

皂化对虾青素- β -环糊精包合物制品包含率的影响^{*}

刘风玲 朱明军 梁世中 蹇华丽

(华南理工大学生物科学与工程学院, 广州, 510640)

摘 要 研究了皂化条件对虾青素- β -环糊精包合物制品包含率的影响。试验结果表明, 当虾青素提取液按每克干酵母加入 25 mL C(NaOH)=0.021 mol/L 的水溶液, 在 20℃、避光条件下反应 20 min 时, 皂化效果较理想, 虾青素保存率可达 86.54%, 包含率由未皂化前的 26.67% 提高到 87.77%。于 50℃、5 000 lx 条件下进行稳定性加速实验, 结果表明, 经皂化后的包合物中虾青素稳定性与虾青素提取液相比提高了约 20 倍。

关键词 虾青素 β -环糊精 皂化 包含率 稳定性

虾青素(Astaxanthin, 3,3'-二羟基- β -胡萝卜素-4,4'-二酮, $C_{40}H_{52}O_4$)属于酮式类胡萝卜素, 它由 8 个异戊二烯单位构成, 是一种多萜类不饱和化合物。在食品添加剂、化妆品、保健品和医药工业等方面具有广阔的应用前景。但由于虾青素中含有一个长的共轭双键系统, 比其他异戊二烯化合物更不稳定, 光、热、酸和氧作用均易破坏虾青素的结构, 严重限制了它的广泛应用, 因此, 提高虾青素稳定性是一个急需解决的关键问题。

文中采用环糊精包合技术对虾青素进行包合, 以提高虾青素稳定性及利用率, 但由于红酵母虾青素提取液中含有一定量的脂肪, 对包合效果影响很大, 使包含率大大降低, 所以需设法降低脂肪含量。文中通过皂化降低提取液中脂肪含量, 主要对皂化反应条件进行了优化研究。

1 仪器与材料

1.1 仪 器

ER-82B 型分析天平: 日本 A&D 公司; HHS 型电热恒温水浴锅: 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; XF7D2 型离心机: 日本日立公司; 722 光栅分光光度计: 重庆分析仪器有限公司; NF1001V/CCA-1110/A-3S 型旋转蒸发器: 日本 EYELA 公司; RW20.n 型搅拌机: 德国 IKA 公司; ALPHA1-4 型冷冻真空干燥器: 德国 CHRIST 公司; CQ-25-12 型超声波清洗器: 中科先达超声电子有限公司。

1.2 材 料

第一作者: 硕士研究生。

^{*} 广东省科技计划项目(No. 2002C1040101)、华南理工大学自然科学基金资助(No. E5321277)、广州市科技计划项目(No. 2003Z2-ED131)。

收稿时间 2004-10-08, 改回时间 2004-12-06

红酵母: 由华南理工大学实验室提供; β -环糊精: 上海伯奥生物科技有限公司, 药用级; 浓 HCl、NaOH、丙酮、乙酸乙酯、正己烷等均为分析纯。

2 试验方法

2.1 虾青素提取方法^[1]

红酵母采用酸热法进行破壁, 然后将细胞破碎液离心洗涤 2 次, 倒掉上清液, 加少量无水硫酸钠粉末, 按每克干酵母加丙酮约 100 mL 的比例加入丙酮, 于 3 000 r/min 条件下离心 15 min, 收集上清液。然后以丙酮为对照, 于 480 nm 波长下测定其吸光度, 按下式计算其虾青素含量。

$$\text{干酵母中虾青素含量}(\mu\text{g/g}) = A_{480} \times D \times V / (0.16 \times m)$$

式中: A_{480} ——色素提取液在 480 nm 波长下的吸光度; D ——稀释倍数; V ——提取用有机溶剂体积(mL); m ——提取用干酵母质量(g); 0.16——有机溶剂消光系数。

2.2 皂化方法^[2,3]

取 20 mL 虾青素提取液, 加入 5 mL 不同浓度的 NaOH 水溶液, 于一定温度、避光条件下反应一段时间, 加入乙酸乙酯 40 mL, 然后加入蒸馏水振荡, 萃取除去水层, 皂化液用蒸馏水洗涤至呈中性后, 收集上清液, 得到乙酸乙酯萃取液。将萃取液以乙酸乙酯为对照, 于 470 nm 波长下测定其吸光度。

2.3 虾青素- β -环糊精包合物的制备

将 2.2 中萃取液移入圆形烧瓶中, 于旋转蒸发器中减压浓缩(20 kPa、50℃、200 r/min)至呈油状, 后加入适量丙酮使溶。另称取 β -环糊精适量于烧杯中, 加水适量, 在 50℃ 条件下搅拌使全部溶解后, 将虾青素丙酮溶液滴加至 β -环糊精水溶液中, 恒温搅拌 7 h,

搅拌转速在 600 r/min 左右,试验过程中保持避光,溶液通 N_2 。然后冷却至室温,置冰箱内冷藏 24 h,抽滤,并先后用适量蒸馏水快速洗涤,冷冻真空干燥,研碎,即得虾青素- β -环糊精包合物^[4-6]。

2.4 包合物中虾青素含量的测定^[4]

精密称取包合物 0.1 g 左右置于锥形瓶中,加水溶解后,加入正己烷与丙酮的混合液[$V(\text{正己烷}):V(\text{丙酮})=1:1$]100 mL,摇匀,置超声波清洗器中处理 10 min,使虾青素转移至有机相中,如此反复数次,直至水相变为无色为止。将有机相合并、无水 Na_2SO_4 脱水后,于 480 nm 波长下测定吸光度。按 2.1 计算包合物中虾青素含量。

包合率(%)=微囊中虾青素含量 \times 所得微胶囊质量/包合前虾青素质量

3 结果与分析

3.1 温度对皂化结果的影响^[2,7]

温度对皂化效果影响较大,合适的温度可显著提高皂化效果,但温度对虾青素稳性也有一定的影响,因此对皂化温度进行了优化试验。分别取 20 mL 色素提取液,加入 5 mL 浓度为 0.021 mol/L 的 NaOH 水溶液(相当于每克干细胞加入 25 mL NaOH 水溶液),水溶液分别在 10、20、30、40 和 50℃ 条件下反应 30 min,皂化液经萃取后,取萃取液适量于 470 nm 条件下测定其吸光度,提取液最初吸光度为 1.401。结果见表 1。

表 1 温度对皂化结果的影响

| | 温度/℃ | | | | |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 吸光度(A_{470}) | 1.035 | 1.143 | 1.062 | 1.032 | 1.002 |
| 萃取液体积/mL | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 虾青素保存率/% | 73.9 | 81.6 | 75.8 | 73.7 | 71.5 |

由表 1 可知,随着温度的升高,虾青素保存率先升高后下降,当温度为 20℃ 时,保存率最高。因为在碱性条件下虾青素很不稳定,容易被氧化,当温度=10℃ 时,由于皂化反应不完全,虾青素酯很难水解为游离的虾青素,因此虾青素保存率低于 20℃ 的,当温度 $\geq 30^\circ\text{C}$ 时,虾青素氧化反应加剧,因此随着温度升高,虾青素保存率降低。综上所述,选择 20℃ 为皂化反应温度。

3.2 NaOH 浓度对皂化结果的影响

通过 3.1 可确定反应温度为 20℃,在此温度下进行 NaOH 浓度对皂化结果的影响试验。分别在 0.016、0.021、0.026、0.031 mol/L 4 个浓度下进行皂

化反应,NaOH 加入量和反应时间同 3.1,提取液最初吸光度为 1.386。皂化结果见表 2。

表 2 NaOH 浓度对皂化结果的影响

| | NaOH 浓度/mol \cdot L ⁻¹ | | | |
|------------------|-------------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0.016 | 0.021 | 0.026 | 0.031 |
| 吸光度(A_{470}) | 1.167 | 1.110 | 1.064 | 1.025 |
| 萃取液体积/mL | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 虾青素保存率/% | 84.20 | 80.07 | 76.77 | 73.92 |

由表 2 可知,随着 NaOH 浓度的升高,虾青素保存率呈下降趋势,但当 NaOH 浓度为 0.016 mol/L 时,由于浓度太低,皂化反应不完全,从而提取液中脂肪含量高,不利于虾青素与 β -环糊精包合反应的进行。因此,选择 NaOH 浓度为 0.021 mol/L 进行皂化反应。

3.3 NaOH 加入量对皂化结果的影响

通过 3.1、3.2 可确定反应温度为 20℃,NaOH 浓度为 0.021 mol/L,在此条件下进行 NaOH 加入量对皂化结果的影响试验。取虾青素提取液 20 mL,分别加入 3、5、7、9 和 11 mL 的 NaOH 溶液进行皂化反应,反应时间为 30 min,提取液最初吸光度为 1.362。皂化结果见表 3。

表 3 NaOH 加入量对皂化结果的影响

| | NaOH 加入量/mL | | | | |
|------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 |
| 吸光度(A_{470}) | 1.136 | 1.103 | 0.990 | 1.011 | 1.030 |
| 萃取液体积/mL | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 虾青素保存率/% | 83.41 | 80.97 | 72.67 | 74.23 | 75.63 |

由表 3 可知,随着 NaOH 加入量的升高,虾青素保存率先呈下降趋势,当加入量高于 7 mL 时又呈上升趋势,可能是由于 NaOH 量太高而使虾青素氧化生成了其他物质所致,另外,当 NaOH 加入量太低时,皂化反应不完全,使提取液中脂肪含量高,不利于虾青素与 β -环糊精包合反应的进行。综合考虑,选择 NaOH 加入量为 5 mL,即每克干酵母加入 25 mL NaOH 溶液进行皂化反应。

3.4 反应时间对皂化结果的影响

通过 3.1、3.2、3.3 可确定反应温度为 20℃,NaOH 浓度为 0.021 mol/L,NaOH 加入量为 5 mL,在此条件下进行反应时间对皂化结果的影响试验。皂化液反应时间分别为 10、20、30、40、50 和 60 min,虾青素提取液最初吸光度为 1.322^[8]。皂化结果见表 4。

由表 4 可知,随着反应时间的延长,虾青素保存率呈下降趋势,但反应时间太短时,皂化反应不完全,使提取液中脂肪含量高,不利于虾青素与 β -环糊精包

合反应的进行。选择皂化反应时间为 20 min。

表 4 反应时间对皂化结果的影响

| | 反应时间/min | | | | | |
|-------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| 吸光度 (A ₄₇₀) | 1.200 | 1.144 | 1.073 | 1.033 | 1.011 | 0.978 |
| 萃取液体积/mL | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 虾青素保存率/% | 90.77 | 86.54 | 81.16 | 78.14 | 76.48 | 73.98 |

3.5 皂化对包合率的影响

通过以上 4 个试验确定皂化条件为 :温度 20℃ , NaOH 浓度 0.021 mol/L ,每克干酵母加入 25 mL NaOH ,反应时间 20 min。称取 60 g 干酵母 ,采用酸热法破壁提取后 ,在此条件下进行皂化反应 ,然后进行虾青素-β-环糊精包合物的制备。另外称取 60g 干酵母 ,在未皂化条件下进行虾青素-β-环糊精包合物的制备 ,分别测定 2 种包合物中虾青素含量 ,并计算其包合率 ,结果见表 5。

表 6 稳定性试验结果

| 样 品 | 保存时间/d | | | | | | | |
|--------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 8 | 15 | 22 | 30 |
| | 虾青素残存率/% | | | | | | | |
| 虾青素提取液 | 100 | 24.03 | 7.58 | 0 | | | | |
| 未皂化包合物 | 100 | 96.15 | 92.67 | 88.96 | 78.26 | 56.25 | 31.36 | 2.38 |
| 皂化后包合物 | 100 | 98.36 | 97.12 | 95.52 | 86.28 | 75.67 | 63.27 | 50.52 |

4 结 论

(1)皂化能提高虾青素-β-环糊精包合物的包合率 ,主要是因为通过皂化反应大大去除了色素提取液中的红酵母油脂 ,但随着皂化条件的加强(NaOH 浓度、用量、反应时间和温度) ,虾青素收率却明显下降 ,因为皂化时虾青素受热和碱的破坏程度随皂化条件加剧而增加 ,所以必须选择合理的皂化条件。

(2)文中对皂化条件进行了优化试验 ,确定最佳的皂化条件为 :温度 20℃ ,NaOH 浓度 0.021 mol/L ,每克干酵母加入 25 mL NaOH ,反应时间 20 min。在此条件下 ,虾青素残存率为 86.54%。经过皂化后 ,包合率明显提高 ,由未皂化前的 26.67% 提高到 87.77%。

(3)稳定性试验表明 ,虾青素经皂化和包合后 ,稳定性与未皂化包合物相比提高了 2 倍 ,与虾青素提取液相比提高了约 20 倍 ,说明经皂化后的包合物包结完全 ,能起到提高虾青素稳定性的作用。

表 5 皂化对包合率的影响

| 包合物样品 | 包合前虾青素 质量/mg | 所得微胶囊 质量/g | 虾青素含量 /μg·g ⁻¹ | 包合率 /% |
|-------|-----------------|---------------|------------------------------|-----------|
| 未皂化 | 34 | 9.25 | 980 | 26.67 |
| 皂化后 | 30 | 9.67 | 2 723 | 87.77 |

从表 5 可知 ,经过皂化后 ,包合率有了很大的提高 ,由未皂化前的 26.67% 提高到 87.77%。

3.6 稳定性试验

取适量虾青素包合物样品于称量瓶中 ,于 50℃ ,5 000lx 条件下进行稳定性加速试验 ,每隔一段测定虾青素含量 ,与原始含相比得残存率。同时用虾青素提取液样品做对照试验 ,用分光光度计检测虾青素含量 ,结果见表 6 所示。从表 6 中可知 ,将虾青素制成虾青素-β-环糊精包合物可大大提高虾青素在保存期间的稳定性 ,而且皂化后包合物稳定性与未皂化包合物相比提高了约 2 倍 ,与虾青素提取液相比提高了约 20 倍。

参 考 文 献

1 朱明军. 红发夫酵母 *Phafia rhodozyma* 培养生成虾青素的研究[D]. 广州 :华南理工大学生物工程系, 2001

2 Yuan Jian Ping ,Chen Feng. Purication of trans - astaxanthin from a high - yielding astaxanthin ester - producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*[J]. Food Chemistry 2000 ,68 :443~448

3 王岁楼 ,朱东梅. 皂化和乳化对红酵母胡萝卜素制品水溶性的影响[J]. 精细化工, 2002 ,19(9) :500~502

4 李 伟 ,丁霄霖. 番茄红素 β-环糊精包合物的制备[J]. 食品科技, 2002 ,10 :39~43

5 Patricia Montassier ,Dominque Duchene ,Marie - Christine Poelman. Inclusion complexes of tretinoin with cyclodextrins [J]. International Journal of Pharmaceuticd ,1997 ,153 :199~209

6 许 萍 ,雍国平 ,盛良全等. 香兰素-环糊精包合物的研究[J]. 食品工业科技, 1998 ,5 :28~29

7 李玉环 ,王 峰 ,刘 群. 皂化法提取番茄红素的研究[J]. 食品科学, 2002 ,23(8) :146~150

8 王燕燕 ,邱进申 ,郑 宇. 皂化对番茄红素提取的影响研究[J]. 食品与发酵工业, 2003 ,29(3) :71~74

Effect of Saponification of the Inclusion Rate of Astaxanthin and β -cyclodextrin

Liu Fengling Zhu Mingjun Liang Shizhong Jian Huali

(College of Bioscience and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510640, China)

ABSTRACT Effects of saponification conditions of astaxanthin by β -cyclodextrin were studied to improve the inclusion rate. Remaining rate of astaxanthin can be reached to 86.54% and inclusion rate can be improved from 26.67% to 87.77% if adding 25 mL 0.021 mol/L NaOH and keep the reaction in dark for 20 min at 20°C. The stability of astaxanthin was improved almost 20 times in the accelerative experiment of stability at 50°C, 5000LX.

Key words astaxanthin β -cyclodextrin saponification inclusion rate stability

信息窗

关于召开第二届大豆食品产业发展论坛

暨中国食品科学技术学会大豆食品分会成立大会的通知

根据中国食品科学技术学会 2005 年度工作计划安排,定于 2005 年 5 月 11~12 日在北京召开第二届大豆食品产业论坛暨中国食品科学技术学会大豆食品分会成立大会。现将有关事项通知如下:

一 会议内容

1. 打破部门和行业界限,围绕振兴我国大豆食品产业的各相关问题进行行业宏观分析,国内外市场研究及学术研讨。

2. 组织召开中国食品科学技术学会大豆食品分会全国会员代表大会,选举产生大豆食品分会第一届理事会、常务理事会,确定工作计划。

3. 大豆食品新原料、新产品、新技术展示。

会议将邀请国家行政主管部门领导,国内外大豆食品产业链相关专家、企业家及金融投资单位、流通贸易单位、新闻媒体的代表参加。

二 会议主办、协办单位

主办单位:中国食品科学技术学会

协办单位:中国食品发酵工业研究院、国家大豆工程技术研究中心

三 会议方式

大会主题发言(专家报告)、行业及学术交流、新产品、新技术展示等。

四 论坛征文主要题目

大豆食品产业的现状与发展前景;大豆食品与健康;大豆食品加工工艺的新进展;传统大豆食品工业化;大豆食品的分类;大豆资源的综合利用;国内外大豆贸易与市场分析;大豆育种与栽培以及新资源;东北老工业基地振兴、西新开发与大豆食品产业;中国大豆食品的历史回顾与展望。

投稿应具有先进性、科学性、准确性和实用性。资料真实、数据可靠、论点明确、结构严谨。以电子邮件或光盘形式报送。有代表性的论文将被作为会议发言。投稿截止时间为 2005 年 3 月 31 日。

“参会回执”请致电或发送电子邮件索取。

五 会议时间与地点

会议时间:2005 年 5 月 11~12 日;报到时间:2004 年 5 月 10 日;会议地点:中国科技会堂(地址:北京市海淀区复兴路 3 号(乘地铁或 1 路、4 路公交车“木樨地”站下车即到))。

联系单位 1:中国食品科学技术学会 联系人:王莉 王京 联系电话:010-65265374,65265375,13501258330(王京)

传真:010-65264731 E-mail:cfst@yahoo.com.cn

联系单位 2:中国食品发酵工业研究院 联系人:涂顺明 联系电话:010-64645445,64635467 传真:010-64635467

E-mail:tuluo@publica.bj.cninfo.net