

高速逆流色谱法分离制备小叶金钱草中 杨梅苷与槲皮苷

宋道光, 徐顺连, 樊鑫宇, 陈 志*

(青海师范大学生命科学院, 青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海西宁 810008)

摘要:应用高速逆流色谱法对小叶金钱草中的杨梅苷和槲皮苷进行分离制备。小叶金钱草乙醇提取物依次经石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 取乙酸乙酯萃取物经葡聚糖凝胶 75% 甲醇洗脱纯化, 高速逆流色谱正己烷-正丁醇-水 (1.75: 1: 1, v: v) 两相溶剂系统分离, 以上相为固定相, 下相为流动相, 在主机转速 900 r/min, 流速 2 mL/min, 检测波长 254 nm 条件下进行分离制备, 并将所得产物进行高效液相检测和¹H、¹³C NMR 结构分析。结果表明, 该条件下经一步分离可同时得到 18.63 和 17.49 mg 的两种产物, 其纯度为 97.85% 和 95.42%, 经¹H、¹³C NMR 分析确定其为杨梅苷和槲皮苷。

关键词:小叶金钱草, 杨梅苷, 槲皮苷, 高速逆流色谱

Isolation and Preparation of Myricitrin and Quercitrin from *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam. by High-speed Counter-current Chromatography

SONG Dao-guang, XU Shun-lian, FAN Xin-yu, CHEN Zhi*

(Key Laboratory of Medicinal Animal and Plant Resources of the Qinghai-Tibetan Plateau,
School of Life Science, Qinghai Normal University, Xining 810008, China)

Abstract: High-speed counter-current chromatography (HSCCC) was developed for separation and purification of myricitrin and quercitrin from *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam (HSL). The HSL ethanol extracts was extracted successively with petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol. The ethyl acetate fraction was purified by Sephadex LH-20 elution with 75% methanol, and separated by high-speed countercurrent chromatography of n-hexane-n-butanol-water (1.75: 1: 1, v: v) two-phase solvent system, in which the upper phase as stationary phase and the lower phase was used as the mobile phase, at a flow rate of 2.0 mL/min. The rotation speed and detection wavelength were set at 900 r/min and 254 nm, respectively. The obtained product was subjected to high performance liquid phase detection and ¹H, ¹³C NMR structural analysis. Results showed that, under this separation conditions, two products of 18.63 and 17.49 mg were obtained in one step, and the purity was 97.85% and 95.42%, respectively, which were determined to be myricetin and quercetin by ¹H and ¹³C NMR.

Key words: *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.; myricitrin; quercitrin; high-speed counter-current chromatography (HSCCC)

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)11-0265-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.11.044

引文格式: 宋道光, 徐顺连, 樊鑫宇, 等. 高速逆流色谱法分离制备小叶金钱草中杨梅苷与槲皮苷[J]. 食品工业科技, 2019, 40(11): 265-269, 283.

小叶金钱草 (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) 为伞形科天胡荽属植物天胡荽, 中国传统中药之一, 为多年生草本植物。小叶金钱草通常生长在海拔 475~3000 m 湿润的草地、河沟边和林下, 广泛分布于中国的许多地区, 如四川、广西、贵州等地^[1]。目前, 小叶金钱草的化学成分含有黄酮类、酚类和香豆素类化合物^[2]。超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/

MS) 分析显示小叶金钱草含有酚类和类黄酮, 如儿茶素、表儿茶素、槲皮素和绿原酸, 并被证明这是小叶金钱草抗氧化活性的主要成分^[3], 此外, 其在体外还具有抗登革热病毒^[4]和抗乙型肝炎病毒 (HBV) 的活性^[5]。但截至目前, 小叶金钱草只作为民间用药, 尚未被中国药典收录, 因此对小叶金钱草化学成分及药理活性的深入研究具有重要意义。

收稿日期: 2018-08-29

作者简介: 宋道光 (1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 天然有机化学, E-mail: 269293045@qq.com。

* 通讯作者: 陈志 (1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事天然产物分离及药理学方面的研究, E-mail: czi58@163.com。

基金项目: 青藏高原药用动植物资源重点实验室 (2017-ZJ-Y13)。

虽然传统的硅胶柱层析可以分离出许多化合物,但它需要大量的溶剂,且不能分离具有相似结构和极性的化合物。而高速逆流色谱(high speed counter-current chromatography, HSCCC)是以化合物在两相不互溶的溶剂中分配系数的差异为原理的液液分配色谱,无需固体材料做固定相,无不可逆吸附等作用,具有样品回收率高、成本低、仪器操作简便等特点,近年来在天然产物分离等领域得到了广泛应用^[6-7]。

本研究采用高速逆流色谱法分离小叶金钱草中的两种黄酮成分杨梅苷和槲皮苷,有利于进一步研究小叶金钱草的化学成分及其药效,这为小叶金钱草的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小叶金钱草 青海师范大学植物学陈志教授鉴定,为天胡荽属植物天胡荽, *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.), 购于西宁城北百信大药房;葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20) 安徽博美生物科技有限公司;氯仿、正己烷、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇、乙腈、甲酸 分析纯,高效液相色谱所用的乙腈为色谱纯,天津市百世化工有限公司;水 二次蒸馏水。

RE.52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;真空脱气过滤装置 美国 Waters 公司;KJ-11030AL 型超声波清洗器 深圳市科洁超声科技有限公司;Waters 600 高效液相色谱仪 美国 Waters 公司;Waters 2998 PAD 二极管阵列检测器 美国 Waters 公司;HSCCC TBE-300B 型高速逆流色谱仪(柱体积 300 mL) 中国上海同田生化技术有限公司;N2000 双通道色谱工作站 浙江大学智达信息工程有限公司;核磁共振仪 瑞士 Bruker-500 MHz NMR (AVANCE III HD)。

1.2 实验方法

1.2.1 小叶金钱草乙酸乙酯及分离样品的制备 将购买的小叶金钱草药材用中药粉碎机粉碎,过 40 目筛。称取 20 kg 粉末分次置于超声波清洗器,按液料比 10:1 加入 70% (v:v) 乙醇溶液,于 600 W、40 kHz、60 °C 提取 1 h,过滤除去药渣,将药渣重复提取 4 次。合并提取液减压浓缩,得到棕褐色粘稠浸膏。浸膏用蒸馏水混悬,依次用 10 倍量的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 5 次。取乙酸乙酯萃取液回收溶剂并浓缩得到小叶金钱草乙酸乙酯萃取物,4 °C 避光保存备用。石油醚及正丁醇萃取物的化学成分另做研究。

取 5 g 乙酸乙酯萃取物,用 30 mL 蒸馏水超声溶解并过 0.45 μm 滤膜, Sephadex LH-20 柱层析分离(3 cm × 80 cm),分别用水、10%、20%、30%、40%、50%、75%、100% 甲醇洗脱,每个比例洗脱 2 个柱体积,1/20 柱体积为一馏分,收集 75% 甲醇洗脱馏分,合并色谱峰保留时间相同的馏分(HPLC 检测条件见 1.2.2),旋蒸除去溶剂并于 -70 °C 冷冻干燥 24 h,得到 Sephadex LH-20 分离样品。其余甲醇洗脱馏分的化学成分另做研究。

1.2.2 分离样品的高效液相色谱检测 取一定量乙

酸乙酯 + Sephadex LH-20 分离样品,用乙腈溶解,0.45 μm 针头过滤器过滤后,进行 HPLC 分析,其中产物的纯度按面积归一化法计算。

HPLC 检测条件:色谱柱: Waters 600 SunFire™ C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 甲酸(15%~40% 乙腈, 0~70 min), 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 25 °C, 检测波长 254 nm。进样 10 μL 分析。高效液相色谱(HPLC-PAD)紫外光谱扫描范围: 200~400 nm。

1.2.3 高速逆流色谱溶剂系统的选择

1.2.3.1 溶剂系统的确定 参考高速逆流色谱分离黄酮类化合物的相关报道选择溶剂系统^[8],如乙酸乙酯、正己烷、正丁醇和水等,按照溶剂极性的不同配制比例均为 2:1:1 的乙酸乙酯-正丁醇-水(1 号溶剂)和正己烷-正丁醇-水(2 号溶剂)系统,考察此两个比例系统对分配系数 K 的影响。

1.2.3.2 正己烷-正丁醇-水系统比例的确 按照正己烷-正丁醇-水的体积比配制溶剂系统,比例依次为:1:1:1、1:2:2、1.5:1:1、1.75:1:1、1:2:1、2:2:1 和 2:3:1(3~9 号溶剂)。分别考察正己烷和正丁醇对分配系数 K 的影响。

1.2.3.3 K 值的测定 通过高效液相色谱测定目标化合物在溶剂系统中的分配系数 K, K 值定义为上相中目标化合物的色谱峰面积(S_U)除以下相中目标化合物的色谱峰面积(S_F) ($K = S_U/S_F$)。筛选 K 值在 0.2~5.0 的溶剂系统用于高速逆流色谱^[9]。另一方面,两组份的分离度($\alpha = K_1/K_2, K_1 > K_2$)应该大于 1.5^[10]。

分配系数的测定:将适量的样品粉末溶解在适当量预平衡的两相溶剂系统中,并置于分液漏斗中。剧烈摇动分液漏斗以彻底平衡两相样品,并取等体积的两相蒸发至干。然后将残余物用 1 mL 乙腈溶解过 0.45 μm 滤膜并按照 1.2.2 中方法进行 HPLC 分析。

1.2.4 高速逆流色谱分离制备 配制正己烷-正丁醇-水(1.75:1:1, v:v:v) 两相溶剂系统,于分液漏斗中充分振摇后在室温下静置 10 h,将上下相分离并超声脱气 20 min,上相为固定相(正己烷、正丁醇)下相为流动相(水)。以 20 mL/min 的流速将脱气后的上相泵入主机。待主机中充满上相后,启动主机正相旋转按键 FWD,调整主机转速为 900 r/min,仪器转速稳定后再以 2 mL/min 的流速泵入超声脱气后的下相。待流动相流出主机后,平衡数分钟待基线平稳后计算固定相保留率(S_r),计算方法为: $S_r(\%) = [(螺旋管体积 - 流出固定相体积) / 螺旋管体积] \times 100$ 。

开启 TBD 2000 检测系统,设置检测波长为 254 nm,采集数据。取 1.2.1 中 Sephadex LH-20 分离样品 50 mg,用 10 mL 上相液体溶解,由进样阀上样,记录色谱图,收集各分离组分。

1.2.5 化合物核磁共振波谱表征 通过对已分离化合物进行¹H NMR 和¹³C NMR 谱图的测定,将化合物¹H NMR 和¹³C NMR 图谱在 MestReNova 中处理,并

表1 小叶金钱草提取物在不同溶剂体系中的分配系数K

Table 1 Partition coefficients(K) of the extract of *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.in different two phase solvent systems

溶剂系统	比例(v/v/v)	分配系数	分离度	编号
乙酸乙酯:正丁醇:水	2:1:1	$k_1 = 72.90; k_2 = 78.67$	1.07	1
正己烷:正丁醇:水	2:1:1	$k_1 = 0.31; k_2 = 0.88$	2.83	2

对化学位移进行积分和偶和常数(J)的计算。J的计算方法为:(低场化学位移-高场化学位移)×核磁兆数。¹H NMR 二重峰、双二重峰(分别表示为d及dd)需计算J值,单峰(s)、三重峰(t),以上不计算J值。通过与文献化合物报道数据进行¹H NMR 化学位移及J和¹³C NMR 化学位移比对,结果一致即确定化合物结构,结构式通过 ChemBioDraw 14.0 画出。

2 结果与分析

2.1 小叶金钱草乙酸乙酯提取物及 Sephadex LH-20 分离样品

按照 1.2.2 方法得到小叶金钱草乙酸乙酯萃取物及 Sephadex LH-20 分离样品的 HPLC 色谱图见图 1。由图 1a 可知,小叶金钱草乙酸乙酯萃取物所含化学成分较为复杂,而经 Sephadex LH-20 纯化后(图 1b)HPLC 色谱峰较少,有利于分配系数摸索及溶剂系统的优化选择。由图 1b 可知,峰 1、峰 2 为高速逆流色谱目标分离成分,其保留时间分别为 18.974 和 26.282 min。图 1c 和图 1d 分别为峰 1 和峰 2 的紫外光谱,色谱峰在峰带 I:300~400 nm 及峰带 II:220~280 nm 有明显紫外吸收,符合黄酮类化合物紫外光谱吸收特征,即峰 1 和峰 2 为黄酮类化合物。

2.2 HSCCC 分配系数的优化

HSCCC 实现好的分离效果的前提为:具有合适分配系数的两相溶剂系统、具有合适的分配系数(0.2~5.0)、两相溶剂分层时间短(小于 30 s)和固定

相有较高的保留率。

2.2.1 溶剂系统的确定 在初步的试验当中,目标化合物极易溶于乙酸乙酯和水。在表 1 中可以看出,1 号溶剂乙酸乙酯-正丁醇-水(2:1:1, v: v: v)分配系数过大,因此不适合作为高速逆流色谱溶剂系统。在 2 号系统中将乙酸乙酯替换为正己烷后体系的分配系数大为改善,但表 1 中 2 号系统中 1 号化合物分配系数较小,会过早地和杂质一同随流动相流出,化合物纯度将无法保证,故不选用 2 号溶剂系统。因此,下一步通过调整正己烷和正丁醇的比例来探索正己烷-正丁醇-水溶剂系统的最适分配系数。

2.2.2 正己烷-正丁醇-水比例的确定 由表 1、表 2 可知,2 号及 3~9 号溶剂系统的分配系数范围在 0.3~11.0 之间。在上相作为流动相和下相作为固定相的溶剂体系中,分配系数越小出峰时间越早^[11]。通过调整正己烷和正丁醇的比例时可以发现,当增加正己烷或减小正丁醇的比例时,化合物的分配系数减小而分离度增加。由 3 号及 7 号、2 号及 8 号和 8 号及 9 号可知,增加正丁醇的比例对化合物的分配系数影响较大,即延长了逆流色谱出峰时间。综合考虑,通过调整正己烷的比例可以在保证分离度的前提下尽可能地缩短分离时间,节约溶剂。因此选用 6 号溶剂系统正己烷-正丁醇-水(1.75:1:1, v: v: v)进行高速逆流色谱分离目标物。

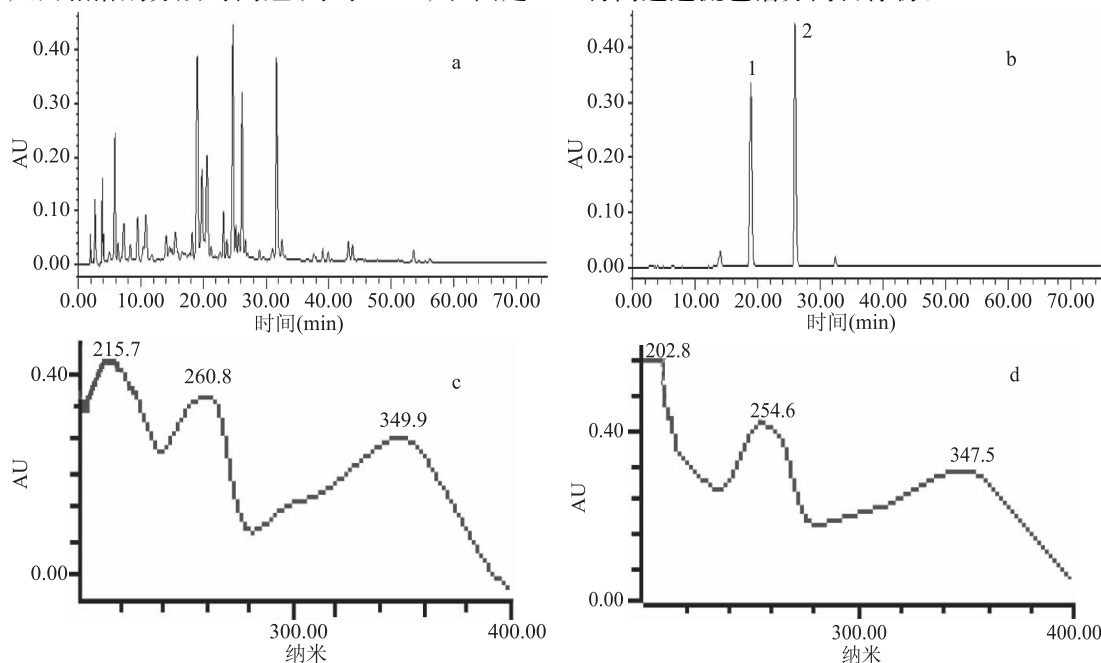


图 1 小叶金钱草乙酸乙酯部位(a)、Sephadex LH-20 分离样品(b)的高效液相色谱图及峰 1(c)、峰 2(d)的紫外光谱

Fig.1 HPLC chromatogram of the ethyl acetate fractions(a), Sephadex LH-20 separation sample(b) of *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.and UV spectrum of peak1(c) and 2(d)

表2 小叶金钱草提取物在正己烷-正丁醇-水溶剂体系中的分配系数 K

Table 2 Partition coefficients(K) of the extract of *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.in n-hexane/n-butanol/water solvent systems

比例 (v/v/v)	分配系数	分离度	编号
1:1:1	$k_1 = 1.22; k_2 = 3.08$	2.52	3
1:2:2	$k_1 = 5.12; k_2 = 10.56$	2.06	4
1.5:1:1	$k_1 = 0.76; k_2 = 2.04$	2.68	5
1.75:1:1	$k_1 = 0.54; k_2 = 1.54$	2.75	6
1:2:1	$k_1 = 2.55; k_2 = 4.54$	1.78	7
2:2:1	$k_1 = 1.09; k_2 = 2.67$	2.45	8
2:3:1	$k_1 = 2.37; k_2 = 4.70$	1.98	9

2.3 HSCCC 分离结果

采用溶剂系统正己烷-正丁醇-水(1.75:1:1, v: v: v), 参照 1.2.3 中固定相保留率计算方法, $S_f = [(300 - 104)] / 300 \times 100\% = 65.3\%$ 。按照 1.2.4 的方法进行高速逆流色谱分离, 得到 3 个分离组分(图 2) 并进行 HPLC 分析。峰 I 为混乱杂质峰, 没有进一步分离价值。峰 II ~ III 样品 HPLC 分析结果见图 3, 其中峰 II 图 3a、峰 III 图 3b 为目标化合物, 保留时间(Rt)和纯度分别为: 峰 II, Rt = 18.974 min, 97.85%; 峰 III, Rt = 26.282 min, 95.42%。图 3 中小图对应各色谱峰的紫外吸收光谱, 由紫外光谱分析得知, 色谱峰紫外吸收在峰带 I: 300~400 nm 及峰带 II: 220~280 nm 有明显紫外吸收, 符合黄酮类化合物紫外光谱吸收特征, 故所分离得到的两种化合物为黄酮类化合物。样品冷冻干燥后得峰 II 18.63 mg, 峰 III 17.49 mg。

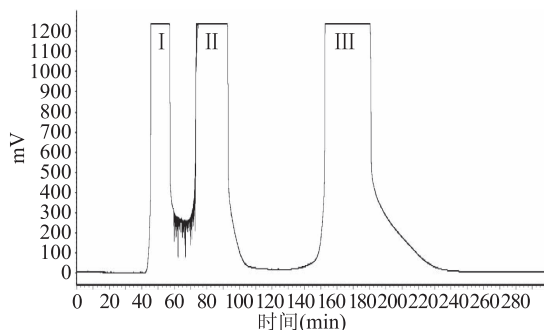


图2 小叶金钱草乙酸乙酯部位分离样品的高速逆流色谱图

Fig.2 HSCCC chromatogram of the separation sample from ethyl acetate-soluble fractions of *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.

2.4 结构表征

化合物 1 的 $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据如下: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz, ppm): δ 12.69 (1H, s, 5-OH), 9.26 (4H, br s, 3', 4', 5', 7-OH), 6.90 (2H, s, 2', 6'-H), 6.37 (1H, d, J = 1.9 Hz, 8-H), 6.20 (1H, d, J = 1.8 Hz, 6-H), 5.12 (1H, s, 1''-H), 3.15-3.99 (4H, m, rha-2, 3, 4, 5), 0.85 (3H, d, J = 6.2 Hz, CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz, ppm): δ 177.2 (C-4), 164.9 (C-7), 161.8 (C-5), 157.9 (C-8a), 156.9 (C-

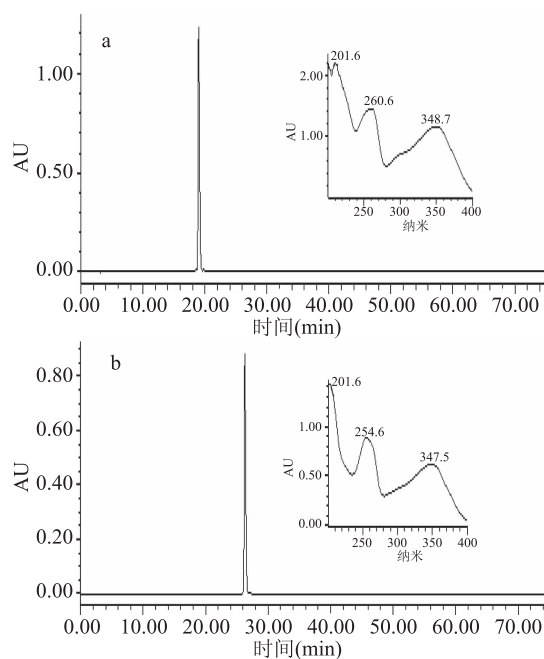


图3 峰 II (a)、III (b) 组分的 HPLC 色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of effluent fraction II (a) and III (b) 2), 146.25 (C-3', 5'), 136.9 (C-4'), 134.7 (C-3), 120.0 (C-1'), 108.4 (C-2', 6'), 104.4 (C-4a), 102.4 (C-1''), 99.2 (C-6), 94.0 (C-8), 71.7 (C-4''), 71.0 (C-3''), 70.9 (C-2''), 70.5 (C-5''), 18.0 (C-6''). 根据已报道文献比对^[12], 化合物 1 为杨梅苷 (Myricitrin), 其结构式见图 4 (1)。 $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 图谱分别见图 5a 和图 5b。

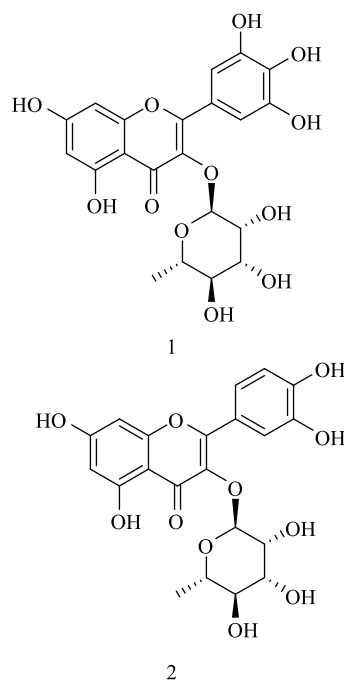


图4 杨梅苷(1)和槲皮苷(2)的化学结构

Fig.4 Chemical structure of myricitrin and quercitrin

化合物 2 的 $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据如下: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz, ppm): δ 12.66 (1H, s, 5-OH), 9.74 (3H, br s, 7, 3', 4'-OH), 7.31 (1H, d, J = 2.0 Hz, 2'-H), 7.26 (1H, dd, J = 2.0 Hz 和 J = 8.3 Hz,

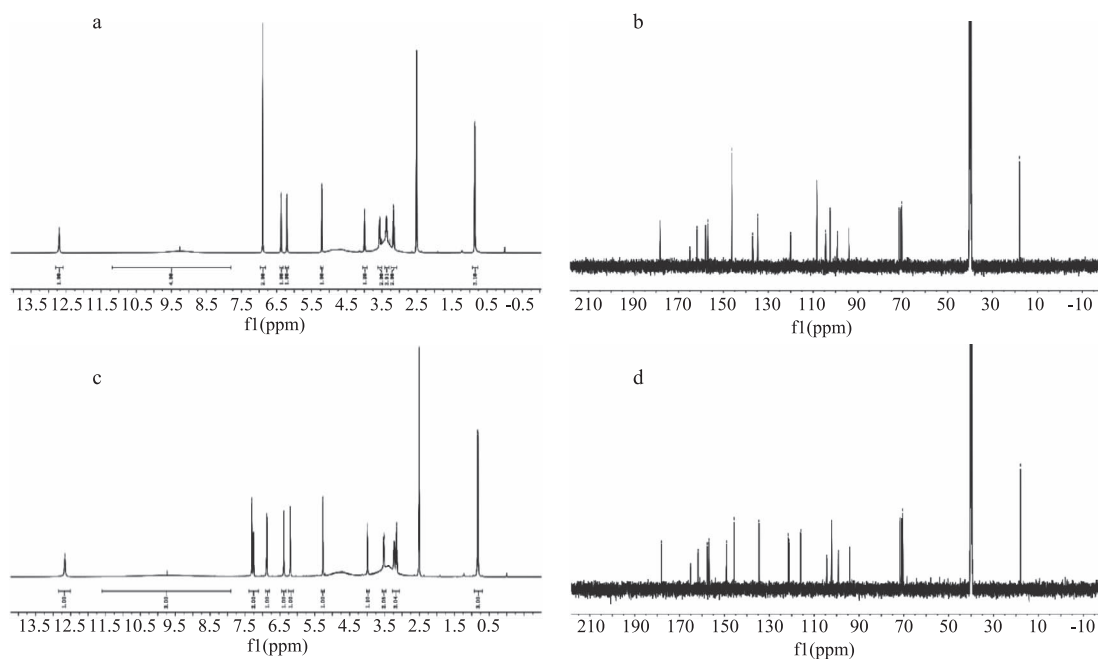


图5 杨梅苷(a,b)和槲皮苷(c,d)的核磁共振氢谱碳谱(500 MHz,DMSO- d_6)

Fig.5 ^1H NMR and ^{13}C NMR(500 MHz,DMSO- d_6) spectrum of myricitrin (a,b) and quercitrin (c,d)

6'-H), 6.87 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, 5'-H), 6.39 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, 8-H), 6.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, 6-H), 5.27 (1H, s, 1''-H), 3.14-3.99 (4H, m, rha-2, 3, 4, 5), 0.83 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, CH_3); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz, ppm): δ 178.2 (C-4), 165.1 (C-7), 161.8 (C-5), 157.7 (C-2), 157.0 (C-8a), 148.9 (C-4'), 145.7 (C-3'), 134.6 (C-3), 121.6 (C-6'), 121.2 (C-1'), 116.1 (C-5'), 116.0 (C-2'), 104.4 (C-4a), 102.3 (C-1''), 99.3 (C-6), 94.2 (C-8), 71.6 (C-4''), 71.1 (C-2''), 70.8 (C-3''), 70.5 (C-5''), 17.9 (C-6''); 根据已报道文献比对^[13], 化合物 2 槲皮苷 (Quercitrin), 其结构式见图 4 (2)。 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 图谱分别见图 5c 和图 5d。

3 结论

本文采用高速逆流色谱法首次从小叶金钱草中分离制备两种黄酮苷类化合物, 确定两相溶剂系统为正己烷-正丁醇-水(1.75:1:1, v:v:v), 分配系数达到 0.54 和 1.54, 经 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 确定此两种物质分别为杨梅苷和槲皮苷, 其纯度分别达到 97.85% 和 95.42%。经实验研究建立从小叶金钱草分离纯化杨梅苷和槲皮苷的 HSCCC 方法, 为进一步研究小叶金钱草的化学成分、药效以及综合利用奠定了一定的理论基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 第 55 卷 第 1 册伞形科[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 许玉芬, 陈燕惠, 杨尚庞. 天胡荽属植物的化学成分及其药理作用综述[J]. 福建建作科技, 2013(3): 59-61.
- [3] Kumari S, Elancheran R, Kotoky J, et al. Rapid screening and identification of phenolic antioxidants in *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam. by UPLC-ESI-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2016, 203:

521-529.

- [4] Husin F, Chan Y Y, Gan S H, et al. The effect of hydrocotyle sibthorpioides Lam. extracts on *in vitro* dengue replication [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015(1): 596109.
- [5] Huang Q F, Zhang S J, Huang R B, et al. Isolation and identification of an anti-hepatitis B virus compound from *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(2): 568-75.
- [6] Qiu H Y, Xiao X H, Li G K. Separation and purification of furanocoumarins from *Toddalia asiatica* (L.) Lam. using microwave-assisted extraction coupled with high-speed counter-current chromatography [J]. Journal of Separation Science, 2012, 35(7): 901-906.
- [7] Wen L, Lin Y L, Lv R M, et al. An efficient method for the preparative isolation and purification of flavonoids from leaves of *Crataegus pinnatifida* by HSCCC and Pre-HPLC [J]. Molecules, 2017, 22(5): 767.
- [8] Shi S Y, Huang K L, Zhang Y P, et al. Preparative isolation and purification of two flavonoid glycosides from *Taraxacum mongolicum* by high-speed counter-current chromatography [J]. Separation and Purification Technology, 2008, 60(1): 81-85.
- [9] Dai X P, Huang Q, Zhou B T, et al. Preparative isolation and purification of seven main antioxidants from *Eucommia ulmoides* Oliv. (Du-zhong) leaves using HSCCC guided by DPPH-HPLC experiment [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1-4): 563-570.
- [10] Bradow J, Riley F, Philippe L, et al. Automated solvent system screening for the preparative countercurrent chromatography of pharmaceutical discovery compounds [J]. Journal of Separation Science, 2016, 38(23): 3983-3991.
- [11] Xue K, Lue H T, Que B H, et al. High-speed counter-

(下转第 283 页)

标准出版社,2016.

[13] GB/T 5009.3-2000 食品中色氨酸的测定[S].北京:中国标准出版社,2000.

[14] GB/T 5009.124-2016 食品中氨基酸的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.

[15] Vinay B J, Sidhu Kanya T C. Effect of detoxification on the functional and nutritional quality of proteins of karanja seed meal [J]. Food Chemistry, 2008, 106(1): 77-84.

[16] 黄莺玉, 吴祥庆, 庞燕飞, 等. 主成分分析法综合评价水产品营养价值[J]. 食品科技, 2018, 43(2): 175-179.

[17] Han D, Lu J F, Zhang W Z. Research on competitiveness of county economy based on factor analysis and cluster analysis: taking 88 counties in Guizhou as samples [J]. Asian Agricultural Research, 2011(2): 28-31.

[18] 刘海梅, 严菁, 熊善柏, 等. 淡水鱼肉蛋白质组成及其在鱼糜制品加工中的变化[J]. 食品科学, 2007(2): 40-44.

[19] 王煜坤, 郝淑贤, 李来好, 等. 不同地区、品种及养殖模式罗非鱼营养差异分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 231-237.

[20] 刘海梅, 严菁, 熊善柏, 等. 淡水鱼肉蛋白质组成及其在鱼糜制品加工中的变化[J]. 食品科学, 2007(2): 40-44.

(上接第 269 页)

current chromatography preparative separation and purification of phloretin from apple tree bark [J]. Separation and Purification Technology, 2010, 72(3): 406-409.

[12] 李勇军, 何迅, 刘丽娜, 等. 荭草化学成分的研究[J]. 中国

(上接第 276 页)

(9): 1002-1008.

[26] 薛焕, 金雁, 于永丽. 超高效液相色谱-串联三重四极杆线性离子阱质谱法同时检测猪肉中 33 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2018, 34(3): 387-392.

[27] 高何刚, 王瑞, 杜赛, 等. 超高效液相色谱-串联质谱联用

[21] Mairesse G, Thomas M, Gaudeur J N, et al. Effects of geographic source, rearing system, and season on the nutritional quality of wild and farmed *Perca fluviatilis* [J]. Lipids, 2006, 41: 221-229.

[22] Elango R, Ball R O, Pencharz P B. Individual amino acid requirements in humans: an update [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2008, 11(1): 34-39.

[23] 夏光华, 申铨日, 蔡锦红, 等. 三酶法制备罗非鱼皮胶原蛋白抗氧化肽及活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 175-179.

[24] Bonvini E, Bonaldo A, Parma L, et al. Feeding European sea bass with increasing dietary fibre levels: Impact on growth, blood biochemistry, gut histology, gut evacuation [J]. Aquaculture, 2018, 494: 1-9.

[25] Li X Q, Xu H B, Sun W T, et al. Grass carp fed a fishmeal-free extruded diet showed higher weight gain and nutrient utilization than those fed a pelleted diet at various feeding rates [J]. Aquaculture, 2018, 493: 283-288.

[26] 陈文治, 郭忠宝, 单丹, 等. 6 种不同罗非鱼品种的肌肉营养成分分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(7): 1303-1309.

中药杂志, 2005, 30(6): 444-446.

[13] 陈金印, 张坤, 徐敏, 等. 山核桃树皮中槲皮苷的提取工艺优选及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(22): 42-45.

法同时测定鸡肉中磺胺和喹诺酮类兽药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(17): 2481-2485.

[28] 张凤艳, 蒋万枫, 王锡青, 等. QuEChERS EMR-Lipid 技术结合 LC-QTOF 快速筛查与确证液体乳中兽药残留[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(4): 57-60.

一套《食品工业科技》在手， 纵观食品工业发展全貌