

枸杞子 HPLC 指纹图谱及其化学模式识别研究

刘旭霞^{1,2}, 裴 栋³, 刘建飞¹, 巩 媛¹, 王茂鹤^{1,2}, 邸多隆^{1*}, 郭 玫^{2*}

¹中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室;

²甘肃中医药大学药学院 甘肃省中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室,兰州 730000;

³青岛市资源化学与新材料研究中心,青岛 266000;

摘要:为建立枸杞子的 HPLC 指纹图谱和产区识别模型,为枸杞子样品的产区预测提供参考。采用依利特 Sepherisorb ODS C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以 0.3% 冰乙酸水-乙腈为流动相,梯度洗脱;柱温:25 °C;流速:1 mL/min;检测波长:310 nm;利用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”对 5 个产区 34 批枸杞子样品进行相似度评价,利用 SIMCA 14.1 软件进行聚类分析(CA),主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘(OPLS)分析。确定了 28 个 HPLC 指纹图谱共有峰;相似度评价结果表明由于产区地理生态环境的差异导致不同产区样品之间的不同,聚类分析结果表明同一产区的样品可以很好的聚为一类;主成分分析载荷图确定 P12、P23 和 P26 为不同产区枸杞子的差异性化合物。通过正交偏最小二乘法建立了枸杞子产区识别模型,模型判别率为 89.0%,准确的预测了 9 个产区的枸杞子。本方法简便,稳定可靠,可用于枸杞子药材的产区判别。

关键词:枸杞子;指纹图谱;主成分分析;正交偏最小二乘;产区

中图分类号:R282.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)10-1675-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.10.002

The study of HPLC fingerprint and chemical pattern recognition of Lycii fructus

LIU Xu-xia^{1,2}, PEI Dong³, LIU Jian-fei¹, GONG Yuan¹, WANG Mao-he^{1,2}, DI Duo-long^{1*}, GUO Mei^{2*}

¹Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences;

²School of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Provincial Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Quality Research in Gansu Province, Lanzhou 730000, China;

³Qingdao Center of Resource Chemistry & New Materials, Qingdao 266000, China;

Abstract: The aim of this work is to establish a HPLC fingerprint and region identification model of Lycii fructus, and to provide reference for prediction of samples production areas. The analysis was performed on an Elite Sepherisorb ODS C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The mobile phase was consisted of water containing 0.3% glacial acetic acid and acetonitrile. The column temperature was set as 25 °C. The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was 310 nm. The similarities of Lycii fructus samples (34 batches collected from five different production areas) were evaluated by the software of "Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of TCMs (2012 version)". The cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares (OPLS) analysis were performed by the SIMCA 14.1 software. In this study, 28 common peaks in the HPLC fingerprints were determined. The similarity evaluation results indicated that the Lycii fructus samples of different origins have significant differences due to the variously geographical and ecological environment of the production areas. The results of cluster analysis showed that Lycii fructus samples from the same production area can be well clustered into one class. Principal component analysis determined that P12, P23 and P26 were the differential compounds of samples from different areas. The discrimination model of the production areas was established by orthogonal partial least squares method. The model discrimination rate was 89.0%, and the Lycii fructus samples of nine production

收稿日期:2019-04-30 接受日期:2019-09-04

基金项目:甘肃省重点研发计划(18YF1FA126);“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09711001)

* 通信作者 Tel:86-931-4968248; E-mail: didl@licp.cas.cn, guomeig@sina.com

areas were accurately predicted. This method is simple, stable and reliable. And it can be used for prediction of *Lycii fructus* from different production area.

Key words: *Lycii fructus*; fingerprint; principal component analysis; orthogonal partial least squares analysis; production areas.

枸杞子为茄科植物宁夏枸杞(*Lycium barbarum* L.)的干燥成熟果实,其味甘性平,归肝、肾经,具有滋补肝肾,益精明目的功效,用于治疗虚劳精亏,血虚萎黄,腰膝酸痛,阳痿遗精,内热消渴,眩晕耳鸣,目昏不明等症^[1]。现代药理学研究表明,枸杞子具有抗氧化、抗AD、降血糖、抗肿瘤和神经保护等多种活性^[2,3]。《中国药典》2015版中其质量控制以枸杞多糖和甜菜碱的含量作为其检测指标,无法全面评价药材的质量,此外由于宁夏枸杞在我国宁夏、甘肃、青海、新疆、内蒙等西北地区均有分布,由于各个产区生态地理环境不同,造成不同产区的枸杞子质量有差别^[4,5]。目前有关枸杞子指纹图谱的研究均利用相似度评价以及聚类分析,评估其品质并进行鉴别^[6-8],然而将指纹图谱和化学计量学联合构建产区判别的研究较少^[9,10]。本研究采用HPLC法对34批样品进行了指纹图谱研究,开展了相似度评价、聚类分析(cluster analysis, CA)及主成分分析(principal component analysis, PCA),并利用正交偏最小二乘法(orthogonal partial least squares, OPLS)建立了枸杞子产区判别模型,以期对不同产区的枸杞子判别以及质量控制提供科学依据和新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 液相色谱仪(Agilent Technologies, 美国),包括:G1312A 恒流泵, G1315B 检测器, G1328B 手动进样器和 Agilent Chemstation software 工作站;依利特 Sepherisorb ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); AT-950 柱温箱(天津 Automatic Science 仪器有限公司);KQ-250DE 型数控超声清洗机(昆山超声仪器有限公司,中国);BSA224S-CW 型万分之一电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,中国)。XQ100 克型多功能高速粉碎机(上海广沙工贸有限公司,中国);DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司,中国);飞鸽牌高速离心机(上海安亨科学仪器厂,中国)。

1.2 材料

乙腈(Mreda Technology Inc., 色谱纯);冰乙酸(天津市大茂化学试剂厂,中国,色谱纯);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);5个不同产区的枸杞子样品,经甘肃中医药大学晋玲教授鉴定为茄科(Solanaceae)枸杞属(*Lycium* L.)宁夏枸杞(*L. barbarum*),样品来源见表1。

表1 样品信息

Table 1 Sample information

编号 No.		产区 Origin	纬度 Latitude (°)	经度 Longitude (°)	海拔 Altitude (m)
训练集 Training set	预测集 Prediction set				
1~2	-	宁夏(中宁县)	32.79	105.41	1 183.40
3~4	26	宁夏(中卫市)	37.32	105.11	1 225.70
5~7	27	宁夏(同心县)	37.59	106.11	1 128.80
8~9	-	青海(格尔木)	36.25	94.55	2 807.60
10~11	28	青海(都兰县)	37.22	97.23	2 981.50
12~14	29	甘肃(玉门市)	40.16	97.02	1 526.00
15~16	30	甘肃(瓜州县)	40.32	95.47	1 170.90
17~18	31	内蒙(陕坝镇)	40.51	107.07	1 024.00
19~21	32	内蒙(包头市)	40.32	109.53	1 004.70
22~23	33	新疆(精河县)	44.34	82.49	329.20
24~25	34	新疆(伊宁市)	43.57	81.20	662.50

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取枸杞子样品 100 g 在 60 ℃ 下干燥 4 h 取出,用粉碎机粉碎。精确称取枸杞子粉末约 3.0 g,置于 250 mL 锥形瓶中,加纯净水 45 mL,60 ℃ 超声提取 30 min,提取液在 10 000 rpm 条件下离心 20 min,将离心液转至 50 mL 容量瓶中,用纯水定容至 50 mL,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,作为供试品溶液。

2.2 色谱条件

采用依利特 Sepherisorb ODS C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相由 0.3% 冰乙酸水 (A) 和乙腈 (B) 组成;梯度洗脱条件:0 ~ 60 min, 95% ~ 75% A;检测波长:310 nm;柱温:25 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验

取 1 号样品,按照“2.1”项下方法制备供试品溶液,按 2.2 色谱条件,连续进样 5 次,记录色谱图,以 21 号峰为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.14% ~ 2.10%,相对峰面积的 RSD 为 0.39% ~ 3.70%,表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验

取 1 号样品,按照“2.1”项下方法制备供试品溶液,按 2.2 色谱条件,分别于 0、2、4、6、8、24 h 进样测定。共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.39% ~ 2.37%,相对峰面积的 RSD 为 0.30% ~ 4.68%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3 重复性试验

取 1 号样品,按照“2.1”项下方法制备供试品溶液,按 2.2 色谱条件,以 21 号峰为参照峰,计算各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.04% ~ 1.53%,相对峰面积的 RSD 为 0.98% ~ 4.91%,表明方法重复性良好。

2.4 枸杞子指纹图谱的建立及相似度评价

2.4.1 指纹图谱的建立

称取 34 批枸杞子样品粉末,按“2.1”项下方法制备样品溶液,按 2.2 色谱条件进样测定。将 34 批枸杞子 HPLC 色谱图的数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,以 1、8、12、17 和 22 号样品 HPLC 色谱图为参照谱图,生成各自产区枸杞子样品的共有模式(见图 1),然后将各个产区的共有模式导入上述软件中,以宁夏产区共有模式为参照谱图,采用平均数相关系数法进行多点校正,时间窗宽度为 0.3 s,进行自动匹配,建立枸杞子样品对照指纹图谱,共确定 28 个共有峰(见图 2)。

2.4.2 相似度评价

将 34 批枸杞子 HPLC 色谱图的数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,进行相似度评价,计算各个产区枸杞子样品之间的相似度,见表 2。由表 2 数据可知,各产区内枸杞子样品之间的相似度均大于 0.900,说明各个产区内样品之间整体差异性较小。以宁夏产区对照指纹图谱为参照,计算各产区对照指纹图谱之间的相似度,见表 3,相似度为 0.898 ~ 0.992,表明不同产区枸杞子样品之间有差异性也有相似性。其中宁夏和青海之间

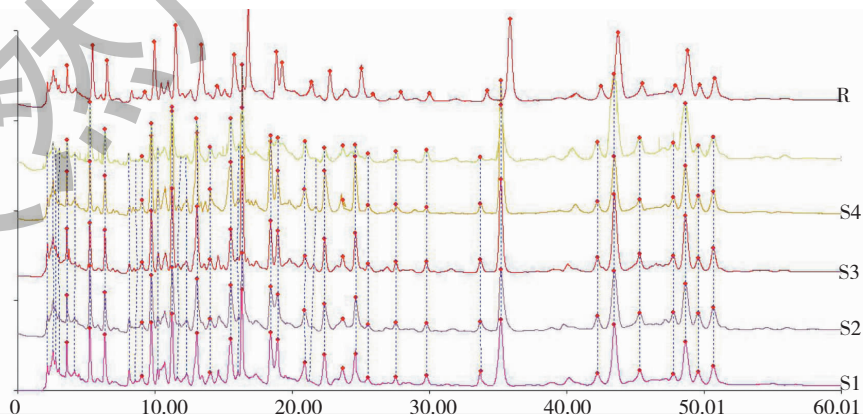


图 1 不同产区枸杞子对照指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of Lycii fructus from different origins

注:S1. 甘肃产区共有模式;S2. 内蒙产区共有模式;S3. 宁夏产区共有模式;S4. 青海产区共有模式;S5. 新疆产区共有模式;R. 对照指纹图谱。
Note: S1. Fingerprint of Gansu; S2. Fingerprint of Inner Mongolia; S3. Fingerprint of Ningxia; S4. Fingerprint of Qinghai; S5. Fingerprint of Xinjiang; R.

Standard fingerprint.

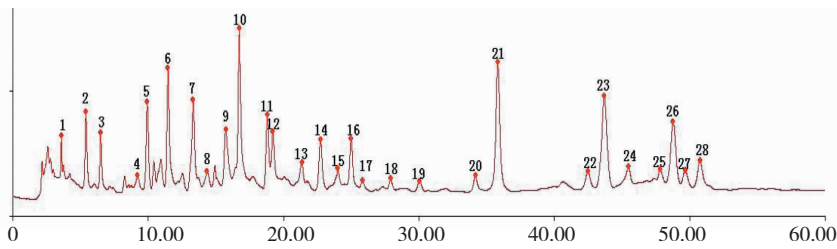


图2 枸杞子对照指纹图谱

Fig. 2 Standard fingerprint of Lycii fructus

的相似度最为靠近,甘肃和内蒙之间的相似度接近,新疆和宁夏以及其它地区的相似度相差较远,表明由于产区地理生态环境的差异导致样品之间有一定的不同。

表2 同一产区枸杞子相似度

Table 2 Similarities of Lycii fructus between the same origins

产区 Origin	相似度 Similarity
甘肃 Gansu	0.954 ~ 0.971 (n = 5)
内蒙 Inner Mongolia	0.977 ~ 0.995 (n = 5)
宁夏 Ningxia	0.951 ~ 0.993 (n = 7)
青海 Qinghai	0.974 ~ 0.991 (n = 4)
新疆 Xinjiang	0.988 ~ 0.995 (n = 4)

表3 不同产区枸杞子相似度

Table 3 Similarities of Lycii fructus between different origins

产区 Origin	相似度(对照图谱) Similarity (Standard fingerprint)
甘肃 Gansu	0.956
内蒙 Inner Mongolia	0.961
宁夏 Ningxia	0.992
青海 Qinghai	0.989
新疆 Xinjiang	0.898

2.5 化学计量学分析

2.5.1 聚类分析

21号峰面积稳定、峰形良好、保留时间为35 min左右,选其为参照峰,计算其余28个色谱峰的相对峰面积,将共有峰相对峰面积数据导入SIMCA 14.1软件对枸杞子样品进行聚类分析,采用Ward法,计算样品之间的分类距离,见图3。由图可知,新疆的样品聚为一类,宁夏的样品聚为一类,青海的样品聚为一类,甘肃和内蒙的样品聚为一类,新疆和宁夏的样品距离相差较远,宁夏和青海的样品距离

相差较远,此结果和相似度分析结果一致。

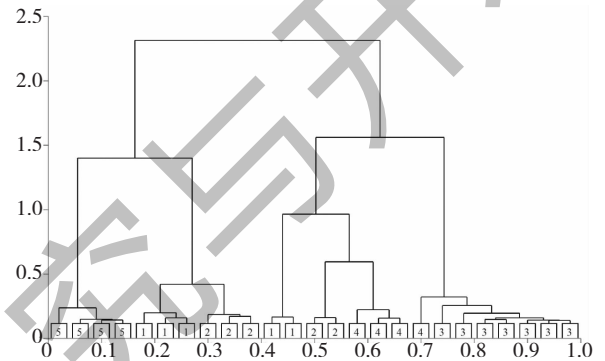


图3 枸杞子聚类图

Fig. 3 Classification clustering map of Lycii fructus

注:1. 甘肃;2. 内蒙;3. 宁夏;4. 青海;5. 新疆。Note: 1. Gansu; 2. Inner Mongolia; 3. Ningxia; 4. Qinghai; 5. Xinjiang.

2.5.2 主成分分析

采用SIMCA 14.1软件对原始数据进行处理,以枸杞子样品指纹图谱中的28个共有峰为变量进行主成分分析。前两个主成分累积贡献率达82.3%,可反映大部分特征峰的信息,以前两个主成分建立坐标系得到主成分的得分图(图4)。结果显示,对于大多数样品来说,不同产区的枸杞子样品呈现明显的分离,相同产区的样品有很好的集聚,但是甘肃产区样品较为离散,可能是由于样品采集地点的土壤因素及其他环境因素导致样品的有效成分含量有差异^[11],导致样品之间较为离散。新疆产区的样品偏离其他产区样品较远,说明其化学成分含量与其它产区存在显著差异。甘肃与内蒙产区、宁夏与青海产区样品较为接近,说明这些产区的样品之间化学成分含量类似,此结果与相似度分析及聚类分析一致。

载荷图中每个点代表1个特征峰,其与中心点的远近表示该变量在样品组分中所做贡献的大小;离中心点的距离越远,表示其在不同样品中差别越大,对分类模型贡献越大。P12在主成分2上贡献

率最大,为 46.0%,P23 和 P26 在主成分 1 上贡献率较大,分别为 55.2% 和 41.9%。由载荷矩阵图(图 5)得到区别不同产区枸杞子的 3 个(P12、P23、P26)差异化合物。

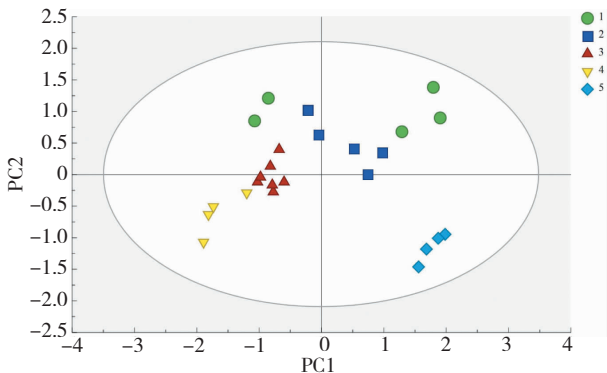


图 4 样品 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of samples

注:1. 甘肃;2. 内蒙;3. 宁夏;4. 青海;5. 新疆。

Note: 1. Gansu; 2. Inner Mongolia; 3. Ningxia; 4. Qinghai; 5. Xinjiang.

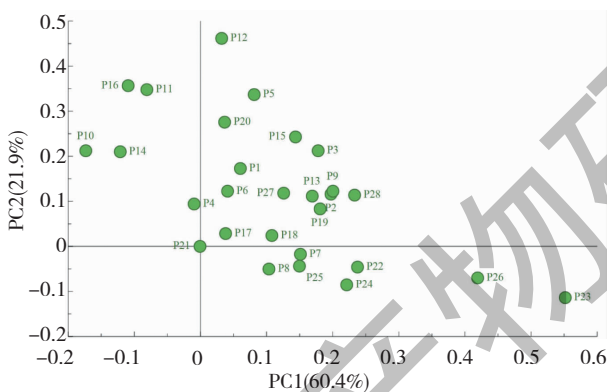


图 5 样品 PCA 载荷图

Fig. 5 PCA loading diagram of samples

2.5.3 产区判别分析

以共有峰相对峰面积为 X 变量,不同的产区为分类变量 Y (甘肃为 1,内蒙为 2,宁夏为 3,青海为 4,新疆为 5),用训练集样品(1~25 号)建立正交偏最小二乘判别模型,模型 $R^2 Y$ 为 0.947, Y 变量的 Q^2 为 0.890,说明所建模型良好^[12]。以预测成分的得分值($Tp[1]$)和第 1 个正交成分的得分值($To[1]$)绘制得分散点图,如图 6 所示,不同产区样品可以在得分散点图上明显区分。

为验证所建模型的真实性和可靠性,对模型进行置换检验,随机打乱 Y 变量的顺序 200 次,观察 Y 变量随机排列的模型与原始 Y 变量模型之间的差异^[13]。然后对 Y 变量随机排列模型的 R^2 值、 Q^2 值

与原始判别模型的 R^2 值、 Q^2 值之间做回归线,见图 7。最右端原始模型的 Q^2 值和 R^2 值大于左边任何一个随机排列模型的值, Q^2 于 Y 轴的截距是负值,且置换检验得到的 $R^2 Y = 0.283$ 和 $Q^2 = -0.673$ 均小于原始值,由此可得此模型没有出现拟合现象,模型的预测能力良好、可靠^[14]。

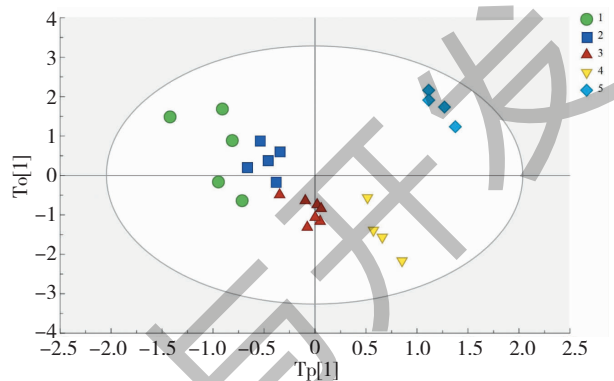


图 6 训练集样品 OPLS 得分图

Fig. 6 OPLS score plot of samples from training set

注:1. 甘肃;2. 内蒙;3. 宁夏;4. 青海;5. 新疆。

Note: 1. Gansu; 2. Inner Mongolia; 3. Ningxia; 4. Qinghai; 5. Xinjiang.

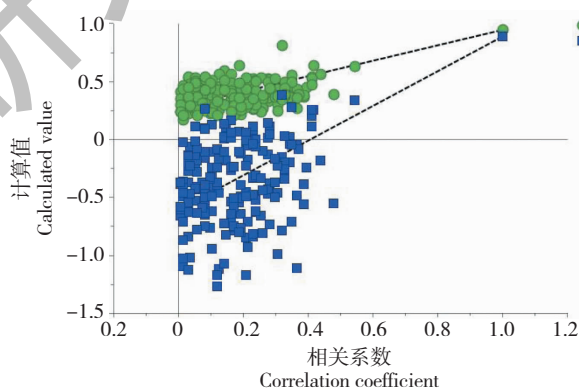


图 7 OPLS 模型的置换检验

Fig. 7 Permutation test of OPLS model

采用所建立的模型,对训练集中的 25 个样品进行内部预测,对预测集中的 9 个隐藏产区信息的样品(26~34 号)进行外部预测,当类别变量计算值 Y Pred PS 在 1 ± 0.5 之间时,判断为甘肃产区样品;在 2 ± 0.5 之间时,判断为内蒙产区样品;在 3 ± 0.5 之间时,判断为宁夏产区样品;在 4 ± 0.5 之间时,判断为青海产区样品;在 5 ± 0.5 之间时,判断为新疆产区样品,若计算值不在相应的区间,表示归类不明确^[15]。图 8 中以样品类别变量的真实值为横坐标,计算值 Y Pred PS 为纵坐标,绘制散点图,反映了训练集中样品类别变量真实值与计算值之间的关系,

内部预测结果显示,共有2个样品(甘肃玉门和宁夏中卫)被误判,其判别正确率为89.0%。将预测集中的9个样品带入训练集创建的OPLS模型中进行外部预测,根据计算得到的类别变量值判断样品的产区,预测结果见表4,所有样品均得到正确识别,表明所建模型可以准确的预测未知枸杞子样品产区。

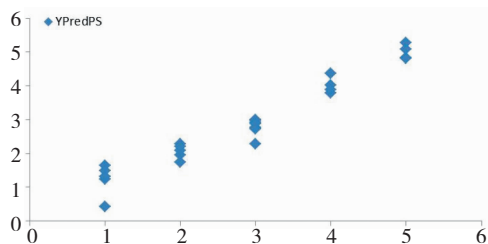


图8 训练集中样品类别变量真实值与计算值之间的关系图

Fig. 8 Relationship between real values and calculated values of samples from training set

表4 枸杞子产区预测结果(9批)

Table 4 Origins prediction results of Lycii fructus (9 batches)

编号 No.	实际产区 Real origin	预测产区 Predicted origin	预测结果 Prediction resul
26	宁夏中卫	宁夏	正确
27	宁夏同心	宁夏	正确
28	青海都兰	青海	正确
29	甘肃玉门	甘肃	正确
30	甘肃瓜州	甘肃	正确
31	内蒙陕坝	内蒙	正确
32	内蒙包头	内蒙	正确
33	新疆精河	新疆	正确
34	新疆伊宁	新疆	正确

3 讨论

3.1 试验条件优化

3.1.1 提取溶剂和提取方法的优化

分别对不同提取溶剂(水、60%乙醇、甲醇)、提取时间(30 min、1 h、2 h)、提取方法(超声提取、加热回流提取、高速剪切提取、恒温搅拌提取、冷浸)、提取温度(25、40、60、80 ℃)进行了考察,结果发现60 ℃下水超声提取30 min的色谱峰最多,峰面积大,基线相对平稳,同时简单方便,绿色环保,最终确定2.1项下供试品溶液的提取方法。

3.1.2 色谱条件的优化

考查了不同检测波长(220、254、280、310、360

nm)、相同规格(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)不同型号色谱柱(依利特 Sinochrom ODS-AP、依利特 Sinochrom ODS-BP、依利特 Hypersil BDS C₁₈、依利特 Spherisorb C₁₈、依利特 Hypersil ODS2、Megres C₁₈、依利特 Sepherisorb ODS C₁₈)、不同比例和梯度的流动相系统(水、甲醇、乙腈、0.1%乙酸水、0.2%乙酸水、0.3%乙酸水、0.5%乙酸水、1%乙酸水)、柱温(20、25、30、35 ℃)等对指纹图谱的影响,以峰数量、基线平稳、峰分离度等为依据进行了筛选,最终确定了2.2项下的色谱条件,该色谱条件下指纹图谱色谱峰较多,分离效果较好。

3.2 化学模式结果讨论

不同产区内的枸杞子样品间相似度分析、聚类分析、主成分分析结果基本一致,说明各个产区样品间的化学成分组成较为相似。但各产区间的成分含量存在差异,分析原因可能与不同产区的土壤、气候、水分等生态环境有关。有研究表明土壤灌溉水分会影响枸杞子总糖、总酸、总黄酮以及甜菜碱等化学成分的含量^[16-18],而通过地理国情监测云平台查阅到不同产区的平均年降水量均有所差异,甘肃和内蒙地区的为400 mm左右,两者比较接近;宁夏及青海地区的不足200 mm,这可能就造成了这些产区之间枸杞子的相似性及差异性。也有研究表明基质、地膜覆盖以及施肥条件会影响枸杞子内源营养物质以及总黄酮含量^[19,20],造成质量差异性。此外,郎振华^[21]在进行瓜州县枸杞发育期监测时发现枸杞生长与气温及光照密切相关,通过地理国情监测云平台查阅到新疆地区年均气温在-23 ~ 17.8 ℃之间,气温波动比较大,光照时间较长且降水低,这些因素可能就造成了新疆地区枸杞子同其他地区枸杞子相似度不高的原因。通过PCA载荷图找出导致不同产区之间具有差异性的色谱峰,为P12、P23和P26,通过OPLS建立了产区识别模型,模型判别率为89.0%,为了进一步验证所建模型的准确性,对其他9个隐藏掉产区信息的枸杞子样品进行了产区预测,结果全部预测准确,证明所建模型良好。

综上所述,本研究将指纹图谱和化学计量学进行了有效结合,建立了一种枸杞子的产区辨别模型,同时也为其它中药材产区的鉴别提供了一种新思路。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the

- People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 249.
- 2 Tang HL, Chen C, Wang SK, et al. Biochemical analysis and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 77: 235-242.
 - 3 Li WJ, Wang CZ, Ye JZ, et al. Effect of different extraction order on the yield of *Lycium Barbarum* pigment and polysaccharides and their antioxidant activities [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31: 932-939.
 - 4 Li J, Yu Y, Guo LP, et al. Study on quality regionalization of *Lycii Fructus* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44: 1156-1163.
 - 5 Wang YJ, Liang XJ, Zhang B, et al. Effects of different habitats on the fruit morphology and sugar content of *Lycium Barbarum* L. [J]. *Agric Res Arid Areas* (干旱地区农业研究), 2018, 36: 68-75.
 - 6 Yang SF, Wang YW, Cheng W, et al. Study on establishing HPLC fingerprint of *Lycium chinense* [J]. *Food Ind* (食品工业), 2014, 35: 273-275.
 - 7 Li XT, Li RY, Xiang HE, et al. Study on quality evaluation of *Lycium chinense* from different areas by HPLC fingerprint and cluster analysis [J]. *Mod Food Sci Tech* (现代食品科技), 2012, 28: 1251-1253.
 - 8 Peng Y, Sun SQ, Zhao ZZ, et al. A rapid method for identification of genus *Lycium* by FTIR spectroscopy [J]. *Spectrosc Spect Anal* (光谱学与光谱分析), 2004, 24: 679-681.
 - 9 Lei JG. The research on optimization of near infrared traceability model of *Lycium barbarum* L. [D]. Yinchuan: Ningxia University (宁夏大学), 2013.
 - 10 Bai GC, Li YQ, Zhang ZK, et al. Quality evaluation of *Lycium barbarum* L. from different areas by HPLC fingerprint and data analysis [J]. *Centr South Pharm* (中南药学), 2018, 16: 725-730.
 - 11 Hao SY, Baoge RL, Su XD, et al. Effects of different fertilizers on photosynthetic properties, yield and quality of *Lycium barbarum* L. in the yellow river irrigation area [J]. *J Agric Sci Tech* (中国农业科技导报), 2018, 20: 101-107.
 - 12 Li F, Li Q, Gu ZR, et al. Origin identification and prediction of *Astragali Radix* based on fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1712-1717.
 - 13 Zhu AY. Builing traceability systems of Ganan navel orange based on metabolomics technology [D]. Nanchang: Nanchang University (南昌大学), 2018.
 - 14 Huang L, Fuchino H, Kawahara N, et al. Application of a new method, orthogonal projection to latent structure (OPLS) combined with principal component analysis (PCA), to screening of prostaglandin E2 production inhibitory flavonoids in *Scutellaria Root* [J]. *J Nat Med*, 2016, 70: 731-739.
 - 15 Chen L, Liu HB, Luo LT. Detection of honey adulteration with high fructose syrups using ¹H nuclear magnetic resonance and orthogonal partial least squares [J]. *Food Sci* (食品科学), 2017, 38: 275-282.
 - 16 Yin ZR, Lei JY, Gui LG, et al. Effects of different drip irrigation on growth, yield and quality of *Lycium barbarum* L. from different varieties [J]. *J Irrig and Drain* (灌溉排水学报), 2018, 37: 28-34.
 - 17 Zheng GB, Zhang YH, Zhang YP, et al. Effects of irrigation amount on water use efficiency, fruit yield and fruit quality of *Lycium barbarum* in arid area [J]. *Xinjiang Agric Sci* (新疆农业科学), 2018, 55: 2212-2219.
 - 18 Su XL, Zheng GQ, Liu GH, et al. Effect of soil moisture on the quality of *Lycium barbarum* L. in saline-alkali land during the fruit picking period [J]. *Acta Agric Bor-Occid Sin* (西北农业学报), 2015, 24: 126-132.
 - 19 Song DC, Wang YK, He FL, et al. Effects of substrate and plastic mulching on the growth and endogenous nutrient content of *Lycium barbarum* cuttings [J]. *J Northwest For Univ* (西北林学院学报), 2018, 33: 72-77.
 - 20 Dong WH, Yan YX, Li YX. Effect of sodium selenite on the content of total flavonoids and polysaccharides of *Lycium barbarum* L. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2013, 24: 2259-2260.
 - 21 Lang ZH. Monitoring of *Lycium barbarum* L. development in Guazhou County and analysis of related meteorological conditions [J]. *Mod Agric Tech* (现代农业科技), 2016, 9: 251.