

盐藻β-胡萝卜素提取 及自由基清除能力研究

孙协军,潘龙飞,李秀霞*,张丽华,薛晓霞,刘羽纯

(渤海大学食品科学与工程学院,辽宁省食品安全重点实验室,辽宁省高校重大科技平台
“食品贮藏加工及质量安全控制工程技术研究中心”,辽宁锦州 121013)

摘要:对盐藻β-胡萝卜素的微波提取工艺和提取液的自由基清除能力进行了研究。选择丙酮为提取溶剂,微波辅助提取盐藻β-胡萝卜素的最优条件为:微波功率500 W、液固比250 mL/g、提取温度40 ℃、提取时间8 min和搅拌速度180 r/min,此时盐藻β-胡萝卜素得率为1.13%,高于传统的溶剂浸提法;三种体外抗氧化体系(还原力、羟自由基清除能力和抗脂质过氧化能力)结果表明,微波提取和传统溶剂浸提得到的盐藻β-胡萝卜素提取液的还原力、羟自由基清除能力和抗脂质过氧化能力之间没有显著差异($p>0.05$),但2种提取液的自由基清除能力均高于同浓度的β-胡萝卜素标准品溶液,说明盐藻β-胡萝卜素提取液中还含有其他具有良好抗氧化活性的物质,但其自由基清除能力均低于同浓度的维生素C和BHT溶液。

关键词:盐藻,β-胡萝卜素,丙酮,微波提取

Extraction technique and antioxidant activity of β-carotenoid from *Dunaliella salina*

SUN Xie-jun, PAN Long-fei, LI Xiu-xia*, ZHANG Li-hua, XUE Xiao-xia, LIU Yu-chun

(College of Food Science and Technology, Bohai University, Food Safety Key Lab of Liaoning Province; Engineering and Technology Research Center of Food Preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province, Jinzhou 121013, China)

Abstract: Microwave-assisted extraction(MAE) technique and free radical scavenging activity of β-carotene of *Dunaliella salina* were investigated. Acetone was used as extraction solvent, the optimum conditions were as follows: microwave power 500 W, ratio of liquid to solid 250 mL/g, extraction temperature 40 ℃, extraction time 8 min, and stirring time 180 r/min, under the optimal conditions, β-carotene yield of *Dunaliella salina* was 1.13% which was higher than that of conventional maceration solvent extraction(MSE). Three kinds of *in vitro* antioxidant system (reducing power, hydroxyl radical scavenging, and anti-lipid peroxidation activity) results showed that there was no significant difference ($p>0.05$) between β-carotene extracts of MAE method and conventional maceration solvent extraction method for free radical scavenging capacities (such as the reducing power, hydroxyl radical scavenging, and anti-lipid peroxidation activity). But the free radical scavenging capacities of two extraction methods were all higher than that of β-carotene standard solutions. It was indicated that there were other substances with good antioxidant activity in *Dunaliella salina* extracts, but the antioxidant effects of *Dunaliella salina* extracts were all lower than those of ascorbic acid or BHT.

Key words: *Dunaliella salina*; β-carotene; acetone; microwave-assisted extraction

中图分类号: TS219 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2015)22-0246-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.22.043

盐藻,即盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*),为绿色单细胞藻,盐藻细胞中富含β-胡萝卜素等脂溶性活性成分,是国际上公认的天然β-胡萝卜素来源。β-胡萝卜素在人体内可转化为维生素A,具有保护视

力、增强免疫功能、预防癌症和心脏疾病等保健功能,是一种优秀的保健食品原料,同时β-胡萝卜素在饲料和化妆品中也有很重要的抗氧化和着色等作用,从盐藻中提取β-胡萝卜素,具有广泛的应用前景。

收稿日期:2015-03-31

作者简介:孙协军(1969-),男,大学本科,实验师,研究方向:食品资源开发利用,E-mail:sunxj111@163.com。

* 通讯作者:李秀霞(1973-),女,博士,副教授,研究方向:水产品贮藏加工,E-mail:lixuixiaxxx@163.com。

基金项目:辽宁省食品安全重点实验室开放课题(LNSAKF2011015)。

关于植物原料中 β -胡萝卜素提取方法的研究报道很多,溶剂浸提法是提取植物原料中 β -胡萝卜素的传统方法,而超临界流体萃取和超声波等新技术的加入能有效地提高 β -胡萝卜素的提取效率^[1-2]。但由于 β -胡萝卜素的结构中含有多个不饱和共轭双键,遇热易异构和降解,限制了微波技术在 β -胡萝卜素提取中的应用。微波辅助法对胡萝卜中类胡萝卜素的提取效率低于索氏抽提法^[3],但间歇性加热的微波萃取可提高胡萝卜皮中 β -胡萝卜素的提取效率^[4],但需要专门的微波萃取仪器,这项技术已经应用于对热敏感的食品及其他生物原料的干燥工艺中^[5],可提高食品中维生素C等热敏性成分的保留率。微波提取/消解仪常用于食品原料湿法消化及一些对热稳定的活性成分提取中,仪器可分别控温及控压,一般以控压为主,在本实验中,将这类微波消解/提取系统应用于 β -胡萝卜素的提取中,采用控温为主、控压为辅的微波加热方法来提取盐藻 β -胡萝卜素,并比较了不同方法(微波提取和传统溶剂浸提法)所得 β -胡萝卜素提取液的自由基清除能力,为微波技术在热敏性成分提取的应用上奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

盐藻粉 大连丰源达饵料有限公司生产; β -胡萝卜素标准品(纯度 $\geq 98\%$) 上海源叶生物科技有限公司;色谱级甲醇和丙酮 天津大茂化学试剂厂;其他试剂 均为分析纯。

P680型高效液相色谱仪(配DAD检测器) 美国戴安公司;ETHOST微波消解/提取系统 意大利Milestone公司;FA2004电子天平 上海恒平科学仪器有限公司;RE-2000旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;SHZ-D(III)型循环水真空泵 上海申光仪器有限公司;PS02-AD-DI超纯水机 上海讯辉环保科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱检测条件 Develosil C₃₀色谱柱;甲醇:丙酮(30/70;v/v)为流动相;流速1.0 mL/min;柱温25℃;检测波长:452 nm;进样量:20 μ L。

1.2.2 标准曲线的绘制 准确称取 β -胡萝卜素标准品4.8 mg,丙酮溶解并定容至25 mL,配制成 β -胡萝卜素浓度为192 μ g/mL的标准储备液,再分别稀释至 β -胡萝卜素浓度为192、153.6、115.2、76.8、38.4和19.2 μ g/mL的系列标准使用溶液。

1.2.3 盐藻 β -胡萝卜素提取方法

1.2.3.1 溶剂浸提法(SME) 参照孙协军等方法^[6],采用磁力搅拌提取盐藻 β -胡萝卜素。准确称取0.2 g盐藻粉于100 mL具塞锥形瓶中,按液固比为250 mL/g加入丙酮溶液为提取溶剂,置于恒温磁力搅拌器上,溶液温度调节到35℃后,搅拌提取30 min,减压抽滤,用等体积的提取溶剂洗涤抽滤瓶中滤渣,所得滤液在50℃旋转蒸发至剩溶剂为2 mL左右时,丙酮溶解并定容至50 mL,0.45 μ m膜过滤后,HPLC检测其 β -胡萝卜素浓度为0.385%。

1.2.3.2 微波辅助提取法(MAE) 准确称取2 g盐藻

粉于微波样品罐中,按实验设计加入液固比为50~400 mL/g的提取溶液,设定提取温度为25~55℃、搅拌速度50~300 r/min,风冷时间为10 min,在微波功率为300~900 W条件下提取4~16 min,到设定风冷时间结束后,取出样品罐,将提取液减压抽滤,用等体积的提取溶剂洗涤抽滤瓶中滤渣,所得滤液在50℃旋转蒸发至剩溶剂为2 mL左右时,丙酮溶解并定容至50 mL,0.45 μ m膜过滤后,HPLC检测其 β -胡萝卜素浓度。

1.2.4 实验设计

1.2.4.1 溶剂的选择 准确称取2 g盐藻粉,固定液固比10 mL/g,搅拌速度100 r/min,在微波功率500 W条件下浸提5 min,比较不同提取溶剂(无水乙醇、石油醚、乙酸乙酯和正己烷)所得提取液的 β -胡萝卜素得率,所得最佳溶剂用于以下单因素实验。

1.2.4.2 微波功率对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,固定液固比10 mL/g,浸提温度35℃,搅拌速度100 r/min,在微波功率分别为300、400、500、600、700、800和900 MPa的条件下浸提5 min,考查不同功率对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响,所得最佳微波功率用于以下单因素实验。

1.2.4.3 液固比对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,固定浸提温度35℃,浸提时间5 min,搅拌速率100 r/min,选择液固比分别为50、100、150、200、250、300、350和400 mL/g进行浸提,考查液固比对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响,所得最佳液固比用于以下单因素实验。

1.2.4.4 提取温度对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,固定搅拌速率100 r/min,在提取温度分别为25、30、35、40、45、50和55℃条件下微波提取5 min,考查不同提取温度对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响,所得最佳提取温度条件用于以下单因素实验。

1.2.4.5 提取时间对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,固定搅拌速率100 r/min,设定提取时间分别为4、6、8、10、12、14和16 min,考查浸提时间对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响,所得最佳提取时间条件用于以下单因素实验。

1.2.4.6 搅拌速度对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,在搅拌速度分别为50、100、150、200、250和300 r/min条件下提取,考查搅拌速度对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响,所得最佳搅拌速度条件用于以下单因素实验。

1.2.4.7 提取次数对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 准确称取2 g盐藻粉,在相同条件下,选择提取1、2、3次,考查提取次数对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响。

1.2.4.8 正交实验设计 根据单因素实验结果,固定微波功率为500 W,提取次数为1次,以液固比、提取温度、提取时间和搅拌速度为考查因素,选用L₉(3⁴)正交表安排设计正交实验,具体实验设计见表1。

1.2.5 β -胡萝卜素得率计算方法

$$\text{盐藻}\beta\text{-胡萝卜素得率}(\%) = \frac{C_v}{m} \times 100$$

其中:C为HPLC检测提取液中 β -胡萝卜素浓度,

表1 $L_9(3^4)$ 正交实验设计因素和水平表
Table 1 The design factor and level of orthogonal experiment $L_9(3^4)$

水平	因素			
	A 液固比 (mL/g)	B 提取温度 (°C)	C 提取时间 (min)	D 搅拌速度 (r/min)
-1	200	30	6	120
0	250	35	8	150
1	300	40	10	180

$\mu\text{g/mL}$; v 为提取液定容体积, mL ; m 为提取用盐藻粉质量, g 。

1.2.6 抗氧化实验方法 参照1.2.3.1溶剂浸提方法和1.2.3.2优化出的微波辅助提取方法分别提取盐藻 β -胡萝卜素, 所得提取物经冷冻干燥48 h后得到油状物, 将所得油状物溶于95%乙醇溶液中, 分别配制 β -胡萝卜素浓度分别为0.5~3.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列溶液, 以同浓度 β -胡萝卜素溶液、维生素C溶液或BHT溶液为对照, 进行自由基清除能力实验。

1.2.6.1 还原力测定方法 参照Oyaizu方法^[7]进行, 采用铁氰化钾还原法测定不同浓度盐藻 β -胡萝卜素提取液的还原力, 以相同浓度 β -胡萝卜素溶液和维生素C溶液作为对照。

1.2.6.2 羟自由基清除能力 参照Amarowicz et al.方法^[8]进行, 采用邻二氮菲-亚铁化学法测定比较不同浓度的盐藻 β -胡萝卜素提取液清除羟自由基能力, 以相同浓度 β -胡萝卜素溶液和维生素C溶液作为对照。

1.2.6.3 抗脂质过氧化能力的测定 参照张尔贤等方法^[9]进行, 采用抑制卵磷脂过氧化的方法测定不同浓度 β -胡萝卜素的抗脂质过氧化能力, 以相同浓度 β -胡萝卜素溶液和BHT溶液为对照。其中, 抑制率采用以下公式计算:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

式中, A_c 为不加提取液的对照管吸光度; A_s 为样品管吸光度。

1.3 数据处理

实验数据采用Excel和SPSS 17.0软件进行分析, 以全反式 β -胡萝卜素得率为考查指标。

2 结果与分析

2.1 β -胡萝卜素标准曲线的制作

将配好的 β -胡萝卜素标准溶液依次进样, 得到的色谱图如图1-A所示, β -胡萝卜素的保留时间为15.150 min, 盐藻 β -胡萝卜素提取液的色谱图见图1-B所示, 根据保留时间和DAD光谱扫描结果, 确认保留时间为15.175 min色谱峰为 β -胡萝卜素。以峰面积($\text{mAU} \cdot \text{min}$)为横坐标, β -胡萝卜素浓度平均值($\mu\text{g/mL}$)为纵坐标, 得到一条标准曲线, 标准曲线的回归方程为: $y = 0.3815x - 0.7905$, $R^2 = 0.9991$, 其中 y 为 β -胡萝卜素浓度($\mu\text{g/mL}$), x 为峰面积($\text{mAU} \cdot \text{min}$), 回归方程的线性范围为19.2~192 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 微波辅助提取盐藻 β -胡萝卜素

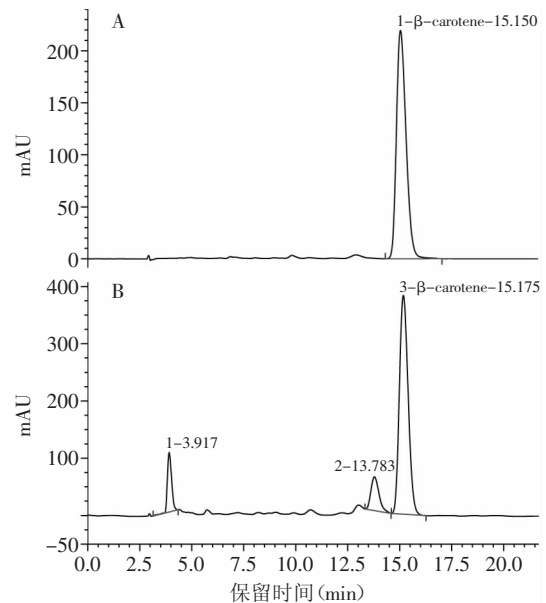


图1 β -胡萝卜素标准品溶液(A)和盐藻 β -胡萝卜素提取液(B)的色谱图

Fig.1 Chromatogram of β -carotene standard(A) and β -carotene extract(B) from *D.salina*

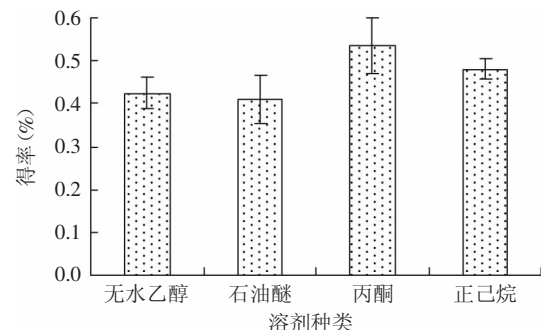


图2 提取溶剂对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响

Fig.2 Effect of different solvent on β -carotene yield of *D.Salina*

2.2.1 提取溶剂的选择 不同溶剂所得 β -胡萝卜素得率见图2所示, 分别为: 无水乙醇(提取温度45 °C), 0.425%±0.035%; 石油醚(沸程60~90 °C; 提取温度35 °C), 0.410%±0.058%; 丙酮(提取温度35 °C), 0.535%±0.064%; 正己烷(提取温度40 °C), 0.480%±0.024%。几种溶剂微波辅助提取 β -胡萝卜素的效率从高到低的顺序为: 丙酮>正己烷>无水乙醇>石油醚, 而几种溶剂对 β -胡萝卜素的溶解度从高到低的顺序为: 石油醚>正己烷>丙酮>乙醇^[10], 可见, 在微波辅助提取中, 提取效率并不只受到溶解度大小的影响, 而不同溶剂对于微波辐射能的吸收程度和将其转化为热量的能力也是关键的决定因素。在本实验中, 虽然 β -胡萝卜素在正己烷和石油醚中溶解度较高, 但由于这两种溶剂吸收微波辐射的能力很弱, 所以, 不适合用作微波提取的溶剂, 因此, 选择丙酮作为微波辅助提取盐藻 β -胡萝卜素的溶剂, 进行以下实验。

2.2.2 微波功率对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 微波功率对盐藻 β -胡萝卜素得率影响的实验结果见图3

所示,由图3可知,高于500 W的微波功率对盐藻β-胡萝卜素得率的影响不大,这是因为在微波功率高于500 W的条件下,丙酮溶液在20 s之内都可以升温到35 ℃,根据丙酮的升温特点,设定其升温时间为1 min,即在1 min内由室温升高到设定温度^[11]。同时选择微波功率为500 W进行下一步实验。

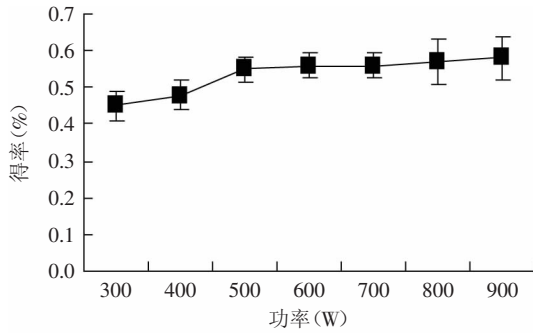


图3 微波功率对盐藻β-胡萝卜素得率的影响
Fig.3 Effect of microwave power on β-carotene yield of *D.Salina*

2.2.3 液固比对盐藻β-胡萝卜素得率的影响 液固比对盐藻β-胡萝卜素得率影响的实验结果见图4所示,由图4可知,盐藻β-胡萝卜素得率均随着液固比的增加而增大,在液固比达到250 mL/g后,盐藻β-胡萝卜素得率有降低的趋势,较高的液固比增加了后继处理的时间,导致盐藻β-胡萝卜素的损失增加,因此,取液固比为250 mL/g进行下一步实验。

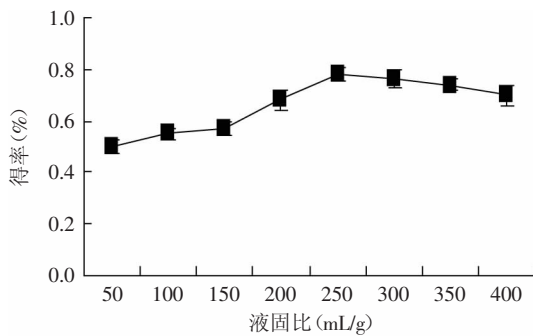


图4 液固比对盐藻β-胡萝卜素得率的影响
Fig.4 Effect of ratio of liquid to solid on β-carotene yield of *D.Salina*

2.2.4 提取温度对盐藻β-胡萝卜素得率的影响 提取温度对盐藻β-胡萝卜素得率影响的实验结果见图5所示。由图5可知,30~45 ℃温度范围内,盐藻β-胡萝卜素得率变化不大,在高于45 ℃后,β-胡萝卜素得率明显降低。实验采用的微波提取装置同时可用于有机物消解,萃取罐内部压力升高的同时,溶剂的沸点升高^[12],β-胡萝卜素的浸出速率加快,而β-胡萝卜素对高于40 ℃以上的温度敏感^[13],长时间处于这个温度下会导致β-胡萝卜素的损失增加,综合以上原因,选择浸提温度35 ℃进行以下实验。

2.2.5 提取时间对盐藻β-胡萝卜素得率的影响 提取时间对盐藻β-胡萝卜素得率影响的实验结果见图6

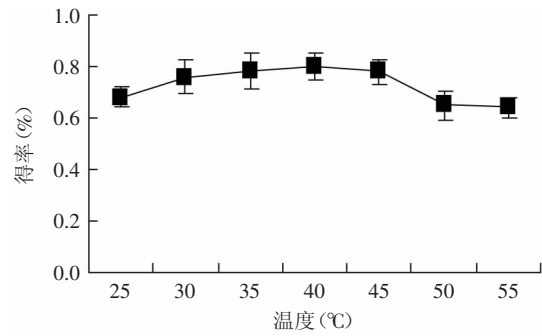


图5 浸提温度对盐藻β-胡萝卜素得率的影响
Fig.5 Effect of extracting temperature on β-carotene yield of *D.Salina*

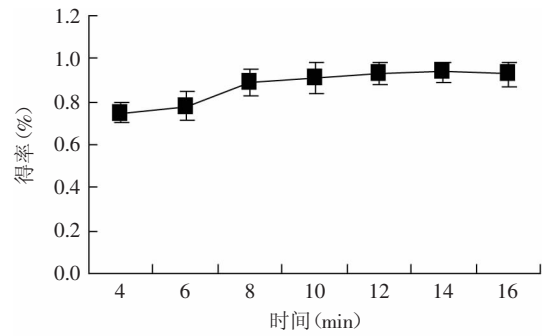


图6 提取时间对盐藻β-胡萝卜素得率的影响
Fig.6 Effect of extracting time on β-carotene yield of *D.Salina*

所示,由图6可知,随着浸提时间从4 min增加到8 min,盐藻β-胡萝卜素得率从0.75%增加到0.89%,之后的增加幅度变缓,在提取时间为16 min时,盐藻β-胡萝卜素的得率仅为0.93%,选择提取时间8 min进行以下实验。

2.2.6 搅拌速度对盐藻β-胡萝卜素得率的影响 搅拌速度对盐藻β-胡萝卜素得率影响的实验结果见图7所示,由图7可知,随着搅拌速度从50 r/min增加到150 r/min,盐藻β-胡萝卜素得率从0.65%增加到1.01%,说明在这个范围内,搅拌速度对于微波萃取效率的影响是比较大的,在搅拌速度超过150 r/min后,β-胡萝卜素得率的增加趋势变缓,在搅拌速度为300 r/min时,盐藻β-胡萝卜素得率增加到1.04%,变化幅度不大,因此,选取搅拌速度为150 r/min进行以下实验。

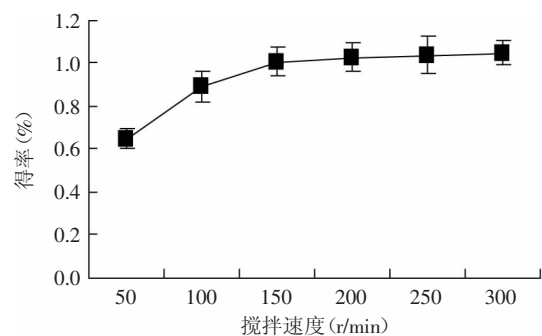


图7 搅拌速度对盐藻β-胡萝卜素得率的影响
Fig.7 Effect of stirring speed on β-carotene yield of *D.Salina*

2.2.7 提取次数对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响 提取1、2、3次所得盐藻 β -胡萝卜素得率分别为:1.01%、1.05%和1.04%(见图8),各得率数值之间没有显著差异($p < 0.05$),考虑到多次提取的工序复杂、成本较高,因此,固定提取次数为1次。

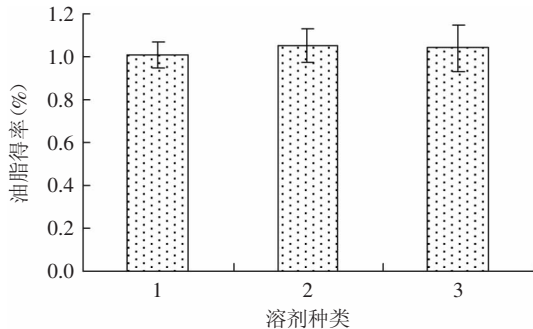


图8 提取次数对盐藻 β -胡萝卜素得率的影响

Fig.8 Effect of extracting frequency on β -carotene yield of *D.Salina*

2.2.8 微波辅助提取盐藻 β -胡萝卜素的正交实验 对正交实验的各因素水平结果进行了极差分析,结果见表2所示。

表2 正交实验结果

Table 2 The result of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	β -胡萝卜素得率 (%)
1	1	1	1	1	0.68
2	1	2	2	2	0.85
3	1	3	3	3	1.01
4	2	1	2	3	0.95
5	2	2	3	1	0.98
6	2	3	1	2	1.08
7	3	1	3	2	0.81
8	3	2	1	3	0.88
9	3	3	2	1	1.04
k_1	0.85	0.81	0.88	0.90	
k_2	1.00	0.90	0.95	0.91	
k_3	0.91	1.04	0.93	0.95	
R	0.16	0.23	0.07	0.05	

从表1中极差分析结果可见,影响盐藻 β -胡萝卜素提取效率的因素依次为:B提取温度>A液固比>C提取时间>D搅拌速度,最佳因素水平为 $A_2B_3C_2D_3$,即液固比250 mL/g、提取温度40 $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间8 min和搅拌速度180 r/min。在此条件下,盐藻 β -胡萝卜素得率为1.13%,所得提取效率高于采用溶剂法(0.395%)^[9],但低于超声波提取方法(1.273%)^[14],所需时间与超声波提取方法(7 min)相近,低于溶剂浸提法(42 min),液固比与溶剂浸提法相近(250 mL/g),低于超声波提取法(500 mL/g),因此,与传统的溶剂萃取法相比,本实验采用的控温为主的微波萃取法具有所需时间短和效率高的优点,但其提取效率仍低于超声波提取法。

2.3 抗氧化活性测定结果

2.3.1 还原力测定结果 一般情况下,样品的还原性能与其抗氧化性能呈正相关,依据盐藻提取液中 β -胡萝卜素还原性能的测定方法,在波长700 nm处测定的吸光值越大,表明所测样品的还原性能越强。抗氧化剂通过提供电子而使自由基形成稳定的结构从而终止了自由基的链式反应,从而起到淬灭自由基的作用。如图9所示,在一定浓度范围内,盐藻 β -胡萝卜素提取液还原力与其 β -胡萝卜素浓度呈正相关,表明盐藻提取液中具有电子供体作用的物质是 β -胡萝卜素。不同提取方法对盐藻 β -胡萝卜素提取液还原力没有显著影响($p < 0.05$)。在低浓度时($< 1 \text{ mg/mL}$), β -胡萝卜素的还原力较弱^[15],但从盐藻 β -胡萝卜素提取液还原力高于同浓度 β -胡萝卜素标准溶液来看,提取液中还存在其他具有还原性的物质,可能是其他溶于丙酮的极性较强的类胡萝卜素物质。

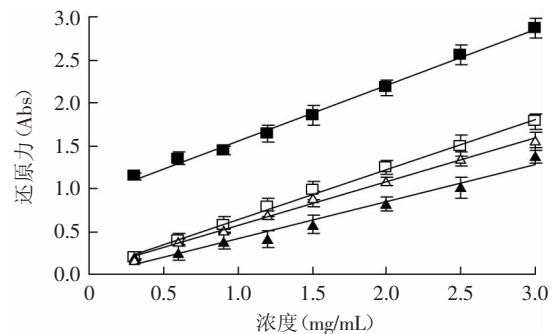


图9 盐藻 β -胡萝卜素的还原力

Fig.9 Reducing power of β -carotene extract from *D.Salina*

注:(■)维生素C溶液,(□)微波辅助法得到的盐藻 β -胡萝卜素提取液,(▲) β -胡萝卜素标准品溶液,(△)溶剂浸提法得到的盐藻 β -胡萝卜素提取液;图10、图11同。

2.3.2 羟自由基清除能力测定结果 羟自由基($\cdot\text{OH}$)是一种高度活泼的自由基,在脂质过氧化的早期阶段中发挥作用,清除原理是基于金属螯合作用^[16]。盐藻提取液羟自由基测定结果如图10所示,当MAE法得到的 β -胡萝卜素提取液浓度为0.1 mg/mL时,其对羟自由基的清除率为38%,但随着浓度的增加,其对羟自由基的清除作用显著增强,当其浓度达到

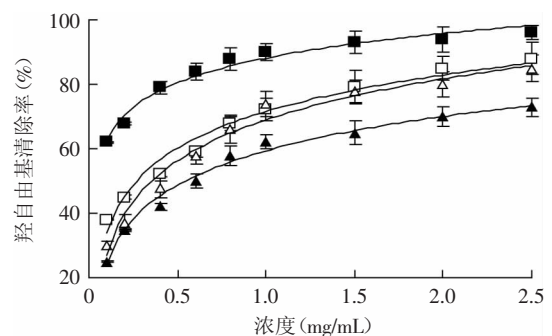


图10 盐藻 β -胡萝卜素羟自由基清除能力

Fig.10 Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) scavenging activities of β -carotene from *D.Salina*

2.5 mg/mL时,其对自由基的清除率达到88%,说明盐藻 β -胡萝卜素具有较好的羟自由基的清除作用。其清除能力高于同浓度 β -胡萝卜素标准溶液,说明盐藻 β -胡萝卜素丙酮提取液中还含有其他具有羟自由基清除能力的物质,但均低于同浓度维生素C溶液,盐藻 β -胡萝卜素半数清除率(IC₅₀)为0.42 mg/mL(MAE法)和0.49 mg/mL(SME法)。

2.3.3 抗脂质过氧化能力测定结果 盐藻 β -胡萝卜素抗脂质过氧化能力如图11所示,由Fe²⁺引发的卵磷脂脂质体体系中盐藻提取液中的 β -胡萝卜素对脂质体有明显的抑制作用,抑制率随 β -胡萝卜素浓度的增加而增大。由图11可见,不同提取方法得到的盐藻 β -胡萝卜素提取液抗脂质过氧化能力略高于 β -胡萝卜素标准溶液,提取液之间抗脂质过氧化能力没有显著差异($p>0.05$),但远低于同浓度BHT(二丁基羟基甲苯)的抗脂质过氧化能力。不同浓度 β -胡萝卜素MAE提取液对脂质体过氧化的抑制率差异较小,当 β -胡萝卜素的浓度为0.1 mg/mL时,对脂质过氧化的抑制率为31%,当 β -胡萝卜素浓度为2.5 mg/mL时,对脂质过氧化的抑制率为63.2%,可见随着浓度的增加其对脂质体过氧化的抑制率显著增强。

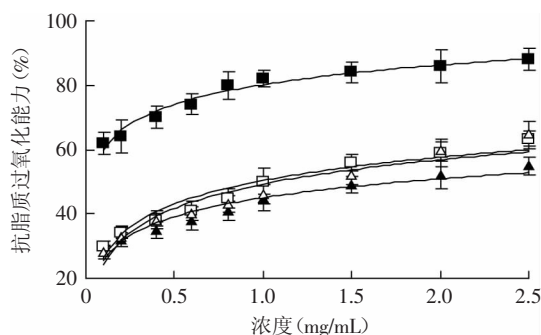


图11 盐藻 β -胡萝卜素抗脂质过氧化能力

Fig.11 Antioxidant activities on β -carotene from *D. Salina*

3 结论

对微波辅助丙酮萃取盐藻 β -胡萝卜素工艺进行了研究,正交实验和极差分析结果表明,影响盐藻 β -胡萝卜素提取效率的因素依次为:提取温度>液固比>提取时间>搅拌速度,最佳提取工艺为:液固比250 mL/g、提取温度40 °C、提取时间8 min和搅拌速度180 r/min,在此条件下,盐藻 β -胡萝卜素得率为1.13%,高于传统的溶剂浸提法,但低于超声波提取法的得率。采用了还原力、羟自由基清除能力和抗脂质过氧化能力这三种体外抗氧化体系对盐藻 β -胡萝卜素提取液的自由基清除能力进行了分析,结果表明,微波辅助提取得到的盐藻 β -胡萝卜素提取液的3种体外抗氧化能力和传统溶剂萃取法所得提取液的没有显著差异($p>0.05$),但这2种萃取方法得到的 β -胡萝卜素提取液的自由基清除能力均高于同浓度的 β -胡萝卜素标准品溶液,但低于同浓度的维生素C

溶液和BHT溶液。

参考文献

- [1] 周鸣谦,刘云鹤,陈宏柱. 超声波强化提取杜氏盐藻中 β -胡萝卜素工艺的研究[J]. 食品研究与开发,2012,33(12):54-57.
- [2] Kha T C, Phan-Tai H, Nguyen M H E. Effects of pre-treatments on the yield and carotenoid content of Gac oil using supercritical carbon dioxide extraction[J]. Journal of Food Engineering,2014,120:44-49.
- [3] Hiranvarachat B,Devahastin S,Chiewchan N, et al. Structural modification by different pretreatment methods to enhance microwave assisted extraction of β -carotene from carrots[J]. Journal of Food Engineering,2013,115:190-197.
- [4] Hiranvarachat B, Devahastin S. Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels[J]. Journal of Food Engineering,2014,126:17-26.
- [5] Kumar C,Karim M A,Joardder M U H. Intermittent drying of foodproducts:a critical review[J]. Journal of Food Engineering,2014,121:48-57.
- [6] 孙协军,李秀霞,励建荣,等. 杜氏盐藻 β -胡萝卜素提取皂化工艺参数优化[J]. 中国食品学报,2014,14(11):90-95.
- [7] Oyaizu M. Studies on products of browning reaction:antioxidative activities of products browning reaction prepared from glucosamine [J]. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics,1986,44(6):307-315.
- [8] Amarowicz R,Pegg R B,Rahimi-Moghaddam P, et al. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies[J]. Food Chemistry,2004,84(4):551-562.
- [9] 张尔贤,俞丽君,周意林,等. Fe²⁺诱发脂蛋白PUFA过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化学与生物物理学报,1996,28(2):218-292.
- [10] 张爱,赵波,王正武. 基于量子化学计算的 β -胡萝卜素溶解性能的QSPR研究[J]. 食品科学,2007,28(9):68-71.
- [11] 孙协军,王珍,李秀霞. 盐藻油微波辅助提取工艺优化[J]. 食品科学,2012,33(10):87-91.
- [12] 卢彦芳,张福成,安静,等. 微波辅助萃取应用研究进展[J]. 分析科学学报,2011,27(2):246-252.
- [13] Chen B H, Yang S H. An improved analytical method for the determination of carotenes and xanthophylls in dried plant materials and mixed feeds[J]. Food Chemistry,1992,44:61-66.
- [14] 孙协军,李佳伟,李秀霞,等. 响应面法优化盐藻 β -胡萝卜素超声波提取工艺[J]. 食品工业科技,2015,36(12):278-281,290.
- [15] 高粱,杨开,孙培龙. 西瓜蜂花粉 β -胡萝卜素超临界萃取工艺优化和抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2012,33(22):115-118.
- [16] Feng T,Du Y M,Wei Y A. Antioxidant activity of half N-acetylated water-soluble chitosan *in vitro*[J]. European Food Research and Technology,2007,225(1):133-138.