

一种筛选自由基清除剂的简便方法[△]

青岛大学化学系 (266071) 许申鸿* 杭 瑚

摘 要 对二苯代苦味肼基自由基 (DPPH[•]) 分光分析法进行了系统研究,结果表明,该法灵敏、简便、实用且重现性好,不失为筛选自由基清除剂的好方法。
关键词 二苯代苦味肼基自由基 自由基清除剂 筛选研究

A Simple Method for the Screening of Free Radical Scavenger

Department of Chemistry, Qingdao University (Qingdao 266071) Xu Shenhong and Hang Hu

Abstract The use of 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical for the screening of free radical scavenger was studied by spectrophotometry. The result showed that the method was sensitive, simple, applicable and had a good reproducibility. It is a good method for the screening of free radical scavenger.

Key words 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical free radical scavenger screening

随着自由基生物学与自由基医学的迅速发展,现已证明多种疾病的发生和发展与自由基对组织细胞的损伤关系密切^[1,2]。因此,研究自由基的检测方法并探讨物质对自由基的清除作用具有重要意义。

自由基的检测方法很多,如电子顺磁共振法,电子自旋共振法,气-液色谱法,发光法等。但这些方法大多需用昂贵的仪器,一般实验室难以应用。二苯代苦味肼基自由基 (DPPH[•]) 分光测定法的测定原理是依据 DPPH[•] 在 517 nm 处有一强吸收,其乙醇溶液呈深紫色^[3,4]。当有自由基清除剂存在时,由于其单电子配对而使其吸收逐渐消失,其褪色程度与其接受的电子数成定量关系。因而可用分光法进行定量分析。1958年 Blois^[5]将其应用于抗氧化剂的筛选研究。此后,国外又有很多学者用此法研究了物质清除自由基的性质^[6~11]。然而,这种自由基分光分析法在国内却很少有报道。实验表明,该法简便易行,灵敏可靠,不失为筛选天然产物抗氧化剂的好方法之一。

1 材料与方法

1.1 仪器: 722型分光光度计 (上海第三分析仪器厂产品)。

1.2 试剂: DPPH[•] (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (日本,东京化成工业株式会社产品),分别以乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、二甲亚砜为溶剂配制浓度为 6.5×10^{-4} mol/L 的储液,于冰箱存放,临用时将储液以同一种溶剂稀释至 6.5×10^{-5} mol/L。其它试剂均为国产分析纯。

1.3 方法: 在最大波长处 (517 nm),于直径 1 cm 比色皿中,按表 1 加样测定各吸光度 (*A*),总体积 3.0 mL。每一吸光度平行测 3 次,取其平均值。清除率按下式计算:

$$\text{清除率}\% = \left(1 - \frac{\overline{A}_i - \overline{A}_j}{\overline{A}_0}\right) \times 100\%$$

表 1 DPPH[•] 实验加样表

<i>A</i> ₀	2.5 mL 6.5×10^{-5} mol/L DPPH [•] 溶液+ 0.5 mL 试样的溶剂,为空白对照
<i>A</i> _i	2.5 mL 6.5×10^{-5} mol/L DPPH [•] 溶液+ 0.5 mL 试样
<i>A</i> _j	2.5 mL DPPH [•] 溶液的溶剂+ 0.5 mL 试样

2 结果与讨论

2.1 波长与吸光度之关系: 按上述 1.3 方法操作,于不同波长处测定吸光度,结果表明,各种溶剂中 DPPH[•] 溶液的最大吸光度均在 517 nm 附近,这与文献^[3,4]报道一致。

2.2 DPPH[•] 溶液浓度与吸光度的关系: 实验表明,在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内 DPPH[•] 溶液浓度与 *A* 呈线性正相关关系。用最小二乘法作线性回归,得 DPPH[•] 溶液浓度 ($\times 10^{-5}$ mol/L) 与 *A* 关系曲线的回归方程式: $A = -0.0030 + 0.0777C, r = 0.9998$ 。采用比色分析手段,通过溶液颜色的变化,可了解加入样品后剩余 DPPH[•] 的含量。

2.3 DPPH[•] 浓度对测量线性范围及测定灵敏度的影响: 特丁基对苯二酚 (TBHQ) 是现今食品业广为应用的合成抗氧化剂。我们以 TBHQ 为试样,研究 DPPH[•] 溶液浓度对其测量线性范围及测定灵敏

* Address Xu Shenhong, Department of Chemistry, Qingdao University, Qingdao

许申鸿,女,40岁,1982年毕业于石油大学炼制系化学师资专业。副教授,现在青岛大学化学系工作,主要从事有机化学的教学与研究。
[△]山东省自然科学基金资助课题 (Y98DO2050)

度的影响,结果(表 2),TBHQ的测量线性范围随 DPPH° 浓度的增加而增大,但其测定灵敏度(以 IC₅₀表示)却随之而降低

表 2 DPPH° 浓度对测量线性范围及灵敏度的影响

[DPPH°](mol/L)	线性范围(g/mL)	IC ₅₀ (g/mL)
6.5× 10 ⁻⁵	2× 10 ⁻⁷ ~3× 10 ⁻⁶	1.7× 10 ⁻⁶
1× 10 ⁻⁴	3× 10 ⁻⁷ ~5× 10 ⁻⁶	2.7× 10 ⁻⁶
2× 10 ⁻⁴	3× 10 ⁻⁷ ~1× 10 ⁻⁵	5.4× 10 ⁻⁶

2.4 体系显色的稳定性:实验表明,各种溶剂(乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、二甲亚砜)中的 DPPH° 溶液的 A 值在 35 min 内基本不变,表明该显色体系较稳定。以乙醇、甲醇、二甲亚砜为溶剂的 DPPH° 分析法曾有报道^[1~11],但其它溶剂中 DPPH° 分析法未见报道。本研究表明,DPPH° 分析法可用于多种有机溶剂提取物抗氧化性质的研究。

2.5 干扰实验:以 1.7× 10⁻⁷ g/mL TBHQ 对 DPPH° 进行清除实验,在误差小于 5% 的情况下,相关成分影响如下:10 000 倍的 Na⁺、Cl⁻、Br⁻;100 倍的 NO₃⁻、NO₂⁻、SO₄²⁻、Mg²⁺、蔗糖、葡萄糖;10 倍的 Mn²⁺、I⁻;等倍的 Zn²⁺、Fe³⁺、SO₃²⁻ 不干扰测定;等倍量的 Fe²⁺、Cu²⁺、SeO₃²⁻ 产生干扰。

2.6 回收实验:抗坏血酸(Vc)和茶多酚(TP)是公认的安全可靠的天然抗氧化剂。它们清除 DPPH° 实验结果及回收率实验结果见表 3。

3 应用实验

生姜为多年生草本植物,它在传统中医药学中

表 3 应用实验及回收实验结果

样品	加入量 (g/mL)	DPPH° 清除 率(%)	TBHQ加入量 (g/mL)	回收量 (g/mL)	回收率 (%)
Vc	8.6× 10 ⁻⁷	10.3	3.3× 10 ⁻⁷	11.7× 10 ⁻⁷	93.9
TP	3.3× 10 ⁻⁷	9.5	3.3× 10 ⁻⁷	6.7× 10 ⁻⁷	103.0

具有很广泛的用途。已有文献报道它具有清除活性氧自由基的作用^[2],并已将其用作食用油等的抗氧化剂^[13,14]。我们研究它对 DPPH° 的清除作用,其 IC₅₀ (清除 50% DPPH° 所需试剂量)为 3.8 mg/mL,这表明 DPPH° 的实验结果与其它自由基的清除实验结果是一致的。

参考文献

1 Barry H, *et al.* Free radicals in Biology and Medicine. Oxford, Charendon Press, 1985 37
2 方允中,等.自由基与酶—基础理论及其在生理学和医学中的应用.北京:科学出版社,1989 11,193
3 许士凯.抗衰老药理学.北京:中国医药科技出版社,1995 200
4 Nicole C, *et al.* Free Radical Biology & Medicine, 1996, 20 (1): 35
5 Blois, M S. Nature, 1958, 181: 1199
6 Cheng Z J, *et al.* Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1392 291
7 Mellors A, *et al.*, J Biol Chem, 1966, 241: 4353
8 Alexandre C, *et al.* Planta Med, 1998, 64 393
9 Jose A L, *et al.* J Agric Food Chem, 1998, 46 2694
10 Makoto H, *et al.* J Agric Food Chem, 1998, 46 2167
11 Esperanza J, *et al.* J Nat Prod, 1998, 61 706
12 田亚平,等.自由基生命科学进展.第 1 集.北京:原子能出版社,1993 72
13 李爱华.食品科学,1995, 16(12): 35
14 许淑英编译.食品科学,1987, 9 49

(1999-05-24 收稿)

中药材中二氧化硫的含量测定

香港政府化验所(香港特别行政区) 王兆基* 关锡耀
上海市药品检验所(200233) 汪洁 陈坚行

摘要 酸蒸馏碘滴定法是测定一般食物中二氧化硫含量的一个标准检测方法。本文就此法测定中药材中二氧化硫含量的可行性和准确性作出探讨和研究。结果显示酸蒸馏碘滴定法用于中药材中二氧化硫的含量测定有很高的准确性和重现性。本文检验了 30 种香港常用中药材(共 42 个样本),发现其中有 24 个样本中含有二氧化硫,而其中 9 个样本中的二氧化硫更超出 500μg/g。
关键词 中药材 二氧化硫 酸蒸馏碘滴定法 离子色谱法

Determination of Sulphur Dioxide in Chinese Herbal Medicines by Iodine Titration Method

Hongkong Government Laboratory (HKSAR) Wang Zhaoji and Guan Xiyao

* Address: Wang Zhaoji, Hongkong Government Laboratory (HKSAR)
王兆基,理学学士学位(化学及物理),香港理工大学,1991年;哲学博士学位(化学,香港中文大学),1994年;理学硕士学位(应用数学),香港理工大学,1999年。专业资格:英国皇家化学学会会员,特许化学师,1997年;化验师(香港政府化验所)。研究方向:食物化验包括农残及其他污染物分析,中药化验包括有毒中药材鉴定分析,化学计量学在中药分析的应用。科研成果:已发表文章共 14 篇。