

# 螺旋藻酒的製備及其抗氧化能力之研究

楊曜鴻、游銅錫

E-mail: 9701137@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

本研究共分為三個部分，第一部分主要以螺旋藻粉經酒精浸泡萃取法，製備藻酒。尋找其最佳製程條件；包括浸泡的酒精度、浸泡時間，並探討酒精浸泡萃取所得之藻酒中酒的風味、嗜味與喜好性上的影響。再利用官能品評及一般成分分析性，找出不同條件所釀製浸泡藻酒之機能性成分。第二部分是商業化酵母菌種為試驗菌種，探討以發酵法製備藻酒的最佳製程條件；包括發酵藻粉濃度、發酵時間、嗜好性官能品評等。第三部分則是以所製得藻酒再與利用現有技術所製備的紅葡萄酒進行調合而以製備藻紅酒，以探討不同比例勾兌之藻紅酒之品質與抗氧化能力的變化；並將藻酒與各種紅酒之揮發性成分以氣相層析質譜儀鑑定，以探討藻酒與各種紅酒之揮發性香氣成分及嗜好性。結果顯示，在酒精浸泡萃取法中，發現以12.5%酒精溶液萃取12小時後達到最高的效益。其機能性成分包括總葉綠素、類胡蘿蔔素與藻藍蛋白等之萃取量隨螺旋藻粉添加量之增加而上升。而在藻紅酒的官能品評實驗發現，其接受性皆低於發酵藻酒組別；而在加熱蒸餾所得的40%蒸餾藻露之官能品評結果亦是如此。其中發現到以發酵蒸餾藻露：浸泡蒸餾藻露之比例為1：2時得到風味、嗜味及整體嗜好性皆較高的組別。在發酵螺旋藻酒實驗中，可溶性固形物含量隨著添加藻粉的增加，偵測所得數值越低。即表示藻粉的添加會促進發酵的進行。不同比例勾兌紅酒之嗜好性官能品評部份，在紅酒的選擇中，以卡本內紅酒較梅洛紅酒具有較高的嗜好性。依嗜好性官能品評結果，最後選定以一倍1%發酵藻酒勾兌四倍卡本內紅酒為本實驗藻紅酒的較適條件。在抗氧化能力之測定中，發酵藻酒具有較高的DPPH自由基清除能力。而調和紅酒樣組別中，具有顯著的加成作用。成品酒所檢測出之香氣成分有isopropyl alcohol、1-propanol、isobutyl alcohol、isoamyl alcohol、2,3-butanediol、2-hydroxypropanol、3-ethoxy-1-propanol、methionol、2,6-dimethylcyclohexanol、phenethyl alcohol、acetic acid、hexanoic acid、octanoic acid、decanoic acid、diphenylamine-2-carboxylic acid、hexadecanoic acid、oleic acid、octadecanoic acid、ethyl acetate、isoamyl acetate、ethyl 3-hydroxybutyrate、ethyl n-caproate、ethyl 4-hydroxybutanoate、diethyl succinate、ethyl caprylate、ethyl hydrogen succinate、ethyl 3-hydroxyhexanoate、phenethyl acetate、propyl isothiocyanate、butoxyethoxyethyl acetate、ethyl stearate、ethyl palmitate、ethyl decanoate、methyl palmitate、methyl octadec-7-enoate與methyl stearate。

關鍵詞：螺旋藻；藻酒；藻紅酒；發酵；抗氧化力；揮發性化合物

## 目錄

封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	vi
誌謝.....	viii	目錄.....	ix	圖目錄.....	xiii
表目錄.....	xv	1. 前言.....	1	2. 文獻回顧.....	3
2.1 保健食品的發展.....	3	2.2 藻類食品的應用.....	4	2.3 螺旋藻的介紹.....	5
2.3.1 螺旋藻的營養價值.....	6	2.3.2 螺旋藻的保健功能.....	7	2.3.3 -亞麻油酸(GLA).....	8
2.3.4 硒的作用.....	8	2.3.5 -胡蘿蔔素.....	9	2.3.6 消除自由基.....	9
2.4 蒸餾酒.....	9	2.5 酵母.....	10	2.5.1 影響因子.....	11
2.5.2 酒用活性乾酵母及相關分類.....	12	2.6 香氣成分.....	13	2.7 抗氧化劑.....	16
2.7.1 抗氧化劑之作用原理.....	16	2.7.1.1 自由基終止劑.....	17	2.7.1.2 還原劑或清除基.....	17
2.7.1.3 金屬螯合劑.....	17	2.7.1.4 單重態氧抑制劑.....	18	2.7.2 天然抗氧化物.....	18
2.7.3 人工合成抗氧化劑.....	22	2.7.4 自由基之介紹.....	22	2.7.4.1 自由基與活性氧.....	22
2.7.4.2 定義及反應形式.....	23	2.7.5 自由基對生物體分子之氧化傷害.....	28	2.8 抗氧化試驗之原理.....	29
2.8.1 清除DPPH自由基之測定.....	29	2.8.2 螯合亞鐵離子之測定.....	30	2.8.3 還原力試驗.....	30
2.8.4 清除超氧陰離子試驗.....	30	3. 材料與方法.....	32	3.1 實驗材料.....	32
3.1.1 實驗原料.....	32	3.1.2 實驗藥品.....	32	3.1.3 實驗設備.....	34
3.2 實驗方法.....	35	3.2.1 以不同酒精濃度溶液萃取螺旋藻之效果比較.....	35	3.2.2 以12.5%酒精溶液萃取不同添加量螺旋藻之效果比較.....	37
3.2.3 發酵螺旋藻酒中不同藻體添加濃度對發酵情形之探討.....	37	3.2.4 蒸餾藻露之製備.....	38	3.2.5 卡本內紅酒之發酵.....	38
3.2.6 黑后葡萄酒之發酵.....	38	3.2.7 藻紅酒之發酵.....	41	3.3 分析項目.....	42
3.3.1 還原糖之測試.....	42	3.3.2 總糖之測試.....	42	3.3.3 酸鹼值之測定.....	42
3.3.4 可溶性固形物之測定.....	46	3.3.5 總色素含量之測定.....	46	3.3.6 色度比之測定.....	46
3.3.7 酒精度分析.....	46	3.3.8 可滴定酸之測			

定.....	47	3.3.9 螺旋藻酒中葉綠素含量之檢測.....	47	3.3.10 螺旋藻酒中類胡蘿蔔素含量之檢測.....	48	3.3.11 螺旋藻酒中藻藍蛋白含量之檢測.....	48	3.3.12 官能品評.....	49	3.3.13 抗氧化性之分析.....	49	3.3.14 香氣成分分析.....	51	4. 結果與討論.....	54	4.1 以不同酒精濃度溶液萃取螺旋藻之效果比較.....	54	4.1.1 萃取螺旋藻時，酒精濃度之選擇.....	54	4.1.2 水溫對萃取螺旋藻萃取效率之影響.....	54	4.2 以12.5%酒精溶液萃取不同添加量螺旋藻之效果比較.....	54	4.3 發酵螺旋藻酒中不同藻體添加濃度對發酵情形之探討.....	56	4.4 蒸餾藻露之製備.....	57	4.5 卡本內紅酒之發酵.....	57	4.6 黑后葡萄紅酒之發酵.....	66	4.7 抗氧化性之分析.....	72	4.7.1 DPPH自由基清除能力之測定.....	72	4.7.2 亞鐵離子螯合能力之測定.....	72	4.7.3 清除超氧陰離子能力之測定.....	79	4.7.4 相對還原力之測定.....	79	4.8 香氣成分之分析.....	82	5. 結論.....	87	參考文獻.....	89	附錄.....	95
--------	----	--------------------------	----	-----------------------------	----	----------------------------	----	------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	---------------	----	------------------------------	----	---------------------------	----	----------------------------	----	------------------------------------	----	----------------------------------	----	------------------	----	-------------------	----	--------------------	----	------------------	----	---------------------------	----	------------------------	----	-------------------------	----	---------------------	----	------------------	----	------------	----	-----------	----	---------	----

## 參考文獻

- 1.小崎道雄、片岡二郎、山中茂、吉田集而，1998，餅麴(Marcha),酒(Jaanr) 蒸餾酒(Rakshi)。釀協 95 ( 2 ) :115-122。
- 2.王玉玲，2004，維他命、礦物質的功效。正義出版。228-229。
- 3.王光輝，1998，清酒醪中酸度高的可能原因。製酒科技專論彙編20:58-58。
- 4.江金標，1980，高粱麴中微生物之特性簡介。製酒科技專論彙編2:100-104。
- 5.江晃榮，2000，新世紀機能性食品，食品資訊，177:54-56
- 6.呂威德譯，1990，世紀生機螺旋藻。大新圖書文具有限公司。201-202。
- 7.沈怡方、李大和，1996，低度白酒生產技術。中國輕工業出版社。北京，中華人民共和國。
- 8.沈怡方，1998，白酒生產技術全書。第124、248頁。中國輕工業出版社。北京，中華人民共和國。
- 9.林文?，2003，松葉之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。
- 10.林俊傑，1996，釀酒有關之酵素。製酒科技專論彙編18:158-168。
- 11.拱玉郎，1997，天然抗氧化劑發展近況。食品工業月刊29:29-37。
- 12.倪德全，1982，酵母菌有機酸生成及利用。製酒科技專論彙編4:78-87。
- 13.淺野中男和黑瀨直孝，2000，清酒酵母 有機酸生成。釀協 95 ( 4 ) :227-234。
- 14.野白喜久雄、吉澤淑、鎌田耕造、水沼武二，1988，釀造?事典。朝倉書店。東京，日本。
- 15.陳其潮，2002，河川湖泊中的保健食品，食品資訊，190:48-49。
- 16.陳惠英、顏國欽，1998，自由基、抗氧化防禦與人體健康。中華民國營養學會雜誌。23:105-121。
- 17.陸壽鵬，1996，白酒工藝學。中國輕工業出版社。北京，中華人民共和國。
- 18.黃正財，1981，酵母菌高濃度酒精生產性及耐性之生成機構。製酒科技專論彙編3:94-103。
- 19.黃季芳，1983，脂肪分解酵素與其在釀酒上之應用。製酒科技專論彙編5:62-67。
- 20.黃穰、廖婉茹，2003，海藻來自海洋的保健藥草。科學發展364:30-37。
- 21.劉繼諍、劉居富，1986，優良葡萄新品種釀酒試驗(續)--產區試驗，酒廠研究年報75年度，71-80。
- 22.潘素美、葉志新，1997，台灣食用藥菇超氧歧化酶含量之比較。中國農業化學會誌。35(2): 209-219。
- 23.謝惠敏，2001，維生素與人體的關係，協和文化。41-43。
- 24.簡錦慈，2004，刺蔥之抗氧化性及安全性探討。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中。
- 25.藥物食品檢驗局調查研究年報，2005，(23):229-240。
- 26.Anagnostidis, K., Komarek, J., 1988. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3.Oscillatoriales. Arch. Hydrobiol. Suppl. 80, Algological Studies 50/53, 327-472.
- 27.Angelo, A. J. S. 1996. Lipid oxidation in foods. Crit Rev. Food Sci. Nutr.36:175-224.
- 28.Arnou, D. I., Whatley, F. R. and Allen, M. B. 1954. Photosynthesis by isolated Chloroplasts. Nature.174: 394-395.
- 29.Aruoma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. J. Am Oil. Chem. Soc. 75: 119-213.
- 30.Ayehunie S, Belay A, Baba TW, Ruprecht RM,1998. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of Spirulina platensis ( Arthrospira platensis ) . J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol. 18: 7-12.
- 31.Bold, H. C., and Wynne. M. J. 1978. Introduction to the Algae. Prentice-hall. Press. 705-706.
- 32.Branen, A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J.Am. Oil. Chem. Soc.52: 59-63.
- 33.Burton, G. W. 1994. Vitamin E : molecular and biological function. Proc. Nutr. Soc.53: 251-262.
- 34.Cheng, K. C., Cahill, D. S., Kasai, H., Nishimura, S. and Loeb, L. A. 1992. 8-hydroxyguanine, an abundant from of oxidative DNA damage, causes GT and AC substitution. J. Biol. Chem.267: 166-172.
- 35.Ciferri, O. 1983. Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev. 47: 551-578.
- 36.Clement, G., Giddy, C. and Menzi. R. 1967. Amino acid composition and nutritive value of the alga Spirulina maxima. J. Sci. Food Agric. 18: 479-501.
- 37.David Andrens 1987. Brewer ' s Guardian. 116 (1): 14-15,18-21.
- 38.Davies, K. J. A. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. In general aspects. J. Biol. Chem.262: 9895-9901.
- 39.Decker, E. and Welch. A. B. 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. J. Agric. Food. Chem.38: 674-677.
- 40.Del, R. L., Sandalio, L., Palma, L., Bueno, P. and Corpas, P. J. 1992. Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. Free Radic. Biol. Med.13: 557-580.
- 41.Delpeuch, F. 1976. Consumption as food and nutritional composition of blue-green algae among populations in the Kanem region of Chad. Ann. Nutr. Aliment. 29: 497-516.
- 42.Dziedzic, J.D. 1986. Preservative:Antioxidants. Food Technol. 40: 94-102.
- 43.Esterbauer, H., and Cheeseman, K. 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products : malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol. 186: 407-421.
- 44.Frankel, E. N. 1991. Recent advances in lipid oxidation. J. Sci. Food Agric.54: 495-511.
- 45.Glazer, A.N., Chen, C., Williams, R.C., Yeh, S.W., Clark, J. H., 1985. Kinetics of energy flow in the phycobilisome core. Science 230: 1051-1053.
- 46.Gutteridge, J. M. C. and Halliwell, B. 1990. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. Trends Biochem. Sci.15: 129-135.
- 47.Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants : A personal view. Nutr. Rev.52: 253-265.
- 48.Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. and Aruoma, O. I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo : what they do and how they work. Crit Rev. Food Sci. Nutr.35: 7-20.
- 49.Imaida, K., Fukushima, S., Shivai, T., Ohtani, M., Nakanishi, K. and Ito, N. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxyl-toluene on 2-Stageurinary bladder carcinogenesis and inhibition of -glutamyl trans peptidase-positive foci development in the liver of rat. Carcinogenesis. 4: 885-889.
- 50.Ito,

N., Fukushima, S. and Tsuda, H. 1985. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*15: 109-150. 51.Itoh, H. and Ito H. (1993) Antitumor Activity and Immunological Properties of Marine Algal Polysaccharides, Especially Fucoidan, prepared from *Sargassum Thunbergii* of Phaeophycease. *Jap.exp.Med.* 54: 143-151. 52.Jacob, H. A.1995. The integrated antioxidant system. *Nutr. Res.*15: 755-766. 53.Jacobson, E. S., E. Hove., and H. S. Emery. 1995. Antioxidant function of melanin in black fungi. *Infect. Immun.* 63: 4944-4945. 54.Jeeji Bai, N., Seshadri, C.V., 1980. On coiling and uncoiling of trichomes in the genus *Spirulina*. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 60, 32-47. 55.Kehrer, J. P. 1993. Mechanisms and effect of lipid peroxidation. *Crit. Rev. Toxicol.*23: 21-48. 56.Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochem.*27:269-278. 57.Lehtonen, M. and Suomalainen, H. 1977. Rum. *Economic microbiology.* 1: 595-633. 58.Liebler, D. C. 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. *Ann. New York. Acad. Sci.*691: 20-31. 59.Masami Onishi, Guymon, J.F. and Cswoll, E.A. 1977. *Am. J. Enol. Vitic*, 28, (3) 152-153. 60.Morton Onishi, and Macleod, A.J. 1984. Food flavors Part B. The Flavor of beverages (Elsevier Science Publisher, B.V.), 272-272. 61.Namiki, M. 1990. Antioxidants / Antimutagens in Foods. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.*29: 281-300. 62.Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction : Antioxdative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutri.*44: 307-314. 63.Picinelli, A., Bakker, J., and Bridle, P., 1994. Model wine solutions : Effect of sulphur dioxide on color and composition during aging. *Vitis.*33: 31-35. 64.Robak, J. and Gryglewski, I. R. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharma.*37: 837-841. 65.Saul, R. L. and Ames, B. N. 1986. Background levels of DNA damage in the population. *Basic Life Sci.*38: 529-535. 66.Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J.P.D. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.*32: 67-103. 67.Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthane on the antioxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Food Chem.*40: 945-945. 68.Stadler, R. H. and Fay, L. B. 1995. Antioxidative reactions of caffeine : Formation of 8-oxocaffeine (1,3,7-trimethyluric acid) in coffee subjected to oxidative stress. *J. Agric. Food Chem.* (43): 1332-1338. 69.Stadtman, E. R. 1992. Protein oxidation and aging. *Sci.*257: 1220-1224. 70.Taylor, G.T. and Kirsop, B.H. 1997. The origin of the medium chain length fatty acids present in beer. *J.Inst.Brew*83: 241-243. 71.Torel, J., Cillard, J. and Chillard, P. 1986. Antioxidant activity of flavonoides and reactivity with peroxy radicals. *Phytochem.*25: 383-385. 72.Wanasundara, P. K. J. P. D., Shahidi, F. and Shukla, V. K. S. S. 1997. Endogenous antioxidants from oilseeds and edible oils. *Food Rev. Int.*13: 225-292. 73.Yano, T., Matsuyama, H., Mangindaan, R.E.P., 1991. Polysaccharideinduced protection of carp, *Cyprinus carpio* L., against bacteria injection. *J. Fish Dis.* 14: 577-582.