

ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的研究

李 华,李 勇,吴 莹,王 华

(西北农林科技大学 葡萄酒学院,陕西省葡萄与葡萄酒工程技术研究中心,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】确定 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的最佳反应时间和葡萄酒的最佳稀释倍数。【方法】应用福林肖卡比色法(FC)测定 36 种葡萄酒样品的总酚含量(Total phenol index, TPI),从中选出 9 种总酚含量具代表性的葡萄酒样品,并采用 ABTS^{·+}法测定反应不同时间和稀释不同倍数葡萄酒样品的抗氧化活性。【结果】ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的最佳反应时间为 2~5 min;红葡萄酒的最佳稀释倍数为 0.2 : 10~0.4 : 10,桃红葡萄酒的最佳稀释倍数为 1 : 10~4 : 10,白葡萄酒的最佳稀释倍数为 3 : 10~7 : 10。【结论】得到了 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的最佳反应时间和葡萄酒的最佳稀释倍数,且无需事先测定总酚含量,简化了试验步骤。

【关键词】 葡萄酒;抗氧化活性;ABTS^{·+}法;反应时间;稀释倍数

【中图分类号】 TS262.6

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)11-0090-08

Research of antioxidant activity of wines determined by the ABTS^{·+} method

LI Hua, LI Yong, WU Ying, WANG Hua

(College of Enology, Engineering Research Center for Viti-Viniculture, Northwest A&F university, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The present study aimed to confirm the best reaction time and wine dilution of the ABTS^{·+} method. 【Method】 The Folin-Ciocalteu colorimetry was used to measure the total phenol index of 36 kinds of wines and then 9 kinds of representative samples were selected from them, ABTS^{·+} method was used to measure the antioxidant activities of wines with different reaction time and different dilutions, and was analyzed the experiment result. 【Result】 The results showed that the best reaction time of the ABTS^{·+} method is 2 to 5 minutes, the best dilution range, 0.2 : 10 to 0.4 : 10 for red wines, 1 : 10 to 4 : 10 for rose wines, and 3 : 10 to 7 : 10 for white wines. 【Conclusion】 The study has obtained the best reaction time and wine dilution to measure antioxidant activity of wines by ABTS^{·+} method, and there is no need to measure total phenol content beforehand, so the test procedure is simplified.

Key words: wine; antioxidant activity; ABTS^{·+} method; reaction time; dilution

经过研究和分析发现,葡萄酒中含有大量的多酚类物质,如白藜芦醇、儿茶酚、表儿茶精、槲皮酮和芸香苷等,这些多酚类物质具有抗氧化活性,除了抑制低密度脂蛋白的氧化、预防心血管疾病以外,还有抗癌、抗炎症和抗血小板凝聚等功能^[1],但不同的品种、气候、地理条件和工艺措施,导致葡萄酒中酚类物质在数量和种类上都有明显不同^[2-3]。因此,如何评价

葡萄酒中酚类物质的抗氧化活性很有现实意义。

ABTS^{·+}在 414, 645, 734 和 815 nm 处均有特征吸收^[4]。Miller 等^[5]在 1993 年首次介绍了用 ABTS^{·+}法来评价一些化合物的抗氧化活性,即根据待测化合物清除 ABTS^{·+}引起的吸光度变化来评价其抗氧化活性。此后,ABTS^{·+}法成为一种被广泛采用的抗氧化活性测定方法,用于饮料和食

* [收稿日期] 2009-03-06

[基金项目] 陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项“陕西省葡萄与葡萄酒产业关键研究”(2007ZDKG-09)

[作者简介] 李 华(1959—),男,重庆市梁平人,教授,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒研究。

E-mail: lihuawine@nwsuaf.edu.cn

品^[6-9]以及一些植物提取物^[10-11]抗氧化活性的测定,同时也被广泛用于测定葡萄酒的抗氧化活性^[6,12-14]。但众多研究者未明确提出测定的最佳条件,不同的研究者采用的样品稀释方案和反应时间也不相同,使所得数据难以比较。一些研究者运用 ABTS^{·+}法研究了酚类标准品浓度对其抗氧化活性的影响^[6,14-15]。在此领域,Yu 等^[16]找到了标准品浓度与其抗氧化活性的线性关系,即抗氧化活性与其浓度的增加呈正相关;López-Vélez 等^[17]研究发现,4 种葡萄酒酒多酚纯品的浓度与抗氧化活性呈正相关,但很少有人以混合物为材料进行研究。此外,抗氧化活性也与反应时间有关,一些研究者只设定几个时间点进行分析^[7,14,16],而有些研究者观察、检测整个反应时间的动力学曲线^[13,16-19]。这两种方法共同的缺点是没有考虑最佳反应时间,研究者采用不同反应时间得到的 Trolox 等价抗氧化能力 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity,以 1 L 葡萄酒的 ABTS^{·+}清除能力以达到相同自由基清除能力所需 Trolox 的量表示)各不相同,而且对

ABTS^{·+}和葡萄酒样品的反应曲线还不明确。本试验对 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的反应时间和样品稀释倍数进行研究,以确定 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的最佳反应时间和葡萄酒的最佳稀释倍数。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

供试 36 种葡萄酒样品由国内 11 个厂家提供,其中红葡萄酒 23 种,桃红葡萄酒 3 种,白葡萄酒 10 种(表 1)。

ABTS [2, 2'-Azino2bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]、Trolox(6-hydroxy-2, 5, 7, 8-Tetramethylchroman-2-carboxylic acid)和没食子酸 (Gallic acid),均为 Sigma 公司产品;其他化学试剂均为国产分析纯。

MV-1700 紫外可见光分光光度计,由上海精密科学仪器有限公司生产。

表 1 供试的葡萄酒样品
Table 1 Wine samples

样品 Sample	编号 Num	葡萄品种 Cultivar	产地 Location	年份 Vintage	酒精度 / % (V/V) Alcohol	是否橡木桶陈酿 Barrel aged
红葡萄酒 Red wine	R-1	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	宁夏 Ningxia	2003	12	是 Yes
	R-2	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	宁夏 Ningxia	2003	12. 5	是 Yes
	R-3	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	宁夏 Ningxia	2006	11. 5	—
	R-4	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	河南 Henan	2004	12	是 Yes
	R-5	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	河南 Henan	2004	12. 5	是 Yes
	R-6	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	内蒙 Neimeng	2005	13	是 Yes
	R-7	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	北京 Beijing	2006	12	否 No
	R-8	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	河北 Hebei	2006	11. 5	否 No
	R-9	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	河北 Hebei	—	—	—
	R-10	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	新疆 Xinjiang	—	—	—
	R-11	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	河南 Henan	2004	12	是 Yes
	R-12	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	宁夏 Ningxia	2006	11. 5	—
	R-13	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	甘肃 Gansu	—	—	—
	R-14	三珠 Blend	宁夏 Ningxia	2005	—	—
	R-15	三珠 Blend	新疆 Xinjiang	—	—	—
	R-16	梅鹿辄 Merlot	宁夏 Ningxia	2006	12	—
	R-17	梅鹿辄 Merlot	甘肃 Gansu	—	—	—
	R-18	赤霞珠 (30%)、玫瑰香 (70%) Cabernet Sauvignon (30%) & Muscat Hamburg (70%)	河南 Henan	2005	12	否 No
	R-19	蛇龙珠、赤霞珠 Cabernet Gernischt & Cabernet Sauvignon	山东 Shandong	—	—	—
	R-20	解百纳 Cabernet Sauvignon	河北 Hebei	—	—	—
	R-21	玫瑰蜜 Rose Honey	云南 Yunnan	2005	12	否 No
	R-22	法国野 Blend	云南 Yunnan	2003	12	否 No
	R-23	玫瑰香 Muscat Hamburg	河南 Henan	2005	11. 5	否 No
桃红葡萄酒 Rose wine	S-1	玫瑰香 Muscat Hamburg	河北 Hebei	2006	11. 5	否 No
	S-2	玫瑰香 Muscat Hamburg	河北 Hebei	—	—	—
	S-3	水晶 Blend	云南 Yunnan	2003	12	否 No

续表 1 Contiued Table 1

样品 Sample	编号 Num	葡萄品种 Cultivar	产地 Location	年份 Vintage	酒精度/%(V/V) Alcohol	是否橡木桶陈酿 Barrel aged
白葡萄酒 White wine	W-1	霞多丽 Chardonnay	河北 Hebei	2006	11.5	否 No
	W-2	霞多丽 Chardonnay	宁夏 Ningxia	2006	11	—
	W-3	贵人香 Italian Riesling	河南 Henan	2004	12	是 Yes
	W-4	贵人香 Italian Riesling	北京 Beijing	2004	12	否 No
	W-5	贵人香 Italian Riesling	宁夏 Ningxia	2006	11	—
	W-6	霞多丽、贵人香 Chardonnay & Italian Riesling	山东 Shandong	—	—	—
	W-7	雷司令 Riesling	宁夏 Ningxia	2006	11	是 Yes
	W-8	白诗兰 Chenin Blanc	新疆 Xinjiang	2006	—	—
	W-9	赛美蓉 Semillon	甘肃 Gansu	—	—	—
	W-10	龙眼 Longyan	内蒙 Neimeng	2005	12	否 No

1.2 总酚含量的测定

参照王华^[20]的方法,利用福林肖卡比色法(FC)测定总酚含量。

福林试剂的配制:称取 20 g 钨酸钠和 5 g 钼酸钠于圆底烧瓶中,用 140 mL 蒸馏水溶解,加入体积分数 85%的磷酸溶液 10 mL 和浓盐酸 20 mL,文火回流 2 h,然后加入 3 g 硫酸锂及 15 mL 溴水,加热沸腾 15 min 至亮黄色,不得带微蓝和绿色。冷却,移入 250 mL 容量瓶中,定容,贮于棕色瓶中。

将待测葡萄酒样 100 μL 加入 10 mL 试管中,加入 7 mL 蒸馏水,摇匀,再加 0.5 mL 福林试剂,充分摇匀,1 min 后,加入 20 g/L 碳酸钠溶液 1.5 mL,混匀,最后加入 0.9 mL 蒸馏水。避光反应 60 min 后,于 765 nm 波长下比色,测定吸光度,每处理重复 3 次,结果以没食子酸质量浓度表示,单位为“mg/L”。没食子酸标准溶液质量浓度为 0,50,100,150,250 和 500 mg/L。

1.3 ABTS·⁺法测定葡萄酒的抗氧化活性

1.3.1 反应物配制和葡萄酒样品的稀释 (1) Trolox 标准品的配制。用无水乙醇配制成 5 mmol/L Trolox 标准品储备液,使用时再用无水乙醇稀释成若干不同浓度,使其分别具有 5%~85%的自由基清除能力,根据预试验结果,合适的 Trolox 标准溶液浓度为 0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6 和 1.8 mmol/L。

(2)ABTS 工作液的配制。将 5 mL 7 mmol/L ABTS 和 88 μL 140 mmol/L 过硫酸钾溶液混合,在室温、避光条件下静置过夜,形成 ABTS·⁺储备液,该储备液在室温、避光的条件下表现稳定^[21],使用前用无水乙醇稀释成工作液,要求其在 734 nm 波长下的吸光度为 0.70±0.02。

(3)葡萄酒样品的稀释。选择总酚含量具代表性的葡萄酒样品,根据预试验结果,将其用蒸馏水稀

释成若干浓度,稀释倍数(葡萄酒样品体积与稀释后总体积之比)分别为:红葡萄酒 0.1:10~1:10,桃红葡萄酒 0.5:10~5:10,白葡萄酒 1:10~1:1。

1.3.2 最佳反应时间的确定 选取红葡萄酒、桃红葡萄酒和白葡萄酒样品各 1 种,取 50 μL 稀释后的葡萄酒样品,置于 10 mL 具塞试管,加入 4 mL ABTS 工作液,立即开始计时,随即摇匀,反应 2~10 min,734 nm 波长下测定吸光度,每处理重复 3 次,不同稀释倍数样品逐一试验,分析反应动力学曲线以确定最佳反应时间,再测定最佳反应时间的 TEAC 值,单位为“mmol/L”。

1.3.3 最佳稀释倍数的确定 试验操作同 1.3.2,待试样品为所有选取葡萄酒各个稀释倍数的稀释液,反应时间为 1.3.2 确定的最佳反应时间,不同稀释倍数的葡萄酒样品与 ABTS 工作液反应,若稀释倍数在某一区间内与测定的吸光度之间线性相关,此区间的稀释倍数即为葡萄酒最佳稀释倍数。

1.3.4 数据处理 试验数据以“平均值±标准差”表示,采用 SPSS 软件进行方差分析,总酚与抗氧化活性的相关性分析采用 EXCEL 数据分析中的相关系数分析程序处理。

2 结果与分析

2.1 葡萄酒样品的总酚含量

由表 2 可见,红葡萄酒样的总酚含量为(1 402±71)~(3 130±228) mg/L,桃红葡萄酒的总酚含量为(495±25)~(1 086±134) mg/L,白葡萄酒样的总酚含量为(189±12)~(387±31) mg/L,红葡萄酒的总酚含量高于桃红葡萄酒和白葡萄酒,白葡萄酒的相对最低。

由表 2 还可见,葡萄品种之间也有差异,三珠、梅鹿辄和赤霞珠(R-1~R-6)酿造的红葡萄酒总酚含量高于红葡萄酒总酚的平均含量,蛇龙珠略低;玫瑰

香酿造的红葡萄酒总酚含量最低,而且与其酿造的

桃红葡萄酒(S-2)总酚含量相近;霞多丽酿造的白葡

萄酒总酚平均含量低于白葡萄酒的总酚平均含量,

贵人香则与白葡萄酒总酚平均含量相近。不同产区

之间的差异和单一品种在此不作讨论。

表 2 供试葡萄酒样品的总酚含量
Table 2 Total phenol index (TPI) of wine samples

样品 Sample	编号 No.	葡萄品种 Cultivar	总酚含量/(mg·L ⁻¹) Total phenol index
红葡萄酒 Red wine	R-1	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 360±184
	R-2	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 488±93
	R-3	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 927±159
	R-4	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 268±118
	R-5	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 027±132
	R-6	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 182±147
	R-7	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	1 880±120
	R-8	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	1 649±105
	R-9	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	1 635±108
	R-10	赤霞珠 Cabernet Sauvignon	2 396±302
	平均值 Average value		2 181
	R-11	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	1 596±98
	R-12	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	2 046±155
	R-13	蛇龙珠 Cabernet Gernischt	1 655±79
	平均值 Average value		1 766
	R-14	三珠 Blend	2 418±156
	R-15	三珠 Blend	3 130±228
	平均值 Average value		2 774
	R-16	梅鹿辄 Merlot	2 246±230
	R-17	梅鹿辄 Merlot	1 977±201
	平均值 Average value		2 112
	R-18	赤霞珠、玫瑰香 Cabernet Sauvignon & Muscat Hamburg	1 410±152
	R-19	蛇龙珠、赤霞珠 Cabernet Gernischt & Cabernet Sauvignon	1 580±101
	R-20	解百纳 Cabernet Sauvignon	1 649±105
	R-21	玫瑰蜜 Rose Honey	1 877±126
	R-22	法国野 Blend	2 260±93
	R-23	玫瑰香 Muscat Hamburg	1 402±71
	平均值 Average value		2 046
桃红葡萄酒 Rose wine	S-1	玫瑰香 Muscat Hamburg	741±58
	S-2	玫瑰香 Muscat Hamburg	1 086±134
	平均值 Average value		914
	S-3	水晶 Blend	495±25
	平均值 Average value		774
白葡萄酒 White wine	W-1	霞多丽 Chardonnay	218±33
	W-2	霞多丽 Chardonnay	298±22
	平均值 Average value		258
	W-3	贵人香 Italian Riesling	325±38
	W-4	贵人香 Italian Riesling	303±19
	W-5	贵人香 Italian Riesling	219±16
	平均值 Average value		282
	W-6	霞多丽、贵人香 Chardonnay & Italian Riesling	325±16
	W-7	雷司令 Riesling	300±17
	W-8	白诗南 Chenin Blanc	261±14
	W-9	赛美蓉 Semillon	387±31
	W-10	龙眼 Longyan	189±12
	平均值 Average value		283

选取总酚含量分别在(1 400±200),(2 000±

200)和(3 000±200) mg/L 的红葡萄酒样品 5 种,

分别为 R-3(赤霞珠)、R-5(赤霞珠)、R-7(赤霞珠)、

R-11(蛇龙珠)和 R-15(三珠);桃红葡萄酒选择总酚

含量与其总酚平均含量相近的 S-1(玫瑰香);选择

白葡萄酒总酚含量分别在(200±20),(300±20)和

(400±20) mg/L 的样品各 1 种,分别为 W-1(霞多

丽)、W-3(贵人香)和 W-9(赛美蓉),进行 ABTS^{·+}

法测定抗氧化活性试验。

2.2 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性时最佳反应时间和稀释倍数的确定

2.2.1 反应时间 选择总酚含量分别与红葡萄酒、桃红葡萄酒和白葡萄酒总酚平均含量相近的 R-5、S-1 和 W-3 进行试验,以确定最佳反应时间,结果见图 1。由图 1 可以看出,从反应开始到反应 1 min 时,吸光度急剧减小;反应 1 min 后吸光度减幅逐渐变小。经分析,反应 1 min 时各葡萄酒样品的 TEAC 与总酚含量的相关系数均小于反应 2~5 min,而且同一葡萄酒样不同稀释倍数反应 2~5 min 时

吸光度值的线性趋势均很明显,R-5、S-1 和 W-3 在反应 2~5 min,吸光度的线性 R^2 分别为 0.992, 0.994和 0.999,即葡萄酒中的抗氧化活性物质清除 ABTS^{·+}的速率在 2~5 min 基本稳定,这一时间段的测定值可以反映葡萄酒酒样的本征抗氧化活性(可认为无影响抗氧化活性的副反应发生)。同时由表 3 和表 4 可以看出,反应 2 min 与反应 5 min 的 TEAC 差异不大,与总酚的相关性好,所以 2~5 min 为最佳反应时间,但具体反应时间可根据待测样品的数量酌情选择。

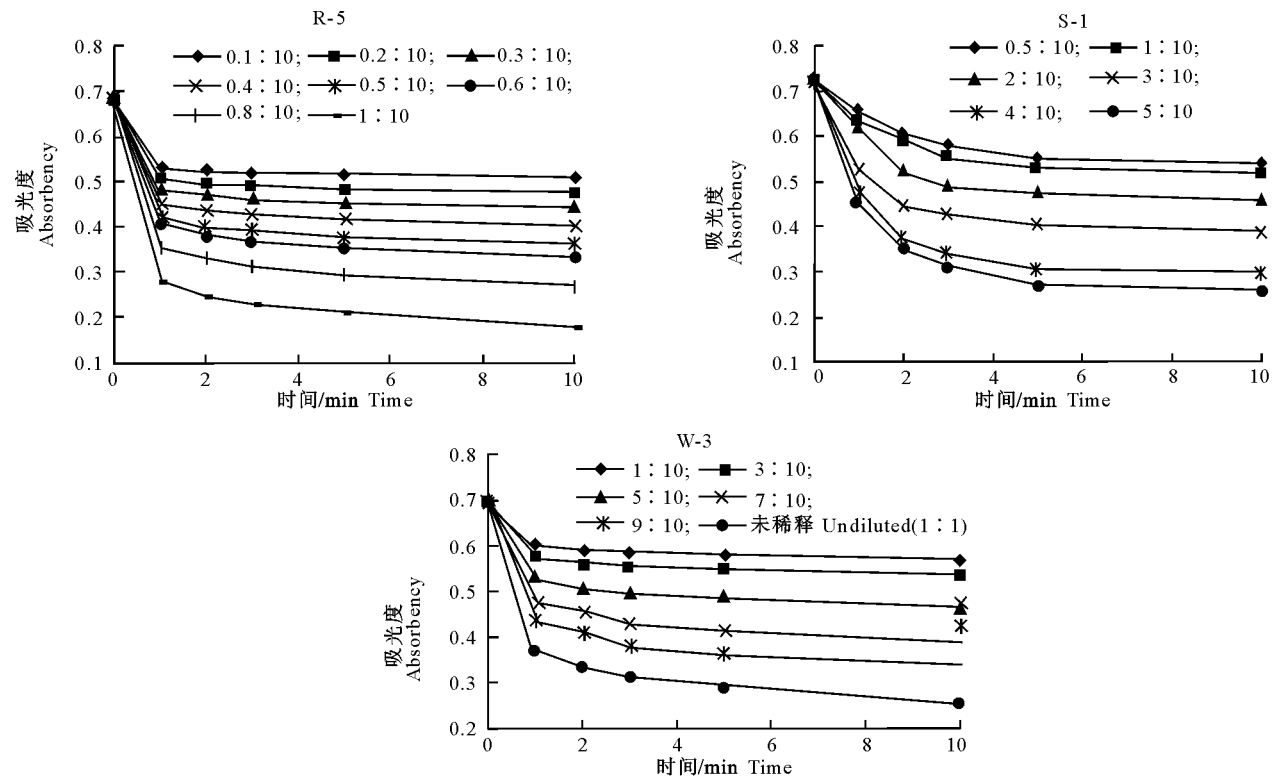


图 1 不同稀释倍数 R-5、S-1 和 W-3 在不同反应时间的吸光度

Fig.1 Absorbency of R-5、S-1 and W-3 with different dilutions at different time

表 3 ABTS^{·+}法测定不同葡萄酒样品 2 min 和 5 min 的 TEAC 值

Table 3 TEAC of 2 min and 5 min determined by ABTS^{·+} method

样品编号 Sample	TEAC/(mmol · L ⁻¹)		样品编号 Sample	TEAC/(mmol · L ⁻¹)	
	2 min	5 min		2 min	5 min
R-3	24.02±0.62	26.40±0.57	S-1	4.59±0.05	7.08±0.05
R-5	20.98±0.50	22.50±0.38	W-1	0.53±0.01	0.59±0.01
R-7	20.69±0.42	22.21±0.81	W-3	1.13±0.06	1.25±0.04
R-11	12.69±0.43	14.12±0.29	W-9	1.46±0.05	1.69±0.03
R-15	24.98±0.52	26.78±0.95			

表 4 葡萄酒样品 TEAC 值与总酚含量的相关性分析

Table 4 Analysis of correlation between TPI and TEAC

项目 Category	总酚含量 TPI	反应 2 min 的 TEAC TEAC of 2 minute	反应 5min 的 TEAC TEAC of 5 minute
总酚含量 TPI	1		
反应 2 min 的 TEAC TEAC of 2 minute	0.977	1	
反应 5 min 的 TEAC TEAC of 5 minute	0.978	0.998	1

2.2.2 稀释倍数 不同稀释倍数葡萄酒样品对吸

光度的影响见图 2。

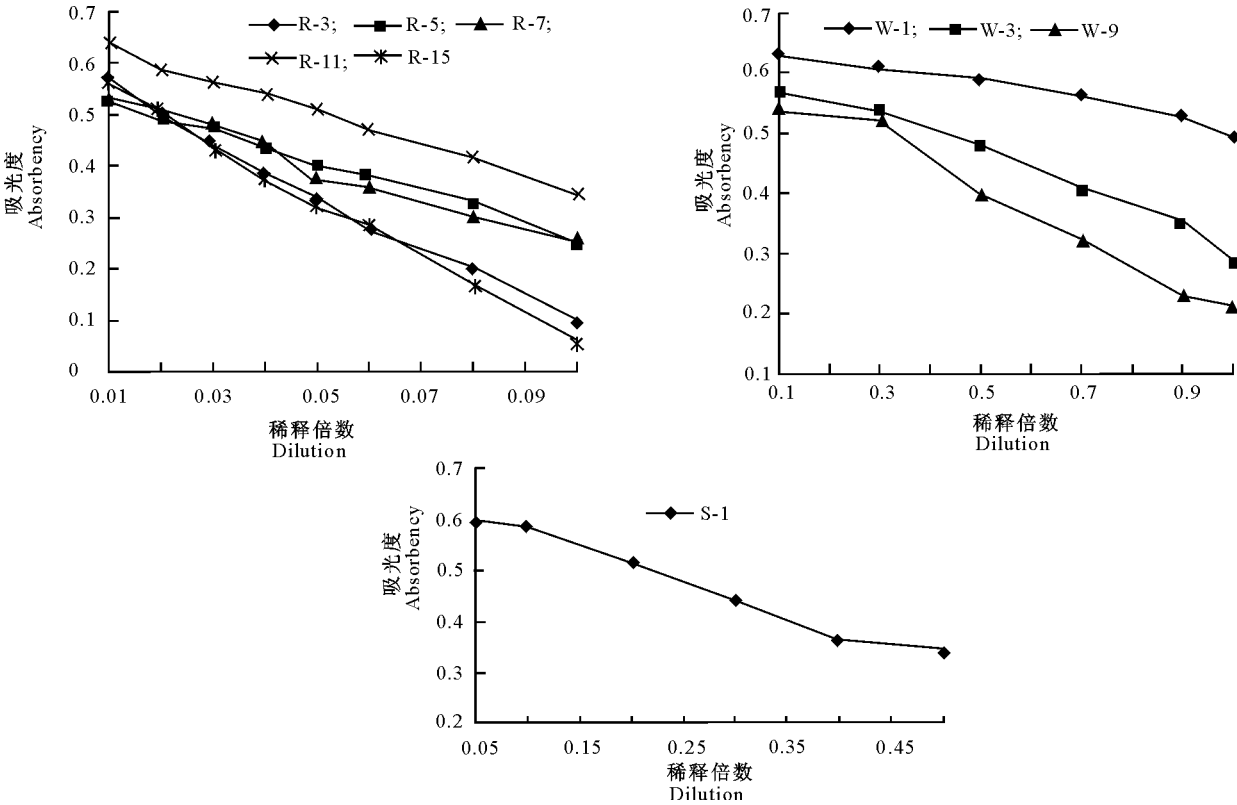


图 2 不同稀释倍数葡萄酒样品对吸光度的影响

Fig.2 Influence of wine samples dilution on absorbency

由图 2 可见,以不同稀释倍数的葡萄酒样品与 ABTS^{·+}反应 5 min 为例,红葡萄酒 R-3、R-5 和 R-15 稀释倍数为 0.1 : 10~0.5 : 10(图 2 中为 0.01~0.05)时,反应 5 min 后吸光度有明显的线性趋势, R^2 分别为 0.995,0.992 和 0.999;R-7、R-11 稀释倍数分别为 0.2 : 10~0.4 : 10(图 2 中为 0.02~0.04)和 0.6 : 10~1 : 10(图 2 中为 0.06~0.10)时,反应 5 min 后吸光度有明显的线性趋势, R^2 分别为 0.991,0.999 和 0.999,0.987。经分析,红葡萄酒稀释倍数为 0.1 : 10 时的吸光度与总酚含量相关性差(反应 1,2,3,5,10 min 的相关系数分别为 0.525,0.561,0.567,0.574,0.603),因此选择红葡萄酒的稀释倍数为 0.2 : 10~0.4 : 10,此范围可以满足所有红葡萄酒的测试要求。桃红葡萄酒 S-1 稀释倍数 1 : 10~4 : 10(图 2 中为 0.10~0.40)时,反应 5 min 后吸光度也有明显的线性趋势, R^2 为 0.999,因此 1 : 10~4 : 10 为桃红葡萄酒的最佳稀释倍数。白葡萄酒样 W-1、W-3 和 W-9 稀释倍数为 3 : 10~7 : 10(图 2 中为 0.3~0.7)时,与 ABTS^{·+}反应 5 min 后吸光度值有明显的线性趋势, R^2 分别为 0.991,0.992 和 0.985,因此选择白葡萄酒的稀

释倍数为 3 : 10~7 : 10。

3 结论与讨论

本研究结果表明:红葡萄酒的总酚含量明显高于桃红葡萄酒和白葡萄酒,葡萄酒的总酚含量与其抗氧化活性有很好的相关性,葡萄酒样品和 ABTS^{·+}反应后的吸光度与总酚含量的相关性,可作为选择合适反应时间和酒样稀释倍数的一个标准,同时该结果也客观地反映了 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的准确性。由于葡萄酒的抗氧化机理复杂,在反应过程中抗氧化反应和促氧化反应可能同时存在,只有在适宜稀释倍数时葡萄酒的抗氧化活性才能得以体现^[22]。不同反应时间测定的 TEAC 值也有差异,这是由于葡萄酒中的抗氧化活性物质与 ABTS^{·+}的反应产物会引起一些副反应发生,从而影响葡萄酒的抗氧化活性,因此时间过短或者过长会导致抗氧化活性值被低估或高估,只有在一定的反应时间段,TEAC 值才能客观地反应葡萄酒的抗氧化活性。ABTS^{·+}法作为近年来被广泛采用的抗氧化活性测定方法,其本身也存在缺陷,例如,ABTS^{·+}的产生机理和产生体系多样,但没有解

决其产生周期长的问题,同时不同的产生机理和产生体系使得研究成果难以横向比较,ABTS^{·+}工作液在反应前的稀释标准各文献报道也不尽相同^[16,22]。因此,ABTS^{·+}法还有待在以上诸领域进行进一步的研究和完善。

本试验确定了葡萄酒的最佳稀释倍数,红葡萄酒、桃红葡萄酒和白葡萄酒分别为 0.2 : 10 ~ 0.4 : 10, 1 : 10 ~ 4 : 10 和 3 : 10 ~ 7 : 10,使得采用 ABTS^{·+}法测定葡萄酒的抗氧化活性时无需先测定总酚含量,在保证结果准确的前提下简化了试验步骤。同时也确定出 ABTS^{·+}法测定葡萄酒抗氧化活性的最佳反应时间为 2~5 min,而且反应 2 min 的 TEAC 值、5 min 的 TEAC 值与总酚含量的相关性好,且二者之间无显著差异。

[参考文献]

- [1] 高尧来,温其标,张福艳. 葡萄酒中的多酚类物质及其保健功能[J]. 食品与发酵工业,2002,28(8):68-72.
Gao Y L, Wen Q B, Zhang F Y. Polyphenols in wine and their health functions [J]. Food and Fermentation Industries, 2002, 28(8):68-72. (in Chinese)
- [2] 李 华. 现代葡萄酒工艺学 [M]. 2 版. 西安:陕西人民出版社, 2000.
Li H. Modern enology [M]. 2nd edition. Xi'an: Shaanxi People Publishing House, 2000. (in Chinese)
- [3] 李 华,王 华,袁春龙,等. 葡萄酒化学 [M]. 北京:科学出版社,2004.
Li H, Wang H, Yuan C L, et al. Wine chemistry [M]. Beijing: Science Press, 2004. (in Chinese)
- [4] Arnao M B, Acosta M, Del Rio J A, et al. Inactivation of peroxidase by hydrogen peroxide and its protection by a reductant agent [J]. Biochim Biophys Acta (BBA), 1990, 1038:85-89.
- [5] Miller N J, Rice-Evans C A, Davies M J, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. Sci, 1993, 84:407-412.
- [6] Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, et al. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (Vitis vinifera): comparative study versus other phenolic and organic compounds [J]. Agric Food Chem, 2000, 48(5):1738-1745.
- [7] Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, et al. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating [J]. Agric Food Chem, 2001, 49:2532-2538.
- [8] Scalfi L, Fogliano V, Pentangelo A, et al. Antioxidant activity and general fruit characteristics in different ecotypes of Corbarini small tomatoes [J]. Agric Food Chem, 2000, 48:1363-1366.
- [9] Van den Berg R, Haenen G R M M, Van den Berg H, et al. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures [J]. Food Chem, 1999, 66:511-517.
- [10] Kirschbaum B. Urine total antioxidant capacity using an ABTS assay [J]. Clin Chim Acta, 2001, 305:167-173.
- [11] Mazza G, Kay C D, Cottrell T, et al. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects [J]. Agric Food Chem, 2002, 50:7731-7737.
- [12] De Beer D, Joubert E, Gelderblom W C A, et al. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: Free radical scavenging [J]. Agric Food Chem, 2003, 51:902-909.
- [13] Soleas G J, Tomlinson G, Diamandis E P, et al. Relative contributions of polyphenolic constituents to the antioxidant status of wines: Development of a predictive model [J]. Agric Food Chem, 1997, 45:3995-4003.
- [14] Gil M I, Tomás-Barberán F A, Hess-Pierce B, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing [J]. Agric Food Chem, 2000, 48:4581-4589.
- [15] Salah N, Miller N J, Paganga G, et al. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants [J]. Arch Biochem Biophys, 1995, 322:339-346.
- [16] Yu T W, Ong C N. Lag time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and ABTS: rationale, application, and limitation [J]. Biochem, 1999, 275:217-223.
- [17] López-Vélez M, Martínez-Martínez F, Del Valle-Ribes C. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2003, 43:233-244.
- [18] Van den Berg R, Haenen G R M M, Van den Berg H, et al. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity TEAC assays [J]. Food Chem, 2000, 70:391-395.
- [19] Alcolea J F, Cano A, Acosta M, et al. Research paper hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of grapes [J]. Nahrung, 2002, 46:353-356.
- [20] 王 华. 葡萄与葡萄酒实验室技术操作规范 [M]. 西安:西安地图出版社, 1999.
Wang H. Operation specification of Vine and Wine laboratory technique [M]. Xi'an: Xi'an Cartographic Publishing House, 1999. (in Chinese)
- [21] 韩光亮,李翠梅, Cacace E, 等. 改良的 ABTS⁺法及其在优化抗氧化活性物质提取中的应用 [J]. 卫生研究, 2004, 33(5): 620-622.
Han G L, Li C M, Cacace E, et al. Application of modified ABTS⁺ assay method to monitor antioxidant extraction from fruit [J]. Journal of Hygiene Research, 2004, 33(5):620-622. (in Chinese)
- [22] Villano D, Fernández-Pachón M S, Troncoso, A N M, et al. The antioxidant of wines determined by the ABTS^{·+} method: Influence of sample dilution and time [J]. Talanta, 2004, 64:501-509.