

# 基于UPLC-QTOF-MS/MS技术分析 荷叶乙酸乙酯相中主要化学成分

张露<sup>1</sup>, 王红红<sup>1</sup>, 杨斯涵<sup>1</sup>, 涂宗财<sup>1,2,\*</sup>, 李军<sup>1</sup>, 陈娟<sup>1</sup>, 黄玉珠<sup>1</sup>

(1.江西师范大学 国家淡水鱼加工技术研发专业中心, 江西省淡水鱼高值化利用工程技术研究中心, 江西 南昌 330022;  
2.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:** 采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间串质谱技术分析荷叶乙酸乙酯相中的主要化学成分, 根据色谱峰的精确分子质量、母离子、碎片离子、质谱裂解规律等信息, 结合荷叶中已经鉴定的化合物以及相关参考文献对化合物的结构进行鉴定。从荷叶乙酸乙酯相中共鉴定出40种化合物, 包括27种黄酮类化合物、6种酚酸、4种有机酸、2种脂肪酸和1种氨基酸。黄酮类化合物是荷叶乙酸乙酯相中的主要化学成分, 主要为槲皮素糖苷、山柰酚糖苷、异鼠李素糖苷和黄酮-3-O-醇类, 其次为酚酸。本研究可为荷叶资源在食品加工和功能性食品开发领域的应用提供理论基础。

**关键词:** 荷叶; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱; 化学成分; 鉴定

## Characterization of Chemical Constituents in Ethyl Acetate Fraction of Lotus Leaves by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Lu<sup>1</sup>, WANG Honghong<sup>1</sup>, YANG Sihan<sup>1</sup>, TU Zongcai<sup>1,2,\*</sup>, LI Jun<sup>1</sup>, CHEN Juan<sup>1</sup>, HUANG Yuzhu<sup>1</sup>

(1. National R&D Center for Freshwater Fish Processing, Engineering Research Center for Freshwater Fish High-value Utilization of Jiangxi Province, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China;  
2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** This research was designed to identify the major chemical constituents of the ethyl acetate fraction of lotus leaf extract by using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS). The compounds were identified based on the accurate molecular mass, parent ions, MS/MS fragment ions, and MS/MS fragmentation pattern of each peak, along with the information about the compounds previously identified in lotus leaves as well as available literature data. Totally, 40 compounds were identified, including 27 flavonoids, 6 phenolic acids, 4 organic acids, 2 fatty acids and 1 amino acid. Flavonoids were the major chemical constituents with quercetin glycosides, kaempferol glycosides, isorhamnetin glycosides and flavan-3-ols being the predominant ones, followed by phenolic acids. This research can provide a theoretical foundation for the application of lotus leaves in the food processing industry and for health-promoting food development.

**Keywords:** lotus leaf; ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-light tandem mass spectrometry; chemical constituents; identification

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190101-012

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2019) 22-0229-07

引文格式:

张露, 王红红, 杨斯涵, 等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS技术分析荷叶乙酸乙酯相中主要化学成分[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 229-235. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190101-012. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2019-01-01

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (31860475); 江西省重点研发计划项目 (20181ACF60022); 江西师范大学青年英才计划项目; 江西省科技计划项目 (20143ACG70013)

第一作者简介: 张露 (1987—) (ORCID: 0000-0003-0800-4762), 女, 讲师, 博士, 研究方向为农副产品加工及高值化利用。  
E-mail: zhanglu00104@163.com

\*通信作者简介: 涂宗财 (1965—) (ORCID: 0000-0001-8877-4681), 男, 教授, 博士, 研究方向为农副产品加工及高值化利用。  
E-mail: Tuzc\_mail@aliyun.com

ZHANG Lu, WANG Honghong, YANG Sihan, et al. Characterization of chemical constituents in ethyl acetate fraction of lotus leaves by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2019, 40(22): 229-235. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190101-012. <http://www.spkx.net.cn>

莲 (*Nelumbo nucifera* Gaertn) 是莲属多年生根茎类水生植物, 在中国、印度、韩国、泰国、日本等亚洲国家被广泛种植。它不仅是一种观赏植物, 也是广受欢迎的药食两用资源, 药典记载, 荷叶是治疗腹泻、血尿、咯血、炎症和发热等疾病的重要中药<sup>[1]</sup>。药理学研究证明, 荷叶提取物及其化学成分具有一系列保健效果, 如降血糖<sup>[2]</sup>和降血脂<sup>[3]</sup>、抗癌<sup>[4]</sup>、抗肥胖症<sup>[5]</sup>、抗真菌<sup>[6]</sup>、镇静安神和抗焦虑<sup>[7]</sup>、抗氧化等作用<sup>[8]</sup>。目前已在荷叶中发现的活性成分主要有多糖<sup>[9]</sup>、多酚<sup>[4]</sup>、黄酮<sup>[2]</sup>、生物碱<sup>[7]</sup>、有机酸<sup>[10]</sup>和megastigmanes<sup>[5]</sup>。但每年莲子收获后, 除少部分用作食品烹饪、食品加工和保健品加工的原料外, 大部分荷叶仍作为废弃物丢弃, 没有得到有效的利用。

晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 是指大分子物质, 如蛋白质、脂类及核酸等的游离氨基与还原糖的醛基通过糖基化反应生成的一大类稳定化合物。人体中AGEs的积累在动脉粥样硬化、尿毒症、阿尔茨海默病、白内障、糖尿病并发症等慢性疾病的发生和发展中起着重要作用<sup>[11-12]</sup>。高蛋白、高油脂和高糖食品在热加工和贮存过程中容易形成AGEs<sup>[13-14]</sup>。Jung等<sup>[15]</sup>研究发现, 荷叶提取物能有效抑制牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) -葡萄糖体系糖基化过程中AGEs的形成, 本课题组前期研究也发现, 荷叶提取物及其乙酸乙酯相通过抑制BSA聚集和构象展开可有效抑制AGEs的形成<sup>[16]</sup>, 但其具体活性成分仍有待进一步研究。因此, 本实验拟采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight-tandem mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS/MS) 技术对荷叶乙酸乙酯相中的主要化学成分进行鉴定, 以期为荷叶资源在食品加工和功能性食品开发领域的应用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜荷叶采自江西省赣州市石城县; 乙腈、甲酸 (均为色谱纯) 德国Merck公司; 乙醇、乙酸乙酯 (均为分析纯) 天津市大茂化学试剂厂; 实验用水为Milli-Q制备超纯水。

### 1.2 仪器与设备

KQ5200DE型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; UPLC LC30系统、Shim-pack GIST C<sub>18</sub>色谱

柱 (2.1 mm×75 mm, 2 μm) 日本Shimadzu公司; Hybrid QTOF-MS/MS系统 (配有Shortcut to Peakview数据处理工作站) 美国AB Sciex公司; N-1100旋转蒸发器 日本Eyela公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 荷叶乙酸乙酯相的制备

参照前期研究的方法制备荷叶乙酸乙酯相<sup>[16]</sup>。干荷叶粉末样品按照1:20 (g/mL) 的比例与90%乙醇溶液混匀, 于500 W、50 °C超声处理30 min后, 4 000 r/min离心8 min, 收集上清液, 沉淀再在相同条件下提取、离心2次。合并上清液, 并旋转蒸发浓缩至膏状。膏状提取物用少量蒸馏水溶解后依次用二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 每个溶剂萃取3~4次, 合并相同萃取组分, 将乙酸乙酯相旋转蒸发浓缩后冷冻干燥, 于-20 °C保存。HPLC分析前, 将乙酸乙酯相用90%乙醇溶液溶解, 配成1 mg/mL的溶液。

#### 1.3.2 活性成分鉴定

##### 1.3.2.1 色谱条件

采用UPLC LC30系统分离乙酸乙酯相中的化学成分, 样品过0.22 μm有机微孔薄膜后上样分析。UPLC条件: 二极管阵列检测器; 自动进样器; Shim-pack GIST C<sub>18</sub>色谱柱 (2.1 mm×75 mm, 2 μm); 洗脱溶剂为0.1%甲酸 (洗脱剂A) 和乙腈 (洗脱剂B); 流速0.2 mL/min; 柱温25 °C; 进样量5 μL; 梯度洗脱: 0 min, 10% B; 6 min, 12% B; 16 min, 20% B; 29 min, 22% B; 40 min, 95% B; 操作系统: AB Sciex Analyst<sup>®</sup> 1.7.1工作站。

##### 1.3.2.2 MS条件

采用Hybrid Q-TOFMS/MS系统获得化合物的质谱信息。MS条件: 电喷雾离子源; 质量扫描范围  $m/z$  100~1 500; 碰撞气为氦气; 辅助气体和屏蔽气体为氮气; 喷雾电压-4.5 kV; 离子源温度550.0 °C; 辅助气和喷雾气压力50.0 psi; 气帘气压力35.0 psi; 裂解电压-80 V; MS碰撞能-10 eV; MS/MS碰撞能 (-30±15) eV。采用Peakview<sup>®</sup> 2.2软件从基峰图中得到化合物的保留时间、母离子、碎片离子等信息。

### 1.4 数据处理

采用PeakView软件对样品的wiff质谱文件进行处理, 提取每个峰的  $m/z$ 、保留时间、MS/MS碎片离子, 并计算对应的分子式和偏差。采用ChemDraw软件绘制化合物的结构图和裂解规律图, 采用Origin 8.0绘制样品的总离子流图。

2 结果与分析

2.1 乙酸乙酯相中化合物分析

荷叶中的主要活性成分为黄酮类化合物，其次为酚酸类，目前荷叶中已鉴定出的黄酮类化合物有39种，包括黄酮醇类、黄酮类、花青素类、黄烷酮类、黄烷-3-醇类。根据黄酮苷元的组成，黄酮醇类分为杨梅黄酮、槲皮素、山柰酚和异鼠李素4类；黄酮类包括香叶木素、丁香亭、芹黄素、木犀草素和金圣草素；花青素类包括矢车菊素、飞燕草色素、锦葵色素、矮牵牛素和芍药素；黄烷酮类包括柚皮素和花旗松素。黄烷-3-醇类的单聚体包括儿茶素、表儿茶酸鼠李糖苷、表儿茶素、没食子儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素没食子酸酯；黄烷-3-醇类的二聚体和多聚体分别为原花青素二聚体B<sub>1</sub>和(+) -3,4,5,6,7,8-六羟基黄酮-3-醇；已鉴定出的酚酸为11种，包括咖啡酸、原儿茶酸、绿原酸、肉桂酸、阿魏酸、对香豆酸、芥子酸、没食子酸、对羟基苯甲酸、丁香酸和香草酸<sup>[1,17]</sup>。

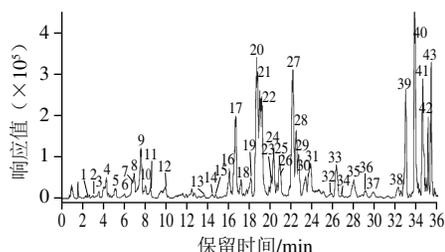


图1 荷叶乙酸乙酯相的HPLC基峰色谱图

Fig. 1 HPLC base peak chromatograph spectra of the ethyl acetate fraction from lotus leaves

如图1、表1所示，根据化合物的母离子、分子式、MS/MS碎片离子、保留时间等信息，并结合参考文献和相关数据库（Chemspider和Metlin）对化合物的结构进行初步鉴定。与前期研究结果相似，黄酮类化合物为荷叶乙酸乙酯相中的主要化学成分，其次为酚酸<sup>[16]</sup>，本实验共从荷叶乙酸乙酯相中检测到27种黄酮类化合物、6种酚酸类化合物、4种有机酸、2种脂肪酸和1种氨基酸。

2.2 黄酮类化合物的鉴定

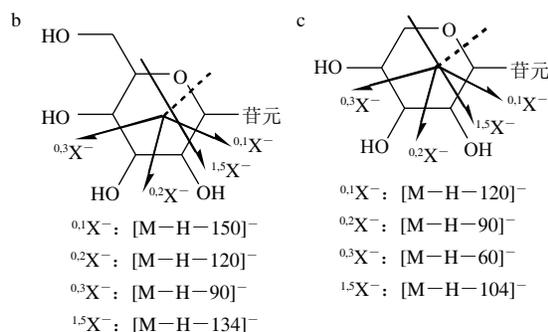
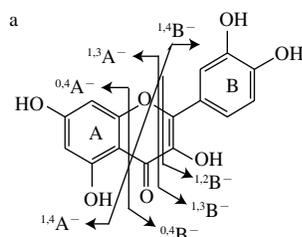


图2 负离子模式下黄酮苷元(a)、黄酮-C-六碳糖苷(b)和黄酮-C-五碳糖苷(c)的特征MS/MS裂解规律

Fig. 2 Characteristic MS/MS fragmentation patterns of flavone aglycone (a), flavone-C-hexoside (b) and flavone-C-pentoside (c) under negative ion mode

不同类型的黄酮苷元和黄酮糖苷在负离子模式有其特征裂解模式，黄酮苷元在负离子模式下的特征裂解规律如图2a所示，A和B环左上方的数字表示断裂键的位置，<sup>1,3</sup>A<sup>-</sup>和<sup>1,4</sup>A<sup>-</sup>产生的片段的分子质量分别为119+16n<sub>1</sub>和91+16n<sub>1</sub>（n<sub>1</sub>为A环上羟基的数目）；<sup>1,3</sup>B<sup>-</sup>和<sup>1,4</sup>B<sup>-</sup>产生片段的分子质量分别为101+16n<sub>2</sub>和129+16n<sub>2</sub>（n<sub>2</sub>为B和C环上羟基总数）；<sup>0,4</sup>B<sup>-</sup>产生的片段的分子质量为145+16n<sub>2</sub>；<sup>1,2</sup>B<sup>-</sup>产生的片段的分子质量为74+16n<sub>2</sub>。以槲皮素为例，<sup>1,3</sup>A<sup>-</sup>、<sup>1,4</sup>A<sup>-</sup>、<sup>1,3</sup>B<sup>-</sup>、<sup>1,4</sup>B<sup>-</sup>的分子质量分别为151、123、149 u和177 u（A环2个羟基、B环2个羟基、C环1个羟基）。另外，黄酮类更容易产生<sup>1,3</sup>A<sup>-</sup>和<sup>1,3</sup>B<sup>-</sup>碎片，而黄酮醇类倾向于产生<sup>1,2</sup>A<sup>-</sup>和<sup>1,2</sup>B<sup>-</sup>碎片<sup>[18]</sup>。

荷叶中的黄酮糖苷主要是O-糖苷、C-糖苷和O-二糖苷。可以通过分析这些化合物的HPLC-MS/MS碎片离子区分糖的取代位置和数目。对于O-糖苷类化合物，Y<sub>0</sub><sup>-</sup>为基峰且有高强度或者较高的[Y<sub>0</sub>-H]<sup>-</sup>响应时表明糖连接在3-OH位置。对于C-糖苷类化合物，负离子模式下会产生特征碎片离子[M-H-150]<sup>-</sup>、[M-H-120]<sup>-</sup>、[M-H-90]<sup>-</sup>和[M-H-60]<sup>-</sup><sup>[19]</sup>，六碳糖苷和五碳糖苷的糖部分在负离子模式下的特征裂解模式如图2b、c所示。另外，C-糖苷类化合物在负离子模式下很难产生Y<sub>0</sub><sup>-</sup>碎片，但苷元部分的分子质量可以根据MS/MS碎片离子中丰富的<sup>0,2</sup>X<sup>-</sup>（[苷元+42-H]<sup>-</sup>）和<sup>0,3</sup>X<sup>-</sup>（[苷元+72-H]<sup>-</sup>）片段推测出来<sup>[20]</sup>。

本实验共从荷叶乙酸乙酯相中检测到27个黄酮类化合物。峰40的母离子为m/z 301.035 5（C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>），其MS/MS离子m/z 273.040 4和m/z 245.045 6分别为母离子丢失1个CO和2个CO所产生，产物离子m/z 229.051 0、178.998 5、151.003 8、121.029 6和107.014 0对应的片段分别为[M-CO-CO<sub>2</sub>-H]<sup>-</sup>、<sup>0,4</sup>B<sup>-</sup>、<sup>1,3</sup>A<sup>-</sup>、<sup>1,2</sup>B<sup>-</sup>和<sup>0,4</sup>A<sup>-</sup>，因此峰40鉴定为槲皮素。按照相同的推断方法，峰37、38分别鉴定为二羟基黄酮和圣草酚<sup>[21]</sup>，圣草酚的MS/MS裂解途径如图3A所示。

表1 荷叶乙酸乙酯相中鉴定或初步鉴定的化学成分

Table 1 Identification or tentative identification of chemical constituents in the ethyl acetate fraction of lotus leaves

序号	保留时间/min	检测值 $m/z$	预测值 $m/z$	偏差 ( $\times 10^{-3}$ )	分子式	二级质谱碎片	化合物名称	分类
1	2.50	169.014 3	169.014 3	0.4	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	125.024 5, 124.015 6	没食子酸 gallic acid	酚酸
2	3.03	131.034 8	131.035 0	-1.1	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	113.023 8, 87.045 2	天冬酰胺 asparagine	氨基酸
3	3.60	184.061 5	184.061 5	0.0	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>4</sub>	140.071 8, 124.040 1, 112.039 7	(2,5-dioxo-1-pyrroliidinyl)butanoat	有机酸
4	4.30	153.019 4	153.019 3	0.2	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	109.028 5, 108.020 0	原儿茶酸 protocatechuic acid	酚酸
5	5.17	161.081 8	161.081 9	-0.6	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	117.054 3, 115.075 5, 99.044 0	homomevalonic acid	有机酸
6	6.03	137.024 5	137.024 4	0.2	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	109.020 6	对羟基苯甲酸 <i>p</i> -hydroxybenzoic acid	酚酸
7	6.85	577.134 7	577.135 2	0.6	C <sub>29</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	425.085 6, 407.074 0, 289.070 8, 245.080 7, 125.023 5	原花青素二聚体 procyanidin dimer	黄酮-3-醇类
8	6.94	289.071 6	289.071 8	-0.6	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	245.081 8, 227.073 2, 205.049 0, 203.072 3, 171.066 3, 135.044 4, 123.044 8, 109.029 7	儿茶素 catechin	黄酮-3-醇类
9	7.62	289.071 7	289.071 8	-0.3	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	109.029 6, 125.024 0, 151.040 8, 179.034 3, 203.072 3, 205.051 8, 245.082 9	表儿茶素 epicatechin	黄酮-3-醇类
10	8.03	287.150 1	287.150 0	0.1	C <sub>14</sub> H <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	165.093 3, 125.024 4	unknown	
11	8.50	177.019 3	177.019 3	0.1	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	149.023 7, 133.028 3, 105.033 2, 89.038 2	二羟基香豆素 dihydroxy coumarin	酚酸
12	9.92	159.066 3	159.066 3	-0.1	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	141.055 6, 115.076 9	庚二酸 pimelic acid	有机酸
13	13.61	193.086 8	193.086 8	0.0	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	149.097 4, 133.065 6, 121.065 3	阿魏酸 ferulic acid	酚酸
14	14.42	163.040 1	163.039 7	2.7	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	119.050 3, 93.034 2	对香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid	酚酸
15	14.76	577.135 1	577.134 3	1.3	C <sub>29</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	451.100 8, 425.086 9, 407.077 7, 289.072 0, 287.056 5, 245.080 0, 161.024 8, 125.023 4	原花青素二聚体 procyanidin dimer	黄酮-3-醇类
16	16.07	479.082 9	479.082 5	0.9	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	317.029 4, 316.022 4	杨梅素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 myricetin-3- <i>O</i> -glucoside	黄酮醇类
17	16.67	595.131 6	595.130 7	1.5	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	301.036 3, 300.027 4, 271.024 9	槲皮素-3- <i>O</i> -戊糖基己糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -pentosylhexoside	黄酮醇类
18	17.21	417.213 4	417.213 0	0.9	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	371.208 9, 255.065 8, 135.007 9	unknown	黄酮醇类
19	18.13	609.146 3	609.145 7	1	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	301.036 5, 300.025 0, 255.099 3	芦丁 rutin	黄酮醇类
20	18.69	463.087 6	463.088 2	-1.4	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	301.035 4, 300.027 1, 271.024 9	槲皮素-3- <i>O</i> -己糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
21	18.99	477.067 8	477.067 5	0.6	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>	301.035 1, 300.026 9, 255.029 4, 151.004 5	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖醛酸 quercetin-3- <i>O</i> -glucuronide	黄酮醇类
22	19.18	463.088 2	463.088 2	0.1	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	301.034 7, 300.026 2, 271.023 5, 255.028 7	槲皮素-3- <i>O</i> -己糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
23	20.06	187.097 5	187.097 6	-0.3	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	169.086 5, 125.097 0, 123.080 9,	壬二酸 azelaic acid	有机酸
24	20.31	433.077 6	433.077 6	0.0	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	301.036 3, 300.028 2, 271.025 0, 255.030 2	槲皮素-3- <i>O</i> -戊糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -pentoside	黄酮醇类
25	20.86	447.093 2	447.093 3	-0.1	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	285.041 5, 284.033 4, 255.030 6, 227.035 4	山柰酚-3- <i>O</i> -己糖苷 kaempferol-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
26	20.98	433.077 4	433.077 2	-0.6	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	301.034 7, 300.027 9, 271.024 1	槲皮素-3- <i>O</i> -戊糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -pentoside	黄酮醇类
27	22.12	447.093 0	447.093 3	-0.6	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>	285.040 7, 284.032 9, 255.030 9, 227.035 9	山柰酚-3- <i>O</i> -己糖苷 kaempferol-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
28	22.45	461.072 6	461.072 9	0.1	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>	285.040 4, 284.032 3, 257.045 3, 229.050 5	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖醛酸 kaempferol-3- <i>O</i> -glucuronide	黄酮醇类
29	22.69	477.103 4	477.103 9	-0.8	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	315.053 0, 314.044 3, 301.036 5, 271.026 0, 243.031 2	异鼠李素-3- <i>O</i> -己糖苷 isorhamnetin-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
30	23.34	461.108 8	461.109 2	-0.7	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	299.055 3, 298.047 7, 285.039 2, 283.023 2, 255.028 2	山柰素-3- <i>O</i> -己糖苷 kaempferide-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
31	23.77	491.083 8	491.083 7	0.1	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	315.050 9, 314.039 0, 300.027 5, 271.024 3, 255.029 7	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖醛酸 isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucuronide	黄酮醇类
32	25.82	447.092 8	447.092 7	0.2	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	301.035 0, 300.026 6, 285.040 3, 271.023 3	槲皮素-3- <i>O</i> -鼠李糖苷 quercetin-3- <i>O</i> -rhamnoside	黄酮醇类
33	26.3	443.229 0	443.228 7	0.9	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub>	397.132 6, 161.046 9	unknown	
34	27.24	591.150 8	591.150 5	0.5	C <sub>31</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	439.102 9, 301.071 6, 289.069 9, 245.080 2, 215.071 5	galloylcatechin pentoside	黄酮-3-醇类
35	27.99	609.146 9	609.147 0	-0.2	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	315.051 4, 314.043 2, 299.020 7	异鼠李素-3- <i>O</i> -戊糖基己糖苷 isorhamnetin-3- <i>O</i> -pentosylhexoside	黄酮醇类
36	29.08	491.120 1	491.119 5	1.2	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	445.146 0, 329.064 2, 328.056 6, 313.034 5, 285.038 8	二甲基槲皮素-3- <i>O</i> -己糖苷 dimethylquercetin-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
37	29.84	253.050 2	253.050 6	-1.7	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	135.007 8, 133.029 7, 117.033 3	二羟基黄酮 dihydroxy flavone	黄酮类
38	32.23	287.056 0	287.056 1	-0.30	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	151.002 8, 135.045 4, 125.024 2, 107.049 3	圣草酚 eriodictyol	黄酮类
39	32.93	477.104 3	477.104 4	-0.02	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	315.050 1, 314.041 9, 299.018 6, 300.026 2, 271.023 7, 165.019 0	异鼠李素-3- <i>O</i> -己糖苷 isorhamnetin-3- <i>O</i> -hexoside	黄酮醇类
40	33.79	301.035 5	301.035 4	0.5	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	273.040 4, 245.045 6, 229.051 0, 178.998 5, 151.003 8, 121.029 6, 107.014 0	槲皮素 quercetin	黄酮醇类
41	34.54	327.218 0	327.217 7	0.3	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	309.207 1, 291.196 7, 239.128 8, 229.144 5, 221.118 1, 211.134 2, 183.139 6, 171.103 0, 137.097 5	9,12,13-三羟基十八碳癸二烯酸 9,12,13-trihydroxyoctadecadienoic acid	脂肪酸
42	35.06	329.233 7	329.233 4	0.35	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	311.222 5, 293.211 7, 229.144 8, 211.134 4, 183.138 7, 171.102 8, 139.113 2, 127.112 9	9,12,13-三羟基十八碳癸烯酸 9,12,13-trihydroxyoctadecenoic acid	脂肪酸
43	35.38	285.042 0	285.040 5	-0.8	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	267.067 7, 223.027 8, 135.045 3	山柰酚 kaempferol	黄酮醇类

峰17、19、20、21、22、24、26、32中均有特征碎片离子  $m/z$  301.04 ( $Y_0$ ) 和  $m/z$  300.03 ( $[Y_0-H]^-$ ), 因此它们被鉴定为槲皮素-3-*O*-糖苷<sup>[22]</sup>。峰17 ( $[M-H]^-$ ,  $m/z$  595.131 6)、峰19 ( $[M-H]^-$ ,  $m/z$  609.146 3)、峰21 ( $[M-H]^-$ , 477.067 8) 和峰32 ( $[M-H]^-$ ,  $m/z$  447.092 8) 的苷元离子  $m/z$  301.04 分别由其母离子脱去戊糖基己糖基 (-294 Da)、鼠李糖基己糖基 (-308 u)、葡萄糖醛酸基 (-176 u) 和鼠李糖基 (-146 Da) 部分所产

生, 因此峰17、19、21和32分别鉴定为槲皮素-3-*O*-戊糖基己糖苷、芦丁、槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸和槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷。峰20、22鉴定为槲皮素-3-*O*-己糖苷, 苷元离子  $m/z$  301.04 为母离子中性丢失己糖基部分 (-162 u) 所产生。峰24、26的母离子  $[M-H]^-$  均为  $m/z$  433.078 (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>), MS/MS 离子  $m/z$  301.04 为母离子中性丢失戊糖基部分 (-132 u) 产生, 因此峰24和峰26鉴定为槲皮素-3-*O*-戊糖苷。相似地, 峰43、

25、27和28分别鉴定为山柰酚、山柰酚-3-*O*-己糖苷、山柰酚-3-*O*-己糖苷和山柰酚-3-*O*-葡萄糖醛酸<sup>[23]</sup>。峰30的MS/MS产物离子 $m/z$  299.055 3、285.039 2和255.028 2对应的片段分别为 $[M-C_6H_{10}O_5-H]^-$ 、 $[M-C_6H_{10}O_5-CH_2-H]^-$ 和 $[M-C_6H_{10}O_5-CH_2-CH_2O-H]^-$ ，表明化合物中存在1个六碳糖和甲基，因此峰30鉴定为山柰素-3-*O*-己糖苷。按照相同的推断方法，峰36鉴定为二甲基槲皮素-3-*O*-己糖苷。

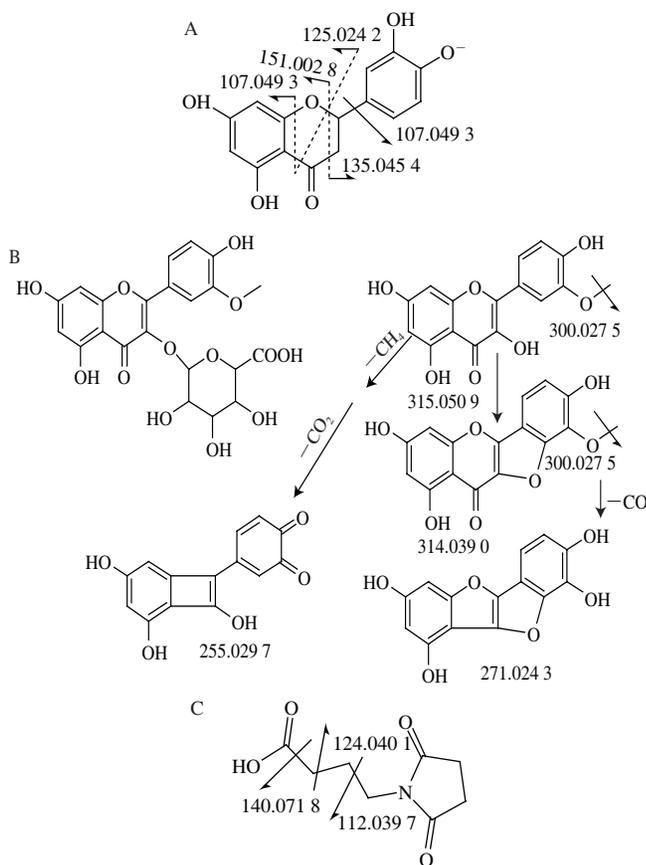


图3 圣草酚(A)、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖醛酸(B)和4-(2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)butanoat(C)的MS/MS裂解途径

Fig. 3 Possible MS/MS fragmentation patterns of eriodictyol (A), isorhamnetin-3-*O*-glucuronide (B) and 4-(2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)butanoat (C)

峰29、31、35和39的母离子 $[M-H]^-$ 分别为 $m/z$  477.103 4 ( $C_{22}H_{22}O_{12}$ )、 $m/z$  491.083 8 ( $C_{22}H_{20}O_{13}$ )、 $m/z$  609.146 9 ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ )和 $m/z$  477.104 3 ( $C_{22}H_{22}O_{12}$ )，其共同的产物离子315.05分别由母离子中的己糖基、糖醛酸基、戊糖基己糖基和己糖基部分断裂所产生。另外，MS/MS特征碎片离子 $m/z$  315.05 ( $Y_0^-$ )、314.04 ( $[Y_0-H]^-$ )、301.04 ( $[Y_0-CH_2-H]^-$ )、299.020 7 ( $[Y_0-CH_3-H]^-$ )表明这些化合物的苷元为异鼠李素，且糖部分链接在3位羟基。因此，峰29、31、35和39分别鉴定为异鼠李素-3-*O*-己糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖醛酸(图3B)、

异鼠李素-3-*O*-戊糖基己糖苷和异鼠李素-3-*O*-己糖苷<sup>[24]</sup>。峰16的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  479.082 9 ( $C_{21}H_{20}O_{13}$ )，其MS/MS产物离子 $m/z$  317.029 4和 $m/z$  316.022 4表明苷元部分为四羟基黄酮，分子式为 $C_{15}H_{10}O_8$ ，且六碳糖连接在3-*OH*，根据文献报道，荷叶中存在杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷<sup>[10]</sup>，因此峰16鉴定为杨梅素-3-*O*-葡萄糖苷。

本研究从荷叶乙酸乙酯相中检测到5个黄酮-3-醇类化合物。通过与文献中的二级质谱数据比较，峰8和峰9分别鉴定为儿茶素和表儿茶素<sup>[25]</sup>，这两个化合物已在荷叶中鉴定<sup>[5,17]</sup>。峰7和峰15鉴定原花青素二聚体<sup>[26]</sup>。峰34的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  591.150 8 ( $C_{31}H_{28}O_{12}$ )，其MS/MS产物离子 $m/z$  439.102 [ $M-C_7H_4O_4-H]^-$ 和 $m/z$  289.069 9 [ $M-C_7H_4O_4-C_5H_8O_4-H]^-$ 为母离子中的没食子酰基和五碳糖部分相继断裂所产生，碎片离子 $m/z$  289.069 9、245.080 2、215.071 5表明化合物中存在儿茶素结构，因此峰34鉴定为没食子酰儿茶素-戊碳糖苷。

### 2.3 酚酸类化合物鉴定

共鉴定出6个酚酸类化合物(峰1、4、6、11、13和14)。峰1、4、6和14的母离子 $[M-H]^-$ 分别为 $m/z$  169.014 3 ( $C_7H_6O_5$ )、153.019 4 ( $C_7H_6O_4$ )、137.024 5 ( $C_7H_6O_3$ )和 $m/z$  163.040 1 ( $C_9H_8O_3$ )，特征MS/MS碎片离子 $m/z$  125.024 5、109.028 5、109.020 6和119.050 3分别为母离子丢失44、44、18 u和44 u所产生，通过与文献比较，峰1、4、6和14分别鉴定为没食子酸、原儿茶酸、对羟基苯甲酸和对香豆酸<sup>[22]</sup>。其中，原儿茶酸、对香豆酸和对羟基苯甲酸已在荷叶中鉴定<sup>[17]</sup>。峰11鉴定为二羟基香豆素<sup>[27]</sup>，MS/MS碎片离子 $m/z$  149.023 7、133.028 3、105.033 2分别为母离子丢失1个 $H_2O$ 、1个 $CO_2$ 和1个 $CO_2+H_2O$ 形成。峰13鉴定为阿魏酸<sup>[28]</sup>，碎片离子 $m/z$  149.097 4和133.065 6分别由母离子相继丢失1个 $CO_2$ 和1个 $CH_4$ 所产生。

### 2.4 有机酸和其他类型化合物

共从荷叶乙酸乙酯相中检测到4个有机酸类化合物(峰3、5、12和23)、2个脂肪酸(峰41和42)和1个氨基酸(峰2)。峰3的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  184.061 5，其计算分子式为 $C_8H_{10}NO_4$ ，产物离子 $m/z$  140.071 8、124.040 1和112.039 7分别对应母离子丢失 $CO_2$ 、 $CO_2+CH_4$ 和 $CO_2+C_2H_4$ 后所产生的碎片，通过与数据库中的结构式和MS/MS碎片信息进行比对，峰3推测为4-(2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)butanoat，其MS/MS裂解规律如图3C所示。采用相同的鉴定方法，峰5鉴定为homomevalonic acid，产物离子 $m/z$  117.054 3 [ $M-CO_2-H]^-$ 和 $m/z$  99.044 0 [ $M-CO_2-H_2O-H]^-$ 表明化合物的结构中至少存在1个羧基和1个羟基。峰12鉴定为庚二酸，产物离子 $m/z$  141.055 6和 $m/z$  115.076 9分别由母离子丢失1个 $H_2O$ 和1个 $CO_2$ 所产生。

峰23的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  187.097 5, 碎片离子 $m/z$  169.086 5和 $m/z$  125.097 0分别由母离子相继丢失1个 $H_2O$ 和1个 $CO_2$ 产生, 其MS和MS/MS碎片信息与文献[29]报道的一致, 因此峰23鉴定为壬二酸。通过与文献中化合物的裂解模式比较, 峰2 ( $[M-H]^-$   $m/z$  131.034 8,  $C_4H_7N_2O_3$ ) 鉴定为天冬酰胺<sup>[30]</sup>。

峰41和峰42的分子式相差2个氢原子, 且具有相似的产物离子。化合物41的母离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  327.218 0, MS/MS离子 $m/z$  309.207 1和 $m/z$  291.196 7分别是母离子失去1个 $H_2O$ 和2个 $H_2O$ 所产生, 碎片离子 $m/z$  229.144 5和 $m/z$  211.118 1依次是 $C_{12}-C_{13}$ 键裂解和裂解形成的碎片再脱去1个水分子所产生, 碎片离子 $m/z$  171.103 0是由 $C_9-C_{10}$ 键断裂所产生, 根据Zhang Lu等<sup>[31]</sup>报道, 化合物41鉴定为9,12,13-三羟基十八碳癸二烯酸。同理, 峰42鉴定为9,12,13-三羟基十八碳癸烯酸, 其裂解途径如图4所示。

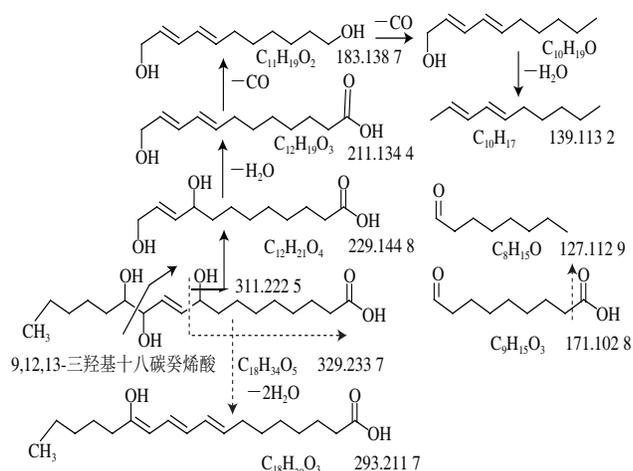


图4 9,12,13-三羟基十八碳癸烯酸的MS/MS裂解模式

Fig. 4 Possible MS/MS fragmentation pattern of 9,12,13-trihydroxyoctadecenoic acid

### 3 结论

本实验采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术对荷叶乙酸乙酯相中的主要化学成分进行定性分析。根据色谱峰的母离子、碎片离子、分子式和质谱裂解规律, 结合相关文献和数据库, 共从荷叶乙酸乙酯相中鉴定出40种化合物, 包括27种黄酮类化合物、6种酚酸、4种有机酸、2种脂肪酸和1种氨基酸。其中黄酮类化合物以槲皮素、槲皮素糖苷、山柰酚、山柰酚糖苷、异鼠李素糖苷和黄酮-3-O-醇类为主, 二羟基香豆素、9,12,13-三羟基十八碳癸二烯酸和9,12,13-三羟基十八碳癸烯酸为首次在荷叶中鉴定。同时描述了圣草酚、异鼠李素-3-O-葡萄糖醛酸、4-(2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)butanoat和9,12,13-三羟基十八

碳癸烯酸在负离子模式下的MS/MS裂解规律。本研究可为进一步探究荷叶乙酸乙酯相抑制AGEs形成的功效物质基础, 以及其他生物活性的研究提供理论依据。

### 参考文献:

- [1] GUO M Q, ZHU M Z, CHEN G L. Research advances in traditional and modern use of *Nelumbo nucifera*: phytochemicals, health promoting activities and beyond[J]. 2019, 59(Suppl 1): S189-S209. DOI:10.1080/10408398.2018.155384.
- [2] WANG M T, SHI J Y, WANG L, et al. Inhibitory kinetics and mechanism of flavonoids from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaf against pancreatic  $\alpha$ -amylase[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 2589-2596. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.09.035.
- [3] ISLAM D, HUQUE A, MOHANTA L C, et al. Studies on the hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Nelumbo nucifera* leaf in long-evans rats[J]. 2017, 7(3): 55-70. DOI:10.4236/jdm.2017.73005.
- [4] WU C H, YANG M Y, LEE Y J, et al. *Nelumbo nucifera* leaf polyphenol extract inhibits breast cancer cells metastasis *in vitro* and *in vivo* through PKC $\alpha$  targeting[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 37: 480-490. DOI:10.1016/j.jff.2017.08.021.
- [5] AHN J H, KIM E S, LEE C, et al. Chemical constituents from *Nelumbo nucifera* leaves and their anti-obesity effects[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2013, 23(12): 3604-3608. DOI:10.1016/j.bmcl.2013.04.013.
- [6] AGNIHOTRI V K, ELSOHLI H N, KHAN S I, et al. Constituents of *Nelumbo nucifera* leaves and their antimalarial and antifungal activity[J]. Phytochemistry Letters, 2008, 1(2): 89-93. DOI:10.1016/j.phytol.2008.03.003.
- [7] YANG M Z, CHANG Q, ZHONG Y, et al. Lotus leaf alkaloid extract displays sedative-hypnotic and anxiolytic effects through GABAA receptor[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(42): 9277-9285. DOI:10.1021/acs.jafc.5b04141.
- [8] SU D X, LI N, CHEN M, et al. Effects of *in vitro* digestion on the composition of flavonoids and antioxidant activities of the lotus leaf at different growth stages[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2018, 53(7): 1631-1639. DOI:10.1111/ijfs.13746.
- [9] SONG Y R, HAN A R, LIM T G, et al. Isolation, purification, and characterization of novel polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their immunostimulatory effects[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 128(1): 546-555. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.131.
- [10] 周健鹏. 荷叶化学成分和药理作用研究进展[J]. 天津药学, 2014, 26(2): 65-68. DOI:10.3969/j.issn.1006-5687.2014.02.025.
- [11] URIBARRI J, CASTILLO M D, MAZA M P, et al. Dietary advanced glycation end products and their role in health and disease[J]. Advances in Nutrition, 2015, 4(1): 461-473. DOI:10.3945/an.115.008433.
- [12] POULSEN M W, HEDEGAARD R V, ANDERSEN J M, et al. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health[J]. Food & Chemical Toxicology, 2013, 60(10): 10-37. DOI:10.1016/j.fct.2013.06.052.
- [13] SUN X, TANG J, WANG J, et al. Formation of advanced glycation endproducts in ground beef under pasteurisation conditions[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 802-807. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.09.129.

- [14] SUN X H, TANG J M, WANG J, et al. Formation of *N*<sup>ε</sup>-carboxymethyllysine and *N*<sup>ε</sup>-carboxyethyllysine in ground beef during heating as affected by fat, nitrite and erythorbate[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017, 11(1): 320-328. DOI:10.1007/s11694-016-9400-6.
- [15] JUNG H A, JUNG Y J, YOON N Y, et al. Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* leaves on rat lens aldose reductase, advanced glycation endproducts formation, and oxidative stress[J]. Food & Chemical Toxicology, 2008, 46(12): 3818-3826. DOI:10.1016/j.fct.2008.10.004.
- [16] ZHANG L, ZHANG C J, TU Z C, et al. *Nelumbo nucifera* leaf extracts inhibit the formation of advanced glycation end-products and mechanism revealed by Nano LC-Orbitrap-MS/MS[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 42: 254-261. DOI:10.1016/j.jff.2018.01.012.
- [17] LIMWACHIRANON J, HUANG H, SHI Z, et al. Lotus flavonoids and phenolic acids: health promotion and safe consumption dosages[J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2018, 17(2): 458-471. DOI:10.1111/1541-4337.12333.
- [18] FABRE N, RUSTAN I, HOFFMANN E D, et al. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2001, 12(6): 707-715. DOI:10.1016/S1044-0305(01)00226-4.
- [19] ZHANG L, TU Z C, XIE X, et al. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) peel: a better source of antioxidants and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors than pulp, flake and seed, and phytochemical profile by HPLC-QTOF-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2017, 234: 303-313. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.003.
- [20] WARIDEL P, WOLFENDER J L, NDJOKO K, et al. Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of *C*-glycosidic flavonoid isomers[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 926(1): 29-41. DOI:10.1016/S0021-9673(01)00806-8.
- [21] SONDA A, MARIA M C, OLFA B H, et al. Assessment of the distribution of phenolic compounds and contribution to the antioxidant activity in Tunisian fig leaves, fruits, skins and pulps using mass spectrometry-based analysis[J]. Food & Function, 2015, 12(6): 3663-3677. DOI:10.1039/C5FO00837A.
- [22] ALEKSANDRA V P, ADELE P, DRAGANA Č D Z, et al. Phenolics composition of leaf extracts of raspberry and blackberry cultivars grown in Serbia[J]. Industrial Crops & Products, 2016, 87: 304-314. DOI:10.1016/j.indcrop.2016.04.052.
- [23] ZHANG L, XU L, YE Y H, et al. Phytochemical profiles and screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors of four *Acer* species leaves with ultra-filtration combined with UPLC-QTOF-MS/MS[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 129: 156-168. DOI:10.1016/j.indcrop.2018.11.051.
- [24] HOFMANN T, NEBEHAJ E, ALBERT L. Antioxidant properties and detailed polyphenol profiling of European hornbeam (*Carpinus betulus*, L.) leaves by multiple antioxidant capacity assays and high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometry[J]. Industrial Crops & Products, 2016, 87: 340-349. DOI:10.1016/j.indcrop.2016.04.037.
- [25] LIU Q F, JIAO Z, LIU Y, et al. Chemical profiling of San-Huang decoction by UPLC-ESI-Q-TOF-MS[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016, 131: 20-32. DOI:10.1016/j.jpba.2016.07.036.
- [26] SUN Y, QIN Y, LI H, et al. Rapid characterization of chemical constituents in *Radix Tetrastigma*, 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.
- [27] ZHU H, YIN R, HAN F, et al. Characterization of chemical constituents in Zhi-Zi-Da-Huang decoction by ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(23): 3489-3496. DOI:10.1002/jssc.201400728.
- [28] DONG J, ZHU Y, GAO X, et al. Qualitative and quantitative analysis of the major constituents in Chinese medicinal preparation Dan-Lou tablet by ultra high performance liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 80(3): 50-62. DOI:10.1016/j.jpba.2013.02.011.
- [29] ZHANG L, TU Z C, WANG H, et al. Metabolic profiling of antioxidant constituents in *Artemisia selengensis* leaves[J]. Food Chemistry, 2015, 186(1): 123-132. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.03.068.
- [30] ABU-REIDAH I M, CONTRERAS M M, ARRAEZ-ROMAN D, et al. Reversed-phase ultra-high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for metabolic profiling of vegetables: *Lactuca sativa* as an example of its application[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1313: 212-227. DOI:10.1016/j.chroma.2013.07.020.
- [31] ZHANG L, TU Z C, 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.