

番茄红素在不同溶剂中的分光光度法分析

李贞霞¹, 沈欢欢¹, 高苗苗¹, 祁姣¹, 李清艳^{2*}

1. 河南科技学院园艺园林学院, 河南 新乡 453003

2. 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津 300308

摘要 番茄红素因其抗氧化活性强, 具有多种养生保健功效, 日益受到重视, 但番茄红素的提取测定方法繁琐复杂, 很难广泛应用。采用分光光度法, 以石油醚、丙酮、甲醇为溶剂, 二氯甲烷为助溶剂, 先从吸收光谱差异入手, 确定最大吸收波长, 再于最大吸收波长处, 以不同浓度的番茄红素标准液测定其吸光度值, 制作标准曲线, 得到回归方程, 并考察二氯甲烷的量, 浸提时间等对番茄红素提取效果的影响, 探索分光光度法测定番茄红素的简单快速的分析方法。实验结果表明, 以石油醚为溶剂, 波长 474 nm, 加入 5 mL 的二氯甲烷助溶, 浸提时间为 40 min 时, 是用分光光度法测定番茄红素的最好方法。

关键词 番茄红素; 分光光度法; 分析

中图分类号: TS201

文献标识码: A

DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)04-1114-04

引言

番茄红素(Lycopene)是一种脂溶性的天然色素成分^[1], 在化学结构上是一种重要的不含氧的类胡萝卜素, 是β-胡萝卜素的同分异构体, 其分子式为C₄₀H₅₆, 相对分子质量为536.85, 纯品为针状深红色晶体^[2], 主要存在于番茄、西瓜、葡萄柚、木瓜等蔬菜和水果中, 也存在于岩藻等藻类体内^[3]。番茄红素具有很强的抗氧化效果, 有较强清除自由基的能力^[4], 对防治前列腺癌、肺癌、乳腺癌、子宫癌等有显著效果, 还有预防心脑血管疾病、提高免疫力、延缓衰老等功效^[5-6]。目前番茄红素已在50多个国家和地区广泛应用于保健食品、医药与化妆品行业。

番茄红素可溶于乙醚、石油醚、正己烷、丙酮, 难溶于甲醇、乙醇, 不溶于水。目前文献报道的番茄红素的检测方法主要有分光光度法、高效液相色谱法、纸色谱法及薄层色谱法、超临界流体色谱法等^[7]多种方法。但是, 这些方法有的程序复杂, 分析时间长, 不易定量, 精密度差; 有的方法则因实验设备和条件所限, 往往难以在一般实验室进行测定。因此, 在研究了前人关于测定番茄红素的方法的基础上, 从番茄红素的吸收图谱差异入手, 探索了一种简单实用的番茄红素测定方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

番茄红素(购自上海源叶生物科技有限公司); 石油醚、丙酮、甲醇、二氯甲烷均为国产分析纯; TU-1901型双光束可见-紫外分光光度计; CT15RT型高速台式冷冻离心机; 海天牌番茄酱。

1.2 方法

1.2.1 不同溶剂对番茄红素吸收的影响

取3个小烧杯, 称取3份番茄红素标准品1 mg, 倒入小烧杯中, 加入6%的二氯甲烷助溶, 将溶解后的番茄红素分别倒入3个50 mL的容量瓶中, 用石油醚、丙酮、甲醇三种溶剂分别定容至刻度, 制成番茄红素标准溶液。用分光光度计在400~600 nm范围内扫描图谱。

1.2.2 番茄红素不同溶剂中标准曲线的制作

吸取番茄红素标准溶液0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 μg·mL⁻¹, 然后用石油醚定容至50 mL, 注入1 cm厚的比色皿中, 以石油醚做参比液, 在最大吸收波长474 nm处测定其吸光度值, 重复三次取平均值, 制作标准曲线。丙酮、甲醇按上述同样的方法操作, 得到吸光度值, 制作标准曲线。

1.2.3 二氯甲烷的量对番茄红素含量的影响

收稿日期: 2017-11-27, 修订日期: 2018-08-14

基金项目: 河南省高等学校重点项目(18A210015), 国家自然科学基金项目(31770059)资助

作者简介: 李贞霞, 女, 1973年生, 河南科技学院园艺园林学院副教授 e-mail: 842291829@qq.com

* 通讯联系人

取 5 个 50 mL 的离心管, 分别编号 1, 2, 3, 4 和 5, 称取 10 g 的番茄酱置于其中, 分别加入体积为 2, 3.5, 5, 7 和 10 mL 的二氯甲烷助溶, 再用石油醚定容至刻度, 静置 30 min, 吸取上层清液, 离心, 然后再用分光光度计于 474 nm 处测吸光度值, 利用标准曲线计算番茄红素含量, 重复以上试验 5 次。另两种溶液丙酮、甲醇按上述同样的方法操作。

1.2.4 不同浸提时间对番茄红素含量的影响

取 3 个 50 mL 的离心管, 分别编号 1, 2 和 3, 称取 10 g 的番茄酱置于其中, 加入体积为 2 mL 的二氯甲烷助溶, 再用石油醚定容至刻度, 分别静置 20, 30 和 40 min, 吸取上层清液, 离心, 然后再用分光光度计于 474 nm 处测吸光度值, 重复以上试验三次。另外两种溶液丙酮、甲醇按上述同样的方法操作。

2 结果与讨论

2.1 番茄红素在不同溶剂中的吸收图谱

番茄红素在不同溶剂中的吸收图谱见图 1—图 3。由图可以看出, 番茄红素在三种不同的溶剂中均有类似的吸收峰, 但是峰的位置略有不同, 从 465~505 nm 之间都有两个较大吸收峰, 其中番茄红素在石油醚中的最大吸收峰在 471 nm 处, 丙酮中最大吸收峰在 474 nm 处, 甲醇中的最大吸收峰是 470 nm 处。由文献[8]报道知番茄红素最大吸收峰的波长约为 472~484 nm, 文献[9]报道番茄红素在波长 474 nm 处有最大吸收峰, 故后面选择 474 nm 作为测定波长。

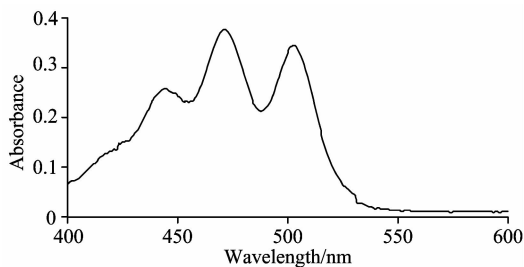


图 1 番茄红素在石油醚中的吸收图谱

Fig. 1 Absorption spectrum of *lycopene* in petroleum ether

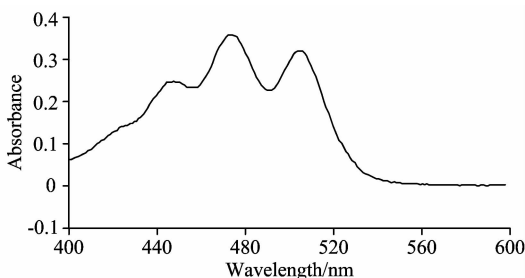


图 2 番茄红素在丙酮中的吸收图谱

Fig. 2 Absorption spectrum of *lycopene* in acetone

2.2 番茄红素在不同溶液中的标准曲线

在 474 nm 处测定番茄红素纯品, 以吸光度值对番茄红素浓度作图, 得番茄红素标准曲线(见图 4—图 6)。由图可

知, 以石油醚为溶剂所得回归方程为 $Y = 0.1109X + 0.0223$, $R^2 = 0.9942$; 以丙酮为溶剂所得回归方程为 $Y = 0.1045X + 0.0303$, $R^2 = 0.9822$, 以甲醇为溶剂所得回归方程为 $Y = 0.0565X + 0.0119$, $R^2 = 0.9957$ 。三条标线浓度均在 $0.5 \sim 3.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 说明标准曲线准确度高, 可用来计算番茄红素含量。

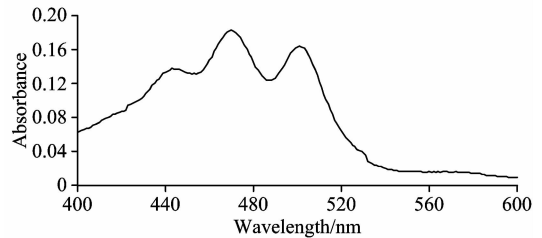


图 3 番茄红素在甲醇中的吸收图谱

Fig. 3 Absorption spectrum of *lycopene* in methanol

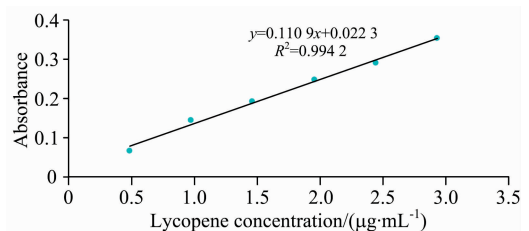


图 4 番茄红素在石油醚中的标准曲线

Fig. 4 Standard curve of *lycopene* in petroleum ether

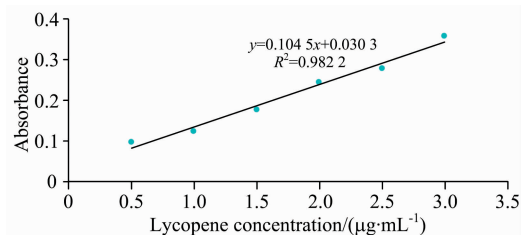


图 5 番茄红素在丙酮中的标准曲线

Fig. 5 Standard curve of *lycopene* in acetone

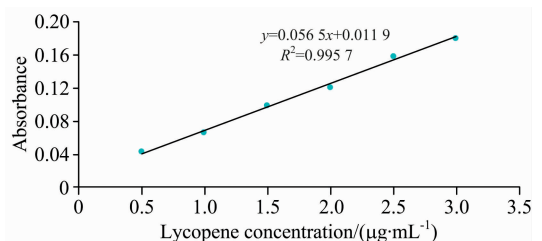


图 6 番茄红素在甲醇中的标准曲线

Fig. 6 Standard curve of *lycopene* in methanol

2.3 不同溶剂中不同二氯甲烷的量对番茄红素含量的影响

采用 Duncan 新复极差法做多重比较(见表 1)可知: 以石油醚为溶剂, 在加入 5 mL 的二氯甲烷助溶时, 番茄红素的提取效果最显著; 以丙酮为溶剂在加入 7 mL 的二氯甲烷助溶时, 番茄红素的提取效果最显著; 以甲醇为溶剂在加入 10

mL 的二氯甲烷助溶时, 提取效果最显著, 且番茄红素的含量随着二氯甲烷的量的增加而提高。并且无论是加入多少体积的二氯甲烷助溶, 都是以石油醚的提取效果最好。

表 1 不同溶剂中不同二氯甲烷的量
对番茄红素含量的影响

Table 1 Effect of different dichloromethane content
in different solvents on *Lycopene* Content

二氯甲烷 的量/mL	溶剂		
	石油醚	丙酮	甲醇
2	91.28±0.21e	63.49±0.77c	33.44±1.02d
3.5	123.57±0.29b	77.91±0.45b	36.86±0.57c
5	142.14±0.33a	76.48±1.48b	36.96±0.99c
7	100.83±0.26d	90.96±0.34a	55.99±0.41b
10	118.04±0.23e	62.74±0.33c	82.19±0.77a

2.4 不同浸提时间对番茄红素含量的影响

采用 Duncan 新复极差法做多重比较见表 2, 以石油醚为溶剂提取番茄红素时, 静置 40 min 的提取效果最显著, 以丙酮为溶剂提取番茄红素时, 静置 20 min 的提取效果最显著, 以甲醇为溶剂提取番茄红素时, 静置 30 min 的提取效果最显著, 并且随着静置时间的增加, 石油醚提取的番茄红素含量逐渐提高, 而丙酮提取的番茄红素含量逐渐降低, 甲醇提

取的番茄红素含量在静置 20 和 40 min 时差异不显著。

表 2 不同浸提时间对番茄红素含量的影响
Table 2 Effect of different extraction
time on *Lycopene* content

时间/min	溶剂		
	石油醚	丙酮	甲醇
20	57.14±0.08c	91.21±3.45a	30.56±0.61b
30	91.28±0.22b	63.49±0.78b	33.44±1.02a
40	127.13±2.25a	59.12±0.31c	31.78±0.13ab

3 结 论

以石油醚、丙酮、甲醇作为溶剂均可提取出番茄红素, 其中以石油醚的提取效果最好, 丙酮次之, 甲醇的提取率最低, 这可能是由于甲醇为强极性溶剂, 番茄红素不易于溶解, 而石油醚与丙酮为有机溶剂, 番茄红素易溶于其中。同时, 在实验过程中先加入二氯甲烷助溶, 可帮助提高番茄红素的提取率, 控制浸提时间可达到最佳提取效果。实验结果表明, 以石油醚为溶剂, 加入 5 mL 的二氯甲烷助溶, 浸提时间为 40 min 时, 番茄酱中番茄红素的提取率最好。

References

- [1] TENG Xiu-lan, PU Lu-mei, WANG Xing-min(腾秀兰, 蒲陆梅, 王兴民). Physical Testing and Chemical Analysis Part B; Chemical Analysis(理化检验-化学分册), 2013, 49(11): 1385.
- [2] SONG Li, ZHAI Qiu-ge, FU Yu, et al(宋力, 翟秋阁, 付裕, 等). Journal of Xinyang Normal University(信阳师范学院学报), 2012, 25(1): 109.
- [3] ZHONG Shi-li(钟世丽). Sino-Foreign Food Industry(中外食品工业), 2014, (12): 9.
- [4] LIU Li-guo, WU Jing(刘立国, 吴晶). Science and Technology of Food Industry(食品工业科技), 2002, 23(4): 74.
- [5] SUI Hai-xia, XU Hai-bin, YAN Wei-xing(隋海霞, 徐海滨, 严卫星). Chinese Journal of Food Hygiene(中国食品卫生杂志), 2003, 15(6): 544.
- [6] WEI Lai, ZHAO Chun-jing(魏来, 赵春景). China Pharmaceuticals(中国药业), 2004, 13(10): 21.
- [7] SU Yong-heng, JIANG Hui-ran, LI Fa-sheng(苏永恒, 蒋惠然, 李发生). Chinese Journal of Health Laboratory Technology(中国卫生检验杂志), 2004, 14(6): 708.
- [8] ZHENG Li-li, CHEN Wen, XIE Qiao, et al(郑丽丽, 陈文, 谢巧, 等). Journal of Shihezi University • Natural Science(石河子大学学报 • 自然科学版), 2006, 24(5): 579.
- [9] XIA Ping, SHENG Jian-jun(夏萍, 盛建军). Applied Chemistry Industry(应用化工), 2007, 36(10): 975.

Analysis of *Lycopene* in Different Solvents by Spectrophotometry

LI Zhen-xia¹, SHEN Huan-huan¹, GAO Miao-miao¹, QI Jiao¹, LI Qing-yan^{2*}

1. Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China

2. Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

Abstract In recent years, *lycopene* has been paid more and more attention due to its strong antioxidant activity and various health care functions. However, *lycopene* extraction and determination methods are complicated and difficult to be widely applied. In this study, using spectrophotometry, petroleum ether, acetone and methanol as solvent, methylene chloride as co-solvent, starting with the absorption spectrum differences to determine the maximum absorption wavelength, then, the absorbance of *lycopene* standard liquid with different solubility was determined at the maximum absorption wavelength and the standard curve was established to obtain the regression equation. The effect of the amount of dichloromethane and the extraction time on the *lycopene* extraction efficiency was investigated, and the simple and rapid determination method of *lycopene* by spectrophotometry was explored. The experimental results showed that the best method for the determination of *lycopene* by spectrophotometry is petroleum ether as solvent, wavelength 474 nm, addition of 5 mL of dichloromethane for solubilization and extraction time of 40 min.

Keywords *Lycopene*; Spectrophotometry; Analysis

(Received Nov. 27, 2017; accepted Aug. 14, 2018)

* Corresponding author