

柠檬中类黄酮的含量分析和检测技术的研究进展

于玉涵^{1,2}, 焦必宁^{1,2,*}

(1. 中国农业科学院柑橘研究所/西南大学柑橘研究所, 重庆 400712;

2. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716)

摘要:类黄酮是柠檬中一类重要的多酚类化合物,具有很强的清除 DPPH·、超氧阴离子及过氧化氢等自由基的能力,在预防如肥胖、糖尿病、高血脂、心血管疾病和某些癌症方面发挥着独特功效。简要分析了柠檬中类黄酮的种类、结构和影响含量的因素,综述了柠檬中类黄酮的检测技术研究进展,并对未来的研究开发提出展望。

关键词:柠檬,类黄酮,含量,检测技术

Advances on the analysis of content and detection technologies for lemon flavonoids

YU Yu-han^{1,2}, JIAO Bi-ning^{1,2,*}

(1. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences / Citrus Research Institute, Southwest University Chongqing 400712, China;

2. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Flavonoids is the main group of polyphenol in lemon fruit. It has a strong scavenging free radicals such as DPPH· radical, superoxide anion and hydrogen peroxide, and plays a unique role in providing obesity prevention, diabetes, hyperlipidemia, cardiovascular disease and other types of cancer diseases. The types, structure and content characteristics of flavonoids in lemon were analyzed, the technological progress of detection of lemon flavonoids was summarized and finally the research and development tendency of lemon flavonoids in the future was discussed.

Key words: lemon; flavonoids; content; detection technologies

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)12-0518-06

柠檬 (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) 属芸香科 (Rutaceae) 柑橘属常绿小乔木, 主要栽培品种有尤里克、里斯本、费米耐劳等, 是继橙、柑之后第三大柑橘品种, 在鲜果市场和食品工业领域有巨大的商业价值。若干研究显示柠檬中含有的类黄酮、维生素、膳食纤维、香精油、类胡萝卜素和生物碱等成分具有重要的生理功能, 柠檬加工链产生的副产物中含有丰富的生物活性物质, 可以作为生产食品、保健食品和动物饲料的来源。与柠檬中其他功能成分相比, 目前国内外对柠檬中的类黄酮研究较多。它具有较强的清除 DPPH·、超氧阴离子及过氧化氢等自由基的

能力, 在预防如肥胖、糖尿病、高血脂、心血管疾病和某些癌症方面发挥着独特功效。国外研究发现, 柠檬中一种特有的成分圣草枸橼苷可以预防白内障等糖尿病并发症。MIYAKE^[1] 等还发现添加 0.35% 圣草枸橼苷可以明显提高食用高脂高胆固醇食物的小鼠粪便中胆汁酸性和肝脏低密度脂蛋白受体 m-RNA 水平, 圣草枸橼苷的苷元圣草酚, 是一种强脂氧化酶抑制剂, 可以降低动脉粥样硬化和癌症等疾病的发病率。Ogataetal^[2] 研究发现柠檬汁中的圣草枸橼苷可以诱导 HL-60 肿瘤细胞凋亡。此外, Shafaetal^[3] 发现柠檬中的橙皮苷和地奥司明可以治疗慢性静脉功能不全、慢性痔疮和下肢静脉溃疡, 文赛宁-2 和香叶木素 6,8-di-C-β-葡萄糖苷对血液粘附分子的表达有抑制作用, 可以用来治疗高血压。本文综述了近年来国内外有关柠檬中类黄酮的种类、含量和检测技术的研究进展, 并对未来的研究开发提出展望。

1 柠檬中类黄酮的种类和结构

柠檬中的类黄酮包括: 黄烷酮, 黄酮和黄酮醇,

收稿日期: 2010-11-24 * 通讯联系人

作者简介: 于玉涵 (1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与储藏。

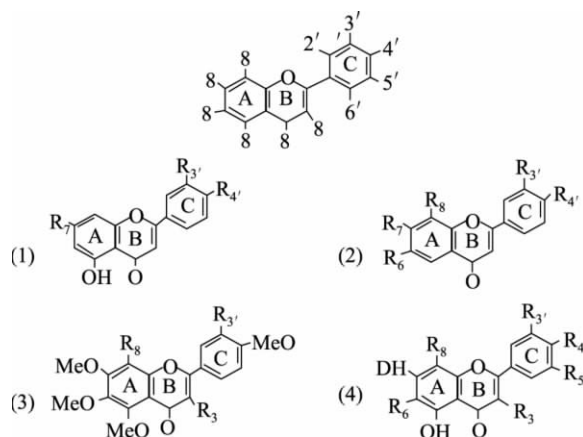
基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2007BAD47B07); 重庆市自然科学基金项目 (CSTC, 2008BB1267); 现代农业 (柑桔) 产业技术体系项目资助。

其中以黄烷酮为主, 占总黄酮含量的 90%^[4]。据不完全统计, 柠檬果皮和果汁中所含类黄酮的种类差别不大, 果汁中类黄酮有 20 种, 仅比果皮中少 1 种。

黄酮骨架是由两个芳香环(即 A 和 B) 连接一个吡喃酮或氢化吡喃酮环(C) 分别组成黄酮和黄烷酮, 具体如表 1 所示。

已检测出黄酮类 7 种, 柠檬汁中主要含橙皮苷和圣草枸橼苷^[5-7], 柠檬果皮中主要含新圣划枸橼苷, 橙皮苷、圣草枸橼苷及少量柚皮芸香苷、柚皮苷和新橙皮苷^[8-9], 柠檬种子中主要含圣草枸橼苷和橙皮苷及少量柚皮苷^[8]; 已检测出黄酮类 9 种, 柠檬汁中可以检测出少量的文赛宁-2、地奥司明、金圣草黄

表 1 柠檬中已检测到的类黄酮和酚酸结构



黄烷酮(1)	R ₇		R ₃ ,		R ₄ ,
圣草枸橼苷	O-rut		OH		OH
橙皮苷	O-rut		OH		OMe
高圣草素 7-O-芸香糖苷	O-rut		OMe		OH
柚皮苷	O-nh		H		OH
新橙皮苷	O-nh		OH		OMe
新圣划枸纤苷	O-nh		OH		OH
柚皮芸香苷	O-rut		H		OH
黄酮(2)	R ₆	R ₇	R ₈	R ₃ ,	R ₄ ,
香叶木素 6,8-di-C-β-葡萄糖苷	Gluc	OH	Gluc	OH	OMe
地奥司明	H	O-rut	H	OH	OMe
文赛宁-2	Gluc	OH	Gluc	H	OH
金圣草黄素 6,8-di-C-葡萄糖苷	Gluc	OH	Gluc	OMe	OH
木犀草素 6,8-di-C-葡萄糖苷(路赛宁-2)	Gluc	OH	Gluc	OH	OH
木犀草素 7-O-芸香苷	H	O-rut	H	OH	OH
芹菜素 7-(丙二酰基芹菜酰) -葡萄糖苷	H	O-Api-Gluc	H	H	OH
香叶木素 6-C-β-D-葡萄糖苷	Gluc	OH	H	OH	OMe
香叶木素 8-C-β-D-葡萄糖苷	H	OH	Gluc	OH	OMe
苷元(2)	R ₆	R ₇	R ₈	R ₃ ,	R ₄ ,
木犀草素	H	OH	H	OH	OH
PMFs(3)	R ₃		R ₈		R ₃ ,
橙黄酮	H		H		OMe
川陈皮素	H		OMe		OMe
3,5,6,7,8,3,4-七氧基黄酮	OMe		OMe		OMe
柚皮黄素	OH		OMe		OMe
红橘素	H		OMe		H
黄醇酮(4)	R ₃	R ₆	R ₈	R ₃ ,	R ₄ ,
芦丁	O-rut	H	H	OH	OH
槲皮素	OH	H	H	OH	OH
山奈酚	OH	H	H	H	OH
异/甲氧基柠檬黄素 3-D-葡萄糖苷	OH	H	H	OH	OH
柠檬黄素	O-Gluc	OMe	OMe	OH	OMe
甲氧基柠檬黄素	O-Gluc	OMe	OMe	OMe	OH
	R ₃	R ₅	R ₇	R ₃ ,	R ₄ ,
杨梅黄酮	OH	OH	OH	OH	OH

注: Rut 为芸香糖苷; nh 为新橘皮糖苷; Gluc 为葡萄糖苷; PMFs 为多甲氧基黄酮。

素 6,8-di-C-葡萄糖苷、芹菜素 7(丙二酰基芹菜糖基)-葡萄糖苷和香叶木素 8-C- β -D-葡萄糖苷^[6,10-12], 柠檬果皮含量最丰富的三种黄酮是香叶木素 6,8-di-C-葡萄糖苷、文赛宁-2 和地奥司明^[9,13-14]; 已检测出黄酮醇 7 种, 柠檬汁中含量最丰富的黄酮醇是芦丁和杨梅黄酮, 柠檬果皮中除含有这两种外, 还检测出多甲氧基黄酮醇, 包括异/甲氧基柠檬黄素 3- β -葡萄糖苷、柠檬黄素 3- β -D-葡萄糖苷和甲氧基柠檬黄素^[5,9,13]; 与其他柑橘品种相比, 柠檬中多甲氧基黄酮含量较少, 目前仅有少量文献报道了柠檬果皮、汁和可食用部分中的橙黄酮、川陈皮素, 红橘素的含量^[5,14,16-17]。

2 柠檬中类黄酮含量

柠檬中的类黄酮并不是平均分布、稳定不变的。研究发现, 柠檬中总黄酮和不同种类类黄酮的含量都受到品种、组织部位、环境、加工储存条件的影响。

柠檬不同组织部位的类黄酮含量差别很大。DeIR Ío^[13] 等对菲诺-49 内外果皮和果浆中的橙皮苷、地奥司明和圣草枸橼苷进行测定, 内果皮中的橙皮苷和圣草枸橼苷含量较高, 分别为 12.5、15.9 mg/kg 干重, 是外果皮中含量的 2 倍, 果浆中含量的 4 倍, 内、外果皮中地奥司明含量相近, 约为果浆中含量的 4~6 倍。MIYAKE^[19] 等测定里斯本和尤里克柠檬外果皮、囊衣、果汁、种子中的圣草枸橼苷发现, 囊衣中的含量最高, 其次是内外果皮, 种子中无检出。

柠檬不同品种和同品种不同品系的果实中类黄酮含量和种类也有很大差异。付陈梅^[14] 等检测了维拉弗兰卡柠檬等五种柠檬汁中 8 种类黄酮, 美国粗柠檬检出 7 种类黄酮, 黄花尤里克仅检出 4 种, 橙皮苷含量最高的品种与最低的品种相差近 76 倍。Kawaii^[14] 等检测了尤里克柠檬、甜柠檬、北京柠檬可食部分中 24 种类黄酮, 尤里克柠檬中检出的成分最少, 但每种成分的含量较高, 圣草枸橼苷的含量是甜柠檬和北京柠檬的 120 倍以上。Molina^[7,21] 等检测了维尔拉-62、维尔拉-50-2、菲诺-49-5 和菲诺-95 柠檬汁中的 4 种类黄酮后发现, 同品种不同品系的柠檬汁中类黄酮含量也有差别。

有文献研究证明, 柠檬汁在加工过程中类黄酮的含量和种类也会发生变化。Marín^[10] 等对菲诺和维尔纳柠檬三种加工方式获得的柠檬汁中的总黄酮和 4 种类黄酮进行检测, 发现不同加工方式总黄酮和 4 种类黄酮的含量约相差 2.5 倍。Belajová^[21] 研究现榨柠檬汁和市售柠檬汁发现, 市售柠檬汁中没有检测出现榨柠檬汁中占优势的柚皮芸香苷, 但可以检测出一定量的新橙皮苷。

随储存时间延长, 成熟柠檬中类黄酮含量逐渐减少。Wang^[3] 检测了鲜采的台湾柠檬干果皮中的总黄酮含为 32.7 mg/g 干重, 而 Huang^[13] 检测储存到冬季的台湾柠檬干果皮中总黄酮为 2.54 mg/g 干重, 总黄酮含量降低了 10 倍。DeIR Ío^[13] 等对成熟期和储存 150d 的柠檬中橙皮苷, 地奥司明、圣草枸橼苷进行测定, 发现随着柠檬储存期的延长, 三种类黄酮含量都迅速减少, 储存 150d 的柠檬汁中橙皮苷含量仅为鲜采柠檬汁中橙皮苷含量的二十分之一。

此外, GIL-IZQUIERDO^[22] 研究了不同砧木和中间砧的柠檬汁中总黄酮、圣草枸橼苷、橙皮苷、地奥司明和 6,8-di-C-葡萄糖基香木叶素含量发现, 果汁中总黄酮含量是由砧木决定的, 砧木和中间砧影响不同类黄酮成分的含量和含量排列顺序。

3 柠檬中类黄酮的检测技术

3.1 高效液相色谱技术 (high-performance liquid chromatography, HPLC)

HPLC 是目前确定酚醛结构应用最广泛的色谱方法。该法具有样品预处理简单, 分辨率高, 速度快, 重复率高的优点。HPLC 通常连接紫外 (UV)、二极管阵列 (DAD 或 PDA) 检测器。

早在 1994 年, Mouly^[23] 已建立了 rpHPLC 法检测柠檬中六种黄酮糖苷。1999 年, Kawaii^[14] 对包括柠檬在内的 66 种柑橘类水果中 24 种类黄酮进行 rpHPLC 法检测, 并用统计学方法分析了品种间的亲缘关系。2003 年 Belajová^[21] 等人采用 DAD 检测器建立了一种检测柠檬汁中检测橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素的 HPLC 法, 结果表明, 在 1~50 mg/L 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数 $r > 0.99$, 加标回收 RSD 为 0.83~1.02。

反相梯度洗脱类黄酮效果更好, 所以一般文献进行多成分分析时常采用反相梯度洗脱。Justesen^[24] 建立了检测包括柠檬汁在内的多种果蔬汁中类黄酮的 HPLC-PDA 法, 实验以 A 液 (甲醇/水/乙酸) 和 B 液 (甲醇) 为流动相, 反相梯度洗脱, 分别在 290 nm 和 365 nm 检测出 12 种类黄酮, 耗时 35 min。

HPLC 的分析时间受到保留因子、压力及柱长等影响。新近出现的微柱液相色谱 (μ HPLC)、超高速液相色谱 (UPLC)、超快速液相色谱 (UFLC) 等减小了色谱柱填料粒度和内径, 增加了泵压, 提升了分离效能。Dugo^[8] 等人用 μ HPLC 检测柠檬汁中的类黄酮, 分离出圣草枸橼苷、橙皮苷、新橙皮苷、芹菜素-6,8-di-C-葡萄糖苷、香叶木素-6,8-di-C-葡萄糖苷、芹菜素 7-(二酰基芹菜糖基)-葡萄糖苷、香叶木素 6-C- β -D-葡萄糖基、香叶木素 6,8-di-C- β -葡萄糖苷、文赛宁-2、异/甲氧基柠檬黄素 3-D-葡萄糖苷、柠檬黄素-3- β -D-糖苷等 11 中类黄酮, 保留时间仅为 46 min。

HPLC 采用手性色谱柱还可以测定类黄酮的同分异构体。Yáñez^[25] 等采用 Chiralpak OJ-RH 柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm i.d, 5 μ m) 和紫外线检测器建立了高效液相色谱法检测圣草酚的立体异构体的方法, 后又用该方法对果汁中的黄酮苷 (橙皮苷, 柚皮苷和圣草枸橼苷) 及其苷元 (橙皮素, 柚皮素和圣草酚) 的同分异构体进行测定, 并用高效液相色谱法和 LC/MS 分别对结果进行检验。

也有文献报道采用串联液相色谱 (LC-LC) 和耦合柱高效液相色谱 (CC-LC) 等二维色谱系统检测柠檬中类黄酮。Cacciola^[26-27] 比较 HPLC 和 LC-LC 发现 LC-LC 可以增加芦丁, 柚皮苷, 橙皮素和橙皮苷的峰容量和分离度。CC-LC 与环状糊精 (CDs) 柱结合还可以检测黄酮立体异构体。Aturki^[28] 使用 C_{18} 柱和羧甲基- β -环状糊精 (CDs) 柱, 结合质谱负离子电

表2 确定柠檬中类黄酮常见的检测方法

检测方法	检测成分黄酮	参考文献
UV	异/甲氧基柠檬黄素, 柠檬黄素	[5] [7]
HPLC(UV, DAD, PDA)	橙皮苷, 柚皮苷, 圣草枸橼苷, 地奥司明, 槲皮素, 木犀草素, 山萘酚, 芦丁, 橙黄酮, 橙皮苷, 柚皮苷, 圣草枸橼苷, 柚皮芸香苷	[5] [3] [6] [9] [1] [6] [2-33] [1]
CE/CEC	R(+) 圣草酚, R(-) 圣草酚, 橙皮苷, 柚皮苷	[25]
立体异构色谱	橙皮苷, 柚皮苷, 新圣划枸橼苷, 新橙皮苷, 圣草枸橼苷	[8] [24]
LC-APCI/MS	圣草枸橼苷, 木犀草素-7-O-芸香糖苷, 橙皮苷, 地奥司明, 香木叶素 6-C-β-D-葡萄糖苷, 香木叶素 8-C-β-D-葡萄糖苷, 芹菜素 6,8-di-C-葡萄糖苷, 文赛宁-2, 高圣草素 7-O-芸香柚皮苷、金圣草黄素 6,8-di-C-葡萄糖苷	[10] [2] [22]
LC-ESI/MS	路赛宁-2, 文赛宁-2, 异/甲氧基柠檬黄素, 柠檬黄素, 芦丁, 香木叶苷, 橙皮苷, 圣草枸橼苷, 芸香柚皮苷	[9]
LC-TSP/MS	香木叶素 6-C-β-D-葡萄糖苷, 香木叶素 8-C-β-D-葡萄糖苷, 芹菜素 6,8-di-C-葡萄糖苷, 圣草枸橼苷, 地奥司明, 橙皮苷, 香叶木素 6,8-di-C-葡萄糖苷	[11-12] [34]
LC-ESI-MS/MS	(2R) 圣草枸橼苷, (2S) 圣草枸橼苷, (2R) 橙皮苷, (2S) 橙皮苷	[26-27]
LC-LC-ESI-MS	(2S) 圣草枸橼苷, (2R) 圣草枸橼苷, (2S) 橙皮苷, (2R) 橙皮苷	[28]
CC-LC-ESI-MS	文赛宁-2, 香叶木素 6,8-di-C-葡萄糖苷, 芹菜素-7-(丙二酰芹菜酰基) 葡萄糖苷, 香叶木素 6-C-β-D-葡萄糖苷, 橙皮苷, 圣草枸橼苷, 芦丁, 异/甲氧基柠檬黄素	[6] [7]
μHPLC-ESI/MS	3-β-D 葡萄糖苷, 柠檬黄素 3-β-D 葡萄糖苷	
¹ H NMR, ¹³ C NMR	圣草枸橼苷, 木犀草素-7-O-芸香糖苷, 橙皮苷, 地奥司明, 芹菜素 6,8-di-C-葡萄糖苷, 香叶木素 6,8-di-C-葡萄糖苷	[9] [10-11] [34]
GC-HT-HRGC-MS	橙皮苷	[30]

喷雾(ESI-MS)技术,确定了柠檬汁中的新橙皮苷、柚皮苷、柚皮芸香苷、橙皮苷和圣草枸橼苷非对映体结构。

3.2 液质联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)

LC-MS结合了HPLC的高效分离能力和MS的强结构鉴定能力,可以对已知目标物进行定性定量分析,具有灵敏度高、选择性好、分析快速、方便等优点,最常用来检测如生物类黄酮等小分子裂解物。LC-MS/MS可以降低背景噪音使痕量组分的谱图不受丰量组分的干扰,检测灵敏度大幅提高,定量结果精确,还可以针对未知样品给出更多的碎片信息进行定性。常见的电离方式有电喷雾电离(ESI)和大气压化学电离(APCI)。

ESI电离技术通过调整离子源电压控制离子碎片可以测定化合物结构,液相色谱结合ESI串联质谱法不仅能提高同类药物分析的选择性,且能预测未知成分结构。ATURKI^[24]等建立了检测柠檬市售果汁和压榨果汁中的圣草枸橼苷和橙皮苷LC-ESI-MS方法,在 $3.12 \times 10^{-3} \sim 0.4 \text{ mg/mL}$ 范围内有良好的线性关系,日内和日间偏差低于0.25%和0.4%,加入20~1.5mg/mL野漆灵树苷为示踪物质,回收率为 $98.2\% \pm 2.7\%$ 。García^[13]等建立了在柠檬汁中C-糖苷黄酮的HPLC-ESI-MS-MS法,研究发现, $[M+H-4H_2O]^+$ 是C-6-糖苷,而 $[^3X]^+$ 是C-8-糖苷,再通过CID-MS/MS图谱与标准物质的图谱对照,推断柠檬汁中可能存在的成分为香木叶素 6-C-β-D-葡萄糖苷、香木叶素 8-C-β-D-葡萄糖苷、芹菜素 6,8-di-

C-葡萄糖苷。

APCI电离技术具有高溶剂流速能力、高灵敏度、良好响应线性关系和适应范围广等特点,但目前研究柠檬中类黄酮采用APCI电离方式的较少。Justesen^[24]利用HPLC-APCI/MS检测柠檬汁中的橙皮苷和柚皮苷,与HPLC-PDA的图谱相比较,发现两者极其相似,说明APCI电离技术可以用来分析柠檬中黄酮。Bocco^[8]根据保留时间和APCI-MS碎片可以确定柠檬果皮和柠檬种子提取物中的每种类黄酮,同时还发现圣草酚、橙皮苷和柚皮苷都有三个明显碎片: $[M+H]^+$ 、 $[M-146]+H]^+$ 和 $[M-308]+H]^+$,这个结果与1997年Robards^[24]等的研究结果完全相同。

总之,LC-MS和LC-MS/MS检测柠檬中类黄酮具有灵敏度高、可推断待测物的结构信息等优点,在痕量检测样品中主成分和未知物方面有着别的方法无可比拟的优势。

3.3 其他检测技术

除以上检测方法外,柠檬中类黄酮的其他检查还有气相色谱法(GC)、核磁共振(NMR)、毛细管电泳法(CE)和毛细管色谱法(CEC)。气相色谱法具有高分辨率和低检出限等优点,但容易生成三甲基硅醚(TMS)衍生物,所以无法广泛应用于检测类黄酮^[24]。核磁共振技术对样品不具有破坏性,操作简单,灵敏度高,短时间内可以同时获得样品中多组分的弛豫时间曲线图谱,对样品能够进行快速准确的分析鉴定。毛细管电泳法对黄酮的分离效果好,可以进行同分异构体的分离,还可以耦合电化学检测

法器对样品中类黄酮进行定量检测^[5]。毛细管色谱法是将毛细管电泳法和液相色谱法相结合,可以用于非极性中性化合物(如黄酮糖苷)的快速分离^[6]。

4 展望

柠檬作为一种全果食柑橘品种,在人体健康方面发挥着重要作用。但目前国内习惯把柠檬归为柑橘一类进行研究,针对柠檬香气成分、精油、胡萝卜素、类黄酮、膳食纤维等活性成分的研究极少,缺乏系统性,在工业化分离纯化技术和功能产品的开发方面更是处于空白状态。目前柠檬中类黄酮的检测方法大都采用以 HPLC 为基础的定量定性分析,缺少简单、快速、价低、高效的分析方法。Shinkaruk^[3]以羧酸合成半抗原,制备了橙皮苷和柚皮苷的多克隆抗体,检测食物、血浆和小鼠尿样品中的橙皮苷和柚皮苷,具有较好的特异性,这将为今后检测类黄酮的含量提供一条新途径。因此,我国应该进一步加强柠檬功能成分的研究,多学科结合研发出快速、准确、灵敏的标准化检测方法和高通量、高纯度的工业化制备工艺,从而提高柠檬的附加值提供新途径。

参考文献

- [1] Miyake Y, Suzzuki E, Ohya S, et al. Lipid-Lowering Effect of Eriocitrin, the Main Flavonoid in Lemon Fruit, in Rats on a High-Fat and High-Cholesterol Diet [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(9): S633-S637.
- [2] Ogata S, Miyake Y, Yamamoto K, et al. Apoptosis induced by the flavonoid from lemon fruit (*Citrus limon* BURM. F.) and its metabolites in HL-60 cells [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2000, 64(5): 1075-1078.
- [3] El-shafae A, El-domiaty M. Improved LC methods for the determination of diosmin and/or hesperidin in plant extracts and pharmaceutical formulations [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2001, 26(4): 539-545.
- [4] Peterson J J, Beecher G R, Bhagwat S A, et al. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(8): S74-S80.
- [5] Wang Yuan-Chuen, Chuang Yueh-Chueh, Hsu Hsing-Wen, et al. The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan [J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 277-284.
- [6] Dugo P, Presti M, hman M, et al. Determination of flavonoids in citrus juices by micro-HPLC-ESI/MS [J]. Science, 2005, 28(11): 1149-1156.
- [7] González - molina E, Moreno D, García - viguera C, et al. Genotype and Harvest Time Influence the Phytochemical Quality of Fino Lemon Juice (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) for Industrial Use [J]. Agric Food Chem, 2008, 56(5): 1669-1675.
- [8] Bocco A, Cuvelier M, Richard H, et al. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(4): 2123-2129.
- [9] Baldi A, Rosen R T, Fukuda E K, et al. Identification of nonvolatile components in lemon peel by high-performance liquid chromatography with confirmation by mass spectrometry and diode-array detection [J]. Journal of Chromatography, 1995, 718(1): 89-97.
- [10] Marín F R, Martínez M, Uribealago T, et al. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems [J]. Food Chemistry, 2002, 78(3): 319-324.
- [11] Caristi C, Bellocco E, Gargiulli C, et al. Flavone-di-C-glycosides in citrus juices from Southern Italy [J]. Food Chemistry, 2006, 95(3): 431-437.
- [12] Abad-García B, Garmón-Lobato S, Berrueta L A, et al. New features on the fragmentation and differentiation of C-glycosidic flavone isomers by positive electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22(12): 1834-1842.
- [13] Del río J A, Fuster M D, Gómez P, et al. Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest [J]. Food Chemistry, 2004, 84(3): 457-461.
- [14] 付陈梅. 柑桔果实品质和类黄酮的含量特征及橙汁掺假检测的研究 [D]. 西南大学, 2008.
- [15] Gentili B, Horowitz R M. Flavonoids of citrus-VII: Limocitrol and isolimocitrol [J]. Tetrahedron, 1964, 20(10): 2313-2318.
- [16] Kawaii S, Tomono Y, Katase E, et al. Quantitation of Flavonoid Constituents in Citrus Fruits [J]. Agric Food Chem, 1999, 47(9): 3565-3571.
- [17] Dugo G, Tranchida P, Cotroneo A, et al. Advanced and innovative chromatographic techniques for the study of citrus essential oils [J]. Flavour Fragr, 2005, 20(3): 249-264.
- [18] Sheng Huang-hung, Chen Ho-su. Polymethoxy flavones are responsible for the anti-inflammatory activity of citrus fruit peel [J]. Food Chemistry, 2010, 119(3): 868-873.
- [19] Miyake Y, Yamamo K, Osawa T, et al. Isolation of Eriocitrin (Eriodictyol 7-rutinoside) from lemon (*Citrus Limon* BURM. F.) and Its Antioxidative Activity [J]. Food Sci, 1997, 3(1): 84-89.
- [20] González - Molina E, Moreno D A, García - Viguera C, et al. Comparison of 'Verna' lemon juice quality for new ingredients and food products [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 120(3): 353-359.
- [21] Belajová E, Suhaj M. Determination of phenolic constituents in citrus juices: Method of high performance liquid chromatography [J]. Food Chemistry, 2004, 86(3): 339-343.
- [22] Gil-izquierdo A, Riquelme M T, Ignacio P, et al. Effect of the Rootstock and Interstock Grafted in Lemon Tree [*Citrus limon* (L.) Burm] on the Flavonoid Content of Lemon Juice [J]. Agric Food Chem, 2004, 52(2): 324-331.
- [23] Mouly P P, Arzouyan C R, Gaydou E M, et al. Differentiation of Citrus Juices by Factorial Discriminant Analysis Using Liquid Chromatography of Flavanone Glycosides [J]. Agric Food Chem, 1994, 42(1): 70-79.
- [24] Justesen U, Knuthsen P, Leth T. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo

-diode array and mass spectrometric detection [J]. Journal of Chromatography, 1998, 799(1): 101-110.

[5] Yáñez J A, Miranda N D, Remsberg C M, et al. Stereospecific high-performance liquid chromatographic analysis of eriodictyol in urine [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43(1): 255-262.

[6] Cacciola F, Jandera P, Hajdú Z, et al. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography with parallel gradients for separation of phenolic and flavone antioxidants [J]. Chromatogr A, 2007, 1149(1): 73-87.

[7] Cacciola F, Jandera P, Mondello L, et al. Comparison of High-Temperature Gradient Heart-Cutting and Comprehensive LC × LC Systems for the Separation of Phenolic Antioxidants [J]. Chromatographia, 2007, 66(9-10): 661-667.

[8] Aturki Z, Brandi V, Sinibaldi M. Separation of Flavanone-7-O-glycoside Diastereomers and Analysis in Citrus Juices by Multidimensional Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(17): 5303-5308.

[9] Robards K, Li X, Antolovich M, et al. Characterisation of citrus by chromatographic analysis of flavonoids [J]. Sci Food Agric, 1997, 75(1): 87-101.

[10] Eva DR, Pieter O, Niessen Wilfried M A, et al. Analytical

separation and detection methods for falconoid [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1112(1-2): 31-63.

[11] Claudia D, Antonella D R, Massimo S. Analysis of flavanone-7-O-glycosides in citrus juices by short-end capillary electrochromatography [J]. Journal of Chromatography, 2005, 1081(1): 99-104.

[12] Kanaze F I, Gabrieli C, Kokkalou E, et al. Simultaneous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of diosmin, hesperidin and naringin in different citrus fruit juices and pharmaceutical formulations [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 33(2): 243-249.

[13] Xu Gui-hua, Liu Dong-hong, Chen Jian-chu, et al. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China [J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 545-551.

[14] Caristi C, Bellocco E, Panzera V, et al. Flavonoids Detection by HPLC-DAD-MS-MS in Lemon Juices from Sicilian Cultivars [J]. Agric Food Chem, 2003, 51(12): 3528-3534.

[15] Svitlana S, Valérie L, Jean-Marie S, et al. Development and validation of two new sensitive ELISAs for Hesperetin and Naringenin in biological fluids [J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 472-481.

(上接第517页)

nitrite curing salts on the generation and oxidation of fatty acids in nonfermented sausages [J]. Eur Food Res Technol, 2001, 212: 421-425.

[4] Shahidi F, Pegg R B, Sen N P. Absence of volatile N-nitrosamines in cooked nitrite-free cured muscle food [J]. Meat Science, 1994(37): 327-336.

[5] 汤林虹, 田应华. 亚硝胺类化合物的危害及控制 [J]. 肉类卫生, 2000(4): 10-11.

[6] 杨锡洪, 夏文水. 亚硝酸盐替代物-组氨酸着色作用的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2005(9): 102-106.

[7] 樊娟, 张丽娟, 王玉娇. 发酵香肠中亚硝酸盐替代品研究综述 [J]. 安徽农学通报, 2010, 16(3): 177-180.

[8] 邢必亮, 徐幸莲. 降低腌肉亚硝胺含量的复合抗氧化剂研究 [J]. 食品科学, 2011, 32(1): 104-107.

[9] 周亚军, 王淑杰, 刘微, 等. 膳食纤维营养保健香肠的研制 [J]. 食品工业科技, 2004, 25(2): 83-85.

[10] 谢婷, 李诚. 膳食纤维功能性肉制品研究进展 [J]. 肉类研究, 2007(9): 3-8.

[11] 刘战丽, 等. 芹菜营养保健香肠的开发研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(1): 312-313.

[12] 王朝辉, 刘振春, 李倩, 等. 麦麸香肠生产工艺的研究 [J]. 中国食物与营养, 2009(12): 45-48.

[13] 马宗欣, 陈建峰, 李冬冬. 蔬菜粒香肠的研制 [J]. 肉类工

业, 2010(3): 18-22.

[14] 邵伟, 鲁林, 熊泽. 发酵平菇香肠的研制 [J]. 肉类工业, 2003(6): 20-23.

[15] 周红, 李开雄, 胡建军, 等. 营养保健鸡腿菇香肠加工工艺 [J]. 肉类工业, 2004(4): 19-21.

[16] 周亚军, 田沐野, 蒋德寿, 等. 红枣芦荟营养保健香肠的开发研究 [J]. 食品与机械, 2004, 20(6): 51-54.

[17] 段善海, 缪铭. 鸡腿菇营养香肠的研制开发 [J]. 现代食品科技, 2005(1): 81-84.

[18] 魏东. 发酵牛蒡保健香肠的研制 [J]. 食品科学, 2007, 28(9): 668-672.

[19] 孟宏昌, 徐后红, 周晓磊. 营养保健型木瓜发酵香肠的研制 [J]. 食品科技, 2008, 33(5): 75-78.

[20] 唐长波, 李邦玉. 芡实保健香肠的研制 [J]. 食品研究与开发, 2009, 30(1): 60-63.

[21] 武俊瑞, 乌日娜, 岳喜庆, 等. 胡萝卜花色香肠 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(2): 195-197.

[22] 俞纯方, 张荣强, 叶云凯. 果仁风味香肠加工技术 [J]. 农村新技术, 2010(6): 30-31.

[23] 叶春苗. 香菇保健香肠制作工艺研究 [J]. 农业科技与装备, 2011(1): 26-29.

[24] 周亚军, 刘妍菊, 苏丹, 等. 果蔬复合鹿肉香肠工艺配方优化与特性研究 [J]. 食品科学, 2011, 32(4): 288-292.