

5 种葡萄酒清除羟自由基的比较

李志英,张海容,梁会艳

(忻州师范学院化学系,山西 忻州 034000)

摘要: 适量的葡萄酒对人体健康非常有益,葡萄酒中含有丰富的多酚类物质,可以有效地清除人体内过剩的自由基。不同品牌的葡萄酒对人体内过剩自由基的清除能力是不同的。利用 Fenton 反应产生羟自由基,用分光光度法测定了 5 种葡萄酒对羟自由基的清除作用。结果表明,威龙天然红葡萄酒对羟自由基的清除能力最强。

关键词: 葡萄酒; 羟自由基; 多酚类物质; 分光光度法

中图分类号: TS262.5; O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2006)04-0026-03

Comparison of the Elimination of Hydroxyl Free-radicals by Five Kinds of Wines

LI Zhi-ying, ZHANG Hai-rong and LIANG Hui-yan

(Chemistry Department of Xinzhou Normal College, Xinzhou, Shanxi 034000, China)

Abstract: Adequate grape wine drinking is helpful for peoples' health because grape wine contains abundant polyphenols which could effectively eliminate redundant free-radical in people's body. Grape wine of different brand has different elimination effects. The elimination effects of five kinds of grape wines were studied and compared by spectrophotography. The results suggested that Weilong(Grand Dragon) Natural Claret™ had the best effects. (Tran. by YUE Yang)

Key words: grape wine; hydroxyl free-radical; polyphenols; spectrophotography

葡萄酒是深受人们喜爱的饮料酒之一,它的保健作用已引起国内外许多科学家的高度重视^[1]。大量研究表明,葡萄酒中的多酚类物质具有抗氧化、清除自由基、抗弹性酶等生物活性,在医学上有很广阔的应用前景^[2]。此外,它还具有抗癌、抗高血压、抗病毒、阻碍血小板凝聚、防止低密度脂蛋白(LDL)的氧化、帮助消化、滋补与防止贫血等作用^[3]。特别是葡多酚具有清除自由基过氧化物的生物活性^[4]。Fumio Yamaguchi 等人曾用电子自旋共振与收集技术对葡多酚的自由基清除能力进行研究。实验表明,在 H₂O₂/NaOH/DMSO 体系中,对羟自由基、甲基自由基、过氧化物阴离子具有很好的抑制作用。青岛大学的王传现与钟进义用同样的方法开展了研究。Takurokoga 等人也通过给兔子服用实例进行了论证。郭英等人做了葡多酚的体外脂质抗氧化实验^[5]。

据文献报道,能够产生·OH 的体系很多,如 Fenton 反应体系、还原型谷胱干酞-过氧化氢体系、烟酰胺嘌呤二核苷酸-H₂O₂ 体系、抗坏血酸-Cu²⁺ 体系、水的辐射体系等。能够检测出·OH 的方法很多,有气相色谱法、液相色谱法、电子自旋共振法^[6]、化学发光法、比色法等^[7]。本

文利用 Fenton 反应产生·OH 自由基,以比色法检测了野生原汁爽口山葡萄酒等 5 种葡萄酒对·OH 的清除作用。

1 实验与方法

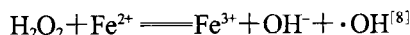
1.1 试剂及仪器

17.68 μg/mL Vc 标准液:准确称取 1.768 g 抗坏血酸,溶解后转入 100 mL 容量瓶中,用去离子水稀释至刻度(随配随用)。7.5 mmol/L 水杨酸溶液,7.5 mmol/L 硫酸亚铁铵溶液,实验用葡萄酒均购于忻州市天元超市。

722 型光栅可见分光光度计:上海精密分析仪器总厂;AB204-N 电子分析天平:Mettler-Toledo Group。

1.2 实验原理

利用 Fenton 反应产生羟自由基



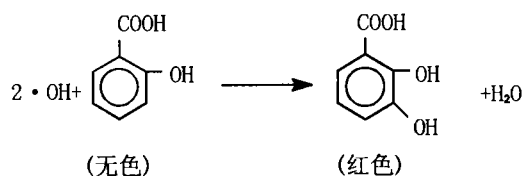
·OH 具有很高的反应活性,存活时间短,但在反应体系中加入水杨酸,能有效捕捉·OH,并产生红色产物。反应式见图 1^[9]

该产物在 510 nm 处有强吸收,若加入具有清除羟

基金项目:山西省自然科学基金(20051028)

收稿日期:2006-01-09

作者简介:李志英(1970-),女,山西省静乐人,讲师,在读硕士,从事分析化学研究。

图1 $\cdot\text{OH}$ 与水杨酸反应式

自由基功能的被测物,便会与水杨酸竞争,从而使红色产物的生成量减少,用722型光栅可见分光光度计在510 nm处测吸光度值,并与空白液对照,便可测定被测物对羟自由基的清除作用。清除率公式:

$$\text{清除率}(\%) = (\text{Ao} - \text{As}) / \text{Ao} \times 100\%$$

式中: Ao——未加被测物吸光度值;

As——加入被测物后吸光度值。

1.3 实验方法

取6支10 mL比色管,分别依次加入1.0 mL 7.5 mmol/L 硫酸亚铁铵溶液,1.0 mL 7.5 mmol/L 水杨酸溶液,1.0 mL 7.5 mmol/L 过氧化氢溶液,在2号、3号、4号、5号和6号比色管中依次加入0.2 mL,0.4 mL,0.6 mL,0.8 mL和1.0 mL的被测液,用去离子水定容至刻度,水浴加热1 h或静置1 h后,在510 nm波长下测吸光度值(备注:葡萄酒本身有颜色,在测定时,必须先扣除背景。按相应体积的被测物扣除背景),再计算清除率。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

按1.3实验方法,测得Vc的吸光度及其对应的清除率,Vc对羟自由基的清除作用见表1。

表1 Vc对羟自由基的清除作用

加入体积(mL)	对照浓度($\mu\text{g/mL}$)	清除率(%)
0.2	1×3.536	80
0.4	2×3.536	80.5
0.6	3×3.536	80.7
0.8	4×3.536	81
1.0	5×3.536	81.2

以Vc溶液浓度为横坐标,以清除率为纵坐标,得标准曲线(见图2)。得回归方程为:

$$y = 23.102x + 3.091 \quad R = 0.997$$

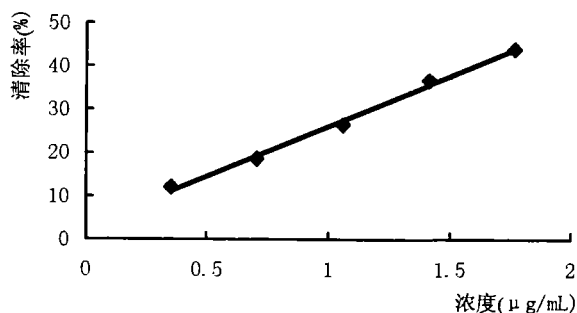


图2 Vc清除率与浓度的关系

2.2 反应时间

羟自由基的寿命很短($<10^{-4}\text{ s}$),浓度很低($<10^{-8}\text{ mol/L}$),因此要有足够的反应时间,使不断产生的羟自由基与水杨酸反应,直至有足够的二羟基苯甲酸产生。实验结果表明,反映1 h后即有足够的二羟基苯甲酸产生,且产物稳定,吸光度值基本保持不变。故选择反应时间为1 h。

2.3 硫酸亚铁铵用量

加入不同体积的硫酸亚铁铵溶液,按实验方法测定空白参比及羟自由基反应体系的吸光度,如图3。

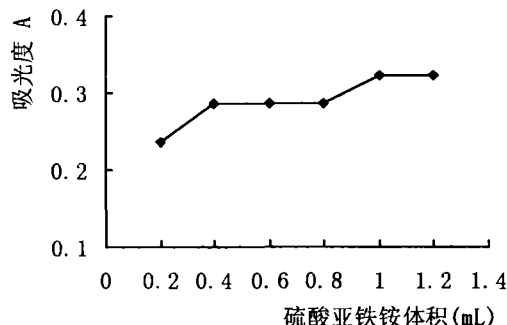


图3 硫酸亚铁铵最佳用量

从图3可看出,随着硫酸亚铁铵用量的增加, ΔA 逐渐增加,在0.6 mL以后, ΔA 基本不变化。故选择硫酸亚铁铵溶液用量为0.6 mL。

2.4 水杨酸用量

加入不同体积的水杨酸溶液,按实验方法测定空白参比及羟自由基反应体系的吸光度,结果见图4。

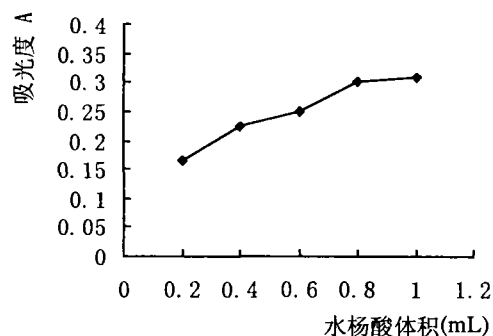


图4 水杨酸最佳用量

从图4可看出,随着水杨酸用量的增加, ΔA 逐渐增加,但当其用量大于0.8 mL时, ΔA 基本不变化。故选择水杨酸溶液用量为0.8 mL。

2.5 过氧化氢用量

加入不同体积的0.1%过氧化氢溶液,按照实验方法测定空白参比及羟自由基反应体系的吸光度,结果见图5。

从图5可看出,随着过氧化氢用量的增加, ΔA 迅速增大,其用量大于1.0 mL时, ΔA 值变化极其缓慢,

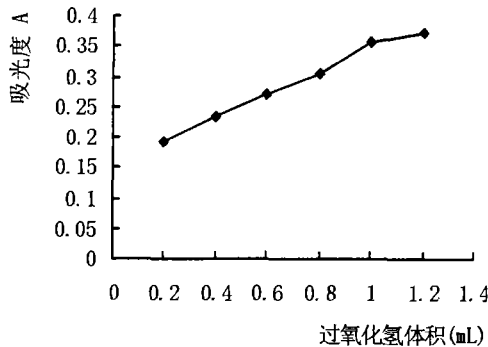


图5 过氧化氢最佳用量

呈稳定状态。故选择过氧化氢溶液用量为 1.0 mL。

2.6 盐酸用量

硫酸亚铁铵、过氧化氢体系反应时会生成黄色浑浊,作为参比溶液这是不允许的。在稀盐酸介质中黄色浑浊可以消失。实验测得当稀盐酸用量为 0.25 mL 时,可起到调节溶液酸度的作用,此时的 ΔA 又较大且稳定。故选择稀盐酸用量为 0.25 mL。

2.7 方法的重现性

选用葡萄酒作为羟自由基的清除剂,进行方法的重现性实验,结果见表 2。

表2 方法的重现性

次数	吸光度	次数	吸光度
1	0.277	6	0.285
2	0.272	7	0.270
3	0.273	8	0.285
4	0.282	9	0.274
5	0.271	10	0.288
RSD (%)	2.4		

表 2 结果表明,本方法的相对标准偏差为 2.4%,这说明重现性较好。

2.8 测定葡萄酒

取 11 支 10 mL 比色管,在 1 号、3 号、5 号、7 号、9 号和 11 号比色管中加入的试剂同 2.3 实验一样,在 2 号、4 号、6 号、8 号和 10 号比色管中依次加入 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL 和 1.0 mL 的被测葡萄酒,再用去离子水定容至刻度,静置 1 h 后,测其吸光度值。则葡萄酒的清除率为:

$$\text{清除率}(\%) = \{A_0 - (A_s - A)\} / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 ——未加葡萄酒时对照液吸光度值;

A_s ——加入葡萄酒后吸光度值;

A ——葡萄酒背景吸光度值。

2.9 相同体积不同葡萄酒对羟自由基的清除能力比较 (见图6)

3 结论

3.1 从表 1 可看出,随葡萄酒体积量的加入,其清除率与其呈正相关关系,即浓度越大,葡萄酒对羟自由基的清

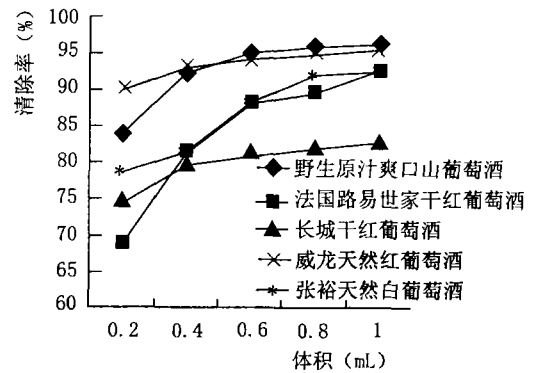
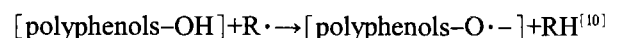


图6 5种葡萄酒清除羟自由基能力比较

除作用越大。

3.2 从图 6 可知,加入相同体积的不同葡萄酒,在 0.2 mL 时,威龙天然红葡萄酒清除羟自由基的能力最强,随体积量的逐渐增加,它们对羟自由基的清除能力大小顺序为:野生原汁爽口山葡萄酒 > 威龙天然红葡萄酒 > 法国路易世家干红葡萄酒 > 张裕天然白葡萄酒 > 长城干红葡萄酒。

3.3 葡萄酒中含有丰富的多酚类物质,在多酚类物质的化学结构上都具有若干个羟基的苯环,这种羟基是优良的氢或中子的给予体,对能引起生物膜因产生过氧化作用而导致结构和功能损伤的自由基(如 $\cdot OH$),可通过与所提供的氢自由基结合而得以消除,从而保护细胞组织免受氧化作用的损害,以提高免疫功能,具体反应如下:



参考文献:

- [1] 林亲录,施兆鹏,秦丹.葡萄籽中的天然抗氧化剂保健功能[J].食品与发酵,2002,28(4):75-77.
- [2] 蔡连捷,闫有旺.“有色菜果”与自由基[J].知识介绍,2003,(10):26-27.
- [3] 刘树文,李华,房玉林.葡萄酒的营养与保健[J].酿酒,1995,5(134):40-42.
- [4] 陈曾三.葡萄酒功能性研究最新动向[J].酿酒,1998,(5):53-55.
- [5] 聂安石.我省葡萄酒开发浅析[J].酿酒科技,1998,5(3):97-98.
- [6] 吴丹,陈健初.葡萄多酚的应用研究进展[J].酿酒加工与食品机械,2003,(5):57-59.
- [7] 韩强,林惠芬,朱玲莉.一些天然提取物对超氧化性自由基和羟自由基的清除作用[J].日用化学工业,2000,30(3):14-17.
- [8] 赵二芳,张海容,盖青青,韩雅文.沙棘黄酮的测定及其抗氧化作用[J].化学应用与研究,2003,15(2):284-285.
- [9] 丁利君,吴倩萍.黄拟多糖的提取及其对自由基的清除作用[J].食品与机械,2003,(4):7-8.
- [10] 凌关庭.红葡萄酒及其衍生制品的生理功能[J].江苏食品与发酵,2000,4(103):33-35.