

李邦玉,朱晓巧,仇雪玲,等. 紫外可见光谱法探讨白藜芦醇的稳定性和反应性能[J]. 江苏农业科学,2016,44(11):302-305.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.090

# 紫外可见光谱法探讨白藜芦醇的稳定性和反应性能

李邦玉,朱晓巧,仇雪玲,刘 臣

(苏州市职业大学应用化学研究室,江苏苏州 215104)

**摘要:**为了考察白藜芦醇在多种体系中的稳定性和反应性能,采用紫外可见分光光度法定性研究温度、时间、紫外线和溶剂等对白藜芦醇稳定性的影响,跟踪白藜芦醇分别与酸碱、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、铜离子的反应。结果表明:温度、时间、紫外线等都不同程度影响白藜芦醇的稳定性,紫外可见光谱跟踪到了酸碱、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 和白藜芦醇的反应。

**关键词:**白藜芦醇;稳定性;反应性;紫外可见分光光度法

**中图分类号:** TS201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0302-03

研究发现,最初从毛叶藜芦中发现的白藜芦醇(resveratrol)是一种含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物,具有抗氧化、抗炎、抗癌、心血管保护以及神经系统保护等多种生理功效,同时在功能食品和化妆品方面具有很好的应用价值<sup>[1]</sup>。但是天然多酚类化合物不稳定,曹庸等曾经研究了纯白藜芦醇在加热和光照下的稳定性,并用HPLC法测定了虎杖中白藜芦醇含量<sup>[2]</sup>。郑湘娟等用HPLC法考察了在提取液中白藜芦醇的稳定性,初步获得了能够基本保持白藜芦醇稳定的最佳提取工艺条件<sup>[3]</sup>。本试验拟采用紫外可见分光光度法,更全面地定性研究不同条件下白藜芦醇的稳定性及其与酸碱、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 、铜离子等的反应。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

白藜芦醇(南京广润生物生物制品,98%), $\text{DPPH}\cdot$ (Sigma公司),无水乙醇,30%过氧化氢,盐酸,氢氧化钠,甲醇、乙腈、乙酸乙酯、四氯化碳、三氯甲烷、己烷等药品皆为国产分析纯试剂。

紫外可见分光光度计(型号:UV-1801),十万分之一天平(CPA 225D),电热恒温水浴锅,三用紫外分析仪(WFH-203),上海精科实业有限公司。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 浓度对白藜芦醇的影响** 准确称取白藜芦醇0.042 0 g于250 mL的容量瓶中,用无水乙醇定容,得168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白藜芦醇储备液。用移液管分别移取白藜芦醇储备液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL于25 mL的比色管中,用无水乙醇定容至10 mL配成浓度为1.68、3.36、5.04、6.72、8.40、10.08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的梯度溶液,用UV-Vis光谱仪进行光谱检测。

**1.2.2 温度对白藜芦醇溶液的影响** 分别吸取浓度为168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白藜芦醇储备液0.2 mL于6支25 mL比色管中,用无水乙醇定容到10 mL,配成等浓度的溶液,分别放入冰箱(4  $^{\circ}\text{C}$ )、室温(20  $^{\circ}\text{C}$ )、40、60、80  $^{\circ}\text{C}$ 温度的水浴锅中各1 h后取出,用UV-Vis光谱仪进行光谱检测。

**1.2.3 时间对白藜芦醇溶液的影响** 分别吸取浓度为168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白藜芦醇储备液0.2 mL于7支25 mL比色管中,用无水乙醇定容到10 mL,将其中6支比色管放入80  $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中,分别在0.5、1.0、2.0、3.0、4.5、5.5 h后扫描其紫外可见吸收曲线。

**1.2.4 紫外灯照射对白藜芦醇溶液的影响** 分别吸取浓度为168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的白藜芦醇储备液0.2 mL于9支25 mL比色管中,用无水乙醇定容到10 mL,将其中8支比色管放在1.34  $\text{mW}/\text{cm}^2$ 紫外光线强度的紫外灯下分别照射10、20、30、50、70、110、180 min后扫描其紫外可见吸收曲线。

**1.2.5 溶剂对白藜芦醇溶液的影响** 分别称取白藜芦醇0.000 25 g,转入25 mL比色管中,分别加入水、甲醇、乙醇、乙腈、乙酸乙酯、四氯化碳、三氯甲烷、己烷定容至25 mL,配制浓度为10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,用UV-Vis光谱仪进行光谱检测。扫描时不同溶剂用不同的参比。

**1.2.6 酸碱与白藜芦醇溶液的反应** 分别向2个比色管中移入0.2 mL的168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 白藜芦醇储备液,用无水乙醇定容至10 mL。向其中一支比色管中逐滴滴加0.01 mol/L的盐酸,振荡,逐次进行紫外可见光谱扫描。pH值从4.6降低到3。向另一支比色管中逐滴滴加0.01 mol/L的氢氧化钠,振荡,逐次进行紫外可见光谱扫描。pH值从4.6上升到9。

**1.2.7  $\text{H}_2\text{O}_2$ 与白藜芦醇溶液的反应** 移取168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 白藜芦醇储备液0.2 mL于25 mL比色管中,用无水乙醇定容至10 mL,不断滴加0.04 mol/L的过氧化氢溶液,反应5 min,用UV-Vis光谱仪进行光谱检测。

**1.2.8 白藜芦醇与 $\text{DPPH}\cdot$ 的反应及清除率效应** 移取168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 白藜芦醇储备液0.2 mL于25 mL比色管中,用无水乙醇定容至10 mL,不断滴加0.176  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 $\text{DPPH}\cdot$ 乙醇溶液,暗处反应5 min,用UV-Vis光谱仪进行光谱检测。

**1.2.9 铜离子对白藜芦醇的影响** 移取168  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 白藜芦

收稿日期:2015-05-26

基金项目:2014年江苏省大学生实践创新训练计划(编号:201411054011Y)。

作者简介:李邦玉(1968—),男,安徽宣城人,博士,教授,研究方向为有机化学及食品化学。E-mail:lby@jssvc.edu.cn。

醇储备液 0.2 mL 于 25 mL 比色管中,用无水乙醇定容至 10 mL,不断滴加 0.02 mol/L 的硝酸铜溶液,反应 5 min,用 UV-Vis 光谱仪进行光谱检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度白藜芦醇的紫外可见光谱

由图 1 可知,白藜芦醇在 217 nm 处有一吸收,在 300 ~ 330 nm 处存在强度更大的宽吸收峰。从 a 到 f,随着白藜芦醇溶液浓度升高,白藜芦醇的 2 处吸收峰位置不变且吸收强度逐渐增强,217 nm 峰变锐,300 ~ 330 nm 峰明显分成 2 个肩峰,其中在 306 nm 左右又稍强些,所以通常把 306 nm 作为特征吸收来研究其含量的变化,只是测试浓度不能太小,否则 306 nm 峰太钝。

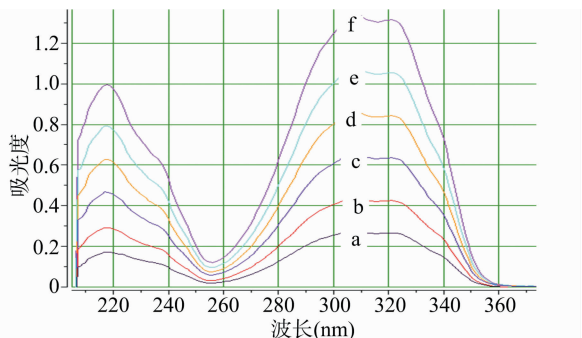


图1 不同浓度梯度白藜芦醇溶液 UV-Vis 光谱

### 2.2 不同温度白藜芦醇的紫外可见光谱

由图 2 可知,随着温度的升高,白藜芦醇溶液吸收曲线总体形状没有发生改变,306 nm 特征吸收峰位置也没有移动,全波段的吸收强度都随温度的升高有规律地减小,初步说明在持续受热条件下,部分白藜芦醇发生了分解,且温度越高变化越显著。同时,由图 3 可知,80 °C 下放置一段时间后,白藜芦醇溶液吸收曲线基本形状没有改变,特征吸收峰没有变化,在 0.5 ~ 5.5 h 内,300 ~ 330 nm 吸光度随放置时间延长而递减。这同文献报道的结果<sup>[4-5]</sup>一致。

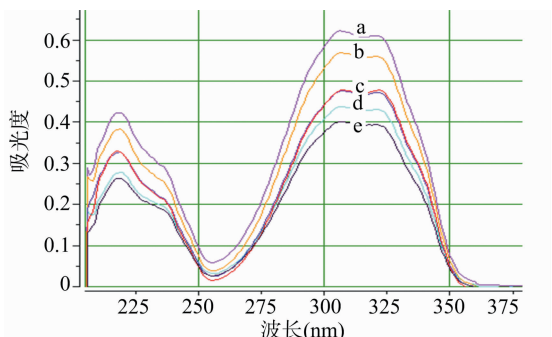


图2 不同温度下白藜芦醇溶液紫外可见光谱图

### 2.3 紫外线照射后的白藜芦醇紫外可见光谱

由图 4 可知,常温下白藜芦醇经一段时间一定强度紫外线照射后,其紫外可见吸收曲线基本形状逐渐在改变。(1) 300 ~ 330 nm 吸收强度随照射时间延长而降低,右边的肩峰降低更大,30 min 后 2 峰几乎消失,而在 287 nm 处出现一钝峰,或者说特征吸收峰减弱且蓝移至 287 nm 处,在接下来的试验时间内该吸收位置不再发生移动,可能生成了某种稳定

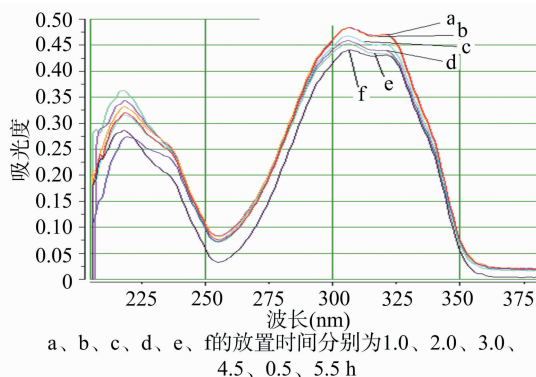


图3 80 °C 下放置不同时间的白藜芦醇溶液紫外可见光谱图

的产物。(2)在白藜芦醇 217 nm 处吸收峰逐渐增强,且也发生蓝移。文献[6-7]研究光照对白藜芦醇的影响,发现白藜芦醇在紫外光照下会发生顺反异构。反式与顺式白藜芦醇在紫外光 210 nm 处有强吸收,其第二吸收峰分别在 305 ~ 330 nm 和 280 ~ 295 nm 处。史先敏等用 HPLC 方法研究发现温度对白藜芦醇结构变化的影响要远小于光照对白藜芦醇结构的影响<sup>[4]</sup>,说明白藜芦醇的热稳定性要高于光稳定性。

比较图 2 和图 4 发现,图 4 中显示的白藜芦醇光谱发生的变化远大于图 2。

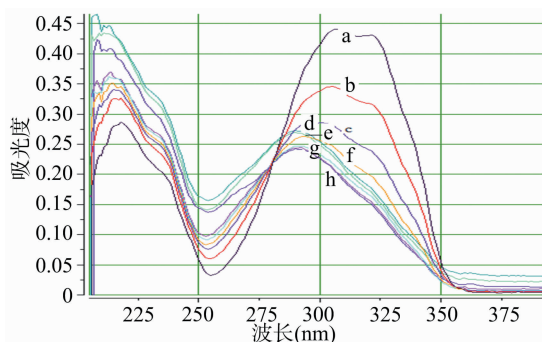


图4 紫外灯照射下白藜芦醇溶液紫外可见光谱图

### 2.4 不同溶剂中的白藜芦醇紫外可见光谱

白藜芦醇在四氯化碳、三氯甲烷、己烷中不溶,在乙腈、乙酸乙酯中能溶,易溶于乙醇、甲醇和水中。白藜芦醇的溶解度大小和溶剂的极性大小基本一致,溶解性随溶剂极性的减小而降低。由图 5 可知,白藜芦醇的特征吸收峰位置不随溶剂变化而改变,且在所选溶剂中,甲醇体系中吸收强度最大。

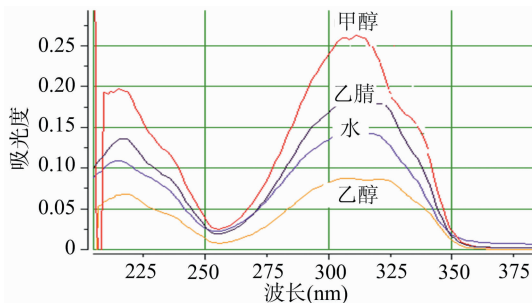
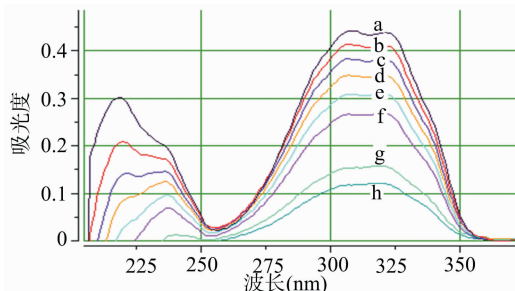


图5 在不同溶剂中的白藜芦醇紫外可见光谱图

### 2.5 不同酸碱度下的白藜芦醇紫外可见光谱

由图 6 可知,白藜芦醇溶液中加入不同量的盐酸后,在

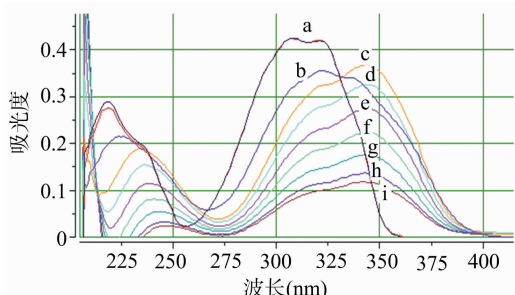
pH 值从 4.6 降低到 3 范围内,其光谱图形状发生明显变化。300 ~ 330 nm 处吸收峰位置和形状基本未发生变化,而吸收强度则随盐酸加入量的增多逐渐减弱。217 nm 处吸收锐峰吸收强度逐渐降低,以致消失,而 235 nm 处肩峰衰弱比较慢,以致成为该波段的主峰,但是随着酸量增加,也趋于消失。



a 为白藜芦醇,从 b 到 h 加酸量渐增

图6 加入盐酸后白藜芦醇溶液紫外可见光谱图

由图 7 可知,向白藜芦醇溶液中逐滴加入氢氧化钠时,随着白藜芦醇体系中加入碱的量逐渐增大,pH 值从 4.6 上升到 9,白藜芦醇的紫外可见吸收光谱图发生明显变化。在 300 ~ 330 nm 处的特征吸收峰随着氢氧化钠的加入越来越弱,306 nm 的左肩峰衰变更快,最终看不出明显吸收峰;同时,在 340 nm 左右产生新峰,成为体系的特征吸收峰,该峰强度随着碱量增加逐渐衰减。在 217 nm 处吸收峰迅速降低,在其右侧出现 1 个红移吸收峰,随着氢氧化钠量增加,峰逐渐红移,同时吸收强度依次递减。与酸性条件相比,碱性条件下,白藜芦醇特征吸收峰红移,可能是白藜芦醇分子与碱反应生成白藜芦醇负离子,增强了白藜芦醇体系的共轭效果。



a 为白藜芦醇,从 b 到 i 加碱量渐增

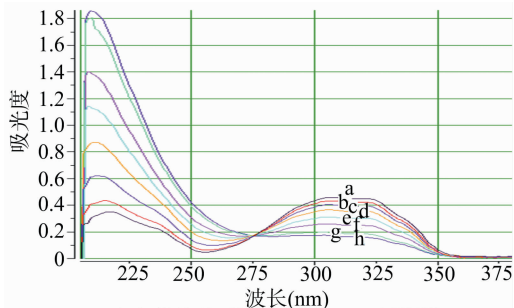
图7 加入不同量氢氧化钠后白藜芦醇溶液紫外可见光谱图

## 2.6 $H_2O_2$ 与白藜芦醇溶液的反应光谱图

由图 8 可知,在白藜芦醇溶液中,从 b 到 h,随着  $H_2O_2$  加入量的不断增加,白藜芦醇乙醇溶液在 300 ~ 330 nm 处的吸收峰逐渐降低,最后逐渐消失,说明白藜芦醇的特征结构已经遭到破坏,而 217 nm 处的尖锐吸收峰位置几乎不变只是强度逐渐增强。

## 2.7 白藜芦醇清除 DPPH· 自由基的光谱图

从图 9 可以看出,在 DPPH· 乙醇溶液中滴加白藜芦醇后,DPPH· 的 517 nm 吸收峰位置没有变化,只是吸收强度逐渐衰减;在 DPPH· 的 326 nm 处吸收峰位置也没有明显移动,可是吸收强度逐渐增强。说明白藜芦醇能消除体系中的 DPPH· 自由基,具有抗氧化作用。范金波等通过比较发现,几种天然多酚清除自由基的活性,其中白藜芦醇 > BHT (2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚) > 根皮素 > 根皮苷<sup>[8]</sup>。



a 为白藜芦醇,从 b 到 h 滴加  $H_2O_2$  量渐增

图8 过氧化氢滴加到白藜芦醇中的紫外可见光谱图

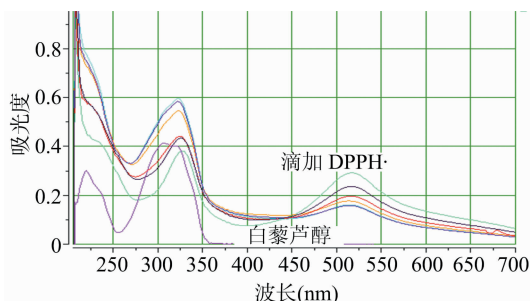
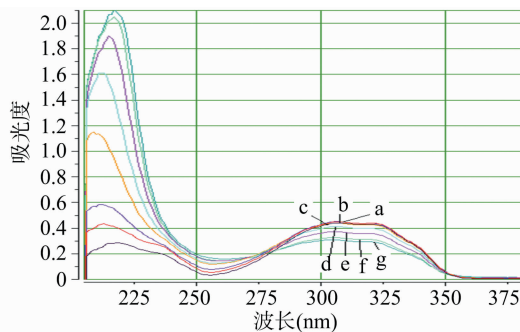


图9 白藜芦醇溶液滴加 DPPH· 后的紫外可见光谱图

## 2.8 白藜芦醇与硝酸铜溶液的螯合反应

由图 10 可知,在白藜芦醇溶液中,随着硝酸铜溶液加入量的不断增加,白藜芦醇乙醇溶液在 300 ~ 330 nm 处的吸收峰逐渐降低,而 217 nm 附近的尖锐吸收峰逐渐增强。



a、b、c、d、e、f、g 的硝酸铜滴加量分别为 0、0.001、0.004、0.010、0.020、0.040、0.060 mmol

图10 硝酸铜溶液滴加到白藜芦醇溶液中的紫外可见光谱图

## 3 结论

本试验采用紫外可见分光光度法定性研究了白藜芦醇在不同体系中的稳定性,初步跟踪了白藜芦醇与  $H_2O_2$ 、DPPH· 的反应。发现白藜芦醇的稳定性较差,温度、紫外光照、持续受热、酸碱条件、氧化剂和自由基等都会引起它的分解或转化。光照对白藜芦醇结构的破坏大于温度因素。

## 参考文献:

- [1] 付元庆,李 铎. 白藜芦醇[J]. 营养学报,2014,36(1):13-16.
- [2] 曹 庸,于华忠. HPLC 法测定虎杖白藜芦醇的含量及其稳定性研究[J]. 林产化学与工业,2004,24(2):61-64.
- [3] 郑湘娟,余淑娟,罗冬梅. 白藜芦醇在提取液中稳定性研究[J]. 食品科技,2009,34(10):177-183.

魏元. 香菇多糖的化学结构与抗氧化活性分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(11): 305–308.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.091

# 香菇多糖的化学结构与抗氧化活性分析

魏元

(包头轻工职业技术学院, 内蒙古包头 014035)

**摘要:**对香菇多糖(*Lentinus edodes* polysaccharides, LPS)经过离子交换柱层析和凝胶柱层析法得到的 2 种组分(LPS-1 和 LPS-2)的化学结构特征进行分析,旨在为香菇多糖的构效关系研究提供依据。采用高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱(GC)、红外光谱(IR)分析等手段对其化学结构特征进行解析,并对其抗氧化活性进行分析。构成糖分析结果显示, LPS-1 单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖,其物质质量之比为 1.52 : 2.96 : 2.91 : 0.78 : 1.00 : 1.35; LPS-2 的单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖和半乳糖,其物质质量之比为 2.91 : 1.00 : 1.10 : 0.20 : 0.50。LPS-1 和 LPS-2 均有较强的抗氧化活性, LPS-2 更为显著。结果表明,香菇多糖主要是阿拉伯糖和鼠李糖组成的吡喃型多糖,有较强的抗氧化活性。

**关键词:**香菇;多糖;化学结构;抗氧化

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0305-04

香菇(*Lentinus edodes*)别称花菇、香菌、香蕈、冬菇、香菇,属真菌门(Eumycophyta)侧耳科(Pleurotaceae)香菇属(*Lentinus*),是世界第二大食用菌。香菇口味鲜美、营养丰富、富含多种生物活性物质,如多糖、维生素、蛋白质、多元酚、朴菇素、膳食纤维等。香菇多糖是香菇中最重要的一种生物活性物质,作为一种免疫促进剂,已引起人们广泛的兴趣。香菇多糖的生物学功能主要有以下几方面:抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、免疫调节、抗炎、保肝护肝和降血糖等<sup>[1-2]</sup>。有关香菇多糖的药理研究,特别是结构方面的研究已引起国内外学者的高度关注,并成为多糖领域的研究热点。本研究对香菇多糖(*Lentinus edodes* polysaccharides, LPS)通过 DEAE-52 纤维素柱和 G-100 葡聚糖多糖进行分离纯化,分别研究了 LPS-1 和 LPS-2 的分子量、单糖组成、键型和抗氧化活性,为香菇多糖的研究开发及利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 试验材料 本研究所用的香菇多糖是以山东荣丰食用菌有限公司生产的香菇为材料,经过热水浸提、乙醇沉淀、透析等方法分离而成。

1.1.2 试验试剂 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (天津市凯通化学试剂有限公

司);95%乙醇(天津市百世化工有限公司);DPPH(Sigma 公司);DEAE-52 纤维素(Sigma 公司);葡聚糖 G-100(Sigma 公司);苯酚(天津市天大化学试剂厂);浓硫酸(淄博化学试剂厂有限公司);浓盐酸(淄博化学试剂厂有限公司);三氯乙酸(天津大茂化学试剂厂)。

1.1.3 试验仪器 752-N 紫外可见分光光度计(上海精宏实验设备有限公司);GC2010 气相色谱仪(日本岛津公司);TDL-5-A 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);Nicolet380 傅立叶变换红外光谱仪(美国热电集团);DK-S24 型恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);LXJ-68-02 型离心机(北京医疗仪器修理厂);DZF-6021 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

### 1.2 多糖的提取

利用水提醇沉法提取香菇多糖。

### 1.3 成分含量测定

总糖含量采用苯酚-硫酸法<sup>[3]</sup>测定。

### 1.4 多糖的凝胶柱层析

首先采用 DEAE-纤维素离子交换柱对多糖进行分离纯化,用浓度梯度为 0.2、0.5、1.0 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱,洗脱速度控制在 1 mL/min,每个洗脱梯度收集 25 管,每管收集 2 mL,利用苯酚-硫酸法测定收集到的多糖溶液浓度,绘制洗脱曲线。然后用葡聚糖 G-100 凝胶柱对多糖进行进一步的分离纯化和纯度鉴定<sup>[4]</sup>。用 0.1 mol/L NaCl 溶液充分平衡层析柱后,用蒸馏水作为洗脱剂,洗脱速度控制在 0.1 mL/min,每管收集 2 mL,同样利用硫酸-苯酚法对收集到的多糖溶液浓度进行测定,绘制洗脱曲线。

收稿日期:2015-08-27

基金项目:现代农业产业技术体系食用菌产业创新团队(编号:SDAIT-11-011-07)。

作者简介:魏元(1980—),男,山东青岛人,硕士,讲师,主要从事农产品检验研究。E-mail:15588894651@163.com。

[4]史先敏,严泽民,谢静红,等.白藜芦醇的光稳定性和热稳定性研究[J].日用化学工业,2011,41(3):204-207.

[5]叶秋雄,黄苇.白藜芦醇苷的稳定性研究[J].食品工业科技,2011,32(4):155-156.

[6]韩晶晶,刘炜,毕玉平.白藜芦醇的研究进展[J].生物工程学

报,2008,24(11):1851-1859.

[7]张煜梅,黄健花,金青哲,等.反式及顺式白藜芦醇光稳定性分析[J].食品与发酵工业,2013,39(11):250-252.

[8]范金波,蔡茜彤,冯叙桥,等.5种天然多酚类化合物抗氧化活性的比较[J].食品与发酵工业,2014,40(7):77-83.