

含有双键基团和硫基团,在结构上也与 MPDS 具有很大的相似性。百合科植物所含有的 DADS,对实验动物的结肠癌、皮肤癌^[11]、肝癌、乳腺癌^[12]和肺癌^[13]等都具有明显的抑制作用。Knowles 及 Milner^[14]等人的研究表明: DADS 对细胞生长的这种抑制作用,导致细胞周期中停滞在 G₂/M 期的细胞比例增高,他们认为这种停滞现象与 DADS 抑制了 p34^{cdc2} 激酶的活性有关。p34^{cdc2} 激酶是由 p34^{cdc2} 催化单位和细胞周期蛋白 B1 结合形成的,在细胞内通过调控细胞周期蛋白 B1 的合成与降解和 p34^{cdc2} 的苏氨酸(14)和酪氨酸(15)的磷酸化和去磷酸化而共同调控 p34^{cdc2} 激酶的活性。DADS 能够抑制 p34^{cdc2} 激酶复合物的表达和它的激活过程,从而影响了细胞 G₂/M 期生长。

另外, Shivendra^[15]等人的研究发现:口服二烯丙基二硫化物(DADS)能够有效抑制由 ras 基因转化的肿瘤细胞生长。据已有文献报道,20%~30% 的癌症是由于 ras 基因突变引起的。ras 癌基因编码 21-KD 蛋白(p21^{ras}), p21^{ras} 蛋白与细胞膜结合后,对细胞内外的信息转导起到重要的作用。而且还发现, DADS 对细胞生长的抑制作用是由于 DADS 降低了 3- 羟基-3 甲基谷氨酰辅酶 A 还原酶的活性,减少了法尼基焦磷酸基团的数量,从而影响了 p21^{ras} 的翻译后修饰,降低了 p21^{ras} 与细胞膜结合的能力。DADS 通过这种调控机制抑制 ras 依赖性肿瘤细胞的生长。

蒜头作为一种中药植物,它所含有的甲基丙烯基二硫化物的抗菌作用机理;以及它是否对肿瘤细胞生长具有抑制作用;甲基丙烯基二硫化物与 p21^{ras} 和 p34^{cdc2} 激酶的相互作用关系,都需要我们做进一步的研究。而且甲基丙烯基二硫化物和其他物质的协同作用效果也需要做进一步的研究。这些都为蒜头作为一种抗癌中药植物提供理论上的科学依据。

参考文献:

- [1] 汪治,等.薤白的本草考证[J].中国中药杂志,1991,16(7):389.
- [2] 刘银燕,等.薤白和脉净胶囊中氨基酸成分分析[J].白求恩医

科大学学报,1996,22(2):143.

- [3] 刘银燕,等.脉净胶囊中无机元素的分析[J].白求恩医科大学学报,1996,22(1):35.
- [4] 谭可安,等.薤白的临床疗效观察[J].白求恩医科大学学报,1989,15(2):211.
- [5] 李向红,等.薤白提取物的抗氧化作用研究[J].中药材,1994,17(11):34.
- [6] 吴洪元.薤白的炮制研究[J].中药材,1995,18(4):192.
- [7] 彭军鹏,乔艳秋,等.葱属植物挥发油研究Ⅲ薤(*Allium chinense* G.Don)挥发油成分的研究[J].中国药物化学杂志,1994,4(4):282.
- [8] Kameoka H, Lida H, Hashimoto S, et al. Sulphides and furanones from steam volatile oils of *Allium fistulosum* and *Allium chinense*[J]. Phytochemistry, 1984, 23(1):155.
- [9] Sundaram S G, Milner J A. Impact of organosulfur compounds in garlic on canine mammary tumor cells in culture[J]. Cancer Lett[J], 1993, 74:85.
- [10] Sundaram S G, Milner J A. Diallyl disulfide induces apoptosis of human colon tumor cells[J]. Carcinogenesis[J], 1996, 17:669.
- [11] Sadhana A S, Rao A R, Kucheria K, et al. Inhibitory action of garlic oil on the initiation of benzo[a]pyrene-induced skin carcinogenesis in mice[J]. Cancer Lett, 1988, 40:193.
- [12] Schaffer E M, Liu J Z, Green J, et al. Garlic and associated allyl sulfur components inhibit N-methyl-N-nitrosourea induced rat mammary carcinogenesis[J]. Cancer Lett, 1996, 102:199.
- [13] Hong J Y, Wang Z Y, Smith T J, et al. Inhibitory effects of diallyl sulfide on the metabolism and tumorigenicity of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in A/J mouse lung[J]. Carcinogenesis, 1992, 13:901.
- [14] Knowles L M, Milner J A. Diallyl disulfide inhibits p34^{cdc2} kinase activity through changes in complex formation and phosphorylation[J]. Carcinogenesis, 2000, 21:1129.
- [15] Shivendra V. Singh. Impact of Garlic Organosulfides on p21^{ras} processing[J]. Nutrition, 2001, 131:1046.

罗丹明 6G-Co²⁺-H₂O₂ 体系荧光法测定常见蔬菜的抗氧化活性

张爱梅, 臧运波

(聊城大学化学化工学院, 山东 聊城 252059)

摘要: 罗丹明 6G 本身能产生特征荧光, 其激发波长和发射波长分别为 350nm 和 549nm, 碱性中 Co²⁺-H₂O₂ 体

收稿日期: 2003-05-15

作者简介: 张爱梅(1948-), 女, 教授, 硕士生导师。

系产生的 $\cdot\text{OH}$ 可以迅速氧化罗丹明 6G 使荧光猝灭,蔬菜提取物可以清除溶液中的 $\cdot\text{OH}$,从而使溶液的荧光减弱程度降低。据此建立了一种测定蔬菜对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率的新方法。测试了 14 种常见蔬菜的抗氧化活性,其中菠菜、油菜、韭菜、香菜、雪里蕻 5 种绿叶蔬菜的抗氧化性较强。

关键词: 荧光光度法; 蔬菜; 羟自由基; 罗丹明 6G

Determination of Antioxidant Activity in Several Kinds of Vegetables by Fluorimetry with Rh6G- Co^{2+} - H_2O_2 System

ZHANG Ai-mei, ZANG Yun-bo

(Institute of Chemistry and Chemical Technology, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract: Rh6G can produce its characteristic fluorescence with its excitation and emission wavelength at 350nm and 549nm, respectively. Rh6G was oxidized by hydroxyl radical rapidly and its fluorescence were quenched. Extractives of vegetable might eliminate hydroxyl radical in solution, hence its weakening effect of fluorescence of solution will be minimized. Based on this principle, a new method was developed to determine the eliminating ratio of hydroxyl radical in vegetables. The antioxidative activities of 14 kinds of vegetables were thus determined. The results showed that the antioxidative activity of Spinach was the strongest, followed by Rape, Chinese leeks, Coriander and Potherb mustard. All of them had green leaves.

Key words: fluorescent spectrophotometry; vegetable; hydroxyl radical; Rh6G

中图分类号: O637.39

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)01-0149-04

本文采用荧光法,用 Co^{2+} - H_2O_2 体系产生羟自由基^[5],对 14 种常见蔬菜的消除自由基作用进行研究,对羟基的检测虽有一些报道^[1~4],但荧光法报道很少,以本体系更未见报道。研究结果表明菠菜、油菜、韭菜、香菜、雪里蕻等 5 种绿叶蔬菜的抗氧化性较强。

1 材料与方法

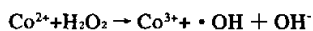
1.1 仪器和试剂

LS-55 型荧光分光光度计(美国 PE 公司)。 CoSO_4 溶液 4mmol/L; H_2O_2 溶液: 3%; 罗丹明 6G 溶液: 0.001%; pH10.8 的 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - NH_4Cl 缓冲溶液; 抗坏血酸 20mmol/L。所用试剂均为国产分析纯,水为二次蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 测定原量

根据文献^[7], Co^{2+} 可与 H_2O_2 作用发生类似 Fenton 反应产生羟自由基,实验证明产率比 FeSO_4 要高,其反应原理可类推如下:



然后,再利用羟自由基迅速氧化罗丹明 6G,使罗丹明 6G 的荧光强度显著降低,从而间接测定羟自由基的产生量。

1.2.2 羟自由基的测定

在 10ml 具塞刻度试管中,加入 0.001% 的罗丹明 6G

1.0ml, pH10.8 的缓冲溶液 0.6ml, 4mmol/L 的 Co^{2+} 离子溶液 0.5ml, 3% 的 H_2O_2 溶液 0.6ml, 加蒸馏水至刻度,混匀。15min 后,以 350/549nm 测定荧光强度 F, 计算其与空白参比(罗丹明 6G 与缓冲液)荧光强度 F_0 之差 ΔF , 通过测定 $\cdot\text{OH}$ 形成前后罗丹明 6G 的荧光强度变化,测定 $\cdot\text{OH}$ 的产生量。

1.2.3 羟自由基清除率的测定

在 1.2.2 体系中加入一定量的羟自由基清除剂,测定荧光强度 F_s ; 罗丹明 6G 和缓冲溶液作为空白体系,其荧光强度为 F_0 ; 未加清除剂的体系,其荧光强度为 F; 则清除率 $= (F_s - F) / (F_0 - F) \times 100\%$ 。

1.2.4 蔬菜水提取物清除 $\cdot\text{OH}$ 的作用

新鲜蔬菜洗净,凉干,准确称取食用部分 50g, 加入 200ml 蒸馏水,匀浆 3min, 过滤,离心 5min, 取上层清液 2ml 按上述方法进行测定。

2 结果与讨论

2.1 实验条件

2.1.1 荧光光谱

罗丹明 6G 能产生特征荧光,于荧光分光光度计上在 300~600nm 范围内扫描,得最大激发波长为 350nm,最大发射波长为 549nm,荧光光谱如图 1 所示。可以看出罗丹明 6G 的强荧光可被 $\cdot\text{OH}$ 氧化而显著减弱,而加入抗氧化剂可使减弱程度减小。

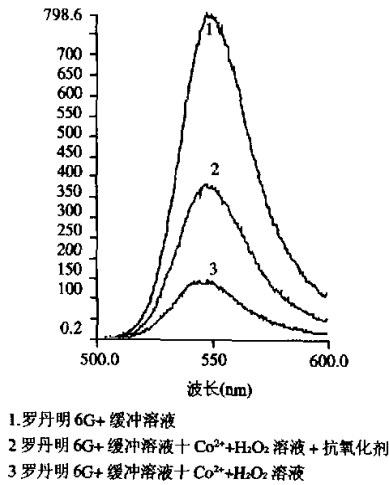


图1 荧光光谱

2.1.2 酸度的影响

分别在强酸、弱酸、弱碱、强碱介质中,测定体系加 $\cdot\text{OH}$ 前后荧光强度的变化,发现碱性介质中 ΔF 远远大于酸性介质中的 ΔF ,但碱性太强,容易产生浑浊且不稳定,故选用弱碱。按实验手册配制pH8.0~11.1的 $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_4\text{Cl}$ 缓冲溶液,并测定各个pH点的 ΔF 。实验结果表明,在pH为10.8的缓冲溶液中, ΔF 达最大值,故本实验选用pH10.8的缓冲溶液。缓冲溶液用量在0.2~0.5ml范围内, ΔF 随其用量增加显著增大,0.6ml后, ΔF 变化很小,如图2所示。本实验选用缓冲溶液为0.6ml。

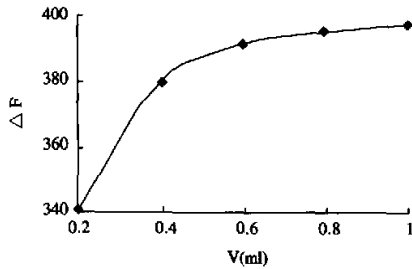


图2 缓冲溶液用量的影响

2.1.3 罗丹明 6G 的用量

加入不同体积0.001%的罗丹明 6G 溶液,按实验方法测定空白体系与 $\cdot\text{OH}$ 反应体系的 ΔF ,结果表明,随着罗丹明 6G 用量的加大, ΔF 增大,但当用量大于1.2ml时,空白值超出读数范围,为保证较大灵敏度本实验选用罗丹明 6G 用量为1.0ml。

2.1.4 CoSO_4 的用量

加入不同体积 CoSO_4 溶液,按实验方法测定荧光强度,发现0.5ml以内随着 CoSO_4 用量增多, $\cdot\text{OH}$ 体系荧

光强度急剧下降, ΔF 迅速增大。在0.5ml以后荧光强度下降缓慢, ΔF 变化不大。故选用 CoSO_4 溶液为0.5ml。

2.1.5 过氧化氢用量

加入不同体积3%的 H_2O_2 溶液,按实验方法测定荧光强度,结果表明,在0.5ml以内随着 H_2O_2 用量的增大, ΔF 显著增大,在0.6ml后即变化缓慢。因此本实验选用 H_2O_2 溶液为0.6ml。

2.1.6 反应时间

向罗丹明 6G 溶液中加入缓冲溶液、 CoSO_4 溶液、 H_2O_2 溶液,按实验方法操作,观察荧光强度随时间的变化,结果表明,5min以内,荧光强度急剧下降,5~25min范围内基本不变,本实验选取15min。

2.2 方法的重现性

按实验方法配制一批产生 $\cdot\text{OH}$ 的溶液进行重现性实验,结果见表1。

表1 方法的重现性

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	RSD(%)
荧光强度	454	461	448	448	441	440	453	453	1.63

本方法的相对标准偏差为1.63%,这表明本方法具有较好的重现性。

2.3 抗氧化剂清除羟自由基作用的测定

抗坏血酸是 $\cdot\text{OH}$ 的有效清除剂,于体系中加入抗坏血酸,按实验方法测定,以验证此方法的有效性。结果表明,随抗坏血酸用量增加,清除率加大,如图3所示。说明本体系中抗坏血酸与 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用具有明显的量效关系。

2.4 蔬菜的抗氧化作用

测定了14种新鲜蔬菜的水提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率,

表2 蔬菜水提取物清除 $\cdot\text{OH}$ 的功能比较

蔬菜名称	英文名	清除率(%)
菠菜	Spinach	13.0(30)
油菜	Rape	6.1(20)
韭菜	Chinese leeks	11.7(10)
香菜	Coriander	9.2(10)
雪里蕻	Potherb mustard	7.8(10)
茄子	Eggplant	4.0(8)
芹菜	Celery	29.6
西红柿	Tomato	24.7
黄瓜	Cucumber	17.7
胡萝卜	Carrot	17.5
白菜	Chinese cabbage	14.8
甜椒	Green pepper	13.9
蘑菇	Mushroom	10.2
青萝卜	Radish	8.9

注:括号内为试液冲稀倍数。

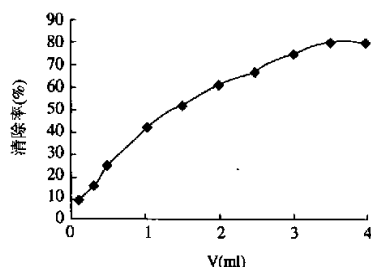


图3 抗坏血酸与清除率的关系

结果见表2。

从表中可以看出,菠菜、韭菜、油菜、香菜、雪里蕻具有较强的清除 $\cdot\text{OH}$ 的功能,而且初步发现,这些具有较强抗氧化性蔬菜的共同特点是可食用部分都带有

绿叶,这可以为我们寻找可食植物抗氧化剂提供一条更快捷的参考途径。

参考文献:

- [1] 徐向荣,等.荧光法测定Fenton反应产生的羟自由基[J].分析化学,1998,26(12):1460-1463.
- [2] 韩鹤友,等.钌(II)-邻菲咯啉偶合化学发光法测定Fenton反应产生的羟自由基[J].分析化学,1999,27(8):890-893.
- [3] 吴南,等. $\text{H}_2\text{O}_2\text{-Co}^{2+}$ 产生的羟自由基的溴邻苯三酚红氧化法检测[J].分析测试学报,2001,20(2):52-54.
- [4] 余小林,等.数种果蔬的抗氧化活性评价[J].食品科学,2001,22(2):52-56.
- [5] 莫简.医用自由基生物学导论[M].北京:人民卫生出版社,1989.

电磁场催陈新鲜干红葡萄酒红外光谱分析

肖利民¹, 曾新安², 陈勇¹, 杨华峰¹

(1.新天国际葡萄酒业有限公司, 新疆 玛纳斯 832200)

(2.华南理工大学食品与生物工程学院, 广东 广州 510640)

摘 要: 本文研究了经电磁场处理后新鲜干红葡萄酒的感官性能和红外光谱变化情况。从红外谱图中可以看出, 经处理后酒中的羟基伸缩振动峰向低频端移动($3309\text{ cm}^{-1} \rightarrow 3252\text{ cm}^{-1}$), 在远红外端4个窄峰逐渐变成了2个强吸收宽峰, 反映出乙醇和水分子之间的氢键缔合有加强的趋势, 与越来越柔和的口感相对应; 高电场强度下处理时间的改变对溶液体系影响较大, 而低电场强度下处理时间的改变对溶液体系影响较小, 与感官品评的结论一致。

关键词: 电磁场; 新鲜葡萄酒; 催陈; 感官品评; 红外光谱

FTIR Analysis of Fresh Dry Red Wine Treated by Electromagnetic Field

XIAO Li-min¹, ZENG Xin-an², CHEN Yong¹, YANG Hua-feng¹

(1.Vinesuntime International Co.,LTD, Malas,Xingjian 832200, China)

(2.College of Food and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract The variation of taste and FTIR spectra of fresh dry wine treated by electromagnetic field were studied in this paper. FTIR spectra showed that the peak of $\nu(\text{OH})$ shifted from higher frequency to lower position ($3309\text{ cm}^{-1} \rightarrow 3252\text{ cm}^{-1}$), and in far-infrared spectrum area 4 narrow peaks changed to 2 wide ones after being treated, these reflected that the hydrogen bonds were increased while the taste became softer. Higher electric fields were more effective than lower ones for changing the wine taste.

Key words: electromagnetic field; fresh dry red wine; accelerating aging; FTIR

中图分类号: TS207.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)01-0152-04

收入日期: 2003-03-15

作者简介: 肖利民(1963-), 男, 讲师, 本科。