

多依果红心火龙果复合果酒发酵工艺优化及抗氧化活性分析

黄艳丽, 尹锦荣, 赵秀, 罗玉丹, 张志芳, 赵鹏锐, 陈小龙*

(云南农业大学热带作物学院, 普洱 665000)

摘要: **目的** 通过响应面法优化多依果、红心火龙果复合果酒的发酵工艺, 并对其抗氧化活性进行分析。**方法** 在单因素实验的基础上, 以酒精度和感官评分“归一化”后的总评“归一值”为响应值进行响应面优化实验, 并对发酵工艺优化所得的复合果酒进行 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)和 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]自由基清除率实验分析。**结果** 复合果酒发酵最佳工艺参数为: 多依果、红心火龙果的质量比 1:1、蔗糖添加量 17%、二氧化硫添加量 69 mg/kg、酵母接种量 1.4%和初始 pH 3.3, 常温发酵 7 d。在此最佳酿造工艺条件下, 复合果酒为亮红色, 酒精度达到 11.3% vol, 总黄酮含量为 9.0 mg/kg, 对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除率最高可达 89.75%和 81.26%, 总体抗氧化能力高于多依果汁而略低于维生素 C。**结论** 多依果红心火龙果复合果酒口感谐调, 并且较好地保留了水果的抗氧化活性成分, 本研究为多依果的应用开发提供了一定的理论支撑。**关键词:** 多依果; 复合果酒; 响应面法; 发酵工艺; 抗氧化活性

Fermentation process optimization and antioxidant activity analysis of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and red dragon fruit compound wine

HUANG Yan-Li, YIN Jin-Rong, ZHAO Xiu, LUO Yu-Dan, ZHANG Zhi-Fang,
ZHAO Peng-Rui, CHEN Xiao-Long*

(College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er 665000, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the fermentation process of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and *Hylocereus costaricensis* Britton & Rose compound wine by response surface methodology, and analyze the antioxidant activity of fruit compound wine. **Methods** On the basis of single factor test, the fermentation conditions of compound fruit wine were optimized taking the “normalized value” of wine alcohol content and sensory indicators as the response value of response surface experiment, and then 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline -6-sulphonate) (ABTS) free radical scavenging rates of optimized compound wine was analyzed. **Results** The optimal conditions for alcoholic fermentation were: The mass ratio of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and *Hylocereus costaricensis* Britton & Rose 1:1, the cane sugar 17%, SO₂ 69 mg/kg, yeast

基金项目: 云南农业大学热带作物学院自然科学基金项目(2020RYYB016)、云南农业大学热带作物学院李积华专家工作站项目(2021RYZJGZZ003)

Fund: Supported by the Scientific Research Project of College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University (2020RYYB016), and the Li Jihua Expert Workstation Project, College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University (2021RYZJGZZ003)

***通信作者:** 陈小龙, 硕士, 讲师, 主要研究方向为食品化学。E-mail: 350595763@qq.com

***Corresponding author:** CHEN Xiao-Long, Master, Lecturer, College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er 665000, China. E-mail: 350595763@qq.com

inoculation 1.4% and initial pH 3.3, natural temperature for 7 days. Under these optimal conditions, the compound fruit wine was bright red, with the alcohol content of 11.3% vol, and total flavonoid content of 9.0 mg/kg, the highest free radical scavenging rates of DPPH and ABTS could reach 89.75% and 81.26%, and the antioxidant capacity was higher than that of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. fruit juice, and less than vitamin C. **Conclusion** This compound fruit wine has a harmonious taste and better retained the antioxidant ingredients of fruit, and this study provides some theoretical support for the application and development of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid..

KEY WORDS: *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.; compound fruit wine; response surface methodology; fermentation process; antioxidant activity

0 引言

多依果又称柘衣果、酸苹果,是蔷薇科柘[木衣]属植物云南柘[*Docynia delavayi* (Franch.) Schneid.]的果实,主要分布于亚洲,在我国主产于云贵川等西南各地^[1-5]。多依果是一种云南极具地方特色的水果,其药食兼用,富含多种营养物质和多酚类活性成分,具有健胃消食和抗衰老等多种保健功能^[6-8]。红心火龙果(*Hylocereus costaricensis* Britton & Rose)色泽红艳、营养丰富,具有预防便秘、护肤养颜等功效^[9-13]。多依果和红心火龙果同属于热带水果,在云南省内资源丰富,但是多依果的质地酸涩,红心火龙果口感偏甜,将两种水果有机结合后酿造一款兼具口感和营养价值的复合果酒,既可以延长水果的货架期,又可以提高其附加值,对丰富果酒品种和提高山区农民收入都具有积极意义。相关研究表明,多依果、红心火龙果富含黄酮^[14-18]、多酚类抗氧化活性成分^[19-23],因此其果酒等加工产品也应该尽量减少活性成分的损失,保留水果的抗氧化活性。目前,关于多依果^[18-23]、红心火龙果^[9-14]这两种水果的加工产品及其抗氧化活性的研究报道较多,但多依果红心火龙果复合果酒的研究鲜见。本研究以热区多依果、红心火龙果为原料,以酒精度、发酵液 pH、可溶性固形物含量及感官评分为评价指标,采用单因素结合响应面法优化多依果红心火龙果复合果酒的酿造工艺条件,测定其总

黄酮含量并对体外抗氧化活性进行探究,旨在酿造一款果香、酒香协调且具备一定抗氧化能力的多依果复合果酒,为多依果附加产品的加工提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

多依果(黄熟期)、红心火龙果:市售;安琪果酒酵母(食品级,安徽中科中佳公司)。

2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(分析纯,合肥博美生物科技有限公司);焦亚硫酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);芦丁(纯度≥98%,安徽酷尔生物工程有限公司)。

1.2 仪器与设备

LH-B55 数显折光仪(杭州陆恒生物科技有限公司);UV-1800PC 紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);GMK-702R 糖度测定仪(北京西诺远大科技有限公司);pH-100 手持式 pH 计(上海力辰邦西仪器科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 复合果酒加工工艺流程及操作要点

(1)加工工艺流程



(2)操作要点

鲜果挑选: 挑选成熟、完好的多依果、红心火龙果,洗净,晾干。

打浆: 多依果、红心火龙果各自去皮、切块,称质量,按料液比 1:2 (g:mL)加水,分别打浆。

酶解: 多依果、红心火龙果汁按一定质量比混合,

果浆中加入 0.2%的果胶酶,常温酶解 6 h。

糖度调整: 添加一定比例的蔗糖,以达到复合果酒发酵所需的糖度要求。

灭菌: 添加一定比例的二氧化硫,进行灭菌。

酵母菌接种: 称取一定比例的酵母,水浴活化 30 min,接入发酵液中。

初始 pH 调整: 加入柠檬酸, 调节发酵液 pH 至酒精发酵要求值。

酒精发酵: 常温发酵 7 d。

1.3.2 复合果酒发酵工艺优化

单因素实验: 实验前进行预实验, 得初始发酵适宜条件为多依果与红心火龙果的质量比 1:1、蔗糖添加量 20%、二氧化硫添加量 50 mg/kg、酵母接种量 3%和初始 pH 3.5, 常温发酵 7 d。在预实验基础上, 以可溶性固形物含量、发酵液 pH、感官评分和酒精度为评价指标, 考察多依果与红心火龙果的质量比(1:3、1:2、1:1、2:1、3:1)、蔗糖添加量(16%、18%、20%、22%、24%)、二氧化硫添加量(10、30、50、70、90 mg/kg)、酵母接种量(1%、2%、3%、4%、5%)和初始 pH(4.5、4.0、3.5、3.0、2.5)。

响应面优化实验: 基于单因素实验, 选择对酒精发酵影响较大的蔗糖添加量(A)、二氧化硫添加量(B)、酵母接种量(C)和初始 pH(D)为考察因素, 以酒精度和感官评分的总评“归一值”OD 为响应值, 采用 Box-Behnken 实验方法进行 4 因素 3 水平的响应面优化实验。响应面实验设计见表 1。

表 1 酒精发酵工艺响应面优化实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface tests for alcoholic fermentation technology optimization

因素	水平		
	-1	0	1
A 蔗糖添加量/%	16	18	20
B 二氧化硫添加量/(mg/kg)	50	70	90
C 酵母接种量/%	1	2	3
D 初始 pH	4.0	3.5	3.0

1.3.3 抗氧化活性实验样品液制备

复合果酒: 采用响应面优化的最佳工艺参数酿造的果酒产品, 过滤得澄清液; 多依果汁: 料液比 1:2 (g:mL)多依果浆, 过滤得澄清液; 维生素 C 溶液: 0.15%维生素 C 水溶液。

1.3.4 指标测定方法

(1) 感官评价

多依果、红心火龙果复合果酒感官评定标准参照 NY/T 1508—2017《绿色食品 果酒》中感官要求制定。

(2) 理化、微生物指标

酒精度参考 GB 5009.225—2016《食品安全国家标准 酒中乙醇浓度的测定》中酒精计法测定; 可溶性固形物含量参考 GB/T 12143—2008《饮料通用分析方法》中折光计法测定; 菌落总数测定参考 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》; 大肠菌群计数参照 GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数测定》。

(3) 总黄酮的测定

参考 SN/T 4592—2016《出口食品中总黄酮的测定》中分光光度法测定。

(4) 体外抗氧化活性测定

参考 GB/T 39100—2020《多肽抗氧化性测定》中 DPPH 和 ABTS 法测定。

1.3.5 数据处理

单因素实验和抗氧化活性分析实验每个实验重复 3 次, 采用 Origin 2018 进行误差分析与绘图; 响应面优化实验采用 Design-Expert 8.0 进行实验设计与方差分析。

响应面优化实验总评 OD 值计算方法为: 将酒精度、感官评分两个评价指标通过 Hassan 法分别“归一化”为 0~1 之间的“归一值”, 再求算其几何平均数即得总评“归一值”OD^[24]。公式如式(1)、(2):

$$d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min}) \quad (1)$$

$$OD = (d_1 d_2)^{1/2} \quad (2)$$

式中, Y 为指标的数值; i 为实验号; Y_{max}、Y_{min} 分别为指标中的最大值、最小值; 因果酒的酒精度和感官评分两个指标均为取值越大越好, 故采用公式(1)计算归一值。

2 结果与分析

2.1 发酵温度和发酵时间的选择

温度是影响酒精发酵的重要环境因子之一。红心火龙果成熟期为每年 5~11 月, 多依果的成熟期为 10~12 月, 云南普洱地区 11 月份的昼夜温度约为 17~24 °C, 常温即可满足酵母菌发酵条件。因此, 多依果、红心火龙果复合果酒采用常温发酵。

酒精发酵时间一般为 6~7 d^[5,25]。预实验发现, 发酵 7 d 时复合果酒的酒精度和感官评分均达到最佳。因此, 确定本次实验发酵时间为 7 d。

2.2 复合果酒单因素优化实验

2.2.1 多依果、红心火龙果不同质量比对酒精发酵的影响

多依果、红心火龙果不同质量比对酒精发酵的影响见图 1。其对可溶性固形物含量和发酵液 pH 影响很小。在多依果、红心火龙果的质量比 1:3~1:1 范围内, 复合果酒的酒精度和感官评分随着多依果的增加而升高。在质量比 1:1 时, 酒精度达到最高(10.7% vol), 此时可溶性固形物含量为 7.0%, 发酵液 pH 为 3.7, 红心火龙果的甜味和多依果的酸味达到协调, 感官评分也达到最大值(90.7 分)。质量比 1:1~3:1 范围内, 随着多依果的持续增加, 酒精度反而下降, 多依果偏酸的特性也导致发酵液 pH 的下降和感官评分的降低。故此, 选择多依果、红心火龙果的质量比 1:1 为单因素实验最佳发酵条件。

2.2.2 不同蔗糖添加量对酒精发酵的影响

不同蔗糖添加量对酒精发酵的影响见图 2。其对发酵液 pH 影响较小。在蔗糖添加量 16%~18% 范围内, 随着蔗

糖的增加, 发酵越来越充分, 可溶性固形物含量较平缓, 酒精度和感官评分随之升高。在蔗糖添加量为 18% 时, 酒精度和感官评分均达到最高(11.1% vol, 87.9 分), 此时可溶性固形物含量和发酵液 pH 分别为 7.8% 和 3.7。蔗糖添加量 18%~24% 范围内, 随着蔗糖的持续增加, 发酵液渗透压升高, 酵母菌的活性和繁殖受到抑制^[26], 酒精度反而下降, 而可溶性固形物含量持续上升, 过甜的口感也导致了感官评分的下降。故此, 选择蔗糖添加量 18% 为单因素实验最佳发酵条件。

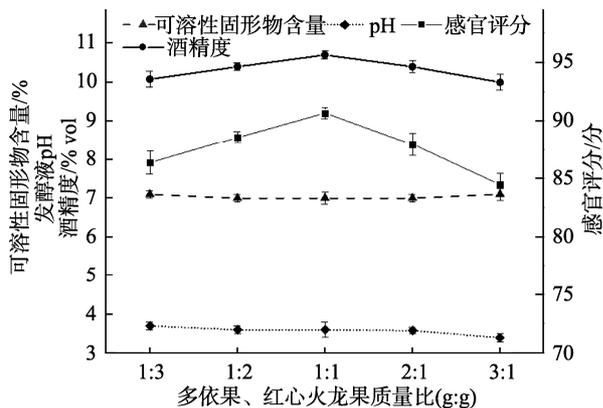


图 1 多依果、红心火龙果不同质量比对酒精发酵的影响(n=3)
Fig.1 Effects of mass ratio of *D. delavayi* fruit and red dragon fruit on alcoholic fermentation (n=3)

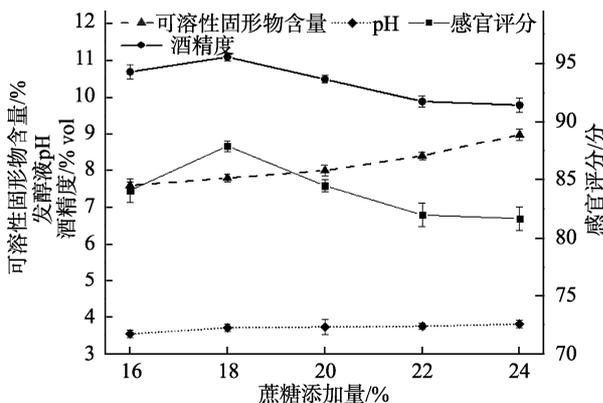


图 2 不同蔗糖添加量对酒精发酵的影响(n=3)
Fig.2 Effects of cane sugar content on alcoholic fermentation (n=3)

2.2.3 不同二氧化硫添加量对酒精发酵的影响

不同二氧化硫添加量对酒精发酵的影响见图 3, 其对可溶性固形物含量影响不明显。在二氧化硫添加量 10~70 mg/kg 范围内, 随着二氧化硫的增加, 其对有害微生物的抑制和抗氧化作用不断增加^[27], 酒精度和感官评分也随之升高。在二氧化硫添加量为 70 mg/kg 时, 酒精度和感官评分均达到最高(10.7% vol, 92.0 分), 此时可溶性固形物含量和发酵液 pH 分别为 8.0% 和 3.6。二氧化硫添加量 70~90 mg/kg 范围内, 随着二氧化硫的持续增加, 发酵液 pH 缓慢下降, 酵母菌的活

性可能受到抑制^[27], 酒精度反而下降, 而过量的二氧化硫导致酸度增加, 感官评分也随之下降。故此, 选择二氧化硫添加量 70 mg/kg 为单因素实验最佳发酵条件。

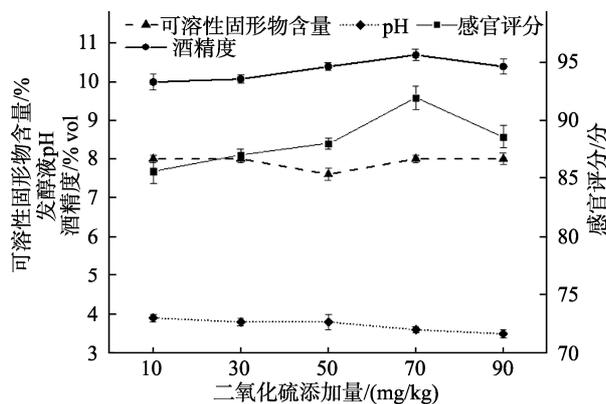


图 3 不同二氧化硫添加量对酒精发酵的影响(n=3)
Fig.3 Effects of SO₂ content on alcoholic fermentation (n=3)

2.2.4 不同酵母接种量对酒精发酵的影响

不同酵母接种量对酒精发酵的影响见图 4, 其对发酵液 pH 影响不明显。在酵母接种量 1%~2% 范围内, 随着酵母的增加, 发酵越来越充分^[25,28], 酒精度和感官评分也随之升高, 可溶性固形物含量因发酵消耗糖分而逐渐下降。在酵母接种量为 2% 时, 酒精度和感官评分均达到最高(10.7% vol, 91.0 分), 此时可溶性固形物含量和发酵液 pH 分别为 6.0% 和 3.5。酵母接种量 2%~5% 范围内, 随着酵母的持续增加, 酵母菌自身大量消耗营养物质, 酒精发酵底物的减少导致酒精度下降; 同时, 酵母菌之间的繁殖竞争可能一定程度上也抑制了酒精发酵, 导致可溶性固形物含量先降低后上升, 而大量增加的酵母菌代谢副产物可能也导致了感官评分的下降^[26]。故此, 选择酵母接种量 2% 为单因素实验发酵最佳水平。

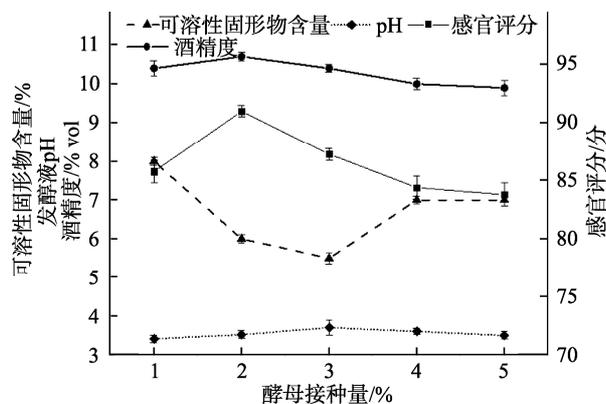


图 4 不同酵母接种量对酒精发酵的影响(n=3)
Fig.4 Effects of yeast inoculation on alcoholic fermentation (n=3)

2.2.5 不同初始 pH 对酒精发酵的影响

不同初始 pH 对酒精发酵的影响见图 5。酵母菌利用

有机酸、氨基酸等发酵会引起发酵液 pH 的上升, 导致发酵逐渐减缓, 可溶性固形物含量逐渐升高。通过调节发酵液的初始 pH, 可促进后期酒精发酵^[29]。在初始 pH 4.5~3.5 范围内, 发酵液的 pH 基本维持不变, 酒精度和感官评分随着初始酸度的下降而升高。在初始 pH 为 3.5 时, 酒精度和感官评分均达到最高(11.1% vol, 91.8 分), 此时可溶性固形物含量和发酵液 pH 分别为 6.9% 和 3.8。初始 pH 3.5~2.5 范围内, 随着初始酸度的下降, 发酵液 pH 随之下降, 酵母菌的活性受到抑制, 过酸反而导致酒精度和感官评分下降。故此, 选择初始 pH 3.5 为单因素实验最佳发酵条件。

2.3 酒精发酵响应面优化与分析

2.3.1 响应面优化结果

在单因素基础上, 根据 Box-Behnke 实验设计原理, 以酒精发酵中最重要的两个指标酒精度和感官评分的总评“归一值”OD 为响应值(根据 1.3.5 计算), 选择对多依果、红心火龙果复合果酒影响较大的蔗糖添加量(A)、二氧化硫

添加量(B)、酵母接种量(C)和初始 pH(D)为考察因素, 设计 4 因素 3 水平的响应面实验, 优化酒精发酵工艺条件, 结果见表 2。

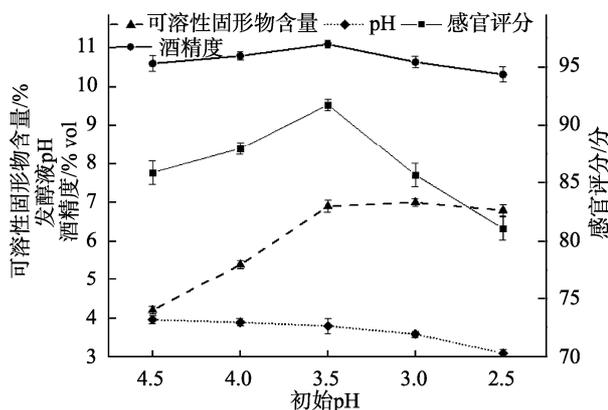


图5 不同初始 pH 对酒精发酵的影响(n=3)

Fig.5 Effects of initial pH on alcoholic fermentation (n=3)

表2 酒精发酵响应面实验优化结果(n=29)

Table 2 Experimental results of response surface design of alcoholic fermentation (n=29)

实验号	A 蔗糖添加量/%	B 二氧化硫添加量/(mg/kg)	C 酵母接种量/%	D 初始 pH	酒精度/(% vol)	感官评分/分	总评 OD
1	16	90	2	3.5	9.6	85	0.2667
2	20	70	1	3.5	9.8	86	0.3556
3	18	90	3	3.5	9.5	84	0.1988
4	18	70	1	3.0	10.9	91	0.8221
5	20	90	2	3.5	9.9	86	0.3772
6	18	50	1	3.5	10.4	89	0.6290
7	16	70	2	4.0	9.1	82	0
8	18	70	1	4.0	10.7	90	0.7332
9	18	70	2	3.5	11.3	93	1
10	18	90	2	3.0	9.9	86	0.3772
11	18	70	2	3.5	11.3	93	1
12	18	50	2	4.0	9.6	85	0.2667
13	18	70	3	4.0	9.7	85	0.2881
14	20	70	2	4.0	10.7	90	0.7245
15	16	70	3	3.5	9.0	82	0
16	18	90	1	3.5	10.4	88	0.5658
17	18	70	2	3.5	11.3	93	1
18	16	50	2	3.5	9.7	85	0.2881
19	18	50	2	3.0	10.5	89	0.6334
20	20	50	2	3.5	10.3	88	0.5552
21	18	70	2	3.5	11.3	93	1
22	16	70	1	3.5	10.9	91	0.8221
23	20	70	2	3.0	10.1	87	0.4663
24	18	90	2	4.0	9.2	83	0.0889
25	18	70	3	3.0	10.5	89	0.6464
26	18	70	2	3.5	11.0	92	0.8891
27	18	50	3	3.5	10.2	88	0.5335
28	16	70	2	3.0	10.8	91	0.8002
29	20	70	3	3.5	10.9	91	0.8221

2.3.2 回归模型的建立与方差分析

方差分析结果见表 3。总评 OD 回归拟合方程为:

$$\text{OD}=0.98+0.094A-0.086B-0.12C-0.14D-0.039AB+0.32AC+0.26AD-0.068BC+0.020BD-0.067CD-0.27A^2-0.36B^2-0.16C^2-0.23D^2。$$

由表 3 可知, 模型 P 小于 0.0001, 极显著, 表明所得方程有意义; 失拟项 P 为 0.2523, 不显著, 表明所构建的模型合理, 与实验的差异较小; 模型拟合系数 R^2_{pred} 为 0.8832, 调整系数 R^2_{adj} 为 0.9540, 变异系数为 11.82%, 表明预测值与实验值有较好的相关性, 误差较小; 模型的信噪比为 21.032, 远大于 4, 则表明该模型适用于复合果酒酒精发酵总评的预测。在该模型中, 一次项 A 、 B 、 C 、 D 和交叉项 AC 、 AD 以及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对结果影响极显著 ($P<0.01$), 其他因素组合对结果无显著影响 ($P>0.05$)。根据 F 大小可知, 4 个因素对复合果酒发酵影响的顺序为: 初始 pH (D)>酵母接种量(C)>蔗糖添加量(A)>二氧化硫添加量(B)。

2.3.3 验证实验

根据回归方程对实验结果进行优化, 得复合果酒发酵的最优条件为: 蔗糖添加量 17.26%、二氧化硫添加量 68.99 mg/kg、酵母接种量 1.38%和初始 pH 3.3, 在此工艺条件下, 多依果、红心火龙果复合果酒总评的理论值为 1。根据实际操作情况将工艺参数修正为: 蔗糖添加量 17%、

二氧化硫添加量 69 mg/kg、酵母接种量 1.4%和初始 pH 3.3, 按修正后的工艺参数值进行验证实验, 得到复合果酒的实际总评为 1.003, 与理论值相符合。由此可知, 采用响应面法优化多依果、红心火龙果复合果酒酿造工艺条件是准确可行的, 模型可用。

2.4 复合果酒抗氧化活性分析

按照最优发酵工艺参数制备的多依果、红心火龙果复合果酒、多依果汁和维生素 C 对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除率比较结果如图 6 所示。随着样品用量的增加, 复合果酒对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除率先上升后趋于平缓^[30], 总体抗氧化能力与多依果汁、维生素 C 的变化趋势一致。从图 6A 可知, 样品用量在 0.4~1.6 mL 时复合果酒对 DPPH 自由基的清除率持续上升, 随后在 1.6~2.0 mL 时趋于平缓, 样品用量 2.0 mL 时复合果酒对 DPPH 自由基的清除率达到最高(89.75%), 且与维生素 C 的清除率接近(89.98%), 略高于多依果汁(87.52%)。从图 6B 可知, 样品用量在 0.1~0.3 mL 时复合果酒对 ABTS 自由基的清除率持续上升, 随后在 0.3~0.5 mL 时趋于平缓, 样品用量 0.5 mL 时复合果酒对 ABTS 自由基的清除率达到最高(81.26%), 低于维生素 C 的清除率(84.69%), 高于多依果汁(78.92%)。总体抗氧化能力大小从高到低依次为: 维生素 C、复合果酒和多依果汁, 由此可知复合果酒较好地保留了水果的抗氧化活性能力。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for response surface quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	2.58	14	0.18	42.48	<0.0001	**
A	0.11	1	0.11	24.28	0.0002	**
B	0.089	1	0.089	20.45	0.0005	**
C	0.17	1	0.17	39.8	<0.0001	**
D	0.23	1	0.23	51.97	<0.0001	**
AB	0.006	1	0.006	1.41	0.2541	
AC	0.42	1	0.42	95.77	<0.0001	**
AD	0.28	1	0.28	64.61	<0.0001	**
BC	0.018	1	0.018	4.25	0.0583	
BD	0.002	1	0.002	0.35	0.5611	
CD	0.018	1	0.018	4.19	0.06	
A^2	0.48	1	0.48	111.83	<0.0001	**
B^2	0.84	1	0.84	194.53	<0.0001	**
C^2	0.16	1	0.16	36.43	<0.0001	**
D^2	0.33	1	0.33	77.27	<0.0001	**
残差	0.061	14	0.004			
失拟项	0.051	10	0.005	2.07	0.2523	
纯误差	0.001	4	0.002			
总和	2.64	28				

R^2_{adj} : 0.9540, R^2_{pred} : 0.8832, 信噪比: 21.032

注: **表示差异极显著($P<0.01$); *表示差异显著($P<0.05$)。

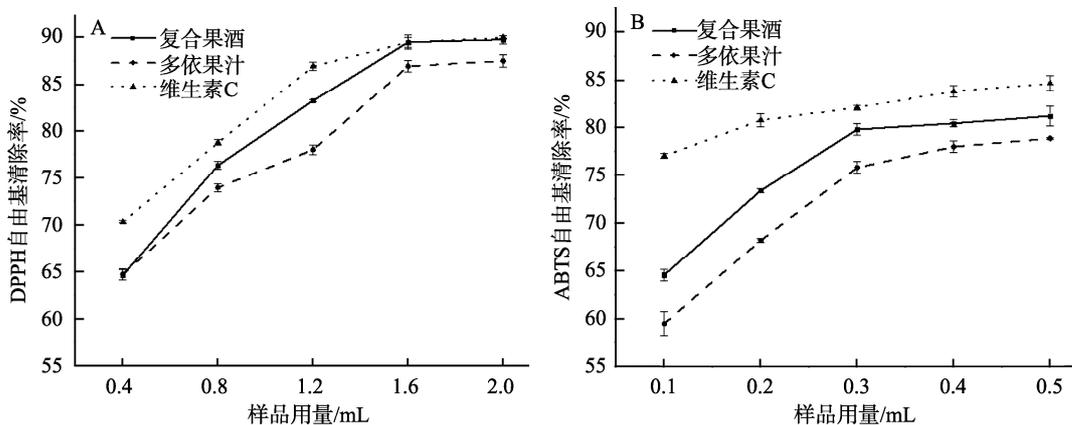


图6 复合果酒、多依果汁和维生素C对DPPH(A)和ABTS(B)自由基的清除能力($n=3$)

Fig.6 Scavenging ability of compound wine, raw juice and vitamin C on DPPH (A) and ABTS (B) free radicals ($n=3$)

2.5 复合果酒质量指标测定

按照最优发酵工艺参数制备多依果、红心火龙果复合果酒, 并进行感官评价和各项质量指标测定。复合果酒为亮红色, 具有多依果、红心火龙果的特征香气, 口感醇和、香气谐调, 感官评分为93分。酒精度为11.3% vol, 总酸为8.1 g/L, 可溶性固形物含量为6.7%, 菌落总数为25.0 CFU/mL, 大肠杆菌群未检出。另外, 测得复合果酒中总黄酮含量为9.0 mg/kg。多依果、红心火龙果复合果酒以上各项指标检测结果均符合NY/T 1508—2017的标准要求。

3 结论

通过Box-Behnken响应面法设计和优化多依果、红心火龙果复合果酒发酵工艺, 以酒精度为响应值确定最佳酒精发酵工艺参数为: 蔗糖添加量17%、二氧化硫添加量69 mg/kg、酵母接种量1.4%和初始pH 3.3, 常温发酵7 d。在此优化酿造工艺条件下, 复合果酒为亮红色, 具有多依果和红心火龙果的特征香气, 口感醇和、香气谐调, 酒精度为11.3% vol, 各项指标检测结果均达到NY/T 1508—2017的标准要求。同时, 测得复合果酒中总黄酮含量为9.0 mg/kg, 对DPPH和ABTS自由基的清除率最高可达89.75%和81.26%, 总体抗氧化能力高于多依果汁而低于维生素C。本研究数据可为云南特色水果多依果附加产品的加工环节提供理论参考。

参考文献

- 黄艳丽, 李成华, 杨永林, 等. 多依果醋发酵工艺优化及品质分析[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(22): 97-103.
HUANG YL, LI CH, YANG YL, et al. Fermentation process optimization and quality analysis of *Docynia delavayi* fruit vinegar [J]. Food Res Dev, 2021, 42(22): 97-103.
- 陈璨, 石辰, 王大玮, 等. 云南柃(木衣)SRAP-PCR反应体系的建立及引物筛选[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(6): 1037-1043.
CHEN C, SHI C, WANG DW, et al. Establishment of SRAP-PCR reaction system on *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and selection of primers [J]. J Yunnan Agric Univ, 2021, 36(6): 1037-1043.

- PENG JY, SHI C, WANG DW, et al. Genetic diversity and population structure of the medicinal plant *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. revealed by transcriptome-based SSR markers [J]. J Appl Res Med Aroma, 2021, 21: 1-8.
- XIE J, CHEN J, MEI XR, et al. Biotransformation of phlorizin by *Eurotium cristatum* to increase the antioxidant and antibacterial activity of *Docynia indica* leaves [J]. Current Microbiol, 2021, 78(4): 1-12.
- 黄艳丽, 尹锦荣, 王琼, 等. 响应面法优化多依果酒的酿造工艺[J]. 中国酿造, 2020, 39(4): 205-209.
HUANG YL, YIN JR, WANG Q, et al. Optimization of fermentation technology of *Docynia delavayi* fruit wine by response surface methodology [J]. China Brew, 2020, 39(4): 205-209.
- 慈晓彤, 石辰, 王大玮, 等. 云南柃[木衣]叶片总RNA提取方法的比较与改进[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(3): 95-99.
CI XT, SHI C, WANG DW, et al. Comparison and improvement of total RNA extraction methods from *Docynia delavayi* leaves [J]. J Northwest Forest Univ, 2020, 35(3): 95-99.
- 彭劲瑜, 朱泽莉, 李恩良, 等. 基于高通量转录组测序的云南柃(木衣)微卫星位点特征分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(16): 5419-5427.
PENG JY, ZHU ZL, LI ENL, et al. Characteristics of microsatellite in *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. by high-throughput transcriptome sequencing [J]. Mol Plant Breed, 2020, 18(16): 5419-5427.
- 董文明, 唐卿雁, 刘华戎, 等. 柃果果汁饮料加工技术的研究[J]. 保鲜与加工, 2013, 13(6): 46-50.
DONG WM, TANG QY, LIU HR, et al. Study on the process of *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. juice drink [J]. Storage Process, 2013, 13(6): 46-50.
- 孙卉, 金含, 杨容容, 等. 红心火龙果功能特性及其产品开发研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(7): 16-19.
SUN H, JIN H, YANG RR, et al. Research progress on functional characteristics and product development of red pitaya [J]. China Brew, 2019, 38(7): 16-19.
- 洪豆, 江宇峰, 王顺余, 等. 响应面法优化火龙果皮蛇果皮复合酸奶的工艺[J]. 食品工业, 2020, 41(8): 46-50.
HONG D, JIANG YF, WANG SY, et al. The optimizing the technology of pitaya peel and red delicious apple peel compound yogurt by response surface methodology [J]. Food Ind, 2020, 41(8): 46-50.
- 廖明星, 吴华鑫, 缪园欣. 响应面法优化红心火龙果皮发酵饮料发酵工艺[J]. 中国酿造, 2020, 39(4): 142-146.

- LIAO MX, WU HX, MIAO YX. Optimization of fermentation technology of fermented red dragon fruit peel beverage by response surface method [J]. *China Brew*, 2020, 39(4): 142–146.
- [12] 朱文娟, 夏必帮, 廖红梅, 等. 四种红肉火龙果品种制汁适宜性评价研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(3): 167–173.
- ZHU WX, XIA BB, LIAO HM, *et al.* Evaluation of suitability of four red pitahaya varieties for juice pressing [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(3): 167–173.
- [13] 段秋霞, 李定金, 段振华, 等. 红心火龙果贮藏过程中抗氧化活性变化的研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(24): 43–49.
- DUAN QX, LI DJ, DUAN ZH, *et al.* Study on changes of antioxidant activity of red heart pitaya wines during storage [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(24): 43–49.
- [14] 李艳平, 程桂广, 张甜, 等. 2种火龙果的果肉果皮成分及其抗氧化活性对比[J]. *食品科技*, 2019, 44(9): 88–92.
- LI YP, CHENG GG, ZHANG T, *et al.* Comparison on components and antioxidant activity of peel and fruit from two different species of pitaya [J]. *Food Sci Technol*, 2019, 44(9): 88–92.
- [15] 熊亚, 李敏杰. 红心火龙果柚子复合果醋发酵工艺条件优化[J]. *中国调味品*, 2019, 44(6): 134–139.
- XIONG Y, LI MJ. Optimization of fermentation technology of red pitaya and pomelo compound vinegar [J]. *China Cond*, 2019, 44(6): 134–139.
- [16] 方莹. 响应面法优化火龙果酒发酵工艺及其鸡尾酒的调配[J]. *中国酿造*, 2019, 38(4): 192–197.
- FANG K. Optimization of pitaya fermentation process and blending of pitaya cocktail by response surface methodology [J]. *China Brew*, 2019, 38(4): 192–197.
- [17] 李国胜, 张云竹, 李斌. 火龙果花中总黄酮的提取与含量测定[J]. *保鲜与加工*, 2018, 18(6): 76–82.
- LI GS, ZHANG YZ, LI B. Extraction and content determination of total flavonoids from pitaya flower [J]. *Storage Process*, 2018, 18(6): 76–82.
- [18] 黄丽萍, 徐新, 马二秀, 等. 民族药食资源柘[木衣]乙醇提取物的降糖、降脂及抗氧化活性研究[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(5): 60–64.
- HUANG LP, XU X, MA ERX, *et al.* Study on the hypoglycemic, lipid reducing and antioxidant activities of ethanol extract from *Docynia delavayi* in ethnic medicine and food resources [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2019, 35(5): 60–64.
- [19] 李学玲, 张建强, 郑琰, 等. 大果柘依总黄酮的提取与抗氧化性研究[J]. *云南化工*, 2018, 45(12): 58–62.
- LI XL, ZHANG JQ, ZHENG Y, *et al.* Study on extraction, identification and antioxidation activity of flavonoids from *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. [J]. *Yunnan Chem Technol*, 2018, 45(12): 58–62.
- [20] DENG XK, ZHAO XP, LAN Z, *et al.* Anti-tumor effects of flavonoids from the ethnic medicine *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. and its possible mechanism [J]. *J Med Food*, 2014, 17(7): 787–794.
- [21] ZHAO XP, SHU GW, CHEN LY, *et al.* A flavonoid component from *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. represses transplanted H22 hepatoma growth and exhibits low toxic effect on tumor-bearing mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(9): 3166–3173.
- [22] 毛绍春, 李竹英, 李聪. 柘依树抗氧化剂对香烟烟气自由基及人淋巴细胞姐妹染色单体交换率的影响[J]. *生态毒理学*, 2006, 1(4): 379–383.
- MAO SC, LI ZY, LI C. Influences of *Docynia delavayi* Schneid. on free radical of cigarette smoke and human's lymphocyte chromosome [J]. *Asian J Ecotoxicol*, 2006, 1(4): 379–383.
- [23] 李维莉, 马银海, 彭永芳, 等. 云南柘依总黄酮提取工艺研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(7): 147–149.
- LI WL, MA YH, PENG YF, *et al.* Optimum extracting conditions of flavones in Yunnan *Docynia delavayi* (Franch.) Schneid. [J]. *Food Sci*, 2006, 27(7): 147–149.
- [24] 鲁玉莹, 余黎明, 杨加可, 等. 响应面法优化制备LDHs-CRMA复合改性沥青及其表征[J]. *化工学报*, 2020, 71(3): 1362–1369.
- LU YY, YU LM, YANG JK, *et al.* Preparation of LDHs-CRMA composite modified asphalt by response surface methodology and its characterization [J]. *J Chem Eng*, 2020, 71(3): 1362–1369.
- [25] 尚远宏, 田金凤. 芒果苹果复合果酒发酵工艺优化及成分含量测定[J]. *中国酿造*, 2021, 40(6): 135–140.
- SHANG YH, TIAN JF. Optimization of fermentation process and determination of component contents of mango and apple compound wine [J]. *China Brew*, 2021, 40(6): 135–140.
- [26] 林丽静, 马丽娜, 黄晓兵, 等. 菠萝皮渣糯米果酒发酵中成分变化及抗氧化研究[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(24): 52–59.
- LIN LJ, MA LN, HUANG XB, *et al.* Study on changes of main functional components and antioxidant activities of pineapple peel glutinous rice wine during fermentation [J]. *Food Res Dev*, 2019, 40(24): 52–59.
- [27] 何宇宁, 黄和, 颜韶波, 等. 菠萝蜜果醋发酵工艺的优化及香气成分分析[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(5): 1462–1471.
- HE YN, HUANG H, YAN SB, *et al.* Optimization of fermentation process of jackfruit (*Artocarpus heter-ophyllus* Lam.) vinegar and analysis of aroma components [J]. *Chin J Trop Crops*, 2021, 42(5): 1462–1471.
- [28] 王宏, 李登, 黄星源, 等. 响应面法优化刺梨果酒发酵工艺研究[J]. *中国酿造*, 2021, 40(6): 124–128.
- WANG H, LI D, HUANG XY, *et al.* Optimization fermentation technique of *Rosa roxburghii* fruit wine by response surface methodology [J]. *China Brew*, 2021, 40(6): 124–128.
- [29] 李默, 曹凯欣, 任广钰, 等. 自然发酵锦州小菜中优良酵母菌的筛选及鉴定[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(4): 277–285.
- LI M, CAO KX, REN GY, *et al.* Screening and identification of quality yeast from natural fermentative Jinzhou side dishes [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2021, 21(4): 277–285.
- [30] 尹乐斌, 何平, 刘娅丽, 等. 酶解豆清液制备生物活性多肽工艺优化及抗氧化能力研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(20): 8192–8197.
- YIN LB, HE P, LIU YL, *et al.* Optimization of enzymatic hydrolysis of soybean clear liquid for preparation of biologically active peptides and its antioxidant capacity [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(20): 8192–8197.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介



黄艳丽, 硕士, 副教授, 主要研究方向为食品分析。

E-mail: xleafy@qq.com



陈小龙, 硕士, 讲师, 主要研究方向为食品化学。

E-mail: 350595763@qq.com