

李 希,肖露露,马永昆,等. 低产乙醇酵母的筛选及其在桑椹酒中的应用[J]. 江苏农业科学,2018,46(16):154-158.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.039

# 低产乙醇酵母的筛选及其在桑椹酒中的应用

李 希<sup>1</sup>,肖露露<sup>1</sup>,马永昆<sup>1,2</sup>,吴 梦<sup>1</sup>,Tchabo William<sup>1</sup>,Kwaw Emmanuel<sup>1</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江 212013; 2. 镇江市果圣源食品科技有限公司,江苏镇江 212000)

**摘要:**为获得适合发酵低醇桑椹酒的酵母,在桑椹自然发酵液中和实验室保存的用于奶酪发酵的复合菌种中进行分离纯化,得到产乙醇能力低的 4 株菌株 D1、Z5、Z8、Z9 并鉴定,通过将其用于发酵桑椹酒,综合评价各菌株发酵桑椹酒的品质。结果表明,菌株 D1、Z5 分别为乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)、葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*),Z8、Z9 归为发酵毕赤酵母(*Pichia fermentans*),D1、Z5、Z8 发酵低醇桑椹酒的乙醇度分别为 3.22%、2.87%、3.52%,均符合低醇要求,其中 Z5 发酵酒颜色较好,但口感寡淡,Z8 发酵酒总黄酮含量较高,但果香较弱,口感酸苦,而 D1 发酵酒具有较高含量的总多酚,香气成分种类丰富,果香、醇香平衡,口感柔和爽口,较其他酵母来说更适合发酵生产桑椹酒。

**关键词:**酵母;低醇;筛选;桑椹酒

**中图分类号:**TS261.1<sup>+</sup>1;TS262.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)16-0154-04

桑椹(*Fructus Mori*)为桑科桑属多年生木本植物桑树的果实。我国种桑养蚕有五千多年的历史,是中华民族农业文明中重要且最具影响力的标志之一。随着我国养生健康战略的实施及人们对桑椹营养功能价值认识的加深,由几千年来单一的“种桑养蚕”向“栽桑养生”转变发展已成为必然趋势。据《本草纲目》等医学典籍记载,桑椹有“固气益肾、乌发明目、安神、解酒毒”等功效<sup>[1]</sup>,已被我国卫生部列入“既是食品又是药品”的名单<sup>[2]</sup>。相关研究表明,桑椹含活性多糖、花青素等,具有清除自由基、增强免疫力等作用<sup>[3-4]</sup>。

随着生活水平的提高,现代人们更加追求营养和健康养生,低醇酒和无醇酒很可能是将来的发展方向。GB/T 15037—2006《葡萄酒》中定义低醇葡萄酒的乙醇度为 1%~7%(体积分数),但没有关于低醇果酒的具体标准。目前生产低醇果酒的方法主要分为生物法和物理脱醇法。商业化的物理脱醇方法主要为反渗透法<sup>[5]</sup>和渗透蒸发法<sup>[6]</sup>,但是最终酒中营养物质和香气成分含量较少,且成本高<sup>[7]</sup>。用生物法包括限制发酵法、特殊酵母如非酿酒酵母<sup>[8-9]</sup>和基因工程菌株<sup>[10]</sup>等方法来控制乙醇的产生,成本低,更具竞争力。

目前用于发酵果酒的酵母绝大部分是商用葡萄酒酵母,虽然活性高、发酵快,但不一定适合桑椹酒。本研究拟通过筛选低产乙醇酵母来制备低醇桑椹酒,在桑椹自然发酵液和菌种公司推荐的用于奶酪生产的复合菌种中进行分离纯化,结合 18S rDNA 序列分析和系统发育树的构建以鉴定菌株,并发酵桑椹汁酿造低醇桑椹酒,分析其花青素、多酚、黄酮等活性成分、香气成分,结合感官评价筛选出更加适合发酵低醇桑

椹酒的酵母,旨在为生产低醇果酒提供优良酵母。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

桑椹品种为镇椹 1 号,采自位于镇江江心洲的镇江桑树圃。培养基为孟加拉红(虎红)培养基、酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YPD),购自杭州微生物试剂有限公司。酿酒活性干酵母,购自安琪酵母股份有限公司,编号为 AQ1。

### 1.2 菌株的筛选及鉴定

**1.2.1 菌株的筛选** 用无菌铲将桑椹果实捣碎后放入装有灭菌 YPD 培养基的锥形瓶内,于 28℃ 发酵 1 周,在含有氯霉素的孟加拉红培养基平板上稀释涂布,倒置后于 28℃ 培养 2 d。挑取具有酵母菌菌落形态特征的单个菌落,在 YPD 琼脂培养基上划线分离纯化直至镜检为纯种并编号,然后划线在 YPD 试管斜面上,于 4℃ 冰箱保存,每 3 个月转接 1 次。实验室保存的用于奶酪发酵的复合菌种,其分离方法同上,并编号。

将菌株接到装有杜氏小管的 YPD 液体培养基中,于 28℃ 培养,观察并记录菌株的产气情况。将具有产气现象的菌株接到桑椹汁(总糖含量为 140 g/L,加入浓度为 120 mg/L 的偏重亚硫酸钾)中,于 25℃ 发酵 1 周,离心后测定乙醇度(体积分数,下同)并闻香。

### 1.2.2 菌株的鉴定

**1.2.2.1 形态学鉴定** 将菌株在 YPD 固体培养基上于 28℃ 培养,待长出明显菌落后观察其菌落特征,通过显微镜观察其细胞形态。

**1.2.2.2 分子生物学鉴定** 采用冻融法提取 DNA,以菌悬液为反应底物扩增 18S rDNA 进行菌种鉴定,所用的正反引物为 ITS1/ITS4,其序列分别为 5'-TCCGTAGCTGAACCTGCG-3'、5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。首先挑取 1 个单一菌落接于 1 mL 无菌水中并打匀制成菌悬液。25 μL PCR 反应体系:8.5 μL 超纯水,各 1 μL 正反向引物,12.5 μL PCR

收稿日期:2017-03-01

基金项目:江苏高校优势学科建设工程(PAPD)。

作者简介:李 希(1990—),女,河北保定人,硕士研究生,主要从事食品发酵及食品风味研究。E-mail:18704490462@163.com。

通信作者:马永昆,博士,教授,博士生导师,主要从事食品风味化学、食品发酵工程及食品非热力加工研究。E-mail:mayongkun@ujs.edu.cn。

Supermix,2 μL 待测菌悬液。PCR 扩增体系:95 ℃ 10 min;95 ℃ 50 s,56 ℃ 50 s,72 ℃ 30 s,35 个循环;72 ℃ 10 min。

采用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增的 DNA 片段,检测后将扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司完成测序。利用 Bioedit 对序列测定结果进行分析,并在美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站上提交序列进行分析,用 Clustal W 软件进行序列比对,并用软件 Mega 5.1 进行系统发育树构建。

1.3 低醇桑椹酒的制备

将菌株及活性酵母接到桑椹汁(总糖含量为 140 g/L,加入浓度为 120 mg/L 的偏重亚硫酸钾)中,于 25 ℃ 发酵 1 周后过滤进行 18 ℃ 后酵 1 周,然后过滤杀菌,测定其理化指标、挥发性香气成分,并进行感官评定。

1.3.1 理化指标测定 乙醇度、总糖含量(以葡萄糖计)、总酸含量(以苹果酸计)的测定参照 GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》;总花青素含量的测定采用 pH 示差法<sup>[11]</sup>;总多酚含量的测定采用福林酚比色法<sup>[12]</sup>;总黄酮含量的测定采用紫外分光光度计法<sup>[13]</sup>。

1.3.2 桑椹酒香气测定 桑椹酒香气萃取方法:取 5 mL 样品,加入 15 mL 顶空瓶中,同时添加 1.0 g NaCl 和适量内标物正丙醇,放入圆柱形磁力搅拌子,盖紧带内垫的瓶盖,于 40 ℃ 加热平衡 10 min,然后将萃取针头插入顶空瓶中,使之与液面保持 1.0 ~ 1.5 cm 距离,萃取 30 min,磁力搅拌速度为 800 r/min。

气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometer,简称 GC-MS)参数条件:(1)色谱条件。色谱柱 DB-WAX 柱(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm),萃取头解析 5 min,进样口温度为 250 ℃,载气(He)流量为 1.0 mL/min,不分流进样。程序升温:50 ℃ 保持 2 min,以 6 ℃/min 升至 150 ℃,保持 2 min,以 8 ℃/min 升至 220 ℃,保持 7 min。质谱条件:5973 型四极杆质谱仪,接口温度为 250 ℃,电子轰击(EI)离子源,电子能量为 70 eV,电子倍增器电压为 1 353 V,离子源温度为 230 ℃,四极杆温度为 150 ℃,质量扫描范围为 33 ~ 450 amu。

(2)定性分析。数据收集采取谱库检索法,用 HP 化学工作站软件对照 NIST98 库进行对比,成分先由谱库初步鉴定,对正反匹配度大于 800 的物质予以确认,再结合相关参考文献进行定性<sup>[14]</sup>。

1.3.3 桑椹酒感官评价方法 以 GB/T 10220—2012《感官分析 方法学 总论》和 GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》为依据,参考袁小单的方法<sup>[15]</sup>制定低醇桑椹酒感官评价标准,详见表 1。由 10 名具有相关经验的人员对桑

椹酒的外观、香气、口感、总体接受程度进行等级感官评定,1 分表示非常不喜欢;2 分表示不喜欢;3 分表示既喜欢也不喜欢;4 分表示喜欢;5 分表示非常喜欢。根据各项得分计算总得分,求取平均值作为相应得分。

表 1 桑椹酒感官评价要求

项目	要求
外观	深紫红色、有光泽,澄清透明
香气	果香与发酵香纯正、和谐
口感	舒服、爽口、口感协调

1.4 数据处理与分析

采用 SPSS 17.0、Origin 9.0 进行数据分析及作图。

2 结果与分析

2.1 菌株的筛选

从桑椹自然发酵液中筛选出具有酵母菌落特征和细胞特征的菌株 22 株,编号为 Z1 ~ Z22,从复合奶酪菌种中分离得到 3 株菌株,编号为 D1、D2、D3,共计 25 株,其中不发酵的菌株 3 株,剩下的 22 株菌株的乙醇度及闻香评分结果见表 2。可以看出,乙醇度在 1% ~ 7% 之间的菌株有 10 株,即为符合筛选目标的菌株,通过闻香打分,淘汰掉得分低于 70 分的菌株,筛选出 4 株得分较高的菌株进行鉴定,其编号分别为 Z5、Z8、Z9、D1。

表 2 不同菌株的乙醇度及闻香评分结果

乙醇度(%)	菌株数(株)	菌株编号	闻香评分(分)
>7	8	—	—
<1	4	—	—
[1,7]	6	—	<70.00
	4	Z5	75.20
		Z8	74.60
		Z9	79.60
		D1	86.20

注:不作主要研究的菌株编号及评分以“—”表示。

2.2 菌株的鉴定

对筛选出来的 4 株菌株进行鉴定,结果显示,菌株 D1 的菌落特征为边缘整齐、奶油状、光滑凸起、灰白色,在显微镜下呈卵圆形,出芽生殖,Z5 菌落为白色,呈奶油状光滑,Z8 和 Z9 菌落干燥,边缘不整齐,呈现灰白色。相关菌株的 DNA 序列比对结果见表 3,系统发育树见图 1。根据亲缘关系的远近,分别可将菌株 D1、Z5 归为乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)、葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*),将 Z8、Z9 归为发酵毕赤酵母(*Pichia fermentans*)。

表 3 菌株的鉴定结果

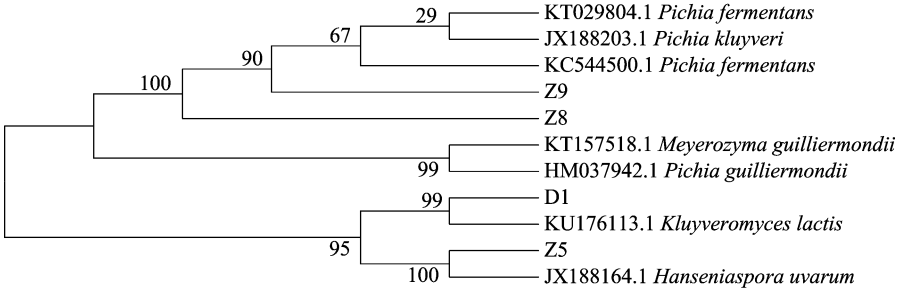
菌株编号	序列长度(bp)	鉴定结果	相似性(%)	参考菌株
D1	689	乳酸克鲁维酵母( <i>Kluyveromyces lactis</i> )	99	U176113.1
Z5	723	葡萄汁有孢汉逊酵母( <i>Hanseniaspora uvarum</i> )	99	JX188164.1
Z8	418	发酵毕赤酵母( <i>Pichia fermentans</i> )	99	KC544500.1
Z9	416	发酵毕赤酵母( <i>Pichia fermentans</i> )	99	KT029804.1

2.3 不同酵母发酵低醇桑椹汁的基本指标检测及分析

桑椹含有丰富的花青素、多酚、黄酮类物质等活性成分,具有抗氧化等功能<sup>[16]</sup>,而在桑椹发酵的过程中,其活性成分

如花青素含量会由于光、温度、金属离子、pH 值等因素而降低,使其功效受到一定的影响<sup>[17-18]</sup>。

由表 4 可知,4 种桑椹酒的乙醇度存在显著差异,其中 Z5



*Pichia kluyveri*—克鲁维毕赤酵母; *Pichia guilliermondii*—季也蒙毕赤酵母

图1 菌株的系统发育树

产乙醇量最低,为 2.87%,AQ1 发酵酒的乙醇度显著高于其他酵母。对于活性成分含量来说,AQ1 发酵酒的花青素含量最高,可能是由于花青素易溶于乙醇;Z8 发酵酒的花青素含量最低。D1 发酵酒的总多酚含量最高,为 1.768 2 mg/mL,与 Z5、Z8、AQ1 发酵酒间总多酚含量具有显著差异,不同酵母发酵的桑椹酒多酚含量存在一定差异,一方面是由不同酵母对

酚类物质的吸附作用不同引起的<sup>[19]</sup>,另一方面是由发酵过程中各种多酚不同程度的氧化、水解、聚合而引起的<sup>[20]</sup>。D1 发酵的桑椹酒总黄酮含量与 Z5 发酵酒的总黄酮含量相比其他酵母发酵的桑椹酒总黄酮含量差异显著,可能与不同酵母在发酵代谢过程中黄酮类物质自身含有的酚羟基和羰基的氧化、聚合作用程度不同有关<sup>[21]</sup>。

表 4 不同酵母发酵桑椹酒的指标测定结果

菌种	乙醇度 (%)	总糖含量 (g/L)	总酸含量 (g/L)	总花青素含量 (mg/mL)	总多酚含量 (mg/mL)	总黄酮含量 (mg/mL)
D1	3.22 ± 0.05c	81.95 ± 0.71b	5.36 ± 0.04b	0.223 9 ± 0.010 4b	1.768 2 ± 0.022 1a	1.341 3 ± 0.020 3a
Z5	2.87 ± 0.13d	89.99 ± 0.81a	5.65 ± 0.06a	0.292 3 ± 0.009 4a	1.661 8 ± 0.025 8b	1.402 7 ± 0.010 0a
Z8	3.52 ± 0.06b	77.66 ± 0.84c	5.29 ± 0.08b	0.151 6 ± 0.015 1c	1.640 9 ± 0.018 3b	1.223 8 ± 0.010 7b
AQ1	7.01 ± 0.13a	17.38 ± 0.41d	5.75 ± 0.08a	0.328 9 ± 0.039 1a	1.531 8 ± 0.007 4c	1.024 3 ± 0.039 3c

注:同列数据后标有不同小写字母者表示组间差异显著( $P < 0.05$ )。表 6 同。

2.4 不同酵母发酵桑椹酒的挥发性香气成分分析

果酒的香气是评价果酒品质的重要指标,Lema 等研究发现,酵母菌是影响葡萄酒香气成分的重要因素<sup>[22]</sup>。由表 5 可知,从 4 种菌株发酵的桑椹酒中共检出 49 种主要香气物质,包括 11 种醇类、26 种酯类、7 种酸类、2 种酮类、3 种醛类,其中含量较高的香气成分是异戊醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯,这与孙玉霞等采用葡萄酒活性干酵母发酵所得桑椹酒的主要挥发性香气成分大部分相同<sup>[23]</sup>,但是低醇酒香气成分的酯类物质乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯含量要高于醇类物质异戊醇、苯乙醇,这一点与普通酵母发酵桑椹酒相反。

不同酵母发酵的桑椹酒间挥发性物质种类、含量存在一定差异,由表 5 可知,D1 发酵酒中检出的醇类物质最丰富,为 11 种,但 AQ1 发酵酒中的醇类含量明显高于其他酵母,其中含量相对较高的醇类有异戊醇、苯乙醇等。异戊醇属于高级醇,是由酵母分解异亮氨酸生成的,具有苦杏仁味、涩味<sup>[24]</sup>,在 AQ1 发酵酒中含量最高,其次是在 D1 发酵酒中。4 种酵母发酵的桑椹酒中产生的酯类物质种类分别为 22、10、16、15 种,在 D1 发酵酒中最丰富,在 Z5 发酵酒中最少,其中乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯含量相对较高,对桑椹酒香气贡献较大,在 AQ1 发酵酒中酯类含量最低。D1 发酵酒中独有的异戊酸乙酯、乙酸苯甲酯以及高含量的苯乙酸乙酯等具有愉快的甜香、蜜香、香蕉香<sup>[25]</sup>。乙酸苯乙酯具有舒适的蜜香、花香<sup>[25]</sup>,在 Z8 发酵酒中含量最高,与正丙醇含量的比值为 28.81,其次是在 D1 发酵酒中,与正丙醇含量的比值为 21.59。乙酸是 4 种桑椹酒中共有的酸类,可赋予酒醋酸味。在 Z8 发酵酒中检测到具有腐败味、不愉快的脂肪味<sup>[26]</sup>的异

表 5 不同酵母发酵桑椹酒的主要香气成分

序号	化合物名称	与内标物含量的比值			
		D1	Z5	Z8	AQ1
	醇类物质	4.24	6.83	4.50	15.65
1	异丁醇	0.41	0.15	0.25	0.87
2	异戊醇	2.48	2.40	1.50	10.25
3	1-辛烯-3-醇	0.06	—	—	—
4	正己醇	0.03	0.05	—	0.10
5	2-乙基己醇	0.22	0.34	0.05	0.10
6	芳樟醇	0.10	0.09	0.10	—
7	1-辛醇	0.04	0.10	0.03	0.09
8	4-萜烯醇	0.10	0.10	0.08	0.12
9	1,9-壬二醇	0.05	—	0.03	0.05
10	香茅醇	0.05	—	—	0.02
11	苯乙醇	0.70	3.60	2.46	4.05
	酯类物质	35.02	17.77	48.09	15.15
12	乙酸甲酯	0.31	0.50	0.21	—
13	乙酸乙酯	8.27	11.65	6.16	5.51
14	丙酸乙酯	0.26	0.16	0.05	0.02
15	异丁酸乙酯	0.11	—	—	0.06
16	乙酸丙酯	0.10	0.05	—	0.06
17	乙酸异丁酯	0.10	—	0.47	0.04
18	丁酸乙酯	0.15	0.01	—	0.12
19	异戊酸乙酯	0.09	—	—	—
20	乙酸丁酯	—	—	0.03	—
21	乙酸异戊酯	2.80	0.99	10.84	1.59
22	戊酸乙酯	0.03	—	—	0.04
23	正己酸乙酯	0.10	—	—	3.21

续表 5

序号	化合物名称	与内标物含量的比值			
		D1	Z5	Z8	AQ1
24	乙酸己酯	—	—	0.05	—
25	醋酸异辛脂	—	—	0.02	—
26	辛酸乙酯	0.05	—	0.08	0.06
27	壬酸乙酯	0.09	—	—	—
28	癸酸乙酯	0.08	0.08	0.56	0.45
29	丁二酸二乙酯	0.03	—	—	—
30	苯甲酸乙酯	0.15	0.16	0.19	0.05
31	乙酸苯甲酯	0.03	—	—	—
32	苯乙酸乙酯	0.11	0.06	0.10	0.08
33	乙酸苯乙酯	21.59	4.11	28.81	3.78
34	己酸-2-苯乙酯	0.15	—	0.32	—
35	丙酸苯乙酯	0.39	—	0.14	—
36	异戊酸苯乙酯	—	—	—	0.08
37	棕榈酸乙酯	0.03	—	0.06	—
酸类物质		0.43	2.01	1.48	1.36
38	乙酸	0.35	2.01	0.76	0.49
39	异丁酸	0.04	—	—	—
40	异戊酸	—	—	0.07	—
41	2-甲基己酸	0.04	—	—	0.02
42	辛酸	—	—	0.23	0.85
43	壬酸	—	—	0.16	—
44	癸酸	—	—	0.26	—
酮类物质		—	0.18	0.03	0.11
45	3-羟基-2-丁酮	—	0.10	0.03	—
46	大马士酮	—	0.08	—	0.11
醛类物质		0.04	—	0.10	0.21
47	乙醛	—	—	—	0.12
48	壬醛	0.02	—	0.05	0.09
49	癸醛	0.02	—	0.05	—

注:“—”表示未检测到该香气成分。

戊酸、辛酸、癸酸,给果酒带来不愉快的气味。除此之外,在 D1、Z8、AQ1 发酵酒中检出醛类物质,少量的壬醛、癸醛会使果酒具有柑橘香和甜橙香。但在 AQ1 发酵酒中检测出乙醛,会给果酒带来刺激气味<sup>[25]</sup>。

## 2.5 不同酵母发酵桑椹酒的感官评定结果

由表 6 可知,D1、Z5、AQ1 发酵的桑椹酒外观易被接受和喜欢,三者之间无显著差异,但三者与 Z8 发酵酒存在显著差异,Z8 发酵酒颜色欠佳可能与其发酵过程中总花青素损耗较大有关;对于香气来说,D1 发酵酒与 Z5、Z8、AQ1 发酵酒存在显著差异,D1 发酵酒的果香、醇香平衡,Z8 发酵酒的整体花香突出,但是果香弱,这可能与其香气中酯类物质如乙酸苯乙酯、乙酸异戊酯含量较高有关,AQ1 发酵酒由于乙醇含量高而使整体醇香浓,果香较淡;在口感方面,D1 发酵酒口感柔和爽口,AQ1 发酵酒醇感突出、平淡,Z8 发酵酒口感酸苦。总体来说,D1 菌株更适合用于发酵低醇桑椹酒。

## 3 结论

从桑椹自然发酵液和奶酪复合菌种中进行分离得到产乙醇能力较低的 4 株菌株 D1、Z5、Z8、Z9,经过 18S rDNA 序列同源性分析和系统发育树的构建,判断菌株 D1、Z5 分别为 *Kluyveromyces lactis*、*Hanseniaspora uvarum*,Z8、Z9 为 *Pichia*

表 6 不同酵母发酵桑椹酒的感官评价结果 分

菌株	外观	香气	口感	总体接受程度
D1	4.30 ± 0.82a	3.90 ± 0.32a	4.40 ± 0.52a	4.20 ± 0.79a
Z5	4.60 ± 0.52a	3.10 ± 0.32b	2.80 ± 0.42c	3.20 ± 0.42c
Z8	3.50 ± 0.53b	3.40 ± 0.52b	3.00 ± 0.47c	3.50 ± 0.53bc
AQ1	4.60 ± 0.52a	3.30 ± 0.48b	3.90 ± 0.42b	4.00 ± 0.67ab

*fermentans*。通过测定各菌株发酵桑椹酒的各项指标、香气成分及感官评价,表明不同酵母发酵的桑椹酒品质存在一定差异,其中 D1 发酵酒较其他酵母发酵酒具有较高含量的总多酚、总黄酮等活性成分,香气成分种类丰富,醇类、酯类对香气的贡献较大。感官评价分析表明,D1 发酵酒果香、醇香平衡,口感柔和爽口,较其他酵母来说更适合用于发酵桑椹酒。

## 参考文献:

- [1] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京:人民卫生出版社,1982;2066-2067.
- [2] 徐怀德. 药食同源新食品加工[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [3] Chen Y, Zhang W J, Zhao T, et al. Adsorption properties of macroporous adsorbent resins for separation of anthocyanins from mulberry[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 712-722.
- [4] Liang L H, Wu X Y, Zhu M M, et al. Chemical composition, nutritional value, and antioxidant activities of eight mulberry cultivars from China[J]. Pharmacognosy Magazine, 2012, 8(31): 215-224.
- [5] Meillon S, Viala D, Medel M, et al. Impact of partial alcohol reduction in Syrah wine on perceived complexity and temporality of sensations and link with preference[J]. Food Quality & Preference, 2010, 21(7): 732-740.
- [6] Takács L, Vatai G, Korúny K. Production of alcohol free wine by pervaporation[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(1): 118-125.
- [7] López M, Alvarez S, And F A R, et al. Production of low alcohol content apple cider by reverse osmosis[J]. Indengchemres, 2002, 41(25): 6600-6606.
- [8] Contreras A, Hidalgo C, Schmidt S, et al. The application of non-Saccharomyces yeast in fermentations with limited aeration as a strategy for the production of wine with reduced alcohol content[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 205: 7-15.
- [9] Ciani M, Morales P, Comitini F, et al. Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7(124): 642.
- [10] Varela C, Kutyna D R, Solomon M R, et al. Evaluation of gene modification strategies for the development of low-alcohol-wine yeasts[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2012, 78(17): 6068.
- [11] Giusti M M, Wrolstad R E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy[M]. Hoboken: John Wiley & Sons Inc. 2001: 63-69.
- [12] Gil M I, Tomás-Barberán F A, Hess-Pierce B, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2000, 48(10): 4581-4589.
- [13] 张霁红, 张永茂, 黄玉龙, 等. 苹果醋清除 DPPH 自由基活性成分的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 46(5): 124-127.

丁莹,李艺,刘贤金,等. 烹饪方法对黄瓜中总酚含量及抗氧化活性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(16):158-160.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.040

# 烹饪方法对黄瓜中总酚含量及抗氧化活性的影响

丁莹,李艺,刘贤金,梁颖

[江苏省食品质量安全重点实验室/农业部农产品质量安全风险评估实验室(南京),江苏南京 210014]

**摘要:**研究烹饪方法对黄瓜中总酚含量、抗氧化活性以及维生素C含量的影响。结果显示:水煮及清炒均显著降低了黄瓜中总酚含量、抗氧化活性以及维生素C含量,其中水煮后黄瓜总酚含量保持较清炒好,清炒后黄瓜抗氧化活性略低于水煮,但两者差异不显著,清炒后维生素C含量保持优于水煮。黄瓜抗氧化活性和总酚含量及维生素C含量 $t$ -test分析显示二者均为显著相关。黄瓜生食清香爽口且营养成分保持佳,建议黄瓜清洗后生食,水煮次之。

**关键词:**黄瓜;烹饪方法;总酚;抗氧化;维生素C

**中图分类号:** TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)16-0158-03

生物抗氧化剂是保护人体生物系统免受过度氧化造成潜在危害的重要物质。氧化应激是现代生活一种严重问题,诸如空气污染、吸烟、紫外线辐射等导致细胞氧化应激进而引起各种疾病,包括黑素瘤、癌症、炎症、免疫系统下降等<sup>[1]</sup>。蔬菜不仅是纤维素、维生素、矿物质的丰富来源,同时也是许多生物抗氧化剂的优质来源<sup>[2]</sup>。大量流行病学研究显示,蔬菜摄入增加会降低氧化应激疾病发生的概率<sup>[3-6]</sup>。蔬菜中生物抗氧化剂可有效抑制或延缓氧化链反应中氧化底物的氧化,从而阻止疾病的发生<sup>[7]</sup>。

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)为葫芦科(Cucurbitaceae)草本植物,其栽培广泛、口感佳、营养丰富,是非常重要的蔬菜之

一。已有多项研究证明,黄瓜富含多酚类物质,抗氧化活性功效显著<sup>[8-10]</sup>。近几年,蔬菜烹饪加工方式对蔬菜中酚类化合物保持及抗氧化活性影响备受关注<sup>[11-13]</sup>。黄瓜在我国的食物食用方式主要有生食、清炒和烧汤,而目前我国蔬菜烹饪方式对营养成分影响的研究数据较少<sup>[14-15]</sup>,未见相关报道。因此,本试验以黄瓜为研究对象,清洗切分后对其进行水煮及清炒处理,研究总酚含量、抗氧化活性以及维生素C变化情况,为居民提供合理健康饮食理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜黄瓜,购于江苏省南京钟灵街苏果超市。

没食子酸( $\geq 99\%$ )、抗坏血酸( $\geq 99.7\%$ )、福林酚试剂、2,6-二氯酚,购自国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦基胍(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,简称DPPH)溶液,购自梯希爱化成工业发展有限公司;其他试剂如碳酸钙、乙醇、草酸等均为分析纯。

### 1.2 黄瓜烹饪试验

1.2.1 清洗切分预处理 黄瓜先用清水洗涤,保留可食用部分,切成约4~5 mm薄片,切分的样品分为3份,其中1份置

收稿日期:2017-06-21

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFC1601000);国家农产品质量安全风险评估项目(编号:GJFP201801502);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(15)1016]。

作者简介:丁莹(1988—),女,安徽合肥人,硕士,助理研究员,研究方向为农产品营养与安全。E-mail:64952509@qq.com。

通信作者:梁颖,博士,副研究员,研究方向为农产品营养与安全。E-mail:mnily555@163.com。

[14]谢建春. 现代香味分析技术及应用[M]. 北京:中国标准出版社,2008.

[15]袁小单. 超高压加工发酵型桑椹酒工艺及其品质研究[D]. 镇江:江苏大学,2013.

[16]吴祖芳,翁佩芳. 桑椹的营养组分与功能特性分析[J]. 中国食品学报,2005,5(3):102-107.

[17]赖剑峰,杨荣玲,陈智毅,等. 不同因子对酿酒酵母降解桑椹花青素的影响研究[J]. 酿酒科技,2016(8):36-39.

[18]赵红宇,陈敦洪,邓良,等. 桑葚果酒全渣发酵过程中生物活性物质及其抗氧化活性变化的研究[J]. 食品工业科技,2015,36(23):182-189.

[19]刘寅. 酵母对茶多酚吸附性能的研究[D]. 无锡:江南大学,2010.

[20]李国薇,樊明涛,王胜利,等. 酵母菌种对苹果酒主发酵过程中的多酚组成及抗氧化活性的影响[J]. 中国酿造,2012,31(10):

33-37.

[21]易桥宾,谷风林,那治国,等. 发酵和焙烤对可可豆多酚、黄酮和风味品质的影响[J]. 食品科学,2015,36(15):62-69.

[22]Lema C, Garciajares C, Orriols I, et al. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albarino wine aroma[J]. American Journal of Enology & Viticulture, 1996, 47(2):206-216.

[23]孙玉霞,史红梅,蒋锡龙,等. 酵母菌株对桑椹酒挥发性香气成分的影响研究[J]. 酿酒科技,2013(8):28-32.

[24]冯凤琴,叶立扬. 食品化学[M]. 北京:化学工业出版社,2005:175-180.

[25]李华. 葡萄酒品尝学[M]. 北京:科学出版社,2013:35-40.

[26]于怀龙. 桑椹品种筛选及其发酵果醋关键技术研究[D]. 镇江:江苏大学,2016.