

基于指纹图谱和多成分测定研究不同类型黄酒对酒黄芩饮片质量的影响

王 雷, 闵文杰, 边帅杰, 刘禹希, 刘 莉*, 齐 滨*

长春中医药大学, 吉林 长春 130117

摘要: **目的** 通过 HPLC 指纹图谱和多成分测定结合灰色关联分析研究不同类型黄酒炮制黄芩饮片的质量, 以确定炮制酒黄芩饮片使用的黄酒类型。 **方法** 采用 HPLC 法检测 10 批不同类型黄酒炮制的 30 批酒黄芩饮片样品中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素和千层纸素 A 的含量并建立其指纹图谱, 测定 30 批酒黄芩饮片样品的总黄酮与醇溶性浸出物含量; 结合聚类分析和灰色关联度分析对 30 批酒黄芩饮片样品质量进行综合评价。 **结果** 建立了 30 批酒黄芩饮片样品的 HPLC 指纹图谱; 30 批酒黄芩饮片样品的相对关联度为 0.347 3~0.619 7, 饮片样品质量存在差异; 黄酒含糖量与酒黄芩饮片样品质量的相关系数为 0.723, 存在一定相关性。 **结论** 酒精度数为 15% 的干型黄酒 (含糖量 ≤ 15.0 g/L) 制得的酒黄芩饮片质量最佳, 为酒黄芩饮片炮制提供实验基础。

关键词: 黄酒; 酒黄芩; 指纹图谱; 多成分测定; 灰色关联度分析; 质量评价; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素; 白杨素; 千层纸素 A; 总黄酮; 聚类分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)01-0079-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.01.009

Effects of different types of yellow rice wine on quality of wine *Scutellariae Radix* based on fingerprint and multi-component determination

WANG Lei, MIN Wenjie, BIAN Shuaijie, LIU Yuxi, LIU Li, QI Bin

College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective In order to determine the type of yellow rice wine (Huangjiu) used in the processing of wine Huangqin (*Scutellariae Radix*, SR), the quality of wine SR pieces prepared by different types of Yellow rice wine was studied by HPLC fingerprint and multi-component determination, combined with grey correlation analysis. **Methods** The contents of baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin, chrysin and oroxylin A in 30 batches of wine SR samples processed with ten different types of Yellow rice wine were detected by HPLC and their fingerprints were established. The contents of total flavonoids and alcohol-soluble extracts in 30 batches of wine SR samples were determined. The quality of 30 batches of samples was comprehensively evaluated by combining cluster analysis and grey correlation analysis. **Results** The fingerprint of 30 batches of wine SR samples was established. The relative correlation degree of 30 batches of wine SR decoction pieces was between 0.347 3 and 0.619 7, and the quality of samples was different. The correlation coefficient between the sugar content of Yellow rice wine and the quality of wine SR samples was 0.723, and there was a certain correlation. **Conclusion** The quality of wine-processed SR prepared from dry Yellow rice wine (sugar content ≤ 15.0 g/L) with 15% alcohol content is the best, which provides an experimental basis for the processing of wine SR slices.

Key words: yellow rice wine; wine *Scutellariae Radix*; fingerprint; multi-component determination; grey correlation analysis; quality evaluation; baicalin; wogonoside; baicalein; wogonin; chrysin; oroxylin A; total flavonoids; cluster analysis

黄芩为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 具有泻火解毒、清热燥湿、止血安胎等作用^[1], 广泛用于湿热火毒病证,

黄酒能引药上行, 生黄芩经酒制后可缓和其苦寒之性, 增强清上焦肺热及四肢肌表之湿热的功效^[2], 其主要活性成分为黄酮类化合物。

收稿日期: 2024-08-20

基金项目: 国家重点研发计划子任务 (2021YFD1600903-02); 吉林省教育厅科学技术研究项目 (JKH20230991KJ); 吉林省科技发展计划项目 (YDZJ202301ZYTS460); 吉林省大学生创新创业训练计划项目 (S202310199019)

作者简介: 王 雷 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药活性物质分析。Tel: 15838473100 E-mail: 2279612089@qq.com

*通信作者: 刘 莉, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为中药物质基础和质量标准。Tel: 17390061123 E-mail: 68734263@qq.com

齐 滨, 教授, 硕士生导师, 主要研究方向为中药炮制。Tel: 17390061123 E-mail: 68734263@qq.com

《中国药典》2020 年版四部通则 0213 规定“酒炙时，除另有规定，一般用黄酒”，对其所用黄酒并未有详尽规范，且黄酒的种类繁多，其总糖含量、酒精度、主要单糖、挥发性成分等理化性质各不相同，在炮制过程中使用不同类型的黄酒，对于酒黄芩饮片质量也会有一定的影响^[3-5]，目前关于黄酒种类对酒黄芩饮片质量影响的研究报道较少。因此，本实验以市场上常用的干型、半干型、甜型、半甜型 10 批黄酒炮制的酒黄芩饮片为研究对象，以饮片中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A、醇溶性浸出物、总黄酮为考察指标，通过指纹图谱法结合聚类分析和灰色关联度分析^[6-7]，对不同类型黄酒炮制的酒黄芩饮片各成分进行分析及质量评价，为后续黄芩饮片炮制时黄酒的合理选择提供数据支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

GZX-9140MBE 型电热鼓风干燥箱，上海博讯实业有限公司医疗设备厂；HH-6 型数显恒温水浴锅，常州市江南实验仪器厂；岛津 LC-2030 型高效液相色谱仪，岛津仪器（苏州）有限公司；AB135-S 型分析天平，瑞士梅特勒-托利多公司；UV-2550 型紫外分光光度计，日本岛津公司。

1.2 试剂与材料

对照品黄芩苷（批号 DSTDH002301）、汉黄芩苷（批号 DSTDH0026010）、千层纸素 A（批号 DSTDQ004101）、黄芩素（批号 DSTDH002401）、芦丁（批号 DSTDL001701）均购自成都德思特生物技术有限公司；对照品白杨素（批号 X2406C4947）、汉黄芩素（批号 W30M10Z84622）均购自上海源叶生物科技有限公司；质量分数均≥98%。甲醇（批号 F2024043201）、乙腈（批号 F2403M203）为色谱纯，购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；磷酸，批号 C15207458，上海麦克林生化科技有限公司；水为屈臣氏饮用水，批号 20240125R；无水乙醇，批号 20240420，分析纯，天津市东丽区天大化学试剂厂；亚硝酸钠，批号 20220108，分析纯，天津新通精细化工有限公司；硝酸铝，批号 202230301，分析纯，天津市大茂化学试剂厂；氢氧化钠，批号 20240415，分析纯，天津市永大化学试剂有限公司。

据国家推荐标准 GB/T 13662-2018，黄酒根据其含糖量不同，可分为干型（含糖量≤15.0 g/L）、半干型（含糖量 15.1~40.0 g/L）、半甜型（含糖量 40.1~100 g/L）、甜型（含糖量>100 g/L），本实验用 10 批黄酒的具体信息见表 1。黄芩新鲜药材采自山东潍坊临朐县沂山镇坨峪村，经长春中医药大学肖井雷副

表 1 黄酒信息
Table 1 Information of Yellow rice wine

编号	来源	含糖量/(g·L ⁻¹)	酒精度数	类型	批号
J1	绍兴鉴湖酿酒有限公司	≤15.0	15.0% vol	干型	20230615C
J2	绍兴鉴湖酿酒有限公司	15.1~40.0	15.0% vol	半干型	20230615B
J3	绍兴鉴湖酿酒有限公司	40.1~100.0	15.0% vol	半甜型	20230615C
J4	绍兴鉴湖酿酒有限公司	>100	17.0% vol	甜型	20230615D
J5	绍兴东江酒业有限公司	15.1~40.0	14.0% vol	半干型	20230927
J6	古越龙山绍兴酒有限公司	≤15	10.0% vol	干型	20230524C
J7	古越龙山绍兴酒有限公司	40.1~100.0	10.0% vol	半甜型	20240122G
J8	瑞晶江客佳红酿股份有限公司	15.1~40.0	14.0% vol	半干型	20240120
J9	浙江绍兴塔牌有限公司	40.1~100.0	12.0% vol	半甜型	20230920
J10	古越龙山绍兴酒有限公司	≤15.0	13.0% vol	干型	20231027

教授鉴定，为唇形科黄芩属植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

依照前期实验室实验得到的鲜黄芩趁鲜切制工最佳工艺与酒黄芩炮制工艺，取鲜黄芩除去杂质，蒸 18 min，横切 4 mm 薄片，70 °C 鼓风干燥制得黄芩饮片。黄酒使用比例为 17.5%。取黄芩饮片

50.0 g，黄酒 8.7 g，拌匀，闷润 20 min 至黄酒被吸尽，100 °C 炒制 7 min，取出放凉，即得酒黄芩饮片。10 批黄酒各平行 3 次，即得 30 批酒黄芩饮片，分别编号为 S1-1~S10-3，外观如图 1 所示。

2.2 供试品溶液的制备

精密称定酒黄芩样品粉末 1 g，置于锥形瓶中，加入 70%乙醇 25 mL，回流提取 1.5 h；冷却，滤过，滤液定容至 50 mL；精密量取 1 mL，甲醇定容至

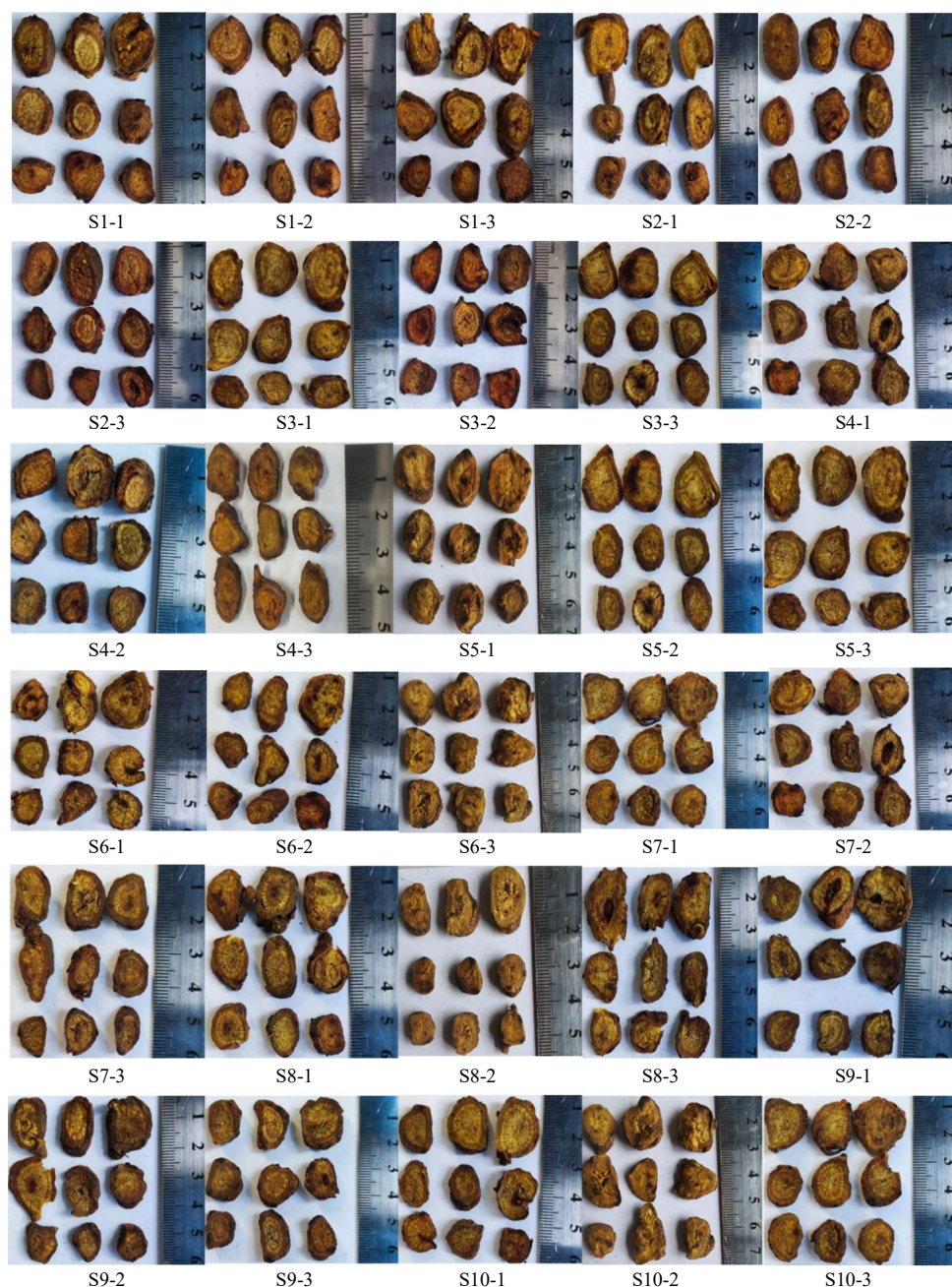


图 1 30 批酒黄芩饮片外观

Fig. 1 Appearance of 30 batches of wine *Scutellariae Radix* pieces

10 mL, 制得供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 对照品适量, 加甲醇溶解, 制得含上述各成分质量浓度分别为 48.1、29.2、100.1、10.8、6.5、1.2 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4 色谱条件

色谱柱为 Wonda Sil™ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~8 min, 25%乙腈; 8~18 min, 25%~42%乙腈;

18~28 min, 42%~60%乙腈; 28~35 min, 60%~20%乙腈; 35~40 min, 20%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 28 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μL 。

2.5 指纹图谱研究

2.5.1 精密度试验 取 S1-1 样品的供试品溶液, 按“2.4”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录相应色谱图。以 12 号色谱峰 (黄芩苷) 为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $\leq$ 0.18%, 相对峰面积的 RSD 均 $\leq$ 1.38%, 结果表明, 该仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 精密移取 S1-1 样品的供试品溶液, 分别于制备后 0、2.0、4.0、8.0、12.0、16.0、24.0 h 按“2.4”项下色谱条件进样检测, 记录相应色谱图。以 12 号色谱峰(黄芩苷)为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $\leq 0.90\%$, 相对峰面积的 RSD 均 $\leq 0.51\%$, 结果表明供试品溶液在 24.0 h 内稳定性良好。

2.5.3 重复性试验 精密称取 S1-1 样品粉末适量, 按“2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别进样检测, 记录相应色谱图。以 12 号色谱峰(黄芩苷)为参照峰, 计算各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $\leq 0.91\%$, 相对峰面积的 RSD 均 $\leq 1.12\%$, 结果

表明该方法重复性良好。

2.5.4 指纹图谱的建立及相似度评价 精密称取“2.1”项下制得的 30 批酒黄芩饮片样品(S1-1~S10-3)粉末各 1 g, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 记录色谱图。将得到的色谱图数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012)计算软件, 经多点校正和自动匹配后生成指纹图谱叠加图及对照指纹图谱(R), 共标定 23 个共有峰(图 2), 通过与混合对照品(图 3)保留时间对比, 指认了其中 6 种成分, 分别为峰 12 黄芩苷、峰 18 汉黄芩苷、峰 20 黄芩素、峰 21 汉黄芩素、峰 22 白杨素、峰 23 千层纸素 A。

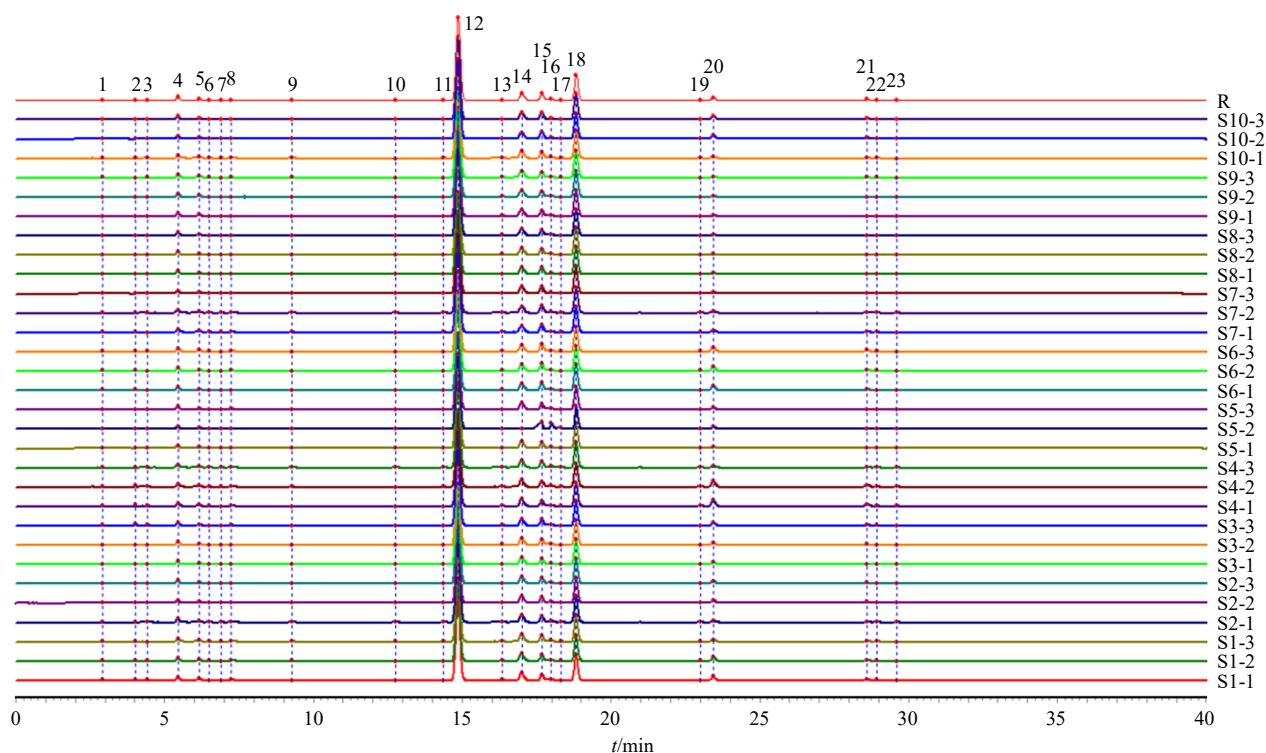


图 2 30 批酒黄芩饮片 HPLC 指纹图谱

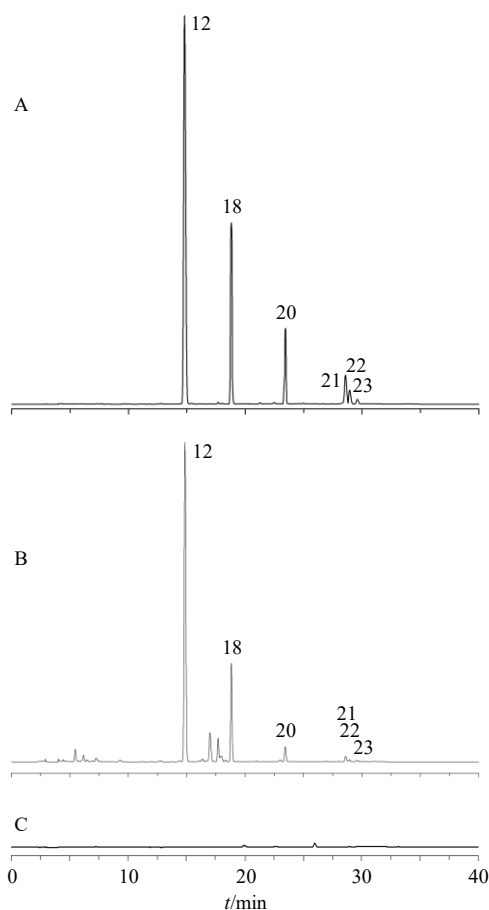
Fig. 2 HPLC fingerprints of 30 batches wine *Scutellariae Radix* pieces

将 30 批样品(S1-1~S10-3)与 R 进行相似度计算, 得出 30 批样品的指纹图谱相似度结果分别为 0.997、0.998、0.997、0.997、0.997、0.997、0.996、0.996、0.996、0.997、0.989、0.993、0.991、0.995、0.998、0.994、0.996、0.994、0.998、0.998、0.985、0.984、0.988、0.994、0.997、0.993、0.992、0.995、0.992。30 批酒黄芩样品(S1-1~S10-3)与 R 的相似度在 0.984~0.998, 表明不同类型黄酒炮制得到的酒黄芩所含化学成分组成稳定。

2.6 黄酮类成分含量测定

2.6.1 色谱条件 同“2.4”项。HPLC 图见图 3。

2.6.2 线性关系考察 取混合对照品溶液, 用甲醇逐级稀释成 6 个不同质量浓度的系列混合对照品溶液, 按“2.4”项下色谱条件进样分析, 以各对照品的质量浓度为横坐标(X), 与之对应的峰面积为纵坐标(Y), 绘制各对照品的标准曲线, 并进行回归计算, 得到线性回归方程、线性范围和相关系数(R^2), 结果分别为黄芩苷 $Y=4 \times 10^7 X - 124\ 649$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 48.1~481.0 $\mu\text{g/mL}$; 汉黄芩苷 $Y=1 \times 10^8 X - 25\ 974$, $R^2=0.999\ 7$, 线性范围 29.2~292.0 $\mu\text{g/mL}$; 黄芩素 $Y=9 \times 10^6 X - 21\ 405$, $R^2=0.999\ 3$, 线性范围 100.1~1\ 001.0 $\mu\text{g/mL}$; 汉黄



12-黄芩苷; 18-汉黄芩苷; 20-黄芩素; 21-汉黄芩素; 22-白杨素;
23-千层纸素 A。
12-baicalin; 18-wogonoside; 20-baicalein; 21-wogonin; 22-chrysin;
23-myricetin A.

图 3 混合对照品溶液 (A)、酒黄芩饮片供试品溶液 (S1-1, B) 和甲醇溶剂 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of mixed reference substances solution (A), wine *Scutellariae Radix* pieces test solution (S1-1, B) and methanol solvent (C)

芩素 $Y=6 \times 10^7 X-48\,597$, $R^2=0.999\,3$, 线性范围 $10.8 \sim 108.0 \mu\text{g/mL}$; 白杨素 $Y=5 \times 10^7 X-5\,608.1$, $R^2=0.999\,6$, 线性范围 $6.5 \sim 65.0 \mu\text{g/mL}$; 千层纸素 A $Y=6 \times 10^7 X+3\,774.6$, $R^2=0.999\,1$, 线性范围 $1.2 \sim 12.0 \mu\text{g/mL}$; 结果表明各成分在各自范围内线性关系良好。

按照线性关系考察时质量浓度最低的液相色谱数据, 通过基线和相对对照品的峰高计算信噪比, 换算至 1:10 与 1:3, 计算其质量浓度值, 得出定量限分别为 950.9、338.9、2 916.2、241.0、284.0、75.2 ng/mL, 检测限分别为 317.0、113.0、874.8、72.3、85.2、25.1 ng/mL。

2.6.3 精密度试验 精密移取混合对照品溶液 10.0

μL , 按“2.4”项下的色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 $10 \mu\text{L}$, 记录黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 峰面积积分值, 计算其 RSD 分别为 1.05%、1.02%、0.98%、1.05%、1.13%、1.10%, 表明该仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性试验 精密移取 S1-1 样品的供试品溶液, 分别于制备后 0、2.0、4.0、8.0、12.0、16.0、24.0 h 进样 $10 \mu\text{L}$ 进行检测, 记录黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 峰面积积分值, 计算其 RSD 分别为 0.32%、0.43%、0.35%、0.31%、0.16%、0.48%, 表明供试品溶液在 24.0 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性试验 精密称取 S1-1 样品粉末适量, 按“2.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别进样测定, 计算得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 质量分数的 RSD 分别为 2.45%、1.19%、1.12%、1.08%、0.99%、0.94%, 结果表明该方法重复性较好。

2.6.6 加样回收率试验 取同一批酒黄芩样品 (S1-1) 粉末约 0.5 g, 9 份, 精密称定, 分别精密加入含一定量的黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 混合对照溶液 (质量浓度分别为 144.2、8.8、100.2、3.24、4.83、0.4 $\mu\text{g/mL}$), 0.8、1.0、1.2 mL, 各平行 3 份, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 根据测得量和加入量计算各成分的加样回收率和 RSD, 结果黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 的平均加样回收率分别为 100.45%、100.03%、99.92%、98.76%、98.74%、98.78%, RSD 分别为 0.99%、0.96%、1.05%、1.19%、1.28%、1.23%。

2.6.7 黄酮类成分含量测定 取 30 批酒黄芩饮片样品 (S1-1~S10-3), 分别按照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.4”项下色谱条件测定 30 批酒黄芩样品中 6 种指标成分含量, 结果见表 2。

2.7 总黄酮含量测定

以芦丁为对照品, 用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 为显色体系, 采用紫外-可见分光光度法于 510 nm 处测定吸光度 (A) 值, 并依据标准曲线计算质量浓度及含量。

2.7.1 供试品溶液的制备 参照文献方法^[8], 精密称样品粉末 1 g, 置于锥形瓶中, 加入 50 mL 60%乙醇浸泡 45 min, 超声提取 1 h, 取上清液, 定容至 50 mL 量瓶中, 备用。

表 2 30 批酒黄芩饮片样品中黄酮类成分、总黄酮和醇溶性浸出物含量结果

Table 2 Contents of flavonoid components and total flavonoids and alcohol extracts in 30 batches of wine *Scutellariae Radix* pieces

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)							醇溶性浸出物/%
	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A	总黄酮	
S1-1	108.030 7	10.883 0	22.273 0	1.637 1	0.723 7	0.320 9	13.00	51.31
S1-2	108.451 0	10.947 2	37.607 1	2.569 9	0.770 8	0.533 1	16.03	50.77
S1-3	107.787 7	10.909 4	29.903 3	2.101 7	0.747 8	0.428 2	13.40	51.21
S2-1	114.889 9	12.063 6	15.294 9	1.250 1	0.575 0	0.244 6	15.44	48.35
S2-2	113.381 9	12.489 4	12.569 9	1.111 1	0.526 7	0.188 8	14.58	47.54
S2-3	113.276 0	12.184 9	13.819 2	1.172 1	0.546 9	0.214 9	14.88	47.39
S3-1	113.843 4	11.233 1	13.695 1	1.045 9	0.631 0	0.191 8	14.55	51.05
S3-2	104.664 7	10.574 7	14.111 7	1.119 8	0.611 3	0.187 6	16.09	50.04
S3-3	109.154 1	10.893 3	13.894 3	1.083 4	0.623 2	0.195 8	14.94	50.54
S4-1	107.753 4	11.301 6	18.718 3	1.428 8	0.579 2	0.267 5	15.40	49.01
S4-2	108.735 9	11.049 8	13.017 2	1.039 5	0.578 9	0.242 7	14.25	49.26
S4-3	108.077 1	11.157 5	15.839 3	1.229 4	0.569 8	0.239 9	14.58	49.15
S5-1	131.441 4	12.875 6	7.967 7	0.670 4	0.449 6	0.086 4	13.66	44.95
S5-2	132.793 6	13.005 4	7.478 6	0.671 2	0.450 6	0.077 4	13.33	45.08
S5-3	132.396 1	12.966 6	7.452 3	0.672 5	0.450 9	0.085 9	14.12	44.89
S6-1	109.623 0	11.087 6	23.079 4	1.670 8	0.678 2	0.390 6	16.29	48.72
S6-2	114.383 4	11.665 0	13.407 4	1.064 0	0.628 7	0.186 5	16.39	50.32
S6-3	111.997 8	11.374 1	18.241 9	1.361 6	0.644 7	0.277 3	16.36	49.54
S7-1	126.020 3	12.308 3	8.741 8	0.760 9	0.441 1	0.094 6	14.42	52.74
S7-2	126.363 2	12.343 4	8.727 1	0.761 6	0.442 5	0.094 8	13.23	50.38
S7-3	126.710 4	12.380 5	8.825 3	0.762 3	0.443 8	0.096 6	13.79	49.98
S8-1	129.124 2	12.869 5	11.000 6	0.875 6	0.462 4	0.115 9	14.12	49.26
S8-2	129.943 6	12.963 5	11.162 1	0.878 0	0.471 6	0.125 4	13.26	49.15
S8-3	129.946 7	12.967 9	11.153 1	0.878 3	0.469 1	0.124 9	13.92	49.33
S9-1	128.824 9	12.745 5	10.207 7	0.833 9	0.459 3	0.111 9	14.12	49.02
S9-2	121.585 2	11.565 3	10.767 7	0.747 8	0.462 6	0.149 6	13.26	48.50
S9-3	124.476 6	12.163 5	10.019 9	0.648 1	0.466 3	0.149 6	14.28	50.59
S10-1	116.244 4	12.146 0	25.750 2	1.904 4	0.739 6	0.391 9	15.90	48.66
S10-2	111.333 9	11.728 1	24.961 6	1.861 2	0.687 3	0.370 4	15.17	48.59
S10-3	113.684 4	11.930 1	25.360 8	1.881 5	0.711 9	0.380 0	15.63	48.43

2.7.2 对照品溶液的配制 精密称取芦丁对照品 12.54 mg, 用 60%乙醇溶解, 定容至 25 mL, 配制成含芦丁 501.6 μg/mL 的对照品溶液。

2.7.3 检测方法 精密吸取供试品溶液 3 mL, 加入 5%亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 10%硝酸铝溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 4%氢氧化钠溶液 5 mL, 放置 15 min, 在 510 nm 下测定 *A* 值。

2.7.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 用 60%乙醇补至 3 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 按“2.7.3”项下方法操作, 测得

回归方程为 $Y=3.732\ 1\ X+0.014\ 2$, $R^2=0.999\ 3$, 结果表明芦丁在 83.6~418.0 μg/mL 线性关系良好。

2.7.5 精密度考察 取 S1-1 样品粉末 1 g, 精密称定, 按照“2.7.1”项下方法制备供试品溶液, 精密移取 3 mL 供试品溶液, 按照“2.7.3”项下方法操作, 测定 6 次 *A* 值, 计算得总黄酮 *A* 值的 RSD 为 1.04%, 表明该仪器精密度良好。

2.7.6 稳定性考察 取样品 (S1-1) 粉末 1 g, 精密称定, 按照“2.7.1”项下方法制备供试品溶液, 精密移取 3 mL 供试品溶液, 按照“2.7.3”项下方法操作, 在操作后 0、2、4、6、8、12 h 测定 *A* 值,

计算得总黄酮 A 值的 RSD 为 2.01%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7.7 重复性考察 取 6 份样品 (S1-1) 粉末各 1 g，精密称定，按“2.7.1”项下方法制备供试品溶液，精密移取 3 mL 溶液，按“2.7.3”项下方法操作，测定 6 次 A 值，计算得总黄酮质量分数的 RSD 为 1.06%，表明该方法重复性良好。

2.7.8 加样回收率考察 精密称取 6 份已测知总黄酮含量的样品粉末 (S1-1) 0.5 g，精密加入与对照品同法制得的 6.5 mg/mL 芦丁对照品溶液 1 mL，按照“2.7.1”项下方法制备供试品溶液，精密移取 3 mL 溶液，按“2.7.3”项下方法操作，测定 A 值，计算得芦丁的平均加样回收率为 99.98%，RSD 为 1.16%。

2.7.9 总黄酮含量测定 取 30 批酒黄芩饮片样品 (S1-1~S10-3)，分别按照“2.7.4”项下方法制备供试品溶液，取各供试品溶液 3.0 mL，按照“2.7.3”项下方法操作，在 510 nm 波长处测定 A 值，根据芦丁线性回归方程计算各酒黄芩样品中总黄酮的含量，结果见表 2。

2.8 醇溶性浸出物含量测定

用稀乙醇作为溶剂，按照《中国药典》2020 年版四部通则 2201 热浸法测定，计算样品中醇溶性浸出物的含量，结果见表 2。

2.9 数据分析方法的建立

完全从指纹图谱的相似度差别上，很难全面反映不同类型黄酒炮制对酒黄芩饮片质量的影响。因此，对 30 批酒黄芩饮片的原始数据进一步分析。

2.9.1 聚类分析 分析不同类型黄酒炮制对酒黄芩评价指标的影响，将 30 批酒黄芩饮片的 6 种黄酮类成分、总黄酮和醇溶性浸出物含量结果导入 SPSS 26.0 统计软件，采用平均联接 (组间) 法，利用欧氏 (Euclidean) 距离为样品的测度进行聚类分析，得聚类树状图，结果如图 4 所示。

以欧氏距离 20 为界限分 2 类，一类是 S1-1~S4-3、S6-1~S6-3、S10-1~S10-3；一类是 S5-1~S5-3、S7-1~S9-3 为一区；以欧氏距离 15 为界限，S1-2、S1-3 单独成一类，其他分类不变，聚类分析法既能全面地反映不同类型黄酒制得的酒黄芩饮片评价指标的相似关系，又能反映各酒黄芩饮片评价指标之间的差异，S1-2、S1-3 单独成一类，表明 S1 与其他酒黄芩饮片评价指标间有差异，S1-1 未与前面 2 组平行样聚在一类，表明炮制工艺会使平行样品间存在一定差异，通过 3 组平行样可以尽量减少工

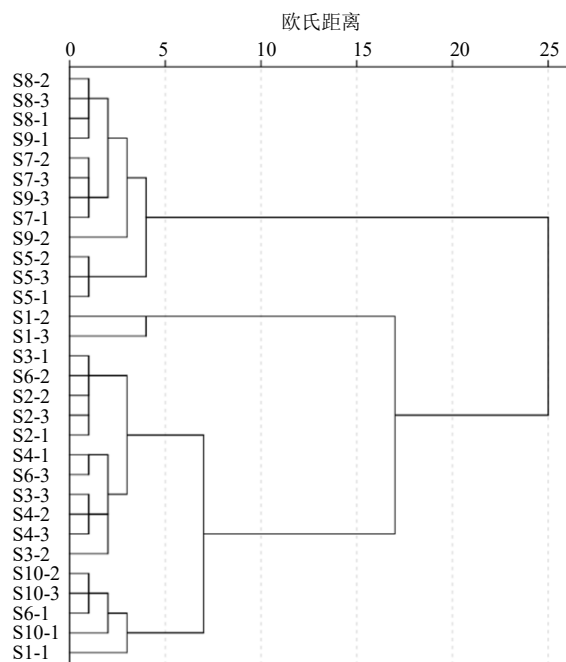


图 4 基于各指标的 30 批酒黄芩饮片聚类分析图

Fig. 4 Cluster analysis diagram of each index component of 30 batches of wine *Scutellariae Radix* pieces

艺导致的误差。

2.9.2 客观赋权计算权重系数 (W_j) 熵权法是计算指标的信息熵 (H_j)，利用指标的差值程度来衡量已知数据中包含的有效信息和指标 W_j ，可用于在多指标评价系统中确定各指标 W_j [9]。集合酒黄芩中 8 个评价指标，形成熵权评价体系的初始数据矩阵 (A) = { X_{ij} } ($i=1, 2, 3, \dots, m; j=1, 2, 3, \dots, n$)。然后对每个指标的原始数据进行标准化处理，计算其变异值，根据熵的定义，确定各个指标的熵值 ($H_1, H_2, H_3, \dots, H_j$)。最后根据熵值计算评价指标的 W_j ，具体结果见表 3。

表 3 酒黄芩饮片各指标的 H_j 及 W_j

Table 3 H_j and W_j of each index of wine *Scutellariae Radix* pieces

指标成分	H_j	W_j	指标成分	H_j	W_j
黄芩苷	0.92	0.11	白杨素	0.88	0.18
汉黄芩苷	0.94	0.08	千层纸素 A	0.89	0.15
黄芩素	0.89	0.16	总黄酮	0.93	0.10
汉黄芩素	0.88	0.17	醇浸出物	0.96	0.05

(1) 数据标准化：按照下列公式计算。

$$Y_{ij} = (X_{ij} - \min X_i) / (\max X_i - \min X_i) + 0.0001$$

X_{ij} 为第 j 个指标下第 i 组的数据， $\max X_i$ 为每个指标下测得的数据最大值， $\min X_i$ 为每个指标下测得的数据最小值

(2) 各指标的 H_j ：按下列公式计算。

$$H_j = -1/\ln n \sum_{i=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}$$

n 为实验组数

(3) 各指标的 W_j : 按下列公式计算。

$$W_j = (1 - H_j) / \sum (1 - H_j)$$

2.9.3 灰色关联度分析 将同一类型黄酒制得的

平行 3 组的酒黄芩饮片的各评价指标取平均值并将其归一化, 结果如表 4 所示, 以处理后每个指标数据的最大值为最优参考序列, 最小值为最差参考序列, 分别计算各评价指标与最优参考序列的关联系数 (ζ_{ks}^i)、与最差参考序列的关联系数 (ζ_{tk}^i)^[10], 结果如表 5、6 所示。

表 4 酒黄芩饮片 8 个评价指标数据归一化处理结果

Table 4 Data normalization processing results of eight evaluating indicators of wine *Scutellariae Radix* pieces

样品	数据归一化处理结果							
	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A	总黄酮	醇浸出物
S1	0.000 0	0.006 3	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.166 0	1.000 0
S2	0.238 8	0.656 8	0.280 9	0.353 7	0.351 1	0.386 1	0.477 2	0.455 1
S3	0.046 9	0.000 0	0.281 1	0.287 6	0.588 2	0.315 3	0.564 3	0.909 6
S4	0.004 1	0.131 4	0.368 9	0.392 0	0.437 8	0.484 6	0.394 2	0.680 5
S5	1.000 0	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.025 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0
S6	0.162 2	0.231 9	0.475 9	0.484 9	0.682 3	0.585 7	1.000 0	0.743 6
S7	0.757 6	0.704 6	0.050 8	0.063 0	0.000 0	0.035 2	0.041 5	0.989 7
S8	0.894 7	0.992 4	0.155 7	0.143 9	0.082 7	0.112 8	0.024 9	0.697 9
S9	0.699 5	0.613 9	0.121 1	0.050 2	0.066 5	0.156 3	0.070 5	0.718 0
S10	0.234 8	0.504 9	0.795 0	0.845 9	0.886 9	0.864 5	0.705 4	0.585 7

表 5 各指标与最优参考序列的 ζ_{ks}^i

Table 5 Correlation coefficient between each index and optimal reference sequence

样品	ζ_{ks}^i							
	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A	总黄酮	醇浸出物
S1	0.333 3	0.334 7	1.000 0	1.000 0	1.000 0	1.000 0	0.374 8	1.000 0
S2	0.396 4	0.593 0	0.410 1	0.436 2	0.435 2	0.448 9	0.488 8	0.478 5
S3	0.344 1	0.333 3	0.410 2	0.412 4	0.548 3	0.422 0	0.534 4	0.846 9
S4	0.334 2	0.365 3	0.442 1	0.451 3	0.470 7	0.492 4	0.452 2	0.610 1
S5	1.000 0	1.000 0	0.333 3	0.333 3	0.339 2	0.333 3	0.333 3	0.333 3
S6	0.373 7	0.394 3	0.488 2	0.492 5	0.611 4	0.546 8	1.000 0	0.661 0
S7	0.673 5	0.628 7	0.345 0	0.348 0	0.333 3	0.341 3	0.342 8	0.979 7
S8	0.826 1	0.985 0	0.372 0	0.368 7	0.352 8	0.360 4	0.339 0	0.623 3
S9	0.624 6	0.564 3	0.362 6	0.344 9	0.348 8	0.372 1	0.349 8	0.639 4
S10	0.395 2	0.502 4	0.709 2	0.764 5	0.815 5	0.786 8	0.629 2	0.546 9

参考文献方法计算相对关联度 (r_i)^[11-12], 最后根据 r_i 的大小, 对样品质量进行排序, 结果见表 7。不同类型黄酒炮制的酒黄芩饮片的各指标含量及样品质量各不相同, 表明酒黄芩饮片质量与黄酒种类有关, 其中酒精度数为 15% 的干型黄酒所制备的酒黄芩饮片质量最佳。

(1) ζ_{ks}^i : 按下列公式计算。

$$\zeta_{ks}^i = [\min_i |x_{sk}'(k) - x_i'(k)| + \rho \max_i |x_{sk}'(k) - x_i'(k)|] / [x_{sk}'(k) - x_i'(k) + \rho \max_i |x_{sk}'(k) - x_i'(k)|], \rho = 0.5$$

(2) ζ_{tk}^i : 按下列公式计算。

$$\zeta_{tk}^i = [\min_i |x_{tk}'(k) - x_i'(k)| + \rho \max_i |x_{tk}'(k) - x_i'(k)|] / [x_{tk}'(k) - x_i'(k) + \rho \max_i |x_{tk}'(k) - x_i'(k)|], \rho = 0.5$$

(3) 与最优参考序列的关联度 [$r_i(s)$]: 按下列公式计算。

$$r_i(s) = \sum_{k=1}^m W_j \zeta_{ks}^i$$

(4) 与最差参考序列的关联度 [$r_i(t)$]: 按下列公式计算。

$$r_i(t) = \sum_{k=1}^m W_j \zeta_{tk}^i$$

表 6 各指标与最差参考序列的 ζ_{ik}^i

Table 6 Correlation coefficient between each index and worst reference sequence

样品	ζ_{ik}^i							
	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A	总黄酮	醇浸出物
S1	1.000 0	0.987 6	0.333 3	0.333 3	0.333 3	0.333 3	0.750 8	0.333 3
S2	0.676 8	0.432 2	0.640 3	0.585 7	0.587 5	0.564 3	0.511 7	0.523 5
S3	0.914 3	1.000 0	0.640 1	0.634 9	0.459 5	0.613 3	0.469 8	0.354 7
S4	0.991 9	0.791 9	0.575 4	0.560 5	0.533 2	0.507 8	0.559 2	0.423 6
S5	0.333 3	0.333 3	1.000 0	1.000 0	0.950 7	1.000 0	1.000 0	1.000 0
S6	0.755 1	0.683 1	0.512 4	0.507 7	0.422 9	0.460 5	0.333 3	0.402 1
S7	0.397 6	0.415 1	0.907 8	0.888 0	1.000 0	0.934 3	0.923 4	0.335 6
S8	0.358 5	0.335 0	0.762 5	0.776 6	0.858 0	0.815 9	0.952 6	0.417 4
S9	0.416 8	0.448 9	0.805 1	0.908 7	0.882 7	0.761 8	0.876 4	0.410 5
S10	0.680 4	0.497 6	0.386 1	0.371 5	0.360 5	0.366 4	0.414 8	0.460 5

表 7 各样品 r_i 及质量优劣综合排序

Table 7 r_i and quality ranking of samples

样品	$r_i(s)$	$r_i(t)$	r_i	综合排序
S1	0.101 6	0.062 4	0.619 7	1
S2	0.056 2	0.072 3	0.437 2	4
S3	0.057 4	0.078 8	0.421 6	6
S4	0.056 1	0.076 0	0.424 6	5
S5	0.057 6	0.108 2	0.347 3	10
S6	0.069 9	0.063 1	0.525 5	3
S7	0.054 5	0.100 0	0.352 6	9
S8	0.059 4	0.088 9	0.400 7	7
S9	0.052 1	0.093 0	0.359 3	8
S10	0.085 2	0.053 0	0.616 6	2

(5) r_i : 按下列公式计算。

$$r_i = r_i(s) / [r_i(s) + r_i(t)], i = 1, 2, \dots, n$$

2.10 黄酒类型、酒精度数与酒黄芩饮片质量相关性分析

采用 SPSS 26.0 统计软件对黄酒含糖量、酒精度数与酒黄芩饮片质量的灰色关联度进行相关性分析。黄酒的含糖量与酒黄芩饮片质量具有明显相关性 ($P < 0.05$), 相关系数为 0.723, P 值为 0.020; 与酒精度数相关性不强, 相关系数为 0.098。

3 讨论

黄酮类成分是黄芩的主要药理活性成分, 包括黄芩素、黄芩苷、汉黄芩素、汉黄芩苷、千层纸素 A 等, 具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、保护肝脏等药理作用; 酒制后, 黄芩苷、汉黄芩苷含量下降, 苷元黄芩素、汉黄芩素含量上升, 千层纸素 A 无明显变化, 且上述药理作用都发生了不同程度的变化^[13-15]。

酒味甘、辛, 性大热, 具有活血通络、温中祛

风散寒的功效, 是炮制中药的重要辅料之一, 其成分复杂, 含有丰富的糖、氨基酸、有机酸、蛋白质、维生素和挥发性物质, 挥发性物质中酯类化合物含量最高, 酮类、醇类、醛类和酸类化合物在数量上占有相当大的比例^[16-17]; 糖类是黄酒重要的生物活性成分, 主要是由低聚糖组成, 由 10 个以上的单糖通过糖苷键连接而成的生物大分子形成黄酒多糖, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、调血脂、增强机体免疫、调节肠道微生态环境等多种活性功能^[18-20], 现代临床表明, 酒黄芩具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、镇痛解热等药理作用, 提示酒制除了通过温度影响黄芩中化学成分从而改变其药理作用, 同时黄酒中多糖与黄酒炮制黄芩后改变其药性具有潜在联系。

聚类分析法是通过计算样本之间的距离, 综合地反映样品之间的相似程度, 将距离接近的归为一类^[21]。本实验通过聚类分析发现, 在以欧氏距离 20 为界限分 2 类, 一类是 S1-1~S4-3、S6-1~S6-3、S10-1~S10-3; 一类是 S5-1~S5-3、S7-1~S9-3 为一区, 其中 S1、S6、S10 为同一种类型黄酒炮制的, S7、S9 为同一种类型黄酒炮制的, S5、S8 为同一种类型黄酒炮制的, 表明同一类型黄酒炮制的酒黄芩饮片样品大致趋于同一类, 黄酒含糖量对酒黄芩饮片质量影响较大; 当以欧氏距离 15 为界限时, S1-2、S1-3 为一类, 即 S1 大体单独成一类, S2、S6、S10、S4 为一类, 其在灰色关联度分析中, S1 的 r_i 最大, S2、S6、S10、S4 的 r_i 排序也靠前, 2 种分析方法的结果得以相互印证。

在灰色关联度分析中发现, 使用同一厂家、同一度数的不同类型黄酒炮制的酒黄芩饮片质量随

着含糖量升高而降低;使用干型黄酒炮制时,酒黄芩饮片质量随着酒精度数升高,饮片质量上升;通过对黄酒含糖量与酒黄芩饮片质量相关性分析,表明黄酒中含糖量与酒黄芩饮片质量息息相关,但其中的糖类成分是如何影响饮片质量的,有待深入研究。同时由于不同度数黄酒样本量较少,其酒精度数与酒黄芩饮片质量的关系需进一步研究。本实验建立了 30 批酒黄芩饮片的 HPLC 指纹图谱,共标定了 23 个共有峰,指认 6 个色谱峰,通过指纹图谱与相似度评价,结合聚类分析与灰色关联度分析方法,对不同类型黄酒炮制的酒黄芩饮片进行综合评价,并确定其中最佳炮制酒黄芩的黄酒类型为干型黄酒,在本实验选取的 3 种不同酒精度数的干型黄酒中,酒精度数为 15% 的黄酒制得的酒黄芩饮片质量最佳,为后续酒黄芩饮片质量标准化研究提供参考。

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: 314.
- [2] 王云, 陈影, 黄琪, 等. 基于一测多评法研究黄芩酒炙前后 12 个黄酮类成分的含量变化 [J]. 世界中医药, 2022, 17(9): 1233-1239.
- [3] Qian M, Ruan F X, Zhao W H, *et al.* Comparison study of the physicochemical properties, amino acids, and volatile metabolites of Guangdong *Hakka Huangjiu* [J]. *Foods*, 2023, 12(15): 2915.
- [4] Yu J T, Zhou Z L, Xu X B, *et al.* Differentiating *Huangjiu* with varying sugar contents from different regions based on targeted metabolomics analyses of volatile carbonyl compounds [J]. *Foods*, 2023, 12(7): 1455.
- [5] 杨颖, 田景振, 陈智. 炮制对黄芩药理作用与化学成分影响研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(10): 230-235.
- [6] 程钰洁, 邱彩月, 洪婉敏, 等. 车前子及其炮制品色度值、UPLC 指纹图谱及体外抗氧化活性的差异研究 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6657-6670.
- [7] 闫倩倩, 王建成, 张文艳. 基于多指标成分定量联合化学计量学、加权 TOPSIS 与灰色关联度融合模型评价不同产地缬草药材质量 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(6): 1305-1315.
- [8] 延永, 张亦琳, 王学军. 黄芩总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性 [J]. 广西林业科学, 2023, 52(1): 113-118.
- [9] 吴乙庚, 祝婧, 姚东, 等. 层次分析-熵权法联合星点设计-响应面法优选胆汁制陈皮炮制工艺及饮片色度与成分相关性分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(5): 118-124.
- [10] 姜云, 乔春风, 刘华, 等. HPLC 多指标成分定量联合化学计量学评价不同产地茜草 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(1): 94-101.
- [11] 庞文娟, 张生杰, 田志梅. 灰色关联分析结合聚类分析评价不同产地板蓝根饮片质量 [J]. 中医药导报, 2023, 29(5): 53-57.
- [12] 吴良发, 赵雯, 刘敏, 等. 基于熵权法和灰色关联度法评价丁香饮片质量 [J]. 药物流行病学杂志, 2023, 32(8): 906-914.
- [13] 李轲, 封林林, 薛婉莹, 等. 黄芩中黄酮化合物提取检测研究进展 [J]. 中国农学通报, 2023, 39(15): 158-164.
- [14] 柴冲冲, 曹妍, 毛民, 等. 基于 HPLC 特征图谱、UPLC-Q-TOF/MS 定性及多成分定量的黄芩酒炙前后化学成分变化研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2436-2447.
- [15] 李利华, 王巍, 张一美, 等. 多指标综合评价结合层次分析法优化黄芩的微波酒蜜炮制工艺 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(9): 2195-2201.
- [16] 冯欣静, 史瑛, 周志磊, 等. 黄酒低聚糖对便秘、肠道炎症与肥胖作用的研究进展 [J]. 中国酿造, 2021, 40(8): 1-7.
- [17] Zhou Z L, Ji Z W, Liu S P, *et al.* Characterization of the volatile compounds of *Huangjiu* using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry (GC × GC-TOFMS) [J]. *J Food Process Preserv*, 2019, 43: e14159.
- [18] 徐诺, 姚哲渊, 车金水, 等. 离子色谱-积分脉冲安培法检测黄酒中的阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖、核糖、乳糖 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 254-259.
- [19] Peng L, Liu S P, Ji Z W, *et al.* Structure characterisation of polysaccharide isolated from *Huangjiu* and its anti-inflammatory activity through MAPK signalling [J]. *Int J Food Sci Tech*, 2019, 54(5): 1874-1883.
- [20] 史瑛, 冯欣静, 周志磊, 等. 黄酒多糖对炎症性肠病及便秘作用机制的研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(9): 275-283.
- [21] 郑亚倩, 曾慧婷, 余灵, 等. 基于主成分分析-聚类分析的铁皮石斛鲜品品质评价研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2024, 48(4): 467-477.

[责任编辑 郑礼胜]