

蓝莓露酒主要成分变化及浸提条件优化

方 堃^{1,2}, 陆胜民^{1*}, 夏其乐¹, 杨 颖¹

(1. 浙江省农业科学院食品科学研究所, 浙江省果蔬保鲜与加工技术研究重点实验室, 杭州 310021;
2. 安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036)

摘 要: **目的** 优化蓝莓露酒主要成分变化及浸提条件。**方法** 以新鲜蓝莓为原料, 用不同纯度的乙醇溶液浸提, 并对浸提过程中溶出的总酚、黄酮、花色苷、总酸、可溶性固形物和维生素 C 进行动态分析。在多个单因素试验的基础上采用正交试验考察乙醇溶液和蓝莓的比例(A)、浸提用乙醇溶液的纯度(B)、浸提前超声处理时间(C)和浸提时间(D)对蓝莓酒抗氧化能力的影响。**结果和结论** 最佳的浸提条件为料液比 1:1, 浸提用乙醇溶液的乙醇含量 60% (v/v), 超声处理时间 40 min, 浸提时间为 30 d, 在此条件下其 DPPH 自由基清除率为 66.30%。

关键词: 蓝莓; 露酒; 抗氧化; 正交试验

Optimizing of main composition changes and extraction conditions of blueberry juice wine

FANG Kun^{1,2}, LU Sheng-Min^{1*}, XIA Qi-Le¹, YANG Ying¹

(1. Key Laboratory of Fruits and Vegetables
Postharvest and Processing Technology Research of Zhejiang Province, Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;
2. School of Tea and Food Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the main composition changes and extraction conditions of blueberry juice wine. **Methods** Blueberry integrated alcoholic beverage was produced by immersing the fresh blueberry fruits into different concentrations of alcohol. Some ingredients, like total phenols, flavonoids, anthocyanins, total acid, soluble solids and Vitamin C, of blueberry fruits dissolved into the alcohol solution during immersion process were dynamically monitored. Orthogonal test was used to determine the effect of solid-liquid ratio (A), alcohol concentration (B), ultrasonic time (C) as well as immersion time (D) on the antioxidant capacity of the blueberry integrated alcoholic beverage. **Results and Conclusion** The best combination of factors was the ratio of fruit to liquid 1:1, alcohol concentration 60%(v/v), ultrasonic time 40 min, impregnation time 30 d, and the DPPH radical scavenging capacity of the alcoholic beverage was determined to 66.30%.

KEY WORDS: blueberry; integrated alcoholic beverage; antioxidant; orthogonal test

蓝莓(*Vaccinium angustifolium* aiton), 又称越桔, 蓝浆果, 为杜鹃花科越桔属植物, 是一种具有极高经济效益的多年生的世界性小浆果类果树^[1]。蓝莓果实

近圆形, 呈蓝色、果肉细腻、酸甜适口, 并具有宜人的香气, 可鲜食, 也可加工成蜜饯、饮料和果酒, 还是化妆品等行业的原料^[2-3]。蓝莓果实不仅味道鲜美,

*通讯作者: 陆胜民, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品加工。E-mail: lushengmin@hotmail.com

*Corresponding author: LU Sheng-Min, Research Professor, Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, No.198, ShiqiaoRoad, Jianggan District, Hangzhou 310021, China. E-mail: lushengmin@hotmail.com

还具有非常高的营养价值。蓝莓果实除了含有糖、酸及丰富的维生素 C、花色苷,还含有丰富的锰、铁、锌等微量元素以及其他水果少有的生理活性成分,如维生素 A、SOD、熊果甙、白藜芦醇等^[4]。近年来研究^[5]表明,蓝莓不仅对眼睛具有保健作用,还具有清除体内自由基,柔韧毛细血管,预防血栓的形成,抗击癌细胞,延缓衰老等生理功能。因此,蓝莓又被誉为“水果中的皇后”,被联合国粮农组织列为人类 5 大健康食品之一。

酒和酒饮料成为了人们餐桌上不可或缺的饮品,将蓝莓与酒结合,开发出一种乙醇度较低,口感醇正,香气宜人,具有一定生理活性的饮料酒,能够丰富消费者对酒类的选择,同时可降低单纯饮酒对身体造成的伤害。由于蓝莓引进较迟,国内的研究报道^[3-4]主要在栽培育种技术方面,采后方面主要集中在保鲜和蓝莓花青素的提取工艺,王兆雨等^[6]用乙醇浸提法提取蓝莓果实中的花青素,确定最佳的乙醇浓度为 50%。也有部分研究蓝莓果酒的加工,樊基胜等^[7]研制用乙醇纯度为 45%的大米酒浸提的蓝莓浸渍酒,但未对蓝莓主要活性成分的溶出过程进行动态的分析。本研究以新鲜蓝莓为原料,以不同乙醇纯度的食用乙醇浸提蓝莓,采用正交法优化其浸提条件,并研究了蓝莓酒在浸提过程中主要功能性成分的变化,为开发优质的蓝莓露酒提供理论和技術上的依据。

1 材料与方 法

1.1 原料和试剂

原料:新鲜的蓝莓(康维尔),购于杭州当地果品市场。

试剂:95%食用乙醇,浙江省食品工业总公司。Folin 溶液、氢氧化钠、无水乙酸、邻菲罗啉、三氯乙酸、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl))等,试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-1800 紫外/可见分光光度计(日本岛津公司); Quick-Brix 90 折光率仪(梅特勒-托利多(上海)仪器公司); FE 20 实验室 pH 计(梅特勒-托利多(上海)仪器公司); AL 104-IC 电子天平[梅特勒-托利多(上海)仪器公司]; 比色管等。

1.3 方 法

1.3.1 浸提方法

选择新鲜成熟的蓝莓果实,剔除霉烂、病虫果,洗净晾干。设定不同的乙醇浓度(%);不同的料液比(蓝莓质量:乙醇体积),不同的超声波处理时间(min)的 3 个水平开展 $L_9(3^3)$ 正交试验(表 1)。样品中蓝莓用量均为 400 g,乙醇用量分别为 400、500、600 mL。

1.3.2 静态浸提、取样分析

乙醇溶液和蓝莓鲜果混合且经超声处理后,将酒液摇晃均匀,常温避光保存。取酒样进行分析时,按照该工艺中的料液比取出一定量的蓝莓,以保证每次取样后的容器中剩余的蓝莓和乙醇溶液始终保持设定的料液比。取样时间间隔为 10 d。

1.3.3 指标测定方法

花色苷:pH 示差法^[8],各取 1 mL 样品分别加入 9 mL pH 1.0 的缓冲液(KCl-HCl)和 pH 4.5 的缓冲液(NaAc-HCl),分别在 510、700 nm 测得其吸光值。

计算公式:花色苷含量(mg/L)=[$(\Delta A \times M_w)/(\epsilon \times 1) \times Df \times 1000$]

其中: $\Delta A=(A_{510}-A_{700})_{pH 1.0}-(A_{510}-A_{700})_{pH 4.5}$;
 M_w : 矢车菊素葡萄糖苷的相对分子质量(484.82 mg/mol); ϵ : 矢车菊素葡萄糖苷的摩尔消光系数(24825 mol^{-1}); Df : 稀释因子(样品总的稀释倍数)。

总酚:Folin-酚试剂法^[9],取 1 mL 稀释过的样品加到 25 mL 比色管中,加 9 mL 蒸馏水,0.5 mL Folin 试剂,5 min 后加入 5 mL 5%NaCO₃ 溶液,蒸馏水定容,反应 60 min,在 750 nm 下测定吸光值。

总酸:酸碱滴定法,使用 GB/T15038 的测定方法,以酒石酸计。

可溶性固形物:手持折光仪直接测定。

Vc: 分光光度计法^[10],加入 0.1 mL 样品,加入 0.5 mL 20 g/L 的三氯乙酸,再加入 1.5 mL 20 g/L 三氯乙酸溶液,1 mL 无水乙醇,0.5 mL 0.4%磷酸-乙醇溶液,1 mL 5 g/L 邻菲罗啉-乙醇溶液,0.5 mL 0.3 g/L 氯化铁-乙醇溶液,混匀后将反应液置于 30 °C 下 90 min,然后以三氯乙酸做对照,于 534 nm 处测定吸光度值。

DPPH 自由基清除率^[11]:称取适量 DPPH,用无水乙醇溶解,配成 DPPH 母液;使用时用无水乙醇稀释,并使溶液吸光值在 0.7 左右。将 1 mL 待测酒液及 3.9 mL DPPH 溶液置于一具塞试管中,摇匀,放置 30 min,以无水乙醇为空白,于 517 nm 测其吸光度

A_i , 并以下式计算清除率:

$$\text{清除率} = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$$

式中: A_0 : 0.1 mL 无水乙醇加 3.9 mL DPPH 溶液的吸光度; A_i : 0.1 mL 待测液加 3.9 mL DPPH 溶液的吸光度; A_j : 0.1 mL 待测液加 3.9 mL 无水乙醇的吸光度。

1.4 统计学方法

采用 Excel 2007 和 IBM SPSS Statistics 20 软件进行数据分析, 每组重复 2 次, 结果以均值±标准差 (means±SD) 表示, 实验数据采用 IBM SPSS Statistics 20 进行正交设计和差异分析, $P < 0.05$ 表明差异显著。

2 结果与分析

2.1 浸提过程中蓝莓露酒主要指标的变化

2.1.1 蓝莓露酒酚类物质的变化

大量的研究^[12-13]表明, 食品和植物的抗氧化活性与总酚含量有着很好的正相关性。研究蓝莓露酒中酚类物质的变化对于其功能性作用具有重要意义。分析不同时间点的同一样品, 结果显示, 9 种酒样的总酚(表 2)含量基本在 50 d 这个时间点达到最大值, 最大值为 1.42 mg/mL(7 号), 整体而言总酚的变化是一种先上升后下降的趋势, 10~20 d 这个阶段总酚含量上升速率较快, 最快的上升了 66.3%(3 号)。在表 3 中, 依旧是 10~20 d 这个阶段黄酮的溶出速率较快, 20~30 d 期间变缓, 之后基本保持平缓上升的趋势。虽然其中编号 1~5 的酒样在 40~60 d 期间略有起伏, 但 9 种酒样的黄酮含量都在 60 d 的时候达到最大值。

表 2 和表 3 的结果还显示, 在 70 d 的浸提时间里, 酒样中总酚和黄酮的变化趋势基本保持一致。对比同一取样时间的其他酒样, 料液比为 1:1, 用 60%乙醇浸提的酒样(7 号)的总酚、黄酮的含量一直保持最大值; 而料液比为 1:1.5, 用 40%乙醇浸提的酒样(3 号)在整个浸提过程中基本处于最低的水平, 只是部分

测定略高于其他酒样, 如 60 d 时, 总酚的含量高于 2 号, 可能取样过程中的操作造成料液比的细微改变影响了相关结果。

另外, 表 2 和表 3 也显示了不同的料液比、乙醇浓度都影响着总酚等物质的溶出。对比同一取样时间、同一乙醇浓度的不同料液比的酒样, 结果表明料液比为 1:1 的总酚、黄酮溶出量最大, 而料液比为 1:1.5 的最低。为了尽量减少浸提时间对蓝莓露酒总酚、黄酮溶出的影响, 分析了浸提 10 d 的 9 种酒样中不同乙醇浓度的同一料液比之间酒样的总酚、黄酮含量的关系, 结果表明 40%乙醇浓度下酚类物质的含量与其他两个浓度相差较大, 而 50%和 60%乙醇浓度间酚类物质含量相差不大, 说明虽然有着不同超声时间的影响, 但也可以说明乙醇浓度越大, 酚类物质溶出越多, 但较高乙醇浓度下差异不明显。

花色苷是蓝莓露酒中显色的重要物质, 也是一种类黄酮物质, 但其变化规律与表 3 中黄酮的变化不一致。9 种酒样的花色苷含量在蓝莓浸泡 70 d 之间是先上升后下降的趋势。浸提 20 d 时, 9 种酒样中的花色苷都达到最高值, 其中 7 号酒样的花色苷含量最高, 达到 0.28 mg/mL。30 d 后酒中花色苷的含量开始降低, 之后一直保持降低的趋势。对比每组浸提 20 d 达到的峰值, 70 d 时损失率均大于 47%, 损失最大的为料液比 1:1, 50%乙醇浸提的酒样(4 号), 达到 84.6%, 详见表 4。有研究^[14]表明, 在花色苷的提取工艺中, 花色苷随着乙醇含量的增加溶解度增加。另外, 花色苷对光照和温度都很敏感, 加之蓝莓中所含的多酚氧化酶、绿原酸会影响花色苷的稳定性^[15]。因此, 在后续的蓝莓酒加工过程中可以添加柠檬酸、苹果酸等稳定剂降低酒的 pH 值, 从而提高花色苷的稳定性^[16]。

2.1.2 蓝莓露酒总酸的变化

蓝莓露酒中的酸不仅作为酸味成分, 更影响着其色泽的稳定, 因此总酸的含量直接影响着酒的感官品质。由表 5 可以看出, 蓝莓酒中总酸的含量随着时间的变化在增加, 其中 10~20 d 的期间上升速率

表 1 蓝莓露酒浸提条件因素水平表

Table 1 Immersion conditions of blueberry integrated alcoholic beverage

水平	料液比 A(蓝莓质量 乙醇体积, g/mL)	浸提用乙醇溶液乙醇度 B/%	超声处理时间 C/min
1	1:1	40	30
2	1:1.2	50	40
3	1:1.5	60	50

表2 蓝莓露酒浸提过程中酒样总酚含量的变化
Table 2 The change of total phenols in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样的总酚含量/(mg·mL ⁻¹)						
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d
1	0.678±0.092	0.974±0.012	1.002±0.035	1.120±0.120	1.130±0.099	1.145±0.021	1.045±0.078
2	0.663±0.006	0.893±0.11	0.908±0.039	1.045±0.035	1.160±0.085	1.115±0.021	1.020±0.042
3	0.496±0.056	0.825±0.003	0.862±0.050	1.005±0.049	1.060±0.071	1.125±0.007	1.040±0.014
4	0.839±0.022	1.075±0.017	1.080±0.005	1.210±0.042	1.255±0.049	1.160±0.042	1.065±0.007
5	0.698±0.030	0.969±0.016	0.980±0.005	1.190±0.113	1.175±0.078	1.190±0.113	1.175±0.163
6	0.591±0.024	0.848±0.003	0.893±0.102	1.130±0.028	1.235±0.092	1.215±0.092	1.205±0.021
7	0.873±0.007	1.135±0.016	1.151±0.041	1.390±0.042	1.420±0.071	1.415±0.007	1.340±0.014
8	0.728±0.009	0.972±0.025	1.000±0.028	1.165±0.007	1.225±0.035	1.245±0.021	1.185±0.021
9	0.666±0.096	0.954±0.056	1.005±0.002	1.185±0.049	1.235±0.078	1.275±0.049	1.230±0.042

编号1~9的处理条件依次为: 料液比1:1, 40%乙醇; 料液比1:1.2, 40%乙醇; 料液比1:1.5, 40%乙醇; 料液比1:1.5, 50%乙醇; 料液比1:1.2, 50%乙醇; 料液比1:1.5, 50%乙醇; 料液比1:1, 60%乙醇; 料液比1:1.2, 60%乙醇; 料液比1:1.5, 60%乙醇; d表示间隔天数; n=2。

表3 蓝莓露酒浸提过程中酒样黄酮的变化
Table 3 The change of flavonoids in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样黄酮含量/(mg·mL ⁻¹)						
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d
1	1.105±0.162	1.639±0.023	1.816±0.017	1.836±0.024	1.572±0.017	1.801±0.088	1.593±0.147
2	1.020±0.040	1.448±0.076	1.622±0.080	1.687±0.110	1.606±0.081	1.827±0.065	1.619±0.074
3	0.728±0.130	1.329±0.056	1.516±0.053	1.600±0.097	1.595±0.023	1.840±0.037	1.641±0.034
4	1.397±0.004	1.825±0.030	1.952±0.105	1.938±0.087	1.845±0.004	1.853±0.017	1.596±0.006
5	1.111±0.020	1.584±0.038	1.718±0.004	1.896±0.195	1.726±0.236	1.956±0.215	1.740±0.229
6	0.927±0.076	1.286±0.051	1.600±0.065	1.674±0.056	1.781±0.177	1.926±0.126	1.766±0.081
7	1.431±0.049	1.988±0.072	2.188±0.058	2.161±0.068	2.253±0.060	2.314±0.034	1.998±0.058
8	1.154±0.053	1.646±0.009	1.788±0.033	1.715±0.114	1.852±0.073	2.054±0.010	1.813±0.030
9	1.096±0.154	1.582±0.202	1.794±0.187	1.841±0.086	2.016±0.283	2.009±0.067	1.696±0.138

编号1~9的处理条件依次为: 料液比1:1, 40%乙醇; 料液比1:1.2, 40%乙醇; 料液比1:1.5, 40%乙醇; 料液比1:1, 50%乙醇; 料液比1:1.2, 50%乙醇; 料液比1:1.5, 50%乙醇; 料液比1:1, 60%乙醇; 料液比1:1.2, 60%乙醇; 料液比1:1.5, 60%乙醇; d表示间隔天数; n=2。

表4 蓝莓露酒浸提过程中酒样花色苷的变化
Table 4 The change of anthocyanins in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样花色苷含量/(mg·mL ⁻¹)						
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d
1	0.131±0.026	0.151±0.010	0.139±0.006	0.090±0.003	0.064±0.006	0.051±0.006	0.029±0.003
2	0.135±0.001	0.160±0.002	0.145±0.011	0.110±0.001	0.083±0.009	0.073±0.002	0.044±0.001
3	0.105±0.022	0.153±0.003	0.156±0.001	0.121±0.004	0.107±0.001	0.091±0.005	0.059±0.005
4	0.208±0.013	0.217±0.006	0.184±0.001	0.132±0.003	0.094±0.002	0.059±0.002	0.035±0
5	0.176±0.002	0.210±0.006	0.199±0.006	0.158±0.013	0.125±0.012	0.097±0.012	0.064±0.015
6	0.130±0.003	0.164±0.008	0.161±0.004	0.130±0.007	0.107±0.005	0.085±0.006	0.058±0.006
7	0.259±0.009	0.280±0.003	0.241±0.002	0.183±0.003	0.135±0	0.105±0.003	0.063±0.004
8	0.163±0.017	0.220±0.014	0.194±0.013	0.146±0	0.100±0.027	0.095±0.007	0.061±0.003
9	0.175±0.017	0.232±0.018	0.214±0.009	0.174±0.004	0.136±0.005	0.103±0.001	0.070±0.003

编号1~9的处理条件依次为: 料液比1:1, 40%乙醇; 料液比1:1.2, 40%乙醇; 料液比1:1.5, 40%乙醇; 料液比1:1, 50%乙醇; 料液比1:1.2, 50%乙醇; 料液比1:1.5, 50%乙醇; 料液比1:1, 60%乙醇; 料液比1:1.2, 60%乙醇; 料液比1:1.5, 60%乙醇; d表示间隔天数; n=2。

表5 蓝莓露酒浸提过程中酒样总酸的变化
Table 5 The change of total acid in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样总酸含量(g/L)						
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d
1	2.21±0.34	3.15±0.07	3.23±0.01	3.37±0.01	3.42±0.04	3.27±0	3.34±0.04
2	2.07±0.01	2.74±0.03	2.82±0.04	2.99±0.07	3.02±0.06	2.91±0.10	3.10±0.21
3	1.64±0.25	2.45±0.01	2.57±0	2.76±0.02	2.81±0.01	2.82±0.09	2.87±0.03
4	2.72±0.04	3.37±0.01	3.49±0.05	3.56±0.11	3.58±0.07	3.46±0.04	3.52±0.06
5	2.11±0.18	2.80±0.22	2.95±0.22	3.15±0.16	3.16±0.10	3.08±0.10	3.22±0.17
6	1.76±0.06	2.26±0.02	2.61±0.04	2.68±0.06	2.77±0.07	2.77±0.13	2.86±0.13
7	2.36±0.02	3.11±0.06	3.28±0.07	3.42±0.08	3.40±0.05	3.31±0.05	3.43±0.04
8	2.11±0.14	2.72±0.14	2.88±0.11	2.98±0.16	3.05±0.18	2.93±0.14	3.04±0.13
9	1.87±0.14	2.43±0.22	2.61±0.16	2.75±0.13	2.79±0.12	2.78±0.05	2.96±0.08

编号1~9的处理条件依次为: 料液比1:1, 40%乙醇; 料液比1:1.2, 40%乙醇; 料液比1:1.5, 40%乙醇; 料液比1:1, 50%乙醇; 料液比1:1.2, 50%乙醇; 料液比1:1.5, 50%乙醇; 料液比1:1, 60%乙醇; 料液比1:1.2, 60%乙醇; 料液比1:1.5, 60%乙醇; d表示间隔天数; n=2。

较快, 之后表现一种缓慢的上升趋势。其中总酸含量在50~60 d这段时间略微有些下降, 但在60~70 d期间又有所上升, 整体而言40 d之后保持较平稳。对比同一取样时间、同一乙醇浓度的不同料液比的酒样, 结果表明料液比越大, 总酸溶出量越大。为了尽量减少浸提时间对蓝莓露酒总酚、黄酮溶出的影响, 分析浸提10 d的9种酒样中同一料液比但不同乙醇浓度的酒样的总酸, 结果表明50%的乙醇浓度下总酸含量高于其他乙醇浓度的酒样。

2.1.3 蓝莓露酒可溶性固形物的变化

可溶性固形物指溶于水的糖、酸、维生素、矿物质等, 可作为蓝莓露酒中的一个感官品质的指标。对比表6中同一酒样在不同浸提时间下的可溶性固形物的变化, 结果表明10~20 d其增加速度较快, 而之后基本保持稳定。而对比不同酒样可溶性固形物的变化, 结果显示可溶性固形物的含量与料液比、乙醇浓度显示正相关性。有研究^[17]表明, 溶剂倍数和溶质本身含有可溶性固形物的多少决定了在浸提过程中所产生的浓度梯度的大小。而根据扩散原理, 浓度梯度愈大, 浸出速度愈快。因此料液比中乙醇溶液越多, 越有助于提高蓝莓可溶性固形物的溶出。

2.1.4 蓝莓露酒V_C的变化

表7为浸提过程中酒体V_C含量的变化, 40 d前表现一种缓慢上升的趋势, 40 d后V_C的含量开始下降, 其中料液比1:1.2, 60%乙醇浸提的酒样(8号)与料液比1:1.5, 60%乙醇浸提的酒样(9号)下降较快, 而其余酒样在50 d出现折点, 料液比1:1, 50%乙醇浸

提的酒样(4号)与料液比1:1.5, 50%乙醇浸提的酒样(6号)50~60 d时出现增长。V_C性质不稳定, 浸提初期蓝莓中的V_C融入到乙醇溶液中, 但随着蓝莓果中V_C含量的减少, 加之V_C的不稳定性, 随着时间的推移, V_C会逐渐被氧化^[18]。而且随着取样时光照、空气的进入, V_C也会有所损失。因此V_C能在浸提前期保持一定的增长, 之后保持降低趋势。

2.2 正交试验结果

2.2.1 浸提天数对蓝莓酒成分变化的影响

总酚和黄酮的含量在40~60 d的浸泡期间一直处于波动, 而且在50、60 d时处于最大值, 但与40 d相比增加的不多, 而40 d之后V_C的含量开始减少。而在20 d时, 花色苷含量到达最大值, 之后随着时间的变化而减少, 综上可见决定把浸提天数作为第4个因素加到之前的正交设计表中, 3个水平分别为20、30、40 d, 详见表2~7。

2.2.2 最佳浸提条件的确定

正交实验的设计见表8, 以浸提所得蓝莓露酒的DPPH·自由基清除率作为指标, 确定蓝莓露酒的最佳浸提工艺, 4种因素对浸提效果的影响主次顺序为乙醇度 > 料液比 > 浸提天数 > 超声时间, 其中乙醇度的影响达到显著水平(P<0.05)。最佳浸提条件为A₁B₃C₂D₂, 即60%的乙醇溶液, 料液比为1:1, 超声时间为40 min, 浸提时间30 d为最佳的蓝莓浸提条件。经试验验证, 在此浸提条件下得到的蓝莓酒的DPPH·清除率为66.30%, 大于正交表中的其他试验处理样品, 详见表9、10。

表6 蓝莓露酒浸提过程中酒样可溶性固形物的变化
Table 6 The change of soluble solids in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样可溶性固形物含量/%						
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d
1	9.9±0.28	10.8±0.35	11.0±0.14	11.1±0	11.1±0.21	11.1±0	11.0±0
2	10.5±0.07	11.0±0	11.2±0.07	11.3±0.07	11.2±0.14	11.3±0.07	11.2±0.07
3	10.9±0.21	11.2±0.07	11.4±0.28	11.5±0.14	11.4±0.14	11.6±0.07	11.4±0.14
4	11.0±0	11.8±0.07	12.1±0.21	12.0±0.14	12.0±0.28	12.0±0.14	12.0±0.14
5	11.2±0.21	11.9±0	12.1±0.07	12.4±0.07	12.3±0.14	12.3±0	12.5±0.14
6	11.8±0.14	12.2±0.07	12.6±0.07	12.7±0.07	12.5±0.14	12.6±0	12.5±0.14
7	11.8±0.21	12.7±0.21	13.0±0.28	13.1±0.07	13.1±0.14	13.0±0.14	13.0±0.14
8	12.3±0.14	12.8±0.14	13.3±0.21	13.2±0.14	13.2±0.14	13.3±0.28	13.4±0.14
9	12.8±0.14	13.3±0.57	13.5±0.28	13.6±0.28	13.4±0.14	13.5±0.28	13.5±0

编号1~9的处理条件依次为：料液比1:1, 40%乙醇；料液比1:1.2, 40%乙醇；料液比1:1.5, 40%乙醇；料液比1:1, 50%乙醇；料液比1:1.2, 50%乙醇；料液比1:1.5, 50%乙醇；料液比1:1, 60%乙醇；料液比1:1.2, 60%乙醇；料液比1:1.5, 60%乙醇；d表示间隔天数；n=2。

表7 蓝莓酒露酒浸提过程中酒样V_C的变化
Table 7 The change of Vitamin C in blueberry integrated alcoholic beverage during immersion

编号	不同浸提时间所得酒样V _C 含量/(mg·mL ⁻¹)				
	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d
1	0.354±0.029	0.357±0.028	0.384±0.032	0.202±0.013	0.186±0.012
2	0.335±0.004	0.307±0.084	0.364±0.027	0.259±0.067	0.203±0.013
3	0.289±0.001	0.327±0.005	0.379±0.002	0.263±0.008	0.229±0.009
4	0.465±0.037	0.448±0.012	0.456±0.001	0.256±0.094	0.200±0
5	0.405±0.013	0.435±0.047	0.470±0.010	0.269±0.074	0.245±0.047
6	0.331±0	0.395±0.005	0.414±0.012	0.183±0.029	0.219±0.044
7	0.532±0.017	0.555±0.019	0.572±0.021	0.257±0.009	0.293±0.003
8	0.405±0.011	0.440±0.014	0.471±0.028	0.363±0.028	0.252±0.011
9	0.404±0.042	0.456±0.014	0.509±0.001	0.374±0.003	0.275±0.011

编号1~9的处理条件依次为：料液比1:1.40%乙醇；料液比1:1.2,40%乙醇；料液比1:1.5,40%乙醇；料液比1:1,50%乙醇；料液比1:1.2,50%乙醇；料液比1:1.5,50%乙醇；料液比1:1,60%乙醇；料液比1:1.2,60%乙醇；料液比1:1.5,60%乙醇；d表示间隔天数；n=2。

表8 蓝莓酒正交试验因素水平
Table 8 Immersion conditions of orthogonal design for blueberry wine

水平	料液比 A(蓝莓质量：乙醇体积)	乙醇度 B/%	超声提取时间 C/min	浸提时间 D/d
1	1:1	40	30	20
2	1:1.2	50	40	30
3	1:1.5	60	50	40

表 9 正交试验结果
Table 9 Results of orthogonal experiment

试验号	因素水平				DPPH 自由基清除率/%
	A 料液比	B 乙醇度/%	C 超声时间/min	D 浸提时间/d	
1	1	1	1	1	52.09
2	1	2	2	2	58.95
3	1	3	3	3	59.32
4	2	1	2	3	46.38
5	2	2	3	1	51.80
6	2	3	1	2	55.66
7	3	1	3	2	46.98
8	3	2	1	3	48.74
9	3	3	2	1	56.23
K1	56.487	48.483	52.163	53.373	
K2	51.280	53.163	53.853	53.863	
K3	50.650	57.070	52.700	51.480	
k1	18.829	16.161	17.388	17.791	
k2	17.093	17.721	17.951	17.954	
k3	16.883	19.023	17.567	17.160	
R	6.137	8.587	1.690	2.383	
最优组合	A ₁	B ₃	C ₂	D ₂	
主次因素			B > A > D > C		

表 10 DPPH 自由基清除率的方差分析
Table 10 Analysis of DPPH radical scavenging capacity's mean square

变异来源	偏差平方和	自由度	均方	F	P
A	68.379	2	34.1895	15.284	
B	110.895	2	55.4475	24.787	*
C	4.474	2	2.237	1.000	
D	9.505	2	4.7525	2.124	

注: *差异显著($P < 0.05$)

3 结论与讨论

蓝莓露酒浸提过程中酒样中的总酚、黄酮、花色苷、总酸、可溶性固形物含量均呈现先上升后下降或趋于稳定的变化, V_C 含量在浸提前 40 d 内呈缓慢上

升, 40 d 后下降。乙醇浓度对上述成分的溶出有较大的影响, 高浓度的乙醇有利于蓝莓果实中的总酚、黄酮、花色苷、 V_C 等成分的溶出, 但对总酸和可溶性固形物含量的影响不大。料液比对总酸和可溶性固形物影响相对较大, 较高的料液比引进上述成分的相对

含量降低。

通过对不同料液比、乙醇度、超声处理和浸提时间 4 因素 3 水平的正交试验,以浸提所得蓝莓露酒的 DPPH 自由基清除率为指标,确定了蓝莓露酒的最佳浸提工艺为:料液比为 1:1,浸提用乙醇溶液的乙醇含量为 60%,超声处理时间为 40 min,浸提时间为 30 d,在此条件下所得露酒的 DPPH 自由基清除率为 66.3%。

评价酒的好坏一般要用到感官评价,但本实验旨在研究蓝莓较佳的浸提条件,使用的食用乙醇不适合饮用,因此没有考虑到感官评价,不能对酒的好坏进行系统的评价。可以改用市售蒸馏酒用作酒基,在最佳的浸提条件下进行口味调配,得到一款具有市场价值的蓝莓露酒。随着年产量的逐年增加,以及蓝莓不耐存放的特点,将蓝莓加工成既有营养又可口的产品就有广阔的前景。蓝莓露酒不仅可以加工成风味极佳的酒精饮料,浸提后的蓝莓也可再开发成蜜饯或进一步提取,对于推动蓝莓产品的开发具有一定的意义。

参考文献

- [1] 王姗姗,孙爱东,李淑燕. 蓝莓的保健功能及其开发应用[J]. 中国食物与营养, 2010, 6: 17-20.
Wang SS, Sun AD, Li SY. Advancement of Health Function of Blueberry and Its Utilization[J]. Food and Nutrition in China, 2010, 6: 17-20.
- [2] 孙尤海,于榕,卜坤,等. 组合酶法快速酿造蓝莓酒新工艺的研究[J]. 酿酒, 2008, 35(3): 86-89.
Sun YH, Yu R, Bu K, et al. A new and Rapid multi-enzyme Technique for Brewing Blue Berry Wine[J]. Liquor Making, 2008, 35(3): 86-89.
- [3] 刘军波,赵芸,邹礼根,等. 我国越橘属植物在食品领域中的综合利用[J]. 保鲜与加工, 2013, 13(1): 52-56.
Liu JB, Zhao Y, Zou LG, et al. Comprehensive Utilization of Chinese Vaccinium Plants in the Field of Food[J]. Storage and Process, 2013, 13(1): 52-56.
- [4] 薛桂新,刘小国. 野生蓝莓酒加工工艺条件的研究[J]. 酿酒科技, 2010, (9): 65-67.
Xue GX, Liu XG. Research on the Processing Conditions of Wild Blueberry Fruit Wine[J]. Liquor-making Sci & Technol, 2010, (9): 65-67.
- [5] 张慧琴,谢鸣,梁英龙,等. 我国蓝莓研发现状及产业化发展潜在优势[J]. 浙江农业科学, 2009, 3: 444-447.
Zhang HQ, Xie M, Liang YL, et al. Present Situation and Potential Advantages of Blueberry Industry Development in China[J]. J Zhejiang Agric Sci, 2009, 3: 444-447.
- [6] 王兆雨,徐美玲,朱蓓薇. 蓝莓花青素的提取工艺条件[J]. 大连轻工业学院学报, 2007, 26(3): 196-198.
Wang ZY, Xu ML, Zhu BW. Optimum conditions for extraction of anthocyanidin from blueberry[J]. J Dalian Inst Light Ind, 2007, 26(3): 196-198.
- [7] 樊基胜,吴林生,张春龙,等. 蓝莓浸渍酒原料研究[J]. 食品工业, 2012, (11): 28-30.
Fan JS, Wu LS, Zhang CL, et al. Study on the Material of Blueberry Wine [J]. Food Ind, 2012, (11): 28-30.
- [8] Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study[J]. J AOAC Int, 2005, 88(5): 1269-1278.
- [9] Xu G, Liu D, Chen J, et al. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China[J]. Food Chem, 2008, 106(2): 545-551.
- [10] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 34-37.
Cao YK, Jiang WB, Zhao YM. Postharvest physiology and biochemistry experiments guidance [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 34-37.
- [11] 杨虎,张生堂,高国强. 玫瑰黄酮的提取及其清除 DPPH 自由基活性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 152-155.
Extraction and DPPH Radical Scavenging Activity of Flavonoids from Rose Flower Buds [J]. Food Sci, 2012, 33(24): 152-155.
- [12] 田迪英,杨荣华. 果蔬抗氧化活性与总酚含量相关性研究[J]. 化学世界, 2004, 2: 70-73.
Tian DY, Yang RH. Studies on the Relation of Total Phenols Content to the Antioxidant Activity of Fruits and Vegetables[J]. Chem World, 2004, 2: 70-73.
- [13] 赵二芳,姚宇霞,史淑美,等. 秦皮不同溶剂提取物总酚含量及抗氧化活性[J]. 中国食品添加剂, 2012, 3: 116-119.
Zhao EL, Yao YX, Shi SM, et al. Total phenol and antioxidant activities of cortex fraxini extracts by different extracting solvents [J]. China Food Additives, 2012, 3: 116-119.
- [14] 张学宁,高志华,刘庆忠,等. 蓝莓花色苷提取工艺的优化研究[J]. 河北工业科技, 2013, 30(2): 66-72.
Zhang XN, Gao ZH, Liu QZ, et al. Optimization of extraction procedure of anthocyanins from blueberry[J]. Hebei J Industrial Sci & Technol, 2013, 30(2): 66-72.
- [15] Kader F, Rovell B, Girardin M, et al. Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L). Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and anthocyanins[J]. J Sci Food Agr, 1997, 74(1): 31-34.

- [16] 石光, 张春枝, 陈莉, 等. 蓝莓花色苷稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(2): 97-99.
Shi G, Zhang CZ, Chen L, *et al.* Stability of Anthocyanin from Blueberry[J]. Food Ferment Ind, 2008, 34(2): 97-99.
- [17] 康健, 崔建云. 新疆沙枣可溶性固形物浸提过程的影响因素研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 56-60.
Kang J, Cui JY. Study on the factors of extracting soluble solid from the Russian-olive in Xinjiang[J]. Food Res Dev, 2008, 29(11): 56-60.
- [18] 王世宽, 高慧娟, 洪玉程, 等. 草莓果酒中 Vc 保存率的研究[J]. 四川理工学院学报: 自然科学版, 2011, 24(5): 497-500.
Wang SK, Gao HJ, Hong YC, *et al.* Study on Preservation Rate of Vc of Strawberry Juice Fruit Wine[J]. J Sichuan Univ Sci & Eng: Natural Sci Editon, 2011, 24(5): 497-500.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



方堃, 硕士生, 主要研究方向为食品加工与安全。

E-mail: fangk270@hotmail.com



陆胜民, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品加工。

E-mail: lushengmin@hotmail.com