·药学研究·

基于定性、定量方法的浮小麦与小麦差异成分分析Δ

李雪娇[1,2*]，胡　雨[1,2]，陈　赟[1]，商　娟[1,2]，李臻阳[1,2]，封云铧[1,2]，邹建东[1]，姚卫峰[2]，卢　苏[1]，许美娟[1#]（1.南京中医药大学附属医院，南京　210029；2.南京中医药大学第一临床医学院，南京　210023）

中图分类号　R284；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）11-1296-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.11.03

摘　要　目的　分析浮小麦和小麦的成分差异，为二者的鉴定及质量控制提供参考。**方法**　收集20批浮小麦和3批小麦药材，采用高效液相色谱法，利用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012版）绘制指纹图谱并进行相似度评价，应用聚类分析（CA）、主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）对不同产地浮小麦及小麦样品进行差异分析，筛选差异成分，并测定浮小麦和小麦中6个指认成分的含量。**结果**　浮小麦指纹图谱的相似度为0.928～0.996，小麦与浮小麦的相似度为0.761～0.773；在浮小麦和小麦中共标定19个共有峰，指认出了6个成分，分别为亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚和5-二十三烷基间苯二酚。CA、PCA结果显示，浮小麦和小麦能明显区分；产地为安徽的浮小麦的分布较为集中。OPLS-DA结果显示，亚麻酸、亚油酸及其他6个未知化合物为浮小麦和小麦的差异成分。浮小麦中上述6个指认成分的平均含量分别为0.100 9、1.094 0、0.005 1、0.030 9、0.098 2、0.024 8 mg/g，且浮小麦中亚麻酸、亚油酸的含量均显著高于小麦（$P<0.05$）。**结论**　所建定性、定量测定方法操作简单、结果可靠，可用于浮小麦和小麦的鉴别及质量评价。亚麻酸、亚油酸等差异成分可为浮小麦和小麦的鉴别及药效学差异研究提供线索。

关键词　浮小麦；小麦；指纹图谱；含量测定；化学计量学分析；差异成分；高效液相色谱法

Differential component analysis between Fructus Tritici Levis and *Triticum aestivum* based on qualitative and quantitative methods

LI Xuejiao[1,2], HU Yu[1,2], CHEN Yun[1], SHANG Juan[1,2], LI Zhenyang[1,2], FENG Yunhua[1,2], ZOU Jiandong[1], YAO Weifeng[2], LU Su[1], XU Meijuan[1]（1. The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To analyze the compositional differences between Fructus Tritici Levis and *Triticum aestivum*, and to provide reference for identification and quality control of both. **METHODS** Twenty batches of Fructus Tritici Levis and three batches of *T. aestivum* were collected, and their fingerprints were acquired by high-performance liquid chromatography and the similarities were evaluated by *the Evaluation System of Similarity of Chromatographic Fingerprints of Traditional Chinese Medicine* (2012 version). Cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were performed to analyze the difference of Fructus Tritici Levis and *T. aestivum* from different regions, and the differential components were screened. The contents of the six identified components in Fructus Tritici Levis and *T. aestivum* were determined. **RESULTS** The similarities of the fingerprints of Fructus Tritici Levis ranged from 0.928 to 0.996, and the relative similarities of *T. aestivum* with Fructus Tritici Levis ranged from 0.761 to 0.773. A total of 19 common peaks were calibrated, and six components including linolenic acid, linoleic acid, 5-heptadecylresorcinol, 5-nonadodecylresorcinol, 5-heneicosylresorcinol, and 5-tricosylresorcinol were identified. The results of CA and PCA showed that Fructus Tritici Levis and *T. aestivum* could be clearly distinguished; the distribution of Fructus Tritici Levis from Anhui province was relatively concentrated. The results of OPLS-DA showed that linolenic acid, linoleic acid, and other six unknown compounds were the differential components between Fructus Tritici Levis and *T. aestivum*. The average contents of the six identified components in Fructus Tritici Levis were 0.100 9, 1.094 0, 0.005 1, 0.030 9, 0.098 2, and 0.024 8 mg/g, respectively; the contents of linolenic acid and linoleic acid in Fructus Tritici Levis were significantly higher than those in *T. aestivum* ($P<0.05$). **CONCLUSIONS**

Δ基金项目　国家自然科学基金面上项目（No.82374005）；江苏省中医药科技发展计划重点项目（No.ZD202206）；南京中医药大学自然科学基金立项项目（No.XZR2020015）；江苏省研究生实践创新计划项目（No.SJCX23_0750）

＊第一作者　硕士研究生。研究方向：中药药效物质基础与质量标准。E-mail：lixuejiao1025@163.com

＃通信作者　研究员，硕士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础与质量标准。E-mail：windcolour11@126.com

The established qualitative and quantitative methods are simple and reliable, and can be used for the identification and quality evaluation of Fructus Tritici Levis and *T. aestivum*. The identified differential components, such as linolenic acid and linoleic acid, can also provide clues for the differentiation and pharmacological study of Fructus Tritici Levis and *T. aestivum*.

KEYWORDS Fructus Tritici Levis; *Triticum aestivum*; fingerprint; content determination; chemometrics analysis; differential components; HPLC

浮小麦，又名浮水麦、浮麦，为禾本科小麦属植物小麦 *Triticum aestivum* L. 的干燥轻浮瘪瘦的果实，因体轻浮于水面得名[1]。其性凉、味甘，归心经，具有益气除热、养心生津以及止自汗、盗汗、骨蒸虚热的作用，临床上多用于治疗虚热多汗、盗汗、口干舌燥、心烦失眠等症[2—3]。小麦为禾本科小麦属植物小麦 *T. aestivum* L. 的干燥成熟果实，其饱满、质重，入水下沉，味甘、性凉，具有除热止渴、宁心安神、止虚汗、利小便、止血等功效[4]。可见，浮小麦与小麦同源不同效，两者不能混淆使用。但是，2020年版《中国药典》（四部）成方制剂中“本版药典未收载的药材和饮片”项下仅对浮小麦和小麦药材饮片的来源进行了规定，缺乏完善的质量标准来控制两味中药的质量；同时，也鲜有浮小麦和小麦差异成分研究的报道，无法从化学成分层面对二者进行鉴别和区分。因此，有必要建立适宜的分析方法，对浮小麦和小麦进行比较研究。

近年来，虽有浮小麦指纹图谱和个别成分含量测定的报道，但指认和测定的成分不多[5—9]，代表性有限。鉴于此，本研究拟采用高效液相色谱（HPLC）技术对浮小麦和小麦中化学成分进行定性、定量分析，并应用多种化学模式识别方法对不同产地浮小麦及小麦样品进行差异分析，为二者的质量控制提供依据，也为二者的鉴定及药效学的差异研究提供线索。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有 Alliance 2695 型 HPLC 仪（美国 Waters 公司）、CPA225D 型电子天平（德国 Sartorius 公司）、Advantage A10 型超纯水机（美国 Milli-Q 公司）、DFT-50 型手提式高速万能粉碎机（温岭市林大机械有限公司）、MICRO-17R 型高速冷冻离心机（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）、Centrivap 型真空离心浓缩仪（美国 Labconco 公司）。

1.2 主要药品与试剂

5-二十一烷基间苯二酚对照品（批号 M19GB149035，纯度≥98%）、亚油酸对照品（批号 S29M11B113654，纯度≥98%）、亚麻酸对照品（批号 S16HB192030，纯度≥98%）均购自上海源叶生物科技有限公司；5-十七烷基间苯二酚对照品（批号 CFS201902，纯度≥98%）、5-二十三烷基间苯二酚对照品（批号 CFS201701，纯度≥98%）均购自武汉天植生物科技有限公司；5-十九烷基间苯二酚对照品（批号 C15409759，纯度≥98%）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；甲醇、乙腈、甲酸、磷酸均为色谱纯。

浮小麦和小麦的来源信息见表 1。小麦、浮小麦药材分别经江苏省中医院药学部张倩副主任中药师鉴定为禾本科小麦属植物小麦 *T.aestivum* L. 的干燥成熟果实和干燥轻浮瘪瘦的果实。

表 1 不同产地浮小麦、小麦药材样品信息

药材名称	编号	产地	批号	厂家
浮小麦	S1	江苏	23022061	江苏传承中药有限公司
	S2	河北	220401	洪雅县瓦屋山药业有限公司
	S3	安徽	C428230302	安国市荣华本草中药材有限公司
	S4	四川	C192211201	成都欣福源中药饮片有限公司
	S5	河北	221101421	康美药业股份有限公司
	S6	安徽	221201	安徽惠丰国药有限公司
	S7	安徽	221101	安徽昊森药业有限公司
	S8	河北	20220123	吉林白山本苜药业有限公司
	S9	河北	220801	普宁市泽群中药饮片有限公司
	S10	四川	230201	四川省天府神龙中药饮片有限公司
	S11	安徽	A230131	亳州市永刚饮片厂有限公司
	S12	安徽	230201	安徽盛安堂药业有限公司
	S13	河南	220701	佛山星联中药饮片有限公司
	S14	山东	210901	广西泰嵘药业有限公司
	S15	山西	230301	广东慧达康制药有限公司
	S16	河北	2210001	河北全泰药业有限公司
	S17	安徽	220701	安徽省百萃金方药业有限公司
	S18	河北	230301	北京同仁堂南京药店有限责任公司
	S19	江苏	220902	安徽省万生中药饮片有限公司
	S20	江苏	230401	安徽省万生中药饮片有限公司
小麦	X1	安徽	230205	安徽康和中药科技有限公司
	X2	河北	211201	广东天诚中药饮片有限公司
	X3	江苏	23042701	江苏传承中药有限公司

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Alltima C_8（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，以乙腈（A）-0.1% 磷酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～4 min，30%A→45%A；4～20 min，45%A→80%A；20～30 min，80%A；30～50 min，80%A→90%A；50～55 min，90%A→30%A；55～65 min，30%A）；流速为 1 mL/min；检测波长为 210 nm（用于指纹图谱分析及除 5-十九烷基间苯二酚外的其余成分含量测定）和 275 nm（用于 5-十九烷基间苯二酚含量测定）；柱温为 40 ℃；进样量为 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备

分别取亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚和 5-二十三烷

基间苯二酚对照品适量，精密称定，置于同一容量瓶中，加入甲醇溶解并定容，制成质量浓度分别为50.0、500.0、10.0、26.5、63.0、20.0 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2　定性分析供试品溶液的制备

精密称取浮小麦或小麦粉末（过80目筛）约1.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入10 mL甲醇，振荡混匀，超声（功率250 W，频率40 kHz）15 min，放冷，称定质量，用甲醇补足减失的质量，振荡1 min混匀，采用0.45 μm微孔滤膜滤过，续取滤液，即得。

2.2.3　含量测定供试品溶液的制备

精密称取浮小麦或小麦粉末（过80目筛）约1.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入乙酸乙酯10 mL，振荡摇匀，超声（功率250 W，频率40 kHz）15 min，滤过；滤液用40 ℃氮气吹干，加入4 mL（浮小麦供试品溶液）或2 mL（小麦供试品溶液）甲醇复溶，振荡1 min混匀，超声（功率250 W，频率40 kHz）15 min，采用0.45 μm微孔滤膜滤过，续取滤液，即得。

2.3　浮小麦和小麦的HPLC定性分析

2.3.1　浮小麦指纹图谱建立的方法学考察

（1）精密度试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.2”项下方法制备定性分析供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录色谱图。以亚油酸峰（峰3）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均小于0.15%、相对峰面积的RSD均小于2.64%（n=6），表明该方法精密度良好。

（2）稳定性试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.2”项下方法制备定性分析供试品溶液，分别于溶液制备后的0、3、6、9、12、24 h按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以亚油酸峰（峰3）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均小于0.36%、相对峰面积的RSD均小于3.48%（n=6），表明24 h内该供试品溶液的稳定性良好。

（3）重复性试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.2”项下方法平行制备6份定性分析供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以亚油酸峰（峰3）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD均小于0.99%、相对峰面积的RSD均小于2.96%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.3.2　浮小麦指纹图谱的建立及相似度评价

取20批浮小麦粉末，按“2.2.2”项下方法制备定性分析供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将所得20批浮小麦药材的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012版），以样品S19的图谱为参照图谱，采用中位数法生成对照指纹图谱R，经多点校正后进行自动匹配生成指纹图谱（图1），并计算相似度。结果显示，20批浮小麦样品共确定了19个共有峰，其相似度为0.928～0.996，表明20批浮小麦样品相似度良好，化学成分具有一致性。

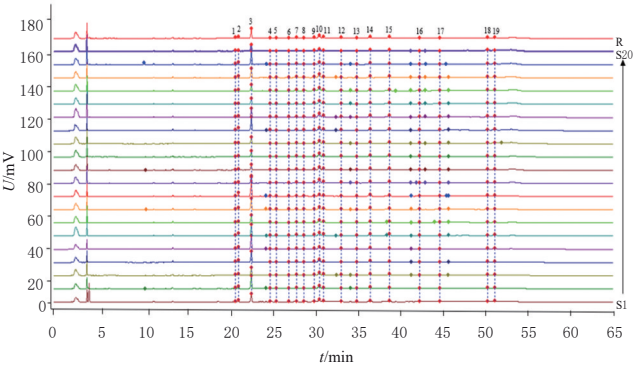


图1　20批浮小麦的HPLC指纹图谱和对照指纹图谱R

2.3.3　浮小麦与小麦的共有成分分析

取3批小麦粉末，分别按“2.2.2”项下方法制备定性分析供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样，记录色谱图。将所得3批小麦药材的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012版），以浮小麦对照指纹图谱R为参照，生成叠加图谱（图2）并计算相似度。结果显示，20批浮小麦中的19个共有峰也为小麦所共有，小麦与浮小麦的相似度为0.761～0.773，提示小麦与浮小麦样品存在一定差异。

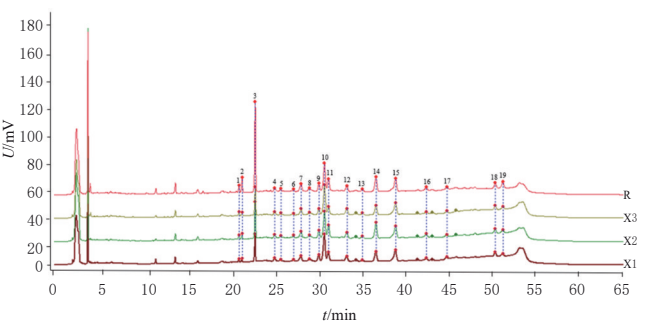


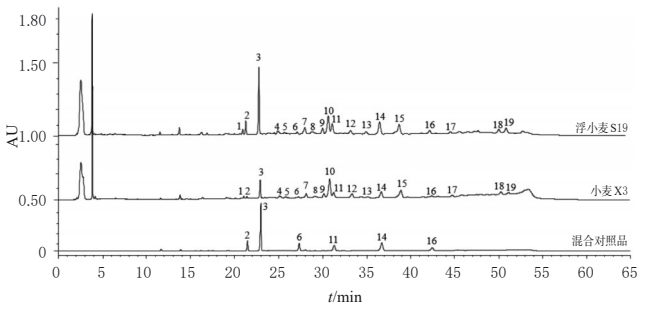
图2　3批小麦样品的HPLC叠加图谱和浮小麦的对照指纹图谱R

2.3.4　浮小麦与小麦共有峰的指认

经与混合对照品溶液图谱（取“2.2.1”项下混合对照品溶液按“2.1”项下色谱条件进样测定所得）进行比对，从浮小麦与小麦的19个共有峰中共指认出了6个色谱峰，分别为亚麻酸（峰2）、亚油酸（峰3）、5-十七烷基间苯二酚（峰6）、5-十九烷基间苯二酚（峰11）、5-二十一烷基间苯二酚（峰14）、5-二十三烷基间苯二酚（峰16）。结果见图3。

2.3.5　化学模式识别分析

（1）聚类分析（cluster analysis，CA）：以20批浮小麦和3批小麦样品的共有峰峰面积为变量，使用SPSS 26.0软件进行分析，利用“Z得分”进行数据标准化处理，采用系统聚类方法和平方欧氏距离进行CA，结果见图4。结果显示，当分类距离为15时，23批药材可分为2类：小麦



2：亚麻酸；3：亚油酸；6：5-十七烷基间苯二酚；11：5-十九烷基间苯二酚；14：5-二十一烷基间苯二酚；16：5-二十三烷基间苯二酚。

图3　浮小麦、小麦和混合对照品溶液的HPLC叠加图

聚成一类，浮小麦聚成另一类，说明小麦、浮小麦确实存在差异。当分类距离为12时，浮小麦又可以被分为2类：来自安徽的S3、S6、S7、S11、S12、S17均聚为Ⅱ-b类，大部分河北产的浮小麦被聚为Ⅱ-a类，提示安徽的浮小麦质量更加均一、稳定。

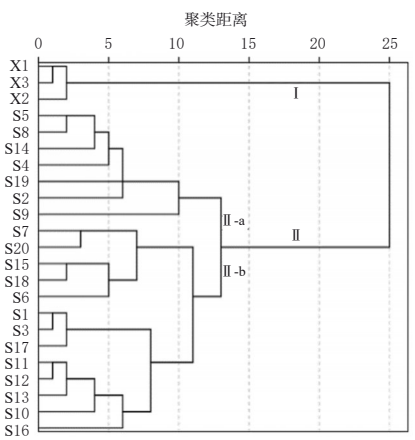


图4　20批浮小麦和3批小麦的聚类树状图

（2）主成分分析（principal component analysis，PCA）：将20批浮小麦和3批小麦样品的共有峰峰面积导入SIMCA 14.1软件，进行PCA。将数据归一化处理后拟合得到PCA模型，结果显示，模型的X矩阵累计解释能力参数（R^2X）为0.818，预测能力参数（Q^2）为0.574，说明该模型的预测能力良好。图5的PCA得分图结果显示，3批小麦样品的分布较为集中，产地为安徽的浮小麦的分布较为集中，与CA结果基本一致。

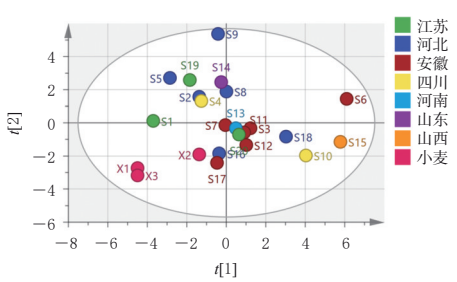


图5　20批浮小麦和3批小麦的PCA得分图

（3）正交偏最小二乘法判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA）：为进一步探究差异性成分，本研究将20批浮小麦和3批小麦的共有峰峰面积进行标准化处理，再将标准化处理后的数据导入SIMCA 14.1软件，建立OPLS-DA模型。结果显示，模型的验证参数为R^2X=0.823，Y矩阵累计解释能力参数（R^2Y）为0.905，Q^2=0.669，说明所建模型可靠。提取OPLS-DA模型中19个共有峰的变量重要性投影（variable importance in the projection，VIP）值，见图6。以VIP＞1.0为筛选标准，筛选出8个差异成分，依次为19、1、5、2（亚麻酸）、7、3（亚油酸）、8、18号色谱峰。使用GraphPad Prism 9软件对2种样品中VIP值排前3名的差异色谱峰（19、1、5号色谱峰）的峰面积进行LSD-t检验分析，检验水准α=0.05。结果显示，浮小麦中19、1、5号色谱峰的平均峰面积分别为272 933、110 465、72 082，均显著大于小麦样品中对应峰的峰面积（分别为105 617、55 048、47 420）（P＜0.05），进一步表明这些色谱峰可能是浮小麦和小麦的差异成分。

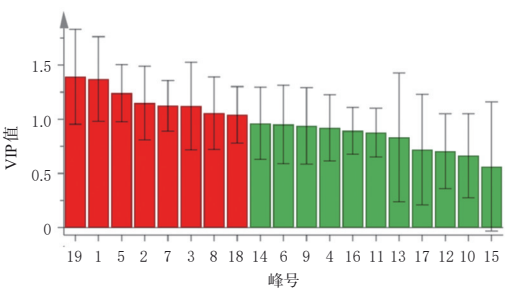


图6　浮小麦与小麦19个共有峰的VIP值

2.4　浮小麦和小麦中6种指认成分的含量测定

2.4.1　方法学考察

（1）线性关系考察：分别称取亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚和5-二十三烷基间苯二酚对照品10.03、100.06、1.02、5.30、12.62、4.04 mg，分别置于10 mL容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，制成质量浓度分别为1.003、10.006、0.102、0.530、1.262、0.404 mg/mL的单一对照品溶液。分别精密吸取以上6种单一对照品溶液适量，置于同一10 mL容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，配成亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚和5-二十三烷基间苯二酚质量浓度分别为100、1 000、10、53、126、40 μg/mL的混合对照品溶液；再用甲醇逐级倍比稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液（如亚麻酸的质量浓度分别为100、50、25、12.5、6.25、3.125 μg/mL），按“2.1”项下色谱条件进行测定。以对照品的质量浓度（X）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，得到各成分的回归方程和线性范围，见表2。结果表明，各成分在相应的质量浓度范围内与其峰面积的线性关系均良好。

（2）精密度试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.3”项下方法制备含量测定供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。

表2　6种待测成分的回归方程、相关系数和线性范围

待测成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)
亚麻酸	Y=29 400X+21 200	0.998 8	3.125～100
亚油酸	Y=15 500X+105 000	0.996 6	31.25～1 000
5-十七烷基间苯二酚	Y=89 600X+5 540	0.999 1	0.312 5～10
5-十九烷基间苯二酚	Y=5 380X+1 890	0.998 8	1.656 2～53
5-二十一烷基间苯二酚	Y=46 000X+33 900	0.998 6	3.937 5～126
5-二十三烷基间苯二酚	Y=50 200X+10 800	0.999 2	1.25～40

结果显示，亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚峰面积的RSD分别为2.37%、1.67%、1.97%、2.92%、1.94%、1.83%（n=6），表明该方法精密度良好。

（3）稳定性试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.3”项下方法制备含量测定供试品溶液，分别于溶液制备后的0、3、6、9、12、24 h按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚峰面积的RSD分别为1.80%、1.35%、2.80%、2.70%、1.06%、2.91%（n=6），表明供试品溶液在制备后24 h内的稳定性良好。

（4）重复性试验：取浮小麦药材粉末（S19）约1.0 g，精密称定，按“2.2.3”项下方法平行制备6份含量测定供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并代入标准曲线计算各成分含量。结果显示，亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚的平均含量分别为0.157 3、1.727 4、0.004 6、0.029 3、0.099 5、0.016 4 mg/g，RSD分别为2.10%、1.48%、1.85%、2.76%、2.24%、1.31%（n=6），表明该方法重复性良好。

（5）加样回收率试验：取浮小麦药材粉末（S13）约0.5 g，按照对照品加入量和样品中含量约1∶1的比例，分别加入亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚对照品，按“2.2.3”项下方法平行制备6份含量测定供试品溶液，按“2.1”项色谱条件进行测定，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚的加样回收率分别为96.66%～101.73%、97.00%～104.93%、99.83%～104.12%、97.88%～104.42%、98.05%～104.31%、98.89%～103.05%，RSD分别为1.96%、2.61%、1.57%、2.00%、2.15%、1.64%（n=6），表明该方法准确度良好。

2.4.2　样品含量测定

取20批浮小麦药材粉末和3批小麦药材粉末，分别按“2.2.3”项下方法制备含量测定供试品溶液，然后按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并代入回归方程计算含量。每批样品测定3次，取平均值，结果见表3。结果显示，浮小麦中亚麻酸、亚油酸、5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十一烷基间苯二酚和5-二十三烷基间苯二酚的平均含量分别为0.100 9、1.094 0、0.005 1、0.030 9、0.098 2、0.024 8 mg/g，小麦中上述成分的平均含量分别为0.036 0、0.342 9、0.005 2、0.031 7、0.084 3、0.022 7 mg/g。使用GraphPad Prism 9软件对2类药材中6个成分含量进行LSD-t检验分析，检验水准α=0.05。结果显示，浮小麦中亚麻酸、亚油酸的平均含量均显著高于小麦样品（P<0.05）。同时，使用上述方法对浮小麦和小麦中脂肪酸类成分和烷基间苯二酚类成分总含量进行统计分析，结果显示，浮小麦中脂肪酸类成分的平均总含量（1.194 9 mg/g）显著高于小麦样品（0.378 8 mg/g）（P<0.05）；浮小麦中烷基间苯二酚类成分的平均总含量（0.158 9 mg/g）略高于小麦样品（0.143 8 mg/g），但差异无统计学意义（P>0.05）。

表3　浮小麦和小麦样品中6种成分含量测定结果（mg/g，n=3）

药材编号	亚麻酸	亚油酸	5-十七烷基间苯二酚	5-十九烷基间苯二酚	5-二十一烷基间苯二酚	5-二十三烷基间苯二酚
S1	0.107 6	1.261 8	0.007 4	0.026 9	0.096 7	0.023 1
S2	0.113 0	1.386 9	0.004 3	0.025 4	0.086 1	0.022 2
S3	0.107 2	1.213 3	0.006 6	0.040 8	0.115 9	0.028 7
S4	0.114 5	1.300 7	0.004 7	0.028 9	0.093 6	0.024 9
S5	0.125 5	1.156 4	0.003 3	0.022 9	0.084 7	0.022 3
S6	0.130 0	1.236 6	0.006 4	0.039 5	0.126 3	0.032 2
S7	0.073 0	0.841 1	0.004 4	0.027 1	0.085 1	0.019 0
S8	0.091 2	1.143 8	0.005 4	0.033 5	0.111 1	0.026 0
S9	0.202 1	2.217 7	0.005 5	0.035 2	0.124 0	0.031 0
S10	0.058 5	0.774 8	0.004 6	0.029 7	0.087 3	0.020 1
S11	0.048 1	0.581 4	0.005 7	0.036 2	0.107 7	0.025 9
S12	0.059 1	0.727 7	0.006 0	0.037 3	0.102 8	0.025 5
S13	0.058 9	0.732 3	0.005 1	0.032 4	0.100 4	0.026 2
S14	0.142 8	1.420 3	0.004 9	0.029 8	0.096 8	0.027 7
S15	0.113 6	1.042 2	0.005 5	0.034 6	0.108 4	0.029 5
S16	0.065 0	0.704 0	0.004 3	0.026 4	0.076 3	0.020 5
S17	0.077 8	0.770 3	0.004 0	0.024 6	0.071 3	0.019 1
S18	0.105 6	0.994 3	0.005 2	0.031 0	0.098 7	0.028 3
S19	0.157 6	1.727 8	0.004 6	0.029 4	0.099 7	0.016 4
S20	0.066 8	0.647 1	0.004 1	0.025 5	0.090 5	0.027 0
X1	0.035 3	0.309 1	0.005 0	0.031 4	0.084 7	0.022 2
X2	0.051 0	0.486 1	0.006 4	0.040 6	0.085 8	0.028 4
X3	0.021 6	0.233 4	0.004 3	0.023 0	0.082 3	0.017 4

3　讨论

3.1　色谱条件的优化

据文献报道，浮小麦中的主要成分有脂肪酸类、烷基间苯二酚类、植物甾醇和糖类等[7－10]。本研究进行指纹图谱分析时，在210 nm波长下能够兼顾各类型化合物的分析，检测出更多的色谱峰；进行含量测定时，因5-十九烷基间苯二酚（峰11）在210 nm波长下检测有干扰，因此选择在275 nm波长下对其进行测定，其余5种成分依旧在210 nm波长下进行测定。关于色谱柱的选择，本研究首先考察了文献报道的浮小麦[5,7,11]及其他中药指纹图谱研究常用的C_{18}色谱柱，如Kromasil C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）和Agilent SB C_{18}（250 mm×4.6

mm，5 μm）等，但总体分析时间较长，且图谱后半段色谱峰太宽、洗脱效率差。考虑到浮小麦样品中大部分化合物极性较小，最终选用Alltima C_8柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）进行分离。关于流动相中有机相的选择，本研究考虑到在210 nm波长下使用甲醇进行梯度洗脱时，基线波动较大，故选择乙腈为有机相进行洗脱；关于流动相中水相的选择，本研究首先考察了1%磷酸溶液和0.05%甲酸溶液，结果显示0.1%磷酸溶液分离脂肪酸的效果较好，因此最终选用乙腈-0.1%磷酸溶液作为流动相。

3.2 供试品溶液制备方案的考察

本研究考察了不同提取溶剂（水、乙醚、甲醇、乙酸乙酯）对浮小麦、小麦样品色谱峰的影响，结果发现以甲醇提取的浮小麦、小麦样品色谱峰最多，故在指纹图谱研究中选择甲醇作为提取溶剂；而以乙酸乙酯提取的浮小麦、小麦样品中6个待测成分的干扰较少，故在含量测定时选择乙酸乙酯作为提取溶剂。此外，本研究还考察了不同料液比（1∶10、1∶20、1∶40，*m*/*V*）和不同超声提取时间（15、30、45 min）对各色谱峰峰面积的影响，结果发现在上述不同料液比和提取时间下提取出的色谱峰峰面积相差不大，故选择1∶10（g/mL）的料液比提取15 min。

3.3 含量测定指标成分的选择

烷基间苯二酚类化合物是在谷物中发现的一类独特的酚类类脂，具有抑菌、抗肿瘤、抗氧化、抑制α-葡萄糖苷酶活性等作用[12－13]。不饱和脂肪酸和植物甾醇类成分也存在于常见谷物中[10,14]，具有降低胆固醇及血脂、降压、调节免疫、抗炎、防治动脉粥样硬化的作用[11,15]。因此，烷基间苯二酚类成分、不饱和脂肪酸和植物甾醇类成分均有可能是浮小麦、小麦的效应物质基础。目前，基于HPLC的浮小麦分析方法中，研究最多的指标是5-二十一烷基间苯二酚[6－7,9,16]，亚油酸[6]、豆甾醇[11]等也偶有报道，但同时测定的成分最多只有2种。本研究前期通过一级质谱扫描信息及与对照品比对，首次在浮小麦指纹图谱中指认出了亚麻酸及其他3个烷基间苯二酚类成分（5-十七烷基间苯二酚、5-十九烷基间苯二酚、5-二十三烷基间苯二酚）。此外，本研究还将浮小麦指纹图谱与豆甾醇、谷甾醇对照品色谱峰进行了比对，但未在浮小麦指纹图谱中相应位置处见到明显色谱峰。最终，本研究确定了同时测定2种脂肪酸和4种烷基间苯二酚类成分含量的HPLC方法，并对浮小麦及小麦中的相应成分含量进行了测定。

3.4 不同产地浮小麦的质量影响因素以及浮小麦与小麦的差异成分对比分析

中国小麦种植生产主要集中在河南、山东、安徽、河北、江苏、新疆等省份，其中河南、山东、安徽常年稳居全国小麦种植面积与产量前3位[17]。通过CA和PCA发现，产自安徽的浮小麦均可聚成一类，表明其质量较为均一、稳定；而其他地区的浮小麦质量存在一定差异，这可能与浮小麦生长环境、采收周期、饮片加工方法、贮藏时间等因素有关[11,18]。浮小麦和小麦可以明显分为2类，表明二者之间存在显著差异，而这一差异可能源于共有成分含量的差异。

本研究根据OPLS-DA和6种成分的含量测定结果发现，亚麻酸、亚油酸等8个成分可能为小麦和浮小麦存在差异的标志性成分，含量测定结果也证实浮小麦中亚麻酸和亚油酸的含量显著高于小麦，这可能与小麦麸皮中不饱和脂肪酸的含量高于小麦胚芽有关[19]；峰19、1和5是浮小麦和小麦排前3名的主要差异成分，用峰面积进行半定量分析，结果也提示浮小麦中上述3种成分的含量显著高于小麦，这反向验证了OPLS-DA的结果，也提示筛选出的差异峰对应成分可能是小麦和浮小麦功效差异的物质基础，但其究竟是何成分有待进一步研究。此外，本研究发现，小麦和浮小麦中烷基间苯二酚类成分的含量差异并无统计学意义。裴妙荣等[9]也发现，5-二十一烷基间苯二酚在浮小麦中的含量仅为小麦的1.54倍，提示烷基间苯二酚类可能并不是浮小麦与小麦的主要差异成分。但因生产小麦饮片的公司不多，本研究所用小麦批数较少，得到的8个差异成分是否能作为浮小麦和小麦的鉴别成分仍需扩大样品批数后进一步确证。

综上所述，本研究建立的浮小麦与小麦的HPLC定性、定量分析方法稳定可行、操作简单、结果可靠，可为浮小麦与小麦药材的质量控制提供依据。本研究还通过化学模式识别方法分析筛选出了亚麻酸和亚油酸等8个浮小麦与小麦的差异成分，可为浮小麦和小麦的鉴定和功效差异研究提供线索。

参考文献

[1] 陈小红. 浮小麦中药学研究[J]. 中国医疗前沿，2013，8（16）：91-93.
CHEN X H. Pharmaceutical research of Fructus Tritici Levis[J]. Natl Med Front China，2013，8(16)：91-93.

[2] 杨浩宇，张莉莉，顾成娟，等. 黄芪、浮小麦、煅牡蛎治疗虚汗多经验：仝小林三味小方撷萃[J]. 吉林中医药，2020，40(4)：425-427.
YANG H Y，ZHANG L L，GU C J，et al. *Astragalus membranaceus*，Fructus Tritici Levis，calcined cyster in the treatment of sweating disease：three prescriptions by professor TONG Xiaolin[J]. Jilin J Chin Med，2020，40(4)：425-427.

[3] 于双洋，张雪松，樊美玲，等. 基于数据挖掘技术研究治疗围绝经期综合征的用药规律[J]. 中国老年学杂志，2023，43(23)：5729-5732.
YU S Y，ZHANG X S，FAN M L，et al. Study of medication patterns in the treatment of perimenopausal syndrome based on data mining techniques[J]. Chin J Gerontol，2023，43(23)：5729-5732.

[4] 蒲昭和. 小麦、浮小麦同源不同效[J]. 中南药学(用药与健康),2015(12):41.
PU Z H. Wheat and floating wheat have the same origin and different effects[J]. Med Health,2015(12):41.

[5] 胡晓丹,宫会丽,马善鹏,等. 浮小麦炒制前后化学差异比较研究[J]. 沈阳药科大学学报,2023,40(11):1508-1514.
HU X D,GONG H L,MA S P,et al. Comparative study on chemical differences of Fructus Tritici Levis before and after stir-frying[J]. J Shenyang Pharm Univ,2023,40(11):1508-1514.

[6] 高明菊,毕丹,孟霜,等. HPLC法同时测定浮小麦中5-二十一烷基间苯二酚和亚油酸的含量[J]. 中国药房,2013,24(3):244-246.
GAO M J,BI D,MENG S,et al. Content determination of 5-heneicosylresorcinol and linoleic acid in Fructus Tritici Levis by HPLC[J]. China Pharm,2013,24(3):244-246.

[7] 王鹏飞,刘娇,高速,等. 浮小麦5-二十一烷基间苯二酚提取与测定方法优化及指纹图谱研究[J]. 中国野生植物资源,2020,39(4):1-6.
WANG P F,LIU J,GAO S,et al. Study on the optimization of extraction and determination method and fingerprint of Fructus Tritici Levis [J]. Chin Wild Plant Resour,2020,39(4):1-6.

[8] 白吉庆,王鹏飞,张姣姣,等. 小麦与浮小麦中葡萄糖和棉子糖提取与测定方法研究[J]. 中国野生植物资源,2020,39(9):6-10.
BAI J Q,WANG P F,ZHANG J J,et al. Study on the extraction and determination method of glucose and cottonseed sugar in wheat and floating wheat[J]. Chin Wild Plant Resour,2020,39(9):6-10.

[9] 裴妙荣,孟霜,李慧峰. 浮小麦与小麦的止汗作用及5-二十一烷基间苯二酚等化合物含量比较研究[J]. 中华中医药学刊,2013,31(9):2030-2032,2089.
PEI M R,MENG S,LI H F. Study of Fructus Tritici Levis and wheat on anti-hidropoiesis function and difference content of 5-heneicosylresorcinol between them[J]. Chin Arch Tradit Chin Med,2013,31(9):2030-2032,2089.

[10] 周路,徐宝成,尤思聪,等. 植物甾醇生理功能及安全性评估研究新进展[J]. 中国粮油学报,2020,35(6):196-202.
ZHOU L,XU B C,YOU S C,et al. New progresses in research of physiological function and safety evaluation of phytosterols[J]. J Chin Cereals Oils Assoc,2020,35(6):196-202.

[11] 袁为玲,惠明,田青,等. 不同产地浮小麦HPLC指纹图谱研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2020,41(3):59-64.
YUAN W L,HUI M,TIAN Q,et al. HPLC fingerprint of Fructus Tritici Levis from different producing areas[J]. J Henan Univ Technol Nat Sci Ed,2020,41(3):59-64.

[12] MARENTES-CULMA R,ORDUZ-DÍAZ L L,COY-BARRERA E. Targeted metabolite profiling-based identification of antifungal 5-n-alkylresorcinols occurring in different cereals against *Fusarium oxysporum*[J]. Molecules,2019,24(4):770.

[13] 屠洁,刘冠卉,曹喜涛,等. 小麦麸皮烷基间苯二酚抑制α-葡萄糖苷酶的构效关系研究[J]. 江苏科技大学学报(自然科学版),2019,33(6):93-98.
TU J,LIU G H,CAO X T,et al. Study on the structure-activity relationship of inhibition on α-glucosidase by wheat bran alkylresorcinols[J]. J Jiangsu Univ Sci Technol Nat Sci Ed,2019,33(6):93-98.

[14] TIAN W F,ZHENG Y,WANG W Q,et al. A comprehensive review of wheat phytochemicals: from farm to fork and beyond[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf,2022,21(3):2274-2308.

[15] 沙爽,冯启鑫,张欣蕊,等. 亚油酸/α-亚麻酸复合物对小鼠急性肝损伤的预防作用[J]. 食品科学,2022,43(17):188-198.
SHA S,FENG Q X,ZHANG X R,et al. Preventive effect of linoleic acid and α-linolenic acid mixtures on acute liver injury in mice[J]. Food Sci,2022,43(17):188-198.

[16] 孟霜,李慧峰,闫艳,等. 浮小麦药材质量控制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):124-127.
MENG S,LI H F,YAN Y,et al. Criteria of quality control for *Triticum aestivum*[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae,2012,18(24):124-127.

[17] 申洪源. 2022年中国小麦市场分析[N]. 粮油市场报,2023-02-14(B02).
SHEN H Y. Analysis of China's wheat market in 2022[N]. Grain and Oil Market News,2023-02-14(B02).

[18] 王妍,张晓龙,石嘉丽,等. 中国冬小麦主产区气候变化及其对小麦产量影响研究[J]. 中国生态农业学报(中英文),2022,30(5):723-734.
WANG Y,ZHANG X L,SHI J L,et al. Climate change and its effect on winter wheat yield in the main winter wheat production areas of China[J]. Chin J Eco Agric,2022,30(5):723-734.

[19] KUMAR G S,KRISHNA A G. Studies on the nutraceuticals composition of wheat derived oils wheat bran oil and wheat germ oil[J]. J Food Sci Technol,2015,52(2):1145-1151.

(收稿日期:2024-01-19 修回日期:2024-05-08)
(编辑:林 静)