DOI:10.12441/spyswjs.20250217002 [文章编号] 1673-1689(2025)10-0052-12

陈皮黄酮的超声-微波提取与高纯度橙皮苷纯化工艺研究

葛维犇 李毅恒 王洪新*

(江南大学食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:【目的】探究陈皮在食品领域的应用前景,高效提取陈皮中的活性成分橙皮苷,同时开发一种高效的纯化工艺以提升活性成分的纯度及其功能性价值。**【方法】**采用超声-微波协同萃取技术(U-MAE)提取陈皮中的橙皮苷,并通过溶解特性导向的浓缩除醇-梯度乙醇洗涤-pH调控3级纯化体系对橙皮苷进行纯化。通过单因素试验和响应面优化,确定最佳提取工艺参数,测定最终产品的抗氧化活性和α-葡萄糖苷酶抑制活性。**【结果】**在体积分数60%乙醇水溶液、微波功率220 W、提取时间3.5 min、料液比1 g∶45 mL的最佳提取条件下,橙皮苷得率达到(43.3±0.2) mg/g,与传统提取工艺相比具有效率优势。经过3级纯化后,橙皮苷的质量分数从(41.70±0.07)%提升至(96.09±0.88)%。最终产品表现出良好的抗氧化活性(ABTS自由基清除率IC_{50}为135.57 μg/mL)和α-葡萄糖苷酶抑制活性(IC_{50}为102.13 μg/mL)。**【结论】**应用U-MAE及3级纯化体系,实现陈皮中活性成分的高效提取和纯化,显著提升其目标产物纯度和功能性价值,可为陈皮在功能性食品开发中的应用提供理论依据和技术支持,也为其他药食同源中药材的开发利用提供新思路。

关键词:陈皮;提取;纯化;超声-微波

Ultrasonic-microwave Assisted Extraction of Flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium and High-purity Purification of Hesperidin

*GE Weiben LI Yiheng WANG Hongxin**

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: [**Objective**] To explore the application prospects of Citri Reticulatae Pericarpium in the food industry and efficiently extract the active component hesperidin, while developing an effective purification process to enhance the purity and functional value of the active ingredients. [**Method**] Ultrasonic-microwave assisted extraction (U-MAE) was employed to extract the hesperidin from Citri Reticulatae Pericarpium, followed by a three-stage purification system guided by dissolution characteristics involving alcohol removal by concentration, gradient ethanol washing, and pH adjustment to purify hesperidin. Single factor experiments and response surface methodology were used to optimize the extraction parameters. The antioxidant activity and α-glucosidase inhibitory activity of the final product were also evaluated. [**Result**] Under the optimal extraction conditions (60% ethanol-water solution by volume, microwave power of 220 W, extraction time of 3.5 min, and material/liquid ratio of 1 g∶45 mL), the hesperidin yield reached (43.3±0.2) mg/g, demonstrating significant efficiency advantages over traditional extraction methods. After three-stage purification, the mass fraction of hesperidin increased from (41.70±0.07)% to (96.09±0.88)%. The final product demonstrated excellent antioxidant

基金项目:国家"十三五"重点研发计划项目(2017YFD0400803)。

通信作者:王洪新(1964—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品功能因子和功能食品研究。E-mail:hxwang@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2025-02-17 **修回日期:**2025-04-27

activity (ABTS free radical scavenging IC_{50} of 135.57 μg/mL) and α-glucosidase inhibitory activity (IC_{50} of 102.13 μg/mL). [**Conclusion**] The U-MAE and three-stage purification system developed in this study enables efficient extraction and purification of active components from Citri Reticulatae Pericarpium, significantly enhancing their purity and functional values. This provides theoretical basis and technical support for the application of Citri Reticulatae Pericarpium in the development of functional foods and offers new ideas for the development and utilization of other traditional Chinese medicinal materials that are both food and medicine.

Keywords: Citri Reticulatae Pericarpium; extraction; purification; ultrasound-microwave

陈皮是芸香科植物橘及其栽培变种的干燥成熟果皮，在我国诸多省份都具有悠久的制作和食用历史[1-2]。目前，从陈皮中分离鉴定出的化学成分已达140余种，主要包括挥发油、黄酮、生物碱等物质，其中黄酮是陈皮最重要的功效成分之一，而橙皮苷则是陈皮黄酮的最主要成分[3-4]。现代药理学研究表明，橙皮苷具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗病毒及保护心血管等多种生理活性[5-7]。鉴于橙皮苷广泛的生物活性和潜在应用价值，其高效提取技术的开发已成为当前研究热点之一。因此，建立高效提取陈皮中橙皮苷的方法，对提高陈皮的深度开发与高值化利用具有重要意义。

目前已有研究采用不同方法提取陈皮中的橙皮苷。韩鹏虎等[8]采用索氏提取法，Li等[9]采用加压液体萃取法，Zeng等[10]采用超声辅助提取法。但这些方法普遍存在萃取时间长、效率低、能耗高等问题。U-MAE是一种将超声空化效应与微波热效应相结合的提取技术，已被广泛应用于多酚、黄酮及多糖等活性成分的提取[11-12]。例如，Alifakı等[13]采用U-MAE提取蔓越莓中的多酚，不仅大幅缩短了提取时间，产品品质也得到明显提升；García-Villalba等[14]使用U-MAE提取龙舌兰多糖，其化学组成、得率与超声辅助提取或微波辅助提取法相当，提取时间缩短5 min。因此，U-MAE被视为一种高效、节能且环保的提取方法[15]。

橙皮苷是一种具有多种活性的天然黄酮类化合物，其纯化方法包括大孔树脂吸附法、膜分离法、高速逆流色谱法等[16]。尽管这些方法可获得高纯度的橙皮苷，但通常需要复杂的工艺流程及造价高昂的设备，很大程度上限制了橙皮苷在化妆品、食品及药品等行业的广泛应用。鉴于常温下橙皮苷在水和乙醇中的溶解度极低，将粗橙皮苷经乙醇和水洗涤以除去部分杂质，即可实现橙皮苷的快速纯化。该纯化过程简单，无需复杂设备，适用于橙皮苷的大规模生产。

基于此，作者采用U-MAE提取陈皮中的橙皮苷，并利用响应面法对提取参数进行优化，以获得理想的橙皮苷得率。利用橙皮苷不溶于水和乙醇的特性，通过优化乙醇用量、洗涤时间和pH等参数，制备高纯度的橙皮苷。研究结果可为陈皮中橙皮苷的高效提取提供理论指导，为橙皮苷的规模化制备提供新方法，同时也为其他天然活性黄酮类化合物的纯化提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

广陈皮：产自广东省江门市新会地区，采摘制作于2022年，橙皮苷质量分数为（4.42±0.05）%；乙腈：色谱纯，国药沃凯化学试剂有限公司；α-葡萄糖苷酶（≥50 U/mg）、阿卡波糖、对硝基苯基-β-*D*-吡喃半乳糖苷（PNPG）、2，2’-联氮基双-（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）二氮盐（ABTS）、1，1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）：上海阿拉丁生物化学技术有限公司；橙皮苷：色谱纯，上海源叶生物科技有限公司；甲醇、乙醇、甲酸、氢氧化钠、盐酸、抗坏血酸（VC）：分析纯，国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

超声微波协同萃取仪：CW-2000型，上海新托分析仪器有限公司；超声清洗仪：YQ-920D型，上海易净超声波仪器有限公司；真空冷冻干燥机：SCIENTZ-10N型，宁波新芝生物科技股份有限公司；电子天平：AR224CN型，奥豪斯仪器（上海）有限公司；高速冷冻离心机：D3024R型，美国SCILOGEX公司；高效液相色谱仪（HPLC）：Waters e2695型，美国沃特世公司；pH计：ST3100型，奥豪斯（常州）仪器有限公司；紫外-可见分光光度计：UV-2100型，上海尼柯仪器有限公司；傅里叶变换红外光谱仪：NEXUS型，美国尼高力仪器公司。

1.3 研究方法

1.3.1 橙皮苷的HPLC分析及得率测定

参照文献[17]的方法，采用HPLC法分析橙皮苷。称取橙皮苷标准品溶于甲醇，配制成质量浓度为1.0 g/L的储备液。取适量储备液按一定倍数稀释后，进行HPLC分析。色谱条件为：色谱柱Waters ACQUITY UPLC HSS T3（100 mm×2.1 mm×1.8 μm）；流动相A为1 g/L甲酸水溶液，流动相B为乙腈；流量1.0 mL/min；柱温35 ℃；进样体积10 μL。梯度洗脱程序如下：0~0.5 min，流动相B体积分数为5%；0.5~2.5 min，流动相B体积分数为5%~6%；2.5~15.0 min，流动相B体积分数为6%~25%；15.0~18.0 min，流动相B体积分数为25%~47%；18.0~27.0 min，流动相B体积分数为47%~60%；27.0~31.0 min，流动相B体积分数为60%~95%；31.0~35.0 min，流动相B体积分数为95%检测波长为283 nm。以橙皮苷峰面积（y）和质量浓度（x）绘制标准曲线，拟合线性回归方程为y=13 963x+154.71，R^2=0.998 4，线性范围0~1.0 g/L。橙皮苷得率按式（1）计算。

$$Y=\frac{c_1\times V}{m_0} \tag{1}$$

式中：

Y——橙皮苷得率，mg/g；

c_1——提取液中橙皮苷质量浓度，mg/mL；

V——提取液体积，mL；

m_0——陈皮样品质量，g。

1.3.2 U-MAE提取单因素试验

1）称取5.00 g陈皮粉末，置于500 mL超声微波协同萃取仪中，固定超声功率为50 W且超声与微波同时作用。固定微波功率100 W，提取时间3.0 min，料液比1 g∶40 mL，评价体积分数30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇水溶液对橙皮苷得率的影响。

2）固定乙醇水溶液体积分数为60%，提取时间3.0 min，料液比1 g∶40 mL，评价微波功率50、100、150、200、250、300、350 W对橙皮苷得率的影响。

3）固定乙醇水溶液体积分数为60%，微波功率200 W，料液比1 g∶40 mL，评价提取时间0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 min对橙皮苷得率的影响。

4）固定乙醇水溶液体积分数为60%，微波功率200 W，提取时间3.0 min，评价料液比1 g∶20 mL、1 g∶30 mL、1 g∶40 mL、1 g∶50 mL、1 g∶60 mL、1 g∶70 mL、1 g∶80 mL对橙皮苷得率的影响。

1.3.3 响应面优化

根据单因素试验结果，采用三因素三水平Box-Behnken响应面法进行优化。固定乙醇水溶液体积分数为60%，以橙皮苷得率为响应值，对U-MAE工艺参数进行优化。另外，结合橙皮苷提取的实际操作条件进行验证。

1.3.4 不同提取方法比较

1）热回流提取法（CE）参照文献[9]的方法。称取5.00 g陈皮粉末，按料液比1 g∶30 mL加入体积分数75%乙醇水溶液，于80 ℃水浴中提取12.5 h。随后在4 000 g条件下离心5 min，取上清液，测定提取液中橙皮苷质量浓度并计算得率。

2）超声辅助提取法（UAE）参照文献[18]的方法。称取5.00 g陈皮粉末，按料液比1 g∶30 mL加入体积分数80%乙醇水溶液，于50 ℃、超声功率285 W条件下提取20 min，后续操作同CE。

3）微波辅助提取法（MAE）参照文献[19]的方法。称取5.00 g陈皮粉末，按料液比1 g∶50 mL加入体积分数70%乙醇水溶液，于微波功率240 W条件下提取5 min，后续操作同CE。

4）U-MAE根据响应面优化的最佳条件，取5.00 g陈皮粉末，按料液比1 g∶45 mL加入体积分数60%乙醇水溶液，在超声功率50 W、微波功率220 W条件下提取3.5 min，后续操作同CE。

1.3.5 橙皮苷纯化工艺探究

称取100.00 g样品，根据响应面最佳优化条件提取。提取液经真空浓缩至原体积的1/10，于4 ℃静置12 h后，于4 000 g条件下离心15 min。收集沉淀于60 ℃真空干燥至恒质量，得到橙皮苷粗提取物（CH）。称取1.00 g的CH，加入体积分数95%乙醇水溶液，室温下搅拌均匀后，于4 000 g条件下离心10 min。收集沉淀在60 ℃条件下真空干燥至恒质量，测定洗涤后CH中橙皮苷的质量分数。通过调整乙醇水溶液添加体积和搅拌时间，确定合适的洗涤工艺。

称取1.00 g洗涤后的CH，分散于20 mL水中，分别用1 mol/L的NaOH溶液调节pH至9.0、10.0、11.0、12.0、13.0，于4 000 g条件下离心10 min除去不溶物。上清液用1 mol/L的HCl溶液调节pH至

7.0，于室温下静置60 min后离心。收集沉淀于60 ℃真空干燥至恒质量，测定沉淀中橙皮苷的质量分数。

1.3.6 紫外与红外光谱分析

取适量纯化后的样品与橙皮苷标准品，配制质量浓度为40 μg/mL的甲醇溶液。取适量纯化后的样品与橙皮苷标准品，于280~400 nm波长范围内扫描测定其吸光度；在4 000~600 cm^{-1}波数范围内扫描其透射光谱，每个样品累计扫描32次。

1.3.7 体外抗氧化活性测定

将7.4 mmol/L ABTS储备液和2.6 mmol/L $K_2S_2O_8$溶液按体积比1∶1混合，于室温避光反应12 h。取适量该反应液用纯水稀释25倍，得到ABTS工作液。向3 mL ABST工作液中加入1 mL样品溶液，避光反应6 min，随后测定其在734 nm处的吸光度。选用VC作为阳性对照，参照文献[20]计算ABTS自由基清除率。

取4 mL DPPH乙醇溶液（0.1 mmol/L），与1 mL不同质量浓度的样品溶液混合，避光反应30 min，测定反应液在517 nm处的吸光度。选用VC作为阳性对照，DPPH与ABTS自由基清除率计算方式相同。

1.3.8 α-葡萄糖苷酶抑制活性测定

参照文献[21]的方法，取200 μL α-葡萄糖苷酶溶液（≥0.25 U/mL）与200 μL不同质量浓度的样品溶液混合，于37 ℃孵育10 min。随后加入200 μL PNPG溶液（5 mmol/L），再于37 ℃孵育10 min，随后迅速加入400 μL Na_2CO_3溶液（2 mmol/L）终止反应。测定反应液在405 nm处的吸光度。选用阿卡波糖作为阳性对照，α-葡萄糖苷酶抑制率按式（2）计算。

$$I = (1 - \frac{A - A_0}{A_1}) \times 100\% \quad (2)$$

式中：

I——α-葡萄糖苷酶抑制率，%；

A——样品反应液的吸光度；

A_0——不添加α-葡萄糖苷酶时反应液的吸光度；

A_1——不添加样品溶液时反应液的吸光度。

1.4 数据处理与分析

试验均重复测定3次。采用Origin 9.1软件绘图，采用SPSS 20.0软件进行单因素方差分析及显著性分析，$P<0.05$表示差异显著；采用Design-Expert 10.0软件进行响应面试验的数据分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

影响U-MAE提取效率的因素包括超声功率、微波功率、提取溶剂的种类、提取时间、料液比、提取温度等[11]。根据选用仪器的特性及陈皮原料的性质，选取乙醇体积分数、微波功率、提取时间、料液比为主要因素进行优化。

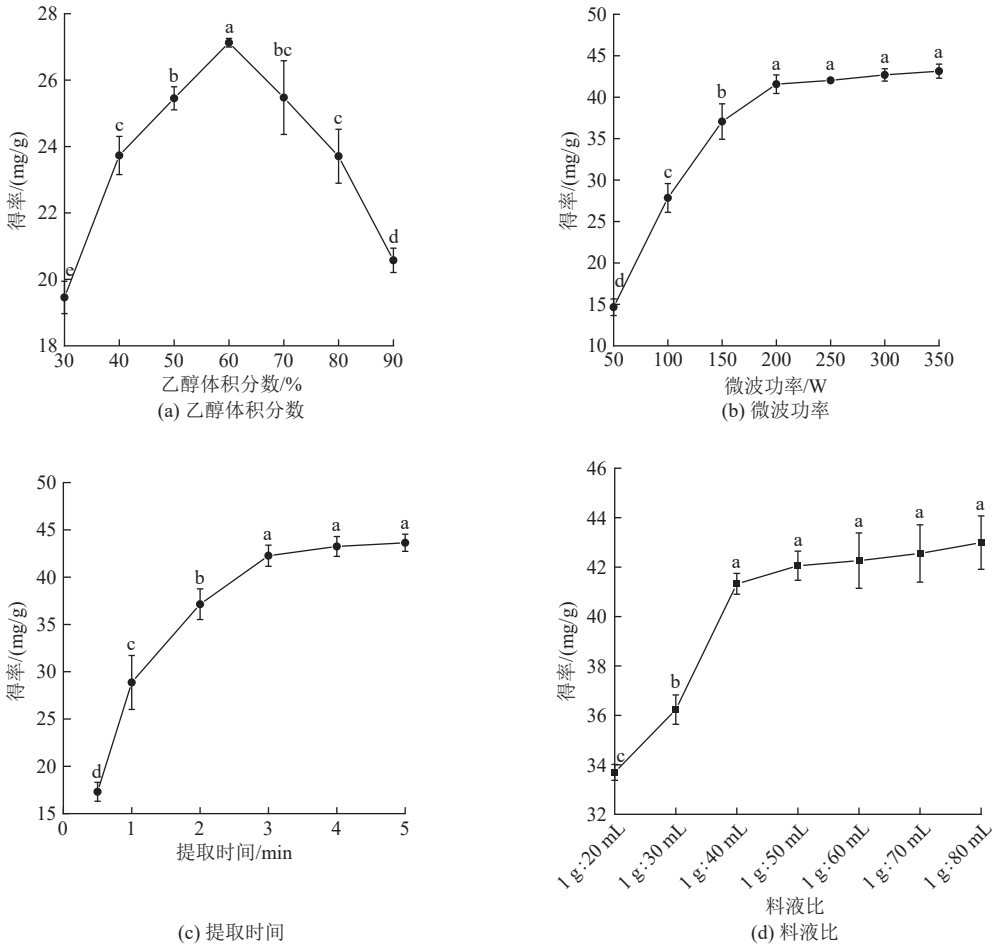
根据相似相溶原理，通过调整乙醇与水的比例改变提取溶剂的极性，使其与橙皮苷的极性相匹配。使用不同体积分数乙醇水溶液提取的结果，见图1（a）。当乙醇体积分数为60%时，橙皮苷得率达到最大值。吴昊等[22]和郑美玲等[23]的研究表明，使用乙醇水溶液提取陈皮黄酮时，其得率高于纯乙醇，这是因为适量水的加入增强了溶剂极性，更有利于黄酮类化合物溶出[24]。因此，选择体积分数为60%的乙醇水溶液作为陈皮中橙皮苷的提取溶剂。

微波功率影响微波的热效应，从而影响提取效率。不同微波功率条件下的提取结果，见图1（b）。功率从50 W增至200 W时，橙皮苷得率呈现快速上升趋势，在功率达到200 W后得率的增长速率明显减缓。微波功率的提升通常有助于提高橙皮苷的提取率，但过高的微波功率导致局部温度过高，引起目标成分降解，反而降低得率[25]。黄智等[19]研究发现，微波功率大于240 W时，橙皮苷得率开始下降。本研究选择的微波功率范围内未观察到明显的降解现象。综合考虑能耗，选定微波功率为200 W。

提取过程需要足够的时间以实现固液两相间的传质[26]。随提取时间的延长，提取效率逐渐提高，直至目标成分在溶剂体系中达到传质平衡[27]。如图1（c）所示，当提取时间从0.5 min延长至3.0 min时，橙皮苷从组织细胞中快速溶出，得率快速上升；在3.0~5.0 min，传质过程逐渐接近平衡，传质推动力减小，得率趋于缓慢。尽管提取5.0 min时得率最高，但从实际效率角度考虑，选定提取时间为3.0 min。

提高料液比可增加液体与样品之间的接触面

积，降低提取液中溶质的质量浓度，从而增强萃取过程中的传质动力[10]。不同料液比对橙皮苷得率的影响，见图 1（d）。在所选择的范围内，随提取溶剂的增加，样品粉末在溶剂中分散更加均匀，传质效率提高，橙皮苷得率持续上升，并在料液比为 1 g∶80 mL 时达到最大值。当料液比为 1 g∶40 mL 时，橙皮苷得率已较高，且此时溶剂消耗量仅为前者的 1/2。因此选择料液比为 1 g∶40 mL。



不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图 1　不同单因素对橙皮苷得率的影响

Fig. 1　Effects of different single factors on hesperidin yield

2.2　响应面优化提取工艺

通过响应面法可以获得目标物的最优提取条件，节省溶剂使用量、缩短提取时间、节省劳动力[28]。基于单因素试验结果，进行响应面试验设计，见表 1。橙皮苷提取工艺优化的设计方案与结果，见表 2。通过多元回归拟合试验数据得到橙皮苷得率（y）与微波功率（A）、提取时间（B）、料液比（C）的二阶回归方程：y=41.19+4.34A+2.88B−0.07C−1.03AB−0.83AC−0.68BC−3.3A^2−1.39B^2−0.26C^2。

方差分析和显著性检验结果，见表 3。回归模型 P<0.000 1，表明该模型可信。对模型各项分析，结果显示 A、B 对 y 影响显著（P<0.05）；而 AB、AC 项的 P 均

表 1　响应面试验设计表

Table 1　Response surface design

水平	微波功率/W	提取时间/min	料液比
−1	150	2.0	1 g∶40 mL
0	200	3.0	1 g∶50 mL
1	250	4.0	1 g∶60 mL

小于 0.05，表明 A 分别与 B 和 C 之间存在显著的交互作用；A^2、B^2 对模型影响显著（P<0.05）。

2.3　最佳提取工艺的预测与验证

各因素对橙皮苷得率影响的三维响应面图，见图 2。响应面图存在明显平台区，表明当提取因素达到一定水平后，橙皮苷得率趋于平缓。模型预

表2　响应面优化橙皮苷提取的工艺方案与结果

Table 2　Experimental design and results of response surface methodology for optimizing hesperidin extraction

序号	微波功率/W	提取时间/min	料液比	实测值/（mg/g）	预测值/（mg/g）
1	150	2.0	1 g∶50 mL	27.8±0.9	28.3
2	250	2.0	1 g∶50 mL	39.3±4.6	39.3
3	150	4.0	1 g∶50 mL	35.7±3.7	35.8
4	250	4.0	1 g∶50 mL	43.1±1.6	42.6
5	150	3.0	1 g∶40 mL	32.4±0.2	32.5
6	250	3.0	1 g∶40 mL	42.0±1.3	42.9
7	150	3.0	1 g∶60 mL	34.9±2.0	34.1
8	250	3.0	1 g∶60 mL	41.2±0.2	41.1
9	200	2.0	1 g∶40 mL	36.5±0.1	36.7
10	200	4.0	1 g∶40 mL	43.6±2.3	42.3
11	200	2.0	1 g∶60 mL	36.8±1.6	36.7
12	200	4.0	1 g∶60 mL	41.2±0.9	42.3
13	200	3.0	1 g∶50 mL	41.3±0.5	41.2
14	200	3.0	1 g∶50 mL	41.4±0.5	41.2
15	200	3.0	1 g∶50 mL	41.3±0.2	41.2
16	200	3.0	1 g∶50 mL	40.7±3.4	41.2
17	200	3.0	1 g∶50 mL	41.2±3.3	41.2

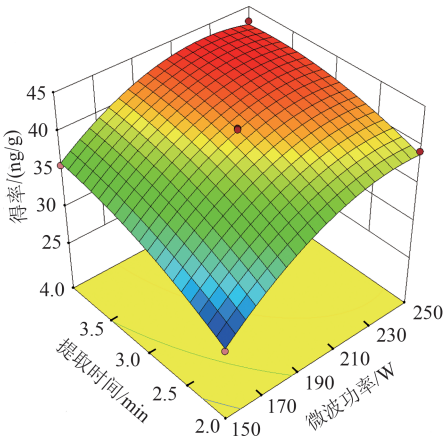
表3　响应面模型分析结果

Table 3　Results of response surface model

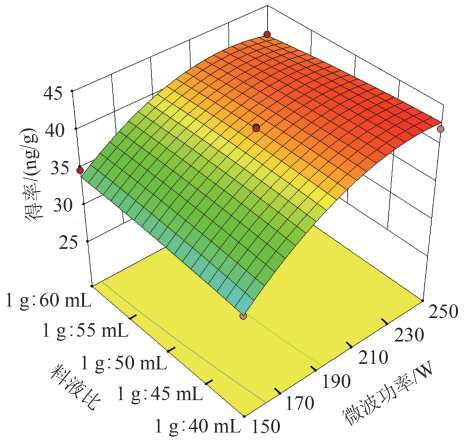
方差来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*
模型	282.155 0	9	31.459 2	68.84	<0.000 1**
A	150.667 0	1	150.449 0	329.22	<0.000 1**
B	66.070 1	1	66.430 1	145.36	<0.000 1**
C	0.038 2	1	0.038 6	0.08	0.784 5
AB	4.221 7	1	4.212 9	9.22	0.017 1*
AC	2.760 8	1	2.760 8	6.04	0.047 2*
BC	1.834 2	1	1.834 2	4.01	0.091 0
A^2	45.870 0	1	45.920 0	100.37	<0.000 1**
B^2	8.176 8	1	8.154 4	17.89	0.004 1**
C^2	0.293 4	1	0.292 8	0.64	0.439 8
残差	3.198 9	7	0.455 0		
失拟项	2.876 1	3	0.956 7	12.51	0.198 0
纯误差	0.322 8	4	0.080 2		
总离差	286.332 1	16			

注：*代表差异显著（*P*<0.05）；**代表差异极显著（*P*<0.01）。

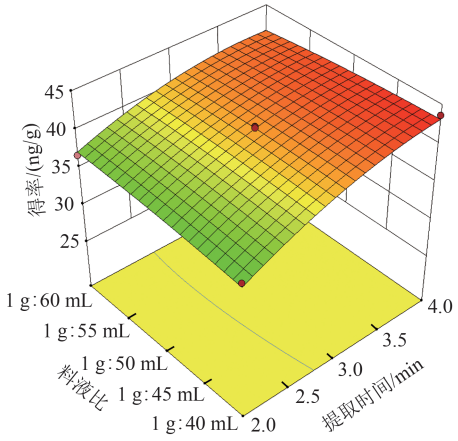
测的最佳提取条件为微波功率223.32 W、提取时间3.73 min、料液比1 g∶45.09 mL，橙皮苷得率预测值为43.9 mg/g。结合实际操作可行性，将工艺参数调整为微波功率220 W、提取时间3.5 min、料液比1 g∶45 mL。经验证，此条件下橙皮苷得率为（43.3±0.2）mg/g，与预测值相对误差仅为1.38%，表明所建模型具有良好的预测精度与可靠性。通过U-MAE提取的橙皮苷得率高于齐兵等[29]采用热回流法获得的得率（32.8 mg/g），与Li等[9]通过高压液体萃取法所达到的得率（45.4 mg/g）十分相近。从提取效率和时间成本综合考量，U-MAE适用于陈皮中橙皮苷的提取。



(a) 微波功率和提取时间交互作用的响应面图



(b) 微波功率和料液比交互作用的响应面图



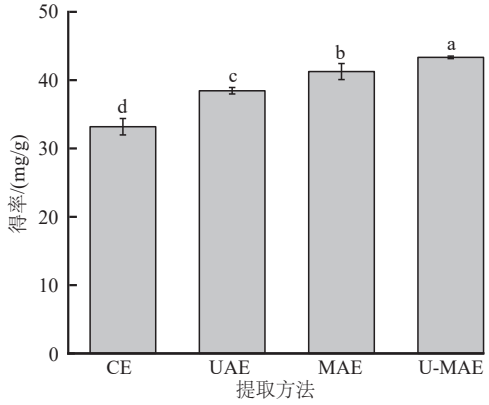
(c) 提取时间和料液比交互作用的响应面图

图 2　各因素交互作用对橙皮苷得率的响应面图

Fig. 2　Response surface plots of factor interactions on hesperidin yield

2.4　不同方法提取橙皮苷的得率

不同提取方法对橙皮苷得率的影响，见图 3。与 CE 相比，UAE 和 MAE 提取的橙皮苷得率均显著提高。超声所产生的空化效应能破坏细胞结构并减小颗粒粒径，强化传质过程；微波可直接作用于极性分子，通过热效应促使目标成分溶出[30-31]。U-MAE 提取的橙皮苷得率高于其他 3 种方法。U-MAE 兼具超声的空化效应和微波的热效应，在获得高得率的同时，可显著缩短提取时间，是提取陈皮中橙皮苷的有效方法。Wang 等[20]对比了乙醇回流、水浸提、酶辅助提取、UAE 及 U-MAE 的提取时间、得率及能耗，发现 U-MAE 在提取时间最短、得率最高的前提下，能耗也较低，该方法在生产过程中伴随更少的 CO_2 等温室气体排放，更具环境友好性。



不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 3　不同提取方法对橙皮苷得率的影响

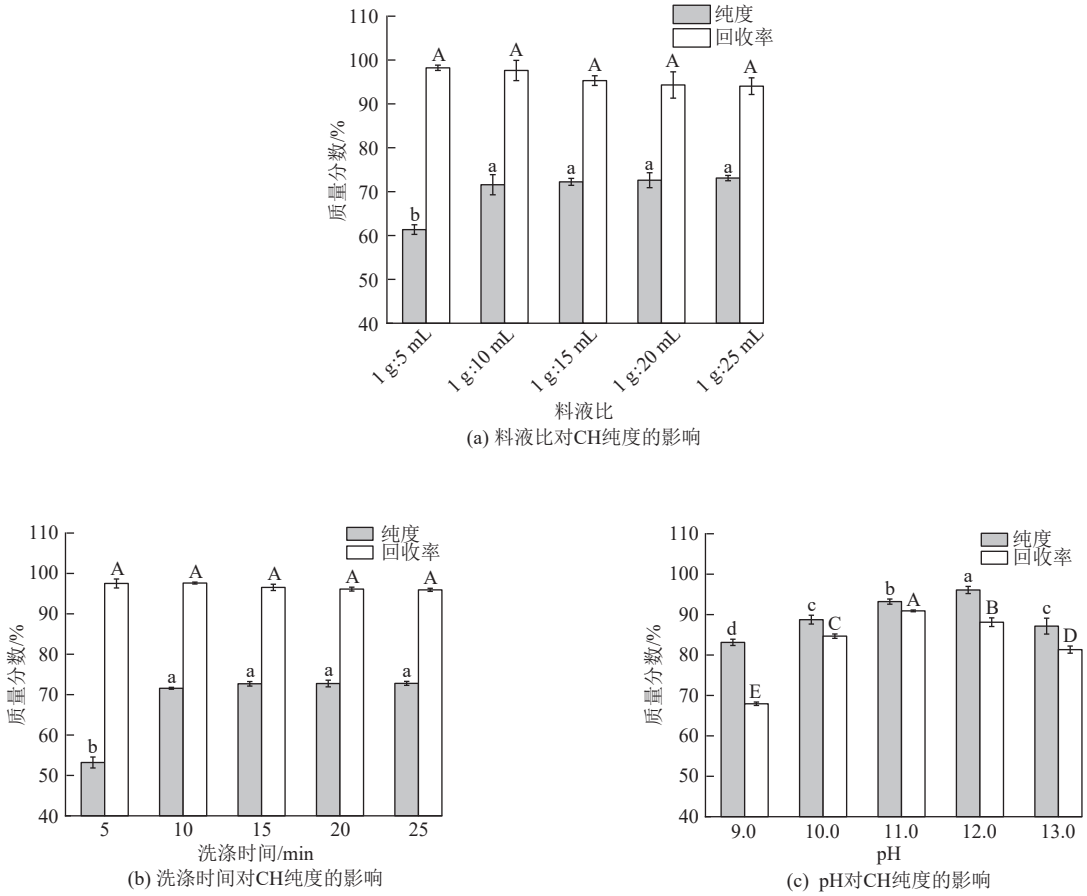
Fig. 3　Effects of different extraction methods on hesperidin yield

2.5　橙皮苷的纯化结果

橙皮苷是一种二氢黄酮苷类化合物，在常温水中的溶解度极低[32]。将提取液浓缩并静置后即

有大量沉淀析出，其主要成分为橙皮苷。每100 g原料可得CH（5.81±0.12）g，其中橙皮苷的质量分数为（41.70±0.07）%。使用乙醇洗涤可除去CH中混杂的醇溶性杂质。料液比与洗涤时间对产物纯度的影响如图4所示。当料液比为1 g∶10 mL时，产物纯度已较为理想；继续增大溶剂用量从经济性和环保角度考量并不可取。洗涤10 min后，大部分醇溶性杂质已被去除，进一步延长洗涤时间纯度并无明显提升。因此乙醇洗涤工艺为料液比1 g∶10 mL、洗涤时间10 min。

经乙醇洗涤后的CH在不同pH条件下的纯化效果，见图4（c）。随pH升高，CH纯度呈先上升后下降的趋势，在pH 12.0时达到最大值。当pH低于12.0时，橙皮苷发生去质子化反应而溶于水相，从而与不溶性杂质分离；当pH大于12.0后，过强的碱性环境可能导致橙皮苷降解及更多杂质溶出，致使回收率和纯度降低。因此，最佳纯化pH为12.0。经上述纯化工艺后，最终得到橙皮苷质量分数为（96.09±0.88）%的高纯度产物（HP）。与Liu等[33]采用AB-8大孔树脂结合高速逆流色谱达到的纯度（99.62%）相比，本研究所得产物纯度略低，但其操作过程更为简便。



(a) 料液比对CH纯度的影响

(b) 洗涤时间对CH纯度的影响

(c) pH对CH纯度的影响

不同小写字母表示纯度差异显著（P<0.05）；不同大写字母表示回收率差异显著（P<0.05）。

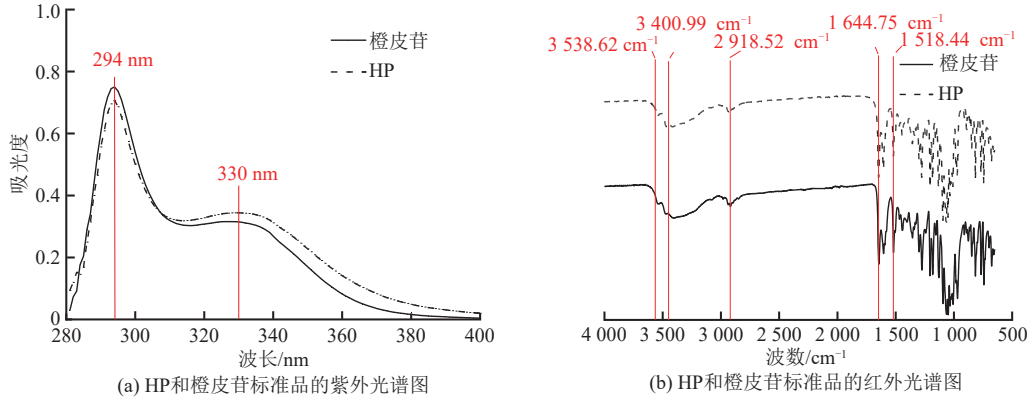
图4　不同因素对CH中橙皮苷纯度的影响

Fig. 4　Effects of different factors on hesperidin purity in CH

2.6　橙皮苷的鉴定

HP与橙皮苷标准品的紫外和红外光谱图，见图5。HP与橙皮苷标准品均在294 nm处呈现明显的吸收峰。两者的红外光谱谱图基本一致，其主要特征峰位与Zheng等[34]和Balakrishnan等[35]报道的橙皮苷红外光谱图相符。表明经上述提取纯化工艺得到的HP为高纯度橙皮苷。

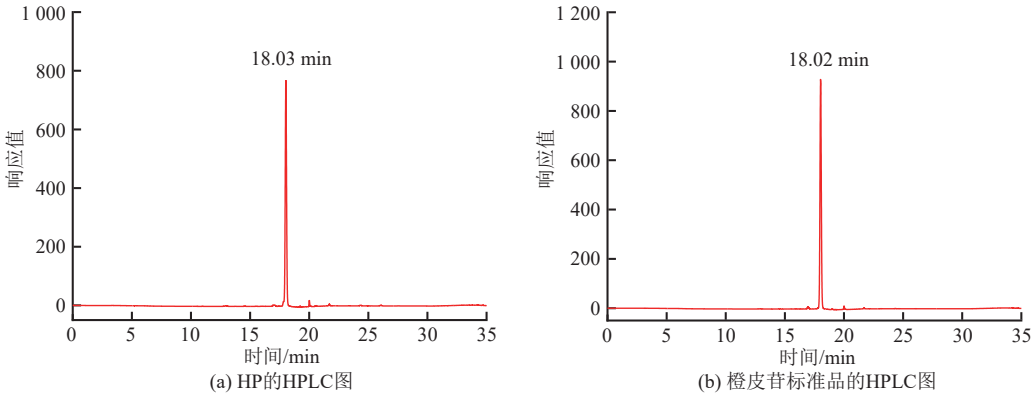
HP与橙皮苷标准品的HPLC色谱图，见图6。HP图谱中仅观察到1个显著的色谱峰，其保留时间为18.03 min；橙皮苷标准品在18.02 min出峰，与HP的出峰时间十分相近。进一步证实HP中主要成分为橙皮苷。



(a) HP和橙皮苷标准品的紫外光谱图　(b) HP和橙皮苷标准品的红外光谱图

图 5　HP 与橙皮苷标准品的紫外和红外光谱图

Fig. 5　UV and FT-IR spectra of HP and the hesperidin standard



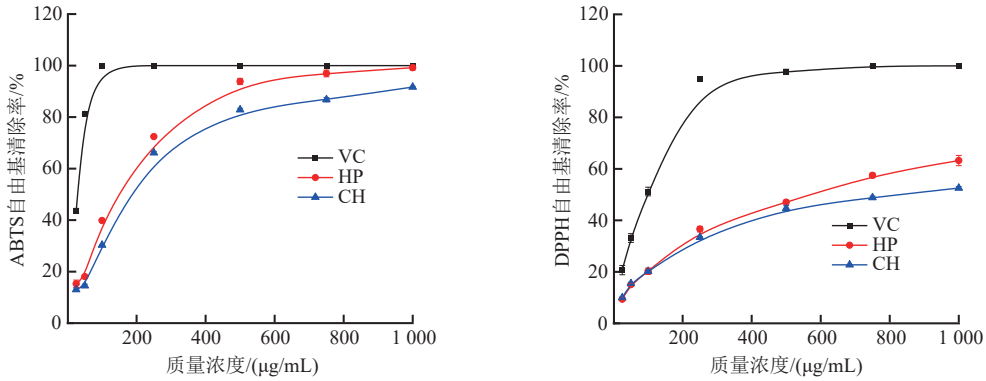
(a) HP的HPLC图　(b) 橙皮苷标准品的HPLC图

图 6　HP 和橙皮苷标准品的 HPLC 图

Fig. 6　HPLC chromatograms of HP and the hesperidin standard

2.7　抗氧化活性分析

不同样品对 ABTS 和 DPPH 自由基的清除能力，如图 7 所示。自由基清除率均随样品质量浓度升高而提高。VC、HP、CH 均表现出良好的自由基清除能力，ABTS 自由基清除率的 IC_{50} 分别为 25.90、135.57、178.61 μg/mL；DPPH 自由基清除率的 IC_{50} 分别为 74.90、518.68、885.93 μg/mL。对比发现，纯化产物 HP 的抗氧化活性强于 CH。这主要是因为纯化过程中除去了 CH 中还原性较弱的色素、糖类等物质，使其抗氧化能力增强。



(a) HP和CH对ABTS自由基的清除能力　(b) HP和CH对DPPH自由基的清除能力

图 7　HP 与 CH 对 ABTS 和 DDPH 自由基的清除能力

Fig. 7　ABTS and DPPH free radical scavenging activities of HP and CH

2.8 α-葡萄糖苷酶抑制活性

不同样品对α-葡萄糖苷酶的抑制曲线，见图8。阿卡波糖、HP、CH对α-葡萄糖苷酶的抑制率均随其质量浓度的增加而逐渐升高，IC_{50}分别为13.06、102.13、125.08 μg/mL。α-葡萄糖苷酶是人体糖代谢的关键酶之一，能高效水解α-1，4-糖苷键。当其活性受到抑制时，催化效率降低，酶解速率减缓，产物生成量减少[21]。近年来，研究发现多种天然多酚与黄酮类化合物对α-葡萄糖苷酶均具有抑制效果。这类物质可通过氢键及疏水相互作用诱导α-葡萄糖苷酶构象发生变化，进而抑制其活性[36]。HP的抑制活性高于CH，这可能是由于高纯度的橙皮苷更易与α-葡萄糖苷酶发生相互作用。

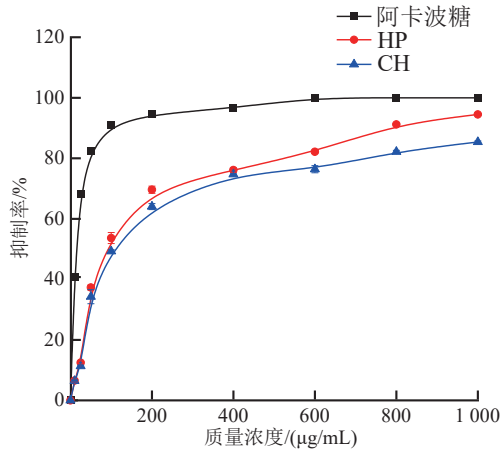


图8 HP和CH对α-葡萄糖苷酶的抑制能力

Fig. 8 Inhibitory capacity of HP and CH on α-glucosidase

3 结论

U-MAE与多级纯化技术体系的结合被应用于陈皮中橙皮苷的高效提取与精准分离。经工艺优化，在最佳提取条件下，橙皮苷得率达到（43.3±0.2）mg/g。针对橙皮苷的理化特性，构建乙醇洗涤结合pH调控的纯化工艺：首先利用目标物在特定条件下选择性析出特性，将提取液浓缩后获得橙皮苷质量分数为（41.70±0.07）%的粗提物；随后通过乙醇洗涤和pH调控，最终产物中橙皮苷质量分数升至（96.09±0.88）%。该集成工艺具有操作简单、能耗低等优点，为从陈皮及其他柑橘类果皮中高效获取橙皮苷提供了一种有效的技术方案。所得高纯度橙皮苷产物表现出良好的抗氧化活性和α-葡萄糖苷酶抑制能力，在功能性食品添加剂及天然降糖药物研发领域中展现出广阔的应用前景。当前工作主要聚焦于橙皮苷的提取纯化，尚未对陈皮中其他黄酮进行分离。后续研究可进一步优化纯化工艺，实现对陈皮中多种黄酮类成分的分离与综合利用。

参考文献

[1] BIAN X Q，XIE X Y，CAI J L，et al. Dynamic changes of phenolic acids and antioxidant activity of Citri Reticulatae Pericarpium during aging processes[J]. Food Chemistry，2022，373：131399.

[2] SUN Y S，WANG J H，GU S B，et al. Simultaneous determination of flavonoids in different parts of *Citrus reticulata* ‘Chachi’ fruit by high performance liquid chromatography：photodiode array detection[J]. Molecules，2010，15（8）：5378-5388.

[3] ZOU J M，WANG J J，YE W L，et al. Citri Reticulatae Pericarpium（Chenpi）：a multi-efficacy pericarp in treating cardiovascular diseases[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy，2022，154：113626.

[4] 罗琥捷，杨宜婷，李晓伟，等. 11个品种来源陈皮中多甲氧基黄酮的测定[J]. 中成药，2017，39（3）：565-569.
LUO H J，YANG Y T，LI X W，et al. Determination of polymethoxylated flavones in Citri Reticulatae Pericarpium from eleven cultivar origins [J]. Chinese Traditional Patent Medicine，2017，39（3）：565-569.（in Chinese）

[5] PYRZYNSKA K. Hesperidin：a review on extraction methods，stability and biological activities[J]. Nutrients，2022，14（12）：2387.

[6] DEVI K P，RAJAVEL T，NABAVI S F，et al. Hesperidin：a promising anticancer agent from nature[J]. Industrial Crops and Products，2015，76：582-589.

[7] M’HIRI N，IOANNOU I，GHOUL M，et al. Extraction methods of *Citrus* peel phenolic compounds[J]. Food Reviews International，2014，30（4）：265-290.

[8] 韩鹏虎，董树国，刘佳铭，等. 均匀设计优化超声波辅助索氏提取陈皮的总黄酮及抗氧化性研究[J]. 吉林医药学院学报，2016，37（2）：101-104.
HAN P H，DONG S G，LIU J M，et al. Study on uniform design to optimize the ultrasonic assisted soxhlet extraction flavonoids from tangerine peel and its antioxidant activity[J]. Journal of Jilin Medical University，2016，37（2）：101-104.（in Chinese）

[9] LI W，WANG Z，WANG Y P，et al. Pressurised liquid

extraction combining LC-DAD-ESI/MS analysis as an alternative method to extract three major flavones in *Citrus reticulata* 'Chachi' (Guangchenpi)[J]. Food Chemistry, 2012,130(4):1044-1049.

[10] ZENG S S, WANG L, ZHANG L, et al. Multi-criteria optimization for ultrasonic-assisted extraction of antioxidants from Pericarpium Citri Reticulatae using response surface methodology, an activity-based approach[J]. Journal of Separation Science, 2013, 36(11):1861-1868.

[11] SINGLA M, SIT N. Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: a review[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2021,73:105506.

[12] WEN L,ZHANG Z H,SUN D W,et al. Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,2020,60(11):1826-1841.

[13] ALIFAKı Y Ö, ŞAKıYAN Ö, ISCI A. Extraction of phenolic compounds from cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit using ultrasound, microwave, and ultrasound-microwave combination methods[J]. Journal of Food Measurement and Characterization,2022,16(5):4009-4024.

[14] GARCÍA-VILLALBA W G, RODRÍGUEZ-HERRERA R, OCHOA-MARTÍNEZ L A, et al. Comparative study of four extraction methods of fructans (agavins) from *Agave durangensis*: heat treatment, ultrasound, microwave and simultaneous ultrasound-microwave [J]. Food Chemistry,2023,415:135767.

[15] SILLERO L, PRADO R, LABIDI J. Simultaneous microwave-ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from bark[J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification,2020,156:108100.

[16] ZHU C Q, CHEN J B, ZHAO C N, et al. Advances in extraction and purification of *Citrus* flavonoids[J]. Food Frontiers,2023,4(2):750-781.

[17] ZHENG G D, YANG D P, WANG D M, et al. Simultaneous determination of five bioactive flavonoids in Pericarpium Citri Reticulatae from China by high-performance liquid chromatography with dual wavelength detection[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2009,57(15):6552-6557.

[18] KHAN M K, ABERT-VIAN M, FABIANO-TIXIER A S, et al. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel[J]. Food Chemistry,2010,119(2):851-858.

[19] 黄智,肖南. 超声与微波辅助提取陈皮中橙皮苷及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2017,38(8):250-255.
HUANG Z, XIAO N. Ultrasound and microwave-assisted extracting hesperidin form *Citrus* and study of its antioxidant activities[J]. Science and Technology of Food Industry,2017,38(8):250-255.(in Chinese)

[20] WANG Z J, ZHAO X H, ZHAO D M, et al. Ultrasonic microwave-assisted micellar extraction and purification of flavonoids from licorice by metal complex and antisolvent recrystallization[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021,147:111501.

[21] WANG S, LI Y, HUANG D J, et al. The inhibitory mechanism of chlorogenic acid and its acylated derivatives on α-amylase and α-glucosidase[J]. Food Chemistry,2022,372:131334.

[22] 吴昊,宗志敏,张赣道. 响应面法优化陈皮黄酮提取工艺的研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(28):13985-13987.
WU H, ZONG Z M, ZHANG G D. Optimization of the extraction technology of flavonoids from *Citrus* peels by response surface methodology[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(28): 13985-13987.(in Chinese)

[23] 郑美玲,郝晓亮,王勇,等. 陈皮中黄酮的超声波提取及抑菌性能[J]. 辽宁科技大学学报,2019,42(1):71-74.
ZHENG M L, HAO X L, WANG Y, et al. Ultrasonic extraction and antibacterial property of flavonoids from tangerine peel[J]. Journal of University of Science and Technology Liaoning,2019,42(1):71-74.(in Chinese)

[24] INOUE T, TSUBAKI S, OGAWA K, et al. Isolation of hesperidin from peels of thinned *Citrus unshiu* fruits by microwave-assisted extraction [J]. Food Chemistry, 2010,123(2):542-547.

[25] MA W Y, LU Y B, DAI X J, et al. Determination of anti-tumor constitute mollugin from traditional Chinese medicine *Rubia cordifolia*: comparative study of classical and microwave extraction techniques[J]. Separation Science and Technology,2009,44(4):995-1006.

[26] DU L J, HU Y H, WANG Q Y, et al. Crown ether microfunctionalized carbon nanotubes for dispersive micro-solid-phase extraction of Sudan dyes and their metabolites[J]. Food Chemistry,2018,262:118-128.

[27] ZHU S C, SHI M Z, YU Y L, et al. Optimization of mechanically assisted coamorphous dispersion extraction of hydrophobic compounds from plant tea (Citri

Reticulatae Pericarpium）using water[J]. Food Chemistry, 2022,393:133462.

[28] GHARIBZAHEDI S M T, SMITH B, GUO Y. Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (*Ficus carica* L.) skin: optimization, characterization and bioactivity[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 222: 114992.

[29] 齐兵,何志勇,秦舫,等. 陈皮中橙皮苷的提取与纯化工艺研究[J]. 食品工业科技,2012,33(24):343-346.
QI B,HE Z Y,QIN F,et al. Study on the extraction and purification of hesperidin from Pericarpium Citri Reticulate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012,33(24):343-346.(in Chinese)

[30] HOSSAIN M B, BRUNTON N P, PATRAS A, et al. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology[J]. Ultrasonics Sonochemistry,2012,19(3):582-590.

[31] ROUTRAY W, ORSAT V. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review [J]. Food and Bioprocess Technology,2012,5(2):409-424.

[32] MAJUMDAR S,SRIRANGAM R. Solubility, stability, physicochemical characteristics and *in vitro* ocular tissue permeability of hesperidin: a natural bioflavonoid[J]. Pharmaceutical Research,2009,26(5):1217-1225.

[33] LIU F,HAN S,NI Y Y. Isolation and purification of four flavanones from peel of *Citrus changshanensis* [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(6):e13278.

[34] ZHENG G D,ZHOU P,YANG H,et al. Rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry method for identification of chemical constituents in Citri Reticulatae Pericarpium[J]. Food Chemistry,2013,136(2):604-611.

[35] BALAKRISHNAN K,CASIMEER S C,GHIDAN A Y, et al. Bioformulated hesperidin-loaded PLGA nanoparticles counteract the mitochondrial-mediated intrinsic apoptotic pathway in cancer cells[J]. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2021, 31(1): 331-343.

[36] NI J,WEN X Y,WANG S,et al. Investigation of the inhibitory combined effect and mechanism of (-)-epigallocatechin gallate and chlorogenic acid on amylase: evidence of synergistic interaction[J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103406.

（责任编辑：张馨文）

《食品与机械》
中国食品科学技术学会会刊
中国科学引文数据库（CSCD）来源期刊
中文核心期刊
更专业 前沿观点 基础研究 安全与检测
更实用 食品装备与智能制造 贮运与保鲜 营养与活性 开发应用
月 刊 国内邮发代号：42-83 每期 20 元
海外发行代号：M03355 每期 12 美元
地 址：长沙市天心区万家丽南路二段 960 号长沙理工大学
电 话：0731-85258200 邮编：410114
网址：http://ifoodmm.com E-mail：foodmm@ifoodmm.com

中国油脂（月刊）
国内邮发代号 52-129 国外发行代号 M5889
追踪学科发展动态 报道行业最新成果 关注油脂发展热点 共谋行业创新未来
<< 全国中文核心期刊 << 中国科技核心期刊
<< 中国科学引文数据库核心库期刊 << 中国核心学术期刊
<< 中国精品科技期刊 << 中国期刊方阵双效期刊
<< 第二届国家期刊奖百种重点期刊 << 第三届国家期刊奖百种重点期刊
<< 美国EBSCO数据库收录期刊
<< 瑞典DOAJ数据库收录期刊
<< 美国《化学文摘》（CA）收录期刊（千刊表）
<< 俄罗斯《文摘杂志》（AJ）收录期刊
<< 美国《剑桥科学文摘》（CSA）收录期刊
<< 日本科学技术振兴机构数据库(JSA)收录期刊
<< 英国《食品科学与技术文摘》(FSTA)收录期刊
<< 英国《农业与生物科学研究中心文摘》(CABA）收录期刊
主要栏目
专题论述/油脂加工/油脂化学/油脂深加工/油料资源/油脂营养/油脂安全/综合利用/检测分析/应用技术/生物工程等。
欢迎关注官方微信 微信订阅号
各地邮局均可订阅，我社常年办理邮购及逾期补订
A4开本 每本20元 全年240元
国际标准连续出版物号：ISSN 1003-7969 国内统一连续出版物号：CN 61-1099/TS
■银行转账：开户单位：中粮工科（西安）国际工程有限公司
账号：607011580000004188 开户行：西安银行劳动北路支行
地址：陕西省西安市劳动路118 邮编：710082
电话：029-88621360
E-mail：zyzzoil@163.com 网址：www.chinaoils.cn