

UPLC 法测定猕猴桃果汁中的酚类物质含量

郑 妍, 张春岭, 刘 慧, 陈大磊, 刘杰超, 焦中高*

(中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

摘要:【目的】快速分析猕猴桃果汁中的酚类物质组成建立一种可以同时测定 22 种酚类化合物的超高效液相色谱(UPLC)方法, 并对 4 个品种的猕猴桃果汁中的酚类物质含量进行测定。【方法】色谱条件为: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 分析柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相为 2% 乙酸水溶液(A)和乙腈(B), 流速为 0.20 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 进样量 0.6 μL, 检测波长为 280 nm, 采用梯度洗脱。【结果】猕猴桃果汁中含有没食子酸等 13 种酚类物质, 而表没食子儿茶素没食子酸酯、阿魏酸、根皮苷、肉桂酸和根皮素等在猕猴桃果汁中均未被检出。【结论】优化后的 UPLC 法在 33 min 内可实现 22 种酚类物质的分离, 分离度大于 1.5, 精密度、重复性和稳定性良好, 可应用于猕猴桃果汁中酚类物质的快速分析。

关键词: 猕猴桃; 超高效液相色谱; 酚类物质; 果汁

中图分类号:S663.4

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2018)08-1006-10

Determination of phenolic compounds in kiwifruit juice by UPLC

ZHENG Yan, ZHANG Chunling, LIU Hui, CHEN Dalei, LIU Jiechao, JIAO Zhonggao*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China)

Abstract:【Objective】The similar chemical structures and properties of phenolic compounds make it difficult to separate phenolic compounds. At the same time, there are many problems in the detection of phenolics, such as low separation degree and being a very time-consuming process. In order to frequently, rapidly and simultaneously analyze the phenolic compounds in kiwifruit juice, a method was developed for the qualitative and quantitative analysis of 22 phenolic compounds (gallic acid, coumaric acid, protocatechuic acid, neochlorogenic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeoic acid, syringic acid, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin, 1,3-dicaffeoylquinic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, rutin, quercitrin, resveratrol, phlorizin, quercetin, cinnamic acid and phloretin) by ultra high performance liquid chromatography (UPLC), and the phenolic compounds in kiwifruit juice of 4 cultivars were determined in order to provide technical support for the development of phenolic substances in kiwifruit juice.【Methods】The UPLC experiments were conducted using an ACQUITY UPLC BEH C₁₈ phase column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm). Samples were maintained at 35 °C using a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹ and a sample injection volume of 0.6 μL. A detector wave length of 280 nm was used. The mobile phase consisted of 2% (V/V) acetic acid in water (A) and acetonitrile (B). The gradient elution conditions were as follows: isocratic elution 95% A, 0-2 min; linear gradient from 95% A to 90% A, 2-4 min; isocratic elution 90% A, 4-6 min; linear gradient from 90% A to 85% A, 6-8 min; isocratic elution 85% A, 8-12 min; linear gradient from 85% A to 83% A, 12-16 min; linear gradient from 83% A to 80% A, 16-18 min; linear gradient from 80% A to 70% A, 18-19 min; isocratic elution 70% A, 19-23 min; linear gradient from 70% A to 25% A, 23-26 min; linear gradient from 25% A to 0% A, 26-29 min; isocratic elution 0% A, 29-31 min; linear gradient from 0% A to 70% A, 31-32 min; and linear gradient from 70% A to 95% A, 32-33 min.【Results】This study took into account the optimiza-

收稿日期: 2018-02-05 接受日期: 2018-06-29

基金项目: 河南省基础与前沿技术研究计划项目(152300410139); 中国农业科学院科技创新工程专项(CAAS-ASTIP-2017-ZFRI)

作者简介: 郑妍, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。Tel: 15093301798, E-mail: christianazheng@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 0371-65330950, E-mail: jiaozhonggao@caas.cn

tion of the analysis conditions, including comparison of the effects of the mobile phase, detection wavelength, sample injection volume, column temperature, flow rate and choice of elution gradient. The detection wavelength chosen was 280 nm. The mixture of phenolic compounds had maximum peaks and maximum response values of 280 nm. The excess or too little volumes of sample injections can affect the shape of the peaks, separation degrees and the baseline. 0.6 μL was considered the proper sample injection volume. 35 °C was used as the column temperature. When the flow rate increases, the time of the sample analysis can be shortened, but the separation results of the sample components will be worse when the velocity of the flow is too fast. 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ was considered the proper flow rate. The retention time, peak shape and recovery tests were used to verify the presence of the targeted analytes in the samples. Limits of detection (LODs) ranged from 0.000 34 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ to 0.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and the recovery rate ranged from 84.11% to 117.15%. The mean accuracy of the relative peak area was 1.68% (ranging from 1.05% to 4.07%). The stability of the method was evaluated by using Xuxiang juice. The stability, and the RSD of peak area was not more than 7.52%, which indicated good stability. The repeatability of this method was evaluated by using 'Xuxiang' juice. The repeatability, and the mean RSD of peak area was less than 4.88%, which showed a good repeatability. The applicability of this analytical approach was confirmed by the successful analysis of real samples of kiwifruit juices. The kiwifruit juice consisted of 13 kinds of phenolic compounds, with ferulic acid, (-)-epigallocatechin, sinapic acid, rutin resveratrol, phlorizin quercetin, cinnamic acid and phloretin not being found in any of the cultivars of the kiwifruit juice. Gallic acid, neochlorogenic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, chlorogenic acid, syringic acid, 1, 3-dicaffeoylquinic acid, quercitrin were detected in all the cultivars of the kiwifruit juice. Among the 4 cultivars of kiwifruit juice, 'Huangjinguo' 'Huangyang' and 'Xuxiang' kiwifruit juice had the most content of catechin (4.35, 4.52 and 9.32 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectively). The most content of phenolic compounds in the 'Hayward' kiwifruit juice was chlorogenic acid (2.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$). Protocatechic acid was only detected in 'Hayward' kiwifruit juice, caffeic acid was not detected in 'Huangyang' kiwifruit juice, and (-)-epicatechin was not detected in 'Xuxiang' kiwifruit juice. The chromatogram of kiwifruit juice showed that this UPLC method can be used in the analysis of phenolic in kiwifruit juice and most of the chromatographic peaks were totally separated. The richness, variety and complexity of the phenolic compounds of kiwifruit juice present an extensive applicability for analyzing the constitution and content of phenolic. 【Conclusion】By using this method, 22 kinds of phenolic compounds can be completely separated within 33 min with separating degrees of greater than 1.5. This method showed excellent accuracy, repeatability and stability. It was also confirmed that this method can be used for the analysis of phenolic composition in kiwifruit juice.

Key words: Kiwifruit; UPLC; Phenolic compounds; Juice

酚类化合物广泛存在于水果、蔬菜、茶、大豆、以及果酒、果汁等植物源性食品中,是一种重要的抗氧化剂,具有抗衰老、抗过敏、抗病毒、抗突变的功效,并能预防心血管疾病、II型糖尿病、癌症和神经退行性疾病等慢性疾病,对人类健康具有重要意义^[1-3]。

常用酚类物质的分析方法主要有分光光度法和高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法。其中尤以Folin-Ciocalteu法最为常用,但该法的显色反应会受到其他成分的影响,也无法估计成分和单体酚的含量,因此仅能用于总酚含

量的测定。为了更为精确地了解酚类物质组成及含量,HPLC法得到了快速发展,在樱桃酒^[4-5]、石榴汁^[5]、红葡萄汁^[5]、葡萄酒^[6]、锦橙果皮^[7]、苹果汁^[5]等水果加工产品中的酚类物质组成的分析测定中得到了广泛的应用。超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)法是在HPLC基础上发展起来的一种新型分析技术,该方法基于小颗粒填料的技术,降低了系统的体积,与HPLC法相比具有快速、高效、分离精度高、溶剂消耗少等优点^[8],因此得到了快速发展。如:方玲玲等^[9]使用UPLC法从

樱桃酒中分离了5种酚类化合物仅用了30 min, 郑洁等^[10]、Jirí等^[11]使用UPLC法在柑橘、白葡萄酒、葡萄柚汁、绿茶等中检测出了十几种多酚, 赵建勇等^[12]使用UPLC法在葡萄酒中分离了7种单体酚, 分离效率得到大幅提高。

猕猴桃是一种果实汁多、肉厚, 味道清香鲜美, 营养丰富的水果, 它含有糖、蛋白质、矿物质、氨基酸、维生素等多种营养物质, 被誉为“水果之王”^[13]。以猕猴桃为原料生产的果汁、果酒等不仅能够减少猕猴桃采摘后的腐败变质, 增加其附加值, 还可丰富果品深加工市场。对猕猴桃果汁中的酚类物质进行分析有助于了解猕猴桃果汁的成分和营养特点, 对促进猕猴桃资源合理利用以及猕猴桃果汁质量控制等具有重要意义。目前对猕猴桃制品的酚类物质检测多用HPLC法, 不仅耗时长且分离的单体酚种类较少^[6,14-15]。笔者建立了一种可同时分离22种酚类化合物的UPLC方法, 并以‘黄金果’‘黄阳’‘徐香’‘海沃德’4个种植范围广的猕猴桃品种果实制作成的果汁为研究对象来对此法进行适用性验证, 以期为快速测定猕猴桃果汁中酚类物质的组成与含量提供参考。

1 材料和方法

1.1 样品与试剂

猕猴桃果实(品种分别为‘黄金果’‘黄阳’‘徐香’‘海沃德’, 采收时间为2016年9月23日、2016年9月18日、2016年10月8日、2016年10月8日, 成熟期分别为9月中旬、9月、9月中旬、10月)采自中国农业科学院郑州果树研究所猕猴桃资源圃($113^{\circ}71' E, 34^{\circ}71' N$), 选用品种分别属于中华猕猴桃(*Actinidia chinensis*)和美味猕猴桃(*A. deliciosa*)。挑选果形端正、无病虫害、无擦伤、无瑕疵及其他可见缺陷的果实, 采样时兼顾果实生长的位置, 每个品种3个生物学重复, 用于制作果汁。

没食子酸、香豆酸、新绿原酸、儿茶素、丁香酸、(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、(-)-表儿茶素、对香豆酸、原儿茶酸、咖啡酸、芦丁、肉桂酸、阿魏酸、芥子酸、槲皮素等标准品均购于美国Sigma-Aldrich公司; 绿原酸购于中国药品生物制品检定所; 对羟基苯甲酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、槲皮苷、白藜芦醇、根皮苷、根皮素等标准品均购于上海源叶生物科技有限公司; 乙酸乙酯(分析纯)购于天津致

远化学试剂有限公司; 甲醇(色谱纯)和作为流动相的乙酸和乙腈(色谱纯)购于北京迪马科技有限公司。

1.2 仪器与设备

JYL-C52V榨汁搅拌机, 九阳股份有限公司; L-550离心机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司; RE-52AA旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; Waters Acquity UPLC色谱仪(TUV检测器, Empower工作站), 美国Waters公司; ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱, 2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, 美国Waters公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制 准确称取22种标准物质各2.0 mg于2 mL容量瓶中, 分别用甲醇(色谱纯)溶解并定容至刻度, 配制成1.0 mg·mL⁻¹的标准品母液, 存放于棕色瓶中, -80 °C保存备用。使用前, 根据试验需要将此标准品母液用甲醇溶液稀释至适宜浓度, 制备标准工作液和混合标准工作液。

1.3.2 果汁制作 将猕猴桃果实去皮后洗净擦干, 打浆后置于沸水浴中加热5 min, 离心(4 000 r·m⁻¹, 10 m in)后上清液即为猕猴桃果汁。猕猴桃果汁储存在-80 °C备用。

1.3.3 样品前处理 取20 mL果汁, 用20 mL乙酸乙酯连续萃取3次, 合并有机相部分用旋转蒸发仪浓缩至干(真空, 37 °C), 残留物甲醇溶解定容至2 mL后贮存于-18 °C待液相分析用。上机前用0.22 μm微孔滤膜过滤后分析。

1.3.4 UPLC色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈分析柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: 2%乙酸水溶液(A)和乙腈(B); 流速: 0.20 mL·min⁻¹; 柱温: 35 °C; 进样量为0.6 μL; 检测波长为280 nm; 梯度: 0~2 min, 5% B; 2~4 min, 5%~10% B; 4~6 min, 10% B; 6~8 min, 10%~15% B; 8~12 min, 15% B; 12~16 min, 15%~17% B; 16~18 min, 17%~20% B; 18~19 min, 20%~30% B; 19~23 min, 30% B; 23~26 min, 30%~75% B; 26~29 min, 75%~100% B; 29~31 min, 100% B; 31~32 min, 100%~30% B; 32~33 min, 30%~5% B。

1.3.5 样品分析 将猕猴桃果汁以最优色谱条件进行分析。猕猴桃果汁内的酚类物质通过与标准品的保留时间相匹配而确定, 并使用标准品的校准曲线进行定量。所有试验均3次重复。

2 结果与分析

2.1 色谱分离条件的优化

2.1.1 色谱条件的优化 利用超高效液相色谱法测定多酚的报道很多,但是试验中所用的流动相种类、pH值有很大差别。通过对文献中流动相的比较,最终采用2%乙酸-乙腈为流动相。

为了选择色谱峰尽可能多且色谱峰的响应值尽可能大的波长,分别设置多种波长(260、280、300、320、340和360 nm)对22种单体酚的混合标准溶液进行检测。发现当波长为260 nm时混合标准溶液出峰21个,除对羟基苯甲酸外,其他单体酚的响应值较小。混合标准溶液在280 nm时出峰22个,各单体酚响应值相当,出峰量也较多。在300 nm时混合标准溶液的出峰量为18个,在320 nm时的出峰量为13个,在340 nm时的出峰量为12个,在360 nm时的出峰量为7个。故选用280 nm为检测波长。

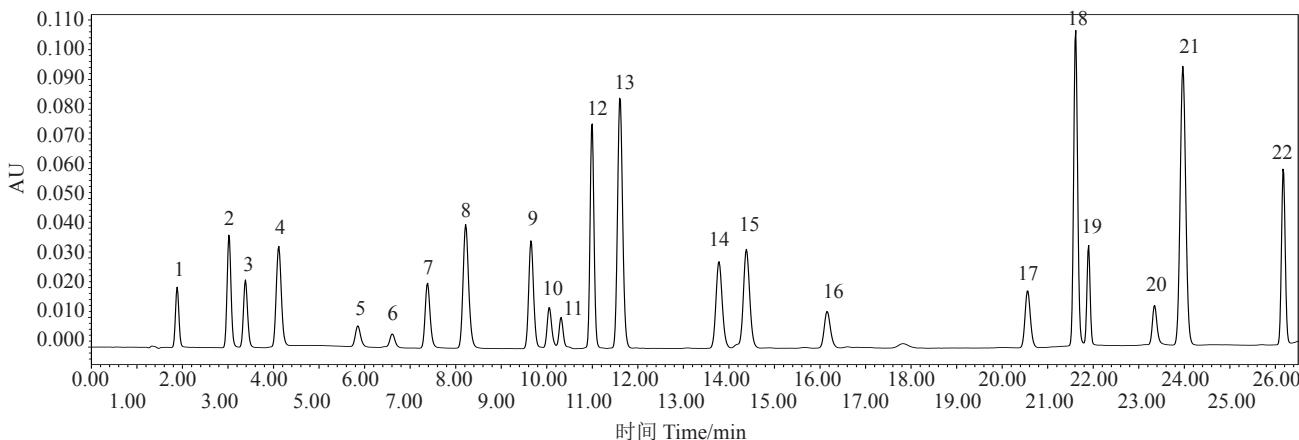
进样量过大造成色谱峰前延、峰分叉等情况,减少进样量可以提高分离度,而进样量过小会造成色谱峰响应值较低,基线不平、拖尾等现象,且对样品浓度要求较高。试验中对比了进样量分别为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、3.0和5.0 μL对混合标准溶液的影响。其中0.2 μL时的分离度不错,但基线不平,响应值较低,0.4 μL时最小的色谱峰分离度为1.59,0.6 μL时

最小的色谱峰分离度为1.58,0.8 μL时最小的色谱峰分离度为1.49,1.0 μL时最小的色谱峰分离度为1.38,而在2.0、3.0和5.0 μL时,单体酚的色谱峰前延现象较为严重。综合以上因素,选用0.6 μL为进样量。

升高柱温可明显提高各多酚组分的分离度,缩短各组分的保留时间,但柱温太高对色谱柱不利^[16]。20 °C、25 °C、30 °C时表没食子儿茶素没食子酸酯和表儿茶素、白藜芦醇和根皮苷之间的分离度小于1.5。35 °C、40 °C时表没食子儿茶素没食子酸酯和表儿茶素、白藜芦醇和根皮苷均能分开。因此,在保证各单体酚组分有效分离的前提下,试验选择以35 °C为最佳柱温条件。

流动相流速增加,可以使得样品分析测试时间缩短,但流速过快也会使待测样品组分的分离效果变差。在0.1 mL·min⁻¹流速下,各酚类物质的分析测试时间较长,峰宽且保留时间靠后,部分组分无法分离;而0.2 mL·min⁻¹的流速既可以有效分离22种单体酚,也保证了较短的分析时间;在0.3 mL·min⁻¹流速下,各色谱峰的保留时间靠前,分离度较低。因此,最终流速选定为0.2 mL·min⁻¹。

2.1.2 梯度洗脱的优化 应用试差试验法优化梯度洗脱方式,对混合标准溶液进行分离,得到最优梯度洗脱条件。在该条件下,22种酚类物质混合标准溶液色谱见图1。由图1可以看出,本试验检测出的22



1. 没食子酸;2. 香豆酸;3. 原儿茶酸;4. 新绿原酸;5. 对羟基苯甲酸;6. 儿茶素;7. 绿原酸;8. 咖啡酸;9. 丁香酸;10. 表没食子儿茶素没食子酸酯;11. 表儿茶素;12. 1,3-二咖啡酰奎宁酸;13. 对香豆酸;14. 阿魏酸;15. 芥子酸;16. 芦丁;17. 槲皮苷;18. 白藜芦醇;19. 根皮苷;20. 槲皮素;21. 肉桂酸;22. 根皮素。下同。

1. Gallic acid; 2. Coumalic acid; 3. Protocatechic acid; 4. Neochlorogenic acid; 5. p-Hydroxybenzoic acid; 6. Catechin; 7. Chlorogenic acid; 8. Caf-eic acid; 9. Syringic acid; 10. (-)-Epigallocatechin gallate; 11. (-)-Epicatechin; 12. 1,3-Dicaffeoylquinic acid; 13. p-Coumaric acid; 14. Ferulic acid; 15. Sinapic acid; 16. Rutin; 17. Quercitrin; 18. Resveratrol; 19. Phlorizin; 20. Quercetin; 21. Cinnamic acid; 22. Phloretin. The same below.

图1 22种酚类物质混合标准溶液在最优条件下的超高效液相色谱

Fig. 1 UPLC chromatogram of 22 phenolic compound standards in the best condition

个色谱峰之间的分离度均大于1.5,耗时33 min,能够达到完全分离,并且峰形尖锐,对称性好,可满足22种单体酚的同时分离。

2.2 UPLC分析方法的考察

2.2.1 线性关系与检出限 在最佳色谱条件下,选取定量下限浓度以上的一系列质量浓度标准工作液进行分析,分别获得各自的峰面积。以测得的各个酚类物质积分峰面积为纵坐标,质量浓度

($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线。以信噪比(S/N)为3时所对应标准溶液中所含组分的含量为检出限(LOD)。如表1所示,22种酚类物质的检出限为0.000 34~0.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,说明该法的灵敏度较高。在各个酚类物质相应的线性范围内,其质量浓度与峰面积呈现出较好的线性关系(相关系数均大于0.99)。

2.2.2 精密度 将同一混合标准溶液按最佳色谱条

表1 22种酚类物质的线性范围、标准曲线回归方程、相关系数与检出限

Table 1 Linear range, regression equations, correlation coefficient and limits in the detection of 22 phenolic compounds

酚类物质 Phenolic compounds	线性范围 Concentration range/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回归方程 Liner relation	相关系数 R^2	检出限 LOD /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
没食子酸 Gallic acid	1.313~262.500	$y=2571.2x-1336.3$	1	0.000 83
香豆酸 Coumaric acid	0.480~120.000	$y=3807.1x+3525.5$	0.999 4	0.004 6
原儿茶酸 Protocatechic acid	0.700~105.000	$y=2783.7x+8751.5$	0.999 9	0.000 34
新绿原酸 Neochlorogenic acid	0.500~20.000	$y=6566.4x-557.55$	0.999 9	0.013
对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid	2.000~50.000	$y=1659.0x+4875.2$	0.999 1	0.160
儿茶素 Catechin	0.380~380.000	$y=7226.8x+2452.6$	1	0.039
绿原酸 Chlorogenic acid	4.000~50.000	$y=7207.4x-4361.6$	0.997 5	0.140
咖啡酸 Caffeic acid	0.950~95.000	$y=7950.0x-3001.5$	0.999 7	0.051
丁香酸 Syringic acid	0.500~100.000	$y=5331.2x-2843.3$	1	0.077
表没食子儿茶素没食子酸酯 (-)-Epigallocatechin gallate	2.000~20.000	$y=2200x-1805$	0.998 3	0.079
表儿茶素 (-)-Epicatechin	0.600~24.000	$y=1604.4x-1268$	0.995 7	0.120
1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	0.950~950.000	$y=13207x-9460.5$	1	0.061
对香豆酸 P-coumaric acid	0.310~15.500	$y=7901x+1835.3$	0.998 9	0.050
阿魏酸 Ferulic acid	0.500~10.000	$y=13029x-1431.6$	1	0.097
芥子酸 Sinapic acid	0.200~4.000	$y=6741.0x+361$	1	0.050
芦丁 Rutin	4.000~1 000.000	$y=2512x-7828$	1	0.130
槲皮苷 Quercitrin	0.380~950.000	$y=3304.2x+1665.4$	1	0.160
白藜芦醇 Resveratrol	0.550~6.000	$y=16785x-7148.5$	1	0.110
根皮苷 Phlorizin	4.000~200.000	$y=2538.1x+10163$	0.998 3	0.150
槲皮素 Quercetin	0.700~210.000	$y=2995.7x-340.78$	0.999 6	0.015
肉桂酸 Cinnamic acid	0.736~11.500	$y=16882x-466.27$	0.999 3	0.091
根皮素 Phloretin	1.360~34.000	$y=7068.4x+4999.8$	0.999 8	0.099

件连续进样8次,以测定出的各标准物质的积分峰面积为对象,计算其相对标准偏差(RSD)来考察色谱方法的精密度。如表2所示,22种酚类物质的积分峰面积的RSD值均较低,这充分说明该方法具有较高的精密度。

2.2.3 加标回收率 以‘徐香’为试材,对猕猴桃果汁进行加标回收率试验,每个试验均3次重复。向已知单体酚含量的样品添加3个梯度不同质量浓度的混合标准溶液,充分混匀后按照1.3.2果汁制作方法及1.3.3的前处理方法制备样品,随后在最佳条件下测定22种单体酚的回收率。结果如表2所示,果汁中各酚类物质的平均回收率为84.11%~117.15%,且相对标准偏差较低。结果表明,上述试验方法准确度较高,能应用于猕猴桃果汁中酚类物质的同时

测定。

2.2.4 重复性试验 按照1.3.2方法连续重复制作同一样品(试验以‘徐香’为试材),平行6次,在最佳色谱条件下上机测定,记录各单体酚的峰面积,计算其RSD值,分析样品的重复性。样品的重复性结果见表3,可看出相对标准偏差均较低,表明该测定方法的重复性良好。

2.2.5 样品稳定性 取同一批次的样品溶液(试验以‘徐香’为试材),在最佳条件下分别于0、2、6、8、12、16、20、24 h进样,记录各组分的峰面积,计算其RSD值,分析样品的稳定性。在最佳色谱条件下样品稳定性结果见表3,可看出相对标准偏差均较低,表明供试品溶液在24 h内稳定,且该方法具有良好的稳定性。

表 2 22 种酚类物质的精密度与加标回收率

Table 2 Precision and recovery rate of 22 phenolic compounds

酚类物质 Phenolic compounds	精密度 Precision		加标回收率 Recovery rate/%	相对标准偏差 RSD of recovery rate/%
	平均峰面积 Mean peak area	相对标准偏差 RSD of precision/%		
没食子酸 Gallic acid	113 655	2.10	117.15	9.56
香豆酸 Coumalic acid	237 317	1.05	107.34	1.49
原儿茶酸 Protocatechic acid	150 390	1.24	99.27	8.77
新绿原酸 Neochlorogenic acid	270 657	1.65	88.06	5.76
对羟基苯甲酸 p-Hydroxybenzoic acid	59 211	1.42	104.75	9.52
儿茶素 Catechin	38 073	4.00	105.04	8.37
绿原酸 Chlorogenic acid	171 106	1.50	100.92	8.47
咖啡酸 Caffeic acid	369 412	1.34	96.86	9.36
丁香酸 Syringic acid	286 577	1.37	91.95	8.96
表没食子儿茶素没食子酸酯 (-)-Epigallocatechin gallate	100 794	1.68	109.11	6.32
表儿茶素 (-)-Epicatechin	74 369	1.099	92.15	3.95
1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	475 269	1.45	106.47	5.73
对香豆酸 p-Coumaric acid	687 832	1.37	108.24	5.69
阿魏酸 Ferulic acid	292 734	1.49	105.61	5.65
芥子酸 Sinapic acid	345 063	1.45	84.11	3.30
芦丁 Rutin	121 236	4.07	105.23	5.20
槲皮苷 Quercitrin	164 474	1.33	111.46	7.17
白藜芦醇 Resveratrol	659 609	1.19	103.45	5.41
根皮苷 Phlorizin	174 893	1.83	96.32	5.14
槲皮素 Quercetin	99 679	1.69	116.99	6.95
肉桂酸 Cinnamic acid	827 056	1.16	84.79	2.81
根皮素 Phloretin	352 435	1.47	107.74	1.80

表 3 22 种酚类物质的重复性与稳定性

Table 3 Stability and repeatability of 22 phenolic compounds

酚类物质 Phenolic compounds	重复性 Stability		稳定性 Repeatability	
	平均峰面积 Mean peak area	相对标准偏差 RSD of stability/%	平均峰面积 Mean peak area	相对标准偏差 RSD of repeatability/%
没食子酸 Gallic acid	3 167.17	4.88	3 182.33	7.46
香豆酸 Coumalic acid	12 319.00	2.98	12 339.33	4.81
原儿茶酸 Protocatechic acid	ND	ND	ND	ND
新绿原酸 Neochlorogenic acid	470 966.50	0.41	470 437.56	2.82
对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid	19 768.33	3.30	19 428.11	6.65
儿茶素 Catechin	674 834.67	0.55	714 383.00	7.52
绿原酸 Chlorogenic acid	9 987.00	4.78	9 914.00	4.69
咖啡酸 Caffeic acid	10 315.50	4.36	9 942.44	3.77
丁香酸 Syringic acid	9 480.50	3.18	9 405.44	6.46
表没食子儿茶素没食子酸酯 (-)-Epigallocatechin gallate	ND	ND	ND	ND
表儿茶素 (-)-Epicatechin	ND	ND	ND	ND
1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	14 196.17	2.31	14 841.89	6.18
对香豆酸 P-coumaric acid	6 963.83	4.43	7 195.89	3.70
阿魏酸 Ferulic acid	ND	ND	ND	ND
芥子酸 Sinapic acid	ND	ND	ND	ND
芦丁 Rutin	ND	ND	ND	ND
槲皮苷 Quercitrin	373 374.67	0.46	368 646.56	2.21
白藜芦醇 Resveratrol	ND	ND	ND	ND
根皮苷 Phlorizin	ND	ND	ND	ND
槲皮素 Quercetin	ND	ND	ND	ND
肉桂酸 Cinnamic acid	ND	ND	ND	ND
根皮素 Phloretin	ND	ND	ND	ND

注: ND, 未检出。下同。Note: ND, Undetected. The same below.

2.3 猕猴桃果汁中酚类物质的测定

为了验证最佳UPLC分析方法的适用性,对‘黄金果’‘黄阳’‘徐香’‘海沃德’4个品种的猕猴桃果汁中的酚类物质进行分析测定,结果见图2和表4。

由图2可以看出,不同品种猕猴桃果汁内的各色谱峰分离效果较好,样品内大多色谱峰能够与混合标准溶液中的色谱峰对应,22种酚类物质大多可在猕猴桃果汁内检出。在供试4个品种的猕猴桃果

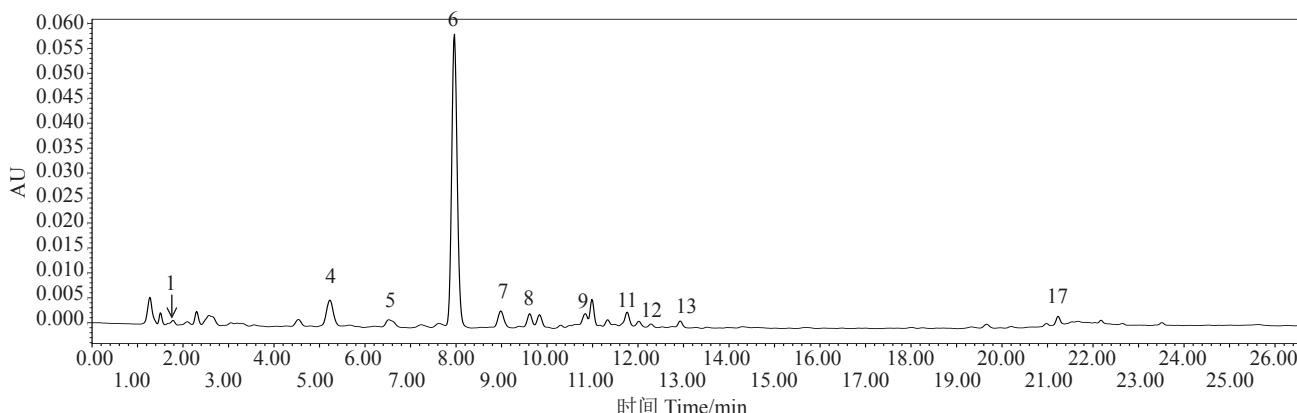


图2 ‘黄金果’猕猴桃果汁的超高效液相色谱分析

Fig. 2 UPLC chromatograms of ‘Huangjinguo’ kiwifruit juice

表4 猕猴桃果汁的酚类物质含量

Table 4 The contents of phenolic compounds in kiwifruit juice

酚类物质 Phenolic compounds	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$			
	黄金果 Huangjinguo	黄阳 Huangyang	徐香 Xuxiang	海沃德 Hayward
没食子酸 Gallic acid	0.51±0.03	0.40±0.01	0.18±0.01	0.30±0.03
香豆酸 Coumalic acid	ND	0.13±0.01	0.24±0.01	0.16±0.08
原儿茶酸 Protocatechic acid	ND	ND	ND	0.12±0.04
新绿原酸 Neochlorogenic acid	0.93±0.05	1.80±0.05	7.19±0.03	0.39±0.19
对羟基苯甲酸 P-hydroxybenzoic acid	0.07±0.04	0.28±0.02	0.92±0.01	0.19±0.05
儿茶素 Catechin	4.35±0.25	4.52±0.11	9.32±0.04	0.07±0.00
绿原酸 Chlorogenic acid	0.32±0.02	0.65±0.03	0.20±0.01	2.25±0.50
咖啡酸 Caffeic acid	0.13±0.01	ND	0.17±0.00	0.13±0.03
丁香酸 Syringic acid	0.30±0.01	0.07±0.05	0.23±0.01	0.09±0.01
表没食子儿茶素没食子酸酯 (-)-Epigallocatechin gallate	ND	ND	ND	ND
表儿茶素 (-)-Epicatechin	1.35±0.13	0.93±0.06	ND	1.54±0.11
1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	0.14±0.01	0.21±0.03	0.16±0.02	0.08±0.00
对香豆酸 P-coumaric acid	0.06±0.00	0.45±0.03	0.06±0.00	ND
阿魏酸 Ferulic acid	ND	ND	ND	ND
芥子酸 Sinapic acid	ND	ND	ND	ND
芦丁 Rutin	ND	ND	ND	ND
槲皮苷 Quercitrin	0.06±0.01	0.13±0.01	11.25±0.05	1.12±0.08
白藜芦醇 Resveratrol	ND	ND	ND	ND
根皮苷 Phlorizin	ND	ND	ND	ND
槲皮素 Quercetin	ND	ND	ND	ND
肉桂酸 Cinnamic acid	ND	ND	ND	ND
根皮素 Phloretin	ND	ND	ND	ND

汁中,没食子酸、新绿原酸、对羟基苯甲酸、儿茶素、绿原酸、丁香酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸和槲皮苷均能被检出,而阿魏酸、表没食子酸儿茶素没食子酸酯、芥子酸、芦丁、白藜芦醇、根皮苷、槲皮素、肉桂酸、根皮素均未被检出。这表明优化后的UPLC方法可以在猕猴桃果汁中检测出13种酚类物质,有较好的适用性。

由表4可以看出,不同品种猕猴桃果汁中,其酚类物质的组成及含量存在着较大差别,这与Ma等^[17]的报道相似。在4种品种的猕猴桃果汁中,‘黄金果’中含量最高的酚类物质是儿茶素($4.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。‘黄阳’中含量最高的酚类物质是儿茶素($4.52 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。‘徐香’猕猴桃果汁中含量最多的酚类物质是槲皮苷($11.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、儿茶素($9.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和新绿原酸($7.19 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。‘海沃德’猕猴桃果汁中绿原酸含量最多($2.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),且表儿茶素和槲皮苷也均有较高含量。从表4可知,‘黄金果’和‘黄阳’的色谱图较为相似,儿茶素含量最高,这些现象可能与猕猴桃的果肉颜色(‘黄金果’和‘黄阳’属于黄肉猕猴桃,‘徐香’和‘海沃德’属于绿肉猕猴桃)或基因型(‘黄金果’和‘黄阳’属于中华猕猴桃,‘徐香’和‘海沃德’属于美味猕猴桃)有关。

3 讨 论

酚类物质有着良好的生物活性,对人体健康有重要意义,但其化学结构和性质极其相似,分离难度大,同时检测酚类物质的技术大多存在着分析种类少、耗时长等问题。分析酚类物质组成及含量时常用的流动相有0.1%甲酸-甲醇^[9]、0.3%乙酸-甲醇^[10]、 $7.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸-乙腈^[11]、4.5%甲酸-乙腈^[16]等。由于羟基和羧基在水溶液中容易离子化,增加了极性,在固定相表面形成双重保留,如果加入少量的酸调节剂来抑制电离,则可以降低极性,使分离效果和峰形得到改善^[18]。但考虑到色谱柱的耐酸程度,流动相pH值过低对色谱柱不利,而且会导致基线严重漂移^[19]。通过对文献中流动相的比较,最终采用2%乙酸-乙腈为流动相。

目前常用的酚类物质分析方法为液相色谱法。李晓娇等^[14]采用HPLC法检测果醋中的16种酚类物质耗时105 min,检出限为 $0.007\sim0.418 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Anna等^[20]利用纳米-LC/UV检测柑橘果汁中7种主要酚类物质,检出限为 $0.40\sim0.78 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。林素英等^[21]

利用HPLC法检测枇杷果实中的7种酚类物质,本试验使用UPLC法同时测定22种酚类物质混合标准溶液仅耗时33 min,检出限为 $0.000\sim0.16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,证明与普通液相色谱法相比,UPLC法具有耗时短、分离效果好、检出限低等优点。

近年来已有一些报道使用UPLC法检测酚类物质。郑洁等^[10]使用UPLC法检测柑橘,只能分离出17种酚类物质,温文旭等^[22]使用UPLC法只检测出了丝瓜中的14种酚类物质,方玲玲等^[9]检测樱桃酒只能分离出5种酚类物质,Jirí等^[11]在白葡萄酒、葡萄柚汁、绿茶等中检测出了17种多酚,但分离度不高,并未达到完全分离,赵建勇等^[12]使用UPLC法在葡萄酒中分离了7种单体酚。笔者利用所建立的UPLC条件,与过去的研究^[9-12,22]不同的是,本试验优化后的UPLC方法出峰量多,分离度高。

大量的研究表明,酚类物质的组成和含量与果实种类有关。柑橘果肉中的主要酚类物质为柚皮芸香甙、柚皮苷、新橙皮甙等^[10]。苹果酒中酚类物质主要有槲皮素、表儿茶素、根皮苷、儿茶素、绿原酸等^[23]。樱桃中主要酚类物质有香豆酸、儿茶素、绿原酸、咖啡酸、香草酸、表儿茶素、丁香酸、对香豆酸、芦丁、芥子酸、槲皮素和山奈酚^[24]。桃中主要的酚类物质有表儿茶素、儿茶素、绿原酸、新绿原酸等^[25]。香蕉中的主要酚类物质有阿魏酸、肉桂酸、芥子酸、水杨酸、没食子酸、对羟基苯甲酸、香草酸、丁香酸、龙胆酸和对香豆酸等^[26]。梨果肉中主要酚类物质有熊果苷、没食子酸、绿原酸、表儿茶素和芦丁^[27]。在本文中,猕猴桃果汁的主要酚类物质有没食子酸、新绿原酸、对羟基苯甲酸、儿茶素、绿原酸、丁香酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、槲皮苷等。而不同品种中酚类物质的组成和含量也有所差异。如在柑橘果肉中,沙糖橘可以检测到14种酚类物质,而金柑只能检测到5种,2个品种中的柚皮芸香甙含量虽最高,但在柠檬和椪柑中均检测不到^[10]。‘拉宾斯’樱桃中含量最高的酚类物质为表儿茶素和芦丁,‘先锋’中儿茶素和香豆酸含量最高,而‘红灯’检测不到儿茶素,‘萨米脱’检测不到表儿茶素^[24]。在桃果肉中,‘早黄蟠桃’‘中蟠桃1号’‘早露蟠桃’的表儿茶素含量最高,而同属于蟠桃类的长生蟠桃却检测不到表儿茶素^[25]。‘绿宝石’等9个品种的梨果肉中的绿原酸含量最高,而‘圆黄’中熊果苷含量最高^[27]。笔者研究发现,‘黄金果’和‘黄阳’猕猴桃果汁中含量最高的

酚类物质是儿茶素,但在‘海沃德’猕猴桃果汁中含量最高的酚类物质是绿原酸。原儿茶酸在‘黄金果’‘黄阳’和‘徐香’猕猴桃果汁中均未检出,但在‘海沃德’猕猴桃果汁中却能检测到少量。咖啡酸仅仅不能在‘黄阳’猕猴桃果汁中检出,在其他3个品种中均能检出。表儿茶素仅在‘徐香’猕猴桃果汁中检测不到。

李晓娇等^[14]在猕猴桃醋(加入果胶酶48℃处理3 h后在26~34℃发酵)中未检测出的表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、芦丁和白藜芦醇,在本试验中表没食子儿茶素没食子酯酯、芦丁在所有品种的猕猴桃汁中也都不能被检测到。赵宁等^[28]分析了在22℃发酵的‘徐香’猕猴桃酒、‘黄金果’猕猴桃酒和‘海沃德’猕猴桃酒,发现在3种猕猴桃酒中含有没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸、阿魏酸、鞣花酸、对香豆酸、绿原酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、根皮苷和金丝桃苷,这些结论与本试验结果相似,在4种猕猴桃果汁中也同样含有没食子酸、儿茶素、对香豆酸等。戚一曼等^[15]在16℃发酵过程中的‘翠香’猕猴桃酒中检测出没食子酸、原儿茶酸、儿茶素、表儿茶素、鞣花酸、根皮苷、根皮素、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、金丝桃苷,其中没食子酸含量较多,而本试验中的猕猴桃果汁所含的没食子酸含量较少(0.18~0.51 μg·mL⁻¹),且各品种猕猴桃果汁中均未检出根皮苷和根皮素,以上差异可能与所用猕猴桃品种以及加工工艺不同有关,而关于不同加工工艺对猕猴桃果汁酚类物质组成及含量的影响,有待于进一步研究。

笔者对4种品种的猕猴桃果汁中的单体酚进行测定,阿魏酸、表没食子酸儿茶素没食子酸酯、芥子酸、芦丁、白藜芦醇、根皮苷、槲皮素、肉桂酸、根皮素均未被检出,可通过扩大检测范围和品种数量,进一步研究猕猴桃果汁中阿魏酸、表没食子酸儿茶素没食子酸酯、芥子酸、芦丁、白藜芦醇、根皮苷、槲皮素、肉桂酸、根皮素是否存在,进而分析是否可通过这些酚类物质的存在与否来区分猕猴桃果汁和其他树种的果汁。

4 结 论

建立了一种可以同时、快速、高效检测出猕猴桃果汁中酚类物质的方法。优化后的色谱条件为ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)液

相色谱柱,柱温为35℃,进样量0.6 μL,流速为0.2 mL·min⁻¹,2%乙酸水溶液/乙腈为流动相,检测波长为280 nm,采取梯度洗脱。经方法学验证,22种酚类物质在线性范围内均能够呈现出良好的线性关系,检出限低,精确度高。将该方法应用于4个品种的猕猴桃果汁样品的测定,结果表明,不同品种中的酚类物质均能够有效检出,并达到每种酚类物质完全分离,可应用于猕猴桃果汁中酚类物质的快速分析检测。

参考文献 References:

- [1] AUGUSTIN S, CLAUDINE M, CHRISTINE M, CHRISTIAN R. Dietary polyphenols and the prevention of diseases[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2005, 45(4): 287-306.
- [2] SHAHIDI F, AMBIGAIPALAN P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects - a review[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 820-897.
- [3] 乔丽萍,傅瑜,叶兴乾,孙玉敬.酚酸生物活性研究进展[J].中国食品学报,2013,13(10): 144-152.
QIAO Liping, FU Yu, YE Xingqian, SUN Yujing. Recent advances of phenolic acid bioactivities[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(10): 144-152.
- [4] SUN S Y, JIANG W G, ZHAO P Y. Comparison of aromatic and phenolic compounds in cherry wines with different cherry cultivars by HS-SPME-GC-MS and HPLC[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(1): 100-106.
- [5] KHORSANDI K, HOSSEINZADEH R. Determination and comparison of major polyphenol of four red fruits using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Diode-Array detection[J]. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2013, 3(3): 250-252.
- [6] 孙翔宇,杜国荣,马婷婷,刘兴艳,王晓宇,战吉成. RP-HPLC 法同时测定葡萄酒、果酒、果醋中16种单体酚的含量[J].现代食品科技,2014,30 (12): 201-209.
SUN Xiangyu, DU Guorong, MA Tingting, LIU Xingyan, WANG Xiaoyu, ZHAN Jicheng. Simultaneous determination of the contents of 16 types of monophenols in wine, fruit wine, and fruit vinegar by RP-HPLC[J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30 (12): 201-209.
- [7] 吕泽芳,江东,于杰.若干锦橙品种果皮酚类物质及其抗氧化与抑菌作用[J].果树学报,2017,34(2): 215-223.
LÜ Zefang, JIANG Dong, YU Jie. Antioxidant capacities and mold- inhibitory effects of phenolic compounds in several Jin Cheng lines[J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(2): 215-223.
- [8] SPÁCIL Z, NOVÁKOVÁ L, SOLICH P. Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography[J]. Talanta, 2008, 76 (1): 189-199.
- [9] 方玲玲,肖作兵,牛云蔚,于海燕.超高效液相串联质谱法测定樱桃酒中的5种酚酸[J].食品与发酵工业,2011,36 (6):

- 172-176.
- FANG Lingling, XIAO Zuobing, NIU Yunwei, YU Haiyan. Determination of phenolic acid compounds in cherry wines by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 36(6): 172-176.
- [10] 郑洁,赵其阳,张耀海,焦必宁.超高效液相色谱法同时测定柑橘中主要酚酸和类黄酮物质[J].中国农业科学,2014,47(23): 4706-4717.
- ZHENG Jie, ZHAO Qiyang, ZHANG Yaohai, JIAO Bining. Simultaneous determination of main flavonoids and phenolic acids in citrus fruit by ultra performance liquid chromatography[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(23): 4706-4717.
- [11] JIRÍ G, ONDREJ N, MIROSLAV S. Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2008, 111: 789-794.
- [12] 赵建勇,任水英.UPLC法同时测定新疆葡萄酒中的7种单体酚[J].中国酿造,2015,34(2):139-141.
- ZHAO Jianyong, REN Shuiying. Determination of 7 mono-phenols in Xinjiang wines by UPLC[J]. China Brewing, 2015, 34(2): 139-141.
- [13] 王凤舞,郭丽萍,张晶,毕艳艳.超声辅助法提取猕猴桃多酚的工艺研究[J].食品科技,2013,38(1): 210-214.
- WANG Fengwu, GUO Liping, ZHANG Jing, BI Yanyan. Ultra-sonic-assisted extraction condition of polyphenols from kiwi fruit[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(1): 210-214.
- [14] 李晓娇,王晓宇,袁静,卢敏,孙翔宇,王瑞花,全志杰.苹果醋、柿子醋、猕猴桃醋中酚类物质测定与比较[J].食品与发酵工业,2013,39(6): 186-190.
- LI Xiaojiao, WANG Xiaoyu, YUAN Jing, LU Min, SUN Xiangyu, WANG Ruihua, QUAN Zhijie. The determination and comparison of phenolics in apple vinegar, persimmon vinegar and kiwifruit vinegar[J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(6): 186-190.
- [15] 戚一曼,樊明涛,程拯良,黄佳,苗壮.猕猴桃酒主发酵过程中多酚及抗氧化性的研究[J].食品研究与开发,2016,37(24): 6-11.
- QI Yiman, FAN Mingtao, CHENG Zhenggen, HUANG Jia, MIAO Zhuang. Study on polyphenol composition and antioxidant properties of kiwi wine in main fermentation process[J]. Food Research and Development, 2016, 37(24): 6-11.
- [16] HE D X, SHAN Y, WU Y H, LIU G, CHEN B, YAO S. Sunultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD-ESI/MS [J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 880-885.
- [17] MA T T, SUN X Y, ZHAO J M, YOU Y L, LEI Y S, GAO G T, ZHAN J C. Nutrient compositions and antioxidant capacity of kiwifruit (*Actinidia*) and their relationship with flesh color and commercial value[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 294-304.
- [18] 胡华,张惟广,肖昭竟,朱永红.HPLC法测定酱油中的8种酚酸[J].食品与发酵工业,2009,35(8): 122-125.
- HU Hua, ZHANG Weiguang, XIAO Zhaojing, ZHU Yonghong. Detection of 8 phenolic acids in soy sauce by HPLC[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(8): 122-125.
- [19] 王祥军,齐军仓,贾力群,王倩,王琴,马建峰,王仙.反相高效液相色谱法快速测定大麦籽粒中13种酚酸类化合物[J].分析试验室,2011,11(30): 5-10.
- WANG Xiangjun, QI Juncang, JIA Liqun, WANG Qian, WANG Qin, MA Jianfeng, WANG Xian. Rapid determination of 13 phenolic acids in barley grain by reversed phase high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2011, 11(30): 5-10.
- [20] ANNA R, CHIARA F, LAURA D, LUIGI M. A nano-LC/UV method for the analysis of principal phenolic compounds in commercial citrus juices and evaluation of antioxidant potential[J]. Electrophoresis, 2014, 35(11): 1701-1708.
- [21] 林素英,谢文燕,何松涛,蔡丽娜,谢晓梅,吴锦程.不同品种枇杷果实酚类物质及其抗氧化活性分析[J].食品工业科技,2016,37(18): 149-152.
- LIN Suying, XIE Wenyan, HE Songtao, CAI Lina, XIE Xiaomei, WU Jincheng. Phenolic contents and antioxidant activity in the fruit of different loquat cultivars[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(18): 149-152.
- [22] 温文旭,朱海生,温庆放,陈敏氢,林碧英,薛珠政.超高效液相色谱法分析丝瓜酚类物质组分及其含量[J].园艺学报,2016, 43(7): 1391-1401.
- WEN Wenxu, ZHU Haisheng, WEN Qingfang, CHEN Mindong, LIN Biying, XUE Zhuzheng. Determination of polyphe-nols chromatography in ultra performance liquid chromatogra-phy[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(7): 1391-1401.
- [23] KALINOWSKA M, BIELAWSKA A, LEWANDOWSKA- WKIEWICZ H. Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties[J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2014, 84:169-188.
- [24] 姜楠,王蒙,韦迪哲,冯晓元.高效液相色谱测定樱桃酚类物质[J].食品工业科技,2016, 37(7): 288-292.
- JIANG Nan, WANG Meng, WEI Dizhe, FENG Xiaoyuan. High-performance liquid chromatography determination of polyphe-nols in cherry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(6): 288-292.
- [25] 卢娟芳,刘盛雨,芦旺,席万鹏.不同类型桃果肉酚类物质及抗氧化活性分析[J].中国农业科学,2017,50(16): 3205-3214.
- LU Juanfang, LIU Shengyu, LU Wang, XI Wanpeng. Phenolic profiles and antioxidant activity of fruit pulp from different types of peaches[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(16): 3205-3214.
- [26] SINGH B, SINGH J P, KAUR A. Bioactive compounds in ba-na and their associated health benefits - A review[J]. Food Chemistry, 2016, 206: 1-11.
- [27] 李丽梅,赵哲,何近刚,关军锋.不同品种梨果实酚类物质和抗氧化性能分析[J].食品科学,2014,35(17): 83-88.
- LI Limei, ZHAO Zhe, HE Jingang, GUAN Junfeng. Analysis of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits from different pear cultivars[J]. Food Science, 2014, 35(17):83-88.
- [28] 赵宁,魏新元,樊明涛,李鹏燕,张杰,张利,李尧.发酵方法及品种对猕猴桃酒多酚和抗氧化性的影响[J].食品科学,2017, 38(21): 86-92.
- ZHAO Ning, WEI Xinyuan, FAN Mingtao, LI Pengyan, ZHANG Jie, ZHANG Li, LI Yao. Effect of fermentation meth-ods and cultivars on polyphenols and antioxidant activity of kiwi wines[J]. Food Science, 2017, 38(21): 86-92.