

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90171

高效液相色谱法同时测定保健食品中 6 种黄酮类化合物

Simultaneous determination of 6 flavonoids in health care products by high performance liquid chromatography

伍依琪^{1,2} 梁志森^{1,2} 陈玉珍^{1,2} 周睿^{1,2} 林晓君^{1,2}WU Yi-qi^{1,2} LIANG Zhi-sen^{1,2} CHEN Yu-zhen^{1,2} ZHOU Rui^{1,2} LIN Xiao-jun^{1,2}

(1. 广州检验检测认证集团有限公司, 广东 广州 511447;

2. 国家加工食品质量检验检测中心〔广东〕, 广东 广州 511447)

(1. *Guangzhou Inspection and Testing Certification Group Company Limited, Guangzhou, Guangdong 511447, China*; 2. *National Quality Inspection and Testing Center for Processed Food [Guangdong], Guangzhou, Guangdong 511447, China*)

摘要:目的:建立同时测定保健食品中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的分析方法。方法:样品经丙酮提取, C₁₈ 固相萃取柱净化, 采用高效液相色谱仪, 以样品基质匹配的标准曲线法进行定量分析。色谱柱为 Phenomenex Luna[®] C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 通过流动相(乙腈—乙酸溶液)进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 检测波长为 280 nm。结果:保健食品基质中 6 种目标物分离情况良好, 相应的浓度与峰面积呈良好的线性关系, 相关系数(R²)均 > 0.99, 精密度和稳定性试验 RSD ≤ 3.08%, 加标平均回收率为 83%~100% (RSD < 4.63%)。方法检出限为 0.02~0.07 mg/kg, 方法定量限为 0.08~0.25 mg/kg。结论:该方法重现性好、有机溶剂消耗少, 适用于保健食品中 6 种黄酮类化合物的同时测定。

关键词: 高效液相色谱法; 黄酮类化合物; 保健食品

Abstract; Objective: To establish a method for simultaneous determination of wogonoside, 4'-hydroxywogonin, norwogonin, bicalcin, wogonin and chrysin in health care products by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods:** The samples were extracted with acetone, C₁₈ solid phase extraction column was used for purification. The target compounds were determined by HPLC, quantified by matrix-matched standard curve method.

基金项目: 广东省质量技术监督局科技项目(编号: 2020CS02)

作者简介: 伍依琪, 女, 广州检验检测认证集团有限公司助理工程师。

通信作者: 梁志森(1989—), 男, 广州检验检测认证集团有限公司工程师, 博士。E-mail: 522794556@qq.com

收稿日期: 2022-01-20 **改回日期:** 2022-05-28

Phenomenex Luna[®] C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was applied, mobile phase was acetonitrile-acetic acid, using gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The temperature of column was 30 °C and the detection wavelength was set at 280 nm.

Results: The results showed that these 6 target compounds had good separation and the corresponding concentration had a good linear relationship with the peak area. Correlation coefficients (R²) were all greater than 0.99, RSDs of precision and stability tests were within 3.08% and the average recoveries were 83%~100% (RSD < 4.63%). The limits of detection were 0.02~0.07 mg/kg. The limits of quantification were 0.08~0.25 mg/kg.

Conclusion: This method is suitable for simultaneous determination of flavonoids in health care products with good reproducibility, and less consumption of organic solvents.

Keywords: high performance liquid chromatography; flavonoids; health care products

黄酮类化合物广泛分布在自然界中, 是植物在长期自然选择过程中产生的一类次生代谢产物^[1]。其中, 4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素和汉黄芩苷是黄芩等植物提取物的主要活性成分, 具有护肝^[2]、抗氧化^[3-4]、抗糖尿病^[5]、抗炎、保护神经^[6]、抗纤维化^[7]、抗病毒、抗癌^[8]等作用。白杨素又称白杨黄素, 具有多种药理作用, 如抗肿瘤活性^[9]、改善体重和脂质代谢作用^[10]、抗抑郁作用^[11]、神经保护作用^[12]、治疗皮肤病^[13]等。由于黄芩素类化合物对预防各类疾病的功效优异, 因此容易被不法商家用作保健食品的虚假功效宣传。另一方面, 随着黄酮类化合物在保健食品中的开发和利

用,过量摄入相关成分对人体的危害尚未明确,这些产品可能会带来潜在健康风险,因而对黄酮素含量的测定研究对保健食品价值的评价具有重要意义^[14]。

目前黄酮素类化合物测定的方法主要集中在高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法^[15-18],其分离效能高,灵敏度高,应用范围广,检测成本低,操作简单,适用于常规的日常检测工作。黄酮类化合物的提取方法中,较多使用超声提取法,该方法较常规提取方法具有温度低、效率高、能耗低、节省溶剂等优点^[19],但往往提取杂质较多,严重影响分析结果。研究拟采用 HPLC 技术,建立对汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素 6 种黄酮类化合物含量同时测定的方法,并验证上述 6 种黄酮类成分在不同类别保健食品中的方法学数据,以期为后续保健食品中黄酮类化合物的分析研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

保健食品(维生素片和胶原钙片各 5 份):市售;

4'-羟基汉黄芩素(CAS 57096-02-3)、去甲汉黄芩素(CAS 4443-09-8)、汉黄芩素(CAS 632-85-9):纯度 $\geq 98\%$,武汉天植生物技术有限公司;

黄芩素(CAS 491-67-8):纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司;

白杨素(CAS 480-40-0)、汉黄芩苷(CAS 51059-44-0):纯度 $\geq 98\%$,上海吉至生化科技有限公司;

乙腈、甲醇、丙酮:色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;

甲酸、乙酸:分析纯,美国 Sigma Aldrich 公司;

二甲亚砜:分析纯,广州化学试剂厂;

C₁₈固相萃取小柱(60 mg, 3 mL):上海安谱实验科技股份有限公司;

Atlantis T3(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m):沃特世科技(上海)有限公司;

Thermo C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m):赛默飞世尔科技有限公司;

Phenomenex Luna C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m):美国飞诺美公司。

1.1.2 主要仪器设备

高效液相色谱仪:Waters Alliance E2695 型,沃特世科技(上海)有限公司;

超纯水系统:Milli-Q Advantage A10 型,法国 Merck Millipore 公司;

超声波清洗器:KQ3200V 型,昆山市超声仪器有限公司;

离心机:4k-15 型,美国西格玛公司;

涡旋混匀器:IKA Vortex4 型,德国 IKA 公司。

1.2 方法

1.2.1 样品的前处理 样品经粉碎机粉碎、混匀,分装于洁净盛样袋中待用。称取样品 2.00 g 于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 丙酮,涡旋混匀,超声提取 10 min,涡旋,8 000 r/min 离心,取 2 mL 样液加入 10 mL 纯化水,混匀后全部移入 C₁₈固相萃取小柱,再用 5 mL 丙酮洗脱,收集流出液,40 $^{\circ}$ C 氮吹近干,用丙酮复溶,并准确定容至 1 mL,过 0.22 μ m 尼龙膜,待测。

1.2.2 标准溶液的配制 准确称取黄芩素、汉黄芩素、汉黄芩苷、白杨素标准物质于 10 mL 棕色容量瓶,用甲醇溶解并稀释至刻度,准确称取 4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素标准物质于 10 mL 棕色容量瓶,用二甲亚砜溶解并稀释至刻度,均配制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液,于 4 $^{\circ}$ C 下避光保存,有效期 1 个月。分别移取 1 mL 上述 6 种目标物的标准储备液至 10 mL 容量瓶中,用 50% 乙腈水溶液配制成 100 mg/L 的混合标准溶液。选取不含 6 种目标化合物的保健食品(维生素片和胶原钙片),按照 1.2.1 的方法制备样品空白基质溶液。取混合标准溶液,用维生素片和胶原钙片样品空白基质溶液分别配制质量浓度为 0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12, 20 mg/L 的混合标准工作溶液,现配现用。

1.2.3 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)。流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 2% 乙酸溶液。梯度洗脱程序:0~2 min, 20% A; 2~5 min, 20%~40% A; 5~11 min, 40% A; 11~28 min, 40%~43% A; 28~30 min, 20% A。流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 $^{\circ}$ C,进样量为 20 μ L;检测波长为 280 nm。

1.2.4 回收率的计算 按照 1.2.1 的方法,称取均匀后的样品,在样品中添加 3 个水平的混合标准溶液,进行加标回收试验,每个添加水平平行测定 3 次计算平均回收率。

1.2.5 精密度的计算 按照 1.2.1 的方法,进行加标回收试验,在 24 h 内,每个水平测定 6 个平行样。所得结果计算相对标准偏差。

1.2.6 数据处理 测量数据采用仪器分析软件进行采集和处理,使用 Origin 8.0 进行作图。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相的优化 考察了乙腈、甲醇、0.5% 甲酸水溶液、2% 甲酸水溶液、0.5% 乙酸水溶液、2% 乙酸水溶液等不同流动相体系及不同流动相的配比对目标物色谱峰形的影响。结果表明,需要较大比例的甲醇才能将目标物洗脱出来,乙腈比甲醇的洗脱能力更强。因此,用乙腈

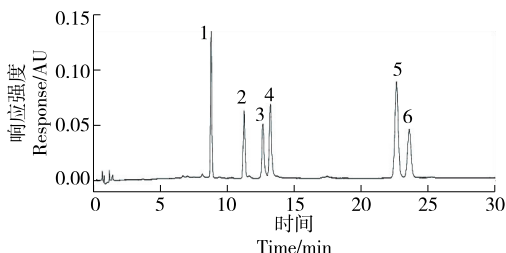
作为有机相可使溶剂消耗更小,有利于节省有机溶剂的成本,2%乙酸水溶液作为水相比甲酸水溶液体系的目标物色谱峰形的分离度更高。

2.1.2 色谱柱的选择 考察了 Atiantis T3(150 mm×4.6 mm,5 μm)、Thermo C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)、Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)3 种色谱柱对目标物色谱峰形的影响。结果表明,Atiantis T3 色谱柱虽然目标物出峰时间快,但是去甲汉黄芩素、黄芩素的目标峰有部分重叠难分开,基线波动大,Thermo C₁₈ 色谱柱目标物的峰形比 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱的差,Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱的分离效果较为理想,基线平稳,因此,采用 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱进行测定。

以维生素片和胶原钙片作为空白基质溶液,6 种目标化合物质量浓度均为 10 mg/L,根据上述最优色谱条件进行测定,结果显示各峰分离情况良好,如图 1、图 2 所示。

2.2 方法的验证

以目标物的浓度(X)为横坐标,对应的峰面积(Y)为



1. 汉黄芩苷 2. 4'-羟基汉黄芩素 3. 去甲汉黄芩素 4. 黄芩素
5. 汉黄芩素 6. 白杨素

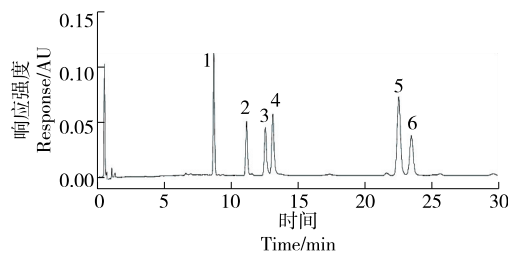
图 1 维生素片基质中 6 种黄酮类化合物色谱图

Figure 1 Chromatogram of 6 flavonoids in vitamin tablet matrix

纵坐标,进行线性回归,绘制标准曲线。维生素片、胶原钙片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的线性方程见表 1。结果表明,维生素片和胶原钙片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素在 0~20 mg/L 的质量浓度范围内均有良好的线性关系。同时,按照 1.2.2 的方法配制目标物的基质标准溶液,以外标法进行定量。选用阴性样品进行低浓度加标,根据仪器的信噪比 3 倍(S/N=3)和 10 倍(S/N=10)的标准确定方法检出限(LOD)和方法定量限(LOQ)^[20],维生素片、胶原钙片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的 LOD 和 LOQ 见表 1。

2.3 仪器测定精密度的试验

分别吸取维生素片和胶原钙片基质的混合标准溶液,质量浓度为 10 mg/L,按 1.2.3 仪器条件进行连续进样 6 次的测定,结果表明,维生素片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的精密度的分别为 1.38%,0.59%,1.06%,0.80%,0.79%,



1. 汉黄芩苷 2. 4'-羟基汉黄芩素 3. 去甲汉黄芩素 4. 黄芩素
5. 汉黄芩素 6. 白杨素

图 2 胶原钙片基质中 6 种黄酮类化合物色谱图

Figure 2 Chromatographic diagram of 6 flavonoids in collagen calcium tablet matrix

表 1 空白基质中 6 种目标物的线性关系、检出限和定量限

Table 1 Linear relationship, limit of detection and limit of quantification of 6 targets in blank matrix

基质	物质	标准曲线	R ²	LOD/(mg·kg ⁻¹)	LOQ/(mg·kg ⁻¹)
维生素片	汉黄芩苷	Y=87 697X+4 368	0.999 6	0.02	0.08
维生素片	4'-羟基汉黄芩素	Y=53 241X+11 049	0.996 1	0.05	0.18
维生素片	去甲汉黄芩素	Y=57 449X+7 350	0.997 9	0.06	0.20
维生素片	黄芩素	Y=75 082X+4 114	0.999 7	0.05	0.16
维生素片	汉黄芩素	Y=146 938X+26 585	0.999 0	0.04	0.12
维生素片	白杨素	Y=76 609X+9 765	0.998 9	0.07	0.25
胶原钙片	汉黄芩苷	Y=89 875X+6 523	0.999 5	0.02	0.08
胶原钙片	4'-羟基汉黄芩素	Y=53 947X+7 966	0.998 7	0.05	0.17
胶原钙片	去甲汉黄芩素	Y=51 231X+13 462	0.995 4	0.06	0.22
胶原钙片	黄芩素	Y=71 695X+4 363	0.999 2	0.05	0.16
胶原钙片	汉黄芩素	Y=152 527X+24 308	0.994 7	0.04	0.12
胶原钙片	白杨素	Y=75 696X+257 4	0.998 4	0.07	0.24

1.17%,胶原钙片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的精密度分别为1.27%,1.31%,0.74%,0.54%,1.53%,0.42%,表明此方法的精密度良好。

2.4 空白基质的混合标准溶液稳定性试验

分别吸取维生素片和胶原钙片基质的混合标准溶液,质量浓度为10 mg/L,按1.2.3仪器条件于0,6,12,24,48 h进样测定,结果表明,维生素片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的RSD分别为1.82%,2.95%,1.77%,0.56%,3.08%,3.05%,胶原钙片基质中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的RSD分别为1.27%,1.31%,0.74%,0.54%,1.53%,0.42%,表明这两种基质的混合标准溶液在48 h内的稳定性良好。

2.5 空白基质的混合标准溶液加标回收试验

由于保健食品中6种黄酮类化合物含量差异较大,虽然有较多的样品呈阴性,但为了贴合实际测定,选择经1.2.1处理测定后,汉黄芩素本底含量分别为1.95 mg/kg的维生素片和本底含量为1.88 mg/kg的胶原钙片样品进行加标试验。采用外加法,分别向样品中添加3个水平的标准物质,添加量分别为本底值的0.5,1.0,5.0倍,即1.00,2.00,10.00 mg/kg,每个水平在同等

条件下进行3个平行样品测定,回收率及精密度试验结果见表2、表3。结果表明,上述两种基质的加标回收率在83%~100%,精密度RSD在1.06%~4.63%,该方法的回收率高,稳定性好。

2.6 实际样品测定

根据优化后的方法对市售8个样品进行测定,8个样品中有2个样品检出汉黄芩苷,含量分别为882,651 mg/kg,2个样品检出黄芩素,含量分别为436,138 mg/kg,2个样品检出汉黄芩素,含量分别为125,51 mg/kg。4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、白杨素均未检出。图3为维生素片阴性样品的色谱图,图4为维生素片阳性样品色谱图,其中汉黄芩素检出值为51 mg/kg。

3 结论

试验建立了同时测定保健食品中汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素的高效液相色谱的分析方法,通过优化流动相体系、梯度洗脱程序和色谱柱等色谱条件,使6种黄酮类化合物在30 min内完全出峰,且分离度和峰形均良好;通过维生素片和胶原钙片这两种基质考察了该方法的精密度、稳定性以及不同浓度的加标试验,回收率和标准偏差,结果表明该方法能满足日常检测的要求且操作简单,回收率高,重现性好,经济成本较低,方便高效,适用于保健食品中

表2 维生素片基质中6种黄酮类化合物的回收率和精密度

Table 2 Recovery and precision of six flavonoids in vitamin tablet matrix

目标物	添加量/ (mg · kg ⁻¹)	平行1/ (mg · kg ⁻¹)	平行2/ (mg · kg ⁻¹)	平行3/ (mg · kg ⁻¹)	平均值/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	精密度/%
汉黄芩苷	1.00	0.94	0.92	0.89	0.91	91	3.06
	2.00	1.82	1.86	1.85	1.84	92	1.13
	10.00	10.10	9.85	9.24	9.73	97	4.55
4'-羟基汉黄芩素	1.00	0.87	0.91	0.91	0.90	90	2.60
	2.00	1.90	1.86	1.88	1.88	94	1.06
	10.00	8.65	9.32	9.10	9.02	90	3.78
去甲汉黄芩素	1.00	0.83	0.86	0.84	0.84	84	1.74
	2.00	1.87	1.75	1.83	1.82	91	3.36
	10.00	9.03	8.75	8.46	8.75	88	3.26
黄芩素	1.00	0.82	0.82	0.84	0.83	83	1.85
	2.00	1.62	1.71	1.68	1.67	84	2.74
	10.00	8.25	8.53	8.11	8.30	83	2.58
汉黄芩素	1.00	0.91	0.91	0.89	0.90	90	0.95
	2.00	1.92	1.94	1.88	1.91	96	1.60
	10.00	8.94	8.62	9.16	8.91	89	3.05
白杨素	1.00	0.88	0.86	0.89	0.88	88	1.84
	2.00	1.86	1.81	1.94	1.87	94	3.51
	10.00	8.69	8.95	9.27	8.97	90	3.24

表 3 胶原钙片基质中 6 种黄酮类化合物的回收率和精密度
Table 3 Recovery and precision of 6 flavonoids from collagen calcium tablet matrix

目标物	添加量/ (mg · kg ⁻¹)	平行 1/ (mg · kg ⁻¹)	平行 2/ (mg · kg ⁻¹)	平行 3/ (mg · kg ⁻¹)	平均值/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	精密度/%
汉黄芩苷	1.00	0.90	0.88	0.92	0.90	90	2.07
	2.00	2.05	1.96	1.95	1.99	99	2.77
	10.00	9.65	9.46	9.85	9.65	96	2.02
4'-羟基汉黄芩素	1.00	0.93	0.95	0.91	0.93	93	2.15
	2.00	1.83	1.86	1.78	1.82	91	2.22
	10.00	9.88	9.72	9.46	9.69	97	2.19
去甲汉黄芩素	1.00	0.86	0.89	0.92	0.89	89	3.25
	2.00	1.95	1.87	1.85	1.89	94	2.80
	10.00	10.12	10.10	9.76	9.99	100	2.02
黄芩素	1.00	0.85	0.81	0.83	0.83	83	2.02
	2.00	1.64	1.72	1.68	1.68	84	2.38
	10.00	8.57	8.09	8.18	8.28	83	3.08
汉黄芩素	1.00	0.88	0.92	0.93	0.91	91	3.22
	2.00	1.98	2.06	1.97	2.00	100	2.46
	10.00	9.02	8.83	8.94	8.93	89	1.07
白杨素	1.00	0.98	0.96	0.96	0.97	97	1.35
	2.00	1.75	1.82	1.79	1.79	89	1.97
	10.00	9.16	8.74	8.35	8.75	88	4.63

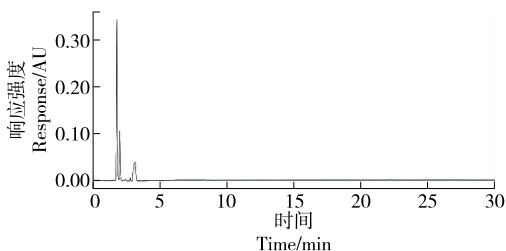


图 3 维生素片阴性样品色谱图

Figure 3 Chromatograms of vitamin tablet-negative samples

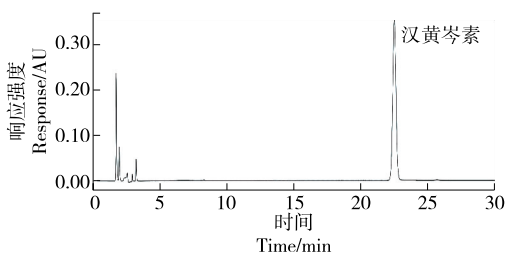


图 4 维生素片阳性样品色谱图

Figure 4 Chromatograms of vitamin tablet-positive samples

汉黄芩苷、4'-羟基汉黄芩素、去甲汉黄芩素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素 6 种黄酮类化合物的检测分析。

参考文献

[1] 文开新, 王成章, 严学兵, 等. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展[J]. 草业科学, 2010, 27(6): 115-122.
WEN K X, WANG C Z, YAN X B, et al. Advances in studies on physiological activity and synthesis of flavonoids[J]. Pratacultural Science, 2010, 27(6): 115-122.

[2] ZHAO Q, CHEN X Y, MARTIN C. Scutellaria baicalensis, the golden herb from the garden of Chinese medicinal plants [J]. Science Bulletin, 2016, 61(18): 1 391-1 398.

[3] 李楠, 刘元, 侯滨滨. 黄酮类化合物的功能特性[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(6): 139-141.
LI N, LIU Y, HOU B B. Functional properties of flavonoids[J]. Food Research and Development, 2005, 26(6): 139-141.

[4] QIAN L H, LI N G, TANG Y P, et al. Synthesis and bio-activity evaluation of scutellarein as a potent agent for the therapy of ischemic cerebrovascular disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(11): 8 208-8 216.

[5] HASAN M M, AHMED Q U, SOAD S Z M, et al. Flavonoids from Tetracera indica Merr. induce adipogenesis and exert glucose uptake activities in 3T3-L1 adipocyte cells[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17(1): 1-14.

[6] TANG H, TANG Y, LI N G, et al. Comparative metabolomic analysis of the neuroprotective effects of scutellarin and scutellarein against ischemic insult[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0131569.

- [7] LI J, TIAN C, XIA Y, et al. Production of plant-specific flavones baicalein and scutellarein in an engineered *E. coli* from available phenylalanine and tyrosine [J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 52: 124-133.
- [8] CHOI H J, SONG H H, LEE J S, et al. Inhibitory effects of norwogonin, oroxylin A, and mosloflavone on enterovirus 71 [J]. *Biomolecules & Therapeutics*, 2016, 24(5): 552-558.
- [9] NAZ S, IMRAN M, RAUF A, et al. Chrysin: Pharmacological and therapeutic properties [J]. *Life Sciences*, 2019, 235: 116797.
- [10] SONG Y, WU W, SHENG L, et al. Chrysin ameliorates hepatic steatosis induced by a diet deficient in methionine and choline by inducing the secretion of hepatocyte nuclear factor 4 α -dependent very low-density lipoprotein [J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2020, 34(7): e22497.
- [11] RASHNO M, GHADERI S, NESARI A, et al. Chrysin attenuates traumatic brain injury-induced recognition memory decline, and anxiety/depression-like behaviors in rats: Insights into underlying mechanisms [J]. *Psychopharmacology*, 2020, 237(6): 1 607-1 619.
- [12] BORTOLOTTI V C, ARAUJO S M, PINHEIRO F C, et al. Modulation of glutamate levels and Na⁺, K⁺-ATPase activity contributes to the chrysin memory recovery in hypothyroidism mice [J]. *Physiology & Behavior*, 2020, 222: 112892.
- [13] LI H J, WU N L, PU C M, et al. Chrysin alleviates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation and reduces the release of CCL20 and antimicrobial peptides [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1-13.
- [14] 岑建斌, 梁志森, 区硕俊, 等. 分散固相萃取—高效液相色谱—串联质谱法同时测定保健食品片剂中5种黄芩素类化合物 [J]. *色谱*, 2020, 38(6): 672-678.
- CEN J B, LIANG Z S, OU S J, et al. Simultaneous determination of five baicalin compounds in health care tablets by dispersive solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(6): 672-678.
- [15] 郭鹤男, 杨学东, 刘军, 等. 高效液相色谱—质谱分析指导下制备黄芩中系列黄酮成分对照品 [J]. *色谱*, 2012, 30(7): 690-695.
- GUO H N, YANG X D, LIU J, et al. Preparation of a series of flavonoid reference compounds from Yellow sea ash by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2012, 30(7): 690-695.
- [16] 王丹, 蒋亚杰, 梁艳, 等. 黄芩不同规格与化学成分及内在质量相关性的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(4): 426-433.
- WANG D, JIANG Y J, LIANG Y, et al. Skullcap different specifications and the chemical components and internal quality of correlation study [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, 37(4): 426-433.
- [17] 李凤, 魏胜利, 王文全. 黄芩药材主、侧根中黄酮类成分含量的比较及相关性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(13): 1 703-1 706.
- LI F, WEI S L, WANG W Q. Comparison and correlation study of flavonoid components in main and lateral roots of *rhizoctonia chinensis* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(13): 1 703-1 706.
- [18] 李艳荣, 潘海峰, 热河. 黄芩中4种黄酮的测定及其黄酮类成分的指纹图谱研究 [J]. *华西药理学杂志*, 2010, 25(4): 467-469.
- LI Y R, PAN H F, RE H. Determination of 4 flavonoids and their fingerprint analysis of flavonoids from *Jehol Flavone* [J]. *West Chinese Journal of Pharmacy*, 2010, 25(4): 467-469.
- [19] 王洪新, 吴颖, 寇兴然, 等. 牡丹中黄酮类化合物的研究进展 [J]. *食品与机械*, 2017, 33(7): 194-199.
- WANG H X, WU Y, KOU X R, et al. Research progress of flavonoids from peony [J]. *Food & Machinery*, 2017, 33(7): 194-199.
- [20] 梁志森, 陈玉珍, 周朗君. 超高效液相色谱—串联质谱法快速同时检测茶叶中7种香料 [J]. *食品与机械*, 2020, 36(11): 51-57.
- LIANG Z S, CHEN Y Z, ZHOU L J. An UHPLC-MS/MS method for rapid analysis of tea for the potential presence of illegally added flavorings [J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(11): 51-57.
- (上接第69页)
- [11] 李薇, 金薇, 乐健, 等. 梯度洗脱 HPLC 法测定盐酸氨溴索口服溶液中甜味剂含量 [J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(12): 2 208-2 212.
- LI W, JIN W, YUE J, et al. Gradient HPLC determination of sweeteners in ambroxol hydrochloride oral solution [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2012, 32(12): 2 208-2 212.
- [12] 吴镁春, 吴崇乐. 超高效液相色谱法检测两种口服液中糖精钠含量 [J]. *怀化学院学报*, 2018, 37(11): 74-76.
- WU M C, WU C L. Determination of saccharin sodium in two oral liquids by ultra high performance liquid chromatography [J]. *J of Huaihua University*, 2018, 37(11): 74-76.
- [13] 国家市场监督管理总局. 测量不确定度评定与表示: JJF 1059.1—2012[S]. 北京: 中国质检出版社, 2012: 1-25.
- General Administration of Quality Supervision. Evaluation and expression of uncertainty in measurement: JJF 1059.1—2012[S]. Beijing: China Quality Inspection press, 2012: 1-25.
- [14] 李慎安, 王玉莲, 范巧成. 化学实验室测量不确定度 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 213-227.
- LI S A, WANG Y L, FAN Q C. Measurement uncertainty in chemical laboratory [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008: 213-227.
- [15] 许禄, 邵学广. 化学计量学方法 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 163-176.
- XU L, SHAO X G. Chemometrics method [M]. Beijing: Science Press, 2006: 163-176.
- [16] 国家市场监督管理总局. 常用玻璃量器检定规程: JJG 196—2006[S]. 北京: 中国质检出版社, 2006: 1-28.
- General Administration of Quality Supervision. Verification regulation of working glass container: JJG 196—2006 [S]. Beijing: China Quality Inspection press, 2006: 1-28.