

响应面法优化雪莲果酒发酵工艺

吴竹青^{1,2}, 陈景², 黄群^{1,2}, 黄伟², 陈功锡¹

(1. 吉首大学植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000;

2. 吉首大学食品科学研究所, 湖南 吉首 416000)

摘要: 以雪莲果汁为原料, 采用响应面法优化雪莲果酒发酵工艺条件, 在单因素试验基础上, 雪莲果汁糖度调整至 22%, 选取果酒干酵母接种量、发酵时间、发酵温度、SO₂ 用量为影响因子, 以雪莲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, 雪莲果酒发酵优化工艺条件为: 果酒干酵母接种量 0.45%、发酵时间 14d、发酵温度 28.5℃、SO₂ 用量 57mg/L, 在此优化条件下, 雪莲果酒的酒精体积分数为 11.46%。

关键词: 雪莲果; 果酒; 发酵条件; 响应面分析; 优化

Optimization of Fermentation of Yacon Fruit Wine by Response Surface Methodology

WU Zhu-qing^{1,2}, CHEN Jing², HUANG Qun^{1,2}, HUANG Wei², CHEN Gong-xi¹

(1. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization of Hunan Province, Jishou University, Jishou 416000, China;

2. Institute of Food Science, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: The yacon juice was utilized as raw material to brew fruit wine. Response surface methodology (RSM) was applied to optimize the fermentation conditions of Yacon fruit wine. Based on single factor experiment, sugar concentration of the fruit juice was adjusted to 22%, and the inoculating amount of yeast, fermentation time, temperature and quantity of sulfur dioxide used were chosen as influencing factors, and the alcoholicity was selected as response value and the mathematical model was established by Box-behnken central composite design. The optimal fermentation conditions were determined as follows: inoculating amount of yeast 0.45%, fermentation time 14 days, fermentation temperature 28.5 °C and sulfur dioxide 57 mg/L. Under this optimal condition, the alcoholicity was 11.46% (V/V).

Key words: yacon; fruit wine; fermentation conditions; response surface analysis; optimization

中图分类号: TS 261.4; TS 262.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0182-06

雪莲果又称雅贡、雪莲薯等, 雪莲果鲜果含有丰富的低聚果糖和水溶性膳食纤维, 低聚果糖的含量约占果实干基的 45%~46%, 低聚果糖的含量会随着贮存时间和条件的变化而下降, 此外, 雪莲果还含有丰富的果糖、葡萄糖和蔗糖等糖类, 钾、钙、锌、硒、铁等矿物质以及酚酸、类黄酮、萜类等活性成分。雪莲果具有调节肠胃、排毒通便、抗氧化、延缓衰老和提高机体免疫力等多种保健功效^[1-4]。目前, 雪莲果以鲜食为主, 精深加工尚处于初级阶段, 对其综合利用的研究主要有果脯、果糕、冰淇淋、果醋、啤酒、复合饮料、发酵饮料和果酒等相关生产工艺技术研究^[5-13]。本研究旨在探讨影响雪莲果酒发酵的诸因素, 采用响应面分析法对酿造工艺参数进行优化, 为雪莲果酒的生产

提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雪莲果汁: 本实验所用新鲜雪莲果由湘西自治州生态富硒雪莲果开发基地提供, 经榨汁处理得到雪莲果汁; 安琪果酒专用活性干酵母由湖北安琪酵母股份有限公司提供; 白砂糖(食品级); 偏重亚硫酸钾(分析纯)。

1.2 仪器与设备

XC-JP200 型离心式榨汁机 江苏南通荣慧机械有限公司; GUJS-7 发酵系统 镇江东方生物工程设备技术有限责任公司; SPX-250B-Z 型生化培养箱 上海博迅实业

收稿日期: 2010-09-15

基金项目: 2009 年植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室开放项目(JSK200905)

作者简介: 吴竹青(1964—), 女, 高级实验师, 本科, 研究方向为食物资源开发与利用。E-mail: wuzhuqing093@126.com

有限公司; WYT 型手持糖度计 成都光学仪器厂; JA5103N 高精度电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司; 酒精计及酒精蒸馏装置等。

1.3 方法

1.3.1 雪莲果果汁糖度调整

本实验所用雪莲果果汁固形物含量 13.5%, 还原糖含量 7.5%, 自身发酵的酒精度过低, 为使果酒成品具有一定的酒精度, 发酵初期一次性补充糖分, 用蔗糖调整糖度, 使果汁还原糖含量达 22% 左右。

1.3.2 雪莲果酒发酵工艺流程

雪莲果→清洗、去皮→护色处理→离心榨汁→加果胶酶酶解→分离过滤→糖度调整→杀菌灭酶→主发酵→分离酒脚→后发酵→分离酒脚→陈酿→澄清→灌装→杀菌→冷却→雪莲果酒成品

1.3.3 指标测定方法

糖度测定: 手持折光仪法; 酒精体积分数测定: 酒精计法^[14]; 还原糖测定: 斐林试剂法; 酸度测定: 酸碱滴定法; SO_2 测定: 按照 GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》^[14]。

1.3.4 影响雪莲果酒发酵效果的因素试验

1.3.4.1 果酒干酵母接种量的影响

将雪莲果汁糖度调整为 22%, 发酵温度 28℃, SO_2 用量 60mg/L, 分别在 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7g/100mL 不同果酒干酵母接种量条件下, 发酵 10d, 探讨果酒干酵母接种量对雪莲果酒发酵效果的影响。

1.3.4.2 发酵时间的影响

将雪莲果汁糖度调整为 22%, 发酵温度 28℃, SO_2 用量 60mg/L, 果酒干酵母接种量 0.5g/100mL, 进行不同发酵时间的单因素试验, 探讨发酵时间对雪莲果酒发酵效果的影响。

1.3.4.3 发酵温度的影响

将雪莲果汁糖度调整为 22%, SO_2 用量 60mg/L, 果酒干酵母接种量 0.5g/100mL, 分别在 26、28、30、32℃ 不同温度条件下进行发酵, 发酵 10d, 探讨发酵温度对雪莲果酒发酵效果的影响。

1.3.4.4 SO_2 用量的影响

将雪莲果汁糖度调整为 22%, 发酵温度 28℃, 果酒干酵母接种量 0.5g/100mL, 分别使用 30、40、50、60、70、80、90mg/L 不同 SO_2 添加量, 本实验采用添加偏重亚硫酸钾, 并换算成 SO_2 添加量, 发酵 10d, 探讨 SO_2 用量对雪莲果酒发酵效果的影响。

1.3.5 雪莲果酒发酵工艺条件优化

在单因素试验的基础上, 根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 选择发酵温度(X_1)、 SO_2 用量(X_2)、果

酒干酵母接种量(X_3)和发酵时间(X_4)为自变量, 以产品的酒精体积分数为响应值, 采用响应面分析法, 对雪莲果酒发酵工艺条件参数进行优化^[15-18]。

2 结果与分析

2.1 影响雪莲果酒发酵效果的因素试验

2.1.1 果酒干酵母接种量的影响

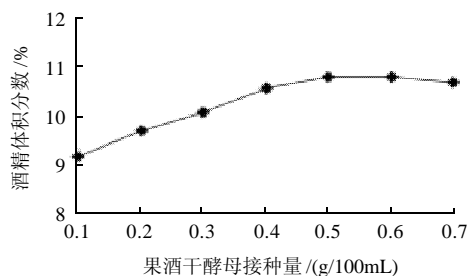


图1 果酒干酵母接种量对酒精体积分数的影响

Fig.1 Effects of yeast inoculating amount on alcoholicity in fruit wine

由图1可知, 当果酒干酵母接种量较小时, 自身繁殖代谢慢, 杂菌生长快, 导致原料代谢成酒精不完全, 酒精含量低, 酒质不协调; 当酵母接种量过大时, 酵母菌繁殖过旺, 本身需要消耗大量的糖分, 酒精含量反而降低; 当接种量为 0.5g/100mL 时, 酒精含量较高, 酒体品质较好; 因此选择果酒干酵母接种量为 0.5g/100mL 左右较为恰当。

2.1.2 发酵时间的影响

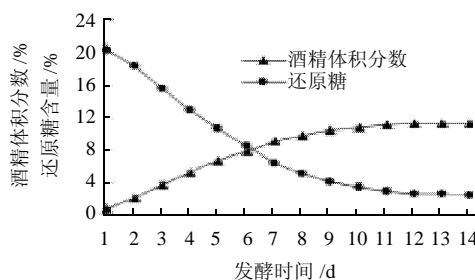


图2 发酵时间对酒精体积分数和还原糖含量的影响

Fig.2 Effects of fermentation time on alcoholicity and reducing sugars

由图2可知, 随着发酵时间的延长, 醪液还原糖含量逐渐降低, 酒精体积分数逐渐增大, 发酵前 7d, 酒精体积分数增加和还原糖降低较快, 发酵速体积分数较快; 之后发酵速度趋于缓慢, 在发酵第 12 天时, 酒精体积分数达到 11.4%, 还原糖含量 2.6% 左右, 酒精发酵基本接近终点, 所以选择发酵时间 12d 左右较为适宜。

2.1.3 发酵温度的影响

主发酵温度是影响发酵时间和果酒风味的主要因素。28~32℃是酵母的最佳活力温度范围,温度越高,所需的发酵时间相对越短,但发酵温度过高会产生较明显的不良发酵味,影响果酒的口感和品质;在相对较低温度下发酵有利于提高果酒的品质,如口感及香气成分形成等^[17]。

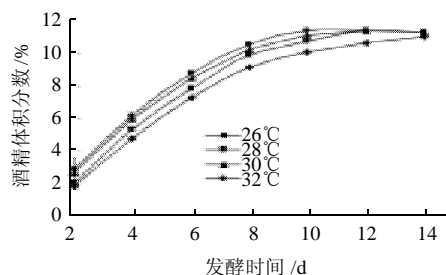


图3 发酵温度对酒精体积分数的影响

Fig.3 Effects of fermentation temperature on alcoholicity

由图3可知,随着发酵温度的升高,产酒精速度加快,当主发酵温度为28℃时,发酵比较平稳,易于控制,雪莲果酒的口感和品质较好,同时发酵速度亦较快。因此选择发酵温度为28℃较合理。

2.1.4 SO₂用量的影响

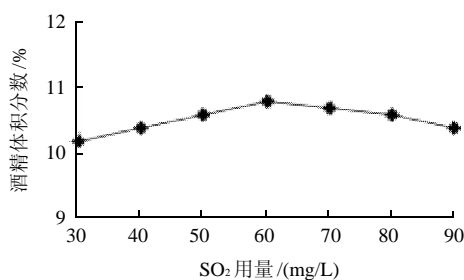


图4 SO₂用量对酒精体积分数的影响

Fig.4 Effects of SO₂ amount on alcoholicity

由图4可知,SO₂用量60mg/L时,酒精体积分数达到10.8%,且原酒的品质较好;SO₂用量较低会导致杂菌的繁殖,从而影响发酵;SO₂用量过高,虽可较好的抑制杂菌生长,但也会对酵母菌的发酵产生抑制作用,故选择SO₂适宜用量为60mg/L左右。

2.2 Box-Behnken 中心组合设计试验及响应面法优化发酵工艺

2.2.1 Box-Behnken 试验设计方案及试验结果

在上述已进行的4个单因素试验的基础上,根据

Box-Behnken 的中心组合设计原理,选择发酵温度(X_1)、SO₂用量(X_2)、果酒干酵母接种量(X_3)和发酵时间(X_4)作为响应面优化的考察因素,以产品酒精体积分数为响应值,设计四因素三水平试验,因素水平见表1,试验结果见表2。

表1 Box-Behnken 试验因素水平表

Table 1 Variables and levels in Box-Behnken central composite design

编码值	X_1 发酵温度/℃	X_2 SO ₂ 用量/(mg/L)	X_3 酵母接种量/(g/100mL)	X_4 发酵时间/d
+1	30	70	0.6	13
0	28	60	0.5	12
-1	26	50	0.4	11

表2 Box-Behnken 试验设计方案及结果

Table 2 Results of Box-Behnken central composite design

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	酒精体积分数/%
1	-1	-1	0	0	8.6
2	-1	1	0	0	8.4
3	1	-1	0	0	10.5
4	1	1	0	0	9.5
5	0	0	-1	-1	10.6
6	0	0	-1	1	11.1
7	0	0	1	-1	10.8
8	0	0	1	1	11.1
9	-1	0	0	-1	9.4
10	-1	0	0	1	9.9
11	1	0	0	-1	10.6
12	1	0	0	1	11
13	0	-1	-1	0	10.5
14	0	-1	1	0	10.3
15	0	1	-1	0	9.5
16	0	1	1	0	9.3
17	-1	0	-1	0	9.2
18	-1	0	1	0	9.3
19	1	0	-1	0	10.7
20	1	0	1	0	10.5
21	0	-1	0	-1	10.4
22	0	-1	0	1	11.1
23	0	1	0	-1	9.8
24	0	1	0	1	10.1
25	0	0	0	0	11.3
26	0	0	0	0	11.5
27	0	0	0	0	11.4

2.2.2 模型的建立及显著性检验

利用SAS 8.1软件对表2中试验数据进行二次线性回归拟合,得到数学模型为:

$$Y = 11.4 + 0.66667X_1 - 0.4X_2 - 0.025X_3 + 0.225X_4 - 1.091667X_1^2 - 0.2X_1X_2 - 0.075X_1X_3 - 0.025X_1X_4 - 1.041667X_2^2 - 0.1X_2X_4 - 0.429167X_3^2 - 0.05X_3X_4 - 0.054167X_4^2$$

对模型进行回归分析。

表 3 回归统计分析表

Table 3 ANOVA for the regression response surface model

系数来源	平方和	自由度	均方	F值	Prob > F	显著性
模型	17.76	14	1.27	37.36	< 0.0001	**
X_1	4.81	1	4.81	141.74	< 0.0001	**
X_2	8.84	1	8.84	93.56	< 0.0001	**
X_3	0.0075	1	0.0075	0.22	0.6468	
X_4	0.61	1	0.61	17.89	0.0012	**
X_1X_2	0.16	1	0.16	4.71	0.0507	
X_1X_3	0.09	1	0.09	2.65	0.1295	
X_1X_4	0.00	1	0.00	0.00	1.0000	
X_2X_3	0.00	1	0.00	0.00	1.0000	
X_2X_4	0.04	1	0.04	1.18	0.2991	
X_3X_4	0.0025	1	0.0025	0.074	0.7907	
X_1^2	5.93	1	5.93	174.53	< 0.0001	**
X_2^2	5.93	1	5.93	174.53	< 0.0001	**
X_3^2	0.82	1	0.82	24.09	0.0004	**
X_4^2	0.045	1	0.045	1.32	0.273	
残差	0.41	12	0.034			
失拟	0.39	10	0.039	3.88	0.2225	不显著
净误差	0.02	2	0.01			
总误差	18.17	26				
相关系数(R^2)	0.9776					
调整复相关系数(R^2_{adj})	0.9514					

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

由表 3 可知, 模型极显著($P < 0.0001$), 因变量与所考察自变量之间的线性关系显著($R^2=0.9776$), 模型调整确定系数 $R^2_{adj}=0.9514$, 说明该模型能解释 95.14% 响应值的变化, 拟合程度较好, 失拟项不显著($P > 0.05$), 说明本试验所得二次回归方程能很好地对响应值进行预测。一次项 X_1 、 X_2 、 X_4 及二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 表现为极显著, 说明它们对响应值影响大。

2.2.3 响应面分析及优化

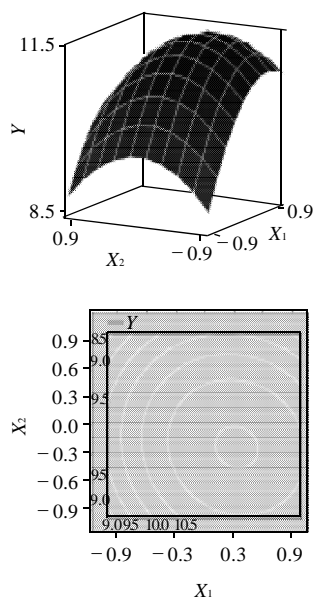
图 5 $Y=f(X_1, X_2)$ 的响应面和等高线图

Fig.5 Response surface and contour for the alcoholicity under different fermentation temperature and quantity of sulfur dioxide

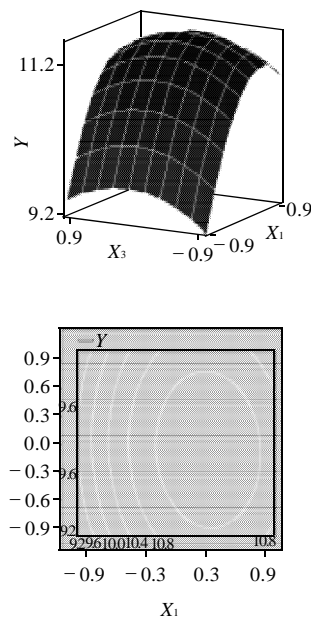
图 6 $Y=f(X_1, X_3)$ 的响应面和等高线图

Fig.6 Response surface and contour for the alcoholicity under different fermentation temperature and inoculating amount of yeast

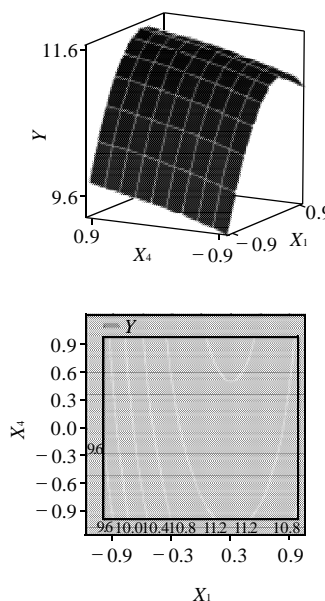
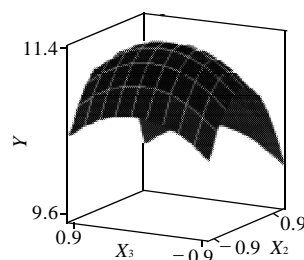
图 7 $Y=f(X_1, X_4)$ 的响应面和等高线图

Fig.7 Response surface and contour for the alcoholicity under different fermentation temperature and fermentation time



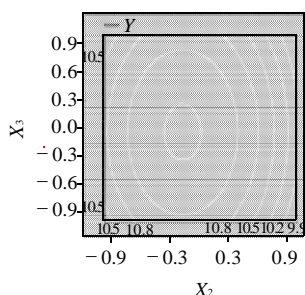
图8 $Y=f(X_2, X_3)$ 的响应面和等高线图

Fig.8 Response surface and contour for the alcoholicity under different quantity of sulfur dioxide and inoculating amount of yeast

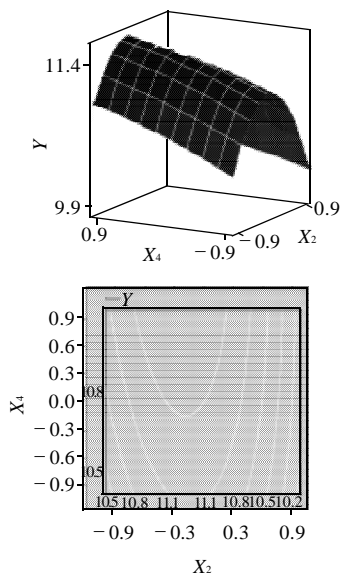
图9 $Y=f(X_2, X_4)$ 的响应面和等高线图

Fig.9 Response surface and contour for the alcoholicity under different quantity of sulfur dioxide and fermentation time

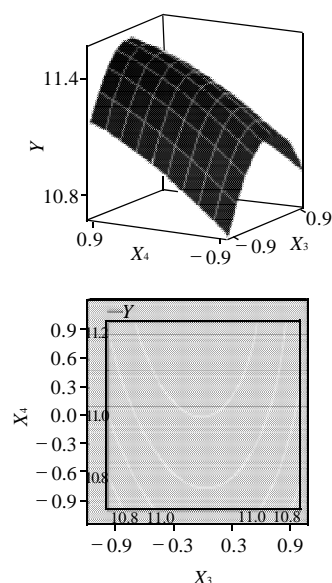
图10 $Y=f(X_3, X_4)$ 的响应面和等高线图

Fig.10 Response surface and contour for the alcoholicity under different inoculating amount of yeast and fermentation time

由图5~10可知,所选因素对响应值影响强弱次序为:发酵温度>SO₂用量>果酒干酵母接种量>发酵时间。

为确定最佳响应值的因素水平组合,对数学回归模型求一阶偏导,得出优化条件: $X_1=0.31549$, $X_2=-0.337812$, $X_3=-0.445$, $X_4=2.4068$,此时 $Y=11.58$,即酒精体积分数的理论预测值为11.58%;利用编码公式 $X_i = \frac{x_i - x_0}{\Delta_j}$ 将上述编码值转变为实际参数为:发酵温度28.63098℃、SO₂用量56.62188mg/L、果酒干酵母接种量0.4555g/100mL、发酵时间14.4068d。考虑实际操作性,将发酵工艺参数修正为:发酵温度28.5℃、SO₂用量57mg/L、果酒干酵母接种量0.45%、发酵时间14d。

2.2.4 验证性实验

在优化条件下,产品酒精含量的理论预测值为11.58%。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雪莲果酒发酵实验,3组平行实验的结果分别为11.52%、11.41%、11.45%,平均值为11.46%,与理论预测值仅相差0.12%。因此,采用响应面分析法优化得到的雪莲果酒发酵工艺条件参数准确可靠,具有一定的实用价值。

2.3 雪莲果酒的陈酿与澄清

雪莲果酒主发酵结束后,分离酒脚,分别进行15~20d后发酵和90d以上的陈酿,所得酒液的酒精体积分数在11%~12%,残糖量≤4.0g/L;然后采用皂土下胶法,对原酒进行澄清处理,用0.5~0.6g/L的皂土下胶,可以获得较好的澄清效果。采用本实验条件酿制所得的雪莲果酒色泽淡黄,具有爽怡的口味和独特的雪莲果果香,澄清透明,酒体完整,典型性突出。

2.4 雪莲果酒褐变问题的解决

在雪莲果酒酿造过程中,抑制褐变的产生是关键技术之一,可以采用果汁护色处理、杀菌灭酶,控制相对较低的发酵温度,添加适量SO₂,满缸陈酿、密封,减少酒液与空气的接触,以及加入澄清剂来降低果酒中单宁、酚类物质含量等多种措施,雪莲果酒的氧化褐变、品质下降问题可以得到较好地解决。

2.5 雪莲果酒质量指标

2.5.1 感官指标

色泽:淡橘黄色,透明清亮,光泽度好;口味:清爽,醇厚丰满,柔和怡人;香气:雪莲果果香馥郁,无异味;典型性:酒性协调,酒体完整,典型性突出。

2.5.2 理化指标

酒精体积分数:11%~12%;还原糖含量(以葡萄糖计)≤4g/L;游离SO₂含量≤50mg/L。

2.5.3 微生物指标

大肠菌群 ≤ 30 个/L, 细菌总数 ≤ 50 个/mL, 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雪莲果酒发酵工艺条件, 得出优化工艺条件参数为: 发酵温度 28.5°C 、 SO_2 用量 57mg/L 、果酒干酵母接种量 0.45% 、发酵时间 14d 。在此条件下, 产品酒精体积分数可达 11.46% , 所得原酒的品质好。在本实验范围内建立的二次线性回归模型准确有效, 可用来预测设定条件范围内及其周围的雪莲果酒发酵工艺参数, 对实验拟合较好, 有一定的实用价值。发酵所得的雪莲果酒, 雪莲果果香浓郁, 是一种营养丰富的保健型果酒, 开发前景广阔。

参考文献:

- [1] 金文闻, 余龙江, 孟思进, 等. 亚贡的植物学及其药理作用研究概况[J]. 中草药, 2006, 37(4): 633-636.
- [2] 钱林, 丁长河, 李里特, 等. 雪莲果的化学组分及其功能特性[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(6): 179-180.
- [3] 吕明生, 徐兴权, 王淑军. 雪莲薯的营养功能和加工利用[J]. 淮海工学院学报, 2004, 13(1): 56-58.
- [4] 李卓亚. 雪莲果化学成分及其药理作用的研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 9(6): 41-43.
- [5] 华景清, 蔡健. 雪莲果保健冰淇淋的研制[J]. 食品科技, 2008, 33(12): 83-84.
- [6] 吴竹青, 黄群, 傅伟昌, 等. 低糖雪莲果脯的生产工艺[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 440-443.
- [7] 黄群, 吴竹青, 孙术国, 等. 雪莲果醋饮料关键工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 178-181.
- [8] 罗水忠, 郑志, 潘利华, 等. 雪莲果乳酸菌发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 2009, 30(22): 387-390.
- [9] 李赤翎, 俞建, 许凯扬, 等. 雪莲果果汁饮料的研制[J]. 食品工业科技, 2007, 28(4): 186-187.
- [10] 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.
- [11] 吴龙英, 吴翔, 杜兵. 雪莲果、芦荟混合发酵酒的研制[J]. 酿酒, 2008, 35(1): 78-81.
- [12] 阚欢, 郭娱良, 李贤忠. 雪莲果果酒酿造工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2009(3): 300-302.
- [13] 吴龙英, 吴翔, 王宜文, 等. 雪莲果、芦荟复合汁饮料的研制[J]. 饮料工业, 2008, 11(4): 32-35.
- [14] 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.
- [15] 麻成金, 李加兴, 付伟昌, 等. 枇杷果酒酿造工艺研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 54-56.
- [16] 范兆军, 牛广财, 朱丹, 等. 响应面法优化沙棘果酒发酵条件的研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 41-45.
- [17] 袁辉, 白云凤. 中心组合和响应面分析优化枇杷果酒发酵工艺[J]. 中国酿造, 2010(2): 103-106.
- [18] 袁辉, 白云凤, 毛建卫, 等. 中心组合和响应面法优化衢州柑桔果酒生产工艺[J]. 中国食品学报, 2010, 10(3): 143-151.