

## · 基础研究 ·

基于HPLC多成分定量结合外观性状的  
金银花质量评价与等级标准的制定<sup>△</sup>代熙<sup>1</sup>, 郭然<sup>1</sup>, 黄厚钰<sup>1</sup>, 耿泽宇<sup>1</sup>, 袁皓<sup>2</sup>, 翟玉生<sup>3</sup>, 郝恩普<sup>4</sup>, 李卫东<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488;

2. 山东坤和堂药业股份有限公司, 山东 菏泽 274000;

3. 通渭县清凉沅金银花产业扶贫开发有限公司, 甘肃 通渭 743300;

4. 巨鹿县发展和改革委员会, 河北 巨鹿 055250

**[摘要]** 目的: 分析对比主产区及部分新产区金银花的差异, 研究金银花药材质量的分级规律, 建立广泛通用的金银花等级质量标准。方法: 收集8个地区共计78批样品, 测定外观性状指标, 包括颜色、黄条率和枝叶率, 通过高效液相色谱法测定绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸C、总酚酸和木犀草苷含量; 使用SPSS 26.0和SIMCA 14.1软件进行质量评价和等级划分。结果: 8个地区金银花样品绿原酸质量分数为1.17%~3.66%, 总酚酸质量分数为3.34%~6.59%, 木犀草苷质量分数为0.045%~0.185%。主成分分析对比发现甘肃通渭、云南云龙地区金银花同主产区金银花存在较大差异, 不同加工方式处理的金银花区分较为明显。根据综合评分结果将金银花分为4个等级。结论: 部分样品不合格的主要原因为总酚酸含量不达标。主产区金银花特征相似, 不同新产区的金银花质量差异较大。建立的金银花等级质量标准能够反映药材质量的差异性, 为不同产地金银花药材质量评价提供参考。

**[关键词]** 金银花; 绿原酸; 异绿原酸A; 异绿原酸C; 木犀草苷; 质量标准

**[中图分类号]** R282;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)05-0821-10

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20210630007

Quality Evaluation and Grading Standard of *Lonicera Japonica* Flos Based on HPLC Multi-Component  
Quantitative Analysis and Appearance TraitsDAI Xi<sup>1</sup>, GUO Ran<sup>1</sup>, HUANG Hou-yu<sup>1</sup>, GENG Ze-yu<sup>1</sup>, YUAN Hao<sup>2</sup>, ZHAI Yu-sheng<sup>3</sup>, HAO En-pu<sup>4</sup>, LI Wei-dong<sup>1\*</sup>

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Shandong Kunhetang Pharmaceutical Co., Ltd., Heze 274000, China;

3. Qingliang Yuan Honeysuckle Industry Poverty Alleviation Development Co., Ltd. in Tongwei,  
Tongwei 743300, China;

4. Development and Reform Bureau (Science and Industry) of Julu County, Julu 055250, China

**[Abstract]** **Objective:** To analyze and compare the differences of *Lonicerae Japonicae* Flos (LJF) between the major and new producing regions and explore the pattern of quality grading of LJF, thereby establishing a widely-used quality standard for LJF grading. **Methods:** Seventy-eight samples of LJF from 8 different regions were collected to determine the indexes of appearance traits, including color, yellow strip rate, and rate of branch and leaf. Chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, total phenolic acid content, and luteoloside content were determined by high performance liquid chromatograph (HPLC). SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 were used to evaluate the quality and classify the grades. **Results:** The chlorogenic acid content, the total phenolic acid content, and the content of luteoloside of the samples in the 8 producing regions were 1.17%-3.66%, 3.34%-6.59%, and 0.045%-0.185%, respectively. Principal component analysis showed that LJF in Tongwei, Gansu province and Yunlong, Yunnan province were significantly different from that in the main producing regions, and LJF treated by different processing methods varied obviously. LJF was divided into four grades

<sup>△</sup> [基金项目] 国家自然科学基金项目 (31370360); 2021年度山东省重点扶持区域引进急需紧缺人才项目

\* [通信作者] 李卫东, 研究员, 研究方向: 中药资源评价; E-mail: liweidong2005@126.com

based on the comprehensive scoring results. **Conclusion:** The main reason for the unqualified LJF samples was that the content of total phenolic acids did not meet the standard. The characteristics of LJF in the major producing regions were similar, while the quality of LJF in the new producing regions was significantly different. The established quality standards for LJF grading reflected the quality differences of LJF and provided references for the quality evaluation of LJF in different producing regions.

**[Keywords]** *Lonicera japonica* Flos; chlorogenic acid; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C; luteoloside; quality standard

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 自古以来作为对抗瘟疫流感的上品良药, 具有清热解毒、疏散风热的功能<sup>[1]</sup>。在抗击2020年新型冠状病毒疫情中, 金银花在预防期用药处方中出现频次较高<sup>[2]</sup>, 在阻止疫情扩散中发挥了较大作用。以绿原酸为代表的酚酸类成分是金银花中主要的药效成分, 是其抗菌消炎的物质基础; 木犀草苷等黄酮类成分具有抗病毒、抗氧化、增强免疫等作用, 也是区分金银花和山银花的标志性物质<sup>[3]</sup>。《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 2020年版增加了绿原酸、3,5-二-O-咖啡酰奎宁酸(异绿原酸A)和4,5-二-O-咖啡酰奎宁酸(异绿原酸C) 3个酚酸类成分总量的指标, 对金银花药材质量提出了更高的要求, 而当前缺少对金银花中3种酚酸类成分总量指标的研究报道。

金银花的主产区为山东省平邑县、河南省封丘县和河北省巨鹿县<sup>[4]</sup>。随着国家脱贫攻坚和乡村振兴战略的推行, 金银花因其适应性好、宜栽种成活并且利润较高, 被作为经济植物在全国贫困地区大面积栽种。近些年出现了许多新兴产区, 如新疆、甘肃和云南等, 目前上述新产区的金银花研究报道较少, 缺少对比评价。这些新产区通常处于高原等偏远地带, 当地的光照、土壤、气候等自然条件可能会对金银花质量带来影响, 随着《中国药典》2020年版增加了检测指标, 市场对金银花的质量要求更加严格。因此, 通过对不同地区金银花药材进行调查分析, 了解当前金银花质量情况, 并以此为依据制定金银花药材等级质量标准, 对规范金银花药材市场、推动未来金银花产业健康发展具有重要意义。

## 1 材料

### 1.1 试药

对照品绿原酸(批号: Y22M8K36544)、异绿原酸A(批号: Z05M10X87215)、异绿原酸C(批号: Z05M10X87215)、木犀草苷(批号: Y13J10H93050)

均购自上海源叶生物科技有限公司, 纯度均 $\geq 98\%$ ; 乙腈(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司), 甲醇、乙醇、磷酸、乙酸(分析纯, 北京化工厂), 娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

### 1.2 仪器

LC-20 A型高效液相色谱仪[配置SPD-M20A型二极管阵列(PDA)检测器、SIL-20A型自动进样器、CTO-20A型柱温箱, 日本岛津公司]; Diamonsil Plus C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 迪马科技有限公司); ZORBAX SB-phenyl色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 美国安捷伦科技公司); KQ-400KDE型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); QUINTIX65-1CN型十万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.3 样品

课题组于2020年5—7月从全国不同地区收集各等级规格的金银花, 其中道地产区样品采集于河北巨鹿、山东平邑和河南封丘, 各16份; 新产区样品分别采集于甘肃通渭、新疆喀什、云南云龙、陕西蒲城、宁夏中卫, 各6份。共计8个地区78份样品, 经北京中医药大学李卫东研究员鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花, 样品信息见表1。

## 2 方法

### 2.1 外观性状测定

目前, 已有研究中以色泽、花蕾个数、花蕾长度、褐变率、黄条率、开花率和枝叶率等外观性状作为金银花等级区分指标<sup>[5-9]</sup>。对于中药材商品规格而言, 等级标准的制定应尽量遵循可操作性及简便易行的原则<sup>[10]</sup>。在金银花实际生产中, 色泽、黄条率和枝叶率是最典型的外观形状, 因此本研究选择上述3个外观指标用来进行质量评价和等级区分。

色泽: 观察金银花样品整体颜色进行并分类, 见图1。根据数量分类学中多态性状的编码方法分

表1 金银花样品信息

编号	产地	品种	外观色泽	加工方法	编号	产地	品种	外观色泽	加工方法
1	河北巨鹿	巨花一号	绿色夹杂黄条	烘干	40	河南封丘	四季花	黄色	烘干
2	河北巨鹿	巨花一号	绿色	烘干	41	河南封丘	四季花	黄绿色	烘干
3	河北巨鹿	巨花一号	绿色	烘干	42	河南封丘	四季花	绿色	烘干
4	河北巨鹿	巨花一号	黄绿色	烘干	43	河南封丘	四季花	绿色	烘干
5	河北巨鹿	巨花一号	黄绿色	烘干	44	河南封丘	四季花	黄色	烘干
6	河北巨鹿	巨花一号	黄绿色	烘干	45	河南封丘	四季花	黄绿色	烘干
7	河北巨鹿	巨花一号	绿色	烘干	46	河南封丘	四季花	黄绿色	烘干
8	河北巨鹿	巨花一号	黄绿色	阴干	47	河南封丘	大毛花	黄绿色	烘干
9	河北巨鹿	巨花一号	黄色	阴干	48	河南封丘	大毛花	黄绿色	烘干
10	河北巨鹿	巨花一号	绿色	烘干	49	甘肃通渭	北花一号	绿色	烘干
11	河北巨鹿	巨花一号	绿色夹杂黄条	烘干	50	甘肃通渭	北花一号	绿色夹杂黄条	烘干
12	河北巨鹿	巨花一号	褐黄色	阴干	51	甘肃通渭	北花一号	黄绿色	烘干
13	河北巨鹿	巨花一号	黄色	晒干	52	甘肃通渭	北花一号	黄绿色	烘干
14	河北巨鹿	巨花一号	黄色	烘干	53	甘肃通渭	北花一号	绿色	烘干
15	河北巨鹿	巨花一号	黄色	晒干	54	甘肃通渭	北花一号	黄色	烘干
16	河北巨鹿	巨花一号	黄绿色	烘干	55	新疆喀什	北花一号	浅绿	杀青烘干
17	山东平邑	九丰一号	黄色	杀青烘干	56	新疆喀什	北花一号	浅绿	杀青烘干
18	山东平邑	九丰二号	黄色	杀青烘干	57	新疆喀什	北花一号	黄色	晒干
19	山东平邑	北花一号	黄绿色	烘干	58	新疆喀什	北花一号	绿色	晒干
20	山东平邑	北花一号	黄绿色	杀青烘干	59	新疆喀什	北花一号	黄绿色	晒干
21	山东平邑	北花一号	黄色	烘干	60	新疆喀什	北花一号	黄色	晒干
22	山东平邑	大毛花	绿色	烘干	61	云南云龙	九丰一号	绿色夹杂黄条	杀青烘干
23	山东平邑	大毛花	绿色	烘干	62	云南云龙	九丰一号	黄绿色	杀青烘干
24	山东平邑	北花一号	黄绿色	烘干	63	云南云龙	九丰一号	黄色	杀青烘干
25	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	64	云南云龙	九丰一号	绿色夹杂黄条	烘干
26	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	65	云南云龙	九丰一号	黄绿色	晒干
27	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	66	云南云龙	九丰一号	褐黄色	晒干
28	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	67	陕西蒲城	北花一号	绿色	烘干
29	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	68	陕西蒲城	北花一号	绿色	烘干
30	山东平邑	大毛花	黄色	晒干	69	陕西蒲城	北花一号	黄色	烘干
31	山东平邑	大毛花	绿色	烘干	70	陕西蒲城	北花一号	黄色	烘干
32	山东平邑	大毛花	绿色	烘干	71	陕西蒲城	北花一号	黄绿色	烘干
33	河南封丘	封金一号	黄绿色	烘干	72	陕西蒲城	北花一号	黄绿色	烘干
34	河南封丘	封金一号	黄绿色	烘干	73	宁夏中卫	北花一号	绿色	烘干
35	河南封丘	封金一号	黄绿色	烘干	74	宁夏中卫	北花一号	黄绿色	烘干
36	河南封丘	豫金一号	黄绿色	烘干	75	宁夏中卫	北花一号	黄色	烘干
37	河南封丘	豫金一号	黄绿色	烘干	76	宁夏中卫	北花一号	黄色	晒干
38	河南封丘	豫金一号	绿色	烘干	77	宁夏中卫	北花一号	绿色	烘干
39	河南封丘	四季花	黄绿色	烘干	78	宁夏中卫	北花一号	黄绿色	烘干

为黄色、黄绿色、绿色3个等级<sup>[5]</sup>，用连续排列正整数1~3进行编码，金银花样品整体呈黄色者赋值“1”；黄绿色或绿色夹杂较多黄条者赋值“2”；绿色赋值“3”。

黄条率和枝叶率：按照五点取样法，从样品中选取10g金银花，分离出黄色金银花和已经开放的金银花并称定质量，计算其质量分数，得到黄条率；

同理分离出枝叶碎屑计算得到枝叶率。

## 2.2 指标成分含量测定

按《中国药典》2020年版金银花【含量测定】项下方法检测样品中酚酸类和木犀草苷成分含量，其中酚酸类成分包括绿原酸、异绿原酸A和异绿原酸C，并计算3种酚酸的总含量。



注：A. 绿色金银花；B. 黄绿色金银花；C. 黄色金银花。

图1 不同等级金银花外观颜色对比

### 2.3 数据处理

使用Origin 2018对数据进行可视化处理；采用SIMCA 14.1软件对不同地区和加工方式的金银花进行主成分分析（principal components analysis, PCA）；采用SPSS 26.0对不同等级金银花进行系统聚类分析（hierarchical cluster analysis, HCA）和相关性检验；采用SPSSAU 20.0计算不同等级金银花的相关

性权重（CRITIC）。

### 3 结果

#### 3.1 金银花外观性状和指标成分分析

金银花外观性状和指标成分测定结果见表2。本研究共收集了30份黄色金银花、28份黄绿色金银花、20份绿色金银花，其中黄条率的变化范围较大，为2.67%~97.44%，而枝叶率均小于10%。

表2 78批金银花的外观形状和指标成分的质量分数

编号	色泽编码	水分	黄条率	枝叶率	绿原酸	异绿原酸A	异绿原酸C	总酚酸	木犀草苷
1	2	9.79	6.31	0.98	2.91	2.26	0.22	5.38	0.070
2	3	9.06	5.41	0.71	2.76	1.95	0.19	4.89	0.055
3	3	11.63	6.22	0.43	2.29	2.25	0.20	4.74	0.071
4	2	12.26	4.78	0.42	2.42	2.65	0.27	5.34	0.072
5	2	10.81	7.22	1.81	2.56	2.69	0.22	5.47	0.063
6	2	9.76	7.93	0.70	2.46	2.36	0.19	5.01	0.077
7	3	8.72	4.91	2.26	2.57	2.75	0.24	5.56	0.061
8	2	7.08	16.13	5.99	1.66	2.25	0.20	4.11	0.061
9	1	10.75	59.15	2.62	1.82	3.38	0.19	5.40	0.071
10	3	5.40	3.58	1.65	2.22	2.01	0.21	4.43	0.052
11	2	7.47	21.37	3.29	2.20	2.24	0.27	4.71	0.062
12	1	10.38	72.64	0.24	1.78	2.22	0.21	4.21	0.053
13	1	8.23	55.30	3.08	1.97	2.40	0.17	4.54	0.061
14	1	9.94	34.38	4.44	2.31	2.38	0.19	4.88	0.057
15	1	6.81	64.79	1.59	2.02	2.22	0.20	4.43	0.047
16	2	10.33	90.43	0.47	2.06	2.09	0.16	4.31	0.045
17	1	4.92	90.78	0.44	2.09	2.36	0.20	4.65	0.057
18	1	10.03	72.53	0.10	2.87	2.16	0.31	5.33	0.077
19	2	6.42	82.17	0.10	2.59	2.04	0.13	4.76	0.085
20	2	6.48	45.54	0.10	2.82	1.98	0.21	5.01	0.067
21	1	8.65	77.99	0.97	2.63	1.50	0.13	4.26	0.095
22	3	9.11	7.36	0.12	2.62	2.53	0.24	5.40	0.077
23	3	10.31	22.34	0.88	2.84	2.32	0.19	5.34	0.066
24	2	8.91	49.45	1.46	2.63	1.80	0.12	4.55	0.091
25	1	11.58	77.00	1.32	1.69	1.78	0.17	3.64	0.063
26	1	7.35	83.93	1.67	1.67	1.92	0.18	3.77	0.063

续表2

编号	色泽编码	水分	黄条率	枝叶率	绿原酸	异绿原酸A	异绿原酸C	总酚酸	木犀草苷
27	1	9.38	75.15	1.50	2.02	2.06	0.19	4.26	0.054
28	1	9.99	83.58	3.65	1.69	2.08	0.19	3.97	0.077
29	1	10.77	83.33	4.14	1.57	1.83	0.16	3.57	0.071
30	1	10.81	84.32	1.30	1.69	2.10	0.19	3.98	0.057
31	3	8.90	9.83	0.01	2.39	2.79	0.21	5.39	0.048
32	3	7.64	3.19	1.43	2.32	2.10	0.23	4.65	0.058
33	2	10.08	10.93	0.10	2.88	2.35	0.22	5.45	0.140
34	2	5.82	3.79	0.09	2.22	2.60	0.18	5.00	0.095
35	1	6.56	16.61	0.09	2.14	2.35	0.17	4.65	0.083
36	1	7.17	21.35	1.28	2.20	2.66	0.18	5.03	0.100
37	2	8.84	9.46	0.73	2.26	2.18	0.20	4.64	0.079
38	3	11.69	3.56	0.40	3.05	1.26	0.20	4.50	0.139
39	2	8.58	3.92	0.90	2.25	2.16	0.20	4.60	0.082
40	1	8.95	82.65	0.37	3.06	1.59	0.17	4.81	0.113
41	1	6.60	15.28	0.32	2.25	1.94	0.14	4.33	0.084
42	3	5.86	6.22	0.24	3.37	1.66	0.19	5.22	0.130
43	3	6.70	5.05	0.57	2.45	1.43	0.12	4.00	0.089
44	1	7.21	44.89	0.71	2.50	1.91	0.13	4.54	0.112
45	1	7.79	37.58	2.97	2.37	1.83	0.16	4.37	0.109
46	2	8.39	17.86	3.70	1.84	2.17	0.18	4.19	0.063
47	2	8.99	73.91	2.22	2.30	1.08	0.13	3.55	0.104
48	2	11.29	87.46	5.31	1.39	2.83	0.20	4.41	0.067
49	3	7.91	4.88	0.02	3.53	2.45	0.19	6.17	0.097
50	2	8.43	9.74	0.06	3.34	2.47	0.20	6.01	0.112
51	2	9.71	57.17	0.12	3.27	1.91	0.16	5.34	0.154
52	2	10.10	88.44	0.74	3.09	1.64	0.14	4.88	0.177
53	3	9.00	5.65	0.01	3.66	2.52	0.19	6.38	0.106
54	1	11.59	83.34	0.23	2.71	1.29	0.13	4.14	0.185
55	3	4.22	2.67	0.80	3.01	1.45	0.17	4.63	0.063
56	3	4.71	3.58	0.02	3.00	1.43	0.17	4.60	0.092
57	1	8.47	83.38	1.97	2.33	1.94	0.11	4.38	0.121
58	3	8.23	51.17	0.03	2.38	1.80	0.11	4.29	0.092
59	1	8.39	80.59	1.81	1.88	2.21	0.11	4.20	0.101
60	1	7.62	85.16	1.63	1.88	1.95	0.12	3.95	0.063
61	2	5.34	12.55	0.31	2.71	3.53	0.35	6.59	0.060
62	2	6.94	18.94	0.21	2.42	2.55	0.31	5.27	0.064
63	1	9.68	89.30	9.30	2.03	2.70	0.28	5.01	0.068
64	2	7.65	49.67	2.18	1.75	2.43	0.18	4.36	0.092
65	2	9.75	83.45	2.48	1.68	2.61	0.17	4.47	0.098
66	1	8.97	91.66	2.56	1.17	2.92	0.15	4.25	0.066
67	3	7.5	7.87	0.32	3.02	1.82	0.16	5.00	0.086
68	3	6.71	10.46	0.54	2.95	1.73	0.15	4.83	0.081
69	1	10.42	97.44	0.01	2.24	1.02	0.07	3.34	0.139
70	1	9.49	79.66	2.89	2.36	1.20	0.08	3.65	0.132
71	2	9.25	16.58	0.86	2.56	2.09	0.21	4.86	0.075
72	2	11.86	40.62	2.34	2.06	1.68	0.15	3.89	0.084
73	3	7.79	34.84	0.10	2.81	1.59	0.16	4.56	0.082

续表2

编号	色泽编码	水分	黄条率	枝叶率	绿原酸	异绿原酸A	异绿原酸C	总酚酸	木犀草苷
74	2	8.22	46.42	1.84	2.53	1.67	0.19	4.39	0.084
75	1	8.77	79.39	4.48	1.69	1.53	0.15	3.37	0.062
76	1	7.56	83.15	3.34	2.02	1.90	0.16	4.02	0.060
77	3	9.58	30.13	0.31	2.46	1.93	0.18	4.57	0.086
78	2	11.76	56.73	1.64	2.21	2.17	0.20	4.58	0.065

**3.1.1 不同色泽的金银花和指标成分含量的关系** 使用Origin 2018将各指标成分的结果绘制成散点图,并根据色泽编码对各样本点进行相应的颜色标注,见图2,可直观观察到绿原酸质量分数为1.17%~3.66%,平均值为2.42% (《中国药典》2020年版要求 $\geq 1.5\%$ );异绿原酸A质量分数为1.02%~3.53%,平均值为2.12%;异绿原酸C的质量分数为0.07%~0.35%,平均值为0.18%;3种酚酸成分的总质量分数为3.34%~6.59%,平均值为4.72% (《中国药典》2020年版要求 $\geq 3.8\%$ );木犀草苷质量分数为0.045%~0.185%,平均值为0.084% (《中国药典》2020年版要求 $\geq 0.05\%$ ),说明实验所用金银花样品具有代表性。

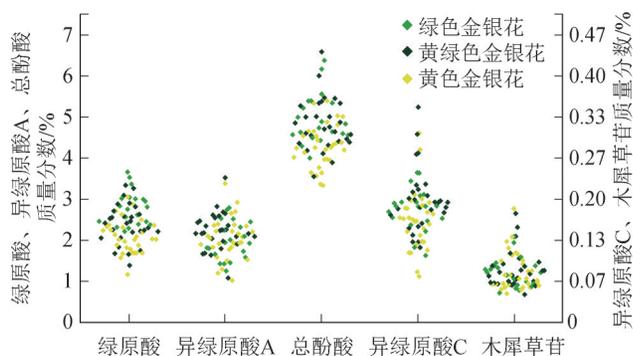


图2 不同颜色金银花指标成分含量分布散点图 (n=78)

**3.1.2 不同地区的金银花色泽和指标成分含量对比** 不同地区的金银花色泽和指标成分含量对比见表3。在8个产区中,云南云龙地区的金银花色泽数

值最低,甘肃通渭的金银花色泽数值最高。山东、河南、河北3个主产区金银花的指标成分含量差别不大,其中河南金银花绿原酸和木犀草苷含量在3个主产区中最高,但总酚酸含量最低;河北金银花绿原酸含量最低,但总酚酸含量最高;山东金银花各成分含量介于两者之间。而新产区金银花指标成分含量相差较大,其中通渭金银花绿原酸、木犀草苷含量和总酚酸含量高于其他5个地区;云南金银花绿原酸含量最低,但异绿原酸A和异绿原酸C含量最高;新疆金银花绿原酸和木犀草苷含量和主产区类似,然而异绿原酸A、异绿原酸C及总酚酸含量在6个地区中最低。

**3.1.3 不同加工方式的金银花色泽和指标成分含量对比** 不同加工方式的金银花色泽和指标成分含量对比见表4。不同加工处理的金银花色泽数值大小为:烘干>杀青烘干>阴干>晒干。杀青烘干处理的金银花绿原酸、异绿原酸C和总酚酸含量最高;烘干处理的金银花木犀草苷含量最高;晒干处理的金银花总酚酸含量最低;阴干处理的金银花异绿原酸A含量最高,但绿原酸和木犀草苷含量最低。

### 3.2 金银花等级标准划分

**3.2.1 PCA** 为了分析金银花药材质量的差异性规律,在剔除指标含量低于《中国药典》2020年版规定的12份不合格样品后,使用SIMCA 14.1软件进行PCA,根据样品的产地和加工方式对66批金银花

表3 不同地区金银花颜色和成分含量对比 ( $\bar{x}\pm s$ )

地区	n	色泽	绿原酸/%	异绿原酸A/%	异绿原酸C/%	总酚酸/%	木犀草苷/%
河北巨鹿	16	1.94±0.78	2.25±0.35	2.38±0.35	0.21±0.03	4.84±0.48	0.061±0.009
山东平邑	16	1.69±0.87	2.26±0.48	2.08±0.31	0.19±0.05	4.53±0.64	0.069±0.014
河南封丘	16	1.81±0.75	2.41±0.49	2.00±0.51	0.17±0.03	4.58±0.47	0.099±0.024
甘肃通渭	6	2.17±0.75	3.27±0.34	2.05±0.51	0.17±0.03	5.48±0.87	0.139±0.038
新疆喀什	6	2.00±1.10	2.41±0.50	1.80±0.30	0.13±0.03	4.34±0.25	0.088±0.023
云南云龙	6	1.67±0.52	1.96±0.55	2.79±0.40	0.24±0.08	4.99±0.87	0.075±0.016
陕西蒲城	6	2.00±0.89	2.53±0.39	1.59±0.40	0.14±0.05	4.26±0.72	0.100±0.028
宁夏中卫	6	2.00±0.89	2.29±0.40	1.80±0.24	0.17±0.02	4.25±0.48	0.073±0.012

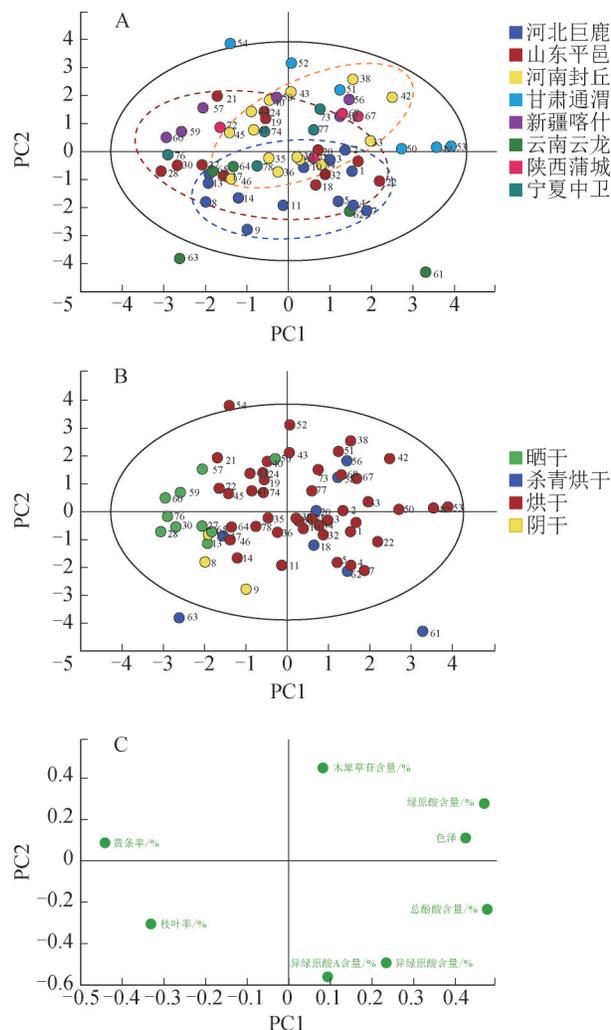
表4 不同加工方式金银花颜色和成分含量对比 ( $\bar{x}\pm s$ )

加工方式	n	色泽	绿原酸/%	异绿原酸A/%	异绿原酸C/%	总酚酸/%	木犀草苷/%
烘干	52	2.10±0.75	2.53±0.46	2.04±0.46	0.17±0.04	4.74±0.63	0.090±0.031
杀青烘干	8	1.88±0.84	2.61±0.39	2.27±0.69	0.25±0.07	5.14±0.65	0.068±0.011
晒干	15	1.20±0.56	1.84±0.30	2.11±0.32	0.16±0.03	4.11±0.30	0.073±0.021
阴干	3	1.33±0.58	1.76±0.85	2.62±0.66	0.20±0.01	4.57±0.71	0.062±0.009

进行分组,分别得到PCA得分图(图3)。由图3A可知,3个主产区的金银花分布特征相似,可将3个主产区作为一个整体,并且陕西蒲城、宁夏中卫和新疆喀什地区的金银花与主产区特征相近,分布重合。但甘肃通渭和云南云龙地区的部分样品与主产区样品距离较远,说明这2个地区金银花特征与主产区差异较大。在图3B中,PCA模型可以对不同加工方式的样品进行较好地区分,其中烘干与杀青烘干分布较为重叠、相似度高,但这2种加工方式与晒干、阴干区分界限明显,说明不同加工方式会对金银花质量产生较大影响,并且从整体上可以将烘干和杀青烘干归为一类(机器加热干燥)、晒干和阴干归为一类(自然晾干)。

在主成分因子载荷图(图3C)中,横纵坐标分别为在第1主成分及第2主成分中各指标对PCA模型的贡献率,距离原点越远表明该指标对样品的差异贡献率越大<sup>[11]</sup>。总酚酸含量、绿原酸含量、色泽及黄条率在第1主成分上载荷量较大,异绿原酸A、异绿原酸C和木犀草苷含量在第2主成分上载荷量较大,说明这些指标是影响金银花产生等级差异的主要因素。

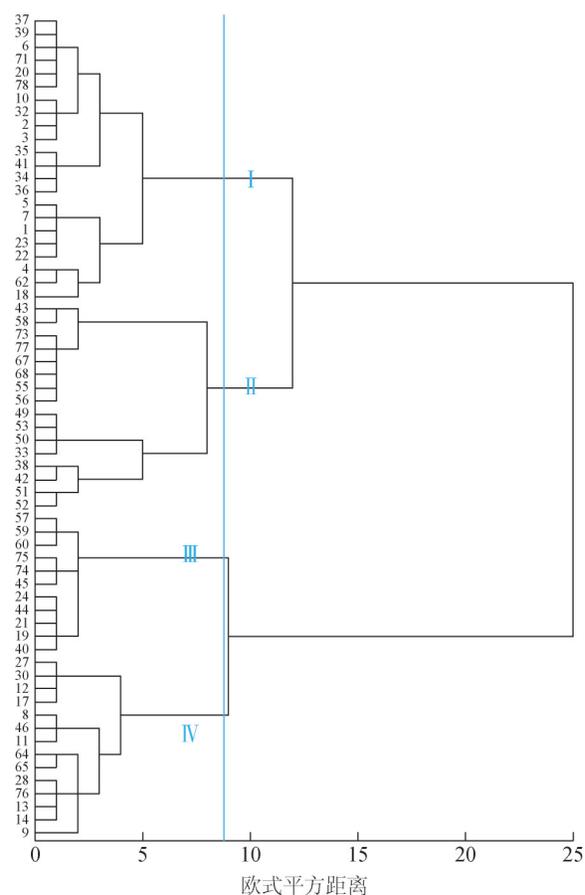
**3.2.2 HCA** 由PCA结果可知,54、61、63号为离群样本,将66批合格样品中3个离群样本剔除,数据标准化处理后,运用SPSS 26.0进行HCA,聚类方法为瓦尔德法,利用欧式平方距离法进行计算,聚类结果见图4。HCA将金银花分为4类(I、II、III、IV),其中I类金银花颜色多为绿色,其绿原酸含量、总酚酸含量、木犀草苷含量最高,异绿原酸A、异绿原酸C含量、枝叶率和黄条率较低;II类金银花主要为绿色和黄绿色,其绿原酸含量、异绿原酸A、异绿原酸C含量、总酚酸含量水平次高;III类和IV类之间距离较近,颜色均为黄绿色或黄色,其中III类金银花各含量指标较低,IV类金银花绿原酸含量最低,但异绿原酸A和异绿原酸C含量最高,枝叶率和黄条率最高。因此对金银花的质量等级划分为4类比较合适。



注:A:不同地区金银花主成分得分图;B:不同加工方式金银花主成分得分图;C:金银花样品主成分载荷图。

图3 金银花PCA ( $n=66$ )

**3.2.3 相关性检验** 使用SPSS 26.0继续对HCA处理的样品各指标进行相关性分析,结果见表5。除水分外,其他指标之间的相关性较强,适合用作等级划分。绿原酸含量与色泽、总酚酸含量及木犀草苷含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与黄条率、枝叶率呈极显著负相关( $P<0.01$ ),但是与异绿原酸A含量呈显著负相关( $P<0.05$ ),绿原酸和异绿原酸A均为正向指标却具有负相关性,因此两者不合同



注：蓝色线表示在欧式平方距离为8.5时，样品可以分为4类。

图4 金银花样品HCA

时用作等级划分的指标；木犀草苷含量与绿原酸含量呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )，与异绿原酸A、异绿原酸C含量呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )，同样木犀草苷也不适合与异绿原酸A、异绿原酸C含量一起作为等级划分指标。考虑到各指标之间的相关性和冲突性，以及实际操作的简便性，用作等级质量标准划分的指标不宜太多，最终选择3个外观形状指标

(色泽、黄条率、枝叶率)和3个内在成分指标(绿原酸含量、总酚酸含量、木犀草苷含量)综合进行等级划分。

**3.2.4 综合权重分析** 层次分析法(AHP)是最常用的主观权重赋值法，其通过决策者的经验判断各指标的相对重要程度，来合理地给出各指标权重，进而对项目进行优劣排序<sup>[12]</sup>。将本研究指标分为6个层次，各层次之间的相对重要程度为总酚酸含量( $X_5$ ) > 绿原酸含量( $X_4$ ) > 颜色( $X_1$ ) > 木犀草苷含量( $X_6$ ) = 黄条率( $X_2$ ) > 枝叶率( $X_3$ )，所构建的判断矩阵评分见表6，一致性比率因子(CR) = 0.016 < 0.10，满足一致性检验，计算得到颜色、黄条率、枝叶率、绿原酸含量、总酚酸含量、木犀草苷含量的指标权重分别为0.155 4、0.090 1、0.040 3、0.228 4、0.380 8、0.105 1。指标CRITIC是一种客观权重赋值法，其原理是利用数据自身波动性和相关性进行分析，相较于主观权重赋值法更能直观反映各指标权重的关系<sup>[13]</sup>。计算权重前需要先将数据进行极值标准化，再导入SPSSAU 20.0软件构建判断矩阵，得出判断矩阵的对比强度与冲突性指标，确定各指标权重系数分别为0.239 6、0.221 6、0.115 8、0.098 5、0.126 4、0.188 7。将上述两种方法结合，按公式(1)计算综合权重( $\omega$ )。

$$\omega_{\text{AHP-CRITIC}} = \frac{\omega_{\text{AHP } ij} \times \omega_{\text{CRITIC } ij}}{\sum \omega_{\text{AHP } ij} \omega_{\text{CRITIC } ij}} \quad (1)$$

式中 $\omega_{\text{AHP-CRITIC}}$ 表示6个指标各自的 $\omega$ ，对各样本进行综合评分，能够基于主观和客观两个方面进行分析评价，其结果更能反映样本实际情况，6个指标各自的 $\omega$ 分别为0.247 9、0.130 5、0.030 5、0.147 0、0.314 5和0.1296。最终按公式(2)计算综合得分( $Q$ )。

表5 金银花各项等级指标相关性检验

指标	色泽	水分	绿原酸含量	异绿原酸A含量	异绿原酸C含量	总酚酸含量	木犀草苷含量	黄条率	枝叶率
色泽	1.000								
水分	-0.102	1.000							
绿原酸含量	0.512**	-0.088	1.000						
异绿原酸A含量	-0.199	0.231	-0.298*	1.000					
异绿原酸C含量	0.124	0.206	0.055	0.466**	1.000				
总酚酸含量	0.326*	0.104	0.685**	0.489**	0.462**	1.000			
木犀草苷含量	-0.050	0.075	0.499**	-0.295*	-0.326**	0.210	1.000		
黄条率	-0.661**	0.145	-0.379**	-0.096	-0.344**	-0.436**	0.081	1.000	
枝叶率	-0.334**	0.100	-0.600**	0.184	0.124	-0.407**	-0.322*	0.201	1.000

注：\* $P < 0.05$ ；\*\* $P < 0.01$ 。

$$Q = \left[ \frac{0.2479X_1}{X_{1max}} + \frac{0.1305(1 - X_2)}{X_{2max}} + \frac{0.0305(1 - X_3)}{X_{3max}} + \frac{0.1470X_4}{X_{4max}} + \frac{0.3145X_5}{X_{5max}} + \frac{0.1296X_6}{X_{6max}} \right] \times 100 \quad (2)$$

表6 金银花等级指标AHP优先判断矩阵

指标	枝叶率	黄条率	色泽	木犀草苷含量	绿原酸含量	总酚酸含量
枝叶率	1	1/3	1/4	1/3	1/5	1/7
黄条率	3	1	1/2	1	1/3	1/5
色泽	4	2	1	2	1/2	1/3
木犀草苷含量	3	1	1/2	1	1/2	1/3
绿原酸含量	5	3	2	2	1/2	1/2
总酚酸含量	7	5	3	3	2	1

综合得分结果见图5、表7，分值越高说明金银花质量越好，其分布符合正态分布 ( $P=0.200 > 0.05$ )，进一步将样品分为4个区间<sup>[14]</sup>，参考4个区间各指标范围进行等级标准的划分，得到最终等级标准，见表8。

#### 4 讨论

《中国药典》2020年版规定金银花中绿原酸含量不得低于1.5%，酚酸类总量不得低于3.8%，木犀草苷含量不得低于0.05%。总酚酸含量为《中国药典》2020年版新增指标，规定为金银花中3个咖啡酰奎宁酸的总含量，用来总体评价金银花中酚酸类成分的含量特征。本研究共计12份样品含量不达标，其中绿原酸不达标的样品数量最少，仅有2份；

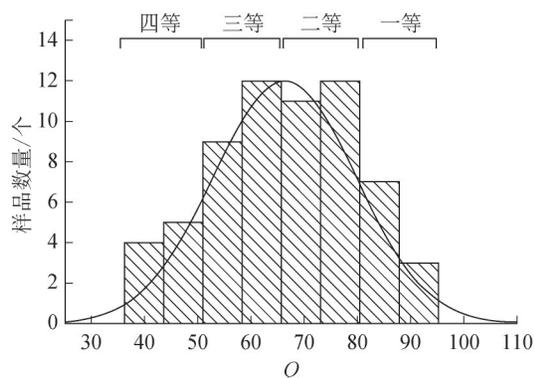


图5 金银花样品综合得分分布直方图

有3份样品的木犀草苷含量不达标；总酚酸含量不合格的样品最多，共8份，说明目前金银花生产不能仅仅关注绿原酸含量，还应重视总体酚酸类成分水平的提高。

通过对比不同产地金银花成分含量和PCA得分图发现，主产区金银花质量相对比较稳定，3大产区金银花特征比较类似。而新产区金银花含量相差较大，可能是处于不同土壤地理条件和气候环境的原因。山东、河南、河北3个主产区同为温带季风气候，地理气候条件类似。甘肃通渭处于黄土高原，海拔较高，紫外线辐射强，气候干旱；新疆地区位于温带大陆性气候区，昼夜温差大，光照充足；云南云龙位于云贵高原，当地气候湿润，水资源丰富。这些新产区的地理气候环境同主产区有很大的不同。金银花是适应性很强的植物，耐干旱耐贫瘠，如果生产种植管理得当，这些胁迫环境可能会有利于金银花有机酸、黄酮等次生代谢物质的积累，促进药效成分含量的提升<sup>[15]</sup>。本研究仅限于

表7 金银花样品综合得分结果

综合得分范围	n	色泽	黄条率	枝叶率	绿原酸质量分数	总酚酸质量分数	木犀草苷质量分数
80.74~94.00	10	3	3.56~10.46	0.01~2.26	2.56~3.66	4.50~6.38	0.061~0.139
66.93~79.80	23	2~3	2.67~88.44	0.03~1.81	2.21~3.27	4.00~5.47	0.052~0.177
51.12~64.46	21	1~2	15.28~83.45	0.09~6.00	1.66~3.06	3.89~5.40	0.057~0.121
42.13~49.62	9	1	55.30~90.78	0.24~3.65	1.69~2.09	3.95~4.65	0.053~0.101

表8 金银花等级质量划分标准

等级	颜色	黄条率	枝叶率	绿原酸质量分数	总酚酸质量分数	木犀草苷质量分数
一等	绿色	≤8.0	≤1.0	≥2.5	≥4.5	≥0.07
二等	绿色或黄绿色	≤16.0	≤2.0	≥2.2	≥4.2	≥0.06
三等	黄绿色或黄色	不限	≤3.0	≥1.8	≥4.0	≥0.06
四等	黄色	不限	≤6.0	≥1.5	≥3.8	≥0.05

《中国药典》2020年版限定的检测指标,新产区金银花其他化学成分和药理药效是否同主产区存在差异还有待研究验证。

目前,市场上金银花加工方式主要为烘干、晒干,少数为杀青烘干,偶有阴干。本研究通过对不同加工方式的金银花样品进行对比分析,发现不同加工方式得到的金银花颜色不同。烘干处理的金银花颜色偏绿,而晒干金银花颜色偏黄<sup>[7]</sup>,杀青烘干得到的金银花颜色多为黄绿色,但杀青烘干金银花绿原酸含量和总酚酸含量最高。虽然传统认为“金银花色青者佳”<sup>[16]</sup>,但不能仅通过颜色来判断金银花质量,还需结合药效成分含量的高低进行分级定类。本研究通过聚类分析和相关性检验对各指标进行等级划分验证,再利用综合评分法确定权重,最终将金银花划分为4个等级。该分级方法通过结合外观形状和内在成分进行等级划分,既保证一定的科学性,符合目前市场通用的分类习惯和实际情况,对金银花生产和市场流通具有一定的参考意义。

#### 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,2020:230-232.
- [2] 黄宗海,何黎,杨思敏,等. 基于数据挖掘分型探析新冠肺炎防治组方规律[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2021,23(4):1137-1146.
- [3] 王莹. 基于肠道微环境探讨金银花与山银花多糖的免疫调节作用差异[D]. 北京:北京中医药大学,2020.
- [4] 刘天亮,董诚明,齐大明,等. 不同产地及加工方式金银花的质量评价[J]. 中药材,2020,43(3):582-586.
- [5] 陈两绵,高慧敏,刘晓谦,等. 中药材传统商品等级的科学性:以金银花为例[J]. 中国中药杂志,2020,45(9):2091-2102.
- [6] 邓爱平,张悦,方文韬,等. 皮花叶茎及全草类药材商品规格等级标准——以牡丹皮杜仲金银花等7种药材为例[J]. 中国现代中药,2019,21(6):723-730.
- [7] 冯峰,段晓怡,徐美霞,等. 金银花质量等级标准研究[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(18):6656-6662.
- [8] 周洁,邹琳,刘伟,等. 金银花商品规格等级标准研究[J]. 中药材,2015,38(4):701-705.
- [9] 张欢,王恒,郝江波,等. 金银花药材等级质量标准的划分[J]. 贵州农业科学,2017,45(5):80-84.
- [10] 康传志,周涛,江维克,等. 根类药材商品规格等级标准研究模式探讨[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):769-775.
- [11] 陶晓赛,龚海燕,谢彩侠,等. 基于UPLC指纹图谱结合化学计量学评价不同产地盾叶薯蓣药材质量[J]. 中草药,2021,52(1):227-233.
- [12] 张娇,蒋倩倩,张伯言,等. 基于AHP-CRITIC法正交优选乌甘袋泡茶提取工艺及抗炎作用研究[J]. 中草药,2020,51(8):2177-2184.
- [13] 严华,魏锋,马双成. 基于综合权重分析的西洋参药材等级质量标准研究[J]. 中国现代中药,2021,23(8):1363-1373.
- [14] 白钢,刘昌孝,张铁军,等. 基于质量综合评价指数的药材品质快速评价[J]. 中草药,2021,52(2):313-320.
- [15] 周冰谦,卢恒,刘峰,等. 不同温度胁迫对金银花细胞膜透性、活性氧代谢及其有效物质积累的影响[J]. 中国中药杂志,2019,44(18):3935-3941.
- [16] 姚月保,杨晓芸,彭莲,等. 基于仿生识别系统对金银花颜色与“气”的鉴别研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2020,22(4):1270-1277.

(收稿日期:2021-06-30 编辑:吴美琪)