

许先猛,董文宾,卢 军,等. 利用果脯废糖液发酵制备苹果酒及其抗氧化性分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):133-137.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.036

利用果脯废糖液发酵制备苹果酒及其抗氧化性分析

许先猛¹,董文宾¹,卢 军²,景建国³

(1. 运城职业技术学院有机食品工程系,山西运城 044000; 2. 陕西省汉中市食品药品检验所,陕西汉中 723000;
3. 山西泽源食品有限公司,山西运城 044000)

摘要:苹果果脯废糖液富含多种营养物质,含糖量高,可溶性固形物含量在 70% 以上,是苹果酒发酵的理想原料。以苹果果脯废糖液和浓缩苹果汁为原料,发酵制备苹果酒。通过 Plackett-Burman (PB) 和中心组合设计 (CCD),考察发酵液初始 pH 值、糖度、有效 SO₂ 含量、菌种接种量、发酵温度、发酵时间、通气频率等因素对苹果酒乙醇度的影响。结果表明,通过 PB 设计筛选出发酵糖度、菌种接种量、发酵温度为苹果酒发酵主要影响因素,经 CCD 优化确定苹果酒发酵工艺为发酵液初始 pH 值为 4.0、糖度 28°Brix、有效 SO₂ 含量 80 mg/L、菌种接种量 6.0%、发酵温度 27℃、发酵时间 12 d、通气频率为 1 次/d,在此条件下,发酵苹果酒乙醇度为 10.3°。发酵苹果酒含有多种酚类物质,多酚含量为 1.75 mg/L,具有较好的抗氧化性,对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基 (DPPH·)、羟基自由基 (·OH) 和超氧阴离子自由基 (O₂⁻) 都有一定清除能力,清除能力顺序为 DPPH· > ·OH > O₂⁻。当苹果酒浓度分别达到 0.15、0.25、0.35 mL/mL 时,对 DPPH·、·OH 和 O₂⁻ 清除能力超过 50%。

关键词:苹果;果脯废糖液;苹果酒;响应面;多酚;抗氧化

中图分类号:TS262.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)01-0133-04

中国是世界上最大的苹果生产地,产量占世界总产量的 40% 以上^[1]。苹果中含有丰富的膳食纤维、维生素、矿物质、苹果酸、糖、蛋白质和多酚类物质^[2],因此,苹果及其深加工产品广受消费者欢迎。近年来,苹果酒越来越受到人们的关注。苹果酒营养丰富,富含多种酚类物质和有机酸^[3-4],苹果酒对人体健康有很多积极作用^[5],能够调整人体的新陈代谢,具有很强的抗氧化性,同时还具有促进血液循环、软化血管、降低血脂等功效^[6-7],经常饮用有利于人体健康。随着人们生活水平的提高,苹果酒保健功效也越来越被人们认可,苹果酒产业也将有广阔的发展前景。

山西运城是我国苹果种植大市,苹果种植面积 14.82 万 hm²,产量 380 万 t,种植面积占全国的 8.3%,产量占全国的 10%^[8],当地苹果深加工产业也较为发达,苹果果脯深受广大消费者欢迎。运城苹果果脯生产企业十余家,年产生苹果果脯废糖液 8 万 t 左右。由于存在转化糖含量高、颜色太深、pH 值偏低和回收处理工序较为复杂等问题,企业对废糖液采取直接废弃处理,造成巨大的资源浪费和一定的环境污染。苹果果脯废糖液富含多种维生素、矿物质、苹果多酚、水溶性膳食纤维和苹果芳香酯类物质,笔者以企业产生的苹果果脯废糖液和浓缩苹果汁为原料,采用响应面法对苹

果酒生产工艺进行优化,以期提高苹果果脯加工过程中的原辅料利用率,减少环境污染,提高果脯蜜饯类企业经济效益。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 原料 浓缩苹果汁(可溶性固形物含量 68.6%),陕西海升果业有限公司运城分公司;苹果果脯废糖液,山西泽源食品有限公司。

1.1.2 试剂 没食子酸标准品,中国食品药品检定研究院;食品级猪皮明胶,山东淄博宝恩生物科技有限公司;壳聚糖、柠檬酸钠、柠檬酸、焦亚硫酸钠、福林酚、氢氧化钠、酚酞、碳酸钠、1,1-二苯基-2-苦苯肼(DPPH)、无水乙醇、邻二氮菲、邻苯三酚以及其他化学试剂均为分析纯。

1.1.3 仪器 LDZX-50KBS 高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;SW-CJ-2F 型超净工作台,苏州净化设备有限公司;GNP-9160 隔水式电热恒温培养箱,上海精宏实验设备有限公司;TD-45 数显糖度计,杭州汇尔仪器设备有限公司;754 型紫外可见分光光度计,上海菁华科技有限公司;CPA124S 型电子天平,德国 SARTORIUS 公司;微量移液器,芬兰 Dragonmed 公司;RE-52AA 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;HH-Z2 恒温水浴锅,郑州长城科工贸有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 苹果果脯废糖液检测指标 苹果果脯废糖液含糖量较高,高浓度糖液能够抑制微生物生长,但酵母菌和霉菌耐糖性较强,若贮存不当,仍会引起腐败变质,废糖液测定结果显示,苹果果脯废糖液感官特性呈现为黑褐色浓稠状,有苹果香味,有酸涩味,过甜;废糖液可溶性固形物含量为 74.2%;废糖液总糖含量为 62.5%;废糖液黏度(25℃、200 mL 废糖液

收稿日期:2016-08-10

基金项目:山西省教育厅高等学校科技创新项目(编号:20141123);运城职业技术学院院级科研项目(编号:KY2016-8)。

作者简介:许先猛(1984—),男,安徽宿州人,博士,讲师,主要从事功能食品开发研究。E-mail:xuxianmeng@sina.com。

通信作者:董文宾,教授,博士生导师,主要从事食品安全性与新材料制备研究。E-mail:dongwb@sust.edu.cn。

流下时间)为 285 s;废糖液中 SO₂ 含量为 82 mg/L;废糖液中菌落总数为 300 CFU/mL。可见苹果果脯废糖液可以作为辅料发酵制备苹果酒。

1.2.2 苹果酒生产工艺流程及操作要点^[9-12] 苹果酒生产工艺流程如下:

苹果果脯废糖液
↓
浓缩苹果汁→稀释(1:6)→调糖度→调节 SO₂→调节 pH 值→灭菌→接种→发酵→倒罐→澄清(0.5% 明胶溶液和 0.1% 壳聚糖溶液)→灭菌→苹果酒

1.2.2.1 调糖度 果酒生产过程中一般通过补加白砂糖或蜂蜜调整发酵糖度,本研究通过添加苹果果脯废糖液调节糖度。以 1.7 g 糖经发酵生产 1% 乙醇计算^[6],在充分考虑发酵转化率的基础上,初始糖度控制在 20~30°Brix。

1.2.2.2 调节 SO₂ 在果酒生产过程中添加偏重亚硫酸钠可以有效抑制杂菌的生长和繁殖,起到护色作用^[13-14],提高果酒品质稳定性。苹果果脯加工过程中一般会使用偏重亚硫酸钠进行护色,因此,废糖液中也有偏重亚硫酸钠残留。通过添加偏重亚硫酸钠调整果汁中 SO₂ 含量为 40~80 mg/L。

1.2.2.3 调节 pH 值 酵母发酵的最适 pH 值为 4.0 左右^[6,15-16],调整 pH 值为 3.5~4.5。

1.2.2.4 接种 接种笔者筛选的 D7 高产乙醇酵母菌,采用 10% 乙醇选择性富集方法,从苹果皮和苹果果脯废糖液中富集和分离的 185 株菌经过三级筛选选出 D7 高产乙醇酵母菌^[17],接种量为 3%~5%。

1.2.2.5 发酵 控制发酵温度为 20~30℃,发酵时间为 8~12 d,终止发酵。

1.2.2.6 澄清 为了保证酒体的稳定性,采用澄清剂的方法

对酒体进行澄清。取 5 g 食品级猪皮明胶,溶于 100 mL 50℃ 蒸馏水中,制成 5% 明胶溶液;取 1 g 壳聚糖,溶于 100 mL 0.1% 柠檬酸溶液中,加热煮沸至完全溶解,制成 1% 壳聚糖溶液。分别添加 0.5% 明胶溶液和 0.1% 壳聚糖溶液,混合均匀,静置 48 h,倒罐除去沉淀。

1.2.2.7 通气 苹果酒发酵过程中会有大量二氧化碳放出,伴随温度升高、糖度下降、乙醇度和酸度升高等现象,短时间的通气或放气有利于酵母繁殖增长和二氧化碳的放出,保证发酵顺利进行^[18]。为了防止杂菌污染,应减少苹果酒与空气接触时间,通气频率控制为 1~3 d 通气 1 次。

1.2.3 指标测定方法 乙醇度测定采用乙醇蒸馏的方法^[19];糖度通过手持糖度仪测定;酸度采用酸碱滴定的方法测定,以酚酞作为指示剂,用 NaOH 溶液进行滴定,根据消耗的 NaOH 溶液量计算总酸含量。

1.2.4 多酚含量测定 采用 Folin-Ciocalteu 法测定多酚含量^[20],吸取 1 mL 备测苹果酒溶液,用蒸馏水稀释至 10 mL。取 1 mL 稀释液,加到 10 mL 容量瓶中,加入 5.0 mL 10% 福林酚试剂,摇匀后反应 6 min。加入 4.0 mL 7.5% 碳酸钠溶液,用蒸馏水定容,摇匀,常温静置 1 h,待测。

1.2.5 苹果酒发酵因素筛选试验设计 研究发现,苹果酒发酵过程中的影响因素包括发酵液初始 pH 值、糖度、有效 SO₂ 含量、菌种接种量、发酵温度、发酵时间、通气频率^[3-4,10-13]。应用 Design-Expert 软件对苹果酒发酵试验进行 Plackett-Burman(PB)设计,并对发酵的 7 个因素进行筛选,外加 4 个虚拟变量。每个变量分别确定(+)和(-)2 个水平,进行 12 次试验以确定其影响因子,线性模型方程式^[21]为

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i, (i = 1, 2, \dots, k).$$

试验因素水平设计见表 1。

表 1 Plackett-Burman 设计因素水平

水平	X ₁ :pH 值	X ₂ :糖度 (°Brix)	X ₃ :SO ₂ 含量 (mg/L)	X ₄ :接种量 (%)	X ₅ :发酵温度 (℃)	X ₆ :发酵时间 (d)	X ₇ :通气频率 (次/d)	X ₈ 、X ₉ 、X ₁₀ 、X ₁₁ : 虚拟因素
低水平	3.5	20	40	3	20	8	1	-1
高水平	4.5	26	80	5	26	12	3	1

1.2.6 苹果酒发酵优化试验设计 应用 Design-Expert 软件,采用中心组合设计(central composite design,CCD)方法,对 PB 法筛选出的 3 个重要因素(糖度、接种量、发酵温度)进行试验设计,同时固定其他非关键因素^[6,15,17,22]:pH 值 4.0,有效 SO₂ 添加量 80 mg/L,发酵时间 12 d,通气频率 1 次/d。中心组合设计因素水平见表 2。

表 2 中心组合设计因素水平

水平	A:糖度 (°Brix)	B:接种量 (%)	C:发酵温度 (℃)
-1.32	24	3	26
-1	25	4	27
0	26	5	28
1	27	6	29
1.32	28	7	30

1.2.7 苹果酒抗氧化性 采用优化后工艺发酵苹果酒,测定苹果酒中多酚含量,量取定量苹果酒,用蒸馏水稀释至一定倍数,备用。分别测定清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由

基(DPPH·)^[23]、羟基自由基(·OH)^[24]、超氧阴离子(O₂⁻·)的能力^[25]。

2 结果与分析

2.1 Plackett-Burman 试验设计结果

通过苹果酒发酵后乙醇度回归性分析,得到各影响因子的偏回归系数及显著性,PB 试验设计结果见表 3、表 4。

从表 4 可以看出,因素 X₁、X₂、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈ 对苹果酒多乙醇度的影响为正效应,即增大正效应因素的值,苹果酒乙醇度呈增加趋势;因素 X₃、X₉、X₁₀、X₁₁ 对苹果酒乙醇度的影响为负效应,即随着负效应因素的减小,苹果酒乙醇度呈降低趋势。因素 X₂(糖度)、X₄(接种量)、X₅(发酵温度)为主要影响因素,其贡献值分别为 50.86%、17.60%、14.25%,而 4 个虚拟因素对苹果酒乙醇度影响值分别为 0.044%、0.70%、0.18%、0.40%,表明得到的线性回归方程是可用的。以苹果酒乙醇度为响应值得到的线性回归方程为

$$\text{乙醇度} = 8.62 + 0.57X_2 + 0.33X_4 + 0.30X_5.$$

表 3 Plackett – Burman 试验设计结果

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	x_{11}	乙醇度 (°)	酸度 (mg/L)	多酚含量 (mg/L)
1	4.5	26	40	5	26	12	1	-1	-1	1	-1	10.2	5.2	1.71
2	3.5	26	80	3	26	12	3	-1	-1	-1	1	9.3	5.9	1.65
3	4.5	20	80	5	20	12	3	1	-1	-1	-1	8.6	5.5	1.62
4	3.5	26	40	5	26	8	3	1	1	-1	-1	9.8	4.8	1.69
5	3.5	20	80	3	26	12	1	1	1	1	-1	7.8	5.7	1.68
6	3.5	20	40	5	20	12	3	-1	1	1	1	8.3	5.5	1.72
7	4.5	20	40	3	26	8	3	1	-1	1	1	8.2	5.1	1.62
8	4.5	26	40	3	20	12	1	1	1	-1	1	8.8	5.6	1.69
9	4.5	26	80	3	20	8	3	-1	1	1	-1	8.4	4.7	1.74
10	3.5	26	80	5	20	8	1	1	-1	1	1	8.6	5.3	1.79
11	4.5	20	80	5	26	8	1	-1	1	-1	1	8.2	4.4	1.66
12	3.5	20	40	3	20	8	1	-1	-1	-1	-1	7.2	5.8	1.75

表 4 偏回归系数及影响因子的显著性分析

因素	回归系数	标准误差	E (x_1)	贡献值 (%)	是否重要
截距	8.62	0.017			
X_1	0.12	0.017	0.23	2.16	否
X_2	0.57	0.017	1.13	50.86	是
X_3	-0.13	0.017	-0.27	2.82	否
X_4	0.33	0.017	0.67	17.60	是
X_5	0.30	0.017	0.60	14.25	是
X_6	0.22	0.017	0.43	7.44	否
X_7	0.15	0.017	0.30	3.56	否
X_8	0.017	0.017	0.033	0.044	否
X_9	-0.067	0.017	-0.13	0.70	否
X_{10}	-0.033	0.017	-0.067	0.18	否
X_{11}	-0.050	0.017	-0.10	0.40	否

注: E 表示的是影响水平,当 E 为正时,该因素对试验结果为正影响;当 E 为负时,该因素对试验结果为负影响。

从表 5 可以看出,方差分析模型的 P 值为 0.002 0,表明所得回归性方程达到极显著,即该模型在整个研究区域拟合得很好。 $R^2=0.827\ 1$,表明相关性很好;精密度为 10.273,本试验设计合理。

表 5 苹果酒乙醇度回归模型方程的方差分析

类型	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
回归	3	6.27	2.09	12.76	0.002 0
离回归	8	1.31	0.16		
总变异	11	7.58			

2.2 CCD 优化设计结果与响应面分析

通过对糖度、接种量和发酵温度进行中心组合设计 (CCD) (表 6),得到相应的二次方程模型:

$$Y=9.86+0.81A+0.51B-0.37C+0.15AB-0.013AC-0.082BC-0.52A^2-0.95B^2-0.17C^2。$$
 (3)

式中: Y 为响应值,即苹果酒乙醇度; A 、 B 、 C 分别为苹果酒发酵过程中发酵液初始糖度、接种量、发酵温度。

对试验结果进行拟合的二次模型方差分析,分析结果见表 7。 F 值为 6.33, $R^2=0.890\ 5$,回归方程达到显著水平 ($P<0.05$),且失拟项不显著,说明该模型预测值与实际试验值拟合较好,可以利用该回归方程对结果进行分析,对响应值进行预测。

表 6 中心组合设计及结果

试验号	A	B	C	预测苹果酒乙醇度(°)	苹果酒乙醇度(°)
1	-1.00	-1.00	-1.00	7.83	7.8
2	1.00	-1.00	-1.00	9.25	8.8
3	-1.00	1.00	-1.00	8.52	8.4
4	1.00	1.00	-1.00	10.38	10.1
5	-1.00	-1.00	1.00	7.25	7.5
6	1.00	-1.00	-1.00	8.61	8.7
7	-1.00	1.00	1.00	7.68	8.1
8	1.00	1.00	1.00	9.50	9.5
9	-1.32	0.00	0.00	7.90	7.5
10	1.32	0.00	0.00	10.03	10.5
11	0.00	-1.32	0.00	8.40	8.5
12	0.00	1.32	0.00	9.43	9.4
13	0.00	0.00	-1.32	10.05	10.7
14	0.00	0.00	1.32	9.08	8.5
15	0.00	0.00	0.00	9.86	10.1
16	0.00	0.00	0.00	9.86	9.8
17	0.00	0.00	0.00	9.86	9.6

表 7 中心组合设计二次模型方差分析

类型	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	14.87	1.65	6.33	0.011 9
残差	7	1.83	0.26		
失拟性	5	1.70	0.34	5.37	
纯误差	2	0.13	0.063		
总和	16	16.70			

从表 8 可以看出,二次模型中回归系数的显著性检验表明,因素 A (糖度) 对苹果酒发酵乙醇度影响极显著,因素 B (接种量)、因素 C (发酵温度) 对苹果酒发酵乙醇度影响显著; AB 、 AC 、 BC 对乙醇度的交互影响不显著;因素 A^2 、 B^2 对乙醇度的曲面效应显著,因素 C^2 对乙醇度的曲面效应不显著。利用 Design – Expert 8.0 软件在设定的因素水平内对回归方程进行数学规划,得到乙醇度最高的优化组为糖度 27.70°Brix,接种量 5.78%,发酵温度 26.81℃。在此条件下,苹果酒发酵乙醇度预测值为 10.524°。

2.3 验证试验

在苹果酒最佳发酵条件下,即发酵液初始 pH 值为 4.0、

表 8 二次模型回归方程系数显著性检验

模型项	回归系数	标准误差	F 值	P 值
A	0.810	0.15	28.57	0.001 1
B	0.510	0.20	6.72	0.035 8
C	-0.370	0.15	5.88	0.045 8
AB	0.150	0.18	0.39	0.553 2
AC	-0.013	0.24	4.787×10^{-3}	0.946 8
BC	-0.082	0.18	0.12	0.739 5
A ²	-0.520	0.20	6.41	0.039 2
B ²	-0.950	0.35	7.14	0.031 9
C ²	-0.170	0.20	0.70	0.430 5

糖度为 28°Brix、有效 SO₂ 含量为 80 mg/L、菌种接种量为 6.0%、发酵温度为 27℃、发酵时间为 12 d、通气频率为 1 次/d,进行苹果酒发酵验证试验,实测苹果酒发酵结束后乙醇度为 10.3°,与预测值 10.524°较接近,预测精度达 97.87%,证明了 PB 和 CCD 方法连用优化苹果酒发酵条件具备一定的可行性和准确性。

2.4 苹果酒抗氧化性研究

采用优化后工艺发酵苹果酒,量取定量苹果酒,用蒸馏水分别稀释至 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50 mL/mL,分别测定其清除 DPPH·、·OH、O₂·能力,测定结果见图 1。

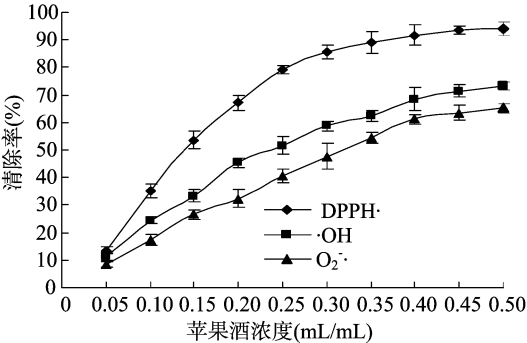


图1 苹果酒抗氧化能力

苹果酒中含有丰富的营养物质和一些功效成分,含有黄酮类和多元酚类物质^[26],对自由基有较强抑制作用^[27]。测定结果显示,苹果酒中多酚含量为 1.75 mg/L。苹果酒中天然抗氧化因子具有一定抗氧化能力,而苹果酒对 DPPH·、·OH、O₂·清除能力不同,清除能力顺序为 DPPH· > ·OH > O₂·。当苹果酒浓度分别达到 0.15、0.25、0.35 mL/mL 时,对 DPPH·、·OH、O₂·的清除能力超过 50%。

3 讨论与结论

苹果果脯废糖液含糖量较高,可溶性固形物含量在 70% 以上,同时富含多种天然维生素、矿物质、多酚类物质、水溶性膳食纤维和苹果芳香酯类物质等成分,是发酵制备苹果酒的理想原料。以苹果果脯废糖液作为苹果酒生产的主要原料,能降低苹果酒生产成本,增加苹果果脯生产企业的经济效益,同时避免废糖液对环境造成污染。

苹果果脯废糖液颜色较深,纪阳等采用活性炭+大孔树脂混合恒温浸渍方式联合脱色剂对无花果果脯蜜饯褐变糖液脱色^[28],高振鹏等采用活性炭吸附法对猕猴桃果脯废糖液进行脱色,处理效果较为理想^[29]。作为苹果酒发酵原料,本研

究未进行脱色处理,生产出的苹果酒呈现黄色色泽,产品感官品质良好。

通过 PB 设计,对苹果酒发酵的 7 个因素进行筛选,包括发酵液初始 pH 值、糖度、有效 SO₂ 含量、菌种接种量、发酵温度、发酵时间、通气频率,并确定发酵糖度、菌种接种量、发酵温度 3 个因素为主要影响因素,且这 3 个因素对苹果酒乙醇度影响能力依次降低。卫春会等经过工艺优化,证明苹果酒发酵影响因素排序为发酵糖度 > 接种量 > 发酵时间^[6],范兆军研究表明,苹果酒发酵影响因素排序为起始糖度 > 发酵温度 > 接种量 > SO₂ 添加量^[22],上述结论与本研究结果基本相同。通过 CCD 优化设计,优化得到苹果酒发酵条件为发酵液初始 pH 值 4.0、糖度 28°Brix、有效 SO₂ 含量 80 mg/L、菌种接种量 6.0%、发酵温度 27℃、发酵时间 12 d、通气频率 1 次/d,发酵苹果酒乙醇度为 10.3°,确定苹果酒二次方程模型为 $Y=9.86+0.81A+0.51B-0.37C+0.15AB-0.013AC-0.082BC-0.52A^2-0.95B^2-0.17C^2$ 。

苹果酒中含有多种酚类物质,具有一定的抗氧化性^[30]。在苹果酒发酵过程中,多酚物质作为一种代谢产物,参与苹果酒香气形成,抑制微生物生长,同时还参与苹果酒储藏过程中沉淀物的形成^[31]。本试验结果表明,以苹果果脯废糖液和浓缩苹果汁为原料的发酵苹果酒中苹果多酚含量 1.75 mg/L,苹果酒对 DPPH·、·OH 和 O₂·有一定的清除能力,具备抗氧化性。

参考文献:

[1] 靳学远,秦霞,何晓文. 苹果渣多酚微波辅助提取工艺研究[J]. 中国食物与营养,2006(7):35-37.
[2] 许先猛,董文宾,孙皎皎. 猪皮胶原多肽用于苹果涂膜保鲜的作用研究[J]. 食品科技,2015,40(6):32-37.
[3] 宋静,夏玲玲,张玉刚,等. 苹果酒发酵工艺对比研究[J]. 中国酿造,2014,33(4):71-74.
[4] Ronan R, Sylvie C, Corinne P, et al. Prediction of sensory characteristics of cider according to their biochemical composition; use of a central composite design and external validation by cider professionals[J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 61: 63-69.
[5] Richards E, Fearon A M. The product and its manufacture [M]// Caballero B, Trugo L, Finglas P. Encyclopedia of food and health. New York: Academic Press, 2016: 119-128.
[6] 卫春会,黄治国,罗惠波,等. 干型苹果酒发酵工艺条件的优化[J]. 现代食品科技,2013,29(2):367-371.
[7] 张晓敏,李擎,王耀,等. 苹果酒酿造工艺及成分研究进展[J]. 农产品加工:上半月,2015(7):68-70,72.
[8] 王秋萍. 山西运城苹果上规模见效益[J]. 中国果业信息,2015, 32(7):39.
[9] 王周利,伍小红,岳田利,等. 苹果酒超滤澄清工艺的响应面法优化[J]. 农业机械学报,2014,45(1):209-213,221.
[10] 张珊珊. 苹果酒的开发研究[D]. 大连:大连工业大学,2015: 23-40.
[11] Han Y T, Dong F S, Xu J, et al. Residue change of pyridaben in apple samples during apple cider processing[J]. Food Control, 2014, 37: 240-244.
[12] 李杏,孟岳成,陈杰,等. 发酵型苹果醋饮料的开发及其感官评价[J]. 中国调味品,2012,37(6):76-81,88.

龙良鲲,寒子纯,林群英,等. 黄芪药渣中多糖的酶法制备及其抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):137-140.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.037

黄芪药渣中多糖的酶法制备及其抗氧化活性

龙良鲲¹, 寒子纯¹, 林群英², 秦秀雯¹, 赵浩源¹, 丁少军¹

(1. 南京林业大学化学工程学院, 江苏南京 210037; 2. 南京野生植物综合利用研究院, 江苏南京 210042)

摘要:通过固态发酵里氏木霉制备纤维素酶液,其中滤纸酶、 β -葡萄糖苷酶、内切型纤维素酶和木聚糖酶的活性分别达 2.02、1.99、167.00、53.90 U/mL。继续以纤维素酶水解黄芪药渣制备其中的多糖物质。经单因素试验和正交优化试验得出,酶法制备黄芪多糖的最佳工艺条件为纤维素酶用量 4 U/g、酶解温度 45 ℃、酶解时间 4 h。采用酶解提取法可以从黄芪药渣中获得 44.6 mg/g 多糖,而未经酶处理对照组的多糖提取量仅为 2.9 mg/g。可见,纤维素酶的处理能够明显提高黄芪多糖的提取效率。抗氧化测定结果表明,酶法制备的黄芪多糖能够明显降低百草枯对秀丽线虫的氧化损伤。

关键词:黄芪药渣;纤维素酶;黄芪多糖;正交试验;抗氧化

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0137-04

黄芪属豆科植物,分为蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus*

(Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao] 和膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.], 以干燥根入药^[1]。黄芪的主要药用成分为黄芪多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄酮等^[2]。黄芪多糖 (*Astragalus polysaccharides*, APS) 可作为免疫增强剂或调节剂,促进抗体形成,同时还有抗病毒、抗肿瘤、抗衰老、抗应激、抗氧化和降脂等功效^[3-5]。工业上多采用水提醇沉法提取黄芪多糖,其工艺简单易操作,但提取率较低(在 3.80% ~ 9.78% 之间)^[6-8]。黄芪经水提法制备多糖后形成的药渣中仍含有多糖等活性物质,这些物质被纤维素等聚合物限制而不易溶出^[9-10]。纤维素酶是可降解纤维素高聚物的一组酶系,在制备多糖等药用活性物质方面

收稿日期:2016-07-29

基金项目:江苏省高校自然科学基金(编号:15KJB220003);高等学校博士学科点专项基金新教师类专项基金(编号:20133204120007);南京林业大学高学历人才基金(编号:GX1201311)。

作者简介:龙良鲲(1978—),男,湖北宜昌人,博士,副研究员,主要从事微生物基因工程研究。Tel: (025) 85427543; E-mail: longlk602@njfu.edu.cn。

通信作者:丁少军,博士,教授,主要从事酶与生物技术研究。Tel: (025) 85427939; E-mail: dshaojun@hotmail.com。

[13] 王春燕,蔡志宁,董华强. 芒果酒酿造工艺的研究[J]. 酿酒, 2003, 30(3): 88-90.

[14] 李善雄. 芒果酒酿造工艺改进研究[J]. 酿酒, 2009, 36(5): 79-80.

[15] 朱 劼,李尔场. 苹果酒酿造工艺研究[J]. 江苏工业学院学报, 2007, 19(4): 17-20.

[16] 赵志华,岳田丽. 苹果酒发酵条件优化及模型的建立研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(3): 103-106.

[17] 成少宁,许先猛,马 欣,等. 果脯加工废糖液酒精发酵中酵母菌的分离,筛选和验证[J]. 食品与发酵科技, 2016, 51(1): 6-10.

[18] 杨 辉,张智维. 苹果酒发酵条件的研究[J]. 酿酒, 2004, 31(5): 72-74.

[19] 葡萄酒、果酒通用分析方法: GB/T 15038—2006[S].

[20] Kerio L C, Wachira F N, Wanyoko J K, et al. Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from purple leaf coloured tea cultivars[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3/4): 1405-1413.

[21] Plackett R L, Buman J P. The design of optimum multifactorial experiments[J]. Biometrika, 1946, 33(4): 305-325.

[22] 范兆军. 苹果酒主发酵工艺研究[J]. 酿酒, 2015, 42(3): 84-86.

[23] 彭 琼,陈丛瑾. 桑叶不同溶剂提取物对 DPPH 自由基的清除

作用[J]. 光谱实验室, 2008, 25(3): 307-309.

[24] 王临宾,马倩倩,徐怀德,等. 超声波辅助提取苹果叶多酚及其抗氧化性研究[J]. 西北农业学报, 2010, 19(8): 126-131.

[25] 许先猛,董文宾,张增帅,等. 苹果渣多酚大孔树脂分离及抗氧化性研究[J]. 中国食品添加剂, 2014, 141(1): 140-146.

[26] Alberti A, dos Santos T P M, Zielinski A A F, et al. Impact on chemical profile in apple juice and cider made from unripe, ripe and senescent dessert varieties [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 65: 436-443.

[27] 王思嫒. 苹果酒酿造工艺研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2015: 18-25.

[28] 纪 阳,刘晓庚,徐征宇,等. 无花果果脯生产中褐变糖液的脱色实验[J]. 食品工业科技, 2016, 37(10): 283-288.

[29] 高振鹏,岳田利,袁亚宏,等. 果脯加工废糖液发酵猕猴桃酒的工艺研究[J]. 农产品加工·学刊, 2007, 94(3): 58-60.

[30] Lu Y R, Foo L Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. Food Chemistry, 2000, 68(1): 81-85.

[31] Alonso - Salces R M, Guyot S, Herrero C, et al. Chemometric characterisation of Basque and French ciders according to their polyphenolic profiles[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004, 379(3): 464-475.