

低共熔溶剂提取桂花黄酮的工艺优化

都宏霞¹, 缪领珍^{1,2}, 胡梓恒¹, 严忠杰¹

(1. 南京科技职业学院化学与材料工程学院, 江苏南京 210048) (2. 东南大学成贤学院, 江苏南京 210088)

摘要: 为了探索一种高效、环保的桂花黄酮提取方法, 本文设计并制备了 6 种低共熔溶剂, 通过比较醇提、冻融、超声波及微波四种技术, 确定了超声波辅助-低共熔溶剂的提取工艺。通过单因素试验考察液料比、摩尔比、含水量、超声功率以及超声时间对桂花黄酮提取量的影响。在单因素的基础上, 采用响应面法对提取工艺进一步优化。结果表明: 桂花黄酮最优提取工艺为超声波辅助-三元低共熔溶剂提取(氯化胆碱/山梨醇/1,2-丙二醇); 最佳工艺条件为: 液料比 60:1 (mL/g), 氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇=2:1:4, 含水量 62 mol, 超声波功率 150 W, 超声时间 16 min, 在此条件下提取量达到了 10.06 mg/g, 比传统醇提法提高了 8.93 mg/g, 证实超声波辅助-绿色低共熔溶剂技术提取桂花黄酮的高效性。实验结果与响应面模型预测值接近, 证实模型的有效性。本研究为低共熔溶剂在天然产物绿色提取方面的应用提供参考。

关键词: 桂花; 黄酮; 低共熔溶剂; 提取; 优化

文章编号: 1673-9078(2021)05-203-211

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.5.1003

Optimizing the Extraction of Flavonoids from *Osmanthus fragrans* Using Deep Eutectic Solvents

DU Hong-xia¹, MIAO Ling-zhen^{1,2}, HU Zi-heng¹, YAN Zhong-jie¹

(1. Nanjing Polytechnic Institute School of Chemistry and Materials Engineering, Nanjing 210048, China)

(2. Chengxian College, Southeast University, Nanjing 210088, China)

Abstract: Six kinds of deep eutectic solvents were designed and prepared, and four extraction techniques, namely, ethanol extraction, freeze-thaw extraction, ultrasonic extraction, and microwave extraction were compared to develop an efficient and environmentally friendly method for extracting flavonoids from *Osmanthus fragrans*. Ultrasound-assisted extraction using deep eutectic solvents was determined to be the optimal method. The effects of molar ratio of solvents, liquid-to-raw material ratio, water content, ultrasonic power, and extraction time on the yield of flavonoids were investigated through single-factor tests. Based on the results, response surface curves were drawn to obtain the optimal conditions for flavonoid extraction from *Osmanthus fragrans*. Optimal extraction can be achieved by ultrasound-assisted extraction using a ternary deep eutectic solvent (choline chloride/sorbitol/1,2-propanediol) under the following conditions: liquid-to-raw material ratio, 60:1 (mL/g); choline chloride-to-sorbitol-to-1,2-propanediol ratio, 2:1:4 (mol/mol/mol); water content, 62 mol; ultrasonic power, 150 W; and extraction time, 16 min. Under these conditions, the maximum yield of total flavonoids reaches 10.06 mg/g, which is 8.93 mg/g higher than that achieved using the traditional ethanol extraction method. This proves that ultrasound-assisted extraction using an environmentally friendly deep eutectic solvent is highly efficient. The good agreement between the experimental results and the proposed response surface model indicated the effectiveness of the model. The findings of this study provide a reference for the future utilization of deep eutectic solvents for green extraction from natural products.

Key words: *Osmanthus fragrans*; flavonoids; deep eutectic solvent; extraction; optimization

引文格式:

都宏霞, 缪领珍, 胡梓恒, 等. 低共熔溶剂提取桂花黄酮的工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(5): 203-211

DU Hong-xia, MIAO Ling-zhen, HU Zi-heng, et al. Optimizing the extraction of flavonoids from *Osmanthus fragrans* using deep eutectic solvents [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(5): 203-211

收稿日期: 2020-10-30

基金项目: 江苏省高校优秀科技创新团队项目 (2017-31); 南京科技职业学院科研课题 (NHKY-2020-05)

作者简介: 都宏霞 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物提取及水处理

桂花 (*Osmantus fragrans*), 又名木犀、岩桂、金粟、九里香等, 系木犀科常绿灌木或小乔木, 属珍贵的芳香型观赏植物。味辛, 可入药; 芳香, 可用于食品、化妆品; 清雅高洁, 香飘四溢, 《本草纲目》中早有记载, 在我国广泛种植, 深受人们喜爱。桂花中含有黄酮、多糖、多酚、精油等多种生物活性成分及抗氧化、降血脂、抗衰老、护肝、抑菌等多种活性功效^[1-11]。研究表明, 作为主要活性成分的桂花黄酮 (Flavonoids of *Osmantus fragrans*, FOFs) 具有抗氧化、抗炎、提高机体免疫力多种活性功能。目前, 针对 FOFs 的提取方法主要是回流、酶提、微波、超声波, 但溶剂都采用传统的有机溶剂, 对环境十分不友好^[3-5]。因此, 探索一种绿色、高效的新提取技术十分必要。

低共熔溶剂 (Deep Eutectic Solvents, DESs) 由 Abbott 等人于 2003 年首次合成的一类绿色新型溶剂^[12], 一般通过两类化合物, 即氢键受体 (hydrogen-bond acceptor, HBA) 和氢键供体 (hydrogen-bond donor, HBD), 通过氢键作用而合成, 所制成的低共熔溶剂熔点低于其任一组分的熔点, 且具有高热稳定性。与传统溶剂相比, 具有绿色、低成本、低毒、低挥发、高密度、高极性、高表面张力等优良特点, 同时, 易于制备、易于存储、生物可降解、可回收, 是传统溶剂和离子液体的良好替代品, 已受到极大关注, 并在天然产物活性成分提取方面证实了明显的优势和巨大潜力^[13,14]。

本文设计并制备 6 种低共熔溶剂, 首次用于 FOFs 的提取, 并在比较了醇提、冻融、超声波和微波提取四种技术, 在单因素研究的基础上, 结合响应面法探索 FOFs 的最佳提取工艺, 旨在为进一步开发桂花资源和拓展低共熔溶剂在天然产物绿色提取方面提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桂花, 北京同仁堂药店; 芦丁标准样品, 北京恒元启天化工技术研究所; 氯化胆碱, Aladdin 公司; 三氯化铝、乙醇、醋酸钾、三乙醇胺、1,3-丁二醇、1,2-丙二醇、蔗糖、山梨醇均为分析纯。

1.2 仪器与设备

ME204E-02 型电子天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; FS-250N 型超声波提取仪, 上海生析超声仪器有限公司; TDL-50B 型低速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; 7600 型紫外分光光度计, 上海菁华科学仪器制造有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线绘制^[15,16]

准确称取芦丁标准品 5.0 mg, 用浓度为 50% 的乙醇定容至 25.0 mL。准确称取芦丁标准品 (0.2 mg/mL) 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 6 只比色管中, 分别用 5.0 mL 的 50% 乙醇, 3.0 mL 的 0.1 M $AlCl_3$ 溶液和 5.0 mL 的 1 M 醋酸钾溶液, 摇匀, 同法制成空白对照: 静置反应 40 min, 充分接触混合, 通过紫外分光光度计在波长 415 nm 处检测其吸光度值, 建立芦丁标准曲线, 测定 FOFs 的含量。

1.3.2 提取技术比较研究

准确称取桂花花粉 10 g, 通过冻融 (Freeze Thawing, FT)、醇提 (Ethanol Extraction, ET)^[17,18]、超声波提取 (Ultrasonic Extraction, UA)^[19-21]、微波提取^[22-24] (Microwave Extraction, MA) 四种技术来提取 FOFs, 提取条件详见表 1, 将提取液以转速 4000 r/min 的速度离心 10 min, 取上层清液, 过 0.45 μm 滤膜, 使用预处理后的 D101 大孔树脂上样, 吸附平衡后, 用纯水、质量浓度为 30%、50%、70%、90% 的乙醇溶液依次洗脱, 每个浓度均洗脱 3 柱体积 (BV), 流速为 1 BV/h, 收集 90% 乙醇浓度的洗脱液, 于 45 $^{\circ}C$ 旋转蒸发进行浓缩后, 再用 50% 的乙醇溶液进行稀释^[25]得到 FOFs, 根据 1.3.1 所述方法测其吸光度, 计算出 FOFs 含量。

表 1 提取条件表

Table 1 Factors of different technology

提取技术	液料比/ (mL/g)	提取时间	其他条件
FT	20:1	12 h	溶剂: 水, 冻结温度: $-20^{\circ}C$, 室温解冻
ET	20:1	12 h	乙醇体积分数: 80%
MA	20:1	60 s	溶剂: 水, 功率: 800 W
UA	20:1	60 s	溶剂: 水, 功率: 150 W

表 2 不同类型的低共熔溶剂

Table 2 Different types of DESs

组别	低共熔溶剂组分			
	HBA	HBDs	摩尔比	含水量/mol
DES-1	氯化胆碱	蔗糖	1:1	60
DES-2	氯化胆碱	山梨醇	1:1	60
DES-3	氯化胆碱	山梨醇、蔗糖	1:1:1	60
DES-4	氯化胆碱	山梨醇、1,2-丙二醇	1:1:1	60
DES-5	氯化胆碱	山梨醇、1,3-丁二醇	1:1:1	60
DES-6	氯化胆碱	山梨醇、三乙醇胺	1:1:1	60

1.3.3 DESs 的合成

参考 Abbott 的方法^[26], 设计了 6 组 DESs (见表 2), 选择氯化胆碱作为氢键受体, 分别与不同的氢键供体按一定摩尔比, 在 85 °C 水浴条件下加热搅拌, 直至溶液澄清, 冷却至室温, 分别得到 DES1-6, 备用。

1.3.4 FOFs 的提取

精确称取桂花花粉 10 g, 通过超声波辅助 DES1-6, 在超声波 150 W、液料比 20:1、时间 10 min 的条件下分别提取 FOFs。

1.3.5 FOFs 提取量的测定

$$Y(\text{mg/g}) = \frac{cVD}{m}$$

式中: Y 为 FOFs 提取量, mg/g; c 为试样的测定质量浓度, mg/mL; V 为滤液体积, mL; D 为稀释倍数; m 为原料质量, g。

1.3.6 超声波辅助 DES-4 提取 FOFs 的单因素实验

1.3.6.1 液料比对 FOFs 提取量的影响

在含水量 60 mol, 超声时间 10 min, 超声功率 150 W, 氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇=1:1:1 的条件下, 分别取液料比 20:1、30:1、40:1、50:1、60:1, 研究液料比对 FOFs 提取量的影响。

1.3.6.2 摩尔比对 FOFs 提取量的影响

在液料比 50:1, 含水量 60 mol, 超声时间 10 min, 超声功率 150 W 的条件下, 取氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇的摩尔比为 1:1:1、1:1:2、1:1:3、1:1:4、2:1:4、3:1:4 作为变量, 研究摩尔比对 FOFs 提取量的影响。

1.3.6.3 含水量对 FOFs 提取量的影响

在液料比 50:1, 超声时间 10 min, 超声功率 150 W, 氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇的摩尔比为 2:1:4 的条件下, 分别取含水量 40、50、60、70、80 mol 作为变量, 研究含水量对 FOFs 提取量的影响。

1.3.6.4 超声功率对 FOFs 提取量的影响

在液料比 50:1, 超声时间 10 min, 含水量 60 mol,

氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇的摩尔比为 2:1:4 的条件下, 分别取超声功率 30、60、90、120、150 W 作为变量, 比较超声功率对 FOFs 提取量的影响。

1.3.6.5 超声时间对 FOFs 提取量的影响

在液料比 50:1, 含水量 60 mol, 氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇的摩尔比为 2:1:4, 超声功率 150 W 的条件下, 分别取超声时间 5、10、15、20、25 min 作为变量, 比较超声时间对 FOFs 提取量的影响。

1.3.7 响应面法优化 FOFs 最优提取工艺条件

使用 Design-Expert.V 8.0.6 软件中 Box-Behnken 组合设计来探索 FOFs 最优工艺^[27-30], 在单因素实验基础上, 选择含水量、液料比和时间作为 3 因素, 每个因素选择三个对 FOFs 提取量影响较大的水平, 进行 3 因素 3 水平的响应面试验, 并以提取量作为响应值, 各因素的三个水平分别采取-1、0、1 作为编码, 如表 3。

表 3 响应面试验分析因素水平表

Table 3 Factors and levels of response surface methodology

因素	编码	水平		
		-1	0	+1
含水量/mol	A	50	60	70
液料比/(mL/g)	B	40	50	60
时间/min	C	10	15	20

1.4 数据处理

使用 Origin 8 和 Design-Expert.V 8.0.6 进行数据处理、图表制作及数据分析。

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线的结果分析

经标准曲线测定及分析, 得回归方程 $Y=32.87X+0.14$, 其系数 $R^2=0.9998$, 在测定范围内线性关系良好。

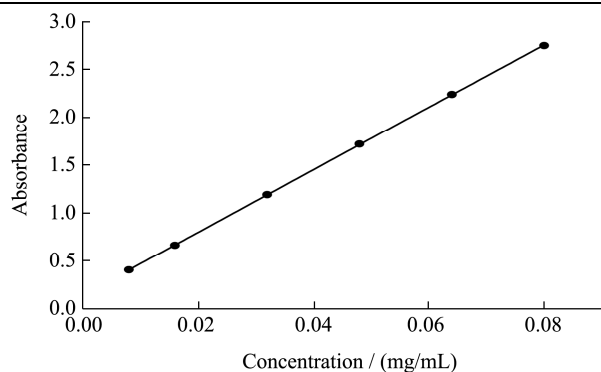


图1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve of Rutin

2.2 FOFs 提取技术比较分析

通过冻融 (FT)、醇提 (ET)、超声波(UA)、微波(MA)四种技术提取 FOFs, 如图 2 所示, 数据表明: 超声波提取>微波提取>乙醇提取>冻融提取, 最佳技术为超声波提取, 提取量为 1.65 mg/g。因此, 采用超声波辅助进行 FOFs 提取和进一步优化分析。

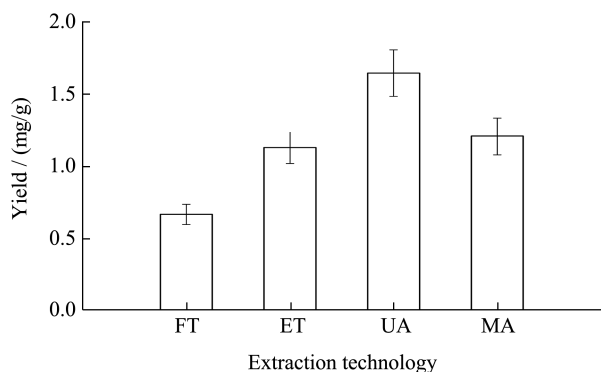


图2 FOFs 提取技术的比较

Fig.2 Comparison of different technology for extraction of FOFs

2.3 DESs 的筛选

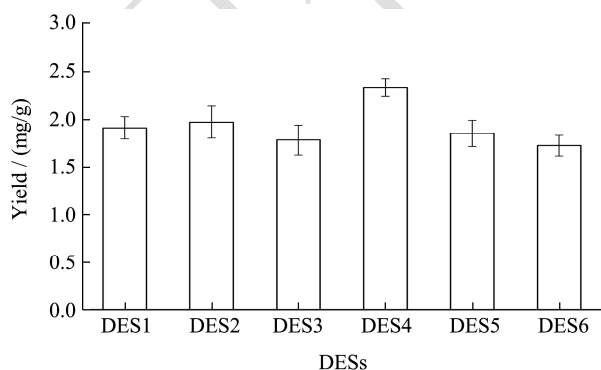


图3 DESs 的筛选

Fig.3 Comparison of different DESs

设计并制备了 6 种 DESs 提取 FOFs, 数据表明: 低共熔溶剂的提取 FOFs 的效果整体优于冻融、醇提、

超声波和微波提取技术, 其中 DES-4, 即以氯化胆碱和山梨醇和 1,2-丙二醇所构成的三元体系提取效果最好, FOFs 提取量为 2.33 mg/g, 结果见图 3。为了得到 FOFs 提取的最佳工艺条件, 本研究以超声波辅助-DES-4 (UA-DES-4) 进行进一步研究。

2.4 单因素实验

2.4.1 液料比对 FOFs 提取量的影响

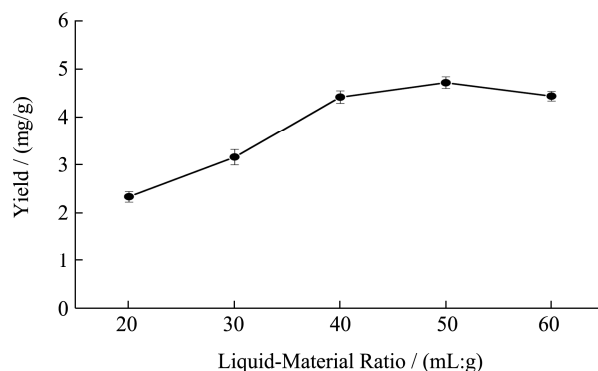


图4 液料比对 FOFs 提取量的影响

Fig.4 Effect of liquid-material ratio on extraction yield of FOFs

如图 4 所示: 当液料比在 20:1 到 50:1 区间, FOFs 提取量呈上升趋势, 之后趋于平稳。其中在 50:1 时, 提取量最高, 为 4.72 mg/g。主要原因是增加提取溶剂的体积可以增加溶剂与溶质之间的接触面积, 使溶解度升高, 促进黄酮成分的溢出, 当溶解度大到一定程度时, 会发生饱和的现象, 导致部分黄酮无法溶解, 提取量降低。

2.4.2 摩尔比对 FOFs 提取量的影响

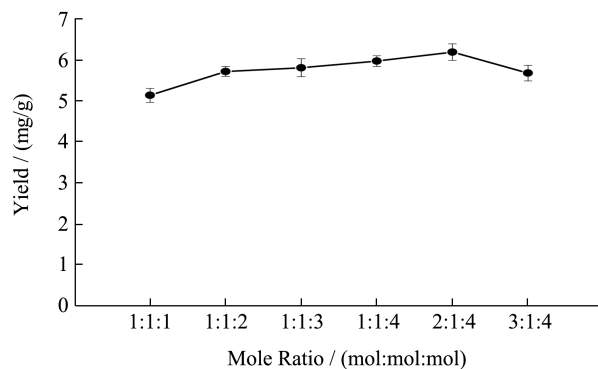


图5 摩尔比对 FOFs 提取量的影响

Fig.5 Effect of molar ratio on extraction yield of FOFs

结果如图 5 所示: FOFs 提取量随着 DES-4 体系中氯化胆碱和 1,2-丙二醇摩尔比的增加而增加, 当摩尔比为 2:1:4 时, 提取量最高, 为 6.19 mg/g。主要原因是 1,2-丙二醇摩尔比的增加有效的调节了 DES-4 体系的粘度及表面张力, 促进了黄酮物质的扩散, 提高了提取量, 而氯化胆碱的比例低会弱化黄酮物质与溶剂的相互作用。当摩尔比为 2:1:4 时, 刚好达到最佳

效果^[31]。

2.4.3 含水量对 FOFs 提取量的影响

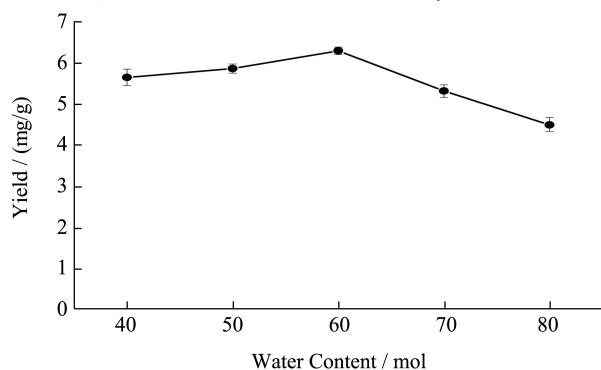


图6 含水量对 FOFs 提取量的影响

Fig.6 Effect of water content on extraction yield of FOFs

DESs 的含水量是影响提取效果的重要因素, 本研究考察了含水量 40~80 mol 对 FOFs 提取量的影响, 结果如图 6 所示: 含水量从 40 到 60 mol 时, FOFs 的提取量逐渐上升, 含水量为 60 mol 时, 提取量最高, 为 6.29 mg/g, 含水量从 60~80 mol 时, 提取量降低。主要原因随着水含量的增加, 可以明显降低 DES 的粘度, 同时调节体系极性, 有益于黄酮成分的溢出, 增加提取量, 但当含水量超过 60 mol 后, 随着极性的增加, 会引起分子间氢键的断裂, 影响提取效果^[32]。

2.4.4 超声功率对 FOFs 提取量的影响

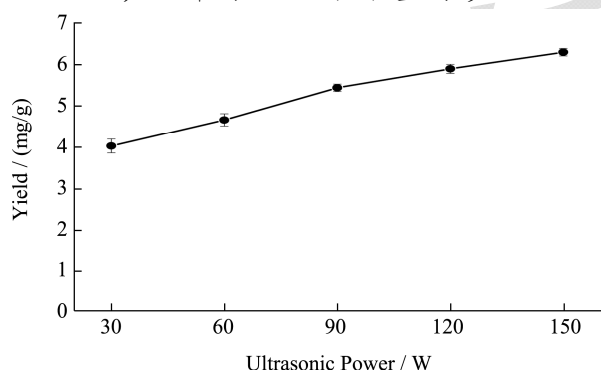


图7 超声功率对 FOFs 提取量的影响

Fig.7 Effect of ultrasonic power on extraction yield of FOFs

结果如图 7 所示: FOFs 的提取量随着超声波功率的提高而逐渐上升, 当功率为 150 W 时, 提取量最高, 为 6.29 mg/g^[20]。因为超声波会促进黄酮物质在溶剂中的分散与渗透, 增大接触面积, 促使黄酮物质的释放。因此最佳超声功率为 150 W。

2.4.5 超声时间对 FOFs 提取量的影响

结果如图 8 所示: 在 5~15 min 时 FOFs 提取量呈上升趋势, 之后有所下降, 最佳超声时间是 15 min, 此时提取量为 6.30 mg/g。这是因为时间越长, 超声波产生的能量就越大, 在溶液中所形成的空化效应就越

强, 对桂花细胞壁的破坏程度就越强, 提取量就越高。但是, 随着超声波作用时间的延长, 温度也会增加, 体系同时处于超声辐射和热效应的作用之下, 可能会产生双重降解^[33], 并且长时间的提取黄酮物质内部化学结构会发生改变, DES 与样品的相互作用变得不稳定, 影响提取效果^[34]。

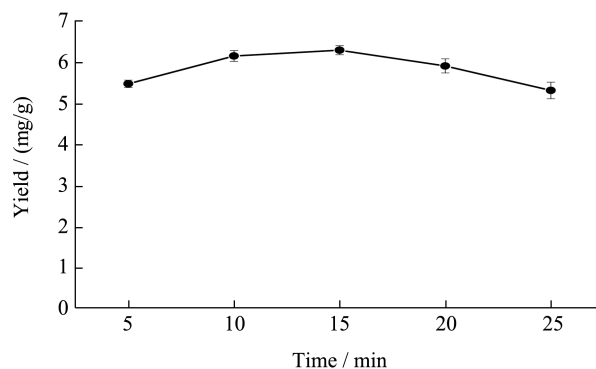


图8 超声时间对 FOFs 提取量的影响

Fig.8 Effect of extraction time on extraction yield of FOFs

2.5 响应面试验结果与优化分析

2.5.1 响应模型的建立与分析

基于单因素试验结果, 选取含水量(A)、液料比(B)和超声时间(C)三个主要因素为自变量, 以 FOFs 提取量为响应值(Y), 采用 Design-expert 软件按照 Box-Behnken 实验设计了 15 组实验, 12 组为析因点实验, 3 组为重复零点实验, 进行交叉设计实验, 结果见表 4, 方差与误差统计分析见表 5。

利用 Design-Expert 软件对实验数据进行分析, 得到二次多项回归方程:

$$R = 8.67 + 0.059A + 1.74B + 0.16C + 0.80AB + 0.020AC + 0.22BC - 1.97A^2 - 0.98B^2 - 1.38C^2$$

其中 R 为提取量, A、B 和 C 分别为对应含水量、液料比和超声时间的编码。

由表 5 的数据可知: 模型的 p 值为 0.0037, 模型极显著 ($p < 0.01$); 失拟项 p 值为 0.0712, 结果不显著 ($p > 0.05$), 表明拟合状况良好。方程决定系数 $R^2 = 0.9659$, CV 为 9.27% < 10%, 能真实的反映本模型, 可用此模型分析响应面的变化。信噪比 (Adeq Precision) 为 11.286 大于 4, 表示模型合理。

由方差 F 值可知, 各因素对提取量影响为: B (料液比) > C (超声时间) > A (含水量)。由表 5 还得知, 因素中 B、 A^2 、 C^2 的影响极显著 ($p < 0.01$), 因素 AB、 B^2 的影响显著 ($p < 0.05$), 而 A、C、AC、BC 的影响不显著, 表明该方程可适用。

表 4 响应面分析实验设计与结果

Table 4 Design and results of the response surface methodology (RSM) and Box-Behnken

试验号	因素			提取量 Y/(mg/g)
	A 含水量/mol	B 液料比/(mL/g)	C 超声时间/min	
1	-1	0	-1	4.57
2	-1	0	1	5.66
3	1	1	0	8.03
4	0	1	-1	8.22
5	-1	-1	0	5.01
6	-1	1	0	6.62
7	0	0	0	8.44
8	0	1	1	8.17
9	1	0	1	6.12
10	1	-1	0	3.23
11	0	0	0	8.76
12	0	0	0	8.82
13	0	-1	-1	4.89
14	0	-1	1	3.96
15	1	0	-1	4.95

表 5 提取量响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 5 ANOVA results of extraction rate response surface fitting regression equation

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	p	显著性
回归模型	49.27	9	5.47	15.75	0.0037	**
A	0.028	1	0.028	0.079	0.7894	
B	24.33	1	24.33	69.97	0.0004	**
C	0.20	1	0.20	0.59	0.4774	
AB	2.54	1	2.54	7.32	0.0425	*
AC	0.0016	1	0.0016	0.0046	0.9485	
BC	0.19	1	0.19	0.56	0.4891	
A ²	14.30	1	14.30	41.13	0.0014	**
B ²	3.57	1	3.57	10.26	0.0239	*
C ²	7.04	1	7.04	20.24	0.0064	**
残差	1.74	5	0.35			
失拟项	1.65	3	0.55	13.22	0.0712	
纯误差	0.083	2	0.042			
合计	51.01	14				

注: *, 差异显著, $p < 0.05$; **, 差异极显著, $p < 0.01$; $R^2 = 0.9659$, $\text{Adj } R^2 = 0.9046$, $\text{Pre } R^2 = 0.4773$ 。

2.5.2 响应面交互作用分析与优化

各因素间交互作用得到响应面曲线图。图 9~图 11 分别显示含水量、料液比、超声时间的交互作用对 FOFs 提取量的影响结果。曲线走势越陡, 表明该因素影响越显著; 曲线走势越平滑, 则表明该因素影响较小^[32-34]。图 9 中, 随着含水量的增加, FOFs 提取量呈现出先升后降的趋势, 影响显著, 含水量在 62 mol 时达到最高点。图 10 中, 提取量随着液料比的增加,

影响十分显著, 在液料比为 60:1 (mL/g) 左右时出现最大值, 之后逐渐降低; 图 11 中, 随着超声时间的增加, FOFs 提取量逐渐上升, 在 16 min 左右时达到最大, 之后缓慢降低。

2.5.3 验证试验

根据 Design-Expert 软件得出在含水量、超声时间和料液比交互作用影响下, 最优提取工艺为: 液料比为 59.90:1, 含水量为 62.17 mol, 超声时间为 15.69 min,

在此条件下模型预测的提取率为 9.55 mg/g。

结合实验室具体情况,修正实际提取条件为液料比 60:1 (mL/g), 超声波功率 150 W, 含水量 62 mol, 摩尔比 2:1:4, 超声时间 16 min, 所得 FOFs 提取量为 10.06 mg/g, 与预测值相差 0.51 mg/g, 说明模型与实际数据拟合较好, 证实根据此模型优化的工艺条件可靠。

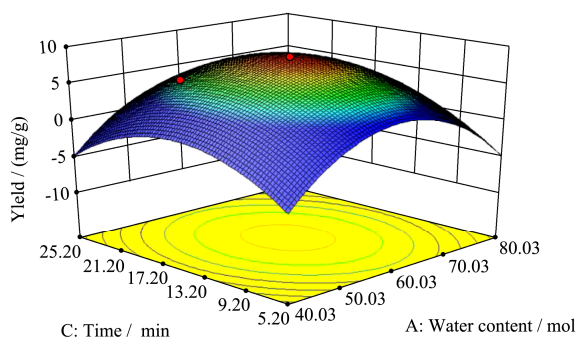


图9 含水量与超声时间交互作用对提取量的影响

Fig.9 Response Surface of $Y=f(A,C)$

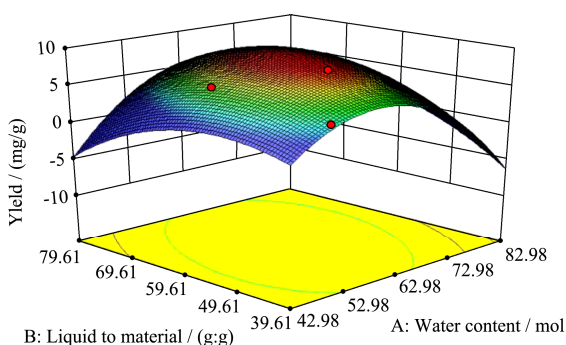


图10 含水量与液料比交互作用对提取量的影响

Fig.10 Response Surface of $Y=f(A,B)$

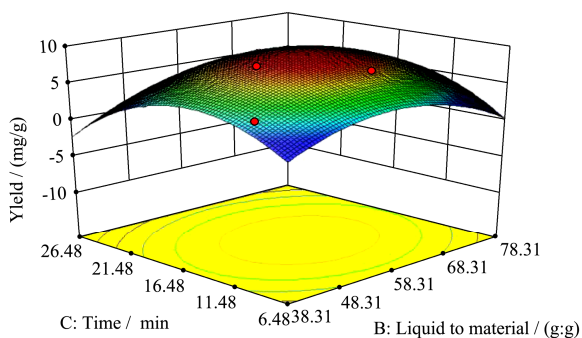


图11 超声时间与液料比交互作用对提取量的影响

Fig.11 Response Surface of $Y=f(B,C)$

3 结论

本文结合超声波辅助低共熔溶剂提取,建立了一种高效、环保的 FOFs 提取工艺。通过设计并制备 6 种低共熔溶剂用于提取 FOFs, 并使用传统的醇提、冻

融、超声波及微波技术进行提取,证实低共熔溶剂的提取效果整体优于其他技术。其中,三元 DES 体系氯化胆碱/山梨醇/1,2-丙二醇的效果最好。因此,选用此体系,在单因素的基础上,结合响应面优化实验和实验室实际条件,得到 FOFs 提取最佳工艺是:氯化胆碱:山梨醇:1,2-丙二醇=2:1:4,含水量 62 mol,液料比 60:1 (mL/g),超声波功率 150 W,超声时间 16 min,在此条件下,FOFs 的提取量达到 10.06 mg/g; FOFs 提取量比传统的醇提提高了 8.93 mg/g,相当于其 890%,同时,提取效果也优于文献报道^[4]中采用微波-超声联合辅助提取最优工艺得到的 7.86 mg/g,说明超声波辅助低共熔溶剂提取 FOFs 的高效性。本工艺绿色、高效、环保,为天然植物活性成分绿色提取和桂花的深度开发提供了数据支撑。

参考文献

- [1] 狄飞达,张驰松,郑亭,等.桂花功能性成分提取及加工应用进展[J].农产品加工,2019,21:75-77
DI Fei-da, ZHANG Chi-song, ZHENG Ting, et al. Research progress on active ingredients and extraction technologies of *Osmanthus fragrans* [J]. Farm Products Processing, 2019, 21: 75-77
- [2] 王丽梅,余龙江,崔永明,等.桂花黄酮的提取纯化及抑菌活性研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(4):717-720
WANG Li-mei, YU Long-jiang, CUI Yong-ming, et al. Flavonoids from *Osmanthus fragrans*: extraction and bacteriostatic activities [J]. Natural Product Research and Development, 2008, 20(4): 717-720
- [3] 包骥林,王丹,陆葵青,等.桂花黄酮类化合物体内抗氧化活性的研究[J].食品研究与开发,2018,39(21):14-20
BAO Qi-lin, WANG Dan, LU Kui-qing, et al. Study on the antioxidative activities of flavonoids from *Osmanthus fragrans* in vivo and in vitro [J]. Food Research and Development, 2018, 39(21): 14-20
- [4] Yu J F, Lou Q, Zheng X Y, et al. Sequential combination of microwave- and ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Osmanthus fragrans* Lour. flowers [J]. Molecules, 2017, 22(12): 2216-2231
- [5] 李昊.酶法提取桂花多糖工艺的优化及其抗氧化活性研究[J].中国中医药科技,2015,22(4):395-397
LI Hao. Optimization of enzymatic extraction technology of polysaccharide from guihua (*Osmanthus fragrans*) and investigation on its antioxidant activity [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 2015, 22(4): 395-397

- [6] 蒋德旗,黄利敏,王艳,等.响应面优化纤维素酶法提取桂花多糖工艺及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2015,36(2): 271-275,281
JIANG De-qi, HUANG Li-min, WANG Yan, et al. Optimization of enzymatic extraction technology of polysaccharide from *Osmanthus fragrans* using response surface methodology and investigation on its antioxidant activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(2): 271-275, 281
- [7] Xue A, Cui M, Zou H, et al. Analysis of polyphenolic compounds in *Osmanthus fragrans* flowers by extractive electrospray ionization-mass spectrometry [J]. Food Science, 2018, 39(16): 221-226
- [8] Li H L, Chai Z, Shen G X, et al. Polyphenol profiles and antioxidant properties of ethanol extracts from *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour. flowers [J]. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2017, 67(4): 317-326
- [9] 夏必帮,鲁韦韦,李蓁.桂花精油提取工艺及其抗氧化性的研究[J].生物资源,2016,38(1):49-52
XIA Bi-bang, LU Wei-wei, LI Rui. Study on extraction of oil from *Osmanthus fragrans* Lour and its antioxidant activity [J]. Biotic Resources, 2016, 38(1): 49-52
- [10] Yang X L, Li H Y, Yue Y Z, et al. Transcriptomic analysis of the candidate genes related to aroma formation in *Osmanthus fragrans* [J]. Molecules, 2018, 23(7): 1604
- [11] 陈培珍,马春华,刘俊劭,等.桂花精油提取工艺优化及其成分分析[J].粮食与油脂,2016,29(10):54-57
CHEN Pei-zhen, MA Chun-hua, LIU Jun-shao, et al. Optimization of extraction technology and analysis of components of *Osmanthus fragrans* essential oil [J]. Cereals & Oils, 2016, 29(10): 54-57
- [12] Abbott A P, Capper G, Davies D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chemical Communications, 2003, 9(1): 70-71
- [13] Skarpalezos D, Detsi A. Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources [J]. Applied Sciences-Basel, 2019, 9(19): 1-23
- [14] Li A, Chen M C, Zhang J, et al. Effective extraction of flavonoids from *Lycium barbarum* L. fruits by deep eutectic solvents-based ultrasound-assisted extraction [J]. Talanta, 2019, 23(1): 16-22
- [15] 王华,张雄,张国涛.荞麦中黄酮类化合物的分析方法研究进展[J].应用化工,2013,42(7):1331-1334
WANG Hua, ZHANG Xiong, ZHANG Guo-tao. Research progress of analysis methods of flavonoids in buckwheat [J]. Applied Chemical Industry, 2013, 42(7): 1331-1334
- [16] 张荣泉,王莲,吕方.比色法测定果蔬纤维颗粒中总黄酮的含量[J].食品研究与开发,2008,29(10):95-97
ZHAHG Rong-quan, WANG Lian, LYU Fang. Determination of total flavone in guoshu fiber granules via colorimetry [J]. Food Research and Development, 2008, 29(10): 95-97
- [17] Hamed Y S, Abdin M, Akhtar H M S, et al. Extraction, purification by macrospores resin and *in vitro* antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oliefera* leaves [J]. South African Journal of Botany, 2019, 124: 270-279
- [18] Lu H X, Yang K, Zhan L H, et al. Optimization of flavonoid extraction in *Dendrobium officinale* leaves and their inhibitory effects on tyrosinase activity [J]. International Journal of Analytical Chemistry, 2019, 1-10
- [19] Wu Y F, Li J, Deng R X, et al. Optimization of parameters, antioxidant activity, and component analysis of flavonoids from *Ecliptae Herba* [J]. International Food Research Journal, 2020, 27(4): 745-753
- [20] Chen S S, Zeng Z, Hu N, et al. Simultaneous optimization of the ultrasound-assisted extraction for phenolic compounds content and antioxidant activity of *Lycium ruthenicum* Murr. fruit using response surface methodology [J]. Food Chemistry, 2018, 242: 1-5
- [21] 刘玉梅,张家俊,吴浪.复合酶协同超声波法提取香椿老叶总黄酮工艺研究[J].现代食品科技,2019,35(11):223-230
LIU Yu-mei, ZHANG Jia-jun, WU Lang. Extraction of total flavonoids from *Toona sinensis* old leaves by complex enzymolysis assisted with ultrasound [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(11): 223-230
- [22] Niu Q, Gao Y M, Liu P H. Optimization of microwave-assisted extraction, antioxidant capacity, and characterization of total flavonoids from the leaves of *Alpinia oxyphylla* Miq. [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2019, 50(1): 82-90
- [23] Jin C B, Wei X C, Yang S L, et al. Microwave -assisted extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Sedum aizoon* leaves [J]. Food Science and Technology Research, 2017, 23(1): 111-118
- [24] 潘思源,田英姿,韦士鹏.微波辅助离子液体提取罗布麻叶总黄酮及其抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2019,35(7): 182-190
PAN Si-yuan, TIAN Ying-zi, WEI Shi-peng. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction and antioxidant activity of total flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves

- [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 182-190
- [25] 李啸晨.生姜总黄酮分离纯化和生姜产品开发[D].泰安:山东农业大学,2015
- LI Xiao-chen. The Separation of total flavonoids from ginger and the ginger products development [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015
- [26] Crawford D E, Wright L A, James S L, et al. Efficient continuous synthesis of high purity deep eutectic solvents by twin screw extrusion [J]. Chemical Communications, 2016, 52(22): 4215-4218
- [27] Thu H N, Van P N, Minh K N, et al. Optimization of extraction conditions of flavonoids from celery seed using response surface methodology [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 52(22): 4215-4218
- [28] Liu Y Q, Wang H W, Cai X. Optimization of the extraction of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi using the response surface methodology [J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2015, 52(4): 2336-2343
- [29] 刘宝亮,曹桂萍.响应面分析法优化离子液体双水相提取香樟叶中总黄酮的工艺条件[J].现代食品科技,2018,34(4): 179-187
- LIU Bao-liang, CAO Gui-ping. Response surface methodology for optimization of extraction process of total flavonoids from camphor leaves by an Ionic liquid/aqueous two-phase system [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(4): 179-187
- [30] Li J K, Wu C C, Li F, et al. Optimization of ultrasound-assisted water extraction of flavonoids from *Psidium guajava* leaves by response surface analysis [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2019, 49(1): 21-29
- [31] 陈冉,李德慧,阮桂发,等.基于绿色低共熔溶剂法高效提取鸡骨草中的黄酮和皂苷[J].天然产物研究与开发,2019, 31(9):1632-1640
- CHEN Ran, LI De-hui, RUAN Gui-fa, et al. Green and efficient extraction of flavonoids and saponins from *Abrus cantoniensis* hance by deep eutectic solvents [J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(9): 1632-1640
- [32] Meng Z R, Zhao J, Duan H X, et al. Green and efficient extraction of four bioactive flavonoids from *Pollen typhae* by ultrasound-assisted deep eutectic solvents extraction [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2018, 161: 246-253
- [33] Contamine R F, Milhelm A M, Berlan J, et al. Power measurement in sonochemistry [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1995, 2(1): S43-S47
- [34] Hsieh Y H, Li Y B, Pan Z C, et al. Ultrasonication-assisted synthesis of alcohol-based deep eutectic solvents for extraction of active compounds from ginger [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 63: 104915

(上接第 70 页)

- [31] 尹梦.丁酸梭菌的产氢影响因素及其代谢特性的研究[D].上海:上海师范大学,2020
- YIN Meng. The influencing factors in hydrogen production and metabolic characteristics of *Clostridium butyricum* [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2020
- [32] Fonseca F, Pénicaud C, Tymczyszyn E E, et al. Factors influencing the membrane fluidity and the impact on production of lactic acid bacteria starters [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(17): 6867-6883
- [33] 蒋汶.红曲霉发酵产多糖及其性质的初步研究[D].芜湖:安徽工程大学,2016
- JIANG Wen. Preliminary study on the fermentation of *Monascus* polysaccharide and its properties of *Monascus* polysaccharide [D]. Wuhu: Anhui Polytechnic University, 2016
- [34] 孙晓明,辛嘉英,王艳,等.微生物发酵产阿魏酸酯酶及释放阿魏酸研究概述[J].食品研究与开发,2019,40(1):201-206
- SUN Xiao-ming, XIN Jia-ying, WANG Yan, et al. Summary of research on ferulic acid production and ferulic acid release by microbial fermentation [J]. Food Research and Development, 2019, 40(1): 201-206