

番茄红素的生产与检测研究

李雪雁*

(电子科技大学中山学院 广东 中山 528402)

【摘要】基于番茄红素有防癌抑癌的生理功能,使之成为具有广阔应用前景的天然色素。该文针对番茄红素生产过程中产品产率低、纯度差的现状,对番茄红素的稳定性、生产方法、纯化方法、异构体的分离以及检测进行阐述。为番茄红素工业生产提供理论和实践依据。

关键词 番茄红素; 生产; 检测; 纯化

中图分类号 TS202.3 文献标识码 A

Production and Analysis of Lycopene

Li Xueyan

(Zhongshan College, UEST of China Guangdong Zhongshan 528402)

Abstract Lycopene is a natural pigment with high market value because of its function of resist cancer. For the low productivity and degree of purity of lycopene in China, the article analyze the stabilization, production, purification, separation of isomer and anaysis of lycopene. So it can be expected to provide the theory and practice for the development of lycopene industry.

Key words lycopene; production; analysis; purification

番茄红素(Lycopene)是类胡萝卜素的一种,呈红色,分子式为 $C_{40}H_{56}$,分子量为536.85。由于不具有 β -胡萝卜素那样的 β -苎萘环结构,所以番茄红素不具有维生素A原活性,故一直未引起人们的重视。但最近几年的研究发现,番茄红素具有比其他类胡萝卜素更为优越的性能,如其抗氧化性能在类胡萝卜素中最强,淬灭单线态氧能力是维生素E的100倍, β -胡萝卜素的2倍多。此外,番茄红素还具有诱导细胞间连接通信、调节肿瘤细胞增殖,活化免疫细胞,清除香烟和汽车废气中的有毒物质等功能。因此,番茄红素逐渐成为国际上功能性食品成分和抗癌研究中的一个热点。

1 番茄红素的稳定性研究

番茄红素的一般结构是由11个共轭及2个非共轭碳碳双键组成的直线性碳氢化合物,故导致番茄红素稳定性很差,容易发生顺反异构化和氧化降解。尤其是高纯度番茄红素由于缺少其他物质的保护,极不稳定,易被氧化破坏。影响番茄红素稳定性的因素有氧、光、热、酸、金属离子、氧化剂、抗氧化剂等。番茄红素对光十分敏感,尤其是日光和紫外光^[1],所以提取番茄红素时应尽量避免暴露在光下,只能使用黄、红光。在研究食用调和油时发现:番茄红素保存率随时间的延长、温度升高而下降;在相同条件下,光照强度对番茄红素的影响比贮存温度更为显著。番茄红素对酸不稳定,对碱稳定。钾、镁、钙、锌离子对番茄红素的影响不大,铁、铜离子的破坏较大,因此,贮存或加工时,应尽量避免与铁、铜离子接触。食品中常用的几种食品添加剂对番茄红素稳定性有影响:酸性添加剂会降低番茄红素的稳定性,尤其是当添加剂酸性

2003年9月2日收稿

* 女 27岁 硕士 助教 主要从事天然物质的提取与功能方面的研究

较强或浓度较大时,番茄红素的稳定性明显下降;防腐剂因其结构和性质的不同对番茄红素的稳定性影响有较大差异,其中苯甲酸对番茄红素的影响不大,而山梨酸则能显著提高番茄红素的稳定性;酚类抗氧化剂能非常显著地提高番茄红素的稳定性,表现出较强的抗氧化作用,L-抗坏血酸则正好相反,它会非常显著地降低番茄红素的稳定性,表现出对番茄红素的促氧化作用^[2]。

番茄红素的降解遵从假一级反应规律,计算出其在光+空气、光+氮气、暗+空气及暗+氮气条件下反应的活化能分别为9.25, 10.46, 9.77, 14.50 kJ/mol^[3]。采用微胶囊技术进行包囊化处理,可提高在功能性产品中的应用性,促进其生理功能的发挥。研究发现^[4],喷雾干燥的壁材采用具有较好溶解性,成膜性、干燥性和低粘度的食用明胶和蔗糖的混合物,并在微胶囊化过程中,添加抗氧化剂对番茄红素起到保护作用,提高其稳定性。

2 番茄红素的生产

2.1 番茄红素生产的原料与预处理

番茄红素在自然界中分布很广,成熟的红色植物,如番茄、西瓜、红色葡萄柚等果实和红色棕榈油中含量较高。近年来美国农业部科学家发现,在秋橄榄这种浆果中所含番茄红素相当于番茄的18倍。目前,主要是从番茄中分离提取番茄红素。番茄红素的含量随番茄的品种和成熟温度的不同而不同。一般随着番茄成熟度升高,番茄红素的含量增加,在成熟番茄果实中含量可达1~14 mg/100 g,我国新疆番茄酱中番茄红素含量多达400 mg/100 g以上^[1]。番茄不同部位其番茄红素的含量不同^[5]:表皮及番茄水溶性部分占72%~79%,其中纤维素含量高的番茄渣中为42.3 mg/100 g,水溶性部分为4.0 mg/100 g。番茄的利用形式和部位有番茄原浆、番茄浆、新鲜番茄、番茄渣等。番茄皮中的番茄红素含量高于番茄肉中的含量,为更合理利用番茄资源提供了依据^[6]。

原料预处理方法可能是影响番茄红素提取的最主要的因素^[7]。文献[8]发现番茄浆若用乙醇预处理,能使番茄酱从粘稠的糊状变成疏松的纤维质粉状物料,大大增加物料与溶剂的接触面积,乙醇又能溶解番茄浆中果肉的细胞壁和细胞膜上的醇溶性物质,增加了细胞壁和细胞膜的通透性,有利于溶剂的渗透,使酱中番茄红素含量从401 μg/g增加到841 μg/g^[8]。用天然番茄萃取番茄红素前皂化,能有效除去番茄中的大部分脂肪酸甘油酯及各种游离脂肪酸,释放出其中包含的番茄红素,皂化的最佳工艺条件为温度65℃,KOH浓度0.5 mol/L,皂化时间0.5 h;并且从皂化的番茄中提取的番茄红素的色价为402.5,比未皂化的番茄中提取的产品提高近6倍^[9]。

2.2 生产方法

2.2.1 从天然植物中提取的方法

1) 浸提法 番茄红素是脂溶性色素,可溶于其他脂类和非极性溶剂中,不溶于水,难溶于强极性溶剂。研究表明,乙醚、丙酮、氯仿、苯、6号溶剂油、乙酸乙酯等溶剂浸提效果最好^[6,7,10]。在浸提的过程中,加入表面活性剂可以有效提高番茄红素的提取率,大大改善浸提效果。影响浸提效果的因素除了提取溶剂种类、原料预处理方法等,还有原料与提取溶剂的比例、浸提时间、温度、pH等。文献[7]得出提取番茄红素的最优工艺是:在番茄糊中加入0.5%的BHT,再加入异丙醇经脱水处理后,用石油醚-丙酮(1:2)混合试剂做提取溶剂,在pH6.0 30℃的条件下浸提4 h,提取效果最佳。也有研究认为用氯仿做提取溶剂时提取番茄红素的效果最好,浸提温度为25℃,pH值为6.0,溶剂用量为90%^[11]。

2) 超临界CO₂萃取法 超临界CO₂萃取技术是食品工业新兴的一项萃取和分离技术。它利用超临界CO₂作萃取剂,从液体或固体物料中萃取、分离和纯化有效成分。与传统的化学溶剂萃取法相比,其优越性是无化学溶剂消耗和残留、无污染、避免萃取物在高温下的热劣化、保护生理物质的活性;工艺简单、能耗低、萃取剂无毒,易回收。压力、温度、流量和萃取时间这几种因素对萃取率有影响:在试验采用压力范围内(15 MPa、20 MPa、25 MPa、30 MPa、35 MPa、40 MPa),萃取率呈现“S”变化规律,一般采用25 MPa压力为宜;温度较低(30℃)时,萃取率较低(87.46%),随着温度的升高,萃取率呈上升趋势,50℃达到最大值(95.08%),而后又呈现逐渐下降的趋势;采用不同的处理时间发现,随着时间的延长,番茄红素的萃取率逐渐升高,2.5 h萃取率即达到92.84%,3 h提高到95.17%,随后继续延长增加幅度不大^[12]。利用超临

界CO₂从番茄加工副产品番茄皮中提取番茄红素,也发现类似的结论^[13]。

3) 酶法 外加酶对番茄红素提取效果有十分显著的影响作用,可大幅度地提高番茄红素提取速度和提取量。单一用纤维素酶作外加酶时,最佳工艺条件为加入纤维素酶0.1%,酶作用时间2.5 h,提取时间3.5 h;单一用果胶酶作外加酶时,最佳工艺条件为加入果胶酶0.1%,酶作用时间2.5 h,提取时间3.5 h;用复合酶做外加酶时,最佳工艺条件为加入纤维素酶0.07%,果胶酶0.04%,酶作用时间2.5 h,提取时间4 h;且酶的影响顺序从大到小为复合酶>纤维素酶>果胶酶^[14]。

4) 微波辐射萃取法 与传统的索氏提取相比,微波法提取的最大优点是提取时间大大缩短,且提取率较高;而与超临界CO₂萃取相比,成本低,投资少,提取效率高。得到微波辐射萃取番茄红素的最好工艺条件是:提取溶剂为6号溶剂油,功率200 W,萃取时间80 s,液固比(ml/g) 2:1,二级提取,番茄红素的提取率为97.56%^[15]。

5) HSCCC法 (High-Speed Counter-Current Chromatography, HSCCC)法是一种无支持物的液液分离层析技术,可消除支持物对样品的不可逆吸收。HSCCC法相比其他柱层析有两个优点:一是在样品高效回收前提下,可分析的样品量比HPLC要大的多;二是HSCCC法允许粗制品直接进柱分离。

2.2.2 对发酵法

1) 非基因工程菌发酵 通过对蜂房芽孢杆菌DC-1在6~7 klx光照下培养生产番茄红素。三孢布拉氏霉菌(*Blakeslea trispora*)发酵生产番茄红素展现较好的工业化应用前景^[16]。Gavilou等在三孢布拉氏霉菌的生长介质中加入工业番茄废水,发现抑制了β-胡萝卜素的生产并刺激番茄红素的合成。考察小分子效应物对三孢布拉氏霉菌合成番茄红素的影响,结果表明:span-20、β-紫罗酮和异烟肼可以提高番茄红素的产量,特别是添加span-20可使番茄红素含量提高2倍,达到98.6 mg/L;而trinton-X100对菌体中番茄红素含量影响较小^[17]。

2) 基因工程菌发酵 为提高生产效率,通过基因工程改变细胞的代谢系统高效生产番茄红素。现已鉴定或克隆了多种与番茄红素合成有关的多种酶,如GGDP合成酶基因、编码八氢番茄红素合成酶的crtB基因、编码crtI型和crtP型八氢番茄红素去饱和酶基因和编码催化形成β-环的crtY和crtL基因。其中crtB基因和crtY基因克隆出来后,还在*Escherichia coli*中被成功的表达。Kajiwara等克隆出异戊烯焦磷酸(IPP)异构酶,转入到*E.coli*菌株JM101能增加番茄红素产量的3.6~4.5倍。

2.2.3 化学合成

已采用的合成番茄红素工艺是由三苯基(3,7,11-三甲基-2,4,6,10-十二四烯基)-氯化磷与2,7-二甲基-2,4,6-辛三烯二醛用甲醇钠-甲醇在2-丙醇中进行Wittig烯化反应,制得番茄红素,收率65%^[18]。此外,文献[19]也完成了由三苯基(3,7,11-三甲基-2,4,6,10-十二四烯基)-甲磺化磷与2,7-二甲基-2,4,6-辛三烯二醛经Wittig烯化反应得到番茄红素的工艺开发。

3 番茄红素及其异构体的纯化、分离和检测

3.1 番茄红素的纯化

X-5树脂对番茄红素和β-胡萝卜素具有比较大的吸附量和吸附率,同时在石油醚中的解吸率也是较高^[20],可用于分离单一的番茄红素产品。用柱层析对番茄红素油树脂的纯化效果是显著的。以V(正乙烷):V(丙酮)=1.5:1.0的混合液为展开剂的硅胶薄层层析结果表明番茄红素油树脂中主要含有5种组分,番茄红素的R_f值为0.83;以V(正乙烷):V(丙酮)=1.5:1.0的混合液为洗脱剂,番茄红素油树脂经过硅胶柱层析分离,可得到w(番茄红素)=18.9%的番茄红素晶体产品;紫外可见分光光度计检测结果表明,从番茄红素油树脂中还分离出β-胡萝卜素、叶黄素和玉米黄质^[21]。

3.2 番茄红素异构体的分离

如大多数类胡萝卜素一样,自然界中存在的番茄红素均为反式结构,但也有少量的单顺式异构体存在,多顺式异构体的含量更加少。加热和脱水会影响番茄红素的显著减少反式构型比例,增加顺式构型比例。番茄红素顺反异构体的分离难度很大,在番茄红素的分离和定性、定量研究中,普遍应用的是反相高效液相色谱,色谱柱多使用C₈和C₁₈柱。近年来又发展了一种以C30YMC类胡萝卜素柱为分离柱,以甲基叔丁基

醚和甲醇(38: 62, V/V)为流动相的分离方法。文献[22]应用固液色谱法成功地对5个样品(新鲜番茄、番茄酱、1%番茄红素油树脂、11%和60%番茄红素浓缩产品)实现了分离,发现:5个样品中的番茄红素均以反式结构为主,但差异很大,新鲜番茄中反式的番茄红素占96.38%,1%番茄红素油树脂中反式结构的番茄红素只有37.65%。

3.3 番茄红素的检测

番茄红素的分析方法有紫外光谱法、红外光谱法、质谱和核磁共振,这些可以对番茄红素进行定量分析。采用差示扫描热法(DSC)、高效液相色谱法和超临界流体色谱法可对番茄红素进行定量分析。

4 结束语

人体无法合成番茄红素,只能通过饮食来摄取。它特有的性质和功能已经引发了世界性的研究开发热潮,目前番茄红素已成为公认很有发展前途的功能性天然色素。现已有美国Henkel Corporation、Makhteshim Chemical Weeks Limited等公司及几家日本公司生产出以番茄红素为主要活性成分的药品,其主要作用包括降血压、治疗高胆固醇、高血脂及降低癌细胞活性等,结果显示有较显著的疗效。我国番茄红素工业最近取得了一些重要的进展,但与国外相比差距还较大,需进一步开发利用。

参 考 文 献

- [1] 孙庆杰. 番茄红素稳定性的研究[J]. 食品与发酵工业, 1998, 23(2): 47-51
- [2] 何碧烟, 鸥光南. 食品添加剂对番茄红素稳定性的影响[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2000, 5(1): 47-51
- [3] 张连富, 丁宵霖. 不同条件下存放时番茄皮中番茄红素的降解动力学[J]. 食品与机械, 2000, 77(3): 12-13
- [4] 滕 洁, 卞 疆, 刘元军. 番茄红素的提取及其微胶囊化[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2002, 8(1): 30-32
- [5] Sharma S K. Lycopene in tomatoes and tomatoes pulp fractions[J]. Italian J of Food Sci, 1996, 8(2): 107-113
- [6] 邓 宇, 杨 燕, 陆海燕, 等. 番茄红素提取工艺的初步研究[J]. 化工科技, 2002, 10(1): 11-14
- [7] 王 燕, 胡亚平, 张 喻, 等. 影响番茄红素提取效果的因素的研究[J]. 食品科技, 2003, 62(5): 62-64
- [8] 陈 伟, 丁宵霖. 乙醇处理法提取番茄酱中番茄红素的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(4): 65-67
- [9] 王燕燕, 邱进申, 郑 宇, 等. 皂化对番茄红素提取的影响研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(3): 71-73
- [10] 邓 宇, 张卫强. 番茄红素提取方法的研究[J]. 现代化工, 2002, 22(2): 25-28
- [11] 蔡 俊, 邱雁临, 谈小兰, 等. 番茄红素提取工艺的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(2): 50-52
- [12] 王 强, 吕飞杰, 赵文恩. 番茄红素的分离提取及其对细胞周期的影响[J]. 中国农业科学, 2002, 35(4): 434-439
- [13] 孙庆杰, 丁宵霖. 超临界CO₂萃取番茄红素的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 1999, 24(1): 3-6
- [14] 赵功玲, 娄天军. 酶法提取番茄红素的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(4): 60-61
- [15] 张卫强. 微波辐射萃取番茄红素的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(5): 36-37
- [16] Obata H, Kawahara H, Masamufi I, *et al.* Production of carotenoid analog[P]. Japan: JP9000293, 1997-12-09
- [17] 王永生, 袁其朋, 秦敬改, 等. 小分子效应物对发酵法生产番茄红素的影响[J]. 食品科学, 2003, 24(5): 97-100
- [18] Takuma K, Kashiba-shi N, Kakimizu A, *et al.* Method for producing benzyl bromide derivatives[P]. Japan: EP0908446A1, 1999-04-14
- [19] Paust J, John M, Wegner C. Process of the prepatation of phosphonium salts[P]. German: DE 1934446, 1997-08-08
- [20] 张裕卿, 张黎明, 孟 李, 等. 大孔吸附树脂对番茄红素和 β -胡萝卜素吸附分离的研究[J]. 中草药, 2002, 33(7): 602-604
- [21] 邱进申, 王燕燕, 郑辉杰, 等. 番茄红素的层析分离[J]. 精细化工, 2003, 20(4): 215-217
- [22] 李 伟, 丁宵霖. 固液吸附色谱法分离番茄红素异构体[J]. 食品科学, 2003, 24(2): 48-51