

虾壳虾青素的提取及其稳定性研究

毛丽哈·艾合买提, 吐力吾汗·阿米汗, 阿布都拉·艾尼瓦尔*

(新疆农业大学化学工程学院, 乌鲁木齐 830052)

摘要: **目的** 以虾头、虾壳为原料, 研究有机溶剂提取虾青素的条件及其稳定性。**方法** 采用有机溶剂提取法, 在单因素实验的基础上优化虾青素提取工艺, 并用分光光度法进行含量测定, 从保存条件、光照、温度、酸度、金属离子等方面对虾壳虾青素稳定性的影响进行了研究。**结果** 通过数据分析得出提取虾青素的最佳条件为: 用生虾乙酸乙酯为提取溶剂, 25℃下 pH 4.0 的提取溶液以 1:15 的用量比提取 2 h 得到较高的提取率, 在这个条件下虾青素的产量为 34.43 μg/g。光照、温度、酸度都能影响到虾壳虾青素的稳定性, 其中光照对其影响最为显著。**结论** 虾壳虾青素提取液, 在高温下不稳定; 对室外光不稳定, 对室内光较稳定; 在弱碱性环境中较稳定; 加入 Fe²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺、Zn²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Na⁺ 金属离子硫酸盐溶液中, 对色素均有一定的破坏作用, 以 Fe²⁺ 最为不稳定。

关键词: 虾青素; 乙酸乙酯; 提取; 稳定性; 测定

Extraction and stability research of shrimp astaxanthin

MAOLIHA.Ahmat, TULIWUHAN.Amihan, ABUDOULA.Aineiwaer*

(Chemical Engineering of Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

ABSTRACT: Objective To establish an optimum process of astaxanthin extraction and confirm its stability with the organic solvent and to using the head of the prawn, shrimp shell as raw materials. **Methods** By organic solvent extraction method, astaxanthin extraction process was optimized on the basis of single factor experiment, and the content was determined by spectrophotometric method. The effects of light, temperature, pH, metal ion and storage conditions on prawn shell astaxanthin were studied. **Results** The data showed that the optimum conditions for extraction of astaxanthin were as follows: extracted by 1:15 dosage at room temperature for 2 h at pH 4.0, using ethyl acetate as extraction solvent for the raw shrimp. The astaxanthin production was 34.43 μg/g under the best conditions. The results also showed that the illumination, temperature, and acidity could affect the stability of astaxanthin from shrimp shell, and light was the most significant factor. **Conclusion** The shrimp shell astaxanthin extraction liquid was unstable under high temperatures and outdoor light, but was relatively stable under indoor light. In the weak alkaline environment it was relatively stable. By adding Fe²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, and Na⁺ ions in sulfate solution, there were some damage effects to the pigment, Fe²⁺ had the most unstable effect.

KEY WORDS: astaxanthin; ethyl acetate; extraction; stability; determination

*通讯作者: 阿布都拉·艾尼瓦尔, 副教授, 主要研究方向为有机化学。E-mail: 905458358@qq.com

*Corresponding author: ABUDOULA.Aineiwaer, Associate Professor, College of Chemical Engineering, Xinjiang Agricultural University, No.311, Nongda East Road, Shayibake District, Urumqi 830052, China. E-mail: 905458358@qq.com

1 引言

虾青素(astaxanthin, 3, 3'-二羟基-4, 4'-二酮基- β , β' 胡萝卜素), 是一种非维生素 A 源的类胡萝卜素。虾青素分子结构中所具有的发色团使其在紫外-可见光区有独特的吸收区, 因而其结晶或溶液在可见光下具有十分绚丽的紫红色。虾青素还具有很强的抗氧化性、抗肿瘤、保护心血管及增强免疫力等方面的生理功能, 使其在食品、医药、化妆品及饲料等工业中具有很大的应用前景。由于虾青素分子结构中含有许多长共轭不饱和双键, 所以它的性质极不稳定, 光、热、酸、碱、金属离子等均有可能破坏它的结构^[2-3]。以明虾下脚料为对象, 研究不同环境条件对其虾青素稳定性的影响, 寻找最佳的提取方法, 以寻求合理的贮藏条件, 减少在使用过程中色素的损失^[4-5]。

虾青素具有很多优异的生物活性, 其抗氧化性比 β -胡萝卜素高 10 倍以上, 比维生素 E 的抑制脂质过氧化反应特性高 1000 倍以上, 在临床上和生物学方面有广泛的用途。关于虾壳虾青素的提取方法已有一些报道, 丁纯梅等报道过氢氧化钠提取法和乙醇提取法; 孟博等报道了丙酮冷浸法和硫酸固定-丙酮提取法^[6-13]。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

虾头、虾壳(来自乌鲁木齐水产品市场)。乙酸乙酯、硫酸亚铁、硫酸锌(天津市福晨化学试剂厂); 95%乙醇、丙酮、硫酸铁、硫酸钙、硫酸铜(国药集团化学试剂有限公司); 石油醚、硫酸钠(沈阳化学试剂厂); 异丙醇(天津永晨精细化工有限公司); 二氯甲烷(天津市富宇精细化工有限公司)。以上试剂均为分析纯。

TV-1810 型紫外-可见分光光度计(北京善析通用仪器有限公司); PL203-电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); DELTA320pH 酸度计(梅特勒-托利多酸度计仪器有限公司); HH-S 数显电热

恒温水浴锅(苏省金坛市医疗仪器厂); 722 型分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司); SHZ-C 型环水式多用真空泵(河南省巩义市峪予华仪器厂)。

2.2 实验方法

2.2.1 有机溶剂提取工艺流程

虾头和虾壳混合物→有机溶剂一次提取→抽滤→有机溶剂二次提取→抽滤→合并滤液→稀释→测定含量。

2.2.2 虾青素含量的测定

将得到的乙酸乙酯提取液, 经稀释后, 以乙酸乙酯为空白, 在波长 474 nm 处测定吸光值 A。按照公式(1)计算虾青素含量^[6]。

$$\text{虾青素含量}(\mu\text{g/g}) = A \times V \times D / 0.2 \times M \quad (1)$$

式中, A: 吸光值; D: 稀释倍数; V: 提取所用的有机溶剂体积, mL; M: 提取物的质量, g。

3 结果与分析

3.1 最佳材料的选择

用生虾(全虾)和不同方法煮的虾(油炸的、蒸熟的、水煮的、泡盐的)进行有机溶剂提取, 过滤提取液并测定 474 nm 波长处的吸光值和计算虾青素含量, 结果如表 1。

由表 1 分析可得, 用生虾提取虾青素的吸光度较高, 虾青素含量也多。食盐对虾青素的吸光度和含量有很大的破坏作用, 所以生虾是最佳的实验材料。

3.2 有机溶剂提取虾青素的结果分析^[7]

3.2.1 最佳提取溶剂的选择

称取 6 份 1 g 虾头、虾壳混合物, 然后加入相同体积的乙酸乙酯、95%乙醇、异丙醇、混合试剂(石油醚:丙酮:水=5:10:5, v/v/v)、丙酮、二氯甲烷在室温下浸泡 2 h 后, 过滤提取液并测 474 nm 的吸光值, 结果如表 2 所示。

由表 2 分析可得, 乙酸乙酯提取液的吸光值明显高于其他有机溶剂提取液的吸光值, 表明乙酸乙酯是最佳的提取溶剂。

表 1 不同材料提取虾青素的比较

Table 1 Comparison of different materials for astaxanthin extraction

虾	生虾	油炸的虾	蒸熟的虾	水煮的虾	泡盐的虾
吸光度	0.551	0.320	0.190	0.238	0.094
虾青素含量($\mu\text{g/g}$)	34.43	19.2	12.54	17.26	6.72

表 2 不同溶剂提取虾青素的比较
Table 2 Comparison of different extraction solvents for astaxanthin extraction

溶剂	乙酸乙酯	95%乙醇	异丙醇	混合试剂	丙酮	二氯甲烷
吸光度	0.466	0.184	0.090	0.420	0.276	0.390
颜色	橘黄色	橘黄色	浅黄色	浅黄色	微橘黄色	微橘黄色

3.2.2 最佳提取溶剂用量的选择

称取 5 份 1 g 虾头、虾壳混合物, 分别加入不同体积的乙酸乙酯, 料液质量比分别取 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25, 室温下浸泡 2 h 后, 过滤提取液并测 474 nm 的吸光值, 结果如图 1 所示。

由图 1 分析可得, 料液比 1:15 时虾青素的吸光值最大, 料液比超过 1:15 时虾青素的吸光值略有下降。这表明最佳的料液比为 1:15。

3.2.3 最佳浸泡时间的选择

称取 6 份 1 g 虾头、虾壳混合物, 以乙酸乙酯为提取溶剂, 在室温下分别浸提 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h, 在 474 nm 处测吸光值^[8], 结果如图 2 所示。

由图 2 分析可得, 随着浸提时间的延长, 在 1.5~2 h 提取液的吸光值明显增加, 2 h 后略有下降。故最佳的浸泡时间为 2 h。

3.2.4 最佳提取 pH 值的选择

称取 6 份 1 g 虾头、虾壳混合物, 以乙酸乙酯为提取溶剂, 在 pH 分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0, 室温下浸泡 2 h, 在 474 nm 处测吸光值^[8], 结果如图 3 所示。

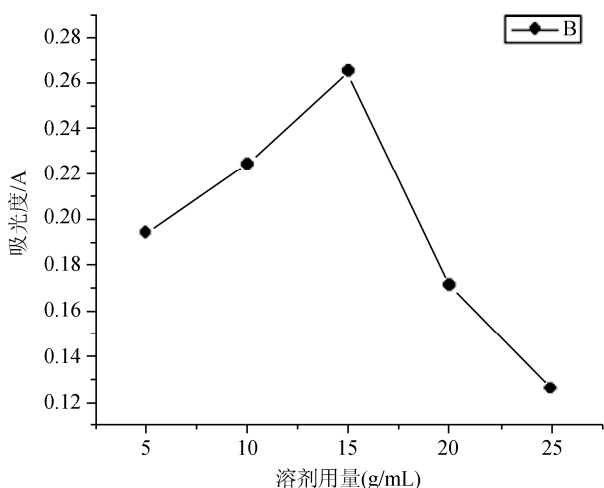


图 1 不同提取溶剂用量的比较

Fig. 1 Comparison of different extraction solvent consumption

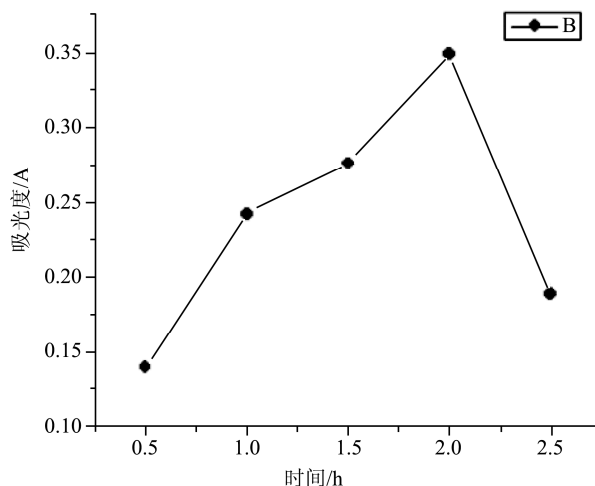


图 2 不同浸泡时间的比较

Fig. 2 Comparison of different soaking time

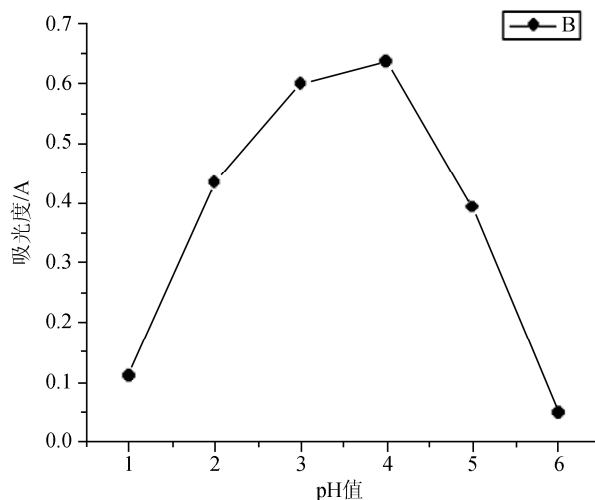


图 3 不同 pH 值的比较

Fig. 3 Comparison of different pH

由图 3 分析可得, pH 在 3.0~4.0 的吸光值较好, 故选最佳的提取 pH 值为 4.0。

3.2.5 最佳提取次数的选择

称取 1 g 虾头、虾壳混合物, 加入 15 mL 乙酸乙酯, 在室温下浸泡 2 h, 在 474 nm 处测吸光值^[8], 进行多次提取至提取液无色为止, 结果如图 4 所示。

按公式(2)计算提取率:

$$\text{提取率}(\%) = \frac{\text{吸光度}_2}{\text{吸光度}_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中: 吸光度₁—3次提取后得溶液的吸光度;

吸光度₂—比较样品的吸光度;

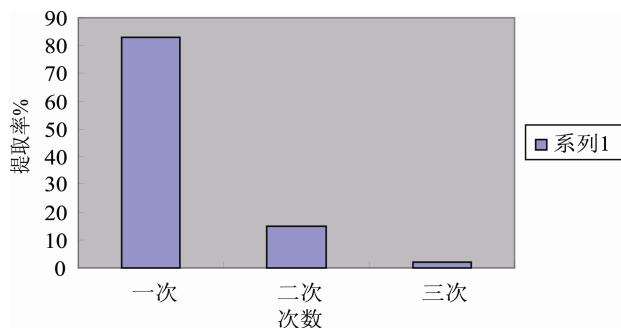


图4 不同提取次数的比较

Fig. 4 Comparison of different extraction times

由图4分析可得, 经二次提取, 虾青素的提取率超过90%, 二次提取后已经提取出大部分虾青素, 第三次提取虾青素含量很少, 因此采用二次提取最佳。得到该条件下的提取率。

3.2.6 最佳提取乙醇浓度的选择

称取6份1g虾头、虾壳混合物, 量取50%、60%、70%、80%、90%、95%室温醇溶液各50mL, 在室温下浸泡2h后, 过滤提取液并测474nm的吸光度^[8], 结果如表3。

由表3分析可得, 随着乙醇浓度的增加虾青素的吸光值也有明显的上升, 提取液的颜色也越来越深。这表明乙醇的浓度越浓越好, 最佳的乙醇浓度为90%。

3.3 虾青素稳定性研究结果

3.3.1 温度对虾青素稳定性的影响

取用乙酸乙酯为溶剂的虾青素提取液, 在10、

20、30、40、50、60℃下避光恒温水浴30min, 测其虾青素提取液吸光值, 考查温度对虾青素稳定性的影响, 结果如表4所示。

由表4分析可得, 虾青素对温度具有一定的稳定性。在较低温度下, 稳定性较好。但随着温度的升高, 虾青素的稳定性有所下降。

3.3.2 酸度对虾青素稳定性的影响

取用乙酸乙酯为溶剂的虾青素提取液, 用缓冲液调整pH值为2.0、4.0、6.0、7.0、8.0、10.0、12.0、14.0, 室温下避光静置2h测其吸光值^[9], 考查酸度对虾青素稳定性的影响, 结果如图5所示。

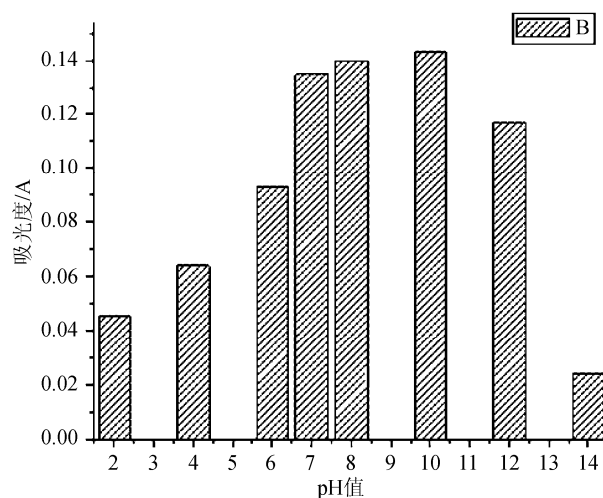


图5 酸度对虾青素稳定性的影响

Fig. 5 Effect of acidity on astaxanthin stability

由图5分析可得, pH值为8~10时, 虾青素的吸光值略有上升, 这可能是由于色素中部分虾青素在碱性环境下发生皂化反应, 转化为游离虾青素, 提高了吸光值。随着酸度和碱度的继续增加, 虾青素的吸光值都呈明显下降趋势, 这说明过酸或过碱都严重影响着虾青素的稳定性。

表3 不同提取乙醇浓度的比较

Table 3 Comparison of different ethanol concentrations

乙醇的浓度	95%	90%	80%	70%	60%	50%
吸光度	0.184	0.217	0.165	0.156	0.092	0.077
颜色	橘黄色	橘黄色	微橘黄色	浅黄色	无色	无色

表4 温度对虾青素稳定性的影响

Table 4 Effect of temperature on astaxanthin stability

温度(℃)	10	20	30	40	50	60
吸光度	0.311	0.309	0.285	0.242	0.132	0.124

3.3.3 矿物盐对虾青素稳定性的影响

按 0.05 g/10 mL 的添加量分别往虾青素提取液中加入 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 金属离子硫酸盐溶液, 室温避光保存, 过一段时间后测其吸光值^[10], 考查金属离子对虾青素稳定性的影响, 结果如表 5 所示。

由表 5 分析可得, Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 金属离子对虾青素稳定性有较大的影响。其中二价铁离子对虾青素稳定性的影响最大, 避光 24 h 后虾青素的吸光值略有下降。这可能是 Fe^{2+} 离子过氧化, 进一步类胡萝卜素发生氧化所致。所以虾青素在制取和使用过程中应尽量避免与上述所说的金属离子接触。

3.3.4 光对虾青素稳定性的影响

取用乙酸乙酯为溶剂的虾青素提取液, 分别置于阳光直射、室内避光处、室内自然光、冰箱冷藏。一段时间后测其吸光值^[11], 考查光对虾青素稳定性的影响, 结果如表 6 所示。

由表 6 分析可得, 太阳光对虾青素有明显的破坏作用, 而室内自然光及放置在暗处对虾青素的影响较小, 所以虾青素着色的食品在储存和运输过程中应尽量避免阳光直射, 以保持食品色泽。

3.3.5 保存条件对虾青素稳定性的影响

称取虾壳各 1 g, 进行 4 种不同方式的处理: 冷藏(-15℃)+避光+真空, 冷藏+避光+空气, 室温(25℃)

有氧光照, 室温有氧避光, 一段时间后加入乙酸乙酯提取 2 h, 测其吸光值^[12]。考查保存条件对虾青素稳定性的影响, 结果如表 7 所示。

由表 7 分析可得, 在室温有氧光照条件下, 虾青素降解严重; 在室温有氧避光条件下, 虾青素轻度降解, 而在冷藏有氧避光及冷藏真空避光条件下, 虾青素基本保持较高的稳定性, 所以虾青素最好冷藏避光保存。

4 结论

实验结果表明, 本文提取虾青素的最好材料为生虾; 最佳提取剂为乙酸乙酯; 最佳提取料液比为 1:15, 此时得到的虾青素含量为 34.43 $\mu\text{g/g}$ 原料; 二次提取后已经提取出大部分虾青素, 效果较明显; 虾青素在乙酸乙酯中的最适提取条件是: pH 4.0、室温下浸泡 2 h, 如果用乙醇溶剂 90% 的乙醇是最合适的提取溶剂。

通过研究光、热、酸、碱、保存条件、矿物盐对虾青素稳定性的影响, 结果表明可见室内自然光、避光对虾青素影响较小, 而阳光直射有很大的破坏作用; 微碱性条件对虾青素的影响较小, 过酸或过碱对虾青素有破坏; pH 4~10 范围内虾青素较稳定; Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 金属离子对虾青素稳定性有较大的影响, 其中二价铁离子对虾青素稳定性的影响最大。

表 5 矿物盐对虾青素稳定性的影响
Table 5 Effect of mineral salt on astaxanthin stability

矿物盐	Fe^{2+}	Fe^{3+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^{+}
吸光度	0.111	0.115	0.120	0.126	0.150	0.119	0.125

表 6 光对虾青素稳定性的影响
Table 6 Effect of light on astaxanthin stability

条件	阳光直射(中午 12:00)	避光	室内自然光(中午 12:00)	冰箱避光冷藏
吸光度	0.098	0.193	0.183	0.188

表 7 保存条件对虾青素稳定性的影响
Table 7 Effect of storage conditions on astaxanthin stability

条件	室温有氧光照	室温有氧避光	冷藏+避光+空气	冷藏+避光+真空
吸光度	0.098	0.193	0.183	0.188

参考文献

- [1] 徐学明, 金征宇, 刘当慧, 等. 法夫酵母产虾青素的摇瓶工艺[J]. 无锡轻工大学学报, 2000, 19(3): 230-235.
Xu XM, Jin ZY, Liu DH, *et al.* Astaxanthin production in the shake flask method, yeast technology [J]. J Wuxi Univ Light Ind, 2000, 19 (3): 230-235.
- [2] 耿华田. 虾青素简介[J]. 化学教育, 2007, (3): 5-7.
Geng HT. Astaxanthin introduction [J]. J Chem Educ, 2007, (3) : 5-7.
- [3] 王业勤, 李勤生. 天然类胡萝卜素—研究进展、生产、应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997.
Wang YQ, Li QS. Natural carotenoids—research development, production and application [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 1997.
- [4] 焦雪峰. 虾青素在化妆品中的应用[J]. 广东化工, 2006, 33(153): 13-18.
Jiao XF. Application of astaxanthin in cosmetics [J]. J Chem Ind Guangdong Prov, 2006, 33 (153): 13-18.
- [5] 董玉华, 赵元凤. 虾青素生物学来源和功能的研究进展[J]. 水产科学, 2005, 24(10): 50-52
Dong YH, Zhao YF. Research progress of biological sources of astaxanthin and function [J]. J Fish Sci, 2005, 24(10): 50-52
- [6] 许培雅, 郑裕国, 沈寅初, 等. 分光光度法测定红发夫酵母中虾青素含量[J]. 浙江工业大学学报, 2001, 29: 122-123.
Xu PY, Zheng YG, Shen YC, *et al.* Spectrophotometric method determination of astaxanthin content in red hair, leaven [J]. J Zhejiang Univ Technol, 2001, 29: 122-123.
- [7] 丁纯梅, 陶庭先, 吴之传. 龙虾虾壳的综合利用(I)—虾壳红色素的提取及其性质研究[J]. 化学世界, 1995, (8): 444-445, 434.
Ding CM, Tao TX, Wu ZC. The comprehensive utilization of lobster shrimp shell (I) - red pigment extraction and its properties of shrimp shell research [J]. J Chem World, 1995, (8): 444-445, 434.
- [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.
Xu PY, Zhang YJ. Shrimp shell astaxanthin extraction technology research [J]. J Food Feed Ind, 2003, 2: 27-28, 34.
- [9] 刘宏超, 杨丹. 从虾壳中提取虾青素工艺及其生物活性应用研究进展[J]. 化学试剂, 2009, 31(2): 105-108.
Liu HC, Yang D. Extracting astaxanthin from shrimp shell technology and its biological activity, application is reviewed [J]. Chem Reag, 2009, 31 (2): 105-108.
- [10] 李大婧, 方桂珍, 刘春泉, 等. 黄素酯和叶黄素稳定性的研究[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(1): 113-116.
Li DJ, Fang GZ, Liu CQ, *et al.* Flavin ester and the stability of lutein research [J]. Forest Prod Chem Ind, 2007, 27 (1): 113-116.
- [11] 赵文军, 吴雪萍, 高林, 等. 番茄红素的简便提取与贮藏稳定性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 153-154.
Zhao WJ, Wu XP, Gao L, *et al.* Simple extraction and storage stability of lycopene research [J]. Food Sci, 2005, 26 (7): 153-154.
- [12] 刘良忠, 彭光华, 石嘉悻等. 天然红心鸭蛋中类胡萝卜素色素的提取及稳定性的研究[J]. 食品科学, 2004, (9): 115-120.
Liu LZ, Peng GH, Shi JY, *et al.* Natural carotenoid pigment extraction in duck eggs of hearts and stability research [J]. Food Sci, 2004, (9): 115-120.
- [13] 沈国鹏, 徐贵敏, 刘芳, 等. 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, 2005(12): 30-32.
Shen GP, Xu GM, Liu F, *et al.* The extraction of fat-soluble carotenoid and its stability study [J]. J Henan Agr Sci, 2005, (12): 30-32.

(责任编辑: 佟丽)

作者简介



毛丽哈·艾合买提, 副教授, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: 1652801131@qq.com



阿不都拉·艾尼瓦尔, 副教授, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: 905458358@qq.com