

番茄红素光异构化及热稳定性研究

马永强, 隋佳琦, 黎晨晨*, 张莹, 马调梅, 刘润龙

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150076)

摘要: **目的** 优化全反式番茄红素光异构化的工艺条件, 并研究其稳定性。**方法** 采用光照协同光敏剂的方法对全反式番茄红素进行异构化, 以顺式占比为指标, 通过响应面实验选择最优条件。**结果** 响应面优化实验结果表明, 番茄红素质量浓度为 0.16 mg/mL、荧光素质量浓度为 0.14 mg/mL、时间为 56 min, 此条件下得到番茄红素顺式占比最高为 33.71%。采用高效液相色谱法进行番茄红素结构的测定, 最终得到 5 种番茄红素异构体, 包括(5,9)-顺式番茄红素、13-顺式番茄红素、番茄红素异构体 1、番茄红素异构体 2 和全反式番茄红素。稳定性实验结果表明, 在不同温度条件下, 各异构体均会发生不同程度的降解, 番茄红素各异构体在 37°C 条件下的变化最为显著, 而在 4°C 条件下降解最慢。此外, 全反式番茄红素在几种主要番茄红素同分异构体中表现出最高的稳定性, 其次是(5,9)-顺式番茄红素, 而 13-顺式番茄红素的稳定性最低。**结论** 本研究通过光异构化提高了番茄红素的顺式占比, 并对其热稳定性进行研究, 为开发番茄红素系列产品提供理论依据。

关键词: 番茄红素; 光异构化; 顺式占比; 稳定性

Study on photoisomerization and thermal stability of lycopene

MA Yong-Qiang, SUI Jia-Qi, LI Chen-Chen*, ZHANG Ying, MA Diao-Mei, LIU Run-Long

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the technological conditions of photoisomerization of all-*trans* lycopene and study its stability. **Methods** The method of light synergistic photosensitizer was used to isomerize all-*trans* lycopene. Taking *cis*-proportion as an index, the optimal conditions were selected by response surface experiment. **Results** The results of response surface optimization experiment showed that the mass concentration of lycopene was 0.16 mg/mL, the mass concentration of fluorescein was 0.14 mg/mL, and the time was 56 min. Under this condition, the highest proportion of lycopene was 33.71%. The structure of lycopene was determined by high performance liquid chromatography). Five kinds of lycopene isomers were obtained, including (5,9)-*cis*-lycopenes, 13-*cis*-lycopenes, lycopene isomer 1, lycopene isomer 2 and all-*trans* lycopene. The results of qualitative experiments showed that different isomers of lycopene could be degraded at different temperatures. The changes of lycopene isomers were the most significant at 37°C and the slowest at 4°C. In addition, all-*trans* lycopene showed the highest stability among several major lycopene isomers, followed by (5,9)-*cis*-lycopenes, while (13)-*cis*-lycopenes had the lowest stability. **Conclusion** In this study, the *cis* proportion of lycopene is improved by photoisomerization, and its thermal stability is studied to provide a theoretical basis for the development of lycopene series products.

KEY WORDS: lycopene; photoisomerization; *cis* proportion; stability

基金项目: 哈尔滨商业大学产业化项目(XL0077)

Fund: Supported by the Industrialization Project of Harbin University of Commerce (XL0077)

*通信作者: 黎晨晨, 博士, 工程师, 主要研究方向为农产品加工及综合利用。E-mail: lll198418@163.com

*Corresponding author: LI Chen-Chen, Ph.D, Engineer, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, No.1 Xuehai Street, Songbei District, Harbin 150076, China. E-mail: lll198418@163.com

0 引言

番茄红素是一种类胡萝卜素,具有强效的抗氧化能力。番茄红素分子式 $C_{40}H_{56}$, 相对分子量为 536.85。番茄红素分子中有 2 个非共轭双键及 11 个共轭双键,所以稳定性差^[1], 易发生异构化及氧化降解。理论上番茄红素有 1024 种异构体,但是实际上由于 11 个共轭双键导致的不能分子内旋转和位阻作用,番茄红素只有 72 种顺式异构体^[2-4]。番茄红素异构体分子结构式如图 1。

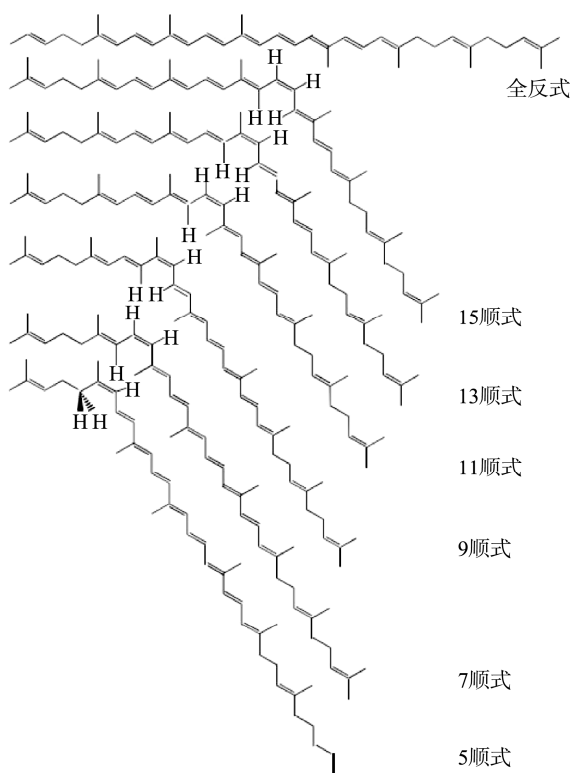


图 1 番茄红素异构体分子结构式^[5]

Fig.1 Molecular structure of major lycopene isomers^[5]

在自然界中,番茄红素主要以反式构型存在,而顺式构型更容易被人体吸收利用,研究结果显示人体组织和血液中的顺式异构体占番茄红素总量的 50%,在前列腺组织中的顺式异构体占比更高达 90%^[6-8]。MASAKI 等^[9]发现顺式异构体占比高的番茄红素溶解程度比全反式番茄红素高。MURAKAMI 等^[10]和 MASAKI 等^[11]发现全反式番茄红素以结晶状态存在,随着顺式异构体的含量增加,结晶度会降低。COOPERSTONE 等^[12]进行人体试验,发现顺式占比高的番茄红素在人体的利用度更高。以上研究表明,与全反式番茄红素相比,番茄红素的顺式构型具有更强的生物活性和生物利用度。因此,通过异构化的方法,来提高番茄红素顺式占比,可以促进机体对其吸收,更好的发挥其生物学功能。

目前,番茄红素的异构化方法很多,包括热致异构化、热促异构化、光异构化、高压异构化、体内异构化等^[13-15]。热致异构化作为目前最常用的异构化手段,具有操作简单、成本低、应用范围广等特点。但是其存在有机溶剂难去除、耗时长、稳定性较低等缺点^[16-17]。而光致异构化相比传统热处理操作更安全,异构化效率更高。光致异构化是指将番茄红素在直接光源下照射或用光敏剂催化,产生番茄红素异构化的反应^[18]。王雪松等^[19]研究发现,全反式番茄红素在 450 W 高压汞灯下光照,可获得高顺式占比的番茄红素的光化学反应混合液。才美慧^[20]将番茄红素在红光和绿光光照条件下,番茄红素的总顺式含量均有明显升高。HONDA 等^[21]以赤藓红素为敏化剂通过氙灯光照,将全反式番茄红素光异构化为顺式构型。热、催化剂、光等均可促进番茄红素异构化,但番茄红素异构化程度较低且不稳定,存在一定限制,因此寻求一种既能提高顺式异构体占比,又操作简便,同时最大程度减少番茄红素降解的异构化方法是十分必要。

番茄红素异构化的过程是可逆的,在贮存过程中顺反构型可互相转化。李红^[22]发现顺式异构体占比高的异构化产品更加不稳,通过避光、低温储存能提高顺式构型占比产品的稳定性。鉴于此,本研究旨在研究最佳光异构化条件,以制备顺式构型占比高的番茄红素。同时探究了不同构型番茄红素的热稳定性。该研究结果可以为开发生物利用度较高的番茄红素产品提供思路和方法,扩大番茄红素在食品添加剂、保健品、药品等相关产品中的应用。

1 材料及方法

1.1 材料与试剂

番茄红素标准品(纯度 96%,上海保藏生物技术中心);亚甲基蓝、叶绿素、荧光素、孟加拉玫瑰(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);正己烷(色谱纯,广东永晟工贸有限公司);乙酸乙酯(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);丙酮(色谱纯,天津市富宇精细化工有限公司);氯化钙(分析纯,上海美兴化工有限公司)。

1.2 仪器与设备

FA1004B 电子天平(精度 0.1 mg,上海越平科学仪器有限公司);Infinity-II-126 高效液相色谱仪(安捷伦科技中国有限公司);光谱测试光触媒应用灯光(东莞市市川谷照明科技有限公司);S8FieldKit 手持式 pH 计[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 高效液相色谱条件

高效液相色谱条件参照孙清瑞^[23]的方法并稍作修改。Infinity-II-126 型高效液相色谱仪搭配二极管阵列检测器(diode array detector, DAD);色谱柱: UltimateXB-C30 色

谱柱(250 m×4.6 mm, 5 μm); 检测波长: 474 nm。流速 1 mL/min; 进样量 10 μL; 流动相: A(甲醇:乙腈=25:75, V:V), B(甲基叔丁基醚: 100%)。梯度条件: 0~20 min, A 相由 100% 减少到 50%, 20~40 min, A 相保持 50%。

1.3.2 单因素实验

(1) 溶剂种类对番茄红素顺式占比的影响

称取 1.5 g 番茄红素, 分别添加 10 mL 乙酸乙酯、正己烷、丙酮, 加入质量浓度为 0.1 mg/mL 的荧光素, 摇匀, 紫外灯照射 30 min, 摇匀, 测定番茄红素顺式占比。

(2) 光敏剂种类对番茄红素顺式占比的影响

称取 1.5 g 番茄红素, 加入 10 mL 乙酸乙酯, 分别加入质量浓度为 0.1 mg/mL 的荧光素、孟加拉玫瑰、亚甲基蓝和叶绿素, 摇匀, 紫外灯照射 30 min, 摇匀, 测定番茄红素顺式占比。

(3) 番茄红素浓度对番茄红素顺式占比的影响

分别称取 0、1.0、1.5、2.0、2.5 mg 番茄红素, 分别添加 10 mL 乙酸乙酯, 加入质量浓度为 0.1 mg/mL 的荧光素, 摇匀, 紫外灯照射 30 min, 摇匀, 测定番茄红素顺式占比。

(4) 荧光素浓度对番茄红素顺式占比的影响

称取 1.5 mg 番茄红素, 分别添加 10 mL 乙酸乙酯, 加入质量浓度 0.025、0.050、0.100、0.150、0.200 mg/mL 的荧光素, 摇匀, 紫外灯照射 30 min, 摇匀, 测定番茄红素顺式占比。

(5) 照射时间对番茄红素顺式占比的影响

称取 1.5 mg 番茄红素, 分别添加 10 mL 乙酸乙酯, 加入质量浓度为 0.10 mg/mL 的荧光素, 摇匀, 紫外灯照射 10、30、60、90、120 min, 摇匀, 测定番茄红素顺式占比。

本研究以番茄红素顺式占比为光异构化程度的指标, 顺式占比计算方式见公式(1)。分别取 10 μL 的全反式及异构化后的番茄红素, 0.22 μm 有机滤膜过滤, 高效液相色谱仪测定分析。单一顺式番茄红素异构体的异构化率(isomerization, I_{si}), 即顺式占比可依据公式(1)计算。

$$I_{si}/\% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100\% \quad (1)$$

式中, I_{si} —番茄红素异构体的异构化率(即顺式占比); A_i —番茄红素异构体的峰面积, mAU·min。

1.3.3 响应面优化实验

由单因素实验结果, 选取番茄红素质量浓度(A), 荧光素质量浓度(B), 照射时间(C)为因素, 以这些因素的顺式占比(Y)为因变量采用 Design-Expert.V8.0.6.1 软件进行响应面优化实验。见表 1。

1.3.4 番茄红素结构的鉴定

利用响应面法优化后的最佳制备工艺制得高顺式番茄红素, 使用高效液相色谱仪检测, 根据特征峰鉴定番茄红素的不同构型。

表 1 单因素及个水平编码表

Table 1 Single factors and individual level coding table			
编码	A: 番茄红素质量浓度 /(mg/mL)	B: 荧光素质量浓度 /(mg/mL)	C: 照射时间 /min
-1	0.10	0.05	30
0	0.15	0.10	60
1	0.20	0.20	90

1.3.5 番茄红素热稳定性实验

(1) 番茄红素在不同温度下热降解动力学

分别将高顺式番茄红素, 置于 4、25、37°C 条件下避光处理, 测定其保留率及异构体占比的变化, 分析不同温度对高顺式番茄红素稳定性的影响。番茄红素顺式异构体的含量随温度、时间的变化规律可用假一级反应表示。顺式构型的番茄红素在不同贮藏温度和时间条件下, 其降解速度受到温度和浓度的限制。参照 IONICA 等^[24]的处理方式, 将番茄红素的降解反应按假一级反应动力学处理, 降解速率 k 可通过公式(2)求得, 从而建立 $\ln(C/C_0)$ - t 的降解动力学模型。

$$k = \frac{\ln(\frac{C}{C_0})}{t} \quad (2)$$

式中: C —番茄红素异构体的质量浓度 mg/mL; C_0 —番茄红素异构体初始质量浓度 mg/mL; k —降解速率 h^{-1} ; t —反应时间 h。

(2) 番茄红素在不同温度下热降解活化能

使用 Origin 函数绘图软件以降解速率的自然对数对热力学温度的倒数作图, 通过所得曲线的斜率可计算番茄红素的降解表观活化能, 公式见(3)。

$$\ln(k/[k]) = -\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T/K} \right) + \ln(A/[k]) \quad (3)$$

式中: E_a —反应活化能 $J \cdot mol^{-1}$; R —气体常数, $8.314 \times 10^{-3} kJ \cdot mol^{-1} \cdot K$; T —绝对温度, 298 K; A —指前因子 h^{-1} ; k —降解速率 h^{-1} 。

1.4 数据处理

所有实验至少进行 3 次重复, 相关数据显示为平均值 ± 标准偏差。曲线图使用 Origin 2023 进行绘制, 响应面采用 Design-Expert 8.0.6 进行分析。

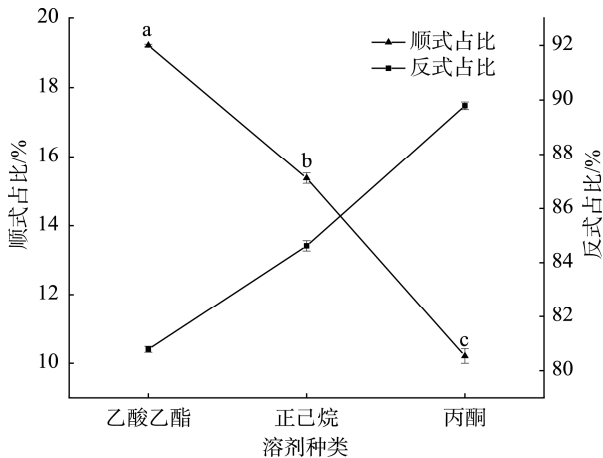
2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 溶剂种类对番茄红素顺式占比的影响

溶剂种类对番茄红素顺式占比的影响如图 2 所示, 结果显示顺式占比分别为 19.21%、15.38%、10.21%(差异显著 $P < 0.05$)。乙酸乙酯为溶剂时番茄红素的顺式占比最高(19.21%)。不同溶剂的异构化效率不同, 这主要是由于番茄红素在不同溶剂中溶解性之间的差异。朱倩等^[25]在研究采用不同溶剂溶解番茄红素异构化实验中, 证明溶剂的类

型不同,异构化程度也有较大差异。因此,本研究选用乙酸乙酯为最佳溶剂种类。HONDA 等^[21]发现强溶剂效应的溶剂比弱溶剂效应的溶剂热异构化的速率常数大,并且主要产生 5-顺式异构体,而 13-顺式异构体在强溶剂效应的溶剂中稳定性较差,在弱溶剂效应的溶剂中占优势。



注: 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

图 2 溶剂种类对番茄红素顺式占比的影响

Fig.2 Effects of solvent species on the *cis*-type proportion of lycopene

2.1.2 光敏剂种类对番茄红素顺式占比的影响

光敏剂种类对番茄红素顺式占比的影响如图 3 所示,结果显示荧光素、孟加拉玫瑰、亚甲基蓝和叶绿素为光敏剂时,番茄红素的顺式占比分别为 20.72%、17.21%、14.36%、9.01% ($P < 0.05$)。选用荧光素为光敏剂时番茄红素的顺式占比达到最高(20.72%)。因此,本研究选用荧光素为最佳光敏剂。LEE 等^[26]对全反式番茄红素进行了 60 min 的直接光照射异构化,只增加了 1.47%的顺式异构体。本研究结果明显表明,使用光敏剂异构全番茄红素异构化率较高,而荧光素是最有效的异构化光敏剂。

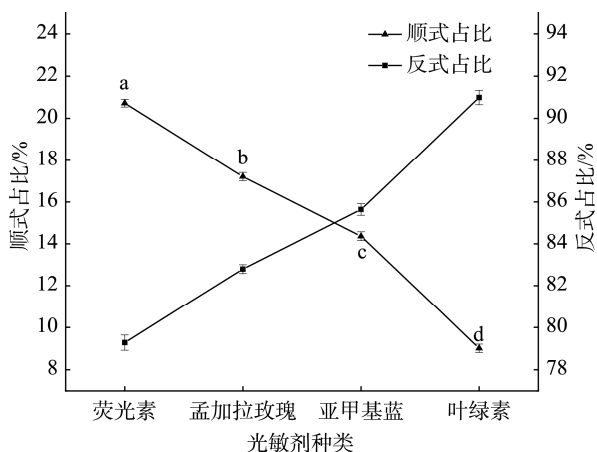


图 3 光敏剂种类对番茄红素顺式占比的影响

Fig.3 Effects of photosensitizer types on *cis*-form ratio of lycopene

2.1.3 番茄红素浓度对番茄红素顺式占比的影响

番茄红素浓度对番茄红素顺式占比的影响如图 4 所示,结果显示随着番茄红素浓度的增大,番茄红素的顺式占比先增大后减小,顺式占比分别为 21.08%、24.55%、29.78%、26.72%、19.72% ($P < 0.05$)。在番茄红素质量浓度为 0.15 mg/mL 时番茄红素的顺式占比达到最高(29.78%)。因此,本研究选取番茄红素最佳质量浓度为 0.15 mg/mL。这是因为溶剂浓度较低时,溶剂能够溶解还未溶化的番茄红素,因此顺式占比增大;而当溶剂浓度达到一定值时,番茄红素已经全部溶解,番茄红素顺式占比达到最大。

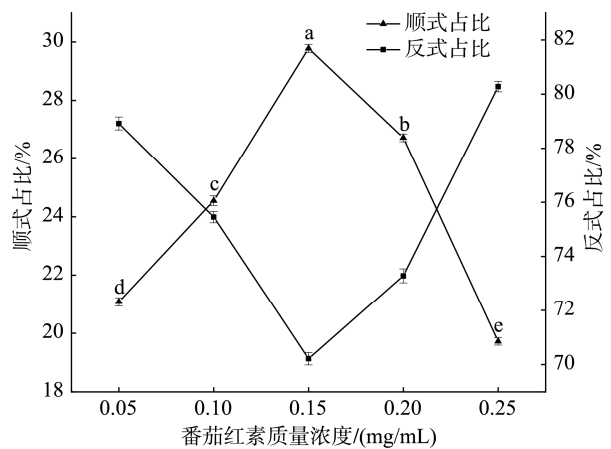


图 4 番茄红素浓度对番茄红素顺式占比的影响

Fig.4 Effects of lycopene concentration on lycopene *cis* proportion

2.1.4 荧光素浓度对番茄红素顺式占比的影响

荧光素浓度对番茄红素顺式占比的影响如图 5 所示,随着荧光素浓度的增大,番茄红素的顺式占比先增大后减小,顺式占比分别为 9.88%、19.82%、30.75%、28.16%、23.15% ($P < 0.05$)。在荧光素质量浓度为 0.1 mg/mL 时番茄

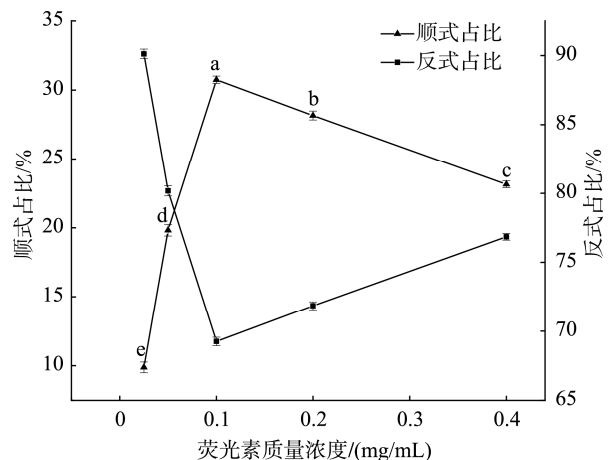


图 5 荧光素浓度对番茄红素顺式占比的影响

Fig.5 Effects of fluorescein concentration on the *cis*-proportion of lycopene

红素的顺式占比达到最高(30.75%)。因此, 本研究选用 0.1 mg/mL 为最佳荧光素质量浓度。这可能是由于浓度较低时, 荧光素吸收光热能力较弱, 随着荧光素浓度逐渐增加, 顺式占比增加, 但增加到一定程度, 反应达到平衡, 继续增加影响了番茄红素异构化效率。

2.1.5 照射时间对番茄红素顺式占比的影响

照射时间对番茄红素顺式占比的影响如图 6 所示, 随着照射时间的增长, 番茄红素的顺式占比先增大后减小, 顺式占比分别为 15.72%、29.26%、32.81%、25.61%、20.74% ($P<0.05$)。在照射时间为 60 min 时达到最大值(32.81%)。因此, 本研究选用 60 min 为最佳照射时间。这是因为在一定范围内增加延长照射时间可以促使未异构化的全反式番茄红素转化为顺式构型, 并且番茄红素并未降解, 因此顺式占比增大; 而当照射时间继续延长, 番茄红素开始降解, 并且降解速率大于异构化速率, 顺式占比就会下降。

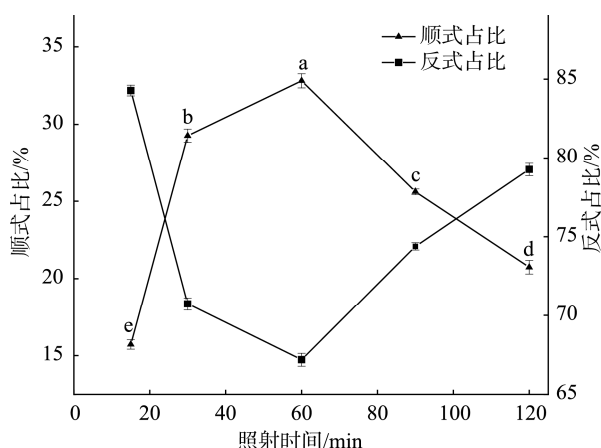


图 6 照射时间对番茄红素顺式占比的影响
Fig.6 Effects of irradiation time on the cis-proportion of lycopene

2.2 响应面法优化实验

2.2.1 实验结果及分析

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对数据进行拟合分析, 根据表 2 建立番茄红素浓度(A), 荧光素浓度(B), 照射时间(C)与番茄红素顺式占比(Y)的多元回归拟合, 得到二次回归模型方程:

$$Y = -1.64A^2 - 2.97B^2 - 2.80C^2 + 0.25AB - 0.13AC - 0.16BC + 0.51A + 1.22B - 0.62C + 32.79$$

对回归方程进行方差分析, 如表 3 所示。其中, 模型相应变量的显著程度与 F 呈正比; 若对模型显著性检验 $P<0.05$, 说明该模型具有统计学意义。从表 3 可以看出, 该模型高度显著 ($P<0.0001$), 失拟性检验差异不显著, 其中 $R^2=0.9979$, $R^2_{Adj}=0.9952$, 说明所得到的模型拟合程度良好, 可应用于番茄红素顺式占比的预测分析。

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果
Table 2 Box-Behnken test design and results

序号	A: 番茄红素浓度/(mg/mL)	B: 荧光素浓度/(mg/mL)	C: 照射时间/min	顺式占比/%
1	0 (0.15)	0 (0.10)	0 (60)	32.19
2	0	0	0	32.01
3	0	1 (0.20)	1 (90)	27.55
4	0	0	0	32.02
5	0	1	-1 (30)	29.17
6	-1 (0.10)	0	1	26.77
7	0	0	0	32.15
8	1 (0.20)	0	-1	28.71
9	1	1	0	30.03
10	0	-1 (0.05)	1	25.17
11	-1	-1	0	26.83
12	1	-1	0	27.35
13	-1	1	0	28.51
14	-1	0	-1	27.59
15	0	-1	-1	26.19
16	1	0	1	27.39
17	0	0	0	31.91

表 3 回归方程系数及显著性检验

Table 3 Regression equation coefficients and significance tests

方差来源	平方和	自由度	方差	F	P	显著性
回归模型	89.50	9	9.94	371.64	<0.0001	***
A	2.01	1	2.01	75.02	<0.0001	***
B	11.81	1	11.81	441.35	<0.0001	***
C	2.96	1	2.96	110.76	<0.0001	***
AB	0.26	1	0.26	9.76	0.0168	*
AC	0.06	1	0.06	2.34	0.1703	
BC	0.11	1	0.11	4.13	0.0816	
A ²	11.33	1	11.33	423.47	<0.0001	***
B ²	27.73	1	27.73	1036.49	<0.0001	***
C ²	33.02	1	33.02	1234.09	<0.0001	***
残差	0.19	7	0.03			
失拟项	0.14	3	0.05	3.51	0.1281	
纯误差	0.05	4	0.01			
合计	89.69	16				

注: *表示差异显著($P<0.05$); ***表示差异高度显著($P<0.001$)。

2.2.2 交互作用因素分析

由回归分析结果可知,平方项均为显著项,各因素对响应值的影响为卷曲的。根据图 7 可见,其等高线呈椭圆形,且轴线均与 AB 、 AC 及 BC 坐标轴存在一定角度,由此可知番茄红素浓度与荧光素浓度(AB),番茄红素浓度与时间(AC),荧光素浓度与时间(BC)均存在一定的交互作用,其 P

分别为 0.0168、0.1703 及 0.0816。为进一步准确确定全局最优解,以顺式占比最大为优化目标,通过 Design-Expert 8.0.6 软件运行结果,获得的最优条件为:番茄红素质量浓度为 0.159 mg/mL、荧光素质量浓度为 0.141 mg/mL、时间为 56.333 min,在此条件下模型的预测顺式占比为 32.79%。

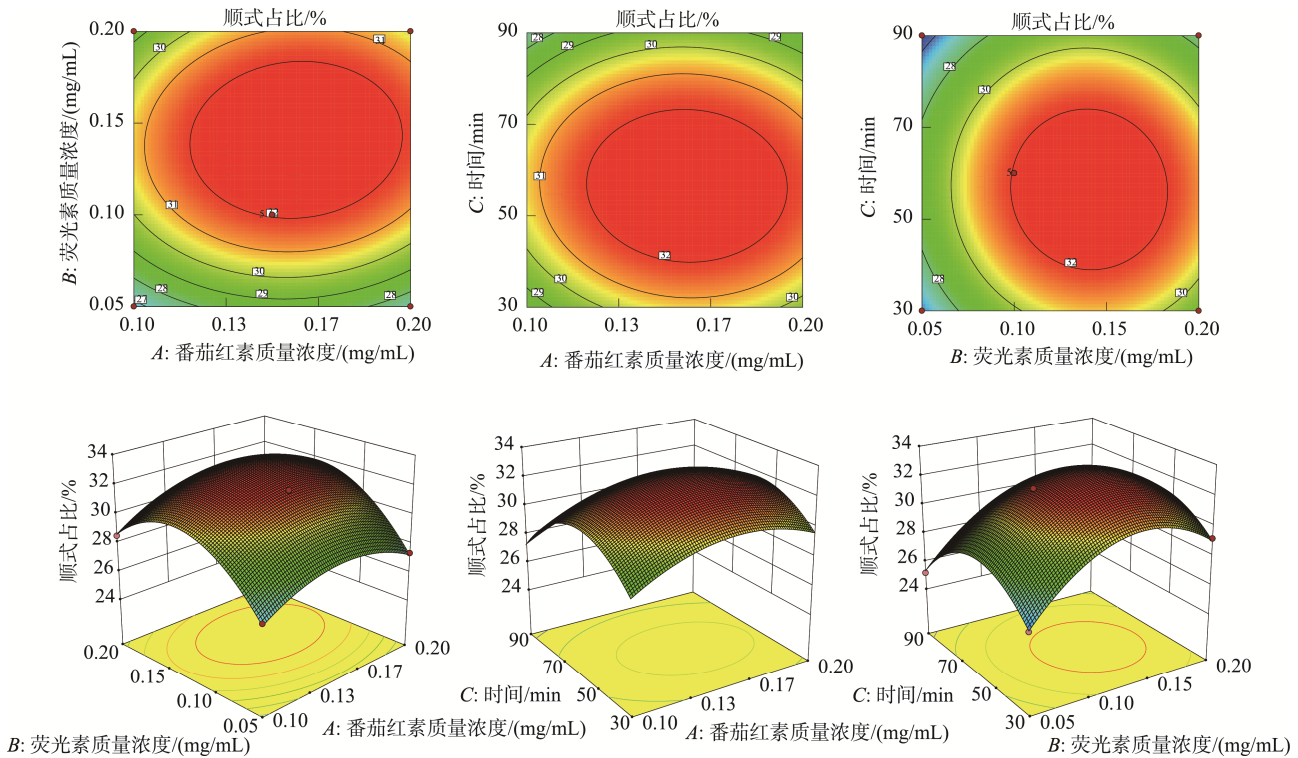


图 7 两因素间交互作用对番茄红素顺式占比影响的等高线图和响应面图

Fig.7 Contour plots and response surface plots of the effects of interaction on lycopene *cis* proportion between two factors

2.2.3 验证性实验

由回归方程解得最佳条件:番茄红素质量浓度为 0.159 mg/mL、荧光素质量浓度为 0.141 mg/mL、时间为 56.333 min。根据实际条件调整为番茄红素质量浓度为 0.16 mg/mL、荧光素质量浓度为 0.14 mg/mL、时间为 56 min,进行 3 次平行验证实验,番茄红素顺式占比为 $(33.71 \pm 0.95)\%$,与模型无显著差异。

2.3 番茄红素结构的鉴定

如图 8 所示: a 为全反式番茄红素高效液相色谱, b 为光异构化后的高顺式番茄红素高效液相色谱。全反式番茄红素经高效液相色谱仪检测,其保留时间为 24.400 min 时仅有 1 个单一色谱峰。但光异构化后的番茄红素色谱图则显示保留时间为 20~25 min 时有 5 个峰。利用这些特征峰可将不同构型的番茄红素分离开来,并对它们进行分析和鉴定。

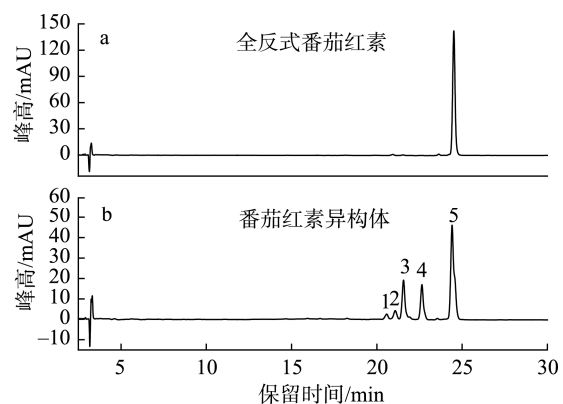


图 8 不同结构番茄红素的高效液相色谱峰

Fig.8 High performance liquid chromatography peaks of lycopene in different structures

将顺式峰的吸光度和主峰的吸光度之比定义为 Q 值,并将 Q 值进行对比来判断番茄红素的几何构型,如表 4 所

示根据实验数据和文献的比较, 可知这 5 种异构体分别为: 1 号峰为 $R=21.553$ min 的 13-顺式番茄红素、2 号峰为 $R=22.632$ min 的(5,9)顺式番茄红素、3 号峰为 $R=24.400$ min 的全反式番茄红素、4 号峰 $R=20.567$ min 的番茄红素异构体 1 和 5 号峰 $R=21.067$ min 的番茄红素异构体 2^[27]。此结果证明该方法具有良好的精密度和准确度, 可以用于分析不同结构类型的番茄红素。这与王晓文等^[28]在探究番茄红素异构化过程中使用高效液相色谱仪得出的高顺式番茄红素 5 个峰非常相似, 只是保留时间略有不同, 可能是异构化或者液相色谱仪条件造成的。

2.4 番茄红素热稳定性实验

2.4.1 番茄红素在不同温度下的热降解动力学研究

将高顺式番茄红素置于 4、25、37°C 条件下贮存 10 h, 其降解动力学模型如图 9 所示。全反式番茄红素降解速

率随温度变化的回归方程分别为: $Y=-0.0096X-0.0123$ ($r^2=0.9489$, 4°C); $Y=-0.037X-0.0228$ ($r^2=0.9424$, 25°C); $Y=-0.1121X-0.2509$ ($r^2=0.8569$, 37°C)。总顺式番茄红素降解速率随温度变化的回归方程分别为: $Y=-0.0641X-0.0465$ ($r^2=0.9789$, 4°C); $Y=-0.0969X-0.0957$ ($r^2=0.9587$, 25°C); $Y=-0.2437X-0.1968$ ($r^2=0.9554$, 37°C)。可以看出, 随着贮藏时间的延长, 不同温度下, 番茄红素中各异构体均发生不同程度的降解。徐媛等^[30]发现 $\ln(C/C_0)$ 与 t 的线性回归表明, 各温度条件下其 R^2 均大于 0.99, 纯化后番茄红素在不同温度条件下的热降解均是符合一级反应动力学的, 并且番茄红素降解速率常数的绝对值和降解速率与温度呈正比。因此, 可以通过改变贮存温度来调节番茄红素的热稳定性能, 使之满足工业化生产要求。本研究中, 番茄红素各异构体在 37°C 条件下变化最显著, 4°C 条件下降解最慢。因此, 降低温度可以提高高顺式番茄红素的稳定性。

表 4 番茄红素异构体鉴别数据
Table 4 Identification data for lycopene isomers

峰号	异构体	保留时间/min	λ_{max} (在线)/nm				计算 Q 值	λ_{max} (报道)/nm				参考 Q 值
1	番茄红素异构体 1	20.876	360	436	460	492	0.39	360	437	463	494	0.38 ^a
2	番茄红素异构体 2	21.297	360	448	470	498	0.28	-	-	-	-	
3	13-顺式番茄红素	21.63	361	436	464	494	0.50	361	437	463	494	0.52 ^b
4	(5,9)-顺式番茄红素	22.761	361	440	466	496	0.20	361	440	467	496	0.20 ^c
5	反式番茄红素	24.412	364	448	474	504	0.12	365	446	473	503	0.11 ^c

注: ^a 依据 FERREIRA 等^[27]报道; ^b 依据 HONDA 等^[21]报道; ^c 依据 MELENDEZ 等^[29]报道; -表示无此项。

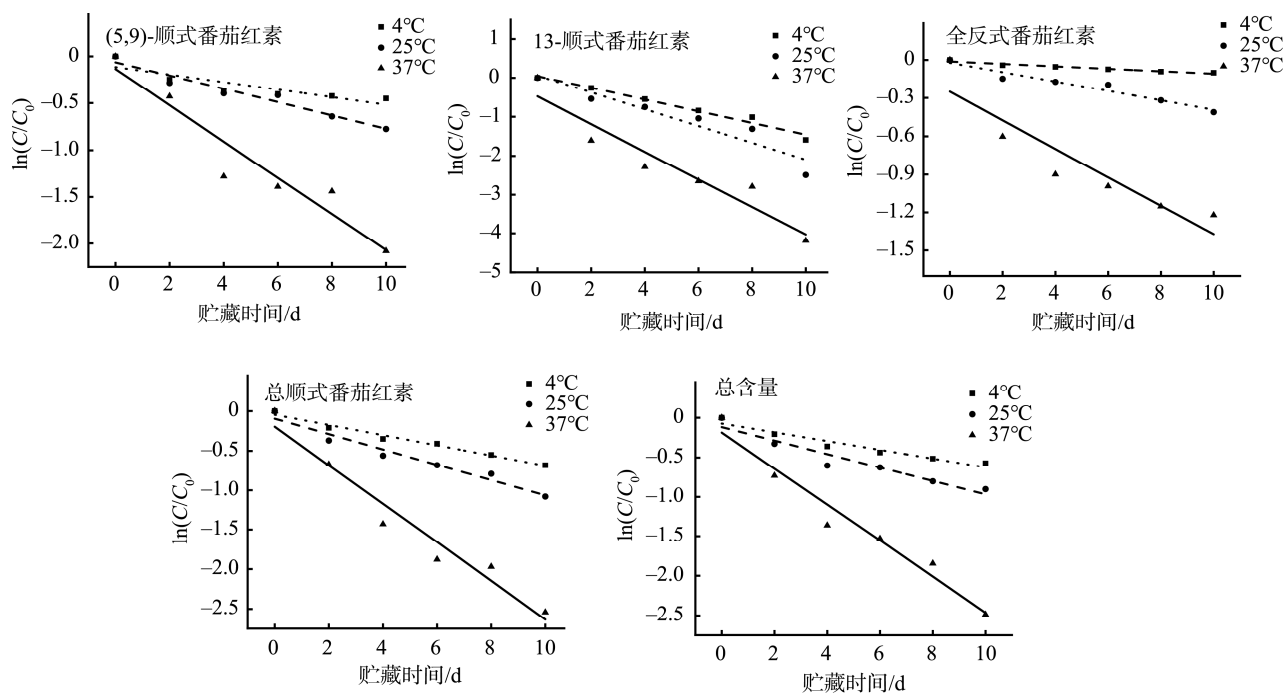


图 9 番茄红素异构体在不同温度下的降解动力学
Fig.9 Deation kinetics of lycopene isoforms at different temperatures

2.4.2 番茄红素在不同温度下热降解活化能

在 4、25、37°C 的贮藏条件下, 番茄红素异构体在不同温度下的 $\ln(k)$ - $1/T$ 关系如图 10 所示, 其回归方程的 r^2 均大于 0.9。番茄红素总含量的回归方程为: $Y=-3572.5X+9.8685$ ($r^2=0.9511$); 13-顺式番茄红素的回归方程为: $Y=-3197.5X+9.5202$ ($r^2=0.9405$); (5,9)-顺式番茄红素的回归方程为: $Y=-3927.5X+10.853$ ($r^2=0.9751$); 全反式番茄红素的回归方程为: $Y=-6145X+17.516$ ($r^2=0.9968$); 顺式番茄红素的回归方程为: $Y=-3356.8X+9.3461$ ($r^2=0.9556$)。番茄红素各异构体的降解反应的动力学参数如表 5 所示。当某一化学反应的活化能高时, 说明该化学反应的进行难度大, 降解难度大, 同时稳定性也高。在几种主要的番茄红素异构体中, 全反式番茄红素表现出了最高的稳定性, 其次是 (5,9)-顺式番茄红素, 而 13-顺式番茄红素的稳定性最低。

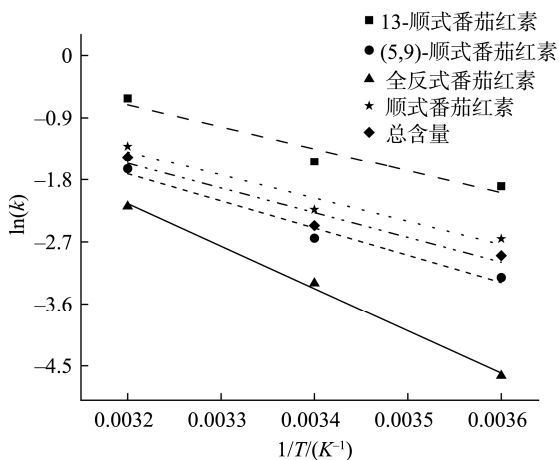


图 10 番茄红素异构体在不同温度下的 $\ln(k)$ - $1/T$ 关系图
Fig.10 $\ln(k)$ - $1/T$ diagram of lycopene isomers at different temperatures

表 5 番茄红素异构体在各不同温度条件下存放时其降解反应的动力学参数

Table 5 Kinetic parameters of the degradation reactions of the lycopene isomers stored at different temperature conditions

异构体种类	降解速率常数/ h^{-1}			活化能/(kJ/mol)
	4°C	25°C	37°C	
(5,9)-顺式番茄红素	0.0402	0.0709	0.1934	32.65
13-顺式番茄红素	0.1499	0.2150	0.3551	17.94
全反式番茄红素	0.0096	0.0370	0.1121	51.09
总顺式番茄红素	0.0641	0.0969	0.2437	27.75
总含量	0.0551	0.0850	0.2278	29.70

3 结论

本研究采用光照协同光敏剂的方法制备高顺式番茄红素。以顺式占比为测评指标, 通过单因素实验以及响应

面优化实验, 考察番茄红素浓度、溶剂种类、光敏剂种类、荧光素浓度以及照射时间这 5 个因素对番茄红素顺式占比的影响, 并将番茄红素浓度、荧光素浓度以及照射时间 3 个因素两两交互, 确定制备顺式番茄红素最优工艺为: 番茄红素质量浓度为 0.16 mg/mL、荧光素质量浓度为 0.14 mg/mL、时间为 56 min, 此条件下验证性实验得到番茄红素顺式占比最高为(33.71±0.95)%。

采用高效液相色谱法对番茄红素结构测定, 最终光异构化后得到 5 种番茄红素异构体, (5,9)-顺式番茄红素、13-顺式番茄红素、番茄红素异构体 1、番茄红素异构体 2、全反式番茄红素。通过稳定性实验结果表明, 不同温度下, 番茄红素中各异构体均发生不同程度的降解。番茄红素各异构体在 37°C 条件下变化最显著, 4°C 条件下降解最慢。因此, 降低温度可以提高顺式番茄红素的稳定性。并且几种主要的番茄红素异构体中, 全反式番茄红素表现出最高的稳定性, 其次是(5,9)-顺式番茄红素, 13-顺式番茄红素的稳定性最低。

参考文献

- [1] HEDAYATI N, NAEINI M. Protective effect of lycopene against chemical and natural toxins: A review [J]. *Bio Factors*, 2019, 1(45): 5–23.
- [2] SOMA S, ABANISH KS. Lycopene: Chemistry, biosynthesis, metabolism and degradation under various abiotic parameters [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(1): 41–53.
- [3] YU JH, GLEIZE B, ZHANG LF, *et al.* A D-optimal mixture design of tomato-based sauce formulations: Effects of onion and EVOO on lycopene isomerization and bioaccessibility [J]. *Food Funct*, 2019, 10(6): 3589–3602.
- [4] 张红艳, 石凯欣, 潘思轶. 番茄红素异构化研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(19): 330–339.
ZHANG HY, SHI KX, PAN SY. Research progress on lycopene isomerization [J]. *Food Sci*, 2023, 44(19): 330–339.
- [5] YU JH, BEATRICE G, LIANFU Z, *et al.* Heating tomato puree in the presence of lipids and onion: The impact of onion on lycopene isomerization [J]. *Food Chem*, 2019, 296: 9–16.
- [6] LI XL, XU JH. Meta-analysis of the association between dietary lycopene intake and ovarian cancer risk in postmenopausal women [J]. *Sci Report*, 2014, 4(1): 4885.
- [7] YO W, MASAKI H, TAKUMA H, *et al.* Rapid and selective concentration of lycopene Z-isomers from tomato pulp by supercritical CO₂ with co-solvents [J]. *Solvent Extra Res Dev*, 2018, 25(1): 47–57.
- [8] 刘伟, 汪林军, 李谛音, 等. 番茄红素预防和治疗良性前列腺增生与前列腺癌的研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(20): 2477–2480.
LIU W, WANG LJ, LI DY, *et al.* Research advances on lycopene for the prevention and treatment of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2018, 34(20): 2477–2480.
- [9] MASAKI H, YO W, KAZUYA M, *et al.* Thermal isomerization pretreatment to improve lycopene extraction from tomato pulp [J]. *LWT*, 2017, 86: 69–75.
- [10] MURAKAMI K, HONDA M, TAKEMURA R, *et al.* The thermal

- Z-isomerization-induced change in solubility and physical properties of (all-*E*)-lycopene [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(2): 371–322.
- [11] MASAKI H, YO W, KAZUYA M, *et al.* Enhanced lycopene extraction from *gac* (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) by the *Z*-isomerization induced with microwave irradiation pre-treatment [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2018, 120(2): 1700293.
- [12] COOPERSTONE JL, RALSTON RA, RIEDL KM, *et al.* Enhanced bioavailability of lycopene when consumed as *cis*-isomers from tangerine compared to red tomato juice, a randomized, cross-over clinical trial [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(4): 658–669.
- [13] MURAKAMI K, GOTO M, HONDA M. High-temperature supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato powder for enhancing *Z*-isomerization and recovery of lycopene [J]. *J Oleo Sci*, 2022, 71(9): 1289–1297.
- [14] JING SQ, LASHENG Z, WANG SS, *et al.* Effect of ultra-high pressure technology on isomerization and antioxidant activity of lycopene in solanum lycopersicum [J]. *Am J Biochem Biotechnol*, 2020, 16(2): 270–279.
- [15] HUANG J, HUI BD. Rat intestinal homogenate and pancreatic juice can induce the *Z*-isomerization of *all-E*-lycopene *in vitro* [J]. *Sci Reports*, 2020, 10(1): 9949.
- [16] 王群. 常见金属盐催化番茄红素顺反异构及产品稳定性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
WANG Q. Study on *E/Z* isomerization of lycopene catalyzed by common metal salts and stability of lycopene products [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [17] LI YX, CUI Z, HU LD. Recent technological strategies for enhancing the stability of lycopene in processing and production [J]. *Food Chem*, 2023, 405: 134799.
- [18] 刘昊, 闫圣坤. 番茄红素异构化的研究进展[J]. *中国果菜*, 2020, 40(7): 35–38.
LIU H, YAN SK. Progress in lycopene isomerization [J]. *Chin Fruit Veg*, 2020, 40(7): 35–38.
- [19] 王雪松, 刘顺顺, 程学新, 等. 光化学异构化反应从全反式番茄红素合成顺式番茄红素异构体的方法, 中国: 101314554[P]. 2008-12-03.
WANG XS, LIU YY, CHENG XX, *et al.* Photochemical isomerization reaction from all-*trans* lycopene synthesis to *cis*-lycopene isomers method, China: 101314554 [P]. 2008-12-03.
- [20] 才美慧. 加工过程对番茄红素稳定性及其异构化影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
CAI MH. Effect of the processing process on lycopene stability and its isomerization [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [21] HONDA M, IGAMI H, KAWANA T, *et al.* Photosensitized *E/Z* isomerization of (all-*E*)-lycopene aiming at practical applications [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(47): 11353–11356
- [22] 李红. 高顺式构型占比番茄红素制备及稳定性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
LI H. Study on the production and stability improvement of high *cis*-isomers ratio lycopene [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [23] 孙清瑞. 碘纳米粒催化番茄红素反—顺构型转化及纳米结构脂质载体[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
SUN QR. Iodine nanoparticles catalyze anti-*trans*-configuration conversion of lycopene and nanostructured lipid carriers [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [24] IONICA G, IULIANA A, GABRIELA R, *et al.* Binding mechanisms between lycopene extracted from tomato peels and bovine β -lactoglobulin [J]. *J Luminesc*, 2018, 203: 582–589.
- [25] 朱倩, 高瑞萍, 雷琳, 等. 番茄红素热异构化机制及其影响因素研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(15): 310–315.
ZHU Q, GAO RP, LEI L, *et al.* Mechanism and factors influencing thermal isomerization of lycopene: A review [J]. *Food Sci*, 2018, 39(15): 310–315.
- [26] LEE MT, CHEN BH. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system [J]. *Food Chem*, 2002, 78(4): 425–432.
- [27] FERREIRA A, YEUM K JC, RUSSELL RM, *et al.* Enzymatic and oxidative metabolites of lycopene [J]. *J Nutr Biochem*, 2004, (15): 493–502.
- [28] 王晓文, 张华伟, 闫圣坤, 等. 番茄红素在微乳液制备和贮藏过程中构型转化及稳定性研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2013, 32(1): 22–29.
WANG XW, ZHANG HW, YAN SK, *et al.* Study on the configuration-changing and stability of lycopene in the process of microemulsion preparation and storage [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2013, 32(1): 22–29.
- [29] MELENDEZ AJ, PAULINO M, STINCO CM, *et al.* Study of the time course of *cis/trans* (*Z/E*) isomerization of lycopene, phytoene, and phytofluene from tomato [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(51): 12399–12406.
- [30] 徐媛, 潘思轶. 红葡萄柚番茄红素和色泽热降解动力学及降解机制[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 81–88.
XU Y, PAN SY. Thermal degradation kinetics and mechanism of lycopene and color in red grapefruit [J]. *Food Sci*, 2017, 38(11): 81–88.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



马永强, 硕士, 教授, 主要研究方向为食品化学。

E-mail: qyma126@163.com



黎晨晨, 博士, 工程师, 主要研究方向为农产品加工及综合利用。

E-mail: lll198418@163.com