

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.04.010

# HTLCS 与 HPLC 测定滁菊中木犀草素、芹菜素、金合欢素方法的建立与比较

Establishment and comparison of HTLCS and HPLC for detecting the luteolin, apigenin and acacetin in Chuju chrysanthemum

周国梁 蔡玉茹 李洒洒 江倩

ZHOU Guo-liang CAI Yu-ru LI Sa-sa JIAN Qian

冯顺利 秦梅颂 俞浩

FENG Shun-li QING Mei-song YU Hao

(安徽科技学院生命与健康科学学院, 安徽 蚌埠 233100)

(College of Life and Health Sciences Technology, Anhui Science and Technology University, Bengbu, Anhui 233100, China)

**摘要:**以滁菊中木犀草素、芹菜素、金合欢素为测定指标,分别建立滁菊高效薄层扫描法(HTLCS)和高效液相色谱(HPLC)测定分析方法,并对每种方法线性关系和线性范围进行考察。结果表明:建立的 HTLCS 和 HPLC 法符合要求,线性关系良好,  $RE < 3\%$ , 并且 2 种方法测定结果无显著性差异( $P > 0.05$ )。HTLCS 法和 HPLC 法建立方法合理,能够采用 HTLCS 代替 HPLC 法进行滁菊中木犀草素、芹菜素、金合欢素 3 种成分的测定。

**关键词:**滁菊;木犀草素;芹菜素;金合欢素;高效薄层扫描法;高效液相色谱法

**Abstract:** Taking the luteolin, apigenin and carnellin in the chrysanthemum as the determination index, the high-performance thin-layer scanning method (HTLCS) and high-performance liquid chromatography (HPLC) were used to determine the linear relationship between each method. The linear relationship and range of each method were investigated. The results showed that the established HTLCS and HPLC methods met the

requirements, and the linear relationship was good,  $RE < 3\%$ . However, there was no significant difference between the two methods ( $P > 0.05$ ). The method of establishing HTLCS and HPLC method was reasonable. The determination of three components of luteolin, apigenin and acacetin could be carried out by using HTLCS instead of HPLC.

**Keywords:** Chrysanthemum; luteolin; apigenin; acacetin; HTLCS; HPLC

滁菊为菊科植物菊(*Chrysanthemum morifolium* cv. 'chuju')的干燥头状花序,为安徽滁州地区的道地药材<sup>[1]</sup>,是一种药食两用植物<sup>[2-3]</sup>。滁菊中主要含有黄酮类、挥发油、有机酸和微量元素等成分,具有疏风散热、平肝明目和清热解毒等功效。现代研究表明,滁菊对大鼠心肌缺血具有较好的保护作用<sup>[4-5]</sup>,能够提高大鼠耐疲劳作用<sup>[6]</sup>,具有较好的抗氧化性<sup>[7-8]</sup>。在市场上流通的滁菊质量差异较大,对其质量进行分析和确定有重要意义<sup>[9-10]</sup>。刘汉珍等<sup>[11]</sup>采用菊花中总黄酮类成分分析,杨毕超等<sup>[12]</sup>采用总黄酮类、总糖、总酚酸成分对滁菊质量进行了分析,但是总成分分析在对滁菊质量分析中不能确定有效成分的差异性,因此在有效成分差异性评价方面存在不足。2015 版的《中国药典》中对菊花进行定量分析中仅采用单一成分进行定量分析<sup>[2]</sup>,中药中多成分的复杂性决定了单一成分指标评价不能体现滁菊质量的差异性,多成分进行综合定量分析,并进行评价才能真实体现其质量的差异性<sup>[13]</sup>。

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:31870080);安徽省教育厅重点和重大项目(编号:KJ2016SD16);2017 年安徽省大学生创新创业训练计划项目(编号:2017S10879004,2017S10879006);2018 年安徽省大学生创新创业训练计划项目(编号:2018S10879075,201810879X093)

**作者简介:**周国梁,男,安徽科技学院讲师,硕士。

**通信作者:**俞浩(1975—),男,安徽科技学院教授,博士。

E-mail: yhz\_1230@163.com

**收稿日期:**2018-11-25

目前对滁菊质量成分分析多采用高效液相色谱法(HPLC),但该方法样品前处理复杂,耗费时间长,不能满足现有食品快速检测分析质量管理的要求<sup>[14]</sup>。高效薄层色谱扫描法(HTLCS)具有分离分析双重功能<sup>[15-16]</sup>,对样品的预处理要求不高<sup>[17-18]</sup>,可以在同一块硅胶板上点样多个样品,能够同时展开分析,展开剂可以根据分离效果进行调配<sup>[19-20]</sup>,选择范围宽且用量少,更换方便,使用条件相对简单<sup>[21-22]</sup>。目前 HTLCS 法还未被应用于滁菊中木犀草素、芹菜素和金合欢素 3 种成分的测定。本试验拟建立滁菊木犀草素、芹菜素和金合欢素 3 种主要成分 HPLC 和 HTLCS 的分析方法,同时对其进行定量分析,并进行综合评价,考察 HTLCS 法是否可以替代 HPLC 法用于滁菊中 3 种成分的分析,以便快速准确地分析滁菊中成分差异性,为保障滁菊的安全应用提供依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 材料与试剂

木犀草素对照品(批号 1309-08)、芹菜素对照品(批号 15032610):中国食品药品检定研究院;

金合欢素对照品:纯度 $\geq 99.0\%$ ,上海诗丹德科技生物有限公司;

乙腈、甲醇:色谱纯,美国 Sigam 公司;

其他试剂均为分析纯;

滁菊:共 6 个批号,批号分别为 20171106(S1),20171126(S2),20171208(S3),20180115(S4),20180214(S5),20180316(S6),安徽滁州菊泰有限公司,经安徽科技学院中药学教研室刘汉珍教授鉴定均为正品滁菊。

#### 1.1.2 主要仪器设备

高效液相色谱仪:LC-20AT 型,包括 SIL-30AC 自动进样器、CTO-10A 柱温箱、SPD-M20A 检测器和 Lab Solutions 型色谱工作站,日本岛津公司;

半自动点样仪:LINOMAT5 型,瑞士 CAMAG 公司;

薄层色谱成像文件系统:HTLC VISALIZER 型,瑞士 CAMAG 公司;

薄层色谱扫描仪:HTLC SCANNER 3 型,瑞士 CAMAG 公司;

薄层硅胶板:HTLC GF254 型,青岛海洋化工有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-9140 型,上海三发科学仪器有限公司;

数显恒温水浴锅:HH-6 型,常州普天仪器制造有限公司;

电热套:ZNHW-II 型,郑州科华仪器设备有限公司。

### 1.2 高效液相色谱法

1.2.1 供试品溶液的制备 精密称取滁菊 1.000 g,剪碎,加石油醚(30%~60%) 20 mL 超声处理 30 min,过滤,药渣挥发石油醚后加稀盐酸 1 mL 与乙酸乙酯 50 mL 超声处理 30 min。过滤,滤液水浴蒸干,得到的残渣加甲醇 2 mL 使其溶解,5 000 r/min 离心 20 min 后取上清液定容于 10 mL 容量瓶中得供试品溶液。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取标准品,配成标准品浓度为木犀草素 0.48 mg/mL、芹菜素 0.48 mg/mL、金合欢素 0.24 mg/mL 的混合对照品贮备溶液,分别精密吸取上述标准溶液各 0.25,0.50,0.75,1.00,1.25 mL 置 10 mL 容量瓶中,混匀后用甲醇稀释到刻度,即得 5 种不同浓度的混合对照品溶液。

1.2.3 色谱条件与适应性试验 色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱,流动相为乙腈(A)—0.1%磷酸(B)梯度洗脱,按表 1 所示进行洗脱,检测波长 365 nm,流速 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,进样 10 μL,分别记录混合对照品溶液色谱图和样品溶液色谱峰图,对色谱峰和基线关系进行分析,并计算分离度、拖尾因子和理论塔板数。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	25	75
16	25	75
20	30	70
25	33	67
35	43	57
40	50	50
45	25	75

### 1.3 高效薄层扫描法

1.3.1 供试品溶液的制备 精密称取滁菊 1.000 g,剪碎,加石油醚(30%~60%) 20 mL 超声处理 30 min,过滤,药渣挥发石油醚后加稀盐酸 1 mL 与乙酸乙酯 50 mL 超声处理 30 min。过滤,滤液水浴蒸干,得到的残渣加甲醇 2 mL 使其溶解,转移到 5 mL 容量瓶中摇匀,作为供试品溶液。

1.3.2 对照品溶液的制备 精密称取标准品,加甲醇配成浓度为木犀草素 0.66 mg/mL、芹菜素 0.65 mg/mL、金合欢素 0.32 mg/mL 混合对照品储备溶液,分别吸取上述混合对照品溶液各 0.25,0.50,0.75,1.00,1.25 mL 置 10 mL 容量瓶中后用甲醇定容至刻度,即得 5 种不同浓度的混合对照品溶液。

1.3.3 HTLC 层析及薄层扫描条件 HTLC 薄层硅胶板

(20 cm×10 cm),条状点样,点样量为 4 μL,以甲苯:乙酸乙酯:甲酸:水=17:7:3:2 上层溶液为展开剂上行展开 80 mm,取出,晾干,用 AlCl<sub>3</sub> 喷雾显色,在 365 nm 波长对硅胶板进行拍照,并在 340 nm 波长下进行直线扫描并进行扫描分析,狭缝宽度为 6.0 mm×0.3 mm,测量供试品吸光度积分值和对照品吸光度积分值。

1.4 数据处理

数据采用 Excel 2010 整理;运用 SPSS Statistics V 19.0 等软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 高效液相色谱图及系统适应性试验 根据高效液相色谱条件,分别对混合对照品及样品溶液进行分析,并记录色谱图,其色谱图见图 1,从分析色谱峰可以看出基线平稳,色谱峰之间分离性好,测定成分之间无相互干扰,根据色谱峰图计算木犀草素、芹菜素和金合欢素 3 种物质的分离度均>1.5,拖尾因子分别为 0.95,0.98,1.02,理论塔板数分别为 2 216,4 986,9 772,表明系统适应性良好符合要求。

2.1.2 线性关系的考察 按照 1.2.3 方法,每个标准混合

对照品溶液分别进样 20 μL 进行分析测定。以进样浓度(μg/g)为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,结果得木犀草素、芹菜素、金合欢素标准曲线回归方程见表 2,根据建立线性回归方程相关系数 r>0.999,说明范围内线性关系良好。

表 2 标准曲线回归方程

Table 2 Standard curve regression equation

标准品	线性回归方程	相关系数 r	线性范围/ (μg·g <sup>-1</sup> )
木犀草素	Y=2 766 102.5X-4 573.2	0.999 9	0.24~1.20
芹菜素	Y=2 083 112.5X+738.6	0.999 9	0.24~1.20
金合欢素	Y=3 306 708.3X+1 620.8	0.999 9	0.12~0.60

2.1.3 精密度试验 取同一混标溶液,按所述色谱条件测定,分别在同一天重复进样 6 次,每次进样 3 μL,计算各色谱峰的峰面积,进而计算各标准品的 RSD。按所述色谱条件,测定木犀草素、芹菜素、金合欢素的峰面积的 RSD 分别为 0.60%,0.54%,0.41%;表明该仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 对照品溶液置于 4 °C 冰箱中,分别在 0,4,8,12,16,24 h 后吸取对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪中,测定峰面积积分值。结果表明,木犀草素、芹菜素、金合欢素的峰面积的 RSD 分别为 1.5%,1.3%,1.0%,对照品在 24 h 内稳定性良好。

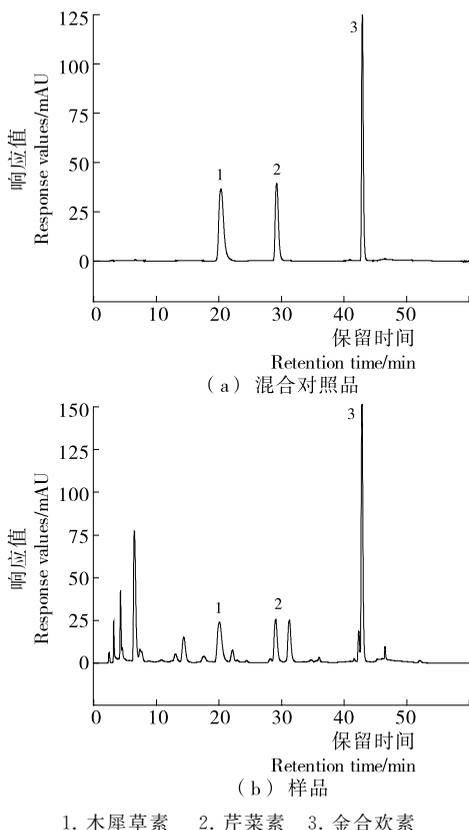
2.1.5 重复性试验 取同一批样品 6 份,精密称定,按 1.2.3 的方法制备供试品溶液,分别进样 20 μL 测定。测得木犀草素、芹菜素、金合欢素的峰面积的 RSD 分别为 1.4%,1.1%,1.3%,结果表明方法重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的供试品 6 份,分别加入一定量的混合对照品溶液,按 1.2.1 的方法制备供试品溶液,依法操作,测定其峰面积,计算回收率,结果见表 3。由表 3 可知木犀草素、芹菜素、金合欢素的平均回收率分别为 99.8%,100.3%,100.1%;RSD 分别为 1.45%,1.32%,1.30%,表明该方法回收率良好。

2.2 高效薄层扫描法

2.2.1 高效薄层层析及薄层扫描 HTLC 薄层硅胶板在 365 nm 处拍照结果见图 2,并对木犀草素、芹菜素、金合欢素对照品斑点及供试品中相应的斑点在 340 nm 波长下进行直线扫描检测,结果见图 3。从图 2 和图 3 中可以看出混合标品和供试品中 3 种物质成分分离较好,相互干扰小,表明在分析条件符合定量要求。可以对 3 种成分进行定量分析。

2.2.2 线性关系考察 使用半自动点样仪分别吸取木犀草素、金合欢素和芹菜素混合对照品溶液,以点样量 2 μL 分别点于 HTLC 薄层硅胶板上,进行展开、成像、扫描。

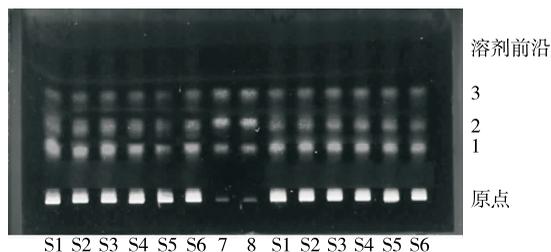


1. 木犀草素 2. 芹菜素 3. 金合欢素  
Figure 1 HPLC graphs of mixed standard and sample solution

表 3 加样回收率试验结果

Table 3 Test results of sample recovery (n=6)

测定成分	编号	样品中的量/mg	加入的量/mg	测得的量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
木犀草素	1	0.492 3	0.500 0	0.983 4	99.1	99.8	1.45
	2	0.493 6	0.500 0	0.970 0	97.6		
	3	0.501 9	0.500 0	1.016 5	101.4		
	4	0.502 4	0.500 0	1.009 8	100.7		
	5	0.492 6	0.500 0	0.984 0	99.1		
	6	0.487 9	0.500 0	0.996 5	100.8		
芹菜素	1	0.471 3	0.450 0	0.914 2	99.2	100.3	1.32
	2	0.472 2	0.450 0	0.923 3	98.3		
	3	0.468 3	0.450 0	0.928 8	100.1		
	4	0.484 5	0.450 0	0.932 2	101.4		
	5	0.473 9	0.450 0	0.914 0	101.1		
	6	0.485 4	0.450 0	0.958 7	100.6		
金合欢素	1	0.954 0	0.950 0	1.872 0	99.7	100.1	1.30
	2	0.962 9	0.950 0	1.938 9	99.8		
	3	0.952 0	0.950 0	1.912 5	98.9		
	4	0.947 6	0.950 0	1.894 0	101.6		
	5	0.951 8	0.950 0	1.932 2	102.4		
	6	0.963 2	0.950 0	1.893 7	98.9		



1. 木犀草素 2. 金合欢素 3. 芹菜素 S1~S6 为不同批次滁菊样品 7~8. 混合标准品

图 2 混合对照品及供试品高效薄层色谱图

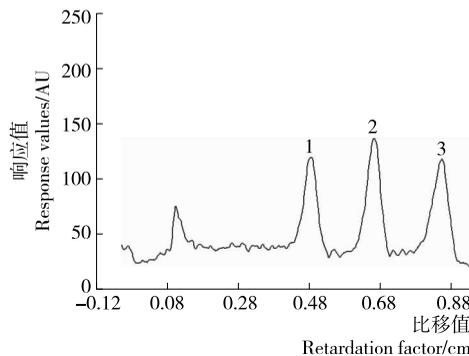
Figure 2 HTLCS of reference and test samples

以点样浓度为横坐标(X)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。由表 4 可知,木犀草素、芹菜素、金合欢素在进样量范围内,点样量与峰面积积分值有良好的线性关系。

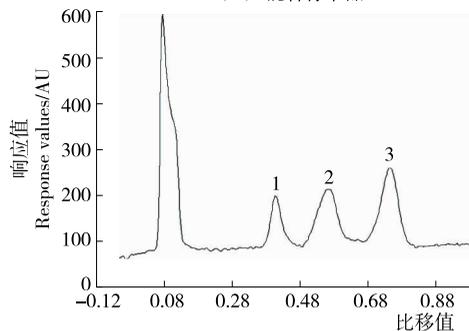
表 4 标准曲线回归方程

Table 4 Standard curve regression equation

标准品	线性回归方程	相关系数 r	线性范围/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
木犀草素	$Y=23\ 199X-119.08$	0.999 9	0.066~0.330
芹菜素	$Y=28\ 220X-243.80$	0.997 9	0.065~0.325
金合欢素	$Y=34\ 306X-1\ 121.60$	0.995 2	0.032~0.160



(a) 混合标准品



(b) 供试品

1. 木犀草素 2. 芹菜素 3. 金合欢素

图 3 混合标准品薄层色谱图和供试品薄层扫描色谱图

Figure 3 HTLCS for mixed standard samples and test samples

2.2.3 同板精密度试验 精密吸取木犀草素、芹菜素、金合欢素对照品溶液,于薄层板上各点 6 个条带,每条带 2 μL,按薄层色谱条件展开后扫描,测定木犀草素、芹菜素、金合欢素峰面积积分值的 RSD 分别为 1.40%, 1.57%, 1.59%, 表明该方法精密度良好。

2.2.4 稳定性试验 在同一 HTLC 薄层硅胶板上交叉点对照品溶液 1, 2, 3 μL, 供试品溶液 2 μL, 按色谱条件及扫描条件对对照品进行测定, 每隔 30 min 扫描一次, 结果峰面积积分值在 2.5 h 内基本保持不变, RSD 分别为 1.23%, 1.070%, 1.50%, 表明 2.5 h 内稳定性良好。

2.2.5 重复性试验 按 1.3.1 方法制备相同浓度的供试品溶液 6 份, 分别测定木犀草素、芹菜素、金合欢素的含量, 结果表明木犀草素、芹菜素、金合欢素峰面积积分值的 RSD 分别为 1.50%, 1.67%, 1.69%, 表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率试验 精密吸取已知含量的供试品溶

液 3 份 200 μL, 各加入对照品 200 μL, 均匀混合。采用定量点样器吸取混合液 2 μL 同时点样于硅胶板上, 按照 1.3.3 方法进行展开并进行样品扫描测定, 计算回收率和 RSD, 结果见表 5。由表 5 可知, 木犀草素、芹菜素、金合欢素测定的平均回收率分别为 99.90%, 100.65%, 101.30%; RSD 分别为 1.55%, 1.41%, 1.64%, 表明该方法回收率良好。

2.3 高效液相色谱法与薄层扫描法测定滁菊中木犀草素、芹菜素、金合欢素的含量

采用 HTLCS 和 HPLC 法对滁菊 6 个批次产品中 3 种成分进行测定, 并对 2 种方法测定成分进行计算, 并对 2 种方法的误差 RE 进行分析, 结果见表 6。由表 6 可知, 基于滁菊中 3 种成分测定中 RE < 3%, 表明 2 种方法测定误差较小。对 3 种成分分别采用独立样本 t 检测, 结果显示 3 种成分采用 2 种方法检测无显著性差异 (P > 0.05)。

表 5 加样回收率试验结果  
Table 5 Test results of sample recovery (n=6)

测定成分	编号	样品中的量/mg	加入的量/mg	测得的量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
木犀草素	1	0.502 7	0.500 0	0.987 8	98.5	99.9	1.55
	2	0.510 5	0.500 0	1.014 0	100.3		
	3	0.494 9	0.500 0	0.983 8	98.9		
	4	0.512 3	0.500 0	1.024 0	101.1		
	5	0.489 5	0.500 0	0.973 0	98.3		
	6	0.507 3	0.500 0	1.028 7	102.1		
芹菜素	1	0.466 3	0.450 0	0.932 3	101.7	100.5	1.41
	2	0.482 5	0.450 0	0.954 5	102.3		
	3	0.473 6	0.450 0	0.934 2	101.1		
	4	0.455 1	0.450 0	0.898 6	99.3		
	5	0.451 9	0.450 0	0.910 3	100.9		
	6	0.468 2	0.450 0	0.905 6	98.6		
金合欢素	1	0.964 6	0.950 0	1.939 3	101.3	101.3	1.64
	2	0.952 7	0.950 0	1.957 6	102.8		
	3	0.968 1	0.950 0	1.953 4	101.8		
	4	0.959 2	0.950 0	1.943 1	101.8		
	5	0.971 6	0.950 0	1.964 5	102.2		
	6	0.979 1	0.950 0	1.893 2	98.1		

表 6 HTLCS 与 HPLC 法测定滁菊批次成分 3 种成分含量结果比较†  
Table 6 Comparison of content determination by HPLC and HTLCS (n=3)

批号	木犀草素			芹菜素			金合欢素		
	HTLCS 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	HPLC 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	RE/ %	HTLCS 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	HPLC 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	RE/ %	HTLCS 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	HPLC 法/ (mg · g <sup>-1</sup> )	RE/ %
20171206	0.498 5	0.486 7	2.37	0.468 9	0.458 8	2.15	0.965 1	0.961 2	0.40
20171216	0.489 8	0.483 7	1.25	0.473 1	0.463 5	2.03	0.958 6	0.968 4	-1.02
20180108	0.473 2	0.485 6	-2.62	0.459 8	0.468 3	-1.85	0.964 1	0.952 0	1.26
20180115	0.502 6	0.493 6	1.79	0.468 3	0.458 6	2.07	0.975 6	0.959 1	1.69
20180214	0.471 6	0.483 1	-2.44	0.470 2	0.473 4	-0.68	0.963 2	0.951 8	1.18
20180224	0.502 3	0.491 2	2.21	0.463 4	0.458 1	1.14	0.976 4	0.963 2	1.35

† RE = (HTLCS 法测定值 - HPLC 法测定值) ÷ HTLCS 法测定值 × 100%。

### 3 结论

(1) 本试验分别建立高效液相色谱法与高效薄层扫描法测定滁菊中木犀草素、芹菜素、金合欢素的含量,并对滁菊不同批次产品采用 2 种方法测定结果进行比较分析,组间比较无差异性 ( $P < 0.05$ ),且  $RE < 3\%$ ,表明 HTLCS 法可以代替 HPLC 法对滁菊中 3 种成分进行分析,且分析误差较小。

(2) 本试验采用 HTLCS 法和 HPLC 法同时对滁菊中 3 种成分分析,并对测定方法建立了相关分析方法,测定方法的线性关系及相关方法学考察符合要求,本试验对滁菊中多成分分析方面更能体现滁菊质量差异性,测定方法较唐婧等<sup>[23]</sup>采用 HPLC 法对滁菊中单一成分木犀草素评价更具有科学性。

(3) 滁菊为药用植物,含有效成分较多,仅对其中几个进行分析对其质量评价存在局限性,采用分析方法对滁菊中更多有效成分进行分析有待下一步研究。

#### 参考文献

[1] 叶桔泉. 现代实用中药[M]. 北京: 人民出版社, 1956: 172.  
 [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第一部[S]. 2015 版. 北京: 化学工业出版社, 2015: 310.  
 [3] 中国医学科学院药物研究所. 中药志: 第三册[M]. 北京: 人民出版社, 1960: 1 383.  
 [4] 俞浩, 肖新, 刘汉珍, 等. 滁菊总黄酮对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 283-286.  
 [5] 俞浩, 张孝林, 熊友谊, 等. 滁菊总黄酮和白背三七总黄酮配伍对糖尿病血瘀证大鼠血糖及血液流变学的影响[J]. 中成药, 2014, 36(4): 830-834.  
 [6] 俞浩, 张成孜, 毛斌斌. 滁菊多糖抗疲劳耐缺氧作用效果观察[J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 365-367, 372.  
 [7] 缪成贵, 陈庆榆, 何华奇. 滁菊总黄酮抗氧化作用研究[J]. 生物学杂志, 2012, 29(3): 42-44, 87.  
 [8] 陈庆榆, 何华奇. 采用 DPPH 法测定四大药用名菊抗氧化活性[J]. 安徽科技学院学报, 2012, 26(4): 39-42.  
 [9] 肖新, 朱伟, 杜超, 等. 轮作与施肥对滁菊品质、产量及土壤

酶活性的影响[J]. 中药材, 2015, 38(5): 889-893.

[10] 陈世勇, 李英峰, 史亚东, 等. 滁菊低产原因分析及对策[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(10): 5 784-5 785.  
 [11] 刘汉珍, 史亚东, 俞浩, 等. 不同品种菊花中 4 种黄酮类化合物的含量测定比较研究[J]. 中药材, 2016, 39(9): 2 046-2 048.  
 [12] 杨毕超, 时维静, 章庆华, 等. 安徽省药用菊花多类成分含量比较[J]. 安徽科技学院学报, 2013, 27(5): 50-54.  
 [13] 周国梁, 蔡玉茹, 俞浩, 等. “一测多评”法测定凤尾草中 4 种成分的含量[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(12): 1 791-1 795.  
 [14] 郑天驰, 王钢力, 曹进, 等. 食品快速检测方法现状及建议[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 853-859.  
 [15] 袁铭铭, 周雷罡, 钟瑞建, 等. 广东紫珠中抗凝血活性成分的薄层色谱鉴别及含量测定[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(5): 811-815.  
 [16] LIU Li, OUYANG Li-fang, CHENG Deng-fang, et al. Detection of Berberine Hydrochloride in Jin Weng Zhili Particle Using TLC and HPLC[J]. Medicinal Plant, 2017, 8(1): 12-16.  
 [17] 高美华, 刘磐, 梁士亮, 等. 隔山香药材中异苜蓿脑乙二醇的薄层鉴别及含量测定[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(6): 860-863.  
 [18] 车晓彦, 伍丕娥, 周娟, 等. 麦冬药材 TLC 及 HPLC 特征图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(12): 2 262-2 266.  
 [19] 马俊, 邱富娜, 刘金娥, 等. ELISA 和 TLC 检测饲料中 AFB<sub>1</sub> 含量的比较研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 34(2): 19-24.  
 [20] 郑夏生, 黄颖, 徐晖, 等. 地榆药材的 TLC 鉴别和 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2014, 25(27): 2 547-2 550.  
 [21] 冯雅斌, 杜靓, 温静. 薄层色谱法在药物分析中的应用及研究进展[J]. 疾病监测与控制, 2011, 5(1): 60-63.  
 [22] 姚令文, 刘燕, 郑笑为, 等. 牛黄镇惊丸薄层色谱质控方法的系统研究和应用[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(9): 1 065-1 069.  
 [23] 唐婧, 郑胜彪, 张雪梅, 等. 超声提取-高效液相色谱测定滁菊中的木犀草素[J]. 安徽科技学院学报, 2010, 24(6): 48-51.

(上接第 53 页)

[17] NOCKER A, RICHTER-HEITMANN T, MONTIJN R, et al. Discrimination between live and dead cells in bacterial communities from environmental water samples analyzed by 454 pyrosequencing[J]. International Microbiology: the Official Journal of the Spanish Society for Microbiology, 2010, 13(2): 59-65.  
 [18] 赵丽青, 王静, 秦燕, 等. PMA 结合 ddPCR 检测食品中金黄色葡萄球菌的研究[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(1): 105-109.  
 [19] 曹梦琪, 王旭东, 王俊, 等. 基于 PMA-qPCR 检测青枯菌 5 号生理小种活菌的方法[J]. 蚕业科学, 2015, 41(6): 1 004-1 010.

[20] 刘艳艳, 柳增善, 卢士英, 等. 灭菌乳中活阪崎肠杆菌 PMA-qPCR 检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(2): 61-69.  
 [21] ALIFANO P, RIVELLINI F, PISCITELLI C, et al. Ribonuclease E provides substrates for ribonuclease P-dependent processing of a polycistronic mRNA[J]. Genes & Development, 1994, 8(24): 3 021-30 31.  
 [22] NOCKER A, CHEUNG C Y, CAMPER A K. Comparison of propidium monoazide with ethidium monoazide for differentiation of live vs. Dead bacteria by selective removal of DNA from dead cells[J]. J Microbiol Methods, 2006, 67(2): 310-320.