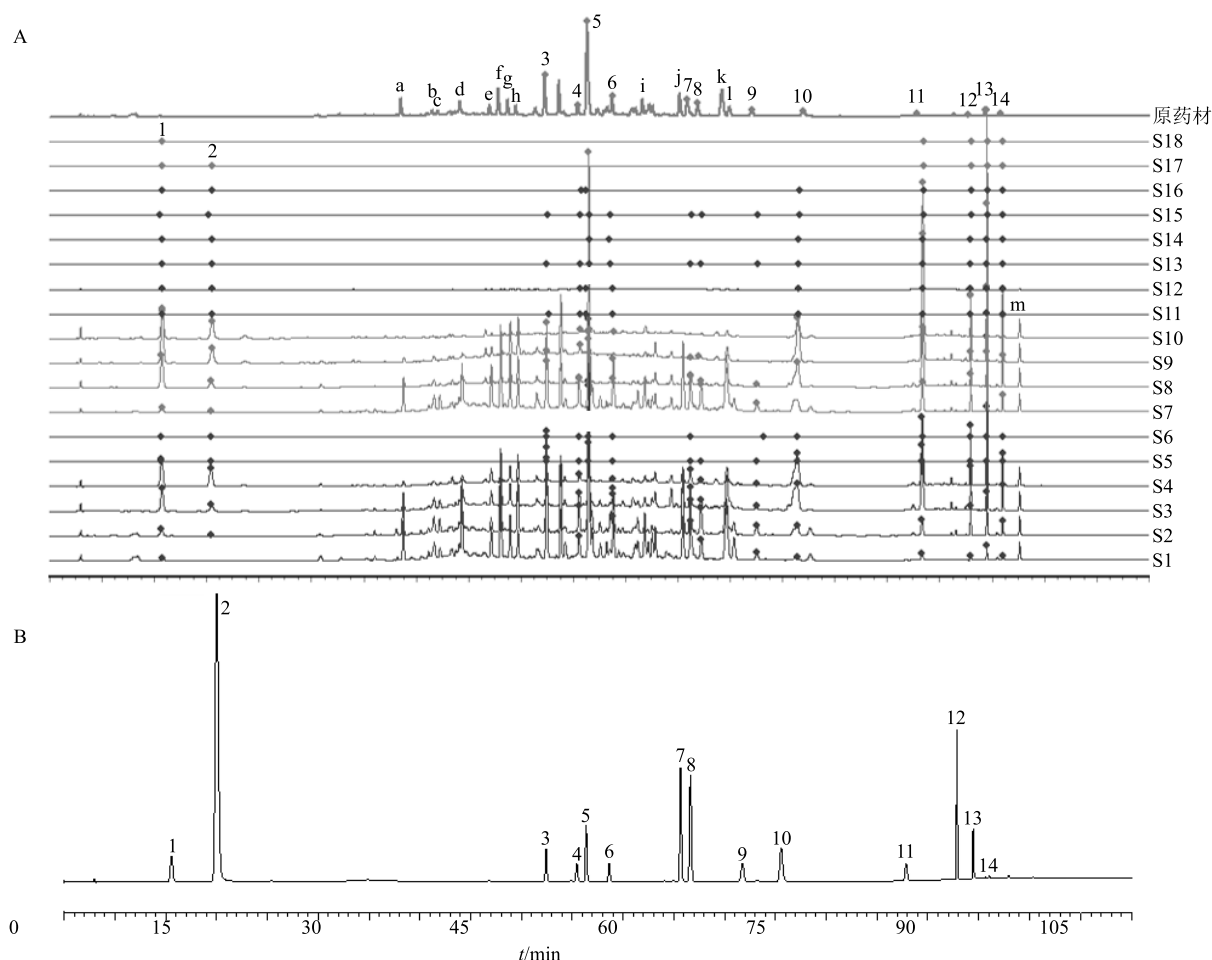
3.3 大黄炭 HPLC 指纹图谱与色度的灰色关联度分析结果

将 19 批样品色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”, 设置大黄原药材色谱图为参照图谱, 平均数法生成对照图谱, 进行多点校正和色谱峰匹配, 生成叠加图谱, 见图 3-a。由图 3-a 可知各共有峰较稳定, 具有指纹图谱特征性, 可初步认定为大黄原药材与大黄炭的指标成分群。最终确定 26 个大黄原药材和炮制品的共有峰, 峰 2 为加热后新生成的物质 5-羟甲基糠醛 (5-HMF)^[14], 为炮制品的共有峰。通过与对照品 (图 3-b) 比对, 指认其中 14 个成分, 峰 1~14 分别为没食子酸、5-HMF、芦荟大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、番泻苷 B、大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚; 峰 a~m 为未知成分。

根据大黄炭粉末色度 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 与 27 个特征峰进行灰色关联度分析 (表 3) 发现, 大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷与 L^* 、 a^* 、 b^* 值的相关度最大, 分别为 0.792、0.763、0.772, 与 E^*_{ab} 相关度最大的为番泻苷 A。以 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 均大于 0.7 的关联度视为色度和成分具有较强关联性, 由结果可知具有较强关联性的分别有大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷、芦荟大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、番泻苷 A 和峰 l、a、j、k、b、e、d、f、c。除峰 m 外其他成分番泻苷 B、大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚等均与色度值也具有一定相关性, 结果初步表明大黄炭的各色度值与成分含量具有不同程度的相关性。

3.4 大黄炭主要化学成分与色度的关联形式分析

将炮制过程样品粉末颜色的色值与 HPLC 指纹图谱中已知化学成分的含量结果^[13], 分别输入 SPSS 23.0 软件进行 Pearson 相关性分析 (表 4), 结果显示, 与 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 变化呈线性相关的化学成



1-没食子酸 2-5-HMF 3-芦荟大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 4-番泻苷 B 5-大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 6-番泻苷 A 7-大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 8-大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 9-大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 10-芦荟大黄素 11-大黄酸 12-大黄素 13-大黄酚 14-大黄素甲醚
1-gallic acid 2-5-HMF 3-aloe-emodin-8-*O*- β -D-glucoside 4-sennoside B 5-rhein-8-*O*- β -D-glucoside 6-sennoside A 7-chrysophanol-8-*O*- β -D-glucoside 8-emodin-8-*O*- β -D-glucoside 9-phycion-8-*O*- β -D-glucoside 10-aloe-emodin 11-rhein 12-emodin 13-chrysophanol 14-phycion

图 3 19 个样品指纹图谱 (A) 及混合对照品溶液色谱图 (B)

Fig. 3 Fingerprint spectrum of 19 batches of samples (A) and control spectrum of mixed reference solution (B)

分为番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷。各色度值与没食子酸、5-HMF、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素和大黄素甲醚无线性相关性。表明大黄炭炮制过程中，结合蒽醌和番泻苷含量随颜色加深逐渐降低，而没食子酸、5-HMF 和游离蒽醌含量则与表征颜色加深的色度值之间无线性相关性。

基于已知化学成分与总色度值之间的相关性分析结果，首先将没食子酸等 7 个与色度值之间无线性相关性的成分含量进行二次相关性分析。以大黄炭粉末的色度 E^*_{ab} 值为例，通过软件 JMP 10.0 作与总色度 E^*_{ab} 值无显著相关性成分含量之间的非线性二次拟合模型，发现成分与色度之间具有二次相关

性，同时作与色度值具有极显著相关性成分含量之间的线性拟合模型，14 个成分变化趋势和拟合函数如图 4 所示。

由图 4 可知，总色度 E^*_{ab} 随着结合蒽醌和番泻苷含量的减少呈下降趋势，且 E^*_{ab} 与各成分之间呈不同斜率、不同截距的线性函数变化关系； E^*_{ab} 随着游离蒽醌、没食子酸和 5-HMF 含量先增加后减少的趋势亦呈下降趋势，二者之间呈二次函数变化关系 (E^*_{ab} 范围为 26~74，各化学成分线性范围见已发表文献报道^[13])。由此推断，在生产中通过实时动态检测大黄炭炮制过程中的色度变化，可初步预测大黄炭中有效成分的含量变化情况，进而确定大黄炭的最佳炮制终点。

4 小结

传统上，监测中药炮制过程及炮制终点时，主

表 3 各特征峰与色度作用关联度分析结果

Table 3 Analysis results of correlation among each characteristic peak and chromaticity effect

峰号	t_R/min	L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}	成分	峰号	t_R/min	L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}	成分
1	10.7	0.688	0.661	0.662	0.691	没食子酸	i	56.8	0.720	0.662	0.669	0.710	未知
2	15.5	0.645	0.662	0.659	0.651	5-HMF	j	60.2	0.757	0.713	0.731	0.771	未知
a	33.8	0.763	0.756	0.764	0.760	未知	7	61.2	0.698	0.664	0.664	0.691	大黄酚-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
b	36.7	0.723	0.716	0.722	0.721	未知	8	62.2	0.644	0.605	0.616	0.617	大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
c	37.3	0.690	0.709	0.713	0.696	未知	k	64.6	0.746	0.689	0.703	0.758	未知
d	39.4	0.721	0.702	0.709	0.714	未知	l	65.9	0.770	0.756	0.757	0.772	未知
e	42.2	0.727	0.691	0.705	0.731	未知	9	67.5	0.732	0.733	0.729	0.726	大黄素甲醚-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷
f	43.1	0.711	0.709	0.710	0.719	未知	10	72.6	0.612	0.602	0.621	0.619	芦荟大黄素
g	43.9	0.731	0.674	0.690	0.700	未知	11	83.3	0.652	0.614	0.613	0.655	大黄酸
h	44.7	0.673	0.592	0.599	0.659	未知	12	87.9	0.579	0.585	0.642	0.619	大黄素
3	47.5	0.740	0.709	0.712	0.737	芦荟大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	13	89.5	0.673	0.660	0.666	0.678	大黄酚
4	48.8	0.710	0.625	0.638	0.733	番泻苷 B	14	90.9	0.689	0.669	0.674	0.696	大黄素甲醚
5	51.5	0.792	0.763	0.772	0.785	大黄酸-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	m	92.6	0.616	0.576	0.588	0.593	未知
6	53.8	0.765	0.723	0.738	0.793	番泻苷 A							

表 4 色值与化学成分相关性分析

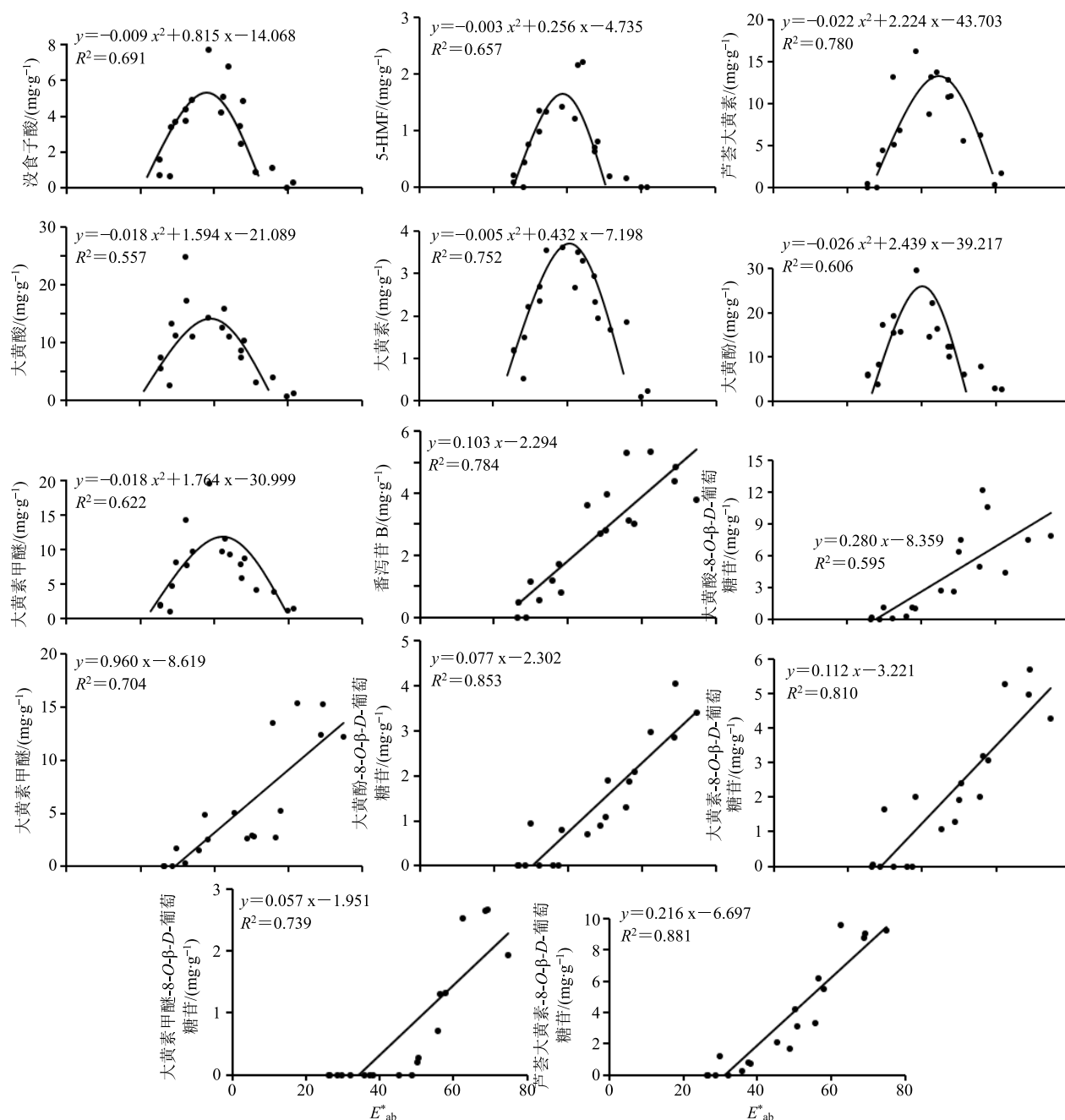
Table 4 Pearson correlation analysis between chromatic values and compounds

成分	色值			
	L^*	a^*	b^*	E^*_{ab}
没食子酸	-0.135	-0.086	-0.130	-0.150
5-HMF	-0.127	-0.048	-0.104	-0.128
芦荟大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	0.944***	0.954***	0.961***	0.954***
番泻苷 B	0.911***	0.864***	0.889***	0.888***
大黄酸-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	0.890***	0.882***	0.894***	0.911***
番泻苷 A	0.888***	0.888***	0.898***	0.889***
大黄酚-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	0.918***	0.890***	0.906***	0.928***
大黄素-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	0.883***	0.858***	0.873***	0.894***
大黄素甲醚-8- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	0.906***	0.887***	0.906***	0.913***
芦荟大黄素	0.276	0.385	0.327	0.293
大黄酸	-0.384	-0.291	-0.339	-0.386
大黄素	-0.037	0.080	0.000	-0.019
大黄酚	-0.174	-0.091	-0.153	-0.177
大黄素甲醚	-0.068	0.030	-0.025	-0.061

*** $P < 0.001$ 表示极显著性相关*** $P < 0.001$ highly significantly relevant

要参考指标为饮片颜色及表观性状，且大多依靠老药工的经验鉴别及直观判断，主观性较强，缺乏客观的量化标准^[15-17]。由于样品颜色量化值能客观、准确的体现大黄炭炮制过程中的颜色动态变化，因此本实验采用样品饮片和粉末为研究对象，采用现

代分析仪器对大黄炭炮制过程样品传统主观性描述的表现颜色进行数据化表达，更具客观性。由色差分析结果可知，随着大黄炭炮制过程的加深，样品粉末颜色逐渐加深， L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*_{ab} 值逐渐降低，粉末颜色呈由淡黄棕色至焦黑色变化的规律，其炮

图4 大黄炭粉末 E_{ab}^* 与成分变化关系图Fig. 4 Rhubarb charcoal powder E_{ab}^* and composition change trend diagram

制程度可以被肉眼识别,与炮制程度的传统性状鉴别结果一致。因此,将主观化经验判定的外观颜色描述转化为客观的数据标准,可在炮制过程中实时动态检测大黄炭的质量变化,对于大黄炭炮制过程的质量控制具有显著高效性和实用性。在实际生产过程中,由于国家、各省市、各企业之间的炮制温度、时间和取样量等条件不一,因此还需结合具体设定的炮制参数,进而确定炮制终点最佳的色度范围,以期确定大黄炭炮制达到“炒炭存性”时颜色

的量化标准。本研究也为中药炮制过程监控及质量控制研究提供新思路,为传统中药炮制的现代化发展及科学技术的实际应用提供一种新的参考。

本实验在传统中医药理论思想的指导下,基于大黄炭炮制过程中“表里关联”的新思路,测定了大黄炭炮制不同时间和温度下的饮片和粉末色度的变化,并结合大黄炭的主要化学成分进行了大黄炭炮制过程中质量的多元统计分析。“表里关联”结果表明大黄炭饮片和粉末之间的 L^* 、 a^* 、 b^* 值大小有

所不同但变化趋势一致,且两两之间均有显著相关性。而样品粉末颜色特征较饮片颜色均一,色差结果较理想且重现性较好,所以本研究选用粉末代替饮片的色度值与已知成分含量进行关联性分析。在化学成分方面,本研究中纳入的结合蒽醌、番泻苷 A 和番泻苷 B 是大黄泻下的关键物质^[18-19],游离蒽醌和没食子酸为大黄炭主要止血化瘀的成分^[20-22],说明本研究选用的化学成分与大黄炭的药效具有紧密相关性。最终色度和化学成分含量的关联结果表明色度值与番泻苷 A、番泻苷 B、芦荟大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷之间具有线性相关性。色度值与没食子酸、5-HMF、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素和大黄素甲醚具有二次相关性,且各成分含量与色度值之间具有明确的函数关系。结果中呈现出的线性相关性和二次相关性这两种函数的变化关系,是在大黄炭炮制过程中,色度值逐渐下降,成分结合蒽醌、番泻苷 A 和番泻苷 B 含量也呈下降趋势,所以二者具线性正相关关系。而游离蒽醌、没食子酸和 5-HMF 含量随着色度值的下降呈先上升后下降的变化趋势,因此二者之间呈二次相关关系。最后本研究认为在实际生产中可根据色度值的变化范围预测结合蒽醌、番泻苷、游离蒽醌和没食子酸等活性成分的含量,以实现大黄炭炮制质量的控制,进而确定大黄炭的最佳炮制终点。然而,颜色与药效水平的关系还需进一步的实验验证,以期为大黄炭质量评价提供更全面的数据支撑。

参考文献

- [1] 孟菲,王娇,马彦江,等.基于 2015 版《临床用药须知》成方制剂中大黄炮制品选择的探讨[J].中医研究,2019,32(8):78-80.
- [2] 祝婷婷,刘晓,汪小莉,等.大黄不同方法炮制后药理作用及化学成分变化研究进展[J].中国新药杂志,2016,25(8):883-887.
- [3] 孙嘉辰,李霞,王莹,等.中药加工炮制过程中质量标志物的研究进展[J].中草药,2020,51(10):2593-2602.
- [4] 樊丽姣,付赛,林龙飞,等.计算机配色技术在如意金黄散安慰剂颜色模拟中的应用[J].中草药,2017,48(22):4648-4654.
- [5] 陈楚明,吴纯洁,孙灵根,等.中药饮片有关颜色描述客观化表达的构建思路[J].世界科学技术—中医药现代化,2007,9(4):22-25.
- [6] 张雪,李晓庆,王云,等.焦栀子炒制过程中 HPLC 图谱变化与外观颜色的动态关联研究[J].中草药,2018,49(17):4029-4037.
- [7] 肖井雷,刘玉翠,刘媛媛,等.熟大黄炮制工艺优选及判定标准量化研究[J].中草药,2017,48(8):1571-1576.
- [8] 刘杰,徐佳,杨瑶琨,等.基于色度分析原理的防风有效成分含量与颜色值相关性研究[J].现代中药研究与实践,2015,29(2):20-25.
- [9] 黄潇,刘婧,付小梅,等.栀子微波炮制过程中指标成分及粉末颜色变化的关联性分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):1-6.
- [10] 李晓庆,王云,张雪,等.基于表里关联的栀子饮片炮制过程中表观颜色变化与其内在成分含量的相关性分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(13):1-5.
- [11] 段金芳,肖洋,刘影,等.一测多评法与电子眼和电子舌技术相结合优化山茱萸蒸制时间[J].中草药,2017,48(6):1108-1116.
- [12] Yang L, Yang L, Sun S Q, et al. Cascading chemical transitions of rhubarb (*Rhei Radix et Rhizoma*) during the scorching process revealed by heated ATR-FTIR spectroscopy and two-dimensional correlation analysis[J]. *J Mol Struct*, 2020, 1216:128307.
- [13] 杨丽,温雅心,刘洋,等.大黄炭加热过程颜色特征与 14 种化学成分含量变化关系研究[J].中国中药杂志,2020,45(17):4230-4237.
- [14] 廖艳芬,郭振戈,曹亚文,等.5-羟甲基糠醛热解机理的 PY-GC-MS 及原位红外法分析[J].华南理工大学学报:自然科学版,2015,43(6):15-21.
- [15] 贡济宇,赵凌,曹雪,等.基于复合质量常数结合色度指标的甘草饮片等级标准研究[J].时珍国医国药,2019,30(4):870-874.
- [16] 沈晓君,史勇,赵红菲,等.五味子果核的色泽与化学成分的相关性研究[J].中草药,2017,48(6):1216-1219.
- [17] 李芹,黄群莲,傅秀娟,等.颜色量化分析在大黄炭品质评价中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(3):13-18.
- [18] 屈义虎.药用大黄成分分析及结合型蒽醌生物转化研究[D].汉中:陕西理工大学,2019.
- [19] 韦忠红. Sennoside A 影响肠道微生物的组成平衡损伤结肠黏膜屏障促进结肠癌发展[D].南京:南京中医药大学,2019.
- [20] 胡灵芝,郭冬艳.基于逐步回归法研究大黄对凝血时间影响的主要理化参数[J].陕西科技大学学报:自然科学版,2013,31(5):156-159.
- [21] 乔三洋,王学勇,李耿,等.基于化学全息研究四物汤煎煮溶出规律[J].中草药,2020,51(19):4960-4971.
- [22] 王呈谕,刘晓璇,李轶群,等.何首乌、虎杖、大黄水提物中游离蒽醌含量的测定及对入正常肝细胞的毒性作用[J].癌变·畸变·突变,2020,32(3):215-220.