DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.04.034

基于 GC－MS 和 HPLC－电子眼联用技术的唐栀子药材质量分析

陈培[1],薛淑娟[1,2],练从龙[1,2],刘哲[1],布晨希[1],吴给给[1],陈随清[1,2]
(1.河南中医药大学药学院,河南 郑州 450046;2.豫药全产业链研发河南省协同创新中心,河南 郑州 450046)

摘要:目的 探究唐河栀子挥发油成分组成和不同颜色与不同部位果皮、果仁药材质量差异,为唐河栀子质量评价及开发利用提供参考依据。方法 通过气相色谱－质谱联用仪(Gas Chromatography－Mass Spectrometer,GC－MS)结合保留指数(Retention Index,RI)法解析栀子挥发油成分组成;采用 HPLC 检测西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ含量(检测波长为 440 nm),京尼平苷酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷含量(检测波长为 240 nm)9 种化学成分含量,以 Agilent Extend－C_{18}柱为色谱柱,乙腈－0.1% 甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱;利用电子眼技术,引入色度值(L^*、a^*、b^*)量化栀子果皮、果仁不同外观颜色;通过聚类分析进行初步分类,结合皮尔逊相关性分析和回归方程分析唐河栀子果皮、果仁有效成分与外观颜色之间关系;运用正交偏最小二乘判别分析法(Orthogonal Partial Least Squares－Discriminant Analysis,OPLS－DA)进一步比较果皮、果仁质量差异,寻找质量差异性标志物。结果 栀子挥发油共鉴定出的 78 个化学成分,其中醛类占比最大、脂类其次、酚类最低。果皮、果仁 9 种化学成分总含量差异较大,质量分数分别为 10.781%、20.276%。果仁 9 种化学成分质量分数总和约为果皮的 2 倍,栀子仁中栀子苷总含量约为栀子皮的 9 倍。相关性与回归分析结果显示果皮中除京尼平苷酸外,其他 8 种化学成分与 a^* 呈正相关,与 b^* 呈负相关,具有显著回归关系,其中西红花苷－Ⅰ、藏红花酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷与 L^* 呈正相关,具有显著回归关系,果仁 9 种化学成分均与 L^* 无显著相关性,与 a^* 呈正相关,与 b^* 呈负相关,具有显著回归关系;OPLS－DA 将果皮、果仁区分为两类,筛选出 L^*、栀子苷、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷酸为影响药材质量的差异标志物。结论 对唐河栀子研究可充分扩大利用唐栀子资源,可为唐河栀子质量评价及开发利用提供科学依据。

关键词:唐栀子;GC－MS;HPLC;电子眼技术;成分分析;质量评价
中图分类号:R282.71 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)04-0164-12

Quality Analysis of Tangzhizi(Gardeniae Fructus) Based on GC－MS and HPLC－Electronic Eye

CHEN Pei[1],XUE Shujuan[1,2],LIAN Conglong[1,2],LIU Zhe[1],BU Chenxi[1],WU Geigei[1],CHEN Suiqing[1,2]
(1. School of Pharmacy,Henan University of Chinese Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
2. Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu－Yao,Zhengzhou 450046,Henan,China)

Abstract:*Objective* To explore the volatile oil components and quality differences in color and parts of Tangzhizi(Gardeniae Fructus). This research provided a reference for evaluating the quality and utilizing of Tangzhizi(Gardeniae Fructus). *Methods* GC－MS combined with retention index(RI) was used to analyze volatile oil components of Tangzhizi(Gardeniae Fructus). HPLC method detected the contents of Crocetin－Ⅰ,Crocetin－Ⅱ,Crocetin－Ⅳ,Crocetin,Crocetin－Ⅲ(at 440 nm),Geniposidic Acid,Gardenoside,Genipin－1－b－D－gentiobioside and Geniposide(at 240 nm). Agilent Extend－C18 column was used as the chromatographic column,with acetonitrile－0.1% formic acid aqueous solution as the mobile phase for gradient elution. Electronic eye technology quantified pericarp and kernel of Tangzhizi(Gardeniae Fructus) based on chromaticity value (L^*,a^*,b^*). Cluster analysis,Pearson correlation analysis and regression equations were used to analyze the relationship between active ingredients and appearance color of pericarp and kernel of Tangzhizi(Gardeniae Fructus). OPLS－DA method was used to compare quality differences between peel and kernel to identify quality markers. *Results* A total of 78 chemical constituents were identified in the volatile oil of Gardenia jasminoides,with aldehydes comprising the largest proportion,followed by lipids,and phenols in the lowest amount. The total content of 9 chemical constituents in the pericarp and kernel varied significantly,with mass fractions of 10.781% and 20.276% respectively. The total sum of the 9 chemical compositions in the kernel was ap-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973477);河南省重大科技专项(221100310400);河南省创新生态支持专项(财科〔2024〕8 号);中央和省级财政林业项目储备库入库项目(豫财环资〔2024〕47 号)
作者简介:陈培(2000－),男,河南南阳人,硕士在读,研究方向:中药鉴定、资源与评价。
通讯作者:陈随清(1965－),男,河南濮阳人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中药品种整理与质量标准。E-mail:suiqingchen0371@163.com。

proximately double that of the pericarp, and the gardenia glycoside content in the kernel was about 9 times higher than that in the pericarp. The correlation and regression analysis results indicated that in the pericarp, in addition to Geniposidic Acid, eight other chemical constituents were positively correlated with a^* and negatively correlated with b^*. Among these, saffron Crocetin - Ⅰ, Crocetin, Gardenoside, Genipin - 1 - b - D - gentiobioside and Geniposide were positively correlated with L^*. However, the kernel of nine chemical constituents showed a non - significant correlation with L^*. Additionally, a^* was positively correlated with a^* and negatively correlated with b^*, showing a significant regression relationship. OPLS - DA categorized the pericarp and kernel and identified L^*, Geniposide, Gardenoside, Genipin - 1 - b - D - gentiobioside and Geniposidic Acid as the markers influencing herb quality. *Conclusion* To fully utilize Tangzhizi (Gardeniae Fructus) resources, the research is essential for quality evaluation and development, providing a scientific basis for Tangzhizi (Gardeniae Fructus).

Keywords: Tangzhizi (Gardeniae Fructus); GC - MS; HPLC; electronic - eye technology; compositional analysis; quality evaluation

栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis. 是茜草科植物栀子的干燥成熟果实[1]，为中国传统中药材，主产于江西省、福建省、河南省等地，其中产于河南省南阳市唐河县的唐栀子，为“八大宛药”之一[2]。栀子为药食两用之品，常具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒等功效[3-4]。栀子一般以全果入药，但纵观古代本草发现，栀子具有分部位入药的历史。东汉时期，全栀子应用广泛，魏晋南北朝时期，雷敩取果弃皮、须用于方中[5]。唐代《千金方》有用栀子仁，治疗火疮未起、下利鲜血等证[6]。朱丹溪提出“治上焦、中焦连壳用，下焦去壳[7]”“仁能屈曲下行，降火从小便泄出，人所不知[8]”等诸多理论。王好古用仁去心胸中热，用皮去肌表热[9]。栀子主要含有环烯醚萜及其苷类、西红花苷类、挥发油等化学成分，其中含有大量色素，西红花苷类是其主要成分，可使栀子呈现出颜色。栀子色素类成分以西红花苷 - Ⅰ为代表，为栀子中天然色素类成分，既可作色素、染料用，又具有抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等作用[10]。栀子中含有环烯醚萜及其苷类成分，研究显示此类成分不稳定也可使药材颜色发生变化[11]。环烯醚萜及其苷类成分的代表为栀子苷，为主要特征性药效成分，具有抗炎、镇痛、镇静、降血压、解热等药理作用[12]。此外，挥发油为栀子主要药效物质基础成分，栀子油具有镇静、催眠、抗惊厥作用。课题组前期调查发现，成熟期采摘的栀子干燥后，皮仁易分离，并且色泽不同，在今河南、湖南有分开使用的记录[13]，且栀子果皮、果仁化学成分含量存在差异[14]。文献表明果皮与果仁的功效有差别，分部位入药临床应用已久，采收之后颜色存在差异，是否决定了果皮和果仁药材质量，目前笔者尚未见有相关报道。

本研究通过气相色谱 - 质谱联用仪（Gas Chromatography - Mass Spectrometer, GC - MS）结合保留指数（Retention Index, RI）法解析栀子挥发油成分组成，采用 HPLC 结合电子眼技术探究不同颜色与不同药用部位栀子药材化学成分含量差异，对其研究可充分扩大唐栀子利用资源，为唐河栀子质量评价及开发利用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

TSQ 8000 Evo 型气相色谱质谱联用仪（赛默飞世尔科技有限公司）；高效液相色谱仪（LC - 20 A，日本岛津公司，配置 SPA - 20A 紫外检测器）；IRIS 视觉分析仪（VA - 400，阿默思上海仪器贸易有限公司）；百万分之一天平（MCA3. 6P - 2CCN - M - QP1，德国赛多利斯公司）；JW - 3021HR 型医用离心机（安徽嘉文仪器装备有限公司）；KQ - 500DV 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；电子分析天平（BS224S，北京赛多利斯仪器系统有限公司）。

1.2 试药

栀子苷、西红花苷 - Ⅰ（批号分别为 B21661、B21337），购于上海源叶生物科技有限公司；京尼平龙胆双糖苷、山栀苷 B、西红花苷 - Ⅲ、藏红花酸（批号分别为 J07502101007、S1330201006、23101010、23033010），购于北京中科质检生物技术有限公司；京尼平苷酸、西红花苷 - Ⅱ、西红花苷 - Ⅳ（批号分别为 WP23110804、WP23022411、WP23110804），购于四川省维克奇生物科技有限公司；C8 ~ C20 系列正构烷烃标准溶液（批号为 115321 - 02 - 4PAK），购于美国 Sigma - Aldrich 公司；甲酸（天津市大茂化学试剂厂，色谱纯）、甲醇、乙腈（美国 Fisher 公司，色谱纯）；其他试剂均为分析纯，水为实验室自制。本研究所用药材唐河栀子以 2023 年霜降（霜降日为 10 月 24 日）为节点，实地考察后，在霜降后 11 月初采收，按《中华人民共和国药典》（2020 年版）规定方法加工干燥[1]。将唐栀子干燥品果皮、果仁分离，果皮按颜色差异分为黄色、红色、红棕色、褐色，果仁按颜色差异分为黄色、浅红色、红色、红棕色、褐色，见表 1。采收地点均为河南省南阳市唐河县，样品经河南中医药大学陈随清教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis.。

表 1 样品信息

部位	编号	颜色	产地	部位	编号	颜色	产地
果皮	P1	黄色	河南省南阳市唐河县	果仁	R1	黄色	河南省南阳市唐河县
	P2	红色			R2	浅红色	
	P3	红棕色			R3	红色	
	P4	褐色			R4	红棕色	
					R5	褐色	

2 方法与结果

2.1 GC - MS 分析（参考薛淑娟等[15]方法）

2.1.1 挥发油的提取 称取栀子粉末 50 g（过 2 号筛），加 10 倍量水浸泡 2 h，用水蒸气蒸馏法提取 5 h 至挥发油量不再增加为止。收集挥发油时用正己烷溶解，无水硫酸钠脱水干燥后，密封，放置 4 ℃冰箱备用。

2.1.2 色谱条件 HP - 5MS 弹性石英毛细管柱（0.25 mm × 30 cm，0.25 μm），载气高纯氦气，进样量 1 μL，流速 1.0 mL/min，接口温度 220 ℃，分流比 20∶1，程序升温（起始温度 60

℃,保持2 min;以5 ℃/min升至120 ℃;以10 ℃/min升至180 ℃;以5 ℃/min升至230 ℃,保持8 min)。MS条件电离方式为EI,电子碰撞能量70 eV,离子源温度250 ℃,溶剂延迟时间2.5 min,扫描方式为全扫描,检测范围m/z 30~445。

2.1.3 保留指数(RI)的计算 按公式RI = 100Z + 100 × [tR(x) - tR(Z)]/[tR(Z + 1) - tR(Z)]计算RI,采用自动质谱退卷积定性系统(AMDIS)进行自动质谱退卷积处理样品总离子流图(TIC),通过美国国家标准与技术研究院(NIST)14质谱库检索的RI参考值与RI计算值比较,以质谱相似度和RI接近度最高的化学结构为最佳结果,从而对化合物进行准确定性。

2.1.4 成分分析 将栀子药材提取的挥发油及C8~C20系列正构烷烃标准溶液按"2.1.2"项下条件进行分析,得TIC,见图1、图2。运用AMDIS软件对所得TIC图进行处理,去除干扰峰,得到相对优质MS图,结合RI计算值对化合物进行准确定性,运用峰面积归一化法对化合物进行相对定量,见表2。结果发现在栀子挥发油鉴定出的77个成分占总峰面积的79.45%,包括21种烷类(9.77%,该数值为此类成分的总相对质量分数,下同)、17种醛类(29.60%)、10种酮类(9.34%)、8种醇类(6.40%)、7种脂类(8.83%)、5种萜烯类(6.43%)、1种酚类(0.57%)、8种其他类(8.29%)。其中反,反-2,4-癸二烯醛(16.59%,该数值为此成分的相对质量分数,下同)、(2E,4E)-2,4-癸二烯醛(6.46%)、14-甲基十五烷酸甲酯(14.62%)、2-十三烷酮(4.09%)、西松烯(3.63%)、对氟氯苄(3.22%)的相对含量较高。

2.2 HPLC分析

2.2.1 色谱条件 环烯醚萜及其苷类:Agilent Extend-C_{18}色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸

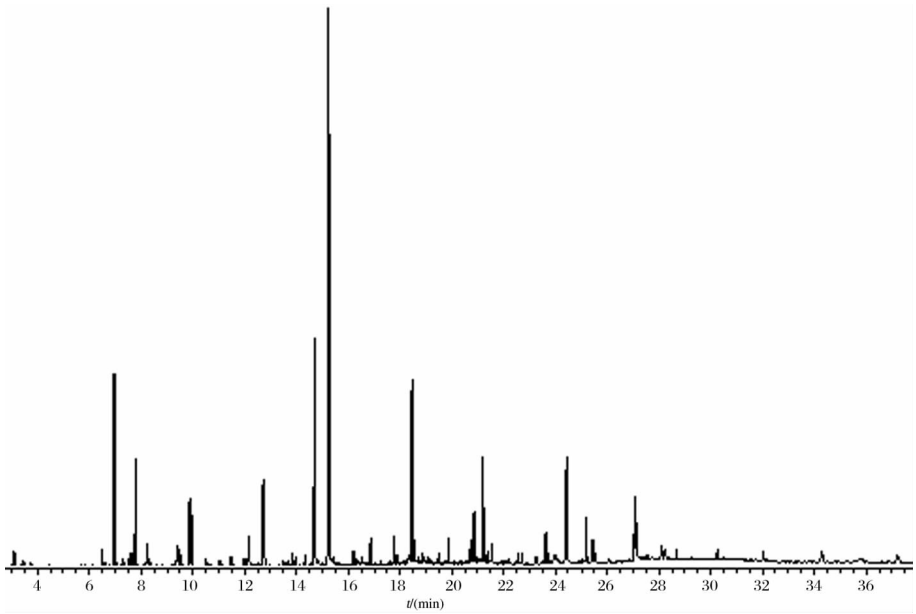


图1 栀子中挥发油的TIC

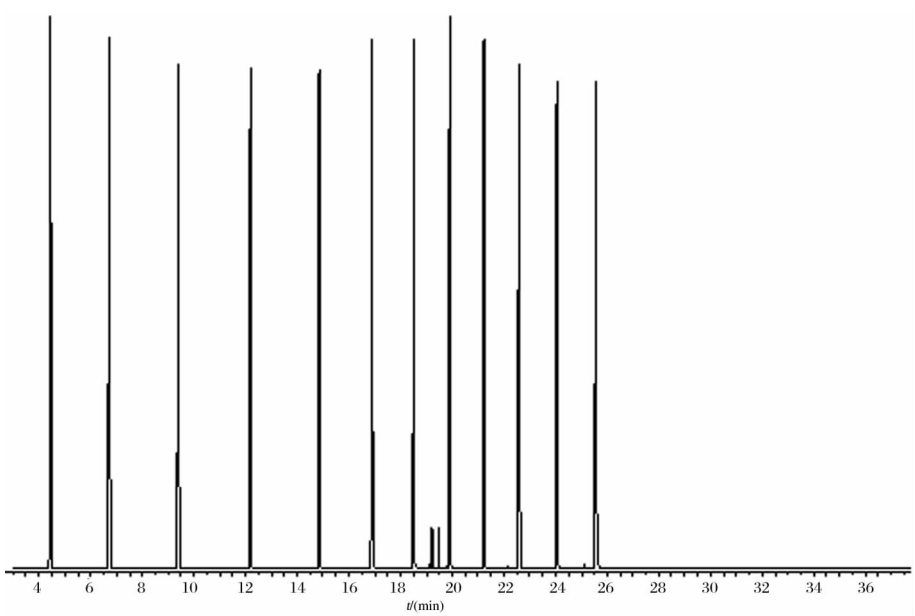


图2 C8~C20正构烷烃标准溶液

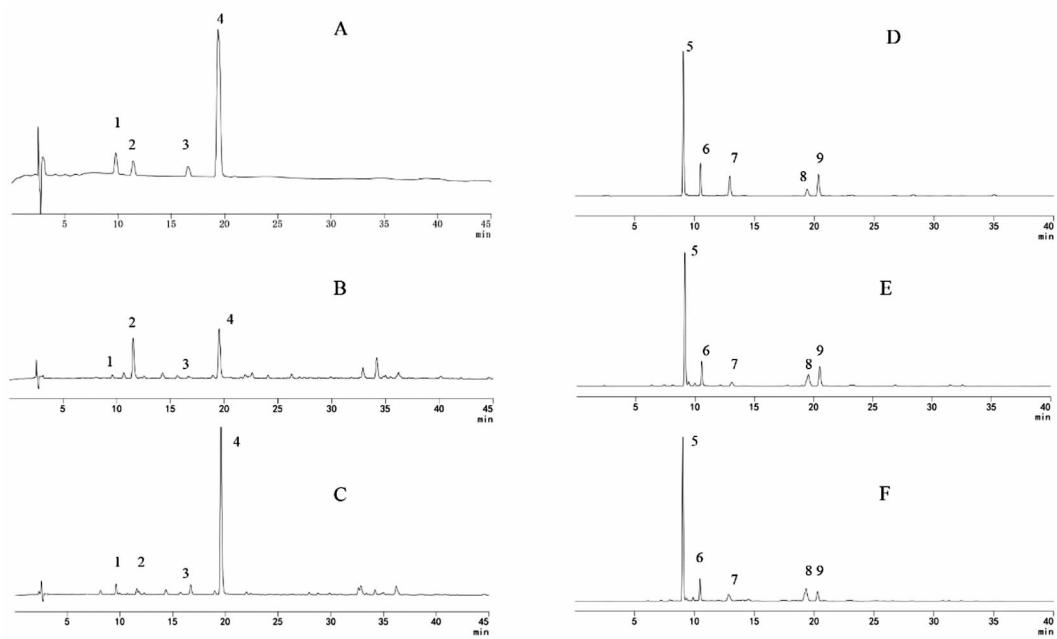
表2 栀子中挥发油的定性分析($n=3$)

序号	tR/(min)	名称	CAS号	RI计算值	RI参考值	相对质量分数/(%)
1	3.02	3-Ethyl-2-methylhexane	16789-46-1	843	845	0.02
2	3.11	2,3,4-三甲基正己烷	921-47-1	846	849	0.22
3	3.34	糠醛	98-01-1	855	833	0.10
4	3.76	4-甲基辛烷	2216-34-4	872	863	0.07
5	4.46	正庚醛	111-71-7	900	901	0.07
6	5.13	3-乙基-5-甲基庚烷	52896-90-9	927	926	0.01
7	5.66	反-2-庚醛	18829-55-5	949	958	0.11
8	6.12	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	971	980	0.12
9	6.40	甲基庚烯酮	110-93-0	978	986	0.03
10	6.51	2-戊基呋喃	3777-69-3	983	993	0.37
11	6.79	正辛醛	124-13-0	994	1003	0.08
12	6.98	对氟氯苄	352-11-4	1002	990	3.22
13	7.29	2,6-二甲基-壬烷	17302-28-2	1014	1018	0.38
14	7.63	2-环己基丁烷	7058-01-7	1028	1028	0.33
15	7.78	3,5,5-三甲基-3-环己烯-1-酮	471-01-2	1034	1044	2.26
16	8.13	Nonane,3,7-dimethyl-	17302-32-8	1048	1038	0.07
17	8.29	E-2-辛烯醛	2548-87-0	1055	1060	0.85
18	9.16	2-壬酮	821-55-6	1090	1092	0.09
19	9.39	芳樟醇	78-70-6	1099	1099	0.71
20	9.49	正壬醛	124-19-6	1103	1104	0.40
21	9.87	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1-甲醛	432-24-6	1116	1116	1.34
22	9.95	异佛尔酮	78-59-1	1119	1124	0.93
23	10.48	3-壬烯-2-酮	14309-57-0	1138	1142	0.13
24	10.59	茶香酮	1125-21-9	1142	1144	0.12
25	10.72	2-羟基-3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮	4883-60-7	1147	1172	0.05
26	11.04	反-2-壬醛	18829-56-6	1158	1162	0.42
27	11.48	4-乙基苯甲醛	4748-78-1	1174	1180	0.35
28	11.95	α-松油醇	10482-56-1	1191	1190	0.22
29	12.17	2,3-二氢-2,2,6-三甲基苯甲醛	116-26-7	1199	1201	0.62
30	12.53	2,6-二甲基十一烷	17301-23-4	1213	1210	0.20
31	12.71	Chrysanthenone	473-06-3	1219	1123	2.49
32	13.36	Undecane,3,7-dimethyl-	17301-29-0	1244	1222	0.06
33	13.51	5-Methyl-2-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-one	5113-66-6	1249	1251	0.25
34	13.67	香叶醇	106-24-1	1255	1255	0.33
35	13.84	反式-2-癸烯醛	3913-81-3	1262	1263	0.59
36	13.97	Phenol,3,5-dimethyl-,1-acetate	877-82-7	1267	1266	0.39
37	14.33	2,6,11-三甲基十二烷	31295-56-4	1280	1275	0.45
38	14.69	(2E,4E)-2,4-癸二烯醛	25152-83-4	1293	1295	6.46
39	15.25	反,反-2,4-癸二烯醛	25152-84-5	1319	1317	16.59
40	15.42	椰子醛	104-61-0	1328	1363	0.28
41	16.20	反-2-十一烯醛	53448-07-0	1365	1365	0.48
42	16.73	1-十四烯	1120-36-1	1391	1392	0.14
43	16.87	正十四烷	629-59-4	1398	1400	0.52
44	17.61	马兜铃烯	6831-16-9	1443	1453	0.29
45	17.79	6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮	689-67-8	1454	1456	1.12
46	17.92	4,11-Dimethyltetradecane	55045-12-0	1462	1463	0.44
47	18.45	2-十三烷酮	593-08-8	1495	1497	4.09
48	18.55	2-十三烷醇	1653-31-2	1501	1510	0.71
49	18.74	2,4-二叔丁基酚	96-76-4	1513	1519	0.57
50	18.86	月桂酸甲酯	111-82-0	1521	1526	0.68
51	19.50	3-甲基十五烷	2882-96-4	1560	1570	0.61
52	19.79	1-十六烯	629-73-2	1578	1592	0.14
53	19.88	正十六烷	544-76-3	1584	1600	0.68
54	20.13	E,Z-5,7-Dodecadien-1-ol acetate	N/A	1637	1653	0.18

续表2 栀子中挥发油的定性分析($n=3$)

序号	tR/(min)	名称	CAS号	RI计算值	RI参考值	相对质量分数/(%)
55	20.85	顺式-7-十四烯-1-醇	40642-43-1	1644	1660	1.02
56	21.19	3,4,5-三甲氧基苯甲酸甲酯	1916-07-0	1665	1674	1.16
57	21.35	姥鲛烷	1921-70-6	1675	1687	1.25
58	21.42	13-Methyltetradecanal	75853-51-9	1680	1679	0.86
59	21.54	12-甲基十三烷酸甲酯	5129-58-8	1687	1686	0.55
60	21.94	正十七烷	629-78-7	1712	1700	0.25
61	22.57	Heptadecane,8-methyl-	13287-23-5	1751	1738	0.47
62	22.71	植烷	638-36-8	1760	1792	0.42
63	23.24	2-十六烷酮	18787-63-8	1792	1804	0.54
64	23.62	(9E,12Z)-9,12-十四碳二烯-1-醇乙酸酯	31654-77-0	1816	1811	0.57
65	23.72	顺-11-十六烷烯醛	53939-28-9	1822	1805	0.22
66	24.03	7-Methyl-octadecane	N/A	1841	1842	0.84
67	24.43	14-甲基十五烷酸甲酯	5129-60-2	1866	1883	4.62
68	25.20	西松烯	1898-13-1	1914	1939	3.63
69	25.41	1,12-二溴十二烷	3344-70-5	1927	1946	1.93
70	26.52	二十烷	112-95-8	1996	2000	0.18
71	27.06	亚麻醇	506-43-4	2029	2050	2.59
72	27.15	十八碳-9,12,15-三烯	26537-71-3	2035	2045	2.23
73	27.48	异瑟模环烯醇	25269-17-4	2055	2073	0.69
74	28.11	亚油酸甲酯	112-63-0	2094	2092	0.87
75	28.68	二十一烷	629-94-7	2129	2100	0.49
76	30.25	3-Hydroxy-2′,3′,5′,6′-tetrachlorobiphenyl,methyl ether	N/A	2227	2220	0.51
77	34.30	2-Methyltetracosane	1560-78-7	2478	2462	1.16

注:N/A.无CAS号或未查到CAS号。



注:A.环烯醚萜及其苷类混合对照品色谱图;D.西红花苷类及藏红花酸混合对照品色谱图;B、E.栀子果皮样品色谱图;C、F.栀子果仁样品色谱图;1.京尼平苷酸;2.山栀苷B;3.京尼平龙胆双糖苷;4.栀子苷;5.西红花苷-Ⅰ;6.西红花苷-Ⅱ;7.西红花苷-Ⅳ;8.藏红花酸;9.西红花苷-Ⅲ。

图3 混合对照品溶液(A、D)与栀子样品溶液(B、E、C、F)的HPLC色谱

水(B),梯度洗脱:0~1 min,5% A;1~5 min,5%→9% A;5~11 min,9%→12% A;11~20 min,12%→19% A;20~25 min,19%→22% A;25~32 min,22%→27% A;32~40 min,27%→34% A;40~45 min,34%→5% A;流速:1.0 mL/min,检测波长:240 nm,柱温30 ℃;进样量10 μL。样品与对照品色谱图见图3。西红花苷类及藏红花酸:Agilent Extend-C_{18}色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相:乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),梯度洗脱:0~3 min,20%→25% A;3~5 min,25%→29% A;5~10 min,29% A;10~13 min,29%→33% A;13~22 min,33%→37% A;22~32 min,37%→45% A;37~40 min,45%→20%

A；流速：1.0 mL/min，检测波长：440 nm，柱温 30 ℃；进样量 10 μL。样品与对照品色谱图见图3。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ标准品适量于1 mL容量瓶中，加入70%甲醇溶液，制成质量浓度分别为0.326、0.036、0.041、0.043、0.036 mg/mL混合对照品溶液。精密称取京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平－1－β－D－龙胆双糖苷、栀子苷标准品适量，加入70%甲醇溶液，制成质量浓度分别为0.058、0.094、0.114、0.743 mg/mL混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 将栀子果皮和果仁分离，分别粉碎研成细粉，过筛（4号筛），分别取栀子果皮、果仁药材粉末0.3 g于50 mL离心管中，加入70%甲醇30 mL，称重，超声处理30 min，冷却至室温，称重，用70%甲醇补足减失质量，摇匀，9500 r/min离心5 min，取上清液，0.22 μm微孔滤膜滤过，作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 分别精密称取对照品西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷适量，分别加入70%甲醇制成质量浓度分别为1.012、1.003、1.005、1.026、1.032、1.050、1.021、1.044、1.020 mg/mL对照品溶液。精密吸取各对照品溶液，逐级稀释为0.1、0.05、0.02、0.01、0.005、0.002 mg/mL的对照品溶液；精密称取栀子苷对照品适量，同法制备，得质量浓度为2.000 mg/mL的对照品溶液，逐级稀释为质量浓度为1、0.1、0.05、0.02、0.01、0.005 mg/mL的对照品溶液，按“2.2.1”项色谱条件分别进样检测，绘制标准曲线，结果见表3。

表3 各成分线性关系考察结果

成分	回归方程	r	线性范围/（μg/mL）
西红花苷－Ⅰ	$Y=3\times10^7X+54\,360$	0.999 8	1.72～386.75
西红花苷－Ⅱ	$Y=7\times10^7X-8\,475.6$	0.999 3	2.84～69.37
西红花苷－Ⅳ	$Y=2\times10^7X-37\,812$	1.000 0	6.55～84.22
藏红花酸	$Y=3\times10^7X+309\,771$	0.999 2	5.43～79.16
西红花苷－Ⅲ	$Y=1\times10^7X+68\,614$	0.999 7	0.35～84.22
京尼平苷酸	$Y=2\times10^7X-27\,848$	1.000 0	53.27～143.07
山栀苷B	$Y=1\times10^7X-37\,544$	1.000 0	55.61～371.47
京尼平龙胆双糖苷	$Y=6\times10^6X-3\,802.4$	1.000 0	103.30～311.00
栀子苷	$Y=3\times10^7X+125\,909$	1.000 0	74.90～1 541.44

2.2.5 精密度试验 取（R2）样品粉末，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下方法进行测定，连续进样6次，分别以西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷峰面积计算RSD值，结果分别为0.24%、0.24%、0.25%、0.33%、0.80%、0.72%、1.06%、0.91%、0.81%。

2.2.6 重复性实验 取（R2）样品粉末6份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下方法进行测定，计算西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的含量，分别计算RSD值，结果分别为0.82%、0.67%、0.86%、0.76%、0.78%、2.01%、1.01%、1.27%、1.43%。

2.2.7 稳定性实验 取（R2）样品粉末，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，分别在0、2、4、8、10、12、24 h，按“2.2.1”项下方法进行测定。分别以西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷峰面积计算RSD值，结果分别为0.96%、1.99%、1.47%、0.84%、1.36%、1.72%、0.40%、3.36%、0.75%。

2.2.8 加样回收率实验 精密称定样品（R2）粉末共6份，每份约0.15 g，加入适量已知含量的标准溶液（西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷质量浓度分别为0.146、0.012、0.016、0.015、0.008、0.018、0.040、0.046、0.254 mg/mL），按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下方法进行测定，计算西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的加样回收RSD结果分别为0.15%、0.43%、2.18%、0.53%、0.15%、1.39%、0.83%、1.24%、0.48%，平均加样回收率结果分别为96.91%、101.16%、101.72%、104.98%、104.93%、101.87%、102.67%、100.26%、96.60%。

2.2.9 样品含量测定 分别称取不同颜色栀子果皮、果仁样品适量，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，每个样品平行3次，按“2.2.1”项下色谱条件进行分析，计算西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的含量，结果见表4，不同颜色果皮和果仁化学成分含量差异见插页XXⅧ图4。结果表明，不同颜色果皮、果仁以及不同部位各成分含量存在一定的差异。栀子果皮中西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ的质量分数均值分别为2.56%、0.27%、0.32%、0.28%、0.22%，京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的质量分数均值分别为0.80%、2.80%、1.88%、1.67%；栀子果仁中西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ的质量分数均值分别为2.29%、0.31%、0.36%、0.30%、0.31%，京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的质量分数均值分别为1.04%、1.68%、2.50%、11.50%。果皮9种化学成分总含量排列为P3＞P2＞P1＞P4，且P3各成分含量均为最高，西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷的质量分数均值分别为3.99%、0.55%、0.62%、0.47%、0.51%、0.89%、3.76%、2.19%、2.30%；果仁9种化学成分总含量排列为R4＞R2＞R3＞R1＞R5，各成分质量分数均值为4.03%、0.69%、0.81%、0.57%、0.81%、1.23%、2.21%、3.08%、14.56%。成熟期唐河栀子不同部位果皮、果仁成分含量差异较大，果仁化学成分总含量高于果皮，果仁9种化学成分质量分数总和约为果皮的2倍，分别为10.78%、20.28%。栀子果皮与栀子果仁西红花苷类成分总含量相差不大，质量分数分别为3.65%、3.57%；果仁中环烯醚萜及其苷类成分总含量约为果皮的2倍，质量分数分别为16.71%、7.13%。栀子仁中栀子苷总含量约为栀子皮的9倍，质量分数总和分别为6.64%、57.49%。栀子苷含量在R2中含量最高，均值为15.51%，与

表 4 各成分含量测定结果(n=3) 单位:mg/g

编号	西红花苷-Ⅰ	西红花苷-Ⅱ	西红花苷-Ⅳ	藏红花酸	西红花苷-Ⅲ	京尼平苷酸	山栀苷 B	京尼平龙胆双糖苷	栀子苷
P1	29.458±0.139	2.057±0.006	2.492±0.022	3.029±0.010	1.260±0.005	8.243±0.644	33.146±0.250	20.822±1.129	17.472±0.602
P2	31.281±0.090	3.074±0.012	3.268±0.027	3.421±0.005	2.353±0.021	7.039±0.379	34.500±0.697	21.054±0.693	17.027±0.864
P3	39.909±0.328	5.470±0.017	6.151±0.041	4.731±0.069	5.091±0.033	8.910±0.191	37.547±2.631	21.900±2.080	22.996±2.369
P4	1.844±0.022	0.309±0.010	0.712±0.015	-	-	7.689±0.828	6.840±0.882	11.207±0.196	8.943±0.657
R1	8.159±0.338	0.706±0.013	0.904±0.018	0.682±0.134	-	7.463±0.204	13.213±0.653	23.801±0.900	114.926±2.185
R2	29.111±0.168	3.270±0.005	3.778±0.014	3.975±0.018	3.537±0.028	14.278±0.800	18.649±0.856	31.124±1.840	155.100±11.893
R3	34.470±0.530	3.977±0.186	4.403±0.154	4.743±0.230	3.937±0.232	11.823±0.482	21.411±2.560	26.595±2.181	150.057±6.315
R4	40.276±0.845	6.859±0.454	8.138±0.709	5.668±0.433	8.064±0.370	12.268±0.288	22.078±1.221	30.835±1.606	145.579±5.923
R5	2.257±0.164	0.469±0.031	0.862±0.059	-	0.025±0.080	6.042±0.540	8.459±0.432	12.594±0.984	9.260±1.636

注:"-"表示未检出;P 为果皮组,R 为果仁组;P1. 黄色,P2. 红色,P3. 红棕色,P4. 褐色,R1. 黄色,R2. 浅红色,R3. 红色,R4. 红棕色,R5. 褐色。

R4 的相差 0.95%,与 R3 相差 0.50%,而褐色皮、褐色仁栀子苷质量分数均值分别为 0.89%、0.93%,为不合格样品,其他样品栀子苷含量均符合《中华人民共和国药典》(2020 年版)标准[1]。

2.3 电子眼技术的颜色分析

电子眼技术在条件相同的光源下引入颜色亮度(L^*)、红绿色度(a^*)、黄蓝色度(b^*)3 个指标量化物体颜色。参考刘振东等[16]方法,待开机稳定后,对镜头(Basler-12 mm 镜头)曝光度和焦距校正,校准采用 24 色色彩校正板于托盘中进行,光源 D65,顶部及底部照明,重复拍照模式。取栀子果皮、果仁粉末适量于样品盘中,均匀铺平,重复 3 次,消除背景后记录 L^*、a^*、b^*,取平均值,结果见表 5。其中 L^* 表示亮度,L^* 越大,亮度越高;a^* 越大,颜色越偏向于红色;b^* 越小,颜色越偏向于蓝色。结果表明,各样品颜色差异明显,见插页ⅩⅩⅧ图 5。经电子眼测定,果皮、果仁的 L * 值分别为 49.13~62.76、43.35~53.83,分别表现为 P1>P3>P2>P4、R1>R2>R3>R4>R5,P4、R5 颜色较暗;a^* 值分别为 8.99~54.03、16.47~62.92,表现为 P2>P3>P1>P4、R4>R3>R2>R1>R5,P2、R4 较高且 a^* 为正值,说明栀子颜色越红,a^* 越大;b^* 值分别为 -62.09~32.55、-84.16~12.39,表现为 P4>P1>P3>P2、R5>R1>R2>R3>R4,P4、R5 较高为正值,说明其偏向于黄色,P1、P2、P3、R1、R2、R3、R4 为负值,说明偏向于蓝色。

表 5 不同颜色果皮、果仁色度值(n=3)

编号	L^*	a^*	b^*	编号	L^*	a^*	b^*
P1	62.76	34.92	-29.22	R1	53.83	49.96	-66.19
P2	55.32	54.03	-64.3	R2	47.45	61.95	-78.19
P3	55.77	47.26	-62.09	R3	46.5	62.44	-79.53
P4	49.13	8.99	32.55	R4	43.69	62.92	-84.16
				R5	43.35	16.47	12.39

注:P1. 黄色,P2. 红色,P3. 红棕色,P4. 褐色,R1. 黄色,R2. 浅红色,R3. 红色,R4. 红棕色,R5. 褐色。

2.4 不同颜色栀子果皮与果仁差异分析

2.4.1 聚类分析 以唐栀子果皮、果仁样品中 9 种化学成分含量及色度值作为变量,采用欧氏距离法对唐栀子不同颜色果皮、果仁样品进行聚类分析,热图由蓝到红表示测定值由小到大,含量由低到高,结果见插页ⅩⅩⅧ图 6、插页ⅩⅩⅨ图 7。结果表明,唐栀子果皮样品可分为 3 类,P3 化学成分总含量较高,西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷热图颜色偏向于红色,9 种化学成分质量分数总和为 15.270%,P1、P2 无明显差异,P4 总含量较低,质量分数总和为 3.754%;果仁样品可聚为 4 类,R4 总含量较高,西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ、山栀苷 B 热图颜色偏向于红色,质量分数总和为 27.976%,R1、R5 与 R2、R3、R4 差异较大,且 P2、P3 聚为一类,P1、P5 各一类。证实了无论果皮或者果仁,中药栀子化学成分含量均与颜色有关。

2.4.2 相关性分析 采用 SPSS 23.0 软件分别对唐栀子果皮、果仁颜色测定值(L^*、a^*、b^*)与 9 个化学成分含量进行皮尔逊相关性分析,双尾显著性检验,结果见表 6、表 7。唐栀子果皮中西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ均与 a^* 呈极显著正相关($P<0.01$),相关系数分别为 0.916、0.803、0.759、0.918、0.788;与 b^* 呈极显著负相关关系($P<0.01$),相关系数分别为 -0.955、-0.861、-0.824、-0.958、-0.848;西红花苷-Ⅰ与 L^* 呈显著正相关($P<0.05$),相关系数为 0.659,西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ与 L^* 相关性不显著。4 种环烯醚萜及其苷类成分中,京尼平苷酸与 L^*、a^*、b^* 相关性不显著,山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷与 L^*、a^* 呈正相关,与 b^* 呈负相关。结果表明果皮粉末亮度越高时,西红花苷-Ⅰ、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷化学成分含量越高;果皮中化学成分,除京尼平苷酸外,其余 7 种化学成分与 a^* 呈正相关,与 b^* 呈负相关。说明果皮颜色偏向于红、亮度越高时,化学成分含量越高,栀子果皮化学成分含量与亮度、颜色有关。

唐栀子果仁化学成分西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ、京尼平苷酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷 9 个成分均与 a^* 呈极显著正相关($P<0.01$),相关系数分别为 0.852、0.715、0.676、0.865、0.681、0.843、0.903、0.949、0.992;西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、藏红花酸、京尼平苷酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷与 b^* 呈极显著负相关关系($P<0.05$)相关系数分别为 -0.796、-0.671、-0.812、-0.778、-0.864、-0.935、-0.985;9 个化学成分与 L^* 相关性不显著。结果表明果仁中 9 种化学成分与 a^* 呈正相关,与 b^* 呈负相关,说明果仁颜色偏向于红、蓝色则化学成分含量越高,果仁化学成分含量主要与颜色相关。

2.4.3 回归分析 采用 SPSS 23.0 软件以栀子果皮药材中的西红花苷-Ⅰ、西红花苷-Ⅱ、西红花苷-Ⅳ、藏红花酸、西红花苷-Ⅲ、山栀苷 B、京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷

的含量为因变量，L^*、a^*、b^*为自变量，经标准化，进行回归分析。由表 8、表 9 可知，以各成分 R^2 值为参考，说明果皮、果仁各成分含量在一定程度上可以通过色度值来反映。各化学成分均 $P<0.01$，说明在统计学上各成分回归式是极显著的，且建立的回归模型具有一定的可靠性。由表 10、表 11 可得，通过颜色值结合回归方程来预测 9 种化学成分的含量，剔除作用不显著的自变量后，建立最优回归方程，果皮中各成分回归方程如下。

表 6 果皮色度值与 9 个化学成分含量相关性分析结果

成分	L^*		a^*		b^*	
	相关系数	P 值	相关系数	P 值	相关系数	P 值
西红花苷－Ⅰ	0.659*	0.020	0.659*	0.020	0.659*	0.020
西红花苷－Ⅱ	0.311	0.326	0.803**	0.002	−0.861**	0
西红花苷－Ⅳ	0.304	0.337	0.759**	0.004	−0.824**	0.001
藏红花酸	0.634*	0.027	0.918**	0	−0.958**	0
西红花苷－Ⅲ	0.295	0.352	0.788**	0.002	−0.848**	0
京尼平苷酸	0.264	0.407	0.018	0.956	−0.110	0.735
山栀苷 B	0.723**	0.008	0.929**	0	−0.954**	0
京尼平龙胆双糖苷	0.728**	0.007	0.904**	0	−0.928**	0
栀子苷	0.576*	0.050	0.807**	0.002	−0.866**	0

注：*表示在 0.05 级别上（双尾）相关性显著；**表示在 0.01 级别上（双尾）相关性显著。

表 7 果仁色度值与各化学成分含量相关性分析结果

成分	L^*		a^*		b^*	
	相关系数	P 值	相关系数	P 值	相关系数	P 值
西红花苷－Ⅰ	−0.302	0.274	0.852**	0	−0.796**	0
西红花苷－Ⅱ	−0.438	0.102	0.715**	0.003	−0.671**	0.006
西红花苷－Ⅳ	−0.464	0.081	0.676**	0.006	−0.633*	0.011
藏红花酸	−0.276	0.319	0.865**	0	−0.812**	0
西红花苷－Ⅲ	−0.478	0.072	0.681**	0.005	−0.634*	0.011
京尼平苷酸	−0.164	0.560	0.843**	0	−0.778**	0.001
山栀苷 B	−0.126	0.655	0.903**	0	−0.864**	0
京尼平龙胆双糖苷	0.155	0.581	0.949**	0	−0.935**	0
栀子苷	0.271	0.329	0.992**	0	−0.985**	0

注：*表示在 0.05 级别上（双尾）相关性显著；**表示在 0.01 级别上（双尾）相关性显著。

$Y_{西红花苷Ⅰ} = -7.865\times10^{-16} + 0.164\ L^* - 1.794\ a^* - 2.650\ b^*$；$Y_{西红花苷Ⅱ} = -1.479\times10^{-15} - 3.367\ a^* - 4.202\ b^*$；$Y_{西红花苷Ⅳ} = -1.540\times10^{-15} - 3.892\ a^* - 4.687\ b^*$；……；$Y_{栀子苷} = -1.494\times10^{-15} + 0.059\ L^* - 3.364\ a^* - 4.174\ b^*$。西红花苷－Ⅰ、西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、藏红花酸、西红花苷－Ⅲ、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷在模型中 R^2 分别为 0.994、0.895、0.891、0.993、0.884、0.984、0.932、0.912。说明果皮中西红花苷－Ⅰ、藏红花酸、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷含量可以通过方程中 L^*、a^*、b^*来解释，西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、西红花苷－Ⅲ含量可以通过方程中 a^*、b^*来解释，由于果皮中京尼平苷酸含量与色度值无相关性，故 L^*、a^*、b^*不能用来有效预测京尼平苷酸含量。

果仁中各成分回归方程如下：$Y_{西红花苷Ⅰ} = -7.34\times10^{-16} + 3.907\ a^* + 3.079\ b^*$；$Y_{西红花苷Ⅱ} = -4.41\times10^{-16} + 3.139\ a^* + 2.443\ b^*$；$Y_{西红花苷Ⅳ} = -4.31\times10^{-16} + 3.028\ a^* + 2.371\ b^*$；……；$Y_{栀子苷} = -4.29\times10^{-16} + 0.059\ L^* - 1.928\ a^* - 0.974\ b^*$。西红花苷－Ⅰ、藏红花酸、山栀苷 B、京尼平苷酸、京尼平龙胆双糖苷、栀子苷在模型中调整后 R^2 分别为 0.855、0.864、0.907、0.860、0.887、0.931，说明可以通过方程中 a^*、b^*来解释各化学成分含量的比例。模型中果仁的西红花苷－Ⅱ、西红花苷－Ⅳ、西红花苷－Ⅲ调整后 R^2 值较低，分别为 0.540、0.470、0.503，用方程中的 a^*、b^*不能有效预测其含量。

表 8 果皮药材中各化学成分含量的模型汇总

成分	R	R^2	调整后 R^2	F 值	P 值
西红花苷－Ⅰ	0.998	0.995	0.994	565.757	0.000
西红花苷－Ⅱ	0.956	0.914	0.895	48.008	0.000
西红花苷－Ⅳ	0.955	0.911	0.891	46.171	0.000
藏红花酸	0.997	0.995	0.993	518.061	0.000
西红花苷－Ⅲ	0.951	0.905	0.884	42.985	0.000
山栀苷 B	0.994	0.988	0.984	225.740	0.000
京尼平龙胆双糖苷	0.975	0.950	0.932	51.028	0.000
栀子苷	0.967	0.936	0.912	38.829	0.000

表 9 果仁药材中各化学成分含量的模型汇总

成分	R	R^2	调整后 R^2	F 值	P 值
西红花苷－Ⅰ	0.936	0.876	0.855	42.199	0.000
西红花苷－Ⅱ	0.778	0.605	0.540	9.204	0.004
西红花苷－Ⅳ	0.739	0.546	0.470	7.218	0.009
藏红花酸	0.940	0.883	0.864	45.337	0.000
西红花苷－Ⅲ	0.757	0.574	0.503	8.075	0.006
京尼平苷酸	0.960	0.921	0.907	69.669	0.000
山栀苷 B	0.938	0.880	0.860	44.022	0.000
京尼平龙胆双糖苷	0.950	0.903	0.887	55.896	0.000
栀子苷	0.970	0.941	0.931	95.597	0.000

表 10 果皮药材中各化学成分含量的回归分析

成分	模型	标准化系数	成分	模型	标准化系数
西红花苷－Ⅰ	（常量）	-7.870×10^{-16}	西红花苷－Ⅲ	（常量）	-1.418×10^{-15}
	L^*	0.164		a^*	−3.492
	a^*	−1.794		b^*	−4.313
	b^*	−2.650	山栀苷 B	（常量）	-2.033×10^{-16}
西红花苷－Ⅱ	（常量）	-1.479×10^{-15}		L^*	0.290
	a^*	−3.367		a^*	−0.681
	b^*	−4.202		b^*	−1.479
西红花苷－Ⅳ	（常量）	-1.540×10^{-15}	京尼平龙胆双	（常量）	-1.301×10^{-16}
	a^*	−3.892	糖苷	L^*	0.317
	b^*	−4.687		a^*	−0.613
藏红花酸	（常量）	-7.331×10^{-16}		b^*	−1.373
	L^*	0.123	栀子苷	（常量）	-1.494×10^{-15}
	a^*	−1.899		L^*	0.059
	b^*	−2.778		a^*	−3.364
				b^*	−4.174

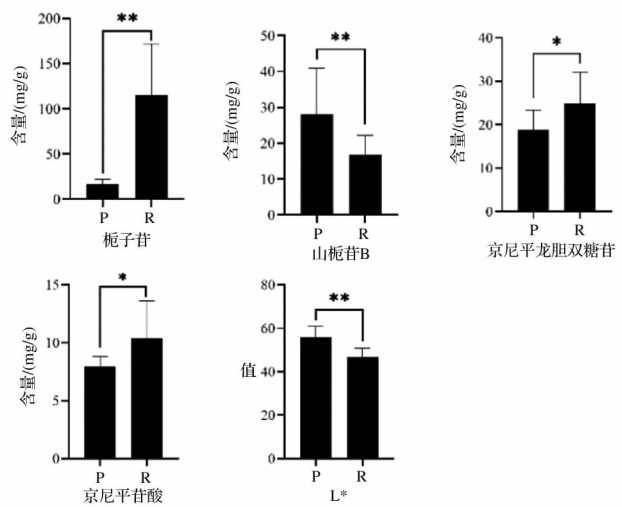
2.4.4 正交偏最小二乘法－判别分析（OPLS－DA） 为进一步比较唐栀子果皮与果仁间差异，找出样品间产生差异的主要标志物，将唐栀子 9 种化学成分含量与色度值（L^*、a^*、b^*）设为变量，采用 SIMCA－P 14.1 软件对果皮、果仁样品进行 OPLS－DA，得分图见插页XXIX图 8，建立的模型 $R^2X=0.990$，$R^2Y=0.916$，$Q^2=0.860$，均大于 0.5，并且进行了 200 次排列检验来验证其准确性，见插页XXIX图 9，表明该模型稳定、可靠。栀子果皮、果仁样品被明显分为 2 类，且结果与聚类分析一致，

说明两者化学成分含量存在差异。以 VIP > 1 为标准，筛选出栀子苷、L^*、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷酸指标对区分果皮、果仁贡献较大，可作为其质量差异性成分，见插页 XXX 图 10。

2.4.5 组间差异分析 采用 SPSS 23.0 软件对筛选出的差异性标志物进行果皮、果仁组间差异分析验证，结果见图 11。果皮与果仁比较，果仁中栀子苷含量较高，组间差异具有显著统计学意义（$P < 0.01$）；果仁中京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷酸含量高于果皮中的，组间差异显著，具有统计学意义（$P < 0.05$）；果皮中山栀苷 B 含量与 L^* 值高于果仁中的，组间差异具有显著统计学意义（$P < 0.01$）。说明栀子苷、L^*、山栀苷 B、京尼平龙胆双糖苷、京尼平苷酸为区分果皮、果仁差异性成分。

表 11 果仁药材中各化学成分含量的回归分析

成分	模型	标准化系数	成分	模型	标准化系数
西红花苷 - Ⅰ	常量	-7.34×10^{-16}	京尼平苷酸	常量	-2.09×10^{-16}
	a^*	3.907		a^*	4.464
	b^*	3.079		b^*	3.65
西红花苷 - Ⅱ	常量	-4.41×10^{-16}	山栀苷 B	常量	-7.81×10^{-16}
	a^*	3.139		a^*	2.912
	b^*	2.443		b^*	2.025
西红花苷 - Ⅳ	常量	-4.31×10^{-16}	京尼平龙胆双糖苷	常量	-8.90×10^{-17}
	a^*	3.028		a^*	1.33
	b^*	2.371		b^*	0.384
藏红花酸	常量	-4.44×10^{-16}	栀子苷	常量	-4.29×10^{-16}
	a^*	3.768		a^*	1.928
	b^*	2.926		b^*	0.974
西红花苷 - Ⅲ	常量	-6.02×10^{-16}			
	a^*	3.299			
	b^*	2.639			



注：P 表示果皮组，R 表示果仁组。 $*P < 0.05$；$**P < 0.01$。

图 11 果皮、果仁中差异性成分组间差异比较

3 讨论

采用 GC - MS 分析栀子种挥发油成分，在鉴定的化合物中，栀子挥发油中反，反 -2,4 - 癸二烯醛、(2E,4E) -2,4 - 癸二烯醛、14 - 甲基十五烷酸甲酯、2 - 十三烷酮等相对含量较高。挥发油化学成分组成复杂，含有大量的同分异构体，通过质谱库进行定性结果存在误差，采用 RI 法进行定性分析，可提高可信度。2,4 - 癸二烯醛可用于配制食品香料，也是煎炸体系中产生的典型醛类物质[17]，此醛类化合物进入人体，会对机体功能造成损伤[18]。14 - 甲基十五烷酸甲酯常被用作食品添加剂，主要用于增加食品的香味和口感，也可以用于制备化妆品、香水和皮肤护理产品等以及当作药物主导剂[19]。2 - 十三烷酮可作为食品用香料，同时可参与细胞色素的合成，表现出低浓度促进的作用[20]。结果表明栀子具有较大的开发应用前景。

目前运用高效液相色谱法测定中药材化学成分含量技术已相当成熟，但性状鉴别是药材标准不可或缺的一部分，《中华人民共和国药典》（2020 年版）对中药栀子有颜色规定，通过肉眼观察进行鉴别时，对于颜色的判断、理解往往会因人而异[21]。视觉分析技术相比于传统外观鉴别方法，电子眼具有无视觉疲劳、分析准确迅速等特点，其含有 L^*、a^* 和 b^* 3 个变量，分别代表被测物的亮度值、红绿色差和黄蓝色差，电子眼在控制照明和成像条件下使用高分辨率成像技术，对颜色差异有高度的敏感性[22]。运用高效液相色谱与电子眼结合的方法，可将中药外观颜色数据化，与化学成分含量相结合，可以在一定程度上通过颜色来反映药材内在质量，可通过颜色来规范中药材采收[23]，便于掌控药材有效含量程度，为唐栀子质量标准提升提供参考。本研究对成熟期栀子果皮、果仁进行分类时，性状鉴别具有简单、快速、直观的特点，根据其表面颜色进行判断，发现在黄色果皮时其果仁颜色为黄色和红色，红色果皮时为浅红色、红色与红棕色果仁，红棕色皮时为红色与红棕色果仁，褐色果皮时果仁颜色为红色、红棕色与褐色果仁。在进行颜色分类时选择同一地区（河南省南阳市唐河县）栀子药材，在以栀子果实入药时，以栀子果皮颜色为参考，果皮、果仁分别作为药用部位入药时，就要考虑两者颜色。由此可见，对栀子进行性状鉴别结合视觉分析技术具有很大应用空间[24]。结果表明，颜色越红时，L^*、b^* 呈现减小的趋势，a^* 则呈现上升的趋势，即栀子果皮、果仁颜色与肉眼观察相符。

为探究唐河栀子不同颜色果皮、果仁与 9 种化学成分含量的关系，将果皮、果仁测得化学成分含量与 3 个色度值（L^*、a^*、b^*）进行聚类分析、相关性分析与回归分析。聚类分析把果皮聚为 3 类，红棕色（P3）含量较高，符合《中华人民共和国药典》（2022 年版）规定，黄色皮（P1）与红色皮（P2）虽然两者色度值存在差异，但化学成分含量相差不大，推测黄色、红色对果皮质量无显著影响；P4（褐色）总含量较低，其原因可能为储藏致使药材表面变质造成[25]。相关分析与回归分析表明，颜色可以在一定程度上预测化学成分含量，9 种化学成分与 a^* 呈正相关，即颜色越红，总含量越高，药材质量越优，与含量测定结果相一致，表明红棕色果皮质量为优。果仁聚为 4 类，由于红棕色仁（R4）颜色较深，且化学成分总量较高；浅红色仁（R2）、红色仁（R3）聚为一类，可能是由于外观颜色相近，黄色仁（R1）、褐色仁（R5）各聚为一类，化学成分总量较低，褐色仁中西红花苷类与藏红花酸成分含量较低。果仁 9 种化学成分与 L^*、a^*、b^* 的相关分析表明，a^* 越大，b^* 越小时，即样品颜色越红时，化学成分总含量越高。但栀子苷作为主要药效成分，在 R2（浅红色）中含量较高，R3（红色）栀子苷含量质量分数与其相差 0.504%，R4（红棕色）栀子苷含量质量分数与其相

差 0.448%。本研究西红花苷类与藏红花酸成分含量随颜色变红而变大,栀子苷含量变小。付小梅等[23]研究表明,栀子苷含量随着果实的成熟,即药材颜色变红,呈现下降趋势;西红花苷类成分含量呈上升趋势,这与我们研究相一致。因此,栀子作药用可选取浅红色仁或者红色仁,两者栀子苷含量较高,且为一类;若栀子作染料用可选取红棕色仁,色素类成分含量较高,且颜色稳定,染色能力强[26],当然其栀子苷含量符合《中华人民共和国药典》(2022 年版)规定[1]。在规范采摘栀子的颜色时,既要考虑总成分含量,又要考虑主要化学成分含量综合评价药材质量。此外,果皮、果仁出现褐色现象,其原因可能是栀子果实采摘后,农户会堆积在一起,待大批量后,进行统一加工,这种现象难免会导致栀子未及时进行略烫或略煮,不能达到迅速脱水、杀酶的作用,药材仍可进行代谢活动,可能导致药材外观变色问题影响药材质量[27]。

为进一步比较果皮、果仁差异,发现化学成分果仁中 9 种化学成分总含量高于果皮的。其中两者栀子苷含量差异较大,果仁总含量约为果皮的 9 倍,可作为区分果皮、果仁的指标性成分。在化学计量学的统计结果中,OPLS - DA 结果表明栀子果皮、果仁有一定的区分趋势,进一步说明了两者化学成分含量存在差异,并通过 VIP 值的排序确定了 5 个贡献较大的成分作为区分果皮、果仁的差异性标志物,最后通过单因素方差分析对筛选出的差异性标志物进行验证,可作为区分果皮、果仁的差异性成分。栀子成熟期采摘,其果皮、果仁化学成分含量差异明显,建立的方法可明显区分果皮、果仁;果皮中环烯醚萜及其苷类含量、西红花苷类与藏红花酸含量低于果仁中的,化学成分含量差异造成了功效的差异[28-29]。

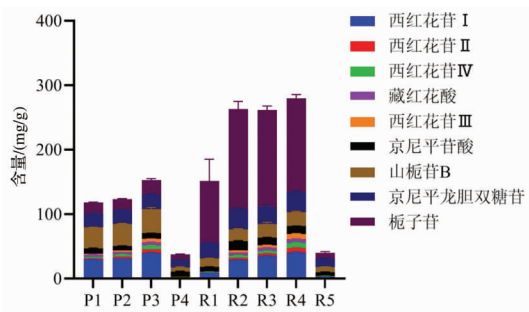
本研究对河南唐河产栀子所含挥发油、不同颜色、不同部位进行了化学成分分析,可为临床使用栀子提供参考,为唐河栀子质量评价及开发利用提供科学依据。但本研究仅对栀子进行了挥发油成分分析,未涉及到皮、仁,后续将对栀子不同部位成分以及药理活性进行研究,以期为其开发利用提供科学依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:259.
[2] 袁国卿. “八大宛药”的历史形成[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):142 - 143.
[3] 赵倩娜,崔红倩,申远. 栀子的化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报,2024,41(11):1090 - 1096.
[4] 张嘉豪,呼田,周雪薇,等. 栀子药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2024,26(5):93 - 98.
[5] 李明利,赵佳琛,金艳,等. 经典名方中栀子的本草考证[J]. 中国现代中药,2020,22(8):1287 - 1302.
[6] 孙思邈. 千金方[M]. 北京: 民主与建设出版社,2021.
[7] 朱震亨. 本草衍义补遗[M]. 北京:中国中医药出版社,2021.
[8] 朱震亨. 丹溪治法心要[M]. 北京:人民出版社,1983.
[9] 王好古. 汤液本草[M]. 北京:中国医药科技出版社,2011.
[10] 刘丽君,詹佳浩,帅锦浩,等. 栀子黄色素对葡聚糖硫酸钠诱导大鼠结肠炎的缓解作用及肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技,2025,46(5):344 - 354.
[11] 薛淑娟,车奇涛,陈随清. 基于“成分 - 颜色”关联分析地黄药材的质量及体外活性评价[J]. 时珍国医国药,2023,34(11):2791 - 2796.
[12] 雒馨怡,饶志,张帆,等. 基于液相色谱 - 三重四级杆质谱仪的栀子及水栀子中萜类物质鉴定及成分差异研究[J]. 兰州大学学报(医学版),2024,50(8):16 - 24,47.
[13] 梁献葵,王艳慧,雷敬卫,等. 栀子皮、仁、须中 3 个成分含量测定及指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(4):193 - 200.
[14] 冯志毅,张强,纪亮,等. 甘草汁炮制前后栀子仁不同极性部位 HPLC 指纹图谱及其化学模式识别研究[J]. 沈阳药科大学学报,2022,39(4):405 - 413.
[15] 薛淑娟,杨江凯,陈随清. GC - MS 结合保留指数法解析太行菊挥发油的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(15):120 - 128.
[16] 刘振东,兰金旭,陈随清. HPLC 结合电子眼技术分析不同采收期的枸橘药材质量[J]. 中国中药杂志,2021,46(20):5253 - 5259.
[17] TOYOSAKI T, SAKANE Y, KASAI M. Oxidative stability, trans, trans - 2,4 - decadienals, and tocopherol contents during storage of dough fried in soybean oil with added medium - chain triacylglycerols (MCT)[J]. Food Research International, 2008, 41(3): 318 - 324.
[18] 王泽通,肖军霞,郭丽萍,等. 煎炸过程中食品基质对体系内(E,E) - 2,4 - 癸二烯醛含量及分布的影响[J]. 食品研究与开发,2022,43(14):32 - 41.
[19] LAWAL B, SHITTU O K, ABUBAKAR A N, et al. Drug leads agents from methanol extract of Nigerian bee (Apis mellifera) propolis[J]. J Intercult Ethnopharmacol, 2016, 5(1): 43 - 48.
[20] LIU X N, LIANG P, GAO X W, et al. Induction of the cytochrome P450 activity by plant allelochemicals in the cotton bollworm, Helicoverpa armigera (Hubner)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2006, 84(2): 127 - 134.
[21] 王亚顺,拱健婷,崔阳,等. 基于数字化颜色和气味阐释五味子“辨状论质”的内涵[J]. 中华中医药杂志,2024,39(7):3611 - 3618.
[22] 乔瑞瑞,刘硕,白亚亚,等. 黄芩炒炭过程中主要成分与色度值的变化规律及其止血作用研究[J]. 中草药,2024,55(15):5083 - 5092.
[23] 付小梅,杨超,吴志瑰,等. 不同采收期栀子中 8 个有效成分含量动态变化与颜色的相关性研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(13):3191 - 3202.
[24] 裴建国,刘婧,付小梅,等. 不同采收期栀子颜色与其 3 类有效成分相关性研究[J]. 中药材,2017,40(10):2280 - 2285.
[25] 邓青云,姜益泉,吕环照,等. 红栀子果实贮藏变质原因及防治[J]. 林业实用技术,2009(3):29 - 30.
[26] 桂祖文,徐昊宁,陈海相,等. 栀子黄植物染料及其染色真丝面料的鉴别[J]. 现代纺织技术,2023,31(6):1 - 8.
[27] 梁献葵,王艳慧,雷敬卫,等. 不同产地加工炮制方法对栀子质量的影响[J]. 中国中药杂志,2018,43(16):3285 - 3290.
[28] 胡倩南,田春芳,魏朝法,等. 基于 UPLC - Q - TOF - MS 技术结合化学计量学的毛叶香茶菜不同部位化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2024,49(9):2478 - 2488.
[29] 刘嘉琪,杨涛,缪芝硕,等. 响应面优化栀子果实不同部位油脂提取工艺及其脂肪酸分析[J]. 食品工业科技,2020,41(23):114 - 121.

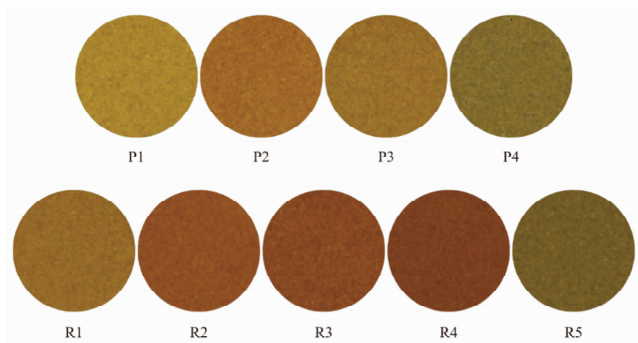
基于 GC – MS 和 HPLC – 电子眼联用技术的唐栀子药材质量分析

(正文见 164 – 173 页)



注:P 为果皮组,R 为果仁组;P1. 黄色,P2. 红色,P3. 红棕色,P4. 褐色,R1. 黄色,R2. 浅红色,R3. 红色,R4. 红棕色,R5. 褐色。

图 4 唐栀子不同颜色果皮、果仁成分含量差异



注:P 为果皮组,R 为果仁组;P1. 黄色,P2. 红色,P3. 红棕色,P4. 褐色,R1. 黄色,R2. 浅红色,R3. 红色,R4. 红棕色,R5. 褐色。

图 5 不同颜色果皮、果仁电子眼图像

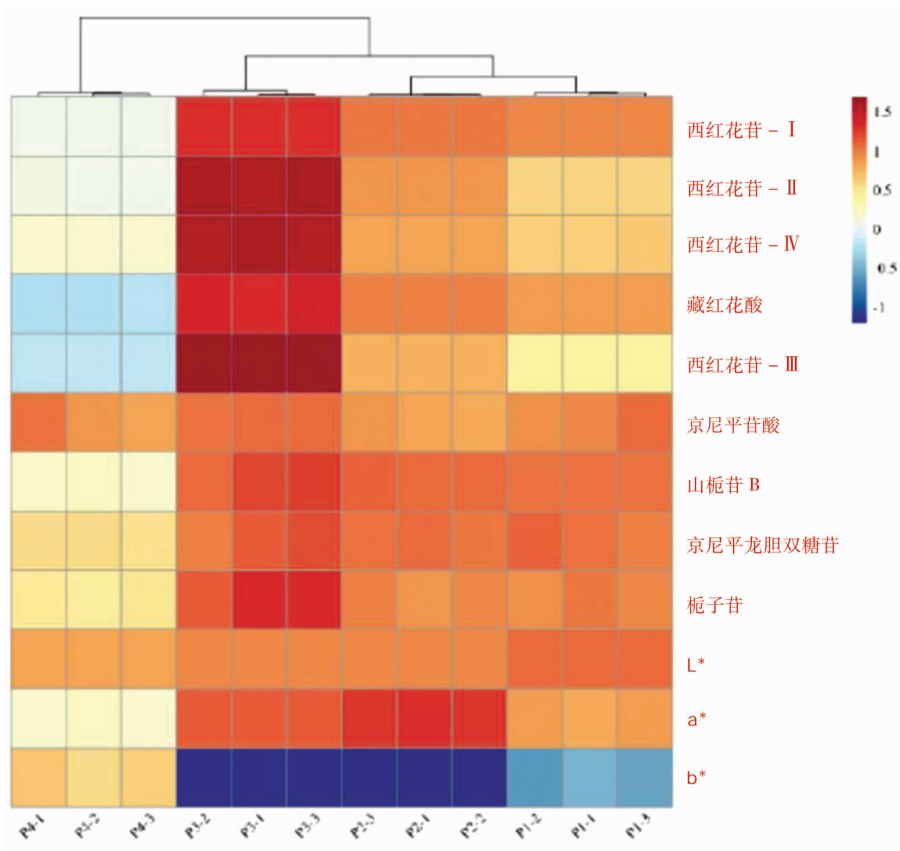


图 6 果皮聚类热图

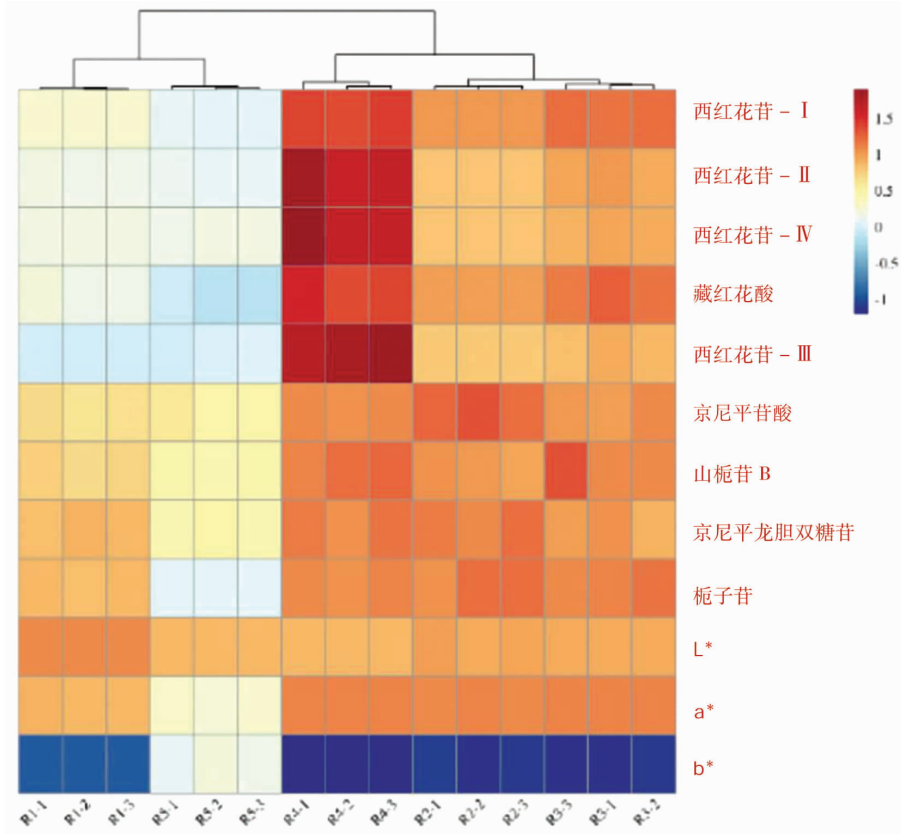


图 7 果仁聚类热图

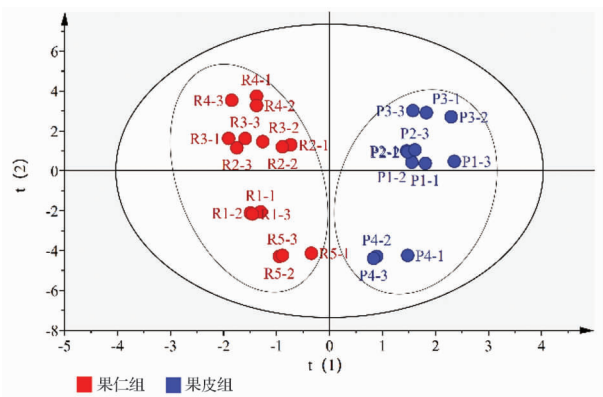


图 8 果皮、果仁 OPLS－DA 得分图

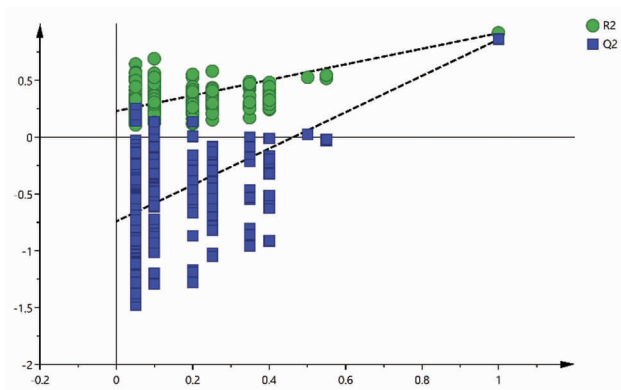


图 9 模型交叉验证结果

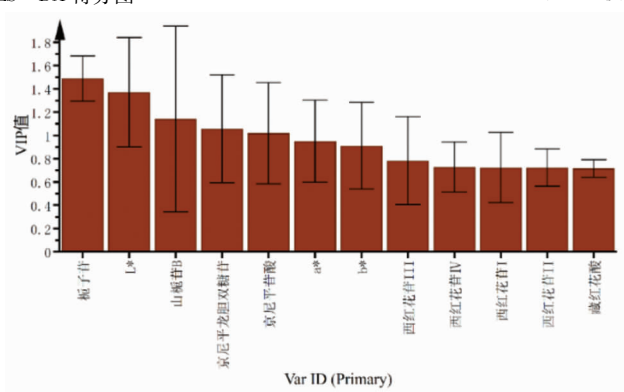


图 10 果皮、果仁 OPLS－DA VIP 值图