

块菌红酒的抗氧化活性研究

陈毅坚, 钟文武, 普贵宏

(云南民族大学化学与生物技术学院, 云南 昆明 650031)

摘要: 分别测定了块菌乙醇提取液、自制红葡萄酒清除自由基的抗氧化活性能力,以及块菌乙醇提取液和自制红葡萄酒两者不同比例混合液清除自由基的抗氧化活性能力。结果表明 块菌乙醇提取液、自制红葡萄酒均有较好的抗氧化活性,而两者不同比例的混合液则有更高的抗氧化活性。

关键词: 保健酒; 块菌; DPPH 自由基; 羟自由基; 红酒; 抗氧化活性

中图分类号: TS262.6; TS261.4; Q93-3

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2010)02-0050-03

Study on the Antioxidant Activity of Truffle Red Grape Wine

CHEN Yi-jian, ZHONG Wen-wu and PU Gui-hong

(School of Chemistry and Bio-Science, Yun'nan Nationalities University, Kunming, Yun'nan 650031, China)

Abstract: The free radicals scavenging capability and the antioxidant activity of truffle ethanol extracting liquid, self-made red grape wine, and the mixing solution of truffle ethanol extracting liquid and self-made grape wine (mixed at different ratio) were determined respectively. The results showed that both truffle extracting liquid and self-made grape wine had good antioxidant activity, however, the mixing solution had the strongest antioxidant activity.

Key words: health wine; truffle; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; hydroxyl radical; red grape wine; antioxidant activity

块菌属于真菌子囊菌亚门(*Ascomycotina*)、块菌目(*Tuberales*)、块菌科(*Tuberaceae*)、块菌属(*Tuber*)^[1],是一种埋生于地下与树木共生的外生菌根型真菌。块菌子囊果呈球形、半球形、块状或不规则块状,子囊呈椭圆形,内含4~5个刺突子囊孢子,子囊孢子呈褐色,壁厚。块菌营养丰富且具有奇异香气,可发出浓郁的香气,味道鲜美,具有壮阳、保肝、补肾、防止老年痴呆、防止动脉硬化及抗肿瘤等作用。现有的文献报道,块菌主要活性成分主要有:α-雄烷醇、神经酰胺、块菌多糖等。α-雄烷醇是一种类固醇化合物,具有性激素功能;神经酰胺具有保湿功能,可以作为皮肤屏障,起到美容的作用;块菌多糖具有诱导细胞凋亡、抗肿瘤、免疫调节等功能^[2-5],因此块菌是有很高营养价值和有待开发研究的食药珍稀真菌。

在欧美国家,块菌被誉为“地下黄金”、“厨房里的黑钻石”和“上帝的食物”,国际市场上供不应求、价格昂贵。在云南省块菌主要产于楚雄、曲靖等地区。因块菌的产地少,产量有限,商业价值就引起了人们的关注,但目前云南省对块菌利用很粗放,主要作为出口原料,这对开发和利用块菌资源不利。本项研究拟利用块菌的特殊芳香气味和高营养成分,和云南较多的红葡萄酒资源,将两者勾兑进行抗氧化活性测试,探索研制一种有特殊风味和功

能的块菌红酒保健饮料。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜材料:块菌,云南楚雄产;红葡萄,昆明产。

试剂:氯化硝基四氮唑兰 NBT(ChemBase 公司);蛋氨酸 DNA(Sigma 公司);核黄素 VB,番红花红 Safranin T;DPPH(1,1-二苯基苦基苯肼);无水乙醇。所用试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

仪器:7200 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);数显恒温水浴锅;显微镜;无菌操作台。

1.2 实验方法

1.2.1 实验用块菌酒(乙醇提取液)的制备

取洗净新鲜块菌 200 g,切块用研钵研磨到尽可能碎,转移到洁净的瓶内,加入 1000 mL 的无水乙醇,摇匀。一个月后将浸泡液过滤用于试验(为加速块菌中成分溶于乙醇中,可每天进行 2 次振荡)。

1.2.2 自酿红葡萄酒的制备

以市售的红葡萄为原料,经发酵后过滤汁液添加食糖。

1.2.3 块菌乙醇提取液,自酿红酒对羟基自由基活性清

收稿日期:2009-11-11

作者简介:陈毅坚(1966-),女,硕士,副教授,研究方向:微生物资源的开发和利用。

除率测定

采用亚铁离子催化过氧化氢产生羟自由基 Fenton 反应^[6],该反应产生的羟自由基可使番红花红褪色,针对这一特点来测试样品对羟自由基的清除能力。

1.2.3.1 块菌乙醇提取液样品的测定

准确量取 0.15 mol/L、pH 7.4 的磷酸缓冲溶液 1.0 mL,40 μg/mL 番红花红液 1.0 mL,0.945 mmol/L EDTA-Fe() (新鲜配制) 1.0 mL,3 % H₂O₂ 1.0 mL (新鲜配制),块菌样品液 0.5 mL,混合后在 37 °C 水浴中反应 30 min,在 520 nm 处测定吸光度 A_S。空白组以 0.5 mL 蒸馏水代替样品,测定吸光度 A₀,对照组以 1.5 mL 蒸馏水代替 H₂O₂ 和样品,测定吸光度 A,用 3.5 mL 蒸馏水代替番红花红、EDTA-Fe()、H₂O₂、样品,用 1.0 mL 磷酸盐缓冲溶液调零。按下式计算清除率,测出块菌乙醇提取液样品的羟基自由基活性清除率 D 值。

$$D = (A_S - A_0) / (A - A_0) \times 100 \%$$

1.2.3.2 自酿红酒的测定

采用 1.2.3.1 的实验方法测定自酿红酒的羟基自由基活性清除力,算出红酒样品的羟基自由基活性清除率。

1.2.4 块菌乙醇提取液,自酿红酒清除 DPPH·自由基活性率测定

1.2.4.1 块菌乙醇提取液样品清除 DPPH·自由基的测定

按文献[7]和文献[8]方法略加修改进行。将块菌乙醇提取液样品配成不同浓度的溶液备用,同时用乙醇配制 2×10⁻⁴ mol/L 的 DPPH·溶液,避光保存备用。分别取 2 mL 不同浓度的试样于试管中,加入 2 mL 预先配好的 DPPH·溶液,混合均匀,补充体积至 4 mL,30 min 后倒入光径为 1 cm 的比色皿中,在 517 nm 处测定吸光值,同时测定样品空白以及不加样的空白样吸光度值。按下式计算其对 DPPH·的清除率,求出块菌乙醇提取液样品清除 DPPH·自由基的清除率。

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

其中:A_i=2 mL DPPH·溶液 +2 mL 块菌乙醇提取液的吸光度值;
A_j=2 mL 块菌乙醇提取液 +2 mL 乙醇的吸光度值;A₀=2 mL DPPH·溶液 +2 mL 块菌乙醇提取溶剂的吸光度值。

1.2.4.2 自酿红酒样品清除 DPPH·自由基的测定

采用 1.2.4.1 的实验方法测定自酿红酒清除 DPPH·自由基的羟基清除力,算出红酒样品的自由基活性清除率。

1.2.5 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除羟基自由基活性测定

将块菌乙醇提取液和自酿红酒分别按 3:1、1:1、1:3、1:6(体积比)混合。混合液采用同 1.2.3 实验方法测定清除羟基自由基的清除力,并比较不同混合比样品的清除

率。

1.2.6 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除 DPPH·自由基活性测定

将块菌乙醇提取液和自酿红酒分别按 3:1、1:1、1:3、1:6(体积比)混合成样品。采用 1.2.4 中方法测定和求出清除率,并比较不同混合比样品的清除率。

2 结果与分析

2.1 块菌和自酿红酒样品特征

2.1.1 实验所用块菌形态见图 1~图 4。



图 1 块菌子囊



图 2 块菌横切面

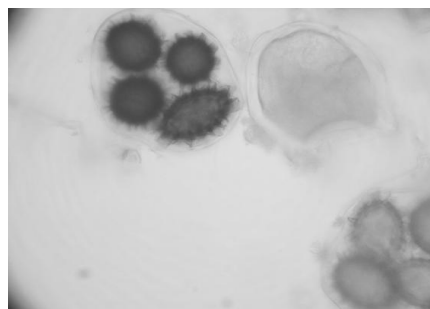


图 3 块菌子囊

2.1.2 块菌乙醇提取液特征

将新鲜块菌浸入乙醇液中,经一个月浸泡后,得深褐色悬液,沉淀过虑,装入试剂瓶中。提取液色泽均匀,气味芳香。

2.1.3 自制红酒特征

以市售红葡萄为原料,经 1 个月的发酵后过滤汁液,加入食糖兑制,制成的酒洁净、光亮,入口时感觉甜润、柔

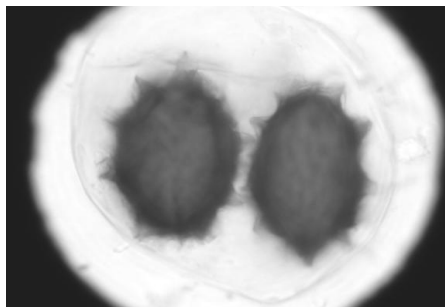


图 4 块菌子囊孢

和,感觉持续时间较长,并有浓郁的葡萄香味。

2.2 块菌乙醇提取液和自酿红酒对羟基自由基活性清除率测定

块菌乙醇提取液和自酿红酒对羟基自由基活性清除率测定结果见表 1。

表 1 块菌乙醇提取液和自酿红酒对羟基自由基活性清除率

加入样品液体 积(mL)	块菌乙醇提取液 清除羟自由基率(%)	红葡萄酒样品 清除羟自由基率(%)
0.10	62.14	41.81
0.20	68.93	44.89
0.30	73.75	53.60
0.40	79.38	59.90
0.50	81.96	64.77
0.60	88.04	66.14
0.70	88.66	67.31
0.80	88.21	60.3

由表 1 试验数据得出,随着 2 个样品浓度的增加,其对羟基自由基的清除率也随着增加。且块菌乙醇提取液对羟基自由基活性清除率高于自酿红酒。两者的最大清除率分别为 88.66 %和 67.31 %。

2.3 块菌乙醇提取液和自酿红酒清除 DPPH·自由基清除率活性测定

块菌乙醇提取液和自酿红酒清除 DPPH·自由基清除率见表 2。

表 2 块菌乙醇提取液和自酿红酒清除 DPPH·自由基清除率

加入样品液体 积(mL)	块菌乙醇提取液 清除 DPPH·率(%)	葡萄酒样品 清除 DPPH·率(%)
0.10	52.50	31.22
0.20	62.17	40.05
0.30	73.83	45.58
0.40	80.56	48.53
0.50	85.33	49.77
0.60	87.67	53.05
0.70	89.50	54.41
0.80	87.78	48.50

从表 2 中可以看出,随着 2 个样品浓度的增加,对 DPPH·自由基清除率也随着增加。块菌乙醇提取液对 DPPH·自由基清除率高于自酿红酒。两者的最大清除率

分别为 89.50 %和 54.41 %。

2.4 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除羟基自由基活性测定结果

块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除羟基自由基活性测定结果见表 3。

表 3 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除羟基自由基率 (%)

加入样品液体 积(mL)	块菌:自酿红酒			
	3:1	1:1	1:3	1:6
0.10	57.20	50.48	54.47	45.16
0.20	59.81	56.73	57.57	49.13
0.30	70.28	63.62	68.41	58.72
0.40	81.87	73.84	74.02	63.57
0.50	88.60	79.98	81.17	72.67
0.60	90.09	93.33	86.53	76.36
0.70	93.08	89.99	92.97	85.85
0.80	92.34	89.02	90.70	84.98

根据表 3 试验数据得出,随着 2 个样品浓度的增加,其对羟基自由基的清除率也随着增加;与单样品比较,其对羟基自由基的清除率有了明显的提高;清除率最好的为块菌:自酿红酒为 3:1 的组合,最高值达到 93.08 %。

2.5 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除 DPPH·自由基活性测定结果

块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除 DPPH·自由基活性测定结果见表 4。

表 4 块菌乙醇提取液和自酿红酒不同比例混合液清除 DPPH·自由基活性率 (%)

加入样品液体 积(mL)	块菌:自酿红酒			
	3:1	1:1	1:3	1:6
0.10	59.09	53.27	58.69	52.96
0.20	65.00	61.90	67.76	58.42
0.30	71.82	70.54	69.51	66.69
0.40	75.91	81.55	79.56	82.25
0.50	89.09	84.52	80.11	83.46
0.60	90.91	91.67	85.36	87.63
0.70	95.00	93.45	94.97	86.04
0.80	91.82	87.50	87.32	84.52

根据表 4 试验数据得出,随着 2 个样品浓度的增加,其对 DPPH·自由基的清除率也随着增加;与单样品比较,其对 DPPH·自由基的清除率有明显的提高;清除率最好的为块菌:自酿红酒为 3:1 的组合,最高值达到了 95.00 %。

3 讨论

块菌因含有 α -雄烷醇、神经酰胺、块菌多糖等多种活性成分,具有保肝、补肾、抗肿瘤、免疫调节和调节内分泌等功能,食药价值都很高,加之该资源较少,对其利

(下转第 56 页)

1.20%,它们具有较为强烈的谷物香气、咖啡香气等,可以构成该品种的特征香气化合物。值得一提的是在刺葡萄酒中检测出内酯类香气化合物,它具有特殊的水果香气。相对含量较高,占总体香气物质含量的0.52%,它很有可能是构成该地区刺葡萄酒特征香气的主要组分。但也有少量物质如戊烯二酐,很有可能在香气提取过程中由不同物质反应或氧化所得,有待于进一步研究。

湖南刺葡萄酒有特殊的品种香气,清雅怡人,有结构感,余味较短,具有一定特点。刺葡萄酒中特有感官品质的形成与它们的香气成分密切相关。刺葡萄单品种酒根据产地的不同具有特有的品种香气和独特风味。分析结果为湖南怀化雪峰山脉地区葡萄酒的香气物质的组分分析提供了可靠的参考数据,为刺葡萄酒感官质量的评价提供重要的理论数据。

参考文献:

[1] 欧阳建文,熊兴耀,刘东波,等.刺葡萄综合开发利用研究[J].广

西园艺,2007,18(2):29-317.

[2] R.F.Simpson,G.C.Miller et al.Aroma composition of chardonnay wine[J].Vist,1984,23:143-158.

[3] MARGARET CLIFF,DOGAN YUKSEI,BENOIT GIRARD, et al,Characterization of Canadian ice wine by sensory and compositional analyses[J].Am J Enol Vitic,2002,5(2):46-53.

[4] 李华,胡博然.宁夏贺兰山东麓地区霞多丽干白葡萄酒香气成分的GC-MS分析[J].中国食品学报,2004,23(1):85.

[5] 李二虎,惠竹梅,张振文,等.8804果实和干红葡萄酒香气成分的GC/MS分析[J].西北农林科技大学学报,2007,35(6):83-88.

[6] 刘波,孙玉霞.GC-MS法研究玫瑰香葡萄果实中的香气成分[J].中外葡萄与葡萄酒,2005,(4):4-6.

[7] 李华.葡萄酒品尝学[M].北京:中国青年出版社,1992.29-92.

[8] 刘树文.合成香料技术手册[M].北京:中国轻工业出版社,2000.68-91.

[9] 文瑞明.香料香精手册[M].长沙:湖南科学技术出版社.

[10] Carl lachat,马兆瑞.苹果酒酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2004.277-278.

用方式的深入研究很有必要。

试验采用不同方法对块菌、葡萄酿制红酒的抗氧化活性以及两者不同比例的勾兑液的抗氧化活性进行了测试。结果表明,块菌乙醇提取液、葡萄酿制红酒均有较好的抗氧化活性,且块菌乙醇提取液抗氧化活性高于葡萄酿制红酒,按两者不同比例的勾兑液的抗氧化活性明显高于单一样品的抗氧化活性,这一测试结果为研制一种既有特殊风味又有高抗氧化活性的块菌红酒保健饮料开发提供了试验依据,在进一步的研究中,需不断改进块菌乙醇提取液与红酒的混合方法,使色泽、气味、口味等方面指标达到最佳状态,为开发出更好的保健饮料提供基础资料。

参考文献:

[1] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1978.

274-277.

[2] 弓明钦,王凤珍,等.我国的块菌资源及其利用前景[J].林业科学研究,2000,13:173-179.

[2] 汤亚杰,孔国平,朱伶俐,刘瑞桑,李冬生.块菌活性成分及其人工栽培研究进展[J].中草药,2007,38(4):629-632.

[4] 胡润芳,臧春荣,黄建成,等.块菌生理生态及人工栽培研究进展[J].福建农业学报,2003,18(2):112-115.

[5] Hu H J, Li P Z, L in T, et al. Effects of polysaccharide of Tuber sinica on tumor and immune system of mice [J].J China pharm Univ (中国药科大学学报), 1994, 125(5):289-292.

[6] 石玉平,卢挺,王永宁.油菜蜂花粉中黄酮类物质清除羟基自由基的研究[J].食品科学,2004,25(11):300-302.

[7] 彭长连,陈少薇.用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J].生物化学与生物物理进展,2000,27(6):658-611.

[8] 万素英,赵亚军,李琳,等.食品抗氧化剂[M].北京:中国轻工业出版社,1998.152-162.

茅台 2009 年产量突破 2.3 万千升

本刊讯 据悉,2009年,茅台酒销售总收入达到122亿元左右,年产量突破2.3万千升。

从1998年开始,茅台在全国建设销售队伍,2001年,茅台成功上市,随即进入高速发展阶段。此后,茅台抢抓机遇,每年实施一期新增0.2万千升茅台酒产能技改工程。2008年,茅台酒产量达到2万千升。2009年,茅台酒产量再次实现新的突破。

据了解,茅台目前在全国只有1200多家经销商(店),其中茅台酒专卖店近800多家,有400多家经销商,而国际市场正在启动。

茅台正在实施“三步走,三跨越”的发展战略,2010年,茅台酒的产量要达到2.5万千升,销售收入在2012年要达到130亿元,2015年,茅台酒产量要达到3万千升,其销售收入要达到260亿元,2020年,茅台酒基酒产量要达到4万千升,销售收入准备实现500亿元。(小小)