

几种抗氧化剂在猕猴桃酒中应用效果研究

王琪¹, 辜义洪^{1,*}, 刘琨毅¹, 郑佳²

(1. 宜宾职业技术学院 生物与化工工程系, 宜宾 644003; 2. 五粮液集团技术中心, 宜宾 644000)

摘要: 为寻找适合猕猴桃果酒抗氧化的复合抗氧化剂, 通过单因素实验研究植酸、竹叶黄酮、EDTA 二钠、茶多酚对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响, 在此基础上采用正交试验得出最优复合抗氧化剂的配方为: 植酸用量为 0.14‰, 竹叶黄酮用量为 0.09‰, EDTA 二钠用量为 0.029‰, 茶多酚用量为 0.06‰。用此复合抗氧化剂来代替发酵过程中的 SO₂, 果酒的理化指标没有明显的变化而感官评分有所提高。在最优工艺下可以获得色泽亮黄、透明、果香与酒香和谐的猕猴桃果酒。

关键词: 猕猴桃酒; 植酸; 竹叶黄酮; EDTA 二钠; 茶多酚

中图分类号: S663.4/TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-2513 (2016) 11-0149-06

Study on the application effect of several antioxidants in Kiwi wine

WANG Qi¹, GU Yi-hong^{1,*}, LIU Kun-yi¹, ZHENG Jia²

(1. Department of Biological and Chemical Engineering, Yibin Vocational and Technical College, Yibin 644003; 2. Technical Center of Wuliangye Group, Yibin 644000)

Abstract: In order to find a proper composition of antioxidants for kiwi wine, effects of phytic acid, bamboo-leaf-flavonoids, EDTA disodium and tea polyphenols on its antioxidation were evaluated by single factor experiment. Then the optimum formula of composite antioxidants was obtained by the orthogonal test. The optimum formula was phytic acid, bamboo-leaf-flavonoids, EDTA disodium and tea polyphenols with the concentration ratio of 0.14‰, 0.09‰, 0.029‰ and 0.06‰, respectively. Using this combination of antioxidants to replace SO₂ in wine fermentation, physicochemical properties of kiwi wine did not change much, but sensory score of kiwi wine was increased. Based on the optimal process, the final products of kiwi wine was bright yellow, transparent with harmonious taste of fruit and wine flavor.

Key words: kiwi wine; phytic acid; bamboo-leaf-flavonoids; EDTA disodium; tea polyphenols

猕猴桃果实营养丰富, 含有钙、锌、钾等微量元素、食物纤维及解脲酶, 而且具有预防癌症的保健价值^[1-4]。研究表明, 猕猴桃中的酶类具有降血压、降血脂、防治白内障及治疗烧伤等作用^[5-8], 而且还含有大量的天然抗氧化物质, 包括多酚、维生素 C、生育酚等^[9-11]。猕

猴桃酒作为一种新兴的果酒种类越来越受到人们的重视, 为避免果酒色泽褐变、风味劣化, 在果酒发酵过程中, 加入抗氧化剂来抑制果酒被氧化^[12, 13]。二氧化硫是果酒中广泛使用的抗氧化剂, 但其具有刺激性的“硫味”和“灼烧”感并且具有一定的毒性, 故世界卫生组织一直要求降

收稿日期: 2016-05-24

基金项目: 发酵资源与应用四川省高校重点实验室开放基金 (No.2011KFJ004)。

作者简介: 王琪 (1989-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为白酒分析检测; E-mail: rodmanben@foxmail.com。

* 通信作者: 辜义洪, E-mail: 574455285@qq.com。

低食品中的二氧化硫浓度^[14, 15]。目前要寻找新型、高效、无毒副作用的抗氧化剂来替代这类化学抗氧化剂,所以开发适用于猕猴桃果酒的新型抗氧化剂有着广阔的应用前景。

植酸具有很强的抗氧化作用,通过其 12 个酸羟基络合金属离子形成稳定性很高的络合物,有效延缓羟基的生成,防止和减缓氧化反应的进行^[16, 17];竹叶黄酮是淡竹叶和淡竹沥的主要活性物质,对超氧负离子自由基和对羟自由基的有效清除作用,且具有较好的抗氧化能力^[18];EDTA 二钠在果酒中能很好地防止金属离子引起的变色、变质、变浊及维生素 C 氧化,起到护色、抗氧化作用^[19, 20];茶多酚作为一种新型的天然抗氧化剂,是茶叶中所含的一类多羟基酚类化合物,其具有优良的抗氧化性能,并且还兼具抑菌抑病毒活性、抗辐射、调节脂糖代谢、降压等多种特殊作用^[21, 22]。在果酒抗氧化过程中,当将两种或几种抗氧化剂混合使用时,其抗氧化效果往往要比单一使用其中一种抗氧化剂要好^[23, 24]。因此对上述四种抗氧化剂复合使用,并观察对猕猴桃果酒抗氧化能力的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

猕猴桃与酵母,宜宾果王酒业有限公司;亚硫酸钠,南京试剂有限公司;植酸(含量为 58.6%),山东森诺生物科技有限公司;竹叶黄酮干粉(棕黄色粉末,含总黄酮 32.4%),安吉圣氏生物制品有限公司;EDTA 二钠(含量为 99.0%),广州拜晴生物科技有限公司;茶多酚(含量为 50.0%),天水维康生物工程有限公司。

1.2 主要仪器

723 型可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TG328 型分析天平,上海精科天平厂;PHs-3c 型精密 pH 计,上海理达仪器厂;LXJ-IIIB 低速大容量多管离心机,郑州长城工贸有限公司;CS501 型超级水浴恒温锅,上海浦东荣科学仪器有限公司;HH-B11 600 型电热恒温培养箱,天津市实验仪器厂。

1.3 猕猴桃果酒工艺流程

新鲜猕猴桃→分选→清洗→去皮→榨汁→调

整糖度、pH 及添加抗氧化剂→接种酵母→主发酵→分离→陈酿→勾兑、澄清、过滤→纳米级过滤除菌→成品。

1.4 实验方法

1.4.1 抗氧化剂的制备

(1) 植酸:将 0.1 g 植酸溶于 100 mL 无菌蒸馏水中,待用。

(2) 竹叶黄酮:取一定量的竹叶黄酮干粉溶于 20% 的乙醇中,充分溶解后真空抽滤,测定滤液黄酮含量后待用。

(3) EDTA 二钠:将 0.1 g EDTA 二钠溶于 100 mL 无菌蒸馏水中,待用。

(4) 茶多酚:将 0.1 g 茶多酚溶于 100 mL 无菌蒸馏水中,待用。

1.4.2 果酒抗氧化效果的测定方法

果酒抗氧化能力的测定采用 Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) 法,FRAP 值越高果酒抗氧化活性越强^[25]。在调整好糖度及 pH 的果汁中通入 0.20‰ 的二氧化硫,经主发酵后测定样品的 FRAP 值为 3.351 ± 0.005 g/L。

1.4.3 单因素实验

植酸抗氧化效果实验:在调整好糖度及 pH 的果汁中分别加入 0.02‰、0.04‰、0.06‰、0.08‰、0.10‰、0.12‰、0.14‰ 植酸及 0.06‰ 的竹叶黄酮、0.02‰ 的 EDTA 二钠、0.04‰ 的茶多酚,经主发酵后测定样品的 FRAP 值,并重复 3 次。

竹叶黄酮抗氧化效果实验:在调整好糖度及 pH 的果汁中分别加入 0.02‰、0.03‰、0.04‰、0.05‰、0.06‰、0.07‰、0.08‰、0.09‰ 竹叶黄酮及 0.12‰ 的植酸、0.02‰ 的 EDTA 二钠、0.04‰ 的茶多酚,经主发酵后测定样品的 FRAP 值,并重复 3 次。

EDTA 二钠抗氧化效果实验:在调整好糖度及 pH 的果汁中分别加入 0.011‰、0.014‰、0.017‰、0.020‰、0.023‰、0.026‰、0.029‰ EDTA 二钠及 0.12‰ 的植酸、0.08‰ 的竹叶黄酮、0.04‰ 的茶多酚,经主发酵后测定样品的 FRAP 值,并重复 3 次。

茶多酚抗氧化效果实验:在调整好糖度及 pH 的果汁中分别加入 0.01‰、0.02‰、0.03

‰、0.04 ‰、0.05 ‰、0.06 ‰、0.07 ‰ 茶多酚及 0.12 ‰ 的植酸、0.08 ‰ 的竹叶黄酮、0.023 ‰ 的 EDTA 二钠经主发酵后测定样品的 FRAP 值，并重复 3 次。

1.4.4 正交实验

抗氧化剂之间的协同增效作用以植酸 (A)、竹叶黄酮 (B)、EDTA 二钠 (C)、茶多酚 (D) 为因素，采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交试验设计，并对实验结果进行极差分析 (表 1)。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表
Table 1 Factors and levels in the $L_9(3^4)$ orthogonal array design

水平	植酸添加量 (A) (%)	竹叶黄酮添加量 (B) (%)	EDTA 二钠添加量 (C) (%)	茶多酚添加量 (D) (%)
1	0.10	0.07	0.023	0.05
2	0.12	0.08	0.026	0.06
3	0.14	0.09	0.029	0.07

1.4.5 理化指标检测

分析添加最优复合抗氧化剂后的酒样与添加 SO_2 酒样的理化指标 [26]。

1.4.6 感官评定方法

感官评定由 21 名专业人员组成的感官评定小组对猕猴桃果酒从色泽 (满分 20 分)、香气 (满分 30 分)、滋味 (满分 40 分)、典型性 (满分 10 分) 4 个方面进行感官评定，酒样总分为 4 项得分之和 [25]。

2 结果与分析

2.1 单一抗氧化剂实验结果

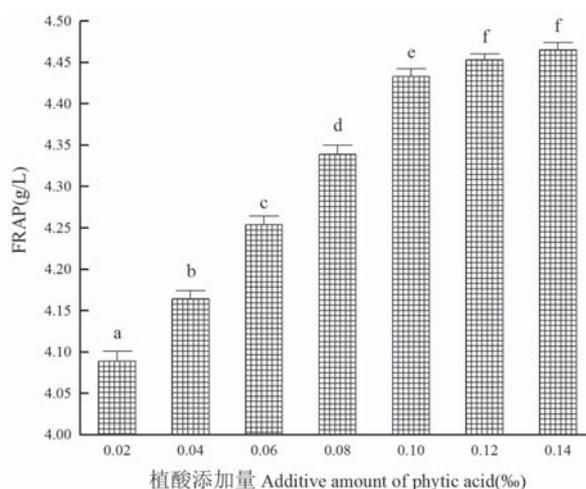
2.1.1 植酸对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响

植酸对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响见图 1。由图 1 可知，植酸添加量从 0.02‰ 增至 0.12‰ 时，果酒的 FRAP 值显著提高。当添加量为 0.14‰ 时，FRAP 值达到最高 4.457 ± 0.011 g/L，猕猴桃果酒呈亮黄色，但其 FRAP 值较 0.12‰ 时变化不显著 ($P < 0.05$)。因此选择植酸添加量为 0.10‰ ~ 0.14‰ 用于正交试验。

2.1.2 竹叶黄酮对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响

竹叶黄酮可以作为生物抗氧化剂应用于酿造

酒中 [18]，随着竹叶黄酮添加量从 0.02 ‰ 增加到 0.08 ‰ 时果酒的抗氧化作用也随之显著增加 ($P < 0.05$ ，图 2)，猕猴桃果酒的 FRAP 值在竹叶黄酮添加量为 0.08‰ 时达到最大值 4.639 ± 0.007 g/L。当竹叶黄酮添加量大于 0.08‰ 后，果酒的 FRAP 值有所降低，但变化不显著，故选择竹叶黄酮的添加量 0.07‰ ~ 0.09‰ 用于正交试验。



不同添加量之间相同字母表示差异不显著 ($P < 0.05$)，下同。
Data with the same letter indicate no significance in each additive amount ($P < 0.05$), the same below.

图 1 植酸添加量对猕猴桃果酒抗氧化的影响

Fig. 1 Effect of phytic acid addition on antioxidation in kiwi wine

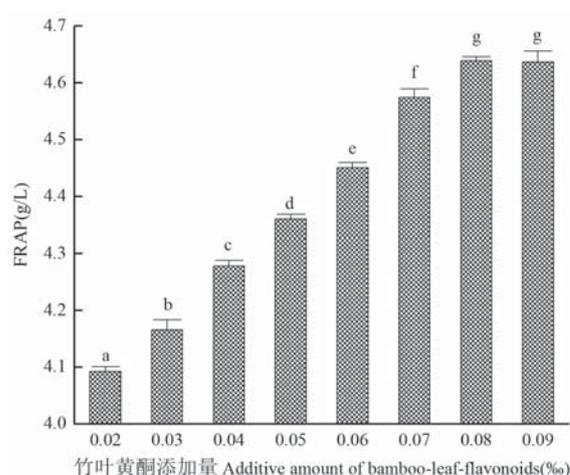


图 2 竹叶黄酮添加量对猕猴桃果酒抗氧化的影响

Fig. 2 Effect of bamboo-leaf-flavonoids addition on antioxidation in kiwi wine

2.1.3 EDTA 二钠对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响

由图 3 可知, 当 EDTA 二钠的添加量从 0.011‰ 提高到 0.026‰ 时, 果酒的 FRAP 值显著增加, 从 4.399 ± 0.012 g/L 增加到 4.727 ± 0.008 g/L, 但随着添加量的继续增加, 果酒的 FRAP 值未增加。故选用 EDTA 二钠的添加量 0.023‰ ~ 0.029‰ 用于正交试验。

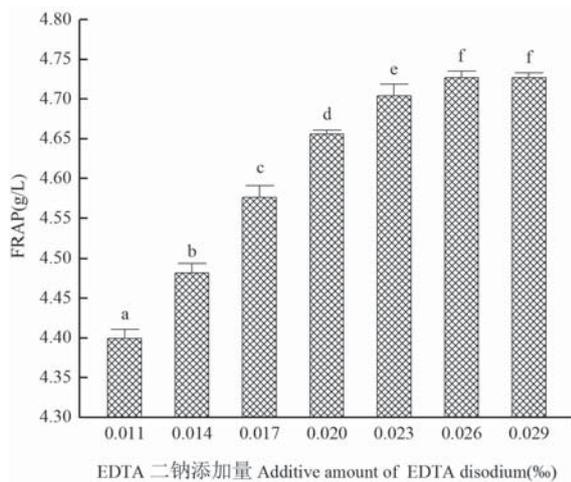


图 3 EDTA 二钠添加量对猕猴桃果酒抗氧化的影响
Fig. 3 Effect of EDTA disodium addition on antioxidant in kiwi wine

2.1.4 茶多酚对猕猴桃果酒抗氧化效果的影响

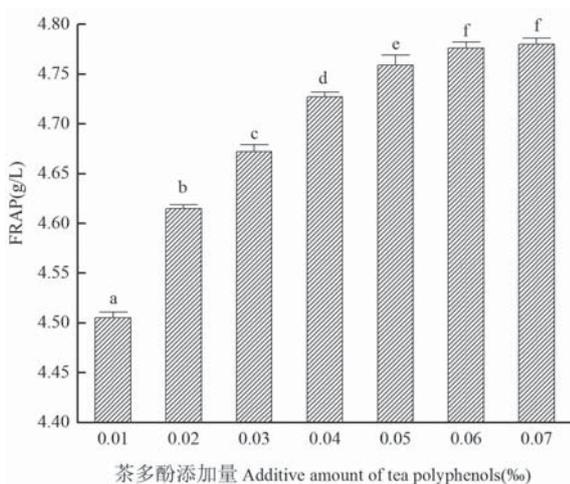


图 4 茶多酚添加量对猕猴桃果酒抗氧化的影响
Fig. 4 Effect of tea polyphenols addition on antioxidant in kiwi wine

茶多酚作为一种新型的抗氧化剂, 具有较强清除活性氧自由基的活性^[24]。当猕猴桃果酒中添加的茶多酚从 0.01‰ 增加到 0.06‰ 时, 果酒的 FRAP 值增加显著, FRAP 值最高到达了 4.780 ± 0.006 g/L。但随着添加量的继续增加, FRAP 值虽有略微增加但不显著 ($P < 0.05$, 图 4)。故选择茶多酚的添加量 0.05‰ ~ 0.07‰ 用于正交试验。

2.2 正交试验结果

正交试验结果见表 2, 由极差分析结果可以看出, 影响抗氧化作用因素的主次关系为 $B > A > D > C$, 即竹叶黄酮对猕猴桃果酒生产过程中抗氧化作用的影响最强, 其次是植酸, 再次为茶多酚。从 k 值的大小可知, 最优组合为 $A_3B_3C_3D_2$, 即复合抗氧化剂的添加量为植酸 0.14‰、竹叶黄酮 0.09‰、EDTA 二钠 0.029‰、茶多酚 0.06‰。但该条件不在表 2 所示的 9 组实验中, 故对该条件进行验证实验, 得到果酒的 FRAP 值为 4.792 ± 0.007 g/L, 表明 $A_3B_3C_3D_2$ 为最优组合。

表 2 抗氧化剂协调作用正交试验方案及结果
Table 2 Orthogonal tests program and results of antioxidant synergy

试验编号	茶多酚添加量 (A) (‰)	竹叶黄酮添加量 (B) (‰)	EDTA 二钠添加量 (C) (‰)	植酸添加量 (D) (‰)	FRAP (g/L)
1	1	1	1	1	4.616 ± 0.011
2	1	2	2	2	4.748 ± 0.009
3	1	3	3	3	4.769 ± 0.005
4	2	1	2	3	4.697 ± 0.013
5	2	2	3	1	4.745 ± 0.010
6	2	3	1	2	4.786 ± 0.011
7	3	1	3	2	4.724 ± 0.004
8	3	2	1	3	4.761 ± 0.009
9	3	3	2	1	4.785 ± 0.014
k_1	4.711	4.679	4.721	4.715	
k_2	4.743	4.751	4.743	4.753	
k_3	4.757	4.780	4.746	4.742	最优组合: $A_3B_3C_3D_2$
R_j	0.046	0.101	0.025	0.038	

为进一步验证以上分析结果,以FRAP值为考察对象对其进行方差分析^[27],由于C(EDTA二钠添加量)这个因素均方值较小,因此将其作为误差项计算F值。由表3可知,4个因素中B因素(竹叶黄酮添加量)达到显著水平,其他3个因素均不显著($P=0.10$)。

表3 方差分析
Table 3 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
A	0.003	2	3.000	9.000	
B	0.016	2	16.000	9.000	*
C	0.001	2	1.000	9.000	
D	0.002	2	2.000	9.000	
误差	0.001	2			

2.3 复合抗氧化剂对猕猴桃果酒品质的影响

将使用最优复合抗氧化剂与单独添加SO₂酿

造的果酒,对其进行理化指标的检测,结果如表4所示。

表4 猕猴桃果酒理化指标
Table 4 Physiochemical properties of kiwi wine

检测项目	添加最优复合抗氧化剂的果酒	添加SO ₂ 的果酒
酒精度(%)	12.70 ± 0.08	12.50 ± 0.11
总酸(g/L)	5.78 ± 0.02	5.80 ± 0.02
总糖(g/L)	4.16 ± 0.07	4.27 ± 0.02

而后分别对两个酒样进行感官评定,使用最优复合抗氧化剂酿造的果酒感官评分为88.3分而使用SO₂酿造的果酒感官评分为80.0分(图5)。新型复合抗氧化剂来代替发酵过程的SO₂,果酒的理化指标没有明显的变化而感官评分优于使用SO₂酿造的果酒。这也就初步证明了无硫猕猴桃酒酿造技术的可能性和可行性。

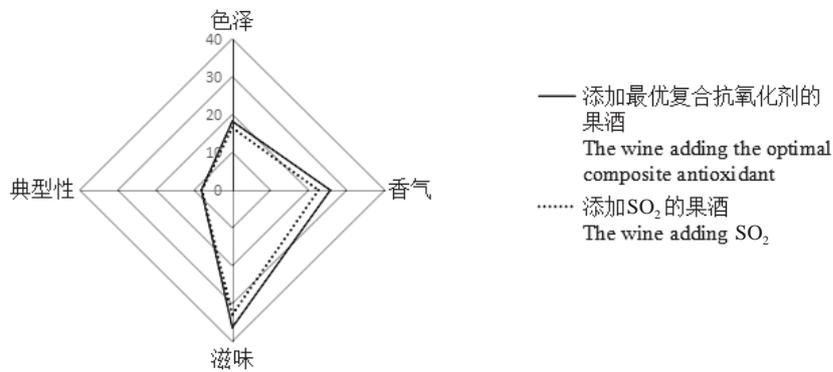


图5 猕猴桃果酒感官评分

Fig. 5 Sensory score of kiwi wines.

3 结论

本研究结果表明,猕猴桃果酒酿造过程中采用绿色健康、安全无毒的抗氧化剂来替代传统的二氧化硫生产无硫猕猴桃果酒的可能性和可行性,且由茶多酚、竹叶黄酮、EDTA二钠与植酸所组成的复合抗氧化剂对猕猴桃果酒的最优使用量为植酸0.14‰、竹叶黄酮0.09‰、EDTA二钠0.029‰与茶多酚0.06‰。在此工艺下可以获得色泽亮黄、透明、果香与酒香和谐的猕猴桃果

酒。新型复合抗氧化剂用于猕猴桃果酒生产具有广阔的应用前景,如若进一步投入工厂生产,还需继续做更深入地探讨研究。

参考文献:

- [1] 刘程惠, 刘易伟, 胡文忠, 等. 柠檬酸处理鲜切猕猴桃在贮藏过程中抗氧化活性的变化[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 292-296.
- [2] 穆晶晶, 张博, 李书倩, 等. 失水处理对软枣猕猴桃贮藏期间褐变相关因子的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 307-311.
- [3] 杨玉红, 王晓新, 杨建, 等. 软枣猕猴桃果汁乳酸菌发酵饮

- 料的研制 [J]. 食品科技, 2014, 39 (4): 92-96.
- [4] 郭秀兰, 陈易珊, 许淳, 等. 红心果肉猕猴桃的营养评价 [J]. 食品科技, 2014, 39 (11): 71-73.
- [5] 刘祝祥, 尹红, 肖琳莉, 等. 猕猴桃根多糖抗疲劳、抗氧化与单糖组分鉴定 [J]. 食品科学, 2013, 34 (13): 239-242.
- [6] 杨海霞, 关云静, 邓建军, 等. 猕猴桃籽粕蛋白质的提取分离及抗氧化活性 [J]. 食品与发酵工业, 2013, 39 (9): 205-209.
- [7] 孙红艳, 王小云, 刘文星. 绿茶-猕猴桃复合饮料制取工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (1): 227-231.
- [8] 张方艳, 蒲彪, 刘兴艳. 猕猴桃果酒的降酸研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (18): 207-210.
- [9] 胡守江, 李保国, 王慧卿, 等. 真空预冷处理对鲜切猕猴桃品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2012, 38 (10): 204-207.
- [10] LATOCHA P, JANKOWSKI P, RADZANOWSKA J. Genotypic difference in postharvest characteristics of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* and its hybrids), as a new commercial crop: part II. Consumer acceptability and its main drivers [J]. Food Research International, 2011 (44): 1946-1955.
- [11] 邢建华, 王高峰, 黄涛. 发酵型核桃猕猴桃饮料研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (10): 5301-5303.
- [12] 李变变. 茶多酚对苹果酒抗氧化作用的研究 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43 (25): 296-297.
- [13] 谢天柱, 李一婧, 马伟超, 等. 茶多酚对苹果酒抗氧化作用的研究 [J]. 中国酿造, 2010 (12): 53-55.
- [14] 王华, 李华. 二氧化硫在红葡萄酒中的抗氧化性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2003 (5): 31-35.
- [15] 李涛, 余旭亚, 陈朝银, 等. 抗氧化剂的研究与应用现状 [J]. 食品研究与开发, 2003, 24 (2): 23-27.
- [16] 贾炎, 涂书新, 唐世荣. 植酸和几种抗氧化物质对自由基清除能力的比较 [J]. 华中农业大学学报, 2011, 30 (5): 618-623.
- [17] 汤务霞, 熊治渝, 邓颖强, 等. 菜籽饼中植酸的醋酸法提取工艺及其体外抗氧化性研究 [J]. 食品工业, 2012, 33 (11): 103-106.
- [18] 章宇, 谢萌, 吴晓琴, 等. 强化竹叶黄酮对酿造酒抗自由基和抗氧化性能的改进 [J]. 中国食品学报, 2005, 5 (4): 34-39.
- [19] 林陈芳. 猕猴桃 VC 降解规律及果干干燥工艺的研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.
- [20] 马利华. 对灌装果汁褐变的初步研究 [J]. 食品科技, 2003 (9): 72-73, 79.
- [21] 王栋, 康健. 茶多酚的功效、提取和应用前景 [J]. 新疆大学学报: 自然科学版, 2007, 24 (2): 217-221.
- [22] 李一婧, 谢天柱, 马伟超, 等. 茶多酚苹果酒的发酵新工艺中试研究 [J]. 中国酿造, 2011 (1): 145-148.
- [23] 徐金瑞, 邓翌凤, 列丽坤. 几种抗氧化剂协同作用对葵花籽油稳定性的影响 [J]. 中国油脂, 2009, 34 (8): 40-42.
- [24] 林美容, 刘晓艳, 杜劲松, 等. 茶多酚与竹荪、海带提取物的抗氧化协同效应 [J]. 食品工业, 2015, 36 (4): 181-185.
- [25] 王艳辉, 石海燕, 王颖. 混合鸭梨酒中感官品质和抗氧化性能比较 [J]. 酿酒科技, 2011 (11): 41-43.
- [26] 中国食品工业标准汇编. 饮料酒卷 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [27] 刘婧竞, 乔发东. 甜酒曲生长特性研究及米酒生产工艺优化 [J]. 中国酿造, 2010 (12): 41-44.

行业组织 品牌展览

第二十一届中国国际食品添加剂和配料展览会
暨第二十七届全国食品添加剂生产应用技术展示会
Food Ingredients China 2017

展出时间: 2017年3月24日—26日

展出地点: 国家会展中心(上海), 崧泽大道333号

详情请登陆: www.cfaa.cn