

不同品种黄酒中多酚含量及抗氧化性研究

陈金娥, 高虹

(山西忻州师范学院生化分析技术研究所, 山西 忻州 034000)

摘要: 黄酒是我国的民族特色酒种,与啤酒、葡萄酒并称为世界三大古酒,享有“国酒”之美誉。用 Folin-Ciocalteu 法对黄酒中多酚含量进行了测定,发现黄酒中含有大量的多酚类物质。利用 DPPH 法和水杨酸法对其抗氧化性进行了检测。结果表明,多酚类物质具有抗氧化功能,且黄酒清除自由基的能力与其含量成正比。

关键词: 黄酒; 多酚; 抗氧化性; 水杨酸法; DPPH 法

中图分类号: TS262.4; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2008)04-0037-02

Study on Polyphenol Content and Antioxidant Capacity in Various Kinds of Yellow Rice Wine

CHEN Jin-e and GAO Hong

(Lab of Biochemical Analysis, Xinzhou Normal University, Xinzhou, Shanxi 034000, China)

Abstract: Yellow rice wine is Chinese specialty, as one of the three most ancient wine products in the world (the other two are beer and grape wine), it wins the honor of "State Wine". Polyphenol content in various kinds of yellow rice wine was determined by Folin-Ciocalteu method, and it was found that there was large amount of polyphenol substances in the wine. Besides, the antioxidant capacity of yellow rice wine in vitro was studied by DPPH and salicylic acid method, the results showed that polyphenol substances had antioxidative capacity, and its content was positively related to free radicals scavenging effects of yellow rice wine.

Key words: yellow rice wine; polyphenol substance; antioxidative capacity; salicylic acid method; DPPH method

黄酒是中华民族宝贵遗产,其独特的酿造工艺,丰富的营养成分,源远流长的历史,一直受到人们的广泛关注。黄酒是以糯米为原料,酒曲为糖化发酵剂,经酿造制成^[1-3]。黄酒中的营养保健成分极为丰富,含有醇、酯、醛、酸、酮、碳水化合物、蛋白质、单糖、多糖、肽、氨基酸、多酚以及丰富的B族维生素、钾、钠、钙、镁、磷、硒、锌、铁、铜、锰、镁、铬、锶、钼等20多种人体所必需的常量和微量元素。多酚类物质有较强的清除自由基、抗衰老作用,对于保护心脑血管系统,预防心脏病具有重要意义,是一种天然的肿瘤抑制剂,对肝癌、皮肤癌、鼻咽癌等有较强的抑制作用。本文通过光度法测定了不同种类黄酒中酚类物质的含量,用DPPH法和水杨酸法探索了黄酒中多酚和抗氧化性的关系。

1 材料与方 法

1.1 材 料

金黄酒: 山西省代县贵喜酒业有限公司; 黄酒: 山西省代县代康实业有限公司; 桂花黄酒: 中国山西四达酒类饮料有限责任公司; 珍极料酒: 中国河北石家庄; 料酒(王致和): 北京王致和食品集团有限公司。

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(No 20051028)。

收稿日期: 2007-12-10

作者简介: 陈金娥(1957-), 女, 高级实验师, 主要从事天然产物的分析与研究工作。

1.2 试 剂

无水乙醇: 分析纯, 天津市化学试剂三厂; 硫酸亚铁铵: 分析纯, 天津市化学试剂三厂; 水杨酸: 分析纯, 天津市天新精细化工开发中心过氧化氢(30%): 分析纯, 天津市北辰方正试剂三厂; 没食子酸丙酯: 化学纯, 浙江省温州市瓯海精细化工公司; 无水碳酸钠: 分析纯, 天津市化学试剂三厂; Folin-Ciocalteu's Phenol reagent: Biochemika, Fluka(Product of Switzerland)。

1.3 仪 器

电子分析天平(AB204-N): 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 722型可见分光光度计: 上海菁华科技仪器有限公司。

1.4 方 法

1.4.1 黄酒中多酚含量的测定

1.4.1.1 没食子酸丙酯标准曲线绘制

准确称取 250 mg 没食子酸丙酯, 定容至 250 mL; 准确取上述对照品溶液 0.025 mL、0.050 mL、0.100 mL、0.200 mL、0.400 mL、0.600 mL 于 25 mL 比色管中, 摇匀后再加入 3.75 mL 20% 的 Na_2CO_3 溶液, 定容至刻度,

于 30 反应 2 h。同时用不加对照品溶液扣除空白。在 760 nm 波长处测定对照品溶液的吸光度值, 绘制标准曲线, 回归方程为: $y=2.0199x - 0.0386$, $R^2=0.9997$ 在 0.025 ~ 0.600 mg/mL 范围内对照品没食子酸丙酯的量与吸收值呈良好的线性关系。

1.4.1.2 黄酒中多酚含量测定^[3]

准确量取黄酒 1 mL 置于 25 mL 比色管中, 再加 1.25 mL Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 摇匀后再加入 3.75 mL 20% 的 Na_2CO_3 溶液, 于 30 反应 2 h, 配制相应空白试剂, 在 760 nm 波长处测定吸光度, 从标准曲线得出相当于黄酒中多酚物质的含量。

1.4.2 黄酒抗氧化性测定

1.4.2.1 DPPH·法

原理: DPPH(二苯带苦基肼基自由基)是一个大分子的稳定自由基, 抗氧化性预期作用模式为:



依据 DPPH·具有单电子, 在 517 nm 处有一强吸收(深紫色), 当自由基清除剂与其单电子配对使其逐渐消失, 其褪色程度与其所接受的电子数成定量关系, 因而可用分光光度法进行定量分析。

步骤: 取黄酒 2 mL 及 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH·溶液加入同一 10 mL 比色管中, 摇匀, 30 min 后用提取液作参比, 测定吸光度值 $A_{\text{样品}}$, 同时用无水乙醇作参比, 测定 2 mL 2×10^{-4} mol/L DPPH·溶液与 2 mL 无水乙醇混合后溶液的吸光度值 $A_{\text{对照}}$ 。根据下面的公式计算自由基清除率:

$$\begin{aligned} \text{清除率} &= \frac{A_{\text{对}} - A_{\text{样}}}{A_{\text{对}}} \times 100\% \\ &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{参比}}) - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样参}})}{A_{\text{对照}} - A_{\text{参比}}} \times 100\% \end{aligned}$$

式中: $A_{\text{参比}}$ ——加入无水乙醇时的吸光度值;

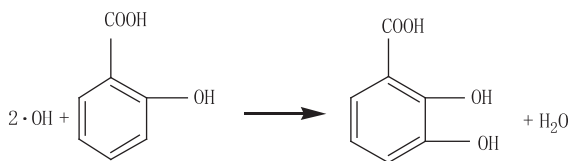
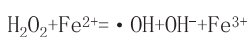
$A_{\text{对照}}$ ——加入 DPPH·的自由基体系的吸光度值;

$A_{\text{样参}}$ ——加入不同提取液后的吸光度值;

$A_{\text{样品}}$ ——加入不同提取液, DPPH·后自由基体系的吸光度值。

1.4.2.2 水杨酸法

原理: H_2O_2 与 Fe^{2+} 混合后产生 $\cdot\text{OH}$ 的 Fenton^[8]反应具有很高的反应活性, 存活时间短, 但在反应体系中加入水杨酸, 能有效地捕捉 $\cdot\text{OH}$ 并产生紫红色产物, 反应原理如下:



该产物在 510 nm 处有强吸收, 若加入自由基清除剂, 便会与水杨酸竞争, 从而使有色产物的生成量减少,

采用固定反应时间法, 在 510 nm 处测定被测物反应的吸光度, 并与空白溶液比较, 便能确定提取液对其的清除作用, 清除率计算公式为:

$$\begin{aligned} \text{清除率} &= \frac{A_{\text{对}} - A_{\text{样}}}{A_{\text{对}}} \times 100\% \\ &= \frac{(A_{\text{对照}} - A_{\text{参比}}) - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样参}})}{A_{\text{对照}} - A_{\text{参比}}} \times 100\% \end{aligned}$$

式中: $A_{\text{参比}}$ ——加入 Fe^{2+} 、 H_2O_2 时的吸光度值;

$A_{\text{对照}}$ ——加入 Fe^{2+} 、 H_2O_2 水杨酸后的羟自由基体系的吸光度值;

$A_{\text{样参}}$ ——加入 Fe^{2+} 、 H_2O_2 不同提取液后的吸光度值;

$A_{\text{样品}}$ ——加入 Fe^{2+} 、 H_2O_2 不同提取液、水杨酸后的羟自由基体系的吸光度值。

步骤: 在 10 mL 比色管中依次加入 7.5×10^{-3} mol/L 的硫酸亚铁铵 1 mL, 7.5×10^{-3} mol/L 的水杨酸 1 mL, 0.3% 的过氧化氢 1 mL 后, 一定体积的不同种类黄酒分别加入比色管中定容, 同时用另外 7 个比色管中依次加入对应体积的黄酒定容到 10 mL 扣除背景, 静置 30 min 后, 测定样品提取液在 510 nm 处的吸光度值, 吸光度值越低, 清除 $\cdot\text{OH}$ 效果越好。

2 结果与分析

2.1 不同品种黄酒中多酚含量测定

根据实验方法, 测定不同品种黄酒中多酚含量, 其结果见表 1。

黄酒名称	多酚含量
黄酒	0.1483
金黄酒	0.1458
料酒(王致和)	0.0602
桂花黄酒	0.0562
珍极料酒	0.0251

由表 1 可知, 不同品种黄酒中多酚含量多少的顺序为: 黄酒 > 金黄酒 > 料酒(王致和) > 桂花黄酒 > 珍极料酒。

2.2 DPPH·法测定黄酒抗氧化能力^[4]

黄酒含有多还原性多酚, 具有一定的抗氧化性, 其抗氧化能力的大小见图 1。

从图 1 可看出, 除珍极料酒外, 随不同黄酒品种量(体积)的增大, 自由基清除率增加; 更为有趣的是, 在相同体积条件下, 自由基清除能力与黄酒中多酚含量呈现一致的变化关系, 即黄酒中多酚含量愈高, 自由基清除能力越强; 当黄酒体积超过 1 mL 时, 其自由基清除率达最大, 并基本保持不变。

2.3 水杨酸法测定黄酒清除羟自由基能力

$\cdot\text{OH}$ 自由基是一种氧化还原能力很强的自由基, 它可使体内蛋白质、核酸和多糖发生氧化而破坏。因此, $\cdot\text{OH}$ 自由基的存在和人体的衰老、肿瘤等许多疾病

(下转第 41 页)

一大趋势。“剑南春年份型白酒科学鉴定方法及其技术标准”的制定,不仅是剑南春一家企业的标准,而且高于国家标准水平的要求。国家标准化委员会将进一步对这项技术进行专家论证,用最快的时间将它上升为国际标准,它涉及到我们民族白酒产业走向国际的大问题。有了高于国家标准水平的企业内控标准,企业在科研阶段就率先抢占了走向国际的先机。他呼吁,应尽快成立相关国际标准制定机构,组织权威专家,以中国为主,联合英、法等5国提出“蒸馏酒国际标准”提案,按照蒸馏酒的技术指标,确保中国白酒在未来走向世界的进程中,拥有一套科学、严谨的评判机制及标准。为此,他衷心希望剑南春开创的这项科研成果,能尽快上升为国际标准,为中国白酒走向世界发挥更大的作用。

中国食品工业协会副秘书长、中国白酒专业委员会常务副会长马勇指出,在目前科技手段下,探索出的行之有效的白酒贮存时间鉴别方法属于世界性的科技难题,剑南春的破题堪称不易。“剑南春年份型白酒科学鉴定方法”,为中国白酒行业年份酒建立了技术标准,为中国白酒行业健康发展做出了重大贡献。中国白酒行业未来的发展,需要更多的自主创新,需要诚信的市场环境。

这一技术标准,可以影响白酒行业产生新的运行规则和规范。中国食品工业协会和政府有关部门一道,将共同推动中国年份型白酒建立完善的鉴定标准体系,并进一步加强市场监管力度。

由剑南春研制出的自主知识产权技术“挥发系数鉴别年份酒的方法”目前已取得国家专利局的受理申请,其专利申请号为2007102023703。剑南春将在此基础上申报国家推荐标准。此产品标准已用于生产“15年剑南春年份酒”,对于开发高品质的年份型白酒,剑南春拥有得天独厚的优越条件:一是有上千年的历史积淀和一贯不断的品质追求。剑南春具有生产年份酒的悠久历史,早在传世史书《唐·国史补》中就明确记载:在盛唐时期,剑南烧春是皇室专享的贡酒。这足以说明剑南春酒文化源远流长;二是剑南春拥有独特的酿造工艺和“万年糟”。“千年老窖万年糟,酒好全凭窖池老”。剑南春的发酵窖池——“天益老号”作坊,有着上千年连续发酵生产剑南春的悠久历史;三是拥有大批优秀的白酒技术研发人才和在酒类行业领先的精密科研设备;四是拥有9万多平方米的陶坛贮酒库和相当数量贮存多年的优质基础酒。

(上接第38页)

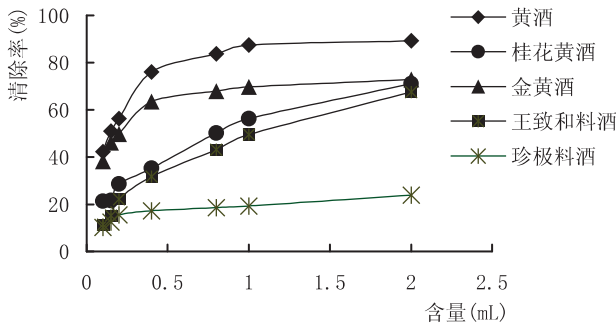


图1 DPPH·法测定黄酒抗氧化性

有密切的关系^[5]。

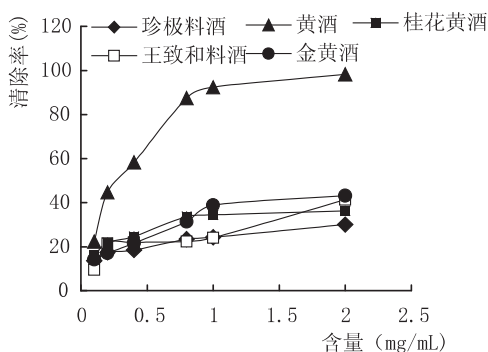


图2 不同黄酒清除羟自由基能力

从图2可看出,黄酒含有较高的多酚,对羟自由基

的清除能力远远高于其他品种酒类。随黄酒体积增大,自由基清除能力越强;金黄酒、桂花黄酒、珍极料酒和料酒(王致和)并无明显差异。实验表明,黄酒产品中影响羟自由基的清除能力的物质可能远不止多酚物质^[2],如各种维生素类物质、抗氧化肽、氨基酸等尚待进一步研究。

3 结论

通过上述两种方法研究黄酒中的抗氧化能力表明,不同品种黄酒具有一定的抗氧化能力,而且抗氧化能力与黄酒的量呈量效关系;多酚物质是主要的自由基清除剂,因此,黄酒作为一种自由基清除剂,可以降低自由基在人体中的产生,预防动脉粥样硬化、心脑血管疾病极其有利,饮用传统黄酒具有较高的保健、理疗价值。

参考文献:

- [1] 杨国军,潘兴祥,李博斌.黄酒中无机元素来源及其与酒质关系研究[J].酿酒,2005,32(1): 45-47.
- [2] 谢广发,朱成钢,胡志明,邹慧君.黄酒的体外抗氧化性及其机理研究[J].食品与发酵工业,2005,31(10): 5-8
- [3] 叶杰,倪莉.Folin-ciocalteu法测定黄酒中总多酚含量[J].福建轻纺,2006,(11): 66.
- [4] 叶杰,陈躬瑞,倪莉.福建黄酒抗氧化活性的研究[J].中国食品学报,2006,6(1): 345-349.
- [5] 莫简.医用自由基生物学导论[M].北京:人民卫生出版社,1989.21-25.