植物资源与环境学报，2024，**33**(4)：71-80
Journal of Plant Resources and Environment

青海省五脉绿绒蒿中氨基酸成分及其与环境因子的关系

冯　丹[1,2]，舍莉萍[3]，宋晓铭[1,4]，李佳敏[1,4]，孙　菁[1,①]

（1. 中国科学院西北高原生物研究所 青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室 中国科学院藏药研究重点实验室，青海 西宁 810008；2. 中国科学院大学，北京 100049；3. 新疆维吾尔自治区药品审评查验中心，新疆 乌鲁木齐 841100；4. 青海民族大学，青海 西宁 810007）

摘要：为建立五脉绿绒蒿（*Meconopsis quintuplinervia* Regel）中氨基酸的快速检测方法，阐释环境因子对氨基酸成分及含量的影响，本研究以10-乙基吖啶酮-2-磺酰氯为衍生化试剂，采用高效液相色谱-质谱联用（HPLC-MS）技术对青海省16个居群五脉绿绒蒿中氨基酸成分及含量进行了分析，并采用主成分分析和相关性分析研究了环境因子对氨基酸含量的影响。结果显示：氨基酸衍生物线性回归方程的相关系数为0.998 7～0.999 7，检出限为0.06～1.71 nmoL·L^{-1}，定量限为0.21～5.43 nmoL·L^{-1}，峰面积的相对标准偏差为0.11%～1.89%，表明构建的检测方法较优。在16个居群的五脉绿绒蒿中共检测出17种氨基酸，其中，Phe含量最高；各氨基酸含量的变异系数为28.23%～384.75%。基于氨基酸含量，16个五脉绿绒蒿居群可分为4组，其中，海北藏族自治州祁连县油葫芦沟（P8）居群单独为一组。主成分分析结果显示Orn、Cys、His、Ala为五脉绿绒蒿的特征氨基酸成分。土壤理化特征分析结果显示：P8居群的土壤全盐、有机质、有效氮、有效磷和全氮含量均最高，土壤全钾含量则最低；基于土壤理化性质，海北藏族自治州祁连县扁都口（P7）、P8、果洛藏族自治州班玛县X710（莫林段）（P12）居群分别单独为一组，其余居群聚为一组；主成分分析结果显示：第1主成分中土壤全氮、有机质、全盐含量的载荷较高，第2主成分中土壤全磷和有效钾含量及pH值的载荷较高。相关性分析结果显示：大多数氨基酸含量与土壤有机质、有效氮、全氮和全钾含量显著（$P<0.05$）或极显著（$P<0.01$）相关，经度、纬度和海拔对氨基酸含量影响较小。综合分析认为，青海省五脉绿绒蒿中必需氨基酸含量较高，具有较高的研究和应用价值；P8居群的土壤营养较丰富，该居群五脉绿绒蒿中氨基酸种类丰富且含量高；在五脉绿绒蒿的开发利用过程中，需要关注其生长地的土壤微环境。

关键词：五脉绿绒蒿；氨基酸；环境因子；相关性分析

中图分类号：Q948.113；R282.71；S567.23^{+}9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674-7895(2024)04-0071-10
DOI：10.3969/j.issn.1674-7895.2024.04.08

Amino acid components in *Meconopsis quintuplinervia* in Qinghai Province and their relationship with environmental factors

FENG Dan[1,2], SHE Liping[3], SONG Xiaoming[1,4], LI Jiamin[1,4], SUN Jing[1,①] (1. Qinghai Provincial Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, CAS Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Xinjiang Uygur Autonomous Region Center for Drug Evaluation and Inspection, Urumqi 841100, China; 4. Qinghai Minzu University, Xining 810007, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, **33**(4): 71-80

Abstract: To establish a rapid detection method for amino acids in *Meconopsis quintuplinervia* Regel and elucidate the effects of environmental factors on the components and contents of amino acids, 10-ethyl acridine-2-sulfonyl chloride was used as a derivatization reagent, the components and contents of amino

收稿日期：2024-03-07
基金项目：国家自然科学基金面上项目（32270402）；青海省自然科学基金面上项目（2023-ZJ-919M）
作者简介：冯　丹（2000—），女，湖南长沙人，硕士研究生，研究方向为中药质量控制与评价。
①通信作者 E-mail：sunj@nwipb.cas.cn
引用格式：冯　丹，舍莉萍，宋晓铭，等. 青海省五脉绿绒蒿中氨基酸成分及其与环境因子的关系[J]. 植物资源与环境学报，2024，33(4)：71-80.

acids in *M. quintuplinervia* from 16 populations in Qinghai Province were analyzed by using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) technology, and the effects of environmental factors on contents of amino acids were investigated by using principal component analysis and correlation analysis. The results show that the correlation coefficients of linear regression equations of the amino acid derivatives are 0.998 7-0.999 7, the detection limits are 0.06-1.71 nmol · L^{-1}, the quantitation limits are 0.21-5.43 nmoL · L^{-1}, and the relative standard deviations of peak area are 0.11%-1.89%, indicating that the constructed detection method is relatively good. A total of 17 amino acids are detected in *M. quintuplinervia* from 16 populations, in which, the content of Phe is the highest; and the coefficients of variation for the contents of amino acids are 28.23%-384.75%. Based on the contents of amino acids, 16 populations of *M. quintuplinervia* can be divided into 4 groups, in which, the population of Youhulugou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture (P8) is in one group individually. The principal component analysis result shows that Orn, Cys, His, and Ala are the characteristic amino acid components of *M. quintuplinervia*. The soil physicochemical characteristic analysis result shows that the contents of total salt, organic matter, available nitrogen, available phosphorus, and total nitrogen in soil of the population of P8 are all the highest, while its total potassium content in soil is the lowest; based on the soil physicochemical properties, the populations of Biandukou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture (P7), P8, and X710 (Molin section), Baima County, Golog Tibetan Autonomous Prefecture (P12) are separately clustered into three groups, while the other populations are clustered into one group; the principal component analysis result shows that the loads of contents of total nitrogen, organic matter, and total salt in soil are relatively high in the first principal component, while those of contents of total phosphorus and available potassium and pH value of soil are relatively high in the second principal component. The correlation analysis result shows that the contents of most amino acids are significantly ($P<0.05$) or extremely significantly ($P<0.01$) correlated with contents of organic matter, available nitrogen, total nitrogen, and total potassium in soil, while longitude, latitude, and altitude have less influence on amino acid contents. The comprehensive analysis reveals that the contents of essential amino acids in *M. quintuplinervia* in Qinghai Province are relatively high, and *M. quintuplinervia* has relatively high research and application values; the nutrients in soil of P8 population are rich, the kinds are abundant and the contents are high of the amino acids in *M. quintuplinervia* of this population; in the process of development and utilization of *M. quintuplinervia*, attention should be paid to the soil microenvironment of its habitat.

Key words: *Meconopsis quintuplinervia* Regel; amino acid; environmental factor; correlation analysis

五脉绿绒蒿(*Meconopsis quintuplinervia* Regel)为罂粟科(Papaveraceae)绿绒蒿属(*Meconopsis* Vig.)多年生草本植物,主要分布于西藏东北部、青海东北部、甘肃南部等地,以全草或花入药,是藏医药中广泛使用的草本植物[1]。现代药理学研究结果显示:五脉绿绒蒿含有类黄酮、生物碱、氨基酸及其他活性成分[2],具有抗氧化、抗炎、镇痛和保肝等药效[3]。针对五脉绿绒蒿化学成分的研究主要集中在黄酮、生物碱和挥发油成分的测定方面[4],关于其氨基酸方面的研究还有待深入。氨基酸是生物体中不可缺少的物质,不仅是蛋白质合成的底物,还是蛋白质和能量代谢的调节因子[5];同时,氨基酸也可以用作抗氧化剂[6],在许多生理和病理过程中发挥重要作用[7]。因此,研究五脉绿绒蒿中的氨基酸含量对于五脉绿绒蒿的开发利用和药效基础研究具有重要意义。

高效液相色谱(HPLC)和高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)技术是测定氨基酸的常用方法[8-9]。由于大多数氨基酸缺乏发色团,不能产生荧光,因此需要对氨基酸进行衍生化,将其与发色团或荧光基团连接,以提高氨基酸检测的灵敏度[10]。丹磺酰氯、邻苯二甲醛和6-氨基喹啉基-*N*-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯和异硫氰酸荧光素等衍生化试剂在氨基酸的衍生化反应中得到了广泛的应用,但均存在缺点,如选择性和灵敏度有限、同时只能检测几种氨基酸、衍生产物不稳定、干扰因子多、衍生化过程耗时长等[11-16]。10-乙基吖啶酮-2-磺酰氯(10-ethyl acridine-2-sulfonyl chloride, EASC)也是一种衍生化试剂,可用于同时检测多种物质,能显著提高色谱分离度和基质效应,在检测氨基酸中具有快速、灵敏的效果[17-18]。

环境是影响植物化学成分的主要因子之一[19]。有研究报道,土壤酸碱度、有机质含量等环境因子对

药用植物中活性成分的积累具有重要影响[20]。目前尚未见环境因子对五脉绿绒蒿氨基酸含量影响方面的研究报道，缺乏五脉绿绒蒿合理采集与开发利用的科学依据。鉴于此，本研究选取青海省 16 个五脉绿绒蒿天然居群，以实验室自制的 EASC 为衍生化试剂，建立了快速检测多种氨基酸的方法，对各居群五脉绿绒蒿的氨基酸成分和含量进行了分析，并采用聚类分析、主成分分析和相关性分析等方法对造成不同居群五脉绿绒蒿氨基酸含量差异的环境因子进行了分析，以期阐明环境对氨基酸成分和含量的影响，为青海省五脉绿绒蒿的合理开发利用提供科学依据。

1　材料和方法

1.1　材料

以青海省五脉绿绒蒿典型分布区的 16 个天然居群为研究对象，各居群的基本信息见表 1。于 2011 年 6 月至 7 月（即五脉绿绒蒿的花期），采集各居群五脉绿绒蒿的全草样品，每个居群采集 20～30 株，每株间隔 10 m 以上。植物材料由中国科学院西北高原生物研究所卢学峰研究员鉴定。同一居群的样品混合后除去杂草和灰尘，阴干、粉碎，过 80 目筛后置于玻璃干燥器中保存、备用。采用对角线法在各居群内用土钻采集土样，每个居群 5 个土样，混匀后带回实验室自然阴干，去除杂草等，过 80 目筛后置于玻璃干燥器中保存、备用。

1.2　仪器和试剂

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱-质谱联用仪（美国 Agilent 公司），Akasil C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm，大连依利特分析仪器有限公司），KQ118 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

试剂：Cys、His、Orn、Arg、Lys、Ser、Asp、Glu、Thr、Gly、Tyr、Ala、Trp、GABA、Pro、Met、Val、Phe、Ile、Leu 标准品均为色谱纯（德国 Sigma 公司）；乙腈为色谱纯（美国 Merck 公司）；纯净水为屈臣氏蒸馏水；HCl 等其他试剂均为分析纯。衍生化试剂 EASC（纯度 99%）为实验室自制。

1.3　方法

1.3.1　氨基酸成分及含量测定

1.3.1.1　供试品溶液的配制　称取 50 mg 五脉绿绒蒿全草样品粉末，置于 3 mL 安瓿瓶中，加入 1 mL 6 mol · L^{-1} HCl 溶液，封口后 100 ℃水解 24 h，冷却后过滤，滤液用 6 mol · L^{-1} NaOH 溶液调节酸碱度为 pH 8.0至 pH 9.0，作为供试品溶液。

1.3.1.2　标准品溶液的配制　称取一定量的氨基酸标准品，加入少量 6 mol · L^{-1} HCl 溶液溶解，用 6 mol · L^{-1} NaOH 溶液调至中性，用 0.1 mol · L^{-1} $Na_2B_4O_7$ 缓冲溶液（pH 9.0）定容，配制成氨基酸标准

表 1　青海省五脉绿绒蒿 16 个居群的基本信息
Table 1　Basic information of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province

编号 No.	样地 Plot	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude
P1	西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain, Huangzhong District, Xining City	E101.46°	N36.37°	3 536.7
P2	西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township, Huangzhong District, Xining City	E101.06°	N36.31°	3 553.7
P3	海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E101.95°	N37.45°	3 328.0
P4	海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E101.41°	N37.36°	3 544.2
P5	海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E101.08°	N37.28°	2 939.7
P6	海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E100.24°	N38.07°	3 493.5
P7	海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E100.09°	N38.06°	3 391.3
P8	海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture	E99.79°	N38.19°	3 290.7
P9	黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou, Zekog County, Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture	E101.85°	N35.23°	3 571.6
P10	黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm, Tongren County, Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture	E102.33°	N35.47°	3 671.5
P11	果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain, Maqen County, Golog Tibetan Autonomous Prefecture	E100.41°	N34.05°	3 452.0
P12	果洛藏族自治州班玛县 X710（莫林段）X710 (Molin section), Baima County, Golog Tibetan Autonomous Prefecture	E100.66°	N32.89°	3 733.0
P13	海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain, Xunhua Salar Autonomous County, Haidong City	E102.74°	N35.57°	3 617.3
P14	海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township, Xunhua Salar Autonomous County, Haidong City	E102.25°	N35.68°	3 436.5
P15	海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain, Hualong County, Haidong City	E101.97°	N36.28°	3 387.9
P16	海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia, Huzhu Tu Autonomous County, Haidong City	E102.21°	N37.01°	3 362.8

品混合溶液,溶液中每种氨基酸的浓度为0.01 mol·L^{-1}。称取78 mg EASC,用乙腈溶解并定容至25 mL,最终质量浓度为3 mg·mL^{-1}。

1.3.1.3 氨基酸衍生化 取20 μL氨基酸标准品混合溶液和100 μL供试品溶液,分别加入200 μL EASC溶液和200 μL乙腈,于65 ℃水浴10 min进行衍生化,冷却后加入体积分数50%乙腈-水溶液稀释至1 mol·L^{-1}。

1.3.1.4 HPLC-MS测定 流动相A为体积分数5%乙腈-水溶液(含30 mmol·L^{-1} $NH_4H_2PO_4$),流动相B为体积分数95%乙腈-水溶液。梯度洗脱程序为:0~1 min,体积分数100.0%~85.0% B;1~3 min,体积分数85.0%~75.0% B;3~8 min,体积分数75.0%~62.5% B;8~14 min,体积分数62.5%~50.0% B;14~15 min,体积分数50.0%~40.0% B;15~17 min,体积分数40.0%~0.0% B;17~20 min,体积分数100% A。流速1.0 mL·min^{-1};进样量10 μL;柱温30 ℃;荧光激发和发射波长分别为262和425 nm。

使用装备有电喷雾离子(ESI)源的Agilent 1100离子阱质谱仪(美国Agilent公司)进行检测。在以下条件下进行正电离分析:喷雾压力241.32 kPa;毛细管电压3 500 V;干燥气体流量9 L·min^{-1};干燥气体温度350 ℃。

1.3.1.5 线性回归方程 进样浓度在0.21~896.78 nmoL·L^{-1}范围内,根据峰面积与进样浓度得到线性回归方程及相关系数。按信噪比3∶1计算氨基酸衍生物的检出限,按信噪比10∶1计算定量限。在相同洗脱条件下,氨基酸衍生物平行分析6次,得到峰面积的相对标准偏差。

1.3.2 土壤理化指标测定 参照农业部(现名为农业农村部)推荐标准测定土壤的pH值(NY/T 1377—2007)、全盐含量(NY/T 1121.16—2006)、有效磷含量(NY/T 1121.7—2014)、有效钾含量(NY/T 889—2004)和有机质含量(NY/T 1121.6—2006),参照森林土壤测定标准测定土壤的全氮含量(LY/T 1228—2015)、全磷含量(LY/T 1232—2015)和全钾含量(LY/T 1234—2015),参照河北省地方标准(DB13/T 843—2007)测定土壤的有效氮含量。

1.4 数据处理

采用OriginPro 2024软件进行主成分分析、聚类分析和Pearson相关性分析。

2 结果和分析

2.1 氨基酸成分及含量分析

2.1.1 线性回归方程 各氨基酸衍生物线性回归方程见表2。结果显示:氨基酸衍生物线性回归方程的相关系数为0.998 7~0.999 7,检出限为0.06~1.71 nmoL·L^{-1},定量限为0.21~5.43 nmoL·L^{-1},峰面积的相对标准偏差为0.11%~1.89%。表明构建的检测方法较优,检出限和定量限低,可实现对多种氨基酸进行快速、灵敏检测。

表2 不同氨基酸衍生物的线性回归方程[1)]
Table 2 Linear regression equation of different amino acid derivatives[1)]

氨基酸 Amino acid	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检出限/(nmol·L^{-1}) Detection limit	定量限/(nmol·L^{-1}) Quantitation limit	峰面积的相对标准偏差/% Relative standard deviation of peak area
Cys	y=10 731.84x+50.13	0.999 0	0.54	1.83	1.61
His	y=7 940.97x+13.66	0.999 3	0.82	2.46	1.29
Orn	y=11 042.36x+81.75	0.999 5	0.15	0.57	0.38
Arg	y=8 132.39x-40.22	0.999 4	0.25	0.82	0.97
Lys	y=5 681.66x-116.39	0.999 3	1.05	3.64	1.06
Ser	y=8 995.99x-30.68	0.999 5	0.40	1.16	0.51
Asp	y=10 980.24x-204.30	0.998 7	0.15	0.50	1.89
Glu-Thr	y=9 448.30x-9.82	0.999 1	0.26	0.87	0.34
Gly	y=9 469.87x-7.33	0.999 6	0.07	0.29	1.69
Tyr	y=7 597.84x+50.13	0.999 2	0.38	1.27	0.65
Ala	y=6 852.57x+65.41	0.999 4	0.94	3.28	0.73
Trp	y=9 190.65x-57.86	0.999 5	0.19	0.65	0.86
GABA	y=8 531.26x-21.65	0.999 1	1.71	5.43	0.47
Pro	y=7 634.78x+16.67	0.998 9	0.22	0.74	0.88
Met	y=10 838.99x+6.52	0.999 7	0.11	0.39	0.11

续表2　Table 2（Continued）

氨基酸 Amino acid	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检出限/(nmol·L^{-1}) Detection limit	定量限/(nmol·L^{-1}) Quantitation limit	峰面积的相对标准偏差/% Relative standard deviation of peak area
Val	y=6 520.04x−3.99	0.999 3	0.16	0.56	0.35
Phe	y=3 496.77x+19.69	0.999 2	0.85	2.83	1.72
Ile	y=5 348.06x−98.83	0.998 9	0.12	0.39	1.21
Leu	y=6 454.56x+6.52	0.999 4	0.06	0.21	0.36

[1)] y：峰面积 Peak area；x：进样浓度 Injection concentration（nmol·L^{-1}）.

2.1.2　氨基酸含量分析　HPLC-MS 测定结果显示：65 ℃衍生化 10 min 时，峰面积最大，此时可以同时检测 20 种氨基酸，且区分度很好。因此，可用此方法测定青海省 16 个居群五脉绿绒蒿中各氨基酸含量，结果见表 3。结果显示：在 16 个居群的五脉绿绒蒿中共检测到 17 种氨基酸，各氨基酸含量均值为 0.014～13.769 mg·g^{-1}，其中，Phe 含量最高，Gly、Tyr、Lys 含量较高；各氨基酸含量的变异系数（*CV*）为 28.23%～384.75%，其中，Ala 含量的 *CV* 值最高，Arg 含量的 *CV* 值最低。Ala 仅在海北藏族自治州祁连县油葫芦沟（P8）和海东市循化撒拉族自治县岗察乡（P14）居群中检出；Cys 在 7 个居群中未检出，His 在 9 个居群中未检出，Ser 在果洛藏族自治州班玛县 X710（莫林段）（P12）居群中未检出，Glu-Thr 在海北藏族自治州门源县仙米林场（P3）居群中未检出，Ile 在 4 个居群中未检出。

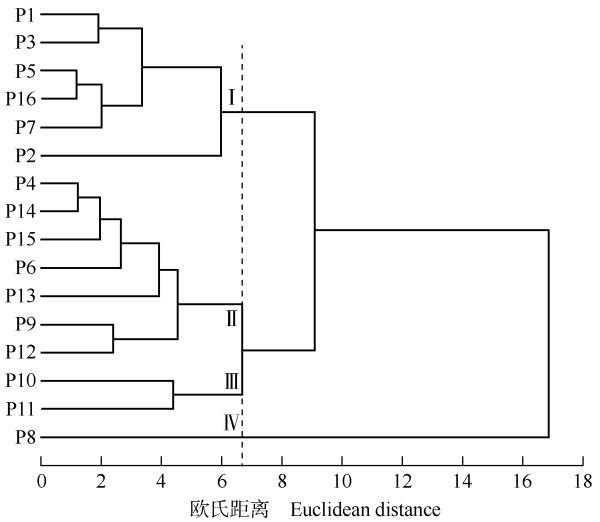
2.1.3　聚类分析　基于氨基酸含量对青海省五脉绿绒蒿 16 个居群进行聚类分析，结果见图 1。在欧氏

表 3　青海省 16 个居群五脉绿绒蒿中氨基酸含量[1)]
Table 3　Amino acid contents in *Meconopsis quintuplinervia* Regel from 16 populations in Qinghai Province[1)]

P	各氨基酸的含量/(mg·g^{-1})　Content of each amino acid																	
	Cys	His	Orn	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu-Thr	Gly	Tyr	Ala	Trp	Pro	Met	Val	Phe	Ile	总体 Total
P1	0.220	0.278	1.631	1.667	1.556	0.388	0.259	0.409	1.823	1.956	—	0.924	0.934	0.589	0.255	17.237	0.208	30.332
P2	0.397	0.389	2.254	1.866	3.810	0.897	0.645	0.921	4.466	4.008	—	2.148	2.415	1.395	0.569	17.390	0.597	44.167
P3	—	—	0.476	1.414	1.071	0.171	0.137	—	0.847	1.569	—	0.480	0.497	0.266	0.487	17.267	0.363	25.046
P4	—	—	1.798	0.976	0.578	0.079	0.064	0.045	0.435	0.900	—	0.382	0.264	0.193	0.523	10.705	—	16.942
P5	0.245	—	1.887	1.723	1.248	0.333	0.192	0.234	1.202	1.789	—	0.738	0.727	0.436	0.861	19.416	0.190	31.220
P6	0.287	0.145	1.937	1.600	1.973	0.333	0.224	0.172	1.715	1.889	—	0.587	0.842	0.475	0.345	11.503	—	24.026
P7	0.066	—	1.703	1.180	0.787	0.173	0.122	0.104	0.829	1.246	—	0.482	0.477	0.314	0.772	21.108	0.109	29.473
P8	0.554	0.864	3.068	2.307	8.453	2.065	1.357	2.177	13.214	7.731	0.202	3.647	5.653	2.877	0.653	13.518	1.737	70.078
P9	—	—	0.347	0.864	0.809	0.213	0.088	0.077	0.586	1.152	—	0.396	0.314	0.218	0.897	8.205	—	14.166
P10	—	—	0.372	1.773	3.116	0.898	0.712	0.723	4.478	4.108	—	1.856	2.587	1.553	0.468	13.115	0.557	36.316
P11	—	—	0.344	1.950	4.225	0.960	0.718	0.788	3.554	3.842	—	1.716	2.443	1.293	0.403	8.982	0.400	31.618
P12	0.075	0.044	1.759	1.319	0.718	—	0.080	0.067	0.542	0.988	—	0.323	0.348	0.238	1.356	6.405	0.076	14.338
P13	—	—	0.367	1.444	1.540	0.326	0.279	0.231	1.684	1.935	—	0.997	0.910	0.672	0.477	14.041	0.178	25.083
P14	0.317	0.226	1.747	1.006	0.841	0.219	0.144	0.185	0.653	1.308	0.030	0.417	0.401	0.355	0.796	9.734	—	18.380
P15	—	—	0.373	0.957	0.543	0.068	0.071	0.160	0.490	0.946	—	0.309	0.250	0.196	0.641	11.438	0.038	16.482
P16	0.189	0.228	1.777	1.911	1.630	0.383	0.266	0.412	1.579	2.024	—	1.061	0.936	0.621	0.666	20.238	0.299	34.220
$\overline{X}$	0.147	0.136	1.365	1.497	2.056	0.469	0.335	0.419	2.381	2.337	0.014	1.029	1.250	0.731	0.636	13.769	0.297	28.868
SD	0.174	0.232	0.855	0.423	2.050	0.521	0.353	0.546	3.188	1.794	0.051	0.908	1.420	0.723	0.266	4.545	0.431	13.946
CV/%	118.80	170.59	62.65	28.23	99.72	108.62	105.34	130.42	133.90	76.75	348.75	88.23	113.62	98.91	41.83	33.01	145.05	48.31

[1)] P：居群 Population；P1：西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain，Huangzhong District，Xining City；P2：西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township，Huangzhong District，Xining City；P3：海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P4：海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P5：海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P6：海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P7：海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P8：海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P9：黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou，Zekog County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P10：黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm，Tongren County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P11：果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain，Maqen County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P12：果洛藏族自治州班玛县 X710（莫林段）X710（Molin section），Baima County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P13：海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P14：海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P15：海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain，Hualong County，Haidong City；P16：海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia，Huzhu Tu Autonomous County，Haidong City. $\overline{X}$：均值 Mean；*SD*：标准差 Standard deviation；*CV*：变异系数 Coefficient of variation. —：未检出 Not detected.

距离约 6.69 处,供试居群分为 4 组,其中,西宁市湟中区拉脊山(P1)、西宁市湟中区群加乡(P2)、P3、海北藏族自治州门源县仙米卡子沟(P5)、海北藏族自治州祁连县扁都口(P7)和海东市互助土族自治县柏木峡(P16)居群为组Ⅰ,海北藏族自治州门源县达坂山(P4)、海北藏族自治州祁连县东大沟石林(P6)、黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口(P9)、P12、海东市循化撒拉族自治县达里加山(P13)、P14 和海东市化隆县青沙山(P15)居群为组Ⅱ,黄南藏族自治州同仁县双朋西林场(P10)和果洛藏族自治州玛沁县黑土山(P11)居群为组Ⅲ,P8 居群为组Ⅳ。



P1:西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain, Huangzhong District, Xining City; P2: 西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township, Huangzhong District, Xining City; P3: 海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P4: 海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P5: 海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou, Menyuan County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P6: 海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P7: 海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P8: 海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou, Qilian County, Haibei Tibetan Autonomous Prefecture; P9: 黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou, Zekog County, Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture; P10: 黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm, Tongren County, Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture; P11: 果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain, Maqen County, Golog Tibetan Autonomous Prefecture; P12: 果洛藏族自治州班玛县 X710(莫林段) X710 (Molin section), Baima County, Golog Tibetan Autonomous Prefecture; P13: 海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain, Xunhua Salar Autonomous County, Haidong City; P14: 海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township, Xunhua Salar Autonomous County, Haidong City; P15: 海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain, Hualong County, Haidong City; P16: 海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia, Huzhu Tu Autonomous County, Haidong City.

图 1 基于氨基酸含量的青海省五脉绿绒蒿 16 个居群的聚类结果
Fig. 1 Cluster result of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province based on amino acid contents

2.1.4 主成分分析 以氨基酸含量为变量进行主成分分析,前 2 个主成分的贡献率分别为 73.57% 和 10.21%,累计贡献率达 83.78%,因此,可以提取前 2 个主成分来判断五脉绿绒蒿氨基酸含量的总体特征。氨基酸含量在前 2 个主成分中的载荷见表 4。结果显示:在第 1 主成分中,各氨基酸含量的载荷均低于 0.300;第 2 主成分中,Orn 和 Cys 含量的载荷较高,分别为 0.604 和 0.463。基于氨基酸含量主成分分析的各居群综合得分见图 2。结果显示:P8 居群与其他居群明显分离,P10、P11 居群与其他居群也明显分离,与聚类结果相似。

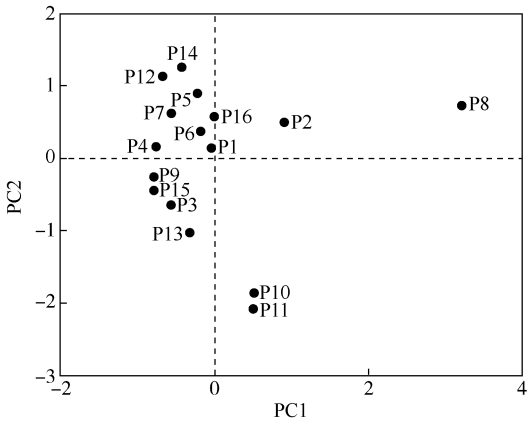
2.2 土壤理化特征分析

2.2.1 土壤理化性质 青海省五脉绿绒蒿 16 个居群的土壤理化性质见图 3。结果显示:海北藏族自治州祁连县油葫芦沟(P8)居群的土壤理化性质与其他居群差异较大,其土壤的全盐、有机质、有效氮、有效磷和全氮含量均最高,土壤全钾含量则最低。海北藏族自治州门源县仙米林场(P3)居群的土壤有效钾含量最高,果洛藏族自治州班玛县 X710(莫林段)(P12)居群的土壤全磷含量最高。聚类结果显示:海北藏族自治州祁连县扁都口(P7)、P8、P12 居群分别单独为一组,其余居群聚为一组。

表 4 青海省 16 个居群五脉绿绒蒿氨基酸含量在前 2 个主成分中的载荷
Table 4 Loads of amino acid contents in *Meconopsis quintuplinervia* Regel from 16 populations in Qinghai Province in the first two principal components

氨基酸含量 Amino acid content	在各主成分(PC)中的载荷 Load in each principal component (PC)	
	PC1	PC2
Cys	0.197	0.463
His	0.244	0.304
Orn	0.143	0.604
Arg	0.228	−0.089
Lys	0.278	−0.094
Ser	0.278	−0.113
Asp	0.274	−0.164
Glu−Thr	0.280	−0.029
Gly	0.279	−0.025
Tyr	0.278	−0.123
Ala	0.239	0.188
Trp	0.276	−0.113
Pro	0.278	−0.113
Met	0.276	−0.130
Val	−0.059	0.400
Phe	0.032	0.133
Ile	0.273	−0.025

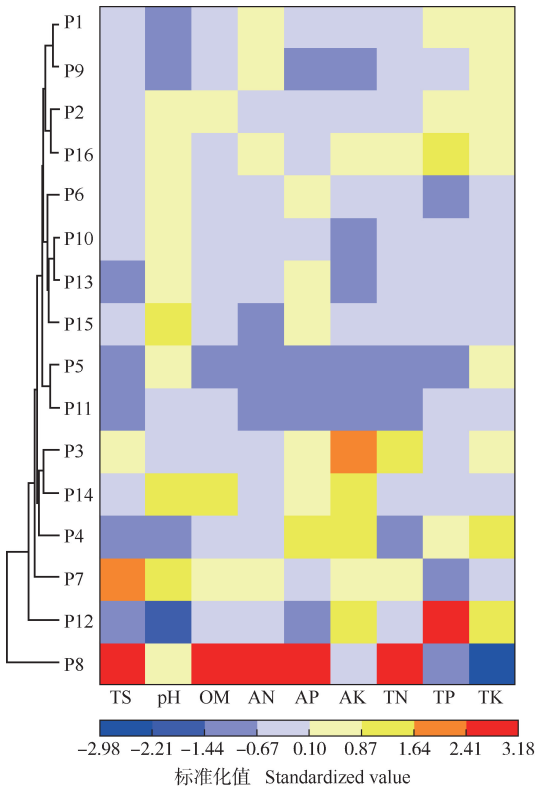
2.2.2　主成分分析　以土壤理化性质为变量进行主成分分析，前 2 个主成分的贡献率分别为 55.99% 和 21.51%，累计贡献率达 77.50%，因此，可以提取前 2 个主成分来判断土壤理化性质的总体特征。各土壤理化指标在前 2 个主成分中的载荷见表 5。结果显示：第 1 主成分中，载荷较高的有土壤全氮含量（0.423）、土壤有机质含量（0.411）和土壤全盐含量（0.409）；第 2 主成分中载荷较高的有土壤全磷含量（0.546）、土壤有效钾含量（0.544）和土壤 pH 值（−0.477）。基于土壤理化性质主成分分析的各居群的综合得分见图 4。结果显示：P8、P12 居群分别与其他居群分离，该结果与前述聚类结果基本一致。



P1：西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain，Huangzhong District，Xining City；P2：西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township，Huangzhong District，Xining City；P3：海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P4：海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P5：海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P6：海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P7：海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P8：海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P9：黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou，Zekog County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P10：黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm，Tongren County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P11：果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain，Maqen County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P12：果洛藏族自治州班玛县 X710（莫林段）X710（Molin section），Baima County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P13：海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P14：海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P15：海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain，Hualong County，Haidong City；P16：海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia，Huzhu Tu Autonomous County，Haidong City.

图 2　基于氨基酸含量主成分（PC）分析的青海省五脉绿绒蒿 16 个居群的综合得分

Fig. 2　Comprehensive scores of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province based on principal component（PC）analysis of amino acid contents



TS：土壤全盐含量 Total salt content in soil；pH：土壤 pH 值 pH value of soil；OM：土壤有机质含量 Organic matter content in soil；AN：土壤有效氮含量 Available nitrogen content in soil；AP：土壤有效磷含量 Available phosphorus content in soil；AK：土壤有效钾含量 Available potassium content in soil；TN：土壤全氮含量 Total nitrogen content in soil；TP：土壤全磷含量 Total phosphorus content in soil；TK：土壤全钾含量 Total potassium content in soil.

P1：西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain，Huangzhong District，Xining City；P2：西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township，Huangzhong District，Xining City；P3：海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P4：海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P5：海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P6：海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P7：海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P8：海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P9：黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou，Zekog County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P10：黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm，Tongren County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P11：果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain，Maqen County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P12：果洛藏族自治州班玛县 X710（莫林段）X710（Molin section），Baima County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P13：海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P14：海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P15：海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain，Hualong County，Haidong City；P16：海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia，Huzhu Tu Autonomous County，Haidong City.

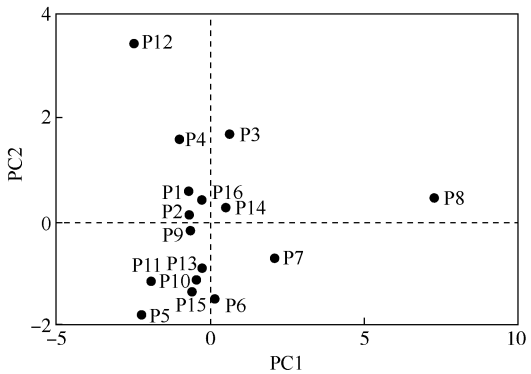
图 3　青海省五脉绿绒蒿 16 个居群的土壤理化性质

Fig. 3　Soil physicochemical properties of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province

表5 青海省五脉绿绒蒿16个居群各土壤理化指标在前2个主成分中的载荷

Table 5 Loads of soil physicochemical indexes of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province in the first two principal components

土壤理化指标 Soil physicochemical index	在各主成分(PC)中的载荷 Load in each principal component (PC)	
	PC1	PC2
全盐含量 Total salt content	0.409	0.058
pH值 pH value	0.132	−0.477
有机质含量 Organic content	0.411	0.091
有效氮含量 Available nitrogen content	0.397	0.204
有效磷含量 Available phosphorus content	0.357	0.135
有效钾含量 Available potassium content	0.057	0.544
全氮含量 Total nitrogen content	0.423	0.143
全磷含量 Total phosphorus content	−0.199	0.546
全钾含量 Total potassium content	−0.373	0.295



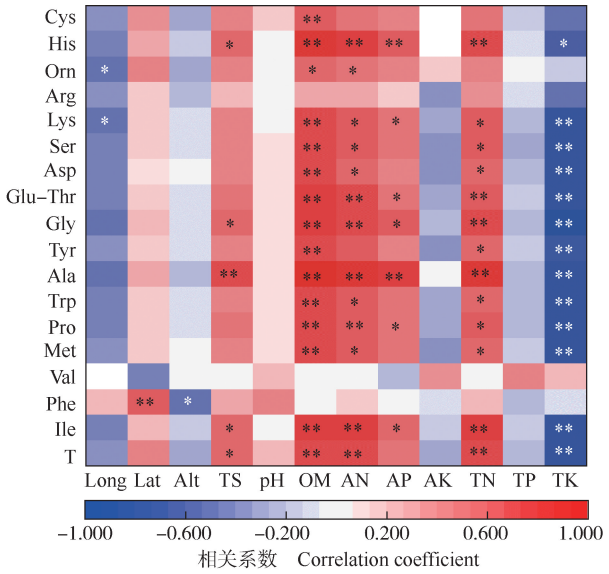
P1：西宁市湟中区拉脊山 Laji Mountain，Huangzhong District，Xining City；P2：西宁市湟中区群加乡 Qunjia Township，Huangzhong District，Xining City；P3：海北藏族自治州门源县仙米林场 Xianmi Forest Farm，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P4：海北藏族自治州门源县达坂山 Daban Mountain，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P5：海北藏族自治州门源县仙米卡子沟 Xianmi Kazigou，Menyuan County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P6：海北藏族自治州祁连县东大沟石林 Dongdagou Shilin，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P7：海北藏族自治州祁连县扁都口 Biandukou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P8：海北藏族自治州祁连县油葫芦沟 Youhulugou，Qilian County，Haibei Tibetan Autonomous Prefecture；P9：黄南藏族自治州泽库县麦秀垭口 Maixiuyakou，Zekog County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P10：黄南藏族自治州同仁县双朋西林场 Shuangpengxi Forest Farm，Tongren County，Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture；P11：果洛藏族自治州玛沁县黑土山 Heitu Mountain，Maqen County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P12：果洛藏族自治州班玛县X710(莫林段)X710 (Molin section)，Baima County，Golog Tibetan Autonomous Prefecture；P13：海东市循化撒拉族自治县达力加山 Dalijia Mountain，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P14：海东市循化撒拉族自治县岗察乡 Gangcha Township，Xunhua Salar Autonomous County，Haidong City；P15：海东市化隆县青沙山 Qingsha Mountain，Hualong County，Haidong City；P16：海东市互助土族自治县柏木峡 Baimuxia，Huzhu Tu Autonomous County，Haidong City.

图4 基于土壤理化性质主成分(PC)分析的青海省五脉绿绒蒿16个居群的综合得分

Fig. 4 Comprehensive scores of 16 populations of *Meconopsis quintuplinervia* Regel in Qinghai Province based on principal component (PC) analysis of soil physicochemical properties

2.3 氨基酸含量与环境因子相关性分析

相关性分析结果(图5)显示：大多数氨基酸含量与土壤有机质、有效氮和全氮含量呈显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)正相关，与土壤全钾含量呈显著或极显著负相关；Orn和Lys含量与经度呈显著负相关；Phe含量与纬度呈极显著正相关，与海拔呈显著负相关；His、Gly、Ala、Ile含量及氨基酸总含量与土壤全盐含量呈显著或极显著正相关；His、Lys、Glu-Thr、Gly、Ala、Pro、Ile含量与土壤有效磷含量呈显著或极显著正相关。总体而言，His、Gly、Ala和Ile含量受环境因子影响较大。



*：$P<0.05$；**：$P<0.01$. T：总含量 Total content；Long：经度 Longitude；Lat：纬度 Latitude；Alt：海拔 Altitude；TS：土壤全盐含量 Total salt content in soil；pH：土壤pH值 pH value of soil；OM：土壤有机质含量 Organic matter content in soil；AN：土壤有效氮含量 Available nitrogen content in soil；AP：土壤有效磷含量 Available phosphorus content in soil；AK：土壤有效钾含量 Available potassium content in soil；TN：土壤全氮含量 Total nitrogen content in soil；TP：土壤全磷含量 Total phosphorus content in soil；TK：土壤全钾含量 Total potassium content in soil.

图5 青海省16个居群五脉绿绒蒿中氨基酸含量与环境因子的Pearson相关性分析

Fig. 5 Analysis on Pearson correlation between amino acid contents in *Meconopsis quintuplinervia* Regel and environmental factors of 16 populations in Qinghai Province

3 讨论和结论

氨基酸是生物功能大分子蛋白质的基本组成单位，五脉绿绒蒿中氨基酸含量均值为0.014~13.769 mg·g^{-1}，其中，Phe含量最高，Gly、Trp和Lys含量较

高，氨基酸含量的变异系数为 28.23%～384.75%，其中，变异系数最大的为 Ala 含量，其次为 His 含量，最小的为 Arg 含量，这是因为 Ala 和 His 只存在于部分植物中且含量较低，而 Arg 在植物中广泛存在且含量较高[21]。本研究中 16 个居群五脉绿绒蒿中氨基酸含量的变异系数整体较大，表明环境对青海省五脉绿绒蒿氨基酸含量的影响较大。通常情况下，必需氨基酸（Lys、Trp、Phe、Met、Thr、Ile、Leu、Val）必须由食物供给，在维护人体健康上发挥着重要作用，如促进肠道的正常消化、维持和调节蛋白质的合成和代谢、调节神经中枢等[22]。与其他药用植物[21,23-24]相比，五脉绿绒蒿氨基酸中必需氨基酸含量在总氨基酸含量的占比相对较高，具有较高的研究和应用价值。Cys、His、Ala 和 Ile 只存在于部分居群的五脉绿绒蒿中，其中，Cys 具有消炎解毒、调节机体免疫功能、抗氧化等作用[25]，His 在维持动物生产、调控肌肉生长、提高肌肽含量等方面发挥重要作用[26]，Ala 具有提高运动功能、抗氧化等作用[27]，Ile 具有维持机体葡萄糖稳态，调节蛋白质及脂质合成、分解代谢等生理功能[28]。因此，关注不同环境条件下五脉绿绒蒿氨基酸的种类与含量，可以为更科学地开发利用五脉绿绒蒿提供参考依据。

聚类分析是一种应用广泛的统计方法，已被越来越多地用于识别数据中的群体或样本并检查群体差异[29]。本研究中，在欧氏距离约 6.69 处，16 个五脉绿绒蒿居群可划分为 4 组，从地理分布上来看，以拉脊山为界，组Ⅰ的大部分居群分布在拉脊山北部，组Ⅱ和组Ⅲ的大部分居群则位于拉脊山以南，组Ⅳ的居群〔即海北藏族自治州祁连县油葫芦沟（P8）〕在 16 个居群的最西北方向，海拔相对较低。从环境来看，P8 居群的土壤理化性质也与其他居群有较大差异，其土壤有机质、有效磷、有效氮、全氮、全盐含量均最高，这也是其氨基酸种类丰富且含量高的重要原因，因此单独聚为一组。由此可知，供试青海省五脉绿绒蒿居群基于氨基酸含量的聚类结果与居群的地理分布和土壤理化性质相关。

主成分分析旨在使用少量因子来表示数据集中存在的变化，可用于提取数据的主要特征分量[30-31]。本研究首先利用土壤理化性质进行主成分分析，发现第 1 主成分中土壤全氮、有机质和全盐含量的载荷较高，对土壤理化性质的影响较大。结合相关性分析可以看出，土壤有机质、全氮含量与大部分氨基酸都呈显著（$P<0.05$）或极显著（$P<0.01$）正相关，全盐含量与部分氨基酸含量呈显著或极显著正相关，说明主成分分析结果准确且这几个土壤理化指标较为重要。在氨基酸含量主成分分析中，前 2 个主成分的累计贡献率达 83.78%，可以代表氨基酸含量特征的大部分信息。第 1 主成分中，各氨基酸的载荷均较低可能是各氨基酸含量间相关性较小且氨基酸种类太多造成的；第 2 个主成分中，Orn 和 Cys 含量的载荷较高，可作为五脉绿绒蒿的特征氨基酸，在之后的评价中应重点关注。

众多研究报道均表明，环境是影响药用植物化学成分的主要因子之一[32-33]。在环境因子中，母质、气候等多种因子的综合作用影响土壤理化性质的形成，土壤理化性质又对植物生长、群落组成等具有重要影响[33]。本研究结果显示：经度、纬度和海拔对青海省五脉绿绒蒿大部分氨基酸含量没有显著影响，而多数土壤理化性质则与氨基酸含量密切相关。因此，在五脉绿绒蒿合理开发利用过程中，需要关注其生长地的土壤微环境，尤其是土壤的有机质、有效氮、全氮和全钾含量。

参考文献：

[1] 龙若兰，冯　丹，罗　西，等. 藏药五脉绿绒蒿提取过程的在线近红外光谱质量控制研究[J]. 分析测试学报，2023，42(8)：920-929.

[2] 杨　苗，史小波，闵　康，等. 绿绒蒿属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药，2010，32(2)：279-283.

[3] 王志旺，张　扬，程　芳，等. 五脉绿绒蒿总黄酮及其中苜蓿素的体外抗氧化活性[J]. 中国老年学杂志，2011，31(22)：4381-4383.

[4] 龚　宇，周蕙祯，陈胡兰. 近十年绿绒蒿属药用植物的研究进展[J]. 中药材，2020，43(3)：758-763.

[5] SHIMOMURA Y，KITAUTA Y. Physiological and pathological roles of branched-chain amino acids in the regulation of protein and energy metabolism and neurological functions [J]. Pharmacological Research，2018，133：215-217.

[6] GUIDEA A，ZĂGREAN-TUZA C，MOŢ A C，et al. Comprehensive evaluation of radical scavenging，reducing power and chelating capacity of free proteinogenic amino acids using spectroscopic assays and multivariate exploratory techniques [J]. Spectrochimica Acta Part A：Molecular and Biomolecular Spectroscopy，2020，233：118158.

[7] VONG L B，TRINH N-T，NAGASAKI Y. Design of amino acid-based self-assembled nano-drugs for therapeutic applications [J]. Journal of Controlled Release，2020，326：140-149.

[8] 魏　焘，黄林丽，王梓莹，等. 质谱技术在氨基酸及其代谢物检

测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(24): 6449-6454.

[9] 赫欣睿, 武中庸, 叶永丽, 等. 高效液相色谱法测定氨基酸的研究进展[J]. 分析测试学报, 2016, 35(7): 922-928.

[10] DAI Z L, WU Z L, JIA S C, et al. Analysis of amino acid composition in proteins of animal tissues and foods as pre-column *o*-phthaldialdehyde derivatives by HPLC with fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography B, 2014, 964: 116-127.

[11] ZHANG L Y, LI Y B, ZHOU H F, et al. Determination of eight amino acids in mice embryonic stem cells by pre-column derivatization HPLC with fluorescence detection [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012, 66: 356-358.

[12] KÉKI S, TÖRÖK J, BIRI B, et al. Photodecomposition of *o*-phthaldialdehyde-derivatized amino acids by the photodiode array detector during their high-performance liquid chromatographic analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1185: 301-304.

[13] CORLETO K A, SINGH J, JAYAPRAKASHA G K, et al. A sensitive HPLC-FLD method combined with multivariate analysis for the determination of amino acids in *l*-citrulline rich vegetables [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2019, 27(3): 717-728.

[14] KAZAN R M, SEDDIK H A, MARSTANI Z M, et al. Determination of amino acids content in tea species using liquid chromatography via pre-column fluorescence derivatization [J]. Microchemical Journal, 2019, 150: 104103.

[15] CASTELLANOS M, VAN EENDENBURG C V, GUBERN C, et al. Ethyl-bridged hybrid column as an efficient alternative for HPLC analysis of plasma amino acids by pre-column derivatization with 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1029/1030: 137-144.

[16] SHI Z H, LI H, LI Z M, et al. Pre-column derivatization RP-HPLC determination of amino acids in Asparagi Radix before and after heating process[J]. IERI Procedia, 2013, 5: 351-356.

[17] 赵怀鑫. 荧光衍生试剂的设计制备及在反相高效液相色谱-质谱分析中的应用[D]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2009: 31-53.

[18] ZHAO X E, ZHU S Y, YANG H M, et al. Simultaneous determination of amino acid and monoamine neurotransmitters in PC12 cells and rats models of Parkinson's disease using a sensitizing derivatization reagent by UHPLC-MS/MS[J]. Journal of Chromatography B, 2015, 995/996: 15-23.

[19] 于少帅, 孙启武, 田胜尼, 等. 不同生境及采样部位对南方红豆杉活性成分含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(1): 50-56.

[20] 龙若兰, 冯 丹, 李佩佩, 等. 基于数据融合的藏药五脉绿绒蒿品质评价及其环境影响因素研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(13): 1810-1817.

[21] 肖良俊, 毛云玲, 吴 涛, 等. 云南紫仁核桃必需氨基酸含量及营养评价[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 106-109.

[22] 于笑坤, 邢 述, 付学奇, 等. 必需氨基酸对秀丽新杆线虫发育的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(2): 181-183.

[23] 王晓媛, 王彦兵, 陈玉芹, 等. 6种石斛属植物氨基酸组成及营养价值评价[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(4): 601-607.

[24] 张美慧, 李瑞海. 不同产地干姜中氨基酸成分对比研究[J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(20): 32-35.

[25] 张子怡, 金艳华, 李洪根, 等. 半胱氨酸的生物代谢及其在动物生产中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(1): 25-30.

[26] 胡 孟, 武书庚, 王 晶, 等. 组氨酸的生理功能及在动物生产中的应用[J]. 中国饲料, 2018(7): 38-45.

[27] 丁 乾, 段绪果. β-丙氨酸的生物代谢过程及生物法制备研究进展[J]. 精细化工, 2023, 40(4): 741-753.

[28] 卢 麒, 杨雪芬, 王 丽, 等. 异亮氨酸的营养生理作用及其在猪生产中的应用研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(12): 4886-4898.

[29] CROWTHER D, KIM S, LEE J, et al. Methodological synthesis of cluster analysis in second language research [J]. Language Learning, 2021, 71(1): 99-130.

[30] 陈 欢, 曹承富, 张存岭, 等. 基于主成分-聚类分析评价长期施肥对砂姜黑土肥力的影响[J]. 土壤学报, 2014, 51(3): 609-617.

[31] 曲凯伦, 张云程, 王海青, 等. 不同种源酸枣表型多样性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(2): 58-70.

[32] 张有福, 廉小芳, 陈春艳, 等. 不同海拔核桃叶中非结构性碳水化合物相关指标的变化及相关分析[J]. 植物资源与环境学报, 2019, 28(2): 18-24.

[33] 陈虹宇, 陈允腾, 黄炳旭, 等. 不同海拔连翘根系土壤理化性质的变化[J]. 北方园艺, 2023(13): 69-76.

(责任编辑: 吴芯夷)