

# 黄酒的抗氧化活性研究

郑校先<sup>1</sup> 李 燕<sup>2</sup> 徐维菲<sup>2</sup> 方逸群<sup>1</sup> 冉宇舟<sup>1</sup>

(1.上海金枫酒业股份有限公司,上海 201501;2.上海海洋大学食品学院,上海 200000)

**摘要:** 对三年陈、五年陈黄酒的抗氧化能力进行了初步检测,使用的抗氧化指标为总抗氧化能力、还原能力、清除 DPPH 自由基能力、清除超氧阴离子能力,用 BHA、BHT 作对照,用福林酚法测定黄酒中的总酚含量。结果表明,黄酒有较强的总抗氧化能力、还原能力、清除 DPPH 自由基能力、超氧阴离子的能力,黄酒中含有 249  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的酚类物质,赋予了黄酒的抗氧化能力。

**关键词:** 黄酒; 抗氧化活性; 酚类物质

中图分类号:TS262.4;TS261.4;TS971

文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2009)10-0057-03

## Research on the Antioxidation of Yellow Rice Wine

ZHENG Xiao-xian<sup>1</sup>, LI Yan<sup>2</sup>, XU Wei-fei<sup>2</sup>, FANG Yi-qun<sup>1</sup> and RAN Yu-zhou<sup>1</sup>

(1.Shanghai Jinfeng Wine Co.Ltd., Shanghai, 201501;2.Shanghai Ocean University, Shanghai 200000, China)

**Abstract:** The antioxidation of yellow rice wine of three-year and five-year storage was measured. The measured antioxidation indexes included total antioxidation resistance, reducing capacity, free DPPH radical scavenging and superoxide anion radical scavenging capability. These antioxidation indexes were compared with butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT). The total phenols content was measured by Forint phenol law. The results indicated that yellow rice wine has strong antioxidation resistance, reducing capacity, free DPPH radical scavenging and superoxide anion radical scavenging capability. Phenols content in yellow rice wine was 249  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , which endowed yellow rice wine with strong antioxidation.

**Key words:** yellow rice wine; antioxidation; phenols

黄酒是我国的民族特产,与啤酒、葡萄酒并称为世界三大古酒,享有“国酒”之美誉。随着生活水平的提高和保健意识的增强,人们转向崇尚健康、营养、保健的新饮酒价值观念。黄酒为纯粮酿造酒,酒度为 8%vol~17%vol,含有丰富氨基酸、肽类、低聚糖、维生素及矿物质微量元素<sup>[1]</sup>,历来以营养、保健著称,是行家推崇的传统保健养生佳品。然而,由于缺乏科学研究,其特有的保健功效尚未被证实。在国外,对红葡萄酒已经有了比较深入的研究。体内和体外研究表明,红葡萄酒具有预防心血管疾病、癌症等功效。红葡萄酒中含有大量的多酚类物质,这些物质是很强的体外抗氧化剂,它们可以清除机体内可以导致心血管疾病的自由基,减轻和消除机体内氧化应激<sup>[2]</sup>。黄酒也有类似功能,我们就应该通过科学的方法对其功能进行研究。本文较系统地研究了黄酒的抗氧化能力,通过总抗氧化能力、还原能力、清除 DPPH 自由基能力、清除超氧阴离子能力的检测,建立了黄酒抗氧化性的评价体系,并测定了黄酒中多酚类物质的含量,有助于人们科学地认识黄酒的保健功能,也为深入研究黄酒的功

能性奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

黄酒三年陈与五年陈,由上海华光酿酒药业有限公司提供。1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH),butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT),均购于国药集团化学试剂有限公司,AR,上海。总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒,抗超氧阴离子自由基测试盒,南京建成生物工程研究所购得。

其他化学试剂都是分析纯。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 总抗氧化性

总抗氧化能力按照总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒的要求进行测定<sup>[4]</sup>。

T-AOC 单位定义:在温度为 37℃时,100  $\mu\text{L}$ 、150  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$  三年陈、五年陈黄酒;BHT;BHA 每分钟使反应体系的吸光度(OD)值每增加 0.01 时,为一个总抗氧化

收稿日期:2009-07-06

能力单位。

$$\text{总抗氧化能力} = \frac{OD_u - OD_c}{0.01} \div 30 \times n$$

式中:  $OD_u$ ——测定管吸光度值;

$OD_c$ ——对照管吸光度值;

$n$ ——样本测试前稀释倍数。

其中,BHT,BHA 为阳性对照。

### 1.2.2 还原能力<sup>[5]</sup>

分别将 50  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$  黄酒加入到 1 mL 蒸馏水中,然后与 2.5 mL 的磷酸缓冲溶液混合(0.2 mol/L, pH6.6),再加入 1% 铁氰化钾 2.5 mL。混合物于 50  $^{\circ}\text{C}$  恒温 20 min,用流水迅速冷却,再加 1 mL 10% 三氯乙酸,然后 3000 r/min 离心分离 10 min,取上层清液 2.5 mL 加入蒸馏水 2.5 mL 和 0.1%  $\text{FeCl}_3$  0.5 mL,混合均匀反应 10 min,在 700 nm 处测定。吸光度越高,说明这种反应混合物的还原性越强<sup>[3]</sup>。用 100  $\mu\text{g}$  BHA、BHT 作为阳性对照。

### 1.2.3 清除 DPPH 自由基能力<sup>[6]</sup>

将 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 自由基醇溶液分别加入到 2 mL 含有 50  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$  黄酒的水溶液中。室温避光放置 30 min,于 517 nm 处测定吸光值,吸光值越小,表明自由基清除能力越强。根据下列公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - (A_i - A_j)) / A_0;$$

其中,对照管  $A_0$ : DPPH 2 mL + 无水乙醇 2 mL;

测定管  $A_1$ : DPPH 2 mL + 样品 2 mL;

标准管  $A_2$ : 样品 2 mL + 无水乙醇 2 mL;

以无水乙醇为空白调零,用 100  $\mu\text{L}$  BHA、BHT 作阳性对照。

### 1.2.4 总酚含量

黄酒中的总酚使用福林-酚试剂进行测定<sup>[7]</sup>,采用没食子酸作为标样。1 mL 黄酒用 46 mL 蒸馏水进行稀释,然后加入 1 mL 福林-酚试剂并混合均匀。3 min 后,加入 3 mL 2% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液。置于室温 2 h,其间每隔一段时间,将混合液振荡,然后于 760 nm 处测定吸光值。黄酒中的总酚含量按照以下公式进行计算:

$$\text{吸光值 } OD_{760\text{nm}} = 0.0009 \times \text{总酚含量} + 0.0183$$

### 1.2.5 清除超氧阴离子能力

按照抗超氧阴离子自由基测试盒的方法来进行清除超氧阴离子能力的测定<sup>[8]</sup>。因为反应体系中在规定的底物浓度下,各种物质抗超氧阴离子的能力不一样,根据朗伯-比耳定律,样本浓度不可太大、也不可太小,否则影响结果。因此,在正式实验前必须做预测试以确定最佳取样浓度。

抗超氧阴离子自由基活力单位的定义:在反应体系

中,每升黄酒在 37  $^{\circ}\text{C}$  反应 40 min 所抑制的超氧阴离子自由基相当于 1 mg 的维生素 C 所抑制的超氧阴离子自由基的变化值为 1 个活力单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 总抗氧化能力

总抗氧化能力实际上是测定  $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$  的还原能力,本测试盒是通过使体系中的  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ ,后者可与菲啉类物质形成稳固的络合物,通过比色可测出其抗氧化能力的高低,光吸收值变化越大,总抗氧化能力愈强。

黄酒(三年陈,五年陈)、BHA、BHT 总抗氧化能力的测定结果见图 1。

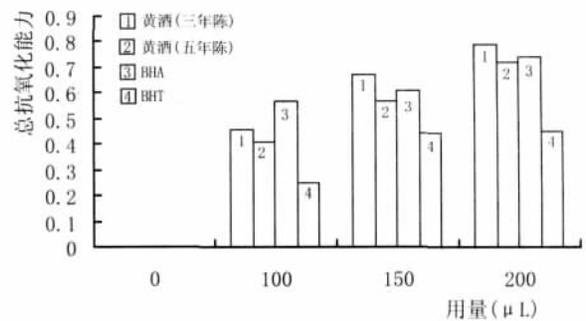
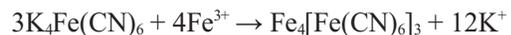


图1 黄酒(三年陈,五年陈)、BHA、BHT 总抗氧化能力

由图 1 可以看出,当用量在 200  $\mu\text{L}$  时,总抗氧化能力为:黄酒(三年陈) > BHA > 黄酒(五年陈) > BHT。

### 2.2 还原能力

还原能力是一种物质的抗氧化能力的一个重要指标<sup>[9]</sup>,也是物质抗氧化机理之一<sup>[10]</sup>。参考 Oyaizu 的方法,其原理是将试样中赤血盐 ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 还原成黄血盐 ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ),黄血盐再与  $\text{Fe}^{3+}$  作用,生成普鲁士蓝,在 700 nm 波长处测定吸光值,以检测普鲁士蓝之生成量,作为试样的还原力,吸光值越高,表示试样还原能力越强。



对黄酒(三年陈,五年陈)、BHT、BHA 的还原能力进行测试,结果见图 2。

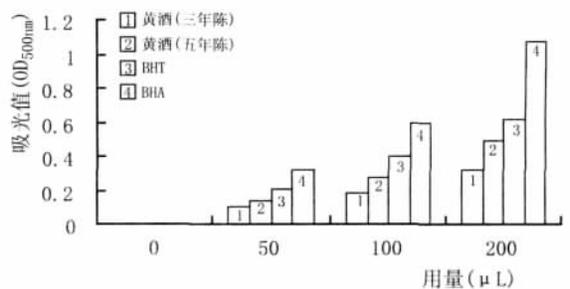


图2 黄酒(三年陈,五年陈)、BHT、BHA 的还原能力

如图 2 所示,吸光值越大,表明还原能力越强。黄酒

表现出了较强的还原能力,与总抗氧化能力类似,黄酒的用量越大,还原能力越强。50  $\mu\text{L}$  的三年陈黄酒的还原能力(0.101)比 50  $\mu\text{L}$  的五年陈黄酒(0.133)稍弱,但是比 50  $\mu\text{L}$  的 BHT(0.211)和 BHA(0.315)明显的弱。100  $\mu\text{L}$  和 200  $\mu\text{L}$  三年陈黄酒的还原能力虽然就本身有所上升,但是相对比,还是明显比 BHT、BHA 的还原能力低。

### 2.3 清除 DPPH 自由基的能力

DPPH 自由基是一种稳定的深紫色的自由基,在 517 nm 处有最大吸光值,当其从能够释放质子的物质处得到质子时,会形成一种稳定的反磁性分子<sup>[11]</sup>,其 517 nm 处吸光值会变小,肉眼观察其紫色会变浅或成为黄色。吸光值越低,表示清除 DPPH 自由基的能力越强。释放质子是物质抗氧化的机理之一,通过测定物质对 DPPH 自由基的清除能力,可以较迅速地评价物质的抗氧化能力。图 3 为黄酒(三年陈,五年陈)、BHA、BHT 清除 DPPH 自由基的能力。

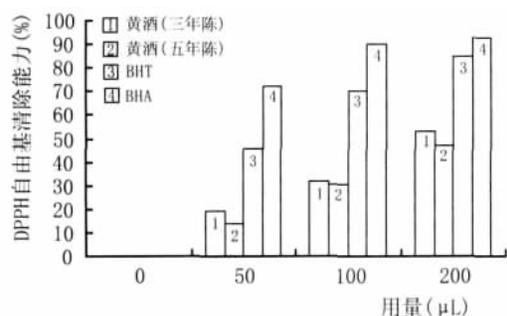


图3 黄酒(三年陈,五年陈)、BHA、BHT 清除 DPPH 自由基的能力

如图 3 所示,200  $\mu\text{L}$  的三年陈以及五年陈黄酒、BHT、BHA 对自由基的清除能力分别为 53.3%、46.9%、84.5%和 92.9%,这表明黄酒有明显的清除 DPPH 自由基的能力。当自由基的形成超过人体自身保护能力时,发生的氧化应激正是诱发如动脉粥样硬化等这些慢性病的原因。黄酒作为一种自由基抑制剂,可以降低自由基在人体中产生的危害。

### 2.4 总酚含量

酚类物质是强体外抗氧化剂,许多研究证实具有预防心血管疾病、癌症等功能。酚类物质的这些功能和其清除自由基、金属螯合能力等有直接的关系<sup>[12]</sup>。近年来,红葡萄酒的保健功能已经引起了广泛的关注,例如著名的“法国矛盾”,这些都被证实和红葡萄酒内大量含有的酚类物质有关。

试验所测得的黄酒中酚类物质含量为 249  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,红葡萄酒和白葡萄酒中酚类物质的含量分别是 1000~4000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 200~400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。然而这并不能说明黄酒的抗氧化性比红葡萄酒、白葡萄酒差,因为黄酒的组成

相对于红葡萄酒、白葡萄酒来说,比较复杂。除酚类物质外,很多其他的物质,例如自由氨基酸、肽类、美拉德反应产物(MRPs)等都具有抗氧化作用。而黄酒中可能存在这类物质,可能对黄酒的抗氧化能力有所贡献。

### 2.5 清除超氧阴离子

该试剂盒通过模拟机体中黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶反应系统,产生超氧阴离子自由基  $\text{O}_2^-$ ,假如电子传递物质及 gress 氏显色剂,使反应体系呈现紫红色,可用分光光度计测其吸光度,当被测样本中含有  $\text{O}_2^-$  抑制剂时,则比色时测定管的吸光度低于对照管的吸光度,通过以维生素 C 做标准,可以算出被检物品对  $\text{O}_2^-$  的影响力。

首先,为了确定最佳取样浓度,在样品实验前,进行了通过制作 Vc 标准曲线的预实验。检测结果见图 4。

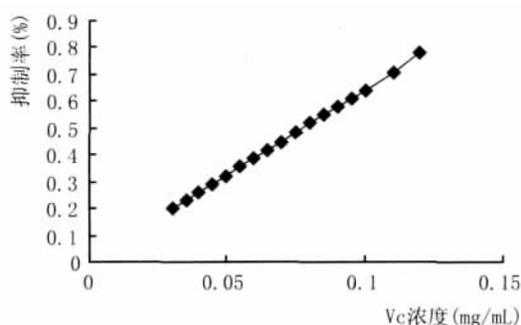


图4 Vc 标准曲线

由图 4 可知道,当 Vc 浓度在 0.03~0.12  $\text{mg}/\text{mL}$  之间的时候,即抑制率为 20%~76%之间,成线性关系。则在正式实验时取百分率 30%~40%作为最佳取样浓度。

在样品试验中,分别得出 0.1 mL 的三年陈与五年陈黄酒的抑制率分别为 34%和 38%。通过线性方程  $Y=6.4603x$  ( $R^2=0.9917$ ),其中 Y 为抑制率,X 为待测样品所对应的 Vc 浓度。以及对抗超氧阴离子自由基活力单位的定义。通过试验得出,三年陈黄酒中抗超氧阴离子活力单位为 50 U/L,五年陈黄酒中抗超硬阴离子活力单位为 60 U/L。

## 3 结论

3.1 建立了一个以总抗氧化能力、还原能力、DPPH 自由基清除能力、抗超氧阴离子能力为指标的抗氧化检测体系。根据此体系,对上海华光药业酿酒厂生产的三年陈及五年陈酒的抗氧化能力进行了初步检测,并用福林酚法测定黄酒中的总酚含量。

3.2 根据实验中所获得的各项指标数据与强抗氧化剂 BHT、BHA 进行横向比较,结果表明:黄酒有较强的总抗氧化能力、还原能力、清除 DPPH 自由基能力。

3.3 1 mL 黄酒中含有 249  $\mu\text{g}$  的酚类物质。黄酒中除含

(下转第 64 页)

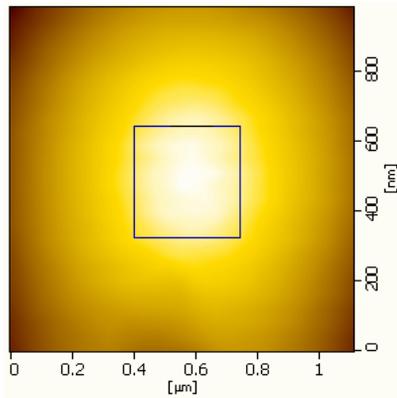


图 16 郎酒 b 浓度粒子中心光洁度解析图像

表 2 各酒样的数据统计结果 (nm)

酒样	粒径分布	平均粒径	平均光洁度
剑南春 a	70~400	184	5~8
剑南春 b	90~500	170	2~6
郎酒 a	160~1100	360	14~20
郎酒 b	140~1400	385	30~35
五粮春 a	135~810	210	2~5
五粮液 a	200~1200	620	21~25

3.1 每种酒的浓度不同,所形成的胶体颗粒大小不同,平均粒径不同。不同酒种浓度相同,香型不同,其胶体粒径、平均光洁度等数据不同。

3.2 浓度高的酒样所形成的胶体颗粒平均粒径比较大。表面光洁度相对浓度低的酒小。其表面微观凸起较大。不过相对于其平均粒径来说,比值较小。

(上接第 59 页)

有酚类物质外,还含有很多其他物质,例如游离氨基酸、肽类、美拉德反应产物(MRPs)等都具有抗氧化作用。这些物质,都可能对黄酒的抗氧化能力有所贡献。

3.4 三年陈黄酒中抗超氧阴离子活力为 50 U/L,五年陈黄酒中抗超氧阴离子活力为 60 U/L。

#### 参考文献:

- [1] 周家琪.黄酒生产工艺[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [2] Sun, A. Y., Simonyi, A., & Sun, G. Y. The "French paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols[J]. Free Radical Biology and Medicine. 2002,32:314-318.
- [3] 张战国,任博,李志西,等.麸皮、黑曲对玉米醋功能性的强化作用[J].西北农业学报,2008,17(5):325-329.
- [4] 余莹,粟武,魏东芝.原花青素体外清除自由基活性的研究[J].华东理工大学学报,2002,28(3):318-320.
- [5] 阎娥,刘建利,原江锋,等.蚕豆壳中原花青素的提取及抗氧化性研究[J].食品工业科技,2009,30(2):65-67.
- [6] 刘昭明,黄翠姬,孟陆丽,等.核桃蛋白肽的抗氧化活性研究[J].食品与发酵工艺,2009,35(1):58-60.
- [7] Slinkard, K., & Singleton, V.L. Total phenol analyses: Autom-

3.3 实验仅从分析检测的方面来对白酒进行一个微观方面的定量研究。所测的试样不是很多,存在一定的偶然性。

扫描探针作为新型的研究中国白酒的仪器已经越来越引起相关学者和领域的关注。如果能从扫描探针出发,针对各种香型、浓度、工艺的白酒进行大量系统的分析,从而建立起一种定性的和白酒微观胶体粒子方面的数据相对应的标准,相信对广大白酒工作者和研究人员会有很大的帮助。随着分析检测手段的日益进步,对于白酒这个传统产品的研究会取得越来越新颖的结果。

#### 参考文献:

- [1] 庄名扬.中国白酒的溶胶性及其应用原理与方法[J].酿酒,2002,29(1):22-26.
- [2] Qwen R.Fennema 著[美].王璋,等译.食品化学[M].北京:中国轻工业出版社,2003.
- [3] 吴士业,扫描探针显微镜对浓香型成品酒的微观形态探讨[J].酿酒科技,2008,164(2):45-46.
- [4] W.Fan,M.C.Qian.Head-space solid phase microextraction and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese "Yanghe Daqu" liquors[J].Agric.Food Chem.,2005,53:7931-7938.
- [5] J Wu,M-L Cheng,G-H Zhang,et al.Epidemiological and histopathological study of relevance of Guizhou Maotai Liquor and liverdiseases[J].World J Gastroenterol,2002(3):571-574.
- [6] 白春礼.扫描力显微镜[M].北京:科技出版社,2000.

- [7] tion and comparison with manual methods[J].American Journal Enology and Viticulture, 1977,28:40-55.
- [8] 张俐勤,戚向阳,陈维军,等.罗汉果提取物的抗氧化活性研究[J].食品科学,2006,27(1):213-216.
- [9] Gül ün İ., Oktay M., Kireçci E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.)seed extracts[J]. Food Chemistry, 2003, 83:371-382.
- [10] Yildirim, A., Mavi, A., & Kara, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49:4083-4089.
- [11] Soares, J. R., Dins, T. C. P., Cunha, A. P., & Almeida, L. M. Antioxidant activity of some extracts of Thymus zygis[J]. Free Radical Research, 1997,26:469-478.
- [12] Lodovici, M., Guglielmi, F., Casalini, C., Meoni, M., Cheynier, V., & Dolara, P. Antioxidant and radical scavenging properties in vitro of polyphenols extracts from red wine[J]. European Journal of Nutrition, 2001, 40:74-77.