

葡萄酒中多酚物质抗氧化活性测定方法的研究

史红梅,丁 燕,孙玉霞,王恒振

(山东省酿酒葡萄科学研究所,山东 济南 250100)

摘 要: 对葡萄酒中酚类物质抗氧化活性检测方法的研究状况进行概述,重点阐述了体外非酶法测定抗氧化活性的几类方法,比较了它们的优缺点,分析了国内外抗氧化测定方法的使用现状,并展望了抗氧化活性的测定方法。

关键词: 葡萄酒; 酚类物质; 抗氧化活性; 测定方法

中图分类号:TS262.6;TS261.4

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2011)07-0095-03

Research on the Determination of Antioxidation Activity of Polyphenols in Grape Wine

SHI Hongmei, DING Yan, SUN Yuxia and WANG Hengzhen

(Shandong Grapevine and Wine-making Research Institute, Ji'nan, Shandong, 250100, China)

Abstract: The research status of the determination methods of polyphenols antioxidation activity in grape wine was reviewed in this paper. Several in vitro non-enzymatic methods for the determination of antioxidation activity were elaborated and their advantages and disadvantages were compared. In addition, the application status and the prospects of the determination methods of polyphenols antioxidation activity at home and abroad at present were analyzed.

Key words: grape wine; polyphenol; antioxidant activity; determination method

多酚化合物(Polyphenols)是葡萄及葡萄酒中的重要成分之一。这类物质不仅对葡萄酒的感官特征和质量有着重要作用,如葡萄酒的颜色、口感、香气、骨架和结构等,还因其具有较强的抗氧化性和清除自由基的能力,对人体也有很好的保健作用,能预防一些疾病的产生,如心脑血管疾病、抗动脉粥样硬化、抗癌、抗炎症、预防老年痴呆症等。

许多研究表明,多酚类物质的含量、种类及结构与葡萄酒的抗氧化活性有很高的相关性。而不同葡萄品种之间多酚的含量及类型差异很大,相同品种葡萄及其酿制的葡萄酒中酚类物质的构成及含量也会受地域、栽培条件、气候条件、成熟度、酿造工艺等多种因素的影响。因此,不同的葡萄酒表现出不同的抗氧化活性。对于葡萄酒抗氧化活性的研究,不但可以很好地评价葡萄酒的质量,为消费者提供参考,还可为葡萄酒的工艺改进提供理论依据。

目前,抗氧化活性测定方法非常多,按照分析原理又有不同的分类。根据是否进行生物体试验可以分为:体内试验和体外试验;根据测定目标是否为酶可以分为:酶法测定和非酶法测定;根据反应机理不同可以分为:以供氢为机理的方法、以供电子为机理的方法和兼有二者的方

法;根据实验所用仪器可分为:分光光度计法、荧光法、化学发光法、色谱法等。本文主要介绍了葡萄酒中主要的多酚物质,及其抗氧化活性的几种常用测定方法的优缺点。

1 葡萄酒中的多酚抗氧化活性物质

多酚物质是含有酚羟基的物质。从化学结构上讲,是苯环上联有一个或多个羟基的化合物。葡萄和葡萄酒中的多酚物质按其化学结构可分为两大类:类黄酮和非类黄酮^[1];按分子质量可以分为单宁化合物(相对分子量为500~3000 u)和非单宁化合物(相对分子质量小于500 u或大于3000 u)^[2];按其颜色分为色素和无色多酚两大类^[3]。葡萄酒中主要的酚类物质见表1。

多酚及其代谢物的抗氧化活性取决于其核心结构上功能基团的排列。在过去20年里,根据结构活性的关系研究得出一些一致性的证据,证明特殊的结构成分是清除自由基、螯合金属离子、氧化活性所必需的。其主要的活性结构包括羟基、甲基化、聚合度、糖苷化等。多酚物质的抗氧化机制主要表现在如下几个方面:①直接清除自由基阻断脂质过氧化的链式反应;②螯合过渡金属离子,降低氧自由基对细胞的毒害;③恢复其他抗氧化剂如维生素E等活性,间接起到抗氧化作用;④抑制细胞内氧化

收稿日期:2011-03-30

作者简介:史红梅(1979-),女,研究生,工程师,从事葡萄酒、果露酒新工艺新产品研究开发及天然产物分离的研究。

表1 葡萄酒中主要的酚类物质

项目	酚类物质
非类黄酮	苯丙烯酸类(肉桂酸):咖啡酸、香豆酸、阿魏酸 苯酸类:没食子酸、原儿茶酸、香草酸、水杨酸 黄酮醇类:槲皮素、槲非醇、杨梅黄酮
类黄酮	儿茶酸类:儿茶素、表儿茶素、棓茶素、表棓儿茶素、表倍儿茶素没食子酸酯 花色苷/苷:矢车菊素、飞燕草素、锦葵色素、甲基花青素、矮牵牛色素 原花色苷:白花青素、前花色苷
单宁	水解单宁:五倍子单宁、鞣花单宁、棓酸单宁或焦棓酸单宁,缩合单宁

酶活性,防止有关氧化降解的发生。

2 测定方法及研究现状

目前,多酚抗氧化活性物的测定方法非常多,本文中主要介绍体外非酶类方法中使用最多、最广泛的一些方法。根据抗氧化活性主要表现在抑制脂质的氧化降解、清除自由基、抑制促氧化剂(如螯合过渡金属离子)和还原能力等几方面的原理,将这些方法可以归为五大类。

2.1 以脂质的氧化降解为基础的方法

脂质中的不饱和脂肪酸自动氧化或加速氧化,生成不稳定的氢过氧化物,氢过氧化物继续分解形成短碳链的醛、酮、酸等小分子化合物。抗氧化剂的加入可以延缓氢过氧化物及其分解产物的形成,由此可测得抗氧化活性^[4]。脂质过氧化的常用检测方法有:过氧化值(PV)法、硫氰酸铁(FTC)法、共轭二烯氢过氧化物法和TBARS法等。在这些方法中,TBARS法是常使用的方法,过氧化值法和硫氰酸铁法是我国测定脂类产品的国标方法。经典的脂质过氧化测定方法最大的缺点就是耗时较长,尽管现在采用了加速氧化代替自氧化法,整个过程也需要很长时间。但是,脂质过氧化法不需要贵重仪器,操作也非常简单。

这一类测定方法中,有报道用TBARS法测定葡萄的抗氧化能力,其他方法尚未见报道。如印度学者Vinayak V. Kedage等^[5]分别采用TBARS、铁离子还原能力(FRAP)、ORAC法、DPPH法、ABTS法测定了11种欧亚葡萄品种的抗氧化能力,试验结果表明,某些品种的葡萄具有很高的抗氧化能力,还表明,这种抗氧化能力与葡萄的多酚和黄酮含量有关。

2.2 以清除自由基为基础的方法

以清除自由基为基础测定抗氧化能力的方法,是目前最流行、使用最多的方法,因为其简便、快捷。根据自由基的种类,可以分为两大类^[6]:

①生物体中存在的自由基有:超氧自由基(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、过氧自由基($ROO^\cdot$)、羟自由基($\cdot OH$)、单

线态氧(1O_2)和过氧化氮自由基($ONOO^\cdot$)等。其中,单线态氧和过氧化氢并非自由基,而是类似自由基的活性氧,也会对机体产生破坏作用^[6]。主要测定方法有氧自由基吸收能力(ORAC)、藏花素漂白法、 β -胡萝卜素漂白法以及其他各种自由基清除法。钟耕^[7]等采用氧自由基吸收能力(ORAC)法测定了葡萄皮和葡萄籽中没食子酸、儿茶素、表儿茶酸3种物质的抗氧化能力,占总抗氧化能力的17%。

②人工合成的自由基,主要有ABTS法、DMPD法和DPPH自由基清除法。目前,ABTS和DPPH是测定抗氧化活性使用最广泛的两种人工合成自由基,也广泛应用于葡萄和葡萄酒抗氧化活性的测定。如李华等^[8]研究了ABTS法测定葡萄酒的抗氧化活性,确定最佳反应时间为2~5 min,葡萄酒的最佳稀释倍数:红葡萄酒为0.2~0.4:10,桃红葡萄酒为1~4:10,白葡萄酒3~7:10,结果表明,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可简化试验步骤。南非学者Dalene De Deer等^[9]分别采用ABTS法、DPPH法两种自由基清除法测定了南非的红葡萄、白葡萄酒中总抗氧化能力(TAA),ABTS法测得红葡萄酒和白葡萄酒Trolox当量抗氧化能力(TAA_{ABTS})分别是14.916 mmol/L和0.939 mmol/L,DPPH法测得红葡萄酒和白葡萄酒Trolox当量抗氧化能力(TAA_{DPPH})分别为11.608 mmol/L和0.626 mmol/L,指出两种测定方法变化趋势相同,还测定TAA与葡萄酒的总酚、黄酮及单宁之间的相关系数。

2.3 测定还原能力的方法

该类方法测定的是抗氧化剂的还原能力,主要方法有铁离子还原能力(FRAP)、铜离子还原能力(CUPRAC)、总酚测定(FC)和循环伏安法(CV),此外还有其他一些金属离子的还原(例如锰离子等)法等。这些方法测定的是抗氧化物质氧化还原的潜力,通常人们称这些方法为“总抗氧化能力”。然而,许多研究者对该方法是否可以代表总抗氧化能力提出质疑,他们认为,该方法的生物相关性较差,所以不是一种测定抗氧化能力的好方法,但却是目前应用最广泛的方法之一。

该类测定方法中总酚测定(FC)是测定葡萄酒中总酚含量常规方法,其测定结果通常作为其他测定方法的参考值。其他方法有FRAP法和CUPRAC法,如李勇^[10]研究了CUPRAC法测定葡萄酒抗氧化活性的反应条件,反应温度为室温,反应时间为30 min,缓冲液的pH为7.0, Cu^{2+} 和Nc的加入量均为0.5 mL,并确定了分光光度计和酶标仪测定时葡萄酒的最佳稀释倍数。

2.4 其他方法

主要包括金属离子螯合能力、毛细管凝胶电泳法以及色谱法等。金属离子螯合能力测定的基本原理为:抗氧化剂被认为具有螯合金属离子的能力,从而避免发生芬顿反应产生自由基。当最后加入 Ferrozine 试剂后,未被螯合的铁离子将会与其形成显色法团,在 562 nm 下有强吸收峰,间接反映抗氧化物质的抗氧化能力。毛细管凝胶电泳法、高效液相色谱和气相色谱法均是先将复杂混合物进行有效分离,然后再定性、定量,通过抗氧化物质的含量来判断其抗氧化能力的强弱。

在过去 10 多年中,这些测定方法已经广泛应用于葡萄酒、茶叶、果实和蔬菜等富含多酚的食品检测中。但是目前还没有一个试验可以把所有的酚类物质全部检测出来,最难鉴定的就是那些葡萄酒中的聚合体酚类物质。即使把所有的酚类物质都检测出来,抗氧化性也很难从这些数据中统计出。首先,单体酚类的抗氧化能力信息还比较少,并且比较混乱,其次,总的抗氧化性并不是单体酚抗氧化物质简单的相加,它们之间存在协同作用。

3 结论与展望

葡萄酒中的酚类物质是其中一类重要的物质,具有较强的抗氧化性和清除自由基的能力,对人体有很好的保健作用,因此葡萄酒的抗氧化活性可以作为评价葡萄酒质量高低的一个指标,但在目前测定方法条件下,还没有一个或几个统一的方法来快速、准确的检测葡萄酒的抗氧化活性,评价一种抗氧化剂的抗氧化能力需要采用几种方法来共同说明,几种方法测定的结果可能有很高的一致性,也可能有相反的结果,各种方法之间的相关性变化很大,现有文献中的数值无法统计比较。因此,为了

科学研究结果的共享以及实验结果的可比较性,实验方法和步骤应标准化,实验结果应该尽量使用统一表述方式。

参考文献:

- [1] 翟衡,杜金华,等.酿酒葡萄栽培及加工技术[M].北京:中国农业出版社,2001:5.
- [2] 顾国贤.酿造酒工艺学[M].北京:中国农业出版社,1996:10.
- [3] 李华,王华,袁春龙,等.葡萄酒化学[M].北京:科学出版社,2005:5.
- [4] Lamikanra O, Grimm CC, Rodin JB, et al. Hydroxylated stilbenes in selected american wines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996,44: 1111-1115.
- [5] Vinayak V. Kedage;Jai C.Tilak;Ghanasham B. Dixit et al. A study of antioxidant properties of some varieties of grapes (Vitis vinifera L.)[J].Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2007,47(2): 175-185.
- [6] Wood LG, Gibson PG, Garg ML. A review of the methodology for assessing in vivo antioxidant capacity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(13):2057-2066.
- [7] 钟耕,陈宗道,闵燕萍.葡萄籽和皮中黄酮成分和抗氧化能力研究(英文)[J].西南农业大学学报:自然科学版,2005, 27(1): 64-68.
- [8] 李华,李勇,吴莹.ABTS⁺法测定葡萄酒抗氧化活性的研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2009, 37(11):90-96.
- [9] Dalene De Beer Elizabeth Joubert.;Webtael C. A. Gelderblom, et al. Antioxidant activity of south african red and white cultivar wines:Free radical scavenging[J]. Jouranal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51:902-909.
- [10] 李勇.葡萄酒抗氧化活性测定方法研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2009.

2011 年全国秋季糖酒会将于 10 月 10 日在沈阳召开

本刊讯 据《华夏酒报》2011-6-17 报道 2011 年秋季糖酒会将于 10 月 10 日~13 日在辽宁省沈阳国际展览中心举行。

本届糖酒会是由中国糖业酒类集团公司与沈阳市人民政府联合举办,由中糖新世纪国际会展(北京)有限公司具体承办,沈阳市服务业委员会协办。中糖新世纪国际会展(北京)有限公司是由中国糖业酒类集团公司控股,与成都世纪城新国际会展中心有限公司、中国酒类流通协会、中国副食流通协会共同出资组建的专业会展企业。

中糖新世纪国际会展(北京)有限公司将作为全国糖酒会的承办机构,全面承担起糖酒会的组织、管理与展位、广告的招商等承办工作。

本届糖酒会严格按照“统一布展、集中交易”的原则进行组织,沈阳国际展览中心为本届糖酒会唯一展场,展会期间,沈阳市各大宾馆、酒店、饭店、招待所的大堂、通道,其他商业、餐饮等经营场所,一律不得设立展厅、展间和展场。

对于参展企业,糖酒会组委会提出了严格的准入要求,参展企业需要凭营业执照、生产许可证、食品流通许可证及进口产品相关手续等资质复印件并加盖鲜章,组委会根据展位租赁合同、参展单位相关资质复印件及《2011 年秋季全国糖酒商品交易会参展单位承诺书》,经核实后发放《展位证》。

据了解,本届糖酒会展区按葡萄酒及国际烈酒馆、特装综合馆、酒类馆、食品馆、食品饮料馆、调味品馆、食品机械馆、包装展区等八大类别进行专业分馆,分区规划。(赵禹,陈绍利文,小小荐)

来源:华夏酒报 2011-6-17