

赵天明. 基于绿色溶剂的天然产物提取技术研究进展[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 283–286.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.081

# 基于绿色溶剂的天然产物提取技术研究进展

赵天明

(贵州理工学院制药工程学院, 贵州贵阳 550003)

**摘要:**介绍了超临界 CO<sub>2</sub>、水、室温离子液体和低共熔溶剂、生物质基溶剂、天然油脂、定制合成的绿色溶剂和混合绿色溶剂 7 类基于绿色溶剂的提取方法及应用进展, 并对这些技术的优缺点及存在问题进行分析, 同时也指出天然产物提取产业的几个发展趋势。

**关键词:**天然产物; 绿色提取; 绿色溶剂; 超临界 CO<sub>2</sub>; 生物基溶剂; 定制合成的绿色溶剂

**中图分类号:**TQ028 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)09-0283-04

传统的天然产物提取技术具有能耗高、大量使用石化溶剂、污染环境和提取率低的特点。随着各国对环境问题的重视和人们对“绿色”“天然”产品需求的不断增加, 天然产物高效绿色提取技术越来越受到研究者的重视。与天然产物密切相关的制药、食品和化妆品产业都在寻求开发绿色高效的天然产物提取技术, 因而各类绿色提取方法不断涌现。2012 年, Chemat 等提出“天然产物绿色提取”的定义为“发现或设计提取工艺, 减少能耗, 使用可代替(或绿色)溶剂和可再生天然产物, 并得到安全高质量的提取物产品”, 从能耗、溶剂、提取原料和产物角度综合地对天然产物绿色提取过程进行阐释<sup>[1]</sup>。因为绝大多数的提取技术都须要使用溶剂作为媒介, 溶剂及其相关提取技术的选择很大程度上决定了提取过程的能耗和提取产品的质量, 因此提取方法的“绿色”主要体现在“溶剂”上, 本研究主要从溶剂的角度对现有的基于绿色溶剂

的天然产物提取技术进行综述, 介绍与这些绿色溶剂相关的提取方法及最新应用进展。

## 1 基于绿色溶剂的天然产物提取技术

对于天然产物绿色提取技术, 主要利用场辅助技术达到高效提取的目的, 而“绿色”主要体现在提取溶剂的绿色化, 即在提取过程中使用绿色溶剂或可替代溶剂。常用的场辅助技术包括微波场(如微波辅助萃取)、超声场(如超声辅助萃取)、电场(如高压脉冲电场提取)、热场(如加热回流提取)和压力场(如超临界流体萃取)等, 这些场辅助技术目前都已有从实验室到产业化的设备。在提取过程中, 即可使用单一场辅助技术, 也可使用耦合场辅助技术来协同强化提取过程, 如超声强化超临界提取<sup>[2]</sup>、超声微波协同萃取<sup>[3]</sup>等。目前研究应用的绿色溶剂主要包括水、超临界 CO<sub>2</sub>、生物质基溶剂、室温离子液体和低共熔溶剂、天然油脂和定制合成的绿色溶剂等。在天然产物提取过程中, 既可使用上述的单一绿色溶剂, 也可使用混合绿色溶剂。除了这些绿色溶剂, 无溶剂过程作为绿色化学的重要组成实际可看成是最好的“绿色溶剂”。

### 1.1 无溶剂提取法

在古代, 无溶剂提取法就已经应用在了天然产物的提取

植物药分册, 2006, 21(4): 152–155.

[2] 林志彬. 灵芝抗氧化清除自由基作用的研究[J]. 菌物研究, 2014, 12(2): 63–70.

[3] 赵明文, 王晨光, 鲍 鹏, 等. 不同灵芝菌株体中三萜与多糖含量的比较[J]. 中国食用菌, 2003, 22(2): 43–45.

[4] 谢丽源, 彭卫红, 黄忠乾, 等. 不同栽培基质灵芝与不同灵芝菌株活性差异及相关性分析[J]. 西南农业学报, 2014, 27(1): 325–330.

[5] 张志军, 刘建华, 李淑芳, 等. 灵芝多糖含量的苯酚硫酸法检测研究[J]. 食品工业科技, 2006, 2: 193–195.

[6] 温 鲁, 尹起范, 唐玉玲, 等. 蚕虫草与有关虫草活性成分检测比较[J]. 食品科学, 2004, 25(8): 155–157.

[7] 陆震鸣, 陶文沂, 许泓瑜, 等. 樟芝菌粉三萜类化合物含量的测定[J]. 中成药, 2008, 30(3): 402–405.

[8] 张志军, 李淑芳, 魏雪生. 灵芝多糖清除自由基活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(3): 167–170.

收稿日期: 2016–04–11

基金项目: 贵州省留学人员科技创新项目[编号: 黔人项目资助合同(2015)18 号]。

作者简介: 赵天明(1985—), 男, 博士, 研究方向为天然产物开发与利用。E-mail: zhaotm2003@163.com。

## 3 结论与讨论

本研究表明, 黑灵芝的多糖含量最高, 达 6.55 mg/g; 大红芝的甘露醇含量最高, 达 21.92 mg/g; 黑灵芝的总三萜含量最高, 达 170.53 mg/g; 在 1.0 mg/mL 浓度下, 赤芝、大红芝、黑灵芝、灵芝 902 清除 DPPH 自由基活性分别为 81.88%、80.92%、80.30%、76.38%。4 种灵芝菌株间的功能性成分多糖、甘露醇和总三萜含量及其抗氧化活性存在显著差异。4 种灵芝菌株的多糖清除 DPPH 自由基活性均随着浓度的增大而升高。灵芝多糖具有较强的抗氧化能力, 其抗氧化能力可能与其他成分如酚类、黄酮、活性物质共同作用产生, 需要进一步对其他活性物质进行测定分析。

## 参考文献:

[1] 张晓云, 杨春清. 灵芝的化学成分和药理作用[J]. 国外医药·

制备中,如利用压榨法获得橄榄油等植物油或柑橘类精油。现代无溶剂提取技术所借助的场辅助技术主要有微波辅助技术、脉冲电场辅助技术等<sup>[4]</sup>。目前,无溶剂提取方法主要集中于微波辅助提取领域,如无溶剂微波提取法<sup>[8]</sup>和微波重力氢扩散<sup>[6]</sup>,提取原理主要是利用植物原料中的原位水作为溶剂提取水溶性成分或利用原位水变成水蒸气与精油一起馏出,所以须要提取原料保持一定的含水量。无溶剂微波提取法已用于多种挥发油的提取中,如花椒挥发油<sup>[7]</sup>、孜然挥发油<sup>[8]</sup>和肉豆蔻挥发油<sup>[9]</sup>等。无溶剂微波辅助萃取目前已有工业化的提取设备。

### 1.2 超临界 CO<sub>2</sub> 提取法

超临界 CO<sub>2</sub> 具有不可燃、无毒、稳定、无色无味、所提取产品后续分离简便和选择性高的特点,而超临界 CO<sub>2</sub> 极性小、不适于提取极性较大化合物的问题也可通过加入极性夹带剂如水和乙醇等得到改善,是天然产物“理想”的绿色提取溶剂。超临界 CO<sub>2</sub> 提取技术在天然产物提取中的应用已有不少综述介绍<sup>[10-11]</sup>。超临界 CO<sub>2</sub> 提取技术已广泛应用在饮料、食品、香料和化妆品产业中。

### 1.3 以水为介质的提取方法

水是最常见且廉价的绿色溶剂,在不同温度和压力下,可呈现不同的物理形态,如冰、液态水、水蒸气、亚临界水和超临界水,其中液态水、水蒸气和亚临界水都已应用于各类天然产物的提取,超临界水因其操作温度太高(374 ℃),不少天然产物为热敏性成分,一般不采用超临界水进行提取。

**1.3.1 以液态水为介质的提取法** 液体水主要针对天然产物中极性较大的成分,如黄酮类成分、多糖类成分等。常用的场辅助技术有超声辅助、微波辅助、高压脉冲电场辅助等。利用液态水提取的方法也包括双水相萃取法,在天然产物的提取中应用也较为广泛<sup>[12-13]</sup>。

**1.3.2 以水蒸气为介质的提取法** 利用水蒸气的提取法主要为水蒸气蒸馏,主要用于天然植物中精油的提取。其中,水蒸气蒸馏在实验室和工业化生产精油中都用得比较多。近年来,还出现一类利用高压水蒸气快速降压提取精油的方法,称为快速可控压力下降提取法(instant controlled pressure drop extraction)<sup>[14-15]</sup>。

**1.3.3 亚临界水提取** 亚临界水别称过热水、加压热水,是将水加热到 100 ℃ 以上但在水的超临界点 374 ℃ 以下,并通过高压使其保持液体状态的水。在普通状态下,水的极性较大,随着温度的升高,水的极性逐渐减小,通过改变不同的温度,可提取不同类型的天然产物。目前,亚临界水应用较多的是多酚类化合物的提取,如苦瓜中的酚类化合物<sup>[16]</sup>、诃子果实中的酚类化合物<sup>[17]</sup>、马铃薯皮中的酚类化合物<sup>[18]</sup>、洋葱表皮中的槲皮素<sup>[19]</sup>和蜜柑皮中的橙皮苷和芸香柚皮苷<sup>[20]</sup>等。亚临界水也可用来提取精油,如香菜籽精油<sup>[21]</sup>、穗熏衣草精油<sup>[22]</sup>、百里香精油<sup>[23]</sup>、伊朗布留芹精油<sup>[24]</sup>和肉桂精油<sup>[25]</sup>等。但精油的提取仍存在一些问題,在已有的报道中研究人员并没有直接收集到精油,都是得到亚临界水提取物,再经过溶剂萃取才能分离得到精油成分,严格意义上讲这些成分并不能称为精油。精油的亚临界水提取设备还需一定的改进。

### 1.4 基于室温离子液体和低共熔溶剂的提取方法

室温离子液体(room-temperature ionic liquids)是由有机

阳离子和无机或有机阴离子构成,在室温或室温附近温度下呈液体状态的盐类,简称离子液体。因其蒸气压低、不可燃、溶解性能好等优点备受关注,在有机合成、提取分离、材料制备、电化学、环境科学和生物催化等领域内得到广泛的应用<sup>[26]</sup>,被认为是新一代绿色溶剂。以离子液体作为溶剂,在天然产物提取中已经有了较多的研究<sup>[27-28]</sup>。但离子液体的缺点在于后续分离较为困难,研究也发现部分离子液体具有毒性。而低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DES)是由 1 种或 1 种以上的盐与氢键供体或水合盐形成的低共熔混合物,在较宽温度范围内以液体状态存在。作为一类新出现的溶剂,物理化学性质与离子液体非常类似,因此被称为类离子液体。其除具有离子液体的特征外,还具有原料易得、价格便宜、合成简便、无须提纯的优点,在有机合成、催化、提取、电化学等领域有广阔的应用前景<sup>[29]</sup>。在天然产物提取中的应用有花色素<sup>[30]</sup>、葡萄皮中酚类化合物<sup>[31]</sup>、卡拉胶<sup>[32]</sup>、初压橄榄油中酚类化合物<sup>[33]</sup>等的提取。低共熔溶剂还根据提取物的性质进行设计提高提取选择性,并可以循环利用<sup>[34]</sup>。在利用室温离子液体或低共熔溶剂提取天然产物时,可利用超声辅助或微波加热强化提取过程。

### 1.5 基于生物质基溶剂的提取法

生物质基化合物是一类来源于生物质本身,或经过化学、微生物作用转化得到的化合物,常被作为绿色溶剂或被用于构成绿色溶剂关键成分之一,由此发展得到一类新型绿色溶剂——生物质基溶剂。与来源于石油、易燃易爆、有毒的石化溶剂相比,生物质基绿色溶剂具有廉价、可再生、低毒、生物相容和降解性好的特点<sup>[35]</sup>。Gu 等对已有的生物质基溶剂如甘油及其衍生物、糖类及其衍生物、葡萄糖酸水溶液、乳酸及其衍生物、二甲基四氢呋喃、来源于木质素的溶剂、脂肪酸甲酯等<sup>[35]</sup>进行分类及综述。这些生物质基溶剂目前还停留在理论与实验室研究阶段,应用更多偏于有机合成领域,如乳酸和乳酸乙酯<sup>[36-37]</sup>,在天然产物提取中的应用还较少。甘油作为化妆品中常用的保湿剂,目前已有化妆品公司利用甘油提取化妆品中添加的其他天然产物成分,这样得到的提取溶液可直接作为产品使用,无需溶剂去除。另外,生物乙醇可由生物质经微生物发酵转化得到,也是一种重要的生物质基溶剂。

### 1.6 以天然油脂为溶剂的提取法

天然油脂作为溶剂提取天然产物的概念实际上并不新颖,数百年前人们就开始利用动物脂肪吸收花瓣中的芳香性成分或使用一些植物油来浸泡植物中的成分。随着石化工业的发展,石化溶剂逐渐占据了整个提取产业。近年来,随着人们对环境污染的担心及对绿色健康的追求,这一古老的提取方法在欧洲开始受到重视。事实上,很多天然油脂具有良好的溶解性能,如各类植物油<sup>[38-39]</sup>、精油中的萜类化合物如柠檬烯、 $\alpha$ -蒎烯、对伞花烃<sup>[40-41]</sup>等。而且利用天然植物油作为溶剂还有一个优点即提取溶液有时可直接作为产品使用,省去了后续的溶剂去除。Li 等利用超声辅助向日葵油提取类胡萝卜素,获得比传统溶剂提取更高的提取率,而且得到的提取溶液直接可以作为产品使用<sup>[38]</sup>。法国一家公司 OLEOS 提出了油脂生态提取技术,利用食品级并经有机认证生产的油脂作为天然的绿色溶剂提取抗氧化物质<sup>[42]</sup>,得到的提取物可以直接用作食品或化妆品领域的添加剂。

### 1.7 定制合成绿色溶剂提取法

目前已有的绿色溶剂种类还相对较少,为了满足不同工业过程中绿色溶剂的需要,很多研究者利用模拟软件来选择或设计合成新的绿色溶剂。目前,绿色溶剂的设计合成关于有机合成的研究报道比较多,在天然产物提取中也受到重视,即可根据目标提取分子的结构设计选择性更高的绿色溶剂。Moity 等提出一种计算机辅助设计新生物质基溶剂的方法<sup>[43]</sup>;约克大学卓越绿色化学中心甚至提出了绿色溶剂定制服务的 S4(sustainable solvent selection service)概念,可以根据提取工业过程的需求选择或定制合成新的绿色溶剂来代替危险的石化溶剂。由此可以预见,定制合成的绿色溶剂在天然产物提取中会有更大的应用前景。

### 1.8 基于混合绿色溶剂的提取法

在天然产物提取过程中,既可以单独使用上述绿色溶剂,也可以将这些绿色溶剂进行组合用于提取过程。在上述绿色溶剂中,超临界 CO<sub>2</sub> 的极性最小,而水的极性最大,其他绿色溶剂的极性多居于这 2 种溶剂的极性之间。通过这些绿色溶剂的两两组合甚至多元组合,可以有效调节混合溶剂的极性,提高选择性和提取率,如水与乙醇、水与甘油、水与离子液体<sup>[44]</sup>、水与低共熔溶剂<sup>[45]</sup>等。在超临界 CO<sub>2</sub> 提取中加入乙醇作为夹带剂可有效提取极性活性成分。

传统的提取产业多以石化溶剂为基础,石油醚、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、苯、己烷、乙腈等是经常使用的提取溶剂,这些溶剂的混合溶剂(二元溶剂、三元溶剂)在天然产物的分离纯化和分析中使用得也非常多。但这些石化溶剂对环境的污染都非常大,且石化溶剂来源于不可再生资源,因此不仅在天然产物提取中须要使用绿色溶剂,在天然产物分离纯化中也须要用绿色溶剂逐渐代替石化溶剂,这是今后值得研究和努力的方向。目前,主要的挑战在于绿色溶剂的种类还不够多,有些绿色溶剂是否完全“绿色”还有待验证,有些绿色溶剂的后续分离相对繁琐,但随着绿色溶剂研究的不断深入,更多的绿色溶剂会出现,在天然产物提取中展示出更加广阔的前景。

## 2 结论与展望

本文综述了基于绿色溶剂的天然产物高效绿色提取技术,在这些提取技术中,无溶剂提取需要借助于原料植物中存在的原位水,可提取的天然产物成分种类较少,其应用受到限制;超临界 CO<sub>2</sub> 和水(液态水、水蒸气、亚临界水)等作为绿色溶剂在天然产物中的提取已有较多的研究;天然油脂在天然产物提取中还有较大的发展空间;生物质基溶剂和定制合成的绿色溶剂作为新型绿色溶剂,发展势头迅猛,具有广阔的研究和应用前景;室温离子液体与低共熔溶剂因其不稳定性及后续分离的问题,还需要进一步研究。另外,在天然产物提取中,也有如下的一些发展趋势:随着各国对绿色化学过程的重视,绿色溶剂的类型将不断扩展;针对具体的天然产物提取过程,选择性和提取率更高的绿色溶剂将被设计合成出来;尽量减少后续加工处理步骤(如溶剂去除),根据天然产物的应用领域,选择合适的绿色溶剂,直接将提取溶液作为产品使用;更多辅助技术的开发应用和多辅助场耦合将是提取技术中的研究热点,对天然产物实现高效提取具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] Chemat F, Vian M A, Cravotto G. Green extraction of natural products: concept and principles[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(7): 8615–8627.
- [2] 李卫民,牛志强,王治平,等. 超声强化超临界提取厚朴酚与厚朴酚的工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(4): 680–683.
- [3] 余晶晶,童群义. 超声微波协同萃取蜂胶中黄酮类物质的研究[J]. 食品工业科技, 2013(4): 314–317.
- [4] Chemat F, Fabiano-Tixier A S, Vian M A, et al. Solvent-free extraction of food and natural products[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2015, 71(SI): 157–168.
- [5] Lucchesi M E, Chemat F, Smadja J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1043(2): 323–327.
- [6] Vian M A, Fernandez X, Visinoni F, et al. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1190(1/2): 14–17.
- [7] 宁洪良,郑福平,孙宝国,等. 无溶剂微波萃取法提取花椒精油[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(5): 179–184.
- [8] 杨艳,吴素玲,张卫明,等. 微波辅助水蒸汽蒸馏法和无溶剂微波萃取法提取孜然精油工艺的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(8): 42–46.
- [9] 郑福平,孙宝国,谢建春,等. 无溶剂聚焦微波提取/气-质联机分析肉豆蔻挥发油[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 484–487.
- [10] Herrero M, Mendiola J A, Cifuentes A, et al. Supercritical fluid extraction: recent advances and applications[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(16): 2495–2511.
- [11] da Silva R P F F, Rocha-Santos T A P, Duarte A C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2016, 76: 40–51.
- [12] 罗光宏,张喜峰,张丽娟,等. 响应面法优化双水相萃取棉花叶中总黄酮的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 196–200.
- [13] 刘磊磊,李秀娜,赵帅. 双水相萃取在中药活性成分提取分离中的应用进展[J]. 中草药, 2015, 46(5): 766–773.
- [14] Besombes C, Berka-Zougali B, Allaf K. Instant controlled pressure drop extraction of lavandin essential oils: fundamentals and experimental studies[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(44): 6807–6815.
- [15] Allaf T, Tomao V, Ruiz K, et al. Deodorization by instant controlled pressure drop autovaporization of rosemary leaves prior to solvent extraction of antioxidants[J]. LWT: Food Science and Technology, 2013, 51(1): 111–119.
- [16] Budrat P, Shotipruk A. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica charantia*) by subcritical water extraction[J]. Separation and Purification Technology, 2009, 66(1): 125–129.
- [17] Rangsiwong P, Rangkadilok N, Satayavivad J, et al. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from *Terminalia chebula* Retz. fruits[J]. Separation and Purification Technology, 2009, 66(1): 51–56.
- [18] Singh P P, Saldana M D A. Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel[J]. Food Research International, 2011, 44: 2452–2458.
- [19] Ko M J, Cheigh C I, Cho S W, et al. Subcritical water extraction of

- flavonol quercetin from onion skin[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 102(4): 327–333.
- [20] Cheigh C I, Chung E Y, Chung M S. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from *Citrus unshiu* peel using subcritical water[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(3): 472–477.
- [21] Eikani M H, Golmohammad F, Rowshanzamir S. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.) [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(2): 735–740.
- [22] Eikani M H, Golmohammad F, Shokrollahzadeh S, et al. Superheated water extraction of *lavandula latifolia* medik volatiles; comparison with conventional techniques [J]. Journal of Essential Oil Research, 2008, 20(6): 482–487.
- [23] Dawidowicz A L, Rado E, Wianowska D. Static and dynamic superheated water extraction of essential oil components from *Thymus vulgaris* L. [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(17): 3034–3042.
- [24] Mortazavi S V, Eikani M H, Mirzaei H A, et al. Extraction of essential oils from *Bunium persicum* Boiss. using superheated water[J]. Food and Bioproducts Processing, 2010, 88(2/3): 222–226.
- [25] Jayawardena B, Smith R M. Superheated water extraction of essential oils from *Cinnamomum zeylanicum* (L.) [J]. Phytochemical Analysis, 2010, 21(5): 470–472.
- [26] 张星辰. 离子液体——从理论基础到研究进展[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 3–5.
- [27] 张丹丹, 谭婷, 刘鄂湖, 等. 离子液体在中药提取、分离与分析中的应用[J]. 中国药科大学学报, 2013, 44(4): 380–384.
- [28] 李明英. 离子液体在天然活性物质提取中的应用研究进展[J]. 药学进展, 2015(06): 437–445.
- [29] 贾永忠, 景燕, 王怀有, 等. 类离子液体[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 2–3.
- [30] Dai Y, Rozema E, Verpoorte R, et al. Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents[J]. Journal of Chromatography a, 2016, 1434: 50–56.
- [31] Bubalo M C, Curko N, Tomačević M, et al. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents[J]. Food Chemistry, 2016, 200: 159–166.
- [32] Das A K, Sharma M, Mondal D, et al. Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of  $\kappa$ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii*[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 930–935.
- [33] García A, Rodríguez – Juan E, Rodríguez – Gutiérrez G, et al. Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs) [J]. Food Chemistry, 2016, 197: 554–561.
- [34] Jeong K M, Lee M S, Nam M W, et al. Tailoring and recycling of deep eutectic solvents as sustainable and efficient extraction media [J]. Journal of Chromatography a, 2015, 1424: 10–17.
- [35] Gu Y, Jérôme F. Bio – based solvents: an emerging generation of fluids for the design of eco – efficient processes in catalysis and organic chemistry[J]. Chemical Society Reviews, 2013, 42(24): 9550–9570.
- [36] Yang J, Tan J N, Gu Y L. Lactic acid as an invaluable bio – based solvent for organic reactions[J]. Green Chemistry, 2012, 14(12): 3304–3317.
- [37] Aparicio S, Alcalde R. The green solvent ethyl lactate: an experimental and theoretical characterization[J]. Green Chemistry, 2009, 11(1): 65–78.
- [38] Li Y, Fabiano – Tixier A S, Tomao V, et al. Green ultrasound – assisted extraction of carotenoids based on the bio – refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1): 12–18.
- [39] Li Y, Fabiano – Tixier A S, Ginies C A. Direct green extraction of volatile aroma compounds using vegetable oils as solvents: theoretical and experimental solubility study [J]. LWT: Food Science and Technology, 2014, 59(2): 724–731.
- [40] Dejoye T C, Abert V M, Ginies C, et al. Terpenes as green solvents for extraction of oil from microalgae [J]. Molecules, 2012, 17(7): 8196–8205.
- [41] Dejoye T C, Abert V M, Chemat F. New procedure for extraction of algal lipids from wet biomass: a green clean and scalable process [J]. Bioresource Technology, 2013, 134: 271–275.
- [42] Rossignol – Castera A. Method for extraction non – volatile compounds; FR 2943684[P]. 2010–10–07.
- [43] Moity L, Molinier V, Benazzouz A, et al. In silico design of bio – based commodity chemicals: application to itaconic acid based solvents[J]. Green Chemistry, 2014, 16(1): 146–160.
- [44] 姜大雨, 朱红, 王良, 等. 离子液体双水相萃取的应用研究进展[J]. 化学试剂, 2010, 32(9): 805–810.
- [45] Dai Y, Witkamp G J, Verpoorte R, et al. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications [J]. Food Chemistry, 2015, 187: 14–19.

(上接第280页)

通过主要表型性状的多代选择可以达到理想育种目标。

通过杂交授粉并对后代进行选择被认为是异花授粉植物新品种培育的有效方法。本研究结果表明, 通过自然杂交手段培育鄂牧5号新品种, 选育效果明显, 其牧草产量比当前主推品种“岷山”和“巴东”有显著提高。

红三叶鄂牧5号相对于对照品种“岷山”和“巴东”的增产优势在长江流域及云贵高原地区要强于淮河及以北地区, 说明鄂牧5号适宜在长江流域及以南生长。

红三叶鄂牧5号粗蛋白含量高, 是优质的饲草, 其培育成功将丰富当地红三叶品种资源, 推进当地草食畜牧业发展。

#### 参考文献:

- [1] 苏加楷. 中国牧草新品种选育的回顾与展望[J]. 草原与草坪,

2001, 21(4): 3–8, 16.

- [2] Taylor N L, Quesenberry K H. Red clover science[M]. Ordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996: 28.
- [3] Bowley S R, Taylor N L, Dougherty T. Physiology and morphology of red clover[J]. Adv Agrono, 1984, 37: 317–347.
- [4] 陈默君, 贾慎修. 中国饲用植物[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 38.
- [5] 张鹤山, 陈明新, 田宏, 等. 野生红三叶种群表型性状变异研究[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(1): 44–49.
- [6] 高洪文, 王赞, 袁庆华, 等. 三叶草种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 10–26.
- [7] 孔令慧, 赵桂琴. 红三叶株型结构与草产量的相关性研究[J]. 草原与草坪, 2013, 33(3): 11–15.