

文章编号:1009-038X(2004)02-0017-04

二氢杨梅素的稳定性及其影响因素

林淑英¹, 高建华¹, 郭清泉², 宁正祥¹

(1. 华南理工大学 食品与生物工程学院, 广东 广州 510640; 2. 华南理工大学 化工研究所, 广东 广州 510640)

摘 要: 二氢杨梅素是一种重要的黄酮类物质, 具有较好的抗氧化活性. 通过溶析称重法测定了溶解度的变化, 采用紫外-可见光谱扫描法研究其化学结构的变化, 结果表明: 二氢杨梅素溶液易发生氧化, 稳定性较差, 在不超过 100 ℃, 加热时间不超过 30 min 以及酸性和中性条件可保持其化学结构稳定, 而过渡态金属离子 Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} 等对二氢杨梅素的氧化则起到诱导催化作用.

关键词: 二氢杨梅素; 光谱; pH 值; 化学结构; 稳定性

中图分类号: O 626

文献标识码: A

Stability of Dihydromyricetin and Factors Affecting the Stability

LIN Shu-ying¹, GAO Jian-hua¹, GUO Qing-quan², NING Zheng-xiang¹

(1. College of Food and Biotechnology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. Institute of Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Dihydromyricetin is an important kind of flavonol. It has some health protection functions and antioxidation activity to TBHQ. The solubility of dihydromyricetin with the way of dissolving - separating out- quantifying weight was studied and changes in chemical structure of dihydromyricetin was confirmed by ultraviolet/visible region scan. The result showed that dihydromyricetin was unstable in water, unless it existed in aqueous phase under 100 ℃ for less than 30 min. Under the acidic and neutral conditions, the chemical structure of dihydromyricetin was stable. In the processes of extracting and using dihydromyricetin, metal ion could be wiped off, as transitional metal ions such as Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} could induce oxidation.

Key words: dihydromyricetin; spectrum; pH-value; chemical structure; stability

二氢杨梅素(3,5,7,3',4',5'-六羟基-2,3 双氢黄酮醇, Dihydromyricetin, DMY)是多酚羟基双氢黄酮醇, 属黄酮类化合物, 广泛存在于葡萄科植物中, 尤其是在蛇葡萄属植物中, 在显齿蛇葡萄植物的幼嫩茎叶中, 其质量分数可达 20%~28% (占

干重), 幼叶中的含量更高^[1,2]. 用显齿蛇葡萄幼叶制成的类茶产品具有消炎、止咳、祛痰、镇痛、抑菌^[3,4]、抗高血压、消脂^[5]、防癌、保肝护肝^[6]等显著功效. 除此之外, 二氢杨梅素还具有优异的防腐和抗氧化性能, 有望成为新型的天然防腐剂和抗氧化

收稿日期: 2003-08-05; 修回日期: 2003-09-30.

基金项目: 广东省自然科学基金项目(编号: 020842)资助课题.

作者简介: 林淑英(1976-), 女, 黑龙江佳木斯人, 食品科学与工程博士研究生.

剂,具有广阔的开发前景.

鉴于显齿蛇葡萄的特殊功效,对于二氢杨梅素提取和生理活性的研究日趋活跃. 目前的研究主要集中在两个方面:一是溶剂提取法,包括复合有机溶剂法和水浸提法^[7];二是层析法,主要为大孔吸附树脂提取法^[8~10].

黄酮类物质均具有一定紫外-可见吸收光谱^[11],紫外-可见吸收光谱扫描法可准确、快速地测定出其化学结构是否发生变化,因此作者主要采用紫外-可见光谱扫描法研究 pH 值、温度以及金属离子对于二氢杨梅素化学结构稳定性、溶解度以及色泽的影响,为其在食品、医药及化妆品工业中应用提供一定的依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料、仪器与试剂

实验材料:显齿蛇葡萄幼嫩叶,采自广东白云山,依文献鉴定为原植物;实验仪器:紫外-可见分光光度计,电子天平,恒温仪;所用化学试剂均为分析纯.

1.2 实验方法

1.2.1 二氢杨梅素的提取制备 取蛇葡萄幼嫩干叶,加水煎煮,浓缩过滤后,放置,待析出浅黄色颗粒状结晶后,抽滤干燥,得到粗品;用索式抽提器抽提粗品,浓缩下层溶液,按质量比 1:100 加蒸馏水稀释,过滤后放置,析出白色结晶;所得结晶再依上法进行数次重结晶,最后得白色细针状结晶,即二氢杨梅素,经高效液相色谱测定,纯度为 95%.

1.2.2 二氢杨梅素水相热稳定性的检测 取 0.5 g 二氢杨梅素(纯度>95%)溶于 900 mL 水中,煮沸,分别在 0~600 min 取样 5 mL,于 25 mL 容量瓶中定容,在 200~800 nm 的波长范围扫描.

1.2.3 pH 值变化对于二氢杨梅素稳定性的检测 称取二氢杨梅素(纯度>95%)1.0~1.5 g 于不同 pH 值的水溶液中,加热至 100 ℃ 保持 5 min 待其溶解,冷却至室温,72 h 后观察结晶状态、颜色以及上清液颜色差异,真空抽滤后,称量滤渣质量,计算二氢杨梅素在不同 pH 值下的溶解度. 取上清液进行波长在 220~800 nm 的紫外-可见光谱扫描,比较不同 pH 值下的稳定性.

1.2.4 金属离子对于二氢杨梅素稳定性的检测 称取二氢杨梅素(纯度>95%)0.05 g 左右,溶于 2 000 mL 蒸馏水中备用. 取以上样品 50 mL,加入 1 mL 0.1 mol/L 的金属离子溶液,混匀后静置 6 h 后在 200~800 nm 波长范围扫描.

2 结果与讨论

2.1 水相二氢杨梅素的热稳定性

研究发现,二氢杨梅素的热稳定性与时间关系密切,由图 1a 所示,二氢杨梅素水溶液 100 ℃ 下加热 30 min 其紫外可见光谱图未见改变,图中所示的峰高不同为随时间延长,水蒸气蒸发导致溶质质量浓度升高所致;但图 1 所示的加热 35 min 后,随加热时间的延长,溶液的紫外可见扫描光谱图发生了很大变化,其在紫外光区的最大吸收峰 294 nm 和 324 nm 左右的峰肩没有发生变化,但峰高比例下降,同时在 350~400 nm 之间又出现吸收有较为明显的增强趋势,并且随加热时间的延长其峰高不断增加,溶液也出现了肉眼可见的颜色加深现象.

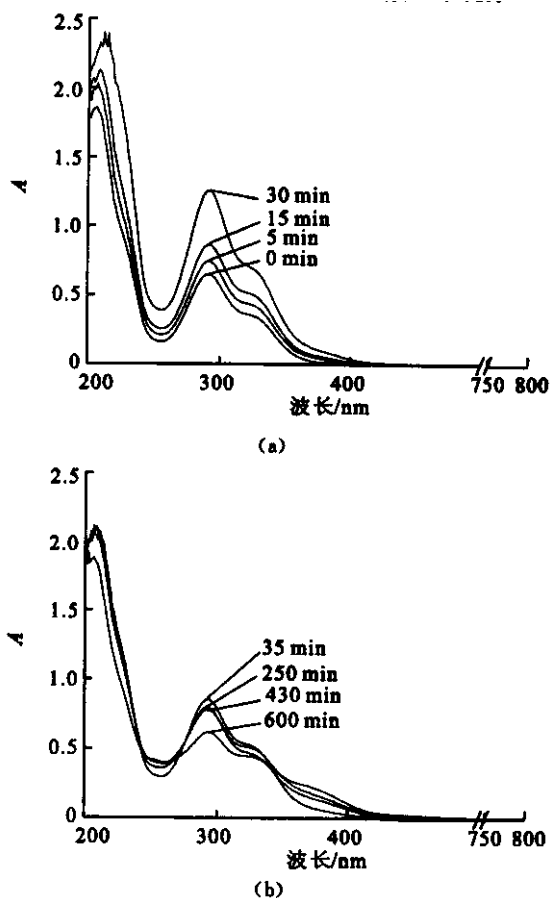


图1 100 ℃ 下不同时间水相二氢杨梅素的紫外-可见光谱图

Fig.1 Ultraviolet/visible region spectrum of DMY in water at different heating time under 100 ℃

以上现象均表明:水相中随着加热时间的延长,二氢杨梅素的构型发生了变化,产生了在 370 nm 处有较大吸收的基团,并且加热时间越长,产生的该物质越多.以上变化可能是由于二氢杨梅素的

氧化引起的,氧化后的二氢杨梅素变成亚醌式结构,B 环发生断裂,并且随着加热时间的延长,氧化程度不断加深,导致 370 nm 左右的吸收不断增强,294 nm 处的吸收逐渐减少,表明二氢杨梅素在水相中随时间和温度的增加会变得不稳定,发生氧化,且一定程度不可逆。

另外需要指出,前期研究中采用 DSC 差热扫描仪对于二氢杨梅素的热稳定性进行了研究^[12],发现其熔点为 245 ℃ 左右,高于此温度就会发生分解,而低于此温度在没有其他介质条件下,二氢杨梅素在干燥条件下则表现出非常好的热稳定性。在二氢杨梅素溶液中,水充当媒介,从而为溶解态的二氢杨梅素的氧化提供了条件,氧化后的二氢杨梅素转变为醌式结构,从而引起解环。

2.2 pH 值对于二氢杨梅素稳定性的影响

由图 2~4 可见,随着 pH 值的增大,二氢杨梅素的紫外可见光谱图发生了显著变化。

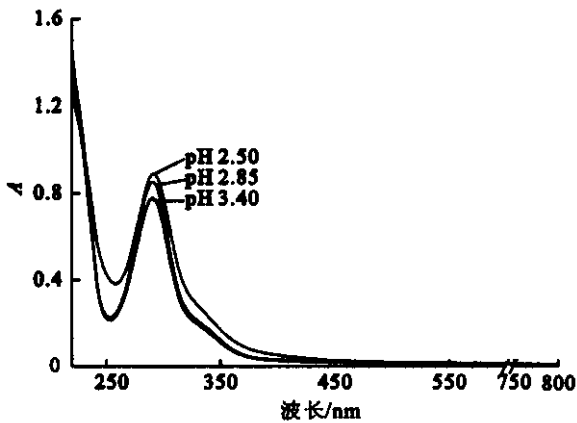


图 2 酸性条件对于二氢杨梅素结构的影响
Fig. 2 Effect of acidity condition on chemical structure of DMY

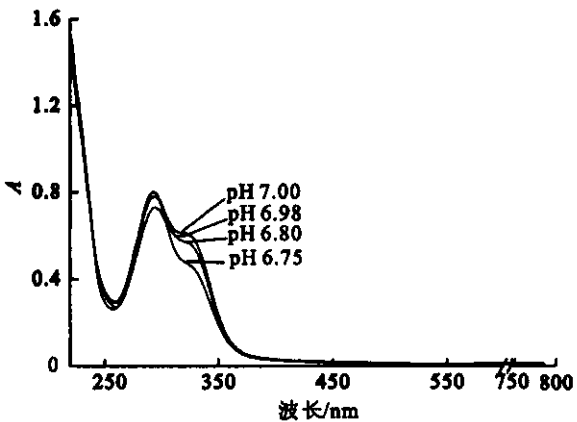


图 3 中性条件对于二氢杨梅素结构的影响
Fig. 3 Effect of neutral condition on chemical structure of DMY

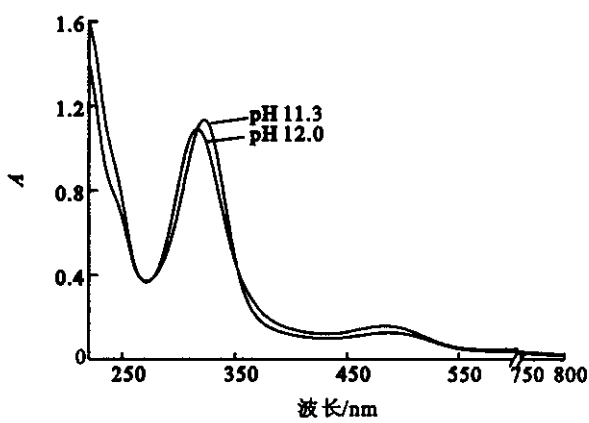


图 4 碱性条件对于二氢杨梅素结构的影响
Fig. 4 Effect of alkaline condition on chemical structure of DMY

在酸性(pH 值 2.0~3.5)条件下,二氢杨梅素在 294 nm 下有特征吸收峰,在 324 nm 左右有肩峰,可见光区没有明显的特征吸收峰出现,且 pH 值变化特征吸收峰没有发生改变,说明酸性条件下二氢杨梅素构型稳定。中性条件下,其 294 nm 下的吸收峰有所减小,而 324 nm 左右的肩峰明显增高,可见光区仍无明显吸收,说明二氢杨梅素的构型已部分发生变化,即只是很少部分的量变。在 324 nm 左右的肩峰增大表明,二氢杨梅素分子上的羟基部分解离,这是由于二氢杨梅素分子中含有 6 个酚羟基,具有弱酸性,等电点接近 pH 值 5 左右,因此随着碱的加入,酚羟基开始解离,但这种解离并未引起整个分子的构型变化,其特征吸收峰仍为 294 nm 和 324 nm。

在碱性条件下,二氢杨梅素的构型发生了明显变化,其在 294 nm 处的吸收峰消失,在 324 nm 左右的吸收峰明显增大,同时在可见光区 498 nm 左右出现了明显吸收,低质量浓度二氢杨梅素溶液的颜色由微黄色变为浅棕色(见表 2),即随着强碱的加入,其分子上的酚羟基逐渐解离,同时由于酚羟基的解离,改变了分子上的电子云分布,从而使分子发生了彻底的构型转换,在 B 环的氧原子处发生解环,生成了 A 环上的一个羟基,类似于查尔酮结构,故引起相应峰带红移 20 nm,并在 498 nm 可见光区处出现吸收峰。

因此,由以上的分析可知,酸性和中性条件为二氢杨梅素应用和保藏的适宜 pH 值条件,要避免在碱性条件下应用,否则会失去其原有的抗氧化效果。

由表 1,2 可见,pH 值对二氢杨梅素的溶解度影响较小,在 pH 值 4~5 左右溶解度较小,中性范围内溶解度较高,但是对于结晶纯化产品质量影响

较大,其中 pH 值过高都会产生不良的颜色变化.其水溶液颜色在 pH 值 4~6 表现出较好的淡黄色,保证其浅淡的颜色不影响应用.虽然在此范围内其溶解度最低,但前期研究表明作为抗氧化剂和防腐剂应用其添加量一般不超过 0.06%^[4,12,13],因此并不限制其应用,同时可稳定其结构,综上所述,建议在 pH 值 4~6 左右的微酸性条件下应用和保存二氢杨梅素,从而取得较好抗氧化和抑菌的效果.

表 1 pH 值对于 DMY 结晶颜色和同质量浓度 DMY 溶液颜色的影响

Tab. 1 Effect of pH value on crystal color of DMY and same concentration DMY solution

pH 值	结晶颜色	溶液颜色
1.5	黄色	微黄色
2.0	黄色	微黄色
3.0	黄色	微黄色
4.0	黄白色	微黄色
5.0	黄白色	淡黄色
6.0	橙色	淡黄色
7.0	橙色	较黄色
8.0	土黄色	深黄色
10.0	土黄色	棕色

表 2 pH 值对于二氢杨梅素的溶解度的影响

Tab. 2 Effect of pH value on solubility of DMY

pH 值	溶解度/(g/hg)	pH 值	溶解度/(g/hg)
1.5	0.0680	4.0	0.0588
2.0	0.0670	5.0	0.0688
3.0	0.0670	7.0	0.0732

2.3 金属离子对于二氢杨梅素稳定性的影响

金属离子存在于各种食品原辅料中,并可通过加工或提取等工艺引入到食品体系,因此研究金属离子对二氢杨梅素稳定性的影响就显得非常必要.作者发现二氢杨梅素对于金属离子的敏感程度不尽相同,需指出因加入的金属离子浓度很低(0.2 mmol/L),而且均为金属氯化物,因此对 pH 值的影

响很小,可忽略.由图 5 可见,Al³⁺,Fe³⁺,Cu²⁺表现出较为明显的作用(加入 0.2 mmol/L 浓度的 Fe³⁺ 二氢杨梅素溶液浓度,因吸光值增大较多,稀释了 4 倍进行测定),这是因为二氢杨梅素螯合金属离子 Al³⁺,形成了二氢杨梅素铝络合物,非共有电子增多,n→π 共轭加强,所以出现了红移效应.而 Fe³⁺,Cu²⁺引起其吸收光谱较大改变,是因为过渡态的高价金属离子是许多自由基产生过程的催化剂,螯合金属离子也是二氢杨梅素的抗氧化作用机制之一,二氢杨梅素螯合 Fe³⁺,Cu²⁺ 后发生了氧化反应,因此结构发生了彻底的改变导致其吸收光谱的改变.螯合金属离子也是二氢杨梅素抗氧化作用机制之一.

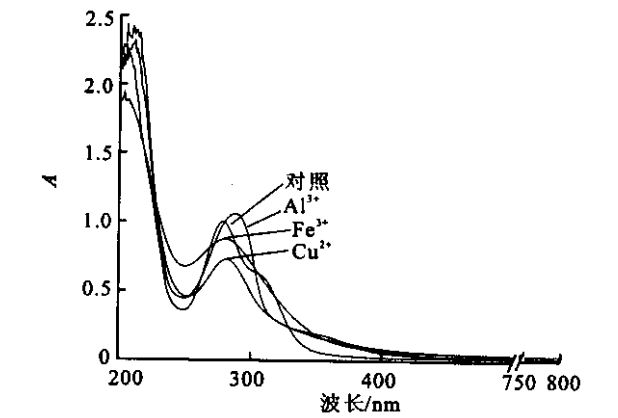


图 5 金属离子与二氢杨梅素作用的紫外-可见光谱图

Fig. 5 Ultraviolet/visible region spectrum of interaction of DMY and metal ions

3 结 论

1)二氢杨梅素在水相中随时间和温度的增加会变得不稳定,发生氧化,且不可逆,建议在提取和加工过程中避免过高的加热温度,以达到沸腾不超过 30 min 为宜.

2)pH 值是影响二氢杨梅素稳定性的重要因素.酸性和中性条件(pH<7.0)为二氢杨梅素应用和保藏的适宜 pH 值条件.

3)金属离子 Ca²⁺,Mg²⁺,Na⁺,NH⁴⁺,Ba²⁺ 对于二氢杨梅素稳定性均无明显的作用,而 Al³⁺,Fe³⁺,Cu²⁺ 则是二氢杨梅素提取和应用过程中要避免接触的.

参考文献:

[1] 张友胜,杨伟丽,熊皓平. RP-HPLC 法测定显齿蛇葡萄植物中杨梅素的含量[J]. 中草药,2001,32(11):983—985.

万方数据 (下转第 44 页)

[2] 陈德慰. 绿色蔬菜中金属离子络合物的研究进展[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, (4): 440—443.

[3] 詹沛鑫. pH 值对加热绿色蔬菜中叶绿素形成的影响——亨盖特 Lab 色度法[J]. 食品与发酵工业, 1997, (6): 50—52.

[4] 祝美云. 不同护绿液对罐头蕨菜护绿效果的影响[J]. 河南农业大学学报, 2002, (3): 260—262.

[5] 周涛. 热处理对微加工茭白的质构和色泽的影响[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, (3): 281—284.

[6] Derek R Haisman. The Interfacial factor in the heat- induced conversion of chlorophyll to pheophytin in green leaves[J]. J Sci Fd Agric , 1975, 26: 1111—1126.

[7] 陈文峻. 植物叶绿素的降解[J]. 植物生理学通讯, 2001, (4): 336—339.

[8] Luke F LaBorde. Zinc complex formation in heated vegetable purees[J]. J agric Food Chem, 1990, 38: 484—487.

[9] Sigmund H Schanderl. Color reversion in processed vegetables[J]. J agric Food Chem, 1979, 24: 312—315.

(责任编辑: 杨 勇)

(上接第 20 页)

[2] 何桂霞, 裴刚, 周天达, 等. 显齿蛇葡萄中总黄酮和二氢杨梅素的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 423—425.

[3] Matsumoto T, Tahara S. Ampelopsin, a major antifungal constituent from *Salix sachalinensis*, and its methyl ethers[J]. Nippon nokeikagaku kaishi, 2001, 75 (6): 659—667.

[4] 杨书珍, 张友胜, 宁正祥, 等. 二氢杨梅素对几种食品常见菌的抑制效果[J]. 天然产物研究与开发, 2003, (1): 40—42.

[5] 周雪仙, 周天达, 谭春生. 双氢杨梅树皮素对兔胸主动脉条平滑肌收缩反应的影响[J]. 现代应用药学, 1997, 14(2): 8—11.

[6] Yabe N, Tanaka K, Matsui H. An ethanol-extract of *Ampelopsis brevipedunculata* (vitaceae) berries decreases ferrous iron-stimulated hepatocyte injury in culture[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1998, 59(3): 147—159.

[7] 周天达, 周雪仙. 藤茶中双氢黄酮醇的分离结构鉴定及药理活性[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(8): 458.

[8]. 张友胜, 杨伟丽, 胡自勇. “增温溶解, 保温过柱, 温水解吸”提制二氢杨梅素(一) [J]. 天然产物研究与开发, 2002, (3): 50—53.

[9]. 张友胜, 杨伟丽, 胡自勇. “增温溶解, 保温过柱, 温水解吸”提制二氢杨梅素(二) [J]. 天然产物研究与开发, 2002, (4): 38—41.

[10] Qizhen Du, Weijian Cai, Ming Xia, *et al.* Purification of (+)-dihydromyricetin from leaves extract of *Ampelopsis grossedentata* using high-speed countercurrent chromatograph with scale-up triple columns[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 9(73): 217—220.

[11] 田燕. 紫外-可见光谱在黄酮类鉴定中的应用[J]. 大连医科大学学报, 2002, (3): 213—214.

[12] 林淑英, 张友胜, 郭清泉, 等. 天然抗氧化剂二氢杨梅素的热稳定性及抗氧化性质研究[J]. 现代化工, 2003, (增刊): 191—193.

[13] 林淑英, 张友胜, 宁正祥, 等. 二氢杨梅素在猪油体系中的抗氧化作用研究[J]. 食品科技, 2003, (4): 71—74.

(责任编辑: 朱 明)