

杜仲盐制前后胶丝力度与色度值及特征成分含量的相关性研究

竹 炳^{1,2}, 吴杭莎^{1,2}, 葛卫红^{1,2,3*}, 杜伟锋^{1,2,3*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 浙江中医药大学 中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401

3. 浙江中医药大学中药饮片有限公司, 浙江 杭州 311401

摘要: **目的** 分析杜仲盐制前后杜仲胶胶丝力度与色度值及特征成分含量的相关性, 为杜仲炮制过程质量控制提供理论依据。**方法** 以盐制前后的杜仲饮片为研究对象, 使用 Instron3343 型材料试验机测定杜仲胶丝力度, 利用测色仪采集色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* , 采用 HPLC 法测定京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷 6 个化学成分的含量, 利用变量投影重要性分析 (variable importance projection, VIP) 与散点图 (scatter plot, S-Plot) 分析各成分的权重, 结合 SPSS 26.0 与 SIMCA 14.1 软件分析样品胶丝力度与色度值、特征成分含量间的相关性。**结果** 与生品相比, 杜仲盐制后胶丝力度极显著降低, L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 均不同程度降低, 金丝桃苷的含量、色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 与胶丝力度均呈显著正相关, 京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量与胶丝力度均呈显著负相关, 松脂醇二葡萄糖苷、京尼平的含量与胶丝力度无明显相关性。**结论** 盐制后杜仲饮片的胶丝力度降低, 杜仲饮片的色度值和金丝桃苷含量也一同降低, 而京尼平苷酸、绿原酸与京尼平苷的含量反而增加。为盐杜仲饮片的定性判别提供了科学依据, 同时为杜仲盐制的质量控制提供了一种新的研究思路和理论基础。

关键词: 杜仲; 盐制; 杜仲胶; 色度值; 特征成分; 相关性; 京尼平苷酸; 绿原酸; 京尼平苷; 京尼平; 松脂醇二葡萄糖苷; 金丝桃苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)10-3291-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.008

Correlation study between *Eucommia ulmoides* gum, chromaticity values, and characteristic component content of *Eucommiae Cortex* before and after salt-processed

ZHU Bing^{1,2}, WU Hangsha^{1,2}, GE Weihong^{1,2,3}, DU Weifeng^{1,2,3}

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. Research Center of TCM Processing Technology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311401, China

3. Zhejiang Chinese Medical University Chinese Medicine Yinpin Co., Ltd., Hangzhou 311401, China

Abstract: Objective To analyze the correlation between the strength, chromaticity value, and characteristic component content of Duzhong (*Eucommia ulmoides*) gum before and after salt processing, and provide theoretical basis for quality control of *E. ulmoides* processing. **Methods** The *E. ulmoides* decoction pieces before and after salt processing were used as the research object. The strength of *E. ulmoides* gum silk was measured using an Instron3343 material testing machine. The chromaticity values L^* , a^* , b^* , and E_{ab}^* were collected using a colorimeter. The content of six chemical components, including geniposidic acid, chlorogenic acid, geniposide, genipin, pinoresinol diglucoside, hyperoside, was determined using HPLC. The weight of each component was analyzed by variable importance projection (VIP) and scatter plot (S-Plot), combining SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software to analyze the correlation between the strength of sample gel and chromaticity value, as well as the content of characteristic components. **Results** Compared

收稿日期: 2023-10-08

基金项目: 国家重点研发计划——中药饮片质量识别关键技术研究 (2018YFC1707001); 浙江省基础公益研究计划 (LTGN23H280001); 杭州市农业与社会发展科研重点项目 (202204A06); 宁波市“科技创新 2025”重大专项 (2020Z089)

作者简介: 竹 炳 (2001—), 男, 硕士研究生, 从事中药炮制及质量控制研究。Tel: 18268751908 E-mail: 2890794136@qq.com

***通信作者:** 杜伟锋 (1984—), 男, 副研究员, 从事中药炮制及质量控制研究。Tel: (0571)87195895 E-mail: duweifeng_200158@sohu.com

葛卫红 (1969—), 男, 教授, 从事中药药理与新药开发研究。Tel: (0571)87195888 E-mail: geweihong@hotmail.com

with the raw product, the strength of *E. ulmoides* salt treated silk was significantly reduced, with L^* , a^* , b^* , and E_{ab}^* all decreasing to varying degrees. The content of hyperoside, chromaticity values L^* , a^* , b^* , and E_{ab}^* were significantly positively correlated with the strength of silk, while the content of geniposidic acid, chlorogenic acid, and geniposide were significantly negatively correlated with the strength of silk. There is no significant correlation between the content of pinosresinol diglucoside and genipin and the strength of silk. **Conclusion** After salt-produced, the adhesive strength of *E. ulmoides* decoction pieces was decreased, and the chromaticity value and hyperoside content of *E. ulmoides* decoction pieces were also decreased, while the content of geniposidic acid, chlorogenic acid, and geniposide was increased. This study provides a scientific basis for the qualitative discrimination of salt *E. ulmoides* decoction pieces, and also provides a new research approach and theoretical basis for the quality control of *E. ulmoides* salt production.

Key words: *Eucommiae Cortex*; salt-produced; *Eucommia ulmoides* gum; chromatic value; characteristic components; correlation; geniposidic acid; chlorogenic acid; geniposide; genipin; pinosresinol diglucoside; hyperoside

杜仲为杜仲科杜仲属植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮, 为我国名贵药材, 在中医药方面的使用已有 2 000 多年的历史,《神农本草经》将其列为上品。杜仲具有补肝肾、强筋骨和安胎功效, 用于治疗肝肾不足、腰膝酸痛、筋骨无力、头晕目眩、妊娠漏血和胎动不安等, 目前常应用于临床的饮片主要为杜仲和盐杜仲^[1]。杜仲经盐炙后, 可缓和燥性、滋阴降火, 增强补肝肾作用^[2]。有文献报道, 杜仲盐炙前后总氨基酸、总黄酮、总多糖以及京尼平苷、京尼平苷酸、绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷、阿魏醛、中脂素、松脂素、表松脂素等成分含量会有明显差异^[3-4]。经课题组前期研究, 发现京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷为杜仲盐炙前后主要差异特征成分^[5]。杜仲胶是杜仲内存在的一种天然高分子材料^[6], 主要成分为反式聚异戊二烯^[7], 具有耐疲劳性能、粘接性能、物理机械性能等优点, 其形态会随温度而改变^[8-10]。杜仲炮制后杜仲胶的胶丝力度(F)产生显著变化, 利用这一特性,《中国药典》将其作为盐杜仲炮制程度的判断依据之一, 即要求“炒至断丝”。在生产实际中, 盐杜仲在炒至断丝时, 药典规定的指标成分松脂醇二葡萄糖苷往往达不到要求。饮片的颜色也是其炮制程度和饮片质量的判断依据之一^[11-12], 目前, 大都是靠肉眼判断。近年来, 机器视觉技术——电子眼(色度)在中药饮片质量方面的应用研究越来越多^[13], 可通过饮片的色度来客观地判断饮片炮制程度, 为其质量评价研究提供参考^[14-15]。因此, 有必要考察杜仲胶的 F 与杜仲饮片颜色(色度)、特征成分之间的相关性, 为判断炮制品的质量提供依据。

本实验针对杜仲饮片盐制前后杜仲胶的 F 、色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 及京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的含

量进行检测, 分析盐制杜仲饮片 F 与外观颜色及其特征成分含量的相关性, 为盐杜仲饮片的定性判别和质量控制提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Instron3343 型材料试验机, 美国英斯特朗公司; U3000 型高效液相色谱仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; CM-5 型分光测色仪, 日本柯尼卡美能达有限公司; ME-204E 型电子分析天平(0.01 g)、XS105 型电子分析天平(0.01 mg), 瑞士梅特勒托利多公司; DFT-200 型手提式高速万能粉碎机, 温岭市林大机械有限公司; KQ-500DB 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; DFD-700 型电热恒温水浴锅, 天津市泰斯特仪器有限公司; Canon EOS-50D 型数码单反相机, 佳能(中国)有限公司。

1.2 试样

对照品京尼平苷酸(批号 111828-201805, 质量分数为 98.1%)、绿原酸(批号 110753-201817, 质量分数为 96.8%)、金丝桃苷(批号 111521-201809, 质量分数为 94.9%)、松脂醇二葡萄糖苷(批号 111537-201706, 质量分数为 91.7%)、京尼平苷(批号 110749-201919, 质量分数为 97.1%), 均购自于中国食品药品检定研究院; 对照品京尼平(批号 21041202, 质量分数 99.40%) 购自成都格利普生物科技有限公司。乙腈, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 磷酸, 分析纯, 浙江汉诺化工科技有限公司; 甲醇, 分析纯, 广东光华科技股份有限公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。

生杜仲饮片 15 批, 编号为 SP1~SP15, 其中 SP1~SP10 为试验品, SP11~SP15 为验证集, 均购自浙江中医药大学中药饮片有限公司, 由浙江中医药大学药学院葛卫红教授鉴定, 为杜仲科杜仲属植物杜仲 *E. ulmoides* Oliv. 干燥树皮的加工品, 样品均

保存于浙江中医药大学中药饮片有限公司留样室。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

盐杜仲饮片是由生杜仲饮片制备而来的延续性样品（炮制工艺：取生杜仲，加盐水，闷透，置炒制容器中，220℃加热炒制 7~9 min，至丝易断、表面焦黑色，取出放凉，即得。每 100 千克杜仲，用食盐 2 kg 拌匀），编号为 YP1~YP15，其中 YP1~YP10 为试验品，YP11~YP15 为验证集。生杜仲饮片和盐杜仲饮片样品见图 1。



图 1 生杜仲饮片 (SP) 和盐杜仲饮片 (YP) 样品的外观、胶丝和粉末图

Fig. 1 Appearance, gel and powder images of raw *Eucommiae Cortex* decoction pieces (SP) and salt *Eucommiae Cortex* decoction pieces (YP) samples

2.2 杜仲胶胶丝拉力测试

2.2.1 测试条件 将 15 批生品 (SP1~SP15) 和盐制品 (YP1~YP15) 均统一为长×宽×高=2.0 cm×2.0 cm×0.6 cm 的规格，放入材料试验机中，测试位移速度 30 mm/min，小位移 0.5 mm 拉断，再进行胶丝拉力测试。

2.2.2 胶丝拉力 (F) 结果 与生品相比，杜仲饮片盐制后 F 明显下降。表 1 结果显示，生杜仲饮片平均 F 均在 5 N 以上，盐杜仲饮片平均 F 均在 5 N 以下，明显区分为 2 类。对比盐制前后各批次样品 F ，YP1~YP15 的 F 较炮制前均显著降低。提示杜仲饮片在盐制过程中 F 可能会呈现减弱的趋势。

2.2.3 杜仲胶丝延展性分析 杜仲胶 F 的动态变化如图 2 所示，生杜仲饮片样品的 F 到达最高点后，其在 24~25 s 的 F 趋近于 0；而在盐杜仲饮片样品中， F 在 14~15 s 便趋近于 0；说明盐杜仲饮片中杜仲胶 F 的下降时间短于生杜仲饮片，其胶丝延展性相较于生杜仲饮片差。

2.2.4 聚类分析 将 30 个样品的 F 数据导入 SPSS 26.0 进行聚类分析，结果如图 3 所示，从中看出，

表 1 杜仲饮片盐制前后样品 F 结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Results of F in samples of *Eucommiae Cortex* before and after salt processing ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	F/N	样品	F/N
SP1	8.188 ± 2.794	YP1	$3.034 \pm 1.329^{**}$
SP2	9.135 ± 2.589	YP2	$4.102 \pm 1.249^{**}$
SP3	9.219 ± 3.137	YP3	$3.854 \pm 1.328^{**}$
SP4	9.437 ± 2.837	YP4	$4.083 \pm 0.733^{**}$
SP5	6.804 ± 0.862	YP5	$4.166 \pm 1.290^{**}$
SP6	8.286 ± 2.875	YP6	$3.749 \pm 1.019^{*}$
SP7	7.773 ± 1.303	YP7	$2.469 \pm 0.574^{**}$
SP8	8.346 ± 2.512	YP8	$4.328 \pm 2.433^{**}$
SP9	5.177 ± 2.534	YP9	$3.990 \pm 1.147^{**}$
SP10	7.260 ± 2.884	YP10	$3.995 \pm 0.838^{*}$
SP11	8.838 ± 0.891	YP11	$2.621 \pm 0.346^{**}$
SP12	7.085 ± 1.510	YP12	$2.715 \pm 0.553^{**}$
SP13	6.230 ± 1.217	YP13	$2.794 \pm 0.510^{**}$
SP14	9.275 ± 2.086	YP14	$2.092 \pm 0.310^{**}$
SP15	7.235 ± 1.049	YP15	$2.211 \pm 0.281^{**}$

与同批次生杜仲比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs the same batch of secondary *Eucommiae Cortex*.

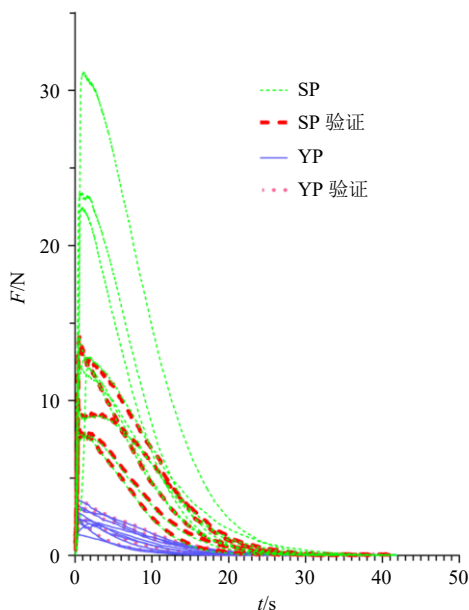


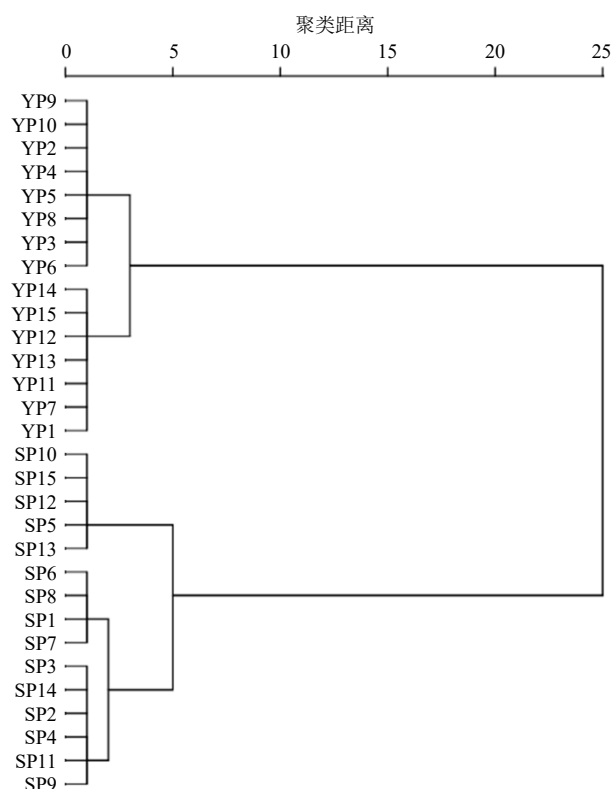
图 2 杜仲饮片盐制前后样品 F 动态变化图

Fig. 2 Dynamic changes in F of *Eucommiae Cortex* slices before and after salt processing

生杜仲饮片与盐杜仲饮片样品可以较明显的分为 2 类，说明可根据 F 的不同来对杜仲饮片盐制前后样品进行区分别别。

2.3 杜仲盐制前后色度定性判别模型的建立

2.3.1 色度检测方法 光源为 D65 脉冲氙灯，光源

图 3 杜仲饮片盐制前后样品 F 聚类分析Fig. 3 Cluster analysis of F in samples of *Eucommiae Cortex* before and after salt processing

标准观察角度 10° ，目标孔径 4 mm，测量波长范围为 360~740 nm，重复性标准偏差 ΔE 在 0.07 以内，采用 SCI 反射光模式进行测定。取过三号筛的杜仲样品粉末适量，平铺于检测皿底部，重复测定色度 3 次，以均数为最终测定结果，得出明暗度 (L^*)、红绿色度 (a^*)、黄蓝色度 (b^*)，同时通过公式计算总色度值 [E_{ab}^* , $E_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$]。

2.3.2 精密度试验 取杜仲样品 SP1 粉末，装入测色皿中，均匀分布，按“2.3.1”项下色度检测方法进行样品颜色测定，连续测定 6 次，记录其 L^* 、 a^* 、 b^* 值，计算 E_{ab}^* 值，得到各色度值的 RSD 分别为 0.01%、0.09%、0.09%、0.01%，各指标的 RSD 值均 $\leq 1\%$ ，表明仪器精密度良好，符合实验要求。

2.3.3 重复性试验 取杜仲样品 SP1 粉末 6 份，装入测色皿中，均匀分布，按“2.3.1”项下色度检测方法进行 6 份样品颜色测定，记录其 L^* 、 a^* 、 b^* 值，计算 E_{ab}^* 值，得到各色度值的 RSD 分别为 0.26%、0.46%、0.65%、0.28%，各指标的 RSD 值均 $\leq 1\%$ ，表明方法重复性良好，符合实验要求。

2.3.4 稳定性试验 取杜仲样品 SP1 粉末，装入测色皿中，均匀分布，按“2.3.1”项下色度检测方法

分别于 0、2、4、6、8、10 h (将第 1 次的样品粉末均匀分布后开始测定，同时从当前时间开始计时) 进行样品颜色测定，记录其 L^* 、 a^* 、 b^* 值，计算 E_{ab}^* 值，得到各色度值的 RSD 分别为 0.35%、0.96%、0.88%、0.36%，各指标的 RSD 值均 $\leq 1\%$ ，表明样品稳定性良好，符合实验要求。

2.3.5 样品色度测定结果 取杜仲生品 (SP1~SP15) 和盐制品 (YP1~YP15) 粉末，按“2.3.1”项下方法进行测定，记录其 L^* 、 a^* 、 b^* 值，计算 E_{ab}^* 值。表 2 结果显示，杜仲生品 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 分别为 51.27~53.06、5.69~6.10、11.78~13.10、52.95~54.99；盐制品 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 分别为 48.00~49.61、4.98~5.64、9.88~11.44、49.30~51.10。杜仲饮片盐制后，其 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 均下降，这与炮制前后饮片由黄褐色变为焦黑色的颜色变化相符，表明盐制后杜仲饮片的 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 会发生不同程度的变化。

表 2 杜仲饮片样品色度值

Table 2 Chromaticity value of *Eucommiae Cortex* slices

sample					sample				
编号	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*	编号	L^*	a^*	b^*	E_{ab}^*
SP1	52.36	5.96	12.40	54.14	YP1	49.02	5.25	10.46	50.40
SP2	51.83	5.83	12.22	53.57	YP2	49.44	4.98	10.67	50.82
SP3	51.35	5.76	12.02	53.05	YP3	49.06	5.12	10.42	50.42
SP4	51.67	5.82	11.97	53.36	YP4	49.02	5.15	10.44	50.38
SP5	51.58	5.97	12.27	53.35	YP5	48.61	5.49	10.37	50.01
SP6	51.90	5.90	12.28	53.66	YP6	48.72	5.11	10.22	50.04
SP7	51.27	5.82	11.89	52.95	YP7	48.39	5.34	9.88	49.68
SP8	51.69	5.71	11.78	53.32	YP8	49.21	4.98	10.34	50.53
SP9	51.68	5.89	12.40	53.47	YP9	48.98	5.26	10.42	50.35
SP10	51.32	5.87	12.26	53.09	YP10	48.96	5.29	10.62	50.38
SP11	52.04	6.10	12.53	53.87	YP11	49.32	5.06	10.40	50.66
SP12	52.43	6.10	12.38	54.22	YP12	48.79	5.43	11.04	50.32
SP13	52.15	5.91	12.24	53.89	YP13	49.61	5.02	11.17	51.10
SP14	51.76	5.69	12.33	53.51	YP14	48.00	5.17	9.99	49.30
SP15	53.06	6.06	13.10	54.99	YP15	49.35	5.64	11.44	50.97

2.3.6 色度定性判别模型的建立 将采集到的杜仲样品色度数据导入 SIMCA 14.1 软件进行处理。采用正交偏最小二乘-判别分析 (orthogonal partial least squares-discrimination analysis, OPLS-DA) 建立杜仲盐制过程色度定性判别模型，同时采用置换检验对模型进行验证，所得结果如图 4、5 所示，色度聚类趋势符合炮制变化的趋势。

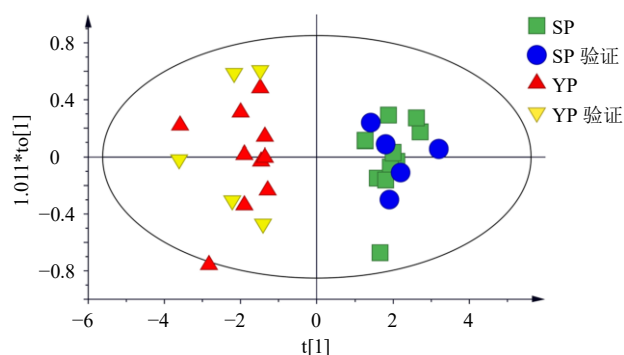


图 4 杜仲饮片样品色度定性判别模型分类图

Fig. 4 Classification diagram of qualitative discrimination model for chromaticity of *Eucommiae Cortex* decoction samples

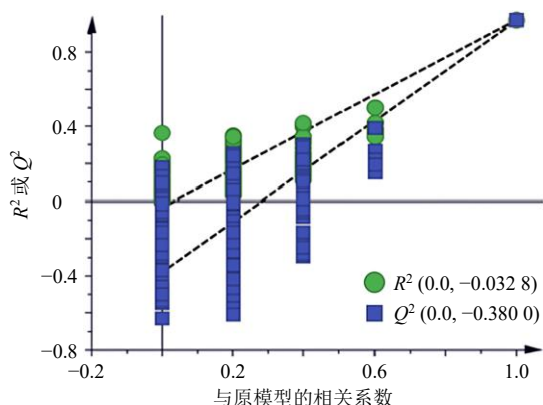


图 5 杜仲饮片样品色度定性判别模型置换检验图

Fig. 5 Permutation test diagram of qualitative discrimination model for chromaticity of *Eucommiae Cortex* decoction samples

同时,通过验证集(SP11~S15、YP11~Y15)考察模型可靠性,结果表明模型稳定可靠。由图 5 置换检验可知,2 条回归线斜率均较大, R^2 和 Q^2 分别与左侧纵轴相交于(0, -0.0328)和(0, -0.3800),且左侧随机排列得到的 R^2 和 Q^2 均要小于右侧的原始值,说明原始模型的预测能力大于随机一次排列 Y 变量的预测能力,证明模型有效、可靠,且未出现过拟合现象。

2.4 杜仲盐制前后样品特征成分含量测定

2.4.1 样品的制备 杜仲盐制样品的制备同“2.1”项下方法进行。

2.4.2 供试品溶液的制备 取杜仲样品粉末(过三号筛)约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(频率 40 kHz、功率 500 W)40 min,放冷,再称定质量,用 50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取 25 mL 续滤液于蒸发皿中,蒸干,用 50%甲

醇定容于 5 mL 量瓶中,离心后取上清液,即得供试品溶液。

2.4.3 混合对照品溶液的制备 取京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷对照品适量,精密称定,置于 20 mL 量瓶中,加 50%甲醇制成质量浓度分别为 3 207.87、477.22、1 029.00、299.19、1 061.89、112.93 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液,备用。

2.4.4 色谱条件 色谱柱为 Waters HSS-T3 柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm);流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B),梯度洗脱:0~20 min, 2%~30% B; 20~35 min, 30%~50% B; 35~42 min, 50%~95% B; 体积流量为 0.3 mL/min;柱温为 50 $^{\circ}\text{C}$;检测波长 254 nm;进样量 10 μL 。

2.4.5 线性关系、检测限和定量限考察 量取适量对照品储备液,加 50%甲醇溶液稀释定容,制备分别为原质量浓度 1、1/4、1/6、1/8、1/16、1/32 的混合对照品溶液,在上述色谱条件下,各质量浓度对照品溶液分别进样 10 μL 。以峰面积(Y)对其质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程:京尼平苷酸 $Y=0.112\ 0\ X-8.802\ 5$, $R^2=0.999\ 2$,线性范围 100.25~3 207.78 $\mu\text{g/mL}$;绿原酸 $Y=0.163\ 8\ X+0.328\ 0$, $R^2=0.999\ 8$,线性范围 14.91~477.22 $\mu\text{g/mL}$;京尼平苷 $Y=0.123\ 0\ X-1.942\ 9$, $R^2=0.999\ 3$,线性范围 32.16~1 029.00 $\mu\text{g/mL}$;京尼平 $Y=0.197\ 6\ X+0.058\ 3$, $R^2=0.999\ 7$,线性范围 9.35~299.19 $\mu\text{g/mL}$;松脂醇二葡萄糖苷 $Y=0.140\ 2\ X-3.607\ 6$, $R^2=0.999\ 4$,线性范围 33.18~1 061.88 $\mu\text{g/mL}$;金丝桃苷 $Y=0.233\ 3\ X-0.084\ 8$, $R^2=0.999\ 2$,线性范围 3.53~112.93 $\mu\text{g/mL}$ 。测定峰高为噪音 3 倍($S/N=3$)时的进样质量浓度为检测限,测定峰高为噪音 10 倍($S/N=10$)时的进样质量浓度为定量限,结果京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的检测限分别为 0.26、0.01、0.10、0.11、0.16、0.04 $\mu\text{g/mL}$,定量限分别为 0.88、0.04、0.32、0.36、0.53、0.12 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.6 精密度试验 精密吸取同一批供试品溶液(SP1),按“2.4.4”项下色谱条件连续进样 6 次,结果显示京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷峰面积的 RSD 分别为 0.36%、1.05%、0.26%、1.53%、0.12%、0.44%,各指标的 RSD 均 $\leq$ 2%,表明仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性试验 取同一批供试品溶液(SP1),

按“2.4.4”项下色谱条件,分别在制备后 0、5、10、15、20、25 h 进样,结果显示京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷峰面积的 RSD 分别为 0.42%、0.95%、0.59%、0.40%、0.42%、0.30%,各指标的 RSD 均 $\leq$ 2%,结果表明供试品溶液在室温下放置 24 h 稳定。

2.4.8 重复性试验 取同一样品(SP1),按“2.4.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按照“2.4.4”项下色谱条件进样,记录色谱图,结果显示京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷质量分数的 RSD 分别为 0.30%、0.91%、1.79%、0.64%、0.55%、1.29%,各指标的 RSD 均 $\leq$ 2%,表明该方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率试验 精密称取 6 份杜仲样品(SP1)各 2.0 g,按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,根据供试品中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的质量分数浓度,以 1:1 的比例加入对照品,按“2.4.4”项下方法检测,并计算各成分含量与及其回收率。结果京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的平均加样回收率分别为 99.08%、102.83%、100.48%、97.39%、97.27%、103.44%,RSD 分别为 1.22%、1.33%、1.29%、2.61%、

2.10%、1.01%,RSD 值均 $\leq$ 3%,说明方法准确度良好,符合实验要求。

2.4.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪,得到各样品色谱图,提取峰面积数据,采用标准曲线法计算样品中京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的质量分数,结果如表 3 与图 6 所示。

2.4.11 成分权重分析 将采集到的杜仲样品含量数据导入 SIMCA 14.1 软件进行处理。采用 OPLS-DA 建立杜仲盐制前后含量定性判别模型,结果见图 7-A, $R_X^2=0.466$, $R_Y^2=0.871$, $Q^2=0.805$,表示拟合的预测模型较可靠,盐制前后的杜仲成分含量能够较好地聚为 2 类。

同时以变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值 ≥ 1 、 $|p_{\text{corr}}| \geq 0.5$ 为条件,筛选对样本结果产生较大影响的化合物,对各成分权重配比,所得结果如图 7-B、C,京尼平苷酸 VIP 值 ≥ 1 且 $|p_{\text{corr}}| \geq 0.5$,贡献最大,京尼平苷、绿原酸与金丝桃苷的 $|p_{\text{corr}}| \geq 0.5$,贡献次之,而松脂醇二葡萄糖苷与京尼平 VIP 值 < 1 且 $|p_{\text{corr}}| < 0.5$,贡献最低。因此,权重占比可设置为京尼平苷酸(35%)、京尼平苷(15%)、绿原酸(15%)、金丝桃苷(15%)、松

表 3 杜仲饮片样品含量测定结果 (n = 6)
Table 3 Determination results of content in *Eucommiae Cortex* decoction pieces samples (n = 6)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	京尼平 苷酸	绿原酸	京尼 平苷	京尼平	松脂醇二 葡萄糖苷	金丝 桃苷		京尼平 苷酸	绿原酸	京尼 平苷	京尼平	松脂醇二 葡萄糖苷	金丝 桃苷
SP1	2.102	0.710	0.671	0.791	2.859	0.334	YP1	3.408	0.778	0.809	0.921	2.752	0.317
SP2	1.997	0.767	0.518	0.815	2.953	0.345	YP2	3.412	0.829	0.959	0.846	2.939	0.321
SP3	2.562	0.729	0.729	0.814	2.846	0.348	YP3	3.683	0.850	0.756	0.913	2.953	0.325
SP4	1.748	0.719	0.535	0.879	2.899	0.348	YP4	3.511	0.896	0.681	0.853	2.856	0.326
SP5	2.265	0.703	0.592	0.844	2.968	0.339	YP5	3.657	0.826	0.769	1.021	3.005	0.329
SP6	2.282	0.717	0.692	0.796	2.758	0.362	YP6	3.219	0.975	0.783	0.816	2.952	0.335
SP7	2.270	0.787	0.612	0.869	2.963	0.358	YP7	3.008	0.958	0.883	0.752	2.934	0.316
SP8	2.045	0.680	0.618	0.795	2.846	0.345	YP8	2.801	0.918	0.707	0.795	2.859	0.329
SP9	1.818	0.745	0.482	0.819	2.953	0.352	YP9	2.391	0.809	0.675	0.843	2.618	0.358
SP10	2.201	0.779	0.589	0.853	2.852	0.351	YP10	3.618	0.850	0.948	0.935	2.789	0.299
SP11	2.497	0.809	0.872	0.682	3.105	0.359	YP11	2.947	0.834	0.500	0.716	2.911	0.368
SP12	2.354	0.745	0.528	0.789	2.947	0.329	YP12	2.978	0.916	0.899	0.726	2.989	0.349
SP13	2.569	0.798	0.582	0.782	3.304	0.331	YP13	3.469	0.932	0.934	0.821	3.201	0.352
SP14	2.280	0.672	0.831	0.721	2.652	0.316	YP14	2.801	0.998	0.594	0.906	3.928	0.398
SP15	1.978	0.712	0.542	0.695	2.765	0.304	YP15	2.893	0.892	0.582	0.752	2.899	0.346

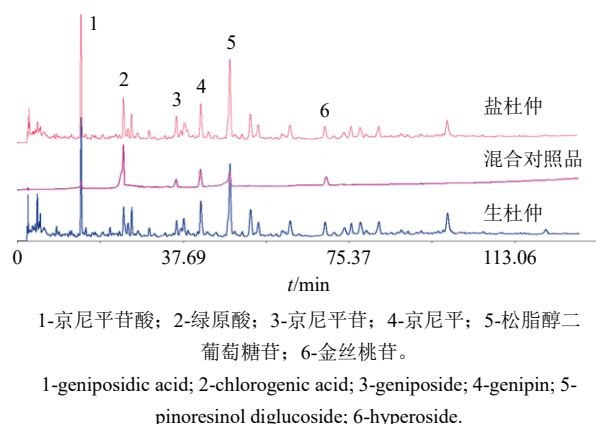


图 6 生杜仲、盐杜仲样品和混合对照品的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC of raw *Eucommiae Cortex* and salt

Eucommiae Cortex samples and mixed reference substances

脂醇二葡萄糖苷 (10%)、京尼平 (10%)。置换检验结果见图 7-D, R^2 和 Q^2 分别与左侧纵轴相交于 (0, 0.124) 和 (0, -0.405), 且左侧随机排列得到的 R^2 和 Q^2 均要小于右侧的原始值, 说明原始模型的预测能力大于随机一次排列 Y 变量的预测能力, 证明模型有效、可靠, 且未出现过拟合现象。

2.5 F 与样品色度及特征成分含量相关性分析

2.5.1 皮尔逊双变量相关性分析 采用 SPSS 软件对样品 F 数据与色度值数据、特征成分含量数据进行皮尔逊双变量相关性分析, 结果如表 4 所示, 金丝桃苷的含量以及色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 与 F 呈显著正相关, 京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量与 F 呈显著负相关, 松脂醇二葡萄糖苷、京尼平的含量与 F 无显著相关性。

2.5.2 偏最小二乘回归 (partial least squares regression, PLSR) 分析 利用 SIMCA 14.1 软件进行 PLSR 分析, 首先以杜仲盐制前后 6 个成分含量作为自变量 (X), 以杜仲盐制前后的 F 均值作为因变量 (Y_1); 其次, 杜仲盐制前后的色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 作为自变量 (X), 以杜仲盐制前后的 F 均值作为因变量 (Y_2), 进行相关性分析, 建立回归方程。结果如表 5 所示, 因变量 (Y_1 、 Y_2) 的回归方程分别为 $Y_1 = -0.167 X_1 - 0.167 X_2 - 0.167 X_3 - 0.167 X_4 + 0.167 X_5 + 0.167 X_6$, $Y_2 = 0.25 X_1 + 0.25 X_2 + 0.25 X_3 + 0.25 X_4$ 。

结果显示, 杜仲盐制前后的胶丝力度均值与京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平的含量呈负相关, 与松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的含量呈正相关; 杜仲盐制前后的 F 均值与色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 呈正相关。

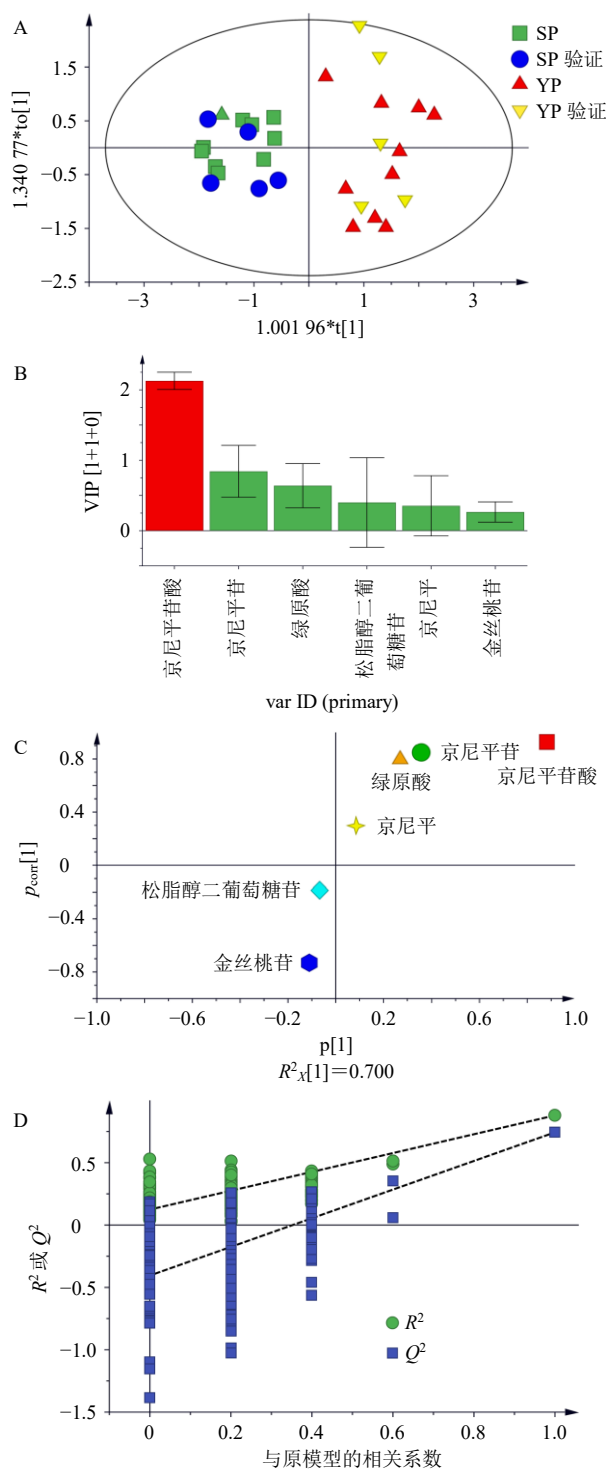


图 7 杜仲样品权重分析图
Fig. 7 *Eucommiae Cortex* sample weight analysis diagram

3 讨论

杜仲在盐制时, 断丝是其炮制经验鉴别、质量

表4 F 与样品色度及特征成分含量相关度Table 4 Correlation between F of *Eucommiae Cortex* gum and chromaticity and characteristic component content of sample

指标	京尼平 苷酸	绿原酸	京尼平苷	京尼平	松脂醇二 葡萄糖苷	金丝 桃苷
L^*	-0.860**	-0.840**	-0.720**	-0.371	0.077	0.662**
a^*	-0.796**	-0.792**	-0.697**	-0.189	0.124	0.628**
b^*	-0.825**	-0.837**	-0.719**	-0.279	0.090	0.658**
E_{ab}^*	-0.858**	-0.842**	-0.723**	-0.358	0.080	0.663**

*在 0.05 级别 (双尾), 相关性显著; **在 0.01 级别 (双尾), 相关性显著。

* at the 0.05 level (two tailed), the correlation is significant; ** at the 0.01 level (two tailed), the correlation is significant.

表5 杜仲样品 PLSR 分析结果

Table 5 PLSR analysis results of *Eucommiae Cortex* samples

指标	F	指标	F
京尼平苷酸	-0.167	金丝桃苷	0.167
绿原酸	-0.167	L^*	0.250
京尼平苷	-0.167	a^*	0.250
京尼平	-0.167	b^*	0.250
松脂醇二葡萄糖苷	0.167	E_{ab}^*	0.250

评价最常用的指标, 然而传统人工经验的判定往往受主观因素的影响, 缺乏客观、可量化的标准^[16-17], 要实现质量快速识别, 则要求检测手段具有快速、无损、易于操作的优势。近年来, 分光测色仪逐渐应用到中药颜色测定中^[18-19], 可以将光谱数据量化, 快速测定饮片粉末、提取液的色度值, 分析速度快, 可实现在线分析, 为中药炮制进行精确客观的质量控制提供技术支持^[20-21]。

本研究利用材料试验机测定杜仲盐制前后样品的 F 变化, 采用测色仪对盐制前后杜仲饮片色度值进行测定, 发现杜仲饮片盐制后的 F 会显著降低, L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 也会不同程度的降低; 采用 HPLC 法测定京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷、京尼平、松脂醇二葡萄糖苷、金丝桃苷的含量, 发现杜仲盐制后金丝桃苷的含量降低, 京尼平苷酸、绿原酸与京尼平苷的含量增加, 松脂醇二葡萄糖苷和京尼平的含量无明显变化。同时, 分析了杜仲盐制前后的成分权重, 结果表明京尼平苷酸的贡献度最大, 京尼平苷、绿原酸与金丝桃苷的贡献度稍次, 松脂醇二葡萄糖苷与京尼平的贡献度最低。

在含量-色度- F 相关性分析中, 松脂醇二葡萄糖苷、京尼平的含量与 F 无显著相关性, 与权重分析结果一致, 这 2 个成分影响最小。此外, 结合相关性分析与 F -色度的 PLSR 分析, 表明杜仲饮片 F 与色度值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab}^* 均呈显著正相关。结合 F -含量的 PLSR 分析结果表明, F 与金丝桃苷的含量显著正相关, 与京尼平苷酸、绿原酸、京尼平苷的含量显著负相关, 但 F 、色度值、特征成分含量三者之间的具体联系有待后续实验进一步研究。

综上所述, 本研究初步分析了杜仲盐制前后的 F 与含量及色度的相关性, 为盐杜仲饮片的定性判别提供了科学依据, 同时为杜仲盐制的质量控制提供了一种新的研究思路和理论基础。

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: 2459.
- [2] 汪小莉, 江瑜, 范兰兰, 等. 新安医家陈嘉谟“入盐走肾脏”的现代研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1336-1342.
- [3] 邓翀, 韩磊, 张亚强, 等. 杜仲盐制前后化学成分的变化 [J]. 中成药, 2015, 37(11): 2464-2468.
- [4] 刘可鑫, 周翎, 刘攀峰, 等. 盐制对杜仲化学成分含量变化的影响 [J]. 中成药, 2011, 33(2): 280-284.
- [5] Wang J L, Liu E W, Wu S, et al. Development of HPLC method to evaluate drug-processing technique of *Eucommiae Cortex* [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(3): 221-225.
- [6] 吴一桐, 崔孟忠. 杜仲胶在橡胶领域的应用及研究进展 [J]. 合成橡胶工业, 2022, 45(2): 152-159.
- [7] 赵星辰, 李龙, 康海澜, 等. 白炭黑填充天然橡胶/杜仲胶并用胶的制备与性能 [J]. 弹性体, 2023, 33(4): 19-23.
- [8] 徐志宇, 康海澜, 李东翰, 等. 天然橡胶/杜仲胶并用胶的交联密度与结晶度的关系及其对性能的影响 [J]. 橡胶工业, 2023, 70(3): 163-169.
- [9] 冯志博, 张继川, 张天鑫, 等. 杜仲橡胶的研究现状与发展前景 [J]. 橡胶工业, 2017, 64(10): 630-635.
- [10] 孙泉, 苏琳, 刘桂杰, 等. 天然杜仲胶乳的制备及表征 [J]. 北京化工大学学报: 自然科学版, 2022, 49(4): 56-64.
- [11] 王梦琦, 谷云霞, 田静, 等. 蜘蛛香炒制过程中色泽与主要成分的相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 5916-5922.
- [12] 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.

- [13] 吴杭莎, 杜伟锋, 吕悦, 等. 感官技术在中药饮片质量识别中的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(4): 1702-1705.
- [14] 邓桂珠, 蓝文煜, 窦佩丹, 等. 枳壳及其炮制品色差值与化学成分的相关性 [J]. 中成药, 2017, 39(6): 1228-1231.
- [15] 杨海玲, 陆丽前, 黄冰. 广山楂不同炒炭程度对 3 种化学成分含量、色差值与止泻作用的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(21): 2405-2410.
- [16] 杜伟锋, 汤璐璐, 朱伟豪, 等. 基于色度原理的薏苡仁炮制过程颜色与化学成分相关性分析 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(8): 1391-1399.
- [17] 周正宗, 吕尚, 金浩鑫, 等. 基于“辨状论质”结合指纹图谱的杜仲药材质量等级标准研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(5): 668-674.
- [18] 贾奥蒙, 秦宇雯, 李昱, 等. 猪心血丹参性状特征与内在品质相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(9): 2765-2775.
- [19] 武旭, 钟恋, 王晶, 等. 基于气相色谱-离子迁移色谱法结合分光测色仪技术分析不同胆汁及其所制胆南星的差异性 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(12): 5700-5708.
- [20] Hou J J, Guo J L, Cao C M, *et al.* Green quantification strategy combined with chemometric analysis for triglycerides in seeds used in traditional Chinese medicine [J]. *Planta Med*, 2018, 84(6/7): 457-464.
- [21] 杨柳, 杜伟锋, 葛卫红, 等. 蜜百合炮制过程色度值与主要成分相关性分析 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(9): 4309-4314.

[责任编辑 郑礼胜]

• 封面图片介绍 •

流苏石斛



流苏石斛 *Dendrobium fimbriatum* Hook. 以茎入药, 味甘, 性微寒, 具有益胃生津、滋阴清热的功效, 主要用于阴伤津亏, 口干烦渴, 食少干呕, 病后虚热, 目暗不明。

流苏石斛是兰科石斛属附生草本植物。流苏石斛茎粗壮, 斜立或下垂, 质地硬, 圆柱形或有时基部上方稍呈纺锤形, 长 50~100 cm, 粗 8~12 mm, 不分枝, 具多数节, 干后淡黄色或淡黄褐色, 节间长 3.5~4.8 cm, 具多数纵槽。叶二列, 革质, 长圆形或长圆状披针形, 长 8~15.5 cm, 宽 2~3.6 cm, 先端急尖, 有时稍 2 裂, 基部具紧抱于茎的革质鞘。总状花序长 5~15 cm, 疏生 6~12 朵花; 花序轴较细, 多少弯曲; 花序柄长 2~4 cm, 基部被数枚套叠的鞘; 鞘膜质, 筒状, 位于基部的最短, 长约 3 mm, 顶端的最长, 达 1 cm;

花苞片膜质, 卵状三角形, 长 3~5 mm, 先端锐尖; 花梗和子房浅绿色, 长 2.5~3 cm; 花金黄色, 质地薄, 开展, 稍具香气; 中萼片长圆形, 长 1.3~1.8 cm, 宽 6~8 mm, 先端钝, 边缘全缘, 具 5 条脉; 侧萼片卵状披针形, 与中萼片等长而稍较狭, 先端钝, 基部歪斜, 全缘, 具 5 条脉; 萼囊近圆形, 长约 3 mm。花瓣长圆状椭圆形, 长 1.2~1.9 cm, 宽 7~10 cm, 先端钝, 边缘微啮蚀状, 具 5 条脉; 唇瓣比萼片和花瓣的颜色深, 近圆形, 长 15~20 mm, 基部两侧具紫红色条纹并且收狭为长约 3 mm 的爪, 边缘具复流苏, 唇盘具 1 个新月形横生的深紫色斑块, 上面密布短绒毛; 蕊柱黄色, 长约 2 mm, 具长约 4 mm 的蕊柱足; 药帽黄色, 圆锥形, 光滑, 前端边缘具细齿。花期 4~6 月。

(本封面图片由田甜甜 提供)