

自然温度下光核桃果酒主发酵工艺优化

钟政昌, 王 婷, 高根升, 付 宽, 方江平*

(西藏农牧学院, 西藏 林芝 860000)

摘 要: 在自然温度条件下, 以西藏林芝地区光核桃为原料, 采用响应面法优化光核桃果酒发酵工艺条件, 在单因素试验基础上, 选取果汁糖度、酵母接种量和 pH 值为影响因素, 以光核桃果酒的酒精体积分数为响应值, 应用 Box-Behnken 中心组合试验设计建立数学模型, 进行响应面分析。结果表明: 光核桃酒最佳发酵工艺条件为: 足够成熟的鲜光核桃果压榨取汁, 调整初始含糖量为 18.84%、pH3.96、酵母接种量 0.76%, 该条件下所得光核桃果酒的酒精体积分数 11.33%。经后发酵和陈酿后, 果酒酒色金黄, 酒味醇厚甘爽, 气味醇香, 果香突出, 酒体协调。

关键词: 西藏林芝; 光核桃; 果酒; 发酵; 响应面法

Optimization of Fermentation Process for *Prunus mira* Koehne Wine at Natural Temperature by Response Surface Methodology

ZHONG Zheng-chang, WANG Ting, GAO Gen-sheng, FU Kuan, FANG Jiang-ping*

(Tibet Agricultural and Animal Husbandry College, Linzhi 860000, China)

Abstract: In this study, response surface methodology was used to optimize the fermentation at natural temperature of *Prunus mira* Koehne fruits grown in Linzhi, Tibetan for producing fruit wine. Based on one-factor-at-a-time experiments, a central composite design was used to establish a mathematical model describing the effects of sugar content of fruit juice, yeast inoculum size and pH on alcohol content of fruit wine for response surface analysis. The results showed that the optimal fermentation conditions were 18.84% sugar concentration in fruit juice, 0.76% yeast inoculum, and initial fermentation pH 3.96. Under these conditions, the alcoholicity of the wine obtained was 11.33% (V/V). The fruit wine obtained after post-fermentation and ageing displayed a golden yellow color, a strong, sweet, mellow and harmonious taste, and an aromatic smell.

Key words: Linzhi, Tibetan; *Prunus mira* koehne; fruit wine; primary fermentation; response surface methodology
中图分类号: TS261.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2012)13-0197-05

光核桃(*Prunus mira* Koehne Kov et. Kpst)又名西藏桃, 藏语为康布, 是西藏原有的野生桃种。本种果核光滑, 在桃属中较为独特, 易与其他种区别。果实含糖量高, 可供食用。此种也较耐寒, 为培育抗寒桃的良好原始材料。具有适应性强, 耐旱、耐瘠、抗病、长寿、结果力强等优良特性, 是极其宝贵的种质资源; 同时其资源丰富, 有较高的经济利用价值^[1]。

光核桃生长于海拔 2500~3500m 之间, 在北纬 31°10'~29°58'、东经 91°50'~98°48'之间的 20 个县境内均有分布, 其中尤以雅鲁藏布江下游及其支流尼洋河及帕龙藏布江流域最为集中, 产江达、芒康、察隅、八宿、波密、米林、加查、穷结、拉萨、曲水、隆

子、错那、洛札、亚东聂拉木和吉隆, 其中林芝地区光核桃的分布面积在 0.10~0.13 万 hm^2 之间, 产量在 5300~6900t 之间^[2-3]。光核桃果实富含 VC、糖分和其他营养成分, 如钙、锌、铁等, 还原糖质量分数为 7.2067%, 钙含量为 14mg/g, 铁含量为 1~2mg/g^[4]。可制作果脯, 加工果汁, 具有独特的香味。对促进农牧民脱贫致富有重要作用。但由于林芝地区交通、信息等方面的原因, 光核桃产业化程度非常低。信息闭塞, 组织松散, 果品贮运设施落后, 龙头企业少, 果品加工手段低, 产品附加值少, 致使资源得不到很好的开发和利用^[5-6]。

由于西藏光核桃成熟时的季节为 8~9 月份, 此时

收稿日期: 2011-07-04

基金项目: 中央财政林业科技推广重点推广项目([XZ2009]002)

作者简介: 钟政昌(1975—), 男, 副研究员, 硕士, 主要从事高原野生植物资源的食品开发研究。E-mail: zxzzc@163.com

* 通信作者: 方江平(1967—), 男, 教授, 博士, 主要从事森林生态学及资源评价研究。E-mail: xzfjp@21cn.com

的林芝地区,尤其是八一镇附近,平均为14~29℃,气温基本适合果酒的发酵。因此,本研究选择在自然温度下进行光核桃果酒发酵工艺优化,以满足光核桃果酒在自然温度环境中生产这一现实要求,既节约了工业化生产的成本,又能产生良好经济效益,为合理利用资源、规模化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟光核桃;SY葡萄酒高活性干酵母 湖北安琪酵母股份有限公司;偏重亚硫酸钠、柠檬酸、碳酸钙、氯化钙、硫酸铵、果胶酶(20000U/g pro) 天津市酶制剂厂生产;异VC钠 德兴市异抗坏血酸钠有限公司;澄清剂 北京天正澄清剂有限公司;白砂糖 市售。

1.2 仪器与设备

GBQS-5 气升式玻璃发酵罐 镇江东方生物工程设备有限公司;LSY 电热恒温水浴锅 北京市医疗设备厂;酒精度计 上海牧晨电子有限公司;手持糖度计 北京金紫光科技发展有限公司;pH 值测定仪 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;DJ1-012 单道榨汁机 扬州雄鹰食品机械有限公司;PEBC-2 溶液过滤器 成都永丰环保专用设备厂。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程及要点^[7-8]

1.3.1.1 工艺流程

光核桃→剔除烂粒→碱液清洗→去核→预煮→榨汁→调整糖度和酸度→接种菌种→装罐→主发酵→虹吸法倒罐→后发酵→过滤澄清→杀菌处理→陈化→成品果酒

1.3.1.2 工艺要点

原料选择:选择出汁率高、成熟度好的光核桃作为原材料,破碎前人工彻底去除青粒、病霉粒、腐烂破碎粒等。

酵母活化与驯化:制备质量分数为40%的光核桃果浆,加入白砂糖,调整糖度为5%,杀菌后冷却至33℃,按浆液质量的5%加入SY葡萄酒高活性干酵母,在恒温箱中28~32℃条件进行活化30min备用^[9]。

原料预处理:将光核桃放入1%~2%的NaOH溶液浸洗,去除剩余果皮及残留农药。再用清水冲刷洗净,彻底清除泥土、杂物等,取出晾干;然后将清洗晾干的光核桃破碎、去梗去核后切碎。

榨汁:将预煮过的光核桃送入榨汁机中榨汁,同时添加75mg/L异VC钠、0.4g/L氯化钙、50mg/L二氧化硅用于护色、杀菌和抗氧化,用量要适宜,过多会延迟甚至阻止酒精发酵,过少会影响实验效果而且容易使果汁感染杂菌。打浆完成后,再向果浆中加入200mg/L果

胶酶和0.05%硫酸铵,将果汁混合均匀放置12h使果胶在果胶酶的作用下充分分解。

调整糖度和酸度^[10-11]:在不同的糖度和酸度下,酵母菌的活性不同。根据理论值17g/L蔗糖的果汁能产生1°的纯乙醇。为了找出光核桃果酒的最佳发酵糖度和酸度,将光核桃果汁的糖度梯度控制,其值在14%~22%,将pH值梯度控制在3.5~4.3之间。

装罐:发酵罐使用前先用75%乙醇擦拭杀菌消毒,然后将调整好糖度和酸度的光核桃果汁装入发酵罐,装罐率为4/5左右,盖上盖子,但不能完全使其封闭,以方便发酵产生大量CO₂气体的释放,装的过满,会使果汁溢出,盖得过紧,发酵容器会有爆炸的危险。

主发酵的控制:发酵在自然温度条件下进行,但温度不能过高或过低,以保证光核桃果酒在适宜的温度范围内发酵,温度过高(≥32℃),酵母衰老快^[12],王华等^[13]也指出:32~35℃称为发酵危险温度区;温度过低会使酵母菌生长过于缓慢,易染杂菌,一旦染上噬菌体,酵母菌有被杀灭的危险。本实验接种温度在33℃左右,使整个发酵阶段醪液温度范围能自然保持在18~30℃,基本上符合果酒发酵温度。每12h对果酒中的残糖、pH值和酒精体积分数进行测定并记录,直至总糖、酒精体积分数趋于稳定时,结束主发酵^[14]。

1.3.2 光核桃果酒的主发酵条件优化

从初始含糖量、酵母接种量、pH值3个因素进行单因素试验,考察其对光核桃酒主发酵的影响。根据单因素试验结果,安排中心组合试验设计,以发酵温度、酵母接种量、初始含糖量3个因素与乙醇体积分数进行中心组合设计(表1),优化发酵工艺条件。通过Design Expert 8.05 软件分析对试验进行回归分析,预测光核桃酒发酵的最优工艺参数。

表1 响应面优化光核桃果酒发酵工艺因素水平及编码表
Table 1 Coded values and corresponding actual values of the fermentation conditions tested in response surface analysis

编码	A 初始含糖量/%	B 酵母接种量/‰	C pH
+ 1.682	21.36	1.04	4.24
+1	20	0.90	4.1
0	18	0.70	3.9
-1	16	0.50	3.7
- 1.682	14.64	0.36	3.56
Δj	2	0.20	0.2

1.3.3 指标测定^[15]

可溶性固形物的测定采用折光计法;总糖与还原糖的测定采用3,5-二硝基水杨酸法;酒精体积分数测定采用蒸馏比重法;总酸测定采用酸碱滴定法。

2 结果与分析

2.1 主发酵过程

将果汁的含糖量调至18%，pH值为3.9，接入5%的酵母菌液，在自然温度条件下发酵，每12h取样测定果酒的残糖含量和酒精体积分数，并进行感官评价。由图1可知，前12h是酵母菌的调整期和繁殖期，菌体繁殖快、耗糖较缓慢；24~60h发酵最为剧烈，耗糖量最大，酒精体积分数迅速上升，此阶段放出大量CO₂和热量；60~132h发酵逐渐减慢，酵母泥大量沉积于发酵罐底，产气平缓；132h后，主发酵基本结束，酒精体积分数达到最高10.8%，残糖含量最低为3.5%，气体产生量较少。

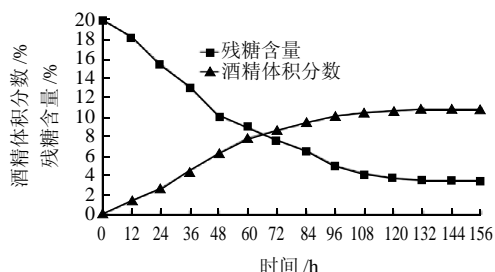


图1 主发酵过程中光核桃酒精体积分数与残糖含量随发酵时间的变化

Fig.1 Effect of fermentation time on alcoholicity and reducing sugar content

2.2 影响光核桃果酒发酵效果的单因素试验^[16-19]

2.2.1 发酵初始含糖量对光核桃果酒发酵的影响

主发酵果汁的初始糖度对果酒的发酵酒精体积分数有重要的影响，理论上含糖量1.7g/L的果汁能产生1°的酒精^[8]，若果汁含糖量低则酒精体积分数低，口感寡淡且难以保存；若含糖量太高，将形成发酵液的高渗透，降低酵母的活性，则糖发酵不完全产出甜果酒。将光核桃果汁调整为pH3.9，菌种接种量0.70%，分别在不同初始含糖量14%、16%、18%、20%、22%的条件下进行发酵，检测酿制原酒的酒精度并进行感官评价，确定初始含糖量对光核桃果酒发酵效果的影响。

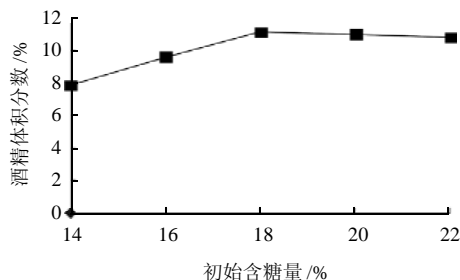


图2 初始含糖量对酒精体积分数的影响

Fig.2 Effect of initial sugar concentration on alcoholicity

由图2可知，当果酒发酵的初始含糖量为18%时，酒精体积分数最高。低于18%时，转化为酒精的含糖量不够，达不到果酒的酒体积分数，高于18%时，含糖量过大，发酵果汁的渗透压过高，抑制酵母菌的生长、繁殖和代谢，糖转化为酒精不完全，酒精体积分数低。因此选择果酒发酵初始含糖量为18%最为适宜。

2.2.2 菌种接种量对光核桃果酒发酵的影响

将光核桃果汁初始质量分数调整为18%、pH3.9，接种量分别为0.10%、0.25%、0.50%、0.75%、1.00%、1.25%条件下进行发酵，检测酿制原酒的产酒率并进行感官评价，确定酵母添加量对光核桃果酒发酵效果的影响。

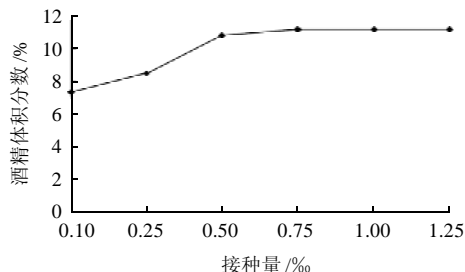


图3 干菌种接种量对酒精体积分数的影响

Fig.3 Effect of inoculation amount on alcoholicity

由图3可知，当果酒酵母接种量较小即低于0.5%时，自身繁殖代谢慢，杂菌生长快，导致原料代谢成酒精不完全，酒精体积分数低，酒质不协调；当酵母接种量大于0.75%时，酵母菌繁殖过旺，本身需要消耗大量的糖分，酒精体积分数反而降低；而酵母接种量为0.75%左右，酒精体积分数较高，酒体品质较好；因此选择果酒酵母接种量为0.50%~0.75%之间较为恰当。

2.2.3 pH值对光核桃果酒发酵的影响

果汁发酵前pH值的调节水平既要选择酒化酵母的最适pH值，又要有利于抑制杂菌繁殖。果酒的质量一方面取决于酒精体积分数，另一方面取决于酸的种类和含量。果酒的酸度太低会使人有腻的感觉，风味平淡，且果酒在发酵过程中易被微生物污染，不易保存；果酒的酸度过高则会使人不快，难以下咽。为了得到协调而突出的风味与高含量的酒精，酸度应限制在某一范围。发酵醪液pH值为4.2以上时，酒品质较差，口味异常。pH值降为3.0以下时，发酵速度较慢、残糖高、酸味重，表明pH值过低抑制了酵母菌的繁殖，不利于发酵的正常进行^[20]。将光核桃果汁初始含糖量调整为20%，光核桃果浆质量分数60%，菌种接种量0.70%，分别在3.3、3.5、3.7、3.9、4.1、4.3不同pH值条件

下进行发酵，检测酿制原酒的产酒率并进行感官评价，确定 pH 值对光核桃果酒发酵效果的影响。

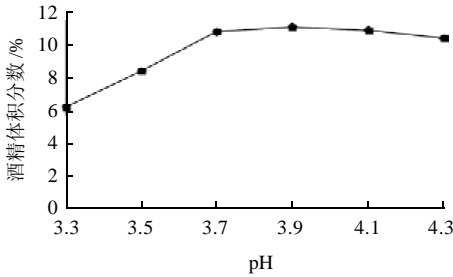


图4 pH 值对酒精体积分数的影响
Fig.4 Effect of pH on alcoholicity

由图4可知，发酵过程中 pH 值低于 3.9 时，果酒中酒精体积分数随 pH 值的升高而升高；在 pH 值为 3.9 时，酒精体积分数达到最高；而 pH 值大于 3.9 时，果酒中酒精体积分数随 pH 值的升高而降低。因此选择果酒发酵 pH 值为 3.9。

2.3 响应面优化试验结果及分析

表2 响应面优化光核桃果酒发酵工艺设计与结果
Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A	B	C	Y 酒精体积分数/%
1	0	0	-1.68179	9.0
2	0	-1.68179	0	9.8
3	0	0	0	11.2
4	-1.68179	0	0	9.5
5	0	0	0	11.3
6	-1	1	-1	9.2
7	1	1	1	10.5
8	0	1.681793	0	10.6
9	1	-1	-1	9.4
10	1.681793	0	0	10.7
11	0	0	0	11.2
12	-1	1	1	9.6
13	-1	-1	-1	9.0
14	0	0	0	11.2
15	0	0	1.681793	10.4
16	0	0	0	11.1
17	1	1	-1	10.0
18	-1	-1	1	9.3
19	1	-1	1	9.9
20	0	0	0	11.2

通过统计软件 Design-Expert 8.05 分别以 Y(酒精体积分)为响应值，对表 2 进行多元回归拟合，得到如下的二次多项式回归方程：

$$Y = -257.2145 + 3.7519A + 10.6575B + 115.9427C + 0.2188AB + 0.09375AC + 0.3125BC - 0.1138A^2 - 10.4991B^2 - 14.9185C^2$$

表3 酒精体积分回归模型方差分析
Table 3 Analysis of variance for the regression equation of alcohol concentration

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
模型	9	12.5511	1.3946	29.1477	< 0.0001	**
A	1	1.6300	1.6300	34.0690	0.0002	**
B	1	0.6791	0.6791	14.1943	0.0037	**
C	1	1.2037	1.2037	25.1590	0.0005	**
AB	1	0.0613	0.0613	1.2802	0.2843	
AC	1	0.0113	0.0113	0.2351	0.6382	
BC	1	0.0013	0.0013	0.0261	0.8748	
A ²	1	2.9877	2.9877	62.4457	< 0.0001	**
B ²	1	2.5417	2.5417	53.1244	< 0.0001	**
C ²	1	5.1319	5.1319	107.2609	< 0.0001	**
残差	10	0.4784	0.0478			
失拟项	5	0.4584	0.0917	5.9223	0.0694	
纯误差	5	0.0200	0.0040			
总和	19	13.0295				

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

由表3可知，模型的 $F = 29.1477 > F_{0.01(9,5)} = 11.21$ ， $P < 0.0001$ ，表明模型方程极显著，不同处理间的差异极显著；失拟项 $P = 0.0694 > 0.05$ ，不显著；模型的校正决定系数 $R^2_{Adj} = 0.9302$ ，说明该模型能解释约 93% 响应值的变化，表明方程拟合程度较好。本实验变异系数为 2.14%，在可接受范围内，说明实验操作可信，可以用回归方程代替实验真实点对光核桃酒发酵的酒精体积分结果进行分析和预测。此外，回归方程系数显著性检验可知：模型的一次项 A、B、C 极显著；二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 极显著，但交互项 AB、AC、BC 不显著，说明所选因素之间的交互作用不明显，采用该模型时可以不考虑因素间的交互作用。经过软件的优化，光核桃酒酒精体积分的最佳试验参数为初始含糖量 18.84%、酵母接种量 0.76%、pH3.96，在此条件下，回归模型预测酒精体积分理论值为 11.5%。

2.4 验证实验

在优化条件下，产品酒精体积分数的理论预测值为 11.5%。为检验实验结果的可靠性，采用上述优化发酵工艺条件进行光核桃果酒发酵实验，3 组平行实验的结果分别为 11.3%、11.5%、11.2%，平均值为 11.33%，与理论预测值仅相差 0.17%。因此，采用响应面分析法优化得到的光核桃果酒发酵工艺条件参数准确可靠，具有一定的实用价值。

2.5 光核桃果酒的陈酿与澄清

光核桃果酒主发酵结束后, 分离酒脚, 分别进行21d后发酵和120d以上的陈酿, 所得酒液的酒精体积分数在12.9%~13.2%, 残糖含量 $\leq 4.0\text{g/L}$; 然后采用壳聚糖澄清法, 对原酒进行澄清处理, 实验表明: 添加0.06~0.08g/100mL的壳聚糖, 可以获得较好的澄清效果。采用本实验条件酿制所得的光核桃果酒色泽金黄, 澄清透明, 具有爽怡的口味和独特的光核桃果香, 酸涩适中, 酒体完整。

2.6 光核桃果酒质量指标

光核桃果酒质量指标要求如表4所示。

表4 光核桃果酒质量指标

Table 4 Sensory, physicochemical and microbiological indexes of *Prunus mira* koehne wine

项目	指标
感官指标	色泽 金黄色, 透明清亮, 光泽度好
	口味 清爽, 醇厚丰满, 柔和怡人
	香气 光核桃果果香馥郁, 酸涩适中, 无异味
	典型性 酒性协调, 酒体完整, 典型性突出
理化指标	酒精体积分数/% 12.9~13.2
	还原糖含量(以葡萄糖计)/(g/L) ≤ 4
	游离SO ₂ 含量/(mg/L) ≤ 30
微生物指标	大肠菌群/(CFU/mL) ≤ 30
	细菌总数/(CFU/mL) ≤ 50
	致病菌 不得检出

3 结 论

通过单因素试验和中心组合设计试验, 采用响应面分析法优化光核桃果酒发酵工艺条件, 得出优化工艺条件参数为: 初始含糖量18.84%、酵母接种量0.76%、pH3.96。在此条件下, 主发酵结束时酒精体积分数可达11.33%, 所得原酒的品质好。建立的二次多项式线性回归模型能解释约93%响应值的变化, 表明方程拟合程度较好。本实验变异系数为2.14%, 在可接受范围内, 说明实验操作可信, 可以用回归模型代替试验真实点对

光核桃酒发酵的酒精体积分数结果进行分析和预测, 有一定的实用价值。经后发酵与陈酿后所得的光核桃果酒, 酒色金黄, 酒味醇厚甘爽, 气味醇香, 果香突出, 酒体协调。

参考文献:

- [1] 董国正. 光核桃的调查[J]. 中国林副特产, 1991, 18(3): 44-45.
- [2] 钟政昌, 方江平, 普穷. 西藏林芝地区光核桃果实生长规律与产量调查分析[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(22): 12047-12053.
- [3] 钟政昌. 西藏林芝地区光核桃资源生态学研究[D]. 林芝: 西藏农牧学院, 2008.
- [4] 钟政昌, 方江平, 钟国辉. 土壤因子与西藏光核桃果实品质的关系[J]. 林业科技开发, 2009, 23(5): 44-47.
- [5] 蔡长河, 方江平, 钟明, 等. 西藏野桃果的实特性及综合加工利用研究[J]. 食品科学, 2002, 23(11): 73-76.
- [6] 李美桂, 谢钟琛, 郑宇, 等. 西藏果业可持续发展对策[J]. 园艺学报, 2008, 35(6): 899-908.
- [7] 潘力. 食品发酵工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 245-266.
- [8] 赵光鳌. 葡萄酒酿造学: 原理与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [9] 苏凤贤, 曹旭峰, 汪峰, 等. 人参果酒酿造中酿酒酵母的选择[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(14): 129-135.
- [10] 李华. 现代葡萄酒工艺学[M]. 西安: 陕西人民出版社, 1995.
- [11] 周广田, 聂聪, 崔云前. 啤酒酿造技术[M]. 济南: 山东大学出版社, 2004.
- [12] 王励治, 蒋和体. 野生猕猴桃干酒酿造工艺[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 484-487.
- [13] 王华, 李维新. 猕猴桃干酒的降酸研究[J]. 食品科学, 2004, 25(9): 29-31.
- [14] 李华. 葡萄酒酒精发酵的终止[J]. 酿酒, 2006, 33(2): 7-8.
- [15] GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [16] 董华强, 邓煌, 上官国莲, 等. 杨桃果酒酿造工艺研究[J]. 食品科学, 1999, 20(9): 44-46.
- [17] 崔艳. 不同酿造工艺对赤霞珠桃红葡萄酒品质特征的影响[J]. 酿酒科技, 2007(3): 38-40.
- [18] 文进奎, 张健, 冯永巍. 人参果酒白兰地的研制[J]. 食品科学, 2005, 26(增刊1): 215-216.
- [19] 刘凤珠, 牛小明, 陈辉. 雪莲果保健啤酒的研制[J]. 食品工程, 2010(1): 24-26.
- [20] 袁辉, 白云凤, 陈青青. 衢州柑桔果酒生产工艺的研究[J]. 中国酿造, 2010, 24(1): 158-161.