

基于 HPLC 指纹图谱、Q-TOF-MS/MS 和模式识别定性与多成分定量相结合的金荞麦片质量评价

曹 溢¹, 何 梦¹, 戴 莹^{2,3}, 李余佳^{2,3}, 杨军炎^{4*}, 窦志华^{1,2,3*}

1. 南通大学, 江苏 南通 226019

2. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006

3. 南通市第三人民医院, 江苏 南通 226006

4. 南通大学附属肿瘤医院, 江苏 南通 226361

摘 要:目的 对不同企业生产的金荞麦片进行质量评价。方法 分别收集 18 批次 A 企业和 20 批次 B 企业生产的金荞麦片, HPLC 法测定所有 38 批次金荞麦片指纹图谱, 标定共有峰, 采用四级杆飞行时间质谱 (quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Q-TOF-MS/MS) 对共有峰进行成分鉴定, 以量化共有峰面积为变量, 对指纹图谱进行层次聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等模式识别分析, 对样品中采用对照品比对确认且分离度较好的 9 个成分进行定量测定。结果 38 批次金荞麦片指纹图谱标定共有峰 33 个; Q-TOF-MS/MS 共鉴定成分 53 个, 包括 21 个鞣质类成分、12 个酚类成分、7 个黄酮类成分、7 个苯丙素苷类成分、2 个氨基酸类成分、2 个有机酸类成分、1 个生物碱类成分及 1 个萜类成分, 其中 3 个酚类成分 (没食子酸、原儿茶酸和原儿茶醛)、5 个鞣质类成分 (原花青素 B1、B2、B3、C1、C2)、4 个黄酮类成分 (儿茶素、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯和芦丁) 采用对照品比对确认, 除原花青素 C2、B2 和芦丁外的 9 个成分分离度较好, B 企业生产的金荞麦片中这 9 个成分的平均含量均明显高于 A 企业 ($P < 0.01$)。HCA、PCA 和 OPLS-DA 结果一致, 均明显将 A 企业和 B 企业生产的金荞麦片区分为 2 类。共有峰 30、29、16、17、2、21、10、11、18、20、27 对应的成分 (如原花青素 C2、B2、C1、B1、B3、没食子酸、表儿茶素等) 是引起 2 家企业生产的金荞麦片质量差异的标志性成分。结论 2 家企业生产的金荞麦片存在明显质量差异。

关键词: 金荞麦片; 质量评价; HPLC; 指纹图谱; 四级杆飞行时间质谱; 模式识别; 层次聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析; 鞣质; 酚; 黄酮; 苯丙素苷; 氨基酸; 有机酸; 生物碱; 萜; 没食子酸; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 原花青素; 儿茶素; 表儿茶素; 表儿茶素没食子酸酯; 芦丁

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)15-5890-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.010

Quality evaluation of *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Tablets based on qualitative analysis of HPLC fingerprint, Q-TOF-MS/MS and pattern recognition qualitative analysis combined with quantitative analysis of multi-constituents

CAO Yi¹, HE Meng¹, DAI Ying^{2,3}, LI Yujia^{2,3}, YANG Junyan⁴, DOU Zhihua^{1,2,3}

1. Nantong University, Nantong 226019, China

2. Third Hospital Affiliated to Nantong University, Nantong 226006, China

3. Nantong Third People's Hospital, Nantong 226006, China

4. Affiliated Tumor Hospital of Nantong University, Nantong 226361, China

收稿日期: 2025-12-18

基金项目: 江苏省南通市科技计划社会民生重点项目 (MS12022012); 江苏省药学会正大天晴医院药学科研基金重点项目 (Q202205); 江苏省南通市卫生健康委员会科研课题 (WSZ2022034); 南通市药学会常州四药医院药学科研基金项目 (ntyx2201)

作者简介: 曹 溢, 硕士研究生, 主要从事天然药物与中药药理学研究。Tel: 13962327846 E-mail: 571921757@qq.com

***通信作者:** 杨军炎, 男, 学士, 主任药师, 主要从事药品质量评价研究。Tel: (0513)86712137 E-mail: yang_junyan@163.com

窦志华, 博士, 副教授, 主任中药师, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质及质量评价研究。

Tel: (0513)85116027 E-mail: zhihuadou@163.com

Abstract: Objective To evaluate the quality of *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Tablets (FDRT) produced by different companies. **Methods** A total of 18 batches of FDRT produced by company A and 20 batches of FDRT produced by company B were collected, respectively. The fingerprints of 38 batches FDRT were determined using HPLC, the common peaks were assigned and the constituents of these peaks were identified by quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Q-TOF-MS/MS). Using quantitative common peak areas as variables, pattern recognition analysis of the fingerprint was conducted using hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). The content of the nine constituents confirmed by comparison with reference substances and have good separation in samples were determined. **Results** There were 33 common peaks in the fingerprint of 38 batches of FDRT, and a total of 53 constituents were identified by Q-TOF-MS/MS, including 21 tannins, 12 phenolics, seven flavonoids, seven phenylpropanoid glycosides, two amino acids, two organic acids, one alkaloid, and one terpenoid, among them, three phenolics (gallic acid, protocatechuic acid, and protocatechualdehyde), five tannins (procyanidin B1, B2, B3, C1, C2), four flavonoids (catechin, epicatechin, epicatechin gallate, and rutin) were confirmed by reference substance. The separation degree of nine constituents except for procyanidin C2, B2, and rutin was relatively good. The average content of these nine constituents in FDRT produced by company B was significantly higher than that in FDRT produced by company A ($P < 0.01$). The results of HCA, PCA, and OPLS-DA were consistent, clearly distinguished the FDRT produced by company A and company B into two categories. The constituents corresponding to common peaks 30, 29, 16, 17, 2, 21, 10, 11, 18, 20, and 27, such as procyanidin C2, B2, C1, B1, B3, gallic acid, epicatechin, etc., are the marker constituents responsible for the quality differences in FDRT produced by two enterprises. **Conclusion** There is a significant quality difference in FDRT produced by two companies.

Key words: *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Tablets; quality evaluation; HPLC; fingerprint; Q-TOF-MS/MS; pattern recognition; hierarchical cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; tannins; phenolics; flavonoids; phenylpropanoid glycosides; amino acids; organic acids; alkaloids; terpenoids; gallic acid; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; procyanidins; catechin; epicatechin; epicatechin gallate; rutin

金荞麦为蓼科植物金荞麦 *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara 的干燥根茎^[1]。南通成云龙老先生 1958 年将金荞麦治疗肺脓疡的祖传秘方献给了国家, 疗效得到了临床验证, 中国医学科学院药物研究所与南通金荞麦协作组联合对该中药进行了本草考证、化学成分、药理实验等深入研究, 并研制了金荞麦片 (*Fagopyri Dibotryis Rhizoma* Tablets, FDRT), 成果鉴定专家认为金荞麦及其制剂是我国首先挖掘的新型抗感染药物^[2-5], 金荞麦也因此被《中国药典》1977 年版收载^[6], 一直延续到 2025 年版^[1]。金荞麦片为金荞麦醇提浸膏片^[3], 在临床上不但用于治疗肺脓肿、支气管炎、支气管哮喘等肺部疾病, 也用于治疗细菌性痢疾、炎症性肠病等肠道疾病^[7]。研究表明, 金荞麦对新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 及相关急性肺损伤具有治疗作用, 该中药再次引起关注^[2-3,7]。迄今为止从金荞麦中分离得到了 100 多个化学成分^[2], 包括鞣质类、酚类、黄酮类、苯丙素苷类、有机酸类、氨基酸类、生物碱类、萜类等^[2-3,7], 其中鞣质类、酚类、黄酮类为其主要活性成分和指标性成分^[2-3,7]。中药质量及其评价方法直接关系到临床用药的有效性和安全性^[8], 金荞麦片的现行质量标准中仅采用分光光度法测定总黄酮的含量, 指标单一且专属性不强^[3], 尽管李

敏等^[9]建立了 HPLC 法同时测定金荞麦片中原花青素 B1、B2、C1 及原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素 6 个成分含量的方法, 但仍不能综合评价其质量^[8]。

国家药品监督管理局官网药品查询信息显示, 目前取得金荞麦片药品注册批准文号的有 2 家企业, 本研究采用先期建立的 HPLC 指纹图谱、Q-TOF-MS/MS 和模式识别定性分析与多成分定量分析相结合的方法^[3,7,10], 对这 2 家企业生产的金荞麦片进行了综合质量评价和比较分析。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Alliance 型高效液相色谱系统, 包括 e2695 分离单元、2998 PAD 检测器和 Empower 色谱工作站, 美国 Waters 公司; UFLC-Triple-Q-TOF/MS 系统, 包括 Shimadzu Prominence UFLC 液相色谱仪和 AB SCIEX Triple TOF 4600 质谱仪, 前者主要配备 SIL-20AC XR 自动进样器和 LC-20AD XR 泵, 日本岛津公司; 后者配备电喷雾离子源、Q-TOF-MS/MS 检测器和 Peak View 质谱分析软件, 美国 AB SCIEX 公司; SK5200H 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; BT 25S 型电子天平, 德国 Sartorius 公司。

1.2 试剂

对照品原儿茶醛 (批号 110810-202210, 质量分

数 $\geq 99.9\%$)、原儿茶酸(批号 110809-202207, 质量分数 $\geq 97.5\%$)、没食子酸(批号 110831-201906, 质量分数 $\geq 91.5\%$)、表儿茶素没食子酸酯(批号 111987-201501, 质量分数 $\geq 98.1\%$)、槲皮苷(批号 111538-202007, 质量分数 $\geq 93.5\%$)、金丝桃苷(批号 111521-201809, 质量分数 $\geq 94.9\%$)、芦丁(批号 100080-202012, 质量分数 $\geq 91.6\%$)、槲皮素(批号 100081-201610, 质量分数 $\geq 99.1\%$)购自中国食品药品检定研究院; 对照品儿茶素(批号 GR-139-203497)、表儿茶素(批号 GR-139-055270)、原花青素 A2(批号 GR-138-230019)、原花青素 A1(批号 GR-138-653301)、原花青素 B1(批号 GR-138-310519)、原花青素 B2(批号 GR-139-213006)、原花青素 B3(批号 GR-138-352214)、原花青素 C1(批号 GR-138-310726), 质量分数均 $\geq 98.0\%$, 购自南京广润生物制品有限公司; 对照品原花青素 C2(批号 wkq23051009, 质量分数为 98.90%)购自四川省维克奇生物科技有限公司。甲醇(色谱纯)、乙腈(质谱纯)购自美国 Fisher Scientific 公司; 甲酸(色谱纯)、无水乙醇(色谱纯)购自国药集团化学试剂有限公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司。18 批次 A 企业生产的金荞麦片和 20 批次 B 企业生产的金荞麦片购自国内医疗机构或药店, 具体信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 取金荞麦片, 刮去薄膜衣, 研成粉末, 取约 1 g 粉末, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50%乙醇至刻度, 超声(频率 53 kHz、功率 200 W)提取 30 min, 放冷, 滤过, 滤液 50~70 °C 减压浓缩至近干, 用 10%乙腈分次洗涤残渣, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加 10%乙腈至刻度, 摇匀, 以 3 000 r/min 离心(离心半径 8 cm) 5 min, 上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液^[3]。

2.1.2 成分鉴定用混合对照品溶液的制备 分别精密称取各对照品适量, 置同一量瓶中, 加 50%甲醇溶解并稀释, 配制成 17 个对照品质量浓度约为 40 $\mu\text{g/mL}$ 的成分鉴定用混合对照品溶液。

2.1.3 定量测定用混合对照品溶液的制备 精密称取对照品原儿茶酸 4.93 mg、没食子酸 5.83 mg, 分别置于 2 mL 量瓶中; 对照品儿茶素 19.82 mg、原花青素 B1 15.02 mg、原花青素 B3 15.78 mg、表儿

表 1 金荞麦片样品信息

Table 1 Informations on samples of FDRT

编号	企业	批号	编号	企业	批号
S1	A	191105	S20	B	22230209
S2	A	200419	S21	B	22230104
S3	A	200510	S22	B	22230202
S4	A	210309	S23	B	22230210
S5	A	201101	S24	B	22230211
S6	A	210608	S25	B	22230212
S7	A	211002	S26	B	22230213
S8	A	211210	S27	B	22230214
S9	A	221107	S28	B	22230218
S10	A	221206	S29	B	22230203
S11	A	221218	S30	B	22230208
S12	A	240301	S31	B	22230106
S13	A	231202	S32	B	22230112
S14	A	230122	S33	B	22230113
S15	A	221206	S34	B	22230114
S16	A	240601	S35	B	22230201
S17	A	240618	S36	B	22230101
S18	A	240504	S37	B	22230102
S19	B	22220103	S38	B	22230103

茶素没食子酸酯 35.66 mg、表儿茶素 24.83 mg, 分别置于 5 mL 量瓶中; 对照品原儿茶酸 5.01 mg、原花青素 C1 69.80 mg, 分别置于 20 mL 量瓶中; 分别加 50%乙醇至刻度, 摇匀, 分别配制成 9 个对照品储备液。用移液枪分别精密吸取各对照品储备液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加 50%乙醇至刻度, 摇匀, 配制成没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、表儿茶素没食子酸酯、儿茶素、表儿茶素、原花青素 B1、原花青素 B3、原花青素 C1 质量浓度分别为 102.025、86.275、12.525、427.920、277.480、397.280、300.400、315.600、1 047.00 $\mu\text{g/mL}$ 的定量测定用混合对照品溶液 1, 取定量测定用混合对照品溶液 1, 分别用 50%乙醇稀释 2、5、10、20、50 倍, 配制成定量测定用混合对照品溶液 2~6。

2.2 指纹图谱的建立及分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Symmetry C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度程序: 0~10 min, 2%~4%乙腈; 10~20 min, 4%乙腈; 20~30 min, 4%~10%乙腈; 30~50 min, 10%~12%乙腈; 50~60 min, 12%~15%乙腈; 60~70 min, 15%~16%乙腈; 70~100 min, 16%~50%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 280 nm。

2.2.2 质谱条件 模式检测：负离子；离子源：Duo Spray；电离方式：ESI；离子源喷射电压 4 500 V；雾化气 413.685 kPa (60 psi)；加热气 60 psi；气帘气 241.317 kPa (35 psi)；离子源温度 500 ℃。质谱信息获取方式：TOF MS-IDA-10MS/MS；一级质谱解簇电压-80 V；碰撞能量-10 eV；TOF-MS 累积时间 250 ms；母离子扫描范围 m/z 115~1 500。二级质谱解簇电压-80 V；碰撞能量扩展 15 eV；碰撞能量-35 eV；TOF-MS 累积时间 100 ms；扫描范围 m/z 50~1 500。

2.2.3 精密度试验 吸取 S30 供试品溶液 30 μL ，连续测定 6 次，记录各共有峰的保留时间及峰面积，以保留时间适中且分离度较好的 21 号峰（原花青素 C1）为参照峰，计算其他共有峰与参照峰的相对保留时间和相对峰面积及其 RSD，结果相对保留时间 $\text{RSD} \leq 0.67\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD} \leq 4.37\%$ ，表明该仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 吸取 S30 供试品溶液 30 μL ，分别于制备后 0、3、6、9、12、18、24、36 h 进样测定，同“2.2.3”项下方法进行分析。结果相对保留时间 $\text{RSD} \leq 0.95\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD} \leq 4.98\%$ ，表明供试品溶液在制备后 36 h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 取 6 份 S30，按“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，各吸取 30 μL 进样测定，同“2.2.3”项下方法分析。结果相对保留时间 $\text{RSD} \leq 1.37\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD} \leq 4.99\%$ ，表明样品的处理方法重复性较好。

2.2.6 指纹图谱测定及对照指纹图谱的建立 吸取 S1~S38 供试品溶液 30 μL ，进样测定，将图谱以 AIA 格式依次导入国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 版)》，以 S30 图谱为参照图谱，使用中位数进行自动匹配，加以多点校正，生成金荞麦片的对照指纹图谱(R)，标定共有峰 33 个(图 1)。记录 38 批次金荞麦片指纹图谱共有峰峰面积，并将共有峰峰面积按进样的供试品溶液中含生药量进行量化处理^[11]，得量化共有峰峰面积。

2.2.7 共有峰的鉴定 分别吸取 S30 供试品溶液及成分鉴定用混合对照品溶液各 10 μL ，注入 UFLC-Triple-Q-TOF/MS 系统进行测定，PeakView 1.6 质谱分析软件提取金荞麦片样品和混合对照品的总离子流图(图 2)。分析 17 个对照品的质谱数据，总结裂解规律；将软件提供的待鉴定成分的精确相对分

子质量和可能的分子式、碎片离子等信息，与对照品或文献中的质谱数据比对，结合在线检索化合物数据库 PubChem(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)，对指纹图谱共有峰成分进行鉴定。金荞麦片指纹图谱 33 个共有峰共鉴定出了 53 个成分，包括 21 个鞣质类成分、12 个酚类成分、7 个黄酮类成分、7 个苯丙素苷类成分、2 个氨基酸类成分、2 个有机酸类成分、1 个生物碱类成分及 1 个萜类成分，其中没食子酸(峰 2)、原儿茶酸(峰 7)和原儿茶醛(峰 9) 3 个酚类成分，原花青素 B1(峰 10)、B3(峰 11)、C2(峰 17a)、B2(峰 17b)、C1(峰 21) 5 个鞣质类成分，儿茶素(峰 12)、表儿茶素(峰 20)、表儿茶素没食子酸酯(峰 26)和芦丁(27a) 4 个黄酮类成分，共计 12 个成分采用对照品比对确认，见表 2。

2.2.8 指纹图谱相似度评价 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 版)》对 38 批金荞麦片指纹图谱进行相似度评价，结果 A 企业的 18 批(S1~S18)金荞麦片的相似度分别为 0.252、0.359、0.235、0.427、0.464、0.269、0.325、0.461、0.309、0.402、0.362、0.572、0.564、0.348、0.390、0.429、0.332、0.602，B 企业的 20 批(S19~S38)金荞麦片的相似度分别为 0.485、0.682、0.670、0.618、0.749、0.736、0.827、0.809、0.612、0.786、0.579、0.742、0.454、0.585、0.687、0.746、0.658、0.692、0.654、0.694。提示 2 家企业产品质量存在明显差异，相同企业不同批号产品质量也存在差异。

2.2.9 层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA) HCA 是一种在没有先验知识前提下，将每个样本的特征数据按亲疏程度进行分组，使其组内个体具有高度相似性，而组间个体具有较小相似性的一种分析手段^[14]。将“2.2.6”项下计算所得 38 批金荞麦片的 33 个量化共有峰面积导入 SIMCA 14.1 软件进行 HCA，结果(图 3)显示，38 批样品聚为 2 组：S1~S18(A 企业产品)聚为 1 组，S19~S38(B 企业产品)聚为另 1 组，提示 2 家企业生产的金荞麦片存在明显质量差异。

2.2.10 主成分分析(principal component analysis, PCA) PCA 是一种无监督的降维数据处理方法，能够真实反映原始数据的分组情况^[15]，PCA 得分散点图可以直观显示不同样品之间的整体差异性，反映样品的自然分布和组别关系^[16]。将“2.2.6”项下计算所得 38 批金荞麦片的 33 个量化共有峰面积导

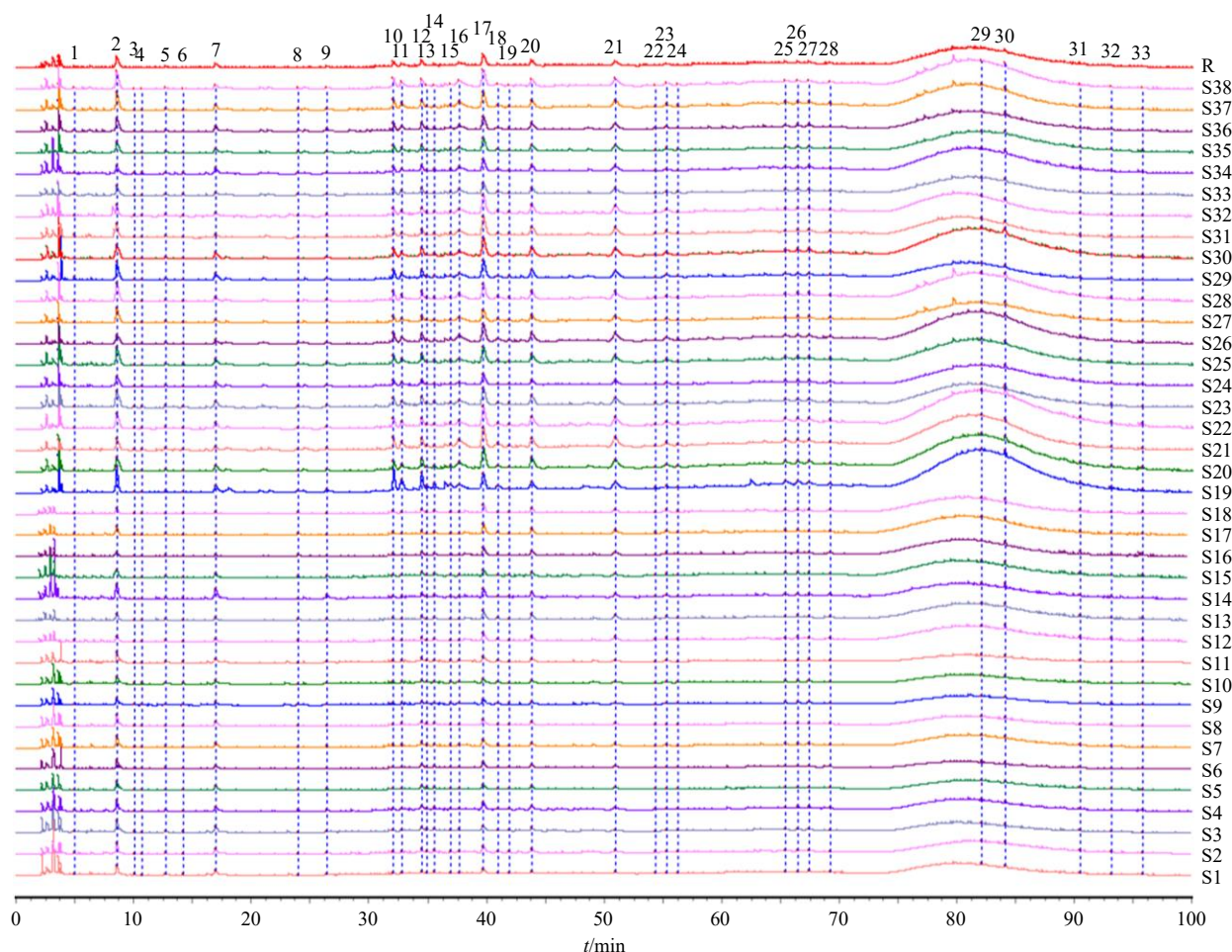
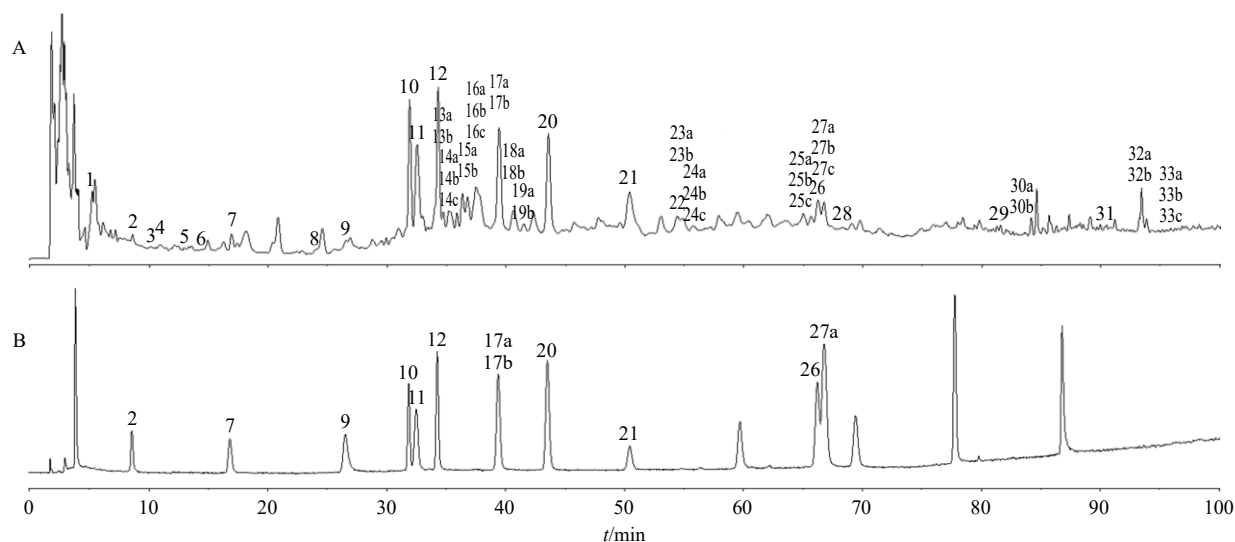


图 1 金荞麦片 (S1~S38) HPLC 指纹图谱及对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprint of FDRT (S1—S38) and reference fingerprint (R)



2-没食子酸; 7-原儿茶酸; 9-原儿茶醛; 10-原花青素 B1; 11-原花青素 B3; 12-儿茶素; 17a-原花青素 C2; 17b-原花青素 B2; 20-表儿茶素; 21-原花青素 C1; 26-表儿茶素没食子酸酯; 27a-芦丁。

2-gallic acid; 7-protocatechuic acid; 9-protocatechuic aldehyde; 10-proanthocyanidins B1; 11-proanthocyanidins B3; 12-catechin; 17a-proanthocyanidins C2; 17b-proanthocyanidin B2; 20-epicatechin; 21-proanthocyanidins C1; 26-epicatechin gallate; 27a-rutin.

图 2 金荞麦片 (A) 及混合对照品 (B) 总离子流图 (负离子模式)

Fig. 2 Total ion current diagram of FDRT (A) and mixed reference substances (B) (negative ion mode)

表2 指纹图谱共有峰 Q-TOF-MS/MS 鉴定结果

Table 2 Identification of common peak in fingerprint by Q-TOF-MS/MS

峰号	t _R / min	分子式	MS		误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS ^s	化合物名称	化合物 种类	参考 文献
			实际值	理论值					
1	5.193	C ₅ H ₇ NO ₃	128.036 3 [*]	128.035 3	7.7	128.035 4	L-焦谷氨酸	氨基酸	2,7,12
2	8.607	C ₇ H ₆ O ₅	169.014 9 [*]	169.014 2	3.9	125.024 4, 169.014 6, 97.029 3	没食子酸 ^Δ	酚	
3	10.103	C ₃₀ H ₂₄ O ₁₂	575.119 8 [*]	575.119 5	0.5	575.127 3, 449.080 8, 125.023 5, 423.081 3	proanthocyanidin A5'	鞣质	13
4	10.794	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.067 3 [*]	331.067 1	0.7	271.046 3, 330.842 8, 169.013 9, 125.024 6	2-O-没食子酰基-D-葡萄糖	酚	2-3
5	12.961	C ₁₂ H ₁₄ O ₉	301.056 7 [*]	301.056 5	0.6	169.013 7, 125.024 9, 301.058 1	邻苯三酚-2-O-葡萄糖苷酸	酚	2-3,7
6	14.288	C ₈ H ₈ O ₄	167.035 6 [*]	167.035 0	3.7	123.045 9, 121.028 5, 167.035 5, 137.025 4	香草酸	酚	3
7	17.027	C ₇ H ₆ O ₄	153.020 2 [*]	153.019 3	5.7	109.030 1, 153.018 6, 91.020 0, 81.035 1	原儿茶酸 ^Δ	酚	
8	24.005	C ₈ H ₈ O ₅	183.030 4 [*]	183.029 9	2.7	123.008 4, 139.039 8, 183.029 8	没食子酸甲酯	酚	6
9	26.395	C ₇ H ₆ O ₃	137.025 2 [*]	137.024 4	5.7	137.025 1, 93.034 1	原儿茶醛 ^Δ	酚	
10	31.588	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 8 [*]	577.135 2	4.6	289.072 2, 407.077 3, 425.089 7, 577.141 7	原花青素 B1 ^Δ	鞣质	
11	32.416	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 1 [*]	577.135 2	3.4	407.078 9, 289.072 3, 425.089 2, 577.137 9	原花青素 B3 ^Δ	鞣质	
12	34.146	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.073 1 [*]	289.071 8	4.6	289.073 6, 245.082 8, 125.024 1, 137.025 3	儿茶素 ^Δ	黄酮	
13a	34.648	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	483.080 3 [*]	483.078 0	4.7	483.080 8, 271.047 7, 169.014 9, 313.058 3	1,6-二没食子酸酰基-β-D-葡萄糖	酚	2-3,7
13b	34.697	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₁	487.103 1 [#]	487.101 3	3.8	331.083 1, 451.127 6, 269.077 8, 289.076 2	儿茶素-3-O-葡萄糖	黄酮	2-3,7
14a	35.037	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.089 4 [*]	353.087 8	4.5	233.045 2, 205.051 8, 353.090 2, 245.045 6	绿原酸	酚	3
14b	35.243	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 4 [*]	577.135 2	5.6	407.079 5, 289.073 2, 577.142 0, 425.090 0	原花青素 B7	鞣质	3
14c	35.525	C ₇ H ₆ O ₂	121.030 4 [*]	121.029 5	7.4	121.029 4, 93.035 8	对羟基苯甲醛	酚	3,12
15a	36.583	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₄	497.096 0 [*]	497.093 7	4.7	497.096 8, 183.029 4, 313.057 6, 169.014 3	1-甲基-4,6-二-O-没食子酸酰基-β-D-葡萄糖	酚	3
15b	36.899	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.265 2 [*]	1 153.261 9	2.8	577.137 4, 575.120 2	儿茶素-(4α→6)-[表儿茶素-(4β→8)] ₂ -表儿茶素	鞣质	3
16a	37.313	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.262 7 [*]	1 153.261 9	0.7	577.138 2, 575.129 3, 865.191 3	[儿茶素-(4α→8)] ₄	鞣质	2-3,7
16b	37.563	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.137 8 [*]	577.135 2	4.6	289.072 3, 407.079 1, 577.138 6, 425.089 3	原花青素 B4	鞣质	2-3,7
16c	37.802	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.130 8 [*]	387.129 7	2.9	207.066 0, 119.035 6, 101.027 0, 387.142 3	京尼平苷	萜	2-3,7
17a	39.125	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	901.176 8 [#]	901.175 2	1.8	577.145 6, 865.182 9, 125.024 8, 865.214 4	原花青素 C2 ^Δ	鞣质	
17b	39.174	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 2 [*]	577.135 2	5.3	407.078 8, 289.071 8, 577.140 9, 425.088 1	原花青素 B2 ^Δ	鞣质	
18a	40.508	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.202 8 [*]	865.198 5	4.9	287.059 4, 577.138 2, 125.024 8, 289.070 9	arecatannin C1	鞣质	2-3,7
18b	40.556	C ₁₄ H ₂₂ O ₁₀	349.115 7 [*]	349.114 0	4.8	349.115 2, 99.045 4, 249.063 7, 113.025 4	4,15-dioxo-5,8,11,14-tetraoxaoctadecane-1,18-dioic acid	有机酸	2-3,7
19a	41.460	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	576.131 4 ^{&}	576.127 3	7.1	289.071 9, 125.023 8, 151.038 6, 407.078 1	[儿茶素-(4β→8)] ₄	鞣质	2-3,7
19b	41.672	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₇	849.204 5 [*]	849.203 6	1.0	287.054 7, 289.074 6, 577.139 2, 271.061 5	epiafzelechin-(4β→8)-epicatechin-(4β→8)-catechin	鞣质	2-3,7
20	43.410	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.072 6 [*]	289.071 8	2.9	289.072 5, 245.082 5, 137.024 6, 125.023 8	表儿茶素 ^Δ	黄酮	
21	50.371	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.203 1 [*]	865.198 5	5.3	287.055 2, 577.145 2, 289.073 0, 125.024 1	原花青素 C1 ^Δ	鞣质	
22	54.266	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 0 [*]	577.135 2	4.9	289.073 3, 407.077 6, 577.139 8, 425.087 9	原花青素 B8	鞣质	3
23a	54.705	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	576.131 8 ^{&}	576.127 3	7.8	289.072 9, 125.024 5, 151.041 8, 245.046 1	cinnamtannin A2	鞣质	2-3,7
23b	54.985	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	206.083 3 [*]	206.082 3	5.0	164.071 4, 103.054 8	N-乙酰基-L-苯丙氨酸	氨基酸	2-3,7
24a	55.660	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.138 6 [*]	577.135 2	6.0	289.073 0, 577.152 0, 425.087 4, 125.024 2	表儿茶素-(4β→8)-表儿茶素	鞣质	3
24b	55.684	C ₅₂ H ₄₂ O ₂₂	1 017.213 5 [*]	1 017.209 5	3.9	557.111 0	表儿茶素-(4β→8)-3-O-没食子酰基表儿茶素-(4β→8)-儿茶素	鞣质	3
24c	55.823	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.115 5 [*]	433.114 0	3.4	313.072 1, 295.064 6, 325.070 6, 267.064 3	hemiphloin	黄酮	3
25a	64.642	C ₁₄ H ₆ O ₈	301.000 4 [*]	300.990 0	4.7	301.000 0	鞣花酸	酚	2-3,7,12
25b	64.849	C ₄₄ H ₃₄ O ₂₀	881.162 0 [*]	881.157 1	5.6	287.058 3, 125.027 9, 729.162 1, 289.064 3	3,3'-digalloylprocyanidin B2	鞣质	2-3,7
25c	65.194	C ₃₉ H ₄₆ O ₂₆	1 169.229 1 [*]	1 169.220 5	7.4	575.127 8, 577.135 3, 881.177 9	arecatannin A1-3,3'-digallate	鞣质	2-3,7
26	66.116	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	477.062 0 [#]	477.059 4	5.5	169.014 2, 289.072 1, 441.085 6, 125.024 4	表儿茶素没食子酸酯 ^Δ	黄酮	

表 2 (续)

峰号	t _R / min	分子式	MS		误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS ^d	化合物名称	化合物 种类	参考 文献
			实际值	理论值					
27a	66.489	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.149 3 [*]	609.146 1	5.2	609.151 4, 301.036 8	芦丁 ^Δ	黄酮	
27b	66.549	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	1 153.267 6 [*]	1 153.261 9	4.9	287.054 1, 575.122 8, 577.149 6, 865.176 2	isocinnamtannin A2	鞣质	2-3,7
27c	66.983	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.204 7 [*]	865.198 5	7.1	713.167 8, 125.023 4, 287.054 4, 289.068 8	儿茶素-(4β→8)-儿茶素-(4β→8)-表儿茶素	鞣质	2-3,7
28	68.576	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₃	481.102 3 [*]	481.098 8	7.1	481.102 3, 315.074 2, 153.018 9, 437.098 2	表没食子儿茶素-7-葡萄糖醛酸	黄酮	2-3
29	81.460	C ₃₁ H ₃₆ O ₁₆	663.198 2 [*]	663.193 1	7.8	663.209 5, 145.028 7, 175.037 7	3-阿魏酰基-6'-对香豆酰基蔗糖	苯丙素苷	3
30a	84.021	C ₃₂ H ₃₆ O ₁₆	675.197 1 [*]	675.193 1	6.0	675.204 2, 145.029 7, 487.150 9, 529.165 7	6-乙酰基-3',6'-二对香豆酰基蔗糖	苯丙素苷	2-3,7
30b	84.070	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	312.125 3 [*]	312.124 1	5.7	312.126 5, 148.053 5, 178.051 2	<i>N</i> -cis-feruloyltramine	生物碱	2-3,7
31	90.422	C ₃₉ H ₄₀ O ₁₇	815.201 7 [#]	815.196 0	7.1	145.028 7, 633.185 1, 779.228 4	hydropiperoside	苯丙素苷	3
32a	93.251	C ₃₆ H ₄₀ O ₁₈	795.198 4 [#]	795.190 9	9.5	145.028 8, 759.223 8	tatariside A	苯丙素苷	3
32b	93.430	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.235 1 [*]	329.233 3	5.3	329.237 0, 211.135 0, 171.103 3, 229.145 3	9,10,13-trihydroxy-11-octadecadienoic acid	有机酸	3
33a	95.761	C ₅₀ H ₅₀ O ₂₁	1 021.261 7 [#]	1 021.253 9	7.7	985.297 2, 145.029 4	lapathoside A	苯丙素苷	2-3,7
33b	95.940	C ₄₄ H ₄₆ O ₂₀	929.236 0 [#]	929.227 6	9.0	145.028 4, 893.270 9	tatariside B	苯丙素苷	2-3,7,12
33c	96.107	C ₅₁ H ₅₂ O ₂₂	1 051.281 6 [#]	1 051.264 4	16.3	1 015.300 9, 145.029 2	lapathoside B	苯丙素苷	2-3,7

*-准分子离子为[M-H]⁻; #-准分子离子为[M+Cl]⁻; &-准分子离子为 1/2[M-2H]²⁻; \$-根据丰度排列; Δ-通过对照品比对确认。

*-quasimolecular ion is [M-H]⁻; #-quasimolecular ion is [M+Cl]⁻; &-quasimolecular ion is 1/2[M-2H]²⁻; \$-sequencing according to the abundance;

Δ-confirmed by comparison with reference substances.

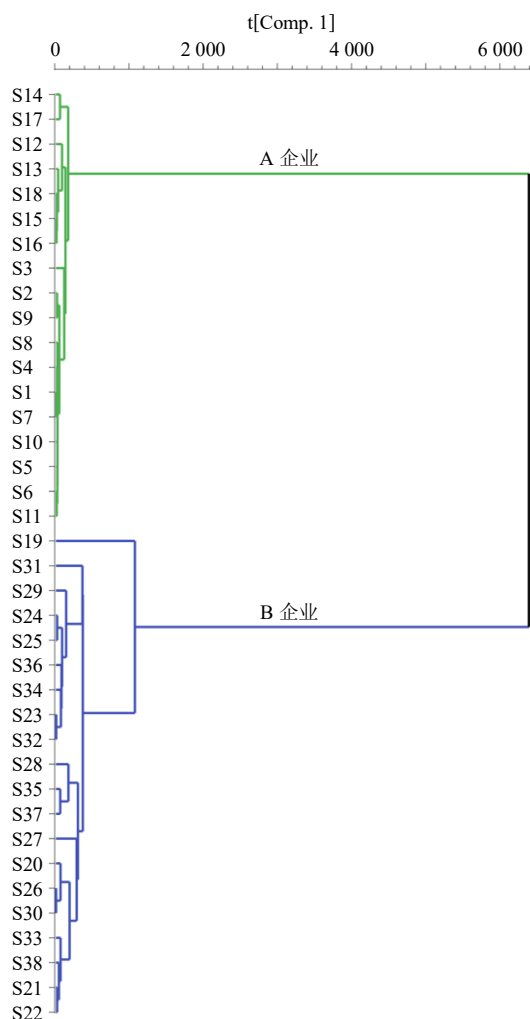


图 3 38 批金荞麦片聚类分析结果

Fig. 3 Cluster analysis results of 38 batches FDRT

入 SIMCA 14.1 软件进行 PCA，建立的模型累积模型解释率 R^2_{Xcum} 为 0.894，累积模型预测能力 Q^2_{Xcum} 为 0.890，表明建立的模型可以解释 89.4% 的原始信息，且 R^2_{Xcum} 和 Q^2_{Xcum} 均大于 0.5，表明建立的模型稳定可靠。得到的 38 批样品的得分散点图（图 4）显示，S1~S18（A 企业产品）和 S19~S38（B 企业产品）分别聚集在 2 个不同区域，与 HCA 结果一致，也提示 2 家企业生产的金荞麦片存在明显质量差异。

2.2.11 正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA）
OPLS-DA 是一种有监督的分析方法，在输入样本时需要人为给定分类标签，从而建立分类模型，OPLS-DA 可以有效地对组间观察值进行区分，并且能够

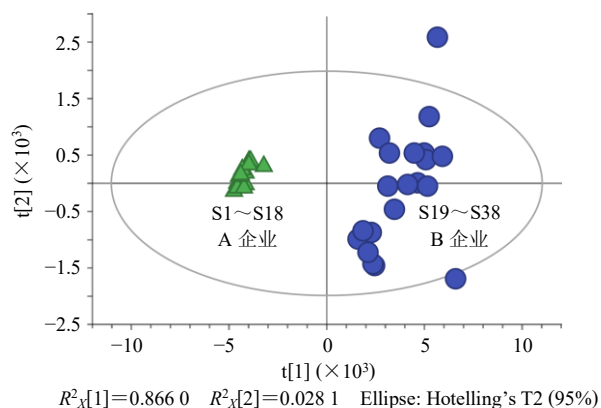


图 4 38 批金荞麦片的 PCA 得分散点图

Fig. 4 PCA score scatter chart of 38 batches of FDRT

找到导致组间区别的差异性变量^[17]。为进一步筛选对金荞麦片质量影响较大的成分,在 PCA 基础上,将其分为 A 企业产品 (S1~S18) 和 B 企业产品 (S19~S38) 2 组,以“2.2.6”项下计算所得 38 批金荞麦片的 33 个量化共有峰峰面积为变量,采用 SIMCA 14.1 软件建立 OPLS-DA 模型,该模型参数 $R^2_{Xcum}=0.893$, $R^2_{Ycum}=0.978$, $Q^2_{cum}=0.958$, 均 >0.5 , 表明该模型具有较高的稳定性和预测性。OPLS-DA 模型得分图 (图 5) 中 38 批金荞麦片较好地分为 2 类, S1~S18 (A 企业产品) 为一类, S19~S38 (B 企业产品) 为另一类,与 HCA 和 PCA 结果一致。

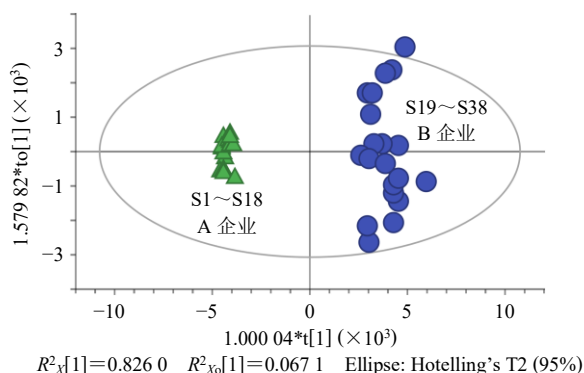


图 5 38 批金荞麦片的 OPLS-DA 得分散点图

Fig. 5 OPLS-DA score scatter chart of 38 batches of FDRT

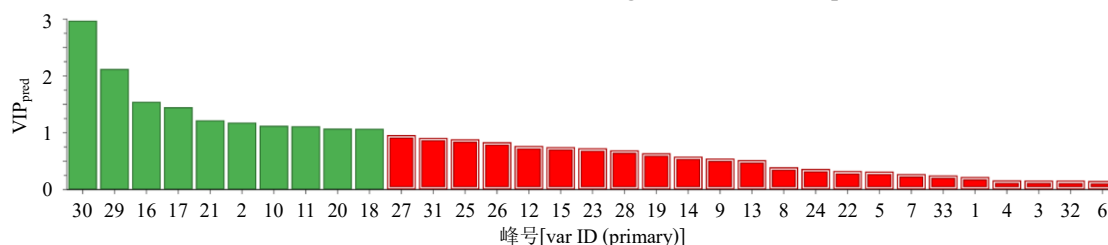


图 7 33 个共有峰的 VIP 值

Fig. 7 VIP value of 33 common peaks

青素 B4 和京尼平苷)、17 (原花青素 C2、B2)、2 (没食子酸)、21 (原花青素 C1)、10 (原花青素 B1)、11 (原花青素 B3)、18 (arecatannin C1 和 14,15-dioxo-5,8,11,14-tetraoxa-octadecane-1,18-dioic acid)、峰 20 (表儿茶素) 和峰 27 [芦丁、isocinnamtannin A2 和儿茶素-(4 β →8)-儿茶素-(4 β →8)-表儿茶素], 提示这些共有峰包含的成分是引起 2 家企业产品质量差异的标志性成分。

2.3 金荞麦片中 9 个成分定量测定与结果分析

2.3.1 色谱条件 同“2.2.1”项。该条件下的金荞麦片及混合对照品色谱图见图 8。

2.3.2 线性关系考察 分别吸取定量测定用混合

为防止模型出现过度拟合,通过 200 次置换检验对模型内部进行验证,置换后的 R^2 、 Q^2 分别为 0.185、-0.391,表明该模型稳定可靠,可用于 2 家企业金荞麦片产品的分析,结果见图 6。

OPLS-DA 模型中的变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 图见图 7, VIP 值越大表示该变量对样品分类的贡献越大,一般以 $VIP>1$ 表示对样品质量影响具有统计学意义^[18]。图 7 结果显示, $VIP>1$ 的共有峰有 11 个,根据 VIP 值大小依次为峰 30 (6-乙酰基-3',6'-二对香豆酰基蔗糖和 *N-cis-feruloyltramine*)、29 (3-阿魏酰基-6'-对香豆酰基蔗糖)、16 ([儿茶素-(4 α →8)]₃-儿茶素(4S)、原花

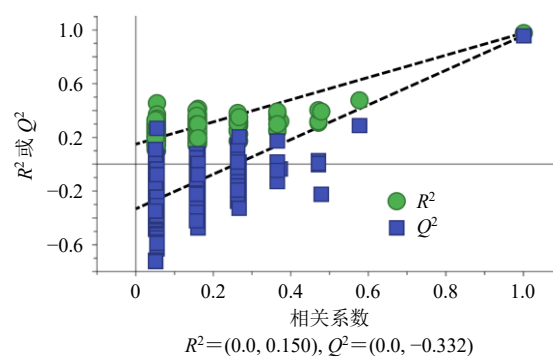
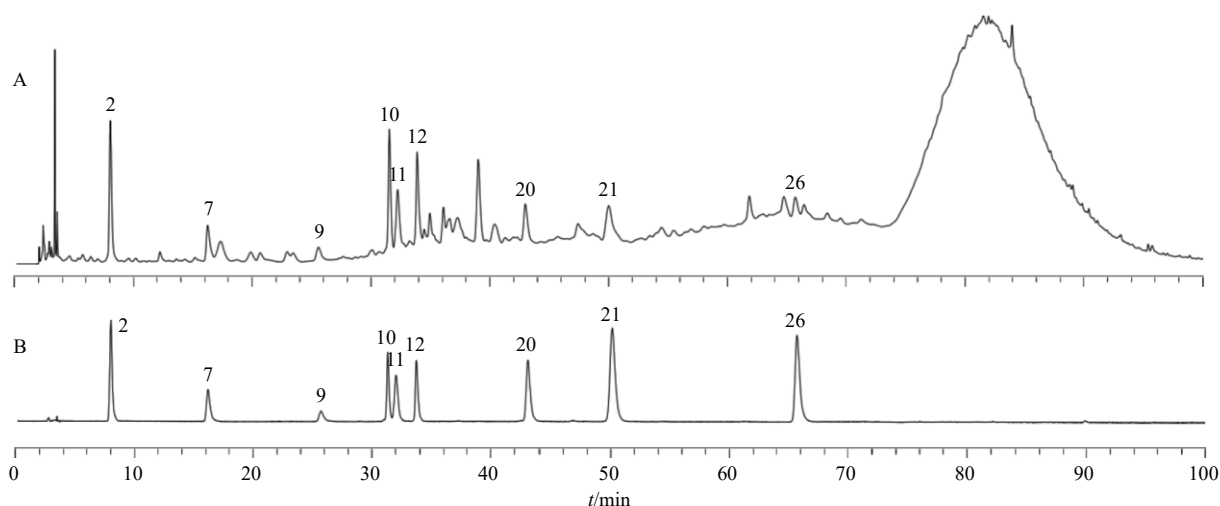


图 6 PLS-DA 模型的 200 次置换检验结果

Fig. 6 Results of 200 permutation tests of PLS-DA model

对照品溶液 1~6, 各 30 μ L, 进样测定,以峰面积 (Y) 对进样量 (X) 进行线性回归处理,得到 9 个成分的线性回归方程及线性范围分别为没食子酸 $Y=2\,443\,241 X-3\,282$, $r=0.999\,9$, 线性范围 61.215~3\,060.750 ng; 原儿茶酸 $Y=1\,424\,656 X-15\,956$, $r=0.999\,9$, 线性范围 51.765~2\,588.250 ng; 原儿茶醛 $Y=4\,179\,072 X-18\,719$, $r=0.999\,9$, 线性范围 7.515~375.750 ng; 原花青素 B1 $Y=635\,497 X-50\,972$, $r=0.999\,9$, 线性范围 180.24~9\,012.00 ng; 原花青素 B3 $Y=670\,946 X-80\,886$, $r=0.999\,9$, 线性范围 189.36~9\,468.00 ng; 儿茶素 $Y=640\,535 X-23\,878$, $r=0.999\,9$, 线性范围 166.488~8\,324.400



2-没食子酸; 7-原儿茶酸; 9-原儿茶醛; 10-原花青素 B1; 11-原花青素 B3; 12-儿茶素; 20-表儿茶素; 21-原花青素 C1; 26-表儿茶素没食子酸酯。
2-gallic acid; 7-protocatechuic acid; 9-protocatechualdehyde; 10-procyanidin B1; 11-procyanidin B3; 12-catechin; 20-epicatechin; 21-procyanidin C1; 26-epicatechin gallate.

图 8 金荞麦片 (A) 及混合对照品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC of FDRT (A) and mixed reference substances (B)

ng; 表儿茶素 $Y=661\ 931\ X-26\ 122$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 $238.368\sim11\ 918.400$ ng; 原花青素 C1 $Y=631\ 157\ X-267\ 402$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 $628.200\sim31\ 410.000$ ng; 表儿茶素没食子酸酯 $Y=1\ 056\ 953\ X-90\ 574$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 $256.752\sim12\ 837.600$ ng。

2.3.3 检测限和定量限考察 将定量测定用混合对照品溶液 6 逐步稀释后进样测定, 以信噪比 3:1、10:1 分别进行检测限和定量限测定, 结果没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B1、原花青素 B3、儿茶素、表儿茶素、原花青素 C1、表儿茶素没食子酸酯的检测限分别为 5.694、20.930、5.429、88.676、137.028、50.835、67.797、437.767、93.091 ng, 定量限分别为 12.796、32.234、6.764、109.359、167.132、89.998、101.232、476.008、115.403 ng。

2.3.4 精密度试验 吸取 30 μL 定量测定用混合对照品溶液 3, 第 1 天连续 6 次进样测定进行日内精密度考察, 第 1~3 天每天进样测定 2 次进行日间精密度考察, 记录没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B1、原花青素 B3、儿茶素、表儿茶素、原花青素 C1、表儿茶素没食子酸酯 9 个成分的峰面积积分值, 计算其 RSD, 结果日内精密度 RSD 分别为 1.02%、1.75%、2.32%、1.67%、2.12%、1.33%、1.13%、1.11%、0.85%, 日间精密度 RSD 分别为 1.29%、1.61%、2.22%、1.27%、3.69%、0.98%、1.06%、1.12%、0.97%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 提取“2.2.4”项下测定的色谱图, 按照“2.3.4”项下方法记录没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B1、原花青素 B3、儿茶素、表儿茶素、原花青素 C1、表儿茶素没食子酸酯 9 个成分的峰面积积分值, 计算其 RSD, 结果分别为 4.11%、2.85%、4.35%、2.91%、2.21%、2.49%、1.77%、2.75%、0.85%, 结果表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验 提取“2.2.5”项下测定的色谱图, 按照“2.3.4”项下方法记录没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B1、原花青素 B3、儿茶素、表儿茶素、原花青素 C1、表儿茶素没食子酸酯 9 个成分的峰面积积分值, 代入回归方程计算 6 次测定的平均质量分数及其 RSD, 结果 9 个成分质量分数的 RSD 分别为 1.86%、2.39%、3.30%、1.48%、2.10%、2.16%、2.11%、2.69%、1.39%, 表明样品处理方法的重复性较好。

2.3.7 加样回收率试验 取 S30 粉末 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用移液枪分别精密添加适量体积“2.1.3”项下配制的 9 个对照品储备液 (各成分添加量约等于样品中的量), 其余按“2.1.1”项下供试品溶液制备方法操作, 按样品测定方法进样测定, 计算 9 个成分的加样回收率及其 RSD 值。结果没食子酸、原儿茶酸、原儿茶醛、原花青素 B1、原花青素 B3、儿茶素、表儿茶素、原花青素 C1 和表儿茶素没食子酸酯的平均加样回收

率分别为 102.23%、100.23%、98.96%、98.19%、97.32%、101.50%、98.28%、99.13%、97.95%，RSD 分别为 1.46%、0.66%、1.30%、1.69%、1.34%、2.33%、1.37%、1.36%、1.53%。

2.3.8 样品定量测定与结果分析

提取“2.2.6”项

下测定的 S1~S38 样品的色谱图，记录 9 个待测成分的峰面积积分值，代入回归方程计算样品中各成分的含量，结果见表 4。

使用 IBM SPSS 25.0 软件对表 4 中 A 企业生产

的 18 批次金荞麦片 (S1~S18) 和 B 企业生产的 20

表 4 金荞麦片中 9 个成分含量测定结果

Table 4 Results of determination of nine constituents in FDRT

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
编号	没食子酸	原儿茶酸	原儿茶醛	原花青素 B1	原花青素 B3	儿茶素	表儿茶素	原花青素 C1	表儿茶素没食子酸酯
S1	0.187	0.227	0.011	0.154	0.188	0.492	0.180	0.341	0.073
S2	0.194	0.162	0.017	0.147	0.144	0.444	0.340	0.436	0.070
S3	0.205	0.307	0.024	0.152	0.170	0.512	0.295	0.326	0.058
S4	0.182	0.221	0.013	0.170	0.169	0.526	0.382	0.496	0.116
S5	0.160	0.150	0.014	0.113	0.139	0.375	0.252	0.336	0.065
S6	0.132	0.161	0.011	0.121	0.140	0.388	0.275	0.380	0.085
S7	0.201	0.188	0.016	0.179	0.199	0.576	0.334	0.454	0.081
S8	0.193	0.184	0.016	0.129	0.157	0.429	0.278	0.375	0.071
S9	0.116	0.110	0.010	0.121	0.135	0.385	0.293	0.362	0.072
S10	0.122	0.118	0.009	0.095	0.116	0.306	0.223	0.317	0.069
S11	0.152	0.177	0.016	0.108	0.121	0.343	0.256	0.351	0.069
S12	0.107	0.086	0.011	0.119	0.126	0.198	0.325	0.512	0.097
S13	0.116	0.082	0.009	0.130	0.130	0.223	0.360	0.526	0.098
S14	0.294	0.316	0.046	0.194	0.198	0.417	0.450	0.604	0.145
S15	0.198	0.170	0.013	0.110	0.118	0.200	0.276	0.479	0.128
S16	0.092	0.064	0.007	0.123	0.109	0.184	0.356	0.507	0.090
S17	0.173	0.069	0.010	0.124	0.104	0.186	0.419	0.700	0.120
S18	0.104	0.067	0.008	0.127	0.109	0.177	0.358	0.559	0.092
S19	0.465	0.313	0.060	1.622	1.086	1.255	1.027	1.425	0.377
S20	0.399	0.283	0.033	0.746	0.832	1.157	1.384	1.456	0.214
S21	0.285	0.167	0.037	0.870	0.972	1.082	1.361	1.635	0.426
S22	0.439	0.307	0.058	0.787	0.836	1.045	1.210	1.441	0.465
S23	0.508	0.329	0.053	0.757	0.551	1.108	1.199	1.279	0.378
S24	0.282	0.175	0.045	0.963	0.629	0.607	0.668	0.806	0.305
S25	0.494	0.267	0.054	0.719	0.749	0.982	1.054	1.179	0.357
S26	0.275	0.177	0.024	0.798	0.835	0.975	1.126	1.459	0.514
S27	0.385	0.143	0.044	0.904	0.878	0.479	0.678	0.948	0.368
S28	0.456	0.215	0.042	0.620	0.532	0.670	0.886	1.216	0.403
S29	0.419	0.302	0.045	0.772	0.757	0.936	0.949	1.229	0.263
S30	0.386	0.325	0.039	0.698	0.739	1.026	1.140	1.311	0.258
S31	0.366	0.174	0.039	0.551	0.616	0.806	1.038	1.253	0.216
S32	0.365	0.176	0.027	0.589	0.932	0.972	1.077	1.402	0.209
S33	0.354	0.123	0.041	0.880	0.827	0.429	0.578	0.886	0.191
S34	0.328	0.254	0.040	0.963	0.605	0.742	0.624	0.949	0.258
S35	0.411	0.203	0.043	0.952	0.841	0.467	0.656	0.944	0.245
S36	0.325	0.225	0.047	0.978	0.879	0.524	0.682	0.994	0.291
S37	0.439	0.247	0.043	0.913	0.841	0.914	0.869	1.431	0.373
S38	0.426	0.208	0.038	0.958	0.925	0.962	1.141	1.750	0.421

次金荞麦片(S19~S38)中 9 个成分的含量测定结果进行统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 2 组独立样本 t 检验对结果进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义,结果(表 5)显示,B 企业生产的金荞麦片中 9 个成分的含量均明显高于 A 企业($P < 0.01$)。

表 5 2 家企业生产的金荞麦片中 9 个成分含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of content of nine constituents in FDRT produced by two companies ($\bar{x} \pm s$)

企业	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	没食子酸	原儿茶酸	原儿茶醛	原花青素 B1	原花青素 B3	儿茶素	表儿茶素	原花青素 C1	表儿茶素没食子酸酯
A	0.163±0.050	0.159±0.076	0.015±0.009	0.134±0.026	0.143±0.031	0.353±0.133	0.314±0.068	0.448±0.108	0.089±0.024
B	0.390±0.068*	0.231±0.064*	0.042±0.009*	0.852±0.224*	0.793±0.146*	0.857±0.250*	0.967±0.250*	1.250±0.260*	0.327±0.094*

与 A 企业比较: * $P < 0.01$ 。

* $P < 0.01$ vs company A.

3 讨论

3.1 指纹图谱共有峰成分鉴定及定量测定成分的确定

本研究在前期文献整理基础上,购买了市场上能买到的金荞麦片中可能存在的 17 个成分的对照品,用于金荞麦片的 Q-TOF-MS/MS 成分比对,结果未在金荞麦片中检测到原花青素 A1(混合对照品总离子流图中保留时间 60 min 左右,图 2,下同)、槲皮苷(保留时间 78 min 左右)和金丝桃苷(保留时间与芦丁基本相同),检测到了原花青素 A2(保留时间 70 min 左右)和槲皮素(保留时间 87 min 左右),但都不是共有峰成分。

研究过程中虽然在卢欢^[19]测定金荞麦药材和饮片 HPLC 指纹图谱时考察的色谱条件基础上进行了多次优化,但仍发现部分色谱峰的成分很难有效分离。根据 Peak View 分析软件提供的不同保留时间分子离子峰的质谱数据从金荞麦片指纹图谱 33 个共有峰中鉴定了 53 个成分,发现 6 个共有峰存在 3 个重叠成分,8 个共有峰存在 2 个重叠成分,其中共有峰 17 的 2 个重叠成分原花青素 C2 和 B2 通过对照品比对确认。

模式识别分析结果表明,指纹图谱共有峰 30、29、16、17、2、21、10、11、18、20、27 对应的成分是引起 2 家企业生产的金荞麦片质量差异的标志性成分,理论上含量测定应选择这些成分,但共有峰 30、16、17、18 和 27 存在重叠成分,3-阿魏酰基-6'-对香豆酰基蔗糖(共有峰 29)市场无对照品供应,所以含量测定选择了包括没食子酸(共有峰 2)、原花青素 C1(共有峰 21)、原花青素 B1(共有峰 10)、原花青素 B3(共有峰 11)、表儿茶素(共有峰 20)在内的采用对照品比对确认且色谱峰分离较好的 3 个鞣质类成分、3 个酚类成分和 3 个黄酮类成

分 9 个成分,目前这 3 类成分也被认为是金荞麦及其制剂的主要活性成分^[2-3,7]。

3.2 金荞麦片质量差异的原因分析

根据表 5 中数据,B 企业生产的金荞麦片中 9 个成分的平均含量均高于 A 企业,从指纹图谱相似度分析结果看,同一企业不同批次产品也存在质量差异,其原因可能是所用原料不同,有研究显示,金荞麦药材的质量受产地、采收期、生长年限等多种因素的影响^[3,7,12],如 Wu 等^[12]采用液质联用技术测定了云南、贵州、四川、湖北、江苏 5 个产地 44 批金荞麦药材中原花青素 C1、表儿茶素、儿茶素、原儿茶酸、没食子酸、表儿茶素没食子酸酯等 24 个成分的含量,结果发现不同产地的金荞麦中这些成分的含量差异很大,以原花青素 C1 为例,以上 5 个产地的质量分数分别为 1.867、1.199、0.703、0.713、1.153 mg/g;本项目组^[7]前期曾采用 HPLC 指纹图谱和模式识别定性分析与多成分定量分析相结合的方法,对采用产地为江苏、云南、安徽、贵州等 8 个省的金荞麦药材加工炮制的 23 批金荞麦饮片进行了质量评价,结果发现,采用云南和贵州产金荞麦药材制备的饮片与采用其他 6 省金荞麦药材制备的饮片存在质量差异,前者的质量优于后者,这可能是由于保护植物免受强紫外线辐射和其他环境胁迫,生长在云贵高原等高海拔地区的金荞麦积累了更多的黄酮类、鞣质类等次生代谢产物^[20-21];Zhang 等^[22]甚至认为威麦宁胶囊的原料只能用云南产金荞麦。

4 结论

本研究采用 HPLC 法测定了 A、B 2 家企业生产的 38 批金荞麦片的指纹图谱,标定了共有峰 33 个,采用 Q-TOF-MS/MS 技术鉴定出了 53 个成分,以量化共有峰峰面积为变量,对指纹图谱进行了

HCA、PCA、OPLS-DA 等模式识别分析,对样品中采用对照品比对确认且分离度较好的 9 个成分进行了定量测定比较,发现 HCA、PCA 和 OPLS-DA 均明显将 A 企业和 B 企业生产的金荞麦片区分为 2 类, B 企业生产的金荞麦片中 9 个成分的平均含量均明显高于 A 企业 ($P<0.01$), 因此认为 2 家企业生产的金荞麦片存在明显质量差异。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 236.
- [2] 秦楠, 李余佳, 何梦, 等. 金荞麦标准汤剂关键质量属性传递规律研究 [J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(22): 2413-2425.
- [3] 何梦, 李余佳, 曹溢, 等. 指纹图谱定性分析与多成分定量分析相结合的 3 种金荞麦制剂质量比较 [J]. 分析测试学报, 2025, 44(12): 2449-2461.
- [4] 彭勇, 孙载明, 肖培根. 金荞麦的研究与开发 [J]. 中草药, 1996, 27(10): 629-631.
- [5] 范文起. 金荞麦药物成果鉴定会在南通市召开 [J]. 中草药, 1981, 12(7): 27.
- [6] Zhang X, Cao Y, Li J H, *et al.* Neuraminidase inhibitory activity and constituent characterization of *Fagopyrum dibotrys* [J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1998.
- [7] Cao Y, He M, Feng Y R, *et al.* Quality evaluation of decoction pieces of *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* based on HPLC fingerprint, Q-TOF-MS/MS and chemical pattern recognition qualitative analysis combined with multicomponents quantitative analysis [J]. *J Anal Meth Chem*, 2025, 2025: 2328049.
- [8] Dai Y, Dou Z H, Zhou R R, *et al.* Quality evaluation of *Artemisia capillaris* Thunb. based on qualitative analysis of the HPLC fingerprint and UFLC-Q-TOF-MS/MS combined with quantitative analysis of multicomponents [J]. *J Anal Methods Chem*, 2021, 2021: 5546446.
- [9] 李敏, 郭青, 张潇. HPLC 法同时测定金荞麦片中 6 个多酚类成分 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(4): 644-648.
- [10] Wang L Y, Geng J L, Li C J, *et al.* Quality comparison between two species of *Artemisiae Scopariae Herba* through qualitative analysis of HPLC fingerprint and quantitative analysis of 12 representative constituents [J]. *Sep Sci Plus*, 2024, 7(9): e202400077.
- [11] 窦志华, 许波, 居宇峰, 等. 栀子标准汤剂量值传递规律研究 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7162-7175.
- [12] Wu D D, Qu C, Yu D X, *et al.* Systematic profiling and quantitative comparison of chemical components in *Fagopyri Dibotryis Rhizoma* from different habitats and growing periods based on ultra-high-performance liquid chromatography with mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2024, 47(23): e70037.
- [13] Wang X J, Jiao Y K, Zhu H Y, *et al.* Exploring the anticomplement components from *Fagopyrum dibotrys* for the treatment of H1N1-induced acute lung injury by UPLC-Triple-TOF-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 223: 115158.
- [14] 周冰倩, 高喜梅, 杨颖, 等. 不同来源竹茹药材 HPLC 指纹图谱和化学计量学分析 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 853-857.
- [15] 黄芳, 周熙, 罗辉泰, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 及化学模式识别方法对陈皮的化学成分快速鉴别及产地判别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6361-6368.
- [16] 郝壮壮, 曹宇欣, 刘朦朦, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分测定结合化学计量学的不同商品规格山慈菇质量差异分析 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1935-1945.
- [17] 张智, 龙华, 曾罗, 等. 不同产地杜仲雄花指纹图谱的建立及其化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7207-7213.
- [18] 范雪花, 王艳丽, 侯富国, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学的白及与黄花白及辨识研究 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 3990-3998.
- [19] 卢欢. 金荞麦药材及饮片的质量标准研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [20] He M, He Y Q, Zhang K X, *et al.* Comparison of buckwheat genomes reveals the genetic basis of metabolomic divergence and ecotype differentiation [J]. *New Phytol*, 2022, 235(5): 1927-1943.
- [21] Zheng S H, Diao Y C, Du J, *et al.* Genomics and resequencing of *Fagopyrum dibotrys* from different geographic regions reveals species evolution and genetic diversity [J]. *Front Plant Sci*, 2024, 15: 13157.
- [22] Zhang C C, Jiang Y, Liu C Z, *et al.* Identification of medicinal compounds of *Fagopyri Dibotryis Rhizome* from different origins and its varieties using UPLC-MS/MS-based metabolomics [J]. *Metabolites*, 2022, 12(9): 790.

[责任编辑 郑礼胜]