

自然发酵苹果酵素理化指标和抗氧化活性动态分析

张海燕^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省果蔬贮藏加工技术创新中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为了明确苹果酵素自然发酵过程中理化指标和抗氧化活性的变化规律, 阐明苹果酵素保健功能机理, 研究了苹果酵素的可溶性固形物含量、pH、总酸含量、乙醇含量、DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子自由基、ABTS 自由基清除能力的动态变化。结果表明, 随着发酵时间的延长, 可溶性固形物含量和 pH 逐渐降低, 发酵 90 d 时, 可溶性固形物含量降为 4.5 °Brix, pH 下降至 3.06, 比发酵初期分别降低了 70% 和 32%; 总酸含量逐渐升高, 发酵 90 d 时增加至 42.9 g/L, 较发酵初期增加了 98%; 乙醇含量先升高后降低, 发酵 90 d 时为 1.0 g/L, 符合 QB/T5323-2018 中有关乙醇的规定。发酵 75~90 d 时的抗氧化活性较好, DPPH 自由基和羟基自由基在发酵 90 d 时的清除率分别为 86.16% 和 79.03%, 较发酵初期升高了 44.5%、45.53%; 超氧阴离子自由基和 ABTS 自由基的清除率发酵 75 d 时达到峰值, 分别为 65.06% 和 69.04%, 较发酵初期分别升高了 39.12% 和 46.47%。

关键词: 苹果酵素; 自然发酵; 理化指标; 抗氧化活性

中图分类号: TQ925; S661.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2020)11-0037-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2020.11.009

Dynamic Analysis of Physicochemical Indexs and Antioxidant Activities of Apple Jiaosu during Natural Fermentation Process

ZHANG Haiyan^{1,2}

(1. Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Innovative Center for Storage and Processing Technology of fruits and vegetables in Gansu, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In order to study the changes of physicochemical indexs and antioxidant activities of Apple Jiaosu during natural fermentation process and clarify the health function mechanism of malenzyme, the dynamic changes of the soluble solids content, pH, total acid content, ethanol content, DPPH free radicals, hydroxyl free radicals, superoxide anion free radicals, and ABTS free radicals were investigated. The results showed that the soluble solid content and pH value decreased gradually with the extension of fermentation time. After 90 days of fermentation, the soluble solid content dropped to 4.5 °Brix and the pH dropped to 3.06, which were reduced by 70% and 32% respectively compared with the initial stage of fermentation. The total acid content gradually increased, increased to 42.9 g/L after 90 days, and increased 98%. the ethanol content first increased and then decreased, it was achieved to 1.0 g/L, after 90 days, and complied with regulations of QB/T5323-2018. The antioxidant activities were reached the better in fermentation to 75~90 days. The free radical scavenging rates of DPPH and hydroxyl were reached to 86.16% and 79.03% after 90 days, and increased 44.5% and 45.53%, respectively. The superoxide anion and ABTS were peaked at fermentation 75 days(65.06% and 69.04%, respectively), which were increased 39.12% and 46.47%. The study would provide some theoretical basis for further elucidating the health function mechanism and

收稿日期: 2020-08-15

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目 (CARS-27); 甘肃省林业科技计划项目 (2017kj051)。

作者简介: 张海燕(1981—), 女, 甘肃陇西人, 副研究员, 硕士, 研究方向为果蔬精深加工。联系电话: (0)15193113704。Email: zh_hy208@163.com。

comprehensive development of Apple Jiaosu.

Key words: Apple Jiaosu; Natural fermentation; Physicochemical indexes; Antioxidant activities

食用植物酵素(edible plant Jiaosu)是指以可用于食品加工的植物为主要原料, 添加或不添加辅料, 经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分可供人来食用的酵素产品^[1-2]。其在含有植物本身的多种维生素、酶和矿物质等营养物质的同时, 还通过微生物发酵产生新的次生代谢物及活性成分, 与直接食用蔬菜水果相比, 酵素中的生物活性成分和有机小分子更为浓缩, 而且更容易为人体所吸收^[3]。食用植物酵素作为一种功能性微生物发酵制品因其丰富的营养和显著的功效多年来盛行于欧美、东南亚、日本以及台湾地区, 受到国内外学者的普遍关注^[4]。目前有关自然发酵苹果酵素的研究多以短期发酵为主, 杨小幸等^[5]在发酵第 21 天时获得了较高总酚含量与 DPPH 自由基清除率的苹果酵素, 李飞等^[6]研究发现, 发酵 50 d 的苹果酵素的抗氧化活性基本呈现上升趋势。但以上研究由于发酵周期较短, 产品品质不稳定, 酒精含量容易超标, 而且研究表明, 酵素是时间的产物, 随着发酵时间的延长, 产品中的活性物质逐渐增加^[7-11], 因此进一步阐明苹果酵素自然发酵过程中理化指标和抗氧化活性的动态变化很有必要的。笔者以富士苹果为原料, 研究了苹果酵素自然发酵过程中理化指标和抗氧化活性的变化, 以期为进一步阐明苹果酵素保健功能机理和综合性开发提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

指示富士苹果品种为长富 2 号, 采自甘肃省庆阳市有机苹果基地之一的庆阳市西峰区什社乡。供试冰糖为市售, 供试纯净水为自制。供试氢氧化钠、酚酞、DPPH、乙醇、ABTS、过硫酸钾、铁氰化钾、三氯化铁、硫酸亚铁、水杨酸、双氧水、Tris、邻苯三酚、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠等均由中瑞化学试剂公司提供, 均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-1100 型紫外可见分光光度计(上海凌析达仪器有限公司)、LRH-70 型恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、YXQ-LS-75G 型立式压力蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、DK-S24 数显恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)、MIRCOCL 17R 离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、超低温冰箱(青岛海尔集团)、DL-CJ-1N 超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司)、PB-10 型精密 pH 计[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.3 试验方法

1.3.1 苹果酵素生物发酵生产工艺流程 苹果原料选择→清洗→去核→切分→装罐→加水、加糖→发酵→过滤→成品。

1.3.2 操作要点 新鲜苹果用纯净水冲洗干净, 沥干水分后去核并切分成 3~5 mm 的片, 冰糖破碎后用紫外灯辐照处理 30 min。将苹果片与纯净水按质量比 200:1 000 加入无菌酵素发酵罐中, 加入 15% 的冰糖调节糖度, 置阴凉干燥的发酵车间, 常温(20~26 ℃)下自然发酵 30 d 后滤去果肉(防止产生过多不利于健康的氨氮等), 继续发酵至 90 d。发酵第 1 个月隔天搅拌通气, 第 2 个月有氧发酵, 之后密封发酵, 发酵结束取上清液进行指标测定。每组试验均重复 3 次。

1.3.3 理化指标变化 总酸含量参照 GB/T12456—2008 的方法测定^[12], pH 采用 pH 计法测定, 可溶性固形物含量采用糖度计法测定^[13-14], 乙醇含量采用密度瓶法测定^[15]。

1.3.4 抗氧化活性测定 DPPH 自由基清除能力、超氧自由基清除能力、羟基自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力测定均参考樊秋元^[16]的方法。

1.4 统计学处理

试验数据采用 Excel 2010、SPSS 22.0 数

据分析软件进行分析处理及作图。

2 结果与分析

2.1 苹果酵素自然发酵过程中的理化指标变化

可溶性固形物、pH、总酸、乙醇等是衡量苹果酵素发酵成熟的主要理化指标，也是影响酵素品质的重要因素^[17-18]。由图 1 可以看出，可溶性固形物含量随着发酵时间的延长呈现不断下降的趋势^[19]，发酵 30 d 内营养充分，微生物快速繁殖，迅速消耗碳水化合物，使酵素液中可溶性固形物含量迅速从 15.0 °Brix 降至 7.2 °Brix；随后缓慢降低，发酵 90 d 时可溶性固形物含量降为 4.5 °Brix，比发酵初期降低了 70%。pH 随着发酵时间的延长而逐渐降低，发酵前 30 d 迅速从 4.50 降低至 3.22，说明微生物在发酵前期为大量繁殖阶段，随后由于有机酸的积累 pH 平稳下降至发酵结束时的 3.06，与发酵初期相比，pH 下降了 32%，同时因为微生物的生长代谢产生的二氧化碳在水中形成气泡，可能由于气泡的不稳定性，致使 pH 在下降的同时也出现回升的情况^[17]。总酸在发酵前 30 d 逐渐升高，从最初的 0.9 g/L 升高至 3.2 g/L，这可能是因为发酵前期为通气发酵阶段，微生物代谢产生的二氧化碳和有机酸使得总酸含量逐渐升高；发酵 30 ~ 60 d 总酸含量快速升高至 36.7 g/L，此阶段为有氧发酵阶段，发酵液中的乙醇、己糖等代谢产物通过微生物发酵转化为乙酸和乳酸等有机酸，既提高了苹果酵素的营养物质，又形成其独特的风味^[17]；随后由于发酵缓

慢，总酸含量略有升高，至发酵结束总酸含量达到 42.9 g/L，与发酵初期相比总酸含量增加了 98%。乙醇含量随着发酵时间的延长呈先升高后降低的趋势，发酵 30 d 内碳水化合物含量高，微生物发酵产生大量的乙醇，导致乙醇含量从 0 迅速增加至 79.0 g/L，随后通过有氧发酵促使乙醇生成乙酸，乙醇含量迅速降低至 13.0 g/L，60 d 后缓慢降低，在发酵 90 d 时乙醇含量为 1.0 g/L，符合 QB/T5323—2018 有关规定。

2.2 苹果酵素自然发酵过程中抗氧化能力的变化

通过比较分析 DPPH 自由基清除率、超氧阴离子自由基清除率、羟基自由基清除率、ABTS 自由基清除率等 4 种抗氧化活性体系，对苹果酵素自然发酵过程中抗氧化能力进行评价。由图 2 可以看出，DPPH 自由基清除率、超氧阴离子自由基清除率、羟基自由基清除率、ABTS 自由基清除率在苹果酵素发酵过程中抗氧化能力变化规律大体较为一致，DPPH 自由基清除率和羟基自由基清除率发酵前 60 d 逐渐上升，60 d 后趋于稳定上升；发酵 90 d 时自由基清除率分别从发酵初期的 47.82% 和 43.05% 上升至 86.16% 和 79.03%，升高了 44.50% 和 45.53%。超氧阴离子自由基清除率和 ABTS 自由基清除率发酵前 75 d 逐渐上升并达到峰值，分别为 65.06% 和 69.04%，与发酵初期相比分别升高了 39.12% 和 46.47%，随后略有降低。说明发酵 75 ~ 90 d 时的苹果酵素抗氧化活性较好，这可能与该阶段通过微生物代谢酵

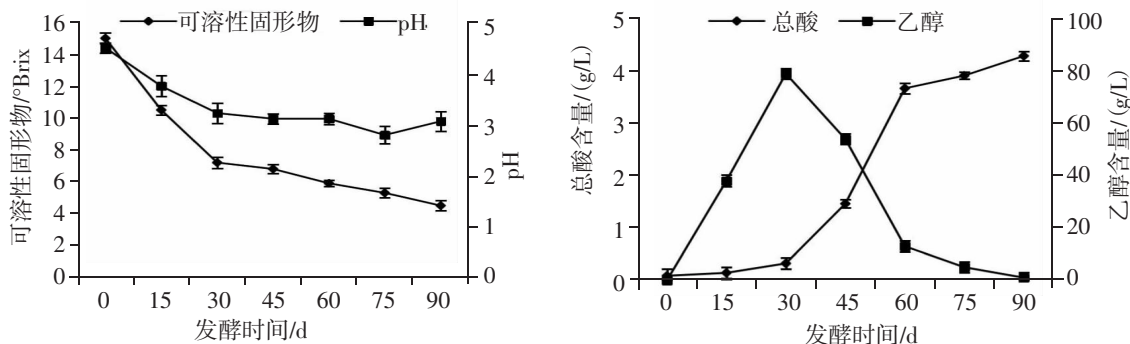


图 1 苹果酵素自然发酵过程中各理化指标的变化

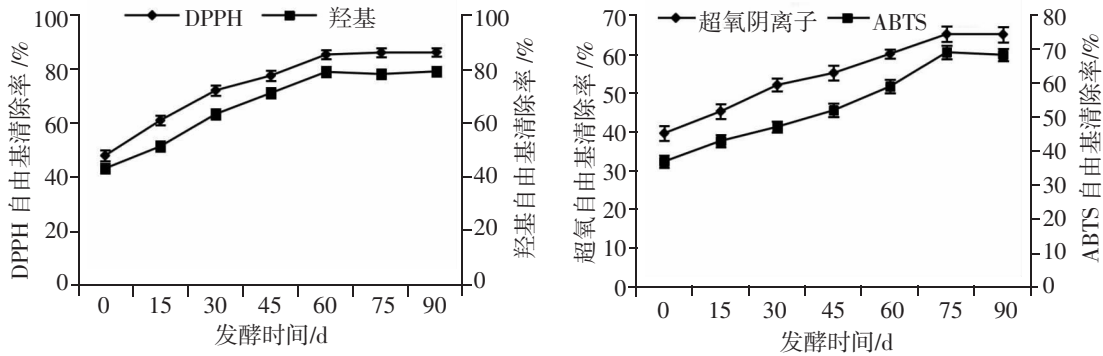


图 2 苹果酵素自然发酵过程中抗氧化活性的变化

素中积累了较多的抗氧化物质、功效酶以及微生物的多样性有关^[20]。

3 结论与讨论

研究表明,苹果酵素自然发酵过程中,30 d 内酵素液中碳水化合物充足,微生物迅速生长繁殖,可溶性固形物含量和 pH 迅速降低;随后进入平稳变化阶段,总酸含量逐渐升高,乙醇含量先升高后降低,发酵至 60 d 时才逐渐进入平稳变化阶段。在发酵 90 d 时,可溶性固形物含量降为 4.5 °Brix,与发酵初期相比降低了 70%,pH 下降至 3.06,降低了 32%;总酸含量增加至 42.9 g/L,增加了 98%,乙醇含量为 1.0 g/L,符合 QB/T5323—2018 规定。苹果酵素发酵 75~90 d 时抗氧化活性较好,DPPH 自由基和羟基自由基在发酵 90 d 时清除率分别为 86.16% 和 79.03%,分别升高了 44.5%、45.53%;超氧阴离子自由基清除率和 ABTS 自由基的清除率呈现发酵前 75 d 逐渐上升达到峰值,分别为 65.06% 和 69.04%,分别升高了 39.12% 和 46.47%,这可能是由于通过微生物代谢酵素中积累了较多的抗氧化物质和功效酶,并且微生物多样性较好^[21-22]。有关抗氧化物质如总酚、总黄酮,功效酶如超氧化物歧化酶(SOD)活性等以及微生物多样性与抗氧化活性之间的关系有待于研究。

参考文献:

[1] 中华人民共和国工业和信息化部. 植物酵素: QB/T5323—2018[S]. 北京: 中国轻工出版社, 2018.
[2] 高庆超, 常应九, 马蓉, 等. 微生物酵素

的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(2): 190-195.

- [3] DAI J, SHA RY, WANG ZZ, et al. Edible plant jiaosu: manufacturing, bioactive compounds, potential health benefits, and safety aspects[J]. Science of Food and Agriculture, 2020, 100(15): 5313-5323.
[4] 相宇倩, 邵娟娟, 吕佼, 等. 食用酵素的研究进展[J]. 食品工业, 2018, 39(5): 264-266.
[5] 杨小幸, 周家春, 陈启明, 等. 苹果酵素天然发酵过程中代谢产物的变化规律[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 15-19.
[6] 李飞, 王凤舞, 潘越, 等. 苹果酵素抗氧化活性初步研究[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2016, 33(1): 40-44.
[7] 方晟, 陈霖, 沙如意, 等. 百合酵素自然发酵过程中有机酸及其体外抗氧化活性的变化[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(22): 39-46.
[8] 范昊安, 沙如意, 杜柠, 等. 苹果梨酵素发酵过程中香气成分的变化[J/OL]. 食品科学: 1-13[2020-07-29]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200417.1227.022.html>.
[9] VERÓN H E, GAUFFIN C P, FABERSANI E, et al. Cactus pear(*Opuntia ficus-indica*) juice fermented with autochthonous *Lactobacillus plantarum* S-811[J]. Food & Function, 2019, 10(2): 1085-1097.
[10] PEREZ S, RUFIAN J A, PASTORIZA S. Towards an improved global antioxidant response method (GAR⁺): Physiological-resembling in vitro digestion-fermentation method[J]. Food Chemistry, 2018, 239(1): 1253-1262.

甘肃省特色优势农产品秦安苹果评价

陈建军¹, 马明¹, 王志平², 李宽莹¹

(1. 甘肃省农业科学院林果花卉研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 秦安县农业农村局, 甘肃秦安 741600)

摘要:通过对秦安苹果产地环境、生产过程、果品质量、果实品质以及文化和品牌等的评价表明, 秦安苹果具有优越的地理区位优势, 其气候生态条件完全符合我国苹果最适宜区规定指标; 产区空气、土壤质量以及水质完全达到我国绿色食品产地环境质量标准要求; 苹果生产栽培管理技术水平较高, 果园重点病虫害发生种类和年施药次数少, 果实质量安全符合绿色果品标准规定值; 果实外在品质优异, 果实硬度、可溶性固形物含量等指标高于国家鲜苹果标准规定值。同时秦安苹果在历史文化底蕴和品牌建设方面也具有显著特色和优势。

关键词: 秦安苹果; 特色优势; 评价

中图分类号: S661.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2020)11-0041-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2020.11.010

甘肃省地处黄土、青藏、内蒙古三大高原交汇地带, 形成了特殊的地理位置和地形

收稿日期: 2020-04-07

基金项目: 甘肃省农牧厅秦安苹果特色优势农产品评价 (TYNP19-09); 农业农村部园艺作物生物学与种质创制重点实验室西北地区果树科学观测试验站(10218020)。

作者简介: 陈建军(1975—), 男, 甘肃天水人, 研究员, 主要从事桃育种与苗木繁育技术研究工作。联系电话: (0931)7612158。Email: gscjj@gsagr.ac.cn。

- [11] 覃引, 熊音如, 卢丽, 等. 不同发酵方式制备树莓-石榴复合果汁酵素的抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(10): 105-109.
- [12] 中国食品发酵与工业研究院. 食品中总酸的测定: GB/T12456—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [13] 赵刚, 樊廷录, 李尚中, 等. 集雨保墒措施对陇东黄土旱塬区红富士苹果产量与品质的影响[J]. 甘肃农业科技, 2018(9): 52-55.
- [14] 董铁, 刘兴禄, 孙文泰, 等. 4个短枝型富士苹果新品种在静宁县的表现[J]. 甘肃农业科技, 2019(12): 4-7.
- [15] 中国国家标准化管理委员会. 葡萄酒、果酒通用分析方法: GB/T15038—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [16] 樊秋元. 黑加仑酵素的制备及其抗氧化活性的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019.
- [17] JAYABALAN R, SUBATTHRADEVIP, MA-RIMUTHU S, et al. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 227-234.
- [18] 蒋增良, 毛健卫, 黄俊, 等. 葡萄酵素在天然发酵过程中体外抗氧化性能的变化[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 29-34.
- [19] 张静雯. 组合菌发酵过程中产生的微生物酵素及其生物活性研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2015.
- [20] 姚笛, 徐磊, 李佳慧. 三种酵素的抗氧化活性与微生物多样性的相关性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020(6): 928-936.
- [21] XIAO Y, WANG L, RUI X, et al. Enhancement of the antioxidant capacity of soy whey by fermentation with *Lactobacillus plantarum* B1-6[J]. J. Funct. Food, 2015, 12: 33-44.
- [22] 晏殊. 水果酵素自然发酵中优势菌株的分离鉴定及其代谢产物功效特性的研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2019.

(本文责编: 郑立龙)