

# 定量核磁共振法测定山楂提取物中的原花青素

崔同<sup>1</sup>, 陈剑桥<sup>1</sup>, 王晓科<sup>2</sup>, 王荣芳<sup>1</sup>, 李喜悦<sup>1</sup>, 安小楠<sup>1</sup>, 崔璨<sup>1</sup>, 高哲<sup>1</sup>

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000)

(2. 河北大学药物化学与分子诊断重点实验室, 河北保定 071000)

**摘要:** 建立了定量核磁共振法测定山楂提取物中原花青素含量及聚合度的分析方法。以邻苯二甲酸氢钾为内标, 氘代二甲基亚砜为溶剂进行<sup>1</sup>H-NMR谱图分析。根据内标质量 $W_R$ 、样品质量 $W_D$ 、内标物H-4、H-5的吸收峰面积 $A_R$ ( $\delta$  7.529)、原花青素分子的H-6、H-8吸收峰面积 $A_{6,8}$ ( $\delta$  5.787, 5.702)以及末端表儿茶素单元H-4e的峰面积 $A_e$ ( $\delta$  2.362), 按公式 $N = A_{6,8}/A_e - 1$ 计算不同批次制备的山楂提取物中原花青素的平均聚合度, 按公式 $C = (144N + 1)A_{6,8}W_R/51(N + 1)A_RW_D \times 100\%$ 计算不同批次制备的山楂提取物中原花青素的含量。方法评价结果表明: 原花青素在0.4~24 mg/mL范围内线性关系良好( $r=0.9996$ ), 加标回收率为104.6%。采用开发的方法对不同批次制备的山楂提取物中原花青素的含量及其聚合度进行了测定, 其含量分别为42.1%和44.2%, 平均聚合度为3.0和3.4。

**关键词:** 定量核磁共振; 山楂提取物; 原花青素; 平均聚合度

文章编号: 1673-9078(2015)6-279-283

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.6.044

## Determination of Procyanidins in Extracts of Chinese Hawthorn Fruits by Quantitative <sup>1</sup>H-NMR

CUI Tong<sup>1</sup>, CHEN Jian-qiao<sup>1</sup>, WANG Xiao-ke<sup>2</sup>, WANG Rong-fang<sup>1</sup>, LI Xi-yue<sup>1</sup>, AN Xiao-nan<sup>1</sup>, CUI Can<sup>1</sup>, GAO Zhe<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Agriculture University of Hebei, Baoding 071000, China)

(2. Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Molecular Diagnosis, Hebei University, Baoding 071000, China)

**Abstract:** An analytical method to determine the content and the mean degree of polymerization (mDP) of the procyanidins in Chinese hawthorn extract was developed using quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry (qNMR). <sup>1</sup>H-NMR spectra were recorded using DMSO-*d*<sub>6</sub> (dimethyl sulfoxide-*d*<sub>6</sub>) as the solvent and potassium biphthalate as the internal standard. According to the weight of the internal standard  $W_R$ , the weight of sample  $W_D$ , the absorption peak area  $A_R$  ( $\delta$  7.529) of H-4 and H-5 from the internal standard, the absorption peak area  $A_{6,8}$  ( $\delta$  5.787, 5.702) of H-6 and H-8 from procyanidins, and the peak area  $A_e$  ( $\delta$  2.362) of H-4e at the end of the epicatechin unit, the mDP and content of the procyanidins in hawthorn extracts prepared from different batches were calculated based on the equations  $N = A_{6,8}/A_e - 1$  and  $C = (144N + 1)A_{6,8}W_R/51(N + 1)A_RW_D \times 100\%$ , respectively. The results showed that there was a good linearity ( $r = 0.9996$ ) within the range of 0.4~24 mg/mL and the average recovery was 104.6%. This method was applied to determine the content and mDP of procyanidins in hawthorn extract samples from two batches. The contents were 42.1% and 44.2% respectively; and the mDP values were 3.0 and 3.4, respectively.

**Key words:** quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry; hawthorn extract; procyanidins; mean degree of polymerization

原花青素 (procyanidins, PC) 是一类以黄烷-3-醇为主要结构单元的缩合多酚类化合物。通常是由表儿茶素及儿茶素通过 4→8 位或 4→6 位的碳-碳键连接, 生成聚合度不同、空间结构十分复杂的混合物。

收稿日期: 2014-09-12

基金项目: 河北省自然科学基金 (G2015204187); 国家自然科学基金项目 (31071494); 河北省自然科学基金项目 (G2011204093)

作者简介: 崔同 (1956-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然提取物活性成分分析

通讯作者: 高哲 (1979-), 男, 博士, 研究方向: 天然提取物活性成分分析

聚合程度较低的PC (简称OPC) 已经实现了较充分的商业开发和应用。然而由于PC组成和结构的复杂性, 其在相关产品中的组成、含量和平均聚合度的准确表征始终是困扰市场的一个技术难题, 至今一直没有实现令人满意的解决<sup>[1]</sup>。目前测定PC含量的方法主要有分光光度法和HPLC法。分光光度法<sup>[2-3]</sup>根据PC自身或经显色后的紫外吸收特性, 以某种对照品为参比进行定量分析, 它虽然能给出样品中PC总含量的信息, 但由于不同PC成分的显色能力存在差异, 样品中的共存杂质也会对显色反应产生干扰, 使分析结果存在一定

系统误差;而HPLC色谱法<sup>[4-5]</sup>虽然具有良好的分离性能,能对样品中的主要PC成分进行分离和分别定量,但由于PC的组成太过复杂,事实上不可能在一次进样中对所有的PC成分进行准确定量,而且受PC成分对照品种类所限,HPLC法并不适合用来测定样品中PC成分的总含量。

以往的核磁共振法(NMR)主要用于化合物的结构分析,近年来NMR仪器的分辨率逐渐提高,定量NMR(QNMR)的应用逐渐受到关注,这种方法的优点在于:它以被测成分的特征氢核的共振吸收信号为目标进行分析,分析结果非常直观且准确性很好;其次,它无需被测物质标准品,所以很适合用于象OPC这样具有“类”特征的物质的定量分析;此外,这种方法还具有操作简便、分析速度快等特点。近年来QNMR法已经成为成品药物、原料药的分析和质量控制领域的一个新热点,一些新方法已经获准成为美国、欧盟等地区的检测标准方法<sup>[6-7]</sup>。但食品分析领域这种方法还少有报道,而针对PC的QNMR分析方法则尚未见任何报道。

山楂(*Crataegus pinnatifida* Bge. Var. major N. E. Br.)是我国特有的药食兼用品种。我们的前期研究结果表明,山楂果实中含有丰富的PC类保健活性成分,而且其平均聚合度较葡萄籽OPC的聚合度更低,是食物PC的重要资源<sup>[8]</sup>,可以用来生产具有抗氧化、抗辐射、抑制血小板凝聚、促进毛发生长等一系列重要作用的保健食品原料<sup>[9-11]</sup>。本文以山楂提取物中PC为试验材料,通过<sup>1</sup>H-NMR分析,建立一种基于QNMR分析PC的质量评价方法,可为核磁共振用于食品分析领域提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

原花青素 B2、表儿茶素标准品购于美国 Sigma 公司;氘代二甲基亚砷(DMSO-d<sub>6</sub>)、重水、氘代甲醇、氘代丙酮由北京博雅大科技开发公司生产;基准试剂级邻苯二甲酸氢钾,纯度 99.95%,由天津市科密欧化学试剂有限公司生产;间苯三甲酸,纯度 99.99%,购于阿拉丁试剂公司;其它试剂均为国产分析纯。

山楂 PC 提取物的制备:将鲜山楂去籽后切片,室温(18~25 °C)下用 95% (V/V)乙醇以料:液比=1:3 的比例浸提 12 h,收集提取液,残渣再用 70%乙醇以料:液比=1:2 的比例浸提 2 次,合并浸提液减压浓缩回收溶剂,残余的水相经 HPD826 大孔树脂吸附,回收 40%乙醇洗脱液,浓缩后再经真空冷冻干燥,制得红

棕色粉末,为山楂提取物样品 1。重复以上制备方法,制得山楂 PC 提取物为样品 2。

### 1.2 仪器

核磁共振仪, Bruker 公司生产, Avance III 600 MHz 型;核磁管 5 mm, 青岛腾龙微波科技有限公司生产;TB-215D 微量分析天平,感量 0.01 mg,德国赛多利斯股份有限公司生产。

### 1.3 <sup>1</sup>H-NMR 分析

用微量天平精密称取内标物邻苯二甲酸氢钾约 10 mg (W<sub>R</sub>)、固体样品约 40 mg (W<sub>S</sub>),加入 DMSO-d<sub>6</sub> 为溶剂 1 mL 使其充分溶解,转移到核磁管中进行 <sup>1</sup>H 谱 NMR 分析。检测条件:5 mm BBO 探头,600.192 MHz,谱宽为 12335.5 Hz,脉冲宽度为 13 μs,采样时间为 17 s,延迟时间为 6 s,采样次数为 16 次。

对所得谱图中内标物分子上 H-4、H-5(δ 值 7.529)的共振吸收峰面积进行积分,得到内标峰面积 A<sub>R</sub>。然后对图中 PC 分子中各黄烷醇单元 A 环上的 H-6 和 H-8 共振吸收峰(δ 值 5.787)(δ 值 5.702)分别进行面积积分,得到 A<sub>6,8</sub>。最后再对 PC 分子末端 EC 单元 C 环的 4-位平伏键上氢核(δ 值 2.362)的峰面积进行积分,得到 A<sub>e</sub>。

### 1.4 PC 含量及平均聚合度的计算

将 1.3 所得 A<sub>6,8</sub>、A<sub>e</sub> 代入式(1)计算样品中 PC 的平均聚合度 N:

$$N = A_{6,8} / A_e - 1 \quad (1)$$

再将 A<sub>R</sub>、A<sub>6,8</sub> 以及由上式求出的平均聚合度 N 代入式(2)计算样品中 PC 的含量 C:

$$C = (144N + 1)A_{6,8}W_R / 51(N + 1)A_RW_D \times 100\% \quad (2)$$

注: N 为样品中 PC 的平均聚合度; A<sub>6,8</sub> 为 PC 分子中 6-位和 8-位质子的共振峰总面积; A<sub>e</sub> 为 PC 分子末端表儿茶素单元 C 环的 4-位平伏键上氢核的峰面积; C 为样品中 PC 的含量(g/100 g); A<sub>R</sub> 为内标物邻苯二甲酸氢钾分子中 4-位和 5-位质子的共振峰总面积; W<sub>R</sub> 为称量的内标物质量/g; W<sub>D</sub> 为称量的样品质量/g。

## 2 结果与讨论

### 2.1 溶剂的选择

PC 属于具有一定极性的多酚类有机化合物,因此在选择溶剂时既要保证样品中的 PC 成分以及所加内标化合物能够充分溶解,又要避免溶剂峰对样品分析的干扰。本实验针对核磁共振常用溶剂重水、氘代甲醇、

氘代丙酮以及DMSO-d<sub>6</sub>分别进行试验,结果样品在重水和氘代丙酮中溶解性不是很好,在氘代甲醇中虽能溶解但溶剂峰(化学位移在3.31 ppm和残余溶剂水峰在4.87 ppm)对目标质子峰的分析有干扰,而DMSO-d<sub>6</sub>的残余水峰(位移在3.33 ppm)能与样品质子峰很好的分离,因此采用DMSO-d<sub>6</sub>作为溶剂。

## 2.2 PC 定量分析氢核的选择

山楂 PC 的结构单元是表儿茶素,在表儿茶素分子中,除了5个羟基上的活泼氢不宜用作定量分析之外,共有9个可做为定量分析的备选质子。按1.3所述NMR分析步骤,首先对表儿茶素做<sup>1</sup>H谱分析,各质子的化学位移分别为:NMR δ<sub>H</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>): 6.880 (H-2'), 6.669 (H-5'), 6.660 (H-6'), 5.892 (H-6), 5.729 (H-8), 4.800 (H-2), 4.008 (H-3), 2.682 (H-4a), 2.480 (H-4e)。

对山楂 PC 样品中含量同样很高,且具有代表性的 PC B2 (结构见图1)也进行了<sup>1</sup>H-NMR分析,结果如图2所示。

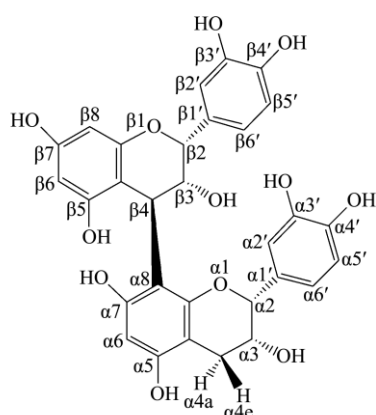


图1 原花青素 B2 结构式

Fig.1 Structure of procyanidin B2

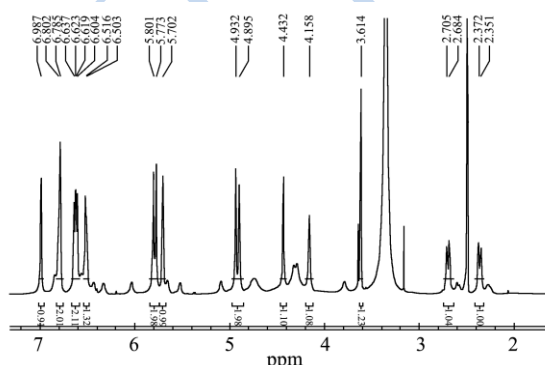


图2 原花青素 B2 <sup>1</sup>H-NMR 谱图的氢归属

Fig.2 <sup>1</sup>H-NMR spectral assignments of procyanidin B2

由图2可以看出,两个单元B环上的6氢其δ值分布在6.503~6.985之间,说明表儿茶素单元聚合之

后对这些质子的化学环境产生了影响,而这种影响在实际样品分析时会对峰的认识辨认造成一定困难,此外,山楂提取物中常含有槲皮素类黄酮,这些成分B环上的氢的化学位移通常也可能会出现在这个区域而造成干扰,因此B环上的3个氢不宜作为定量分析的最合适目标。表儿茶素的C环上共有4个被选氢,其中H-2的δ值在4.800,由图2可以看到聚合之后的PC B2分子中的两个H-2的δ值变化不大,因此它可以作为定量分析的目标质子之一。表儿茶素C环上H-3的δ值在4.008左右,而由图2可以看到,聚合后的PC B2分子中两个H-3的δ值发生了变化,尤其上端单元,由于4号碳上结构的改变,使得H-3的δ值已经移到了4.4。因此H-3不宜作为定量分析的目标质子。表儿茶素C环上的两个H-4其δ值本应该在2.4~2.7之间,但从图2可以看到,聚合的PC B2分子中,下边的末端单元上两个H-α4的δ值变化不大,但上端单元的H-β4发生了显著变化,由于聚合成键的原因,其中一个H-4已经被C-C键取代,而剩下的另一个H-4的δ值移到了3.6左右,因此H-4也不适合作为定量分析的目标质子。尽管如此,它仍有个重要的用途,由于每个PC分子中只有一个末端单元,而且它的H-4位移没有发生明显变化,因此可以用它来表征样品中PC分子的数量,以此作分母,以样品中表儿茶素结构单元的总数量为分子,这样即可求出样品中PC混合物的平均聚合度。从图2可以看到H-4e的位置离溶剂干扰峰更远些,因此以它作为分析PC混合物平均聚合度的目标质子。表儿茶素A环上有H-6和H-8两个氢,其δ值分别在5.892和5.729。而从图2可以看到聚合后的PC B2分子中,A环上氢的δ值没有发生明显的变化,仍出现在5.67~5.96,只是由于聚合的缘故,下边单元的H-8被C-C键取代,因此面积相当于3个质子的吸收,此区间的其他干扰峰不多,因此H-6和H-8可以作为定量分析的目标质子之一。

## 2.3 内标化合物的选择

内标法是QNMR分析最常用的方法,这种绝对含量测量方法仅需对样品和内标物进行准确称重,然后用氘代溶剂溶解并直接进行NMR光谱测定,再对待测物及内标物指定基团上质子的共振峰面积进行积分,代入公式即可求得目标成分的含量<sup>[9]</sup>。在选择内标化合物的时候,应该确保内标物与待测样品的吸收峰两者互不干扰。由图2可知,原花青素样品的<sup>1</sup>H-NMR图中,在化学位移值7~8 ppm之间有一个空白区,是羧基取代苯类化合物的典型吸收范围。本试



验选择邻苯二甲酸氢钾和间苯三甲酸进行测定, 其<sup>1</sup>H-NMR 结果见图 3, 由图 3 可知, 间苯三甲酸的三个芳环氢等效合并为一个单峰, 虽然这很便于进行面积积分和定量分析, 但是由于 δ 值为 8.682 (3H, H-2、H-4、H-6), 与 PC 分子中的一些活泼氢的化学位移重叠, 因此不便选用; 而邻苯二甲酸氢钾的两组峰 δ 值分别为 7.529 (2H, H-4、H-5) 和 8.204 (2H, H-3、H-6), 这两组峰 (尤其是前者) 很适合做 PC 分析的内标, 加之邻苯二甲酸氢钾是一种很容易获得的定量分析基准试剂, 因此本试验以它作为定量分析的内标物。

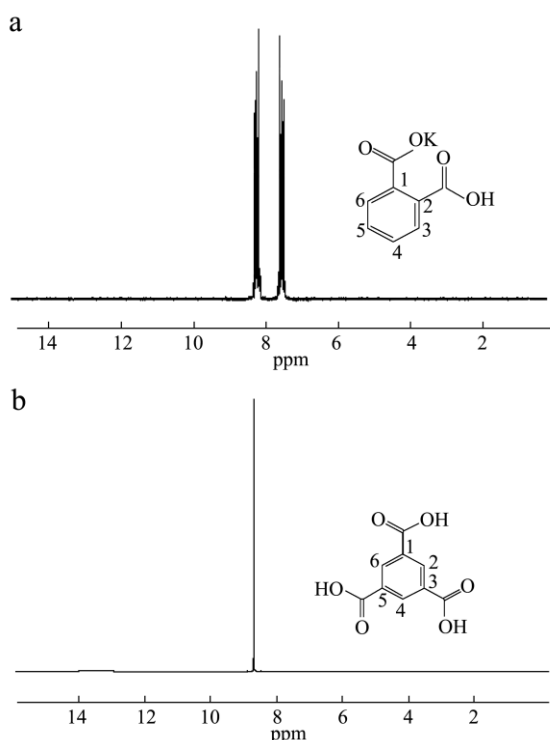


图 3 内标物邻苯二甲酸氢钾 (a) 和间苯三甲酸 (b) 的<sup>1</sup>H-NMR 谱

Fig.3 <sup>1</sup>H-NMR spectra of potassium biphthalate (a) and trimesic acid (b)

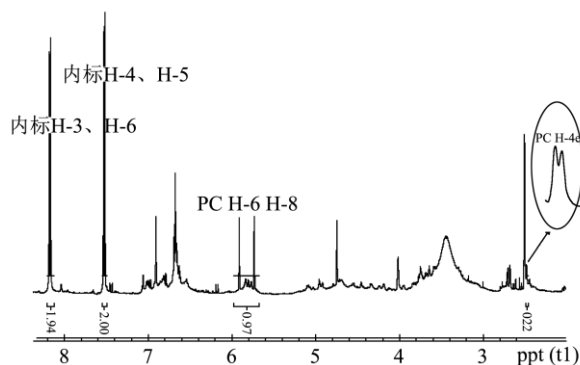


图 4 添加邻苯二甲酸的样品<sup>1</sup>H-NMR 谱图

Fig.4 <sup>1</sup>H-NMR spectrum of potassium biphthalate in samples  
按 1.3 所述方法称取内标物和山楂 PC 提取物样

品, 以氘代 DMSO 溶解后进行<sup>1</sup>H-NMR 分析, 结果如图 4 所示, 由图可以看到, 内标峰周围没有出现其他的较明显的干扰成分, PC 定量分析的目标峰周围也比较干净, 表明定量分析条件良好。

## 2.4 定量分析计算公式的推导

根据溶液中所有氢核的吸收强度均等的原理, 有  $A_R / M_{HR} = A_S / M_{HS}$  (式中  $A_R$ : 内标化合物被测氢核的积分面积;  $M_{HR}$ : 内标化合物被测氢核的摩尔数;  $A_S$ : 样品分子的被测氢核的积分面积;  $M_{HS}$ : 样品分子的被测氢核的摩尔数)。等式左边内标物的计算比较简单直观, 将称量的内标物质量  $W_R(g)$ 、被测氢核的数量 (2)、以及内标物分子量 (204) 代入之后, 算式变成  $102A_R / W_R$ 。等式的右边反映的是样品中 PC 成分的被测氢核的情况, 由于 PC 并不是纯化合物所以情况比较复杂, 在计算时可以先将 PC 混合物看作是由平均聚合度为  $N$  的 PC 纯品来对待。样品峰面积  $A_S$  以 PC 各分子中全部 H-6 与 H-8 氢核的共振吸收  $A_{6,8}$  计算。对于一个聚合度为  $n$  的 PC 分子来说, 其分子中共有  $n+1$  个 H-6 和 H-8 氢核, 因此, 平均每个 PC 分子的被测质子数为  $N+1$ 。PC 分子的摩尔数由样品重量  $W_D$  / 平均分子量计算, 考虑到 PC 分子每增加 1 个质量为 290 的表儿茶素单元时会失去 2 个质量单位, 因此 PC 混合物的平均分子量  $m_{pc} = 290N - 2(N-1)$ 。最后, 考虑到实际样品中 PC 成分的纯度  $C(\%)$ , 算式的分母部分表达为:  $M_{HS} = (N+1)C \times W_D / (290N - 2(N-1))$ , 经过整理之后, PC 含量的计算公式化简为 1.3 中所述的式 (2)。

## 2.5 方法的回归方程、线性范围及检出限

以山楂中含量最高的 PC 成分 B2 为样品, 按上述 1.3 操作方法进行测定, 以评价方法的灵敏度和线性范围, 求出的线性回归方程、相关系数、线性范围以及最低检出限 (以 3 倍信噪比所对应的检测样品质量求得) 结果列于表 1。

表 1 原花青素 B2 的标准曲线、相关系数和最低检出限

Table 1 Standard curve, correlation coefficient, and minimum detection limit of procyanidin B2

成分	回归方程	相关系数	线性范围 /mg	最低检出限/mg
PC B2	$Y = 0.4796X - 0.0147$	0.9996	0.375~24	0.04

## 2.6 方法的加标回收率

以 PC B2 为对照品, 通过加标回收率法对方法的准确度进行了评估。加标水平为 3.2 mg, 平行 5 份,

按 1.3 分析条件操作,并计算样品中 PC 含量,计算每份样品的加标回收率,并统计结果。结果表明,PC B2 的平均回收率为 104.61%,相对标准偏差为 4.83%。

## 2.7 实际样品分析

按 1.3 所述方法对本研究室制备的不同批次的两份山楂 PC 提取物(制备的方法见 1.1)进行测定,代入 1.3 中的公式计算样品中 PC 含量及平均聚合度,结果列于表 2。表 2 可知,山楂粗提取物中 PC 的含量在 40%以上,其平均聚合度在 3 附近。采用 QNMR 法所测定的结果,PC 含量略高于此前采用 HPLC 法的结果<sup>[10]</sup>,这主要因为 HPLC 法受标准品种类所限,只能测定有限几种含量较高的 PC 成分,而 QNMR 法则不受此限制,样品中的所有表儿茶素单元都可以给出相应的共振吸收贡献,因此准确度更高。另一方面,采用这种方法求得的 PC 平均聚合度同样也比 HPLC 法略高<sup>[10]</sup>,这主要是因为采用 HPLC 法所测定的 PC 成分主要包括一些低聚合度的成分,而那些聚合度较高的成分常混合在一起很难清晰分离和鉴定,因此所得结果就会偏低。

表 2 山楂提取物中原花青素的含量和聚合度

Table 2 Content and mDP of procyanidins in hawthorn extracts

样品编号	PC 聚合度	PC 含量/%
1	3.0	44.2
2	3.4	42.1

定量核磁共振这种分析方法具有操作简便、分析速度快、结果准确等优点,已有将其用于维生素 C 片剂<sup>[12]</sup>、果汁中的糖类和柠檬酸<sup>[13-14]</sup>、很适合应用在一些具有“类”特征的复杂聚合物的分析,如马铃薯的淀粉<sup>[15]</sup>等。但与合成药物相比,食品样品中的成分通常会更为复杂,例如本试验的对象 PC 提取物,其中所含的杂质会对吸收峰面积的截取产生干扰,从而使分析结果的 RSD 扩大,因此建议尽量采用分辨率较高的 NMR 仪器。此外,受 NMR 灵敏度较低的影响,这种方法一般不适于微量、痕量组分的分析。本文建立了一种山楂 PC 提取物的 QNMR 分析方法,然而更广泛的食物 PC 样品的应用效果有待进一步尝试和评价。

## 3 结论

本研究开发了一种测定山楂提取物中 PC 的含量及其平均聚合度的 QNMR 法,它具有准确、快速、操作简便、无需 PC 标准品等特点,可用于山楂提取物中 PC 含量分析和质量控制。

## 参考文献

- [1] 肖付才,李华,王华.葡萄籽原花青素的提取和检测方法[J].食品研究与开发,2007,28(6):165-169  
XIAO Fu-cai, LI Hua, WANG Hua. Extraction and determination methods proanthocyan from grape seed [J]. Food Research and Development, 2007, 28(6):165-169
- [2] Bate-Smith E C. Phytochemistry of proanthocyanidins [J]. Phytochemistry, 1975, 14: 1107-1113
- [3] Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolic substances with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagents [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, 16: 144-158
- [4] 侯栋.山楂原花青素的制备纯化、分析及其稳定性研究[D].河北:河北农业大学,2012  
HOU Dong. Preparation and analysis of procyanidins in hawthorn and studies on their stability [D]. HEBEI: College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, 2012
- [5] Li Y, Li H L, Cui T. Thiolytic-HPLC analysis of proanthocyanidins in health foods and their materials [J]. Frontiers of Agriculture in China, 2010, 4(3): 334-340
- [6] The United States Pharmacopeial Convention. USP31 /NF26. Baltimore: Port City Press, 2008: 298-304, 1423-1424
- [7] European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia: 6thed. strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2008:54-55, 2706
- [8] Cui T, Li J Z, Kayahara H, et al. Quantification of the polyphenols and triterpene acids in Chinese hawthorn fruit by high-performance liquid chromatographic [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2006, 54: 4574-4581
- [9] Castillo J, Benavente-Garc O, Lorente J, et al. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced *in vivo* by X-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2000, 48: 1738-1745
- [10] Pignatelli P, Pulcinelli F M, Celestini A, et al. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 72: 1150-1155
- [11] Kamimura A, Takahashi T, Waranabe Y. Investigation of topical application of procyanidin B2 from apple to identify its potential use as a hair growing agent [J]. Phytomedicine, 2000, 7: 529-536

- [12] 陈春丽,田兰,马晓丽,等.核磁共振内标法测定维生素 C 片中维生素 C 的含量[J].中国药房,2010,21(32):3063-3065  
CHEN Chun-li, TIAN Lan, MA Xiao-li, et al. Quantitation determination of vitamin C tablets by proton nuclear magnetic resonance with internal standard method [J]. China pharmacy, 2010, 21(32): 3063-3065
- [13] 阎政礼,杨明生.核磁共振法同时测定桔子原汁中主要糖类和柠檬酸[J].食品工业科技,2010,31(8):353-357  
YAN Zheng-li, YANG Ming-sheng. Determination of major sugars and citric acid in raw orange juice were by nuclear magnetic resonance at the same time [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(8): 353-357
- [14] 阎政礼,杨明生,冯志明.苹果原汁中葡萄糖、果糖和蔗糖 NMR 定量分析[J].湖南师范大学学报(医学版),2011,8(1): 86-89  
YAN Zheng-li, YANG Ming-sheng, FENG Zhi-ming. Quantitative analysis of glucose, fructose and sucrose in the raw juice of apple by Nuclear magnetic resonance [J]. Journal of Hunan Normal University(Medical Science), 2011, 8(1): 86-89
- [15] 刘延奇,吴史博,毛自荐.马铃薯淀粉双螺旋结构定量分析方法的研究[J].中国粮油学报,2010,25(2):54-61  
LIU Yan-qi, WU Shi-bo, MAO Zi-jian. Estimating double-helical conformation in potato starch granules [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010, 25(2): 54-61