

柿子酒液态发酵工艺条件优化研究

陈珍金^{1,2}, 刘绘鹏^{1,3}, 郭伟灵^{1,4}, 周文斌^{1,4}, 黄梓芮^{1,4}, 蒋雅君^{1,4}, 吕旭聪^{1,4*}

(1. 福建农林大学国家菌草工程技术研究中心, 福建福州 350002; 2. 福建农林大学材料工程学院, 福建福州 350002; 3. 福建省永春县市场监督管理局, 福建永春 362600; 4. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002)

摘要 [目的]为提高柿子资源利用率,对柿子酒发酵工艺条件进行优化研究。[方法]该试验以柿子为主要原料,探究不同防褐变剂及添加量对柿子浆褐变的影响,并比较固态发酵和液态发酵2种发酵方式酿制柿子酒对其品质的影响。[结果]最佳的防褐变剂为柠檬酸1%;酒精发酵工艺的最佳方法为液态酒精发酵,其最优工艺参数为温度30℃、发酵天数7d、接种量0.3g/L、糖度200g/L和pH3.5。在此条件下酿造出的柿子酒,色泽明亮橙黄、柿香愉悦、酸味纯正、澄清透明、营养丰富。[结论]研究可为增加柿子的附加值,促进农业经济发展提供理论依据。

关键词 柿子酒;防褐变;固态发酵;液态发酵;酒精发酵工艺优化

中图分类号 TS261.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)27-0103-04

Study on the Optimization of Liquid Fermentation Conditions for Persimmon Wine

CHEN Zhen-jin^{1,2}, LIU Hui-peng^{1,3}, GUO Wei-ling^{1,4}, LÜ Xu-cong^{1,4*} et al (1. Institute of Engineering Science and Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 2. School of Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 3. Yongchun County Market Supervision and Administration Bureau, Yongchun, Fujian 362600; 4. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract [Objective] In order to improve the utilization rate of persimmon resources, the optimization of fermentation conditions of persimmon wine was studied. [Method] Taking persimmon as the main raw material, the effects of different browning agents and adding amount on the browning of persimmon pulp were investigated. The effects of different kinds of anti-browning agents and adding amount on the browning of persimmon pulp were studied. The effects of different fermentation methods and fermentation on the quality of persimmon were studied. [Result] It showed that the best anti browning agent 1% citric acid; the optimum technological parameters were as follows: temperature 30℃, fermentation days 7 days, inoculation amount 0.3 g/L, and the optimum fermentation conditions were as follows: the optimum temperature was 30℃, the fermentation days were 7 d, the inoculation amount was 0.3 g/L, sugar content 200 g/L and pH 3.5. Under these conditions, the persimmon wine was bright, orange and persimmon, pleasant and pure acidity, clear and transparent, rich in nutrition. [Conclusion] The research can provide theoretical basis for increasing the added value of persimmon and promoting the development of agricultural economy.

Key words Persimmon wine; Anti-browning; Solid state fermentation; Liquid fermentation; Alcohol fermentation process optimization

柿子,又名米果、猴枣、镇头迦,柿科柿属植物,现主要分布在中国、韩国、日本和其他亚洲国家^[1-2]。柿子具有丰富的生物活性物质,如甘露醇、果糖、五环三萜类化合物、维生素和大量的鞣质等成分,可以做成高档调味品、柿子酒和各种保健品等^[3-5]。但是柿果在储运中易软化,丰产不丰收,且由于柿子中单宁物质含量较高,属于不具有酯类性质的缩合型鞣酸,受氧化酶系的作用能缩合成更高分子的根皮鞣红,变为暗褐色,存在褐变这一难题,造成柿子价值无法真正被利用^[6]。

果酒是采用含一定量糖分和水分的葡萄、苹果等果实为原料,经过一系列加工处理,陈酿或者调制而成的含酒精饮料^[7-8]。以柿子为原料酿造而成的柿子酒,具有柿子独特的酒色和柿子果香,香气诱人、酸甜可口、丰满柔和,具有促进消化和生津健脾等功效^[9-10]。但柿子含有大量单宁、多酚、果胶等,在柿子经过破碎、压榨后易导致柿子浆褐变,并会由于采取不适当的酒精发酵或发酵工艺参数,造成柿子酒品质和营养价值下降^[11-12]。笔者以柿子为主要原料,对柿子浆

防褐变、酒精发酵方式进行研究,并对柿子酒液态酒精发酵工艺进行优化,酿制出了柿香愉悦、产品稳定、营养丰富的柿子酒,丰富了我国的果酒市场,为提高柿子资源利用率,增加其附加值,促进农业经济发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与主要试剂。柿子,龙岩市诚心村秦坤货站提供;活性干酵母,郑州华峰食品科技有限公司;果胶酶(5万U/g),诺维信(中国)生物技术有限公司;正丙醇(色谱纯),国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备。WSC-S测色色差计、WAY型阿贝折射仪、ZD-2型自动电位滴定仪,上海精密科学仪器有限公司;SHB-Ⅲ循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;HZP-150型全温振荡培养箱,上海精宏实验设备有限公司;V-1200型可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;YXQ-LS-30型立式压力蒸汽灭菌锅,上海博迅实业有限公司;DHG-9123A型电子天平,北京赛多利斯天平有限公司;GC4000A型高效气相色谱仪,北京东西门电子技术有限公司;XW-80A微型旋涡混合仪,上海沪西分析仪器厂有限公司;TGL-16C台式离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 工艺流程。

1.2.1.1 固态发酵柿子酒工艺流程。原料选择→清洗→打

基金项目 国家自然科学基金项目(31601466);福建省自然科学基金面上项目(2016J01095);中国博士后科学基金项目(2016T90591);福建农林大学“校杰出青年科研人才”项目(XJQ201607)。

作者简介 陈珍金(1994—),女,福建莆田人,本科生,专业:食品生物技术。*通讯作者,助理研究员,博士,从事食品生物技术研究。

收稿日期 2017-07-21

浆→防褐变→加酶出汁→调整糖酸度→杀菌冷却→酒精发酵→成品榨汁→陈酿→过滤澄清→灌装杀菌。

1.2.1.2 液态发酵柿子酒工艺流程。原料选择→清洗→打浆→防褐变→加酶榨汁→调整糖酸度→杀菌冷却→榨汁→澄清→柿子果汁→酒精发酵→过滤澄清→陈酿→灌装杀菌。

1.2.2 操作要点。加酶榨汁:向柿浆中加入适量果胶酶,保温 45 ~ 50 ℃,酶解 2 ~ 3 h,当果浆变稀即可榨汁过滤、去渣。

调整糖酸度:进入酒精发酵前,先要调整柿汁含糖量及酸度,用蔗糖调整柿汁糖度,用柠檬酸调整酸度,将柿子汁的糖度调节为 20%、酸度调节到 3.5 ~ 4.0。

酒精发酵:在无菌环境中加入 3% 活性干酵母,置于 28 ℃ 进行发酵。

澄清:发酵结束,加入适量的澄清剂(明胶),使用离心机进行澄清处理。

1.2.3 防褐变研究方法。该研究采用抗坏血酸、柠檬酸、L-半胱氨酸、草酸进行防褐变试验,添加不同水平的药品进行对比试验,用 WSC-S 测色色差计跟踪测定亮度值 L ,根据最初的 L 值与最后的 L 值可计算出每组试验的防褐变率:

$$\text{防褐变率} = (1 - \frac{L_{\text{空}0} - L_{\text{防}t}}{L_{\text{空}0} - L_{\text{空}t}}) \times 100\%$$

式(1)中, $L_{\text{空}0}$ 为空白组 0 h 时的 L 值; $L_{\text{防}t}$ 为添加防褐变剂 t 时的 L 值; $L_{\text{空}t}$ 为空白组 t 时的 L 值。

1.2.4 柿子酒液态酒精发酵正交试验设计。选取酒精发酵过程所涉及的 5 个关键因素,包括原料糖度(A)、pH(B)、发酵温度(C)、酵母接种量(D)和发酵天数(E),根据预试验单因素试验确定其因素范围,以酒精度为评价指标,进行 $L_{16}(4^5)$ 正交试验优化柿子酒酒精发酵工艺条件,各因素和水平设计见表 1。

表 1 柿子酒液态酒精发酵正交试验因素及水平
Table 1 Factors and levels of orthogonal test for liquid alcoholc fermentation of persimmon wine

水平 Level	因素 Factor				
	糖度(A) Sugar//g/L	pH(B)	发酵温度(C) Fermentation temperature//℃	干酵母量(D) Dry yeast dosage//g/L	天数(E) Days//d
1	145	3.5	18	0.1	3
2	160	3.8	22	0.2	5
3	180	4.2	26	0.3	7
4	200	4.6	30	0.4	9

1.2.5 检测方法。酒精度测定:高效气相色谱法,以正丙醇为内标物,采用内标法进行定量;总糖测定:采用阿贝折射仪测定^[13];总酸测定:采用滴定法^[14]。

2 结果与分析

2.1 柿子浆防褐变工艺优化 该试验根据市场上常用的防褐变剂,采用 4 种防褐变剂(抗坏血酸、柠檬酸、L-半胱氨酸、草酸)添加到经过打浆的柿子汁中,在不同时间(0、12、24、36、48 和 60 h)测定其 L 值,对其进行比较,筛选出合适的防褐变剂及其添加量。由图 1 可知,不同防褐变剂随着浓度的升高, L 值下降得越少,表明防褐变效果越好,其中 L-半胱氨酸本身带有异味,添加到柿子汁中,影响到柿子汁的风味。防褐变剂添加过多,不仅增加成品成本,更有甚者会破坏产品的风味及其营养价值。L-半胱氨酸和抗坏血酸抑制柿子汁褐变相对其他 2 种防褐变剂效果差,其中 L-半胱氨酸处理还能够与酚类物质形成复合物,抑制褐变进程,但 L-半胱氨酸本身带有异味,添加到柿子汁中,影响到柿子汁的风味^[15]。抗坏血酸通过将有色物质邻二醌还原成无色物质邻二酸,达到抑制褐变作用,若在果汁中添加过量抗坏血酸,果汁存放过程中易发生非酶褐变^[16-17]。草酸抑制多酚氧化酶(PPO)与浓度有关,浓度逐渐高,其抑制强度也增强。研究表明,草酸对 PPO 的抑制属于竞争性抑制,果汁中存在草酸不仅会降低溶液 pH,还会造成果汁酸涩影响其品质^[18-19]。柠檬酸在抑制酶促褐变可能在于本身具有酸性,添加到果汁降低体系 pH,或者作为螯合剂与 PPO 解离出的

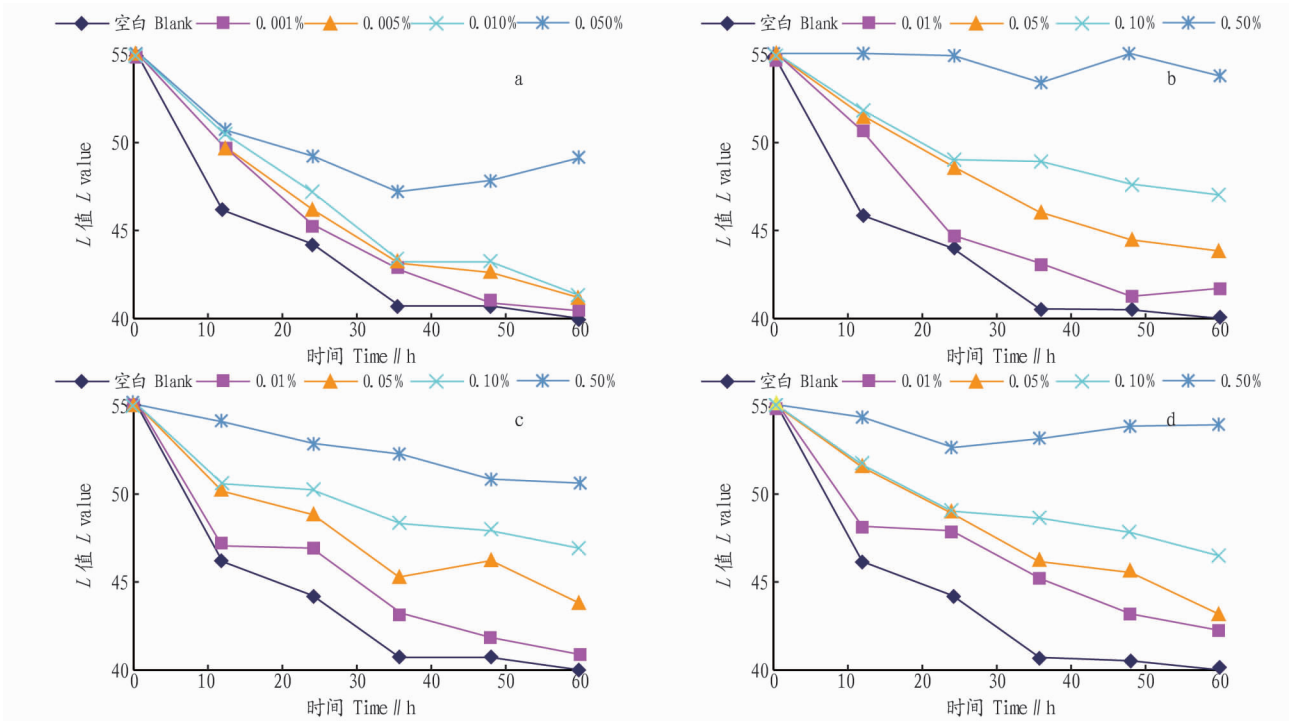
铜离子结合,降低 PPO 活性^[18]。添加 5% 柠檬酸可以有效地抑制柿子汁褐变,其抑制褐变率为 90.7%,能有效地抑制褐变。综合考虑防褐变能力和经济效应等,最终选 1% 柠檬酸作为柿子汁的防褐变剂。

2.2 柿子酒酒精发酵工艺的选择 根据柿子酒酒精发酵工艺的不同,可分为液态发酵和固态发酵。该研究探究液态发酵和固态发酵中总糖与酒精度的变化。首先按液态发酵处理步骤处理柿子原料,添加 1% 的柠檬酸、稀释果胶酶 0.02 ~ 0.04 mL/kg 柿子浆,将柿子汁的糖度调节为 20%、酸度(pH)调节到 3.5 ~ 4.0,在无菌环境中加入 3% 活性干酵母,置于 28 ℃ 进行发酵;固态发酵按固态发酵处理步骤处理柿子原料,然后进行与液态发酵相同处理。

由图 2 可知,随着发酵天数的增加,柿子汁中总糖逐渐下降,酒精度逐渐上升,第 9 天后,柿子汁中总糖基本保持不变,酒精度也处于持平状态。原因可能是柿子汁中的糖类大部分作为无氧呼吸的原料,转化为酒精、水和少量的二氧化碳,少量多糖无法被分解,只能以多糖的形式继续存在于柿子汁中。固态发酵总糖下降速度相对液态发酵慢,酒精发酵速度也相对较慢,固态发酵在第 10 天时,柿子汁中总糖含量相对高于液态发酵,分别为 7.0 和 5.7 g/L,而酒精度相对较低于液态发酵,分别为 9% 和 10%。经初步感官鉴定,固态发酵和液态发酵所得产品分别过滤除涩,固态发酵产品涩味相对液态发酵产品重,且色泽偏淡黄,液态发酵产品虽存在少量涩味,但其呈现橙黄色,产品更加具有吸引力。然而,柿子汁

固态发酵生产设备简单粗放,在操作过程中极易被杂菌所感染,造成生产成本低、出品率低和具有不良风味,而液态发酵具

有易于控制发酵条件、缩短发酵周期、提高出品率等优点^[20]。综合考虑,酒精发酵工艺的最佳方法为液态酒精发酵。



注:a.添加L-半胱氨酸;b.添加草酸;c.添加抗坏血酸;d.添加柠檬酸
Note: a. added L-cysteine;b. added oxalic acid;c. added ascorbic acid;d. added citric acid

图1 不同防褐变剂对柿子紫色差L值的影响
Fig.1 Effect of different anti browning agents on color difference L value of persimmon pulp

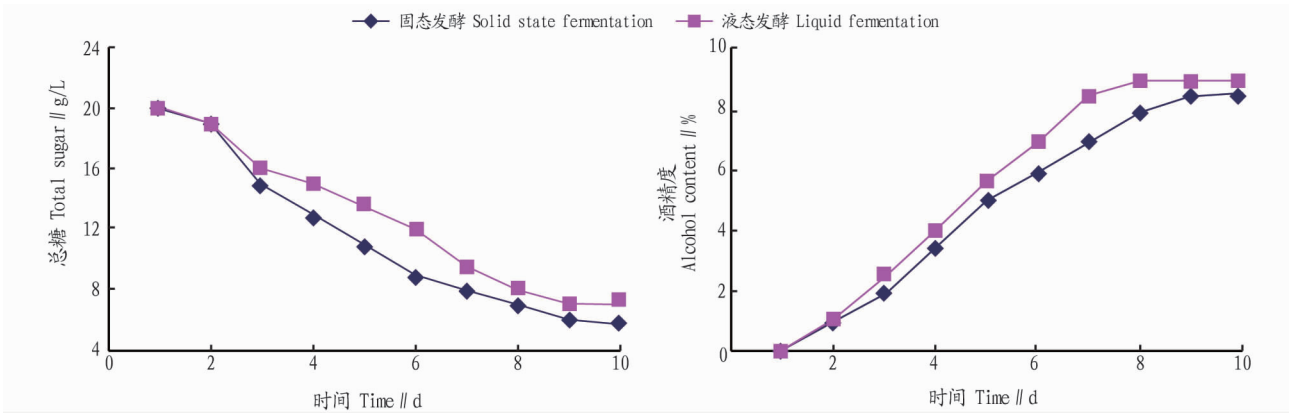


图2 不同酒精发酵工艺对总糖和酒精度的影响
Fig.2 Effects of different alcohol fermentation processes on total sugar and alcohol content

2.3 柿子酒酒精发酵工艺优化 在预试验单因素试验结果的基础上,选取以糖度(A)、pH(B)、温度(C)、干酵母接种量(D)和天数(E)为自变量,以酒精度为评价指标,进行 $L_{16}(4^5)$ 正交试验优化柿子酒酒精发酵工艺条件,结果见表2。

由表2极差值(R)分析可知,影响柿子酒发酵工艺的因素效应大小顺序依次为发酵温度、发酵天数、酵母接种量、原料糖度、发酵pH,最优组合为 $C_4E_3D_3A_4B_1$,即温度30℃、发酵天数7d、干酵母接种量0.3g/L、糖度200g/L、pH3.5。

3 结论

该试验通过比较不同防褐变剂及其添加量,获得柿子酒

加工工艺的最优参数为:添加1%的柠檬酸作为柿子汁的防褐变剂;通过固态酒精发酵与液态酒精发酵相比较,因液态酒精发酵在较短时间内消耗较多总糖、产生较多酒精,易于控制发酵条件,色泽橙黄、澄清透明,所以酒精发酵工艺的最佳方法为液态酒精发酵。且通过正交试验确定柿子酒液态酒精发酵的最优工艺参数为温度30℃、发酵天数7d、干酵母接种量0.3g/L、糖度200g/L和pH3.5。

随着生活水平的提高,人们对绿色食品、有机食品的认识度不断提高,都市人群合理、健康的饮食观念在逐步确立。在竞争激烈的酒精饮料市场,果酒饮料开启了酒精饮料市场健康的新风潮,其市场优势将日益显现。

表2 柿子酒发酵工艺条件优化正交试验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiments optimization of fermentation conditions of persimmon wine

试验号 Test No.	因素 Factor					酒精度 Alcohol content // %
	A	B	C	D	E	
1	1	1	1	1	1	0.08
2	1	2	2	2	2	1.01
3	1	3	3	3	3	8.79
4	1	4	4	4	4	7.79
5	2	1	2	3	4	7.62
6	2	2	1	4	3	0.80
7	2	3	4	1	2	8.03
8	2	4	3	2	1	3.73
9	3	1	3	4	2	6.86
10	3	2	4	3	1	8.71
11	3	3	1	2	4	0.92
12	3	4	2	1	3	5.78
13	4	1	4	2	3	11.24
14	4	2	3	1	4	9.62
15	4	3	2	4	1	1.49
16	4	4	1	3	2	3.53
K ₁	17.67	25.80	5.33	23.51	14.01	
K ₂	20.18	20.14	15.90	16.90	19.43	
K ₃	22.27	19.23	29.00	28.65	26.61	
K ₄	25.88	20.83	35.77	16.94	25.95	
R	2.05	1.64	7.61	2.93	3.15	

参考文献

[1] LEE S O, CHUNG S K, LEE I S. The antidiabetic effect of dietary persimmon (*Diospyros kaki* L. Cv. Sangjudungsi) peel in streptozotocin - induced diabetic rats[J]. Journal of food science, 2006, 71(3): 293 - 298.

[2] TÁRREGA A, GURREA M D C, NAVARRO J L, et al. Gelation of persimmon puree and its prevention by enzymatic treatment[J]. Food Bioproc

Tech, 2012, 6(9): 2399 - 2405.

[3] AKTER M S, EUN J B. Characterization of insoluble fibers prepared from the peel of ripe soft persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Daebong)[J]. Food Sci Biotech, 2009, 18(6): 1545 - 1547.

[4] CHEN X N, FAN J F, YUE X, et al. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan)[J]. J Food Sci, 2008, 73(1): 24 - 28.

[5] VEBERIC R, JURHAR J, MIKULIC - PETKOVSEK M, et al. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.)[J]. Food Chem, 2010, 119(2): 477 - 483.

[6] 王春霞, 王敏, 王建玲, 等. 半干型柿子果酒工艺的探讨[J]. 天津轻工业学院学报, 2001(4): 24 - 27.

[7] 白美丹, 吴昊, 李秀秀, 等. 发酵类保健果酒行业发展存在问题与对策研究[J]. 饮料工业, 2017, 20(1): 74 - 77.

[8] 宋慧, 马利华, 陈学红, 等. 发酵条件对草莓果酒抗氧化性的影响[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版), 2016, 31(2): 79 - 83.

[9] 高翔, 王蕊. 柿子果酒的生产工艺与质量控制[J]. 中国酿造, 2006(1): 66 - 69.

[10] 张永凤, 卢红梅, 张难, 等. 柿子果酒稳定性研究[J]. 酿酒科技, 2007, 34(4): 94 - 96.

[11] 陈振林, 杨惠玲, 黄志强, 等. 柿子发酵果酒的酿造和营养成分分析[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 377 - 381.

[12] 马长路, 刘小飞, 罗红霞, 等. 发酵柿子酒的研究进展[J]. 酿酒科技, 2016(5): 96 - 98.

[13] 江荣, 沈卫荣, 韩丽萍, 等. 有机酸及相关盐类在果蔬护色、防褐变中的应用研究[J]. 应用化工, 2007, 36(6): 534 - 536.

[14] 孙俊良, 高晗, 宋志强. 利用固态发酵法生产营养型柿醋的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 246 - 248.

[15] 程双, 胡文忠, 马跃, 等. 鲜切果蔬酶促褐变机理及控制研究进展[J]. 食品与机械, 2009, 25(4): 173 - 176.

[16] 连志超, 何仁, 周晶晶, 等. 百香果汁褐变抑制剂的选取及应用[J]. 中国食品添加剂, 2011(6): 190 - 195.

[17] 郝惠英, 赵光鳌. 苹果酒中多酚及其褐变[J]. 酿酒, 2002, 29(2): 63 - 65.

[18] 易建华, 董新玲, 朱振宝, 等. 褐变抑制剂对苹果多酚氧化酶抑制机理研究[J]. 食品与机械, 2015(4): 122 - 125.

[19] 刘淑敏, 张兴龙, 邵兴锋, 等. 裂褶菌多糖抑制枇杷果汁褐变的工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 58 - 63.

[20] 宋洪波, 安凤平, 王慧娟, 等. 荔枝果醋液态发酵工艺优化[J]. 农业机械学报, 2010, 41(1): 146 - 152.

(上接第 48 页)

表9 单双交种产量结果对比

Table 9 Yield comparison of Single and Double pay

品种 Varieties	干穗重 Dry panicle weight // kg	干籽重 Dry seed weight // kg	出籽率 Seed yield %	千粒重 1 000 - grain weight // g	干籽重比先玉 335 ± Increase or decrease of dry seed weight compared with Xianyu335 // %	干籽重比潞玉 13 ± Increase or decrease of dry seed weight compared with Luyu13 // %
先玉 335 Xianyu 335	22.4	19.9	88.8	385	—	—
双交种 A Double pay A	25.5	22.3	87.5	372	+ 12.1	+ 16.8
双交种 B Double pay B	25.1	21.8	87.0	368	+ 9.5	+ 14.1
潞玉 13 Luyu 13	22.9	19.1	83.4	350	—	—

一定增产潜力^[6]。同时双交种在当代许多性状发生了不同程度的分离,如株高、穗位、雄穗分支、花丝花药颜色及穗行数、行粒数、轴色等表现尤为明显,植株整齐度和果穗的一致性不如单交种,难以满足主产区机械化操作的生产需求。如何进行技术和手段上的改进与创新,使其分离程度在可控范围之内,需要做很多探索性研究。

由于试验品种单一,试验规模小,缺少品种和年度间的重复结果,该论文试验数据和结论不具备完全代表性,仍须进一步求证与完善。

参考文献

[1] 赵克明. 我省玉米双交种繁殖制种的现状及改进意见[J]. 山西农业科学, 1964(6): 30 - 32.

[2] 李竞雄. 玉米双交种[M]. 北京: 北京出版社, 1965.

[3] 王振华. 我国玉米品种发展历程及展望[J/OL]. [2017 - 05 - 11]. <http://www.doc88.com/p-7394374918773.html>.

[4] 潘传忠, 金尚甫. 关于在生产上应用玉米双交种第二代的问题[J]. 东北农业科学 1965(1): 55 - 58, 70.

[5] Walden D B, Greyson R I, Bonmineni V R, et al. Maize meristem culture and recovery of mature plants[J]. Maydica, 1989, 34(3): 263 - 275.

[6] 刘纪麟. 玉米育种学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2002.