

T/HNSPXH

河南省食品科学技术学会团体标准

T/HNSPXH XXX—XXXX

植物蛋白肉抗氧化性的测定 ABTS 法

Determination of antioxidant activity of plant protein meat-ABTS method

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

河南省食品科学技术学会 发 布

前 言

本文件按照 GB/T1.1-2020《标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由河南省食品科学技术学会提出并归口。

本文件起草单位:

本文件主要起草人:

植物蛋白肉抗氧化性的测定 ABTS 法

1 范围

本标准规定了采用ABTS法测定植物蛋白肉抗氧化能力的方法。

本标准适用于植物蛋白肉的抗氧化性能测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 39100	多肽抗氧化性测定 DPPH和ABTS法
GB/T 6682	分析实验室用水规格和试验方法
T/BJWA 011	活性离子水抗氧化测定 ABTS法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

植物蛋白肉 plant protein-based meat

以大豆、豌豆、小麦等植物蛋白为主要原料,添加或不添加其它辅料、食品添加剂,通过加工处理得到的具有类似动物肉蛋白质纤维结构的食品。

3.2

抗氧化能力 antioxidant capacity

清除自由基的能力,以待测样品半数清除量与谷胱甘肽半数清除量的比值(AO值)来表示。

[来源: GB/T 39100-2020 多肽抗氧化性测定 DPPH和ABTS法]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件

ABTS: 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2-Azido-bis (3-ethyl-benzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium salt]

AO: 抗氧化能力(antioxidant capacity)

DMSO: 二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide)

EC₅₀: 半数清除量(half maximal effective concentration)

5 试剂或材料

除非另有说明, 本方法所用的试剂均为分析纯, 试验用水为GB/T6682规定的一级水。

5.1 谷胱甘肽: L-还原型, 纯度≥98%。

5.2 过硫酸钾: 分析纯。

5.3 二甲基亚砷: 分析纯。

5.4 无水乙醇: 分析纯。

5.5 ABTS 溶液的配制: 称取 ABTS 200.0 mg, 过硫酸钾 34.4 mg, 溶于 50.0 mL, 蒸馏水, 摇匀, 室温避光放置 24 h 后, 作为 ABTS 母液。取适量 ABTS 母液, 用 95 %乙醇稀释至吸光度值在 0.70±0.02 内(OD734), 作为 ABTS 测定溶液, 该溶液应现配现用。

注:可以根据分光光度计的灵敏度配制合适浓度的 ABTS 测定溶液。

6 仪器设备

6.1 分光光度计: 波长范围为 400 nm~800 nm, 吸光度值精确至 0.001。

6.2 电子天平: 感量为 0.0001 g。

7 原理

ABTS经氧化生成稳定的蓝绿色ABTS^{•+} 自由基, 在734 nm处有最大吸收峰。植物蛋白肉中的抗氧化成分与ABTS^{•+} 自由基反应后使其褪色, 在734 nm处吸光度降低, 采用紫外可见分光光度计测定反应后的吸光度。通过与谷胱甘肽的清除能力进行比较, 采用相对半数清除量来判定植物蛋白肉的抗氧化能力AO值。

8 试验步骤

8.1 样品制备

8.1.1 待测样品的制备

称取植物蛋白肉样品10.0 mg, 水溶性好的样品采用蒸馏水溶解与定容, 水溶性差的样品先溶于DMSO再用蒸馏水定容, 定容至1.0 mL充分混合均匀, 配制成10.0 mg/mL的母液。用95 %乙醇将母液稀释至不同倍数, 得到不同浓度的测定溶液。待测样品溶液浓度的选择应使其清除率在35 %~65 %, 且线性方程的R>0.9500。

8.1.2 谷胱甘肽溶液

称取L-还原型谷胱甘肽10.0 mg，蒸馏水定容至1.0 mL充分混合均匀，配制成10.0 mg/mL的母液。用95 %乙醇将母液稀释至不同倍数，得到不同浓度的测定溶液。谷胱甘肽溶液浓度的选择应使其清除率在35 %~65 %，且线性方程的R>0.9500。

8.2 测定

8.2.1 对照组

取两支试管，分别按表1的组合添加试剂。

表 1 试剂添加量

溶液名称	1号（A _s ）	2号（A _b ）
ABTS溶液	3.6 mL	3.6 mL
谷胱甘肽溶液	0.4 mL	-
样品溶剂溶液	-	0.4 mL

在1号管中加入3.6 mL ABTS 溶液和0.4 mL谷胱甘肽溶液,作为试验组(A_s);在2号试管中加入3.6 mL ABTS溶液和 0.4 mL样品溶剂溶液，作为空白组(A_b)；分别充分混合均匀后，室温避光反应5 min，于波长734 nm条件下，用紫外分光光度计测定其吸光度值(样品溶剂调零校准)。

8.2.2 样品组

用待测样品溶液代替谷胱甘肽溶液,其他操作同8.2.1。

8.3 实验数据的处理

按式（1）计算：

$$P = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100\%$$
 (1)

式中：

P——清除率；

A_b ——ABTS 溶液与样品溶剂溶液混合液的吸光度；

A_s ——待测溶液与 ABTS 溶液混合液的吸光度；

以待测溶液浓度的自然对数值为横坐标，以清除率为纵坐标，建立待测溶液浓度自然对数值与清除率的线性方程($R \geq 0.9500$)，计算半数清除量 EC_{50} ，按式(2)计算样品的抗氧化能力 AO 值。计算结果以平行测定值的算术平均值表示，保留三位有效数字。

按式（2）计算：

$$AO = \frac{EC_{50}(S)}{EC_{50}(R)} \tag{2}$$

式中：

AO ——抗氧化能力；

$EC_{50}(S)$ ——样品的半数清除量,单位为毫克每升(mg/L)；

$EC_{50}(R)$ ——谷胱甘肽的半数清除量,单位为毫克每升(mg/L)。

计算结果以平行测定值的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下获得的不低于3次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的20 %。