

# DPPH·法评价Vc、异Vc及其衍生物的抗氧化性能

郑大贵<sup>1</sup>, 叶青<sup>1</sup>, 叶红德<sup>1</sup>, 余衍文<sup>2</sup>

(1. 上饶师范学院江西省普通高校应用有机化学重点实验室, 江西上饶 334001;

2. 南昌大学化学系, 江西南昌 330047)

**摘要:** 用 DPPH· 法评价了 Vc、异 Vc、辛醛 Vc 缩醛、辛醛异 Vc 缩醛、月桂酸 Vc 酯和月桂酸异 Vc 酯的抗氧化能力。结果表明, 所有六种受试物清除 DPPH· 的能力随着浓度的增大而提高; 摩尔数相等时, Vc 与它的衍生物以及异 Vc 与它的衍生物清除 DPPH· 的能力基本相同; 在受试物浓度低于  $1.397 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 并且浓度相同时, Vc 及其衍生物比对应的异 Vc 及其衍生物具有更强的清除能力。

**关键词:** Vc, 异 Vc, 辛醛 Vc 缩醛, 辛醛异 Vc 缩醛, 月桂酸 Vc 酯, 月桂酸异 Vc 酯, DPPH· 法

## Evaluation of antioxidant activity of L-ascorbic acid, D-isoascorbic acid and their derivatives by DPPH· assay

ZHENG Da-gui<sup>1</sup>, YE Qing<sup>1</sup>, YE Hong-de<sup>1</sup>, YU Yan-wen<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Organic Chemistry, Higher Institutions of Jiangxi Province, Shangrao Normal College, Shangrao 334001, China;

2. Chemistry Department, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** The antioxidant activity of L-ascorbic acid, D-isoascorbic acid, L-ascorbyl octyl aldehyde acetal, D-isoascorbyl octyl aldehyde acetal, L-ascorbyl Laurate and D-isoascorbyl Laurate in ethanol were investigated by scavenging 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical (DPPH·). The results showed that all the six tested samples had good scavenging DPPH· activity. The same molar number of L-ascorbic acid and its derivatives showed almost the same scavenging DPPH· activity. When the concentration of samples was lower than  $1.397 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the activity of scavenging DPPH· of L-ascorbic acid or its derivatives was higher than that of D-isoascorbic acid or its derivatives.

**Key words:** L-ascorbic acid; D-isoascorbic acid; L-ascorbyl octyl aldehyde acetal; D-isoascorbyl octyl aldehyde acetal; L-ascorbyl Laurate; D-isoascorbyl Laurate; DPPH· assay

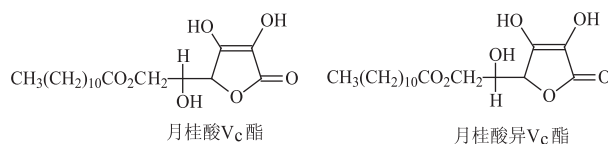
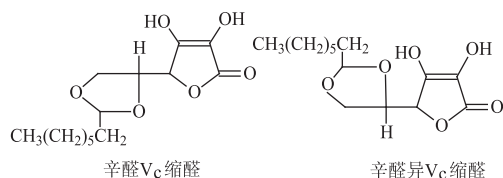
中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)04-0113-04

Vc(L-抗坏血酸)和异Vc(D-异抗坏血酸)是常用的水溶性食品抗氧化剂。利用Vc或异Vc分子结构的特点,将它们衍生得到长碳链缩醛或高级脂肪酸酯,有望用作油脂或含油脂食品的抗氧化剂。作者曾用过氧化值(POV)法考察了多种Vc或异Vc衍生物在动植物油中的抗氧化性能<sup>[1-3]</sup>。本工作通过比较Vc、异Vc、辛醛Vc缩醛、辛醛异Vc缩醛、月桂酸Vc酯和月桂酸异Vc酯清除1,1-二苯基-2-苦味肼基自由基(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH·)的能力,考察了它们的抗氧化性能。结果

表明,所有六种受试物均表现出良好的清除DPPH·能力。与POV法相比,DPPH·法具有操作简单、实验周期短、所用试剂种类和用量少等特点。本研究所用的Vc衍生物和异Vc衍生物及其结构如下:



收稿日期: 2007-10-22

作者简介: 郑大贵(1960-), 男, 教授, 硕士, 研究方向: 应用有机化学。

基金项目: 江西省普通高校重点实验室科技计划项目(赣教技字

[2005]301号, 赣教技字[2006]302号)。

## 1 材料与方法

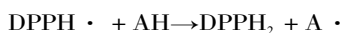
### 1.1 材料与仪器

DPPH· 分析纯, Aldrich 公司; Vc 分析纯 ( $\geq 99.7\%$ ), 国药集团化学试剂有限公司(上海); 异 Vc 工业品 ( $\geq 99.0\%$ ) 江西德兴市百勤异 Vc 钠有限公司赠送; 辛醛 Vc 缩醛、辛醛异 Vc 缩醛、月桂酸 Vc 酯、月桂酸异 Vc 酯 均为本实验室合成, 结构表征的数据与相应化合物的结构完全一致, 碘量法测定含量均在 95% 以上; 无水乙醇 分析纯。

UV-1201 单光束紫外可见分光光度计 北京瑞利仪器分析公司; TG328A 电光分析天平 上海第二天平仪器厂; SB3200 型超声波台式清洗器 必能信超声(上海)有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 方法原理<sup>[4-6]</sup> DPPH· 是一种很稳定的自由基, 在乙醇溶液中呈深紫色, 在 517nm 处有最大吸收峰, 当有自由基清除剂(AH)存在时, 其单电子被结合而使其颜色减褪, 在最大吸收波长处的吸光度减小, 减小的程度与清除剂的清除能力(A·越稳定, 抗氧化能力越强)及其数量呈定量关系。该能力用清除率(Inhibition percent, IP)表示, IP 值越大, 抗氧化能力越强。



#### 1.2.2 试剂的配制

1.2.2.1 DPPH· 乙醇溶液的配制 准确称取 20mg DPPH·, 用无水乙醇溶解并定容于 250mL 棕色容量瓶中, 浓度为  $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。0~4℃ 下避光保存。

1.2.2.2 受试物溶液的配制 对于每个受试物, 分别配制六个不同浓度的无水乙醇溶液。首先确定辛醛 Vc 缩醛(或辛醛异 Vc 缩醛)乙醇溶液的质量浓度分别为 5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 将它们换算成摩尔浓度则依次为  $0.1746 \times 10^{-4}$ 、 $0.3492 \times 10^{-4}$ 、 $0.6985 \times 10^{-4}$ 、 $1.048 \times 10^{-4}$ 、 $1.397 \times 10^{-4}$ 、 $1.746 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。然后将这些摩尔浓度换算成相对应的 Vc、异 Vc、月桂酸 Vc 酯、月桂酸异 Vc 酯的质量浓度(见表 1)。准确称取 10mg 左右样品, 分别用无水乙醇溶解并定容于 100mL 棕色容量瓶中, 然后按照表 1 所列浓度要求用无水乙醇稀释, 现配现用。

1.2.3 清除率(IP)的测定 取不同浓度的受试物 2mL 和 DPPH· 乙醇溶液 2mL 加入具塞试管中, 摇匀, 室温下放置 30min 后, 用无水乙醇作参比测定在 517nm 处吸光度  $A_i$ , 同时测定 2mL DPPH· 溶液和

2mL 无水乙醇混合液在 517nm 处的吸光度  $A_c$ , 以及 2mL 不同浓度的测试液与 2mL 无水乙醇混合液在 517nm 处的吸光度  $A_j$ 。记录  $A_i$ 、 $A_j$  和  $A_c$ , 按照下式计算不同浓度受试物的 IP。

$$\text{IP}(\%) = [(A_c + A_j) - A_i] \div A_c \times 100\%$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同浓度 Vc、异 Vc 及其它们的衍生物清除 DPPH· 的能力比较

按 1.2.3 所述方法, 对每个受试物, 分别测试六个不同浓度试样的清除率 IP, 结果见图 1 和图 2。

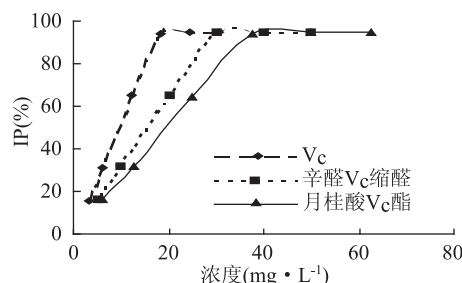


图 1 Vc 及其衍生物清除 DPPH· 的能力

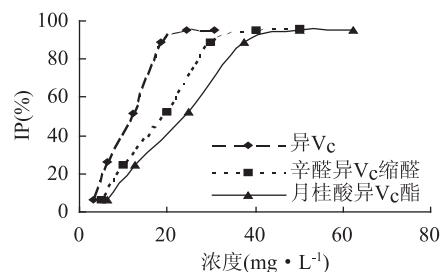


图 2 异 Vc 及其衍生物清除 DPPH· 的能力

图 1 和图 2 的结果表明, 六种受试物清除 DPPH· 的能力都随着它们浓度的增加而提高; 等摩尔浓度的 Vc、辛醛 Vc 缩醛和月桂酸 Vc 酯对 DPPH· 的清除率基本相同(例如, 对于图 1 中的第 2 号测试浓度  $0.3492 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 即当质量浓度 Vc 为  $6.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、辛醛 Vc 缩醛为  $10.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、月桂酸 Vc 酯为  $12.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 对应的 IP 分别为 31.18%、31.70% 和 32.07%; 等摩尔的异 Vc、辛醛异 Vc 缩醛和月桂酸异 Vc 酯对 DPPH· 的清除率 IP 也基本相同(例如, 对于图 2 中的第 2 号测试浓度  $0.3492 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 异 Vc、辛醛异 Vc 缩醛和月桂酸异 Vc 酯对应的 IP 分别为 25.95%、24.86% 和 24.79%)。这是因为清除 DPPH· 的官能团是连烯二醇结构单元, 而衍生得到的缩醛或脂肪酸酯均保留了该结构单元, 只要反应体系内受试物的摩尔数相同, 清除能力显然相同。

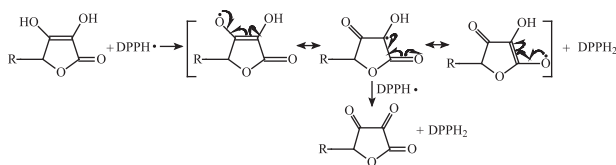
表 1 受试物无水乙醇溶液的浓度

序号	摩尔浓度 ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	对应的质量浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		
		Vc(异 Vc)	辛醛 Vc 缩醛 (辛醛异 Vc 缩醛)	月桂酸 Vc 酯 (月桂酸异 Vc 酯)
1	$0.1746 \times 10^{-4}$	3.08	5.00	6.26
2	$0.3492 \times 10^{-4}$	6.15	10.00	12.52
3	$0.6985 \times 10^{-4}$	12.30	20.00	25.04
4	$1.048 \times 10^{-4}$	18.46	30.00	37.56
5	$1.397 \times 10^{-4}$	24.60	40.00	50.07
6	$1.746 \times 10^{-4}$	30.75	50.00	62.58

同理,受试物的浓度越大,提供连烯二醇结构单元的能力越大,IP 值也越大。

分析图 1 和图 2 的相关数据还发现,实验中出现了在反应体系内受试物的摩尔数小于被清除的 DPPH· 的摩尔数的情况。例如,第 5 号测试浓度的辛醛异 Vc 缩醛对 DPPH· 的清除率为 95.43%,而反应体系中该受试物的摩尔数( $1.397 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \times 2 \times 10^{-3} \text{ L} = 2.794 \times 10^{-7} \text{ mol}$ )小于被清除的 DPPH· 的摩尔数( $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \times 2 \times 10^{-3} \text{ L} \times 0.9543 = 3.8172 \times 10^{-7} \text{ mol}$ )。表明连烯二醇的两个烯醇羟基均参与了反应,即理论上,1 摩尔 Vc、异 Vc 或它们的衍生物能清除 2 摩尔 DPPH·。

上述结果可用如下清除机理予以解释:



## 2.2 Vc 及其衍生物与异 Vc 及其衍生物清除 DPPH· 的能力比较

将 Vc 与异 Vc、辛醛 Vc 缩醛与辛醛异 Vc 缩醛、月桂酸 Vc 酯与月桂酸异 Vc 酯的 IP% 对浓度作图,分别得到图 3、图 4 和图 5。

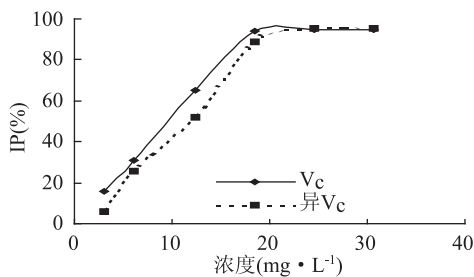


图 3 Vc 和异 Vc 清除 DPPH· 的能力

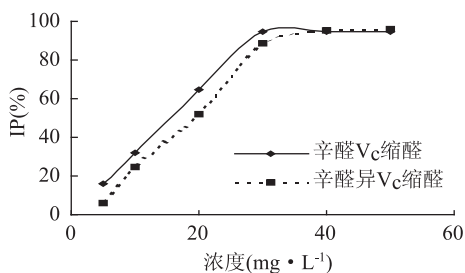


图 4 辛醛 Vc 缩醛和辛醛异 Vc 缩醛清除 DPPH· 的能力

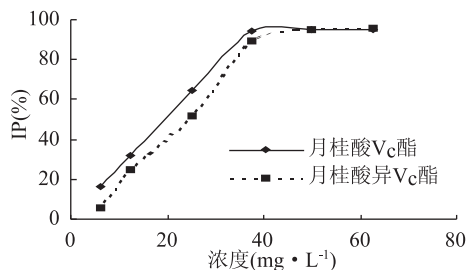


图 5 月桂酸 Vc 酯和月桂酸异 Vc 酯清除 DPPH· 的能力

图 3、图 4 和图 5 的结果表明,在低于第 5 号浓度( $1.397 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )时,同一浓度的 Vc 及其衍生物比对应的异 Vc 及其衍生物具有更强的清除能

力。这一现象与我们以前用 POV 法测定相关化合物抗氧化性能所得到的结论“异 Vc 及其衍生物比 Vc 及其衍生物具有更强的抗氧化能力”<sup>[3,7]</sup> 似乎相矛盾。这可能是与本实验所用的受试物的浓度与 POV 法所用受试物的浓度不同有关。在 POV 法中,受试物在油样中的浓度一般为 0.01%~0.04% (w/w),以相对分子质量较大的月桂酸 Vc 酯和月桂酸异 Vc 酯(相对分子质量均为 358.44)为换算标准,其摩尔浓度均在  $2.700 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  以上。我们用碘量法考察了不同浓度辛醛 Vc 缩醛和辛醛异 Vc 缩醛乙醇溶液的稳定性(结果见图 6,图中残留率越高表示相应的体系越稳定)。其结果是:辛醛 Vc 缩醛或辛醛异 Vc 缩醛的浓度越稀,越不稳定;相同浓度的辛醛异 Vc 缩醛乙醇溶液比辛醛 Vc 缩醛乙醇溶液更不稳定。导致不稳定的因素可能是体系中 Vc 或异 Vc 衍生物被氧化破坏<sup>[8]</sup>。在本研究中,当受试物浓度低于  $1.397 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,由于异 Vc 衍生物被氧化破坏的程度高于相应的 Vc 衍生物,导致清除 DPPH· 的有效浓度降低,表现出较低的 IP 值。当浓度较高时,尽管部分异 Vc 衍生物因氧化损失,但仍有足够的量与 DPPH· 反应,表现出比 Vc 衍生物更强的清除能力,即具有更强的抗氧化能力。图 3、图 4 和图 5 中第 6 号浓度( $1.746 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 IP 值,异 Vc 及其衍生物高于 Vc 及其衍生物佐证了这一解释。

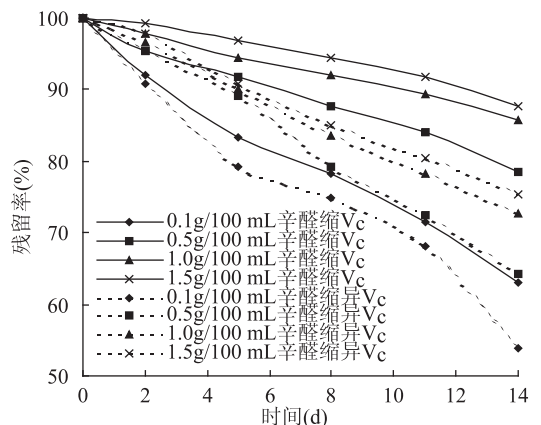


图 6 不同浓度的辛醛 Vc 缩醛和辛醛异 Vc 缩醛乙醇溶液稳定性随时间的变化曲线

## 3 结论

本研究用 DPPH· 法考察了 Vc、异 Vc、辛醛 Vc 缩醛、辛醛异 Vc 缩醛、月桂酸 Vc 酯和月桂酸异 Vc 酯清除自由基的能力。实验结果表明,在所研究的浓度范围内,所有六种受试物对 DPPH· 的清除能力均随着浓度的增大而提高;等摩尔的 Vc 与它的衍生物,或等摩尔的异 Vc 与它的衍生物清除 DPPH· 的能力基本相同;在浓度较低时,因异 Vc 及其衍生物稳定性较差,表现出比 Vc 及其衍生物更差的清除自由基能力。与 POV 法相比较,以 DPPH· 法测定 Vc、异 Vc 及其衍生物抗氧化能力的方法具有操作简单、实验周期短、所用试剂的种类和用量少等特点。

### 参考文献:

[1] 郑大贵,肖竹平,叶红德,等. 酯交换法合成 D-异抗坏血

# 酸碱提取鲢鱼蛋白功能特性的研究

付湘晋,许时婴\*,王璋, Jinmoon Kim

(江南大学食品科学与安全国家重点实验室,江苏无锡 214122)

**摘要:**酸碱法(pH-shifting)提取鲢鱼蛋白可以提高蛋白得率,但工艺中的酸、碱对鲢鱼蛋白的功能特性有很大影响。碱提鲢鱼肌肉蛋白在碱性环境的溶解性和盐溶解度均高于水洗传统鱼糜蛋白(pH8.0时碱提蛋白、水洗鱼糜溶解度分别为0.6、0.3mg/mL,3% NaCl浓度时溶解度分别是0.8、0.55mg/mL);酸提蛋白有较好的乳化性,在pH>7.5或在盐溶液中乳化能力超过了大豆蛋白(pH8.0时酸提蛋白、大豆蛋白乳化指数分别为1190、810,在1% NaCl浓度时分别是1330、800);酸碱提取蛋白保水性比水洗鱼糜差,在pH7.0处,鱼蛋白的保水性最好(酸、碱提蛋白和水洗鱼糜保水指数分别是52、51、63)。

**关键词:**鲢鱼蛋白,功能特性,酸碱法,溶解性,乳化性,保水性

## Research on the functional properties of acid and alkali extracted protein of silver carp

FU Xiang-jin, XU Shi-ying\*, WANG Zhang, Jinmoon Kim

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** The pH-shifting process could increase the protein recovery rate effectively, but the acid and alkali used in the process affect the functional properties of the extracted protein markedly. The alkali-extracted protein had a higher solubility than water washed surimi in alkali condition and salt solution (the solubility of alkali extracted protein and water washed surimi were 0.6, 0.3mg/mL respectively at pH 8.0, in 3% NaCl their solubility were 0.8, 0.55mg/mL respectively). The acid extracted protein had a good emulsification, at pH > 7.5 or in salt solution its emulsification exceeded that of soy protein (the emulsification index of acid extracted protein and soy protein were 1190, 810 respectively at pH 8.0, in 1% NaCl their emulsification index were 1330, 800 respectively). The water holding capability of acid, alkali extracted protein is worse than that of water washed surimi, and their water holding capability were best at pH 7.0 (the water holding capability were 52, 51, 63 respectively).

**Key words:** silver carp protein; functional properties; pH-shifting process; solubility; emulsification; water holding capability

中图分类号:TS254.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2008)04-0116-03

我国淡水鱼资源丰富,但由于缺乏深加工技术,淡水鱼加工率低<sup>[1]</sup>,资源浪费严重,特别是我国养殖量和产量最大的淡水鱼——白鲢鱼(silver carp,

*Hypophthalmichthys molitrix*),肉薄刺多,泥土味与鱼腥味不易去除,鲜销价格很低。把白鲢加工成鱼糜,是有效利用白鲢资源的途径之一。但现有白鲢鱼鱼糜加工工艺鱼肉利用率低、下脚料多、废水量大<sup>[2]</sup>。酸碱法(pH-shifting)提取动物蛋白是上世纪九十年代末研发出的一种新技术<sup>[3]</sup>,利用蛋白质在不同pH下溶解度不同,先在极端条件(<2.5或>10.5)下使

收稿日期:2007-07-24 \*通讯联系人

作者简介:付湘晋(1980-),男,博士研究生,主要从事食品蛋白质研究。

酸棕榈酸酯及其抗氧化性能[J]. 精细化工,2004,21(6):450~451,480.

[2] 郑大贵,叶红德,肖竹平. D-异抗坏血酸硬脂酸酯的合成及其性能研究[J]. 化学研究与应用,2005,17(3):397~399.

[3] 郑大贵,肖竹平,叶红德. 异Vc月桂酸酯的合成及其在茶籽油中的抗氧化性能[J]. 中国油脂,2006,31(12):56~58.

[4] Watanabe Y, Kuwabara K, Adachi S, et al. Production of Saturated Acyl L-Ascorbate by immobilized lipase using a continuous stirred tank reactor[J]. Journal of Agricultural and food chemistry,2003,51(16):4628~4632.

[5] Lo Nostro P, Capuzzi G, Romani A, et al. Self-assembly and antioxidant properties of octanoyl-6-O-ascorbic acid[J]. Langmuir,2001,16(4):1744~1750.

[6] 聂少平,谢明勇,罗珍. 用清除有机自由基 DPPH 法评价茶叶多糖的抗氧化活性[J]. 食品科学,2006,27(3):34~36.

[7] 肖竹平,郑大贵,叶红德. Vc、异Vc及其棕榈酸酯在茶籽油中的抗氧化性能研究[J]. 食品科技,2004(11):52~54.

[8] 郑大贵,肖竹平,叶红德. Vc硬脂酸酯和异Vc硬脂酸酯乙醇溶液的稳定性研究[J]. 食品科学,2007,28(3):64~67.