

玉米黄素的提纯工艺及其含量测定研究进展

刘健, 曹井龙, 薛慧, 李艳楠, 侯文爽, 金成浩*

黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江大庆

【摘要】 玉米黄素是一种含氧的天然类胡萝卜素, 大量存在于黄玉米、枸杞、酸浆果实等植物组织与一些非光合作用细菌中, 能有效预防癌症、白内障、心血管及老年性黄斑衰退等疾病的发生。目前, 玉米黄素的提纯工艺主要包括有机溶剂提取法、超声波辅助提取法及酶提取法等, 含量测定技术主要包括紫外-分光光度法与高效液相色谱法等。本文对近年来玉米黄素的提纯工艺及其含量测定技术的研究进行综述, 以期对玉米黄素的进一步研发与应用提供思路与理论依据。

【关键词】 玉米黄素; 类胡萝卜素; 提纯工艺; 含量测定

【基金项目】 中央支持地方高校改革发展基金人才培养项目 (2020GSP16)

【收稿日期】 2023 年 2 月 1 日 **【出刊日期】** 2023 年 2 月 17 日 **【DOI】** 10.12208/j.jafs.20230004

Research progress on purification technology and content determination of zeaxanthin

Jian Liu, Jinglong Cao, Hui Xue, Yannan Li, Wenshuang Hou, Chenghao Jin*

College of Life Science & Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, China

【Abstract】 Zeaxanthin is a kind of natural carotenoid containing oxygen, which exists in a large number of plant tissues such as yellow corn, wolfberry, acid pulp fruit and some non-photosynthetic bacteria. It can effectively prevent the occurrence of cancer, cataracts, cardiovascular and age-related macular decline and other diseases. At present, the purification process of zeaxanthin mainly includes organic solvent extraction method, ultrasonic assisted extraction method and enzyme extraction method, and the content determination technology mainly includes UV-spectrophotometry and high performance liquid chromatography. In this paper, the purification technology and content determination technology of zeaxanthin in recent years are reviewed in order to provide ideas and theoretical basis for further development and application of zeaxanthin.

【Keywords】 zeaxanthine; carotenoid; purification process; content determination

前言

类胡萝卜素 (Carotenoids) 是一类重要的天然色素的总称, 目前已发现超过 800 种天然类胡萝卜素, 普遍存在于动物、高等植物、真菌及藻类中^[1]。类胡萝卜素是具有多个共轭双键的萜类化合物, 根据化学结构的不同, 类胡萝卜素可分为两类, 一类是胡萝卜素 (只含碳氢两种元素, 不含氧元素), 另一类是叶黄素 (有羟基、酮基、羧基及甲氧基等含氧官能团)^[2]。玉米黄素 (Zeaxanthin) 又名玉米黄质、玉米黄质素, 是 β -胡萝卜素的二羟基衍生物, 与叶黄素互为同分异构体, 是一种在自然界中广泛

存在的脂溶性色素。作为一种天然色素, 玉米黄素已被《食品添加剂使用卫生标准》认定为一种安全的天然食用色素, 正逐渐取代柠檬黄等合成色素大量应用于食品工业中^[3]。除着色功能外, 玉米黄素还具有多种药理活性, 能有效预防癌症与老年性黄斑衰退症等疾病的发生^[4]。本文对玉米黄素的提纯工艺及其含量测定技术进行综述, 旨在为玉米黄素的研发与应用提供理论依据。

1 玉米黄素的提纯工艺

目前, 工业生产玉米黄素的提取原料主要有玉米、金盏菊及柑桔皮, 其提纯工艺主要包括有机溶

第一作者简介: 刘健 (1999-) 男, 汉族, 硕士研究生, 主要从事中草药活性物质制备工艺研究。

*通讯作者: 金成浩 (1977-) 男, 朝鲜族, 教授, 博导, 主要从事抗癌药物制备工艺及其药理活性研究。

剂提取法、超声波辅助提取法、微波提取法、酶提取法、超临界流体萃取提取法、膜辅助分离提取法等。

有机溶剂提取法是利用乙醇、石油醚及三氯甲烷等有机溶剂提取生物活性物质的一种传统提取方法, 具有操作简单、提取效率较高等优点。提取过程中的滤渣可进行二次提取, 蒸馏后的溶剂也可进行二次利用, 有效提高原料利用率、降低提取成本。张志华等采用有机溶剂提取法, 将玉米蛋白粉溶于乙醇, 浸提获取提取液, 过滤后进行二次浸提, 合并除杂获得了玉米黄素。进一步通过三因素四水平正交试验确定最佳提取工艺条件的乙醇浓度、玉米蛋白粉重量(g)与浸提剂量(mL)之比、浸取温度、浸取时间分别为95%、1:16、65°C、4 h^[5]。熊皖扬等采用响应面法优化了玉米黄粉中玉米黄素的提取工艺, 将玉米黄粉溶于乙醇, 油浴回流提取后离心, 其上清即为提取液。根据 Design expert 软件中 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 进行三因素三水平正交试验。最终确定其最佳提纯工艺条件的乙醇体积分数、提取温度、提取时间分别为83.36%、62.13°C、5.79 h, 此条件下玉米黄素得率可达0.21%^[6]。狄火丽等采用有机溶剂提取法, 将叶黄素溶于二甲基亚砜(DMSO), 油浴加热, 加入氢氧化钾(KOH)后干燥得到玉米黄素晶体。进一步确定其最佳提纯工艺的KOH与叶黄素的摩尔比、KOH的摩尔浓度、反应温度、料液比、反应时间分别为56:1、12 mol/L、90°C、1:25、1 h, 此条件下得到的玉米黄素经紫外分光光度计与高效液相色谱检测其纯度可达90%以上^[7]。挤压膨化是一种有效的预处理方式, 在淀粉与蛋白等原料的改性方面应用较多。焦岩等将玉米蛋白粉进行挤压膨化预处理后粉碎, 加入有机溶剂浸提后分离上清获得玉米黄素。最终通过三因素三水平正交试验确定挤压筒温度150°C、玉米蛋白粉水分含量18%、螺杆转速160 rpm/min为最佳挤压膨化条件^[8]。

超声波辅助提取法是近年来较常用的提纯工艺, 具有适用性广、提取时间短、提取效率高、产物稳定性好、操作简单易行等优点, 适用于绝大多数有效成分的提取。李秀鑫等采用超声波辅助法提取玉米黄粉中的玉米黄素, 将玉米黄粉与葵花籽油微乳液均匀混合后提取, 在446 nm处检测其吸光度。结果发现, 与水浴法相比, 超声波辅助微乳液提取法的提取率几乎是水浴法的2倍。进一步通过

正交试验筛选其最佳料液比、温度、时间分别为1:40(g/mL)、40°C、110 min^[9]。李伟等采用超声波加酶提取法提取玉米蛋白粉中的玉米黄素, 将玉米蛋白粉与乙醇混合, 加入中性蛋白酶后超声处理获得提取液。结果发现, 与普通醇提法等方法相比, 超声波加酶提取法的用时较短且提取率较高, 其最佳提取料液比、超声波功率、加酶量、提取时间分别为1:25、100 W、 1.5×10^4 U/g、5 min^[10]。

酶提取法主要利用酶破坏细胞壁结构, 减小有效成分从胞内向提取介质扩散的阻力, 进而提高提取效率, 同时酶的作用专一性可避免对除底物以外物质的破坏。在提取热稳定性差或含量较少的化学成分时, 酶提取法的优势更为明显。朱蕾等采用酶提取法提取玉米蛋白粉中的玉米黄素, 将玉米蛋白粉溶解于中性酶缓冲液中, 随后加入有机溶剂提取, 在445 nm处测定吸光值。结果发现, 玉米黄素提取率明显提高。进一步通过单因素试验与正交试验筛选出最佳酶浓度、PH值、温度分别为1.4%、7.0、40°C、6 h^[11]。

微波提取法又称微波辅助提取法, 是一种在微波反应器中使用溶剂从植物、动物、矿物等组织中提取各种化学成分的方法, 具有高效节能、安全环保等优点。刘振春等采用微波提取法, 与酶提取法结合, 在玉米蛋白粉中加入浸提剂, 酶解后微波处理, 提取效果显著提高, 缩短了提取时间与生产周期。经正交试验验证后确定其最佳微波功率、加热时间、加酶量、底物浓度、酶解时间分别为480 W、35s、1.4%、5%、6 h^[12]。

超临界萃取分离法是指利用超临界条件下的流体作为萃取剂, 从液体或固体中萃取出特定成分的方法, 具有提取效率高、提取时间短及产物稳定等优点, 是一项新型提取技术。张民等采用超临界丙烷萃取法, 在压力为8.5-10.0 MPa、温度为96.8°C的条件下萃取4 h, 成功获得了高纯度的玉米黄素^[13]。孙丽丽等采用超临界CO₂萃取法, 将水解玉米蛋白粉进行萃取, 用无水乙醇溶解获得玉米黄素, 通过单因素实验与正交实验优化了超临界CO₂萃取玉米黄色素的工艺条件, 并通过HPLC检测提取物中玉米黄素的含量。最终确定最佳萃取时间、CO₂流速、萃取压力、萃取温度分别为2 h、35 kg/h、30 MPa、45°C, 此条件下玉米黄色素产量可达210.97 μg/g^[14]。

膜辅助分离提取法是一种以分离膜为核心, 进行分离、浓缩及提纯的一门新兴技术。Tsui 等采用膜技术对玉米中的叶黄素类成分进行提取, 将玉米材料磨碎后, 加入乙醇提取获得提取液, 将提取液超滤 (U20T 与 RTM-PX 膜) 后分离得到玉米醇溶蛋白, 采用纳米过滤技术 (TFC-SR1 膜) 与层析法分离纯化得到了玉米黄素。该方法具有选择性强、操作过程简单、适用范围广、能耗低等优点, 广泛应用于食品、医药、生物、环保、化工等领域, 已成为当今提纯工艺中最常用的手段之一^[15]。

2 玉米黄素的含量测定技术

含量测定是中药活性成分提取的核心步骤之一, 是评价药品质量、保证用药安全的重要手段。目前, 中药的含量测定方法主要包括化学分析法与仪器分析法两大类, 玉米黄素的含量测定方法主要有分光光度法、高效液相色谱法与薄层色谱法。

徐秀红等选用 6 个鲜食玉米品种为原料, 采用分光光度法分析不同品种玉米籽粒的玉米黄素含量, 将新鲜玉米籽粒制成干粉, 溶解后提取上清, 测定其在波长 445 nm 处的吸光值, 计算玉米黄素含量。结果发现, 不同品种的籽粒玉米黄素含量最高值存在着极显著差异, 其中, 粤甜 3 号的玉米黄素含量最高, 可达 14.809 mg/kg^[16]。邓小净等采用分光光度法分析玉米类型、籽粒色泽、籽粒类型对籽粒中玉米黄素含量的影响。从 3200 份玉米自交系中选 123 份作为研究材料进行磨粉, 经有机溶剂提取后取上清液测定其在波长 445 nm 处的吸光值。结果发现, 玉米类型、籽粒色泽对玉米黄素含量有很大影响, 黄玉米中的玉米黄素含量最高, 可达 2.2 mg/kg^[17]。

与紫外-分光光度法相比, 色谱法具有分离效率高、灵敏度高等优点, 根据流动相的状态, 可分为气相色谱法、液相色谱法、电色谱法及超临界流体色谱法四大类。李欢鹏等采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定奶粉中玉米黄素的含量, 将奶粉溶于水后加入蛋白酶, 将正己烷:丙酮 (1:9) 作为提取溶剂重复提取并过滤获得样品溶液, 以正己烷:乙酸乙酯 (65:35) 为流动相进行 Si 60 色谱仪测定。结果发现, 在添加玉米黄质含量为 63.3、126.7、316.7 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 时, 加标回收率为 95.8%-96.7%, 相对标准偏差为 1.1%-3.9%, 检出限为 20 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 定量限为 50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ^[18]。该方法过程简单、易操作、灵敏

度高、回收率好等优点。王红梅等采用正相高效液相色谱法 (NP-HPLC) 测定万寿菊中玉米黄素的含量, 将万寿菊花干品溶于水后加入正己烷与乙酸乙酯 (72:28) 的混合溶液, 超声提取并过滤后获得样品溶液, 将样品溶液与混合对照品溶液进行色谱仪测定, 检测波长设为 450 nm。结果发现, 万寿菊中玉米黄素的平均干重含量可达 1.58 g/kg^[19]。

近年来, 超高效液相色谱法 (UPLC) 作为一种新兴的液相色谱技术, 因其分离效率高、灵敏度高, 对于复杂体系的分离更具优越性等优点, 已广泛应用于化学、生物、制药、环保及检测等科学领域。孟繁磊等采用超高效液相色谱法测定不同品种黄玉米中玉米黄素的含量, 将黄玉米籽粒粉碎, 超声提取并过滤后获得样品溶液, 将样品溶液与混合对照品溶液进行色谱仪测定, 检测波长设为 445 nm。结果发现, 不同品种黄玉米中玉米黄质的含量在 0.69-7.43 mg/kg 之间, 存在显著性差异。该实验方法检出限为 0.03 mg/kg, 定量限为 0.10 mg/kg, 加标平均回收率在 92.67%-94.67% 之间, RSD 在 1.26%-4.12% 之间, 具有操作简单、重复性好、准确度高等优点。

3 总结与展望

近年来, 随着研究的不断深入, 玉米黄素的提纯工艺也不断改进, 以超临界萃取法为例的新型提纯工艺与传统的有机溶剂萃取法相比, 具有能耗低、操作简单、适用性广、条件温和及提取效率高等优点, 为后续的玉米黄素含量测定提供了更好的技术支持。但仍需对提纯工艺的条件进行优化, 以达到进一步降低生产成本、减少环境污染等目的。此外, 玉米黄素的含量测定技术也正朝着更加精准的方向发展, 现有的高效液相色谱法等方法, 普遍具有高效快捷、灵敏度高及结果准确等优点, 但通常因仪器价格昂贵, 导致经济成本较高, 难以大规模应用。综上所述, 玉米黄素的提纯工艺与含量测定技术还有很大的发展空间, 建立更完善的理论方法与成熟的技术体系, 克服新型提纯工艺与含量测定技术在工业化应用上的缺点, 在保证产物质量与安全性的同时, 降低生产成本并提高产物稳定性, 将有助于进一步提高玉米黄素的应用价值。

参考文献

- [1] Maoka T. Recent progress in structural studies of

- carotenoids in animals and plants[J]. Arch Biochem Biophys. 2009,483(2): 191-195.
- [2] 张冠华, 刁倩楠. 类胡萝卜素研究进展[J]. 现代农业, 2021(04): 46-49.
- [3] 孟繁磊, 宋志峰, 牛红红, 等. 玉米黄素的提取分离及生理功能[J]. 吉林农业, 2016(23): 115-116.
- [4] 刘美宏, 刘回民, 郑明珠, 等. 玉米黄素生物活性及其在食品中应用研究进展[J]. 食品工业, 2016, 37(12): 242-248.
- [5] 张志华, 谌伟, 罗倩. 玉米黄色素的提取工艺探讨[J]. 中国食品添加剂, 2003(01): 27-30.
- [6] 熊皖扬, 陈劲春. 响应面法优化玉米黄粉中玉米黄素和玉米醇溶蛋白的提取工艺[J]. 食品科技, 2011,36(07): 148-152.
- [7] 狄火丽, 徐环昕, 刘坐镇, 等. 高纯度玉米黄素的制备[J]. 现代食品科技, 2010,26(03): 281-284.
- [8] 焦岩, 常影, 余世锋, 等. 挤压膨化辅助提取玉米蛋白粉中玉米黄色素工艺优化[J]. 食品科学, 2016,37(16): 43-47.
- [9] 李秀鑫, 于晓丹, 吴红艳, 等. 超声波辅助法微乳提取玉米黄粉中玉米黄素工艺[J]. 食品工业, 2020,41(02): 140-143.
- [10] 李伟, 吴广庆. 超声波加酶法醇提玉米蛋白粉中玉米黄素的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2016(07): 29-31+35.
- [11] 朱蕾, 陈敏, 李赫, 等. 酶法提取玉米蛋白粉中玉米黄色素的工艺研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2005(08): 65-67.
- [12] 刘振春, 张岚. 微波酶法提取玉米蛋白粉中玉米黄素的研究[J]. 食品科学, 2008(01): 169-172.
- [13] 张民, 冯亮, 王愚, 等. 超临界丙烷萃取玉米黄色素的研究[J]. 食品科技, 2001(03): 34-35.
- [14] 孙丽丽, 张智杰, 郑永杰. 玉米黄色素的提取和分析[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2009,25(01): 74-78.
- [15] Tsui E M, Cheryan M. Membrane processing of xanthophylls in ethanol extracts of corn[J]. Journal of Food Engineering, 2007,83(2): 590-595.
- [16] 徐秀红, 吕桂华, 陈坚剑, 等. 鲜食玉米灌浆过程中籽粒玉米黄质含量的累积动态变化[J]. 浙江农业学报, 2013,25(04): 685-688.
- [17] 邓小净, 梅秀鹏, 徐德, 等. 不同玉米籽粒中烟酸和玉米黄质含量的测定[J]. 食品科学, 2015,36(12): 119-124.
- [18] 李欢鹏, 王鸽, 马晓冲, 等. 高效液相色谱法测定奶粉中玉米黄质含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021,12(18): 7351-7356.
- [19] 王红梅, 张琳. 正相高效液相色谱测定万寿菊中玉米黄质和叶黄素方法研究[J]. 安徽农业科学, 2021,49(02): 186-188.
- [20] 孟繁磊, 宋志峰, 谭莉, 等. UPLC 法测定黄玉米中玉米黄质[J]. 中国食品添加剂, 2018(11): 188-192.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS