

• 综 述 •

黄酮类化合物提取新方法的应用

万新焕¹, 陈新梅¹, 马 山¹, 王继锋¹, 高 雅¹, 周长征^{1*}, 王立柱^{2*}

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014

摘 要: 黄酮类化合物广泛存在于药用植物中, 有着非常重要的药用价值。其药理作用主要表现在抗氧化、抗肿瘤、抗突变、抗炎、抗菌、抗衰老等方面。黄酮类化合物的提取是其应用于疾病治疗中的关键环节, 近年来有许多新兴的中药提取方法广泛应用到了黄酮类化合物的提取当中。综述了黄酮类化合物提取新方法的应用概况, 主要包括超临界流体萃取(SFE)、超声辅助提取(UAE)、微波辅助提取(MAE)、加压液体提取(PLE)、脉冲电场(PEF)辅助提取、酶辅助提取(EAE)、绿色溶剂提取、蒸汽爆破辅助提取、动态高压微流化(DHPM)辅助提取等, 以期对黄酮类化合物的提取、开发和利用提供参考。

关键词: 黄酮类化合物; 超临界流体萃取; 超声辅助提取; 微波辅助提取; 加压液体提取; 脉冲电场辅助提取; 酶辅助提取; 绿色溶剂提取; 蒸汽爆破辅助提取; 动态高压微流化辅助提取

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)15-3691-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.027

Applications of new methods in extraction of flavonoids from Chinese materia medica

WAN Xin-huan¹, CHEN Xin-mei¹, MA Shan¹, WANG Ji-feng¹, GAO Ya¹, ZHOU Chang-zheng¹, WANG Li-zhu²

1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract: Flavonoids are widely found in medicinal plants, which have important medical properties. Flavonoids were proved to have many pharmacological activities, such as anti-oxidation, antitumor, antimutation, anti-inflammatory, antibacterial and anti-aging. The extraction of flavonoids is the crucial link in their clinical applications. In recent years, many emerging Chinese medicine extraction methods have also been widely used in the extraction of flavonoids. This paper reviews the current application of new methods for flavonoid extraction, in order to provide references for the extraction, development and utilization of flavonoids. These new extraction methods include supercritical fluid extraction (SFE), ultrasonic assisted extraction (UAE), microwave assisted extraction (MAE), pressurized liquid extraction (PLE), pulsed electric field (PEF) assisted extraction, enzyme assisted extraction (EAE), green solvent extraction, steam explosion assisted extraction, dynamic high pressure microfluidization (DHPM) assisted extraction, etc.

Key words: flavonoids; supercritical fluid extraction (SFE); ultrasonic assisted extraction (UAE); microwave assisted extraction (MAE); pressurized liquid extraction (PLE); pulsed electric field (PEF) assisted extraction; enzyme assisted extraction (EAE); green solvent extraction; steam explosion assisted extraction; dynamic high pressure microfluidization (DHPM) assisted extraction

黄酮类化合物(flavonoids)是一类具有多种生物活性的植物次生代谢产物, 又称为生物黄酮或植物黄酮, 广泛存在于蔬菜、水果和药用植物中, 目前已经发现的黄酮类化合物达万种。研究表明, 黄

收稿日期: 2019-03-05

基金项目: 山东省中医药研究及产业化课题项目(XTCX2014C01-04); 2018年度山东中医药大学优秀青年科学基金(2018zk42)

作者简介: 万新焕, 助教, 研究方向为药物新制剂与新剂型。Tel: 15264160915 E-mail: wanxinhuan20073212@163.com

*通信作者 周长征, 教授, 研究方向为药物新剂型与新技术。Tel: 15552563267 E-mail: zcznfj@sina.com

王立柱, 副教授, 研究方向为肛肠疾病中医临床研究。Tel: 15866600387 E-mail: lizhu5837@163.com

酮类化合物具有广泛的药理作用,如抗氧化、抗肿瘤、抗突变、抗炎、抗菌、抗衰老等^[1-6]。因此,黄酮类化合物的开发利用一直是中药领域的研究热点。从植物中将黄酮类化合物有效地提取出来是实现其药用价值的关键环节,目前国内外对黄酮类化合物提取的方法众多,包括传统的提取方法如浸渍法、煎煮法、回流法、索氏提取法等,传统提取方法工艺简单、成本低,在中药制药产业中发挥着重要的作用。但传统提取方法存在着明显的缺陷,如提取率低、周期长、溶剂消耗大、纯度低等问题,在中药有效成分提取中应用新技术、新工艺可有效弥补传统提取方法的不足。本文综述了近年来黄酮类化合物提取新方法的应用概况,包括超临界流体萃取(supercritical fluid extraction)、超声辅助提取(ultrasound-assisted extraction)、微波辅助提取(microwave-assisted extraction)、加压液提取(pressurized liquid extraction)、脉冲电场辅助提取(pulsed electric field assisted extraction)、酶辅助提取(enzyme-assisted extraction)、绿色溶剂提取、蒸汽爆破辅助提取及动态高压微流化(dynamic high pressure microfluidization, DHPM)辅助提取等,以期黄酮类化合物的提取、开发和利用提供参考。

1 黄酮类化合物结构

黄酮类化合物主要是指以2-苯基色原酮为基本母核的一类化合物,泛指2个具有酚羟基的苯环(A、

B环)通过中央的3碳连接而成的一系列化合物,基本骨架为C₆-C₃-C₆(图1)^[7]。

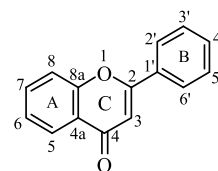


图1 黄酮类化合物母核结构

Fig. 1 Mother nucleus structure of flavonoids

根据中央3碳链的氧化程度、苯基连接位置(2或3位)以及3碳链是否呈环状等特点,黄酮类化合物又分成不同的类型,包括黄酮类(flavones)、黄酮醇类(flavonols)、二氢黄酮类(flavanones)、二氢黄酮醇类(flavanonols)、异黄酮类(iso flavones)、二氢异黄酮类(dihydro- isoflavonones)、黄烷-3-醇类(flavan-3-ols)、黄烷-3,4-二醇类(flavan-3,4-diols)、花色苷类(anthocyanidins)、橙酮类(auromes)、查耳酮类(chalcones)和二氢查耳酮类(dihydrochalcones)^[8]等(图2)。

2 黄酮类化合物提取新方法

2.1 超临界流体萃取

超临界流体萃取是一种绿色提取分离技术,最早出现在20世纪30年代。超临界流体的性质介于气体和液体之间,具有与传统溶剂不同的物理化学性质,其密度与液体相近,而黏度与气体相近,具有密度大、黏度小、溶解性强及传质系数大等特点^[9]。

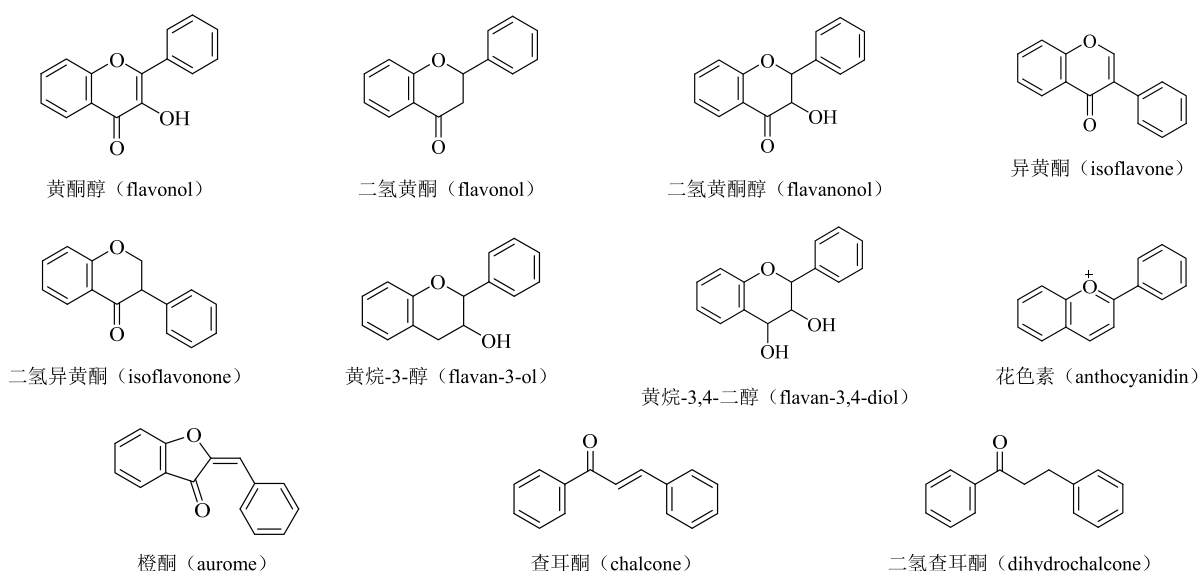


图2 黄酮类化合物化学结构分类

Fig. 2 Chemical structure classifications of flavonoids

临界状态下,小范围内改变体系的压力或温度可以使流体密度发生较大的改变,从而改变其溶解能力,因此,在提取分离过程中,仅通过调整温度或压力就可以改变流体密度,使其能够有选择性地提取不同成分。

与传统溶剂相比,以超临界流体为萃取剂对中药中有效成分进行提取具有多种优势。由于其高扩散性和低黏度性,使得超临界流体能够迅速渗透进入复杂基质的孔隙中,从而大大提高提取效率。另外,超临界流体萃取得到的提取物在减压之后能够被高度浓缩,可以大大缩短提取周期,实现高效、快速连续提取。超临界 CO_2 是超临界萃取中最常用的溶剂,它具有无毒、不易燃、不易爆、性价比高、易于获取、可循环利用及易于去除的众多优点,是一种公认的绿色溶剂^[10]。

超临界流体萃取法在提取挥发性组分、脂溶性成分、热敏性成分及贵重药材有效成分中具有独特的优势。影响超临界流体萃取效果的关键参数有压力、温度、提取时间、 CO_2 密度、流速及夹带剂使用量等。目前,该技术已经被广泛应用于从药用植物中提取黄酮类化合物,文献报道的有五味子、葛根、小白菊、青蒿等^[11-14]。Liu 等^[11]应用超临界流体萃取在五味子中提取了黄酮类化合物,并利用 Box-Behnken 法结合响应面法对提取工艺进行了优化。在提取温度 50.88 °C,压力 41.80 MPa,20% 乙醇为共溶剂,提取 120 min 后测得黄酮产量达 (4.11 ± 0.38) mg/g。Mandana 等^[15]分别利用超临界流体萃取法和索氏提取法对留兰香叶中主要黄酮类化合物进行了提取,结果显示索氏提取法得到的粗提物量稍高于超临界流体萃取,但是提取物中具有生物活性的黄酮类化合物种类(5 种)比后者少(7 种)。Yildiz 等^[16]利用不同的提取方法包括超临界流体萃取、微波辅助提取法、亚临界水提取法和索氏提取法优化了紫锥菊中总黄酮的提取工艺,以芦丁为指标测定了不同方法提取得到的总黄酮含量,其中超临界流体萃取得到总黄酮含量最高达 0.472 mg/g,其他 3 种提取方法得到的总黄酮依次为 0.202、0.022、0.238 mg/g。

2.2 超声辅助提取

超声波是一种在水等介质中具有良好穿透性,主要以振动波的形式传播的机械能量。其频率超出人类听觉阈值,频率范围为 20~50 kHz,介于声波与微波之间。超声辅助提取法主要利用超声波的空

化效应、热效应、振动、破碎及混合等机械效应的综合作用,破坏植物细胞壁,从而实现从天然药物中有效成分的提取。超声辅助提取法也是一种绿色提取技术,提取率高、能耗低、提取周期短,在医药、食品、化学领域均得到广泛应用^[17-19]。影响超声波辅助提取的关键参数除了溶剂种类与用量、提取时间与温度等参数外,还有一些专属的声学参数如超声功率、超声强度或声能密度等,其中声能密度一直是广泛用于评估超声功率水平的指标。

西班牙食品工程研究人员^[20]分别用传统溶剂法和超声辅助提取法对葡萄柚固体废料中黄酮类化合物进行了提取工艺优化,优化参数有乙醇体积分数、提取温度和提取时间。结果显示,超声辅助提取在低乙醇量、低温和较短时间条件下提取得到的总黄酮量比传统溶剂法提高 50%,提取物总抗氧化活性提高 76%;最佳工艺(25 °C,40%乙醇,提取时间 55 min)下超声辅助提取法得到总黄酮量为 80 mg/g,总抗氧化活性为 38.3 mmol/g,进一步研究表明,超声辅助提取法完全不使用有机溶剂时,采用适当提取温度和较短提取时间(25 °C、3 min)也可以达到与最佳工艺相类似的提取效果(总黄酮量 75.3 mg/g,总抗氧化活性 31.9 mmol/g),与传统溶剂相比经济又环保。Zhang 等^[21]利用 Box-Behnken 设计法对超声波辅助提取夏枯草中黄酮类化合物进行了工艺优化,最优工艺为乙醇浓度 41%、料液比 1:30、提取温度 79 °C、提取时间 30.5 min,提取得到黄酮量为 3.62%,与模型预测值基本一致。另外,超声辅助提取法还被用于提取辣椒、山楂子及柑橘皮等材料中黄酮类化合物^[22-24]。

2.3 微波辅助提取

微波是一种非电力辐射,频率 300~300 000 MHz,可以穿透进入某些材料中与极性组分相互作用产生热量^[25]。微波能量的热量通过离子传导和偶极子的旋转直接作用于分子^[26-27]。微波提取有机物最早出现在 1986 年的土壤研究中,之后迅速引起越来越多的关注,开始应用到中药提取等众多领域中^[28]。根据发射方式的不同,微波提取系统分成 2 种方式,加压式系统(封闭式)和聚焦式系统(开放式)。

微波辅助提取已应用到多种药用植物的黄酮类化合物提取中,如淫羊藿、诃子、白芍、百合、木芙蓉等^[29-33]。Zhang 等^[29]利用微波辅助提取法从淫羊藿中分离了黄酮类化合物,并对提取机制、提取物抗氧化活性及化学组成进行了研究。结果显示,

与常规的加热提取及搅拌提取相比,微波提取得到的黄酮类化合物提取率及抗氧化活性均明显优于前二者,扫描电镜结果表明微波辐射破坏了叶片样品结构,促进了黄酮类化合物的溶出。Milutinović 等^[34]使用响应面法优化了微波辅助提取西洋耆草中多酚和黄酮类化合物的工艺,同时与搅拌提取 24 h、浸渍提取 48 h 2 种常规提取工艺进行对比,结果显示微波辅助提取在很短的时间内(33 s)可以提取到更多的黄酮类化合物。

2.4 加压液体提取

加压液体萃取也称加速溶剂提取(accelerated solvent extraction),是一种用液体溶剂萃取固体或半固体样品的技术。加压液体提取通过升高常规液体溶剂的温度和压力,改变提取体系分配系数和动力学特征,从而大大提高提取效率。加压液体提取的优势体现在提取时间短(约 15 min)、溶剂消耗低(15~40 mL)、无需过滤、操作方便;主要缺点是设备成本比较高,工艺优化标准高^[35-36]。

Xi 等^[37]利用中心复合设计结合响应面法优化了加压液体提取法提取槐花中黄酮类化合物的工艺,最优工艺为压力 460 MPa、75%乙醇、料液比 1:32、提取温度 25 ℃、提取时间 5 min,用以上条件提取得到的黄酮量为(200.00±8.63) mg/g,与模型预测值(202.915 mg/g)基本一致,扫描电镜结果显示加压液体提取对样品细胞产生严重的结构破坏。Zhang 等^[38]利用正交试验设计法优化了加压液体提取法提取鱼腥草中的黄酮类化合物,采用最优工艺提取得到的黄酮类化合物的收率和质量分数分别为 3.152%和 23.962%,明显优于加热提取法和超声辅助提取法。目前,加压液体提取法在黄酮类化合物提取中的应用已经十分普遍,已有报道的提取来源还有黄芩、黄金莓、可可豆壳、苹果等^[39-42]。

2.5 脉冲电场辅助提取

脉冲电场(pulsed electric field, PEF)是一种新兴的非加热型加工技术,其作用过程如下:将生物材料(植物、动物及微生物等)放置在 2 个电极之间,利用短时重复高压脉冲电场对样品进行处理,这个过程增强了细胞质膜的渗透性,称为“电穿孔”,从而使胞内物质快速流出。脉冲电场辅助提取技术更适合从植物薄壁组织中提取有效成分,目前在食品领域应用比较多^[43]。

西班牙研究人员^[44]利用脉冲电场技术对橘皮

中抗氧化成分进行提取,并同时设置不经脉冲电场处理组,以柚皮苷、橙皮素、总酚量及提取物抗氧化活性为指标对 2 组提取结果进行对比,结果显示,以 5 kV/cm 的电场强度,60 μs 内 20 个脉冲处理样品,每 100 克鲜质量橘皮中提取的柚皮苷量从 1 mg 增加至 3.1 mg,橙皮素量从 1.3 mg 增加至 4.6 mg;总酚量增加了 153%,提取物抗氧化活性增强了 148%。代名君等^[45]利用高压脉冲电场技术优化了葛花总黄酮的提取工艺,在最佳提取工艺条件下黄酮得率达 10.373%。

2.6 酶辅助提取

酶辅助提取法是指在提取过程中加入合适的酶,利用酶催化作用的高选择性对植物组织进行分解,保留提取物中的有效成分,达到快速有效提取。酶辅助提取技术常用的酶有纤维素酶、果胶酶和 β-葡萄糖苷酶等,适合于提取植物中次生代谢产物^[46-47]。酶辅助提取技术具有操作简单、效率高、溶剂及能量消耗低、环保等优势,是近年来国内外研究的热点^[48]。

Wang 等^[49]利用酶辅助法提取了落叶松中的天然抗氧化剂紫杉叶素和黄酮类化合物,并使用中心复合设计法对工艺进行了优化。最终选择的酶是纤维素酶和果胶酶,用量均为 0.5 mg/mL,在 pH 5.0、温度 32 ℃条件下孵育 18 h,再用热水提取 30 min,利用上述工艺提取得到的紫杉叶素和总黄酮的产量分别为(1.35±0.04)、(4.96±0.29) mg/g,均比传统热水提取提高了 20%~30%。扫描电镜结果显示,酶解样品结构呈现出明显被破坏的指征。Chen 等^[50]利用青霉纤维素酶辅助提取银杏叶中的黄酮类化合物,结果发现青霉纤维素酶不仅起到细胞壁降解作用,而且还可以通过转糖基化反应提高目标化合物在溶剂中的溶解度,大大提高了提取率。利用上述工艺在银杏叶中提取得到的黄酮量高达 28.3 mg/g,比对照组高出 102%。另外,还有一些研究者利用酶辅助提取法在荸荠皮、菟丝子种子中提取了黄酮类化合物,均取得了非常好的效果^[51-52]。

2.7 基于绿色溶剂提取技术

传统提取工艺中使用的溶剂通常是从不可再生资源中获得,这些溶剂易燃、易挥发,多数有毒性,普遍存在环境污染问题。随着人们对环境问题的重视,绿色提取技术逐渐成为天然产物提取中的研究热点。Chemat 等^[53]在 2012 年对“绿色提取”进行了阐释:绿色提取能够有效降低能源消耗,允许使

用可替代溶剂和可再生资源,并且可以获得安全、质量可靠的提取物或产品。因此,绿色提取的评价主要依据是能耗、溶剂来源及提取产物质量 3 个方面,而绝大多数的提取技术必须采用溶剂作为媒介,提取过程的能耗及提取产物的质量主要取决于溶剂种类及相关提取技术的选择,因此绿色提取主要体现在溶剂上,也就是基于绿色溶剂的提取技术。

目前应用较多的基于绿色溶剂的提取技术有传统水提取、植物油提取、超临界流体萃取、亚临界水提取及天然深层共晶溶剂(natural deep eutectic solvents, NADESs)提取法等,这些绿色提取技术也广泛应用到了黄酮类化合物的提取中。Zeković 等^[54]利用亚临界水法提取了茺菀种中的总黄酮,并用 Box-Behnken 实验设计法结合响应面法对工艺进行优化,最优工艺下提取得到的总黄酮质量分数以儿茶素计为 0.063 1 mg/g,提取物表现出良好的抗氧化活性。另外,还有些研究人员利用亚临界水法在橙皮、甜叶菊和柑橘皮中提取了黄酮类化合物,均得到了良好的提取效果^[55-57]。

NADESs 是由英国莱斯特大学 Abbott 等^[58]提出的一种新型绿色溶剂,是由 2 种或 2 种以上含氢键供体和氢键受体的化合物混合而成,由于分子内氢键形成的混合物的熔点要比单一化合物的熔点低。NADESs 作为一种绿色溶剂,具有生物可降解、无毒、成本低的优点,已经广泛应用到了催化、有机合成、电化学材料及中药提取等领域中^[59-63]。Meng 等^[64]以 NADESs 为溶剂利用超声辅助提取技术从蒲黄中提取了黄酮类化合物,并以槲皮素、柚皮素、山柰酚和异鼠李素 4 种活性成分为指标与常规有机溶剂提取如甲醇和 75%乙醇进行对比。结果显示,NADESs 不仅绿色环保,而且能够获得更高的提取效率。

2.8 蒸汽爆破辅助提取(steam explosion)

蒸汽爆破简称汽爆,是一种新兴的生物质预处理技术。其原理是通过将渗进植物组织内部的蒸汽分子瞬时释放完毕,使蒸汽内能转化为机械能并作用于生物质组织细胞层间,从而用较少的能量将原料按目的分解^[65]。汽爆不需要添加任何化学试剂,能够有效地提高样品提取率,绿色环保,是一种非常有前景的样品预处理技术。

Qin 等^[66]利用汽爆技术从无花果叶中提取了黄酮类化合物,在 0.2 MPa 压力下处理 3 min 样品,提取的黄酮类化合物产量比未处理组高出 55.9%。

但是继续增大爆破压力,并没有获得更高的产物量,可能是由于成分在高温、高压下被破坏,提示使用爆破技术处理样品时需要系统地筛选相关参数。另外,该课题组^[67]还研究了蒸汽爆破对漆树果实中黄酮类化合物提取和转化的影响,结果显示漆树果实 在 200 °C 蒸汽爆破 5 min 时黄酮类化合物产量在提取 20 min 时达到最大值 19.65 mg/g,比原料药平衡 20 min 的预处理方法提高了 8 倍。此外,蒸汽爆破还可以促进漆树中主要黄酮类化合物槲皮苷去糖基化转化为槲皮素,200 °C 蒸汽爆破 5 min,转化率高达 84.51%。

2.9 DHPM 辅助提取

DHPM 辅助提取是一种新兴的动态高压技术,其利用高速冲击、高频振动、瞬时压降、强剪切、空化及超高压的综合力量对样品进行高强度处理,能够有效提高活性成分的提取率。Huang 等^[68]利用 DHPM 辅助提取了甘薯叶中黄酮类化合物并评价了提取物的抗氧化活性,结果显示经处理样品提取得到的黄酮类化合物抗氧化活性明显高于未处理组。另外,还有研究人员利用 DHPM 辅助提取了香附叶中总黄酮,提取率和抗氧化活性均比对照组有明显提高^[69]。

另外,还有半仿生提取法、超滤法提取黄酮类化合物的相关报道。各种提取新技术优缺点对比见表 1。

3 结语与展望

影响黄酮类化合物提取的因素主要包括样品基质特征(如样品含水量、植物细胞壁刚性等)和提取工艺参数(溶剂、温度、时间等)2 方面,目前提取方法已经从传统溶剂法发展到了超声辅助提取、微波辅助提取、超临界流体提取等新兴提取技术。与传统溶剂提取相比,新方法在提取率、能耗、提取周期等各个方面均具有明显优势,但也存在一些缺陷,如设备要求高、工艺优化标准高等。从工业化角度出发,微波与超声辅助提取已有工业应用;超临界流体萃取、脉冲电场辅助提取法等因设备成本问题工业化较为困难;蒸汽爆破和动态微流化辅助提取,可以有效地提高提取效率,是非常有前景的样品前处理技术。

目前,针对黄酮类化合物提取研究主要是针对特定的提取工艺进行优化,或者通过对比不同提取工艺以总黄酮提取率为指标选择最优提取方法,各种提取工艺的交叉对比及集成研究较少;另外,实验室提取

表1 各种提取新技术优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of various new extraction technologies

提取技术	优点	缺点
超临界流体辅助提取	①溶剂安全无毒、可循环、可连续提取 ②适用于挥发性组分、脂溶性成分、热敏性成分及贵重药材有效成分 ③提取物得率高、纯度高	①不适用含水量大的样品提取 ②极性大的黄酮类化合物提取率低 ③设备成本高, 工业生产普及困难
超声辅助提取	①无需加热、周期短、能耗低 ②提取物得率高	①要求样品粒径足够小才能获得好的提取效果 ②超声探头老化会影响提取效率 ③提取规模小, 不适用大生产
微波辅助提取	得率高、周期短、节约溶剂、工艺参数少	提取时间不宜过长, 可能会导致成分降解或顺反异构化
加压液提取	①提取时间短、溶剂消耗少、操作简单 ②适用于实验室规模	①设备成本高、工艺优化标准高 ②植物基质、糖类会产生堵塞, 不适用于大批量样品提取
脉冲电场辅助提取	周期短、无需加热、得率高	①设备成本高 ②不同样品电导率不同, 参数不同
酶辅助提取	操作简单、效率高、溶剂及能量消耗低、环保、得率高	成本高
绿色溶剂提取	绿色环保、得率高	部分绿色溶剂获得成本高, 难以实现大生产
蒸汽爆破辅助提取	绿色环保、无需添加化学试剂、有效的样品前处理技术、得率高	处理时间不宜过长, 可能会造成成分降解, 工艺参数优化标准较高
动态微流化辅助提取	环保、效率高、得率高	设备成本高

工艺与工业化大生产脱节, 利用实验室提取设备有效地模拟工业化生产需要更多的数据支持; 再者, 目前提取工艺筛选时对样品前处理工艺研究较少, 多数仅采用简单研磨减小样品粒径来提高提取率, 尚缺乏样品粒径对提取率影响等相关研究。

针对上述问题, 今后研究方向可以从以下几个方面进行: ①对一些高成本、具有安全隐患的提取设备进行改良, 从机械设备角度降低生产成本, 提高设备操作安全性, 保障经济、有效、安全生产, 为工业化生产提供便利; ②根据各提取技术的特点, 进行不同提取技术间或提取技术与分离技术间的集成研究, 使提取工艺多元化发展, 更好地为筛选最佳工艺提供技术支持; ③完善实验室提取设备, 更好地匹配工业化生产; ④增加样品前处理方法优化, 合理有效的样品处理方法可能会大大提高样品提取率。

参考文献

- [1] Ahmed D, Fatima M, Saeed S. Phenolic and flavonoid contents and anti-oxidative potential of epicarp and mesocarp of *Lagenaria siceraria* fruit: A comparative study [J]. *Asian Pacific J Trop Med*, 2014, 7(Suppl 1): S249-S255.
- [2] Wang C, Li Y, Chen H, *et al.* Inhibition of CYP4A by a novel flavonoid FLA-16 prolongs survival and normalizes

tumor vasculature in glioma [J]. *Cancer Lett*, 2017, 402: 131-141.

- [3] Abo-Zeid Mona A M, Abdel-Samie Negm S, Farghaly Ayman A, *et al.* Flavonoid fraction of *Cajanus cajan* prohibited the mutagenic properties of cyclophosphamide in mice *in vivo* [J]. *Mutat Res*, 2018, 826: 1-5.
- [4] Chanput W, Krueyos N, Ritthiruangdej P. Anti-oxidative assays as markers for anti-inflammatory activity of flavonoids [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 40: 170-175.
- [5] Friedman M. Antibacterial, antiviral, and antifungal properties of wines and winery byproducts in relation to their flavonoid content [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(26): 6025-6042.
- [6] Tang W Z, Wang Y A, Gao T Y, *et al.* Identification of C-geranylated flavonoids from *Paulownia catalpifolia* Gong Tong fruits by HPLC-DAD-ESI-MS/MS and their anti-aging effects on 2BS cells induced by H₂O₂ [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(5): 384-391.
- [7] Wang T Y, Li Q, Bi K S. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2017, 13(1): 12-23.
- [8] Veitch N C, Grayer R J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins [J]. *Cheminformation*, 2011, 28(10): 1626-1695.
- [9] Silva R P, Rocha-Santos T A P, da Costa Duarte A.

- Supercritical fluid extraction of bioactive compounds [J]. *Trends Anal Chem*, 2016, 76: 40-51.
- [10] Chiu K L, Cheng Y C, Chen J H, *et al.* Supercritical fluids extraction of *Ginkgo* ginkgolides and flavonoids [J]. *J Supercrit Fluids*, 2002, 24(1): 77-87.
- [11] Liu J, Lin S Y, Wang Z Z, *et al.* Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Maydis stigma* and its nitrite-scavenging ability [J]. *Food Bioprod Process*, 2011, 89(4): 333-339.
- [12] Wang L Z, Yang B, Du X Q, *et al.* Optimisation of supercritical fluid extraction of flavonoids from *Pueraria lobata* [J]. *Food Chem*, 2008, 108(2): 737-741.
- [13] Végh K, Riethmüller E, Hosszú L, *et al.* Three newly identified lipophilic flavonoids in *Tanacetum parthenium* supercritical fluid extract penetrating the blood-brain barrier [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 149: 488-493.
- [14] Lin Y L, Yang C C, Hsu H K, *et al.* Response surface methodology to supercritical fluids extraction of artemisinin and the effects on rat hepatic stellate cell *in vitro* [J]. *J Supercrit Fluids*, 2006, 39(1): 48-53.
- [15] Mandana B, Abdul R R, Saleena T F, *et al.* Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves [J]. *Food Bioprod Process*, 2011, 89(1): 67-72.
- [16] Yildiz E, Karabulut D, Yesil-Celiktas O. A bioactivity based comparison of *Echinacea purpurea* extracts obtained by various processes [J]. *J Supercrit Fluids*, 2014, 89(5): 8-15.
- [17] Luque-García J L, Luque de Castro M D. Ultrasound: A powerful tool for leaching [J]. *Trends Anal Chem*, 2003, 22(1): 41-47.
- [18] Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, De Castro L. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after dynamic ultrasound-assisted extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1045(1): 203-210.
- [19] Cravotto G, Boffa L, Mantegna S, *et al.* Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves [J]. *Ultrasonics Sonochem*, 2008, 15(5): 898-902.
- [20] Garcia-Castello E M, Rodriguez-Lopez A D, Mayor L, *et al.* Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2015, 64(2): 1114-1122.
- [21] Zhang G W, He L, Hu M M. Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Prunella vulgaris* L. and evaluation of antioxidant activities *in vitro* [J]. *Innovat Food Sci Emerg Technol*, 2011, 12(1): 18-25.
- [22] Marıncaş O, Feher I, Măgdaş D A, *et al.* Optimized and validated method for simultaneous extraction, identification and quantification of flavonoids and capsaicin, along with isotopic composition, in hot peppers from different regions [J]. *Food Chem*, 2018, 267(1): 255-262.
- [23] Pan G Y, Yu G Y, Zhu C H, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS) [J]. *Ultrasonics Sonochem*, 2012, 19(3): 486-490.
- [24] Julián L L, De Lima V R, Oscar L, *et al.* Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method [J]. *Food Chem*, 2010, 119(1): 81-87.
- [25] Abu-Samra A, Morris J S, Koirtiyohann S R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven [J]. *Anal Chem*, 1975, 47(8): 1475-1477.
- [26] Valérie C. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples [J]. *Trends Anal Chem*, 2000, 19(4): 229-248.
- [27] Eskilsson C S, Björklund E. Analytical-scale microwave-assisted extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 902(1): 227-250.
- [28] Valkó K. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1986, 371: 299-306.
- [29] Zhang H F, Zhang X, Yang X H, *et al.* Microwave assisted extraction of flavonoids from cultivated *Epimedium sagittatum*: Extraction yield and mechanism, antioxidant activity and chemical composition [J]. *Indu Crops Prod*, 2013, 50(10): 857-865.
- [30] Yedhu K R, Neelesh C M, Vellingiri V, *et al.* Insights on the influence of microwave irradiation on the extraction of flavonoids from *Terminalia chebula* [J]. *Separ Purif Technol*, 2016, 170: 224-233.
- [31] Yedhu K R, Rajan K S. Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: Study of kinetics and thermodynamics [J]. *Separ Purif Technol*, 2016, 157: 169-178.
- [32] Tang X Y, Zhu D, Huai W B, *et al.* Simultaneous extraction and separation of flavonoids and alkaloids from *Crotalaria sessiliflora* L. by microwave-assisted cloud-point extraction [J]. *Separ Purif Technol*, 2017, 175: 266-273.
- [33] Sandra P M, Isabel B L, Jesús L S, *et al.* Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa*

- bioactive compounds [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 156: 313-322.
- [34] Milutinović M, Radovanović N, Ćorović M, *et al.* Optimisation of microwave-assisted extraction parameters for antioxidants from waste *Achillea millefolium* dust [J]. *Indu Crops Prod*, 2015, 77: 333-341.
- [35] Pereira D T V, Tarone A G, Cazarin C B B, *et al.* Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc [J]. *J Food Eng*, 2019, 240: 105-113.
- [36] Tena M T. Pressurized liquid extraction, in reference module in chemistry [J]. *Mol Sci Chem Eng*, 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14407-5.
- [37] Xi J, Yan L G. Optimization of pressure-enhanced solid-liquid extraction of flavonoids from *Flos Sophorae* and evaluation of their antioxidant activity [J]. *Separ Purif Technol*, 2017, 175: 170-176.
- [38] Zhang Y, Li S F, Wu X W. Pressurized liquid extraction of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. [J]. *Separ Purif Technol*, 2008, 58(3): 305-310.
- [39] Golmakani E, Mohammadi A, Ahmadzadeh S T, *et al.* Phenolic and flavonoid content and antioxidants capacity of pressurized liquid extraction and percolation method from roots of *Scutellaria pinnatifida* A. Hamilt. subsp *alpina* (Bornm) Rech. f [J]. *J Supercrit Fluids*, 2014, 95(1): 318-324.
- [40] Corazza G O, Bilibio D, Zanella O, *et al.* Pressurized liquid extraction of polyphenols from goldenberry: Influence on antioxidant activity and chemical composition [J]. *Food Bioprod Process*, 2018, 112: 63-68.
- [41] Okiyama D C G, Soares I D, Cuevas M S, *et al.* Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent [J]. *Food Res Int*, 2018, 114: 20-29.
- [42] Séverine F T, Chantal M, Alain B, *et al.* Optimization of the extraction of apple monomeric phenolics based on response surface methodology: Comparison of pressurized liquid-solid extraction and manual-liquid extraction [J]. *J Food Comp Anal*, 2014, 34(1): 56-67.
- [43] Melton L, Shahidi F, Varelis P. *Encyclopedia of Food Chemistry* [M]. Oxford: Academic Press, 2019.
- [44] Elisa L, Ignacio Á, Javier R. Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2013, 17(1): 79-84.
- [45] 代名君, 尤丽新, 文连奎, 等. 高压脉冲电场辅助提取葛花黄酮工艺优化 [J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(23): 94-98.
- [46] Wilkins M R, Widmer W W, Grohmann K, *et al.* Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes [J]. *Biores Technol*, 2007, 98(8): 1596-1601.
- [47] Kim Y J, Kim D O, Chun O K, *et al.* Phenolic extraction from apple peel by cellulases from *Thermobifida fusca* [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(24): 9560-9565.
- [48] Sowbhagya H B, Chitra V N. Enzyme-assisted extraction of flavorings and colorants from plant materials [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2010, 50(2): 146-161.
- [49] Wang Y, Zu Y, Long J, *et al.* Enzymatic water extraction of taxifolin from wood sawdust of *Larix gmelini* (Rupr.) Rupr. and evaluation of its antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2011, 126(3): 1178-1185.
- [50] Chen S, Xing X H, Huang J J, *et al.* Enzyme-assisted extraction of flavonoids from *Ginkgo biloba* leaves: Improvement effect of flavonol transglycosylation catalyzed by *Penicillium decumbens* cellulase [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2011, 48(1): 100-105.
- [51] Xu L, He W J, Lu M, *et al.* Enzyme-assisted ultrasonic-microwave synergistic extraction and UPLC-QTOF-MS analysis of flavonoids from Chinese water chestnut peels [J]. *Indu Crops Prod*, 2018, 117: 179-186.
- [52] Wei Y Q, Sun M M, Fang H Y. Diethylene-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam [J]. *Indu Crops Prod*, 2019, 127: 232-236.
- [53] Chemat F, Vian M A, Cravotto G. Green extraction of natural products: Concept and principles [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(7): 8615-8627.
- [54] Zeković Z, Vidović S, Vladić J, *et al.* Optimization of subcritical water extraction of antioxidants from *Coriandrum sativum* seeds by response surface methodology [J]. *J Supercrit Fluids*, 2014, 95: 560-566.
- [55] Lachos-Perez D, Baseggio A M, Mayanga-Torres P C, *et al.* Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel [J]. *J Supercrit Fluids*, 2018, 138: 7-16.
- [56] Yildiz-Ozturk E, Tag O, Yesil-Celiktas O. Subcritical water extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves and characterization of the raffinate phase [J]. *J Supercrit Fluids*, 2014, 95: 422-430.
- [57] Jung K M, Lim K H, Soo C M. Pilot-scale subcritical water extraction of flavonoids from satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Markovich) peel [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2016, 38(A): 175-181.
- [58] Abbott A P, Capper G, Davies D L, *et al.* Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. *Chem Commun*, 2002, 9(1): 70-71.

- [59] Khandelwal S, Tailor Y K, Kumar M. Deep eutectic solvents (DESS) as eco-friendly and sustainable solvent/catalyst systems in organic transformations [J]. *J Mol Liquids*, 2016, 47(14): 345-386.
- [60] Tang B K, Zhang H, Row K H. Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(6): 1053-1064.
- [61] Zhuang B, Dou L L, Li P, *et al.* Deep eutectic solvents as green media for extraction of flavonoid glycosides and aglycones from *Platycladi Cacumen* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 134: 214-219.
- [62] Li X, Row K H. Development of deep eutectic solvents applied in extraction and separation [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(18): 3505-3520.
- [63] Jeong K M, Zhao J, J Y, *et al.* Highly efficient extraction of anthocyanins from grape skin using deep eutectic solvents as green and tunable media [J]. *Archiv Pharmacol Res*, 2015, 38(12): 2143-2152.
- [64] 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]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 161(30): 246-253.
- [65] Kurosumi A, Sasaki C, Kumada K, *et al.* Novel extraction method of antioxidant compounds from *Sasa palmata* (Bean) Nakai using steam explosion [J]. *Process Biochem*, 2007, 42(10): 1449-1453.
- [66] Qin L Z, Chen H Z. Enhancement of flavonoids extraction from fig leaf using steam explosion [J]. *Ind Crops Prod*, 2015, 69: 1-6.
- [67] Chen G Z, Chen H Z. Extraction and deglycosylation of flavonoids from sumac fruits using steam explosion [J]. *Food Chem*, 2011, 126(4): 1934-1938.
- [68] Huang X Q, Tu Z C, Jiang Y, *et al.* Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of lentinan [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(5): 926-932.
- [69] Jing S Q, Wang S S, Li Q, *et al.* Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and bioactivities of *Cyperus esculentus* (*C. esculentus* L.) leaves flavonoids [J]. *Food Chem*, 2016, 192: 319-327.