

本文引用: 闫艳, 葛雨竹, 张小倩, 黄珊, 赵权, 王婕, 杨晓帆. 基于指纹图谱的化学模式识别法和多指标测定评价枸杞不同部位的差异性[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(7): 1193-1202.

基于指纹图谱的化学模式识别法和多指标 测定评价枸杞不同部位的差异性

闫艳¹, 葛雨竹¹, 张小倩¹, 黄珊¹, 赵权², 王婕^{1*}, 杨晓帆^{1*}

1. 亳州学院中药学院, 安徽 亳州 236800; 2. 中科科博检测有限公司, 安徽 亳州 236800

[摘要] **目的** 研究枸杞植株不同部位中主要化学成分的整体信息和含量差异, 综合评价枸杞不同部位的质量和合理应用。**方法** 以3个主产区的枸杞子、枸杞叶和地骨皮药材为研究对象, 建立HPLC指纹图谱, 采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统进行相似度评价; 结合SIMCA 14.1软件进行主成分分析等; 采用分光光度比色法测定枸杞多糖和总黄酮含量; 并利用HPLC方法对甜菜碱进行含量测定。**结果** 枸杞不同部位化学成分的种类和含量均存在明显差异, 叶和果实含有更丰富的化学成分, 枸杞多糖、总黄酮和甜菜碱的含量均为枸杞叶>枸杞子>地骨皮。**结论** 枸杞叶含有更丰富的营养成分, 其药理功能和营养价值可能优于枸杞子。因此, 可考虑多产地开发枸杞叶作为枸杞药材来源之一, 以促进枸杞资源的多途径、多层次开发利用。

[关键词] 枸杞子; 枸杞叶; 地骨皮; HPLC 指纹图谱; 化学计量学; 多糖; 黄酮; 甜菜碱

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.07.007

Evaluating the differences in different parts of *Lycium barbarum* L. by fingerprint-based chemical pattern recognition method and multi-index determination

YAN Yan¹, GE Yuzhu¹, ZHANG Xiaoqian¹, HUANG Shan¹, ZHAO Quan², WANG Jie^{1*}, YANG Xiaofan^{1*}

1. College of Chinese Medicine, Bozhou University, Bozhou, Anhui 236800, China;

2. Zhongke Kebo Testing Co., Ltd, Bozhou, Anhui 236800, China

[Abstract] **Objective** To study the overall information and content differences of the main chemical components in different parts of *Lycium barbarum* L., and comprehensively evaluate the quality and rational application of different parts of *Lycium barbarum* L. **Methods** This study focused on Gouqizi (Lycii Fructus), Gouqiye (Lycii leafy), and Digupi (Lycii Cortex) from three major producing regions as the subjects of investigation. HPLC fingerprints were established for these samples, and similarity evaluations were performed using the chromatographic fingerprint similarity evaluation system for Chinese medicines. Clustering and principal component analysis were conducted using SIMCA 14.1 software. The polysaccharide and total flavonoid contents were determined through spectrophotometric colorimetric methods, while the betaine content was quantified using the HPLC method. **Results** Significant differences were observed in the types and contents of chemical components among different parts of *Lycium barbarum* L. Gouqiye (Lycii leafy) and Gouqizi (Lycii Fructus) were found to contain richer chemical components. The contents of polysaccharides, total flavonoids, and betaine were ranked in the order of Gouqiye (Lycii leafy) > Gouqizi (Lycii Fructus) > Digupi (Lycii Cortex). **Conclusion** Gouqiye (Lycii leafy) are richer in nutrients, the pharmacological functions and nutritional value may be superior to

[收稿日期] 2023-12-28

[基金项目] 安徽省高校自然科学研究重点项目(2023AH052272, KJ2021A1149); 亳州学院校级质量工程项目(2023XJXM134)。

[通信作者] * 杨晓帆, 女, 博士, 副教授, E-mail: yangxiaofansky@126.com; 王婕, 女, 博士, 副教授, E-mail: wjy0925@mail.ustc.edu.cn。

those of Gouqizi (*Lycii Fructus*). Therefore, the multi-origin development of Gouqiye (*Lycii leafy*) as high-quality *Lycium barbarum* medicinal herbs can be considered for the multi-path and multi-level development and utilization of *Lycium barbarum* L. resources.

[**Keywords**] *Lycii Fructus*; *Lycii leafy*; *Lycii Cortex*; HPLC fingerprint; chemometrics; polysaccharides; flavonoids; betaine

枸杞为茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)植物,是我国传统的具有药食同源功能的重要中药资源^[1-2]。枸杞果实、叶和根皮都有丰富的营养成分和广泛的应用价值^[3-9],可用于制作枸杞干果、枸杞茶酒饮料类、枸杞保健品等^[10-15],如图1所示。《本草纲目》记载^[16]:“春采枸杞叶,名天精草;夏采花,名长生草;秋采子,名枸杞子;冬采根,名地骨皮。”枸杞子(*Lycii Fructus*)为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L.的干燥成熟果实,是重要的滋补肝肾、益精明目药^[17]。近年来上市的枸杞保健产品中,很大一部分的功效成分属于生物碱、多糖和黄酮类化合物,涉及功能食品的重要方面,如抗衰老、防癌、提高免疫力、降脂、降压食品等^[18-21]。2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)对枸杞子的质量评价以枸杞多糖和甜菜碱作为主要控制指标,其中规定多糖质量分数不得少于1.8%,甜菜碱不得少于0.5%。目前,地骨皮(*Lycii Cortex*)的质量标准中还没有含量要求的规定。另根据研究,枸杞叶(*Lycii leafy*)中化学成分类型与果实相似,且部分成分含量高于果实,可作为优质枸杞药材与果实同用^[22-23]。然而,枸杞叶尚且未被药典收录,也缺乏相关的质量标准,同时枸杞叶的开发利用程度很低,大量的枸杞叶被当作无

用的废料处理,造成了枸杞资源的浪费和损失^[24-25]。

对枸杞的化学成分类型及其含量进行研究,可初步推断其药用功效^[26],为其资源开发和利用提供依据。本实验以宁夏、甘肃和青海3个枸杞主产区的枸杞子、枸杞叶和地骨皮为研究对象,比较不同产地和植株不同部位中化学成分的整体分布以及多糖、总黄酮的质量分数差异,研究结果可为枸杞资源的最大化利用和中药质量标准的制定提供重要的理论支撑。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱、UV-1900i紫外可见分光光度计[岛津企业管理(中国)有限公司];MS105DU/A型精密电子天平(瑞士梅特勒-托利多);TG16-WS台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);SB-4200DTD超声波清洗机(宁波新芝生物科技有限公司);DHG-9123A电热恒温鼓风干燥箱(上海靳澜仪器制造有限公司);BJ-150粉碎机(德清拜杰电器有限公司);8JXFSTPRP-CL-48L低温组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司);ZGDCY-24干式氮吹仪(上海梓桂仪器有限公司);

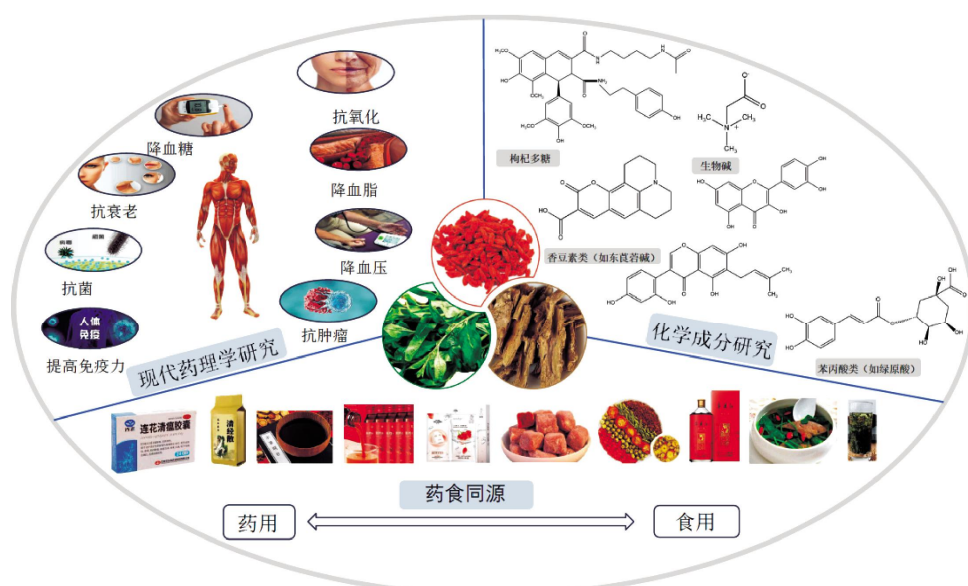


图1 枸杞不同部位的主要营养成分和综合应用价值

Fig.1 Main nutrient and comprehensive application value of different parts of *Lycium barbarum* L.

JOANLABWB100-4F 水浴锅[群安科学仪器(浙江)有限公司];Milli-Q 超纯水仪系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 主要药物与试剂

芦丁(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTDLO01701)、槲皮素(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTDH002802)、木犀草素(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTDM003202)、无水葡萄糖(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTDW000501)、甜菜碱(纯度 $\geq 98\%$,批号:DSTDT001202)对照品均购自成都德思特生物技术有限公司。甲醇、乙腈和冰乙酸均为色谱纯(美国 Fisher 公司);乙醚、苯酚、浓硫酸、无水乙醇、碳酸钠等均为分析纯(北京化工厂)。10个批次3个部位(共30批)枸杞子、枸杞叶和地骨皮样本均购自亳州市中药材交易市场,经亳州学院孟详松教授鉴定为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L.的干燥成熟果实、叶和根皮,样品信息详见表1。

2 方法与结果

2.1 样品的制备和分析条件的建立

2.1.1 HPLC 指纹图谱对照品溶液的制备 分别取芦丁、槲皮素、木犀草素对照品各约1 mg,精密称定,置于10 mL量瓶,加甲醇定容后配制成对照品储备液;精密吸取1 mL对照品储备液于10 mL量瓶,加甲醇定容即得芦丁、槲皮素、木犀草素浓度分别为11.48、10.45、10.94 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 HPLC 指纹图谱供试品溶液的制备 分别取枸杞药材粉末约1 g(过60目筛),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声处理(功率200 W、频率40 kHz)45 min,取出放冷后,用甲醇补足减失的质量,摇匀,过0.22 μm 微孔

滤膜后取续滤液即得。

2.1.3 HPLC 指纹图谱色谱条件 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μm),流动相为85%甲醇水溶液(A)-0.05%乙酸水溶液(B),梯度洗脱,0~15 min,30%~45% A;15~50 min,45%~100% A;50~55 min,100% A;55~60 min,100%~30% A;60~65 min,30% A。流速1.0 mL/min,柱温35 $^{\circ}\text{C}$,检测波长370 nm,进样体积20 μL 。

2.1.4 精密度试验 取样品粉末,按“2.1.2”方法制备供试品溶液,按“2.1.3”色谱条件连续测定6次。记录色谱图,并计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD。以7号峰木犀草素为参照峰(S),得到各主要共有峰相对保留时间的RSD为0.56%~1.18%,相对峰面积的RSD为1.26%~3.38%,表明仪器的精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一样品粉末,按“2.1.2”项下方法平行制备6份,按“2.1.3”项下色谱条件进样分析。记录色谱图,以7号峰木犀草素为参照峰(S),得到各共有峰相对保留时间的RSD为0.73%~1.24%,相对峰面积的RSD为3.51%~4.37%,表明方法的重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取样品粉末适量,依照“2.1.2”方法制备供试品溶液,于室温保存,分别于溶液配制完成的0、4、8、16、24、48 h进样,按“2.1.3”色谱条件测定。记录色谱图,以7号峰木犀草素为参照峰(S),计算各共有峰的相对保留时间的RSD为1.91%~2.37%,相对峰面积的RSD为4.50%~5.60%,表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

表1 样品来源信息

Table 1 Sample source information

产地	样品部位	样品编号	产地	样品部位	样品编号	产地	样品部位	样品编号
宁夏中宁	果实	G1	宁夏中宁	叶	Y1	宁夏中宁	根皮	P1
宁夏中宁	果实	G2	宁夏中宁	叶	Y2	宁夏中宁	根皮	P2
宁夏中宁	果实	G3	宁夏中宁	叶	Y3	宁夏中宁	根皮	P3
宁夏中宁	果实	G4	宁夏中宁	叶	Y4	宁夏中宁	根皮	P4
青海诺木洪	果实	G5	青海诺木洪	叶	Y5	青海诺木洪	根皮	P5
青海诺木洪	果实	G6	青海诺木洪	叶	Y6	青海诺木洪	根皮	P6
青海诺木洪	果实	G7	青海诺木洪	叶	Y7	青海诺木洪	根皮	P7
甘肃瓜州	果实	G8	甘肃瓜州	叶	Y8	甘肃瓜州	根皮	P8
甘肃瓜州	果实	G9	甘肃瓜州	叶	Y9	甘肃瓜州	根皮	P9
甘肃瓜州	果实	G10	甘肃瓜州	叶	Y10	甘肃瓜州	根皮	P10

2.2 多糖的含量测定

2.2.1 标准曲线的制备 根据《中国药典》中苯酚-硫酸法测定枸杞多糖的含量^[7]。以无水葡萄糖作对照品,绘制标准曲线并得其回归方程为 $Y=57.737X-0.0035$ ($R^2=0.9997$)。

2.2.2 枸杞多糖含量测定 30批枸杞样品,依照标准曲线的制备方法,自“各精密加入5%苯酚溶液1 mL”起,依法在490 nm的波长处测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中含葡萄糖的重量(mg)计算,即得。

2.2.3 精密度试验 同一供试品溶液,按“2.2.2”方法连续测定6次,吸光度为0.510、0.516、0.508、0.520、0.512、0.519,RSD为0.96%,表明仪器的精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取同一样品粉末(Y7),平行6份,分别按“2.2.2”方法制备和测定,吸光度为0.490、0.514、0.486、0.517、0.526、0.517,计算多糖含量为(35.51±1.09) mg/g,RSD为3.23%,表明方法的重复性良好。

2.2.5 稳定性试验 取药材粉末(Y7)适量,精密称定,按“2.2.2”方法制备并于室温条件下放置,分别于配制完成的2、4、6、8、12、24 h测定,吸光度为0.523、0.509、0.515、0.514、0.530、0.517,RSD为1.43%,表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.6 加样回收率试验 称取已测定含量的枸杞药材粉末(Y7)6份,分别按照约1:1的质量比加入对照品溶液,按“2.2.2”方法制备和测定,计算总多糖的加样回收率。结果如表2所示,多糖的平均回收率为99.7%,RSD为2.79%,表明该方法准确度良好。

2.3 总黄酮的含量测定

2.3.1 标准曲线的制备 取芦丁对照品适量,精密称定,加甲醇配成2 mg/mL的芦丁对照品储备液。精密量取10 mL,置100 mL量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得0.2 mg/mL的芦丁对照品溶液。精密量取对照品溶液0.25、0.50、1、2、4、5 mL,分别置25 mL量瓶中,各加水至6 mL,加5%亚硝酸钠溶液1 mL,混匀后放置6 min,加10%硝酸铝溶液1 mL,混匀后放置6 min,加氢氧化钠溶液10 mL,再加水至刻度,摇匀后放置15 min,以相应试剂为空白,在500 nm处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线并得到回归方程为 $Y=10.611X+0.0016$ ($R^2=0.9999$)。

2.3.2 枸杞总黄酮含量测定 参考刘赛等^[27]和《中国药典》中规定的总黄酮的含量测定方法,稍有调整。分别取30批枸杞粗粉约1 g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚适量,加热回流至提取液无色,放冷,弃去乙醚液。再加甲醇90 mL,加热回流至提取

表2 总多糖、总黄酮和甜菜碱的加标回收率($n=6$)

Table 2 Recovery test of total polysaccharides, flavonoids and betaine ($n=6$)

成分	已知量/mg	加入量/mg	测得量/mg	加样回收率/%	平均加样回收率/%	RSD/%
总多糖	35.29	35.00	70.75	101.3	99.7	2.79
	35.31	35.00	70.84	101.5		
	35.32	35.00	69.03	96.3		
	35.23	35.00	71.35	103.2		
	35.32	35.00	70.08	99.3		
	35.32	35.00	69.15	96.7		
总黄酮	19.10	19.00	37.53	97.0	99.1	3.15
	19.00	19.00	37.22	95.9		
	19.20	19.00	38.73	102.8		
	18.70	19.00	38.31	103.2		
	19.10	19.00	37.74	98.1		
	18.60	19.00	37.13	97.5		
甜菜碱	13.25	13.00	25.47	94.0	96.4	3.84
	14.10	13.00	26.49	95.3		
	13.74	13.00	25.92	93.7		
	13.25	13.00	25.67	95.5		
	13.55	13.00	26.06	96.2		
	13.21	13.00	26.69	103.7		

液无色,转移至 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密量取 3 mL,置 25 mL 量瓶中,照标准曲线制备项下的方法,自“加水至 6 mL”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中含芦丁的重量(mg),计算,即得。

2.3.3 精密度试验 同一供试品溶液,按照“2.3.2”方法连续测定 6 次,吸光度为 0.243、0.238、0.240、0.253、0.240、0.241,RSD 为 2.22%,表明仪器的精密度良好。

2.3.4 重复性试验 同一样品粉末(G4)平行取 6 份,分别按“2.3.2”方法制备和测定,吸光度为 0.239、0.247、0.228、0.250、0.230、0.244,计算总黄酮含量为 18.69 ± 0.39 mg/g,RSD 为 3.82%,表明方法的重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取药材粉末(G4)适量,精密称定,按“2.3.2”方法制备并分别于室温条件下放置 2、4、6、8、12、24 h 测定,吸光度为 0.240、0.247、0.230、0.228、0.230、0.235,RSD 为 3.12%,说明供试品溶液在室温下放置的 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已知含量的枸杞药材粉末(G4)6 份,分别按照 1:1 的质量比加入对照品溶液,按“2.3.2”方法测定,计算总黄酮的加样回收率。结果如表 2 所示,总黄酮的平均回收率为 99.1%,RSD 为 3.15%,表明该方法准确度良好。

2.4 甜菜碱的 HPLC 含量测定

2.4.1 HPLC 色谱条件 Agilent 1100 高效液相色谱仪,Zafex Supfex GQ 氨基色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为水:乙腈=15:85(V/V),等度洗脱。流速 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 195 nm,进样体积 10 μL。

2.4.2 标准曲线的制备 取甜菜碱对照品适量,精密称定,加水制成每 1 mL 含 1 mg 的甜菜碱对照品储备液。依次稀释对照品储备液,制成 1、4、10、40、100、200、400 μg/mL 的系列标准溶液。按“2.4.1”项下色谱条件依次检测各标准溶液的峰面积,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,计算得到甜菜碱的标准曲线,线性范围与相关系数为 $Y=1.149 1X-0.015 7$ ($R^2=0.999 9$)。

2.4.3 甜菜碱含量测定 称取约 1 g 样本,精密称定,加入 50 mL 甲醇,研磨仪研磨成浆,超声提取 45 min,离心后取上清液,残渣加入 50 mL 甲醇复

提一次,合并两次上清液,甲醇定容至 100 mL。取 2 mL 上清液氮吹吹干,加水定容至 2 mL,过 0.22 μm 微孔滤膜后取续滤液即得。

2.4.4 精密度试验 同一供试品溶液,按“2.4.1”方法连续测定 6 次,计算甜菜碱含量分别为 1.33%、1.28%、1.30%、1.26%、1.35%、1.37%,RSD 为 3.22%,表明仪器的精密度良好。

2.4.5 重复性试验 取同一样品粉末(G4),平行 6 份,分别按“2.4.3”方法制备和“2.4.1”方法测定,计算甜菜碱含量为 (13.01 ± 0.25) mg/g,RSD 为 4.13%,表明方法的重复性良好。

2.4.6 稳定性试验 取药材粉末(G4)适量,精密称定,按“2.4.3”方法制备并于室温条件下放置,分别于配制完成的 2、4、6、8、12、24 h 测定,计算甜菜碱含量分别为 (13.01 ± 0.25) mg/g,RSD 为 3.60%,表明供试品溶液在室温下条件放置 24 h 内稳定性良好。

2.4.7 加样回收率试验 精密称取已测定含量的枸杞药材粉末(G4)6 份,分别按照 1:1 的质量比加入对照品溶液,按照“2.4.3”方法制备和“2.4.1”方法测定,计算甜菜碱的加样回收率。结果如表 2 所示,甜菜碱的平均加样回收率为 96.4%,RSD 为 3.84%,表明该方法准确度良好。

3 结果与分析

3.1 HPLC 指纹图谱的建立与分析

3.1.1 指纹图谱的建立及共有峰的标定 取枸杞果实、叶和根皮共 30 批样本,分别按“2.1.2”方法制备供试品溶液,按“2.1.3”色谱条件进样分析,记录色谱图。将得到的样品图谱导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)进行分析。分别以 G1、Y1 和 P1 作为参照图谱,采用“中位数法”,时间宽度设定为 0.1 min,进行多点校正和全谱峰匹配,生成对照色谱图(R),最终分别建立枸杞果实、叶和根皮样品指纹图谱。其中,30 批枸杞果实、叶与根皮指纹图谱中均标定 8 个共有峰,通过与对照品图谱对比,确定 1、6、7 号峰分别为芦丁、槲皮素、木犀草素。其中,空白溶剂、混合对照品溶液和药材溶液对照图谱的 HPLC 色谱图如图 2 所示。枸杞果实、叶和根皮样品的 HPLC 指纹图谱瀑布图详见图 3。

3.1.2 相似度评价 30 批枸杞果实(G1~G10)、叶(Y1~Y10)、根皮(P1~P10)指纹图谱,以对照图谱为

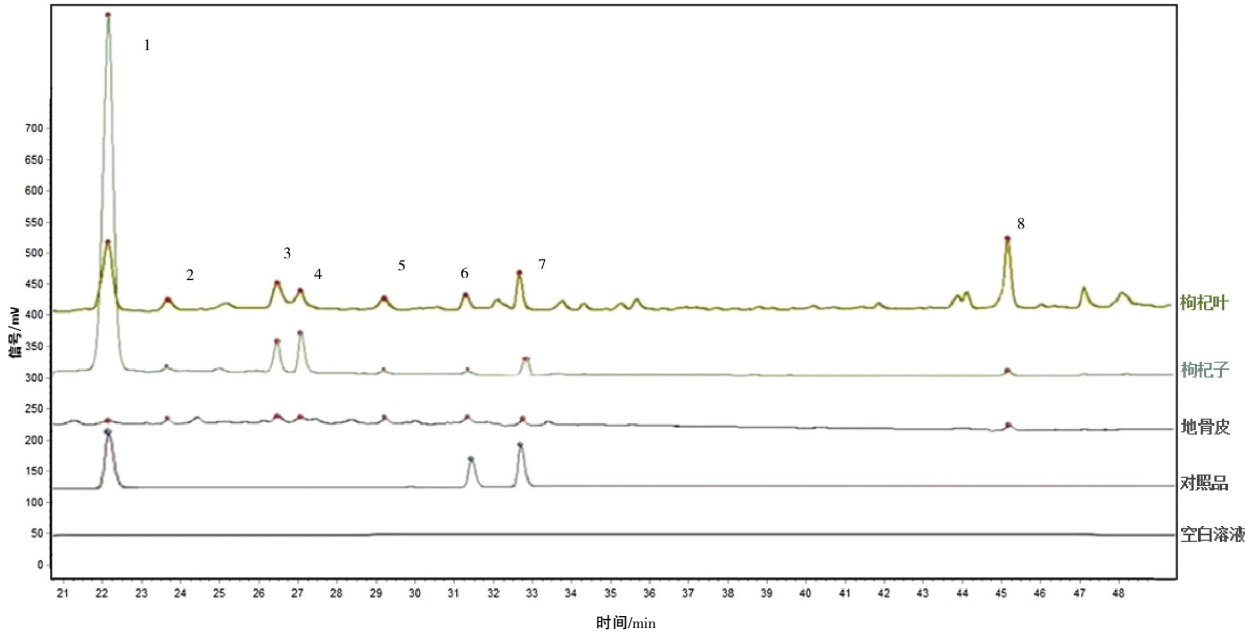


图 2 空白溶剂、混合对照品溶液和样品溶液的 HPLC 色谱图

Fig.2 HPLC chromatograms of blank solvent, reference solution and sample solution

注:1—芦丁;6—槲皮素;7—木犀草素。

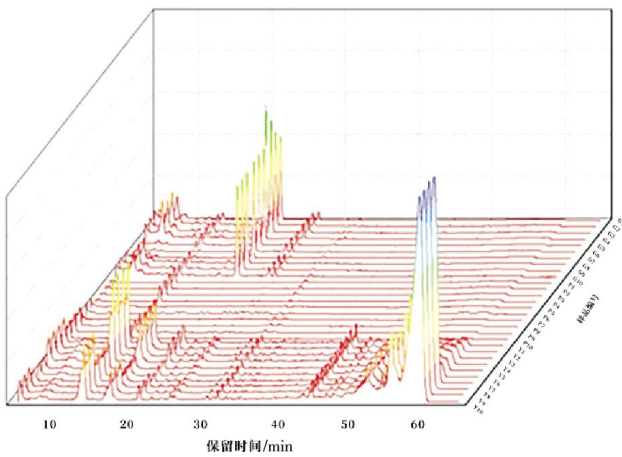


图 3 30 批枸杞样品的 HPLC 指纹图谱瀑布图

Fig.3 HPLC fingerprint waterfall of 30 batches of *Lycium barbarum* L. samples

参照,计算其相似度,结果见表 3。由表 3 可知,枸杞果实、叶和根皮的 HPLC 指纹图谱与其相应对照指纹图谱的相似度均大于 0.90,表明同一部位枸杞药材在不同产地之间的差异较小,主要峰群的整体相似,各产地枸杞质量稳定。枸杞不同部位之间的相似度均小于 0.63,表明共有峰在枸杞果实、叶及根皮中的差异较大。

3.2 化学计量学分析

3.2.1 主成分分析 采用 SIMCA 14.1 软件,以 30 批枸杞药材 8 个共有峰的峰面积占比为变量,对原始数据进行标准化处理,以主成分特征值和贡献率为依据(表 4),进行主成分分析^[28]。由表 4 可知,前 2 个主成分提取特征值均>1,其累积方差贡献率为

表 3 30 批枸杞子、枸杞叶、地骨皮的 HPLC 指纹图谱相似度

Table 3 HPLC fingerprint similarity of fruits,leaves and root bark of *Lycium barbarum* L.

枸杞子	枸杞叶	地骨皮	果实与根皮相似度	叶与根皮相似度	果实与叶相似度
0.996	0.992	0.928	0.624	0.602	0.580
0.984	0.997	0.932	0.631	0.604	0.576
0.944	0.990	0.918	0.620	0.613	0.583
0.993	0.994	0.903	0.633	0.622	0.592
0.935	0.957	0.919	0.622	0.606	0.560
0.952	0.974	0.934	0.636	0.623	0.584
0.947	0.991	0.902	0.632	0.621	0.562
0.919	0.974	0.907	0.640	0.612	0.591
0.908	0.998	0.930	0.641	0.605	0.580
0.926	0.999	0.925	0.638	0.600	0.572

84.0%,能较全面反映枸杞样本信息。以前2个主成分建立坐标系,构建主成分得分图,详见图4。由得分图可知3个产地3个部位枸杞样本可聚为3类,果实(G1~G10)、叶(Y1~Y10)、根皮(P1~P10)各聚为一类,说明枸杞不同植株部位之间的化学成分均存在一定差异。

表4 主成分特征值及贡献率

Table 4 Principal component characteristic values and contribution rate

主成分	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	5.104	63.806	63.806
2	1.616	20.203	84.008
3	0.684	8.551	92.560
4	0.380	4.746	97.305
5	0.116	1.452	98.758
6	0.065	0.809	99.566
7	0.030	0.373	99.939
8	0.005	0.061	100.000

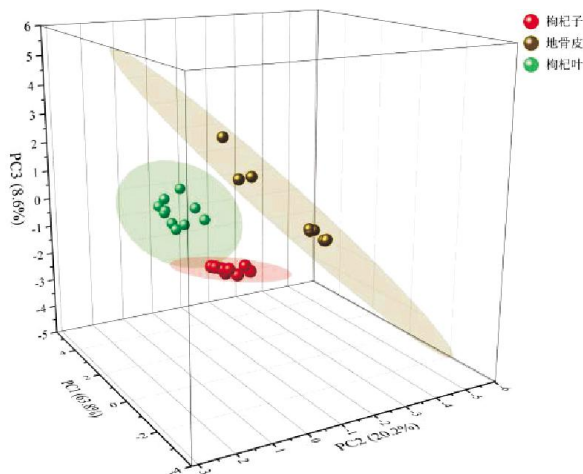


图4 30批枸杞不同部位样本的PCA得分图

Fig.4 PCA scores of 30 batches of samples from different parts of *Lycium barbarum* L.

3.2.2 正交偏最小二乘法-判别分析 为进一步比较10个批次3个部位枸杞样本化学成分的不同并筛选分类的差异性标记物,将30批枸杞药材8个共有峰的峰面积占比为变量进行OPLS-DA建模分析,结果如图5所示。由模型参数可知,数据矩阵的模型解释率 $R^2X=0.922, R^2Y=0.975$,模型预测指数 $Q^2\text{cum}=0.969$,均大于0.5,表示模型拟合良好,预测能力较强^[29]。由OPLS-DA得分图可以看出,10个批次3个部位枸杞样品明显分为3类,果实、叶和根皮各为一类。以变量重要性投影值(variable importance for the projection, VIP)大于1为提取标准,由图5(B)可看出,芦丁和木犀草素是主要的差异性成分。

3.3 枸杞多糖含量测定

3.3.1 枸杞不同植株部位含量测定结果 30批枸杞果实、叶和根皮中多糖的含量测定结果见表5。由表5可知,枸杞果实与叶中的含量,分别为2.74%~3.37%、2.82%~3.53%,高于根皮中的1.92%~2.68%,均大于1.8%,符合《中国药典》对枸杞子中枸杞多糖的含量要求。此外,产地的土壤、气候和其他环境因素也可能对多糖含量产生影响,总体来看,青海产的植株中多糖含量最高,其次是宁夏或甘肃,这与之前的研究结果是一致的^[27]。因此,可考虑多产地开发高品质的枸杞叶作为枸杞子的优质补充资源。

3.3.2 差异性分析 30批枸杞果实、叶和根皮样品中总多糖的质量分数、均值和差异性分析结果见图6(A)。由图6(A)可以看出,同一产地不同部位之间,枸杞多糖的含量为叶>果实>根皮,叶与果实之间的含量比较部分呈现显著差异,根皮中的多糖含量与叶和果实相比均为极显著差异。

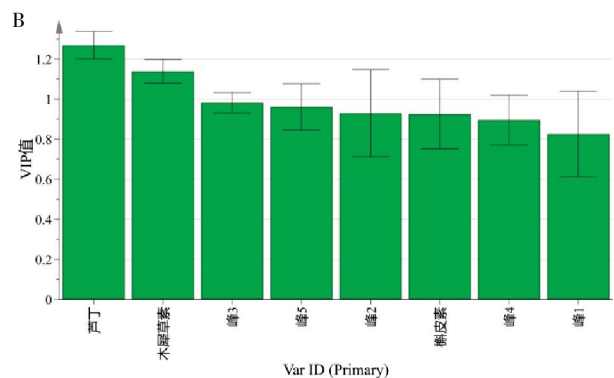
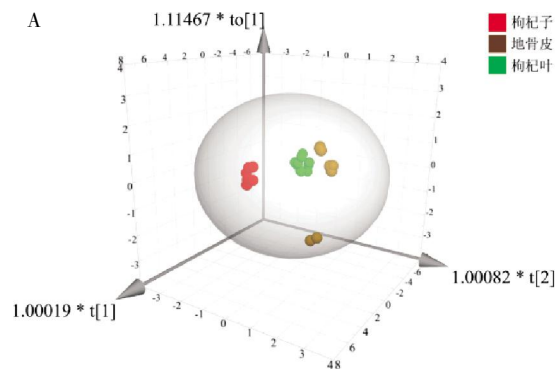


图5 30批枸杞样本OPLS-DA得分图(A)和VIP值(B)

Fig.5 OPLS-DA score plot(A)and VIP values(B)of 30 batches *Lycium barbarum* L. samples

3.4 总黄酮含量测定

3.4.1 枸杞不同植物部位含量测定结果 30批枸杞果实、叶和根皮中黄酮的含量测定结果见表6。由表6可知,枸杞果实与叶中的含量分别为15.02~22.16 mg/g和18.10~25.07 mg/g,高于根皮中的4.50~5.89 mg/g。总体来看,青海产地的枸杞植株中黄酮含量更高,其次是宁夏或甘肃,这与枸杞多糖的含量分布是一致的。枸杞多糖和黄酮类化合物在免疫调节、抗肿瘤、抗氧化等方面具有重要作用,推断枸杞叶在这些功能方面可能具有更优的价值。

3.4.2 差异性分析 30批枸杞果实、叶和根皮样品中黄酮的质量分数、均值和差异性分析结果见图6(B)。由图6(B)可以看出,总黄酮的含量大小为叶>果实>根皮,且果实、叶与根皮之间的含量均有显著差异。

3.5 甜菜碱含量测定

3.5.1 枸杞不同植物部位含量测定结果 30批枸杞果实、叶和根皮中甜菜碱的含量测定结果见表7。由表7可知,枸杞叶中甜菜碱的含量为3.15%~3.64%,高于果实中的1.01%~1.32%和根皮中的0.60%~0.73%,且均大于0.5%,符合《中国药典》对枸杞子中甜菜碱的含量要求。甜菜碱在肝脏和肾脏中的作用已被充分证明,对阿尔茨海默病、帕金森病和精神分裂症也有积极作用^[30],推测枸杞叶在神经元变性和记忆损伤方面的作用将优于枸杞果实。

3.5.2 差异性分析 30批枸杞果实、叶和根皮样品中甜菜碱的质量分数、均值和差异性分析结果见图6(C)。由图6(C)可以看出,甜菜碱的含量大小为叶>果实>根皮,且叶与果实、根皮之间的含量均有极显著差异。

表5 枸杞不同部位总多糖的含量测定结果

Table 5 Determination of total total polysaccharides in different parts of *Lycium barbarum* L.

样品	总多糖含量/(mg/g)	样品	总多糖含量/(mg/g)	样品	总多糖含量/(mg/g)
G1	29.08	Y1	30.97	P1	23.57
G2	29.36	Y2	31.56	P2	22.87
G3	29.79	Y3	31.06	P3	22.28
G4	30.43	Y4	30.32	P4	22.79
G5	33.72	Y5	34.38	P5	26.50
G6	33.25	Y6	34.27	P6	26.77
G7	32.10	Y7	35.32	P7	25.46
G8	28.05	Y8	29.42	P8	19.19
G9	28.67	Y9	29.84	P9	19.64
G10	27.43	Y10	28.22	P10	20.62

表6 枸杞不同部位总黄酮的含量测定结果

Table 6 Determination of total flavonoids in different parts of *Lycium barbarum* L.

样品	总黄酮含量/(mg/g)	样品	总黄酮含量/(mg/g)	样品	总黄酮含量/(mg/g)
G1	17.62	Y1	20.71	P1	4.75
G2	18.24	Y2	21.26	P2	5.01
G3	18.04	Y3	20.83	P3	5.23
G4	19.10	Y4	22.17	P4	4.89
G5	20.51	Y5	23.21	P5	5.60
G6	22.16	Y6	25.07	P6	5.76
G7	21.87	Y7	24.39	P7	5.89
G8	15.02	Y8	19.24	P8	5.00
G9	16.14	Y9	18.10	P9	4.72
G10	15.93	Y10	18.89	P10	4.50

表7 枸杞不同部位甜菜碱的含量测定结果

Table 7 Determination of betaine in different parts of *Lycium barbarum* L.

样品	甜菜碱含量/(mg/g)	样品	甜菜碱含量/(mg/g)	样品	甜菜碱含量/(mg/g)
G1	10.10	Y1	35.00	P1	6.987
G2	10.95	Y2	31.54	P2	7.109
G3	12.01	Y3	33.23	P3	7.023
G4	13.25	Y4	36.45	P4	7.341
G5	11.85	Y5	33.89	P5	5.980
G6	11.27	Y6	34.21	P6	6.913
G7	12.09	Y7	36.10	P7	6.574
G8	10.26	Y8	33.68	P8	7.015
G9	12.11	Y9	35.20	P9	6.976
G10	11.32	Y10	34.76	P10	6.540

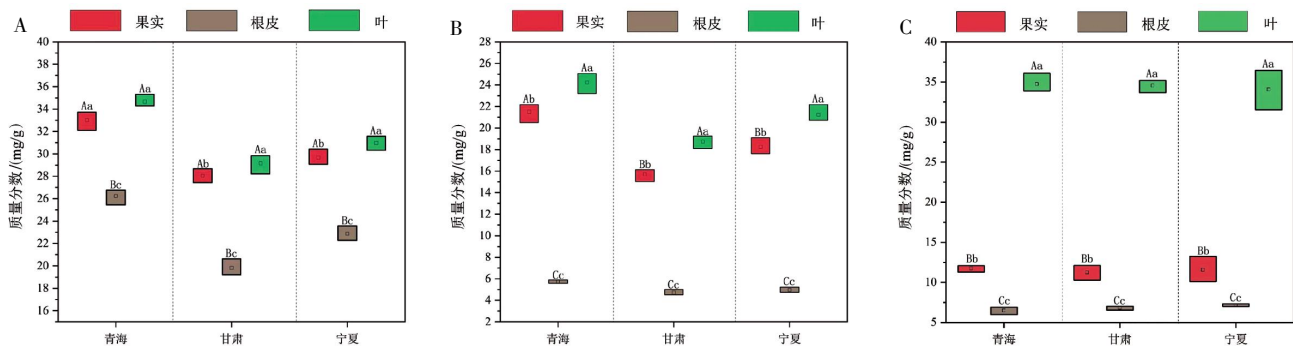


图6 枸杞子、枸杞叶、地骨皮中总多糖(A)、总黄酮(B)和甜菜碱(C)含量范围、均值及差异性分析

Fig.6 Contents range, mean value and difference analysis of total polysaccharides(A), flavonoids(B) and betaine (C) in the fruits, leaves and root bark of *Lycium barbarum* L. samples

注:小写字母表示显著性, $P<0.05$,大写字母表示显著性, $P<0.01$ 。

4 结论

本研究分别考察了提取溶剂、提取方法、料液比和提取时间对有效成分的提取效率,确定最优的提取条件,建立的 HPLC 分析方法简单,方法学验证结果良好。相似度评价结果反映了枸杞子、枸杞叶和地骨皮之间化学成分存在明显差异,结合化学计量学分析,筛选出芦丁和木犀草素作为主要的差异性成分。综合枸杞多糖、总黄酮和甜菜碱的含量对比,凸显了枸杞叶在功效成分上的优势。因此,多产地并举充分开发枸杞叶资源,有助于枸杞资源的充分利用,以及在制药、保健品、食品工业的多元化开发。该研究结果也为枸杞不同药用部位质量标准的完善和制定提供了数据参考。

参考文献

[1] 李 静,余 意,张小波,等.药用枸杞本草考证[J].世界中医药,2019,14(10):2593-2597.

- [2] 张 芳,吴昌键,张 霞,等.基于 Web of Science 文献计量分析的宁夏枸杞研究现状和发展态势[J].中草药,2022,53(16):5128-5141.
- [3] 宋艳梅,张启立,崔治家,等.枸杞子化学成分和药理作用的研究进展及质量标志物的预测分析[J].华西药学杂志,2022,37(2):206-213.
- [4] 胡 颖,徐 鑫,张春阳,等.不同品种来源枸杞子多糖及甜菜碱含量测定和比较分析[J].中国现代中药,2022,24(12):2383-2390.
- [5] 宿树兰,郭 盛,朱 悦,等.枸杞叶现代研究进展与资源化利用展望[J].中国现代中药,2022,24(1):10-19.
- [6] 邹立思,李会伟,严 辉,等.枸杞叶新资源药材的生药学研究[J].中国现代中药,2022,24(1):20-27.
- [7] 陈靖枝,卢 星,胡运琪,等.传统中药地骨皮化学成分和药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(12):3066-3075.
- [8] 何春娴,陈靖枝,杨静玲,等.基于 HPLC-Q-TOF MS 的网络化技术对宁夏枸杞根皮的化学成分研究[J].质谱学报,2022,43(6):792-803.

- [9] 李新蕊, 吴 萌, 贾毓欣, 等. 基于初级代谢产物探究不同生长年限地骨皮的质量差异[J]. 中药材, 2021, 44(8): 1901-1905.
- [10] SUN Q, DU M, KANG Y, ZHU M J. Prebiotic effects of goji berry in protection against inflammatory bowel disease[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(21): 5206-5230.
- [11] 王 宇, 任雪阳, 李留洋, 等. 基于数据挖掘和复杂网络的枸杞子提取物保健食品组方规律及质量控制分析[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(22): 199-207.
- [12] LI X, HOLT R R, KEEN C L, et al. Potential roles of dietary Zeaxanthin and lutein in macular health and function[J]. *Nutrition Reviews*, 2023, 81(6): 670-683.
- [13] DUAN W H, GUAN Q J, ZHANG H L, et al. Improving flavor, bioactivity, and changing metabolic profiles of goji juice by selected lactic acid bacteria fermentation[J]. *Food Chemistry*, 2023, 408: 135155.
- [14] MAISTO M, IANNUZZO F, SCHIANO E, et al. Effects of fortified laying hen diet with *Moringa oleifera* leaves and goji berries on cholesterol and carotenoid egg content[J]. *Foods*, 2022, 11(20): 3156.
- [15] BENDJEDOU H, BENAMAR H, BENNACEUR M, et al. New insights into the phytochemical profile and biological properties of *Lycium intricatum* Bois. (Solanaceae)[J]. *Plants*, 2023, 12(5): 996.
- [16] 赵佳琛, 金 艳, 闫亚美, 等. 经典名方中枸杞及地骨皮的本草考证[J]. 中国现代中药, 2020, 22(8): 1269-1286.
- [17] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 260.
- [18] 郑慧丽, 郭 盛, 朱 悦, 等. 枸杞属植物中甜菜碱类物质功能价值研究进展与产业化展望[J]. 中国现代中药, 2022, 24(1): 28-40.
- [19] 谢 文, 陈华国, 赵 超, 等. 枸杞多糖的生物活性及作用机制研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 349-359.
- [20] 罗 青, 禄 璐, 闫亚美, 等. 枸杞粉及其多糖对环磷酰胺致免疫低下小鼠免疫及肠道菌群的调节作用[J]. 食品科学, 2022, 43(11): 137-148.
- [21] MA R X, SUN X Z, YANG C, et al. Integrated transcriptome and metabolome provide insight into flavonoid variation in goji berries (*Lycium barbarum* L.) from different areas in China[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 199: 107722.
- [22] 查晓彤, 裴宇芳, 马瑞雪, 等. 枸杞叶黄酮泡腾片的配方优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(1): 155-162.
- [23] 白 敏, 张 颖, 李泉积, 等. 枸杞叶多糖对小鼠代谢、抗氧化、免疫功能及肠道微生物的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 413-419.
- [24] YU C X, CHEN Y H, AHMADI S, et al. Goji berry leaf exerts a comparable effect against colitis and microbiota dysbiosis to its fruit in dextran-sulfate-sodium-treated mice[J]. *Food & Function*, 2023, 14(7): 3026-3037.
- [25] 朱 悦, 郭 盛, 陆韞青, 等. 枸杞叶资源利用古今源流考证分析[J]. 中国现代中药, 2022, 24(1): 1-9.
- [26] 张雪燕, 戴瑜婷, 王艺璇, 等. 枸杞化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(1): 174-183, 260.
- [27] 刘 赛, 杨孟可, 李叶林, 等. 不同产地枸杞叶片多糖、总黄酮和总酚含量差异比较分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1774-1780.
- [28] 江美芳, 高 崎, 王丹丹. 基于 LC-MS 代谢组学技术在中药化学成分中的应用[J]. 中国医药导报, 2020, 17(25): 133-136.
- [29] YUN J, CUI C J, ZHANG S H, et al. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea[J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 130033.
- [30] BHATT M, IACOVO A D, ROMANAZZI T, et al. Betaine—The dark knight of the brain[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2023, 133(5): 485-495.

(本文编辑 苏 维)