

## 基于化学成分与颜色变化相关性的 制何首乌不同炮制工艺分析研究\*

么蕊<sup>1,2</sup>, 郭鸿<sup>2</sup>, 李哲<sup>2</sup>, 郭晓晗<sup>2</sup>, 张晓书<sup>1\*</sup>, 段宝忠<sup>3</sup>,  
杨建波<sup>2\*\*</sup>, 陈佳<sup>2</sup>, 荆文光<sup>2</sup>, 程显隆<sup>2</sup>, 魏锋<sup>2</sup>

(1. 沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院, 沈阳 110016; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;  
3. 大理大学, 云南 大理 671003)

**摘要 目的:**考察了不同炮制工艺制何首乌粉末颜色参数( $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、Eab<sup>\*</sup>值)与2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量的相关性。**方法:**采用分光测色仪对不同炮制工艺制何首乌粉末进行色度的测定,得到 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、Eab<sup>\*</sup>值,并通过高效液相色谱法测定5种成分的含量,其次采用SPSS 26.0软件、Simca 14.1软件对其进行相关性分析。**结果:**通过系统聚类分析(HCA)发现,清蒸样品、黑豆蒸样品可明显分为生品与炮制品两大类,其中炮制品又可进一步划分为炮制2~8 h和炮制12~48 h。Pearson相关性分析结果显示,二苯乙烯苷含量与 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值均呈极显著正相关( $P < 0.01$ ); $a^*$ 值与大黄素及大黄素甲醚含量显著正相关( $P < 0.01$ );大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷与 $L^*$ 值及 $b^*$ 值呈正相关,而大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷与 $a^*$ 值呈负相关。偏最小二乘判别分析(PLS)表明,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷(VIP = 1.69)和大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷(VIP = 1.06)是影响色度特征的关键变量( $P < 0.01$ )。**结论:**清蒸、黑豆蒸制、黑豆炮制3种工艺在成分转化及色度变化规律上具有一致性,而且二苯乙烯苷可作为表征炮制颜色的特异性指标成分,色度参数能有效反映炮制进程,可作为生产过程的质量监测指标。

**关键词:**色度值;制何首乌;含量;相关性分析

中图分类号:R 921.2

文献标识码:A

文章编号:1009-3656(2026)01-0100-09

doi:10.19778/j.chp.2026.01.013

## Analytical research on processing techniques of Polygoni Multiflori Radix Praeparata based on chemical composition and color changes correlation\*

YAO Rui<sup>1,2</sup>, GUO Hong<sup>2</sup>, LI Zhe<sup>2</sup>, GUO Xiaohan<sup>2</sup>, ZHANG Xiaoshu<sup>1\*</sup>, DUAN Baozhong<sup>3</sup>,  
YANG Jianbo<sup>2\*\*</sup>, CHEN Jia<sup>2</sup>, JING Wenguang<sup>2</sup>, CHENG Xianlong<sup>2</sup>, WEI Feng<sup>2</sup>

(1. School of Functional Food and Wine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;  
2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 3. Dali University, Dali 671003, China)

**Abstract Objective:** To investigate the correlation between the color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Eab<sup>\*</sup> values) of

\* 基金项目:2025年中药所学科建设(中药生熟异治品种炮制减毒增效机制及质量评价研究);自治区重点研发计划项目(2024B02023-2)

第一作者简介:么蕊,学生;研究方向:质量评价。Tel:15630881593;E-mail:yaorui@nifdc.org.cn

\*\* 通信作者简介:张晓书,副教授;研究方向:抗乳腺癌活性成分的发现及作用机制研究。Tel:18341401257;E-mail:xiaoshu2397@163.com;杨建波,副研究员;研究方向:质量评价。Tel:13810725839;E-mail:yangjianbo@nifdc.org.cn

Polygoni Multiflori Radix Praeparata powder prepared by different processing techniques and the contents of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, emodin, physcion, emodin-8-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, physcion-8-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside. **Methods:** The  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and  $Eab^*$  values of Polygoni Multiflori Radix Praeparata powder prepared by different processing techniques were determined by spectrophotometer, and the contents of the five components were determined by high performance liquid chromatography. Secondly, SPSS 26.0 software and Simca 14.1 software were used to analyze the correlation. **Results:** Through the hierarchical cluster analysis (HCA), it was found that the steamed samples and black bean steamed samples could be obviously divided into two categories: raw products and processed products. The processed products could be further divided into 2–8 h and 12–48 h. Pearson correlation analysis showed that the content of stilbene glycoside was significantly positively correlated with  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values ( $P < 0.01$ ). The  $a^*$  value was significantly positively correlated with the content of emodin and physcion ( $P < 0.01$ ). Emodin-8-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside was positively correlated with  $L^*$  value and  $b^*$  value, while physcion-8-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside was negatively correlated with  $a^*$  value. Partial least squares discriminant analysis (PLS) showed that 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (VIP = 1.69) and emodin-8-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (VIP = 1.06) were the key variables affecting chromaticity characteristics ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The three processes of steaming, black bean steaming and black bean stewing are consistent in composition transformation and chromaticity variation, and stilbene glycoside can be used as a specific index component to characterize the processed color. Chromatic parameters can effectively reflect the processing progression and serve as quality monitoring indicators during production.

**Key words:** chromaticity value; Polygoni Multiflori Radix Praeparata; content; correlation analysis

制何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 干燥块根的炮制加工品,具有补肝肾、益精血、化浊降脂等功效<sup>[1]</sup>。何首乌的传统炮制方法具有悠久的历史,最早可追溯至宋代,《太平圣惠方》<sup>[2]</sup>首次记载了“九蒸九晒”工艺,具体描述为:“①自米泔浸七日,夏月逐日换水,用竹刀子刮令碎,九蒸九曝。②九蒸九曝捣罗为末。”此后,从宋代至清代,主流炮制方法多采用黑豆作为辅料,与何首乌拌蒸,即“九蒸九制”,这种工艺的演变反映了辅料在中药炮制中的重要性。传统的九蒸九晒工艺虽然能够确保炮制充分,但存在炮制周期长、效率低、能耗大等与现代工业化生产不相适应的缺点<sup>[3]</sup>。成颜芬<sup>[4]</sup>等通过比较九蒸九晒不同炮制程度下制何首乌的质量变化,发现关键活性成分(如二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚及多糖等)的含量在六蒸六晒(累计 24 h)后趋于稳定。这一研究为优化炮制工艺提供了重要参考,提示传统九蒸九晒工艺可能存在进一步简化的空间<sup>[3]</sup>。至《中国药典》(1963 年版),炮制工艺演变为黑豆汁加黄酒炖制,并要求炖至汁液吸尽<sup>[5]</sup>。到《中国药典》2020 年版中,其炮制工艺主要分为两大类:加辅料炮制和不加辅料炮制。其中,加辅料炮制包括黑豆炖制和黑豆蒸制两种方法,不加辅料炮制则为清蒸法。对制何首乌终点的描述依旧是“炖制汁液吸尽”“蒸制内

外均呈棕褐色”<sup>[1]</sup>,这就导致炮制时对炮制终点的判断主要依赖经验,缺乏客观量化标准,造成市场上制何首乌的质量参差不齐,炮制不完全,进一步出现安全性问题。

色度学分析技术在中药炮制过程的监控和质量评价领域得到广泛应用,并展现出显著优势<sup>[6-8]</sup>。以何首乌为例,其生品呈现特征性黄棕色,但在炮制过程中会发生明显的颜色变化:随着炮制时间的延长,样品颜色逐渐由浅黄色向深棕褐色转变。通过分光测色仪测定制何首乌粉末颜色,具有无损、直观快速、检测效率高等特点。突破传统经验判断的主观局限性,为建立制何首乌炮制过程的快速质量监控体系提供了可靠的技术手段<sup>[3]</sup>。

本文系统比较了黑豆炖制、黑豆蒸制及未加辅料清蒸等 3 种不同炮制制何首乌中化学成分与色度值的相关性。针对每种工艺,项目组设置了关键炮制时间节点(0、2、4、8、12、18、24、30、36、48 h)的样品,通过高效液相色谱法动态监测了 4 种化学成分的含量变化规律,分别为 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷及大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷。同时,采用分光测色仪记录了样品炮制 0~48 h 过程中的色度值( $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $Eab^*$  值),而后采用化学计量学等方法将颜色与成分含量相关联,实现对

炮制过程的客观化评价。

## 1 仪器与材料

仪器:高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);电子天平(德国 Sartorius 公司);YS6060 型台式分光测色仪(深圳市三恩时科技有限公司);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

材料:对照品 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(批号:110844-202317、纯度为 97.9%)、大黄素(批号:110756-201913、纯度为 96%)、大黄素甲醚(批号:110758-202218、纯度为 98.9%),购自中国食品药品检定研究院。大黄素-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(批号:ST10890120、纯度 $\geq$ 98%)、大黄素甲醚-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(批号:ST23870110、纯度 $\geq$ 98%),购自上海源叶生物科技有限公司。

41 批样品来源于中国食品药品检定研究院何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的炮制加工品,具体信息见表 1。来自福骏的样品仅限蒽醌含量测定的方法学考察,河南登封样品仅限色度测定的方法学考察使用。辅料黑豆为豆科植物大豆 *Glycine max* (L.) Merr. 的干燥成熟种子,用量按照《中国药典》(2020 年版)中何首乌的炮制方法:每 100 kg 何首乌片(块),用黑豆 10 kg 使用,其符合《中国药典》(2020 年版)的炮制标准<sup>[1]</sup>。

## 2 方法与结果

### 2.1 参考《中国药典》2020 年版制何首乌中二苯乙烯苷的含量测定方法

#### 2.1.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m),流动相:乙腈-水(25:75)等度洗脱,检测波长为 320 nm,体积流量 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,柱温 35  $^{\circ}$ C,进样量 10  $\mu$ L。理论板数按 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷峰计算应不低于 2 000。

#### 2.1.2 对照品溶液制备

取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品适量,精密称定,加稀乙醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,即得。

#### 2.1.3 供试品溶液制备

取本品粉末(过四号筛)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入稀乙醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,静置,上清液滤过,取续滤液,即得。

表 1 制何首乌样品信息

Tab. 1 Sample information of *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*

编号	炮制工艺	原料产地	编号	炮制工艺	原料产地
S1	生品	四川达州	S21	生品	广东高州
S2	清蒸 2 h		S22	黑豆蒸 2 h	
S3	清蒸 4 h		S23	黑豆蒸 4 h	
S4	清蒸 8 h		S24	黑豆蒸 8 h	
S5	清蒸 12 h		S25	黑豆蒸 12 h	
S6	清蒸 18 h		S26	黑豆蒸 18 h	
S7	清蒸 24 h		S27	黑豆蒸 24 h	
S8	清蒸 30 h		S28	黑豆蒸 30 h	
S9	清蒸 36 h		S29	黑豆蒸 36 h	
S10	清蒸 48 h		S30	黑豆蒸 48 h	
S11	生品	广东高州	S31	炖制 0 h	四川敬心
S12	清蒸 2 h		S32	炖制 2 h	
S13	清蒸 4 h		S33	炖制 4 h	
S14	清蒸 8 h		S34	炖制 8 h	
S15	清蒸 12 h		S35	炖制 12 h	
S16	清蒸 18 h		S36	炖制 18 h	
S17	清蒸 24 h		S37	炖制 24 h	
S18	清蒸 30 h		S38	炖制 36 h	
S19	清蒸 36 h		S39	炖制 48 h	
S20	清蒸 48 h		S40	/	福骏
			S41	/	河南登封

#### 2.1.4 含量测定

取 S1-S39 样品,按照 2.1.3 方法制备供试品溶液,每份样品制备 2 份,按照 2.1.1 色谱条件进样测定,每个样品平行进样 2 次,记录峰面积,计算各成分含量。计算结果如表 2 所示。二苯乙烯苷含量结果显示,不同炮制方法的制何首乌随着炮制时间的延长,二苯乙烯苷含量均呈现下降趋势,但生品含量存在较大差异,其中四川样品二苯乙烯苷含量与广东高州相比,含量相差 55%,这一差异可能源于不同产地药材的质量不均一性,且不同炮制工艺之间样品含量存在较大差异,其中四川清蒸样品在炮制到 48 h 后,含量减少约 65%,广东高州清蒸样品在炮制到 48 h 后,含量减少约 50%,广东高州黑豆蒸制样品在炮制到 48 h 后,含量减少约 30%,四川黑豆炖制样品在炮制到 48 h 后,含量减少约 58%。

### 2.2 制何首乌中蒽醌类成分的含量测定

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m);流速为 1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}$ C,检测波长 280 nm;进样量 10  $\mu$ L。流动相 A 为甲醇、B 为 0.1% 磷酸溶液,梯度洗脱:0~10 min,20% A $\rightarrow$ 70% A;10~25 min,70% $\rightarrow$ 85% A;25~30 min,85% $\rightarrow$ 100% A。

表2 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量测定结果( $n=2$ )Tab. 2 Determination results of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-*O*- $\beta$ -D-glucoside content( $n=2$ )

编号	含量%	编号	含量%	编号	含量%	编号	含量%
S1	4.35	S11	2.92	S21	2.30	S31	5.21
S2	3.64	S12	2.83	S22	3.55	S32	4.29
S3	3.60	S13	3.15	S23	3.88	S33	3.42
S4	3.29	S14	3.01	S24	3.32	S34	3.56
S5	3.08	S15	3.04	S25	3.02	S35	3.69
S6	2.93	S16	2.28	S26	2.47	S36	3.49
S7	2.88	S17	2.12	S27	2.01	S37	3.13
S8	2.43	S18	1.86	S28	1.82	S38	3.01
S9	2.04	S19	1.65	S29	1.86	S39	2.60
S10	1.52	S20	1.42	S30	1.59		

### 2.2.2 对照品溶液制备

取大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷各适量,分别精密称定,加70%乙醇溶液制成浓度分别为22、13、25、22  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

### 2.2.3 供试品溶液制备

取本品粉末(过四号筛)约0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇溶液25 mL,称定质量,超声30 min,放冷,再称定质量,用70%乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,静置,上清液滤过,取续滤液,即得。

### 2.2.4 方法学验证

2.2.4.1 线性关系考察 吸取2.2.2的混合对照品溶液适量,并逐级稀释,注入液相色谱仪,按2.2.1色谱条件下进样测定,以质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得到各对照品的回归方程,各成分回归方程如下,大黄素的回归方程为 $Y=38\,423X+823.03$  ( $R^2=1$ );大黄素甲醚的回归方程为 $Y=33\,782X-2\,407.7$  ( $R^2=0.999$ );大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷的回归方程为 $Y=30\,760X+1\,318.7$  ( $R^2=1$ );大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷的回归方程为 $Y=33\,421X+418.04$  ( $R^2=1$ ),表明大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷分别在0.687 5~22、0.406 3~13、0.781 3~25和0.687 5~22  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度时,与峰面积线性关系良好。

2.2.4.2 精密度试验 取大黄素对照品溶液,按2.2.1色谱条件进样测定,连续进样6次,记录大黄素的RSD为0.15%,表明该仪器精密度符合要求。

2.2.4.3 重复性试验 取S40样品,按照2.2.3方法,制备6份供试品溶液,而后按照2.2.1色谱条件进样测定,每次进样10  $\mu\text{L}$ ,记录各成分的峰面积,计算含量,得出大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量的RSD分别为1.02%、0.97%、0.57%和1.12%,表明该方法重复性符合要求。

2.2.4.4 稳定性试验 取S40样品,按照2.2.3方法,制备供试品溶液,分别放置0、2、4、6、8、10、12、18和24 h,按照2.2.1色谱条件进样测定,每次进样10  $\mu\text{L}$ ,记录各成分的峰面积,得出大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷峰面积的RSD分别为2.16%、0.24%、0.35%、0.82%,表明该方法稳定性符合要求。

2.2.4.5 加样回收率试验 取何首乌样品粉末(S40)约0.2 g,精密称定,共取6份,分别加入对照品适量,按照2.2.3制备供试品溶液,而后在2.2.1色谱条件下进样测定,记录峰面积,计算回收率,通过计算,大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷的平均加样回收率分别为90.37%、89.60%、92.89%、95.07%,RSD分别为1.62%、1.35%、1.11%、2.84%,所得结果均符合要求。

### 2.2.5 样品的测定

取S1-S39样品,按照2.2.3方法制备供试品溶液,每个样品制备2份,制备完成后,按照2.2.1色谱条件进样测定,每个样品平行进样2次,记录峰面积,计算各成分含量。计算结果如表3所示。含量结果显示,不同炮制工艺制备的制何首乌均含有大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷等特征性蒽醌类成分,其含量分布呈现明显差异。具体而言,大黄素及其葡萄糖苷衍生物的含量普遍高于相应的甲醚类化合物。值得注意的是,不同产地样品间的成分含量差异显著。随着炮制时间的延长(0~48 h),所有工艺样品均表现出游离型蒽醌(大黄素、大黄素甲醚)含量增加与结合型蒽醌(大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷)含量减少的规律性变化。以四川达州清蒸样品为例,炮制48 h后,大黄素含量增至生品的55倍,大黄素甲醚含量增加2倍,而大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量分别减少89%和84%。

表3 蒽醌含量测定结果( $n=2$ )

Tab. 3 Determination results of anthraquinone content( $n=2$ )

编号	大黄素%	大黄素甲醚%	大黄素-8- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -葡萄糖苷%	大黄素甲醚-8- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -葡萄糖苷%
S1	0.042	0.020	0.186	0.025
S2	0.124	0.029	0.059	0.011
S3	0.139	0.034	0.090	0.024
S4	0.138	0.031	0.052	0.010
S5	0.184	0.044	0.049	0.010
S6	0.166	0.048	0.055	0.014
S7	2.402	0.042	0.046	0.010
S8	2.782	0.047	0.048	0.010
S9	2.441	0.044	0.036	0.008
S10	2.343	0.045	0.020	0.004
S11	0.062	0.005	0.031	0.017
S12	0.061	0.027	0.041	0.022
S13	0.062	0.027	0.036	0.019
S14	0.058	0.027	0.042	0.022
S15	0.053	0.023	0.034	0.016
S16	0.068	0.029	0.034	0.017
S17	0.065	0.024	0.024	0.012
S18	0.090	0.038	0.024	0.013
S19	0.081	0.037	0.026	0.015
S20	0.082	0.036	0.012	0.007
S21	0.055	0.027	0.030	0.011
S22	0.053	0.024	0.037	0.018
S23	0.049	0.024	0.056	0.028
S24	0.065	0.031	0.056	0.027
S25	0.074	0.039	0.049	0.026
S26	0.074	0.036	0.046	0.025
S27	1.022	0.023	0.016	0.008
S28	0.779	0.023	0.026	0.015
S29	1.099	0.036	0.025	0.014
S30	0.979	0.036	0.013	0.007
S31	0.392	0.112	0.027	0.004
S32	0.200	0.053	0.017	0.002
S33	0.220	0.069	0.024	0.002
S34	0.244	0.075	0.043	0.008
S35	0.356	0.114	0.031	0.003
S36	0.359	0.122	0.030	0.003
S37	4.112	0.104	0.024	0.002
S38	4.295	0.102	0.017	0.002
S39	6.659	0.160	0.012	0.002

### 2.3 样品感官评价

取 S1 ~ S39 样品,进行感官评价,炮制过程中,何首乌颜色从黄棕色变成棕褐色,最终变成黑褐色,质地更加坚硬,气微甘,符合《中国药典》2020 年版对炮制何首乌的描述,见图 1、2 和表 4。

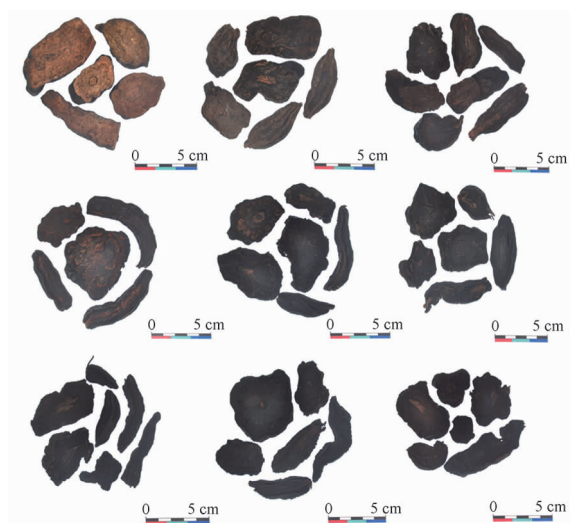


图1 四川黑豆炖制何首乌颜色变化示意图

Fig. 1 Schematic diagram of color changes in sichuan black bean-stewed *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*

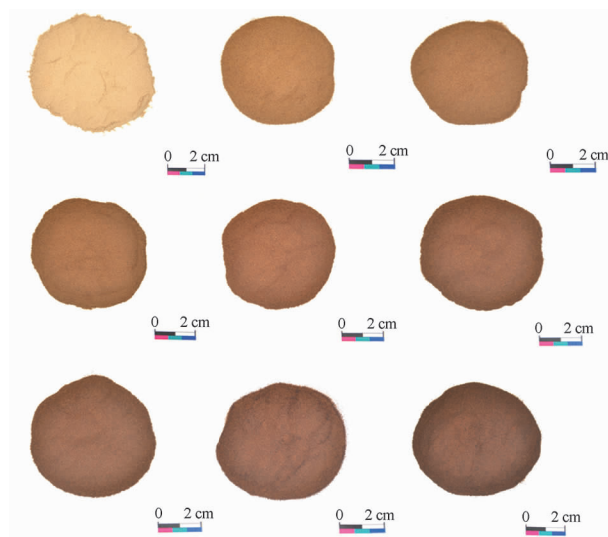


图2 广东高州清蒸何首乌颜色变化示意图

Fig. 2 Schematic diagram of color changes in Gaozhou (Guangdong) Steamed *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*

### 2.4 制何首乌样品色度值的测定

#### 2.4.1 测定条件

样品测定前要进行黑白校准,测定时记录  $L^*$  (亮度)、 $a^*$  (红绿色度)、 $b^*$  (黄蓝色度)。各参数具有明确的物理意义: $L^*$  值表征样品的明暗程度,其数值与明度呈正相关,即  $L^*$  值越大表明样品颜色越浅亮; $a^*$  值反映红绿色度特征,正值表示红色倾向,且数值增大表示红色程度增强; $b^*$  值指示黄蓝色度变化,正值代表黄色倾向,数值升高显示黄色程度加深;Eab\* 值作为综合指标,用于量化炮制过程中样品整体颜色的变化幅度。

表 4 外观性状评价

Tab. 4 Evaluation of appearance and flavor

编号	颜色	质地	气味	编号	颜色	质地	气味
S1	黄棕色	坚实	气微	S21	黄棕色	坚实	气微
S2	棕褐色	坚硬	气微	S22	棕褐色	坚实	气微
S3	棕褐色	坚硬	气微	S23	棕褐色	坚硬	气微
S4	黑褐色	坚硬	气微	S24	黑褐色	坚硬	气微
S5	黑褐色	坚硬	微甘	S25	黑褐色	坚硬	气微
S6	黑褐色	坚硬	微甘	S26	黑褐色	坚硬	微甘
S7	黑褐色	坚硬	微甘	S27	黑褐色	坚硬	微甘
S8	黑褐色	坚硬	微甘	S28	黑褐色	坚硬	微甘
S9	黑褐色	坚硬	微甘	S29	黑褐色	坚硬	微甘
S10	黑褐色	坚硬	微甘	S30	黑褐色	坚硬	微甘
S11	黄棕色	坚实	气微	S31	黄棕色	坚实	气微
S12	黄褐色	坚硬	微甘	S32	黄褐色	坚实	微甘
S13	棕褐色	坚硬	气微	S33	棕褐色	坚实	微甘
S14	黑褐色	坚硬	微甘	S34	棕褐色	坚实	微甘
S15	黑褐色	坚硬	微甘	S35	黑褐色	坚硬	微甘
S16	黑褐色	坚硬	微甘	S36	黑褐色	坚硬	微甘
S17	黑褐色	坚硬	微甘	S37	黑褐色	坚硬	微甘
S18	黑褐色	坚硬	微甘	S38	黑褐色	坚硬	微甘
S19	黑褐色	坚硬	微甘	S39	黑褐色	坚硬	微甘
S20	黑褐色	坚硬	微甘				

2.4.2 方法学考察

2.4.2.1 精密度试验 取 S41 样品(过四号筛),按照 2.4.1 条件连续测定 6 次,比色皿同一面进行测定,记录  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ ,结果显示  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  的 RSD 值分别为 0.01%、0.09%、0.04%,表明仪器精密度良好。

2.4.2.2 重复性试验 取 S41 样品(过四号筛),连续平行测定 6 次,记录  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ ,结果显示  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  的 RSD 值分别为 0.57%、1.05%、0.5%,表

明方法重复性良好。

2.4.2.3 稳定性试验 取 S41 样品(过四号筛),分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进行样品颜色的测定,记录  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ ,结果显示  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  的 RSD 分别为 0.23%、0.90%、0.60%,说明样品在 12 h 内稳定性良好。

2.4.3 测定方法

首先进行白校准和黑校准,校准完毕后,取样品粉末(过四号筛)适量,置于样品皿中,重复测定 3 次,得出色度值( $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ )平均值,并计算总色度  $Eab^* = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ,具体结果如图 3~6 所示。图中编号 1~10 分别代表生品-炮制 48 h 制何首乌样品。通过色度分析发现,3 种炮制工艺处理的制何首乌样品均表现出  $L^*$  值下降的特征,表明炮制过程中药材颜色逐渐加深,但不同工艺和产地的样品在变暗程度上存在差异。具体而言,四川达州的清蒸样品、广东高州的黑豆蒸样品以及四川的黑豆炖制样品表现出更为显著的  $L^*$  值下降,而广东高州的清蒸样品下降趋势相对平缓。值得注意的是,不同产地的生何首乌在初始  $L^*$  值上就存在明显差异,这一现象与前述化学成分含量的产地差异相互印证。在  $a^*$  值变化方面,四川达州和广东高州的清蒸样品呈现出先降低、后升高、再下降的复杂变化趋势,而广东高州和四川的黑豆炖制样品则主要表现为先上升后下降的单峰曲线。 $b^*$  值的分析结果显示,所有样品均呈现下降趋势,表明炮制后药材颜色逐渐向黄色调转变,这与《中国药典》2020 年版中规定的炮制终点颜色“棕褐色”的描述相符。 $Eab^*$  值作为综合评价指标,整体上表现出持续下降的变化特征,进一步证实了炮制过程中颜色特征的整体性改变。

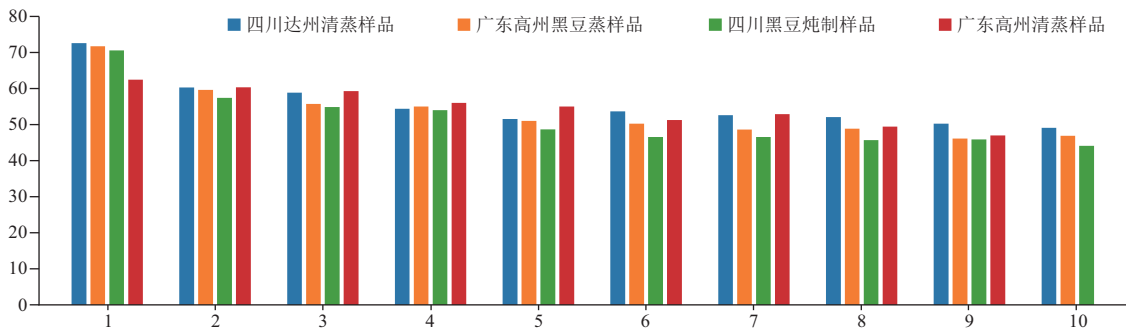


图 3 3 种工艺样品  $L^*$  变化

Fig. 3  $L^*$  Value changes of samples processed by three different methods

2.5 不同炮制工艺制何首乌色度值的聚类分析 (HCA)

采用 SPSS 26.0 软件对 4 组样品的色度值进行

系统聚类分析。聚类分析可将数据相似特征的聚为一簇,阈值的选择可确定数据的差异性和相似性,阈值过大,簇内多样性高,造成差异信息丢失,阈值

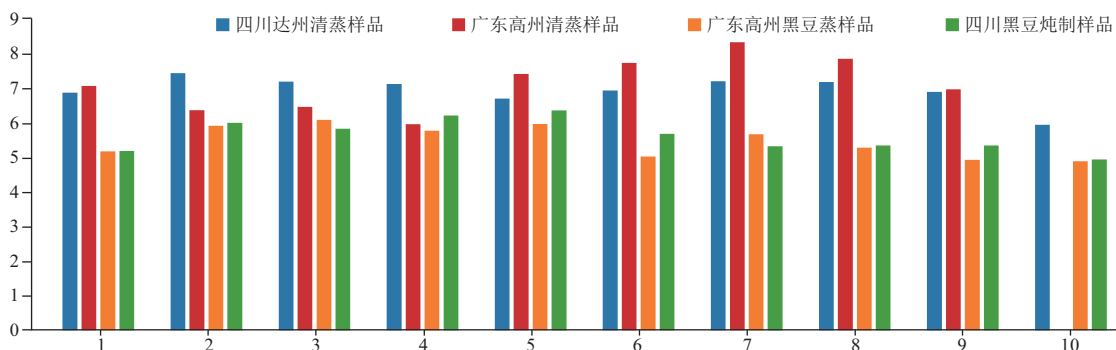


图4 3种工艺样品 a\* 变化

Fig. 4 a\* Value changes of samples processed by three different methods

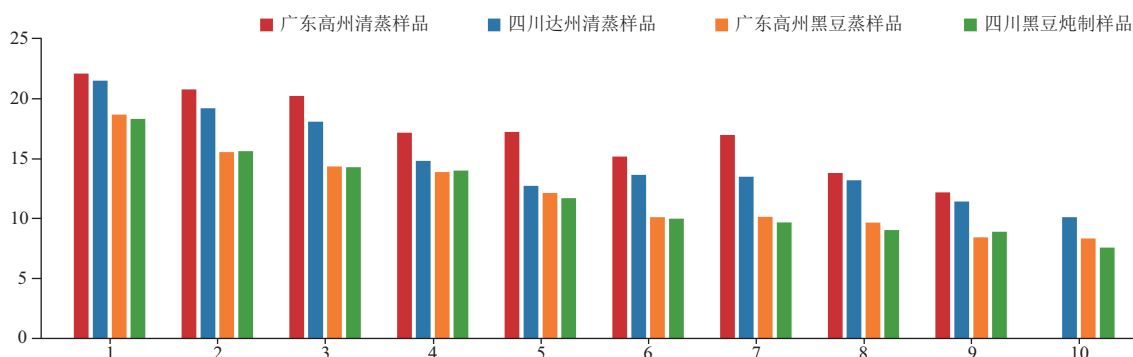


图5 3种工艺样品 b\* 变化

Fig. 5 b\* Value changes of samples processed by three different methods

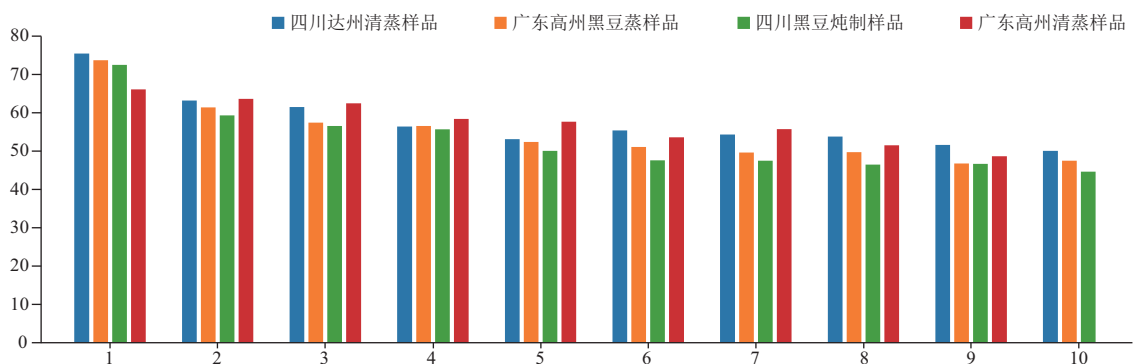


图6 3种工艺样品 Eab\* 变化

Fig. 6 Eab\* value changes of samples processed by three different methods

过小,会生成碎片化簇,相似信息丢失。在四川达州清蒸样品组中,当欧氏距离阈值为5时,样品可明显分为3类:生品单独聚为一类,清蒸2和4 h样品聚为一类,清蒸8~48 h样品聚为一类,结果如图7所示。广东高州清蒸样品组在相同欧氏距离阈值下也呈现相似的聚类模式:生品单独成类,清蒸2、4和8 h样品聚为一类,清蒸12~48 h样品聚为一类,结果如图8所示。值得注意的是,广东高州黑豆蒸制样品的聚类结果与清蒸样品完全一致,结果如

图9所示。

相比之下,四川黑豆炖制样品表现出独特的聚类特征,结果如图10所示。当欧氏距离阈值扩大至10时,样品可分为3类:生品、炖制2和4 h样品聚为一类;炖制8、12和24 h样品聚为一类;炖制18、36和48 h样品聚为一类。这一结果可能表明黑豆炖制工艺对样品色度值的影响模式与其他炮制方式存在一定差异,或该类炮制方式的样品炮制不够充分,进而出现和其他工艺不一致的结果。

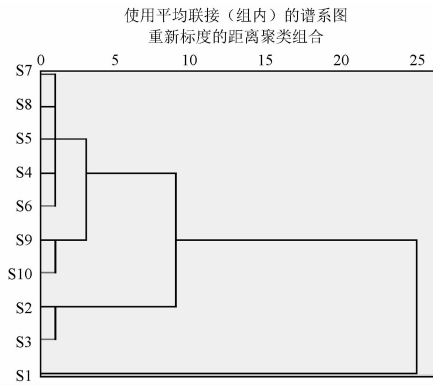


图7 四川达州清蒸样品 HCA

Fig. 7 Sichuan Dazhou steamed sample HCA

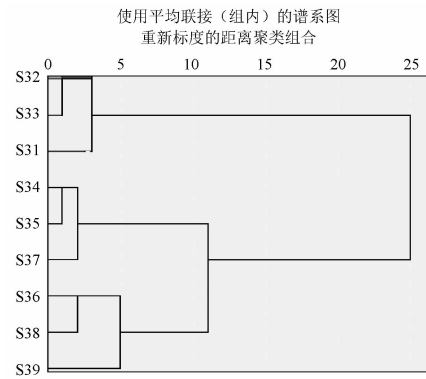


图10 四川黑豆炖制样品 HCA

Fig. 10 Sichuan black bean-stewed sample HCA

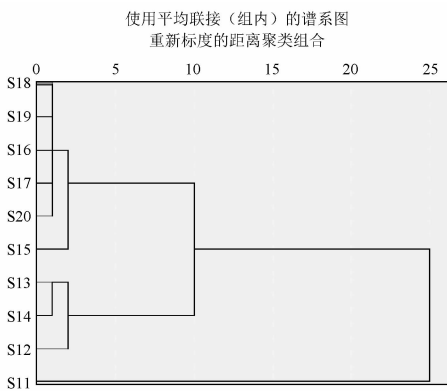


图8 广东高州清蒸样品 HCA

Fig. 8 Guangdong Gaozhou steamed sample HCA

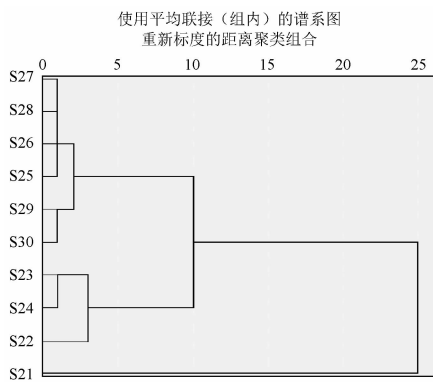


图9 广东高州黑豆蒸制样品 HCA

Fig. 9 Guangdong Gaozhou black bean-steamed sample HCA

2.6 成分含量和色度值的 Pearson 的相关性分析

Pearson 相关性分析结果表明,药材的明度指标 ( $L^*$  值)、红绿色度指标 ( $a^*$  值) 及黄蓝色度指标 ( $b^*$  值) 与 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷含量均呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 提示随着二苯乙烯苷含量的增加, 药材色泽趋向明亮且红黄色调增强。进一步分析发现, 红绿色度指标 ( $a^*$  值) 与大黄素 ( $r = 0.433, P < 0.01$ ) 及大黄素甲醚

( $r = 0.598, P < 0.01$ ) 均呈显著正相关, 表明这两种蒽醌类成分可能是影响药材红色调特征的关键物质基础。研究还显示, 大黄素-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷与  $L^*$  值及  $b^*$  值均呈显著正相关, 说明该成分含量的增加可使药材粉末呈现更明亮且偏黄的色泽特征; 而大黄素甲醚-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷则与  $a^*$  值呈显著负相关, 表明该成分可能促使药材粉末颜色向绿色调转变, 结果如表 5 所示。

表 5 成分含量与色度值 Pearson 相关性分析

Tab. 5 Pearson correlation analysis between component contents and chromaticity values

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Eab <sup>*</sup>
大黄素	0.276	0.433 **	-0.114	-0.252
大黄素甲醚	0.124	0.598 **	0.241	-0.067
大黄素-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷	0.522 **	0.254	0.416 **	0.516 **
大黄素甲醚-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷	0.175	-0.368 *	-0.093	0.133
二苯乙烯苷	0.639 **	0.561 **	0.860 **	0.684 **

注: \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: \*\*  $P < 0.01$ .

2.7 成分含量和色度值的偏最小二乘回归分析(PLS)

将大黄素、大黄素甲醚、大黄素-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷、大黄素甲醚-8- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2- $O$ - $\beta$ - $D$ -葡萄糖苷的含量与  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、Eab<sup>\*</sup> 值导入 simca 14.1 软件进行 PLS 分析, 以五种成分含量作为自变量,  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、Eab<sup>\*</sup> 为因变量, 建立 PLS 模型。建立的 PLS 模型  $R^2X$  为 0.952、 $R^2Y$  为 0.662、 $Q^2$  为 0.521, 上述三个结果均要大于 0.5, 则所建立的模型符合要求, 模型稳定。其中以 VIP 值来反映自变量对因变量的重要性, VIP 值  $> 1$ , 说明极为重要。根据结果显示, 2,3,5,4'-四羟基

二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷和大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷的VIP值>1,说明二者对色度值有显著性影响,结果如图11所示。

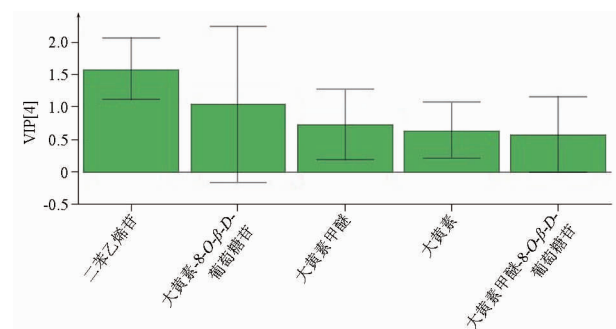


图11 PLS结果

Fig. 11 The results of PLS

### 3 讨论

实验表明生品与炮制品之间成分和色度差异较大,不同产地的样品二苯乙烯苷、蒽醌类成分的含量差异较大,但整体上在炮制到48 h后,3种工艺成分变化呈现相同趋势,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷含量整体变化与文献基本一致<sup>[9]</sup>。与此同时3种炮制工艺中色度值 $L^*$ 值、 $b^*$ 值、 $Eab^*$ 值在炮制到48 h后,均呈现相同的下降趋势, $a^*$ 值没有明显的变化趋势。《中国药典》2020年版对何首乌炮制终点的描述为“蒸制内外均为棕褐色”,且对制何首乌性状中颜色描述为表面黑褐色或棕褐色,存在较强的主观判断,所以本文对色度值进行测定,并结合感官评价寻找炮制终点与色度值的量化对应关系,认为大约在 $Eab^* \leq 55$ 时,即炮制12 h后,颜色不再改变, $Eab^*$ 值逐渐平稳,颜色均呈现黑褐色。

通过对药材颜色参数与主要化学成分的深入相关性分析,可以清晰地观察到药材色泽特征与内在化学成分之间存在着密切的关联。不同炮制工艺的制何首乌聚类分析中,清蒸工艺和黑豆蒸工艺的生品和炮制品聚为两类,炮制2~8 h和12~48 h聚为两类。Pearson相关性分析结果表明, $L^*$ 值、 $a^*$ 值、 $b^*$ 值与二苯乙烯苷含量均呈极显著正相关( $P < 0.01$ ), $a^*$ 值与大黄素( $r = 0.433, P < 0.01$ )及大黄素甲醚( $r = 0.598, P < 0.01$ )均呈显著正相关,大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷与 $L^*$ 值及 $b^*$ 值均呈显著正相关,大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷则与 $a^*$ 值呈显著负相关。偏最小二乘判别分析(PLS)结果显示,二苯乙烯苷(VIP = 1.69)和大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷

(VIP = 1.06)的变量重要性投影值均大于1,表明这两个成分对制何首乌的色度特征具有决定性影响,二苯乙烯苷可以作为颜色质量控制的重要指标成分,二苯乙烯苷成分在高温、高湿条件下糖苷键断裂,生成苷元,共轭双键数量减少,紫外吸收蓝移,浅黄色减弱,临位酚羟基氧化生成醌,进一步聚合形成扩展共轭体系,吸收红移,显深褐色,这些发现为建立基于色度参数的快速质量评价方法提供参考。

本文局限性在于未对传统九蒸九晒工艺进行系统比较。作为何首乌最具代表性的古法炮制工艺,九蒸九晒在《太平圣惠方》<sup>[2, 10]</sup>等古代医籍中均有详细记载,其“九蒸九曝”的独特工艺可能对药材成分转化产生重要影响。有研究表明,炮制工艺的简化(如蒸晒次数不足)或炮制终点判断不准确,可能是导致临床不良反应发生率升高的重要因素之一<sup>[11]</sup>。在后续研究中,按照古籍记载制备九蒸九晒样品,系统比较其与现代工艺在色度参数和成分含量上的差异,并深入分析色度值与关键成分的相关性规律。

### 参考文献

- [1] 中国药典 2020年版.一部[S]. 2020:184.
- [2] 王怀隐. 太平圣惠方[M]. 北京:人民卫生出版社,1958:1657.
- [3] 于森. 基于九蒸九晒特色炮制技术的何首乌饮片炮制原理初探[D]. 北京:中国中医科学院,2024.
- [4] 成颜芬,聂欣,谭睿,等. 基于经典“九蒸九晒”法不同炮制程度何首乌的化学质量概貌评价[J]. 中国中药杂志,2019,44(23):5151-5158.
- [5] 中国药典 1963年版.一部[S]. 1963:144.
- [6] 李星,敖明月,强梦琴,等. 炮姜饮片炮制过程中颜色变化与其成分含量的相关性分析[J]. 中药材,2022,45(5):1087.
- [7] 刘振东,兰金旭,陈随清. HPLC结合电子眼技术分析不同采收期的枸橼药材质量[J]. 中国中药杂志,2021,46(20):5253.
- [8] 杨颜榕,石佳,李妍怡,等. 何首乌饮片表面特征的数字表征及与化学成分含量的相关性研究[J]. 中国药物警戒,2024,21(12):1363.
- [9] 李妍怡,王莹,张南平,等. 基于UPLC-MS/MS检测技术探讨清蒸时间对何首乌26种化学成分的影响[J]. 中国药物警戒,2022,19(12):1295.
- [10] 李时珍. 本草纲目[M]. 校点本. 北京:人民卫生出版社,1985:837.
- [11] 杨磊,张曼华,陈文明,等. 基于经典与现代炮制方法对何首乌主要化学成分变化规律研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(2):770.

(收稿日期:2025-06-18)