

天然抗氧化剂

DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210042

基于低共熔溶剂分离黑种草子油中抗氧化活性物质

伏琳玥, 刘 学

(江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:制备了13种低共熔溶剂(DES),用于分离黑种草子油中抗氧化活性物质。以DPPH自由基清除能力为指标,比较了不同理化性质的DES的萃取效率,通过快速制备色谱法对最优DPPH自由基清除能力的DES萃取物中抗氧化活性物质进一步分离,以UPLC-Q-TOF MS对抗氧化活性高的流分进行成分分析。结果表明:以DES-9(甜菜碱-乙酰丙酸-水,摩尔比1:3:2)为萃取溶剂,所得萃取物的抗氧化活性最高,在相同生药质量浓度(3.78 mg/mL)下,其对DPPH自由基的清除率约是传统溶剂(70%甲醇)萃取物的2.6倍。经初步鉴定,DES-9萃取物中抗氧化活性成分主要为3,5-二甲氧基-4-甲基苯基戊酸、苏葛三醇、肉桂酸、Odoritol、2-O-2-苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷、百里醌、藏花酸、鼠尾草酸。

关键词:低共熔溶剂;黑种草子油;抗氧化活性物质

中图分类号:TS225;R284.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)11-0044-06

Separation of antioxidant activity components from black cumin seed oil by deep eutectic solvents

FU Linyue, LIU Xue

(School of Chemical & Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract:Thirteen deep eutectic solvents (DES) were prepared for separation of antioxidant activity components from black cumin seed oil. The extraction efficiency of different DES was studied based on the DPPH free radical scavenging capability of DES extracts. The antioxidant components in the DES extract with the highest DPPH free radical scavenging capability were further separated by rapid preparation chromatography, and characterized by UPLC-Q-TOF MS. The results showed that the DES-9 (betaine-levulinic acid-water, molar ratio 1:3:2) extract had the highest antioxidant activity, and the DPPH free radical scavenging rate of DES-9 extract was 2.6 times that of traditional solvent (70% methanol) extract at the same raw material concentration (3.78 mg/mL). The antioxidant components in the DES-9 extract were mainly 5-(3,5-dimethoxy-4-methylphenyl) pentanoic acid, sugetriol, cinnamic acid, odoritol, 2-O-2-phenylethyl- β -D-glucopyranoside, thymoquinone, crocetin and carnosic acid.

Key words: deep eutectic solvents; black cumin seed oil; antioxidant activity components

黑种草子为毛茛科植物腺毛黑种草(*Nigella glandulifera* Freyn)的干燥成熟种子,主要分布于我国新疆和云南,是一种维吾尔族和傣族沿用数千年的习用药材,常用于胸闷气不足、乳肿、乳汁减少、耳

鸣、热淋、石淋、闭经等症,于1977年始被收入《中华人民共和国药典》中^[1]。黑种草子含油量为30%~38%,黑种草子油主要含有挥发油、不饱和脂肪酸酯、植物甾醇、酚类等成分^[2],具有抗氧化^[3]、抗菌^[4]、除臭^[5]等生物活性,可治疗多种疾病,如类风湿性关节炎、哮喘、糖尿病和消化系统疾病等^[6],在化妆品、食品和保健品等领域具有很好的应用前景。传统有机溶剂法提取黑种草子油中抗氧化活性物质

收稿日期:2021-01-22;修回日期:2021-08-01

作者简介:伏琳玥(1996),女,硕士研究生,研究方向为天然产物与化妆品化学(E-mail)15629000613@163.com。

通信作者:刘 学,副教授(E-mail)xueliu@jiangnan.edu.cn。

具有溶剂毒性较大、操作过程复杂、提取效率偏低等缺点。因此,研究一种绿色环保、简单高效、成本低廉的提取方法将有利于扩大黑种草子油的资源利用及开发。

低共熔溶剂(DES)由 Abbott 等^[7]在 2003 年首次提出,是一种环境友好的新型绿色溶剂。DES 是由氢键受体(季铵盐类等)和氢键供体(多元醇、有机酸、糖类等)以一定摩尔比混合形成均一稳定的液体,其熔点明显低于任何单一组分的熔点^[8]。DES 具有传统有机溶剂不具有的优势,如绿色环保、可生物降解、溶解性优良、电化学窗口宽等独特的物理化学性质,且制备方法简单,具有可设计性,可以通过选择合适的组成和配比来调节其性质^[9]。近年来,DES 已经成为绿色化学化工的研究热点,被广泛应用于无机材料制备、有机合成^[10]、混合物分离^[11]、天然产物化学和分析化学^[8]等多个领域。在天然产物化学方面,越来越多的研究利用 DES 提取生物体中的活性成分,包括黄酮类^[12]、酚类^[13]、皂苷类^[14]、多糖类^[15]、萜类^[16]等化合物的提取。

本文制备了 13 种 DES,将其用于萃取黑种草子油中的抗氧化活性物质,通过对不同 DES 理化性质的分析初步探讨其萃取机制,开发基于天然 DES 的绿色高效萃取技术,并以快速制备色谱法进一步分离纯化,以超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱联用法(UPLC-Q-TOF MS)分析黑种草子油中的抗氧化活性成分,为黑种草子油在食品、保健品、化妆品及药物领域的开发应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

黑种草子油,江西吉安市华天宝中草药生物制品厂;甜菜碱、1,2-丙二醇、1,3-丙二醇、1,3-丁二醇、1,4-丁二醇、2-甲基-1,3-丙二醇、丙三醇、葡萄糖、三(羟甲基)氨基甲烷、甲醇,AR,国药集团化学试剂有限公司;苹果酸、乙酰丙酸、乳酸、蔗糖,GR,Adamas 公司;无水乙醇,GR,Greagent 公司;柠檬酸、奎诺二甲基丙烯酸酯(Trolox),GR,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;尿素,AR,上海麦克林生化科技有限公司;1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH),HPLC 级,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;去离子水,无锡江大教育文化服务有限公司。

1.1.2 仪器与设备

FA1604 型数显电子分析天平,上海天平仪器厂;DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市

予华仪器有限责任公司;VORTEX 3 涡旋仪,德国 IKA 公司;KQ-300DE 数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;5425 离心机,德国 Eppendorf 公司;RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;pH 计,瑞士 Mettler-Toledo 公司;UV-1800 紫外/可见分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司;DHR-3 旋转流变仪,美国 TA 公司;Infinite 200 PRO 多功能微孔板酶标仪,瑞士 Tecan 公司;Isolera 快速制备色谱仪,瑞典 Biotage 公司;Nicolet 6700 全反射傅里叶红外光谱仪,美国 Thermo Fisher 公司;超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱联用仪,美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DES 的制备

将氢键受体、氢键供体和水依次加入样品瓶,于 80 °C 水浴加热搅拌,直至形成均匀稳定的澄清透明液体,即 DES。DES-1 由甜菜碱、1,2-丙二醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-2 由甜菜碱、1,3-丙二醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-3 由甜菜碱、1,3-丁二醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-4 由甜菜碱、1,4-丁二醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-5 由甜菜碱、2-甲基-1,3-丙二醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-6 由甜菜碱、丙三醇和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-7 由甜菜碱、苹果酸和水以摩尔比 1:1:5 组成;DES-8 由甜菜碱、柠檬酸和水以摩尔比 1:1:5 组成;DES-9 由甜菜碱、乙酰丙酸和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-10 由甜菜碱、乳酸和水以摩尔比 1:3:2 组成;DES-11 由甜菜碱、葡萄糖和水以摩尔比 1:1:5 组成;DES-12 由甜菜碱、蔗糖和水以摩尔比 1:1:5 组成;DES-13 由甜菜碱、尿素和水以摩尔比 1:1:2 组成。

1.2.2 DES 黏度、pH、红外光谱、极性测定

使用 DHR-3 旋转流变仪测定 DES 在 20 ~ 60 °C 范围内黏度随温度变化的曲线。

使用 pH 计在室温下检测 DES 的 pH。

使用带有 ATR 元件的 Nicolet 6700 全反射傅里叶红外光谱仪测定 DES 在 4 000 ~ 550 cm^{-1} 波数范围的红外光谱(分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 32)。

参考 Paiva 等^[9]的方法,使用尼罗红染料作为溶剂变色探针测定 DES 的极性。制备 1 g/L 尼罗红乙醇溶液,4 °C 避光储存,使用时稀释 10 倍。将 100 μL 尼罗红溶液添加到 900 μL DES 中,采用紫外/可见分光光度计在 400 ~ 700 nm 波长进行光谱扫描,记录最大吸收波长。按下式计算 DES 极性(E_{NR})。

$$E_{NR} = hcN_A \lambda_{max}^{-1} = 28\ 591 \lambda_{max}^{-1} \quad (1)$$

式中: h 为普朗克常数; c 为光速; N_A 为阿伏加德罗常数; λ_{max} 为最大吸收波长。

1.2.3 基于 DES 萃取黑种草子油中抗氧化活性物质

将黑种草子油和制备的 DES 分别置于水浴锅中,60℃水浴预热。取 2 mL 离心管,加入 0.8 mL 预热的黑种草子油和 0.8 mL DES,充分涡旋振荡,60℃超声(40 kHz)萃取 30 min。随后将两相混合物在 10 000 r/min 下离心 2 min,得到 DES 萃取物。

1.2.4 基于传统溶剂(70%甲醇)萃取黑种草子油中抗氧化活性物质

将黑种草子油置于水浴锅中,60℃水浴加热。取 2 mL 离心管,加入 0.8 mL 黑种草子油和 0.8 mL 70%甲醇,充分涡旋振荡,60℃超声(40 kHz)萃取 30 min。随后将两相混合物在 10 000 r/min 下离心 2 min,取上清(70%甲醇萃取物),旋蒸蒸干,使用 50%乙醇定容至 0.8 mL。

1.2.5 萃取物 DPPH 自由基清除活性测试

DPPH 自由基清除活性实验参考 Brand - Williams 等^[17]的方法。取 40 μ L 经 50%乙醇稀释 50 倍的样品/样品溶剂,加入 160 μ L DPPH/DPPH 溶剂,振荡 60 s,37℃避光反应 30 min,用微孔板酶标仪于 517 nm 波长下测定吸光度。阳性对照为 120 μ mol/L Trolox。通过下式计算 DPPH 自由基清除率(I)。

$$I = [A_c - (A_s - A_b)] / A_c \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_s 为样品与 DPPH 反应后溶液的吸光度; A_b 为样品与 DPPH 溶剂反应后溶液的吸光度; A_c 为样品溶剂与 DPPH 反应后溶液的吸光度。

1.2.6 萃取物抗氧化活性成分的分离

以 Isolera 快速制备色谱仪分离萃取物中抗氧化活性物质。收集不同流分,减压旋蒸至干后分别以无水乙醇定容至 10 mL,测定各流分的 DPPH 自由基清除活性。

色谱条件:反相 C_{18} 色谱柱(SNAP C_{18} 60 g);流动相溶剂 A 为超纯水,B 为甲醇,梯度为 0~2 CV 40% B,2~7 CV 70% B,7~10 CV 80% B,10~13 CV 90% B,13~16 CV 100% B;流速 30 mL/min;全波长(200~700 nm)监测,监测阈值 40 mAU;进样量 10 mL。

1.2.7 萃取物抗氧化活性成分的鉴定

采用 UPLC-Q-TOF MS 对抗氧化活性较好的流分进行成分分析。

液相色谱条件:BEH C_{18} 色谱柱(150 mm \times 2.1 mm,1.7 μ m);流速 0.3 mL/min;柱温 45℃;进样量 5 μ L;流动相 A 为乙腈,B 为 0.1%甲酸水溶液,梯度为 0~0.1 min 25% A,0.1~20 min 25%~90% A,20~25 min 90%~100% A,25~27 min 100% A,27~27.1 min 100%~25% A,27.1~30 min 25% A。

质谱条件:毛细管电压 3.5 kV,锥孔电压 30 V,离子源温度 100℃,脱溶剂气温度 400℃,脱溶剂气流量 700 L/h,锥孔反吹气流量 50 L/h,碰撞能量 20 eV。

1.2.8 数据处理

萃取物 DPPH 自由基清除活性实验进行 3 组平行样测定,利用 SPSS 22.0 软件对实验数据进行单因素方差分析(ANOVA)及 Duncan 检验,分析样本差异性。

2 结果与讨论

2.1 DES 理化性质

为探索 DES 理化性质和黑种草子油中抗氧化活性物质萃取效率之间的关系,对按 1.2.1 法以甜菜碱为氢键受体和不同类型的氢键供体以及少量的水为体系制备的一系列 DES 的理化性质进行测定,结果见表 1。

表 1 不同 DES 的理化性质

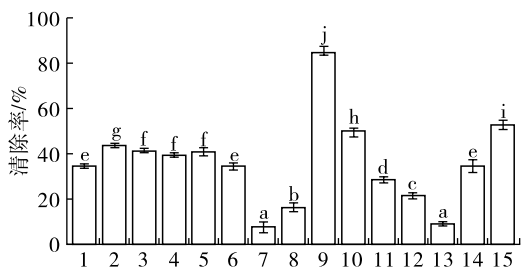
DES	黏度 (25℃)/ (Pa·s)	黏度 (60℃)/ (Pa·s)	pH (25℃)	$E_{NR}/$ (kJ/mol)
DES-1	0.065	0.018	7.47	214.032
DES-2	0.054	0.018	7.07	211.974
DES-3	0.106	0.026	7.95	213.108
DES-4	0.083	0.025	7.24	213.108
DES-5	0.142	0.034	7.09	213.486
DES-6	0.346	0.062	7.51	209.202
DES-7	0.207	0.052	2.39	203.196
DES-8	0.326	0.132	2.40	202.860
DES-9	0.104	0.028	3.38	212.142
DES-10	0.095	0.029	2.42	207.942
DES-11	0.461	0.143	6.14	206.850
DES-12	0.822	0.295	7.55	206.850
DES-13	0.070	0.020	10.28	209.202

由氢键受体(氯化胆碱、甜菜碱等)与氢键供体(多元醇、有机酸、糖类等)以一定摩尔比组成,经加热搅拌、真空蒸发、冷冻干燥等方法制备的 DES 黏度较高,可能是因为化合物之间组成了很强的氢键网络,限制了 DES 内自由物种的迁移^[18],加入少量的水可以显著降低其黏度,但过量的水会降低其氢键作用,使萃取效率降低^[19]。由表 1 可知,13 种

DES的黏度相差较大,但均随着温度的上升显著降低。DES的pH受氢键供体影响较大,甜菜碱-多元醇-水、甜菜碱-糖类-水体系的DES为弱酸性到弱碱性,甜菜碱-有机酸-水体系的DES为酸性,甜菜碱-尿素-水体系的DES为碱性。DES极性与氢键供体极性大小呈正相关,甜菜碱-多元醇-水体系(除DES-6)和甜菜碱-乙酰丙酸-水体系的DES极性相对较小,甜菜碱-糖类-水体系、甜菜碱-有机酸-水体系和甜菜碱-尿素-水体系的DES极性相对偏大。

2.2 不同黑种草子油DES萃取物抗氧化活性比较

DPPH法具有检测时间短、实验可行性强、成本低等优点,被广泛用于评价化学物质的抗氧化活性^[20]。本实验以DPPH自由基清除率为指标比较不同黑种草子油DES萃取物的抗氧化能力,并与传统溶剂70%甲醇的萃取物对比,结果见图1。



注:1~13分别为DES-1~DES-13,14为70%甲醇萃取物,15为Trolox;不同字母表示存在显著性差异, $P < 0.05$ 。下同

图1 不同溶剂萃取物的DPPH自由基清除活性

由图1可知,黑种草子油DES-9萃取物抗氧化活性最强,显著强于70%甲醇萃取物,在相同生药质量浓度(3.78 mg/mL)下,DES-9萃取物的DPPH自由基清除率约为70%甲醇萃取物的2.6倍,可能是因为在60℃的萃取温度下,DES-9的黏度为0.028 Pa·s,较低,利于DES-黑种草子油两相传质,黑种草子油中抗氧化活性物质在低黏度的DES中更易于扩散和富集,同时,黑种草子油中抗氧化活性物质在偏酸性条件下可能更易于溶出,如DES-1、DES-2、DES-3、DES-4、DES-5和DES-13的黏度虽均与DES-9接近,但它们的pH均在7以上,所得萃取物的DPPH自由基清除率均在45%以下,DES-13萃取物的DPPH自由基清除率更低,仅为9.3%。另外,DES的pH过低时,也不利于黑种草子油中抗氧化活性物质的溶出,如DES-7,与DES-6的黏度和极性相近,但DES-7 pH仅为2.39,可能导致二者萃取物间抗氧化活性差异显著。另外,依据极性相似相溶原理,DES的

极性对黑种草子油中抗氧化活性物质的萃取率也有一定的影响。综上,选择DES-9用于萃取黑种草子油中抗氧化活性物质。

2.3 萃取物中抗氧化活性成分分离

按1.2.6方法使用快速制备色谱仪对DES-9萃取物进行分离纯化,并分别进行DPPH自由基清除活性测试,进一步确定抗氧化活性部位,结果见图2~图3。

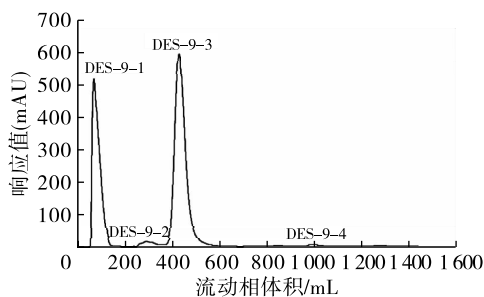


图2 黑种草子油DES-9萃取物经快速制备色谱分离所得流分

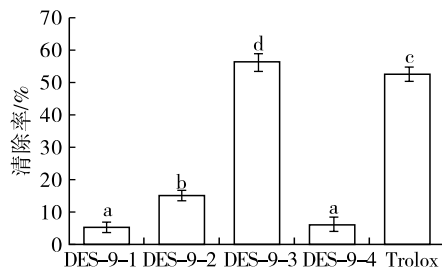


图3 不同流分的DPPH自由基清除活性

由图2可知,最终收集到4个流分,编号依次为DES-9-1、DES-9-2、DES-9-3、DES-9-4,经旋蒸后质量分别为10.79、46.1、37.7 mg和14.7 mg。其中流分DES-9-1经旋蒸后得到无色透明液体,经红外光谱分析,其红外吸收特征峰与DES-9萃取物未见差异(见图4)。由图3可知,流分DES-9-3的DPPH自由基清除率显著高于流分DES-9-1、DES-9-2和DES-9-4,说明萃取物中抗氧化活性物质主要集中在DES-9-3。DES-9经快速制备色谱分离纯化黑种草子油DES萃取物中分离并回收的抗氧化活性物的回收率为95.3%。

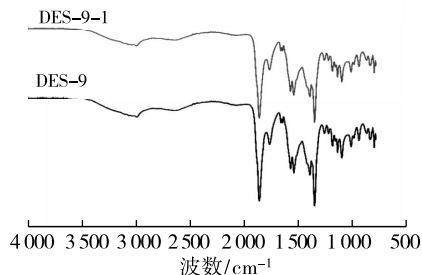


图4 流分DES-9-1和DES-9的红外光谱图

2.4 萃取物中抗氧化活性成分的初步鉴别

UPLC-Q-TOF MS 具有高灵敏度、高分辨率及高质量精度特点,可用于药物代谢分析、天然物鉴定、代谢组学分析、食品安全分析、环境安全分析、未知物鉴定等方面^[21]。图 5 为流分 DES-9-3 的 UPLC 色谱图。

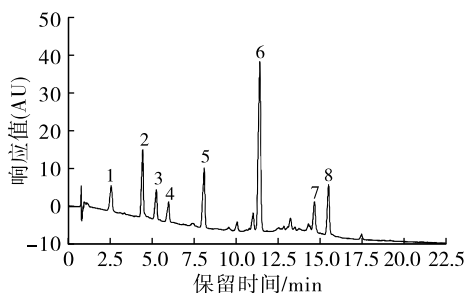


图 5 流分 DES-9-3 中抗氧化活性物质的 UPLC 谱图($\lambda = 256 \text{ nm}$)

表 2 UPLC-Q-TOF MS 鉴定的流分 DES-9-3 中抗氧化活性成分

峰号	保留时间/min	化合物	化学式	m/z	质谱峰
1	2.59	3,5-二甲氧基-4-甲基苯基戊酸	$C_{14}H_{20}O_4$	270.173 6	$M + NH_4$
2	4.47	苏葛三醇	$C_{15}H_{24}O_3$	270.207 9	$M + NH_4$
3	5.29	肉桂酸	$C_9H_8O_2$	149.062 5	$M + H$
4	6.01	Odoritol	$C_{17}H_{18}O_5$	303.122 9	$M + H$
5	8.13	2-O-2-苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷	$C_{14}H_{18}O_7$	299.117 7	$M + H$
6	11.44	百里醌	$C_{10}H_{12}O_2$	165.096 1	$M + H$
7	14.70	藏花酸	$C_{20}H_{24}O_4$	329.176 9	$M + H$
8	15.53	鼠尾草酸	$C_{20}H_{28}O_4$	333.207 1	$M + H$

3 结论

本文制备了 13 种低共熔溶剂(DES)用于分离黑种草子油中抗氧化活性物质。对比 13 种 DES 的分离效果,结果发现,不同 DES 从黑种草子油中萃取抗氧化活性物质的能力存在明显差异,由于 DES-9(甜菜碱-乙酰丙酸-水,摩尔比1:3:2)具有黏度低、pH 偏酸性、极性较小的理化特性,在所选的 13 种甜菜碱基低共熔溶剂中,最适合萃取黑种草子油中的抗氧化活性物质,在相同生药质量浓度(3.78 mg/mL)下,其对 DPPH 自由基的清除率约是传统溶剂(70%甲醇)萃取物的 2.6 倍。经 UPLC-Q-TOF MS 初步鉴定,DES 萃取物中抗氧化活性成分主要为 3,5-二甲氧基-4-甲基苯基戊酸、苏葛三醇、肉桂酸、Odoritol、2-O-2-苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷、百里醌、藏花酸、鼠尾草酸。

参考文献:

[1] 刘学,曹莹莹,韩王康,等. 浊点萃取法提取黑种草子油抗氧化剂的工艺研究[J]. 日用化学工业, 2014, 44(11): 624-627.
[2] 曹莹莹. 黑种草子中总黄酮的提取、分离纯化及活性研

究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2016.
[3] KIRALAN M, ÖZKAN G, BAYRAK A, et al. Physicochemical properties and stability of black cummin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods[J]. Ind Crops Prod, 2014, 57: 52-58.
[4] RAMADAN M F. Essential oils in food preservation, flavor and safety[M]. San Diego: Academic Press, 2016: 269-275.
[5] NAKASUGI T, MURAKAWA T, SHIBUYA K, et al. Deodorizing substance in black cummin (*Nigella sativa* L.) seed oil[J]. J Oleo Sci, 2017, 66(8): 877-882.
[6] KOOTI W, HASANZADEH - NOOHI Z, SHARAFI - AHVAZI N, et al. Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa*) [J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(10): 732-745.
[7] ABBOTT A P, CAPPER G, DAVIES D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chem Commun, 2003(1): 70-71.
[8] LIU Y, FRIESEN J B, MCALPINE J B, et al. Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives[J]. J Nat Prod, 2018, 81(3): 679-690.
[9] PAIVA A, CRAVEIRO R, AROSO I, et al. Natural deep

- eutectic solvents – solvents for the 21st century[J]. ACS Sustain Chem Eng, 2014, 2(5): 1063 – 1071.
- [10] HANDY S, WRIGHT M. An acid – free Pictet – Spengler reaction using deep eutectic solvents (DES) [J]. Tetrahedron Lett, 2014, 55(23): 3440 – 3442.
- [11] REN S H, XIAO Y, WANG Y M, et al. Effect of water on the separation of phenol from model oil with choline chloride via forming deep eutectic solvent[J]. Fuel Proc Technol, 2015, 137: 104 – 108.
- [12] MANSUR A R, SONG N E, JANG H W, et al. Optimizing the ultrasound – assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common buckwheat sprouts[J]. Food Chem, 2019, 293: 438 – 445.
- [13] DAI Y, WITKAMP G J, VERPOORTE R, et al. Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *carthamus tinctorius* L. [J]. Anal Chem, 2013, 85(13): 6272 – 6278.
- [14] 吴蓉, 王慧敏, 曹君, 等. 深共熔溶剂同步提取红景天中红景天苷和酪醇[J]. 高等学校化学学报, 2019, 40(5): 918 – 926.
- [15] GOMEZ A V, TADINI C C, BISWAS A, et al. Microwave – assisted extraction of soluble sugars from banana puree with natural deep eutectic solvents (NADES) [J]. LWT – Food Sci Technol, 2019, 107: 79 – 88.
- [16] HUANG J, GUO X Y, XU T Y, et al. Ionic deep eutectic solvents for the extraction and separation of natural products [J]. J Chromatogr A, 2019, 1598: 1 – 19.
- [17] BRAND – WILLIAMS W, CUVELIER M E, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity[J]. LWT – Food Sci Technol, 1995, 28(1): 25 – 30.
- [18] MENESES L, SANTOS F, GAMEIRO A R, et al. Preparation of binary and ternary deep eutectic systems[J/OL]. J Visual Experiment, 2019(152): e60326[2021 – 01 – 22]. <https://www.jove.com/video/60326>.
- [19] DAI Y, WITKAMP G J, VERPOORTE R, et al. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications [J]. Food Chem, 2015, 187: 14 – 19.
- [20] CHEN X, LIANG L, HAN C. Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical; a potential interference to DPPH assay[J/OL]. LWT – Food Sci Technol, 2020, 131: 109769 [2021 – 01 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109769>.
- [21] BONACCI S, DI GIOIA M L, COSTANZO P, et al. Natural deep eutectic solvent as extraction media for the main phenolic compounds from olive oil processing wastes [J/OL]. Antioxidants, 2020, 9(6): 513 [2021 – 01 – 22]. <https://doi.org/10.3390/antiox9060513>.
- [22] KOUROSH G, BEHNAM K, HAMID A J, et al. Comparative analysis of essential oil composition of Iranian and Indian *Nigella sativa* L. extracted using supercritical fluid extraction and solvent extraction[J]. Drug Des Dev Ther, 2017, 11: 2221 – 2226.
-
- (上接第25页)
- [5] 唐晓溪. 迷迭香精油纳米乳制备及其抗氧化作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.
- [6] FENG Y, LEE Y. Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil – in – water pickering emulsion [J]. Food Hydrocolloid, 2016, 56: 292 – 302.
- [7] 周莹, 欧阳五庆, 郭建军, 等. 复方联苯苄唑纳米乳的制备及其质量评价[J]. 精细化工, 2012, 29(8): 790 – 794.
- [8] DEGRAND L, MICHON C, BOSCH V. New insights into the study of the destabilization of oil – in – water emulsions with dextran sulfate provided by the use of light scattering methods[J]. Food Hydrocolloid, 2016, 52: 848 – 856.
- [9] 孙志高, 黄巧娟, 盛冉, 等. β – 隐黄素纳米乳的制备及其稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(3): 175 – 179.
- [10] WAN Z L, WANG J M, WANG L Y, et al. Complexation of resveratrol with soy protein and its improvement on oxidative stability of corn oil /water emulsions[J]. Food Chem, 2014, 161(6): 324 – 331.
- [11] GUTTOFF M, SABERI A H, MCCLEMENTS D J. Formation of vitamin D nanoemulsion – based delivery systems by spontaneous emulsification; factors affecting particle size and stability[J]. Food Chem, 2015, 171: 117 – 122.
- [12] KREILGAARD M, PEDERSEN E J, JAROSZEWSKI J W. NMR characterization and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems [J]. J Control Release, 2000, 69(3): 421 – 433.
- [13] LI H, PAN W, LI J, et al. Preparation, evaluation and NMR characterization of vinpocetine microemulsion for transdermal delivery[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2004, 30(6): 657 – 666.