

文章编号:1004-1656(2012)11-1771-06

离子液体在番茄红素提取中的应用研究

崔 萌, 胡乐根, 马亭亭, 蔡明建*, 王秀阁
(唐山师范学院化学系, 河北 唐山 063000)

摘要:以1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐([Bmim]BF₄)、1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([Bmim]PF₆)、1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐([Emim]BF₄)、1-乙基-3-甲基溴盐([Emim]Br)、1-丁基-3-甲基咪唑硫酸一氢盐([Bmim]HSO₄)离子液体为萃取剂,并用超声波辅助萃取新鲜番茄中的番茄红素。对离子液体超声波辅助萃取新鲜番茄中的番茄红素的条件进行了优化,优化后的提取条件为:以[Bmim]BF₄为萃取溶剂,离子液体浓度: $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$,在固定超声温度为40℃,超声萃取时间10min,超声波功率380W,料液比1:5(g/mL)时,效果最佳。

关键词:离子液体; 超声波; 萃取; 番茄红素

中图分类号:TQ914.1 **文献标识码:**A

Ultrasonicwave-assisted extraction of lycopene from fresh tomato with ionic liquid

CUI Meng, HU Le-gen, MA Ting-ting, Cai Ming-jian*, Wang Xiu-ge
(Chemistry Department, Tangshan Normal University, Tangshan 063000, China)

Abstract: Applying the ionic liquids, 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate([Bmim]BF₄), 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate([Bmim]PF₆), 1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate([Emim]BF₄), 1-butyl-3-methylimidazolium bromide([Emim]Br) and 1-butyl-3-methylimidazolium hydrosulfate([Bmim]HSO₄) as solvents, the ultrasonicwave-assisted solvent extraction of lycopene from fresh tomato were investigated and the influences of extraction parameters on the extraction yield were discussed. The optimal operating conditions for ultrasonicwave-assisted extraction of lycopene with ionic liquid as solvent was obtained as follows: the suitable solvent used was [Bmim]BF₄ with concentration of $V_{\text{ethanol}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$, ultrasonic temperature was fixed to 40℃, the ultrasonic extraction time was 10 min and the ultrasonicwave power was 380 W, then the extraction effect was excellent.

Key words: ionic liquid; ultrasonicwave; extraction; lycopene

番茄红素(C₄₀H₅₆)是一种类胡萝卜素的天然食用色素。由于其分子中含有多重共轭双键,能高效淬灭单线态氧,清除自由基,抗氧化性能高,具有多种生理保健、预防癌症等作用^[1-3],因而其提取制备广受关注。目前,在番茄红素的制取方法中,酶解法试剂较贵,色谱分离法与超临界流体

提取法设备昂贵,用于中小企业均受限制。常用的有机溶剂提取法^[4-6]虽然成本较低,但由于所用溶剂易挥发,导致生产过程中有机溶剂消耗较大,重复利用率低。

离子液体具有溶解性好、低挥发性、液态范围宽、沸点高等特点,近年来在多个领域都得到了广

收稿日期:2012-02-16; 修回日期:2012-07-30

基金项目:唐山师范学院博士基金项目(10A07)资助

联系人简介:蔡明建(1974-),讲师,研究方向:有机合成及有机功能材料。E-mail: cmj_1237@yahoo.com.cn

泛的应用。张之达等^[7]用离子液体微波辅助萃取川芎中内酯类化合物,李庆龙等^[8]用离子液体微波辅助萃取金银花中绿原酸,都取得了较好效果,但离子液体用于番茄红素的提取研究尚未见报道。

本文采用超声波辅助和离子液体相结合的方法提取番茄中的番茄红素,对影响萃取的主要因素,如超声波功率、萃取时间、料液比等工艺参数进行了研究。实验结果表明采用本法番茄红素的提取率得到较大提高,并且具有污染小,离子液体能重复使用等优点。

1 仪器与药品

KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),722 型光栅分光光度计(上海精科),电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHB-IV_{双A} 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),800 型离心机(上海手术机械厂),DF-II 型集热式磁力加热搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),HDM-500D 型数显搅拌电热套(金坛市丹阳门石英玻璃厂),78HW-1 型恒温磁力搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。

1-甲基咪唑(上海晶纯试剂有限公司,分析纯),溴代正丁烷、溴乙烷、乙酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、乙醚、盐酸、苯胺(天津市富宇精细化工有限公司,分析纯);四氟硼酸钠、六氟磷酸钾(国药集团,分析纯);萘酚(天津市大茂化学试剂厂,分析纯);亚硝酸钠(天津市北方天医化学试剂厂,分析纯);无水硫酸镁(天津市光复精细化工研究所,分析纯);氢氧化钠(天津市津科精细化工研究所,优级纯);市售新鲜番茄乙醇(文中出现均为90%)。

2 实验方法

2.1 离子液体的制备

2.1.1 1-丁基-3-甲基咪唑溴盐的制备 在100mL圆底烧瓶中,加入8.2g(0.1mol)1-甲基咪唑和13.7g

(0.1mol)溴代正丁烷,于70℃下搅拌反应3h,得到淡黄色粘稠状的溴化1-丁基-3-甲基咪唑([Bmim]Br)粗产物。将上述粗产物转移至分液漏斗,加入乙酸乙酯萃取提纯。

2.1.2 1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐的制备 将0.1mol的[Bmim]Br与溶解在20mL去离子水的0.1molNaBF₄混合,在室温下搅拌2h,得到淡黄色混合物,在80℃下减压蒸馏除水至恒重(白色悬浮液),将30mL二氯甲烷和15g无水MgSO₄加入悬浮液,半小时后将悬浮液过滤,旋转蒸发除去二氯甲烷,残余的二氯甲烷在真空干燥箱除去,即得淡黄色液体[Bmim]BF₄。

2.1.3 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐的制备^[9] 将0.22mol[Bmim]Br与溶解在60mL蒸馏水中的KPF₆混合后40℃搅拌反应2h。弃去上层水相,下层油相用蒸馏水洗涤至不含Br⁻,80℃减压干燥5h,得到淡黄色油状离子液体1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐,产率80%。

3.1.4 1-丁基-3-甲基咪唑硫酸一氢盐的制备^[10]

称取22g(0.1mol)[Bmim]Br溶于20mL甲醇中,再向其中加入12.0g(0.1mol)NaHSO₄,40℃下搅拌24h。过滤后的清液经旋转蒸发除去残余的溶剂,得到红色黏性液体,经精制的1-丁基-3-甲基咪唑硫酸一氢盐纯品,产率为86%。

3.1.5 1-乙基-3-甲基咪唑溴盐的制备 将1-甲基咪唑和等物质的量的溴乙烷加到配有回流冷凝和搅拌装置的烧瓶中,常温下反应4h。至形成一透明、金黄色的粘稠状液体,取出物料真空干燥即得离子液体前驱体。

3.1.6 1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐的制备 称取22.0g(0.1mol)[Emim]Br溶于20mL蒸馏水中,再向其中加入0.1mol四氟硼酸钠,室温下搅拌24小时,即得1-乙基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐,经精制得纯品,产率60%。

2.2 番茄红素标准曲线的绘制

由于番茄红素标准品价格昂贵,且见光易分解,而苏丹I与番茄红素有类似的特征吸收峰,故用苏丹I代替番茄红素标准品绘制标准曲线^[11,12,13]。

2.2.1 苏丹I的制备^[14] 称量0.2790g(3.0mmol)苯胺溶解在含有3.0mL浓盐酸的60.00mL去离子水中,溶液用冰冷却,温度保持在0~5℃,在搅拌下加入到14.50mmol冷的亚硝酸钠溶液中。2min中后加

入冷的溶于氢氧化钠溶液(5.0ml 0.2mol)的萘酚(1.0mmol)溶液。出现有颜色的含氮固体化合物,混合物搅拌 10min 后,减压抽滤,最后真空干燥得到苏丹 I 粗品 0.0225g。再通过柱色谱提纯即可。

2.2.2 苏丹 I 标准曲线的绘制^[15,16] 准确称量 25mg 苏丹 I,用无水乙醇溶解并定容至 50mL,标准溶液浓度为 0.5mg/mL。吸取 0.26、0.52、0.78、1.04、1.30 mL 标准溶液分别注入 50mL 的容量瓶中,均用无水乙醇定容至刻度,充分混合,它们分别相当于浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\mu\text{g/mL}$ 的番茄红素试样,以无水乙醇作为空白样品,在 482nm 下测定吸光度值并绘制标准曲线,如图 1 所示。

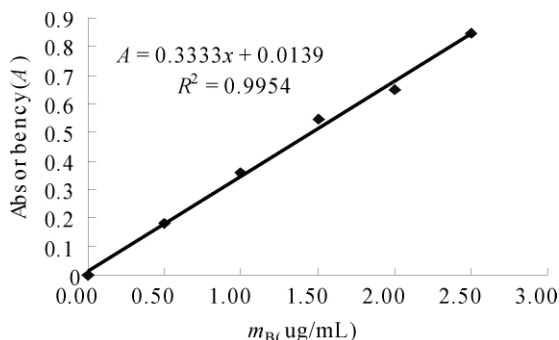


图 1 番茄红素的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of lycopene

2.3 萃取方法

2.3.1 提取工艺流程 新鲜番茄-破碎-离心脱水 3 次-浸提滤液浓缩(溶剂回收)。

2.3.2 分析方法 用紫外分光光度计对番茄红素提取液进行光谱扫描,确定番茄红素的吸收波长为 482 nm,然后在该波长下测定各次实验提取液的吸光度,由吸光度大小比较提取率高低。

2.3.3 番茄的预处理 番茄红素存在于番茄糊的细胞质和细胞液中,被细胞壁和细胞膜包围。要浸出其中的番茄红素,须对脱水番茄糊的细胞壁和细胞膜进行破碎或解离等预处理,本实验采用超声波振荡预处理,然后用离子液体提取。

将新鲜番茄破碎后打成匀浆,过滤除掉水分后用超声波振荡破壁打浆,浆液使用 800 型离心机离心(3000 r/min 5 min),弃去清液留番茄糊备用。称取 5g 处理好的番茄糊于小烧杯中,加入萃取剂在超声波下萃取过滤得到清液,在 722 光栅分光光度计中进行吸光度的测定。

3 结果与讨论

3.1 单因素试验

3.1.1 离子液体种类的选择 采用体积比 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 、 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Emim}]\text{BF}_4}$ 、 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Emim}]\text{Br}}$ 、 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{HSO}_4}$ 、 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{PF}_6}$ 均为 5:1 的 5 种离子液体溶液为萃取溶剂,以料液比 1:6、超声波功率 300W、超声波辅助提取时间设为 5min 作为萃取条件。不同萃取溶剂对番茄红素提取率的影响如图 2 所示。由图 2 可知,所有 5 种离子液体组合中,离子液体的阴阳离子种类对提取率都有影响, $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 溶液提取率最高。可能是由于 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 溶液相对于其余四种离子液体离子的运动分散性好,能更好地与番茄红素分子接触。

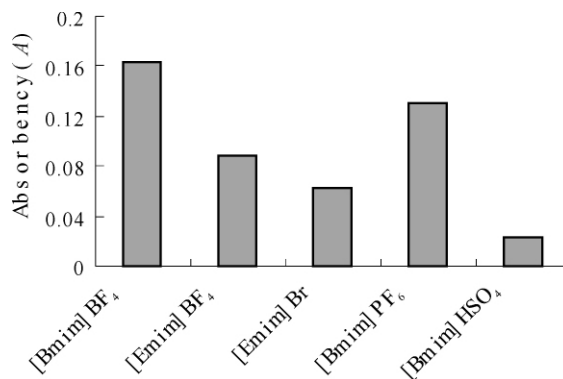


图 2 不同离子液体种类对番茄红素提取率的影响

Fig. 2 Effect of the species of ionic liquids on extraction ratio of lycopene

3.1.2 离子液体浓度的选择 分别以 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 为 1、3、5、7、9 的 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 离子液体溶液为萃取溶剂,料液比为 1:6、超声波功率 300W、超声波辅助提取时间 5 min,不同离子液体浓度对番茄红素提取率的影响如图 3 所示。由图 3 可知,当 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 从 1 增大到 3 时,番茄红素的萃取率逐渐增加。当 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 从 3 继续增加到 9 时,随着离子液体 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 浓度的降低,番茄红素的萃取率也逐渐降低。由于 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 的初始浓度较大,溶液的黏度较高、扩散能力较差,导致其难渗透到番茄样品基质的内部,所以离子液体浓度较大时提取率较小;随着离子液体浓度的减小,分子运动加大,与番茄红素分子之间的吸附左右增大;当 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 超过 3 时,此时的离子液体浓度降低,离子液体当中的离子与番茄红素分子接

触减少,故提取率开始下降。

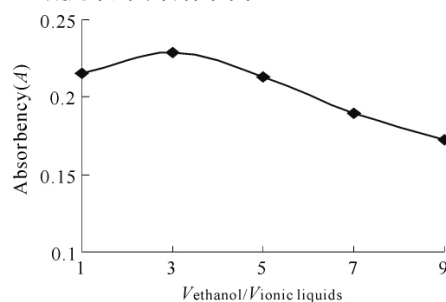


图 3 离子液体浓度对提取率的影响

Fig. 3 Effect of the concentration of ionic liquids on extraction ratio of lycopene

3.1.3 超声波功率对萃取率的影响 考虑到番茄红素的稳定性,因此固定超声温度 40°C ,分别以超声波功率 300、320、340、360、380、400W,设为超声波辅助萃取功率,萃取溶剂为 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 溶液 ($V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$),料液比 1:6、超声萃取时间 5min 作为萃取条件。考察超声波功率对番茄红素提取率的影响,如图 4 所示。

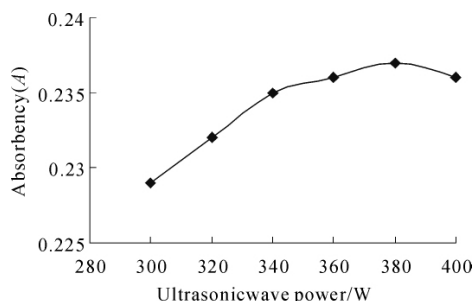


图 4 超声波功率对番茄红素提取率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic power on extraction ratio of lycopene

从图 4 可知,当超声波功率从 300W 增加到 380W 时,番茄红素的提取率增加明显,当超声波功率高于 380W 后,番茄红素的提取率开始下降。提取率随超声波功率增大而增大的原因是由于超声波功率的增大,导致植物细胞分子运动加剧,加速了有效成分的溶解和释放,故提取率增大;提取率随超声波功率增大到一定程度后开始减小的原因是由于当超声波的功率达到一定程度时,溶解在番茄红素中的杂质含量也相应增加,从而使有效成分的溶解量减少,提取率下降。

3.1.4 萃取时间的选择 分别选择 2、4、6、8、10、12、14 min 为超声萃取时间,超声温度 40°C ,超声功率 380W,料液比为 1:6,萃取溶剂为 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 溶液 ($V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$) 作为萃取条件。萃取时间对番茄红素提取率的影响如图 5 所示。

BF_4 溶液 ($V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$) 作为萃取条件。萃取时间对番茄红素提取率的影响如图 5 所示。

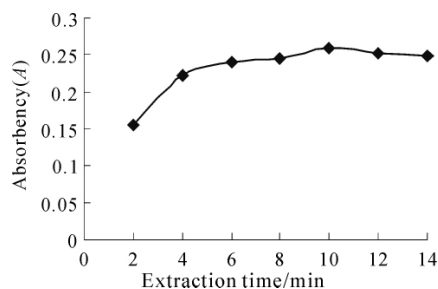


图 5 萃取时间对番茄红素提取率的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on extraction ratio of lycopene

从 2min 增加到 10min 时,番茄红素提取率不断增加,增加效果显著;当时间超过 10min 后,番茄红素提取率增加不明显。这种现象的原因可能为起始溶液中离子液体表面没有被番茄红素分子占据,随着时间的进行,离子液体表面出现了吸附与脱附平衡。

3.1.5 料液比的影响 以超声温度为 40°C 、超声波功率 380W、超声萃取时间 10min、萃取溶剂为 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 溶液 ($V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}=3$),考察料液比为 1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8 的对萃取率的影响。料液比对番茄红素提取率的影响如图 6 所示。

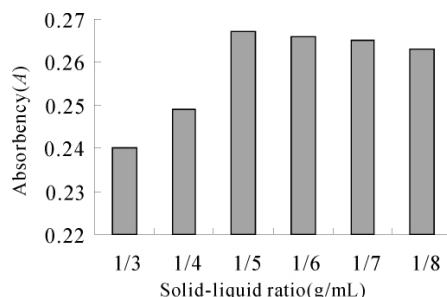


图 6 料液比对番茄红素提取率的影响

Fig. 6 Effect of solid-liquid ratio on extraction ratio of lycopene

从图 6 可知,随料液比的增加,萃取率增大,当增加到 1:5,达到最大,此后萃取率慢慢减小。这可能是因为起始样品浓度过高,杂质的分子运动加剧,抢占了番茄红素在 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 离子上的吸附位置。当料液比减小到一定程度后,萃取剂已将番茄红素充分提出,再增加萃取溶剂已无法增加有效物质的提取率,反而使得已吸附的番茄红素脱附重新回到待提取物中,导致提取率出现轻微减小。

3.1.6 离子液体与传统溶剂的对比研究 为对比传统溶剂和离子液体对番茄红素的萃取效果, 分别采用不含离子液体的乙醇和含 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 的离子液体溶液 ($V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4} = 3$) 对番茄红素进行超声波辅助萃取, 超声波温度固定设为 40°C , 结果如表 1 所示。

表 1 离子液体与传统溶剂的对比数据

Table 1 Comparison between ionic liquid and traditional solvent

溶剂	料液比/ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	萃取时间 /min	超声波 功率/W	吸光度
$V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$	1:5	10	380	0.245
90% 乙醇	1:5	10	380	0.162

表 2 正交试验的因素与水平

Table 2 Factor and level of orthogonal test

水平	因素			
	$V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ (A)	超声波功率 (B) /W	萃取时间 (C) /min	料液比 (D) /($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	7	360	8	1:5
2	5	380	10	1:6
3	3	400	12	1:7

表 3 正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	吸光度
1	1	1	3	2	0.110
2	2	1	1	1	0.116
3	3	1	2	3	0.131
4	1	2	2	1	0.245
5	2	2	3	3	0.223
6	3	2	1	2	0.212
7	1	3	1	3	0.189
8	2	3	2	2	0.198
9	3	3	3	1	0.215
K_1	0.544	0.357	0.517	0.576	
K_2	0.537	0.680	0.574	0.520	
K_3	0.558	0.602	0.548	0.543	
k_1	0.181	0.119	0.172	0.192	
k_2	0.179	0.227	0.191	0.173	
k_3	0.186	0.201	0.183	0.181	
R	0.007	0.108	0.019	0.019	
主次顺序	B>C=D>A				

由表 2 可知, 最优化组合为 $A_3B_2C_2D_1$, 即 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 等于 3, 超声波功率 380W, 萃取时间 10min, 料液比 1:5 (g/mL) 提取番茄红素, 效果最佳。

从表 1 可知, 离子液体溶液作为萃取溶剂更有利于从番茄中萃取出番茄红素, 比 90% 乙醇提高了 51.2%, 其原因可能是由于离子液体的特殊性质促进了番茄红素更易从番茄中溶出。

3.2 正交试验

为了获得最佳工艺条件, 选定 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 离子液体为萃取溶剂, 选择离子液体浓度即 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ (A), 超声波功率 (B), 萃取时间 (C), 料液比 (D) 作为正交试验的 4 个影响因素, 各因素选取 3 个水平。设计正交试验见表 2, 选取 $L_9(3^4)$ 正交表, 试验结果见表 3。

4 离子液体的回收

由于离子液体的密度大, 沸点高, 采用以下方

法进行回收再利用:向混有番茄红素的离子液体中加入与其不互溶的溶剂如乙酸乙酯等来分离出番茄红素,分离出与乙酸乙酯不互溶的离子液体(如1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐),将分离出的离子液体进行吸光度测试,发现其吸光度值与该纯净离子液体的吸光度值相近,并再次应用到番茄红素的萃取当中,吸光度值表明,二次萃取率基本不变。

参考文献:

- [1] Rao A V, Ray M R, Rao L G. Lycopene [J]. *Advances in Food and Nutrition Research* 2006, 51: 99-164.
- [2] Chiu Y T, Chiu C P, Chien J T et al. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly(γ -glutamic acid) as carrier [J]. *J Agric Food Chem*. 2007, 55(13): 5123-5130.
- [3] Omoni A O, Aluko R E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review trends [J]. *Food Sci Technol* 2005, 16: 344-350.
- [4] 路世武, 李师翁, 董玉. 溶剂萃取法提取番茄红素的研究[J]. 兰州交通大学学报(自然科学版), 2006, 25(6): 154-156.
- [5] 曾笑, 王剑云, 曾盛. 食用番茄红素的乙醇提取法[J]. 食品研究与开发 2011, 32(1): 185-188.
- [6] 蔡基智, 周芳梅. 超声法辅助提取番茄渣中番茄红素的工艺研究[J]. 现代食品科技 2010, 26(7): 724-727.
- [7] 张之达, 陈吉平, 李长平, 等. 离子液体微波辅助萃取川芎中内酯类化合物[J]. 过程工程学报, 2010, 10(3): 498-502.
- [8] 李庆龙, 曲有乐, 欧阳小琨. 离子液体微波辅助萃取金银花中绿原酸的研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科

5 结 论

本文研究了离子液体超声波辅助萃取新鲜番茄中的番茄红素的工艺条件,结果如下:以 $V_{\text{乙醇}}/V_{[\text{Bmim}]\text{BF}_4}$ 等于3的 $[\text{Bmim}]\text{BF}_4$ 离子液体为萃取溶液,超声波功率380W,萃取时间10min,料液比1:5(g/mL)提取番茄红素,效果最佳。离子液体经过简单处理后可以重复使用,因而在提取分离中能够循环利用。

- 学版) 2010, 29(1): 30-33.
- [9] 蔡月琴, 彭延庆, 宋恭华, 等. 室温离子液体1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐的合成研究[J]. 化学试剂 2005, 27(1): 1-2.
- [10] 王晓丹, 吴文远, 涂赣峰, 等. 酸性离子液体 $[\text{BMIM}]\text{HSO}_4$ 的合成及其物化性能[J]. 中山大学学报(自然科学版) 2009, 48(6): 69-72.
- [11] 王燕, 刘绍, 刘焱, 等. 番茄红素最佳提取方法的研究[J]. 食品与机械 2005, 21(1): 17-20.
- [12] 吴疆, 李聪. 有机溶剂浸提番茄红素的工艺优化[J]. 食品研究与开发 2009, 30(6): 15-17.
- [13] 邓书平. 番茄红素提取工艺研究[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(1): 151-152.
- [14] Manuel I Velasco, Claudio O Kinen, Rita Hoyos de Ros-si et al. A green alternative to synthesize azo compounds [J]. *Dyes and Pigments* 2011, 90: 259-264.
- [15] 程杨. 番茄红素的提取工艺及检测方法探讨[J]. 食品研究与开发 2010, 31(6): 160-162.
- [16] 王超, 张昭. 番茄红素的提取与稳定性研究[J]. 江苏科技大学学报 2010, 24(2): 188-192.

(责任编辑 罗娟)