

韩春然, 毕海鑫, 王鑫. 蓝靛果单宁的提取及对酵母发酵能力的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 130–137. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060070

HAN Chunran, BI Haixin, WANG Xin. Extraction of Tannin from *Lonicera edulis* and Its Effect on Yeast Fermentation Performance[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 130–137. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060070

· 生物工程 ·

蓝靛果单宁的提取及对酵母发酵能力的影响

韩春然, 毕海鑫, 王鑫*

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与谷物资源综合加工重点实验室,
黑龙江哈尔滨 150028)

摘要: 为确定酵母菌发酵蓝靛果果汁中的最适单宁含量, 采用单因素实验及正交试验优化超声辅助法提取蓝靛果单宁工艺, 将此条件下获得的单宁粗提液纯化、浓缩后得到单宁酸样品。将其添加到模拟蓝靛果果汁中, 研究不同浓度单宁酸对酵母菌的影响, 并验证最适单宁含量对发酵蓝靛果果汁的影响。结果表明, 蓝靛果单宁最优提取条件为: 乙醇体积分数 50%, 料液比 1:60 (g/mL), 超声温度 50 ℃, 超声时间 40 min, 此条件下单宁得率为 14.68%。浓度为 400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌的生长趋势良好, 稳定期内酵母菌活性最高。与原发酵果汁相比, 采用单宁酶处理后, 最适单宁含量的发酵果汁中酒精度及总酸含量分别提高 84.21% 和 14.58%, 残糖含量及涩度值分别降低 57.91% 和 86.32%, 总酯含量提高 38.45%。该含量单宁对酵母菌的发酵效果具有明显促进作用, 果汁涩感降低且酸甜适中, 果香及发酵香浓郁。

关键词: 蓝靛果, 超声辅助提取, 酵母菌, 单宁酸, 模拟果汁

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)04-0130-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060070

本文网刊:



Extraction of Tannin from *Lonicera edulis* and Its Effect on Yeast Fermentation Performance

HAN Chunran, BI Haixin, WANG Xin*

(Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Cereal and Comprehensive Processing of Cereal Resources, School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: In order to study the optimum tannin content in *Lonicera edulis* juice fermented by yeast, the processing of tannins extracted from *Lonicera edulis* by ultrasonic-assisted was optimized by single factors and orthogonal test. The purified and concentrated tannin extract was added to the simulated *Lonicera edulis* juice to study the effect of different concentrations of tannins on the yeast. In addition, the optimal tannin concentration was verified for yeast fermentation of *Lonicera edulis* juice. Results showed that, the optimal conditions for extracting tannins from *Lonicera edulis* were as follows: Ethanol volume fraction 50%, liquid to solid ratio 1:60 (g/mL), ultrasonic temperature 50 ℃, ultrasound time 40 min, under which, the tannin extraction rate reached 14.68%. Yeast grew well and had the highest activity during the stable period when the tannic acid concentration of the simulated juice was 400 mg/L. Compared with the original fermented juice, the alcohol and total acid content of the fermented fruit juice with the optimum tannin content hydrolyzed by tannins increased by 84.21% and 14.58%, and the residual sugar content and astringency were reduced by 57.91% and 86.32%, respectively. Total ester content increased by 38.45%. The optimum tannin content had a significant promoting effect on the fermentation ability of yeast, the fruit juice reduced astringency and had the moderate sour and sweetness with a strong fruity and fermented aroma.

Key words: *Lonicera caerulea*; ultrasound assisted extraction; yeast; tannin; simulated juice

收稿日期: 2021-06-08

基金项目: 黑龙江省应用技术与开发计划 (GA20B301)。

作者简介: 韩春然 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物, E-mail: 13704809512@yeah.net。

* 通信作者: 王鑫 (1984-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: wangxinfood@163.com。

蓝靛果(*Lonicera caerulea* L), 属蓝果忍冬的变种^[1]。果实呈蓝紫色椭圆状, 是一种含有多酚、花青素、黄酮、维生素等物质的天然野生浆果^[2], 因具备抗突变、保护心脏等药理特性, 被称为长寿水果^[3-4]。蓝靛果味道酸涩、不宜鲜食, 多以果汁等饮品形式出现^[5]。浆果果汁中, 单宁释放构成了果汁的口感骨架^[6], 而果汁的涩感来源于单宁酸与人体口腔唾液蛋白结合引起的收敛感, 对果汁特征的口感的形成是必要的^[7], 但当单宁含量过多时, 涩感物质或颗粒物进入口腔, 在口腔软组织内部形成表层, 使唾液黏膜的润滑作用降低, 且摩擦作用增加^[8-9], 人体感触到的涩味加重。蓝靛果加工成果汁后, 酸涩感明显且消费体验较差, 这是由于其单宁含量远远高于普通浆果, 通常达到 675~705 mg/L 左右^[10]。采用酵母菌发酵蓝靛果果汁可以在一定程度上缓解其酸涩的问题, 而单宁含量对果汁口感及酵母菌生长均有一定影响。因此, 在保证果汁口感良好且不影响发酵效果的前提下, 确定最适单宁含量, 对于提高蓝靛果果汁的感官品质至关重要。目前, 关于浆果及果蔬中单宁的研究多集中于脱涩及提取等方面。如岳珍珍等^[11]对刺梨果汁进行脱单宁处理, 确定 LX-60 树脂对单宁的脱除效果最好。张鑫^[12]在黑果腺肋花楸汁的脱涩研究中发现, 单宁酶及酵母脱涩后的果汁单宁含量最低, 且营养成分仍保留。李晓静等^[13]确定了超声波法提取香蕉皮单宁的最优条件。然而, 蓝靛果单宁提取及对酵母发酵能力影响, 进而对发酵果汁品质的研究尚未见文献报道。

基于此, 本实验通过超声波辅助法探索蓝靛果单宁的最优提取条件, 对其纯化后, 将其添加到模拟蓝靛果果汁中, 考察蓝靛果中所含的单宁对发酵蓝靛果果汁中酵母菌发酵能力的影响, 最后通过单宁酶对蓝靛果果汁进行处理, 在获得最佳单宁含量的基础上, 进行果汁发酵, 以验证单宁对酵母菌生长及果汁品质的影响, 从而确定蓝靛果果汁中最适合发酵的单宁含量。为发酵蓝靛果果汁的生产创造条件基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

‘蓓蕾’蓝靛果 黑龙江省七台河市, -4 ℃ 冷冻贮藏; LA-DE 酵母菌 烟台帝伯仕自酿机有限公司; 单宁酸标准品 美国 Sigma 公司; D101 大孔树脂 天津汇达化工有限公司; 福林酚 上海蓝季有限公司; 无水乙醇 天津天力化学试剂有限公司; 蛋白胨 北京奥博星生物技术有限公司; 单宁酶(食品级, 酶活力 100000U/g) 安徽中旭生物有限公司。

TD5A 台式高速离心机 湖南凯达仪器有限公司; UV-5200 紫外分光光度计 上海元析仪器有限公司; KQ-250DE 超声清洗器 昆山超声仪器有限公司; 折光仪 上海力辰有限公司; 恒温培养箱 上海智城仪器制造公司; DK-98-IIA 恒温水浴锅 天津

泰斯特有限公司; ZLG-10 冻干机 宁肯夏亚康设备公司。

1.2 实验方法

1.2.1 单宁酸标准曲线及得率测定 采用福林-酚法测定^[14], 量取单宁酸标准溶液(0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL)移入容量瓶中, 加 30 mL 蒸馏水、2 mL 福林酚试剂和 10 mL 饱和碳酸钠, 定容至 50 mL, 避光静置显色 1 h, 测量吸光度(765 nm)。得到标准方程为: $y=0.0602x+0.0338$, $R^2=0.9997$ 。量取一定体积样品提取液, 同上述方法显色后, 根据线性方程及公式(1)计算样品得率:

$$\text{单宁得率}(\%) = C \times V_1 \times \frac{V_2}{M} \times 100$$

式(1)

式中: C 为样品单宁酸浓度, mg/mL; V_1 为提取液总体积, mL; V_2 为提取液测定体积, mL; M 为样品质量, g。

1.2.2 超声辅助法优化蓝靛果单宁提取条件

1.2.2.1 单因素实验设计 称量 5.00 g 解冻打浆后的蓝靛果于锥形瓶, 与一定体积分数的乙醇溶液混匀, 使蓝靛果中单宁充分扩散至溶液中。经过超声辅助提取、离心(5000 r/min、10 min)得上清液, 即为蓝靛果单宁粗提液。固定提取条件: 料液比 1:70, 乙醇体积分数 60%, 超声温度 50 ℃, 超声功率 80 W, 超声时间 40 min。分别考察料液比(1:50、1:60、1:70、1:80 g/mL)、乙醇体积分数(50%、60%、70%、80%)、超声时间(20、30、40、50 min)、超声温度(40、50、60、70 ℃)、超声功率(0、20、40、60、80、100、120、140 W)对单宁得率的影响。

1.2.2.2 正交试验设计 依据单因素实验结果, 选取乙醇体积分数、料液比、超声温度、超声时间四个对单宁得率有显著影响的因素, 设计正交试验对蓝靛果单宁提取工艺参数进行优化, 正交试验因素及水平见表 1。

表 1 正交试验因素及水平
Table 1 Orthogonal experimental factors and level

水平	因素			
	A乙醇体积分数 (%)	B料液比 (g/mL)	C超声温度 (℃)	D超声时间 (min)
1	50	1:60	40	30
2	60	1:70	50	40
3	70	1:80	60	50

1.2.3 蓝靛果单宁的纯化及含量测定 参照尚俊等^[15]方法, 利用 D101 大孔树脂吸附 1.2.2 最优条件下提取的单宁粗提液。将单宁粗提液与一定量已预处理过的树脂混合, 置于 30 ℃、110 r/min 的摇床中, 振荡 24 h 后过滤, 以 60% 的乙醇溶液洗脱, 再将提取液于 45 ℃、0.065 MPa 下旋转蒸发浓缩后, 冷冻干燥得蓝靛果单宁酸样品。单宁得率测定同 1.2.1 福林-酚法, 按公式(2)计算:

$$T = \frac{C \times V_1 \times n}{V_2} \quad \text{式 (2)}$$

式中: T 为样品单宁得率, mg/L; C 为样品单宁酸浓度, mg/mL; V_1 为样品定容体积, mL; V_2 为样品测定体积, L; n 为稀释倍数。

1.2.4 模拟蓝靛果果汁及发酵液的制备 模拟蓝靛果果汁: 参照郭换丽等^[16]的方法。准确称取柠檬酸 25 mmol/L, 葡萄糖 50 mmol/L, 磷酸氢二铵 25 mmol/L 以蒸馏水溶解, 调节 pH 为 3.5。发酵蓝靛果果汁的制备: 在模拟蓝靛果果汁中分别加入 1.2.3 得到的不同质量的单宁酸, 得到不同单宁酸浓度 (200、400、600、800、1000 mg/L) 的待发酵的模拟蓝靛果果汁于无菌操作下, 接种 2% 活化好的酵母菌, 于 20 ℃ 进行恒温培养。

1.2.5 酵母菌生长曲线测定 在无菌操作条件下, 每隔 4 h 取发酵过程中不同浓度模拟果汁各 5 mL, 稀释 10 倍, 于 560 nm 下测定吸光度 (OD 值), 以未接种的模拟果汁为对照, 观察不同浓度单宁酸模拟蓝靛果果汁 36 h 内酵母菌的生长状况, 根据 OD 值绘制生长曲线^[17]。

1.2.6 指标测定

1.2.6.1 理化指标 残糖含量测定利用折光仪^[18]; 酒精度测定参照 GB/T 15038-2006《葡萄酒果酒通用分析方法》酒精计法^[19]; 总酸含量测定参照 GB/T 12456-2008《食品中总酸的测定》酸碱滴定法^[20]; 总酯含量测定利用皂化法^[21]。

1.2.6.2 涩度指标 模拟唾液的制备: 准确称取 1.3 g KCl, 0.1 g NaCl, 50 mg $MgCl_2$, 0.1 g $CaCl_2$, 25 μg NaF, 27 mg KH_2PO_4 和 35 mg K_2HPO_4 , 溶解后, 以蒸馏水定容至 1 L, 得电解质溶液; 以该溶液为溶剂, 溶解不同质量的蛋白胨, 得模拟唾液蛋白溶液备用。

参照包赛依娜等^[22]建立的涩感定量方法。将初始单宁酸含量不同的发酵模拟果汁与 0~3 g/L 不同梯度人体口腔模拟唾液蛋白溶液在 37 ℃ 下作用 2 h, 10000 r/min 离心 5 min, 测定上清液的吸光值 (330 nm), 以唾液蛋白浓度及吸光度作图, 发酵后模拟果汁涩度值由对数曲线斜率绝对值表示。

1.2.7 感官评价 评价小组由经过感官培训的 20 人组成 (男女各 10 人), 分别以口感、香气、状态、色泽四项指标评定, 具体评分标准见表 2。

1.2.8 验证试验 根据以上实验确定蓝靛果果汁的最适单宁酸浓度, 采用单宁酶控制果汁单宁含量, 并依据前期预实验确定的单宁酶酶解最佳条件: 水解时间 60 min, 水解温度 40 ℃, 单宁酶添加量 1.9 mg/ml, 使其接近最适含量。将原果汁及单宁酶处理后得到的果汁分别接种 2% 的酵母菌, 在 20 ℃ 下发酵 7 d, 验证最适单宁含量对蓝靛果果汁品质的影响。

1.3 数据处理

所有试验重复测定 3 次。通过 SPSS 24.0 进行

表 2 蓝靛果果汁的感官评价

Table 2 Sensory evaluation standard for *Lonicera edulis* juice

项目	评价标准	分数(分)
口感(30分)	果味浓郁, 口感丰富, 酸甜均衡, 涩味适度	20~30
	果味淡薄, 口感欠佳, 略酸或略甜, 涩味微弱	10~19
	无果味, 口感不协调, 酸甜失衡, 涩味较重	0~9
香气(30分)	果香和发酵香醇厚, 无异味	20~30
	果香和发酵香寡淡, 略有异味	10~19
	无果香和发酵香, 有异味	0~9
状态(20分)	质地均匀, 澄清、无悬浮物	14~20
	略有浑浊及沉淀物	7~13
	分层明显, 混浊、悬浮物较多	0~6
色泽(20分)	颜色协调, 光泽度良好	14~20
	颜色存在偏差, 略有光泽	7~13
	颜色异常或褪色, 光泽度差	0~6

实验数据的显著性差异分析 ($P < 0.05$)。利用 Excel 2016 及 Origin Pro 8.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 蓝靛果单宁提取的单因素实验结果

由图 1 可知, 单宁得率受料液比及溶剂浓度的影响显著 ($P < 0.05$), 当料液比为 1:70 时, 得率为最高值 14.6%, 当料液比增加至 1:80 时, 得率呈下降趋势, 说明若继续增加溶剂体积将不利于单宁的溶出, 且可能导致资源浪费。而浓度为 60% 的乙醇溶剂极性更适宜单宁溶出, 但浓度过高导致醇解反应^[23], 单宁溶出速率远低于其他杂质。综合考虑, 选取料液比为 1:60~1:80、溶剂浓度为 50%~70% 进行后续研究。

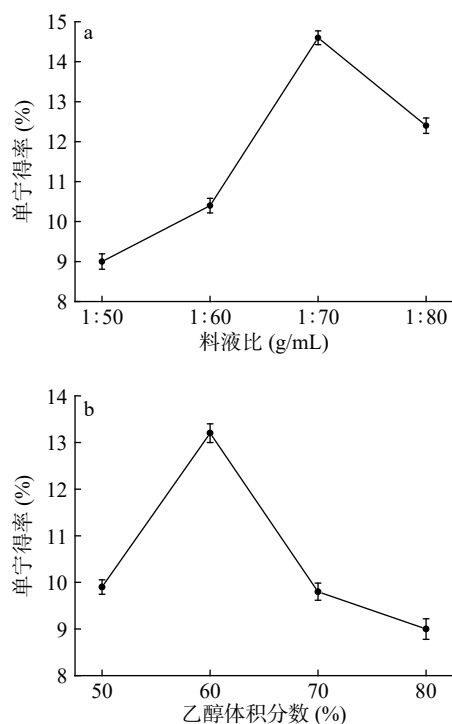


图 1 料液比(a)及乙醇体积分数(b)对单宁得率的影响

Fig.1 Effects of material-liquid ratio(a) and ethanol volume fraction(b) on yield of tannins

由图 2 可知, 在时间为 40 min 时, 单宁得率最高($P<0.05$), 此后时间延长, 得率却降低, 由于单宁属于多酚类物质, 含有较多的酚羟基, 其中邻位酚羟基结构具有极强的还原性, 导致单宁结构稳定性差, 过长的超声时间会使其结构氧化或分解。当超声温度为 50 ℃ 时, 单宁得率达到 13.2%, 说明此温度能够加快分子间的热运动, 从而加快单宁的扩散, 使溶解速率提升。但当温度持续升高, 由于聚合单宁被液化而失去活性^[24], 损失率增加, 得率随之下降。因此, 确定温度 40~60 ℃, 时间 30~50 min 的超声条件进行后续研究。

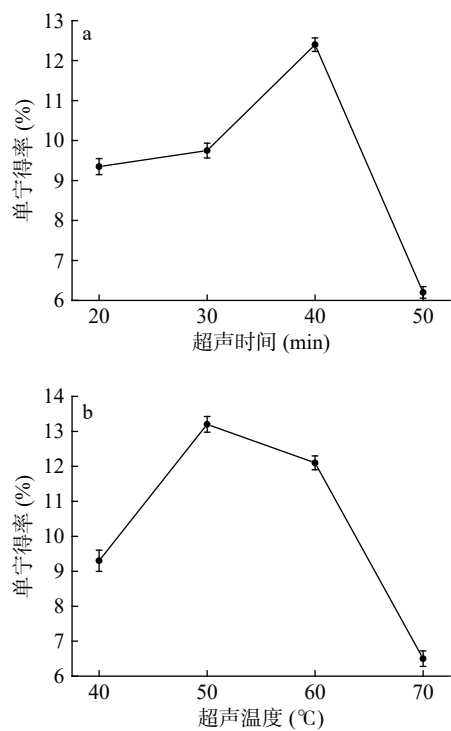


图 2 超声时间(a)及超声温度(b)对单宁得率的影响
Fig.2 Effects of ultrasonic time(a) and temperature(b) on yield of tannins

由图 3 可知, 功率为 80 W 时的得率最高, 而当功率升高, 得率却呈下降趋势, 基于超声波原理推测原因为: 功率越大, 超声波加速作用越强, 机械冲击力推动了单宁粒子运动, 加快其氧化分解, 得率降低, 且差异不显著($P>0.05$)。因此, 超声功率确定为 80 W。

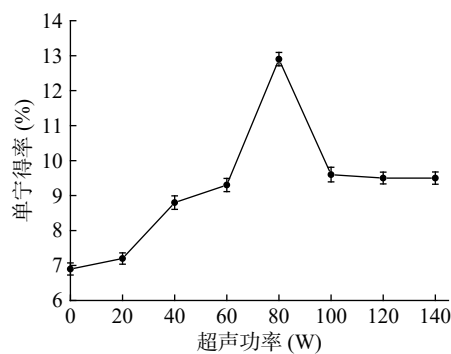


图 3 超声功率对单宁得率的影响
Fig.3 Effect of ultrasonic power on yield of tannins

2.2 超声辅助提取蓝靛果单宁的正交试验结果

根据表 3 的极差分析 R 值可知, 影响蓝靛果单宁得率的因素顺序为 D>C>B>A, 即乙醇体积分数<料液比<超声温度<超声时间。由表 4 可知, 四个因素对单宁得率的影响均达到显著水平($P<0.05$), 该结果与极差分析结果一致。通过正交试验分析得出, 蓝靛果单宁提取的最优条件为 A₁B₁C₂D₃, 即乙醇体积分数 50%, 料液比 1:60 (g/mL), 超声温度 50 ℃, 超声时间 40 min。此条件下重复 3 次试验, 蓝靛果单宁平均得率为 14.68%。

表 3 正交试验及结果					
Table 3 Orthogonal experiments and results					
实验号	A	B	C	D	得率(%)
1	1	1	1	1	10.81
2	1	2	2	2	10.20
3	1	3	3	3	10.80
4	2	1	2	3	13.89
5	2	2	3	1	9.74
6	2	3	1	2	7.61
7	3	1	3	2	8.24
8	3	2	1	3	11.24
9	3	3	2	1	11.69
K ₁	10.60	10.98	9.89	10.75	
K ₂	10.41	10.39	11.93	8.68	
K ₃	10.39	10.03	9.59	11.98	
R	0.21	0.95	2.34	3.30	
优水平	A ₁	B ₁	C ₂	D ₃	

表 4 正交试验方差分析				
Table 4 Orthogonal experiments variance analysis				
来源	平方和	自由度	均方	F值
A	0.243	2	0.121	155.272*
B	4.110	2	2.055	2.629×10 ³ *
C	28.977	2	14.489	18.539×10 ³ *
D	49.783	2	24.892	31.851×10 ³ *
误差	0.014	18	0.01	
总计	3041.635	27		

注: *表示 $P<0.05$, 差异显著。

2.3 单宁对酵母菌发酵能力的影响

2.3.1 单宁酸对模拟蓝靛果果汁中酵母菌生长曲线的影响 由图 4 可知, 酵母菌在不同浓度单宁酸模拟果汁中的生长规律具有典型性, 生长趋势大体一致, 迟滞期均为 0~4 h, 在迟滞期内, 400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌的活性较高, 说明此浓度下酵母菌的起酵性能及对营养物质的吸收能力良好。在对数期内, 浓度不同的模拟果汁中酵母菌的活性大小为 400>600>200>800>1000 mg/L, 且当浓度为 200、600、800、1000 mg/L 时, 酵母菌生长稳定期均开始于 20 h, 此时对数期结束, 直至 32 h 后酵母开始衰亡, 生长趋势下降。相比之下, 400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌生长对数期为 4~16 h, 随后进入稳定期, 其稳定期持续时间最长、活性最高, 说明此阶段微生

物积累代谢产物能力最强。因此,初步判断 400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌具有优良的发酵潜质。

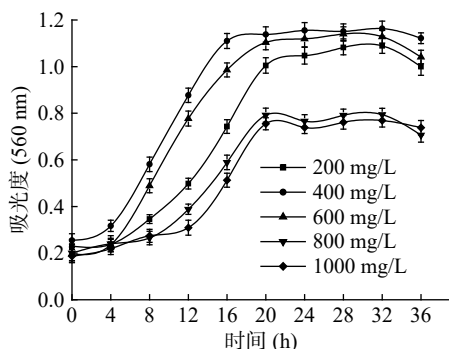


图4 不同浓度单宁酸模拟果汁酵母菌生长曲线

Fig.4 Growth curve of simulated fruit juice yeast with different concentrations of tannin

2.3.2 单宁酸对模拟蓝靛果果汁中残糖量及酒精度的影响 酵母菌利用糖类物质进行糖酵解、丙酮酸脱羧、三羧酸循环等一系列生化反应,从而产生酒精^[25],酒精度的变化规律与残糖量相符。由图5可知,生长环境对酵母菌发酵能力变化影响显著。低浓度(200 mg/L)单宁酸模拟果汁的残糖量最高,为2.4%Brix,这是因为糖类物质作为发酵基质没有被充分消耗,发酵效果不佳;而高浓度单宁酸(600、800、1000 mg/L)模拟果汁的残糖量间无显著差异($P>0.05$),且酒精度一致较低,可能是单宁酸浓度过高,由于发酵过程中酵母本身老化等原因,导致活性受到抑制,酵母菌对糖类物质消耗速率的影响较小。当单宁酸浓度为400 mg/L时,果汁的残糖含量最少,酒精度最高,分别为1.8%Brix和1.2%vol,说明此环境下酵母菌耗糖速率最快,活力充足,酒精等代谢产物的积累相对较多。

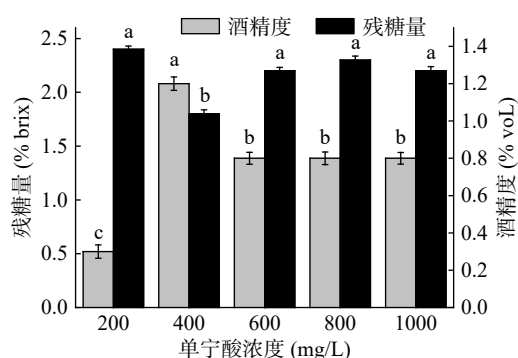


图5 不同浓度单宁酸对模拟果汁酒精度及残糖量的影响

Fig.5 Effects of different concentration tannic acid on simulated juice wine accuracy and sugar content

注:不同字母代表存在显著差异($P<0.05$);图6~图7、图9同。

2.3.3 单宁酸对酵母菌产酸能力的影响 由图6可知,不同浓度的单宁酸模拟果汁在产酸量与耗糖量方面的发酵特性相似,总酸含量变化各不相同。低浓度单宁酸(200 mg/L)模拟果汁的产酸能力最弱,说明此时酵母菌的分解代谢及产酸速率迟缓;浓度为400和

600 mg/L 单宁酸模拟果汁的总酸含量相对较高,当单宁酸浓度继续增大,产酸速率明显下降且变化幅度较小,这表明当单宁酸浓度达到饱和时对酵母菌产酸速率基本无影响,即高浓度的单宁酸对酵母菌产酸速率基本无影响。

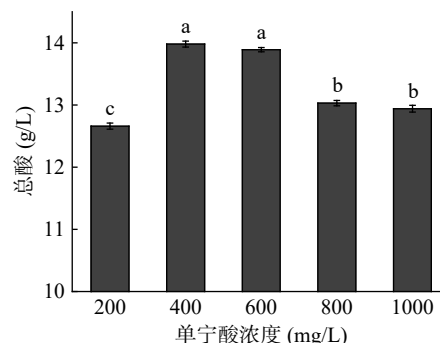


图6 不同浓度单宁酸对模拟果汁总酸含量的影响

Fig.6 Effects of different concentration tannic acid on total acid content of simulated juice

2.3.4 单宁酸对酵母菌产酯能力的影响 酯类作为蓝靛果果汁香气物质的主要载体^[26],发酵过程中成分变化复杂。由图7可知,当模拟果汁中单宁酸的浓度增大,总酯含量呈开口向下的折线趋势,即浓度为400 mg/L 单宁酸模拟果汁的产酯能力显著高于其它浓度模拟果汁($P<0.05$),其总酯含量达到2.87 g/L,说明在相同培养条件下,400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌自身代谢所需的营养物质(醇类、有机酸等)充足,利于酯类物质积累。

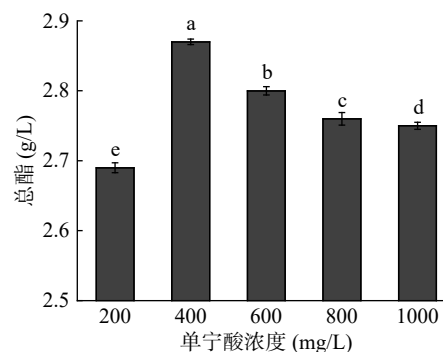


图7 不同浓度单宁酸对模拟果汁总酯含量的影响

Fig.7 Effects of different concentration tannic acid on total ester content of simulated juice

2.3.5 单宁酸对模拟蓝靛果果汁湿度的影响 根据浓度不同的单宁酸模拟果汁与唾液蛋白溶液(0、0.5、1、1.5、2.0、2.5、3 g/L)反应,建立吸光度与唾液蛋白质量浓度的对数曲线,如图8所示。对数曲线方程及斜率绝对值见表5,以对数曲线斜率绝对值大小衡量果汁湿度的相对强弱。不同浓度单宁酸模拟蓝靛果果汁湿度值结果见图9。

由图9可知,模拟果汁的初始单宁酸浓度对湿度强度有着直接影响,浓度为400 mg/L 单宁酸模拟蓝靛果果汁的湿度值最低($P<0.05$),而高于400 mg/L时,湿度加重。一方面,因为高浓度单宁酸产生的湿

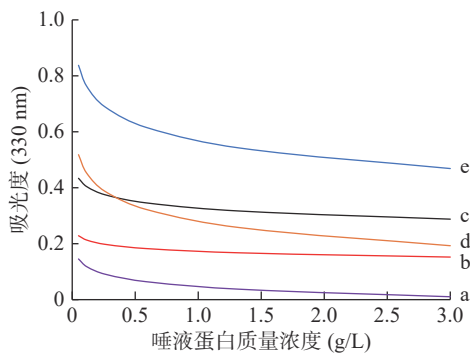


图 8 不同浓度单宁酸对模拟果汁与唾液蛋白反应曲线

Fig.8 Reaction curve of different concentrations of tannic acid on simulation juice and salivary protein

注: a~e 分别表示为 200、400、600、800、1000 mg/L

表 5 对数曲线方程及相关系数

Table 5 Logarithmic curve equation and correlation coefficient

单宁酸浓度(mg/L)	曲线方程	系数绝对值
200	$y=-0.033\ln(x)+0.0466$	0.033
400	$y=-0.019\ln(x)+0.1726$	0.019
600	$y=-0.036\ln(x)+0.3269$	0.036
800	$y=-0.079\ln(x)+0.2801$	0.079
1000	$y=-0.090\ln(x)+0.5676$	0.090

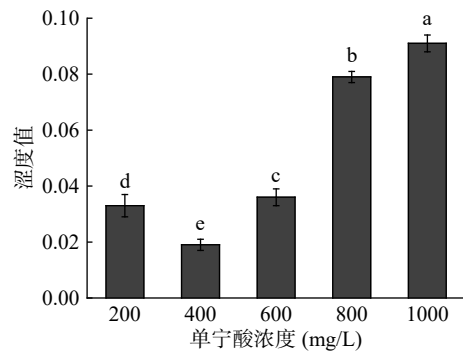


图 9 不同浓度单宁酸对模拟果汁涩度的影响

Fig.9 Effect of different concentrations of tannic acid on the astringency of simulated juice

味与酸性模拟果汁中的涩味重叠,使涩感更强烈;另一方面,因为唾液蛋白的结构在酸性环境中不稳定,增大了其与单宁酸的结合几率^[27],因此,对涩度的感知力增强。此外,有研究表明单宁的平均聚合度(Mean Degree of Polymerization, MDP)对涩感有一定影响^[28],当单宁 MDP 在酵母菌发酵过程中发生变化时,涩度值随之改变。

2.4 单宁酸浓度对蓝靛果果汁影响的验证试验

由上述分析初步确定蓝靛果果汁中最适单宁酸

含量为 400 mg/L,而蓝靛果果汁实际单宁含量为 872 mg/L。在 1.2.8 中单宁酶酶解的最佳条件下,单宁含量可降低为 401 mg/L,与最适含量接近。对原果汁及单宁酶处理得到的最适单宁含量的果汁进行酵母菌发酵,理化指标及感官评价结果见表 6 及图 10。

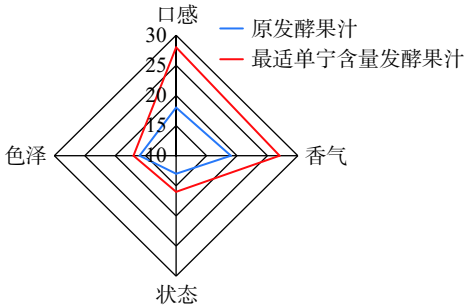


图 10 感官评价雷达图

Fig.10 Sensory evaluation radar diagram

由表 6 可知,与原发酵果汁相比,单宁酶处理过的蓝靛果果汁经发酵后,糖类物质的消耗量明显升高,酒精度、总酸含量分别提高 84.21% 和 14.58%,总酯提高 38.45%,涩度值降低 86.32%。这表明,该最适单宁含量对发酵蓝靛果果汁中酵母菌的发酵效果具有显著促进作用,而且对果汁起到一定产酯增香作用,有效降低了果汁涩感。

由图 10 可知,感官差异性主要表现为:原发酵果汁的酸涩感突出,残存于喉咙的后味时间较长,果香味淡薄,沉淀物肉眼可见,总体评分为 66±1 分。而最适单宁含量的发酵果汁口感饱满,酸甜均衡且涩味适中,果香及发酵香醇厚,光泽度悦目,总体评分为 (88±1) 分。

3 结论

以单因素实验为基础,通过正交优化试验确定超声辅助法提取蓝靛果单宁的条件为:乙醇体积分数 50%,料液比 1:60(g/mL),超声温度 50 ℃,超声时间 40 min,此时蓝靛果单宁得率为 14.68%。

最优条件下提取的单宁粗提液经纯化、浓缩,得单宁酸样品。研究不同质量浓度单宁酸模拟果汁中酵母菌的发酵能力,并验证最适单宁含量对发酵蓝靛果果汁的影响。研究表明:浓度为 400 mg/L 单宁酸模拟果汁中酵母菌的生长规律具有典型性且趋势良好,稳定期内活性最高。与原发酵果汁相比,采用单宁酶处理后,最适单宁含量对发酵蓝靛果果汁中酵母菌的发酵效果具有显著促进作用,果汁的涩感明

表 6 发酵蓝靛果果汁理化指标

Table 6 Physical and chemical indexes of fermented *Lonicera edulis* juice

样品	酒精(%vol)	残糖(%Brix)	总酸(g/L)	总酯(g/L)	涩度
原发酵果汁	0.3±0.04 ^b	3.35±0.05 ^a	12.71±0.05 ^b	3.01±0.12 ^b	0.095±0.02 ^a
最适单宁含量的发酵果汁	1.9±0.03 ^a	1.41±0.02 ^b	14.88±0.13 ^a	4.89±0.09 ^a	0.013±0.07 ^b

注: 同列的不同字母代表样品的差异具有显著性(P<0.05)。

显降低且酸甜适中,果香及发酵香浓郁,酒精度为1.9%vol,总酸含量为14.88 g/L,分别提高84.21%和14.58%,残糖含量降低57.91%。此外,总酯含量提高38.45%,湿度值降低86.32%,这是由于单宁酶的作用使果汁中部分缩合单宁被水解,同时较好地保存了发酵果汁所积累的香气成分。

综上所述,蓝靛果果汁的最适单宁含量为400 mg/L,此时对酵母菌的发酵能力具有一定提升作用。研究结果可为后续深入探讨蓝靛果果汁的发酵技术及酚类物质浓度变化对果汁发酵品质的影响提供理论支持。

参考文献

- [1] WU S S, HE X, WU S S, et al. Inhibitory effects of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L) on adjuvant-induced arthritis in rats: Crosstalk of anti-inflammatory and antioxidant effects[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 17: 514-523.
- [2] JURIKOVA T, ROP O, MLCEK J, et al. Phenolic profile of edible honeysuckle berries (genus *Lonicera*) and their biological effects[J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2011, 17(1): 61-79.
- [3] DANIELA C, CARLO G R, CRISTINA F G, et al. Exploitation of grape marc as functional substrate for lactic acid bacteria and bifidobacteria growth and enhanced antioxidant activity[J]. *Food Microbiology*, 2017: 65.
- [4] YANG H, WU D H, GUO D J. The aromatic volatile composition of *Lonicera edulis* wines produced with three different strains of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2019, 125(1).
- [5] 曾德永, 张立钢, 赵玉红. 澄清剂对蓝靛果果汁活性成分和特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(4): 43-48. [ZENG D Y, ZANG L G, ZHAO Y H. Effect of clarified agent on the active ingredient and characteristics of blue fruit juice[J]. *Food Science*, 2018, 39(4): 43-48.]
- [6] 何中秋, 程志强, 康立娟, 等. 明胶吸附单宁酸的机理探讨及其在蓝莓汁脱涩中的应用[J]. *食品科学*, 2015, 36(1): 104-108. [HE Z Q, CHENG Z Q, KANG L J, et al. Discussion on the mechanism of gelatin adsorption tanning acid and its application in blueberry juice[J]. *Food Science*, 2015, 36(1): 104-108.]
- [7] MA W, GUO A Q, ZHANG Y L, et al. A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2014, 40(1): 6-19.
- [8] HUANG R, XU C G. An overview of the perception and mitigation of astringency associated with phenolic compounds[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 1036-1074.
- [9] GHANEM C, TAILLANDIER P, RIZK M, et al. Analysis of the impact of fining agents types, oenological tannins and mannoproteins and their concentrations on the phenolic composition of red wine[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017: 83.
- [10] 韩春然, 宋晨鑫, 马蕊. 响应面法优化蓝靛果酒低温二氧化碳浸渍工艺[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(1): 117-123. [HAN C R, SONG C X, MA R. Response surface method optimized blueo fruit wine low temperature carbon dioxide impregnation process[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(1): 117-123.]
- [11] 岳珍珍, 王静, 方利英, 等. 大孔吸附树脂对刺梨果汁单宁脱除及其色泽的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(17): 109-114. [YUE Z Z, WANG J, FANG L Y, et al. Effects of macole adsorption resins on tining removement and collection of juice of pear fruit[J]. *Food Science*, 2016, 37(17): 109-114.]
- [12] 张鑫. 黑果腺肋花楸汁脱涩技术的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019. [ZANG X. Study on subwinding technology of musk genoprost[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural university, 2019.]
- [13] 李晓静, 韩宗元, 穆雪蛟, 等. 超声波法提取香蕉皮单宁及抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(24): 120-124, 130. [LI X J, HAN Z Y, MU X J, et al. Ultrasonic extraction of tannin from banana peel and its antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(24): 120-124, 130.]
- [14] 王秋亚. 超声波辅助提取陕北野生苦菜中单宁的工艺优化[J]. *食品工业*, 2019, 40(8): 114-117. [WANG Q Y. Ultrasonic assistance extracts the process optimization of tannins in wild bitter vegetables in northern Shaanxi[J]. *Food Industry*, 2019, 40(8): 114-117.]
- [15] 尚俊, 冯秀云, 王鑫, 等. 柠檬桉树皮单宁的提取纯化及抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(1): 62-69. [SHANG J, FENG X Y, WANG X, et al. Extraction and purification and antioxidant activity of lemon bark tannins[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(1): 62-69.]
- [16] 郭换丽, 余元善, 吴继军, 等. DMDC 联合 Nisin 对模拟果汁中肠膜状串珠菌细胞膜功能的影响[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(2): 19-25. [GUO H L, YU Y S, WU J J, et al. Effect of dimethyl dicarbonate combined with nisin on cell membrane functions of leuconostoc mesenteroides in model juice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(2): 19-25.]
- [17] 郑凤锦, 陈赶林, 蒙艳红, 等. 不同干酵母对甘蔗汁酿酒特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(24): 24-28. [ZHENG F J, CHEN G L, MENG Y H, et al. Effects of different dry yeaston fermentation characteristics of sugarcane juice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(24): 24-28.]
- [18] 扈钦琳, 叶师, 杨春, 等. 低醇梨酒发酵工艺优化[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(6): 70-75. [HU Q L, YE S, YANG C, et al. Optimization of alcohol pear fermentation process[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(6): 70-75.]
- [19] 国家标准化管理委员会. GB/T15038-2006 葡萄酒果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社. [National Standardization Management Committee. GB/T15038-2006 General analysis method for wine and fruit wine[S]. Beijing: China Standards Press, 2006.]
- [20] 国家标准化管理委员会. GB/T12456-2008 食品中总酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社. [National Standardization Management Committee. GB/T12456-2008 Total acid determination in food[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.]
- [21] 刘虹. 蓝莓酒发酵过程中组分及色度的变化[D]. 大连: 大连工业大学, 2013. [LIU H. Change of the components and chroma

during the blueberry wine's fermentation[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2013.]

[22] 包赛依娜, 李顺琪, 兰义宾, 等. 葡萄酒涩感定量评价方法的建立[J]. [中国酿造](#), 2015, 34(5): 152–156. [BAO S L N, LI S Q, LAN Y B, et al. Quantitative evaluation method for wine astringency[J]. [China Brewing](#), 2015, 34(5): 152–156.]

[23] 赵倩倩, 张艳红, 李刚. 玉玲花虫瘻中单宁含量初探[J]. 辽东学院学报(自然科学版), 2018, 25(1): 36–42. [ZHAO Q Q, ZANG J H, LI G. Preliminary study on the single ning content of yu ling flower[J]. Journal of Liaodong University (Natural Science Edition), 2018, 25(1): 36–42.]

[24] PANG C W, LEE J W, KANG Y T. Review on combined heat and mass transfer characteristics in nanofluids[J]. International Journal of Thermal Sciences, 2015: 87.

[25] GANUCCI D, GUERRINI S, MANGANI S, et al. Quantify-

ing the effects of ethanol and temperature on the fitness advantage of predominant *saccharomyces cerevisiae* strains occurring in spontaneous wine fermentations.[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018: 9.

[26] YU S W, DONG Q, WANG Z, et al. Ultraviolet mutation breeding and identification of ester-producing yeast[J]. *Journal of Research in Science and Engineering*, 2021, 3(3).

[27] VI D L L, ANTÚNEZ L, GIMÉNEZ A, et al. Astringency evaluation of tannat wines: Comparison of assessments from trained assessors and experts[J]. [Journal of Sensory Studies](#), 2018, 33(3): e12330.

[28] CHIRA K, JOURDES M, TEISSEDRE P L. Cabernet sauvignon red wine astringency quality control by tannin characterization and polymerization during storage[J]. [European Food Research and Technology](#), 2012, 234(2): 253–261.