

双水相体系提取天然食用色素的研究进展

刘玉雅, 谢章荟, 高静*

(广东药科大学食品科学学院, 广东中山 528405)

摘要: 食品色素分为天然食用色素和人工合成色素, 天然食用色素因其色彩鲜艳、副作用少和潜在的生物活性, 在食品工业中越来越受到青睐。天然食用色素种类繁多, 来源丰富, 可从动物、植物、微生物或微生物代谢产物中获取。天然食用色素传统提取方法依赖有机溶剂的使用, 存在溶剂残留、提取效率低和环境污染的问题, 探索高效绿色的提取技术成为天然食用色素的研究热点之一。双水相提取技术具有操作简便、作用条件温和、提取效率高等优势, 近年来在天然食用色素提取领域得到广泛关注。本文归纳了天然食用色素提取的双水相体系类型, 从提取率、分配系数、选择性系数、动力学、热力学、提取机理和调控途径等方面论述了双水相体系在提取天然食用色素方面的研究进展, 展望了双水相体系在提取天然食用色素方面的优势和局限性, 旨在为双水相体系提取分离天然食用色素提供理论参考。

关键词: 双水相体系; 天然食用色素; 提取; 机理; 研究进展

文章编号: 1673-9078(2025)10-436-446

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.0940

Research Progress on the Extraction of Natural Edible Pigments Using Aqueous Two-phase Systems

LIU Yuya, XIE Zhanghui, GAO Jing*

(College of Food Science, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528405, China)

Abstract: Food pigments are divided into natural edible pigments and artificial synthetic pigments. Natural edible pigments are increasingly favored in the food industry because of their bright colors, few side effects and potential biological activities. Natural edible pigments are known for their great diversity and rich sources, and can be obtained from animals, plants, microorganisms or microbial metabolites. The traditional extraction methods for natural edible pigments generally rely on the use of organic solvents, which would cause problems such as occurrence of solvent residue, low extraction efficiency and environmental pollution. Exploring efficient and green extraction technologies for natural food pigments has become one of the research hotspots. Aqueous two-phase system (ATPS) extraction technology has advantages such as simple operation, mild reaction conditions, and high extraction efficiency. In recent years, it has received widespread attention in the field of natural food pigment extraction. This article summarizes the types of ATPS for extracting natural edible pigments, and discusses the research progress of ATPS in the extraction of natural food pigments from various aspects, including extraction rate, distribution coefficient, selectivity coefficient, kinetics, thermodynamics, extraction mechanisms, and regulation approaches. Furthermore, the advantages and limitations of ATPS in the

引文格式:

刘玉雅, 谢章荟, 高静. 双水相体系提取天然食用色素的研究进展[J]. 现代食品科技, 2025, 41(10): 436-446.

LIU Yuya, XIE Zhanghui, GAO Jing. Research progress on the extraction of natural edible pigments using aqueous two-phase systems [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(10): 436-446.

收稿日期: 2024-07-03; 修回日期: 2024-08-17; 接受日期: 2024-08-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(22078070); 广东省基础与应用基础研究面上项目(2019A1515010640); 广东省教育厅重点项目(2022ZDZX4025); 特定人群功能性食品研究开发团队(2024ZZ12)

作者简介: 刘玉雅(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: 572255927@qq.com

通讯作者: 高静(1985-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 生物活性物质的提取与应用, E-mail: gaojing1231@163.com

extraction of natural edible pigments are discussed, aiming to provide a theoretical reference for the extraction and separation of natural edible pigments utilizing the aqueous two-phase system.

Key words: aqueous two-phase system; natural edible pigments; extraction; mechanism; research progress

食品是人类赖以生存的基本物质保障，随着人民生活水平的跃升，人们的环保和健康意识也逐渐提升，绿色食品的开发成为必然之势。食品色素作为食品研发的关键角色，不仅美化食品外观，更助力提升品质，满足现代人对美好生活的追求。食品色素分为天然食用色素和人工合成色素两类，人工合成色素具有稳定性好、着色性强和成本低等优点，但违规使用会危害人体健康^[1,2]。我国《食品添加剂使用卫生标准》严格限定了在食品中的人工合成色素种类、安全使用剂量和使用范围。与人工合成色素相比，天然食用色素因其色彩鲜艳、副作用少和潜在的生物活性，在食品工业中越来越受到青睐。天然食用色素可从动物、植物、微生物或微生物代谢产物中提取，不仅具有给食品赋色的功能，部分天然食用色素还具有抗氧化、清除自由基以及抗菌、抗癌和预防慢性疾病的作用^[3-6]。天然食用色素的传统提取方法普遍采用有机溶剂，但提取率较低，分离纯化难度大，环境污染风险高。

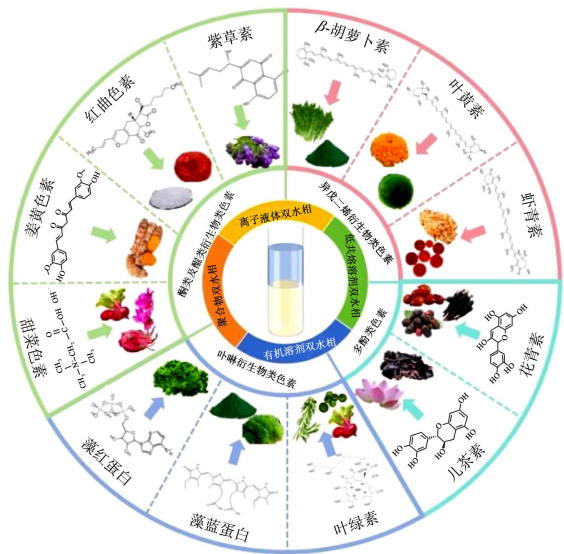


图 1 双水相体系提取天然食用色素的种类及其结构
Fig.1 The types and structures of natural edible pigments extracted by aqueous two-phase systems

近年来，双水相提取技术在提取天然食用色素方面取得一定进展，例如异戊二烯衍生物类色素、多酚类色素、卟啉衍生物类色素、酮类及醌类衍生物类色素等均可以通过双水相法从不同资源中提取（图 1）。与其他提取体系相比，双水相体系含水量高，具有操作条件温和、生物相容性高、可规模化生产等优势，

对于原料中含量低、活性高的成分能起到较好的保护作用^[7]。目前，应用于天然食用色素提取的双水相体系类型有：有机溶剂双水相、聚合物双水相、离子液体双水相和低共熔溶剂双水相。当前关于针对不同色素的适宜性的双水相提取体系还缺乏系统的归纳。

本文基于天然食用色素的结构和性质归纳了适合天然食用色素提取的双水相体系类型，从提取率、分配系数、选择性系数、动力学、热力学、提取机理和调控途径等方面论述了双水相体系在提取天然食用色素方面的研究进展，阐述双水相体系在提取天然食用色素方面的优势和局限性，为天然食用色素提取理论研究及工业化推广提供参考。

1 天然食用色素的提取效果

根据天然食用色素结构分为异戊二烯衍生物类色素、多酚类色素、卟啉衍生物类色素、酮类及醌类衍生物类色素。表 1 列举了双水相体系在提取天然食用色素方面的应用研究，从提取量、提取率、分配系数和选择性系数四个方面归纳了不同双水相体系的提取效果。

1.1 提取量和提取率

1.1.1 异戊二烯衍生物类色素

双水相提取异戊二烯衍生物类色素主要集中于β-胡萝卜素、叶黄素和虾青素。异戊二烯衍生物类色素分子间含有大量C=C的共轭体系，动物、植物及微生物均可通过类异戊二烯的次生代谢途径生成以异戊二烯为单位聚合而成的共轭双键长链色素^[35]。

1.1.1.1 β-胡萝卜素

β-胡萝卜素常用旋转蒸发的方式从传统溶剂提取物中分离，但β-胡萝卜素在长时间暴露于光和热下时会发生氧化降解^[36]。采用双水相提取β-胡萝卜素可有效避免在光和热长期暴露下降解的风险。李诺等^[8]采用乙醇和正丁醇构建有机溶剂双水相，结合超声辅助提取黄秋葵叶中的β-胡萝卜素，经响应面法优化后，β-胡萝卜素的提取量为 9.12 mg/g，且超声温度和乙醇质量分数是影响β-胡萝卜素提取量的主要因素。王音等^[9]采用叔丁醇和麦芽糖构建有机溶剂双水相，结合超声辅助提取螺旋藻中的β-胡萝卜素，该体系与有机溶剂和盐双水相体系提取率相当，均能达到 3 mg/g 以上，显著高于超声辅助提取法 1.94 mg/g。

表 1 双水相体系提取天然食用色素的工艺参数和提取效果

Table 1 Process parameters and extraction effects of natural edible pigment extraction using aqueous two-phase system									
体系	物质组成	辅助方法	提取工艺	目标分子	提取量/ (mg/g)	提取 率/%	分配 系数	选择性 系数	参考 文献
有机 溶剂	乙醇-正丁醇	超声波	料液比 1:100 (g/mL), 40 ℃ 超声 3 min	β-胡萝卜素	9.12	—	—	—	[8]
	叔丁醇-麦芽糖	超声波	料液比 1:200 (g/g), 90 W 超声 5 min	β-胡萝卜素	3.19	—	—	—	[9]
	乙醇-硫酸铵	微波 复合酶	料液比 1:45 (g/mL), 酶浓度 0.45 U/g, 45 ℃, 酶解 150 min, 微波功率 270 W, 持续时间为 120 s	叶黄素	7.32	99.85	—	—	[10]
	乙醇-硫酸铵	超声波	料液比 1:20 (g/mL), 提取振荡 30 s, 静置 10 min	叶黄素	1.99	—	—	—	[11]
	乙醇-硫酸铵	—	料液比 1:15, 25 ℃, 提取时间 3 h/ 次	虾青素	—	89.09	—	—	[12]
	乙醇-硫酸钠	—	料液比 1:51.71 (g/mL), 30 ℃, 提取时间 97.71 min	花青素	15.79	—	—	—	[13]
	丙醇-硫酸铵	超声波	料液比 1:37 (g/mL), 35 ℃, 超声 25 min	儿茶素	—	46.01	—	—	[14]
	乙醇-硫酸铵	超声波	料液比 1:35.33 (g/mL), pH 值 8, 40 ℃, 487 W 超声 30 min	儿茶素	—	98.47	—	—	[15]
	正丙醇-柠檬酸钠	—	料液比 3:20 (g/g), 25 ℃, 涡旋搅拌 10 s, 黑 暗放置 1 h, 11 000 × g 离心 5 min	甜菜色素	—	90	—	—	[16]
	乙醇-硫酸铵	—	pH 值 4~8, 25~65 ℃, 5 000 r/min 离心 5 min	红曲色素	—	98.13	171.91	—	[17]
聚合 物	PEG6000-硫酸铵	—	样品质量分数 12%, pH 值 3, 室温涡旋混合 25 min, 4 000 r/min 离心 10 min	花青素	—	94.17	—	—	[18]
	PEG2000-硫酸钠	超声波全 细胞催化	样品质量分数 14%, 室温, 40 kHz 超声 15 min; 4 ℃, 5 000 r/min 离心 5 min; pH 值 4.5, 45 ℃, 细胞质量分数 7.5%, 反应 1.5 h	花青素	—	66.56	—	—	[19]
	PEG1450-磷酸钾	—	pH 值 6, 搅拌约 2 h, 室温 (27 ± 2 ℃) 下放置过夜	藻红蛋白	—	63.00	—	—	[20]
	PEG4000-柠檬酸钠	—	样品质量分数 2.5%, 22 ℃, 1 000 r/min 搅拌 10 min, 黑暗静置 24 h	甜菜色素	—	92.41	—	—	[21]
	PPG-乙二醇-[C ₄ mim]Cl	—	料液比 1:250 (g/mL), 25 ℃, 0.1 MPa, 3 000 r/min 离心 15 min	姜黄色素	—	100.00	—	—	[22]
	PPG400-Ch DHcit-[C ₂ mim]Cl	—	涡旋混合 2 min, 3 000 r/min 离心 10 min	叶黄素	—	102.61	—	—	[16]
	[P ₄₄₄₈]Br-磷酸钾	—	料液比 1:20 (g/mL), 涡旋大力混合 5 s, 35 ℃, 平衡 12 h	虾青素	—	93.08	23.41	—	[19]
	Ch DHp-PEG400	—	50 r/min 摇床搅拌 1 h, 1 200 × g 离心 10 min	叶绿素	—	51.60	—	—	[33]
	[N ₂₁ (2OH)(2OH)] Br-PPG	—	料液比 1:8.33 (g/mL), 20 ℃, 提取时间 70 min	叶绿素	—	92.00	—	—	[34]
	[C ₄ mpy]DCN-柠檬酸 缓冲液	—	料液比 1:10 (g/mL), pH 值 6, 涡旋搅拌, 2 000 r/min 离心 5 min	藻蓝蛋白	—	83.26	—	—	[38]
离子 液体	[N ₂₁ (2OH)(2OH)] Br-PPG	—	料液比 1:8.33 (g/mL), 20 ℃, 提取时间 70 min	甜菜色素	—	95.00	—	—	[34]
	[P ₄₄₄₄]Br-果糖	—	pH 值 2, 30 ℃, 静置 24 h	姜黄色素	—	99.56	>1	—	[46]
	[Ch][Hex]-PluronicF68	—	料液比 3.5:6.0 (mg/g), 15 r/min 摇床混合 60 min, 30 ℃, 50 W 超声 45 min, 5 ℃ (± 0.15 ℃) 下放置平衡	姜黄色素	—	92.13	—	≥25	[47]
	[Bmim]Cl-Triton X-100	—	pH 值 2, 60 ℃ 孵育 12 h	红曲色素	—	—	—	—	[49]
	[C ₄ MIM][BF ₄]-SDS	超声波	样品量 10 mg, pH 值 7, 120 W 超声 15 min, 2 000 r/min 离心 5 min	紫草素	—	90.00 ~97.73	—	—	[51]
	[ChCl][Fru]-[P ₄₄₄₈]Cl	—	料液比 1:20 (g/mL), 30 ℃, 摇床转速 170 r/min, 提取时间 0.5 h	虾青素	2.35	—	103.59	48.31	[32]
	[ChCl][Urea]-K ₂ HPO ₄	—	样品质量分数 1.0%, pH 值 7, 涡旋混合, 静置 10 min	藻蓝蛋白	—	94.20	—	—	[33]
	[ChCl][Urea]-K ₂ HPO ₄	—	样品量 0.04 mg, 25 ℃, 提取时间 20 min	藻红蛋白	—	69.99	—	—	[34]
低共 熔溶 剂									

1.1.1.2 叶黄素

传统提取叶黄素的过程中存在提取时间过长,温度较高,导致耗能高且叶黄素等类胡萝卜素降解等问题。Fu 等^[10]采用微波和酶辅助,选择乙醇和硫酸铵构建有机溶剂双水相从万寿菊中提取叶黄素,该体系提取率略低于索氏提取法,为 7.32 mg/g。但前者抗氧化性($IC_{50}=12.82\text{ }\mu\text{g/mL}$)高于后者($IC_{50}=12.01\text{ }\mu\text{g/mL}$),原因是索氏提取法在高温条件下易导致叶黄素被快速降解^[37]。相关研究表明,乙醇在双水相中的质量分数还与叶黄素提取率呈正相关趋势^[11]。不仅如此,Paliwal 等^[38]采用水基离子液体从小球藻中提取叶黄素,证明叶黄素在离子液体中的稳定性是在传统溶剂甲醇中的三倍。Zhang 等^[23]比较 4 种不同胆碱基化合物和聚乙二醇 400 (PEG400)组成的离子液体双水相体系提取性能,其中柠檬酸二氢胆碱离子液体(Ch DHcit)双水相提取能力最佳($P<0.05$),双水相顶层叶黄素含量达到 3.83 mg/g;还比较了 6 种咪唑类离子液体作为湿小球藻叶黄素提取的辅助剂,少量 1-乙基-1-甲基咪唑氯化物($[C_2mim]Cl$)的引入使叶黄素的提取率提高了 9.98%。在多次提取过程中,叶黄素三次分配的总提取率达到 102.61%。为了提升能源效率并加速叶黄素提取过程,有必要继续探索并创新叶黄素的提取策略,以期在短时间内实现更高的提取效率。

1.1.1.3 虾青素

虾青素由于其富含电子的共轭双键结构^[39],对热、光和氧非常敏感,乙醇和硫酸铵有机溶剂双水相可使虾青素提取液中的各类型虾青素都沉淀^[12],沉淀率为 89.09%;与乙醇浸提法相比,双水相体系去除了部分与虾青素结合的蛋白质使得虾青素浓度和品质有所提高。Gao 等^[24]采用三丁基辛基溴化磷($[P_{4448}]Br$)和磷酸钾构建离子液体双水相体系从虾废弃物中提取虾青素,与甲醇、己烷、丙酮等有机溶剂相比,在 35℃ 时获得更高提取率为 93.08%。但丙酮的提取率最低为 28%,可能是丙酮的极性较大,导致虾青素提取率降低,表明溶剂的极性与虾青素的溶解度密切相关。研究表明,离子液体可以有效地破坏红球藻的藻类残留物,使藻类残留物中的虾青素更容易提取^[40]。Zhang 等^[32]采用低共熔溶剂(氯化胆碱和 D-果糖)与氯化三丁基辛基磷($[P_{4448}]Cl$)构建低共熔溶剂双水相从雨生红球藻中提取虾青素,提取量为 2.35 mg/g。双水相体系在虾青素提取中展现出高效性,可为从生物资源中提取疏水性生物分子及分离相似结构化合物提供理论基础和设计指导。

1.1.2 多酚类色素

双水相提取多酚类天然食用色素的研究主要集中

于花青素和儿茶素两类,其基本碳架结构组成为 2-苯基苯并吡喃和多羟基^[41]。

1.1.2.1 花青素

花青素的传统提取方法依赖于有机溶剂,但有机溶剂废液处理不仅昂贵^[42],对人体健康有害,还易污染环境。Odabaş 等^[13]采用乙醇和硫酸铵构建有机溶剂双水相从蔷薇果中提取花青素,其提取纯度比有机溶剂法提高了 1.8 倍,提取量为 15.79 mg/g。李治城等^[18]采用 PEG6000 和硫酸铵双水相提取黑胡萝卜中的花青素,提取率为 94.17%,研究表明硫酸铵的质量分数对提取率的影响较大。Li 等^[19]采用 PEG2000 和硫酸钠构建聚合物双水相提取花青素 C_3G ,通过增加全细胞催化辅助, C_3G 纯度可达 83.49%。且与乙醇和硫酸铵双水相体系相比,该体系全细胞催化 C_3G 转化率从 47.11% 提高到 66.56%,五轮重复使用后,全细胞活性保持在 50% 以上。双水相体系提取花青素,不仅得率高、纯度高,还克服了传统提取方法杂质多、能耗高、难以工业化等缺点。

1.1.2.2 儿茶素

儿茶素可作为抗氧化剂,防止脂质氧化^[43],其氧化产物是显色化合物^[44],添加儿茶素可以改善食品的颜色和风味^[45]。传统提取儿茶素的方法,存在加工时间长和使用有害溶剂等缺点,为了解决这一问题并提高提取效率,郑琰等^[14]采用丙醇和硫酸铵构建有机溶剂双水相,结合超声辅助从普洱中提取儿茶素。研究表明,经响应面法优化后,儿茶素提取率提高了 3.55%,料液比是影响儿茶素提取效果的最主要因素。与单独采用超声辅助乙醇提取法^[46]相比,具有提取率高、提取条件较温和等优势。Chen 等^[15]则采用乙醇和硫酸铵构建有机溶剂双水相,结合超声辅助从莲花中提取儿茶素,与单独采用双水相提取和体积分数为 60% 的乙醇提取相比,其多酚提取率最高,可达 98.47%。此外,双水相体系结合超声辅助提取的多酚还具有良好的抗氧化活性。

1.1.3 卟啉衍生物类色素

卟啉衍生物类色素主要由四个吡咯环构成,这些吡咯环通过亚甲基桥相互连接,形成一个大型的平面环状结构^[35]。双水相提取卟啉衍生物类色素的研究主要集中于叶绿素、藻蓝蛋白和藻红蛋白。

1.1.3.1 叶绿素

现有研究多采用离子液体双水相提取叶绿素。Ruiz 等^[25]采用胆碱氨基酸磷酸二氢钾(Ch DHp)和 PEG400 构建离子液体双水相对微藻蛋白质和叶绿素进行分离,在聚合物富集相中回收了约 51.6% 的叶绿素,且约 92.2% 的蛋白质在水相(界面)之间被回收。

Rosa 等^[26]采用热可逆法,选用离子液体 $[N_{21(20H)}(20H)]Br$ 和聚丙二醇构建离子液体双水相从红甜菜废弃物中提取叶绿素,在固液比 0.12、20 °C 下提取 70 min,叶绿素提取率可达 92%。此外,以表面活性剂为主要组分构建双水相提取天然食用色素,如选用 Triton X-100 和磷酸盐缓冲液构建双水相体系提取迷迭香叶中的叶绿素^[47]。叶绿素对高温(>100 °C)敏感,较高的温度可能会破坏叶绿素,导致叶绿素提取率降低^[48]。双水相体系提取叶绿素不仅提取率高,而且具有温和的提取条件,可有效提高叶绿素的稳定性。

1.1.3.2 藻蓝蛋白

藻蓝蛋白的常见提取方法有冻融法、超声法、均质法和脉冲电场^[49]等,为努力解决藻蓝蛋白对 pH 值、温度和光照敏感性等问题,Choi 等^[27]采用 1-丁基-1-甲基吡咯烷双氰胺($[C_4mpy]DCN$)和柠檬酸缓冲液构建离子液体双水相从钝顶螺旋藻中提取藻蓝蛋白。当 pH 值为 6 时,藻蓝蛋白的提取率约为 83.26%,可能是 pH 值为 6 时柠檬酸盐缓冲液生物相容性较好,为藻蓝蛋白提供了更好的导电环境,具有较强的盐析效应。Zhuang 等^[33]采用低共熔溶剂(氯化胆碱和尿素)与磷酸氢二钾构建低共熔溶剂双水相从螺旋藻中提取藻蓝蛋白,藻蓝蛋白的产量从 86% 提高到 90% 以上^[50]。采用双水相提取藻蓝蛋白时,需关注 pH 值对提取率的影响,并继续筛选温和的提取条件,以实现低能耗、高经济效益的提取过程。

1.1.3.3 藻红蛋白

双水相提取藻红蛋白具有提取时间短、能耗低、纯度高等优点。Xu 等^[34]采用低共熔溶剂(氯化胆碱和尿素)与磷酸氢钾构建低共熔溶剂双水相从海藻中提取藻红蛋白,提取率为 69.99%;结合硫酸铵沉淀法对藻红蛋白进行纯化,纯度为 3.825,达到药品级纯度(3.0)。此外,紫外-可见光谱、荧光光谱等研究表明,藻红蛋白的空间结构和二级结构在整个提取过程中不受影响。Mittal 等^[20]采用 PEG1450 和磷酸钾构建聚合物双水相,联合集成工艺从海洋大型藻类中提取藻红蛋白,藻红蛋白纯度提高了 9.25 倍,分步收率为 72%,总收率为 63%。由此可知,双水相提取联合集成工艺(沉淀、超滤等)可有效提高藻红蛋白的提取率和纯度。

1.1.4 酮类及醌类衍生物类色素

酮类衍生物类色素其化学结构主要由羰基($C=O$)与两个烃基相连而成,醌类衍生物类色素则是一类含有环己二烯二酮或环己二烯二亚甲基结构的有机化合物。双水相提取酮类及醌类衍生物类色素的研究主要集中于甜菜色素、姜黄素、红曲色素及紫草素。

1.1.4.1 甜菜色素

甜菜色素是一种 L-酪氨酸衍生的水溶性含氮生物碱类色素,包括甜菜红素和甜菜黄素两类^[51]。García-Cruz 等^[16]采用正丙醇和柠檬酸钠构建有机溶剂双水相,采用多阶段法从火龙果中提取甜菜色素,提取率高于 90%;且甜菜红素(Bc)和甜菜黄素(Bx)分别集中在下相和上相,证明该体系具有在顶相和底相之间提取火龙果果实中甜菜红素和甜菜黄素的潜力。类似的,采用 PEG4000 和柠檬酸钠构建聚合物双水相提取三角梅苞片中的甜菜色素,也可部分实现 Bc 和 Bx 的分离^[21]。Rosa 等^[26]采用 $[N_{21(20H)}(20H)]Br$ 和聚丙二醇热可逆双水相体系从红甜菜废弃物中提取甜菜色素,经响应面试验优化,在中等的固液比、提取时间和温度下,甜菜色素提取率可达到最大值为 95%。

1.1.4.2 姜黄色素

姜黄色素一般采用传统提取技术,如浸渍法、索氏提取法和溶剂提取法,使用甲醇、乙醇、乙腈、二甲基亚砜、丙酮和其他极性溶剂从姜黄中提取姜黄色素。尽管其提取设备相对简单,但现有的提取方法存在效率低下的问题。因此,学者们正致力于探索一种既简便又绿色高效的提取方式。Ghasemzadeh 等^[28]采用四丁基溴化磷($[P_{4444}]Br$)和果糖构建离子液体双水相提取姜黄色素,姜黄色素的分配系数大于 1,更倾向于分布在上相(富离子液体相),最大提取率为 99.558%。Kurnik 等^[29]采用共聚物构建离子液体双水相从姜黄粗提物中提取姜黄色素,选择性系数 ≥ 25 。Buarque 等^[22]采用选择聚丙二醇和乙二醇和离子液体($[C_nmim]Cl$)组成聚合物双水相从藏红花中提取姜黄色素,当离子液体组分为 1-己基-3-甲基咪唑氯盐($[C_6min]Cl$)时,姜黄色素提取率为 100%,分配完全。研究表明,姜黄色素的分配行为随着离子液体烷基侧链长度的增加而增强。

1.1.4.3 红曲色素

红曲色素作为一种微生物类色素,因其原料易得和热稳定性好等特性而备受关注。Zhao 等^[30]采用 1-丁基-3-甲基咪唑氯化铵($[Bmim]Cl$)和 Triton X-100 构建离子液体双水相,从经发酵后味精中提取红曲色素,可将味精残留的阴离子红曲色素从浊点提取的凝聚相转移到富含离子液体的水相中。孔维宝等^[17]采用乙醇和硫酸铵构建有机溶剂双水相从紫色红曲菌 YY1-3 菌株发酵液中简单高效提取红曲色素,其最大提取率为 98.13%。双水相体系使得从各种微生物来源中提取各类微生物色素成为可能,不仅成本效益显著,还极大减少了传统提取方法带来的环境影响。

1.1.4.4 紫草素

紫草素是中药紫草中的一种紫红色萘醌类化合物,其主要成分是紫草醌及其衍生物。Sun 等^[31]采用 1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐([C₄MIM][BF₄])和十二烷基苯磺酸钠构建离子液体双水相,结合超声辅助从新疆紫草中提取紫草素,提取率为 90.00%~97.73%,与热回流提取法相比,操作更简便。同时,与乙醇溶剂提取法^[52]相比,具有提取时间短,作用条件温和提取率相当等优势。双水相体系提取紫草素为紫草药用植物资源的绿色、高效开发利用提供了参考依据。

1.2 分配系数和选择性系数

双水相体系在提取目标物质时,提取量和提取率体现了其分离与富集的效率 and 性能。而分配系数与选择性系数则进一步揭示了体系对目标物质的选择性分离能力,以及在两种目标物质之间的相对选择性,共同构成了评价体系提取效果的关键指标。

1.2.1 分配系数

双水相提取的分配系数(K)反映的是物质在双水相体系中两个不同相之间分配情况,即物质在上相和下相的浓度之比,其一般与双水相体系的组成和浓度、目标物质的性质以及环境等因素相关。孔维宝等^[17]采用质量分数为 16% 的乙醇和质量分数为 28% 的硫酸铵构建有机溶剂双水相时,红曲色素的分配系数可达 171.91。Gao 等^[24]采用离子液体构建双水相提取虾青素,温度从 25 °C 升至 35 °C 时,虾青素的分配系数从 9.96 显著增加到 23.41;温度高于 35 °C 时,虾青素提取量显著降低。研究表明,虾青素的疏水性及其与水的相互作用可能会随着温度的升高而减弱。Zhang 等^[32]采用低共熔溶剂构建双水相提取虾青素时,其分配系数为 103.59。研究表明,红曲色素和虾青素在两者的体系上下相中已实现有效的分离。目前,双水相提取天然食用色素使用分配系数作为指标评判的研究较少,缺乏对目标物质上下相分配情况探究,不利于目标物质后续的富集和纯化。

1.2.2 选择性系数

双水相提取天然食用色素的选择性是依据选择性系数 β 判断的,反映了双水相体系对两种不同组分的分离能力。即基于分配系数 K 计算出目标分子和其他物质在两相中的分配情况后,通过目标分子与其他物质的分配系数之比得出。选择性系数越大,说明该体系对目标分子的分离效果越好,即目标分子与其他物质之间的分离能力越强。Zhang 等^[32]采用构建低共熔溶剂双水相从雨生红球藻中提取虾青素,虾青素酯和

游离虾青素均可被选择性识别,选择性系数为 48.31,且该体系在循环使用三次后仍保持出色的提取能力。Kurnik 等^[29]采用离子液体双水相提取姜黄色素,可与基于蛋白质的污染物选择性分离,其选择性系数 ≥ 25 。Rodríguez-Herrera 等^[21]采用聚合物双水相提取甜菜色素,上下两相均可部分实现甜菜红素(Bc)和甜菜黄素(Bx)的分离,在上相中选择性系数为 2.82~3.26,下相中选择性系数为 1.26~1.45。

实际上,天然食用色素因结构、性质以及在两种相中的亲疏性差异和分子间的疏水相互作用、氢键相互作用、范德华力等因素影响呈现明显的选择性分配^[53]。但是,目前研究普遍以提取率作为单一指标评价提取效果,缺乏深入探究天然食用色素在双水相中的选择性分离情况。尤其是天然食用色素从天然原料中提取,各相成分复杂,有多重目标分子共存。其主要技术难点在于如何调节双水相各相性质差异,针对不同目标色素的溶解性达到选择性分离。此外,还需特别关注溶剂组成、性质和浓度等因素对选择性提取的影响。

2 提取机理

“盐析效应”是形成双水相体系的基本原理,成相规律遵循 Hoffman 准则,但是不同体系随成相分子结构的差异有所区别,如离子液体与低共熔溶剂和表面活性剂的成相则是基于“液体孔洞”理论^[54]和胶束平衡状态^[55](图 2)。目前双水相体系提取天然食用色素的研究主要集中在体系性质的研究和提取效果的比较,对其提取机理的研究相对较少。

邵琳琳等^[56]通过同步荧光光谱的研究,表明硫酸钠的添加不仅能够促进分相,还可以增强藻蓝蛋白与 PEG1000 结合过程的疏水作用,与双水相提取结果相符。Zhang 等^[32]通过分子模拟方法,进一步研究了低共熔溶剂双水相提取虾青素酯和游离虾青素的机理;研究表明,离子液体[P₄₄₄₈][Cl]和低共熔溶剂的所有组分通过氢键和范德华力以及空间位阻效应与虾青素酯和游离虾青素相互作用,导致分子相互迁移。藻蓝蛋白的等电点(PI)在 4.6~5.2 之间,Choi 等^[27]通过对比藻蓝蛋白在 pH 值 6 或 7 时的提取率差异,认为表面性质或疏水效应是对藻蓝蛋白分配行为的关键影响,而不是静电相互作用。Xu 等^[34]通过透射电镜观察到聚集和包围现象是藻红蛋白提取的驱动力。此外,付玉洁等^[57]采用低共熔溶剂双水相提取纤维素酶,紫外光谱和荧光光谱研究表明,低共熔溶剂与纤维素酶之间没有形成化学键;电导率和动态光散射分析表明,低

共熔溶剂的簇集作用是低共熔溶剂双水相体系提取纤维素酶的主要驱动力。综上所述,双水相体系的提取机理是基于其成相机理的强化,通过优化双水相体系提取条件参数、同步荧光光谱分析、分子模拟和透射电镜观察等多种方法可揭示天然食用色素提取机理,进而实现高效、高选择性的提取。

3 提取动力学和热力学

3.1 动力学

双水相提取天然食用色素所需时间相对于溶剂提取、离子交换等其他方法较少,双水相体系达到平衡态的速度快,因此其动力学研究具有一定难度^[58]。李诺等^[11]采用超声辅助乙醇和硫酸铵双水相提取黄秋葵叶中的叶黄素,当反应级数 $n=2$ 时,动力学曲线最接近直线,符合二级动力学方程。Chang 等^[59]研究了离子液体双水相对藻蓝蛋白(CPC)的提取过程,发现CPC进入离子液体相是一个决定速率的步骤,且离子液体的烷基链长度对CPC提取能力的影响不显著。推测CPC从离子液体双水相中的提取是通过水-离子液体界面的分子扩散控制的,可能涉及多种结合相互作用(如疏水性、离子电荷和特定的相互作用)。双水相提取天然食用色素动力学受时间、温度、疏水相互作用、体系组分及浓度等多种因素影响,这些因素共同决定了提取效率和过程动力学。因此,对双水相提取天然食用色素进行动力学研究,有助于优化提取条件,提高天然食用色素的提取率。

3.2 热力学

温度会改变溶剂的物理化学性质,影响天然食用色素在两相中的分配;也可能增加分子热运动,加快传质速率,但温度过高可能导致天然食用色素的降解以致失活。因此,对提取过程的热力学研究尤为重要。热力学参数 ΔG (吉布斯自由能变)、 ΔH (焓变)和 ΔS (熵变)常被用来判断一个反应或过程是否自发进行。Gao 等^[24]研究四种离子液体双水相体系在温度 35 °C 下提取虾青素的 ΔG 和 ΔH 均为负值,表明虾青素在富离子液体相中自发且优先分配;虾青素在传质过程中为放热转移,即低温更有利于提取。Gomes 等^[47]通过调控温度促进两相的形成。Chang 等^[59]利用基于离子液体双水相提取藻蓝蛋白的热力学参数显示 ΔG 值均为负值, ΔH 和 ΔS 为正值,表明在提取过程

中是自发进行的吸热反应且为整体无序性。 ΔG 的负向变化表明, ΔS 值是提取过程的主导因素。因此,尽管带负电的藻蓝蛋白和带正电的离子液体之间存在静电相互作用,但疏水相互作用在提取过程中占主导地位。双水相提取过程的热力学研究,有助于明确温度对提取体系相行为的影响规律和提取效果之间的平衡。

4 提取调控途径

4.1 提取体系组成及其比例

双水相体系由两种溶剂组分在适宜浓度或在一个特定温度下相互混合形成。李治城等^[18]采用 PEG6000 和硫酸铵双水相提取花青素,硫酸铵质量分数的增加,花青素的选择性系数和提取率呈现先升高后降低的现象。可能是硫酸铵质量分数的增加,导致其下相水合能力增强,加强了上下两相物质的分离效果^[60],但过量加入的硫酸铵会分布于上相中,不利于色素的提取^[61]。Zhuang 等^[33]采用低共熔溶剂(氯化胆碱和尿素)与磷酸氢二钾双水相提取藻蓝蛋白。研究表明,尿素含量增加,低共熔溶剂摩尔比为 1:2 时,提取率达到最大值 61.49%;氯化胆碱含量降低,提取效率虽然略有下降,但仍能保持在 93.34% 以上。可能是尿素含量的增加增强了低共熔溶剂的流动性,从而缓解了因高黏度而阻碍产物在顶相中分布的空间位阻现象。Rashid 等^[62]研究也表明,低共熔溶剂黏度的降低可以提高提取介质在生物质中的扩散速率。因此,适当调整双水相组分的质量分数和溶剂摩尔比,可有效调节双水相的分配比例,从而更好地实现目标物质的选择性分离。

4.2 提取时间

从动力学角度分析,提取时间是双水相提取天然食用色素重要影响因素之一。王音等^[9]对螺旋藻粉末加入量、超声功率和超声时间三个因素进行正交试验设计,确定提取 β -胡萝卜素的最佳提取时间为 5 min。Rosa 等^[26]通过响应面优化固液比、温度和提取时间对提取率的影响,得出 70 min 为提取甜菜色素和叶绿素的最佳提取时间。一般来看,提取率随着提取时间的延长而增大,直至达到平衡状态,但天然食用色素可能因过长的提取时间导致不稳定甚至失活,提取率下降^[63]。

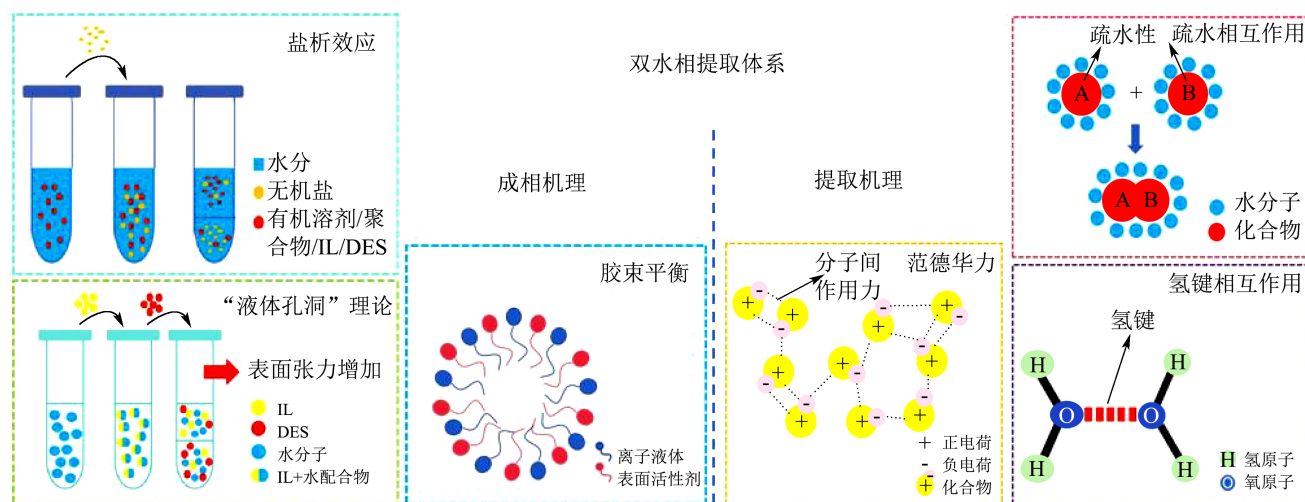


图2 双水相提取体系的成相机理和提取机理

Fig.2 The phase formation mechanism and extraction mechanism of aqueous two-phase extraction system

4.3 提取温度

双水相提取体系可根据高临界共熔温度 (UCST) 和低临界共熔温度 (LCST) 分为两种截然相反的热可逆相转变行为的提取体系。Rosa 等^[26]提取色素采用离子液体和 PPG 的单相水溶液进行, 通过温度开关实现相分离, 使叶绿素和甜菜色素同时分离成相反的相。其温度开关是根据离子液体聚合物对的不同, 所构建的双水相可表现出类似 UCST 或 LCST 的行为。在这种情况下, 给定离子液体的所有相图都显示出随着温度的升高, 两相区的范围也在增加的趋势, 表明所研究的双水相遵循 LCST 型行为, 这是聚丙二醇和水二元体系 LCST 型行为的直接结果。由于聚丙二醇是一种温度依赖性聚合物, 随着温度的升高其疏水性增加, 因此它更容易从聚合物中置换出来。Zhang 等^[32]研究低共熔溶剂和离子液体双水相在 25 °C 至 65 °C 不同温度下的相行为, 得出双水相体系表现出两阶段行为。同时, 研究表明 LCST 型离子液体比 UCST 型离子液体具有更强的形成双水相和提取虾青素的能力, 并且含有 [P₄₄₄₈]Br 和 [P₄₄₄₈]Cl 的双水相体系比含有 1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐 ([C₄mim]BF₄)、四丁基溴化磷 ([P₄₄₄₄]Br) 和四丁基氯化磷 ([P₄₄₄₄]Cl) 的双水相体系具有更高的提取率。因此, 在提取条件的选择方面需要平衡目标分子的热敏特性和提取率两个参数, 以实现经济效益的最大化。

4.4 各相pH值

pH 值响应型双水相体系应用于天然食用色素提取鲜有报道, 但 pH 值响应型聚合物双水相已被应用于其他天然活性分子提取。当 pH 值改变时, 聚合物以

可控的方式发生构象变化^[64-66]。聚合物通常使用具有高密度酸性和碱性基团的聚电解质制备, 可以分别发生去质子化和质子化, 从而形成对 pH 值变化响应的高电荷基团^[67-69]。Cai 等^[70]采用聚低共熔溶剂和磷酸钾构建聚合物双水相提取芳香族氨基酸。聚低共熔溶剂中的聚丙烯酸链含有高密度的羧酸基团, 这些羧基在不同的 pH 值下发生 pH 值依赖的质子化和去质子化。通过调控 pH 值和温度, 不仅能够调节目标分子的提取效果, 而且可实现溶剂的回收和循环利用。此外, 需注意 pH 值和温度调节范围对天然食用色素稳定性的影响。

4.5 辅助手段

超声、微波和酶法等辅助手段与双水相提取技术的优势相结合, 可实现更高效的分离提取。例如, Fu 等^[10]在有机溶剂双水相的基础上, 同时采用微波和酶辅助提取叶黄素, 其提取率均高于微波辅助双水相提取和酶辅助两相提取。Huang 等^[63]采用超声波和纤维素酶辅助低共熔溶剂双水相提取南瓜皮中 β -胡萝卜素等天然食用色素, 调控超声功率为 300 W 和酶添加量质量分数为 2.10% 时达到最大提取率。但双水相体系在提取天然食用色素时因其高效性而较少需要辅助手段, 且超声波和微波等辅助手段由于成本问题及难以在工业中大规模应用, 使其推广受到限制。

5 结论与展望

目前, 根据天然食用色素原料、用途及剂型的不同, 双水相体系提取天然食用色素分别采用溶剂蒸发、结晶、膜过滤、色谱分离等方法进行回收和纯化, 但

关于体系中溶剂的回收循环利用鲜有报道。在实际工业生产中,天然食用色素的提取一般采用传统有机溶剂提取法,与之相比,双水相体系提取天然食用色素具有对环境友好的优势,而且操作设备简单,时间短,作用条件温和,易连续化操作。不仅如此,双水相体系的理化性质和提取条件具有高度可设计性,可通过改变体系组分,调控温度或pH值,采用辅助方法等进一步提高提取效果。同时,因各相性质差异可实现不同色素的选择性分离,有利于天然食用色素提取后的分离纯化。

但是,双水相体系提取天然食用色素并未大规模应用于工业化生产,可能是其提取机理、动力学的研究比较缺乏;大部分试验结果仍停留于小规模试验阶段,工程放大及设备参数等方面的研究缺乏;且天然产物体系复杂,能够实现选择性分离的色素种类十分有限,尚有许多基础科学问题未得到研究。因此,双水相提取天然食用色素的研究应在以下几个方面进一步提升:探索更加高效、绿色环保和智能的双水相体系,促进工业化生产发展;结合分子模拟等计算机技术深入研究双水相提取天然食用色素的机理,为天然食用色素的选择性提取提供普适性的策略;加强对体系溶剂的回收再利用,降低生产成本。

参考文献

- [1] KARTHIK Y, MEYYANATHAN S N, NAGESWARA R R. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry-a review [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 813-824.
- [2] NATALIA M, CUSTODIO L R, PATRICIA M, et al. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices [J]. Trends in Food Science and Technology, 2016, 52: 1-15.
- [3] SHIMMI S, ABHISHEK D T, VEENA P, et al. Production kinetics and characterization of natural food color (torularhodin) with antimicrobial potential [J]. Bioresource Technology Reports, 2023, 24: 101652.
- [4] SABRINA S, ANDRÉIA Q, AMANDA R R, et al. Norbixin, a natural dye that improves serum lipid profile in rabbits and prevents LDL oxidation [J]. Food Research International, 2022, 159: 111522.
- [5] ZAHRA K, MOJTABA S, FARNOUSH K, et al. Crocus sativus a natural food coloring and flavoring has potent anti-tumor properties [J]. Phytomedicine, 2018, 43: 21-27.
- [6] LU X W, LI W J, WANG Q, et al. Progress on the extraction, separation, biological activity, and delivery of natural plant pigments [J]. Molecules, 2023, 28(4): 5364.
- [7] KAR Y C, ROUMIANA S, ZHANG J, et al. Aqueous two-phase extraction of bioactive compounds from Haskap Leaves (*Lonicera caerulea*): comparison of salt/ethanol and sugar/propanol systems [J]. Separation and Purification Technology, 2020, 252: 117399.
- [8] 李诺,张云竹,钟秋平.黄秋葵叶 β -胡萝卜素的双水相提取及纯化[J].食品安全质量检测学报,2021,12(6):2400-2407.
- [9] 王音,张喜峰,罗光宏.双水相体系超声萃取螺旋藻中 β -胡萝卜素及其抗糖基化作用[J].食品工业科技,2021,42(8):152-157.
- [10] FU X Q, MA N, SUN W P, et al. Microwave and enzyme co-assisted aqueous two-phase extraction of polyphenol and lutein from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 123: 296-302.
- [11] 李诺,钟秋平,陈文学,等.乙醇-硫酸铵双水相萃取黄秋葵叶中的叶黄素[J].食品工业科技,2020,41(17):167-172.
- [12] 冯金华,何梓渊,刘红英,等.乙醇-硫酸铵双水相体系萃取虾壳中虾青素研究[J].安徽农业科学,2023,51(5):176-180.
- [13] HALIL İ O, ILKAY K. Process for production of microencapsulated anthocyanin pigments from *Rosa pimpinellifolia* L. fruits: optimization of aqueous two-phase extraction, microencapsulation by spray and freeze-drying, and storage stability evaluation [J]. International Journal of Food Engineering, 2020, 16(9): 20200057.
- [14] 郑琰,赵涛,吕迎春,等.响应面法优化普洱茶中儿茶素的超声-双水相提取工艺[J].云南化工,2018,45(7):97-104.
- [15] CHEN X Q, HE Y, LIU Z, et al. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from lotus rhizome epidermis by alcohol/salt-based aqueous two-phase system: optimization, extraction mechanism and antioxidant activities [J]. Food Chemistry, 2024, 453: 139620.
- [16] LETICIA G, SALVADOR V, RAMÓN M S, et al. Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(10): 1791-1804.
- [17] 孔维宝,杨树玲,杨洋,等.乙醇-硫酸铵双水相萃取紫色红曲菌发酵液中的红曲色素及其稳定性分析(英文)[J].食品科学,2020, 41(8):91-99.
- [18] 李治城,武玉倩,张婕妤,等.响应面法优化黑胡萝卜红色素双水相萃取工艺[J].食品工业科技,2021,42(7):195-200.
- [19] LI Y T, HUANG T, WANG J Z, et al. Efficient acquisition of high-purity cyanidin-3-*O*-glucoside from mulberry fruits: an integrated process of ATPS whole-cell transformation and semi-preparative HPLC purification [J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134651.
- [20] ROCHAK M, RICHA S, RAGHAVARAO K. Aqueous two-phase extraction of R-Phycocerythrin from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* [J]. Bioresource Technology, 2019, 280: 277-286.
- [21] VERONICA V R, LETICIA G, SALVADOR V. Aqueous two-phase extraction: a non-thermal technique to separate and concentrate betalains from bougainvillea glabra choisy bracts [J]. Industrial Crops and Products, 2023, 193: 116245.
- [22] FILIPE S B, DAVID EM G, CLEIDE MF S, et al. Ethanolic two-phase system formed by polypropylene glycol, ethylene glycol and/or ionic liquid (phase-forming or adjuvant) as a platform to phase separation and partitioning study [J]. Journal of Molecular Liquids, 2021, 344: 117702.
- [23] ZHANG X X, XIE J H, YAN M L, et al. Extraction of lutein by aqueous two-phase system including both cholinium and imidazolium-based ionic liquids from wet microalgae [J]. Algal Research, 2024, 77: 103369.
- [24] GAO J, FANG C L, LIN Y Z, et al. Enhanced extraction of astaxanthin using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and potassium phosphate [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125672.

- [25] CATALINA A S R, DANIEL P E, RENE H W, et al. Selective and mild fractionation of microalgal proteins and pigments using aqueous two-phase systems [J]. Chemical Technology and Biotechnology, 2018, 93(9): 2774-2783.
- [26] MARGUERITA E R, ANA M F, CATARINA MSS N, et al. Valorisation of red beet waste: one-step extraction and separation of betalains and chlorophylls using thermoreversible aqueous biphasic systems [J]. Green Chemistry, 2023, 25: 1852-1864.
- [27] Y H C, S K M, Y S N, et al. Fractionation of phycocyanin and carbohydrate from *Spirulina platensis* using ionic liquid-based aqueous two-phase system [J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2021, 1195(1): 012039.
- [28] BEHRAD G, SHAHLA S, GHOLAMREZA P. Efficient separation of curcumin using tetra butyl phosphonium bromide /carbohydrates (sorbitol, fructose) aqueous two-phase system [J]. Fluid Phase Equilibria, 2019, 498: 51-58.
- [29] ISABELLE S K, MARIANA A N, MAYRA C C C, et al. Separation and purification of curcumin using novel aqueous two-phase micellar systems composed of amphiphilic copolymer and cholinium ionic liquids [J]. Separation and Purification Technology, 2020, 250: 117262.
- [30] ZHAO L H, LU F L, ZHANG X H, et al. Isolation of ionizable red monascus pigments after extractive fermentation in nonionic surfactant micelle aqueous solution [J]. Process Biochemistry, 2017, 61: 156-162.
- [31] SUN Q H, DU B Q, WANG C Z, et al. Ultrasound-assisted ionic liquid solid-liquid extraction coupled with aqueous two-phase extraction of naphthoquinone pigments in *Arnebia euchroma* (royle) Johnst [J]. Chromatographia, 2019, 82(12): 1777-1789.
- [32] ZHANG L L, LI Y, GAO J. Selectively extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and deep eutectic solutions [J]. Food Chemistry, 2024, 434: 137399.
- [33] ZHUANG D L, KIT W C, WEY Y T, et al. Extraction of phycocyanin from spirulina using deep eutectic solvent liquid biphasic system [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2023, 151: 105125.
- [34] XU Y F, WANG Q F, HOU Y H. Efficient purification of r-phycoerythrin from marine algae (*Porphyra yezoensis*) based on a deep eutectic solvents aqueous two-phase system [J]. Marine Drugs, 2020, 18(12): 618.
- [35] 谢章蓉,高静.果蔬色泽在热加工和非热加工技术中的变化研究进展[J].现代食品科技,2024,40(5):299-312.
- [36] BOON C H, ENG S C, RAMAKRISHNAN N R D, et al. Direct recovery of palm carotene by liquid-liquid extraction [J]. Journal of Food Engineering, 2022, 313: 110755.
- [37] KHALIL M, RANJITA S, SVEN G, et al. Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: preparation, characterization, stability and performance [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2011, 414(1): 267-275.
- [38] CHETAN P, MOHAMMED R, KASHIF M S, et al. Green extraction processing of lutein from *Chlorella saccharophila* in water-based ionic liquids as a sustainable innovation in algal biorefineries [J]. Algal Research, 2022, 66: 102809.
- [39] NAVIDEH A, IMEDADDINE A N, CHIN P T, et al. Influence of astaxanthin, emulsifier and organic phase concentration on physicochemical properties of astaxanthin nanodispersions [J]. Chemistry Central Journal, 2013, 7(1): 127.
- [40] LIU W, KONG F G, ZHANG J, et al. Modification of *Haematococcus pluvialis* algal residue by ionic liquid for improved extraction of astaxanthin followed by removal of acid red dye in water [J]. Algal Research, 2022, 64: 102656.
- [41] 袁莹,李乐,陈静霞,等.多酚类化合物的提取及功效研究进展[J].粮食与油脂,2018,31(7):15-17.
- [42] BRITTANY J A, CHRISTOPHER W S. Obtaining multiple coproducts from red grape pomace via anthocyanin extraction and biogas production [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(30): 8045-8053.
- [43] HU W, WEN M, HAN Z, et al. Revealing the variances in color formation and bioactivities of seven catechin monomers throughout the enzymatic reaction by colorimetric and mass spectrometry [J]. Food Research International, 2024, 184: 114266.
- [44] TAN J F, WOUTER J C D B, ANNEMIEK V Z, et al. Browning of Epicatechin (EC) and Epigallocatechin (EGC) by Auto-Oxidation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(47): 13879-13887.
- [45] QUAN V V, COSTAS E S, MINH H N, et al. Isolation of green tea catechins and their utilization in the food industry [J]. Food Reviews International, 2011, 27(3): 227-247.
- [46] 李蕴蕊,杨悦,侯笑林,等.超声辅助乙醇提取茺菀中儿茶素工艺研究[J].现代食品,2023,29(23):58-60.
- [47] PAULA GC G, AMANDA F V, ISABELLA FN M, et al. Integrative process to extract chlorophyll and purify rosmarinic acid from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*) [J]. Chemical Technology and Biotechnology, 2020, 95(5): 1503-1510.
- [48] ZHAO W, DUAN M, ZHANG X, et al. A mild extraction and separation procedure of polysaccharide, lipid, chlorophyll and protein from *Chlorella* spp. [J]. Renewable Energy, 2018, 118: 701-708.
- [49] DEEBORA P J, INGRID R T, LIGIA D F M, et al. Phycocyanin from spirulina: a review of extraction methods and stability [J]. Food Research International, 2021, 143: 110314.
- [50] SENTHIL K R, DEVI S R, HARISH B B, et al. Functional deep eutectic solvent-based chaotic extraction of phycobiliprotein using microwave-assisted liquid-liquid micro-extraction from *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and its biological activity determination [J]. Algal Research, 2019, 44: 101709.
- [51] DELIA B R. Update on natural food pigments-a mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains [J]. Food Research International, 2019, 124: 200-205.
- [52] 雒江菡.紫草总萘醌的提取工艺研究[J].化学与生物工程,2023,40(8):38-41.
- [53] 许攀丽.低共熔溶剂双水相体系的构建及其用于萃取分离生物大分子和染料的研究[D].长沙:湖南大学,2019.
- [54] 张莉莉.离子液体-低共熔溶剂双水相体系提取雨生红球藻中虾青素的研究[D].湛江:广东海洋大学,2022.
- [55] 曹琦.哌嗪类离子液体/表面活性剂双水相的构筑和性能研究[D].杭州:浙江大学,2015.
- [56] 邵琳琳,张烜,宋佳玉,等.双水相萃取藻蓝蛋白的机理[J].化工进

- 展,2015,34(9):3406-3414.
- [57] 付玉洁,于海龙.纤维素酶的低共熔溶剂双水相萃取研究[J].青岛科技大学学报(自然科学版),2023,44(3):23-29.
- [58] 王墨炎.海藻酸基双水相萃取铬及还原解毒机理研究[D].大连:大连理工大学,2020.
- [59] YU-KAUNG C, PAU-LOKE S, JOHN C, et al. Isolation of C-phycoerythrin from spirulina platensis microalga using ionic liquid based aqueous two-phase system [J]. Bioresource Technology, 2018, 270: 320-327.
- [60] 邵圣娟,卫静莉.聚乙二醇-硫酸铵双水相体系萃取松花粉中总黄酮的工艺研究[J].食品工业科技,2017,38(11):266-269.
- [61] 杨利民,吕金萍,冯妍.蒲公英总黄酮在聚乙二醇-硫酸铵双水相体系中的分配与提取[J].化工进展,2014,33(8):1992-1996.
- [62] RUBIYA R, SAJAD M W, SHAZIYA M, 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.
- [63] HUANG L, ZUO S Y, GAO X F, et al. Extraction and functional properties of pigment from pumpkin peels by a novel green deep eutectic alcohol two-phase system [J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2023, 33: 101067.
- [64] HIROOMI K, SHOHEI I, SHUVA B, et al. pH-responsive aggregation control of multiarm star polymers depending on the ionic segment sequence of arm polymers [J]. Polymer Journal, 2022, 54(5): 715-725.
- [65] MUHAMMAD S, LIU J Y, WAN-CHU H, et al. Designing of pH-responsive ketorolac tromethamine loaded hydrogels of alginic acid: characterization, *in-vitro* and *in-vivo* evaluation [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2022, 15(2): 103590.
- [66] ZHU M N, LU D D, AMIR H M, et al. Comparing pH-responsive nanogel swelling in dispersion and inside a polyacrylamide gel using photoluminescence spectroscopy and small-angle neutron scattering [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2022, 608: 378-385.
- [67] FLORIAN J, MAXIMILIAN S, LUKAS B, et al. Highly tunable nanostructures in a doubly pH-responsive pentablock terpolymer in solution and in thin films [J]. Advanced Functional Materials, 2021, 31(32): 2102905.
- [68] FAEZE K, MARYAM M, ADELEH D, et al. Hollow microcapsule with pH-sensitive chitosan/polymer shell for *in vitro* delivery of curcumin and gemcitabine [J]. European Polymer Journal, 2022, 162: 110887.
- [69] MONIKA S, ARTUR J W, KAROL W, et al. Light-promoted synthesis of surface-grafted polymers bearing pyridine groups by metal-free ATRP in microliter volumes [J]. Polymer, 2021, 234: 124244.
- [70] CAI C Y, MA S P, LI F F, et al. Aqueous two-phase system based on pH-responsive polymeric deep eutectic solvent for efficient extraction of aromatic amino acids [J]. Food Chemistry, 2024, 430: 137029.