

# 青钱柳叶活性成分的抗氧化活性及 UPLC-QTOF-MS/MS分析

陈玮玲, 钟培培, 王远兴\*

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

**摘 要:** 利用96孔板法测定青钱柳叶不同溶剂(水、70%乙醇、乙酸乙酯和正己烷)提取物中总酚、总黄酮含量及抗氧化活性(DPPH自由基清除能力、还原能力、总抗氧化能力),考察酚类物质含量与抗氧化活性的相关性,并采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS/MS)分析提取物中主要活性成分。结果表明:不同提取物中总酚、总黄酮含量及抗氧化活性存在显著性差异且70%乙醇溶液提取物表现出最高的总酚(219.01 mg GAE/g)、总黄酮含量(7.23 mg CE/g)及最强的DPPH自由基清除能力(35.46 mg TE/g)和还原能力(1.89 mmol FeSO<sub>4</sub>/g);总酚、总黄酮含量与DPPH自由基清除能力、还原能力之间呈正相关,与总抗氧化能力呈显著负相关,表明多酚类物质是青钱柳中主要的抗氧化剂。UPLC-QTOF-MS/MS分析70%乙醇溶液提取物并初步鉴定出22种化合物,包括2种有机酸、4种酚酸、5种黄酮、8种三萜皂苷类和3种酯类,其中酚酸和黄酮类化合物是主要的抗氧化活性成分,有机酸、三萜皂苷及酯类化合物可能是潜在的抗氧化活性成分。

**关键词:** 青钱柳叶; 抗氧化活性; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱; 活性成分

## Antioxidant Activities and Identification of Bioactive Components of *Cyclocarya paliurus* Leaves by UPLC-QTOF-MS/MS

CHEN Weiling, ZHONG Peipei, WANG Yuanxing\*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** The contents of total phenolics (TPC) and total flavonoids (TFC) and antioxidant activities (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, reducing power and total antioxidant capacity) in different solvent extracts from *Cyclocarya paliurus* leaves (CPL) obtained with water, 70% ethanol, ethyl acetate and *n*-hexane were determined by the 96-well plate method. The correlation between phenolics contents and antioxidant activities was investigated and the main bioactive constituents were identified by using ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS). There were significant differences in the contents of total phenolics and total flavonoids and antioxidant activities among different extracts. The 70% ethanol extract showed the highest contents of total phenolics (219.01 mg GAE/g) and total flavonoids (7.23 mg CE/g), and the strongest DPPH radical scavenging activity (35.46 mg TE/g) and reducing power (1.89 mmol FeSO<sub>4</sub>/g). Each bioactive component demonstrated positive correlations with DPPH radical scavenging ability and reducing power and negative correlations with total antioxidant capacity, indicating that polyphenols mainly account for the antioxidant activities of CPL extracts. The 70% ethanol extract was analyzed by UPLC-QTOF-MS/MS, and a total of 22 compounds, including 2 organic acids, 4 phenolic acids, 5 flavonoids, 8 triterpenoid saponins and 3 esters, were identified, among which, phenolic acids and flavonoids were the major antioxidant constituents, while organic acids, triterpenoid saponins and esters might be potential antioxidant components.

**Key words:** *Cyclocarya paliurus* leaves; antioxidant activity; UPLC-Q-TOF-MS/MS; bioactive component

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708020

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)08-0122-07

收稿日期: 2016-08-01

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31560478; 31160321); 江西省重点研发计划项目(20161BBF60095); 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室开放基金项目(PCU201403)

作者简介: 陈玮玲(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品化学与分析技术。E-mail: 373059941@qq.com

\*通信作者: 王远兴(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品化学、色谱与质谱分析。E-mail: yuanxingwang@ncu.edu.cn

引文格式:

陈玮玲, 钟培培, 王远兴. 青钱柳叶活性成分的抗氧化活性及UPLC-QTOF-MS/MS分析[J]. 食品科学, 2017, 38(8): 122-128. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708020. <http://www.spkx.net.cn>

CHEN Weiling, ZHONG Peipei, WANG Yuanxing. Antioxidant activities and identification of bioactive components of *Cyclocarya paliurus* leaves by UPLC-QTOF-MS/MS[J]. Food Science, 2017, 38(8): 122-128. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708020. <http://www.spkx.net.cn>

青钱柳 (*Cyclocarya paliurus* (Batal) Ijinskaja), 俗称“甜茶树”, 系胡桃科青钱柳属植物, 主要生长于中国南部海拔420~2 500 m的高山地区, 是一种药食两用的植物, 在中国青钱柳作为传统健康食品已有上千年的历史<sup>[1-2]</sup>。青钱柳果实酷似古代的铜钱, 又称为金钱柳, 其根、枝、叶均可入药, 可用作传统中药制剂、功能食品成分及膳食营养补充剂<sup>[3-4]</sup>。现代研究表明青钱柳具有生津止渴、清热解毒、降血压、降血脂、降血糖、抗氧化、提高人体免疫力等功效, 可用于治疗高血压、糖尿病、神经衰弱等, 其嫩叶可用于治疗糖尿病和肥胖症<sup>[5-6]</sup>。近年来青钱柳的大部分研究主要集中在小分子物质分离鉴定及生物活性等方面, 研究发现青钱柳中主要含有酚类、黄酮、三萜、皂苷、有机酸、内酯、多糖、矿物质等成分, 其中酚类、黄酮具有较强的抗氧化活性<sup>[7-8]</sup>。Xie Jianhua等<sup>[9]</sup>通过超声波辅助法提取青钱柳叶中的黄酮类物质, 并利用液相色谱-质谱分析鉴定了其中5种主要成分的结构, 且通过体外抗氧化实验得出提取物具有显著的清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基的能力。Dong Caijun等<sup>[10]</sup>测定了青钱柳不同溶剂提取物对DPPH自由基、超氧阴离子自由基和羟自由基的清除能力, 结果表明醇提物具有较强的清除自由基能力和抗油脂氧化活性。

目前很多现代分析技术应用于植物化学成分定性、定量分析, 其中超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS/MS)技术是复杂样品中化学组成分析和鉴定的重要分析工具, 能够在缺少标品的情况下对粗提物中微量成分进行结构分析鉴定, 具有高分辨率、高灵敏度、高选择性、高质量精度等优点<sup>[11-12]</sup>。本研究旨在分析不同溶剂(水、70%乙醇溶液、乙酸乙酯和正己烷)对青钱柳叶中总酚、总黄酮含量及抗氧化活性(DPPH自由基清除能力、还原能力和总抗氧化能力)的影响及讨论酚酸、黄酮类物质与抗氧化活性的相关性, 并采用UPLC-QTOF-MS/MS定性分析提取物中主要抗氧化成分, 为青钱柳进一步研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

供试青钱柳鲜叶采于江西省九江市修水县, 样品采集时间为2015年7月, 供试样品鲜叶于50℃烘箱中干燥后粉碎过筛, 样品粉末置于干燥器中保存。

乙腈(色谱纯) 德国Merck公司; 甲酸(色谱纯) 美国ROE公司; 蒸馏水 屈臣氏集团(香港)有限公司; 没食子酸(gallate acid, GA) 美国Aladdin公司; 儿茶素(catechin, C)、Fe<sup>3+</sup>-三吡啶三吡嗪(2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ)、水溶性VE(Trolox)、DPPH 美国Sigma公司; 总抗氧化能力测定试剂盒 碧云天生物技术有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

KQ3200DB型数控超声波清洗仪 昆山市超声仪器有限公司; 1290UPLC-6538QTOF-MS联用仪 美国Agilent公司; TDL-5-A型离心机 上海安亭科学仪器厂; RE-5296旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; VARIOSHA Flash多功能酶标仪 美国Thermo Scientific公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品制备

取2.0 g青钱柳粉末分别与100 mL水、体积分数70%乙醇溶液、乙酸乙酯和正己烷混匀, 45℃、150 W超声波处理45 min, 然后混合体系于45℃浸提75 min, 重复提取2次, 合并滤液后5 000 r/min离心10 min, 然后用旋转蒸发器浓缩后冷冻干燥, 样品粉末用于体外抗氧化活性测定。同时, 取离心后的体积分数70%乙醇溶液提取物1 mL过0.22 μm滤膜后分析。

#### 1.3.2 总黄酮含量的测定

采用AlCl<sub>3</sub>-NaOH-NaNO<sub>3</sub>法测定样品中总黄酮的含量<sup>[13]</sup>。0.2 mL样品与0.4 mL质量分数5% NaNO<sub>2</sub>溶液室温反应6 min后, 加入0.4 mL质量分数10% AlCl<sub>3</sub>溶液混匀后反应6 min, 加入4.0 mL质量分数4% NaOH溶液和5.0 mL蒸馏水充分混匀, 反应15 min后, 分别吸取200 μL反应液于96微孔板中, 于波长510 nm处测吸光度。以C为标准品(2.5~60 μg/mL)绘制标准曲线(R<sup>2</sup>=0.999 4), 结果表示为毫克C当量每克干物质计(mg CE/g)。

### 1.3.3 总酚含量的测定

采用Folin-Ciocalteu法测定提取物中总酚含量<sup>[14]</sup>。0.5 mL样品与0.5 mL福林酚试剂混匀, 5 min后加1.5 mL质量分数20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液, 并避光反应30 min, 分别吸取200  $\mu$ L反应液于96微孔板中, 于波长765 nm处测吸光度。以GA为标准品(1.25~60  $\mu$ g/mL)绘制标准曲线( $R^2=0.9991$ ), 结果表示为毫克GA当量每克干物质计(mg GAE/g)。

### 1.3.4 体外抗氧化活性的测定

#### 1.3.4.1 DPPH自由基清除能力的测定

参照Kosanić等<sup>[15]</sup>的方法测定样品对DPPH自由基的清除能力。1.0 mL样品溶液加入1.0 mL 0.1 mmol/L新鲜制备的DPPH溶液(甲醇)混匀, 室温避光反应30 min, 分别吸取200  $\mu$ L反应液于96微孔板中, 于波长517 nm处测吸光度。以水溶性VE为标品(0.625~10  $\mu$ g/mL)绘制标准曲线( $R^2=0.9969$ ), 结果以毫克水溶性VE当量每克干物质计(mg TE/g)。

#### 1.3.4.2 还原能力的测定

采用铁离子还原能力(ferric reducing antioxidant power, FRAP)法<sup>[16-17]</sup>测定不同青钱柳叶提取物中总抗氧化能力。

配制10 mmol/L TPTZ溶液: 称取31.233 mg TPTZ, 用40 mmol/L盐酸溶液定容至10 mL; 配制FRAP工作液: 由0.3 mol/L pH 3.6醋酸钠缓冲液, 20 mmol/L三氯化铁溶液和10 mmol/L TPTZ溶液按10:1:1(V/V)组成, 临用前混合。

取100  $\mu$ L样品于反应管中, 加入1.8 mL FRAP工作液, 混匀后置于37  $^{\circ}$ C水浴10 min, 分别吸取200  $\mu$ L反应液于96微孔板中, 于波长593 nm处测吸光度。以硫酸亚铁为标准品(0.031 25~1.0 mmol/L)绘制标准曲线( $R^2=0.9995$ ), 结果以毫摩尔硫酸亚铁当量每克干物质计(mmol FeSO<sub>4</sub>/g)。

#### 1.3.4.3 总抗氧化能力的测定

采用2,2'-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(2,2'-amino-di(3-ethyl-benzothiazoline sulphonic acid-6)ammonium salt, ABTS)自由基清除能力实验测定样品的总抗氧化能力<sup>[18-19]</sup>。96孔板的每个检测孔中加入20  $\mu$ L过氧化物酶工作液, 加入10  $\mu$ L样品, 混匀后加入170  $\mu$ L ABTS工作液, 轻轻混匀, 室温孵育6 min后于波长414 nm处测定吸光度。10  $\mu$ L磷酸盐缓冲溶液代替样品做空白, 以水溶性VE为标准品(0.15~1.5 mmol/L)绘制标准曲线( $R^2=0.9937$ ), 结果以毫摩尔水溶性VE当量每克干物质计(mmol TE/g)。

### 1.3.5 UPLC-QTOF-MS/MS化学成分分析

UPLC条件: 二极管阵列检测器; Zorbax eclipse plus C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu$ m); 洗脱溶剂:

0.1%甲酸溶液(A)和乙腈(B); 流速0.3 mL/min; 柱温30  $^{\circ}$ C; 进样量1  $\mu$ L; 梯度洗脱程序: 0~15 min, 10%~25% B; 15~16 min, 25%~35% B; 16~38 min, 35%~55% B; 38~42 min, 55% B。

MS条件: 电喷雾离子源, 负离子模式; 质量扫描范围 $m/z$  100~1 700; 碰撞气为氮气; 干燥气流速10.0 L/min; 干燥气温度300  $^{\circ}$ C; 雾化气压力30 psi; 毛细管电压3.5 kV; 碰撞电压175 V; 母离子碰撞能10~50 V。

### 1.4 数据处理

采用SPSS 17.0统计分析软件对数据进行分析。采用单因素方差分析中的Turkey's-b试验分析数据间的显著性差异,  $P$ 值小于0.05时认为样本间具有显著性差异; 采用Pearson's相关分析抗氧化活性与活性成分含量之间相关性。所有实验重复3次, 结果表示为 $\bar{x}\pm s$ 。同时, 采用Agilent定性分析软件对基峰图中得到化合物的母离子、碎片离子等信息进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 总黄酮、总酚含量分析

表1 不同青钱柳叶提取物中总酚、总黄酮含量与体外抗氧化活性  
Table 1 Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of different extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves

溶剂 提取物	总黄酮含量/ (mg CE/g)	总酚含量/ (mg GAE/g)	DPPH自由基清除 能力/(mg TE/g)	还原能力/ (mmol FeSO <sub>4</sub> /g)	总抗氧化能力/ (mmol TE/g)
水提取物	6.77 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	207.51 $\pm$ 9.10 <sup>b</sup>	35.09 $\pm$ 2.23 <sup>c</sup>	1.88 $\pm$ 0.07 <sup>e</sup>	3.95 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
70%乙醇溶液提取物	7.23 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	219.01 $\pm$ 7.80 <sup>b</sup>	35.46 $\pm$ 0.68 <sup>c</sup>	1.89 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>	3.60 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
乙酸乙酯提取物	4.99 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	42.52 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	14.57 $\pm$ 0.81 <sup>b</sup>	0.27 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	6.02 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>
正己烷提取物	5.09 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	33.72 $\pm$ 3.73 <sup>a</sup>	3.86 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	0.09 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	5.42 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>

注: 同列肩标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

提取物中水提物为深棕色, 70%乙醇溶液提取物为黄绿色, 乙酸乙酯及正己烷提取物为深绿色。如表1所示, 总黄酮含量的变化范围为4.99~7.23 mg CE/g, 70%乙醇溶液提取物和水提取物具有较高的总黄酮含量( $P>0.05$ ), 分别为7.23 mg CE/g和6.77 mg CE/g, 其次为正己烷和乙酸乙酯提取物( $P>0.05$ ), 分别为5.09 mg CE/g和4.99 mg CE/g。不同溶剂对总酚含量影响的变化趋势为70%乙醇溶液>水>乙酸乙酯>正己烷。70%乙醇溶液提取物中的总酚含量最高, 为219.01 mg GAE/g, 其次为水提取物, 总酚含量为207.51 mg GAE/g。乙酸乙酯和正己烷对青钱柳总酚的提取效率较低, 分别为42.52 mg GAE/g和33.72 mg GAE/g。

### 2.2 抗氧化活性分析

#### 2.2.1 DPPH自由基清除能力

DPPH在甲醇中溶解时呈深紫色, 当抗氧化活性物质与DPPH单电子配对时, 颜色会变浅, 且在波长517 nm处的吸光度会随之减小, 根据吸光度的降低水平来衡量



样品对于DPPH自由基的清除能力。如表1所示, 70%乙醇溶液和水提取物对DPPH自由基清除能力无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 分别为35.46 mg TE/g和35.09 mg TE/g, 而乙酸乙酯和正己烷提取物对DPPH自由基清除能力具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 分别为14.57 mg TE/g和3.86 mg TE/g。结果表明, 70%乙醇溶液提取物具有最高的DPPH自由基清除能力。

### 2.2.2 还原能力

还原能力测定的原理主要是抗氧化活性物质在酸性条件下能将 $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ还原成蓝色的 $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ, 且在波长593 nm处有最大吸收, 吸光度越大则样品的抗氧化能力越强<sup>[20]</sup>。如表1所示, 样品还原能力与DPPH自由基清除能力相似, 70%乙醇溶液和水提取物还原能力相当, 无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 分别为1.89 mmol  $\text{FeSO}_4$ /g和1.88 mmol  $\text{FeSO}_4$ /g。正己烷提取物的还原能力最低 (0.09 mmol  $\text{FeSO}_4$ /g), 其次为乙酸乙酯提取物 (0.27 mmol  $\text{FeSO}_4$ /g)。

### 2.2.3 总抗氧化能力

ABTS在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 $\text{ABTS}^+\cdot$ , 在抗氧化物存在时 $\text{ABTS}^+\cdot$ 的产生会被抑制, 在波长414 nm处测定 $\text{ABTS}^+\cdot$ 的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。如表1所示, 青钱柳提取物对 $\text{ABTS}^+\cdot$ 具有较强的清除能力, 且不同提取物对总抗氧化能力具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 其中乙酸乙酯提取物清除能力最强 (6.02 mmol TE/g), 其次为正己烷提取物 (5.42 mmol TE/g)、水提取物 (3.95 mmol TE/g) 和70%乙醇溶液提取物 (3.60 mmol TE/g)。

## 2.3 总酚、总黄酮含量与抗氧化活性的相关性分析

表2 不同青钱柳叶提取物的总黄酮、总酚含量与体外抗氧化活性相关性分析

Table 2 Correlation analysis between total flavonoid and phenolic contents and antioxidant activities from different extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves

项目	总黄酮含量	总酚含量	还原能力	DPPH自由基清除能力	总抗氧化能力
总黄酮含量	1				
总酚含量	0.991**	1			
还原能力	0.981*	0.998**	1		
DPPH自由基清除能力	0.938	0.969*	0.978*	1	
总抗氧化能力	-0.984*	-0.966*	-0.952*	-0.873	1

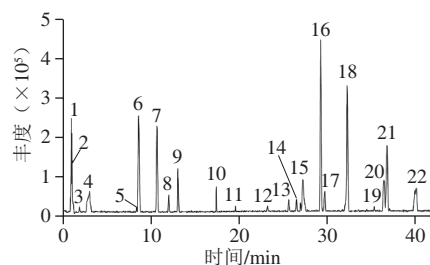
注: \*.显著相关 ( $P<0.05$ ); \*\*.极显著相关 ( $P<0.01$ )。

目前很多研究表明, 植物化学物质的含量与抗氧化活性之间存在良好的相关性, Zhang Lu等<sup>[21]</sup>研究藜蒿不同溶剂提取物的抗氧化活性, 结果显示, DPPH自由基清除能力、还原能力与总酚、总黄酮含量具有显著相关性, 表明酚酸、黄酮类化合物是藜蒿中主要的抗氧化剂。Sun Yong等<sup>[22]</sup>研究三叶青不同溶剂提取物的总酚与抗氧化活性之间的相关性, 结果表明, 提取物中总酚与

不同提取物中抗氧化活性呈显著正相关。如表2所示, 总酚、总黄酮含量与还原能力之间呈显著正相关, 与DPPH自由基清除能力分别呈显著正相关与不显著正相关, 与总抗氧化能力呈显著负相关, 其中总酚含量与DPPH自由基清除能力、总抗氧化能力和还原能力之间的相关系数 ( $r$ ) 分别为0.969、-0.966和0.998。相关性分析显示, 还原能力与总酚含量具有较好的相关性 ( $r=0.998$ ), 其次为总黄酮含量 ( $r=0.981$ ), DPPH自由基清除能力与总酚、总黄酮含量的相关性系数 ( $r$ ) 分别为0.969和0.938, 这些结果表明黄酮和酚类物质是青钱柳叶中主要的抗氧化剂。

### 2.4 UPLC-QTOF-MS/MS活性成分分析

由于不同提取物中70%乙醇溶液提取物具有较高的总酚、总黄酮含量和较好的DPPH自由基清除能力和还原能力, 因此, 采用UPLC-QTOF-MS/MS分析70%乙醇溶液提取物中的活性成分。根据化合物的保留时间、前体离子、碎片离子等信息, 结合参考文献和数据库 (Metlin和Chemspider) 对其结构进行初步鉴定, 如表3、图1所示。初步鉴定出22种化合物, 包括2种有机酸、4种酚酸、5种黄酮、8种三萜及皂苷类和3种酯类。



图中峰号与表3对应。

图1 70%乙醇溶液提取物的基峰图

Fig. 1 Base peak chromatogram of 70% ethanol extract

#### 2.4.1 有机酸

峰1的母离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$ 为191.056 7, 分子式为 $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$ , 特征碎片离子分别为 $m/z$  127.041 4  $[\text{M}-\text{CO}-2\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$ 和111.046 7  $[\text{M}-\text{CO}_2-2\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$ , 根据文献[23-24], 化合物1鉴定为奎尼酸。峰2的母离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$   $m/z$ 为191.020 3, 分子式为 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , 其主要特征离子为111.009 5  $[\text{M}-\text{CO}_2-2\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$ , 根据文献[25], 化合物2鉴定为柠檬酸。

#### 2.4.2 酚酸

咖啡酰奎尼酸 (caffeoylquinic acid, CQA) 衍生物特征紫外吸收光谱是在波长320~329 nm处有最大吸收, 在波长295~300 nm处有一个肩峰。MS/MS图谱以 $m/z$  191  $[\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}]^-$ 为基峰时表明酰基连接在 $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$ 的3-OH或5-OH, 且同时存在高的 $m/z$  179  $[\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4-\text{H}]^-$ 离子响应时表明酰基更可能连接在3-OH, 碎片离子以 $m/z$  173  $[\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6-\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$ 为基峰时表明酰基连接在

表3 70%乙醇溶液提取物中鉴定化合物  
Table 3 Chemical profile of 70% ethanol extract

峰号	保留时间/min	最大紫外吸收波长/nm	分子式	[M-H] <sup>-</sup>			碎片离子(相对丰度/%) <i>m/z</i>	鉴定结果
				实测值 <i>m/z</i>	理论值 <i>m/z</i>	误差 (×10 <sup>-6</sup> )		
1	0.90	280、330	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	191.056 7	191.056 1	-3.06	127.041 4 (8)、111.046 7 (8)、85.030 4 (100)、93.035 6 (28)	奎尼酸 <sup>[23-24]</sup>
2	0.99	332	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	191.020 3	191.019 7	-2.99	111.009 5 (100)	柠檬酸 <sup>[25]</sup>
3	1.87	298、324	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.088 5	353.087 8	-1.96	191.055 5 (100)、179.034 8 (76)、135.050 5 (28)	绿原酸 <sup>[22]</sup>
4	2.96	298、324	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.088 6	353.087 8	-2.24	191.058 1 (100)	新绿原酸 <sup>[22]</sup>
5	8.33	332	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	463.089 0	463.088 2	-1.72	301.036 2 (74)、300.027 3 (100)、273.040 1 (48)、179.001 0 (34)	槲皮素-3- <i>O</i> -半乳糖苷 <sup>[26]</sup>
6	8.57	259、352	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	477.068 5	477.067 5	-2.17	301.036 0 (65)、151.003 9 (100)、179.014 2 (6)、107.014 3 (15)	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 <sup>[26]</sup>
7	10.64	265、344	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	461.073 9	461.072 5	-2.92	285.041 9 (100)、286.045 3 (5)、113.025 3 (10)、85.030 0 (5)	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 <sup>[27]</sup>
8	12.00	300、328	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	515.123 7	515.119 5	-8.14	353.089 5 (68)、191.060 5 (49)、179.035 6 (94)、173.045 6 (100)、135.045 7 (14)、111.044 1 (6)	3,4-二咖啡酰奎尼酸 <sup>[28]</sup>
9	13.02	264、344	C <sub>31</sub> H <sub>30</sub> O <sub>10</sub>	431.099 6	431.098 4	-2.85	285.042 0 (100)	山柰酚-3- <i>O</i> - <i>L</i> -鼠李糖苷 <sup>[29-30]</sup>
10	17.39	276	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	421.186 8	421.186 8	-1.02	361.754 0 (57)、252.971 1 (31)、85.170 2 (30)	异缬草二酯
11	19.56	264、300、317	C <sub>36</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	577.136 4	577.135 1	-2.16	285.037 9 (100)、291.083 9 (19)	山柰酚-3- (6"- (Z) -肉桂基葡萄糖苷)
12	23.26	276	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	293.176 6	293.175 8	-2.61	220.147 5 (100)、221.155 2 (83)、205.126 3 (10)、177.091 2 (17)、109.030 5 (5)	姜辣素
13	25.69	—	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	487.343 2	487.342 9	-0.62	441.682 1 (90)、267.735 0 (94)、96.961 4 (100)	阿江榄仁酸
14	26.56	—	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub>	651.412 9	651.411 4	-2.34	489.363 1 (74)、141.092 8 (60)	三七皂苷T1
15	27.29	326	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	194.082 3	194.079 6	-0.17	179.061 8 (13)、149.062 7 (9)	<i>L</i> -酪氨酸甲基酯
16	29.32	278	C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>9</sub>	621.402 0	621.400 8	-1.92	489.359 7 (50)、471.358 2 (25)、133.333 6 (87)	铁破锣皂苷A
17	29.77	277	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	799.486 7	799.484 9	-2.21	637.431 4 (64)、475.378 1 (34)	人参皂苷Rg1 <sup>[31]</sup>
18	33.58	—	C <sub>43</sub> H <sub>72</sub> O <sub>15</sub>	827.482 5	827.479 8	-3.20	768.554 7 (43)、474.159 7 (41)	越南参皂苷R2
19	35.39	253	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>8</sub>	561.343 6	561.343 3	-0.55	363.962 2 (36)、199.305 8 (38)	微籽素
20	36.53	257	C <sub>35</sub> H <sub>58</sub> O <sub>9</sub>	621.402 0	621.400 8	-0.97	415.263 9 (36)、430.290 2 (40)	(3β,11β,16β,22S)-3,11,22-trihydroxycholest-5-en-16-yl-2- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-α- <i>L</i> -mannopyranoside
21	36.85	250	C <sub>44</sub> H <sub>74</sub> O <sub>15</sub>	841.496 5	841.495 5	-1.19	795.491 7 (100)、753.484 6 (45)、736.469 8 (20)、691.448 1 (5)	越南参皂苷R1
22	40.16	250	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>9</sub>	635.418 0	635.416 5	-2.42		人参皂苷Rh7

注：—无最大波长。

奎尼酸的4-OH<sup>[27]</sup>。峰3和峰4保留时间分别为1.87 min和2.96 min，具有相同的母离子[M-H]<sup>-</sup>*m/z*为353和分子式(C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>)，且均在波长324 nm和298 nm处有最大紫外吸收光谱，特征MS/MS产物离子*m/z*为191 [C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>、179 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-H]<sup>-</sup>和135 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-CO<sub>2</sub>-H]<sup>-</sup>，表明这2个化合物为CQA同分异构体。Lin Longze等<sup>[30]</sup>研究了CQA的出峰顺序，单取代CQA同分异构体的洗脱顺序为3-CQA>5-CQA。根据保留时间和主要MS/MS离子与结构的关系，化合物3和4分别鉴定为3-CQA和5-CQA。峰8的母离子[M-H]<sup>-</sup>*m/z*为515.123 7，分子式为C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>12</sub>，特征碎片离子分别为*m/z* 353.089 5 [C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>-H]<sup>-</sup>、191.060 5 [C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>、179.035 6 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-H]<sup>-</sup>、173.045 6 [C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-H<sub>2</sub>O-H]<sup>-</sup>、135.045 7 [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-CO<sub>2</sub>-H]<sup>-</sup>和111.044 1 [C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-CO<sub>2</sub>-2H<sub>2</sub>O-H]<sup>-</sup>，根据MS/MS离子与结构的关系及参考文献[28]，鉴定为3,4-二咖啡酰奎尼酸。峰12的母离子[M-H]<sup>-</sup>为*m/z* 293.176 6 (C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub>)，其特征碎片离子为*m/z* 221.155 2 (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>)、177.091 2 (C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>)、

205.126 3 (C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>2</sub>)和109.030 5 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>)，初步鉴定为姜辣素。

2.4.3 黄酮

峰5的母离子[M-H]<sup>-</sup>为*m/z* 463.089 0，分子式为C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>，主要特征碎片离子*m/z* 301.036 2 [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>，根据文献[26]，鉴定为槲皮素-3-*O*-半乳糖苷。峰6的母离子[M-H]<sup>-</sup>为*m/z* 477.068 5 (C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>13</sub>)，主要特征碎片离子为*m/z* 301.036 0 [C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>-H]<sup>-</sup>，根据文献[26]，鉴定为槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷酸。峰7和峰9的母离子[M-H]<sup>-</sup>分别为*m/z* 461.073 9 (C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>12</sub>)和431.099 6 (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>)，主要碎片离子均为*m/z* 285.041 9 [C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>，根据参考文献，它们分别鉴定为山柰酚-3-*O*-葡萄糖苷酸和山柰酚-3-*O*-α-*L*-鼠李糖苷。峰11的母离子[M-H]<sup>-</sup>为*m/z* 577.136 4，分子式为C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>，其碎片离子*m/z* 285.037 9和291.083 9分别为[C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>及[C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O-H]<sup>-</sup>，通过与Metlin和Chemspider数据库比对，初步鉴定为山柰酚3- (6"- (Z) -肉桂基葡萄糖苷)。

## 2.4.4 三萜及皂苷类

峰13的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  487.343 2, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_5$ , 主要碎片离子 $m/z$  441.682 1是由母离子损失一个 $HCOOH$ 部分产生的, 根据Metlin和Massbank数据库比对, 初步鉴定为阿江榄仁酸。峰14的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  651.412 9 ( $C_{36}H_{60}O_{10}$ ), 主要碎片离子为 $m/z$  489.363 1 ( $C_{30}H_{50}O_5$ )和141.092 8 ( $C_8H_{13}O_2$ ), 初步鉴定为三七皂苷T1。峰16的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  621.402 0, 分子式为 $C_{35}H_{58}O_9$ , 主要碎片离子为 $m/z$  489.359 7 [ $M-C_5H_9O_4-H$ ] $^-$ 、133.333 6 ( $C_5H_9O_4$ )和471.358 2为母离子中性丢失 $\beta$ -D-吡喃木糖所产生, 初步鉴定为铁破锣皂苷A。峰17的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  799.486 7, 主要碎片离子分别为637.431 4 [ $M-C_6H_{10}O_5-H$ ] $^-$ 和475.378 1 [ $M-2C_6H_{10}O_5-H$ ] $^-$ , 根据参考文献[31], 化合物17鉴定为人参皂苷Rg1。峰18的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  827.482 5 ( $C_{43}H_{72}O_{15}$ ), MS/MS产物离子768.554 7 [ $M-C_2H_3O_2-H$ ] $^-$ 和474.159 7 [ $M-C_{13}H_{21}O_{11}-H$ ] $^-$ , 初步鉴定为越南参皂苷R2。峰20的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  621.402 0, 分子式为 $C_{35}H_{58}O_9$ , 特征碎片离子为 $m/z$  430.290 2 [ $M-C_8H_{18}O-C_2H_4O_2-H$ ] $^-$ 及碎片离子 $m/z$  415.263 9为母离子中性丢失一个2-O-乙酰基-6- $\alpha$ -L-脱氧吡喃甘露糖所产生的, 根据Metlin和Chemspider数据库中质谱数据比对, 初步鉴定为(3 $\beta$ ,11 $\beta$ ,16 $\beta$ ,22 $S$ )-3,11,22-trihydroxycholest-5-en-16-yl-2-O-acetyl-6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranoside。峰21的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  841.496 5, 其主要MS/MS产物离子分别为 $m/z$  795.491 7 ( $C_{43}H_{71}O_{13}$ )、753.484 6 ( $C_{41}H_{69}O_{12}$ )、736.469 8 ( $C_{41}H_{68}O_{11}$ )和691.448 1 ( $C_{39}H_{63}O_{10}$ ), 初步鉴定为越南参皂苷R1。通过Metlin和Chemspider数据库中质谱数据比对, 初步推断化合物22 [ $M-H$ ] $^-$ ,  $m/z$  635.41 8 0,  $C_{36}H_{60}O_9$ )为人参皂苷Rh7。

## 2.4.5 酯类

峰10的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  421.186 8, MS/MS主要碎片离子 $m/z$  361.754 0和252.971 1分别为母离子在裂解过程中失去一个 $CH_3COOH$ 和2个 $(CH_3)_2CHCH_2O^-$ , 碎片离子 $m/z$  85.170 2对应化合物 $(CH_3)_2CHCH_2O^-$ , 初步鉴定为异缬草三酯。峰15的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  194.082 3, 其特征碎片离子为 $m/z$  179.061 8 [ $M-CH_3-H$ ] $^-$ 和149.062 7 [ $C_9H_{10}O_2-H$ ] $^-$ , 初步鉴定为L-酪氨酸甲基酯。峰19的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  561.343 6, 分子式为 $C_{32}H_{50}O_8$ , MS/MS碎片离子分别为363.962 2 [ $M-C_{12}H_{24}O_2-H$ ] $^-$ 和199.305 8 [ $C_{12}H_{24}O_2-H$ ] $^-$ , 初步鉴定为微籽素。

## 3 结 论

4种不同溶剂提取物中70%乙醇溶液提取物中总

酚、总黄酮含量最高, DPPH自由基清除能力和还原能力最强。不同提取物中总酚及总黄酮含量分别为33.72~219.01 mg GAE/g和4.99~7.23 mg CE/g, DPPH自由基清除能力、还原能力和总抗氧化能力分别为3.86~35.46 mg TE/g、0.09~1.89 mmol FeSO<sub>4</sub>/g和3.60~6.02 mmol TE/g。总酚、总黄酮含量与DPPH自由基清除能力、还原能力有正相关性, 与总抗氧化能力呈显著负相关, 表明多酚类物质是青钱柳叶中主要的抗氧化剂。经UPLC-QTOF-MS/MS分析70%乙醇溶液提取物中主要抗氧化成分, 初步鉴定出22种化合物, 包括2种有机酸、4种酚酸、5种黄酮、8种三萜皂苷类和3种酯类, 其中酚酸和黄酮类化合物是主要的抗氧化活性成分, 有机酸、三萜皂苷及酯类化合物可能是潜在的抗氧化活性成分。

## 参考文献:

- [1] XIE J H, SHEN M Y, XIE M Y, et al. Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(1): 177-184. DOI:10.1016/j.carbpol.2012.02.068.
- [2] WANG Z J, XIE J H, SHEN M Y, et al. Carboxymethylation of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* and their characterization and antioxidant properties evaluation[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 988-994. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.10.017.
- [3] XIE J, SHEN M, NIE S, et al. Simultaneous analysis of 18 mineral elements in *Cyclocarya paliurus* polysaccharide by ICP-AES[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94(1): 216-220. DOI:10.1016/j.carbpol.2012.12.072.
- [4] XIE J, XIE M, NIE S, et al. Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1626-1632. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.09.055.
- [5] JIANG C, YAO N, WANG Q, et al. *Cyclocarya paliurus* extract modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity by inhibition of inflammation in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 153(2): 344-351. DOI:10.1016/j.jep.2014.02.003.
- [6] XIE J H, LIU X, SHEN M Y, et al. Purification, physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3): 1453-1460. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.09.078.
- [7] XIE M Y, XIE J H. Review about the research on *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2008, 27(1): 113-121.
- [8] DENG B, SHANG X, FANG S, et al. Integrated effects of light intensity and fertilization on growth and flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(25): 6286-6292. DOI:10.1021/jf301525s.
- [9] XIE J H, DONG C, NIE S P, et al. Extraction, chemical composition and antioxidant activity of flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja leaves[J]. Food Chemistry, 2015, 186: 97-105. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.06.106.
- [10] DONG C J, XIE M, NIE S, et al. Study on Antioxidant Activity of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja extracts *in vitro*[J]. Food Science, 2007, 28(10): 31-34.

- [11] ZHONG Y M, ZHONG X L, WANG J H, et al. Rapid analysis and identification of the main constituents in *Patrinia scabiosaeifolia* Fisch. by UPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. Acta Chromatographica, 2016: 1-11. DOI:10.1556/1326.2017.29.2.10.
- [12] TAN S, ZHAO X, YANG Y, et al. Chemical profiling using UPLC Q-TOF/MS and antioxidant activities of fortunella fruits[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(7): C1646-C1653. DOI:10.1111/1750-3841.13352.
- [13] HERALD T J, GADGIL P, TILLEY M. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in *sorghum* bran and flour[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92(11): 2326-2331. DOI:10.1002/jsfa.5633.
- [14] KARABEGOVIĆ I, NIKOLOVA M, VELICKOVIĆ D, et al. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2011, 19(3): 504-511. DOI:10.1016/S1004-9541(11)60013-X.
- [15] KOSANIĆ M, RANKOVIĆ B, VUKOJEVIĆ J. Antioxidant properties of some lichen species[J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 48(5): 584-590. DOI:10.1007/s13197-010-0174-2.
- [16] WONG C C, LI H B, CHENG K W, et al. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay[J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 705-711. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.05.049.
- [17] LI H, DENG Z, LIU R, et al. Characterization of phytochemicals and antioxidant activities of a purple tomato (*Solanum lycopersicum* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(21): 11803-11811. DOI:10.1021/jf202364v.
- [18] WU S, DASTMALCHI K, LONG C, et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(30): 7513-7525. DOI:10.1021/jf301888y.
- [19] NITHIYANANTHAM S, SELVAKUMAR S, SIDDHURAJU P. Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L.[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2012, 27(1): 52-60. DOI:10.1016/j.jfca.
- [20] BENZIE I F F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay[J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239(1): 70-76. DOI:10.1006/abio.
- [21] ZHANG L, TU Z, YUAN T, et al. Solvent optimization, antioxidant activity, and chemical characterization of extracts from *Artemisia selengensis* Turcz[J]. Industrial Crops and Products, 2014, 56: 223-230. DOI:10.1016/j.indcrop.2014.03.003.
- [22] SUN Y, LI H, HU J, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolics in *Tetragium hemsleyanum* and their antioxidant and antiproliferative activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(44): 10507-10515. DOI:10.1021/jf4037547.
- [23] SUN Y, QIN Y, LI H, et al. Rapid characterization of chemical constituents in *Radix tetragium*, a functional herbal mixture, before and after metabolism and their antioxidant/antiproliferative activities[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 300-318. DOI:10.1016/j.jff.2015.07.009.
- [24] ZHANG L, TU Z, WANG H, et al. Comparison of different methods for extracting polyphenols from *Ipomoea batatas* leaves, and identification of antioxidant constituents by HPLC-QTOF-MS<sup>2</sup>[J]. Food Research International, 2015, 70: 101-109. DOI:10.1016/j.foodres.2015.01.012.
- [25] CADIZ-GURREA M D L L, FEMANDEZ-ARROYO S, JOVEN J, et al. Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Food Research International, 2013, 50(1): 197-204. DOI:10.1016/j.foodres.2012.09.038.
- [26] ZHANG L, TU Z, WANG H, et al. Metabolic profiling of antioxidants constituents in *Artemisia selengensis* leaves[J]. Food Chemistry, 2015, 186: 123-132. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.03.068.
- [27] HOLZWARTH M, KORHUMMEL S, CARLE R, et al. Evaluation of the effects of different freezing and thawing methods on color, polyphenol and ascorbic acid retention in *strawberries* (*Fragaria × ananassa* Duch.)[J]. Food Research International, 2012, 48(1): 241-248. DOI:10.1016/j.foodres.2012.04.004.
- [28] GOUVEIA S C, CASTILHO P C. Validation of a HPLC-DAD-ESI/MS<sup>n</sup> method for caffeoylquinic acids separation, quantification and identification in medicinal *Helichrysum* species from Macaronesia[J]. Food Research International, 2012, 45(1): 362-368. DOI:10.1016/j.foodres.2011.09.023.
- [29] ISWALDI I, GOMEZ-CARAVACA A M, LOZANO-SANCHEZ J, et al. Profiling of phenolic and other polar compounds in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by reverse-phase high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Food Research International, 2013, 50(1): 77-84. DOI:10.1016/j.foodres.2012.09.030.
- [30] LIN L Z, HARNLY J M. Identification of hydroxycinnamoylquinic acids of *Arnica* flowers and *Burdock* roots using a standardized LC-DAD-ESI/MS profiling method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10105-10114. DOI:10.1021/jf802412m.
- [31] WANG Y, HE S, CHENG X, et al. UPLC-Q-TOF-MS/MS fingerprinting of traditional Chinese formula SiJunZiTang[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 80: 24-33. DOI:10.1016/j.jpba.2013.02.021.