

色度分析花椒黄酮类成分含量与颜色值的相关性

郭换, 刘飞, 梅国荣, 陈林, 刘友平*, 陈鸿平*

(成都中医药大学药学院, 中药材质量标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

[摘要] **目的:**研究花椒黄酮类成分与外观颜色相关性,为花椒品质评价提供参考。**方法:**引入色度空间系统 CIE L^* , a^* , b^* 对花椒药材粉末颜色进行客观量化,以总黄酮及黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷为指标,研究其与颜色值的相关性。**结果:**花椒的总黄酮、芦丁、槲皮素含量与 L^* , a^* 显著正相关 ($P < 0.05$),而总黄酮、芦丁与 b^* 无显著相关性,金丝桃苷、槲皮素的含量与颜色值 b^* 显著正相关 ($P < 0.05$);青椒橙皮苷的含量与 L^* , a^* , b^* 显著负相关 ($P < 0.05$)。**结论:**花椒颜色值与总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷含量存在一定的相关性。

[关键词] 花椒; 颜色; 相关性; 黄酮类成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0091-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20170600

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1342.052.html>

[网络出版时间] 2016-12-28 13:42

Correlation Between Flavonoids and Color Values of Zanthoxyli Pericarpium Based on Chromatometry

GUO Huan, LIU Fei, MEI Guo-rong, CHEN Lin, LIU You-ping*, CHEN Hong-ping*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Breeding Base of State Key Laboratory of Resources System Research and Development Utilization of Chinese Herbal Medicines Co-constructed by Ministry of Science and Technology and Sichuan Province, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study flavonoids of Zanthoxyli Pericarpium (ZP) correlated with appearance color and provide a reference for its quality evaluation. **Method:** Introducing chroma space system CIE L^* , a^* , b^* to quantify of ZP's powder color objectively. Studying its correlation with color values by the indexes of total flavonoids, rutin, hyperoside, quercetin, and hesperidin. **Result:** *Zanthoxylum bungeanum*'s content of total flavonoids, rutin and quercetin are positive correlated with L^* and a^* significantly ($P < 0.05$). There is no significant correlation between total flavonoids, lutein and b^* . The content of hyperoside and quercetin are positive correlated with b^* significantly ($P < 0.05$). *Z. schinifolium*'s content of hesperidin is negative correlated with L^* , a^* and b^* significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** There is a certain degree of correlation between ZP's total flavonoids, rutin, hyperoside, quercetin, and hesperidin and its color values.

[Key words] Zanthoxyli Pericarpium; color; correlation; flavonoids

[收稿日期] 20160330(006)

[基金项目] 《全国中药饮片炮制规范》研究项目(2015-YP-23)

[第一作者] 郭换,在读硕士,从事中药化学成分与质量标准化研究, Tel:18728430936, E-mail:1094677448@qq.com

[通讯作者] *刘友平,研究员,博士生导师,从事中药标准化及药效物质基础研究, Tel:028-61800103, E-mail:liuyouping@126.com;

*陈鸿平,博士,高级实验师,从事中药炮制、中药质量标准化及药效物质基础研究, Tel:13982283303, E-mail:chen_hongping@126.com

中药外观性状是中药质量评价的重要指标,包括颜色、气味、性状、质地等方面,其中颜色是中药材外观质量评价的主要指标。由于目前仍是口传相授的主观描述结合肉眼观察的感官评价来简单判别中药材的质量优劣,判别结果很容易受到个体差异和环境因素的影响,客观性和准确性难以保证^[1-3]。近年来,色度分析被逐渐引入中药质量评价领域,利用 CIE 色度空间系统 L^* , a^* , b^* (L^* 为亮度, a^* 为红绿色度, b^* 为黄蓝色度) 对颜色进行客观表达。如张慧慧等^[4] 将其用于山楂炮制“火力火候”与外观颜色相关性研究,黄学思等^[5] 用于槟榔炒制火候判别量化,药材外观颜色与其有效成分含量相关性在金银花、防风品质评价研究中已有报道^[6-7]。

花椒来源于芸香科植物青椒或花椒的干燥成熟果皮,具有温中止痛、杀虫止痒的功效^[8]。2015 年版《中国药典》一部收载。花椒以果皮入药,挥发油含量为其品质评价指标,传统花椒以皮色赤红者为佳,由于受物种、产地、地理条件、气候及化学成分等因素影响,各地产花椒颜色存在一定差别。花椒的主要化学成分有总黄酮、挥发油、生物碱、酰胺类等^[9-12],黄酮类成分是天然的色素,稳定性好,现代药理学研究表明黄酮类成分具有抗氧化作用^[13]。本文将传统皮色评价与其化学成分相联系,将花椒颜色值与和花椒药材颜色相关的总黄酮及黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素和橙皮苷的含量相联系,采用分光测色仪测定花椒药材粉末的颜色值,分析颜色值与总黄酮及黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素和橙皮苷含量的相关性,为花椒的品质评价提供一种新的思路和方法。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪, G1311C 四元泵, G1329B 进样器, G1316A 柱温箱, DAD 检测器, Chem Station 工作站(美国 Agilent 公司); BP211D 型 1/10 万电子天平, BP121S9 型 1/1 万电子天平(德国 Sartorius 股份有限公司); YP10002 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司); BUG25-12 型超声波清洗机(25 kHz, 500 W, 上海必能信公司); CM-5 型分光测色仪(柯尼卡美能达公司); DFT 手提式高速中药材粉碎机(上海隆拓仪器设备有限公司); UV2600 型双光束紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); UPT-I-10T 型优普系列超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

对照品芦丁(批号 100080-201409, 中国食品药

品检定研究院, 纯度 92.6%), 金丝桃苷(批号 MUST-15082112, 纯度 98.32%), 橙皮苷(批号 MUST-15070211, 纯度 99.70%), 槲皮素(批号 MUST-15090717, 纯度 99.35%) 均购于成都曼斯特生物科技有限公司。乙腈、甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司), 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯(成都化学试剂厂)。

本次研究药材收集了四川、陕西、甘肃 3 个主产区 12 个产地共 14 批花椒药材, 安徽、北京、辽宁、湖北、山东、山西、广西 7 个产区 8 个产地共 11 批青椒药材, 分别经成都中医药大学严铸云教授鉴定为芸香科植物花椒 *Zanthoxylum bungeanum* 和青椒 *Z. schinifolium* 的干燥成熟果皮。样品信息见表 1。

表 1 不同产地花椒样品信息

Table 1 Zanthoxyli Pericarpium Samples in different regions

| 编号 | 样品基原 | 产地 | 收集时间 |
|-----|---------------------------------|---------|------------|
| H1 | 花椒 <i>Zanthoxylum bungeanum</i> | 四川汶川 | 2015-10-13 |
| H2 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 四川汉源 | 2015-10-13 |
| H3 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 陕西韩城 | 2015-10-13 |
| H4 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 甘肃文县 | 2015-10-13 |
| H5 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 四川西昌 | 2015-10-13 |
| H6 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 四川茂汶 | 2015-10-13 |
| H7 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 陕西凤县 | 2015-06 |
| H8 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 甘肃武都 | 2015-07 |
| H9 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 甘肃文县 | 2015-07 |
| H10 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 陕西韩城 | 2013 |
| H11 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 甘肃文县 | 2014-06 |
| H12 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 四川汉源清溪 | 2014-06 |
| H13 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 四川汉源九襄 | 2014-06 |
| H14 | 花椒 <i>Z. bungeanum</i> | 甘肃陇南 | 2013 |
| Q1 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 安徽滁州 | 2015-09 |
| Q2 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 本草方源 | 2014-07 |
| Q3 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 同仁堂(北京) | 2014-07 |
| Q4 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 辽宁 | 2013-10 |
| Q5 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 湖北武汉 | 2013-10 |
| Q6 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 山东 | 2015-11 |
| Q7 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 安徽滁州 | 2015-11 |
| Q8 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 山西 | 2015-11 |
| Q9 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 安徽滁州 | 2015-11 |
| Q10 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 湖北 | 2015-11 |
| Q11 | 青椒 <i>Z. schinifolium</i> | 广西 | 2015-11 |

2 方法与结果

2.1 花椒样品颜色测定

2.1.1 测量条件 测定光源 D65, 照明系统 SCE (specular component excluded, 排除镜面反射) 反

射,测定试场 10° 视角,测试区域 30 mm,起止波长 360 ~ 740 nm,对仪器进行黑白板校正以后,进行样品测量。

2.1.2 精密度试验 取 H6 样品粉末(过 4 号筛)约 2 g,装入测色皿中,均匀平铺于测色皿底部,按照 2.1.1 项下颜色值测量条件进行外观颜色测量,连续测量 6 次,6 次测量分别得出颜色 L^* , a^* , b^* 值, RSD 均 < 2%,表明仪器紧密度良好。

2.1.3 重复性试验 取 H6 样品粉末(过 4 号筛)6 份,装入测色皿中,均匀平铺于测色皿底部,连续测量,测量值结果 RSD 均 < 2%,结果表明方法重复性良好。

2.1.4 稳定性试验 取 H6 样品粉末(过 4 号筛)约 2 g,装入测色皿中,均匀平铺于测色皿底部,分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 测定其颜色指标,颜色测量值结果 RSD 均 < 2%,表明供试品在 0 ~ 8 h 内稳定性良好。

2.1.5 样品颜色测定 采用分光测色仪测定花椒粉末(过 4 号筛)外观颜色值,每个样品重复测量 3 次,记录平均值,结果见表 2。

2.2 总黄酮的含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品 5.41 mg,加甲醇制成含芦丁 $0.541 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液储备液,备用。

2.2.2 供试品溶液制备 取花椒、青椒粉末约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 mL,称定质量,超声提取 30 min,用甲醇补足减失质量,过滤,取续滤液 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加入 5% 的 NaNO_2 溶液 0.4 mL,摇匀;放置 6 min 后,再加入 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.4 mL,摇匀;再放置 6 min 后,加 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液 4 mL,15 min 后以甲醇定容,即得。

2.2.3 检测波长的选择 精密吸取对照品储备液

表 2 花椒中颜色值及黄酮类成分质量分数测定

Table 2 CIE Results and determination of flavonoids of Zanthoxyli Pericarpium

| 编号 | 颜色值 | | | 总黄酮/% | 芦丁/% | 金丝桃苷/% | 槲皮素/% | 橙皮苷/% |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | L^* | a^* | b^* | | | | | |
| H1 | 47.80 | 9.27 | 20.15 | 4.34 | 0.129 | 0.306 | 0.356 | - |
| H2 | 44.11 | 8.08 | 21.48 | 4.59 | 0.143 | 0.315 | 0.447 | - |
| H3 | 42.59 | 7.09 | 22.61 | 3.74 | 0.039 | 0.277 | 0.367 | - |
| H4 | 45.37 | 8.68 | 19.53 | 4.63 | 0.124 | 0.300 | 0.392 | - |
| H5 | 43.47 | 8.60 | 21.91 | 4.00 | 0.077 | 0.325 | 0.463 | - |
| H6 | 46.75 | 10.12 | 19.56 | 4.31 | 0.150 | 0.315 | 0.408 | - |
| H7 | 50.62 | 8.77 | 20.35 | 4.51 | 0.164 | 0.340 | 0.438 | - |
| H8 | 49.38 | 8.01 | 21.56 | 4.10 | 0.190 | 0.377 | 0.385 | - |
| H9 | 48.02 | 10.21 | 18.03 | 4.12 | 0.180 | 0.377 | 0.327 | - |
| H10 | 54.97 | 8.83 | 24.64 | 3.46 | 0.037 | 0.339 | 0.421 | - |
| H11 | 48.47 | 9.70 | 24.77 | 3.62 | 0.142 | 0.324 | 0.344 | - |
| H12 | 49.17 | 6.29 | 24.01 | 3.49 | 0.093 | 0.431 | 0.496 | - |
| H13 | 46.40 | 7.62 | 25.23 | 4.21 | 0.105 | 0.485 | 0.546 | - |
| H14 | 47.80 | 10.03 | 25.37 | 3.42 | 0.098 | 0.334 | 0.498 | - |
| Q1 | 42.25 | 5.53 | 19.37 | 2.23 | - | - | - | 0.279 |
| Q2 | 43.51 | 5.18 | 19.37 | 1.66 | - | - | - | 0.221 |
| Q3 | 44.73 | 4.90 | 21.69 | 2.30 | - | - | - | 0.114 |
| Q4 | 43.97 | 5.19 | 21.55 | 1.87 | - | - | - | 0.102 |
| Q5 | 41.36 | 5.92 | 18.37 | 1.44 | - | - | - | 0.099 |
| Q6 | 43.97 | 5.19 | 21.55 | 2.08 | - | - | - | 0.257 |
| Q7 | 41.36 | 5.92 | 18.37 | 2.20 | - | - | - | 0.139 |
| Q8 | 36.96 | 5.00 | 18.46 | 2.18 | - | - | - | 0.118 |
| Q9 | 38.51 | 4.56 | 18.32 | 1.86 | - | - | - | 0.127 |
| Q10 | 36.97 | 4.60 | 17.74 | 2.31 | - | - | - | 0.133 |
| Q11 | 36.80 | 4.94 | 17.74 | 1.98 | - | - | - | 0.131 |

注:“-”未检测出。

1 mL 于 10 mL 量瓶中,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,同时精密吸取甲醇溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,同法制备空白溶液,在 400 ~ 760 nm 波长扫描,根据扫描结果选择 500 nm 作为测定波长。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密移取对照品储备液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL 至 10 mL 量瓶中,按 2.2.2 项下方法操作。以甲醇为空白,在 500 nm 测定其 A,以 A 为纵坐标,质量浓度 C 为横坐标,绘制标准曲线。得芦丁质量浓度与 A 的回归方程为 $A = 10.455C + 0.0087$ ($r = 0.9996$),线性范围 0.01 ~ 0.06 $g \cdot L^{-1}$ 。

2.2.5 总黄酮含量测定 取花椒药材约 1 g,精密称定,按照 2.2.2 项下方法操作,以甲醇为空白,在 500 nm 测定,计算其总黄酮含量。结果见表 2。

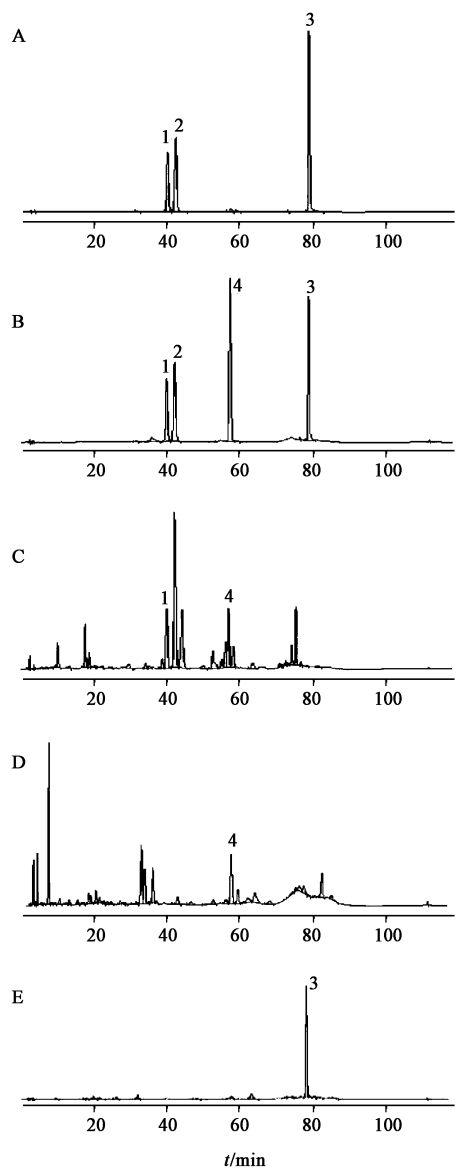
2.3 芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷含量测定

2.3.1 色谱条件 采用 Wondasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 日本岛津公司),流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 10% B; 10 ~ 15 min, 10% ~ 15% B; 15 ~ 25 min, 15% B; 25 ~ 30 min, 15% ~ 17% B; 30 ~ 45 min, 17% B; 45 ~ 50 min, 17% ~ 20% B; 50 ~ 65 min, 20% B; 65 ~ 70 min, 20% ~ 30% B; 70 ~ 80 min, 30% B; 80 ~ 100 min, 30% ~ 100% B);流速 1.0 mL · min⁻¹,进样量 10 μL,柱温 30 °C,检测波长 360 nm(芦丁、金丝桃苷、槲皮素),284 nm(橙皮苷)。见图 1。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷对照品适量,分别加甲醇制成含芦丁 1.036 $g \cdot L^{-1}$,金丝桃苷 1.072 $g \cdot L^{-1}$,槲皮素 1.09 $g \cdot L^{-1}$,橙皮苷 1.008 $g \cdot L^{-1}$ 的各对照品储备液。再分别吸取上述各储备溶液 1 mL,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释定容至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取花椒药材粉末(过四号筛)4 份,每份 1.0 g,精密称定,分别加甲醇 30 mL,称定质量,分别超声提取 30 min,冷却,用甲醇补足缺失的质量,过滤,取续滤液 5 mL 作为供试品溶液 A(测定芦丁、金丝桃苷、橙皮苷)。另精密量取续滤液 20 mL,置具塞锥形瓶中,称定质量,加 20% 盐酸加热回流 1 h,冷却,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,过滤,取续滤液,即得供试品溶液 B(测定槲皮素)。

2.3.4 标准曲线考察 精密吸取上述混合对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL,按 2.3.1 项下色谱条件测定,以对照品质量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,进行回归处理,得线性回归方程,芦丁 $Y = 1586.5X -$



A. 对照品(360 nm); B. 对照品(284 nm); C. 花椒样品(360 nm); D. 青椒样品(284 nm); E. 花椒水解后样品(360 nm); 1. 芦丁; 2. 金丝桃苷; 3. 槲皮素; 4. 橙皮苷

图 1 花椒黄酮 HPLC

Fig.1 HPLC of flavonoids of Zanthoxyli Pericarpium

12.98 ($r = 0.9996$),线性范围 0.518 ~ 3.108 μg; 金丝桃苷 $Y = 2088.4X + 76.1$ ($r = 0.9999$),线性范围 0.536 ~ 3.216 μg; 槲皮素 $Y = 3475.9X - 29.693$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.545 ~ 3.27 μg; 橙皮苷 $Y = 11052X + 173.36$ ($r = 0.9994$),线性范围 0.504 ~ 3.024 μg,表明线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL,按照 2.3.1 项下色谱条件测定,连续进样 6 次测定,结果各成分峰面积 RSD 均 < 1%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取 H6, Q6 粉末各 6 份,每份约

1 g,精密称定,按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液 6 份,分别精密吸取 10 μL,按照 2.3.1 项下色谱条件测定,芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷质量分数分别为 0.148%,0.309%,0.252%,0.400%,结果 RSD 均 < 2%,表明方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取 H6,Q6 粉末(过 4 号筛)各约 1 g,精密称定,按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,精密吸取 10 μL,分别于 0,2,4,8,16,24 h 注入液相色谱仪,测量值结果 RSD 均 < 2%,表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取芦丁、金丝桃苷、槲皮素与橙皮苷对照品适量,加甲醇分别制成含芦丁、金丝桃苷、橙皮苷与槲皮素 0.772,1.65,1.142,2.180 g·L⁻¹ 的溶液,取 H6,Q6 样品样品 6 份,每份约 0.5 g,精密称定,分别加入上述对照品溶液各 1 mL,按照 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,按照 2.3.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率及其 RSD,回收率在 97.07% ~ 102.66%,RSD 均 < 5%,表明方法准确度良好,结果见表 3。

表 3 花椒中 4 种成分加样回收率试验

Table 3 Recovery test of four content of Zanthoxyli Pericarpium

| 成分 | 称样量 /g | 样品中量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 (RSD) /% |
|---------|---------|----------|---------|---------|----------------|-----------------|
| 芦丁 | 0.491 0 | 0.695 | 0.772 | 1.453 | 98.19 | 102.2 (4.0) |
| | 0.496 1 | 0.696 | 0.772 | 1.510 | 105.44 | |
| | 0.497 6 | 0.698 | 0.772 | 1.494 | 103.11 | |
| | 0.502 2 | 0.697 | 0.772 | 1.527 | 107.51 | |
| | 0.501 8 | 0.699 | 0.772 | 1.447 | 96.89 | |
| 金丝桃苷 | 0.492 3 | 0.697 | 0.772 | 1.485 | 102.07 | 101.45 (4.1) |
| | 0.491 0 | 1.414 | 1.650 | 3.166 | 106.18 | |
| | 0.496 1 | 1.414 | 1.650 | 3.141 | 104.67 | |
| | 0.497 6 | 1.419 | 1.650 | 3.005 | 96.12 | |
| | 0.502 2 | 1.416 | 1.650 | 3.014 | 96.85 | |
| 橙皮苷 | 0.501 8 | 1.421 | 1.650 | 3.121 | 103.03 | 102.66 (2.1) |
| | 0.492 3 | 1.418 | 1.650 | 3.098 | 101.82 | |
| | 0.491 0 | 1.161 | 1.142 | 2.341 | 103.33 | |
| | 0.496 1 | 1.161 | 1.142 | 2.330 | 102.36 | |
| | 0.497 6 | 1.160 | 1.142 | 2.335 | 102.89 | |
| 槲皮素 | 0.502 2 | 1.161 | 1.142 | 2.288 | 98.69 | 97.07 (2.5) |
| | 0.501 8 | 1.160 | 1.142 | 2.357 | 104.82 | |
| | 0.492 3 | 1.159 | 1.142 | 2.345 | 103.85 | |
| | 0.491 0 | 1.879 | 2.180 | 3.965 | 95.69 | |
| | 0.496 1 | 1.880 | 2.180 | 3.982 | 96.42 | |
| 0.497 6 | 1.886 | 2.180 | 3.954 | 94.86 | 97.07 (2.5) | |
| 0.502 2 | 1.882 | 2.180 | 4.019 | 98.03 | | |
| 0.501 8 | 1.890 | 2.180 | 4.103 | 101.51 | 97.07 (2.5) | |
| 0.492 3 | 1.884 | 2.180 | 3.975 | 95.92 | | |

2.3.9 样品测定结果 按 2.3.3 项下方法制备供试品

溶液的,并按 2.3.1 项下色谱条件,进样分析,HPLC 色谱见图 1,计算各批次药材黄酮类成分含量,结果见表 2。

2.4 相关性分析 将花椒中总黄酮、芦丁、金丝桃苷和槲皮素,青椒中总黄酮和橙皮苷分别与颜色指标 L^* , a^* , b^* 值相关联,用 SPSS 20.0 软件做相关分析,结果见表 4。

表 4 L^* , a^* , b^* 与黄酮类成分含量相关性分析 ($n=25$)

Table 4 Correlation analysis of L^* , a^* , b^* and flavonoids ($n=25$)

| 成分 | L^* | | a^* | | b^* | |
|------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|
| | Pearson 相关性 | P | Pearson 相关性 | P | Pearson 相关性 | P |
| 总黄酮 | 0.630 ¹⁾ | 0.001 | 0.843 ¹⁾ | 0.000 | 0.394 | 0.052 |
| 芦丁 | 0.652 ¹⁾ | 0.000 | 0.853 ¹⁾ | 0.000 | 0.290 | 0.160 |
| 金丝桃苷 | 0.745 ¹⁾ | 0.000 | 0.831 ¹⁾ | 0.000 | 0.610 ¹⁾ | 0.001 |
| 槲皮素 | 0.713 ¹⁾ | 0.000 | 0.830 ¹⁾ | 0.000 | 0.641 | 0.001 |
| 橙皮苷 | -0.578 ¹⁾ | 0.002 | -0.777 ¹⁾ | 0.000 | -0.461 ¹⁾ | 0.020 |

注:¹⁾表示色度值与对应成分含量具有极显著相关性;²⁾表示具有显著相关性。

由表 4 可知,花椒总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量与 L^* , a^* 呈显著正相关,与 L^* 的相关系数分别为 0.630,0.652,0.745,0.713,与 a^* 的相关系数分别为 0.843,0.853,0.831,0.830, P 均 < 0.05,说明在一定程度上 L^* , a^* 越大,总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量越高;而总黄酮、芦丁与 b^* 无显著相关性,金丝桃苷、槲皮素的含量与颜色值 b^* 也显著正相关,相关系数分别为 0.610,0.641,说明在一定程度上 b^* 值越大,金丝桃苷、槲皮素的含量越高;青椒橙皮苷的含量与 L^* , a^* , b^* 显著负相关,相关系数为 -0.578, -0.777, -0.461, P 均 < 0.05,说明在一定程度上, L^* , a^* , b^* 越小,橙皮苷的含量越高。

2.5 回归分析 花椒中总黄酮含量及黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷的含量为自变量,颜色指标 L^* , a^* , b^* 为因变量用 SPSS 20.0 对其进行回归分析,探索花椒中总黄酮含量、芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷的含量与颜色值相互间的定量关系,同样以颜色指标 L^* , a^* , b^* 为自变量,花椒中总黄酮含量及黄酮类成分芦丁、金丝桃苷、槲皮素、橙皮苷的含量为因变量,结果见表 5 ~ 10。

表 5 花椒总黄酮含量与 L^* , a^* , b^* 模型汇总

Table 5 Model of Zanthoxyli Pericarpium L^* , a^* , b^* and flavonoids

| 颜色值 | r^2 | 调整 r^2 | 估计标准误差 |
|-------|-------|----------|--------|
| L^* | 0.592 | 0.485 | 3.249 |
| a^* | 0.794 | 0.740 | 1.015 |
| b^* | 0.658 | 0.568 | 1.622 |

表 6 花椒总黄酮颜色值方差分析

Table 6 Analysis of variance of ZP's total flavonoids L^* , a^* , b^*

| 颜色值 | 模型 | SS | df | MS | F | P |
|-------|-------|---------|----|--------|--------|-------|
| L^* | 回归平方和 | 290.971 | 5 | 58.194 | 5.513 | 0.003 |
| | 残差平方和 | 200.573 | 19 | 10.556 | | |
| | 总计 | 491.544 | 24 | | | |
| a^* | 回归平方和 | 75.381 | 5 | 15.076 | 14.633 | 0.000 |
| | 残差平方和 | 19.575 | 19 | 1.030 | | |
| | 总计 | 94.956 | 24 | | | |
| b^* | 回归平方和 | 96.365 | 5 | 19.273 | 7.322 | 0.001 |
| | 残差平方和 | 50.011 | 19 | 2.632 | | |
| | 总计 | 146.376 | 24 | | | |

表 7 花椒总黄酮颜色值回归系数

Table 7 Regression coefficient of ZP's total flavonoids L^* , a^* , b^*

| 颜色值 | 模型 | 非标准化系数 | 标准系数 | t | P |
|-------|------|--------|--------|--------|-------|
| L^* | (常量) | 42.845 | | 8.696 | 0.000 |
| | 总黄酮 | -1.772 | -0.427 | -0.873 | 0.393 |
| | 芦丁 | 2.610 | 0.126 | 0.143 | 0.888 |
| a^* | (常量) | 5.817 | | 3.779 | 0.001 |
| | 总黄酮 | -0.081 | -0.044 | -0.128 | 0.900 |
| | 芦丁 | 7.196 | 0.790 | 1.265 | 0.221 |
| b^* | (常量) | 22.209 | | 9.027 | 0.000 |
| | 总黄酮 | -1.855 | -0.818 | -1.831 | 0.083 |
| | 芦丁 | 15.353 | 1.357 | 1.689 | 0.108 |

表 8 花椒 L^* , a^* , b^* 与黄酮类成分含量模型汇总

Table 8 Model of Zanthoxyli Pericarpium L^* , a^* , b^* and flavonoids

| 成分 | r^2 | 调整 r^2 | 估计标准误差 |
|------|-------|----------|--------|
| 总黄酮 | 0.713 | 0.673 | 0.623 |
| 芦丁 | 0.744 | 0.707 | 0.037 |
| 金丝桃苷 | 0.782 | 0.751 | 0.089 |
| 槲皮素 | 0.800 | 0.771 | 0.104 |
| 橙皮苷 | 0.634 | 0.582 | 0.057 |

表 9 花椒各成分颜色值方差分析

Table 9 Analysis of variance of ZP's contents L^* , a^* , b^*

| 成分 | 模型 | SS | df | MS | F |
|------|-------|--------|----|-------|--------|
| 总黄酮 | 回归平方和 | 20.331 | 3 | 6.777 | 17.429 |
| | 残差平方和 | 8.165 | 21 | 0.389 | |
| | 总计 | 28.496 | 24 | | |
| 芦丁 | 回归平方和 | 0.087 | 3 | 0.029 | 20.293 |
| | 残差平方和 | 0.030 | 21 | 0.001 | |
| | 总计 | 0.117 | 24 | | |
| 金丝桃苷 | 回归平方和 | 0.608 | 3 | 0.203 | 25.145 |
| | 残差平方和 | 0.169 | 21 | 0.008 | |
| | 总计 | 0.778 | 24 | | |
| 槲皮素 | 回归平方和 | 0.915 | 3 | 0.305 | 27.976 |
| | 残差平方和 | 0.229 | 21 | 0.011 | |
| | 总计 | 1.144 | 24 | | |
| 橙皮苷 | 回归平方和 | 0.122 | 3 | 0.041 | 12.126 |
| | 残差平方和 | 0.070 | 21 | 0.003 | |
| | 总计 | 0.192 | 24 | | |

注: P 均为 0。

表 10 花椒各成分颜色值回归系数

Table 10 Regression coefficient of ZP's contents L^* , a^* , b^*

| 成分 | 模型 | 非标准化系数 | 标准系数 | t | P |
|------|-------|--------|--------|--------|-------|
| 总黄酮 | (常量) | -0.658 | | -0.457 | 0.653 |
| | L^* | 0.002 | 0.010 | 0.048 | 0.962 |
| | a^* | 0.445 | 0.813 | 4.814 | 0.000 |
| 芦丁 | (常量) | -0.171 | | -1.956 | 0.064 |
| | L^* | 0.003 | 0.190 | 0.995 | 0.331 |
| | a^* | 0.027 | 0.777 | 4.864 | 0.000 |
| 金丝桃苷 | (常量) | -0.831 | | -4.001 | 0.001 |
| | L^* | 0.004 | 0.100 | 0.567 | 0.577 |
| | a^* | 0.058 | 0.644 | 4.374 | 0.000 |
| 槲皮素 | (常量) | -0.937 | | -3.883 | 0.001 |
| | L^* | -0.002 | -0.035 | -0.206 | 0.839 |
| | a^* | 0.077 | 0.701 | 4.967 | 0.000 |
| 橙皮苷 | (常量) | 0.379 | | 2.833 | 0.010 |
| | L^* | 0.002 | 0.123 | 0.540 | 0.595 |
| | a^* | -0.035 | -0.774 | -4.056 | 0.001 |
| | (常量) | -0.008 | | -1.299 | 0.208 |
| | b^* | 0.021 | 0.284 | 2.121 | 0.046 |
| | b^* | 0.021 | 0.284 | 2.121 | 0.046 |

表 5 可知花椒黄酮类成分共同作自变量时与 L^* , a^* , b^* 的 r^2 值分别为 0.592, 0.794, 0.658, 说明颜色值受黄酮类成分的影响程度分别为 59.2%, 79.4%, 65.8%, 表 6 看出验证回归式显著性的 F 值分别为 5.513, 14.633, 7.322, P 均 < 0.05 , 说明总黄酮与芦丁构成的回归式统计学上是显著的, 表 7 得出回归式 $L^* = 42.845 - 1.772 \times \text{总黄酮} + 2.610 \times \text{芦丁}$; $a^* = 5.817 - 0.081 \times \text{总黄酮} - 0.081 \times \text{芦丁}$; $b^* = 22.209 - 1.855 \times \text{总黄酮} + 15.353 \times \text{芦丁}$, 总黄酮的回归系数均不显著, P 为 0.393, 0.900, 0.083; 芦丁的回归系数均显著, P 均 < 0.05 。由表 8 可知花椒总黄酮、芦丁、金丝桃苷和槲皮素的含量与 L^* , a^* , b^* 的 r^2 值分别为 0.713, 0.707, 0.751, 0.800, 说明在 71.3%, 70.7%, 75.1%, 80.0% 的程度上通过颜色值反应总黄酮、芦丁、金丝桃苷和槲皮素的含量; 青椒橙皮苷的含量与 L^* , a^* , b^* 的 r^2 值为 0.634, 说明在 63.4% 的程度上通过颜色值反应橙皮苷的含量; 由表 9 可知花椒总黄酮、芦丁、金丝桃苷和槲皮素的含量与 L^* , a^* , b^* 的验证回归式显著性 F 值分别为 17.429, 20.293, 25.145, 27.976, P 均 < 0.05 , 说明黄酮类成分与颜色值所构成的回归式统计学上是显著的; 青椒橙皮苷的含量与 L^* , a^* , b^* 显著性 F 值为 12.126, $P < 0.05$; 回归式为总黄酮 = $-0.658 + 0.002L^* + 0.445a^* + 0.025b^*$, 芦丁 = $-0.658 - 0.171L^* + 0.027a^* - 0.004b^*$; 金丝

桃苷 = $-0.831 + 0.004L^* + 0.058a^* + 0.021b^*$; 槲皮素 = $-0.937 - 0.002L^* + 0.077a^* + 0.034b^*$; 橙皮苷 = $0.379 + 0.002L^* - 0.035a^* - 0.008b^*$ 。

3 讨论

研究发现花椒药材含有较为丰富的酰胺类、生物碱和香豆素类成分,但花椒药材中酰胺类成分均为不饱和脂肪酸酰胺,由于其不稳定性而不适合作为花椒药材品质评价指标;生物碱类成分花椒和青椒所含种类不一、且含量极低,此外,仅青椒含有香豆素类成分香柑内酯,故未选择其作为花椒药材品质评价的指标。挥发油为花椒的主要活性成分,已收载于2015年版《中国药典》(一部)花椒药材含量测定项下。本实验所选黄酮类成分比较稳定,又为天然色素成分。采用分光测色仪测定本实验所采集的14批花椒样品颜色值 L^* 平均值为47.49, a^* 平均值为8.66, b^* 平均值为22.09;11批青椒样品 L^* 平均值为40.94, a^* 平均值为5.18, b^* 平均值为19.32,花椒样品 L^* , a^* , b^* 值均高于青椒,就 L^* 而言,花椒样品偏白,而青椒样品偏黑;就 a^* 而言,花椒偏红,青椒偏绿;就 b^* 而言,花椒偏黄,青椒偏蓝。

通过对25批花椒药材总黄酮、芦丁、金丝桃苷和槲皮素,青椒药材橙皮苷含量与颜色值相关性分析、回归性分析,花椒总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量与 L^* , a^* 显著正相关,说明在一定程度上 L^* , a^* 越大,总黄酮、芦丁、金丝桃苷、槲皮素含量越高,金丝桃苷、槲皮素的含量与颜色值 b^* 显著正相关;青椒橙皮苷的含量与 L^* , a^* , b^* 显著负相关,说明在一定程度上 L^* , a^* , b^* 越大橙皮苷的含量越低。通过回归分析发现,总黄酮及黄酮类成分与颜色值所构成的回归式是显著具有统计学意义,说明在63.4%~80.0%的程度上可以根据颜色值推测其含量,而颜色值受黄酮类成分的影响程度为59.2%~65.8%,因此可以通过量化花椒药材颜色值结合回归方程式分析找到一种预测总黄酮及黄酮类成分含量的方法。

本实验引入色度分析原理对花椒药材颜色进行了客观量化,研究黄酮类成分与外观颜色的相关性,建立了一种以量化颜色快速评价花椒药材品质的方

法。在后续研究中需加大样本量,完善品质评价方法的建立与验证指标,为花椒品质评价提供参考。

[参考文献]

- [1] 黎江华,吴纯洁,孙灵根,等. 基于机器视觉技术实现中药性状“形色”客观化表达的展望[J]. 中成药, 2011,33(10):1781-1784.
- [2] 杨添钧,杨诗龙,吴纯洁. 中药颜色客观量化的思考与实践[C]//“好医生杯”中药制剂创新与发展论坛论文集(上). 成都:中华中医药学会中药制剂分会、世界中医药学会联合会中药药剂专业委员会, 2013:5.
- [3] 赵雷蕾,周洋,黎茂,等. 基于数据化表达的中药“形色气味”研究进展及思考[J]. 广东药学院学报, 2015,31(5):692-695.
- [4] 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]//中华中医药学会中药炮制分会2008年学术研讨会论文集. 焦作:中华中医药学会中药炮制分会,2008:6.
- [5] 黄学思,李文敏,张小琳,等. 基于色彩色差计和电子鼻的槟榔炒制火候判别及其指标量化研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(14):1786-1791.
- [6] 熊吟,肖潇,闫永红,等. 基于色度分析原理的金银花药效物质含量与颜色值相关性研究[J]. 中华中医药学刊,2013,31(3):667-670.
- [7] 刘杰,徐佳,杨瑶珺,等. 基于色度分析原理的防风有效成分含量与颜色值相关性研究[J]. 现代中药研究与实践,2015(2):20-25.
- [8] 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,2015:159.
- [9] 梁辉,赵镭,杨静,等. 花椒化学成分及药理作用的研究进展[J]. 华西药学杂志,2014,29(1):91-94
- [10] 袁海梅,邱露,谢贞建,等. 花椒属植物生物碱类成分及其药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(23):4573-4584.
- [11] 樊丹青. 花椒药材质量标准研究[D]. 成都:成都中医药大学,2014.
- [12] 李慧勇. 花椒和青椒的生药学、化学成分和药效学比较研究[D]. 成都:成都中医药大学,2009.
- [13] 吴亮亮. 花椒黄酮成分提取分离及抗氧化活性研究[D]. 南京:南京农业大学,2010.

[责任编辑 顾雪竹]