

琯溪蜜柚黄酮重结晶工艺优化

Optimization of recrystallization process of flavonoids from Guanxi pomelo

胡 阳^{1,2,3} 郑丽燕¹ 杨远帆^{1,2,3} 吴锦辉⁴ 倪 辉^{1,2,3}

HU Yang^{1,2,3} ZHENG Li-yan¹ YANG Yuan-fan^{1,2,3} WU Jin-hui⁴ NI Hui^{1,2,3}

(1. 集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建 厦门 361021; 3. 厦门市食品生物工程技术研究中心, 福建 厦门 361021; 4. 漳州柚皮王生物技术有限公司, 福建 漳州 363000)

(1. College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China; 2. Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering Technology of Fujian Province, Xiamen, Fujian 361021, China; 3. Research Center of Food Biotechnology of Xiamen City, Xiamen, Fujian 361021, China; 4. Zhangzhou King Pemole Skin Biotechnology Co., Ltd., Zhangzhou, Fujian 363000, China)

摘要:目的:提高黄酮重结晶得率和纯度。方法:以超声辅助乙醇提取法提取的蜜柚柚皮黄酮粗品为原料,利用响应面分析法优化乙醇重结晶纯化黄酮的工艺参数。结果:影响黄酮重结晶得率的主要因素有乙醇体积分数、结晶时间、pH 以及乙醇体积分数和 pH 的交互作用,其中乙醇体积分数的影响最为显著。结论:黄酮重结晶的最优工艺条件为乙醇体积分数 24%、液料比 10:1 (mL/g)、pH 3.75、结晶温度 4 °C 和结晶时间 24 h,黄酮结晶得率为 8.76%,结晶产物主要为柚皮苷,纯度为 83.38%。

关键词:蜜柚;黄酮;纯度;重结晶;精制

Abstract: Objective: This study aimed to improve the recrystallization yield and purity of flavonoid. Methods: Taking the crude flavonoids from pomelo peel extracted by ultrasonic-assisted ethanol extraction as raw materials, the process parameters of ethanol recrystallization and purification of flavonoids were optimized by response surface methodology. Results: The main factors affecting the recrystallization yield of flavonoids were ethanol concentration, crystallization time, pH value, and the interaction between ethanol concentration and pH value, among which, the ethanol concentration affected most significantly. Conclusion: The optimal recrystallization conditions of flavonoids were as follows: ethanol volume fraction of 24%, liquid-solid ratio of 10:1 (mL/g), pH 3.75, crystallization temperature of

4 °C, and crystallization time of 24 h. The crystallization yield of flavonoids was 8.76%, and the main crystallization product was naringin with a purity of 83.38%.

Keywords: pomelo; flavonoids; purity; recrystallization; refine

黄酮类化合物是一类重要的多酚类次级代谢产物,广泛分布于植物中,对果实色泽、风味和营养及植物抗逆性和抗病虫害具有重要影响^[1-2]。常见的黄酮类化合物有柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、芸香苷和槲皮素等,其抗氧化和清除自由基功能使其可以应用于生产抗肿瘤、抗炎镇痛、降血糖、免疫调节、抗病毒抑菌等药物及功能性保健食品中^[3]。此外,黄酮类化合物还具有一定的颜色和风味,在食品工业中可作为天然食品添加剂(如食用色素、风味改良剂等)用于食品、饮料的生产等^[4]。黄酮类物质在医药、食品、化妆品等行业均具有广阔的发展前景和应用潜力^[5-6]。

目前,常见的黄酮提取方法有有机溶剂提取法和水提取法等,黄酮类物质精制纯化方法包括色谱法(常压柱层析法、高压制备型 HPLC 法、高速逆流色谱法)和结晶法等^[7]。高丽等^[8]利用大孔树脂精制荷叶黄酮,黄酮纯度达 55.28%;康彤^[9]利用大孔树脂精制甘草黄酮粗品,黄酮纯度为 66.8%;江正祥等^[10]利用甲醇与异丙醇的混合溶液作结晶溶剂纯化曲克芦丁,纯度可达 95%,回收率为 75%;刘艳杰^[11]利用甲醇反溶剂重结晶法纯化黄酮纯度为 99.8%。相比较而言,采用色谱法对黄酮进行纯化设备昂贵、耗时长、溶剂消耗大,而采用重结晶法分离纯化黄酮类物质具有对分离设备要求低、操作简单、溶剂用量少等优点,因此是黄酮产品工业生产中精制纯化普遍采用方法。同时,不同植物来源的黄酮种类及特性不同,

基金项目:福建省科技厅引导性项目(编号:2021N0015);福建省平和县现代农业产业园中央财政奖补资金项目(编号:PH2020)

作者简介:胡阳,女,集美大学高级实验师,硕士。

通信作者:倪辉(1973—),男,集美大学教授,博士。

E-mail: nihui@jmu.edu.cn

收稿日期:2022-03-28 **改回日期:**2022-07-17

溶剂种类、酸碱度、添加量,以及结晶温度和时间等均对黄酮重结晶具有一定影响,进而影响重结晶黄酮的纯度和产量^[12]。

相关研究^[2]表明,柑橘类水果中含有大量的黄酮类化合物,是人类膳食中黄酮类化合物摄入的主要来源之一,也是食品和准制药工业中黄酮类化合物的主要来源。柚类水果是重要的柑橘类水果,中国柚类水果产量占全球12%左右,仅福建省平和县琯溪蜜柚产量就达到了120万t^[13]。柚类水果的残次废果及加工副产物含有橙皮苷、新橙皮苷和柚皮苷等黄酮类物质,含量达1%~6%^[14],是工业化生产黄酮的潜在优质原料。课题组^[15]前期已优化建立了柚皮黄酮乙醇提取工艺,提取得率为柚皮干重的4.90%。研究拟在此基础上,进一步优化柚皮黄酮的重结晶工艺参数,并对重结晶产物进行结构和纯度分析,以期为植物黄酮的重结晶精制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

琯溪蜜柚:福建省漳州市平和县;

芦丁(纯度≥95.0%)、九水合硝酸铝、氢氧化钠、亚硝酸钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

无水乙醇:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

甲醇、乙腈:色谱纯,美国 Thermo 公司;

高速粉碎机:JP-500C型,永康市久品工贸有限公司;

旋转蒸发仪:RE-501型,上海力辰科技有限公司;

酶标仪:Epoch 2T型,美国伯腾仪器有限公司;

超声波清洗机:KQ5200DE型,昆山市超声仪器有限公司;

岛津液相色谱仪:LC-20AT型,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 柚皮黄酮粗品制备 参照晏幸等^[15]的方法并修改。设置提取液料比30:1(mL/g)、乙醇体积分数67%、超声频率163 W、超声温度35℃、超声时间50 min,提取两次后收集提取液,真空浓缩至粗提液中黄酮质量浓度≥2.0 mg/mL,于4℃析出晶体沉淀,过滤,60℃烘干后制得黄酮粗品。

1.2.2 重结晶单因素试验

(1) 乙醇体积分数对黄酮重结晶得率的影响:称取0.50 g 黄酮粗品,液料比为30:1(mL/g),乙醇体积分数分别为10%、20%、30%、40%、50%,对黄酮结晶粗品进行超声水浴辅助溶解,离心取上清液,测定其黄酮含量,调节pH值为4.0,4℃下进行重结晶,24 h后收集重结晶沉淀,计算晶体重结晶得率。

(2) 液料比对黄酮重结晶得率的影响:称取0.50 g 黄酮粗品,液料比分别为10:1,20:1,30:1,40:1,50:1(mL/g),乙醇体积分数为20%,对黄酮粗品进行超声

水浴辅助溶解,离心取上清液,测定其黄酮含量,并调节pH值为4.0,4℃下进行结晶,24 h后收集重结晶沉淀,计算晶体重结晶得率。

(3) pH值对黄酮重结晶得率的影响:称取0.50 g 黄酮粗品,乙醇体积分数为20%,液料比为30:1(mL/g),对黄酮粗品进行超声水浴辅助溶解,离心取上清液,测定其黄酮含量,并分别调节pH为3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,4℃下进行结晶,24 h后收集重结晶沉淀,计算晶体重结晶得率。

(4) 结晶时间对黄酮重结晶得率的影响:称取0.50 g 黄酮粗品,乙醇体积分数为20%、液料比为30:1(mL/g),对黄酮粗品进行超声水浴辅助溶解,离心取上清液,测定其黄酮含量,并调节pH为4.0,4℃下进行结晶,结晶时间分别为6,12,24,36,48 h,收集重结晶沉淀,计算晶体重结晶得率。

1.2.3 响应面试验设计与优化 根据Box-Behnken中心组合试验原则,以单因素试验结果为基础,利用Design-Expert 8.06软件对选定因素进行响应面试验设计、方差分析以及回归分析,获得最佳重结晶工艺。

1.2.4 指标测定方法

(1) 黄酮总含量:参照晏幸等^[15]的方法。

(2) 黄酮重结晶得率:按式(1)计算提取液中黄酮重结晶得率。

$$X_1 = \frac{m_1}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

X_1 ——黄酮重结晶得率,%;

m_1 ——重结晶的晶体质量,g;

m_0 ——被结晶物的质量,g。

(3) 黄酮主要成分的HPLC分析:采用Shim-pack GIS C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱对样品进行HPLC分析,进样体积5 μL;流速0.5 mL/min,柱温40℃,检测波长284 nm;梯度洗脱条件:0~15 min,35%流动相A(超纯水)、65%流动相B(乙腈)。采用标准品对照确定主要成分含量。

(4) 黄酮纯度:分别取0.02 g 柚皮苷标准品、黄酮粗品和黄酮重结晶样品溶解于10 mL 乙腈中,定容;过0.22 μm滤膜进行HPLC分析。根据标准品与样品的HPLC峰面积之比,按式(2)计算重结晶样品纯度。

$$X_2 = \frac{A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

X_2 ——黄酮纯度,%;

A_1 ——重结晶晶体的液相峰面积;

A_0 ——标准品的液相峰面积。

1.3 数据处理

采用Excel 2013软件对数据进行平均值、标准偏差

的计算和图表绘制;采用 RStudio 2022.02.0 对数据进行单因素显著性分析;通过 Design-Expert 8.06 软件进行响应面设计与数据方差分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇体积分数对黄酮重结晶得率的影响 由图 1 可知,随着乙醇体积分数的升高,黄酮晶体重结晶得率先增大后显著减少,当乙醇体积分数为 20% 时达最大值 2.41%,与林芳等^[16]的结论一致,是因为随着乙醇体积分数的上升,乙醇溶液极性下降,黄酮溶解度下降,而低体积分数的乙醇溶液极性更接近于黄酮极性,更有利于黄酮的溶解以及混合液体体系的饱和,从而利于晶体的析出。

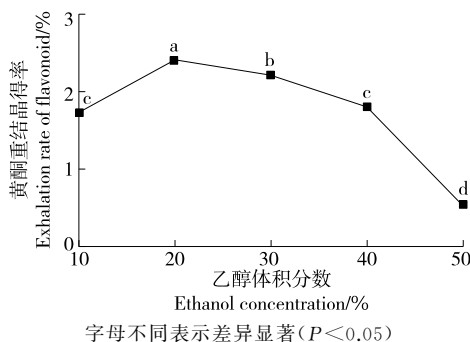


图 1 乙醇体积分数对黄酮重结晶得率的影响

Figure 1 Effects of ethanol volume fraction on the recrystallization yield of flavonoids

2.1.2 液料比对黄酮重结晶率的影响 由图 2 可知,随着液料比的增大,溶液中的黄酮含量和黄酮重结晶得率呈明显下降趋势,当液料比为 10 : 1 (mL/g) 时,重结晶得率达到最大值 8.21%。

2.1.3 pH 值对黄酮重结晶得率的影响 由图 3 可知,随着 pH 值的升高,黄酮重结晶得率先升高后下降,当 pH 值为 4.0 时黄酮重结晶得率达最大值 8.45%,与甄畅迪等^[17]的结论一致,说明酸性条件下更有利于黄酮物质的

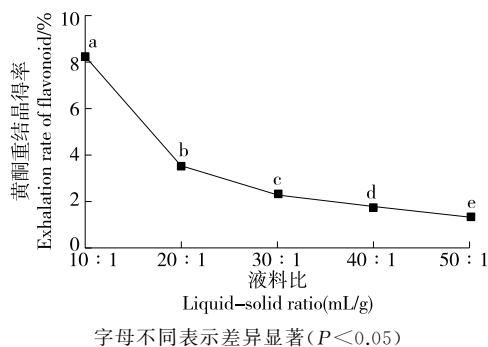
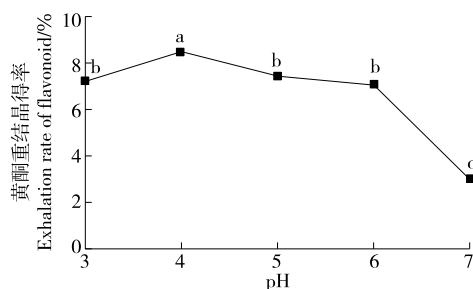


图 2 液料比对黄酮重结晶得率的影响

Figure 2 Effects of the liquid-solid ratio on the recrystallization yield of flavonoids



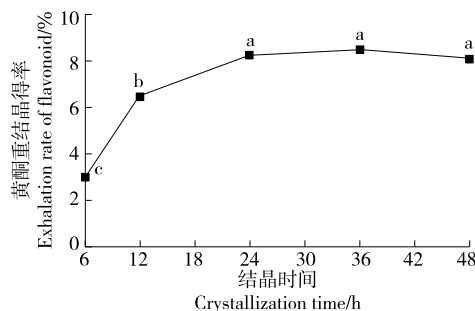
字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 pH 对黄酮重结晶得率的影响

Figure 3 Effects of pH value on the recrystallization yield of flavonoids

溶解以及结晶速度的提高。

2.1.4 结晶时间对黄酮重结晶得率的影响 由图 4 可知,结晶时间对黄酮重结晶得率的影响与一般规律相同,当结晶时间为 24 h 时黄酮重结晶得率达 8.26%,并趋于稳定,当结晶时间为 36 h 时达最大值 8.47%,但无显著性差异,说明结晶时间为 24 h 左右,粗品中的黄酮已接近全部析出,考虑到工业生产中的成本与效益,取结晶时间 24 h 为最优结晶时间。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 结晶时间对黄酮重结晶得率的影响

Figure 4 Effects of crystallization time on the recrystallization yield of flavonoids

2.2 响应面试验

2.2.1 Box-Behnken 设计方案及试验结果 固定液料比为 10 : 1 (mL/g),以黄酮重结晶率为响应值,对乙醇体积分数、pH 和结晶时间 3 个因素进行响应面设计,试验因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

经 Design-Expert 8.06 多项拟合回归后,得二次项回归方程为:

$$Y = -19.703 + 1.442A + 6.479B - 0.045C - 8.775 \times 10^{-2}AB + 2.083 \times 10^{-4}AC + 4.292 \times 10^{-2}BC - 2.324 \times 10^{-2}A^2 - 7.888 \times 10^{-2}B^2 - 1.571 \times 10^{-3}C^2. \quad (3)$$

2.2.2 回归模型方差分析 由表 3 可知,回归模型 $F = 19.97$, $P < 0.05$,说明该回归模型显著;一次项 A、B、C,交互项 AB 及二次项 A^2 和 B^2 均具有显著影响 ($P < 0.05$)。

表 1 响应面试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	A 乙醇体积分数/%	B pH	C 结晶时间/h
-1	10	3	12
0	20	4	24
1	30	5	36

因此,二次项回归方程修订为 $Y=-19.703+1.442A+6.479B-0.045C-8.775\times10^{-2}AB-2.324\times10^{-2}A^2-7.888\times10^{-2}B^2$ 。各因素的效应关系为 A(乙醇体积分数)>C(结晶时间)>B(pH)。相关系数 $R^2=0.973$,变异系数 $CV=8.31\%<10\%$,表明模型可信且拟合程度良好,试验误差小,可用该模型对黄酮重结晶工艺进行分析、优化和预测。

2.2.3 响应面分析与优化 由图 5 可知,乙醇体积分数与 pH 的交互作用对黄酮重结晶率的影响比较显著,与方差分析结果一致。

对二次多项式回归方程进行求导计算,得出黄酮重结晶最优工艺条件为乙醇体积分数 24.09%,pH 3.75,结晶时间 36 h,预测黄酮重结晶得率最高为 9.13%。结合实际生产情况,将其参数修正为液料比 10:1 (mL/g),乙醇体积分数 24%,pH 3.75,结晶时间 24 h,重复 3 次实验测得黄酮重结晶得率为 8.76%,与预测值相近,由此验证了响应面法优化所得的黄酮重结晶工艺模型的可靠性和合理性。

2.3 黄酮晶体的初步鉴定

由图6可知,精制黄酮的保留时间与柚皮苷标准品

表 2 响应面试验优化设计与结果

Table 2 The optimization design and results of response surface test

试验号	A	B	C	黄酮重结晶率/%
1	-1	-1	-1	3.38
2	1	-1	0	8.08
3	-1	1	0	4.13
4	1	1	0	5.32
5	-1	0	-1	3.19
6	1	0	-1	6.81
7	-1	0	1	4.72
8	1	0	1	8.44
9	0	-1	-1	7.90
10	0	1	-1	5.65
11	0	-1	1	7.97
12	0	1	1	7.78
13	0	0	0	7.54
14	0	0	0	8.49
15	0	0	0	8.99

完全对应,由此可以判定黄酮重结晶产物为柚皮苷。经重结晶精制纯化后杂质含量明显减少,说明重结晶精制黄酮粗品的方法具有一定效果。

2.4 黄酮晶体纯度

柚皮中的黄酮类物质有柚皮苷、芦丁、橙皮苷和新橙皮苷,其中柚皮苷和芦丁含量较多^[18]。根据标准曲线计算可得精制品中柚皮苷纯度为83.38%,相对于粗结晶样

表 3 基于黄酮重结晶得率的方差分析结果[†]

Table 3 Analyses of variance results based on the recrystallization yield of flavonoids

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
模型	53.41	9	5.93	19.97	0.002 1	*
A	21.88	1	21.88	73.61	0.000 4	* *
B	2.48	1	2.48	8.33	0.034 4	*
C	3.59	1	3.59	12.08	0.017 7	*
AB	3.08	1	3.08	10.36	0.023 5	*
AC	2.50×10^{-3}	1	2.50×10^{-3}	8.40×10^{-3}	0.930 5	
BC	1.06	1	1.06	3.57	0.117 5	
A ²	19.94	1	19.94	67.08	0.000 4	* *
B ²	2.30	1	2.30	7.73	0.038 9	*
C ²	0.19	1	0.19	0.64	0.461 4	
残差	1.49	5	0.30			
失拟项	0.40	3	0.13	0.25	0.859 8	
纯误差	1.08	2	0.54			
总和	54.90	14				

[†] * 表示影响显著($P<0.05$); * * 表示影响极显著($P<0.01$); $R^2=0.973$, $R_{\text{adj}}^2=0.924$,
 $CV=8.31\%$ 。

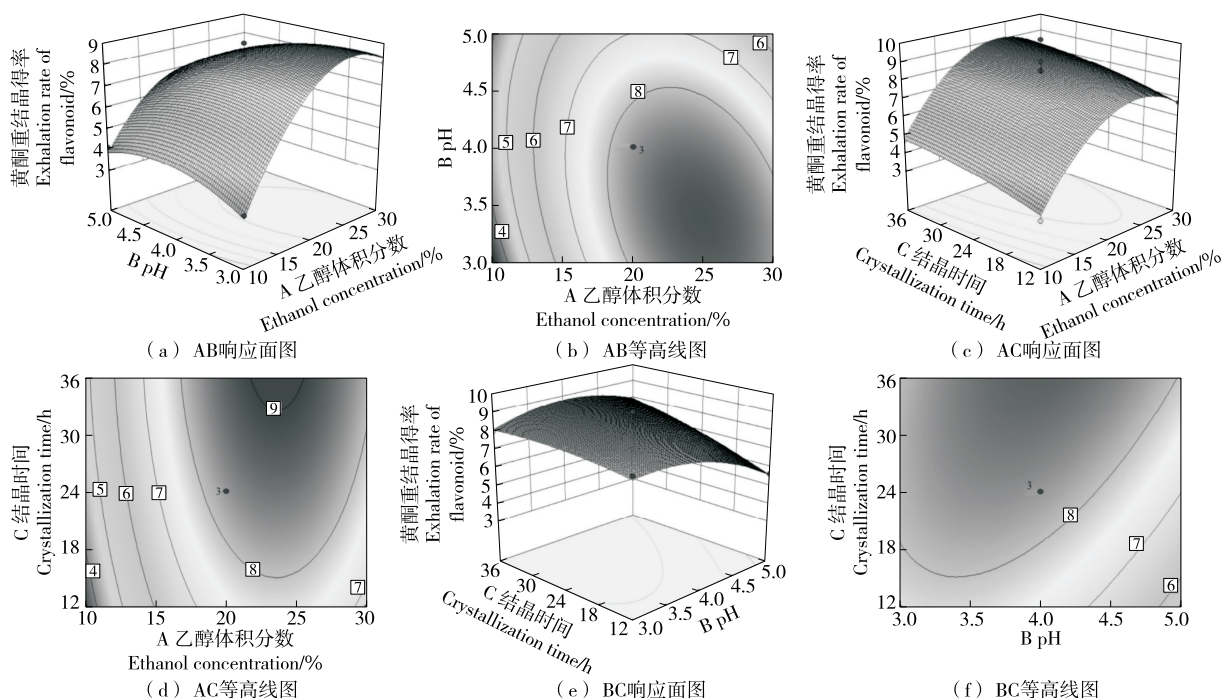


图 5 各因素交互作用对柚皮黄酮重结晶得率的影响

Figure 5 Effects of interaction of various factors on the recrystallization yield of flavonoids from pomelo peel

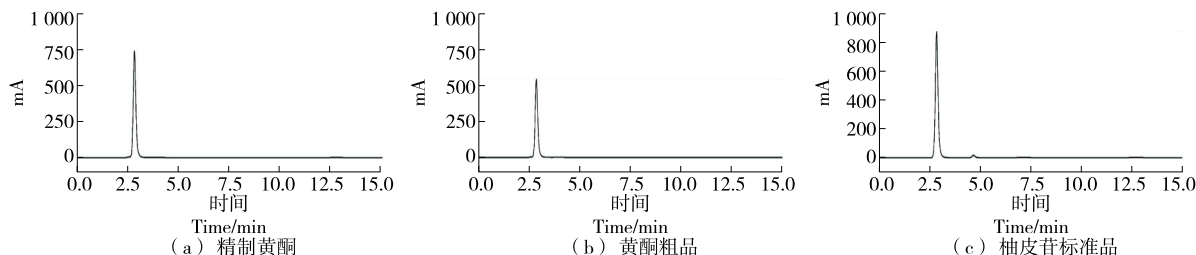


图 6 精制黄酮、黄酮粗品和柚皮苷标准品的 HPLC 图

Figure 6 HPLC diagram of refined flavonoid, crude flavonoid and naringin standard

品,纯度提高了 36%。许鹭^[19]通过 D101 型大孔树脂分离纯化柚皮苷 3 次,经 60%乙醇溶液重溶后,得到纯度为 92.44%的柚皮苷精制品;项飞等^[12]通过乙醇溶液提取黄酮后,经多次重结晶和洗涤得到纯度为 70.36%的黄酮化合物;涂招秀等^[20]利用大孔树脂—结晶法精制蔓三七叶黄酮,得到纯度为 91.8%的黄酮精品。贾冬英^[21]采用 DM130 大孔吸附树脂法粗提柚皮中的柚皮苷后,经 3 次不同条件的重结晶后,得到柚皮苷精制品纯度为 85.07%。试验精制品中柚皮苷纯度与上述报道的纯度对比略低,但相对于多次重结晶,该精制过程步骤简洁,纯度较高。相比于大孔树脂纯化或大孔树脂与重结晶相结合精制黄酮类化合物,该工艺操作简单、省时高效、无污染,提取的黄酮纯度与其他方法无大差别,适用于工业化生产。

3 结论

通过响应面法优化了乙醇重结晶精制黄酮工艺。结果表明,精制黄酮粗品的最优工艺方案为液料比 10 :

1 (mL/g)、乙醇体积分数 24%、pH 值 3.75、结晶时间 24 h。此条件下蜜柚黄酮重结晶率为 8.76%,结晶产物主要为柚皮苷,纯度为 83.38%。研究尚未更深入地鉴定结晶产物,后续将采用红外光谱、质谱和核磁共振等技术手段作进一步探究,明确细化结晶产物中的黄酮种类。

参考文献

- [1] 陈嘉景, 彭昭欣, 石梅艳, 等. 柑橘中类黄酮的组成与代谢研究进展[J]. 园艺学报, 2016, 43(2): 384-400.
CHEN J J, PENG Z X, SHI M Y, et al. Advances in on flavonoid composition and metabolism in citrus[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(2): 384-400.
- [2] FRYDMAN A, WEISSHAUS O, BAR-PELED M, et al. Citrus fruit bitter flavors: Isolation and functional characterization of the gene Cm1, 2RhaT encoding a 1,2 rhamnosyltransferase, a key enzyme in the biosynthesis of the bitter flavonoids of citrus[J]. The Plant Journal, 2004, 40(1): 88-100.

- [3] LI P, WANG S, GUAN X, et al. Six months chronic toxicological evaluation of naringin in Sprague-Dawley rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 66: 65-75.
- [4] 郑培君, 程海涛, 王小博. 柚子皮中的总黄酮提取工艺研究[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(1): 104-108.
ZHENG P J, CHENG H T, WANG X B. Study on the processing condition of extracting total flavonoids from pomelo peel[J]. Hubei Agricultural Science, 2018, 57(1): 104-108.
- [5] 孙慧慧, 余元善, 吴继军, 等. 沙田柚的加工和综合利用研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(6): 209-214.
SUN H H, YU Y S, WU J J, et al. Study on production and comprehensive utilization of citrus grandis osbeck[J]. Food Research and Development, 2018, 39(6): 209-214.
- [6] 于宏伟, 谷维娜, 李娜, 等. 柚皮苷的提取方法及其应用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(8): 1 516-1 518.
YU H W, WU W N, LI N, et al. Research progress of naringin[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(8): 1 516-1 518.
- [7] 丘苑新, 张泽雄, 何娣, 等. 超声波辅助提取柚树叶黄酮及其抗氧化、抑菌能力研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(6): 174-178.
QIU Y X, ZHANG Z X, HE D, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of flavonoids from pomelo leaves and its antioxidant and antibacterial capabilities[J]. Food & Machinery, 2021, 37(6): 174-178.
- [8] 高丽, 张昭, 李静. 大孔树脂精制荷叶黄酮的工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(3): 67-69, 89.
GAO L, ZHANG Z, LI J. Research on the technology of refining flavonoid from lotus leaf by macroporous adsorption resin[J]. Cereals and Oils, 2021, 34(3): 67-69, 89.
- [9] 康彤. 甘草黄酮的提取、纯化及活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2019: 49-50.
KANG T. Extraction, purification and activity of flavonoids from glycyrrhiza[D]. Tianjing: Tianjing University of Science and Technology, 2019: 49-50.
- [10] 江正祥, 李国防. 优先结晶法纯化曲克芦丁[J]. 应用化工, 2010, 39(11): 1 632-1 634.
JIANG Z X, LI G F. Purification of troxerutin by preferential crystallization[J]. Applied Chemical Industry, 2010, 39(11): 1 632-1 634.
- [11] 刘艳杰. 苦荞总黄酮的纯化与芦丁水溶性粉体的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018: 18-27.
LIU Y J. Study on purification of flavonoids from tartary buckwheat and water soluble powder of rutin[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2018: 18-27.
- [12] 项飞. 柚皮膳食黄酮的提取[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2016: 31-34.
XIANG F. Extraction of dietary flavonoids from Huyou peels[D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2016: 31-34.
- [13] 苏艳兰, 刘功德, 艾静汶, 等. 原味柚子皮加工质量关键控制点的确定与控制[J]. 大众科技, 2016, 18(10): 30-31.
SU Y L, LIU G D, AI J W, et al. Determination and control of key quality control points for the processing of natural-taste pomelo peel[J]. Popular Science and Technology, 2016, 18(10): 30-31.
- [14] 李歌, 王珊珊, 丁文珺, 等. 柚皮中黄酮类化合物提取工艺研究[J]. 生物技术进展, 2016, 6(2): 125-129.
LI G, WANG S S, DING W J, et al. Research on extraction process of flavonoids from pomelo peel[J]. Current Biotechnology, 2016, 6(2): 125-129.
- [15] 晏幸, 戴宇琪, 欧丽明, 等. 溪蜜柚柚皮黄酮提取工艺优化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(17): 135-140.
YAN X, DAI Y Q, OU L M, et al. Optimization of flavonoids extraction from Guanxi honey pomelo peel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(17): 135-140.
- [16] 林芳涓. 微波辅助提取柚皮苷的研究分析[J]. 广州化工, 2021, 49(22): 55-57.
LIN F M. Study on microwave-assisted extraction of naringin[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(22): 55-57.
- [17] 甄畅迪, 王蕴波, 张毅, 等. 化橘红有效成分柚皮苷的提取分离[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2010, 28(3): 55-58.
ZHEN C D, WANG Y B, ZHANG Y, et al. Extraction and separation of naringin from exocarpium citri grandis[J]. Journal of Foshan University (Natural Science Edition), 2010, 28(3): 55-58.
- [18] 阳梅芳. 柚子黄酮类物质提取、分离及生物特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 18-22.
YANG M F. Study on the extraction, separation and biological characteristics of the flavonoids in grapefruit[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013: 18-22.
- [19] 许鹭. 柚皮中柚皮苷的提取、分离纯化及其固体分散体与卵磷脂复合物的制备及表征[D]. 广州: 华南理工大学, 2015: 25-30.
XU L. Extraction and purification of naringin in grapefruit peel and preparation and characterization of its solid dispersion and lecithin compound[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015: 25-30.
- [20] 涂招秀, 谢欣, 胡居吾, 等. 蔓三七叶黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 生物化工, 2018, 4(6): 1-6.
TU Z X, XIE X, HU J W, et al. Optimization of flavonoids extraction process of gynura procumbens leaves and evaluation of antioxidative activity[J]. Biological Chemical Engineering, 2018, 4(6): 1-6.
- [21] 贾冬英. 柚皮苷提取纯化及其络合改性研究[D]. 成都: 四川大学, 2002: 27-33.
JIA D Y. Extraction, purification and chelation of naringin[D]. Chengdu: Sichuan University, 2002: 27-33.