

超高效液相色谱-串联质谱法测定大豆中 3种异黄酮素

林胜军*, 丘福保, 薛荣旋, 黄 诚, 卢丽明, 刘国平, 黄莹偲, 陈华宜

(中山市疾病预防控制中心, 中山 528403)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定大豆中金雀异黄酮(genistein)、大豆苷元(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)的含量。**方法** 样品经过乙醇-水(3:1, V:V)提取, 用 Acquity UPLC[®] HSS T₃ 柱(3.0 mm×150 mm, 1.8 μm)分离, 以甲醇和 0.1%甲酸溶液作为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾负离子模式(electrospray ionization, ESI)电离, 多反应监测模式(multiple reaction monitoring mode, MRM)进行检测。**结果** 金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素在 2.0~200 μg/L 范围内线性关系良好($r^2>0.999$), 方法的检出限分别为 0.5、0.4、0.1 mg/kg, 在 2.5、10.0、40.0 mg/kg 添加水平的平均回收率为 79.3%~107%, 相对标准偏差($n=6$)为 1.3%~6.8%。**结论** 方法简单、灵敏、准确可靠, 适用于大豆中金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素等 3 种异黄酮素含量的测定。

关键词: 金雀异黄酮; 大豆苷元; 黄豆黄素; 大豆; 异黄酮素

Determination for 3 kinds of isoflavones in soybean by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIN Sheng-Jun*, QIU Fu-Bao, XUE Rong-Xuan, HUANG Cheng, LU Li-Ming, LIU Guo-Ping, HUANG Ying-Si, CHEN Hua-Yi

(Zhongshan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Zhongshan 528403, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of genistein, daidzein, glycitein in soybean by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Method** The target in the samples was extracted by ethanol-water(3:1, V:V), separated by Acquity UPLC[®] HSS T₃ column (3.0 mm ×150 mm, 1.8 μm) with methanol and 0.1% formic acid solution as mobile phase for gradient elution, then detected by UPLC-MS/MS under the electrospray ionization (ESI) anion ion mode with multiple reaction monitoring mode (MRM). **Result** The results showed that genistein, daidzein and glycitein had good linearity in the range of 2.0–200 μg/L ($r^2>0.999$), the detection limits of the method were 0.5, 0.4, 0.1 mg/kg, respectively, and the average recovery rates at the addition levels of 2.5, 10.0, and 40.0 mg/kg were 79.3%–107%, while the relative standard deviations ($n=6$) were 1.3% to 6.8%. **Conclusion** This method is simple, sensitive and accurate, which is suitable for the determination of isoflavones including genistein, daidzein and glycitein from soybean.

KEY WORDS: genistein; daidzein; glycitein; soybean; isoflavones

基金项目: 中山市医学科研项目(2018A020150)

Fund: Supported by the Medical Research Program of Zhongshan (2018A020150)

*通讯作者: 林胜军, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为理化检验。E-mail: zscdclsj@163.com

*Corresponding author: LIN Sheng-Jun, Master, Associate Chief Technician, Zhongshan Center for Disease Control and Prevention, No.70, Changjiang Road, Eastern District, Zhongshan 528403, China. E-mail: zscdclsj@163.com

1 引言

人体细胞在代谢过程中会产生自由基, 吸烟、毒品、农药、环境污染、辐射等会增加自由基的产生^[1], 人体内过量的自由基可引起氧化应激, 导致许多慢性病变, 例如: 动脉粥样硬化、冠心病、糖尿病、神经退行性疾病、衰老和癌症^[2-4]。

近年来, 研究人员发现一些植物, 例如毛稔、大头茶等, 含有丰富的抗氧化剂^[5-7]。研究证明, 这些来源于植物的抗氧化剂, 可以清除体内过量的自由基, 具有抗衰老、抗癌作用, 能够预防心血管疾病、肥胖、糖尿病和神经退行性疾病^[8]。此外, 植物抗氧化剂还可以用作食品添加剂, 防止食物的氧化变质^[9]。因此, 研究植物抗氧化剂在食物中的含量及分布, 对于指导人们健康饮食具有重要意义。

大豆含有丰富的植物抗氧化剂, 其天然存在的抗氧化活性物质包括 12 种异黄酮素^[10], 分为 3 大类: 染料木苷类、大豆苷类和黄豆苷类, 它们分别以游离型、葡萄糖苷型、乙酰基葡萄糖苷型和丙二酰基葡萄糖苷型 4 种形式存在^[11], 其中, 葡萄糖苷型、乙酰基葡萄糖苷型和丙二酰基葡萄糖苷型等结合态的异黄酮素不易被人体吸收。金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素是大豆中天然存在的 3 种游离型异黄酮素, 目前国内外常用高效液相色谱法对其含量进行测定^[12-16]。然而, 大豆中的化合物种类繁多, 用高效液相色谱法分析时需要经过复杂的前处理, 而且特异性不够好。本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法测定大豆中 3 种异黄酮素含量, 旨在探索测定大豆中上述 3 种游离型异黄酮素的样品前处理和仪器条件, 建立基于液质联用技术的分析方法, 以期实际的测定工作提供参考意义。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 实验试剂

甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 MERCK 公司); 乙醇(色谱纯, 美国 TEDIA 公司); 丙酮(色谱纯, 美国 FISHER SCIENTIFIC 公司); 甲酸(优级纯, 天津科密欧化学试剂有

限公司); 标准品: 金雀异黄酮(CAS: 446-72-0, genistein)、大豆苷元(CAS: 486-66-8, daidzein)、黄豆黄素(CAS: 40957-83-3, glycitein)(纯度≥98%)、二甲基亚砜(纯度 99%)(Sigma-Aldrich 上海公司)。

2.1.2 实验样品

从农贸市场、商场和百货超市等流通场所采集到本地区生产的散装或包装大豆样品总共 13 份, 每份不少于 500 g。

2.1.3 仪器设备

Nexera X2 LC-30AD 超高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU 公司); 4000QTRAP 串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); Milli-Q Element 超纯水制备仪(美国 MILLIPORE 公司); AB265-S 电子天平(感量 0.0001 g, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司); G560E 涡旋混合器(美国 SCIENTIFIC INDUSTRIES 公司); 3-30K 低温超高速离心机(德国 SIGMA 公司); BILON22-600B 超声波提取仪(上海比朗仪器有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Acquity UPLC[®] HSS T₃ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相: 0.1%甲酸溶液(A), 甲醇(B); 梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 15%B; 0.5~2.0 min, 15%~35%B, 2.0~4.5 min, 35%~98%B, 保持, 2.5 min; 7.0~7.5 min, 98%~15%B; 保持 2.5 min。柱温: 40 °C; 样品室温度: 15 °C; 进样量: 2 μL。

2.2.2 质谱条件

电喷雾负离子模式(electrospray ionization, ESI); 离子化电压: -4500 V; 离子源温度: 450 °C; 气帘气压强: 20 psi; 喷雾气压强: 55 psi; 辅助加热气压强: 55 psi; 碰撞器: Medium; 去簇电压: -80 V; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring mode, MRM); 监测离子对和碰撞能量等参数见表 1。

2.2.3 标准溶液的配制

称取适量上述 3 种标准品, 用二甲基亚砜溶解并且定容至 10 mL, 配制成 10 μg/mL 的标准储备液, 然后用乙醇将其稀释成标准工作液, 浓度均为 1000 μg/L。

表 1 3 种异黄酮素的质谱参数
Table 1 Mass parameters for the 3 kinds of isoflavones

化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV
金雀异黄酮	5.64	268.9	132.9*, 158.9	-39, -38
大豆苷元	5.49	252.9	222.9*, 208.0	-45, -43
黄豆黄素	5.53	283.1	267.9*, 239.9	-26, -34

注: *表示定量离子。

2.2.4 样品测定

取 500 g 大豆样品,用研磨器将其磨成粉状并且过 60 目筛,制备成试样。称取 0.2 g 试样(精确至 0.1 mg)于 50 mL 塑料离心管,加入乙醇-水(3:1, V:V)提取液 20 mL,涡旋混匀,超声提取 20 min, 10000 r/min 离心 5 min, 转移上清液至 50 mL 容量瓶; 剩余残渣用 20 mL 提取液溶解, 再提取一次; 合并上清液, 并且用提取液稀释至刻度, 摇匀, 得到待测液。将待测液过 0.22 μm 滤膜, 用超高效液相色谱-串联质谱仪进行测定。

3 结果与分析

3.1 仪器条件的优化

3.1.1 质谱参数的优化

金雀异黄素、大豆苷元和黄豆黄素的分子量比较小, 分别为 270.24、254.24 和 284.26 Da, 而且都含有极性的酚羟基结构, 宜采用电喷雾负离子模式进行分析。注入一定量的混合标准溶液(200 ng/mL)到质谱中, 在调谐模式窗口依次扫描对应的母离子、子离子, 同时优化毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量等参数, 选取干扰少、信噪比高的离子作为定性和定量离子对, 3 种异黄酮素优化后的主要质谱参数详见表 1。

3.1.2 色谱条件的优化

采用甲醇-甲酸溶液作为流动相可以使目标物得到良好分离, 不过甲酸的加入量不宜过多, 否则造成离子抑制, 降低响应值。由于 3 种目标物都具有类似的分子结构, 而且它们的分子量也相近, 所以在分析柱上的保留时间比较接近。此外, 葡萄糖苷型、乙酰基葡萄糖苷型和丙二酰基

葡萄糖苷型等结合态的异黄酮素在离子化过程中也会产生与目标物相同的碎片离子, 因此, 在实验过程中需要选择合适的色谱柱将结合态的异黄酮素与目标物进行分离。本研究使用亲水的 HSS T₃ 柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm)作为分析柱, 实验结果显示: 目标物的色谱峰干扰少、峰形较好。3 种异黄酮素的 MRM 色谱图如图 1、图 2 所示。

3.2 样品处理条件的优化

大豆中异黄酮素的提取液, 通常使用甲醇与水、或者乙醇与水按照一定的比例进行混合。根据文献资料的报道: 乙醇-水混合提取液对毛稔、大头茶和大豆等植物中抗氧化剂的提取效率比较高^[5-7,17-22], 而且乙醇-水可以任意比例混合、毒性比较低, 所以本研究也采用乙醇水作为提取液。

超声提取法, 利用了超声波的空化作用、机械效应和热效应等加速细胞内目标物的释放、扩散和溶解^[23-26]。因此, 采用超声提取法可以在短时间内提高试样中目标化合物的提取效率。采用超声提取法进行实验, 影响样品提取效率的因素包括提取液的用量—物料比(m/V)、提取液的乙醇含量、提取时的温度、超声时间和超声波功率等 5 个方面, 其中物料比、提取液的乙醇含量和超声时间是主要影响因素^[5]。大豆中异黄酮素提取液的用量原则是足量、过量, 所以在满足检测限要求的情况下, 溶剂用量的比例越大, 提取效率越高。根据文献资料的记录, 提取大豆异黄酮素的物料比(m/V)为 1:15~1:30^[17-22], 而本研究使用 20 mL 溶剂提取 0.2 g 试样的物料比(m/V)是 1:100。此外, 增加超声提取次数, 还可以提高样品的提取效率^[18]。综上所述, 在物料比、温度和超声功率相同的条件下, 影响本实验的主要因素是提取液的乙醇含量和超声时间。

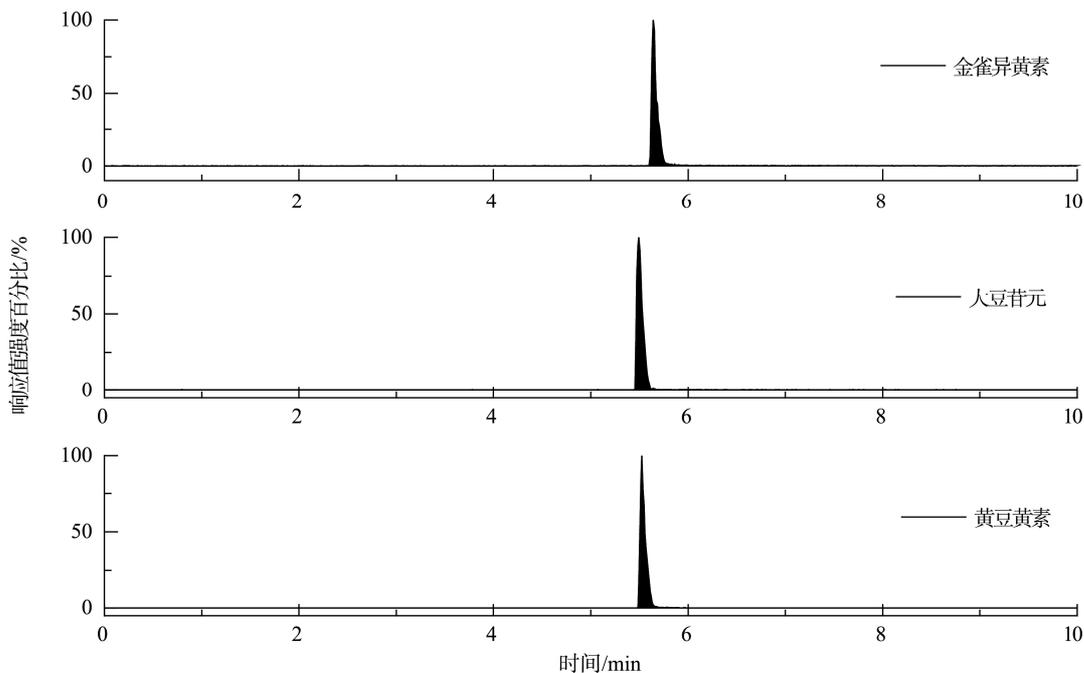
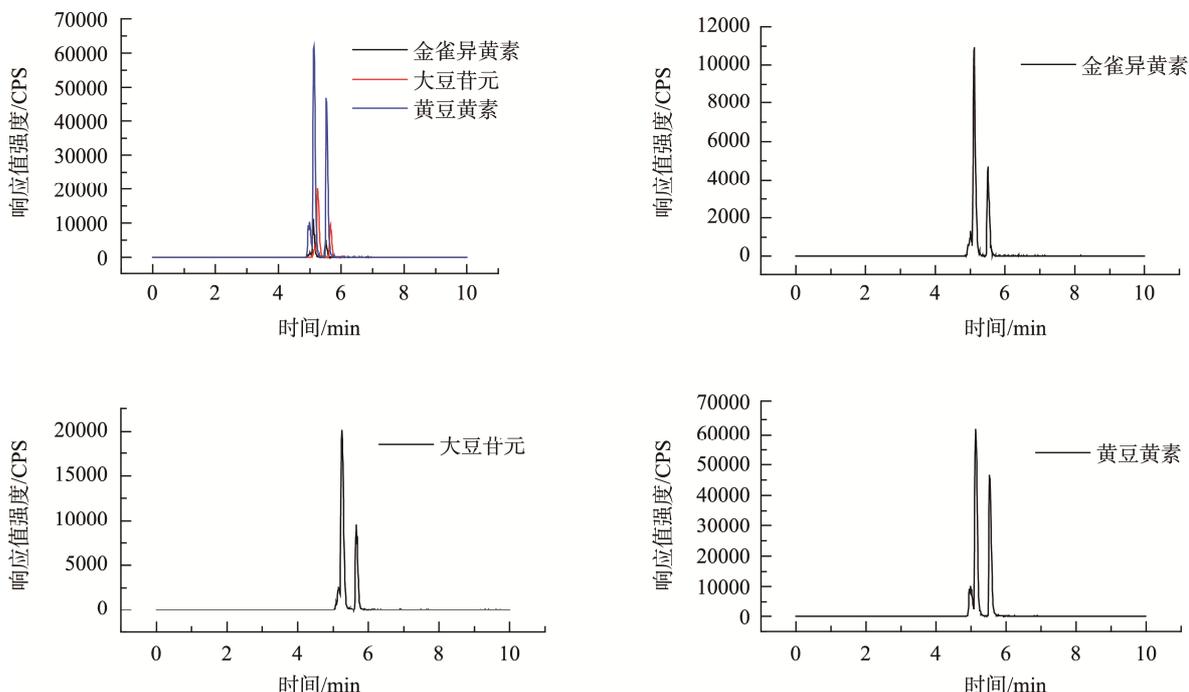


图 1 3 种异黄酮素的 MRM 色谱图

Fig.1 MRM chromatogram for the 3 kinds of isoflavones



注: 金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素的离子色谱峰均出峰在后, 前者是由其他结合态异黄酮素产生的离子色谱峰。

图 2 大豆中 3 种异黄酮素的离子色谱图

Fig.2 Ion chromatogram for the 3 kinds of isoflavones from soybean

3.2.1 提取液中乙醇含量的影响

配制乙醇含量为 15%、30%、45%、60%、75%、90% 的 6 种提取液, 在温度(20 °C)、超声功率(59 kHz、220V、20 min)相同的条件下, 分别按照“2.2.4”的方法对同一均匀试样进行处理, 测定其异黄酮素的含量, 各平行测定 2 次, 取平均值进行比较。从表 2 可以看出: 提取试样中的金雀异黄酮素、大豆苷元和黄豆黄素, 乙醇的最佳含量分别为 75%、60%和 45%; 由于金雀异黄酮素是上述 3 种异黄酮素中活性最高、含量最多的成分, 所以本实验采用 75%乙醇-水作为提取液。

3.2.2 超声时间的影响

在温度(20 °C)、超声功率(59 kHz、220 V)相同的条件下, 按照“2.2.4”的方法对同一均匀试样分别采用超声时间为 15、20、25、30、35、40 min 等 6 种方式进行处理, 测定其异黄酮素的含量, 各平行测定 2 次, 取平均值进行比较。表 3 的结果显示: 提取试样中的金雀异黄酮素、大豆苷元和黄豆黄素, 最佳超声时间分别为 20、20 和 25 min, 综合考虑 3 种成分的活性和含量后, 选择超声提取的时间为 20 min。

表 2 不同乙醇含量条件下异黄酮素的测定结果(mg/kg)

Table 2 Determination of isoflavones under different ethanol content(mg/kg)

测试项目	乙醇含量					
	15%	30%	45%	60%	75%	90%
金雀异黄酮	17.5	18.3	20.1	20.9	21.9	20.5
大豆苷元	7.6	7.9	8.9	10.3	10.1	9.4
黄豆黄素	1.6	1.9	2.3	2.2	1.7	1.9

表 3 不同超声时间条件下异黄酮素的测定结果(mg/kg)

Table 3 Determination of isoflavones under different ultrasonic time (mg/kg)

测试项目	超声时间					
	15 min	20 min	25 min	30 min	35 min	40 min
金雀异黄酮	23.4	24.6	23.9	23.7	23.0	23.0
大豆苷元	11.0	11.7	10.1	9.9	8.7	8.9
黄豆黄素	1.9	1.6	1.9	1.9	1.1	1.2

3.3 方法的线性范围和检出限

本实验配制金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素的混合标准溶液系列进行测定,其质量浓度分别为 2、5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$,以离子强度的峰面积对质量浓度进行线性回归计算。然后,以目标峰的 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)确定金雀异黄酮、大豆苷元、黄豆黄素的检出限(limits of detection, LOD)和定量限(limits of quantification, LOQ),详细结果见表 4。结果显示:上述 3 种异黄酮素在 2~200 $\mu\text{g/L}$ 范围内的线性关系良好($r^2>0.999$),其检出限和定量限均符合卫生标准的要求。

3.4 方法的准确度和精密度

用磨成粉状的大豆试样进行样品加标回收和精密度试验,3 种异黄酮素的添加水平分别为:2.5、10.0、40.0 mg/kg。将加标样品混匀,然后按照“2.3.4”的方法进行处理和测定,每个添加水平测定 6 次,得到上述 3 种异黄酮素的回收率和相对标准偏差($n=6$)如表 5 所示。结果显示:

3 种异黄酮素的平均加标回收率范围是 79.3%~107%,精密度为 1.3%~6.8%。本研究的方法回收率在 60%~120% 范围内,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)<10%,满足食品检测质量标准的要求。

3.5 方法的应用

用上述方法对本地区销售的 13 份大豆样品进行测定,金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素的含量水平分别为 6.0~24.3、3.5~22.3、0.3~2.2 mg/kg,详细结果见表 6。

4 结 论

本研究建立了测定大豆中金雀异黄酮、大豆苷元和黄豆黄素的超高效液相色谱-串联质谱法,在选定的色谱条件下,3 种目标物的色谱峰都能够被有效分离,方法的准确度、精密度和检出限等实验指标均满足该类物质的分析要求。该分析方法简单、灵敏、结果准确可靠,适用于大豆中 3 种异黄酮素含量的测定。

表 4 3 种异黄酮素的线性方程、相关系数、检出限和定量限
Table 4 Linear equations, correlation coefficients (r^2), LODs and LOQs of the 3 isoflavones

化合物	线性方程	相关系数 r^2	检测限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
金雀异黄酮	$Y=651X+419$	0.9996	0.5	1.7
大豆苷元	$Y=598X+744$	0.9995	0.4	1.2
黄豆黄素	$Y=3380X+3960$	0.9996	0.1	0.3

表 5 3 种异黄酮素的加标回收和精密度实验结果($n=6$)
Table 5 Recoveries and RSDs of the 3 isoflavones ($n=6$)

化合物	本底值/(mg/kg)	2.5 mg/kg		10 mg/kg		40 mg/kg	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
金雀异黄酮	12.2	107	5.4	106	5.4	85.9	4.7
大豆苷元	6.5	102	6.8	90.1	4.7	79.3	4.5
黄豆黄素	0.8	86.3	4.4	94.9	3.6	92.2	1.3

表 6 大豆中异黄酮素的测定结果(mg/kg)
Table 6 Determination of isoflavones from soybean (mg/kg)

编号	金雀异黄酮	大豆苷元	黄豆黄素	编号	金雀异黄酮	大豆苷元	黄豆黄素
1	22.3	16.1	2.0	8	7.4	8.3	1.5
2	7.2	8.0	1.6	9	6.0	3.5	0.3
3	14.4	11.8	0.9	10	14.5	12.2	0.9
4	23.6	21.3	2.1	11	11.9	7.2	0.7
5	12.2	6.7	0.7	12	14.8	12.3	1.3
6	16.0	13.3	1.3	13	24.3	22.3	2.2
7	24.0	17.5	1.8				

参考文献

- [1] Lobo V, Patil A, Phatak A, *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health [J]. *Pharm Rev*, 2010, 4(8): 118–126.
- [2] Singh R, Devi S, Gollen R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: Larger-than-life [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2015, 31(2): 113–126.
- [3] Santilli F, D'Ardes D, Davi GV. Oxidative stress in chronic vascular disease: From prediction to prevention [J]. *Vascular Pharmacol*, 2015, (74): 23–37.
- [4] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, (39): 44–84.
- [5] Zhou T, Xu DP, Lin SJ, *et al.* Ultrasound-assisted extraction and identification of natural antioxidants from the fruit of *Melastoma sanguineum* Sims [J]. *Molecules*, 2017, 22(2): 306.
- [6] Li Y, Li S, Lin SJ, *et al.* Microwave-assisted extraction of natural antioxidants from the exotic gordonia axillaris fruit: optimization and identification of phenolic compounds [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1481.
- [7] Li Y, Cao SY, Lin SJ, *et al.* Polyphenolic profile and antioxidant capacity of extracts from gordonia axillaris fruits [J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(6): 150.
- [8] Zhang YJ, Gan RY, Li S, *et al.* Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases [J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21138–21156.
- [9] Moure A, Cruz JM, Franco D, *et al.* Natural antioxidants from residual sources [J]. *Food Chem*, 2001, 72(2): 145–171.
- [10] 于森, 李佳梅, 孙东立, 等. 大豆异黄酮色谱检测技术研究进展[J]. 现代化农业, 2019, (4): 34–35.
Yu M, Li JM, Sun DL, *et al.* Research progress on chromatographic detection of soybean isoflavones [J]. *Mod Agric*, 2019, (4): 34–35.
- [11] 杨学东, 邓志成, 王晶, 等. 反相高效液相色谱法制备纯化大豆异黄酮糖苷[J]. 色谱, 2006, 24(4): 363–366.
Yang XD, Deng ZC, Wang J, *et al.* Preparation of soybean isoflavone glucosides by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2006, 24(4): 363–366.
- [12] 常凤启, 陈桂茹, 韩会新, 等. HPLC 法测定食品中金雀异黄素[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(6): 500–504.
Chang FQ, Chen GR, Han HX, *et al.* HPLC method for the determination of genistein in foods [J]. *Chin J Food Hyg*, 2003, 15(6): 500–504.
- [13] 王静, 韩丽华, 朱莉芳, 等. 人尿中异黄酮的高效液相色谱分析[J]. 分析化学, 2006, 34(4): 569–572.
Wang J, Han LH, Zhu LF, *et al.* Determination of isoflavones in human urine by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Chem*, 2006, 34(4): 569–572.
- [14] 徐世芳, 陈爱瑛, 姜丽霞. 微胶囊大豆异黄酮有效成分的 HPLC 含量测定[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 473–475.
Xu SF, Chen AY, Jiang LX. HPLC determination of effective components in soybean isoflavones microcapsule [J]. *Food Sci*, 2007, 28(11): 473–475.
- [15] 吴波, 胡志雄, 张寒俊. 腐乳中的大豆异黄酮高效液相色谱分析[J]. 中国酿造, 2008, 27(19): 79–81.
Wu B, Hu ZX, Zhang HJ. Quantitative determination of the soybean isoflavones in sufu by HPLC [J]. *China Brew*, 2008, 27(19): 79–81.
- [16] 吴小刚, 吴周和, 吴传茂, 等. 高效液相色谱法测定大豆制品中异黄酮含量[J]. 中国食物与营养, 2006, 25(7): 36–38.
Wu XG, Wu ZK, Wu CM, *et al.* Determination of isoflavones in soybean product by HPLC [J]. *Food Nutr China*, 2006, 25(7): 36–38.
- [17] 朱仕房, 王善利, 魏东芝, 等. 大豆异黄酮提取条件的研究[J]. 食品科学, 2001, 1(3): 54–57.
Zhu SF, Wang SL, Wei DZ, *et al.* Study on extraction technology of soybean isoflavones [J]. *Food Sci*, 2001, 1(3): 54–57.
- [18] 宋冰, 王丕武, 张秀艳, 等. 大豆异黄酮提取工艺的优化[J]. 大豆科学, 2008, (2): 343–346.
Song B, Wang PW, Zhang XY, *et al.* Optimization of the extraction technique of soybean isoflavones [J]. *Soybean Sci*, 2008, (2): 343–346.
- [19] 李万林, 钟姣姣, 刘方平. 大豆异黄酮的提取及其抗氧化稳定性研究[J]. 西部皮革, 2014, 36(6): 16–21.
Li WL, Zhong JJ, Lin FP. Extraction technology and antioxidation stability of soybean isoflavones [J]. *West Leather*, 2014, 36(6): 16–21.
- [20] 田琳, 尉震, 石军, 等. 超声波法在大豆异黄酮提取中的应用[J]. 科技创新导报, 2009, (12): 111.
Tian L, Yu Zhen, Shi J, *et al.* Application of ultrasonic method in extraction of soybean isoflavones [J]. *Sci Technol Innov Herald*, 2009, (12): 111.
- [21] 胡叶碧, 刘星, 陈勤, 等. 乙醇提取条件对大豆异黄酮组分得率的影响[J]. 食品与机械, 2009, 25(5): 75–77, 100.
Hu YB, Liu X, Chen Q, *et al.* Effects of ethanol extraction on the yield of components of soybean isoflavone [J]. *Food Mach*, 2009, 25(5): 75–77, 100.
- [22] 唐志华. 超声波辅助提取大豆异黄酮生产工艺条件优化[J]. 陕西理工学院学报(自然科学版), 2013, 29(4): 48–51.
Tang ZH. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of isoflavones from soybean [J]. *J Shaanxi Univ Technol(Nat Sci Ed)*, 2013, 29(4): 48–51.
- [23] 张广品, 杨莹莹, 徐雅娟, 等. 中药萜类成分提取方法研究[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(2): 221–223.
Zhang GJ, Yang YY, Xu YJ, *et al.* Study on the extraction method of traditional Chinese medicine of terpenoids [J]. *J Changchun Univ Tradit Chin Med*, 2014, 30(2): 221–223.
- [24] 王文骏. 柑橘果皮胶超声辅助提取的作用机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
Wang WJ. Mechanism of ultrasonic assisted extraction of pectin from citrus peel [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [25] 乔丽萍. 超声场中柑橘皮多酚稳定性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
Qiao LP. Study on the stability of polyphenols from citrus peel in ultrasonic field [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [26] 于云虎. 超声强化提取中草药的优化研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2011.
Yu YH. Optimization of ultrasonic assisted extraction of Chinese herbal medicine [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2011.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



林胜军, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为理化检验。

E-mail: zscdclsj@163.com