

胡秋霞,康 乐,何建昇,等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价山西藜麦的质量[J]. 江苏农业科学,2022,50(20):217-225.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.20.033

# 基于 HPLC 指纹图谱结合化学计量学 评价山西藜麦的质量

胡秋霞,康 乐,何建昇,赵智勇,郭俊俊

(山西省科技资源与大型仪器开放共享中心,山西太原 030012)

**摘要:**基于高效液相色谱(HPLC)指纹图谱结合化学计量学方法研究山西藜麦,为其质量评价提供参考。采用 HPLC 法建立 31 批山西藜麦样品的 HPLC 指纹图谱,并对其进行相似度评价、聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘判别分析等考察不同产地藜麦样品的差异性成分。结果表明,建立的指纹图谱共确定了 22 个共有峰,指认了 8 个色谱峰,除样品 S8 和 S9 外相似度均在 0.84 以上;聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析的结果基本一致,将样品聚为 4 类,提取到 7 个主成分,累计贡献率为 85.301%,筛选出差异标志性成分 6 个。建立的山西藜麦 HPLC 指纹图谱方法稳定可行,方法简单,结果可靠,可为山西藜麦产地溯源、质量控制及资源开发等提供有力的参考依据。

**关键词:**藜麦;指纹图谱;化学计量学;高效液相色谱(HPLC);聚类分析;主成分分析

**中图分类号:**S512.901 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)20-0217-09

藜麦属于藜科藜属植物,是典型的假谷物代表,因其营养丰富、全面,被认为是唯一一种能满足人体全部营养需求的谷物,亦被称为最具有发展前景的“黄金健康食品”之一<sup>[1-3]</sup>。研究表明,藜麦中含有氨基酸、蛋白质、脂肪类、淀粉、维生素、矿物元素及多酚类、黄酮类和皂苷类等活性成分,具有很高的食用、保健、医疗、观赏等价值,越来越受到人们的关注<sup>[4-8]</sup>。

藜麦的种植历史悠久,源于南美,因其丰富的营养价值和种植的抗旱性、耐盐碱性、耐寒性、耐贫瘠性且适应性强等特点,在许多国家得以推广种植<sup>[9-10]</sup>。目前我国亦有十余省份正在推广种植,尤其是山西省,作为杂粮王国,藜麦是杂粮之“特”,山西省静乐县更是被誉为“藜麦之乡”<sup>[11]</sup>。山西的藜麦缺乏科学客观的质量评价指标,品牌优势尚未形成,一些精深产品加工企业和高端产品生产企业都有采购外省原料的意向,这对山西省藜麦产业的可持续发展产生了消极影响。建立山西藜麦的科学客观评价体系和产品评价标准,对山西藜麦的标准

化和工业化生产具有重要的推动作用,因此,评价山西藜麦质量情况成为了一项重要工作。

为了辨别山西藜麦与其他地区藜麦是否存在差异,发现更多山西藜麦质量评价指标,从而更全面地评价山西藜麦质量,本研究收集了山西省不同地区不同品种藜麦试样 30 余种,采用高效液相色谱(HPLC)建立了山西藜麦指纹图谱;利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)对其进行相似度评价;基于指纹图谱结合化学计量学,运用 SPSS 22.0 软件对其进行主成分分析(PCA)和系统聚类分析研究(HCA),利用 SIMCA 14.1 软件对其进行偏最小二乘判别分析(OPLS-DA),从而为山西藜麦质量评价提供全面的指导和理论参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料 藜麦:从各种流通渠道购买,并与厂家核实后采购,均产自 2020 年,样品编号为 S1~S31,详见表 1。

对照品(纯度 $\geq 98\%$ ):芸香苷(批号:20210507)、根皮苷(批号:20201106)、表没食子儿茶素(批号:20200903)、绿原酸(批号:20210531)、柚皮苷(批号:20201106)、没食子酸(批号:20200317)、原儿茶酸(批号:20201120)、咖啡酸(批号:20201106),均购自北京北方伟业计量技术研究

收稿日期:2022-05-06

基金项目:山西省重点研发计划(编号:201903D321103)。

作者简介:胡秋霞(1982—),女,河南临颍人,硕士,高级工程师,研究方向为食品检测与分析。E-mail:94512974@qq.com。

通信作者:康 乐,工程师,研究方向为食品检测与分析。E-mail:362596067@qq.com。

表 1 31 批藜麦样品信息

编号	产地	颜色种类	编号	产地	颜色种类
S1	山西省静乐县 1	三色藜麦	S17	山西省定襄县	白藜麦
S2	山西省静乐县 2	白藜麦	S18	山西省五台县 1	三色藜麦
S3	山西省静乐县 3	三色藜麦	S19	山西省五台县 2	三色藜麦
S4	山西省静乐县 4	白藜麦	S20	山西省五台县 3	白藜麦
S5	山西省静乐县 5	三色藜麦	S21	山西省右玉县 1	灰藜麦
S6	山西省静乐县 6	白藜麦	S22	山西省右玉县 2	白藜麦
S7	山西省静乐县 7	白藜麦	S23	山西省右玉县 3	白藜麦
S8	山西省静乐县 8	红藜麦	S24	山西省寿阳县	三色藜麦
S9	山西省静乐县 9	黑藜麦	S25	山西省晋中市	白藜麦
S10	山西省静乐县 10	三色藜麦	S26	山西省沁县	白藜麦
S11	山西省静乐县 11	三色藜麦	S27	山西省武乡县 1	三色藜麦
S12	山西省静乐县 12	白藜麦	S28	山西省武乡县 2	白藜麦
S13	山西省静乐县 13	三色藜麦	S29	山西省广灵县 1	三色藜麦
S14	山西省静乐县 14	白藜麦	S30	山西省广灵县 2	白藜麦
S15	山西省静乐县 15	三色藜麦	S31	山西省广灵县 3	三色藜麦
S16	山西省忻州市	白藜麦			

院;对羟基苯甲酸(批号:PCS-210611)、异荳草素(批号:PCS-201109)、阿魏酸(批号:PCS-210803)、异阿魏酸(批号:PCS-210309)、藜芦酸(批号:PCS210309)、肉桂酸(批号:PCS-210412)、山柰酚(批号:PCS-200710)、香兰素(批号:PCS-210419)、香草酸(批号:PCS-201205),均购自北京世纪奥科生物技术有限公司。

试剂:甲醇和甲酸均为色谱纯,水为超纯水。

1.1.2 仪器 Waters 高效液相色谱仪(e2695),购自沃特世上海科技有限公司;十万分之一分析天平(CP225D),购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;超声波清洗器(KQ-500E),购自昆山市超声仪器有限公司;刀式混合研磨仪(GM 200),购自弗尔德莱驰(上海)贸易有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 供试品溶液的制备 将干燥过后的藜麦样品研磨过 0.25 mm 筛,精确称量 1.000 g,置于 5 mL 容量瓶中,加入甲醇至刻度线,摇匀并精确称量后,超声处理 1 h(功率 500 W,频率 40 kHz),取出冷却后再补足甲醇质量,摇匀,静置 30 min,取上层清液过 0.22 μm 滤膜,所得滤液即为供试品液。

1.2.2 混合对照品溶液的制备 精确称取芸香苷、根皮苷、表没食子儿茶素、绿原酸、柚皮苷、没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸、对羟基苯甲酸、异荳草素、阿魏酸、异阿魏酸、藜芦酸、肉桂酸、山柰酚、香兰素和

香草酸适量,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,制成对照品母液,按比例稀释得 2、4、8、12、16、20 mg/L 的混合对照品贮备液,经 0.22 μm 滤膜过滤后,进行 HPLC 分析。

1.2.3 色谱条件 安装 PE 色谱柱(Quasar AQ C<sub>18</sub> 柱 250 mm×4.6 mm,5 μm),流速:0.8 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长 247 nm,进样量:10 μL。流动相:甲醇(A)、0.2%甲酸溶液(B),梯度洗脱程序见表 2。

表 2 梯度洗脱程序

时间 (min)	体积分数(%)	
	甲醇(A)	0.2%甲酸溶液(B)
0~3.0	10	90
3.0~10.0	10→20	90→80
10.0~15.0	20	80
15.0~35.0	20→60	80→40
35.0~45.0	60	40
45.0~48.0	60→80	40~20
48.0~48.5	80	20
48.5~49.5	80→95	20→5
49.5~58.0	95	5
58.0~58.5	95→10	5→90
58.5~68.0	10	90

1.2.4 方法学考察

1.2.4.1 精密度试验 取样品 S1 适量,按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,按“1.2.3”节中的色谱条件进行测定,记录指纹图谱,以分离度较好、峰面积较大、峰位相对居中的异阿魏酸峰为参照峰,计算各共有峰相对峰面积和相对保留时间的相对标准偏差(RSD)。

1.2.4.2 重复性试验 称取样品 S1 适量,平行取 6 份,按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,按“1.2.3”节中的色谱条件进行测定,记录指纹图谱,以异阿魏酸峰为参照峰,计算各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD。

1.2.4.3 稳定性试验 称取样品 S1 适量,分别于制备后 0、2、4、8、12、16、24 h,按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,按“1.2.3”节中的色谱条件进行测定,记录指纹图谱,以 32.065 min 共有色谱峰为参照峰,计算各共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD。

1.2.4.4 加标回收率试验 取藜麦样品 S1 6 份,每份 1.00 g,置于 100 mL 容量瓶中,加入混合标准对照品溶液 1 mL,用 70% 甲醇溶液定容至 100 mL,

同时按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,按“1.2.3”节中的色谱条件进行测定,记录表没食子儿茶素、对羟基苯甲酸、绿原酸、异荭草素、阿魏酸、异阿魏酸、芸香苷、根皮苷的加标回收率和 *RSD*。

### 1.3 数据分析

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)绘制山西藜麦指纹图谱,并进行相似度分析;利用统计分析软件 IBM SPSS 22.0 对 31 份藜麦样品进行聚类分析和主成分分析;利用 SIMCA 14.1 软件对其进行偏最小二乘判别分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

精密度试验结果相似度在 0.999 以上,各共有峰的相对保留时间 *RSD* 小于 0.048%,相对峰面积 *RSD* 小于 1.896%;重复性试验中,以异阿魏酸峰为参比峰,相似度在 0.999 以上,各共有峰的相对保留时间 *RSD* 小于 0.053%,相对峰面积 *RSD* 小于 1.304%;稳定性试验中,相似度在 0.999 以上,各共有峰的相对保留时间 *RSD* 小于 0.048%,相对峰面积 *RSD* 小于 1.083%;加样回收率结果相似度在

0.999 以上,表没食子儿茶素、对羟基苯甲酸、绿原酸、异荭草素、阿魏酸、异阿魏酸、芸香苷、根皮苷的回收率分别为 103.95%、101.85%、102.50%、101.83%、102.10%、100.13%、101.02%、102.22%,*RSD* 分别为 4.67%、3.98%、2.84%、3.01%、2.68%、1.76%、3.83%、2.08%。结果表明,HPLC 仪器精密度良好,试验方法的重复性和稳定性准确度良好,供试品溶液在室温下 24 h 内稳定性良好,符合指纹图谱的要求。

### 2.2 指纹图谱的构建

分别取 31 批山西藜麦样品,按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,另取 12 mg/L 的混合对照品溶液,按“1.2.3”节中的色谱条件进行测定,记录供试品和混合对照品的色谱图。将得到的色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版),选择色谱峰分离度较好、峰面积占比较高且比较稳定的 S16 为参照图谱,中位数对照图谱生成方式,时间窗宽度选 0.15 min,然后采用多点校正进行全峰自动匹配,生成山西藜麦 HPLC 对照指纹图谱,确定了 22 个共有峰,可以构成指纹图谱的共有模式,结果见图 1、图 2。通过与已知标准品对照得知,图 2 中 6

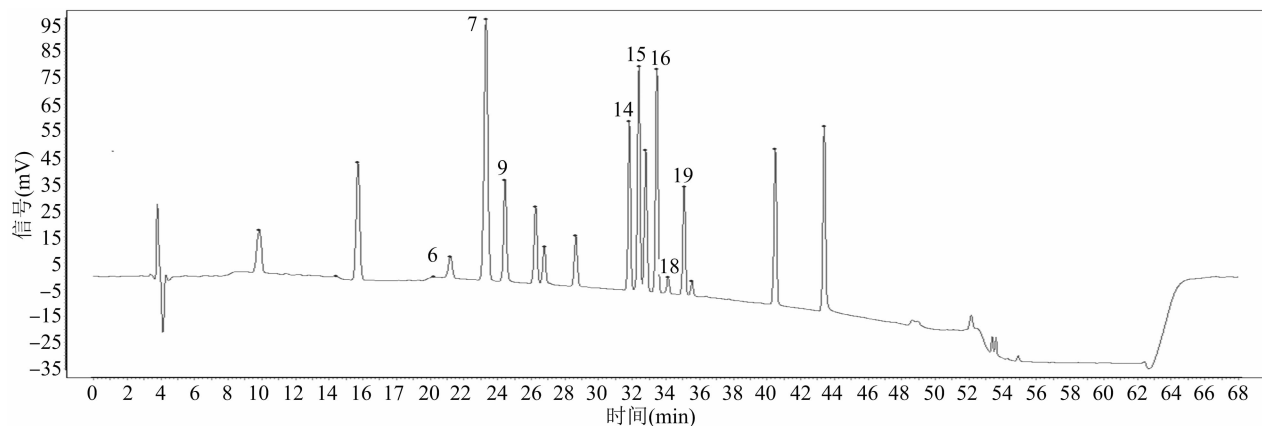


图1 混合对照品 HPLC 色谱图

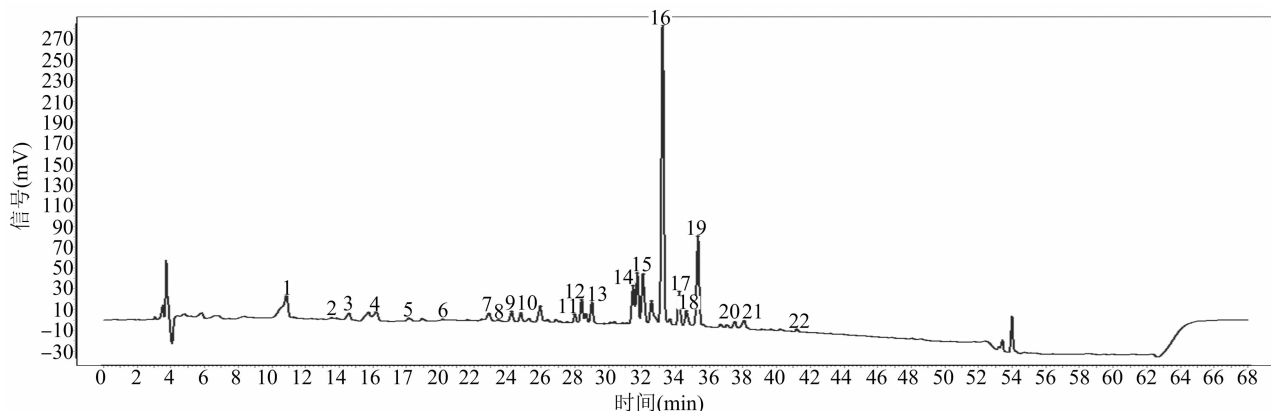


图2 藜麦样品 HPLC 色谱图

号峰是表没食子儿茶素,7 号峰是对羟基苯甲酸,9 号峰是绿原酸,14 号峰是异荳草素,15 号峰是阿魏酸,16 号峰是异阿魏酸,18 号峰是芸香苷,19 号峰是根皮苷。

2.3 相似度评价

将 31 批藜麦样品指纹图谱导入中药色谱指纹

图谱相似度评价系统(2012 版),进行相似度分析,确定了 22 个共有峰。图 3 为 31 批样品匹配后的叠加色谱图,相似度计算结果见表 3。由表 3 可以看出,31 批样品的相似度除 S8 和 S9 以外其余均大于 0.84,说明山西各产地藜麦有较好的一致性,可以用于综合评价山西藜麦的整体质量。

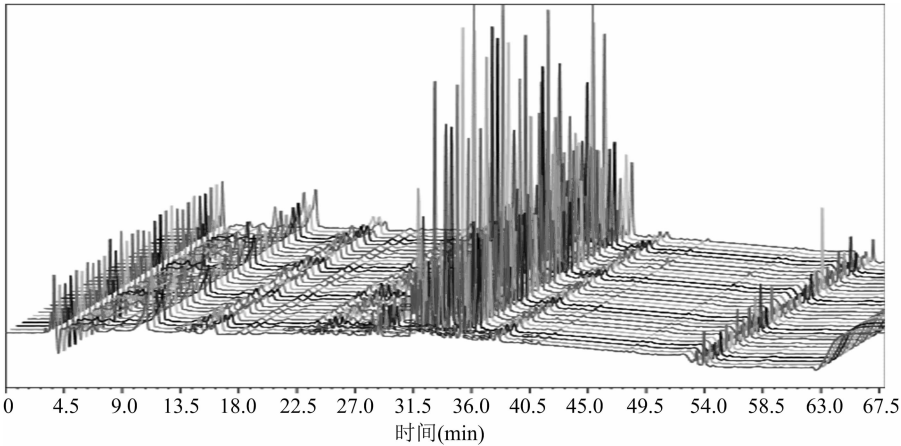


图3 31 批藜麦样品匹配后的 HPLC 叠加指纹图谱

表 3 31 批藜麦样品相似度分析结果

样品 编号	相似度	样品 编号	相似度	样品 编号	相似度	样品 编号	相似度
S1	0.978	S9	0.788	S17	0.854	S25	0.868
S2	0.953	S10	0.936	S18	0.868	S26	0.975
S3	0.985	S11	0.942	S19	0.921	S27	0.978
S4	0.975	S12	0.986	S20	0.930	S28	0.846
S5	0.972	S13	0.977	S21	0.933	S29	0.970
S6	0.971	S14	0.963	S22	0.905	S30	0.864
S7	0.925	S15	0.968	S23	0.916	S31	0.856
S8	0.692	S16	0.963	S24	0.932		

2.4 藜麦中 8 种有效成分含量的测定

取 31 批藜麦样品,按“1.2.1”节中的方法制备供试品溶液,在“1.2.3”节中的色谱条件下,测定 8 种有效成分的含量,测定结果见表 4。

2.5 化学计量学分析结果

2.5.1 聚类分析 将 31 批藜麦样品的 22 个共有峰的峰面积导入 SPSS 22.0,利用系统聚类分析法,选取组间连接、平方欧氏(Euclidean)距离进行聚类分析,结果见图 4。结果显示,当阈值  $T = 10$  时,31 批样品可大致分为 4 类,其中 S1 ~ S6、S12、S14 ~ S16、S18 ~ S22、S24、S26 和 S27 聚为一类,S7、S10、

表 4 8 种成分含量测定结果

样品编号	含量(mg/L)							
	表没食子儿茶素	对羟基苯甲酸	绿原酸	异荳草素	阿魏酸	异阿魏酸	芸香苷	根皮苷
S1	0.006	0.517	6.684	20.954	12.851	91.659	45.036	10.845
S2	0.155	0.541	5.195	15.935	8.669	103.121	44.804	7.865
S3	3.992	0.750	6.088	22.412	14.147	76.095	46.258	19.423
S4	1.850	0.733	5.187	19.459	13.075	85.802	32.000	6.552
S5	2.074	0.556	3.780	18.095	11.726	17.847	35.510	6.198
S6	2.392	0.522	4.863	18.046	11.163	21.465	44.119	8.389
S7	0.798	0.375	3.121	11.949	15.149	5.192	41.605	3.866
S8	0.323	0.495	4.736	47.070	16.287	35.644	36.137	20.689
S9	1.346	0.431	2.314	20.494	39.264	39.086	55.951	10.590
S10	0.471	0.447	3.934	19.073	19.346	4.737	51.809	8.112
S11	2.694	0.462	3.778	18.881	17.754	17.534	42.017	6.986

表 4( 续)

样品编号	含量( mg/L)							
	表没食子儿茶素	对羟基苯甲酸	绿原酸	异荳草素	阿魏酸	异阿魏酸	芸香苷	根皮苷
S12	2.994	0.559	5.293	16.494	14.275	18.623	45.266	6.905
S13	1.230	0.515	4.433	19.975	16.072	59.617	52.118	10.678
S14	1.967	0.681	5.126	19.109	12.812	22.937	32.833	6.845
S15	0.126	0.575	5.512	22.925	13.266	22.764	8.295	288.211
S16	0.536	0.498	5.302	16.217	9.345	22.820	45.147	7.948
S17	1.681	0.493	3.533	25.293	14.251	48.513	6.576	400.300
S18	2.830	0.583	4.743	16.995	19.617	75.163	55.959	10.942
S19	0.413	0.495	3.675	17.07	11.401	3.638	45.627	8.881
S20	0.614	0.567	4.035	19.013	10.666	3.626	45.585	9.517
S21	0.318	0.681	5.208	20.684	9.089	3.375	41.563	9.151
S22	0.913	0.533	3.933	18.839	13.067	3.872	48.262	14.398
S23	8.504	1.076	5.431	11.977	2.471	1.018	50.811	15.564
S24	0.394	0.564	5.307	20.670	13.062	89.464	50.663	9.344
S25	1.406	0.681	0.986	29.385	20.063	7.873	42.381	20.036
S26	0.287	0.444	5.321	16.751	12.323	86.723	39.796	8.132
S27	0.560	0.504	4.709	21.984	14.247	88.881	41.828	10.591
S28	0.553	0.541	4.205	19.485	25.245	21.482	59.002	17.624
S29	3.168	0.439	3.434	21.879	18.751	60.444	57.357	9.229
S30	0.901	0.435	0.897	25.828	22.630	6.887	36.210	15.230
S31	2.671	0.400	3.569	29.033	11.421	36.434	7.335	5.035

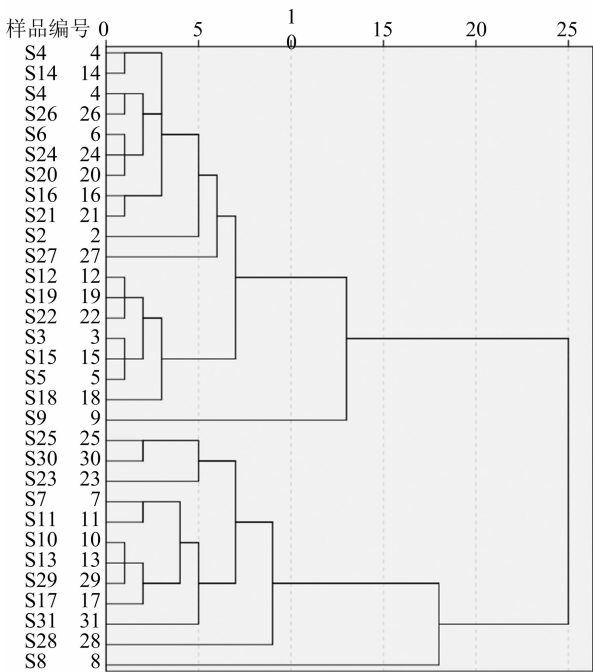


图4 31批藜麦样品聚类分析树状图

S11、S13、S23、S25、S28 ~ S31 聚为一类，S8 和 S9 各单独成一类。说明山西省各地之间的藜麦也存在一定的差异，尤其是品种不同差异较大。

2.5.2 主成分分析 将 31 批藜麦样品中 22 个共

有峰的峰面积导入 SPSS 22.0，进行 PCA 标准化处理，计算得到相关系数矩阵、主成分特征值、方差贡献率和主成分综合得分等。

2.5.2.1 相关性分析 相关系数矩阵见表 5。结果显示 9 号色谱峰(绿原酸)和 10 号色谱峰相互之间有较强的正相关性；11 号色谱峰和 13 号色谱峰相互之间有较强的正相关性。

2.5.2.2 主成分特征值和方差贡献率 计算得到的主成分特征值和方差贡献率见表 6，碎石图见图 5。以基于特征值 >1 为提取标准，得到主成分分析结果。由表 6 可知，前 7 个主成分的累计贡献率为 85.301%，说明所提取的前 7 个主成分即可代表山西藜麦指纹图谱中的 22 个成分量的信息，从而评价山西藜麦的质量情况。由图 5 可以看出，在主成分 8 处开始出现明显拐点，前 7 个主成分可以对藜麦质量进行评价，该结果与表 6 中的结果一致。

初始因子载荷矩阵见表 7，载荷图见图 6，它们反映了各变量对主成分的贡献程度。由表 7 和图 6 可知，第 1 主成分主要反映 9、10、16 和 17 号峰的主要信息；第 2 主成分主要反映 3、5、11、13、15 和 18 号峰的主要信息；第 3 主成分主要反映 6、8 和 14 号峰的主要信息；第 4 主成分主要反映 19 号峰的主要

表 5 相关系数矩阵

峰号	相关系数										
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11
峰 1	1.000										
峰 2	0.735	1.000									
峰 3	0.501	0.490	1.000								
峰 4	0.284	0.415	-0.174	1.000							
峰 5	0.253	0.276	0.157	0.272	1.000						
峰 6	-0.262	-0.120	-0.130	-0.108	0.132	1.000					
峰 7	-0.207	-0.242	-0.481	-0.385	0.042	0.059	1.000				
峰 8	0.125	0.161	0.427	-0.439	0.106	0.622	-0.004	1.000			
峰 9	-0.446	-0.435	0.065	-0.762	-0.377	0.085	0.341	0.358	1.000		
峰 10	-0.417	-0.437	0.050	-0.738	-0.362	0.067	0.315	0.311	0.980	1.000	
峰 11	0.188	0.104	0.515	-0.108	0.180	-0.261	-0.247	0.029	-0.050	-0.070	1.000
峰 12	-0.053	-0.014	0.139	0.212	0.083	-0.517	-0.008	-0.469	0.003	0.026	0.392
峰 13	0.038	-0.047	0.470	-0.271	0.147	-0.179	-0.154	0.099	0.131	0.121	0.964
峰 14	0.105	0.220	0.112	0.363	0.581	0.255	-0.274	0.091	-0.277	-0.260	-0.021
峰 15	0.409	0.368	0.450	-0.112	0.594	0.022	-0.018	0.293	0.002	-0.002	0.121
峰 16	-0.016	-0.224	0.255	-0.655	-0.271	-0.348	0.399	0.125	0.670	0.653	0.296
峰 17	0.012	-0.295	0.160	-0.525	-0.347	-0.239	0.271	0.091	0.587	0.603	0.326
峰 18	0.061	-0.231	0.210	-0.273	0.399	-0.110	0.201	-0.061	0.216	0.234	0.250
峰 19	-0.143	-0.003	-0.260	0.290	-0.357	0.106	-0.147	-0.035	-0.015	-0.022	0.050
峰 20	0.157	0.305	-0.119	0.377	0.221	0.024	-0.051	-0.178	-0.443	-0.443	0.176
峰 21	0.225	0.317	-0.010	0.165	0.130	0.022	0.041	0.153	-0.232	-0.305	0.254
峰 22	0.124	0.215	-0.269	0.613	-0.038	-0.105	-0.022	-0.296	-0.190	-0.157	-0.520

峰号	相关系数										
	峰 12	峰 13	峰 14	峰 15	峰 16	峰 17	峰 18	峰 19	峰 20	峰 21	峰 22
峰 12	1.000										
峰 13	0.397	1.000									
峰 14	-0.075	-0.027	1.000								
峰 15	-0.225	0.113	0.481	1.000							
峰 16	0.240	0.377	-0.576	0.005	1.000						
峰 17	0.186	0.402	-0.528	-0.215	0.877	1.000					
峰 18	0.196	0.294	0.196	0.411	0.387	0.367	1.000				
峰 19	0.098	0.040	-0.150	-0.394	-0.143	-0.010	-0.488	1.000			
峰 20	-0.042	0.082	0.174	0.093	-0.283	-0.266	0.065	0.201	1.000		
峰 21	-0.055	0.178	-0.032	0.170	-0.127	-0.221	-0.242	0.524	0.203	1.000	
峰 22	0.177	-0.565	0.171	-0.053	-0.231	-0.205	-0.195	0.304	0.158	0.000	1.000

信息;第 5 主成分主要反映 1 和 2 号峰的主要信息;第 6 主成分主要反映 7、20 和 21 号峰的主要信息;第 7 主成分主要反映 4、12 和 22 号峰的主要信息。其中已标定的峰 9(绿原酸)和峰 16(异阿魏酸)落在第 1 主成分,峰 15(阿魏酸)和峰 18(芸香苷)落在第 2 主成分,峰 6(表没食子儿茶素)和峰 14(异荭草素)落在第 3 主成分,峰 19(根皮苷)落在第 4 主成分,说明已标定的几个色谱峰在山西藜麦中比较稳定,对山西藜麦主成分的贡献率比较大,在决

定不同批次间山西藜麦质量差异上有着重要作用。

2.5.2.3 主成分综合评价得分 以 7 个主成分得分与其方差贡献率乘积之和,得出不同产地藜麦 31 个样品的主成分综合评价得分(综合评价得分方程为  $F = 25.002\% F_1 + 17.399\% F_2 + 12.982\% F_3 + 9.865\% F_4 + 7.996\% F_5 + 5.466\% F_6 + 6.591\% F_7$ )及排序,得分越高说明该样品在代表性主成分中综合质量越好。由表 8 可知,31 个样品中 S24、S21、S16、S23、S6、S2、S1 和 S20 的质量相对较优。

表 6 主成分特征值和方差贡献率

成分	初始特征值			提取平方和载入		
	特征值	方差贡献率(%)	累计贡献率(%)	特征值	方差贡献率(%)	累计贡献率(%)
1	5.500	25.002	25.002	5.500	25.002	25.002
2	3.828	17.399	42.401	3.828	17.399	42.401
3	2.856	12.982	55.383	2.856	12.982	55.383
4	2.170	9.865	65.248	2.170	9.865	65.248
5	1.759	7.996	73.244	1.759	7.996	73.244
6	1.450	6.591	79.835	1.450	6.591	79.835
7	1.202	5.466	85.301	1.202	5.466	85.301
8	0.835	3.795	89.095			
9	0.654	2.971	92.067			
10	0.525	2.387	94.453			
11	0.324	1.475	95.928			
12	0.239	1.085	97.013			
13	0.167	0.760	97.773			
14	0.147	0.667	98.440			
15	0.135	0.614	99.054			
16	0.085	0.385	99.439			
17	0.052	0.236	99.675			
18	0.031	0.141	99.816			
19	0.017	0.077	99.893			
20	0.011	0.052	99.945			
21	0.008	0.034	99.979			
22	0.005	0.021	100.000			

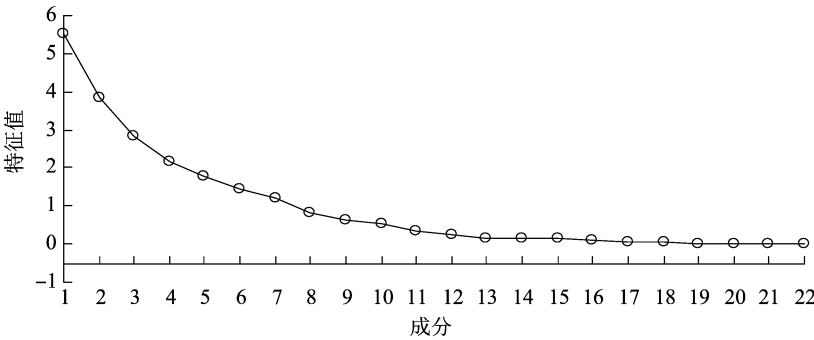


图5 31 批藜麦样品的碎石图

分含量存在差异。因黑藜麦和红藜麦采集样较少,代表性不足,下一步将重点进行研究。

以 22 个共有峰面积为变量进行化学计量学分析,HCA 和 PCA 结果显示 31 批山西藜麦样品聚为 4 类,且同一地区藜麦样品也不一定归为一类,这可能与藜麦品种、产地、气候环境等多种因素有关,尤其是品种不同,差异较大。主成分分析提取到 7 个主成分,累计贡献率为 85.301%,可代表山西藜麦指纹图谱中主要成分含量信息。主成分综合评价结果显示,样品 S24、S21、S16、S23、S6、S2、S1 和 S20

2.5.2.4 正交偏最小二乘判别分析 以藜麦样品 22 个共有峰峰面积为变量系数,将其导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA,比较 31 个藜麦样品之间的差异,得到 VIP 预测值,筛选出差异性化合物<sup>[12]</sup>。由图 7 可以看出,以 VIP>1.0 为阈值,筛选出 6 个峰,分别是色谱峰 16(异阿魏酸)、14(异荭草素)、1、17、19(根皮苷)、15(阿魏酸),可作为山西藜麦质量控制的标志物,同时这几个成分对区分山西藜麦样品的产地贡献也较大。

3 讨论与结论

本研究用甲醇超声提取藜麦样品,对色谱条件进行了优化选择,确定了最佳的色谱条件,选取在 247 nm 波长处对山西藜麦样品指纹图谱进行了精密度、重复性、稳定性和回收率的方法学考察。基于 HPLC 技术建立了山西藜麦指纹图谱并进行分析,31 批山西藜麦样品中确定了 22 个共有峰,通过与已知标准对照品比对,指认了 8 个色谱峰。通过对 31 批山西藜麦样品进行了相似度评价,结果表明除 S8 和 S9 以外其余样品的相似度均在 0.84 以上,说明山西各产地藜麦成分有较高的相似度,各成分差异不太明显,各共有峰相对保留时间比较接近,相对峰面积差异较大,说明山西不同产地藜麦各成

的得分比较靠前,说明其质量相对较优。OPLS-DA 结果显示,通过 VIP 预测值排序,筛选出差异性化合物 6 种成分,分别是色谱峰 16(异阿魏酸)、14(异荭草素)、1、17、19(根皮苷)、15(阿魏酸),可作为山西藜麦质量控制的标志物,同时这几个成分对区分山西藜麦样品的产地贡献也较大。

综上,本研究基于 HPLC 建立了山西省不同地区藜麦 HPLC 指纹图谱,结合化学计量学对 31 批样品进行相似度分析、HCA、PCA 和 OPLS-DA,研究结果可为山西藜麦产地溯源和质量控制提供有力

表 7 初始因子载荷矩阵

成分	各主成分的载荷						
	1	2	3	4	5	6	7
峰 1	-0.385	0.564	-0.058	0.075	0.588	0.126	-0.169
峰 2	-0.559	0.447	-0.002	0.226	0.512	0.112	0.021
峰 3	0.087	0.802	0.057	0.209	0.308	-0.354	0.122
峰 4	-0.860	-0.110	-0.325	-0.113	0.031	-0.046	0.186
峰 5	-0.407	0.522	0.317	-0.374	-0.260	0.242	0.093
峰 6(表没食子儿茶素)	-0.067	-0.210	0.699	0.343	-0.333	0.019	0.102
峰 7(对羟基苯甲酸)	0.392	-0.255	0.138	-0.274	0.001	0.715	-0.162
峰 8	0.224	0.261	0.667	0.547	0.096	0.023	0.112
峰 9(绿原酸)	0.873	-0.111	0.212	0.059	0.081	0.027	0.348
峰 10	0.862	-0.118	0.198	0.006	0.099	-0.007	0.367
峰 11	0.169	0.751	-0.432	0.228	-0.374	-0.026	-0.020
峰 12	0.090	0.194	-0.697	-0.317	-0.088	-0.056	0.381
峰 13	0.333	0.696	-0.349	0.209	-0.443	-0.030	0.060
峰 14(异荳草素)	-0.518	0.262	0.425	-0.258	-0.259	-0.143	0.421
峰 15(阿魏酸)	-0.148	0.625	0.507	-0.189	0.149	0.229	0.156
峰 16(异阿魏酸)	0.844	0.235	-0.224	-0.053	0.278	0.228	-0.003
峰 17	0.799	0.153	-0.294	0.007	0.193	0.107	0.004
峰 18(芸香苷)	0.327	0.476	0.120	-0.612	-0.162	0.175	0.082
峰 19(根皮苷)	-0.150	-0.345	-0.395	0.619	-0.134	0.219	0.417
峰 20	-0.472	0.133	-0.159	0.009	-0.246	0.395	-0.063
峰 21	-0.295	0.165	-0.135	0.558	-0.096	0.567	0.063
峰 22	-0.434	-0.406	-0.157	-0.226	0.434	0.161	0.521

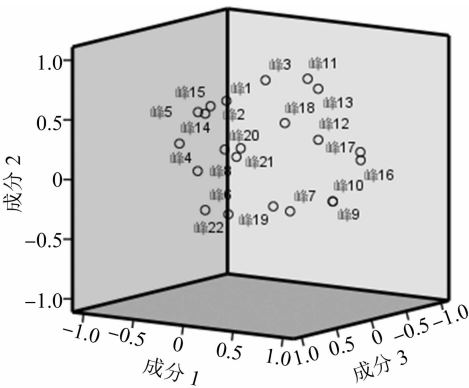


图6 主成分分析载荷图

的参考依据。

参考文献:

[1] 杨积鹏,刘建福. 假谷物的营养及加工应用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2022,48(10):284-289,298.

[2] 尚 珊,臧 梁,傅宝尚,等. 全谷物原料的营养特性及食品开发研究进展[J]. 食品工业科技,2022,43(8):443-452.

[3] Diaz - Valencia Y K, Alca J J, Calori - Domingues M A, et al. Nutritional composition, total phenolic compounds and antioxidant activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) of different colours [J]. Nova Biotechnologica et Chimica,2018,17(1):74-85.

[4] 郭慧敏,耿艳楼,吕 玮,等. 藜麦开发利用研究进展[J]. 粮食与油脂,2021,34(3):9-11.

[5] 刘永江,覃 鹏. 藜麦营养成分及应用研究进展[J]. 黑龙江农业科学,2020(3):123-127.

[6] Luthar Z, Germ M, Likar M, et al. Breeding buckwheat for increased levels of rutin, quercetin and other bioactive compounds with potential antiviral effects[J]. Plants,2020,9(12):1638.

[7] Park J H, Lee Y J, Kim Y H, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds cultivated in Korea[J]. Preventive Nutrition and Food Science,2017,22(3):195-202.

[8] 刘栗心,杨许花,高丹丹,等. 藜麦的营养价值及其开发利用研究进展[J]. 现代农业科技,2021(14):218-219,226.

[9] 吕晨晨,白羽嘉,冯作山. 不同品种藜麦萌发蛋白质营养价值比较[J]. 食品科技,2020,45(4):43-49.

[10] Pellegrini M, Lucas - Gonzales R, Ricci A, et al. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno - functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds[J]. Industrial Crops and Products,2018,111:38-46.

[11] 温映红,丁 超,李素娟,等. 山西静乐藜麦产业发展现状及对策建议[J]. 河北农业科学,2021,25(4):19-21,81.

[12] 许晨新,毛艺蓓,刘圣金,等. 基于指纹图谱和化学计量学的白芍产地溯源和质量评价[J]. 食品安全质量检测学报,2022,13(6):1849-1858.

表 8 主成分得分、综合得分及排序

样品编号	各主成分得分							综合得分	排名
	1	2	3	4	5	6	7		
S1	1.227	-0.325	-0.186	-0.104	0.274	0.146	0.283	0.26	7
S2	0.619	0.419	-0.831	0.350	0.673	0.485	1.263	0.31	6
S3	0.616	0.000	-0.081	-0.709	0.133	-0.480	-0.537	0.02	16
S4	1.379	0.011	1.223	-0.608	-0.136	-2.025	-1.761	0.20	10
S5	-0.413	0.200	-0.440	-0.314	-0.292	-1.281	0.358	-0.24	25
S6	0.578	0.154	0.706	0.377	0.377	0.247	1.121	0.41	5
S7	-1.397	-0.315	-1.359	-0.336	-1.404	-0.596	1.702	-0.67	29
S8	-0.367	-0.660	-1.845	-0.672	3.867	-0.510	-0.793	-0.28	26
S9	-0.701	-3.664	1.440	1.597	-0.337	1.621	-0.793	-0.43	27
S10	-0.641	0.199	0.292	0.220	-0.406	0.720	-0.380	-0.07	21
S11	-0.954	-0.493	-0.922	0.286	-1.932	-1.649	-0.854	-0.73	30
S12	0.404	-0.547	0.084	-0.551	-0.780	-0.410	-0.039	-0.13	23
S13	-0.282	0.337	0.009	0.349	-0.367	1.241	-1.047	0.02	16
S14	0.819	0.204	1.205	-0.394	0.022	-1.833	-1.078	0.18	11
S15	0.386	-0.861	0.097	0.097	0.206	-0.568	0.907	0.00	18
S16	1.049	-0.392	0.915	-0.123	0.299	0.591	2.025	0.47	3
S17	-1.222	1.874	-0.397	0.622	0.469	1.565	-0.367	0.15	12
S18	0.587	1.420	-1.056	0.797	-0.557	0.765	-2.201	0.22	9
S19	0.585	-0.172	0.074	-1.463	-0.444	0.691	-0.391	-0.03	19
S20	0.121	0.674	-0.045	0.450	0.136	0.477	0.333	0.25	8
S21	1.167	0.425	0.545	0.096	0.678	-0.538	0.342	0.48	2
S22	0.274	0.358	0.247	0.061	-0.214	0.325	-0.342	0.15	12
S23	0.686	1.406	-0.223	1.289	-1.422	0.208	0.607	0.45	4
S24	1.664	-0.129	0.385	0.357	0.719	1.584	-0.011	0.64	1
S25	-2.199	0.561	3.149	-0.547	0.510	-0.169	-0.043	-0.07	20
S26	0.511	0.178	-0.542	-0.212	-0.045	-0.119	0.692	0.09	14
S27	0.124	-0.220	-0.334	1.045	-0.537	-0.988	1.729	0.04	15
S28	-0.738	-0.654	-0.700	-4.017	-0.819	1.432	0.218	-0.74	31
S29	-0.571	0.322	-0.706	0.340	-0.591	0.668	-1.158	-0.21	24
S30	-2.337	1.388	0.895	0.325	1.277	-0.739	0.659	-0.11	22
S31	-0.976	-1.700	-1.601	1.393	0.641	-0.862	-0.443	-0.64	28

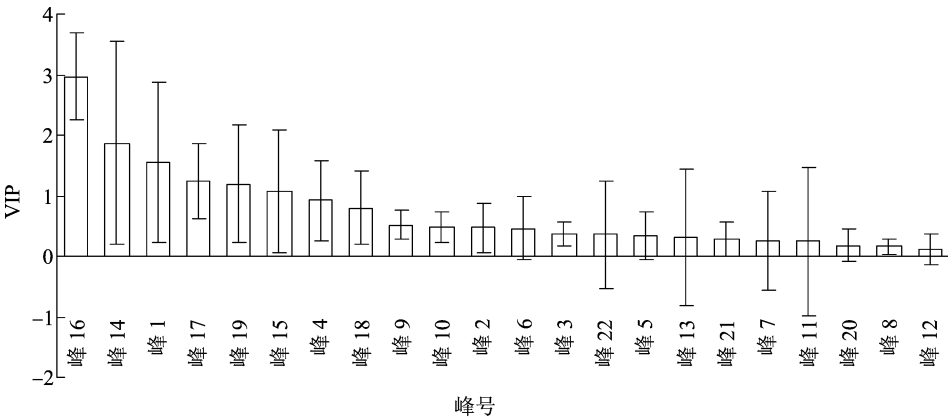


图7 藜麦样品的 VIP 预测值