

基于色差原理分析木香有效成分含量与颜色值的相关性

徐珍珍, 史星星, 樊旭蕾, 王淑美*

(广东药科大学 广东高校中药质量工程技术研究中心, 国家中医药管理局中药数字化
质量评价技术重点实验室, 广州 510006)

[摘要] **目的:**通过测定木香粉末色差值及有效成分木香烃内酯、去氢木香内酯和挥发油的含量,将代表颜色的指标值与代表质量的指标值相关联,探讨有效成分含量与颜色值之间的相关性,为木香的质量评价提供依据。**方法:**利用色差计对木香粉末色差值进行测量,以流动相甲醇-水(65:35)等度洗脱,检测波长 225 nm,采用 HPLC 测定木香烃内酯、去氢木香内酯的含量,运用水蒸气蒸馏法测定木香挥发油的含量,通过 SPSS 21.0 软件进行相关性分析。**结果:**木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油含量与 L^* (代表颜色深浅), b^* (代表颜色红绿方向), $E^* ab$ (代表总色差) 存在负相关关系,且效果极显著 ($P < 0.01$), 但与 a^* (代表颜色红绿方向) 不显著相关。**结论:** L^* , b^* , $E^* ab$ 越小,3 种有效成分的含量越高。木香颜色值与 3 种有效成分含量都有关,且颜色深的木香有效成分含量较高,质量较好。通过利用色差计对木香粉末的色差值进行测定,可以快速预测木香中 3 种有效成分的含量,可为该药材质量评价体系的建立提供参考。

[关键词] 木香; 颜色; 相关性; 木香烃内酯; 去氢木香内酯; 挥发油; 色差计

[中图分类号] R22;R282;R283;R284;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)13-0017-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181408

Correlation Between Effective Components Content and Color Values of Aucklandiae Radix Based on Color Difference Principle

XU Zhen-zhen, SHI Xing-xing, FAN Xu-lei, WANG Shu-mei*

(Key Laboratory of Digitization in Quality Assessment of Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine (TCM), Research Center of Quality Engineering Technology of TCM in Guangdong Colleges, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** By measuring the color values of Aucklandiae Radix powder and the contents of costunolide, dehydrocostus lactone and volatile oil, the index value of the representative color was correlated with the index value representing the quality, to explore the correlation between contents of active ingredients and the color values, and provide basis for the quality evaluation of Aucklandiae Radix. **Method:** The color difference values of Aucklandiae Radix powder was measured by colorimeter. The contents of costunolide and dehydrocostus lactone were determined by HPLC, mobile phase was methanol-water (65:35), the detection wavelength was set at 225 nm. The content of volatile oil was determined by steam distillation method. The correlation analysis was carried out by SPSS 21.0 software. **Result:** There was a negative correlation between L^* (representing color shade), b^* (representing color red-green direction), $E^* ab$ (representing total color difference) and contents of costunolide, dehydrocostus lactone, volatile oil ($P < 0.01$). **Conclusion:** The color values of Aucklandiae Radix powder has a certain correlation with the content of costunolide, dehydrocostus lactone and volatile oil. The smaller the content of L^* , b^* and $E^* ab$, the higher the content of three active ingredients. The color is darker,

[收稿日期] 20171101(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473413,81274060)

[第一作者] 徐珍珍,在读硕士,从事中药质量分析与评价研究,E-mail:2275234187@qq.com

[通信作者] *王淑美,博士,教授,从事中药质量分析与评价研究,Tel:020-9352177,E-mail:shmwang@sina.com

the content of active ingredients in *Aucklandiae Radix* is higher and its quality is better. The contents of 3 active ingredients in *Aucklandiae Radix* can be quickly predicted by determining the color difference values, which can provide a new idea for quality evaluation of this herb.

[Key words] *Aucklandiae Radix*; color; correlation; costunolide; dehydrocostus lactone; volatile oil; color difference meter

木香为中药常用商品,含有挥发油、生物碱、树脂、菊糖及甾醇等成分,其性温,味辛、苦,归脾、胃、大肠、胆、三焦经,具有健脾消食、行气止痛的功能^[1]。木香原产于印度,从梁代开始经广州进口的木香逐渐成为主流品种,在云南引种成功后,称云木香,是现存木香药材得主流品种。2015年版《中国药典》中以木香炔内酯和去氢木香内酯总量 $\geq 1.8\%$ 作为其质量控制标准;传统鉴别经验认为木香“油性足者为佳”^[2],木香炔内酯和去氢木香内酯是木香挥发油的主要成分,且具有显著的生理活性^[3-4],说明木香药材挥发油成分的含量、组成与其质量有直接关系,又加之木香药材产地的不同、挥发油成分的复杂,使质量评价结果有明显的差异^[5],故可将挥发油作为该药材质量评价的指标之一。

中药颜色一直是传统性状评价中的重要因素,颜色的差异常常反映着药材质量的不同,其与药材内在物质成分的高低也息息相关。由于中药的颜色评价具有很大的主观性和模糊性^[6],故需引入色差计这一新技术对其进行客观化、数字化描述,这还能克服中药本身性状不一、颜色混杂的问题^[7]。色差计是通过模拟人眼视觉系统,结合仪器内部的模拟积分光学系统,把光谱度数据的三刺激值积分,得到颜色的数学表达式,从而计算出 L^* (代表颜色深浅), a^* (代表颜色红绿方向)和 b^* (代表颜色黄蓝方向),并可将饮片内外颜色的变化通过 L^* , a^* , b^* 色空间精确量化^[8],再对数据进行统计分析,归纳得到各饮片颜色的范围数据^[9]。本实验采用色差计对木香粉末进行颜色测量并研究其有效成分(木香炔内酯、去氢木香内酯、挥发油)含量与颜色值的相关性,为完善木香的质量评价方法提供参考。

1 材料

CR-410型色差计(日本柯尼卡美能达公司),LC-20A型高效液相色谱仪(包括LC-20AT型溶液传输单元,SIL-20A型自动进样器,SPD-M20A型二极管阵列检测器,LC-solution色谱工作站)和AY120型1/1万电子分析天平均购自日本岛津公司,TC-15型恒温电热套(海宁市新华医疗器械厂)。

木香炔内酯、去氢木香炔内酯对照品(成都曼

思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-16050705, MUST-16041601,纯度均 $>98\%$),水为超纯水,试剂均为分析纯。木香饮片分别购于广西玉林药材市场(编号S1~S6,表面灰褐色),北京同仁堂有限责任公司(编号S7~S12,表面黄棕色),广州清平药材市场(编号S13~S18,表面灰褐色),广州至信中药饮片有限公司(编号S19~S24,表面灰褐色),安徽亳州中药材市场(编号S25~S30,表面黄棕色),成都邓氏中药材批发商行(编号S31~S36,表面黄褐色),华佗中医药科技开发有限公司(S37~S42,表面黄褐色),河北安国药材市场(S43~S48,表面黄棕色),其中样品S1~S6,S13~S24为云南产区道地药材,其余样品均为非道地产区,均经广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 木香炔内酯、去氢木香内酯的含量测定 采用HPLC进行测定。色谱条件为采用Inertsil ODS-3 C₁₈色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m),流动相甲醇-水(65:35),流速1 mL \cdot min⁻¹,检测波长225 nm,进样量10 μ L。

2.2 挥发油的含量测定 按照2015年版《中国药典》(四部)通则2204甲法测定。

2.3 色泽测定 称取样品20 g,粉碎,过四号筛,制成中粉,取适量进行测定,每批5次,取平均数。色差计测定条件为光源D65,标准观察角2度,照明口径50 mm,以色度空间 L^* , a^* , b^* 进行色泽量化。采用色差计相关软件采集色泽数据及转化色空间 L^* , a^* , b^* 参数,采用SPSS 21.0软件进行分析。

2.4 色泽量化的方法学考察

2.4.1 精密度 取样品S1适量,在同一时间点测量颜色,重复测量5次,结果 L^* , a^* , b^* 的RSD分别为0.1%,0.4%和1.3%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 不同外界光亮强度的稳定性 取样品S1适量,置于同一装载容器内,分别在时间点8:30,10:30,12:30,14:30,18:30,21:30测量,每次重复测量5次,以平均值记,结果 L^* , a^* , b^* 的RSD分别为0.3%,0.5%和0.3%,表明外界光强度对试验结

果影响较小。

2.4.3 样品稳定性 取样品 S1 适量,置于同一装载容器内,分别于第 0,1,2,3,4,5 天测量颜色值,重复测量 5 次,结果 L^* , a^* , b^* 的 RSD 分别为 0.8%,

0.9% 和 1.0%,表明样品稳定性良好。

2.5 木香有效成分及颜色值测定 将样品按 2.1~2.3 项下方法操作并测定色差值,结果见表 1,采用 SPSS 21.0 软件进行相关分析和回归分析。

表 1 木香中木香烯内酯、去氢木香内酯、挥发油含量及色差值的测定

Table 1 Determination of contents of costunolide, dehydrocostus lactone, volatile oil in Aucklandiae Radix and its color difference values

编号	木香 烯内酯 /mg·g ⁻¹	去氢 木香内酯 /mg·g ⁻¹	挥发油 /mL·g ⁻¹	L^*	a^*	b^*	E^*ab	编号	木香 烯内酯 /mg·g ⁻¹	去氢 木香内酯 /mg·g ⁻¹	挥发油 /mL·g ⁻¹	L^*	a^*	b^*	E^*ab
S1	26.10	30.33	0.024 9	49.82	6.30	13.04	51.88	S25	19.51	21.71	0.013 1	58.99	5.68	19.32	62.33
S2	30.24	31.88	0.028 7	49.96	6.28	13.09	52.03	S26	19.87	22.00	0.012 0	58.88	5.67	19.23	62.20
S3	24.49	30.69	0.023 4	50.02	6.27	13.12	52.09	S27	20.31	22.43	0.015 8	58.89	5.69	19.31	62.24
S4	27.82	30.27	0.028 6	50.20	6.23	13.15	52.27	S28	20.33	22.38	0.015 6	59.12	5.57	18.84	62.30
S5	29.58	30.62	0.027 1	50.17	6.22	13.10	52.22	S29	20.45	22.58	0.016 0	59.08	5.57	18.79	62.25
S6	28.03	30.04	0.028 9	50.31	6.21	13.21	52.38	S30	19.87	21.93	0.012 1	58.89	5.61	18.80	62.07
S7	22.54	24.76	0.012 6	54.32	5.98	16.09	56.97	S31	26.96	28.70	0.015 9	54.92	5.81	15.47	57.35
S8	20.59	21.88	0.008 9	54.37	5.86	15.82	56.93	S32	27.11	29.12	0.016 6	55.18	5.78	15.55	57.62
S9	22.17	23.46	0.011 8	54.34	5.90	15.79	56.89	S33	27.99	29.69	0.018 5	55.28	5.75	15.63	57.73
S10	21.78	24.19	0.012 1	54.42	5.85	15.72	56.95	S34	27.57	29.84	0.020 1	55.21	5.78	15.63	57.67
S11	19.50	20.74	0.006 9	54.59	5.76	15.63	57.07	S35	26.13	30.03	0.018 4	55.20	5.76	15.64	57.66
S12	20.75	21.52	0.005 6	54.46	5.78	15.61	56.95	S36	26.40	28.67	0.015 3	54.89	5.81	15.56	57.35
S13	28.08	32.07	0.027 4	53.91	6.44	14.41	56.17	S37	26.35	27.28	0.014 9	53.71	5.27	15.43	56.13
S14	28.91	30.05	0.026 3	54.14	6.39	14.46	56.40	S38	27.24	28.02	0.016 2	53.80	5.22	15.4	56.20
S15	27.64	32.60	0.028 5	54.09	6.36	14.43	56.34	S39	28.18	29.01	0.021 4	53.50	5.27	15.44	55.93
S16	30.69	31.51	0.029 2	54.17	6.35	14.48	56.43	S40	27.17	28.37	0.016 5	53.66	5.22	15.45	56.08
S17	28.59	31.64	0.026 2	53.96	6.35	14.34	56.19	S41	27.12	28.64	0.017 0	53.81	5.21	15.44	56.22
S18	29.21	31.08	0.025 8	54.04	6.31	14.35	56.27	S42	25.97	26.23	0.013 1	53.84	5.18	15.53	56.27
S19	28.32	33.86	0.029 6	52.53	5.32	13.88	54.59	S43	24.68	26.74	0.016 5	54.73	5.88	17.40	57.73
S20	31.69	32.17	0.031 5	52.64	5.33	14.01	54.73	S44	21.41	24.32	0.015 8	54.73	5.86	17.32	57.70
S21	32.82	34.20	0.032 2	52.51	5.3	13.99	54.60	S45	20.04	23.56	0.014 2	54.70	5.86	17.27	57.66
S22	28.28	33.64	0.029 5	52.39	5.33	14.00	54.49	S46	18.84	20.59	0.009 8	55.09	5.78	17.18	58.00
S23	29.47	33.60	0.028 8	52.68	5.29	14.11	54.79	S47	20.59	22.64	0.013 0	54.91	5.78	17.08	57.79
S24	28.21	32.41	0.028 6	52.55	5.31	14.23	54.70	S48	21.20	24.63	0.013 6	54.78	5.77	17.00	57.65

注:总色差值(E^*ab) = $\sqrt{(L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2}$ 。

2.5.1 相关分析 利用 SPSS 21.0 软件分析木香 3 种有效成分的含量分别与颜色指标值 L^* , a^* , b^* , E^*ab 的相关性见表 2。结果发现木香中木香烯内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量与 L^* , b^* , E^*ab 均存在显著负相关关系($P < 0.01$)。说明在一定程度上, L^* , b^* , E^*ab 越小,木香中木香烯内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量越高。而木香道地产区样

品的 L^* , b^* 范围小于非道地产区,云南产区 E^*ab 范围在 51.88~56.43,非道地产区样品的 E^*ab 处于 55.93~62.33。而道地产区样品中木香烯内酯、去氢木香内酯及挥发油的平均质量分数分别为 28.79,31.81 mg·g⁻¹ 和 0.028 1 mL·g⁻¹,非道地产区三者的平均质量分数分别为 23.29,25.19 mg·g⁻¹ 和 0.014 3 mL·g⁻¹,说明道地产区样品中的 3 种有

效成分含量均高于非道地产区。

表 2 木香中有效成分含量与 L^* , a^* , b^* , E^*ab 的相关性分析 ($n=48$)

Table 2 Correlation analysis of active ingredient contents in Aucklandiae Radix with L^* , a^* , b^* , E^*ab ($n=48$)

指标	参数	L^*	a^*	b^*	E^*ab
木香烃内酯含量	Pearson 相关系数	-0.629	0.047	-0.789	-0.670
	P	0	0.751	0	0
去氢木香内酯含量	Pearson 相关系数	-0.656	0.105	-0.806	-0.693
	P	0	0.479	0	0
挥发油含量	Pearson 相关系数	-0.580	0.217	-0.697	-0.608
	P	0	0.138	0	0

2.5.2 回归分析 以木香中木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量为自变量,颜色指标 L^* , a^* , b^* 为因变量,利用 SPSS 21.0 软件进行回归分析,结果见表 3~5。

表 3 木香的 L^* , a^* , b^* 模型汇总

Table 3 Model of L^* , a^* , b^* of Aucklandiae Radix

颜色值	R^2	调整 R^2	估计标准误差
L^*	0.431	0.392	1.850
a^*	0.108	0.047	0.371
b^*	0.661	0.638	1.068

表 4 色差值的方差分析

Table 4 Variance analysis of color difference values

颜色值	模型	SS	f	MS	F	P
L^*	回归平方和	114.201	3	38.067	11.121	0
	残差平方和	150.605	44	3.423	-	-
a^*	回归平方和	0.735	3	0.245	1.778	0.165
	残差平方和	6.061	44	0.138	-	-
b^*	回归平方和	97.804	3	1.141	28.571	0
	残差平方和	50.206	44	-	-	-

由表 3 可知,木香有效成分共同作自变量时与 L^* , a^* , b^* 的 R^2 别为 0.431, 0.108, 0.661, 说明色差值受有效成分的影响程度分别为 43.1%, 10.8%, 66.1%。由表 4 可知,有效成分与 L^* , b^* 显著相关,而与 a^* 则无显著性。由表 5 可得回归方程 $L^* = 64.969 - 0.057 \times$ 木香烃内酯含量 $- 0.347 \times$ 去氢木香内酯含量 $+ 0.154 \times$ 挥发油含量, $a^* = 6.343 - 0.039 \times$ 木香烃内酯含量 $- 0.008 \times$ 去氢木香内酯含量 $+ 0.322 \times$ 挥发油含量, $b^* = 25.986 - 0.114 \times$ 木香烃内酯含量 $- 0.295 \times$ 去氢木香内酯含

表 5 色差值的回归分析

Table 5 Regression analysis of color difference values

颜色值	模型	非标准化系数	标准系数	t	P
L^* (常量)	(常量)	64.969	-	23.659	0
	木香烃内酯	-0.057	-0.094	-0.275	0.875
	去氢木香内酯	-0.347	-0.610	-1.147	0.164
	挥发油	0.154	0.048	0.182	0.856
a^* (常量)	(常量)	6.343	-	11.513	0
	木香烃内酯	-0.039	-0.396	-0.926	0.360
	去氢木香内酯	-0.008	-0.084	-0.156	0.877
	挥发油	0.322	-0.625	1.900	0.064
b^* (常量)	(常量)	25.986	-	16.389	0
	木香烃内酯	-0.114	-0.251	-0.951	0.347
	去氢木香内酯	-0.295	-0.693	-2.084	0.043
	挥发油	0.333	0.138	0.681	0.499

量 $+ 0.333 \times$ 挥发油含量。以 L^* , a^* , b^* 为自变量,木香中木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量为因变量,利用 SPSS 21.0 软件进行回归分析,结果见表 6~8。

表 6 木香有效成分含量的模型汇总

Table 6 Model of active component contents in Aucklandiae Radix

成分	R^2	调整 R^2	估计标准误差
木香烃内酯	0.731	0.713	2.094
去氢木香内酯	0.724	0.705	2.266
挥发油	0.515	0.481	0.530

表 7 木香中有效成分的方差分析

Table 7 Variance analysis of active component contents in Aucklandiae Radix

成分	模型	SS	f	MS	F	P
木香烃内酯	回归平方和	523.853	3	174.618	39.842	0
	残差平方和	192.842	44	4.383	-	-
去氢木香内酯	回归平方和	592.153	3	197.384	38.457	0
	残差平方和	225.835	44	5.133	-	-
挥发油	回归平方和	13.177	3	4.372	15.547	0
	残差平方和	12.374	44	0.281	-	-

由表 6 可知,木香中木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量与 L^* , a^* , b^* 的 R^2 分别为 0.731, 0.724, 0.515, 说明在 73.1%, 72.4%, 51.5% 的程度上可通过色差值来反应木香烃内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量。由表 7 可知,有效成分含量与颜色

表 8 木香中有效成分含量的回归分析

Table 8 Regression analysis of active component contents in Aucklandiae Radix

成分	模型	非标准化系数	标准系数	t	P
木香炔内酯	(常量)	24.117	-	1.831	0.074
	L^*	1.201	0.730	3.533	0.001
	a^*	-2.038	-0.198	-2.437	0.019
	b^*	-3.344	-1.520	-7.279	0
去氢木香内酯	(常量)	27.852	-	1.954	0.057
	L^*	1.133	0.645	3.081	0.004
	a^*	-1.530	-0.139	-1.690	0.098
	b^*	-3.388	-1.441	-6.814	0
挥发油	(常量)	1.373	-	0.411	0.683
	L^*	0.139	0.447	1.610	0.115
	a^*	0.036	0.018	0.169	0.867
	b^*	-0.459	-1.105	-3.941	0

值所构成的回归方程在统计学上是显著的。由表 8 可得回归方程木香炔内酯含量 = $24.117 + 1.201 \times L^* - 2.038 \times a^* - 3.344 \times b^*$, 去氢木香内酯含量 = $27.852 + 1.133 \times L^* - 1.530 \times a^* - 3.388 \times b^*$, 挥发油含量 = $1.373 + 0.139 \times L^* + 0.036 \times a^* - 0.459 \times b^*$ 。

3 讨论

本实验通过测定 48 批木香样品中 3 种有效成分的含量,并将 3 种有效成分的含量与颜色值进行相关性分析,结果发现木香中木香炔内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量与 $L^*, b^*, E^* ab$ 存在极显著的负相关性,说明 $L^*, b^*, E^* ab$ 越小,3 种有效成分的含量越高。通过回归分析后发现,在 51.5% ~ 73.1% 的程度上可以根据颜色值推测有效成分的含量,而颜色值受有效成分的影响程度为 10.8% ~ 66.1%,故可通过量化木香粉末颜色值结合回归方程分析找到一种预测木香炔内酯、去氢木香内酯及挥发油含量的方法。

根据传统经验认为,木香道地产区云南的样品质量较优,从实验结果数据看,道地产区样品中木香炔内酯、去氢木香内酯、挥发油的含量均高于非道地产区样品。道地产区云南木香颜色深,为灰褐色;非道地产区木香颜色浅,为黄棕色。因此初步认为 3 种有效成分含量高的木香质量较好;在外观颜色上则是颜色深的木香有效成分含量较高,质量较好。

在本研究实验结果中,传统认为质量较优的木香中 3 种有效成分都很高,而 2015 年版《中国药典》仅将木香炔内酯和去氢木香内酯作为该药材的质量控制指标^[1],这说明一种或几种有效成分的含量并不是衡量中药质量的唯一标准,只能作为判断质量的参数之一;同时还可将挥发油的含量作为质量控制指标成分之一。由于收集的木香样品数量有限,实验中并没有包括所有产地的木香,在预测色差值与有效成分含量的相关性方面仍需收集大量样本后再进一步证实。本实验测定的指标成分种类较少,在以后的实验中应增加更多指标成分的含量测定。本实验在继承中医药传统理论思想的指导下,通过色差计实现了木香粉末颜色的客观、量化,并结合内在成分含量的对比研究,旨在研究一套准确的、规范的且具有中医药理论特色的木香质量评价方法,为现代中药质量研究体系的建立提供参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:62-63.

[2] 康廷国. 中药鉴定学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:184-186.

[3] 侯鹏飞,陈文星,赵新慧,等. 木香挥发性成分气质联用分析及其抑制血小板聚集作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(7):26-30.

[4] 王永兵,王强,毛福林,等. 木香的药效学研究[J]. 中国药科大学学报,2001,32(2):146-148.

[5] 林启寿. 中草药成分化学[M]. 北京:科学出版社,1977:573-574.

[6] 郭换,刘飞,梅国荣,等. 色度分析花椒黄酮类成分含量与颜色值的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(6):91-97.

[7] 张慧慧,陈楚明,刘粤疆,等. 基于色彩色差计的中药加工炮制颜色测量的可行性考察[C]//中华中医药学会. 中华中医药学会中药炮制分会学术研讨会论文集,2008年卷. 北京:中华中医药学会中药炮制分会,2008:293-298.

[8] Apetrei C, Apetrei I M, Villanueva S, et al. Combination of an e-nose, an e-tongue and an eye for the characterisation of olive oils with different degree of bitterness[J]. Anal Chim Acta, 2010, 63(1):91-97.

[9] 李欣逸,解达师,张超,等. 基于电子鼻技术的胆南星定性鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(8):6-10.

[责任编辑 刘德文]