

UV/Visible Spectroscopy

作者:

Kathryn Lawson-Wood

Ian Robertson

PerkinElmer, Inc.

Seer Green

Lambda PDA 紫外/可见分光光度计 测试葡萄酒颜色及 总酚含量

序言

历史上最早的关于葡萄酒酿造学的证据大约在8000年前,近年来在全球范围内葡萄酒酿造越来越流行。市场和生产商的扩大已经导致用于保证产品安全和葡萄酒质量测试方法的升级。

葡萄酒含有超过600种营养物质,包括维生素、有机酸以及更重要的多酚类物质。葡萄的种子和皮为多酚提供了一个有价值的来源,科学家越来越感兴趣对于多酚作为抗氧化剂可以增强人体健康性能,在过去的15年,科学研究都集中于此。目前发现最关键的好处是多酚类物质可以通过防止低密度脂蛋白(LDL)的氧化来预防衰老以及心血管疾病。

PerkinElmer公司推出的多功能性的Lambda 265和Lambda 465 PDA紫外/可见分光光度计可以量化葡萄酒中的多酚含量,并且可以测量葡萄酒的颜色进而确定葡萄酒的质量以及任何潜在的污染物。

葡萄酒颜色强度和色调测试

葡萄酒的质量和可能污染物可以通过量化葡萄酒的颜色强度和色调观测到。一种简单的测定葡萄酒颜色强度的方法是,使用Lambda 265仪器设置一个方程计算可见光区域内三个波长的吸光度总和,通常包括420nm,520nm和620nm。另外一个需要计算的参数是葡萄酒色调,可以通过改变方程计算420nm和520nm吸光度比值得到。

试剂和设备

1. 红葡萄酒样品
2. 去离子水
3. Lambda 265或Lambda 465 PDA紫外/可见分光光度计
4. UV Lab软件
5. 比色皿 (1cm光程)

实验

使用UV Lab软件, Lambda 265仪器参数设置如下图1所示。最初的方法建立测试葡萄酒样色强度如方程1所示。另外一个计算葡萄酒色调的设置如方程2所示。

将红葡萄酒样品稀释5倍,使用Lambda 265以及标准的1cm光程石英比色皿进行测试。用去离子水作为空白,将仪器调零,使用葡萄酒颜色强度和色调测试方法逐一对红葡萄酒样品进行测试分析。

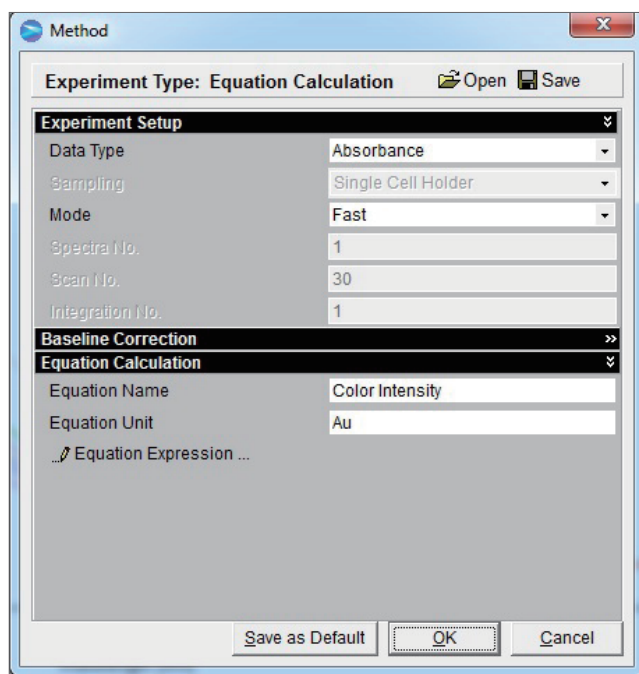


图1. 仪器参数和方法设置

方程1

$$\text{Wine Color Intensity} = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

方程2

$$\text{Wine Hue} = A_{420} / A_{520}$$

结果

7中红葡萄酒样品的谱图如图2所示,按照相应的吸光度值计算得到的葡萄酒颜色强度和色调如下表1所示。如图2所示,尽管吸光度值有所不同,但是所有的吸收光谱都具有相同的特点。此外,对于所有葡萄酒颜色强度和色调的变化都是可以观察到的,如表1所示。

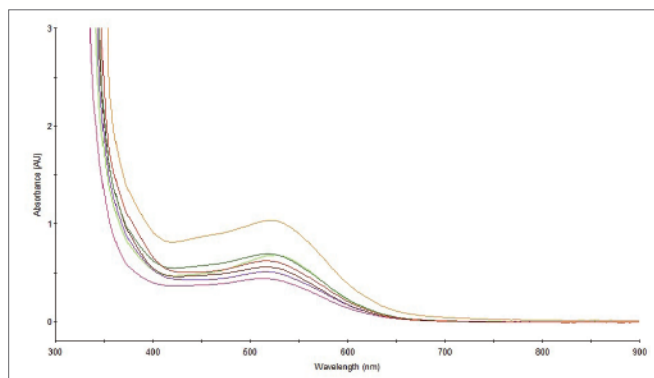


图2. 红葡萄酒样品紫外/可见光谱

表1. 红葡萄酒样品颜色强度和色调

	Wine Color Intensity (Au)	Wine Hue	Absorbance at 420 nm	Absorbance at 520 nm	Absorbance at 620 nm
Red Wine 1	2.095	0.787	0.814	1.034	0.247
Red Wine 2	0.889	0.840	0.367	0.437	0.084
Red Wine 3	1.274	0.694	0.469	0.676	0.130
Red Wine 4	1.048	0.862	0.438	0.509	0.101
Red Wine 5	1.122	0.831	0.463	0.557	0.102
Red Wine 6	1.376	0.792	0.548	0.692	0.136
Red Wine 7	1.259	0.834	0.517	0.620	0.122

葡萄酒中总酚含量

没食子酸,一种典型的酚类化合物,是一种常见的用于测定不同种类分析物中多酚浓度的标准,比如葡萄酒中的酚醛树脂。福林试剂(FC)作为一种氧化还原试剂(磷钼酸和磷钨酸盐的混合物)常用来进行比色测定。一旦减少FC试剂的含量,一种蓝色化合物就会生产,该化合物在740nm具有强烈的吸收,这样就可以使用光度法进行检测。因此,葡萄酒样品中总酚的浓度就可以通过Lambda PDA紫外/可见分光光度计进行定量。

试剂和设备

1. 5种红葡萄酒样品和2种白葡萄酒样品
2. 去离子水
3. Lambda 465或者Lambda 265 PDA紫外/可见分光光度计
4. UV Lab软件
5. 比色皿 (10mm光程)
6. 0-500mg/L没食子酸溶液
7. 0.2N福林酚试剂
8. 饱和碳酸钠溶液

实验

使用UV Lab软件中的定量模式, Lambda 465仪器参数设置如图3所示。

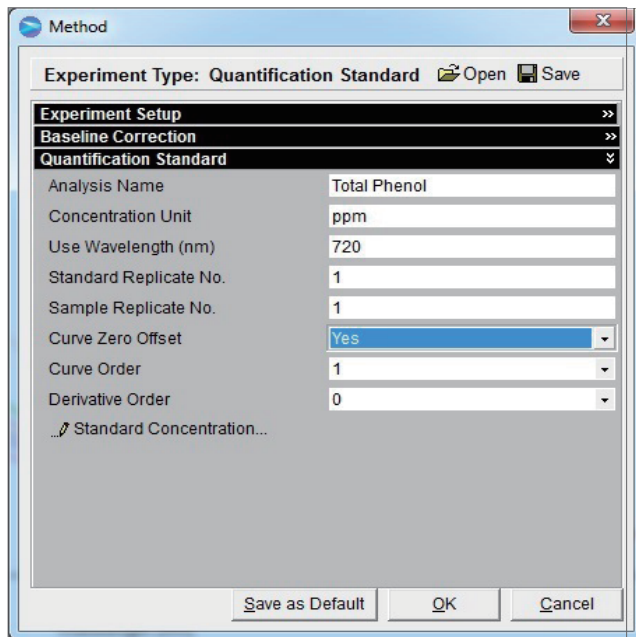


图3. 总酚测试仪器参数设置

将红葡萄酒样品稀释6倍, 白葡萄酒样品不需要稀释。测量之前, 每个标准已知浓度的样品 (0-500mg/L没食子酸) 和未知浓度的稀释后葡萄酒样品都进行同样的处理。最初, 将5mL福林酚试剂分别加入到1mL标样以及待测样品中, 等待3-5分钟。然后, 加入4mL碳酸钠并静置2小时。通过测试每个标样在740nm处的吸光度值建立相应的标准曲线。最后, 测试每个葡萄酒样品在该处的吸光度值, 从而能够计算得到样品中总酚的浓度。

结果

没食子酸标样的吸收谱图和标准曲线分别如图4和5所示。图5中显示了该标准曲线的线性回归系数 (R^2) 高于0.999, 表明高水平的数据相关性。

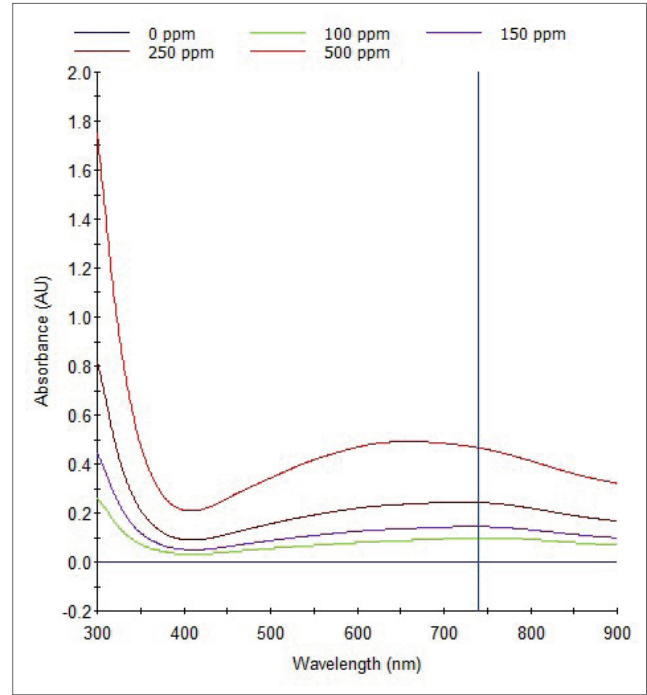


图4. 没食子酸标样的紫外/可见谱图

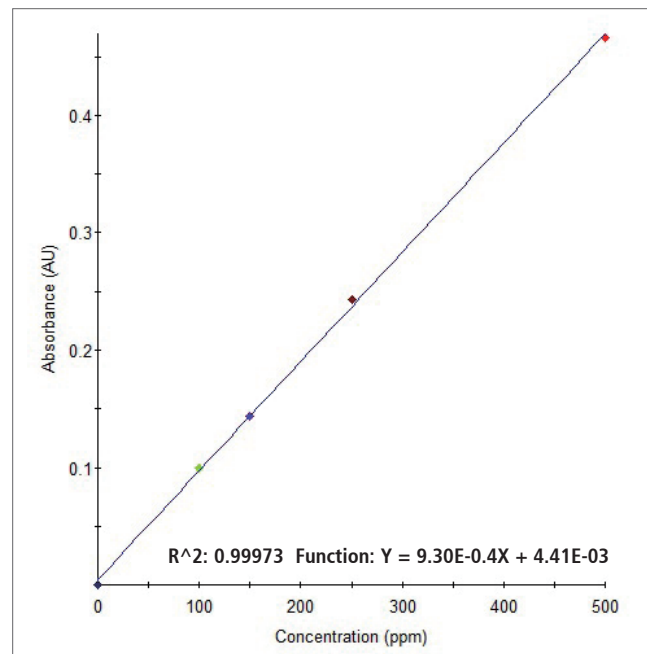


图5. 没食子酸标样的校准曲线

葡萄酒样品中总酚含量计算

使用图5中的校准曲线可以计算出每种葡萄酒样品中的总酚含量,如表2所示。对于红葡萄酒样品,由于稀释了6倍,因此从校准曲线计算得到的总酚浓度需要乘以稀释因子6。从表2可以看出,红葡萄酒总酚浓度比较高,介于1000-3000mg/L之间,而白葡萄酒介于200-300mg/L。

表2.红葡萄酒和白葡萄酒中总酚浓度

	Concentration (mg/L)	Absorbance at 740 nm	Dilution Factor	Original Concentration (mg/L)
Red Wine 1	453.69	0.427	6	2722.14
Red Wine 2	332.99	0.314	6	1997.94
Red Wine 3	198.84	0.189	6	1193.04
Red Wine 4	397.80	0.375	6	2386.80
Red Wine 5	169.72	0.162	6	1018.32
White Wine 6	277.63	0.263	1	277.63
White Wine 7	210.02	0.200	1	210.02

结论

多性能仪器对于帮助我们优化资金支出变得越来越重要,并且低成本的Lambda 265 PDA紫外/可见分光光度计在多个应用领域已被证明是一台多功能仪器,而且该仪器占有很小的空间。借助UV Lab软件,仪器的操作非常简单;通过以上的例子可以看出,葡萄酒的谱图很快就可得到,借助简单的方程计算就可测得葡萄酒的颜色强度和色调。葡萄酒中总酚含量的计算同样可以使用Lambda 265。对于这些测试Lambda 465提供了更高的灵敏度,对于研究和常规测试环境领域中的一系列更苛刻的应用Lambda 465是一台理想的仪器。

参考文献

1. Scalbert, A; Johnson, I; Saltmarsh, M. (2005) Polyphenols: antioxidants and beyond. *Molecules*. 81 (1).
2. Blainski, A; Lopes, GC; Palazzo de Mello, JC. (2013) Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 18 (6).

珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司
地址:上海张江高科技园区张衡路1670号
邮编:201203
电话:021-60645888
传真:021-60645999
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表,请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。