

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.01.018

柏伟荣, 张书嘉, 郭小莉, 等. 保健食品中花色苷分析方法研究[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(1): 150-156.

BAI W R, ZHANG S J, GUO X L, et al. Study on analytical method of anthocyanin in health food[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(1): 150-156.

保健食品中花色苷分析方法研究

柏伟荣, 张书嘉, 郭小莉, 高如意✉

(江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001)

摘要: 为了建立保健食品中花色苷测定方法, 采用薄层色谱法(TLC)对花色苷进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法(HPLC)对花色苷进行定量检测。结果发现, TLC鉴别的适宜条件为: 展开剂各组份比例为 V(甲酸): V(水): V(正丁醇)=9.1: 8.4: 32.5; 点样量为 2 μ L。HPLC检测时花色苷在 4.361~52.332 μ g/mL ($R^2=0.9995$) 内线性关系良好, 平均加样回收率为 98.22% ($RSD=1.23\%$, $n=6$), 且精密度、重复性、稳定性良好。

关键词: 保健食品; 缓解视疲劳; 花色苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: TS 207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7561(2022)01-0150-07

Study on Analytical Method of Anthocyanin in Health Food

BAI Wei-rong, ZHANG Shu-jia, GUO Xiao-li, GAO Ru-yi✉

(Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang, Jiangsu 222001, China)

Abstract: In order to establish a method for the determination of anthocyanins in health foods, thin-layer chromatography (TLC) was used for qualitative identification of anthocyanins, and high-performance liquid chromatography (HPLC) was used for quantitative detection of anthocyanins. The results showed that the suitable conditions for TLC identification were developing agent: V(formic acid) : V(water-n) : V(butanol)= 9.1 : 8.4 : 32.5, spotting amount: 2 μ L. Anthocyanin was detected at 4.361~52.332 μ g/mL ($R^2=0.9995$). The internal linear relationship is good, with the average sample recovery rate is 98.22% ($RSD=1.23\%$, $n=6$), and the precision, repeatability and stability are good. Experiments show that the established thin-layer identification method for anthocyanins is stable and feasible.

Key words: health foods; relieving visual fatigue; anthocyanins; thin layer chromatography (TLC); high performance liquid chromatography (HPLC)

缓解视疲劳片为一款缓解视疲劳保健食品, 配方为越橘提取物、叶黄素和菊花。菊花中含有多种黄酮类成分, 能够清除自由基达到保护组织的功效^[1-3]。叶黄素通过细胞体外实验、小鼠体内试验对氧自由基活性的抑制, 来证实缓解视疲劳机理^[4-6]。欧洲越橘提取物功效成分为花色苷, 花

色苷具有极强的抗氧化、清除自由基活性, 能够改善血管微循环、提高毛细血管强度以及改善视力^[7-9]。目前花色苷的检测方法参照 SW2—2013《国际商务标准 植物提取物 越橘提取物》, 但此方法只适用于单一原料的含量检测, 不适用于复方保健食品中花色苷的检测, 本实验建立保健食品中花色苷的定性鉴别和含量测定的方法, 适用于复方保健食品中花色苷的分析方法, 为产品质量控制提供科学依据。

收稿日期: 2021-08-19

作者简介: 柏伟荣, 男, 1985 年出生, 硕士, 中级工程师, 研究方向为功能性食品研发。E-mail: bwr0518@163.com.

1 材料与方法

1.1 实验材料

缓解视疲劳片,以越橘提取物等为主要原料制成的缓解视疲劳保健食品:连云港康缘美域保健食品有限公司;花色苷单标对照品,矢车菊素-3-O-葡萄糖苷,批号为18040904,含量以98%计:成都普菲德生物技术有限公司;对照样品,越橘提取物:USP RockVILLE, MD;硅胶 GF254 层析板,批号:20180905:安徽良臣硅源材料有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯;其它试剂均为国产分析纯;超纯水:自制。

1.2 仪器与设备

电子分析天平,BSA224S-CW:德国赛多利斯公司;KQ-500DE 型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;高效液相色谱仪:戴安;Mili-Q 超纯水仪:美国密理博公司;H1650-W 型离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 薄层鉴别供试品溶液的制备

取样品20片,研细,称取0.2 g粉末,于25 mL容量瓶中,用甲醇溶解,超声处理15 min,定容,离心,即得。

1.3.2 薄层鉴别标准品溶液的配制

称取矢车菊素-3-O-葡萄糖苷约2 mg,于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得单标标准溶液。

称取 Powdered Bilberry Extract 约5 mg,置于10 mL容量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得混标标准溶液。

1.3.3 薄层鉴别阴性对照溶液的配制

取阴性对照(不含越橘提取物)0.2 g,按照供试品溶液的制备方法,同法制成阴性样品溶液。

1.3.4 高效液相色谱检测对照品溶液的制备

称取对照品(矢车菊素-3-O-葡萄糖苷)约4 mg,精密称定,置于25 mL的容量瓶中,加入2%盐酸-甲醇溶液(V/V)并稀释至刻度,摇匀,准确移取2 mL的上述溶液于10 mL的容量瓶中,用10%磷酸水溶液(V/V)定容,得到单标对照品溶液。

称取对照样品(Powdered Bilberry Extract)

约125 mg,精密称定,置于25 mL的容量瓶中,加入2%盐酸-甲醇溶液(V/V)并稀释至刻度,摇匀,准确移取2 mL的上述溶液于50 mL的容量瓶中,用10%磷酸水溶液(V/V)定容,得到混标对照样品溶液。

1.3.5 高效液相色谱检测供试品溶液的制备

取样品20片,去包衣,研细,取0.4 g,置具塞锥形瓶中,精密称定,置于25 mL的容量瓶中,加入2%盐酸-甲醇溶液(V/V)并稀释至刻度,摇匀,超声处理(功率500 W,频率40 kHz)30 min,放冷,摇匀,准确移取2 mL的上述溶液于10 mL的容量瓶中,用10%磷酸水溶液(V/V)定容。高速离心(12 000 r/min),取上清液,即为待测样品。

1.3.6 高效液相色谱检测阴性对照溶液的制备

按照配方工艺,制备缺少越橘提取物的阴性样品,按照供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

1.3.7 高效液相色谱条件

参照国际商务标准,确定选用以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,色谱柱为 Luna C₁₈ (250×4.6 mm, 5 μm),柱温为30 °C,流速为1 mL/min,检测波长535 nm。流动相:A相:甲酸-水溶液(8.5:91.5, V/V);B相:乙腈-甲醇-甲酸-水溶液(22.5:22.5:8.5:41.5, V/V/V/V),梯度条件见表1。

表1 洗脱梯度
Table 1 Elution gradient

时间/min	A相/%	B相/%
0	93	7
35	75	25
45	35	65
46	0	100
50	0	100
51	93	7

1.4 数据分析

以矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对照品为参照,以其相应的峰为S峰,计算各花色苷组分的相对保留时间,并参照SW2—2013《国际商务标准 植物提取物 越橘提取物》中花色苷各组分出峰顺序,采用外标一点法对各花色苷组分的质量分数进行定量,并计算相对标准偏差(RSD)。

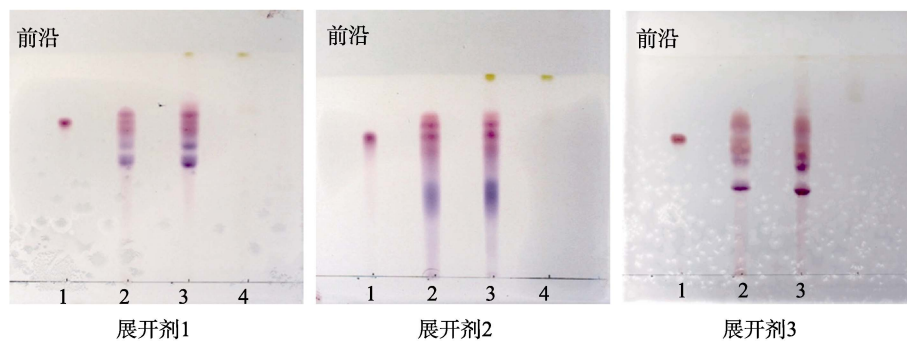
2 结果与讨论

2.1 花色苷薄层鉴别方法

2.1.1 展开剂的选择

在硅胶 GF₂₅₄ 层析板上, 按照单标 2 μ L、混标 4 μ L、供试品溶液 2 μ L、阴性对照溶液 4 μ L

分别进行点样。分别用 V(甲酸): V(水): V(正丁醇)=9.1: 8.4: 32.5(展开剂 1)、V(乙酸): V(水): V(正丁醇)=9: 6: 32.5(展开剂 2)、V(甲酸): V(水): V(乙酸乙酯)=9: 8: 32(展开剂 3) 进行展开。然后晾干, 在日光灯下检视结果见图 1。



1: 单标; 1: 混标; 3: 供试品溶液; 4: 阴性对照溶液

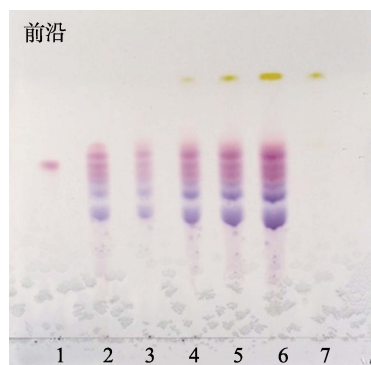
图 1 花色苷薄层鉴别展开剂考察

Fig.1 Study on TLC identification unfolding agent of Anthocyanin

由图 1 可知, 与展开剂 2、展开剂 3 相比, 展开剂 1 的斑点分离度、清晰度均较好, 故花色苷的薄层鉴别选择展开剂 1 作为展开系统。

2.1.2 点样量的确定

在硅胶 GF₂₅₄ 层析板上, 按照单标 2 μ L, 混标 4 μ L, 供试品溶液 1、2、4、6 μ L, 阴性对照溶液 4 μ L 分别进行点样, V(甲酸): V(水): V(正丁醇)=9.1: 8.4: 32.5 作为展开剂, 展开后晾干, 在日光灯下检视, 结果见图 2。



1: 单标; 1: 混标; 3-6: 供试品溶液; 7: 阴性对照溶液

图 2 花色苷薄层鉴别点样量考察

Fig.2 Study on the sample size of Anthocyanin TLC identification

由图 2 可知, 通过考察不同点样量时样品的分离度和拖尾情况, 结果表明点样量在 1~6 μ L 之

间, 样品均能得到检视, 供试品溶液点样量为 2 μ L 时, 已显示出较为清晰的主斑点, 故供试品溶液点样量选择 2 μ L。

2.1.3 温度和湿度考察

设置点样量: 单标 2 μ L, 混标 4 μ L, 供试品溶液 2 μ L, 阴性对照溶液 4 μ L; 展开剂: V(甲酸): V(水): V(正丁醇)=9.1: 8.4: 32.5。在不同的温度(室温 20 $^{\circ}$ C 和低温 4 $^{\circ}$ C) 和不同的相对湿度(47%、65%、88%) 条件下进行薄层层析, 晾干后在日光灯下检视结果见图 3。

由图 3 可知, 在不同温度、不同的相对湿度条件下, 分离效果均较好, 表明温度和相对湿度对花色苷薄层鉴别基本无影响, 说明温度耐用性考察结果和湿度耐用性考察结果均良好。

2.2 花色苷含量测定方法

2.2.1 高效液相色谱法测定花色苷的专属性

分别精密吸取对照品、供试品、阴性对照溶液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 测定。结果见图 4~7。

结果表明: 供试品色谱图中呈现与对照品色谱保留时间一致(29 min) 的色谱峰, 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷目标峰, 且阴性对照色谱图中在待测成分保留时间处无杂质峰干扰, 表明本方法有良好的专属性。

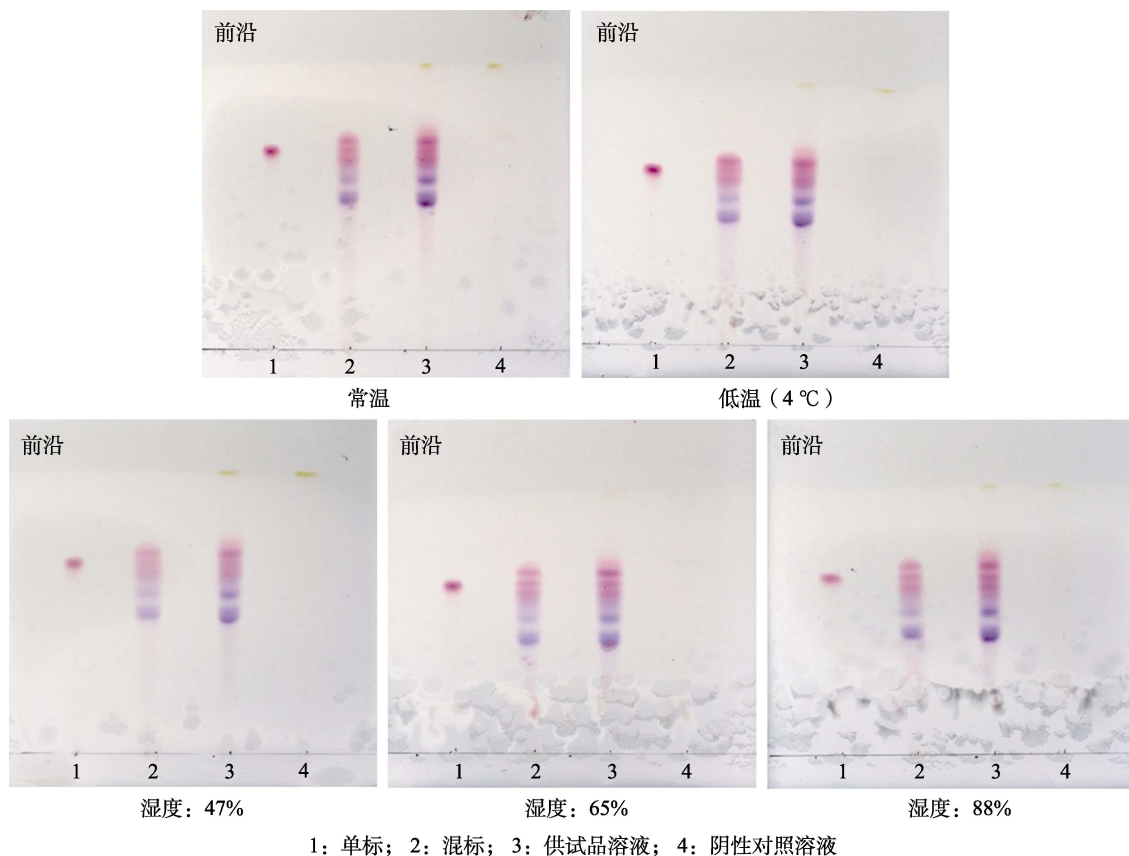


图 3 花色苷薄层鉴别温度和湿度考察

Fig.3 Identification of Anthocyanins by TLC with temperature and humidity

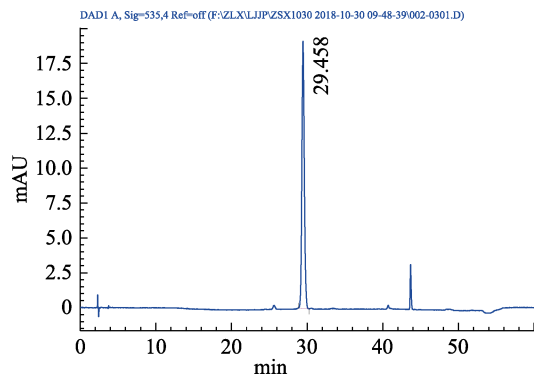


图 4 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对照品 (单标) HPLC 色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of cyanidin-3-O-glucoside reference substance (single label)

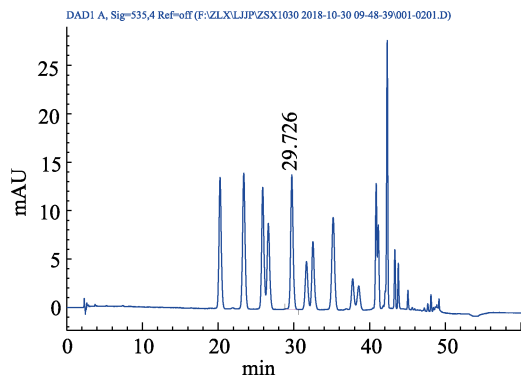


图 5 Powdered Bilberry Extract 对照品 (混标) HPLC 色谱图

Fig.5 Powder Bilberry Extract reference (mixed) HPLC chromatogram

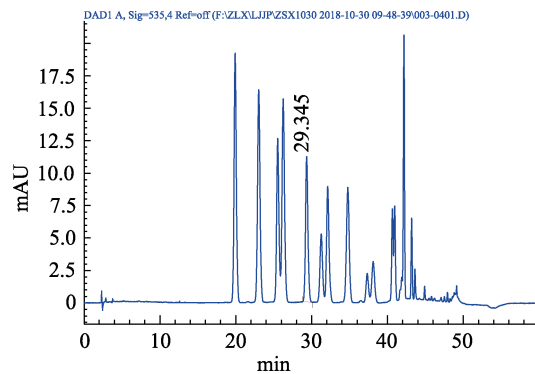


图 6 缓解视疲劳片供试品溶液 HPLC 色谱图

Fig.6 HPLC chromatogram of sample solution for relieving Shilai tablets

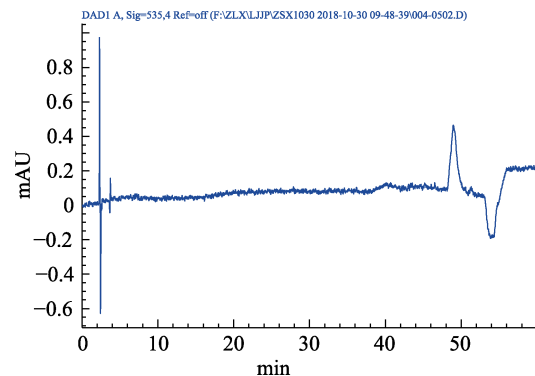


图 7 缓解视疲劳片阴性对照 HPLC 色谱图

Fig.7 HPLC chromatogram of negative control for relieving asthenopia tablets

2.2.2 高效液相色谱法测定花色苷的检测限与定量限

将对照品（矢车菊素-3-O-葡萄糖苷）溶液 34.888 $\mu\text{g/mL}$ 用 10%磷酸水溶液稀释，精密吸取对照品溶液各 10 μL ，注入液相色谱仪，测定，以信噪比 10:1 时的测定浓度作为定量限，以信噪比 3:1 时的测定浓度作为检测限，得定量限为 11.23 ng，检测限为 4.16 ng。

2.2.3 高效液相色谱法测定花色苷线性关系

分别精密量取不同体积的矢车菊素-3-O-葡萄糖苷单标对照品储备液，置于 10 mL 的容量瓶中，用 10%磷酸水溶液（V/V）定容，配制成系列浓度的标准溶液：4.361、8.722、17.444、26.166、34.888、52.322 $\mu\text{g/mL}$ 。精密吸取上述对照品溶液各 10 μL ，注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定峰面积，结果见表 2。以进样浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）为横坐标（ x ），峰面积为纵坐标（ y ），绘制标准曲线，计算回归方程。结果表明：矢车菊素-3-O-葡萄糖苷溶液在 4.361~52.332 $\mu\text{g/mL}$ 范围内有良好的线性关系，回归方程为 $y=0.236\ 4x+0.098\ 7$ ， $R^2=0.999\ 5$

表 2 标准曲线的测定
Table 2 Determination of standard curve

样品名	浓度/($\mu\text{g/mL}$)	峰面积 1	峰面积 2	平均峰面积
1	4.361	1.074	1.037	1.056
2	8.722	2.113	2.124	2.119
3	17.444	4.266	4.270	4.268
4	26.166	6.445	6.445	6.445
5	34.888	8.333	8.321	8.327
6	52.332	12.420	12.386	12.403

2.2.4 高效液相色谱法测定花色苷的精密度

精密吸取低中高三个浓度的对照品溶液，连续重复进样 6 次，测得矢车菊素-3-O-葡萄糖苷峰面积积分值，计算，结果见表 3。RSD 值均小于 2%，结果表明仪器精密度良好。

表 5 稳定性测定结果（对照品）
Table 5 Stability results (Reference substance)

测定时间/h	0	2	4	6	10	16	20	24	28	32	36	RSD/%
峰面积	4.104	4.070	4.147	4.037	4.052	4.026	4.045	4.017	4.042	4.013	4.024	1.01

表 3 精密度测定结果（对照品）

Table 3 Precision measurement results (Reference substance)

样品名	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD/%
BQ2	2.113	2.124	2.133	2.129	2.127	2.133	0.352
BQ3	4.266	4.270	4.256	4.256	4.244	4.254	0.217
BQ5	8.333	8.321	8.338	8.337	8.286	8.294	0.274

2.2.5 高效液相色谱法测定花色苷的重复性

按照上述处理方法，平行制备 6 份供试品溶液，结果见表 4。

表 4 重复性测定结果
Table 4 Repeatability test

编号	1	2	3	4	5	6	均值	RSD/%
含量/(g/100g)	7.15	7.21	7.26	7.15	7.08	7.07	7.15	1.03

结果表明总花色苷的平均含量为 7.15 g/100g， $RSD\%=1.03$ （ $n=6$ ）。说明此法重复性良好。

2.2.6 高效液相色谱法测定花色苷的稳定性

取线性项下的对照品溶液（浓度为 17.444 $\mu\text{g/mL}$ ），分别于 0、2、4、6、10、16、20、24、28、32、36 h 进样，检测样品在 36 h 内的稳定性，计算峰面积的 RSD 值，结果见表 5 和表 6。结果表明，对照品和供试品的 RSD 值分别为 0.31%、0.61%，说明在 36 小时内稳定性良好。

2.2.7 高效液相色谱法测定花色苷的加样回收率

取本品 20 片，去包衣，研细，取 0.2 g，精密称定，置于 25 mL 容量瓶中，精密加入对照品溶液（1.186 mg/mL）1 mL，用 2%盐酸-甲醇溶液（V/V）定容至刻度，超声处理（功率 500 W，频率 40 kHz）30 min，放冷，摇匀，准确移取 2 mL 的上述溶液于 10 mL 的容量瓶中，用 10%磷酸水溶液（V/V）定容。高速离心（12 000 r/min），取上清液，即为待测样品。平行制备 6 份供试品溶液，测定，结果见表 7。平均回收率在 95%~105% 之间，RSD 小于 2%，说明该方法的准确度良好。

表6 稳定性测定结果(供试品)
Table 6 Stability test result (test specimen)

序号	样品名	分子量	峰面积												RSD/%	平均 RSD/%
			0 h	2 h	4 h	6 h	10 h	16 h	20 h	24 h	28 h	32 h	36 h			
1	飞燕草素-3-O-半乳糖苷	500.84	7.537	7.464	7.442	7.232	7.454	7.431	7.426	7.397	7.389	7.372	7.415	1.01	1.33	
2	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷	500.84	6.994	6.926	6.906	6.718	6.927	6.918	6.909	6.843	6.859	6.847	6.865	1.02		
3	矢车菊素-3-O-半乳糖苷	484.84	5.067	5.002	5.003	4.869	5.001	4.964	5.012	4.969	4.990	4.995	4.991	0.95		
4	飞燕草素-3-O-阿拉伯糖苷	470.81	6.817	6.759	6.734	6.554	6.754	6.711	6.707	6.658	6.665	6.664	6.656	1.04		
5	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	484.84	4.732	4.699	4.671	4.557	4.687	4.694	4.695	4.682	4.692	4.657	4.673	0.94		
6	矮牵牛素-3-O-半乳糖苷	514.86	2.436	2.404	2.414	2.328	2.403	2.417	2.402	2.395	2.377	2.382	2.354	1.27		
7	矢车菊素-3-O-阿拉伯糖苷	454.81	3.808	3.755	3.786	3.677	3.751	3.737	3.733	3.707	3.698	3.683	3.698	1.14		
8	矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷	514.86	4.325	4.216	4.271	4.125	4.228	4.213	4.230	4.187	4.161	4.186	4.167	1.31		
9	芍药素-3-O-半乳糖苷	498.86	1.098	1.067	1.066	1.043	1.065	1.056	1.074	1.069	1.045	1.025	1.055	1.79		
10	矮牵牛素-3-O-阿拉伯糖苷	484.85	1.556	1.546	1.532	1.484	1.519	1.518	1.498	1.501	1.481	1.485	1.484	1.76		
11	芍药素-3-O-葡萄糖苷	498.86	1.760	1.742	1.724	1.687	1.774	1.783	1.787	1.799	1.786	1.777	1.785	1.31		
12	锦葵素-3-O-半乳糖苷	528.89	1.728	1.699	1.708	1.646	1.710	1.720	1.712	1.727	1.714	1.703	1.727	1.34		
13	芍药素-3-O-阿拉伯糖苷	468.84	0.311	0.317	0.307	0.310	0.314	0.321	0.319	0.331	0.326	0.322	0.332	2.61		
14	锦葵素-3-O-葡萄糖苷	528.89	3.961	3.923	3.906	3.792	3.924	3.911	3.905	3.888	3.873	3.857	3.880	1.13		
15	锦葵素-3-O-阿拉伯糖苷	498.86	1.470	1.452	1.442	1.405	1.457	1.447	1.442	1.469	1.463	1.468	1.449	1.28		
16	飞燕草素-3-O-半乳糖苷	500.84	7.537	7.464	7.442	7.232	7.454	7.431	7.426	7.397	7.389	7.372	7.415	1.01		
17	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷	500.84	6.994	6.926	6.906	6.718	6.927	6.918	6.909	6.843	6.859	6.847	6.865	1.02		

表7 加样回收率实验
Table 7 Sample recovery test

序号	称样量/g	已含量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
YP1	0.190 1	1.198	1.186	2.38	99.48	98.22	1.23
YP2	0.192 0	1.210	1.186	2.39	99.31		
YP3	0.192 5	1.213	1.186	2.39	98.98		
YP4	0.191 8	1.208	1.186	2.35	96.42		
YP5	0.193 3	1.218	1.186	2.38	97.67		
YP6	0.194 5	1.225	1.186	2.38	97.49		

3 结论

薄层色谱法能够鉴别缓解视疲劳片中的花色苷成分, 确定最佳鉴别条件为: 展开剂为 V(甲酸): V(水): V(正丁醇)=9.1: 8.4: 32.5, 点样量为 2 μ L, 且不受温度和湿度的影响, 对类似的保健食品中花色苷的薄层鉴别有一定借鉴意义。

参考 SW2—2013《国际商务标准 植物提取物 越橘提取物》中花色苷的含量测定方法, 通过专属性、检测线、定量限、线性关系、精密度、重复性、稳定性和加样回收试验, 优化并建立一种适用于保健食品中花色苷含量测定的方法, 可作为缓解视疲劳片的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 夏道宗, 吕圭源, 于新芬, 等. 杭白菊总黄酮对铅诱导小鼠氧化损伤的拮抗效应研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(23): 2803-2808.
XIA D Z, LV G Y, YU X F, et al. Antagonistic effect of total flavone of chrysanthemum morifolium on oxidative damage induced by lead in mice[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese medicine, 2008, 33(23): 2803-2808.
- [2] 于亚威, 徐广涛, 潘晓燕, 等. 杭白菊对衰老小鼠肝组织 SOD、GSH-PX 和 MDA 表达的影响[J]. 温州医学院学报, 2011, 41(1): 53-55.
YU Y W, XU G T, PAN X Y, et al. Effect of chrysanthemum morifolium on the expression of SOD, GSH-PX and MDA in liver tissue of aging mice[J]. Journal of Ningbo University, 2011, 41(1): 53-55.

- [3] 曹小燕, 杨海涛. 野菊花总黄酮清除自由基的活性[J]. 江苏农业科学, 2014, (10): 307-309.
CAO X Y, YANG H T. Free radical scavenging activity of total flavonoids from Chrysanthemum Indicum[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, (10): 307-309.
- [4] 苏卿, 李谦, 陈浩, 等. 叶黄素的抗氧化-促氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2014, 9(35): 68-70.
SU Q, LI Q, CHEN H, et al. Study on antioxidation and prooxidation of Lutein [J]. Food Industry Technology, 2014, 9(35): 68-70.
- [5] 张莉华, 葛文津, 夏立营, 等. 叶黄素对眼的保健作用和临床观察[J]. 中国食品添加剂, 2012, (5): 61-65.
ZHANG L H, GE W J, XIA L Y, et al. The eye-care effect and clinical observation of Lutein[J]. Chinese food additives, 2012, (5): 61-65.
- [6] 夏立营, 刘维佳, 葛文津, 等. 叶黄素缓解视力疲劳临床观察[J]. 中国临床保健杂志, 2010, 13(4): 419-420.
XIA L Y, LIU W J, GE W J, et al. Lutein relieves visual fatigue [J]. Chinese Journal of Clinical Health Care, 2010, 13(4): 419-420.
- [7] 宝丽. 欧洲越橘花色苷提取物抗氧化应激作用及其机制学研究[D]. 沈阳药科大学, 2008.
Bao L. Studies on the anti-oxidative stress effect and mechanism of Bilberry Anthocyanin extract [D]. Shenyang Pharmaceutical University, 2008.
- [8] 姜艳霞, 沈楠, 孙鹏飞, 等. 越橘花色苷对被动吸烟大鼠 SOD、GSH-Px、GH 影响[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(3): 345-346.
JIANG Y X, SHEN N, SUN P F, et al. Effects of vaccinium anthocyanin on SOD, GSH-Px and GH of passive smoking rats[J]. Public Health in China, 2012, 28(3): 345-346.
- [9] 吴昱含, 张会图, 董淑珍, 等. 复合营养素缓解视疲劳作用研究[J]. 食品与药品, 2017, 19(5): 314-317.
WU Y H, ZHANG H T, DONG S Z, et al. Effect of compound nutrients on relieving asthenopia[J]. Food and drugs, 2017, 19(5): 314-317. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。