

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250212006

引用格式: 王雨辰, 陈钰, 马明珠, 等. 不同月份舟山三叶青多成分含量测定及其指纹图谱的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 259–267.

WANG YC, CHEN Y, MA MZ, *et al.* Determination of multiple components content in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg at different months and establishment of its fingerprint chromatograms [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 259–267. (in Chinese with English abstract).

不同月份舟山三叶青多成分含量测定及其指纹图谱的建立

王雨辰^{1,2}, 陈钰^{1,2}, 马明珠², 宋燕¹, 王家星², 郭阮怡³, 张宾¹, 孙继鹏^{2*}

[1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316000; 2. 浙江省海洋开发研究院, 舟山 316100;
3. 肤可思化妆品(上海)有限公司, 上海 201802]

摘 要: 目的 探究舟山市不同月份三叶青主要活性成分并进行含量测定, 建立不同月份三叶青指纹图谱。

方法 结合指纹图谱相似度评价、聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA)进行不同月份舟山三叶青质量评价。采用 InterSustainSwift C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 0.8 mL/min, 检测波长 320 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。**结果** 12 批不同月份三叶青指纹图谱相似度评价结果表明, 不同月份三叶青样品的相似度差异较大; 共标定 13 个共有峰, 并确认 3 个共有峰; 通过 CA、PCA 和 OPLS-DA 分析均可将 12 批不同月份三叶青划分为 3 类, 且通过 OPLS-DA 项下的变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值分析, 筛选出 2 个差异质量标志物, 分别是没食子酸和槲皮素。**结论** 该研究建立的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)指纹图谱和多成分含量测定方法稳定、可靠, 可为舟山三叶青的质量控制提供参考。

关键词: 三叶青; 不同季节; 指纹图谱; 含量测定; 质量控制

Determination of multiple components content in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg at different months and establishment of its fingerprint chromatograms

WANG Yu-Chen^{1,2}, CHEN Yu^{1,2}, MA Ming-Zhu², SONG Yan¹, WANG Jia-Xing²,
GUO Ruan-Yi³, ZHANG Bin¹, SUN Ji-Peng^{2*}

[1. College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China;
2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316100, China;
3. Focus Plus Cosmetics (Shanghai) Co., Ltd, Shanghai 201802, China]

收稿日期: 2025-02-12

基金项目: 舟山市科技计划项目(2023C61002, 2022C61007)

第一作者: 王雨辰(1999—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为天然产物的研究与利用。E-mail: 2048550385@qq.com

*通信作者: 孙继鹏(1980—), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为海洋生物资源领域的科学研究与应用技术开发。E-mail: jipengsun@yeah.net

ABSTRACT: Objective To investigate the main active components of different monthly *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg (TDG) from Zhoushan City and establish the map of different monthly TDG. **Methods** The quality of different monthly TDG was evaluated by combining fingerprint similarity evaluation cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). An InterSustainSwift C₁₈ chromatographic column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, with acetonitrile-0.1 formic acid aqueous solution as the mobile phase, gradient elution, flow rate of 0.8 mL/min, detection wavelength of 20 nm, column temperature of 30 °C, and injection volume of 10 μL. **Results** The fingerprint similarity evaluation results of 12 batches of different monthly TDG showed that the similarity of different monthly TDG samples varied greatly; the 13 common were identified, and 3 common peaks were recognized; CA, PCA, and OPLS-DA analysis could all classify the 12 batches of different monthly TDG into 3 categories; and 2 differential quality markers, gallic acid and quercetin, were screened out by analyzing the variable importance in projection (VIP) values under OPLS-DA. **Conclusion** The high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and multi-component content determination method established in this study is stable and reliable, and can provide a reference for quality control of Zhoushan TDG.

KEY WORDS: *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg; different seasons; fingerprint chromatograms; content determination; quality control

0 引言

三叶青是我国特有的一种珍贵中草药,为葡萄科崖爬藤属崖爬藤亚属圆脐组植物三叶崖爬藤(*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg),在南方地区特别是长江流域一直作为药食两用的草药,在民间广为传用,三叶青最开始记载于清代植物学家吴其濬的专著《植物名实图考》中,《中药志》《中药大辞典》《全国中草药汇编》《浙江省中药炮制规范》均有收载^[1]。三叶青以地下根块的药用效果最好,三叶青中化学成分主要包括黄酮类、三萜及甾体类、酚酸类和脂肪酸类等化合物,研究表明,三叶青对肝癌、肺癌、结肠癌、白血病等多种癌症有一定治疗作用^[2]。

近年来对三叶青质量评价标准有较多研究,如范世明等^[3]对福建、湖南、浙江、江西等地的三叶青叶建立了指纹图谱,并识别出 8 种酚类物质;李鹤等^[4]采集了浙江丽水等地的三叶青块根建立了指纹图谱,并测定了其中白藜芦醇和槲皮素的含量;李士敏等^[5]收集了 13 个不同地区的块根建立了指纹图谱,并测定了山柰酚、紫云英苷、槲皮素、山柰酚-3-O-芸香糖苷、绿原酸、白藜芦醇以及虎杖苷这 7 种物质的含量并研究了不同月份中绿原酸、芦丁、虎杖苷等 8 种成分的含量变化^[6]。三叶青在 2011 年入选“浙江省首批农作物种质资源保护名录”,2018 年入选“浙新八味”^[7],由于对三叶青的研究起步较晚,因此,其至今未被收录进《中华人民共和国药典》,无法生产以其为主要成分的药品,这是制约其产业发展的关键问题^[8]。目前,对舟山三叶青不同月份主要成分变化的研究较少,对三叶青进一步的质量评价尤为重要。

本研究对舟山市三叶青不同部位季节性的成分含量进行测定,并建立舟山三叶青不同月份指纹图谱,旨在为舟山不同采收期的三叶青建立质量评价标准;指认了 3 个标志性成分,测定样品中的含量,用多种评价方式对三叶青季节性指纹图谱进行质量评价,以期丰富其质量评价手段,为其质量标准提升及后续资源利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

舟山市三叶青样品于 2022 年 1—12 月采自浙江省舟山市白泉镇金山村。由浙江省海洋开发研究院生物室鉴定为三叶青的新鲜全草。

1.2 试剂

乙腈、甲酸、乙醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司);芦丁标准品、没食子酸标准品、葡萄糖标准品、绿原酸标准品(纯度 99%,色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);牡荆素鼠李糖苷标准品、槲皮素标准品(纯度≥98%,色谱纯,北京索莱宝科技有限公司)。

1.3 仪器

TD5K 离心机(长沙东旺实验仪器有限公司);ZWF-110X 水浴摇床(上海智诚分析仪器制造有限公司);BioTek Synergy H1 酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);KH-500B 超声清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);G7115A 高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];BSA124S 分析天平[精度 0.1 mg,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];InterSustainSwift C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)[岛津(上海)实验器材有限公司]。

1.4 实验方法

1.4.1 三叶青不同部位主成分含量测定

(1)水分含量测定

三叶青不同部位水分含量测定采用《中国药典》(2015年版)中的烘干法^[9]。

(2)粗蛋白含量测定

根据国标凯氏定氮法^[10]测定三叶青不同部位粗蛋白含量。

(3)多糖含量测定

采用苯酚-硫酸法^[11],以葡萄糖为标准品,分别取1.0 mL不同质量浓度葡萄糖溶液(0.8、1.6、2.4、3.2和4.0 $\mu\text{g/mL}$)于15 mL试管中,加入蒸馏水3.0 mL、6%苯酚溶液1.0 mL,并迅速向试管中加入浓硫酸5.0 mL,充分摇匀后,室温静置20 min,于490 nm处测定样品吸光值制作标准曲线。将样品提取液按照以上实验操作测得吸光值,根据线性方程,计算样品总多糖含量。

1.4.2 三叶青不同部位活性成分含量测定

(1)三叶青不同部位提取物的制备

选取三叶青新鲜块根、茎、叶、根须部位,清洗干净,置于真空干燥箱内50 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,粉碎,过100目网筛,准确称取不同部位粉末1 g于烧杯中,用70% (V:V,下同)乙醇在温度60 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比1:25 (m:V)条件下超声提取3次,每次超声时间30 min,将3次粗提液收集后离心,分别定容至25 mL,合并,制得三叶青醇提液,用于活性成分的测定。

(2)总酚含量测定

采用福林-酚法^[12],分别取稀释后不同部位的提取液1.0 mL,按照操作测得吸光值,根据标准曲线线性方程,计算样品总多酚含量。

(3)总黄酮含量测定

采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 比色法^[13],分别取稀释后不同部位的提取液1.0 mL,按照操作测得吸光值,根据标准曲线线性方程,计算样品总黄酮含量。

(4)总皂苷含量测定

按照吴银双等^[14]的方法,稍作修改,分别取0.4 mL不同质量浓度齐墩果酸溶液(0.004、0.008、0.012、0.016、0.020和0.024 mg/mL)或三叶青提取液于15.0 mL试管中,样液在70 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴挥干,加入0.4 mL 1.5%香草醛-冰乙酸溶液(溶液现配现用),再加入1.6 mL高氯酸,充分混匀后70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴15 min,取出后快速冰水浴,冷却后加入5.0 mL乙酸乙酯,静置5 min,在546 nm处测定样品吸光度。按照以上实验操作测得吸光值,根据标准曲线线性方程,计算样品总皂苷含量。

1.4.3 温度因素的影响

详细记录并监测该地区每日的具体温度变化以及每

个月(1—12月份)的平均温度数据,用于后续分析。记录温度信息,分析不同生长阶段中温度因素对三叶青各部位活性物质含量变化的影响。

1.5 三叶青指纹图谱的建立

1.5.1 对照品溶液的制备

分别精密称取对照品没食子酸、槲皮素、牡荆素、鼠李糖苷7.5、6.1、4.1 mg,置于25 mL棕色样品瓶中,用50%甲醇溶解并稀释,配制质量浓度为1000 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品储备液。取以上对照品储备液适量,分别加50%甲醇稀释成一定浓度的混合对照品溶液。

1.5.2 供试品溶液的制备

供试液制备方法参照井亚江等^[15]的方法稍作修改。取不同月份三叶青块根粉末1.0 g,过100目筛,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇溶液10 mL,超声提取90 min,功率600 W,滤过,减压蒸干滤液中溶剂,再加50%甲醇溶解,转移至10 mL容量瓶中,定容至刻度,摇匀,用0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

1.5.3 色谱条件

采用InterSustainSwift C_{18} 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm),以乙腈(A)-0.1%甲酸水(B)溶液为流动相,梯度洗脱(0~30 min, 5%~30% A; 30~35 min, 30%~95% A; 35~45 min, 95%~5% A);流速0.8 mL/min,检测波长320 nm,柱温30 $^{\circ}\text{C}$,进样量10 μL 。

1.6 数据处理

实验数据均为3次重复后的平均值,采用SPSS 22.0统计软件和Origin 9软件进行最小显著差异法(least significant difference, LSD)、沃勒-邓肯显著性分析和线性拟合方程处理和表绘制。

2 结果与分析

2.1 温度的季节性变化

舟山四面环海,属亚热带季风性气候,四季分明,气候温和,海拔适宜,是三叶青生长的理想场所。舟山地区在3月份开始气温逐渐回暖,6—7月份快速上升,在7月份温度平均最高,7—12月份气温逐渐下降,在12月份达到最低平均温度0 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 三叶青不同部位主成分含量的季节性变化

2.2.1 三叶青不同部位含水量的季节性变化

植物中水分含量变化,与当地的气温和降水量息息相关。由表1可知,三叶青茎和叶中的水分含量在2—5月份普遍较低,可能是生长发育过程中光合作用与呼吸作用消耗了大量水分,而块根则储存一定水分。舟山地区在7月平均温度升高,地表水分蒸发变快,三叶青根中的水分含量减少。

表 1 三叶青不同部位水分含量(%)

Table 1 Moisture content of different parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg (%)

月份	根部	茎部	叶片	根须
1	72.01±0.07 ^c	72.54±0.35 ^c	80.53±1.99 ^{bc}	72.54±1.07 ^{bc}
2	63.18±0.05 ^s	70.32±0.12 ^d	77.88±0.96 ^{cd}	70.93±0.90 ^c
3	88.78±0.06 ^a	72.45±0.39 ^{cd}	76.61±0.97 ^d	83.41±0.98 ^a
4	77.84±0.08 ^b	67.57±0.19 ^c	76.38±1.22 ^d	67.33±0.50 ^d
5	73.13±0.14 ^e	73.60±0.44 ^c	77.26±1.90 ^c	64.19±1.08 ^c
6	71.42±0.12 ^e	76.48±1.51 ^{ab}	81.35±1.29 ^b	67.71±1.53 ^d
7	66.15±0.08 ^f	78.05±1.17 ^a	85.78±0.98 ^{ab}	74.37±1.01 ^b
8	67.07±0.06 ^f	75.46±0.53 ^{bc}	82.76±0.82 ^b	66.34±0.96 ^{de}
9	64.09±0.14 ^s	74.90±0.57 ^c	83.50±0.94 ^b	70.49±1.65 ^c
10	66.15±0.06 ^{fs}	73.80±1.11 ^c	83.21±0.39 ^b	79.27±1.36 ^a
11	73.81±0.08 ^{de}	77.68±0.99 ^a	87.08±0.93 ^a	72.58±1.21 ^b
12	75.43±0.07 ^{cd}	75.38±0.45 ^b	81.98±1.21 ^b	74.51±1.49 ^b

注：实验所用材料为三叶青不同部位新鲜样品，同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)，表 2~6、9 同。

2.2.2 三叶青不同部位总蛋白含量的季节性变化

由表 2 可知，三叶青不同部位总蛋白的含量均在冬季的 12 月或 1 月份最高，三叶青根和须中总蛋白含量分别在 1 月份和 12 月份最高，分别高达 17.93%和 18.63%，与张艳秋等^[16]研究中蛋白的含量变化规律相同。结果表明，在 1 月份采收三叶青根，蛋白质含量最高，且在此月份三叶青不同部位的蛋白质含量：根>叶>须>茎。

表 2 三叶青不同部位总蛋白含量(%)

Table 2 Total protein content of different parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg (%)

月份	根部	茎部	叶片	根须
1	17.93±1.62 ^a	11.52±0.73 ^a	16.77±0.49 ^{ab}	16.66±0.51 ^{bc}
2	14.92±1.32 ^b	9.44±0.85 ^a	16.46±0.95 ^{ab}	16.11±2.01 ^c
3	15.16±0.25 ^b	9.80±0.29 ^a	15.79±0.14 ^{ab}	12.65±0.19 ^d
4	15.83±1.72 ^b	9.55±0.99 ^a	15.15±1.01 ^b	16.87±0.51 ^{bc}
5	15.40±1.49 ^b	9.23±0.71 ^a	15.77±0.74 ^{ab}	17.62±0.62 ^{ab}
6	15.88±2.11 ^b	10.29±1.25 ^a	15.13±1.31 ^b	17.33±0.99 ^{ab}
7	16.11±1.32 ^{ab}	10.30±1.60 ^a	14.02±1.62 ^{bc}	16.27±0.74 ^{bc}
8	16.35±1.22 ^a	10.71±1.47 ^a	13.47±0.96 ^c	16.89±0.55 ^{bc}
9	16.63±1.41 ^a	10.99±0.75 ^a	15.54±0.93 ^b	16.14±0.38 ^c
10	16.77±1.28 ^a	10.54±0.88 ^a	15.68±0.49 ^b	18.12±0.37 ^a
11	16.63±2.66 ^a	11.15±1.32 ^a	16.99±2.31 ^{ab}	18.25±0.96 ^a
12	17.10±3.01 ^a	11.57±1.23 ^a	17.44±0.85 ^a	18.63±0.56 ^a

注：表中根、茎、叶、须含量均为干重比率，表 3、5、6 同。

2.2.3 三叶青不同部位总多糖含量的季节性变化

由表 3 可知，随着三叶青的生长发育，总多糖含量呈逐渐增加的趋势，成熟时三叶青根的总糖含量最高，11 月

和 12 月，分别为 66.63 mg/g 和 82.01 mg/g；三叶青叶中的总糖在 6~9 月保持较高水平，分析可能是因为是在生长初期，叶片中叶绿素含量较低，光合速率较低，总糖含量也较低，后来随着叶片的生长发育结构逐渐完善，叶绿素含量也不断增加，净光合速率不断增加，总糖含量也因此增加^[17]。综上所述，在 12 月份采收三叶青根，多糖含量最高，且在此月份三叶青不同部位的多糖含量：根>叶>须>茎。

2.3 三叶青不同部位活性成分含量的季节性变化

2.3.1 三叶青不同部位总酚含量的季节性变化

如表 4 所示，三叶青不同部位之间的多酚含量存在差异，

表 3 三叶青不同部位总多糖含量(mg/g)

Table 3 Total polysaccharides content of different parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg (mg/g)

月份	根部	茎部	叶片	根须
1	62.63±1.62 ^b	28.52±0.73 ^h	36.77±0.49 ^{de}	24.66±0.51 ^{de}
2	48.15±1.32 ^f	33.44±0.85 ^s	39.31±0.95 ^d	53.33±2.01 ^a
3	49.98±0.25 ^{ef}	45.96±0.29 ^c	28.89±0.14 ^s	15.32±0.19 ^f
4	51.83±1.72 ^{de}	50.55±0.99 ^b	34.15±1.01 ^{ef}	23.87±0.51 ^c
5	54.40±1.49 ^{cd}	42.23±0.71 ^{de}	46.77±0.74 ^c	33.62±0.62 ^b
6	48.88±2.11 ^f	55.29±1.25 ^a	57.13±1.31 ^a	30.33±0.99 ^{bc}
7	53.51±1.32 ^c	50.30±1.60 ^b	51.02±1.62 ^b	26.27±0.74 ^d
8	49.35±1.22 ^f	44.71±1.47 ^{cd}	56.47±0.96 ^a	21.89±0.55 ^c
9	55.63±1.41 ^c	40.99±0.75 ^{ef}	57.54±0.93 ^a	29.14±0.38 ^c
10	51.77±1.28 ^d	39.54±0.88 ^f	51.68±0.49 ^b	29.12±0.37 ^c
11	66.63±2.66 ^b	48.15±1.32 ^b	44.99±2.31 ^c	29.25±0.96 ^c
12	82.01±3.01 ^a	26.57±1.23 ^h	33.44±0.85 ^f	31.63±0.56 ^{bc}

表 4 三叶青不同部位总酚含量(mg/g)

Table 4 Phenolics content of different parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg (mg/g)

月份	根部	茎部	叶片	根须
1	4.15±0.06 ^f	43.80±0.37 ^{cd}	13.01±0.22 ^f	29.27±1.00 ^{cd}
2	2.32±0.02 ^h	35.19±0.22 ^c	13.11±0.06 ^f	14.67±0.10 ^f
3	6.58±0.01 ^b	40.44±1.09 ^d	32.49±0.17 ^a	29.41±0.18 ^c
4	4.08±0.03 ^f	29.12±0.39 ^f	15.48±0.22 ^c	21.50±0.90 ^c
5	3.13±0.10 ^s	30.60±0.44 ^f	17.26±0.91 ^{cd}	34.19±1.08 ^b
6	1.42±0.03 ⁱ	16.48±1.01 ^s	11.35±0.29 ^s	7.71±0.53 ^f
7	3.15±0.05 ^s	33.80±1.07 ^c	23.01±0.93 ^b	39.27±1.00 ^a
8	4.51±0.06 ^c	48.30±0.73 ^b	13.31±0.32 ^f	19.72±0.86 ^c
9	5.61±0.12 ^d	43.80±0.47 ^{cd}	16.01±0.24 ^{de}	27.29±0.65 ^d
10	6.15±0.03 ^c	53.80±1.10 ^a	23.21±0.32 ^b	29.27±0.36 ^{cd}
11	8.85±0.08 ^a	45.46±0.89 ^c	18.39±0.43 ^c	33.27±1.21 ^b
12	5.43±0.06 ^{cd}	55.38±1.05 ^a	11.98±0.21 ^s	34.51±0.99 ^b

注：表中均为干燥样品含量。

其中茎中多酚含量最高, 根中的多酚含量最低。其中, 根部总酚的第一个最大值出现在 11 月, 总酚含量达到 8.85 mg/g; 茎的最高点晚于根部, 出现在 12 月, 分别为 55.38 mg/g, 而叶片则在 3 月、7 月、10 月出现 3 个高峰值, 分别为 32.49、23.01 和 23.21 mg/g, 其中 3 月份多酚的含量比其他月份含量高。陈喜根等^[18]研究了三叶青不同部位中多酚的含量变化, 发现在不同部位上, 多酚主要存在于植物的茎等器官中, 具有集中分布的特性, 与本研究实验结果相似。结果表明, 在 12 月份采收三叶青茎, 多酚含量最高, 且此月份三叶青不同部位的多酚含量: 茎>须>叶>根。

2.3.2 三叶青不同部位总黄酮含量的季节性变化

黄酮类化合物是一类天然物质, 在某些植物和中草药中含量丰富, 具有抗氧化活性、降血压、镇痛、免疫调节等生理活性作用^[19]。舟山三叶青不同部位总黄酮的含量变化如表 5 所示, 三叶青茎中总黄酮含量在 1—12 月均高于其他部位, 最高值出现在 12 月份, 含量为 148.28 mg/g。根、叶、须中总黄酮含量分别在 12 月份、6 月份和 3 月份最高, 含量分别为 36.24 mg/g、57.73 mg/g 和 70.34 mg/g。4、5、6 月份, 茎与块根中黄酮含量逐渐下降, 而须和叶保持较高水平, 这可能是因为不同部位的总黄酮含量受到花期影响, 5 月份花期时根、茎、叶、须的黄酮含量分别为 6.26、77.77、38.49 和 52.04 mg/g。三叶青各部位的总黄酮均 2—4 月份呈现先上升后下降的趋势, 根和茎中总黄酮在 5—12 月份逐渐积累达到最高值, 与毛毛^[20]研究中的黄酮类物质变化规律近乎相同, 这是因为在初期, 植物生长发育旺盛, 黄酮类物质容易积累, 因此出现三叶青中黄酮类物质积累迅速, 在中期植物中黄酮类物质可能受到花期结果的影响, 生长较为缓慢, 在后期三叶青黄酮也是处于不

表 5 三叶青不同部位总黄酮含量(mg/g)				
Table 5 Total flavonoids content of different parts of <i>Tetrastigma hemsleyanum</i> Diels et Gilg (mg/g)				
月份	根部	茎部	叶片	根须
1	10.46±0.03 ^g	144.26±1.00 ^a	13.70±0.05 ^h	25.00±0.25 ⁱ
2	4.53±0.03 ⁱ	105.51±1.07 ^f	35.59±0.18 ^f	33.99±0.24 ^h
3	19.42±0.10 ^d	129.74±0.62 ^b	52.16±0.30 ^{bc}	70.34±1.42 ^a
4	10.86±0.08 ^g	86.04±1.04 ^g	41.62±0.61 ^e	49.11±0.25 ^{cd}
5	6.26±0.03 ^h	77.77±1.00 ^h	38.49±0.95 ^{ef}	52.04±1.63 ^c
6	13.16±0.63 ^f	87.74±2.35 ^g	57.73±1.22 ^a	43.02±0.99 ^e
7	16.48±0.71 ^e	105.54±1.99 ^f	46.13±1.13 ^d	62.89±2.01 ^b
8	20.11±0.18 ^d	128.22±1.33 ^c	56.45±2.10 ^{ab}	48.92±1.25 ^d
9	25.12±0.78 ^c	116.61±1.00 ^{de}	49.13±0.99 ^{cd}	33.46±1.24 ^h
10	30.79±1.28 ^b	123.38±2.58 ^d	39.25±0.47 ^e	38.82±1.25 ^g
11	35.51±0.13 ^a	131.47±2.58 ^b	16.88±0.47 ^g	44.76±1.98 ^{ef}
12	36.24±0.91 ^a	148.28±2.41 ^a	13.70±0.12 ^h	43.93±1.68 ^f

断积累的状态, 但积累的速度不同, 这与杨明晨等^[21]对三叶青中黄酮类化合物变化的研究一致。结果表明, 在 12 月份采收三叶青茎, 黄酮含量最高, 且在此月份三叶青不同部位的黄酮含量: 茎>须>根>叶。

2.3.3 三叶青不同部位总皂苷含量的季节性变化

由表 6 可知, 三叶青的总皂苷量具有季节性变化规律。1—7 月茎与根的营养物质起伏不定, 可能与降水量有关, 8—12 月的积累量增加, 随着冬季来临, 皂苷量增长稳定。同时, 三叶青块根和茎中的总皂苷量季节性变化趋势相同。三叶青茎中的总皂苷量高于叶中的总皂苷量, 且茎中皂苷含量全年 12 月的成熟期含量最高, 这与其他爬藤类植物的总皂苷积累现象是一样的。与已报道的其他产地三叶青的皂苷量^[22]相比, 本研究测得的三叶青的总皂苷量较高, 可能与舟山地区日照多、湿度高的特殊生境有关, 也可能与物种的遗传性有关。结果表明, 在 12 月份采收三叶青茎, 总皂苷含量最高, 且在此月份三叶青不同部位的皂苷含量: 茎>须>叶>根。

表 6 三叶青不同部位总皂苷含量(mg/g)				
Table 6 Total saponins content of different parts of <i>Tetrastigma hemsleyanum</i> Diels et Gilg (mg/g)				
月份	根	茎	叶	须
1	7.97±0.12 ^{fg}	51.61±0.82 ^f	36.15±0.58 ^d	28.44±0.68 ^{gh}
2	5.64±0.05 ^g	42.42±0.58 ^g	44.37±1.52 ^c	8.59±0.28 ⁱ
3	10.89±0.13 ^c	44.66±0.49 ^g	35.99±0.20 ^d	32.09±0.05 ^{ef}
4	10.14±0.18 ^c	55.27±0.67 ^e	50.40±1.18 ^b	42.41±0.41 ^c
5	8.78±0.73 ^f	56.16±1.88 ^e	49.67±1.52 ^b	26.46±1.22 ^h
6	9.78±0.19 ^f	55.96±1.39 ^{ef}	44.23±1.24 ^c	30.19±1.82 ^{fg}
7	12.58±0.25 ^{de}	49.74±1.41 ^f	44.24±1.52 ^c	48.99±1.36 ^a
8	22.73±0.74 ^c	128.22±1.33 ^{bc}	56.45±2.10 ^a	48.92±1.25 ^a
9	28.44±0.87 ^a	116.61±1.00 ^d	49.13±0.99 ^b	33.46±1.24 ^e
10	26.98±0.12 ^b	123.38±2.58 ^c	39.25±0.47 ^d	38.82±1.25 ^d
11	14.17±0.17 ^d	131.47±2.58 ^b	16.88±0.47 ^e	44.76±1.98 ^b
12	10.93±0.32 ^e	144.28±2.41 ^a	13.70±0.12 ^f	43.93±1.68 ^{bc}

2.4 指纹图谱的建立及相似度评价

采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版)将相关数据进行多点校正和 Mark 峰匹配技术处理, 得到指纹图谱, 见图 1。以 1—12 月份舟山三叶青指纹图谱建立对照指纹图谱, 共识别出 13 个共有峰, 见图 2, 其中指认了 3 个共有峰, 分别是 3 号峰(没食子酸)、10 号峰(牡荆素鼠李糖苷)、11 号峰(槲皮素)。以对照谱图参考, 分别对 12 批不同月份三叶青的指纹图谱进行相似度评价, 12 批三叶青指纹图谱的相似度为 0.678~0.972 (表 7)。由此可知, 不同月份三叶青成分变化较大。

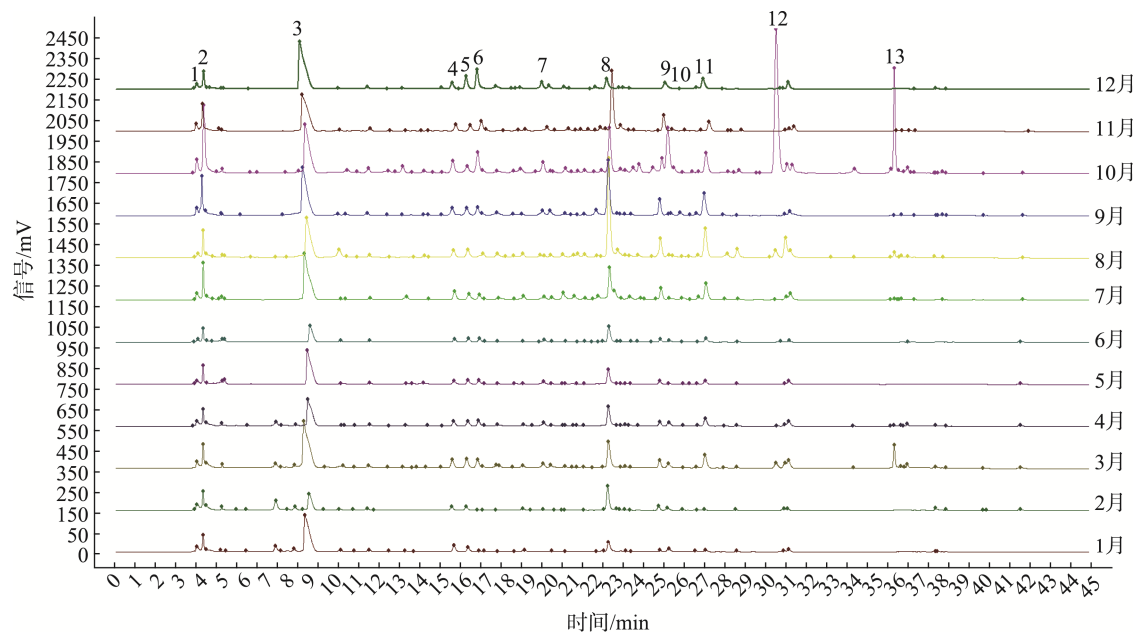


图 1 1—12 月份舟山三叶青指纹图谱
Fig.1 Fingerprint chromatograms of Zhoushan *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg in 1—12 months

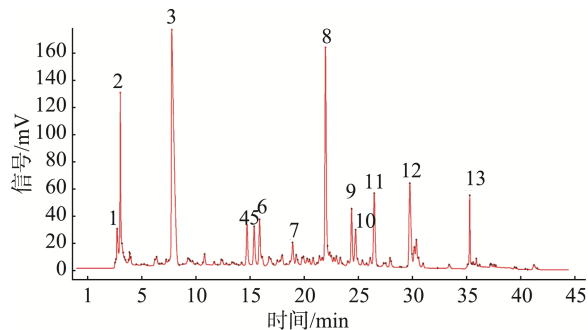


图 2 舟山三叶青对照指纹图谱
Fig.2 Comparison fingerprint chromatograms of Zhoushan *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg

表 7 1—12 月舟山三叶青指纹图谱相似度
Table 7 Similarity of fingerprint spectra of Zhoushan *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg in 1—12 months

编号	相似度	编号	相似度
1 月	0.914	7 月	0.963
2 月	0.846	8 月	0.867
3 月	0.972	9 月	0.969
4 月	0.971	10 月	0.678
5 月	0.949	11 月	0.959
6 月	0.956	12 月	0.904

2.5 化学计量学分析

2.5.1 聚类分析

采用 SPSS 27.0 软件, 分别以不同月份三叶青中 13 个共有峰峰面积为变量, 采用组间连接的聚类方法, 以欧氏距离平方作为度量标准进行聚类分析, 探讨不同批次间样

本数据的一致性。如图 3 所示, 当距离刻度为 5 时, 12 个月份的三叶青被分为 3 类: 第一类为 1、2、3、4、5、6 月; 第二类为 6、7、9、10、11、12 月, 第三类为 8 月份。

聚类分析结果可以看出, 舟山市不同月份采收的三叶青之间可能存在差异性, 对于醇提物中的小分子物质, 1—6 月份为休眠期到花期的转换期, 也是物质逐渐积累的时间; 7 月是舟山的梅雨季, 8 月是台风期, 降雨量较大, 随后随温度降低, 小分子物质逐渐积累, 可以看出, 三叶青中活性物质与气温、降水有较大的相关性^[23]。

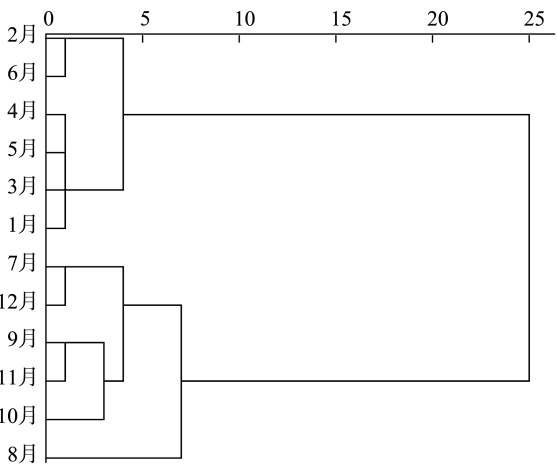


图 3 舟山不同月份三叶青聚类分析图
Fig.3 Cluster analysis of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg in different months in Zhoushan

2.5.2 主成分分析

以不同月份的 13 个共有峰的峰面积为变量分别进行不同月份的主成分分析。用 SIMCA 14.1 软件对峰面积进

行标准化处理, KMO 检验统计量为 0.600, Bartlett's 球形检验统计量为小于 0.01, 表明适合进行主成分分析^[24]。由分类矩阵图(图 4)可见, 不同月份三叶青样品大致被分为 3 类, 这可能与舟山三叶青中 3 种共有物质含量差异较大有关。

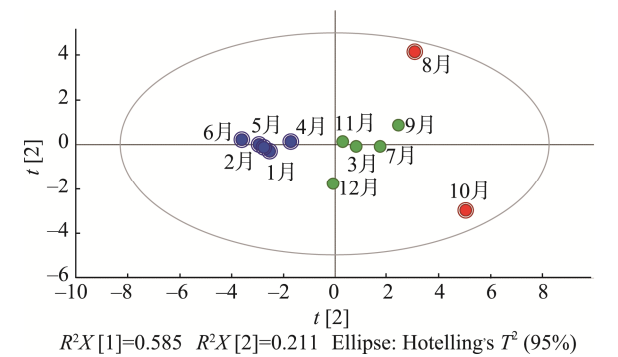


图 4 不同月份三叶青主成分分析得分图
Fig.4 Principal component analysis score maps of different batches of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg

2.5.3 正交偏最小二乘法判别分析

将不同月份三叶青指纹图谱中 13 个共有峰峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件, 进行正交偏最小二乘法判别分析建模, 不同月份三叶青样品可大致分为 3 类, 见图 5。为防止所建立的正交偏最小二乘法判别分析模型出现过拟合而影响结果的准确性, 利用 200 次置换检验模型进行内部验证, 见图 6, 右上角的 R^2 和 Q^2 的纵坐标的值高于最左边的 R^2 和 Q^2 , 斜率为正值, Q^2 点的蓝色回归线与纵(左侧)相交点低于 0 点, 说明所建模型可靠, 未出现过拟合现象, 可用于标志物的筛选^[25]。

变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值是筛选质量差异标志物的重要指标, 可直观反映共有峰引起的组间差异的权重大小, VIP 值越大, 表明该化合物对组间差异的贡献越大^[26]。对已指认的 3 个共有峰进行 VIP 值分析, 见图 7。以 VIP 值大于 1 为阈值, 筛选出 2 个质量差异标志物, 分别为峰 2(没食子酸, VIP 值=1.2352)和峰 10(槲皮素, VIP 值=1.0225), 说明这 2 个成分对分类的贡献较大。

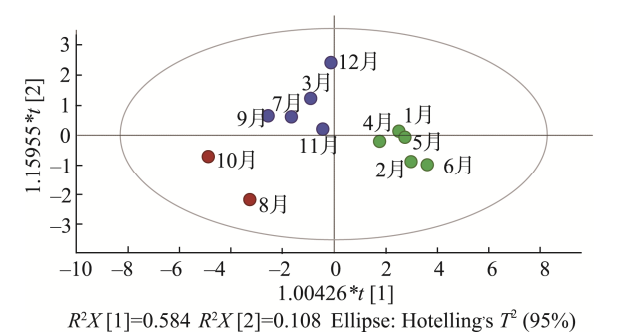
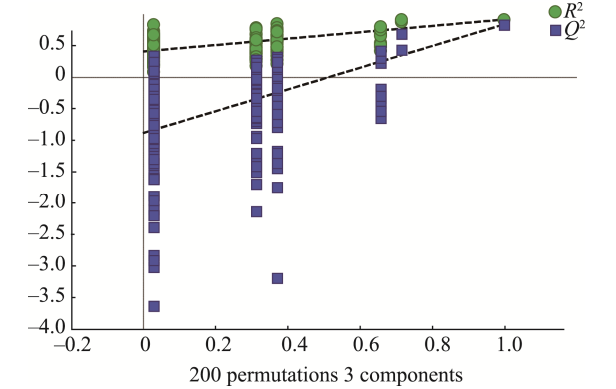
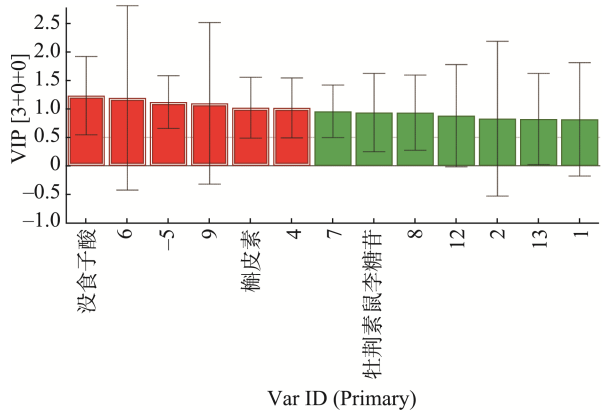


图 5 OPLS-DA 得分散点图
Fig.5 Score scatter plot of OPLS-DA



注: 200 permutations 3 components 表示 200 次排列 3 种模型。
图 6 OPLS-DA 置换检验图
Fig.6 permutation test plot of OPLS-DA



注: Var ID (Primary)表示变量 ID(主键)。
图 7 三叶青标志性成分 VIP 值得分图
Fig.7 VIP value map of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg's iconic ingredient

2.6 多成分含量测定

2.6.1 线性关系考察

分别精密吸取不同浓度对照品溶液(200、400、600、800、1000 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL , 按指纹图谱色谱条件测定, 记录色谱图。以峰面积(Y)对进样量(X, $\mu\text{g/mL}$)进行线性回归, 即得回归方程及线性范围(见表 8), 结果表明 3 种化学成分在线性范围内呈良好的线性关系。

表 8 3 个成分的回归方程、相关系数、线性范围
Table 8 Regression equation, correlation coefficient and linear ranges of 3 components

成分	回归方程	r^2	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)
没食子酸	$Y=3116.3X+65.838$	0.9930	201.60~935.00
槲皮素	$Y=26703X+29.187$	0.9998	201.58~1021.50
牡荆素鼠李糖苷	$Y=6789X-23.892$	1.0000	200.08~1000.00

2.6.2 样品含量测定

精密称取不同批次的三叶青粉末各 3 份, 每份 1.0 g,

按照指纹图谱供试品溶液方法制备, 根据指纹图谱色谱条件进行测定($n=3$), 记录峰面积, 按照线性回归方程计算三叶青中 3 个成分的含量, 见表 9。

本研究建立了舟山三叶青的不同月份高效液相色谱指纹图谱, 对包括没食子酸、槲皮素、牡荆素鼠李糖苷的 3 个共有峰进行含量测定, 线性关系良好, 可为舟山三叶青质量评价提供参考。

表 9 不同月份三叶青块根 3 种成分的含量(mg/g)
Table 9 Content of 3 kinds of components in different months of *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg (mg/g)

月份	没食子酸	槲皮素	牡荆素鼠李糖苷
1	9.366±0.385 ^{bc}	0.088±0.003 ^d	0.052±0.002 ^d
2	2.720±0.394 ^e	0.184±0.015 ^{cd}	0.043±0.001 ^{de}
3	12.987±1.250 ^a	0.244±0.024 ^c	0.072±0.005 ^d
4	5.868±0.548 ^d	0.164±0.005 ^{cd}	0.067±0.010 ^d
5	7.297±0.427 ^c	0.126±0.011 ^d	0.021±0.002 ^e
6	2.731±0.116 ^c	0.124±0.014 ^d	0.033±0.004 ^{de}
7	12.104±0.259 ^{ab}	0.255±0.005 ^c	0.030±0.005 ^{de}
8	9.764±0.028 ^{bc}	0.778±0.043 ^a	0.042±0.001 ^{de}
9	12.967±0.049 ^a	0.443±0.021 ^b	0.019±0.002 ^e
10	12.114±0.996 ^{ab}	0.354±0.008 ^{bc}	0.645±0.025 ^a
11	11.112±0.327 ^b	0.455±0.017 ^b	0.185±0.011 ^b
12	13.536±0.185 ^a	0.094±0.007 ^d	0.125±0.009 ^c

2.7 色谱条件的选择及供试液制备的方法选择

通过对供试品的全波长扫描, 发现在 320 nm 处时, 色谱峰峰型较好, 出峰数目较多, 各色谱峰之间分离度良好, 基线平稳, 故选择 320 nm 为检测波长^[27]。本研究综合考虑色谱基线、峰型及整体色谱峰分离情况, 对比考察了乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.1%磷酸水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液等不同流动相体系, 最终发现乙腈-0.1%甲酸的洗脱效果最好, 并通过色谱条件的进一步优化, 最终确定以乙腈-0.1%甲酸水作为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.8 mL/min, 柱温 25 °C, 洗脱时间 45 min。

3 结 论

3.1 不同月份三叶青成分变化

通过样本测定发现, 三叶青不同部位总蛋白的含量均在冬季的 12 月和 1 月份最高; 11 月和 12 月时, 三叶青根的总糖含量最高; 三叶青根部总酚的第一个最大值出现在 11 月, 茎的最高点晚于根部, 出现在 12 月; 在 12 月份采收三叶青茎, 黄酮含量最高; 三叶青茎中皂苷含量全年 12 月的成熟期含量最高。这种现象可能是由于这段时间属于三叶青的休眠期, 次生代谢产物积累, 采摘的三叶青品质较佳, 药效好。与张璐等^[28]发现的不同月份铁皮石斛中的次生代谢产物含量变化规律相似。此外, 中药材中次生代谢产物的动态变化也与种植土壤^[29]和光合作用^[30]等因素有关,

三叶青的民间采摘的最佳时期为每年的冬至到惊蛰期间。

3.2 三叶青指纹图谱的建立与化学计量学分析

本研究建立了一年内(2022.1—2022.12)舟山三叶青块根的指纹图谱, 共标定 13 个共有峰。通过聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析方法, 可将 12 批不同月份三叶青划分为 3 类, 且通过正交偏最小二乘法判别分析项下的 VIP 值分析, 筛选出 2 个差异质量标志物, 分别是没食子酸和槲皮素, 没食子酸含量在 2.731~13.536 mg/g 之间; 槲皮素含量在 0.088~0.778 mg/g 之间, 没食子酸的含量较高, 可作为舟山市三叶青标志成分含量测定标准。

参考文献

[1] 丁富娟, 李慧芬, 崔伟亮, 等. 三叶青名实考辨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 208–212.
DING FJ, LI HF, CUI WL, et al. Discrimination of Name and Nature of *Tetragium hemsleyanum* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(9): 208–212.

[2] 王珠强, 乐李敬, 黄泽豪. 蛇附子的本草考证[J]. 中药材, 2015, 38(11): 2421–2424.
WANG ZQ, LE LJ, HUANG ZH. Botanical identification of the *Hemsley Rockvine Root* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(11): 2421–2424.

[3] 范世明, 徐惠龙, 谢心月, 等. 三叶青叶指纹图谱研究及 8 种酚类成分含量测定[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3975–3981.
FAN SM, XU HL, XIE XY, et al. Study on the fingerprint spectrum of *Tetragium hemsleyanum* leaves and determination of the content of eight phenolic components [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(21): 3975–3981.

[4] 李鹤, 陈伟东. 不同产地三叶青 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2021, 44(12): 2896–2898.
LI H, CHEN WD. HPLC fingerprint study of *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg from different producing areas [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2021, 44(12): 2896–2898.

[5] 李士敏, 刘京骅, 杨颖欣, 等. 三叶青 HPLC 指纹图谱研究及多成分含量测定[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(7): 46–51.
LI SM, LIU JH, YANG YX, et al. HPLC fingerprint study and multi-component content determination of *Tetragium hemsleyanum* Diels et Gilg [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2022, 18(7): 46–51.

[6] 李士敏, 孙崇鲁, 张煜炯, 等. 不同月份三叶青中 8 种有效成分含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(19): 117–123.
LI SM, SUN CL, ZHANG YJ, et al. Content changes of eight components in *Tetragium hemsleyanum* radix of different months [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2019, 25(19): 117–123.

[7] 金雅慧, 缪强. 基于文献计量学的三叶青研究现状分析[J]. 林业科技情报, 2022, 54(3): 54–58.
JIN YH, MIU Q. Analysis of the research status of trefoil based on bibliometrics [J]. Forestry Science and Technology Information, 2022, 54(3): 54–58.

[8] 李者, 周昌和, 杜向标, 等. 三叶青研究和生产现状及发展对策[J]. 浙江林业科技, 2020, 40(6): 87–92.
LI Z, ZHOU CH, DU XB, et al. Current situation and countermeasures on research and development of *Tetragium hemsleyanum* [J]. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 2020, 40(6): 87–92.

[9] 王燕平. 中国药典(英文)[Z]. 2015.
WANG YP. Chinese Pharmacopoeia [Z]. 2015.

[10] 唐桂芬, 刘昆, 张春霞, 等. 饲料粗、真蛋白含量及蛋白质溶解度检测关键点与研究进展[J]. 饲料工业, 2024, 45(20): 30–34.
TANG GF, LIU K, ZHANG CX, et al. Key points and research progress in detection technology of crude protein, true protein and protein solubility in

- feed [J]. Feed Industry, 2024, 45(20): 30–34.
- [11] 黄华丹, 阙启鑫, 张乐宜, 等. 3种测定广式酱油中总糖含量的方法比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 296–304.
HUANG HD, KAN QX, ZHANG LY, et al. Comparison of three methods for the determination of total sugar content in cantonese soy sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 296–304.
- [12] 梁文仪, 陈文静, 杨光辉, 等. 丹参酚酸类成分研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 806–812.
LIANG WY, CHEN WJ, YANG GH, et al. Research progress on salvianolic acids of *Salvia miltiorrhiza* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(5): 806–812.
- [13] 刘俊秋, 高语枫, 郑佳怡, 等. 三叶青化学成分及其抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(09): 233–241.
LIU JQ, GAO YF, ZHENG JY, et al. Chemical compositions and anti-tumor effect of *Tetrastigma hemsleyanum*: A review [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2022, 28(09): 233–241.
- [14] 吴银双, 张美, 黎勇坤, 等. 尖子木不同部位5种有效成分及总黄酮、总皂苷的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(9): 2057–2061.
WU YS, ZHANG M, LI YK, et al. Determination of five effective components, total saponins and total flavonoids in different parts of *Oxyspora paniculata* DC [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2019, 30(9): 2057–2061.
- [15] 井亚江, 王七龙, 黄建萍, 等. 桔梗质量标志物筛选[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3393–3399.
JING YJ, WANG QL, HUANG JP, et al. Quality marker screening of *Platycodon grandiflorum* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(10): 3393–3399.
- [16] 张艳秋, 吴天宇, 田增智, 等. 老鸦瓣(*Amana edulis*)鳞茎营养成分和生物活性物质含量分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2023, 54(5): 522–528.
ZHANG YQ, WU TY, TIAN ZZ, et al. Analysis of the content of the nutritive components and active substances in the bulbs of *Amana edulis* (Miq.) Honda [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2023, 54(5): 522–528.
- [17] 李斗, 王宇航, 王春恒, 等. GABA对葡萄叶片光合色素及糖含量和果实风味的影响[J]. 园艺学报, 2024, 51(4): 815–831.
LI D, WANG YH, WANG CH, et al. Effects of exogenous GABA on physiological characteristics of leaves and fruit flavor in wine grape [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(4): 815–831.
- [18] 陈喜根, 孙晗靖, 杨丽君, 等. 基于不同种源的三叶青化学成分及抗氧化能力对比分析—以浙江省杭州市富阳区为例[J]. 浙江农业科学, 2024, 65(2): 320–324.
CHEN XG, SUN HJ, YANG LJ, et al. Comparative analysis of chemical components and antioxidant capacity of *Tetrastigma hemsleyanum* based on different provenances: Taking Fuyang District, Hangzhou City, Zhejiang Province for example [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(02): 320–324.
- [19] 孙永. 三叶青化学成分及其抗氧化和抗癌活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
SUN Y. Chemical composition, activities of antioxidation and anticancer of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [20] 毛毛. 曼地亚红豆杉不同枝条主要药用成分含量年内变化研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2023.
MAO M. Study on the annual changes in the content of main medicinal components in different branches of *Taxus media* [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2023.
- [21] 杨明晨, 胡锋, 符姜燕, 等. 植物源活性物质抗菌构效关系、抗菌机理及在食品中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(18): 367–374.
YANG MC, HU F, FU YJ, et al. Research progress on antibacterial structure-activity relationship, antibacterial mechanism and application in food of plant-derived active substances [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(18): 367–374.
- [22] 董云哲, 金泽兰, 林宏峻, 等. 三叶青突变体的理化成分评价与分子鉴定[J]. 核农学报, 2022, 36(10): 1907–1919.
DONG YZ, JIN ZL, LIN HJ, et al. Physicochemical composition evaluation and molecular identification of mutants of *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(10): 1907–1919.
- [23] 章健敏, 林国卫, 姜俊. 月均气温对三叶青林下容器栽培苗光合特性及其块根总黄酮含量的影响[J]. 浙江农业科学, 2024, 65(3): 555–561.
ZHANG JM, LIN GW, LOU J. Effects of monthly average air temperature on photosynthetic characteristics and total flavonoids content in root tubers of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg seedlings grown in containers under the forest [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(3): 555–561.
- [24] 王婷格, 罗陆遥, 薛端, 等. 基于HPLC指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的盐杜仲质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(1): 141–150.
WANG TG, LUO LY, XUE R, et al. Quality evaluation of salt-fired *Eucommiae cortex* based on HPLC fingerprint, multi-component content determination, and chemometrics [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(1): 141–150.
- [25] 王溪, 林叶媛, 钟文婷, 等. 基于3种药用蛇中15种氨基酸含量分析的营养价值评价[J]. 中国中药杂志, 2025. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20250216.104
WANG X, LIN YY, ZHONG WT, et al. Evaluation of nutritional value of three kinds of medicinal snakes based on content of 15 amino acids [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20250216.104
- [26] 赵洁, 李富荣, 刘雯雯, 等. 基于非靶向代谢组学的六洞天关键特征成分分析[J]. 食品科学, 2024, 45(22): 154–163.
ZHAO J, LI FR, LIU WW, et al. Non-targeted metabolomics analysis of key characteristic components in Liudong tea [J]. Food Science, 2024, 45(22): 154–163.
- [27] 刘昀蒂, 邓静, 龚梦佳, 等. 一种基于全波长UV建立HPLC指纹图谱的质量控制模式:以不同等级的玄参为例[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(19): 4652–4657.
LIU XD, DENG J, GONG MJ, et al. Establishment of quality control model for high performance liquid chromatography fingerprint based on ultraviolet full-wavelength scanning spectrum: Case study on different grades of *Scrophulariae Radix* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(19): 4652–4657.
- [28] 张璐, 方玲, 余欢欢, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS的不同月份铁皮石斛次生代谢物动态变化规律研究[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(14): 1934–1942.
ZHANG L, FANG L, YU HH, et al. Study on dynamic variation patterns of secondary metabolites in *Dendrobium officinale* of different months based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2024, 41(14): 1934–1942.
- [29] 魏小成, 李成义, 周瑞娟, 等. 红芪有效成分及其根际土壤无机元素累积特征研究[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(2): 724–731.
WEI XC, LI CY, ZHOU RJ, et al. Study on the active constituents of *Hedysari Radix* and the accumulation characteristics of inorganic elements in rhizosphere soil [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2024, 39(2): 724–731.
- [30] 孙志鹏, 罗建勋, 蒲尚饶, 等. 川黄柏幼龄林有效成分盐酸小檗碱的累积及光合特性[J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29(5): 1234–1240.
SUN ZP, LUO JX, PU SR, et al. Accumulation of berberine hydrochloride and photosynthetic characteristics of a young *Phellodendron chinense* Schneid forest [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2023, 29(5): 1234–1240.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)