

UHPLC-DAD-ESI-MS/MS 法分析紫山药块根和茎叶中酚类物质

周丽^{1,2}, 史新敏³, 任香梅², 张金鹏², 秦志宏¹

(1. 中国矿业大学化工学院, 江苏徐州 221116) (2. 徐州医学院公共卫生学院, 江苏徐州 221004)

(3. 中国农业科学院甘薯研究所, 江苏徐州 221121)

摘要: 本文采用微波辅助法, 以 80% 甲醇作为溶剂提取经冻干后紫山药块根和地上茎叶中的多酚类物质, 提取物经超高效液相色谱分离、电喷雾串联三重四级杆质谱正和负离子方式检测分析。根据液相保留时间、紫外吸收、相对分子质量和二级碎片离子等信息, 结果表明, 紫山药块根和茎叶中酚类物质主要为酚酸、花色苷及黄酮类化合物。分析得到的 29 种酚类化合物中, 5-O-咖啡酰奎宁酸、阿魏酰奎宁酸 (t_R : 12.289)、迷迭香酸、芦丁和槲皮素为块根和茎叶共有组分, 块根中另含有芥子酸、芥子酸葡萄糖苷、丁香酸衍生物、香豆酸衍生物、阿魏酸衍生物、芥子酸二葡萄糖苷和花色苷等 11 种酚类物质。茎叶中除 5 种共有组分, 还含有咖啡酸、咖啡酰奎宁酸甲酯、咖啡酰莽草酸、对香豆酰奎宁酸、香豆酰奎宁酸甲酯、山奈酚-3-O-芦丁糖苷与迷迭香酸甲酯等 13 种酚类化合物。

关键词: 紫山药; 多酚; 超高效液相色谱-电喷雾离子源-三重四级杆质谱联用仪

文章编号: 1673-9078(2016)11-310-315

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.046

Identification of Phenolic Components in the Root and Leaf of Purple Yam

(*Dioscorea alata*) by UHPLC-DAD-ESI-MS/MS

ZHOU Li^{1,2}, SHI Xin-min³, REN Xiang-mei², ZHANG Jin-peng², QIN Zhi-hong¹

(1.School of Chemical Engineering & Technology, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China)

(2.School of Public Health, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, China)

(3.Sweetpotato Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xuzhou 221121, China)

Abstract: Total polyphenols were obtained from the freeze-dried root and leaf of *Dioscorea alata* by microwave-assisted extraction using 80% methanol as the extraction solvent. The extract was analyzed by ultra-high-performance liquid chromatography with diode array detector coupled with electrospray ionization-tandem mass spectrometry (UHPLC-DAD-ESI-MS/MS) in the positive/negative ion mode. Based on the retention time, ultraviolet absorption, relative molecular weight, and MS² fragmentation pattern in LC-MS chromatography, the main phenols in the root and leaf of *Dioscorea alata* were phenolic acids, anthocyanins, and flavonoids. Twenty-nine phenolic compounds were identified in the purple yam, and 5-O-caffeoylquinic acid, feruloylquinic acid (t_R : 12.289), rosmarinic acid, rutin, and quercetin were the common components in both root and leaf. Eleven further phenolic compounds were identified from the root of purple yam, including sinapic acid, sinapic acid-glucosides, syringic acid derivatives, coumaric acid derivatives, ferulic acid derivatives, sinapic acid-digluconide, and anthocyanins. Furthermore, 13 phenolic compounds were found in the leaf of purple yam, including caffeic acid, caffeoylquinic acid methyl ester, caffeoyl shikimic acid, *p*-coumaroylquinic acid, coumaroylquinic acid methyl ester, kaempferol-3-O-rutinoside, and rosmarinic acid methyl ester.

Key words: *Dioscorea alata*; phenolic components; ultra-high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry (UHPLC-ESI-MS/MS)

紫山药 (*Dioscorea alata*) 又名“紫人参”和紫淮山等, 是薯蓣科 (*Dioscoreae*) 山药属 (*Dioscorea L.*)

收稿日期: 2015-12-23

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目 (SCX(14)2090); 江苏省科技支撑计划项目 (BE2014313)

作者简介: 周丽 (1977-), 女, 在读博士, 研究方向: 食品功能化学

通讯作者: 秦志宏 (1963-), 男, 教授, 研究方向: 应用化学

一年或多年生块根类作物, 我国南方的广东、海南、广西、浙江、江苏、贵州、江西及云南等省均有栽培, 是当地农业经济发展的优势农产品和农民致富的重要经济作物。紫山药富含蛋白质、维生素、多糖、胆碱与薯蓣皂苷等成分^[1], 具有健脾胃、补肺、固肾和益精等功效, 长期食用可强身健体防病, 是集味美和保健作用于一体的新型药食两用蔬菜。紫山药地上部分

生长旺盛, 多有分支, 其茎蔓顶端幼嫩部分采摘后可作为蔬菜食用^[2]。

植物多酚 (polyphenols) 是一类存在于植物中的多羟基酚类化合物的总称, 主要包括黄酮类、单宁类、花色苷类与酚酸类等, 广泛存在于茶叶、水果、蔬菜和豆类等植物中。近年来, 大量研究结果表明, 多酚类成分在抗氧化、抗菌、抗病毒、抗微生物、调血脂和降血糖等多方面有着良好的效果。国内外关于紫山药中多酚类物质的研究多集中于花色苷提取、分离和鉴定^[1,3], 对其他酚类物质的研究却鲜见报道, 仅检索到于东等^[4]应用 HPLC-MS 检测出浙江产紫山药中含有阿魏酸和芥子酸两种酚酸类物质, 而关于紫山药叶中多酚化合物的研究尚未见报道。

LC-MS 联用技术是将 HPLC 对复杂样品的高分离能力与 MS 的高选择性和高灵敏度有效结合起来, 可迅速地分析确定成分的结构, 因此在天然产物鉴定、药物检测、食品检测和环境监测等领域具有广阔的应用前景, 并且随着各种离子化技术的不断发展, LC-MS 联用技术必将发挥越来越重要的作用。本研究采用超高效液相色谱-二极管阵列-电喷雾串联质谱法 (UHPLC-DAD-ESI-MS/MS), 对紫山药块根和茎叶甲醇提取物中的多酚类化合物进行分析研究, 以期进一步揭示紫山药的酚类物质组成, 为充分开发利用紫山药这一优质资源提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

紫山药地下块根与地上茎叶材料于 2015 年 10 月采于中国农业科学院甘薯研究所种植园, 采后洗净, 沥干水分后冻干, 粉碎过 40 目筛, 封口包装, -20 °C 存放备用。

1.2 试剂及仪器

1.2.1 试剂

迷迭香酸、芦丁、槲皮素、山奈酚标准品 (纯度 >98%): 中国药品生物制品检定所; 甲醇 (分析纯, 提取用): 国药集团化学试剂有限公司; 冰乙酸 (色谱纯, 液相用): 天津市康科德科技有限公司; 水 (液相用): 杭州娃哈哈集团有限公司; 甲醇 (色谱纯, 液相用): 德国 Merck。

1.2.2 主要仪器

MDS-6G 型微波消解/萃取系统: 上海新仪微波化学科技有限公司; RE-52B 型旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器厂; ModulyoD-230 冷冻干燥机: 美国热电公

司; Agilent 1290 Infinity DAD detector-Agilent 6430 三重四级杆质谱联用仪: 美国安捷伦科技公司。

1.3 方法

1.3.1 样品液的制备

精密称取紫山药块根和地上茎叶干燥粉末 1.00 g, 加入 50 mL、80% 甲醇水溶液, 微波提取 2 min (微波功率 500 W, 频率 2450 MHz), 抽滤, 收集滤液。块根提取液减压浓缩至一定体积后, 加甲醇溶解定容至 25 mL, 与茎叶提取物分别过 0.22 μm 滤膜后进样。

1.3.2 标准品溶液的配制

精确称取迷迭香酸、芦丁、槲皮素和山奈酚标准品各 2.0 mg, 甲醇溶解定容至 10 mL, 即得浓度为 200 μg/mL 的各标准品溶液, 备用。

1.3.3 UHPLC-MS/MS 分析条件

1.3.3.1 色谱条件

色谱柱: Thermo Scientific Hypersil ODS-2 (250×4.0 mm, 5 μm); 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 2 μL; 检测波长 320 nm; DAD 扫描波长范围: 190~600 nm; 流动相: A: 0.15% 冰乙酸, B: 甲醇; 流动相梯度: 0 min (15% B), 10 min (25% B); 25 min (35% B); 40 min (65% B)。

1.3.3.2 质谱条件

电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI), 正离子 (PI)、负离子 (NI) 方式; 扫描区间: m/z 100~1000; 喷雾电压: 90 V; 雾化压力 30 psi; 干燥气体流速 11 L/min; 温度 350 °C; 毛细管压力: 3500 V。锥孔电压: 135 V; 二级质谱碰撞能量: 10~20 eV。

2 结果与讨论

根据 ESI-MS/MS 所测定的 $[M-H]^-/[M+H]^+$ 值, 碎片及二级质谱信息, 结合文献与标准品, 分析得到 29 个酚类组分, 其中 5-O-咖啡酰奎宁酸、阿魏酰奎宁酸 (t_R : 12.289)、迷迭香酸与芦丁和槲皮素为块根和茎叶共有组分。紫山药块根中除 5 种共有组分, 还有芥子酸、丁香酸衍生物与花色苷等 11 种酚类组分, 茎叶中另有咖啡酰奎宁酸甲酯、咖啡酰莽草酸、对香豆酰奎宁酸、香豆酰奎宁酸甲酯与山奈酚-3-O-芦丁糖苷等 13 种酚类组分, 结果见表 1, 色谱图如图 1 所示。

1、5、7、22 号峰在负离子全扫描一级质谱图中, 分子离子峰 m/z 均为 367 $[M-H]^-$, 化合物 1、5 和 7 的离子碎片极为相似, 三者负离子模式下均产生碎片离子峰 m/z 193、179, 在正离子全扫描一级质谱图中, 均存在钠加合离子峰 m/z 391 及碎片离子峰 m/z 177 $[QA+H-H_2O]^+$, 其紫外吸收最大波长同为 240、325

nm, 根据相对分子量、紫外吸收及相关文献^[5], 推测其为阿魏酰奎宁酸异构体。化合物 22 负离子扫描下无碎片离子峰 m/z 193, 对 m/z 为 367 进行二级质谱扫描产生碎片 m/z 191、179、161 和 135, 同样无碎片离子峰 m/z 193, 故而推测化合物 22 为咖啡酰奎宁酸甲酯。

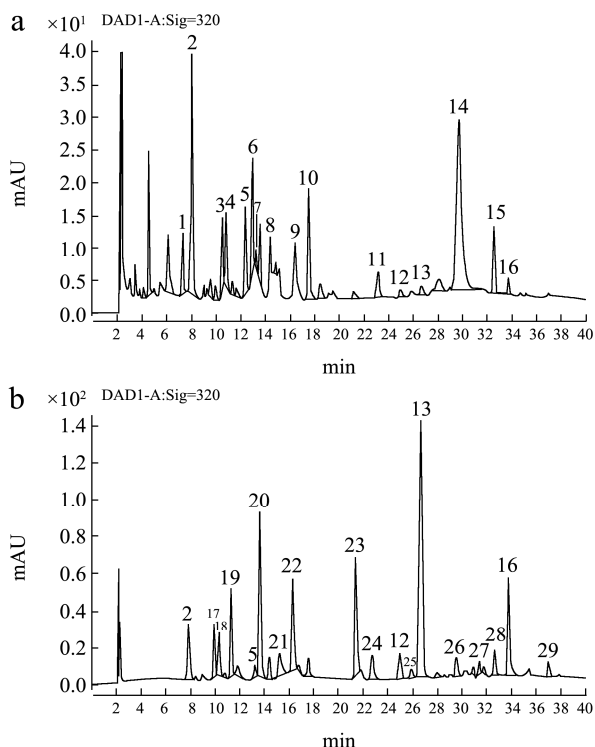


图1 紫山药地下块根 (a) 与地上茎叶 (b) 色谱图

Fig.1 Chromatograms of the root (a) and leaf (b) of *Dioscorea alata*

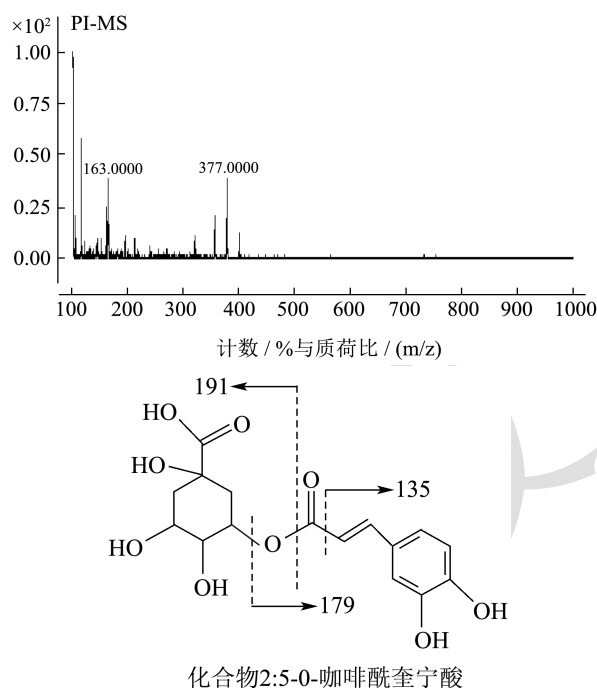
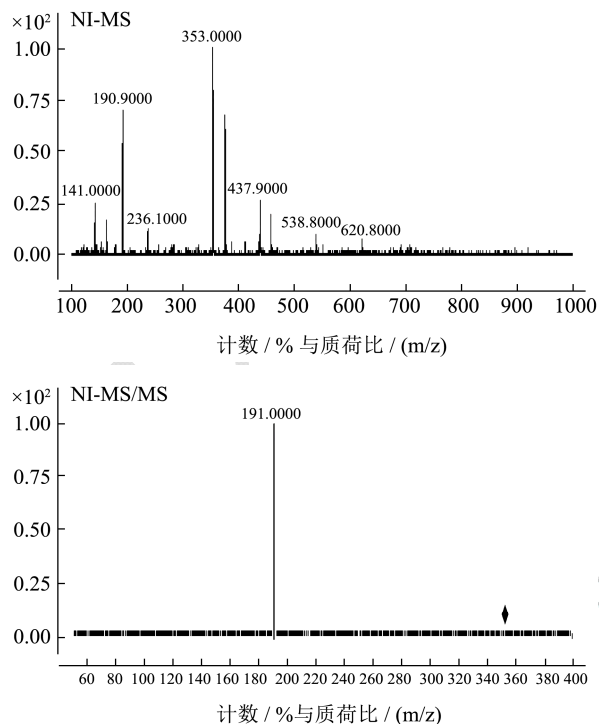


图2 化合物 2 的一级、二级质谱图及其断裂方式

Fig.2 MS, NI-MS/MS spectra and fragmentation pattern of compound 2

峰 2 由色谱图可知其为紫山药块根的主要酚酸, 同样存在于地上茎叶提取物中 (图 1)。负离子扫描的分子离子峰 m/z 为 353, 咖啡酸基团的特征离子峰 m/z 161, 正离子扫描中钠加合离子峰 m/z 377, 而且对 m/z 为 353 离子进行二级质谱分析产生碎片 m/z 191, 为奎宁酸的特征峰 (见图 2), 紫外最大吸收波长为 240、325 nm, 与相关报道相似^[6], 因而可推测其为 5-O-咖啡酰奎宁酸。

峰 3、6 和 10 负离子扫描方式的分子离子峰 m/z 分别为 385、547 和 223, 对其进行二级质谱分析, 产生的碎片分别为 m/z 223 [M-162]、205 [M-162-18], m/z 385 [M-162]、223 [M-162-162]、208 [M-162-162-15], m/z 208 [M-15]、193 [M-15-15], 表明化合物 3 含有 1 个葡萄糖苷, 化合物 6 含有 2 个葡萄糖苷, 结合相对分子量与文献^[5]推断其分别为芥子酸葡萄糖苷、芥子酸二葡萄糖苷和芥子酸, 这与于东等人的研究发现紫山药中含有芥子酸结果相一致^[4]。

峰 4、21 负离子扫描的分子离子峰 m/z 为 337、349, 对化合物 4 进行二级质谱分析, 产生碎片离子 m/z 197、182, 根据相关文献^[6], 可以推测其为丁香酸衍生物; 化合物 21 正离子模式下出现钠加合离子峰 m/z 373, 其紫外最大吸收波长为 225, 280 nm, 因没有更多文献资料而不能确定是何种化合物。14、15 号峰正离子扫描的 m/z 为 679、792, 为 [M+H]⁺ 峰, 于

535 nm 处有最大吸收, 结合文献^[3], 推测其为花色苷类物质。化合物 14、15、21 的具体结构特点有待进一步研究。

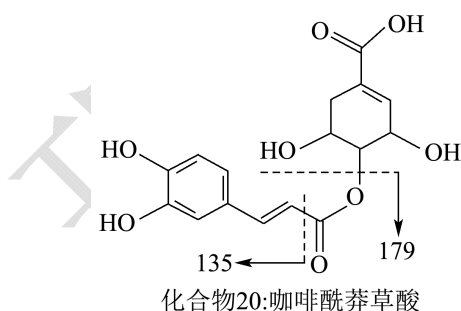
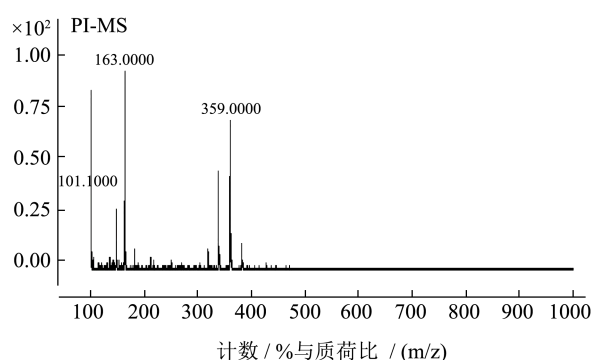
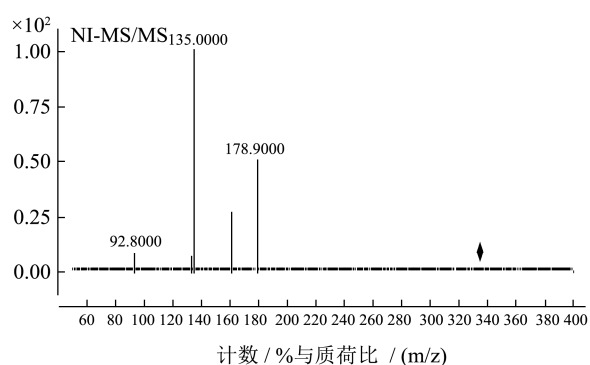
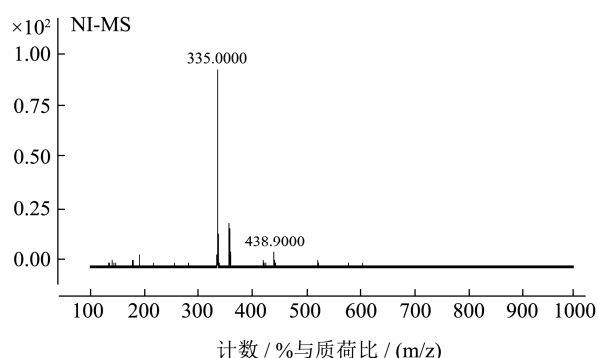


图3 化合物20的一级、二级质谱图及其断裂方式

Fig.3 MS, NI-MS/MS spectra and fragmentation pattern of compound 20

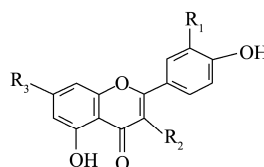
8、19、23、24 号峰具有相似的紫外吸收, 负离子扫描的分子离子峰 m/z 分别为 293、337、351 和 351, 对其进行二级质谱分析, 均产生碎片 m/z 119, 化合物 8、23、24 二级质谱中有典型的香豆酸碎片峰 m/z 163、

145, 结合相对分子量及相关文献^[6,7], 推测化合物 8 为香豆酸衍生物, 化合物 19 为对香豆酰奎宁酸, 化合物 23、24 为对香豆酰奎宁酸甲酯异构体。

9、12、17、25 和 28 号峰在 320~330 nm 之间有最大紫外吸收, 为咖啡酸类化合物。其负离子扫描的分子离子峰 m/z 分别为 323、359、179、349 和 373, 化合物 9 在 NI 模式下出现碎片 m/z 193、173, PI 模式下有典型的 $[M+Na]^+$ m/z 347, 推测其结构可能为阿魏酰莽草酸; 化合物 12 与标准品迷迭香酸在出峰时间、紫外吸收、相对分子量与二级质谱特征等方面表现出高度的一致性, 因而鉴定化合物 12 为迷迭香酸, 与此类似, 28 号峰二级质谱产生碎片离子峰 m/z 179、135, 分子量比化合物 12 多 14, 因而推测此峰可能为迷迭香酸甲酯; 根据相对分子量与文献^[8], 推测化合物 17、25 为咖啡酸和咖啡酰莽草酸甲酯。

峰 18 负离子扫描的 m/z 为 317, 即 $[M-H]$ 为 317, 对其进行二级质谱分析, 产生碎片 m/z 191、163、153、109, 紫外最大吸收波长为 230、290 nm, 根据文献^[6], 可推测其为奎宁酸衍生物。

峰 20 负离子扫描的 m/z 为 335, 正离子扫描中钠加合离子峰 359, 而且对 m/z 为 335 离子进行二级质谱分析产生碎片 m/z 179、161、135, 为咖啡酸的特征峰 (见图 3), 紫外最大吸收波长为 220、325 nm, 与相关报道相似^[9,10], 可推测其为咖啡酰莽草酸。



	R ₁	R ₂	R ₃
槲皮素-3-,7-二-O-葡萄糖苷 (11)	H	O-Glc	O-Glc
芦丁 (13)	OH	O-Rut	OH
槲皮素 (16)	OH	OH	OH
山奈酚-3-O-芦丁糖苷 (26)	H	O-Rut	OH
异鼠李素-3-O-芦丁糖苷 (27)	OCH ₃	O-Rut	OH
山奈酚 (29)	H	OH	OH

图4 紫山药甲醇提取物中黄酮类化合物的结构

Fig.4 Structure of flavonoids identified by LC-MS/MS in the hydromethanolic extract of *Dioscorea alata*

11、13、16、26、27 和 29 号峰为黄酮类化合物 (见图 4), 负离子扫描的分子离子峰 m/z 分别为 625、609、301、593、623 和 285, 结合相关文献^[11,12]以及比较化合物 13、16、29 与标准品芦丁、槲皮素和山奈酚在紫外吸收、相对分子量及二级质谱特征等方面的一致性, 可以鉴定化合物 13、16、29 分别为芦丁、槲皮素与山奈酚; 对化合物 11 进行二级质谱分析, 产生碎片离子 m/z 463 $[M-H-162]$ 、301 $[M-H-162-162]$, 其紫外吸收最大波长为 253、350 nm, 根据相对分子量、

紫外吸收特征及相关文献^[13],因而推测其为槲皮素-3,7-二-O-葡萄糖苷;对化合物 26 和 27 进行二级质谱分析,分别产生碎片离子 m/z 285、284 和 315、300,根

据相对分子量与相关文献^[14],推测其分别为山奈酚-3-O-芦丁糖苷和异鼠李素-3-O-芦丁糖苷。

表 1 紫山药块根与地上茎叶酚类物质质谱分析结果

Table 1 MS analysis results of phenolic components of the root and leaf of *Dioscorea alata*

序号	t_R /min	$[M-H]^-/[M+H]^+(m/z)$	MS^2	$UV\lambda_{max}/nm$	化合物	块根	茎叶
1	7.305	367	337, 193, 179	240, 325	阿魏酰奎宁酸异构体 1	+	-
2	7.920	353	191	240, 325	5-O-咖啡酰奎宁酸	+	+
3	10.363	385	223, 205, 141	245, 330	芥子酸葡萄糖苷	+	-
4	10.680	337	309, 279, 197, 182	225, 280	丁香酸衍生物	+	-
5	12.289	367	255, 217, 173, 141	245, 325	阿魏酰奎宁酸异构体 2	+	+
6	12.840	547	385, 223, 208, 141	240, 325	芥子酸二葡萄糖苷	+	-
7	13.123	367	255, 217, 173, 141	245, 325	阿魏酰奎宁酸异构体 3	+	-
8	14.301	293	255, 163, 145, 119	245, 320	香豆酸衍生物	+	-
9	16.287	323	217, 193, 173, 141	245, 320	阿魏酸衍生物	+	-
10	17.433	223	208, 193, 141	245, 330	芥子酸	+	-
11	23.033	625	463, 301, 267	253, 350	槲皮素-3,7-二-O-葡萄糖苷	+	-
12	24.860	359	217, 197, 179, 161	245, 300, 325	迷迭香酸	+	+
13	26.689	609	301, 300	255, 355	芦丁	+	+
14	29.573	679 ($[M+H]^+$)	362, 340, 269	245, 330, 535	未知花色苷	+	-
15	32.598	793 ($[M+H]^+$)	419, 407, 397	245, 335, 535	未知花色苷	+	-
16	33.647	301	151, 107	255, 360	槲皮素	+	+
17	9.840	179	135	240, 325	咖啡酸	-	+
18	10.278	317	191, 163, 153, 109	230, 290	奎宁酸衍生物	-	+
19	11.207	337	191, 141, 119	230, 315	对香豆酰奎宁酸	-	+
20	13.520	335	179, 161, 135	220, 325	咖啡酰莽草酸	-	+
21	15.131	349	331, 299, 237, 141	225, 280	未知	-	+
22	16.207	367	349, 331, 179, 161	240, 300, 325	咖啡酰奎宁酸甲酯	-	+
23	21.313	351	163, 145, 119	240, 315	香豆酰奎宁酸甲酯异构体 1	-	+
24	22.620	351	163, 145, 119	240, 310	香豆酰奎宁酸甲酯异构体 2	-	+
25	25.851	349	179, 161, 135	245, 300, 330	咖啡酰莽草酸甲酯	-	+
26	29.573	593	285, 284	260, 345	山奈酚-3-O-芦丁糖苷	-	+
27	31.419	623	315, 300	250, 350	异鼠李素-3-O-芦丁糖苷	-	+
28	32.538	373	179, 135	245, 300, 330	迷迭香酸甲酯	-	+
29	36.840	285	285, 151	260, 360	山奈酚	-	+

注:“+”检出;“-”未检出。

3 结论

本文采用微波辅助提取紫山药块根和茎叶中多酚类化合物,并对其进行 LC-MS/MS 分析,检测出紫山药根中 16 种酚类组分,地上茎叶中 18 种酚类组分,共有酚类化合物 5 种,并通过液相保留时间、一级二级质谱与紫外吸收特征分析,初步确定紫山药块根中酚类物质主要为酚酸和花色苷,地上茎叶中除酚酸类物质外,还富含芦丁和槲皮素等黄酮类化合物,由此

可见,从紫山药块根与茎叶中提取多酚成分作为功能食品开发的原料具有切实可行的物质基础。然而,关于紫山药块根及茎叶中各种多酚化合物的含量,以及不同提取条件下所得提取物组分是否存在差异,尚需进一步探究。

参考文献

- [1] 党娅,刘水英,李新生,等.响应面法优化紫山药花青苷提取工艺[J].天然产物研究与开发,2015,27(3):404-410

- DANG Ya, LIU Shui-ying, LI Xin-sheng, et al. Optimization of extraction process of purple yam anthocyanins using response surface methodology [J]. *Natural Product Research and Development*, 2015, 27(3): 404-410
- [2] 宋曙辉,刘庞源,何伟明,等.紫山药茎尖营养及功能成分分析[J].*营养学报*,2014,36(5):508-510
- SONG Shu-hui, LIU Pang-yuan, HE Wei-ming, et al. Analysis of nutritional and functional components in tender stem of purple yam [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2014, 36(5): 508-510
- [3] Ramos-Escudero F, Santos-Buelga C, Pérez-Alonso J J, et al. HPLC-DAD-ESI/MS identification of anthocyanins in *Dioscorea trifida* L. yam tubers (*purple sachapapa*) [J]. *European Food Research & Technology*, 2010, 230(5): 745-752
- [4] 于东,方忠祥,杨海花,等.紫山药酚酸类化合物鉴定及含量测定[J].*中国农业科学*,2010,43(12):2527-2532
- YU Dong, FANG Zhong-xiang, YANG Hai-hua, et al. Identification and determination of phenolic acids in purple yam [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(12): 2527-2532
- [5] Jaiswal R, Müller H, Müller A, et al. Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. (*Caprifoliaceae*) leaves by LC-MSn [J]. *Phytochemistry*, 2014, 108: 252-263
- [6] Zhang C, Ren B, Lin Z, et al. An analysis method for simultaneous screening of deoxyribonucleic acid-binding active compounds and investigating their mechanisms by ultra-fast liquid chromatography tandem mass spectrometry coupled with fluorescence detection technology [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1381: 160-172
- [7] Chua L S, Latiff N A, Lee S Y, et al. Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (*Kacip Fatimah*) [J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(3): 1186-1192
- [8] Yu G L, Cho J Y, Kim C M, et al. Coumaroyl quinic acid derivatives and flavonoids from immature pear (*Pyrus pyrifolia nakai*) fruit [J]. *Food Science & Biotechnology*, 2013, 22(3): 803-810
- [9] An H, Hong W, Lan Y, et al. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids for the quality control of *Apocynum venetum* L. leaves by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS and HPLC-DAD [J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2013, 85C(11): 295-304
- [10] Vallverdú-Queralt A, Boix N, Piqué E, et al. Identification of phenolic compounds in red wine extract samples and zebrafish embryos by HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS [J]. *Food Chemistry*, 2015, 181: 146-151
- [11] Cuyckens F, Claeys M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids [J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2004, 39(4): 1-15
- [12] Neugart S, Rohn S, Schreiner M. Identification of complex, naturally occurring flavonoid glycosides in *Vicia faba* and *Pisum sativum* leaves by HPLC-DAD-ESI-MSn and the genotypic effect on their flavonoid profile [J]. *Food Research International*, 2015, 76: 114-121
- [13] Francescato L N, DeBenedetti S L, Schwanz T G, et al. Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC-ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification [J]. *Talanta*, 2013, 105(4): 192-203
- [14] Stephen B S, Lu H, Kao T H, et al. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC-DAD-ESI-MS [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 51(3): 549-556