

# 木瓜黄酮的提取及其紫外光谱特征

胡华平, 韩雅莉, 张峰, 张东梅, 李穗晶

(广东工业大学轻工化工学院, 广东 广州 510006)

**摘要:** 木瓜含有清除人体活性氧自由基的黄酮类化合物。本文介绍以乙醇浸提、乙酸乙酯萃取提取木瓜中的黄酮类化合物, 并以 AB-8 大孔树脂对粗提物进一步提纯的工艺。对纯化提取物的分析结果表明: 木瓜黄酮的含量(以芦丁标准品计)为 4.8%, 对其紫外光谱特征谱图的观察分析发现: 木瓜提取物中含有 A-环苯酰结构和 B-环肉桂酰结构, 图谱特征与对照品芦丁相似, 这一图谱特征说明木瓜提取物具有类黄酮化合物 C6-C3-C6 的基本结构。

**关键词:** 木瓜黄酮; 芦丁; AB-8 大孔树脂; 紫外光谱特征

中图分类号: TS255.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)03-0250-03

## Extraction of Pawpaw Flavoids and its Ultraviolet Spectrum Characteristic

HU Hua-ping, HAN Ya-li, ZHANG Feng, ZHANG Dong-mei, LI Sui-jing

(College of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510090, China)

**Abstract:** Pawpaw contained the flavonoids compound which can scavenge the activity oxygen free radicals in human body. In this paper, the crude flavonoids was extracted from pawpaw by ethanol and acetic ester, and then purified by AB-8 macroporous resins with the content of the flavonoids (rutin as standard) being of 4.8%. The structures of benzoyl ring (A-ring) and cinnamoyl ring (B-ring) were found in the extracted flavonoids bore and the spectrum characteristic of the extracts was similar to that of the rutine, which indicated that the extracts possessed the basic structure of flavonoids compounds, C6-C3-C6.

**Key words:** pawpaw flavonoids; rutine; AB-8 macroporous resins, ultraviolet spectrum characteristic

木瓜果实含皂甙、黄酮类、木瓜酚、还原糖、蔗糖、氨基酸、木瓜酸等大量有机酸, 还含有果胶、鞣质、10-二十九烷醇、 $\beta$ -谷甾醇、五环三萜类化合物、过氧化酶、过氧化物酶、酚氧化酶等成分。因其含有丰富的营养物质, 我国卫生部将其列为药、食两用植物<sup>[1]</sup>。

大量研究表明, 黄酮类化合物既有清除人体活性氧自由基, 防止生物膜脂质被超氧自由基和羟自由基氧化的功能, 在抗氧化、抗癌、防肿瘤有明显作用, 被广泛用于医药, 保健及美容等行业<sup>[2]</sup>。

本实验就木瓜黄酮的提取纯化及紫外光谱性质研究作了初步探讨, 为木瓜进一步利用提供了科学依据。

### 1 仪器、试剂及材料

**仪器:** UV-1800 分光光度计(北京瑞丽分析仪器有限公司), 数显恒温水浴锅(上海博泰公司), 旋转蒸发器 RE-52A(上海亚荣生化仪器厂), 真空干燥箱(上

收稿日期: 2007-11-13

作者简介: 胡华平(1981-)女, 硕士研究生, 主要从事食品天然产物研究

海一恒公司), 植物粉碎机(上海微型电机厂)。

**试剂:** 无水乙醇, 亚硝酸钠, 硝酸铝, 氢氧化钠, 活性炭, 浓氨水, 三氯化铝, 正丁醇, 冰醋酸; 均为分析纯, 芦丁: 中国药品检定所。

**材料:** 鲜木瓜, 购于市场, 经鉴定为蔷薇科植物贴梗海棠的干燥近成熟果实<sup>[3]</sup>。

### 2 实验方法

#### 2.1 乙醇提取

将新鲜木瓜切片放入真空干燥箱内干燥 24 h, 以除去其中的水分。用植物组织粉碎机粉碎干木瓜片, 过 40 目筛。提取工艺条件从单因素方面进行分组, 以确定最佳提取工艺条件。主要从乙醇浓度、料液比、提取时间、提取温度四个方面进行考虑。本实验根据橙皮中黄酮物质的提取<sup>[3]</sup>, 结合木瓜本身的特性, 选取工艺条件为: 乙醇浓度 70%; 料液比 1:12; 提取时间 3 h; 提取温度 70 °C。精密称取 98.12 g 木瓜粉, 用 70% 的乙醇溶液在 70 °C 下回流提取 3 次, 趁热用滤纸过滤, 收集滤液。滤液中加入 0.1% 活性炭, 50 °C 恒

温水浴 30 min, 并趁热过滤, 收集滤液减压蒸馏, 然后用乙酸乙酯萃取后取萃取液再浓缩, 即得粗黄酮提取液。

## 2.2 标准曲线的制备及木瓜黄酮的测定

精密称取芦丁标准品 10 mg, 用 95% 乙醇溶解, 定容至 50 mL 容量瓶中, 摇匀, 制成浓度为 0.2 mg/mL 的标准品溶液。然后精密吸取 1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、6.0 mL 分别置于 10 mL 比色管中, 加 4%  $\text{NaNO}_2$  溶液 1 mL, 摇匀放置 6 min; 续加 8%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 1 mL, 摇匀放置 6 min; 加入 12%  $\text{NaOH}$  10 mL, 用水定容, 充分摇匀; 15 min 后在 510 nm 处测定吸光度, 以芦丁浓度 X (mg/mL) 为横坐标, 吸光度 Y(A) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程。

取 0.1 mL 粗黄酮提取液, 按照上面配标准溶液的方法配成 25 mL 溶液, 于波长 510 nm 处测其吸光度, 代入回归方程计算类黄酮物质 (以芦丁计) 的质量。

类黄酮得率 (%) = (类黄酮物质质量/干物料质量)  $\times$  100%

## 2.3 木瓜黄酮的纯化

树脂的预处理<sup>[4]</sup>: 取 180 g 树脂, 用 95% 的乙醇溶液浸泡 12~24 h, 使其充分溶胀和初步除杂。用 95% 乙醇溶液洗涤至流出液加适量水无白色混浊现象后, 再用去离子水洗净乙醇, 用相对于 AB-8 型大孔树脂 4 倍体积的 5% 的 HCl 溶液, 以每小时对于 AB-8 型大孔树脂 5 倍体积的流速通过树脂层, 并浸泡 3 h, 用去离子水以同样的流速洗至流出液的 pH 值为中性; 再用相对于 AB-8 型大孔树脂 4 倍体积的 2% 的 NaOH 溶液, 以每小时对于 AB-8 型大孔树脂 5 倍体积的流速通过树脂层, 并浸泡 3 h, 用去离子水以同样的流速洗至流出液的 pH 值为中性, 备用。

黄酮粗提液于旋转蒸发仪 65 °C 下浓缩并回收乙醇, 得到的浓缩液用乙酸乙酯萃取, 把得到的上层溶液继续浓缩成膏状 (或粉末), 称重, 用 95% 乙醇溶解粉末配成 0.005 g/mL 溶液。把上述 0.005 g/mL 溶液加入到 AB-8 型大孔树脂柱中, 用 70% 乙醇溶液 500 mL 洗脱, 收集洗脱液, 于旋转蒸发仪 65 °C 下浓缩, 用 95% 乙醇配成 100 mL 溶液 A。取 50 mL 溶液 A 于旋转蒸发仪 65 °C 下浓缩成膏状 (或粉末), 于 65 °C 下干燥至恒重, 测定干膏质量。

取 0.1 mL 溶液 A, 按照配标准溶液的方法配成 25 mL 溶液, 测其吸光度, 利用标准曲线计算类黄酮的浓度, 并进一步计算类黄酮的含量。

类黄酮含量 = (类黄酮物质质量/干膏质量)  $\times$  100%

## 2.4 木瓜黄酮的紫外光谱特性

取适量溶液 A, 用 95% 乙醇溶液稀释, 测其吸收光谱。同时测芦丁标准品的吸收光谱。

## 3 结果与讨论

### 3.1 芦丁标准曲线

以浓度 X(mg/ml) 和吸光度 Y 进行回归分析, 得到回归方程  $Y=0.00504+12.04018X$ , 如图 1。

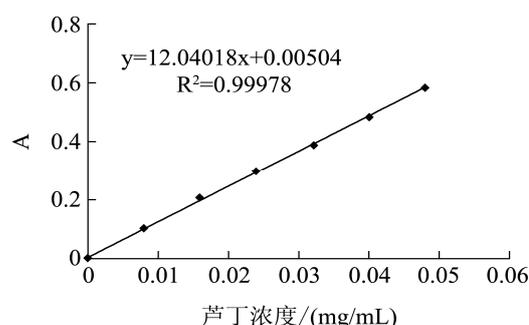


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 The standard curve of rutin

### 3.2 乙醇提取木瓜黄酮的得率

按上面的方法测得本实验采用的木瓜黄酮的含量为 4.8%, 经 AB-8 型大孔树脂处理后的提取物中类黄酮的含量可达 74%, 说明 AB-8 型大孔树脂具有比较好的纯化木瓜黄酮的作用。木瓜黄酮具有多酚结构和糖苷链, 具有一定的极性和亲水性, 生成氢键的能力较强, 有利于弱极性和极性树脂对其吸附。AB-8 型大孔树脂是弱极性树脂, 对木瓜黄酮提取物的吸附效率较高。树脂的比表面积是影响吸附效果的另一因素, 因为大孔树脂的吸附主要是物理吸附, 所以, 比表面积越大的树脂吸附量越高。AB-8 型大孔树脂有较大的比表面积 (100~120  $\text{m}^2/\text{g}$ ), 故其对黄酮的吸附量也较大<sup>[5]</sup>。另外洗脱剂对分离纯化也有很大影响。由于木瓜类黄酮提取液中可能含有蛋白质及多糖类化合物, 而树脂对它们也有较好的吸附。根据李玉霞等人对 AB-8 大孔树脂吸附性能的研究<sup>[6]</sup>, 本实验选择 70% 的乙醇溶液解吸黄酮类化合物, 这样解吸下来的溶液中黄酮含量较高, 可以除去木瓜类黄酮提取液中大量的色素、糖类等杂质。

### 3.3 木瓜黄酮的紫外光谱特性

由于类黄酮化合物具有  $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$  的基本结构, 这一结构特点使大多数类黄酮化合物的紫外光谱有两个主要的吸收峰组成, 其中之一出现在 240~280 nm 范围内 (带 II), 另一个在 330~400 nm 范围内 (带 I)。一般说来带 II 吸收可以认为由 A-环苯酰系统引起, 而带 I 则是由 B-环肉桂酰系统引起<sup>[7,8]</sup>。

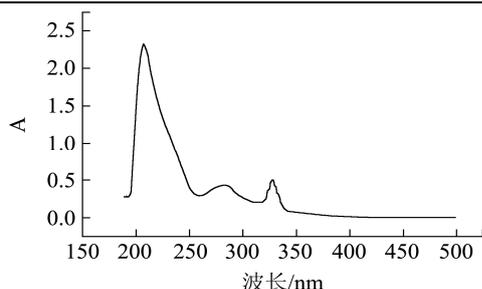


图2 木瓜黄酮的紫外光谱特征图

Fig.2 Ultra-Violet Spectrometry of pawpaw flavoids

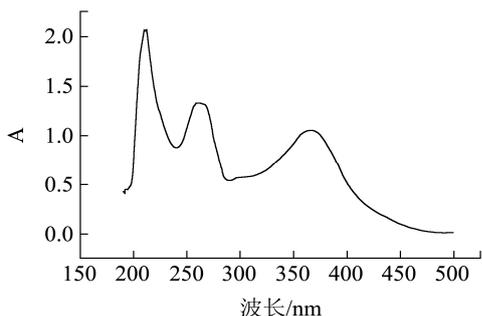


图3 芦丁标准品的紫外光谱特征图

Fig.3 Ultra-Violet Spectrometry of rutin

木瓜提取物的紫外吸收峰如图2所示,从图可以看出,木瓜提取物的主要吸收峰为221 nm、278 nm、330.6 nm。其中278 nm的吸收峰说明木瓜提取物中有A-环苯酰系统,330.6 nm的吸收峰说明木瓜提取物有B-环肉桂酰系统,而另外一个峰可能为一些未分离的杂质引起的,图谱特征与对照品相似,这一图谱特征说明了木瓜提取物具有类黄酮化合物C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>的基

本结构。

#### 4 结论

对纯化提取物的分析结果表明:木瓜黄酮的含量(以芦丁标准品计)为4.8%,对其紫外光谱特征谱图的观察分析发现:木瓜提取物中含有A-环苯酰结构和B-环肉桂酰结构,图谱特征与对照品芦丁相似,这一图谱特征说明木瓜提取物具有类黄酮化合物C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>的基本结构。

#### 参考文献

- [1] 袁志超,汪芳安.番木瓜的开发应用及研究进展[J].武汉工业学院学报,2006(25):14-18
- [2] 药用植物化学分类学[M].上海:上海科学技术出版社,1988
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典[S].广州:广东科技出版社,2000
- [4] 刘焕云,李敬,等.橙皮提取物的抗氧化活性研究[J].食品机械,2006(22):77-79
- [5] Somogyi,Michael,Note on sugar detemination[J].J Biol Chem,1952,95(1):19-23
- [6] 游见明,大孔树脂分离鱼腥草总黄酮的研究[J].现代食品科技,2005(21):66-69
- [7] 胡忠勤,杨雪冬,初良胜等.绿茶中黄酮类化合物的分离及鉴定[J].国土与自然资源研究,1994,2:63-68.
- [8] 杨洋,陈朝勇,韦小英,等.竹叶黄酮的提取和纯化工艺研究[J].食品科技,2004,(2):32-35

(上接第256页)

- [4] Wei H C, Cai Q Y, Rahn R O, et al. Inhibition of Uv light and fenton reaction induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein[J].Carcinogen Sis,1996,17:73
- [5] Beretc A. F lavonoids are selective cyclic CMP phosphodiesterase inhibitors[J].Biochem Phavmacol,1979,28: 536
- [6] 韩锐.抗癌药物研究与试验技术[M].北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1997.141
- [7] Matsuzaki Y, Kurokawa N, Terai S Y, et al. Cell death induced by baicalein in human he patocellular carcinoma cell lines[J].Jpn J cancer Res, 1996, 87(2):170
- [8] 马养民,毛远.油松花粉成分分析[J].西北林学院学报,1993, 8(4):98-100
- [9] Douglas C.Montgomery.汪仁官,陈荣昭(译).Design and Analysis of Experiments[S].北京:中国统计出版社,1998: 591
- [10] 罗伟强,李济权,黄梅珍.花生壳中总黄酮含量的测定[J].西部粮油科技,2002,27(2):48-49