

# 蓝莓提取物中花青素和黄酮类活性成分的 UPLC-TOF MS 联用分析

薛莹<sup>1</sup>, 徐先顺<sup>1</sup>, 雍莉<sup>1</sup>, 王明明<sup>2</sup>, 刘芳<sup>3</sup>, 刘洁龄<sup>3,4</sup>, 谢静<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup>四川省疾病预防控制中心, 成都 610041; <sup>2</sup>成都医学院四川养老与老年健康协同创新中心, 成都 610500;

<sup>3</sup>长治医学院药理学系, 长治 046000; <sup>4</sup>中国科学院成都生物研究所 湖州生物资源利用与开发创新中心, 湖州 313000

**摘要:** 使用超高效液相色谱/飞行时间质谱, 分别在 TOF/MS 全扫描和 Q-TOF/MS 碎片扫描两种模式下分析不同厂家生产的蓝莓提取物中的花青素和黄酮类活性成分。首先依据高分辨精确质量在“待筛查化合物数据表”中查出可能的化合物, 再结合二级质谱的子离子碎裂特征对化合物进行定性分析, 结合参考文献, 从蓝莓提取物中共鉴定出 19 个花青素类化合物、8 个黄酮类化合物。同时, 本文还对蓝莓提取物中的花青素苷和黄酮苷的质谱裂解规律进行了探讨。这一分析方法方便快捷、灵敏度高、准确性好, 可将其推广至其它天然活性成分的无对照品筛查研究之中。

**关键词:** 蓝莓提取物; 超高效液相色谱-四级杆/飞行时间质谱; 花青素; 黄酮

中图分类号: R917; Q946

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.5.002

## Analysis of Anthocyanins and Flavonoids Components in Blueberry Extract by UPLC-TOF MS

XUE Ying<sup>1</sup>, XU Xian-shun<sup>1</sup>, YONG Li<sup>1</sup>, WANG Ming-ming<sup>2</sup>, LIU Fang<sup>3</sup>, LIU Jie-ling<sup>3,4</sup>, XIE Jing<sup>2,4\*</sup>

<sup>1</sup>Sichuan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610041, China;

<sup>2</sup>Collaborative Innovation Center of Sichuan for Elderly Care and Health, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China;

<sup>3</sup>School of Pharmacy, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China; <sup>4</sup>Huzhou Research and Development Center for Biological Resources, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Huzhou 313000, China

**Abstract:** The anthocyanins and flavonoids ingredients in blueberry extracts from different manufacturers were analyzed under TOF/MS full scan mode and Q-TOF/MS fragment scan mode simultaneously using ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. First of all, based on the molecular formula calculated by accurate mass, the possible compounds were found in the ‘lists of potential compounds’, then these compounds were qualitatively analyzed according to the fragmentation characteristics of MS<sup>2</sup>. Combined with the references, 19 anthocyanins and 8 flavonoids were identified from the blueberry extracts. At the same time, the present study also explored the fragmentation regularities of mass spectra of anthocyanin and flavonoid glycosides in blueberry extract. This method with the characteristics of fast, sensitivity, accuracy can be generalized to the screening of other natural active ingredients without reference.

**Key words:** blueberry extract; UPLC-ESI-Q-TOF/MS; anthocyanins; flavonoids

蓝莓提取物提取自蓝莓果实, 具有抗菌、抗氧化、抗衰老、抗癌、改善记忆力、抗心血管疾病和抗糖尿病等功效<sup>[1-6]</sup>。蓝莓提取物在推荐的摄入量下, 没有任何已知的毒副作用, 因此广泛地应用于医药、

保健食品和化妆品的原料工业, 市场需求量极大。基于蓝莓果实中所含有的化学成分, 一般认为, 蓝莓提取物中主要的活性成分是花青素类和黄酮类。但目前, 对于蓝莓提取物的化学成分研究报道极少, 唯一的报道是通过低分辨的三重四极杆质谱仪初步鉴定了 12 个化合物<sup>[7]</sup>。为了进一步明确产品成分, 有必要对市售蓝莓提取物的活性成分进行更深入和细致的筛查。

天然产物的化学成分研究, 除了传统的植化分离外, 还可以采分析化学的手段事半功倍地实现。

收稿日期: 2018-01-12 接受日期: 2018-03-16

基金项目: 国家大学生创新训练项目(201713705030); 成都医学院四川养老与老年健康协同创新中心课题(YLZBZ1820); 成都医学院应用开发与成果转化培育项目(CY-CG17-04); 山西省卫生和计划生育委员会项目(2017158)

\* 通信作者 Tel: 86-28-62308658; E-mail: aggie-xj@163.com

基于 LC 良好的分离能力和 MS 高灵敏的化合物筛查能力, LC/MS 联用技术非常适合于从植物提取物、生物样品等复杂基质中发现微量的目标成分。电喷雾离子源作为一种软电离的质谱离子源,产生的分子离子碎片有助于化合物结构解析,已广泛应用于天然产物的结构鉴定研究<sup>[8,9]</sup>。在多种质量分析器中,飞行时间质谱(TOF/MS)具有高质量精度、高灵敏度、高分辨率等优点,可测定复杂基质中化合物的精确质量数,从而实现化合物的定性确认。同时 TOF/MS 还具有高扫描速度的优势,使得其对检测化合物的数量几乎无限制,从而实现大量化合物的同时筛查<sup>[10,11]</sup>。LC/MS 联用技术通过化合物的精确质量数与保留时间数据,并结合二级碎片分析,还可实现同分异构体鉴定,因此, LC-TOF/MS 已被广泛应用于化合物的筛查与确证中<sup>[10,12]</sup>。为了全面确定蓝莓提取物中所含功能活性成分的情况,为后续研究打下基础,我们利用 UPLC 快速分离和 Q-TOF/MS 准确定性优势,结合参考文献,对蓝莓中的小分子活性化合物进行了 UPLC-ESI-Q-TOF/MS 定性筛查。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 仪器与amp;材料

超高效液相色谱-四级杆/飞行时间质谱(SHIMADZU Nexera, AB Sciex TripleTOF<sup>®</sup> 4600)。使用色谱纯乙腈和娃哈哈纯净水作为洗脱溶剂,其它试剂均为分析纯。蓝莓提取物为市售的四个不同公司所售产品,编号为 S1-S4。

### 1.2 色谱条件

色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-Aq (3.0 mm × 100 mm, 1.8 μm)。流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A相)、乙腈(B相),柱温 35 °C,流速为 0.3 mL/min,进样体积 2 μL,梯度洗脱条件为:0~5 min 5% B 等度,5~30 min 线性上升至 20% B,30~40 min 线性上升至 70% B,40~41 min 线性上升至 90% B。

### 1.3 质谱条件

电喷雾电离正离子模式:毛细管电压 5000 V,雾化气 50 psi,辅助气 50 psi,帘气 35 psi,雾化温度 500 °C,去簇电压 80 V,碰撞能 10 eV,全扫描质核比范围为  $m/z$  100~1000,并采用 APCI Positive Calibration Solution 对仪器质量精度进行实时校正。

电喷雾电离负离子模式:毛细管电压-4500 V,雾化气 50 psi,辅助气 50 psi,帘气 35 psi,雾化温

度 500 °C,去簇电压-80 V,碰撞能 10 eV,全扫描质核比范围为  $m/z$  100~1000,并采用 APCI negative Calibration Solution 对仪器质量精度进行实时校正。

### 1.4 质谱分析样品制备

将蓝莓提取物粉末 25 mg,精密称定,至 25 mL 容量瓶中,加含 1% 三氟乙酸的甲醇超声溶解并定容,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

### 1.5 提取物酸水解与amp;糖的薄层色谱分析

参考文献 14,取 0.5 g 提取物粉末,溶于 40 mL 1.2 M 的盐酸/50% 甲醇溶液中回流 1 h;将水解液挥干后,再分散于 10 mL 水中,使用 10 mL 正丁醇萃取后,将水相点于自制的含  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  和 CMC-Na 的硅胶 G 板上,以 D-葡萄糖、D-半乳糖、L-阿拉伯和 L-鼠李糖随行对照,使用丙酮:正丁醇:水(5:4:1)比例展开,邻苯二甲酸苯胺显色。

### 1.6 质谱筛查方法

首先,基于越橘属植物和常见水果中小分子化合物的文献,建立一个含有 200 余种相关化合物的“待筛查化合物数据表”。然后在 TOF/MS 全扫描模式下测定蓝莓提取物样品,通过检测到的各成分的精确质量,运用上述“待筛查化合物数据表”进行检索,找出可能的化合物。最后在 Targeted MS/MS 采集模式下进行化合物的二级质谱分析,确证相应化合物的结构。对于同分异构体,再根据色谱保留时间,参考文献报道予以确定,如许多对同分异构体,其差别仅仅在于糖基,一个是半乳糖基,一个是葡萄糖基,前者出峰较前,后者出峰较后。

## 2 结果与分析

由于花青素和黄酮类都是酸性化合物,因此本试验采用了乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为洗脱流动相<sup>[13]</sup>。由于本实验待测化合物较多,紫外吸收复杂,在不同的吸收波长下图谱差异很大,故未进行紫外检测,而直接采用 TOF/MS 全扫描检测,提取相应的分子量进行分析。

### 2.1 花青素和amp;黄酮类化合物的筛查结果

花青素类化合物本身是正离子状态,采用正离子扫描模式进行检测外;黄酮类化合物采用正负离子同时扫描,互为对照。同时在配合二级离子碎裂,从而避免假阳性结果的产生,提高筛查的准确性。采用上述的筛查方法,共从四个蓝莓提取物(S1-S4)中筛查出 27 个功能活性成分,归纳整理于表 1,

其中包括 19 个花青素及其糖苷(化合物 1~19)、8 个黄酮及其糖苷(化合物 20~27)。花青素类化合物的苷元分别是飞燕草素、矢车菊素、矮牵牛素、锦葵色素和芍药花色素,黄酮类化合物的苷元分别是槲皮素、山奈酚和杨梅素,其结构如图 1 所示。

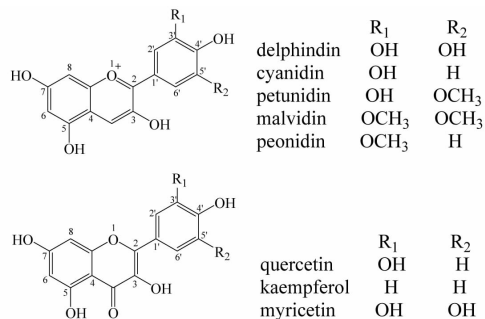


图 1 花青素和黄酮的苷元结构

Fig. 1 The structures of anthocyanin aglycones and flavonoid aglycones

蓝莓提取物中含有大量的花青素苷和黄酮苷,根据化合物的分子离子峰 MS 与二级裂解 MS<sup>2</sup> 基峰的  $\Delta m/z$ ,表明蓝莓提取物糖苷中的糖基部分由五

碳糖( $\Delta m/z$  132)、甲基五碳糖( $\Delta m/z$  146)和六碳糖( $\Delta m/z$  162)三大类构成;再进一步通过化学降解,薄层色谱展开,标准品随行对照,可确定分别是 L-鼠李糖( $R_f$  0.77)、L-阿拉伯糖( $R_f$  0.41)、D-葡萄糖( $R_f$  0.25)和 D-半乳糖( $R_f$  0.18)。成对出现的多对同分异构体,其苷元相同,差别在于糖基一个是半乳糖基,一个是葡萄糖基。我们课题组在前期的研究中发现,如果是同样苷元的同分异构体糖苷,半乳糖基取代的苷出峰较前,葡萄糖基取代的苷出峰则较后<sup>[14]</sup>。据此,我们对蓝莓提取物中的同分异构体进行了结构确认。

从表 1 可见,四份样品来自不同公司的蓝莓提取物样品中,都不同程度地检测出了花青素和黄酮类化合物,总体上差别不大,但一些低含量的成分在部分样品中存在缺失的现象,很有可能是由产品本身造成的。蓝莓果实中广泛存在的乙酰化的花青素糖苷和黄酮苷,在本研究中均未发现,很可能是提取分离过程中,不稳定所致。因此,在分离提取过程中,如何控制条件以维持提取物与原成分的一致性,是天然产物研究的一个值得关注的重要问题。

表 1 蓝莓提取物中含有的功能活性成分

Table 1 Anthocyanins and flavonoids identified in blueberry extract

序号 No	保留 时间 Retention time (min)	正离子 Positive mode			负离子 Negative mode			分子式 Formula	化合物 名称 Identification	样品 1 S 1	样品 2 S 2	样品 3 S 3	样品 4 S 4
		HR-M <sup>+</sup> ion	Error (ppm)	MS	HR-M <sup>-</sup> ion	Error (ppm)	MS						
1	16.59	465.10331	0	303	-	-	-	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	delphinidin-3-O-galactoside	√	√	√	√
2	16.91	465.10371	0.9	303	-	-	-	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	delphinidin-3-O-glucoside	√	√	√	√
3	18.47	449.10854	0.3	287	-	-	-	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	cyanidin-3-O-galactoside	√	√	√	√
4	18.60	449.10854	0.3	287	-	-	-	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	cyanidin-3-O-glucoside	√	√	√	√
5	19.07	435.09108	-3.8	303	-	-	-	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	delphinidin-3-O-arabinoside				√
6	20.19	479.11943	1.0	317,302	-	-	-	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>12</sub>	petunidin-3-O-galactoside	√	√	√	√
7	20.31	479.11943	1.0	317,302	-	-	-	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>12</sub>	petunidin-3-O-glucoside	√	√	√	√
8	21.31	419.09787	0.1	287	-	-	-	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	cyanidin-3-O-arabinoside	√	√		
9	21.96	463.1243	0.6	301,286	-	-	-	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	peonidin-3-O-galactoside	√	√	√	√
10	21.99	463.1244	0.6	301,286	-	-	-	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	peonidin-3-O-glucoside	√	√	√	√
12	22.82	493.13508	1.0	331,316	-	-	-	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> O <sub>12</sub>	malvidin-3-O-galactoside	√	√		√
13	23.09	493.13508	1.0	331,316	-	-	-	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> O <sub>12</sub>	malvidin-3-O-glucoside	√	√		√
14	25.9	463.12448	0.9	331,316	-	-	-	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	malvidin-3-O-arabinoside	√	√		√
15	29.51	303.0505	0.1		-	-	-	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	delphinidin	√	√	√	√
16	33.34	287.05568	0.4		-	-	-	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	cyanidin	√	√	√	√
17	33.39	317.06602	-0.3	286	-	-	-	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> O <sub>6</sub>	peonidin	√	√	√	√

续表 1 (Continued Tab. 1)

序号 No	保留 时间 Retention time (min)	正离子 Positive mode			负离子 Negative mode			分子式 Formula	化合物 名称 Identification	样品 1 S 1	样品 2 S 2	样品 3 S 3	样品 4 S 4
		HR-M <sup>+</sup> ion	Error (ppm)	MS	HR-M <sup>-</sup> ion	Error (ppm)	MS						
18	33.70	331.08185	0.2	302	-	-	-	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> O <sub>7</sub>	petunidin		✓		✓
19	34.13	331.08188	-0.9	316	-	-	-	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> O <sub>7</sub>	malvidin	✓	✓		✓
20	18.60	449.10779	-0.1	287	447.09448	1.4	284	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	kaempferol-3-O-galactoside			✓	
21	18.70	449.10779	-0.1	287	447.09448	1.4	284	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	kaempferol-3-O-glucoside	✓	✓	✓	
22	29.45	511.14961	9.8	303	509.13006	0.4	300	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	quercetin-3-O-acetyl-galactoside		✓		✓
23	29.53	511.14961	9.8	303	509.13006	0.4	300	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	quercetin-3-O-acetyl-glucoside		✓		
24	25.91	481.09791	0.5	319	479.08342	0.6	316	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	myricetin-3-O-hexose	✓			
25	29.76	481.09706	-0.7	303	479.08311	-0.2	300	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	quercetin-3-O-glucoside	✓	✓	✓	✓
26	33.40	449.10779	-0.1	303	447.09393	1.4	300	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	quercetin-3-O-rhamnoside	✓	✓	✓	✓
27	36.27	303.05027	1.1	-	301.03564	0.9	151	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	quercetin	✓	✓	✓	✓

## 2.2 花青素糖苷和黄酮糖苷的质谱裂解规律探讨

### 2.2.1 正离子模式下花青素糖苷的质谱裂解

花青素苷类化合物在 ESI 离子源质谱碎裂时, 首先将得到一个丢失糖的碎片峰, 以 10 号峰 (芍药花色素-3-O-半乳糖苷) 为例说明: HR-ESI-MS 测出该化合物的精确分子量为  $m/z$  463.1244  $[M+H]^+$ 。化合物的分子离子峰  $m/z$  463  $[M+H]^+$  丢失半乳糖后, 产生一个丢失 132 碎片 MS<sup>2</sup> 峰  $m/z$  301  $[M+H-gal]^+$ , 由于芍药花色素苷还具有 3'-OCH<sub>3</sub> 结构, 因此还同时产生了进一步丢失 CH<sub>3</sub> 碎片的碎片峰  $m/z$  286  $[M+H-gal-CH_3]^+$ 。芍药花色素-3-O-半乳糖苷的 MS 图、MS<sup>2</sup> 图谱及其裂解机理如图 2 所示。

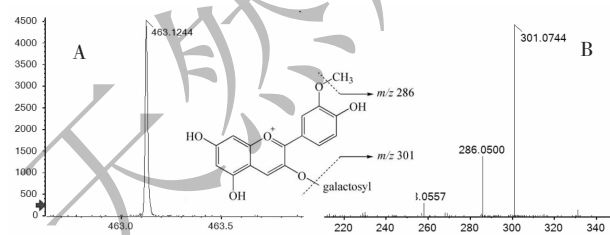


图 2 芍药花色素-3-O-半乳糖苷的 MS 图 (A)、MS<sup>2</sup> 图 (B) 和裂解示意图

Fig. 2 The Mass spectrogram of MS (A) and MS<sup>2</sup> (B), and fragmentation characteristics of peonidin-3-O-galactoside

### 2.2.2 负离子模式下黄酮糖苷的质谱裂解

黄酮苷类化合物的二级质谱也首先将丢失糖基

碎片。但黄酮苷在丢失糖基的过程中, 会同时产生均裂和异裂两种断裂方式, 而 3-O 糖基取代的黄酮苷一个重要特征是均裂碎片丰度大于异裂碎片丰度<sup>[14]</sup>。以 21 号峰 (山奈酚-3-O-半乳糖苷) 为例: 如图 3 所示, HR-ESI-MS 测出该化合物的精确分子量为  $m/z$  447.0945  $[M-H]^-$ 。化合物的分子离子峰  $m/z$  447  $[M-H]^-$  丢失半乳糖基碎片后, 分别产生一个均裂碎片峰  $m/z$  284 ( $[Y_0-H]^-$ ) 和一个异裂碎片峰  $m/z$  285 ( $Y_0^-$ ), 但  $m/z$  284 的丰度明显大于  $m/z$  285。进一步,  $m/z$  284 还产生了特征的  $m/z$  255  $[Y_0-H-CO-H]^-$  和  $m/z$  239  $[Y_0-H-CO-OH]^-$  碎片峰。

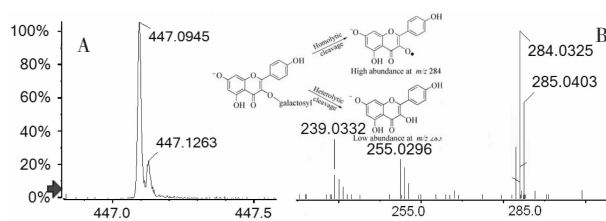


图 3 山奈酚-3-O-半乳糖苷的 MS 图 (A)、MS<sup>2</sup> 图 (B) 和裂解示意图

Fig. 3 The Mass spectrogram of MS (A) and MS<sup>2</sup> (B), and fragmentation characteristics of kaempferol-3-O-galactoside

## 3 结论

本研究建立了无需标准品对照的快速筛查蓝莓中功能活性成分的超高效液相色谱-四级杆/飞行

时间质谱(UPLC-ESI-Q-TOF/MS)检测方法,全面研究了蓝莓提取物中的活性成分种类。运用该方法灵敏、快速、准确地从不同厂家生产的蓝莓提取物样品中共鉴定出19个花青素及其糖苷和8个黄酮及其糖苷,发现不同厂家的产品整体差异不大,但是部分化合物也有差异。同时,本研究还对蓝莓中的花青素苷和黄酮苷的质谱裂解规律进行了探讨,进一步对化合物的结构进行了确证。通过此项工作,对全面筛查了市售蓝莓提取物中可能含有的活性化合物种类,为基于蓝莓的功能食品和保健食品开发打下了坚实的基础。

#### 参考文献

- 1 Jiang WJ(姜文洁),Sun XX(孙晓红),Zhu Y(朱颖),*et al.* Antibacterial effects of chinese wild blueberry extracts on four pathogenic bacteria[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2014,26:1884-1888.
- 2 Jin JH(靳君华). Inhibition effects and mechanisms of blueberry extracts on human colon cancer HCT116 cells [J]. *Chin Med. Her*(中国医药导报),2013,10:14-16.
- 3 Meng XJ(孟宪军),Yu XL(于欣灵),Sun RY(孙仁艳),*et al.* Impacts of blueberry extract on the memory and anti-aging role of laboratory mouse[J]. *J Shenyang Agri Uni*(沈阳农业大学学报),2011,42:740-742.
- 4 Zhang YH(张云鹤),Han ZH(韩中惠),Gao ZJ(高志江),*et al.* Determination of *in vitro* antioxidant activity of Yunnan wild blueberries extracts[J]. *Food Sci Technol*(食品科技),2014,39:249-253.
- 5 Chen Y(陈燕),Sun XH(孙晓红),Cao Y(曹奕),*et al.* Progress in antibacterial activity of blueberries[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2013,25:716-721.
- 6 Liang M(梁敏),Bao YH(包怡红). Research progress of biological functions of anthocyanins [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:1785-1790.
- 7 Yuan S(袁帅),Yao SJ(姚胜军),Geng Y(耿昱),*et al.* Identification of anthocyanins and flavonols in extract of blueberry by using HPLC-ESI-MS/MS[J]. *Acta Chim Sin*(化学学报),2009,67:318-322.
- 8 Qing LS,Tang N,Xue Y,*et al.* Identification of enzyme inhibitors using therapeutic target protein-magnetic nanoparticle conjugates[J]. *Anal Method*,2012,4:1612-1615.
- 9 Qing LS,Xue Y,Zheng Y,*et al.* Ligand fishing from *Dioscorea nipponica* extract using human serum albumin functionalized magnetic nanoparticles[J]. *J Chromatogr A*,2010,1217:4663-4668.
- 10 Zhang Y(张杨),Feng BM(冯宝民),Lu X(卢轩). Research progress on application of UPLC/QTOF-MS in pharmaceutical analysis[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:1992-1996.
- 11 Chen C,Xue Y,Li QM,*et al.* Neutral loss scan-based strategy for integrated identification of amorfrutin derivatives, new peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, from *Amorpha Fruticosa* by UPLC-QqQ-MS/MS and UPLC-Q-TOF-MS[J]. *J Am Soc Mass Spectr*,2018,29:685-693.
- 12 Carrizo D,Domeño C,Nerón I,*et al.* Atmospheric pressure solid analysis probe coupled to quadrupole-time of flight mass spectrometry as a tool for screening and semi-quantitative approach of polycyclic aromatic hydrocarbons, nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons and oxo-polycyclic aromatic [J]. *Talanta*,2015,131:175-184.
- 13 Xie J,Li J,Liang J,*et al.* Determination of contents of catechins in oolong teas by quantitative analysis of multi-components via a single marker (QAMS) method [J]. *Food Anal Method*,2017,10:363-368.
- 14 Qing LS,Xue Y,Zhang JG,*et al.* Identification of flavonoid glycosides in *Rosa chinensis* flowers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in combination with <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance [J]. *J Chromatogr A*,2012,1249:130-137.