



南极磷虾粉加工过程中虾青素的含量、结构及抗氧化性

欧阳杰^{1,2,3*}, 赵昕源^{1,4}, 马田田^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092;

2. 大连工业大学, 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 山东 青岛 266237;

4. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 虾青素由于结构稳定性较差, 在高温条件下易降解和异构化。为了掌握南极磷虾粉加工过程中虾青素含量、结构及抗氧化能力的变化情况, 采用高效液相色谱法测定虾青素在各加工阶段的含量及结构变化, 对比虾青素在各加工阶段的抗氧化性差异, 分析虾青素结构与功能活性的相关性。结果显示, 南极磷虾原料中虾青素含量为 110.6 mg/kg, 其中全反式结构虾青素占比 90.7%, 13-顺式虾青素和 9-顺式虾青素占比分别为 4.7% 和 4.6%, 经过蒸煮和干燥后, 虾青素含量分别为 88.7 和 52.1 mg/kg, 全反式虾青素占比分别为 76.2% 和 72.2%, 13-顺式虾青素占比分别为 19.9% 和 21.9%, 9-顺式虾青素占比分别为 3.9% 和 5.9%。南极磷虾原料中虾青素的 3S, 3'S, 3S, 3'R 和 3R, 3'R 三种光学异构体含量分别为 16.8、17.9 和 72.1 mg/kg, 蒸煮后分别为 12.0、25.5 和 55.3 mg/kg, 干燥后分别为 2.8、8.1 和 12.4 mg/kg。各阶段虾青素清除 DPPH 自由基能力均显著强于 Vc, 在羟基自由基清除实验中, 蒸煮和干燥后的虾青素抗氧化能力强于原料中的虾青素, 在 FRAP 铁离子还原实验中, 蒸煮和干燥后的虾青素也表现出了更高的还原能力。研究表明, 在虾粉加工过程中, 虾青素的几何异构主要发生在蒸煮阶段, 光学异构主要发生在干燥阶段, 相对于磷虾原料, 经蒸煮和干燥后的虾青素抗氧化能力增强。本研究可为南极磷虾粉加工工艺优化及虾青素提取利用提供理论依据和技术参考。

关键词: 南极磷虾; 虾青素; 高效液相色谱; 结构; 抗氧化性

中图分类号: TS 254

文献标志码: A

南极磷虾 (*Euphausia superba*) 是一种生活在南极海域的重要渔业资源, 具有捕获量大、经济价值高等特点。由于南极海域特殊的气候和地理环境, 使得南极磷虾具有独特的功能特性。南极磷虾体内富含蛋白质、不饱和脂肪酸、虾青素以及甲壳素等多种营养成分, 其中虾青素由于具有优良的抗氧化性而被广泛利用^[1]。我国南极磷虾

加工产业起步较晚, 虾粉是最主要的加工产品。目前国内虾粉加工工艺流程主要包括蒸煮、分离、干燥及粉碎等, 蒸煮、干燥过程涉及到热处理, 对虾青素等热敏性物质影响较大, 易发生降解和异构化^[2]。

虾青素 (3,3'-二羟基- β,β' -胡萝卜素-4,4'-二酮基) 是一种类胡萝卜素, 分子式: $C_{40}H_{52}O_4$, 具有

收稿日期: 2022-01-08 修回日期: 2022-02-26

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1406804)

通信作者: 欧阳杰 (照片), 从事水产品加工技术与装备研究, E-mail: ouyangjie@fmiri.ac.cn



两个异戊二烯单位组成的六元环并通过长共轭双键链连接而成,且在共轭双键链的末端存在不饱和的羟基和酮基^[3]。特殊的化学结构使其化学性质不稳定,因结构不同而具有多种异构体(几何和光学)。常见的几何构型有全反式虾青素、13-顺式虾青素及9-顺式虾青素。南极磷虾中的虾青素主要以全反式结构存在,但在光、热、酸、碱及金属离子条件下易异构化,产生顺式结构虾青素^[4-5]。在共轭链两端六元环结构中存在两个手性中心,以左旋*S*或右旋*R*的形式存在,产生三种旋光异构体:外消旋型左旋(3*S*,3'*S*)、外消旋型右旋(3*R*,3'*R*)及内消旋型(3*S*,3'*R*)^[6]。自然界中不同生物体内虾青素光学构型组成不同,南极磷虾中虾青素主要存在形式为3*R*,3'*R*^[7],大西洋鲑^[8](*Salmo salar*)和雨生红球藻^[5](*Haematococcus pluvialis*)中虾青素主要存在形式为3*S*,3'*S*,而海洋红酵母^[9-10](*Phaffia rhodozyma*)中的虾青素主要存在形式为3*R*,3'*R*。不同的虾青素异构体之间存在功能活性差异^[11]。目前关于虾青素结构稳定性以及不同虾青素异构体之间抗氧化活性差异的研究较多,但关于虾粉加工过程中热处理工序对虾青素含量、结构及抗氧化性的变化研究尚未见报道。本实验以南极磷虾为研究对象,使用丙酮提取虾青素,采用HPLC法对虾青素含量和结构进行分析,并对不同加工阶段的虾青素进行抗氧化性比较研究,可为后续南极磷虾粉加工工艺的优化以及虾青素提取和利用提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

南极磷虾购自辽宁远洋渔业有限公司,2020年5月捕捞于南极海域48.1渔区,体长3~4 cm,全程冷链运输到实验室,于-20℃冰箱中冷冻备用。

1.2 仪器与试剂

2695液相色谱仪(配紫外检测器),美国Waters公司;SpectraMax i3多功能酶标仪,美国美谷分子仪器公司;LC-DCY型定氮仪,湖南力辰仪器科技有限公司;GTR16-2高速台式冷冻离心机,北京时代北利离心机有限公司;MA150型水分测定仪,德国赛多利斯集团;BPG-96A型精密鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司。

丙酮、磷酸、氢氧化钠、无水乙醇、无水硫酸镁等均为分析纯,甲醇为色谱纯,国药集团化

学试剂有限公司;甲基叔丁基醚为色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;柱层析硅胶(200-300目)、GF254型薄层层析硅胶板,青岛海洋化工厂;全反式虾青素标准品,德国Dr. Ehrenstorfer公司。

1.3 实验方法

样品准备 冷冻南极磷虾采用(20±5)℃的流水解冻30 min,待完全解冻后沥干,用滤纸吸干表层多余水分;解冻虾样采用蒸锅蒸汽蒸煮4 min,蒸煮温度(100±2)℃,冷却至常温,待测;蒸煮后的虾样置于105℃鼓风干燥箱中干燥约3 h至恒重,粉碎过40目筛,待测。

虾青素提取 准确称取不同加工阶段南极磷虾试样5 g,加入10 g无水MgSO₄,再加入25 mL丙酮,充分涡旋,15℃以下超声提取15 min,8 000 r/min离心5 min,收集上清液,残渣中加入丙酮重复提取3次,合并提取液,混匀^[5]。

皂化和净化 准确称取2 mL样品提取液于10 mL具塞试管中,加入2.9 mL 0.02 mol/L NaOH甲醇溶液,涡旋混合,充氮密封,在4℃冰箱过夜反应16 h。在试样溶液中加入0.1 mL 0.6 mol/L磷酸甲醇溶液,再加入100 mg N-丙级乙二胺(PSA)填料净化,涡旋混合,静置5 min,过0.2 μm微孔滤膜,待测^[5,12]。

1.4 虾青素的含量测定及不同几何构型的鉴定

液相色谱条件 C₃₀色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:25℃;进样量:20 μL;洗脱流速:1 mL/min;流动相A:甲醇,流动相B:叔丁基甲醚,流动相C:1%磷酸溶液。线性梯度洗脱程序见表1^[13]。

表1 梯度洗脱表

Tab. 1 Gradient elution				%
时间/min time	甲醇 methanol	叔丁基甲醚 methyl tert-butyl ether	1%磷酸溶液 1% phosphoric acid solution	
0	81	15	4	
15	66	30	4	
23	16	80	4	
27	16	80	4	
30	81	15	4	
35	81	15	4	

1.5 虾青素光学异构体鉴定

液相色谱条件 Chiralpak IC柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);洗脱流速:0.6 mL/min;进样量:

20 μL ; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 叔丁基甲醚-甲醇 (50 : 50, V/V , 体积比), 采用等度洗脱^[14]。

1.6 线性关系测定与含量计算

精确称取虾青素标准品适量, 用丙酮溶解, 配置成 100 mg/L 标准品储备液。再用丙酮稀释成 0.05、0.1、0.5、1、2、5 和 10 mg/L 浓度标准样液, 待测。实验中使用的虾青素标准品为全反式构型, 但样品皂化过程中会有一部分全反式虾青素转化为 13-顺式虾青素和 9-顺式虾青素, 因此含量计算时需使用校正因子。全反式虾青素 (A_0) 校正因子为 1, 13-顺式虾青素 (A_1) 校正因子为 1.3, 9-顺式虾青素 (A_2) 校正因子为 1.1^[13]。实际虾青素含量 (w) 计算公式:

$$w = A_0 + 1.3 \times A_1 + 1.1 \times A_2$$

1.7 抗氧化性分析

将虾青素丙酮提取液经旋转蒸发, 用无水乙醇复溶, 得到浓度分别为 10、20、40、60 和 80 mg/L 的虾青素乙醇溶液。

清除 DPPH 自由基能力测定 参照刘涵等^[15]测定方法, 于 96 孔板中加入 100 μL 0.2 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液, 再分别加入不同浓度虾青素溶液 100 μL , 充分振荡摇匀, 室温下避光反应 20 min, 在波长 517 nm 下测定吸光值为 A_2 ; 测定 100 μL 无水乙醇+100 μL DPPH 溶液在 517 nm 处吸光值为 A_1 ; 测定 100 μL 无水乙醇+100 μL 不同浓度虾青素溶液在 517 nm 处吸光值为 A_0 。清除率 u 计算公式:

$$u(\%) = \left(1 - \frac{A_2 - A_0}{A_1}\right) \times 100\%$$

清除羟基自由基能力测定 参照李念等^[16]测定方法并改进。于 96 孔板中分别加入不同浓度虾青素溶液 50 μL , 再加入 50 μL 9 mmol/L 的硫酸亚铁溶液和 50 μL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液, 最后加入 100 μL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中反应 20 min, 在 510 nm 处测定吸光度值为 A_2 ; 用去离子水代替 H_2O_2 溶液测定吸光度值为 A_0 ; 用去离子水代替虾青素测定吸光度值为 A_1 。清除率 v 计算公式:

$$v(\%) = \left(1 - \frac{A_2 - A_0}{A_1}\right) \times 100\%$$

铁离子还原能力测定 采用科铭总抗氧化能力 (FRAP 法) 检测试剂盒进行铁离子还原能力

测定。样品铁离子还原能力以达到同样吸光度的 FeSO_4 浓度来表示。标准曲线: $y=1.2416x+0.0134$, $R^2=0.9996$ 。

1.8 数据分析

数据均采用 Excel 软件统计, 每个样品设计 3 组平行, 采用 SPSS 22.0 软件对结果进行显著性差异分析, $P<0.05$ 为差异显著, $P>0.05$ 为差异不显著。

2 结果

2.1 加工过程中南极磷虾虾青素含量变化

通过 C_{30} -HPLC 法对虾青素含量进行测定。以不同浓度虾青素标准品峰面积为纵坐标, 虾青素浓度为横坐标, 绘制标准曲线 (表 2), 得到虾青素标准品含量线性方程: $y=238.6300x-6.1613$, $R^2=0.9998$, 可作为本实验虾青素含量测定的标准曲线 (图 1)。在南极磷虾原料中, 虾青素含量为 110.6 mg/kg, 经蒸煮和干燥处理后, 虾青素分别为 88.7 和 52.1 mg/kg, 呈显著下降趋势 ($P<0.05$) (图 2)。

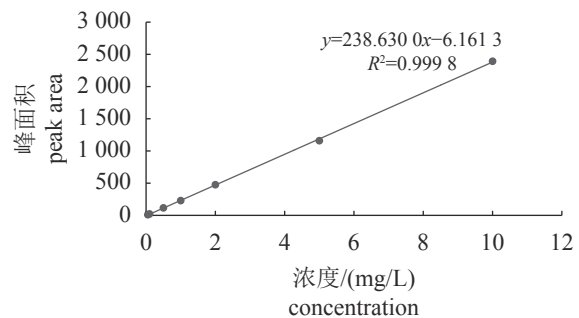


图 1 虾青素含量标准曲线

Fig. 1 Astaxanthin content standard curve

2.2 加工过程中虾青素几何结构变化

南极磷虾原料中虾青素几何构型主要为全反式, 占比达 90.7%, 13-顺式和 9-顺式虾青素占比接近, 分别为 4.7% 和 4.6% (图 3)。经蒸煮和干燥处理, 全反式虾青素占比变化显著 ($P<0.05$), 分别降低至 76.2% 和 72.2%。13-顺式虾青素在热处理过程中变化显著 ($P<0.05$), 占比呈逐渐上升趋势, 经蒸煮和干燥后占比分别为 19.9% 和 21.9%, 分别提高了 15.2% 和 2%, 9-顺式虾青素经蒸煮和干燥后占比分别为 3.9% 和 5.9%, 蒸煮后占比略有降低, 干燥后占比提高了 2% (图 4)。研究结果表明, 虾青素的几何异构主要发生在蒸煮阶段, 干燥阶段发生相对较少。总体来说, 经蒸煮和干

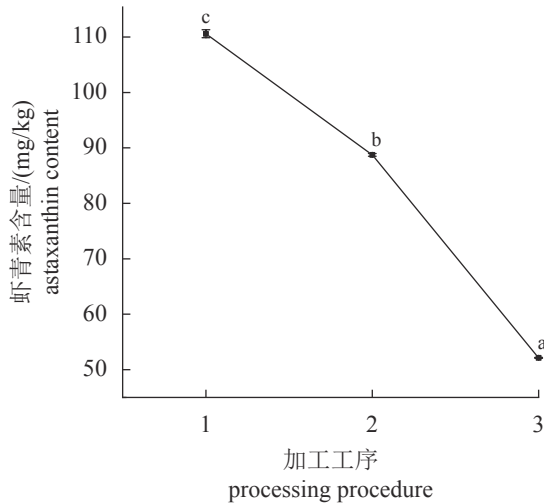


图2 南极磷虾热处理过程中虾青素含量的变化

1.原料, 2.蒸煮, 3.干燥, 图3和图5同。不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)

Fig. 2 Change trend of astaxanthin content in *E. superba* during heat treatment

1. raw material, 2. steaming, 3. drying, the same as Fig.3 and Fig.5. Values with different lowercases mean significant difference

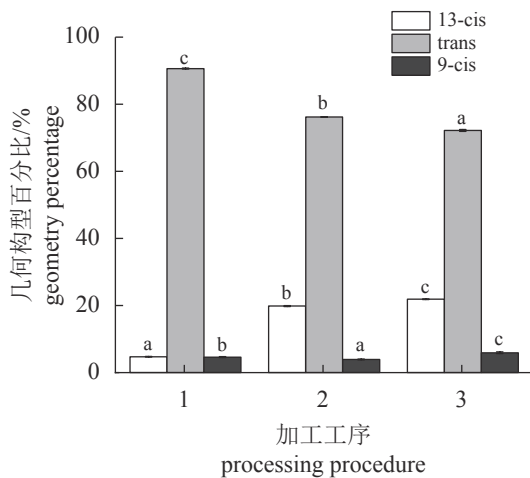


图3 南极磷虾热处理过程中虾青素几何构型的组成变化

13-cis. 13-顺式, 9-cis. 9-顺式, trans. 全反式。不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$), 下同

Fig. 3 Compositional changes of the geometrical configuration of astaxanthin in *E. superba* during the heat treatment

Values with different lowercases mean significant difference between groups, the same below

燥后, 南极磷虾虾青素中几何构型仍以全反式为 主, 其次为 13-顺式, 比 9-顺式占比高 16%。

2.3 加工过程中虾青素光学异构变化

南极磷虾体内虾青素光学异构体可分为

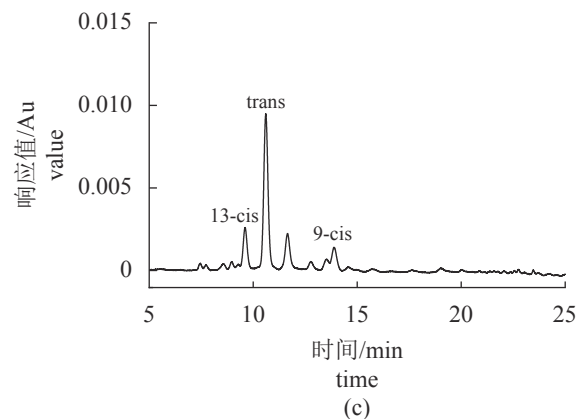
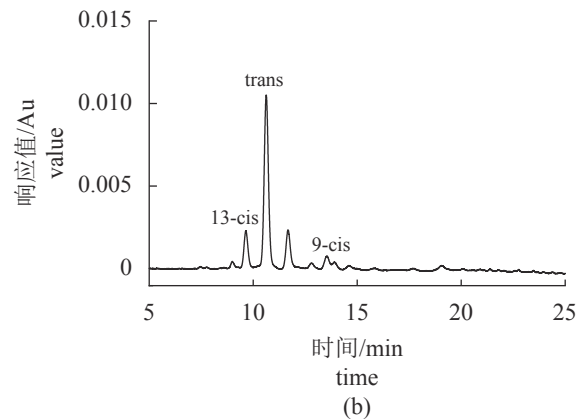
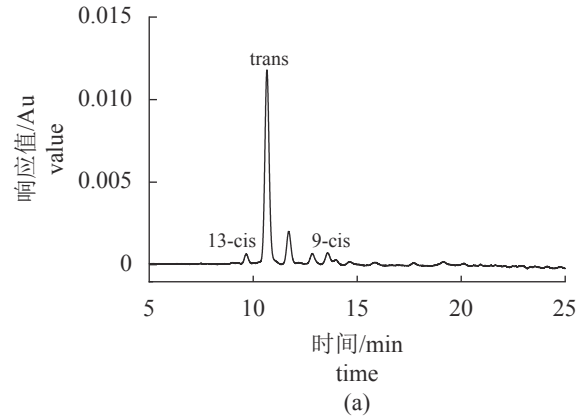


图4 不同加工工序南极磷虾中虾青素几何构型 HPLC 图谱

(a) 原料, (b) 蒸煮, (c) 干燥, 下同

Fig. 4 HPLC chromatograms of the geometrical configuration of astaxanthin in *E. superba* in different processing procedures

(a) raw material, (b) steaming, (c) drying, the same below

3*S*,3'*S*、3*S*,3'*R*、3*R*,3'*R* 三种。南极磷虾原料中虾青素 3*S*,3'*S*、3*S*,3'*R*、3*R*,3'*R* 含量分别为 16.8、17.9 和 72.1 mg/kg, 蒸煮后分别为 12.0、25.5 和 55.3 mg/kg, 干燥后分别为 2.8、8.1 和 12.4 mg/kg; 南极磷虾原料中 3*R*,3'*R* 虾青素的含量远高于 3*S*,3'*S*

和 3*S*,3'*R*(图 5)。经蒸煮和干燥后, 3*R*,3'*R* 含量显著下降 ($P<0.05$)。蒸煮后下降了 16.8 mg/kg, 干燥后下降了 42.9 mg/kg。南极磷虾原料中 3*S*,3'*S*和 3*S*,3'*R* 虾青素含量接近, 其中 3*S*,3'*S* 含量为 16.8 mg/kg, 经蒸煮和干燥后, 含量呈下降趋势 ($P<0.05$), 分别下降了 4.8 和 9.2 mg/kg; 3*S*,3'*R* 含量为 17.9 mg/kg, 经蒸煮和干燥后, 呈先上升后下降趋势, 蒸煮后含量为 25.5 mg/kg, 上升了 7.6 mg/kg; 干燥后含量为 8.1 mg/kg, 下降了 17.4 mg/kg (图 6), 研究表明光学异构主要发生在干燥阶段, 蒸煮阶段发生相对较少。

2.4 加工过程中南极磷虾虾青素对 DPPH 自由基的清除能力

以 Vc 为参照, 分析浓度与加工工序对虾青素 DPPH 自由基的清除效果。由图 7 可知, 虾青素对 DPPH 自由基清除效果优于 Vc, 随着浓度的升高, 虾青素和 Vc 对 DPPH 自由基的清除率不断增加, 浓度为 10~20 mg/L 时, 蒸煮和干燥后的南

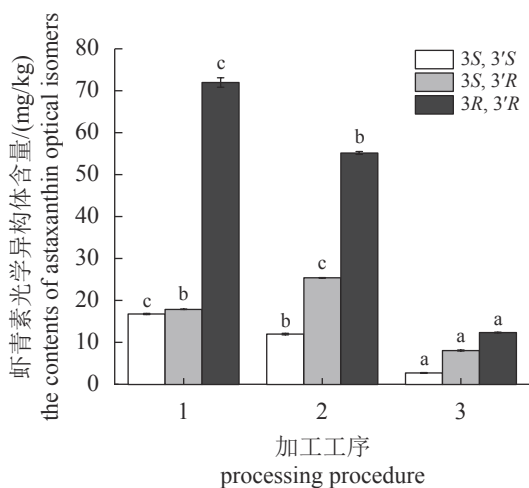


图 5 南极磷虾热处理过程中虾青素光学异构体的含量变化

Fig. 5 Changes in the content of optical isomers of astaxanthin in *E. superba* during heat treatment

表 2 虾青素标准品的回归方程

Tab. 2 Regression equation of astaxanthin standard product

虾青素立体异构体 structures of astaxanthin stereoisomers	回归方程 regression equation	<i>r</i>
3 <i>S</i> ,3' <i>S</i>	$y=404.859x-24.135$	0.999
3 <i>S</i> ,3' <i>R</i>	$y=405.005x-55.192$	0.999
3 <i>R</i> ,3' <i>R</i>	$y=404.803x-25.360$	0.999

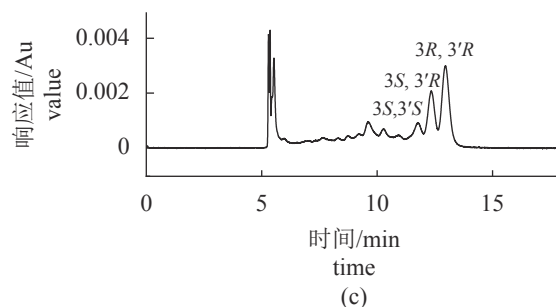
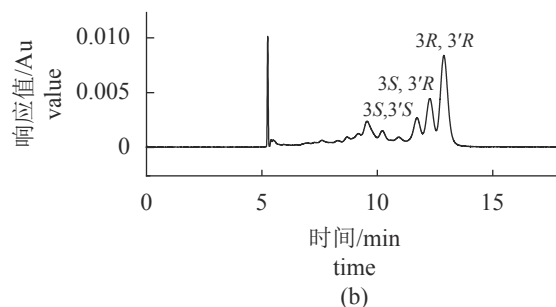
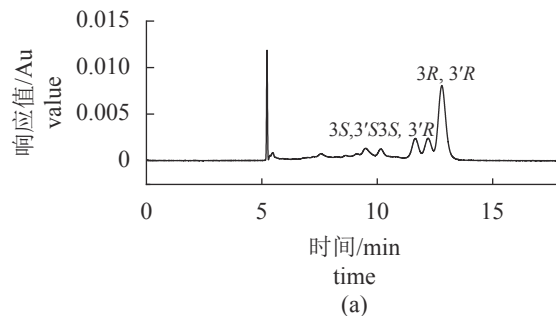


图 6 不同加工工序南极磷虾中虾青素光学异构体 HPLC 图谱

Fig. 6 HPLC chromatograms of optical isomers of astaxanthin in *E. superba* in different processing procedures

极磷虾中虾青素对 DPPH 自由基清除效果优于原料中的虾青素, 由高到低依次为干燥>蒸煮>原料。浓度为 40~100 mg/L 时, 原料、蒸煮和干燥后的南极磷虾虾青素对于 DPPH 自由基的清除能力没有显著差异。

2.5 加工过程中南极磷虾虾青素对羟基自由基的清除能力

以 Vc 为参照, 对不同加工工序的南极磷虾虾青素清除羟基自由基的能力进行测定, 随着浓度的升高, 虾青素和 Vc 对羟基自由基的清除能力呈不断增强的趋势 (图 8)。虾青素清除羟基自由基的能力始终高于 Vc。浓度为 10~60 mg/L 时, 干燥后的南极磷虾虾青素清除羟基自由基的能力高于蒸煮后; 浓度为 80 mg/L 时, 蒸煮后的南极磷

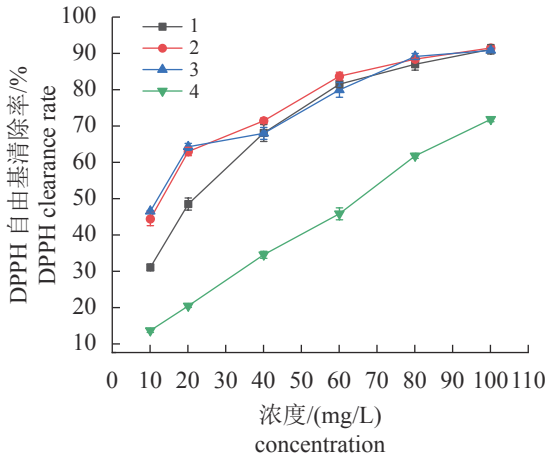


图7 不同加工工序虾青素与Vc对DPPH自由基的清除效果

1.原料, 2.蒸煮, 3.干燥, 4.Vc, 图8和图9同。

Fig. 7 Scavenging effects of astaxanthin in different processing procedures and Vc on DPPH free radicals

1. raw material, 2. steaming, 3. drying, 4. Vc, the same as Fig.8 and Fig.9

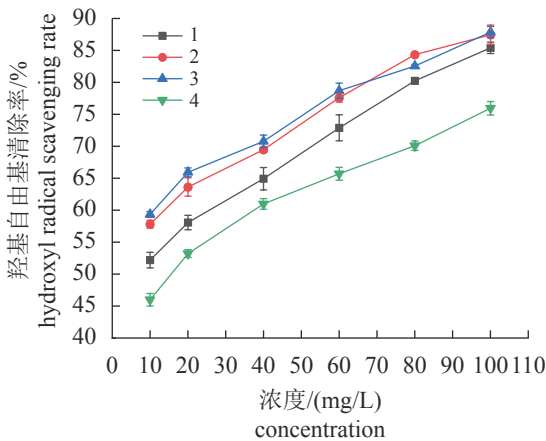


图8 不同加工工序虾青素与Vc对羟基自由基的清除效果

Fig. 8 Scavenging effects of astaxanthin in different processing procedures and Vc on hydroxyl radicals

虾青素清除羟基自由基的能力高于干燥后; 浓度为 100 mg/L 时, 蒸煮和干燥后的南极磷虾虾青素清除羟基自由基的能力接近 (P>0.05)。综合分析后发现, 对羟基自由基清除能力由高到低依次为干燥>蒸煮>原料>Vc。

2.6 加工过程中南极磷虾虾青素对铁离子的还原能力

FRAP 值以达到同样吸光度所需的 FeSO₄ 浓度 (mmol/L) 来表示, FRAP 值越大, 说明还原能力越强。随着浓度的升高, 虾青素和 Vc 对铁离子的还原能力呈上升趋势, 三种样品中的虾青素还

原能力均优于 Vc (图 9)。浓度为 10~60 mg/L 时, 铁离子还原能力由高到低依次为干燥>蒸煮>原料>Vc; 浓度为 80~100 mg/L 时, 铁离子还原能力由高到低依次为蒸煮>干燥>原料>Vc。

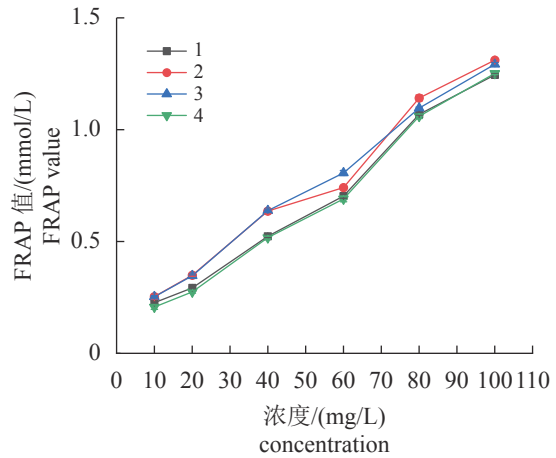


图9 不同加工工序虾青素与Vc对铁离子的还原能力

Fig. 9 Reduction ability of astaxanthin and Vc to iron ions in different processing procedures

3 讨论

3.1 南极磷虾加工过程中虾青素含量的变化

虾青素作为热敏性物质, 因其含有长共轭不饱和双键而易受热、光、金属离子以及酸碱等影响而发生降解^[1]。本研究中, 经蒸煮和干燥处理后的虾青素含量分别降低了 21.9 和 36.6 mg/kg。可见热处理对于虾青素含量影响非常大。宋素梅^[17]以不同温度贮藏南极磷虾并提取虾壳中的虾青素, 其保留率随着温度升高而降低, 且在虾青素提取过程中以不同温度进行皂化, 结果显示温度越高, 游离虾青素含量越低。蔡燕萍^[18]采用蒸汽处理凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*), 在处理 0~3 min 内虾青素含量上升, 3 min 后含量开始下降。宋玉昆^[19]通过建立南极磷虾油中虾青素在不同贮藏条件下的降解动力学, 研究虾青素在高温和碱性条件下的降解情况, 结果表明温度越高, 虾青素酯的降解速率越快。综上, 虾青素稳定性较差, 易受高温影响而降解, 相较于蒸煮, 干燥对于虾青素含量影响更为显著。原因是蒸煮时间短且水分含量高, 水分对于虾青素具有一定的保护作用, 而干燥时间长, 水分含量呈不断下降的趋势, 虾青素暴露在低湿高温的条件下, 因而降解更为严重^[2]。

3.2 南极磷虾加工过程中虾青素几何异构变化

虾青素由于化学性质不稳定,在高温条件下,其结构易发生改变,具有多种几何异构体,常见的有全反式虾青素、13-顺式虾青素和9-顺式虾青素^[5]。本研究中南极磷虾原料中全反式虾青素、13-顺式虾青素及9-顺式虾青素占比分别为90.7%、4.7%和4.6%,经蒸煮和干燥后,全反式虾青素的占比减少,13-顺式和9-顺式虾青素占比增加,说明经热处理后,部分反式虾青素可能转化成为了顺式虾青素;蒸煮过程比干燥过程几何异构变化要多,说明虾粉加工过程中虾青素的几何异构主要发生在蒸煮阶段,这可能是因为蒸煮的条件(温度、水分含量等)更利于几何异构的发生。有研究表明,虾青素各异构体含量随加热时间的延长呈规律性变化,其中13-顺式虾青素含量增加显著,在加热6h之后各异构体含量变化趋于平缓^[20]。Zhao等^[21]研究发现,利用微波可有助于虾青素异构体的转化,且转化率与微波时间、功率呈正相关;其次,由于虾青素含有长链共轭双键体系,环上有烯酮醇,有机试剂易使虾青素异构化,因此虾青素提取皂化过程中,甲醇等试剂使得部分反式虾青素异构为顺式虾青素^[3]。除此之外,不同的光源照射对于虾青素稳定性也会产生不同的影响^[22]。在南极磷虾加工过程中,由于光、热等因素影响,虾青素结构会发生改变,应采用低温避光等处理方式,尽可能维持虾青素的原始形态。

3.3 南极磷虾加工过程中虾青素光学异构变化

南极磷虾虾青素中3种异构体:3*S*,3'*S*、3*S*,3'*R*、3*R*,3'*R*所占比例分别为10%~20%、10%~20%、60%~70%^[7]。与本研究对南极磷虾原料中3种立体异构含量所测定结果大致相同,说明原料中虾青素以3*R*,3'*R*为主要存在形式。南极磷虾中虾青素超过90%都是以虾青素酯的形式存在^[23],丛心缘等^[5]通过分离南极磷虾虾青素单酯、双酯及游离虾青素,发现单酯和双酯虾青素中3*R*,3'*R*占比都在70%以上,在游离虾青素中3*R*,3'*R*占比为65%。经蒸煮后,3*S*,3'*R*含量增长部分与3*R*,3'*R*减少部分大致相等,说明与长时间高温干燥相比,短时间的蒸煮热处理对于3种光学异构体降解影响较小。在干燥过程中,3种光学异构体都发生较大程度降解,说明虾青素的光学异构主要发生在干燥阶段,蒸煮阶段发生较少,可能与蒸煮和干燥的条件(温度、水分含量、时间)有关,具体

<https://www.china-fishery.cn>

原因还需要进一步分析。

3.4 南极磷虾加工过程中虾青素抗氧化性变化

南极磷虾虾青素在加工过程中的三个阶段均展示出良好的抗氧化能力。相对于磷虾原料,经蒸煮和干燥后的虾青素抗氧化能力增强,造成这种现象的可能原因是顺式虾青素的抗氧化能力强于反式虾青素,这与金兴江等^[24]的研究结果相吻合,该实验采用DPPH自由基清除法研究三种几何异构体的抗氧化能力,发现清除能力从高到低依次为9-顺式虾青素>13-顺式虾青素>全反式虾青素。有研究表明使用恒温水浴处理虾青素,随着加热时间的延长,促进了虾青素的异构化,且对DPPH自由基的清除率由处理前的48.5%增加到68.0%^[20]。有研究者采用水煮凡纳滨对虾,发现在水煮时间0~720s内,虾青素对于羟基自由基的清除能力呈现先增大后平缓的趋势^[25]。因此,初步判断蒸煮和干燥等热处理导致的虾青素结构异构可以提高虾青素的抗氧化能力。

综上所述,南极磷虾加工过程中,热处理对于虾青素含量和结构都有较大的影响,高温导致虾青素降解异构,几何异构体和光学异构体在各加工阶段含量组成出现显著变化,虾青素的几何异构主要发生在蒸煮阶段,光学异构主要发生在干燥阶段。在体外抗氧化活性测定实验中,各加工阶段虾青素均表现出抗氧化活性差异,相对于磷虾原料,经蒸煮干燥后的虾青素抗氧化能力增强。本研究可为南极磷虾虾粉加工工艺优化及虾青素提取利用提供理论依据和技术参考。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 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 R, 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 (in Chinese).
- [2] 赵昕源, 欧阳杰, 马田田, 等. 南极磷虾体内主要营养物质在热处理过程中的流向[J]. 水产学报, 2021, 45(7): 1172-1180.
Zhao X Y, Ouyang J, Ma T T, et al. Flow direction of main substances in Antarctic krill (*Euphausia superba*)

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- heat treatment[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(7): 1172-1180 (in Chinese).
- [3] 彭永健, 吕红萍, 王胜南, 等. 天然虾青素的研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2017, 28(4): 193-197.
- Peng Y J, Lü H P, Wang S N, *et al.* Present research and prospect on natural astaxanthin[J]. *China Food Additives*, 2017, 28(4): 193-197 (in Chinese).
- [4] 张碧娜, 吕飞, 丁玉庭. 天然虾青素提取及其稳定性研究进展[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(7): 17-20.
- Zhang B N, Lü F, Ding Y T. Research progress on extraction and stability of natural astaxanthin[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2011, 40(7): 17-20 (in Chinese).
- [5] 丛心缘, 孙伟红, 张辉珍, 等. 南极磷虾中不同形态虾青素的分离制备、结构鉴定及含量分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(2): 174-178.
- Cong X Y, Sun W H, Zhang H Z, *et al.* Separation, structure identification and content analysis of different forms of astaxanthin in Antarctic krill[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(2): 174-178 (in Chinese).
- [6] 姚康飞, 张瑞莲, 刘晓娟, 等. 不同立体构型的虾青素抗脂质过氧化活性研究[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(10): 86-94.
- Yao K F, Zhang R L, Liu X J, *et al.* Studies on anti-lipid peroxidation activity of different stereoisomeric astaxanthin[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(10): 86-94 (in Chinese).
- [7] Maoka T, Masaaki K, Nobuyuki K, *et al.* Stereochemical investigation of carotenoids in the antarctic krill *Euphausia superba*[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1985, 51(10): 1671-1673.
- [8] 高岩, 邢丽红, 孙伟红, 等. 大西洋鲑和虹鳟不同部位中虾青素和脂肪酸的比较分析[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(14): 235-243.
- Gao Y, Xing L H, Sun W H, *et al.* Comparison of astaxanthin and fatty acid in different parts of farmed *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(14): 235-243 (in Chinese).
- [9] 孙伟红, 林洪, 翟毓秀, 等. 红发夫酵母中3R, 3'R-虾青素的分离纯化和结构鉴定[J]. *食品科学*, 2014, 35(11): 79-82.
- Sun W H, Lin H, Zhai Y X, *et al.* Separation, purification and identification of (3R, 3'R)-trans-astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*[J]. *Food Science*, 2014, 35(11): 79-82 (in Chinese).
- [10] 胡红伟, 闫凌鹏, 麻啸涛, 等. 虾青素在水产养殖中的应用研究进展[J]. *饲料博览*, 2021, 34(7): 10-18.
- Hu H W, Yan L P, Ma X T, *et al.* Application research progress on astaxanthin in aquaculture[J]. *Feed Review*, 2021, 34(7): 10-18 (in Chinese).
- [11] 巩凤英. 水生红球藻中虾青素合成及几何异构体的分析研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2017.
- Gong F Y. A Study on the synthesis of astaxanthin and the analysis of its geometric isomers in *Haematococcus pluvialis*[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [12] 孙伟红, 邢丽红, 冷凯良, 等. 高效液相色谱法测定南极磷虾及其制品中虾青素的含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(4): 1248-1253.
- Sun W H, Xing L H, Leng K L, *et al.* Determination of astaxanthin in Antarctic krill and its products by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2017, 8(4): 1248-1253 (in Chinese).
- [13] 中华人民共和国农业农村部. 水产品及其制品中虾青素含量的测定高效液相色谱法: SC/T3053-2019 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2019.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Determination of astaxanthin in fish and fishery products by high performance liquid chromatography method SC/T3053-2019[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2019 (in Chinese).
- [14] 杨澍, 张婷, 薛长湖, 等. 高效液相色谱手性拆分法分析生物体内虾青素光学异构体[J]. *食品科学*, 2015, 36(8): 139-144.
- Yang S, Zhang T, Xue C H, *et al.* Chiral separation and analysis of astaxanthin stereoisomers in biological organisms by high-performance liquid chromatography [J]. *Food Science*, 2015, 36(8): 139-144 (in Chinese).
- [15] 刘涵, 陈晓枫, 刘晓娟, 等. 不同几何构型虾青素的体外抗氧化作用及对秀丽隐杆线虫氧化应激的保护作用[J]. *食品科学*, 2019, 40(3): 178-185.
- Liu H, Chen X F, Liu X J, *et al.* *In vitro* antioxidant activity of different astaxanthin geometric isomers and their protection against oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Science*, 2019, 40(3): 178-185 (in Chinese).
- [16] 李念, 陈露珠, 安鑫, 等. 三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 (in Chinese).
- [17] 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.
- Song S M. Extraction and purification of astaxanthin from Antarctic krill Shells[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013 (in Chinese).
- [18] 蔡燕萍. 南美白对虾即食虾仁的加工及品质变化研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2012.
- Cai Y P. Study on processing and the quality change of shelled *Penaeus vannamei* boone[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2012 (in Chinese).
- [19] 宋玉昆. 南极磷虾油高真空脱溶及其虾青素贮藏稳定性研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2015.
- Song Y K. Effects of vacuum desolventizing process on antarctic krill oil and stability of astaxanthin during storage[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2015 (in Chinese).
- [20] 张丽瑶, 张华敏, 崔志芹, 等. 光照、加热对虾青素稳定性和抗氧化性的影响 [J]. *药学研究*, 2018, 37(2): 84-87, 107.
- Zhang L Y, Zhang H M, Cui Z Q, *et al.* Effect of light and heat on the stability and antioxidant activity of astaxanthin[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 37(2): 84- 87, 107 (in Chinese).
- [21] Zhao L Y, Zhao G G, 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): 8346-8346.
- [22] 张婧, 商建伟, 毛相朝, 等. 南美白对虾虾头中虾青素的提取工艺及稳定性[J]. *中国渔业质量与标准*, 2014, 4(1): 43-52.
- Zhang J, Shang J W, Mao X C, *et al.* Extraction of astaxanthin from *Litopenaeus vannamei* shrimp head and its stability[J]. *Chinese Fishery Quality and Standards*, 2014, 4(1): 43-52 (in Chinese).
- [23] Tomáš R, Linda N, Irena K, *et al.* LC-MS/APCI identification of glucoside esters and diesters of astaxanthin from the snow alga *Chlamydomonas nivalis* including their optical stereoisomers[J]. *Phytochemistry*, 2013, 88(1): 34-42.
- [24] 金兴江, 吴月婵, 仇丹, 等. 虾青素几何异构体的分离、鉴定及抗氧化性能研究[J]. *食品科技*, 2010, 35(12): 224-227,231.
- Jin X J, Wu Y C, Qiu D, *et al.* Isolation, identification and antioxidant activities of astaxanthin isomers[J]. *Science and Technology of Food*, 2010, 35(12): 224-227,231 (in Chinese).
- [25] 张旭飞, 罗晓琳, 毛伟杰, 等. 凡纳滨对虾水煮加热过程颜色与虾青素及体外抗氧化活性的相关性[J]. *广东海洋大学学报*, 2021, 41(3): 105-112.
- Zhang X F, Luo X L, Mao W J, *et al.* Correlation between astaxanthin coloration and *in vitro* antioxidant activity of *Litopenaeus vannamei* during boiling and heating[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2021, 41(3): 105-112 (in Chinese).

Astaxanthin content, structure and antioxidant activity in the processing of Antarctic krill (*Euphausia superba*) meal

OUYANG Jie^{1,2,3*}, ZHAO Xinyuan^{1,4}, MA Tiantian^{1,2}

(1. Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China;

2. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

3. Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China;

4. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306 China)

Abstract: *Euphausia superba* is rich in astaxanthin, which is a good source of natural astaxanthin. Shrimp meal is one of the most important processed products of *E. superba*. In the shrimp meal processing, the cooking and drying processes involve heat treatment. Astaxanthin is a heat-sensitive substance with poor structural stability, and it is easy to be degraded and isomerized at high temperature, which results in the changes of astaxanthin content and antioxidant capacity. In order to understand the changes of astaxanthin content, structure and antioxidation ability during the processing of *E. superba* meal, the content and structure of astaxanthin in each stage were determined by high-performance liquid chromatography, the antioxidant activity of astaxanthin in different processing stages was compared, and the correlation between astaxanthin structure and its functional activity was analyzed. The results showed that the content of astaxanthin in *E. superba* was 110.6 mg/kg, of which the content of all-trans astaxanthin was 90.7%, the content of 13-cis astaxanthin and 9-cis astaxanthin were 4.7% and 4.6% respectively, and after cooking and drying, the content of astaxanthin was 88.7 and 52.1 mg/kg, the proportion of trans astaxanthin was 76.2% and 72.2%, the proportion of 13-cis astaxanthin was 19.9% and 21.9%, and the proportion of 9-cis astaxanthin was 3.9% and 5.9%. The content of three optical isomers such as 3S, 3'S, 3S, 3'R, 3R, 3'R in astaxanthin of *E. superba* were 16.8, 17.9 and 72.1 mg/kg respectively, the content were 12.0, 25.5 and 55.3 mg/kg after cooking, and were 2.8, 8.1 and 12.4 mg/kg after drying. The scavenging capacity of astaxanthin to DPPH free radical was stronger than Vc. In the scavenging experiment of hydroxyl free radical, the antioxidation ability of astaxanthin after cooking and drying was better than krill material. In FRAP iron reduction experiment, the antioxidation after cooking and drying also showed greater reduction ability. The results showed that the geometric isomerization of astaxanthin mainly took place in the cooking stage, and the optical isomerization mainly took place in the drying stage. This study can provide a theoretical basis and technical reference for the optimization of the processing technology of *E. superba* meal and the extraction and utilization of astaxanthin.

Key words: *Euphausia superba*; astaxanthin; HPLC; structure; anti-oxidation

Corresponding author: OUYANG Jie. E-mail: ouyangjie@fmiri.ac.cn

Funding project: National Key R & D Program of China (2018YFC1406804)