

牡丹皮炒炭前后颜色与有效成分含量的相关性分析^Δ

陈 昕*, 黄茂胜, 孟 江#, 王淑美(广东药科大学中药学院/国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室/广东省高校中药质量工程技术研究中心, 广州 510006)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2360-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.11

摘要 目的:研究牡丹皮炒炭前后颜色与有效成分含量的相关性,为牡丹皮和牡丹皮炭饮片的鉴别和质量评价提供参考。方法:使用色差仪测定牡丹皮炒炭前后饮片粉末颜色的色度空间参数[明度值(L^*)、红绿分量值(a^*)、黄蓝分量值(b^*)及总色差值(E^*ab)],采用高效液相色谱法测定牡丹皮和牡丹皮炭饮片粉末中10种有效成分(没食子酸、5-羟甲基糠醛、儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)的含量,并应用SPSS 21.0软件对颜色的色度空间参数和有效成分含量进行相关性分析。结果:没食子酸含量与色度空间参数均无相关性($P>0.05$);5-羟甲基糠醛含量与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 呈极显著性负相关($P<0.01$),与 a^* 呈极显著性正相关($P<0.01$);芍药苷含量与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 呈极显著性正相关($P<0.01$),与 a^* 无相关性($P>0.05$);氧化芍药苷含量与 L^* 、 E^*ab 呈极显著性正相关($P<0.01$),与 a^* 呈极显著性负相关($P<0.01$),与 b^* 无相关性($P>0.05$);儿茶素、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素含量与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 均呈显著性正相关($P<0.05$),与 a^* 呈显著性负相关($P<0.05$)。结论:色差技术可以量化牡丹皮和牡丹皮炭饮片的颜色,牡丹皮炒炭前后颜色与其有效成分含量具有显著的相关性。

关键词 牡丹皮;牡丹皮炭;含量;颜色;相关性分析

Correlation Analysis of Color and Effective Components Content in Moutan Cortex before and after Carbonized

CHEN Xin, HUANG Maosheng, MENG Jiang, WANG Shumei (School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University/Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine/Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities in Guangdong Province, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the correlation between the color of Moutan Cortex and the contents of effective components before and after carbonized, and to provide reference for identification and quality evaluation of Moutan Cortex and its charcoal decoction. METHODS: Using colorimeter determination of Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal decoction pieces powder chroma space parameter [lightness value (L^*), red, green and component values (a^*), yellow and blue component value (b^*) and total color difference value (E^*ab)], HPLC method for content determination of 10 effective components (gallic acid, 5-HMF, catechins, oxypaeoniflorin, paeoniflorin, quercetin, benzoyl paeoniflorin, isorhamnetin, paeonol, kaempferide) content in Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal decoction pieces. On this basis, the correlation between the content of effective components and the chromaticity space parameter of a color was studied by SPSS 21.0 software. RESULTS: There was no correlation between gallic acid content and the chromaticity space parameter of a color ($P>0.05$). There was an extremely significant negative correlation between 5-HMF content and L^* , b^* , E^*ab ($P<0.01$), and an extremely significant positive correlation between 5-HMF content and a^* ($P<0.01$). The content of paeoniflorin was positively correlated with L^* , b^* and E^*ab , but not with a^* ($P>0.05$). The content of oxidized paeoniflorin was positively correlated with L^* and E^*ab ($P<0.01$), and negatively correlated with a^* ($P<0.01$), but not with b^* ($P>0.05$). The content of catechins, quercetin, benzoyl paeoniflorin, isorhamnetin, paeonol and kaempferol were positively correlated with L^* , b^* and E^*ab ($P>0.05$), and negatively correlated with a^* ($P>0.05$). CONCLUSIONS: Chromatic aberration technology can quantify the color of Moutan Cortex and its charcoal decoction pieces, and there is a significant correlation between the color of Moutan Cortex before and after processing and the content of its active ingredients.

KEYWORDS Moutan Cortex; Moutan Cortex charcoal; Content; Color; Correlation analysis

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81473352);广州市科技计划项目(No.201707010170);第六批全国老中医药专家学术经验继承师带徒项目(No.国中医药人教发[2017]29号)

* 硕士研究生。研究方向:中药炮制原理与饮片质量标准。E-mail:546874503@qq.com

通信作者:教授,博士。研究方向:中药炮制原理与饮片质量控制。E-mail:jiangmeng666@126.com

牡丹皮为毛茛科植物牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)的干燥根皮,味苦、辛,微寒,归心、肝、肾经,具有清热凉血、活血化瘀的功效,用于热入营血、温毒发斑、吐血衄血、夜热早凉、无汗骨蒸、经闭痛经、跌扑伤痛、痈肿疮毒等症^[1]。牡丹皮炭为牡丹皮的炒炭品,具有凉血止

血的作用,用于吐血、崩漏及多种血热出血证^[2]。研究发现,牡丹皮及牡丹皮炭饮片中均含有酚及酚苷类成分(如丹皮酚)、单萜及其苷类成分(如芍药苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷)和其他成分[如5-羟甲基糠醛(5-HMF)、没食子酸、儿茶素、槲皮素、山柰素、异鼠李素]等多种有效成分^[3-6],且这些有效成分具有解热、活血化瘀、收敛止血、抑制血小板聚集等功效^[7-10],与牡丹皮及牡丹皮炭饮片的功效一致。2015年版《中国药典》(一部)^[1]中关于牡丹皮炮制前后的质量控制,主要是通过传统经验鉴别外观性状、颜色和丹皮酚含量测定相结合的方法。但颜色评价具有很大的主观性和模糊性,而饮片颜色差异常常反映其质量优劣,且与饮片内在物质成分含量的高低也息息相关^[11-12]。目前,牡丹皮和牡丹皮炭饮片成分和颜色之间的相关性尚未见报道,故有必要对牡丹皮炒炭前后颜色进行客观、数字化评价,并对颜色和成分之间的相关性进行分析。

色彩色差计又称为光电反射光度计,其可以用光电测定的方法,迅速、准确、方便地测出各种试样被测位置的颜色,并且通过计算机直接换算成明度值(L^*)、红绿分量值(a^*)、黄蓝分量值(b^*)对颜色进行数值化表示^[13]。近年来,色差分析在食品、药品方面应用较多,如万超等^[14]采用色差计测定醋延胡索饮片颜色并与主要成分含量进行相关性分析,实现了醋延胡索质量的快捷评价;徐珍珍等^[15]利用色差计对木香粉末的色差值进行测定并与有效成分木香炔内酯、去氢木香内酯和挥发油的含量相关联,为木香质量评价体系的建立提供了参考。因此,本研究采用色差计对牡丹皮和牡丹皮炭饮片粉末进行颜色的测定,将传统的颜色指标进行客观化和数字化,并与其有效成分(没食子酸、5-HMF、儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)含量进行相关性研究,为牡丹皮和牡丹皮炭饮片的鉴别和质量评价提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

CR-400/410 色彩色差计、CR-A50 粉末测试盒、CR-A33e 玻璃防光保护盒(日本柯尼卡美能达有限公司);1100 系列高效液相色谱(HPLC)系统,配备一个光电二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);CY-20 炒药机(江阴市祝塘明科机械厂);JP-105A 高速多功能粉碎机(永康市久品工贸有限公司)。

1.2 药品与试剂

10 批牡丹皮药材分别购买于 10 个不同地区,由广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴定均为毛茛科植物牡丹 *P. suffruticosa* Andr. 的干燥根皮,药材收集后装入密封袋存放于干燥器中阴凉避光处保存,并于 3 年内完成试验;儿茶素对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号: MUST-12050702,纯度: $\geq 98\%$);山柰素对照品(批

号: 110861-201310,纯度: $\geq 98\%$)、异鼠李素对照品(批号: 110860-201410,纯度: $\geq 98\%$)均购自中国食品药品检定研究院;5-HMF 对照品(批号: 150802,纯度: $\geq 98\%$)、没食子酸对照品(批号: 140801,纯度: $\geq 98\%$)、氧化芍药苷对照品(批号: 150822,纯度: $\geq 98\%$)、芍药苷对照品(批号: 150609,纯度: $\geq 98\%$)、槲皮素对照品(批号: 140425,纯度: $\geq 98\%$)和苯甲酰芍药苷对照品(批号: 150903,纯度: $\geq 98\%$)均购自成都克洛玛生物科技有限公司;丹皮酚对照品(本实验室自制,批号: 20150708,纯度: $\geq 98\%$);乙腈和甲酸为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。牡丹皮药材来源见表 1。

表 1 牡丹皮药材来源信息

Tab 1 Source information of Moutan Cortex

样品	产地	收集日期
RMC-01	河北保定	2012-12-04
RMC-02	山东邓州	2012-12-20
RMC-03	安徽亳州	2013-03-04
RMC-04	海南海口	2013-03-26
RMC-05	河南洛阳	2013-04-29
RMC-06	山东菏泽	2013-05-01
RMC-07	四川雅安	2013-05-13
RMC-08	安徽铜陵	2013-05-06
RMC-09	广东汕头	2013-05-17
RMC-10	湖南郴州	2013-05-03

2 方法与结果

2.1 牡丹皮和牡丹皮炭样品的制备

2.1.1 牡丹皮饮片样品的制备 取牡丹皮药材,迅速洗净,润后切薄片,晒干,粉碎过 5 号筛,即得。

2.1.2 牡丹皮炭饮片样品的制备 分别取一半的各批次牡丹皮样品,照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0213 中炒炭法^[15],并结合课题组前期优选的炮制工艺^[16]炒至样品表面呈黑褐色,内部黄褐色。取出,晾凉,粉碎过 5 号筛,即得(对应饮片样品编号为 PMC-01~PMC-10)。

2.2 牡丹皮炒炭前后颜色的色度空间参数测定

采用色彩色差计分别对牡丹皮样品和牡丹皮炭粉末进行客观评价。每批样品测定 5 次,取平均数。测定条件为光源 D_{65} ,标准观察角度 2° ,照明口径 50 mm,仪器误差(ΔE^*ab)在 0.8 以内,重复性标准偏差(ΔE^*ab)在 0.07 以内,以色度空间参数 L^* 、 a^* 、 b^* 进行色泽量化,总色差值(E^*ab)= $[(L^*)^2+(a^*)^2+(b^*)^2]^{1/2}$ 。

2.2.1 精密度考察 取样品 RMC-01 适量,在同一时间点测量颜色的色度空间参数,重复测量 5 次,取平均值。结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的 RSD 分别为 0.07%、0.67% 和 0.14% ($n=5$),表明仪器精密良好。

2.2.2 在不同界光亮强度下的稳定性考察 取样品 RMC-01 适量,置于同一装载容器内,分别在同一天的不同时间点(8:30、11:30、14:30、17:30、20:30)测量颜色的色度空间参数,每个时间点重复测量 5 次,取平均值。

结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的RSD分别为0.92%、2.73%和2.01% ($n=5$),表明外界光强度对试验结果影响较小。

2.2.3 样品稳定性考察 取样品RMC-01适量,置于同一装载容器内,分别放置0、1、2、3、4、5 d后测量颜色的色度空间参数,每次重复测量5次,取平均值。结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的RSD分别为1.14%、2.76%和2.21% ($n=5$),表明样品5 d内稳定性良好。

2.2.4 牡丹皮及牡丹皮炭饮片颜色的色度空间参数测定 分别取10批牡丹皮和牡丹皮炭饮片,按“2.2”项下方法操作,测定各样品颜色的色度空间参数,结果见表2。

表2 牡丹皮和牡丹皮炭粉末的颜色信息

Tab 2 Color information of Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal

样品编号	L^*		a^*		b^*		E_{ab}	
	RMC	PMC	RMC	PMC	RMC	PMC	RMC	PMC
01	57.78	37.07	1.50	4.43	5.31	5.08	58.04	37.68
02	49.58	35.14	3.47	3.53	5.82	2.27	50.04	35.39
03	51.93	35.62	3.87	3.92	6.97	3.58	52.54	36.01
04	47.76	35.61	3.57	3.74	5.93	3.62	48.26	35.99
05	58.38	36.68	1.54	4.40	5.40	4.76	58.65	37.25
06	49.73	36.80	3.36	4.18	5.95	4.73	50.20	37.34
07	56.67	37.47	2.20	4.59	6.45	5.52	57.08	38.15
08	49.65	35.87	4.11	4.01	7.57	4.09	50.39	36.32
09	56.41	36.31	2.21	4.31	6.78	4.03	56.86	36.79
10	53.22	35.73	3.82	4.00	7.84	3.72	53.93	36.15

2.2.5 牡丹皮和牡丹皮炭颜色差异性分析 将样本分为牡丹皮组和牡丹皮炭两组,采用SPSS 21.0软件进行相关分析。由于测得的牡丹皮和牡丹皮炭颜色的色度空间参数数据不完全符合多元正态性和方差齐性分布,故选择KruskaWallis H 秩和检验进行分析。以牡丹皮和牡丹皮炭分类作为分组变量,牡丹皮和牡丹皮炭的 L^* 、 a^* 、 b^* 为检验变量,经KruskaWallis H 检验发现,牡丹皮和牡丹皮炭 L^* 、 a^* 、 b^* 的 χ^2 值分别为14.286、9.143、13.166(P 均 <0.01),拒绝 H_0 ,接受 H_1 ,可认为二者间颜色有显著性差异。

2.2.6 牡丹皮和牡丹皮炭颜色判别分析 将样本分为牡丹皮组和牡丹皮炭两组,以组别为分组变量,测得的牡丹皮和牡丹皮炭颜色的色度空间参数为自变量,并且作为训练集样本。采用SPSS 21.0软件建立以 L^* 、 a^* 、 b^* 为输入的判别两组的判别函数。再用训练集样本回代^[17-18],对判别函数进行验证。由组间均值相等性检验结果可知,自变量 L^* 、 a^* 、 b^* 的 P 均 <0.01 ,表明在判别函数中 L^* 、 a^* 、 b^* 均有统计学意义, L^* 、 a^* 、 b^* 的 λ 值(反映组间差异程度, λ 值越接近0,组间差异越显著)分别为0.092、0.603、0.364,其中 L^* 的 λ 值最接近0,故可认为 L^* 判别更有意义。由Wilk's Lambda检验结果建立了典型判别函数, λ 值为0.045, $P=0$,判别函数有统计学意义,标准化典型判别函数 $=2.794 \times L^* + 2.839 \times a^* - 1.421 \times b^*$,非标准化典型判别函数 $=0.987 \times L^* + 3.816 \times a^* - 1.575 \times b^* - 49.308$ 。

将样本数据代入非标准化典型判别函数,得到各样本的函数值,函数值大于0的样本,判到“牡丹皮”,反之判到“牡丹皮炭”。Fisher的线性判别式函数分别为牡丹皮 $=71.904 \times L^* + 334.979 \times a^* - 159.175 \times b^* - 1895.500$,牡丹皮炭 $=63.282 \times L^* + 301.656 \times a^* - 145.960 \times b^* - 1464.970$,将样本数据代入两个线性判别式函数中,得出两个函数值,将样本判入所得函数值较大的分组中。

2.3 多成分含量测定

2.3.1 样品溶液的制备 准确称量样品粉末0.5 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,加50%甲醇50 mL,室温超声(功率:300 W,频率:50 kHz)提取30 min,然后以20 000 r/min离心10 min,取上清液转移至100 mL量瓶中,加50%甲醇定容并摇匀,0.22 μ m微孔滤膜滤过,即得。

2.3.2 色谱条件 参考本课题组前期测定牡丹皮炮制前后化学成分(没食子酸、5-HMF、儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)含量的条件和方法^[9],色谱条件如下:色谱柱为Ultimate TM XB-C₁₈(250 mm \times 4.6 mm,5.0 μ m);流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)(V/V),梯度洗脱(0~30 min,5% \rightarrow 15% A;30~60 min,15% \rightarrow 50% A;60~70 min,50% \rightarrow 95% A);检测波长为254 nm;柱温为30 $^{\circ}$ C;流速为1.0 mL/min;进样量为10 μ L。

2.3.3 方法学考察 按照相关方法进行方法学考察。结果显示,10个成分的标准曲线方程的相关系数 R^2 均 >0.999 1;检测限和定量限范围分别为2.4~37.5 ng和0.011~0.258 2 μ g;在精密度试验中,日内、日间的RSD分别为0.16%~1.97%、0.39%~2.06% ($n=6$);在稳定性试验中,峰面积的RSD均 $<3.0\%$ ($n=6$);平均回收率为91.8%~109.5%,RSD均 $<5.0\%$ ($n=6$)。结果表明,该方法准确、可行。

2.3.4 牡丹皮及牡丹皮炭饮片中10个有效成分含量的测定 取牡丹皮和牡丹皮炭饮片,按“2.3.1”项下方法制成样品溶液,按“2.3.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱,并计算各成分的含量,每个样品重复测定3次,结果见表3。

2.4 相关性分析

2.4.1 颜色与牡丹皮炒炭前后的Pearson相关性分析 将样本分为牡丹皮组和牡丹皮炭两组,以组别为自变量, L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab} 为因变量,利用SPSS 21.0软件对其进行Pearson相关性检验。结果,组别与 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab} 的相关性系数分别为-0.953、0.630、-0.797、-0.955,双侧 P 均 <0.05 ,可认为牡丹皮炒炭前后与 L^* 、 b^* 、 E_{ab} 呈显著性负相关,而与 a^* 则呈显著性正相关。

2.4.2 颜色与有效成分含量的Pearson相关性分析 利用SPSS 21.0软件对牡丹皮和牡丹皮炭饮片中10个有效成分的含量与其色度空间参数 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E_{ab} 进行Pearson相关性分析,结果见表4。

表3 牡丹皮和牡丹皮炭粉末中10个有效成分含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab 3 Content of 10 kinds of effective components of Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal powder (mg/g, n=3)

编号	没食子酸	5-HMF	儿茶素	氧化芍药苷	芍药苷	槲皮素	苯甲酰芍药苷	异鼠李素	丹皮酚	山柰素
RMC-01	10.01±0.08	-	0.41±0.010	1.55±0.010	3.56±0.05	0.13±0.03	8.58±0.02	5.14±0.21	12.02±0.13	16.83±0.04
RMC-02	14.58±0.34	-	0.14±0.020	1.25±0.004	5.01±0.03	0.12±0.01	9.48±0.14	6.35±0.14	11.94±0.15	17.66±0.04
RMC-03	3.63±0.02	-	0.11±0.130	0.64±0.020	2.85±0.02	0.12±0.24	7.28±0.02	4.02±0.04	3.92±0.40	15.41±0.04
RMC-04	3.54±0.01	-	0.15±0.030	0.55±0.001	3.54±0.03	0.11±0.01	7.15±0.03	3.95±0.03	11.08±0.61	16.45±0.02
RMC-05	6.49±0.02	-	0.27±0.004	0.64±0.002	2.77±0.09	0.07±0.02	8.59±0.02	5.75±0.20	4.81±0.13	16.83±0.19
RMC-06	12.31±0.01	-	0.11±0.010	1.08±0.003	3.95±0.03	0.14±0.01	7.51±0.01	4.61±0.41	11.07±0.21	15.65±0.02
RMC-07	10.82±0.07	-	0.11±0.010	0.90±0.010	3.87±0.04	0.12±0.03	7.19±0.10	4.28±0.40	11.05±0.20	15.26±0.04
RMC-08	2.54±0.02	-	0.19±0.001	0.98±0.001	6.10±0.03	0.12±0.01	8.62±0.06	3.98±0.12	11.81±0.72	16.88±0.04
RMC-09	3.56±0.04	-	0.14±0.020	1.03±0.030	4.23±0.13	0.12±0.32	7.32±0.05	3.85±0.02	11.32±0.14	15.21±0.03
RMC-10	3.25±0.02	-	0.24±0.010	0.73±0.230	3.21±0.02	0.12±0.05	8.02±0.06	5.32±0.15	10.24±0.20	15.34±0.10
PMC-01	14.87±0.02	14.15±0.01	-	0.55±0.350	2.53±0.03	-	1.65±0.35	2.32±0.03	2.75±0.14	8.26±0.05
PMC-02	10.61±0.13	5.08±0.03	-	0.53±0.120	2.13±0.07	-	2.64±0.23	-	3.40±0.13	8.04±0.04
PMC-03	4.01±0.23	7.89±0.03	-	0.53±0.040	-	-	2.03±0.16	1.53±0.37	4.25±0.08	8.23±0.12
PMC-04	13.03±0.04	13.07±0.22	-	0.54±0.360	-	-	2.32±0.36	1.46±0.03	3.80±0.04	-
PMC-05	8.44±0.14	6.32±0.05	0.083±0.020	-	2.13±0.07	-	2.64±0.05	-	2.95±0.01	-
PMC-06	10.28±0.04	5.52±0.12	0.079±0.023	-	-	-	2.35±0.07	1.83±0.04	5.14±0.42	8.01±0.05
PMC-07	9.77±0.03	7.71±0.05	0.078±0.080	-	2.08±0.14	-	2.16±0.08	1.17±0.07	3.88±0.15	7.66±0.04
PMC-08	4.90±0.03	11.23±0.34	-	-	2.09±0.04	-	2.75±0.24	1.06±0.09	4.46±0.02	8.92±0.03
PMC-09	12.25±0.01	14.19±0.04	0.078±0.010	0.64±0.020	2.07±0.05	-	1.34±0.05	1.15±0.18	4.40±0.04	7.98±0.23
PMC-10	8.63±0.21	5.82±0.32	-	-	-	-	3.21±0.05	2.16±0.45	5.03±0.42	7.64±0.02

注:-代表未检出

Note:- means not detected

表4 牡丹皮和牡丹皮炭中10个有效成分含量与L*、a*、b*、E*ab的相关性分析结果

Tab 4 Correlation analysis of effective components contents in Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal with L*, a*, b* and E*ab

色差空间参数	统计结果	没食子酸	5-HMF	儿茶素	氧化芍药苷	芍药苷	槲皮素	苯甲酰芍药苷	异鼠李素	丹皮酚	山柰素
L*	相关系数r	-0.293	-0.816**	0.812**	0.734**	0.708**	0.911**	0.926**	0.886**	0.740**	0.849**
	P	0.210	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
a*	相关系数r	0.072	0.563**	-0.660**	-0.630**	-0.343	-0.563*	-0.635**	-0.610**	-0.500*	-0.565**
	P	0.764	0.010	0.002	0.003	0.138	0.010	0.003	0.004	0.025	0.009
b*	相关系数r	-0.411	-0.648**	0.580*	0.442	0.721**	0.801**	0.743**	0.714**	0.0650**	0.687**
	P	0.072	0.002	0.007	0.051	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.001
E*ab	相关系数r	-0.298	-0.816**	0.812**	0.731**	0.713**	0.913**	0.927**	0.887**	0.741**	0.851**
	P	0.203	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:*表示在0.05水平(双侧)上显著相关;**表示在0.01水平(双侧)上显著相关

Note:* means the correlation was significant at the 0.05 level (bilateral); ** means the correlation was significant at the 0.01 level (bilateral)

从表4可以看出,牡丹皮和牡丹皮炭饮片中除了没食子酸外,其他成分含量均与颜色的色度空间参数有显著相关性。其中,儿茶素、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚和山柰素含量与L*、b*、E*ab存在显著性正相关关系,与a*存在显著性负相关关系;5-HMF含量与L*、b*、E*ab存在极显著性负相关关系,与a*存在极显著性正相关关系;芍药苷含量与L*、b*、E*ab存在极显著性正相关关系,与a*无相关性;氧化芍药苷含量与L*、E*ab存在极显著性正相关关系,与a*存在极显著性负相关关系,与b*无相关性。

2.4.3 颜色与有效成分含量的线性回归分析 以牡丹皮和牡丹皮炭饮片中10种有效成分含量为自变量,色度空间参数L*、a*、b*、E*ab为因变量,利用SPSS 21.0软件进行线性回归分析。结果,自变量与颜色的色度空间参

数L*、a*、b*和E*ab的决定系数R²分别为0.919、0.663、0.949、0.922,说明颜色的色度空间参数受有效成分含量的影响程度分别为91.9%、66.3%、94.9%、92.2%,这表明牡丹皮和牡丹皮炭饮片的颜色与有效成分含量的相关性较大,即10种有效成分含量可以解释颜色色度空间参数的66.3%~94.9%,结果见表5。

表5 牡丹皮和牡丹皮炭饮片的L*、a*、b*、E*ab模型汇总
Tab 5 Model of L*, a*, b*, E*ab of Moutan Cortex and Moutan Cortex charcoal decoction pieces

色度空间参数	决定系数R ²	调整R ²	标准估计的误差
L*	0.919	0.829	3.759
a*	0.663	0.290	0.786
b*	0.949	0.892	0.477
E*ab	0.922	0.835	3.689

2.4.4 牡丹皮炒炭前后与有效成分含量的相关性 将

样本分为牡丹皮组和牡丹皮炭两组,以组别为自变量,10个有效成分含量为因变量,采用SPSS 21.0软件对其进行Pearson相关性分析。结果显示,牡丹皮炒炭前后与10个有效成分(没食子酸、5-HMF、儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)的相关系数 r 分别为0.328($P>0.05$)、0.859($P<0.01$)、-0.742($P<0.01$)、-0.751($P<0.01$)、-0.788($P<0.01$)、-0.979($P<0.01$)、-0.974($P<0.01$)、-0.910($P<0.01$)、-0.819($P<0.01$)、-0.898($P<0.01$)。由 r 值可以看出,10个成分中除了没食子酸外,其他成分的含量与牡丹皮炒炭前后均具有显著相关性,其中5-HMF含量呈显著性正相关,其余8个成分(儿茶素、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)均呈显著负相关。

3 讨论

本研究通过对牡丹皮和牡丹皮炭饮片粉末的颜色色度空间参数进行测定和分析,发现牡丹皮炒炭前后与色度空间参数 L^* 、 a^* 、 b^* 、 E^*ab 均有显著相关性,与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 呈显著性负相关,与 a^* 则呈显著性正相关。将牡丹皮炒炭前后颜色色度空间参数与其主要有效成分的含量进行相关性分析,发现除5-HMF含量与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 存在极显著性负相关关系,与 a^* 存在极显著性正相关关系外;其他绝大多数成分(儿茶素、槲皮素、苯甲酰芍药苷、异鼠李素、丹皮酚、山柰素)含量均与 L^* 、 b^* 、 E^*ab 存在显著性正相关关系,与 a^* 存在显著性负相关关系。以上结果说明,可以通过饮片颜色区分牡丹皮的不同炮制品,同时牡丹皮不同炮制品颜色与其药效成分含量具有显著的相关性。故利用色差计将主观颜色进行数字化、精确化、客观化,并结合HPLC法对多个有效成分含量测定,建立的牡丹皮饮片的颜色与多个有效成分含量之间的相关性评价技术,可快速、准确地判定牡丹皮和牡丹皮炭饮片质量,这不仅可为中药材及饮片进行精确客观的质量控制提供科学依据,也有利于规范中药材及饮片流通使用中的质量控制,促进中药材及饮片市场的健康发展。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:172.
 [2] 贾天柱. 中药炮制学[M].上海:上海科学技术出版社,2008:150.
 [3] 焦梦姣,邓哲,章军,等.含挥发性成分中药饮片标准汤剂的制备和质量标准研究:以牡丹皮为例[J].中国中药杂

志,2018,43(5):891-896.
 [4] 王超儿.牡丹皮炒炭前后黄酮类成分含量的变化[J].中国中医药科技,2017,24(3):306-307.
 [5] 张容华,王锐,高雯,等.牡丹皮不同炮制品UPLC指纹图谱及多成分含量测定研究[J].广东药科大学学报,2017,33(3):336-341.
 [6] 胡云飞,徐倩,徐国兵,等.牡丹皮炒制前后UPLC特征指纹图谱比较[J].中国药房,2015,26(6):800-802.
 [7] 李薇,王远亮,蔡绍哲,等.丹皮酚和阿司匹林对大鼠血液流变性的比较[J].中草药,2000,31(1):29-31.
 [8] 刘振丽,宋志前,巢志茂,等. HPLC测定何首乌中抗氧化有效成分没食子酸和儿茶素在炮制前后含量的变化[J].中成药,2009,31(9):1392-1394.
 [9] DENG XM, YU JY, DING MJ, et al. Liquid chromatography-diode array detector-electrospray mass spectrometry and principal components analyses of raw and processed Moutan Cortex[J]. *Pharmacogn Mag*, 2016, 12(45): 50-56.
 [10] 耿放,王喜军. 5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF)在中药复方中的研究现状及相关药效探讨[J].世界科学技术:中医药现代化,2005,7(6):52-56.
 [11] 宿莹,李翟,侯晓琳,等.基于色差原理分析龙胆有效成分含量与颜色的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(13):151-156.
 [12] 徐珍珍,史星星,樊旭蕾,等.基于色差原理分析木香有效成分含量与颜色值的相关性[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(13):17-21.
 [13] 孙向东,王乐凯,任红波,等.色彩色差计在面粉色泽测定上的应用[J].粮油食品科技,2002,10(2):31-33.
 [14] 万超,于定荣,刘颖,等.醋延胡索饮片颜色与其内在质量的相关性分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(12):145-150.
 [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:31.
 [16] 朱琼花,莫毛燕,孟江,等. Box-Behnken响应面法优化牡丹皮炭炮制工艺[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14):12-15.
 [17] 梁乙川,郭换,刘素娟,等.基于颜色变化的麸炒白术最佳炮制火候的客观量化判别[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(6):12-15.
 [18] 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.

(收稿日期:2019-03-08 修回日期:2019-05-20)

(编辑:林 静)