

Folin-Ciocalteu 法测定昭通葡萄及其葡萄酒总酚含量

袁晓春¹, 李辅碧² (1. 昭通学院, 云南昭通 657000; 2. 昭通市食品药品检验所, 云南昭通 657000)

摘要 [目的] Folin-Ciocalteu 法测定葡萄总酚含量, 为昭通葡萄生产及其酿制工艺提供科学依据。[方法] 采用甲醇作溶剂, 超声提取葡萄总酚, 以 Folin-Ciocalteu 试剂和 50 g/L Na₂CO₃ 溶液处理, 在 765 nm 处测其吸光度。[结果] 以没食子酸为标准, 质量浓度在 1~40 mg/L 范围内与吸光度线性关系良好($r=0.9995$)。平行测定($n=6$)葡萄总酚含量, RSD 在 1.1%~1.6%, 对葡萄和葡萄酒的加标回收率试验结果分别为 98.8%、98.3%, RSD 依次为 1.8%、2.0%。[结论] 该法操作简便, 重复性好, 结果准确可靠, 可用于测定葡萄及葡萄酒中总酚含量。

关键词 昭通葡萄; Folin-Ciocalteu 法; 测定; 总酚

中图分类号 S663.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)33-11859-02

Measure of Total Polyphenols Content in Zhaotong Grape and Grape Wine by Folin-Ciocalteu Method

YUAN Xiao-chun¹, LI Fu-bi² (1. Zhaotong University, Zhaotong, Yunnan 657000; 2. Food and Drug Inspection Office in Zhaotong City, Zhaotong, Yunnan 657000)

Abstract [Objective] In order to provide scientific basis for production and brewing of *Vitis vinifera* in Zhaotong, the total polyphenol content in grapes was measured by Folin-Ciocalteu method. [Method] Using methyl alcohol as the solvent, total polyphenols of *Vitis vinifera* was extracted by supersonic method, then added Folin-Ciocalteu reagent and 50 g/L Na₂CO₃ solution, and measured the absorbancy at 765 nm. [Result] Basing on gallic acid, the mass concentration had an obvious linear relation ($r=0.9995$) with absorbancy within the scope of 1~40 mg/L. The parallel determination ($n=6$) of total polyphenol results were that, when RSD was between 1.1% to 1.6%, the adding standard recovery of *Vitis vinifera* and grapes wine were 98.8%, 98.3%, RSD 1.8%, 2.0%. [Conclusion] This method is convenient, repeatable and faithful, which can be used for determination of polyphenol in grapes and grape wine.

Key words Zhaotong grape; Folin-Ciocalteu assay; Determination; Total polyphenol

植物多酚(Plant polyphenol)又名植物单宁(Vegetable tannin), 为植物体内的复杂酚类次生代谢物, 具有多元酚结构, 主要存在于植物的皮、根、叶、果中。植物多酚具有很强的抗氧化和清除自由基活性, 水果、蔬菜、饮料等是植物多酚的主要来源^[1]。因为果实汁多味美并含有丰富营养, 而倍受人们青睐的葡萄^[2]中就含有大量的多酚类物质。葡萄多酚是一种植物多酚类活性物质, 能溶于水, 易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂, 它广泛存在于葡萄籽、葡萄皮与果汁中。葡萄多酚由表儿茶酸等酚酸类、黄烷醇类、花色苷类、黄酮醇类和缩聚单宁等物质组成^[3]。研究表明, 葡萄中的多酚含量对葡萄酒的酿制影响很大。葡萄酒存放时多酚的各种化学反应将影响到葡萄酒的色泽、口感、品质。在葡萄酒酿制和葡萄多酚提取中, 都要对多酚含量进行监控和测定。采用 Folin-Ciocalteu 法测定葡萄多酚具有很好的精密度和准确度^[4]。

葡萄和葡萄酒中所含多酚可以消除人体内的自由基而起到抗氧化、抗肿瘤、抗癌、降血脂、预防动脉粥样硬化和冠心病等保健作用, 因而深受人们喜爱。生活在云南昭通的人们除了喜欢食用新鲜葡萄, 好多家庭还在本土葡萄大量上市的时候, 选择新鲜葡萄自行酿制葡萄酒^[5]。为此, 笔者对昭通葡萄及其家酿葡萄酒进行采样, 通过超声提取技术, 采用 Folin-Ciocalteu 法测定其葡萄总酚量, 以期对昭通葡萄的生产及其葡萄酒的酿制工艺提供科学依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 原材料。从市场购进昭通本土出产的不同品种的新

鲜葡萄, 在不同家庭采集以昭通葡萄为原料的家酿葡萄酒。

1.1.2 主要试剂。Folin-Ciocalteu 试剂, 上海荔达生物科技有限公司(分析纯 20140806); 无水碳酸钠, 分析纯, 天津化学试剂三厂; 甲醇, 色谱纯 Fisher Scientific 公司; 没食子酸标准品, 中国食品药品检定研究院, 110831-201204; 水, 超纯水。

1.1.3 主要仪器。GZX-9246MBE 数显鼓风干燥箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备; MS105DU 电子天平, 梅特勒-托利多公司; UC-7100S 超声波清洗器, 美瑞泰克科技(天津)有限公司; TG16-WS 台式高速离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; UV-2550 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司。

1.2 方法

1.2.1 试剂的配制。50.0 mg/L 标准溶液: 准确称取 5.0 mg 没食子酸标准品溶解于 8.0 ml 的甲醇中, 并用超纯水定容至 100 ml(现配)。50 g/L Na₂CO₃ 溶液: 称取 50.00 g 无水 Na₂CO₃, 溶于超纯水并定容至 1 000 ml。80% 甲醇溶液: 量取 80 ml 甲醇, 加 12 mol/L 的盐酸 0.1 ml, 并用超纯水稀释定容至 100 ml^[6]。

1.2.2 试样的准备。将 2 种新鲜葡萄的葡萄皮 1 号、2 号, 于 40℃ 下烘 80 min 后冷却备用。采集 3 个家庭以昭通葡萄为原料的家酿葡萄酒 3 号、4 号、5 号(酿制年份、保存条件不详)。

1.2.3 显色时间的确定。准确吸取 50.0 mg/L 没食子酸标准溶液 0.50 ml 于 25 ml 比色管中, 加入 80% 甲醇溶液 0.50 ml、1.00 ml Folin-Ciocalteu 试剂、50 g/L Na₂CO₃ 溶液 8.00 ml, 充分摇匀, 在 15、30、45、60 min 处测其吸光度, 在 15~45 min 的吸光度逐渐增大, 45 min 后吸光度有所降低。以此确定测定反应的显色时间为 45 min。

1.2.4 总酚的提取。准确称取 0.050 g 已烘干的葡萄皮, 置

作者简介 袁晓春(1968-), 女, 云南威信人, 讲师, 从事物质成分分析及其应用的研究。

收稿日期 2014-10-17

于5.0 ml 80% 甲醇溶液中,在40 ℃、40 kHz 超声提取40 min后,在4 000 r/min 下离心20 min后分离出上层清液,同等条件下提取2次,合并提取液,用超纯水稀释并定容至100 ml。

对于家酿葡萄酒,直接吸取1.0 ml于100 ml容量瓶中,加8.0 ml 甲醇并用超纯水定容。

2 结果与分析

2.1 工作曲线的绘制 准确吸取50.0 mg/L 没食子酸标准溶液0.10、0.20、0.30、0.40、0.60、0.80 ml 分别于7支25 ml 比色管中,依次加入80% 甲醇溶液1.00、0.90、0.80、0.70、0.60、0.40、0.20 ml。测样品时,吸取试液1.00 ml。然后加入1.00 ml Folin-Ciocalteu 试剂,充分振荡后,依次加入50 g/L Na₂CO₃ 溶液8.00 ml,充分摇匀,45 min后,于25 ℃下,在765 nm 处测其吸光度,以吸光度对没食子酸标准溶液

的质量浓度作图,酚含量在1~40 mg/L 范围内与吸光度呈良好的线性关系,线性计算公式 $y = 0.0159x - 0.0025$, $r = 0.9995$ 。

2.2 总酚量测定结果 按照“2.1”分析步骤,对葡萄皮试液1号、2号和家酿葡萄酒3号、4号、5号试液各进行6次平行测定,葡萄皮总酚含量计算公式:葡萄皮总酚含量(mg/g) = xVn/m_s ,其中 $x = (y + 0.0025)/0.0159$ (mg/L), $V = 0.001$ L, $n = 100$ (稀释倍数), m_s 为葡萄皮试样的质量;葡萄酒总酚含量计算公式:葡萄酒总酚含量(mg/L) = nx , $x = (y + 0.0025)/0.0159$ (mg/L), $n = 100$ (稀释倍数)^[7]。葡萄皮和家酿葡萄酒总酚含量测定结果见表1和表2。

由表1、2可见,平行测定样品总酚含量的RSD在1.1%~1.6%,说明该方法具有较好的精密性。

表1 葡萄皮总酚量测定结果

样品号	总酚含量//mg/g						平均含量 mg/g	RSD %
	重复1	重复2	重复3	重复4	重复5	重复6		
1	19.08	19.47	19.31	19.79	19.69	19.86	19.53	1.5
2	18.80	18.20	18.13	18.73	18.64	18.71	18.54	1.6

表2 家酿葡萄酒总酚量测定结果

样品号	总酚含量//mg/L						平均含量 mg/L	RSD %
	重复1	重复2	重复3	重复4	重复5	重复6		
3	1506	1525	1500	1531	1544	1519	1521	1.1
4	915	928	903	909	934	921	918	1.3
5	858	833	846	852	846	827	844	1.4

2.3 回收率试验结果 利用“2.2”节的分析结果,分别按1号葡萄皮试液总酚含量的63.3%、94.9%、126.6%和3号家酿葡萄酒试液总酚含量的65.8%、98.7%、131.6%,添加

50.0 mg/L 没食子酸标准溶液,各平行试验3次,测定其总酚含量,并计算回收率。试验结果见表3,可见该方法具有较好的回收效果。

表3 回收率试验结果

试验号	样品含量 μg	加入量 μg	测得量//μg			回收率//%			平均回收率 %	RSD %
			重复1	重复2	重复3	重复1	重复2	重复3		
1号	7.9	5.0	12.8	12.7	12.9	98.0	96.0	100.0	98.8	1.8
		7.5	15.1	15.5	15.4	97.3	101.0	100.0		
		10.0	17.6	18.0	17.8	97.0	101.0	99.0		
3号	7.6	5.0	12.6	12.5	12.4	100.0	98.0	96.0	98.3	2.0
		7.5	15.2	14.8	14.9	101.0	96.0	97.3		
		10.0	17.3	17.7	17.4	97.0	101.0	98.0		

3 结论与讨论

以Folin-Ciocalteu法测定昭通葡萄及其家酿葡萄酒的总酚含量。选用50.0 mg/L 没食子酸溶液为标准,其质量浓度在1~40 mg/L 范围内与吸光度呈良好的线性关系($y = 0.0159x - 0.0025$, $r = 0.9995$)。准确称取40 ℃下烘干葡萄皮0.050 g,采用80% 甲醇溶液作为溶剂,在40 ℃、40 kHz 超声提取昭通葡萄皮总酚。移取1.00 ml 试液,以1.00 ml Folin-Ciocalteu 试剂和8.00 ml 50 g/L Na₂CO₃ 溶液处理,显色45 min后,在765 nm 处测定葡萄皮和家酿葡萄酒试液的吸光度。平行测定($n = 6$)总酚含量RSD在1.1%~1.6%。对葡萄皮和葡萄酒试液进行加标回收率试验的平均回收率

分别为98.8%、98.3%,RSD分别为1.8%、2.0%。该法操作简便,具有较好的精密性,重复性好。

2种品种的市售昭通葡萄总酚含量有一定的差别,可能是因为购进的葡萄品种不一样,再加上葡萄的种植方式和生长周期可能也不相同等因素所致。昭通葡萄总酚含量的高低具体受哪些因素影响及其如何影响的问题,还待进一步研究。3种家庭酿制的葡萄酒总酚含量差别较大,可能是因为各个家庭酿制葡萄酒时选用了不同品种的昭通葡萄、采用了不同酿制工艺、在不同环境下以不同的方式保存葡萄酒和保存家酿葡萄酒的时间长短不一等因素所致^[8]。

(下转第11862页)

分级烟叶收购价格提高了1.84元/kg,产值提高1472元,上等烟比例提高10.1个百分点。可见,采用专业化分级可以提高担烟均价、产值效益、上等烟比例及烟农收入。

表1 润溪烟草站2013年传统分级与专业化分级等级合格率抽查对比

等级	传统分级合格	专业化分级合格	提高百分
	率//%	率//%	
X ₃ F	79.3	90.1	10.8
X ₂ F	80.1	89.6	9.5
X ₁ F	81.2	92.5	11.3
C ₃ F	78.6	93.1	14.5
C ₂ F	80.9	89.6	8.7
C ₁ F	83.5	88.7	5.2
B ₂ F	78.1	89.7	11.6
B ₁ F	82.6	93.6	11.0
平均	80.5	90.8	10.3

表2 润溪烟草站2013年传统分级与专业化分级经济效益抽查对比

分级模式	数量	均价	产值	上等烟比例
	kg	元/kg	元	%
传统分级	800	18.01	14408	60.1
专业化分级	800	19.85	15880	70.2
差额		1.84	1472	10.1

3 提高烟叶分级专业化服务质量的相关措施

3.1 进一步加强烟叶分级技术培训,管理好专业化分级队伍 选择具有一定文化程度,思想素质好,分级水平较高,工作责任心强,能吃苦耐劳,熟练掌握分级技能的人员从事烟叶专业化分级工作。在收购前统一组织专业化分级人员进行思想政治、业务技能培训,通过理论及实操培训后对于考核合格的人员发放上岗证,提高验级人员思想素质和分级技能。同时建立并完善专业化服务体系,制定管理措施,严格把握分级标准,明确标准要求,统一管理,严格考核,确保烟叶等级纯度和均匀度一致。

3.2 开展等级平衡会,强化技术指导落实到位 分级期间,县分公司定期负责对专业化分级队进行指导培训,特别是对交接部位等级界限不明显的烟叶进行多次平衡指导,并随时跟踪管理,确保专业化分级质量到位;各站点烟叶技术人员

驻村、驻场,与专业化分级队伍、烟农同吃、同住、同劳动,对分级过程实行全程指导;对已完成分级的烟叶,指导烟农按要求扎捆、堆放,确保技术指导到位出成效。

3.3 成立专业化分级质量督查小组 县分公司成立分级质量督查小组,对辖区内分级队所分烟叶进行不定期抽查,扎实执行对合作社专业化分级的考核要求,对在抽查抽检、收购定级过程中发现分级不到位的情况,明确处罚标准,并及时通知并责令整改,逐项逐条落实到位,形成层层监督机制,严把质量关。

3.4 扎实做好鲜烟分类工作 鲜烟分级是干烟分级的基础,鲜烟分级可有效提高烟叶质量的一致性。组建“采编烤”班组,滚动式作业,实行“限采制”、“准采制”提高烟叶成熟度,采收专业队人员对烟叶进行适时采收,分级专业队人员对采收的鲜烟进行统一分级。同一座烤房内要求装同一品种、同一栽培管理、营养发育同一水平的烟叶,同一炉层的绑杆质量要一致,确保上炕烟叶同杆同质,从而提高烟叶烘烤质量,为下一步烟叶分级质量的提高打好了坚实的基础。

4 结语

专业化分级是对传统分级方式的重大变革,通过开展专业化分级服务,解决了部分烟农分级水平差、规模种植大劳力不足等问题,实现了“减工降本、提质增效”目标,增加了烟农烤烟种植经济效益,确保烟农、政府、工业、商业“四满意”。同时针对目前专业化分级存在专业队人员对分级标准认识不够等问题,烟草部门应进一步完善组织管理模式,推行精细化管理,真正发挥专业化分级的作用,提高烟叶收购等级质量。

参考文献

- [1] 龙晓彤,韦建玉.工商协同推进专业化分级散叶收购工作[J].广西烟草,2013(6):61-62.
- [2] 程占省,李广才.烟叶分级工[M].北京:中国农业科技出版社,2001:22-23.
- [3] 于华堂,冯国楨,王卫康,等. gb2635-92 烤烟国家标准[S].北京:中国标准出版社,1992:32-36.
- [4] 孙福山,陈江华,刘建利.烟叶收购质量现状与改善等级结构技术探讨[J].中国烟草学报,2002(2):29-33.
- [5] 张文建,张正林,刘方贵,等.烟叶专业化分级散叶收购成效分析[J].贵州农业科学,2012,40(1):65-67.

(上接第11860页)

参考文献

- [1] 李文仙,俞丹,林玲,等. Folin-Ciocalteu 比色法应用于蔬菜和水果总多酚含量测定的研究[J].营养学报,2011,33(3):302-307.
- [2] 杨勇,杨俊祥,官霞,等.葡萄及葡萄属植物中的天然活性物质研究与利用现状[J].酿酒科技,2011,204(6):75-79.
- [3] 左丽丽,王振宇,樊梓鸾,等.植物多酚类物质及其功能研究进展[J].中国林副特产,2012,120(5):39-43.
- [4] 李静,聂继云,王孝娣,等. Folin-Ciocalteus 法测定葡萄和葡萄酒中的总

- 多酚[J].中国南方果树,2007,36(6):86-87.
- [5] 徐国前,张振文,郭安鹤,等.微量、快速测定葡萄与葡萄酒总酚[J].食品科学,2010,31(18):268-270.
- [6] 蔡文国,吴卫,邵金凤,等. Folin-Ciocalteu 法测定鱼腥草多酚的含量[J].食品科学,2010,31(14):201-204.
- [7] 李春阳,许时婴,王璋.从葡萄废弃物中提取分离多酚类生物活性物质[J].食品科技,2004,152(6):88-93.
- [8] 于贞,赵光鹭,李记明.葡萄皮中的酚类物质对葡萄酒中酚含量的影响[J].酿酒科技,2010,190(4):46-47.