

类胡萝卜素降解方式的研究综述

许春平, 王铮, 郑坚强, 毛多斌

(郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要:通过对关于类胡萝卜素的物理降解、化学降解和生物降解方式以及降解机制与产物关系研究的综述,指出生物降解有独特优点,高活性的类胡萝卜素生物降解菌的筛选以及工业化应用将成为今后研究的重点。

关键词:类胡萝卜素;降解类型;降解机理

中图分类号:TS49 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.1004-1478.2012.04.015

Review of research on degradation pattern of carotenoid

XU Chun-ping, WANG Zheng, ZHENG Jian-qiang, MAO Duo-bin

(College of Food and Bioeng., Zhengzhou Univ. of Light Ind., Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The research progress about the degradation pattern of carotenoid and the relationship between degradation mechanism with product were reviewed and summarized from physical degradation, chemical degradation and biodegradation. The biodegradation has a unique advantage, screening of microorganisms with high carotenoid degradation activity and application will become the focus of research in future.

Key words: carotenoid; degradation pattern; degradation mechanism

0 引言

类胡萝卜素广泛地存在于果类(菠萝、橘子、柠檬、葡萄、草莓等)、蔬菜(胡萝卜、西红柿、红辣椒等)、鲜花(金英花、水仙),以及一些昆虫和海洋动物中,是一类重要的香料前体物质^[1].其通常由8个类异戊二烯单元组成,是一类呈黄色、橙红色或红色的多烯类物质,主要指胡萝卜素和叶黄素这两大类天然色素^[2].胡萝卜素的化学结构中央有相同的多烯链,根据其两端的芷香酮环或基团的不同,可分为 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 等多种异构体,其中分布最广的是 β -胡萝卜素^[3].而叶黄素是一类含氧类胡萝卜素的总称,包括叶黄素、玉米黄质、隐黄质、紫黄质、

辣椒红素等^[4],通过酶或光氧化可产生C-13, C-11, C-10, C-9衍生物,包括 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯和 β -大马酮等重要的香料物质^[5].类胡萝卜素是许多重要香气成分的前体物质,在烟气香味品质的形成方面具有十分重要的作用.类胡萝卜素降解的研究对于其产物的应用尤其在制备香精和香料方面具有重要价值.目前,有学者通过化学或生物方法将外源类胡萝卜素降解后添加到烟丝中以提高卷烟的香气品质,取得了较好的效果^[6].然而,有关类胡萝卜素降解方式的综述还未见报道,因此,本文将主要以 β -胡萝卜素、叶黄素为例,拟从类胡萝卜素的物理降解、化学降解、生物降解及降解机理与降解产物的关系等方面对

收稿日期:2012-02-14

基金项目:郑州市科技攻关项目(10PTG339-2)

作者简介:许春平(1977—),男,河南省焦作市人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为生物催化与烟草工程。

相关研究进展进行综述与展望。

1 物理降解

目前报道的物理降解方法主要包括热降解和光降解。其中热降解又分为高温裂解和中低温裂解。关于类胡萝卜素的物理降解研究主要以 β -胡萝卜素居多。

J. Crouzet 等^[7]通过超声振荡的方法使长颈烧瓶中悬浮于 50 mL 蒸馏水中的 β -胡萝卜素形成悬浊液,而后密封烧瓶并用铝箔将烧瓶包裹好,于 97 °C 油浴中加热 0.4 ~ 5 h,或在 40 ~ 97 °C 油浴中加热 3 h。试验中,为使 β -胡萝卜素充分降解,在烧瓶密封前一般需要通入氧气直至达到饱和。结果发现,加热时间不同,得到产物也不一样,加热时间越长,其中间产物越少,产物为一系列的挥发性物质和一部分非挥发性物质。

杨伟祖等^[8]利用热裂解气相色谱质谱联用仪(GC-MS),在不同的裂解氛围(如在空气、氮气中含有 10% O₂ 及 N₂)和不同的温度(如 300 °C, 600 °C 和 900 °C)下,对 β -胡萝卜素进行裂解,研究烟草中 β -胡萝卜素的高温裂解产物对卷烟抽吸品质的影响。将固相微萃取装置吸附到的裂解产物用 GC-MS 进行分析,结果表明, β -胡萝卜素在不同裂解条件下主要的裂解产物是甲苯、对二甲苯、1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萘和 2,7-二甲基萘等化合物,另外还生成异佛尔酮、 β -环柠檬醛、 β -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯等香味化合物,这些产物随着裂解温度和裂解氛围的不同其含量有所差异。

张永涛等^[9]用 Pyroprobel000 型裂解器对 β -胡萝卜素在 400 °C, 600 °C, 700 °C, 900 °C 下进行了裂解试验。裂解产物通过气相色谱-质谱联用法分析,结果发现, β -胡萝卜素的裂解进程因裂解温度不同而各异。裂解温度不同时,产物也不相同:400 °C 的特征产物为亚甲基环戊醇、2-乙基吡啶;600 °C 特征产物为 1-十一烯、3,3-三甲基-2-(2-甲基-环丙基)-环己烯;700 °C 特征产物为 9,10-二甲基-八氢化萘、2,2,6-三甲基环己酮;900 °C 特征产物为环十二烯、1,2,3-三甲基茚。除此之外,产物中还含有烟草常见致香物二氢猕猴桃内酯、二氢大马酮等。芳香物质多在 700 °C 之前出现,900 °C 时稠环化合物较多。

罗昌荣等^[10]分别对 β -胡萝卜素在 300 °C,

400 °C, 500 °C, 600 °C, 700 °C, 800 °C 裂解时形成的产物进行研究。结果显示: β -胡萝卜素的高温裂解过程十分复杂,裂解产物也较复杂,一般是许多化合物的混合物。且裂解产物随裂解温度的不同而不同,在相对较低的温度下进行裂解时,形成的芳香物质种类较多且含量较高。逐渐升高裂解温度,得到的芳香物质的含量呈现减少趋势。600 °C 时,萘、蒽和菲等稠环化合物的含量增加较快,而 β -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯则几乎完全消失;当温度继续升高时,主要产物为苯、甲苯、二甲苯、乙基苯等芳环化合物,以及萘、蒽和菲等稠环化合物。

S. Isoe 等^[11]在使用光敏剂和不使用光敏剂的条件,分别研究了 β -胡萝卜素的完全光氧化降解反应,结果为:将催化用的碱和玫瑰红加入 β -胡萝卜素的苯溶液和甲醇溶液中,之后用 30 W 的荧光灯照射 48 h,结束时溶液颜色由暗棕变成了淡红,这表明已经没有 β -胡萝卜素。有光敏剂存在的条件下,对 β -胡萝卜素的光氧化产物回收检测,得到的产物以二氢猕猴桃内酯为主,同时还有少量 β -紫罗兰酮、6-羟基-2,2,6-三甲基环己酮和一未知的内酯。在没有光敏剂的条件,其光氧化降解产物主要是 β -紫罗兰酮和很少的二氢猕猴桃内酯。

E. Demole 等^[12]研究 β -胡萝卜素的光照辐射氧化,得到了玉米黄素、脱氢胡萝卜素、隐黄素等产物。

2 化学降解

化学氧化降解方面,张成敏等^[13]研究了一种提取天然类胡萝卜素并制备烟用香料的方法。该法在充入惰性气体的条件下,将富含胡萝卜素的原料通过提取、浓缩、皂化、柱层析和结晶等工序后,得到类胡萝卜素,然后通过化学氧化降解得到致香成分。虽然最终降解得到致香成分的混合物,并作为香烟香料使用,但产物的化学组成状况没有具体说明。

缪明明等^[14]用乙醇为溶剂,取 0.2 g 自行分离提纯的叶黄素样品(浓缩液)加 0.1 g AgNO₃ 氧化剂和催化剂,通入空气氧化,加热回流 4 h,冷却后过滤得到淡黄色的降解产物。经 GC-MS 分析,在 AgNO₃ 催化下,叶黄素经空气氧化,降解成一系列醇酮类化合物:3-戊烯-2-庚酮、2,2,6-三甲基环己烯

-1-醇-醋酸酯、6-甲基-3-庚醇、3,5,5-三甲基环己酮、2,6-二甲基-2,6-庚二烯-4-酮、3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮、2,6-二甲基-2-庚烯-4-酮、5-甲基-3-己烯-2-酮、二羟基月桂烯醇。

刘金霞等^[15]设计了3种化学方法氧化降解叶黄素,并采用GC-MS对降解产物进行检测。研究发现,以95%的乙醇溶液作为反应溶剂,在 H_2O_2 , $AgNO_3$, $KMnO_4$ 的作用下,叶黄素的氧化降解产物分别确定为6种、12种、17种。其中二氢猕猴桃内酯、异佛尔酮、3-氧代紫罗兰酮为共有产物,相对含量最高的为二氢猕猴桃内酯。

古昆等^[16]研究设计了不同的化学降解方法,对叶黄素进行氧化降解,产物用GC-MS进行检测。从叶黄素的氧化产物来分析,化学降解方法与生物降解方法具有相似之处,如降解产物基本相同,大多是含9-13C的醛酮,且强氧化剂的氧化化效果更好。反应温度以常温为宜,加热则会损失一些小分子的香味物质。从研究结果来看,用化学氧化法在适当条件下对叶黄素进行降解,能够得到环氧紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯、氢化异佛尔酮、茶香螺酮等重要的香味物质。

3 生物降解

生物降解主要指利用微生物(真菌、细菌)或者某种酶制剂的分解作用,将类胡萝卜素降解转化成有用的小分子香味物质或某种香料前体物等。类胡萝卜素的生物氧化降解反应,或者酶催化氧化降解反应是重要的香气物质生成途径^[17]。类胡萝卜素的生物降解因其条件温和、效率高而越来越受到关注。J. Tischer^[18]在1936年研究报道了酶法氧化降解 β -胡萝卜素。

1999年,S. Aziz等^[19]用马铃薯脂肪氧化酶进行催化,研究了 β -胡萝卜素与亚油酸的协同氧化反应。结果表明, β -胡萝卜素的氧化速率跟两者的浓度有关,当 β -胡萝卜素与亚油酸物质的量之比为1:16时,酶的氧化速率最高。有关这一方面的报道还有很多,大部分集中在对天然果蔬中 β -胡萝卜素的酶降解反应和相应的酶的研究上。S. Baldermann等^[20]从市售成熟蜜桃的表皮中分离出了类胡萝卜素降解酶,并对该酶进行了部分表征,揭示了该酶的动力学常数(最大 n 值、米氏常数 K 、时间常

数、温度依赖性、活化能)。

李秀红等^[21]从胡萝卜中分离到了一株能降解 β -胡萝卜素产香的真菌,并通过GC-MS分析了其降解产物的挥发性成分。结果表明,产物中含有二氢猕猴桃内酯、2,2,6-三甲基-环己烷-1-酮、异佛尔酮、 α -环状柠檬醛、 β -环状柠檬醛等重要致香物质,其中二氢猕猴桃内酯含量为18%。该研究提供了一种全新的二氢猕猴桃内酯合成工艺。

H. Zorn等^[22]分离到50多株可能具有将 β , β -胡萝卜素降解为香味物质的能力的丝状真菌和酵母菌。其中10株能够使含有 β , β -胡萝卜素培养平板褪色,说明其具有较高的降解 β , β -胡萝卜素的能力。研究发现,二氢猕猴桃内酯是*Ganoderma applanatu*, *Hypomyces odoratus*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Trametes suaveolens*转化 β , β -胡萝卜素的唯一产物,而*Ischnoderma benzoinum*, *Marasmius scorodoni*和*Trametes versicolor*的去除菌体后的发酵液能够催化 β , β -胡萝卜素转化生成 β -紫罗兰酮、 β -环柠檬醛、二氢猕猴桃内酯等重要的挥发性香味物质。此外,文章还通过光度漂白试验对*Marasmius scorodoni*的 β , β -胡萝卜素降解酶进行了部分表征。

A. Sanchez-Contreras等^[23]从万寿菊上分离到了菌株*Eotrichum sp.*和*Bacillus sp.*,将2种菌混合发酵能够转化降解叶黄素。研究发现,只有当2种菌同时存在时,才能生成有用的香味产物。通过GC-MS分析,产物主要有以下4种: β -紫罗兰酮、7,8-二氢- β -紫罗兰醇、7,8-二氢- β -紫罗兰酮、3-氢- β -紫罗兰酮。

A. P. Dion'sio等^[24]在含有 β -胡萝卜素的平板上分别接种表面长有微生物的直径约1cm的圆片,从中选出能够使平板褪色即产生透明圈的菌落进行液体发酵培养。在30℃,150r/min条件下摇床培养72h后,用乙醚:己烷为1:1的有机溶剂萃取。萃取物通过气相色谱仪结合火焰离子检测器分析,结果显示其中含有 β -紫罗兰酮。

4 降解机理与降解产物的关系

类胡萝卜素的降解产物与其降解方式、反应时间、反应温度等密切相关,不同的反应体系和反应条件所得到的反应产物也不同。

类胡萝卜素性质不稳定,易发生光分解、热裂解和酶催化降解等反应,对光、热、氧气等较敏感。

降解过程一般有过氧化酶和脂氧合酶的参与,有时还需要氧分子和辅助因子的激活.氧化产物一般是类胡萝卜素在单线态氧分子攻击下被分解而产生的氧化物中间体,经过进一步的分子重排后生成.当 β -胡萝卜素在不同的位置,如 C_6-C_7 , C_7-C_8 , C_8-C_9 和 C_9-C_{10} 等处发生键的断裂时,通常生成含9,10,11,13个碳原子的物质,常见的有 β -紫罗兰酮、 β -环柠檬酸、大马酮、二氢大马酮等香气物质^[25].

J. Crouzet 等^[7]研究发现 β -胡萝卜素在温和条件下的降解产物主要有2,6,6-三甲基环己酮、2-羟基-2,6,6-三甲基-2-环己醛、2,6,6-三甲基-2-环己烯酮、2-羟基-2,6,6-三甲基-2-环己酮、5,6-环氧- β -紫罗兰酮、 β -环柠檬醛、二氢猕猴桃内酯等挥发性物质,以及金色素、柠黄质、双环氧 β -胡萝卜素、5,6-环氧- β -胡萝卜素等非挥发性物质.

A. Sanchez-Contreras 等^[23]在叶黄素转化形成香味产物的研究中阐明了其产物形成的步骤.降解过程主要分为3步:1)叶黄素在脱羟基酶的作用下9,10位双键断裂,生成 β -紫罗兰酮和3-羟基- α -胡萝卜素;2)3-羟基- α -胡萝卜素在氧化酶的作用下被进一步氧化;3) β -紫罗兰酮被转化成3-羟基- β -紫罗兰酮或者在还原酶的作用下生成7,8-二氢- β -紫罗兰酮、7,8-二氢- β -紫罗兰醇.

5 展望

从现有类胡萝卜素降解方式的研究成果看,微生物降解方式具有独特优点:微生物种类多、含酶丰富,利用微生物可进行多种生物转化反应;生物转化反应具有高度选择性,可顺利地完一般化学方法难以实现的反应;反应条件温和,尤其适用于对热不稳定化合物的制备.但是,从目前的研究来看,用于类胡萝卜素生物降解及其香味产物研究的微生物并不多,所筛选出的高活性菌株更是稀少.因此,类胡萝卜素的生物降解菌株和高活性降解酶的筛选以及在工业化应用方面是今后研究的重点.

参考文献:

[1] John C. Carotenoids as flavour and fragrance precursors [J]. *Leffingwell Reports*, 2002, 2(3): 1.
[2] 李福枝,刘飞,曾晓希,等.天然类胡萝卜素的研究进展

[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(9): 227.
[3] 刘维涓. β -胡萝卜素降解反应研究进展[J]. *林产化学与工业*, 2008, 28(3): 122.
[4] 朱海霞,郑建仙.叶黄素(Lutein)的结构、分布、物化性质及生理功能[J]. *中国食品添加剂*, 2005(5): 48.
[5] Marie F N, De Gaulejac N V, Nicolas V, et al. Characterization of carotenoids and degradation products in oak wood incidence on the flavour of wood[J]. *Comptes Rendus Chimie*, 2004(7): 689.
[6] 李爱军,代惠娟,娄本,等.烟草类胡萝卜素研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(6): 2364.
[7] Crouzet J, Kanasawud P. Formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids [J]. *Methods in Enzymology*, 1992, 213: 54.
[8] 杨伟祖,谢刚,王保兴,等.烟草中 β -胡萝卜素的热裂解产物的研究[J]. *色谱*, 2006, 24(6): 611.
[9] 张永涛,刘惠芳,张东豫,等. β -胡萝卜素的热裂解研究[C]//中国烟草学会工业专业委员会烟草化学学术研讨会论文集,海南:中国烟草学会,2005:335-339.
[10] 罗昌荣,赵震毅,刘涵刚,等. β -胡萝卜素裂解温度对其裂解产物的影响[J]. *无锡轻工大学学报*, 2003, 22(3): 67.
[11] Isoe S, Hyeon S B, Sakan T. Photo-oxygenation of carotenoids(I)—The formation of dihydroactinidiolide and β -ionone from β -carotene [J]. *Tetrahedron Letters*, 1969, 10(4): 279.
[12] Demole E, Berther D. A chemical study of burley tobacco flavour (Nicotiana tabacum L) (I)—Volatile to medium-volatile constituents (b. p. $\leq 84^\circ/0.001$ Torr) [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 1972, 55(6): 1866.
[13] 张成敏,缪明明,胡群.从提取的天然类的胡萝卜素制备烟用香料的方法:中国, CN 1242417A [P]. 2000-01-26.
[14] 缪明明,王昆文,李鲜,等.叶黄素的化学降解产物及机理研究[J]. *烟草科技*, 1998(2): 30.
[15] 刘金霞,李元实,姬小明,等.叶黄素氧化降解产物GC-MS分析及在卷烟加香中的应用[J]. *郑州轻工业学院学报:自然科学版*, 2011, 26(2): 24.
[16] 古昆,陈静波,刘玫,等.叶黄素的几类降解反应研究[J]. *化学研究与应用*, 1999, 11(5): 543.
[17] Winterhalter P, Rouseff R. Carotenoid-derived aroma compounds [M]. Washington DC: American Chemical Society, 2001.
[18] Tischer J. Carotenoids of freshwater algae (II)—The carotenoids and the formation of ionone in Trentepohlia and the erythritol contents of these algae [J]. *Z Physiol Chem*, 1936, 243: 103.

发育过程中所需要的营养物质较多,单纯施用有机肥对经济效益造成的损失过大.在综合考虑这些因素后进行研究,可得出如下结论:亩施基肥 500 kg 有机肥,追肥 4 kg 纯氮,这样既能减少经济效益方面的损失,又能有效改善烟叶田间生长发育状况和调制后烟叶的品质,是比较理想的肥料配施方案.

参考文献:

- [1] 史宏志,刘国顺,谢子发,等.不同产地白肋烟中性香气成分及生物碱组成和含量分析[J].中国烟草学报,2008,14(4):23.
- [2] 时向东,刘国顺,李广才,等.不同类型肥料对烤烟发育过程中土壤养分状况的影响[J].河南农业大学学报,1999,33(3):235.
- [3] 韩锦峰,王凌,张秀英,等.生物有机肥对烤烟生长发育及其产量和品质的影响[J].河南农业科学,1999,(6):11.
- [4] 窦玉青,刘永中,姜鹏超.普利生物肥在烤烟上的应用研究初报[J].中国烟草科学,2000(4):14.
- [5] 王爱国,罗广华.植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990,26(6):55.
- [6] 张志良.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1990:88-91,154-155.
- [7] 吉书文,腾兆波.烟草物理检测[M].郑州:河南科学技术出版社,1997.
- [8] 屈剑波,闫克玉,李兴波,等.河南烤烟(40级)各等级烟叶填充力的测定[J].烟草科技,1996(5):6.
- [9] 张利红,李培军,李雪梅,等.镉胁迫对小麦幼苗生长及生理特性的影响[J].生态学杂志,2005,24(4):25.
- [10] 马旭俊,朱大海.植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展[J].遗传,2003,25(2):225.
- (上接第 59 页)
- [19] Aziz S, Wu Z, Robinson D S. Potato lipoxygenase catalyzed co-oxidation of β -carotene [J]. Food Chemistry, 1999,64(2):227.
- [20] Baldermann S, Naim M, Fleischmann P. Enzymatic carotenoid degradation and aroma formation in nectarines (*Prunus persica*) [J]. Food Research Int, 2005, 38 (8/9):833.
- [21] 李秀红,李冰,李仙,等.一株产香微生物的筛选[C]//中国烟草学会工业专业委员会烟草化学学术研讨会论文集,海南:中国烟草学会,2005.
- [22] Zorn H, Langhoff S, Scheibner M, et al. Cleavage of β , β -carotene to flavor compounds by fungi [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62:331.
- [23] Sanchez-Contreras A, Jimenez M, Sanchez S. Bioconversion of lutein to products with aroma [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 54:528.
- [24] Dion'sio A P, Uenojo M, Barros F F' C, et al. Cleavage of β -carotene for microorganisms isolated in Brazil—A production of β -ionone [J]. J of Biotechnology, 2007, 131 (S): S133.
- [25] 云南烟叶科技信息网.烟草质体色素代谢对烟叶品质的影响[EB/OL].(2006-02-21)[2011-12-25].
<http://www.yntsti.com/utilitytech/View.asp?id=5161>.