

摘要

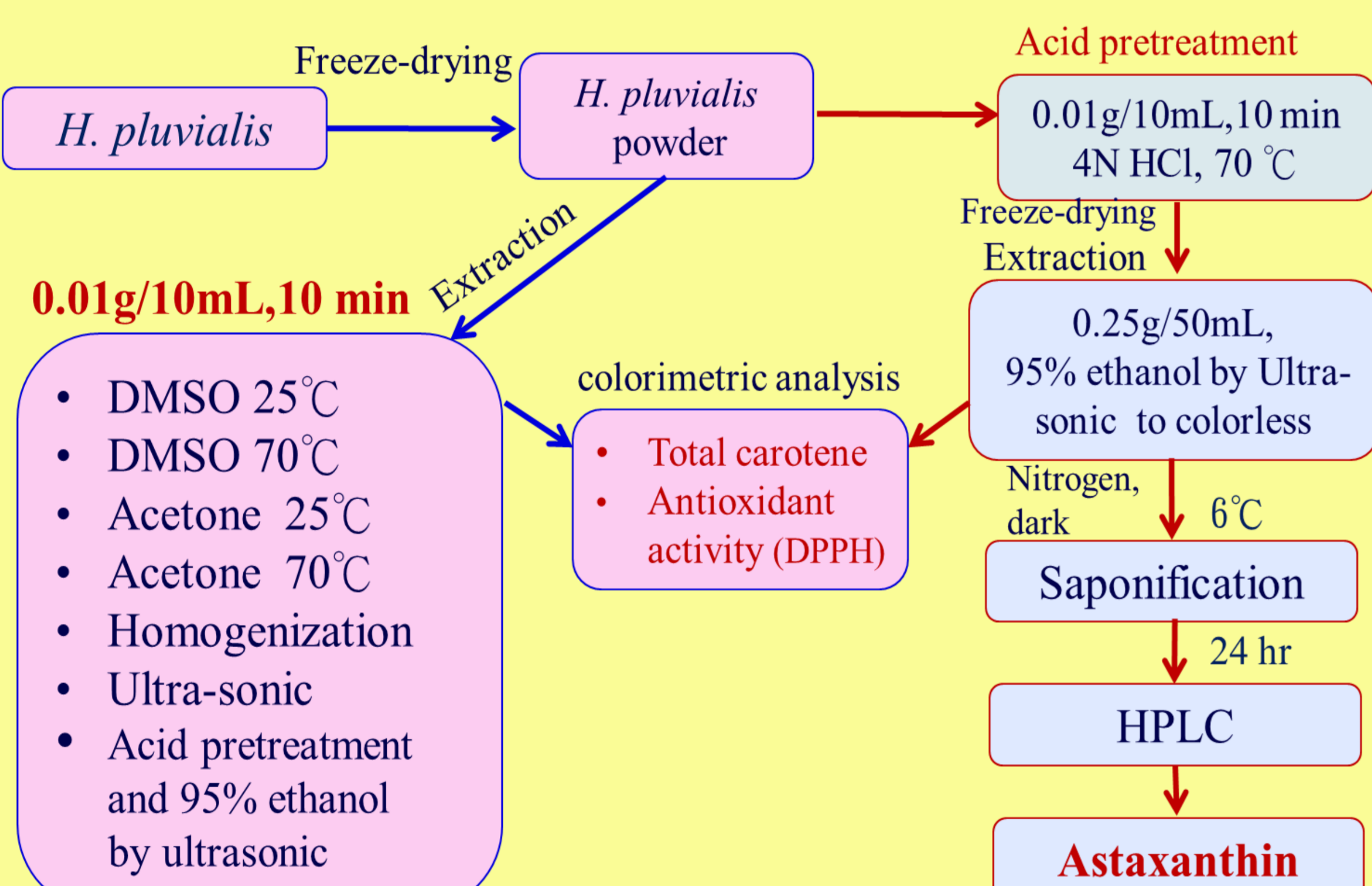
蝦紅素(astaxanthin)是一種類胡蘿蔔素，主要存在於水生動植物中，是目前自然中發現抗氧化能力最強的物質；其中又以雨生紅球藻的蝦紅素含量最高，由於雨生紅球藻具有一層很厚的細胞壁及膠質，因而阻礙了溶劑萃取的效果。本研究是以DMSO及丙酮溶劑分別在25°C及70°C水浴萃取、均質萃取、超音波萃取及酸破壁處理超音波萃取等7種方法處理雨生紅球藻以獲得蝦紅素。經分光法分析其總類胡蘿蔔素含量，研究結果顯示，固液比為1:1000時，經4 N HCl在70°C下水浴10 min破壁處理後，以乙醇進行超音波萃取20 min，經分光法分析其總類胡蘿蔔素高達28.6 mg/g；相較於以DMSO及丙酮溶劑分別在25°C及70°C水浴萃取其總類胡蘿蔔素結果為16.76 mg/g、23.21 mg/g、0.9 mg/g及揮發無法檢測；均質萃取、超音波萃取其總類胡蘿蔔素則為0.63 mg/g及0.41 mg/g為最高。固液比為1:4000時，經酸破壁處理後，以95%乙醇進行超音波萃取20 min，DPPH清除率為62.43%；相較於其他各組萃取液之DPPH清除能力為最高。由藻粉萃取的蝦紅素，需先加0.1N NaOH 6°C充氮避光皂化24 hr，再以C18逆相層析HPLC管柱，以乙腈:甲醇(15:85)為移動相，流速控制在1 mL/min，在476 nm波長下偵測面積。

關鍵字：雨生紅球藻、蝦紅素、萃取、抗氧化活性

前言

蝦紅素最早是被添加在魚飼料當中或食用色素，以增加魚類豔紅的顏色提升市場價值，2000年美國FDA正式將蝦紅素列為膳食補充品，因此它的角色也提升為保養品及保健食品等而價格昂貴，蝦紅素的生理活性功能非常多，如抗氧化、抗癌症、增加免疫調節、改善行為障礙等。然而，其厚厚的細胞壁卻阻礙了它的萃取效果及活性能力，如何提高其萃取率已成為各界競相研究的課題。因此，本研究乃以DMSO及丙酮溶劑分別在25°C及70°C水浴萃取、均質萃取、超音波萃取及酸破壁處理超音波萃取等7種方法處理雨生紅球藻以獲得蝦紅素，已找出最適合的萃取條件及方法。

材料與方法

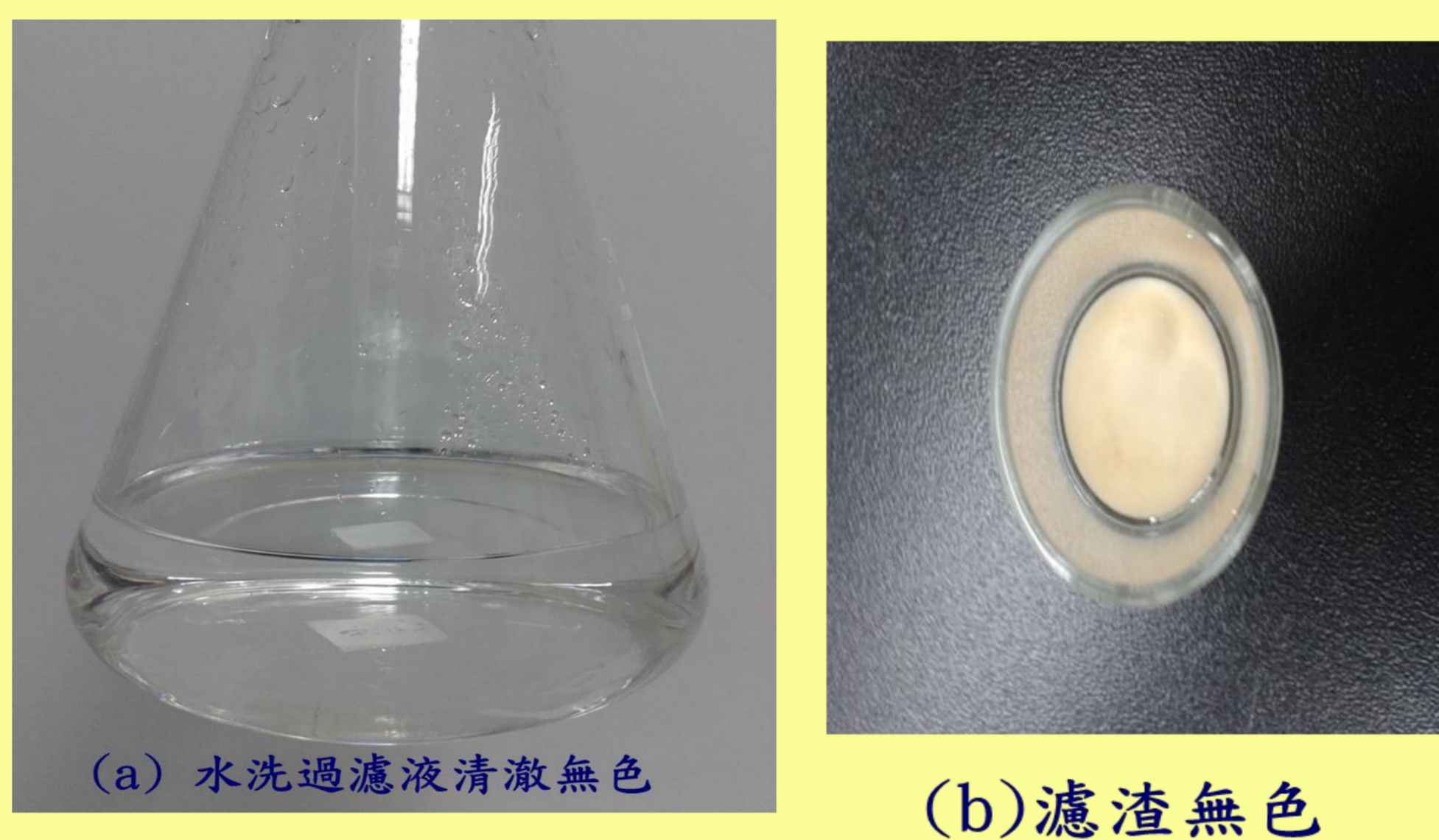


結果與討論

雨生紅球藻藻粉，經4N HCl在70°C下水浴10 min破壁處理後，以乙醇進行超音波萃取20 min，經分光法分析其總類胡蘿蔔素高達28.6 mg/g(表一)；相較於以DMSO及丙酮溶劑分別在25°C及70°C水浴萃取其總類胡蘿蔔素結果為16.76、23.21、0.9 mg/g及揮發無法檢測；均質萃取、超音波萃取其總類胡蘿蔔素則為0.63及0.41 mg/g為最高。固液比為1:4000時，經酸破壁處理後，以乙醇進行超音波萃取20min，DPPH清除率為62.43%(表二)；相較於其他各組萃取液之DPPH清除能力為最高。藻粉樣品經酸破壁處理，並以去離子水反覆沖洗及過濾程序，由過濾液清澈無色(圖一)，結果顯示：水洗的過程並不會造成萃取物的損失影響萃取結果的分析。蝦紅素之HPLC圖譜分析法標準曲線結果為 $Y=35323X+15764$ ， $R^2=0.9913$ (圖二)，且先經酸破壁處理超音波萃取經皂化後之分析時間將可由60 min縮短至25 min內完成。

表一、以分光法分析，以不同萃取方法萃取之雨生紅球藻總類胡蘿蔔素含量

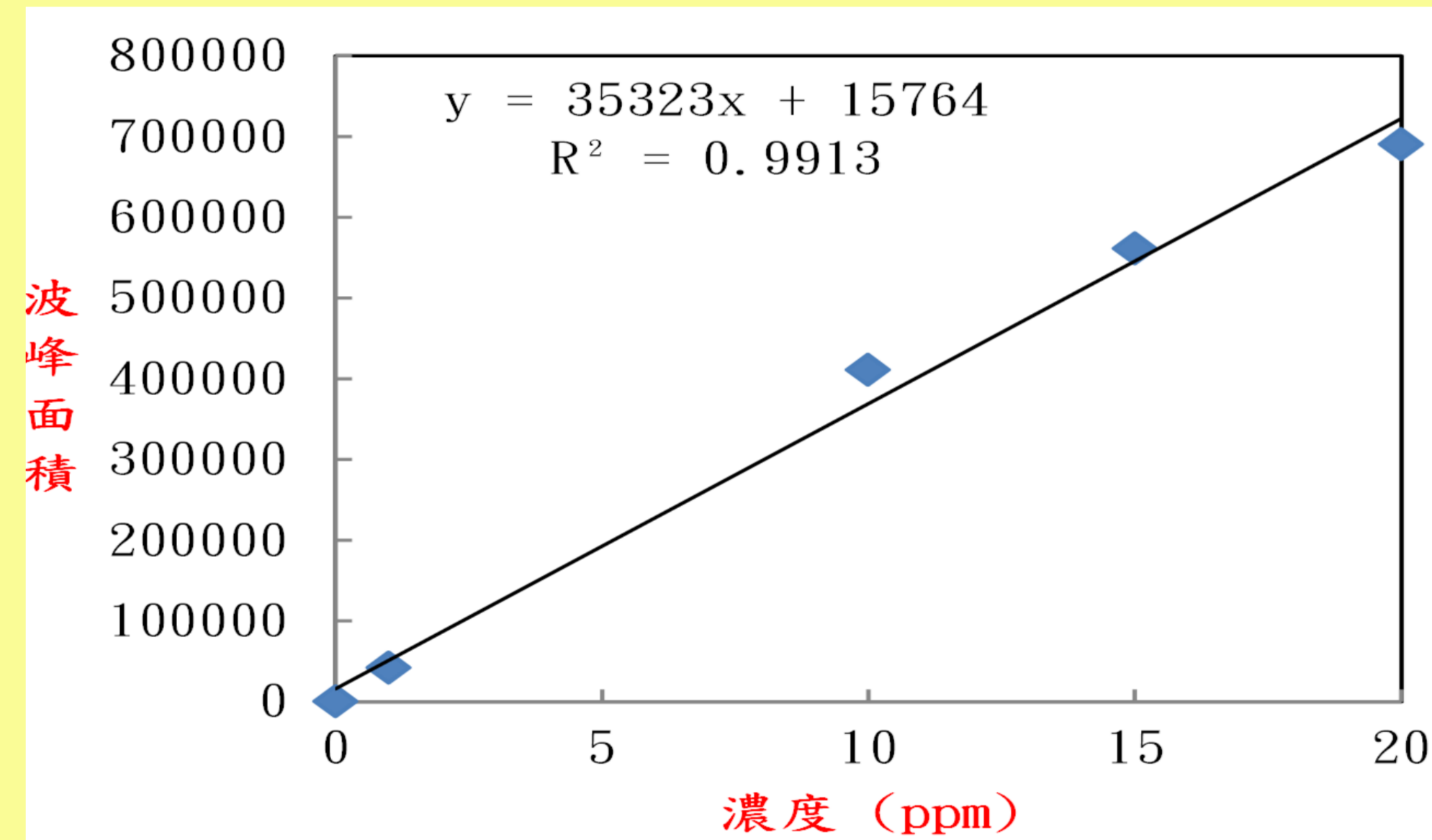
Extraction methods	Time (min)	Total carotene/dry <i>H. pluvialis</i> (mg/g)
DMSO 25°C	10	16.76±0.27 ^d
DMSO 70°C	10	23.21±0.27 ^c
Acetone 25°C	10	0.90±0.01 ^c
Acetone 70°C	10	-- ^a
Ultra-sonic	10	0.41±0.03 ^b
Homogenization	10	0.63±0.08 ^b
Acid pretreatment and 95% ethanol by ultrasonic	20	28.60±0.02 ^f



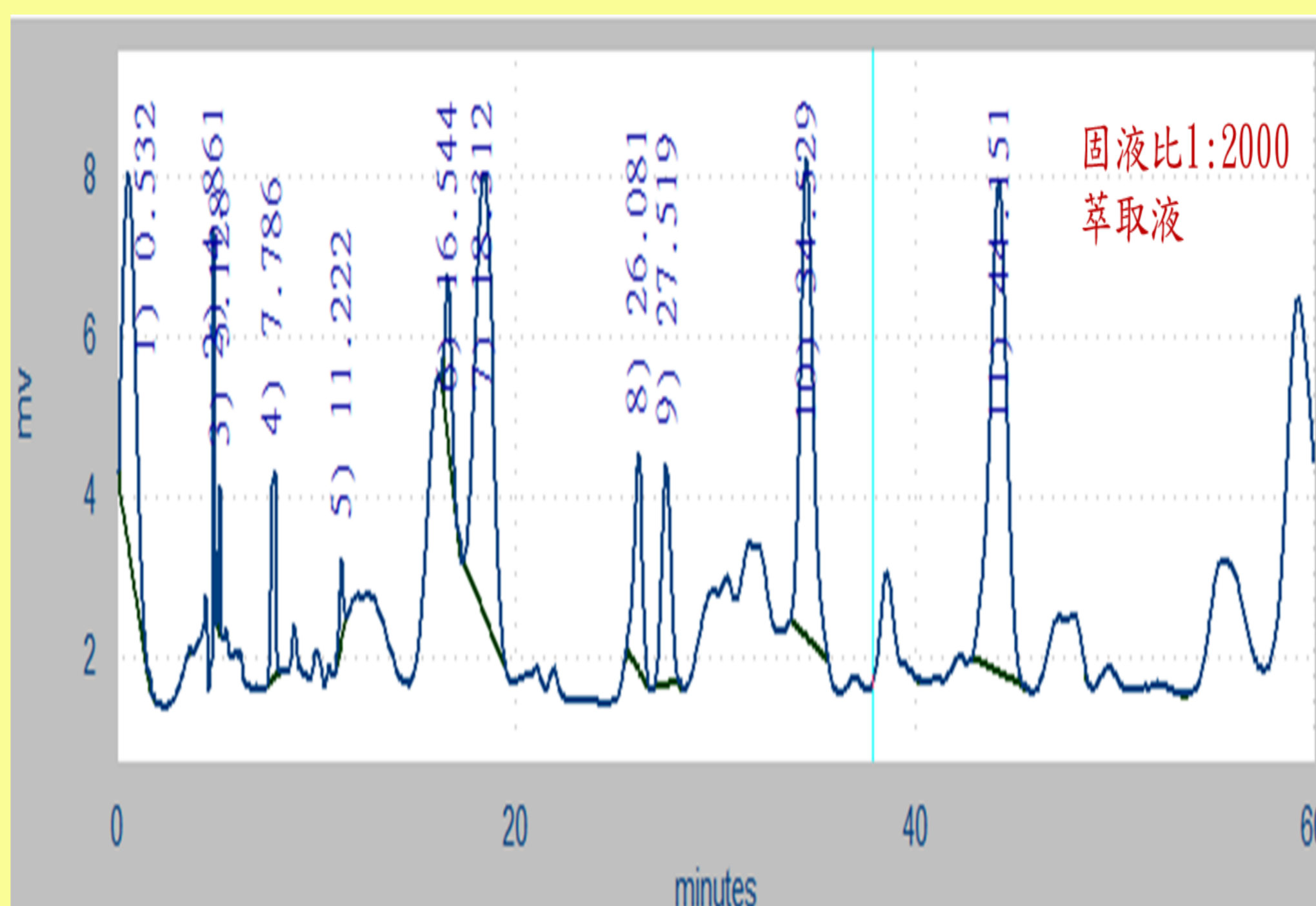
圖一、(a)4N HCl破壁處理後之水洗過濾液、(b)乙醇四次萃取後之藻粉樣品濾渣顏色。

表二、比較不同萃取方法萃取液之DPPH清除率

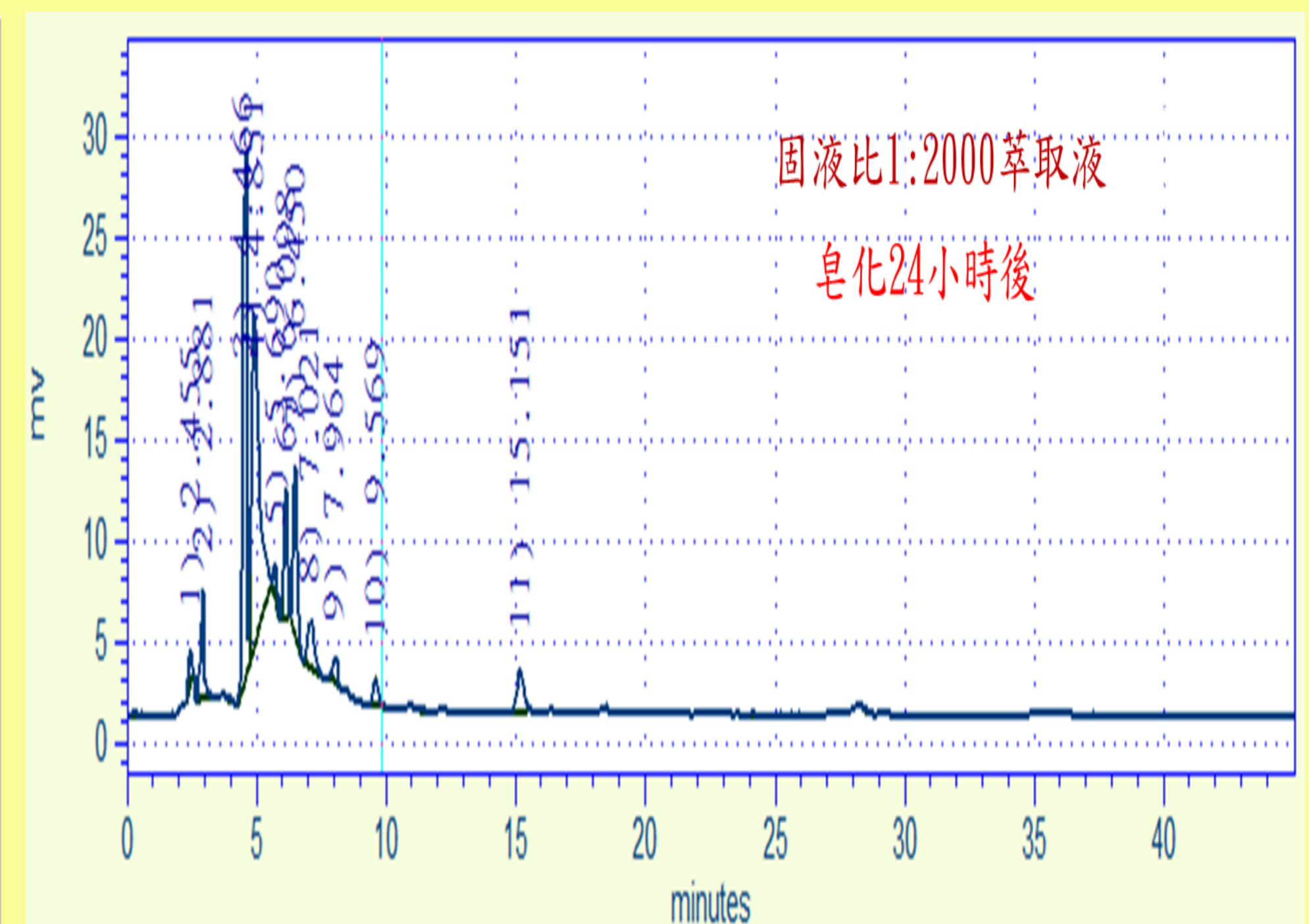
萃取方法	固液比	DPPH清除率 (%)
DMSO 25°C	1:2000	4.37±0.68
DMSO 70°C	1:2000	5.35±0.09
丙酮 25°C	1:2000	0.00
丙酮 70°C	1:2000	揮發
超音波	1:2000	1.43±0.10
均質	1:2000	5.17±0.05
酸處理超音波	1:4000	62.43±0.04



圖二、游離態蝦紅素標準品(HPLC級100%甲醇回溶)HPLC圖譜分析法標準曲線。



圖三、以4N HCl酸洗後，經乙醇超音波萃取50 min之萃取液波峰趨勢及面積。



圖四、以4N HCl酸洗後，經乙醇超音波萃取50 min之萃取液皂化24小時之波峰趨勢及面積。

結論

雨生紅球藻藻粉，經4 N HCl在70°C下水浴10 min破壁處理後，以95%乙醇進行超音波萃取20 min，經分光法分析其總類胡蘿蔔素高達28.6 mg/g，固液比為1:4000時，DPPH清除率為62.43%；相較於其他萃取方法達顯著差異。酸破壁處理超音波萃取經皂化後之分析時間將可由60 min縮短至25 min內完成。