

不同干燥方式对陈皮中 7 种黄酮含量及 抗氧化性的影响

余祥英, 郑佳楠, 陈晓纯, 蔡昭楚, 李 琳*

(东莞理工学院, 食品营养健康工程与智能化加工研究中心, 化学工程与能源技术学院, 东莞 523808)

摘 要: **目的** 考察不同干燥方式对广陈皮(*Citri reticulatae* pericarpium, CRP)和普通陈皮中 7 种黄酮含量及抗氧化性的影响。**方法** 对广东新会茶枝柑和福建芦柑果皮采用 3 种干燥方式(自然晾晒、热风烘干、冷冻干燥)制备陈皮, 利用高效液相色谱法测试样品中 7 种黄酮(橙皮苷、香蜂草苷、甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素)的含量, 采用二苯苦味酰肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-二-(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), ABTS]、OH 自由基清除活性和还原能力测试样品的抗氧化性。**结果** 对于本研究的两种陈皮, 热风烘干和自然晾晒陈皮的黄酮含量较高; 热风烘干陈皮的抗氧化性最高, 其次是自然晾晒, 且 OH 自由基清除活性较其他方法更能真实地反映陈皮黄酮的抗氧化性。**结论** 热风烘干制备陈皮具有较高的黄酮含量和抗氧化性。研究结果可为区分了解不同干燥方式制备陈皮的品质提供依据, 同时为陈皮干燥方式的选择提供参考。

关键词: 陈皮; 黄酮; 自然晾晒; 热风烘干; 冷冻干燥; 抗氧化性

Effects of drying methods on the content of 7 kinds of flavonoids and antioxidant activity in *Citri retriculatae* Pericarpium

YU Xiang-Ying, ZHENG Jia-Nan, CHEN Xiao-Chun, CAI Zhao-Chu, LI Lin*

(Engineering Research Center of Health Food Design & Nutrition Regulation, School of Chemical Engineering and Energy Technology, Dongguan University of Technology, Dongguan 523808, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different drying methods on the content and antioxidant activity of 7 kinds of flavonoids in Guangdong *Citri reticulatae* Pericarpium (CRP) and ordinary CRP. **Methods** *Citrus reticulata* “Chachi” (Guangdong) and *Citrus reticulata* “Ponkan” (Fujian) were dried in 3 kinds of ways (natural drying, hot-air drying, and freeze drying) to prepare dried tangerine peel, for the dried samples, the content of 7 kinds of flavonoids (hesperidin, didymin, sinensetin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-heptanmethoxyflavone, tangeretin, demethylnobiletin) was analyzed by high performance liquid chromatography method, and the antioxidant activity was estimated by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

基金项目: 2019 年国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2019015)、广东省基础与应用基础研究基金项目(2020A1515110950)、东莞理工学院引进人才科研启动专项经费项目(GC300502-35)、东莞理工学院高层次人才(创新团队)科研启动项目(KCYCXPT2017007)

Fund: Supported by the Project of National Agricultural Product Quality Safety Risk Assessment in 2019 (GJFP2019015), the Basic and Applied Basic Research Foundation of Guangdong Province (2020A1515110950), the Research Start-up Funds of Dongguan University of Technology (GC300502-35), and the Institute of Science and Technology Innovation, Dongguan University of Technology (KCYCXPT2017007)

*通信作者: 李琳, 教授, 主要研究方向为食品安全、食品组分互作。E-mail: lilin@dgut.edu.cn

*Corresponding author: LI Lin, Professor, Dongguan University of Technology, University Road, No.1, Songshan Lake District, Dongguan 523808, China. E-mail: lilin@dgut.edu.cn

(ABTS), OH radical scavenging activity and reducing power. **Results** For the 2 kinds of CRP in this study, the flavonoid content in hot-air drying and natural drying CRP were higher, dried CRP with hot-air showed the highest antioxidant activity, followed by natural drying, compared with other methods, the OH radical scavenging activity could more truly reflect the antioxidant activity of flavonoids in CRP. **Conclusion** The CRP prepared by hot-air drying has high flavonoids content and oxidation resistance. The results can provide a basis for distinguishing the quality of CRP prepared by different drying methods, and also provide a reference for the selection of drying methods of CRP.

KEY WORDS: *Citri reticulatae* Pericarpium; flavonoids; natural drying; hot-air drying; freeze drying; antioxidant activity

0 引言

药用陈皮(*Citri reticulatae* Pericarpium, CRP)标准现收载于《中国药典》2020 年版一部,为芸香科植物橘(*Citrus reticulata* Blanco)及其栽培变种的干燥成熟果皮,具有理气健脾、燥湿化痰的功效,可分为广陈皮的普通陈皮^[1]。广陈皮主产于广东新会一带,是陈皮的道地药材,乃“广东三宝”之首和“广东十大中药”之一,在临床和日常食用中应用十分广泛。

黄酮类化学物质是陈皮中的主要成分,文献报道陈皮黄酮具有良好的抗肿瘤、降血脂、抗过敏、抗氧化、抗炎、抗菌等药理活性^[2-5]。陈皮中分离鉴定的黄酮类化合物多达 50 多种^[6-7],包括黄酮苷类(黄酮氧苷和黄酮碳苷)和多甲氧基黄酮类。其中橙皮苷是陈皮研究中最主要的一种黄酮苷类化合物,《中国药典》2020 年版规定陈皮中橙皮苷的含量不得少于 3.5%,广陈皮中橙皮苷的含量不得少于 2.0%^[1]。多甲氧基黄酮是柑橘类水果特有的一类黄酮类化合物,也被报道是陈皮抗氧化、抗炎和抗血脂等活性的重要来源^[8-11]。其中川陈皮素和橘皮素是陈皮中含量较高的多甲氧基黄酮,也是目前研究较多的,《中国药典》2020 年版规定广陈皮中川陈皮素和橘皮素的总含量不得少于 0.42%^[1]。

不同产地品种陈皮所含的化学成分种类和含量存在差异,其功效也存在差异^[12]。前期调研显示目前市场上的普通陈皮以福建芦柑陈皮和湖北蜜桔陈皮为主,因为不同产区气候的差异,普通陈皮主要以烘干方式制备,而广陈皮主要是自然晒干方式。目前已有大量文献对广陈皮和普通陈皮的化学成分种类和含量进行了广泛研究,但少有研究同时考察干燥方式对广陈皮和普通陈皮化学组分的影响。前人研究显示不同干燥方式对植物性食品中黄酮类化合物的含量影响较大^[13-16]。因此,对于由不同干燥方式制备的广陈皮和普通陈皮,有必要探讨不同干燥方式对广陈皮和普通陈皮黄酮类化合物的影响。

基于此,本研究拟以广东新会茶枝柑果皮和福建芦柑果皮为研究对象进行干燥实验制备陈皮,考察 3 种干燥方式(自然晾晒、热风烘干、冷冻干燥)对陈皮中报道较多

的 3 种黄酮类物质(橙皮苷、川陈皮素、橘皮素)和其他 4 种可购买的黄酮类物质(香蜂草苷、甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮)的含量及其提取液抗氧化性的影响,为进一步了解广陈皮和普通陈皮的品质提供依据,为陈皮加工方式的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜茶枝柑:2020 年 11 月 10 日采自广东省江门市新会区;新鲜芦柑:2020 年 11 月 18 日采自福建省南平市建瓯区。

7 种黄酮标准品(橙皮苷、香蜂草苷、甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素)(纯度 98%)、0.22 μm 有机相微孔滤膜(Nylon)(上海安谱实验科技股份有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Mreda 公司);没食子酸标准品(纯度 98%,美国 Sigma-Aldrich 公司);福林酚(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);二苯苦味酰肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-二-(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), ABTS]、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、2,4,6-三吡啶基三嗪盐酸溶液[2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, TPTZ]、冰醋酸、无水 FeCl_3 、双氧水、水杨酸(分析纯,阿拉丁生化科技股份有限公司);无水乙醇、盐酸、 FeSO_4 、 Na_2CO_3 (分析纯,天津市大茂化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备

1260 Infinity II 高效液相色谱分析仪[配 DAD 检测器和 Infinity Lab Poroshell EC C_{18} 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μm),美国 Agilent 公司];TECAN Spark®多功能微孔板检测仪(瑞士 Tecan 公司);Scientz-10N 台式冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司);DHG-9053A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);FW100 高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);FA2140 电子分析天平(精度 0.0001 g,上海民桥精密科学仪器有限公司);KQ-400DE 数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);TDL-60B 台式离心机(上海安亭科学

仪器厂); HH-2 数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 果皮的干燥处理

选择外观颜色、大小相近的广东茶枝柑和福建芦柑果实,清洗表皮,除去果肉,利用三刀三片的手法,将皮剥成大小均一的三片,采用自然晾晒、热风烘干、冷冻干燥3种方法对果皮进行干燥制备陈皮。具体的干燥方法如下:

(1)热风烘干

取100 g左右的果皮以单层、均匀平铺在热风干燥箱中的加热板上,干燥温度基于福建陈皮的生产调研设为70℃,每隔15 min快速取出称重,至称重质量无变化时停止干燥,持续4 h。

(2)自然晾晒

取100 g左右的果皮以单层、均匀平铺在不锈钢托盘中,白天置于太阳下直射(约25℃),每隔4 h取样称重,至称重质量无变化时停止干燥,持续约4 d。

(3)冷冻干燥

将果皮装入密封袋后于-80℃冷冻8 h,然后放入冷冻干燥机(冷阱温度-60℃,真空度1 Pa)中真空干燥,每隔4 h取样称重,至称重质量无变化时停止干燥,持续48 h。最终不同干燥方式制备陈皮的含水量均约为9%。

1.3.2 陈皮中7种黄酮类物质的测定

采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定不同干燥方法制备的陈皮中7种黄酮化合物(橙皮苷、香蜂草苷、甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素)的含量。

样品前处理参照文献方法^[17-19]并稍做修改。取适量陈皮样品置于高速万能粉碎机中粉碎,过40目筛,避光密封保存备用。在电子天平上准确称取0.1 g陈皮粉末于50 mL离心管中,加入10 mL甲醇,摇匀后浸泡90 min,50℃下超声提取30 min(超声功率设为360 W),冷却后称定质量,甲醇补足差值后,4000 r/min离心30 min,取上清液,用色谱甲醇1:1(V:V)稀释,摇匀后用0.22 μm微孔滤膜过滤,滤液即为样液,待HPLC分析。

陈皮中7种黄酮化合物的HPLC测定参照文献方法^[17,20-21]并稍做修改。色谱条件如下:色谱柱:Infinity Lab Poroshell EC C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 4 μm);流动相:水(A)-乙腈(B);梯度洗脱:0~15 min, 15%~40% B; 15~30 min, 40% B; 30~32 min, 40%~85% B; 32~37 min, 85% B; 37~38 min, 85%~15% B; 38~43 min, 15% B;检测波长:283 nm(黄酮苷)和326 nm(多甲氧基黄酮);流速:1.0 mL/min;柱温20℃;进样量:10 μL。

1.3.3 陈皮中总酚含量的测定

陈皮提取液(其制备参照1.3.2节样品前处理)中总酚含量的测定采用Folin-Ciocalteu法^[13,22]并稍做修改。用蒸

馏水配制质量浓度分别为0、4、8、12、16、20、30、40、60、80 μg/mL的没食子酸(gallic acid equivalents, GAE)标准品溶液。分别取不同质量浓度的没食子酸溶液和陈皮的提取液样品(用水稀释5倍)各1 mL于10 mL离心管,依次加入0.2 mL福林酚试剂、2 mL Na₂CO₃溶液(7%, m:V)、1.6 mL去离子水,混匀,室温避光静置90 min,采用多功能微孔板检测仪测定其在760 nm处的吸光值。以没食子酸质量浓度为横坐标(X', μg/mL),吸光度值为纵坐标(Y'),绘制标准曲线,得到回归方程 $Y'=0.0024X'+0.0864$ ($r^2=0.9972$)。根据没食子酸标准曲线和陈皮提取液的吸光度,计算陈皮提取液中总酚的含量,用GAE当量表示(mg GAE/g 陈皮)。

1.3.4 抗氧化性分析

(1)DPPH 自由基清除能力的测定

根据文献测定不同陈皮样品提取液对DPPH自由基的清除活性并稍做修改^[23]。首先用无水乙醇配制0.13 mmol/L的DPPH自由基溶液,移取1.3.2制备的陈皮提取液(用甲醇依次稀释1、2、4、6、8、10倍)50 μL,加入150 μL上述配制的DPPH自由基溶液,混合均匀,室温避光放置1 h,采用酶标仪于517 nm波长处测定其吸光度。用公式(1)计算清除率:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中: A₀表示用甲醇代替陈皮样品所测得的吸光度; A₁表示陈皮样品所测得的吸光度。

(2)ABTS 自由基清除能力的测定

根据文献测定不同陈皮样品提取液对ABTS自由基的清除活性并稍做修改^[23]。首先用去离子水分别配制7.4 mmol/L的ABTS和2.6 mmol/L的K₂S₂O₈储备溶液,然后将ABTS和K₂S₂O₈储备液等体积混合,室温避光静置12 h,用去离子水稀释20倍后待用(即为ABTS⁺工作液)。移取1.3.2制备的陈皮提取液(用甲醇依次稀释1、2、4、6、8、10倍)50 μL,加入上述配制的1 mL ABTS⁺工作液,混合均匀,室温避光下静置1 h后采用酶标仪于734 nm波长处测定其吸光度。用公式(2)计算清除率:

$$\text{ABTS 自由基清除率}/\% = \frac{A_2 - A_3}{A_2} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: A₂表示用甲醇代替陈皮样品所测得的吸光度; A₃表示陈皮样品所测得的吸光度。

(3)OH 自由基清除能力的测定

根据文献测定不同陈皮样品提取液对OH自由基的清除活性并稍做修改^[24]。用去离子水制备6 mmol/L的FeSO₄溶液和0.1%的H₂O₂溶液,用纯乙醇制备1.5 mmol/L的水杨酸溶液,室温下保存待用。移取1.3.2制备的陈皮提取液(用甲醇依次稀释1、2、4、6、8、10倍)0.2 mL,分别依次加入上述配制的50 μL FeSO₄溶液、0.2 mL水杨酸溶液和50 μL H₂O₂溶液,混匀,于37℃水浴15 min后取出,降至

室温, 采用酶标仪测定其在 510 nm 波长的吸光度。用公式 (3) 计算清除率:

$$\text{OH 自由基清除率}/\% = \frac{A_4 - A_5}{A_4} \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中: A_4 表示用甲醇代替陈皮样品所测得的吸光度; A_5 表示陈皮样品所测得的吸光度。

(4)还原能力的测定

根据文献[25]测定不同陈皮样品提取液还原 Fe^{3+} 的能力并稍做修改。首先用蒸馏水配制 0.3 mol/L 醋酸缓冲溶液(pH 3.6)、10 mmol/L 2,4,6-三吡啶基三嗪盐酸溶液和 20 mmol/L FeCl_3 溶液, 将其按体积 10:1:1 比例配制 Fe^{3+} 还原能力 (ferric reducing antioxidant power, FRAP) 工作液, 现用现配。分别取 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L FeSO_4 溶液 50 μL , 加入 1.45 mL FRAP 工作液, 混合均匀, 37 $^\circ\text{C}$ 水浴 30 min, 以蒸馏水为参比, 采用酶标仪于 593 nm 处测定吸光度, 然后以吸光度为纵坐标(Y'')和 FeSO_4 摩尔浓度为横坐标(X'' , mmol/L)绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y''=0.4149X''+0.115$ ($r^2=0.9907$)。移取 1.3.2 制备的陈皮提取液(用甲醇稀释 2 倍)50 μL , 以甲醇为参比, 采用上述方法处理后测定其在 593 nm 处的吸光度。陈皮样品的抗氧化能力 FRAP 值以亚铁离子(相当于 FeSO_4)表示(mmol/L)。

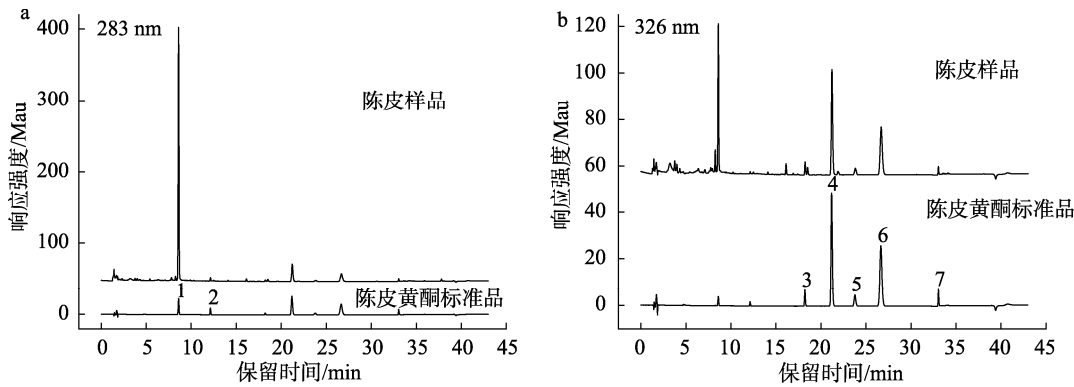
1.3.5 数据统计分析

采用 SPSS Statistics 17 软件对实验结果进行差异显著性分析, 每组实验均进行 3 次平行实验, 结果用 $\text{mean}\pm\text{SD}$ 表示。

2 结果与分析

2.1 不同干燥方式对陈皮中 7 种黄酮含量的影响

在 1.3.2 的实验条件下, 7 种黄酮类化合物标准品和陈皮样品的色谱图见图 1。将不同质量浓度的混合标准溶液进样分析, 以各组分峰面积(Y)对相应质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)进行线性回归得出 7 种黄酮的线性方程和线性范围。选择线性范围下限浓度的 7 种黄酮标准样品重复进样 6 次, 并以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比分别计算检出限和定量限, 结果见表 1。由表 1 可知, 7 种黄酮化合物在所考察质量浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数 r^2 不小于 0.9993。对同一样品开展重复性实验的结果证明各黄酮测定值的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)均小于 3%, 且各黄酮的平均加样回收率在 96.24%~110.67%之间, 说明本研究所建立的实验方法适用性良好, 可以为陈皮的品质评价和质量控制提供参考。



注: a: 283 nm; b: 326 nm; 1: 橙皮苷; 2: 香蜂草苷; 3: 甜橙黄酮; 4: 川陈皮素; 5: 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮; 6: 橘皮素; 7: 去甲基川陈皮素。

图 1 陈皮中 7 种黄酮类化合物含量测定的色谱图

Fig.1 Chromatograms of 7 kinds of flavonoids in CRP

表 1 7 种黄酮类化合物的线性方程、线性范围、检出限及定量限

Table 1 Calibration equations, linear ranges and limits of detection and quantification for 7 kinds of flavonoids

标准品	回归方程	相关系数(r^2)	线性范围/ $(\mu\text{g/mL})$	检出限/ $(\mu\text{g/mL})$	定量限/ $(\mu\text{g/mL})$
橙皮苷	$Y=15.676X$	0.9999	8.6000~550.0000	0.3200	1.0800
香蜂草苷	$Y=18.671X$	0.9994	0.3200~10.0000	0.0330	0.1100
甜橙黄酮	$Y=39.517X$	0.9993	0.1600~5.0000	0.0044	0.0150
川陈皮素	$Y=49.745X$	0.9994	1.2500~40.0000	0.0180	0.0600
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	$Y=25.685X$	0.9993	0.3200~10.0000	0.0240	0.0810
橘皮素	$Y=89.222X$	0.9994	0.6000~19.0000	0.0160	0.0520
去甲基川陈皮素	$Y=26.972X$	0.9999	0.2000~6.4000	0.0064	0.0210

表 2 显示了 3 种干燥方式下广东新会茶枝柑陈皮和福建芦柑陈皮中 7 种黄酮的含量。由表 2 可知: 对于广东新会茶枝柑陈皮和福建芦柑陈皮, 7 种黄酮均在冷冻干燥制备陈皮样品中含量最低, 提示本研究所选择的热风烘干干燥和自然晾晒干燥方式较冷冻干燥有利于促进陈皮中黄酮类化合物的萃取检出。NUNES 等^[26]研究潘石榴干燥时也得出烘箱干燥较冷冻干燥更有利于促进游离黄酮的释放。HO 等^[27]也报道热处理(100 °C 30、60、120、180 min)柑橘皮相比无热处理可增加总黄酮的含量及橙皮苷、柚皮苷、川陈皮素素、橘皮素的含量。LOU 等^[15]研究金桔干燥时报道高温热风干燥(110 °C)可促进细胞纤维结构的热降解, 促进黄酮的萃取故而含量增加, 但更高温度(130 °C)的干燥会促进黄酮的热降解, 引起黄酮含量下降。XU 等^[28]研究胡柚皮热处理时也得出黄酮苷含量随温度增加先增大后减小, 随时间延长黄酮苷含量下降。MOLINA-CALLE 等^[29]分析柑桔皮干燥处理后的黄酮类化合物时也得出烘干果皮相比冻干果皮呈现糖基化黄酮的降低和黄酮苷元的增加。因此, 本研究中冷冻干燥产品中黄酮含量较低可能源自冷冻干燥样品中其细胞纤维结构不利于黄酮的游离萃取; 而热风烘干和自然晾晒产品中所选择 7 种黄酮[包括 2 种黄酮二糖苷(橙皮苷和香蜂草苷)和 5 种多甲氧基黄酮(甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素)]的含量较高可能源自适宜的干燥温度有助于黄酮高聚糖苷转化成黄酮低聚糖苷及黄酮低聚糖苷进一步转化成黄酮苷元, 具体该降解路径还有待进一步研究。

对于新会茶枝柑陈皮, 自然晾晒制备的陈皮与热风烘干制备的陈皮的 7 种黄酮类化合物总含量无显著性差异($P>0.05$); 对于福建芦柑陈皮, 热风烘干制备的陈皮相比

自然晾晒制备陈皮含有更高含量的黄酮类化合物。说明不同干燥方式对陈皮黄酮的影响与制备陈皮的果实品种有关。目前已有多篇文献报道干燥方式对植物多酚含量的影响与植物品种有关^[30-31]。

值得注意的是, 除 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮仅存在于广东新会茶枝柑陈皮外, 其他 6 种黄酮均为福建芦柑陈皮高于广东新会茶枝柑陈皮。胡志军等^[32]研究不同基原(蜜橘、贡柑、甜橙、芦柑、酸橙和柠檬)陈皮药材中橙皮苷含量时也得出芦柑皮中橙皮苷含量最高, 高达 7.57%; 蒋变玲等^[33]也报道芦柑皮相比砂糖橘、脐橙和蜜桔果皮具有更高含量的总黄酮, 进一步揭示了芦柑果皮可开发制备陈皮的科学依据。

2.2 不同干燥方式对陈皮抗氧化性的影响

鉴于黄酮是陈皮活性的主要来源, 本研究进一步比较了不同干燥方式制备陈皮的抗氧化性, 包括不同陈皮甲醇提取液的 DPPH、ABTS、OH 自由基清除活性和还原能力, 结果见表 3。由表 3 可以看出, 干燥方式对陈皮抗氧化性的影响与对黄酮含量的影响类似: 热风烘干制备陈皮的抗氧化性高于自然晾晒, 冷冻干燥制备陈皮的抗氧化性最低; 对于同一干燥方式制备的陈皮, 福建芦柑陈皮的 DPPH、ABTS、OH 自由基清除活性和还原能力均高于广东新会茶枝柑陈皮。侯留鑫等^[34]报道黄酮苷元的抗氧化活性(总抗氧化能力、超氧阴离子自由基清除能力)大于黄酮糖苷, 黄酮二糖苷的抗氧化活性大于黄酮四糖苷。结合 2.1 节不同干燥方式对陈皮黄酮含量的影响可推断热风烘干制备陈皮的抗氧化性高于自然晾晒和冷冻干燥, 可能源自前者含有更高含量的黄酮苷元(含酚羟基)或糖聚合度更低的黄酮糖苷, 具体有待进一步研究。

表 2 不同干燥方式制备陈皮中 7 种黄酮的含量(% , n=3)						
Table 2 Content of 7 kinds of flavonoids in different CRP prepared from different drying methods (% , n=3)						
陈皮中 7 种黄酮	广东新会茶枝柑陈皮			福建芦柑陈皮		
	热风烘干	自然晾晒	冷冻干燥	热风烘干	自然晾晒	冷冻干燥
橙皮苷	2.767±0.158 ^d	2.907±0.027 ^d	1.892±0.017 ^e	6.617±0.036 ^a	5.929±0.238 ^b	3.504±0.059 ^c
香蜂草苷	0.027±0.002 ^e	0.033±0.001 ^d	0.020±0.001 ^f	0.107±0.002 ^a	0.101±0.004 ^b	0.048±0.001 ^c
甜橙黄酮	0.020±0.001 ^d	0.019±0.000 ^e	0.014±0.000 ^f	0.041±0.001 ^a	0.038±0.002 ^b	0.025±0.000 ^c
川陈皮素	0.195±0.005 ^d	0.182±0.001 ^d	0.128±0.003 ^e	0.408±0.005 ^a	0.370±0.016 ^b	0.244±0.003 ^c
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	0.030±0.001 ^a	0.029±0.000 ^b	0.020±0.001 ^c	nd	nd	nd
橘皮素	0.080±0.002 ^d	0.077±0.000 ^d	0.052±0.001 ^e	0.188±0.003 ^a	0.174±0.007 ^b	0.108±0.001 ^c
去甲基川陈皮素	0.015±0.000 ^d	0.014±0.000 ^d	0.009±0.000 ^e	0.083±0.002 ^a	0.077±0.003 ^b	0.046±0.001 ^c
总含量	3.135±0.166 ^d	3.261±0.030 ^d	2.135±0.017 ^e	7.443±0.048 ^a	6.689±0.269 ^b	3.974±0.059 ^c

注: 同一行中不同小写字母代表具有显著性差异($P<0.05$), 下同; nd 表示未检出。

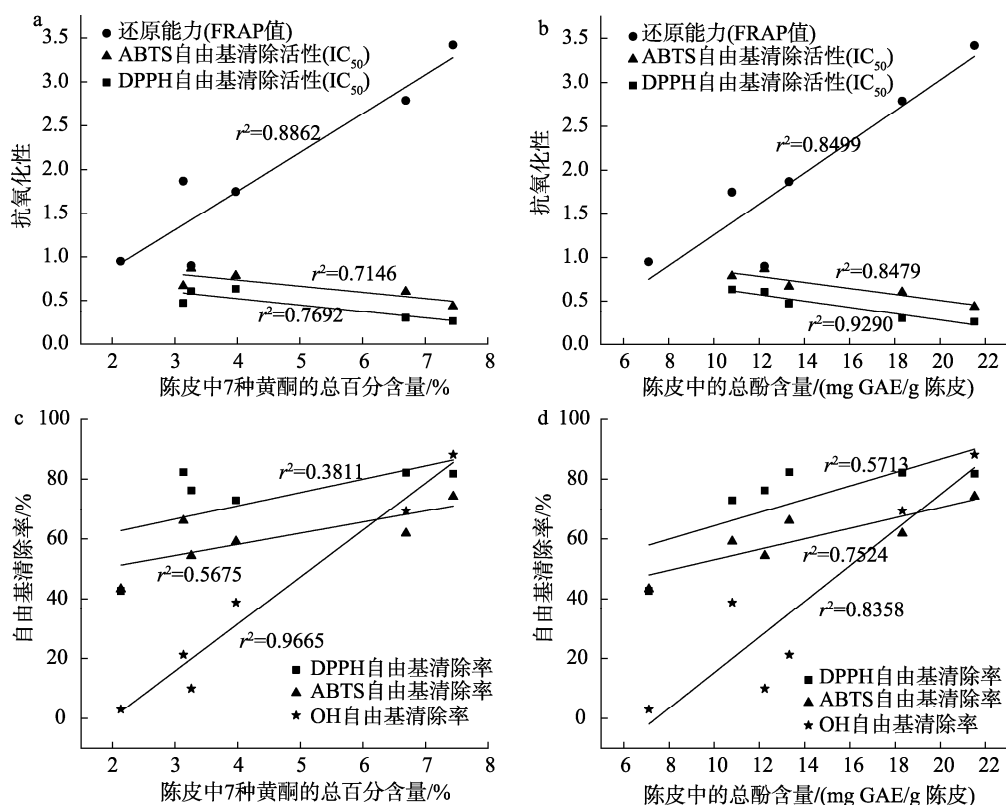
表 3 不同干燥方式制备陈皮的总酚含量和抗氧化活性($n=3$)
Table 3 Antioxidant activities and phenol content of CRP prepared from different drying methods ($n=3$)

	总酚含量(mg GAE/g 陈皮)	DPPH 自由基清除活性			ABTS 自由基清除活性			OH 自由基清除活性		还原能力 提取原液 FRAP 值 (mmol/L)
		IC ₅₀ /(提取原液 的浓度/倍数)	提取原液自由基 清除率/%	IC ₅₀ /(提取原液 的浓度/倍数)	提取原液自由基 清除率/%	IC ₅₀ /(提取原液 的浓度/倍数)	提取原液自由基 清除率/%			
广东新会 茶枝柑 陈皮	热风烘干	13.32±0.18 ^c	82.40±0.43 ^a	0.6668	66.09±0.74 ^b	21.27±0.69 ^d	1.87±0.07 ^c			
	自然晾晒	12.24±0.29 ^d	76.23±3.47 ^b	0.8691	54.38±3.29 ^d	10.01±0.36 ^e	0.90±0.04 ^d			
	冷冻干燥	7.11±0.04 ^f	42.65±1.86 ^c		43.26±1.28 ^e	3.02±2.09 ^f	0.95±0.08 ^d			
福建 芦柑 陈皮	热风烘干	21.52±0.35 ^a	81.83±0.44 ^a	0.4329	74.24±1.33 ^a	88.20±1.19 ^a	3.42±0.04 ^a			
	自然晾晒	18.32±0.40 ^b	82.21±0.53 ^a	0.6020	61.86±0.64 ^c	69.40±2.16 ^b	2.79±0.12 ^b			
	冷冻干燥	10.80±0.27 ^e	72.91±5.75 ^b	0.7850	59.15±0.77 ^c	38.76±0.87 ^c	1.75±0.02 ^e			

注: 半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。

本研究进一步考察陈皮抗氧化性与所测试 7 种黄酮总含量的相关性(见图 2a、c)发现: 陈皮提取液的 DPPH、ABTS 自由基清除活性与黄酮含量的相关性较弱($r^2 < 0.8$)。鉴于大量文献[33,35]报道橘皮的抗氧化性与多酚呈更好的相关性, 且橘皮含有丰富的酚酸组分^[36-37], 本研究也进一步测试了不同陈皮提取液的多酚含量及其与抗氧化性的相关性, 结果见表 3 和图 2b、d。由图 2 可知, 陈皮提取液的 DPPH、ABTS 自由基清除能力与多酚的相关性强于黄酮。张华等^[38]报道酚羟基的糖基化或甲基化都会降低柑橘酚类物质的自由基清除能力, 酚羟基数目越多, 抗氧化活性越强。橙皮苷、川陈皮素、甜橙黄酮、柚皮苷和橘皮素的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原能力均基本弱至可忽略。左龙亚等^[35]也报道柠檬果皮的 DPPH 自由基清除活性和还原能力与川陈皮素和橘皮素无相关性。值得注意的是, 图 2c 显示陈皮提取液的 OH 自由基清除活性与黄酮含量具有很强的相关性($r^2=0.9665$)。姚晓琳等^[39]报道较高纯度(含量大于 90%)的多甲氧基黄酮可有效清除羟基自由基, 单杨等^[40]也报道柑橘皮中 5 种多甲氧基黄酮单体均有一定的 OH 自由基清除能力, 以川陈皮素最强, 橙皮苷相对最弱。

周明等^[41]报道甜橙皮黄酮是消除 OH 自由基的重要因素, 干燥甜橙皮的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原能力受美拉德反应产物的影响更大。杨雪妍^[42]研究多甲氧基黄酮的细胞抗氧化性测试时得出川陈皮素具有最强的抗氧化性, 且多甲氧基黄酮对保护氧化损伤方面活性远高于无甲氧基的柚皮素。TRIPOLI 等^[43]综述了糖苷类黄酮和多甲氧基黄酮在体内的代谢路径不一样, 前者发生去糖苷键、葡萄糖醛酸化、硫酸盐化、甲基化反应; 而后者则是发生去甲基化反应。因而对于陈皮黄酮的抗氧化性评价, 细胞实验显示与体外化学测试(DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原能力)方法不一样的结果。结合本研究数据可推断陈皮黄酮的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原能力可能主要来自含酚羟基的黄酮和美拉德反应产物, 热风烘干制备陈皮的抗氧化性高于自然晾晒和冷冻干燥主要源自前者含有更高含量的黄酮苷元(含酚羟基)或糖聚合度更低的黄酮糖苷以及美拉德反应产物; 同时 OH 自由基清除活性较 DPPH、ABTS 自由基清除能力、还原能力更能真实反映陈皮黄酮的抗氧化性, 该结果可为后续陈皮黄酮的抗氧化性评价方法的选择提供参考。



注: a: 陈皮的还原能力和ABTS、DPPH自由基清除活性与7种黄酮总含量; b: 陈皮的还原能力和ABTS、DPPH自由基清除活性与总酚含量; c: 陈皮的DPPH、ABTS、OH自由基清除率与7种黄酮总含量; d: 陈皮的DPPH、ABTS、OH自由基清除率与总酚含量。

图2 不同干燥方式制备陈皮的抗氧化性与7种黄酮总含量的相关性

Fig.2 Correlation between antioxidant activity of CRP prepared by different drying methods and total content of 7 kinds of flavonoids

3 结论与讨论

本研究考察了 3 种干燥方式(自然晾晒、热风烘干、冷冻干燥)对广东新会茶枝柑皮和福建芦柑鲜橘皮制备陈皮中的 7 种黄酮类物质(橙皮苷、香蜂草苷、甜橙黄酮、去甲基川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素)的含量及其提取液抗氧化性的影响。研究结果表明,热风烘干和自然晾晒干燥方式较冷冻干燥有利于促进陈皮中黄酮类化合物的萃取检出;热风烘干、自然晾晒干燥方式对陈皮黄酮的影响与制备陈皮的果实品种有关:对于新会茶枝柑陈皮,自然晾晒制备的陈皮与热风烘干制备的陈皮的 7 种黄酮类化合物总含量无显著性差异;对于福建芦柑陈皮,热风烘干制备的陈皮相比自然晾晒制备陈皮含有更高含量的黄酮类化合物;另外,干燥方式对陈皮抗氧化性的影响有热风烘干制备陈皮的抗氧化性高于自然晾晒,冷冻干燥制备陈皮的抗氧化性最低;热风烘干制备陈皮的抗氧化性高于自然晾晒和冷冻干燥可能主要源自前者含有更高含量的黄酮苷元(含酚羟基)或糖聚合度更低的黄酮糖苷及美拉德反应产物;陈皮抗氧化性与所测试 7 种黄酮总含量的相关性表明 OH 自由基清除活性较 DPPH、ABTS 自由基清除能力、还原能力更能真实反映陈皮黄酮的抗氧化性。本研究结论可为后续陈皮干燥方式的选择和陈皮黄酮的抗氧化性评价方法的选择提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of People's Republic of China (2020 Edition) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [2] ZHENG GD, HU PJ, CHAO YX, *et al.* Nobiletin induces growth inhibition and apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma C666-1 cells through regulating PARP-2/SIRT1/AMPK signaling pathway [J]. Food Sci Nutr, 2019, 7(3): 1104–1112.
- [3] ZENG SL, LI SZ, LAI CJS, *et al.* Evaluation of anti-lipase activity and bioactive flavonoids in the *Citri reticulatae* Pericarpium from different harvest time [J]. Phytomedicine, 2018, 43: 103–109.
- [4] SHI XL, NIU LY, ZHAO L, *et al.* The antiallergic activity of flavonoids extracted from *Citri reticulatae* Pericarpium [J]. J Food Process Pres, 2018, 42(4): 13588.
- [5] DUAN L, DOU LL, YU KY, *et al.* Polymethoxyflavones in peel of *Citrus reticulata* 'Chachi' and their biological activities [J]. Food Chem, 2017, 234: 254–261.
- [6] ZENG SL, DUAN L, CHEN BZ, *et al.* Chemicalome and metabolome profiling of polymethoxylated flavonoids in *Citri reticulatae* Pericarpium based on an integrated strategy combining background subtraction and modified mass defect filter in a Microsoft Excel Platform [J]. J Chromatogr A, 2017, 1508: 106–120.
- [7] ZHENG GD, ZHOU P, YANG H, *et al.* Rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry method for identification of chemical constituents in *Citri reticulatae* Pericarpium [J]. Food Chem, 2013, 136(2): 604–611.
- [8] LIU EH, PAN Z, LI D, *et al.* Simultaneous determination of six bioactive flavonoids in *Citri reticulatae* Pericarpium by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2013, 141(4): 3977–3983.
- [9] CHEN XM, TAIT AR, KITTS DD. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities [J]. Food Chem, 2017, 218: 15–21.
- [10] 俞静静, 苏洁, 颜美秋, 等. 陈皮降脂药效与黄酮类成分的相关性研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(15): 3335–3342.
YU JJ, SU J, YAN MQ, *et al.* Correlation between lipid-lowering efficacy and components of *Citri reticulatae* Pericarpium [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(15): 3335–3342.
- [11] 曾威, 罗艳, 黄可儿, 等. 广陈皮抗高脂血症的血清代谢组学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(1): 72–79.
ZENG W, LUO Y, HUANG KER, *et al.* Serum metabolomics of hyperlipidemia intervened by *Citri Reticulatae* Chachiensis Pericarpium [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2020, 31(1): 72–79.
- [12] 张鑫. 基于真菌与陈皮药效物质相关性研究陈皮陈化机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
ZHANG X. Study on the aging mechanism of *Citri reticulatae* Pericarpium based on the correlation between fungal and effective substance [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [13] YU Q, LI JW, FAN LP. Effect of drying methods on the microstructure, bioactivity substances, and antityrosinase activity of asparagus stems [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(5): 1537–1545.
- [14] ZHANG HJ, TIAN GF, ZHAO CY. Characterization of polymethoxyflavone demethylation during drying processes of citrus peels [J]. Food Funct, 2019, 10(9): 5707–5717.
- [15] LOU SN, LAI YC, HUANG JD, *et al.* Drying effect on flavonoid composition and antioxidant activity of immature kumquat [J]. Food Chem, 2015, 171: 356–363.
- [16] PERICHE A, LUISA CM, HEREDIA A, *et al.* Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in *Stevia rebaudiana* leaves [J]. Food Chem, 2015, 172: 1–6.
- [17] 许引, 吕小健, 李明, 等. 14 种柑橘皮中多甲氧基黄酮成分分析[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 136–140.
XU Y, LV XJ, LI M, *et al.* Analysis of polymethoxyflavones in citrus peels of different varieties [J]. Food Sci, 2019, 40(8): 136–140.
- [18] ZHENG GD, CHAO YX, LUO MX, *et al.* Construction and chemical profile on "activity fingerprint" of *Citri reticulatae* Pericarpium from different cultivars based on HPLC-UV, LC/MS-IT-TOF, and principal component analysis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020: 1–13.
- [19] LUO MX, LUO HJ, HU PJ, *et al.* Evaluation of chemical components in *Citri reticulatae* Pericarpium of different cultivars collected from different regions by GC-MS and HPLC [J]. Food Sci Nutr, 2018, 6(2): 400–416.
- [20] YIN X, LV XJ, YANG GL, *et al.* Simultaneous separation of six pure polymethoxyflavones from sweet orange peel extract by high performance counter current chromatography [J]. Food Chem, 2019, 292: 160–165.
- [21] LONG T, LV XJ, XU Y, *et al.* Supercritical fluid CO₂ extraction of three polymethoxyflavones from *Citri reticulatae* Pericarpium and subsequent

- preparative separation by continuous high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr B, 2019, 1124: 284–289.
- [22] OBOH G, ADEMOSUN AO. Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels [J]. J Food Sci Technol, 2012, 49(6): 729–736.
- [23] YU XY, ZHAO MY, HU J, *et al.* Correspondence analysis of antioxidant activity and UV-Vis absorbance of Maillard reaction products as related to reactants [J]. LWT-Food Sci Technol, 2012, 46(1): 1–9.
- [24] 黄智, 肖南. 超声与微波辅助提取陈皮中橙皮苷及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(8): 250–255.
- HUANG Z, XIAO N. Ultrasound and microwave-assisted extracting hesperidin from citrus and study of its antioxidant activities [J]. Sci Technol Food Ind, 2017, 38(8): 250–255.
- [25] HATAMNIA AA, ABBASPOUR N, DARVISHZADEH R. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits [J]. Food Chem, 2014, 145: 306–311.
- [26] NUNES JC, LAGO MG, CASTELO-BRANCO VN, *et al.* Effect of drying method on volatile compounds, phenolic profile and antioxidant capacity of guava powders [J]. Food Chem, 2016, 197: 881–890.
- [27] HO SC, LIN CC. Investigation of heat treating conditions for enhancing the anti-inflammatory activity of citrus fruit (*Citrus reticulata*) peels [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(17): 7976–7982.
- [28] XU GH, YE XQ, CHEN JC, *et al.* Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(2): 330–335.
- [29] MOLINA-CALLE M, PRIEGO-CAPOTE F, CASTRO MDL. Development and application of a quantitative method for determination of flavonoids in orange peel: Influence of sample pretreatment on composition [J]. Talanta, 2015, 144: 349–355.
- [30] TAN S, KE ZL, CHAI D, *et al.* Lycopene, polyphenols and antioxidant activities of three characteristic tomato cultivars subjected to two drying methods [J]. Food Chem, 2021, 338: 128062.
- [31] LACHOWICZ S, MICHALSKA A, LECH K, *et al.* Comparison of the effect of four drying methods on polyphenols in saskatoon berry [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, 111: 727–736.
- [32] 胡志军, 陈建秋. HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙皮苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 95–98.
- HU ZJ, CHEN JQ. Content determination of hesperidin from different kinds of *Citri reticulatae* Pericarpium by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2012, 18(10): 95–98.
- [33] 蒋变玲, 王志花, 张东京, 等. 四种柑橘果皮主要活性物质测定和抗氧化能力对比研究[J]. 阜阳师范大学学报(自然科学版), 2021, 38(1): 51–56.
- JIANG BL, WANG ZH, ZHANG DJ, *et al.* Determination of main bioactive compounds and comparison of antioxidant capacity of four cultivars of citrus peels [J]. J Fuyang Norm Univ (Nat Sci), 2021, 38(1): 51–56.
- [34] 侯留鑫, 王华清, 郑铁松, 等. 一种新型茶叶籽黄酮单体的分离鉴定及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 115–120.
- HOU LX, WANG HQ, ZHENG TS, *et al.* Isolation and identification of a new flavonoid from tea (*Camellia sinensis*) seeds and its antioxidant activity [J]. Food Sci, 2013, 34(21): 115–120.
- [35] 左龙亚, 滕左, 王孝仕, 等. 不同溶剂柠檬果皮提取物抗氧化、抑菌活性比较及其与多酚组成的关系[J]. 园艺学报, 2017, 44(4): 743–754.
- ZUO LY, TENG Z, WANG XS, *et al.* Comparison of antioxidant and antifungal activities of various solvent extracts of lemon peel and analysis the relationship with polyphenol composition [J]. Acta Hort Sin, 2017, 44(4): 743–754.
- [36] NAYAK B, DAHMOUNE F, MOUSSI K, *et al.* Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels [J]. Food Chem, 2015, 187: 507–516.
- [37] XI WP, ZHANG YM, SUN YJ. Phenolic composition of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Balnco.) pulps and their antioxidant properties [J]. Ind Crop Prod, 2014, 52: 466–474.
- [38] 张华, 周志钦, 席万鹏. 15 种柑橘果实主要酚类物质的体外抗氧化活性比较[J]. 食品科学, 2015, 36(11): 64–70.
- ZHANG H, ZHOU ZQ, XI WP. Comparison of antioxidant activity *in vitro* of 15 major phenolic compounds in citrus fruits [J]. Food Sci, 2015, 36(11): 64–70.
- [39] 姚晓琳, 徐晓云, 段春红, 等. 锦橙皮中多甲氧基黄酮提取物的抗氧化活性和抗 DNA 损伤作用[J]. 食品科学, 2009, 30(19): 19–22.
- YAO XL, XU XY, DUAN CH, *et al.* Antioxidant activity and DNA damage prevention of polymethoxylated flavone extracts from peels of *C. sinensis* Osbeck [J]. Food Sci, 2009, 30(19): 19–22.
- [40] 单杨, 李高阳, 李忠海. 柑橘皮中多甲氧基黄酮的体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2007, (8): 100–103.
- SHAN Y, LI GY, LI ZH. *In vitro* antioxidation activity of multimethoxyl flavonoids from citrus peel [J]. Food Sci, 2007, (8): 100–103.
- [41] 周明, 卢剑青, 陈金印, 等. 不同干燥方法对‘修水化红’甜橙皮黄酮含量、抗氧化能力及挥发性风味成分的影响[J]. 果树学报, 2018, 35(2): 246–256.
- ZHOU M, LU JQ, CHEN JY, *et al.* Effects of different drying methods on flavonoid content, antioxidant capacity and volatile compounds in the peel of ‘Xiushui Huahong’ sweet orange [J]. J Fruit Sci, 2018, 35(2): 246–256.
- [42] 杨雪妍. 柑橘黄酮抗氧化、抗增殖及抗衰老活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- YANG XY. Research on anti-oxidative, anti-proliferative and anti-aging activities of citrus flavonoids [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [43] TRIPOLI E, GUARDIA ML, GIAMMANCO S, *et al.* Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review [J]. Food Chem, 2007, 104(2): 466–479.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



余祥英, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品安全、食品分析。
E-mail: yuxy@dgut.edu.cn



李 琳, 教授, 主要研究方向为食品安全、食品组分互作。
E-mail: lilin@dgut.edu.cn