

番茄果实中番茄红素的超临界二氧化碳提取

惠伯棟 朱雨杰 武兴德 陈杭

(北京蔬菜研究中心 100081)

摘要 胡萝卜素(carotene)在超临界二氧化碳中有良好的饱和溶解度。因此,超临界二氧化碳可被用来萃取番茄果实组织中的胡萝卜素,主要为番茄红素(lycopene)。但类胡萝卜素总量萃取回收率较低,是有机溶剂提取法的26%。干燥的番茄果实组织经有机试剂处理后,超临界二氧化碳便可有效地萃取其中的胡萝卜素。经此处理,类胡萝卜素总量的萃取回收率可高过有机溶剂法31%。

关键词 超临界流体 超临界二氧化碳 类胡萝卜素 胡萝卜素 番茄红素 番茄

1 前言

超临界流体(Supercritical fluid)是物质的一种特殊相,有许多独特的性质^[1]。它具有良好的有机溶剂性质,因而被广泛地应用于有机物的萃取。目前,超临界二氧化碳是一种最常用的有机物萃取剂^[2,3],也是本研究所选用的方法。

类胡萝卜素是一类天然化合物的总称。迄今为止,于自然界中已发现超过600种的天然类胡萝卜素。它们广泛分布于植物,动物及微生物界^[4]。大多数类胡萝卜素为C₄₀分子,由中央多聚烯链和位于两侧的功能团组成^[5,6]。根据其含氧与否,类胡萝卜素可分为两类:一类为不含氧的类胡萝卜素,称为胡萝卜素(carotene),如番茄红素(lycopene)和β-胡萝卜素(β-carotene)等;另一类为含氧的,称为叶黄素(xanthophyll),如叶黄素(lutein)等^[7]。二者的极性差异非常显著,因而其溶解度也有明显的不同。例如,胡萝卜素在超临界二氧化碳中具有良好的饱和溶解度,但叶黄素的饱和溶解度却相对较弱^[8,9]。

番茄红素为不含氧的类胡萝卜素,在超临界二氧化碳中有良好的饱和溶解度。本文将介绍应用超临界二氧化碳从番茄果实中提取番茄红素。

2 材料和方法

本实验所用的所有试剂均为色谱纯试剂。二氧化碳的纯度为99.995%。番茄红素(all-E-ψ, ψ-carotene)标准样品由罗氏公司(Hoffmann-la Roche, Basel, Switzerland)提供,并在使用

前用反相高压液相色谱验过纯度。

新鲜的番茄果实由北京蔬菜研究中心提供。供溶剂提取的果实经清洗后在研钵中研磨成匀浆,然后用丙酮-乙醚体系立即提取。供超临界二氧化碳萃取的组织经清洗后在-40℃下真空干燥至恒重,然后在研钵中研磨成均匀粉末。用有机试剂处理样品时,组织干粉可用有机试剂浸泡并研磨于研钵中,然后用氮气吹干,除掉所有有机试剂,再将样品搞成均匀粉末状。

实验用的超临界二氧化碳提取装置见图1。

用于测定类胡萝卜素组成的反相高压液相色谱是一双泵梯度系统,由两台高压泵(510 Liquid Delivery System, Waters),一个进样器(U6K, Waters),一台二极管阵列紫外/可见光检测器(990 Photodiode Array Detector, Waters),一根反相碳十八色谱柱(4.6mmX25cm, S5 ODS2, PhaseSep Ltd.)及色谱工作站(820 Chromatography Station, Waters)组成。

用于总类胡萝卜素含量测定的紫外/可见光分光光度计为日立(HITACHI)U-3410系统。

丙酮和乙醚(1:1, v/v)可用来提取鲜番茄果实组织中的类胡萝卜素。溶剂提取法所得的类胡萝卜素总量在本实验中做为计算超临界二氧化碳萃取发回收率的参比(100%)。

在超临界二氧化碳萃取时,置于萃取池中的组织干粉先经1分钟静态萃取,而后再动态萃取。在动态萃取中,超临界二氧化碳的流速恒定在3.0毫升/分钟,同时,严格恒压。萃取物收集于收集器中。萃取过程完成后,用2毫升四氢呋喃

(THF)清洗整个流路。收集四氢呋喃并与萃取物合并于收集器中待分析。

测定总类胡萝卜素含量时,提取或萃取物定容在3毫升四氢呋喃中。在波长470nm处(番茄红素的 λ_{\max})测定四氢呋喃溶液的光密度。提取或萃取物中的总类胡萝卜素含量可根据朗-比定律(Lambert-Beer law)计算。溶液的克分子消光系数为: $A_{1\%1\text{cm}} = 3450^{[10]}$ 。

测定类胡萝卜素组成时,经总类胡萝卜素含量测定的四氢呋喃溶液再经适当浓缩可直接注入反相高压液相色谱,以测定其类胡萝卜素组成。进样量一般为20微升。流动相为:A=乙腈/水(9:1),B=乙酸乙酯;梯度:B在25分钟内从0到100%;流速:1.0毫升/分钟;检测波长:470nm。根据与标准样品的保留时间和紫外/可见光谱的比较,可对各组分^[11,12]定性。

3 结果与讨论

3.1 番茄果实中总类胡萝卜素含量及组成

新鲜番茄果实的含水量为88%(-40℃干燥法)。总类胡萝卜素含量为1.26毫克/克干重(溶剂提取法)。类胡萝卜素组成见图2。由图2可见,提最物中的主要组分为胡萝卜素(85%),包括:番茄红素(78%)和 β -胡萝卜素(70%)。

3.2 超临界二氧化碳的萃取峰

在动态萃取中,超临界二氧化碳中的类胡萝卜素可被联接在萃取池后的紫外/可见光检测器监测($\lambda=470\text{nm}$)。被提取的类胡萝卜素对光的吸收在检测器上可形成一个拖尾峰,见图3。这说明超临界二氧化碳没有足够的溶解力将番茄果实组织中的天然类胡萝卜素从组织中高效地萃取出来。当减少样品量时,峰的拖尾也并未改进,详见图3。

3.3 萃取峰拖尾的原因

3.3.1 番茄红素与样品中其它组分的紧密化学结合

样品中的主要组分——番茄红素可能与样品中其它组分,如脂类及蛋白等形成紧密的化学结合而构成复合体。超临界二氧化碳可能没有足够的力量破碎这些复合体,导致完全萃取困难。

3.3.2 番茄红素结晶

番茄红素在有机试剂中的溶解度随试剂极性的降低有很大的下降。它很易形成坚固的结晶。它

的结晶也很难“破碎”。如果番茄果实组织中的番茄红素是以结晶形式存在的,那么,超临界二氧化碳有没有足够的力量“破碎”这些结晶也是值得考虑的。

样品的前处理对萃取峰拖尾的影响

有机试剂(如:丙酮-乙醚)可从植物组织中有效地提取类胡萝卜素。这说明有机试剂可能解决问题。如果用四氢呋喃在萃取前浸泡样品几分钟,然后用氮气将四氢呋喃吹干再做萃取,萃取峰的拖尾可得到明显的改善,详见图4。图5显示了经其它五种有机试剂处理的番茄果实组织中天然类胡萝卜素的超临界二氧化碳萃取峰。表1给出了六种有机试剂处理对萃取峰拖尾的影响。

表1 六种有机试剂处理对萃取峰拖尾的影响

溶剂	极性 $[\epsilon^\circ$ (Al_2O_3)]	保留时间 [分钟]	萃取峰型 的改进
n-正己烷	0.00	0.229	+++
Toluene	0.29	0.229	+++
乙醚	0.38	0.248	+++
四氢呋喃	0.45	0.325	++
丙酮	0.56	0.401	++
乙酸乙酯	0.58	0.363	+

注:萃取峰型的改进用+表示。从+到+++表示改进程度从低到高。

图4和5及表1说明:有机试剂处理对萃取峰拖尾的改进具有非极性机质。说明拖尾峰的形成不是由于番茄红素与样品中的极性组分(如:蛋白质)之间的紧密结合所致,而是由于番茄红素与样品中的非极性组分(如:脂类)之间的结合或番茄红素在样品介质中形成坚固的结晶引起。样品前处理中有机试剂的作用就是破坏番茄红素与样品中非极性组分之间的结合或番茄红素结晶。

3.4 萃取回收率的改进

3.4.1 类胡萝卜素总量的萃取回收率

四氢呋喃仍被用来测定样品前处理对萃取回收率的改进,因为四氢呋喃是水溶性的,样品在干燥时可不要求很高的条件。

以溶剂提取法所得的类胡萝卜素总量为100%,可获得超临界二氧化碳萃取的回收率。经四氢呋喃处理的和未经四氢呋喃处理的6次实验萃取回收率分别为 $131\% \pm 2.6\%$ 和 $26\% \pm 0.7\%$ 。萃取条件:萃取剂:100毫升 CO_2 (875psi,

200C);压力:8000psi;温度:45℃;静态提取时间:1分钟。样品量:20毫克。

3.4.2 类胡萝卜素组成

如上所述,经四氢呋喃处理的萃取回收率达到131%,比溶剂提取法所得的高31%。由萃取物的反相高压液相色谱分析得到的类胡萝卜素组成可用来说明这一结果。图6给出了经四氢呋喃处理的萃取物和溶剂提取物的组成比较。图6表明:(1)经四氢呋喃处理的萃取物中含有较多的番茄红素。这可以认为是经四氢呋喃处理的萃取物中类胡萝卜素总量较高的原因;(2)番茄果实组织的萃取物含有较少的叶黄素。因而可以证实超临界二氧化碳萃取物中极性越强的组分含量越低。

4 结论

胡萝卜素,如:番茄红素和 β -胡萝卜素在超临界二氧化碳中具有良好的溶解度。因此,超临界二氧化碳萃取法被认为可替代传统的溶剂提取法从植物的组织中提取胡萝卜素。应用超临界二氧化碳从番茄果实的组织中萃取番茄红素时所遇到的主要问题是提取物不能有效地离开样品介质(植物组织)。在萃取前用有机试剂处理组织可帮助超临界二氧化碳在萃取时将提取物有效地脱离样品介质,达到较好的回收率。

参考文献

[1] Hewlett Packard. *Preparing Sample by Supercritical Fluid Extraction* Manual Part No. 07680-90330

- [2] Smith, R. M. In *Supercritical Fluid Chromatography* (Smith, R. M., ed.) The Royal Society of Chemistry. London., 1(1988)
- [3] ISCO, Inc. *ISCO Application Bulletin*, 68(1991)
- [4] Britton, G. In *Carotenoids in Photosynthesis* (Young, A. J. and Britton, G., eds.) Chapman & Hall. London., 1(1993)
- [5] Britton, G. *Meth. Enzymol.* 111, 113(1985)
- [6] Weedon, B. C. L. and Moss, G. P. In *Carotenoids (Vol. LA)* (Britton, G., Liaae - Jensen, S. and Pfander, H., eds.) Birkhauser. Basel, Boston and Berlin., 27(1995)
- [7] Isler, O. In *Carotenoids* (Isler, O., ed.) Birkhauser. Basel, 11(1971)
- [8] Favati, F., King, J. W., Friedrich, J. P. and Eskins, K. J. *Food Sce.*, 53, 1532 (1988)
- [9] Tonucci, L. H. and Beecher, G. R. *The 4th international Symposium on Supercritical Fluid Chromatography and Extraction (Abstracts)*, Cincinnati, Ohio, (1992)
- [10] Britton, G. In *Carotenoids (IB)* (Britton, G., Liaaen - Jensen, S. and Pfander, H., eds.) Birkhauser. Basel, Boston and Berlin, 13 (1995)
- [11] Britton, G. and Young, A. J. In *Carotenoids in Photosynthesis* (Young, A. J. and Britton, G., eds.) Chapman & Hall. London., 409(1993)
- [12] Pfander, Hand Riesen, R. In *Carotenoids (Vol. LA)* (Britton, G., Liaaen - Jensen, S. and Pfander, H., eds.) Birkhuser. Basel, Boston and Berlin., 109 (1995)

Extraction of Mainly ψ, ψ -Carotene (Lycopene) from the Fruits of Tomato by Supercritical Carbon Dioxide

Hui Bodi Zhu Yujie Wu Xingde Chen Hang

(Beijing Vegetable Research Center, Beijing, 100089 P. O. Box 2443)

Abstract Supercritical CO₂ can be used to extract carotene, mainly ψ, ψ -carotene (lycopene), from the fruits of tomato because carotene has a good solubility in supercritical CO₂. The preliminary extraction of carotene from tomato fruits took a long time and consumed a large amount of CO₂. The recovery of carotene by supercritical CO₂ was only 26±2.2% comparing with that by conventional solvent extraction. An attempt to improve the extraction efficiency was made in this study. After the pretreatment of the tissue by organic solvents, the recovery increased up to 131±2.6% in comparison with that by conventional solvent extraction.

Key words Supercritical fluid, supercritical carbon dioxide, carotenoids, carotene, lycopene and tomato