

# 仙蜜果花中酪氨酸酶抑制剂提取的探讨

邱 凌,陈清西\*

(厦门大学生命科学学院 细胞生物学和肿瘤细胞工程教育部重点实验室,福建 厦门 361005)

**摘要:** 仙蜜果属仙人掌科植物,可用作水果、蔬菜、花卉等,具有很高的经济效益和 market 价值。本文分析比较了仙蜜果花不同部位(花瓣、花苞、花芯)以及不同提取方式对酪氨酸酶活力的影响,从而对仙蜜果中提取酪氨酸酶抑制剂的可行性进行探讨。经过比较,发现超声波萃取法提取酪氨酸酶抑制剂优于传统热回流法,醇提法优于水提法,仙蜜果花中花苞部位对酪氨酸酶抑制效果最好,经过石油醚萃取可进一步提纯酪氨酸酶的抑制剂。

**关键词:** 仙蜜果;酪氨酸酶;抑制剂;提取

**中图分类号:** Q 503

**文献标识码:** A

仙蜜果(*pitaya*)又称火龙果,属仙人掌科量天尺属(*Hylocereus undatus*)和蛇鞭柱属(*Seleniurus Mejarlantous*)植物,原产于中美州。果实表皮鲜红,果肉血红或雪白,美味可口<sup>[1]</sup>。其花朵硕大,长 30~50 cm,重 600~800 g。花营养价值高,低热量<sup>[2]</sup>,可做菜,也可干制成花茶,气味芬芳。对咳嗽、气喘有独特疗效。酪氨酸酶(Tyrosinase, EC 1.14.18.1)是含铜氧化还原酶,是黑色素形成的关键酶。能将酪氨酸通过一系列反应氧化成黑色素。国内外对酪氨酸酶的活力调控的研究十分重视,涉及到医疗美容、果蔬保鲜、病虫害防治等方面。Kubo 已从天然植物中提取了一系列该酶的抑制剂,主要为黄酮类天然产物<sup>[6,7]</sup>。本文报道仙蜜果花的不同部位对酪氨酸酶抑制作用的分析结果,从而对仙蜜果花中提取酪氨酸酶抑制剂的可行性进行探讨,为其开发应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

收稿日期:2004-05-03

基金项目:福建省科技攻关课题(2004N002)和福建省自然科学基金项目(B0410003)资助

作者简介:邱凌(1981-),女,硕士研究生。

\*Corresponding author,

E-mail:chenqx@jingxian.xmu.edu.cn

仙蜜果花采后风干,经加工、烘制成粉末状干品。L-多巴(L-Dopa)为 Sigma 产品;酪氨酸酶(自制);其它试剂均为国产分析纯,玻璃重蒸水配制。主要仪器有 DU650 分光光度计(Beckman);ZFQ85A 旋转蒸发器;BS210S 电子天平(Sartorius);KQ3200DB 型数控超声波清洗器。

### 1.2 实验方法

比较温度、时间、溶剂浓度、提取方法(热回流、超声波)等因素,获得提取物,探讨对酪氨酸酶活力的影响,初步确定仙蜜果花中酪氨酸酶抑制剂提取方案<sup>[4]</sup>。取仙蜜果花瓣、花苞、花芯粉末,100(质量浓度)加入 50%乙醇,超声波萃取,过滤,旋转蒸发,得仙蜜果花各部位的粗提物。取部分粗提物加乙醇溶解,测其对酪氨酸酶的抑制作用。将提得的仙蜜果花苞粗提物通过热过滤、氯仿萃取、石油醚萃取等方法进一步纯化,浓缩后对处理过的样品进行吸收光谱扫描,以黄酮类物质 Morin 为标样,比较其纯化效果。

评价仙蜜果花的酪氨酸酶抑制剂的效果优劣均以其对酪氨酸酶活力抑制率的高低为检测标准。于 3 mL 比色皿中按表 1 准确吸取第 1,2,3,4 组反应液,混匀,475 nm 处测其光密度值,按下式计算对酪氨酸酶抑制率。式中  $A_1, A_2, A_3, A_4$  分别为表 1 中 1,2,3,4 号反应液于 475 nm 处的吸光度。

$$\text{抑制率} \% = \frac{(A_1 - A_2) - (A_3 - A_4)}{(A_1 - A_2)} \cdot 100 \%$$

表 1 酪氨酸酶活力测定的反应体系

Tab.1 The assay system of tyrosinase activity

试剂	取量/mL			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
L-Dopa (3 mmol/L)	0.50	0	0.50	0
磷酸缓冲液 (pH6.8)	2.25	2.75	2.15	2.55
效应物 (0.1 g/mL)	0.00	0.00	0.10	0.10
酪氨酸酶液 (0.1 g/mL)	0.25	0.25	0.25	0.25
合计	3.00	3.00	3.00	3.00
OD <sub>475 nm</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>

## 2 结果

### 2.1 仙蜜果花苞中酪氨酸酶抑制剂提取方法的比较

传统方法多采用热回流法,耗时长、效率低,本实验尝试用超声波萃取法,提取酪氨酸酶抑制剂。取仙蜜果花苞粉末,分别选用水、50%甲醇、50%乙醇为萃取液,用热回流和超声波两种方法处理不同时间后,抽滤,旋转蒸发除去溶剂,测定各种提取物对酪氨酸酶的抑制作用。实验结果表明:热回流法处理30 min和60 min后,萃取物检测对酶的抑制率极低,几乎没有抑制作用。而采用超声波法处理,得到的提取物对酪氨酸酶的抑制效果,见表2。以水萃取的效应物对酪氨酸酶的抑制率只能达到10%左右,而用50%乙醇和50%甲醇为溶剂,对酪氨酸酶的抑制率分别可达到38.9%和34.9%。

### 2.2 仙蜜果花各部位提取物对酪氨酸酶抑制效果的比较

测定仙蜜果花的花瓣、花苞、花芯的粗提取物对酪氨酸酶的作用。经证实,仙蜜果花的花瓣、花苞、花芯的粗提取物对酪氨酸酶均有抑制作用。测定的结果见图1,当浓度达0.66 mg/mL,上述3个花部位的粗

表 2 超声波提取法对花苞抑制酪氨酸酶活力的影响

Tab.2 The inhibition rate on the tyrosinase by ultrasonic extraction to the calyx of *pitaya*

溶剂	抑制率/%			
	10 min	30 min	50 min	70 min
水	10.90	9.50	9.67	9.60
50%甲醇	3.10	23.05	41.84	34.86
50%乙醇	4.70	21.20	28.06	38.88

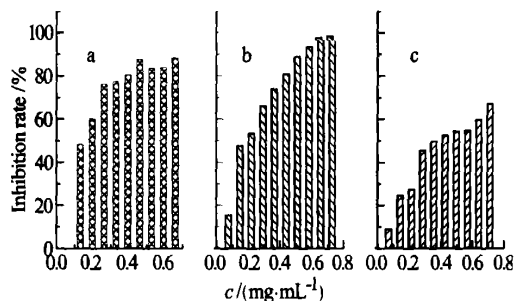


图 1 仙蜜果花的花瓣(a)、花苞(b)和花芯(c)对酪氨酸酶活力的抑制作用

Fig. 1 The inhibition rate of petal (a), calyx (b) and stamen (c) from red-purple *pitaya* on the diphenolase activity of mushroom tyrosinase

提物对酪氨酸酶活力分别抑制了88.44%、97.47%和59.48%。仙蜜果花苞粉粗提取物对酪氨酸酶的抑制作用最为明显。

### 2.3 仙蜜果花苞酪氨酸酶抑制剂的纯化及光谱鉴定

采用不同处理方法制备的仙蜜果花苞酪氨酸酶抑制剂的紫外-可见吸收光谱测定结果见图2。粗提物在300 nm、415 nm、450 nm、520 nm、625 nm处各有吸收峰,经热过滤后625 nm处的吸收峰消失;采用氯仿萃取时,520 nm、625 nm处的吸收峰消失;而采用石油醚萃取的酪氨酸酶抑制剂只剩下300 nm和415 nm处的吸收峰,其光谱特征峰与类黄酮Morin比较相似,说明仙蜜果花苞酪氨酸酶抑制剂很可能含有类黄酮成分。

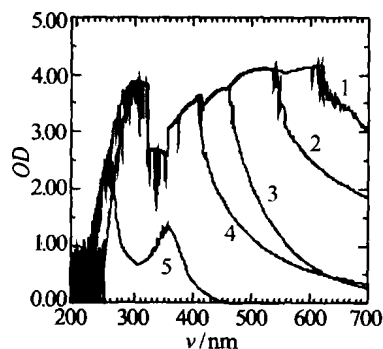


图 2 仙蜜果花苞酪氨酸酶抑制剂的吸收光谱 曲线 1 为粗提物、曲线 2、3、4 分别为粗提物经热过滤处理、氯仿萃取和石油醚萃取物,曲线 5 为标准的类黄酮

Fig. 2 Absorbency spectra of tyrosinase's inhibitor from calyx

### 3 讨论

仙蜜果花苞相对于花瓣和花芯而言,可能含有较多的有机小分子,从各种理化性质推测可能是黄酮类物质。粗提物放置一段时间会有脂类物质析出,这与花苞中粗脂肪的含量比较高有关。通过热过滤、有机溶剂萃取可除去脂质。仙蜜果花苞对酪氨酸酶的抑制作用与其保护花、果的功能密切相关。当仙蜜果开花后进入结实期,果实完成膨大、着色、糖转化的整个过程,花苞部分转化为果实上颜色鲜艳、阔而短的鳞片,对果实起到保水、保护作用。室温下,果实可储藏 14 d 左右,冰箱中 4℃ 冷藏,可储藏 30 d 甚至更长时间。当这层鳞片被破坏,果实就很容易褐变、腐烂、变质。酪氨酸酶是影响果蔬褐变的关键酶,仙蜜果花瓣、花苞、花芯均对酪氨酸酶有不同程度的抑制作用,有可能就是因为酪氨酸酶抑制剂的存在,才保证花苞行使保护花、果的功能。本研究证实,仙蜜果花对酪氨酸酶有抑制作用,花苞部分最为明显,通过对其提取工艺的改进,有望获得有效的酪氨酸酶的抑制剂。如果能将其用于酪氨酸酶抑制剂的研究开发,则更加拓展了其在美容、杀虫、果蔬保鲜等

领域的妙用,具有广泛的市场前景。

#### 参考文献:

- [1] 李德勇,江涛. 21 世纪果品珍品——火龙果[J]. 农村实用工程技术,2001,7:39.
- [2] 李兴华. 21 世纪保健食品——火龙果[J]. 云南农业,2001,7:14.
- [3] 郭文华. 吉祥水果——火龙果[J]. 中国果业,2002,2:31.
- [4] 王铮敏. 超声波在植物有效成分提取中的应用[J]. 三明高等专科学校学报,2002,19(4):45-53.
- [5] Florian C Stintzing, Andreas Schieber, Reinhold Carle. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose [J]. Food Chemistry, 2002,77:101-106.
- [6] Kubo I, Kinoshita Hori I, Ishiguro K, et al. Flavonols from *Heterotheca inuloides*. Tyrosinase inhibitory activity and structural criteria[J]. Bioorg. Med. Chem., 2000,8:1585-1591.
- [7] Kubo I, Kinoshita Hori I. Flavonols from saffron flower: Tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanisms[J]. J. Agric. Food Chem., 1999,47:4121-4125.

## Studies on the Extraction of Tyrosinase Inhibitor from Red-purple *Pitaya* Flower

QIU Ling, CHEN Qing-xi \*

(The Key Laboratory of Education Ministry for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** *Pitaya* is a kind of cactaceous plant. It can be used as fruit, vegetable, flower, medicine. In this paper, it was found that the extracts from *pitaya* flowers could inhibit the activity of tyrosinase. So we tried quite a lot of factors, including temperature, time, organic solvent extracting, to find a better way to extract the tyrosinase inhibitor from *pitaya* flowers. Compared with traditional heat circumfluence method, ultrasonic treat was an efficient method to get the inhibitor of tyrosinase from *pitaya* flower powder. The results show that the extracts from calyx had the highest inhibition rate to the tyrosinase. When the concentration of the extracts reached to 0.66 mg/mL, the inhibition rates on tyrosinase activity was determined to be 97.47%, 88.44% and 59.48% from calyx, petal and stamen, respectively. The crude compounds from calyx could be purified using the extraction by petroleum ether efficiently. The characteristic of tyrosinase's inhibitor of calyx from *pitaya* flowers was showed as morin in some extent.

**Key words:** *pitaya*; tyrosinase; inhibitor; extraction