

## 滇黄精酒制过程中颜色与5种成分含量变化的相关性分析

王帅<sup>1</sup>, 王丽丽<sup>2</sup>, 房娟娟<sup>3</sup>, 刘坤琳<sup>1</sup>, 王英姿<sup>4</sup>, 张超<sup>1\*</sup>

(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 济南 250103;  
3. 山东省食品药品审评查验中心, 济南 250014; 4. 北京中医药大学, 北京 100102)

**[摘要]** 目的:研究滇黄精酒制过程样品粉末外观颜色与5个非糖类成分含量的关联性,确定颜色量化值用于判断酒黄精炮制终点的可行性,从甾体皂苷和黄酮类成分中筛选滇黄精酒制过程控制标志物。方法:利用色差仪量化滇黄精酒制不同时间点样品粉末的表观颜色变化,计算总色值( $E^*ab$ )、总色差值( $\Delta E^*ab$ ),采用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS)同时测定炮制0、5、10、14、16、18、20、22、24、26、28 h的酒黄精(编号S0~S10)中原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷的含量,利用多元统计方法对样品粉末色度值与5个成分含量进行聚类分析(HCA)、主成分分析(PCA)、偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)及Pearson相关性分析。结果:在滇黄精酒制过程中,样品粉末 $E^*ab$ 呈下降趋势,外观颜色由浅黄色向漆黑色变化;5个成分含量随时间动态变化趋势明显,且呈现出不同的变化规律。HCA结果显示,滇黄精酒制过程大致分为3个阶段,即炮制前期(样品S0~S1)、中期(样品S2~S4)和后期(样品S5~S10);PCA结果显示,初始样品与炮制过程样品的颜色、5个成分含量存在较大差异,样品S8和S9的差异最小;PLS-DA结果显示, $b^*$ 、伪原薯蓣皂苷含量、水仙苷含量、薯蓣皂苷元含量和原薯蓣皂苷含量的变量重要性投影(VIP)值均>1;Pearson相关性分析结果显示,原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷和水仙苷的含量与 $E^*ab$ 呈显著正相关( $P<0.01$ ),薯蓣皂苷元含量与 $E^*ab$ 呈显著负相关( $P<0.01$ ),而伪原薯蓣皂苷含量与 $E^*ab$ 无线性相关。结论:在滇黄精酒制过程中,颜色量化值与化学成分之间存在一定的相关性,且能客观判定酒黄精的炮制终点,可考虑将原薯蓣皂苷作为滇黄精酒制过程控制的标志物。

**[关键词]** 滇黄精; 酒制; 色度值; 原薯蓣皂苷; 薯蓣皂苷元; 水仙苷; 多元统计分析

**[中图分类号]** R22;R28;R943.1;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)21-0156-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220252 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220126.0924.001.html>

**[网络出版日期]** 2022-01-27 12:11

### Correlation Analysis Between Color and Content Changes of Five Components of Wine-processed *Polygonatum kingianum* Rhizoma During Processing

WANG Shuai<sup>1</sup>, WANG Lili<sup>2</sup>, FANG Juanjuan<sup>3</sup>, LIU Kunlin<sup>1</sup>, WANG Yingzi<sup>4</sup>, ZHANG Chao<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;  
2. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co. Ltd., Jinan 250103, China;  
3. Shandong Center for Food and Drug Evaluation&Inspection, Jinan 250014, China;  
4. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the correlation between the appearance color of the sample powder and the contents of five non-sugar components of wine-processed *Polygonatum kingianum* rhizoma during processing, and determine the feasibility of color quantitative value for judging the processing end point of the wine-processed products, and to screen steroidal saponins and flavonoids as markers for the control of the wine-

**[收稿日期]** 2021-11-02

**[基金项目]** 国家中医药管理局全国中医药创新骨干人才培养项目(国中医药人教函[2019]128号);山东省重点研发计划项目(2019GSF108171);山东省中医药科技发展计划项目(2019-0028);国家自然科学基金项目(81603298)

**[第一作者]** 王帅,在读硕士,从事中药新药与中药炮制原理研究,E-mail:1747403648@qq.com

**[通信作者]** \*张超,博士,教授,从事中药新药与中药炮制原理研究,Tel:0531-89628590,E-mail:tougaotcm@163.com

processed products during processing. **Method:** The changes of apparent color of the sample powder at different time points of the wine-processed products were measured by colorimeter, and the total color value ( $E^*ab$ ), the total color difference value ( $\Delta E^*ab$ ) were calculated. The contents of protodioscin, pseudoprotodioscin, dioscin, diosgenin and narcissoside in the wine-processed products (No. S0-S10) after processing for 0, 5, 10, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 h were determined simultaneously by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) and Pearson correlation analysis were used to analyze the chromaticity value of the sample powder and the content of the five components. **Result:** During processing of wine-processed *P. kingianum* rhizoma,  $E^*ab$  of the sample powder showed a decreasing trend and the apparent color changed from light yellow to lacquer black. The contents of the five components showed an obvious dynamic change trend with time, and showed different laws. HCA results showed that the processing process of the wine-processed products could be divided into three stages, namely, the early stage (samples S0-S1), the middle stage (samples S2-S4) and the late stage (samples S5-S10). PCA results showed that there were significant differences in color and contents of five components between the initial sample and the processing samples, and the difference between samples S8 and S9 was the smallest. PLS-DA results showed that the variable importance in the projection (VIP) values of  $b^*$ , the contents of pseudoprotodioscin, narcissoside, diosgenin and protodioscin were  $>1$ . Pearson correlation analysis showed that the contents of protodioscin, diosgenin and narcissoside had a significant positive correlation with  $E^*ab$  ( $P<0.01$ ), the content of diosgenin had a significant negative correlation with  $E^*ab$  ( $P<0.01$ ), while the content of pseudoprotodioscin had no linear correlation with  $E^*ab$ . **Conclusion:** In the process of wine-processed *P. kingianum* rhizoma, there is a certain linear correlation between color quantitative value and chemical composition, and the processing end point can be determined objectively. It can be considered that protodioscin can be used as a marker for the control of the wine-processed products.

**[Keywords]** *Polygonatum kingianum* rhizoma; wine-processed; chromatic value; protodioscin; diosgenin; narcissoside; multivariate statistical analysis

黄精是一种百合科多年生草本植物,是我国重要的药食同源性中药,具有补气养阴、健脾、润肺、益肾的功效<sup>[1]</sup>。其在2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)共收录3种基原,即黄精 *Polygonatum sibiricum*、滇黄精 *P. kingianum*、多花黄精 *P. cyrtoneura*。滇黄精主产于贵州、云南等地,主要含有糖类、皂苷类、黄酮类等成分<sup>[1-4]</sup>。黄精生品具麻味,刺人咽喉,易引发过敏反应,而炮制后黄精入口甘甜,无刺激性和致敏性,故多以炮制品入药。

黄精酒制后多糖含量降低,这在2020年版《中国药典》(一部)黄精生品、炮制品的含量测定项中亦有体现。黄精酒制过程中黏液质等多糖发生水解,生成果糖、葡萄糖等单糖,寡糖如棉子糖(三糖)和水苏糖(四糖)在黄精酒制过程中亦可生成葡萄糖、果糖等单糖;同时,单糖又可与氨基酸类成分发生美拉德反应,从而导致果糖、葡萄糖等单糖含量先增加后减少<sup>[5-6]</sup>。但黄精酒制过程中其他非糖类成分如甾体皂苷和黄酮的变化规律尚未见报道;黄

精酒制对其甾体皂苷和黄酮类成分产生何种影响,这两类成分能否用于黄精炮制工艺的考察和质量控制亦尚不明确。

酒黄精炮制工艺研究的关键在于把握其炮制程度,2020年版《中国药典》(一部)“酒黄精”项下仅描述为“炖透或蒸透”;《中药炮制学》中描述为“色泽黑润,口尝无麻味”<sup>[7]</sup>。可见,关于酒黄精的炮制终点,多依靠主观判断,缺少客观参数,在实际生产中易导致炮制品质量不一,难以有效控制酒黄精饮片的质量。当前,色差分析技术可实现中药饮片及粉末颜色的客观量化,且已应用于中药饮片炮制工艺和质量控制研究<sup>[8-10]</sup>。

因此,本实验拟借助色差仪客观量化酒黄精的表观颜色,选择存在对应转化关系的甾体皂苷(原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元)及具有可测性的黄酮类成分水仙苷为指标,运用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS)考察其在滇黄精酒制过程中的变化规律,利用多元统计

分析技术对色度值与5种非糖类成分进行聚类分析(HCA)、主成分分析(PCA)、偏小二乘法-判别分析(PLS-DA)及Pearson相关性分析,以期确证通过颜色量化值和非糖类成分含量确定滇黄精酒制终点的可行性,从而保证酒黄精饮片质量的均一性、可控性,既可为酒黄精的炮制过程控制提供科学依据,又可为黄精不同炮制品的质量控制提供参考。

### 1 材料

WF30-16 mm型色彩色差仪(深圳市威福光电科技有限公司),Scientz-10N型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司),1290型超高效液相色谱仪和6470型三重四级杆质谱仪[配备标准电喷雾离子源(ESI),MassHunter色谱工作站]均购自美国Agilent公司,MS105DU型1/10万电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],BJ-150型高速多功能粉碎机(德清拜杰电器有限公司)。

原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元、水仙苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为111937-201201、111855-201403、111707-201703、111539-200001、111997-201501,纯度均>92%),黄酒(浙江绍兴女儿红酿酒有限公司,批号

Q/SNH0020S,酒精度14.0%),水为超纯水,乙腈、甲酸为质谱纯,乙醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。滇黄精药材采自云南省怒江傈僳族自治州泸水市,经山东中医药大学中药鉴定教研室张芳教授鉴定为百合科植物滇黄精*P. kingianum*的新鲜根茎。

### 2 方法与结果

**2.1 滇黄精的酒制** 取鲜滇黄精,大小分档,除去杂质,洗净;取净黄精1.5 kg[(60±5)g/块],置不锈钢盆中,照[2020年版《中国药典》(四部)通则0213]酒炖法隔水炖制,蒸锅功率1 kW,分别于0、5、10、14、16、18、20、22、24、26、28 h中断计时,取出滇黄精,在最短时间内从每块滇黄精两端各切1片,每片厚约2 mm,称湿重,约100 g,剩余部分继续炖制,圆汽后继续计时。上述每个时间点样品依次记为S0~S10(平行制作3份),干燥,粉碎,过三号筛,即得不同炖制时间点的酒黄精样品粉末。

**2.2 滇黄精酒制过程中样品的外观性状观察** 取S0~S10样品,观察其外观性状,并邀请中药炮制工参与外观性状的判断和描述,一致认为样品S8和S9最符合传统的酒黄精炮制程度描述,即该规格滇黄精加入黄酒后需炖制24~26 h。见图1和表1。



图1 滇黄精在酒制过程中的外观颜色变化

Fig. 1 Changes of apparent color of samples of wine-processed *Polygonatum kingianum* rhizoma in processing

**2.3 滇黄精酒制过程中样品的色度值测定** 色差计测定条件为光源D65,标准观察角10°,照明口径16 mm。色差计经比色板校准后,将各样品粉末分别置于粉末测试盒中进行测定,记录色度值数据 $L^*$ (明暗度)、 $a^*$ (红绿色值)、 $b^*$ (黄蓝色值)。每份样品平行测定5次,取平均值,计算总色值( $E^*ab$ )和总色差值( $\Delta E^*ab$ ),计算公式为 $E^*ab = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ , $\Delta E^*ab = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$ ,见表2。结果表明在滇黄精酒制过程中,随着炮制时间的延长,样品粉末的 $L^*$ 、 $E^*ab$ 呈下降趋势,表明样品外观颜色变化明

显,亮度由明至暗; $a^*$ 、 $b^*$ 呈先升高后降低趋势,提示样品粉末外观颜色由浅黄色逐渐加深过渡为红棕色,然后红色、黄色逐渐减退,最后呈现黑褐色至漆黑色,这与图1和表1的外观颜色观察结果一致。按照CIELAB均匀色空间系统理论,当 $\Delta E^*ab > 12$ 时,其色差可被人眼识别<sup>[8]</sup>。可见,炖制10 h之后的样品与生品在颜色上通过肉眼均可识别出差异,但样品S5~S10的 $\Delta E^*ab$ 约相差4个色差单位,靠肉眼区分S5~S10样品颜色上的差别有一定难度,除非具有非常丰富的炮制经验。

表1 滇黄精酒制过程中样品的外观颜色、气味及口感

Table 1 Appearance color, smell and taste of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

样品编号	外观颜色	气味	口感
S0	浅黄	微香	麻舌刺喉
S1	金黄	微香	微苦、微麻舌
S2	棕黄	清香	甜中带苦
S3	红棕	清香	甜中带微苦
S4	棕褐	清香	甜中带微苦
S5	黑褐	香甜	甜中带微苦
S6	黑褐	香甜	甜中带微苦
S7	黑褐	香甜	甜
S8	漆黑	浓香	甜
S9	漆黑	浓香	甜
S10	漆黑	浓香	甜中带微酸

表2 滇黄精酒制过程中样品的色度值变化( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Changes of chromatic values in samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

样品编号	色度值				$\Delta E^*ab$
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$	
S0	58.88±2.61	4.04±0.25	13.64±0.65	60.57±2.63	-
S1	50.66±2.53	6.41±0.63	21.13±1.45	55.32±1.82	11.88±4.02
S2	41.13±2.40	10.34±0.73	24.33±1.00	48.92±2.08	21.83±1.26
S3	37.12±1.67	10.96±0.70	22.83±1.48	44.95±2.01	24.87±3.16
S4	36.38±1.69	10.57±0.67	21.62±1.18	43.63±1.87	24.95±2.68
S5	34.10±1.64	10.52±0.81	19.88±1.15	40.86±1.84	26.50±3.71
S6	34.10±1.72	10.07±0.73	19.18±1.52	40.47±0.55	26.10±4.47
S7	31.02±2.64	9.56±0.55	16.93±0.87	36.66±2.16	28.65±4.97
S8	31.69±1.59	10.12±0.63	19.01±0.89	38.33±1.50	28.47±3.22
S9	30.92±1.93	9.88±0.41	17.49±1.56	36.89±2.23	28.94±4.16
S10	29.05±1.70	8.69±0.82	16.09±1.51	34.40±0.53	30.31±4.42

## 2.4 滇黄精酒制过程中5个成分的含量测定

**2.4.1 对照品溶液的制备** 取原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷对照品适量,精密称定,用70%乙腈制成质量浓度分别为500、500、510、200、100 mg·L<sup>-1</sup>的对照品储备液。精密量取上述5个对照品储备液适量,置10 mL量瓶中,加70%乙腈稀释至刻度,摇匀,制成原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷质量浓度分别为4 000、2 000、1 020、100、40 μg·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。

**2.4.2 供试品溶液的制备** 取样品粉末1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇20 mL,

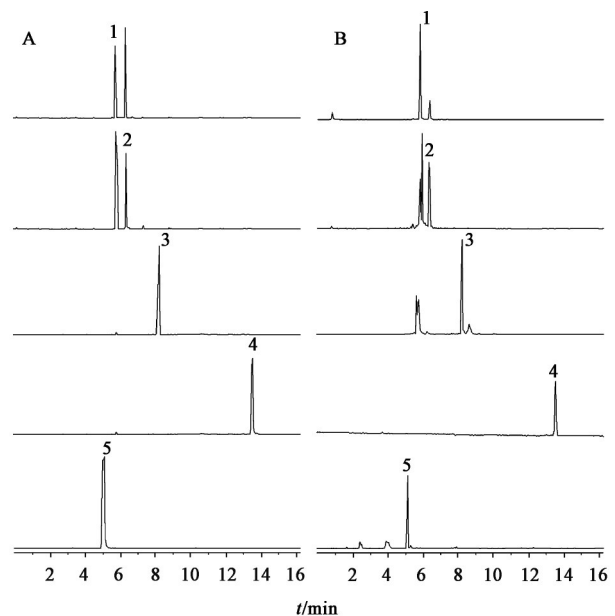
浸泡30 min后超声30 min(250 W, 40 kHz),放冷,摇匀,抽滤,重复上述操作1次,合并2次滤液,加70%乙醇定容至50 mL,经0.22 μm滤膜滤过,即得。

**2.4.3 检测条件** 色谱条件为Halo<sup>®</sup> C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.7 μm),流动相0.1%甲酸(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~0.5 min, 15%~20%B; 0.5~2 min, 20%~35%B; 2~4 min, 35%~50%B; 4~6 min, 50%~90%B; 6~7 min, 90%~100%B; 7~20 min, 100%B),流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量3 μL,柱温30 ℃。质谱条件为ESI,正离子模式扫描,采用多反应监测(MRM)模式,毛细管电压4 kV,干燥器温度325 ℃,干燥器流速10 L·min<sup>-1</sup>,雾化器压力30 psi(1 psi≈6.89 kPa)。5个成分的MS信息见表3,离子流图见图2。

表3 5个指标成分的MS检测参数

Table 3 MS parameters of five components

成分	监测离子对 $m/z$	碎裂电压/V	碰撞能量/V
原薯蓣皂苷	1 031.5/869.2	255	30
伪原薯蓣皂苷	1 031.4/869.7	250	30
薯蓣皂苷	891.4/745.0	260	68
薯蓣皂苷元	415.3/271.3	120	15
水仙苷	625.0/317.0	125	12



注:A.混合对照品;B.供试品;1.原薯蓣皂苷;2.伪原薯蓣皂苷;3.薯蓣皂苷;4.薯蓣皂苷元;5.水仙苷

图2 滇黄精酒制过程中样品的UHPLC-MS/MS总离子流

Fig. 2 UHPLC-MS/MS total ion chromatograms of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

**2.4.4 方法学考察** 精密吸取2.4.1项下混合对照品溶液适量,加70%乙腈稀释,制成不同质量浓度

的系列混合对照品溶液,按2.4.3项下条件测定,以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。将混合对照品溶液逐步

稀释,分别以信噪比(S/N)=10、S/N=3对应的各组分质量浓度为定量限(LOQ)和检测限(LOD),见表4。

表4 滇黄精酒制过程样品中5个成分的线性关系考察

Table 4 Investigation of linear relationship of five components in samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

成分	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$R^2$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
原薯蓣皂苷	$Y=1.4305X+9.0862$	62.5~4000	0.9999	6.25	2.39
伪原薯蓣皂苷	$Y=0.9053X+1.0000$	31.25~2000	0.9995	7.52	3.17
薯蓣皂苷	$Y=3.0436X-0.2126$	15.9375~1020	0.9995	5.79	2.35
薯蓣皂苷元	$Y=6.3979X-1.5115$	1.5625~100	0.9996	1.29	0.81
水仙苷	$Y=23.536X+4.4023$	0.625~40	0.9998	0.51	0.32

精密吸取混合对照品溶液适量,按2.4.3项下条件连续测定6次,计算原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为2.0%、2.9%、1.9%、2.1%和2.6%,表明仪器精密度良好。取同一供试品溶液(S4)适量,分别于制备后0、2、4、8、12、24h按2.4.3项下条件测定,计算原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷峰面积的RSD分别为2.7%、2.8%、2.1%、3.1%和2.9%,表明供试品溶液在24h内稳定性良好。取同批样品(S4)1.0g,共6份,精密称定,按2.4.2项下方法制备供试品溶液,按2.4.3项下条件测定,计算原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷平均质量分数分别为28.06、57.07、21.30、0.22、0.18 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,RSD分别为2.9%、2.2%、2.5%、3.4%和2.6%,表明该方法重复性良好。取已知成分含量的样品粉末(S4)0.5g,精密称定,共6份,按对照品加入量与样品中待测成分质量比例为1:1加入原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷对照品适量,按2.4.2项下方法制备供试品溶液,按2.4.3项下条件测定,计算原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷的平均加样回收率分别为96.58%、97.74%、99.39%、95.80%和95.12%,RSD分别为2.3%、2.1%、2.2%、2.8%和3.6%。

**2.4.5 样品测定** 取样品S0~S10适量,按2.4.2项下方法制备供试品溶液,按2.4.3项下条件测定,计算各样品中原薯蓣皂苷、伪原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣皂苷元和水仙苷的平均含量,结果见表5。

**2.5 多元统计分析** 将样品S0~S10的色度值参数及5个成分含量平均值导入SIMCA 14.1软件进行HCA和PCA处理,以找出酒黄精炮制终点。HCA结果显示,滇黄精酒制过程可以分为3个阶段,即炮

表5 滇黄精酒制过程样品中5个成分的质量分数( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Contents of five components in samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

样品编号	原薯蓣皂苷	伪原薯蓣皂苷	薯蓣皂苷	薯蓣皂苷元	水仙苷
S0	100.32±2.99	13.10±1.21	43.29±2.70	0.10±0.01	0.30±0.04
S1	103.02±2.25	24.48±1.88	31.51±2.48	0.12±0.02	0.32±0.03
S2	28.90±1.03	60.17±3.20	26.09±1.81	0.14±0.01	0.31±0.04
S3	20.57±0.52	65.17±3.04	22.49±1.39	0.23±0.03	0.29±0.03
S4	28.06±0.82	57.07±3.63	21.30±1.49	0.22±0.02	0.18±0.02
S5	18.16±0.32	40.34±1.68	22.24±1.51	0.27±0.02	0.12±0.01
S6	26.24±1.07	39.48±2.42	16.54±1.30	0.39±0.04	0.14±0.03
S7	18.88±0.39	31.90±1.80	17.72±1.29	0.37±0.03	0.11±0.02
S8	23.21±0.78	30.86±1.74	10.32±0.93	0.43±0.04	0.07±0.01
S9	28.16±0.63	35.21±2.51	11.82±1.01	0.41±0.04	0.06±0.01
S10	23.10±0.80	32.31±2.57	9.95±0.96	0.52±0.04	0.07±0.01

制前期(样品S0~S1)、中期(样品S2~S4)和后期(样品S5~S10),见图3;PCA结果显示,不同酒制时间的滇黄精与生品存在较大差异,如S5~S10与S0~S4之间的差异就很大,在PCA得分图上分属不同的象限;样品S5~S10之间的差异较小,在PCA得分图上的象限基本一致,见图4。提示随着炮制时间的延长,在黄精酒制后期,区分不同炮制时间点酒黄精的难度增大,即判断酒黄精的炮制终点较为困难,因为酒制后期不同样品之间的差异较小。在PCA得分图上样品S8和S9基本重合,提示在滇黄精酒制过程中,这2个炮制时间点的样品变化趋于一致,可作为酒黄精的炮制终点,这与中药炮制工根据传统标准判定的炮制终点一致。

将样品S0~S10的色度值参数及5个成分含量的3批原始数据导入SIMCA 14.1软件建立PLS-DA模型,其参数累积贡献率0.975,预测优度系数( $Q^2$ )

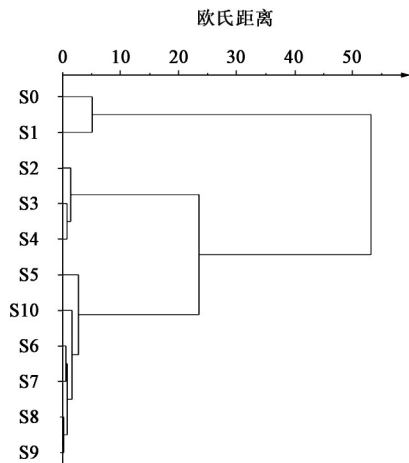


图3 滇黄精酒制过程样品的HCA  
Fig. 3 HCA of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

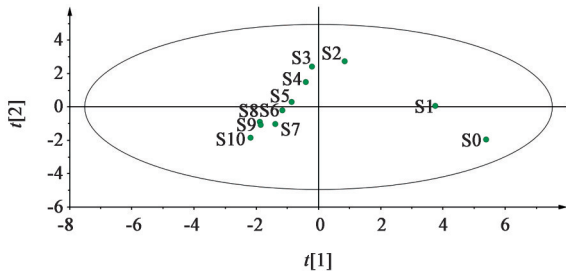


图4 滇黄精酒制过程样品的PCA得分  
Fig. 4 PCA score plot of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

为0.79,均>0.5,表明该模型为优质模型,可用于变量的预测;通过该模型预测得到5个变量重要性投影(VIP)值>1的变量,分别为 $b^*$ 、伪原薯蓣皂苷含量、水仙苷含量、薯蓣皂苷元含量和原薯蓣皂苷含量,五者的VIP值分别为1.270、1.189、1.089、1.078、1.002, $a^*$ 的VIP值亦接近于1,见图5。说明 $a^*$ 、 $b^*$ 是酒黄精炮制过程中的重要变量,如 $a^*$ 代表红绿色值,在黄精酒制过程中颜色先由浅黄变为红棕,然后转为黑褐, $a^*$ 呈现先升高后降低的变化; $b^*$ 亦呈现先升高后降低的变化,与黄精酒制过程中黄色先增强后减弱有关。可见,通过测定色度值可以预测酒黄精的炮制程度,色度值可作为判断酒黄精炮制程度的重要依据。同时,伪原薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷、水仙苷和薯蓣皂苷元4个成分的变化对区分不同炮制程度的酒黄精有较大贡献,鉴于水仙苷和薯蓣皂苷元在滇黄精中含量较低,可考虑将伪原薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷作为滇黄精酒制过程控制的标志物。

2.6 滇黄精酒制过程中 $E^*ab$ 及5个成分含量的变化规律 分别以 $E^*ab$ 和5个成分含量对炮制时间作图,见增强出版附加材料。结果发现在滇黄精酒制

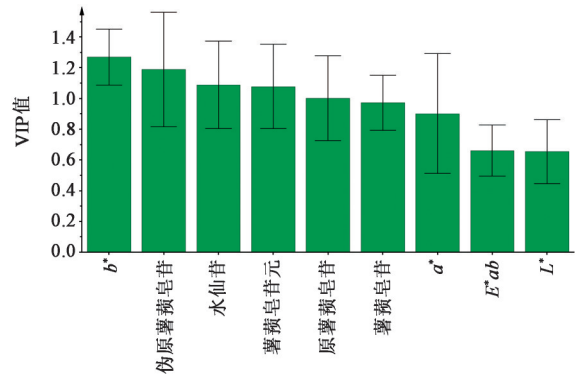


图5 滇黄精酒制过程样品的VIP值分析  
Fig. 5 VIP value analysis of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

过程中,随着炮制时间延长, $E^*ab$ 呈直线下降趋势,但在22~26 h, $E^*ab$ 变化不大,提示酒制黄精的炮制终点在22~26 h;原薯蓣皂苷、水仙苷、薯蓣皂苷含量呈下降趋势;伪原薯蓣皂苷含量呈先上升后下降趋势;薯蓣皂苷元含量逐渐增加。

2.7 Pearson相关性分析 利用SPSS 20.0对样品S0~S10的色度值参数与5个成分含量进行Pearson相关性分析,见表6。结果发现在酒黄精炮制过程中,原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷和水仙苷含量与 $E^*ab$ 呈显著正相关( $P<0.01$ ),薯蓣皂苷元含量与 $E^*ab$ 呈显著负相关( $P<0.01$ ),而伪原薯蓣皂苷含量与 $E^*ab$ 不存在线性相关,故建议将原薯蓣皂苷作为滇黄精酒制过程控制的标志物。在生产中通过实时动态检测酒黄精炮制过程中的颜色变化,可预测酒黄精化学成分的含量变化情况。

表6 滇黄精酒制过程样品色度值参数与5个成分的Pearson相关性分析

Table 6 Pearson correlation analysis between chromatic values and five component contents of samples of wine-processed *P. kingianum* rhizoma in processing

指标成分	相关系数			
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$E^*ab$
原薯蓣皂苷	0.914 <sup>2)</sup>	-0.915 <sup>2)</sup>	-0.261	0.863 <sup>2)</sup>
伪原薯蓣皂苷	-0.360	0.779 <sup>2)</sup>	0.822 <sup>2)</sup>	-0.219
薯蓣皂苷	0.956 <sup>2)</sup>	-0.710 <sup>1)</sup>	-0.035	0.957 <sup>2)</sup>
薯蓣皂苷元	-0.847 <sup>2)</sup>	0.425	-0.352	-0.909 <sup>2)</sup>
水仙苷	0.823 <sup>2)</sup>	-0.426	0.404	0.889 <sup>2)</sup>

注: <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$

### 3 讨论

3.1 酒制对滇黄精5个非糖类成分的影响 在滇黄精酒制过程中,随着炮制时间延长,水仙苷、薯蓣

皂苷含量呈下降趋势,薯蓣皂苷元含量逐渐增加,分析原因可能是薯蓣皂苷通过逐级脱糖的方式向薯蓣皂苷元转化<sup>[11]</sup>,水仙苷受热后水解为次级苷元及芸香糖<sup>[12]</sup>。另外,随炮制时间延长,原薯蓣皂苷含量呈下降趋势,伪原薯蓣皂苷含量呈先上升后下降趋势。推测原因可能是含有C-22-OH的原薯蓣皂苷,其C-22-OH性质活泼,在滇黄精酒制过程中发生脱羟基反应生成含有C-20-C-22双键的伪原薯蓣皂苷,伪原薯蓣皂苷自身又可发生脱糖反应生成次级皂苷<sup>[13]</sup>。有文献报道黄精炮制后薯蓣皂苷元的含量下降<sup>[14-15]</sup>,而本实验研究发现滇黄精酒制后薯蓣皂苷元含量升高,推测原因可能与供试品溶液制备方法不同有关。文献[14-15]在供试品溶液制备时,加入了适量盐酸进行水解,酸水解法不仅会使生黄精中薯蓣皂苷水解为薯蓣皂苷元,还会使酒黄精中薯蓣皂苷水解为薯蓣皂苷元,从而掩盖黄精炮制过程中薯蓣皂苷元含量变化的真实情况。

**3.2 颜色与成分含量的相关性分析** 在酒黄精炮制过程中,原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、水仙苷和薯蓣皂苷元含量与 $E^*ab$ 显著相关,随着 $E^*ab$ 降低(颜色加深),原薯蓣皂苷、薯蓣皂苷、水仙苷含量呈下降趋势,薯蓣皂苷元含量呈上升趋势。薯蓣皂苷、水仙苷和薯蓣皂苷元含量与 $E^*ab$ 的相关系数均大于原薯蓣皂苷含量与 $E^*ab$ 的相关系数,推测原因可能是因为薯蓣皂苷和水仙苷发生脱糖反应释放出相应单糖,在蒸制条件下,这些单糖易发生美拉德反应,参与生成黑色素<sup>[16]</sup>,由此推断脱糖反应对酒黄精颜色加深有一定贡献,而原薯蓣皂苷主要发生脱羟基反应,对酒黄精颜色加深贡献小。

**3.3 酒黄精炮制终点的判定** 本文发现酒黄精炮制18~28 h的几个时间点样品 $\Delta E^*ab$ 相差不大,在缺乏相关炮制经验时,靠肉眼区分不同样品颜色上的差别进而判定酒黄精的炮制终点较为困难。将外观颜色通过色差仪量化,与5个非糖类成分进行PCA处理,发现炮制终点的样品在PCA得分图上基本重合(样品S8和S9),实验确定的炮制终点与有经验的中药炮制工判定的炮制终点一致。该策略具有一定的实用性,生产企业可借鉴本实验的方法确定不同生产条件下酒黄精的炮制终点,从而保证酒黄精饮片的质量稳定性和均一性。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 陈辉,冯珊珊,孙彦君,等. 3种药用黄精的化学成分

及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(15): 2329-2338.

- [2] YU H S, MA B P, KANG L P, et al. Saponins from the processed rhizomes of *Polygonatum kingianum* [J]. Chem Pharm Bull, 2009, 57(9): 1011-1014.
- [3] ZHANG J, MA B P, KANG L P, et al. Furostanol saponins from the fresh rhizomes of *Polygonatum kingianum* [J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(7): 931-935.
- [4] WANG J, LU C S, LIU D Y, et al. Constituents from *Polygonatum sibiricum* and their inhibitions on the formation of advanced glycosylation end products [J]. J Asian Nat Prod Res, 2016, 18(7): 697-704.
- [5] 常亮,陈珍珍,吴毅,等. HPLC-ELSD法测定黄精炮制过程中四种糖的含量[J]. 中国现代中药, 2016, 18(12): 1653-1656.
- [6] 张艳雪,周巧,张学兰,等. 黄精炮制前后寡糖与单糖类成分含量变化与转化机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(2): 318-322.
- [7] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 10版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 313-314.
- [8] 王清浩,王云,张雪,等. 基于“表里关联”的米炒党参炮制过程质量传递规律研究[J]. 中草药, 2019, 50(12): 2848-2855.
- [9] 陈青垚,雷星,高亚珍,等. 基于“色如漆,甘如饴”的砂仁陈皮制熟地黄炮制过程质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(4): 154-162.
- [10] 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.
- [11] 袁芮,苏彤,张超,等. 基于模拟炮制技术的蒺藜炒制过程中蒺藜皂苷D转化规律研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 3049-3054.
- [12] CUI X D, WANG Z H. Preparation and properties of rutin-hydrolyzing enzyme from tartary buckwheat seeds [J]. Food Chem, 2012, 132(1): 60-66.
- [13] 袁芮,王丽丽,张龙霏,等. 蒺藜炒制过程中蒺藜呋甙皂苷B和蒺藜皂苷K的变化规律及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(15): 3297-3304.
- [14] 孙婷婷,张红,李晔,等. 陕西产黄精不同炮制品中薯蓣皂苷元含量分析[J]. 中国药师, 2017, 20(1): 158-160.
- [15] 钟凌云,周焯,龚千锋. 炮制对黄精薯蓣皂苷元影响的研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(3): 538-540.
- [16] 宋亚南,王云,高雅,等. 基于“表里关联”的大黄酒蒸过程质量传递规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(19): 157-164.

[责任编辑 刘德文]