

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.81115

# 花椒叶总黄酮超声辅助低共熔溶剂提取工艺优化及抗氧化性分析

孙 伟 谷清义 翟冰倩 叶 润 蔡 静 乔新荣

(信阳农林学院药学院, 河南 信阳 464000)

**摘要:** [目的] 探究低共熔溶剂对花椒叶总黄酮提取率的影响, 并分析其抗氧化活性。[方法] 以花椒叶为原料, 总黄酮提取率为指标, 采用超声辅助进行提取, 筛选出最佳低共熔溶剂体系, 并测定花椒叶总黄酮化合物对羟自由基和 DPPH 自由基的清除能力。[结果] 采用氯化胆碱—乙二醇 ( $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$  为 1:3) 为低共熔溶剂, 当溶剂含水量为 22%, 料液比 ( $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$ ) 为 1:47 (g/mL), 超声时间为 15 min 时, 花椒叶总黄酮提取率最大; 花椒叶总黄酮对羟自由基的清除率最高为  $(63.89 \pm 0.26)\%$ , 对 DPPH 自由基的清除率可达  $(89.01 \pm 0.51)\%$ 。[结论] 低共熔溶剂提取花椒叶总黄酮效果佳, 且该花椒叶总黄酮的抗氧化能力较好。

**关键词:** 低共熔溶剂; 花椒叶; 总黄酮; 抗氧化

## Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaves with deep eutectic solvents and their antioxidant activity evaluation

SUN Wei GU Qingyi ZHAI Bingqian YE Run CAI Jing QIAO Xinrong

(School of Pharmacy, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang, Henan 464000, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effect of deep eutectic solvent (DES) on the extraction rate of total flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaves and analyze their antioxidant activity. [Methods] Using *Z. bungeanum* leaves as raw material and total flavonoid extraction rate as the evaluation index, this study performs ultrasound-assisted extraction to screen the optimal DES system. The scavenging capacities of the extracted total flavonoids against hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}$ ) and DPPH radicals are determined. [Results] The highest extraction rate of total flavonoids is achieved using a choline chloride-ethylene glycol DES system ( $n_{\text{choline chloride}}:n_{\text{ethylene glycol}}$  = 1:3) with 22% water content, a solid-to-liquid ratio ( $m_{\text{Z. bungeanum powder}}:V_{\text{solvent}}$ ) of 1:47 (g/mL), and ultrasonic time of 15 min. The total flavonoids from *Z. bungeanum* leaves exhibit a maximum hydroxyl radical scavenging rate of  $(63.89 \pm 0.26)\%$  and a DPPH radical scavenging rate as high as  $(89.01 \pm 0.51)\%$ . [Conclusion] DES demonstrates excellent efficiency in extracting total flavonoids from *Z. bungeanum* leaves, and the extracted total flavonoids possess strong antioxidant activity.

**Keywords:** deep eutectic solvent; *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaf; total flavonoids; antioxidant

花椒 (*Zanthoxylum bungeanum* Maxim) 属芸香科花椒 水肿、蛔虫病等, 具有降糖、抑菌、抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳 属落叶小乔木<sup>[1]</sup>。花椒叶性热, 能温里消肿, 可防治吐泻、 等多种保健功能<sup>[2-3]</sup>。苟鼎等<sup>[4]</sup>研究发现, 花椒叶中活性

基金项目: 河南省重点研发专项 (编号: 24111311400); 信阳农林学院大别山道地中药资源与系列产品开发研究科技创新团队 (编号: XNKJTD-009); 河南省科技公关项目 (编号: 242102230094)

通信作者: 叶润 (1988—), 男, 信阳农林学院讲师, 硕士。E-mail: yerun@126.com

收稿日期: 2024-11-01 改回日期: 2025-04-16

引用格式: 孙伟, 谷清义, 翟冰倩, 等. 花椒叶总黄酮超声辅助低共熔溶剂提取工艺优化及抗氧化性分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(7): 199-206.

**Citation:** SUN Wei, GU Qingyi, ZHAI Bingqian, et al. Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaves with deep eutectic solvents and their antioxidant activity evaluation[J]. Food & Machinery, 2025, 41(7): 199-206.

成分较多,如黄酮类、多糖类、生物活化酶和某些生物碱,以及游离脂肪酸等。刘晓莹等<sup>[5]</sup>证明黄酮类物质具有很强的抗氧化性,不仅对自由基有较强的清除能力,还可以改善血液循环、降低胆固醇等。

目前,有关花椒叶的研究主要侧重于花椒叶在食品加工中的应用<sup>[6]</sup>、花椒叶中各成分的分析<sup>[7]</sup>以及花椒叶的抑菌能力<sup>[8]</sup>等,有关花椒叶黄酮的提取纯化研究较少。崔鹏等<sup>[9]</sup>利用传统溶剂乙醇提取花椒叶总黄酮,操作虽简单,但溶剂量大、易挥发及易燃易爆、提取率低;李林键等<sup>[10]</sup>利用微生物发酵同步提取技术提取花椒叶黄酮,提取率较高,但耗时长,耗能较多,工序繁琐;杨立琛<sup>[11]</sup>利用微波辅助提取花椒叶黄酮,虽缩短了提取时间,但破坏了部分黄酮的结构,提取率较低;范菁华等<sup>[12]</sup>采用丙酮-水( $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}$ 为2:1)溶液提取花椒叶总黄酮,不仅得率低,而且丙酮具有一定毒性,易污染环境。

低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DES)为一种新型的绿色溶剂<sup>[13-14]</sup>,是将氢键受体和供体按照一定的比例进行混合,通过不断加热搅拌从而得到均一稳定的 DES 溶液。唐小强等<sup>[15]</sup>利用 DES 提取枇杷叶总黄酮,提取率达 24.6%;熊颖等<sup>[16]</sup>使用 DES 提取酚类物质,提取率为酸化甲醇的 2.18 倍,但未见采用此方法对花椒叶总黄酮进行提取分离的报道。

试验拟采用超声辅助方法提取花椒叶总黄酮,筛选出提取率最高的 DES 体系,以溶剂含水量、料液比、超声时间为因素,通过响应面试验优化提取工艺,并分析花椒叶总黄酮对羟自由基和 DPPH 自由基的清除能力,以期得到一种环保、高效的花椒叶总黄酮提取方法,为花椒叶的深度开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

花椒叶:2023 年 4 月采摘于信阳农林学院后山,含水量 < 10%,由中药资源开发教研室陈琼教授鉴定;

芦丁标准品:98%,福州飞净生物科技有限公司;

硝酸铝、蔗糖、L-脯氨酸、30%过氧化氢:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

氢氧化钠、乙二醇:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

亚硝酸钠、水杨酸:分析纯,天津市化学试剂厂;

无水乙醇:分析纯,郑州派尼化学试剂厂;

氯化胆碱:分析纯,上海山蒲化工有限公司;

尿素、硫酸亚铁:分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司;

乳酸:分析纯,北京旭东化工厂;

L-坏血酸:优级纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):分析纯,天津市华盛化学试剂有限公司;

蒸馏水:药物分析实验室自制;

高速粉碎机:600N 型,颖上头等舱科技有限公司;

电子分析天平:HC2004 型,上海卓精电子科技有限公司;

超声波清洗机:CR-040S 型,深圳市春霖清洗设备有限公司;

台式离心机:KA-1000 型,上海安亭科学仪器厂;

玻璃仪器烘干机:C20 型,济南好来宝医疗器械有限公司;

紫外可见分光光度计:752N 型,上海仪电分析仪器有限公司;

六联恒温磁力搅拌器:HA-6A 型,济南好来宝医疗器械有限公司;

单列四孔水浴锅:DXY-4F 型,济南欧莱博技术有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理 挑拣品相较好的花椒叶清洗晾干,50℃干燥至恒重,含水量为(1.26±0.12)%,粉碎,过 80 目筛,装入广口瓶中备用。

#### 1.2.2 花椒叶总黄酮提取

(1) 低共熔溶剂制备:参照熊颖等<sup>[16]</sup>的方法,DES 组成见表 1。85℃边加热边搅拌,使低共熔溶剂充分溶解并形成清澈稳定的溶液。冷却至室温,待用。

表 1 低共熔溶剂制备  
Table 1 Preparation of DESs

种类	名称	摩尔比	含水量/%
DES-1	氯化胆碱-蔗糖	1:2	20
DES-2	氯化胆碱-L-脯氨酸		
DES-3	氯化胆碱-尿素		
DES-4	氯化胆碱-乙二醇		
DES-5	氯化胆碱-乳酸		

(2) 总黄酮提取:参照刘洋旋等<sup>[17]</sup>的方法并修改。称取一定量花椒叶粉末,按  $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$  为 1:20 (g/mL) 将花椒叶粉末溶解于 DES 中,超声频率 40 kHz、300 W、45℃下超声 15 min,3 000 r/min 离心 15 min,上清液即为花椒叶总黄酮提取液。

1.2.3 花椒叶总黄酮提取液的定性鉴定 参照文献[18-19]的方法。

1.2.4 总黄酮提取率测定 参照莫玉静等<sup>[20]</sup>的方法。以标准溶液质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得线性回归方程  $y=10.983x-0.053$ ,  $R^2=0.999 2$ 。按式(1)计算总黄酮提取率。

$$W = \frac{C \times V_0 \times N}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

W——花椒叶总黄酮提取率,%;

$C$ ——提取液质量浓度, mg/mL;

$V_0$ ——离心后提取液体积, mL;

$N$ ——稀释倍数;

$M$ ——花椒叶粉末质量, mg。

1.2.5 DES体系的确定 分别用不同组成的低共熔溶剂以及体积分数为65%的乙醇溶液<sup>[11]</sup>提取花椒叶总黄酮, 计算总黄酮提取率, 选择提取率最高的DES作为提取溶剂。保持提取条件一致, 改变低共熔溶剂组分的摩尔比( $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$ 分别为1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5), 探究其对花椒叶总黄酮提取率的影响, 选用提取率最高的组分摩尔比, 作为最终低共熔溶剂体系。

1.2.6 单因素试验 固定超声频率40 kHz、超声功率300 W、超声温度45 °C, 离心时间15 min, 分别考察溶剂含水量(10%, 20%, 30%, 40%, 50%)、料液比[ $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$ 为1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 (g/mL)]和超声时间(10, 15, 20, 25, 30 min)对花椒叶总黄酮提取率的影响。

1.2.7 响应面试验 以溶剂含水量、料液比、超声时间为因素, 采用Design-Expert 11.1.1.0软件, 利用Box-Behnken模型, 以花椒叶总黄酮提取率为响应值, 设计三因素三水平响应面试验优化花椒叶总黄酮提取工艺。

### 1.2.8 体外抗氧化活性分析

(1) OH自由基清除能力: 参照朱焱超等<sup>[21]</sup>的方法并调整。制备5种不同质量浓度(0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 mg/mL)花椒叶总黄酮提取液, 分别取2 mL于具塞试管内, 分别加入2 mL 6 mmol/L的FeSO<sub>4</sub>溶液和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液, 静置10 min, 加入2 mL 6 mmol/L的水杨酸溶液, 摇匀, 37 °C水浴30 min, 测定510 nm处吸光度, 以维生素C(V<sub>C</sub>)为阳性对照, 按式(2)计算自由基清除率。

$$T = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

$T$ ——自由基清除率, %;

$A_1$ ——提取液的吸光度;

$A_2$ ——纯化水替代水杨酸溶液的吸光度;

$A_0$ ——纯化水替代提取液的吸光度。

(2) DPPH自由基清除能力: 参照延永等<sup>[22]</sup>的方法并改动。移取2 mL 0.2 mmol/L DPPH-乙醇溶液, 分别加入2 mL 5种不同质量浓度(0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 mg/mL)花椒叶总黄酮溶液, 避光静置30 min, 测定517 nm处吸光度, 以V<sub>C</sub>为阳性对照, 按式(2)计算DPPH自由基清除率。

### 1.3 数据处理

采用Excel 2019、Origin 2021软件进行数据处理、分析及制图。利用Design-Expert 11.1.1.0软件设计响应面试验方案, 所有试验重复3次取平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取液的定性鉴定

提取液遇镁粉和浓盐酸呈红色; 喷洒乙酸镁甲醇溶液, 紫外光下显现荧光, 为黄酮类化合物独有的颜色反应, 表明花椒叶总黄酮提取液中含有黄酮类化合物。

### 2.2 最优DES体系的确定

由图1可知, 大部分低共熔溶剂对花椒叶总黄酮的提取率比体积分数65%乙醇溶液的高, 其中氯化胆碱—乙二醇的提取率最高, 可能是DES-4中大量的羟基、氨基可与黄酮类化合物发生分子间氢键作用<sup>[23]</sup>, 增大其溶解度, 从而使提取率增大。这与蒋利荣等<sup>[24]</sup>的结果相符, 因此选择DES-4作为提取溶剂。

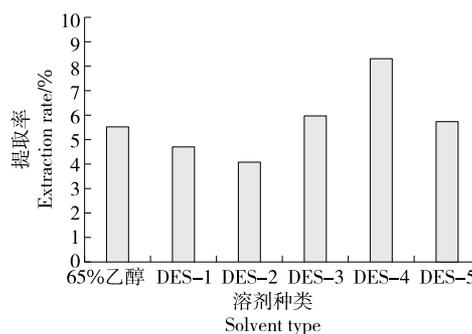


图1 低共熔溶剂对总黄酮提取率的影响

Figure 1 Influence of DES on extraction rate of total flavonoids

由图2可知, 当 $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$ 为1:1~1:5时, 总黄酮提取率先增加后减小, 可能是随着乙二醇含量的增加, 混合体系的黏度和表面张力有所降低, 更有利于总黄酮的溶出<sup>[25]</sup>; 当DES体系中乙二醇含量较低时, 随着 $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$ 的增大, 溶液中两组分之间氢键作用增强, DES体系与黄酮化合物间结合力增大, 黄酮提取率增加<sup>[26]</sup>; 但随着溶剂中乙二醇比例的逐步增大, DES体系中氯化胆碱比例越来越小, 黄酮类化合物与DES的作用力降低, 提取率

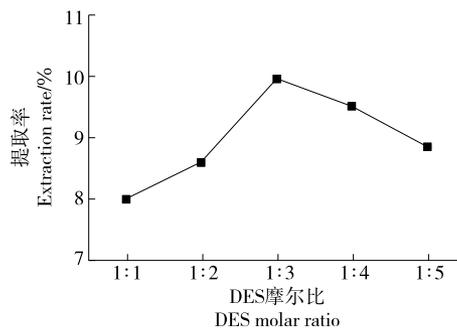


图2  $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$ 对总黄酮提取率的影响

Figure 2 Influence of  $n_{\text{choline chloride}}:n_{\text{ethylene glycol}}$  on extraction rate of total flavonoids

降低<sup>[27]</sup>。因此,选择  $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}$  为 1:3 的 DES 体系进行总黄酮提取。

### 2.3 单因素试验

**2.3.1 溶剂含水量对花椒叶总黄酮提取率的影响** 由图 3 可知,随着溶剂含水量的增加,总黄酮提取率先升后降,当溶剂含水量为 20% 时,总黄酮提取率最高,可能是 DES 体系含水量较低时,少量水的加入使溶剂黏度降低,极性变大,传质速率增大,从而使 DES 体系与花椒叶粉末的接触机会增多,花椒叶黄酮溶出率增大。当溶剂含水量 >20% 时,黄酮提取率降低,可能是含水量过多,减小了 DES-4 体系中氢键作用力,同时体系中 DES-4 浓度也随之减小,使花椒叶黄酮提取率减小<sup>[28]</sup>。因此,选择较适溶剂含水量为 20%。

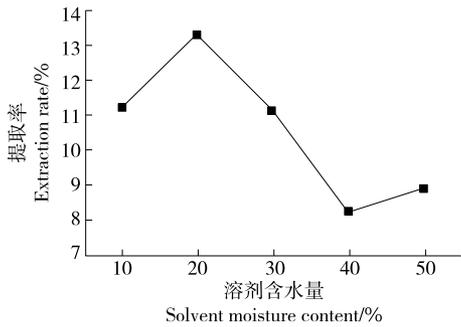


图 3 溶剂含水量对花椒叶总黄酮提取率的影响

Figure 3 Influence of water content of DES on extraction rate of total flavonoids from *Z. bungeanum* leaves

**2.3.2 料液比对花椒叶总黄酮提取率的影响** 由图 4 可知,随着料液比的增加,花椒叶总黄酮提取率逐渐升高,当  $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$  为 1:40 (g/mL) 时,提取率最高,继续增大料液比,总黄酮提取率开始降低。这可能是 DES 的增加可以增大花椒叶中黄酮类物质与其接触面积,使 DES 快速进入细胞,促进黄酮类物质的扩散,但当 DES 饱和时,花椒叶中其他可溶性物质会与黄酮类物质竞争 DES,从而使花椒叶总黄酮提取率降低<sup>[29]</sup>。因此,选择较适  $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$  为 1:40 (g/mL)。

**2.3.3 超声时间对花椒叶总黄酮提取率的影响** 由图 5 可知,当超声时间为 10~15 min 时,花椒叶总黄酮提取率随时间的延长不断增大,当超声时间为 15 min 时提取率最高。这是因为在一定时间范围内,延长超声时间能够加快细胞壁破裂,加快黄酮类物质从细胞内溶出,提高提取率;但超声时间过长,一方面会促使非黄酮类物质的溶出,另一方面还可能引起已溶出黄酮类化合物的分解<sup>[30]</sup>。因此,选择较适超声时间为 15 min。

### 2.4 响应面试验

**2.4.1 试验设计及结果** 在单因素试验基础上,以溶剂含水量、料液比和超声时间为因素,以总黄酮提取率为响

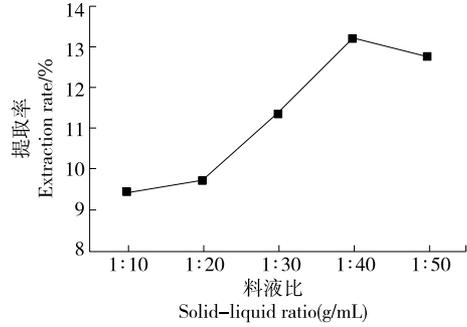


图 4 料液比对花椒叶总黄酮提取率的影响

Figure 4 Influence of solid-to-liquid ratio on extraction rate of total flavonoids from *Z. bungeanum* leaves

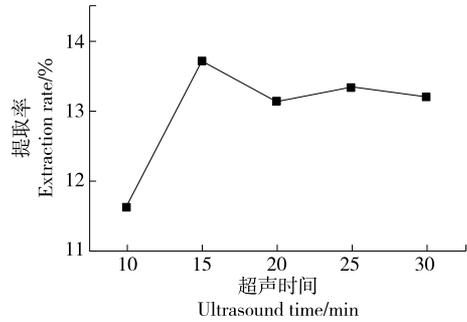


图 5 超声时间对花椒叶总黄酮提取率的影响

Figure 5 Influence of ultrasonic time on extraction rate of total flavonoids from *Z. bungeanum* leaves

应值,进行三因素三水平响应面试验优化超声辅助低共熔溶剂提取花椒叶总黄酮工艺。响应面试验因素水平见表 2,试验设计及结果见表 3。

表 2 响应面试验因素及水平

Table 2 Design of test factors and levels for response surface analysis

水平	A 溶剂含水量 / %	B 料液比 (g/mL)	C 超声时间 / min
-1	10	1:30	10
0	20	1:40	15
1	30	1:50	20

采用 Design-Expert 11.1.1.0 软件进行回归拟合,得二次多项回归方程:

$$Y = 13 + 0.563 \ 8A + 0.805B + 0.148 \ 8C - 0.445AB - 0.227 \ 5AC + 0.015BC - 0.480 \ 8A^2 - 0.468 \ 3B^2 - 0.675 \ 7C^2 \quad (3)$$

**2.4.2 方差分析** 由表 4 可知,模型  $P < 0.000 \ 1$ ,极显著;失拟项  $P = 0.788 \ 4 > 0.05$ ,不显著,证明该模型具有较好拟合度,可行性良好。模型  $R^2 = 0.989 \ 4, R_{\text{Adj}}^2 = 0.975 \ 7$ ,说明拟合度良好,信噪比为 25.349  $8 > 4$ ,说明方程的可信度高。根据  $F$  值可知,各因素对花椒叶总黄酮提取率影响大

表 3 响应面试验设计及结果

Table 3 Response surface experiments and results

试验号	A	B	C	总黄酮提取率/%
1	0	0	0	12.83
2	0	0	0	12.87
3	0	-1	1	11.11
4	-1	0	-1	10.88
5	0	0	0	13.09
6	0	1	1	12.81
7	1	0	1	12.36
8	0	-1	-1	10.94
9	0	0	0	13.24
10	-1	0	1	11.73
11	1	1	0	12.97
12	0	0	0	12.99
13	1	0	-1	12.42
14	1	-1	0	12.31
15	-1	1	0	12.69
16	0	1	-1	12.58
17	-1	1	0	10.25

小为料液比>溶剂含水量>超声时间。一次项 A、B,交互项 AB 和二次项 A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>对总黄酮提取率影响极显著 ( $P<0.01$ ),一次项 C 和交互项 AC 对总黄酮提取率影响显著 ( $P<0.05$ )。

2.4.3 交互作用 等高线图越接近椭圆形,交互作用越显著<sup>[31]</sup>。由图 6~图 8 可知,各响应面图的陡峭程度为 AB>AC>BC,与方差分析结果一致,说明溶剂含水量和料液比的交互作用最显著,对花椒叶总黄酮提取率的影响较大,料液比和超声时间的交互作用较小。

2.4.4 验证实验 采用 Design-Expert 11.1.1.0 软件对数据进行分析,得到花椒叶总黄酮提取率的最佳工艺条件为溶剂含水量 22.318%、料液比 1:47.181 (g/mL)、超声时

表 4 方差分析<sup>†</sup>

Table 4 Variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	13.15	9	1.46	72.38	<0.000 1	**
A	2.54	1	2.54	125.92	<0.000 1	**
B	5.18	1	5.18	256.74	<0.000 1	**
C	0.18	1	0.18	8.77	0.021 1	*
AB	0.79	1	0.79	39.23	0.000 4	**
AC	0.21	1	0.21	10.25	0.015 0	*
BC	0.00	1	0.00	0.04	0.838 8	
A <sup>2</sup>	0.97	1	0.97	48.19	0.000 2	**
B <sup>2</sup>	0.92	1	0.92	45.72	0.000 3	**
C <sup>2</sup>	1.92	1	1.92	95.22	<0.000 1	**
残差	0.14	7	0.02			
失拟项	0.03	3	0.01	0.36	0.788 4	
纯误差	0.11	4	0.03			
总离差	13.29	16				

† \*表示差异显著 ( $P<0.05$ ),\*\*表示差异极明显 ( $P<0.01$ );  $R^2=0.989 4, R^2_{Adj}=0.975 7, CV=25.349 8$ 。

间 15.395 min,花椒叶总黄酮提取率最高为 13.38%。结合实际情况,将最佳提取条件调整为溶剂含水量 22%、料液比 1:47 (g/mL)、超声时间 15 min,此时花椒叶总黄酮提取率为 (13.45±0.69)%,与理论值相差 0.07%,证明该模型预测性良好,适用于超声辅助低共熔溶剂提取花椒叶总黄酮的工艺优化。杨立琛<sup>[11]</sup>利用微波辅助 65% 乙醇得到花椒叶总黄酮提取率为 7.64%,范菁华等<sup>[12]</sup>以丙酮-水 ( $V_{丙酮}:V_{水}$  为 2:1) 溶液得到花椒叶总黄酮提取率仅为 3.53%,超声辅助低共熔溶剂法的黄酮提取率较高。

2.5 抗氧化活性

2.5.1 对羟自由基的清除能力 由图 9 可知,在 0.02~0.10 mg/mL 质量浓度范围内,花椒叶总黄酮提取液对羟自由基的清除能力随着样品质量浓度的增加而增大。当

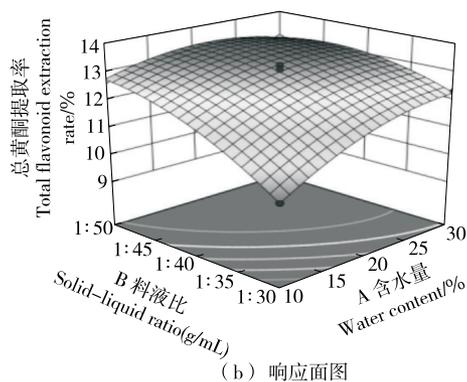
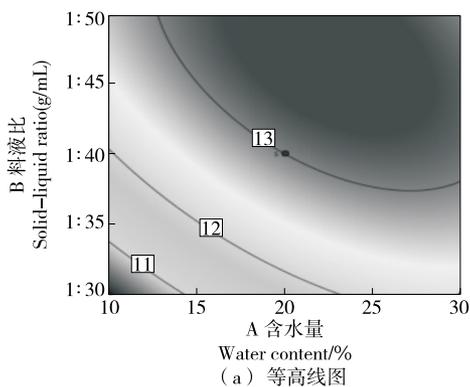


图 6 溶剂含水量与料液比响应面交互图

Figure 6 Interaction of water content of DES and solid-to-liquid ratio

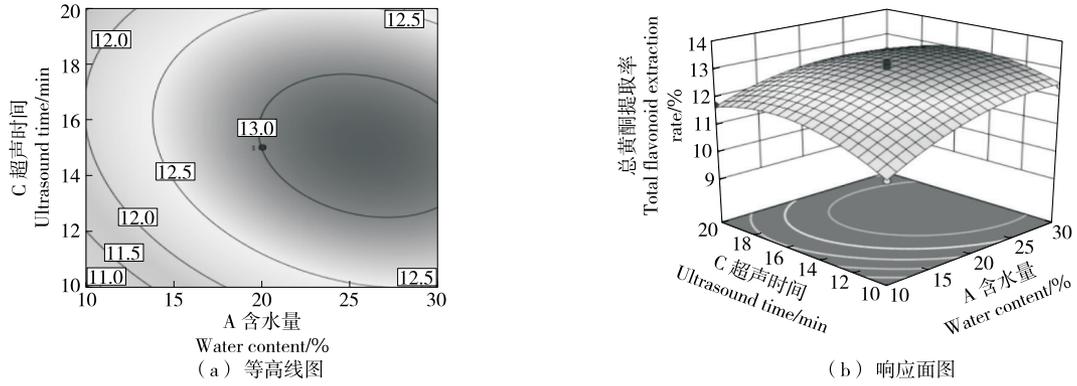


图 7 溶剂含水量与超声时间响应面交互图

Figure 7 Interaction between water content of DES and ultrasonic time

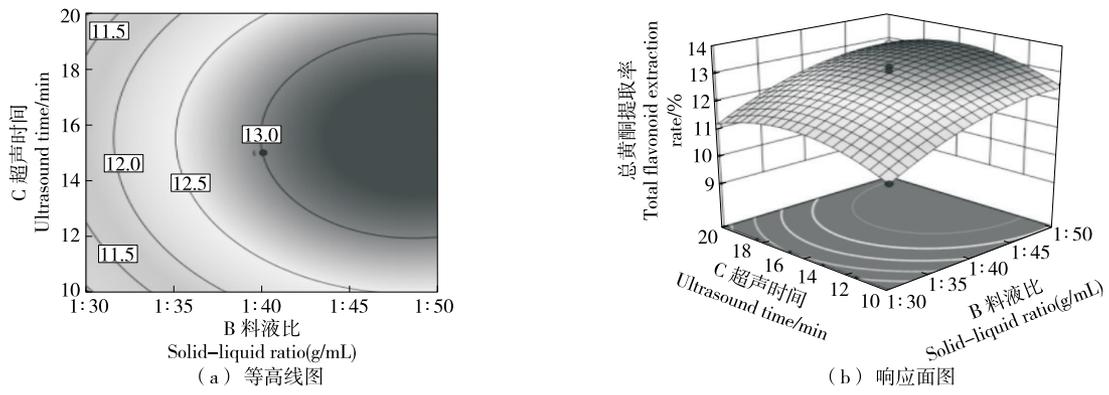


图 8 料液比与超声时间响应面交互图

Figure 8 Interaction of solid-to-liquid ratio and ultrasonic time

样品质量浓度为 0.1 mg/mL 时, 花椒叶总黄酮提取液对羟自由基的清除率为  $(63.89 \pm 0.26)\%$ , 高于  $V_c$  的, 表明花椒叶总黄酮具有较好的羟自由基清除能力。这与陈凌等<sup>[32]</sup>的研究结果相似, 可能是提取液中含有较多酚羟基, 可与自由基生成半醌式自由基, 从而终止自由基链式反应。  
 2.5.2 对 DPPH 自由基的清除能力 由图 10 可知, 当样品质量浓度为 0.02~0.06 mg/mL 时, 花椒叶总黄酮提取液对 DPPH 自由基的清除能力大于  $V_c$  的; 当样品质量浓度

为 0.10 mg/mL 时,  $V_c$  对 DPPH 自由基的清除率为  $(99.91 \pm 0.73)\%$ , 高于总黄酮提取液的, 说明花椒叶总黄酮具有良好的抗氧化活性。这可能是花椒叶总黄酮提取液提供的质子与 DPPH 自由基结合成的抗磁性分子更加稳定, 导致 DPPH 自由基含量较低<sup>[33]</sup>。

### 3 结论

超声辅助低共熔溶剂提取花椒叶总黄酮的最佳工艺

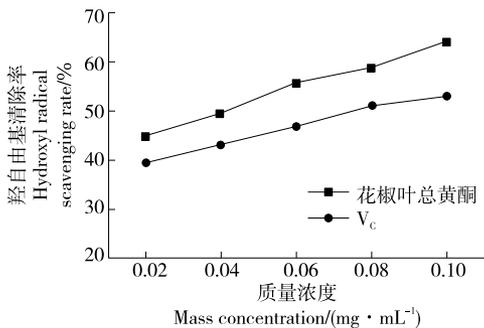


图 9 花椒叶总黄酮提取液对羟自由基的清除能力

Figure 9 Scavenging rate of hydroxyl radicals by total flavonoids of *Z. bungeanum* leaves

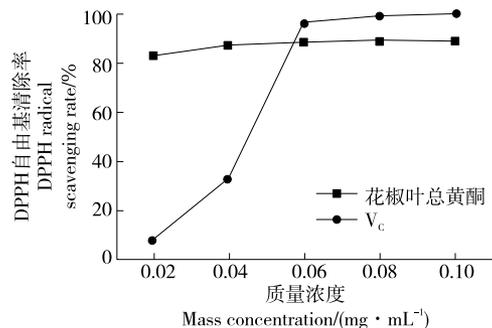


图 10 花椒叶总黄酮对 DPPH 自由基的清除能力

Figure 10 Scavenging rate of DPPH radicals by total flavonoids of *Z. bungeanum* leaves

条件为以氯化胆碱-乙二醇体系作为低共熔溶剂,  $n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{乙二醇}}=1:3$ , 溶剂含水量 22%, 料液比 ( $m_{\text{花椒粉末}}:V_{\text{溶剂}}$ ) 1:47 (g/mL), 超声温度 45 °C, 超声时间 15 min, 此条件下花椒叶总黄酮提取率达  $(13.45 \pm 0.69)\%$ , 明显高于乙醇提取法和水提法。超声辅助低共熔溶剂法作为一种替代传统的提取方法, 不仅缩短了提取时间, 对环境友好, 安全性好, 还提高了花椒叶总黄酮的提取率和纯度, 可有效地从花椒叶中提取黄酮类化合物。花椒叶总黄酮具有良好的体外抗氧化活性, 可作为食品保鲜剂和防腐剂的来源, 同时可应用于药品和保健品等领域, 推动花椒叶的综合利用和经济价值的提高。后续可研究花椒叶总黄酮提取液的纯化和组分, 并进行体内试验全面分析花椒叶总黄酮的抗氧化活性及其他功能活性。

### 参考文献

- [1] 郭松, 李金健, 张鹏. 花椒叶的研究现状综述[J]. 广东化工, 2021, 48(7): 69-72.  
GUO S, LI J J, ZHANG P. Functional study as well as prospect of development and utilization *Zanthoxylum bungeanum* leaves [J]. Guangdong Chemical Industry, 2021, 48(7): 69-72.
- [2] WU Z C, WANG W, HE F Y, et al. Simultaneous enrichment and separation of four flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* leaves by ultrasound-assisted extraction and macroporous resins with evaluation of antioxidant activities[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(8): 2 109-2 118.
- [3] 千惠, 殷田田. 花椒叶中多酚成分提取及功能性研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(3): 196-199.  
QIAN H, YIN T T. Study on the extraction and functionality of polyphenols from *Zanthoxylum bungeanum* maxim. leaves[J]. China Condiment, 2022, 47(3): 196-199.
- [4] 苟鼎, 张腊梅, 黄红琴. 花椒叶提取物主要成分及其生物特性的研究进展[J]. 清远职业技术学院学报, 2022, 15(4): 64-71.  
GOU D, ZHANG L M, HUANG H Q. Research progress on main components and biological characteristics of *Zanthoxylum bungeanum* leaf extract[J]. Journal of Qingyuan Polytechnic, 2022, 15(4): 64-71.
- [5] 刘晓莹, 卢利平, 金伟嘉, 等. 天水秋椒叶黄酮的提取工艺优化[J]. 农产品加工, 2022(5): 24-29.  
LIU X Y, LU L P, JIN W J, et al. Optimization of extraction technology of flavonoids from paprika leaves[J]. Farm Products Processing, 2022(5): 24-29.
- [6] 张欢, 梁晶晶, 刘阳, 等. 花椒叶在椒盐曲奇饼干制作工艺中的应用研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(14): 103-109.  
ZHANG H, LIANG J J, LIU Y, et al. Study on the application of *Zanthoxylum bungeanum* leaves in the processing of salt and pepper cookies[J]. Food Research and Development, 2018, 39(14): 103-109.
- [7] 袁小钧, 刘阳, 姜元华, 等. 花椒叶化学成分、生物活性及其资源开发研究进展[J]. 中国调味品, 2018, 43(7): 182-187, 192.  
YUAN X J, LIU Y, JIANG Y H, et al. Research progress of chemical constituents, biological activities and exploitation and utilization of Chinese prickly ash leaves[J]. China Condiment, 2018, 43(7): 182-187, 192.
- [8] 孙伟, 蔡静, 叶润, 等. 响应面法优化花椒叶多糖提取工艺及抑菌活性研究[J]. 化学试剂, 2021, 43(1): 109-114.  
SUN W, CAI J, YE R, et al. Optimization of the extraction technology of polysaccharides from Chinese prickly ash leaves by response surface method and its antibacterial activity[J]. Chemical Reagents, 2021, 43(1): 109-114.
- [9] 崔鹏, 高元栋, 李玉文, 等. 响应面法优化超声辅助提取花椒叶黄酮工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(8): 53-60.  
CUI P, GAO Y D, LI Y W, et al. Study on the optimum technology of ultrasonic-assisted extraction of leaves of *Zanthoxylum* by response surface method[J]. Food Research and Development, 2018, 39(8): 53-60.
- [10] 李林键, 张长懿, 韩宛芸, 等. 花椒叶总黄酮和多糖的微生物发酵同步提取工艺研究[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(6): 7-13, 68.  
LI L J, ZHANG C Y, HAN W Y, et al. Study on simultaneous extraction of total flavonoids and polysaccharides from *Zanthoxylum bungeanum* leaves by microbial fermentation[J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2020, 56(6): 7-13, 68.
- [11] 杨立琛. 花椒叶黄酮的微波提取及其成分分析[D]. 天津: 天津商业大学, 2013: 11-13.  
YANG L C. Identification and quantification of flavonoids in leaves of *Zanthoxylum bungeanum* extracted by microwave-assisted method[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2013: 11-13.
- [12] 范菁华, 徐怀德, 李钰金, 等. 超声波辅助提取花椒叶总黄酮及其体外抗氧化性研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(6): 22-28.  
FAN J H, XU H D, LI Y J, et al. Ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and its antioxidation *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(6): 22-28.
- [13] 张艺欣, 邬旭然, 何若菡, 等. 天然低共熔溶剂萃取酚类物质研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(11): 212-216, 240.  
ZHANG Y X, WU X R, HE R H, et al. Research progress on extraction of phenols with natural deep eutectic solvent[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 212-216, 240.
- [14] TU Y J, LI L N, FAN W X, et al. Development of green and efficient extraction of bioactive ginsenosides from *Panax ginseng* with deep eutectic solvents[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2022, 27(14): 4 339.
- [15] 唐小强, 何小艳, 张海全, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取枇杷叶总黄酮的工艺研究[J]. 广州化工, 2023, 51(3): 96-99.  
TANG X Q, HE X Y, ZHANG H Q, et al. Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of total flavonoids from loquat leaves[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2023, 51(3): 96-99.
- [16] 熊颖, 周波, 钟海雁. 杏仁种皮酚类物质的低共熔溶剂提取

- 及其抗氧化能力[J]. 农业工程学报, 2021, 37(15): 289-298.
- XIONG Y, ZHOU B, ZHONG H Y. Antioxidant capacity of phenols from apricot kernel coat extracted with deep eutectic solvent[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37(15): 289-298.
- [17] 刘洋旋, 吕庆云, 党允卓, 等. 响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取葛根中黄酮及其抗氧化分析[J]. 食品科技, 2021, 46(11): 195-202.
- LIU Y X, LYU Q Y, DANG Y Z, et al. Optimization of ultrasonic assisted deep eutectic solvent extraction and antioxidant activity of puerarin from *Pueraria lobata* root by response surface methodology[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(11): 195-202.
- [18] 杨剑萍, 苏婷婷, 张韩洁, 等. 甘草黄酮的提取分离及其葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 化学与生物工程, 2017, 34(11): 15-18.
- YANG J P, SU T T, ZHANG H J, et al. Extraction and separation of licoflavone and its inhibitory activity on glucosaccharase[J]. Chemistry & Bioengineering, 2017, 34(11): 15-18.
- [19] MING Y, LIN J W, LIANG H H, et al. Research on flavonoids based on terahertz time-domain spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(12): 3 919-3 924.
- [20] 莫玉静, 宋佳佳, 余金燕, 等. 超声提取砂糖橘落果总黄酮及其抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(10): 188-194.
- MO Y J, SONG J J, YU J Y, et al. Ultrasound extraction and antioxidant activity of total flavonoids from 'Shatangju' mandarin drop fruit[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(10): 188-194.
- [21] 朱焱超, 涂世伟, 于梦瑶, 等. 新疆红枣中总黄酮的提取及抗氧化活性研究[J]. 农产品加工, 2022(19): 18-21, 25.
- ZHU Y C, TU S W, YU M Y, et al. Study on extraction and antioxidant activity of total flavones from Xinjiang red jujube [J]. Farm Products Processing, 2022(19): 18-21, 25.
- [22] 延永, 张亦琳, 吴永玲, 等. 响应面法优化蒲公英总黄酮提取工艺及其抑菌活性[J]. 广西林业科学, 2019, 48(2): 223-228.
- YAN Y, ZHANG Y L, WU Y L, et al. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Taraxacum* and its antibacterial activity[J]. Guangxi Forestry Science, 2019, 48(2): 223-228.
- [23] ANDRADE A W L, MACHADO K D C, MACHADO K D C, et al. *In vitro* antioxidant properties of the biflavonoid agathisflavone[J]. Chemistry Central Journal, 2018, 12(1): 75.
- [24] 蒋利荣, 何海燕, 覃拥灵, 等. 超声辅助绿色低共熔溶剂提取番石榴叶总黄酮的工艺研究[J]. 饲料研究, 2022, 45(12): 72-76.
- JIANG L R, HE H Y, QIN Y L, et al. Ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from guava leaves by natural deep eutectic solvents[J]. Feed Research, 2022, 45(12): 72-76.
- [25] 刘珊, 李德慧, 孙科, 等. 新型绿色低共熔溶剂用于金钱草总黄酮的提取研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6): 1 312-1 314.
- LIU S, LI D H, SUN K, et al. Study on the extraction of total flavonoids from desmodium using a new green deep eutectic solvent[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica, 2019, 30(6): 1 312-1 314.
- [26] 雷永伟, 刘欣, 安艳霞, 等. 低共熔溶剂提取荞麦壳黄酮的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(13): 160-166.
- LEI Y W, LIU X, AN Y X, et al. Optimization of extraction technology of buckwheat hull flavonoids in deep eutectic solvent[J]. Food Research and Development, 2023, 44(13): 160-166.
- [27] 孙悦, 刘晓冰, 苏卓文, 等. 微波辅助低共熔溶剂提取鹰嘴豆中黄酮及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 120-128.
- SUN Y, LIU X B, SU Z W, et al. Extraction of flavonoids from chickpeas by microwave-assisted eutectic solvent and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(14): 120-128.
- [28] 于秋菊, 孙科, 耿凤英. 超声辅助低共熔溶剂提取桑黄多糖及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(5): 81-88, 105.
- YU Q J, SUN K, GENG F Y. Ultrasound-assisted deep eutectic solvent-based extraction of polysaccharides from *Phellinus igniarius* and its antioxidant activities[J]. Food Research and Development, 2023, 44(5): 81-88, 105.
- [29] 倪雪华, 王恒鹏. 低共熔溶剂提取绿茶总黄酮及其抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2022, 38(1): 159-163.
- NI X H, WANG H P. Research on extraction of total flavonoids from green tea with deep eutectic[J]. Food & Machinery, 2022, 38(1): 159-163.
- [30] 刘小琳, 魏丽婷, 黄瑶雁, 等. 厚朴总黄酮提取及响应面法优化[J]. 农产品加工, 2023(5): 38-42.
- LIU X L, WEI L T, HUANG Y Y, et al. Extraction of total flavonoids from *magnolia officinalis* and optimization of response surface methodology[J]. Farm Products Processing, 2023(5): 38-42.
- [31] 梁泳仪, 肖冬悦, 王宏, 等. 化橘红黄酮深共熔溶剂提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(7): 192-199.
- LIANG Y Y, XIAO D Y, WANG H, et al. Optimization of deep eutectic solvent extraction process and antioxidant activities of flavonoids from *exocarpium Citri grandis*[J]. Food & Machinery, 2024, 40(7): 192-199.
- [32] 陈凌, 沙弋, 曹巧巧, 等. 罗汉松种子总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 包装工程, 2023, 44(7): 158-167.
- LI L, SHA Y, CAO Q Q, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of flavonoids from *Podocarpus macrophyllus* seeds[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(7): 158-167.
- [33] 赵彦巧, 卜凡真, 王月, 等. 紫苏叶黄酮超声辅助提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(6): 146-152.
- ZHAO Y Q, BU F Z, WANG Y, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction and antioxidant activities of flavonoids from *Perilla frutescens* leaves[J]. Food Research and Development, 2023, 44(6): 146-152.