

不同柑橘品种生理落果中橙皮苷和辛弗林含量测定

毛华荣, 傅虹飞, 王鲁峰, 吴 鹏, 卢 琪, 潘思轶*

(华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 测定不同柑橘品种两次生理落果中橙皮苷和辛弗林的含量, 比较原料采集后不同干燥方式对含量的影响。采用高效液相色谱法, 色谱柱 Hypersil ODS₂(250mm × 4.6mm, 5 μm), 流动相为水-乙腈-四氢呋喃-乙酸(80:16:3:1, V/V), 波长 280nm 测定橙皮苷的含量; 流动相为乙腈-水-磷酸(32:68:0.2, V/V), 内含 0.2g SDS/100ml, 波长 225nm 测定辛弗林的含量。结果表明: 7 个品种经 80℃鼓风干燥后测得橙皮苷含量均高于其他处理(自然风干, 40、60℃鼓风干燥), 而 60℃处理后的生理落果测得的含量辛弗林含量均大于其他处理。不同柑橘品种间两次生理落果的橙皮苷和辛弗林含量差异显著, 各品种第二次生理落果除琯溪蜜柚和酸橙橙皮苷含量均高于第一次, 其中琯溪蜜柚第一次落果橙皮苷含量最高, 达(199.28 ± 0.47) μg/mg, 各品种第二次生理落果辛弗林含量均较第一次有所降低, 尾张第一次落果辛弗林含量最高, 达(20.50 ± 0.89) μg/mg。

关键词: 柑橘; 生理落果; 橙皮苷; 辛弗林; 高效液相色谱法

Determination of Hesperidin and Synephrine in Physiologically Fallen Fruits of Various Citrus Species

MAO Hua-rong, FU Hong-fei, WANG Lu-feng, WU Peng, LU Qi, PAN Si-yi*

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Hesperidin is one of the flavonoids existing in citrus fruit peel or physiologically fallen fruit before maturity, especially in the latter with over 3% content. Synephrine, an alkaloid, is mainly contained in immature citrus fruit as well, and the more mature the fruit becomes, the lower its content is. The physiologically fallen fruits of 7 citrus species were collected at two periods of pre-harvest fruit drop and dried by an up-draught drying fan or in natural air. These samples were analyzed for their hesperidin and synephrine contents by HPLC. The hesperidin analysis was carried out on a Hypersil ODS₂ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) using a mobile phase composed of water, acetonitrile, THF and acetic acid (80:16:3:1, V/V) with UV detection set at 280 nm; the mobile phase (containing 0.2 g SDS/100 ml) for analyzing synephrine was an acetonitrile-water-phosphoric acid (32:68:0.2, V/V) system, and the detection wavelength was set at 225 nm. The results indicated that the contents of hesperidin in all the citrus species treated with 80 °C hot air were higher than those treated by natural air, 40 °C hot air, or 60 °C hot air. The contents of synephrine in all citrus species treated by 60 °C hot air were higher than those with other treatments. Moreover, the contents of hesperidin and synephrine were different greatly among different citrus species and between the periods of pre-harvest fruit drop. The hesperidin content in citrus fruits at the second period of physiologic drop was higher than that at the first period except for Guanxi honey pomelo and sour orange. The highest content of hesperidin was observed in Guanxi honey pomelo at the first period, reaching (199.28 ± 0.7) μg/mg. While the synephrine content in the fallen fruits of all the citrus species at the first period were higher than that at the second period, especially satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu* Marcovitch, cv. Owari) had the maximum synephrine content of (20.50 ± 0.89) μg/mg among all the species.

Key words: citrus; physiological fallen fruit; hesperidin; synephrine; HPLC

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0223-04

收稿日期: 2008-10-28

作者简介: 毛华荣(1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工化学。E-mail: maomaocao1984@163.com

* 通讯作者: 潘思轶(1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品加工化学。E-mail: pansiyi@mail.hzau.edu.cn

柑橘属容易成花,但座果率较低,一般为3%~5%,丰产树可达10%左右,低产树通常不到1%。幼果由于生理原因凋落为生理落果。生理落果有两个明显的高峰期,第一次在5月上中旬(花谢后1~2周),落果的数量多,约占总落果量的73%~99%,时间短而集中;第二次落果高峰期出现在6月上旬,幼果枯黄后从蜜盘(子房基部和果蒂之间)处脱落,落果较大,约占总落果量的0.02%~0.27%^[1-3]。我国柑橘种植面积广阔,落果资源丰富,落果中含有辛弗林、橙皮苷等多种有效成分,因而成为具有工业化生产价值的原料。

橙皮苷(hesperidin)是柑橘果实中主要的类黄酮物质之一,存在于柑橘皮和柑橘采前落果中。橘皮中含量约为3%,未成熟果含量更高。橙皮苷具有抑制癌细胞生长、消炎止痛、避孕、抑菌、防紫外线等生理活性。目前,有关辛弗林研究较多的主要是从枳实中提取,其含量随药材的生长程度变化成规律性的变化,即果实越趋于成熟,辛弗林含量越低,一般在未成熟果皮中的含量较高^[4-6]。生理落果主要是未成熟果实,所以从落果中提取辛弗林是具有可行性的。辛弗林是一种生物碱,具有收缩血管、升高血压和较强的扩张气管和支气管的作用,还能够提高新陈代谢、增加热量消耗、提高能量水平、氧化脂肪,是一种天然兴奋剂,无副作用,能够缓解因肥胖引起的轻度和中度抑郁症状,改善心情^[7-9]。本实验拟利用高效液相色谱法测定不同柑橘落果品种两次生理落果中橙皮苷和辛弗林的含量,并比较不同原料、不同干燥方式下的含量差别,为更好的确定生理落果的前处理方式和品种选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

不同柑橘品种两次生理落果均采自松滋老城镇白龙埂柑橘场,松滋优质胡柚基地。两次生理落果采样时间分别为第一次生理落果高峰期2008年5月20日、第二次生理落果高峰期2008年6月12日。品种为国庆1号、尾张、朋娜、纽荷尔、胡柚、琯溪蜜柚、酸橙。

橙皮苷对照品(HPLC级) Sigma公司;辛弗林对照品(批号0727-200105) 中国药品生物制品检定所;乙腈(色谱纯) 美国Dikma公司;超纯水;HPLC用所有试剂均经0.45 μm微孔滤膜过滤。

1.2 仪器与设备

Waters 高效液相色谱仪;分析天平 北京塞多利斯天平有限公司;色谱柱: Hypercil ODS2(250mm × 4.6mm, 5 μm) 大连依利特科学仪器有限公司; KQ-50DB 型数控超声清洗器 昆山市超声仪器有限公司; DHG-9123A 型电热鼓风恒温干燥箱 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 对照品溶液的制备

分别精密称取橙皮苷和辛弗林对照品6.40、4.00mg置10ml容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。

1.4 供试品溶液的制备^[10]

精确称取各品种过60目的粉末1.0g,置50ml容量瓶中,加40ml甲醇,在常温下以功率99%超声萃取30min,再用甲醇定容至刻度,摇匀,准确吸取10ml,高速离心后,取上清液微膜过滤后作为橙皮苷、辛弗林供试品。

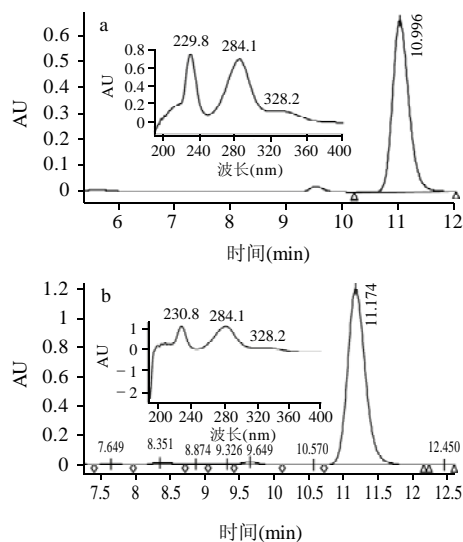
1.5 色谱条件

橙皮苷色谱条件根据参考文献[11]略作修改。检测波长:280nm;流动相:水:乙腈:四氢呋喃:乙酸=80:16:3:1(V/V);流速:1.0ml/min;柱温:室温;进样量:10 μl。辛弗林色谱条件据参考文献[12]略作修改。检测波长:225nm;流动相:乙腈-水-磷酸(32:68:0.2, V/V),内含0.2g SDS/100ml;流速:1.0ml/min;柱温:室温。

2 结果与分析

2.1 橙皮苷和辛弗林的 HPLC 的分析

将橙皮苷标准品照上述色谱条件测定峰面积积分值,按积分值对进样质量浓度(mg/ml)求得标准曲线,在0~640 μg/ml呈良好线性关系,橙皮苷: $y=40493x+131693$, $r=0.9994(n=3)$ 。橙皮苷液相色谱图及紫外图谱见图1。



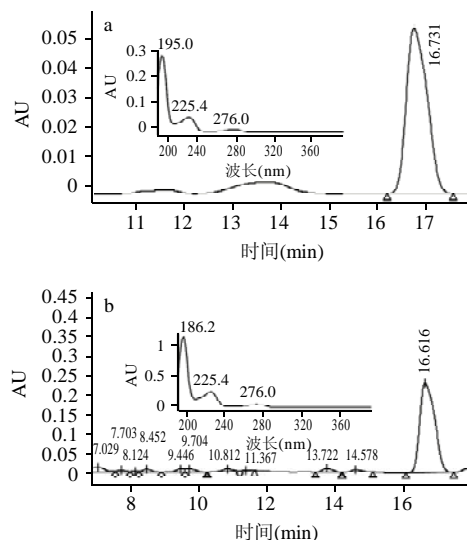
a.橙皮苷标准品; b.朋娜第一次落果 80℃ 鼓风干燥下样品。

图1 橙皮苷高效液相色谱图及紫外图谱

Fig.1 HPLC profiles and UV spectrograms of hesperidin standard (a) and sample extracted from Bonanza navel orange fruit at the first period of physiologic drop treated by 80℃ hot air (b)

将辛弗林标准品照上述色谱条件测定峰面积积分值,按积分值对进样质量浓度(mg/ml)求得标准曲线,在

0~400 $\mu\text{g/ml}$ 呈良好线性关系, 辛弗林: $y=35593x+34813$, $r=0.9999(n=3)$ 。辛弗林液相色谱图及紫外图谱见图 2。



a. 辛弗林标准品; b. 纽荷尔第一次落果 60℃ 鼓风干燥下样品。

图 2 辛弗林高效液相色谱图及紫外图谱

Fig.2 HPLC profiles and UV spectrograms of synephrine standard (a) and sample extracted from Newhall navel orange fruit at the first physiologic drop treated by 60℃ hot air (b)

2.2 不同柑橘落果原料不同干燥方式下橙皮苷和辛弗林含量比较

表 1 不同干燥方式下不同柑橘品种落果中橙皮苷含量($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

Table 1 Hesperidin contents in the physiological fallen fruits of the seven citrus species at the two periods of physiologic drop treated by hot or natural air ($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

柑橘品种	橙皮苷的含量($\mu\text{g/mg}$)							
	80℃鼓风干燥		60℃鼓风干燥		40℃鼓风干燥		自然干燥	
	第一次	第二次	第一次	第二次	第一次	第二次	第一次	第二次
国庆 1 号	29.78 \pm 0.17	43.36 \pm 0.19	19.41 \pm 0.15	42.25 \pm 0.19	16.06 \pm 0.14	40.28 \pm 0.19	14.27 \pm 0.13	34.55 \pm 0.18
尾张	28.91 \pm 0.17	38.94 \pm 0.19	18.61 \pm 0.15	38.32 \pm 0.18	17.96 \pm 0.14	37.00 \pm 0.18	17.82 \pm 0.15	36.06 \pm 0.17
朋娜	26.51 \pm 0.16	43.18 \pm 0.19	20.18 \pm 0.14	42.06 \pm 0.19	17.08 \pm 0.15	36.87 \pm 0.18	12.18 \pm 0.13	36.36 \pm 0.18
纽荷尔	26.47 \pm 0.16	38.57 \pm 0.18	19.06 \pm 0.13	37.23 \pm 0.18	19.66 \pm 0.15	35.05 \pm 0.17	11.58 \pm 0.13	34.42 \pm 0.17
胡柚	30.59 \pm 0.17	42.44 \pm 0.19	27.75 \pm 0.16	42.08 \pm 0.19	25.71 \pm 0.16	37.19 \pm 0.18	22.49 \pm 0.16	35.20 \pm 0.17
琯溪蜜柚	199.28 \pm 0.47	119.85 \pm 0.33	126.50 \pm 0.34	82.96 \pm 0.26	101.60 \pm 0.30	45.92 \pm 0.20	98.32 \pm 0.29	43.44 \pm 0.19
酸橙	49.02 \pm 0.21	45.95 \pm 0.20	48.29 \pm 0.21	45.49 \pm 0.20	46.17 \pm 0.20	42.93 \pm 0.19	40.36 \pm 0.18	40.60 \pm 0.18

表 2 不同干燥方式下不同柑橘品种落果中辛弗林含量($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

Table 2 Synephrine contents in the physiological fallen fruits of the seven citrus species at the two periods of physiologic drop treated by hot or natural air ($\bar{x} \pm s$, $n=2$)

柑橘品种	辛弗林的含量($\mu\text{g/mg}$)							
	80℃鼓风干燥		60℃鼓风干燥		40℃鼓风干燥		自然干燥	
	第一次	第二次	第一次	第二次	第一次	第二次	第一次	第二次
国庆 1 号	14.48 \pm 0.64	5.14 \pm 0.25	16.98 \pm 0.74	6.17 \pm 0.29	15.62 \pm 0.69	5.16 \pm 0.25	14.43 \pm 0.64	4.61 \pm 0.23
尾张	18.14 \pm 0.79	8.41 \pm 0.39	20.50 \pm 0.89	9.69 \pm 0.44	18.81 \pm 0.82	8.49 \pm 0.39	18.64 \pm 0.81	7.82 \pm 0.36
朋娜	8.58 \pm 0.39	6.05 \pm 2.69	9.24 \pm 0.42	7.70 \pm 0.36	8.66 \pm 0.40	4.81 \pm 0.24	8.19 \pm 0.38	2.94 \pm 0.16
纽荷尔	8.81 \pm 0.40	5.29 \pm 0.26	10.10 \pm 0.46	6.34 \pm 0.30	9.44 \pm 0.43	5.57 \pm 0.27	8.84 \pm 0.40	5.13 \pm 0.25
胡柚	11.36 \pm 0.51	0.33 \pm 0.05	11.65 \pm 0.52	0.37 \pm 0.05	11.41 \pm 0.51	0.35 \pm 0.05	9.88 \pm 0.45	0.27 \pm 0.05
琯溪蜜柚	0.83 \pm 0.07	0.20 \pm 0.04	0.88 \pm 0.07	0.22 \pm 0.04	0.86 \pm 0.07	0.19 \pm 0.04	0.79 \pm 0.07	0.18 \pm 0.04
酸橙	7.23 \pm 0.34	5.11 \pm 0.25	7.64 \pm 0.35	5.78 \pm 0.28	7.55 \pm 0.35	4.76 \pm 0.23	6.71 \pm 0.34	4.47 \pm 0.22

的提取;同一品种的柑橘中辛弗林在第一次落果含量均大于第二次落果,两次落果含量存在较大差别,如尾张第一次落果在60℃鼓风干燥下处理的含量为 $(20.50 \pm 0.89) \mu\text{g}/\text{mg}$,第二次落果则降低为 $(9.69 \pm 0.44) \mu\text{g}/\text{mg}$,同样胡柚和国庆1号两次含量差别也在 $10 \mu\text{g}/\text{mg}$ 左右;不同品种两次落果含量变化多少也不同,第一次落果含量多少依次为:尾张>国庆1号>胡柚>纽荷尔>朋娜>酸橙>琯溪蜜柚,第二次落果含量多少依次为:尾张>朋娜>纽荷尔>国庆1号>酸橙>胡柚>琯溪蜜柚,两次落果中辛弗林的含量均以尾张最高,琯溪蜜柚最低。

3 结 论

研究表明,不同柑橘品种两次生理落果,不同干燥方式下的橙皮苷、辛弗林均存在显著差异。落果中橙皮苷和辛弗林含量分别在80℃鼓风干燥、60℃鼓风干燥处理下高于其他处理,证明高温处理后有利于橙皮苷的提取,辛弗林则在60℃处理下有较好的提取率,温度过高容易影响其活性。同一品种的两次落果,橙皮苷在第二次生理落果中含量较第一次有所增加(琯溪蜜柚和酸橙除外),辛弗林则相反,随着柑橘的生长,含量均有所下降。不同品种间,琯溪蜜柚中橙皮苷含量最高,第一次生理落果达到 $(199.28 \pm 0.47) \mu\text{g}/\text{mg}$,第二次下降后达到 $(119.85 \pm 0.33) \mu\text{g}/\text{mg}$,辛弗林含量在琯溪蜜柚中则最低,较高含量存在于宽皮柑橘(尾张和国庆1

号)中。柑橘生理落果资源丰富,具有工业化生产价值,研究为更好的利用柑橘的生理落果,从中提取橙皮甙、辛弗林等有效物质提供参考。

参考文献:

- [1] 钟云,刘岩,孟祥春.柑橘落花落果的原因及防止措施[J].广东农业科学,2006(3): 62-63.
- [2] 李玲,肖润林,莫继荣.赣中南柑橘果实生长发育规律与栽培技术关系[J].长江流域资源与环境,1998,7(4): 359-363.
- [3] 胡国元.柑桔落花落果与使用生长调节剂的研究初报[J].湖南农业科学,2003(3): 43-44.
- [4] 叶兴乾.柑橘加工与综合利用[M].北京:中国轻工业出版社,2005.
- [5] 盛占武,孙志高,黄学根,等.超滤法提取橙皮苷工艺研究[J].食品科学,2008,29(2): 188-191.
- [6] 李建敏,刘晓红,李安.联合提取柑桔皮中精油、色素、果胶和橙皮苷[J].生物化学工程,2007,41(1): 22-24.
- [7] 赵宇,谢培山,卢平华,等.枳实、枳壳、青皮和陈皮等药材中辛弗林含量测定研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2006(4): 64-67.
- [8] 蔡艳华.枳实中生物碱辛弗林的提取分离研究[D].成都:四川大学,2005.
- [9] 陈志红,苗兵,李剑敏.微波强化提取枳实中辛弗林的工艺研究[J].应用化工,2008,27(6): 589-591.
- [10] 朱祥枝,潘东明.四种枳实中药材柚皮甙、橙皮甙和辛弗林含量的比较分析[J].福建师范大学学报:自然科学版,2005(1): 91-93.
- [11] DHUTQUE M C, CARIS V C, OLLITRAULT P, et al. Varietal and interspecific influence on micronutrient contents in citrus from the Mediterranean area[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 2140-2445.
- [12] 罗朝晖,经辉.反相离子对高效液相色谱法测定枳实中辛弗林的含量[J].中国药房,2006,17(19): 1502-1503.