

吕桂芳,臧运平,彭逸,等.万寿菊花瓣叶黄素含量与颜色系数的相关性分析[J].华中农业大学学报,2024,43(6):261-269.  
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.06.025

## 万寿菊花瓣叶黄素含量与颜色系数的相关性分析

吕桂芳<sup>1</sup>,臧运平<sup>2</sup>,彭逸<sup>1</sup>,陶正国<sup>3</sup>,炎天场<sup>1</sup>,张华丽<sup>4</sup>,刘建<sup>3</sup>,何燕红<sup>1</sup>

1. 华中农业大学园艺林学学院/果蔬园艺作物种质创新与利用全国重点实验室,武汉 430070;  
2. 云南立达尔生物科技有限公司,文山 663100; 3. 广州立达尔生物科技股份有限公司,广州 510663;  
4. 北京市园林绿化科学研究所,北京 100102

**摘要** 为建立一种快速测定万寿菊(*Tagetes erecta*)花瓣叶黄素含量的方法,利用色差仪测得万寿菊花瓣的亮度值 $L^*$ 、红绿值 $a^*$ 、黄蓝值 $b^*$ ,并计算 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色度值、色调值和色光值等颜色系数,同时采用紫外-可见分光光度法结合HPLC法测定花瓣叶黄素含量,分析叶黄素含量与这些颜色系数的相关性,建立回归方程并进行验证。结果显示,万寿菊花瓣叶黄素含量与 $a^*$ 、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色调值和色光值极显著相关;用三次函数模型构建的万寿菊叶黄素含量与 $a^*$ 值之间的回归方程拟合程度最高,且叶黄素含量的预测值与实测值之间差异不显著。结果表明,基于 $a^*$ 值构建的三次函数模型可以快速、无损预测万寿菊花瓣叶黄素含量。

**关键词** 叶黄素;万寿菊;色差仪;颜色系数;回归分析

中图分类号 S682.1<sup>+</sup>1

文献标识码 A

文章编号 1000-2421(2024)06-0261-09

叶黄素(lutein)是一种天然色素,属于类胡萝卜素,它不仅具有着色作用<sup>[1]</sup>,还在保护视觉、预防白内障<sup>[2]</sup>、治疗心血管疾病<sup>[3]</sup>、抗氧化<sup>[4]</sup>和抗癌<sup>[5]</sup>等方面具有重要功效,已经被广泛应用于医药、保健品、化妆品、食品和饲料添加剂等领域<sup>[6]</sup>。万寿菊(*Tagetes erecta*)是提取叶黄素的重要原料,其花瓣的叶黄素类(xanthophylls)物质主要包括叶黄素(又名黄体素)和玉米黄质<sup>[7-8]</sup>,可占总类胡萝卜素含量的88%以上<sup>[9-10]</sup>。虽然我国在万寿菊种植、加工和销售等方面取得了快速发展,但在自主知识产权品种研发等方面仍比较落后,培育和选育高叶黄素含量的万寿菊品种是万寿菊产业可持续发展的关键。

目前常用的叶黄素检测方法有高效液相色谱法(HPLC)和紫外-可见分光光度法<sup>[11-12]</sup>。HPLC法稳定性强、灵敏性高,能精确检测各种成分在样品中的含量。紫外-可见分光光度法根据被测物质浓度与吸光度成正比来分析色素含量,是一种较为简单的检测方法<sup>[13]</sup>。但是,HPLC法和紫外-可见分光光度法均需要进行样本前处理和叶黄素提取步骤,存在试验所需时间长、测试费用较高、操作不便利等缺点<sup>[6]</sup>。因此,探索研究更简便、快速、无损的万寿菊叶

黄素含量检测方法非常重要,而目前关于这方面的研究较少。

色差仪是一种运用国际通用的CIE Lab颜色空间,通过输出亮度值 $L^*$ 、红绿值 $a^*$ 、黄蓝值 $b^*$ ,直接测量物体表面色度学指标的仪器,具有操作简单、测量速度快、精度较高的优点<sup>[14-15]</sup>。目前,色差仪被广泛应用于花卉<sup>[16]</sup>、水果<sup>[17]</sup>、蔬菜<sup>[18]</sup>及茶叶<sup>[19]</sup>等产品颜色的测量。利用色差仪测得的 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值等颜色系数评估色素物质含量的研究也有相关报道。Ameny等<sup>[20]</sup>研究了马铃薯颜色的 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值与 $\beta$ -胡萝卜素含量的关系;Meiendez-Martinez等<sup>[21]</sup>利用 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值评估了不同橙汁颜色和维生素A活性的相关性;路绪强等<sup>[22]</sup>建立了西瓜番茄红素含量与果实颜色系数Chroma(色度值)的回归方程。但仍未有利用 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值等颜色系数预测万寿菊花瓣中叶黄素含量的研究报道。

本研究利用色差仪测量万寿菊舌状花花瓣的颜色,通过 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值计算相应的 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色度值、色调值和色光值等颜色系数,同时利用紫外-可见分光光度法结合HPLC法测定舌状花花瓣叶黄素含量,分析颜色系数与叶黄素含量的相关性,建立回

收稿日期:2024-03-13

基金项目:中央引导地方科技发展资金项目(YDZX20214400003224)

吕桂芳,E-mail:1069905818@qq.com

通信作者:何燕红,E-mail:hyh2010@mail.hzau.edu.cn;臧运平,E-mail:1072580426@qq.com

归方程并进行验证,从而得到一种利用色差仪快速测定万寿菊舌状花花瓣叶黄素含量的方法,为加快万寿菊高叶黄素种质资源检测和优良品种选育提供技术指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

供试材料为商业购买的万寿菊F<sub>1</sub>杂交种和培育

的自交系共16个基因型(表1,图1)。香草、148、9906、里程碑、6170、6210、丰盛桔色、发现橙色、金盾桔色、9904、贵夫人色素和菊花万寿菊12个基因型在2022年7月中旬播种于72孔穴盘中,8月中旬移栽至双色塑料盆中,于华中农业大学花卉基地进行露地栽培(30°28′36.5″N,114°21′59.4″E),常规管理。老印卡、6155、GH、橙玉4个基因型于2023年7月中旬播种,其他栽培管理措施保持一致。

表1 不同万寿菊基因型的基本信息

Table 1 Basic information about different marigold genotypes

编号 No.	基因型 Genotype	缩写 Abbr.	花色 Color	来源 Source	备注 Note
1	香草 Vanilla	XC	米白 Off-white	泰国 Ameriseed Thailand Ameriseed	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
2	148	148	浅黄 Light yellow	北京市园林绿化科学研究院 Beijing Institute of Landscape Architecture	自交系 Inbred line
3	9906	9906	浅黄 Light yellow	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
4	里程碑 Milestone	LCB	浅黄 Light yellow	塞诺园艺 Sainuo Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
5	老印卡 Old Inka	LYK	浅黄 Light yellow	虹越园艺 Hongyue Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
6	6155	6155	黄色 Yellow	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
7	6170	6170	黄色 Yellow	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
8	6210	6210	黄色 Yellow	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
9	橙玉 Cheng Yu	CY	桔黄 Orange-yellow	北京市园林绿化科学研究院 Beijing Institute of Landscape Architecture	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
10	丰盛桔色 Fengsheng Orange	FSJ	桔黄 Orange-yellow	世杰种业 Shijie Seeds	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
11	发现橙色 Discovery Orange	FXC	桔黄 Orange-yellow	虹越园艺 Hongyue Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
12	金盾桔色 Jindun Orange	JDJ	桔黄 Orange-yellow	塞诺园艺 Sainuo Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
13	9904	9904	桔红 Orange-red	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
14	GH	GH	桔红 Orange-red	华中农业大学 Huazhong Agricultural University	自交系 Inbred line
15	贵夫人色素 Lady Pigment	GFR	桔红 Orange-red	塞诺园艺 Sainuo Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation
16	菊花万寿菊 Chrysanthemum Marigold	JHWSJ	桔红 Orange-red	金秋园艺 Jinjiu Gardening	F <sub>1</sub> 代 Filial generation

### 1.2 万寿菊舌状花花瓣叶黄素含量测定

随机摘取盛花期头状花序外轮1~2层舌状花的花瓣,于-80℃超低温冰箱保存备用。使用Genesis SQ super ES-55型冷冻干燥机(SP Scientific,美

国)干燥样品3d,用SCIENTZ-48型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司)将干燥后的花瓣样品研磨至颗粒状,叶黄素含量的测定方法参照中国食品添加剂和配料协会团体标准

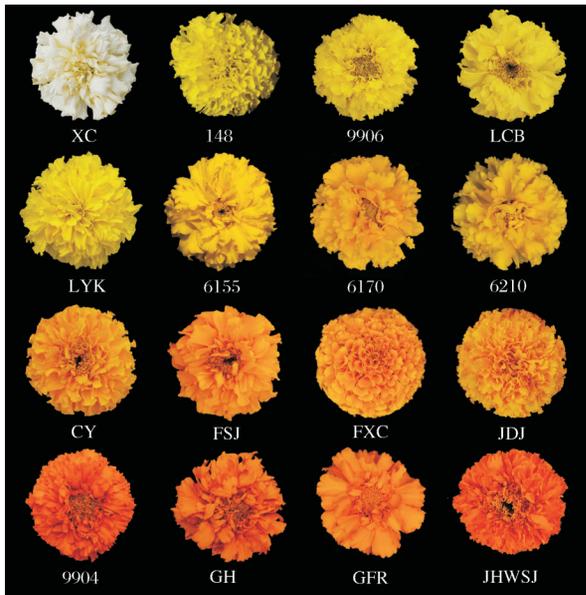


图1 不同万寿菊基因型的花色

Fig.1 Flower colors of different marigold genotypes

T/CFAA 0005—2021并稍作修改。其中,总叶黄素类物质含量的测定采用紫外-可见分光光度法:采用1/10 000天平称取0.1~0.2 g颗粒状花瓣样品于100 mL棕色容量瓶(3次生物学重复),加入30 mL萃取剂(正己烷:丙酮:甲苯:无水乙醇=10:7:7:6)和2 mL含有40% KOH的甲醇溶液;将容量瓶放在JP-080S型超声波清洗机(深圳市洁盟清洗设备有限公司)震荡40 s,然后放入56 °C水浴锅中皂化20 min;皂化完成后将样品冷却至室温,加入30 mL正己烷,用10%无水硫酸钠溶液定容后振荡1 min,于暗处静置1 h进行色层分离;静置完毕后的上层清液体积即万寿菊总叶黄素类提取液的体积(50 mL);准确吸取上层清液1 mL移到25 mL容量瓶中,用总叶黄素类物质洗脱液(正己烷)定容后摇匀,得到稀释后的万寿菊总叶黄素类物质提取液。将样品溶液置于1 cm比色皿中,用正己烷作空白对照,采用UV-1800型紫外-可见分光光度计(岛津,日本)测定样品在474 nm处吸光度值。总叶黄素类物质含量计算公式如式(1)所示:

$$W_0 = A \times V / (236 \times m) \quad (1)$$

式(1)中, $W_0$ :总叶黄素类物质含量,g/kg; $A$ :474 nm时样品吸光度; $V$ :稀释倍数; $m$ :样品质量,g;236:质量浓度为1 g/L的总叶黄素类物质样液在正己烷中波长474 nm处的吸收系数。

采用SPD-M20A型高效液相色谱仪(岛津,日本)检测叶黄素含量占总叶黄素类物质含量的比值。取1 mL上述万寿菊总叶黄素类物质提取液经0.45  $\mu$ m滤膜过滤后上机检测,固定相为4.6 $\times$ 250 mm色谱柱

(安捷伦,美国),流动相为正己烷:乙酸乙酯:异丙醇=73:27:1.5,流速为1.5 mL/min,进样量为20  $\mu$ L,柱温为室温,检测波长为446 nm,检测时间为20 min。叶黄素含量计算公式如式(2)所示:

$$W = W_0 \times P \quad (2)$$

式(2)中, $W$ :叶黄素含量,g/kg; $W_0$ :总叶黄素类物质含量,g/kg; $P$ :叶黄素峰面积/总叶黄素类物质峰面积。

### 1.3 万寿菊花瓣 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值测定

利用SPECTROPHOTOMETER CM-5型色彩色差仪(KONICA MINOLTA,日本)测量万寿菊舌状花的颜色。待万寿菊进入盛花期(所有小花均盛开),随机选择2个头状花序,采集外轮1~2层舌状花的花瓣4片,取花瓣正面中心点,测得 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值后取平均值;利用这些值分别计算5个颜色系数: $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色度值(chroma value,  $C_V$ )、色调值(hue value,  $H_V$ )和色光值(shade value,  $S_V$ )。色度值代表所测颜色到亮度轴的垂直距离,色度值越大,彩度越大;色调值反映的是红橙绿蓝紫等颜色类型,180°代表纯绿色,0°代表纯红色;色光值可以反映物质的表面颜色<sup>[23-24]</sup>。色度值、色调值、色光值计算公式如式(3)~(5):

$$C_V = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3)$$

$$H_V = \tan^{-1}(b^*/a^*) (a^* > 0, b^* > 0) \text{ 或 } 180^\circ + \tan^{-1}(b^*/a^*) (a^* < 0, b^* > 0) \quad (4)$$

$$S_V = 2000 \times a^*/L^* \times (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (5)$$

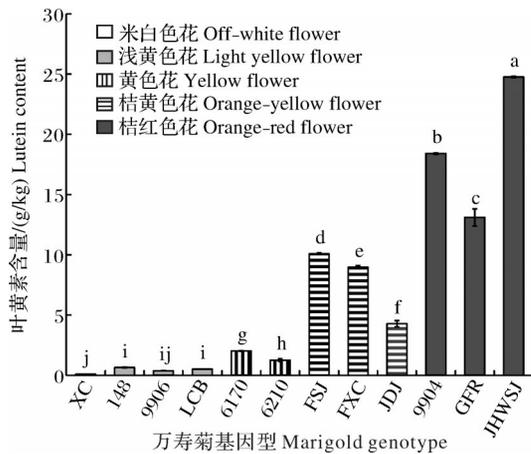
### 1.4 数据处理

采用Excel 2022软件进行数据整理,柱形图绘制;采用SPSS 26.0软件进行显著性分析、相关性分析、回归分析和 $t$ 检验。其中显著性分析采用Duncan's新复极差法,显著性水平为0.05;相关性分析采用双变量分析、斯皮尔曼(Spearman)相关系数;回归分析模型采用线性、二次、三次和指数函数模型; $t$ 检验采用两样本平均数配对法。

## 2 结果与分析

### 2.1 万寿菊花瓣叶黄素含量

采用紫外-可见分光光度法结合HPLC法测定万寿菊花瓣叶黄素含量,结果如图2所示。米白色香草的叶黄素含量为0.087 3 g/kg,显著低于其他花色的万寿菊;3种浅黄色的万寿菊叶黄素含量平均值为0.509 2 g/kg;黄色的万寿菊叶黄素含量平均值为1.635 3 g/kg;桔黄色万寿菊的叶黄素含量为



不同小写字母表示不同基因型间差异显著( $P<0.05$ )。Different lowercase letters indicate significant differences in different genotypes ( $P<0.05$ ).

图2 不同万寿菊基因型花瓣的叶黄素含量  
Fig. 2 Lutein content of petals of different marigold genotypes

4.277 8~10.091 5 g/kg; 桔红色万寿菊的叶黄素含量为13.101 4~24.762 7 g/kg。万寿菊花瓣颜色越深, 叶黄素含量越高。

表2 不同万寿菊基因型花瓣的颜色系数

Table 2 Color coefficient of petals from different marigold genotypes

基因型 Genotype	亮度值 $L^*$	红绿值 $a^*$	黄蓝值 $b^*$	$a^*/b^*$	$(a^*/b^*)^2$	色度值 Chroma value	色调值 Hue value	色光值 Shade value
XC	83.83±3.45a	-0.69±0.14g	6.93±0.94e	-0.10±0.01h	0.01±0.00e	6.97±0.95h	178.53±0.01a	-116.02±35.06gh
148	73.18±4.24c	-0.53±0.79g	34.42±5.50b	-0.02±0.02f	0.00±0.00e	34.44±5.50d	134.23±81.88b	-492.25±750.06gh
9906	74.73±2.85bc	-2.31±0.59h	35.58±2.87b	-0.05±0.01g	0.00±0.00e	23.73±2.89cd	178.49±0.01a	-802.50±648.08h
LCB	76.25±2.19b	-2.43±0.55h	38.81±2.39a	-0.06±0.01g	0.00±0.00e	38.89±2.39bc	178.49±0.01a	-2 471.30±551.78h
6170	64.58±2.93de	7.41±0.74e	29.33±4.62c	0.26±0.03d	0.07±0.01d	30.26±4.62ef	1.32±0.03c	6 972.10±1 397.19f
6210	62.50±2.54e	2.20±0.50f	22.48±3.57d	0.10±0.03e	0.01±0.01e	22.60±3.56g	1.47±0.03c	1 594.85±444.98g
JDJ	66.21±2.28d	20.61±1.54c	34.73±3.77b	0.60±0.04c	0.36±0.05c	40.40±3.90ab	1.03±0.03c	25 195.19±3 391.83cd
FSJ	66.05±2.14d	19.66±1.90c	34.33±3.52b	0.57±0.05c	0.33±0.06c	39.58±3.73ab	1.05±0.04c	23 624.29±3 637.64d
FXC	62.67±1.45e	14.60±1.65d	25.37±2.49d	0.57±0.02c	0.33±0.02c	29.27±2.97f	1.05±0.01c	13 717.39±2 531.34e
GFR	59.91±1.51f	23.48±2.26b	23.88±2.45d	0.98±0.03a	0.97±0.06a	33.49±3.30de	0.79±0.01c	26 378.28±4 363.73bc
9904	65.70±1.51d	23.72±1.61b	30.17±2.52c	0.79±0.02b	0.62±0.03b	38.38±2.95bc	0.90±0.01c	27 772.96±3 379.59b
JHWSJ	63.90±0.82de	29.87±0.70a	30.43±1.21c	0.98±0.03a	0.97±0.05a	42.64±1.27a	0.79±0.01c	39 870.22±1 612.42a

注: 同列不同小写字母表示不同基因型间差异显著( $P<0.05$ )。Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences in different genotypes ( $P<0.05$ ).

### 2.3 万寿菊花瓣叶黄素含量与颜色系数的相关性

由表3可知, 万寿菊花瓣叶黄素含量与 $a^*$ 值、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 和色光值极显著正相关( $P<0.01$ ), 其相关系数分别为0.965、0.989、0.935和0.944; 与色调值存在极显著负相关( $P<0.01$ ), 相关系数为-0.995; 与 $L^*$ 值和色度值呈显著相关( $P<0.05$ ), 相关系数分别为-0.685、0.643; 而与 $b^*$ 值之间无显著相关性( $P>0.05$ )。

### 2.2 万寿菊花瓣颜色系数

$L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值等颜色系数可以用于花色的定量描述。 $L^*$ 代表亮度值, $L^*=0$ 代表黑色, $L^*=100$ 代表白色。米白色香草的 $L^*$ 值最大,为83.83;其次为浅黄色万寿菊, $L^*$ 值均大于70;黄色、桔黄色和桔红色万寿菊的 $L^*$ 值(59.91~66.21)显著降低。 $a^*$ 值代表红/绿色之间的变化, $a^*>0$ 表示颜色偏红, $a^*<0$ 表示颜色偏绿。桔红色的9904、贵夫人色素和菊花万寿菊的 $a^*$ 值均值为25.69,显著高于其他花色的万寿菊;米白色和浅黄色的万寿菊 $a^*$ 值均为负值,表明花色很浅且有绿色成分。 $b^*$ 值反映黄/蓝色程度,正值是黄色,负值是蓝色。米白色的万寿菊 $b^*$ 值为6.93,其他花色万寿菊的花瓣 $b^*$ 值为22.48~38.81。在其他5个花瓣颜色系数中,随着万寿菊花色由浅至深, $a^*/b^*$ 和 $(a^*/b^*)^2$ 值均逐渐升高;各类花色的万寿菊色度值无明显规律性变化;桔红色的万寿菊色调值最小,平均值为0.83,最接近0,即颜色更红,与外观相一致;桔黄、桔红色万寿菊的色光值显著高于其他浅色品种(表2)。

### 2.4 万寿菊花瓣叶黄素含量与颜色系数的回归方程

选择相关性极显著的 $a^*$ 值、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色调值和色光值分别建立与叶黄素含量的回归方程,结果如表4所示。在万寿菊花瓣中, $a^*$ 值、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 和色光值与叶黄素含量的线性、二次、三次和指数函数模型拟合程度较好,且与叶黄素含量之间的最佳回归方程均为三次函数,分别为 $y=0.4917+$

表3 万寿菊花瓣叶黄素含量与颜色系数的相关性  
Table 3 Correlation between lutein content and color coefficient of marigold petals

颜色系数 Color coefficient	相关系数 <i>r</i> Correlation coefficient	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
亮度值 <i>L</i> *	-0.685*	0.014
红绿值 <i>a</i> *	0.965**	0.000
黄蓝值 <i>b</i> *	-0.091	0.779
<i>a</i> */ <i>b</i> *	0.989**	0.000
( <i>a</i> */ <i>b</i> *) <sup>2</sup>	0.935**	0.000
色度值 Chroma value	0.643*	0.024
色调值 Hue value	-0.995**	0.000
色光值 Shade value	0.944**	0.000

注：\*和\*\*分别表示0.05和0.01水平上显著相关。Note: \* and \*\* indicate significant correlation at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

$y = 0.0061x + 0.0158x^2 + 0.0004x^3$  ( $R^2 = 0.971$ )、 $y = 0.5906 + 3.9629x + 8.4610x^2 + 9.4740x^3$  ( $R^2 = 0.950$ )、 $y = 0.4618 + 23.7843x - 9.8562x^2 + 8.0052x^3$  ( $R^2 = 0.949$ ) 和  $y = 0.5276 + 5.6148x + 2.3259 \times 10^{-8}x^2 - 2.0200 \times 10^{-13}x^3$  ( $R^2 = 0.948$ )。

为进一步验证上述4个三次回归方程预测的准确性,分别测量LYK、6155、CY、GH这4种万寿菊花瓣的*a*\*值、*a*\*/*b*\*、(*a*\*/*b*\*)<sup>2</sup>和色光值,分别代入回归方程得到相应的叶黄素含量预测值,同时测定花瓣中叶黄素的实际含量。由图3可知,基于*a*\*值、色光值分别建立的三次回归方程得到的叶黄素含量预测值与实测值较为符合,特别是对于深色万寿菊GH的叶黄素含量预测。对叶黄素实测值和*a*\*值、色光值模型预测值进行*t*检验及总体均数的差异显著性分析,结果如表5所示:基于*a*\*值、色光值建立的与叶黄素含量之间的回归方程获得的叶黄素预测值与实测值的总体均数之间差异均不显著( $P > 0.05$ );基于*a*\*模型获得的 $t = 0.788$ 小于基于色光值模型获得的 $t = 1.534$ ;基于*a*\*值模型获得的 $P = 0.448$ 大于基于色光值模型获得的 $P = 0.223$ 。因此,用三次函数建立的叶黄素含量(*y*)与*a*\*(*x*)之间的回归方程得到的万寿菊花瓣叶黄素含量预测值与实测值的符合程度更高,可以快速、有效地预测万寿菊花瓣叶黄素含量。

表4 万寿菊花瓣颜色系数与叶黄素含量的回归方程

Table 4 Regression equations of color coefficient and lutein content of marigold petals

颜色系数 Color coefficient	函数模型 Functional model	回归方程 Regression equation	<i>R</i> <sup>2</sup>
<i>a</i> *	线性 Linear	$y = 0.6303x - 0.0812$	0.848
	二次 Quadratic	$y = 0.3396 - 0.1447x + 0.0322x^2$	0.969
	三次 Cube	$y = 0.4917 + 0.0061x + 0.0158x^2 + 0.0004x^3$	0.971
	指数 Index	$y = 0.5010e^{0.1426x}$	0.897
<i>a</i> */ <i>b</i> *	线性 Linear	$y = 18.3441x - 0.0215$	0.856
	二次 Quadratic	$y = 0.4132 + 0.0691x + 21.7095x^2$	0.949
	三次 Cube	$y = 0.5906 + 3.9629x + 8.4610x^2 + 9.4740x^3$	0.950
	指数 Index	$y = 0.5047e^{4.1668x}$	0.912
(a*/b*) <sup>2</sup>	线性 Linear	$y = 21.5922x + 0.4373$	0.948
	二次 Quadratic	$y = 0.5146 + 20.4796x + 1.2049x^2$	0.949
	三次 Cube	$y = 0.4618 + 23.7843x - 9.8562x^2 + 8.0052x^3$	0.949
	指数 Index	$y = 0.7044e^{4.1555x}$	0.726
色调值 Hue value	线性 Linear	$y = -0.0590x + 10.3735$	0.356
	二次 Quadratic	$y = 10.5218 - 0.1358x + 0.0004x^2$	0.364
	三次 Cube	$y = 10.5218 - 0.1358x + 0.0004x^2 + 0x^3$	0.364
	指数 Index	$y = 7.1774e^{-0.0186x}$	0.731
色光值 Shade value	线性 Linear	$y = 0.0005x - 0.1135$	0.898
	二次 Quadratic	$y = 0.5400 + 0.0002x + 1.1468 \times 10^{-8}x^2$	0.946
	三次 Cube	$y = 0.5276 + 5.6148x + 2.3259 \times 10^{-8}x^2 - 2.0200 \times 10^{-13}x^3$	0.948
	指数 Index	$y = 0.5411e^{0.0001x}$	0.853

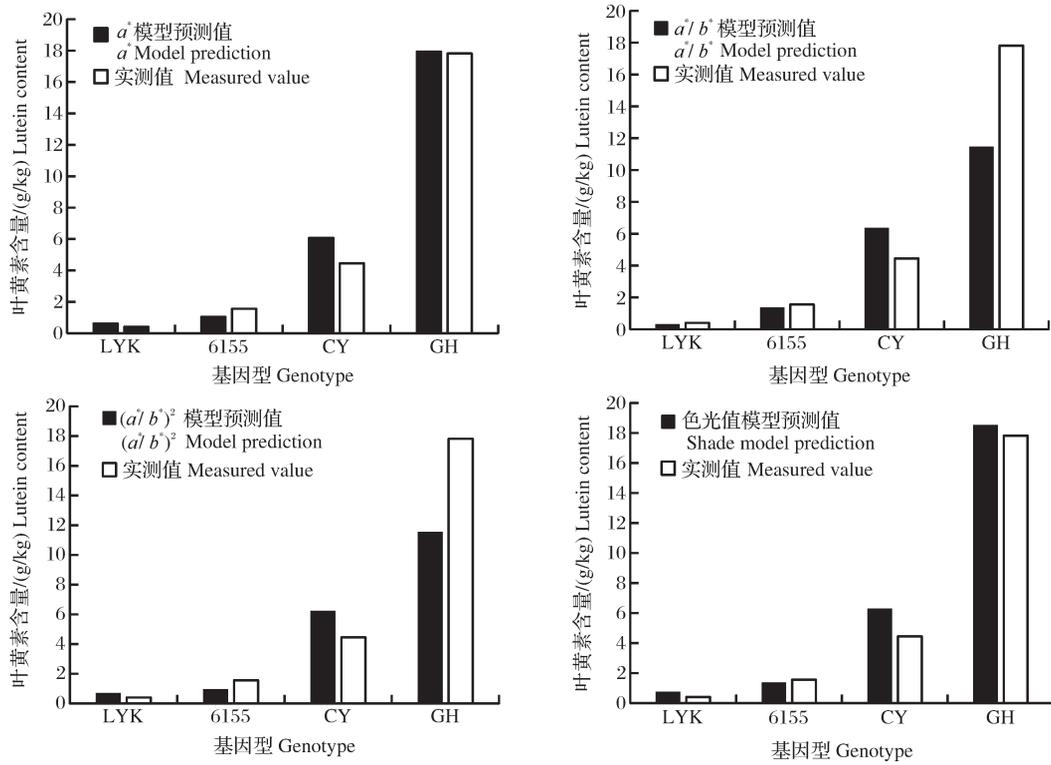


图3 4个回归模型对应的叶黄素含量预测值与4个万寿菊基因型的实测值对比

Fig. 3 Comparison of the predicted lutein content of the four regression models with the measured values of the four marigold genotypes

表5 叶黄素含量实测值与预测值之间的配对t检验结果

Table 5 Paired t-test results between the measured and predicted values of lutein content

颜色系数 Color coefficient	回归方程 Regression equation	t	P值 P value
红绿值 $a^*$	$y=0.4917+0.0061x+0.0158x^2+0.0004x^3$	0.788	0.488
色光值 Shade value	$y=0.5276+5.6148x+2.3259 \times 10^{-8}x^2-2.0200 \times 10^{-13}x^3$	1.534	0.223

### 3 讨论

利用色差仪测得的  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值等颜色系数可以实现颜色表型的数量化描述,且已经广泛用于多种园艺作物的颜色评价和分类,如易小艳等<sup>[25]</sup>利用色差仪检测了不同处理下柑橘果实的着色变化;Wang等<sup>[26]</sup>基于  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值对24个品种的桂花进行了分类;周熠玮等<sup>[27]</sup>利用色差仪对姜花的杂交后代群体进行了花色检测和分类。本研究中万寿菊花瓣实际颜色与  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值等颜色系数的定义基本一致,且不同花色万寿菊花瓣颜色系数差异显著,表明颜色系数也可以用于定量描述万寿菊花色表型。

颜色系数的大小与类胡萝卜素和花青素等色素物质的含量相关。前人利用颜色系数预测了番茄果实中的番茄红素含量<sup>[28]</sup>、橙汁中的类胡萝卜素含量<sup>[29]</sup>、大白菜和菊花中的花青素含量<sup>[30-31]</sup>等。汪欢

笑<sup>[32]</sup>于北京地区进行了万寿菊表型性状研究,结果显示万寿菊花瓣的叶黄素含量与  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值之间的相关系数分别为-0.779、0.918、-0.258,与本研究的结果一致,表明万寿菊花瓣叶黄素含量和颜色系数之间存在较稳定的相关性,环境因素对其无显著影响。本研究还分析了叶黄素含量与  $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色度值、色调值和色光值等其他颜色系数的相关性,为探究万寿菊叶黄素含量与花瓣颜色的关联性提供了更全面的理论依据。

在建立回归方程预测色素含量方面,国艳梅等<sup>[33]</sup>利用多个颜色系数分别建立线性回归方程对番茄果实番茄红素进行预测;周蓉等<sup>[34]</sup>分别建立了红色和橙色番茄果实番茄红素含量与最佳颜色系数间的回归方程;王璐等<sup>[24]</sup>使用线性、二次、三次函数模型筛选了可用于预测紫色叶用莴苣花青素含量的最佳回归方程。本研究基于筛选得到的与叶黄素含量

极显著相关的 $a^*$ 值、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色调值和色光值5个颜色系数构建了多种模型的回归方程,经过检验表明基于 $a^*$ 值和万寿菊叶黄素含量构建的三次回归方程得到的预测值与叶黄素实测值的符合程度最好。此外,本研究中回归方程的建立与验证试验分别在不同年份进行,检验结果的准确性也在一定程度上反映出回归方程适用的广泛性。在实际应用中,针对桔黄和桔红色等深色系的色素万寿菊,可以选择大量的深色万寿菊材料建立回归方程预测叶黄素含量,以进一步提高预测的精准度。

本研究系统地分析了万寿菊花瓣叶黄素含量与 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 、 $a^*/b^*$ 、 $(a^*/b^*)^2$ 、色度值、色调值和色光值等多个颜色系数的相关性,建立了万寿菊花瓣叶黄素含量与 $a^*$ 值之间的最佳回归方程,即 $y=0.4917+0.0061x+0.0158x^2+0.0004x^3$ ,为简便、快速、无损、有效地检测万寿菊花瓣叶黄素含量提供了新思路。

## 参考文献 References

- [1] WEI Y, QIN K, QIN X, et al. Effects of different types of xanthophyll extracted from marigold on pigmentation of yellow-feathered chickens[J]. *Animal bioscience*, 2023, 36(12): 1853-1859.
- [2] BERSON E L, ROSNER B, SANDBERG M A, et al. Clinical trial of lutein in patients with retinitis pigmentosa receiving vitamin A [J]. *Archives of ophthalmology*, 2010, 128(4): 403-411.
- [3] CHUNG R W S, LEANDERSON P, LUNDBERG A K, et al. Lutein exerts anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 262: 87-93.
- [4] MIN J Y, MIN K B. Serum lycopene, lutein and zeaxanthin, and the risk of Alzheimer's disease mortality in older adults [J]. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 2014, 37(3/4): 246-256.
- [5] 李莉,任广伟,赵昱,等.叶黄素对体外培养的人食管癌Ec-9706细胞增殖和凋亡的影响[J]. *河北医科大学学报*, 2013, 34(3): 249-252. LI L, REN G W, ZHAO Y, et al. Effects of lutein on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma ec-9706 cells *in vitro* [J]. *Journal of Hebei Medical University*, 2013, 34(3): 249-252 (in Chinese with English abstract).
- [6] 陈城,程曦,黄丛林,等.叶黄素的提取方法和功能研究进展[J]. *河北林业科技*, 2016(3): 71-75. CHEN C, CHENG X, HUANG C L, et al. Research progresses on extraction methods and functions of lutein [J]. *The journal of Hebei forestry science and technology*, 2016(3): 71-75 (in Chinese with English abstract).
- [7] 许秀兰,赵国华,阚建全,等.叶黄素研究进展[J]. *粮食与油脂*, 2004, 17(10): 3-7. XU X L, ZHAO G H, KAN J Q, et al. Research advances of lutein [J]. *Journal of cereals & oils*, 2004, 17(10): 3-7 (in Chinese with English abstract).
- [8] 王红梅,张琳.正相高效液相色谱测定万寿菊中玉米黄质和叶黄素方法研究[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(2): 186-188. WANG H M, ZHANG L. Determination of zeaxanthin and lutein in marigold by normal phase HPLC [J]. *Journal of Anhui agricultural sciences*, 2021, 49(2): 186-188 (in Chinese with English abstract).
- [9] PHILIP T, BERRY J W. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers [J]. *Journal of food science*, 1975, 40(5): 1089-1090.
- [10] 刘晓丛.不同花色万寿菊色素含量及类胡萝卜素代谢途径关键酶基因表达分析[D].上海:上海交通大学,2017. LIU X C. Expression analysis of different pigment content and key enzymes of carotenoid metabolism gene of marigold [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [11] 郭新颖,戴志英.连续扫描吸收光谱-紫外分光光度法测定叶黄素片中叶黄素含量[J]. *计量与测试技术*, 2023, 50(1): 49-51. GUO X Y, DAI Z Y. Determination of lutein in lutein tablets by continuous scanning absorption spectrometry UV spectrophotometry [J]. *Metrology & measurement technique*, 2023, 50(1): 49-51 (in Chinese with English abstract).
- [12] 穆妹夷,黄维皓,周朗君,等.高效液相色谱法测定饮料中的叶黄素酯[J]. *现代食品*, 2023, 29(15): 200-205. MU S Y, HUANG W H, ZHOU L J, et al. Determination of lutein ester in drinks by high performance liquid chromatography [J]. *Modern food*, 2023, 29(15): 200-205 (in Chinese with English abstract).
- [13] 梁敏慧,崔亚娟,何梅,等.叶黄素分析检测方法的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(8): 390-394. LIANG M H, CUI Y J, HE M, et al. Research progress on analytical method of lutein [J]. *Science and technology of food industry*, 2015, 36(8): 390-394 (in Chinese with English abstract).
- [14] 白新祥.菊花花色形成的表型分析[D].北京:北京林业大学,2007. BAI X X. Phenotype analysis of flower coloration of *Chrysanthemum × morifolium* Ramat. [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2007 (in Chinese with English abstract).
- [15] 郭守鹏,黄昌见,卢绪鹏,等.色差仪在茄子果色评价中的应用[J]. *中国果菜*, 2022, 42(11): 61-65. GUO S P, HUANG C J, LU X P, et al. Application of color difference meter in the evaluation of eggplant color [J]. *China fruit & vegetable*, 2022, 42(11): 61-65 (in Chinese with English abstract).
- [16] CUI H L, ZHANG Y N, SHI X L, et al. The numerical classification and grading standards of daylily (*Heemerocallis*) flower color [J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0216460 [2024-03-13]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216460>.
- [17] 郑雄杰.柑橘果皮红色性状形成的生化基础及遗传机制[D].

- 武汉:华中农业大学,2019.ZHENG X J.The biochemical and genetic mechanism underlying red color trait of citrus peel[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University,2019 (in Chinese with English abstract).
- [18] 吴浪,刘婧仪,梁燕.番茄绿果与红果颜色性状遗传的研究[J].园艺学报,2016,43(4):674-682.WU L,LIU J Y,LI-ANG Y.Inheritance on fruit color character between green and red of tomato[J].Acta horticulturae sinica,2016,43(4):674-682 (in Chinese with English abstract).
- [19] 代祥,梅菊芬,杨亦扬,等.基于色差仪的茶树叶色量化研究[J].南京农业大学学报,2024,47(2):232-241.DAI X,MEI J F,YANG Y Y,et al.A quantitative study of leaf colors of tea plants based on the colorimeter[J].Journal of Nanjing Agricultural University,2024,47(2):232-241 (in Chinese with English abstract).
- [20] AMENY M A,WILSON P W.Relationship between hunter color values and  $\beta$ -carotene contents in white-fleshed African sweet potatoes (*Ipomoea batatas* Lam)[J].Journal of the science of food and agriculture,1997,73(3):301-306.
- [21] MELÉNDEZ-MARTÍNEZ A J,VICARIO I M,HEREDIA F J.Rapid assessment of vitamin A activity through objective color measurements for the quality control of orange juices with diverse carotenoid profiles[J].Journal of agricultural and food chemistry,2007,55(8):2808-2815.
- [22] 路绪强,袁明,何楠,等.利用色差仪快速检测西瓜番茄红素含量[J].中国瓜菜,2021,34(4):41-45.LU X Q,YUAN M,HE N,et al.Rapid determination of watermelon lycopene content by using chromatic meter[J].China cucurbits and vegetables,2021,34(4):41-45 (in Chinese with English abstract).
- [23] 陈婷,王日葵,周炼,等.柑橘贮藏期间色差指数变化规律的研究[J].农产品加工,2010(3):4-7.CHEN T,WANG R K,ZHOU L,et al.Study on the variation of chromatism index of the *Citrus* during storage[J].Academic periodical of farm products processing,2010(3):4-7 (in Chinese with English abstract).
- [24] 王璐,刘超杰,齐正阳,等.紫色叶用莴苣中花青素含量与色差指标的相关性[J].北京农学院学报,2018,33(3):44-48.WANG L,LIU C J,QI Z Y,et al.The correlation and regression analysis of anthocyanin concentrations and color parameters in purple lettuce[J].Journal of Beijing University of Agriculture,2018,33(3):44-48 (in Chinese with English abstract).
- [25] 易小艳,吴兴恩,鲁素君,等.云南特早熟柑橘果实色差变化及影响因素[J].西南农业学报,2017,30(12):2775-2781.YI X Y,WU X E,LU S J,et al.Variation of coloration and influence factors of early maturing citrus in Yunnan Province[J].Southwest China journal of agricultural sciences,2017,30(12):2775-2781(in Chinese with English abstract).
- [26] WANG Y G,ZHANG C,DONG B,et al.Carotenoid accumulation and its contribution to flower coloration of *Osmanthus fragrans* [J/OL].Frontiers in plant science,2018,9:1499 [2024-03-13].https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01499.
- [27] 周熠玮,许国宇,王琴,等.‘白姜花’×‘金姜花’杂交F<sub>1</sub>代花色遗传分析及其相关SSR分子标记开发[J].园艺学报,2021,48(10):1921-1933.ZHOU Y W,XU G Y,WANG Q,et al.Genetic analysis and development of associated SSR markers of the flower color in F<sub>1</sub> population of *Hedychium coronarium* ‘COR01’ × *H.* ‘Jin’[J].Acta horticulturae sinica,2021,48(10):1921-1933 (in Chinese with English abstract).
- [28] ARIAS R,LEE T C,LOGENDRA L,et al.Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*,a\*,b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content[J].Journal of agricultural and food chemistry,2000,48(5):1697-1702.
- [29] MELÉNDEZ-MARTÍNEZ A J,VICARIO I M,HEREDIA F J.Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices[J].Journal of agricultural and food chemistry,2003,51(25):7266-7270.
- [30] 林文超,王德森,王海龙,等.大白菜花青素含量及色差指标相关性研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2011,28(3):201-204.LIN W C,WANG D S,WANG H L,et al.A study on correlation and regression analysis of anthocyanin contents and color indices in Chinese cabbage[J].Journal of Qingdao Agricultural University (natural science edition),2011,28(3):201-204 (in Chinese with English abstract).
- [31] LU C F,LI Y F,WANG J Y,et al.Flower color classification and correlation between color space values with pigments in potted multiflora chrysanthemum[J/OL].Scientia horticulturae,2021,283:110082 [2024-03-13].https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110082.
- [32] 汪欢笑.基于表型性状和SSR标记多样评价构建万寿菊初级核心种质[D].秦皇岛:河北科技师范学院,2023.WANG H X.Construction of tagetes erecta primary core collection based on phenotypic traits and ssr marker diversity evaluation [D].Qinhuangdao:Hebei Normal University of Science & Technology,2023 (in Chinese with English abstract).
- [33] 国艳梅,杜永臣,王孝宣,等.利用色差仪估测番茄果实番茄红素含量的研究[J].中国蔬菜,2008(11):10-14.GUO Y M,DU Y C,WANG X X,et al.Studies on estimating lycopene content of tomato fruits by using color difference meter [J].China vegetables,2008(11):10-14 (in Chinese with English abstract).
- [34] 周蓉,蒋芳玲,梁梅,等.用色差仪法定量分析番茄果实番茄红素的含量[J].江西农业学报,2012,24(9):45-48.ZHOU R,JIANG F L,LIANG M,et al.Quantitative analysis of lycopene content in tomato fruit by using colorimeter method[J].Acta agriculturae Jiangxi,2012,24(9):45-48 (in Chinese with English abstract).

## Correlation analysis of lutein content and color coefficient in petals of marigold (*Tagetes erecta*)

LÜ Guifang<sup>1</sup>, ZANG Yunping<sup>2</sup>, PENG Yi<sup>1</sup>, TAO Zhengguo<sup>3</sup>,  
YAN Tianyi<sup>1</sup>, ZHANG Huali<sup>4</sup>, LIU Jian<sup>3</sup>, HE Yanhong<sup>1</sup>

1. College of Horticulture and Forestry Sciences/National Key Laboratory for Germplasm Innovation & Utilization of Horticultural Crops, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Yunnan Lidar Biological Technology Co., Ltd., Wenshan 663100, China;

3. Guangzhou Lidar Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510663, China;

4. Beijing Institute of Landscape Architecture, Beijing 100102, China

**Abstract** The colorimeter was used to measure the values of  $L^*$  (brightness),  $a^*$  (redness-greenness) and  $b^*$  (yellowness-blueness) in petals of marigold (*Tagetes erecta*) to establish a rapid method for determining the lutein content in petals of marigold. The color coefficients including  $a^*/b^*$ ,  $(a^*/b^*)^2$ , chroma value, hue value and shade value were calculated. UV-spectrophotometry combined with HPLC method was used to determine the lutein content in petals. The correlation between the lutein content and the color coefficients was analyzed. The regression equation was established and confirmed. The results showed that the lutein content in petals of marigold was significantly correlated with  $a^*$ ,  $a^*/b^*$ ,  $(a^*/b^*)^2$ , hue value and shade value. The regression equation between the lutein content and  $a^*$  value constructed by cubic function model had the highest degree of fitness, and there was no significant difference between the predicted value and the measured value of the lutein content. It is indicated that the cubic function model based on  $a^*$  value can quickly and non-destructively predict the content of lutein petals of marigold.

**Keywords** lutein; marigold (*Tagetes erecta*); colorimeter; color coefficient; regression analysis

(责任编辑:葛晓霞)