

干姜及其炮制品色差值与活性成分含量的相关性研究[△]

林华坚*,张梓豪,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(2020)10-1197-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.10.08

摘要 目的:评价干姜及其炮制品色差值与活性成分含量的相关性。方法:采用高效液相色谱法测定6种活性成分的含量,采用色彩色差计测定干姜及其炮制品的色差值[明度(L^*)、红绿色轴分量(a^*)、黄蓝色轴分量(b^*)]。采用SPSS 24.0软件对色差值与活性成分含量进行相关性分析。结果:姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇和10-姜酚检测质量浓度的线性范围分别为2.65~105.90、10.15~406.00、4.87~194.80、5.28~211.20、6.14~245.70、7.02~280.80 $\mu\text{g/mL}$ (r 均大于0.999);定量限分别为7.46、13.68、14.37、16.62、17.03、17.99 ng,检测限分别为2.24、4.11、4.31、4.99、5.11、5.40 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%;平均加样回收率分别为101.34%、102.14%、101.22%、103.12%、103.74%、103.54%、103.06%、98.55%、99.43%、99.36%、103.51%、101.21%、100.85%、99.42%、99.60%、100.39%、97.69%、103.84% (RSD均小于3%, $n=3$);含量分别为0~0.66、0.06~7.57、0.03~1.45、0.29~3.47、0.15~2.85、0.04~2.83 mg/g。色差值 L^* 、 b^* 与干姜不同炮制程度呈极显著负相关($P<0.01$), a^* 与炮制程度呈正相关($P<0.05$);干姜炮制前后 L^* 、 b^* 与姜酮含量呈极显著负相关,与其余5种成分呈极显著正相关($P<0.01$); a^* 与姜酮呈极显著正相关($P<0.01$),与其余5种成分无相关性($P>0.05$);干姜及其炮制品与姜酮含量呈极显著正相关,与其余5种成分含量呈极显著负相关($P<0.01$)。结论:干姜及其炮制品的色差值与其活性成分含量相关,即随炮制程度的加重,其 a^* 增加, L^* 、 b^* 降低;姜酮含量升高,6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚含量降低。

关键词 干姜;炮制品;高效液相色谱法;色彩色差计;活性成分;含量;色差值;相关性分析

Correlation Study of Color Difference Values and Active Constituent Contents in Crude and Processed *Zingiber officinale*

LIN Huajian, ZHANG Zihao, MENG Jiang, WANG Shumei (School of Traditional Chinese Medicine, 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 Guangdong Universities, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the correlation between color difference values and active constituent contents of crude and processed *Zingiber officinale*. METHODS: HPLC method was adopted to determine the content of 6 active constituents. The color difference values of crude and processed *Z. officinale* [lightness (L^*), red-green axis component (a^*), yellow-blue axis component (b^*)] were determined by chromatic aberration meter. SPSS 24.0 software was adopted for the correlation analysis between color difference values and active constituent contents. RESULTS: The linear range of zingiberone, 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, diacetoxy-6-gingerol and 10-gingerol were 2.65-105.90, 10.15-406.00, 4.87-194.80, 5.28-211.20, 6.14-245.70, 7.02-280.80 $\mu\text{g/mL}$ ($r>0.999$). The limits of quantification were 7.46, 13.68, 14.37, 16.62, 17.03, 17.99 ng, and the limits of detection were 2.24, 4.11, 4.31, 4.99, 5.11, 5.40 ng, respectively. RSDs of precision, stability, and repeatability tests were all lower than 3%. The average recovery rates were 101.34%, 102.14%, 101.22%; 103.12%, 103.74%, 103.54%; 103.06%,

properties critical for cell migration and invasion[J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(2): 505-512.

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81873006, No.81110-2809);国家中医药管理局第6批全国老中医药专家学术经验继承工作项目(No.国中医药人教发[2017]29号);广东省教育厅重点平台和科研项目(No.2018KZDXM040, No.2016KTSCX064);

* 硕士研究生。研究方向:生药学。E-mail: nutwww@163.com

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

[33] HUANG T, CHEN Z, FANG L. Curcumin inhibits LPS-induced EMT through downregulation of NF- κ B-Snail signaling in breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1): 117-124.

[34] LI H, LI Y, LIU D, et al. LPS promotes epithelial-mesenchymal transition and activation of TLR4/JNK signaling[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(10): 10429-10435.

(收稿日期:2019-09-14 修回日期:2020-03-26)

(编辑:段思怡)

98.55%, 99.43%; 99.36%, 103.51%, 101.21%; 100.85%, 99.42%, 99.60%; 100.39%, 97.69%, 103.84% (RSD were all lower than 3%, $n=3$), respectively. The contents of them were 0-0.66, 0.06-7.57, 0.03-1.45, 0.29-3.47, 0.15-2.85, 0.04-2.83 mg/g, respectively. L^* and b^* values were negative correlated with the processing degree of *Z. officinale* significantly ($P<0.01$), a^* showed a significantly positive correlation with the processing degree ($P<0.05$). L^* and b^* values showed a significantly negative correlation with the content of zingiberone before and after processing, but positively correlated with the other five components ($P<0.01$). a^* showed a significantly positive correlation with the content of zingiberone, but had no correlation with other five components ($P>0.05$). The crude and processed *Z. officinale* were positive correlated with the content of zingiberone, negatively correlated with other five components ($P<0.01$). CONCLUSIONS: There is a certain correlation between the color difference values of crude and processed *Z. officinale* and the contents of their active constituents. With the deepening of the processing, a^* values is increased, L^* values and b^* values is decreased; the content of zingiberone increases, the contents of 6-gingerol, 8-gingerol, 6-shogaol, diacetoxy-6-gingerol, 10-gingerol reduce.

KEYWORDS Crude *Zingiber officinale*; Processed product; HPLC; Chromatic aberration meter; Active constituent; Content; Color difference values; Correlation analysis

干姜为姜科植物姜(*Zingiber officinale* Rosc.)的干燥根茎,是一种药食同源的常见中药。该药性辛、热,具有温中散寒、回阳通脉、温肺化饮的功效^[1]。干姜在临床上使用的炮制品种包括炮姜和姜炭,其中炮姜辛燥之性较干姜弱,但温经作用缓和持久,用于温经止痛^[2];姜炭辛味消失,温经作用弱于炮姜,长于止血^[2]。干姜及其炮制品主要含有姜辣素类活性成分,包括6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚、6-姜烯酚、姜酮、二乙酰氧基-6-姜二醇等化合物^[3-5],具有抗氧化、解热抗炎、改善心血管系统等作用^[6]。目前,干姜及其炮制品的质量控制主要包括6-姜酚的含量测定和传统的性状、颜色鉴别^[1]。2015年版《中国药典》(一部)对干姜、炮姜和姜炭的颜色鉴别描述分别为“表面灰黄色”“表面棕褐色”“表面黑色”^[1],但颜色判断易受主观因素的影响,缺乏客观评价标准,且颜色的界定过于模糊,不利于饮片的规范化生产和质量评价;加之干姜饮片的炮制程度与其成分、颜色的相关性尚未有文献报道,因此需要建立一种科学、有效的适用于评价干姜及其不同炮制品的客观量化方法。

色彩色差计是通过模拟人眼对颜色的判断,得到样品颜色的3个刺激值 X 、 Y 和 Z^1 ,再根据国际照明委员会Lab颜色空间原理计算得出色差值明度(L^*)、红绿色轴分量(a^*)、黄蓝色轴分量(b^*)(其中,“ $+a^*$ ”表示红色,“ $-a^*$ ”表示绿色;“ $+b^*$ ”表示黄色,“ $-b^*$ ”表示蓝色)^[8],最后通过 L^* 、 a^* 、 b^* 将颜色准确量化。近年来,色彩色差计已在食品、医药等领域广泛应用,如石典花等^[9]通过色彩色差计验证了传统方法鉴别丹参“色红者佳”的科学性;黄学思等^[10]通过色彩色差计测定不同炮制程度的槟榔颜色,发现该方法能用于判别中药炮制的“火候”。基于此,本研究采用色彩色差计对干姜、炮姜和姜炭的颜色进行客观、数字化处理,对传统的颜色指标进行客观量化,并分析其与主要活性成分含量的相关性,旨在为干姜及其炮制品的鉴别和质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪,包括光电二极管阵列管检测器、色谱工作站(美国Agilent公司);CR-410型色彩色差计,配备CR-A50型粉末测试盒(日本Konica Minolta公司);YB-2500A型高速多功能粉碎机(永康市速锋工贸有限公司);CPA225D型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);KQ-300DE型超声波清洗器(上海凌科实业发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

姜酮对照品(批号:131010,纯度: $\geq 98\%$)、6-姜烯酚对照品(批号:130912,纯度: $\geq 98\%$)均购自成都瑞芬思生物科技有限公司;6-姜酚对照品(批号:130827,纯度: $\geq 98\%$)、8-姜酚对照品(批号:140422,纯度: $\geq 98\%$)、10-姜酚对照品(批号:140520,纯度: $\geq 98\%$)均购自南通飞宇生物科技有限公司;二乙酰氧基-6-姜二醇对照品(本课题组自制,纯度: $\geq 98\%$)^[11];乙腈、乙酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

16批干姜饮片(编号:GJ1~GJ16)由广东药科大学中药学院刘基柱副教授鉴定,均为姜科植物姜(*Z. officinale* Rosc.)的干燥根茎。样品采集后密封避光存放在干燥器中,并于2年内完成试验,样品信息来源见表1。

2 方法与结果

2.1 干姜及其炮制品的制备

干姜:除去杂质,略泡,洗净,润透,切厚片,干燥,按2015年版《中国药典》(四部)“0213炮制通则”^[12]炮制。炮姜:取干姜用砂烫至鼓起,表面呈棕褐色,即得,共制备16批(编号:PJ1~PJ16)。姜炭:取干姜炒至表面黑色、内部棕褐色,即得,共制备16批(编号:JT1~JT16)。

2.2 含量测定方法的建立

2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称取姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚对照品各适量,分别加甲醇溶解,制成上述6种成分质量浓

表1 样品信息来源

Tab 1 Sample information source

编号	产地	来源	采收时间
GJ1	四川德阳	广州致信中药饮片有限公司	2013年12月12日
GJ2	四川成都	广州致信中药饮片有限公司	2013年12月25日
GJ3	四川南充	广州致信中药饮片有限公司	2014年6月23日
GJ4	四川眉山	广州致信中药饮片有限公司	2013年11月28日
GJ5	四川犍为	广州致信中药饮片有限公司	2013年12月5日
GJ6	广东茂名	广州市药材公司中药饮片厂	2013年10月13日
GJ7	广东湛江	广州市药材公司中药饮片厂	2014年1月25日
GJ8	广东湛江	广州市药材公司中药饮片厂	2014年2月15日
GJ9	广东阳江	广州市药材公司中药饮片厂	2014年2月21日
GJ10	云南曲靖	广东天诚中药饮片有限公司	2014年1月13日
GJ11	云南文山	广东天诚中药饮片有限公司	2014年1月16日
GJ12	云南保山	广东天诚中药饮片有限公司	2014年2月19日
GJ13	广西南宁	广州和翔制药有限公司	2014年1月18日
GJ14	广西钦州	广州和翔制药有限公司	2014年1月17日
GJ15	广西贵阳	广州和翔制药有限公司	2014年2月27日
GJ16	贵州遵义	康美药业(贵州)有限公司	2013年10月21日

度分别为0.706、0.580、0.974、0.528、0.410、0.468 mg/mL的单一对照品溶液。分别精密量取上述对照品溶液300、1 400、400、800、1 200、1 200 μ L,加甲醇稀释并定容于5 mL量瓶,混合均匀,制得6种成分质量浓度分别为42.36、162.4、77.92、84.48、98.40、112.32 μ g/mL的混合对照品溶液。

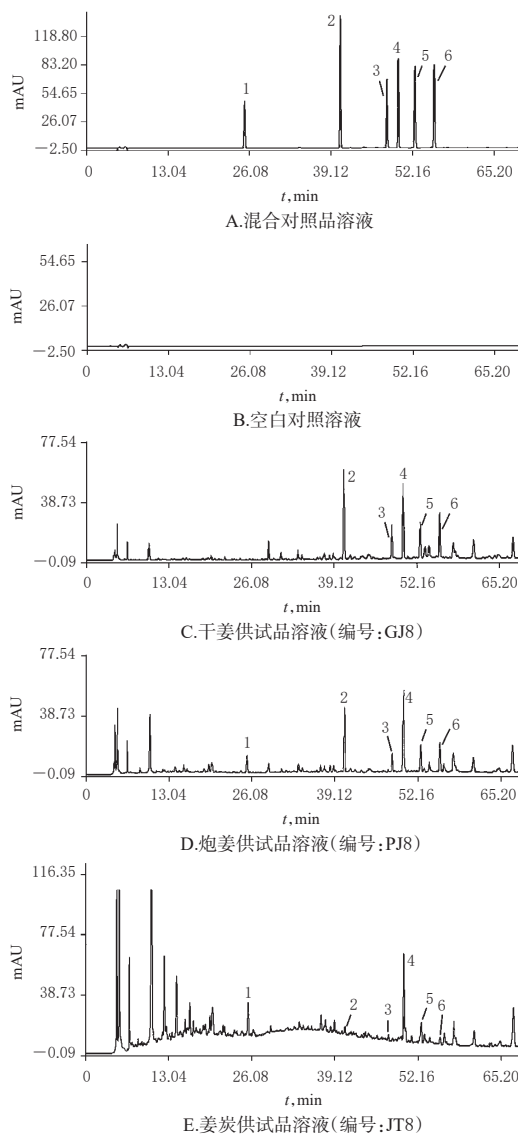
2.2.2 供试品溶液的制备 取干姜、炮姜、姜炭样品粉末(过80目筛)各0.3 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,加甲醇10 mL,超声(功率:100 W,频率:40 kHz,下同)提取40 min,用甲醇补足减失的质量,经0.22 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得3种供试品溶液。

2.2.3 空白对照溶液的制备 不加药材样品,其余按“2.2.2”项下方法“加甲醇10 mL……经0.22 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液”操作,即得。

2.2.4 色谱条件 色谱柱:Ultimate™ XB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:乙腈(A)-0.1%乙酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,10% A→25% A;10~20 min,25% A→35% A;20~55 min,35% A→75% A;55~90 min,75% A→90% A;90~100 min,90% A→100% A);检测波长:280 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;流速:0.6 mL/min;进样量:10 μ L。

2.2.5 系统适用性试验 精密量取上述混合对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液各10 μ L,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图1。结果,各成分的分度均大于1.5,理论板数以姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇和10-姜酚峰计均大于5 000,空白对照对测定无干扰。

2.2.6 线性关系考察 精密量取姜酮对照品溶液7.5、37.5、75、150、300 μ L,6-姜酚对照品溶液35、175、350、700、1400 μ L,8-姜酚对照品溶液10、50、100、200、400 μ L,6-姜烯酚对照品溶液20、100、200、400、800 μ L,二乙



注:1.姜酮;2.6-姜酚;3.8-姜酚;4.6-姜烯酚;5.二乙酰氧基-6-姜二醇;6.10-姜酚

Note: 1. zingiberone; 2. 6-gingerol; 3. 8-gingerol; 4. 6-shogaol; 5. diacetoxy-6-gingerol; 6. 10-gingerol

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

酰氧基-6-姜二醇和10-姜酚对照品溶液30、150、300、600、1 200 μ L,用甲醇稀释并定容于2 mL量瓶中,得系列质量浓度的线性工作溶液,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x, μ g/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,结果见表2。

2.2.7 定量限与检测限考察 取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,用甲醇倍比稀释,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限和检测限。结果,姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚的定量限分别为7.46、13.68、14.37、16.62、17.03、17.99 ng,检测限分别为2.24、4.11、4.31、4.99、5.11、5.40 ng。

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range

成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g/mL}$	r
姜酮	$y=1400.8x-6.4591$	2.65~105.90	0.9997
6-姜酚	$y=669.74x-6.5215$	10.15~406.00	0.9999
8-姜酚	$y=837.36x+6.4058$	4.87~194.80	0.9998
6-姜烯酚	$y=951.22x+0.4535$	5.28~211.20	0.9999
二乙酰氧基-6-姜二醇	$y=595.14x+7.7187$	6.14~245.70	0.9998
10-姜酚	$y=750.94x+1.1775$	7.02~280.80	0.9999

2.2.8 精密密度试验 精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.2.4”项下色谱条件于同日内连续进样测定6次,记录峰面积。结果,姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚峰面积的RSD分别为1.92%、1.66%、1.98%、1.55%、1.35%、1.96% ($n=6$),表明仪器精密密度良好。

2.2.9 稳定性试验 精密量取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:PJ10)适量,分别于室温下放置0、3、6、9、12、24 h时,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚峰面积的RSD分别为0.27%、0.30%、0.64%、0.35%、0.41%、0.31% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.10 重复性试验 精密称取样品粉末(编号:PJ10)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中6种成分的含量。结果,姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚的平均含量分别为0.20、2.77、0.87、1.60、1.45、1.61 mg/g, RSD分别为2.07%、1.83%、2.05%、2.13%、2.42%、1.56% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.11 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品(编号:PJ10),每份约0.15 g,共9份,按待测成分含量的50%、100%、150%加入“2.2.1”项下混合对照品溶液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果,姜酮、6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚的平均加样回收率分别为101.34%、102.14%、101.22%、103.12%、103.74%、103.54%、103.06%、98.55%、99.43%、99.36%、103.51%、101.21%、100.85%、99.42%、99.60%、100.39%、97.69%、103.84% (RSD均小于3%, $n=3$)。

2.3 色泽测定方法的建立

2.3.1 测定方法与条件 分别取干姜、炮姜、姜炭样品适量,粉碎后过80目筛,混合均匀,将样品粉末置于色彩色差计中,测定样品粉末颜色,每样品平行测定3次,取平均值。色彩色差计测定条件为光源D₆₅,标准观察角度2°,照明口径50 mm。经白板校准,以 $L^*=100$ 、 $a^*=0$ 、

$b^*=0$ 为参照校正色^[13],测得各样品的 L^* 、 a^* 、 b^* 。

2.3.2 精密密度考察 取样品(编号:GJ6)粉末适量,置于色彩色差计中,在同日内按“2.3.1”项下测定条件连续测定5次。结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的RSD分别为0.01%、0.41%、0.05% ($n=5$),表明本方法精密密度良好。

2.3.3 样品稳定性考察 取样品(编号:GJ6)粉末适量,置于色彩色差计中,按“2.3.1”项下测定条件连续5天在同一时刻测定样品色差值。结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的RSD分别为0.94%、1.96%、1.76% ($n=5$),表明样品稳定性良好。

2.3.4 不同光照强度的稳定性考察 取样品(编号:GJ6)粉末适量,置于色彩色差计中,按“2.3.1”项下测定条件分别于同日内10:30、13:00、15:30、17:30、20:00时连续测定样品色差值,共5次。结果, L^* 、 a^* 、 b^* 的RSD分别为0.54%、1.44%、0.95% ($n=5$),表明不同光照强度对试验结果稳定性影响较小。

2.4 样品含量及色泽的测定

精密称取48批样品粉末适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中6种成分的含量。另精密称取48批样品粉末适量,置于色彩色差计中,按“2.3.1”项下测定条件测定样品色差值。每样品平行操作3次,结果见表3。

2.5 秩和检验分析

采用SPSS 24.0软件对数据进行统计分析。由于部分试验数据不符合正态分布且方差不齐,故采用秩和检验分析。经独立样本Kruskal-Wallis检验,得干姜、炮姜、姜炭 L^* 、 a^* 、 b^* 的 χ^2 分别为41.805、35.639、41.796 (P 均小于0.01),而在独立样本中位数检验中的 χ^2 分别为32.000、28.500、32.000 (P 均小于0.01),均拒绝假设 H_0 (数据无差异),接受假设 H_1 (数据有差异),表明干姜、炮姜、姜炭颜色有显著性差异。

2.6 判别分析

将样本按炮制类型分为3类(1类为干姜、2类为炮姜、3类为姜炭),以48批样品作为训练集,采用SPSS 24.0软件建立以 L^* 、 a^* 、 b^* 为变量的干姜、炮姜、姜炭的判别函数,再用训练集回代验证。结果,在判别函数中, L^* 、 a^* 、 b^* 均有统计学意义($P<0.01$),其 λ 值分别为0.019、0.134、0.024(λ 值表示组间差异,范围为0~1,其值越小表示组间差异越大^[14])。由于 L^* 的 λ 值最接近0,表明组间差异最显著,故认为 L^* 在判别中贡献率最大。根据Wilk's Lambda检验结果,建立2个典则判别函数, λ 值分别为0.002、0.136,判别函数有统计学意义($P<0.01$),得到标准化典则判别函数 $1=0.462\times L^*-0.321\times a^*+0.782\times b^*$,函数 $2=0.231\times L^*+1.190\times a^*-0.172\times b^*$;

表3 色泽及含量测定结果(n=3)

Tab 3 Color and content determination of 6 kinds of chemical components(n=3)

编号	姜酮, mg/g	6-姜酚, mg/g	8-姜酚, mg/g	6-姜烯酚, mg/g	二乙酰氧基-6-姜二醇, mg/g	10-姜酚, mg/g	L*	a*	b*
GJ1	0	3.41	0.92	1.91	2.14	1.71	51.07	3.89	13.81
GJ2	0	5.86	1.34	1.74	2.23	2.68	53.20	3.43	14.07
GJ3	0	5.55	1.06	2.48	1.92	2.01	52.49	3.49	14.21
GJ4	0	7.57	1.45	1.82	2.21	2.83	53.07	3.44	14.11
GJ5	0	3.96	0.96	2.53	2.17	1.92	55.22	2.41	13.78
GJ6	0	5.28	1.14	1.91	2.18	2.07	53.73	3.23	14.41
GJ7	0	4.20	1.04	3.30	2.85	2.04	54.00	2.84	13.71
GJ8	0	3.67	0.94	1.89	1.70	1.85	54.39	3.23	14.25
GJ9	0	7.10	1.45	2.19	2.30	2.58	56.83	1.90	13.20
GJ10	0	4.13	0.93	1.23	1.66	1.75	56.31	2.04	13.34
GJ11	0	4.27	0.80	1.81	1.58	1.24	52.28	3.69	14.19
GJ12	0	5.37	1.07	1.18	1.66	1.88	53.24	3.39	13.94
GJ13	0	6.71	1.37	1.93	1.95	2.23	54.31	2.64	13.64
GJ14	0	6.46	1.42	1.67	2.22	2.48	54.81	2.66	13.76
GJ15	0	6.43	1.38	1.68	2.22	2.46	54.12	2.96	13.83
GJ16	0	5.55	1.05	1.72	1.66	1.88	54.05	3.43	14.80
PJ1	0.22	3.81	0.88	1.96	1.68	1.73	44.23	5.49	11.33
PJ2	0.44	4.07	1.13	2.28	1.74	2.06	44.80	6.18	12.92
PJ3	0.19	5.84	1.21	2.08	1.67	2.01	44.60	5.07	11.34
PJ4	0.45	4.30	0.86	1.80	1.26	1.64	44.05	5.97	11.79
PJ5	0.15	3.97	1.06	3.39	2.04	1.88	43.53	5.82	11.46
PJ6	0.49	4.22	0.96	3.47	1.90	1.70	44.06	5.93	11.73
PJ7	0.13	2.02	0.44	2.93	1.73	0.78	41.75	5.50	9.91
PJ8	0.38	2.22	0.60	2.36	1.36	1.20	42.88	4.93	9.85
PJ9	0.61	5.06	1.16	2.71	1.82	1.90	42.27	5.40	9.78
PJ10	0.20	2.78	0.86	1.61	1.44	1.60	41.97	6.08	10.44
PJ11	0.24	3.90	1.05	2.02	1.76	1.71	42.65	6.19	11.06
PJ12	0.30	4.93	1.11	1.74	1.72	2.01	42.44	5.65	10.51
PJ13	0.34	3.90	0.96	1.96	1.49	1.54	41.91	5.85	10.18
PJ14	0.36	4.31	1.03	1.75	1.89	1.81	43.26	5.96	11.27
PJ15	0.40	5.25	1.34	2.17	2.25	2.26	41.78	5.73	9.89
PJ16	0.28	6.09	1.40	1.45	1.78	2.39	41.10	5.63	9.40
JT1	0.33	0.34	0.14	1.05	0.62	0.22	34.98	3.64	2.28
JT2	0.43	0.59	0.21	1.16	0.64	0.36	35.14	3.88	2.33
JT3	0.22	0.21	0.06	0.83	0.48	0.10	35.28	3.79	2.74
JT4	0.50	0.40	0.16	0.83	0.54	0.26	34.77	3.81	2.85
JT5	0.25	0.31	0.12	0.79	0.49	0.16	34.96	3.54	2.46
JT6	0.29	0.17	0.15	0.58	0.42	0.21	35.14	3.82	3.13
JT7	0.20	0.36	0.11	1.04	0.59	0.16	35.54	4.16	3.89
JT8	0.40	0.49	0.19	0.70	0.49	0.26	34.31	2.74	0.29
JT9	0.41	0.41	0.15	0.88	0.53	0.23	35.14	3.08	2.16
JT10	0.22	0.06	0.03	0.29	0.15	0.04	34.43	2.93	1.73
JT11	0.42	0.54	0.18	0.62	0.44	0.25	36.40	3.77	2.17
JT12	0.66	0.73	0.27	0.90	0.70	0.30	34.91	3.62	2.57
JT13	0.63	0.56	0.21	0.97	0.60	0.30	34.58	3.53	1.48
JT14	0.48	0.43	0.17	1.01	0.72	0.25	34.97	3.83	2.72
JT15	0.50	0.17	0.16	0.75	0.59	0.22	35.56	3.61	1.43
JT16	0.64	0.72	0.27	1.10	0.75	0.33	35.57	4.36	3.71

非标准化典则判别函数分别为函数1=0.417×L* - 0.691×a*+0.994×b* - 24.467, 函数2=0.208×L*+2.562×a* - 0.219×b* - 17.769, 详见图2(组质心表示数据分布的平均位置)。由图2可知,干姜、炮姜、姜炭的色泽具有显著区别。结果,16批干姜为1类,16批炮姜为2类,16

批姜炭为3类,判别准确率为100%,提示该模型具有理想的判别效果。

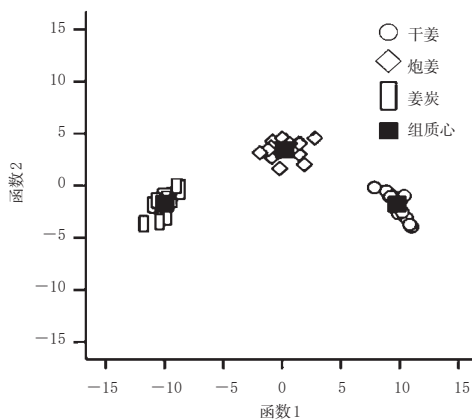


图2 干姜及其炮制品的典则判别分析图

Fig 2 Discriminant analysis of crude and processed *Z. officinale*

2.7 相关性分析

2.7.1 色泽与不同炮制程度的相关性 采用SPSS 24.0软件对干姜、炮姜、姜炭与其L*、a*、b*进行秩相关分析。Kedall's tau_b检验结果显示,L*、a*、b*与干姜、炮姜、姜炭的相关系数分别为-0.826(P<0.01)、0.176(P>0.05)、-0.825(P<0.01)。Spearman's rho检验结果显示,L*、a*、b*与干姜、炮姜、姜炭的相关系数分别为-0.943(P<0.01)、0.302(P<0.05)、-0.943(P<0.01)。这提示,L*、b*与干姜不同炮制程度呈极显著负相关,a*与炮制程度相关性不强(P<0.05表示显著相关,P<0.01表示极显著相关,下同)。

2.7.2 色泽与含量的相关性 采用SPSS 24.0软件对干姜、炮姜、姜炭中的6种成分含量与其L*、a*、b*进行秩相关分析。Kendall's tau_b检验和Spearman's rho检验结果均显示,干姜炮制前后,L*、b*与姜酮含量呈极显著负相关,与其余5种成分呈极显著正相关;a*与姜酮呈极显著正相关,与其余5种成分无相关性,详见表4[“#”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]。

表4 色泽与含量的相关性分析结果

Tab 4 Correlation analysis of color and content

待测成分	Kedall's tau_b检验			Spearman's rho检验		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
姜酮	-0.560##	0.333##	-0.576##	-0.751##	0.489##	-0.767##
6-姜酚	0.567##	-0.360	0.548##	0.778##	-0.101	0.765##
8-姜酚	0.532##	0.002	0.487##	0.739##	-0.034	0.701##
6-姜烯酚	0.414##	0.183	0.416##	0.622##	0.256	0.610##
二乙酰氧基-6姜二醇	0.574##	-0.005	0.549##	0.772##	0.066	0.747##
10-姜酚	0.583##	-0.037	0.551##	0.787##	-0.117	0.787##

2.7.3 干姜、炮姜、姜炭与含量的相关性 将干姜、炮姜、姜炭与其所含的6种成分含量进行秩相关分析。结

果显示,Kendall's tau_b检验的相关系数分别为0.686、-0.680、-0.630、-0.462、-0.679、-0.684, P 均小于0.01; Spearman's rho检验的相关系数分别为0.805、-0.818、-0.773、-0.631、-0.816、-0.819, P 均小于0.01。这提示,干姜、炮姜、姜炭与姜酮含量呈极显著正相关,与其余5种成分含量呈极显著负相关。

3 讨论

在传统的中药鉴定方法中,其颜色的定义和描述大多依赖于研究者的主观经验和感受,结果缺乏客观性与准确性,加之中药自身的复杂性,主观判断会影响药材和饮片的质量评价结果^[15]。现代色彩分析技术的发展可将人对颜色的主观判断进行客观量化,保证了颜色判断的准确性、稳定性和重复性,现已广泛应用于中药的质量评价^[16]。目前,干姜及其不同炮制品的鉴别主要根据传统的性状、颜色进行鉴定,也有文献报道了多成分含量测定、指纹图谱等内容^[17-18],但颜色的客观量化标准及其与内在成分的相关性分析尚未有报道。因此,有必要对干姜炮制前后颜色进行量化,分析颜色与成分之间的相关性,为评价干姜饮片质量提供依据。

本研究通过测定干姜及其炮制品中6种活性成分的含量,发现这6种成分的含量均发生了一定变化。其中,姜酮为炮制后新生成的化合物,而6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚的含量均有所下降。本研究通过色彩色差计测定样品的色差值,建立了干姜不同炮制程度的判别模型。结果显示,该判别模型的判别准确率为100%,提示该模型预测效果准确,可实现对干姜及其炮制品快速、准确的鉴别;同时将干姜及其炮制品的色差值与含有的6种成分含量进行相关性分析,发现随着炮制程度的加深, a^* 增加, L^* 、 b^* 降低,姜酮含量升高,6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚含量降低,干姜、炮姜、姜炭与姜酮含量呈极显著正相关,与其他5种成分含量呈极显著负相关,故推测干姜炮制前后颜色的变化与其化学成分含量的变化有关。

综上所述,干姜及其炮制品的色差值与其化学成分含量相关,即随炮制程度的加重,其 a^* 增加, L^* 、 b^* 降低;姜酮含量升高,6-姜酚、8-姜酚、6-姜烯酚、二乙酰氧基-6-姜二醇、10-姜酚含量降低。色彩色差计法操作简单、检测时间短,能间接反映饮片的内在质量,为建立干姜及其炮制品新的质量评价方法提供了参考,可推广至干姜的质量评价体系和干姜炮制过程的在线检测中。

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,2015:14-15.
- [2] 张宪印,田林,金毅.干姜、炮姜与姜炭的炮制作用浅议[J].山东中医杂志,2003,22(6):366-367.
- [3] 卢传坚.姜的化学成分分析研究概述[J].中药新药与临床药理,2003,14(3):215-217.
- [4] 张科卫,马彩霞,缪六舒.干姜、炮姜中成分的比较[J].中成药,2014,36(6):1254-1260.
- [5] 孙萌,杨宇萍,李拥军,等.姜炭化学成分的初步研究[J].中药材,2016,39(2):307-311.
- [6] 孙凤娇,李振麟,钱士辉,等.干姜化学成分和药理作用研究进展[J].中国野生植物资源,2015,34(3):34-37.
- [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.
- [8] 吕新广,赵美京. CIELAB色度空间的均匀性研究[J].郑州大学学报(理学版),2002,34(1):69-73.
- [9] 石典花,隆毅,戴衍朋,等.基于丹参药材内在质量与外观色泽相关性分析探索传统鉴定经验“色红者佳”的科学性[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(22):6-10.
- [10] 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.
- [11] 杜晶.姜炭化学成分的初步研究[D].广州:广东药学院,2014.
- [12] 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.
- [13] 叶日英,孙力军,王雅玲,等.冷藏凡纳滨对虾色差值与若干典型质量性状的灰色关联分析[J].中国食品学报,2018,18(3):205-210.
- [14] 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.
- [15] 肖小河,金城,赵中振,等.论中药质量控制与评价模式的创新与发展[J].中国中药杂志,2007,32(14):1377-1381.
- [16] 徐曼菲,吴志生,刘晓娜,等.从辨色论质谈中药质量评价方法[J].中国中药杂志,2016,41(2):177-181.
- [17] 张永鑫,李俊松,陈丽华,等.高效液相色谱法同时测定姜及其不同炮制品中5种姜辣素的含量[J].中国药学杂志,2012,47(6):471-474.
- [18] 薛丹丹,张科卫,钱琰.干姜、姜皮和姜炭的HPLC指纹图谱比较[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(5):57-60.

(收稿日期:2019-10-15 修回日期:2020-03-31)

(编辑:陈宏)