

苹果多酚提取和纯化关键技术研究进展

Research progress on the extraction and purification technology of apple polyphenols

许先猛¹张增帅²郭俊花²卢 军³XU Xian-meng¹ ZHANG Zeng-shuai² GUO Jun-hua² LU Jun³

(1. 安徽工程大学生物与食品工程学院, 安徽 芜湖 241000; 2. 运城职业技术大学健康学院,

山西 运城 044000; 3. 汉中市食品药品监督管理局, 陕西 汉中 723000)

(1. College of Biological and Food Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu, Anhui 241000, China;

2. School of Health Sciences, Yuncheng, Vocational and Technical College, Yuncheng, Shanxi 044000, China;

3. Hanzhong Food and Drug Administration, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

摘要:综述了苹果多酚提取和纯化技术研究的最新进展,概述了溶剂提取法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法、超临界 CO₂ 流体萃取法、生物酶解提取法、高压辅助萃取法等苹果多酚提取技术,介绍了大孔吸附树脂法、固相萃取法、高效液相色谱法、高速逆流色谱法、离子交换色谱法、凝胶色谱法等苹果多酚分离纯化技术,提出了绿色无污染、低成本、高产量、高纯度、高质量苹果多酚提取和纯化一体化技术研究方向。

关键词:苹果;多酚;提取方法;纯化方法

Abstract: The article summarized the research progress on the latest developments in the extraction and purification technology of apple polyphenols. In this review, the extraction and purification methods of apple polyphenols are discussed. Solvent extraction, ultrasonic assisted extraction, microwave assisted extraction, supercritical CO₂ fluid extraction, biological enzymatic extraction, the high pressure assisted extraction, solid phase extraction, the macroporous adsorption resin separation, high performance liquid chromatography, high speed countercurrent chromatography, ion exchange chromatography, gel chromatography is outlined. And, the extraction and purification methods of green pollution-free, low cost, high yield, high purity, high quality integrated technology research direction was put forward.

Keywords: apple; polyphenols; extraction method; purification method

基金项目:山西省高等学校科技创新计划科研项目(编号:2019L1014);山西省哲学社会科学项目(编号:2020W325);山西省应用基础研究项目青年科技研究基金项目(编号:201801D221322)

作者简介:许先猛(1984—),男,安徽工程大学副教授,博士。

E-mail: xuxianmeng@ahpu.edu.cn

收稿日期:2020-07-27

酚类化合物是植物生长过程中产生的次级代谢产物,常以酚酸和黄酮类化合物形式存在^[1-2]。苹果多酚(apple polyphenols, AP)是苹果中多元酚类化合物的总称,结构特点为一个及一个以上苯环结合多个羟基^[3],含有绿原酸、儿茶素、黄烷醇、黄酮醇、花色苷、根皮苷、原花青素、原花色色素等生物活性成分^[4-6],具有抗氧化、抑菌、抗病毒、抗过敏、抗肿瘤、抗癌等功能活性^[2,7-10],是国际天然产物资源研究领域热点之一。苹果多酚提取和纯化技术是苹果多酚的主要研究方向,通过物理、化学和生物方法提高苹果多酚提取率和产品纯度,是苹果多酚研究和应用的重要环节。

1 苹果多酚提取技术

1.1 溶剂提取法

苹果多酚溶剂提取法常用的溶剂主要为有机溶剂,其提取依据是物质相似相溶原理。苹果多酚中的酚羟基以氢键的形式与蛋白质等大分子形成稳定的结构,甲醇、乙醇、丙酮等亲水性有机溶剂可以破坏氢键,提高苹果多酚提取率。葛晓虹等^[11]从工业苹果渣中提取多酚,其最优提取工艺条件为乙醇体积分数 54.46%,提取温度 65℃,提取时间 3.5 h,液料比($V_{\text{乙醇}} : m_{\text{苹果渣}}$)62.3 : 4.0 (mL/g),此时苹果多酚得率为 4.48 mg/g。溶剂提取法具有操作简单,提取率较高,工业生产设备要求低等优势,但存在有机溶剂消耗量大、产品有机溶剂残留以及生产成本较高等缺点。辅助物理、化学和生物方法,提高苹果多酚提取率,降低有机溶剂用量,减少产品中有机溶剂残留等,将是溶剂提取法提取苹果多酚的重要研究方向。

1.2 超声波辅助提取法

超声波辅助提取过程中会产生空化效应、机械效应和热效应等,多级效应相结合会产生高剪切作用力,产生

微射流,加速苹果细胞壁破碎速度,增强溶剂渗透作用,提高传质效率,缩短提取时间,提高苹果多酚提取率和提取效率。田莉等^[12]利用真空耦合超声波提取技术从红富士苹果渣干粉中提取苹果多酚,在乙醇浓度 50%,提取温度 50℃,真空度 0.08 MPa,超声功率 420 W,提取时间 13 min,料液比($m_{\text{苹果渣}} : V_{\text{乙醇}}$)1:30 (g/mL)条件下,苹果多酚得率为 6.46 mg/g。齐娜等^[13]利用响应面法优化超声波辅助提取新疆红肉苹果多酚工艺条件,在料液比($m_{\text{苹果}} : V_{\text{溶剂}}$)为 1:4 (g/mL),超声功率为 360 W,提取温度为 62℃,提取时间为 20 min 下,新疆红肉苹果全果多酚得率为 2.135 mg/g。金莹等^[14]研究发现,当提取温度为 60℃,料液比($m_{\text{苹果}} : V_{\text{溶剂}}$)为 1:6 (g/mL),乙醇体积分数为 60%,提取时间为 30 min 时,超声波辅助提取国光苹果新鲜苹果渣中苹果多酚提取率为 87.63%,较普通溶剂法提高了 8.39%。研究^[15]表明,低功率(50 W)超声波对苹果多酚的大孔吸附树脂吸附和解吸也有积极作用,可明显促进大孔吸附树脂对苹果多酚的吸附动力学过程,提高苹果多酚吸附能力,显著提高苹果多酚的大孔吸附树脂解吸率,将苹果多酚回收率提高至 125%。超声波辅助提取法具有提取率高、速度快等优点,但是超声波辅助设备体积和容积一般较小,单次生产量较小,工作过程中会产生噪音污染,因此企业工业化生产存在一定困难。

1.3 微波辅助提取法

微波辅助提取技术的主要原理是高频电磁波可直接作用于提取物细胞系统,细胞内含有的水分子等极性物质快速吸收微波能并产生大量热量,细胞因内部受热膨胀而发生破裂或破碎,加快提取溶剂的渗透,从而提高苹果多酚提取率和提取效率。Bai 等^[16]研究发现,当微波功率为 650.4 W,萃取时间为 53.7 s,乙醇体积分数为 62.1%, $V_{\text{溶剂}} : m_{\text{原料}}$ 为 22.9:1.0 (mL/g)时,微波辅助法提取苹果渣中多酚得率为 (62.68 ± 0.35) mg GAE/100 g;与溶剂回流提取法[得率 (46.33 ± 0.58) mg GAE/100 g]和超声辅助提取法[得率 (54.76 ± 0.39) mg GAE/100 g]相比,微波辅助法的多酚得率分别提高了 35.29%,14.46%。李健等^[17]研究发现,当乙醇体积分数为 50%,微波功率为 640 W,提取时间为 70 s,料液比($m_{\text{苹果}} : V_{\text{溶剂}}$)为 1:14 (g/mL)时,微波辅助法提取苹果多酚提取率达 9.92 mg/g。在苹果渣原料预处理过程中,榨汁会使苹果多酚有一定的损失,干燥、粉碎过程产生的高温和氧化也会导致苹果多酚的损失,因此工业苹果渣干粉和新鲜苹果渣中苹果多酚含量差异显著。微波辅助法提取苹果多酚效率高、产品安全无污染,但因设备要求限制,其在工业化生产中的技术应用尚不成熟。

1.4 超临界 CO₂ 流体萃取法

超临界流体是指处于临界点的流体,处于气态与液态之间的一种特殊状态^[18]。CO₂ 因性质稳定、无毒无害、

易于分离等优势常被作为溶剂,超临界 CO₂ 流体萃取技术是以 CO₂ 为溶剂,在超临界状态下改变 CO₂ 临界压力或临界温度,从而将提取物中生物活性物质萃取出来。超临界 CO₂ 流体萃取的活性成分纯度高、无溶剂残留、质量好,但提取率偏低,通常借助醇、水等介质联合提取以提高提取率。魏福祥等^[19]采用超临界流体萃取苹果渣中的多酚,将苹果渣过 40 目筛,在压力为 35 MPa,温度为 50℃,CO₂ 流量为 45 kg/h 条件下萃取 3 h,苹果多酚得率为 0.1%。Elizabeth 等^[20]在原料粒径 > 250 μm, $V_{\text{乙醇}} : m_{\text{物料}}$ 为 1:1 (mL/g),萃取温度 60℃,助溶剂 CO₂ 流量为 24 mL/min,压强为 55.0 MPa,静态提取时间 5 min,动态提取时间 10 min 下,苹果多酚提取率为 0.979 8 mg GAE/g,表儿茶素提取率为 288.3 μg/g。超临界 CO₂ 流体萃取技术的工业化设备设计改造、成本控制和工业化生产工艺优化是今后超临界 CO₂ 流体萃取技术生产苹果多酚的研究重点。

1.5 生物酶解提取法

生物酶具有高效、专一等特点,生物活性物质提取常用的生物酶类有纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶及酯酶等,这些酶类可以降解苹果组织中的细胞壁和细胞间物质,增加溶剂渗透作用,提高传质效率,从而提高活性物质提取率。李映等^[21]使用纤维素酶和果胶酶酶解茶叶提取茶多酚,在复合酶用量 2.4%,料液比($m_{\text{茶}} : V_{\text{溶剂}}$)1:10 (g/mL),酶解 pH 5.6,提取温度 60℃,提取时间 75 min 下,茶多酚产率为 23.36%,比未加酶的产率提高了 55.94%。王莉等^[22]采用角质酶在乙醇溶液中提取苹果多酚,当乙醇体积分数为 30%,料液比($m_{\text{苹果}} : V_{\text{溶剂}}$)为 1:50 (g/mL),反应温度为 37℃,反应时间为 20 min,酶添加量为 2 000 U/g·基质,pH 为 7.5 时,苹果多酚提取率达 99.16%。袁晶等^[23]采用超声波辅助复合酶法提取苹果浆中苹果多酚,当复合酶($m_{\text{纤维素酶}} : m_{\text{果胶酶}} = 1:1$)添加量为 0.07%,酶解时间为 60 min,提取温度为 65℃,超声辅助时间为 10 min 时,苹果多酚得率为 1.99 mg/g,较未添加纤维素酶的得率提高了 25.56%。生物酶解提取法的提取速度快、提取率高、有机溶剂使用量少,但酶制剂成本高。

1.6 高压辅助萃取法

高压和超高压环境下,苹果组织细胞结构发生破裂和解体,可加快提取溶剂渗透,促使细胞内多酚成分快速释放,能够有效提高多酚提取率。Alonso-Salces 等^[24]研究表明,加压(6.9 MPa)条件下利用甲醇溶液提取金冠苹果皮中苹果多酚 5 min,其得率为 7.566 mg/g,与常压提取法相比,该方法大大缩短了提取时间。高压辅助法提取苹果多酚还可以有效提高苹果多酚提取率和纯度,彭雪萍等^[25]采用超高压辅助法提取新鲜红富士苹果渣中苹果多酚,当压力为 200 MPa,提取时间为 2 min,固液比($m_{\text{苹果}} : V_{\text{溶剂}}$)为 1:6 (g/mL),乙醇体积分数为 80%时,

苹果多酚提取率高达 11.69%,纯度为 37.61%;与常压提取法相比,其提取时间大大缩短,苹果多酚提取率较常压提取高 20%,苹果多酚纯度提高了 30%。高压辅助萃取法的提取时间短、提取率高,其提取过程可实现密封和避光以减少光和氧气对苹果多酚的影响,因苹果渣中糖含量较高,高压辅助萃取法提取苹果多酚会受到一定影响。

1.7 其他提取方法

随着提取技术研究的不断深入,越来越多的高新提取技术被应用于苹果多酚提取过程中。表面活性剂是一类具有长疏水链和离子亲水头的两亲分子,在临界胶束浓度以上,表面活性剂形成由亲水表面和疏水核组成的胶束。这种特殊的结构使胶束能够与亲水性或亲脂性物质建立化学和物理相互作用,并提取酚类化合物。Liubov 等^[26]采用非离子乳化剂提取苹果多酚,当提取溶剂为 1.14%吐温 80,提取时间为 65 min,液料比($V_{\text{溶剂}} : m_{\text{物料}}$)为 104:1 (mL/g),pH 为 3.8 时,苹果多酚得率为 7.75 mg/g。Malinowska 等^[27]采用表面活性剂的水溶液从苹果渣中提取和分离苹果多酚,其提取率高于水、乙醇作为提取剂的提取方法。

脉冲电场是一种非热加工技术,可在短时间内将高强度的电场脉冲作用于两电极之间。脉冲电场在细胞膜上引起跨膜电位差,当电位差达到临界值时,电击穿可导致细胞膜电穿孔,增加细胞质膜的通透性,使细胞内活性成分更容易被释放。Lohani 等^[28]采用脉冲电场辅助提取苹果渣中苹果多酚,当料液比($m_{\text{苹果渣}} : V_{\text{溶剂}}$)为 12.5:1.0 (g/mL),电场强度为 2 kV/cm,提取时间为 500 μs 时,与普通溶剂提取法相比,苹果多酚得率提高了 37.4%。

2 苹果多酚的分离纯化技术

由于苹果多酚提取技术选择性较差,提取制备的苹果多酚粗提物纯度较低,苹果多酚功能活性因粗提物中苹果多酚含量偏低而受限制,因此苹果多酚粗提物需进行有效纯化后才能得到高纯度产品。近年来,苹果多酚提取、纯化技术水平不断提高,其提取率偏低问题已得到了有效改善。目前,苹果多酚常见的分离纯化技术有大孔吸附树脂法、固相萃取法、高效液相色谱法、高速逆流色谱法、离子交换色谱法、凝胶色谱法等。

2.1 大孔吸附树脂法

大孔吸附树脂纯化法是通过大孔树脂与被吸附苹果多酚之间的氢键和范德华力等作用进行吸附,然后根据苹果多酚的性质选择合适的溶剂进行解吸,从而达到对苹果多酚进行纯化的目的。大孔树脂具有吸附量大、吸附率高、容易解吸、可重复利用和易于工业化等优势^[29],因此被广泛应用于苹果多酚的分离纯化。贺金娜等^[30]采用 XAD-7HP 型大孔吸附树脂纯化苹果渣中苹果多酚,当提取液上样质量浓度为 1.46 mg/mL、pH 值为 5.50、上样

速度为 1.25 mL/min,洗脱剂为 90%丙酮、洗脱速度为 1.0 mL/min 时,其纯度提高了 10 倍多,达 80.1%。王振宇等^[31]采用 AB-8 型大孔吸附树脂纯化苹果渣中苹果多酚,纯化条件为 1.5 g/L 苹果多酚提取液、上样速度 1 mL/min、蒸馏水洗脱后 60%丙酮洗脱,洗脱速度 0.5 mL/min,此时苹果多酚纯度为 79.5%。Wang 等^[15]采用超声波辅助 XDA-16 大孔吸附树脂纯化苹果皮多酚,50 W 功率处理下苹果皮多酚回收率提高了 38.3%。大孔吸附树脂纯化法的产品纯度高、产量大、成本低,是目前苹果多酚纯化工业化生产最常用的方法。

2.2 固相萃取法

固相萃取法是根据分离纯化苹果多酚的性质选择固定相与流动相,由于固定相将苹果多酚和杂质吸附并保留在固相萃取柱上的时间和能力不同,从而实现对苹果多酚和杂质的高选择性分离,以纯化苹果多酚。贺金娜等^[32]采用 Waters Oasis HLB 固相萃取小柱对苹果多酚粗提液进行纯化,得到 7 种中性多酚和 3 种酸性多酚,分别为原花青素 B₂、表儿茶素、芦丁、异槲皮素、槲皮苷、根皮苷、根皮素、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸 10 种多酚单体。张素宁等^[33]采用磁性固相萃取—液相色谱法测定苹果汁中酚类物质,建立了 MSPE-HPLC-UV 联用测定苹果汁中双酚 A、双酚 F、双酚 AF 3 种双酚类物质的方法,发现基于 Fe₃O₄@TRITER-1 磁性固相萃取吸附剂的净化效果良好,检测方法可靠。固相萃取法纯化苹果多酚具有纯度高、质量高等优势,在苹果多酚单体分离、纯化和鉴定应用较为广泛。

2.3 其他方法

随着纯化技术研究的不断深入,高速逆流色谱法、高效液相色谱法、凝胶色谱法等色谱技术也被广泛应用于苹果多酚的纯化。Cao 等^[34]采用凝胶色谱—高速逆流色谱法纯化苹果多酚,从苹果渣中获得了 6 种主要的目标单体多酚:绿原酸、槲皮素-3-葡萄糖苷、槲皮素-3-木糖苷、根皮苷、槲皮素-3-阿拉伯糖苷和槲皮素-3-鼠李糖苷。李志华等^[35]采用大孔吸附树脂、硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、凝胶柱色谱、高效液相色谱法等先后对苹果多酚进行提取和分阶段纯化,分离纯化出 25 种化合物,包括槲皮苷、槲皮素-3-O- β -D-半乳糖苷、根皮苷等,其中黄酮类成分占 40%。郭娟等^[36]采用 Sephadex LH-20 对苹果多酚粗提液进行吸附,然后采用 80%乙醇进行洗脱,纯化后的苹果多酚纯度达 84.7%。色谱法纯化苹果多酚具有产品纯度高的特点,在苹果多酚成分单体分离和鉴定中研究较多,但因设备价格昂贵及设备对工作环境要求高,在工业化生产上的应用较少。

3 总结

超声波辅助提取法、微波辅助提取、超临界 CO₂ 流体萃取技术、生物酶解提取法和高压辅助萃取法等新技术

的应用大大提高了苹果多酚提取率。苹果多酚分离纯化常用的方法包括大孔吸附树脂法、固相萃取法、硅胶柱色谱法、ODS 柱色谱法、凝胶柱色谱法、高效液相色谱法等,其中大孔吸附树脂法因吸附量大、吸附率高和易于工厂化生产,在苹果多酚纯化和工业化生产过程中被广泛应用。随着苹果多酚产品需求量的不断增大,绿色无污染、低成本、高产量、高纯度、高质量的苹果多酚提取和纯化一体化技术势必成为今后苹果多酚研究的主要内容。

参考文献

- [1] LI Wu, YANG Rui-li, YING Dan-yang, et al. Analysis of polyphenols in apple pomace: A comparative study of different extraction and hydrolysis procedures[J]. *Industrial Crops & Products*, 2020, 147: 112250.
- [2] COURAGE S D, DUAN Yu-qing, ZHANG Hai-hui, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review[J]. *Food Bioscience*, 2020, 35: 100547.
- [3] EVA B M, MASA K H, MOJCA S, et al. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects[J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 901.
- [4] ALESSANDRO A C, MARGHERITA P, PATRIZIA P, et al. Polyphenols from apple skins: A study on microwave-assisted extraction optimization and exhausted solid characterization[J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 240: 116640.
- [5] FAGUNDES A C, STAHL H V, PAGNO C, et al. Phenolic enrichment in apple skin following post-harvest fruit UV-B treatment[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 138: 37-45.
- [6] LU Wang, BOUSSETTA N, LEOVKA N, et al. Selectivity of ultrasound-assisted aqueous extraction of valuable compounds from flesh and peel of apple tissues[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 93: 511-516.
- [7] FRESCO P, BORGES F, MARQUES M P M, et al. The anticancer properties of dietary polyphenols and its relation with apoptosis[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2010, 16: 114-134.
- [8] SKRYPNIK L, NOVIKOVA A. Response surface modeling and optimization of polyphenols extraction from apple pomace based on nonionic emulsifiers[J]. *Agronomy*, 2020, 10(1): 92.
- [9] FERNANDES P A, FERREIRA S S, BASTOS R, et al. Apple pomace extract as a sustainable food ingredient[J]. *Antioxidants*, 2019(8): 189.
- [10] ZHANG Ting-jing, WEI Xin-yuan, MIAO Zhuang, et al. Screening for antioxidant and antibacterial activities of phenolics from golden delicious apple pomace[J]. *Chemistry Central Journal*, 2016, 10: 47.
- [11] 葛晓虹. 苹果渣总酚提取工艺优化[J]. *河南科技学院学报*, 2016, 44(5): 52-58.
- [12] 田莉, 李海萍, 袁亚宏, 等. 真空耦合超声波提取苹果渣多酚的工艺优化[J]. *食品科学*, 2017, 38(14): 233-239.
- [13] 齐娜, 李涵, 张志宇, 等. 新疆红肉苹果多酚的超声波辅助提取工艺优化[J]. *食品与机械*, 2016, 32(9): 177-182.
- [14] 金莹. 苹果多酚的超声波提取及其抗氧化性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006: 29-37.
- [15] LU Wang, BOUSSETTA N, LEOVKA N, et al. Ultrasound assisted purification of polyphenols of apple skins by adsorption/desorption procedure [J]. *Ultrasonics-Sonochemistry*, 2019, 55: 18-24.
- [16] BAI Xue-lian, YUE Tian-li, YUAN Ya-hong, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from apple pomace using response surface methodology and HPLC analysis[J]. *Separation Science*, 2010, 33 (23): 3 751-3 758.
- [17] 李健, 安廷, 刘宁, 等. 微波辅助响应曲面法优化提取苹果多酚工艺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(6): 2 029-2 035.
- [18] 孙艳宾, 张慧娟, 景大为, 等. 超临界 CO₂ 萃取技术在海洋生物活性物质的应用研究进展[J]. *食品工业*, 2019, 40 (1): 286-290.
- [19] 魏福祥, 曲恩超. 超临界 CO₂ 从苹果渣中萃取苹果多酚的工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(7): 60-63.
- [20] ELIZABETH O Q, IVAN S, DAVID C F, et al. Supercritical and subcritical extraction of ursolic acid and polyphenols from apple pomace: Effect of variables on composition and antioxidant capacity[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, 44: e14296.
- [21] 李映, 陈佳芸, 吴亚楠, 等. 酶法自茶叶中提取茶多酚工艺和口味研究[J]. *北京联合大学学报*, 2020, 34(3): 77-82.
- [22] 王莉. 角质酶在乙醇溶液的性质及其提取苹果多酚中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 7-23.
- [23] 袁晶, 张海燕, 曾朝珍, 等. 超声波辅助复合酶法提取苹果多酚工艺优化[J]. *保鲜与加工*, 2019, 19(6): 159-163.
- [24] ALONSO S R M, KORTA E, BARRANCO A, et al. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 933: 37-43.
- [25] 彭雪萍, 马庆一, 王花俊, 等. 超高压提取苹果多酚的工艺研究[J]. *食品科技*, 2008(3): 157-159.
- [26] LIUBOV S, ANASTASI A. Response surface modeling and optimization of polyphenols extraction from apple pomace based on nonionic emulsifiers [J]. *Agronomy*, 2020, 10: 92.
- [27] MALINOWSKA M, SLIWA K, SIKORA E, et al. Ultrasound-assisted and micelle-mediated extraction as a method to isolate valuable active compounds from apple pomace[J]. *Journal of Food Processing & Preservation*, 2018, 42: e13720.

(下转第 228 页)

- varezi*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*[J]. International Food Research Journal, 2011, 18(4): 1 449-1 456.
- [35] YAYLAYAN V A, KEYHANI A. Origin of 2,3-pentanedione and 2,3-butanedione in *D*-glucose/*L*-alanine maillard model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(8): 3 280-3 284.
- [36] JELEN H, GRACKA A. Characterization of aroma compounds; Structure, physico-chemical and sensory properties[M]// Elisabeth Guichard. Flavour: From Food to Perception. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd, 2016.
- [37] SANTOS A B, VIEIRA K R, NOGARA G P, et al. Bio-generation of volatile organic compounds by microalgae: Occurrence, behavior, ecological implications and industrial applications[M]//Frank Columbus. Volatile Organic Compounds: Occurrence, Behavior and Ecological Implications. New York: Nova Science Publishers, 2016: 1-23.
- [38] WENDEL T, JÜTTNER F. Lipxygenase-mediated formation of hydrocarbons and unsaturated aldehydes in freshwater diatoms[J]. Phytochemistry, 1996, 41(6): 1 445-1 449.
- [39] POHNERT G, BOLAND W. The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms[J]. Natural Product Reports, 2002, 19(1): 108-122.
- [40] GSCHWEND P M, MACFARLANE J K, NEWMAN K A. Volatile halogenated organic compounds released to seawater from temperate marine macroalgae[J]. Science, 1985(227): 1 033-1 035.
- [41] EKDAHL A, PEDERSEN M, ABRAHAMSSON K. A study of the diurnal variation of biogenic volatile halocarbons[J]. Marine chemistry, 1998, 63(1/2): 1-8.
- [42] BONNARME P, ARFI K, DURY C, et al. Sulfur compound production by *Geotrichum candidum* from *L*-methionine; importance of the transamination step[J]. FEMS Microbiol Lett, 2001, 205(2): 247-252.
- [43] WITHERS S T, KEASLING J D. Biosynthesis and engineering of isoprenoid small molecules[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 73(5): 980-990.
- [44] HSIEH M, GOODMAN H M. The arabidopsis IspH homolog is involved in the plastid nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis[J]. Plant Physiology, 2005, 138(2): 641-653.
- [45] 左照江. 藻类挥发性有机化合物研究进展[J]. 水生生物学报, 2017, 41(6): 1 369-1 379.
- [46] GRESSLER V, COLEPICOLOB P, PINTO A E. Useful strategies for algal volatile analysis[J]. Current Analytical Chemistry, 2009, 5(3): 271-292.
- [47] 刘百战. 固相微萃取和同时蒸馏萃取与气相色谱-质谱法分析芥末膏制品的风味成分[J]. 分析化学, 2000, 28(12): 1 489-1 492.
- [48] 郭凯, 芮汉明. 食品中挥发性风味成分的分离、分析技术和评价方法研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 110-115.
- [49] ALONSO A, FERNÁNDEZ-TORROBA M A, TENA M T, et al. Development and validation of a solid-phase micro-extraction method for the analysis of volatile organic compounds in groundwater samples[J]. Chromatographia, 2003, 57(5): 369-378.
- [50] 衣宇佳, 田怀香, 郑小平, 等. 同时蒸馏萃取和固相微萃取法提取国产干酪中风味物质[J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 65-69.
- [51] 王丽娟, 刘晓燕, 杨宋琪, 等. HS-GC-MS 法和 SDE-GC-MS 法分析杜氏盐藻挥发性成分[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 136-142.
- [52] 宋绍华, 裘迪红. 浒苔挥发性风味成分分析[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 177-180.
- [53] SÁNCHEZ-PALOMO E, ALAÑÓN M E, DÍAZ-MAROTO M C, et al. Comparison of extraction methods for volatile compounds of Muscat grape juice[J]. Talanta, 2009, 79(3): 871-876.
- [54] 张敏, 丁洪流, 金琦, 等. 5 种不同种属经济海藻挥发性成分的比较分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 251-255.
- (上接第 214 页)
- [28] LOHANI U C, MUTHUKUMARAPPAN K. Application of the pulsed electric field to release bound phenolics in sorghum flour and apple pomace[J]. Innovative Food Ence & Emerging Technologies, 2016, 35: 29-35.
- [29] 齐娜. 新疆红肉苹果多酚的提取纯化[D]. 西安: 陕西师范大学, 2018: 3-6.
- [30] 贺金娜, 曹栋, 史苏佳, 等. 大孔树脂纯化苹果多酚的工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(5): 135-141.
- [31] 王振宇, 刘春平. 大孔树脂 AB-8 对苹果多酚的分离纯化[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(4): 21-24.
- [32] 贺金娜, 曹栋, 史苏佳, 等. 苹果多酚的固相萃取纯化研究[J]. 食品工业科技, 2014(14): 290-293.
- [33] 张素宁, 彭子芳, 张光瑞, 等. 磁性固相萃取-液相色谱法测定果汁中的 3 种双酚类物质[J]. 河南工业大学学报, 2020, 41(2): 83-89.
- [34] CAO Xue-li, WANG Cong, PEI Hai-run, et al. Separation and identification of polyphenols in apple pomace by high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1 216: 4 268-4 274.
- [35] 李志华. 苹果多酚的提取、分离及降血糖活性成分研究[D]. 徐州: 中国矿业大学, 2014: 14-29.
- [36] 郭娟. 苹果渣中苹果多酚的提取、纯化及功效研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006: 13-44.