

天然虾青素提取及其稳定性研究进展

张碧娜, 吕 飞, 丁庭*

(浙江工业大学 生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310014)

摘要: 虾青素因其诱人的感官呈色性及优良的生理功能一直备受人们的关注。因此,就有关天然虾青素的提取工艺技术与影响其稳定性的因素,如生物体自身、环境、金属离子、抗氧化剂和制备方法等进行了对比阐述。

关键词: 虾青素; 提取; 稳定性; 金属离子; 抗氧化剂

中图分类号: TS203.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)07-0017-04

Research Progress on Extraction and Stability of Natural Astaxanthin

ZHANG Bi-na, LÜ Fei, DING Yu-ting*

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: Because of the attractive coloring and excellent physiological function, astaxanthin had attracted a lot of attention. In this article, the extraction technology of astaxanthin and the factors affected its stability as following, own organism, environmental conditions, metal ions, antioxidants and preparation methods were compared and described.

Key words: Astaxanthin; Extraction; Stability; Metal ions; Antioxidants

虾青素(Astaxanthin)是一种酮式非维生素A原的类胡萝卜素。因虾青素具有着色、抗氧化、光保护、促进繁殖、增强免疫、维护中枢神经系统健康等多种生物学功能^[1],近年来深受国内外食品、医药、化妆品、水产养殖等行业的关注。

虾青素主要通过化学合成和由天然物质中提取而获得。化学合成虾青素由于其安全性问题,在应用方面受到很大限制。天然虾青素主要来源生物体有:甲壳类动物(如虾类)、藻类(如雨生红球藻和真菌如法夫酵母)等。

虾青素化学名为3,3'-二羟基-4,4'-二酮基- β , β' -胡萝卜素。虾青素分子中存在共轭双键,终端环结构上存在的羟基和不饱和酮基以及羟基和酮基所构成的 α -羟基酮是虾青素具有各种生物学功能的主要原因^[2]。

同时由于虾青素分子结构中的长共轭不饱和双键,使得它的性质极不稳定。因此,就有关天然虾青

素的提取工艺技术与影响其稳定性的因素,如生物体自身、环境、金属离子、抗氧化剂和制备方法等进行了对比阐述。

1 虾青素的提取工艺

虾青素主要有3种存在形式:(1)蛋白质结合形式;(2)酯化形式;(3)游离态形式。其中游离态最不稳定^[3]。虾青素存在形式不同,相应的提取方法也不同。

1.1 油脂溶出法

油溶法所用油脂主要为食用油脂类,最常见的主要有植物油和鱼油。Sachindra等用各种植物油从虾壳废弃物中提取虾青素,发现葵花籽油的提取率最高^[4]。油料比直接影响虾青素的提取效率。Chen等从克氏原螯虾中提取虾青素,发现油料比在1:10~1:1间提取时,提取效率随油量增加而增加,但增至1:1后,则开始下降^[5]。Pu等用亚麻油

收稿日期: 2011-01-20

作者简介: 张碧娜(1987-),女,浙江宁波人,在读硕士研究生,研究方向:水产品加工与保鲜。E-mail: zhangbina527@163.com

*通讯作者: 丁庭(1963-),男,浙江杭州人,教授,主要从事水产品加工与储藏。E-mail: dingyt@mail.hz.zj.cn

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作为提取剂, 每 100 g 虾壳虾青素产率为 4.83 g^[9]。

油提取温度一般较高(60~90℃), 而较高的温度会影响虾青素的稳定性, 另外, 提取后含色素的油不易浓缩, 产品浓度不高, 使该法应用范围受到限制^[1]。

1.2 溶剂萃取法

常见的提取溶剂有丙酮、甲醇、异丙醇、石油醚、己烷等^[5,7]。不同溶剂提取效果不同, 提取的色素具体成分也有差异, 且不同的原材料, 最适的提取剂也不同。

许培雅等采用乙醇、酸碱、丙酮、硫酸—丙酮和二氯甲烷等从废弃虾头和虾壳中提取虾青素, 结果表明, 二氯甲烷的提取率最高^[8]。而 Ruen-ngam 等发现, 从雨生红球藻中提取虾青素, 在采取的有机溶剂中(甲醇、乙醇、乙腈等), 丙酮的提取率最高^[9]; 由于类胡萝卜素是几种胡萝卜素的混合体, 分子极性不同^[10], 因此选择不同极性的萃取剂进行复配, 是提高产率的一种方法。Sachindra 等用单一有机溶剂和混合溶剂进行比对试验, 发现其中以混合溶剂(异丙醇:己烷=1:1)提取率最高^[7]。

但由于丙酮等有机溶剂, 沸点低, 易挥发, 有一定的毒性, 加工过程中存在安全与健康问题, 因而受到一定限制。

1.3 酶解法

油溶法和溶剂萃取法能提取到纯度较高的虾青素, 但由于缺少蛋白质的复合, 产品的稳定性降低。而酶解法提取虾青素解决了此问题。Simpson 等研究发现, 在虾壳废弃物添加蛋白水解酶后的水提物中, 得到了大部分稳定的以胡萝卜素蛋白形式存在的虾青素^[11]。Chen 等研究发现, 在用大豆油从龙虾废弃物中提取虾青素时添加蛋白酶能提高 58% 的产率^[9]。虽然酶解法提取虾青素产率较高, 但持续的蛋白水解会使得类胡萝卜素蛋白的防护值降低。因此使用该法提取时, 往往需要添加抗氧化剂或蛋白酶抑制剂来增强类胡萝卜素蛋白的稳定性。

1.4 超临界萃取法

超临界流体萃取(SCFE)技术是近年来发展起来的高新技术, 由于其提取的产品具有纯度高、溶剂残留少、无毒副作用等优点^[12]。Felix 等研究发现, CO₂ 超临界萃取时以乙醇作萃取剂效果良好^[13]。有研究表明, 以乙醇为共溶剂, 压力 31.8 MPa、温度 60℃ 的情况下, 龙虾壳中虾青素提取率达 207.6 mg/kg。

此法由于设备前期投资大、生产技术要求高, 目前用于大规模工业生产尚存在一定困难。

1.5 生物发酵法

法夫酵母(*phaffia rhodozyma*)是一种能积累大量虾青素的红色酵母, 许多方法已被用于法夫酵母细胞破壁处理来提取虾青素, 但多数方法的工业化前景并不理想^[14]。进行破壁处理时, 不仅要考虑破壁效果, 还要尽量减少对虾青素的破坏, 综合考虑, 二甲亚砷法是法夫酵母虾青素提取较理想的破壁方法^[15]。另外, 酸热法也是较好的破壁方法, 试验中发现, 低剂量酸结合高温湿热条件短时间作用于酵母菌体, 在最优工艺条件下, 虾青素的提取率为 84.8%, 且工艺稳定性良好^[14]。

1.6 微波处理法

微波辐射提取技术是近年来以传统溶剂浸提原理为基础发展的新型萃取技术。把微波用于浸提, 能强化浸提过程, 降低生产成本, 减少废物并提高产率, 是具有良好发展前景的新工艺^[16]。近年来微波法在天然产物提取中的应用不断扩大^[17-18], 据王灵昭报道, 该法对从雨生红球藻中提取虾青素效果较好^[19]。

2 虾青素的稳定性

2.1 自身因素对虾青素稳定性的影响

类胡萝卜素作为虾青素的主要组成之一, 其稳定性受到生物自身因素的影响。细胞内存在多种机制可以产生活性氧, 类胡萝卜素能抑制这种由活性氧导致的氧化损伤。酶源(如黄嘌呤氧化酶系统、NADPH 和细胞色素还原酶 P-450)的存在可增强 β-胡萝卜素抑制脂质过氧化的作用^[1]。但在类胡萝卜素发挥作用的同时, 也使自身发生了变化, 最直观的表现色泽的变化。

2.2 环境对虾青素稳定性的影响

2.2.1 氧 氧是影响虾青素稳定性的主要因素, 氧与虾青素发生氧化反应有自动氧化、光敏氧化、化学氧化等不同类型。徐学明等在密闭蜡封、纱布封口、充氮 3 种条件下研究氧气对色素的影响, 结果显示, 充氮贮藏好于蜡封, 不密封贮藏色素损失速度最快^[20]。Choubert 等^[21]采用真空包装以维持低氧环境, 从而提高了虾青素含量。因此, 气调保鲜在防止虾黑变和延长货架期方面有较大的应用^[22]。

2.2.2 光 光对虾青素有 2 种作用效应: (1)形成顺反双键, 电磁波谱向蓝端漂移 2~10 nm; (2)加速虾青素的氧化, 载色体降解断裂, 光谱向紫外区漂移, 并失去颜色^[23]。姜启兴等研究发现, 在日光直射条件下, 色素溶液褪色迅速, 大约 6h 内色素损失超 95%, 而避光样品则基本没有变化^[1]。徐学明等

研究发现,光对以虾青素为主的类胡萝卜素的降解具有促进作用^[20]。另张影霞等发现,可见光对虾青素影响较小,而紫外光对虾青素有很大的破坏作用^[24]。

2.2.3 温度 温度升高和存放时间延长,对虾壳色素均具有破坏作用^[25]。酵母虾青素的降解速度随贮藏温度的升高而变快,低温贮藏对提高酵母虾青素的存留率十分有效^[21]。Niamnuy 等对干虾在储藏期间的虾青素降解和色泽变化进行了研究,发现经较高温度(120℃)干燥后的虾在储藏过程中降解的虾青素少,原因是较高的温度在一定程度上可以减少虾青素的热降解、氧化反应以及由美拉德反应引起的褐变^[3]。

2.3 金属离子对虾青素稳定性的影响

研究金属离子存在条件下虾青素的稳定性对于加工应用而言是有参考价值的。姜启兴等发现 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 对虾青素破坏较大,而 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 对虾青素有较好的稳定作用^[1]。金属离子可能是通过影响生物体内的酶活来对色素产生影响^[26]。此外,离子对色素的保护作用可能是离子竞争性抑制氧化反应的进行,从而在一定程度上保护了类胡萝卜素^[27]。陈仪发现, Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 等金属离子对提取液的稳定性都有较大的影响,其中 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 影响最大; Cu^{2+} 次之,虾青素仅有15%存留^[25]。

2.4 抗氧化剂对虾青素稳定性的影响

据 Francis^[28]报道,导致食品中类胡萝卜素降解的主要原因是由氧、光、热引起的氧化,并由此提出使用抗氧化剂。丁基羟基茴香醚(BHA)和乙氧喹能阻止龙虾中虾青素的降解^[29]。黄文哲在制备虾青素微胶囊时发现,添加抗氧化剂的微胶囊虾青素的稳定性明显优于未添加抗氧化剂的微胶囊,且添加的4种抗氧化剂(EDTA、BHA、VE、TBHQ)中,TBHQ最有效,BHA次之^[30]。Sachindra 等用有机溶剂将色素从虾壳废弃物中提取后,添加抗氧化剂如TBHQ或维生素E并将其储存在聚酯包中,大大减少了贮藏过程中类胡萝卜素的降解^[31]。赵海鹏等^[32]研究表明,在壳聚糖涂膜液中添加抗坏血酸,有效延缓了虾黑变1~2d,同时货架期比空白组延长了3~4d。

2.5 制备方法对虾青素稳定性的影响

虾青素由于其高度不饱和性,在制备和保存过程中容易降解及氧化,而使其生物功能无法达到预期的效果^[33]。为了保护类胡萝卜不被氧化降解,研究者们设想了各种微胶囊化方法^[34-35],如淀粉、明胶

微胶囊化等。黄文哲等以新烯基琥珀酸淀粉酯和麦芽糊精为壁材,虾青素大豆油悬浊液为芯材,采用喷雾干燥法制备虾青素微胶囊,结果表明,该法明显减少了虾青素的氧化,稳定性提高近8倍^[36]。Kittikawan 等^[37]用壳聚糖对虾青素进行了微胶囊化,结果显示,经微胶囊化后的色素稳定性大大提高。

蹇华丽等采用共沉淀法制备虾青素- β -环糊精包合物,其稳定性与未经包和的虾青素相比提高了约20倍^[38]。Chen 等对虾青素和 β -环糊精以1:4的比例进行包合,发现虾青素抵抗光和热的稳定性得到极大提高且其水溶性也稍有增强($< 0.5\text{ mg/mL}$)^[39]。Kim 等发现,经 β -环糊精包合的虾青素对抗热、光、氧的稳定性提高了7~9倍,在温度达100℃时仍能保持较好的稳定性。这些性质的改变极大地拓宽了虾青素的应用范围^[40]。

3 展望

虾青素作为一种抗氧化剂有着丰富的生物学功能;同样,虾青素在食品、医药保健品、养殖业等领域有着广泛的应用前景。但化学合成的虾青素存在安全性问题,而天然虾青素来源有限,现在已有科研人员通过转基因技术合成虾青素^[41],这使得运用代谢工程手段合成大量天然虾青素成为可能。由于虾青素的结构特点,导致其非常容易被降解和氧化。因此,对虾青素稳定性的研究显得尤为重要,该研究将是今后研究的热点之一。

参考文献:

- [1] 姜启兴,夏文水.龙虾壳中色素的稳定性研究[J].食品科学,2006,27(7):61-64.
- [2] Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function[J]. *Faseb Journal* 1995, 9(15): 1551-1558.
- [3] Niamnuy C, Devahastin S, Soponronnarit S. Kinetics of astaxanthin degradation and color changes of dried shrimp during storage[J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 87(4): 591-600.
- [4] Sachindra N M, Mahendrakar N S. Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(10): 1195-1200.
- [5] Chen H M, Meyers S P. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process[J]. *Journal of Food Science*, 1982, 47(3): 892-900.
- [6] Pu J, Bechtel P J, Sathivel S. Extraction of shrimp astaxanthin with flaxseed oil: Effects on lipid oxidation and astaxanthin degradation rate[J]. *Biosystems Engineering*, 2010, 107(4): 364-371.

[7] Sachindra N M, Bhaskar N, Mahendrakar N S. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents[J]. Waste Management, 2006, 26 (10): 1092-1098.

[8] 许培雅, 章银军. 虾壳虾青素提取工艺的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003(2): 27-28 34.

[9] Ruen-ngam D, Shotipruk A, Pavasant P. Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*[J]. Separation Science and Technology, 2011, 46(1): 64-70.

[10] 沈国鹏, 徐贵敏, 刘芳. 脂溶性类胡萝卜素的提取及其稳定性研究[J]. 河南农业科学, 2003(8): 30-32.

[11] Simpson B K, Haard N F. The use of proteolytic enzymes to extract carotenoproteins from shrimp wastes[J]. Application Biochemistry, 1985, 7: 212-222.

[12] 景延秋, 宫长荣, 屈晓然. 超临界流体萃取技术及其在烟草研究中的应用[J]. 河南农业大学学报, 2005, 39 (3): 304-307.

[13] Felix V L, Higuera C I, Goycoolea V F, *et al.* Supercritical CO₂/ethanol extraction of astaxanthin from blue crab (*Callinectes sapidus*) shell waste[J]. Journal of Food Process Engineering, 2001, 24(2): 101-112.

[14] 卢宝驹, 肖安凤, 李利君, 等. 高温湿热酸法破壁提取法夫酵母胞内虾青素[J]. 生物工程学报, 2008, 24 (7): 1285-1292.

[15] 倪辉, 何国庆, 杨远帆, 等. 法夫酵母虾青素提取工艺的优化研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20 (2): 204-208.

[16] 王启明. 微波技术在玉米中提取天然黄色素的应用[J]. 现代农业科技, 2006(4): 61-62.

[17] 袁超, 李鑫, 谢黎霞, 等. 辣椒红色素的超声波提取及稳定性研究[J]. 河南农业大学学报, 2008, 42(1): 100-103.

[18] 孙万伦, 王阳光. 微波辅助提取海苔多酚工艺研究[J]. 现代农业科技, 2009(22): 329-330.

[19] 王灵昭. 雨生红球藻中虾青素提取方法的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(7): 16-18.

[20] 徐学明, 陈晓明. 法夫酵母中虾青素的稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4): 29-36.

[21] Choubert G, Dentella E, Atgie C, *et al.* Effect of light on colour stability of sliced smoked rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed astaxanthin[J]. Food Research International, 2005, 38(8-9): 949-952.

[22] 凌萍华, 谢晶. 气调包装、冰温技术和保鲜剂在虾类保鲜上的应用[J]. 山西农业科学, 2009, 37(7): 73-76.

[23] 姜启兴, 夏文水. 甲壳类加工下脚料中虾青素的提取研究[J]. 食品科技, 2003(1): 85-88.

[24] 张影霞, 武利刚, 罗志辉, 等. 虾青素的提取及其稳定性的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(12): 1288-1291.

[25] 陈仪. 虾壳虾青素提取与纯化研究[D]. 福州: 福州大学, 2006: 44-47.

[26] 白东清, 刘金兰, 闫珊珊, 等. 4 种金属离子对红白锦鲤消化组织淀粉酶活性的影响[J]. 现代农业科技, 2009(19): 305-306, 308.

[27] 白东清, 闫珊珊, 郭勇军, 等. 12 种阳离子对红白锦鲤红色素稳定性的影响[J]. 现代农业科技, 2009(19): 300-301.

[28] Francis F J. Carotenoids as food colorants[J]. Cereal Foods World, 2000, 45(5): 198-203.

[29] Li S J, Seymour T A, King A J, *et al.* Color stability and lipid oxidation of rockfish as affected by antioxidant from shrimp shell waste[J]. Journal of Food Science, 1998, 63: 438-441.

[30] 黄文哲. 以纯胶为主要壁材微胶囊化虾青素的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 25-37.

[31] Sachindra N M, Mahendrakar N S. Stability of carotenoids recovered from shrimp waste and their use as colorant in fish sausage[J]. Journal of Food Science and Technology, 2010, 47(1): 77-83.

[32] 赵海鹏, 谢晶. 壳聚糖涂膜保鲜南美白对虾的研究[J]. 山西农业科学, 2010, 38(4): 72-75, 79.

[33] 胡金金, 靳远祥, 傅正伟. 虾青素结构修饰的研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 531-534.

[34] Foss B J, Sliwka H R, Partali V, *et al.* Hydrophilic carotenoids: surface properties and aqueous aggregation of a rigid, long-chain, highly unsaturated dianionic bolaamphiphile with a carotenoid spacer[J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2005, 135(2): 157-167.

[35] Kiyoyama K, Maruyama T, Kamlya N, *et al.* Microencapsulation of DNA and the adsorption of toxic substances[J]. Journal of Microencapsulation, 2008, 25 (5): 324-329.

[36] 黄文哲, 杨哪, 谢正军, 等. 喷雾干燥法制备虾青素微胶囊的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 239-241.

[37] Kittikaiwan P, Powthongsook S, Pavasant P, *et al.* Encapsulation of *Haematococcus pluvialis* using chitosan for astaxanthin stability enhancement[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70(4): 378-385.

[38] 蹇华丽, 梁世中, 宋光均. 法夫酵母虾青素-β-环糊精包合物的研制[J]. 食品工业科技, 2007, 28(9): 84-86.

[39] Chen X, Chen R, Guo Z, *et al.* The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β-cyclodextrin[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1580-1584.

[40] Kim S, Cho E, Yoo J, *et al.* β-CD-mediated encapsulation enhanced stability and solubility of Astaxanthin[J]. Journal of Applied Biological Chemistry, 2010, 53 (5): 559-565.

[41] 徐静, 杨庆利, 檀琮萍, 等. 虾青素合成关键酶基因 *bkt* 和 *CrtR-B* 双价植物表达载体的构建及对花生的遗传转化[J]. 河南农业科学, 2007(12): 35-39.