

# 侧金盏花中虾青素的提取工艺研究

张志华, 张志忠, 史晓博, 苏雨\*

河北中进生物科技有限公司, 邯郸 056107

**摘要:** 虾青素是一种天然类胡萝卜素, 主要从海洋动物的废弃物中提取, 及通过藻类及红发夫酵母生产所得。目前发现侧金盏花中虾青素含量很高, 本文建立了一种从侧金盏花颗粒中提取虾青素的方法。通过单因素试验考察了从侧金盏花中提取虾青素的最优提取溶剂、提取温度、提取时间、料液比对提取率的影响, 在单因素实验基础上确定正交试验因素及水平, 对提取条件进行优化。实验结果表明, 各因素对侧金盏花中虾青素提取率的影响程度依次为: 提取温度 > 料液比 > 提取时间; 提取的最佳工艺条件: 提取溶剂为乙酸乙酯, 提取温度为 40 °C, 料液比为 1: 35 (w/w), 提取时间 3 h, 在此条件下虾青素的提取达到了 81.7%。

**关键词:** 侧金盏花; 虾青素; 正交试验

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.039

## Extraction of Astaxanthin from *Adonis amurensis*

ZHANG Zhi-hua, ZHANG Zhi-zhong, SHI Xiao-bo, SU Yu

Hebei Zhongjin Biotech Co., Ltd., Hebei Handan 056107, China

**Abstract:** Astaxanthin is a kind of natural carotenoids, main extracted from marine animal wastes, algae and red hair, yeast production. In this study, a method was developed for the extraction of astaxanthin from *Adonis amurensis*. Based on single factor experiments, the effects of extraction solvent, extraction temperature, extraction time and solid-liquid ratio on the extraction yield of astaxanthin were further investigated using orthogonal tests. Experimental results showed that the extraction conditions affected the extraction in the following order: extraction temperature > solid-liquid ratio > extracting time. The optimal extraction conditions were determined as follows: extraction solvent was ethyl acetate, and extraction temperature 40 °C, solid-liquid ratio of 1: 35 (w/w), the extraction time of 3 h. Under the optimized extraction conditions, the extraction yield of astaxanthin reached 81.7%.

**Key words:** *Adonis amurensis*; astaxanthin; orthogonal test

虾青素(3,3'-二羟基-4,4'-二酮基- $\beta,\beta'$ -胡萝卜素)是一种海洋生物体内的主要的酮式类胡萝卜素<sup>[1]</sup>, 具有很强的抗氧化功能, 其抗氧化性强于 $\beta$ -胡萝卜素和维生素 E<sup>[2-4]</sup>。研究表明, 虾青素还具有改善视力、抗癌变、增强免疫力等功能<sup>[5]</sup>, 而虾青素本身所具有的鲜艳的粉红色可用于着色, 因而虾青素在食品添加剂、化妆品、水产养殖、保健品等领域应用广泛<sup>[6]</sup>。目前天然虾青素的主要来源有, 甲壳类动物中提取, 雨生红球藻和红发夫酵母生产<sup>[7]</sup>。且虾青素生产已成规模, 基于它的功能性, 市场前景十分广阔<sup>[8]</sup>, 而虾青素的植物提取也引起了人们的重视, 笔者研究从侧金盏花中提取虾青素的溶剂选择和条件选择。

## 1 仪器与材料

### 1.1 主要仪器

UV-1700 紫外-可见分光光度计: 日本岛津公司; BL 超声波提取仪: 上海比朗仪器有限公司; LC-15C 高效液相色谱仪: 日本岛津公司; GT10-2 高速台式离心机: 北京时代贝利离心机有限公司; PHZ-82 型水浴恒温振荡器: 常州国华电器公司

### 1.2 主要试剂

虾青素标准品: 美国 Sigma 公司; 甲醇、乙腈: 色谱纯; 无水乙醇、乙腈、正己烷、丙酮、乙酸乙酯、BHT、甲醇、二氯甲烷: 分析纯; 侧金盏花颗粒: 某农科院; 实验室用水为超纯水。

## 2 实验方法

### 2.1 虾青素含量检测

### 2.1.1 样品前处理

取适量提取物至 25 mL 棕色容量瓶中,加入甲醇-二氯甲烷(V:V=3:1)的混合试剂 20 mL,低温超声溶解 10 min,定容备用。

### 2.1.2 样品检测

采用紫外-可见分光光度法检测虾青素含量。

虾青素提取得率的计算:

$$\text{得率}\% = \frac{w \times m}{W \times M} \times 100\%$$

其中,w—虾青素提取物中虾青素含量,g/kg;m—虾青素提取物质量,g;W—侧金盏花中虾青素含量,g/kg;M—侧金盏花质量,g。

虾青素提取物中虾青素含量及侧金盏花中虾青素含量计算均参照 GB/T23745-2009 进行:

$$w = \frac{A_{\max} \times V}{m \times 1830}$$

其中,W—虾青素的含量(%); $A_{\max}$ —待测液在 478 nm 处附近的最大吸光度;V—试样液稀释的总体积,单位为毫升(mL);m—称取试样的质量,单位

为克(g);1830—试样中虾青素的百分消光系数。

## 2.2 单因素及正交试验

确定最适的提取剂,选取提取温度、提取时间、料液比作为影响虾青素提取得率的 3 个因素,通过单因素实验及正交实验优选最佳提取工艺参数。

## 3 结果与分析

### 3.1 单因素试验与结果

#### 3.1.1 提取溶剂的选择

##### 3.1.1.1 实验方法

分别称取 5 份 1g 左右的侧金盏花颗粒于 5 个 100 mL 棕色容量瓶中,分别用正己烷、丙酮、无水乙醇、乙酸乙酯、无水乙醇+乙酸乙酯(1:2)定容至刻度,暗处静止提取 1 h,每隔 10 min 震荡一次,提取结束后过滤得浸提液。所得滤液使用紫外-可见分光光度计,以相对应的提取溶剂做参比,在 400 ~ 500 nm 波长范围内扫描最大吸收波长处的吸光值,并计算含量。

##### 3.1.1.2 实验结果

表 1 提取溶剂对吸光度的影响

Table 1 The influence of extraction solvent on absorbency

序号 No.	样品质量 Sample quantity (g)	提取试剂 Extraction solvent	稀释倍数 Dilution times	最大吸收波长 Maximum absorbance	吸光度 Absorption	含量 Content
1	1.0662	六号油 Oil No. 6	50 × 25	466.5	0.769	0.493%
2	1.0231	丙酮 Acetone	50 × 50	472.5	0.441	0.589%
3	1.0213	乙酸乙酯 Ethyl acetate	50 × 50	474.0	0.447	0.598%
4	1.0908	无水乙醇 Anhydrous ethanol	50 × 50	475.5	0.364	0.456%
5	1.0610	乙酸乙酯:乙醇 1:2 Ethyl acetate: Ethanol 1:2	50 × 50	476.5	0.433	0.557%

由于称取的原料样品质量较小,且料液比较大,样品中的虾青素能完全溶出,故可以用提取液中虾青素的含量大小来表征不溶溶剂的提取能力。由表 1 可看出,在相同的条件下不同溶剂对虾青素颗粒的提取能力差距很大,综上所得最佳提取试剂为乙酸乙酯。

#### 3.1.2 浸提温度对提取得率的影响

以乙酸乙酯作为提取剂,料液比为 1:20,浸提时间为 3 h,浸提温度分别为 30、35、40、45、50 °C,得到浸提液经低温真空浓缩后检测计算提取得率。所得提取得率结果见图 1。从图 1 可看出,浸提温度过高和过低都影响提取的效果。原因可能是温度低,分子热运动慢,虾青素不能很好的溶出,提取不充分;而虾青素本身对温

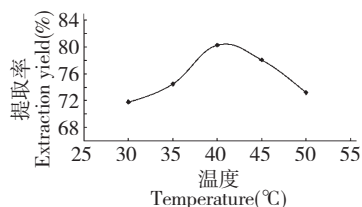


图 1 浸提温度对提取率的影响

Fig. 1 The effects of extraction temperature on the extraction yield

度又比较敏感,温度过高会使虾青素损失严重,得率明显下降。因此最佳浸提温度为 40 °C。

#### 3.1.3 浸提时间对提取得率的影响

以乙酸乙酯作为提取剂,料液比为 1:20,浸提温度为 40 °C,浸提时间分别为 1、2、3、4、5 h,得到浸

提液经低温真空浓缩后检测计算提取得率。所得提取得率结果见图 2。

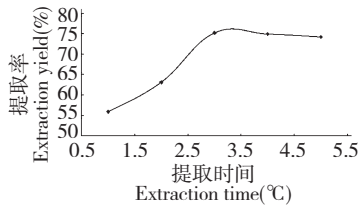


图 2 浸提时间对提取率的影响

Fig. 2 The effects of extraction time on the extraction yield

由图 2 可得出,提取时间太短,有效成分溶出不完全,得率比较低。但随着浸提时间的逐渐延长,虾青素可能会有部分氧化损失,造成得率降低。因此最佳提取时间为 3 h。

### 3.1.4 料液比对提取得率的影响

以乙酸乙酯作为提取剂,浸提温度 40 °C,浸提时间 3 h,料液比分别选用 1:20(1)、1:25(2)、1:30(3)、1:35(4)、1:40(5),得到浸提液经低温真空浓缩后检测计算提取得率。所得提取得率结果见图 3。

由图 3 得出,料液比太小,浸提液饱和,颗粒中的虾青素不能溶出,随着料液比的增大,提取的得率增加;但当达到最适量料液比后继续增加提取剂的用量,可能会溶出侧金盏花颗粒中的其他有机物质,

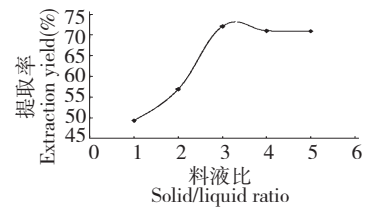


图 3 料液比对提取率的影响

Fig. 3 The effects of solid/liquid ratio on the extraction yield

同样导致虾青素得率的降低,并且增加提取试剂的使用成本。因此提取的最佳料液比为 1:30。

## 3.2 正交试验及结果

### 3.2.1 正交试验设计

选择乙酸乙酯为提取试剂,依据上述其他不同因素对提取得率的影响,制定正交试验因素水平表。

表 2 正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor		
	浸提温度 Extraction (°C)	时间 Extraction time (h)	料液比 Solid/liquid ratio (w/w)
1	35	2	1:25
2	40	3	1:30
3	45	4	1:35

### 3.2.2 正交试验结果及分析

表 3 正交试验结果及极差分析

Table 3 Results and range analysis of orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor			虾青素的得率 Extraction yield of astaxanthin (%)
	A 温度 Temperature	B 提取时间 Extraction time	C 料液比 Solid/liquid ratio	
1	1	1	1	68.8
2	1	2	2	71.4
3	1	3	3	69.3
4	2	1	2	73.2
5	2	2	3	81.7
6	2	3	1	77.2
7	3	1	3	77.9
8	3	2	1	74.0
9	3	3	2	79.4
k <sub>1</sub>	69.8	73.3	73.3	
k <sub>2</sub>	77.4	75.7	74.7	
k <sub>3</sub>	77.1	75.3	76.3	
R	7.6	2.4	3	

由表3正交试验和极差分析可得出,侧金盏花中提取虾青素的最佳工艺条件是  $A_2B_2C_3$ ,即提取温度为  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ,提取时间为  $3\text{ h}$ ,料液比为  $1:35$ ,其中影响侧金盏花中虾青素提取得率的因素主要是浸提温度,其次是料液比,提取时间影响较小。

## 4 结论

本研究通过对比实验确定从侧金盏花中提取虾青素的最优溶剂是乙酸乙酯,采用单因素和正交试验得出最佳工艺条件,即提取温度为  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ,提取时间为  $3\text{ h}$ ,料液比为  $1:30$ ,得率达到了  $81.7\%$ 。此研究为从动物源性虾青素的传统提取工艺做了有效地补充,同时也为从天然植物中提取虾青素建立了一定的理论基础。

### 参考文献

- 1 Yang L(杨磊),Wei W(卫蔚),Liu TT(刘婷婷),*et al.* Successive purification of astaxanthin by column chromatography. *Chem Ind Eng Prog* (化学进展),2010,29:1125-1128.
- 2 Lee SH,Min DB. Effects of quenching mechanism and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photo-oxidation of soybean oil. *J Agric Food Chem*,1990,38:1630-1634.
- 3 Miki W. Biochemical functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl Chem*,1991,63:141-146.
- 4 Naguib YM. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *J Agric Food Chem*,2000,48:1150-1154.
- 5 Chen XC(陈兴才),Huang WG(黄伟光),Ouyang Q(欧阳琴). Saponification of astaxanthin esters from *Haematococcus pluviialis* and purification of free astaxanthin. *J Fuzhou Univ, Nat Sci*(福州大学学报,自科版),2005,33:264-268.
- 6 Chen JM(陈晋明),Wang SP(王世平),Chen M(陈敏). Determination of astaxanthin by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chem Anal Meter* (化学计量分析),2006,15(2):27-29.
- 7 Xu PY(许培雅),Zheng YG(郑裕国),Shen YC(沈寅初). Analysis of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* by spectrophotometry. *J Zhejiang Univ Technol* (浙江工业大学学报),2001,29:120-123.
- 8 Ying GQ(应国庆),Wang XY(王晓艳),Shen YC(沈寅初). The determination of astaxanthin by high performance liquid chromatography. *Food Ferment Ind* (食品与发酵工业),2001,27(11):43-44.