

# 离子液体协同超高压微射流萃取虾青素及其抗氧化性研究

高红,张炜\*,甘文梅,王志娟,乜世成,宋林  
(青海师范大学化学化工学院,青海西宁810008)

**摘要:**采用离子液体协同超高压微射流技术对雨生红球藻中虾青素(AXT)进行提取,并利用单因素实验及BOX-Behnken响应面法对离子液体添加量、提取时间、提取压力、固液比提取工艺进行优化,得到最佳条件为:离子液体添加量为45 mL,提取压力为96 MPa,提取时间为110 s,固液比为1:650,在此条件下AXT提取率达(81.66±0.17)%,比传统的超高压微射流法提取率提高了(18.93±0.78)%。抗氧化活性测定结果表明,AXT具有较好的抗氧化性。

**关键词:**雨生红球藻;虾青素;离子液体;超高压微射流;抗氧化性

**中图分类号:**TS201

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2022)06-0171-07

**DOI:**10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.06.035

## Extraction of astaxanthin by ionic liquids-ultrahigh pressure microjet and study on antioxidant activity of astaxanthin

GAO Hong, ZHANG Wei\*, GAN Wen-mei, WANG Zhi-juan, NIE Shi-cheng, SONG Lin  
(School of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining 810008, China)

**Abstract:** Astaxanthin is extracted from haematococcus pluvialis through synergistically using ionic liquid and ultrahigh pressure microjet technology. Single factor experiment and Box-Behnken response surface method are used to optimize the extraction process. The optimal conditions are obtained as follows: the addition amount of ionic liquid is 45 mL, extraction pressure is 96 MPa, extraction time is 110 s and the ratio of solid-liquid is 1:650. Under these conditions, the extraction yield of astaxanthin reaches 81.660.17%, which is 18.930.78% higher than that with traditional ultrahigh pressure microjet method. The astaxanthin extracted is determined, showing that it has a good antioxidant activity.

**Key words:** haematococcus pluvialis; astaxanthin; ionic liquid; ultrahigh pressure microjet; antioxidant activity

雨生红球藻是一种单细胞微藻<sup>[1]</sup>,由于含有虾青素而备受人们青睐,其提取物虾青素(Astaxanthin, AXT)是一种含40个碳原子的碳氢化合物,而AXT结构中两端含有共轭双键使其具有独特的化学性质,如抗氧化、抗炎、抗肿瘤等,对心血管、炎症和神经退行性疾病有益。但是由于成熟的雨生红球藻细胞壁较厚,由三层细胞壁组成,分别是保护层、次级壁层和第三壁层,坚硬的厚壁层对机械破坏细胞具有极强的抵抗力,增大了AXT的提取效率<sup>[2-3]</sup>。因此,有效的破碎细胞壁是提取AXT最关键的一步。

离子液体(Ionic liquids, ILs)又称绿色友好型溶剂,其由阳离子和阴离子组成。由于蒸汽压低、熔点低、化学稳定性好等优点常常与其他试剂联用,常温下形成低黏度的混合物体系来提取目标物<sup>[4]</sup>。此外,离子液体具有很高的溶解纤维素的能力,对破坏

厚重、坚硬的微藻细胞壁具有明显的优势,同时也能提高微藻中生物活性的稳定性和溢出速率。

高压微射流技术是一项新型的复杂高压均质技术,具有耗时短、提取效率高、操作简单等优势,主要利用高压使液体物料快速进入反应腔中,之后在微孔道腔中发生强烈撞击、高速剪切及振荡等一系列作用<sup>[5]</sup>。因此,笔者选用咪唑基溴盐离子液体软化雨生红球藻细胞壁,在此基础上与高压微射流技术相结合,最终实现细胞破碎,促进细胞内虾青素溢出,从而提高虾青素的提取效率。

## 1 材料试剂与仪器

### 1.1 材料试剂

雨生红球藻粉(虾青素质量分数为1.8%),中科院武汉水生生物研究所生产;虾青素标品,上海源叶生物科技有限公司生产。

收稿日期:2021-07-01;修回日期:2022-03-31

基金项目:高原人工湿地生态平衡构建与应用示范项目(2021-SF-13)

作者简介:高红(1996-),女,硕士研究生,研究方向为天然产物分离与提取,1829560276@qq.com;张炜(1972-),女,硕士,教授,研究方向为天然产物分离与提取,通讯联系人,zhangwei@qhnu.edu.cn。

无水乙醇、三氯甲烷,分析纯,天津市凯通化学试剂厂生产;所有离子液体试剂均购于兰州物理化学研究所。

## 1.2 仪器及设备

紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司生产;扫描电子显微镜,日本 JEOL 公司生产;超高压微射流,永联生物科技上海有限公司生产。

## 2 实验方法

### 2.1 ATX 提取工艺流程

ATX 提取工艺流程如图 1 所示。

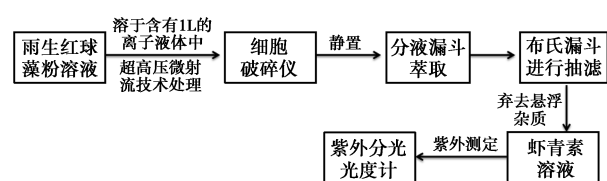


图 1 提取工艺流程

### 2.2 AXT 标准曲线绘制

称取 2.500 mg AXT 标准品,用三氯甲烷配成 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 AXT 标准液,摇匀,备用。分别将标准液稀释至 0.5、1.5、2.5、3.5、4.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,在 490 nm 处测定吸光度。

### 2.3 AXT 含量的测定

用三氯甲烷萃取提取液,重复几次直至上清液褪色,合并下层液,于 490 nm 处测其吸光值。AXT 提取率计算式为:

$$Y(\%) = [(C \times V \times N) / (M \times 1.8\%)] \times 100 \quad (1)$$

式中:Y 为 AXT 提取率;C 为 AXT 质量浓度,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;N 为稀释倍数;V 为提取液体积, mL;M 为藻粉质量, g。

### 2.4 单因素实验

#### 2.4.1 离子液体种类的筛选

咪唑基离子液体比吡啶基、铵基亲水强<sup>[6]</sup>,故选择 5 种咪唑基离子液体作为辅助提取剂。配置一系列体积分数为 0.1% 的不同离子液体溶液,其他条件为:提取压力为 100 MPa、提取时间为 90 s、固液比为 1:600。选择提取率最高的离子液体作为添

加辅助提取剂。

#### 2.4.2 离子液体添加量对 AXT 提取率的影响

称取 0.100 0 g 雨生红球藻粉于 250 mL 烧杯中,在提取时间为 90 s、固液比为 1:600、提取压力为 100 MPa 的条件下,探究离子液体用量对 AXT 提取率的影响。

#### 2.4.3 提取压力对 AXT 提取率的影响

称取 0.100 0 g 的雨生红球藻粉于 250 mL 烧杯中,在提取时间为 90 s、固液比为 1:600、离子液体添加量为 35 mL 的条件下进行试验,探究提取压力对 AXT 提取率的影响。

#### 2.4.4 提取时间对 AXT 提取率的影响

称取 0.100 0 g 的雨生红球藻粉于 250 mL 烧杯中,在提取压力为 100 MPa、固液比为 1:600、离子液体用量为 40 mL 时,探究提取时间对 AXT 提取率的影响。

#### 2.4.5 固液比对 AXT 提取率的影响

称取 0.100 0 g 的雨生红球藻粉于 250 mL 烧杯中,在提取压力为 100 MPa、提取时间为 90 s、离子液体添加量为 40 mL 时,探究固液比对 AXT 提取率的影响。

### 2.5 虾青素提取的工艺优化

采用 4 因素 3 水平方法进行响应面优化,以 AXT 提取率为指标,选取提取压力、提取时间、固液比及离子液体添加量为变量,进行提取工艺条件的优化,结果如表 1 所示。

表 1 单因素水平设计

水平	因素			
	离子液体添加量(A)/mL	提取压力(B)/MPa	提取时间(C)/s	固液比(D)/(g·mL <sup>-1</sup> )
-1	30	80	60	1:400
0	40	100	90	1:600
1	50	120	120	1:800

### 2.6 虾青素提取液皂化

参考孟昂等<sup>[7]</sup>的皂化方法将离子液体-超高压微射流处理得到 AXT 提取液进一步皂化处理,处理过程如图 2 所示。

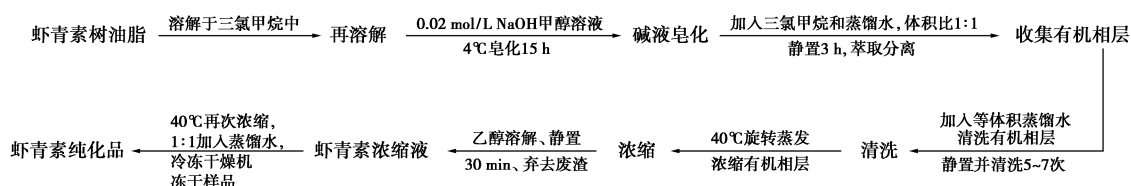


图 2 皂化工艺流程

## 2.7 FT-IR 分析

参考欧阳琴<sup>[8]</sup>所述方法进行 FT-IR 分析,采用压片法。

## 2.8 抗氧化活性的测定

虾青素提取液经 35℃ 真空旋转蒸发浓缩。浓缩液保存在 -18℃ 用于抗氧化活性的测定。

### 2.8.1 DPPH·的测定

将未皂化 AXT 液、皂化 AXT 液、Vc、Ve 配成质量浓度分别为 0.005、0.01、0.015、0.02、0.025 mg/mL 的溶液。取 2.5 mL 不同质量浓度的样品与等体积的 DPPH-乙醇溶液混合,37℃ 反应 30 min。随后在 517 nm 处其吸光度值。空白实验由 2 mL DPPH-乙醇溶液和 2 mL 无水乙醇组成。

$$\text{DPPH 清除率 \%} = 1 - [(A_1 - A_2)/A_0] \times 100 \quad (2)$$

式中: $A_1$  为样品与 DPPH-乙醇溶液的吸光度; $A_2$  为不含 DPPH-乙醇溶液的样品的吸光度; $A_0$  为不含样品的 DPPH-乙醇溶液的吸光度。

### 2.8.2 Fe<sup>3+</sup>还原力测定

实验方法参照文献[9]中所述的方法进行,略有改动。取 2.5 mL 磷酸盐缓冲液和样品溶液 1 mL,加入 2.5 mL 1% 铁氰化钾溶液,水浴反应 20 min。反应结束后用冷水终止反应并加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸,离心后静止,取上清液 2.5 mL,加 2.5 mL H<sub>2</sub>O 和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液,室温反应 10 min,于 700 nm 处测定吸光值。Fe<sup>3+</sup>还原力的计算式为:

$$\text{Fe}^{3+} \text{还原力} = A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}} \quad (3)$$

### 2.8.3 O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除力测定

采用邻苯三酚自氧化法<sup>[10]</sup>,稍有改动。2.8 mL Tris-HCl 缓冲液中加入 1 mL H<sub>2</sub>O,25℃ 保温 10 min,随后加入预热的邻苯三酚 1 mL,在 420 nm 处测定其吸光度值,每隔 30 s 记录 1 次数据,此 Abs 记为  $A_3$ ;2.8 mL Tris-HCl 缓冲液中加入 1 mL 待测样品,于 25℃ 保温 10 min,然后加入 1 mL 25℃ 预温的浓 HCl,迅速摇匀使其停止反应,倒入比色杯中 420 nm 处测其吸光度值,每隔 30 s 记录 1 次数据,此 Abs 记为  $A_4$ ;2.8 mL Tris-HCl 缓冲液中加入 1 mL 待测样品,于 25℃ 保温 10 min,然后加入 1 mL 25℃ 预温的邻苯三酚,倒入比色杯中 420 nm 处测其吸光度值,每隔 30 s 记录 1 次数据,此 Abs 记为  $A_5$ 。令  $A = A_5 - A_4$ ,则 O<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除率可表示为:

$$\text{O}_2^- \text{清除率 \%} = [(A_3 - A)/A_3] \times 100 \quad (4)$$

## 3 结果与分析

### 3.1 AXT 标准曲线的绘制

根据方法 2.2 得出 AXT 浓度与吸光值的关系并绘制 AXT 标准曲线,结果如图 3 所示。可得回归方程  $y = 0.2818x + 0.0284$ ,  $R^2 = 0.9987$ ,相关性良好。

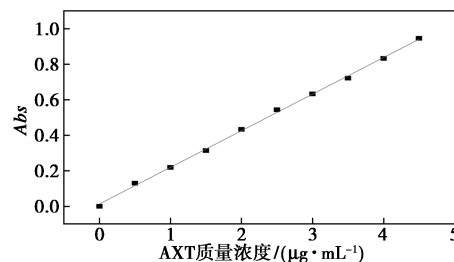


图 3 AXT 标准曲线图

### 3.2 萃取条件的优化

#### 3.2.1 离子液体种类对 AXT 提取率的影响

阳离子结构的不同对 AXT 提取率的影响不一样,因此选择一种结构合适的离子液体辅助提取 AXT 是非常重要的。离子液体种类对 AXT 提取率的影响如图 4 所示。

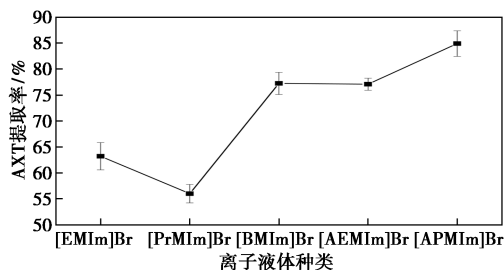


图 4 离子液体种类对 AXT 提取率的影响

由图 4 可知,5 种离子液体中 [APMIm] Br 离子液体比其他离子液体作为辅助添加剂萃取 AXT 效果好,[APMIm] Br 辅助提取 AXT 时提取率可达 86.63%。此外,含有 -NH<sub>2</sub> 官能团的离子液体与 AXT 有更好的溶解性能,且 -NH<sub>2</sub> 的存在可以使 AXT 免受空气中的氧气氧化<sup>[11]</sup>。从而提高 AXT 的提取率。故选择 [APMIm] Br 作为离子液体辅助添加剂。

#### 3.2.2 离子液体用量对 AXT 提取率的影响

离子液体用量对 AXT 提取率的影响如图 5 所示。

由图 5 中可以看出,当离子液体用量在 20 ~ 40 mL 范围内时,AXT 的提取率随离子液体添加量的增加而提高。离子液体用量在 40 mL 时 AXT 的

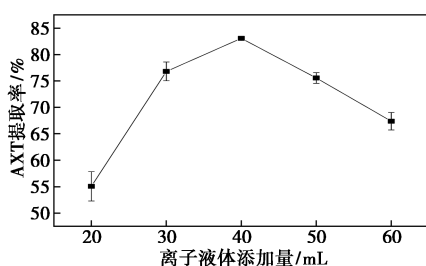


图 5 离子液体用量对 AXT 提取率的影响

提取率最高, 可达 82.37%。离子液体用量大于 40 mL 之后 AXT 的提取率逐渐减小, 这是由于离子液体具有一定的黏度, 增大了转移阻力, 从而导致其 AXT 提取率的降低<sup>[12]</sup>。故选择离子液体用量为 40 mL 作为最优添加量。

### 3.2.3 提取压力对 AXT 提取率的影响

提取压力对 AXT 提取率的影响如图 6 所示。

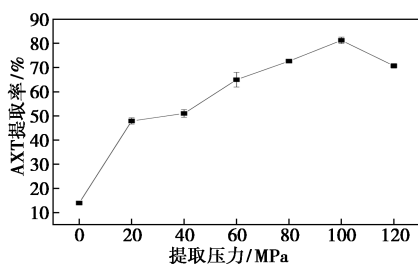


图 6 提取压力对 AXT 提取率的影响

由图 6 可知, 当压力为 0 时 AXT 的提取率最低, 表明细胞壁破碎对提取 AXT 非常重要。当提取压力在 20~100 MPa 范围内, AXT 的提取率随着提取压力的升高而显著增加, 当提取压力为 100 MPa 时 AXT 的提取率最高, 此时的提取率可达 77.31%。说明在该提取压力下 AXT 转移速率基本达到溶解平衡, 当压力增加至 120 MPa 时, AXT 的提取率反而降低, 这是因为高压会破坏 AXT 的结构导致失活<sup>[13]</sup>。故选择 100 MPa 作为最优的提取压力。

### 3.2.4 提取时间对 AXT 提取率的影响

提取时间对 AXT 提取率的影响如图 7 所示。

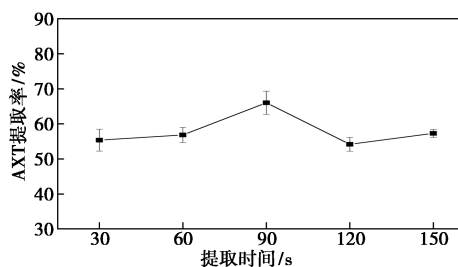


图 7 提取时间对 AXT 提取率的影响

由图 7 可知, 在 30~90 s 内 AXT 的提取率随提

取时间的增加逐渐提高。提取时间在 90 s 时 AXT 的提取率最高, 达 68.33%。而提取时间继续增加提取率反而降低。这是因为 AXT 超过耐受时间后, 虾青素的结构遭受破坏导致提取率降低。此外, 过长时间的提取意味着 AXT 在空气中暴露的时间长。从而增加了 AXT 与光、氧气的接触时间。由于 AXT 对光、热比较明显导致其 AXT 结构的变化<sup>[14]</sup>。故选择 90 s 作为最优的提取时间。

### 3.2.5 固液比对 AXT 提取率的影响

固液比对 AXT 提取率的影响如图 8 所示。

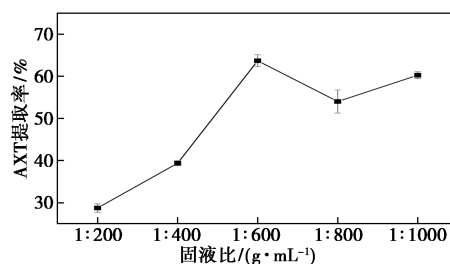


图 8 固液比对 AXT 提取率的影响

由图 8 可知, 固液比为 1:200 时 AXT 的提取率最低, 这是由于雨生红球藻粉过多增加了转移阻力, 降低了转移速率<sup>[15]</sup>。固液比为 1:200 后 AXT 的提取率随固液比的增加而呈现先升高后降低的趋势。固液比在 1:600 时 AXT 的提取率最高, 这是因为此时具有最好的转移速度, 因而有较高的提取率, 此时的 AXT 提取率可达 63.43%。故选择最佳的固液比为 1:600。

## 3.3 响应面法优实验

### 3.3.1 响应面实验分析及结果

根据单因素实验, 按 Box-behnken 设计实验, 实验设计及结果如表 2 所示。

表 2 响应面实验设计及结果

序号	A/mL	B/MPa	C/s	D/(g·mL <sup>-1</sup> )	AXT 提取率/%
1	0.00	1.00	1.00	0.00	65.70
2	0.00	0.00	0.00	0.00	86.15
3	0.00	0.00	1.00	-1.00	64.42
4	0.00	0.00	1.00	1.00	67.82
5	1.00	0.00	-1.00	0.00	60.85
6	-1.00	1.00	0.00	0.00	69.63
7	1.00	0.00	1.00	0.00	72.85
8	0.00	0.00	0.00	0.00	85.71
9	0.00	0.00	0.00	0.00	79.52
10	1.00	0.00	0.00	1.00	59.87
11	-1.00	0.00	-1.00	0.00	66.93
12	-1.00	0.00	0.00	1.00	69.42

续表

序号	A/mL	B/MPa	C/s	D/(g·mL <sup>-1</sup> )	AXT 提取率/%
13	0.00	0.00	-1.00	1.00	54.04
14	1.00	-1.00	0.00	0.00	71.44
15	0.00	-1.00	0.00	1.00	57.69
16	-1.00	0.00	1.00	0.00	66.04
17	0.00	0.00	-1.00	-1.00	66.18
18	0.00	0.00	0.00	0.00	82.04
19	0.00	-1.00	0.00	-1.00	67.64
20	0.00	1.00	-1.00	0.00	66.15
21	1.00	0.00	0.00	-1.00	73.16
22	-1.00	0.00	0.00	-1.00	62.24
23	0.00	0.00	0.00	0.00	81.85
24	-1.00	-1.00	0.00	0.00	61.93
25	0.00	-1.00	1.00	0.00	71.11
26	0.00	1.00	0.00	-1.00	61.82
27	0.00	-1.00	-1.00	0.00	61.56
28	0.00	1.00	0.00	1.00	63.73
29	1.00	1.00	0.00	0.00	62.11

3.3.2 响应面回归模型的建立与方差分析

对表 2 进行多元线性回归拟合后,得 AXT 提取率 = +83.05 + 0.34A - 0.19B + 2.69C - 1.91D - 4.26AB + 3.22AC - 5.12AD - 2.50BC + 2.96BD + 3.89CD - 7.15A<sup>2</sup> - 9.14B<sup>2</sup> - 8.75C<sup>2</sup> - 10.70D<sup>2</sup>。对回归方程进行方差分析,结果如表 3 所示。

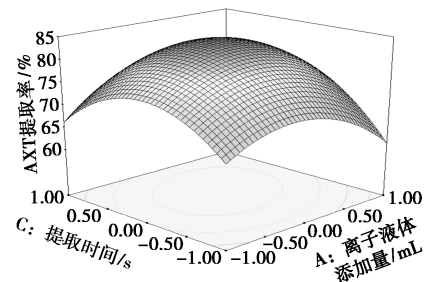
表 3 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	1844.47	14	131.75	40.46	<0.0001	**
A	1.39	1	1.39	0.43	0.5235	
B	0.41	1	0.41	0.13	0.7266	
C	86.56	1	86.56	26.58	0.0001	**
D	43.66	1	43.66	13.41	0.0026	**
AB	72.51	1	72.51	22.27	0.0003	**
AC	41.54	1	41.54	12.76	0.0031	**
AD	104.76	1	104.76	32.17	<0.0001	**
BC	25.00	1	25.00	7.68	0.0150	*
BD	35.16	1	35.16	10.80	0.0054	**
CD	60.37	1	60.37	18.54	0.0007	**
A <sup>2</sup>	331.48	1	331.48	101.80	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	542.31	1	542.31	166.54	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	496.75	1	496.75	152.55	<0.0001	**
D <sup>2</sup>	743.15	1	743.15	228.21	<0.0001	**
残差	45.59	14	3.26			
失拟项	13.98	10	1.40	0.18	0.9879	不显著
纯误差	31.61	4	7.90			
总商差	1890.06	28				

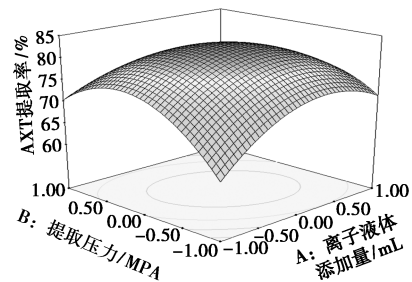
由表 3 可知,该模型  $F=40.46, P<0.0001$  说明该模型达到极显著水平,模拟失拟  $P=0.9879>0.05$ ,不显著,表明建模成功。模型的调整决定系数  $R^2=0.9759$ ,校正决定系数  $R^2_{Adj}$  为 0.9518,表明该模型拟合度高。变异系数  $CV=2.64\%<5\%$ ,表明模型具有较高的信度和较好的重现性。对表 3 回归模型系数的显著性分析得各因素对 AXT 提取率的影响大小顺序为:  $C>D>A>B$ 。

3.3.3 响应面分析及最佳工艺条件确定

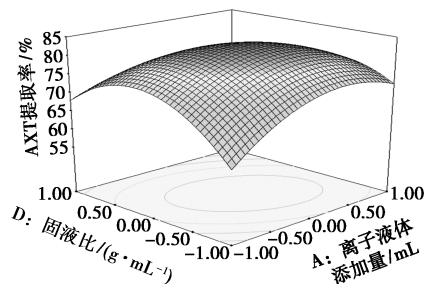
不同因素交互作用的响应面图如图 9 所示。



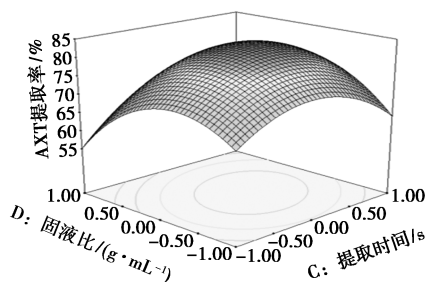
(a) 离子液体添加量和提取时间对 AXT 提取率影响的 3D 图



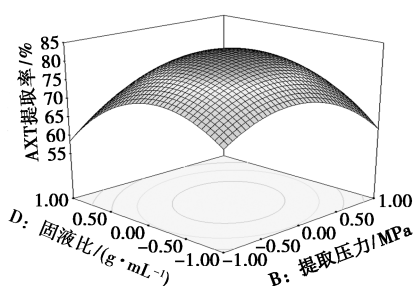
(b) 离子液体添加量和提取压力对 AXT 提取率影响的 3D 图



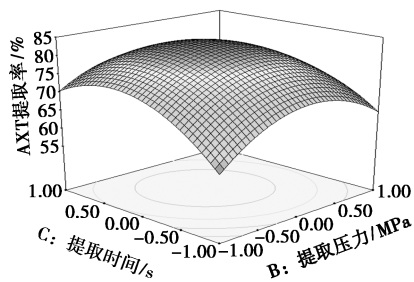
(c) 离子液体添加量和固液比对 AXT 提取率影响的 3D 图



(d) 提取时间和固液比对 AXT 提取率影响的 3D 图



(e) 提取压力和固液比对 AXT 提取率影响的 3D 图



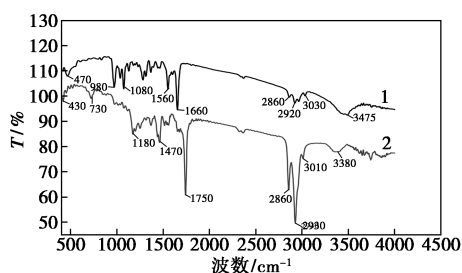
(f) 提取压力和提取时间对 AXT 提取率影响的 3D 图

图 9 AXT 提取率的 3D 响应面图

根据拟合模型方程得到 AXT 提取率的最佳条件为:离子液体用量为 45.8 mL、提取时间为 110.4 s、提取压力为 96 MPa、固液比为 1:648,此时 AXT 预测提取率为 79.12%。为了验证模型的可靠性,从实际情况出发,对最佳条件进行调整:离子液体用量为 45 mL、提取时间为 110 s、提取压力为 96 MPa、固液比为 1:650,最终得到 AXT 实际提取率为  $(81.66 \pm 0.17)\%$ 。与理论预测值的相对误差为  $(3.11 \pm 0.54)\%$ ,表明结果可行,该模型可靠。

### 3.4 FT-IR 分析

AXT 标品及 AXT 皂化品的红外光谱如图 10 所示。



1—AXT 标品;2—AXT 皂化品

图 10 AXT 标品及 AXT 皂化品的红外光谱

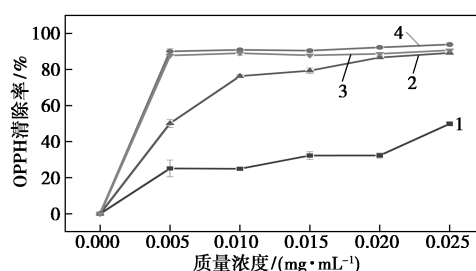
由图 10 中可以看出,皂化后 AXT 的主要特征峰有:3 380  $\text{cm}^{-1}$  处的峰是 AXT 六元环上—OH 的伸缩振动吸收峰;3 010  $\text{cm}^{-1}$  处的弱吸收峰是六元环上 C—H 的伸缩振动吸收峰;2 930  $\text{cm}^{-1}$  和 2 860  $\text{cm}^{-1}$  处的强吸收峰是—CH<sub>2</sub> 的吸收峰;1 750  $\text{cm}^{-1}$  处的强

吸收峰是 AXT 六元环上 C=O 的伸缩振动吸收峰;1 470  $\text{cm}^{-1}$  处中等强度的吸收峰是 C=C 双键的伸缩振动吸收峰;1 180  $\text{cm}^{-1}$  处的弱吸收峰是 AXT 六元环上仲醇的吸收峰;730  $\text{cm}^{-1}$  处的弱吸收峰是 AXT 环上 C=C 双键面内摇摆振动引起的。该分析结果与华杰等<sup>[16]</sup>、欧阳琴<sup>[8]</sup>的研究结论一致,此外,通过与虾青素标准品的红外光谱图进行比对可知,两者谱图基本吻合,表明纯化效果较好。

### 3.5 抗氧化活性结果与分析

#### 3.5.1 DPPH· 的分析

DPPH 自由基清除能力的比较结果如图 11 所示。



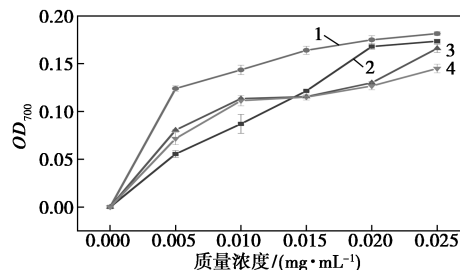
1—未纯化 AXT;2—纯化 AXT;3—Ve;4—Vc

图 11 DPPH 自由基清除能力的比较结果

从图 11 中可以看出,在实验质量浓度范围内,DPPH 自由基清除能力依次为:Vc>Ve>纯化 AXT>未纯化 AXT。当质量浓度为 0.025 mg/mL 时,未纯化的 AXT 清除率为 49.87%,纯化的 AXT 清除率可达 90.65%,其清除率提高了 0.82 倍。表明皂化对提高 AXT 的 DPPH 自由基清除能力非常重要,进一步表明 AXT 具有显著的抗氧化活性。

#### 3.5.2 还原能力的分析

DPPH 自由基还原能力的比较结果如图 12 所示。



1—Ve;2—Vc;3—皂化 AXT;4—未纯化 AXT

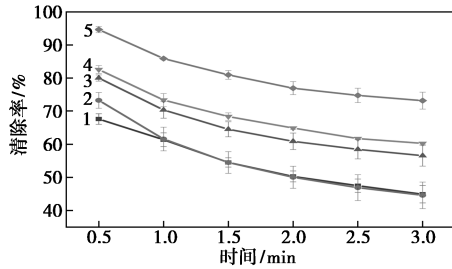
图 12 还原能力的比较

由图 12 可知,在设定的实验质量浓度范围内,不同种类的还原能力依次为:Ve>Vc>纯化 AXT>未纯化 AXT,各物质的还原能力随着质量浓度的增加其还原能力也在增加。当质量浓度为 0.025 mg/mL

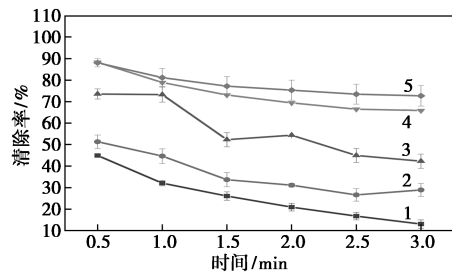
时,未纯化的 AXT 的吸光度值为 0.145, 纯化的 AXT 吸光度值达 0.166, 此时纯化后的 AXT 与  $V_c$  的吸光值相差甚小, 表明纯化后的 AXT 与  $V_c$  的还原能力比较接近, 进一步说明 AXT 具有较好的还原能力。

### 3.5.3 超氧阴离子清除率的分析

未皂化、皂化 AXT 的超氧阴离子清除率如图 13 所示。



(a) 皂化 AXT



(b) 未皂化 AXT

1—5 mg/L; 2—10 mg/L; 3—15 mg/L; 4—20 mg/L; 5—25 mg/L

图 13 未皂化、皂化 AXT 的超氧阴离子清除率

从图 13 中可以看出, 在实验时间范围内, 0.5 min 时的超氧阴离子清除率最好, 当质量浓度为 0.025 mg/mL 时, 未处理和处理的 AXT 清除率分别是 88.06% 和 94.64%。此外, 在同一时间下质量浓度越高其  $O_2^{\cdot-}$  清除率越高。表明皂化后的 AXT 对  $O_2^{\cdot-}$  有较好的清除能力。

## 4 结论

采用离子液体协同超高压微射流法提取雨生红球藻中的 AXT, 在离子液体用量为 45 mL、提取时间为 110 s、提取压力为 96 MPa、固液比为 1:650 的条件下, 虾青素提取率达  $(81.66 \pm 0.17)\%$ , 比传统的超高压微射流法提取率提高了  $(18.93 \pm 0.78)\%$ 。将 AXT 提取液进一步纯化并进行抗氧化试验, 结果表明, AXT 对 DPPH $\cdot$ 、 $O_2^{\cdot-}$  及  $Fe^{3+}$  均具有较强的清除能力, 表明其具有良好的抗氧化活性。

### 参考文献

[1] Yamashita E. Astaxanthin as a medical food[J]. Functional Foods in

Health and Disease, 2013, 3(7): 254–258.

[2] Hagen C, Siegmund S, Braune W. Ultrastructural and chemical changes in the cell wall of Haematococcus pluvialis (Volvocales, Chlorophyta) during aplanospore formation[J]. British Phycological Bulletin, 2002, 37(2): 217–226.

[3] Bi W, Tian M, 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): 2243–2248.

[4] Liu, Shucheng, Guo, et al. LCST-Type phase behavior of aqueous biphasic systems composed of phosphonium-based ionic liquids and potassium phosphate[J]. Journal of Chemical and Engineering Data; the ACS Journal for Data, 2017, 62(4): 1335–1340.

[5] 游卿翔, 曾红亮, 陈培琳, 等. 动态高压微射流对淀粉结构特性和理化性质影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(19): 307–315.

[6] Jing Gao, Fang C, Lin Y, et al. Enhanced extraction of astaxanthin using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and potassium phosphate-Science Direct[J]. Food Chemistry, 2020, 309(5): 125672–125680.

[7] 孟昂. 雨生红球藻中虾青素结晶的制备、稳定性与功能性的研究[D]. 济南: 济南大学, 2020.

[8] 欧阳琴. 雨生红球藻的培养及其虾青素提取[D]. 福州: 福州大学, 2004.

[9] Shen Y, Zhang H, Cheng L, et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley[J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 1003–1012.

[10] Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase[J]. European Journal of Biochemistry, 1974, 47(3): 469–74.

[11] Bi W, Tian M, 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): 2243–2248.

[12] Desai R K, Streefland M, Wijffels R H, et al. Novel astaxanthin extraction from Haematococcus pluvialis using cell permeabilising ionic liquids[J]. Green Chemistry, 2015, 18(5): 1261–1267.

[13] Lee Y R, Row K H. Comparison of ionic liquids and deep eutectic solvents as additives for the ultrasonic extraction of astaxanthin from marine plants[J]. Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 2016, 5(14): 87–92.

[14] 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.

[15] Antonio Zuurro, Gianluca Maffei, Roberto Lavecchia. Optimization of enzyme-assisted lipid extraction from Nannochloropsis microalgae[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2016, 67(10): 106–114.

[16] 华杰, 张玉琪, 朱娇, 等. 从福寿螺卵中提取虾青素的研究[J]. 湖南理工学院学报(自然科学版), 2017, 30(3): 58–62. ■