

响应面法优化复合菌种发酵葡萄 玫瑰花饮品及其抗氧化能力的测定

王舸楠¹, 刘维兵¹, 王雪薇¹, 全莉¹, 尹丽萍¹, 武运^{1,*}, 薛洁^{2,*}

(1.新疆农业大学 食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐, 830052)

2.中国食品发酵工业研究院, 北京 100015)

摘要:为了制备一款新型复合菌种发酵饮品,以发酵液的菌种添加比,发酵温度,发酵时间,发酵初始 pH 为单因素,以总多酚含量作为响应值通过响应面法优化发酵工艺,并对发酵液进行体外抗氧化能力测定。结果表明,在葡萄汁添加量为 30%、玫瑰花添加量为 0.75% 的条件下,选取复合菌种白地霉和乳酸菌的添加比 5.5:4.5(%),发酵温度 33℃,发酵时间 48 h 进行发酵,其总多酚含量达到 9.92×10^2 mg/L,且在该条件下感官评分最高为 92 分。在复合菌种发酵作用下,其 SOD 活力 5.31×10^3 U/L, DPPH 自由基清除能力达到 857 μ mol/L,花青素维持在 28 mg/L,因此,发酵过程中葡萄玫瑰花发酵液不仅感官评分得到了提高,其抗氧化能力也得到了提升。

关键词:复合菌种,发酵饮料,抗氧化,葡萄,玫瑰花

Optimization of Fermentative Technic by Response Surface and Determination of Antioxidant Capacity of Grape-Rose Compound Strains Fermentative Beverage

WANG Ge-nan¹, LIU Wei-bing¹, WANG Xue-wei¹, QUAN Li¹, YIN Li-ping¹, WU Yun^{1,*}, XUE Jie^{2,*}

(1.Department of Food science and Pharmacy, Xinjiang Agriculture University, Urumqi 830052, China;

2.China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100015, China)

Abstract: In order to prepare a new type of compound strain fermentation drink, response surface method was used depends on compound strains' ratio, fermentative time and temperatures to optimize the fermentative technic and the antioxidant capacity of fermentation liquid was measured *in vitro*. The results showed, the addition of grape was 30%, rose was 0.75%, the ratio of compound strains was 5.5%:4.5% (GC:LP), the fermentative temperature was 33℃, the cost of fermentative time was 48 h, under this circumstance, total polyphenolic content would reach 9.92×10^2 mg/L, and got 92 in sensory score. Furthermore, under the action of compound strain fermentation, SOD activity reached 5.31×10^3 U/L, DPPH radical scavenging activity reached 857 μ mol/L and the anthocyanin content maintained 28 mg/mL. In addition, the fermentation process not only increased the sensory score but also improved the antioxidant capacity.

Key words: compound strains; fermentative beverage; antioxidant; grape; rose

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)15-0311-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.051

引文格式:王舸楠,刘维兵,王雪薇,等.响应面法优化复合菌种发酵葡萄玫瑰花饮品及其抗氧化能力的测定[J].食品工业科技,2019,40(15):311-317.

玫瑰(*Rosa rugosa*)是一种集药用、食用、美化、绿化于一体的木本植物,含有丰富的酚类和萜烯类物质,具有极高的食用价值和药用价值^[1]。葡萄(*Vitis vinifera*)是世界上广泛种植的水果之一,具有多种生物学功能,如抗菌、抗癌、抗氧化就、抗炎的作用,因其含有丰富的多酚和黄酮类化合物而具有天

然的抗氧化能力而深受人们喜爱^[2]。目前,人们对玫瑰和葡萄发酵主要是制备酒类或浓缩果汁类饮品。近些年随着发酵饮品的兴起,越来越多的食品企业开始使用不同的原材料制备发酵饮品^[3]。其在保留原材料营养物质的同时又增加了微生物通过发酵所产生的特有生物活性物^[4]。目前发酵饮品种类繁多,

收稿日期:2018-11-23

作者简介:王舸楠(1994-),男,硕士研究生,研究方向:食品营养与安全,E-mail:758104598@qq.com。

*通讯作者:薛洁(1974-),博士,教授,高级工程师,研究方向:发酵工程,E-mail:825728388@qq.com。

武运(1965-),硕士,教授,研究方向:食品营养与安全,E-mail:764630324@qq.com。

基金项目:新疆维吾尔自治区重大科技专项(2017A01001-2);河北省科技计划项目(16222901D)。

由不同原材料和益生菌发酵形成的发酵液具有不同的风味和抗氧化能力。李凡等^[5]通过筛选不同的酵母菌,设置不同时间、温度通过发酵白首乌从而得到白首乌酵素的最优 SOD 活力。刘进杰等^[6]通过优化葡萄皮渣发酵工艺从而提高了发酵液的抗氧化活性。目前,发酵饮品正在朝着通过筛选发酵菌种,监控发酵体系,合理的抑制杂菌生长。提高饮品安全性的方向发展。

本文选用可应用于制麦过程中的白地霉^[7]与乳酸菌对玫瑰花与葡萄汁进行发酵制备饮品。白地霉(*Geotrichum candidum*)最初归属于霉菌,1983 年 Barnett 等在其编写的《Yeasts: Characteristics and Identification》一书中将白地霉列入酵母菌类群中,研究表明白地霉在发酵过程中会产生脂类和 β -苯乙醇的香气物质且具有食用安全性^[8]。本文首次使用白地霉和乳酸菌对玫瑰与葡萄发酵液进行发酵,以达到产酸和提高感官评分的目的,选取发酵时间、温度与不同菌种的添加量做为单因素,以总多酚含量为响应值通过响应面法优化葡萄玫瑰花发酵工艺,测定发酵饮品的 SOD 活力、花青素含量、DPPH 清除能力以评估发酵饮品的体外抗氧化能力,预制备一款口感优良具有抗氧化能力的饮品。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

食用玫瑰、品种丰花 湖北枣阳倪氏国际玫瑰研究中心;酿酒葡萄 品种赤霞珠,采自新疆北疆产区;白地霉(GC)、植物乳杆菌(LP) 由实验室提供;总多酚试剂盒、花青素试剂盒 西班牙 Biosystem 股份公司;总 SOD 试剂盒 南京建成生物工程研究所。

SHIMADZU UV-1780 紫外分光光度计 日本岛津仪器有限公司;10、50、100 mL 容量瓶 天津市天玻璃仪器有限公司;超纯水机 美国赛默飞世尔科技公司;LRH-250 生化培养箱 上海沪粤明科学仪器有限公司;冷冻离心机 北京雷勃尔医疗器械有限公司;精密天平 瑞士梅特勒-托利多集团;恒温水浴锅 北京科伟有限公司;Y 15 葡萄酒自动分析仪 西班牙 Biosystem 股份公司。

1.2 实验方法

1.2.1 葡萄玫瑰花发酵饮品制备工艺

1.2.1.1 工艺流程

葡萄清洗→压榨→过滤

玫瑰干花去花托→加水→浸提→杀菌→接种→发酵→过滤→离心

1.2.1.2 操作要点 葡萄汁以葡萄经压榨过滤后 70 ℃保温 5 min 杀菌,于 4 ℃环境下保存^[9];玫瑰干花去花托后,将花瓣剥离放入 500 mL 锥形瓶中,加入葡萄汁后补无菌水至所需刻度接种进行发酵,后扩培,发酵结束后过滤并于 7500 r/min 条件下离心。

发酵菌种由斜面取一环于 10 mL 液体培养基(白地霉于 YPD 培养基,乳酸菌于 MRS 培养基)中活化,为不影响发酵饮品的感官评分,菌种以 10% 苹果浓缩汁无菌水溶液作为培养基进行 10 倍扩培。菌种白地霉于 28 ℃条件下培养 31 h,乳酸菌在 36 ℃条件下培养 48 h。

1.2.2 葡萄与玫瑰花的配比 为模拟葡萄玫瑰花发酵液的条件,首先加入 1% 的玫瑰花以作为初始玫瑰添加量,加入 10%、20%、30%、40%、50% 的葡萄汁,后补无菌水至 300 mL,测定葡萄玫瑰花混合液的总多酚,感官评分确定葡萄汁的添加量;葡萄汁添加量为上面实验中得出的适宜条件,加入 0.5%、0.75%、1.00%、1.25%、1.5% 的玫瑰花,通过总多酚、感官评定评分确定玫瑰花的添加量。

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 不同复合菌种添加比对发酵液总酸与总多酚含量的影响 在锥形瓶中准确称取 2.25 g 玫瑰花瓣,加入 90 mL 葡萄汁,补水至 300 mL,在发酵温度为 33 ℃,发酵时间为 48 h 条件下,菌种以扩培液的形式以发酵液总量的百分比加入发酵液中,复合菌种的总接种量为发酵液的 10%,考察白地霉、乳酸菌的添加量分别占总添加量的比为 7:3、6:4、5:5、4:6、3:7 的情况下对总多酚、总酸含量的影响。

1.2.3.2 不同发酵温度对发酵液总酸与总多酚含量的影响 在锥形瓶中准确称取 2.25 g 玫瑰花瓣,加入 90 mL 葡萄汁,补水至 300 mL,在白地霉、乳酸菌添加比为 5:5,发酵时间为 48 h 下考察发酵温度为 23、28、33、38、43 ℃ 情况下对总多酚、总酸含量的影响。

1.2.3.3 不同发酵时间对发酵液总酸与总多酚含量的影响 在锥形瓶中准确称取 2.25 g 玫瑰花瓣,加入 90 mL 葡萄汁,补水至 300 mL,在白地霉、乳酸菌添加比为 5:5,发酵温度为 33 ℃条件下考察发酵时间为 12、24、36、48、60 h 情况下对总多酚、总酸含量的影响。

1.2.3.4 不同发酵初始 pH 对发酵液总酸与总多酚含量的影响 在锥形瓶中准确称取 2.25 g 玫瑰花瓣,加入 90 mL 葡萄汁,补水至 300 mL,在白地霉、乳酸菌添加比为 5:5,发酵温度为 33 ℃条件,发酵时间 48 h 条件下。通过添加 3% 碳酸氢钠溶液调整发酵液的初始 pH 考察初始 pH 为 4、4.5、5、5.5、6 的条件下对总多酚、总酸含量的影响,自然条件下发酵液初始 pH 为 3.93。

1.2.4 响应面法优化白地霉发酵工艺 通过单因素实验,选取发酵时间、发酵温度、菌种添加比三个因素,使用 Design Expert 8.0.6 软件,设计 3 因素 3 水平 Box-Behnken 中心组合实验,响应面因素及水平设计如表 1 所示。

表 1 响应面实验因素及水平

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken design

水平	因素		
	A 复合菌种配比	B 发酵温度(℃)	C 发酵时间(h)
-1	6:4	28	36
0	5:5	33	48
1	4:6	38	60

1.2.5 葡萄玫瑰花发酵饮品感官评价 结合张水华^[10]食品感官品鉴,从色泽、气味、滋味和形态四个方面进行综合评定,感官评定表见表 2。由 5 个相关专业人士进行品鉴。样品随即编码,随机发放,按照感官评定表标准进行评估,结果取平均值。

表2 葡萄玫瑰花发酵饮品感官评分表
Table 2 Grape-rose fermentative beverage sensory score

项目	I 级标准及评分	II 级标准及评分	III 级标准及评分
色泽 (20)	粉红,澄清透明,有光泽(20~12),若出现淡红色,光泽不够,酌情扣分。	浅红,较有光泽(11~6),若出现浅紫色,部分有光泽,则酌情扣分。	浅红褐,无光泽(5~0),如出现深褐色,酌情扣分。
香气 (30)	浓郁的玫瑰、葡萄香气,并带有发酵带来的特有香气(30~20),如香味不够,酌情扣分。	玫瑰、葡萄香气较,发酵香气淡(19~10),如香味不够,酌情减分。	玫瑰、葡萄香气很淡,有异味(9~0),若异味较重,酌情减分。
口感 (30)	酸甜平衡(30~20),若出现不平衡的情况,酌情扣分。	酸甜不协调(19~10),若出现偏酸或偏甜,酌情扣分。	酸甜及不平衡(9~0),若出现严重酸甜不平衡,酌情扣分。
组织形态 (20)	口感舒适,液体澄清透明(20~12),若出现粘稠,酌情扣分	口感较舒适,液体较浑浊(11~6),若出现浑浊沉淀,酌情扣分。	口感较差,液体浑浊,沉淀明显(5~0),若浑浊程度加深,酌情扣分。

1.2.6 总多酚含量的测定 使用 Y 15 葡萄酒自动分析仪,总多酚试剂盒法进行测定,其中试剂 A 为 2 × 20 mL 福林酚溶液、试剂 B 为 2 × 20 mL 碳酸钠、试剂 S 为标准品 1 × 5 mL,波长 670 nm,分析模型为双试剂终点法,试剂与标准品可直接上机检测;检测步骤,将发酵液离心后取 1 mL 加入空白皿中。将空白皿放入托盘,置于 Y15 全自动葡萄酒分析仪中进行检测^[11-12]。

1.2.7 总酸含量的测定 参照国标 GB/T 15038-2006,利用酸碱中和原理,用氢氧化钠标准滴定溶液直接滴定样品中的有机酸,以 pH 为 8.2 作为电位滴定终点,根据消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,计算试样的总酸含量^[13]。

1.2.8 葡萄玫瑰花发酵饮品体外抗氧化能力测定
1.2.8.1 SOD 活力测定 按照 SOD 试剂盒说明书配制试剂,测试样品需要稀释 10 倍,测定时吸取 1 mL 样液,按照试剂盒要求依次加入试剂,于波长 550 nm 下测定吸光度值。

总 SOD 活力(U/mL) = $\left(\frac{[(A_0 - A_1)/A_0]}{0.5} \right) BC$

式中,A₀:对照 OD 值,A₁:测定 OD 值,B:反应体系的稀释倍数,C:样本测试前的稀释倍数。

1.2.8.2 花青素含量的测定 使用 Y 15 葡萄酒自动分析仪,花青素试剂盒进行发酵饮品中花青素含量的测定,其中,试剂 A 为卤代缓冲溶液,分析模型为单试剂终点法,波长 520 nm,试剂与标准品可直接使用,检测步骤,将发酵液离心后取 1 mL 加入空白皿中。将空白皿放入托盘,置于 Y 15 全自动葡萄酒分析仪中进行上机检测^[14-15]。

1.2.8.3 DPPH 自由基清除能力 使用 DPPH 法研究葡萄玫瑰花发酵饮品中的抗氧化能力,取 0.0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4 mL Trolox 母液分别于 10 mL 容量瓶中并稀释成不同浓度,取 0.1 mL 各浓度 Trolox 溶液加入 25 mg/L 的 3.9 mL DPPH 甲醇溶液中,避光反应 20 min,在 517 nm 波长下测定吸光度,以 Trolox 浓度为 Y 轴,吸光度为 X 轴绘制标准曲线。用同样的方法测定样品在 517 nm 处的吸光度,结果以 Trolox 的当量值 TEAL 表示,单位为 μmol/L。每个样品处理重复 3 次^[16],标准曲线方程为 y = 788.59x + 156.66, R² = 0.995。

1.3 数据处理

每组实验重复三次,使用 Design-expert V8.0.6 进行响应面设计及统计分析,采用 Origin 9.0 进行数据处理并作图。

2 结果与分析

2.1 玫瑰花与葡萄汁添加量对发酵液中总多酚与感官评分的影响

葡萄汁添加量由图 1 所示,总多酚含量随着葡萄汁添加量的增多而升高,当添加量为 50% 时总多酚含量最高,达到 9.92 × 10² mg/L。随着葡萄添加量的升高,感官评分同时升高,当葡萄添加量达到 30% 时分数最高,达到 92 分。之后开始下降,这是由于随着葡萄添加量升高,葡萄所带来的甜腻程度开始升高,从而影响感官评分。玫瑰花添加量由图 2 所示,总多酚含量随着玫瑰花添加量的增多而升高,当玫瑰花添加量为 1.5% 时总多酚含量最高,达到 10.92 × 10² mg/L。随着玫瑰花添加量的增多,感官评分先升后降,其中,玫瑰花在添加量为 0.75% 时所得感官评分最高为 91 分。之后开始下降,这可能是由于植物总多酚含量的偏高会带来苦涩口感^[17],随着玫瑰花添加量的增多,发酵液总多酚含量升高,发酵液苦涩口感增重,从而影响感官评分,最终确定玫瑰花添加量为 0.75%,葡萄汁添加量为 30%。

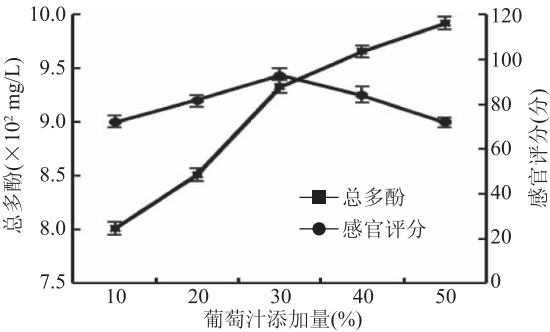


图1 不同葡萄汁添加量对总多酚与感官评分的影响
Fig.1 Effects of different concentrations of grape juice on total polyphenols and sensory score

2.2 单因素实验

2.2.1 不同复合菌种添加比对发酵液总多酚与总酸含量的影响 结果如图 3 所示,在发酵过程中,随着

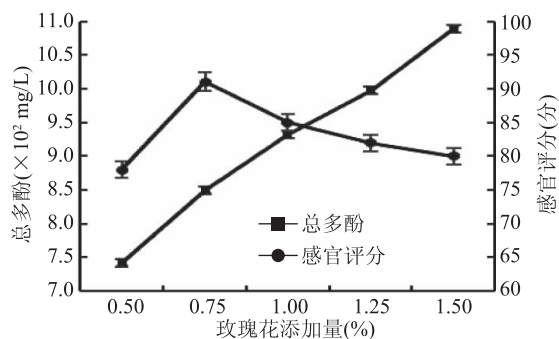


图2 不同玫瑰花添加量对总多酚与感官评分的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of rose on total polyphenols and sensory score

复合菌种体系中乳酸菌添加量增高,总酸含量开始升高,当复合菌种添加比为 3:7 时总酸含量最高,达到 3.73 g/L。总多酚含量随着复合菌种体系中乳酸菌添加量的增高而降低。当复合菌种添加比为 3:7 时总多酚含量最低,为 9.49 mg/L,当添加比为 7:3 时总多酚含量最高,达到 9.83 mg/L。这可能是因为乳酸菌在发酵过程中总酸含量升高,降低溶液 pH,从而在一定程度上影响酶的活性,微生物的细胞膜所带电荷会有所改变,因此改变了细胞膜的透性,从而降低了复合菌种体系对营养物质的吸收和代谢物的排泄^[18],考虑到乳酸菌添加量对发酵液酸度的影响,最终选取 6:4、5:5、4:6 作为响应面的三水平。

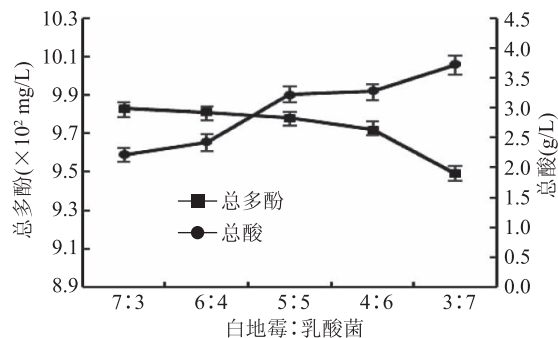


图3 复合菌种配比对总多酚与总酸含量的影响

Fig.3 Effect of compound strains' ratio on total polyphenols and total acid contents

2.2.2 不同发酵时间对发酵液总多酚与总酸含量的影响 结果如图 4 所示,总酸含量随着发酵时间的增长而升高,在发酵 60 h 时达到 3.53 g/L。总多酚含量同样随着发酵时间的增长而升高,在发酵第 60 h 时达到 9.83×10^2 mg/L,其中,在发酵 12~48 h,总多酚含量增长较快,增长了 0.67×10^2 mg/L,在发酵 48 h 后总多酚含量增长缓慢。这可能是由于发酵开始时总多酚从原材料中的溶出率增大,发酵 48 h 后,其溶出速率开始缓慢下降的原因。根据单因素试验最终选取 36、48、60 h 作为响应面三水平。

2.2.3 不同发酵温度对发酵液总多酚与总酸含量的影响 结果如图 5 所示,总酸主要受到乳酸菌发酵的影响,其中,在发酵温度为 38 °C 时,总酸含量最高,而低于 38 °C 时,因未达到乳酸菌最适发酵温度,发酵液中总酸含量有所降低。总多酚含量随着发酵温度的升高而升高,在发酵温度为 33 °C 最高,达到

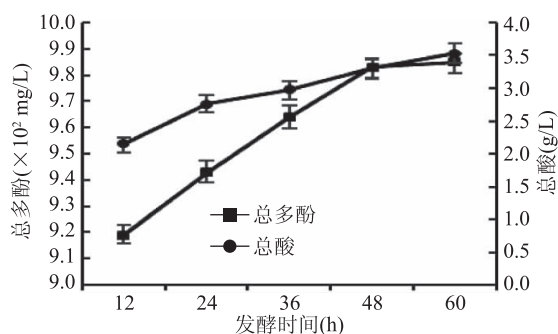


图4 不同发酵时间对总多酚与总酸含量的影响

Fig.4 Effect of different fermentative time on total polyphenols and total acid contents

9.84×10^2 mg/L。这可能是由于在发酵液中,分子的渗透、扩散、溶解速率会随着温度升高而加快。高温可在一定程度上破坏细胞壁的完整性,使活性物质易从果肉细胞转移到溶剂中^[19]。根据单因素试验最终选取 28、33、38 °C 作为响应面三水平。

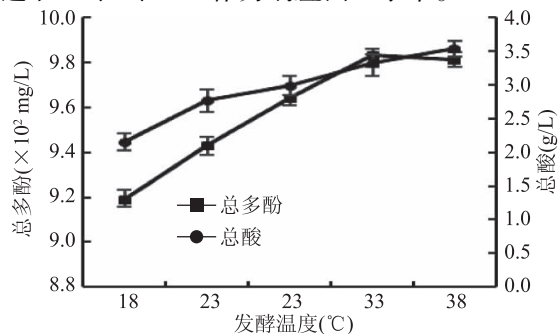


图5 不同发酵温度对总多酚与总酸含量的影响

Fig.5 Effect of different fermentative temperatures on total polyphenol and total acid contents

2.2.4 不同初始 pH 对发酵液总多酚与总酸含量的影响 结果由图 6 所示,总酸含量随着初始 pH 升高而升高,初始 pH 为 6 时总酸含量最高,达到 3.9 g/L;其中,初始 pH 为 5~6 时,总酸的增长率最高。这是由于该初始 pH 范围适合该乳酸菌的生长。总多酚含量随着初始 pH 的升高先升后降,其中,初始 pH 在 4~4.5 范围内时,总多酚含量小幅度增长,达到 9.76×10^2 mg/L。初始 pH 在 5~6 范围内时,发酵液中总多酚含量下降,当 pH 为 6 时总多酚含量最低,为 9.47×10^2 mg/L。由于发酵液初始 pH 为 4,pH 的升高对总多酚升高无明显意义。因此,以发酵液初始 pH 作为响应面中的固定 pH。

2.3 响应面法优化葡萄玫瑰花发酵饮品工艺

发酵液在发酵过程中,总多酚含量明显增加,且为了凸显发酵饮品的抗氧化能力,选择总多酚作为响应值,以单因素实验为基础,通过 Box- Behnken 中心组合实验设计原理,设计以复合菌种添加比(A)、发酵温度(B)、发酵时间(C)为基础的 3 因素 3 水平共 17 组响应面分析实验。实验因素和水平见表 1,中心组合实验设计及结果见表 3,方差分析见表 4。响应面分析图见图 7。

通过 Design-Expert V 8.0.6 软件对分析结果进行多元回归拟合,得到方程为:

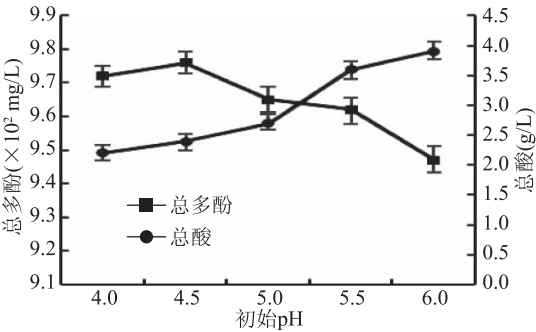


图6 不同初始 pH 对总多酚与总酸的影响
Fig.6 Effect of different initial pH
on total polyphenol and total acid contents

$$Y = 9.86 - 0.24A - 0.1B + 0.038C - 0.13AB - 0.063AC - 0.072BC - 0.12A^2 - 0.33B^2 - 0.26C^2$$

响应面优化实验回归模型极显著($p < 0.001$),且失拟项不显著($p = 0.03550$)说明该实验对总多酚含量具有显著意义,能够较好得拟合实验数据,该模型得决定系数 $R^2 = 0.9928$,校正拟合系数 $R^2_{Adj} = 0.9836$,预测拟合系数 $R^2_{Pred} = 0.9349$,且精密度(Adeq Precisor)为 $30.003 > 4$,说明该模型拟合良好,可以用于预测。

由表4可知,一次项与二次项均对发酵液总多酚含量影响表现出极显著水平,交互项AB、AC、BC对总多酚含量影响表现均为显著($p < 0.05$)。且根据显著性与F值大小可知,影响总多酚含量因素的主次顺序为:添加比(A) > 发酵温度(B) > 发酵时间(C)。

多酚类物质包括黄酮化合物与花色苷等物质,因其具有较强的自由基清除能力,也可作为发酵饮品抗氧化能力的重要指标^[20]。为了反映各因素及其交互作用对总多酚含量的影响,对回归方程绘制三维响应面图及其等高线,结果如图7所示,菌种添加比和发酵温度的交互作用显著,当复合菌种配比中

表3 响应面试验因素及水平

Table 3 Factors and levels of Box-Behnken design				
试验号	A	B	C	总多酚 ($\times 10^2$ mg/L)
1	0	0	0	9.88
2	0	0	0	9.83
3	-1	1	0	9.69
4	-1	0	1	9.81
5	0	1	1	9.13
6	-1	-1	0	9.61
7	1	1	0	8.96
8	0	0	0	9.86
9	1	0	-1	9.28
10	1	-1	0	9.39
11	0	-1	1	9.52
12	0	0	0	9.91
13	1	0	1	9.19
14	0	1	-1	9.16
15	-1	0	-1	9.65
16	0	-1	-1	9.26
17	0	0	0	9.82

白地霉添加量增加时,发酵液总多酚含量升高,且发酵温度也与单因素结果相符。菌种添加比与发酵时间交互作用显著,由图可看出随着白地霉添加量增加、发酵时间增长,总多酚含量升高。发酵温度与发酵时间交互作用显著,随着发酵温度和发酵时间的增加,总多酚含量呈极大值点。

经过响应面模型预测,葡萄玫瑰花发酵饮品中总多酚含量最佳工艺是在葡萄汁添加量为30%、玫瑰花添加量为0.75%的条件下,白地霉与乳酸菌的添加比为5.5:4.5,发酵温度为32.6℃,发酵时间为48.2 h,在该最佳工艺条件下,葡萄玫瑰花发酵饮品中的总多酚含量应为 9.96×10^2 mg/L,对工艺进行优

表4 多元回归方程的方差分析

Table 4 Variance analysis of multiple regression equation						
差异来源	平方和	自由度	均方	F值	p值	显著性
模型	1.56	9	0.17	107.56	<0.0001	**
A	0.47	1	0.47	292.72	<0.0001	**
B	0.088	1	0.088	43.88	0.0001	*
C	0.011	1	0.011	7.00	0.0331	*
AB	0.065	1	0.065	40.46	0.0004	*
AC	0.016	1	0.016	9.72	0.0169	*
BC	0.021	1	0.021	13.08	0.0085	*
A ²	0.057	1	0.057	35.41	0.0006	*
B ²	0.46	1	0.46	287.47	<0.0001	**
C ²	0.29	1	0.29	178.81	<0.0001	**
残差	0.011	7	1.57×10^{-3}			
失拟项	5.7×10^{-3}	3	1.9×10^{-3}	1.44	0.3550	不显著
净误差	5.4×10^{-3}	4	1.35×10^{-3}			
总离差	1.57;	16				

注:*表示差异显著,**表示差异极显著。

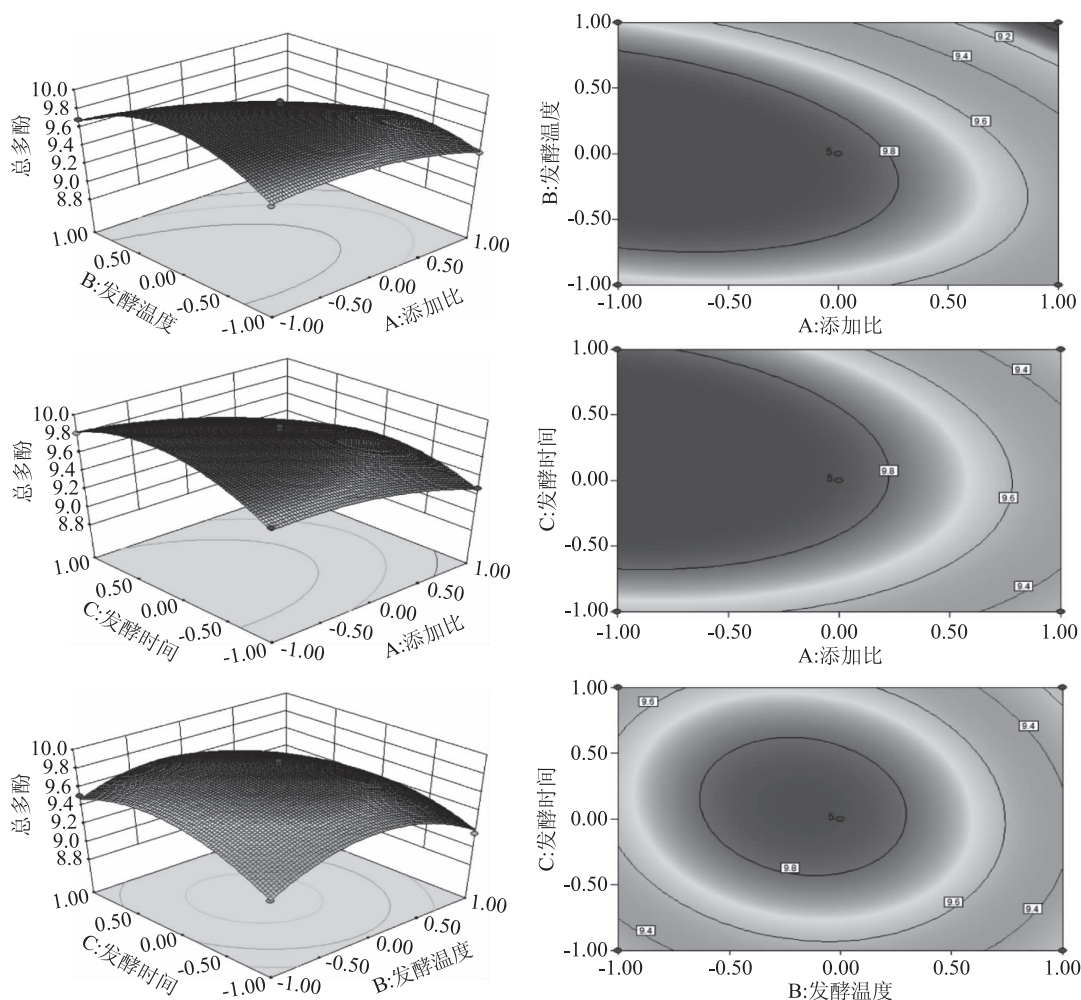


图7 各因素交互作用对总多酚含量影响的响应面图和等高线图

Fig.7 Response surface and contour plots of interaction of various factors on polyphenol content

化后,选取添加比为 5.5:4.5,发酵温度为 33℃,发酵时间为 48 h,进行三次平行实验且取平均值,在此条件下葡萄玫瑰花发酵饮品的总多酚含量测定值为 9.92×10^2 mg/L,与预测值的相对误差为 0.4%,说明该工艺可行,具备一定的应用价值。

2.4 葡萄玫瑰花发酵饮品动态感官评定

按照响应面优化工艺进行葡萄玫瑰花发酵饮品的发酵实验,总发酵时间为 60 h,按照每 12 h 取样并离心进行感官评定,结果由图 8 所示,第 12 h 由于菌种还未起酵,葡萄汁所带来的甜腻口感在很大程度上影响了感官评定评分,随着发酵的进行,发酵液内的酸甜口感逐渐趋于平衡,当发酵时间为 48 h 时,感官评分最高为 92,当发酵时间为 60 h 时,由于乳酸菌发酵代谢乳酸增多消耗了过多的糖,导致发酵液口感偏酸,影响感官评定评分。

2.5 葡萄玫瑰花发酵饮品体外抗氧化能力测定

2.5.1 发酵过程中 SOD 活力的变化 每 12 h 对葡萄玫瑰花发酵液取样离心进行测定,结果由图 9 所示,随着发酵时间的增长,葡萄玫瑰花发酵液的 SOD 活力升高,其中 0~24 h 增长速率较快,SOD 活力增长了 4.78×10^3 U/L,在复合菌种发酵第 24 h 后,SOD 活力趋于稳定,当发酵时间为 48 h 时 SOD 活力达到 5.31×10^3 U/L。

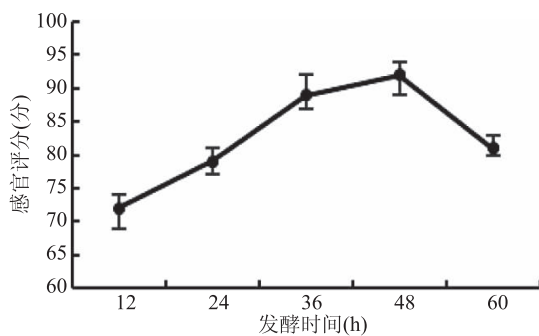


图8 葡萄玫瑰花发酵液动态感官评定评分

Fig.8 Dynamic sensory evaluation of grape-rose fermentative beverage

2.5.2 发酵过程中花青素含量的变化 实验结果如图 10 所示,花青素是一类优良的天然抗氧化剂,其抗氧化能力是维生素 E 的 50 倍,且比维生素 C 高 20 倍^[20],葡萄玫瑰花发酵液在发酵过程中,花青素含量基本维持在 28 mg/L 左右,在发酵后与发酵起始时对比,发酵过程中花青素含量升高了将近 2 mg/L,但含量维持于稳定状态,因此复合菌种发酵过程没有影响到花青素含量,使其依然保持了葡萄和玫瑰花富含的天然花青素含量。

2.5.3 发酵过程中 DPPH 自由基清除能力 结果如

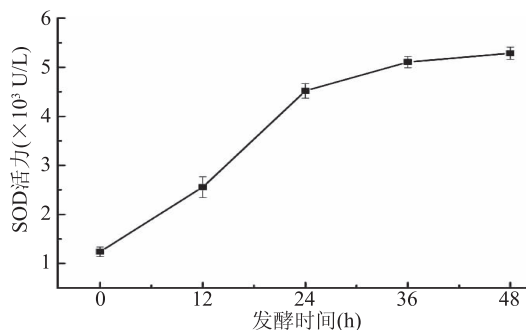


图9 葡萄玫瑰花发酵过程中 SOD 活力的变化

Fig.9 Changes of SOD activity during the fermentative process

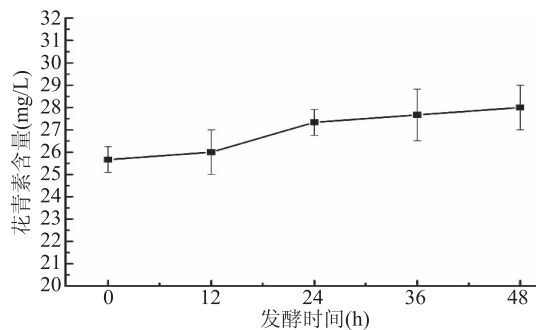


图10 葡萄玫瑰花发酵过程中花青素含量的变化

Fig.10 Changes of anthocyanin content
in grape-rose fermentative beverage

图11所示,发酵过程中DPPH自由基清除能力随着发酵时间的增长而升高,在发酵第48 h时,达到857 $\mu\text{mol/L}$ 。在发酵48 h内共增长了357 $\mu\text{mol/L}$ 。

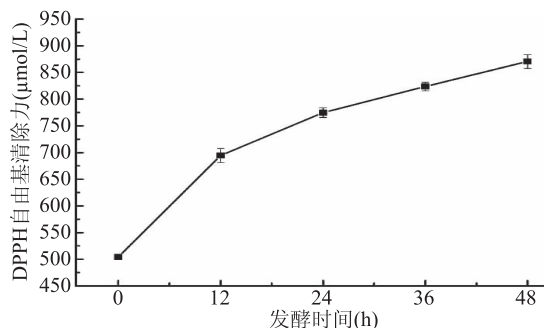


图11 葡萄玫瑰花发酵过程中 DPPH 自由基清除力的变化

Fig.11 Changes of DPPH radical scavenging activity of
grape-rose fermentative beverage

3 结论

在葡萄汁添加量为30%、玫瑰花添加量为0.75%的条件下,选取复合菌种白地霉和乳酸菌的添加量为5.5:4.5,发酵温度33 $^{\circ}\text{C}$,发酵时间48 h进行发酵,其总多酚含量为 9.92×10^2 mg/L,且在该条件下感官评分为92。之后,对发酵饮品进行体外抗氧化能力测定,结果表明,在复合菌种发酵作用下,SOD活力达到 5.31×10^3 U/L,且发酵过程没有影响葡萄与玫瑰花中花青素含量的变化,DPPH自由基清除能力也由500 $\mu\text{mol/L}$ 升高至857 $\mu\text{mol/L}$ 。

本文首次使用白地霉与乳酸菌复合发酵葡萄与玫瑰花制备发酵饮品。根据实验结果表明,其在保留了原材料抗氧化能力同时,又通过复合菌种发酵

增加了酸甜的口感,并同时提高了抗氧化能力,增加了原材料的附加值,有利于葡萄玫瑰花产业发展。

参考文献

- [1]刘红燕,王妮.玫瑰花多糖的体外抗氧化活性研究[J].食品与药品,2014,16(4):256-257.
- [2]冯晓翎,曹诗瑜,徐晓瑜,等.11个鲜食葡萄品种总酚含量和抗氧化活性的评价[J].食品工业科技,2019,40(6):68-75.
- [3]赵丹,曹玉峰,丁文玉,等.玫瑰发酵液的抗氧化及美白功效探究[J].食品与机械,2017,33(9):141-145,196.
- [4]赵芳芳,莫雅雯,蒋增良,等.功能性微生物酵素产品的研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(7):283-287.
- [5]李凡,吕兵.白首乌酵素发酵工艺的优化[J].食品工业科技,2019,40(3):179-184.
- [6]刘进杰,王伟霞,严娜,等.葡萄皮多酚抗氧化性及提取工艺研究[J].食品科技,2018,43(9):267-274.
- [7]彭涛,张怀予,刘琦,等.利用白地霉改造传统制麦的工艺优化[J].食品科学,2013,34(19):247-253.
- [8]孙丙升,郑莉莉,刘天明,等.白地霉的应用研究进展[J].食品研究与开发,2008,29(9):163-166.
- [9]秦丹,熊兴耀,石雪晖,等.刺葡萄汁饮料生产工艺研究[J].食品科技,2008(1):50-52.
- [10]张水华.食品感官鉴别(第二版)[M].广州:华南理工大学出版社,2005:12.
- [11]Hiwa M, Ahmed Szilvia, Tavaszi Sarosi. Identification and quantification of essential oil content and composition, total polyphenols and antioxidant capacity of *Perilla frutescens* (L.) Britt [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 730-738.
- [12]Harbertson J F, Spayd S. Measuring phenolics in the winery [J]. Am J Enol Vitic, 2006, 57: 280-288.
- [13]中华人民共和国卫生部 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S].北京:中国标准出版社,2006.
- [14]Somers T C, Evans M E. Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanins equilibria, total phenolics free and molecular SO_2 , "chemical age" [J]. J Sci Food Agric, 1977, 28: 279.
- [15]Rivas - Gonzalo J C, Gutierrez Y, Hebrero E, et al. Comparisons of methods for the determination of anthocyanins in red wines [J]. Am J Enol Vitic, 1992, 43: 210.
- [16]杨盈,刘扬,聂舟,等. Trolox 及其酯化物与 DPPH 自由基的反应机理 [J]. 华侨大学学报: 自然科学版, 2009, 30(3): 280-283.
- [17]张强,辛秀兰,杨富民,等. 红树莓果醋酿造过程中抗氧化性能的变化 [J]. 食品科学, 2016, 37(3): 6-11.
- [18]杨艳,杨荣玲,邹宇晓,等. 肠道微生物菌群生物转化天然多酚类化合物研究进展 [J]. 食品科学, 2014, 35(17): 319-325.
- [19]吴杰,吴廷东,赵雪松,等. 不同发酵条件对山竹果酒活性成分溶出的影响 [J]. 粮食与食品工业, 2018, 25(2): 42-46, 49.
- [20]闫亚美,戴国礼,冉林武,等. 不同产地野生黑果枸杞资源果实多酚组成分析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(22): 4540-4550.
- [21]张卫波,杨豆,樊华,等. 葡萄籽中原花青素的超声强化提取工艺研究 [J]. 饲料与畜牧, 2017, 28(11): 28-31.