

去皮苦杏仁粕中苦杏仁苷的提取与鉴定综合 实验教学项目创新设计

林洁玲, 梁晓棠, 陈佳珊, 朱峰*, 邓水权, 余学耀, 李君, 苏淑梅

佛山科学技术学院, 环境与化学工程学院, 佛山市活性天然产物与功能化学品工程技术研究中心,
广东 佛山

收稿日期: 2021年11月2日; 录用日期: 2021年12月6日; 发布日期: 2021年12月13日

摘要

为了使实验教学跟科研和工业生产相结合, 创新设计了从去皮苦杏仁粕中提取苦杏仁苷并进行结构鉴定综合实验教学项目。通过无水乙醇提取去皮苦杏仁粕中的苦杏仁苷, 联合运用紫外光谱、高效液相色谱和核磁共振氢谱等现代光谱技术对产品进行结构鉴定, 引导学生思考天然产物提取纯化 - 分子结构 - 光谱特征三者之间的关系。实验结果表明, 该实验不仅有利于激发学生实验兴趣, 提高学生动手能力, 培养学生创新思维, 而且还可以使学生熟悉相关仪器设备的使用, 并提高大型仪器设备的使用效率。

关键词

去皮苦杏仁粕, 苦杏仁苷, 腈苷, 提取, 结构鉴定

Innovative Design of Comprehensive Experimental Teaching Project on Extraction and Identification of Amygdalin from Peeled Bitter Almond Meal

Jieling Lin, Xiaotang Liang, Jiashan Chen, Feng Zhu*, Shuiquan Deng, Xueyao Yu, Jun Li,
Shumei Su

Foshan City Engineering & Technology Research Center for Bioactive Natural Products & Functional Chemicals,
School of Environment & Chemical Engineering, Foshan University, Foshan Guangdong

Received: Nov. 2nd, 2021; accepted: Dec. 6th, 2021; published: Dec. 13th, 2021

*通讯作者。

文章引用: 林洁玲, 梁晓棠, 陈佳珊, 朱峰, 邓水权, 余学耀, 李君, 苏淑梅. 去皮苦杏仁粕中苦杏仁苷的提取与鉴定综合实验教学项目创新设计[J]. 创新教育研究, 2021, 9(6): 1702-1709. DOI: 10.12677/ces.2021.96284

Abstract

In order to combine experimental teaching with scientific research and industrial production, a comprehensive experimental teaching project is innovatively designed on extraction and identification of amygdalin from peeled bitter almond meal. Amygdalin is extracted from peeled bitter almond meal by anhydrous ethanol and identified by means of modern spectroscopy technologies such as UV, HPLC and ^1H NMR, which can inspire students to think about the relationship between purification, molecular structure and spectral characteristics of natural product. The results show that the experiment is not only conducive to stimulate students' experimental interest, improve students' practical ability, cultivate students' innovative thinking, but also can familiarize students with the use of relevant instruments and equipment, and improve the use efficiency of large instruments and equipment.

Keywords

Peeled Bitter Almond Meal, Amygdalin, Nitrile Glycoside, Extraction, Structure Identification

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

科技成果不仅要转化为实际生产, 还要促进实验教学的发展。开发出与科研和生产相结合的新实验项目, 不仅可以激发学生实验兴趣, 还可锻炼学生动手能力, 更能培养学生创新思维。药食两用苦杏仁是蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim.、西伯利亚杏 *Prunus sibirica* L.、东北杏 *Prunus mandshurica* (Maxim.) Koehne 或杏 *Prunus armeniaca* L. 的干燥成熟种子[1], 盛产于我国华北、东北和西北。根据《神农本草经》记载, 苦杏仁性苦, 微温, 有小毒, 具有止咳平喘、润肠通便的功效。《本草纲目》记载苦杏仁能祛风寒、止咳、治疗哮喘、消肿通气、解燥气。近年来研究发现苦杏仁不仅具有显著的止咳、祛痰作用[2], 还对高血压、冠心病、动脉硬化、高血脂等疾病也具有良好的预防和辅助治疗作用[3]。研究发现, 其主要有效成分是苦杏仁苷。自 1803 年 Schrader 发现苦杏仁苷, 到 1830 年 Robiquet 从苦杏仁中分离出苦杏仁苷以来[4], 人们便一直致力于苦杏仁中苦杏仁苷的开发及其提取工艺[5], 发展了水提法、醇提法、超声波辅助和微波辅助提取等方法, 并通过单因素实验、正交实验、响应面法等优化提取工艺参数[5]-[10]。目前乙醇提取法已应用于苦杏仁苷的工业生产, 并且已有食用苦杏仁苷产品上市。因此适时地将苦杏仁苷的提取技术设计开发成适合教学的综合实验项目, 与时俱进地更新实验教学内容, 可以为《有机化学实验》课程中糖苷类天然物提取提供更多实验项目选择。本实验根据化学实验教学特点, 在前人已报道相关研究工作基础上, 改进其不利于实验教学的工艺步骤, 增加现代仪器操作, 提高大型仪器设备使用效率。

2. 实验部分

2.1. 实验目的

掌握有机溶剂提取法从去皮苦杏仁粕中提取苦杏仁苷的原理和方法; 掌握重结晶法纯化苦杏仁苷的

原理和方法；掌握天然产物结构鉴定技术。

2.2. 实验原理

苦杏仁苷(amygdalin)又名扁桃苷、苦杏仁甙、维生素 B17，是分子中含有腈基的腈苷类化合物，具有镇咳平喘、抗炎镇痛、降血脂等作用，是传统中药苦杏仁的有效成分，含量达 2%~4%，广泛存在于蔷薇科植物(杏、桃、李子、苹果、山渣等)的果仁中[9] [11]。

苦杏仁苷在美国化学文摘社(CAS)的登录号为 29883-15-6，分子式为 $C_{20}H_{27}O_{11}N$ ，分子量 457.43，分子结构式如图 1 所示。熔点为 $223^{\circ}C \sim 226^{\circ}C$ 。苦杏仁苷在水中溶解度较大，为 83 g/L ($25^{\circ}C$)。易溶于沸乙醇(1 g 能溶于 11 mL 沸乙醇)而在冷乙醇中溶解性较差(1 g 溶于 900 mL 冷乙醇)，难溶或不溶于乙醚、石油醚、苯、二硫化碳等有机溶剂。

苦杏仁苷不稳定，易被分解。根据不同水解条件产生不同产物[5] [12]。用苦杏仁酶(苦杏仁酶 amygdalase 和樱叶酶 prunase 等的混合酶)水解时先得到野樱皮甙，继续用其它方法水解时才能得到杏仁腈苷元，图 2。若用稀硫酸水解，则生成两分子葡萄糖、氢氰酸和苯甲醛。而用浓盐酸水解则产生两分子葡萄糖、氢氰酸和杏仁酸。

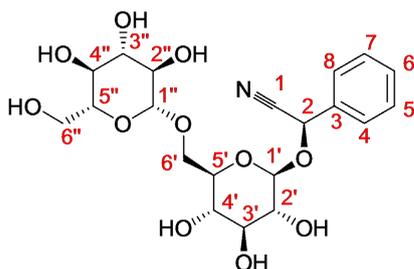


Figure 1. Structure of amygdalin (The Arabic numbers are the carbon atomic numbers)

图 1. 苦杏仁苷的分子结构式(阿拉伯数字是碳原子编号)

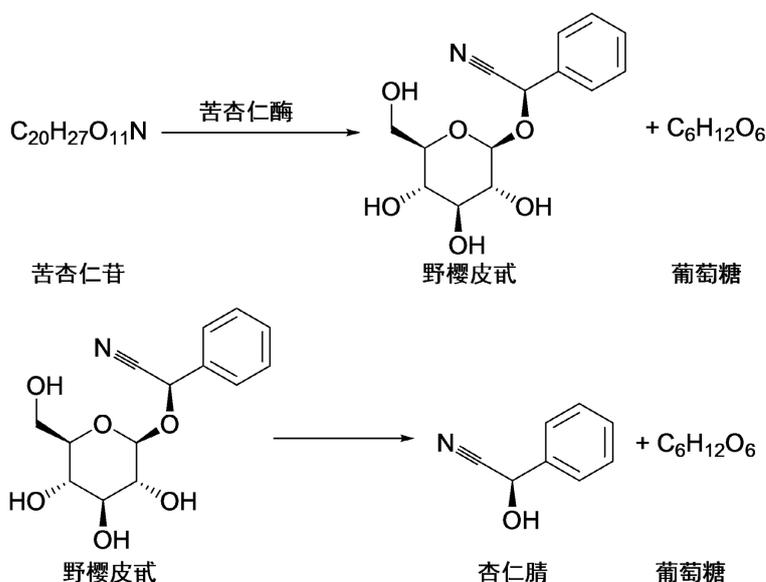


Figure 2. Enzymatic reaction of amygdalin

图 2. 苦杏仁苷的酶解反应

2.3. 仪器与试剂

苦杏仁苷提取主要用到仪器设备有: JJ 500 型电子天平(0.01 g, 常熟市双杰测试仪器厂), MX9 小型榨油机(家和美榨油机工厂), 101-0A 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司), DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海力辰邦西科技有限公司), RV8 真空旋转蒸发仪(德国 IKA 公司)。苦杏仁苷结构鉴定主要用到仪器设备有: X4 型显微熔点测定仪(上海精密科学仪器有限公司), UV2600 紫外可见分光光度计(日本岛津公司), LC3000 高压液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司), EFT-60 无液氦核磁共振波谱仪(美国 ANASAZI 公司), Ascend™ 400 核磁共振波谱仪(德国 BRUKER 公司)。

试剂: 苦杏仁苷标准品(HPLC \geq 98%, 中原植提标准品经销中心), 无水乙醇(分析纯, 汕头市光华化学厂), 乙醚(分析纯, 广东西陇化工有限公司), 甲醇(色谱纯, 上海麦克林生化科技有限公司), 超纯水(自制)。

材料: 去皮苦杏仁是购自河北安国诚信药业有限公司的初级农产品。

2.4. 实验内容设计

2.4.1. 苦杏仁苷提取

灭酶: 将去皮苦杏仁置于 80℃ 烘箱中, 灭酶 1 h。

脱脂: 将灭酶后去皮苦杏仁用家用榨油机压榨除去油脂, 得到去皮苦杏仁粕和苦杏仁油。

提取: 称取去皮苦杏仁粕 10.00 g, 用研钵研成粉末后, 置于 250 mL 磨口锥形瓶中, 加入 100 mL 无水乙醇, 放入磁力搅拌子, 安装到集热式磁力搅拌器中, 套上球形冷凝管, 接通冷却水, 在 85℃ 水浴搅拌回流提取 30 min, 趁热抽滤, 得乙醇提取液。滤渣再重复提取一次。两次滤液合并, 于 60℃ 真空旋转蒸发回收大部分乙醇, 浓缩至 20~30 mL。

析晶: 将浓缩液转移至 100 mL 锥形瓶, 加入等体积石油醚, 摇晃或搅拌均匀, 塞上塞子, 室温静置 30~60 min, 析出大量白色晶体, 吸滤除去母液, 固体再用少量冷无水乙醇洗涤一次, 于 105℃ 烘干, 得到苦杏仁苷产品, 称重, 计算提取率。

2.4.2. 苦杏仁苷结构鉴定

熔点测定: 用尖嘴镊子取微量实验产品, 置于一盖玻片中央, 盖上另一盖玻片, 压碎, 用 X4-型显微熔点测定仪测定熔点。另取微量实验产品和苦杏仁苷标准品混合, 按同法测定熔点。

紫外吸收光谱分析: 取适量实验产品, 用蒸馏水溶解后, 装入 1 cm 石英比色皿, 另取一石英比色皿装入蒸馏水作为参比, 用紫外可见分光光度计分析, 扫描范围 185~400 nm。

高效液相色谱分析: 取适量苦杏仁苷标准品和实验产品, 分别用甲醇-水(35:65, v/v)溶解, 针头过滤器过滤, 分别得到标准品样液和实验品样液, 用高效液相色谱仪分析。色谱分析条件: Ultimate XB 型 C18 液相色谱柱(10 mm \times 250 mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇-水(35:65, v/v), 流速: 2 mL/min, 进样量: 2 mL。

^1H NMR 谱分析: 取 20 mg 实验产品装入核磁管, 用 0.5 mL 含四甲基硅烷(TMS)的氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6)溶解, 用核磁共振波谱仪分析。

3. 结果与讨论

3.1. 苦杏仁苷提取

苦杏仁苷不稳定, 可被同存于植物中的苦杏仁酶分解生成苷元杏仁腈和葡萄糖[13], 因此, 苦杏仁破碎前需要进行灭酶处理[14]。可以将苦杏仁用沸乙醇或沸水加热灭酶, 但操作繁琐并会损失有效成分。本实验采用烘箱 80℃ 高温灭酶, 操作简易方便。

灭酶后的苦杏仁中含有大量的油脂,会影响提取效率和产品纯度,因此提取前需要先进行脱脂处理。脱脂常用乙醚或石油醚加热回流萃取[10] [14],时间耗时较长。也有的研究[6]不脱脂处理,直接提取,产品再用乙醚或石油醚除油。本实验采用压榨法脱脂,先得到苦杏仁油和去皮苦杏仁粕,再从去皮苦杏仁粕中提取苦杏仁苷。为了节省教学时间,去皮苦杏仁高温灭酶和压榨脱脂步骤可以在实验前由实验教师提前完成,准备好去皮苦杏仁粕作为实验材料供学生实验用。

有研究表明,用水提取苦杏仁苷,提取液中蛋白质和其它杂质比较多[5] [9],易发霉变质,且后处理困难[6] [14],特别是苦杏仁苷在水中易异构化[13]。因此,大多数研究都选用乙醇为提取剂。苦杏仁苷易溶于沸乙醇,但在冷乙醇中的溶解度较小,易于结晶析出。

根据多个研究小组[6] [7] [8] [9] [10]对苦杏仁苷提取工艺的研究可知,苦杏仁苷提取率受到提取次数、提取温度、提取时间、料液比等因素的影响。研究表明,提取温度越高,提取率越大[7]。但加热温度越高,能耗越大。又因为乙醇的沸点为 78°C ,即使继续增加温度,也无非是使沸腾更加剧烈,反而使得不安全因素增加。所以多个研究组[6] [8] [9] [10]都直接用 $80^{\circ}\text{C}\sim 90^{\circ}\text{C}$ 为提取温度,而不考察提取温度的影响。研究[6] [7]还表明,苦杏仁苷提取率一开始随着提取时间和料液比的增加而升高,但当提取总时间达到 60 min ,料液比达到 $1:10$ 之后,提取率变化不大。提取次数越多,一开始提取率越大,但随着提取次数增多,时间和成本都相应增加,故以提取2次为宜[6] [8]。因此,根据前人研究结果[6] [7] [8] [9] [10],综合考虑各因素的影响,本实验确定适合教学开展的苦杏仁苷提取工艺参数为:料液比为 $1:10$,提取2次(每次 30 min ,提取总时间为 60 min),用水浴 85°C 搅拌回流提取。

乙醇提取液浓缩后的体积和析晶时间对产品收率和纯度有较大影响。吴美兰[6]研究了乙醇提取浓缩液中溶剂量和结晶时间对产品收率和纯度的影响,发现剩余溶剂量越大,得到产品越纯,但收率相应降低,而结晶时间越长,产品纯度越低。得到最佳纯化工艺是每克脱脂苦杏仁粕原料剩余溶剂量为 1.5 mL ,静置结晶 24 h ,可以获得最大收率,产品纯度接近 70% 。产品再用20倍的无水乙醇重结晶三次,产品纯度可达 98% 以上。邓康颖等[8]的研究结果则是重结晶时,用苦杏仁苷粗品30倍的无水乙醇加热溶解,静置 24 h ,可以获得纯度接近 70% 的苦杏仁苷产品,继续用30倍的无水乙醇重结晶三次纯度提高到 98% 以上。综合分析文献[6] [7] [8]研究结果,将乙醇提取液浓缩至原料样品的 $20\sim 30$ 倍是适宜的,但结晶时间过长,不利于实验教学。分析表明,影响苦杏仁苷析晶时间和产品纯度的主要原因可能是乙醇提取液浓缩后的体积和浓缩液中含有的鞣质和压榨未除净的脂类等杂质。为了加快晶体析出时间,提高实验产品纯度,适合实验教学的开展,本实验研究发现将乙醇提取液浓缩至 $20\sim 30\text{ mL}$ (去皮苦杏仁粕样品的 $2\sim 3$ 倍),在乙醇提取液浓缩液中加入 5% 乙醚,搅拌均匀后室温静置 $30\sim 60\text{ min}$,便可得到 $1.54 \pm 0.08\text{ g}$ 苦杏仁苷产品,提取率达 $15.40\% \pm 0.80\%$ (按 10.00 g 去皮苦杏仁粕计算)。产品不需要重结晶,只需要用冷乙醇洗涤一次,纯度便达到 96.00% 以上,完全可以满足实验教学的需要。

3.2. 苦杏仁苷结构鉴定

3.2.1. 熔点测定

测得实验产品的熔点为 $220^{\circ}\text{C}\sim 223^{\circ}\text{C}$,与苦杏仁苷文献值[6]基本一致。另外,实验产品与苦杏仁苷标准品混合后熔点不下降,初步证明本实验产品为苦杏仁苷。

3.2.2. 紫外吸收光谱分析

苦杏仁苷高效液相色谱检测中,有文献[6] [15]采用药典规定的检测波长 207 nm 。但也有文献采用 263 nm [16] [17]、 215 nm [8] [9] [10]、 210 nm [18] [19]和 208 nm [20]为检测波长。分析本实验产品的紫外吸收光谱图(图3)可知,本实验产品最大吸收波长分别在 194 nm 、 208 nm 和 262 nm 。因此,本实验选用 208 nm 为高效液相色谱检测波长。

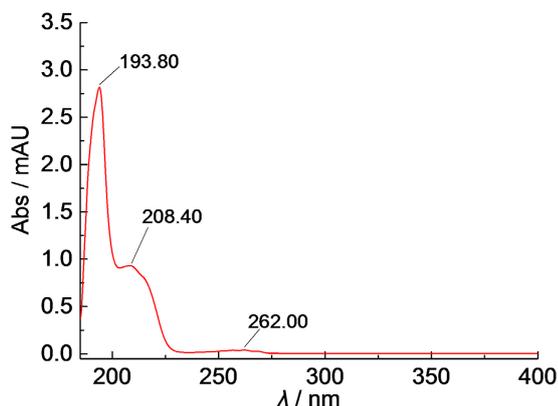


Figure 3. UV spectrogram of the experimental products
图 3. 实验产品的紫外吸收光谱图

3.2.3. 高效液相色谱分析

本实验在相同色谱条件下测得苦杏仁苷标准品和本实验产品的液相色谱图如图 4。高效液相色谱分析表明,本实验产品和苦杏仁苷标准品的保留时间基本相同,分别在 14.309 min (标准品,图 4(a))和 13.998 min (实验产品,图 4(b)),进一步证明本实验产品是苦杏仁苷。将色谱峰进行归一化处理,得到各色谱峰的面积,从而计算得到实验产品中苦杏仁苷面积百分比含量为 96.78%。

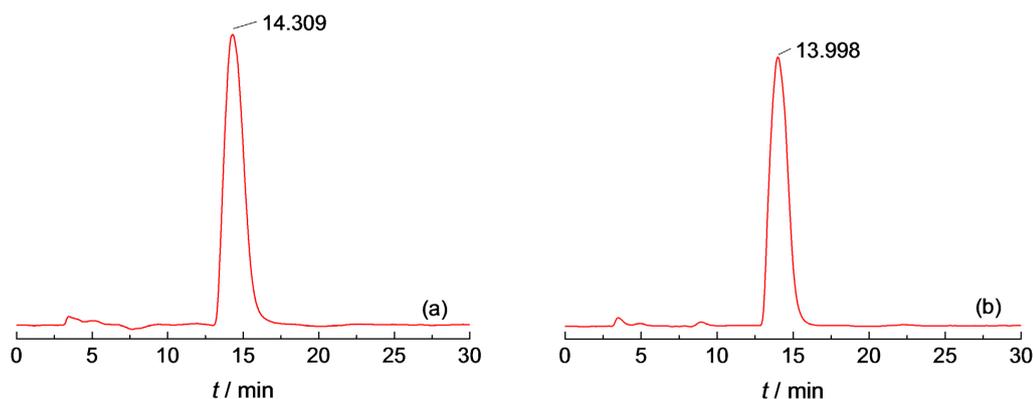


Figure 4. HPLC of amygdalin standard (a) and experimental product (b)
图 4. 苦杏仁苷标准品 (a) 和实验产品 (b) 的高效液相色谱图

3.2.4. ^1H NMR 波谱分析

有研究[21][22]证明,用 D_2O 溶解苦杏仁苷得到的氢谱不会显示活泼羟基质子特征峰,而用 $\text{DMSO}-d_6$ 溶解苦杏仁苷得到的氢谱则会出现明显的活泼羟基质子信号。本实验用 $\text{DMSO}-d_6$ 溶解实验产品,分别用 60 MHz 和 400 MHz 核磁共振波谱仪测得其 ^1H NMR 谱图如图 5。从谱图可以看出,仪器频率越大,质子裂分信息越丰富,分辨率越高。比如,苯环上的三种芳香质子,在 60 MHz 氢谱中没有完全裂分,显示 1 个宽单峰,而在 400 MHz 氢谱中,则裂分出 3 组信号。氢谱中均出现了明显的苦杏仁苷活泼羟基质子信号,而且给出了杂质信号峰,表明实验产品并不纯,但不影响对特征峰进行辨认和归属。通过仔细对比苦杏仁苷文献氢谱图[21][22]和化学位移数据[22][23][24],可对图 5(a)信号进行归属。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 7.58 (2H, dd, $J = 8, 4$ Hz, H-4, 8), 7.48 (2H, m, H-5, 7), 7.47 (1H, m, H-6), 5.99 (1H, s, H-2), 4.42 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-1'), 4.25 (1H, d, $J = 4$ Hz, H-1''), 4.08~2.95 (12H, m, H-2'~6' 和 H-2''~6''), 4.48 (1H,

t, $J = 4$ Hz, OH-6''), 5.35~4.85 (6H, OH-2'~4'和 OH-2''~4'')。结果表明, 实验产品的氢谱特征峰与文献[24]中用 DMSO- d_6 为溶剂在 400 MHz 测得的苦杏仁苷氢谱数据一致, 进一步证明本实验产品为苦杏仁苷。

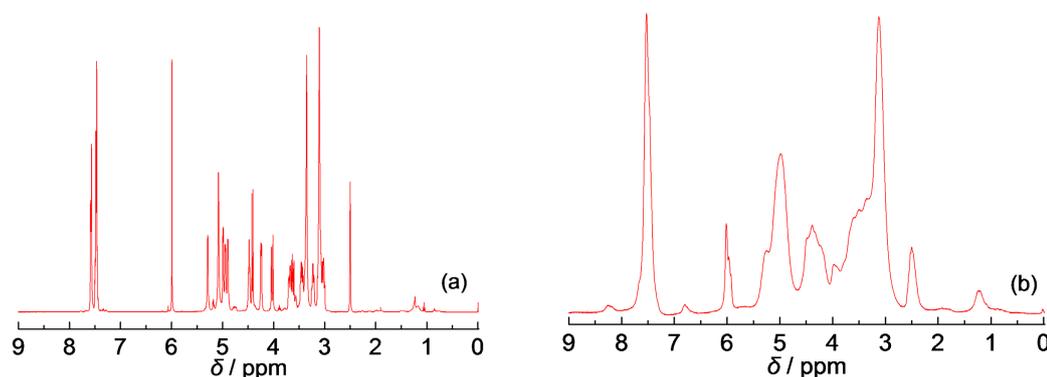


Figure 5. ^1H NMR spectrum of the experimental products

图 5. 实验产品的 ^1H NMR 谱图: (a) 400 MHz, DMSO- d_6 , (b) 60 MHz, DMSO- d_6

4. 结论

本实验确定并验证苦杏仁粕中苦杏仁苷的乙醇提取工艺条件为: 料液比 1:10, 提取温度 85℃, 提取 2 次, 每次提取时间 30 min。苦杏仁苷析晶工艺条件为: 乙醇提取液合并浓缩至样品 2~3 倍体积后, 在浓缩液中加入 5% 乙醚, 室温静置 30~60 min 析晶, 可以得到纯度高于 96% 的实验产品, 提取率 15.40%。实验产品经与标准品的熔点和液相色谱对比分析, 进一步通过 ^1H NMR 谱鉴定为苦杏仁苷。

本实验结合科研和生产, 理论与实践相结合, 通过改进苦杏仁苷提取关键实验步骤, 综合运用大型仪器设备进行产品鉴定, 将苦杏仁苷的提取与鉴定设计成新的实验项目, 对提高仪器设备使用效率和高校高素质人才培养具有重要实践意义。

基金项目

本工作得到广东省教育厅大学生创新创业训练计划项目(S202111847052)资助。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 张金艳, 何萍, 李贻奎. 苦杏仁、桔梗及二者配伍止咳、祛痰作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 173-175.
- [3] Sanaka, M., Yamamoto, T., Anjiki, H., Nagasawa, K. and Kuyama, Y. (2007) Effects of Agar and Pectin on Gastric Emptying and Post-Prandial Glycaemic Profiles in Healthy Human Volunteers. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*, **34**, 1151-1155. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04706.x>
- [4] Makarevića, J., Tsaour, I., Juengel, E., Borgmann, H., Nlesonb, K., Thomasa, C., Bartscha, G. and Haferkamp, A. (2016) Amygdalin Delays Cell Cycle Progression and Blocks Growth of Prostate Cancer Cells *in Vitro*. *Life Sciences*, **147**, 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.039>
- [5] 张清安, 姚建莉. 苦杏仁资源加工与综合利用研究进展[J]. 中国农业科学, 2019, 52(19): 3430-3447.
- [6] 吴美兰. 苦杏仁苷提取精制工艺研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江工业大学, 2016.
- [7] 权美平. 苦杏仁苷乙醇提取工艺参数优化[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 260-261.
- [8] 邓康颖, 谭晓梅, 罗佳波. 一种苦杏仁苷提取物的制备方法[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(10): 2172-2174.
- [9] 王秀娟, 王春雷, 詹冬玲. 杏仁中苦杏仁苷的提取分离纯化[J]. 粮油加工, 2010(10): 132-135.
- [10] 阎肖波, 苏宝根, 杨亦文, 任其龙. 纯苦杏仁苷的制备[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(3): 165-167.

- [11] 邢国秀, 李楠, 杨美燕, 崔丽钧, 王童. 天然苦杏仁苷的研究进展[J]. 中成药, 2003, 25(12): 61-63.
- [12] 段帅, 吴晓彤, 李博. 苦杏仁苷的结构及其降解过程的研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 233-237.
- [13] Koo, J.Y., Hwang, E.Y., Cho, S., Lee, J.H. and Hong, S.P. (2005) Quantitative Determination of Amygdalin Epimers from *Armeniaca* Semen by Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography B*, **814**, 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.10.019>
- [14] 聂鲁, 丁永萍, 程春萍, 郭玉玮. 苦杏仁苷的研究进展[J]. 阴山学刊, 2012, 26(4): 27-30.
- [15] 陈健, 向鹏宇, 李洪斌, 刘前林. 桑菊感冒冲剂中苦杏仁苷含量测定方法研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(47): 87-89.
- [16] 沙明, 曹爱民, 姜丽, 孟淑智. 高效液相色谱法测定苦杏仁中苦杏仁苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(6): 397-398.
- [17] 吴迪, 王建中, 赵云霞, 王慧强. 苦杏仁苷几种测定方法的比较研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(2): 184-185.
- [18] 张瑾, 聂诗明. 高效液相色谱法测定蜜枇杷叶苦杏仁苷含量[J]. 湖北中医药大学学报, 2016, 18(2): 32-34.
- [19] 云琦, 马小华, 高晓黎, 周建平. 新疆桃仁中苦杏仁苷含量测定新方法研究[J]. 中国药品标准, 2013, 14(6): 433-436.
- [20] 白万富, 石松利, 周红兵, 张媛. 不同产地蒙古扁桃仁中苦杏仁苷的含量比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(3): 315-317.
- [21] Turczan, J.W. and Medwick, T. (1979) Nuclear Magnetic Resonance Studies of Cyanogenetic Glycosides: Spectra of Amygdalin and Neoamygdalin in DMSO- d_6 and D_2O ; Epimerization Studies; Predicted Laetrile Spectrum. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **62**, 190-196. <https://doi.org/10.1093/jaoac/62.1.190>
- [22] Ribeiro, A.A. (1990) 1H and ^{13}C NMR Analysis of D-Amygdalin: Oligosaccharide Assignment and Sequencing. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **28**, 765-773. <https://doi.org/10.1002/mrc.1260280907>
- [23] Lu, Y. and Foo, L.Y. (1998) Constitution of Some Chemical Components of Apple Seed. *Food Chemistry*, **61**, 29-33. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00123-4)
- [24] Yan, J., Tong, S., Li, J. and Lou, J. (2006) Preparative Isolation and Purification of Amygdalin from *Prunus armeniaca* L. with High Recovery by High-Speed Counter Current Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **29**, 1271-1279. <https://doi.org/10.1080/10826070600598985>