

一测多评法同时测定桑叶中9种绿原酸类和黄酮类成分

刘梦文, 沈 静, 阿依努尔·白克热, 贺诗茹, 肖 辉, 徐维盛

Simultaneous Determination of Nine Chlorogenic Acids and Flavonoids in *Mori Folium* by QAMS

LIU Mengwen, SHEN Jing, AYINUER · Baikere, HE Shiru, XIAO Hui, and XU Weisheng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080195>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

一测多评法测定线叶金雀花及其制品中3种黄酮类成分的含量

Simultaneous Quantitative Determination of Three Flavonoids in *Aspalathus linearis* and Its Products by QAMS Method

食品工业科技. 2022, 43(10): 279-287 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070088>

一测多评法测定羊肚菌中17种氨基酸的含量

Determination of Seventeen Amino Acids in *Morchella Esculenta* by Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Marker Method

食品工业科技. 2021, 42(21): 294-302 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020100>

一测多评法同时测定红曲茯苓片中洛伐他汀和洛伐他汀酸含量

Simultaneous Determination of Lovastatin and Lovastatin Acid in Hongqu Fuling Tablets by on Quantitative Analysis of Multi-Components by Single Marker(QAMS)

食品工业科技. 2023, 44(14): 290-295 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022080322>

一测多评法测定蜂胶类保健食品中咖啡酸等4种成分的含量

Determination of Caffeic Acid and Other Three Components in Propolis Health Foods by Quantitative Analysis of Multi-Components by Single-Maker

食品工业科技. 2019, 40(13): 134-140 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.13.022>

对一测多评法测定蜂胶类保健食品中芹菜素等5种成分含量的评价研究

Study on Determination of Apigenin and Other Five Components in Propolis Health Foods by Quantitative Analysis of Multi-components by Single-maker

食品工业科技. 2020, 41(1): 229-235,251 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.01.037>

一测多评法测定醋延胡索中5种生物碱的含量

Determination of Five Alkaloids in Vinegar *Corydalis yanhusuo* by Quantitative Analysis of Multi-components by Single Marker Method

食品工业科技. 2023, 44(21): 302-308 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022120259>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

刘梦文, 沈静, 阿依努尔·白克热, 等. 一测多评法同时测定桑叶中 9 种绿原酸类和黄酮类成分 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 295–303. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080195

LIU Mengwen, SHEN Jing, AYINUER·Baikere, et al. Simultaneous Determination of Nine Chlorogenic Acids and Flavonoids in *Mori Folium* by QAMS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 295–303. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080195

· 分析检测 ·

一测多评法同时测定桑叶中 9 种绿原酸类和 黄酮类成分

刘梦文¹, 沈 静¹, 阿依努尔·白克热¹, 贺诗茹¹, 肖 辉^{1,*}, 徐维盛^{2,*}

(1. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆乌鲁木齐 830011;

2. 中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050)

摘 要:目的: 建立一测多评法同时测定桑叶中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的含量。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A)-0.1% 磷酸水溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 260、320 nm, 柱温 30 ℃。以绿原酸为内参物, 分别采用外标法和一测多评 (多点校正、斜率校正和单点校正) 测定桑叶中 9 个成分的含量并比较 4 种方法之间的差异, 另外采用多点校正和两点校正法进行色谱峰定位, 验证该方法的准确性和可行性。结果: 新绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 相对于绿原酸的校正因子分别为 0.9072、0.8736、0.6207、0.8547、1.1936、0.5501、1.4369 和 1.2244 (多点校正), 且在不同条件下相对校正因子耐用性 (RSD<1.5%) 和重现性 (RSD<5%) 良好。外标法和一测多评 (多点校正、斜率校正和单点校正) 测得桑叶中 9 个成分含量的结果之间无差异 (RSD<1.5%)。相较于相对保留时间, 多点校正和两点校正可改善色谱峰的准确定位 (相对误差|RE|<3%)。结论: 建立了桑叶中 9 种成分的一测多评法, 该法准确可行, 可用于桑叶的质量控制。

关键词: 高效液相色谱 (HPLC), 一测多评, 桑叶, 绿原酸, 斜率校正, 单点校正, 两点校正

中图分类号: TS255.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)15-0295-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080195

本文网刊:



Simultaneous Determination of Nine Chlorogenic Acids and Flavonoids in *Mori Folium* by QAMS

LIU Mengwen¹, SHEN Jing¹, AYINUER·Baikere¹, HE Shiru¹, XIAO Hui^{1,*}, XU Weisheng^{2,*}

(1. School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;

2. National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective: To establish a HPLC method for the determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin, isoquercitrin, isochlorogenic acid B, astragalin, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C in *Mori Folium* using the quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS). Methods: The analysis was performed on an Agilent TC-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid (B) as mobile phase at the flow rate of 1.0 mL/min for gradient elution, as well as the wavelengths were 260 and 320 nm and the column temperature was 30 ℃. The chlorogenic acid was used as the internal reference. The contents of nine components in *Mori Folium* were calculated by the external standard method and QAMS (multi-point correction, gradient correction and

收稿日期: 2023-08-21

基金项目: 自治区创新环境 (人才、基地) 建设专项—科技创新基地建设计划 (资源共享平台建设) (PT2018); 中国营养学会全民营养科研基金 (CNS-NNSRG 2019-96)。

作者简介: 刘梦文 (1995-), 女, 博士研究生, 研究方向: 植物天然活性成分研究, E-mail: ailmw1995@163.com。

* 通信作者: 肖辉 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 新疆地产植物资源开发, E-mail: xh20108262@sina.com。

徐维盛 (1983-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食物成分及植物化学物分析, E-mail: xuws@ninh.chinacdc.cn。

single-point correction) respectively, and the differences among the four methods were compared. In addition, the accuracy and feasibility of the method were verified by using multi-point correction and two-point correction to locate chromatographic peaks of the components. Results: The relative correction factors of neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin, isoquercitrin, isochlorogenic acid B, asiaticoside, isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C to chlorogenic acid were 0.9072, 0.8736, 0.6207, 0.8547, 1.1936, 0.5501, 1.4369 and 1.2244, respectively (multi-point correction). The durability (RSD<1.5%) and the reproducibility (RSD<5%) of the relative correction factors were positive under different conditions. The content of nine components in *Mori Folium* was determined simultaneously by the external standard method and QAMS (multi-point correction, gradient correction and single-point correction), and there was no difference between the results obtained from the four calculation methods (RSD<1.5%). Compared to the relative retention time, multi-point correction and two-point correction could improve the accurate localization of the chromatographic peaks (relative error |RE|<3%). Conclusion: The method of QAMS for nine components determination in *Mori Folium* was established, which was accurate and feasible and could be applied for the quality control of *Mori Folium*.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); QAMS; *Mori Folium*; chlorogenic acid; gradient correction; single-point correction; two-point correction

桑叶为桑科植物桑(*Morus alba* L.)的干燥叶片,于 2005 年被中国药典收录,具有疏散风热,清肺润燥,清肝明目的功效^[1]。现有研究表明,桑叶中主要活性成分为多酚类以及生物碱类、多糖类等^[2-5]。课题组前期建立桑叶 HPLC 指纹图谱时指出新绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 9 种成分,而绿原酸类和芦丁类黄酮均与桑叶的抗炎、抗氧化、抗菌等药理活性密切相关^[6-10]。目前,2020 年版中国药典仅对桑叶中芦丁含量进行了下限规定^[1],然而单指标成分含量评价其质量具有一定局限性。已有学者通过建立绿原酸、芦丁等多成分含量测定方法评价桑叶质量^[11-13],但个别成分含量极低不具通用性,且外标法测定对标准品的需求较大,限制了桑叶多指标质量控制的建立和应用推广。王智民教授等^[14]于 2006 年首次提出的一测多评法(Quantitative Analysis of Multi-components by Single marker, QAMS)已被广泛应用于中药、食品等领域的多成分质量评价方法的建立^[15-16],并获得《中国药典》《美国药典》等国内、国际法定检验机构的认可^[17-19]。本研究借鉴“以一评多”的特点,以桑叶中含量最高的绿原酸为内参物,通过建立 QAMS 法对上述另外 8 种化学成分进行同步测定,并与外标法测定结果进行比较,评价该技术的可行性与适用性,以期桑叶的多指标质量控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桑叶 10 批样品信息见表 1,经新疆医科大学肖辉教授鉴定均为桑(*Morus alba* L.)干燥叶;乙腈、甲醇 色谱纯,德国 Meker 公司;磷酸 分析纯,天津市光复精细化工研究所;水 超纯水;芦丁(批号: DSTDL001701)、紫云英苷(批号: DSTDZ000102)、异槲皮苷(批号: DSTDY000603)、新绿原酸(批号: DSTDX001504)、隐绿原酸(批号: DST221220-035)、绿原酸(批号: DSTDL002103)、异绿原酸 A(批号:

DSTDY003603)、异绿原酸 B(批号: DSTDY003703)、异绿原酸 C(批号: DSTDY003804)质量分数均 ≥ 98% 成都德思特生物技术有限公司。

表 1 桑叶样品信息
Table 1 Information table of *Mori Folium* samples

样品编号	采收日期/批次	产地	来源
S1	2022.7	新疆托克逊	采收
S2	2212079	广西	购买
S3	20221122	陕西商洛	购买
S4	2022.7	新疆吐鲁番	采收
S5	2022.7	四川宜宾	采收
S6	2022.7	四川宜宾	采收
S7	2022.6	新疆喀什	采收
S8	200901	河南南阳	购买
S9	121123-201806	国标物质	购买
S10	20200417	安徽亳州	购买

Waters ACQUITY UPLC H-CLASS 型高效液相色谱仪 沃特世科技有限公司; UltiMate-3000 型高效液相色谱仪 赛默飞世尔科技公司; 色谱柱(规格均为 250 mm×4.6 mm, 5 μm) Agilent TC-C₁₈、Agilent-Eclipse Plus C₁₈ 安捷伦科技有限公司; SHIMADZU Inertsil ODS-3 色谱柱 日本岛津公司; MS205DU 型十万分之一电子分析天平、ME802 型电子天平 梅特勒托利多仪器有限公司; KQ-600 KED 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; 3-30K 型离心机 德国 Sigma 公司; U2 型超纯水仪 四川优普超纯科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 供试品溶液的制备 10 批桑叶样品粉碎过 60 目筛。精密称取桑叶粉末 1.00 g 置具塞锥形瓶中, 1:50 料液比加入 50% 甲醇溶液适量, 超声提取 30 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 取出, 7000 r/min 离心 10 min, 上清液转至 50 mL 棕色容量瓶中, 用 50% 甲醇定容至刻度, 以 0.22 μm 微孔滤膜过滤至样品小瓶, 待测。

1.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称定各对照品适量,置于 20 mL 棕色容量瓶中,以甲醇溶解制成含有新绿原酸 1.3700 mg/mL、绿原酸 2.5290 mg/mL、隐绿原酸 1.1345 mg/mL、芦丁 1.0430 mg/mL、异槲皮苷 1.2000 mg/mL、异绿原酸 B 1.9225 mg/mL、紫云英苷 0.5620 mg/mL、异绿原酸 A 0.5945 mg/mL 和异绿原酸 C 0.5085 mg/mL 的混合对照品储备液,置-20 °C 冰箱避光保存备用。使用前用初始流动相稀释至所需质量浓度,即得。

1.2.3 液相色谱条件 色谱柱: Agilent TC-C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B); 梯度洗脱 (0~6 min, 8%~12%A; 6~15 min, 12%~30%A; 15~25 min, 30%~40%A; 25~26 min, 40%~8%A); 波长切换 (0~13 min, 320 nm; 13~17.4 min, 260 nm; 17.4~26 min, 320 nm); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

1.2.4 QAMS 方法学考察

1.2.4.1 系统适应性 精密吸取混合对照品溶液和桑叶供试品溶液各 10 μL, 根据 1.2.3 色谱条件进样检测。

1.2.4.2 线性关系 分别依次精密吸取 1.2.2 项混合对照品储备液 5、20、50、100、200、400 μL 置 5 mL 棕色容量瓶中, 用初始流动相稀释定容至刻度, 混匀, 制得系列不同质量浓度的混合对照品溶液 I~VI, 按 1.2.3 项色谱条件依次进样测定, 记录峰面积。

1.2.4.3 精密度、重复性和稳定性 精密取 1.2.2 项下混合对照品溶液适量, 连续进样测定 6 次, 进行精密度试验; 精密称定同一批次桑叶样品 6 次, 按 1.2.1 项方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样测定, 以外标法计算各成分含量, 进行重复性试验; 取同一桑叶供试品溶液, 分别于室温下 0、2、4、6、14、26 h 进样测定, 进行稳定性试验。

1.2.4.4 加样回收率 取同一桑叶样品 12 份, 每份 0.50 g, 精密称定, 将其分成 4 组, 每组 3 份, 随机选择 3 组分别精密添加含新绿原酸 1.2121 mg/mL, 绿原酸 2.2374 mg/mL, 隐绿原酸 1.0109 mg/mL, 芦丁 0.9210 mg/mL, 异槲皮苷 1.0605 mg/mL, 异绿原酸 B 1.6938 mg/mL, 紫云英苷 0.5159 mg/mL, 异绿原酸 A 0.4969 mg/mL, 异绿原酸 C 0.4430 mg/mL 的混合对照品溶液 250、375、500 μL, 4 组均按照 1.2.1 项方法制备供试溶液, 按 1.2.3 项色谱条件进样测定, 进行加样回收率试验。

1.2.4.5 相对校正因子的 3 种计算方法 a. 多点校正法: 在一定的线性范围, 成分的量与检测器响应成正比, 以多个浓度下 $f_{i/s}$ 的平均值作为相对校正因子 (Relative Correction Factor, RCF)^[17]。本研究采用 1.2.2 项系列不同质量浓度的混合对照品溶液 I~VI 的质量浓度和色谱峰峰面积, 以桑叶中含量较高且对照品价廉易得的绿原酸为内参物, 运用公式 $f_{i/s} =$

$f_i/f_s = (A_i/C_i)/(A_s/C_s) = A_i C_s / A_s C_i$, 式中, f 、 C 和 A 分别代表 RCF、质量浓度和峰面积, i 和 s 分别代表待测成分和内参物, 计算各成分 RCF。

b. 斜率校正法: 根据文献 [20], 标准曲线公式 $A = a \cdot C + b$ (A 为色谱峰面积, C 为质量浓度, a 为斜率, b 为截距), 当 $a/b > 100$ 时, b/a 可忽略不计, 得 $C = A/a$, 可以根据标准曲线斜率之比快速计算相对校正因子 $f_{i/s} = a_i/a_s$, 待测成分浓度为 $C_i = A_i/a_i = A_i/(a_s \cdot f_{i/s})$, 式中, a_i 为待测成分标准曲线斜率, a_s 为参照物标准曲线斜率, A_i 为待测成分峰面积。

c. 单点校正法: 根据文献 [21~22], 以外标法浓度点计算相对校正因子。外标法公式为 $A_i'/C_i' = A_i/C_i$, $C_i' = A_i'/(A_i/C_i) = A_i'/a_i$ 。式中, A_i' 和 C_i' 为待测成分样品的峰面积和浓度, A_i 和 C_i 为待测成分对照品的峰面积和浓度, a_i 为单点斜率 (外标法浓度点过原点的曲线斜率)。同理得校正因子 $f_{i/s} = f_i/f_s = (A_i/C_i)/(A_s/C_s) = a_i/a_s$, 即外标法浓度点的单点斜率之比。 $C_i' = A_i'/a_i = A_i'/(a_s \cdot f_{i/s})$ 。其公式同斜率校正类似, 斜率校正因子为标准曲线斜率之比, 而单点校正为外标法浓度点的单点斜率之比。

1.2.4.6 耐用性和重现性 在一定范围内适当改变色谱条件, 包括水相磷酸比例 (0.05%、0.1%、0.2%)、流动相各梯度点比例 (1.2.3 色谱条件中水相各梯度比例减少 2%)、柱温 (25、28、30、32、34 °C)、流速 (0.8、0.9、1.0、1.05 mL/min) 和检测波长 (1.2.3 色谱条件中各点波长 ± 2 nm), 以及使用 2 套液相色谱系统 Waters ACQUITY UPLC H-CLASS、UltiMate-3000 和 3 种不同厂家或型号的色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) Agilent TC-C₁₈、Agilent-Eclipse Plus C₁₈、SHIMADZU Inertsil ODS-3, 进行 RCF 和相对保留时间 ($r_{x/s} = t_{Rx}/t_{Rs}$, 其中 t_{Rx} 、 t_{Rs} 分别为待测成分、内参物的保留时间, $r_{x/s}$ 为二者的比值即待测成分的相对保留时间) 的耐用性和重现性考察。

1.2.4.7 待测组分色谱峰定位的 3 种方法 a. 相对保留时间: 在一测多评技术中, 文献普遍采用相对保留时间进行待测成分的色谱峰定位^[17,23~25], 实际应用推广时操作较为繁琐。参考文献 [21], 利用标准相对保留时间 (建立标准所用 Agilent TC-C₁₈ 下的待测成分保留时间/内参物保留时间) 预测理论保留时间, 则可简化其过程, 即: 每根色谱柱各峰的预测保留时间 (y) = 每根色谱柱内参物 (绿原酸) 的实测保留时间 × 标准相对保留时间 (Agilent TC-C₁₈) (x)。

b. 多点校正法: 以建标准所用的 Agilent TC-C₁₈ 的保留时间为横坐标 X , 其他验证所用色谱柱的保留时间为纵坐标 Y (以 SHIMADZU Inertsil ODS-3 为例), 绘制标准曲线并计算校正方程^[26]。

c. 两点校正法: 本研究中的内参物绿原酸和另 1 个易辨认且对照品易获得的芦丁进行两点校正, 即采用建标准所用的 Agilent TC-C₁₈ 时绿原酸和芦丁的保留时间为横坐标 X , 以其他验证所用色谱柱时

绿原酸和芦丁的保留时间为纵坐标 Y(以 SHIMA-DZU Inertsil ODS-3 为例), 绘制标准曲线并计算校正方程^[21]。

1.2.5 含量测定 取 10 批次桑叶样品, 按 1.2.1 项下方法每批次制备 2 份平行供试品溶液, 按 1.2.3 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 分别用外标法、一测多评法(多点校正、斜率校正、单点校正)计算各成分的含量。

1.3 数据处理

利用 Microsoft Excel 2019 软件进行数据汇总和分析, 应用 IBM SPSS Statistics 25.0 软件进行方差分析和 t 检验分析。

2 结果与分析

2.1 QAMS 方法学考察结果

2.1.1 系统适应性 记录混合对照品溶液和桑叶供试品溶液色谱图见图 1, 由 Waters Empower 工作站计算得出新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 与其相邻色谱峰的分度度分别为 17.62、3.26、28.49、6.58、6.40、3.27、1.77、3.54, 理论塔板均在 10000 以上。

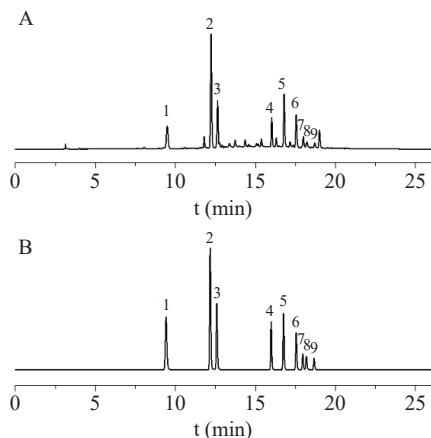


图 1 桑叶供试品溶液(A)和混合对照品溶液(B)HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of *Mori Folium* sample solution (A) and mixed reference solution (B)

注: 1-新绿原酸; 2-绿原酸; 3-隐绿原酸; 4-芦丁; 5-异槲皮苷; 6-异绿原酸 B; 7-紫云英苷; 8-异绿原酸 A; 9-异绿原酸 C。

2.1.2 线性关系 以峰面积(Y)为纵坐标, 各成分的质量浓度(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 2, 9 个成分的质量浓度均与色谱峰面积线性关系良好, $R^2 \geq 0.9997$ 。

2.1.3 精密度、重复性和稳定性 如表 3 所示, 按照 1.2.4.3 项下进行试验, 9 个成分的精密度、重复性和稳定性 RSD 均小于 2.5%, 表明该方法的精密度、重复性和稳定性良好。

2.1.4 加样回收率 样品中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的平均含量分别为 0.5029、

表 2 9 种成分的线性关系

Table 2 Results of linear relationship of nine kinds of components

编号	成分	回归方程	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	R^2
1	新绿原酸	$Y=27563.61X+1390.943$	1.3700~109.6000	0.9998
2	绿原酸	$Y=30052.85X+10255.98$	2.5290~202.3200	0.9998
3	隐绿原酸	$Y=26499.33X+1865.864$	1.1345~90.7600	0.9998
4	芦丁	$Y=18799.6X+254.8852$	1.0430~83.4400	0.9998
5	异槲皮苷	$Y=25864.39X+1262.257$	1.2000~96.0000	0.9998
6	异绿原酸B	$Y=36055.92X+4077.8$	1.9225~153.8000	0.9998
7	紫云英苷	$Y=16894.28X+246.8369$	0.5620~44.9600	0.9997
8	异绿原酸A	$Y=43818.15X-1095.45$	0.5945~47.5600	0.9998
9	异绿原酸C	$Y=37590.87X-1801.718$	0.5085~40.6800	0.9998

表 3 9 种成分的精密度、重复性和稳定性

Table 3 Precision, repeatability and stability of nine kinds of components

成分	精密度	重复性	稳定性
	RSD(%)	RSD(%)	RSD(%)
新绿原酸	0.05	0.83	2.16
绿原酸	0.05	1.11	2.18
隐绿原酸	0.14	1.56	0.53
芦丁	0.07	0.08	0.28
异槲皮苷	0.18	2.35	1.28
异绿原酸B	0.13	2.39	1.23
紫云英苷	0.11	2.00	0.51
异绿原酸A	0.32	1.86	0.51
异绿原酸C	0.39	2.33	0.28

1.5404、0.7360、0.5062、0.7143、0.3381、0.2267、0.0810、0.0761 mg/g, 加样回收率($n=9$)分别为 100.04%、99.36%、99.89%、99.54%、99.86%、98.59%、99.69%、99.63%、100.83%, RSD 分别为 0.69%、1.06%、1.96%、0.74%、0.17%、0.25%、0.31%、0.30%、0.31%, 表明该方法具有良好的准确度, 方法可行。

2.1.5 相对校正因子 多点校正法计算不同浓度间新绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 B、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 的相对校正因子 RSD 均 $<3\%$, 三种方法计算得到的 RCF 结果见表 4, RSD 均 $<1.50\%$ 。

表 4 桑叶各成分相对校正因子

Table 4 Relative correction factors of various components of *Mori Folium*

校正方法	$f_{1/2}$	$f_{3/2}$	$f_{4/2}$	$f_{5/2}$	$f_{6/2}$	$f_{7/2}$	$f_{8/2}$	$f_{9/2}$
多点校正	0.9072	0.8736	0.6207	0.8547	1.1936	0.5501	1.4369	1.2244
斜率校正	0.9172	0.8818	0.6256	0.8606	1.1998	0.5622	1.4580	1.2508
单点校正	0.9073	0.8737	0.6207	0.8547	1.1937	0.5504	1.4372	1.2247
平均值	0.9106	0.8764	0.6223	0.8567	1.1957	0.5542	1.4440	1.2333
RSD(%)	0.63	0.53	0.45	0.40	0.29	1.24	0.84	1.23

2.1.6 耐用性和重现性

2.1.6.1 耐用性 按照 1.2.4.6 项下调整色谱条件, 各待测成分 RCF 的 RSD 均 $<1.5\%$, 表明色谱条件的

变化对各待测成分 RCF 的影响较小,耐用性良好。在色谱峰定位上,以流动相梯度比例变化时的影响较大,各待测成分的相对保留时间 $RSD>5\%$,其他色谱条件改变时影响较小,相对保留时间 $RSD\leq 3.40\%$ 。

2.1.6.2 重现性 按照 1.2.4.6 项下进行试验,结果表明除紫云英苷 RCF 的 RSD 为 4.27% 外,其余待测组分 RCF 的 RSD 均 $<1.5\%$,各待测成分相对保留时间的 RSD 均 $<5\%$,提示 RCF 在不同仪器和不同色谱柱下具有良好的重现性,结果见表 5、表 6。

2.1.7 色谱峰定位 相对保留时间:利用标准相对保留时间推算理论保留时间,见表 7,结果表明待测成分的保留时间越靠近内参物,其实测和预测保留时间的相对误差 RE $[RE(\%)=[(实测值-预测值)/实测值]\times 100]$ 相对较小,定位较准确,反之则 RE 越大,部分色谱峰甚至超过 $\pm 8.00\%$ 。这种情况在色谱峰众多,紫外吸收相近或无紫外吸收参照时,将很难准确定位待测成分,一测多评技术也就难以推广应用。

多点校正法:标准曲线及校正方程见图 2(红色

表 5 RCF 重现性
Table 5 Reproducibility of relative correction factors

液相仪器	色谱柱	$f_{1/2}$	$f_{3/2}$	$f_{4/2}$	$f_{5/2}$	$f_{6/2}$	$f_{7/2}$	$f_{8/2}$	$f_{9/2}$
沃特世	Agilent TC-C ₁₈	0.9072	0.8736	0.6207	0.8547	1.1936	0.5501	1.4369	1.2244
	Agilent-Eclipse Plus C ₁₈	0.9160	0.8769	0.6225	0.8557	1.1903	0.5925	1.4325	1.1987
	SHIMADZU Inertsil ODS-3	0.9168	0.8778	0.6274	0.8619	1.1933	0.5910	1.4460	1.1803
赛默飞	Agilent TC-C ₁₈	0.9254	0.8738	0.6327	0.8731	1.1698	0.5393	1.4455	1.1887
	Agilent-Eclipse Plus C ₁₈	0.9167	0.8804	0.6287	0.8669	1.1729	0.5414	1.3896	1.2031
	SHIMADZU Inertsil ODS-3	0.9226	0.8841	0.6319	0.8701	1.1701	0.5715	1.4248	1.1885
平均值		0.9174	0.8778	0.6273	0.8637	1.1817	0.5643	1.4292	1.1973
RSD(%)		0.69	0.46	0.78	0.88	1.00	4.27	1.47	1.30

表 6 相对保留时间重现性
Table 6 Reproducibility of relative retention time

液相仪器	色谱柱	$r_{1/2}$	$r_{3/2}$	$r_{4/2}$	$r_{5/2}$	$r_{6/2}$	$r_{7/2}$	$r_{8/2}$	$r_{9/2}$
沃特世	Agilent TC-C ₁₈	0.7849	1.0326	1.3039	1.3668	1.4310	1.4632	1.4832	1.5212
	Agilent-Eclipse Plus C ₁₈	0.7251	1.0372	1.3599	1.4269	1.5024	1.5341	1.5630	1.6059
	SHIMADZU Inertsil ODS-3	0.7609	1.0359	1.3207	1.3857	1.4547	1.4870	1.5086	1.5493
赛默飞	Agilent TC-C ₁₈	0.7792	1.0302	1.2881	1.3497	1.4100	1.4421	1.4610	1.4968
	Agilent-Eclipse Plus C ₁₈	0.7060	1.0445	1.3908	1.4587	1.5359	1.5679	1.5976	1.6420
	SHIMADZU Inertsil ODS-3	0.7423	1.0392	1.3334	1.3985	1.4680	1.5000	1.5217	1.5637
平均值		0.7497	1.0366	1.3328	1.3977	1.4670	1.4991	1.5225	1.5632
RSD(%)		4.13	0.49	2.82	2.86	3.15	3.08	3.32	3.43

表 7 3 种方法预测保留时间进行色谱峰定位
Table 7 Predicting retention time to locate chromatographic peaks by three ways

仪器	色谱柱	保留时间(t _R)	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	芦丁	异槲皮苷	异绿原酸B	紫云英苷	异绿原酸A	异绿原酸C
沃特世	Agilent TC-C ₁₈	标准t _R (X)	9.6877	12.3425	12.7453	16.0932	16.8698	17.6618	18.0590	18.3065	18.7753
		标准相对保留时间(x)	0.7849	1.0000	1.0326	1.30390	1.3668	1.4310	1.4632	1.4832	1.5212
	Agilent-Eclipse Plus C ₁₈	实测t _R	7.7900	10.7430	11.1430	14.6090	15.3290	16.1400	16.4810	16.7910	17.2520
		预测t _R (y=10.743x)	8.4322	10.7430	11.0932	14.0078	14.6835	15.3732	15.7192	15.9340	16.3423
		RE(%)	-8.24	0.00	0.45	4.12	4.21	4.75	4.62	5.10	5.27
		预测t _R (Y=1.0310X-2.0691)(多点法)	7.9189	10.6560	11.0713	14.5230	15.3237	16.1402	16.5497	16.8049	17.2882
		RE(%)	-1.65	0.81	0.64	0.59	0.03	0.00	-0.42	-0.08	-0.21
		预测t _R (Y=1.0307X-1.9789)(两点法)	8.0062	10.7425	11.1577	14.6084	15.4088	16.2251	16.6345	16.8896	17.3728
		RE(%)	-2.78	0.00	-0.13	0.00	-0.52	-0.53	-0.93	-0.59	-0.70
		SHIMADZU Inertsil ODS-3	实测t _R	8.9480	11.7600	12.1820	15.5310	16.2960	17.1070	17.4870	17.7410
预测t _R (y=11.760x)	9.2304		11.7600	12.1434	15.3339	16.0736	16.8286	17.2072	17.4424	17.8893	
RE(%)	-3.16		0.00	0.32	1.27	1.36	1.63	1.60	1.68	1.81	
预测t _R (Y=1.0133X-0.7939)(多点法)	9.0226		11.7128	12.1209	15.5133	16.3003	17.1028	17.5053	17.7561	18.2311	
RE(%)	-0.83		0.40	0.50	0.11	-0.03	0.02	-0.10	-0.08	-0.06	
预测t _R (Y=1.0054X-0.6493)(两点法)	9.0907		11.7598	12.1648	15.5308	16.3116	17.1079	17.5072	17.7561	18.2274	
RE(%)	-1.59		0.00	0.14	0.00	-0.10	-0.01	-0.12	-0.08	-0.04	

百分比作为补充参考条件,即可在一定程度上准确定位色谱峰。

2.2 含量测定

为验证一测多评的准确性,分析发现 4 种计算方法所得结果之间的 RSD 均<1.50%,同时采用方差分析检验 4 种计算方法间结果的差异性, P 值接近 1.000,远大于 0.05,说明 4 种计算方法结果间差异无显著性。另将 3 种校正方法的结果分别与外标法间进行比较,计算得 $|RE|<3.00\%$,同时采用 t 检验分析其间差异性,结果表明 3 种校正方式与外标法间结

表 8 桑叶各成分含量测定结果(mg/g)
Table 8 Determination results of various components of *Mori Folium* (mg/g)

样品	定量方法	新绿原酸	隐绿原酸	芦丁	异槲皮苷	异绿原酸B	紫云英苷	异绿原酸A	异绿原酸C
S1	外标法	1.0090	1.4603	1.0119	1.4298	0.6746	0.4521	0.1622	0.1518
	多点校正	1.0171	1.4695	1.0149	1.4342	0.6799	0.4605	0.1624	0.1518
	斜率校正	1.0059	1.4558	1.0070	1.4243	0.6765	0.4504	0.1601	0.1486
	单点校正	1.0149	1.4633	1.0142	1.4342	0.6817	0.4557	0.1610	0.1506
	RSD(%)	0.51	0.39	0.35	0.33	0.47	0.98	0.67	1.00
S2	外标法	0.6607	1.3804	1.5536	1.8416	0.6035	0.9452	0.1846	0.1390
	多点校正	0.6680	1.3916	1.5606	1.8497	0.6100	0.9636	0.1853	0.1390
	斜率校正	0.6607	1.3786	1.5484	1.8369	0.6068	0.9423	0.1826	0.1361
	单点校正	0.6666	1.3858	1.5594	1.8497	0.6116	0.9535	0.1837	0.1379
	RSD(%)	0.58	0.42	0.36	0.34	0.59	1.01	0.63	0.99
S3	外标法	0.5447	1.0155	0.9947	1.0578	0.3990	0.3577	0.1388	0.1113
	多点校正	0.5495	1.0215	0.9963	1.0603	0.4039	0.3640	0.1386	0.1105
	斜率校正	0.5434	1.0120	0.9885	1.0529	0.4019	0.3560	0.1366	0.1082
	单点校正	0.5483	1.0173	0.9956	1.0603	0.4050	0.3602	0.1374	0.1096
	RSD(%)	0.53	0.39	0.36	0.33	0.65	0.97	0.75	1.21
S4	外标法	1.1633	1.6984	1.3429	1.8122	0.7758	0.7120	0.1676	0.1355
	多点校正	1.1711	1.7068	1.3453	1.8154	0.7803	0.7241	0.1677	0.1352
	斜率校正	1.1583	1.6908	1.3348	1.8028	0.7763	0.7081	0.1653	0.1323
	单点校正	1.1686	1.6996	1.3443	1.8154	0.7824	0.7165	0.1663	0.1340
	RSD(%)	0.49	0.39	0.36	0.33	0.41	0.96	0.69	1.08
S5	外标法	0.9335	1.6615	1.2327	0.9481	1.1179	0.3483	0.3350	0.1691
	多点校正	0.9435	1.6756	1.2393	0.9542	1.1259	0.3558	0.3377	0.1698
	斜率校正	0.9332	1.6599	1.2296	0.9476	1.1201	0.3480	0.3328	0.1662
	单点校正	0.9415	1.6685	1.2384	0.9542	1.1288	0.3521	0.3348	0.1684
	RSD(%)	0.57	0.43	0.38	0.39	0.45	1.05	0.60	0.93
S6	外标法	0.8631	1.8627	1.0158	0.4069	0.8688	0.1927	0.4092	0.1394
	多点校正	0.8722	1.8774	1.0210	0.4108	0.8760	0.1972	0.4125	0.1395
	斜率校正	0.8627	1.8599	1.0130	0.4080	0.8715	0.1928	0.4066	0.1365
	单点校正	0.8703	1.8696	1.0202	0.4108	0.8783	0.1951	0.4090	0.1383
	RSD(%)	0.56	0.42	0.37	0.49	0.49	1.10	0.59	1.01
S7	外标法	0.9936	1.5280	1.4353	1.2779	1.0044	0.3269	0.1799	0.1498
	多点校正	1.0023	1.5384	1.4402	1.2829	1.0103	0.3334	0.1804	0.1499
	斜率校正	0.9913	1.5240	1.4289	1.2740	1.0051	0.3260	0.1778	0.1467
	单点校正	1.0001	1.5320	1.4391	1.2829	1.0129	0.3299	0.1788	0.1486
	RSD(%)	0.52	0.40	0.36	0.34	0.41	1.02	0.65	1.00
S8	外标法	0.5004	1.0204	0.6621	0.7123	0.3074	0.2405	0.1382	0.1243
	多点校正	0.5058	1.0280	0.6644	0.7158	0.3129	0.2454	0.1382	0.1239
	斜率校正	0.5002	1.0184	0.6592	0.7108	0.3113	0.2399	0.1362	0.1212
	单点校正	0.5047	1.0237	0.6639	0.7158	0.3138	0.2428	0.1370	0.1228
	RSD(%)	0.58	0.41	0.35	0.35	0.91	1.03	0.71	1.13
S9	外标法	0.3712	0.9924	0.7505	0.8073	0.5302	0.3158	0.1578	0.1149
	多点校正	0.3755	0.9991	0.7524	0.8103	0.5353	0.3217	0.1579	0.1142
	斜率校正	0.3714	0.9898	0.7465	0.8047	0.5326	0.3146	0.1556	0.1118
	单点校正	0.3747	0.9949	0.7519	0.8103	0.5367	0.3183	0.1565	0.1133
	RSD(%)	0.59	0.40	0.36	0.33	0.54	0.99	0.70	1.18
S10	外标法	0.2984	0.9812	1.7469	1.4196	1.0218	0.4567	0.2296	0.1214
	多点校正	0.3032	0.9904	1.7551	1.4268	1.0291	0.4661	0.2309	0.1212
	斜率校正	0.2999	0.9812	1.7414	1.4169	1.0238	0.4558	0.2276	0.1186
	单点校正	0.3025	0.9863	1.7538	1.4268	1.0318	0.4612	0.2289	0.1202
	RSD(%)	0.74	0.45	0.36	0.36	0.45	1.03	0.60	1.06

果差异无显著性,具有良好的-致性,见表8。

3 结论

本研究采用高效液相色谱联合 QAMS 对桑叶中 9 种成分(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、芦丁、异槲皮苷、异绿原酸 A、紫云英苷、异绿原酸 A 和异绿原酸 C)进行含量测定,经考察精密度、重复性及稳定性的 RSD 值小于 2.5%,平均回收率在 98.59%~100.83% 之间,均符合要求。由于绿原酸在桑叶中含量较高,其对照品价廉,稳定性良好,故选择其作为内参物,建立与其他成分之间的 RCFs。所建立的 RCFs 在不同水相磷酸比例、不同流速、不同柱温和不同检测波长下相对保留时间的 RSD 值 $\leq 3.40\%$,提示 RCFs 耐用性良好。在不同品牌仪器和色谱柱下,紫云英苷的 RCF 变化较大(RSD 为 4.27%),其余待测组分 RCF 的 RSD 均 $<1.5\%$,提示 RCFs 重现性良好。在色谱峰定位中,本研究对比了相对保留时间、多点校正和两点校正之间的差异,相对保留时间对远离内参物的待测成分定位效果不理想,经校正后,预测保留时间和实测保留时间无明显差异,色谱峰定位的准确性得到改善。为进一步验证一测多评的准确性,本研究比较了外标法测定值和 QAMS(多点校正、斜率校正和单点校正)计算值间的差异,结果表明 QAMS 的 3 种校正方法结果与外标法间 $|RE|<3.00\%$, t 检验分析其结果差异无显著性,具有良好的-致性,验证了该 QAMS 法的准确性和可行性。本研究在药典规定成分的基础上,从芦丁单一指标增加了绿原酸类和黄酮类等 8 个指标,为进一步完善和提高桑叶的质量控制标准提供科学依据,也将有利于 QAMS 在中药质量控制中的推广。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 310. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2020 (part I) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 310.]
- [2] BATIHA G E, AL-SNAFI A E, THUWAINI M M, et al. *Morus alba*: A comprehensive phytochemical and pharmacological review[J]. *Naunyn-schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2023, 396(7): 1399–1413.
- [3] 刘有志, 朱志飞, 吴月峰, 等. 桑源药材的历史沿革及现代研究进展[J]. *中成药*, 2023, 45(1): 175–184. [LIU Y Z, ZHU Z F, WU Y F, et al. Historical evolution and modern research progress of medicinal herbs of mulberry origin[J]. *Chinese Traditional Patent Medicin*, 2023, 45(1): 175–184.]
- [4] THAIPITAKWONG T, NUMHOM S, ARAMWIT P. Mulberry leaves and their potential effects against cardiometabolic risks: A review of chemical compositions, biological properties and clinical efficacy[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2018, 56(1): 109–118.
- [5] LÜ Q, LIN J, WU X, et al. Novel active compounds and the anti-diabetic mechanism of mulberry leaves[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 986931.
- [6] 张宏琛, 余琳, 石慧. 桑叶多酚对鲜切生菜的保鲜效果[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(7): 195–200. [ZHANG H C, YU L, SHI H. Effect of mulberry (*Morus alba* L.) leaf polyphenols on the preservation of fresh-cut lettuce[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(7): 195–200.]
- [7] 王春莉, 陈忠琴, 徐蕾蕾, 等. 绿色合成桑叶银纳米粒及其抗菌抗癌活性[J]. *精细化工*, 2021, 38(1): 130–137. [WANG C L, CHEN Z Q, XU L L, et al. Green synthesis of silver nanoparticles with aqueous *Folium Mori* extracts and their antimicrobial and anti-cancer activities[J]. *Fine Chemicals*, 2021, 38(1): 130–137.]
- [8] GAO T, CHEN J, XU F, et al. Mixed mulberry fruit and mulberry leaf fermented alcoholic beverages: Assessment of chemical composition, antioxidant capacity *in vitro* and sensory evaluation[J]. *Foods*, 2022, 11(19): 3125.
- [9] CHEN S, XI M, GAO F, et al. Evaluation of mulberry leaves hypoglycemic properties and hypoglycemic mechanisms[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1045309.
- [10] MARCHETTI L, TRUZZI E, FROSI I, et al. *In vitro* bioactivity evaluation of mulberry leaf extracts as nutraceuticals for the management of diabetes mellitus[J]. *Food & Function*, 2022, 13(8): 4344–4359.
- [11] 白娟, 朱倩云, 白华, 等. 高效液相色谱法同时测定桑叶中绿原酸及 4 种黄酮类成分的含量[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(4): 469–472. [BAI J, ZHU Q Y, BAI H, et al. Simultaneous determination of chlorogenic acid and four flavonoids in *Mori Folium* by HPLC[J]. *Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology*, 2020, 31(4): 469–472.]
- [12] 邓明慧, 冯玉, 路娟, 等. UPLC 波长切换法同时测定桑叶中 6 种指标成分的含量[J]. *食品与药品*, 2020, 22(1): 25–29. [DENG M H, FENG Y, LU J, et al. Simultaneous determination of six index components in *Mori Folium* by UPLC wavelength switching method[J]. *Food and Drug*, 2020, 22(1): 25–29.]
- [13] 孙莲, 严雷, 勉强辉, 等. HPLC 法同时测定新疆药桑叶中 6 个活性成分[J]. *中成药*, 2013, 35(9): 1954–1957. [SUN L, YAN L, MIAN Q H, et al. Simultaneous determination of six active constituents in *Mori ningrae Folium* by HPLC[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2013, 35(9): 1954–1957.]
- [14] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. “一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. *中国中药杂志*, 2006(23): 1925–1928. [WANG Z M, GAO H M, FU X T, et al. Multi-components quantitation by one marker new method for quality evaluation of Chinese herbal medicine[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2006(23): 1925–1928.]
- [15] SU C, LI C, SUN K, et al. Quantitative analysis of bioactive components in walnut leaves by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS combined with QAMS[J]. *Food Chemistry*, 2020, 331: 127180.
- [16] CHEN Q, WANG Z, YANG B, et al. Determination of main alkylamides responsible for *Zanthoxylum bungeanum* pungency through quantitative analysis of multi-components by a single marker[J]. *Food Chemistry*, 2022, 396: 133645.
- [17] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 657–658. [WANG Z M, QIAN Z Z, ZHANG Q W, et al. Technical guidelines for the establishment of quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(6): 657–658.]
- [18] 朱晶晶, 王智民, 高慧敏, 等. 一测多评法在中药质量评价中

的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(16): 220–228. [ZHU J J, WANG Z M, GAO H M, et al. Advances on quality evaluation of Chinese materia medica by QAMS[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016, 22(16): 220–228.]

[19] 熊静, 龚易昕悦, 王润月, 等. 一测多评法在食品研究中的应用进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(22): 351–357. [XIONG J, GONG Y X Y, WANG R Y, et al. Research progress on quantitative analysis of multi-components by single marker for food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(22): 351–357.]

[20] 何兵, 杨世艳, 张燕. 一测多评中待测成分校正和定位的新方法研究[J]. 药科学报, 2012, 47(12): 1653–1659. [HE B, YANG S Y, ZHANG Y. A new method of calibration and positioning in quantitative analysis of multi-components by single marker[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2012, 47(12): 1653–1659.]

[21] 何兵, 田吉, 杨世艳. 一种新的校正方式单点校正法在桑叶一测多评中的应用[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(7): 1133–1147.

[HE B, TIAN J, YANG S Y. Application of a new single-point correction method in QAMS of *Mori Folium*[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2021, 41(7): 1133–1147.]

[22] 何兵, 吴建明, 梁思成, 等. 宜宾黄柏和四川其他产区黄柏一测多评和指纹图谱对比研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(3): 494–508. [HE B, WU J M, LIANG S C, et al. Comparative study on QAMS and fingerprint of *Phellodendron chinense* Schneid. from Yibin and other Sichuan producing areas[J]. Journal of Pharmaceu-

tical Analysis, 2023, 43(3): 494–508.]

[23] 姬翔宇, 张子雯, 陈姿伊, 等. 一测多评法同时测定雷公藤药材及制剂雷公藤多苷片中 7 个质控成分[J]. 中草药, 2022, 53(17): 5338–5347. [JI X Y, ZHANG Z W, CHEN Z Y, et al. Simultaneous quantitative determination of seven components in *Tripterygium wilfordii* herbs and preparations of *Tripterygium wilfordii* polyglycosides tablets by QAMS method[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(17): 5338–5347.]

[24] 张军鹏, 庄辉, 刘斌, 等. 一测多评法测定防风中 6 个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(7): 1163–1171. [ZHANG J P, ZHUANG H, LIU B, et al. Simultaneous determination of six kinds of components in *Saposhnikovia Radix* by QAMS[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2023, 43(7): 1163–1171.]

[25] 秦迎丹, 宋璇, 孙晨, 等. 一测多评法测定醋延胡索中 5 种生物碱的含量[J]. 食品工业科技, 2023, 44(21): 302–308. [QIN Y D, SONG X, SUN C, et al. Determination of five alkaloids in vinegar corydalis yanhusuo by quantitative analysis of multi-components by single marker method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(21): 302–308.]

[26] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫森. 一种提高色谱指纹谱保留时间重现性的新方法[J]. 分析化学, 2003(10): 1232–1236. [WANG L X, XIAO H B, LAING X M. A new method to improve the reproducibility of retention time on reversed phase C_{18} columns in different laboratories[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2003 (10): 1232–1236.]