

# 宾川葡萄籽原花青素的抗氧化活性研究及饮料制备

张丽明,汪楠,马雅鸽,杨婧娟,张希\*,赵声兰\*  
(云南中医药大学,云南昆明 650500)

**摘要:**该文对云南大理宾川县葡萄籽原花青素提取物进行体外抗氧化活性研究,并将其制备成一种果汁饮料。抗氧化试验结果表明,当葡萄籽原花青素浓度为 1 mg/mL 时,对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH) 自由基清除率为 94.49%;浓度为 15 mg/mL 时,对 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸阳离子[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation, ABTS<sup>+</sup>] 自由基清除率可达 99.42%;浓度超过 5 mg/mL 时,其还原力高于 V<sub>C</sub>。葡萄籽原花青素果汁饮料最优配方为葡萄汁添加量 41.62 g/100 g、葡萄籽原花青素添加量 0.5 g/100 g、柠檬酸添加量 0.12 g/100 g、白砂糖添加量 6 g/100 g,在此配方下葡萄籽原花青素果汁饮料综合评分为 76.31。

**关键词:**葡萄籽;原花青素;抗氧化;响应面;饮料

## Antioxidant Activity of Proanthocyanidins in Binchuan Grape Seed and Preparation of Beverage

ZHANG Li-ming, WANG Nan, MA Ya-ge, YANG Jing-juan, ZHANG Xi\*, ZHAO Sheng-lan\*

(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, Yunnan, China)

**Abstract:** This paper studied the *in vitro* antioxidant activity of proanthocyanidin extracts of grape seed from Binchuan, Dali, Yunnan province, and prepared it into a fruit juice beverage. The results of antioxidant test showed that the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) free radical scavenging rate was 94.49% when the concentration of grape seed proanthocyanidin was 1 mg/mL. The scavenging rate of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation (ABTS<sup>+</sup>) radicals was up to 99.42% when the concentration was 15 mg/mL. The reducing power was higher than that of V<sub>C</sub> when the concentration exceeded 5 mg/mL. The optimal formula of the juice beverage with grape seed proanthocyanidins was 41.62 g/100 g grape juice addition, 0.5 g/100 g grape seed proanthocyanidin, 0.12 g/100 g citric acid, and 6 g/100 g white sugar. The comprehensive score of the juice beverage with grape seed proanthocyanidins under this formula was 76.31.

**Key words:** grape seed; proanthocyanidins; antioxidant; response surface; beverage

引文格式:

张丽明,汪楠,马雅鸽,等.宾川葡萄籽原花青素的抗氧化活性研究及饮料制备[J].食品研究与开发,2022,43(21):115-122.

ZHANG Liming, WANG Nan, MA Yage, et al. Antioxidant Activity of Proanthocyanidins in Binchuan Grape Seed and Preparation of Beverage[J]. Food Research and Development, 2022, 43(21): 115-122.

葡萄(*Vitis vinifera* L.)是一种常见落叶木质藤本植物葡萄科葡萄属的果实,属于浆果类水果,其色美、

气香、味道可口,是世界上产量较大的水果<sup>[1]</sup>之一。在我国,葡萄的种植历史已有 2 000 多年,主要产区包括

基金项目:云南省重大生物医药科技专项(2018ZF013);云南特膳食品加工关键技术研发及产业化示范-云南省重大科技专项(202002AA1000055)

作者简介:张丽明(1995—),女(汉),硕士研究生,研究方向:中药资源开发与利用。

\* 通信作者:张希(1982—),女(汉),副教授,博士研究生,研究方向:中药资源开发与应用;赵声兰(1962—),女(汉),教授,硕士研究生,研究方向:药食资源研究与开发利用。

新疆、宁夏、河北和山东等地<sup>[2]</sup>。我国葡萄种植面积处于世界第5位,据报道每年葡萄产量超1300万吨,绝大多数的葡萄被用于酿酒,极少数被制作成葡萄干、果汁、餐桌水果<sup>[3-5]</sup>。云南省宾川县处于干热河谷地区,得天独厚的地理环境使其成为了葡萄种植、栽培优良的地区之一,拥有全国县级最大葡萄生产基地。葡萄深加工过程中废弃大量葡萄籽,但葡萄籽中含有多酚类化合物、油脂、粗纤维等营养成分<sup>[1]</sup>。宾川葡萄籽资源丰富,多酚类物质中原花青素的含量较高,极具开发价值。

近年来研究指出葡萄籽原花青素(grape seed proanthocyanidins, GSP)具有抗动脉粥样硬化、抗氧化应激、抗炎、抗肿瘤、抗衰老、降血压、降血脂等功效<sup>[6]</sup>。目前,葡萄籽相关产品有国标葡萄籽油、国标葡萄籽提取物食品添加剂、葡萄籽粉、压片糖果等普通食品,370多种保健食品及以葡萄籽粉、葡萄籽提取物、葡萄籽油等为原料的4900多个已备案非特化妆品,已有相关药品研究,但尚无相关药品批文<sup>[7]</sup>。本文对云南大理宾川县葡萄籽原花青素提取物进行抗氧化活性研究,以该提取物为原料研发一款葡萄籽原花青素果汁饮料,以实现葡萄籽资源的充分利用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

葡萄籽:云南成满生物科技有限公司;AB-8树脂:天津南开化工厂;芦荟、柠檬酸(食品级):市售;白砂糖:云南康丰糖业(集团)有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH):上海源叶生物科技有限公司;2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]:北京索莱宝生物科技有限公司;过硫酸钾:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;水杨酸:上海麦克林生化科技股份有限公司;磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、冰醋酸:广东省光华科技股份有限公司;三氯乙酸:天津市大茂化学试剂厂;抗坏血酸、铁氰化钾、三氯化铁、过氧化氢:天津市风船化学试剂材料科技有限公司;所用试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

低速离心机(SC-3614):安徽中科中佳科学仪器有限公司;紫外可见分光光度计(L5S):尤尼克(上海)仪器有限公司;分析天平(GPZ14):奥豪斯仪器(上海)有限公司;酶标仪(INFINITE M200 PRO):瑞士TECAN公司;打浆机(TM-767 III):中山市海盘电器有限公司;高压均质机(SRH60-70):上海申鹿均质机有限公司。

### 1.3 葡萄籽原花青素的提取纯化方法

采用超声醇提法提取原花青素,具体方法:以葡萄籽与50%乙醇溶液按料液比1:30(g/mL),在超声温度50℃、超声功率331.5W、超声辅助提取55min,提取2次。提取液过滤,合并滤液,减压浓缩,离心(2800r/min,5min),取上清液冻干制成葡萄籽原花青素提取物。进一步采用AB-8树脂纯化葡萄籽原花青素提取物,最佳工艺为上样液pH4.0、上样液质量浓度6.0mg/mL、上样液流速1.0BV/h、洗脱液体积分数为30%、洗脱体积4BV。

### 1.4 葡萄籽原花青素抗氧化活性测定

#### 1.4.1 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力的考察

参照邹仕昱等<sup>[8]</sup>的方法,采用紫外分光光度法测定样品(葡萄籽原花青素溶液和DPPH/ABTS<sup>+</sup>工作液)吸光度、样品本底(葡萄籽原花青素溶液)吸光度。DPPH自由基清除率按下式计算。

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{样品本底}}}{A_{\text{空白}}} \times 100$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为样品和DPPH的吸光度; $A_{\text{样品本底}}$ 为只有样品时的吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为只有DPPH的吸光度。

ABTS<sup>+</sup>自由基清除率按下式计算。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}/\% = 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{样品本底}}}{A_{\text{空白}}} \times 100$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为样品和ABTS<sup>+</sup>工作液的吸光度; $A_{\text{样品本底}}$ 为只有样品时的吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为只有ABTS<sup>+</sup>工作液的吸光度。

#### 1.4.2 羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )清除能力的考察

参照王少娟等<sup>[9]</sup>的方法稍作修改,依次分别加入1mL硫酸铁、水杨酸乙醇溶液和过氧化氢,37℃下避光反应15min后立即在510nm处测定吸光度。按下列公式计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率。

$$\cdot\text{OH 清除率}/\% = 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{样品本底}}}{A_{\text{空白}}} \times 100$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为加入不同浓度的原花青素提取物的吸光度; $A_{\text{样品本底}}$ 为等体积的蒸馏水代替过氧化氢的吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为等体积的样品蒸馏水代替样品的吸光度。

#### 1.4.3 总还原力测定

参照王家镔等<sup>[10]</sup>的方法,采用紫外分光光度法测定。取一定浓度的样品2mL及0.2mol/L磷酸盐缓冲溶液(pH6.6)2mL和1%铁氰化钾溶液1.5mL,混匀后于50℃水浴20min,再加入10%三氯乙酸溶液2mL,混匀后取混合溶液2mL,加入2mL蒸馏水、0.4mL 0.1%三氯化铁溶液,混匀静置10min后于700nm处测定吸光度。

1.4.4 铁离子还原/抗氧化能力(ferric ion reducing/antioxidant power, FRAP)测定

参考王定美等<sup>[11]</sup>的方法,以不同浓度(0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mmol/L)的 FeSO<sub>4</sub> 溶液做标准曲线,标准方程为  $y=0.638\ 4x-0.006\ 3$ ,  $R^2=0.999\ 5$ 。取 0.1 mL 不同浓度的稀释样液,加入 1.9 mL FRAP 试剂,混匀后静置避光 10 min,于 593 nm 处测吸光度。以蒸馏水作为空白, V<sub>c</sub> 为阳性对照进行比较分析。

1.5 葡萄籽原花青素果汁饮料的制备

挑选新鲜葡萄洗净、去蒂,用打浆机打浆后将葡萄汁倒入干净容器中备用。将葡萄果汁与原花青素、柠檬酸和白砂糖按照一定比例混均匀后过滤,再进行均质处理,设定压力为 20 MPa。将均质脱气后的果汁饮料加热到 90 ℃进行灌装,巴氏杀菌,即得葡萄籽原花青素果汁饮料,并对其进行保温检验。

1.5.1 理化指标测定

采用 pH 计测葡萄籽原花青素果汁饮料的 pH 值;采用手持糖度计测定可溶性固形物含量。

1.5.2 微生物指标测定

参照 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》<sup>[12]</sup>,采用平板计数法测定菌落总数;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》<sup>[13]</sup>,采用最大可能数(most probable number, MPN)计数法测定大肠菌群;参照 GB 4789.10—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》<sup>[14]</sup>,采用第一法测定金黄色葡萄球菌。

1.5.3 单因素试验设计

选取葡萄汁添加量、原花青素添加量、柠檬酸添加量、白砂糖添加量 4 个因素进行单因素试验,每个因素选取 5 个水平,各因素水平分别为葡萄汁添加量 10、20、30、40、50 g/100 g,原花青素添加量 0、0.5、1.0、1.5、2.0 g/100 g,柠檬酸添加量 0.050、0.075、0.100、0.125、0.150 g/100 g,白砂糖添加量 2、4、6、8、10 g/100 g,以感官评分和 DPPH·清除率为评价指标,从而确定最适添加量。

1.5.4 响应面优化葡萄籽原花青素果汁饮料配方

在单因素试验基础上,选取原花青素添加量、葡萄汁添加量、柠檬酸添加量 3 个因素,以感官评分(权重 0.6)、DPPH·清除率(权重 0.2)和 FRAP 值(权重 0.2)为试验的综合指标,采用 Design-Expert 8.0.6 软件的 Box-Behnken 响应面设计优化 GSP 果汁饮料的配方,各因素水平编码见表 1。

表 1 葡萄籽原花青素果汁饮料响应面因素水平

Table 1 Response surface factor level of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 水平 | 因素                      |                        |                        |
|----|-------------------------|------------------------|------------------------|
|    | A 原花青素添加量/<br>(g/100 g) | B 柠檬酸添加量/<br>(g/100 g) | C 葡萄汁添加量/<br>(g/100 g) |
| -1 | 0.5                     | 0.100                  | 30                     |
| 0  | 1.0                     | 0.125                  | 40                     |
| 1  | 1.5                     | 0.150                  | 50                     |

1.5.5 感官评定方法

从色泽、口感、香气、组织状态 4 个方面对该饮料进行整体感官评价,满分为 100 分,其中色泽、口感均为 30 分,香气、组织状态均为 20 分,邀请 10 名具有专业水平的人员对成品进行感官评价,感官评定标准见表 2。

表 2 葡萄籽原花青素果汁饮料的感官评价标准

Table 2 Sensory evaluation criteria of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 色泽(30 分)                        | 口感(30 分)                                 | 香气(20 分)                    | 组织状态(20 分)                     |
|---------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 呈红棕色,具有原花青素的天<br>然色泽(22~30)     | 具有浓郁的原<br>花青素滋味,回<br>味持久,酸甜可<br>口(22~30) | 具有强烈的<br>香味,浓郁持<br>久(16~20) | 组织细腻,无悬浮<br>物,无明显沉淀<br>(16~20) |
| 呈暗红色,具有<br>原花青素的天<br>然色泽(16~21) | 具有明显的花<br>青素滋味,酸甜<br>适中(16~21)           | 具有香气,香<br>味柔和<br>(12~15)    | 透明无沉淀,含极<br>少量颗粒悬浮<br>(12~15)  |
| 呈红褐色,但不<br>影响饮料的整<br>体外观(10~15) | 有一定的原花<br>青素滋味,但略<br>有苦涩(10~15)          | 香味较淡,有<br>少许异味<br>(8~11)    | 部分分层,有少量<br>沉淀(8~11)           |
| 呈深褐色<br>(5~9)                   | 口感差,酸甜比<br>例失调,涩味明<br>显(5~9)             | 有异味<br>(5~7)                | 不均匀,有较多沉<br>淀(5~7)             |

1.6 数据处理

采用 Excel 2010 软件作图,应用 Design-Expert 8.0.6 软件,分别对单因素试验数据和响应面数据进行分析处理,建立线性回归方程并判断模型显著性。

2 结果与分析

2.1 体外抗氧化活性测定结果

GSP 的抗氧化能力测定结果见图 1。

由图 1 可知,当 GSP 的质量浓度为 1 mg/mL 时,对 DPPH 自由基清除率达最大值为 94.49%(图 1A);质量浓度为 15 mg/mL 时,对 ABTS·自由基清除率可达 99.42%(如图 1B)。从图 1C 可知,宾川葡萄籽原花青素对·OH 的清除率相对较低。宾川葡萄籽原花青素具备很强的还原力,当质量浓度超过 5 mg/mL 时总还原能力高于

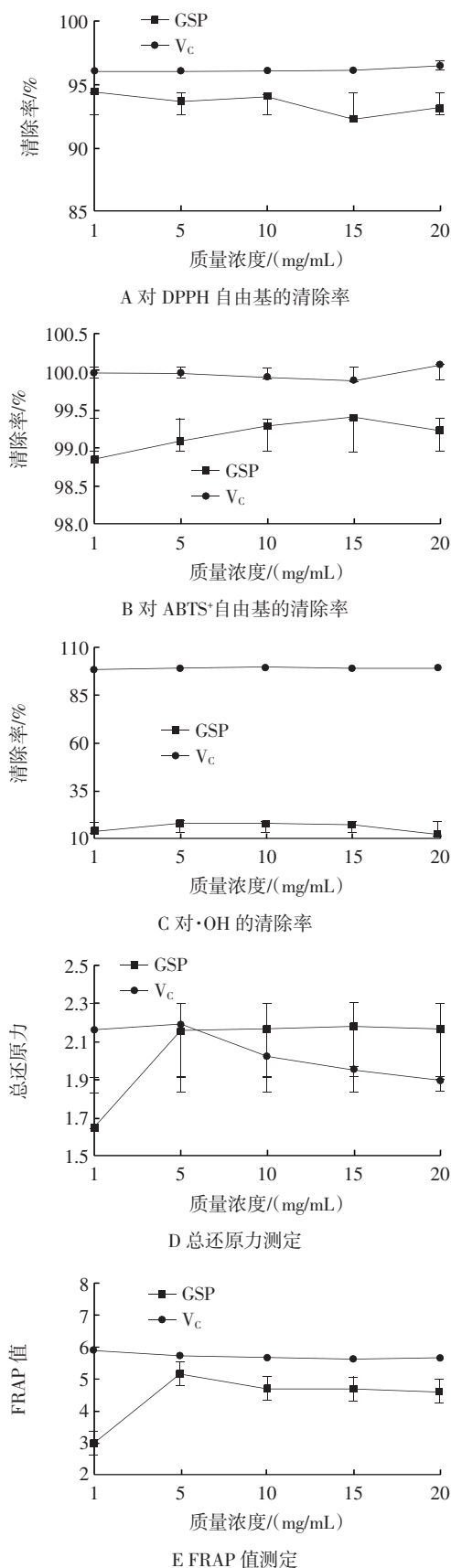


图1 GSP 的抗氧化能力测定

Fig.1 Determination of the antioxidant capacity of grape seed proanthocyanidins

维生素 C(见图 1D)。由图 1E 可以看出,葡萄籽原花青素浓度为 5 mg/mL 时,FRAP 值最大,浓度继续增加,FRAP 值逐渐下降;而对照组 V<sub>c</sub> 的 FRAP 值随浓度的增加变化不明显,但均高于葡萄籽原花青素。宾川葡萄籽原花青素在较低浓度时对 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率很强,这与郗艳丽等<sup>[15]</sup>和王伟等<sup>[16]</sup>的研究结果一致。

## 2.2 单因素试验结果分析

葡萄汁添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响见图 2。

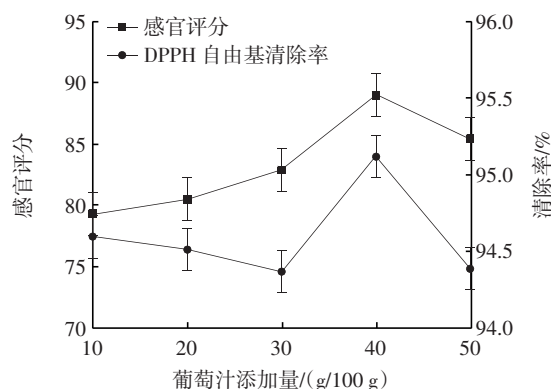


图2 葡萄汁添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响

Fig.2 Effect of grape juice addition on grape seed proanthocyanidins juice beverage

由图 2 可知,葡萄汁添加量由 10 g/100 g 增加到 40 g/100 g 时,感官评分逐渐增大,当为 40 g/100 g 时,饮料的色泽、口感评价均较好,感官评分达到最大值;而继续增加葡萄汁的添加量,颜色变暗,整体味道不佳。这说明葡萄汁的含量对饮料的质量有很大的影响,葡萄汁中含有的独特风味物质,使其具有浓郁的口感和持久的香气,添加量过大时,有明显的涩味,酸甜比不适中。葡萄汁添加量在 10 g/100 g~30 g/100 g 时,葡萄籽原花青素果汁饮料对 DPPH 自由基的清除率逐渐减小,当葡萄汁添加量为 40 g/100 g 时,对 DPPH 自由基的清除率达到 95.12%,为最大值。综合分析,故应选择葡萄汁添加量在 40 g/100 g 左右为宜。

葡萄籽原花青素添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响见图 3。

由图 3 可知,随着葡萄籽原花青素添加量的增加,感官评分呈先升高后降低的趋势,这与葡萄籽原花青素酸涩的口感有关。当添加量达到 1.5 g/100 g 时,感官分值达到最大值,此时饮料色泽呈红棕色,口感浓郁,葡萄籽原花青素添加量高于 1.5 g/100 g 时,则颜色变深,口感酸涩,整体感官分值有明显的降低。根据前期试验结果,当添加量再增大时葡萄籽原花青素的抗氧

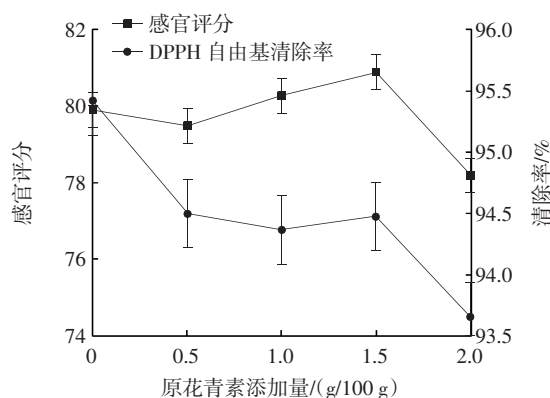


图3 葡萄籽原花青素添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响  
Fig.3 Effect of grape seed proanthocyanidins addition on grape seed proanthocyanidins juice beverage

化活性并不会增加,但整体来说没有太大影响,也可能是因为葡萄籽原花青素与葡萄汁同时添加时抑制了它的清除能力,综合考虑则应选择葡萄籽原花青素添加量为 1.5 g/100 g 左右。柠檬酸添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响见图 4。

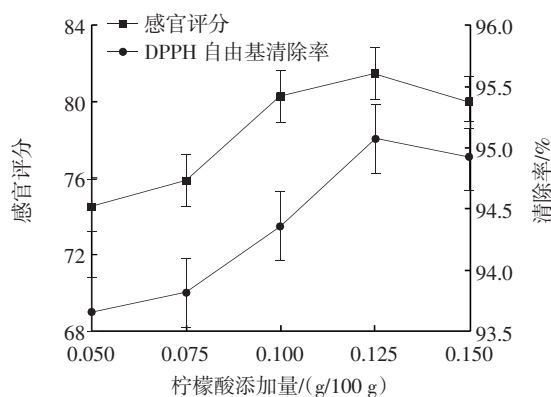


图4 柠檬酸添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响  
Fig.4 Effect of citric acid addition on grape seed proanthocyanidins juice beverage

从图 4 可以看出,随着柠檬酸添加量的增加,果汁饮料感官评分及其对 DPPH 自由基清除率均呈先增大后减小的趋势,当添加量较少时酸味较弱,酸甜比不均衡,当柠檬酸添加量为 0.125 g/100 g 时,可与白砂糖形成协调的糖酸比,此时饮料的感官评分、对 DPPH 自由基清除率均达到最大值;之后再继续增加柠檬酸用量,果汁饮料过酸涩,表明饮料较好的口感与适宜的糖酸比例密切相关。故柠檬酸的添加量应为 0.125 g/100 g 左右最适宜。白砂糖添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响见图 5。

由图 5 可知,当白砂糖添加量从 2 g/100 g 增加到 10 g/100 g 时,果汁饮料感官评分呈先升后降的趋势,在添加量为 6 g/100 g 时达到最高,此时综合感官品质最

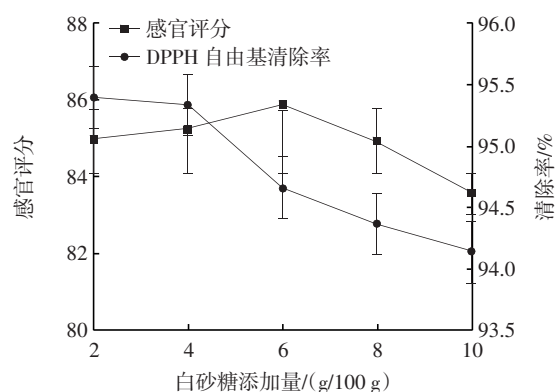


图5 白砂糖添加量对葡萄籽原花青素果汁饮料的影响  
Fig.5 Effect of white sugar addition on grape seed proanthocyanidins juice beverage

佳,可能是由于白砂糖与葡萄汁的风味物质通过味的相乘作用或相互作用<sup>[7]</sup>使香味浓郁,甜味醇厚;随着白砂糖含量的增加,甜度过高,酸甜比例失调,掩盖了葡萄果汁原有的风味。原花青素葡萄果汁饮料对 DPPH 自由基的清除率随白砂糖添加量的增加逐渐降低,白砂糖的添加主要是为了改善饮料的口感,因此确定白砂糖添加量为 6 g/100 g。

综合分析图 2~图 5 可知,在试验范围内,葡萄籽原花青素果汁饮料的感官评分随葡萄汁添加量、葡萄籽原花青素添加量、柠檬酸添加量及白砂糖添加量的增加而增大,感官评分达最大值后,随各因素添加量增加感官评分减小,说明各因素的添加量对饮料感官评分影响较大。从图 4 可以看出,葡萄籽原花青素果汁饮料对 DPPH 自由基的清除率随柠檬酸添加量的增多呈先增大后减小的趋势,随葡萄籽原花青素添加量(图 3)的增多对 DPPH 自由基的清除率减小,这与之前的试验结果一致(图 1A),葡萄籽原花青素在较低浓度时对 DPPH 自由基有较强的清除作用。

## 2.3 Box-Behnken 响应面试验结果与分析

采用 Box-Behnken 响应面设计葡萄籽原花青素果汁饮料优化结果见表 3。

表3 葡萄籽原花青素果汁饮料响应面试验及结果  
Table 3 Response surface test and results of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 编号 | A 原花青素添加量 | B 柠檬酸添加量 | C 葡萄汁添加量 | 感官评分  | DPPH 自由基清除率/% | FRAP 值  | 综合评分     |
|----|-----------|----------|----------|-------|---------------|---------|----------|
| 1  | -1        | -1       | 0        | 87.27 | 95.58         | 4.766 2 | 72.431 2 |
| 2  | 1         | -1       | 0        | 74.64 | 96.35         | 4.647 2 | 64.983 4 |
| 3  | -1        | 1        | 0        | 82.91 | 94.40         | 4.690 7 | 69.564 1 |
| 4  | 1         | 1        | 0        | 81.82 | 95.21         | 4.274 9 | 68.989 0 |
| 5  | -1        | 0        | -1       | 82.18 | 96.45         | 4.741 2 | 69.546 2 |

续表3 葡萄籽原花青素果汁饮料响应面试验及结果

Continue table 3 Response surface test and results of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 编号 | A 原花青素添加量 | B 柠檬酸添加量 | C 葡萄汁添加量 | 感官评分  | DPPH 自由基清除率/% | FRAP 值  | 综合评分     |
|----|-----------|----------|----------|-------|---------------|---------|----------|
| 6  | 1         | 0        | -1       | 65.91 | 94.17         | 4.088 1 | 59.197 6 |
| 7  | -1        | 0        | 1        | 83.18 | 96.57         | 4.778 9 | 70.177 8 |
| 8  | 1         | 0        | 1        | 83.36 | 95.42         | 4.637 5 | 70.027 5 |
| 9  | 0         | -1       | -1       | 69.91 | 96.50         | 4.758 5 | 62.197 7 |
| 10 | 0         | 1        | -1       | 72.00 | 95.28         | 4.666 1 | 63.189 2 |
| 11 | 0         | -1       | 1        | 84.45 | 94.78         | 4.518 8 | 70.529 8 |
| 12 | 0         | 1        | 1        | 86.45 | 94.68         | 4.507 3 | 71.707 5 |
| 13 | 0         | 0        | 0        | 83.64 | 97.63         | 4.685 4 | 70.647 1 |
| 14 | 0         | 0        | 0        | 87.45 | 96.54         | 4.682 0 | 72.714 4 |
| 15 | 0         | 0        | 0        | 83.73 | 96.40         | 4.455 1 | 70.409 0 |
| 16 | 0         | 0        | 0        | 83.55 | 95.95         | 4.640 5 | 70.248 1 |
| 17 | 0         | 0        | 0        | 84.82 | 98.19         | 4.689 4 | 71.467 9 |

各因素对综合得分的回归模型方程为  $Y=71.10-2.32A+0.413\ 5B+3.53C+1.72AB+2.55AC+0.046\ 6BC-0.887\ 1A^2-1.22B^2-2.97C^2$ 。表4 为方差分析结果。

表4 方差分析

Table 4 Analysis of variance

| 方差来源           | 平方和    | 自由度 | 均方     | F 值   | P 值       | 显著性 |
|----------------|--------|-----|--------|-------|-----------|-----|
| 模型             | 232.77 | 9   | 25.86  | 20.86 | 0.000 297 | **  |
| A 原花青素添加量      | 42.88  | 1   | 42.88  | 34.59 | 0.000 611 | **  |
| B 柠檬酸添加量       | 1.37   | 1   | 1.37   | 1.10  | 0.328 502 |     |
| C 葡萄汁添加量       | 100.19 | 1   | 100.19 | 80.81 | <0.000 1  | **  |
| AB             | 11.81  | 1   | 11.81  | 9.52  | 0.017 663 |     |
| AC             | 26.00  | 1   | 26.00  | 20.97 | 0.002 546 | **  |
| BC             | 0      | 1   | 0      | 0     | 0.935 707 |     |
| A <sup>2</sup> | 3.31   | 1   | 3.31   | 2.67  | 0.146 124 |     |
| B <sup>2</sup> | 6.25   | 1   | 6.25   | 5.04  | 0.059 627 | *   |
| C <sup>2</sup> | 37.21  | 1   | 37.21  | 30.01 | 0.000 927 | **  |
| 残差             | 8.68   | 7   | 1.24   |       |           |     |
| 失拟误差           | 4.53   | 3   | 1.51   | 1.46  | 0.352 643 | 不显著 |
| 纯误差            | 4.15   | 4   | 1.04   |       |           |     |
| 总和             | 241.45 | 16  |        |       |           |     |

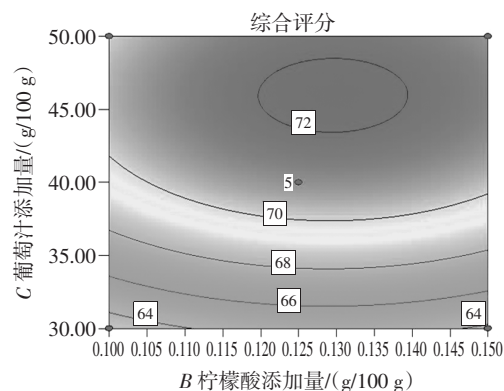
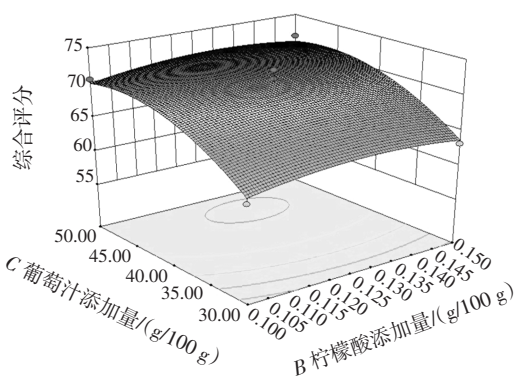
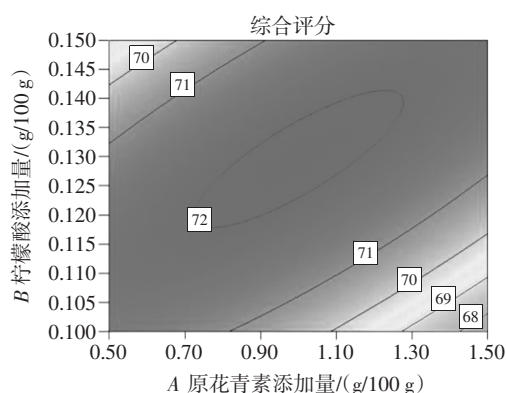
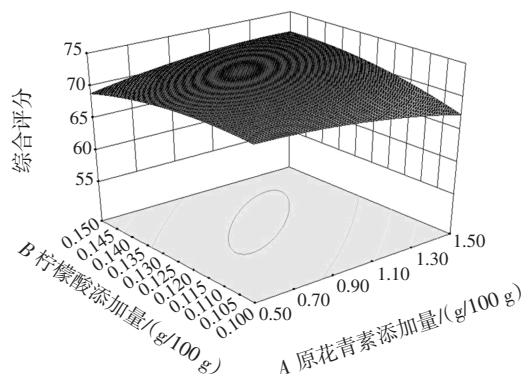
$R^2=0.964\ 1$ ;  $R^2_{adj}=0.917\ 8$

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

由表4可知,回归模型具有统计学意义( $P<0.01$ ),说明该模型拟合度良好,失拟项  $P=0.352\ 643>0.05$ ,不具有统计学意义,说明失拟不显著,误差小,稳定性较好,可用来预测葡萄籽原花青素果汁饮料综合评分。从F值可以看出,因素A、B、C对葡萄籽原花青素果汁饮

料综合评分影响大小依次为葡萄汁添加量(C)>原花青素添加量(A)>柠檬酸添加量(B)。

影响葡萄籽原花青素果汁饮料综合评分的各因素交互作用的响应面结果见图6。



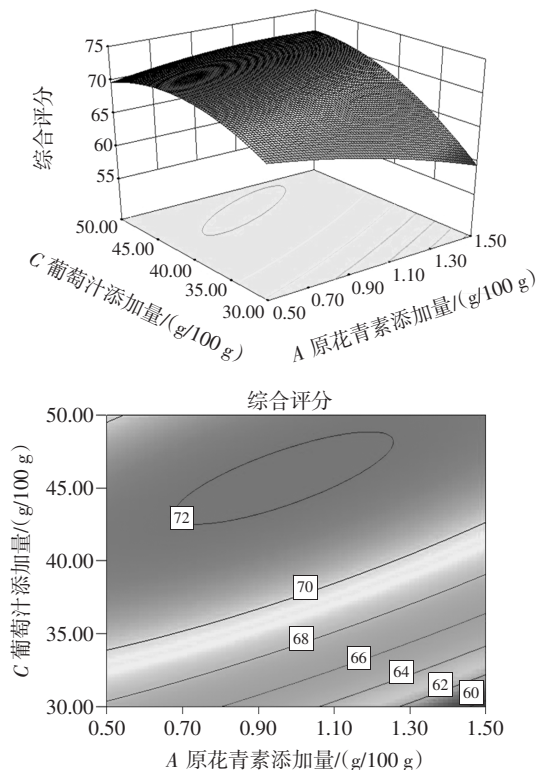


图 6 各因素交互作用对葡萄籽原花青素果汁饮料综合评分的影响  
Fig.6 The influence of the interaction of various factors on the comprehensive score of grape seed proanthocyanidins juice beverage

由响应面结果得到葡萄籽原花青素果汁饮料的最优配方为原花青素添加量 0.5 g/100 g、柠檬酸添加量 0.12 g/100 g、葡萄汁添加量 41.62 g/100 g、白砂糖添加量 6 g/100 g。理论预测该葡萄籽原花青素果汁饮料的综合评分为 72.953,为验证该模型的可靠性,根据以上优化配方做 3 组重复验证试验,3 组葡萄籽原花青素果汁饮料的感官评分和抗氧化指标测定结果如表 5 所示。

表 5 葡萄籽原花青素果汁饮料的感官评价和抗氧化指标测定结果  
Table 5 Sensory evaluation and antioxidant index test results of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 试验号 | 感官评分  | DPPH·清除率/% | FRAP 值  | 综合评分     |
|-----|-------|------------|---------|----------|
| 1   | 94    | 96.77      | 4.563 9 | 76.666 7 |
| 2   | 93    | 97.01      | 4.598 5 | 76.121 7 |
| 3   | 93    | 97.03      | 4.624 2 | 76.130 9 |
| 平均值 | 93.33 | 96.94      | 4.595 5 | 76.306 4 |

由表 5 可知,所得最终评分与理论分值接近,且 3 次验证试验误差较小,说明此次配方所得的成品在感官评分和抗氧化性均达到良好,且饮料口感较好。

2.4 理化指标测定结果

用手持糖度计测定饮料中可溶性固形物含量为

15%,用 pH 计检测饮料 pH 值为 3.72。此时的饮料口感较好,有合适的糖酸比。

2.5 微生物指标测定结果

将葡萄籽原花青素果汁饮料成品,进行微生物指标检测,测定结果见表 6。

表 6 葡萄籽原花青素果汁饮料的微生物指标测定结果  
Table 6 Microbial index test results of grape seed proanthocyanidins juice beverage

| 项目   | 菌落总数/<br>(CFU/mL) | 大肠菌群/<br>(MPN/mL) | 金黄色葡萄球菌/(CFU/mL) |
|------|-------------------|-------------------|------------------|
| 标准限量 | $\leq 10^3$       | $\leq 0.43$       | $\leq 0/25$ mL   |
| 实际含量 | 10                | $< 0.3$           | 未检出              |
| 判定   | 合格                | 合格                | 合格               |

由表 6 可知,该葡萄籽原花青素果汁饮料中菌落总数、大肠菌群和金黄色葡萄球菌均符合 GB 16740—2014《食品安全国家标准 保健食品》的要求。

3 讨论与结论

已有研究表明含有黄酮类、酚类或花青素的天然植物提取物在体内外均表现出良好的抗氧化性能<sup>[18-19]</sup>。另有研究发现 B 环 2'-和 4'-甲氧基取代基的花青素被 FRAP 方法证明具有较低的抗氧化活性,与维生素 C 具有 1/3 的等效效应<sup>[20]</sup>。本研究通过考察 GSP 对 DPPH 自由基、ABTS·自由基、羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )的清除能力、总还原力测定及 FRAP 法测定抗氧化能力,发现云南大理宾川县 GSP 具有良好的体外抗氧化活性,该结论与前期研究成果相同,说明该葡萄籽原花青素可作为开发食品、药品、化妆品等行业的天然抗氧化剂。Jia 等<sup>[21]</sup>通过测定 4 种粗藤提取物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力,发现在相同浓度下粗藤提取物的清除效果不如 $\text{V}_\text{C}$ ,这与本试验结果一致,即宾川葡萄籽原花青素对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率相对较低。在此基础上研发的葡萄籽原花青素果汁饮料采用单因素试验结合响应面优化确定最优配方为葡萄籽原花青素添加量 0.5 g/100 g、柠檬酸添加量 0.12 g/100 g、葡萄汁添加量 41.62 g/100 g、白砂糖添加量 6 g/100 g。果汁饮料经脱气、灌装、密封和杀菌(90 ℃、15 min),并冷却至室温(25 ℃),经 5 d 贮藏后,检验没有被微生物污染、饮料没有褪色、分层、沉淀和胀罐现象,即为葡萄籽原花青素果汁饮料成品。通过上述生产技术,可生产出质量优良的果汁饮料,满足广大消费者的饮食需求,为现代人提供了更健康的饮食选择并提升当地葡萄产业附加值。

参考文献:

[1] 刘青,刘煜琦铭,田慧敏,等.葡萄籽油有效成分分析方法研究进

- 展[J]. 中国果菜, 2020, 40(1): 11–15, 32.
- LIU Qing, LIU Yuqiming, TIAN Huimin, et al. Research progress on the determination of active components in grape seed oil[J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(1): 11–15, 32.
- [2] 迟明梅. 葡萄籽的功能与应用[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(20): 221–224.
- CHI Mingmei. The function and application of grape seeds[J]. Food Research and Development, 2016, 37(20): 221–224.
- [3] DROSOU C, KYRIAKOPOULOU K, BIMPILAS A, et al. A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 75: 141–149.
- [4] VOROBIEV E, LEBOVKA N. Grapes and residues of wine industry[M]. Heidelberg: Springer International Publishing, 2020.
- [5] MEDOUNI-ADRAR S, BOULEKBACHE-MAKHLOUFL, CADOT Y, et al. Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products[J]. Industrial Crops and Products, 2015, 77: 123–132.
- [6] 裴朝阳, 赵宇明, 孙仕杰, 等. 温度诱导双水相提取葡萄籽原花青素[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(1): 74–80.
- PEI Zhaoyang, ZHAO Yuming, SUN Shijie, et al. Temperature-induced aqueous two-phase extraction of grape seed proanthocyanidins[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2021, 38(1): 74–80.
- [7] 张丽明, 马雅鸽, 张希, 等. 葡萄籽相关产品的研究与开发现状[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(3): 105–111.
- ZHANG Liming, MA Yage, ZHANG Xi, et al. Research and development progress of grape seed related products[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2020, 28(3): 105–111.
- [8] 邹仕昱, 潘瑶, 陈璇, 等. 桑葚、蓝莓和红薯复配物的自由基清除能力研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 51–57.
- ZOU Shiyu, PAN Yao, CHEN Xuan, et al. Studies on free radical scavenging ability of mulberry, blueberry and sweet potato complexes[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(1): 51–57.
- [9] 王少娟, 王志英. 香叶提取物抗氧化及抗疲劳研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(12): 168–171.
- WANG Shaojuan, WANG Zhiying. Study on anti-oxidation and anti-fatigue functions of *Geranium* extract[J]. China Condiment, 2020, 45(12): 168–171.
- [10] 王家铨, 陈致羽, 管昭巍, 等. 2种形态桂皮姜糖产品的抗氧化特性研究[J]. 延边大学农学报, 2020, 42(1): 84–89.
- WANG Jiabin, CHEN Zhiyu, GUAN Zhaowei, et al. Study on antioxidant properties of two kinds of cinnamon-ginger-sugar products[J]. Agricultural Science Journal of Yanbian University, 2020, 42(1): 84–89.
- [11] 王定美, 陈新富, 麦力文, 等. 木薯叶抗氧化能力与总黄酮含量及其关系研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 37–43.
- WANG Dingmei, CHEN Xinfu, MAI Liwen, et al. Study on the relationship between antioxidant capacity and total flavonoids contents of cassava leaves[J]. Food Research and Development, 2021, 42(2): 37–43.
- [12] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard Food microbiological examination Aerobic plate count: GB 4789.2—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [13] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数: GB 4789.3—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard Food microbiological examination Enumeration of coliforms: GB 4789.3—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验: GB 4789.10—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National food safety standard Food microbiological examination *Staphylococcus aureus*: GB 4789.10—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [15] 郝艳丽, 周旋, 霍明洋, 等. 响应面法优化女贞子原花青素提取工艺及抗氧化研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(17): 74–81.
- XI Yanli, ZHOU Xuan, HUO Mingyang, et al. Optimization of extraction process of proanthocyanidins from the *Ligustrum lucidum* fruit by response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2020, 41(17): 74–81.
- [16] 王伟, 布丽根·加冷别克, 胡晓东. 葡萄籽原花青素的提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(6): 101–108.
- WANG Wei, BULIGEN·Jialengbieke, HU Xiaodong. Optimization of extraction technique of proanthocyanidins from grape seed and its antioxidant activity[J]. Storage and Process, 2020, 20(6): 101–108.
- [17] 谢勇, 张榕, 张江湖, 等. Box-Behnken 试验设计优化刺梨果汁饮料工艺[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 119–126.
- XIE Yong, ZHANG Rong, ZHANG Jianghu, et al. Formulation optimization for *Ross roxburghii* fruit juice beverage by box-behnken design[J]. Food Research and Development, 2018, 39(2): 119–126.
- [18] GÜLÇİN İ. Antioxidant activity of food constituents: An overview[J]. Archives of Toxicology, 2012, 86(3): 345–391.
- [19] HOLLMAN P C, KATAN M B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie, 1997, 51(8): 305–310.
- [20] BARCENA H S, CHEN P S, TUACHI A. Synthetic anthocyanidins and their antioxidant properties[J]. SpringerPlus, 2015, 4: 499.
- [21] JIA C H, LI J H, ZHANG M X, et al. Antioxidant properties of the extracts of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) with the different color characteristics and inhibition of rapeseed and sunflower oil oxidation[J]. LWT—Food Science and Technology, 2021, 136: 110292.