



淡豆豉活性成分一测多评检测方法建立

支雅婧¹, 王梦¹, 甄亚钦^{1,2,3}, 王鑫国^{1,2,3}, 董超⁴, 牛丽颖^{1,2,3}

(1. 河北中医学院, 河北 石家庄 050091; 2. 河北省中药配方颗粒技术创新中心, 河北 石家庄 050091; 3. 中药材品质评价与标准化河北省工程研究中心, 河北 石家庄 050091; 4. 河北省科学院 生物研究所, 河北 石家庄 050081)

摘要:为快速测定淡豆豉中的主要活性成分含量, 对其进行质量评价, 本研究以 28 批不同产地淡豆豉为供试材料, 建立对淡豆豉中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素 6 种活性成分含量同时测定的一测多评方法, 并验证该方法在淡豆豉质量分析中的准确性与可行性。结果显示: 以 70% 甲醇作为提取溶剂, 加热回流提取 60 min 进行前处理, 采用高效液相色谱法, 以染料木苷为内参物, 建立大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的一测多评相对校正因子分别为 0.666, 1.089, 0.926, 0.978 和 1.894。相对校正因子重现性良好, 一测多评法和外标法测量结果间无明显差异。本研究建立的方法准确可行, 可用于淡豆豉的质量控制。

关键词:一测多评; 淡豆豉; 相对校正因子; 质量控制; 外标法; 染料木苷

Determination of Active Ingredients of Sojæ Semen Praeparatum by Multi-Components with Single Marker

ZHI Ya-jing¹, WANG Meng¹, ZHEN Ya-qin^{1,2,3}, WANG Xin-guo^{1,2,3}, DONG Chao⁴, NIU Li-ying^{1,2,3}

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China; 2. Hebei TCM Formula Granule Innovation Center, Shijiazhuang 050091, China; 3. Hebei TCM Quality Evaluation & Standardization Engineering Research Center, Shijiazhuang 050091, China; 4. Institute of Biology, Hebei Academy of Science, Hebei Shijiazhuang 050081, China)

Abstract: In order to quickly determine the content of the main active ingredients in the Sojæ Semen and evaluate its quality, this study used 28 batches of Sojæ Semen Praeparatum from different origins as the test materials. A quantitative analysis of multi-components with single marker (QAMS) was established for the simultaneous determination of daidzin, glycitin, genistin, daidzein, glycitein, genistein in crude and processed Sojæ Semen Praeparatum, which was proved to be a accurate and feasible method in the quality analysis in Sojæ Semen Praeparatum. The results showed that the established relative correction factors of daidzin, glycitin, daidzein, glycitein, genistein were 0.666, 1.089, 0.926, 0.978 and 1.894, with 70% methanol as the extraction solvent, heating and refluxing extraction for 60 min for pretreatment, and using genistin as the internal reference by using HPLC. The reproducibility of the relative correction factor was good, and there was no significant difference between the QAMS method and external standard measurement value. This method is accurate and feasible, and can be used as quality control of Sojæ Semen.

Keywords: QAMS; Sojæ Semen; Relative correction factors; Quality control; External standard method; Genistin

淡豆豉是豆科植物大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 的干燥成熟种子(黑豆)的发酵加工品, 味苦、辛, 性凉, 归肺、胃经^[1]。淡豆豉历史悠久, 最早以“豉”为正名收载于魏晋时期《名医别录》^[2], 南宋《宝庆本草折衷》^[3]首次记载“淡豆豉”一名。淡豆豉具解表、除烦、宣发郁热的功效, 用于治疗感冒、寒热头痛、烦躁胸闷、虚烦不眠等症^[1], 分布于全国各地。现代研究表明淡豆豉中含有异黄酮类、苯丙素类、氨基酸类、核苷类等活性成分^[4]。药理学研究表明淡豆豉有调节血脂、抗动脉硬化、抗肿瘤、抗骨质疏松、降糖等药理作用^[5]。2020 年版《中国药典》仅将大豆苷元和染料木素两种成分作为含量测定的标准, 不能全面体现出淡豆豉的整体质量。

黄文娟等^[6]采用了紫外分光光度法测定淡豆

豉、大豆黄卷中总异黄酮的含量, 但紫外分光光度法操作过程较繁琐。李鹭等^[7]通过 HPLC 同时测定了淡豆豉中 6 种异黄酮的含量。张景等^[8]通过 HPLC 建立了同时测定淡豆豉中 6 种异黄酮含量的方法。但通过高效液相色谱法依据传统的多指标进行质量控制会消耗大量的对照品。为了实现在中药对照品紧缺、成本高昂条件下的多指标同步质量控制, 王智民等^[9]于 2006 年首次提出了一测多评法 (QAMS), 该法以易得、价廉、有效的 1 个成分作为内参物, 实现多个成分含量的同步测定, 在降低检测成本的同时解决了对照品不足的问题。一测多评法是利用中药有效成分的内在函数关系和比例关系, 通过测定一个性质稳定且容易得到的成分来实现多个成分的同时测定^[10]。同时, 现有中药标

收稿日期: 2021-02-28

基金项目: 中央引导地方科技发展资金 (206Z2501G); 河北省重点研发计划 (20372502D); 河北省自然科学基金 (H2019423050)。

第一作者: 支雅婧 (1995—), 女, 在读硕士, 主要从事中药分析及药效物质基础研究。E-mail: 2495729459@qq.com。

通讯作者: 牛丽颖 (1968—), 女, 教授, 博导, 主要从事中药分析及药效物质基础研究。E-mail: niuliygyy@163.com。

准多以单一成分含量反映中药产品质量,但中药成分复杂,具有多成分、多靶点的特点,仅以单一成分含量无法全面反映中药质量的优劣,而多成分质量控制的理念是通过多指标同步控制和反映中药质量,已成为众多专家学者的共识,因此一测多评法日渐成为中药质量评价的有效模式。

但目前关于淡豆豉一测多评的相关研究较少,且指标成分只有 4 个,为大豆苷元、大豆苷、染料木苷及染料木素^[11]。本研究选用染料木苷作为内参物,建立一测多评法同时测定大豆苷、黄豆黄苷、大

豆苷元、黄豆黄素和染料木素的含量,与外标法结果进行比较,并验证该方法在淡豆豉质量分析中的可行性与准确性^[12-13]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 豆豉样品 供试 28 批淡豆豉样品来源信息如表 1 所示,经河北省药品检验研究院孙宝惠主任中药师鉴定,为大豆干燥成熟种子的发酵加工品。

表 1 28 批供试样品产地
Table 1 The origin place of 28 batches of tested sample

编号 No.	产地 Origin	编号 No.	产地 Origin	编号 No.	产地 Origin
S1	安徽亳州	S11	广西玉林	S21	湖南长沙
S2	四川泸州	S12	山东泰安	S22	陕西安康
S3	安徽涡阳	S13	江西九江	S23	四川成都
S4	安徽亳州	S14	四川成都	S24	安徽亳州
S5	安徽亳州	S15	广西昭平	S25	河北安国
S6	河北辛集	S16	广东揭阳	S26	河南平顶山
S7	安徽亳州	S17	安徽亳州	S27	山东鄞城
S8	山东临沂	S18	河北安国	S28	吉林双辽
S9	河南	S19	湖北襄阳		
S10	四川成都	S20	湖北恩施		

1.1.2 主要试剂 大豆苷对照品(批号 121030,纯度≥98%)购自成都普菲德生物技术有限公司;大豆苷元(批号 111502-200402,纯度 100%)、染料木苷(批号 111709-200501,纯度 100%)购自中国药品生物制品鉴定所;染料木素(批号 111704-201302,纯度 99.1%)购自中国食品药品检定研究院;黄豆黄苷(批号 MUST-17032503,纯度≥98%)、黄豆黄素(批号 MUST-10092501,纯度≥98%)购自成都曼思特生物技术有限公司;乙腈、甲酸为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器 Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司);岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);Agilent Technologies 1260 Infinity II 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司);Waters Symmetry C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);Thermo Synchronis C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);电子天平(TB-215D,德国赛多利斯);

电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 提取溶剂及加热回流温度确定 本研究在供试品的制备过程中考察了不同提取溶媒(100%、70%和 50%甲醇)、不同提取时间(45,60 和 75 min)和不同提取方式(超声、加热回流)对 6 个活性成分提取率的影响,结果发现 70% 甲醇作为本研究提取溶剂时,各成分提取率最好,故选用 70% 甲醇作为提取溶剂。加热回流时各成分提取率显著高于超声提取,故选用加热回流作为提取方式。加热回流 60 min 各成分提取率高于加热回流 45 min,加热回流 75 min 相对于 60 min 各成分提取率无明显差异。故本研究选用 70% 甲醇作为提取溶剂,加热回流提取 60 min。

1.2.2 色谱条件 色谱柱为 Waters Symmetry C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为 0.1% 的冰乙酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~5 min,95%~85% A;5~20 min,85%~72% A;20~35 min,72%;

35~36 min,72%~95% A;36~43 min,95% A);流速1 mL·min⁻¹;柱温35℃;检测波长260 nm;进样量10 μL。

1.2.3 对照品溶液的制备 分别精密称取大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素对照品适量,加甲醇制成浓度分别为17.961,2.044,28.565,9.940,0.823和5.351 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

1.2.4 供试品溶液的制备 取淡豆豉约1 g,过2号筛,精密称定,置于具塞锥形瓶中。加70%甲醇25 mL,称定质量,加热回流60 min。放冷,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,过0.22 μm微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.2.5 方法学考察 线性关系考察:精密吸取混合对照品溶液1,2,4,8,12,16和20 μL进入液相色谱仪,按上述色谱条件进行测定,以对照品进样量为横坐标,测定的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,分析大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的回归方程和线性范围。

精密度试验:吸取混合对照品10 μL,按上述色谱条件连续进样6次,计算大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素峰面积的相对标准偏差(RSD)。

稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液(S19),分别于配制后0,2,4,8,18,24和30 h按上述色谱条件进样10 μL,计算大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素峰面积的RSD。

重复性试验:分别取S19淡豆豉0.5,1.0和1.5 g,每个样品量3份,制备供试品溶液,分别按上述色谱条件进样10 μL,检测大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的峰面积。

加样回收率检测:取已知含量的样品粉末(S19)9份,每份约0.5 g,精密称定,置25 mL容量瓶中,分别按各成分含量的50%、100%和150%加入大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的对照品储备液,制备供试品溶液,按上述色谱条件进样10 μL,计算大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的平均加样回收率。

1.2.6 相对校正因子计算 取混合对照品溶液,按上述色谱条件,分别进样1,2,4,8,12,16和20 μL,记录峰面积,计算相对校正因子 $f_{k/m}$, $f_{k/m}=f_k/f_m=$

$W_k \times A_m / (W_m \times A_k)$,式中, A_k 为内参物峰面积, W_k 为内参物质量, A_m 为组分m的峰面积, W_m 为组分m的质量。计算染料木苷作为内标物,计算大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的相对校正因子。

1.2.7 相对校正因子重现性考察 按相对校正因子测定条件和方法,分别采用Waters e2695、岛津LC-20A和Agilent Technologies 1260 Infinity II 3种不同的色谱仪和Waters Symmetry C18柱、Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18柱、Thermo Syncronis C18柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)3种不同的色谱柱测定,并计算染料木苷对大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的相对校正因子。

1.2.8 待测组分色谱峰定位 取混合对照品溶液,分别采用3种不同的色谱仪(同上)和3种不同的色谱柱(同上)测定,并计算染料木苷对大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的相对保留时间($r_{k/m}$)。

1.2.9 一测多评法和外标法测定比较 首先采用外标法(ESM)^[10]对淡豆豉中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素6种活性成分进行多成分同步定量测定,再用建立的QAMS方法计算大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的质量。 $W_m=W_k \times A_m / (f_{k/m} \times A_k)$,式中, A_k 为内标物峰面积, W_k 为内标物进样量(质量), A_m 为组分m峰面积, W_m 为组分m的质量。每批样品分别用2种方法平行测定2次,将2种方法的结果进行比较,以验证QAMS用于淡豆豉中不同成分含量测定的可靠性。

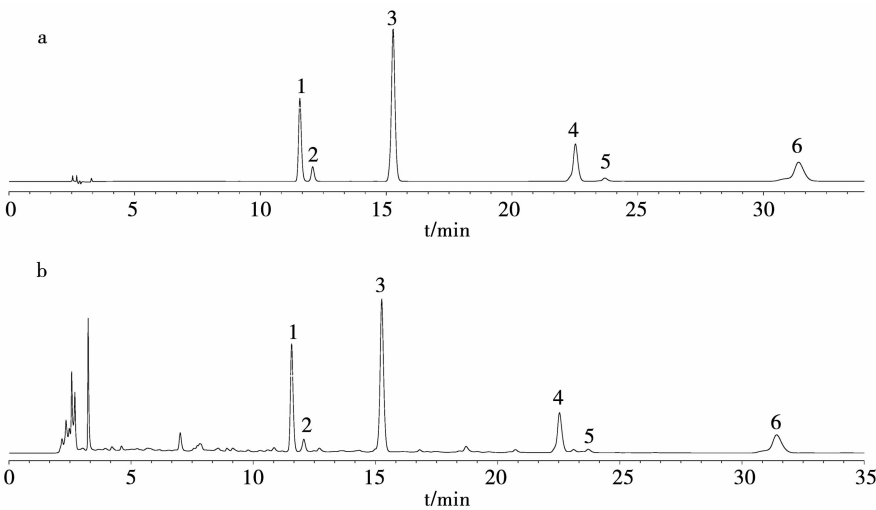
1.3 数据分析

采用Excel 2013和SPSS 26.0软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 淡豆豉6种活性成分一测多评检测方法建立

2.1.1 HPLC 色谱图及内参物确定 混合对照品及淡豆豉样品的HPLC色谱图如图1所示,各待测成分分离度较好。染料木苷在HPLC分析中出峰时间居中,峰分离度较好,化学性质稳定且容易得到,故选用染料木苷作为内参物,建立大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的一测多评含量测定方法。



1. 大豆苷; 2. 黄豆黄苷; 3. 染料木苷; 4. 大豆苷元; 5. 黄豆黄素; 6. 染料木素。
1. Daidzin; 2. Glycitin; 3. Genistin; 4. Daidzein; 5. Glycitein; 6. Genistein.

图 1 混合对照品 (a) 及淡豆豉样品 (b) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 The HPLC of reference substances (a) and Sojaoe Semen samples (b)

2.1.2 活性成分线性关系分析 由表 2 可知,大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素线性范围分别为 0.108 0~0.359 2,0.002 0~0.040 9,0.028 6~0.571 3,0.009 9~0.198 8,0.000 8~0.016 5 和 0.005 4~0.107 0 μg,线性相关系数 r 均 \geq 0.999,表明各成分线性关系良好。

表 2 6 种化学成分的线性关系及线性范围

Table 2 The linear relationship and linear range of six effective constituents

成分 Ingredient	回归方程 Regression equation	相关系数 r	线性范围 Linear range/ μg
大豆苷 Daidzin	$Y = 3563689.641X - 1133.259$	0.9999	0.0108 ~ 0.3592
黄豆黄苷 Glycitin	$Y = 5754024.144X + 474.900$	0.9999	0.0020 ~ 0.0409
染料木苷 Genistin	$Y = 5409103.146X - 13644.739$	1.0000	0.0286 ~ 0.5713
大豆苷元 Daidzein	$Y = 5018282.968X - 4594.309$	1.0000	0.0099 ~ 0.1988
黄豆黄素 Glycitein	$Y = 5327583.414X - 530.286$	0.9999	0.0008 ~ 0.0165
染料木素 Genistein	$Y = 10478045.127X - 10660.610$	0.9999	0.0054 ~ 0.1070

2.1.3 精密度、稳定性和重复性考察 混合对照品连续进样 6 次,大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素峰面积的 RSD 分别为 0.29%、0.35%、0.30%、0.43%、0.78% 和 0.24%,表明仪器精密度良好。

同一供试品溶液分别于配制后 0,2,4,8,18,24 和 30 h 进样,大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素峰面积的 RSD 分别为 0.79%、1.47%、1.11%、1.78%、1.15% 和 0.79%,表明供试品溶液在 30 h 内稳定性良好。

分别取 0.5,1.0 和 1.5 g S19 淡豆豉进样,大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的平均含量分别为 0.618,0.048,0.778,

0.277,0.016 和 0.139 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 分别为 1.87%、1.57%、2.05%、2.44%、1.37% 和 1.31%,表明该方法重复性良好。

2.1.4 加样回收率考察 经计算,大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的平均加样回收率分别为 103.62%、102.09%、98.95%、101.46%、96.27% 和 96.98%,RSD 分别为 0.70%、1.52%、1.14%、1.76%、0.99% 和 0.96%,表明本方法准确度良好。

2.1.5 相对校正因子计算 如表 3 所示,在一定线性范围内,染料木苷对大豆苷、黄豆黄苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的相对校正因子分别为 0.666,1.089,0.926,0.978 和 1.894。

表 3 淡豆豉有效成分相对校正因子测定结果

Table 3 The determination of relative correction factors of effective constituents in Sojae Semen

进样体积 Injection volume	$f_{\text{染料木苷/大豆苷}}$	$f_{\text{染料木苷/黄豆黄苷}}$	$f_{\text{染料木苷/大豆苷元}}$	$f_{\text{染料木苷/黄豆黄素}}$	$f_{\text{染料木苷/染料木素}}$
1	0.669	1.109	0.917	0.964	1.876
2	0.667	1.096	0.928	0.985	1.858
4	0.668	1.104	0.928	0.937	1.842
8	0.667	1.080	0.928	0.965	1.909
12	0.674	1.096	0.927	0.991	1.918
16	0.665	1.087	0.928	0.999	1.925
20	0.655	1.054	0.928	1.005	1.930
平均值 Mean	0.666	1.089	0.926	0.978	1.894
相对标准偏差 RSD/%	0.827	1.665	0.450	2.439	1.854

2.1.6 检测方法重现性考察 如表 4 所示,不同品牌色谱仪和色谱柱测定时各成分的相对校正因子

的 RSD < 3% ,表明相对保留值法重现性较好。

表 4 不同仪器和色谱柱条件下的 $f_{k/m}$ 值

Table 4 The $f_{k/m}$ value determined by different instruments and columns

仪器 Apparatus	色谱柱 Column	$f_{\text{染料木苷/大豆苷}}$	$f_{\text{染料木苷/黄豆黄苷}}$	$f_{\text{染料木苷/大豆苷元}}$	$f_{\text{染料木苷/黄豆黄素}}$	$f_{\text{染料木苷/染料木素}}$
Waters e2695	Waters Symmetry C18	0.666	1.089	0.926	0.985	1.893
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.668	1.078	0.931	1.004	1.901
	Thermo Synchronis C18	0.669	1.075	0.933	1.004	1.914
Shimadzu LC-20A	Waters Symmetry C18	0.679	1.099	0.939	1.021	1.910
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.676	1.095	0.947	1.025	1.913
	Thermo Synchronis C18	0.679	1.094	0.951	1.024	1.919
Agilent Technologies 1260 Infinity II	Waters Symmetry C18	0.678	1.073	0.949	1.075	1.922
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.679	1.072	0.951	1.073	1.928
	Thermo Synchronis C18	0.677	1.076	0.942	1.076	1.924
平均值 Mean		0.677	1.084	0.945	1.043	1.919
相对标准偏差 RSD/%		0.512	1.094	0.715	2.952	0.340

2.1.7 色谱峰定位准确性考察 如表 5 所示,不同品牌色谱仪和色谱柱测定时各成分的相对保留时

间 RSD < 6% ,表明相对保留值法对各成分的色谱峰的定位是准确的。

表 5 不同仪器和色谱柱测定的 $r_{k/m}$ 值

Table 5 The $r_{k/m}$ value determined by different instruments and columns

仪器 Apparatus	色谱柱 Column	$r_{\text{染料木苷/大豆苷}}$	$r_{\text{染料木苷/黄豆黄苷}}$	$r_{\text{染料木苷/大豆苷元}}$	$r_{\text{染料木苷/黄豆黄素}}$	$r_{\text{染料木苷/染料木素}}$
Waters e2695	Waters Symmetry C18	0.757	0.791	1.475	1.552	2.055
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.756	0.785	1.465	1.533	2.061
	Thermo Synchronis C18	0.765	0.794	1.485	1.577	2.318
ShimadzuLC-20A	Waters Symmetry C18	0.787	0.813	1.404	1.467	1.939
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.785	0.809	1.403	1.459	1.932
	Thermo Synchronis C18	0.793	0.827	1.437	1.473	1.986
Agilent Technologies 1260 Infinity II	Waters Symmetry C18	0.754	0.784	1.462	1.538	2.125
	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18	0.748	0.779	1.454	1.519	2.118
	Thermo Synchronis C18	0.764	0.796	1.483	1.724	2.179
平均值 Mean		0.768	0.798	1.452	1.538	2.079
相对标准偏差 RSD/%		2.140	1.971	2.143	5.249	5.931

2.2 一测多评法检测准确性评价

将 QAMS 计算值与 ESM 实测值进行配对 t 检验,结果表明 2 种方法测得的淡豆豉中各成分含量

无明显差异($P>0.05$)^[14],说明建立的一测多评方法具有较好的准确性,可用于淡豆豉含量的测定。

表 6 ESM 与 QAMS 测定淡豆豉中 6 种成分含量

Table 6 The comparison on the six effective constituents determined by ESM and QAMS in Sojaoe Semen

单位:mg·g ⁻¹											
编号 Number	染料木苷 Genistin	大豆苷 Daidzin		黄豆黄苷 Glycitin		大豆苷元 Daidzein		黄豆黄素 Glycitein		染料木素 Genistein	
		ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS
S1	0.49	0.38	0.37	0.06	0.06	0.10	0.10	0.03	0.03	0.05	0.05
S2	0.29	0.14	0.14	0.03	0.03	0.54	0.54	0.09	0.09	0.32	0.32
S3	0.50	0.40	0.39	0.07	0.07	0.05	0.05	0.02	0.02	0.03	0.03
S4	0.45	0.34	0.34	0.07	0.07	0.07	0.07	0.02	0.02	0.03	0.03
S5	0.48	0.33	0.33	0.06	0.06	0.07	0.07	0.02	0.02	0.04	0.03
S6	0.45	0.08	0.08	0.01	0.01	0.64	0.64	0.03	0.03	0.41	0.42
S7	0.33	0.22	0.22	0.07	0.07	0.16	0.16	0.05	0.05	0.09	0.09
S8	0.59	0.37	0.36	0.06	0.06	0.13	0.13	0.02	0.02	0.10	0.10
S9	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.34	0.13	0.13	0.39	0.39
S10	0.32	0.22	0.22	0.03	0.03	0.28	0.28	0.05	0.05	0.19	0.19
S11	0.03	0.01	0.01	0.00	0.00	0.39	0.39	0.13	0.13	0.34	0.35
S12	0.32	0.26	0.25	0.04	0.04	0.24	0.24	0.07	0.07	0.15	0.15
S13	0.06	0.02	0.02	0.00	0.00	0.45	0.45	0.09	0.09	0.22	0.22
S14	0.88	0.51	0.52	0.06	0.06	0.23	0.22	0.03	0.03	0.16	0.16
S15	0.32	0.02	0.02	0.00	0.01	1.10	1.11	0.15	0.15	0.75	0.76
S16	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.29	0.29	0.10	0.10	0.17	0.17
S17	0.40	0.28	0.28	0.06	0.05	0.07	0.07	0.03	0.03	0.03	0.03
S18	0.87	0.98	0.97	0.14	0.14	0.50	0.50	0.08	0.08	0.19	0.19
S19	0.78	0.65	0.65	0.06	0.06	0.30	0.30	0.03	0.03	0.14	0.14
S20	0.36	0.22	0.22	0.02	0.02	0.46	0.46	0.04	0.04	0.18	0.18
S21	0.18	0.01	0.01	0.00	0.00	0.94	0.95	0.22	0.22	0.54	0.55
S22	0.20	0.13	0.13	0.01	0.01	0.26	0.26	0.03	0.03	0.18	0.18
S23	0.31	0.15	0.15	0.04	0.04	0.29	0.29	0.08	0.08	0.17	0.17
S24	0.18	0.16	0.16	0.02	0.02	0.03	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01
S25	0.10	0.01	0.01	0.01	0.01	1.07	1.07	0.19	0.20	0.65	0.66
S26	0.31	0.17	0.17	0.03	0.03	0.17	0.17	0.04	0.04	0.12	0.12
S27	0.67	0.43	0.42	0.06	0.05	0.58	0.58	0.08	0.08	0.37	0.37
S28	0.33	0.35	0.35	0.05	0.05	0.06	0.06	0.01	0.01	0.02	0.02

3 讨 论

一测多评法是在对照品紧缺、成本高昂情况下用于多成分质量控制的研究方法,已经广泛应用于中药质量控制中。本研究所建立的一测多评检测方法对淡豆豉中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素 6 种成分含量的测定结果与外标法一致,并且在不同高效液相色谱仪、不同色谱柱等条件下均有良好的重复性,说明在对照品缺乏的情况下,所建立的一测多评法可作为一种快速、节约、精准的方法用于淡豆豉质量的评价。

研究所测定的不同产地或相同产地不同批次的淡豆豉中各有效成分含量差异较大,推测是由于不同来源原料大豆生长环境不同或炮制时加工方法不同导致。此外,选用湖北襄阳的一批淡豆豉和原料黑豆进行研究发现,原料黑豆炮制转为淡豆豉后,大豆苷元、黄豆黄素和染料木素苷元成分含量显著增高,大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷糖苷成分含量降低,说明原料黑豆炮制为淡豆豉过程中有一个由糖苷转化为苷元的阶段。研究结果表明原料黑豆经炮制后,糖苷配基解离转为游离型的苷元,从而其生理活性增强,充分体现了淡豆豉的药用

价值。

QAMS 仅需要一种标准物质就能同时鉴定 10 余种化合物, 尽管该方法非常方便, 但是其校正因子对紫外检测器和峰的测量参数极度敏感。此外, 用于计算校正因子的对照溶液的浓度应在合理范围内。目前, QAMS 法已广泛用于中药的质量控制, 波长程序、蒸发光散射检测器(ELSD)和 MS 检测器已用于 QAMS 法中。但是, 在将该方法用作质量标准方法前需要考虑更多质谱检测器的影响因素。除了 QAMS 法, 通过对照物质的提取物进行定量分析和定量核磁共振光谱技术在节省标准物质方面均具有独特的优势, 每种方法各有利弊, 应视具体情况具体分析。

4 结 论

本研究建立了同时检测淡豆豉中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素 6 种活性成分含量的一测多评方法。以 70% 甲醇作为提取溶剂, 加热回流提取 60 min。色谱柱为 Waters Symmetry C18 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为 0.1% 的冰乙酸(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~5 min, 95%~85% A; 5~20 min, 85%~72% A; 20~35 min, 72%; 35~36 min, 72%~95% A; 36~43 min, 95% A); 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温 35 ℃; 检测波长 260 nm; 进样量 10 μL。以染料木苷作为内参物, 相对校正因子分别为 0.666, 1.089, 0.926, 0.978 和 1.894。不同仪器、不同色谱柱对相对校正因子影响较小。所建立的一测多评方法具有较好的重现性、稳定性及准确性, 可用于淡豆豉的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 342. (Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia; The first part[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:342.)

[2] 陶弘景. 名医别录[M]. 北京:中国中医药出版社, 2013. (Tao H J. Famous doctors [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Publishing House, 2013.)

[3] 陈衍. 宝庆本草折衷[M]. 北京:人民卫生出版社, 1991. (Chen Y. Baoqing materia medica eclectic [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.)

[4] 林王敏, 翁倩倩, 邓爱平, 等. 基于文献的淡豆豉发酵过程成分转化分析[J/OL]. 中国中药杂志, 2021;1-18. (Lin W M, Weng Q Q, Deng A P, et al. Literature-based analysis of the conversion of components in the fermentation process of Sojæ Semen Praeparatum[J/OL]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021;1-18.)

[5] 李娜, 黄庆柏. 淡豆豉中的异黄酮成分及药理作用与临床应用[J]. 中国现代中药, 2008, 10(7): 18. (Li N, Huang Q B. Pharmacological effects and clinical application of Sojæ Semen praeparatum extract [J]. Modern Chinese Medicine, 2008, 10(7):18.)

[6] 黄文娟, 张艳丽, 刘晶, 等. 淡豆豉、大豆黄卷中总异黄酮含量差异及退热作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(9): 1198-1201. (Huang W J, Zhang Y L, Liu J, et al. Study on the relationship between the total isoflavone content of Sojæ Semen Praeparatum and Sojæ Semen germinatum and antipyretic effect of rats[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2019, 42(9): 1198-1201.)

[7] 李莺, 曹冬英, 许文, 等. 基于发酵过程的淡豆豉 6 种黄酮类成分质量控制研究[J]. 药学研究, 2019, 38(10): 563-566, 573. (Li Z, Cao D Y, Xu W, et al. Quality control of six flavonoids in Sojæ Semen Praeparatum based on fermentation process [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2019, 38(10): 563-566, 573.)

[8] 张景, 冯亭亭, 张明柱. UPLC 同时测定淡豆豉中 6 种异黄酮的含量[J]. 中药材, 2016, 39(11): 2563-2565. (Zhang J, Feng T T, Zhang M Z. Simultaneous determination of six isoflavones content in Sojæ Semen by UPLC[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2016, 39(11): 2563-2565.)

[9] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2006(23): 1925-1928. (Wang Z M, Gao H M, Fu X T, et al. Multi-components quantitation by one marker new method for quality evaluation of Chinese herbal medicine [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2006(23): 1925-1928.)

[10] 周园, 董秋菊, 冯薇, 等. 一测多评法测定南方菟丝子中 7 种活性成分的含量[J]. 中草药, 2018, 49(1): 227-232. (Zhou Y, Dong Q J, Feng W, et al. Determination of seven effective constituents in crude and processed *Cuscuta australis* by quantitative analysis of multi-components with single marker[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(1): 227-232.)

[11] 张敏, 吴运莉, 印酬, 等. “一测多评”法测定淡豆豉药材中 4 种黄酮类成分[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(19): 1740-1743. (Zhang M, Wu Y L, Yin C, et al. Determination of soybean isoflavones in Semen Sojæ Praeparatum by quantitative analysis of multi-components with a single-marker [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2014, 49(19): 1740-1743.)

[12] 田伟, 甄亚钦, 王鑫国, 等. 一测多评法用于忍冬藤多成分含量测定的适用性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(11): 77-82. (Tian W, Zhen Y Q, Wang X G, et al. Applicability study on QAMS for multi-component content determination of *Lonicerae Japonicae Caulis*[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2018, 25(11): 77-82.)

[13] 匡艳辉, 王德勤, 徐科一, 等. 一测多评法测定白芍中 7 种成分的含量[J]. 中药材, 2020, 48(10): 2499-2530. (Kuang Y H, Wang D Q, Xu K Y, et al. Determination of seven constituents in crude and processed paeoniae alba radix by quantitative analysis of multi-components with single marker [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2020, 48(10): 2499-2530.)

[14] 徐文武, 谢涛, 吕东峰, 等. 一测多评法同时测定红参中 11 种人参皂苷的含量[J]. 中草药, 2021, 52(7): 2099-2105. (Xu W W, Xie T, Lyu D F, et al. Simultaneous determination of 11 saponins components in red ginseng by QAMS method[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(7): 2099-2105.)