

超声辅助低共熔溶剂高效提取五味子酯甲的工艺优化及抑菌活性

王婷婷¹, 季青霞¹, 潘亮¹, 朱春¹, 宋光富^{2*}, 毕艳红^{1,3}, 杨荣玲¹, 王朝宇^{1,3*}

(1. 淮阴工学院生命科学与食品工程学院, 江苏淮安 223003)(2. 四川中烟工业有限责任公司技术中心, 四川成都 610100)(3. 苏州科技大学化学与生命科学学院, 江苏苏州 215009)

摘要: 该研究以低共熔溶剂为提取剂, 采用超声辅助低共熔溶剂技术从南五味子中提取其有效成分-五味子酯甲, 确定了最佳提取溶剂, 考察了其含水量、提取温度、液料比、超声时间和超声功率对五味子酯甲提取量的影响, 采用响应曲面法对提取工艺进行优化, 并与传统有机溶剂提取工艺进行了比较。结果表明, 最佳提取溶剂为氯化胆碱与乙酰丙酸(摩尔比 2:3)的组合; 最佳提取工艺: 溶剂含水量体积分数 20%、提取温度 63 °C、液料体积质量比 21:1 (mL/g)、超声时间 63 min 和超声功率 150 W。在此条件下, 五味子酯甲的提取量为 10.12 mg/g, 实验值与预测值接近, 证明了模型的有效性, 可以很好地预测五味子酯甲提取的最佳工艺条件。与体积分数 80% 二甲基亚砜和 95% 乙醇的提取量作比较, 分别是二者的 1.98 倍和 3.30 倍。五味子酯甲对大肠杆菌干预 24 h 后, 在其质量浓度为 2.25~4.50 mg/mL 时, 五味子酯甲对大肠杆菌具有高度抑菌效果。该研究为五味子酯甲的高效、绿色提取及其在抑菌方面的开发应用提供了借鉴。

关键词: 南五味子; 低共熔溶剂; 五味子酯甲; 响应面分析; 抑菌活性

文章编号: 1673-9078(2025)08-197-206

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0803

High-efficiency Ultrasound-assisted Deep Eutectic Solvent Extraction of Schisantherin A: Process Optimization and Bacteriostatic Activity

WANG Tingting¹, JI Qingxia¹, PAN Liang¹, ZHU Chun¹, SONG Guangfu^{2*},

BI Yanhong^{1,3}, YANG Rongling¹, WANG Zhaoyu^{1,3*}

(1. School of Life Science and Food Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China)

(2. Technical Center of China Tobacco Sichuan Industrial Co. Ltd., Chengdu 610100, China)

(3. School of Chemistry and Life Sciences, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction technology was employed to extract the active ingredient, Schisantherin A (SCA), from *Schisandra sphenanthera*. The optimal extraction solvent was determined, and

引文格式:

王婷婷,季青霞,潘亮,等.超声辅助低共熔溶剂高效提取五味子酯甲的工艺优化及抑菌活性[J].现代食品科技,2025,41(8):197-206.

WANG Tingting, JI Qingxia, PAN Liang, et al. High-efficiency ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of schisantherin a: process optimization and bacteriostatic activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 197-206.

收稿日期: 2024-06-06

基金项目: 江苏省六大人才高峰项目(YY-061); 江苏省研究生科技创新计划项目(HGYK202203)

作者简介: 王婷婷(1993-),女,在读硕士生,化工助理工程师,研究方向:食品加工与安全, E-mail: hhfwt@163.com

通讯作者: 王朝宇(1978-),男,博士,教授,研究方向:生物化工, E-mail: biowzy@126.com; 共同通讯作者: 宋光富(1980-),男,硕士,高级工程师,研究方向:风味化学, E-mail: 332425380@qq.com

the influences of water content, extraction temperature, liquid–solid ratio, sonication time, and sonication power on SCA extraction yield were investigated. Response surface methodology was adopted for optimization of the extraction process, and the optimized process was compared with extraction using conventional organic solvents. The results indicated that the optimal extracting agent was a combination of choline chloride and levulinic acid (molar ratio of 2:3), and the optimal process conditions for extraction were as follows: 20% water content of the solvent (volume fraction), 63 °C extraction temperature, 21:1 liquid-solid ratio (mL/g), 63 min sonication time, and 150 W sonication power. The SCA extraction yield under these conditions was 10.12 mg/g, which was close to the predicted value and demonstrated the effectiveness of the model in predicting the optimal process conditions for SCA extraction. In addition, the extraction yield was 1.98- and 3.30-fold that of the yields obtained by extraction using 80 vol% dimethyl sulfoxide and 95 vol% ethanol, respectively. Good bacteriostatic effects were exhibited when *Escherichia coli* was subjected to 24 hours of intervention with SCA at a mass concentration of 2.25–4.50 mg/mL. The results of this study can serve as reference for high-efficiency and green extraction of SCA and its development and application in bacteriostasis.

Key words: *Schisandra sphenanthera*; deep eutectic solvents; schisantherin A; response surface analysis; bacteriostatic activity

南五味子是木兰科植物华中五味子的干燥成熟果实，既是具有独特药理作用的中药材，又是营养丰富、口感独特的食品原料，兼具药用和营养价值，是一种药食两用的珍贵资源。五味子酯甲（Schisantherin A, SCA 图 1），是从南五味子中提取出来的一种具有降转氨酶活性的联苯环辛烯类木脂素。作为南五味子的主要有效成分，SCA 具有抗炎抑菌^[1]、抗肿瘤^[2]和改善糖尿病大鼠的学习记忆障碍^[3]等药理作用，在食品领域更具防腐保鲜作用。张媛媛^[4]研究发现，五味子提取液能够有效地延缓面条的腐败变质，其木脂素成分能够有效延长泡菜产酸变色的时间，防腐保鲜效果优于化学防腐剂。

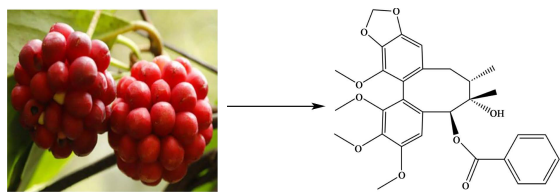


图 1 南五味子及 SCA 的化学结构式

Fig.1 *Schisandra chinensis* and the chemical structure of SCA

天然植物中生物活性物质的提取一般采用有机溶剂法，如甲醇、丙酮、三氯甲烷等^[5,6]。但大多数有机溶剂具有高毒性、极端挥发性和不可降解性等缺陷，且提取物中易存在有机残留，危害人类健康和环境。因此，开发一种安全环保的绿色提取技术势在必行。低共熔溶剂（Deep Eutectic Solvent, DES）是由氢键受体与氢键供体混合而成的一种绿色、高效的提取溶剂^[7]，对黄酮类、酚类、皂苷类、多糖和生物碱等生物活性物质展现出优异的提取能

力^[8]。但 DES 存在粘度较大、熔点较低等特点，结果导致流动性能和混合效果较差，限制了其广泛的应用。

超声辅助提取（Ultrasonic-Assisted Extraction, UAE）作为一种成熟的绿色辅助提取方法，可利用高能量密度的超声波在液体介质中诱发空化现象、产生机械扰动以及热效应，这些效应共同作用于植物细胞壁，有效破坏其结构，从而促使植物中的有效成分迅速且充分地释放到溶剂中，从而实现高效、快速的提取^[9,10]。因此，将 DES 与 UAE 偶联可弥补 DES 粘度大等缺陷，有望实现天然活性化合物的高效提取与分离。如 He 等^[11]使用 DES-UAE 提取粉防己根中的生物碱的提取量分别是甲醇、体积分数 95% 乙醇和水的 2.2 倍、3.3 倍和 4.1 倍。Bi 等^[12]建立了 UAE 介导的氯化胆碱–乳酸（摩尔比 1:2）快速高效提取桑葚花青素的体系，在最优条件下提取量高达 6.84 mg/g，且通过对花青素热降解动力学和储存稳定性的研究发现，氯化胆碱与乳酸构成的 DES 比传统提取溶剂具有显著的优势。这些发现不仅为天然活性成分的制备提供了更可靠的方法，而且丰富了 DES 与生物活性成分关系的基础理论。

目前，基于 DES-UAE 技术提取 SCA 的研究鲜有报道。该研究以南五味子为原料，SCA 提取量为指标，制备了 17 种不同的 DES，在确定最佳的氢键供体和受体组合的基础上，通过单因素和 Design-Expert 响应面优化实验，探索超声辅助 DES 提取 SCA 的最佳工艺条件，与传统有机溶剂对 SCA 的提取量作对比，并通过 SCA 对大肠杆菌的抑菌活性

实验, 以期为 SCA 的高效提取和实际运用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与试剂

南五味子, 当地药店; SCA 标准品, 南京森贝伽生物科技有限公司。氯化胆碱 (Choline Chloride, Chcl)、乙酰丙酸 (Levulinic Acid, Lvac)、乳酸 (Lactic Acid, LA)、丙二醇 (Propylene Glycol, PG)、乙二醇 (Ethylene Glycol, EG)、冰乙酸 (Acetic Acid, Ha)、甲醇 (Methanol, MeOH)、丙酮 (Acetone, Ac)、二甲基亚砜 (Dimethyl Sulfoxide, DMSO)、环己烷 (Cyclohexane, Chx)、乙醇 (Ethanol, EtOH) 和氯化钠等均为分析纯, 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 琼脂、牛肉膏和蛋白胨, 均购自上海麦克林生化科技有限公司; 大肠杆菌, 由本校微生物实验室提供。

1.2 实验仪器

I-Series 岛津高效液相色谱仪, 日本岛津公司; KQ-200VDE 三频数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; JC-FW100 万能粉碎机, 青岛聚创环保集团有限公司; 85-2 恒温磁力搅拌器, 上海皓庄仪器有限公司; CT15RE 冷冻离心机, 日本日立电子科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 DES的制备

根据 Liu 等^[13]的方法并稍作调整。将不同量的氢键受体 Chcl 和不同类型、不同量的氢键供体混合, 在 80 °C 条件下, 以 60 r/min 的转速经磁力搅拌 1~2 h, 直至混合物混合均匀、溶液达到无色澄清的稳定状态; 之后将溶液冷却至 25 °C 并转移至真空干燥箱中, 于 45 °C 条件下, 用 P₂O₅ 进行干燥处理至恒重, 备用。

1.3.2 南五味子中SCA的提取与纯化

将南五味子在 60 °C 条件下干燥至恒重, 经粉碎后过 50 目筛, 得到南五味子粉末备用。准确称取南五味子粉末 0.5 g 于 50 mL 锥形瓶中, 按照一定的液料比加入不同含水量的 DES 或其他提取剂, 在一定的温度、超声时间和超声功率下分别提取两次。然后将上述混合物在 4 °C 和 3 000 r/min 的条

件下离心 20 min, 再将上清液转移到 50 °C 的条件下经旋转蒸发后, 冷冻干燥处理 48 h, 得南五味子 SCA 粗提物; 在此基础上, 参照文献大孔吸附树脂纯化法并稍作修改^[14], 对 SCA 粗提物进行纯化: 将浓缩后的 SCA 粗提液加至 AB-8 大孔树脂中, 进行 60 min 吸附, 使用足量的去离子水洗, 直至完全去除 DES 溶剂, 之后用体积分数 75% 甲醇对 SCA 进行解吸, 收集合并洗脱液, 经旋转蒸发后得到纯化后的 SCA 样品, 备用。

1.3.3 南五味子SCA含量测定

用标准品外标法计算提取液中 SCA 提取量。以 ZORBAX SB C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 以体积分数 77% 的乙腈水为流动相, 采用二极管阵列检测器, 检测波长为 254 nm, 柱温为 30 °C, 流量为 1.0 mL/min, 进样量为 30 μL。

准确称取 SCA 标准品 10 mg 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解、定容, 得到 SCA 标准品贮备液。准确量取 10 mL 于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容后得到 SCA 标准品线性贮备液, 备用。量取 SCA 标准品线性贮备液 1、2、3、4、5、10 和 15 mL, 分别置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 得到质量浓度分别为 2、4、6、8、10、20 和 30 μg/mL 的 SCA 标准品系列标准溶液, 分别进样。以测得的各溶液的峰面积为纵坐标 Y, 溶液的质量浓度 (μg/mL) 为横坐标 X, 建立标准曲线, 得到回归方程: $Y=2.6837 \times 10^7 X - 81013.18$ ($R^2=0.9998$)。

准确称取 SCA 粉末 10 mg, 配制质量浓度为 1 mg/mL 的 SCA 提取液, 在上述色谱条件下进样, 按公式 (1) 计算 SCA 的提取量。

$$W = \frac{N \times c \times V}{1000 \times m} \quad (1)$$

式中:

W—SCA 提取量, mg/g;

N—SCA 提取物的稀释倍数;

c—按标准曲线计算得到的 SCA 提取液的质量浓度, μg/mL;

V—SCA 提取液的体积, mL;

1000—单位 mg 与 μg 的换算系数;

m—SCA 提取物粉末的质量, g。

1.4 单因素实验设计

分别准确称取南五味子粉末 0.5 g 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入一定量的不同 DES, 考察 DES 含

水量(0%、20%、40%、60%、80%，体积分数)、液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1, mL/g)、提取温度(40、50、60、70、80 °C)、超声时间(30、45、60、75、90 min)和超声功率(50、100、150、200、250 W)的差异对SCA提取量的影响。

1.5 响应面实验设计

根据单因素实验结果，结合 Design-Expert 实验设计原理和实验条件，该实验以 SCA 提取量为响应值，以液料比(A)、提取温度(B)及超声时间(C) 3个因素为自变量，采用三因素三水平的响应面设计，以优化 SCA 的提取工艺。响应面实验设计方案见表 1。

表 1 响应面实验设计方案

Table 1 Response surface experiment design scheme

因素	编码值	水平		
		-1	0	1
液料比(mL/g)	A	15:1	20:1	25:1
提取温度/°C	B	50	60	70
超声时间/min	C	45	60	75

1.6 SCA 抑菌活性测定

1.6.1 无菌生理盐水和培养基制备

无菌生理盐水：将氯化钠 0.85 g 溶于 100 mL 的锥形瓶中，塞上棉塞，置于 121 °C 下灭菌 30 min 得无菌生理盐水，备用。牛肉膏蛋白胨培养基：蛋白胨 10 g，牛肉膏 3 g，氯化钠 5 g，固体培养基另加 20 g 琼脂，溶解后加水至 1 000 mL，用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值为 7.4~7.6，于 121 °C 下灭菌 30 min。

1.6.2 受试菌的活化与培养

将受试菌种进行活化，挑取单菌落接种于斜面培养基，置于 37 °C 恒温恒湿培养箱中培养 24 h。用接种环轻轻刮下菌苔，置于装有 100 mL 的牛肉膏蛋白胨培养基中，振荡，摇匀，于 37 °C 摇床中培养 24 h，用菌落计数法测定，使菌悬液最终浓度约为 10^7 CFU/mL。

1.6.3 抑菌活性的测定及效果评价

将培养皿、牛津杯、枪头密封包好置于 121 °C 下进行 30 min 灭菌。将牛津杯、培养皿、涂布棒、培养基等放入超净工作台，进行 30 min 紫外杀菌。在无菌操作下，培养基未凝固前倒入 15 mL 置于培养皿中，待凝固后，用移液枪吸取 100 μ L 菌悬液在

培养基上涂布均匀，将牛津杯垂直放入，取 100 μ L 不同质量浓度的 SCA 溶液，缓慢注入牛津杯中，进行 3 次平行实验，将培养皿于 37 °C 的恒温培养箱中培养 24 h，以不添加 SCA 同法操作，作为空白对照组，比较不同质量浓度的 SCA 对大肠杆菌的抑制作用，其中抑菌效果评价标准：抑菌圈直径 > 15 mm 为高度敏感，抑菌圈直径 10~15 mm 为中度敏感，抑菌圈直径 < 10 mm 为低度敏感，无抑菌圈为不敏感或耐药^[15]。

1.7 统计分析

所有实验均重复三次，实验结果用平均值 \pm 标准差表示，使用 Excel 2021 和 Origin 2018 软件绘图报告结果，采用 Design-Expert 13 软件对响应面实验数据进行分析并绘制曲面三维图，其中 $P < 0.05$ 显示具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 不同 DES 对 SCA 提取量的影响

DES 的极性、熔点和粘度等性质会影响其对植物中生物活性物质的提取效率^[16]。因此，筛选合适的 DES 是提取 SCA 的关键。在该研究中，分别以体积分数 95% EtOH、80% 酸性 EtOH、80% MeOH、90% Ac、Chx 和 80% DMSO 为对比溶剂，考察了 17 种 DES 对南五味子 SCA 的提取效果。根据氢键供体的类型，制备的 17 种 Chcl 基 DES 可分为多醇基(Chcl:EG、Chcl:PG)和羧酸基(Chcl:Lvac、Chcl:Ha、Chcl:LA) DES。

表 2 显示了不同 DES 组成和传统有机溶剂组成对 SCA 提取量的显著影响，总体而言，DES 通常比传统有机溶剂更有效。在制备的 17 种 DES 中，有 7 种提取量达到了 5 mg/g 以上，表现出了良好的提取效果；其中以 Chcl:Lvac(摩尔比 2:3)的提取量最高，为 9.53 mg/g。以多醇基为氢键供体的 DES(Chcl:EG、Chcl:PG)对 SCA 的提取量普遍偏低(0.23~3.50 mg/g)，明显低于以羧酸基为氢键供体的 DES(Chcl:Lvac、Chcl:Ha)，这归因于羧酸基 DES 对 SCA 溶解的有利极性^[17]。然而，以 LA 作为氢键供体与 Chcl 的组合未显示出明显的提取效果，可能是由于过度酸性的溶剂导致 SCA 分解并降低了提取效率^[18]。研究还表明，DES 氢键受体和氢键供体的组成比例同样影响 SCA 的提取效率。对于 Chcl:Lvac 而言，随着摩尔比从 1:2 变化到 2:3，

SCA 的提取量逐渐增加, 以 2:3 为最佳比例, 这主要是由于提取过程中氢键网络的结构的改变, 影响提取过程中的极性、pH 值和粘度等特性, 进而呈现出对 SCA 提取的不同效果^[19]。结果还显示, 在 6 种传统提取溶剂中, 体积分数 80% DMSO 的提取量显著高于其他 5 种, 为 4.84 mg/g。可能是由于 DMSO 的极性大、沸点高且热稳定性好, 能有效地溶解 SCA, 进而提高提取效率。综上所述, 选择 Chcl:Lvac (摩尔比 2:3) 进行进一步研究。

表 2 不同溶剂对 SCA 的提取量

Table 2 Extraction yield of SCA with different solvents

编号	溶剂	摩尔比	提取量/(mg/g)
DES-1	Chcl:LA	1:1	0.70 ± 0.01
DES-2	Chcl:LA	1:2	1.36 ± 0.02
DES-3	Chcl:LA	1:3	1.29 ± 0.02
DES-4	Chcl:LA	2:1	0.56 ± 0.01
DES-5	Chcl:EG	1:1	0.34 ± 0.01
DES-6	Chcl:EG	1:2	0.23 ± 0.01
DES-7	Chcl:EG	1:3	0.52 ± 0.01
DES-8	Chcl:PG	1:2	2.23 ± 0.02
DES-9	Chcl:PG	1:3	3.50 ± 0.03
DES-10	Chcl:PG	2:3	1.51 ± 0.01
DES-11	Chcl:Ha	1:2	5.98 ± 0.06
DES-12	Chcl:Ha	1:3	5.49 ± 0.03
DES-13	Chcl:Ha	2:3	7.23 ± 0.02
DES-14	Chcl:Lvac	1:1	7.98 ± 0.04
DES-15	Chcl:Lvac	1:2	9.23 ± 0.12
DES-16	Chcl:Lvac	1:3	9.37 ± 0.04
DES-17	Chcl:Lvac	2:3	9.53 ± 0.02
18	95% EtOH	—	2.93 ± 0.01
19	80% Acid EtOH	—	2.02 ± 0.02
20	80% MeOH	—	2.73 ± 0.01
21	90% Ac	—	0.07 ± 0.01
22	Chx	—	1.78 ± 0.02
23	80% DMSO	—	4.84 ± 0.04

2.2 SCA 的纯化结果

由图 2 所示, SCA 与 DES (Chcl:Lvac, 摩尔比 2:3) 混合溶液经高效液相色谱分析可知二者的保留时间分别为 3.892 min 和 2.548 min, 且与其相邻杂质峰的分度良好, 说明该方法可较好检测 SCA 与 DES。

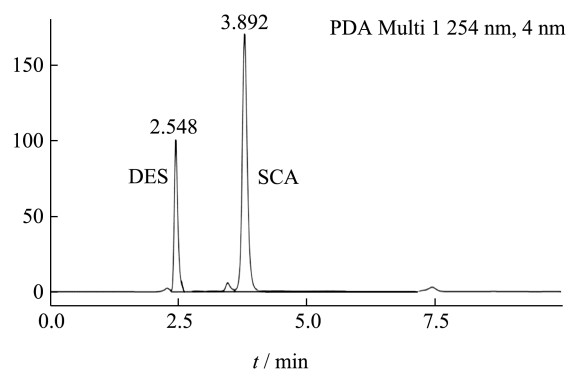


图 2 SCA 标准品与 DES 混合溶液高效液相色谱图

Fig.2 High performance liquid chromatogram of SCA standard and DES mixed solution

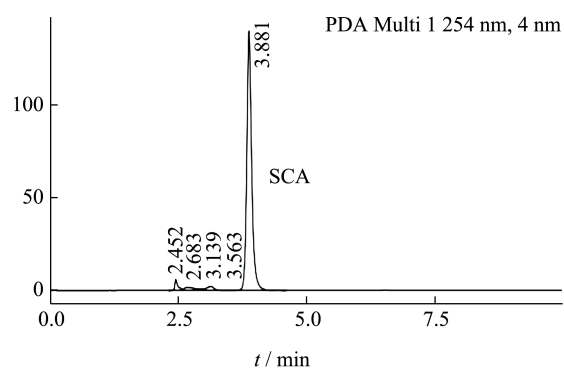


图 3 SCA 洗脱液高效液相色谱图

Fig.3 High performance liquid chromatogram of the eluent

经高效液相色谱分析可知, SCA 洗脱液中 SCA 的保留时间为 3.881 min (图 3), 这与 SCA 标准品的保留时间 3.892 min (图 2) 基本一致, 表明 SCA 粗提液经 AB-8 大孔树脂吸附纯化后, 最终收集所得的洗脱液的主要组分是 SCA, 纯度为 93.5%。洗脱液中未检出 DES (图 2: 2.548 min), 原因是 DES 易溶于水, 在大孔树脂进行充分水洗的过程中即可将其完全脱除。综上所述, 充分水洗可有效脱除 DES, 体积分数 75% 的甲醇能有效解吸 SCA, 提高其纯化效果。

2.3 单因素实验结果分析

2.3.1 DES 含水量对提取量的影响

DES 中氢键供体与受体的摩尔比控制着氢键相互作用, 从而影响 DES 的粘度和表面张力。因此, 选择适当的 DES 含水量是提高传质速率和加工效率的关键^[20]。如图 4 所示, 随着 DES 含水量的不断增加, SCA 的提取量先增加后减少。当含水量体积分数为 20% 时, SCA 的最高提取量为 4.53 mg/g。通常, DES 本身具有高粘度和低扩散系数, 直接用于提取

天然活性成分可能无法达到理想效果。Saha 等^[21]在提取木橘中的多酚实验中,向 Chcl 与草酸组合而成的 DES 中添加一定比例的水时,显著降低了 DES 的粘度,并显著提高了多酚的提取量。主要是由于水的加入降低了 DES 的粘度,增强了空化过程,适度减轻了溶剂流动阻力,并增强了 DES 的溶解能力。然而,过高的含水量会破坏 DES 的原有分子结构,从而破坏 DES 组分之间的氢键网络,使目标成分难以溶解。因此,选择 Chcl:Lvac (摩尔比 2:3) 的最佳含水量体积分数为 20%。

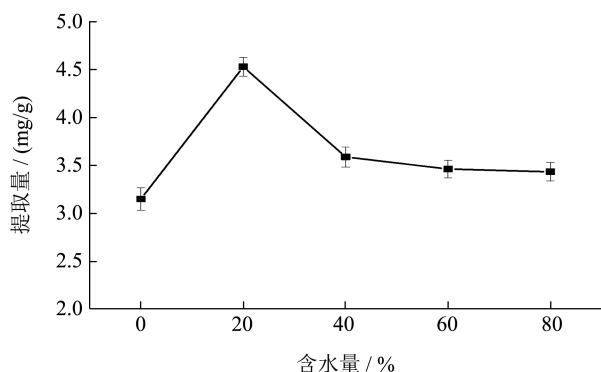


图 4 DES 含水量对提取量的影响

Fig.4 The effect of DES water content on the extraction yield

2.3.2 液料比对提取量的影响

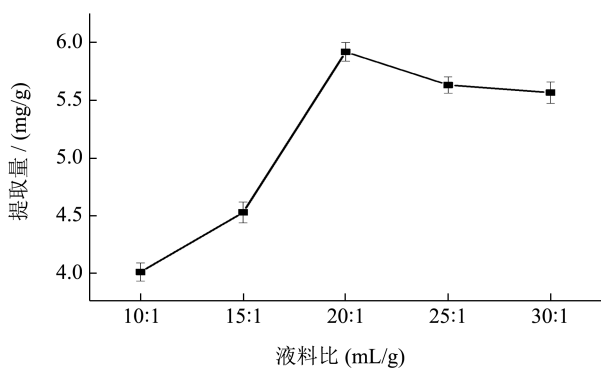


图 5 液料比对提取量的影响

Fig.5 The effect of liquid solid ratio on the extraction yield

由于溶剂与原料的比例对提取量有实质性影响,因此优化液料比对于最大限度地提取至关重要^[22]。该研究考察了料液体积质量比为 10:1 到 30:1 对 SCA 提取量的影响(图 5)。结果显示,当液料比为 20:1 (mL/g) 时,SCA 提取量显著提高至最大值 5.92 mg/g。继续增大液料比,SCA 提取量的变化不明显。天然活性成分的提取量通常随着液料比的增加而增加。这是因为提取溶剂体积的增加可以降低体系的粘度,增加溶剂与原料之间的浓度梯

度,提高体系的扩散速率,从而增加目标提取物与提取溶剂的接触面积,最终使提取量增加。然而,当 Chcl:Lvac 体系中 SCA 的溶出量接近饱和时,提取量的增加变得不明显^[23]。因此,选择最佳液料体积质量比为 20:1。

2.3.3 温度对提取量的影响

温度升高不仅可以有效地增加 DES 的能量,从而使溶剂分子的流动性和体系的扩散速率增强^[24],还可以增加细胞膜的通透性,这为天然活性成分的浸出和溶解提供了有利条件。但是,温度太高会破坏 SCA 的结构,导致提取量下降^[25]。如图 6 所示,当温度从 40 °C 逐渐升高到 60 °C 时,SCA 的提取量随着温度的变化而逐渐升高,并在 60 °C 时达到最大值,为 7.36 mg/g;温度继续升高至 80 °C 时,提取量则有所降低。因此,选择最佳提取温度为 60 °C。

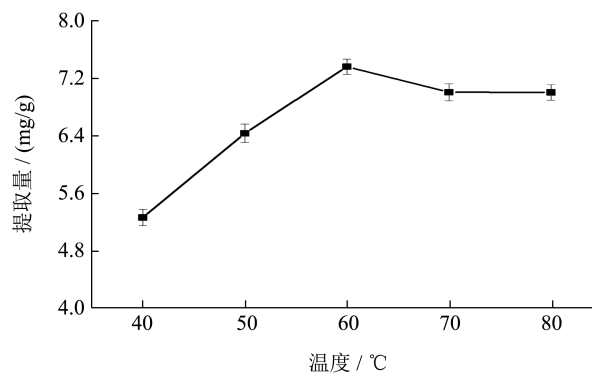


图 6 温度对提取量的影响

Fig.6 The effect of temperature on the extraction yield

2.3.4 超声时间对提取量的影响

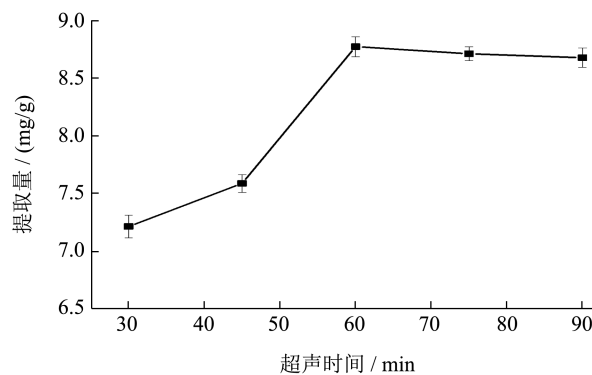


图 7 超声时间对提取量的影响

Fig.7 The effect of ultrasonic time on the extraction yield

超声时间对化合物的提取有显著影响。一般来说,延长提取时间可以促进目标成分在体系中的充分溶解^[26]。如图 7 所示,SCA 提取量随着超声时间的延长而呈现出逐渐增长的趋势,在 60 min

时达 8.76 mg/g。这是因为超声空化效应产生了热量，提高了提取体系的穿透力，促进了 SCA 的充分溶出。但超声时间过长则会导致提取物中 SCA 的分解，或造成其他非目标成分的大量产生^[27]，导致 SCA 提取量在 70~90 min 之间逐渐降低至 8.67 mg/g。因此，选择最佳提取时间为 60 min。

2.3.5 超声功率对提取量的影响

由于机械效应、声波空化及空化强度等特性的影响，提高分子运动速度和溶剂渗透速度是提升天然活性成分提取效率的有效方法^[28]。图 8 的结果表明，随着超声功率的逐渐增强，SCA 提取量也逐渐增加，在 150 W 时达到最大值，提取量为 9.84 mg/g。提高超声功率通常会增加体系中溶剂的渗透速度和分子运动速度，有助于大量目标成分的溶出。然而，超声功率过大会导致体系中产生大量的非 SCA 成分，进而降低 SCA 的提取量。因此，选择最佳超声功率为 150 W。

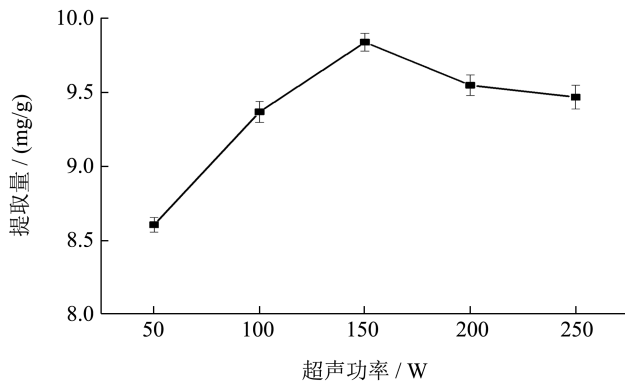


图 8 超声功率对提取量的影响

Fig.8 The effect of ultrasonic power on the extraction yield

2.4 响应面结果分析

2.4.1 响应面设计及结果分析

使用 Design-Expert 分析软件对液料比 (A)、提取温度 (B) 和超声时间 (C) 这三个主要影响因素进行研究，设计了三因素三水平实验。响应面设计结果见表 3。

对表 3 的实验数据进行多元回归拟合及显著性检验分析，并以 SCA 的提取量为响应值，得到二次多项回归模拟方程为： $Y=9.96+0.12A+0.31B+0.43C-0.05AB+0.06AC-0.15BC-0.69A^2-0.47B^2-0.96C^2$ 。

表 3 响应面分析方案与实验结果

Table 3 Response surface analysis plan and test results

实验号	因素			提取量/(mg/g)
	A	B	C	
1	0	-1	-1	7.67 ± 0.03
2	-1	-1	0	8.31 ± 0.05
3	1	-1	0	8.63 ± 0.05
4	0	-1	1	8.83 ± 0.07
5	0	0	0	9.94 ± 0.09
6	0	0	0	10.15 ± 0.03
7	0	0	0	9.81 ± 0.04
8	-1	0	-1	7.83 ± 0.06
9	0	0	0	10.07 ± 0.12
10	0	0	0	9.83 ± 0.03
11	1	0	1	8.92 ± 0.03
12	-1	0	-1	7.96 ± 0.05
13	-1	0	1	8.56 ± 0.04
14	0	1	1	9.11 ± 0.07
15	1	1	0	9.21 ± 0.01
16	-1	1	0	9.04 ± 0.04
17	0	1	-1	8.53 ± 0.06

回归模型方差分析如表 4。

表 4 回归模型方差分析结果

Table 4 Analysis of variance results of regression model

变量	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	9.93	9	1.10	82.64	<0.000 1	**
A	0.112 8	1	0.112 8	8.45	0.022 7	*
B	0.768 8	1	0.768 8	57.60	0.000 1	**
C	1.47	1	1.47	110.19	0.000 1	**
AB	0.008 1	1	0.008 1	0.606 9	0.461 5	
AC	0.013 2	1	0.013 2	0.990 9	0.352 7	
BC	0.084 1	1	0.084 1	6.30	0.040 4	*
A ²	1.98	1	1.98	148.57	<0.000 1	**
B ²	0.925 2	1	0.925 2	69.32	<0.000 1	**
C ²	3.85	1	3.85	288.48	<0.000 1	**
残差	0.093 4	7	0.013 3			
失拟误差	0.005 4	3	0.001 8	0.082 2	0.343 8	不显著
净误差	0.088 0	4	0.022 0			
总变异	10.02	16				

模型确定系数 (R^2): 0.990 7; 模型的校正确定系数 (R^2_{Adj}): 0.978 7。

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

由表 4 可以看出, SCA 提取量的模型差异极显著 ($P < 0.01$), 失拟误差不显著, 这表明该响应面模型的拟合程度较高, 不但能准确地反映响应值与各影响因素之间的变化关系, 而且能进行可靠的预测。由此可以确定各单因素对 SCA 提取量影响大小依次为提取温度 $B >$ 超声时间 $C >$ 液料比 A 。模型的确定系数和校正确定系数分别为 0.990 7 和 0.978 7, 表明该回归模型对响应值变化的解释率高达 97.87%, 从而为南五味子中 SCA 的提取工艺及得率条件的精确分析与预测提供了一种新方法。

2.4.2 响应面分析

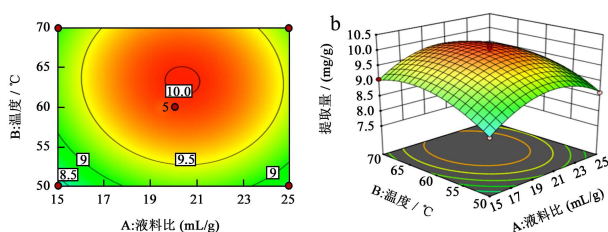


图 9 提取温度和液料比的交互作用和等高线图

Fig.9 The interaction effect and contour plot of extraction temperature and liquid-solid ratio

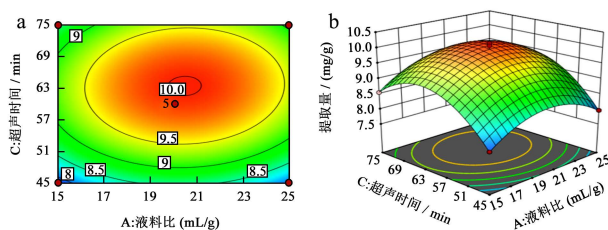


图 10 超声时间和液料比的交互作用和等高线图

Fig.10 The interaction effect and contour plot of ultrasonic time and liquid-solid ratio

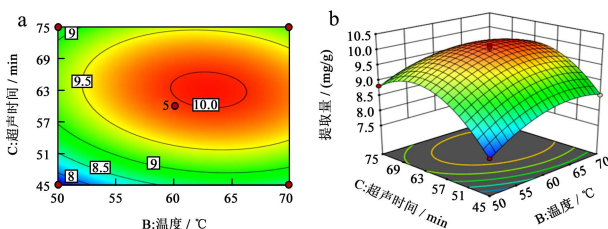


图 11 超声时间和提取温度的交互作用和等高线图

Fig.11 The interaction effect and contour plot of ultrasonic time and extraction temperature

在该实验中, 借助 Design-Expert 软件绘制了各因素之间的交互作用和等高线图, 以深入研究各因素之间的交互作用对 SCA 提取量的影响。从图 9~11 可以看出, 超声时间和提取温度之间的交互作用在响应曲面上呈现出了最为陡峭的变化趋

势, 这表明这两个因素之间的相互作用对 SCA 提取量的影响最为显著。相比之下, 其他因素之间的交互作用响应曲面则相对平缓, 说明它们对 SCA 提取量的影响较小。

由此可知, 影响南五味子 SCA 提取量的各交互作用因素顺序为: 超声时间与提取温度 $BC >$ 超声时间与液料比 $AC >$ 液料比与提取温度 AB 。该研究将为南五味子中 SCA 提取技术的优化提供重要的理论依据, 并通过对这些关键因素的合理调控, 可以有效提升 SCA 的提取效果。

2.4.3 实验验证及与传统溶剂提取量的比较

通过 Design-Expert 分析可得, 当提取温度为 $62.93\text{ }^{\circ}\text{C}$, 液料体积质量比为 20.42:1, 超声时间为 63.09 min 时, 最佳的 SCA 提取量为 10.06 mg/g 。结合单因素结果: 含水量体积分数 20%、超声功率 150 W 和最佳提取溶剂: Chcl:Lvac (摩尔比 2:3), 为便于实际操作, 调整提取条件为: 含水量体积分数为 20% 的 Chcl:Lvac (摩尔比 2:3), 提取温度为 $63\text{ }^{\circ}\text{C}$, 液料体积质量比为 21:1, 超声时间 63 min 和超声功率 150 W, 在此条件下重复 3 次实验, 得到 SCA 提取量为 10.12 mg/g , 与预测值相差 0.06 mg/g , 符合误差标准。说明基于 Design-Expert 的响应面优化方法可以准确地优化实验条件, 并能很好地预测实验结果。

此外, 在此最佳工艺条件下, Chcl:Lvac (摩尔比 2:3)、体积分数 95% EtOH 和 80% DMSO 对 SCA 的提取量分别为 10.12、3.07 和 5.11 mg/g。 Chcl:Lvac (摩尔比 2:3) 提取物中 SCA 得率分别是体积分数 80% DMSO 和 95% EtOH 提取物的 1.98 倍和 3.30 倍。Ozkan^[29]在对洋蓟外瓣中的酚类物质进行提取研究时, 采用 DES-UAE 联用技术, 通过对 DES 中氢键受体 (氯化胆碱或甜菜碱) 和氢键供体 (蔗糖、乳酸、柠檬酸、草酸和甘油) 的类型进行优化, 确定了最佳提取溶剂为 Chcl:LA (摩尔比 1:2), 得到的总酚含量 (以没食子酸干重当量计) 为 12.96 g/kg , 是甲醇提取物的 1.66 倍。研究表明, 采用 DES-UAE 提取工艺可以有效地改善酚类物质的提取效率。DES 作为提取溶剂较传统有机溶剂而言具有一定的优势, 是一种绿色高效的可设计溶剂, 对生物活性化合物的提取可行且安全。揭示了 DES-UAE 技术在提取生物活性物质方面的巨大潜力, 在未来食品、医药和营养制剂等领域展现出了广阔的应用前景。

2.5 SCA对大肠杆菌的抑菌活性测定结果

通过对比不同质量浓度的SCA对大肠杆菌的抑菌实验,以抑菌圈直径大小作为判断评价抑菌活性的强弱。结果如表5及图12所示,SCA对大肠杆菌的最低抑制质量浓度为0.070 mg/mL,随着SCA的质量浓度从0.035 mg/mL逐渐增大至4.50 mg/mL,抑菌圈直径从0 mm逐渐增大至19.12 mm,说明SCA对大肠杆菌的抑菌活性随着其质量浓度的不断增大而增强;SCA质量浓度在2.25~4.50 mg/mL时,其对大肠杆菌的抑菌活性达到高度敏感,说明该条件下抑菌活性最好。这可能是由于SCA为游离状态,直接作用于大肠杆菌产生抑菌活性,而大肠杆菌属于革兰氏阴性菌,多酚类物质对革兰氏阴性菌的抑制作用更强^[30]。

表5 不同质量浓度SCA对大肠杆菌的抑菌活性
Table 5 Antibacterial activity of SCA with different mass concentration on *Escherichia coli*

编号	质量浓度/ (mg/mL)	抑菌圈直径/ mm	抑菌活性
1	4.50	19.12±0.34	高度敏感
2	2.25	18.29±0.41	高度敏感
3	1.13	12.86±0.26	中度敏感
4	0.56	11.70±0.33	中度敏感
5	0.28	10.38±0.17	中度敏感
6	0.14	7.93±0.24	低度敏感
7	0.070	4.26±0.14	低度敏感
8	0.035	0	不敏感或耐药
空白对照组	0	0	—

注:“—”无抑菌效果。

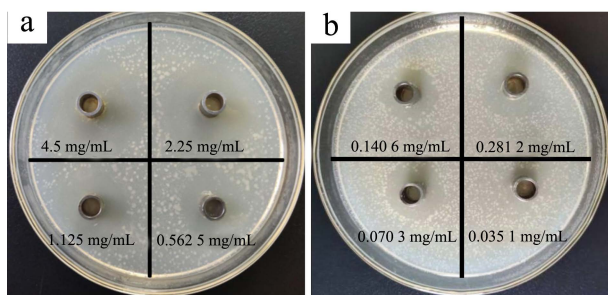


图13 SCA对大肠杆菌抑菌活性

Fig.13 Antibacterial activity of SCA on *Escherichia coli*

3 结论

该文建立了一种绿色高效的DES-UAE提取技术,用于提取南五味子中的SCA。通过对不同

类型DES的制备和筛选,确定了最佳提取溶剂为Chcl:Lvac(摩尔比2:3)。进一步考察了最佳DES含水量、液料比、提取温度、超声时间和超声功率5个单因素对SCA提取量的影响,结合响应面法优化提取工艺,得到最佳工艺条件:DES含水量体积分数为20%、提取温度63℃、液料比21:1(mL/g)、超声时间63min和超声功率150W。在此优化条件下,SCA的提取量可达10.12 mg/g,分别是体积分数80% DMSO和95% EtOH提取量的1.98倍和3.30倍。实验证明了该提取技术有利于提高SCA的提取效率。通过SCA对大肠杆菌的抑菌活性实验,证实了SCA对大肠杆菌的有效抑制作用。该研究为南五味子中SCA的绿色高效提取提供了一种环境友好的新技术,为新型高效萃取技术的研发提供了理论依据;同时为SCA在食品行业抑菌技术中的开发应用提供理论支撑。

参考文献

- [1] XIANG J Y, CHI Y Y, HAN J X, et al. Intestinal microbiota contributes to the improvement of alcoholic hepatitis in mice treated with *Schisandra chinensis* extract [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 822429.
- [2] FENG F, PAN L, WU J, et al. Schisantherin A inhibits cell proliferation by regulating glucose metabolism pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 1019486.
- [3] GUO X, LEI M, MA G, et al. Schisandrin A alleviates spatial learning and memory impairment in diabetic rats by inhibiting inflammatory response and through modulation of the PI3K/AKT pathway [J]. *Molecular Neurobiology*, 2024, 61(5): 2514-2529.
- [4] 张媛媛.五味子抗菌物质的提取、抑菌机理及在食品中的应用研究[D].石家庄:河北科技大学,2016.
- [5] ABUBAKAR A R, HAQUE M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes [J]. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2020, 12(1): 1-10.
- [6] 渠宏雁,李学鹏,陈永泉.提取条件对蜂花粉粗多糖抗氧化能力的影响[J].*食品与生物技术学报*,2022,41(2):22-28.
- [7] 刘成,张连红.低共熔溶剂及其应用的研究进展[J].*现代化工*,2022,42(4):43-47.
- [8] ALI R A. Review on extraction of phenolic compounds from natural sources using green deep eutectic solvents [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(3): 878-912.
- [9] RASHID R, WANI S M, MANZOOR S, et al. Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction:

- Optimisation, comparison and bioactivity [J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133871.
- [10] 王超,唐年初,刘诚毅. 忧遁草总皂苷的提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报,2023,42(5):63-70.
- [11] HE Q, LEI Q, HUANG S, et al. Effective extraction of bioactive alkaloids from the roots of *Stephania tetrandra* by deep eutectic solvents-based ultrasound-assisted extraction [J]. Journal of Chromatography A, 2023, 1689: 463746.
- [12] BI Y H, CHI X W, ZHANG R, et al. Highly efficient extraction of mulberry anthocyanins in deep eutectic solvents: Insights of deGradation kinetics and stability evaluation [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 66: 102512.
- [13] LIU Y, LOU L, HUANG Q, et al. Ultrasonic extraction and purification of scutellarin from *Erigerontis herba* using deep eutectic solvent [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 99: 106560.
- [14] 郭英杰. 双相低共熔溶剂体系同步提取枇杷叶多糖和三萜酸及其分离纯化方法研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2023.
- [15] 孙辉,范俐,杜仲达,等. 丁酸钠微胶囊的制备工艺优化、表征及抑菌特性分析[J]. 现代食品科技,2023,39(6):154-161.
- [16] PATIL S S, PATHAK A, RATHOD V K. Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solvent based extraction: A greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 70: 105267.
- [17] LIU X Y, OU H, GREGERSEN H, et al. Deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Cosmos sulphureus* [J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2023, 32: 100444.
- [18] BENVENUTTI L, DEL P S A, ZIELINSKI A A F, et al. NADES as potential solvents for anthocyanin and pectin extraction from *Myrciaria cauliflora* fruit by-product: In *silico* and experimental approaches for solvent selection [J]. Journal of Molecular Liquids, 2020, 315: 113761.
- [19] ZHANG H, HAO F, YAO Z, et al. Efficient extraction of flavonoids from *Polygonatum sibiricum* using a deep eutectic solvent as a green extraction solvent [J]. Microchemical Journal, 2022, 175: 107168.
- [20] LIU L, XIAO A, ZHANG Y, et al. Efficient extraction of flavonoids from lotus leaves by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction and its evaluation on antioxidant activities [J]. Separations, 2023, 10(2): 65.
- [21] SAHA S K, DEY S, CHAKRABORTY R. Effect of choline chloride-oxalic acid based deep eutectic solvent on the ultrasonic assisted extraction of polyphenols from *Aegle marmelos* [J]. Journal of Molecular Liquids, 2019, 287: 110956.
- [22] GAO M Z, CUI Q, WANG L T, et al. A green and integryieldd styieldgy for enhanced phenolic compounds extraction from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by deep eutectic solvent [J]. Microchemical Journal, 2020, 154: 104598.
- [23] AZHAR A N H, AMRAN N A, YUSUP S, et al. Ultrasonic extraction of 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) from *Pandanus amaryllifolius* Roxb. using ethanol as solvent [J]. Molecules, 2022, 27(15): 4906.
- [24] EBRAHIMI P, LANTE A. Environmentally friendly techniques for the recovery of polyphenols from food by-products and their impact on polyphenol oxidase: A critical review [J]. Applied Sciences, 2022, 12(4): 1923.
- [25] HAO C, CHEN L, DONG H, et al. Extraction of flavonoids from *Scutellariae radix* using ultrasound-assisted deep eutectic solvents and evaluation of their anti-inflammatory activities [J]. ACS Omega, 2020, 5(36): 23140-23147.
- [26] ZHEN S, CHEN S, GENG S, et al. Ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent extraction and bioactivities of flavonoids in *Ampelopsis grossedentata* leaves [J]. Foods, 2022, 11(5): 668.
- [27] WANG L, BAI M, QIN Y, et al. Application of ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from bamboo leaves [J]. Molecules, 2018, 23(9): 2309.
- [28] LIU X, OU H, GREGERSEN H. Ultrasound-assisted supercritical CO₂ extraction of cucurbitacin E from *Iberis amara* seeds [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 145: 112093.
- [29] OZKAN G. Valorization of artichoke outer petals by using ultrasound-assisted extraction and natural deep eutectic solvents (NADES) for the recovery of phenolic compounds [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(5): 2744-2749.
- [30] 李晶,林彩容,黄艳,等. 茶多酚对农杆菌介导的植物遗传转化体系的影响[J]. 茶叶科学,2022,42(4):477-490.