

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2023.81284

甲壳类水产及其加工副产物中虾青素提取方法研究进展

韩 露¹ 项丹丹¹ 谢 丹² 马子宾¹ 武春卉¹

(1. 台州科技职业学院农业与生物工程学院, 浙江 台州 318000;

2. 安徽工程大学生物与化学工程学院, 安徽 芜湖 241000)

摘要: 虾青素因其生物活性和颜色特性, 在食品、饲料、化妆品和医药领域应用广泛, 其中天然虾青素因其更高的抗氧化活性和安全性, 近些年市场需求量巨大。文章对甲壳类水产中天然虾青素的提取方法进行了综述, 包含预处理以及具体的萃取技术, 如油溶法、有机溶剂法、超临界流体萃取法及新兴的离子液体法和深共晶溶剂法; 总结加工工艺的同时分析了当前天然虾青素提取研究中的问题并指出未来的研究方向。

关键词: 虾青素; 深共晶溶剂; 离子液体; 超临界流体; 有机溶剂

Advances in extraction methods of astaxanthin from crustacean aquatic products and their processing by-products

HAN Lu¹ XIANG Dandan¹ XIE Dan² MA Zibin¹ WU Chunhui¹

(1. College of Agricultural and Biological Engineering, Taizhou Vocational College of Science and Technology, Taizhou, Zhejiang 318000, China; 2. College of Biological and Chemical Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: Astaxanthin is widely used in food, feed, cosmetic and pharmaceutical fields due to its biological activity and color characteristics, among which natural astaxanthin has a huge market demand in recent years due to its higher antioxidant activity and safety. In this review, the extraction methods of natural astaxanthin from crustacean aquatic products were summarized, including pretreatment as well as specific extraction techniques, such as oil solubilization, organic solvent method, supercritical fluid extraction, emerging ionic liquid method and deep eutectic solvent method. Moreover, the current problems in the extraction of natural astaxanthin were analyzed and the future research direction was pointed out.

Keywords: astaxanthin; deep eutectic solvent; ionic liquid; supercritical fluid; organic solvent

虾青素是一种非维生素 A 衍生的酮类脂溶性胡萝卜素, 其生物活性远远优于其他抗氧化剂, 因为它含有 C=C 共轭烯烃结构和羟基, 因而可以与细胞膜内外的自由基反应^[1]。其结构见图 1。在体外, 虾青素对脂质过氧化的抑制作用比维生素 E 高 500 倍, 自由基抗氧化活性比 β -胡萝卜素高 10 倍^[2]。一些动物和临床研究^[3]已经证明, 它能够抗衰老、抑制肿瘤生长, 预防心血管疾病, 且它是唯一能够穿透血脑屏障的类胡萝卜素, 有助于修复中枢神经系统。因此, 虾青素作为营养补充剂、抗氧化剂、抗癌

剂可被广泛运用在食品、饲料、营养品和药品领域。

虾青素的市值在不断攀升, 2025 年有望达到 10 亿, 目前 95% 的虾青素产品是合成虾青素^[4]。但是其合成路线

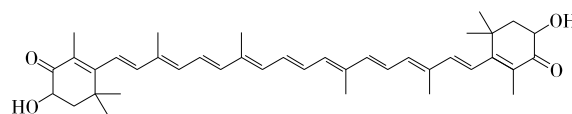


图 1 虾青素的化学结构

Figure 1 Common chemical structures of astaxanthin

基金项目: 浙江省教育厅科研项目 (编号: Y202352565); 浙江省教育厅高等学校国内访问工程师“校企合作项目” (编号: FG2023322); 国家自然科学基金项目 (编号: 32102046)

通信作者: 谢丹 (1987—), 女, 安徽工程大学副教授, 博士。E-mail: 442443468@qq.com

收稿日期: 2023-12-26 **改回日期:** 2024-07-16

比较复杂,抗氧化活性低,受环境影响较大,在食物中运用有一定的风险。天然虾青素是一种红色色素,主要来源于微生物(如海洋微藻类、红法夫酵母)、甲壳类动物(如磷虾、沼虾、螃蟹)和水生动物中(如鲑鱼、鲟鱼)。天然虾青素全球市场需求巨大,目前供应不足。

亚洲是世界上最大的虾类生产地,占全球养殖虾类产量的 70% 左右,其中虾类加工的副产品约占全球的 40%~60%,而虾青素是虾蟹废弃物中的主要类胡萝卜素,约占总类胡萝卜素的 65%~98%^[5]。因此,可从虾蟹等甲壳动物中回收虾青素获得有价值的生物活性成分,提高渔业的经济价值,并最大程度上减少因甲壳动物加工的废弃物引发的环境问题。文章拟就近年利用甲壳类水产以及它们加工副产物提取虾青素的研究进行综述,以期对虾蟹等动物中虾青素的综合利用研究提供一定的参考。

1 甲壳类水产及其加工副产物的预处理

虾蟹类的体壁分为数层,甲壳之下为结缔组织形成的底膜,底膜上有柱状上皮细胞层,甲壳是由上皮细胞层分泌而来。总类胡萝卜素细胞存在于底膜之下的结缔组织中。在虾青素提取前对甲壳进行适当的预处理,能够提高提取率。常用的预处理方法包括机械破碎^[6]、干燥^[7-8]、酸处理^[6,9]、酶处理^[10-11]和微生物^[12-13]处理法。机械破碎能够大大增加虾壳与提取溶剂的接触面积,一般随破碎程度增加提取率增加,但是破碎过细,壳中的蛋白质发生乳化形成黏稠状态不利于溶剂的渗入。干燥利于有机溶剂接触虾青素,干燥方法里冷冻干燥温度低,提取率优于烘干或风干^[14]。但需要注意冻干一定程度上会导致生物材料固体结构崩塌,使溶剂更难进入原料内部。如 Parjikolaei 等^[15]发现无论使用食用油还是溶剂提取,冻干的虾副产品虾青素提取率均明显低于或接近未冻干原料。酸处理可以破坏虾青素和虾壳中蛋白质的结合物,释放出虾青素^[9],也能够通过减少虾青素与钙的结合来提

高提取率^[16]。酶处理使用单一酶^[10]或者复合酶^[11]处理的作用在于水解虾青素和蛋白的结合体,释放出虾青素以提高提取率。微生物发酵的本质是采用其代谢过程中产生的酶对适合的底物实现酶促化学反应。枯草芽孢杆菌、解脂假丝酵母、发酵乳杆菌^[12]与乳酸菌商业混合物^[13]通过发酵后都大大提高了虾青素提取率。微生物法与酶处理类似,它们转化条件温和、利于节能,都较为适用于前处理。

2 甲壳类水产及其副产物的虾青素提取

经过前处理,虾蟹壳的细胞结构被破坏,组织蓬松,同时虾青素从其与蛋白质、矿物质的结合物中释放出来,大大方便了提取。后续的提取方法主要有传统的油溶法、有机溶剂法、超临界 CO₂ 流体提取法,以及新兴的离子液体和深共晶溶剂提取法。

2.1 油溶法

油脂提取虾青素相似相容性高,油脂除了对环境友好,也能对氧气起到屏障作用,可有效延缓虾青素的氧化时间和降解速度。含虾青素的色素油可以作为水产养殖饲料的能量来源,或者直接添加氨基酸和糖,通过美拉德反应制成虾味调味液^[10]。采用油脂提取甲壳类水产及其副产物中虾青素的工艺参数见表 1。

从虾蟹中提取虾青素的研究所使用的油脂种类丰富,主要包括花生油^[10]、葵花籽油甲酯^[15]、芝麻油^[17]、米糠油^[17]、葵花籽油^[15,17-18]、大豆油^[17-18]、棕榈油^[19]等。研究显示,油脂的黏度对提取有较大影响。Parjikolaei 等^[15]比较了葵花籽油和葵花籽油甲酯提取虾副产物(经冷冻干燥)中虾青素的效果,葵花籽油甲酯更优,因为其黏度只有葵花籽油的 10%,利于传质。Pok 等^[18]分别用大豆油和葵花籽油从南美螃蟹中提取虾青素,大豆油提取率更高,同样是因为其黏度更低,且其提取率与使用丙酮提取结果相近。但与 Pok 等^[18]的研究结果相反,Hooshmand 等^[17]从螃

表 1 油脂提取甲壳类水产及其加工副产物中虾青素的工艺研究

Table 1 Process studies on the extraction of astaxanthin from crustacean aquatic products and their processing by-products by oils and fats

种类	油脂种类	温度/℃	微波功率/W	液固比/(mL/g)	搅拌器速度/(r·min ⁻¹)	提取时间/min	虾青素提取率	参考文献
罗氏沼虾头和壳	花生油	/	300	1:1	/	40	97.8 μg/g(湿重)	[10]
<i>Pandalus borealis</i> 头、壳和尾	葵花籽油甲酯	70	/	9:1	400	180	34.2 mg/kg(干重)	[15]
<i>P. borealis</i> 头、壳和尾	葵花籽油	70	/	9:1	400	180	23.0 mg/kg(干重)	[15]
蓝蟹(<i>Portunus pelagicus</i>)壳	葵花籽油	78	/	5:1	3 000	95	0.372 μg/g(湿重)	[17]
<i>Penaeus semisulcatus</i> 壳	葵花籽油	40	/	5:1	3 000	180	5.553 μg/g(湿重)	[17]
<i>Dilocarcinus pagei</i>	大豆油	90	/	140:1	搅拌(速度未给出)	170	50.0 μg/g(干重)	[18]
<i>D. pagei</i>	葵花籽油	90	/	60:1	搅拌(速度未给出)	161	31.0 μg/g(干重)	[18]
凡纳滨对虾(<i>Litopenaeus vannamei</i>)壳	棕榈油	70	/	2:1	/	240	5.090 9 mg/g(干重)	[19]

蟹和虾废料均质后的样品中(未干燥)提取虾青素,比较了葵花籽油、大豆油、芝麻油和米糠油的提取率,结果表明葵花籽油提取产量最高,与丙酮提取进行了比较,葵花籽油提取率不及丙酮的10%。这种差异可能是因为后者采用样品直接均质后提取,未经过干燥,其中包含的水分对后续的油脂提取有一定的影响。

总体来看,油脂提取虾青素,简便易行,成本较低,但是大部分情况下,提取率不及溶剂提取法。需要注意的

是,提取后由于油脂不便去除,运用范围有限。

2.2 有机溶剂提取法

虾青素传统提取方法中研究最多的是有机溶剂萃取法,该方法能够提供较高的虾青素产量。主要使用乙醚^[6]、乙酸乙酯^[6,9]、异丙醇^[6,17]、甲醇^[20]、石油醚^[6,21]、乙醇^[6,11,21]、正己烷^[6,17,21]、二氯甲烷^[16,22]、丙酮^[6,17-18,20-21,23]。采用有机溶剂提取甲壳类水产及其副产物中虾青素的工艺参数见表2。

表2 有机溶剂提取甲壳类水产及其加工副产物中虾青素的工艺研究[†]

Table 2 Process study of organic solvent extraction of astaxanthin from crustacean aquatic products and their processing by-products

种类	有机溶剂种类	料液比/(g/mL)	温度/℃	萃取级数	时间/min	超声/微波	提取率	参考文献
南极磷虾(<i>Euphausia superba</i>)壳	丙酮(虾壳残渣)	1:5	40.0	1	210.0	/	15.6%*	[6]
	乙醇(沉淀)	1:4	40.0	1	120.0	/	73.7%*	[6]
小龙虾壳	乙酸乙酯	1:19	34.0	3	120.0	/	67.40 μg/g(干重)	[9]
南极磷虾(<i>Euphausia superba</i> Dana)	无水乙醇	1:4	常温	2	10.0	/	90.42%*	[11]
南极磷虾(<i>E. superba</i>)壳	二氯甲烷	1:5	30.0	2	420.0	/	131.56 μg/g(湿重)	[16]
蓝蟹(<i>P. pelagicus</i>)壳	丙酮	1:2	78.0	5	96.0	/	9.777 μg/g(湿重)	[17]
<i>P. semisulcatus</i> 壳	丙酮	1:6	40.0	4	180.0	/	81.798 μg/g(湿重)	[17]
<i>D. pagei</i>	丙酮(含抗氧化剂BHT 0.01%)	1:60	室温	/	15.0	超声(功率未给出)	46 μg/g(干重)	[18]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>)煮熟的虾壳	丙酮	1:10	25.0	/	5.0	超声 40 kHz	270.04 μg/g(干重)	[20]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>)煮熟的虾壳	正己烷—异丙醇混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{异丙醇}}=3:2$)	1:10	25.0	/	5.0	超声 40 kHz	284.48 μg/g(干重)	[20]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>)煮熟的虾壳	甲醇	5:21	25.0	/	5.0	超声 40 kHz	57.34 μg/g(干重)	[20]
绿虎虾(<i>P. semisulcatus</i>)壳	石油醚—丙酮—水混合液($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{水}}=15:75:10$)	1:4	26.3	1	13.9	超声振幅 23.62%	48.47 μg/g(干重)	[21]
南极磷虾(<i>E. superba</i>)壳	二氯甲烷	1:30	30.0	/	150.0	/	245.01 μg/g(干重)	[22]
凡纳滨对虾(<i>L. vannamei</i>)壳	二氯甲烷	1:30	30.0	/	180.0	/	172.21 μg/g(干重)	[22]
罗氏沼虾(<i>Macrobrachium rosenbergii</i>)壳	二氯甲烷	1:20	30.0	/	180.0	/	88.69 μg/g(干重)	[22]
<i>Aristeus antennatus</i> 头	丙酮	1:10	/	1	5.0	超声 600 W	23.4 μg/g(干重)	[23]
<i>A. antennatus</i> 头	正己烷—丙酮—乙醇混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{乙醇}}=2:1:1$)	1:20	/	/	7.0	微波 30 W	23.92 μg/g(干重)	[23]
<i>A. antennatus</i> 壳	丙酮	1:10	/	/	5.0	超声 600 W	6.73 μg/g(干重)	[23]
<i>A. antennatus</i> 壳	正己烷—丙酮—乙醇混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}:V_{\text{乙醇}}=2:1:1$)	1:20	/	/	7.0	微波 30 W	13.3 μg/g(干重)	[23]
<i>L. vannamei</i> 头和壳	正己烷—异丙醇混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{异丙醇}}=1:1$)	4:25	冰浴,1℃以下	/	25.0	连续脉冲 80% 振幅	49.81%*	[24]

[†] *该提取率为所提取虾青素相对于总虾青素的质量分数。

提取溶剂的极性是否适合是影响提取效率的关键因素。对于潮湿的组织,非极性溶剂不合适,因为非极性溶剂通过虾青素周围亲水层的渗透性是有限的。而乙醇、异丙醇、甲醇、丙酮可与水混溶,更有利于虾青素的提取。如虾壳经酶解处理得到的虾壳残渣和沉淀^[6],前者是未干燥的虾壳,后者是黏稠的膏状物,含水量均高,因而极性较大的丙酮和乙醇提取率更高。样品经过干燥处理水分含量较低,而虾青素本身是弱极性化合物,对于含水量低的组织,根据相似相容性原理,它在中等极性溶剂中的溶解度较大。如经过 50 °C 的烘箱烘干后的虾壳,无论是罗氏沼虾、南极磷虾还是凡纳滨对虾,都是中等极性的二氯甲烷的提取率最高,优于强极性的甲醇、乙醇、丙酮和非极性的石油醚^[22]。从低水分样品中提取虾青素会随着溶剂极性的轻微变化而变化,也可以通过使用极性和非极性溶剂的混合物来实现提取,如正己烷/丙酮^[17]、正己烷/异丙醇^[17,20-21]、石油醚/丙酮/水^[21]。

有些研究者会在用溶剂提取类胡萝卜素时,同时采用超声波^[10,18,23]或微波^[23]来辅助萃取。但关于超声波的效果存在一定的争议。如 Gulzar 等^[24]发现连续超声辅助正己烷-异丙烷混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{异丙烷}}=1:1$)提取太平洋白对虾头胸部,脂质产量从 25.32% 提高到 49.81%,且超声波连续模式的产量比脉冲模式的高。但 Tsiaka 等^[23]研究结果显示,与连续超声处理相比,脉冲超声是一种更有效和节能的方法。

虽然传统的有机溶剂提取法效率较高,但分离溶剂需要消耗大量能源,并可能导致环境污染。在全球绿色化学和可持续发展的大背景下,有机溶剂萃取已经不再是未来的主流生产方式,应该探索新的绿色可持续的方法。

2.3 超临界 CO₂ 流体萃取法

超临界 CO₂ 提取绿色环保,提取速度快、纯度高,适合热不稳定性分子回收^[25]。主要用于非极性和低/中相对分子质量化合物(相对分子质量 < 500)的提取,若将其应用于极性或者相对分子质量较大的化合物时,则需要更高的压力范围内操作或加入夹带剂来增加化合物在 CO₂ 中的溶解度。采用超临界 CO₂ 流体提取甲壳类水产及其副产物中虾青素的工艺参数见表 3。

虾青素的相对分子质量为 596.86,因此使用该方法时为了提高溶解度,通常使用有机溶剂作为夹带剂,如乙酸乙酯^[7]、正己烷/丙酮^[8]、甲醇^[26]、水^[26]、乙醇^[7-8,26-27]。这些溶剂能够与虾青素之间生成氢键,使虾壳基质的孔隙膨胀,便于提取。有研究团队^[8,27]用回收的鱼油、葵花籽油、葵花籽油甲酯作为助溶剂,虽然提取率不高,但是从废油回收角度来看可节约成本,同时得到的富含虾青素的油脂,可作为水产养殖饲料的能量来源,起到色素载体和脂质能量来源的双重作用。

超临界 CO₂ 提取显示出较高的虾青素提取产量和回收率,但即使添加了助溶剂,虾青素的提取率整体仍小于有机溶剂提取法,且设备昂贵、技术要求高,因此超临界 CO₂ 提取用于工业化生产尚存在较大困难。

2.4 离子液体微乳剂提取法

离子液体是由熔点低于 100 °C 的阴阳离子组成的盐类,具有蒸气压低、可燃性小、热稳定性高和化学性质稳定等特点^[28],在低剂量情况下,不会导致细胞损伤。其内部有氢键、偶极-偶极、 $\pi-\pi$ 和范德瓦尔斯作用^[29],可通过改变官能团或者阴阳离子组合来调节性质,作为挥发性有机溶剂的潜在代替物。离子液体的阳离子基团和虾青素之间发生疏水和静电相互作用,阴离子可通过氢键附着在虾青素的两个亲水端^[30]。采用离子液体提取甲壳类水产及其副产物中虾青素的工艺参数见表 4。

离子液体本身分子黏度大,不利于传质,因此有研究使用离子液体和乙醇的组合提取虾青素。如 Bi 等^[29]比较了乙醇和不同的离子液体(1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐、1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐、1-己基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐、1-丁基-3-甲基咪唑甲基硫酸酯、1-丁基-3-甲基咪唑氯、1-丁基-3-甲基咪唑溴化铵、1-丙胺-3-甲基咪唑溴化铵)对虾中虾青素的提取情况。试验结果表明,前 3 个离子液体有同样的阴离子,阳离子的氢键能力和疏水性从乙基到己基逐渐增加,导致 1-己基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐与虾青素的相互作用更强。后 4 个离子液体加入了特殊的官能团,其中 1-丙胺-3-甲基咪唑溴化铵有最高的虾青素提取率,其还原性胺基的存在还能保护虾青素。

另外,基于离子液体的微乳液也被用于虾青素的提取。如离子液体/(曲拉通 X-100+正丁醇)/水微乳液,离子液体三丁基溴化磷、三氟乙酸三丁基磷或三氟乙酸四丁基磷均能显著提高了虾青素提取率。其中三丁基溴化磷的微乳液提取率最高,且加入超纯水作为抗溶剂能够析出虾青素,纯化较为方便^[31]。

尽管有研究强调离子液体提取类胡萝卜素等生物活性化合物的好处,但其在工业领域的运用却较少。可能主要因为成本高(比传统溶剂贵 5~20 倍),以及一些传统的咪唑类离子液体的毒性和不可生物降解性造成了环境风险。

2.5 深共晶溶剂法

深共晶溶剂(deep eutectic solvent)具有与离子液体类似的物理特性,但对环境和经济的影响更小,合成路线更直接、毒性更低。深共晶溶剂由两种以上成分构成,其中一种是氢键受体(HBA),另一种是氢键供体(HBD)。这些成分在混合熵、氢键和范德华力的作用下形成共熔物溶剂。深共晶溶剂低蒸气压、低毒性、环境友好、成本低廉,能溶解各种化合物,非常适合天然化合物的提取,因此被研究人员看作“21 世纪的溶剂”^[32]。同时可以根据

表3 超临界流体萃取法提取甲壳类水产加工副产物中虾青素的工艺研究

Table 3 Process study of supercritical fluid extraction for the extraction of astaxanthin from crustacean aquatic processing by-products

种类	助溶剂	助溶剂添加量	流速	压力/ MPa	温度/℃	时间/min	提取率	参考 文献
小龙虾壳	95%乙醇	$V_{乙醇}:V_{CO_2}=1:1$	30 L/h	30	50 分离温度40	120	26.13 μg/g (干重)	[7]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	/	/	1.5 L/min	30	50	180	32.14 μg/g (干重)	[8]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	95%乙醇	$V_{乙醇}:m_{冻干虾壳粉}=5:1$	1.5 L/min	30	50	60(静态), 60(动态)	51.79 μg/g (干重)	[8]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	正己烷—丙酮混合液 ($V_{正己烷}:V_{丙酮}=2:3$)	$V_{正己烷—丙酮混合液}:m_{冻干虾壳粉}=5:1$	1.5 L/min	30	50	60(静态), 60(动态)	43.31 μg/g (干重)	[8]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	葵花籽油	$V_{葵花籽油}:m_{冻干虾壳粉}=5:1$	1.5 L/min	30	50	60(静态), 60(动态)	18.91 μg/g (干重)	[8]
大西洋虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	鱼油	$V_{鱼油}:m_{冻干虾壳粉}=5:1$	1.5 L/min	30	50	60(静态), 60(动态)	4.57 μg/g (干重)	[8]
对虾(<i>L. vannamei</i>)壳 乳酸发酵后的冻干液	乙醇	$V_{CO_2}:V_{乙醇}=95:5$	6 mL/min	30	60	120(动态)	0.635 3 μg/g (冻干液)	[13]
对虾(<i>Penaeus monodon</i>) 头和壳	乙醇	$V_{CO_2}:V_{乙醇}=85:15$	30 L/h	20	60	15(静态), 120(动态)	58.03 μg/g (干重)	[26]
丹麦北方虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	/	/	20 g/min	40	55	180	23.0 μg/g (干重)	[27]
丹麦北方虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	乙醇	$V_{CO_2}:V_{乙醇}=95:5$	20 g/min	40	55	180	50.8 μg/g (干重)	[27]
丹麦北方虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	葵花籽油	$V_{CO_2}:V_{葵花籽油}=95:5$	20 g/min	40	55	180	25.4 μg/g (干重)	[27]
丹麦北方虾(<i>P. borealis</i>) 头、壳和尾	葵花籽油甲酯	$V_{CO_2}:V_{葵花籽油甲酯}=95:5$	20 g/min	40	55	180	35.0 μg/g (干重)	[27]

表4 超临界流体萃取法提取甲壳类水产加工副产物中虾青素的工艺研究

Table 4 Process study of supercritical fluid extraction for the extraction of astaxanthin from crustacean aquatic processing by-products

虾蟹种类	离子液体/ 辅助溶剂比例	料液比 (g/mL)	温度/ ℃	时间/ min	超声/ W	提取率/ (μg·g ⁻¹ 干重)	参考 文献
虾副产物	$n_{[C_3NH_2MIM][Br]}:V_{乙醇}=1:2$ (mol/L)	1:10	室温	60	75	92.70	[29]
<i>L. vannamei</i> 副产物	$m_{三丁基溴化磷}:m_{曲拉通X-100-正丁醇}:m_{水}=13:25:62$	1:20	/	60	50	32.47	[31]

提取物的性质,设计不同的氢键供体、受体组合以提高相似相容性,这是深共晶溶剂的一个关键优势。天然深共晶溶剂(NaDES)使用天然成分,除具备深共晶溶剂的一般特点外,它还有低毒或无毒和高生物降解潜力。NaDES在其自身成分和被提取的化合物之间形成强氢键,提高工艺产量,稳定所获得的提取物,从而保护分子不被降解。采用深共晶溶剂提取甲壳类水产及其副产物中虾青素的工艺参数见表5。

近年在甲壳类产品虾青素的提取中,所使用的深共晶溶剂主要有氯化胆碱(CC)/酒石酸(TA)^[33]、氯化胆碱/醇类^[34]、薄荷醇/肉豆蔻酸^[35]。深共晶溶剂相较传统方法,有其优势,但也有潜在的问题。第一个问题是大部分深共晶溶剂黏度较大,影响传质。为此,有研究者向其中添加辅助溶剂,如甲醇^[33]、水^[34]等,从而降低黏度促进提取。或者选用黏度更低的萜类,如薄荷醇和脂肪酸组合^[35]。程婉婷等^[36]研究了薄荷醇、月桂酸、癸酸为HBA,不同链长

表 5 深共晶溶剂法提取甲壳类水产加工副产物中虾青素的工艺研究

虾蟹种类	深共晶溶剂	超声波/微波/旋转	温度/ ℃	时间/ min	液固比 (mL/g)	虾青素 提取率	参考 文献
红虾(<i>A. antennatus</i>)头	$V_{\text{氯化胆碱}}:V_{\text{酒石酸}}(n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{酒石酸}}=2:1):V_{\text{甲醇}}=80:20$	超声波 600 W(开 15 s/关 5 s)	30~35(冰浴保持)	6	10:1	7.85 mg/100 g (干重)	[33]
红虾(<i>A. antennatus</i>)头	$V_{\text{氯化胆碱}}:V_{\text{酒石酸}}(n_{\text{氯化胆碱}}:n_{\text{酒石酸}}=2:1):V_{\text{甲醇}}=80:20$	微波 30 W	52	7	20:1	26.7 mg/100 g (干重)	[33]
虾头	$m_{\text{氯化胆碱}}/1,2\text{-丁二醇}(n_{\text{氯化胆碱}}:n_{1,2\text{-丁二醇}}=1:5):m_{\text{水}}=90:10$	超声 70 W	/	30	15:1	146 μg/g (干重)	[34]
虾壳	$m_{\text{氯化胆碱}}/1,2\text{-丁二醇}(n_{\text{氯化胆碱}}:n_{1,2\text{-丁二醇}}=1:5):m_{\text{水}}=90:10$	超声 70 W	/	30	15:1	218 μg/g (干重)	[34]
褐蟹(<i>Cancer pagurus</i>)壳	$n_{\text{薄荷醇}}:n_{\text{肉豆蔻酸}}=8:1$	旋转 60 r/min	60	120	4:1	8.1 μg/g (干重)	[35]

的有机酸作为HBD构建了7种深共晶溶剂,考察了虾青素在其中的溶解度,它们表现出理想的流动性,传质速率较高,溶解虾青素能力均强于乙醇和离子液体三丁基辛基氯化磷,这为选择和设计提取虾青素的深共晶溶剂及其应用提供了理论指导。

深共晶溶剂工业化应用潜在的第二个问题是其蒸汽压低,从中回收生物活性化合物具有挑战性。然而,由于其成分固有的无害特性,回收并不是一个必要的步骤。如氯化胆碱与酒石酸构成的深共晶溶剂属于GRAS级,用于食品补充剂,无需从溶剂中分离^[33]。Rodrigues等^[35]还研究了薄荷醇/肉豆蔻酸混合物的细胞毒性和抗增殖活性,结果显示细胞毒性较低,同时有抑制结肠癌细胞以及革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌生长的潜力,因此建议将深共晶溶剂直接作为功能成分应用于药品、营养品或化妆品/个人护理行业。此外,深共晶溶剂提供了一种稳定生物活性化合物的方法,也可作为这些敏感分子的储存系统,甚至是可以直接用于特定应用的配方。目前仅有少数研究者考虑到了类胡萝卜素提取中绿色溶剂的再利用,主要通过沉淀、添加抗溶剂以及柱层析进行物理分离再利用。

需要注意的是,虾青素有顺反式异构体。全E(反式)类胡萝卜素容易形成晶体,在大多数溶剂中的溶解度较低,相反,Z(顺式)异构体以无定形态存在,更易溶解和提取^[37]。另外类胡萝卜素Z(顺式)-异构体比所有E(反式)-异构体生物利用率更高^[38]。超声波、微波被广泛应用于辅助提取,前者可将全反式虾青素降解为不明无色化合物,而微波则会诱导全E(反式)虾青素异构化为Z(顺式)虾青素,异构化的百分比随处理时间和微波功率的增加而增加,因此,微波处理更加有利^[39]。这与Koutsoukos等^[33]的研究结果一致,他们也发现相较于超声,微波的提取率更高,接近有机溶剂提取,但他们未究虾青素的异构

化,认为主要是微波提高了提取温度,导致溶剂扩散性和渗透性更好。在促虾青素等类胡萝卜素的异构体转化方面,除了微波方法,Honda等^[40]尝试了通过添加富含类胡萝卜素异构化催化剂(硫氰酸酯、多硫化物、碘)的洋葱、西兰花、芥末、松布以及香菇,促进乙酸乙酯从番茄中提取番茄红素,有效增加了番茄红素的Z-异构化比例,从而提高了生物利用度和生物效应。番茄红素与虾青素都属于类胡萝卜素,因此在促虾青素异构化上,这一方法值得深入探究。

3 结论与展望

甲壳类动物性原料中虾青素的提取,目前较为有效的预处理方法包括机械破碎、干燥、酸处理、酶处理和微生物处理,通过预处理释放出与蛋白质等其他物质结合的虾青素或增加后续提取溶剂与虾青素的接触面积,进而提高提取率。提取的传统方法有油溶法、有机溶剂法。油溶法需要较高温度,影响虾青素的稳定性,提取率不高,同时油脂不便去除,应用受限。有机溶剂法虽然提取率较高,但安全和环保压力较大。近些年发展起来的超临界流体萃取提取率高,安全环保,但设备昂贵、技术要求高,用于工业化生产存在困难。萃取领域新兴的离子液体和深共晶溶剂优势明显,前者相对来说成本较高,且一些传统的离子液体毒性较大,生物降解性差。深共晶溶剂提取率高,同时能有效解决毒性大和环境污染问题,价格低廉,无需大型设备,适合工业化。目前关于深共晶溶剂提取虾蟹等甲壳动物中虾青素的探索还处于初级阶段,主要的研究是设计和比较不同的氢键供体—氢键受体组合,以及通过添加辅助溶剂降低黏度来提高虾青素的提取率,该方法有较大的发展前景。

虾青素的Z(顺式)比全E(反式)结构表现出更高的生物利用率,但促虾青素异构化的研究较为缺乏,仅有少数团队试验了微波和超声波在这方面的作用。相关的类

胡萝卜素全 *E*(反式)向 *Z*(顺式)转化的文献也主要围绕植物如番茄中番茄红素,未发现有关甲壳类动物中虾青素顺反异构体转化的研究。考虑到虾青素顺反异构体溶解性和生物利用率差别较大,因此促虾青素 *Z*-异构化的方法值得探索。已有的植物中类胡萝卜素 *Z*-异构化的方法(如添加天然的 *Z*-异构化催化剂——硫氰酸酯、多硫化物或碘)可供借鉴。同时深共晶溶剂提取虾青素后溶剂的回收仍存在较大难度,因此,虾青素的分离和纯化是今后高浓度天然虾青素产品生产和运用中必须解决的问题。

参考文献

- [1] DOSE J, MATSUGO S, YOKOKAWA H, et al. Free radical scavenging and cellular antioxidant properties of astaxanthin[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(1): 103.
- [2] PRAMEELA K, VENKATESH K, IMMANDI S B, et al. Next generation nutraceutical from shrimp waste: the convergence of applications with extraction methods[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 121-132.
- [3] ZHAO T, YAN X J, SUN L J, et al. Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91: 354-361.
- [4] 刘志东, 马德蓉, 陈雪忠, 等. 南极磷虾虾青素研究进展[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(5): 866-874.
LIU Z D, MA D L, CHEN X Z, et al. Research progress of astaxanthin from Antarctic krill: a review[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2021, 36(5): 866-874.
- [5] PRAMEELA K, VENKATESH K, IMMANDI S B, et al. Next generation nutraceutical from shrimp waste: the convergence of applications with extraction methods[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 121-132.
- [6] 宋素梅. 南极磷虾壳中虾青素的提取与分离纯化[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 20-28.
SONG S M. Extraction and purification of astaxanthin from Antarctic krill shells[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013: 20-28.
- [7] 罗建光. 超临界 CO₂ 提取虾青素的条件优化[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(12): 54-57.
LUO J G. Optimization of supercritical CO₂ extraction of astaxanthin[J]. Grain and Fats, 2018, 31(12): 54-57.
- [8] AHMADKELAYEH S, CHEEMA S K, HAWBOLDT K. Supercritical CO₂ extraction of lipids and astaxanthin from Atlantic shrimp by-products with static co-solvents: process optimization and mathematical modeling studies[J]. Journal of CO₂ Utilization, 2022, 58: 101938.
- [9] 张乐宏, 盖永强, 王鹏, 等. 小龙虾下脚料中虾青素和甲壳素提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(14): 141-151.
ZHANG L H, GAI Y Q, WANG P, et al. Extraction technology of astaxanthin and chitin from crayfish leftovers[J]. Food Research and Development, 2022, 43(14): 141-151.
- [10] 钱建瑛, 王雨露, 李恒, 等. 利用沼虾废弃物制备富含虾青素的食用油和虾露调味液的工艺研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(11): 99-104.
QIAN J Y, WANG Y L, LI H, et al. Study on preparation of edible oil and shrimp sauce flavoring liquid rich in astaxanthin from macrobrachium rosenbergii waste[J]. China Seasoning, 2022, 47(11): 99-104.
- [11] 谈俊晓. 南极磷虾虾青素制备及稳定性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018: 8-21.
TAN J X. Study on preparation and stability of astaxanthin from antarctic kill[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018: 8-21.
- [12] 许艳. 中华管鞭虾(*Solenocera crassicornis*)加工副产物生物发酵及虾青素稳态化研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2022: 10-21.
XU Y. Biofermentation of penaeus sinensis (*Solenocera crassicornis*) by-products and stabilization of astaxanthin[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2022: 10-21.
- [13] CABANILLAS-BOJÓRQUEZ L A, GUTIÉRREZ-GRIJALVA E P, GONZÁLEZ-AGUILAR G A, et al. Valorization of fermented shrimp waste with supercritical CO₂ conditions: extraction of astaxanthin and effect of simulated gastrointestinal digestion on its antioxidant capacity[J]. Molecules, 2021, 26(15): 4 465.
- [14] 宋庆洋, 米武娟, 王斌梁, 等. 克氏原螯虾壳虾青素提取条件的优化[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(6): 115-119.
SONG Q Y, MI W J, WANG B L, et al. Optimization of astaxanthin extraction technology from procambarus clarkii[J]. Environmental Science and Technology, 2018, 41(6): 115-119.
- [15] PARJIKOLAEI B R, EL-HOURI R B, FRETTE X C, et al. Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 155: 22-28.
- [16] 张晓燕. 南极磷虾壳中虾青素提取纯化与纳米包载[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 24.
ZHANG X Y. Study on the extraction, purification and encapsulation of astaxanthin from antarctic krill shell[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013: 24.
- [17] HOOSHMAND H, SHABANPOUR B, MOOSAVI-NASAB M, et al. Optimization of carotenoids extraction from blue crab (*Portunus pelagicus*) and shrimp (*Penaeus semisulcatus*) wastes using organic solvents and vegetable oils[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(5): e13171.
- [18] POK P S, STEFANINI M I, CALVO N S. Sustainable production of astaxanthin from *Dilocarcinus pagei* crab and optimisation of its extraction with edible oils[J]. Heliyon, 2023, 9(6): e17381.
- [19] KARNILA R, HASAN B, ILZA M, et al. Astaxanthin

- extraction of vanname shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using palm oil[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 695(1): 012056.
- [20] DAVE D, LIU Y, POHLING J, et al. Astaxanthin recovery from Atlantic shrimp (*Pandalus borealis*) processing materials [J]. Bioresource Technology Reports, 2020, 11: 100535.
- [21] SHARAYEI P, AZARPAZHOOH E, ZOMORODI S, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 76: 105666.
- [22] 李念, 陈露珠, 安鑫, 等. 3 种虾壳中虾青素提取工艺优化及其抗氧化活性比较[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(1): 298-308.
- LI N, CHEN L Z, AN X, et al. Optimization of extraction process and comparison of antioxidant activities of astaxanthin from three kinds of shrimp shells[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(1): 298-308.
- [23] TSIKA T, ZOUMPOULAKIS P, SINANOGLU V J, et al. Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp[J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 877: 100-110.
- [24] GULZAR S, BENJAKUL S. Ultrasound waves increase the yield and carotenoid content of lipid extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2018, 120(5): 1700495.
- [25] MOLINO A, MEHARIYA S, DI SANZO G, et al. Recent developments in supercritical fluid extraction of bioactive compounds from microalgae: role of key parameters, technological achievements and challenges[J]. Journal of CO₂ Utilization, 2020, 36: 196-209.
- [26] RADZALI S A, BAHARIN B S, OTHMAN R, et al. Co-solvent selection for supercritical fluid extraction of astaxanthin and other carotenoids from *Penaeus monodon* waste[J]. Journal of Oleo Science, 2014, 63(8): 769-777.
- [27] PARJIKOLAEI B R, CARDOSOB L C, FERNANDEZ-PONCEB M T, et al. Northern shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste: effect of supercritical fluid extraction technique on carotenoid extract concentration[J]. Chemical Engineering, 2015, 43: 1 045-1 050.
- [28] KAUR M, SINGH G, KUMAR S, et al. Thermally stable microemulsions comprising imidazolium based surface active ionic liquids, non-polar ionic liquid and ethylene glycol as polar phase[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2018, 511: 344-354.
- [29] BI W T, TIAN M L, ZHOU J, et al. Task-specific ionic liquid-assisted extraction and separation of astaxanthin from shrimp waste[J]. Journal of Chromatography B, 2010, 878(24): 2 243-2 248.
- [30] RAMMUNI M N, ARIYADASA T U, NIMARSHANA P H V, et al. Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 128-134.
- [31] GAO J, YOU J Y, KANG J H, et al. Recovery of astaxanthin from shrimp (*Penaeus vannamei*) waste by ultrasonic-assisted extraction using ionic liquid-in-water microemulsions[J]. Food Chemistry, 2020, 325: 126850.
- [32] PAIVA A, CRAVEIRO R, AROSO I, et al. Natural deep eutectic solvents - solvents for the 21st century[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2014, 2(5): 1 063-1 071.
- [33] KOUTSOUKOS S, TSIKA T, TZANI A, et al. Choline chloride and tartaric acid, a Natural Deep Eutectic Solvent for the efficient extraction of phenolic and carotenoid compounds [J]. Journal of Cleaner Production, 2019, 241: 118384.
- [34] ZHANG H, TANG B K, ROW K H. A green deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted method to extract astaxanthin from shrimp byproducts[J]. Analytical Letters, 2014, 47(5): 742-749.
- [35] RODRIGUES L A, PEREIRA C V, LEONARDO I C, et al. Terpene-based natural deep eutectic systems as efficient solvents to recover astaxanthin from brown crab shell residues [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2020, 8(5): 2 246-2 259.
- [36] 程婉婷, 陈世钰, 贤凤, 等. 酸性低共熔溶剂的理化特性及其与虾青素溶解度的相关性研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(2): 106-113.
- CHENG W T, CHEN S Y, XIAN F, et al. Physicochemical properties of acidic deep eutectic solvents and the correlation with astaxanthin solubility[J]. Chemical Reagents, 2023, 45 (2): 106-113.
- [37] BRITTON G. Carotenoid research: history and new perspectives for chemistry in biological systems[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular and Cell Biology of Lipids, 2020, 1865(11): 158699.
- [38] YANG C, ZHANG H, LIU H R, et al. Bioaccessibility, cellular uptake, and transport of astaxanthin isomers and their antioxidative effects in human intestinal epithelial Caco-2 cells [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(47): 10 223-10 232.
- [39] ZHAO L Y, ZHAO G H, CHEN F, et al. Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-*E*) - astaxanthin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(21): 8 346-8 351.
- [40] HONDA M, MURAKAMI K, ICHIHASHI K, et al. Enriched (*Z*)-lycopene in tomato extract via co-extraction of tomatoes and foodstuffs containing *Z*-isomerization-accelerating compounds[J]. Catalysts, 2021, 11(4): 462.