

UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱结合一测多评法的不同品种苦荞麦质量评价

王 迪¹, 杨洁丽¹, 聂 佳², 何悦月¹, 李 维³, 李 杰^{4*}, 李阳倩^{2*}

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学资产与实验室管理处, 四川 成都 611137

3. 成都大学基础医学院, 四川 成都 610106

4. 成都中医药大学本草基因组学研究院, 四川 成都 611137

摘要: 目的 建立 18 个品种苦荞麦 *Fagopyrum tataricum* 指纹图谱, 并以芦丁为内标物, 采用一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS) 同时检测苦荞麦中葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素含量, 以期对不同产地苦荞麦进行质量控制。方法 采用超高效液相-三重四级杆液质联用技术 (UPLC-QQQ-MS/MS), 首次以一级全扫 (Full-MS) 和多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 2 种采集模式相结合的方式建立 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱共有模式, 采用夹角余弦法进行相似度评价。以 ThermoFisher AccucoreTM C₁₈ 色谱柱 (100 mm×3.0 mm, 2.6 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 体积流量 0.3 mL/min, 柱温 30 °C, 梯度洗脱。以芦丁作为内标物, 建立苦荞麦中其他 6 种指标成分的相对校正因子 (f_{sx}), 从而计算各待测成分的量, 并将 QAMS 计算值与外标法 (external standard method, ESM) 实测值进行比较, 以验证 QAMS 的准确性和方法适宜性。运用聚类分析、主成分分析、加权分析等化学计量学分析手段建立苦荞麦综合质量优劣评价方法。结果 建立了苦荞麦的 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱, 在 Full-MS 扫描模式下标定了 15 个共有峰, 各品种间相似度在 0.399~0.973; 同时以 MRM 扫描模式结合对照品对其中芦丁等 7 种指标成分进行了峰指认。以芦丁为内标物, 与葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素 6 种有效成分的建立的 f_{sx} 重现性良好, 分别为 0.283、1.338、0.654、1.162、8.509、0.709。且采用 QAMS 测定的 18 个品种苦荞麦中 7 种指标成分含量与 ESM 的实测值之间无显著性差异 ($P>0.05$)。化学计量学分析结果表明, 芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷和山柰酚是影响苦荞麦质量的主要潜在标志物, 质量排序相对靠前的苦荞麦产区主要集中在海拔高、光照强、昼夜温差大的中国西南地区, 而指纹图谱相似度差异较明显的荞杂 2 号、综甜 2 号和通荞 1 号排在后 3 位。结论 所建立的指纹图谱结合 QAMS 简便可行, 结果准确, 化学计量学分析方法全面客观, 可为苦荞麦品质评价和质量控制提供参考和依据。

关键词: 苦荞麦; 指纹图谱; 一测多评; 一级全扫; 多反应监测; 化学计量学; 芦丁; 葫芦巴碱; 表儿茶素; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 槲皮素; 山柰酚; 大黄素

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)11-3855-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.11.027

Quality evaluation of different varieties of *Fagopyrum tataricum* by UPLC-QQQ-MS/MS fingerprint combined with quantitative analysis of multicomponents by single-marker

WANG Di¹, YANG Jiel¹, NIE Jia², HE Yueyue¹, LI Wei³, LI Jie⁴, LI Yangqian²

1. State Key Laboratory of Southwest Characteristic Chinese Medicine Resources, College of Pharmacy, Chengdu University of Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Asset and Laboratory Management Office, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. School of Basic Medical Sciences, Chengdu University, Chengdu 610106, China

4. Institute of Herbal Genomics, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective In order to control the overall quality of Kuqiaomai [*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.] from different

收稿日期: 2023-11-02

基金项目: 国家社会科学基金资助项目 (CGA220304); 四川省科技创新苗子工程资助项目 (MZGC20230055); 农业农村部杂粮加工重点实验室开放基金 (2021CC003); 成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划苗圃人才专项 (MPRC2022017)

作者简介: 王 迪 (1992—), 男, 实验师, 硕士, 研究方向为中药新型给药系统与功能性食品研究与开发。E-mail: diwang1992@126.com

***通信作者:** 李 杰 (1993—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为中药新型纳米递药系统。E-mail: kerald2lj@126.com

李阳倩 (1970—), 女, 高级实验师, 学士, 研究方向为中医药色谱质谱技术开发。E-mail: 635757642@qq.com

producing areas, the fingerprint of 18 varieties of *F. tataricum* was established, and rutin was used as internal standard. At the same time, the contents of trigonelline, epicatechin, kauniferol-3-*O*-rutinoside, quercetin, kaempferol and emodin were determined by quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method. **Methods** The UPLC-QQQ-MS/MS fingerprint common pattern was established by using UPLC-QQQ-MS/MS for the first time by combining two acquisition modes: Full-MS and multiple reaction monitoring (MRM). The similarity was evaluated by angle cosine method. The chromatography was performed on ThermoFisher Accucore™ C₁₈ column (100 mm × 3.0 mm, 2.6 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution, the flow rate was 0.3 mL/min, the column temperature was 30 °C, and the gradient elution was performed. With rutin as the internal standard, the relative correction factors ($f_{s/x}$) of other six index components in buckwheat were established to calculate the amount of each component to be measured, and the calculated values of QAMS were compared with the measured values of external standard method (ESM) to verify the accuracy of QAMS and the suitability of the method. Cluster analysis, principal component analysis and other stoichiometric methods were used to analyze the content differences of 18 varieties of *F. tataricum*. **Results** The UPLC-QQQ-MS/MS fingerprint of *F. tataricum* was established, and 15 common peaks were identified in Full-MS scanning mode, and the similarity between varieties ranged from 0.399 to 0.973. At the same time, the peak identification of seven index components such as rutin was carried out by MRM scanning mode combined with reference substances. The $f_{s/x}$ reproducibility of rutin was good with trigonelline, epicatechin, kaempferol-3-*O*-rutin, quercetin, kaempferol and emodin was 0.283, 1.338, 0.654, 1.162, 8.509 and 0.709, respectively. There was no significant difference between the content of seven indexes in 18 varieties of *F. tataricum* measured by QAMS and the measured value of ESM ($P>0.05$). The results of stoichiometric analysis showed that: Rutin, kauniferol-3-*O*-rutinoside and kauniferol were the main potential markers affecting the quality of *F. tataricum*. The *F. tataricum* producing areas with relatively high quality ranking were mainly concentrated in southwest China where the altitude was high, the light was strong and the temperature difference between day and night was large, while Qiaozao-2, Zongtian-2 and Tongqiao-1 with obvious fingerprint similarity differences were ranked the last three. **Conclusion** The established fingerprint combined with QAMS is simple, feasible, accurate and the stoichiometric analysis method is comprehensive and objective, which can provide reference and basis for quality evaluation and quality control of *F. tataricum*.

Key words: *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.; fingerprint; QAMS; Full-MS; MRM; chemical metrology; rutin; trigonelline; epicatechin; kaempferol-3-*O*-rutin; quercetin; kaempferol; emodin

“药食同源”思想和药食两用作物是中华优秀传统文化和医药宝库的重要组成部分,已成为疾病预防和干预的重要物质基础^[1]。苦荞麦作为药食同源文化的典型代表,其富含黄酮、蒽醌、生物碱等多种活性成分,包括芦丁、槲皮素、山柰酚、大黄素、葫芦巴碱等^[2-3]。具有增强机体免疫力、清热解毒等功效^[4-5]。然而,由于苦荞麦 *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.的栽培方式^[6]、不同产区生境因素差异、遗传基础与驯化^[7]等皆存在显著差异,故会对其品质和功效产生直接影响,从而对其资源开发与育种带来不便。因此,为实现科学可靠评价苦荞麦整体质量,最大限度提升其药用功效和保健价值,本研究拟通过采用 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱结合一测多评方法对其多成分、多指标进行综合评控,为苦荞麦品质改良和资源开发利用打下坚实的前期研究基础。

近年来,为进一步提高我国中药产品品质及质量控制水平,聚焦中药成分的可测性、特有性和有效性,刘昌孝院士正式提出了中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 这一新概念^[8-9],标

志着中药标准化建设、中药质量整体控制水平必将得到空前提升。本研究即在 Q-Marker 理论的指导下^[10-11],聚焦苦荞麦功效成分,选择其中芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素 7 种主要活性成分作为质量评价指标,采用指纹图谱结合一测多评方法对不同品种苦荞麦进行“质”与“量”的双标质量评控^[12]。

目前对苦荞麦中有效成分分析检测的评控手段大多采用高效液相-紫外检测器^[13-15],作者前期亦采用 UPLC-DAD 对苦荞麦有效成分含量测定进行了预试验,结果发现部分品种苦荞麦大黄素和表儿茶素含量极低,未能达到仪器检测限,无法对其含量进行有效测定。基于此,本研究创新了苦荞麦质量评价检测方式,首次采用 Full-MS 模式进行一级谱图全扫、MRM 模式进行特征峰指认的 2 种采集模式相互补的方式建立 18 个品种苦荞麦 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱^[16],旨在更大限度、更加高效、更为准确地对苦荞麦的“质”与“量”进行综合评控。以中国西南地区“道地苦荞”为基准,进行相似度评价,具有灵敏度高、干扰小、定量准确性高等优

势。以保留时间稳定、色谱分离度较好、价格低廉的芦丁作为内标物，建立一测多评法（quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS）^[17]，计算供试药材中其他 6 种特征成分的含量。并运用聚类分析、主成分分析等化学计量学^[18-20]方法对 18 个品种苦荞麦含量差异性成分进行分析，筛选出影响其质量的潜在标志物，可实现对不同品种苦荞麦多成分整体质量评价，以期“为道地苦荞”的选育和苦荞麦“品、质、效、用”的全过程、多维度评价提供新的研究方法和策略。

1 仪器与试药

1.1 仪器

TSQ-Fortis 超高效液相-三重四级杆液质联用仪（赛默飞世尔科技有限公司）；色谱柱：Accucore™ C₁₈（100 mm×3.0 mm，2.6 μm），Acquity BEH C₁₈

（100 mm×3.0 mm，2.6 μm），SunFire™ C₁₈（150 mm×3.0 mm，2.6 μm）；AR224CN 型十万分之一分析天平（奥豪斯仪器有限公司）；JDUT-2 型超声波清洗机（成都雅源科技有限公司）。

1.2 试药

18 个品种苦荞麦经成都大学邹亮教授鉴定为蓼科植物苦荞麦 *F. tataricum* L. 的种子，具体信息见表 1；对照品葫芦巴碱、芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素和山柰酚购自成都瑞芬思生物科技有限公司，批号分别为 DST200610-040、DSTD001701、MUST-21040704、H-009-140、DSTD005601，质量分数均≥98%；对照品大黄素、原儿茶素购自成都好校友生物科技有限公司，批号分别为 J0610AS、N1106AS，质量分数均≥98%；乙腈为色谱纯，水为屈臣氏纯净水。

表 1 18 个品种苦荞麦样品信息

Table 1 Information of 18 *F. tataricum* samples

编号	品种	产地	采样时间	编号	品种	产地	采样时间
S1	成苦 2 号	成都金堂	2023-09	S10	梁苦 1 号	河南开封	2023-09
S2	赤苦 2 号	内蒙古赤峰	2023-08	S11	六苦 3 号	贵州六盘水	2023-09
S3	川荞 1 号	成都金堂	2023-09	S12	美姑 2 号	四川凉山	2023-08
S4	迪苦 2 号	云南迪庆	2023-08	S13	西盟米荞	云南西盟	2023-07
S5	定苦 1 号	甘肃定西	2023-08	S14	黔苦 8 号	贵州威宁	2023-09
S6	甘荞 1 号	甘肃环县	2022-08	S15	荞杂 2 号	陕西榆林	2023-08
S7	黑丰 1 号	山西太原	2023-08	S16	综甜 2 号	贵州贵阳	2023-08
S8	灰苦 3 号	云南昆明	2022-08	S17	通荞 1 号	内蒙古通辽	2023-08
S9	晋荞 2 号	山西大同	2023-09	S18	西荞 1 号	成都金堂	2023-09

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 混合对照品溶液制备 分别精密称取芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素对照品适量，置于量瓶中，用甲醇溶解并定容，制成质量浓度分别为 1.018、0.508、0.508、0.509、1.012、0.509、0.507 mg/mL 的单一对照品溶液；再分别精密吸取 1 mL 置于同一 10 mL 量瓶中，以甲醇定容至刻度，制成含芦丁 101.8 μg/mL、葫芦巴碱 50.8 μg/mL、表儿茶素 50.8 μg/mL、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 50.9 μg/mL、槲皮素 101.2 μg/mL、山柰酚 50.9 μg/mL 和大黄素 50.7 μg/mL 的混合对照品溶液。将上述混合对照品溶液用 5 倍稀释法稀释成 7 个不同质量浓度，于 4 ℃ 保存，备用。

2.1.2 供试品溶液制备 取各品种苦荞麦粉末（过 5

号筛）0.4 g，精密称定，置于 10 mL 量瓶中，加入 75% 乙醇超声提取 30 min，放至室温冷却，再以 75% 乙醇定容至刻度，摇匀，0.22 μm 微孔滤膜滤过，置于进样小瓶待测。

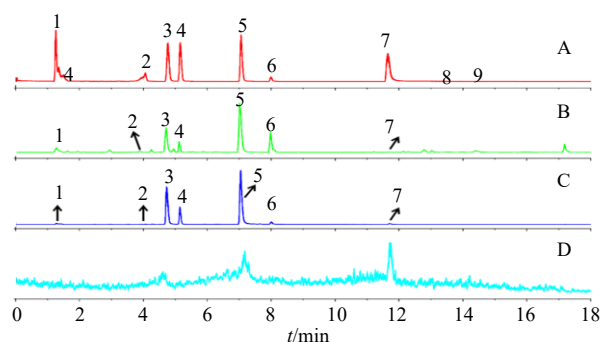
2.1.3 色谱条件 采用 Accucore™ C₁₈ 色谱柱（100 mm×3.0 mm，2.6 μm），柱温 35 ℃，流动相为 0.1% 甲酸水（A）-乙腈（B），0~15 min，10%~95% B；15~18 min，95% B；体积流量为 0.3 mL/min，进样量 5 μL。

2.1.4 质谱条件 采集模式：Full-MS 与 MRM 相结合；Full-MS 模式分子量采集范围：*m/z* 100~1 000；离子源 ESI；电离模式：正、负离子同时扫描；蒸发温度 350 ℃；离子传输管温度 350 ℃；鞘气、辅助气、扫吹气体积流量分别为 35、12、2 arb；毛细管电压：+3 500V、-3 500 V。待测成分 MRM 模式下质谱检测参数见表 2，总离子流图见图 1。

表 2 待测成分质谱检测参数

Table 2 Mass spectrometry detection parameters of components to be tested

化合物	电离模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量/V	裂解电压/V	定性/定量
芦丁	负离子	609.000	271.000	55.00	115	定性
	负离子	609.000	300.000	35.58	115	定量
葫芦巴碱	正离子	138.000	92.000	20.75	24	定性
	正离子	138.000	120.000	16.46	24	定量
表儿茶素	负离子	289.088	245.054	13.13	64	定性
	负离子	289.088	203.054	17.85	64	定量
山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	负离子	593.212	255.000	52.01	116	定性
	负离子	593.212	285.071	29.18	116	定量
槲皮素	负离子	301.000	150.970	19.66	88	定性
	负离子	301.000	178.917	16.50	88	定量
山柰酚	负离子	285.000	187.000	27.28	89	定性
	负离子	285.000	239.000	26.31	89	定量
大黄素	负离子	269.000	225.000	24.50	77	定性
	负离子	269.000	241.000	25.64	77	定量



A-混合对照品总离子流图；B-供试品在 Full-MS 扫描模式下的离子流图；C-供试品在 MRM 扫描模式下的离子流图；D-仪器空白；1-葫芦巴碱；2-表儿茶素；3-芦丁；4-山柰酚-3-*O*-芸香糖苷；5-槲皮素；6-山柰酚；7-大黄素。

A-total ion flow diagram of mixed standard product; B-ion flow diagram of test product in Full-MS scanning mode; C-ion flow diagram of test product in MRM scanning mode; D-instrument blank; 1-trigonelline; 2-epicatechin; 3-rutin; 4-kaempferol-3-*O*-rutinoside; 5-quercetin; 6-kaempferol; 7-emodin.

图 1 总离子流图

Fig. 1 Total ion flow diagram

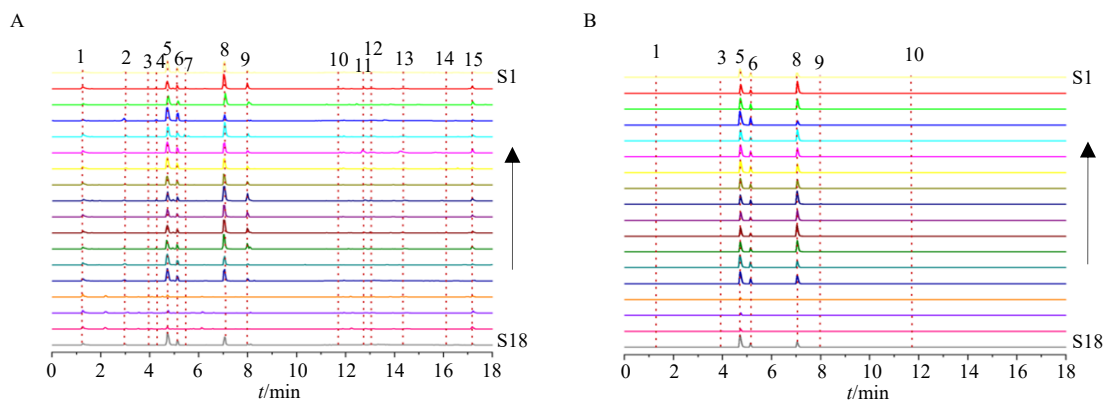
2.1.5 精密度试验 取苦荞麦样品 (S3)，参照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液 1 份，按照“2.1.1”项下色谱与质谱条件重复进样 6 次，计算得到各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均 < 1.81%，表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取苦荞麦样品 (S3)，参照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液 1 份，按照项下色

谱与质谱条件分别于制备后的 0、2、4、6、12、24 h 进样，计算得到各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均 < 1.98%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 取苦荞麦样品 (S3)，参照“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照色谱与质谱条件进样分析，计算得到各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均 < 1.73%，表明该方法重复性良好。

2.1.8 指纹图谱建立及相似度评价 精密吸取 18 个品种苦荞麦供试品溶液 (S1~S18) 各 5 μ L 注入超高效液相-三重四极杆质谱联用仪，按照色谱和质谱条件进行检测。建立了不同品种苦荞麦 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱的共有模式，在 Full-MS 扫描模式下共指认了 15 个共有峰，如图 2-A 所示，共有峰峰面积见图 3。共有峰峰面积差异较大，RSD 在 25.780%~252.106%。采用 MRM 扫描模式结合对照品对其中峰 1、3、5、6、8~10 进行了指认，分别鉴定为葫芦巴碱、表儿茶素、芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚、大黄素，如图 2-B 所示。以 S13 样品的总离子流图作为参照图谱，采用夹角余弦法对各品种苦荞麦谱图间的相似度进行了评价^[16]，18 个不同产地和来源的苦荞麦样品化学成分相似度在 0.399~0.973，见表 3。其中，15 种样品的相似度均在 0.707 以上，只有生长在陕西榆林、



1-葫芦巴碱; 3-表儿茶素; 5-芦丁; 6-山奈酚-3-O-芸香糖苷; 8-槲皮素; 9-山奈酚; 10-大黄素。
1-trigonelline; 3-epicatechin; 5-rutin; 6-kaempferol-3-O-rutin; 8-quercetin; 9-kaempferol; 10-emodin。

图 2 18 个品种苦荞麦在 Full-MS (A) 和 MRM (B) 模式下的 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱
Fig. 2 UPLC-QQQ-MS/MS fingerprint of 18 varieties of *F. tataricum* in Full-MS (A) and MRM (B) mode

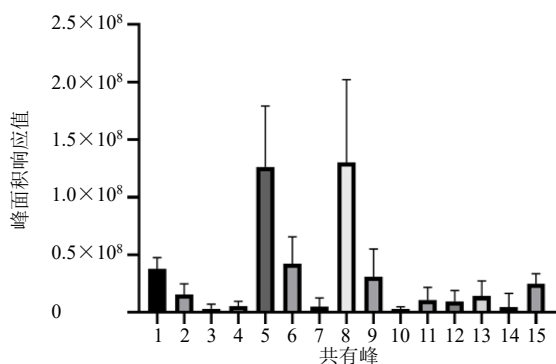


图 3 各品种苦荞麦 15 个共有峰峰面积响应
Fig. 3 Peak area response of 15 common peaks of different varieties of *F. tataricum*

表 3 不同品种苦荞麦 Full-MS 模式下 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱相似度

Table 4 Similarity of fingerprints of UPLC-QQQ-MS/MS in Full-MS mode of different varieties of *F. tataricum*

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.973	S10	0.930
S2	0.895	S11	0.923
S3	0.707	S12	0.881
S4	0.879	S13	1.000
S5	0.886	S14	0.973
S6	0.962	S15	0.425
S7	0.980	S16	0.399
S8	0.957	S17	0.412
S9	0.874	S18	0.936

贵州贵阳、内蒙古通辽的荞杂 2 号、综甜 2 号和通荞 1 号的相似度较低, 在 0.399~0.425。

2.2 指标成分的测定

2.2.1 色谱与质谱条件 同“2.1.3”“2.1.4”项下。

2.2.2 供试品溶液的制备 同“2.1.2”项下。

2.2.3 对照品溶液的制备 同“2.1.1”项下。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.1”项下 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液各 5 μ L, 按色谱和质谱条件测定, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山奈酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、山奈酚和大黄素的标准曲线, 进行线性回归, 得到各成分的回归方程及线性范围, 结果表明, r 均大于 0.999 0, 呈良好线性关系。如表 4 所示。

2.2.5 精密度试验 取混合对照品溶液连续进样 6 次, 测定其中芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山奈酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、山奈酚和大黄素的峰面积, 其 RSD 值分别为 0.83%、1.34%、1.67%、1.51%、1.21%、1.98%、1.09%, 均小于 2%; 表明仪器精密度高。

2.2.6 重复性试验 精密称定西荞 1 号样品约 0.4

表 4 苦荞麦中 7 种指标成分的线性关系

Table 4 Linear relationship of seven index components in *F. tataricum*

化合物	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
芦丁	$Y=37\ 696\ X+8\ 693.9$	0.999 7	0.007~101.800
葫芦巴碱	$Y=134\ 650\ X+19\ 341$	0.999 1	0.003~50.800
表儿茶素	$Y=27\ 900\ X+3\ 820.2$	0.999 7	0.003~50.800
山奈酚-3-O-芸香糖苷	$Y=58\ 564\ X+8\ 221$	0.999 7	0.003~50.900
槲皮素	$Y=33\ 926\ X+4\ 093.6$	0.999 8	0.006~101.200
山奈酚	$Y=4\ 572.6\ X+126.09$	0.999 7	0.003~50.900
大黄素	$Y=52\ 036\ X+3\ 733.1$	0.999 3	0.003~50.700

g, 按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 测定其中芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素的峰面积, 其 RSD 值分别为 1.21%、1.09%、1.81%、1.69%、1.28%、1.33%、1.04%, 均小于 2%; 表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密称定西芥 1 号样品约 0.4 g, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、12、24、48 h 进样, 测定其中芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素的峰面积, 其 RSD 值分别为 1.31%、1.34%、0.98%、1.93%、1.60%、1.79%、0.89%, 均小于 2%; 表明供试品溶液在 48 h 内的稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称定已测定各指标成分量的西芥 1 号样品约 0.2 g, 平行制备 6 份, 以各成分量-对照品 (1:1) 的比例加入一定量的对照品溶液, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 测定其中 7 种有效成分的峰面积, 计算各成分的平均加样回收率以及 RSD。结果芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素的平均加样回收率分别为 101.22%、103.00%、101.44%、102.32%、102.99%、99.77%、100.34%; RSD 值分别为 1.49%、1.08%、1.94%、1.35%、1.27%、0.88%、1.04%, 皆小于 2%。表明本方法回收率良好。

2.3 QAMS 方法建立

2.3.1 相对校正因子 ($f_{s/x}$) 的计算 各成分含量在线性范围内与峰面积成正比增减, 即 $f=W/A$, f 代表校正因子, W 代表成分含量, A 代表峰面积值。以芦丁 (s) 作为内参物对苦荞麦中 6 种有效成分进行质量控制, 根据公式计算内标物芦丁 (s) 与葫芦巴碱 (B)、表儿茶素 (C)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 (D)、槲皮素 (E)、山柰酚 (F) 和大黄素 (G) 之间的 $f_{s/x}$ 。

$$f_{s/x} = f_s/f_x = A_x C_s / A_s C_x$$

式中 C_s 、 C_x 分别代表内参物与待测成分质量浓度, A_s 、 A_x 分别代表内参物与待测成分的峰面积值)

取“2.1”项下的 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液, 分别进样 5 μ L, 测定芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素的峰面积, 以芦丁为内标物, 分别计算 6 种待测成分与芦丁之间的 $f_{s/x}$, 结果见表 5。确定葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素与芦丁的 $f_{s/x}$ 分别为 0.283、1.338、0.654、1.162、8.509、0.709。

表 5 6 种指标成分与芦丁的 $f_{s/x}$

Table 5 Six index components with $f_{s/x}$ of rutin

编号	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$	$f_{s/F}$	$f_{s/G}$
1	0.280	1.351	0.644	1.112	8.246	0.724
2	0.271	1.336	0.637	1.132	8.602	0.749
3	0.300	1.321	0.615	1.186	8.899	0.727
4	0.272	1.416	0.694	1.178	8.107	0.663
5	0.292	1.311	0.654	1.181	8.590	0.677
6	0.286	1.290	0.658	1.216	8.806	0.718
7	0.283	1.339	0.676	1.131	8.310	0.707
平均值	0.283	1.338	0.654	1.162	8.509	0.709
RSD/%	3.677	2.987	3.953	3.232	3.479	4.219

2.3.2 $f_{s/x}$ 耐用性考察

(1) 不同色谱柱对 $f_{s/x}$ 的影响: 采用 TSQ-Fortis 超高效液相-三重四级杆液质联用系统, 分别考察了 AccucoreTM C₁₈、Acquity BEH C₁₈ 和 SunFireTM C₁₈ 3 种不同类型的色谱柱对 6 种待测成分 $f_{s/x}$ 的影响, 结果见表 6。表明葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素与内参物芦丁间 $f_{s/x}$ 在不同类型色谱柱下重现性良好, RSD 在 0.332%~1.930%。

(2) 不同柱温对 $f_{s/x}$ 的影响: 采用 TSQ-Fortis 超高效液相-三重四级杆液质联用系统, AccucoreTM C₁₈ 色谱柱, 分别考察了不同柱温对

表 6 色谱柱对 $f_{s/x}$ 的影响

Table 6 Effect of chromatographic column on $f_{s/x}$

色谱柱	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$	$f_{s/F}$	$f_{s/G}$
Accucore TM C ₁₈	0.286	1.343	0.643	1.145	8.576	0.727
Acquity BEH C ₁₈	0.284	1.296	0.655	1.139	8.718	0.715
SunFire TM C ₁₈	0.282	1.337	0.662	1.138	8.553	0.703
平均值	0.284	1.325	0.653	1.141	8.616	0.715
RSD/%	0.704	1.930	1.470	0.332	1.037	1.678

6 种待测成分 $f_{s/x}$ 的影响, 结果见表 7。表明葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素与内参物芦丁间 $f_{s/x}$ 在不同柱温下重现性良好, RSD 在 1.204%~3.460%。

(3) 不同体积流量对 $f_{s/x}$ 的影响: 采用 TSQ-Fortis 超高效液相-三重四级杆液质联用系统, Accucore™C₁₈ 色谱柱, 30 °C 柱温下, 分别考察了不同体积流速对 6 种待测成分 $f_{s/x}$ 的影响, 结果见表 8。表明葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素与内参物芦丁 $f_{s/x}$

在不同体积流量下重现性良好, RSD 在 0.847%~2.518%。

2.3.3 待测成分的色谱峰定位 取“2.1”项下的混合对照品溶液, 分别采用 Accucore™C₁₈、Acquity BEH C₁₈、SunFire™C₁₈ 3 种型号色谱柱, 测定并计算各待测成分与内参物芦丁的相对保留值 (R) 和保留时间差 (Δt), 见表 9、10。结果显示不同色谱柱下各待测成分间的 R 波动较小, RSD 在 0.153%~0.966%; 而各待测成分间的 Δt 波动稍大, RSD 在 0.729%~3.135%; 说明 R 更适宜于苦荞麦中待测成分 QAMS 法的定位。

表 7 柱温对 $f_{s/x}$ 的影响

Table 7 Effect of column temperature on $f_{s/x}$

柱温/°C	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$	$f_{s/F}$	$f_{s/G}$
30	0.279	1.401	0.637	1.144	8.232	0.724
35	0.281	1.384	0.659	1.194	8.673	0.718
40	0.288	1.312	0.645	1.159	8.351	0.707
平均值	0.283	1.366	0.647	1.166	8.419	0.716
RSD/%	1.672	3.460	1.721	2.201	2.710	1.204

表 8 不同体积流量对 $f_{s/x}$ 的影响

Table 8 Effect of flow rates on $f_{s/x}$

体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$	$f_{s/F}$	$f_{s/G}$
0.2	0.276	1.317	0.639	1.154	8.389	0.733
0.3	0.277	1.304	0.659	1.197	8.756	0.714
0.4	0.283	1.295	0.660	1.141	8.421	0.718
平均值	0.279	1.305	0.653	1.164	8.522	0.722
RSD/%	1.359	0.847	1.815	2.518	2.385	1.388

表 9 不同色谱柱下待测成分的色谱峰定位- R 法

Table 9 Location of chromatographic peaks of components measured under different chromatographic columns- R method

色谱柱	$R_{s/B}$	$R_{s/C}$	$R_{s/D}$	$R_{s/E}$	$R_{s/F}$	$R_{s/G}$
Accucore™C ₁₈	0.263	1.032	3.094	1.293	1.375	1.135
Acquity BEH C ₁₈	0.263	1.024	3.126	1.292	1.372	1.135
SunFire™C ₁₈	0.260	1.040	3.147	1.271	1.368	1.132
平均值	0.262	1.032	3.122	1.285	1.372	1.134
RSD/%	0.661	0.775	0.855	0.966	0.256	0.153

表 10 不同色谱柱下待测成分的色谱峰定位 Δt 法

Table 10 Location of chromatographic peaks of components measured under different chromatographic columns Δt method

色谱柱	$\Delta t_{s/B}$	$\Delta t_{s/C}$	$\Delta t_{s/D}$	$\Delta t_{s/E}$	$\Delta t_{s/F}$	$\Delta t_{s/G}$
Accucore™C ₁₈	3.470	3.430	0.750	0.410	2.330	3.280
Acquity BEH C ₁₈	3.480	3.450	0.750	0.410	2.320	3.270
SunFire™C ₁₈	3.530	3.480	0.710	0.390	2.290	3.220
平均值	3.493	3.453	0.737	0.403	2.313	3.257
RSD/%	0.920	0.729	3.135	1.155	0.900	0.987

2.3.4 QAMS 法与外标法 (external standard method, ESM) 测定结果的比较 取 18 个品种苦荞麦样品按“2.2”项下制备供试品溶液, 通过线性回归方程计算 ESM 各品种苦荞麦中 7 种指标成分的含量, 采用 SPSS 软件对 2 种方法测得的数据进行对比分析, 验证 QAMS 法的准确性和可行性。结果见图 4, 2 种方法计算值无显著性差异 ($P>0.05$), 证明本研究所建立

的 QAMS 法具有较好的准确性和可行性。

2.4 聚类分析

利用 SPSS 27.0.1 软件, 以 18 个品种苦荞麦中 7 个指标成分的含量为变量, 建立“18×7 阶”原始数据矩阵, 采用欧氏距离法进行 Ward 聚类分析。如图 5 所示, 当欧氏距离为 10 时, 18 个品种样品大致分为 3 类, 即 S1、S3~S8、S13、S14、S18 为

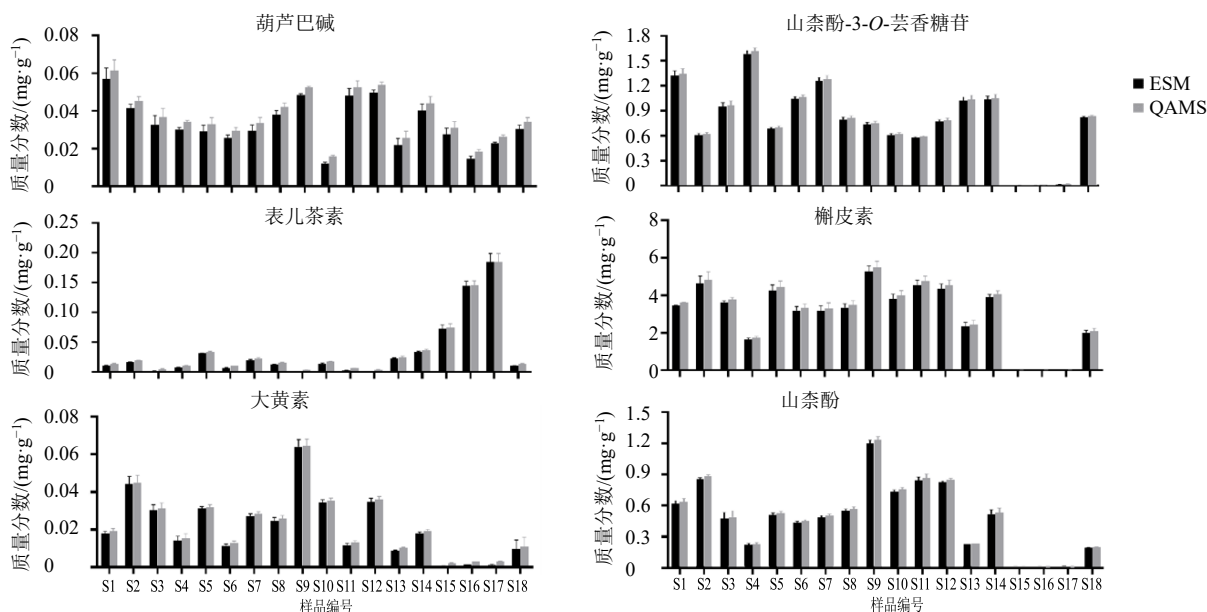


图 4 QAMS 与 ESM 测得值对比

Fig. 4 Comparison of QAMS and ESM values

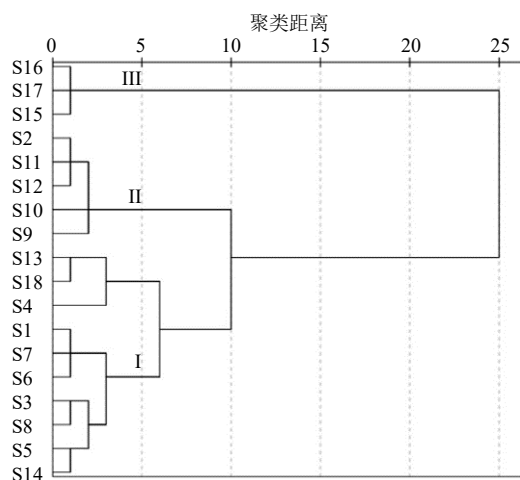


图 5 18 个品种苦荞麦聚类树状图

Fig. 5 Dendrogram from hierarchical cluster for 18 varieties of *F. tataricum*

I类, S2、S9~S12 为 II 类, S15~S17 为 III 类。I 类、II 类与 III 类相比, 相差较大, 可明显地进行区分。由表 1 中苦荞麦样品产地信息得知, I 类和 II 类样品产地主要集中在四川盆地、云贵高原以及甘肃、内蒙

古、山西等海拔高、光照强等地; III 类样品来自陕西榆林、贵州贵阳和内蒙古通辽。实验结果表明, 不同产地对其质量影响较大, 其中赤苦 2 号和通莽 1 号尽管皆产自内蒙古, 但其黄酮类成分含量差异较大。

2.5 主成分分析 (principal component analysis, PCA)

基于 7 种指标成分含量, 以 QAMS 法计算值为变量, 采用 SPSS 27.0.1 软件, 利用降维方式进行因子分析, 以“特征值>1”为标准, 提取到 2 个主成分, 其累加方差贡献率为 85.223%。主成分载荷矩阵解释了 7 个指标成分对个主成分的贡献率信息, 绝对值越大, 对主成分的贡献率就越大, 见表 11。此外, 由表 12 可知, 主成分 1 综合了山柰酚、槲皮素、大黄素和葫芦巴碱的主要信息, 主成分 2 则解释了芦丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷和表儿茶素的主要信息。通过 SIMCA 14.1 软件建立 PCA 模型图, 结果显示同样提取出 2 个主成分

表 11 主成分特征值与方差贡献率

Table 11 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.355	62.211	62.211
2	1.611	23.012	85.223
3	0.612	8.740	93.963
4	0.233	3.327	97.290
5	0.125	1.781	99.070
6	0.048	0.692	99.763
7	0.017	0.237	100.000

表 12 旋转后的主成分载荷矩阵

Table 12 Load matrix of principal components

指标成分	主成分 1	主成分 2
山柰酚	0.977	0.113
槲皮素	0.901	0.338
大黄素	0.892	—
葫芦巴碱	0.672	0.230
芦丁	0.123	0.978
山柰酚-3-O-芸香糖苷	0.151	0.965
表儿茶素	-0.579	-0.712

“—”表示其绝对值小于 0.1。

“—” indicates that its absolute value is less than 0.1.

($R^2_X=0.852$), 18 个样品点均分布在正常范围内, 模型构建的稳定性较好, 如图 6 所示。PCA 得分图显示, 18 个品种苦荞麦亦可分成 3 类, 样品点的间距越大, 表明这 2 个样品之间的指标成分含量差异越明显, S3、S5、S8 之间出现部分重叠, 说明这 3 个品种苦荞麦的指标成分含量相似, S4、S9、S15~S17 的间距较大, 反映出这 5 个品种苦荞麦的指标成分含量相差较大, 为评价苦荞麦质

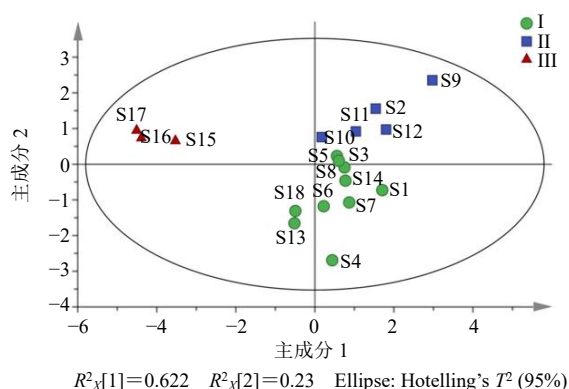


图 6 18 个品种苦荞麦 PCA 得分图

Fig. 6 PCA scores plot of 18 varieties of *F. tataricum*

量提供数据支撑。

2.6 正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)

为探究对 18 个品种苦荞麦质量影响较大的指标成分, 再次通过 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA。以 QAMS 计算的含量数据为因变量, 表 1 中 18 个品种苦荞麦为自变量, 建立 OPLS-DA 模型 (图 7), 其中因变量解释能力参数 $R^2_Y=0.925$ 、自变量解释能力参数 $R^2_X=0.802$, 模型预测指数 $Q^2=0.656$, 均大于 0.5, 表明所构建的模型预测能力良好、结果较为理想。再对 OPLS-DA 进行 200 次随机交叉置换验证, 结果 (图 8) 显示 Q^2 回归线与纵轴的相交点值为 $-0.542 < 0$, 表示所绘制的模型经置换验证有

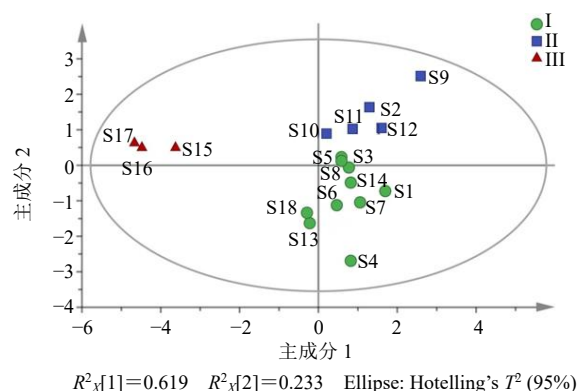


图 7 18 个品种苦荞麦 OPLS-DA 得分图

Fig. 7 OPLS-DA scores of 18 varieties of *F. tataricum*

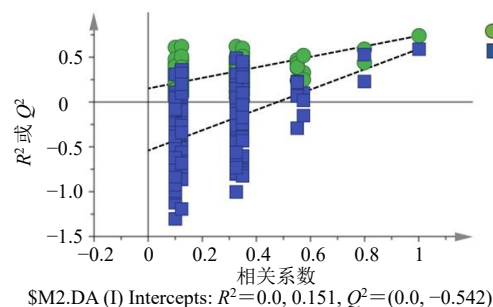


图 8 OPLS-DA 置换检验结果图

Fig. 8 OPLS-DA permutation test results

效, 模型不存在过度拟合。根据变量投影重要度 (variable importance for the projection, VIP), 以“VIP>1”为条件, 挑选出芦丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷、山柰酚, 其对应的 VIP 值分别为 1.094、1.077、1.063, 表明苦荞麦的质量差异可能由于这 3 个指标成分导致, 见图 9。此外, 槲皮素和大黄素的 VIP 值接近 1, 亦可作为影响苦荞麦质量的

重要标志性成分。

2.7 综合得分与排序

以 QAMS 法芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、山柰酚的含量数据为变量, 导入 SPSS 27.0.1 软件, 计算 18 个品种苦荞麦的综合得分并排序, 见表 13。由表 13 可知, 综合得分从大到小为 S4>S1>S7>S6>S14>S13>S9>S12>S3>S18>S8>S5>S2>S11>S10>S17>S16>S15, 其中排序相对靠前的产地主要集中在四川、云南、贵州、山西等地, 说明中国西南地区、山西等地的苦荞麦质量较优, 而 S15~S17 综合得分较低, 分别来自陕西榆林、贵州贵阳和内蒙古通辽, 与其他品种苦荞麦存在明显的质量差异, S4 样品所测的黄酮类含量总和高于这 3 个产地近 12 倍。

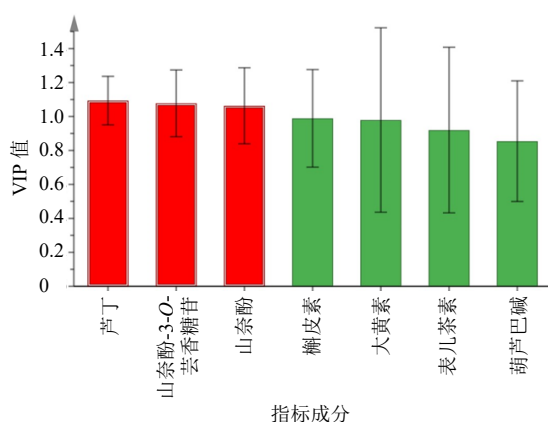


图 9 18 个品种苦荞麦的 VIP 图

Fig. 9 VIP diagram of 18 varieties of *F. tataricum*

表 13 18 个品种苦荞麦的综合得分与排序

Table 13 Scores and ranking of 18 varieties of *F. tataricum*

样品编号	综合得分	排序	样品编号	综合得分	排序
S1	1.041 9	2	S10	-0.196 8	15
S2	-0.062 7	13	S11	-0.138 7	14
S3	0.206 1	9	S12	0.232 6	8
S4	1.460 9	1	S13	0.490 5	6
S5	0.116 1	12	S14	0.574 0	5
S6	0.590 2	4	S15	-1.993 5	18
S7	0.971 7	3	S16	-1.960 2	17
S8	0.117 8	11	S17	-1.946 3	16
S9	0.295 3	7	S18	0.201 1	10

3 讨论

3.1 将 Q-Marker 理论与“药食同源”思想结合, 探索药食两用作物质量评价新模式

药食两用农作物作为我国传统饮食文化和中医

药的重要组成, 是具有典型文化特色的健康资源和经济资源, 亦是助力乡村振兴发展的新动能^[1]。苦荞麦作为药食两用作物的代表, 富含多种天然活性成分和保健治病功效。然而, 不同品种苦荞麦由于栽培方式、生长环境等因素差异明显, 故会对其质量产生直接影响。目前对苦荞麦质量评价对象多数集中在黄酮类化合物, 并且大多采用高效液相-紫外检测器对其进行含量测定^[13-15]。可能存在检测目标、检测范围以及检测效率不佳的弊端。本研究在 Q-Marker 理论的指导下, 结合“药食同源”思想, 采用 UPLC-QQQ-MS/MS 技术, 旨在建立苦荞麦全面、客观、高效的质量评价体系。聚焦“品、质、效、用”全过程、多维度的评价标准, 选择与苦荞麦发挥疾病预防、保健功效密切相关的生物碱、黄酮、蒽醌类等 7 种活性成分作为标志性物质进行质量控制, 结合化学计量学, 建立了 18 个品种苦荞麦的指纹图谱和 QAMS 法, 为苦荞麦的质量评价标准提供了新策略, 也为其他药食两用作物的质量评价体系的建立提供有力参考。

3.2 将 UPLC-QQQ-MS/MS 两种扫描模式结合, 建立不同品种苦荞麦指纹图谱

本研究创新了苦荞麦指纹图谱建立的分析技术, 采用三重四级杆质谱 Full-MS 模式进行一级谱图全扫、MRM 模式进行特征峰指认的两种采集模式相互补的方式建立指纹图谱; 根据苦荞麦种子的性状、品质以及前期研究基础进行综合评判, 选择 S13 样品的总离子流图作为参照图谱, 经多点校正进行峰匹配, 建立 18 个品种苦荞麦 UPLC-QQQ-MS/MS 指纹图谱。

根据 Q-Marker 理论中成分“可测性”、“特有性”和“有效性”原则^[10], 以芦丁、葫芦巴碱、表儿茶素、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素、山柰酚和大黄素 7 种主要活性成分作为质量评价指标, 优化色谱条件和化合物质谱检测参数, 可在 18 分钟内完成 7 种指标成分的检测, 化合物分离度较好、响应较高。相比传统色谱检测技术, 具有灵敏度高、采集时间短、干扰小、定量准确性高等优势。

3.3 基于指纹图谱和 QAMS 法联合化学计量学的不同品种苦荞麦的综合质量评价

本研究以芦丁为内标物, 首次建立了苦荞麦多指标成分的 QAMS 法, 填补了现有研究的空白。QAMS 法不仅降低了检测成本, 提高了检测效率, 同时也为药食同源农作物的质量评价模式提供了借鉴。通过对 18 个品种样品的外标法实测值与 QAMS

法测定值进行比较,无显著性差异($P>0.05$)。验证了所建立的 QAMS 法应用于苦荞麦多指标成分质控的准确性和可行性。

通过指纹图谱相似度评价结合聚类分析、PCA、OPLS-DA 等化学计量学分析手段,对不同产地或来源的苦荞麦进行分类,挖掘了 7 种成分含量复杂数据中存在的内在关联,筛选出影响苦荞麦质量的主要差异标志物,将各产地苦荞麦质量进行了较为客观地划分和排序,发现排序在最后 3 位的分别为荞杂 2 号、综甜 2 号和通荞 1 号,且 S4 样品所测的黄酮类含量总和高于这 3 个产地近 12 倍;其指纹图谱相似度亦与其他 15 个品种相差较大,在 0.399~0.425。排序相对靠前的苦荞产地大多集中在四川、云南等西南地区,参照课题组前期研究基础^[22-23],猜测导致不同样本之间差异性的主要原因可能是由于光照强度、土壤成分、气温等生态地理环境的差异所致,不同的生境因素会对植物初生及次生代谢物的累积及关键酶基因表达造成较大影响。研究结果为“道地苦荞”的选育、品质改良以及质量控制提供参考,同时也为课题组后续研究奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄璐琦,何春年,马培,等.我国药食两用物品产业发展战略思考[J].中国工程科学,2022,24(6):81-87.
- [2] 王迪,杨汉梅,李阳倩,等.苦荞麦“品、质、效、用”的多维评价及其活性成分高值化利用的研究进展[J].浙江农业学报,2023,35(8):1960-1974.
- [3] 任长忠,陕方,王敏,等.荞麦营养与功能性研究及其产品开发[J].中国粮油学报,2022,37(11):261-269.
- [4] 周一鸣,魏佳南,朱思怡,等.不同产地苦荞挥发性物质测定及其特征香气分析[J].中国粮油学报,2023,38(7):214-220.
- [5] 江林娟,韩林,李云龙,等.基于超滤-HPLC-MS/MS 技术的苦荞提取物抑制线粒体肿胀活性研究[J].中国粮油学报,2023,38(8):117-123.
- [6] Lin H, Yao Y J, Sun P C, et al. Haplotype-resolved genomes of two buckwheat crops provide insights into their contrasted rutin concentrations and reproductive systems[J]. BMC Biol, 2023, 21(1): 87.
- [7] Zhang K X, He M, Fan Y, et al. Resequencing of global Tartary buckwheat accessions reveals multiple domestication events and key loci associated with agronomic traits[J]. Genome Biol, 2021, 22(1): 23.
- [8] 白钢,张铁军,刘昌孝.基于监管科学的中药质量评价方法的整合研究思路和发展方向[J].中草药,2022,53(20):6313-6318.
- [9] 李天娇,包永睿,王帅,等.中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用[J].中草药,2022,53(20):6319-6327.
- [10] 刘昌孝.中药质量标志物(Q-Marker)研究发展的 5 年回顾[J].中草药,2021,52(9):2511-2518.
- [11] 肖垚垚,朱菁,刘心雨,等.芍药甘草汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].中草药,2022,53(24):7960-7969.
- [12] 孙仁爽,隋艳艳,闫红,等.基于指纹图谱结合一测多评法评价不同产地牦牛儿苗质量[J].中草药,2023,54(21):7186-7192.
- [13] 任菲菲,张静,李静,等.苦荞茶中槲皮素、山柰素含量测定及指纹图谱分析[J].药学研究,2018,37(11):646-648.
- [14] 宾婕,张郴,晏通,等.不同产地苦荞的质量评价研究[J].中国民族民间医药,2020,29(19):43-46.
- [15] 张继斌,王玉,徐浪,等.不同产地苦荞麦中黄酮类成分的含量测定与分析[J].食品研究与开发,2018,39(24):143-148.
- [16] 江斯炜,郑作亮,徐方方,等.UPLC-QqQ-MS/MS 同时测定香槟方中 4 个生物碱成分[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(17):152-159.
- [17] 闫艳,杜晨晖.一测多评法在中药质量控制中的应用及研究进展[J].世界科学技术—中医药现代化,2022,24(6):2378-2387.
- [18] 郑振兴,胡瀚文,曾利,等.基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地佛手药材质量[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(21):174-180.
- [19] 韩玉泽,王兴瑞,董国鑫,等.基于甘三酯指纹图谱及化学计量学的青海亚麻籽油掺假识别研究[J].中国粮油学报,2022,37(7):158-165.
- [20] 课净璇,瞿瑗,黎杉珊,等.基于 GC-MS 建立花椒挥发油指纹图谱及在汉源红花椒鉴定中的应用[J].中国粮油学报,2018,33(11):116-126.
- [21] 贺琪琚,盛丹丹,陈泽,等.基于分子连接性指数相似度探讨归肺和大肠经中药成分“印迹模板”的分布特征及实验验证[J].中草药,2023,54(11):3622-3630.
- [22] Wang D, Yang T, Li Y Q, et al. Light intensity-a key factor affecting flavonoid content and expression of key enzyme genes of flavonoid synthesis in Tartary buckwheat[J]. Plants, 2022, 11(16): 2165.
- [23] Zhang J M, Wang D, Wu Y H, et al. Lipid-polymer hybrid nanoparticles for oral delivery of tartary buckwheat flavonoids[J]. J. Agricult Food Chem, 2018, 66(19): 4923-4932.

[责任编辑 时圣明]