

# CUANTIFICAREA UNOR ANTIOXIDANȚI CU CAPACITĂȚI ANTIRADICALICE

**Lidia CALMUȚCHI**, conf. inter.

**Eugenia MELENTIEV**, conf. universitar,  
Catedra Chimie, Universitatea de Stat din Tiraspol

**Abstract:** The article presents the problems of formation of free radicals of oxygen in humans and their negative impact on his health. Active forms of oxygen lead to such diseases as a cancer, diabetes, a heart attack, a stroke, diseases of nervous and immune system, are the reason of aging of an organism. Antioxidants are those substances which are able to block the free radical reaction. Such substances are enzymes, vitamins, bioflavonoids, sulfur-containing amino acids, trace elements, etc. As a result of spectrophotometric studies of bioflavonoids, the fraction of polyphenols in red and white wines using the reagent Folin–Ciocâlțeu found enough of them, which corresponds to the norm, both in red and in white wines, however in red wines it means more antioxidant ability and its better.

O problemă globală este afectarea organismului uman de diferite boli patogene, mutagene și psihologice. La fel de actuală este problema procesului rapid de îmbătrânire. Una din cauzele apariției dereglărilor la nivel biologic, chimic, genetic și psihologic este formarea radicalilor liberi.

Conform teoriei radicalilor liberi descoperită de Denhan Harman(1956) și H. Emanuel (1958) - radicalii libei *sunt marea necunoscută din ecuația vieții*. [5]

Deși oxigenul molecular este indispensabil pentru viață, în același timp el are și impact negativ prin faptul că participând în procesele de oxidare, formează radicali numiți radicali liberi ai oxigenului. Cei mai agresivi radicali ai oxigenului din organismul uman sunt: radicalul hidroxil ( $\text{HO}^{\bullet}$ ), hidroperoxil ( $\text{HO}_2^{\bullet}$ ), superoxid ( $\text{O}_2^{\bullet}$ ).

Sursele de radicali liberi în organismul uman sunt:

- **Surse endogene** (fagocitoza cu eliberarea superoxidului; procese chimice enzimatică, mitocondriile).
- **Surse exogene** (fumatul, consumul de alcool și medicamente, exercițiul fizic atât minim, cât și în depășire; stresul nervos, consumul alimentelor cu aditivi, consumul apei potabile nestructurate).

**Radicalii liberi sunt esențiali pentru viață** când ei sunt produși numai în acele cantități de cât are nevoie organismul uman. Formele active ale oxigenului sub formă de radicali liberi trebuie să alcătuiască nu mai mult de 2%. În cazul depășirii acestei limite organismul se supune **stresului oxidativ**.

**Stresul oxidativ** — reprezintă agresiunea produsă la nivel molecular prin dezechilibrul balanței prooxidant/antioxidant în favoarea prooxidării, dezechilibru manifestat prin consecințe la nivelul tuturor organelor și țesuturilor.

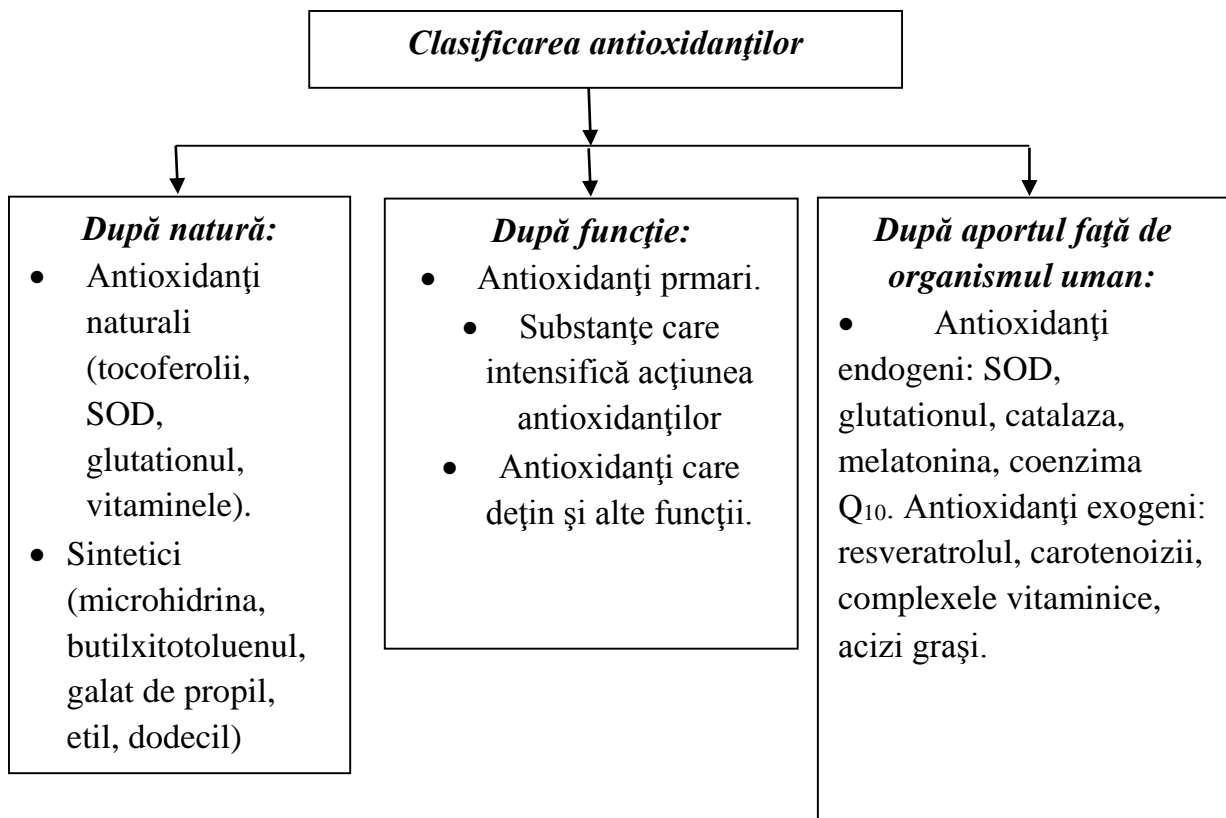
Declanșarea stresului oxidative conduce la:

- × oxidarea acizilor grași;
- × distrugerea membranei celulare;
- × oxidarea proteinelor și lipidelor;
- × formarea diabetului;
- × apariția aterosclerozei;
- × formarea cataractei;
- × boli cardiovasculare;
- × deficiența de vitamine;
- × distrugerea eritrocitelor;
- × formarea de noi radicali;
- × distrugerea stării oxidative a ADN, apariția mutagenezei;
- × favorizează apariția cancerului.

Stres  
oxidativ

**Antioxidanții (AO)** sunt compuși naturali (exogeni), sau produși de organism (endogeni), ce au posibilitatea de a reduce/anihila efectele toxice ale radicalilor liberi, de a neutraliza moleculele de oxigen instabile.

După caracterul antioxidantului ei pot fi clasificați:



Antioxidanții se găsesc practic în toate fructele și legumele alcătuind aproximativ 20000 de varietăți. Organismul uman consumă permanent antioxidanți, de aceea furnizarea lor trebuie să fie în continuu.

Puterea antioxidantă a unor alimente conform Scalei ORAC (unități/100g produs) a celor mai sănătoase alimente este redată în următorul tabel [2]:

**Tabelul 1. Puterea antioxidantă a unor alimente**  
**Scala ORAC (unități/100g.produs) a celor mai sănătoase alimente**

<i>Denumirea produsului</i>	<i>Unități/100g</i>	<i>Denumirea produsului</i>	<i>Unități/100g</i>	<i>Denumirea produsului</i>	<i>Unități/100g</i>
Pudra de cuișoare	314446	Suc de struguri	1788	Merele roșii	4275
Cacao	80933	Ridichea	1736	Stafidele albe	4188
Busuioc uscat	67553	Ceapa roșie	1521	Cireșele	3277
Semințele de muștar	29257	Sucul de lămâie	1225	Arahidele	3166
Piperul negru	27618	Vinul	1005	Perele	2941
Bomboanele de ciocolată neagră	20823	Ardeiul dulce	984	Fulgi de porumb	2359
Frunzele proaspete de mentă	13978	Morcov crud	666	Pâinea integrată	2104
Coacăzele roșii	9584	Pepeni galbeni	315	Portocale	1819
Murele	5347	Pudra de scorțișoară	267536	Sfecla crudă	1767
Zmeura	4882	Pătrunjel uscat	77349	Fragii	1540
Frunze de ceai	4343	Pudra de ciocolată	40200	Pătrunjel proaspăt	1301
Căpșune proaspete	3577	Ghimbirul	28811	Ulei de măsline	1150
Caise	3234	Polen granule	24700	Vânăta	933
Varză roșie	3145	Frunze proaspete de tarhon	15542	Banană	879
Struguri negri	2830	Alune de pădure	9645	Nuci uscate	616

Fulgi de ovăz	2308	Coacăze negre	8040	Dovleac	483
Pâinea de secară	1963	Usturoi crud	5346	Tomate suc	486

Se menționează că pentru menținerea sănătății este necesar zilnic de 5000 unități ORAC(oxygen radical absorbance capacity).

Principalii antioxidanți de forță naturali sunt: vitaminele A,C,E; acizii grași  $\omega$ 3,  $\omega$ 6,  $\omega$ 9; coenzima Q<sub>10</sub>; SOD; glutationul; flavonoidele [2].

**Flavonoidele** sunt o familie mare de compuși polifenolici, substanțe fitochimice rezultate în urma metabolismului secundar al plantelor, iar pe de altă parte flavonoidele sunt un grup de substanțe care sunt numite pigmenți vegetali cu **acțiune antioxidantă**.

Polifenolii sunt compușii organici din clasa fenolilor, care conțin două sau mai multe grupe hidroxil legate de un radical aromatic. Din această categorie de substanțe fac parte pigmenții (substanțe colorate) și taninurile. La vița-de-vie, substanțele colorante sunt reprezentate de pigmenții clorofilieni (când boabele se găsesc în faza de creștere erbacee) și de cei flavonici (galbeni) și antocianici (roșii) în faza de maturare a strugurilor.

Unii dintre cei mai importanți compuși fenolici care pot fi extrași din organelle viței-de-vie și din vinuri sunt:

- **Flavonoidele:**

- Flavanii (derivați ai flavanului): catechina, galocatehina, epicatehina, epigalocatehina, taninurile;
- Antocianii: malvidina, peonidina, petunidina;
- Flavone (derivați ai flavonului) : quezcetina, kamferol.

- **Stilbeni** – resveratrolul.

Frunzele soiurilor viței-de-vie pentru vin roșu sunt foarte bogate în tanine din grupul catechinelor sub formă de catechină și galocatehină.

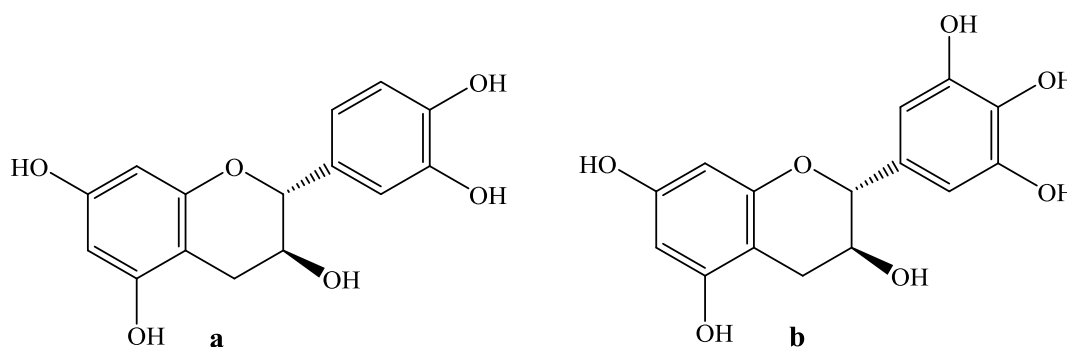


Fig. 1. Formula structurală a catechinei (a) și a galocatechinei (b)

În vița-de-vie, antocianii se găsesc sub formă de pigmenți roșii situați în pielea strugurilor, însă în unele cazuri se găsesc și în miezul lor, sub formă de heterozide colorate în roșu atunci când sunt scăzute valorile pH-ului, sau albastru la valorile ridicate ale pH-ului. Din categoria antocianelor petunidina este redată în figură [1].

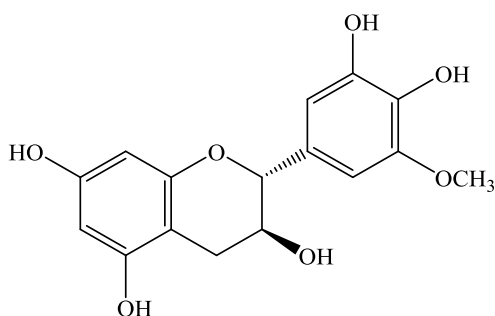


Fig. 2. Formula structurală a petunidinei

- *Flavonele* și izoflavonele sunt pigmenții galbeni care derivă de la 2-fenil-benzopironă (2-fenilcromonă) și respectiv de la 3-fenil-benzopironă (3-fenilcromenă). Din această categorie de compuși fenolici la vița-de-vie întâlnim: koempferolul, quercetina, miricetina. Unul din reprezentanții principal ai flavonelor din vinuri este flavanolul:

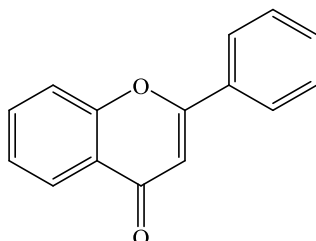


Fig. 3. Formula structurală a flavonului

- *Stilbenii sunt substanțe chimice care fac parte din grupa fenolilor neflavonici.*

Resveratrolul, reprezentant al stilbenilor este o fitoalexină produsă de către plante ca reacție de răspuns la infecții cu fungi, la concentrații mari de ioni ai metalelor grele, ca reacții de răspunsuri la razele ultraviolete, la leziuni fizice etc.

*Rezveratrolul* – miraculosul colorant negru

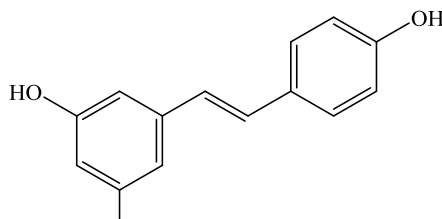


Fig. 4. Formula structurală a resveratrolului

Este cel mai puternic antioxidant natural. Există într-o cantitate de 50-100mg/g în pielea de struguri, se găsește preponderent în fructele de culoare violet neagră, sămburi de

struguri, dude, mure, afine, prune, coacăze, fragi, alune. Are efect direct de distrugere a tumorilor, luptă cu cancerul de sân la femei și bărbați, ficat, stomac; blochează formarea vaselor de sânge care aprovizionează tumorile; are un potențial antioxidant de 50 ori mai mare decât a vitaminelor C și E; scade nivelul colesterolului din sânge; este un vasodilator arterial; mărește elasticitatea articulațiilor; stimulează sinteza colagenului; manifestă efect protector față de boala Alzheimer; previne și combate eficient osteoporoza; are efecte anti-SIDA, antivirale, antialergice (împiedică eliberarea Histaminei) [3].

În vinuri se mai regăsesc și compuși fenolici de altă natură cum ar fi acizii fenolcarbonici, care formează buchetul și gustul, participă la procesele biochimice de producer și păstrare a vinurilor [3].

Conform datelor experimentale cea mai mare parte din conținutul sumar de acizi fenolcarbonici identificași în vinurile roșii seci îi revine acidului galic (50-85%).

Metoda spectrofotometrică de analiză utilizată ar putea pune în evidență aproape toți compușii antiradicalici, dar în mod special compușii fenolici din vinuri.

S-a constatat că în vinuri se conțin polifenoli, care manifestă proprietăți de antioxidanți. Nucleele benzenice, caracteristice compușilor fenolici absorb puternic lumina ultravioletă, având un maxim în intervalul 275-280 nm. Probele de vinuri selectate, în prealabil trebuie să fie limpezite prin centrifugare sau filtrare și se diluează până la 1% cu apă distilată, prin d – se notează factorul de diluție. Cercetările s-au efectuat folosind spectrofotometru UV-VIS în cuve de 10 mm în comparație cu apa distilată. Pentru fiecare probă se notează densitatea optică

(D-280 sau A-280). Indicele de polifenoli total (IPT) se calculează:

$$IPT = D-280 (A-280) \cdot d$$

Exprimarea conținutului de compuși fenolici (g/l) se face cu ajutorul curbei de etalonare conform relației:

$$y = 1,3238 \cdot x - 0,0014$$

în care: y – conținutul de compuși fenolici, g/l;

x - valoarea densității optice (A·280).

Pentru determinarea indicelui de polifenoli total s-au selectat probele de vinuri „Merlot”, „Cabernet”, „Muscat”. Aceste probe de vin au fost cercetate la spectrofotometru la lungimea de undă 280 nm. Spectrele de absorbție pentru vinurile Cabernet” și ”Muscat” sunt prezentate în fig.5.

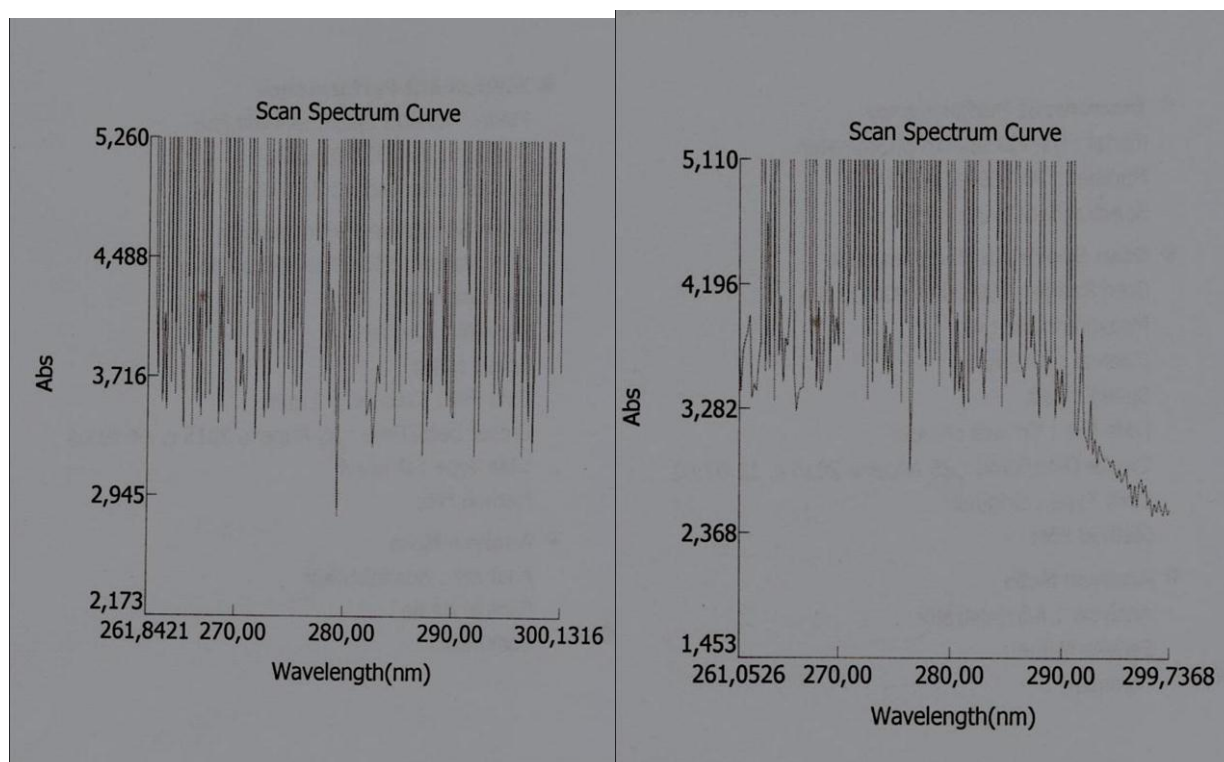


Fig. 5. Spectrele de absorbție pentru vinurile Cabernet” și ”Muscat”

Rezultatele obținute experimental pentru vinurile „Merlot”, „Cabernet”, „Muscat” sunt incluse în tabelul 2.

**Tabelul 2. Indicele de polifenoli total (IPT) din probele de vinuri cercetate**

Vinul, proba	Densitatea optică	Indicele de polifenoli (IPT) total, g/l
Cabernet	1.	2,835
	2.	2,903
	3.	2,673
Merlot	1.	3,329
	2.	3,123
	3.	3,404
Muscat	1.	0,543
	2.	0,551
	3.	0,548

Dinamica evaluării grafice a indicelui de polifenoli total din vinurile selectate este redată în fig. 6.

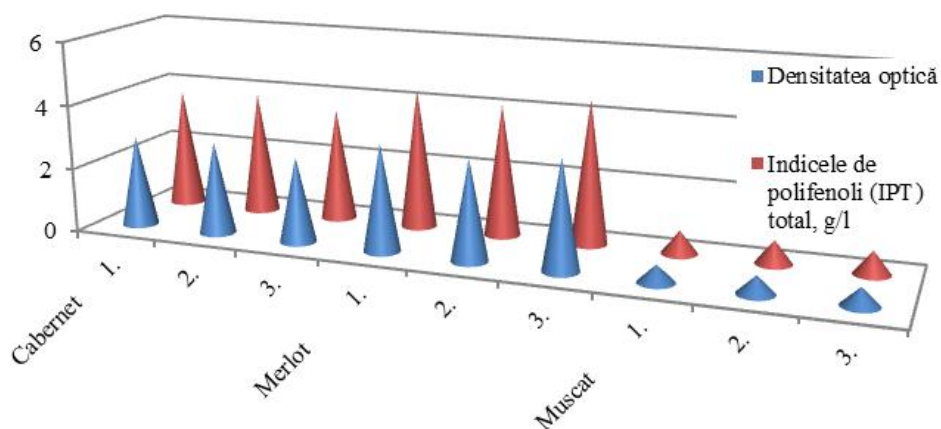


Fig. 6. Indicele de polifenoli total din vinurile ”Cabernet”, ”Merlot” și ”Muscat”.

În baza rezultatelor obținute privitor la conținutul polifenolilor în vinurile analizate se denotă că vinurile roșii au un indice de polifenoli total semnificativ mai mare comparativ cu vinurile albe.

*Indicele Folin-Ciocalteu (Fc)* este specific numai compușilor fenolici cu însușiri reducătoare și are valori cuprinse între 2,5-11,5 la vinurile albe și între 16 și 17 la cele roșii.

În mediul bazic și în prezența fenolilor, amestecul de acizi fosfowolframic ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) și fosfomolibdic ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) este redus la oxizii albaștri de tungsten ( $W_8O_{23}$ ) și molibden ( $Mo_{12}O_{23}$ ). Această colorație albastră posedă un maxim de absorbție la  $\lambda = 750$  nm. Colorația este proporțională cu conținutul de compuși fenolici totali. Reacția se produce în mediul alcalin, intensitatea colorației albastre obținută este în funcție de cantitatea de fenoli din mediu. Însă această culoare nu este stabilă și evoluează în timp, urmând două faze:

- *faza rapidă* (0-30 minute) care conduce la culoarea albastră;
- *faza lentă* după 30 minute cu evoluția culorii către albastru închis.

Înregistrarea densității optice se efectuează după 30-45 min, eroarea este foarte mică și valoarea sa este reproductibilă.

Rezultatele în funcție de tipul vinului analizat, este exprimat sub formă de Indice Folin-Ciocalteu (Fc) obținut, se calculează conform relației:  $Fc = A_{750} \cdot 100$ .

În care: Fc – indicele Folin-Ciocalteu;

$A_{750}$  – absorbanta la lungimea de undă 750 nm.

Determinarea Indicelui Folin-Ciocalteu a fost efectuată în vinurile „Cabernet” și „Merlot”. La pregătirea probei pe analiză se procedează astfel:

Într-un balon de 100 ml se introduc: 1ml de vin diluat în prealabil 1/5, 50 ml de apă distilată, 5 ml de reactiv Folin-Ciocalteu, 20 ml soluție  $Na_2CO_3$  de 20% și se adaugă apă distilată până la 100 ml. Se agită bine conținutul balonului și se lasă în repaus pe 30 minute.



Probele pregătite se înregistrează la spectrofotometru în regiunea lungimei de undă 650 - 850 nm.

Rezultatele obținute în urma cercetărilor sunt indicate în tabelul 3.

**Tabelul 3. Valorile absorbantei și indicele Folin-Ciocalteu în vinurile analizate.**

Vinul, proba	Absorbanța	Indicele Folin-Ciocalteu (Fc)
Cabernet	1.	0,468
	2.	0,474
	3.	0,461
Merlot	1.	0,356
	2.	0,359
	3.	0,348

Reprezentarea grafică a valorilor indicelui Folin-Ciocalteu pentru vinurile „Cabernet” și „Merlot” este redată în fig. 7.

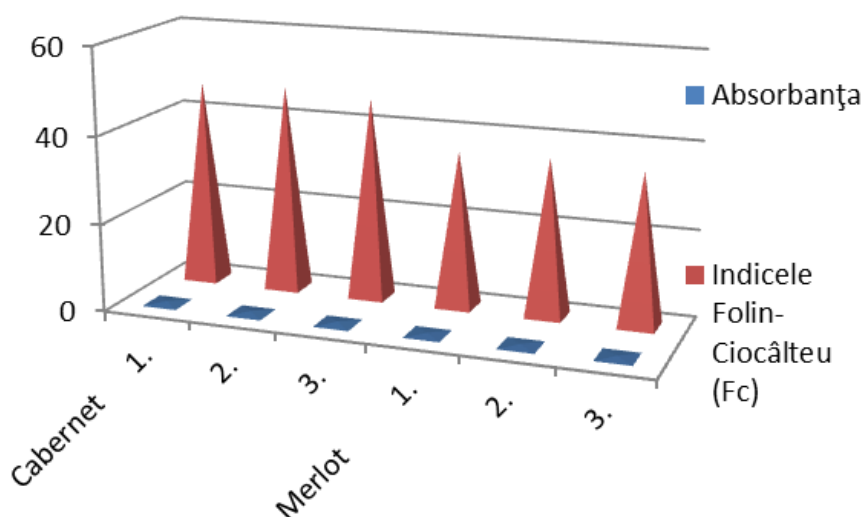


Fig. 7. Indicele Folin-Ciocalteu în vinurile analizate.

Valorile medii a Indicelui de polifenoli total (IPT) și a Indicelui Folin-Ciocalteu în vinurile „Cabernet”, „Merlot” și „Muscat” sunt incluse în tabelul 4.

**Tabelul 4. Valorile medii IPT și Indicele Folin-Ciocalteu pentru vinurile analizate produse în Moldova**

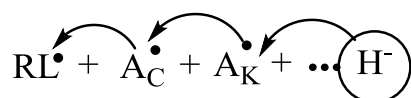
Vinul	Indicele de polifenoli total (IPT), g/l	Indicele Folin-Ciocalteu (Fc)
Cabernet	3,710	46,77
Merlot	4,347	35,4
Muscat	0,723	2,31

S-a evidențiat că vinurile roșii au un conținut mai sporit de polifenoli și respectiv o acțiune antioxidantă semnificativ mai mare comparativ cu vinurile albe.

Cercetările experimentale au demonstrat că polifenolii se înscriu în lista antioxidantilor prezenți în alimente și în mod special în vinurile roșii, care pot inhiba cancerogeneza prin influența lor atât la etapa de inițiere, promovare și progresie.

Activitatea antioxidantă a polifenolilor este determinată de prezența grupelor hidroxilice în inelul benzenic în pozițiile 3' și 4', și într-o măsură mai mică de grupa hidroxilică din inelul carbonic în poziția 4'. Ei prezintă eficiență majoră în comparație cu antioxidanții vitaminici C, E, β-carotene.

Prezența grupelor orto-dihidroxilice în poziția 3' și 4' în inelul benzenic conferă abilitate de a capta radicalii liberi, deoarece ele nu sunt substituenți. Abilitatea compușilor de a capta radicalii este parțial determinată de potențialul de reducere a unui electron, care este o măsură a reactivității oxidanților; însă aceasta nu se poate produce până la infinit. În așa caz apare necesitatea de încheiere a lanțului cu un antioxidant mai puternic (microhidrina). Această proprietate o manifestă și apa structurată, care conține ioni de hidrogen negativi H<sup>-</sup>. Încheierea lanțului de antioxidanți se prezintă astfel:



Cu toate că vinurile roșii conform cercetărilor experimentale conțin o cantitate semnificativă de antioxidanți, ele nu pot fi indicate ca remediu de tratare, însă consumul moderat manifestă o acțiune protectoare față de radicalii liberi care se formează în organismul uman.

### **Bibliografie:**

1. Gaină B., Roman O., Bouryeix M., Gougenon R., Date recente privind resveratrolul în must și vinuri. Viticultura și Vinificație în Moldova, Chișinău, 2007.
2. Brenna O., Multi variate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines-y. Agr. And Food Chem.2010/49, Nr.10 pag. 484.
3. Duca G., Gaină B., Covaleova E., Экологическое чистое винодельческое производство, Ed. Știința, Chișinău, 2004, pag 13-72.
4. Оганесян П. и др. Влияние технологических приемов при приготовление вина на его антиоксидативную активность. М. 2007.
5. Melentiev E., Calmuțchi L., Fratea M. Procese redox din mediul ambiant și impactul lor asupra factorului uman. Materialele conferinței științifice naționale "Probleme actuale ale științelor exacte și ale naturii", Chișinău, 2015, pag. 143.