

超声辅助天然低共熔溶剂提取苹果皮多酚 工艺优化及机理分析

田永涛¹, 陈均¹, 辛宇阳¹, 刘天悦¹, 么亚妹¹, 周萌萌¹, 张嘉惟¹, 王文蜀^{1,2*}

(1. 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081)

(2. 民族地区生态环境国家民委重点实验室(中央民族大学), 北京 100081)

摘要: 该研究建立了苹果皮多酚超声辅助天然低共熔溶剂(Natural Deep Eutectic Solvent, NADES)提取工艺, 分析了NADES作用机理。对比六种NADES与 $\phi=80\%$ 甲醇提取的苹果皮多酚含量、抗氧化活性确定氯化胆碱-乙二醇(Choline Chloride-Ethylene Glycol, ChCl-EG, 1:4)为最佳提取溶剂, 单因素结合正交优化其工艺为料液比1:50(g/mL), 含水率30%, 提取时间50 min, 提取温度60℃, 所得提取物总酚含量和DPPH、ABTS⁺自由基清除活性及铁离子还原能力分别为33.16 mg GAE/g DW、52.60、38.30和30.76 mg TE/g, 均显著高于80%甲醇提取物, 且较优化前分别提高了160.69%、122.41%、138.04%、102.37%, 表明ChCl-EG可高效提取苹果皮多酚。采用UPLC-MS/MS从ChCl-EG和甲醇提取物共鉴定17个酚类化合物, 二者主要成分一致。NMR氢谱表明ChCl和EG分子间形成了氢键, FT-IR分析显示ChCl-EG与提取物分子间氢键作用力强于甲醇。真实溶剂类导体屏蔽模型分析显示ChCl-EG与多酚分子结合性能更佳, 溶解能力和相互作用能分别是甲醇的1.39和1.12倍, 从分子层面阐释了ChCl-EG高效作用机理。该研究结果为苹果皮多酚绿色提取工艺及NADES高效作用机理研究提供了科学参考。

关键词: 苹果多酚; 天然低共熔溶剂; 工艺优化; 氢键; 真实溶剂类导体屏蔽模型

文章编号: 1673-9078(2024)12-289-300

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.1372

Optimization and Analysis of Polyphenol Extraction from Apple Peels using Ultrasound Assisted Natural Deep Eutectic Solvent

TIAN Yongtao¹, CHEN Jun¹, XIN Yuyang¹, LIU Tianyue¹, YAO Yamei¹,
ZHOU Mengmeng¹, ZHANG Jiawei¹, WANG Wenshu^{1,2*}

(1. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

(2. Key Laboratory of Ecology and Environment in Minority Areas (Minzu University of China),
National Ethnic Affairs Commission, Beijing 100081, China)

Abstract: The extraction process of polyphenols from apple peels by ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent (NADES) was established, and the mechanism of NADES was analyzed. After evaluating the polyphenol content of apple

引文格式:

田永涛,陈均,辛宇阳,等.超声辅助天然低共熔溶剂提取苹果皮多酚工艺优化及机理分析[J].现代食品科技,2024,40(12):289-300.

TIAN Yongtao, CHEN Jun, XIN Yuyang, et al. Optimization and analysis of polyphenol extraction from apple peels using ultrasound assisted natural deep eutectic solvent [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 289-300.

收稿日期: 2023-11-16

基金项目: 民族地区生态环境国家民委重点实验室自主课题(中央民族大学)(KLEEMA202205)

作者简介: 田永涛(2000-),男,硕士研究生,研究方向:天然产物研究与开发,E-mail:13887180640@163.com

通讯作者: 王文蜀(1974-),女,博士,教授,研究方向:天然产物研究与开发,E-mail:wangws@muc.edu.cn

peel and antioxidant activity extracted with six NADES and 80% methanol, choline chloride-ethylene glycol (ChCl-EG, 1:4) was identified as the optimal extraction solvent. The process was optimized using single factor and orthogonal experiments, resulting in a solid-liquid ratio of 1:50, a water content of 30%, an extraction duration of 50 min, and an extraction temperature of 60 °C. The extract exhibited significantly higher levels of total phenolic content (TPC), DPPH, ABTS⁺ free radical scavenging activity, and the ferric ion reducing antioxidant power at 33.16 ± 0.43 mg GAE/g DW and 52.60, 38.30, and 30.76 mg TE/g, respectively, compared to the 80% methanol extracts. These values experienced significant increases of 160.69%, 122.41%, 138.04%, and 102.37%, respectively, following the optimization process. These results indicate that ChCl-EG can extract polyphenols efficiently from apple peels. A total of 17 phenolic compounds were identified from ChCl-EG and methanol extracts using UPLC-MS/MS, with the primary components being consistent. NMR hydrogen spectrum revealed the formation of hydrogen bonds between ChCl and EG molecules. FT-IR analysis indicated that the hydrogen bonding interactions between ChCl-EG and extract molecules was stronger compared to that of the methanol extracts. The analysis of the conductor-like screening model for real solvents (COSMO-RS) revealed that ChCl-EG exhibited superior binding properties with apple polyphenols, with the solubility and interaction energy being 1.39 and 1.12 times those of methanol, respectively. This elucidates the efficient mechanism of ChCl-EG at the molecular level. The results of this study provide a scientific basis for the green extraction technology of polyphenols from apple peel and the efficient mechanism of NADES.

Key words: apple polyphenol; natural deep eutectic solvent; process optimization; hydrogen bond; conductor-like screening model for real solvents

苹果多酚是苹果 (*Malus pumila* Mill.) 中主要生物活性化合物, 其抗氧化能力优良, 具有抗炎、抗菌、抗癌、降低胆固醇、防治心血管疾病以及胃肠道保护等多种生理效应^[1], 是天然抗氧化剂的优质来源, 广泛用于食品、医药、保健品和化妆品等领域^[2]。苹果整果富含多酚, 相较于果肉, 果皮中多酚含量更高、种类更丰富, 抗氧化等生物活性更优^[3]。且苹果皮中糖和纤维等成分较少, 更利于多酚提取。

传统工艺主要用甲醇、乙醇等有机溶剂配合热回流、微波、超声等技术提取苹果多酚^[4], 相对而言, 超声辅助提取效果更佳^[5], 但有机溶剂对生态环境、人体健康、生产安全等都存在潜在威胁。在“绿色化学”背景下, 天然低共熔溶剂 (Natural Deep Eutectic Solvent, NADES) 被探究并用于提取天然多酚类化合物, 效果优良, 是公认可替代有机溶剂的新型溶剂^[6]。NADES 由存在于自然界或生物代谢合成的化合物作为氢键供体 (Hydrogen Bond Donors, HBD) 和氢键受体 (Hydrogen Bond Acceptors, HBA) 混合组成, 经济、无毒、易合成、易降解且极性范围广^[7]。NADES 提取物安全性好, 生物活性高, 在食品分析领域展现了广阔应用前景^[8]。Pavlič 等^[9] 采用 20 种 NADES 提取百里香 (*Thymus serpyllum* L.) 多酚, 结果显示最佳 NADES 能有效提高多酚提取率和抗氧化活性。张晓云等^[10] 制备了 8 种 NADES 提取板栗壳多酚, 工艺优化后

最优 NADES 提取物多酚得率明显高于水和乙醇。Rashid 等^[11] 和 Moni 等^[12] 研究显示一定组合的 NADES 对苹果渣多酚提取效果优于甲醇等有机溶剂, 其能显著提高提取物多酚含量、抗氧化以及刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素能力。但目前关于 NADES 提取苹果多酚工艺研究较少, 且其高效作用机理尚不清楚。

中国是全球最大苹果生产和消费国, 对苹果及其相关产品科学、绿色、高效开发利用等需求巨大^[13], 但至今国内鲜见 NADES 提取苹果多酚及其作用机理的研究。在此本实验选用 NADES 常用氢键受体氯化胆碱分别与糖类、酰胺类、有机酸、多元醇四类代表性氢键供体制备六种 NADES, 以超声辅助提取我国特产苹果果皮多酚, 对比各提取物与 $\varphi=80\%$ 甲醇提取物总酚含量和抗氧化活性, 筛选较佳 NADES, 进一步优化其提取工艺并验证优化效果。采用超高效液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS) 分析最佳工艺提取物酚类成分。运用核磁共振波谱 (NMR) 和傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 技术分析最优 NADES 体系氢键特征, 以提取物中代表性多酚作为溶质分子, 基于量子化学理论和分子模拟技术, 运用真实溶剂类导体屏蔽模型 (Conductor-Like Screening Model for Real Solvents, COSMO-RS) 分析溶剂与溶质分子的表面电荷分布、结合性能以及分子间相互作用情况, 阐释 NADES 高效作用机理。研究结果旨在拓展我国苹果皮多酚高效、绿色

提取工艺参数,为NADES提取天然产物多酚工艺优化及作用机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

苹果果皮:塞外红苹果,吉林省四平市山门镇果园。选取新鲜成熟无腐败果实,分离厚度均匀的果皮,置于(45±5)℃鼓风干燥箱内烘干,粉碎,储存备用。

氯化胆碱,乳酸,丙三醇,乙二醇,尿素,福林酚,6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox),2,2'-联苯基-1-苦基肼基(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH),2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(Diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ABTS)分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;没食子酸,+(-)无水葡萄糖,无水柠檬酸,2,4,6-三吡啶基三嗪(2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine, TPTZ)分析纯,上海源叶科技有限公司;乙腈LC/MS级,北京泽平科技有限责任公司。

1.1.2 主要仪器设备

KS-5200DA型液晶超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;PH100型便携式pH计,合肥桥斯仪器设备有限公司;CCLH CLASSIC型磁力加热搅拌器,上海小聪科技有限公司;EnSpire型酶标仪,美国PerkinElmer公司;V-750型紫外分光光度计,日本分光株式会社;VERTEX 70傅里叶变换红外光谱仪,布鲁克光谱仪器亚太有限公司;AVANCE 600MH核磁共振波谱仪,瑞士布鲁克公司;UPLC-Q-TOF-MS系统,美国沃特世公司。

1.2 方法

1.2.1 NADES制备

按表1组合及配比制备六种NADES,使用磁力加热搅拌器1200 r/min 85℃加热搅拌2~5 h,直至各溶剂组分混合形成透明均一的稳定溶剂,室温存储备用。

1.2.2 苹果皮多酚提取及NADES筛选

准确称取1.00 g(干重, Dry Weight, DW)苹果皮样品,分别采用六种含水率为30%的NADES

和 $\phi=80\%$ 甲醇(MeOH)作为提取溶剂,固定超声功率为100 W,在料液比1:10(g/mL),40℃条件下超声辅助提取40 min。重复提取一次,抽滤、离心后定容至25 mL,即得苹果皮多酚提取物(Apple Peel Polyphenol Extract, APPE),各提取物置于-20℃冰箱保存备用。

以总酚含量(Total Polyphenol Content, TPC)和抗氧化活性作为综合评价指标,筛选适宜苹果皮多酚提取的较优溶剂。

表1 NADES组分及配比

Table 1 Components and molar ratio of NADES

缩略词	组合	氢键受体	氢键供体	摩尔比
ChCl-LA	氯化胆碱-乳酸		乳酸	1:3
ChCl-CA	氯化胆碱-柠檬酸		柠檬酸	1:1
ChCl-Gly	氯化胆碱-丙三醇	氯化胆碱	丙三醇	1:2
ChCl-EG	氯化胆碱-乙二醇		乙二醇	1:4
ChCl-Ur	氯化胆碱-尿素		尿素	1:2
ChCl-Glu	氯化胆碱-葡萄糖		葡萄糖	3:2

1.2.3 溶剂pH测定

使用pH计测定六种NADES(含水30%)及 $\phi=80\%$ 甲醇溶剂的pH值。

1.2.4 APPE总酚含量测定

采用Folin-Ciocalteu法测定APPE中总酚含量,参考Opriş等^[14]的方法并作适当调整。在10 mL具塞比色管中分别加入0.2 mL不同浓度的没食子酸标准品溶液和0.7 mL福林酚溶液,振荡摇匀,室温避光静置5 min。再加入3 mL 7.5%碳酸钠溶液,40℃恒温水浴反应2 h。经样品和没食子酸标准品全波长扫描确定最适检测波长为762 nm,并于该波长条件下测定吸光度值。

以没食子酸浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制没食子酸标准曲线,得线性回归方程为 $y=0.1411x+0.0553$ ($R^2=0.9992$),标准曲线线性关系良好。经方法学考察,精密度、重复性、稳定性和加标回收率RSD值均小于5%,表明该方法稳定可靠,可用于APPE总酚含量测定。APPE总酚含量通过没食子酸-吸光度值标准曲线计算得到,结果以没食子酸当量表示(mg GAE/g DW)。计算式如下:

$$TPC = \frac{C \times V \times N}{W} \quad (1)$$

式中:

C—样品对应没食子酸标准曲线质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V —提取液体积, mL;
 N —稀释倍数;
 W —苹果皮质量, g.

1.2.5 APPE抗氧化活性测定

分别测定不同溶剂提取物和纯溶剂对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除活性和铁离子还原能力 (FRAP), 试验均采用水溶性维生素 E (Trolox) 作为标准品, 测定结果以 Trolox 当量表示 (mg TE/g DW)。

1.2.5.1 DPPH 自由基清除活性

根据 Dudonne 等^[15]的方法稍作调整, 于 96 孔板中分别加入 20 μ L 一定系列浓度的 Trolox 标准品溶液或一定稀释倍数的样品溶液和 180 μ L 0.04 mg/mL DPPH 工作液, 避光静置反应 30 min, 在 517 nm 波长下测定吸光度值。

1.2.5.2 ABTS⁺ 自由基清除活性

根据 Proestos 等^[16]的方法并稍作调整, 配制 7 mmol/L ABTS 甲醇溶液和 2.5 mmol/L K₂S₂O₈ 水溶液, 将两种溶液以 1:1 (V/V) 混合, 4 $^{\circ}$ C 下避光反应 12~16 h 作为储备液, 冰箱保存备用。实验前使用无水甲醇进行稀释, 使其吸光度范围在 0.70 \pm 0.05 内得 ABTS 工作液。分别于 96 孔板中加入 20 μ L 一定系列浓度的 Trolox 标准品溶液或一定稀释倍数的样品溶液和 180 μ L ABTS 工作液, 在 734 nm 处测定吸光度值。

1.2.5.3 FRAP

根据 Zhang 等^[17]的方法并稍作调整, 分别配制 0.3 mmol/L 的醋酸钠溶液、20 mmol/L 的 FeCl₃·6H₂O 溶液和以 40 mmol/L 盐酸配制而成的 10 mmol/L 的 TPTZ 溶液, 将上述溶液按 10:1:1 ($V/V/V$) 混合配制得 FRAP 工作液。分别向 96 孔板中加入 20 μ L 不同浓度的 Trolox 标准品溶液和 180 μ L FRAP 工作液, 在 593 nm 处测定吸光度值。

1.2.6 单因素优化试验

以提取物总酚含量为考察指标, 对筛选出的最优溶剂进行单因素优化试验。固定试验基本条件为超声功率 100 W、料液比 1:10 (g/mL)、含水率 30%、提取时间 40 min、提取温度 40 $^{\circ}$ C。试验在上一单因素最优条件的基础上, 依次考察料液比 [1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g/mL)]、含水率 (10%、20%、30%、40%、50%)、提取时间 (30、40、50、60、70 min)、提取温度 (30、40、50、60、70 $^{\circ}$ C) 四个因素不同水平对多酚提取含量的影响。

1.2.7 正交优化试验

在单因素试验的基础上, 设计四因素三水平正交试验, 试验设计如表 2。以总酚含量为指标进一步优化提取工艺条件。

表 2 正交试验因素及水平

水平	因素			
	提取温度 A/ $^{\circ}$ C	含水率 B/%	提取时间 C/min	料液比 D/(g/mL)
1	50	30	40	1:30
2	60	40	50	1:40
3	70	50	60	1:50

1.2.8 苹果皮酚类化合物UPLC-MS/MS分析

将 APPE 高速离心, 过 0.22 μ m 滤膜。使用配备光电二极管阵列 (PDA) 探测器的 Acquity UPLC 系统进行定性分析。色谱柱规格: ACQUITY UPLC BEH C18 Column (130 \AA , 1.7 μ m, 2.1 \times 100 mm); 流动相: A 相为 0.1% 甲酸水, B 相为乙腈; 系统流量: 0.4 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 样品进样量 3 μ L; 紫外检测器设置为: 210、280、350 nm; 洗脱程序: 0~0.2 min, 5% B; 0.2~16 min, 5%~29% B; 16~18 min, 29%~100% B; 18~18.2 min, 100%~5%, 18~20 min, 5% B。

质谱分析使用配有电喷雾电离 (ESI) 源的四极杆飞行时间 (QTOF) 检测器的质谱仪在 ESI- 模式下进行, 一级全扫描, 二级自动扫描, 扫描范围 m/z : 100~1 200 u, 离子源温度 300 $^{\circ}$ C, 毛细管电压为 3.0 kV, 锥孔电压 30 V, 质谱数据采集采用 Masslynx 4.2 软件。

根据质谱数据中的保留时间、质荷比 (m/z)、离子碎片等信息, 对照数据库、相关文献鉴定 APPE 中酚类化合物。

1.2.9 核磁共振氢谱表征 (¹H-NMR)

采用 Bruker 600 MHz 核磁共振波谱仪分别测定最优 NADES 及其组分的 1D 和 2D 氢谱 (¹H-NMR 和 ¹H-¹H COSY)。量取 300 μ L NADES 或其液体组分溶于 200 μ L 二甲基亚砜 (d₆-DMSO), 称取 5 mg NADES 固体组分溶于 500 μ L d₆-DMSO, 装入 5 mm 核磁管中进行测定, 设定采样频率 400 MHz, 测试温度 25 $^{\circ}$ C, 扫描 40 次, 以 DMSO 溶剂峰作为内标确定其他峰位移。

1.2.10 傅里叶变换红外光谱表征 (FT-IR)

采用 KBr 压片法对最优 NADES 及 APPE 进行红外光谱分析, 将干燥的溴化钾研磨、压片制成透明干燥的薄片, 将 NADES 或 APPE 涂抹均匀于光滑的溴化钾薄片表面, 置于红外灯下烘干后进行测试。扫描范围为 $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$, 扫描 32 次。

1.2.11 COSMO-RS模拟分析

参考 Zurob 等^[18]和 Toledo 等^[19]的方法, 采用 TmoleX 软件的 COSMO-BP-TZVP 模块基于 DFT 模式对最优 NADES、甲醇和溶质化合物分子的电荷密度和几何结构进行优化, 在优化过程中, 使用 Becke Perdew86 (BP86) 功能生成 COSMO 文件, 优化后的 NADES 以单个分子的形式生成。将得到的数据文件分别导入 COSMOtherm 软件, 设定温度为 $60\ ^\circ\text{C}$, NADES 含水率 30%, 甲醇含量 $\varphi=80\%$, 运行 COSMO-RS 计算可得溶质分子在 NADES 和甲醇中的无限稀释活度系数 (γ^∞) 和分子间相互作用能。

1.2.12 数据处理

所有实验均至少重复 3 次 ($n=3$), 采用 Excel 2019, SPSS 25.0 进行数据处理和统计分析, Duncan 进行显著性检验, Origin 2023b 作图, 结果表示为平均值 \pm 标准差, 不同字母表示存在显著性差异 ($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 NADES 筛选

NADES 的极性、黏度、溶解性和表面张力等理化特性是影响 NADES 提取天然多酚效率的重要因素^[20], 其会因氢键供体和受体的组成以及摩尔比不同而有所差异。本研究选取 NADES 常用氢键受体氯化胆碱和四类代表性氢键供体 (糖类、酰胺类、有机酸、多元醇) 制备了六种 NADES, 对比苹果多酚传统提取常用溶剂 $\varphi=80\%$ 甲醇, 以总酚含量和抗氧化活性为指标, 综合筛选最佳溶剂。

2.1.1 不同溶剂 APPE 总酚含量测定结果

不同溶剂 APPE 总酚含量范围 $7.10\sim 20.60\ \text{mg GAE/g DW}$, 由图 1 可知, ChCl-LA 所得 APPE 总酚含量最高 ($20.60\ \text{mg GAE/g DW}$), 其次是 ChCl-CA ($15.31\ \text{mg GAE/g DW}$) 和 ChCl-EG ($12.72\ \text{mg GAE/g DW}$), 三者均高于

$\varphi=80\%$ 甲醇 APPE 总酚含量 ($10.76\ \text{mg GAE/g DW}$)。

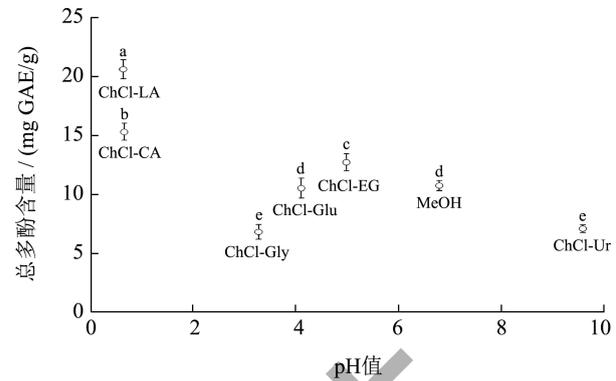


图 1 不同溶剂 pH 值及其 APPE 总酚含量

Fig.1 pH value of different solvents and TPC of APPE extracted with different solvents

注: 不同字母表示样品间具有显著性差异 ($P<0.05$), 下同。

苹果多酚主要为酚酸、黄烷醇、黄酮醇、二氢查耳酮以及花色苷等酸性化合物, 通常在溶剂中加入少量盐酸等调节其 pH 值, 以提高苹果多酚稳定性, 在一定程度上可提高提取效果^[21,22]。当氢键受体同为氯化胆碱时, 分别以有机酸和多元醇作为氢键供体制备的低共熔溶剂, 前者酸性更强^[23]。本实验乳酸 (LA) 和柠檬酸 (CA) 酸性强于其他氢键供体, 使其提取物总酚含量较高。

2.1.2 不同溶剂 APPE 抗氧化活性测定结果

分别测定七种纯溶剂对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除效果及 FRAP, 结果均未显示有效抗氧化能力, 说明后续测得提取物抗氧化活性为 APPE 中多酚化合物作用效果。以 Trolox 当量 (TE) 表征提取物抗氧化活性, 测得不同溶剂提取物对 DPPH、ABTS⁺ 自由基清除活性以及 FRAP 作用范围分别为 $10.27\sim 23.65$ 、 $8.54\sim 16.09$ 和 $1.16\sim 15.20\ \text{mg TE/g DW}$ 。由图 2 可知, ChCl-EG-APPE 在三种抗氧化测试中均显示了最佳抗氧化效果, 均优于 $\varphi=80\%$ 甲醇 APPE。ChCl-LA-APPE 和 ChCl-CA-APPE 抗氧化能力并未因其多酚含量高而表现突出, 特别是 ChCl-CA-APPE 在 FRAP 抗氧化试验中效果较差, 这可能是其溶剂较强的酸性阻碍了体外抗氧化能力发挥。Popovic 等^[24]用氯化胆碱分别与苹果酸 (MalA)、果糖和尿素制备 NADES 提取酸樱桃果渣多酚, 多酚含量最高的 ChCl-MalA 提取物 DPPH 自由基清除力最差, 其分析可能是溶剂较低 pH 值抑制 H⁺ 电离且减弱电离诱导效应, 从而分别阻碍了质子和电子转

移，减弱多酚抗氧化效果。Pekal 等^[25]也发现较高 pH 也使茶多酚更好清除 DPPH 自由基。

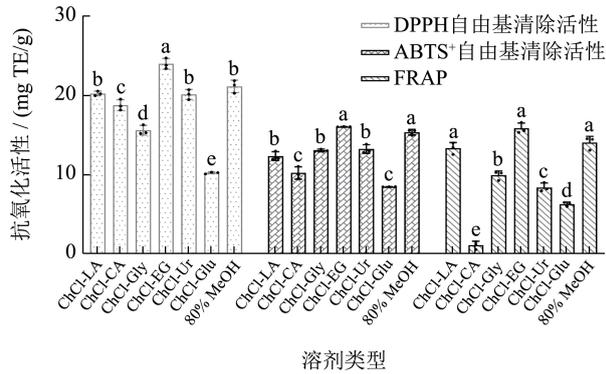


图 2 不同溶剂 APPE 抗氧化活性

Fig.2 Antioxidant activity of APPE extracted with different solvents

综合总酚含量和体外抗氧化活性测试结果，选择 ChCl-EG (1:4) 进行 NADES 工艺优化。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 料液比对多酚提取量的影响

料液比 1:10~1:50 (g/mL)，APPE 总酚含量 5.89~18.52 mg GAE/g DW，并于料液比 1:40 (g/mL) 时总酚含量最高 (图 3a)。溶剂比例较低时，NADES 在溶剂和目标化合物之间形成的氢键较少，且超声空化效应分布不均，不利于苹果多酚在 NADES 中溶解。随溶剂比例增大，超声体系中更易发生空化效应，其产生的气泡大小和数量增加，促进超声在溶剂体系中传播^[26]，有利体系内多酚溶解。但当料液比超过提取平衡状态甚至饱和，会增加杂质溶出，竞争并阻碍多酚溶解。且过高的料液比增加实验成本。因此，选择 1:40 (g/mL) 为最优料液比水平。

2.2.2 含水率对多酚提取量的影响

受氢键、范德华力等作用影响，NADES 一般具有较高黏度，降低目标物质提取效率。加入适量水可降低 NADES 黏度，改变体系表面张力，使其更易进入细胞，提高溶解能力^[27]。当含水率 10%~50%，APPE 总酚含量 16.37~19.29 mg GAE/g DW，并在含水率 40% 时多酚含量最高 (图 3b)，可见一定比例的水降低了 ChCl-EG 黏度，有利于苹果皮多酚溶出，同时水的加入也改变溶剂极性，促进苹果皮多酚提取效果。但过量水会影响 ChCl-EG 氢键和溶剂结构，减弱溶剂与多酚化合物之间相互作用降低提取率。因此，选择 40% 含水率为较优含水率水平。

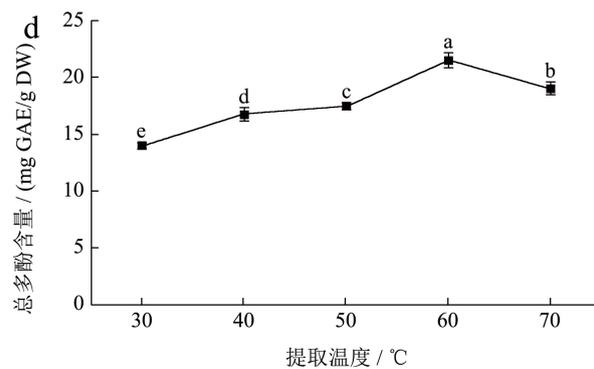
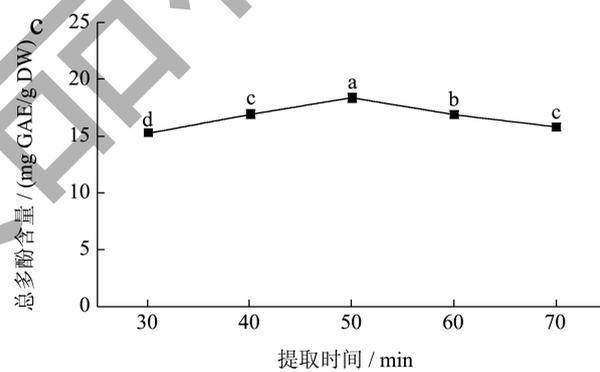
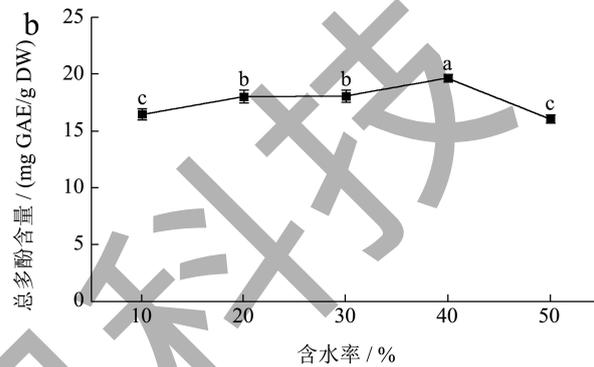
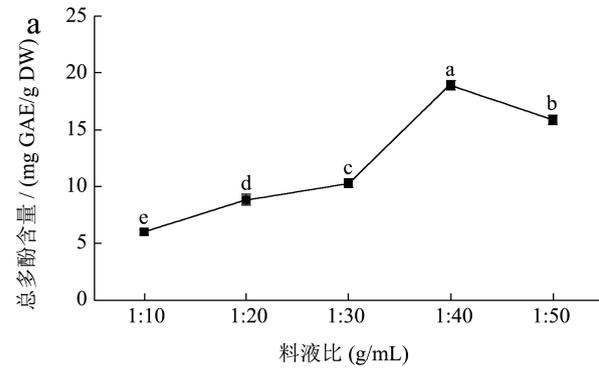


图 3 不同因素对 ChCl-EG-APPE 总酚含量的影响

Fig.3 Effect of different factors on the TPC of ChCl-EG-APPE

2.2.3 提取时间对多酚提取量的影响

提取时间 30~70 min，APPE 总酚含量 16.19~18.00 mg GAE/g DW。随提取时间从 30 min 增加到 50 min 时，APPE 总酚含量升高，并在 50 min

时达到最高，随后又降低（图 3c）。超声振动会增加空化作用和机械作用，增加分子间摩擦和碰撞，但时间过长可能导致多酚分子过热或过度机械破碎，破坏其结构，使 APPE 总酚含量降低。因此，选择 50 min 为较优提取时间。

2.2.4 提取温度对多酚提取量的影响

提取温度 30~70℃，APPE 总酚含量 14.30~21.12 mg GAE/g DW，随温度升高多酚含量先升高后降低，并在 60℃ 时最高（图 3d）。适当增加温度可降低 ChCl-EG 黏度，并增加其分子动能，提高溶剂分子与多酚分子相互作用，提高提取效率。但温度过高，可能导致苹果中热敏性多酚发生分解或变性，降低提取率。此外，适当升高温度能够增强超声波空化效果，提高提取效果，但过高温也会削弱超声波空化强度^[28]。因此，选择 60℃ 为较优提

取温度。

综合以上单因素试验结果及分析，单因素最优水平分别为料液比 1:40 (g/mL)、含水率 40%、提取时间 50 min、提取温度 60℃。

2.3 正交优化结果

基于单因素试验结果，以提取物总酚含量为指标通过正交试验优化提取工艺条件，结果如表 3。

正交试验中，根据相同因素同一水平平均值大小可知较优水平，不同因素间极差对比可知因素的主次影响水平。由表 3 可知，最优提取工艺条件为 A₂B₁C₂D₃，即提取温度 60℃，NADES 含水率 30%，提取时间 50 min，料液比 1:50 (g/mL)。极差分析结果显示，各因素对多酚提取量的影响主次为料液比 > 提取温度 > 含水率 > 提取时间。

表 3 正交优化试验结果

Table 3 Experimental results of orthogonal optimization

实验号	因素				总酚含量 (mg GAE/g DW)
	提取温度 A/℃	含水率 B/%	提取时间 C/min	料液比 D/(g/mL)	
1	1 (50)	1 (30)	1 (40)	1 (1:30)	25.20 ± 0.36
2	1 (50)	2 (40)	3 (60)	2 (1:40)	26.17 ± 0.81
3	1 (50)	3 (50)	2 (50)	3 (1:50)	25.42 ± 0.21
4	2 (60)	1 (30)	3 (60)	3 (1:50)	33.00 ± 0.34
5	2 (60)	2 (40)	2 (50)	1 (1:30)	27.75 ± 0.87
6	2 (60)	3 (50)	1 (40)	2 (1:40)	25.67 ± 0.35
7	3 (70)	1 (30)	2 (50)	2 (1:40)	27.52 ± 0.43
8	3 (70)	2 (40)	1 (40)	3 (1:50)	30.61 ± 0.46
9	3 (70)	3 (50)	3 (60)	1 (1:30)	27.06 ± 0.86
k ₁	25.60	28.58	27.16	26.67	
k ₂	28.81	28.18	28.74	26.45	
k ₃	28.40	26.05	26.90	29.68	
R	3.21	2.53	1.84	3.23	

表 4 工艺优化前后ChCl-EG-APPE总酚含量及抗氧化活性

Table 4 TPC and antioxidant activity of ChCl-EG-APPE before and after process optimization

	TPC/(mg GAE/g)	DPPH/(mg TE/g)	ABTS/(mg TE/g)	FRAP/(mg TE/g)
φ=80% 甲醇	10.76 ± 0.44 ^a	20.82 ± 1.10 ^a	15.38 ± 0.35 ^a	14.39 ± 1.22 ^a
ChCl-EG 优化前	12.72 ± 1.01 ^b	23.65 ± 0.95 ^b	16.09 ± 0.03 ^a	15.20 ± 1.25 ^a
ChCl-EG 优化后	33.16 ± 0.43 ^c	52.60 ± 0.87 ^c	38.30 ± 0.82 ^b	30.76 ± 0.89 ^b

表 5 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 酚类成分鉴定结果
Table 5 Identification results of UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS phenolic components

序号	酚类成分	保留时间/min	分子式	实验 (m/z)	理论 (m/z)	MS/MS 碎片	APPE	
							MeOH	ChCl-EG
1	二羟基苯甲酸	2.08	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 6	153.026 6	109	-	+
2	原花青素 B1	3.27	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.134 0	577.142 4	451、425、407、289	+	+
3	绿原酸	3.84	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.087 2	353.095 1	191、179	+	+
4	儿茶素	3.86	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.070 8	289.079 0	245、203、137	-	+
5	咖啡酸	4.52	C ₉ H ₈ O ₄	179.054 5	179.063 4	161、143	+	-
6	原花青素 B2	4.95	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.134 0	577.142 4	451、425、407、289	+	+
7	表儿茶素	5.62	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.070 8	289.079 0	245、203、137	+	+
8	原花青素 C1	6.66	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865.196 8	865.205 8	739、695、577、451、425、407、289	+	+
9	槲皮素-3-半乳糖苷	8.94	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.087 4	463.095 5	300、271、255	+	+
10	槲皮素-3-葡萄糖苷	9.25	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.087 4	463.095 5	300、271、255	+	+
11	槲皮素-3-阿拉伯糖苷	9.75	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	433.079 3	433.084 9	300、271、255、151	+	+
12	槲皮素-3-木糖苷	10.42	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	433.079 3	433.084 9	300、271、255、151	+	+
13	槲皮素-7-鼠李糖苷	10.81	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.091 7	447.100 6	300、271、255、151	+	+
14	根皮素-木糖半乳糖苷	11.15	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₄	567.173 3	567.179 2	273、179、167、123	+	+
15	根皮苷	12.41	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	435.131 1	435.136 9	273、167、123	+	+
16	芦丁	13.42	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.124 1	609.518 0	300、271、255	+	-
17	槲皮素	13.57	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.036 2	301.042 7	271、255	+	+

2.4 最佳工艺条件验证试验

在最优条件下独立三次重复提取,结果(表4)显示,优化后 ChCl-EG 提取物总酚含量、DPPH、ABTS⁺ 自由基清除活性和 FRAP 分别为 33.16 mg GAE/g DW、52.60 mg TE/g、38.30 mg TE/g、30.76 mg TE/g, 显著高于 80% 甲醇提取物,且较优化前分别提高了 160.69%、122.41%、138.04%、102.37%。李珍等^[29]优化超声辅助乙醇工艺对红富士苹果皮渣进行提取得总酚含量为 4.53 mg/g; 孙华迪等^[30]采用超临界萃取法提取红富士苹果皮多酚,经响应面优化工艺后多酚含量为 7.87 mg/g。与这些传统工艺相比,本实验数据提示 ChCl-EG 是苹果皮多酚提取的优选溶剂,且本试验优化了其提取苹果皮多酚工艺,优化后工艺进一步提高了多酚提取效果。

2.5 UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 酚类成分分析

结合数据库、相关文献^[31]比对 UPLC-Q-TOF-MS/MS 数据,从 ChCl-EG 和甲醇提取物中初步鉴定了 17 种酚类化合物(表 5 和图 4),包括 3 个酚酸类(二羟基苯甲酸、咖啡酸、绿原酸)、5 个黄酮

醇类(儿茶素、表儿茶素及原花青素)、7 个黄酮醇类(芦丁、槲皮素及其糖苷)、2 个二氢查尔酮类(根皮苷、根皮素糖苷)化合物,与文献报道苹果主要酚类成分相符^[5]。其中二羟基苯甲酸和儿茶素仅在 ChCl-EG 提取物中检出,咖啡酸和芦丁仅在甲醇提取物中发现,其它主要成分一致。

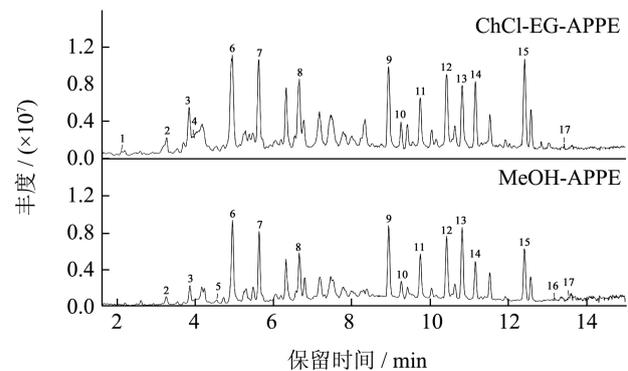


图 4 苹果皮多酚总离子流图

Fig.4 Total ion chromatography of polyphenols from apple peel

2.6 核磁共振氢谱表征

氢键是引起活泼质子 ¹H NMR 化学位移变化主要原因,通常认为氢键形成,会削弱氢键供体电子

对氢键质子的屏蔽作用,使其化学位移向低场移动,化学位移值增大^[32]。图5中EG的-OH质子由 4.73×10^{-6} 移动到 4.84×10^{-6} ($\Delta\delta=0.11 \times 10^{-6}$),说明EG的醇羟基作为氢键供体形成氢键,其氢原子电子云密度减小,化学位移向低场移动。ChCl的-OH质子由 5.61×10^{-6} 移动到 5.27×10^{-6} ($\Delta\delta=-0.37 \times 10^{-6}$),是由于形成NADES后分子间较强的氢键作用力使其分子内氢键作用减弱,化学位移向高场移动^[33]。刘书燕^[34]报道了氯化胆碱与乙二醇、丁二醇等多种脂肪二醇合成NADES的NMR氢谱特征,各基团氢原子化学位移变化情况与本研究基本一致。

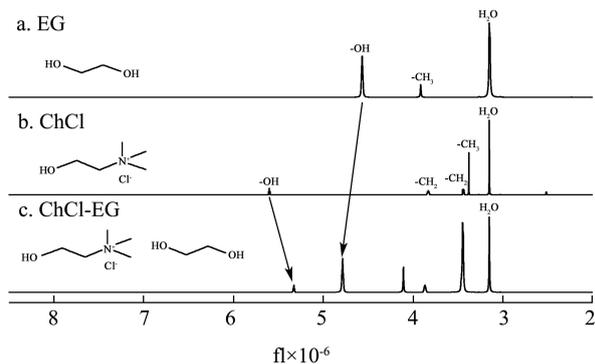


图5 ChCl-EG及其组分的核磁共振氢谱图

Fig.5 ¹H NMR spectrum of ChCl-EG and its components

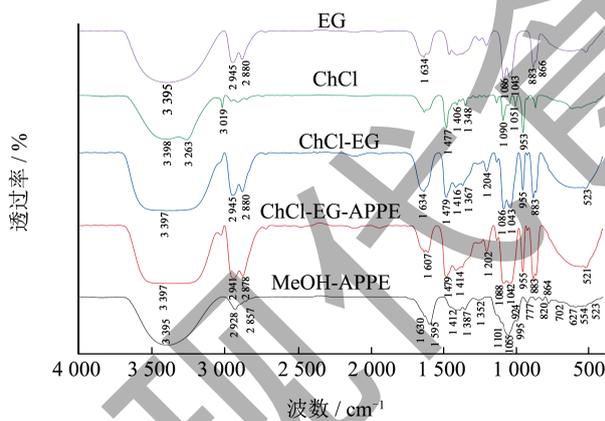


图6 ChCl-EG及不同溶剂提取物红外光谱图

Fig.6 FT-IR spectra of ChCl-EG and extracts with different solvents

2.7 傅里叶变换红外光谱表征

FT-IR谱图(图6)显示了体系中各基团特征峰,-OH($3\ 500\sim 3\ 200\text{ cm}^{-1}$)、C-H($3\ 000\sim 2\ 500\text{ cm}^{-1}$)、C-O($1\ 112\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$),ChCl中 $1\ 477\text{ cm}^{-1}$ 特征峰为C-N伸缩振动,在合成NADES后该峰仍存在^[35]。与ChCl和EG相比,ChCl-EG的-OH振动吸收峰峰形变宽,发生了蓝移,证明体系中形成

了丰富氢键。本研究所得数据与Rashid等^[11]采用FT-IR分析七种NADES合成前后特征峰变化情况类似。

相较ChCl-EG,ChCl-EG-APPE在 $3\ 400\text{ cm}^{-1}$ 附近谱带更宽,进一步对比MeOH-APPE谱图,二者吸收峰相似,但在氢键吸收区前者有更宽和更高峰形,这均提示ChCl-EG与多酚化合物形成了更多氢键,这可能是ChCl-EG提取效率更高的原因之一。

2.8 COSMO-RS模拟分析NADES溶剂作用机理

苹果多酚主要包括酚酸、黄烷醇、黄酮醇、二氢查耳酮以及花色苷等五大类,结合本实验UPLC-MS鉴定结果,分别选取绿原酸(酚酸)、表儿茶素(黄烷醇)、槲皮素(黄酮醇)、根皮苷(二氢查耳酮)作为代表性溶质分子。基于COSMO-RS模型,从分子结构及分子间相互作用角度分析溶剂对溶质分子的溶解行为以及溶质与不同溶剂结合的热力学特征,以探究ChCl-EG高效提取苹果多酚潜在机制。

2.8.1 ChCl-EG、甲醇及溶质分子的表面电荷密度

对溶剂和溶质分子进行几何优化,可得其最优构型、分子表面电荷密度(σ surface)和电荷密度分布函数(σ profile)(图7和图8)。 σ surface中红色区域对应分子中氧原子以及ChCl-EG中氯原子,赋予分子氢键受体能力;蓝色区域主要对应-OH等官能团上的氢原子,其使分子有氢键供体能力;绿色区域与电荷密度保持电中性的碳原子有关,对氢键作用贡献较弱^[18]。 σ profile是分子表面电荷密度分布的函数表达形式, $-0.008\ 4 < \sigma < +0.008\ 4\ \text{e}/\text{\AA}^2$ 为非极性区,其外为极性区,其中 $\sigma < -0.008\ 4\ \text{e}/\text{\AA}^2$ 的负极性区又称为氢键供体区, $\sigma > +0.008\ 4\ \text{e}/\text{\AA}^2$ 的正极性区又称为氢键受体区,极性区域越向两侧扩展延伸,代表分子极性越强,作为氢键供体或受体的潜力越大^[36]。

四种溶质分子(图7)向正极性区延伸至 $0.02\ \text{e}/\text{\AA}^2$,并在 $0.01\sim 0.015\ \text{e}/\text{\AA}^2$ 之间有一个高峰,这是分子中氧原子的吸电子效应;在负极性区延伸至 $-0.025\ \text{e}/\text{\AA}^2$,并有两个明显的峰,这是由于分子中-OH、-COOH等基团上氧与氢电负性差异,氢原子倾向于给电子。酚酸、黄烷醇、黄酮醇、二氢查耳酮四类多酚化合物都在氢键供体区极性更强,表明其作为氢键供体能力强于作为受体能力。

甲醇分子 σ profile (图 8) 在中性区只有一个对应其甲基的尖峰, 在极性区向两侧延伸至 $\pm 0.02 \text{ e}/\text{\AA}^2$ 左右, 峰高基本一致, 可见甲醇作为氢键受体和供体的能力相差不大。相较于甲醇分子, ChCl-EG 分子的 σ profile 向正极性区延伸值更大, 并有两个峰值较高的尖峰, 同时峰更多、峰值更高, 说明 ChCl-EG 在溶液中具有更强氢键受体能力, 且可结合位点更多, 可与溶质分子形成更多氢键。

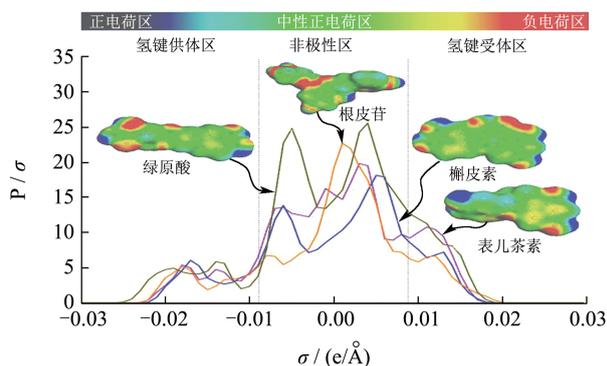


图 7 四种多酚溶质分子表面电荷密度分布

Fig.7 σ surface and σ profile of four polyphenol solute molecules

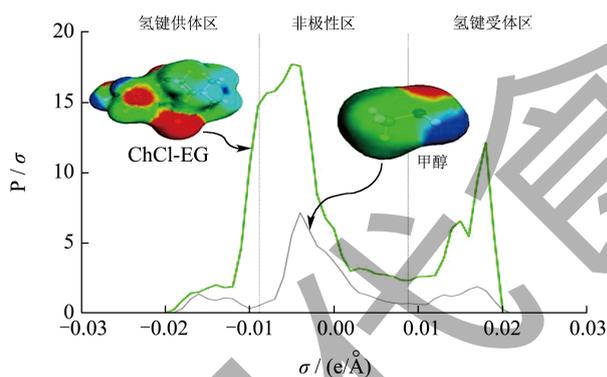


图 8 ChCl-EG 和甲醇的表面电荷密度分布

Fig.8 σ surface and σ profile of σ ChCl-EG and MeOH

σ surface 和 σ profile 直观反映了氢键形成的可能位点, 一般主要由氢键受体物质对应的负电荷区 (红色区域) 和氢键供体物质对应的正电荷区 (蓝色区域) 之间形成氢键^[37]。溶剂对溶质分子的提取能力可以根据氢键形成的可能性来评判, 氢键越多提取能力越强。如前所述, 相比甲醇 ChCl-EG 有更强氢键受体能力和更多结合位点, 可与苹果多酚 (氢键供体) 形成丰富氢键, 因此表现了更高总酚提取率。

2.8.2 溶质在不同溶剂中的活度系数和相互作用能

溶质分子在溶剂中无限稀释下的活度系数

(γ^∞) 是评价溶剂溶解能力的重要指标, γ^∞ 越小意味着溶剂对溶质的溶解能力越强^[38]。COSMO-RS 模拟计算得 ChCl-EG 和甲醇对四种多酚分子的平均活度系数分别为 -13.85 和 -9.96 , 提示 ChCl-EG 的溶解能力更强。ChCl-EG 与四种化合物相互作用能 (-51.41 kcal/mol) 显著强于甲醇 (-46.05 kcal/mol)。且 ChCl-EG 对每种溶质分子的溶解能力和相互作用能都强于甲醇 (图 9a、9b)。这些数据从分子间相互作用层面进一步阐释了 ChCl-EG 高效提取苹果多酚作用机理。

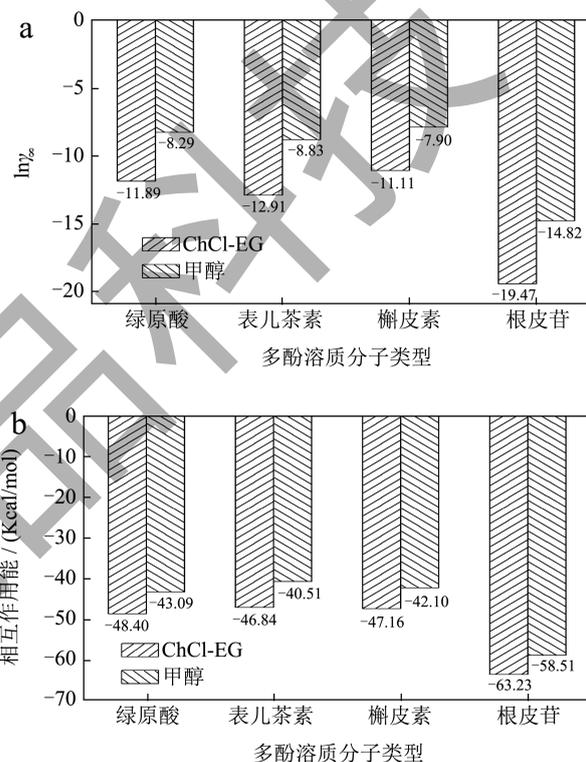


图 9 ChCl-EG 和甲醇分子对多酚溶质分子的活度系数对数值和相互作用能

Fig.9 $\ln \gamma^\infty$ and interaction energy of ChCl-EG and methanol molecules on polyphenol solute molecules

3 结论

本文采用超声辅助六种 NADES 和 $\varphi=80\%$ 甲醇提取苹果皮多酚, 发现 ChCl-EG 提取物多酚含量较高、抗氧化活性最强, 且显著优于 $\varphi=80\%$ 甲醇; 单因素结合正交试验优化 ChCl-EG 工艺参数为: 料液比 1:50 (g/mL), 含水率 30%, 提取温度 $60 \text{ }^\circ\text{C}$, 提取时间 50 min, 该条件下苹果皮提取物总酚含量以及清除 DPPH、ABTS⁺ 自由基活性和铁离子还原能力较优化前分别提高了 160.69%、122.41%、138.04%、

102.37%；从ChCl-EG和甲醇提取物中共鉴定出17种酚类化合物，二者酚类成分相似，表明优化后ChCl-EG工艺可有效提取苹果皮多酚且提取效率高。NMR验证了ChCl-EG有较强氢键，FT-IR提示ChCl-EG与多酚形成丰富氢键。分析ChCl-EG和甲醇以及提取物中分属酚酸、黄烷醇、黄酮醇和二氢查尔酮类的四个代表化合物COSMO-RS模型可知，ChCl-EG比甲醇具有更强氢键受体能力、更多氢键结合位点，且对溶质分子的平均溶解能力和相互作用能分别是甲醇的1.39和1.12倍。本研究筛选和优化了苹果皮多酚绿色提取工艺，表征和分析了最优溶剂分子结构，结合实验结果与量子化学模拟计算从溶剂与溶质分子相互作用等角度分析和解释NADES高效作用机理，为天然多酚高效提取的溶剂选择、提取工艺和作用机理研究提供一定参考。

参考文献

- [1] OYENIHI A B, BELAY Z A, MDITSHWA A, et al. "An apple a day keeps the doctor away": The potentials of apple bioactive constituents for chronic disease prevention [J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(6): 2291-2309.
- [2] USMAN M, AHMED S, MEHMOOD A, et al. Effect of apple pomace on nutrition, rheology of dough and cookies quality [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(9): 3244-3251.
- [3] LIANG X, ZHU T, YANG S, et al. Analysis of phenolic components and related biological activities of 35 apple (*Malus pumila* mill.) cultivars [J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4153.
- [4] ACQUAVIA M, PASCALE R, FOTI L, et al. Analytical methods for extraction and identification of primary and secondary metabolites of apple (*Malus domestica*) fruits: A Review [J]. *Separations*, 2021, 8(7): 91.
- [5] LÓPEZ-FERNÁNDEZ O, BOHRER B M, MUNEKATA P E S, et al. Improving oxidative stability of foods with apple-derived polyphenols [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, 21(1): 296-320.
- [6] WILS L, HILALI S, BOUDESOCQUE-DELAJE L. Biomass valorization using natural deep eutectic solvents: What's new in France? [J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6556.
- [7] LIU Y, FRIESEN J B, MCALPINE J B, et al. Natural deep eutectic solvents: Properties, applications, and perspectives [J]. *Journal of Natural Products*, 2018, 81(3): 679-690.
- [8] CANNAVACCIUOLO C, PAGLIARI S, FRIGERIO J, et al. Natural deep eutectic solvents (NADESs) combined with sustainable extraction techniques: A review of the green chemistry approach in food analysis [J]. *Foods*, 2022, 12(1): 56.
- [9] PAVLIĆ B, MRKONJIĆ Ž, TESLIĆ N, et al. Natural deep eutectic solvent (NADES) extraction improves polyphenol yield and antioxidant activity of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) extracts [J]. *Molecules*, 2022, 27(5): 1508.
- [10] 张晓云,梅晓宏.板栗壳多酚的超声波辅助低共熔溶剂提取工艺优化及其成分分析[J].*食品工业科技*,2022,3(16): 230-237.
- [11] RASHID R, MOHD WANI S, 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.
- [12] MONI BOTTU H, MERO A, HUSANU E, et al. The ability of deep eutectic solvent systems to extract bioactive compounds from apple pomace [J]. *Food Chemistry*, 2022, 386: 132717.
- [13] SUN Y, DU R, LIU X, et al. Regional differences and threshold effects of labor transfer affecting the technical efficiency of China's agricultural industry: A case study of the apple industry [J]. *PLoS One*, 2023, 18(2): e0278348.
- [14] OPRIS O, LUNG I, SORAN M L, et al. Efficient extraction of total polyphenols from apple and investigation of its SPF properties [J]. *Molecules*, 2022, 27(5): 1679.
- [15] DUDONNE S, VITRAC X, COUTIERE P, et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(5): 1768-1774.
- [16] PROESTOS C, LYTOUDI K, MAVROMELANIDOU O K, et al. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2013, 2(1): 11-22.
- [17] ZHANG W, LI X, ZHENG J, et al. Bioactive components and antioxidant capacity of Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. and Zucc.) fruit in relation to fruit maturity and postharvest storage [J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 227(4): 1091-1097.
- [18] ZUROB E, CABEZAS R, VILLARROEL E, et al. Design of natural deep eutectic solvents for the ultrasound-assisted extraction of hydroxytyrosol from olive leaves supported by COSMO-RS [J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 248: 117054.
- [19] TOLEDO HIJO A A C, ALVES C, FARIAS F O, et al. Ionic liquids and deep eutectic solvents as sustainable alternatives for efficient extraction of phenolic compounds from mate leaves [J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111194.
- [20] 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: 22-30.
- [21] FRIEDMAN M, JURGENS H S. Effect of pH on the stability

- of plant phenolic compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(6): 2101-2110.
- [22] WOJDYŁO A, OSZMIANŃSKI J. Antioxidant activity modulated by polyphenol contents in apple and leaves during fruit development and ripening [J]. Antioxidants, 2020, 9(7): 567.
- [23] SKULCOVA A, RUSS A, JABLONSKY M, et al. The pH behavior of seventeen deep eutectic solvents [J]. BioResources, 2018, 13(3): 5042-5051.
- [24] POPOVIC B M, MICIC N, POTKONJAK A, et al. Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents-Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction [J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130562.
- [25] PEKAL A, PYRZYNSKA K. Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2015, 66(1): 58-62.
- [26] 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]. Ultrasonic Sonochemistry, 2021, 70: 105267.
- [27] 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.
- [28] DEY S, RATHOD V K. Ultrasound assisted extraction of beta-carotene from *Spirulina platensis* [J]. Ultrasonic Sonochemistry, 2013, 20(1): 271-276.
- [29] 李珍, 哈益明, 李安, 等. 响应面优化苹果皮渣多酚超声提取工艺研究 [J]. 中国农业科学, 2013, 46(21): 4569-4577.
- [30] 孙华迪, 赵瑞香, 冉军舰. 响应面法优化超临界CO₂萃取苹果皮多酚的工艺及抗氧化性研究 [J]. 食品工业, 2012, 33(6): 72-75.
- [31] LI C X, ZHAO X H, ZUO W F, et al. Phytochemical profiles, antioxidant, and antiproliferative activities of red-fleshed apple as affected by *in vitro* digestion [J]. J Food Sci, 2020, 85(9): 2952-2959.
- [32] ALI M A, KAIUM M A, UDDIN S N, et al. Elucidating the structure, dynamics, and interaction of a choline chloride and citric acid based eutectic system by spectroscopic and molecular modeling investigations [J]. ACS Omega, 2023, 8(41): 38243-38251.
- [33] 刘戈妹. 低共熔溶剂对玉米淀粉结构及理化性质影响的研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2023.
- [34] 刘书燕. 胆碱类低共熔溶剂组分间的氢键作用研究 [D]. 新乡: 河南师范大学, 2018.
- [35] MENG Z, ZHAO J, DUAN H, et al. Green and efficient extraction of four bioactive flavonoids from *Pollen typhae* by ultrasound-assisted deep eutectic solvents extraction [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 161: 246-253.
- [36] TOLEDO HIJO A A C, ALVES C, FARIAS F O, et al. Ionic liquids and deep eutectic solvents as sustainable alternatives for efficient extraction of phenolic compounds from mate leaves [J]. Food Research International, 2022, 157: 111194.
- [37] GÓMEZ-URIOS C, VIÑAS-OSPINO A, PUCHADES-COLERA P, et al. Sustainable development and storage stability of orange by-products extract using natural deep eutectic solvents [J]. Foods, 2022, 11: 2457.
- [38] 姚金昊, 肖磊, 李春露, 等. 天然低共熔溶剂提取水飞蓟宾工艺优化及基于COSMO-SAC机理探讨 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 219-227.