

不同溶剂柠檬果皮提取物抗氧化、抑菌活性比较及其与多酚组成的关系

左龙亚¹, 滕左¹, 王孝仕², 江东³, 于杰^{1,4,*}

(¹西南大学园艺园林学院, 重庆 400716; ²重庆市梁平县农业委员会, 重庆 405200; ³西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; ⁴南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 以柠檬果皮为材料, 探讨不同溶剂提取对粗提物抗氧化及抑菌活性的影响, 并分析了各提取物多酚组成与抗氧化能力及抑菌活性的关系。结果表明, 不同溶剂柠檬果皮提取物抗氧化能力及抑菌活性存在显著差异 ($P < 0.05$), 抗氧化能力依次为: 甲醇提取物 > 丙酮提取物 > 蒸馏水提取物 > 乙醇提取物 > 乙酸乙酯提取物, 抑菌活性依次为: 甲醇提取物 > 丙酮提取物 > 乙醇提取物 > 蒸馏水提取物 > 乙酸乙酯提取物。从柠檬果皮中共鉴定出 16 种多酚类物质, 包括 4 种酚酸、12 种类黄酮。相关性分析表明, 不同提取物的多酚物质组成及其含量与抗氧化、抑菌活性密切相关, 芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、没食子酸、绿原酸和咖啡酸对抗氧化活性的贡献较大, 芸香柚皮苷、新橙皮苷、咖啡酸对抗菌活性的贡献最大。甲醇为最佳提取溶剂。

关键词: 柠檬; 提取物; 总酚; 总黄酮; 抗氧化抑菌性; 高效液相色谱法

中图分类号: S 666

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 04-0743-12

Comparsion of Antioxidant and Antifungal Activities of Various Solvent Extracts of Lemon Peel and Analysis the Relationship with Polyphenol Composition

ZUO Longya¹, TENG Zuo¹, WANG Xiaoshi², JIANG Dong³, and YU Jie^{1,4,*}

(¹College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China; ²Liangping Agricultural Committee, Chongqing 405200, China; ³Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China; ⁴Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China)

Abstract: The peel extracts of *Citrus limon* (L.) Burm. F. were obtained via an ultrasonic extraction method but with different solvents (methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate, distilled water). Their antioxidant and anti-fungi (*Panicum italicum*, *Penicillium digitatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*) activities were tested. Further on the bioactive compounds of phenols from the extraction were analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). This study provides evidences for the comprehensive utilization of peels of *Citrus limon* (L.) Burm. F. Our studies suggested that the varieties and concentrations

收稿日期: 2016-12-16; 修回日期: 2017-04-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171930); 重庆市自然科学基金项目(CSTC2013JCYJA8002); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(XDK2014C091); 重庆北碚区科技计划项目(2015-35)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yujie1978@126.com)

of phenolic compounds extracted from peels of *Citrus limon* (L.) Burm. F. via different solvents were with significant differences ($P < 0.05$) to antioxidant and anti-fungi activities. The solvents' contributions to antioxidant and anti-fungi were listed in their descending order, methanol, acetone, distilled water, ethanol, ethyl acetate; methanol, acetone, ethanol, distilled water, ethyl acetate. There were 16 phenolic bioactive compounds can be detected with the extraction method with different solvents, including 4 phenolic acids and 12 flavonoids, their content were closely related to antioxidant and anti-fungi abilities. In terms of the bioactive compounds contributing to antioxidant abilities, narirutin, hesperidin, neohesperidin, galic acid, chlorogenic acid and caffeic acid were considered to play the most important roles; whereas contributing to anti-fungi abilities, narirutin, neohesperidin and caffeic acid were the best candidates. Methanol as the best solvent for peel extraction of *Citrus limon* (L.) Burm. F. can be used for promoting the antioxidant and anti-fungi activities.

Keywords: *Citrus limon*; extracts; total phenol; total flavonoid; antioxidation bacteriostasis; HPLC

柠檬在世界柑橘产业中占有重要的地位(石健泉和曾沛繁, 2006),但其富含多酚的果皮组织一直以来未得到有效利用(李春儒等, 2009)。柠檬果皮含有丰富的油胞组织,其内含的多种精油成分(朱春华等, 2012)具有抗氧化、抗菌、抗衰老等生物活性(Koo et al., 2002; Gonzalez-Molina et al., 2008; Viudo-Martos et al., 2008; 刘义武和王碧, 2012; Perdones et al., 2012; 秦轶等, 2014; 周先艳等, 2014)。现有研究表明,柑橘精油主要由挥发性的单萜和倍半萜以及非挥发的多酚类物质构成(Bialon et al., 2014),而活性的主效因子为多酚。

据报道,现已从柑橘类果实中分离鉴定出几十种类黄酮单体物质,且具有重要的生物研究价值。如,潮州柑果皮挥发油可抑制金黄色葡萄球菌、藤黄微球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌等细菌的生长,且能有效清除DPPH自由基(王军等, 2014)。但柑橘类果实贮藏中常见且危害严重的侵染性病菌有青霉、绿霉、炭疽菌等(虞轶俊等, 2001),给生产和经营者带来巨大的经济损失。安全、无毒、无公害的天然植物生物保鲜剂已成为当前果品贮藏研究主要趋势(关文强和李淑芬, 2006)。Oikeh等(2016)对柑橘属不同品种(橘、葡萄柚、柠檬、来檬)果汁的研究发现,果汁浓缩后所得产物具有一定的抗氧化和抑菌作用,但并未对其有效成分进行分析鉴定。植物中富含大量的生物活性物质(郑瑞生等, 2010),不同溶剂对同一抑菌物质的提取效果存在明显差异(胡秀荣等, 2009),同时提取物中各物质组分含量也不尽相同(于玉涵和焦必宁, 2011)。与柠檬相关的研究多集中于某单一试剂对其活性成分的提取(宣以巍等, 2008),而缺少提高抗氧化、抗菌活性物质组分提取方法的综合分析及有效因子分离鉴定的研究。

本研究中以柠檬果皮为材料,探讨不同提取剂(甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、蒸馏水)提取柠檬果皮活性物质成分差异及其抗氧化能力和抑菌活性的影响,并分析多酚组成与抗氧化和抑菌活性的关系,旨在为柠檬果皮资源综合利用提供信息,为利用柠檬活性物质防治柑橘果实贮藏病害提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

北京柠檬果实采于西南大学柑桔研究所,尤力克柠檬采自重庆市梁平县正龙农业有限公司标准

化果园。采摘当天运抵实验室, 选择大小均匀、果形正常、无病虫害的成熟果实为试验材料。洗净剥皮放入 50 ℃烘箱中烘干, 粉碎, 过 60 目筛, 放入自封袋, 置于干燥器中备用。青霉 (*Panicum italicum*)、绿霉 (*Penicillium digitatum*) 和炭疽菌 (*Colletorichun gloeosporioides*) 由西南大学食品科学学院食品微生物实验室鉴定、提供, 置于斜面培养基, 4 ℃冰箱保存备用。使用前将供试菌种接入灭菌后的 PDA 培养基进行扩繁, 28 ℃恒温箱中培养 48 h 备用。

甲醇 (纯度 99.9%), 甲酸 (纯度 99.5%), 没食子酸 (纯度 99%), 芦丁 (纯度 99%), Trolox (纯度 97%), DPPH (纯度 99%), TPTZ (纯度 99%), 酚类物质标准品圣草次苷、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、野漆树苷、香蜂草苷、枸橘苷、橙皮素、甜橙黄酮、川陈皮素、橘皮素、香叶木素、圣草酚、柚皮素、没食子酸、绿原酸、阿魏酸和咖啡酸均购自 Sigma 公司。福林酚购于上海如吉生物科技发展有限公司, PDA 培养基购买于上海博微生物科技有限公司。其他试剂均为国产分析纯试剂, 试验用水为二次蒸馏水。

1.2 柠檬果皮提取物的制备

称取柠檬果皮粉末 1.0 g 置于 100 mL 三角瓶中, 按料液比 1:20 分别加入提取剂 (甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯和蒸馏水) 20 mL。50 ℃超声提取 1 h, 以 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 残渣重复以上操作提取 3 次。合并 3 次上清液真空减压浓缩至油膏状, 用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解并定容至 10 mL, 即柠檬果皮提取原液, 于 -20 ℃冰箱中存储备用 (Ramful et al., 2011)。

1.3 总酚、总黄酮含量测定

总酚含量测定参考 Singleton 等 (1999) 的方法略加修改。准确吸取 50 μL 柠檬皮提取原液于 10 mL 试管中, 加蒸馏水至 2 mL, 摆匀, 加 0.5 mL 福林酚试剂, 混匀后在暗处放置 5 min。加入 1.0 mL 5% 碳酸钠溶液, 蒸馏水定容至 5 mL, 充分混合后室温放置 60 min, 于 750 nm 处测吸光值。以没食子酸作标样制作标准曲线, 总酚含量用没食子酸当量 GAE (Gallic Acid Equivalent) 表示。

总黄酮测定参考万利秀等 (2011) 的方法略加修改。准确吸取 0.5 mL 提取原液于 20 mL 试管中, 加 30% 乙醇至 5 mL, 加 0.4 mL 5% 亚硝酸钠溶液摇匀放置 5 min; 加 0.4 mL 10% 硝酸铝溶液, 摆匀放置 6 min; 加 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 0.4 mL, 用 30% 乙醇定容至 10 mL, 放置 15 min, 于 510 nm 处测其吸光度。以芦丁作标样制作标准曲线, 总黄酮含量用芦丁当量 RE (rutin equivalent) 表示。

1.4 抗氧化活性测定

1.4.1 DPPH 自由基清除能力测定

分别吸取柠檬果皮原液 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL, 用 DMSO 定容至 1.0 mL, 对应浓度为 20%、40%、60%、80% 和 100%。参照张华等 (2015) 的方法测定 DPPH 自由基清除能力。

1.4.2 铁离子还原能力检测

分别吸取柠檬果皮原液 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL, 用 DMSO 定容至 1.0 mL。参考 Benzie 和 Strain (1996) 的方法在 593 nm 波长处测定吸光度。以 Trolox 为标样制作标准曲线, 样品值用 Trolox 当量表示。

1.5 抑菌活性的测定方法

采用菌丝生长速率法 (慕立义, 1994) 测定抑菌活性, 取 100 μL 柠檬果皮提取原液加入 10 mL

PDA 培养液于 90 mm 培养皿中混匀, 冷凝后分别移接直径 7 mm 生长一致的 3 种病原真菌菌饼, 以加入等量 DMSO 的培养皿作对照, 每个样品 3 次重复。待对照菌落长至培养皿直径 2/3 时采用十字交叉法测量菌落的直径, 计算抑菌率。

纯生长量 = 菌落平均直径 - 菌饼直径。

抑菌率 (%) = (对照平均纯生长量 - 处理平均纯生长量) / 对照平均纯生长量 × 100。

1.6 高效液相色谱 (HPLC) 法鉴定活性成分

吸取各柠檬果皮提取原液 1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 用 0.22 μm 孔径的滤头过滤, 取滤液作为上机样液; 称取 19 种酚类物质标准品各 10.00 mg, 用按 DMSO : 甲醇 = 1 : 9 比例溶解并定容至 10.00 mL, 配制成 1.00 mg · mL⁻¹ 的酚类物质标准品贮备液, 保存于 -20 °C 备用。色谱条件参考张元梅等 (2012) 的文献, 结合标准品液相色谱图及其标准曲线对各柠檬果皮提取液酚类物质进行定性、定量分析。

2 结果与分析

2.1 柠檬果皮不同溶剂提取物总酚、总黄酮含量的比较

由图 1 可知, 两品种果皮不同溶剂提取物中总酚、总黄酮含量差异显著 ($P < 0.05$)。尤力克柠檬 5 种溶剂提取物总酚含量在 (1.88 ± 0.07) ~ (24.94 ± 0.50) mg · g⁻¹DW, 其中甲醇提取物最高, 其次为丙酮, 乙酸乙酯最低; 两个品种不同溶剂提取物提取总酚含量相对一致, 依次为: 甲醇 > 丙酮 > 乙醇 > 蒸馏水 > 乙酸乙酯; 同一溶剂总酚含量, 尤力克柠檬显著高于北京柠檬 ($P < 0.05$)。

尤力克柠檬 5 种溶剂提取物总黄酮含量为 (12.27 ± 0.78) ~ (25.47 ± 1.48) mg · g⁻¹DW, 其中甲醇最高, 丙酮次之, 乙酸乙酯最低。北京柠檬甲醇提取物总酚和总黄酮含量分别为 (17.67 ± 0.61) mg · g⁻¹DW 和 (15.62 ± 3.95) mg · g⁻¹DW, 其他 4 种提取物略低。

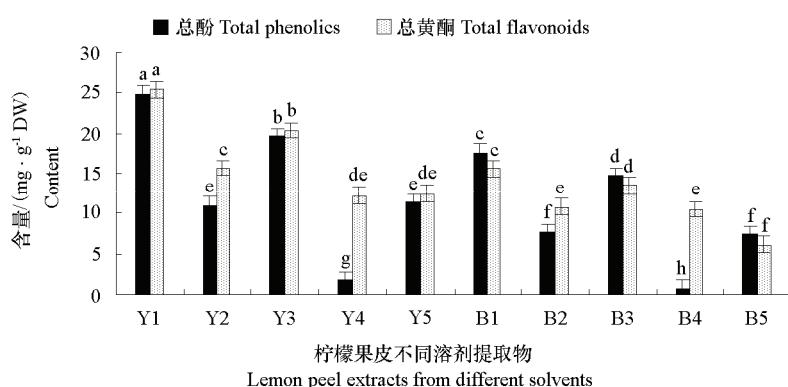


图 1 柠檬果皮不同溶剂提取物中总酚、总黄酮含量

Y: 尤力克柠檬; B: 北京柠檬。1: 甲醇; 2: 乙醇; 3: 丙酮; 4: 乙酸乙酯; 5: 蒸馏水。

Fig. 1 The total flavonoids and total phenolics content in the peels of lemon

Y: Eureka lemon; B: Meyer lemon. 1: Methanol; 2: Ethanol;

3: Acetone; 4: Acetate; 5: Distilled water.

2.2 柠檬果皮不同溶剂提取物的抗氧化活性

2.2.1 DPPH 自由基清除能力

由图 2 知, 除乙酸乙酯外, 柠檬果皮提取物对 DPPH 自由基均有一定的清除能力, 不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除能力与总酚、总黄酮含量变化一致。甲醇提取物 DPPH 自由基清除能力最强, 其次为丙酮、蒸馏水、乙醇提物, 乙酸乙酯最弱。各溶剂提取物 DPPH 自由基清除能力有明显的剂量效应, 随样品浓度增大而增强。提取物浓度在 20% ~ 80% 阶段, DPPH 自由基清除能力呈明显上升趋势, 仅在 80% ~ 100% 阶段趋于平缓。

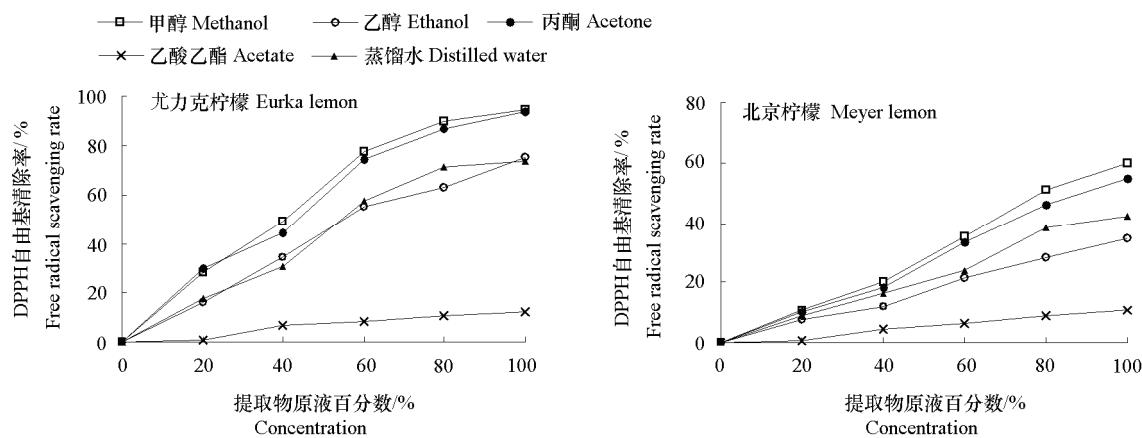


图 2 柠檬果皮不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除能力
Fig. 2 DPPH radical scavenging activity of various solvent extracts from lemon peel

2.2.2 铁离子还原能力检测

由图 3 知, 随着总酚、总黄酮浓度的增加, 铁离子还原能力均呈上升趋势。尤力克柠檬甲醇和丙酮提取物的还原值最高, 分别为 $(81.56 \pm 0.72) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 和 $(65.04 \pm 0.26) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$, 乙酸乙酯提取物还原能力整体偏低, 最大值仅为 $(9.10 \pm 0.36) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ (尤力克柠檬) 和 $(4.70 \pm 1.18) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ (北京柠檬)。

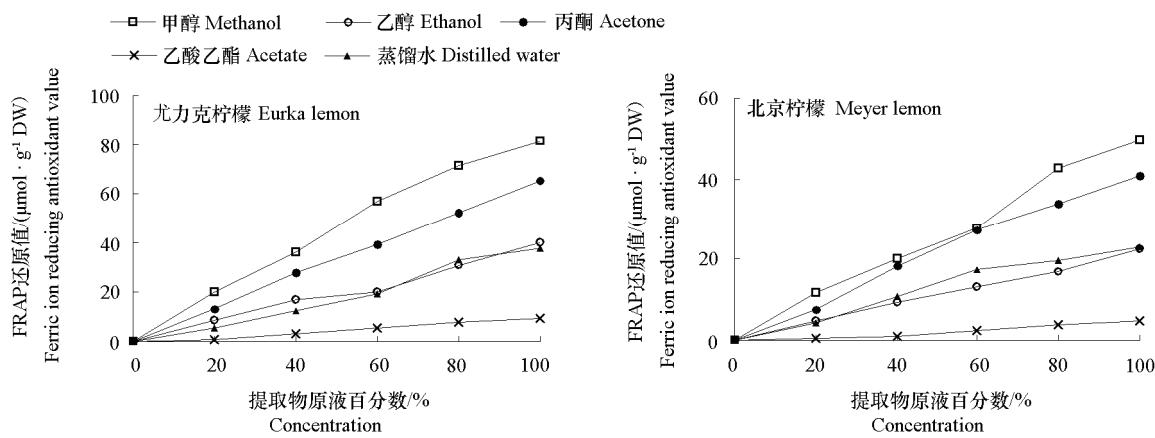


图 3 柠檬果皮不同溶剂提取物的还原能力
Fig. 3 Reducing power of various solvent extracts from lemon peel

2.3 柠檬果皮提取物抑菌性检测

柠檬果皮不同溶剂提取物对3种病原真菌均表现出一定的抑菌作用(图4)。数据(表1)显示,尤力克柠檬甲醇提取物对青霉和绿霉有良好抗性,菌丝生长抑制率达66.30%和62.25%。尤力克柠檬甲醇提取物对炭疽菌丝生长抑制率仅次于尤力克柠檬丙酮提取物,分别为41.52%和41.67%。乙酸乙酯柠檬果皮提取物对3种病原真菌的抑制效果均较差,且不同柠檬品种间差异显著。绿霉对柠檬果皮5种试剂提取物敏感性最强,平均抑制率达48.86%。其次为青霉、炭疽;不同溶剂提取物综合抑菌性能为甲醇>丙酮>乙醇>蒸馏水>乙酸乙酯,且尤力克柠檬优于北京柠檬。

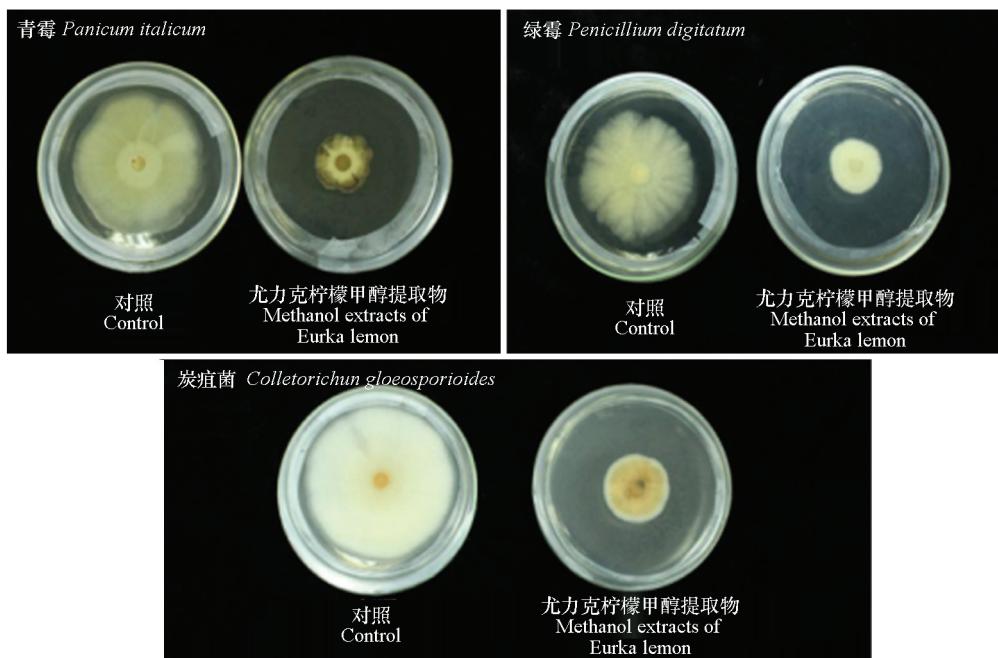


图4 尤力克柠檬果皮甲醇提取物对3种病原真菌生长的影响
Fig. 4 Effects of Eureka lemon peel methanol extracts on the growth of the 3 kinds of pathogenic fungi

表1 柠檬皮提取物对3种病原真菌的抑菌效果

Table 1 The antibacterial activity of 3 kinds of pathogenic fungi of lemon peel

品种 Variety	处理 Treatment	青霉 <i>P. italicum</i>		绿霉 <i>P. digitatum</i>		炭疽 <i>C. gloeosporioides</i>	
		菌落/mm Bacterial colony	抑制率/% Inhibition ratio	菌落/mm Bacterial colony	抑制率/% Inhibition ratio	菌落/mm Bacterial colony	抑制率/% Inhibition ratio
尤力克 Eureka	对照 Control	62.96		58.79		64.11	
	甲醇 Methanol	25.86	66.30	26.55	62.25	40.40	41.52
	乙醇 Ethanol	35.22	49.57	31.59	52.52	54.12	17.49
	丙酮 Acetone	28.52	61.54	26.86	61.65	40.31	41.67
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	57.33	10.06	47.12	22.53	58.89	9.14
	蒸馏水 Distilled water	36.57	47.16	31.70	52.31	55.07	15.83
北京柠檬 Meyer	对照 Control	62.96		58.79		64.11	
	甲醇 Methanol	29.70	59.44	27.32	60.76	41.89	38.91
	乙醇 Ethanol	43.54	34.70	32.45	50.86	53.76	18.12
	丙酮 Acetone	34.53	50.80	27.77	59.90	43.48	36.12
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	61.97	1.77	49.45	18.03	60.03	7.14
	蒸馏水 Distilled water	49.84	23.45	34.04	47.79	54.95	16.04

2.4 不同溶剂提取物的多酚组成

类黄酮标准品物质分别在 283 nm 和 330 nm 波长下检测, 酚酸标准品物质分别在 260 nm 和 320 nm 波长下检测, 两个供试品种各溶剂提取物在 HPLC 多酚物质检测中整体分离效果较好(图 5, 图 6)。由于供试标准品种类有限, 柠檬果皮不同溶剂提取物中共检测到 4 种酚酸物质(表 2)和 12 种类黄酮物质(表 3), 不同品种、不同提取试剂对多酚类物质提取存在显著差异。

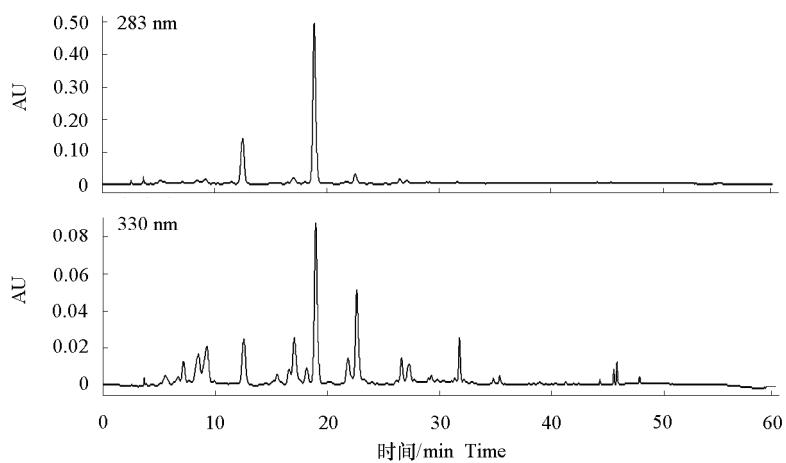


图 5 尤力克柠檬甲醇提取物类黄酮物质高效液相色谱图
Fig. 5 HPLC chromatograms of flavonoids of the Eurrka lemon extracts from methanol

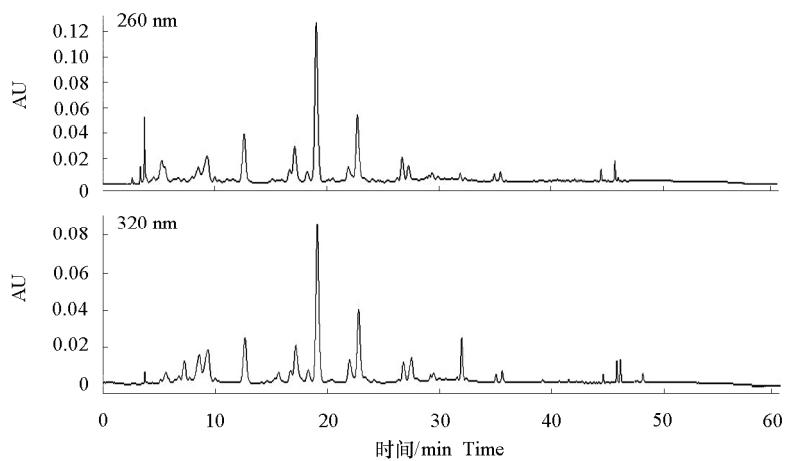


图 6 尤力克柠檬甲醇提取物酚酸物质高效液相色谱图
Fig. 6 HPLC chromatograms of phenolic of the Eurrka lemon extracts from methanol

由表 2 和表 3 可知, 尤力克柠檬果皮多酚类物质主要由圣草次苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、圣草酚、香蜂草苷、柚皮素、没食子酸、绿原酸、咖啡酸和阿魏酸组成, 野漆树苷和橘皮素仅少量存在尤力克柠檬蒸馏水提取物中, 含量为 $(0.128 \pm 0.004) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ DW 和 $(0.030 \pm 0.039) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ DW。北京柠檬果皮多酚类物质主要由 10 种类黄酮和 4 种酚酸物质组成, 其中香蜂草苷仅微量存在于北京柠檬蒸馏水提取物中。尤力克柠檬甲醇提取物的各物质含量最高, 北京柠檬上也是如此。不同溶剂柠檬果皮提取物中多酚类物质提取含量大小顺序为甲醇 > 丙酮 > 乙醇 > 蒸馏水 >

乙酸乙酯, 甲醇对多酚类物质提取具有重要贡献。

表 2 柠檬果皮酚酸物质主要成分及含量

Table 2 Lemon peel main composition and content of phenolic acid

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW

品种 Variety	处理 Treatment	没食子酸 Gallic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid	阿魏酸 Ferulic acid
尤力克 Eureka	甲醇 Methanol	4.242 ± 0.111 a	1.210 ± 0.075 a	2.429 ± 0.174 a	0.092 ± 0.005 c
	乙醇 Ethanol	2.240 ± 0.136 c	0.791 ± 0.009 b	0.910 ± 0.042 d	0.082 ± 0.027 c
	丙酮 Acetone	3.441 ± 0.033 b	1.157 ± 0.085 a	1.911 ± 0.118 b	0.096 ± 0.015 c
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	1.500 ± 0.420 de	0.101 ± 0.015 e	nd	nd
	蒸馏水 Distilled water	2.080 ± 0.067 c	0.416 ± 0.046 c	1.362 ± 0.192 c	0.447 ± 0.091 a
北京柠檬 Meyer	甲醇 Methanol	1.578 ± 0.041 d	0.128 ± 0.018 e	2.311 ± 0.146 a	0.154 ± 0.002 c
	乙醇 Ethanol	1.235 ± 0.034 e	0.125 ± 0.001 e	1.001 ± 0.022 d	0.161 ± 0.009 c
	丙酮 Acetone	1.268 ± 0.060 e	0.244 ± 0.013 d	1.995 ± 0.009 b	0.158 ± 0.004 c
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	1.391 ± 0.127 de	nd	nd	nd
	蒸馏水 Distilled water	1.336 ± 0.057 de	nd	1.028 ± 0.073 d	0.267 ± 0.090 b

注: 同一列不同字母为差异显著 ($P < 0.05$); nd 代表未检测到的化合物。

Note: Different superscripts between columns represent significant different between samples ($P < 0.05$); nd means not detectable.

表 3 柠檬果皮类黄酮物质主要成分及含量

Table 3 Main composition and content of lemon peel flavonoids substances

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ DW

品种 Variety	处理 Treatment	圣草次苷 Eriocitrin	芸香柚皮苷 Narirutin	柚皮苷 Naringin	橙皮苷 Hesperidin	新橙皮苷 Neohesperidin	圣草酚 Eriodictyol
尤力克 Eureka	甲醇 Methanol	2.784 ± 1.055 a	16.282 ± 0.430 a	nd	0.091 ± 0.007 a	0.434 ± 0.030 a	0.212 ± 0.017 c
	乙醇 Ethanol	nd	5.488 ± 0.253 d	nd	0.066 ± 0.003 b	0.278 ± 0.042 c	0.086 ± 0.009 ef
	丙酮 Acetone	0.082 ± 0.001 b	11.934 ± 0.309 bc	nd	0.083 ± 0.000 a	0.387 ± 0.014 b	0.108 ± 0.004 de
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	nd	0.872 ± 0.038 f	nd	nd	nd	0.041 ± 0.000 g
	蒸馏水 Distilled water	0.082 ± 0.002 b	2.168 ± 0.150 ef	nd	0.085 ± 0.002 a	0.237 ± 0.002 c	0.054 ± 0.012 fg
北京柠檬 Meyer	甲醇 Methanol	0.081 ± 0.001 b	12.648 ± 2.650 b	nd	nd	0.259 ± 0.017 c	0.462 ± 0.058 a
	乙醇 Ethanol	nd	2.570 ± 0.011 e	0.183 ± 0.007 a	nd	nd	0.112 ± 0.004 de
	丙酮 Acetone	0.081 ± 0.000 b	10.781 ± 0.591 c	nd	nd	0.248 ± 0.004 c	0.388 ± 0.006 b
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	nd	0.646 ± 0.096 f	nd	nd	nd	nd
	蒸馏水 Distilled water	nd	0.660 ± 0.108 f	0.071 ± 0.009 b	nd	nd	0.137 ± 0.016 d
品种 Variety	处理 Treatment	香蜂草苷 Didymin	柚皮素 Naringenin	野漆树苷 Rhoifolin	香叶木素 Diosmetin	川陈皮素 Nobiletin	橘皮素 Tangeretin
尤力克 Eureka	甲醇 Methanol	0.031 ± 0.001 a	0.093 ± 0.007 a	nd	nd	nd	0.006 ± 0.000 a
	乙醇 Ethanol	0.025 ± 0.001 b	0.078 ± 0.004 b	nd	nd	nd	nd
	丙酮 Acetone	0.029 ± 0.000 a	0.090 ± 0.000 a	nd	nd	nd	nd
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	nd	0.070 ± 0.000 b	nd	nd	nd	nd
	蒸馏水 Distilled water	0.027 ± 0.001 b	nd	0.128 ± 0.004 a	nd	nd	0.030 ± 0.039 a
北京柠檬 Meyer	甲醇 Methanol	nd	0.075 ± 0.002 b	nd	0.056 ± 0.004 a	0.048 ± 0.003 a	0.006 ± 0.000 b
	乙醇 Ethanol	nd	0.051 ± 0.002 c	nd	0.056 ± 0.005 a	0.048 ± 0.003 a	0.006 ± 0.000 b
	丙酮 Acetone	nd	0.052 ± 0.002 c	nd	0.062 ± 0.002 a	0.049 ± 0.002 a	0.025 ± 0.033 a
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	nd	0.078 ± 0.009 b	nd	nd	0.040 ± 0.000 b	0.025 ± 0.032 a
	蒸馏水 Distilled water	0.025 ± 0.001 b	nd	nd	0.039 ± 0.002 b	0.029 ± 0.001 c	0.004 ± 0.000 b

2.5 不同溶剂提取物多酚组成与抗氧化、抑菌活性的相关性分析

多酚物质组分相关系数表明, 圣草次苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、圣草酚、香蜂草苷、没食子酸、绿原酸和咖啡酸在内的 9 种多酚类物质具有一定的抗氧化、抑菌作用。其中, 芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、香蜂草苷、没食子酸、绿原酸、咖啡酸对 DPPH 自由基清除具有极显著或显著促进作用, 相关系数在 0.729 ~ 0.932 之间; 圣草次苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、没食子酸、绿原酸、咖啡酸对铁离子还原反应贡献最大, 相关系数在 0.673 ~ 0.944 之间。同时, 芸香柚皮苷、新橙皮苷、圣草酚、绿原酸、咖啡酸还具有极强的抑菌效果, 相关系数分别为 0.878、0.869、0.650、0.661 和 0.963。以上数值表明, 芸香柚皮苷、新橙皮苷、绿原酸、咖啡酸等 4 种多酚物质为

柠檬果皮提取物抗氧化抑菌性检测中最佳作用因子。

表 4 多酚类物质与抗氧化、抗菌活性的相关系数
Table 4 The correlation between polyphenols and antioxidant, anti-fungi activity

组分 Component	圣草次苷 Eriocitrin	芸香柚皮苷 Narinrutin	柚皮苷 Naringin	橙皮苷 Hesperidin	新橙皮苷 Neohesperidin	圣草酚 Eriodictyol	香蜂草苷 Didymin	柚皮素 Naringenin	野漆树苷 Rhoifolin	香叶木素 Diosmetin
芸香柚皮苷 Narirutin	0.613									
柚皮苷 Naringin	-0.169	-0.348								
橙皮苷 Hesperidi	0.500	0.414	-0.362							
新橙皮苷 Hesperidin	0.546	0.867**	-0.512	0.773**						
圣草酚 Eriodictyol	0.147	0.681**	-0.128	-0.232	0.393					
香蜂草苷 Didymin	0.424	0.239	-0.218	0.850**	0.574	-0.260				
柚皮素 Naringenin	0.355	0.559	-0.307	0.155	0.406	0.122	-0.135			
野漆树苷 Rhoifolin	-0.092	-0.251	-0.149	0.435	0.109	-0.245	0.321	-0.610		
香叶木素 Diosmetin	-0.258	0.121	0.504	-0.646*	-0.218	0.715*	-0.528	-0.260	-0.266	
川陈皮素 Nobiletin	-0.322	-0.054	-0.783**	-0.783**	-0.417	0.512	-0.725**	-0.119	-0.323	0.848**
橘皮素 Tangeret	-0.263	-0.264	-0.163	-0.123	-0.153	-0.003	-0.256	-0.443	0.593	0.109
没食子酸 Gallic acid	0.767**	0.670**	-0.352	0.856**	0.805**	-0.049	0.733*	0.471	0.016	-0.554
绿原酸	0.609	0.669**	-0.328	0.888**	0.861**	-0.038	0.735*	0.486	0.002	-0.505
Chlorogenic acid										
咖啡酸 Caffeic acid	0.491	0.888**	-0.155	0.404	0.806**	0.752*	0.337	0.139	0.026	0.334
阿魏酸 Ferulic acid	-0.128	-0.150	0.158	0.247	0.079	0.075	0.337	-0.846**	0.800**	0.199
总酚 Total phenols	0.631	0.934**	-0.253	0.609	0.918**	0.575	0.505	0.316	-0.015	0.065
总黄酮	0.740*	0.854**	-0.413	0.706*	0.878**	0.235	0.431	0.690*	-0.115	-0.355
Total flavonoid										
DPPH	0.482	0.729**	-0.289	0.842**	0.932**	0.273	0.764*	0.163	0.220	-0.189
FRAP	0.673**	0.909**	-0.292	0.708*	0.944**	0.453	0.595	0.361	0	-0.081
抑菌活性 Bacteriostas	0.430	0.878**	-0.137	0.521	0.869**	0.650*	0.425	0.211	0.012	0.241
组分 Component	川陈皮素 Nobiletin	橘皮素 Tangeretin	没食子酸 Gallic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid	阿魏酸 Ferulic acid	总酚 Total phenols	总黄酮 Total flavonoid	DPPH	FRAP
橘皮素 Tangeret	0.341									
没食子酸 Gallic acid	-0.664*	-0.393								
绿原酸	-0.667*	-0.393	0.948*							
Chlorogenic acid										
咖啡酸 Caffeic acid	0.053	-0.100	0.525	0.529						
阿魏酸 Ferulic acid	-0.025	0.442	-0.102	-0.097	0.294					
总酚 Total phenols	-0.200	-0.255	0.753**	0.757*	0.951**	0.147				
总黄酮	-0.465	-0.361	0.903**	0.887**	0.636*	-0.270	0.823**			
Total flavonoid	-0.467	-0.214	0.792**	0.863**	0.795**	0.311	0.897**	0.749*		
DPPH	-0.333	-0.307	0.841**	0.845**	0.892**	0.105	0.988**	0.876**	0.929**	
FRAP	-0.084	-0.215	0.589	0.661*	0.963**	0.249	0.961**	0.695*	0.884**	0.926**

3 讨论

对比研究发现, 甲醇对柠檬果皮多酚类物质提取表现出较高的提取率, 乙酸乙酯对其多酚类物质含量提取则无明显促进作用。本研究结果与涂宗财等 (2015) 对红薯叶不同溶剂提取物抗氧化研究结果基本一致。多酚类物质多易溶于有机且极性较强的溶剂, 而在无机或极性较弱的溶剂中则溶解相对较少。同时, 2 种柠檬果皮同一溶剂提取物多酚类物质含量差异, 可能是品种间多酚物质组分不同导致其在同一溶剂中的溶解性不一 (Lopez et al., 2011)。此外, 也有类似研究指出植物多酚类物质提取与提取试剂溶解度、断裂氢键能力、酸碱条件等因素存在一定相关性 (石碧和狄莹, 2000; 杨红叶 等, 2011)。近年, 研究数据显示柑橘果实抗氧化活性强弱与多酚类物质含量及其成分呈正相关关系 (Zhang et al., 2014; Zhao et al., 2015)。本研究中发现, 圣草次苷、芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、香蜂草苷、没食子酸、绿原酸、咖啡酸对柠檬果皮不同溶剂提取物的体外抗氧化能

力具有一定的促进作用。同时，多酚类各物质组分含量分析表明，芸香柚皮苷、新橙皮苷和没食子酸、绿原酸、咖啡酸分为类黄酮、酚酸主要活性成分物质，且在不同溶剂中的含量变化规律与其抗氧化能力强弱变化基本一致，可进一步证实此类物质对柠檬果皮不同溶剂提取物抗氧化活性具有重要作用。

5种试剂提取物对青霉、绿霉、炭疽菌3种病原真菌菌丝生长均呈现出一定的抑制作用，且不同溶剂提取物的抑菌性能差异显著。丘晓花等（2011）对柑橘皮提取物体外抑菌活性研究中也观察到类似现象。此外，不同品种果皮提取物含量差异亦对其抑菌效果存在直观影响（岳静 等，2012）。例如橙皮、来檬可对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯菌等细菌具有抑制作用，其中来檬提取物对黑曲霉、烟曲霉、毛霉、青霉等真菌菌丝生长较橙皮提取物作用效果更好（Ashok-Kumar et al., 2011; Pathan et al., 2012）。HPLC 检测发现，柠檬果皮内多酚类物质共有 16 种，除柚皮苷、川陈皮素和橘皮素 3 种物质外，其他 13 种多酚类物质对青霉、绿霉、炭疽菌丝生长均有一定的抑制作用。5 种溶剂提取物抑菌能力大小与多酚类物质含量密切相关。如甲醇对 3 种真菌抑制效果最佳，其提取物中总酚总黄酮含量最高、相应多酚类物质有效作用因子种类最多；乙酸乙酯对 3 种真菌抑制效果最差，其提取物中总酚和总黄酮含量、多酚类物质有效作用因子总数也相应偏低。不同种类多酚物质常有不同的化学结构，对柑橘贮藏期青霉、绿霉、炭疽的抑制作用效果也存在明显差异。其中，芸香柚皮苷、新橙皮苷、圣草酚、绿原酸、咖啡酸对柠檬果皮提取物体外抑菌活性贡献最大。该 5 种多酚类物质在不同溶剂提取物中整体含量高低顺序为甲醇提取物、丙酮提取物、乙醇提取物、蒸馏水提取物、乙酸乙酯提取物，与其提取物综合抗氧化、抑菌强弱顺序一致，且这一类似规律在两种供试柠檬果皮不同溶剂提取物抗氧化抑菌试验中均得以证实。

柠檬果皮内含有丰富的多酚物质，不同溶剂提取物多酚类物质组成与含量明显不同。各提取物的抗氧化活性依次为甲醇提取物、丙酮提取物、蒸馏水提取物、乙醇提取物、乙酸乙酯提取物，其中芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、没食子酸、绿原酸、咖啡酸对柠檬果皮提取物体外抗氧化活性有重要促进作用；各溶剂提取物的抗菌活性依次为甲醇提取物、丙酮提取物、乙醇提取物、蒸馏水提取物、乙酸乙酯提取物，芸香柚皮苷、新橙皮苷、圣草酚、绿原酸、咖啡酸为其主要作用因子。甲醇提取可作为柠檬果皮提取物各组分进一步研究的最有效方法。

References

- Ashok-Kumar K, Narayni M, Subanthini A, Jayakumar M. 2011. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels-utilization of fruit waste. International Journal of Engineering Science and Technology, 3 (6): 5414 - 5421.
- Benzie I F F, Strain J J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239 (1): 70 - 76.
- Bialon M, Krzysko-Lupicka T, Koszalkowska M, Wieczorek P P. 2014. The influence of chemical composition of commercial lemon essential oils on the growth of *Candida* strains. Mycopathologia, 177: 29 - 39.
- González-Molina E, Moreno D A, García-Viguera C. 2008. Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice [*Citrus limon* (L.) Burm. F.] for industrial use. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (5): 1669 - 1675.
- Guan Wen-qiang, Li Shu-fen. 2006. Research advances in application of natural plant extracts to postharvest preservation of fruits and vegetables. Transactions of the CSAE, 22 (7): 200 - 204. (in Chinese)
- 关文强, 李淑芬. 2006. 天然植物提取物在果蔬保鲜中的应用研究进展. 农业工程学报, 22 (7): 200 - 204.
- Hu Xiu-rong, Lu Lian-ming, Huang Zhen-dong. 2009. The research progress of antibacterial activity of *Citrus* extracts insecticidal. Zhejiang Ganju, 26 (4): 28 - 31. (in Chinese)

- 胡秀荣, 鹿连明, 黄振东. 2009. 柑橘提取物杀虫和抑菌活性的研究进展. 浙江柑桔, 26 (4): 28 - 31.
- Koo H N, Hong S H, Kim C Y, Ahn J W, Lee Y G, Kim J J, Lyu Y S, Kim H M. 2002. Inhibitory effect of apoptosis in human astrocytes CCF-STTG1 cells by lemon oil. Pharmacological Research, 45 (6): 469 - 473.
- Li Chun-ru, Qin Xiao-ling, Tao Zhen-feng, Chen Quan-bin. 2009. Analyses the current research on lemon in China. The Friends of Farmhouse, (2): 17 - 18, 20. (in Chinese)
- 李春儒, 覃小玲, 陶振锋, 陈全斌. 2009. 浅析我国柠檬研究现状. 农家之友, (2): 17 - 18, 20.
- Liu Yi-wu, Wang Bi. 2012. The research progress of lemon nutrients and comprehensive utilization. Journal of Neijiang Normal University, 27 (8): 46 - 51. (in Chinese)
- 刘义武, 王 碧. 2012. 柠檬营养成分与综合利用研究进展. 内江师范学院学报, 27 (8): 46 - 51.
- Lopez A, Rico M, Rivero A, de Targil M S. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. Food Chemistry, 125 (3): 1104 - 1109.
- Mu Li-yi. 1994. The research methods of plant chemical protection. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 慕立义. 1994. 植物化学保护研究方法. 北京: 中国农业出版社.
- Oikeh E I, Omorogie E S, Oviasogie F E, Oriakhi K. 2016. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. Food Science and Nutrition, 4 (1): 103 - 109.
- Pathan R K, Gali P R, Pathan P, Gowtham T, Pasupuleti S. 2012. In vitro antimicrobial activity of *Citrus aurantifolia* and its phytochemical screening. Life Sciences Feed, 1 (2): 13 - 16.
- Perdones A, Sánchez-González L, Chiralt A, Vargas M. 2012. Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 70: 32 - 41.
- Qin Yi, Hou Xiao-zhen, Zhan Bin, Deng Qi-hai, Din Xin, Zou Li-yun. 2014. Study on chemical composition analysis and antioxidant activities of lemon peel essential oil. Food and Machinery, 30 (3): 169 - 173. (in Chinese)
- 秦 轶, 侯小桢, 章 斌, 邓其海, 丁 心, 邹利运. 2014. 柠檬精油的化学成分分析及其抗氧化活性研究. 食品与机械, 30 (3): 169 - 173.
- Qiu Xiao-hua, Feng Ming-ying, Li Yan. 2011. Study on antibacterial activity *in vitro* of extract from citrus peel. Chinese Journal of Ethno Medicine and Ethno Pharmacy, (10): 31 - 32. (in Chinese)
- 丘晓花, 冯明英, 李 燕. 2011. 柑橘皮提取物体外抑菌活性的研究. 中国民族民间医药, (10): 31 - 32.
- Ramful D, Taruns E, Aruoma O I, Bourdon E, Bahorun T. 2011. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. Food Research International, 44 (7): 2088 - 2099.
- Shi Bi, Di Ying. 2000. Plant polyphenols. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 石 碧, 狄 莹. 2000. 植物多酚. 北京: 科学出版社.
- Shi Jian-quan, Zeng Pie-fan. 2006. The economic value of lemon and its cultivation management. Guangxi Tropical Agriculture, (1): 8 - 9. (in Chinese)
- 石健泉, 曾沛繁. 2006. 柠檬的经济价值及栽培管理. 广西热带农业, (1): 8 - 9.
- Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152 - 178.
- Tu Zong-cai, Fu Zhi-feng, Wang Hui, Zhang Lu, Wen Qing-hui, Li Jin-lin, Duan Deng-le, Li Ru-ji. 2015. Comparison of antioxidant activities of various solvent extracts of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] leaves and identification of antioxidant constituents of the methanol extract. Food Science, 36 (17): 1 - 6. (in Chinese)
- 涂宗财, 傅志丰, 王 辉, 张 露, 温庆辉, 李金林, 段邓乐, 李如一. 2015. 红薯叶不同溶剂提取物抗氧化性及活性成分鉴定. 食品科学, 36 (17): 1 - 6.
- Viudo-Martos M, Ruiz-Navajs Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez J. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulate* L.), grapefruit (*Citrus paradise* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Food Control, 19 (12): 1130 - 1138.
- Wan Li-xiu, Xiao Geng-sheng, Xu Yu-juan, Chen Yu-long, Wu Ji-jun, Jiang Ai-min. 2011. Different varieties of citrus peel medium yellow ketone compound content and the analysis of oxidation resistance. Food and Fermentation Industries, 37 (4): 73 - 77. (in Chinese)
- 万利秀, 肖更生, 徐玉娟, 陈于陇, 吴继军, 蒋爱民. 2011. 不同品种柑橘皮中黄酮化合物含量及抗氧化性分析. 食品与发酵工业, 37 (4):

73 - 77.

- Wang Jun, Wang Zhong-he, Liu Mou-quan, Chen Xue-chun, Huang Fan-fan, Li Gui-li, Wu Yue-ting. 2014. Study on chemical composition, antimicrobial activity and antioxidant ability of essential oil from chaozhou citrus peel. Journal of Hanshan Normal University, 35 (3): 61 - 67. (in Chinese)
- 王军, 王忠合, 刘谋泉, 陈雪纯, 黄帆帆, 李桂丽, 吴悦婷. 2014. 潮州柑果皮挥发油的组分分析及其抑菌性和抗氧化性的研究. 韩山师范学院学报, 35 (3): 61 - 67.
- Xuan Yi-wei, Liu Ying, Jiang Ping, Dan Jun-feng, Chen Jian-chu. 2008. Literature review of biological activity and research prospects of citrus flavonoid. Bulletin of Science and Technology, 24 (4): 494 - 497, 521. (in Chinese)
- 宣以巍, 刘英, 江萍, 但俊峰, 陈健初. 2008. 柑橘类黄酮的生理活性及其研究现状. 科技通报, 24 (4): 494 - 497, 521.
- Yang Hong-ye, Chai Yan, Huang Zhong-min, Wang Min. 2011. The effect of antioxidant of solvents and extraction method on the properties of buckwheat extracts. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 11 (1): 28 - 33. (in Chinese)
- 杨红叶, 柴言, 黄忠民, 王敏. 2011. 溶剂与提取方式对苦荞提取液抗氧化性能的影响. 中国食品学报, 11 (1): 28 - 33.
- Yu Yi-jun, Chen Dao-mao, Chen Wei-min. 2001. New citrus pest control manual. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. (in Chinese)
- 虞铁俊, 陈道茅, 陈卫民. 2001. 新编柑橘病虫害防治手册. 上海: 上海科学技术出版社.
- Yu Yu-han, Jiao Bi-ning. 2011. Advances on the analysis of content and detection technologies for lemon flavonoids. Science and Technology of Food Industry, 32 (12): 518 - 523. (in Chinese)
- 于玉涵, 焦必宁. 2011. 柠檬中类黄酮的含量分析和检测技术的研究进展. 食品工业科技, 32 (12): 518 - 523.
- Yue Jing, Zhun Zhi-cheng, Jiang Shui. 2012. Study on antibacterial performance of extract from citrus peel. Northern Horticulture, (23): 25 - 27. (in Chinese)
- 岳静, 朱志成, 姜水. 2012. 柑橘皮提取物抑菌性能研究. 北方园艺, (23): 25 - 27.
- Zhang Hua, Zhou Zhi-qin, Xi Wan-peng. 2015. Comparison of antioxidant activity *in vitro* of 15 major phenolic compounds in citrus fruits. Food Science, 36 (11): 64 - 69. (in Chinese)
- 张华, 周志钦, 席万鹏. 2015. 15种柑橘果实主要酚类物质的体外抗氧化活性比较. 食品科学, 36 (11): 64 - 69.
- Zhang Y M, Sun Y J, Xi W P, Shen Y, Qiao L P, Zhong L Z, Ye X Q, Zhou Z Q. 2014. Phenolic compositions and antioxidant capacities of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruits. Food Chemistry, 145: 674 - 680.
- Zhang Yuan-mei, Zhou Zhi-qin, Sun Yu-jing, Shen Yan, Zhong Lie-zhou, Qiao Li-ping, Ye Xing-qian. 2012. Simultaneous determination of 18 flavonoids in citrus fruits by high-performance liquid chromatography. Scientia Agriculture Sinica, 45 (17): 3558 - 3565. (in Chinese)
- 张元梅, 周志钦, 孙玉敬, 沈妍, 钟烈洲, 乔丽萍, 叶兴谦. 2012. 高效液相色谱法同时测定柑橘果实中18种类黄酮的含量. 中国农业科学, 45 (17): 3558 - 3565.
- Zhao P, Duan L, Guo L, Dou L L, Dong X, Zhou P, Li P, Liu E H. 2015. Chemical and biological comparison of the fruit extracts of *Citrus wilsonii* Tanka and *Citrus medica* L. Food Chemistry, 173: 54 - 60.
- Zheng Rui-sheng, Feng Hui, Dai Cong-jie, Hong Xiao-bin, Ning Qiu-rong. 2010. Research progress on active antioxidant components from plants. Chinese Agricultural Science Bulletin, 26 (9): 85 - 90. (in Chinese)
- 郑瑞生, 封辉, 戴聪杰, 洪小斌, 宁秋蓉. 2010. 植物中抗氧化活性成分研究进展. 中国农学通报, 26 (9): 85 - 90.
- Zhou Xian-yan, Zhu Chun-hua, Shen Zheng-song, Yang Xue, Gong Qi, Yue Jian-qiang. 2014. Research progress in anticancer active constituents of lemon. Acta Agriculturae Jiangxi, 26 (6): 49 - 53. (in Chinese)
- 周先艳, 朱春华, 沈正松, 杨雪, 龚琪, 岳建强. 2014. 柠檬抗癌活性成分研究进展. 江西农业学报, 26 (6): 49 - 53.
- Zhu Chun-hua, Li Jin-xue, Gao Jun-yan, Zhou Dong-guo, Gong Qi, Yue Jian-qiang. 2012. Analysis of volatile components of the peel of different lemon cultivars. Modern Food Science and Technology, 28 (9): 1223 - 1227. (in Chinese)
- 朱春华, 李进学, 高俊燕, 周东果, 龚琪, 岳建强. 2012. GC - MS 分析柠檬不同品种果皮精油成分. 现代食品科技, 28 (9): 1223 - 1227.