周乐松, 邹晓君, 陈佳玲, 等. 虾青素光异构化机理: 实验与量子化学相结合研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(5): 92−100. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020096

ZHOU Lesong, ZOU Xiaojun, CHEN Jialing, et al. Mechanism of Photoisomerization of Astaxanthin: Experimental and Quantum Chemistry Study[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(5): 92−100. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020096

· 研究与探讨 ·

虾青素光异构化机理：实验与量子化学相结合研究

周乐松, 邹晓君, 陈佳玲, 肖　杰, 曹　庸, 刘晓娟*

（华南农业大学食品学院, 广东省功能食品活性物重点实验室, 广东广州 510642）

摘　要: 为探究虾青素（astaxanthin，AST）的光异构化机理，采用 HPLC 技术和 Q 值法分析光催化转化 AST 的顺式构型种类和含量，通过密度泛函理论对 AST 构型进行优化与频率分析，计算得到全反式（all-E）和顺式（Z）AST 相互转化的热力学、动力学和能量参数。结果表明，全反式 AST 在光催化下主要形成 9 顺式（9-Z）和 13 顺式（13-Z），13-Z 含量（17.72%）显著高于 9-Z（13.57%）（P<0.05）。光照后，中性 AST 分子形成双自由基，双键容易发生扭转。全反式 AST 的前线轨道能隙差最小，更容易从基态转变为激发态，从而异构为其它构型；根据吉布斯自由能，AST 异构体的相对稳定性顺序为：全反式>9-Z>13-Z>15-Z，与实验结果趋势基本相符；全反式 AST 形成 9-Z 的活化能高于 15-Z 和 13-Z，单顺式 AST 转化为多顺式的活化能远高于全反式 AST 转化为单顺式异构体；13-Z 构型生成速率分别约为 15-Z 和 9-Z 的 4 倍和 100 倍，且相互转化的隧穿效应可以忽略不计，与实验中多顺式异构体难以观察到相吻合，同时阐明实验中出现的 13-Z AST 比例显著高于 9-Z 的原因。研究结果揭示了 AST 可控实现异构体的生成机制，同时为其它类胡萝卜素异构化研究提供理论基础。

关键词: 虾青素, 异构化, 量子化学, 全反式异构体, 顺式异构体

中图分类号: TS202.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)05−0092−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020096

本文网刊:

Mechanism of Photoisomerization of Astaxanthin: Experimental and Quantum Chemistry Study

ZHOU Lesong, ZOU Xiaojun, CHEN Jialing, XIAO Jie, CAO Yong, LIU Xiaojuan*

（College of Food Science, South China Agricultural University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, Guangzhou 510642, China）

Abstract: To investigate the photoisomerization mechanism of astaxanthin (AST), the types and contents of Z-configuration in photocatalytic conversion of AST were analyzed by HPLC and Q value method. Additionally, the AST configuration was optimized and frequency analysis was performed using density functional theory (DFT). Thermodynamic, kinetic, and energetic parameters of all-E- and Z-AST isomers were further calculated. The results demonstrated that 9-Z- and 13-Z-isomers were predominantly generated under photocatalysis, with the 13-Z content (17.72%) being significantly higher than 9-Z (13.57%) (P<0.05). Upon illumination, neutral AST molecules generated diradicals, facilitating bond twisting. All-E AST exhibited the smallest frontier orbital energy gap, promoting its transition from the ground state to the excited state, and subsequent isomerization into other configurations. Gibbs free energy analysis revealed the following stability order of AST isomers: all-E>9-Z>13-Z>15-Z, basically consistent with experimental observations. Moreover, the activation energy for all-E→9-Z conversion was higher than for all-E→15-Z/13-Z, while single-Z→double-Z isomerization required significantly higher energy than all-E→mono-Z conversion. Notably,

收稿日期: 2025−02−17

基金项目: 广州市重点研发计划项目（SL2022B03J00806）; 国家自然科学基金（32172195）。

作者简介: 周乐松（1998−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品学, 食品生物化学及营养学, E-mail: lesongzhou@163.com。

*** 通信作者:** 刘晓娟（1980−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品学、食品生物化学及营养学, E-mail: liuxj@scau.edu.cn。

the 13-Z-isomer formation rate was about 4-fold and 100-fold higher than that of 15-Z> and 9-Z, respectively. The negligible tunneling effect during mutual transformation explained the scarcity of multi-Z-isomers in experiments and the predominance of 13-Z over 9-Z AST. Collectively, these findings elucidate the controlled generation mechanism of AST isomers and establish a theoretical framework for carotenoid isomerization.

Key words: astaxanthin; isomerization; quantum chemistry; all-E-isomer; Z-isomer

虾青素(3,3′-二羟基-4, 4′-二酮基-β,β′-胡萝卜素, astaxanthin, AST)是一类脂溶性酮式类胡萝卜素, 由于其强大的抗氧化、抗炎、提高免疫以及着色能力, 在医药、保健食品、化妆品以及养殖领域广泛使用[1−4]。AST 的结构中包含 2 个 β-紫罗兰酮环以及 11 个共轭双键, 加热或光照下双键扭转使得 AST 产生多种异构体, 如全反式(all-E)、9 顺式(9-Z)和 13 顺式(13-Z)等。近年来的研究表明, 全反式 AST 在加热、光照、高压、微波以及添加催化剂等作用下实现向顺式异构体的转化[5]。最新研究报道, 富含顺式异构体的 AST 发挥更强的健康效应, 如抗衰老、抗炎、降脂等[6−7]。因此, 类胡萝卜素(包括 AST)顺式异构化的形成过程和机制逐渐受到关注, 尽管已有一些初步研究, 但具体机理仍需进一步探讨和验证。

类胡萝卜素异构化过程仍存在共性的难题有待阐明, 如全反式向顺式构型转化的具体路径, 转化后的终产物, 以及转化过程需要的反应条件等, 上述关键环节的机理缺失制约了人们对类胡萝卜素异构化过程的系统性理解。同样, 现有的技术水平阻碍了 AST 顺式异构体形成机理的揭示。目前, AST 异构体的检测主要结合高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)以及二极管阵列检测器, 对全反式 AST 的异构化产物进行定性和定量分析[8]。但是 AST 异构化中产生的痕量中间体却难以捕获, 为了鉴定 AST 的异构化过程中的中间产物, 需要结合高分辨率仪器, 如超高分辨率质谱等进行分析[9]。由于中间体结构相似, 难以分离和纯化, 因此 AST 顺式转化机理还有待进一步探索。

量子化学在类胡萝卜素领域的应用在过去二十年中获得了关注, 通过分子轨道理论、价键理论、溶剂化模型、势能面理论等量化方法可以得到类胡萝卜素各种反应的计算参数。以往量子化学计算报道集中于类胡萝卜素与蛋白结合后或聚集状态下光谱的变化、类胡萝卜素自由基与金属离子结合的能量变化、类胡萝卜素抗氧化活性研究等[10−11]。对于类胡萝卜素异构化机理研究仍有很大探索空间。利用量子化学揭示类胡萝卜素异构化过程的工作主要从 β-胡萝卜素开始, Guo 等[12] 利用密度泛函理论在 B3LYP/6-31G(d)水平上对开壳层(一个以上亚层未充满的电子组态)单重态和三重态 β-胡萝卜素进行计算。通过比较不同 β-胡萝卜素异构体分子的能量, 证明了 β-胡萝卜素异构体的稳定性顺序为: 全反式>9 顺式>13 顺式>15 顺式。此外, 他们还揭示了 13 顺式 β-胡萝卜素的旋转势垒能量最低。以往的研究虽然计算了不同类胡萝卜素异构体的能垒, 但并未采用量子化学结合实验对类胡萝卜素进行分析, 同时也未进一步分析类胡萝卜素异构化过程的结构变化、能量变化以及速率变化等。

基于此, 为揭示 AST 的光异构化机理, 包括顺式异构体生成类型及其原因, 本研究采用 HPLC 和 Q 值法分析 AST 光催化转化的顺式构型种类和含量, 在 B3LYP/6-31G(d)水平上计算研究全反式(all-E)和顺式(Z)AST 相互转化的热力学参数、前线轨道、活化能和转化速率, 同时利用量子化学理论揭示光催化转化实验的异构化现象。本研究有望揭示 AST 可控实现异构体的生成机制, 以期为其它类胡萝卜素异构化研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

全反式 AST(纯度>99%)　广东巨元生化有限公司; 顺式 AST(纯度为 31.30%, 其中 9 顺式和 13 顺式分别为 13.57% 和 17.73%)、9 顺式 AST(纯度为 88.31%)、13 顺式 AST(纯度为 95.68%)　实验室制备; 二氯甲烷(分析纯)、无水乙醇(分析纯)　天津富宇精细化工有限公司; 碘(分析纯)　天津福晨化学试剂有限公司。

LC-15C 高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器)　日本岛津公司; RE212 旋转蒸发仪　上海亚荣生化仪器厂; LED 灯　温州蔚来电气技术有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　顺式虾青素制备　称量 200 mg 全反式 AST 溶解于 100 mL 二氯甲烷中, 在 25 ℃ 温度条件下, 放置于 LED 灯下(光强 150 lx, 波长范围 450~465 nm)光照搅拌 10 min, 进行全反式 AST 光异构化, 得到含一定顺式比例的 AST 固体粉末, 即光异构化 AST。然后用无水乙醇溶解光异构化 AST, 超声悬浮, 放置于 4 ℃ 冰箱静置 2 h, 以 4000 r/min 离心 20 min, 去除沉淀后, 用 0.22 μm 聚四氟乙烯有机系滤膜过滤后, 旋蒸至干, 将 Z-AST 粗提样放置于 −20 ℃ 保存。

接下来采用 200~300 目硅胶粉进行柱层析, 配制正己烷/二氯甲烷/甲醇(100/200/3, v/v)洗脱剂, 用二氯甲烷溶解 Z-AST 初提样, 以 3.5 mL/min 流速匀速洗脱, 取不同分离时间段样品, 进行薄层色谱法分析。根据硅胶板上的比移值, 合并收集后氮吹, 得到 9 顺式和 13 顺式 AST。

1.2.2　高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)检测条件和分析　取上述

光异构化 AST, 全反式以及制备得到的 9 顺式和 13 顺式 AST 样品分别加入 4.95 mL 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解, DMSO 不会造成 AST 降解及构型改变[13]。HPLC 检测条件为: 流动相 A 相为一级水, 流动相 B 相为甲醇/乙腈/二氯甲烷(85/5/5, v/v)的混合溶液。A 相比例 5%, B 相为 95%, 流速为 1 mL/min。进样量 20 μL, 运行时间为 20 min, 柱温为 25 ℃, 紫外检测器波长为 476 nm, 采用等度洗脱方式对 AST 及其异构体进行检测。

根据 HPLC 保留时间, HPLC 二极管阵列检测器生成的电子吸收光谱中顺式峰(约 360 nm)与异构体的主要吸收峰的相对强度相比, 得到 Q 值, 鉴定全反式、顺式 AST、9 顺式 AST、13 顺式 AST。通过对 HPLC 图谱 476 nm 处峰面积积分对 AST 异构体进行定量分析。

顺式 AST 含量(%)计算公式如下:

$$\text{顺式AST含量}(\%)=\frac{\text{顺式AST总面积}}{\text{AST总面积}}\times 100$$

1.2.3 虾青素光异构化量子化学计算方法 计算步骤: B3LYP 方法是一种混合泛函, 由贝克(Becke)的三重杂化泛函、李-杨(Lee-Yang)-帕尔(Parr)的局部密度近似(local density approximation, LDA)、恩泽霍夫(Ernzerhof)的梯度修正三个部分构成[14−15]。在以往报道中, B3LYP/6-31G(d)基组已被证明计算类胡萝卜素的旋转势垒是可靠的。参考 Guo 等[12] 的做法并加以改进, 通过 Gauss view 6.0 软件在气相(真空)条件下中构建全反式、9 顺式、13 顺式、15 顺式 AST 中性分子与双自由基的分子模型, AST 分子的自由基形态由自旋多重度控制, 中性分子与双自由基的自旋多重度均设置为 1。

在密度泛函(density functional, DFT)法的 B3LYP/6-31G(d)基组水平下对其构型进一步优化与频率分析, 结果振动频率无负值, 虚频为零, 得到完全优化的稳态点的吉布斯自由能。考虑到溶剂对 AST 异构化的影响, 使用极化连续介质模型(polarized continuum model, PCM)的二氯甲烷, 并在密度泛函法(DFT 法)的 B3LYP/6-311++G(d,p)基组水平下, 温度设置为 298.15 K(25 ℃)计算得到单点电子能。加上在真空条件下优化与频率分析得到的吉布斯自由能进行热修正, 得到了参与电荷转移反应的各物质的绝热吉布斯自由能, 同时在密度泛函法(DFT 法)的 B3LYP/6-311++G(d,p)基组水平下计算前线轨道能。

计算使用密度泛函理论(DFT)、极化连续介质模型(PCM)均在高斯 16(Gaussian 16)和 Gaussview 6.0 中实现[16]。在相同温度条件下, 通过 Shermo 程序计算热力学数据, 并导入 TST calculator 计算 AST 异构化反应速率常数[17−18]。

1.3 数据处理

每组实验重复测定三次, 结果表示为平均值±标准差。利用软件 SPSS22.0 对实验数据进行显著性分析, $P<0.05$ 为差异显著, 使用 Origin 绘制图像。

2 结果与分析

2.1 全反式虾青素的光异构化及其异构体鉴定

天然来源的 AST 大多为全反式构型, 异构化需要光或热的形式提供能量, 从而打断共轭双键中彼此连贯重叠形成的离域 π 键, 因此光和热成为影响 AST 异构化的主要因素[19]。如图 1A 为全反式 AST 光异构化的 HPLC 色谱图, 根据 AST 异构体的出峰保留时间(图 1B~D)和纯化后各峰电子吸收图谱的 Q 值(图 1E~G), 即顺式峰的吸光度与主峰吸光度的比值, 结合以往文献报道[8,20], 进一步鉴定峰 1、峰 2 和峰 3 分别为全反式(all-E)、9 顺式(9-Z)和 13 顺式(13-Z)AST(表 1)。由此可见, 全反式 AST 在光照作用下异构化主要生成 9 顺式和 13 顺式构型, 其含量分别为 13.57% 和 17.72%。然而, 通过实验手段难以阐明 AST 顺式化的优选途径, 因此后续借助量子化学手段来揭示 AST 顺式异构化机理。

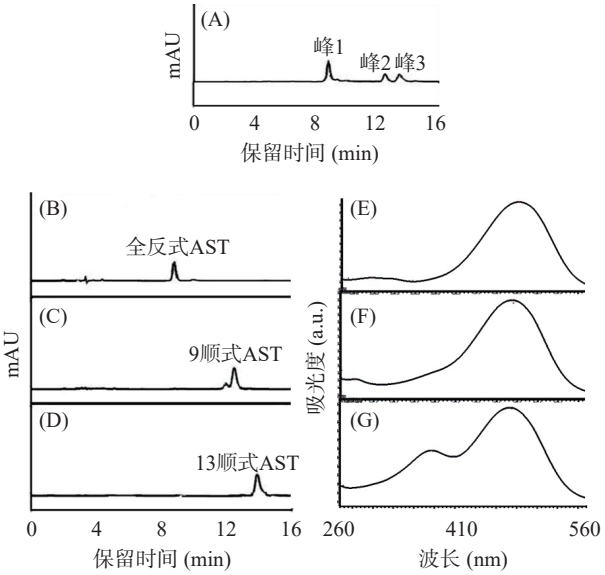


图 1 光异构化 AST(A)、全反式(B)、9 顺式(C)、13 顺式(D)AST 的 HPLC 色谱图以及对应的电子吸收光谱(E~G)

Fig.1 HPLC chromatograms of AST after photoisomerization (A), all-E (B), 9-Z (C) and 13-Z (D) astaxanthin and corresponding electronic absorption spectra (E~G)

表 1 虾青素异构体保留时间、吸收波长及其 Q 值

Table 1 Retention time, absorption wavelength and Q value of astaxanthin isomers

峰	AST 异构体	保留时间(min)	顺式峰波长(nm)	主峰波长(nm)	Q值		
					测定值	报道值[8,20]	
峰1	全反式	8.31	373	469	0.11	0.09	−
峰2	9顺式	11.34	381	477	0.15	0.11	0.20
峰3	13顺式	12.27	371	467	0.55	0.55	0.52

2.2 虾青素的分子几何构型

通常认为类胡萝卜素顺式几何异构体的形成, 是通过单线态双自由基介导进行的, 全反式构型在形成双自由基后, 经过介于单键与双键的新形成键的旋

转，形成不同顺式异构体[21]。类胡萝卜素通过调节自旋多重度来生成非自由基态（中性分子）和自由基态（如双自由基），因此，构建 AST 中性分子和双自由基结构，并在此基础上进行量化计算[22]。

全反式和顺式 AST 的中性和双自由基优化结构如图 2 所示，并在此基础上计算吉布斯自由能（Gibbs free energy）（表 2）。吉布斯自由能为化学热力学中判断过程进行的方向而引入的热力学函数[23]。中性分子在化学反应中通常不直接参与电荷转移，因为它们不带电荷，所以在自然状态下，AST 均为基态，即中性分子。中性分子中，AST 吉布斯自由能的大小顺序为：15 顺式>13 顺式>9 顺式>全反式（分子结构如图 3）。在热力学上，全反式是 AST 最稳定的异构体，9 顺式相较其它两种顺式稳定，15 顺式为最不稳定的异构体，因此实验以及自然界中主要观察到 9 顺式和 13 顺式。双自由基指一个体系里有两个未成对电子，它们的自旋相反，为单重态体系。在光照作用下，AST 跃迁到激发态，即单重态参与异构化反应，因此双自由基形式的 AST 是异构化的初始形态。在双自由基状态下，双键获得了类似普通键（介于单键和双键之间的共价键）的性质，围绕键的旋转使得激发态全反式和顺式 AST 之间相互转换，因

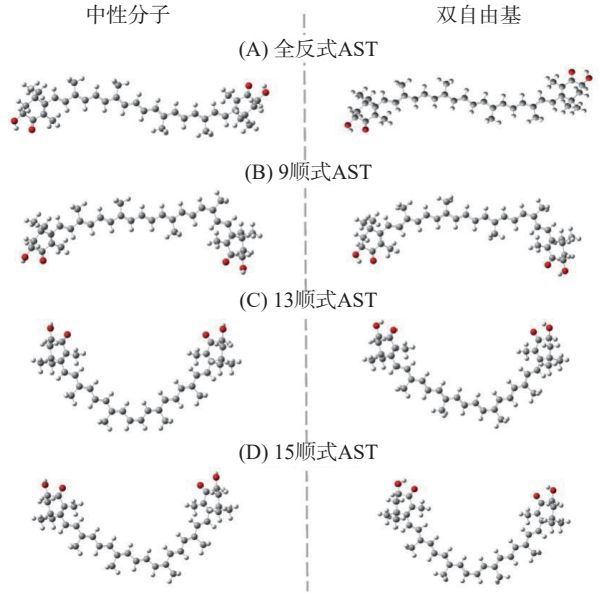


图 2　全反式（A）、9 顺式（B）、13 顺式（C）和 15 顺式（D）AST 中性和双自由基形式的结构

Fig.2　Structure of neutral and di-radical forms of all-E (A), 9-Z (B), 13-Z (C) and 15-Z (D) astaxanthin

表 2　虾青素单点能修正得到吉布斯自由能差

Table 2　Gibbs free energy difference obtained by single point energy correction of astaxanthin

AST构型/状态	中性分子(kcal/mol)	双自由基(kcal/mol)
全反式	0	0
9顺式	1.50	2.14
13顺式	1.72	−14.39
15顺式	2.66	−12.64

此进一步分析双自由基能量可以判断异构化方向。由表 2 可知，9 顺式双自由基能量高于全反式，13 顺式和 15 顺式双自由基能量远低于全反式，说明 9 顺式双自由基是最不稳定的自由基，极有可能在光照作用下进一步异构化。理论上激发态的 9 顺式 AST 反应性最高，但在初始反应体系中，以激发态的全反式 AST 为主，因此激发态的全反式 AST 异构为 9 顺式后，可能顺式异构化为双顺式异构体。在光照过程中，AST 从基态跃迁至激发态，即从中性分子转化为双自由基，但双自由基不稳定，除了进行上述的异构化反应，也可以通过发射荧光回到中性分子。

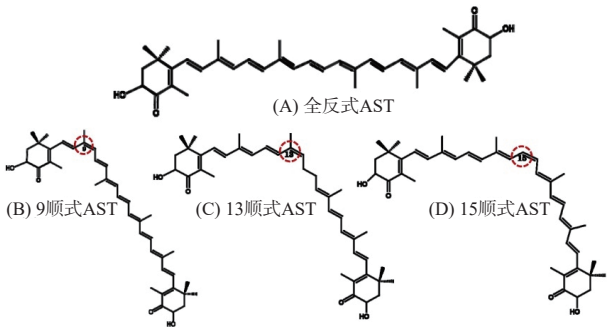


图 3　全反式（A）、9 顺式（B）、13 顺式（C）和 15 顺式（D）AST 的分子结构

Fig.3　Molecular structure of all-E (A), 9-Z (B), 13-Z (C) and 15-Z (D) astaxanthin

键长和二面角 ζ 是影响 AST 分子稳定性的关键因素，因此接下来进一步对这两个参数进行分析。如图 4 所示，由于受到 π 电子离域的影响，AST 异构体主链上的 C-C 单键计算出的所有键长均小于 1.53Å（普通烷烃的单键键长）[24]；全反式 AST 从中性分子跃迁至双自由基过程中，由图 4 统计的键长可知，双键的长度增加 0.05~0.08Å，单键减少 0.06~0.09Å，改变了单双键的键长。由于键长的变化，使得 AST 更容易产生键的扭转。此外，顺反 AST 形成双自由基后，弯折处二面角 ζ 均发生一定变化，全反式 AST 增加 0.003~0.007°；9 顺式、13 顺式和 15 顺式 AST 的二面角 ζ 分别增加 0.2°、0.9°和 1.5°，二面角 ζ 的变化可能影响稳定性，15 顺式 AST 的二面角 ζ 变化最大，越不稳定。由图 4 共轭双键拐角处可知，二面角 ζ 的角度均在 178~179°，由于幅度较小，具体稳定性需要实验进一步验证。

以上结果表明，在光作用下，全反式 AST 分子形成激发态（双自由基态），键更容易扭转，形成顺式构型；从能量角度上看，9 顺式 AST 激发态更不稳定，可能进一步转化；从结构角度上，15 顺式 AST 激发态难以存在；基态分子中，全反式 AST 最稳定，9 顺式和 13 顺式稳定性高于 15 顺式。因此自然界中以全反式异构体为主，且光异构化后主要生成 9 顺式和 13 顺式异构体。

2.3　虾青素分子的前线轨道

接下来进一步采用前线轨道理论分析 AST 分

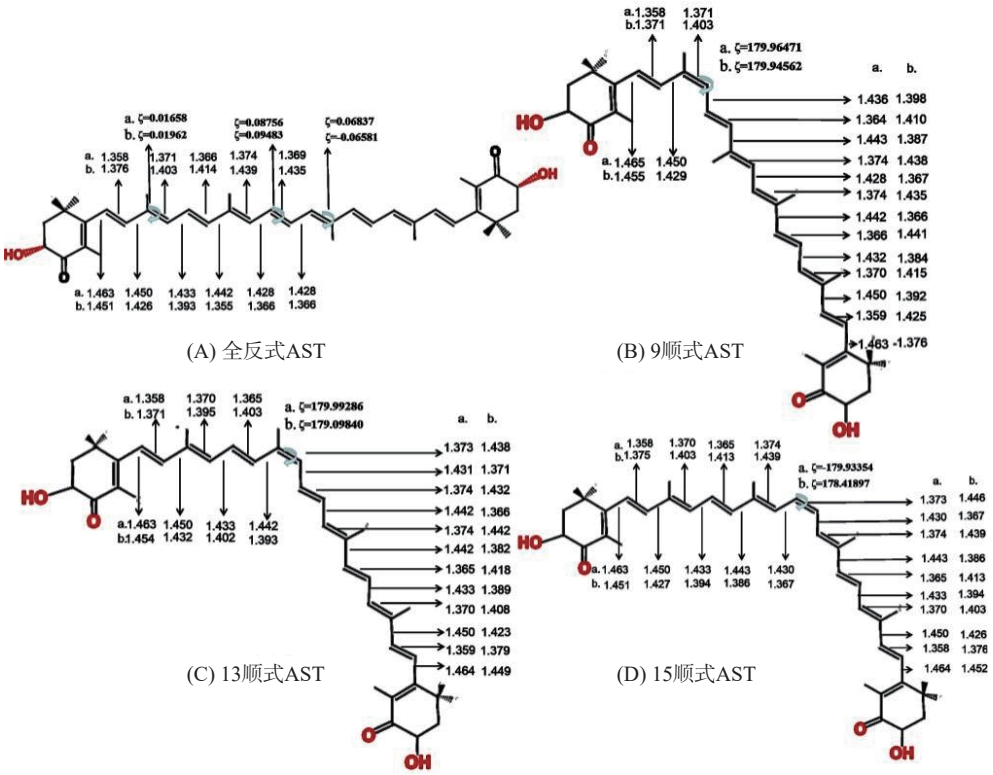


图 4 全反式(A)、9 顺式(B)、13 顺式(C)和 15 顺式(D)AST 的中性和双自由基两种形态特定键长参数

Fig.4 Specific bond length parameters of neutral and diatomic radicals of all-E (A), 9-Z (B), 13-Z (C) and 15-Z (D) astaxanthin

注: a: 中性; b: 双自由基; 键长以Å表示和二面角参数 ζ(单位为°)。

子的稳定性。前线轨道理论将分子周围分布的电子云根据能量细分为不同能级的分子轨道,能量最高的分子轨道(最高占据轨道, highest occupied molecular orbital, HOMO)和没有被电子占据的、能量最低的分子轨道(最低未占轨道, lowest unoccupied molecular orbit, LUMO)是决定一个体系发生化学反应的关键,分子发生反应的难易程度也决定了物质的稳定性[25]。进行化学反应时,电子从最高占据分子轨道 HOMO 流入最低未占有分子轨道 LUMO,且电子从分子中电负性小的元素流向电负性大的元素。从图 5 可以看出,AST 的共轭长链、羟基和酮基上均分布有分子轨道,因此,电子云主要分布在碳碳双键、羟基和酮基上[26]。

由 2.2 可知,电子由 HOMO 跃迁至 LUMO 的过程,主要发生在 AST 的共轭双键上,如图 5,AST 的直链共轭多烯呈现单键、双键交替分布,左图 AST 在基态(S_0)状态下时,HOMO 能级下分子轨道主要分布在碳碳单键的位置,具有电子给予体的性质;右图在激发态(S_1)下,LUMO 能级下主要在碳碳双键,具有电子接受体的性质。凡含有双键的不饱和有机化合物,均产生 π 到 π^*的跃迁(基态→激发态),以实现成键 π 电子由基态跃迁到 π^*轨道。更进一步说,AST 在光照作用下伴随着基态(S_0)向激发态(S_1)的跃迁,HOMO-LUMO 能隙是 AST 中性分子中电子激发所需的最小能量。AST 从中性分子转变为双自由基这一过程,侧面反映了 AST 异构体的光稳定性,能隙越小,越容易被激发[27−28]。通过表 3 可知,

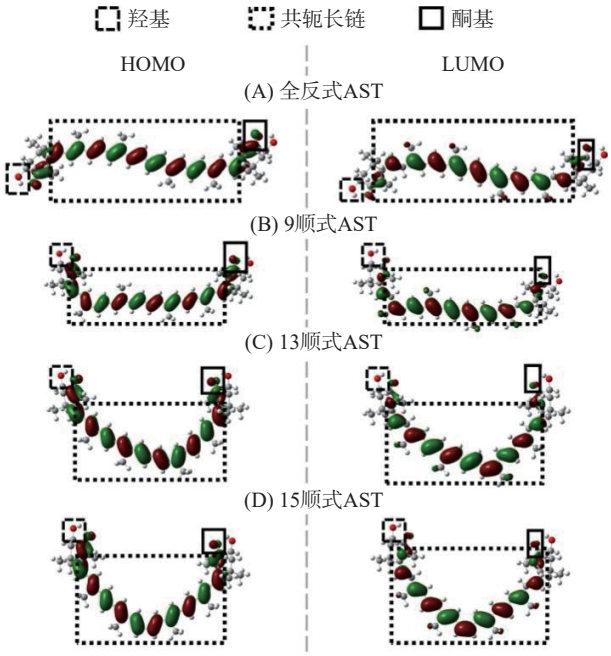


图 5 全反式(A)、9 顺式(B)、13 顺式(C)和 15 顺式(D)AST 的前线分子轨道能级图

Fig.5 Frontline molecular orbital energy diagrams of all-E (A), 9-Z (B), 13-Z (C) and 15-Z (D) astaxanthin

注: 红色表示正值部分,绿色表示负值部分,代表相位和相互之间的作用。HOMO 最高占据轨道,LUMO 最低未占轨道。

AST 异构体的能隙大小顺序为: 全反式<9 顺式<15 顺式<13 顺式,这意味着全反式 AST 容易转化为其它顺式异构体,13 顺式 AST 在光照作用下相对稳定,不容易回复异构化。

表 3　全反式、9 顺式、13 顺式、15 顺式中性 AST 的 HOMO 和 LUMO 能量及能隙

Table 3　HOMO and LUMO energies and energy gaps of all-E, 9-Z, 13-Z and 15-Z neutral astaxanthin

中性AST	HOMO(au)	LUMO(au)	HOMO−LUMO(au)
全反式	−0.10298	−0.17892	0.07594
9顺式	−0.10151	−0.17875	0.07724
13顺式	−0.10147	−0.17972	0.07825
15顺式	−0.10207	−0.1802	0.07819

以上结果表明，在光照作用下，HOMO-LUMO 能隙决定 AST 实现从基态到激发态跃迁的难易程度，全反式构型的能隙最小，相较其它顺式异构体更容易从基态跃迁到激发态，反应性最高，13 顺式构型则相反。

2.4　虾青素双自由基分子异构化机制

由于双自由基形式的 AST 是异构化的初始形态，在 2.2 对 AST 分子构型优化的基础上，进一步分析了全反式 AST 异构化过程中生成单顺式、双顺式异构体的难易程度。类胡萝卜素异构化的过程中，分子结构发生改变，需要跨过一定能垒才能完成反应。能垒的高度表示反应物变成产物所必须克服的能量障碍大小，能垒越高，越难生成活化的中间产物，即过渡态(TS)(transition state, TS)[29]。活化能是对能垒的一种量化描述，代表着反应物到过渡态的具体能量差值。通过分析过渡态结构和能垒，可以描述物质异构化的过程[30]。研究表明将全反式叶黄素在光照作用下转化为顺式异构体的不同活化能(Ea)存在差异，从而导致异构体产生比例不同[31]。

首先，对双自由基体系反应过程的可靠性进行考察。对于自由基体系，过渡金属配合物等均需要进行不受限制开壳计算，以便考察单电子(不成对的电子)分布。由于 AST 光照异构化的过程是在双自由基基础上进行，双自由基理论计算使用不受限制开壳计算，在此计算过程中有两组相同的自旋轨道(α 电子和 β 电子)，两组轨道基函数相同，但分子轨道参数不同。当 α 和 β 自旋轨道的空间部分不同时，不希望出现具有高度自旋污染的近似波函数，避免自旋造成计算的总能量的升高或降低[32]。S^2 值常被用来衡量自旋污染程度，S^2 的结果见表 4。对于自旋多重度为 1 的双自由基 AST，该值应为 2。经计算，自旋污染与 2 偏差值在 4.85%~7.57% 范围内，小于 10%。因此，自旋污染不严重，可以忽略，计算结果可靠[29]。

全反式 AST 异构化的过程伴随着化学键的断裂与生成，随着新的化学键沿着二面角扭转，往往伴随着过渡态以及中间体生成[33]。2.2 描述全反式 AST 在光照作用下双键断裂，生成普通键，形成双自由基。因此以全反式 AST 双自由基为起始几何构型，分别沿着 C29-C27-C31-C29, C39-C37-C41-C43, C42-C44-C43-H95 二面角旋转得到 9 顺式、13 顺式和 15 顺式 AST 的势能分布图。势能面反映出整个

表 4　全反式、9 顺式、13 顺式和 15 顺式和三种顺式 AST 过渡态的无限制开壳层计算结果(S^2)

Table 4　Calculation results of all-E astaxanthin, 9-Z, 13-Z and 15-Z-astaxanthin and transition states of three Z isomers by unrestricted open shell (S^2)

AST构型	S^2
全反式	2.0984
9顺式	2.0971
13顺式	2.0992
15顺式	2.0984
9顺式过渡态	2.1446
13顺式过渡态	2.1515
15顺式过渡态	2.1499

化学反应过程的全貌以及反应的始终态、中间体和过渡态的基本态势，如图 6 所示，内禀反应坐标(IRC)是连接势能面相邻两个极小点的能量最低路径，描述了化学过程在不考虑热运动因素下最理想的结构变化轨迹[34]。IRC 沿着势能面最低的点将反应物与产物之间能量连接起来。两个峰代表过渡态(TS)，频率是过渡态的判定标准，顺反异构化的 TS 结构及其虚频率如图 7、图 8 所示，为验证过渡态，经频率计算，只有一个虚的(负的)频率；曲线的谷代表中间体，势能面上的最高点与最低点的差值即为能垒，同时图中给出全反式 AST 与 AST 过渡态能量之差即为全反式 AST 转变为不同顺式异构体的能垒。经测定，三种过渡态的扭转角分别为 75.01°、90.09° 和 90.06°，当扭转角与 109.5°相差越大，趋势越大，角张力越大，结构越不稳定，因此 9 顺式 AST 过渡态为最不稳定构型[35]。全反式 AST 通过 9 顺式过渡态、15 顺式过渡态和 13 顺式过渡态转化为顺式异构体的能垒能量分别为 12.8、10.9 和 10.0 kcal/mol，返回路径的势垒能量分别为 11.5、7.1 和 7.4 kcal/mol。由图 6 可知，能垒大小顺序为：9 顺式>15 顺式>13 顺式 AST，因此双自由基形态的 9 顺式 AST 最难形成，13 顺式生成速率快，同时返回路径的势垒也低，更容易回复形成全反式。

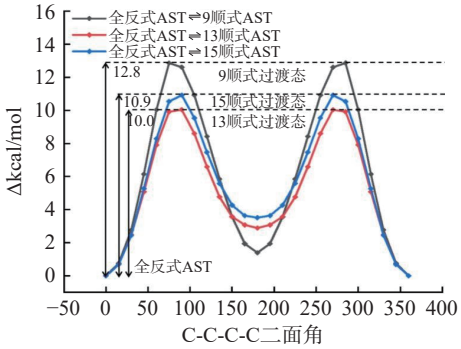


图 6　双自由基形式全反式 AST 顺式异构化的势能分布图

Fig.6　Potential energy distribution diagram of Z-isomerization of all-E astaxanthin in the form of double free radicals

在比较单顺式 AST 生成难易的同时，进一步考虑双顺式 AST 生成的可能性。由上文 2.2 的双自由

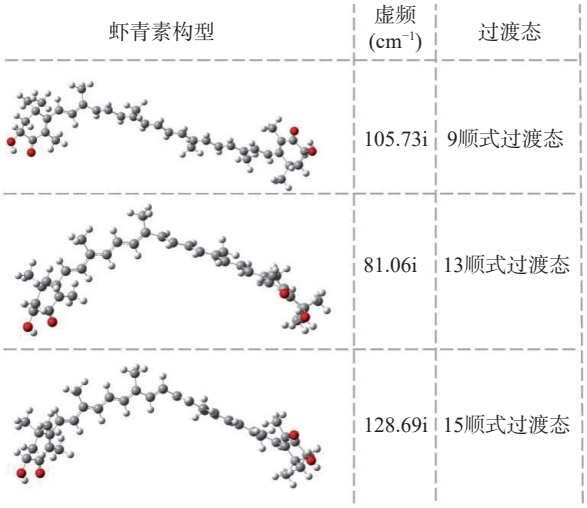


图 7　双自由基形式 AST 过渡态结构及其虚频率

Fig.7　Transition state structure and virtual frequency of astaxanthin in double radical form

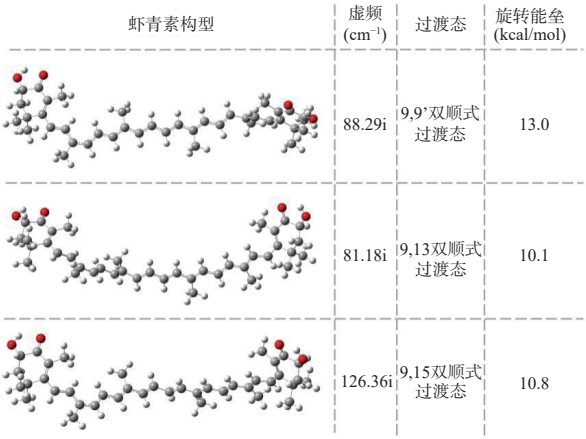


图 8　双自由基形式双顺式 AST 的过渡态结构及其虚频率

Fig.8　Transition state structure and virtual frequency of bis-Z astaxanthin in the form of bis-free radicals

基能量分析以及 2.3 的 HOMO−LUMO 能隙可知，9 顺式 AST 双自由基的反应性高于全反式，中性分子状态下仅次于全反式，因此 9 顺式 AST 可能进一步形成双顺式，因此以其双自由基形态为起始几何构型，分别沿着 C30-C28-C32-C34，C39-C37-C41-C43 和 C42-C44-C43-H95 二面角旋转得到 9,9'、9,13、9,15-双顺式异构体的势能面分布，三种双顺式 AST 过渡态如图 8 所示，旋转能垒能量分别为 13.0、10.1 和 10.8 kcal/mol，远远高于单顺式 AST 回复异构化所需能量，这部分能量足以使得单顺式 AST 回复异构化为全反式 AST，这与 Zhang 等[36] 将高比例顺式 AST 在光照下回复为全反式 AST 的实验结果一致。同时理论证明了番茄红素多顺式异构体可以由较高活化能 Ea 的单顺式异构体产生，但多顺式构型的番茄红素能垒足以使得单顺式构型回复至全反式[37]。

除了考察不同 AST 的能垒，异构化反应速率也是决定异构化终产物的关键因素。AST 的异构化遵循一阶反应动力学，初始阶段的异构化反应可以近似用零级反应动力学（反应速率与反应物的浓度无关）表示[20]。因此利用速率模型对异构化过程进行计算，基于过渡态（TS）理论估计的相互转换速率对 AST 单分子顺反动力学速率常数进行测定，如表 5，计算结果得到 13 顺式 AST 转化速率远高于 9 顺式、15 顺式，全反式 AST 向 13 顺式 AST 的转化速度分别约为 15 顺式、9 顺式 AST 的 4 倍和 100 倍。由于全反式和 13 顺式 AST 相互转化的速率常数最高，9 顺式 AST 相互转化的速率常数最低，因此长时间的光照会使得 13 顺式 AST 回复异构化，9 顺式 AST 比例上升较慢，可能会导致两种异构体的比例相当。

表 5　维格纳法 a 与 Skodje-Truhlar 法 b 的三种相互转换的隧道效应校正

Table 5　Three kinds of tunneling correction between Wigner method a and Skodje-Truhlar method b

过程	隧道效应校正a	速率常数	隧道效应校正b	速率常数
全反式≈9顺式	1.011	2.6031×10^{3}	1.011	2.6034×10^{3}
全反式≈13顺式	1.006	2.7778×10^{5}	1.006	2.7779×10^{5}
全反式≈15顺式	1.016	6.3759×10^{4}	1.016	6.3770×10^{4}

以上结果表明，在光照作用下，全反式 AST 形成双自由基，且生成的双自由基 9 顺式 AST 最不稳定；生成 13 顺式构型的能垒最低，反应速率最快，为 9 顺式构型反应速率的 100 倍，生成双顺式构型需要极高能垒，因此光异构化主要生成单顺式异构体。由于低能垒中间体返回路径的能垒同样降低，异构速率快的顺式构型也容易回复为全反式，使得两种顺式构型比例相当。全反式 AST 的稳定性高于顺式 AST，与文献报道结果一致，由于稳定性测定方式不同，不同顺式异构体的稳定性略有差异[38−39]。全反式 AST 光异构化机理示意图如图 9。

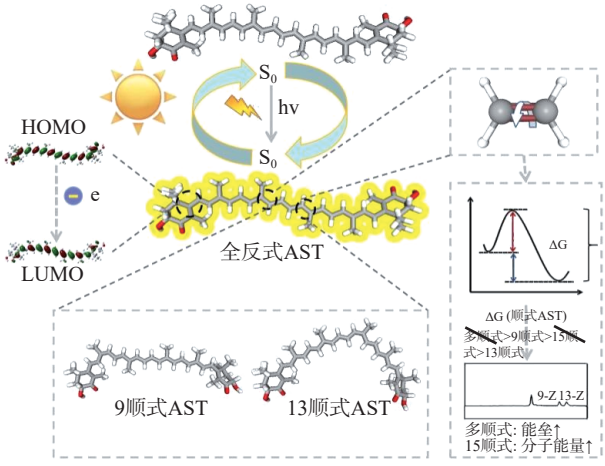


图 9　虾青素光顺式异构化及其机制示意图

Fig.9　Schematic diagram of Z-isomerization of astaxanthin and its mechanism

3　结论

本研究结合实验方法和量子化学理论阐明了全反式 AST 光异构化机理。AST 在光照作用下主要生成 9 顺式和 13 顺式；全反式 AST 光异构化机理

为：由于全反式 AST 的前线轨道能隙差最小，更容易受到光照激发转化为双自由基，双自由基形态全反式 AST 的双键具备类似普通键的性质，扭转的能垒降低，即活化能降低，容易转变为顺式构型，生成顺式构型后，通过发射荧光回到中性分子。吉布斯自由能可知，AST 异构体中性分子形态的相对稳定性顺序为：全反式>9 顺式>13 顺式>15 顺式，因此 9 顺式和 13 顺式稳定存在。单顺式 AST 转化生成双顺式的活化能远高于全反式 AST 转化为单顺式异构体，因此实验中主要观察到单顺式异构体。由于能垒的差异，全反式 AST 向 13 顺式的转化速率分别约为 15 顺式、9 顺式 AST 的 4 和 100 倍，且相互转化的隧穿效应可以忽略不计，9 顺式、13 顺式的速率与实际实验结果相印证。因此，由于 AST 异构体前线轨道能隙、分子能量、能垒和异构速率差异，全反式 AST 光照过程中主要生成单顺式，尤其是 13 顺式 AST。后续将进一步采用实验和量子化学相结合手段揭示 AST 的其它顺式异构化机理，如加热、高压、微波等。研究结果为揭示类胡萝卜素顺式异构化提供理论依据和应用指导价值。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] DANG Y, LI Z, YU F. Recent advances in astaxanthin as an antioxidant in food applications[J]. Antioxidants, 2024, 13(7): 879−894.

[2] DUTTA S, KUMAR S P J, BANERJEE R. A comprehensive review on astaxanthin sources, structure, biochemistry and applications in the cosmetic industry[J]. Algal Research, 2023, 74(1): 103168−103181.

[3] HASANI M, ARABPOUR Z, HASANI M, et al. Effect of astaxanthin on physical activity factors, lipid profile, inflammatory markers, and antioxidants indices in athletic men: A systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Functional Foods, 2024, 122(1): 106477−106487.

[4] LIU X, XIE J, ZHOU L, et al. Recent advances in health benefits and bioavailability of dietary astaxanthin and its isomers[J]. Food Chemistry, 2023, 404(1): 1−16.

[5] LIU X, ZHOU L, XIE J, et al. Astaxanthin isomers: A comprehensive review of isomerization methods and analytic techniques [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(50): 19920−19934.

[6] BHARTI A, HOODA V, JAIN U, et al. Astaxanthin: A nature's versatile compound utilized for diverse applications and its therapeutic effects[J]. 3 Biotech, 2025, 15(4): 88−104.

[7] XIE J, CAI R, HOU X, et al. Z-Astaxanthin exhibits superior anti-obesity effects in *Caenorhabditis elegans*: Insights from geometric isomers and signaling pathways[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2025, 10(1): 1−12.

[8] 陈晓枫. 不同几何构型虾青素抗氧化、延缓衰老活性差异及分子作用机理[D]. 广州：华南农业大学, 2017. [CHEN X F. Difference of antioxidant and anti-aging activities of astaxanthin with different geometric configurations and its molecular mechanism[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017.]

[9] KOOPMANN I K, KRAMER A, LABES A. Development and validation of reliable astaxanthin quantification from natural sources [J]. PLoS One, 2022, 17(12): 278504−278538.

[10] HERNÁNDEZ-MARIN E, BARBOSA A, MARTÍNEZ A. The metal cation chelating capacity of astaxanthin. Does this have any influence on antiradical activity[J]. Molecules, 2012, 17(1): 1039−1054.

[11] MONEGO D L, DA ROSA M B, DO NASCIMENTO P C. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review[J]. Food Chemistry, 2017, 217(1): 37−44.

[12] GUO W, TU C, HU C. Cis-trans isomerizations of β-carotene and lycopene: a theoretical study[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(38): 12158−12167.

[13] ZHENG Q, XIE J, XIAO J, et al. Unraveling the underlying mechanism of interactions between astaxanthin geometrical isomers and bovine serum albumin[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2024, 308(5): 123731.

[14] CHACHIYO T, CHACHIYO H. Understanding electron correlation energy through density functional theory[J]. Computational and Theoretical Chemistry, 2020, 1172(1): 112669−112679.

[15] PEVERATI R, TRUHLAR D G. Exchange-correlation functional with good accuracy for both structural and energetic properties while depending only on the density and its gradient[J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2012, 8(7): 2310−2319.

[16] SOUSA S F, FERNANDES P A, RAMOS M J. General performance of density functionals[J]. The Journal of Physical Chemistry A, 2007, 111(42): 10439−10452.

[17] LU Tian, CHEN Qinxue. Shermo: A general code for calculating molecular thermochemistry properties[J]. Computational and Theoretical Chemistry, 2021, 1200(7): 113249.

[18] LU T. Tstcalculator[EB/OL]. (2020-08-07), http://sobereva.com/310.

[19] MARTÍNEZ-DELGADO A A, KHANDUAL S, VILLANUEVA RODRÍGUEZ S J. Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation[J]. Food Chemistry, 2017, 225(1): 23−30.

[20] KULIKOV E A, KULIKOVA I S, VASILOV R G, et al. The effect of the solvent nature and lighting on isomerization and oxidative degradation of astaxanthin[J]. Biophysics, 2020, 65(1): 433−442.

[21] DE BRUIJN W J, WEESEPOEL Y, VINCKEN J, et al. Fatty acids attached to trans-astaxanthin alter its cis-trans equilibrium, and consequently its stability, upon light-accelerated autoxidation [J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 1108−1115.

[22] TAMURA H, ISHIKITA H. Quenching of singlet oxygen by carotenoids via ultrafast superexchange dynamics[J]. The journal of physical chemistry A, 2020, 124(25): 5081−5088.

[23] DENG Y, ROUX B. Computations of standard binding free energies with molecular dynamics simulations[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2009, 113(8): 2234−2246.

[24] MARTINS J B, DURÃES J A, SALES M J, et al. Theoretical investigation of carotenoid ultraviolet spectra[J]. International Journal of Quantum Chemistry, 2009, 109(4): 739−745.

[25] FUKUI K. Role of frontier orbitals in chemical reactions[J]. Science, 1982, 218(4574): 747−754.

[26] 刘科梅. 基于量子化学计算研究类胡萝卜素及黄烷酮清除

自由基的构效关系[D]. 南昌: 南昌大学, 2018. [LIU K M. Study on the structure-activity relationship of carotenoids and flavanones in scavenging free radicals based on quantum chemical calculation [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.]

[27] WU Q, YU P, LI J, et al. Mechanistic elucidation of the degradation and transformation of hydroxy-*α*-sanshool and its conformers as the pungent dietary components in sichuan pepper: A DFT study[J]. Food Chemistry, 2024, 430(1): 137078−137085.

[28] 马芸. 四种天然抗氧化植物化学物抗氧化活性的量子化学和实验研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016. [MA Y. Quantum chemistry and experimental study on antioxidant activity of four natural antioxidant phytochemicals[D]. Nanchang: Nanchang University, 2016.]

[29] DARIJANI M, SHAHRAKI M, HABIBI-KHORASSANI S M. Interconversions among the E⇆Z-carotene isomers: Theoretical study[J]. Physical Chemistry Research, 2021, 9(1): 69−83.

[30] KIMURA M, ITO T, SATO H, et al. Theoretical study on isomerization of *α*-acids: A DFT calculation[J]. Food Chemistry, 2021, 364(1): 130418−130423.

[31] HONDA M, SOWA T, KAWASHIMA Y. Thermal-and photo-induced isomerization of all-E-and Z-isomer-rich xanthophylls: Astaxanthin and its structurally-related xanthophylls, adonirubin, and adonixanthin[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2020, 122(5): 1900462−1900470.

[32] DARIJANI M, SHAHRAKI M, HABIBI-KHORASSANI S M. Theoretical study on the mechanism and kinetics of the formation *β*-carotene epoxides from the oxidative degradation of *β*-carotene[J]. Food Chemistry, 2022, 389(1): 133082−133089.

[33] NISHIDA Y, BERG P C, SHAKERSAIN B, et al. Astaxanthin: Past, present, and future[J]. Marine Drugs, 2023, 21(1): 514−669.

[34] MAEDA S, HARABUCHI Y, ONO Y, et al. Intrinsic reaction coordinate: calculation, bifurcation, and automated search[J]. International Journal of Quantum Chemistry, 2015, 115(5): 258−269.

[35] MOHAMED T A, ABO ALY M M. Vibrational analysis, conformational stability, force constants, barriers to internal rotations, RHF, MP2 and DFT calculations of trans, trans-2, 4-hexadiene[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2004, 35(10): 869−878.

[36] ZHANG Y, TAKAHAMA K, OSAWA Y, et al. Characteristics of led light-induced geometrical isomerization and degradation of astaxanthin and improvement of the color value and crystallinity of astaxanthin utilizing the photoisomerization[J]. Food Research International, 2023, 174(1): 113553.

[37] TAKEHARA M, KUWA T, INOUE Y, et al. Isolation and characterization of (15Z)-lycopene thermally generated from a natural source[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 467(1): 58−62.

[38] HONDA M, KAGEYAMA H, HIBINO T, et al. Evaluation and improvement of storage stability of astaxanthin isomers in oils and fats[J]. Food Chemistry, 2021, 352(1): 129371.

[39] YANG C, ZHANG L F, ZHANG H, et al. Rapid and efficient conversion of all-E-astaxanthin to 9Z- and 13Z-isomers and assessment of their stability and antioxidant activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(4): 818−826.