

柑橘类水果类黄酮化合物的提取及 分析方法研究进展

勾中智¹, 徐维盛², 刘 静³, 易有金^{1*}, 杨月欣²

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 长沙 410128; 2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050;
3. 北京市营养源研究所, 北京 100069)

摘 要: 柑橘类水果, 富含多种天然生物活性成分, 尤以类黄酮化合物含量最高, 对某些慢性疾病有预防和控制作用, 故其较多活性成分已应用于食品行业和医药行业等, 这也是近年来柑橘类水果中类黄酮化合物的提取制备方法和分析方法被许多科研工作者高度关注的原因。本文主要介绍了近年来柑橘类黄酮物质的分离提取方法和定性定量分析方法, 为今后研究和开发柑橘类水果的科研工作者提供一定的参考。

关键词: 柑橘; 类黄酮; 提取; 分析

Progress of citrus flavonoids extraction and analysis method

GOU Zhong-Zhi¹, XU Wei-Sheng², LIU Jing³, YI You-Jin^{1*}, YANG Yue-Xin²

(1. College of Food Science, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China; 2. Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100050, China; 3. Beijing Research Institute for Nutritional Resources, Beijing 100069, China)

ABSTRACT: Citrus fruits, containing a variety of natural bioactive components, in which the flavonoids content was the highest, show the effects of prevention and control of chronic diseases, thus make a wide application in food and pharmaceutical industries. Therefore, in recent years, extraction methods of flavonoids in citrus and its related analysis methods had also been highly concerned by many researchers. This paper mainly reviewed the current separation, qualitative and quantitative analysis methods of citrus flavonoids substances, to provide a certain reference for future research and development of citrus fruits.

KEY WORDS: citrus; flavonoids; extraction; analysis

柑橘(*Citrus reticulata* Blanco), 属无患子目, 芸香科类水果, 是桔、柑、橘、橙、金柑、枳、柚等的总称。近年来, 柑橘的营养价值深受人们的重视, 对人体健康具有一定的保健功能, 一些柑橘类水果的

不同部位也是常用的中药材, 如枳实、枳壳、陈皮、青皮、化橘红等^[1]。目前从柑橘中鉴定出来的黄酮类化合物有 60 多种^[2], 其所含的类黄酮物质主要包括以下几种: 黄酮、黄酮醇、黄烷酮以及花色苷, 而黄

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD33B01)、北京市科学技术研究院青年骨干项目(2012-019)、北京市财政资金项目创新工程项目

Fund: Supported by the National Science and Technology Program(2012BAD33B01), the Youth Backbone Project Supported by Beijing Research Institute of Science and Technology (2012-019) and Beijing City's Financial Project Innovation Project

*通讯作者: 易有金, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养与健康。E-mail: yiyoujin@163.com

*Corresponding author: YI You-Jin, Professor, College of Food Science, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China. E-mail: yiyoujin@163.com

烷酮类含量尤为最高,约占类黄酮化合物总量的 80%^[3]。类黄酮普遍存在于果肉、果皮、果核中,而果汁中含量较低(1%~5%)^[4]。其中最常见的是橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷等二氢黄酮类,在橘、橙皮中橙皮苷含量的质量分数大于 6%,而柚皮中柚皮苷含量的质量分数大于 7%,而不同品种、不同产地的橘、橙、柚皮中含量也不同^[5,6]。本文主要介绍近年来柑橘的提取方法和定性定量分析方法,以及黄酮类化合物的活性成分在今后的应用和发展趋势。

1 柑橘类黄酮化合物的提取制备

目前类黄酮化合物的提取制备方法主要包括以下几种:固相萃取、溶剂提取、微波萃取、超声波提取、酶提取、超临界萃取、大孔树脂吸附法等。

1.1 固相萃取

固相萃取是近十几年来迅速发展起来的一种基于液相色谱分离原理的样品前处理技术。Heimhuber 等^[7]首次用固相萃取法分析检测柑橘类水果功效成分,方法主要通过在橙汁中加入二甲基亚砷溶剂,并加热离心后,在反相色谱柱 C₁₈ 柱上提取,结果同时完成了 5 种多甲基黄酮物质的分离。Mouly 等^[8]在此方法上将固相萃取法用于提取橙汁,结果同时分离出 6 种多甲基黄酮物质,平均回收率高达 94%,RSD 为 4.5%。与液-液萃取相比而言,固相萃取具有以下优点:有机溶液的使用量少、平均回收率较高、重现性较好,还能同时避免样品提取制备过程中发生乳化等现象。

1.2 溶剂提取

1.2.1 碱液提取

碱液提取是用碱液或具有碱性的稀醇液溶解,并加入某些酸液后,分离出黄酮类物质。目前常用碱性溶液有:低浓度的氢氧化钠溶液和氢氧化钙溶液。用碱提法时,碱液浓度不宜过高,以免破坏黄酮类物质。陈仪本等^[9]用纯水提取鲜柚皮,料液比为 1:4,在 50 ℃ 的条件下,同样用氢氧化钙调节 pH 7~7.5,并提取 3 h,所得总柚皮甙的提取率达 2.95%~4.75%。谭世语等^[10]热用氢氧化钠提取和冷却结晶法相结合来提取纯度高的黄酮物质,李勇用饱和氢氧化钙溶液提取法,并调节提取液 pH 值,使橙皮苷结晶析出,得到粗橙皮苷。

1.2.2 有机溶剂提取

有机溶剂提取法是根据黄酮类物质的物理性质,并选用适当的提取溶剂,分离出不同种类的黄酮类成分。常选用的溶剂如下:甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等,而甲醇和乙醇最为常用,甲醇提取效果较好,乙醇次之,但提取效果均高于其他有机溶剂。但由于甲醇有毒性,故多用乙醇。雷昌贵等^[11]经试验证实后最佳提取工艺条件为:料液比 1:50,60%乙醇,提取时间 28 h,柑橘皮中黄酮物质的提取率达 1.843%。唐琴等^[12]用乙醇热法提取,最佳工艺条件为乙醇体积分数 70%、柚皮粉粒度 120 目、填充度 80%、提取温度 60 ℃ 和提取时间 3 h,提取率达 8.829%。

1.2.3 微波萃取法

微波萃取法是通过介质穿透物质内部加热萃取,该方法安全、经济。苏东林^[13]用微波提取柑橘中黄酮,通过单因素试验和正交优化的最佳条件为:料液比 1:50,功率 400 W, pH 值 5,时间 180 s。用此方法提取 2 次,黄酮物质得率为 3.37%。Inoue^[14]利用微波法提取温州蜜桔桔皮中的橙皮苷,结果发现未成熟的蜜桔桔皮中的橙皮苷含量比成熟蜜桔桔皮中的橙皮苷含量高 3.2 倍,在未成熟果实果皮中的橙皮苷,其含量高达 58.6 mg/g。焦士蓉等^[15]同样用微波提取芦柑皮黄酮类化合物。通过单因素及正交试验,最佳工艺条件是:功率 280 W,提取 3 次,每次提取时间为 80 s,提取溶剂为 80%乙醇溶液,料液比为 1:25(g/mL),提取率为 1.626%。

1.2.4 超声提取

超声波提取是利用超声波的振动和扩散作用从而加速活性成分的浸出,相对与微波萃取法,有简单、经济的特点^[16]。Ma 等^[17]通过采用超声波提取技术对椪柑果皮中的橙皮苷进行提取。结果表明,最佳提取条件为:甲醇,提取时间 60 min,提取温度 40 ℃,频率 60 kHz。Londono-Londono 等^[18]同样使用超声辅助提取柠檬、橙、橘果皮中的黄酮类成分,并以水为提取剂,结果表明,该方法可以得到高纯度的黄酮类成分,高达 40.25±12.09 mg/g。廖春燕等^[19]也用超声波提取,用乙醇溶液提取橘皮中的黄酮物质。提率较高,优化后的最佳提取条件为:料液比为 1:20(g/mL)、70%乙醇、功率为 150 W、提取时间 20 min。

1.2.5 酶提取

酶提取法的提取原理是复合酶充分破坏果胶物

质,其存在于富含纤维素的细胞和细胞壁结构之间,并将其分解成小分子的物质,减小其提取阻力,最后使植物果肉中的黄酮类物质浸出。欧阳辉等^[20]采用酶法提取桉柑皮中总黄酮,并用响应曲面法优化提取工艺条件。结果表明,最佳工艺条件为酶使用量 120 U/mL、温度 52 °C、时间 140 min、pH 4.35,总黄酮提取率高达 1.85%。王悦等^[21]在游离酶解条件下,分别采用游离酶法、固定化酶法和常规法对桔皮提取,黄酮提取率分别为:1.43%、0.94%和 0.79%。

1.2.6 超临界萃取

超临界萃取法是在超临界高压条件下,以液态二氧化碳为提取溶剂,并进行减压,使提取溶剂不断汽化,最后可分离出其所要提取的有效成分^[22]。在对极性较大的物质提取时,应加入适量的调节剂,例如:甲醇、乙醇和水^[23]。Cheihg 等^[24]用超临界提取柑橘果皮中的橙皮苷和柚皮芸香苷,并加入适量的纯水,橙皮苷、柚皮芸香苷的提取率分别是乙醇提取的 1.9 倍、1.2 倍,甲醇提取的 3.2 倍、1.5 倍,热水提取的 34.2 倍、3.7 倍。Jun 等^[25]同样用超临界提取柚皮苷,最佳条件为:20%乙醇为调节剂,压力 41.4 MPa,提取时间 40 min,温度 50 °C,流速为 5.0 L/min,其柚皮苷的提取率达 0.2 mg/g。

1.2.7 大孔树脂吸附

大孔树脂吸附法是将单体和添加剂聚合制备成的大孔树脂,通过吸附作用从水溶液中的有机物质进行有选择地吸附,最后达到分离提纯的效果^[26]。李春美等^[27]采用大孔树脂分离纯化柚皮黄酮的工艺,最佳条件为:柚皮的提取物其用量为 62.5 mg/mL,柱体积 160 mL,首先用 pH 为 4 的水润洗,再用 30% 乙醇进行洗脱,结果表明,柚皮中总黄酮含量达到 39.67%,回收率为 62.48%。张久春等^[28]也分别试验了一些树脂对水溶性黄酮的吸附能力,最佳提取条件为:95%乙醇为洗脱剂,最大吸附量为 30.2 mg/g;洗脱剂用量应为柱体积(bed volume, BV)的 2 倍。结果表明,用 95%乙醇洗脱速度快,AB-8 树脂对水溶性黄酮有很好的吸附性能,且该法提取的黄酮水溶性较强,在 280 nm 波长下,有最大吸收值,并用 HPLC 对其提取物进行了分离测定。

2 类黄酮物质检测方法

目前常用的类黄酮的检测方法主要有:液相色谱法、薄层扫描法、光谱分析法、毛细管电泳法、色

谱-质谱联用法和色谱-核磁联用法等。

2.1 液相色谱法

目前使用的液相色谱主要有:高效液相色谱法和超高效液相色谱法,高效液相色谱是检测柑橘中类黄酮物质的主要方法,其特点如下:① 适用范围广;② 分离性能好;③ 分析速度快;④ 流动相可选择范围宽;⑤ 灵敏度高;⑥ 色谱柱可反复使用;⑦ 流出组分容易收集;⑧ 安全,并且仪器普通、方法简单、数据准确可靠而应用最多^[29]。张元梅等用高效液相色谱法建立同时测定柑橘果实中 18 种类黄酮,在 42 min 内能完全分离,线性范围为 62.4~960 mg/L($r=0.9996\sim1.0000$),定量限为 0.05~0.133 $\mu\text{g/mL}$,回收率为 88.70%~104.76%^[30],同样 Nogata 采用 HPLC-UV 法在 285 nm 处同时检测柑橘果实中 8 种黄酮、5 种黄酮和 4 种多甲氧基黄酮共 17 种类黄酮,用时 100 min^[31]。Goulas^[32]采用 HPLC-DAD 法同时检测柑橘果实中 16 种类黄酮,用时 50 min。Ramful 等^[33]采用 HPLC-DAD 法检测了柑橘果实中 11 种类黄酮,用时 60 min。李志辉等^[34]采用超高效液相色谱法建立同时测定柑橘属类药材中 4 种黄酮类成分,分别为橙皮苷、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橘红素,线性范围分别为 19.22~961.00, 5.05~252.50, 1.82~91.00, 5.43~271.50 ng(相关系数 $R^2=0.9997, 0.9999, 0.9998, 0.9998$),而且在 10 min 内,能够完全分离。孟鹏等^[35]也同样用超高效液相色谱技术,建立同时检测金柑中柠檬苦素和诺米林,在 5 min 中完全分离。UPLC 与 HPLC 法比较,具有更高的分离能力,大大改善了分析速度、灵敏度和分离度。

2.2 薄层扫描法

薄层扫描法是以一定波长的光照射展开后的薄层色谱板,测定其对光的吸收或所发出的荧光,进行定量分析的方法。周芳等^[36]用薄层扫描法同时测定广陈皮中 3 种黄酮化合物的含量,橙皮苷、川陈皮素、橘皮素在 0.1~5.1 μg 范围内呈现出良好线性关系(r 分别为 0.9990、0.9991、0.9991),平均回收率分别为 101.30%、96.03%、95.44%, RSD 均小于 2%。Garcia 等^[37]用薄层扫描分析鉴定黄酮类化合物,与传统的方法相比,可以检测到 100 ng 的样品。

2.3 光谱分析法

光谱分析法是根据物质对光的吸收特性而建立

的一种光谱检测分析方法,可用于定性定量分析,在柑橘中类黄酮物质的光谱法主要有紫外分光光度计和荧光光度计。陆蓓、蒋红芝、李智利、廖彪等^[38-41]用紫外分光光度计,以芦丁为标准品,建立了对柑橘及柑橘果皮的总黄酮含量的检测方法,线性范围为 8.048~48.288 mg/L($R^2=0.9999$)、0~48 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=0.996$)、0.022~0.25 g/L($R^2=0.9997$)、2~20 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=0.9996$),而且方法可靠、简单、易操作。朱远平等^[42]应用双波长分光光度法,测定金柚皮中的总黄酮含量,测定波长 510 nm,参比波长 588 nm,平均回收率 99.32%,RSD=0.64% ($n=5$)。

2.4 毛细管电泳法

毛细管电泳法是以具有弹性的石英毛细管为分离介质,以高压直流电场为驱动力的新型液相分离技术。魏胜华等用高效毛细管电泳法检测橘皮中橙皮苷的含量,在 pH 8.0 的 150 mmol/L 硼砂缓冲液、12 kV 分离电压下,橙皮苷的测定效果最佳,最低检测限为 1.25 $\mu\text{g/mL}$,加样回收率是 99.75%,相对标准误差是 1.98%^[43]。杨瑛等^[44]用胶束电动毛细管电泳法测定柑橘属药材中柚皮苷和橙皮苷的含量,以苯甲酸钠为内标物,采用胶束电动毛细管电泳法,可将上述药材中柚皮苷、橙皮苷和内标物较好分离。加样回收率柚皮苷为 98.5%,橙皮苷为 96.7%。该方法简便、准确、重现性好,可作为柚皮苷和橙皮苷的含量控制方法。

2.5 色谱-质谱联用法

色谱-质谱联用技术作为一种高新检测技术,既具有色谱法的高分离性能,同样也具有质谱法的高灵敏度性能,尤其适用于微量组分的检测,还可以对生物活性成分进行定性定量分析。周大勇等人利用高效液相色谱与电喷雾质谱联用法检测枳壳中的 6 种黄酮物质,从而得到了这 6 种黄酮苷的准分子离子峰及分子加钠峰^[45]。Manners 等^[46]采用高效液相色谱和质谱联用技术检测橘汁中柠檬苦素类化合物,并对其进行了定量分析,检出范围在 0.6~2 $\times 10^{-7}$ g/L,检测限为 1.2 $\times 10^{-7}$ g/L。贾强等^[47]用 HPLC-ESI-MS 鉴定了柚皮苷、柚皮苷元、新橙皮苷、橙皮苷、辛弗林等成分,并测定了它们在枳壳、枳实中的含量,枳壳、枳实药材的主要化学成分种类相同,但含量不同。Stremple 等^[48]采用气相色谱-质谱(gas chromatograph-mass spectrometry, GC-MS)建立了甜橙、桔子和

葡萄柚 3 种果皮冷榨油中 PMF 的检测方法,并依据 4 种毛细管柱(DB-1、DB-LB、DB-35ms、DB-17ms)填充料硅氧烷聚合物的差异,结果发现,DB-35ms 毛细管在 310 $^{\circ}\text{C}$ 下,仅用 5 min 就能将主要的 6 种 PMFS 及 β -谷甾醇很好的分离。

2.6 色谱-核磁联用法

高效液相色谱-核磁联用法技术始于 1978 年,LC-NMR 联用技术在天然产物研究中发挥着重要的作用,利用该技术可以获得复杂提取物的初步信息,有助于了解其大体成分和性质。由于该技术可以避免不必要的分离步骤,所以特别适合数目较多的植物提取物研究^[49]。田庆国等^[50]利用反相制备液相色谱结合吸附树脂色谱和离子色谱方法,从甜橙种子的提取物中纯化制备了一种柠檬苦素类似物配糖体,经 NMR 测定为奥巴叩酮配糖体。胡灵等^[51]通过液质联用分析玉环柚柚皮中未知化合物的分子质量为 377,并推测该化合物的质谱裂解途径,并通过氢核磁共振法,初步确定该化合物是一种黄酮醇,并且对其结构作了进一步分析,并推测了该未知化合物的结构式。

3 结 论

柑橘类水果富含有多种的生物活性物质,并且在诸多领域都已广泛应用。随着社会不断进步和科学技术不断创新,柑橘中的类黄酮物质的提取方法逐步运用固相萃取、超临界液体萃取等高效、可靠的方法,而柑橘类黄酮物质的定性定量检测方法也开始逐步采用液相色谱-质谱联用方法、液相色谱-核磁共振谱联用法、液相色谱-质谱-核磁共振联用法、液相色谱-质谱-核磁共振谱-近红外光谱四谱联用等高新的技术方法。总之,柑橘的类黄酮物质的提取和分析,需不断结合高新科技力量,定成为日后研究类黄酮物质的主要方法和发展趋势。

参考文献

- [1] 陈海芳,张武岗,杨武亮. 柑橘属常用中药黄酮类成分的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(12): 2863-2865.
Cheng HF, Zhang WG, Yang WL. Research progress of traditional Chinese medicine of citrus flavonoids [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2008, 19(12): 2863-2865.
- [2] 贾冬英,姚开,谭敏. 柚果皮中生理活性成分研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2002, 27(11): 74-77.

- Jia DY, Yao K, Tan M. Advance in research of physiologically-active compounds in Pummelo Peel [J]. Food Ferment Ind, 2002, 27(11): 74-77.
- [3] 吴桂苹, 苏学素, 焦必宁, 等. 柑橘活性成分检测技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(9): 116-117.
- Wu GP, Su XS, Jiao BN, *et al.* Research advance on analysis of bioactive compounds in citrus fruits [J] Food Ferment Ind, 2006, 32(9): 116-117.
- [4] 陈源, 余亚白, 潘东明, 等. 柑橘黄酮类化合物提取纯化方法的研究进展[J]. 福建农业学报, 2012, 27(2): 211-215.
- Chen Y, Yu YB, Pan DM, *et al.* Advances in extraction and purification of the flavonoid in citrus [J]. Fujian J Agr, 2012, 27(2): 211-215.
- [5] 边清泉, 刘思曼, 杨振萍, 等. 橘、橙、柚皮中橙皮苷和柚皮苷含量的测定[J]. 化学研究与应用, 2008, 20(11): 1524-1525.
- Bian QQ, Liu SM, Yang ZP, *et al.* Compare the content of hesperidin and naringin in the hull of citrus reticulata Blanco, citrus sinensis (L.) O sbeck and citrus grand is (L) O sbeck [J]. Chem Res Appl, 20(11): 1524-1525.
- [6] 丁桂兰, 薛亚光, 邢春来, 等. HPLC 测定橘红丸中柚皮苷、橙皮苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(9): 707.
- Ding GL, Xue YG, Xing CL, *et al.* Determination of naringin and hesperidin in Juhong Pills by HPLC [J]. Chin Trad Pat Med, 2004, 26(9): 707.
- [7] Heimhuber B, Galensa R, Herrmann K. High-performance liquid chromatographic determination of polymethoxylated flavones in orange juice after solid-phase extraction [J]. J Chromatogr A, 1988, 439(2): 481-483.
- [8] Mouly P, Gaydou EM, Arzouyan C. Separation and quantitation of orange juices using liquid chromatography of polymethoxylated flavones [J]. Analysis, 1999, 27(3): 284-288.
- [9] 陈仪本, 黄小茉, 欧阳友生, 等. 柚皮甙提取工艺的初步研究[J]. 生态科学, 2001, (3): 109-114.
- Chen YB, Huang XM, Ouyang YS, *et al.* The Preliminary study on the technique for extraction of Naringin [J]. Ecol Sci, 2001, (3): 109-114.
- [10] 谭世语, 马蓓蓓. 从鲜柑橘皮中提取橙皮甙的一种方法[J]. 重庆大学学报: 自然科学版, 1991, 14(6): 119-120.
- Tang SY, Ma BB. Extraction of Hesperidin from fresh citrus peel [J]. J Chongqing Univ, 1991, 14(6): 119-120.
- [11] 雷昌贵, 孟宇竹, 蔡利. 柑橘皮中黄酮提取工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2008, (2): 135-138.
- Lei CG, Meng YZ, Cai L. Study on the extraction technology of flavonoids from orange peel [J]. Chin Food Addit, 2008, (2): 135-138.
- [12] 唐琴, 陈先勇, 宋航. 柚皮苷的溶剂热法提取及其抗氧化性、稳定性测定[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 187-189.
- Tang Q, Chen XY, Song H. Hot Solvent extraction and antioxidant properties and stability of Naringin from White Pomelo peel [J]. Food Sci, 2011, 32(12): 187-189.
- [13] 苏东林, 单杨, 李高阳. 紫外分光光度法测定柑桔皮中总黄酮的含量[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 127-128.
- Su DL, Shang Y, Li GY. Quantitative determination of total flavonoids in citrus peel by ultraviolet spectrophotometry [J]. Food Res, 2007, 28(8): 127-128.
- [14] Inoue T, Tsubaki S, Ogawa K. *et al.* Isolation of hesperidin from peels of thinned citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction [J]. Food Chem, 2011, 123: 542-547.
- [15] 焦士蓉, 王玲, 林玲. 芦柑皮黄酮类物质的微波辅助提取及其抗氧化活性研究[J]. 西华大学学报: 自然科学版, 2007, 26(4): 37-35.
- Jiao SR, Wang L, Lin L. Study on Flavonoids extracted from citrus reticulata peel by MAE and its antioxidant activity [J]. J Xi-hua Univ: Nat Sci, 2007, 26(4): 37-35.
- [16] Sun YJ, Liu DH, Chen JC, *et al.* Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans- β -carotene from citrus peels [J]. Ultrason Sonochem, 2011, (18): 243-249.
- [17] Ma YQ, Ye XQ, Hao YB, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (Citrus reticulata) peel [J]. Ultrason Sonochem. 2008, 15: 227-232.
- [18] Londono-Londono J, Delima VR, Lara O, *et al.* Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method [J]. Food Chem, 2010, 119(1): 81-87.
- [19] 廖春燕, 朱海东. 超声波法提取橘皮中黄酮物质的研究[J]. 四川食品与发酵, 2007, 43(3): 32-34.
- Jiao CY, Zhu HD. Study on Flavonoids extracted from citrus Reticulate peel by MAE and its antioxidant activity [J]. Sichuan Food Ferment, 2007, 43(3): 32-34.
- [20] 欧阳辉, 余佶, 张永康. 纤维素酶提取湘西椪柑皮中总黄酮的工艺优化研究[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 67-70.
- Ouyang H, Yu J, Zhang YK. Extraction of total flavonoids from the peel of Ponkan Mandarin (Citrus reticulata Blanco) by optimized cellulase hydrolysis [J]. Food Sci, 2010, 31(12): 67-70.
- [21] 王悦, 肖旭萍, 李秉超. 桔皮中提取黄酮类化合物方法的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(4): 73-75.
- Wang Y, Xiao XP, Li BC. Studies on extraction methods of total flavonoids from orange peels [J]. Food Res, 2007, 28(4): 73-75.
- [22] 陈杰, 方志伟, 徐鹤龙, 等. 花生粕的主要特征、营养成分及综合开发利用[J]. 广东农业科学, 2008, (11): 70-71.
- Chen J, Fang ZW, Xu HL, *et al.* The main characteristics, peanut

- meal nutrition and comprehensive utilization value [J]. *Guangdong Agr Sci*, 2008, (11): 70–71.
- [23] 孟舒献, 温晓娜, 冯亚青. 超临界 CO₂ 萃取技术在提取中草药有效成分中的应用[J]. *广东药学院学报*, 2004, 20(6): 663–664.
- Meng SX, Wen XN, Feng YQ. Application of active components of Chinese herbs in the extraction of supercritical carbon dioxide extraction [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm*, 2004, 20(6): 663–664.
- [24] Cheihg CI, Chung EY, Chung. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from Citrus ushiu peel using subcritical water [J]. *J Food Eng*, 2011, (16): 314–315.
- [25] Yu J, Dandekar DV, Toledo RT, *et al*. Supercritical fluid extraction of limonoid glucosides from grape fruit molasses [J]. *J Agr Food Chem*, 2006, 54(16): 6041–6045.
- [26] 李作平, 霍长虹. 大孔吸附树脂在水溶性天然药物化学成份提取分离中的应用[J]. *河北医科大学学报*, 2002, 23(2): 121–123.
- Li ZP, Huo CH. Macroporous adsorption resin on the chemical constituents from the water soluble natural drug application in extraction separation [J]. *J Heibei Med Univ*, 2002, 23(2): 121–123.
- [27] 李春美, 钟朝辉, 窦宏亮. 胡柚皮中两个二氢黄酮的分离与鉴定[J]. *食品科学*, 2006, 27(6): 161–164.
- Li CM, Zhong CH, Dou HL. Separation and identification of two flavonones from peels of citrus Chang Shan-huyou [J]. *Food Sci*, 2006, 27(6): 161–164.
- [28] 张久春, 赵哲勋. 柑橘皮水溶性黄酮的稳定性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2004, 30(11): 36–38.
- Zhang QC, Zhao ZX. Research on stability of water-soluble flavonoids of orange peel [J]. *Food Ferment Ind*, 2004, 30(11): 36–38.
- [29] 孙毓庆. 分析化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 272–273.
- Sun YQ. Analytical chemistry [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002, 1. 4: 272–273.
- [30] 张元梅, 周志钦, 孙玉敬, 等. 高效液相色谱法同时测定柑橘果实中 18 种黄酮的含量[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(17): 3558–3565.
- Zhang YM, Zhou ZQ, Sun YJ, *et al*. Simultaneous determination of 18 flavonoids in citrus fruits by high-performance liquid chromatography [J]. *Sci Agr Sin*, 2012, 45(17): 3558–3565.
- [31] Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, *et al*. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2006, 70(1): 178–192.
- [32] Goulas V, Manganaris GA. Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of citrus fruits grown in Cyprus [J]. *Food Chem*, 2012, 131: 39–47.
- [33] Ramful D, Tarnus E, Aruoma OI, *et al*. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulp [J]. *Food Res Int*, 2011, 44(7): 2088–2099.
- [34] 李志辉, 肖晖, 孟军华, 等. 超高效液相色谱法同时测定柑橘属类药材中 4 种黄酮类成分[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(20): 1683–1684.
- Li ZH, Xiao H, Meng JH, *et al*. Simultaneous determination of four flavonoids in citrus herbs by UPLC [J]. *Chin Hosp Pharm J*, 2012, 32(20): 1683–1684.
- [35] 孟鹏, 郑宝东. 超高效液相色谱法快速并同时检测金柑中柠檬苦素和诺米林[J]. *中国食品学报*, 2013, 2(12): 17–18.
- Meng P, Zheng BD. Study on rapid simultaneous determination of limonin and nomilin in kumquat using ultra-performance liquid chromatography [J]. *J Chinese I Food Sci Technol*, 2013, 2(12): 17–18.
- [36] 周芳, 郑国栋. 薄层扫描法同时测定广陈皮中三种黄酮化合物的含量[J]. *中药材*, 2009, 6(25): 181–183.
- Zhou F, Zheng GD. Simultaneous determination of three flavonoids compounds of Chen pi by TLC scanning method [J]. *J Chin Med Mater*, 2009, 6(25): 181–183.
- [37] Garcia S, Heinzen H. Identification of flavonoids by TLC scanning analysis [J]. *Chem Mater Sci*, 1993, 35(7–8): 430–434.
- [38] 陆蓓, 寿文虹, 赵建英. 柑橘黄酮中总黄酮及橙皮苷的含量测定[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 1(26): 44–46.
- Lu B, Shou WH, Zhao JY. Determination of total flavonoids and Hesperidin in citrus flavonoids [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2008, 1(26): 44–46.
- [39] 蒋红芝, 陈艳梅. 超声波提取沙糖橘果皮中总黄酮工艺的研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(16): 8655–8657.
- Jiang HZ, Chen YM. Research on Ultrasonic Extraction Technology for Total Flavones from Mandarin Orange Peel [J]. *J Anhui Agr Sci*, 2010, 38(16): 8655–8657.
- [40] 李智利. 微波萃取法提取柑橘皮中的黄酮及含量分析[J]. *应用化工*, 2007, 10(36): 999–1002.
- Li ZL. Microwave extraction and analysis of the content of the flavanone in orange peel [J]. *Appl Chem Ind*, 2007, 10(36): 999–1002.
- [41] 廖彪, 鲁绪会. 紫外分光光度法测定柑橘皮中总黄酮的含量[J]. *安康学院学报*, 2009, 1(21): 88–90.
- Liao B, Lu XH. Determination of the content of total flavonoids in citrus peels by uv spectrophotometry [J]. *J Ankang Univ*, 2009, 1(21): 88–90.
- [42] 朱远平. 牟利辉双波长分光光度法测定金柚皮中总黄酮的含量[J]. *广东化工*, 2007, 37(12): 90–92.
- Zhu YP, Mou LH. Determination of total flavonoids in gol-

- den-pomelo peels by double-wavelength spectrophotometry [J]. Guangdong Chem, 2007, 37(12): 90-92.
- [43] 魏胜华, 孟娜. 高效毛细管电泳法检测橘皮中橙皮苷的含量[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(4): 209-211.
- Wei SH, Mang N. Determination of hesperidin in citrus peel by high performance capillary electrophoresis [J]. Food Ferment Ind, 2011, 37(4): 209-211
- [44] 杨瑛, 王实强, 彭源贵. 胶束电动毛细管电泳法测定柑橘属药材中柚皮苷和橙皮苷的含量[J]. 中草药, 1999, 3(30): 181-182.
- Yang Y, Wang SQ, Peng YG. Determination of naringin and hesperidin in citrus by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 1999, 3(30): 181-182.
- [45] 周大勇, 徐青, 薛兴亚, 等. 高效液相色谱-电喷雾质谱法测定枳壳中黄酮苷类化合物[J]. 分析化学, 2006, 34: 31-35.
- Zhou DY, Xu Q, Xu XY, *et al.* Analysis of flavonoid glycosides in fructus aurantii by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 34: 31-35.
- [46] Manners GD, Breksa AP, Schoch T K, *et al.* Analysis of bitter limonoids in citrus juices by atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Agr Food Chem, 2003, 51(6): 3709-3714.
- [47] 贾强, 白杨, 马燕, 等. 枳壳和枳实化学成分的HPLC-ESI-MS分析[J]. 中草药, 2005, 36(2): 169-172.
- Jiang Q, Bai Y, Ma Y, *et al.* Chemical constituents of fructus aurantii and fructus aurantii immaturus by HPLC-ESI-MS [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2005, 36(2): 169-172.
- [48] Stremple P. GC/MS Analysis of Polyethoxy flavones in Citrus Oils [J]. High Resol Chromatogr, 1998, 21(11): 587-591.
- [49] 田庆国, 戴军, 丁霄霖. 反相液相色谱法制备纯化柠檬苦素类似物配糖体[J]. 色谱, 2003, 18(2): 109-110.
- Tian QG, Dai J, Ding XL. Research on the separation of limonoid glucosides by reversed-phase preparative high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2003, 18(2): 109-110.
- [50] 胡灵. 玉环柚柚皮中黄酮类化合物提取-分离及指纹图谱的研究[D]. 杭州: 浙江工业大学. 2011(4): 59-64.
- Hu L. The study of extraction, isolation, fingerprints of flavonoids from citrus [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2011(4): 59-64.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



勾中智, 硕士研究生, 主要研究方向为食品检测分析。
E-mail: 4333839@qq.com



易有金, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养与健康。
E-mail: yiyoujin@163.com