

# 红曲对广东客家黄酒抗氧化活性的影响

赵文红<sup>1,2</sup>, 莫依灿<sup>2</sup>, 洪泽淳<sup>2</sup>, 吴湖莲<sup>2</sup>, 黄敏欣<sup>2</sup>, 李斌<sup>1</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)

**摘要:** 本试验分析了不同酒曲配方酿造出来的广东客家黄酒总酚含量、总抗氧化能力、DPPH 自由基清除能力和还原能力的差异, 考察红曲对客家黄酒抗氧化活性的影响。研究表明, 红曲、酒药、麦曲三者复配酿制的黄酒总酚含量最高, 达到 183.78  $\mu\text{g/ml}$ , 与单用红曲差异显著。红曲、酒药、麦曲三者复配、只用酒药麦曲、单用红曲酿制的黄酒对亚油酸自氧化的抑制率依次为 52.3 %、38.3 %、25.8 %; 清除 DPPH 自由基的  $\text{IC}_{50}$  值依次为 75.33  $\mu\text{L}$ 、195.79  $\mu\text{L}$ 、113.58  $\mu\text{L}$ 。红曲、麦曲、酒药三者复配酿制的黄酒还原能力最高, 还原能力最接近 BHT, 与只用酒药麦曲差异显著。增加红曲的添加量, 客家黄酒的抗氧化活性也会随之增强; 但红曲对客家黄酒抗脂质过氧化作用不明显。因此, 红曲、酒药、麦曲三者复配酿制的黄酒比只用酒药麦曲、单用红曲的黄酒抗氧化活性强, 红曲对广东客家黄酒抗氧化活性有一定影响。

**关键字:** 广东客家黄酒; 红曲; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2016)1-143-150

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.023

## Effect of Red Koji on the Antioxidant Properties of Guangdong Hakka Rice Wine

ZHAO Wen-hong<sup>1,2</sup>, MO Yi-can<sup>2</sup>, HONG Ze-chun<sup>2</sup>, WU Hu-lian<sup>2</sup>, HUANG Min-xin<sup>2</sup>, LI Bin<sup>1</sup>

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China) (2. College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

**Abstract:** In order to determine the effect of red koji on the antioxidant properties of Guangdong Hakka rice wine, the differences in the total phenolic content, total antioxidant capacity, hydroxyl radical ( $\text{OH}\cdot$ ), and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging abilities, as well as the reducing power of the Guangdong Hakka rice wines developed using different formulations of koji were analyzed in this experiment. The results showed that the highest total phenolic content (183.78  $\mu\text{g/mL}$ ) was found in rice wine using a combination of red koji, wheat koji, and Chinese yeast and was significantly different from that of the wine developed using red koji only. The inhibitory rate on the self-oxidation of linoleic acid in rice wines using a combination of red koji, wheat koji, and Chinese yeast, a combination of wheat koji and Chinese yeast, and red koji alone were 52.3%, 38.3%, and 25.8%, respectively; the corresponding half maximal inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) values for DPPH radical scavenging ability were 75.33  $\mu\text{L}$ , 195.79  $\mu\text{L}$ , and 113.58  $\mu\text{L}$ , respectively. Rice wine using a combination of red koji, wheat koji, and Chinese yeast exhibited the highest reducing power, which was close to that of butylated hydroxytoluene (BHT) and was significantly different from that of wine prepared from only wheat koji and Chinese yeast. Increased addition of red koji led to an increase in the antioxidant activity of Hakka rice wine; however, red koji did not affect the anti-lipid peroxidation effect of Hakka rice wine. Thus, the antioxidant activity of rice wine using a combination of red koji, wheat koji, and Chinese yeast was higher than that of rice produced using a combination of wheat koji and Chinese yeast and red koji alone, and red koji had a certain influence on the antioxidant activity of Guangdong Hakka rice wine.

**Key words:** Guangdong Hakka rice wine; red koji; antioxidant activities

黄酒是我国民族特产, 已有 6000 多年的悠久历史, 是中国最古老的酒种之一, 与啤酒、葡萄酒并称

收稿日期: 2015-02-11

基金项目: 广东省产学研项目 (2013B090600157); 广东省自然科学基金项目 (2014A030313592); 广东省教育厅重点项目; 广式传统食品加工与安全控制重点实验室 (201509010005)

作者简介: 赵文红 (1966-), 女, 教授, 研究方向: 食品生物技术

世界三大发酵酒<sup>[1]</sup>。广东客家黄酒是我国黄酒的一个重要分支, 主要采用优质的糯米和在客家特定地域内的山泉水为主要原料、辅以红曲、酒药、麦曲作为发酵剂通过独特的发酵工艺酿造而成<sup>[2]</sup>。客家黄酒呈红褐色, 晶莹剔透, 含丰富的氨基酸、微量元素、维生素, 有机酸、葡萄糖、多糖等营养成分。最新科研成果证实, 黄酒中还含有多酚、类黑精和谷胱甘肽等生

理活性成分,它们具有清除自由基、防止心血管病、抗癌及抗衰老等多种生理功能<sup>[3]</sup>,但具体来源并不清楚。

红曲是我国的传统发酵产品,它是以大米为原料,经过红曲菌繁殖后生成的一种紫红色米曲,古代又叫丹曲或者赤曲。红曲是酿造客家黄酒的重要酒曲之一,这与代表江南的绍兴黄酒用麦曲酿造不同。红曲中含有酵母、霉菌和细菌等多种微生物,它们在黄酒酿造的不同阶段发挥着极其重要的作用。众多研究表明,红曲的次级代谢产物莫纳可林K已被公认为安全有效的胆固醇抑制剂<sup>[4]</sup>。近期的科学研究也发现,红曲中含有多种抗氧化物质,如 Dimerumic acid、酚类、红曲色素、黄酮类、dihydromonacolin-MV、他汀类等,都表现了较强的抗氧化活性,特别是 Dimerumic acid 在较低浓度就表现出很强的抗氧化活性<sup>[5]</sup>。然而,具体有关红曲在广东客家黄酒中的抗氧化活性和代谢途径却鲜见报道。因此,本文探究红曲对广东客家黄酒的抗氧化功能的影响,分析不同酒曲客家黄酒抗氧化活性的差异,以期为客家黄酒的保健功能研究提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

红曲、酒药、麦曲:由广东河源紫金某酒厂提供;白糯米:购于上海宝锋食品有限公司;米酒(29度):购于广东石湾酒厂有限公司。

二丁基羟基甲苯(BHT):郑州天宇食品配料有限公司;没食子酸:天津市福晨化学试剂厂;福林酚制剂:北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;磷酸二氢钠:天津市福晨化学试剂厂;磷酸氢二钠:天津市瑞金特化学品有限公司;Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:天津市福晨化学试剂厂;吐温-20:天津市福晨化学试剂厂;硫氰酸铵:天津市福晨化学试剂厂;无水乙醇:天津市大茂化学试剂厂;还原铁粉:天津市福晨化学试剂厂;FeSO<sub>4</sub>:汕头市光华化学厂;铁氰酸钾:广州市番禺力强化工厂;三氯乙酸:天津市大茂化学试剂厂;FeCl<sub>3</sub>:天津市福晨化学试剂厂;盐酸:天津市大茂化学试剂厂;冰醋酸:天津市福宁精细化工有限公司;以上试剂都是分析纯。亚油酸:Aladdin 试剂公司;DPPH:Sigma 试剂公司;TPTZ:Sigma 试剂公司;以上试剂都是色谱纯。

### 1.2 实验仪器与设备

立式压力蒸汽灭菌器 LDZX-30KBS:合肥华泰医

疗设备有限公司;数显鼓风干燥箱 GZX-9070ME:上海博迅实业有限公司;酸度计 PHS-3C:上海虹益仪器仪表有限公司;生化培养箱 SPX-150:上海悦丰仪器仪表有限公司;紫外分光光度计 DU730:上海棱光技术有限公司;电子天平京制 00000249号:北京赛多利斯仪器系统有限公司;数显恒温水浴锅 HH-2:常州奥华仪器有限公司。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 广东客家黄酒制备工艺

原料→浸米→蒸饭→摊凉→拌曲(红曲、酒药、麦曲)→前发酵→后发酵→压榨、澄清→煎酒→装坛→陈酿

### 1.3.2 红曲对客家黄酒抗氧化活性的影响

参照传统广东客家黄酒酿造原理,结合红曲、麦曲、酒药的特点,经多次试验制定出如下五种酒曲配方,如表 1,酿造广东客家黄酒,考察红曲对客家黄酒抗氧化活性的影响。

表 1 广东客家黄酒酒曲配方

Table 1 Formulation of liquor starter for Guangdong Hakka rice wine

酒样编号	红曲/%	酒药/%	麦曲/%
①	5	0.7	0.7
②	-	0.7	0.7
③	5	-	-
④	4	0.7	0.7
⑤	6	0.7	0.7

注:酒曲添加比例以干糯米质量为基准。

## 1.4 分析测定方法

### 1.4.1 总酚含量的测定

采用福林-肖卡法测定酒样的总酚含量<sup>[6]</sup>。

(1)标准曲线的建立:配置 0.40 mg/mL 没食子酸标准溶液,稀释为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 mg/mL;各取 1 mL,蒸馏水稀释,加入 1 mL 福林酚制剂,混匀。放置 3 min 后,加 3 mL 2%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液。室温条件下放置 2 h,760 nm 处测定吸光度值。平行测定三次,以没食子酸的含量为横坐标,吸光度值为纵坐标,得一元线性回归方程,如图 1。

(2)样品的测定:分别取 1 mL 酒样,蒸馏水稀释,加入 1 mL 福林酚制剂,混匀 3 min 后,加 3 mL 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液。室温条件下放置 2 h,测定吸光度值。平行测定三次。

### 1.4.2 总抗氧化能力的测定

采用硫氰酸盐法测定酒样对亚油酸体系抗过氧化作用<sup>[7]</sup>。

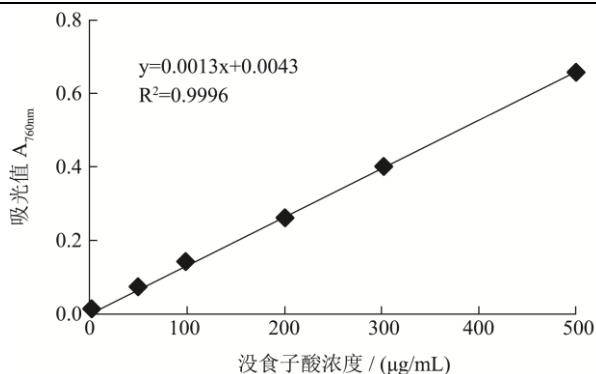


图1 没食子酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of gallic acid

(1) 亚油酸体系的制备: 取350 mg吐温-20和310 μL亚油酸, 加磷酸钾缓冲液(0.04 mol/L, pH 7.0)定容到50 mL, 制成亚油酸乳状液。取2.5 mL含有50、100、200 μL酒样的磷酸钾缓冲液与2.5 mL亚油酸乳状液混合, 以2.5 mL的磷酸钾缓冲液与2.5 mL的亚油酸乳状液混合作空白对照。混合液放入37 °C培养箱避光培养, 每12 h取样100 μL, 用1 g/L的BHT作为阳性对照。

(2) 抗亚油酸过氧化活性的测定: 样品溶液100 μL加入4.7 mL乙醇(75% vol), 加100 μL硫氰酸铵(30%)和100 μLFeCl<sub>2</sub>混匀。500 nm处测定吸光度值, 平行测定三次, 计算抑制百分率。

$$\text{抑制率} = (1 - A_1/A_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A<sub>0</sub> 为空白对照的吸光度值; A<sub>1</sub> 为含客家黄酒样品/阳性对照的吸光度值。

### 1.4.3 DPPH 自由基清除能力的测定

取 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 自由基醇溶液于试管中, 分别加 25 μL、50 μL、100 μL、200 μL、300 μL、400 μL 不同酒曲的黄酒样液, 摇匀, 30 °C 水浴 30 min。用 1 g/L 的 BHT 作为阳性对照, 蒸馏水作空白对照; 517 nm 处测定吸光值, 平行测定三次取平均值, 计算清除率<sup>[8]</sup>。计算方式同式(1)。

### 1.4.4 还原能力的测定

采用铁氰化钾法和 FRAP 法两种方法测定客家黄酒的还原能力<sup>[9-10]</sup>。

#### 1.4.4.1 铁氰化钾法

将 50 μL、100 μL、200 μL、300 μL、400 μL 不同酒曲的黄酒样液加入 1 mL 蒸馏水中, 与 2.5 mL 磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 6.6)混合, 再加 1%铁氰化钾 2.5 mL, 于 50 °C 水浴恒温 20 min, 之后加 1 mL10%三氯乙酸; 过滤, 取上清液 2.5 mL, 加入蒸馏水 2.5 mL 和 0.1% FeCl<sub>3</sub> 0.5 mL, 混匀。700 nm 处测定吸光度值, 平行测定三次, 用 1 g/L 的 BHT 作为阳性对照。

#### 1.4.4.2 FRAP 法

(1) 配制 FRAP 溶液: 40 mM HCl 溶解 10 mM

TPTZ。2.5 mL 上述溶液与 2.5 mL 20 mM 的 FeCl<sub>3</sub> 6H<sub>2</sub>O 和 25 ml pH 3.6 的 0.3M 的醋酸缓冲液混合, 得到 FRAP 溶液, 于 37 °C 水浴中保存。

(2) 标准曲线的制作: 取 150 μL 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mmol/L 的 FeSO<sub>4</sub> 溶液加 4.5 mL FRAP 溶液, 混匀, 37 °C 水浴 10 min, 在 593 nm 处测定吸光值, 平行测定三次。以 FeSO<sub>4</sub> 浓度为横坐标, 测得的吸光值为纵坐标制作标准曲线, 如图 2。

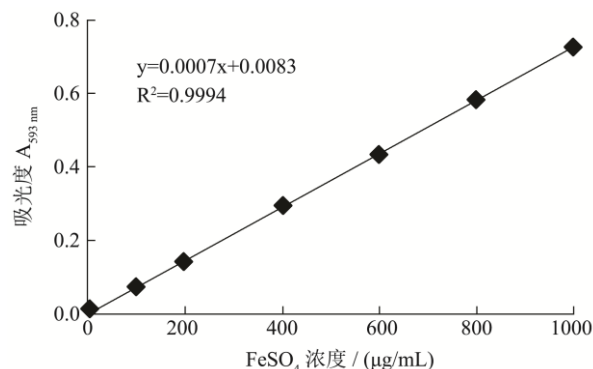


图2 FeSO<sub>4</sub>溶液标准曲线

Fig.2 Standard curve of FeSO<sub>4</sub>

(3) 样品测定: 取150 μL酒样, 加入4.5 mL FRAP 溶液, 混匀, 于37 °C 水浴下反应10 min, 用1 g/L的BHT 作为阳性对照, 以蒸馏水为空白对照, 在593 nm处测定吸光值, 平行测定三次。

## 1.5 数据分析处理方法

采用软件SPSS 19和Origin8.1对所有数据进行统计分析和制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 红曲对客家黄酒抗氧化活性的影响

#### 2.1.1 红曲对客家黄酒总酚含量的影响

表 2 不同酒曲客家黄酒的总酚含量 (n=3)

Table 2 Total phenolic content in Hakka rice wine based on the starters used (n = 3)

酒样编号	总酚含量/(μg/mL)
①	183.78±0.25 a
②	144.46±0.12 c
③	150.54±0.10 b

注: ①红曲+酒药+麦曲②酒药+麦曲③红曲。

由表 2 可知, ①、②、③号酒样的总酚含量分别为 183.78 μg/mL、144.46 μg/mL、150.54 μg/mL, 由大到小排序为①>③>②。传统酒曲配方的客家黄酒总酚含量比不加红曲、单用红曲的客家黄酒明显多, 说明红曲的存在很大程度上增加了客家黄酒的总酚含量。



由于总酚含量与抗氧化能力具有相关性，因此传统客家黄酒可能具有较强的抗氧化能力。

### 2.1.2 红曲对客家黄酒总抗氧化能力的影响

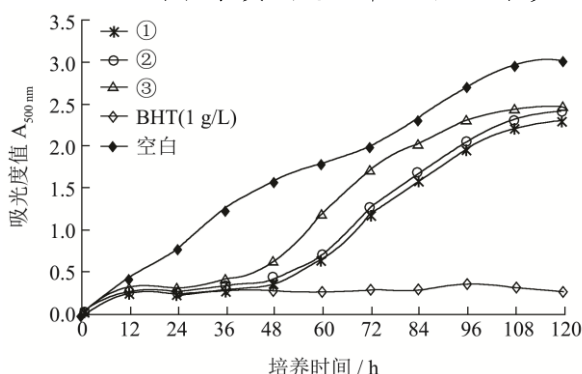


图3 不同酒曲客家黄酒的总抗氧化能力 (n=3)

Fig.3 Total antioxidant activity of Hakka rice wine based on different starters used (n = 3)

图3为分别加入100 μL的①、②、③号酒样和阳性对照BHT的亚油酸体系在120 h内的吸光值动态变化曲线图。样品吸光度值增幅越小，则总抗氧化能力越强。

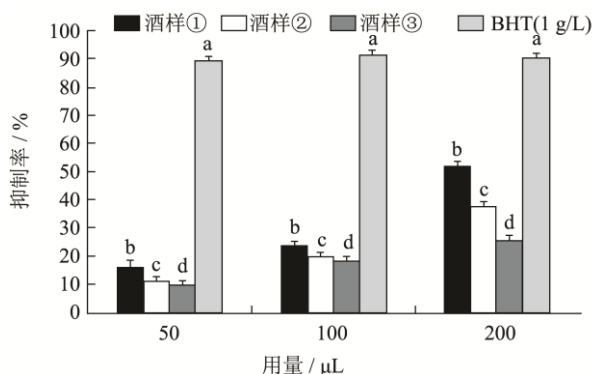


图4 不同酒曲的客家黄酒对亚油酸自氧化的抑制率

Fig.4 Rate of Inhibition of self-oxidation of linoleic acid in different amounts of Hakka rice wines produced using different starters

注：结果表示为平均值±标准偏差 (n=3)。

由图3可知，空白对照的吸光度值持续增加，说明亚油酸自氧化作用显著。培养时间为12 h~36 h时，100 μL的①、②、③号样品和BHT的吸光值都维持在较低水平且差异不大，说明亚油酸自氧化作用受到抑制，三种酒样的抑制效果均与BHT相当。48 h后，①、②、③号样品的吸光值呈上升趋势，即对亚油酸自氧化抑制作用减弱。其中，③号酒样吸光值上升最快，抑制效果最差，②号次之。培养时间在12 h~72 h时，①和②的吸光度值变化曲线相近，说明红曲的存在对客家黄酒对亚油酸过氧化抑制作用的影响不明显。120 h时，样品总抗氧化能力按强弱排序为BHT>①>②>③。

图4为不同试验剂量的①、②、③号酒样和阳性对照BHT在120h时对亚油酸自氧化的抑制效果。抑制率越高则总抗氧化能力越强。

由图4可知，不同酒样的抑制率均随着剂量的增加而增大，即总抗氧化能力随之增强，说明两者之间存在剂量效应关系。当剂量为200 μL时，①、②、③号酒样和BHT抑制率分别是52.3%、38.3%、25.8%和90.7%，按大小排序为BHT>①>②>③。①号酒样相对其他酒样来说抑制率较高，说明它的抗氧化活性最强；不添加红曲的②号酒样对亚油酸自氧化的抑制率比只添加红曲的③号要高。但总体来说，三种酒样的脂质过氧化抑制效果均不及BHT。

### 2.1.3 红曲对客家黄酒DPPH自由基清除能力的影响

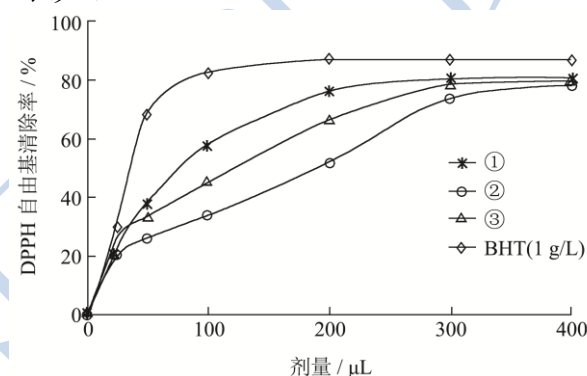


图5 不同酒曲的客家黄酒的DPPH自由基清除能力 (n=3)

Fig.5 DPPH free radical scavenging activities of different amounts of Hakka rice wines produced by different starters (n = 3)

图5表示不同试验剂量的①、②、③号酒样和阳性对照BHT对DPPH自由基的清除能力。样品清除率越高，则抗氧化能力越强。

如图5所示，剂量为25 μL时酒样的清除率差异不明显，50~200 μL时客家黄酒的清除率差异较大，且随着剂量的增加，对DPPH自由基清除率逐渐增大。其中①号酒样表现出较强的清除能力，按大小排序为BHT>①>③>②。当剂量达到300 μL时，①、②、③号酒样和BHT的自由基清除率基本接近最大值，且差异不大。400 μL时①、②、③号酒样和BHT的清除率分别是80.25%、78.5%、79.3%、86.5%。三种酒样的自由基清除效果与BHT接近，说明客家黄酒具有较强的DPPH自由基清除能力。传统酒曲配方酿造的①号客家黄酒比不加红曲的②号、仅加红曲的③号清除率稍高，表明三种酒曲之间有增效作用；仅加红曲的酒样的清除率高于不加红曲的酒样，推测红曲可能是客家黄酒清除DPPH自由基能力的主要提供者。

由图5可以看出，清除率与剂量在50~300 μL范

围内呈现良好的线性关系,但超过 300  $\mu\text{L}$  时,自由基清除率不随着剂量的增加而增大。因此,可以采用半抑制量(即  $\text{IC}_{50}$ )来进一步分析酒样的自由基清除能力。目前,  $\text{IC}_{50}$  值已被广泛运用作评价抗氧化剂能力强弱的指标,  $\text{IC}_{50}$  值越小,表明抗氧化能力越强。

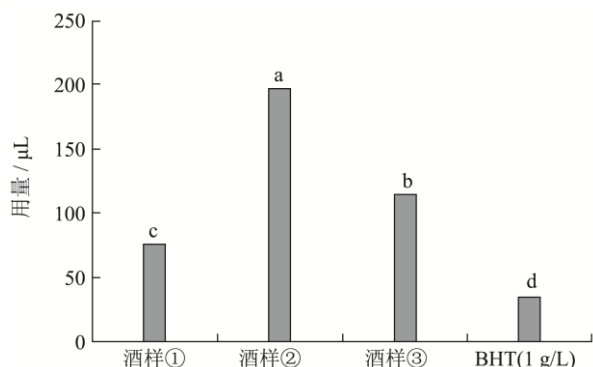


图 6 不同酒曲客家黄酒的 DPPH 自由基半抑制量 ( $\text{IC}_{50}$ ) (n=3)

Fig.6  $\text{IC}_{50}$  values for DPPH free radical scavenging ability of Hakka rice wines produced using different starters (n = 3)

图6表示①、②、③号酒样和阳性对照BHT的清除 DPPH 自由基的  $\text{IC}_{50}$  值, 分别为 75.33  $\mu\text{L}$ 、195.79  $\mu\text{L}$ 、113.58  $\mu\text{L}$ 、34.14  $\mu\text{L}$ 。其中, ①号酒样的  $\text{IC}_{50}$  值明显低于不加红曲的②号和仅加红曲的③号, ②号和③号之间也有较大差异。DPPH 自由基清除能力按大小排序为  $\text{BHT} > \text{①} > \text{③} > \text{②}$ , 这与 2.1.1 总酚含量的结果相一致, 说明总酚含量越高, 客家黄酒的自由基清除能力越强, 红曲的存在有助于提高客家黄酒的自由基清除能力。

### 2.1.4 红曲对客家黄酒还原能力的影响

#### (1) 铁氰化钾法

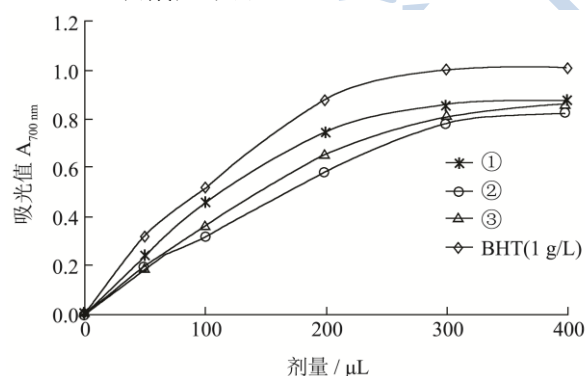


图 7 不同酒曲的客家黄酒的还原能力 (n=3)

Fig.7 Reducing powers of different amounts of Hakka rice wines produced by different starters (n = 3)

由图 7 可知, 样品的剂量与吸光值呈现良好的线性关系。100  $\mu\text{L}$  时, ①、②、③号酒样吸光值无明显差异, 都在 0.2 左右; 随着剂量逐渐增加, 三者的吸光值逐渐增长, 200  $\mu\text{L}$  时, ①号酒样和 BHT 的吸光值接近, ③号酒样增长趋势快于②号; 当剂量增加到 600  $\mu\text{L}$  时, 吸光值增长趋于平缓, 仍是①号酒样最接

近 BHT。800  $\mu\text{L}$  时样品还原能力按大小排序为  $\text{BHT} > \text{①} > \text{③} > \text{②}$ 。表明客家黄酒具有较强的还原能力, 红曲、麦曲和酒药三者并存时, 还原能力最强, 仅添加红曲的酒样次之, 添加麦曲和酒药的酒样最差。

#### (2) FRAP 法

用 FRAP 法 (Ferric reducing antioxidant potential Assay) 能够测定酒样的铁离子还原能力, 样品的当量硫酸亚铁浓度越高, 说明样品的还原能力越强, 其结果如图 8。

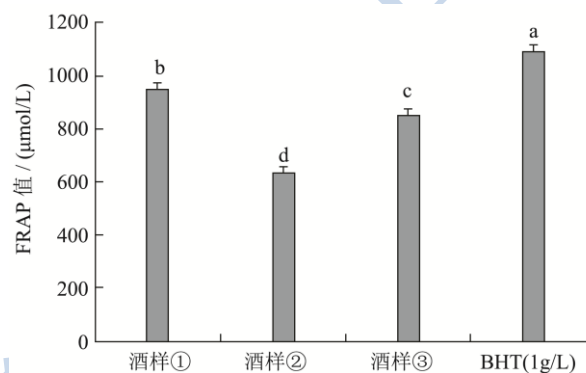


图 8 不同酒曲的客家黄酒的 FRAP 值

Fig.8 FRAP values of different amounts of Hakka rice wines produced using different starters

注: 结果表示为平均值  $\pm$  标准偏差 (n=3)。

由图 8 可知, 三种酒样中, ①号酒样的当量硫酸亚铁浓度最高, 达 953.37  $\mu\text{mol/L}$ , 稍逊于对照 BHT。①、②和③号酒样的当量硫酸亚铁浓度差异明显, ②号酒为 636.75  $\mu\text{mol/L}$ , ③号酒为 858.65  $\mu\text{mol/L}$ 。因此, 不同酒曲的客家黄酒的还原能力存在差异, 按大到小排序为  $\text{BHT} > \text{①} > \text{③} > \text{②}$ , 这与本文 2.4.1 铁氰化钾法的试验结果吻合, 且更易于看出三种酒样的差别。传统酒曲酿造的客家黄酒具有较强的铁离子还原能力。

## 2.2 红曲的不同添加量试验

### 2.2.1 红曲添加量对总酚含量的影响

一般来说, 酚类物质含量越多, 其总抗氧化能力越强。总酚含量测定结果如表 3。

表 3 不同红曲添加量客家黄酒的总酚含量 (n=3)

Table 3 Total phenolic contents in Hakka rice wines with different amounts of red koji (n = 3)

酒样编号	总酚含量/ $(\mu\text{g/mL})$
①	183.78 $\pm$ 0.25 b
④	153.84 $\pm$ 0.50 c
⑤	188.34 $\pm$ 0.30 a

注: ①红曲+酒药+麦曲 ④红曲(少)+酒药+麦曲 ⑤红曲(多)+酒药+麦曲。

由表3可知,⑤号酒样的总酚含量最多,达188.34  $\mu\text{g/mL}$ , 高于①号客家黄酒(183.78  $\mu\text{g/mL}$ ), ④号酒样的总酚含量最少, 只有153.84  $\mu\text{g/mL}$ , 明显低于①号酒样。表明, 客家黄酒酿造时增加红曲的添加量能够增加总酚含量, 红曲添加量与总酚含量呈正比例关系。其原因是, 增加红曲添加量, 酒醅中产总酚微生物的数量相应增多, 由于总酚含量与抗氧化能力具有相关性, 因此客家黄酒的抗氧化活性越高。

### 2.2.2 红曲添加量对总抗氧化能力的影响

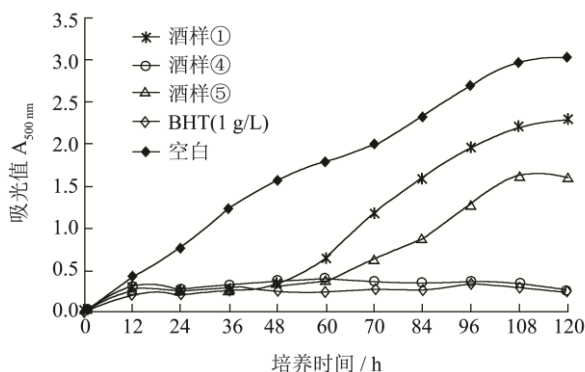


图9 红曲添加量对客家黄酒总抗氧化能力的影响 (n=3)

Fig.9 Effects of different amounts of red koji on the total antioxidant activity of Hakka rice wine (n = 3)

图9为分别加入100  $\mu\text{L}$ ①、④、⑤号酒样和阳性对照BHT的亚油酸体系在120 h内的吸光值动态变化曲线图。

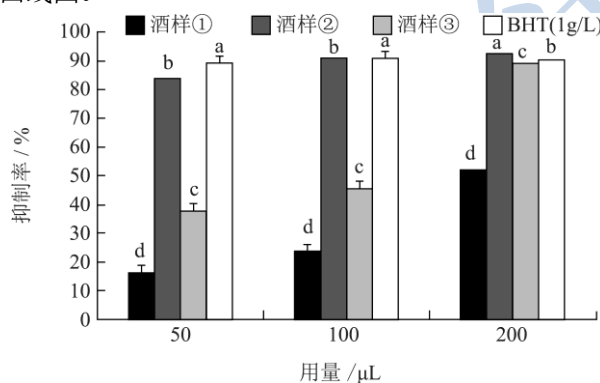


图10 红曲添加量对客家黄酒抗氧化抑制率的影响

Fig.10 Effects of different amounts of red koji on the lipid peroxidation inhibitory rate of different amounts of Hakka rice wines

注: 结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差 (n=3)。

由图9可知, 48 h之前, 三种酒样的抑制效果都很好, 与1 g/L的BHT相当。在60 h之后渐渐有差异, 其中①号酒样吸光值上升最明显, 说明①号客家黄酒对亚油酸抗氧化的作用正在减弱, 其次是⑤号酒样。但④号酒样在整个试验过程120 h内与BHT几乎无差别, 说明其抗氧化效果显著。总体来说, ①、④和⑤号酒样均具有抑制亚油酸自氧化的作用。120 h时其吸

光值按大小排序为BHT>④>⑤>①, 这与2.2.1总酚含量结果不完全一致, 可能是客家黄酒中存在其他抗氧化物质, 如黄酮类、他汀类等, 能有效抑制脂质的过氧化, 因而即使总酚含量少, 仍能高效抑制亚油酸的自氧化作用。

图10为不同试验剂量的①、④、⑤号酒样和阳性对照BHT在120 h时对亚油酸自氧化的抑制效果。

由图10可知, ④号酒样的抑制率与BHT相当, 剂量为50  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$ 时抑制率均达到90%, 差异不明显, 说明④号酒样对亚油酸自氧化的抑制作用很强, 仅50  $\mu\text{L}$ 就能达到较好的抑制效果。当剂量为50  $\mu\text{L}$ 和100  $\mu\text{L}$ 时, ⑤号酒样的抑制率低于同等剂量的④号酒样和BHT; 但当剂量达到200  $\mu\text{L}$ 时, ④、⑤号酒样和BHT的抑制率接近, 分别是93.04%、89.61%、90.69%, 按抗氧化能力大小排列为④>BHT>⑤>①。表明客家黄酒具有明显的抗氧化效果, 当试验剂量增加时, 客家黄酒抑制亚油酸自氧化的效果随之增强。①号酒样的抑制率一直低于④、⑤号酒样, 在200  $\mu\text{L}$ 剂量时仅为52.3%。由此可知, 少量红曲的客家黄酒与多量红曲的客家黄酒都比传统客家黄酒的抗氧化能力强, 少量红曲客家黄酒的抗氧化能力甚至高于等剂量的1 g/L BHT溶液。因此, 红曲添加量与客家黄酒对亚油酸的抑制率不呈比例关系。

### 2.2.3 红曲添加量对DPPH自由基清除能力的影响

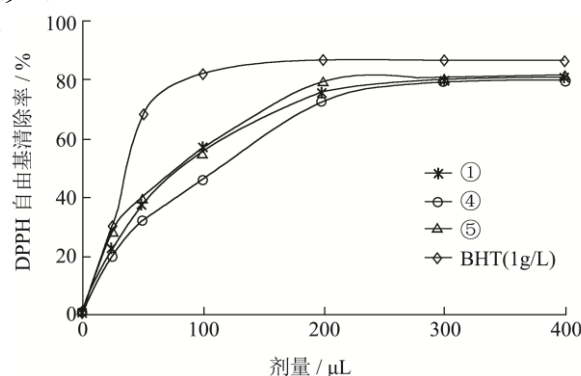


图11 红曲添加量对客家黄酒的DPPH自由基清除能力的影响 (n=3)

Fig.11 Effects of different amounts of red koji on DPPH free radical scavenging activity of different amounts of Hakka rice wines (n = 3)

图11为不同红曲添加量的客家黄酒DPPH自由基的清除率。当剂量为25  $\mu\text{L}$ 时, ⑤号酒样的DPPH自由基清除率较高, 与等量的1 g/L的BHT相当, ①号和④号酒样的清除率相当。说明在低剂量范围内, 客家黄酒具有一定的自由基清除率, 且红曲添加量多的酒样清除率较高。在剂量为50~100  $\mu\text{L}$ 时, ①号酒



样的清除率增加较明显,且与⑤号酒样的清除率相当。当剂量为 300  $\mu\text{L}$  时,酒样和 BHT 的清除率已基本达到最大值,清除率增长趋势接近平缓。400  $\mu\text{L}$  时①、④、⑤号酒样和 BHT 的 DPPH 自由基清除率差异不明显,分别是 80.25%、79.92%、81.82%、86.5%,按大小排序为 BHT>⑤>①>④,这与 2.2.1 总酚含量结果相吻合,说明添加较多的红曲有利于提高客家黄酒清除 DPPH 自由基的能力。但当试验剂量提高到一定程度时,红曲添加量对客家黄酒的自由基清除能力影响不大。

对试验数据进一步分析,得到①、④、⑤号酒样和阳性对照 BHT 的半抑制量即  $\text{IC}_{50}$ ,如图 12。

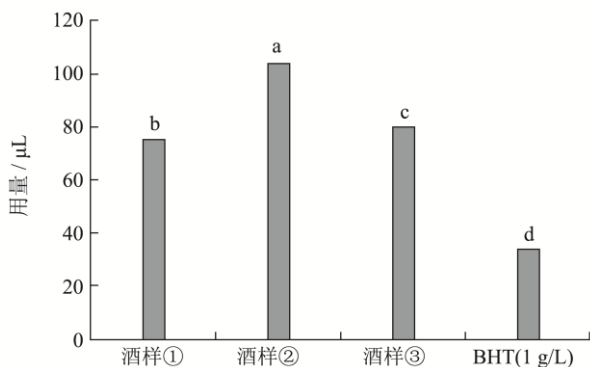


图 12 红曲添加量对客家黄酒 DPPH 自由基半抑制量 ( $\text{IC}_{50}$ ) 的影响 (n=3)

Fig.12 Effects of different amounts of red koji on the  $\text{IC}_{50}$  of DPPH free radical scavenging ability of Hakka rice wine (n = 3)

$\text{IC}_{50}$  值越低,说明样品的清除自由基的能力越强。由上图可知,①、④、⑤号酒样和 BHT 的  $\text{IC}_{50}$  值分别是 75.33  $\mu\text{L}$ 、104.2  $\mu\text{L}$ 、80.18  $\mu\text{L}$ 、34.14  $\mu\text{L}$ ,清除自由基的能力按大小排序为 BHT>①>⑤>④。表明,酿酒时增加红曲添加量,有利于提高客家黄酒的 DPPH 自由基清除能力。

### 2.2.4 红曲添加量对还原能力的影响

#### (1) 铁氰酸钾法

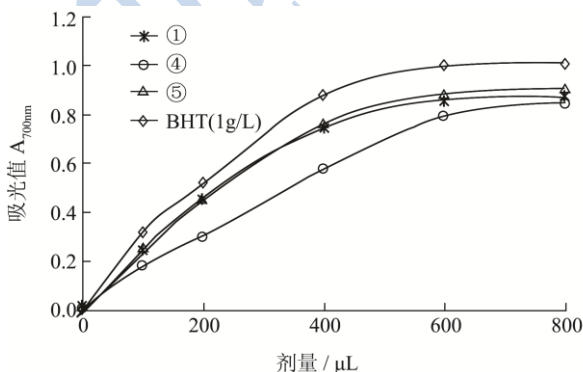


图 13 红曲添加量对客家黄酒还原能力的影响 (n=3)

Fig.13 Effects of different amounts of red koji on the reducing power of different amounts of Hakka rice wines (n = 3)

图 13 为①、④、⑤号酒样和阳性对照 BHT 的还原能力曲线图。由图可知,样品剂量为 100~400  $\mu\text{L}$  时,①号酒样和⑤号酒样的吸光度值接近,且略低于同等剂量的 BHT,说明①号和⑤号均有良好的还原能力。④号酒样从 200  $\mu\text{L}$  开始,与其他两个酒样相比吸光度值明显偏低。样品剂量达到 600  $\mu\text{L}$  时,吸光度值增长趋势平缓。800  $\mu\text{L}$  的①、④、⑤号酒样与 BHT 的还原能力差距缩小,按大小排序为 BHT>⑤>①>④,此结果与 2.2.1 总酚含量一致,说明客家黄酒酿造时,添加 5% 的红曲已具有较强的还原能力,增加红曲添加量有利于增强客家黄酒的还原能力。

#### (2) FRAP 法

采用 FRAP 法测定样品的铁原子还原能力,简单快速,样品的当量硫酸亚铁浓度越高,说明样品的还原能力越强。

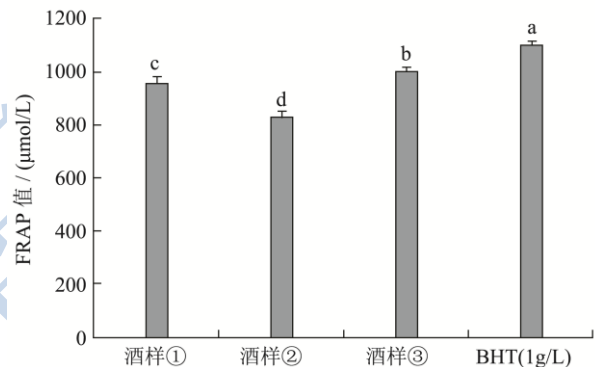


图 14 红曲添加量对客家黄酒 FRAP 值的影响

Fig.14 Effects of different amounts of red koji on the FRAP value of different amounts of Hakka rice wines

注:结果表示为平均值±标准偏差 (n=3)。

如图 14 所示,①、④和⑤号酒样与 BHT 的当量硫酸亚铁浓度分别是 953.37  $\mu\text{mol/L}$ 、828.74  $\mu\text{mol/L}$ 、1007.95  $\mu\text{mol/L}$ 、1098.43  $\mu\text{mol/L}$ 。可以看出,⑤号酒样的当量硫酸亚铁浓度最高,与 1 g/L 的 BHT 相当。①号酒样的当量硫酸亚铁浓度仅次⑤酒样,④号酒样的最低,且与①号也有较大差距,此结果与 2.2.1 总酚含量、2.2.3DPPH 自由基清除能力、2.2.4 (1) 还原能力的试验结果一致。表明,酿酒时增加红曲的添加量能够提高客家黄酒的还原能力。

## 3 结论

3.1 ①、②、③号酒样的总酚含量按大小排序为①>③>②,这与 DPPH 自由基清除能力、还原能力的实验结果相吻合;而抗亚油酸自氧化作用的结果为①>②>③。总的来说,仍然是①号酒样的抗氧化活性较强,表明,抗氧化活性与酒曲有着密切的联系。传统客家黄酒采用红曲、酒药、麦曲复配发酵,在抗氧化

活性方面具有明显的优势。

3.2 在 DPPH 自由基清除能力、还原能力铁氰化钾法、铁离子还原能力试验中, ①号酒样与 1 g/LBHT 的试验结果接近, 且抗氧化能力明显高于②、③号酒样, 而抗亚油酸自氧化作用效果不及 BHT, 说明客家黄酒有较强的抗氧化能力, 但是对脂质过氧化抑制作用不明显。

3.3 采用铁氰化钾法、FRAP 法分别测定三种酒样的还原能力, 两者的结果相一致, 按还原能力大小排序均为 BHT>①>③>②, 但铁离子还原能力结果较还原能力铁氰化钾法更灵敏, 能够明显看出各酒样的抗氧化能力差别。

3.4 总酚含量、DPPH 自由基清除能力和还原能力的试验结果相一致, 三种酒样的抗氧化效果按大小排序为⑤>①>④, 且⑤号酒样与 1 g/LBHT 的抗氧化能力接近, 表明客家黄酒具有明显的抗氧化效果, 增加红曲的添加量有利于提高客家黄酒的抗氧化活性, 两者呈正比例关系。而总抗氧化能力与红曲添加量未成比例关系, 可能是客家黄酒中存在其他抗氧化物质, 如黄酮类, 他汀类等成分, 能有效抑制脂质过氧化。

#### 参考文献:

- [1] 励建荣. 黄酒工业的现状和发展方向[J]. 酿酒, 2005, 32(1): 2-4  
LI Jian-rong. Current situation and developing prospect of yellow rice wine [J]. Liquor Making, 2005, 32(1):2-4
- [2] 周家骐. 黄酒生产工艺[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996  
ZHOU Jia-qi. Yellow rice wine produce technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1996
- [3] Matchar D B, Mc Croy D C, Orlando L A, et al. Systematic review: comparative effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers for treating essential hypertension [J]. Ann. Intern. Med., 2008, 148(1): 16-29
- [4] Ma Y J, Li Y G, Ye Q, et al. Constituents of red yeast rice: A traditional Chinese food and medicine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5220-5228
- [5] Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhol A, et al. Mevinolin, citrinin and pigments of adlay angkak fermented by *Monascus* sp [J]. International Journal of Food Microbiology. 2008, 126: 20-23
- [6] 曹新志, 刘芳, 熊俐, 等. 小曲酒丢糟中抗氧化剂总酚的提取 [J]. 酿酒科技, 2013, 7: 87-90  
CAO Xin-zhi, LIU Fang, XIONG Li, et al. Extraction of antioxidant total phenol from distiller's grains of xiaoku liquor [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2013, 7: 87-90
- [7] 孙芸, 徐宝才, 谷文英, 等. 葡萄籽原花青素的聚合度与抗氧化活性关系[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(10): 41-46  
SUN Yun, XU Bao-cai, GU Wen-ying, et al. Relationship between the degree of polymerization and antioxidant activities of grape seed procyanidins [J]. Food And Fermentation Industries, 2006, 32(10): 41-46
- [8] 蒋增良, 毛建卫, 黄俊, 等. 蓝莓酵素在天然发酵过程中抗氧化性能的变化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(2): 194-197, 201  
JIANG Zeng-liang, MAO Jian-wei, HUANG Jun, et al. Changes in antioxidant activity of blueberry-ferment during natural fermentation process [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(2): 194-197, 201
- [9] 张慧芸, 孔保华. 两种方法测定香辛料提取物抗氧化活性的比较[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 41-44  
ZHANG Hui-yun, KONG Bao-hua. Comparative study on antioxidant activities of ethanol extracts of seven spices with two determination methods [J]. Food Science, 2008, 29(11): 41-44
- [10] 何书美, 贾蜜英. 用菌液的还原能力表征酸牛奶的抗氧化活性[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 39-41  
HE Shu-mei, JIA Mi-ying. Characterization of the antioxidation activity of yoghurt by reductive ability [J]. Food Science And Technology, 2013, 38(2): 39-41