·研究报告·

基于HPLC-QAMS多指标成分定量控制联合多元统计分析及加权TOPSIS法的食凉茶综合质量评价

周　丹[1]，徐俊燕[1]，张乐怡[1]，张晓芹[2]

1. 丽水市中医院药剂科（浙江丽水 323000）
2. 丽水市中医院药学研究中心（浙江丽水 323000）

【摘要】**目的** 高效液相—测多评（HPLC-QAMS）法测定食凉茶中 10 种成分，并联合多元统计分析和加权优劣解距离（E-TOPSIS）法评价其综合质量。**方法** 色谱柱为 COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈 -0.1% 磷酸溶液，梯度洗脱，流速为 1.0 mL · min^{-1}，检测波长为 360 nm 和 222 nm。以芦丁为参照，结合 QAMS 法，对 18 批食凉茶中东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 -3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚和夏蜡梅碱的含量进行测定。运用统计软件对 18 批食凉茶的含量数据进行化学计量分析；用 E-TOPSIS 法对食凉茶质量进行综合评价。**结果** 10 个成分均实现良好分离，并在各自的范围内与峰面积呈良好的线性关系（$r > 0.999\ 0$）；平均加样回收率为 96.98%~100.12%，$RSD < 2.0\%$（n=9）。芦丁与其他 9 个成分的平均相对校正因子分别为 2.115 7、2.592 4、0.553 1、0.897 6、0.780 7、1.159 3、0.693 6、1.458 3 和 0.601 7，$RSD < 2.0\%$（n=6），QAMS 法和常规外标法的定量结果显示两者无显著差异。多元统计分析结果显示，2 个主成分的累计方差贡献率为 83.886%，变量重要性投影值大于 1 的为山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷、芦丁和紫云英苷。E-TOPSIS 分析结果显示，最优解的欧氏贴近度在 0.180 4~0.739 4 之间。**结论** 建立的方法简便、准确且经济实用，可全面反映食凉茶的质量差异性，能较好地控制该品种质量。

【关键词】食凉茶；高效液相—测多评法；多元统计分析；加权优劣解距离法

Comprehensive quality evaluation of Shiliang tea based on HPLC-QAMS combined with multivariate statistical analysis and E-TOPSIS method

Dan ZHOU[1], Jun-Yan XU[1], Le-Yi ZHANG[1], Xiao-Qin ZHANG[2]

1. Department of Pharmacy, Lishui Hospital of TCM, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

2. Center of Pharmaceutical Research, Lishui Hospital of TCM, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Dan ZHOU, Email: qlgdra@163.com

【Abstract】Objective To determine 10 components in Shiliang tea by high

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202306090

基金项目：国家中医药管理局科技司－浙江省中医药管理局共建科技计划项目（国中医药科技中医便函 [2022]129 号）；丽水市科技计划项目（2020SJZC068）

通信作者：周丹，主管药师，Email：qlgdra@163.com

performance liquid chromatography-quantitative analysis of multi-components with a single-marker (HPLC-QAMS), and to evaluate its comprehensive quality by multivariate statistical analysis and entropy-technique for order preference by similarity to ideal solution (E-TOPSIS). **Methods** The determination was performed on COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution and gradient elution at the flow rate of 1.0 mL·min^{-1}, and the detection wavelength was set at 360 nm and 222 nm. The contents of scopolin, scopoletin, isofraxidin, rutoside, kaempferol-3-*O*-rutinoside, astragalin, scoparone, quercetin, kaempferol and mcalycanthine in 18 batches of Shiliang tea were calculated according to QAMS using rutoside as internal reference. The content data of 18 batches of Shiliang tea were analyzed chemometrically using statistical software; the quality of Shiliang tea was evaluated comprehensively using E-TOPSIS method. **Results** Good separation was obtained for all 10 components and showed good linearity with peak area in their respective scopes (r>0.999 0). The average recovery rates were 96.98%-100.12% (RSD<2.0%, n=9). The average relative correction factors for rutoside and the other 9 components were 2.115 7, 2.592 4, 0.553 1, 0.897 6, 0.780 7, 1.159 3, 0.693 6, 1.458 3 and 0.601 7 (RSD<2.0%, n=6), and there was no significant difference between the contents obtained by QAMS and external standard method for each component. The results of multivariate statistical analysis showed that the cumulative variance contribution rate of the 2 principal components was 83.886%, and the variable importance in the projection value greater than 1 were kaempferol-3-*O*-rutinoside, rutoside and astragalin. The results of E-TOPSIS showed that the euclidean closeness of the optimal solution was between 0.180 4 and 0.739 4. **Conclusion** The method established is simple, accurate, economical and practical, which can fully reflect the quality difference of Shiliang tea and better control the quality of this variety.

【Keywords】Shiliang tea; HPLC-QAMS; Multivariate statistical analysis; E-TOPSIS

食凉茶为蜡梅科植物柳叶蜡梅 *Chimonanthus Salicifolius* S. Y. Hu 和浙江蜡梅 *Chimonanthus Zhejiangensis* M. C. Liu 的干燥叶[1]，是畲族习用中药材，在整个畲医药系统中具有独特性和民族特性。其主要成分为挥发油、黄酮类、生物碱类、香豆素类等[2-4]。食凉茶具有祛风解表、清热解毒、理气健脾、消导止泻之功效，临床用于风热表证、脾虚食滞、泄泻、胃脘痛、嘈杂、吞酸。食凉茶收载于《浙江省中药炮制规范》2015 年版[1]，但标准较为简单，含量测定项只有对挥发油的测定。中药因其多成分、多靶点的作用优势，在防治疾病方面具有独特疗效，仅靠挥发油去评价中药材的整体质量存在一定的片面性。因此，建立一个科学快捷的质量评价方法，对食凉茶的整体质量进行系统地评价具有重要意义。本试验建立了同时测定 18 批食凉茶中东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚、夏蜡梅碱 10 个成分的 HPLC 一测多评（quantitative analysis of multi-components with a single-marker, QAMS）含量测定方法，并联合多元统计分析[5-6]和加权优劣解距离法（entropy-technique for order preference by similarity to ideal solution, E-TOPSIS）[7-8]对其化学成分进行差异性研究，可为食凉茶的整体质量和品质的综合评价奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；Agilent 1200 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；FA2004G 型电子天平（上海花潮实业有限公司）；4020P 型超声波清洗器（韩国 JAC 公司）。

1.2 试药

对照品：东莨菪内酯（批号：110768-202105，含量 99.7%）、异嗪皮啶（批号：110837-202009，含量 99.8%）、滨蒿内酯（批号：111511-201704，含量 99.9%）、槲皮素（批号：100081-201610，含量 99.1%）、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷（批号：112007-202103，含量 94.0%）、山柰酚（批号：110861-202214，含量 97.4%）、芦丁（批号：100080-202012，含量 91.6%）均购自中国食品药品检定研究院；东莨菪苷（批号：CFS202201，含量≥ 98.0%）、紫云英苷（批号：CFS202202，含量≥ 98.0%）和夏蜡梅碱（批号：CFS201701，含量≥ 98.0%）均购自武汉天植生物技术有限公司；食凉茶样品信息见表 1；乙腈和磷酸为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为自制纯化水。

表1 样品采集地信息

Table 1. Information of sample collection places

编号	采集地	采收时间	编号	采集地	采收时间
S1	浙江省遂昌县	2021年6月	S10	江西婺源县	2022年5月
S2	浙江省庆元县	2021年5月	S11	江西修水县	2022年6月
S3	浙江省庆元县	2021年6月	S12	江西玉山县	2022年7月
S4	浙江省庆元县	2021年9月	S13	江西广丰县	2022年9月
S5	浙江省松阳县	2021年7月	S14	福建松溪县	2022年5月
S6	浙江省松阳县	2021年6月	S15	福建将乐县	2022年4月
S7	浙江省云和县	2021年6月	S16	福建将乐县	2022年4月
S8	安徽省休宁县	2022年5月	S17	福建浦城县	2022年6月
S9	安徽省休宁县	2022年7月	S18	福建寿宁县	2022年5月

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 HPLC 法，色谱柱为 COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm），流动相为乙腈（A）-0.1% 磷酸溶液（B）[9-11]，梯度洗脱（0~12 min，15.0%A；12~22 min，15.0%→18.0%A；22~34 min，18.0%→43.0%A；34~46 min，43.0%→57.0%A；46~53 min，57.0%→65.0%A；53~60 min，65.0%→15.0%A）；检测波长：0~46 min，360 nm 检测东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素和山柰酚 [12-15]，46~60 min，222 nm 检测夏蜡梅碱 [16]；流速为 1.0 mL · min^{-1}，柱温为 30℃，进样体积为 10 μL。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取各对照品，用 70% 甲醇溶解并制成每 mL 分别含东莨菪苷 0.112 0 mg、东莨菪内酯 0.276 0 mg、异嗪皮啶 0.928 0 mg、芦丁 4.120 0 mg、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷 6.730 0 mg、紫云英苷 2.956 0 mg、滨蒿内酯 0.414 0 mg、槲皮素 0.732 0 mg、山柰酚 0.328 0 mg、夏蜡梅碱 0.840 0 mg 的对照品贮备液；再将对照品贮备液用 70% 甲醇稀释 20 倍制得每 mL 含东莨菪苷 5.60 μg、东莨菪内酯 13.80 μg、异嗪皮啶 46.40 μg、芦丁 206.00 μg、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷 336.50 μg、紫云英苷 147.80 μg、滨蒿内酯 20.70 μg、槲皮素 36.60 μg、山柰酚 16.40 μg 和夏蜡梅碱 42.00 μg 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取食凉茶粉末（过 4 号筛）约 1.0 g，置锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 25 mL，密塞，称定重量，超声（功率：400 W，频率：40 kHz）提取 30 min，放冷，70% 甲醇补足重量，摇匀，过滤，取续滤液即得。

2.4 外标法方法学考察的建立

2.4.1 系统适用性试验

分别精密量取空白溶剂（70% 甲醇）、混和对照品溶液和供试品溶液各 10 μL，按“2.1”项下方法进样测定，记录色谱图。结果东莨菪苷等 10 个组分与其他组分的色谱峰分离度符合要求，供试品溶液的保留时间、峰型与对照品溶液保持一致，HPLC 色谱图见图 1。

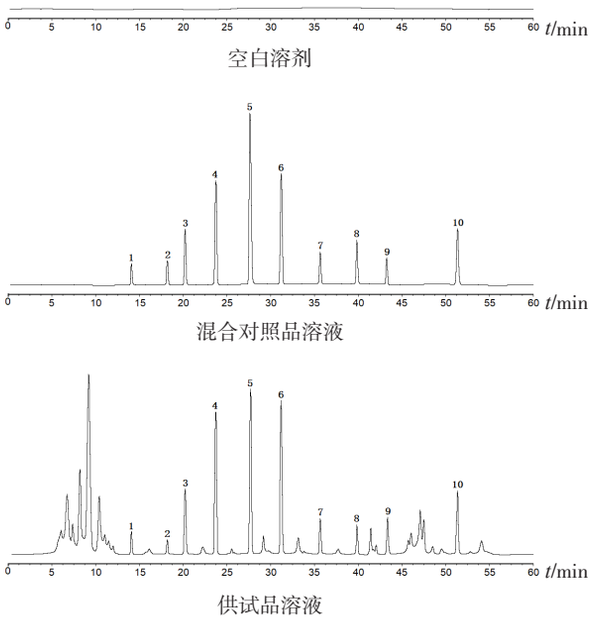

图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatograms

注：1.东莨菪苷；2.东莨菪内酯；3.异嗪皮啶；4.芦丁；5.山柰酚-3-*O*-芸香糖苷；6.紫云英苷；7.滨蒿内酯；8.槲皮素；9.山柰酚；10.夏蜡梅碱

2.4.2 线性关系考察

精密吸取“2.2”项下对照品贮备液，经70%甲醇适当稀释，得到6个系列浓度的混合对照品工作液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，以待测成分质量浓度为横坐标（X，μg·mL^{-1}），峰面积积分值为纵坐标（Y）进行线性回归，结果见表2。东莨菪苷等10个成分在各自的线性范围内与峰面积的线性关系良好。

2.4.3 精密度试验

称取同一份食凉茶（编号：S1），按“2.3”项下方法制备供试品溶液，平行进样6次，结果东莨菪苷等10个成分峰面积的*RSD*依次为1.49%，1.32%，1.12%，0.89%，0.68%，0.96%，1.27%，1.14%，1.23%，1.08%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验

称取6份食凉茶（编号：S1），分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.1”项下色谱条件进样测定，用外标法计算东莨菪苷等10个成分的平均含量，分别为0.105 1，0.277 7，1.080 3，4.760 8，8.974 3，3.958 6，0.432 2，0.768 9，0.332 0，0.974 6 mg·g^{-1}，各成分含量的*RSD*依次为1.51%，1.33%，1.13%，0.85%，0.67%，0.97%，1.26%，1.17%，1.19%，1.10%（n=6），表明该法重复性良好。

表2 各组分线性关系

Table 2. Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围（μg·mL^{-1}）	r
东莨菪苷	Y=1.867 7×10^6X−867.2	0.56~28.00	0.999 1
东莨菪内酯	Y=1.523 3×10^6X+319.8	1.38~69.00	0.999 3
异嗪皮啶	Y=7.190 9×10^6X+1 954.6	4.64~232.00	0.999 5
芦丁	Y=3.984 7×10^6X−1 211.5	20.60~1 030.00	0.999 5
山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	Y=4.425 2×10^6X+793.5	33.65~1 682.50	0.999 4
紫云英苷	Y=5.133 1×10^6X−1 681.5	14.78~739.00	0.999 7
滨蒿内酯	Y=3.429 0×10^6X+2 216.3	2.07~103.50	0.999 5
槲皮素	Y=5.703 9×10^6X−586.1	3.66~183.00	0.999 1
山柰酚	Y=2.714 2×10^6X−1 262.7	1.64~82.00	0.999 2
夏蜡梅碱	Y=6.608 1×10^6X+1 606.0	4.20~210.00	0.999 4

2.4.5 稳定性试验

取同一份供试品溶液（编号：S1），于制备后0，2，4，7，12，18，24，36 h按“2.1”项下色谱条件进样测定，结果东莨菪苷等10个成分峰面积的*RSD*依次为1.89%，1.67%，1.48%，1.16%，1.29%，1.35%，1.69%，1.56%，1.78%，1.41%（n=8），表明食凉茶供试品溶液在36 h内稳定性良好。

2.4.6 加样回收试验

精准称取 9 份已知含量的食凉茶（编号：S1）细粉（过 4 号筛）0.5 g，分别按 80%，100%，120% 的 3 个不同水平精密加入混合对照品溶液（取东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 -3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚、夏蜡梅碱对照品适量，用 70% 甲醇制成质量浓度分别为 0.057 1，0.141 0，0.531 8，2.359 0，4.480 8，1.932 0，0.215 9，0.374 1，0.160 7，0.489 2 mg · mL^{-1} 的混合溶液），再按“2.3”项方法制备供试品溶液，每个水平 3 份；按“2.1”色谱条件进样，结果 10 个成分的平均加样回收率分别为 96.98%（*RSD*=1.44%），97.78%（*RSD*=0.95%），99.05%（*RSD*=1.02%），100.12%（*RSD*=0.73%），99.86%（*RSD*=0.89%），100.03%（*RSD*=0.86%），98.35%（*RSD*=1.13%），99.48%（*RSD*=0.96%），97.30%（*RSD*=1.02%），100.01%（*RSD*=1.32%）（*n*=9）。

2.5 相对校正因子的建立与考察

分别精准量取“2.4.2”项下 6 个混合对照品工作液，按“2.1”项下色谱条件进样，以芦丁为内参物，按以下公式计算芦丁与其他组分间的相对校正因子（f_{is}）：$f_{is}=W_iA_s/W_sA_i$，其中 W_i 和 W_s 分别代表内参物和其他待测组分的质量浓度，A_i 和 A_s 分别代表内参物和其他待测组分的峰面积。相对校正因子结果见表 3。

2.6 相对校正因子重现性考察

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，考察 3 种色谱柱（COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II、Venusil XBP C_{18} 和 Lichrospher C_{18}）分别在 Waters e2695 型和 Agilent 1200 型高效液相色谱仪不同条件下检测对相对校正因子的影响，以芦丁为内参物，计算芦丁与另外 9 个组分的相对校正因子（表 4）。结果表明上述色谱仪和色谱柱对相对校正因子无显著影响。

2.7 待测成分色谱峰定位选择

记录“2.6”项下测定的 10 个成分色谱峰保留时间，以内参物芦丁色谱峰为基准峰，计算以另外 9 个待测成分与芦丁的相对保留时间，对比考察仪器和色谱柱对相对保留时间的影响（表 5）。结果表明相对保留时间的均值可用于对目标组分色谱峰进行准确定位（*RSD* 均小于 2.0%）。

2.8 HPLC-QAMS法与外标法含量测定比较

精密吸取 18 批食凉茶（编号：S1~S18）供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，分别运用外标法和相对校正因子计算含量，再运用 SPSS 26.0 软件中独立样本 *t* 检验对各组分两种方法所得数据进行统计分析（表 6），结果显示两种方法差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

2.9 食凉茶化学计量学质量分析的建立

2.9.1 主成分分析

以 18 批食凉茶样品中 10 个成分的 HPLC-QAMS 法测定的含量数据为变量，运用 SPSS 26.0 软件和 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析（principal component analysis, PCA），构建 PCA 图（图 2）。结果显示前 2 个主成分特征值均大于 1，累计方差贡献率达 83.886%，显示同一产地的食凉茶分布较为接近。由食凉茶主成分因子负荷矩

表3 样品中待测组分的相对校正因子

Table 3. The relative correction factors of the component to be measured in the sample

混合对照品工作液	东莨菪苷	东莨菪内酯	异嗪皮啶	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	紫云英苷	滨蒿内酯	槲皮素	山柰酚	夏蜡梅碱
1	2.075 9	2.544 6	0.556 7	0.899 1	0.798 5	1.147 5	0.689 6	1.448 6	0.599 7
2	2.089 7	2.572 7	0.550 8	0.896 6	0.783 2	1.158 4	0.682 3	1.444 8	0.601 8
3	2.110 0	2.557 0	0.544 5	0.881 2	0.769 6	1.165 6	0.691 9	1.436 5	0.599 6
4	2.102 8	2.613 8	0.556 4	0.901 3	0.790 4	1.157 8	0.686 6	1.461 7	0.599 0
5	2.188 2	2.655 4	0.556 3	0.908 1	0.764 9	1.164 9	0.714 6	1.493 3	0.607 7
6	2.127 7	2.610 6	0.553 8	0.899 5	0.777 5	1.161 7	0.696 9	1.465 1	0.602 5
平均值	2.115 7	2.592 4	0.553 1	0.897 6	0.780 7	1.159 3	0.693 6	1.458 3	0.601 7
RSD（%，*n*=6）	1.88	1.61	0.87	1.00	1.61	0.57	1.64	1.39	0.53

表4 仪器及色谱柱对相对校正因子的影响

Table 4. Effects of instruments and chromatographic columns on the relative correction factors

考察项目		东莨菪苷	东莨菪内酯	异嗪皮啶	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	紫云英苷	滨蒿内酯	槲皮素	山柰酚	夏蜡梅碱
Waters e2695	COSMOSIL 5 C_{18}-MS-II	2.114 1	2.591 7	0.551 8	0.895 2	0.779 1	1.159 1	0.693 5	1.457 6	0.601 4
	Venusil XBP C_{18}	2.079 6	2.546 9	0.545 0	0.879 1	0.767 4	1.135 4	0.680 7	1.429 1	0.591 7
	Lichrospher C_{18}	2.185 2	2.661 2	0.559 1	0.914 5	0.803 8	1.175 2	0.716 9	1.492 8	0.607 5
Agilent 1200	COSMOSIL 5 C_{18}-MS-II	2.080 9	2.548 3	0.544 5	0.889 4	0.775 2	1.148 0	0.686 2	1.436 2	0.597 1
	Venusil XBP C_{18}	2.101 5	2.611 8	0.558 7	0.884 8	0.770 8	1.152 3	0.691 5	1.449 7	0.605 8
	Lichrospher C_{18}	2.139 4	2.608 5	0.554 7	0.900 3	0.792 7	1.160 9	0.694 8	1.453 3	0.600 3
平均值		2.116 8	2.594 7	0.552 3	0.893 9	0.781 5	1.155 2	0.693 9	1.453 1	0.600 6
RSD（%，*n*=6）		1.90	1.67	1.17	1.41	1.79	1.16	1.79	1.53	0.96

表5 仪器及色谱柱对相对保留时间的影响

Table 5. Effects of instruments and chromatographic columns on the relative retention time

考察项目		东莨菪苷	东莨菪内酯	异嗪皮啶	山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	紫云英苷	滨蒿内酯	槲皮素	山柰酚	夏蜡梅碱
Waters e2695	COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II	0.592 2	0.767 3	0.852 5	1.165 9	1.318 0	1.506 9	1.684 3	1.829 5	2.172 8
	Venusil XBP C_{18}	0.598 6	0.779 1	0.860 9	1.179 1	1.320 6	1.518 1	1.689 6	1.834 9	2.186 1
	Lichrospher C_{18}	0.609 5	0.789 5	0.869 2	1.196 4	1.339 1	1.522 6	1.707 5	1.843 1	2.203 3
Agilent 1200	COSMOSIL®5 C_{18}-MS-II	0.583 1	0.751 6	0.840 9	1.141 0	1.300 9	1.491 3	1.661 8	1.813 4	2.157 5
	Venusil XBP C_{18}	0.591 7	0.760 1	0.851 1	1.157 2	1.308 7	1.506 4	1.665 2	1.812 9	2.161 1
	Lichrospher C_{18}	0.598 4	0.767 4	0.857 4	1.171 8	1.326 5	1.510 5	1.691 1	1.828 6	2.174 7
平均值		0.595 6	0.739 2	0.855 3	1.168 6	1.319 0	1.509 3	1.683 3	1.827 1	2.175 9
RSD（%，*n*=6）		1.49	1.75	1.12	1.62	1.02	0.72	1.02	0.65	0.78

阵（表7）可知，主成分1解释了东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、紫云英苷、滨蒿内酯、山柰酚色谱峰的信息，主成分2解释了山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、槲皮素和夏蜡梅碱的信息。

2.9.2 偏最小二乘法-判别分析分析不同产地食凉茶的质量差异志物

将18批食凉茶中10个成分HPLC-QAMS法测定的含量数据作为变量，以“2.9.1”项下各批次分类情况为依据，运用SIMCA 14.1软件构建偏最小二乘法-判别分析（partial least squares method-discriminant analysis, PLS-DA）模型，结果18批食凉茶的分类更集中（图3）。所建模型的变量解释度 R^2X=0.957，R^2Y=0.924，模型预测度 Q^2=0.867（R^2X 和 R^2Y 分别表示多元统计量分析建模时在X轴和Y轴方向上的累积解释率，Q^2 表示模型对分组的预测能力），表明此模型稳定、可靠。进一步对变量重要性投影（variable importance in the projection, VIP）值进行分析，提取模型中的各变量VIP值，以VIP值＞1为标准，共筛选出3个成分，图4显示山柰酚-3-*O*-芸香糖苷（VIP=2.145 0）、芦丁（VIP=1.451 0）、紫云英苷（VIP=1.238 0）可能是区分不同产地食凉茶的标志性成分。

表6 两种方法测定结果比较（mg·g^{-1}，n=3）

Table 6. Comparison of results by two methods(mg·g^{-1}, n=3)

成分	方法	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	P
芦丁	外标	5.613 2	5.125 3	5.941 7	5.454 9	5.287 1	5.653 0	5.771 3	6.605 8	7.043 6	6.446 1	6.287 4	6.817 7	6.114 2	4.427 6	4.748 8	4.606 0	4.268 6	4.104 3	
东莨菪苷	外标	0.141 1	0.165 0	0.113 5	0.127 6	0.118 7	0.132 1	0.123 2	0.138 1	0.145 8	0.170 9	0.148 6	0.165 7	0.155 1	0.102 3	0.106 9	0.108 7	0.100 9	0.094 2	0.737
	QAMS	0.144 3	0.169 1	0.116 3	0.131 0	0.121 7	0.134 6	0.125 8	0.140 8	0.148 7	0.175 0	0.153 2	0.170 3	0.157 7	0.100 1	0.110 3	0.111 8	0.102 6	0.095 7	
东莨菪内酯	外标	0.284 9	0.348 6	0.307 8	0.317 3	0.331 1	0.289 1	0.292 6	0.228 9	0.204 3	0.218 1	0.167 6	0.188 7	0.177 9	0.365 0	0.274 6	0.268 8	0.253 1	0.242 0	0.757
	QAMS	0.291 5	0.355 7	0.315 3	0.323 0	0.337 4	0.296 8	0.300 1	0.235 3	0.209 4	0.221 8	0.172 0	0.193 3	0.182 4	0.375 1	0.282 9	0.274 6	0.258 8	0.248 1	
异嗪皮啶	外标	0.982 3	1.204 4	1.173 0	1.051 8	1.103 7	0.991 1	1.014 9	1.390 8	1.332 0	1.475 4	1.352 2	1.445 6	1.018 7	0.920 9	1.074 4	0.943 0	0.861 4	0.895 3	0.738
	QAMS	0.998 1	1.223 3	1.191 8	1.070 2	1.130 3	1.017 4	1.036 8	1.415 7	1.353 9	1.501 6	1.384 0	1.472 2	1.040 4	0.940 1	1.104 7	0.965 3	0.877 0	0.911 2	
山柰酚-3-*O*-	外标	13.518 0	14.023 9	14.102 2	12.153 1	11.469 0	13.263 7	12.697 8	8.795 8	7.961 3	7.492 1	9.512 7	8.183 9	10.008 6	8.710 3	8.951 6	10.560 8	10.021 3	13.093 6	0.763
芸香糖苷	QAMS	13.757 1	14.351 3	14.335 6	12.406 9	11.747 0	13.610 7	12.976 6	8.999 0	8.103 3	7.695 4	9.766 8	8.339 1	10.194 7	8.922 9	9.199 0	10.715 7	10.213 6	13.333 3	
紫云英苷	外标	4.104 7	3.608 7	4.349 0	4.010 7	3.845 8	4.871 4	4.242 3	4.714 1	5.017 4	4.920 8	4.245 3	5.129 1	4.812 3	3.193 7	3.875 9	3.361 3	3.106 2	3.025 0	0.736
	QAMS	4.172 6	3.670 9	4.265 1	4.074 4	3.935 3	4.977 0	4.358 8	4.800 9	5.112 3	5.014 0	4.360 9	5.212 8	4.907 2	3.276 9	3.988 2	3.427 8	3.175 0	3.108 8	
滨蒿内酯	ESM	0.413 0	0.404 9	0.468 6	0.421 3	0.435 0	0.428 8	0.452 1	0.557 8	0.546 7	0.582 5	0.531 0	0.602 8	0.572 5	0.375 8	0.440 7	0.385 3	0.363 0	0.347 1	0.720
	QAMS	0.421 3	0.411 1	0.476 9	0.432 0	0.442 1	0.437 4	0.464 3	0.570 9	0.560 1	0.597 4	0.544 4	0.612 1	0.584 0	0.383 6	0.452 1	0.393 4	0.370 9	0.355 7	
槲皮素	外标	0.811 2	0.976 0	1.085 3	0.872 3	0.941 0	0.834 9	0.913 0	0.701 7	0.591 0	0.851 8	0.642 7	0.731 1	0.568 9	0.615 3	0.754 0	0.669 4	0.473 1	0.436 9	0.785
	QAMS	0.831 6	0.994 4	1.108 3	0.894 1	0.956 8	0.848 6	0.931 1	0.715 9	0.604 7	0.865 7	0.659 0	0.747 9	0.583 0	0.631 3	0.776 2	0.684 1	0.485 6	0.445 2	
山柰酚	外标	0.455 8	0.351 1	0.372 7	0.438 5	0.391 7	0.307 7	0.417 2	0.568 7	0.547 8	0.592 3	0.471 3	0.615 6	0.525 4	0.257 0	0.326 7	0.263 5	0.208 7	0.230 8	0.834
	QAMS	0.469 0	0.357 6	0.381 6	0.446 3	0.400 3	0.314 7	0.424 6	0.581 8	0.561 1	0.604 0	0.482 2	0.627 8	0.539 1	0.260 7	0.337 0	0.270 8	0.213 6	0.237 4	
夏蜡梅碱	外标	1.102 3	1.142 9	1.276 0	1.132 2	1.219 2	1.168 0	1.246 0	1.089 2	1.162 3	0.836 9	1.044 9	0.961 1	0.633 2	0.708 9	0.982 0	0.719 0	0.764 9	0.581 3	0.801
	QAMS	1.128 4	1.165 0	1.301 4	1.150 1	1.243 1	1.191 4	1.270 4	1.108 3	1.185 4	0.851 0	1.073 1	0.980 4	0.649 3	0.722 8	1.011 3	0.711 4	0.780 2	0.596 1	

https://zgys.whuznhmedj.com

2.9.3 加权权优劣解距离法分析

加权优劣解距离（entropy-technique for order preference by similarity to ideal solution, E-TOPSIS）法首先对18批食凉茶中10个成分的HLPC-QAMS法测定的含量数据建立原始数据矩阵，进行归一化处理，进一步得到最优、最劣方案，再计算各评价对象的正理想解距离（D_i^+）和负理想解距离（D_i^-），获得与最优方案的相对接近程度（C_i），C_i值越大，样品质量越优。结果见表8。

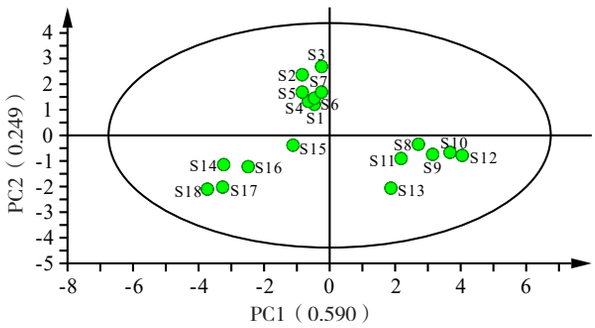

图2 18批食凉茶得分散点图

Figure 2. PCA scatter plot of 18 batches of Shiliang tea

表7 因子负荷矩阵

Table 7. Component matrix

成分	主成分	
	1	2
东莨菪苷	0.838	0.133
东莨菪内酯	−0.648	0.615
异嗪皮啶	0.892	0.071
芦丁	0.961	0.144
山柰酚-3-*O*-芸香糖苷	−0.492	0.661
紫云英苷	0.916	0.119
滨蒿内酯	0.970	−0.137
槲皮素	0.160	0.930
山柰酚	0.958	0.029
夏蜡梅碱	0.301	0.855

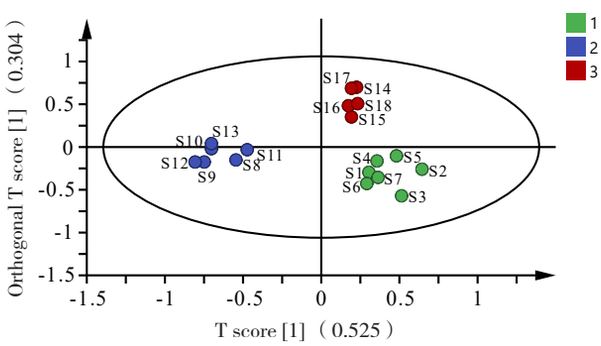

图3 不同产地食凉茶的PLS-DA模型得分图

Figure 3. PLS-DA model scatter of Shiliang tea from different production areas

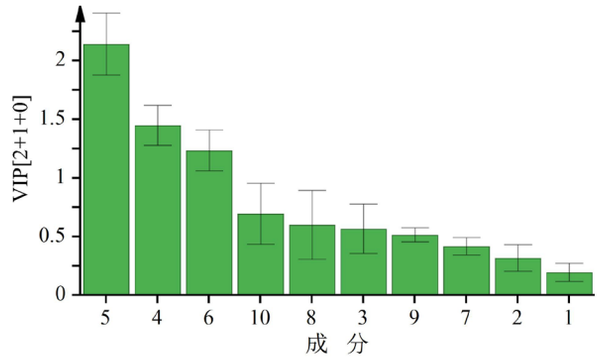

图4 PLS-DA模型中10个成分含量结果的VIP值

Figure 4. VIP values of 10 components in the PLS-DA model

表8 18批食凉茶E-TOPSIS评价结果

Table 8. E-TOPSIS evaluation results of 18 batches of Shiliang tea

编号	Di+	Di−	Ci	排序
S1	1.172 0	2.310 9	0.663 5	4
S2	1.427 4	2.405 9	0.627 6	5
S3	0.928 0	2.633 4	0.739 4	1
S4	1.352 6	1.932 6	0.588 3	6
S5	1.529 3	1.763 1	0.535 5	7
S6	1.034 7	2.451 0	0.703 2	2
S7	1.096 3	2.219 1	0.669 3	3
S8	1.820 4	1.900 0	0.510 7	8
S9	2.094 1	2.093 6	0.499 9	11
S10	2.238 0	1.888 4	0.457 6	13
S11	1.718 7	1.688 5	0.495 6	12
S12	2.014 3	2.088 9	0.509 1	9
S13	1.722 5	1.767 1	0.506 4	10
S14	2.680 9	0.590 2	0.180 4	18
S15	2.261 0	0.993 3	0.305 2	16
S16	2.242 8	1.071 4	0.323 3	15
S17	2.564 9	0.836 5	0.245 9	17
S18	2.319 5	1.821 5	0.439 9	14

3 讨论

3.1 色谱条件优化

在 HPLC 色谱分析上，流动相的选择至关重要，常规的有机相为乙腈和甲醇，水相通常为水或加酸、加碱、缓冲液体系。本试验首先对乙腈 –0.1% 磷酸溶液[9–11]、乙腈 –0.4% 磷酸溶液[12–13]、乙腈 –0.2% 磷酸溶液[14]、乙腈 –0.1% 甲酸溶液[17]、甲醇 –0.1% 磷酸溶液[18] 等流动相体系进行考察，结果以乙腈 –0.1% 磷酸溶液体系得到的色谱峰基线平稳、峰形对称，分离度较好。进而摸索了有机相与水相的洗脱比例，最终以“2.1”项下色谱条件为最优。

3.2 供试品溶液制备方式筛选

本试验在筛选优化供试品溶液的制备方式时，试验前期考察了多种提取溶剂（70% 甲醇[9–11]、70% 乙醇[12]、80% 甲醇[19]、100% 甲醇[18]）对食凉茶中东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 –3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚和夏蜡梅碱综合提取率的影响，结果显示 70% 乙醇提取时，东莨菪内酯、紫云英苷和槲皮素等成分提取率均低于 30%，提取效果较差；甲醇优于乙醇，70% 甲醇、80% 甲醇和 100% 甲醇提取时，10 个成分综合提取率无明显差异，各成分提取率均高于 80%，同时甲醇浓度越高，杂质相对较多，故选取 70% 甲醇作为提取溶剂。对超声和加热回流提取方式以及提取时间 30，45，60，70 min 进行考察，结果显示超声和加热回流提取 10 个成分综合提取率无明显差异，但加热回流提取杂质增多，同时随着提取时间的延长，杂质也会明显增加，影响色谱峰的分离和检测结果的准确性，故选择 70% 甲醇超声提取 30 min 作为食凉茶供试品溶液的制备方法。本课题组曾对供试品溶液制备时采用的定容法和称重法进行了对比考察，结果显示两种方法所得结果无明显差异，考虑到食凉茶为蜡梅科植物柳叶蜡梅和浙江蜡梅的干燥叶，质地较轻，最终确定采用称重法。加样回收试验结果显示 10 个成分的平均加样回收率达到 95% 以上，符合中国药典规定要求，表明所筛选的方法可用于食凉茶供试品溶液的制备。

3.3 含量测定结果分析

分别采用外标法和 HPLC–QAMS 法测定食凉茶中东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 –3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚、夏蜡梅碱的含量，结果显示东莨菪苷、东莨菪内酯、异嗪皮啶、芦丁、山柰酚 –3-*O*- 芸香糖苷、紫云英苷、滨蒿内酯、槲皮素、山柰酚和夏蜡梅碱含量均存在批间差异，其原因可能与产地、生长环境、采收期等有关。HPLC–QAMS 法和外标法测定结果无显著差异，HPLC–QAMS 法计算值略高于外标法，后续将扩大样品批次收集，积累数据，查找原因，进一步进行分析验证。

3.4 质量评价结果分析评价

PCA 提取出 2 个主成分的累计方差贡献率达 83.886%；PLS–DA 分析结果显示山柰酚 –3-*O*- 芸香糖苷、芦丁和紫云英苷可作为食凉茶的特征判别成分。E–TOPSIS 分析结果显示不同产地的食凉茶质量存在差异，S1~S8 排名靠前，质量较优，其中 S3 质量最优，S14 质量最差。

本研究系统全面地评价了食凉茶的综合品质，初步筛选出对产品质量具有特征性的化学成分，所建立的 HPLC–QAMS 法测定 10 个成分含量的方法稳定准确，结合多元统计分析及 E–TOPSIS 分析可用于提高和完善食凉茶的质量控制标准。本试验在不同条件下对所建立的相对校正因子进行了耐用性考察，结果显示不同色谱仪和色谱柱对相对校正因子无显著影响，本文定量检测的 10 个成分涵盖黄酮、香豆素、生物碱等多种类别，化学性质、色谱行为存在一定差异，后续将在更多型号色谱仪和色谱柱条件下，进一步验证相对校正因子的耐用性。

参考文献

1 浙江省中药炮制规范 [S]. 2015: 280–281.

2 吴艳秋，刘宇灵，林龙飞，等. 山蜡梅叶化学成分，药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中华中医药杂志，2021, 36(11): 6599–6607. [Wu YQ, Liu YL, Lin LF, et al. Research progress on chemical composition, preparation, pharmacological action and clinical application of Chimonanthus Nitens Folium[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2021, 36(11): 6599–6607.] http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7107111530.

3 于宏，汪涛涌，王建，等. 山蜡梅的化学成分及其生物活性研究进展 [J]. 药物分析杂志，2021, 41(9): 1477–1486. [Yu H, Wang TY, Wang J, et al.Research

progress of chemical compositions of *Chimonanthus nitens* Oliv. and their biological activities[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis,2021, 41(9): 1477-1486.] DOI: 10.16155/j.0254-1793.2021.09.01.

4 鄢晓琳，朱美晓，鄢连和. 食凉茶最新活性成分研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志，2014, 24(10): 941-943. [Yan XL,Zhu MX,Yan LH. Research progress on the latest active ingredients of Shiliang tea[J]. Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2014, 24(10): 941-943.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-4561.2014.10.048.

5 丁若雯，魏惠珍，吕尚，等. 基于多元统计分析的车前子药材质量等级研究[J]. 中国现代应用药学，2021, 38(6): 673-679. [Ding RW,Wei HZ, Lyu S, et al. Study on quality grade of Plantaginis Semen based on multivariate statistical analysis[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(6): 673-679.] DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.007.

6 黄慧学，胡宇婷，梁馨予，等. HPLC指纹图谱结合多元统计分析评价广西产粉葛药材质量[J]. 中药材，2022, 45(10): 2437-2441. [Huang HX, Hu YT, Liang XY, et al. Evaluation of the quality of Guangxi produced Pueraria lobata by HPLC fingerprint combined with multivariate statistical analysis[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2022, 45(10): 2437-2441.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2022.10.027.

7 石依姗，万青，汪秋兰，等. 基于熵权TOPSIS法和灰色关联度分析的藤茶药材等级研究[J]. 中草药，2022, 53(17): 5504-5512. [Shi YS, Wan Q, Wang QL, et al. Research on grades of vine tea based on entropy TOPSIS method and grey correlation analysis[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(17): 5504-5512.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.17.028.

8 赵鑫，李君君，权文越，等. 基于熵权TOPSIS评价半夏不同干燥方法对质量的影响[J]. 中药材，2022, 45(2): 327-330. [Zhao X, Li JJ, Quan WY, et al. Evaluation of the effect of different drying methods on quality of Pinellia ternata based on entropy weighted TOPSIS[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2022, 45(2): 327-330.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2022.02.012.

9 王伟影，毛菊华，王发英，等. 基于一测多评法研究畲药食凉茶黄酮类物质动态变化规律[J]. 中草药，2017, 48(12): 2532-2537. [Wang WY, Mao JH, Wang FY, et al.Study on dynamic change of flavonoids in traditional SHE medicine-Shiliang Tea by quantitative analysis of multi-components by single-marker[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(12): 2532-2537.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.027.

10 王伟影，毛菊华，余华丽，等. 畲药“食凉茶”质量标准改进[J]. 中华中医药学刊，2016, 34(1): 204-207. [Wang WY, Mao JH, Yu HL, et al. Improvement of quality standard of traditional She Medicine-Shiliangcha[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2016, 34(1): 204-207.] DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.01.057.

11 王伟影，毛菊华，张维波，等. 畲药食凉茶HPLC特征图谱和4种成分含量测定[J]. 中国现代应用药学，2017, 34(4): 557-562. [Wang WY, Mao JH, Zhang WB, et al. Study on HPLC characteristic spectrum of traditional She medicine-Shi Liang Cha and determination of four active components[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2017, 34(4): 557-562.] DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.04.018.

12 李静，贾文江，曹望弟，等. 高效液相色谱法同时测定分心木中芦丁，槲皮素，金丝桃苷含量[J]. 中国药业，2021, 30(20): 61-63. [Li J, Jia WJ, Cao WD, et al. Content determination of rutin, quercetin and hypericin in Diaphragma Juglandis Fructus by HPLC[J]. China Pharmaceuticals, 2021, 30(20): 61-63.] DOI: 10.3969 / j.issn.1006-4931.2021.20.016.

13 吕彩莲. HPLC法测定蒙药材黄花铁线莲中槲皮素含量[J]. 海峡药学，2020, 32(1): 85-87. [Lyu CL. Determination of quercetin content in Mongolian medicine Clematis intricata by HPLC[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2020, 32(1): 85-87.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-3765.2020.01.029.

14 陈秋虹，刘鹏，韦英亮，等. 显脉金花茶叶片中山奈酚的提取分离及含量测定[J]. 湖北农业科学，2020, 59(14): 156-158. [Chen QH, Liu P, Wei YL, et al. Extraction separation and determination of kaempferol in *Camellia euphlebia* Merr.ex Sealy[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(14): 156-158.] DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2020.14.032.

15 陈莉，罗颖，范俊. 天胡荽中槲皮素与山奈酚的含量测定[J]. 生物化工，2022, 8(3): 77-79, 89. [Chen L, Luo Y, Fan J. Determination of quercetin and kaempferol in

Hydrocotyle sibthorpioides Lam[J]. Biological Chemical Engineering, 2022, 8(3): 77-79, 89.] DOI: 10.3969/j.issn.2096-0387.2022.03.019.

16 白会强，蔡少华，徐亮，等. HPLC 法测定山蜡梅中东莨菪素、槲皮素、夏蜡梅碱[J]. 中草药，2010, 41(3): 486-487. [Bai HQ, Cai SH, Xu L,et al. Determination of scopoletin, quercetin and chimonine in Chimonanthus nitens by HPLC[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(3): 486-487.] DOI: CNKI:SUN:ZCYO.0.2010-03-053.

17 许平翠，张晓芹，陈礼平，等. 基于 DPPH-HPLC 的食凉茶抗氧化组分的快速筛选及分析[J]. 分析仪器，2021, (1): 128-131. [Xu PC, Zhang XQ, Chen LP, et al. Rapid screening and analysis of antioxidants in Shiliang tea by DPPH-HPLC[J]. Analytical Instrumentation, 2021, (1): 128-131.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-232x.2021.01.025.

18 盘涌，罗彩神，覃日宏，等. HPLC 法测定糯米藤中槲皮素和山柰酚的含量[J]. 广州化工，2022, 50(6): 83-85. [Pan Y, Luo CS, Qin RH, et al. Determination of quercetin and kaempferol in Gonostegiahirta by HPLC[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2022,50(6): 83-85.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-9677.2022.06.027.

19 吴梅青，罗栩强，陈丹，等. HPLC 法同时测定莲房中金丝桃苷和槲皮素的含量[J]. 广东化工，2022, 12(49): 192-194. [Wu MQ, Luo XQ, Chen D, et al. Simultaneous determination of hyperoside and quercetin in Nelumbins Receptaculum by HPLC[J]. Guangdong Chemical Industry, 2022, 49(12): 192-194.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-1865.2022.12.065.

收稿日期：2023 年 06 月 30 日　修回时间：2023 年 11 月 07 日
本文编辑：周璐敏　钟巧妮