

## 薄层层析法(TLC)测定螺菌黄质系类胡萝卜素的 相对极性和稳定性

赵春贵 付乔明 卓民权 杨素萍\*

(华侨大学 生物工程与技术系 福建 厦门 361021)

**摘要:**【目的】阐明不产氧光合细菌螺菌黄质系类胡萝卜素(Car)之间的相对极性和稳定性关系及规律。【方法】以沼泽红假单胞菌 CQV97 为材料,采用薄层层析(TLC),结合图像灰度分析、吸收光谱和 HPLC 等方法,探求了螺菌黄质系 Car 合成途径中各 Car 组分之间的相对极性、光谱特性和光稳定性规律。【结果】TLC 能将 CQV97 菌株积累的 7 种 Car 分离,分别为 Lycopene (C1)、Rhodopin (C2)、3,4-Didehydrorhodopin (C3)、Anhydrorhodovibrin (C4)、Rhodovibrin (C5)、OH-spirilloxanthin (C6)和 Spirilloxanthin (C7);其相对极性由低到高顺序是 C1、C4、C7、C5、C6、C2、C3;依据特征性吸收光谱,这 7 种 Car 分为 3 个群,分别为 C1 和 C2, C3、C4 和 C5, C6 和 C7, Car 合成过程中脱氢反应使 Car 分子共轭体系增大,引起光谱较大幅度的红移(约 10 nm),而水化和羟基甲基化反应则引起较小幅度红移(0–4 nm);光照条件下,7 种 Car 在 TLC 板上均不很稳定,其半衰期在 54–137 min,稳定性顺序依次为 C2>C3≈C7>C5≈C4≈C1≈C6。黑暗条件下,7 种 Car 均在 90 min 内稳定,稳定性顺序与光照条件基本一致。【结论】TLC 能够良好地展示出螺菌黄质系途径中积累的 7 种 Car。TLC 板上的 Car 组分对光敏感,黑暗时短期稳定。本研究将有助于 APB Car 的 TLC 快速鉴别,为快速筛选高稳定性 Car 提供思路和参考。

**关键词:**薄层层析,螺菌黄质系,类胡萝卜素,稳定性,沼泽红假单胞菌

## The relative polarity and stability of each carotenoid of spirilloxanthin biosynthesis pathway by thin-layer chromatography (TLC)

ZHAO Chun-Gui FU Qiao-Ming ZHUO Min-Quan YANG Su-Ping\*

(Department of Bioengineering and Biotechnology, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China)

**Abstract:** [Objective] To elucidate the relative polarity and stability of seven carotenoids accumulated in normal spirilloxanthin biosynthesis pathway of anoxygenic phototrophic bacteria (APB) by thin-layer chromatography (TLC). [Methods] We investigated the changes in polarity, characteristic absorption spectra and stability of seven carotenoids accumulated in spirilloxanthin biosynthetic pathway of *Rhodospirillum rubrum* CQV97 by TLC, image gray intensity

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31070054, 31270106); 福建省自然科学基金项目(No. 2012J01136)

\*通讯作者: Tel: 86-592-6166178; 信箱: yangsuping@hqu.edu.cn

收稿日期: 2013-09-08; 接受日期: 2013-10-22; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-10-29

analysis, absorption spectroscopy and HPLC analysis. **[Results]** Strain CQV97 accumulated seven types of carotenoids including lycopene (C1), rhodopin (C2), 3,4-didehydrorhodopin (C3), anhydrorhodovibrin (C4), rhodovibrin (C5), OH-spirilloxanthin (C6) and spirilloxanthin (C7), the seven carotenoids were clearly separated by TLC. The relative polarity of seven carotenoids on TLC plate changed in the order of  $C1 < C4 < C7 < C5 < C6 < C2 < C3$ . Based on the characteristic absorption spectra, the seven carotenoids fell into three groups: C1 C2, C3 C4 C5 and C6 C7. In successive biosynthetic reaction of spirilloxanthin series carotenoids, dehydrogenation resulted in the increase in number of conjugate double bonds of carotenoids and caused approximately 10 nm redshift of absorption spectra, hydration and methylation of a terminal hydroxyl group caused slightly red-shift approximately 0–4 nm. Under illumination of 2 000 lx, the half-lives of seven carotenoids were within 54–137 min, the stability of seven carotenoids changed in the order of  $C2 > C3 \approx C7 > C5 \approx C4 \approx C1 \approx C6$ . In darkness, the seven carotenoids were stable within 90 min. **[Conclusion]** TLC was capable of resolving clearly all seven carotenoids accumulate in spirilloxanthin biosynthetic pathway of APB. The seven carotenoids on TLC plate were sensitive to illumination and short-term stable in darkness. The results will be helpful for rapid identification of carotenoids by TLC.

**Keywords:** Thin-layer chromatography, Spirilloxanthin series, Carotenoids, Stability, *Rhodopseudomonas palustris*

不产氧光合细菌(Anoxygenic phototrophic bacteria, APB)富含类胡萝卜素(Car)和细菌叶绿素(BChl)两大类光合色素。Car除具有光保护、光能吸收与传递作用外,近年又揭示Car在光合作用单元-色素蛋白复合体的形成和稳定中也不可或缺<sup>[1-4]</sup>,因此,阐明细胞中各Car组分的结构与性质的差异和关系,对于深入认识Car的生理学功能和应用价值均具有重要意义。研究表明,APB Car合成途径主要包括螺菌黄质、球形烯、奥氏酮、异螺菌黄质、胡萝卜素醛、绿菌烯等<sup>[5-6]</sup>,从结构分析,除番茄红素、链孢红素及其前体外,APB Car明显不同于高等植物、真菌、藻类和蓝细菌合成的Car。尽管APB Car生物学活性和稳定性报道较多,但多以混合Car为研究对象<sup>[7-10]</sup>,纯组分Car研究也多集中在植物源番茄红素<sup>[11-15]</sup>,而对APB Car合成途径中各Car组分之间生物学活性和稳定性研究几乎处于空白。

螺菌黄质系Car途径普遍存在于APB中,目前对其组分分析及调控研究取得了较大进展<sup>[3-5]</sup>,但仍未明确各Car之间的相对极性关系和规律。文献表明,正常螺菌黄质系Car从Lycopene合成Spirilloxanthin包括7种色素组分<sup>[3,5]</sup>,在不同菌株中,一般能够积累其中的5–7种,无论是正向

HPLC<sup>[3,16]</sup>,还是反向HPLC<sup>[17]</sup>,这7种Car的相对极性规律基本一致。但本课题组前期研究发现,这7种Car的相对极性在TLC与HPLC分析中有明显差异<sup>[17]</sup>,由于未得到这7种Car的TLC指纹图谱,因此未能阐明TLC板中它们之间的相对极性关系。本文旨在阐明这7种Car之间的相对极性关系和稳定性关系。

HPLC-PAD和HPLC-PAD-MS在Car合成调控研究中发挥着重要作用。因无需昂贵仪器,操作简便快速,分辨率高,结果直观,成本低廉,还能容易地制备少量纯品,TLC也一直是化合物分析和鉴定的重要手段<sup>[18-19]</sup>,随着高效TLC指纹图谱技术的发展<sup>[17,20-21]</sup>,推动了TLC技术广泛而深入的应用。虽然TLC早已用于APB光合色素分析,但至今尚未见到能展示Car合成途径中完整Car组分的TLC图谱,也不清楚这些Car组分在TLC板上的稳定性关系。鉴于此,本文在前期工作基础上<sup>[17]</sup>,选用沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*) CQV97,采用TLC法,经过反复探索,得到了螺菌黄质系7种Car的TLC指纹图谱和层析条件,进一步在TLC板上研究了螺菌黄质系7种Car的光照和黑暗稳定性,阐明了这7种Car之间的相对极性和稳定性关系。本研究不仅有助于

APB 代谢调控过程中 Car 的快速分析, 而且为快速筛选高稳定 Car 提供思路 and 参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株:** 沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*) CQV97, 本实验室分离、鉴定并保存, GenBank 登录号为 EU882154。

**1.1.2 主要仪器和试剂:** CTO-20A 高效液相色谱仪 (SPD-M20A DAD Detector), Shimadzu; UV-3200 PCS 紫外可见分光光度计, MAPADA; 扫描仪, HP Laser Jet M1536dnfMFP。硅胶 G 层析板 (30 mm×100 mm), 青岛海洋化工分厂。甲醇、乙腈及乙酸乙酯为色谱纯, 丙酮、石油醚、正己烷及异丙醇均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 培养基和培养条件

采用改良的 Ormerod 培养基<sup>[17]</sup>, 用 2.46 g/L 乙酸钠替代其中的 6.0 g/L 苹果酸钠。培养条件为 30 °C, 2 500 lx 光照厌氧培养。

### 1.3 色素的提取

收集菌体, 依次用甲醇、丙酮甲醇(7:2, 体积比)和丙酮各提取 1 次, 提取剂与细胞的比例、超声波处理参数等均按文献[17]方法进行, 制备色素提取液。

### 1.4 色素组分的 TLC 分析

在文献[17]基础上, 着重以 Car 条带分辨率为准调整展层剂极性, 经反复摸索, 得到了展层剂配比为石油醚、丙酮、异丙醇、正己烷和甲醇 (8:0.8:0.2:0.75:0.25, 体积比)。扫描仪记录 TLC 图谱, 从 TLC 板上刮取各色带溶于甲醇。HPLC 分析采用反向 C<sub>18</sub> 柱 (Shim-pack VP-ODS, 150 mm×4.6 mm I.D., Shimadzu), PAD 检测器, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL, 流动相 A 为乙腈和水 (90:10, 体积比), 流动相 B 为乙酸乙酯。梯度洗脱程序为 0–15 min 0–45% B, 15–35 min 45%–70% B, 流速 0.7 mL/min。检测波长为 475 nm。依据保留时间、吸收光谱和文献[3,16–17], 对 TLC 板上的各色带

进行定性。

## 1.5 色素的光稳定性分析

将 TLC 板置于恒温光照培养箱中, 2 000 lx 日光灯照射, 温度 20 °C, 以暗盒中的 TLC 板为对照。不同时间取出 TLC 板进行图像扫描, 扫描图像经 Gel-Pro analyzer 软件分析, 将 TLC 图谱转化成灰度(Intensity)曲线。按公式  $I(\%) = I_t/I_0 \times 100$  计算各条带色素的相对灰度( $I$ ), 其中  $I_t$  和  $I_0$  分别为某一时间和起始时的灰度。绘制相对灰度( $I$ )随时间的变化曲线, 通过非线性拟合分析色素的光稳定性变化规律。

## 2 结果与分析

### 2.1 光合色素的 TLC 分析

经反复摸索, 得到了色素的 TLC 图谱(图 1A), 图谱呈现明显的 9 条色带, T1–T7 色带经 HPLC 分析基本上呈单一色素峰(图 1B), 吸收光谱表明这 7 条色带属于 Car(图 1C)。与文献[17]相比, 图 1A 增加了一条弱的紫带(T5), 其特征光谱与 OH-spirilloxanthin 光谱相一致。T8 和 T9 的光谱特征分别与细菌脱镁叶绿素(Bphe)和细菌叶绿素(BChl)*a* 光谱特征一致<sup>[17]</sup>。由此可知: TLC 能良好的分辨出 CQV97 螺菌黄质系 7 种 Car 组分, T1–T7 分别被鉴别为 Lycopene、Anhydrorhodovibrin、Spirilloxanthin、Rhodovibrin、OH-spirilloxanthin、Rhodopin 和 3,4-Didehydrorhodopin, T8 和 T9 被鉴别为 Bphe 和 BChl *a*<sup>[17]</sup>。由于 TLC 和 HPLC 分析的 7 种 Car 的相对极性不一致, 因此, 我们进一步分析了这 7 种 Car 的相对极性和特征光谱的关系, 并与文献进行了比较。

螺菌黄质系合成途径、Car 编号、名称、结构和共轭体系如表 1 所示。7 种 Car 最大吸收波长的变化规律如图 2A 所示。依据吸收光谱, 这 7 种 Car 被分为 3 个群: C1 和 C2, C3、C4 和 C5, C6 和 C7, 其特征光谱与文献报道的 *R. palustris* CGA009、DSM123、NBRC100419 和 Rits 等菌株 Car 特征光谱相吻合<sup>[3]</sup>。由此可见, 在 Car 合成途

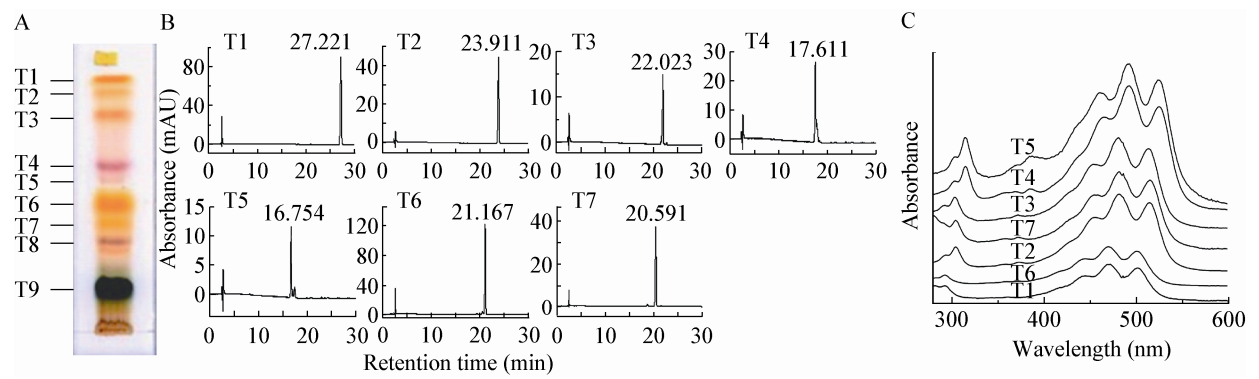
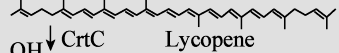
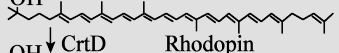
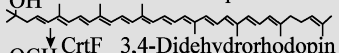
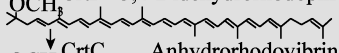
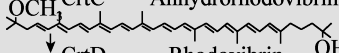
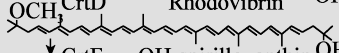
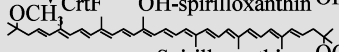


图1 TLC 色素指纹图谱(A)、Car 条带 HPLC 分析(B)和 PAD 检测器测定的吸收光谱(C)

Figure 1 TLC pigment fingerprinting profile (A) from pigment extract, HPLC profile (B) of T1 to T7 pigment bands from TLC plate together with their absorption spectra obtained by PDA (C)

表1 螺菌黄质系 7 种 Car 的 TLC 和 HPLC 分析							
Table 1 TLC and HPLC analysis of seven carotenoids of spirillxanthin series							
Car 合成 顺序 No.	类胡萝卜素合成途径 <sup>[3,5]</sup> Biosynthetic pathway of carotenoid <sup>[3,5]</sup>	共轭双键 n	色带编号 TLC No.	迁移率 <i>R<sub>f</sub></i>	相对极性 <i>P</i> **	保留时间 <i>R<sub>t</sub></i> (min)	特征性吸收峰 Characteristic absorption
C1		11	T1	0.97	0.03	27.221	446, 472*, 502
C2		11	T6	0.48	0.52	21.167	442, 471*, 502
C3		12	T7	0.41	0.59	20.591	454, 482*, 515
C4		12	T2	0.92	0.08	23.917	457, 482*, 514
C5		12	T4	0.63	0.37	17.610	457, 483*, 515
C6		13	T5	0.57	0.43	16.754	461, 493*, 525
C7		13	T3	0.83	0.17	22.023	464, 494*, 526

注：\*\*：  $P=1-R_f$ ；\*：最大吸收波长。

Note: \*\*:  $P=1-R_f$ ；\*：  $\lambda_{max}$ 。

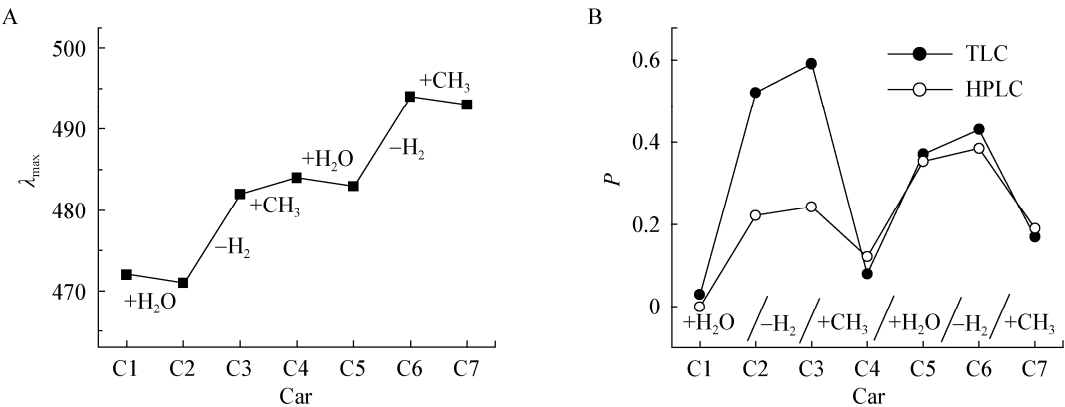


图2 螺菌黄质系 7 种 Car 组分最大吸收波长(A)和相对极性(B)的变化规律

Figure 2 Changes of absorption maxima (A) and relative polarity (B) of seven carotenoids (from C1 to C7)

径中, Car 的水化和末端羟基甲基化过程, 对 Car 的特征吸收光谱影响很小, 红移 0–4 nm, 而脱氢过程则引起 Car 分子共轭体系增大, 光谱明显红移(约 10 nm)。因此, 依据吸收光谱仅可将 Car 归类, 但很难将其鉴别, 必须辅助其它鉴定指标。

在 TLC 分析中,  $R_f$  值反映色素之间的相对极性,  $R_f$  值小, 极性强, 反之则弱。色素 TLC 指纹图谱表明, T1→T9 色带极性依次增大, BChl *a* 和 Bphe 的极性大于 Car 组分, 7 种 Car 的极性也各不相同。以  $P=1-R_f$  表示各色素的相对极性(P), 这 7 种 Car 相对极性由大到小的顺序依次是 C3、C2、C6、C5、C7、C4、C1 (图 2B)。在 Lycopene→Spirillixanthin 合成过程中, Lycopene 分子的两个末端会逐步发生水化→脱氢→羟基甲基化连续反应, 生成 Car 分子的极性也逐步呈现升高→再升高→降低的变化规律, 但两末端极性增加幅度有所不同, TLC 测定结果与合成途径中 Car 极性变化的规律吻合。

在反向 HPLC 分析中, 色素的保留时间( $R_t$ )也能反映各色素极性的大小,  $R_t$  越短, 极性越大。由此可知, 7 种 Car 相对极性由大到小顺序是 C6、C5、C3、C2、C7、C4、C1 (图 2B), 与 *R. palustris* CGA009、Morita、NBRC100419 和 *Rhodospseudomonas* sp. Rits 等菌株正向 HPLC 分析结果一致<sup>[3]</sup>。与 TLC 分析不同之处在于 C6 和 C5 的极性大于 C3 和 C2 的极性。

结果表明, TLC 能够将螺菌黄质系 7 种 Car 良好地分辨, 但 TLC 和 HPLC 分析的 Car 的相对极性不一致。TLC 分析的相对极性由大到小的顺

序是: C3、C2、C6、C5、C7、C4、C1, 而 HPLC 分析的相对极性由大到小的顺序是: C6、C5、C3、C2、C7、C4、C1。

## 2.2 TLC 板上各色素组分的光稳定性

光照和黑暗下放置不同时间的 TLC 图谱变化如图 3 所示。黑暗 1 000 min 内, 除 T9 外, 其余色带颜色均有所减弱(图 3A), 但仍清晰可辨。光照 1 000 min 内, 随时间延长, T9 (BChl *a*)由墨绿色变为灰绿色, T8 (Bphe)也明显减弱, T1–T7 Car 褪色尤为严重(图 3B)。各色带灰度曲线(图 4A 和 4D)、各色带相对灰度随时间变化曲线(图 4B 和 4E)和 7 种 Car 相对灰度随时间变化关系(图 4C 和 4F)的结果表明, 黑暗 90 min 内, 各色带灰度无明显变化, 但随时间的延长, 则表现出差异, T9 最稳定, T8 次之, 7 种 Car 稳定性高低顺序为 C2、C3、C4、C7、C5、C6、C1, 其中 Lycopene (C1)最不稳定。

20 °C、2 000 lx 日光灯照射, 各色素均不稳定。BChl *a* (T9)灰度值虽然稳定, 但颜色发生了明显变化, Bphe (T8)次之, 色带的灰度约保留 50%, 各 Car 光稳定性也表现出差异, 光照 70 min 时, 各 Car 相对稳定性顺序和变化规律与黑暗条件下基本一致, 随着时间的延长, Car 相对稳定性顺序发生了一些变化。衰减速率常数( $k$ )和半衰期( $\tau$ )是客观评价物质稳定性指标, 为了更好地比较 7 种 Car 之间的稳定性, 对图 4E 数据进行了非线性拟合, 拟合方程如表 2 所示, 结果显示, 各色带灰度的衰减过程均良好地符合单指数( $I=Ae^{-kt}+C$ )模型, 关系

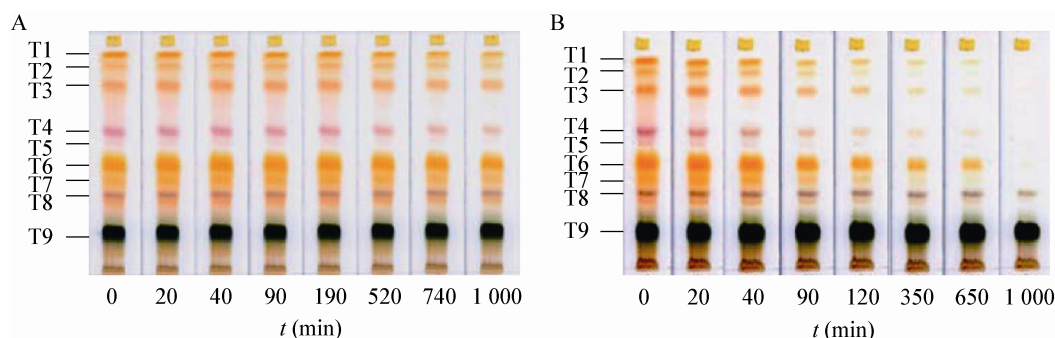


图 3 TLC 板上各色素组分对黑暗(A)和光照(B)处理的稳定性

Figure 3 The stability of each pigment band on TLC plate treated with dark (A) and illumination (B)

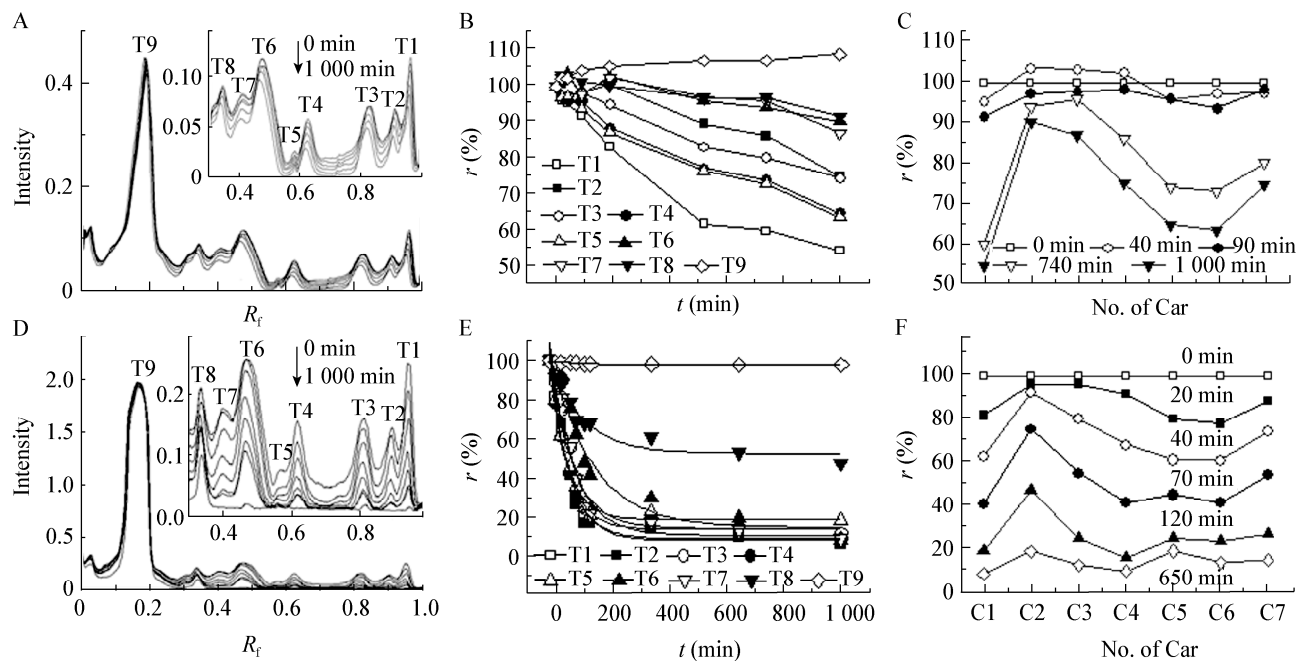


图 4 TLC 图谱灰度曲线(A、D)，各色带灰度残留率曲线(B、E)和 7 种 Car 灰度残留率(C、F)  
Figure 4 The curves of gray intensity of TLC profiles (A, D), the residual rate curves of T1 to T9 (B, E) as well as the residual rate of seven carotenoids (C, F) with increasing time

注：A、B 和 C：黑暗处理；D、E 和 F：光照处理。  
Note: A, B and C: Dark treatment; D, E and F: Illumination treatment.

表 2 TLC 各色带灰度衰减过程的拟合方程、衰减速率常数和半衰期							
Table 2 The fitting equations of intensity attenuation, the rate constant of attenuation and half-lives of the pigment bands on TLC (20 °C, 2 000 lx)							
Car 合成顺序编号 No.	色带编号 TLC No.	拟合方程 Fitting equations $I=Ae^{-kt}+C$	关系系数 $R^2$	衰减速率常数 $k(x\pm s, \times 10^{-2} \text{ min}^{-1})$	半衰期 $\tau \text{ (min)}$	半衰期比值 $\tau/\tau^*$	速率常数 比值 $k/k^*$
C1	T1	$I=94.60e^{-0.0152t}+8.748$	0.987 1	$1.52\pm 0.13$	54.6	1.00	1.00
C2	T6	$I=91.42e^{-0.0069t}+14.65$	0.953 8	$0.69\pm 0.12$	137.1	2.51	0.46
C3	T7	$I=99.06e^{-0.0122t}+10.64$	0.950 8	$1.22\pm 0.20$	75.6	1.38	0.80
C4	T2	$I=100.4e^{-0.0155t}+7.946$	0.959 5	$1.55\pm 0.23$	56.3	1.03	1.02
C5	T4	$I=87.70e^{-0.0163t}+13.74$	0.987 9	$1.63\pm 0.13$	56.9	1.04	1.07
C6	T5	$I=83.40e^{-0.0173t}+18.89$	0.987 5	$1.73\pm 0.14$	54.1	0.99	1.14
C7	T3	$I=91.19e^{-0.0128t}+14.21$	0.972 6	$1.28\pm 0.15$	73.2	1.34	0.84

系数( $R^2$ )均大于 0.95，其中  $k$  为衰减速率常数。根据拟合公式，计算出了色素灰度衰减的半衰期( $\tau$ )。为了更简便地观察 7 种 Car 相对稳定性关系,我们给出了各 Car 与 Lycopene  $k$  的比值( $k/k^*$ )和  $\tau$  比值( $\tau/\tau^*$ )的关系,如图 5 所示,衰减速率常数( $k$ )小,半衰期长,色素稳定性较高,依据  $k$  可知,7 种 Car 稳定性高低顺序依次为 C2>C3≈C7>C1≈C4≈

C5≈C6,其  $k$  在 $(0.69\text{--}1.73)\times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  范围内;由  $\tau$  可知,Car 稳定性高低顺序为 C2>C3≈C7>C5≈C4≈C1≈C6,其  $\tau$  在 54–137 min 范围内。由此可见,尽管二者稳定性的排列顺序有一定的差异,但 7 种 Car 光稳定性明显地分为 3 个等级,即 C2, C3 和 C7, C5、C4、C1 和 C6,二者之间能够良好地统一。

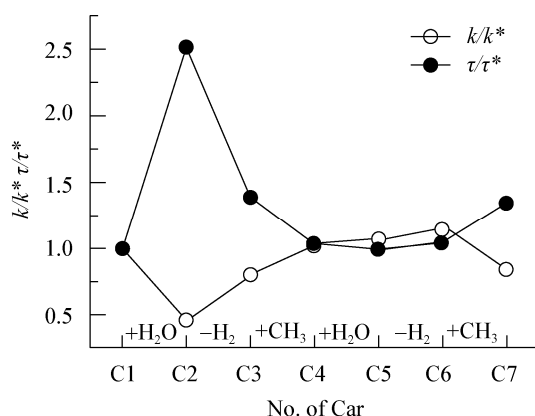


图5 螺菌黄质系各 Car 组分的光稳定性变化规律

Figure 5 The change of light stability of seven carotenoids accumulated in spirillxanthin pathway

综上所述,光照条件下,螺菌黄质系 7 种 Car 在 TLC 板上均很不稳定,结构不同,稳定性也存在差异,可明显地分为 3 个等级,即 C2 稳定性最高, C3 和 C7 次之,其余 4 种 Car 最低且相近,其中 C2、C3 和 C7 三种 Car 的稳定性明显高于 Lycopene。而黑暗条件下 7 种 Car 均在 90 min 内稳定, Lycopene 的稳定性也还是最低。无论黑暗还是光照,随着合成途径中 Car 结构的衍生(表 1),其稳定性变化规律是一致的。

### 3 讨论

极性、吸收光谱和稳定性是 Car 的基本性质。近年来, APB Car 的定性研究多采用 HPLC-PDA 和 HPLC-PDA-MS 分析,但因仪器设备昂贵,很难普及。另一方面,虽然主要 Car 合成途径基本明确,但其合成调控机制,尤其是 Car 如何在膜上合成还尚不清楚,仍缺乏实验证据。色素蛋白复合体晶体结构分析虽然明确了 Car 在 PPC 中的排列方式,但合成途径中多种共存的 Car 是否都参与 PPC 功能、它们在 PPC 中是如何排布,如何协同发挥各自功能都还缺乏系统研究。因此,深入分析合成途径中多种 Car 种类和结构与其基本性质(极性、吸收光谱和光稳定性等)之间的变化关系和规律,不仅有助于 APB Car 的快速鉴别,而且对于深入理解多种 Car 的合成调控机制、膜定位规律,以及

Car 开发与应用都具有重要意义。

本研究经过反复摸索,采用 TLC 法,得到了螺菌黄质系 7 种 Car 高分辨的 TLC 图谱和层析条件,各色带经反向 HPLC 分析所得的 Car 相对极性顺序、吸收光谱与文献[3, 16-17]良好地吻合,但 TLC 板上各色带的相对极性与 HPLC 分析结果有明显差异。经数十次的 TLC 层析,虽然不同批次 TLC 层析各色带的  $R_f$  稍有差异,但其在 TLC 板上的相对极性排序不变,而且各 Car 组分也能够与 HPLC 一一对应。由于存在吸附剂、洗脱剂(展层剂)和物质的结构三者之间的相互作用,因此测定的物质极性是相对的、表观的,而不是物质本身的绝对极性,测定方法不同,色素的表观相对极性将存在差异,但若方法确定,这几种色素的相对极性将保持一致,有利于色素的识别和鉴定。

目前关于 APB Car 稳定性已有较多研究,但多为液体混合 Car,主要以皂化或酸化萃取的 Car 进行研究,其组成和含量都不很明确。总的来说,虽然 Car 不很稳定,但在液体体系中对光仍具有一定的稳定性,在黑暗中稳定性较好<sup>[7-8]</sup>。本研究在 TLC 板上直接比较了螺菌黄质系 7 种 Car 组分的稳定性,与液体混合 Car 稳定性<sup>[7-8]</sup>相比, TLC 板上各 Car 组分的稳定性明显降低,稳定性因 Car 结构而异。2 000 lx 光照下, 7 种 Car 半衰期在 54–137 min 之间,即使在黑暗中,也仅在 90 min 内稳定。这提示,若采用 TLC 法制备 Car 样品,应该在 90 min 内将其转入液体体系中, Car 组分将会更稳定。Lycopene 是备受关注的 Car, 黑暗下,螺菌黄质系其它 6 种 Car 稳定性均高于 Lycopene, 2 000 lx 光照下, Rhodopin、3,4-Didehydrorhodopin 和 Spirilloxanthin 稳定性高, Anhydrorhodovibrin、Rhodovibrin 和 OH-spirilloxanthin 的稳定性相近, Lycopene 最低。在 Car 合成过程中, Car 稳定性变化规律以及末端产物 Car 稳定性增强,是否与 Car 的胞内定位和分布有关,有何生物学意义目前尚不清楚。Car 在 TLC 板与液体中的稳定性,以及与体内稳定性的关系怎样还有待



于进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Gall A, Henry S, Takaichi S, et al. Preferential incorporation of coloured-carotenoids occurs in the LH2 complexes from non-sulphur purple bacteria under carotenoid-limiting conditions[J]. *Photosynthesis Research*, 2005, 86(1): 25-35.
- [2] Šlouf V, Chábera P, Olsen JD, et al. Photoprotection in a purple phototrophic bacterium mediated by oxygen-dependent alteration of carotenoid excited-state properties[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(22): 8570-8575.
- [3] Mizoguchi T, Isaji M, Harada J, et al. Identification of 3,4-didehydrorhodopin as major carotenoid in *Rhodospseudomonas* species[J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2008, 7(4): 492-497.
- [4] Moskalenko AA, Makhneva ZK. Light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria *Allochrochromatium minutissimum* assembled without carotenoids[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2012, 108: 1-7.
- [5] Takaichi S. Distribution and biosynthesis of carotenoids[A]//Hunter CN, Daldal F, Thurnauer MC, et al. *The Purple Phototrophic Bacteria*[M]. The Netherlands: Springer, 2009, 97-117.
- [6] Vogl K, Bryant DA. Elucidation of the biosynthetic pathway for Okenone in *Thiodictyon* sp. CAD16 leads to the discovery of two novel carotene ketolases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(44): 38521-38532.
- [7] 韩永斌, 刘桂玲, 陈德明, 等. 光合细菌类胡萝卜素的稳定性研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(3): 43-46.
- [8] 李东风, 杜近义, 秦际威. 沼泽红假单胞菌类胡萝卜素稳定性的研究[J]. *浙江农业学报*, 1998, 10(2): 90-93.
- [9] 黄贵闽, 邱宏端, 刘捷豹. 莢膜红假单胞菌类胡萝卜素的稳定性能初探[J]. *福州大学学报*, 2006, 34(4): 616-619.
- [10] 郝常明, 王德培, 丁友日方. 光合细菌中类胡萝卜素的提取及性质的研究[J]. *天津轻工业学院学报*, 1999(3): 5-11.
- [11] 钱卫, 王肇颖, 韩波, 等. 光合细菌中番茄红素的研究[J]. *山东大学学报*, 2004, 39 (3): 111-115.
- [12] Lee M, Chen B. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system[J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(4): 425-432.
- [13] 罗金凤, 任美燕, 陈敬鑫, 等. 番茄红素生理功能及保持其稳定性方法的研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(19): 279-283.
- [14] Anita A, Hong S, Sanjiv A, et al. Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and *in vivo* antioxidant properties[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2001, 4(1): 9-15.
- [15] Jian C, John S, Sophia JX, et al. Comparison of lycopene stability in water-and oil-based food model systems under thermal-and light-irradiation treatments[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42: 740-747.
- [16] Mizoguchi T, Isaji M, Harada J, et al. Compositional analysis of carotenoids in a purple photosynthetic bacteria, *Rhodospseudomonas* sp. strain Rits, upon irradiated light intensity. *Photosynthesis*[J]. *Energy from the Sun*, 2008: 273-278.
- [17] 卓民权, 赵春贵, 程茜茹, 等. 紫细菌光合色素指纹图谱的建立与色素分析[J]. *微生物学报*, 2012, 52(6): 760-768.
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [19] Zarzycki PK, Slaczka MM, Zarzycka MB, et al. Application of micro-thin-layer chromatography as a simple fractionation tool for fast screening of raw extracts derived from complex biological; pharmaceutical and environmental samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 688(2): 168-174.
- [20] Henderson M. Thin-layer chromatography of free porphyrins for diagnosis of porphyria[J]. *Clinical Chemistry*, 1989, 35(6): 1043-1044.
- [21] Lai CK, Lam CW, Chan YW. High-performance thin-layer chromatography of free porphyrins for diagnosis of porphyria[J]. *Clinical Chemistry*, 1994, 40(11): 2026-2029.