DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240315005

二维液相色谱分离鉴定桑葚中多酚类化合物

贺增洋¹, 佘世科¹, 徐志强¹, 彭晓萌¹, 孙丽莉^{1*}, 吴 攀², 许春平² (1. 安徽中烟工业有限责任公司技术中心, 合肥 230088; 2. 郑州轻工业大学烟草科学与工程学院, 郑州 450002)

摘 要:目的 建立一套亲水作用色谱×反相色谱二维液相色谱系统对桑葚中多酚类化合物进行鉴定。**方法** 首 先采用单因素实验对色谱系统中一维色谱的流动相 A 的组成、二维色谱的色谱运行条件以及两维系统接口处的 样品环的体积进行优化,然后利用优化系统对桑葚中多酚类化合物进行分离鉴定。**结果** 当一维色谱流动相 A 中乙酸浓度为 2.0%、二维色谱流动相流速为 3.3 mL/min、二维色谱分析时间为 1.3 min、接口处的样品环体积为 150 μL 时,桑葚提取物中多酚类化合物分离效果最好;使用优化后的系统对桑葚提取物中多酚类化合物进行分离鉴定,成功分离鉴定了桑葚提取物中 5 种酚类化合物。**结论** 本研究的优化方法可行,优化后的系统可以高效、准确分离桑葚提取物中多酚类化合物,为分离鉴定桑葚中多酚类化合物提供了一定的实践基础。

关键词:桑葚;多酚类化合物;全二维液相色谱法;亲水作用色谱-反相色谱法

Separation and identification of polyphenols in mulberry by two-dimensional liquid chromatography

HE Zeng-Yang¹, SHE Shi-Ke¹, XU Zhi-Qiang¹, PENG Xiao-Meng¹, SUN Li-Li^{1*}, WU Pan², XU Chun-Ping²

(1. Technology Center of China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd., Hefei 230088, China; 2. College of Tobacco Science and Technology, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Objective To establish a hydrophilic interaction chromatography×reverse phase chromatography two-dimensional liquid chromatography system for the identification of phenolic compounds in mulberry. Methods The method first used a single factor experiment to optimize the composition of mobile phase A in one-dimensional chromatography, chromatographic operating conditions in two-dimensional chromatography, and the volume of the sample ring at the interface of the two-dimensional system in the chromatographic system. Then, the optimization system was used to separate and identify phenolic compounds in mulberry. Results When the concentration of acetic acid in one-dimensional chromatography mobile phase A was 2.0%, the flow rate of two-dimensional chromatography was 1.3 min, and the sample ring volume at the interface was 150 μL, the separation effect of phenolic compounds in mulberry extract, and 5 kinds of phenolic compounds were successfully isolated and identified in mulberry extract. Conclusion The

基金项目: 安徽中烟工业有限责任公司科技项目(2023340000340036)、中国烟草总公司重点研发项目(110202102024)

Fund: Supported by the Anhui Tobacco Industry Co., Ltd., Science and Technology Projects (2023340000340036), and the Key Research and Development Projects of China Tobacco Corporation (110202102024)

^{*}通信作者: 孙丽莉, 博士, 工程师, 主要研究方向为烟草化学及香精香料。E-mail: 18756997517@126.com

^{*}Corresponding author: SUN Li-Li, Ph.D, Engineer, Technology Center of China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd., Hefei 230088, China. E-mail: 18756997517@126.com

optimization method of this study is feasible, and the optimized system can efficiently and accurately separate polyphenolic compounds in mulberry extract, providing a certain practical basis for the separation and identification of polyphenolic compounds in mulberry.

KEY WORDS: mulberries; phenolic compounds; comprehensive two-dimensional liquid chromatography; hydrophilic interaction liquid chromatography-reversed-phase liquid chromatography

0 引 言

桑葚,又叫桑果、桑枣等,属于桑葚科桑葚属,广泛分布于亚洲、欧洲、北美和非洲,成熟的桑葚果实具有较高的营养和药用价值^[1-3],其富含脂肪酸、氨基酸、维生素和微量元素等。研究表明,多酚类化合物是桑葚中主要生物活性物质之一^[4-6],具有改善肠道菌群、抗肿瘤、改善心血管健康等对人类健康有益的功能^[7-10]。

目前,一维液相色谱法常被用于植物中多酚类化合物的分离鉴定研究^[11-14]。反相液相色谱(reversed-phase liquid chromatography, RPLC)因常规色谱的极性选择性不足,对于样品中极性相近的组分分离选择性较差,需要引入极性选择性好的色谱柱用于多酚类化合物的分离。而亲水作用色谱(hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC)分离机制与 RPLC 不同,适合分离强极性化合物,其的应用受到了研究人员的关注与重视^[15]。基于多酚类化合物富含羟基官能团这一特点,采用 HILIC 分离多酚类化合物具有广阔的前景。由于 HILIC 与 RPLC 选择差异性较大,并且流动相兼容,非常适合构建高正交的全二维液相色谱系统^[16]。全二维液相色谱系统因其结合两维色谱特点,具有更高的峰容量以及更强的分离能力^[17]。

全二维液相色谱法已经被开发并应用于复杂样品中 不同种类化合物的分离鉴定,例如,MARTÍN-POZO 等[18] 提出了综合二维液相色谱质谱联用的方法对玉米制品中 112 种农药进行多级分析,该方法在两个样品中成功检测 到了3种痕量水平的农药。HÖHME等[19]利用全二维液相 色谱法进行肽段标准化合物的分离鉴定, 并评估了以肽段 的流出时间预测其苦味的可能性。KUHNE 等[20]利用多维 液相色谱与质谱联用法鉴定抗体共制剂中异聚集体, 该方 法有助于详细评估难以区分的二聚体变体, 能区分同源聚 集和异源聚集,并为重组抗体共制剂中的大小变异评估提 供了一种有效的方法。但目前采用全二维液相色谱分析鉴 定桑葚中的多酚类化合物的报道较少。因此, 本研究对先 前构建的二维液相色谱系统^[21]中第一维色谱流动相 A 组 成配比、第二维色谱分析时间、两维液相接口处样品环体 积进行了优化, 采用优化后的系统对桑葚提取物中的多酚 类物质进行分离鉴定, 以期丰富桑葚果实中多酚类物质的 分离鉴定手段。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜桑葚样品(产地安徽亳州)于 2023 年购买自安徽省合肥市乐城超市。

乙腈、甲醇(色谱纯、天津市富宇精细化工有限公司); 乙酸(分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司);去离子水通过超纯水系统制得;标准样品(纯度不低于 98%),信息如表 1。1~3 号样品购自美国 ChromaDex 公司;4 号样品购自法国 Extrasynthese 公司;5~17 号样品购自北京博研科创生物技术有限公司;18~19 号样品由北京恒元启天化工技术研究院、北京世纪奥科生物技术有限公司联合出品;20~25 号样品购自北京世纪奥科生物技术有限公司。

表 1 标准样品列表 Table 1 List of standard samples

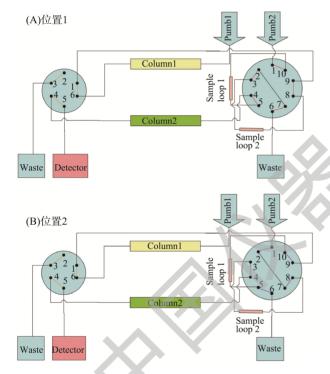
	Table 1 List of standard samples							
序号	标准样品名称	序号	标准样品名称					
1	圣草酚-7-O-葡糖苷	14	金合欢素-7-O-芸香苷					
2	木犀草素-7-O-葡糖苷	15	芹菜素					
3	芹菜素-7-O-葡糖苷	16	香叶木素					
4	异野漆树苷	17	金合欢素					
5	金合欢素-7-O-半乳糖苷	18	异鼠李素-3-O-葡糖苷					
6	槲皮素-3-O-葡糖苷	19	圣草酚					
7	异绿原酸 A	20	儿茶素					
8	槲皮素苷	21	绿原酸					
9	异绿原酸 B	22	表儿茶素					
10	香叶木素-7-O-葡糖苷	23	表没食子儿茶素没食 子酸酯					
11	木犀草素	24	芦丁					
12	金合欢素-7-O-葡糖苷	25	芹菜苷					
13	槲皮素							

1.2 实验仪器

Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); Ultimate 3000 超高相液相色谱仪(二极管阵列检测器, 美国 Dionex 公司); 两维压力泵、自动进样器、柱温箱(配备六通阀、十通阀各 1 个)、接口处样品环(50、100、150、200 μL)、YPR-2000A 旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限责任公司); DRT-SX 智能恒温电热套(郑州长城科工贸有限公司); Lichrospher diol-5 (150 mm×1.0 mm, 5 μm)(英国 HiChrom

公司); Cortecs C₁₈柱(50 mm×4.6 mm, 2.7 μm)(美国 Waters 公司)。

仪器组成及运行^[21]:全二维液相分析在 Ultimate 3000 超高相液相色谱仪上进行,该系统配备。图 1 为二维液相系统运行示意图,A 为第一维运行方式,B 为第二维运行方式。在本研究中采用 1 个十通阀和 2 根样品环作为一二维色谱之间的接口。当处于十通阀 1~10 状态、六通阀处于 1~6 状态时,第一维色谱的流出物不断从色谱柱 1 中转移至样品环 2 中,同时,泵 2 将样品环 1 中的待分析液体压入色谱柱 2 中进行分离,并进入二极管阵列检测器(diode array detector, DAD)中进行检测(位置 1); 2 min 后,十通阀切换至 1~2 状态,此时第一维色谱流出物进入样品环 1 中,而先前存储于样品环 2 中的待测物被压入色谱柱 2 中进行分离后检测(位置 2)。如此往复,直到分析过程结束。



注: Waste: 流出物; Detector: 检测器; Column1、2: 色谱柱1、2; Pump1、2: 泵1、2; Sample loop1、2: 样品环1、2。

图1 二维液相色谱运行示意图[21]

Fig.1 Schematic diagram of two-dimensional liquid chromatography operation^[21]

1.3 实验方法

样品制备: 称取 100.00 g 洗净的新鲜桑葚, 按料液比 1:1 (g:mL)加入 80%甲醇溶液, 加热回流提取 2 h, 冷却后抽滤。将滤液旋蒸浓缩至 30.0 mL, 加入 70.0 mL 乙腈, 滤膜过滤, 转移至色谱瓶中待测。

利用多酚类化合物混合标准样品进行二维液相色谱分离效果的优化。

第一维色谱: 色谱柱为 Lichrospher diol-5 (150 mm× 1.0 mm, $5 \text{ }\mu\text{m}$)。进样体积为 $20 \text{ }\mu\text{L}$, 温度为 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 流速为 $15 \text{ }\mu\text{L/min}$, 流动相采用为(A)乙腈/乙酸溶液和(B)甲醇/水/乙酸溶液(95:3:2, V:V:V),流动相梯度为 0 min, 0% B; 5 min, 2% B; 10 min, 5% B; 30 min, 5% B; 40 min, 10% B; 50 min, 15% B; 85 min, 95% B; 95 min 95% B, 对第一维色谱的流动相 A 进行优化,流动相:A 为乙腈/乙酸(100.0:0.0、99.8:0.2、98.0:2.0, V:V)。

第二维色谱: 色谱柱为 Cortecs C_{18} 柱(50 mm× 4.6 mm, 2.7 μ m),周期与十通阀的调制时间为 2 min。流速为 3.3 mL/min。流动相为(A)水/乙酸溶液(99.9:0.1, V:V)和(B)乙腈。流动相梯度为 0 min, 10% B; 0.8 min, 25% B; 1.2 min, 70% B; 1.75 min, 70% B; 1.75 min, 5% B; 1.99 min, 5% B; 2 min, 10% B, 对第二维色谱的分离时间进行优化,二维色谱分离时间为 1.3、2.5、5.0 min

对两维色谱接口处的样品环体积进行优化,样品环体积为 50、100、150、200 μL。

DAD 检测波长为 330 nm, 采样频率为 15 Hz, 紫外-可见光谱收集范围为 210~550 nm。采用与标准样品的保留时间和紫外-可见光谱进行对比来实现定性。

1.4 数据处理

通过 Origin 2024 进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 桑葚中多酚类化合物的一维液相分离与鉴定

采用一维液相检测了桑葚提取物中的多酚类化合物,结果如图 2,桑葚中的多酚类化合物可以在一维液相中被分离,但桑葚中的某些多酚类化合物因其结构相近、极性相似,导致色谱图出峰比较集中,分离度不够。一维液相对桑葚中多酚类化合物的分离效果不是很理想。

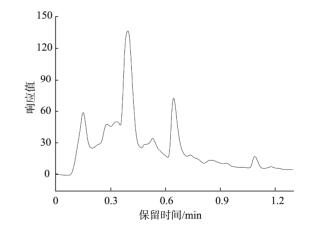


图2 桑葚多酚类化合物的一维液相色谱谱图(330 nm)
Fig.2 One-dimensional liquid chromatography spectrum of phenolic compounds from mulberries (330 nm)

桑葚中富含对人类有益的多酚类化合物^[22-23],对其进行分离鉴定有重要意义。而二维液相在一维分离的基础上进一步提高了分离效率及解析能力,目前二维液相色谱法被常用于医药、食品等行业中复杂样品中目标成分的分离鉴定及制备。这也为本研究中采用全二维液相色谱法分析桑葚中多酚类化合物提供了一定依据。

2.2 二维液相色谱系统优化

2.2.1 第一维色谱柱(HILIC)条件优化

对于第一维色谱柱和多酚类化合物,含水的流动相会导致两者均产生电离,从而影响保留。在流动相中添加一定量的有机酸,可以在保护仪器的同时有效抑制色谱柱固定相和多酚类化合物的电离,使分离效果和峰形得到较大的改善^[24]。因此,本研究对第一维色谱中流动相 A 的组成配比进行优化,调整流动相 A 中乙酸含量为 0%、0.2%、2.0%。结果如图 3 所示,由图 3A、B 可知,流动相中乙酸含量为 0%、0.2%时多酚类化合物混合标准样品分离效果较差。而在流动相中含有 2.0%乙酸(图 3C)时,可以从色谱图中观察到更多的峰,多酚类化合物混合标准样品分离效果优于流动相中乙酸含量为 0%和 0.2%。由此可知,第一维液相的流动相 A 中含有 2.0%的乙酸可以使多酚类化合物得到更好的分离。

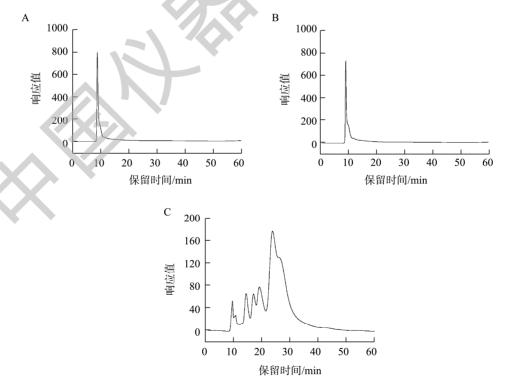
2.2.2 第二维色谱柱(RPLC)条件优化

在第二根色谱柱运行完成后,第一维液相中流分才

被允许转移,且第一维液相流出物所含有的乙腈对于第二维液相的色谱柱(RPLC)来说是强洗脱剂,为了降低其对仪器本身以及分离效果的影响,第二维液相必须采用高流速进行分析。经过先前的工作确定了第二维液相的流动相最佳流速为 3.3 mL/min,在该条件下对第二维液相的分离时间进行优化。第二维液相在分析时间 1.3、2.5、5.0 min 条件下峰容量分别是 46.2、47.8、42.3(图 4)。在分析时间 1.3 min 条件下,第二维液相分离能力与长时间分离条件下相比基本不变,而过长的分析时间(5.0 min)会导致流动相分布不均匀,峰容量反而明显下降,对多酚类化合物混合标准样品的分离效果造成不良影响。由此可知,第二维液相的最佳分析时间为 1.3 min。

2.2.3 接口优化

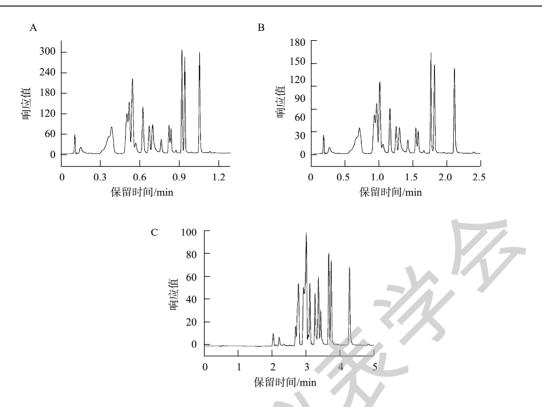
一、二维之间的接口是二维液相系统中的重要环节。因为两维液相之间不同的分离机制,在第一维液相中的弱洗脱剂到第二维就会变成强洗脱剂,反之亦然,因此即使两维之间所采用的流动相是互溶甚至完全一样,都有可能妨碍运行的最终成功。因此,本研究通过改变接口处样品环体积(100、150、200 μL)对多酚类化合物混合标准样品分离效果进行优化,对比采用这 3 种不同体积的样品环时二维液相系统对多酚类化合物混合标准样品的分离效果。由图 5 可知,采用 100 μL 体积的样品环时,色谱图的峰容量和峰分离效果都有明显改善,多酚类化合物



注: A. 0%乙酸; B. 0.2%乙酸; C. 2.0%乙酸。

图3 混合标准样品在不同浓度的乙酸流动相下HILIC色谱图(330 nm)

Fig.3 HILIC chromatograms of mixed standard samples under different concentrations of acetic acid mobile phase (330 nm)



注: A. 1.3 min; B. 2.5 min; C. 5.0 min。 图4 混合标准样品在不同分析时间下的RPLC色谱图(330 nm) Fig.4 RPLC chromatograms of mixed standard samples at different analysis times (330 nm)

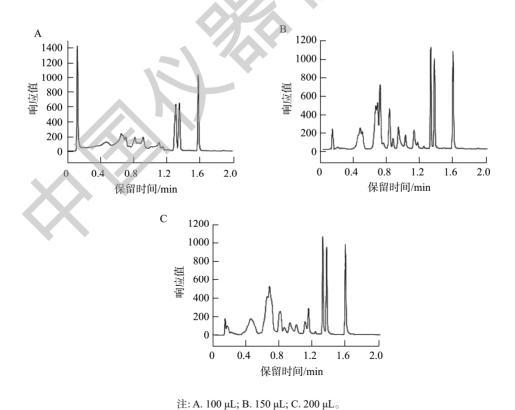
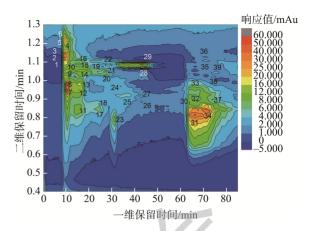


图5 90%乙腈作为溶剂、进样体积为19.5 μL时不同体积样品环对RPLC的影响 Fig.5 Effects of different volume sample rings on RPLC with 90% acetonitrile as solvent and injection volume of 19.5 μL

混合标准样品的分离已经有了较理想的效果。而在样品环体积 200 µL 时会导致峰展过宽、分离度降低的问题。因此确定二维液相系统接口处样品环的最佳体积为 150 µL。

2.3 桑葚提取物在优化系统中的分离及鉴定

将桑葚提取物样品在优化后的全二维液相色谱中进 行分离(图 6), 优化后的系统在图 6 的二维空间中分离得到 了39个色谱峰, 其色谱峰分布更为均匀。图6中, 在第一 维液相(亲水作用色谱)分离角度,物质可以大致分为 5 部 分: 1~10 为第一部分、11~16 为第二部分、17~25 为第三部 分、26~29 为第四部分、30~39 第五部分。这 5 部分物质 仅在一维液相色谱分离的情况下, 出现了出峰时间十分接 近的情况。由此可知, 仅用亲水作用色谱并不能较好分离 这些物质。例如,第一部分最先在第一维色谱系统中分离, 说明其亲水性较弱,但由于其极性较为相似,例如金合欢 素、香叶木素、木犀草素与芹菜素,金合欢素和香叶木素 属于芹菜素的甲氧基衍生物, 木犀草素仅比芹菜素多一个 羟基,导致其在一维液相色谱条件下并不能很好分离。而 这些物质的疏水性部分不同可以使其在第二维色谱(反相 高效液相色谱)中产生不同的滞留时间, 其羟基数目和位 置、甲氧基取代位置都会影响其疏水性, 因此, 经第二维 色谱分离后, 这些物质得到了较好的分离。第一维色谱系 统中, 第二部分物质在 17 min 左右出峰, 其分离情况与 第一部分相似,在第一维色谱系统中不能很好分离,但 在第二位色谱系统中得到了较好的分离。第三部分与第 四部分物质因在第一维色谱系统中出峰时间较靠后, 因 此判断这些物质亲水性较强,导致其在亲水色谱系统中保 留时间较长。



注: 1. 芹菜素; 2. 金合欢素; 3. 香叶木素; 4. 木犀草素; 5. 圣草酚; 6. 槲皮素; 7. 芹菜素-7-O-葡糖苷酸; 8. 表儿茶素; 9. 儿茶素; 10. 香叶木素-7-O-葡糖苷; 11. 金合欢素-7-O-芸香苷; 12. 异鼠李素-3-O-葡糖苷; 13. 木犀草素-3-O-葡糖苷; 14. 绿原酸; 15. 圣草酚-7-O-葡糖苷; 16. 槲皮素苷; 17. 表没食子儿茶素没食子酸酯; 18. 异绿原酸B; 19. 异绿原酸A; 20. 芹菜素-7-O-葡糖苷; 21. 槲皮素-3-O-葡糖; 22. 芹菜苷; 23. 金丝桃苷; 24. 异野漆树苷; 25. 芦丁。(编号大于25的色谱峰因没有标样, 未定性)。

图 6 桑葚多酚类化合物二维液相色谱谱图(330 nm) Fig.6 Two-dimensional liquid chromatogram of polyphenols in mulberry (330 nm)

最终通过与标准样品的相关信息进行对比,从桑葚提取物中共鉴定出了 5 种多酚类化合物(表 2)。其中木犀草素在医学领域有较大贡献,目前实验表明,其对一些疾病的治疗及症状的改善具有一定价值,尤其是有关心脏健康的疾病^[25-27]。绿原酸在畜牧及饲料行业有一定的应用^[28-29]。其余的多酚类化合物都在饲料、食品行业及对人体健康方面有积极的作用^[30-31]。

表 2 桑葚提取液中多酚类化合物的鉴定
Table 2 Identification of phenolic compounds from extraction of mulberry

序号	名称 ——	桑葚样品保留	桑葚样品保留时间/min		引时间/min	1 /
		t _r 总	t _r 2 d	t _r 总	t _r 2 d	$\lambda_{ m max}/{ m nm}$
4	木犀草素	10.279	1.179	10.275	1.175	276.0, 310.3
14	绿原酸	16.580	0.980	16.587	0.987	252.9, 304.2
15	圣草酚-7-O-葡糖苷	17.950	1.050	18.012	1.112	267.3, 337.2
17	表没食子儿茶素没食子酸酯	25.750	1.050	25.756	1.056	206.4, 272.7
20	芹菜素-7-O-葡糖苷	28.327	1.027	28.318	1.018	300.5

注: t_r 总: 桑葚样品中多酚类物质出峰所需总时间; t_r 2 d: 桑葚样品中多酚类物质二维保留时间。

3 结 论

本研究以多酚类化合物混合标准样品为对象,分别对一、二维色谱条件以及两维色谱系统之间的接口条件进行了优化,发现在第一维液相的流动相A中添加2.0%的乙酸、第二维液相流动时间 1.3 min、接口处样品环体积为

150 μL 的条件下, HILIC-RPLC 全二维液相色谱对多酚类物质的混合标准样品具有良好的分离效果, 优化后的系统峰容量和系统的分离能力得到了有效提升。将优化后的系统应用于桑葚提取物的分离和鉴定, 分离得到了 39 个峰, 发现在第一维色谱中容易被强峰掩盖、分布情况不好的峰在优化后的二维色谱系统中分离效果得到了很好的提升。

最后通过与标准样品信息进行比对,成功分离鉴定出了 5 种多酚类化合物。

优化后的全二维液相色谱系统分离能力得到了极大 提升,该种优化和分离方法操作简单、耗时短、分离效果 好,丰富了植物样品中有价值化合物的分离鉴定方法。下 一步,将对桑葚中多酚类化合物绝对定量和方法稳定性进 行分析和确认。

参考文献

- [1] 田琳, 范盈盈, 李洪欣, 等. 新疆不同品种桑葚营养品质分析及综合评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(2): 149–159.
 - TIAN L, FAN YY, LI HX, *et al.* Analysis and comprehensive evaluation of nutritional quality of different varieties of *Fructus* Mori. in Xinjiang [J]. J Food Saf Qual, 2024, 15(2): 149–159.
- [2] 潘振辉, 董宇豪, 陈显伟, 等. 桑葚、甘蔗糖蜜多酚的成分鉴定及其复配物的抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 246–254.

 PAN ZH, DONG YH, CHEN XW, *et al.* Composition analysis of mulberry polyphenols and sugarcane molasses polyphenols and the antioxidant
- activity of their mixture [J]. Mod Food Sci Technol, 2023, 39(7): 246–254. [3] 杨喆,陈秋生,张强,等. 不同品种桑葚与桑叶中氨基酸含量差异研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4534–4538.
 - YANG Z, CHEN QS, ZHANG Q, et al. Difference of amino acid content between mulberry and mulberry leaves of different varieties [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(17): 4534–4538.
- [4] 邹颖, 余元善, 邹波, 等. 桑葚渣多酚提取物冻干粉的制备及稳定性分析[J]. 食品科学, 2021, 42(1): 73-78.

 ZOU Y, YU YS, ZOU B, *et al.* Preparation and stability of freeze-dried polyphenol extracted from mulberry juice processing residues [J]. Food

Sci, 2024, 42(1): 73-78.

- [5] ALEVA A, MIHOK E, PECSENYE B, et al. Phytoconstituent profiles associated with relevant antioxidant potential and variable nutritive effects of the olive, sweet almond, and black mulberry gernmotherapy extracts [J]. Antioxidants, 2023, 12(9): 1717.
- [6] ABDEL-KHALEK HH, MATTAR ZA. Biological activities of egyptian grape and mulberry by-products and their potential use as natural sources of food additives and nutraceuticals foods [J]. J Food Meas Charact, 2022, 16(2): 1559–1571.
- [7] IQBAL I, WILAIRATANA P, SAQIB F, et al. Plant polyphenols and their potential benefits on cardiovascular health: A review [J]. Molecules, 2023, 28(17): 6403.
- [8] BIÉ J, SEPODES B, FERNANDES PCB, et al. Polyphenols in health and disease: Gut microbiota, bioaccessibility, and bioavailability [J]. Compounds, 2023, 3(1): 40–72.
- [9] VIVARELLI S, COSTA C, TEODORO M, et al. Polyphenols: A route from bioavailability to bioactivity addressing potential health benefits to tackle human chronic diseases [J]. Arch Toxicol, 2023, 97(1): 3–38.
- [10] ROSZKOWSKI S. Application of polyphenols and flavonoids in oncological therapy [J]. Molecules, 2023, 28(10): 4080.
- [11] YU MH, TSAI MC, WANG CC, et al. Mulberry leaf polyphenol extract and rutin induces autophagy regulated by p53 in human hepatoma HepG2 cells [J]. Pharmaceuticals-Base, 2021, 14(12): 1310.
- [12] CHEN CP, CHAN KC, HO HH, et al. Mulberry polyphenol extracts

- attenuated senescence through inhibition of Ras/ERK via promoting Ras degradation in VSMC [J]. Int J Med Sci, 2022, 19(1): 89.
- [13] RISI W, PANHAO D, XIXIANG S, et al. Evaluation of different black mulberry fruits (Morus nigra L.) based on phenolic compounds and antioxidant activity [J]. Foods, 2022, 11(9): 1252.
- [14] MUSTAFA AM, ANGELONI S, ABOUELENEIN D, et al. A new HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of 36 polyphenols in blueberry, strawberry and their commercial products and determination of antioxidant activity [J]. Food Chem, 2022, 367: 130743.
- [15] LI Y, HE Z, SHAO N, et al. Establishment of multivariate digital high performance liquid chromatography fingerprints of fruit juice essence and its flavor quality evaluation [J]. Microchem J, 2024. DOI: 10.1016/j.microc.2024.110402
- [16] CHAPEL S, ROUVIÈRE F, GUILLARME D, et al. Reversed HILIC gradient: A powerful strategy for on-line comprehensive 2D-LC [J]. Molecules, 2023, 28(9): 3907.
- [17] MONTERO L, HERRERO M. Two-dimensional liquid chromatography approaches for food authenticity [J]. Curr Opin Food Sci, 2023. DOI: 10.1016/j.cofs.2023.101041
- [18] MARTÍN-POZO L, ARENA K, CACCIOLA F, et al. Development and validation of a multi-class analysis of pesticides in corn products by comprehensive two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2023, 1701: 464064.
- [19] HÖHME L, FISCHER C, KLEINSCHMIDT T. Characterization of bitter peptides in casein hydrolysates using comprehensive two-dimensional liquid chromatography [J]. Food Chem, 2023, 404: 134527.
- [20] KUHNE F, HEINRICH K, WINTER M, *et al.* Identification of hetero-aggregates in antibody co-formulations by multi-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2023, 95(4): 2203–2212.
- [21] 田东,朱栋梁,徐志强,等. 二维液相色谱分离及鉴定滁菊中的多酚类 化合物[J]. 分析测试学报, 2015, 34(8): 917–922. TIAN D, ZHU DL, XU ZQ, et al. Eparation and characterization of phenolic compounds in chuju by two-dimensional hydrophilic interaction/reversed phase liquid chromatography coupled to diode array detection [J]. J Instrum Anal, 2015, 34(8): 917–922.
- [22] 刘恺迪, 方婷. 天然功能性饮品加工及对健康的影响[J]. 食品安全导刊, 2022, (36): 115–118.

 LIU KD, FANG T. Processing of natural functional drinks and their effects of health [J]. Chin Food Saf Magaz, 2022, (36): 115–118.
- [23] 崔琛, 张宸瑞, 李莎, 等. 桑葚活性物质及其加工利用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(3): 208–213.
 CUI C, ZHANG CR, LI S, et al. Research progress in the active substances and its processing and utilization of mulberry [J]. Food Res Dev, 2023, 44(3): 208–213.
- [24] SENTKOWSKA A, BIESAGA M, PYRZYNSKA K. Effects of the operation parameters on HILIC separation of flavonoids on zwitterionic column [J]. Talanta, 2013, 115: 284–290.
- [25] 吕芳, 李卫萍, 田朝霞, 等. 木犀草素通过调控 AMPK/SIRT3 通路改善慢性心力衰竭大鼠心脏功能及心肌纤维化的研究[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(5): 407–415.
 - LV F, LI WP, TIAN ZX, et al. Luteolin improves heart function and alleviates myocardial fibrosis of rats with chronic heart failure by

- regulating AMPK/SIRT3 pathway [J]. Chin J Immunol, 2022, 38(5): 407–415.
- [26] 刘彬, 龙军, 司良毅. 木犀草素通过激活 SIRT1 减轻脓毒性心脏损伤[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(21): 2165–2173.
 - LIU B, LONG J, SI LY. Luteolin alleviates sepsis-induced cardiac injury by activating SIRT1 [J]. J Army Med Univ, 2022, 44(21): 2165–2173.
- [27] 汤胜尧, 胡珉华, 周若愚, 等. 木犀草素对骨缺损成骨修复的作用及机制研究[J]. 中国药房, 2023, 34(7): 807-813.
 - TANG SX, HU MH, ZHOU RY, et al. Study on the effects and mechanism of luteolin on osteogenic repair of bone defects [J]. China Pharm, 2023, 34(7): 807–813.
- [28] 张春霞. 不同水平绿原酸对犊牛生长性能、血清生化指标及免疫功能的影响[J]. 饲料研究, 2022, 45(16): 10–13.
 - ZHANG CX. Effect of different levels of chlorogenic acid on growth performance, serum biochemical indexes and immunity function of calves [J]. Feed Res, 2022, 45(16): 10–13.
- [29] 扶佳欢,高铭坤,李鹏,等. 日粮中添加绿原酸增强复合益生菌对肉鸡肠道健康的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2023, 59(1): 208-216.
 - FU JH, GAO MK, LI P, et al. Dietary chlorogenic acid enhances the beneficial effects of compound probiotics on intestinal health of broilers [J]. Chin J Anim Sci, 2023, 59(1): 208–216.
- [30] 李颖畅, 朱永丽, 崔蕾, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对微波加热海 鲈鱼鱼片消化特性的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(12): 29-36. LI YC, ZHU YL, CUI L, *et al.* Effect of epigallocatechin gallate on

- digestive properties of sea bass fillets by microwave heating [J]. J Chin Food Sci, 2023, 23(12): 29–36.
- [31] 马曹秀, 赵汉玺, 李晓琳, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯防治III期乳 腺癌患者放射性皮肤损伤的临床回顾性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2023, 30(20): 1230–1235.

MA CX, ZHAO HX, LI XL, *et al.* Clinical retrospective study of epigallocatechin gallate on radiation-induced skin injury in patients with stage III breast cancer [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2023, 30(20): 1230–1235.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



贺增洋,博士,工程师,主要研究方向 为香精香料和烟草多用途利用。

E-mail: hezy@mail.ustc.edu.cn



孙丽莉,博士,工程师,主要研究方向 为烟草化学及香精香料。

E-mail: 18756997517@126.com