

红葡萄酒、啤酒和白酒抗氧化作用研究

郭金英,宋立霞,刘开永,李松彪,任国艳,侯玉泽

(河南科技大学食品与生物工程学院,河南 洛阳 471003)

摘要: 采用二苯苦味酰肼(2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical, DPPH)法、ABTS(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)法、邻苯三酚自氧化法及羟自由基抑制法对红葡萄酒、啤酒和白酒的清除自由基活性进行比较。结果表明,红葡萄酒对 DPPH 自由基、ABTS^{•+} 自由基、超氧阴离子自由基的清除率分别为 73.05 %、64.37 %和 50.08 %,啤酒对上述 3 种自由基的清除率分别为 2.31 %、1.40 %和 4.03 %,白酒对这 3 种自由基的清除率分别为 0.19 %、0.04 %和 0.11 %。红葡萄酒、啤酒和白酒对羟自由基的抑制率分别是 43.39 %、4.99 %和 1.24 %。结果显示,葡萄酒对 DPPH 自由基、ABTS^{•+} 自由基、超氧阴离子自由基、羟自由基的清除作用最强,啤酒其次,白酒最弱。

关键词: 红葡萄酒; 啤酒; 白酒; DPPH; ABTS; 超氧阴离子自由基; 羟自由基

中图分类号: TS262.6; TS262.5; TS262.3; TS971 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2009)09-0041-03

Study on Antioxidant Properties of Red Grape Wine, Beer and Liquor

GUO Jin-ying, SONG Li-xia, LIU Kai-yong, LI Song-biao, REN Guo-yan and HOU Yu-ze

(Food & Bioengineering Department, He'nan University of Science and Technology, Luoyang, He'nan 471003, China)

Abstract: The radical-scavenger activity of red grape wine, beer and liquor were measured by different analytical methods: 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2-azino-di-(3-ethylbenzothiazoline-sulphonic acid) (ABTS), and pyrogallol autoxidation method and hydroxyl free radical inhibition activity. The clearance rates of red grape wine to DPPH free radical, ABTS^{•+} free radical and superoxide anion radical were 73.05 %, 64.37 % and 50.08 % respectively. The clearance rates of beer to the above three radicals were 2.31 %, 1.40 % and 4.03 % respectively. And the clearance rates of liquor to the three radicals were 0.19 %, 0.04 % and 0.11 % respectively. Hydroxyl free radical inhibition activity of red grape wine, beer and liquor were 43.39 %, 4.99 % and 1.24 % respectively. As a conclusion, the antioxidant properties of red grape wine is the strongest, and then followed by beer and liquor.

Key words: red grape wine; beer; liquor; DPPH; ABTS; pyrogallol; hydroxyl free radical; superoxide anion

自由基是体内组织生命活动的产物,正常情况下,体内自由基的产生和消除处于一种动态平衡状态,当由于某种原因这种动态平衡状态被打破后,自由基就会攻击体内组织中的不饱和脂肪酸,引发一系列自由基反应。自由基和脂质过氧化损伤是动脉粥样硬化、癌症、肝病和老化的主要因素。

葡萄酒是以新鲜葡萄或葡萄汁为原料,经全部或部分发酵酿制而成的,酒精度等于或大于 7.0 % (体积比) 的发酵酒。法兰西怪事(The French Paradox)发现之后,全世界都十分关注葡萄酒的保健功能^[1]。研究表明,葡萄酒的保健功能主要是其内所含的多酚所致^[2-4]。适量饮用红葡萄酒能够减少心脏病发病率的主要原因之一是葡萄酒具有清除自由基的功能^[5]。

啤酒是以大麦芽、酒花、水为主要原料,经酵母发酵作用酿制而成的富含二氧化碳的低酒精度酒。近年来,啤

酒的保健作用也逐渐受到人们重视^[6],啤酒含有的多酚类物质主要有阿魏酸、香豆酸、儿茶素、花色素以及类黑精等具有抗氧化、清除自由基等功能^[7-8]。

白酒为麦黍、高粱、玉米、红薯、米糠等粮食或其他果品发酵、曲酿、蒸馏而成的一种高浓度的酒精饮料,白酒性味甘辛、大热、有毒。具有温脾胃、破症结、助药力、厚肠胃、驻颜色、通行血脉、营养肌肤的功效。

红葡萄酒、啤酒和白酒的抗氧化功能已有研究^[9-12],但是关于红葡萄酒、啤酒和白酒的清除自由基功能比较研究还较少。通过对红葡萄酒、啤酒和白酒对 DPPH 自由基、ABTS^{•+} 自由基、超氧阴离子自由基的清除能力和对羟自由基的抑制率进行研究,评价红葡萄酒、啤酒和白酒的自由基清除能力,为认识这 3 种类型酒的营养保健作用提供依据。

基金项目 河南科技大学人才科学研究基金 河南科技大学青年科研基金 (2007QN013)。

收稿日期:2009-06-08

作者简介 郭金英(1971-),男,博士,副教授,主要从事食品营养与安全研究。

1 材料与方法

1.1 试验用酒

张裕红葡萄酒, 青岛啤酒, 北京二锅头。

1.2 试剂

EDTA, 上海试一化学试剂有限公司; 邻苯三酚, 贵州遵义佳宏化工有限责任公司; ABTS, Sigma 公司; 硫代巴比妥酸, 国药集团化学试剂有限公司, 所用试剂均为分析纯。

1.3 仪器

电子分析天平, 上海医疗器械五厂; 电热恒温水浴锅, 上海医疗器械五厂; 101-2-BS 型电热鼓风干燥机, 上海跃进医疗器械五厂; UV-7504 紫外可见分光光度计, 上海欣茂仪器有限公司。

1.4 方法

1.4.1 酒处理方法

红葡萄酒、啤酒和白酒超声波脱气(250 W, 10 min), 4 °C 保存, 待用。

1.4.2 总酚含量测定

多酚的测定采用福林-肖卡(Folin-Ciocalteus)法^[13]。

1.4.3 DPPH 法

准确称取 20 mg DPPH, 用无水乙醇溶解并定容至 250 mL。分别取 0 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL 和 2 mL 酒样于 10 mL 比色管中, 再向比色管中加入 2 mL DPPH, 摇匀, 放置 25 min, 以无水乙醇为空白于 517 nm 测其吸光度 A_i , 计算清除率:

$$\text{清除率} = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}) \times 100\%$$

式中: A_c ——2 mL 无水乙醇加 2 mL DPPH 溶液的吸光度;

A_j ——2 mL 待测液加 2 mL 无水乙醇的吸光度;

A_i ——2 mL 待测液加 2 mL DPPH 的吸光度。

1.4.4 ABTS 法

在 3 支比色管中分别加入 0(空白)、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL 和 2 mL 红葡萄酒、啤酒和白酒, 再加入 4 mL 的 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 自由基工作液, 混合, 30 °C 下静置 6 min, 以无水乙醇做空白在 405 nm 下读取吸光值, 另取 1 支比色管, 用无水乙醇代替样品液, 其他条件与样品管相同, 读取吸光值记为 A_s 。之后再读取各样品液的吸光值, 记为 A_c 。

$$\text{ABTS 自由基清除率} = (1 - \frac{A_s - A_c}{A_{\max}}) \times 100\%$$

1.4.5 邻苯三酚自氧化法

邻苯三酚的自氧化速率(A_1): 在 10 mL 比色管中加入 4.5 mL pH8.43 的缓冲溶液和 4.2 mL 蒸馏水, 混匀, 于 25 °C 水浴中保温 20 min, 取出后立即加入 25 °C 预热过

的邻苯三酚工作液 0.3 mL (空白管用蒸馏水代替邻苯三酚工作液), 迅速摇匀, 倒入比色皿(光径 1 cm), 在 322 nm 每隔 30 s 测定一次吸光值, 线性范围内每 1 min A 的增加值即为邻苯三酚的自氧化速率。

取 4.5 mL pH8.43 的缓冲溶液, 分别与空白、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL 和 2 mL 红葡萄酒、啤酒和白酒混匀, 其他步骤同上, 线性范围内每 1 min A 的增加值即为加样后邻苯三酚的自氧化速率(A_2)。

$$\text{超氧阴离子自由基清除率}(\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

1.4.6 羟基自由基抑制试验

取 3 支 10 mL 的试管, 分别加入 0、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL 和 2 mL 红葡萄酒、啤酒和白酒; 再依次加入 pH 7.4 磷酸缓冲液 2 mL, EDTA 溶液 0.25 mL, 硫酸亚铁溶液 0.25 mL, 12 mmol/L H_2O_2 0.5 mL, 抗坏血酸溶液 0.5 mL, 脱氧核糖溶液 0.5 mL, 然后将试管置于 37 °C 的恒温水浴中保持 1 h。取出后, 迅速加入 1 mL 25 % 的 HCl 和 1 % TBA 1 mL, 100 °C 沸水中加热 15 min, 在 532 nm 处测吸光度 A_x , 另取 1 支试管, 以蒸馏水代替酒类工作液, 其他条件同上, 测得其吸光度, 记为 A_0 。

$$\text{羟基自由基的抑制率} = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 红葡萄酒、啤酒和白酒中酚类物质含量(表 1)

表 1 总酚测定的标准曲线

项目	标准液					
	1	2	3	4	5	6
酚浓度 (mg/L)	0	50	100	150	250	500
吸光值	0	0.09	0.13	0.21	0.35	0.66

由表 1 可知, 确定标准曲线 $y=714.69x$ (其中: y 为浓度, x 为吸光度, $r=0.995$), 计算测试样品总酚含量。最终测定红葡萄酒和啤酒多酚的含量分别为 36.45 mg/g、0.97 mg/g (以五倍子酸计)。白酒中多酚含量没有检出。

2.2 红葡萄酒、啤酒和白酒对 DPPH 自由基清除作用

二苯苦味酰肼自由基是一种稳定的有机自由基, 常用来评价抗氧化物质的体外抗氧化能力。其能力用清除率来表示, 清除率越大, 其抗氧化能力越强。测定了红葡萄酒、啤酒和白酒对 DPPH 自由基的清除率, 结果 3 种酒对 DPPH 自由基均有清除能力。红葡萄酒最强, 清除率达到 73.05 %; 白酒清除能力最弱, 仅 0.19 %; 啤酒居中, 为 2.31 %。

2.3 红葡萄酒、啤酒和白酒对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 自由基清除作用

$\text{ABTS}^{\cdot+}$ 自由基为一稳定的有机自由基, 试样抗氧化能力越强, 其提供电子的能力也就越强, 与该有机自由

基反应量越大,反应速率也越快,通过测定反应液吸光值的变化,直接反应出样品还原能力的大小。测定了红葡萄酒、啤酒和白酒对自由基 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 的清除率,结果3种酒对 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 自由基均有一定的清除能力。红葡萄酒的最强,达到 64.37%;白酒清除能力最弱,仅 0.04%;啤酒居中,为 1.40%。

2.4 红葡萄酒、啤酒和白酒对超氧阴离子自由基清除作用

超氧阴离子自由基是生物体内主要的自由基。基态氧接受一个电子后形成的第一个氧自由基,可以经过一系列反应生成其他的氧自由基,引起脂质过氧化,导致细胞膜结构和功能的改变。通过邻苯三酚自氧化法测红葡萄酒、啤酒和白酒对超氧阴离子自由基清除能力,结果3种酒对超氧阴离子自由基均有较强的清除能力。红葡萄酒的最强,清除率达到 50.08%;白酒清除能力最弱,仅 0.11%;啤酒居中,为 4.03%。

2.5 红葡萄酒、啤酒和白酒对羟自由基抑制作用

羟自由基是目前已知活性氧中对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基。它主要通过电子转移、加成和脱氢等方式与生物体内的氨基酸、糖类、核酸及脂类等大分子物质发生作用,造成此类物质的氧化损伤,使其失去正常的生理功能。测定得出,3种酒对羟自由基均有一定的抑制能力,但都较弱。白酒仅为 1.24%;啤酒稍高一些,为 4.99%;红葡萄酒最高,为 43.39%。

3 结论

3.1 由于多酚物质在植物分类、感官特性以及药理方面的重要性,使其成为研究最多的天然化合物之一。含有酚类物质是酒精性饮料具有抗氧化功能的主要原因之一。啤酒的抗氧化功能与酒体内酚类的含量有一定正相关性^[11]。李华等对所选择的 37 种中国产的葡萄酒酚类物质含量及抗氧化性进行了研究,结果表明,葡萄酒的抗氧化性与葡萄酒含有的酚类物质含量有很大的关系^[14]。本研究也证明了酚类物质含量与体外抗氧化性的相关性,红葡萄酒对试验的体外自由基的抗氧化能力最强。

3.2 随着人们生活水平的提高,饮料酒的消费呈逐年增长趋势。酒的消费给社会和人类带来巨大利益的同时,酒精及其代谢产物也对人体造成一定的伤害,引起多种疾病及不良的社会行为^[15]。因此,人们在饮用酒精性饮料的时候,必须适量饮用,考虑酚类物质对人体有益的同时,要关注酒精过量时对人的影响。研究酒精同酚类物质的协同作用,饮酒对体内自由基产生和消亡的影响是我

们下一步研究的内容。

3.3 本研究测定了红葡萄酒、啤酒和白酒对 DPPH 自由基、 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 自由基、超氧阴离子自由基的清除作用和对羟自由基的抑制作用,研究结果表明,红葡萄酒的抗氧化能力较强,啤酒其次,白酒最弱。

参考文献:

- [1] Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease[J]. Lancet, 1992,339: 1523-1526.
- [2] Nakamura Y, Tsuji S, Tonogai Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils[J]. Journal of Health Science, 2003, 49(1): 45-54.
- [3] Tijburg LB, Mattern T, Folts JD, et al. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: A review[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1997, 37(8): 771-785.
- [4] Teissedre PL, Landrault N. Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability[J]. Food Research International, 2000, 33(6): 461-467.
- [5] Hua L, Xiao YW, Yong L, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant of selected China wines[J]. Food Chemistry, 2009, 112: 454-460.
- [6] Ghiselli A, Natella F, Guidi A, et al. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans[J]. J Nutr Biochem, 2000, 11(2): 76-80.
- [7] Luigi M, Giuseppe P, Fausta N, et al. Organic and Phenolic Acids in Beer[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 1999, 32(8): 535-539.
- [8] Nardini M, Ghiselli A. Determination of free and bound phenolic acids in beer[J]. Food Chemistry, 2002, 84(1): 137-143.
- [9] 李志英,张海容,梁会艳. 5 种葡萄酒清除羟自由基的比较[J]. 酿酒科技, 2006, (4): 26-28.
- [10] 李志英,李小黑. 啤酒清除自由基的比较[J]. 酿酒科技, 2007, (11): 60-64.
- [11] 曹炜,陈卫军,索志荣,等. 啤酒及其酚类提取物的抗氧化作用[J]. 西北大学学报, 2005, 35(1): 53-56.
- [12] 李羚,杨雪滢,高云涛. 傣族“雅解”药酒清除自由基及抗氧化作用研究[J]. 中国酿造, 2008, (14): 64-66.
- [13] 王华. 葡萄与葡萄酒实验技术操作规范[M]. 西安: 西安地图出版社, 1999. 152-153.
- [14] Hua Li, Xiaoyu Wang, Yong Li, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines[J]. Food Chemistry, 2009, 112: 454-460.
- [15] 郭金英,李松彪,侯玉泽,等. 牡丹不同部位多酚含量研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 348-350.