

LC-MS/MS法测定柚子皮中香豆素类物质组成及含量

郝元元

(乌兰察布职业学院, 内蒙古 乌兰察布 012000)

摘要: 针对6份不同品种的柚子皮, 采用甲醇超声提取, Oasis HLB固相萃取柱净化, Waters XBridge C₁₈色谱柱分离, 以乙腈和0.05 mol/L乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)为流动相进行梯度洗脱, 采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)检测, 建立液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS/MS)测定柚子皮中香豆素类物质组成及含量的检测方法。结果表明: 在0.010 μg/mL~1.0 μg/mL范围内, 8种香豆素及其衍生物具有良好的线性关系($R^2 \geq 0.9995$); 方法检出限在3.0 μg/kg~4.5 μg/kg, 定量限在10.0 μg/kg~15.0 μg/kg; 加标回收率在90.4%~98.5%, 相对标准偏差在0.9%~4.1%; 在柚子皮中检出7-甲基香豆素、7-甲氧基香豆素、7-乙氧基-4-甲基香豆素、醋硝香豆素, 其中7-甲氧基香豆素含量较高, 含量在11.4 μg/kg~123.7 μg/kg, 该成分可能与柚子具有暖胃、化痰、润化喉咙等食疗作用相关, 这为柚子皮综合开发利用提供参考。

关键词: 液相色谱-质谱法; 柚子皮; 香豆素; 衍生物; 测定

Determination of the Content of Coumarins in Grapefruit Skin of *Citrus maxima* by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

HAO Yuan-yuan

(Ulanqab Vocational College, Ulanqab 012000, Inner Mongolia, China)

Abstract: Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) was established to determine the composition and content of coumarins in 6 different varieties of grapefruit skin of *Citrus maxima*, by ultrasonic extraction with methanol, and Oasis HLB solid phase extraction column purification with Waters XBridge C₁₈ column separation, and gradient with acetonitrile and 0.05 mol/L ammonium acetate solution (containing 0.1% formic acid) as mobile phase elution, and detected by multiple reaction monitoring (MRM). The results showed that 8 coumarins and their derivatives had a good linear relationship ($R^2 \geq 0.9995$) in the range of 0.010 μg/mL to 1.0 μg/mL. The detection limit of the method was from 3.0 μg/kg to 4.5 μg/kg, and the limit of quantification was from 10.0 μg/kg to 15.0 μg/kg; the recoveries were from 90.4% to 98.5%, and the relative standard deviations were from 0.9% to 4.1%. 7-methylcoumarin, 7-methoxycoumarin, 7-ethoxy-4-methylcoumarin, acenocoumarol were detected in grapefruit skin of *Citrus maxima*. Among them, the content of 7-methoxycoumarin was relatively high, and the content was 11.4 μg/kg-123.7 μg/kg. This ingredient may be related to the therapeutic effect of grapefruit with warm stomach, phlegm and moisturizing throat, which provides comprehensive development and utilization of grapefruit skin of *Citrus maxima*.

Key words: liquid chromatography-mass spectrometry; grapefruit skin of *Citrus maxima*; coumarin; derivative; determination

引文格式:

郝元元. LC-MS/MS法测定柚子皮中香豆素类物质组成及含量[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(16): 146-152

HAO Yuan-yuan. Determination of the Content of Coumarins in Grapefruit Skin of *Citrus maxima* by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry[J]. Food Research and Development, 2019, 40(16): 146-152

柚[*Citrus maxima* (Burm) Merr.]为芸香科柑橘属乔木,在东南亚各国以及我国长江以南各地均有栽培,且品种繁多,因柚子果肉口感酸甜,富含维生素 C,具有消食、理气、解酒毒等功效而深受人们喜爱^[1-3],但柚经食用或加工后每年都生产大量的柚子皮,除部分柚子皮被制成药材,大部分柚子皮被丢弃,既浪费资源,又污染环境。目前国内外科学工作者已报道柚子皮中含有活性多糖、黄酮类化合物、膳食纤维、柚子皮黄色素、柚子皮精油、果胶、柚皮苷等功效成分^[4-9]。而芸香科柑橘属植物广泛含有香豆素及其衍生物,即一类具有芳香性气味的物质,结构类型多样,具有多种活性,是医药、农药、染料等精细化工产品的原料和中间体^[10-14]。古淑仪等^[11]采用 X 射线单晶衍射仪测定化州柚未成熟干燥幼果中 3 个 7-甲氧基香豆素;胡甜恬等^[12]采用多种色谱层析分离纯化,经波谱分析新鲜沙田柚皮的 95 %乙醇提取物中分离得到 10 个香豆素类化合物;王辉等^[13]采用高效液相色谱-质谱法测定沙田柚果肉汁中 6 种呋喃香豆素类化合物,而关于柚子皮中香豆素及其衍生物的研究报道较少^[14-15]。本研究采用碱性甲醇超声萃取香豆素及其衍生物,经 C₁₈ 柱分离,采用液相色谱-质谱法 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS/MS) 对柚子皮中 8 种香豆素及其衍

生物含量进行质谱检测,为农业废弃物柚子皮的综合开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂、材料

Waters ACQUITY Xevo TQ MS 型高效液相色谱仪-三重四级杆质谱仪:美国 Waters 公司;BS224S 型电子天平:德国 Sartorius 公司 MM400 型研磨仪:德国 RETSCH 公司;MixPlus 涡旋混合仪:合肥艾本森科学仪器有限公司;YQ-1000C 型超声波清洗器:上海易净超声波仪器有限公司;Rotavapor R-210 旋转蒸发仪:瑞士 BUCHI 公司;ULUP-II 型超纯水机:西安优普仪器设备有限公司。

8 种香豆素及其衍生物标准物质:香豆素、7-甲基香豆素、7-甲氧基香豆素、6-甲基香豆素、7-乙氧基-4-甲基香豆素、环香豆素、醋硝香豆素、双香豆素:纯度均≥98 %,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,具体信息见表 1;甲酸、乙酸铵:均为色谱纯,美国 Sigma 公司;甲醇、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷:均为色谱纯,美国 Tedia 公司;其余试剂均为分析纯:西陇化工股份有限公司;试验用水均为超纯水。

香豆素及其衍生物标准储备液 (10.0 mg/mL):分

表 1 香豆素及其衍生物标准物质信息

Table 1 Standard substance information of coumarin and its derivatives

序号	名称	缩写	分子式	CAS 登录号	分子量	保留时间/ min
1	香豆素	CM	C ₉ H ₆ O ₂	91-64-5	146.1	3.06
2	7-甲基香豆素	7MCM	C ₁₀ H ₈ O ₂	2445-83-2	160.2	4.94
3	7-甲氧基香豆素	7MOCM	C ₁₀ H ₈ O ₃	531-59-9	176.2	10.61
4	6-甲基香豆素	6MCM	C ₁₀ H ₈ O ₂	92-48-8	160.2	10.16
5	7-乙氧基-4-甲基香豆素	EMCM	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	87-05-8	204.2	9.13
6	环香豆素	PCM	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	518-20-7	322.4	4.87
7	醋硝香豆素	SCM	C ₁₉ H ₁₅ NO ₆	152-72-7	353.3	15.82
8	双香豆素	DCM	C ₁₉ H ₁₂ O ₆	66-76-2	336.3	8.13

别准确称取香豆素及其衍生物 0.1 g (精度至 0.1 mg),用少量甲醇溶解后定容至 10 mL 容量瓶中,-20 ℃保存。

6 份不同产地的柚子,产地分别为广东梅州(沙田柚)、广东化州(化州柚)、浙江苍南(四季柚)、浙江常山(常山胡柚)、福建漳州(琯溪蜜柚)、重庆垫江(垫江白柚),剥去果肉后,将柚子皮置于恒温干燥箱中,70 ℃烘干 24 h,粉碎,过 100 目筛后备用。

1.2 LC-MS/MS 条件

液相色谱条件:Waters XBrigde C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm,3.5 μm);流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 0.05 mol/L 乙酸铵溶液(含 0.1 %甲酸);柱温为 30 ℃;流速为

0.3 mL/min;进样量:10 μL;流动相梯度洗脱条件见表 2。

表 2 梯度洗脱条件

Table 2 The mobile phase gradient program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	30	70
8.0	50	50
8.1	90	10
13.0	90	10
13.1	95	5
16.0	95	5
16.1	30	70
20.0	30	70

质谱条件:电离方式为电喷雾电离(electron spray ionization, ESI),采用正离子(ESI^+)和负离子(ESI^-)模式扫描,采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式进行监测;离子源温度为 $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。 ESI^+ 模式时:毛细管电压为 3.5 kV ,锥孔气流速为 50 L/h ,脱溶

剂气温度为 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$,去溶剂气流量为 700 L/h ; ESI^- 模式时:毛细管电压为 2.2 kV ,锥孔气流速为 50 L/h ,脱溶剂气温度为 $400\text{ }^{\circ}\text{C}$,去溶剂气流量为 800 L/h 。8种香豆素及其衍生物的电离方式、母离子、子离子、锥孔电压、碰撞能量等质谱参数见表3。

表3 香豆素及其衍生物的质谱参数

Table 3 Mass spectrometric parameters of coumarin and its derivatives

序号	名称	电离方式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
1	香豆素	ESI^+	147.0	103.0* 91.0	80	25 31
2	7-甲基香豆素	ESI^+	161.2	105.2* 117.2	85	30 28
3	7-甲氧基香豆素	ESI^+	177.2	121.1* 133.1	110	30 45
4	6-甲基香豆素	ESI^+	161.2	105* 115.1	85	31 30
5	7-乙氧基-4-甲基香豆素	ESI^+	205.2	177.1* 102.9	100	25 42
6	环香豆素	ESI^+	323.4	251.4* 173.3	95	28 30
7	醋硝香豆素	ESI^-	354.3	163.1* 296.1	110	23 25
8	双香豆素	ESI^-	337.3	161.3* 117.2	100	30 35

注:* 为定量离子。

1.3 样品前处理

准确称取柚子皮粉 5 g (精度至 0.1 mg)置于 100 mL 离心管中,加入 20 mL 甲醇,涡旋混合后,在超声波水浴中超声提取 30 min ,以 $10\ 000\text{ r/min}$ 离心 5 min ,收集上清液;残渣用 20 mL 甲醇超声提取 2 次,合并上清液, $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发浓缩至 5 mL ;浓缩液经 Oasis HLB 固相萃取柱净化,净化液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液供 LC-MS/MS 测定。

1.4 标准工作曲线的绘制

分别移取香豆素及其衍生物标准储备液(10.0 mg/mL)适量置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇稀释配制成质量浓度依次为 0.01 、 0.05 、 0.10 、 0.50 、 $1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的香豆素及其衍生物混合标准工作溶液,经 LC-MS/MS 测定,以香豆素及其衍生物标准工作溶液质量浓度为横坐标,以其相对应的色谱峰响应值为纵坐标,绘制标准工作曲线。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

采用注射泵将 $1.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的香豆素及其衍生物单

标连续直接进样,采用正负离子模式进行全扫描,以选择准分子离子(母离子)和电离方式。结果表明:双香豆素和醋硝香豆素在电喷雾负离子(ESI^-)电离方式下,可获得响应值较高的 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 母离子;香豆素、7-甲基香豆素、7-甲氧基香豆素、6-甲基香豆素、7-乙氧基-4-甲基香豆素、环香豆素在电喷雾负正离子(ESI^+)电离方式下,可获得响应值较高的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 母离子;采用子离子扫描方式对母离子进行二级质谱分析,通过优化毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量等质谱参数,使得8种香豆素及其衍生物的母离子及其子离子的相对强度达到最大,将响应值最大的子离子设为定量离子,响应值较稳定的子离子设为定性离子,8种香豆素及其衍生物的质谱参数信息具体见表3,质谱总离子流图见图1。

2.2 色谱柱的选择

分别考察了 Waters XTerra MS C_{18} 、Waters XBrigde C_{18} 、Hypersil BDS C_{18} 、Symmetry C_{18} 等不同微粒填料的色谱柱对8种香豆素及其衍生物分离效果(图1)。结果表明:在不同型号的 C_{18} 柱上,8种香豆素及其衍生物分离效果存在显著性差异,特别是当采用 Wa-

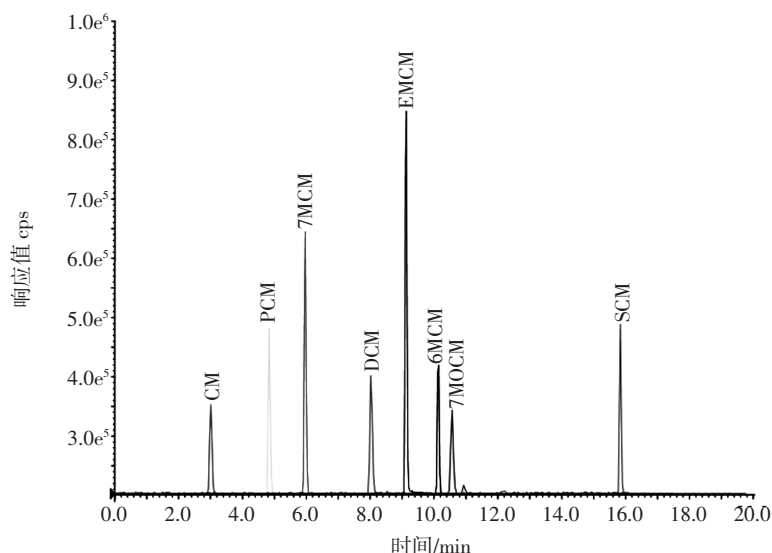


图1 香豆素及其衍生物标准溶液的质谱总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of coumarin and its derivatives

ters XBrigde C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm) 色谱柱时, 各化合物的色谱峰更为符合正态分布, 且分离效果好, 响应值较高, 故选择 Waters XBrigde C₁₈ 作为分析柱。

2.3 流动相的选择

采用 Waters XBrigde C₁₈ 作为分析柱, 分别考察甲醇/乙腈和不同浓度的乙酸铵溶液为流动相体系时对香豆素及其衍生物的色谱分离及其离子化响应情况。试验结果显示, 香豆素及其衍生物的质谱响应值和保留时间随着乙酸铵浓度的改变而发生变化, 当乙酸铵

浓度为 0.05 mol/L 时, 基线平稳, 峰形对称, 且保留时间适中, 特别是当 0.05 mol/L 乙酸铵溶液中添加 0.1 % 甲酸时, 可提高香豆素及其衍生物的质谱响应值和灵敏度 (图 1)。故选择乙腈-0.05 mol/L 乙酸铵溶液 (含 0.1 % 甲酸) 作为流动相。

2.4 萃取溶剂的选择

考察甲醇、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷等萃取溶剂对 8 种香豆素及其衍生物的萃取效果见图 2。

从图 2 可以看出: 按 8 种香豆素及其衍生物平均

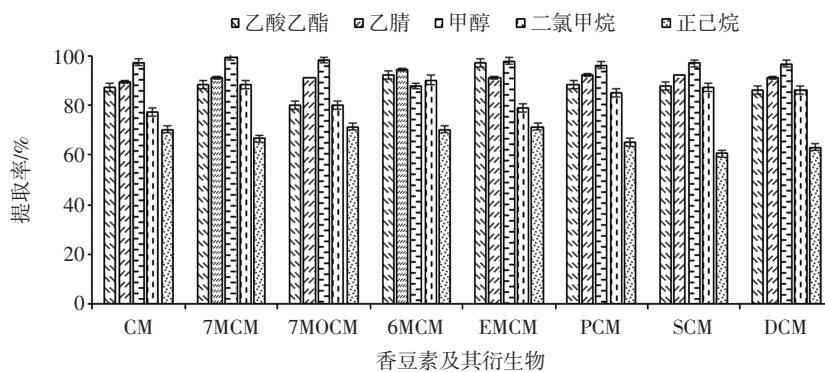


图2 萃取溶剂对香豆素及其衍生物的萃取效果

Fig.2 Effect of extraction solvent on the effect of coumarin and its derivatives

萃取率大小依次排序为: 甲醇 (96.2 %) > 乙腈 (91.5 %) > 乙酸乙酯 (88.4 %) > 二氯甲烷 (84.1 %) > 正己烷 (67.3 %), 其中甲醇对 8 种香豆素及其衍生物的萃取率在 87.6 %~99.4 % 之间, 平均值为 96.2 %。故选择甲醇作为萃取溶剂。

2.5 净化柱的选择

考察 WCX (弱阳离子柱)、WAX (弱阴离子柱)、

MCX (混合型阳离子柱)、MAX (混合型阴离子柱)、HLB (亲水-亲酯柱)、AluN (中性氧化铝柱) 等不同极性固相萃取柱对 8 种香豆素及其衍生物的净化效果见图 3。

从图 3 中可知, HLB (亲水-亲酯柱) 对 8 种香豆素及其衍生物的平均净化率最高 (平均净化率为 96.3 %), 这可能是因为 HLB 具有亲水-亲酯平衡化学结构, 对不同极性的香豆素及其衍生物混合物具有良好的均

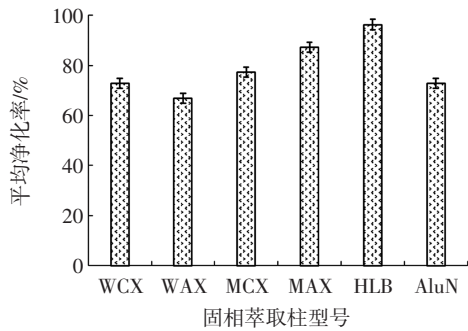


图3 不同固相萃取柱对香豆素及其衍生物平均净化率的影响
Fig.3 Effect of solid phase extraction column on the recovery rate of coumarin and its derivatives

衡吸附作用。故选择 HLB 作为净化柱。

2.6 基质效应

为提高本文所建 LC-MS/MS 法的特异性和降低

样品基质对香豆素及其衍生物含量测定的影响,考察了香豆素及其衍生物在柚子皮萃取液和纯乙腈两种不同基质中的响应值比值来衡量基质效应(matrix effect, ME)。ME/%= A/B×100 %,其中 A 为柚子皮萃取液中香豆素及其衍生物的响应值,B 为纯乙腈中香豆素及其衍生物的响应值;若 ME>10 %,表明存在基质增强效应;若-10 %<ME<10 %,表明不存在基质干扰效应;若 ME<-10 %时,表明存在基质减弱效应。结果表明,在柚子皮萃取液和纯乙腈两种基质中分别加入 10.0、500.0、1 000.0 μg/kg 3 种低中高浓度的 8 种香豆素及其衍生物标准混合溶液,经本文所建 LC-MS/MS 法测定柚子皮中 8 种香豆素及其衍生物的基质效应 ME 值在-3.7 %~4.6 %见表 4,这表明不存在基质干扰效应。

表 4 香豆素及其衍生物在纯乙腈和柚子皮中的基质效应

Table 4 Matrix effect of coumarin and its derivatives in pure acetonitrile and *Citrus maxima*

香豆素类物质 浓度/(μg/kg)	ME/%							
	CM	7MCM	7MOCM	6MCM	EMCM	PCM	SCM	DCM
10.0	3.7	2.3	2.3	-3.7	1.7	-2.3	3.1	2.7
500.0	3.3	2.1	2.7	-3.5	1.3	-2.1	3.8	1.9
1000.0	3.1	1.9	2.1	-3.3	1.2	-1.7	4.6	1.8

2.7 线性范围和检出限

在空白柚子皮中添加不同浓度的香豆素及其衍生物标准储备液,按“1.3 样品前处理”和“1.2 HPLC-MS/MS 条件”进行测定,以香豆素及其衍生物标准工作溶液质量浓度为横坐标(x,mg/mL),以其相对应的色谱峰响应值为纵坐标(y,cps),绘制标准工作曲线,

计算回归方程;在空白柚子皮中添加一系列低浓度的香豆素及其衍生物混合标准工作溶液,按“1.3 样品前处理”和“1.2 HPLC-MS/MS 条件”进行测定 11 次,分别以 3 倍信噪比(S/N=3)和 10 倍信噪比(S/N=10)计算方法检出限(LODs)和定量限(LOQs)见表 5。

从表 5 中可知:在 0.010μg/mL~1.0 μg/mL 范围内,

表 5 线性范围、相关系数、检出限及定量限(n=6)

Table 5 Linear range, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitation (n=6)

名称	线性范围/(mg/mL)	回归方程	相关系数	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)
香豆素	0.010~1.0	y=25 517x+237.2	0.999 7	3.0	10.0
7-甲基香豆素	0.015~1.0	y=51 213x+268.3	0.999 8	4.5	15.0
7-甲氧基香豆素	0.010~1.0	y=22 867x+316.4	0.999 5	3.0	10.0
6-甲基香豆素	0.015~1.0	y=38 527x+129.5	0.999 9	4.5	15.0
7-乙氧基-4-甲基香豆素	0.015~1.0	y=56 682x+284.1	0.999 6	4.5	15.0
环香豆素	0.010~1.0	y=48 314x+217.2	0.999 6	3.0	10.0
醋硝香豆素	0.010~1.0	y=41 813x+187.4	0.999 7	3.0	10.0
双香豆素	0.010~1.0	y=31 651x+128.5	0.999 8	3.0	10.0

香豆素及其衍生物具有良好的线性关系(R²≥0.999 5); LODs 在 3.0 μg/kg~4.5 μg/kg;LOQs 在 10.0 μg/kg~15.0 μg/kg。

2.8 加标回收率与精密度

分别在空白柚子皮中添加 10.0 (低浓度)、500.0

(中浓度)、1 000.0 μg/kg (高浓度)3 种水平的香豆素及其衍生物混合标准工作溶液,按“1.3 样品前处理”和“1.2 HPLC-MS/MS 条件”进行加标回收率和精密度测定见表 6。

从表 6 中可知,香豆素及其衍生物的平均加标回

表 6 加标回收率和精密度(n=6)
Table 6 Recoveries and precision(n=6)

名称	添加水平/(μg/kg)	测定回收率/%						平均回收率/%	RSD/%
		1	2	3	4	5	6		
香豆素	10.0	90.3	93.3	93.7	97.8	95.5	93.9	94.1	1.4
	500.0	97.8	93.5	93.3	99.3	95.8	95.3	95.8	1.2
	1000.0	97.3	95.8	89.3	88.5	93.5	95.7	93.4	2.4
7-甲基香豆素	15.0	100.3	97.8	93.9	93.5	98.3	97.5	96.9	2.7
	500.0	93.5	98	93.8	93.8	93.8	98.3	95.2	1.1
	1000.0	93.7	93.8	95.3	95.3	97.5	88.3	94.0	1.2
7-甲氧基香豆素	10.0	103.7	93.3	97.3	97.3	99.3	97.7	98.1	2.4
	500.0	97.3	98.3	93.8	93.3	93.8	93	94.9	1.9
	1000.0	89.0	87.8	97.3	87.8	93	90	90.8	4.1
6-甲基香豆素	15.0	93.3	98.7	100.3	99.1	101.5	97.8	98.5	2.2
	500.0	99.5	97.3	93.5	97.3	93.3	97.3	96.4	2.7
	1000.0	93.3	99	89.8	93.8	93.3	93.3	93.8	2.2
7-乙氧基-4-甲基香豆素	15.0	93.3	93.7	93.3	98.7	97.3	97.3	95.6	0.9
	500.0	97.7	98.3	95.3	98.9	95.8	97.7	97.3	1.9
	1000.0	97.3	93.3	93	90	93.8	87.3	92.5	2.7
环香豆素	10.0	90.3	93.7	93.8	98.3	93.8	93.3	93.9	1.4
	500.0	95.1	98.5	98.7	101.5	97.7	95.5	97.8	2.1
	1000.0	87.9	88.3	95.5	93.7	89.3	87.5	90.4	1.2
醋硝香豆素	10.0	93.3	98	93.7	93.8	98.3	90.8	94.7	2.4
	500.0	97.8	103.5	95.8	95.7	97.9	100.3	98.5	2.1
	1000.0	93	97	89.5	87.7	93.7	95.8	92.8	2.7
双香豆素	10.0	97.7	100.5	99.5	97.8	95.7	95.7	97.8	1.1
	500.0	89.8	93.5	95.3	95.5	97.7	85.9	93.0	3.7
	1000.0	93.5	97	89.0	97	98.5	97.5	95.4	2.4

收率为 90.4 %~98.5 %,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.9 %~4.1 %,该方法的准确度、精密度均符合方法学的要求。

2.9 实际样品的检测

将 6 份来自不同产地的柚子皮(沙田柚、化州柚、

四季柚、常山胡柚、琯溪蜜柚、垫江白柚),按“1.3 样品前处理”和“1.2 HPLC-MS/MS 条件”进行测定柚子皮中香豆素及其衍生物组成及其含量见表 7。

从表 7 中可知,柚子皮中含有一定量的香豆素及其衍生物,这与古淑仪等^[11]、王辉等^[13]关于柚子皮中香

表 7 实际柚子皮中香豆素及其衍生物组成及其含量
Table 7 Composition and content of coumarin and its derivatives in *Citrus maxima*

名称	含量/(μg/kg)					
	沙田柚	化州柚	四季柚	常山胡柚	琯溪蜜柚	垫江白柚
香豆素	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7-甲基香豆素	ND	17.4	ND	ND	19.8	ND
7-甲氧基香豆素	85.7	53.5	123.7	26.1	11.4	13.8
6-甲基香豆素	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7-乙氧基-4-甲基香豆素	15.4	ND	ND	ND	ND	43.9
环香豆素	ND	ND	ND	ND	ND	ND
醋硝香豆素	ND	ND	ND	ND	34.1	ND
双香豆素	ND	ND	ND	ND	ND	ND

注:ND 表示未检出。

豆素及其衍生物的研究报道一致;6种不同品种的柚子皮中均含有7-甲氧基香豆素,且7-甲氧基香豆素含量较高,含量在11.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~123.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而7-甲氧基香豆素具有一定的生物活性的药物,具有平喘、祛痰、镇咳的作用,该成分可能与柚子具有的暖胃、化痰、润化喉咙等食疗作用相关;在所检的6种柚子皮中,均未检出香豆素、6-甲基香豆素、环香豆素、双香豆素;不同品种的柚子皮中含有的香豆素及其衍生物不同,这可能与品种、气候、贮藏时间等因素不同而引起的差异,可为农业废弃物柚子皮的综合开发利用提供科学依据。

3 结论

针对6份不同产地的柚子皮,经甲醇超声提取,Oasis HLB固相萃取柱净化,Waters XBridge C₁₈色谱柱分离,以乙腈和0.05 mol/L乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)为流动相进行梯度洗脱,采用多反应监测检测,建立了液相色谱-质谱法测定柚子皮中8种香豆素及其衍生物的检测方法。结果表明:在0.010 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,香豆素及其衍生物具有良好的线性关系($R^2 \geq 0.9995$);方法检出限在3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~4.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限在10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~15.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$;加标回收率在90.4%~98.5%,相对标准偏差在0.9%~4.1%;在6种不同品种的柚子皮中检出7-甲基香豆素、7-甲氧基香豆素、7-乙氧基-4-甲基香豆素、醋硝香豆素,其中7-甲氧基香豆素含量较高,含量在11.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~123.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$,该成分可能与柚子具有暖胃、化痰、润化喉咙等食疗作用相关,这为柚子皮综合开发利用提供参考。

参考文献:

- [1] 李亚东,张远起,李建文.柚皮素抗乳腺癌作用机制的研究进展[J].中国医学创新,2018,15(7):145-148

- [2] 曾文峰,张发云,杜刚军,等.柚皮素:新一代免疫调节剂[J].生物化学与生物物理进展,2018,31(9):1-11
- [3] 李志锐,乐粉鹏,王娟,等.超声微波协同萃取柚皮总黄酮及其抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2018,39(5):60-63
- [4] S.K. Reshmi, M.L. Sudha, M.N. Shashirekha. Starch digestibility and predicted glycemic index in the bread fortified with pomelo (*Citrus maxima*) fruit segments[J]. Food Chemistry, 2017, 237(2): 957-965
- [5] 李静,葛模燕.柚皮不同部分果胶的理化性质比较[J].食品科技,2018,43(6):88-92
- [6] 郭畅,傅曼琴,徐玉娟,等.沙田柚皮精油分子蒸馏分离及成分分析[J].现代食品科技,2018,34(6):260-266
- [7] 袁志鹰,周晓倩,张梦通,等.TLC-HPLC-Q-TOF-MS法快速鉴定柑橘提取物消毒液中桔皮素、蜜橘黄素、新橙皮苷和柚皮苷及其含量测定[J].分析试验室,2018,37(9):993-997
- [8] 木合塔尔·吐尔洪,楚刚辉,尹学博,等.高效液相色谱法测定野生和人工种植库鲁木提草中柚皮苷和木犀草素的含量[J].分析科学学报,2018,34(2):186-190
- [9] 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
- [10] 丘秀珍,陶敬奇,王辉,等.沙田柚果肉汁中呋喃香豆素类化合物的液相色谱-质谱联用研究[J].分析测试学报,2008,12(2):170-173
- [11] 古淑仪,宋晓虹,苏薇薇.化州柚中香豆素成分的研究[J].中草药,2005,18(3):341-343
- [12] 胡甜恬,张晓琦,赵慧男,等.沙田柚皮中的香豆素类成分[J].药学与临床研究,2007,34(2):121-123
- [13] 王辉,丘秀珍,陶敬奇,等.高效液相色谱-质谱法测定沙田柚果肉汁中的呋喃香豆素类化合物[J].色谱,2007,21(5):770-771
- [14] 冯宝民,裴月湖.柚皮中的香豆素类化学成分的研究[J].沈阳药科大学学报,2000,23(4):253-255
- [15] Rudrappa Nandeesh, Sachidananda Vijayakumar, Abhinandan Munoli, et al. Bioactive phenolic fraction of *Citrus maxima* abate lipopolysaccharide-induced sickness behaviour and anorexia in mice: In-silico molecular docking and dynamic studies of biomarkers against NF- κ B[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 108(1): 1535-1545

收稿日期:2018-10-24