

中图分类号: R932; R284.1; R286.0  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.17.017

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2023)17-0071-05



# 基于灰色关联度分析的萆澄茄药材质量评价

林倩倩

(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院, 福建 福州 350000)

**摘要:**目的 评价不同产地萆澄茄药材的质量。方法 收集 14 个产区萆澄茄药材样品, 根据 2020 年版《中国药典(四部)》检查方法测定水分、总灰分、浸出物, 采用高效液相色谱法测定药材样品中柠檬醛和芦丁的含量。以上述 5 个指标为考察对象, 采用灰色关联度分析法构建萆澄茄药材质量评价模型, 并与主成分分析法结果比较。结果 灰色关联度分析法结果显示, 福建建阳产药材样品与最优参考序列的相对关联度(0.66)最高, 质量最优; 广西苍梧产药材与最优参考序列的相对关联度(0.30)最低, 质量最差。主成分分析法与灰色关联分析法的结果基本一致。结论 所建立模型可用于萆澄茄药材的质量评价, 建议将柠檬醛、芦丁含量测定纳入质量标准。

**关键词:** 萆澄茄; 灰色关联度分析法; 主成分分析法; 柠檬醛; 芦丁; 质量评价

## Quality Evaluation of Litseae Fructus Based on Grey Correlation Analysis

LIN Qianqian

(The 900th Hospital of Joint Logistics Support Force, Fuzhou, Fujian, China 350000)

**Abstract: Objective** To evaluate the quality of Litseae Fructus from different producing areas. **Methods** Samples of Litseae Fructus were collected from 14 producing areas. The contents of water, total ash and extract were determined according to the inspection method of *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume I), and the contents of citral and rutin in the samples were determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The quality evaluation model of Litseae Fructus was established by the grey correlation analysis method with the above five indicators as the research objects, and the results were compared with the results of principal component analysis (PCA). **Results** The results of the grey correlation analysis showed that Litseae Fructus produced in Jianyang, Fujian Province was the most highly correlated with the optimal reference sequence with a relative correlation degree of 0.66, and its quality was the best; Litseae Fructus from Cangwu, Guangxi Province was the most lowly correlated with the optimal reference sequence with relative correlation degree of 0.30, and its quality was the worst. The results of the principal component analysis and grey correlation method were basically consistent. **Conclusion** The established model can be used for the quality evaluation of Litseae Fructus. It is suggested that the content determination of citral and rutin, should be included in the quality standard.

**Key words:** Litseae Fructus; grey relational analysis; principal components analysis; citral; rutin; quality evaluation

萆澄茄来源于樟科植物山鸡椒 *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. 的干燥成熟果实, 性温、味辛, 归脾、胃、肾、膀胱经, 具有温中散寒、行气止痛之功<sup>[1]</sup>。萆澄茄主要含有挥发油、黄酮类、脂肪酸等成分<sup>[2-3]</sup>, 广泛分布于我国南部。现行质量标准 2020 年版《中国药典(一部)》中无含量测定控制项, 但已有研究报道对萆澄茄质量的评价主要是从挥发油中多种成分<sup>[4-5]</sup>或芦丁单一化合物<sup>[6]</sup>等方面进行研究。中药质量评价需符合中医药作用的整体观特点。灰色关联度分析(GRA)是根据相似度来预测因素间的关联程度<sup>[7-9]</sup>, 通过分析不同批次药材的综合质量受其他因素影响的强弱, 以得分为依据评价药材质量的优劣, 已广泛用于含有复杂成分的中药质量控制。本研究中通过测定 14 批不同产地萆澄茄药材中水分、总灰分、浸出物、柠檬醛和芦丁含量, 建立评价萆澄茄药材质量的 GRA 模型, 对不同产地药材进行综合评价排序, 并采用主成分分析(PCA)法对产生差

异的因素进行分析, 为萆澄茄药材质量的快速评价提供参考。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 配有可变波长检测器(VWD); MS105DU / A 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.01 mg); SX4-10Z 型箱式电阻炉(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); GW202V 型电热鼓风干燥箱(上海双旭电子有限公司); JK-DY600 型超声波清洗仪(合肥金尼克机械制造有限公司, 功率为 600 W, 频率为 40 kHz)。

#### 1.2 试剂

柠檬醛对照品(批号为 190178-201701, 含量 99.5%), 芦丁对照品(批号为 100080-202012, 含量 81.6%), 均购自中国食品药品检定研究院; 14 批萆澄茄药材分别从药材市场收集, 经福建中医药大学董永

第一作者: 林倩倩, 女, 大学本科, 中药师, 研究方向为民族药质量及药物分析, (电子邮箱)linqianqian123@qq.com。

利教授鉴定为正品,样品信息见表1;甲醇、乙腈均为色谱纯,购自美国Merk公司;其余试剂均为分析纯。

表1 葎澄茄药材样品信息

Tab. 1 Information of Litseae Fructus samples

编号	批号	产地	采收时间	生长年限
S1	20210922	广西苍梧	2020年秋	1.5年
S2	211018	广西玉林	2020年秋	1.5年
S3	201107	广西崇左	2020年秋	1.0年
S4	20220506	云南鹤庆	2020年秋	1.5年
S5	20211115	福建建阳	2020年秋	1.5年
S6	211027	福建宁德	2020年秋	1.5年
S7	20220411	云南宣威	2020年秋	1.5年
S8	220324	云南富民	2020年秋	1.5年
S9	210624	福建龙岩	2020年秋	1.5年
S10	20210529	云南丽江	2020年秋	1.5年
S11	20201212	广西崇左	2020年秋	1.0年
S12	211021	贵州贵定	2020年秋	1.5年
S13	20210513	贵州贵阳	2020年秋	1.5年
S14	20210817	贵州雷山	2020年秋	1.5年

## 2 方法与结果

### 2.1 葎澄茄药材中水分、总灰分及浸出物测定

参照2020年版《中国药典(四部)》通则0832水分测定法第四法(甲苯法),通则2302灰分测定法、浸出物测定法中醇溶性浸出物测定法对14批药材进行测定。结果见表2。

表2 葎澄茄药材样品中水分、总灰分、浸出物及柠檬醛、芦丁含量测定结果(% , n = 3)

Tab. 2 Results of content determination of water, total ash, extracts, citral and rutin in Litseae Fructus (% , n = 3)

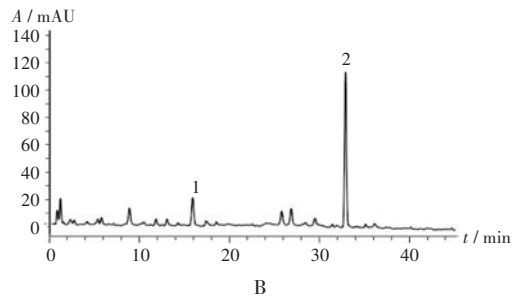
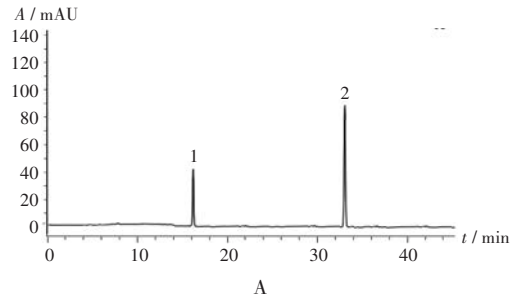
编号	柠檬醛	芦丁	水分	总灰分	浸出物
S1	12.85	4.69	5.01	1.52	39.15
S2	6.76	4.36	6.85	2.11	33.21
S3	8.12	4.52	5.93	1.83	29.38
S4	5.56	4.03	7.18	1.42	30.36
S5	8.08	3.56	5.54	1.38	29.91
S6	8.06	3.84	5.89	1.75	34.44
S7	8.34	5.68	7.22	1.63	32.18
S8	7.36	5.86	6.07	1.89	36.18
S9	9.28	3.85	5.29	1.97	35.64
S10	9.12	3.76	5.34	2.21	34.36
S11	7.16	4.26	5.18	1.63	41.21
S12	6.92	3.32	4.89	1.35	33.61
S13	7.81	4.53	6.04	2.18	32.13
S14	6.05	4.35	4.53	1.69	37.35

### 2.2 葎澄茄药材中柠檬醛和芦丁含量测定

#### 2.2.1 色谱条件<sup>[10-12]</sup>与系统适用性试验

色谱柱: Waters XTERRA C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm,

5 μm);流动相:乙腈(A) - 0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min时30%A,20~45 min时30%A → 75%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:254 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。供试品溶液在与混合对照品溶液相同保留时间处有相应色谱峰出现。色谱图见图1。



1. 芦丁 2. 柠檬醛

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Rutin 2. Citral

A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

#### 2.2.2 溶液制备

混合对照品溶液:精密称取柠檬醛和芦丁对照品各适量,用甲醇溶解制成质量浓度分别为90.19, 189.70 μg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液:取葎澄茄药材粉碎,过4号筛,取约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入85%甲醇溶液50 mL,称定质量,超声提取(功率为500 W,频率为40 kHz)40 min,放冷,用85%甲醇补足的质量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

#### 2.2.3 方法学考察

精密吸取2.2.2项下各溶液,按2.2.1项下色谱条件连续进样6次,结果精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2.0%,表明仪器精密度良好,供试品溶液在室温放置12 h内基本稳定,方法重复性良好。

#### 2.2.4 样品含量测定

取供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定3次,记录峰面积,并计算含量。结果见表2。

### 2.3 葎澄茄质量灰色关联度分析

参考序列选择:设有n个药材样品,每个药材样品有m个评价指标,组成一个评价单元序列{X<sub>ik</sub>} (i = 1, 2, 3, ..., n; k = 1, 2, 3, ..., m; n = 14, m = 5)。从质量评价的

角度,浸出物、柠檬醛含量和芦丁含量3个指标越高越好;因水分、总灰分与萆澄茄质量呈负相关,故选用其倒数作为评价指标,与柠檬醛和芦丁含量指标共同构成指标矩阵<sup>[13-14]</sup>。设最优/最差参考序列分别为 $\{X_{sk}\}$ 和 $\{X_{tk}\}$  ( $k=1,2,3,\dots,m$ )。设最优/最差参考序列的各项指标为 $n$ 个药材样品对应指标的最大/最小值,即 $\{X_{sk}\}$ 和 $\{X_{tk}\}$ 。

原始数据无量纲化处理:本研究中采用均值化法对各评价指标进行处理,公式为 $Y_{ik} = X_{ik} / X_k$ ,式中 $X_{ik}$ 表示原始数据, $X_k$ 表示第 $n$ 个萆澄茄药材样品第 $k$ 个指标的均值, $Y_{ik}$ 为无量纲化处理后的数据。详见表3。

表3 原始数据无量纲化处理

Tab. 3 Dimensionless processing results of raw data

编号	柠檬醛	芦丁	水分	总灰分	浸出物
S1	1.64	1.08	0.86	0.86	1.16
S2	0.76	1.00	1.18	1.20	0.98
S3	0.82	1.04	1.02	1.04	0.87
S4	0.51	0.93	1.24	0.80	0.90
S5	0.68	0.82	0.95	0.78	0.88
S6	0.62	0.88	1.01	0.99	1.02
S7	0.60	1.31	1.25	0.92	0.95
S8	0.49	1.35	1.04	1.07	1.07
S9	0.58	0.88	0.91	1.12	1.05
S10	0.54	0.86	0.92	1.25	1.01
S11	0.40	0.98	0.89	0.92	1.22
S12	0.36	0.76	0.84	0.76	0.99
S13	0.39	1.04	1.04	1.24	0.95
S14	0.29	1.00	0.78	0.96	1.10
最优参考序列	1.64	1.35	1.25	1.25	1.22
最差参考序列	0.29	0.82	0.78	0.76	0.87

计算关联系数、关联度及相对关联度:按表4中公式(1)和公式(2)分别计算相对于最优/最差参考序列的关联系数( $r$ ),按公式(3)和公式(4)分别计算相对于最优/最差参考序列的关联度 $[r_{i(s)}]$ ,按公式(5)计算不同

产地萆澄茄药材样品的相对关联度( $r_i$ )。 $r$ 值越大,表明评价单元序列与参考序列相关度越高。 $r_i$ 较好地诠释灰色关联理论,根据 $r_i$ 对评价单元进行排序,可得到评价质量优劣结果。详见表5。

表5 评价单元序列相对于最优参考序列的关联系数、关联度、相对关联度及排序

Tab. 5 The correlation coefficient, correlation degree, relative correlation degree and ranking of the evaluation unit sequence relative to the optimal reference sequence

编号	$r$					$r_{i(s)}$	$r_i$ / 排序
	柠檬醛	芦丁	水分	总灰分	浸出物		
S1	0.09	0.14	0.71	0.48	0.34	0.35	0.30 / 14
S2	0.16	0.18	0.50	0.29	0.48	0.32	0.34 / 12
S3	0.11	0.19	0.61	0.32	0.35	0.32	0.31 / 13
S4	0.10	0.16	0.48	1.00	0.45	0.44	0.44 / 5
S5	1.01	0.21	0.72	0.41	0.99	0.69	0.66 / 1
S6	0.11	0.15	0.55	0.34	0.49	0.33	0.36 / 10
S7	0.12	0.31	0.48	0.36	0.45	0.34	0.39 / 8
S8	0.11	0.18	0.75	0.36	0.42	0.36	0.49 / 4
S9	0.12	0.15	0.66	0.31	0.38	0.32	0.35 / 11
S10	0.11	1.00	1.00	0.32	0.39	0.56	0.53 / 2
S11	0.11	0.13	0.84	0.47	0.46	0.40	0.41 / 6
S12	0.10	0.17	0.64	0.36	1.00	0.46	0.50 / 3
S13	0.11	0.19	0.67	0.29	0.44	0.34	0.37 / 9
S14	0.12	0.35	0.59	0.33	0.39	0.36	0.40 / 7

## 2.4 PCA 综合评价不同产地萆澄茄

采用SPSS 22.0和SIMCA 16.1软件对表2数据进行PCA<sup>[15-16]</sup>,提取出特征值大于1的2个主成分,分析上述5个指标(柠檬醛、芦丁、水分、总灰分、浸出物)分别对2个主成分的贡献率。主成分分析特征值及方差贡献率见表6,主成分因子载荷矩阵见表7,碎石图见图2。

根据各指标成分得分系数矩阵,得因子得分表达式  $F_1 = 0.559X_{柠檬醛} + 0.605X_{芦丁} + 0.413X_{水分} - 0.208X_{总灰分} + 0.151X_{浸出物}$ ,  $F_2 = -0.117X_{柠檬醛} -$

表4 灰色关联度分析法相关计算公式

Tab. 4 The relevant calculation formula of grey correlation analysis method

名称	公式
最优参考序列关联系数	$\zeta_{k(s)}^i = \frac{\Delta_{\min} + \rho\Delta_{\max}}{ Y_{ik} - Y_{sk}  + \rho\Delta_{\max}}$ (1)
最差参考序列关联系数	$\zeta_{k(t)}^i = \frac{\Delta'_{\min} + \rho\Delta'_{\max}}{ Y_{ik} - Y_{tk}  + \rho\Delta'_{\max}}$ (2)
最优参考序列关联度	$r_{i(s)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(s)}^i$ (3)
最差参考序列关联度	$r_{i(t)} = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^m \zeta_{k(t)}^i$ (4)
最优参考序列相对关联度	$r_i = \frac{r_{i(s)}}{r_{i(s)} + r_{i(t)}}$ (5)

$\Delta_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ,  $\Delta_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{sk}|$ ;  $\rho$ 为分辨系数,本研究中取值为0.1

$\Delta'_{\min} = \min |Y_{ik} - Y_{tk}|$ ,  $\Delta'_{\max} = \max |Y_{ik} - Y_{tk}|$

$i = 1, 2, 3, \dots, n; k = 1, 2, 3, \dots, m$

表6 萆澄茄药材样品有效成分含量主成分分析特征值和方差贡献率

Tab. 6 The eigenvalues and variance contribution rate of principal component analysis for the content of active components in *Litsea Fructus*

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差(%)	累积(%)	总计	方差(%)	累积(%)
1	2.719	54.374	54.374	2.719	54.374	54.374
2	1.047	20.931	75.305	1.047	20.931	75.305
3	0.826	16.524	91.829			
4	0.297	5.939	97.768			
5	0.112	2.323	100.000			

表7 主成分因子载荷矩阵

Tab. 7 Factor load matrix of principal components

项目	第1主成分	第2主成分	项目	第1主成分	第2主成分
柠檬醛	0.926	0.004	总灰分	0.176	0.771
芦丁	0.283	0.690	浸出物	0.832	0.376
水分	0.026	0.450			

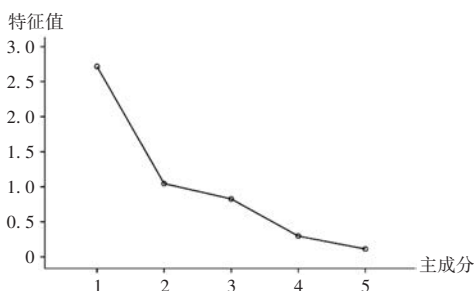


图2 主成分分析碎石图

Fig. 2 Screen plot of PCA

表8 不同产地药材样品主成分值、综合得分及排序

Tab. 8 Principal component values, comprehensive scores and ranking of *Litsea Fructus* from different producing areas

编号	$F_1$	$F_2$	$F$	排序	编号	$F_1$	$F_2$	$F$	排序
S1	0.404	0.513	32.704	14	S8	1.238	1.707	103.044	4
S2	1.006	0.503	65.228	12	S9	1.017	0.742	70.829	11
S3	1.203	-0.922	46.113	13	S10	2.170	0.316	124.605	2
S4	1.487	0.596	93.329	7	S11	1.605	0.417	95.998	6
S5	2.804	-0.978	131.994	1	S12	1.638	0.823	106.291	3
S6	1.205	0.615	78.393	10	S13	1.649	0.144	92.676	8
S7	1.535	0.243	88.550	9	S14	1.717	0.308	99.806	5

$0.083X_{\text{芦丁}} - 0.202X_{\text{水分}} + 0.425X_{\text{总灰分}} + 0.499X_{\text{浸出物}}$ ; 将各成分方差贡献率作为权重,可得各批次萆澄茄综合得分( $F$ )。按公式计算, $F = 54.374 F_1 + 20.931 F_2$ 。不同产地地萆澄主成分值、综合得分及排序见表8。

### 3 讨论

灰色关联度模型对数据没有严格要求,可充分利用较少的原始数据寻找体系中的规律性,区分不同指标对整体的影响。本研究中,采用GRA法评价萆澄茄药材质量,排前3位的分别产自福建建阳、云南丽江、贵州

贵定, $r_i$ 分别为0.66,0.53,0.50,可在以上产地区域建立高质量栽培基地,规范加工方法,总体提升萆澄茄药材的品质;评价排后3位的均产自广西,其中广西苍梧 $r_i$ 为0.30。萆澄茄药材样品质量排前3位的综合得分分别为131.994,124.605,106.291,排最后2位的分别为32.704(S1)和46.113(S3),均产自广西。2种评价方法结果表明,萆澄茄药材样品质量排名基本一致,以福建生产的品质较优,可能与药材的生长特性、采收环境和地理位置相关,GRA法准确、科学、直观,可为筛选萆澄茄优质种源提供参考依据。

由表6和图2可知,第1主成分与第3主成分之间连线较为陡峭,特征值下降明显,即前3个主成分对解释变量的贡献最大,而第3主成分特征值小于1,前2个成分累计贡献值达75.305%,故提取2个主成分。由表7可知,柠檬醛、芦丁、浸出物在第1主成分上载荷较高,总灰分和水分在第2主成分有较高载荷。故建议将柠檬醛、芦丁含量测定纳入药品质量标准中,与浸出物、总灰分和水分等检查项共同考察萆澄茄药材质量。

中药材是由多种成分通过多靶点、多环节综合作用用于机体而发挥治疗作用,但药材因产地不同质量也有所差异,故有必要选择多个指标成分综合评价药材的质量并进行分区域管理。本研究中采用GRA评价模型进行质量分析,并与PCA法结果比较,选择了萆澄茄的水分、总灰分、浸出物及柠檬醛、芦丁含量5个指标,能客观反映不同产地萆澄茄药材的内在质量。但由于萆澄茄结构复杂,研究还不够深入,从现有的指标难以进行全面评价,且尚未发现特有成分。未来还需从萆澄茄原植物体内中药化学代谢途径出发,全方位研究其有效成分,以实现萆澄茄质量评价体系从点到面的转变。

### 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, 2020: 246-247.
- [2] 张小丽,姜姗姗,陈瑞明,等. 萆澄茄不同极性提取物的抗炎镇痛利胆作用[J]. 中国药房, 2014, 25(19): 1744-1746.
- [3] 赵雷蕾,吴珺玮,邹永,等. 分子蒸馏法纯化萆澄茄挥发油中柠檬醛的研究[J]. 中国药师, 2018, 21(1): 75-78.
- [4] 周劲帆,覃富景,冯洁,等. 二氧化碳超临界流体萃取两面针根挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J]. 中国药业, 2012, 21(11): 5-6.
- [5] 程焕,曹玉敏,黄海智,等. SPME及SDE/GC-MS联用测定萆澄茄中挥发性成分[J]. 中国食品学报, 2013, 22(10): 239-245.
- [6] 张加,陈晓辉,刘洋,等. RP-HPLC法测定不同产地萆澄茄中芦丁的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(8): 633-635.
- [7] 拱健婷,李莉,邹慧琴,等. 基于灰色关联分析和功效组分的大黄药材质量评价[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2018, 20(10): 1808-1815.