

·中药制剂与工艺·

本文引用:熊苏慧,夏伯候,雷思敏,李诗卉,谢明霞,李亚梅,林艳.基于低共熔溶剂提取千斤拔多糖[J].湖南中医药大学学报,2018,38(9):1003-1008.

## 基于低共熔溶剂提取千斤拔多糖

熊苏慧<sup>1,2,3</sup>,夏伯候<sup>1,2,3</sup>,雷思敏<sup>1,2,3</sup>,李诗卉<sup>1,2,3</sup>,谢明霞<sup>1</sup>,李亚梅<sup>1,2,3</sup>,林艳<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南长沙410208;2.湘产大宗药材品质评价湖南省重点实验室,湖南长沙410208;  
3.中药有毒物质防控技术湖南省工程实验室,湖南长沙410208)

**[摘要]** **目的** 采用一种新型绿色溶剂低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DESs)提取千斤拔多糖,并对其提取工艺及提取效率进行考察。**方法** 采用响应面法,优化千斤拔多糖提取工艺,并以水提醇沉法评价 DESs 提取效率。**结果** 由氯化胆碱和 1,3-丁二醇合成的低共熔溶剂最适合于千斤拔多糖的提取。经响应面法优化后,在提取温度 70 ℃、水比例 11%、提取时间 41 min、液固比 11 mL/g 下,千斤拔多糖提取率可达 2.47%,显著高于水提醇沉后所得多糖( $P<0.05$ )。**结论** 低共熔溶剂作为提取介质具有高效和绿色的优点,可用于千斤拔多糖的提取,同时本结果为 DESs 提取中药活性成分提供新思路。

**[关键词]** 低共熔溶剂;响应面法;千斤拔;多糖

**[中图分类号]**R284.2 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.09.008

### Extraction of Polysaccharides from *Moghania macrophylla* Based on Deep Eutectic Solvents

XIONG Suhui<sup>1,2,3</sup>, XIA Bohou<sup>1,2,3</sup>, LEI Simin<sup>1,2,3</sup>, LI Shihui<sup>1,2,3</sup>, XIE Mingxia<sup>1</sup>, LI Yamei<sup>1,2,3</sup>, LIN Yan<sup>1\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Key Laboratory for Quality Evaluation of Bulk Herbs of Hunan Province, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hunan Engineering Laboratory for Prevention and Control Technology of Toxic Substances in Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the extraction of polysaccharides from *Moghania macrophylla* using new green deep eutectic solvents (DESs) and related extraction process and extraction efficiency. **Methods** The response surface method was used to optimize the extraction process for polysaccharides from *Moghania macrophylla*, and the water extraction and alcohol precipitation method was used to evaluate the extraction efficiency of DES. **Results** The DESs composed of choline chloride and 1,3-butanediol was most suitable for the extraction of polysaccharides from *Moghania macrophylla*. After optimization with the response surface method, an extraction temperature of 70 °C, a water ratio of 11%, an extraction time of 41 minutes, and a liquid-solid ratio of 11 mL/g achieved a yield of polysaccharides from *Moghania macrophylla* of 2.47%, which was significantly higher than the yield obtained by water extraction and alcohol precipitation ( $P<0.05$ ). **Conclusion** DESs has the advantages of high efficiency and being environment-friendly as an extraction medium and can be used for the extraction of polysaccharides from *Moghania macrophylla*. Meanwhile, the results of this study provides new ideas for the use of DESs in the extraction of active components of traditional Chinese medicine.

**[Keywords]** deep eutectic solvent; response surface method; *Moghania macrophylla*; polysaccharide

**[收稿日期]**2018-03-31

**[基金项目]** 国家发改委标准化项目(ZYBZH-C-HUN-21);湖南省重大科技专项(2015SK1001);湖南省教育厅科研优秀青年项目(15B170);湖南省教育厅科技项目(16C1220)。

**[作者简介]**熊苏慧,男,在读硕士研究生,研究方向:中药药效物质基础及其质量标准化研究。

**[通讯作者]**\*林艳,女,硕士,实验师,E-mail:Linyan198210@163.com。

中药千斤拔 *Moghania macrophylla* (WiWd.) O. Kuntze. 含有多糖、黄酮、生物碱、 $\beta$ -谷甾醇等多种活性成分,具有祛风除湿、强筋壮骨、活血解毒的功效<sup>[1]</sup>。其中千斤拔多糖类成分具有提高免疫力的作用<sup>[2]</sup>,可广泛用于食品药品行业,因此,如何千斤拔中高效提取多糖具有重要意义。

近年来,“绿色化学”的提出促使离子液体(ionic liquids, ILs)、低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DESs)等绿色溶剂的发展。随着研究的进行,ILs表现出高成本、潜在毒性和较差的可生化性等不足<sup>[3-4]</sup>,而 DESs 因其低成本、易合成、生物可降解性、高增溶作用、低毒性甚至非毒性等优势已成为科学研究的新宠。DESs 由氢键受体(HBA)和氢键供体(HBD)组成,其熔点低于各个组成部分<sup>[5]</sup>,现已广泛用于黄酮<sup>[6]</sup>、酚酸<sup>[7]</sup>、生物碱<sup>[8]</sup>等中药活性成分的提取,但在多糖<sup>[9]</sup>提取方面却相对较少。

因此,本研究选择合适 DESs 提取千斤拔多糖,并利用 Box-Behnken 设计对千斤拔多糖的提取条件(温度、时间、水比例、液固比)进行系统优化,筛选最佳提取条件,为今后 DESs 的研究及千斤拔多糖的合理利用提供科学依据。

## 1 仪器与材料

千斤拔由千金药业提供,经湖南中医药大学药学院龚力民副教授鉴定为豆科植物大叶千斤拔 *Moghania macrophylla* (WiWd.) O. Kuntze. 的干燥根。

超声波清洗器(KQ-500DE, 昆山市超声仪器有限公司);电子分析天平(CP114, 奥豪斯仪器(上海)有限公司);酶标仪(SN-268393, 美国伯腾仪器有限公司)等;用于合成 DESs 相关试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

## 2 方法

### 2.1 前处理

千斤拔样品在 40 °C 下干燥 2 h 至恒重,粉碎并过筛(80 目),备用。HBD 和 HBA(氯化胆碱)在 80 °C 下加热搅拌,直至形成均匀的液体<sup>[7]</sup>。DESs 组成如表 1 所示。

表 1 以氯化胆碱为 HBA 与不同 HBD 合成 DESs

编号	HBA	HBD	摩尔比
DESs-1	氯化胆碱	乙二醇	1:2
DESs-2	氯化胆碱	甘油	1:2
DESs-3	氯化胆碱	1,3-丙二醇	1:2
DESs-4	氯化胆碱	1,3-丁二醇	1:2
DESs-5	氯化胆碱	2,3-丁二醇	1:2

### 2.2 千斤拔多糖的提取

精密称量千斤拔药材粉末 1.00 g 置于离心管中,加入 DESs 22 mL(含蒸馏水为 11%),混合均匀,充分浸泡后,于 70 °C 下恒温超声 41 min,随后溶液冷却至室温并补足重量,溶液转移至离心管内,离心 30 min(3 000 r/min),取上清液 4 mL 置于离心管中,加入无水乙醇 16 mL,静置 12 h 后离心 30 min(3 000 r/min),挥干乙醇溶液,加入蒸馏水 4 mL,摇匀,离心(3 000 r/min)30 min,取出上清液,弃沉淀,即得千斤拔多糖粗提液。

### 2.3 标准品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的葡萄糖 15.0 mg,置 25 mL 的容量瓶中,加入蒸馏水溶解并定容至刻度,配制成浓度为 0.6 mg/mL 的葡萄糖对照品溶液。然后分别吸取此对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,即得。

### 2.4 最大吸收波长的确定

取上述“2.3”项的标准品溶液,用苯酚-硫酸法显色,在波长 400~800 nm 下进行光谱扫描,测得最大吸收波长在 490 nm 处。

### 2.5 标准曲线的制备

精密称取“2.3”的标准品溶液各 1 mL,加入浓度为 4%的苯酚溶液 5 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 2.5 mL,在 90 °C 水浴下加热 5 min,冷却至室温,在 490 nm 波长处测定吸光度。以 1 mL 蒸馏水按同样显色操作为空白,横坐标为标准品溶液,纵坐标为吸光度值,绘制标准曲线,得回归方程:

$$A=0.010\ 7C+0.148\ 6, r=0.999\ 8(n=6)。$$

### 2.6 多糖含量的计算

精密称取千斤拔多糖粗提液 200  $\mu$ L,加蒸馏水至 1 mL,按“2.5”方法测定多糖吸光度值。将吸光度值代入标准曲线查得对应的多糖质量浓度( $\mu$ g/mL),再利用如下公式得到千斤拔多糖的提取率。

$$Y(\%)=CVD/(M/1000\ 000)\times 100\%$$

式中:Y(%)为千斤拔多糖的提取率;C 为与标准曲线查得的多糖质量浓度( $\mu$ g/mL);V 为总提取液的体积(mL);D 为稀释倍数;M 为样品质量(g)。

### 2.7 不同 DESs 及提取方法考察

考察 5 种不同 DESs(摩尔比 1:2),寻找最佳 DESs 后,考察 6 个不同摩尔比(1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7),选择多糖提取率最大者作为最佳 DESs。同时对 4 种不同提取方法(常温搅拌、常温超声( $P=79$  W)、加热搅拌( $T=50$  °C)和加热超声( $T=50$  °C、 $P=79$  W))

W)进行考察。

## 2.8 单因素考察

在最佳 DESs 和提取方法下,考察不同提取温度(20、30、40、50、60、70、80 ℃)、水与溶剂比(以下简称水比例)(0%、20%、40%、60%、80%)、提取时间(20、30、40、50、60 min)、液固比(55、80、115、150、18.5 mL/g)对多糖提取率的影响,选择最佳条件进行 Box-Behnken(BBD)实验设计。

## 2.9 实验设计

采用三水平四因素 BBD 设计寻找千斤拔多糖提取条件最优组合。选取提取温度( $X_1$ ),水比例( $X_2$ )、提取时间( $X_3$ )和液固比( $X_4$ )因素中影响最大的三水平,分别以-1、0、1 编码,因素与水平设计见表 2。建立 BBD 模型方程式:

$$y=b_0+\sum_{i=1}^4 b_i x_i+\sum_{i=1}^4 b_{ii} x_i^2+\sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 b_{ij} x_i x_j$$

其中  $y$  为千斤拔多糖提取率; $X_i$ 、 $X_j$  为不同的因素; $b_0$ 、 $b_i$ 、 $b_{ii}$ 、 $b_{ij}$  分别为回归方程的截距、单因素系数、二次项系数和因素交叉系数。

表 2 因素与水平设计

因素	符号	编码		
		-1	0	+1
提取温度/℃	$X_1$	50	60	70
水比例/%	$X_2$	0	20	40
提取时间/min	$X_3$	30	40	50
液固比/(mL·g <sup>-1</sup> )	$X_4$	8	11.5	15

## 2.10 统计学方法

计量数据用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,响应曲面模型的回归方程式和显著性统计用 Design Expert 8.0.6 软件进行计算和分析,其中  $P<0.05$  具有显著性差异, $P<0.01$  具有极显著性差异。模型的准确性及显著性由  $F$  值、回归系数  $R^2$  和失拟项决定, $R^2$  越接近 1,模型越可靠。

## 3 结果和讨论

### 3.1 不同 DESs 及提取方法对多糖提取率的影响

3.1.1 不同种类 DESs 对多糖提取率影响 扩散度、溶解度、黏度、表面张力、极性和醇基位置等条件是 DESs 提取活性成分的重要因素<sup>[10]</sup>。探讨 5 种 DESs 在加热( $T=50$  ℃、 $t=30$  min)条件下对千斤拔多糖提取率的影响,结果如图 1(a)所示。多糖提取率大小

排列顺序为:DESs-4>DESs-2>DESs-5>DESs-1>DESs-3,其中 DESs-4 多糖提取率高达 1.53%,主要原因为:溶剂黏性和表面张力小,1,3-丁二醇内部空间足够大且醇基分支少,且极性更适合多糖提取。

### 3.1.2 HBA 与 HBD 不同摩尔比对多糖提取率影响

HBA 与 HBD 之间摩尔比值降低,DESs 的黏度和表面张力也随着减低,可以增加多糖提取率。但比值过度的降低则会导致氯化胆碱浓度降低,从而影响多糖提取率。因此,选用合适的比值对多糖的提取效率具有很大的影响。考察 DESs-4 不同摩尔比(1:2、1:3、1:4、1:5、1:6)对多糖提取率的影响,结果如图 1(b)所示。摩尔比从 1:2 到 1:6 的增加过程中,多糖提取率先增后减,在 1:5 时,达最大值 1.75%。

3.1.3 不同提取方法对多糖提取率影响 本实验研究常温搅拌、常温超声( $P=79$  W)、加热搅拌( $T=50$  ℃)和加热超声( $T=50$  ℃、 $P=79$  W)4 种不同提取方法对千斤拔多糖提取率的影响。结果如图 1(c)所示,加热超声提取(1.76%)均比搅拌提取(0.51%)、加热搅拌提取(1.36%)和常温超声提取(1.22%)的多糖提取率高。说明超声和温度均能影响 DESs 对多糖的提取效率。

## 3.2 单因素实验结果

3.2.1 不同提取温度对多糖提取率的影响 适当的增加温度能降低 DESs 的粘度、增加扩散系数,破坏分子间的相互作用,从而提高活性物质的溶解<sup>[11]</sup>。固定其余条件,考察 DESs 在不同温度梯度下(20、30、40、50、60、70、80 ℃)对多糖提取率的影响,结果如图 2(a)所示。多糖提取率随着温度的升高,在 60 ℃时达到最大值 1.80%,之后温度的升高对提取率变化不大且有降低趋势。因此,确定 60 ℃为最佳提取温度。

3.2.2 不同水比例对多糖提取率的影响 水比例是影响 DESs 提取效率的另一重要参数,具有调节 DESs 黏度和极性作用<sup>[12]</sup>。固定其余条件,考察 DESs 在不同水比例梯度(0%、20%、40%、60%、80%)对多糖提取率的影响,结果如图 2(b)所示。随着水比例增加,多糖提取率先增后降,在 20%处可达最大值 2.01%。因此,确定 20%为最佳水比例。

3.2.3 不同提取时间对多糖提取率的影响 提取时间对多糖提取率有着重要的影响,研究表明<sup>[13]</sup>,在一定时间段内,活性成分溶出率随着时间的增加而增加,然而达到一定时间后,溶液体系渗透压达到平衡

时溶出率变化不大。固定其余条件,考察 DESs 在不同时间梯度(20、30、40、50、60 min)对多糖提取率的影响,结果如图 2(c)所示。多糖提取率随着提取时间的增加在 40 min 达最大值 2.19%,后期的超声过程中,杂质的析出对多糖提取率产生了影响。因此,确定 40 min 为最佳提取时间。

### 3.2.4 不同液固比对多糖提取率的影响 DESs 的

含量决定了药材是否能充分浸润、目标化合物能否有效溶出,因此考察液固比对多糖提取率具有重要作用。固定其余条件,考察 DESs 在不同液固比梯度(5.5、8.0、11.5、15.0、18.5 mL/g)对多糖提取率的影响,结果如图 2(d)所示。随着液固比的增加,多糖提取率不断增加最大可达 2.31%,再次增加液固比对提取率影响不大。因此,确定 11.5 mL/g 为最佳液固比。

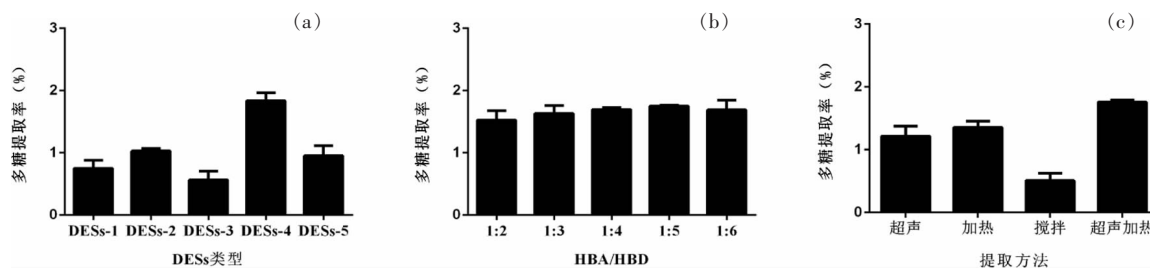


图 1 DESs 类型(a)、HBA/HBD 比例(b)和不同提取方法(c)对多糖提取率的影响

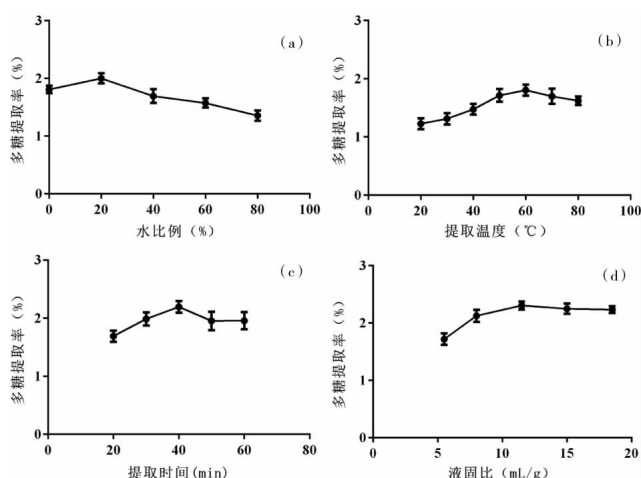


图 2 不同提取温度(a)、水比例(b)、提取时间(c)和液固比(d)对多糖提取率的影响

## 3.3 响应面(RSM)优化提取条件结果分析

3.3.1 统计分析和模型拟合 本实验采用的 BBD 设计涉及到 3 个水平、4 个因素,具有 5 个重复用于评价数据变异性和稳定性。BBD 表格设计及其实验数据如表 3 所示。对数据进行分析,回归方程为:

$$Y = -5.72693 + 0.1111X_1 + 0.14529X_2 + 0.060793X_3 + 0.44264X_4 - 1.3125 \times 10^{-3}X_1X_2 - 7.5 \times 10^{-5}X_1X_3 - 2.07143 \times 10^{-3}X_1X_4 - 1.6252 \times 10^{-4}X_2X_3 - 1.82143 \times 10^{-3}X_2X_4 + 1.85714 \times 10^{-3}X_3X_4 - 8.96667 \times 10^{-4}X_1^2 - 1.18042 \times 10^{-3}X_2^2 - 1.03417 \times 10^{-4}X_3^2 - 0.029463 \times 10^{-4}X_4^2$$

由表 4 可知,模型因变量和全体自变量之间的线性关系显著( $R^2=0.9956$ ),且  $P$  值小于 0.01,方程

的失拟项  $P$  值为 0.9599,  $R^2_{\text{Pred}}$  与  $R^2_{\text{Adj}}$  差异值小于 0.2,精密性大于 4,以上结果证明该模型可靠。一次项  $X_1$ 、 $X_2$  和  $X_4$ ,交互项中的  $X_1X_2$ 、 $X_2X_4$  以及二次项中的  $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$ 、 $X_4^2$  对千斤拔多糖提取率的影响极为显著( $P < 0.01$ );  $X_1X_4$ 、 $X_3X_4$  对千斤拔多糖提取率的影响显著( $P < 0.05$ )。

3.3.2 RSM 分析 响应面三维图和等高线图被不仅可以解释自变量之间的相互作用,而且可以反映变量间相互作用。通过观察曲面的倾斜度确定两者对响应值的影响程度,倾斜度越高,即坡度越陡,说明两者交互作用越显著。提取温度( $X_1$ )、水比例( $X_2$ )、提取时间( $X_3$ )和液固比( $X_4$ )对千斤拔多糖提取率的影响如图 3 所示,四因素之间的交互曲面均具有较大的倾斜度,说明两两因素之间对千斤拔多糖提取率的影响较大。曲面图结果与表 4 方差分析结果相符合( $P < 0.01$ )。因此, $X_1=70.00$  °C、 $X_2=11.38\%$ 、 $X_3=40.82$  min、 $X_4=10.91$  mL/g 时,千斤拔多糖提取率达到最大预测值 2.51%。为了实验便利性,对 4 个因素实验值进行适当修饰如下: $X_1=70$  °C、 $X_2=11\%$ 、 $X_3=41$  min、 $X_4=11$  mL/g。利用改进后的最优条件进行实验验证,实验结果显示多糖提取率为(2.47±0.03)%,与预测值无明显差异性( $P > 0.05$ )。

### 3.4 传统方法提取千斤拔多糖

目前文献报道的千斤拔多糖提取方法主要为水提醇沉法。为评判 DESs 提取千斤拔多糖效率,本研究将两者进行对比。采用文献报道的最佳工艺<sup>[4]</sup>,在提

表 3 BBD 实验设计与结果

编号	提取温度/°C	水比例/%	提取时间/min	液固比/(mL·g <sup>-1</sup> )	多糖得率/%
1	-1	0	0	-1	2.33
2	0	-1	-1	0	2.01
3	0	0	-1	-1	2.29
4	-1	1	0	0	1.92
5	0	0	1	1	1.79
6	0	1	0	-1	1.85
7	-1	-1	0	0	1.73
8	0	0	0	0	2.42
9	0	-1	0	1	1.66
10	1	0	0	1	1.85
11	1	0	0	-1	2.24
12	-1	0	0	1	1.65
13	0	0	0	0	2.44
14	1	0	-1	0	2.30
15	0	0	0	0	2.40
16	-1	0	-1	0	2.23
17	0	0	1	-1	2.16
18	-1	0	1	0	2.22
19	0	1	-1	0	1.74
20	0	0	0	0	2.50
21	0	0	0	0	2.52
22	0	0	-1	1	1.66
23	1	-1	0	0	2.36
24	0	-1	1	0	2.11
25	1	1	0	0	1.50
26	0	1	0	1	1.10
27	0	-1	0	-1	1.90
28	0	1	1	0	1.71
29	1	0	1	0	2.32

表 4 回归模型方差分析

方差源	方差	自由度	平均和	F 值	P 值
总模型	3.4595	14	0.2471	194.2285	<0.0001
X <sub>1</sub> -提取温度	0.0200	1	0.0200	15.7266	0.0014
X <sub>2</sub> -水比例	0.3169	1	0.3169	249.0643	<0.0001
X <sub>3</sub> -提取时间	0.0005	1	0.0005	0.4192	0.5278
X <sub>4</sub> -液固比	0.7803	1	0.7803	613.3171	<0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.2756	1	0.2756	216.6417	<0.0001
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.0002	1	0.0002	0.1769	0.6805
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0.0210	1	0.0210	16.5257	0.0012
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.0042	1	0.0042	3.3209	0.0898
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	0.0650	1	0.0650	51.1098	<0.0001
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0.0169	1	0.0169	13.2834	0.0027
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.0522	1	0.0522	40.9916	<0.0001
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1.4461	1	1.4461	1136.6419	<0.0001
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.0694	1	0.0694	54.5273	<0.0001
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	0.8449	1	0.8449	664.1205	<0.0001
残差	0.0178	14	0.0013		
失拟项	0.0071	10	0.0007	0.2646	0.9599
纯误差	0.0107	4	0.0027		
总和	3.4773	28			
R <sup>2</sup>	0.9956				
R <sup>2</sup> Adj	0.9911				
R <sup>2</sup> Pred	0.9844				
精密度	58.4870				

取温度 70 °C、超声时间 30 min、液固比 40 mL/g、提取时间 2 h 下,千斤拔多糖提取率为 (1.32±0.09)%,显著低于 DESs 最优条件下多糖提取率 (2.47%, P<0.05)。

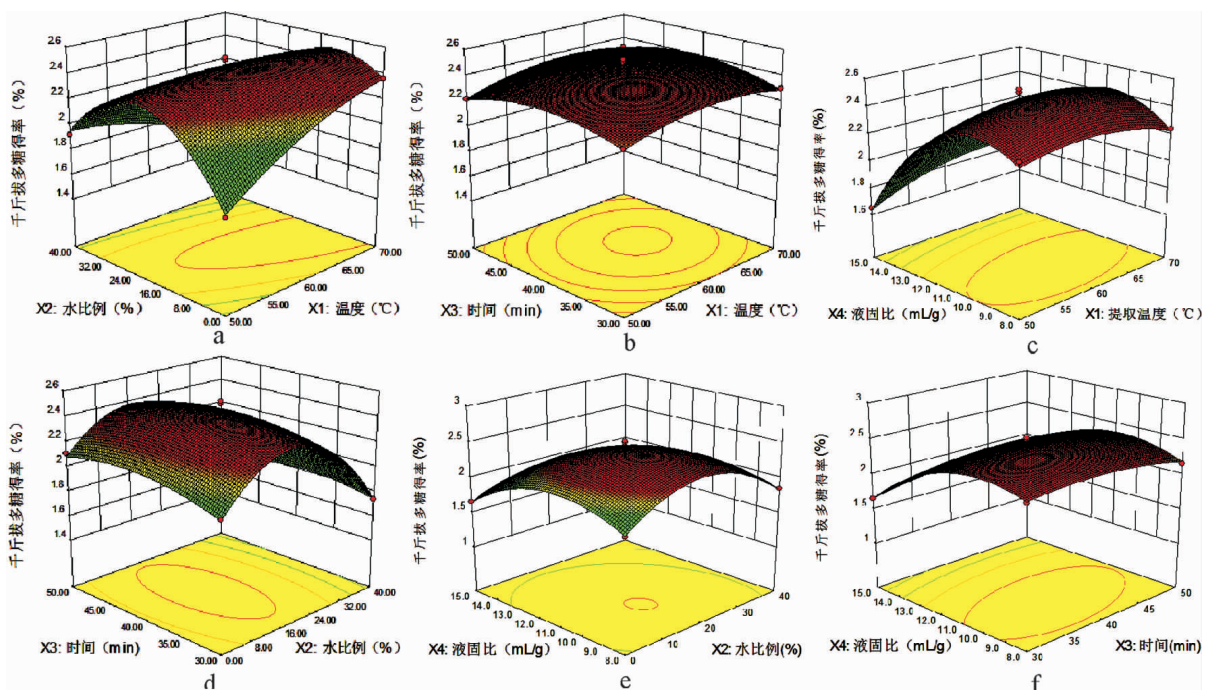


图 3 提取温度 (X<sub>1</sub>)、水比例 (X<sub>2</sub>)、提取时间 (X<sub>3</sub>)、液固比 (X<sub>4</sub>) 交互作用对千斤拔多糖提取率影响的响应面图

## 4 结论

本研究采用了一种新型绿色溶剂—低共熔溶剂 (DESs) 提取千斤拔多糖。在初步筛选单因素实验的基础上, 采用 BBD 设计进一步优化条件, 发现在最优条件下, 实际千斤拔多糖提取率在预测范围之内。

此外采用 DESs 提取千斤拔多糖优于水提醇沉法。因此, DESs 作为溶剂用于千斤拔多糖的提取, 科学可行、高效环保。本研究的完成可为 DESs 提取植物多糖提供理论基础以及有利于千斤拔的进一步开发研究。

### 参考文献:

- [1] 牛迎风, 张丽霞, 李晓花, 等. 西双版纳重要傣药大叶千斤拔总黄酮富集工艺研究[J]. 热带农业科技, 2018, 41(1): 28-33, 42.
- [2] 卓 桑, 乔 雪, 杨子明, 等. 千斤拔多糖对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 广西植物, 2017, 37(9): 1213-1218.
- [3] PLECHKOVA N V, SEDDON K R. Applications of ionic liquids in the chemical industry[J]. Chemical Society Reviews, 2008, 37(1): 123-150.
- [4] 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.
- [5] ABBOTT A P, BOOTHBY D, CAPPER G, et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids[J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(29): 9142-9147.
- [6] DUAN L, DOU L L, GUO L, et al. Comprehensive evaluation of deep eutectic solvents in extraction of bioactive natural products [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2016, 4(4): 2405-2411.
- [7] XIA B, DONG Y, BAI Y, et al. Determination of phenolic acids in *Prunella vulgaris* L.: A safe and green extraction method using alcohol-based deep eutectic solvents[J]. Analytical Methods, 2015, 7(21): 9354-9364.
- [8] TAN T, ZHANG M, WAN Y, et al. Utilization of deep eutectic solvents as novel mobile phase additives for improving the separation of bioactive quaternary alkaloids [J]. Talanta, 2016, 149(3): 85-90.
- [9] ZHANG L, WANG M. Optimization of deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 95(11): 675-681.
- [10] BI W, TIAN M, ROW K H. Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1285(2): 22-30.
- [11] ZHAO B Y, XU P, YANG F X, et al. Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica* [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2015, 3(11): 2746-2755.
- [12] GUTIÉRREZ M C, FERRER M L, MATEO C R, et al. Freeze-drying of aqueous solutions of deep eutectic solvents: a suitable approach to deep eutectic suspensions of self-assembled structures[J]. Langmuir, 2009, 25(10): 5509-5515.
- [13] 李芳亮, 王 锐, 孙 磊, 等. 响应面法优化超声波提取沙棘叶水溶性多糖工艺研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(12): 101-104.
- [14] 朱 琳, 王慧竹, 陈 帅, 等. 超声波辅助提取千斤拔多糖工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(33): 20398-20399, 20401.

(本文编辑 苏 维)