

# HPLC 测定木瓜果醋中齐墩果酸含量

汪芳安<sup>1,2</sup>, 黄 勇<sup>3</sup>, 周帼萍<sup>2</sup>, 汪林<sup>4</sup>

(1. 华中农业大学, 湖北 武汉 430023; 2. 武汉工业学院, 湖北 武汉 430023; 3. 武汉市质量技术监督局, 湖北, 武汉 430023; 4. 广东汇香源食品有限公司, 广东 广州 510665)

**摘 要:** 采用 HPLC 法进行齐墩果酸的检测, 研究了木瓜中齐墩果酸的提取方法, 发现以无水酒精等有机溶剂提取效果最好。通过对木瓜果醋研制过程中各个样品的检测发现, 齐墩果酸主要分布在木瓜渣中, 在木瓜汁中的含量很低, 几乎检测不出, 只有带渣发酵才能制成含齐墩果酸的功能性果醋。

**关键词:** 齐墩果酸; HPLC; 木瓜; 果醋

## Study on the Content of Oleanolic Acid in Chinese Flowering Quince Fruit Vinegar by HPLC

WHANG Fang-an<sup>1,2</sup>, HUANG Yong<sup>3</sup>, ZHOU Guo-ping<sup>2</sup>, WANG Lin<sup>4</sup>

(1. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430023, China

2. Wuhan Polytechnic College, Wuhan 430023, China

3. Quality and Technology Supervision Bureau of Wuhan, Wuhan 430023, China

4. Guangdong Huixiang Yuan Food Co. Ltd., Guangzhou 510665, China)

**Abstract:** The content of oleanolic acid was detected by HPLC and the extraction method of oleanolic acid from Chinese flowering quince was investigated. The optimal extraction results were got with organic solvent such as water-free ethanol. That oleanolic acid distributed mainly in residues and undetectable oleanolic acid distributed in Chinese flowering quince syrup were found through detection of variety samples of Chinese flowering quince fruit vinegar. Functional fruit vinegar with oleanolic acid can only be produced by fermentation with residue.

**Key words:** oleanolic acid, HPLC Chinese flowering quince fruit vinegar

中图分类号: TS202

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)11-0247-03

收稿日期: 2004-07-11

作者简介: 汪芳安(1958-), 男, 教授, 博士, 主要从事食品添加剂、食品微生物学教学与科研工作。

### 3.4 方法检出限

样品中添加一定量的标样, 测定后, 计算检出限。在以上仪器条件下, 氯霉素检出限为  $1.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 4 结 语

以上方法灵敏度较高, 处理过程相对较简便。如果样品检测出氯霉素需要用质谱再做个确证。氯霉素极易污染, 使用的器皿一定要洗涤干净。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业行业标准. 无公害食品(养殖业部分). NY 5029-2001附录, 氯霉素残留的气相色谱测定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [2] 中华人民共和国进出口商品检验局. 食品分析大全[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [3] 朱 坚, 等. 食品中危害残留物的现代分析技术[M]. 上海: 同济大学出版社, 2003.
- [4] 王叔淳. 食品卫生检验技术手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.

木瓜(*Chaenomeles lagenaria*(loisel.)koidz.)(*C. speciosa* Nakai)别名皱皮木瓜、宣木瓜,为我国特有的野生果木之一。木瓜的营养价值与猕猴桃媲美,以“百益之果”著称,是卫生部2003年公布30个的药食兼用食品之一。木瓜富含苹果酸、酒石酸、维生素C等多种有机酸和皂甙及黄酮类,木瓜的主要药效成分为齐墩果酸。据文献报道,齐墩果酸具有消炎抑菌、降低转氨酶的作用,还有促进肝细胞再生、防止肝硬化、强心、利尿、降血脂、降血糖、增强机体免疫功能、抑制变态反应等作用,是当前治疗肝炎的有效药物之一。近年来还证明有抗癌活性。

鲜木瓜带有酸、涩味,纤维较多,口感较差,通常不鲜食,一般木瓜采收后对剖晒干入药之用。过去由于木瓜多系野生,其加工利用率很低,只有很少一部分入药成为中药材。近年来,人们发现木瓜营养丰富、含有多种药理成分,加之,木瓜具有易于栽培、适应力强的特点,有意识地大力发展木瓜经济。目前,湖北长阳县的药用木瓜产量占全国产量的1/3,以作中药材为主。随着生产基地的扩大,木瓜产业的发展必须依赖于食品转化。木瓜做饮料、果脯、果酱、果酒、罐头及果干等产品比较多见,作果醋则未见文献报道。食醋是我国传统的调味品,有着悠久的历史,醋本身具有一定的保健功能,若能将木瓜制备成果醋,结合木瓜中本身含有的有机酸和齐墩果酸等有效药理成分,木瓜果醋可以发挥其特殊的保健作用。而在制备木瓜功能果醋的过程中,研究其主要的一齐墩果酸在果醋中的保留量将是重要的中心议题之一。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料和仪器

齐墩果酸样品 由湖北中医学院提供;干、鲜木瓜由湖北省长阳土家族自治县科技开发中心提供;WATERS510泵;710B自动进样器;HITACHI635M双波长检测器;MILCENNIUM32色谱工作站;Biostat BS 5L全自动多功能发酵罐。

### 1.2 齐墩果酸测定方法

采用HPLC法测定,色谱条件 NUCLEODUR100-5, C18EC色谱柱 $5\mu$ ,  $4.6\times 250\text{mm}$ ;流动相 甲醇:水(95:5);流速 $1\text{ml}/\text{min}$ ;检测波长 $210\text{nm}$ ;柱温 $30^\circ\text{C}$ ;进样量 标准 $15\mu\text{m}$ ,样品 $60\mu\text{m}$ 。

### 1.3 实验方法

1.3.1 齐墩果酸的提取 用50%酒精、无水酒精和异丙醇分别对干木瓜粉和鲜木瓜粉,料液比为1:7.5,于 $40^\circ\text{C}$ 、 $200\text{r}/\text{min}$ 摇瓶提取3h。

1.3.2 木瓜汁提取 经过清洗、切成 $2\text{cm}$ 见方的果块,手工压榨。

1.3.3 酒精发酵 木瓜汁含糖量低,补糖或加其它含糖量高的水果(菠萝和苹果)以及用红曲糖化的大米醪后,按10%(V/V)比例接入活化好的酵母液,先敞开在 $35^\circ\text{C}$ 水浴中,搅拌发酵30min,再用塑料薄膜封口, $35^\circ\text{C}$ 恒温发酵48~72h,直到口尝无甜味,测得的还原糖含量低于0.5%时,中止酒精发酵,测酒精度。巴氏消毒后,进入醋酸发酵。

1.3.4 木瓜汁摇瓶醋酸发酵 经过上述酒精发酵的木瓜酒液或者是木瓜汁直接加食用酒精5%(V/V)装入100ml/500ml三角烧瓶,接入10%(V/V)的活化醋酸菌,以4层纱布封口, $32^\circ\text{C}$ 、转速为 $220\text{r}/\text{min}$ 进行醋酸发酵。经过滤、杀菌、调配和澄清得到成品木瓜果醋。

1.3.5 木瓜汁带渣液体深层发酵 木瓜在酒精发酵阶段就带渣进行发酵,酒精发酵结束后,连汁带渣一起加入Biostat BS 5L全自动多功能发酵罐,木瓜酒液带渣共1200ml加入大米糖化、酒化后的酒醪1200ml混合,经巴氏消毒后降温至 $33^\circ\text{C}$ 进入发酵罐,接入醋酸菌种子液或从醋池中取出的醋醪10%(V/V),转速为 $175\text{r}/\text{min}$ ,前期通风量为 $0.2\text{V.V.m}$ ;中期通风量为 $0.4\text{V.V.m}$ ;后期为 $0.2\text{V.V.m}$ ,发酵至酸度不再上升为止<sup>[9]</sup>。

分别对木瓜汁进行摇瓶发酵和用5L全自动发酵罐进行木瓜汁带渣发酵进行了果醋的试制,并对研制出来的果醋进行了齐墩果酸含量的检测,以检查齐墩果酸在果醋酿造过程中的分布情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 齐墩果酸的标准曲线

浓度(mg/ml)	面积	Rt
0.1494	270288	7.206
0.2988	548918	7.223
0.4482	805800	7.220
0.5976	1073028	7.195
0.7470	1318451	7.147

$Y=17166.2+1753973.2X$ ,  $R=0.9998$ ;  
线形范围  $0.1494\sim 0.7470\text{mg}/\text{ml}$ 。

### 2.2 齐墩果酸测定结果

## 3 结 论

3.1 从样品1、2中可以看出对于木瓜鲜果来说:齐墩果酸基本上保留在木瓜渣中,在木瓜汁中含量甚微,基本上检测不出来。这点在酿制的果醋中得到证实,凡是由木瓜汁进行酿制的果醋基本检测不到齐墩果酸,如样品18~21,样品22中只有微量的齐墩果酸;而由带渣的木瓜汁酿制的果醋中可以检测到齐墩果酸如样品12~15,

表3 醋酸发酵液及提取液中齐墩果酸的提取率(%)

样品	样品处理方式及内容	木瓜渣/总体积	齐墩果酸测定值(mg/ml)	齐墩果酸含量(干木瓜)(%)
3	鲜木瓜无水乙醇提取液	2g/50ml	0.400	1.000
4	鲜木瓜异丙醇提取液	2g/50ml	0.398	0.995
5	干木瓜异丙醇提取液	2g/50ml	0.458	1.145
6	干木瓜无水乙醇提取液	2g/50ml	0.500	1.250
12	木瓜果醋(带渣发酵)	1200g/3000ml	0.153	$0.038 \times 100 / 14.73 = 0.260$
13	木瓜果醋发酵液(带渣发酵)	200g/3000ml	0.047	$0.071 \times 100 / 14.73 = 0.482$
15	木瓜果醋发酵液(带渣发酵)	500ml/3000 ml	0.110	$0.066 \times 100 / 14.73 = 0.448$
16	红曲果醋(带渣发酵)	140 g/3600 ml	0.023	$0.059 \times 100 / 14.73 = 0.401$
22	木瓜汁苹果醋发酵液	500 ml/1000 ml	0.008	$0.016 \times 100 / 7 = 0.02$

表2 齐墩果酸含量(mg/ml)

序号	样品处理方式及内容	齐墩果酸含量
1	鲜木瓜汁	0
2	鲜木瓜汁加浓硫酸水解液	0
3	鲜木瓜无水乙醇提取液	0.400
4	鲜木瓜异丙醇提取液	0.398
5	干木瓜异丙醇提取液	0.458
6	干木瓜无水乙醇提取液	0.500
7	木瓜干粉50%乙醇提取液	0
8	木瓜渣50%乙醇提取液	0
9	木瓜50%乙醇提取液乙醇回收后浓缩液	0
10	木瓜50%乙醇提取液乙醇回收后浓缩液加浓硫酸水解液	0
11	过滤发酵液	0
12	木瓜果醋(带渣发酵)	0.153
13	木瓜果醋发酵液(带渣发酵)	0.047
14	木瓜果醋发酵液过滤液(带渣发酵)	0.053
15	木瓜果醋发酵液(带渣发酵)	0.110
16	红曲果醋(带渣发酵)	0.023
17	食醋	0
18	木瓜汁加酒精发酵液	0
19	木瓜汁加糖发酵液	0
20	木瓜汁菠萝混合发酵液	0
21	木瓜汁菠萝混合发酵液过滤液	0
22	木瓜汁苹果醋发酵液	0.008
23	苹果醋发酵液	0

其原因可能是酒精和醋酸发酵中各种微生物对木瓜进行了水解,从而使齐墩果酸游离出来,达到提取的效果。

3.2 由于我们曾试用比色法测定木瓜皂甙含量,其结果是50%乙醇溶液的提取率较高,误导我们采用该提取液进行齐墩果酸的提取。通过液相色谱的分析,无水乙醇和异丙醇对齐墩果酸的提取率高,如样品3~6中;而50%的乙醇对齐墩果酸的提取效果不佳,如样品7~10,木瓜原汁、木瓜渣及木瓜干粉、鲜木瓜粉采用50%乙醇

提取液、提取液浓缩液均未检出齐墩果酸。

3.3 食醋中不含齐墩果酸,样品17未检出,苹果醋中不含齐墩果酸,样品23未检出。

3.4 有机溶剂提取齐墩果酸的提取率可以达到1%左右,如表3中样品3、4、5、6的齐墩果酸提取率分别为1.000、0.995、1.145、1.250。而果醋中齐墩果酸的提取率接近溶剂提取法的50%,如样品13、15,样品12齐墩果酸的提取率只有0.26%。虽然发酵法在果醋中保留的齐墩果酸较溶剂法低,但在生产过程中避免使用溶剂,既利用了木瓜汁液,也保留了木瓜渣中有效成分,不失为一种保健果醋有效的生产工艺。

3.5 测定结果表明齐墩果酸在湖北的资丘木瓜中的含量比较可观,达到1%左右,与以前文献报道相符。

参考文献:

- [1] 项昭保,唐春红,陈岗,等.木瓜中齐墩果酸测定方法的研究[J].天然产物研究与开发,2001,13(4):23-26.
- [2] 唐春红,项昭保.木瓜中齐墩果酸的提取分离及含量测定[J].中国野生植物资源,2001,20(2):48-50.
- [3] 唐春红,项昭保,石轶松,等.木瓜中齐墩果酸的提取工艺研究[J].食品工业科技,2000,21(4):10-12.
- [4] 王绍美,何照范,郁建平.木瓜营养成分分析[J].营养学报,2000,22(2):190-192.
- [5] 唐春红.木瓜营养保健作用研究动态[J].天然产物研究与开发,2000,12(4):97-100.
- [6] 郭学敏,洪永福.皱皮木瓜化学成分的研究[J].中草药,1997,28(10):584-585.
- [7] Liu Huitao, Wang Kekai. Determination of oleanolic acid in *Ligustrum lucidum* and its medicinal preparation by capillary electrophoresis[J]. Analytical letter, 2000, 33(6): 1105.
- [8] 周帼萍,汪芳安,高冰.醋酸菌筛选培养基的优化和优良醋酸菌分离的研究[J].中国酿造,2004,135(6):18-19.
- [9] 徐少萍,刘兆东.液态醋酸深层发酵通气量的探讨[J].中国调味品,1996,(1):11-13.