

# 番茄红素在有机溶剂中的异构化\*

邱伟芬<sup>1 2</sup> 江汉湖<sup>1</sup> 汪海峰<sup>2</sup> 袁建<sup>2</sup>

(南京农业大学食品科技学院, 南京 210095) (南京财经大学食品工程学院, 南京 210003)

**摘要** 采用 C30 柱(YMC<sup>TM</sup> Carotenoid S-5 4.6 mm×250 mm)对番茄红素顺反异构体进行分离测定,对番茄红素在不同温度及不同有机溶剂中的异构化程度进行了比较。结果表明,在以甲醇-甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比为 50:40:10)为流动相,流速为 1.5 mL/min,温度 25℃条件下,可将番茄红素全反式与顺式异构体进行分离。番茄红素在不同溶剂中顺反异构化程度不同,二氯甲烷>丙酮>四氢呋喃>乙酸乙酯>正己烷;异构化程度与温度有关,15℃时异构化程度高于 4℃时。

**关键词** 番茄红素,分离,顺反异构,有机溶剂

番茄红素顺反异构体的分离测定较难。反相高效液相色谱(RP-HPLC)分析可用于分离类胡萝卜素异构体。反相 C<sub>30</sub> 柱比 C<sub>18</sub> 柱以及硅胶正相柱效果好,反相 C<sub>30</sub> 柱不仅可将类胡萝卜素全反式与顺式异构体进行分离,而且可使各顺式异构体实现较好的分离<sup>[1]</sup>。

前期已研究了番茄红素对食用油脂抗光敏氧化作用<sup>[2]</sup>、番茄红素在油脂氧化时的稳定性状况<sup>[3]</sup>以及天然番茄红素在不同环境条件下的稳定性<sup>[4]</sup>。试验中用 RP-HPLC 法,采用 C<sub>30</sub> 柱分离番茄红素顺反异构体的测定条件,研究番茄红素在不同极性有机溶剂中的异构情况,旨在为番茄红素的基础研究和开发利用提供一些基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

番茄红素:湖南宏生堂健康产业有限公司提供;四氢呋喃、乙酸乙酯、甲醇、MTBE:HPLC 级,Tedia Company,USA;正己烷、二氯甲烷、丙酮等试剂为 AR 级。

### 1.2 仪器

天平:Shimadzu L-200 SM,日本公司;红外分析仪:Thermo Nicolet Avatar 360

FTIR ESP Thermo Spectra-Tech;HPLC 仪含 Waters 515 泵,Waters 2487 双波长检测器,HS V4.0<sup>+</sup> 色谱工作站(杭州英谱科技发展有限公司);色谱柱:C30:YMC<sup>TM</sup> Carotenoid S-54.6 mm×250 mm, Lot No 055913121E 02, Waters;紫外可见分析仪:Shimadzu UV-2401PC US-VIS Recording Spectrophotometer。

### 1.3 番茄红素溶液的准备

精称 5 份 6 mg 番茄红素溶解于正己烷、二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯中,在超声波清洗器内超声 2 min,再分别定容至 100 mL,摇匀。各分成 2 份,1 份在室温(15℃)避光贮存,1 份在冰箱(4℃)避光贮存。每隔一定的时间(0、2、4、8、12、16 d)对各番茄红素的异构体溶液进行 HPLC 测定,测定前用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤。

## 2 结果与分析

### 2.1 试验用番茄红素的紫外可见光谱图分析

试验用番茄红素在正己烷中的紫外扫描图谱有 3 个吸收峰(见图 1),主峰在 470.4 nm,2 个肩峰在 443.6 nm 和 502 nm,最大吸收波长为 470.4 nm,它在标准番茄红素的紫外吸收范围之内。

第一作者:博士研究生,副教授。

\* 国家留学基金科研资助项目(No. 留金法 1999 J5003)。江苏省教育厅自然科学研究重点项目(No.02KJA550001)

收稿时间 2004-03-30,改回时间 2004-05-11

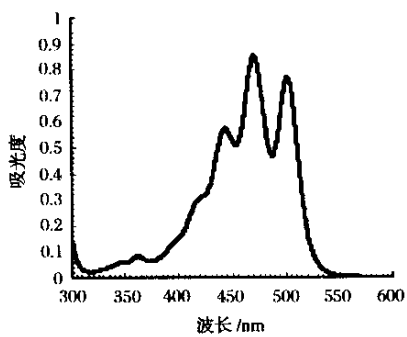


图1 试验用番茄红素的紫外可见光谱图

## 2.2 试验用番茄红素的红外光谱图分析

采用 KBr 压片法对试验用番茄红素进行了红外测定。从红外图谱(见图 2)可知,试验用番茄红素为典型的共轭多烯结构。3 432  $\text{cm}^{-1}$ 为 KBr 压片测试时 KBr 吸湿而产生的水的吸收峰,3 035  $\text{cm}^{-1}$ 为  $=\text{C}-\text{H}$  的伸缩振动峰,2 970  $\text{cm}^{-1}$ 为甲基不对称的伸缩振动峰,2 852  $\text{cm}^{-1}$ 为亚甲基对称的伸缩振动峰,1 654  $\text{cm}^{-1}$ 为  $\text{C}=\text{C}$  的伸缩振动峰,959  $\text{cm}^{-1}$ 为  $\text{R}_1\text{HC}=\text{CR}_2\text{H}$  (反式)的摇摆振动峰,而在 730~665  $\text{cm}^{-1}$ 范围内没有出现吸收峰,而这一范围往往是  $\text{R}_1\text{HC}=\text{CR}_2\text{H}$  (顺式)的吸收峰<sup>[5,6]</sup>,这表明试验用番茄红素没有顺式结构物存在。

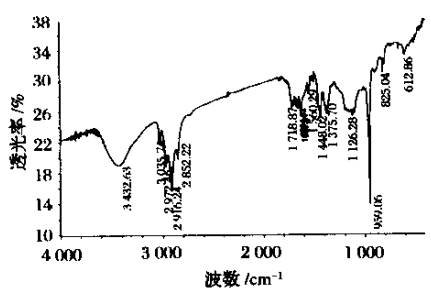


图2 试验用番茄红素的红外光谱图

## 2.3 番茄红素异构体的分离测试

对按文献[2]方法提取的番茄红素样品溶液进行异构化(isomerisation)处理<sup>[7,8]</sup>,并进行 HPLC 分离方法比较。

以  $\text{C}_{18}$  为分离柱,对不同流动相组成的分离效果进行了比较。结果表明,  $\text{C}_{18}$  柱不能实现

番茄红素顺反异构体的有效分离(见图 3),这与文献报道一致<sup>[9]</sup>。

采用  $\text{C}_{30}$  柱,对不同流动相、温度、流速等 HPLC 参数进行了优化,确定以甲醇-甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比 50:40:10)为流动相,流速为 1.5  $\text{mL}/\text{min}$ ,温度为 25℃,可有效地分离番茄红素顺反异构体(见图 4)。根据与其他文献资料对比甄别<sup>[1,8~11]</sup>,图 4 各流出组分可初步确定:峰 9(保留时间为 23.5 min)为全反式番茄红素(all-trans lycopene),峰 10(保留时间为 23.4.0 min)为 5-顺番茄红素(5- cis-lycopene),峰 1、2、3、4、5、6、7、8 均为番茄红素的顺式异构物(cis-isomers of lycopene)。

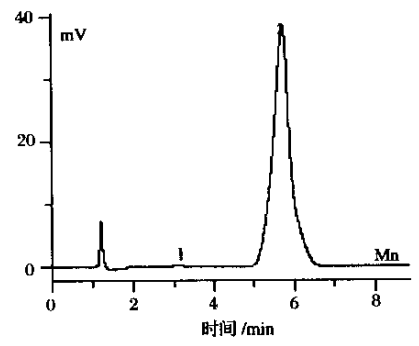


图3 用  $\text{C}_{18}$  柱测得的含番茄红素顺反异构体的色谱图

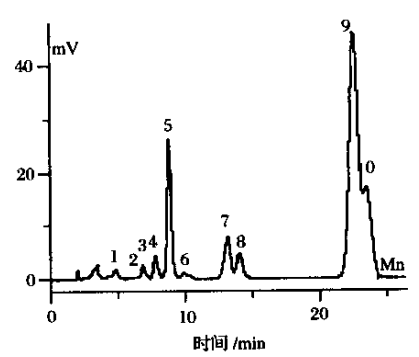


图4  $\text{C}_{30}$  柱测得的含番茄红素顺反异构体的色谱图

在确定的色谱分析条件下,用  $\text{C}_{30}$  柱测得的试验用番茄红素的 HPLC 图谱如图 5 所示,该样品为全反式番茄红素。

## 2.4 番茄红素在不同有机溶剂中的异构比较

### 2.4.1 全反式番茄红素的变化

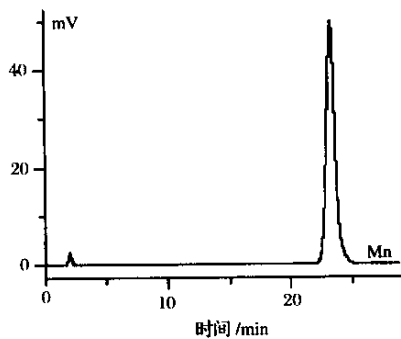


图5 试验用番茄红素的 HPLC 图谱

图6和图7分别表示15℃和4℃时番茄红素在正己烷、二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯溶剂中全反式结构占总量的比例随时间的变化情况,在2种温度条件下,在上述各溶剂中全反式比例均逐渐下降,15℃时与4℃时相比,全反式比例下降较快,说明温度越高,全反式番茄红素含量越少。

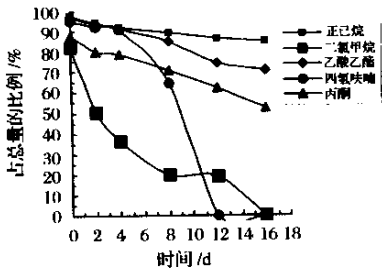


图6 15℃时全反式番茄红素在不同溶剂中的变化

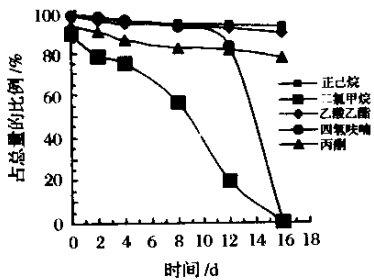


图7 4℃时全反式番茄红素在不同溶剂中的变化

2.4.2 顺式番茄红素的变化

图8和图9分别表示15℃和4℃时番茄红素在正己烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯溶液中

顺式(峰5)结构占总量的比例随时间的变化情况,选择峰5作为顺式结构代表是因为在上述4种溶剂中顺式结构只有峰5的含量出现了明显的变化,而其他顺式结构含量很低且变化很微小。图8和图9分别表示15℃和4℃时番茄红素在二氯甲烷中顺式结构物(包括峰5、峰6、峰7、峰8、峰10)占总量的比例随时间的变化情况,在2种温度条件下,在各溶剂中顺式结构比例均逐渐升高,15℃与4℃相比,顺式结构物比例上升快,说明温度越高,顺式结构物越多。

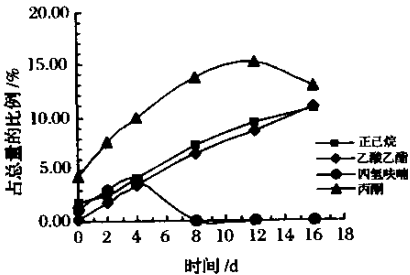


图8 15℃时顺式番茄红素在不同溶剂中的变化

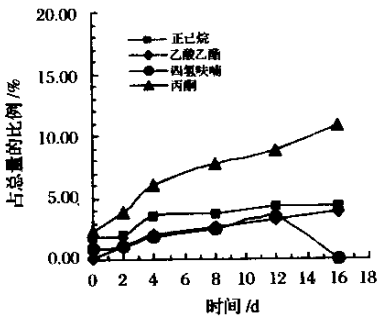


图9 4℃时顺式番茄红素在不同溶剂中的变化

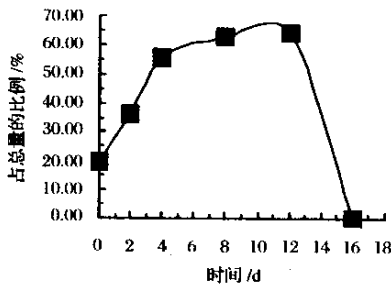


图10 15℃时顺式番茄红素在二氯甲烷中的变化

### 2.4.3 顺反式番茄红素变化规律

图6~图11显示,番茄红素在正己烷、二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯溶剂中,在15℃和4℃条件下,存在同样的现象。全反式结构比例下降的同时,顺式结构比例则升高,因此,可推测全反式番茄红素含量的下降是因为发生异构化,但番茄红素在上述溶剂中异构变化的程度不同,异构化程度与溶剂的极性有关。

番茄红素在二氯甲烷中异构化程度最高,丙酮次之,然后是四氢呋喃、乙酸乙酯、正己烷。番茄红素是一种非极性物质,正己烷、二氯甲烷、四氢呋喃、乙酸乙酯、丙酮的溶剂极性参数 $P'$ 分别为0.1、3.1、4.0、4.4、5.1<sup>[12]</sup>,因此,从溶剂的极性角度考虑,丙酮可能导致番茄红素异构化程度最高,而本试验结果是二氯甲烷最高,可能是因为二氯甲烷是卤代烃,氯原子的电负性很大,拉动电子对发生较强的偏向,减弱了溶剂的亲脂性。

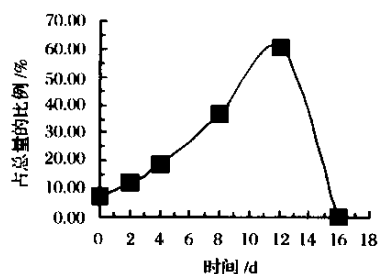


图11 4℃时顺式番茄红素在二氯甲烷中的变化

图6~图11还显示异构化程度与温度有关,且温度越高,异构化程度越高。从温度对不同溶剂的异构化影响来看,温度对二氯甲烷异构化影响最大。

从图6、图7、图10、图11可以看出,15℃或4℃时,番茄红素在二氯甲烷中的全反式结构所占比例12 d时已很小,16 d时已检测不出,而顺式结构所占比例12 d时达最高,16 d时也检测不出。这说明番茄红素在二氯甲烷中发生异构化的同时,也发生着氧化降解,2种效应导致番茄红素含量迅速下降为0,但此时,用肉眼观察,可看到溶液的色泽稍变浅,但还有颜色,可能是其氧化产物导致。

从图6~图9还可以看出,番茄红素在四氢呋喃中的全反式结构所占比例(15℃或4℃),12 d时已检测不出;而顺式结构所占比例,15℃、8 d已检测不出,4℃、16 d时才检测不出,这说明番茄红素在四氢呋喃中发生异构化的同时,也发生着氧化降解,氧化降解的程度比在二氯甲烷等溶剂中要高,2种效应导致番茄红素含量迅速下降为0,用肉眼观察时,15℃、8 d时溶液的颜色明显变浅,而4℃、16 d时溶液的颜色才发生明显变化。番茄红素在丙酮中16 d时颜色略有变浅(15℃或4℃),在乙酸乙酯中15℃、16 d时略有变浅,4℃时看不出变化;在正己烷中,在所观察的16 d内,看不出变化(15℃或4℃)。番茄红素在正己烷中异构化程度最低,表观上溶液的色泽也最稳定。

### 3 结论

(1)用RP-HPLC法,使用 $C_{30}$ 柱,用甲醇-甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比50:40:10)洗脱,在流速为1.5 mL/min,温度为25℃,可有效地分离番茄红素顺反异构体。

(2)番茄红素在正己烷、二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯溶剂中发生顺反异构化现象,在二氯甲烷中异构化程度最高,丙酮次之,然后是四氢呋喃、乙酸乙酯、正己烷。番茄红素在发生顺反异构时,也伴随着氧化降解反应。

(3)番茄红素异构化程度受温度影响,15℃时异构化程度高于4℃时。

(4)番茄红素标准溶液的配制,选用正己烷溶剂比二氯甲烷、丙酮、四氢呋喃、乙酸乙酯要好,在低温时可较长时间保持稳定,尤其要避免使用二氯甲烷。

(5)在提取天然番茄红素时,要考虑到溶剂的异构化导致的番茄红素浓度的实际降低。也要避免将二氯甲烷作为提取剂,特别值得注意的是随着贮存期的延长,番茄红素在二氯甲烷中色泽变化与含量不呈线性相关,其机理有待进一步研究。

### 参考文献

1 Emehiser C, Simunvi N, Sander L C. Separation of

- geometrical carotenoid isomers in biological extract using a polymeric C30 geometrical column in reversed-phase liquid chromatography[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 3887~3893
- 2 邱伟芬,王娟,徐文蕴. 番茄红素对食用油脂抗光敏氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报, 2002, 17(3): 14~17
  - 3 邱伟芬,王娟,徐文蕴. 番茄红素在油脂氧化时的稳定性初探[J]. 食品科学, 2003, 24(1): 39~42
  - 4 邱伟芬,汪海峰. 天然番茄红素在不同环境条件下的稳定性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 56~60
  - 5 常建华,董绮功. 波谱原理及解析[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 79~80
  - 6 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 151~152
  - 7 Jeana Gross. Pigments in Fruits[M]. London: Academic Press, 1987. 110
  - 8 Ferruzzi M G, Nguyen M L, Sander L C. Analysis of lycopene geometrical isomers in biological microsamples by liquid chromatography with coulometric array detection[J]. Journal of Chromatography B, 2001, 760: 289~299
  - 9 Lee M T, Chen B H. Separation of lycopene and its cis isomers by liquid chromatography[J]. Chromatographia, 2001, 54(9/10): 613~617
  - 10 Schierle J, Bretzel W, Buhler I. Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma[J]. Food Chemistry, 1997, 59(3): 459~465
  - 11 Robert Re, Paul D F, Marianne Long. Isomerization of lycopene in the gastric milieu[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2001, 281: 576~581
  - 12 刘密新,罗国安,张新荣等. 仪器分析(第2版)[M]. 北京: 清华大学出版社, 2002. 283

## Isomerization of All-trans-lycopene to Cis-lycopene in Organic Solvents

Qiu Weifen<sup>1 2</sup> Jiang Hanhu<sup>1</sup> Wang Haifeng<sup>2</sup> Yuan Jian<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095)

<sup>2</sup> College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210003)

**ABSTRACT** Application of a reversed-phase HPLC with a C<sub>30</sub> column (YMC<sup>TM</sup> Carotenoid S-5 4.6 mm×250 mm) for the separation of geometrical isomers of lycopene was demonstrated. Cis-trans isomerization of lycopene in different organic solvents under different temperatures was investigated. Results showed that a mobile phase consisting methanol, methyl-tert-butyl ether and ethyl acetate (50:40:10) at 1.5 mL/min and 25℃ could separate all-trans and cis-isomers of lycopene. Lycopene was isomerized in organic solvents at different rates and the order was: dichloromethane>acetone>tetrahydrofuran>ethyl acetate>hexane. Results also indicated isomerization rate was impacted by temperature, with higher rate at 15℃ than at 4℃.

**Key words** lycopene, separation, cis-trans isomerization, organic solvents

## 市场动态 世界啤酒需求呈上升态势

世界啤酒大麦需求量在以每年 40 万 t 的速度增长。过去 3 年, 啤酒大麦平均使用量为 2 300 万 t。据中法业界人士分析, 世界每年的大麦产量约在 1.34~1.44 亿 t, 其中欧洲占世界大麦产量的 65%, 北美洲占 12%, 澳大利亚占 6%。作为饲料使用的饲料大麦需求一直较稳定, 一般在 1.16 亿 t, 在正常年份, 啤酒大麦用量约占大麦总产量的 16%, 即 2 200~2 300 万 t。预计 2004 年世界啤酒产量将为 1500 亿 L, 啤酒大麦需求量约为 2 230 万 t。