

树莓紫薯复合果酒发酵工艺研究

张南海¹, 石雅², 赵亮¹, 张列兵¹, 王成涛³, 籍保平¹, 葛章春⁴, 周峰¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 植物源功能食品北京市重点实验室, 北京 100083) (2. 北京市房山区韩村河镇人民政府, 北京 102423) (3. 北京工商大学, 北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048) (4. 生命果有机食品股份有限公司, 河南新乡 453300)

摘要: 本研究基于紫薯糖化液可为树莓发酵果酒提供糖分、紫薯酰基化花色苷可提高果酒花色苷稳定性的特性, 以树莓和紫薯为原料, 探讨了酶种类、酶添加量、水解时间等因素对紫薯液化糖化液还原糖和总糖含量的影响, 以及发酵方式、酵母种类、发酵温度和树莓汁添加量等对复合果酒酒精度、二氧化碳失重、pH值和还原糖、总糖、总酸、花色苷含量等理化指标的影响, 比较了复合果酒、树莓酒、紫薯酒贮藏期间花色苷含量的变化。结果表明: 紫薯最佳液化、糖化条件: 选择耐高温 α -淀粉酶, 酶添加量为0.9 mL/kg, 液化时间为3 h, 复合糖化酶添加量为1.2 mL/kg, 糖化时间为3.5 h; 复合果酒的最佳发酵参数: 采用异步糖化发酵, 酵母种类为BV818酵母, 发酵温度为25℃, 树莓汁添加量60%。所得果酒酒精度为11.7% vol, 果香、酒香良好, 柔和爽口。采用树莓紫薯复合发酵可提高树莓酒贮藏期间花色苷稳定性。

关键词: 树莓; 紫薯; 液化; 糖化; 发酵; 复合果酒

文章编号: 1673-9078(2019)11-182-192

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.026

Study on the Fermentation Process of Raspberry-purple Sweet Potato Compound Fruit Wine

ZHANG Nan-hai¹, SHI Ya², ZHAO Liang¹, ZHANG Lie-bing¹, WANG Cheng-tao³, JI Bao-ping¹, GE Zhang-chun⁴, ZHOU Feng¹

(1. College of Food Science & Nutritional Engineering, Beijing Key Laboratory of Functional Food from Plant Resources, China Agricultural University, Beijing 100083, China) (2. Fangshan District Hancunhe Town Government of Beijing, Beijing 102423, China) (3. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China) (4. Life Fruit Organic Food Co. Ltd., Xinxiang 453300, China)

Abstract: This present study was based on the feasibility of the saccharified purple sweet potato solution to provide sugar for the fermentation of raspberry wine and the acylated anthocyanins of the purple sweet potato to improve the anthocyanin stability of fruit wine. Using raspberry and purple sweet potato as raw materials, the effects of enzyme type, enzyme amount for addition, and hydrolysis time on the content of reducing sugar and the total sugar of the purple sweet potato solution after liquefaction and saccharification were investigated. The effects of the fermentation method, yeast type, fermentation temperature and raspberry juice amount for addition on the alcohol content, carbon dioxide loss, pH value, content of reducing sugar, total sugar content, total acid content, and anthocyanin content of the compound fruit wine were also examined. The changes in the anthocyanin content of the compound fruit wine, raspberry wine, and purple sweet potato wine were compared. The results showed that the optimum liquefaction and saccharification conditions of purple sweet potato were as follows: fermentation enzyme, high temperature resistant α -amylase; enzyme amount for addition, 0.9 mL/kg; liquefaction time, 3 h; amount of complex saccharifying enzyme for addition, 1.2 mL/kg; saccharification time, 3.5 h. The optimum fermentation parameters for the raspberry-purple sweet potato compound fruit wine were as follows: fermentation method, asynchronous saccharification fermentation; yeast species, BV818 yeast; fermentation temperature, 25℃; raspberry juice amount for addition, 60%. The final fruit wine had a alcohol degree of 11.7% vol and good aroma of fruit and wine with soft and refreshing feeling. The use of raspberry-purple sweet potato compound fermentation could improve the stability of

收稿日期: 2019-05-15

基金项目: 封丘县科技重大专项计划项目 (Fkt2018-01)

作者简介: 张南海 (1993-), 男, 博士研究生, 研究方向: 果蔬加工与功能食品

通讯作者: 周峰 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬加工与功能食品

anthocyanins in raspberry during wine storage.

Key words: raspberry; purple sweet potato; liquefaction; saccharification; fermentation; compound fruit wine

树莓 (*Rubus idaeus* L.) 属于蔷薇科悬钩子属, 俗称“覆盆子”、“托盘”, 为聚合浆果^[1]。树莓含有丰富的有机酸、维生素、矿物质、氨基酸等营养成分, 如柠檬酸、K、Ca、Mg、Zn、Fe、维生素 C、维生素 E 等^[2]; 此外还富含花色苷、酚酸、黄酮、鞣花酸、水杨酸、多糖等功能成分^[3], 具有抗氧化^[4]、抗癌^[5]、改善年龄退行性疾病^[6]、降血脂^[7]、肝损伤保护^[8]等功效, 被称为世界第三代水果、“生命之果”^[9]。树莓果酒是重要的树莓深加工产品之一, 但树莓总糖含量不足 9%, 不具备天然发酵条件, 通常加入蔗糖等调节糖度^[10-12], 然而酿制的树莓果酒可溶性固形物含量低, 口感单薄。

紫薯作为甘薯的一种, 含有丰富的淀粉 (约占干基的 52.46%~75.03%)、膳食纤维、蛋白质、维生素、氨基酸、矿物质等多种营养成分, 还富含稳定性较好的酰基化花色苷^[13,14], 具有抗癌^[15]、调节肠道菌群^[16]、抗衰老^[17]、保护肾脏^[18]等功能, 被誉为“防癌之王”^[19]。将紫薯淀粉液化糖化为葡萄糖等, 与树莓共同发酵, 可弥补树莓糖度不足的问题, 且有文献报道酰基化花色苷可提高树莓果酒的花色苷含量和稳定性^[20], 还可强化树莓果酒的健康功效。

因此, 本文以树莓和紫薯为原料, 以酒精度、二氧化碳失重、pH 值和还原糖、总糖、总酸、花色苷含量等为指标, 通过优化紫薯液化和糖化条件、复合果酒发酵条件, 确定树莓紫薯复合果酒发酵工艺。本研究旨在开发一种口感醇香、澄清明亮、营养丰富的新产品, 不仅可为解决树莓发酵果酒糖度低的问题提供思路, 还可为树莓和紫薯的综合利用提供新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料: 树莓浓缩液, 由生命果有机食品股份有限公司提供, -20 °C 保存; 鲜紫薯, 购自北京幸福超市。

菌株: BV818 葡萄酒干酵母 (食品级), 安琪酵母股份有限公司; Lalvin-71B 葡萄酒干酵母 (食品级), 法国拉氟德公司

试剂: BAN 480L 中温 α -淀粉酶 ((480 kNU/g)、Liquozyme Supra 耐高温 α -淀粉酶 (135 kNU/g)、Dextrozyme Dx 复合糖化酶 (葡萄糖淀粉酶 170 AGU/g、普鲁兰酶 340 NPUN/g), 丹麦诺维信公司; 柠檬酸 (食品级), 连云港友进食品添加剂技术开发有

限公司; 葡萄糖 (色谱级), 美国 Sigma 公司; 白砂糖 (食品级), 购自北京幸福超市; 其他所用试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

AY220 型精密分析天平 (0.0001 g), 日本岛津公司; JYL-Y5 型九阳料理机, 九阳股份有限公司; HH-SY11-Ni 型电热恒温水浴锅, 北京市长风仪器仪表公司; 3K15 型冷冻离心机, 德国 Sigma 离心机有限公司; SpectraMax M2° 型多功能酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司; LRH-70 型生化培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; pH-21 型 pH 计, 德国 Sartorius 公司; ROMI-KON 型超滤机, 美国科氏工业集团; 中空纤维超滤膜 (聚砜, 截留分子量 3~5 万 u), 天津大川科技发展公司。

1.3 试验方法

1.3.1 紫薯液化糖化工艺研究

1.3.1.1 紫薯浆液制备

挑选新鲜无虫害的紫薯, 洗净去皮后使用刨丝板刨成丝, 按照 1:0.8 (W/V) 比例加入蒸馏水, 用料理机进行打浆, 得到紫薯浆液。

1.3.1.2 液化条件确定

液化酶种类确定: 称取一定量紫薯浆液, 按照 0.6 mL/kg 添加量分别加入中温 α -淀粉酶与耐高温 α -淀粉酶, 搅拌均匀, 分别置于 70 °C、95 °C 恒温水浴锅保温 15 min 后水解 4 h, 每隔 30 min 搅拌一次。液化结束后 5000 r/min 离心 5 min, 测定上清液还原糖和总糖含量, 确定最佳液化酶种类。

液化酶添加量确定: 称取一定量紫薯浆液, 按照 0.1、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5 mL/kg 添加量分别加入耐高温 α -淀粉酶, 搅拌均匀, 置于 95 °C 恒温水浴锅保温 15 min 后水解 4 h, 每隔 30 min 搅拌一次。液化结束后 5000 r/min 离心 5 min, 测定上清液还原糖和总糖含量, 确定耐高温 α -淀粉酶最适添加量。

液化时间确定: 称取一定量紫薯浆液, 按照 0.9 mL/kg 添加量加入耐高温 α -淀粉酶, 搅拌均匀, 置于 95 °C 恒温水浴锅中保温 15 min 后进行液化, 每隔 30 min 取一次样至 4 h 结束, 5000 r/min 离心 5 min, 测定上清液还原糖和总糖含量, 确定最适液化时间。

1.3.1.3 糖化条件确定

糖化酶添加量确定: 紫薯经过 1.3.1.2 最佳液化条

件处理获得紫薯液化液, 待其降温至 60 °C 左右, 用柠檬酸调节 pH 为 4.2~4.3, 按照 0.3、0.6、0.9、1.2、1.5、1.8、2.1 mL/kg 添加量分别加入复合糖化酶, 搅拌均匀, 置于 60 °C 恒温水浴锅中保温 10 min 后糖化 100 min, 每隔 30 min 搅拌一次。糖化结束后 5000 r/min 离心 5 min, 测定上清液还原糖含量, 确定复合糖化酶最适添加量。

糖化时间确定: 采用 1.3.1.2 所得紫薯液化液, 待其降温至 60 °C 左右, 用柠檬酸调节 pH 为 4.2~4.3, 按照 1.2 mL/kg 添加量加入复合糖化酶, 搅拌均匀, 置于 60 °C 恒温水浴锅中保温 10 min 后进行糖化, 每隔 30 min 取一次样至 4 h 结束, 5000 r/min 离心 5 min, 测定上清液还原糖含量, 确定最适糖化时间。

1.3.2 树莓紫薯复合果酒发酵工艺研究

1.3.2.1 树莓原汁制备

将树莓浓缩汁恢复至室温后加入一定量蒸馏水稀释至可溶性固形物含量为 10°Brix, 得到树莓原汁 (pH 3.11)。

1.3.2.2 发酵方式确定

酵母活化: 取一定量的酵母干粉加至 0.2% 白砂糖水中, 于 37 °C 恒温水浴锅中活化 30 min。

同步糖化发酵 (SSF): 向树莓原汁中加入一定量 1.3.1.2 所得紫薯液化液, 使发酵液还原糖含量达到 204 g/L, 调节 pH 为 3.3~3.5, 按照 1.2 mL/kg 和 0.4 g/L 添加量同时加入复合糖化酶和活化的 BV818 酵母, 置于 28 °C 恒温培养箱发酵 7 d。

异步糖化发酵 (SHF1): 向树莓原汁中加入一定量 1.3.1.3 所得紫薯糖化液, 使发酵液还原糖含量达到 204 g/L, 调节 pH 为 3.3~3.5, 按照 0.4 g/L 添加量接种活化的 BV818 酵母, 置于 25 °C 恒温培养箱发酵 7 d。

加树莓糖化后再发酵 (SHF2): 向树莓原汁中加入一定量 1.3.1.2 所得紫薯液化液, 采用最佳糖化条件进行糖化, 使发酵液还原糖含量达到 204 g/L, 然后调节 pH 为 3.3~3.5, 再按照 0.4 g/L 添加量接种活化的 BV818 酵母, 置于 25 °C 恒温培养箱发酵 7 d。

发酵结束后测定果酒的酒精度和还原糖、总糖、总酸、花色苷含量, 确定最佳发酵方式。

1.3.2.3 酵母种类确定

采用 SHF1 方式发酵, 分别接种活化的 BV818 酵母与 Lalvin-71B 酵母, 置于 25 °C 恒温培养箱发酵 12 d, 前 7 d 每天测定果酒的酒精度、二氧化碳失重、pH 值和还原糖、总糖、总酸含量, 确定酵母最佳种类。

1.3.2.4 发酵温度确定

采用 SHF1 方式发酵, 接种活化的 BV818 酵母, 分别置于 20 °C 和 25 °C 恒温培养箱发酵 12 d。前 7 d

每天测定果酒的酒精度、二氧化碳失重、pH 值和还原糖、总糖、总酸含量, 确定最适发酵温度。

1.3.2.5 树莓汁添加量确定

向紫薯糖化液中分别加入 100%、80%、60%、40% 的树莓原汁, 调节 pH 为 3.3~3.5, 按照 0.4 g/L 添加量接种活化的 BV818 酵母, 置于 25 °C 恒温培养箱发酵 12 d, 前 7 d 每天测定果酒的酒精度、二氧化碳失重、pH 值和还原糖、总糖、总酸含量, 最终进行感官评价, 确定最适树莓汁添加量。

1.3.3 树莓紫薯复合果酒花色苷稳定性研究

按照 1.3.2 最佳发酵工艺分别发酵相同酒精度的复合果酒、纯树莓酒、纯紫薯酒, 发酵结束使用柠檬酸和碳酸钠调节 pH 为 3.5, 5000 r/min 离心 10 min, 使用中空纤维超滤膜超滤后装瓶, 分别置于 37 °C 和 47 °C 生化培养箱中进行加速贮藏实验, 每隔 7 d 测定三种果酒的花色苷含量, 计算花色苷相对含量=第 n d 花色苷含量/第 0 d 花色苷含量。

1.3.4 指标测定

1.3.4.1 还原糖含量的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸 (DNS) 比色法测定还原糖含量^[21], 具体步骤稍有改动。

标准曲线绘制: 分别量取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL 葡萄糖标准溶液 (1.0 mg/mL), 加入蒸馏水至 2.0 mL, 再加入 1.5 mL DNS 溶液, 沸水浴 5 min, 取出立即冷却, 用蒸馏水定容至 50 mL, 混匀后在 540 nm 处测定吸光度, 以蒸馏水为空白, 以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

样品的测定: 稀释样品至标曲浓度范围, 取 1 mL 样品溶液, 按照上述操作测定样品吸光度, 将吸光度代入标准曲线计算出样品溶液中还原糖含量。

1.3.4.2 总糖含量的测定

紫薯液化液和糖化液总糖含量测定: 吸取一定量样品溶液, 使所含总糖含量在 0.2~0.4 g/L, 加入 5 mL 6 mol/L 盐酸溶液和 7.5 mL 蒸馏水, 沸水浴水解 25 min, 用碘-碘化钾溶液检查样品溶液是否水解完全, 水解完全后用 6 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 8.2 左右, 用蒸馏水定容至 50 mL, 混匀后按照 1.3.4.1 方法测定总糖含量。

树莓紫薯复合果酒总糖含量测定: 采用苯酚-硫酸法^[22]测定树莓紫薯复合果酒中总糖含量。

1.3.4.3 花色苷含量的测定

采用 pH 示差折光法测定花色苷含量^[23], 具体步骤稍有改动。取 1 mL 样品溶液分别用盐酸-氯化钾缓冲液 (pH 1.0) 与醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH 4.5) 定容

至 10 mL, 混合均匀后 40 °C 水浴 40 min, 在 510 nm 与 710 nm 处测定吸光度, 以蒸馏水为空白, 花色苷含量计算公式如下:

$$\text{花色苷含量}/(\text{mg/L}) = \Delta A \times M_w \times DF \times 1000 / (\epsilon \times l)$$

其中: $\Delta A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{710 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{710 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5}$; M_w 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的相对分子质量, 449.2 g/mol; DF 为样品稀释倍数; ϵ 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数, 26900 L/(mol·cm); l 为比色皿光程, 1 cm。

1.3.4.4 酒精度和总酸含量的测定

酒精度的测定参考标准《GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法》中酒精计法。

总酸含量(以柠檬酸计)的测定参考标准《GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法》中电位滴定法。

1.3.4.5 二氧化碳失重的测定

二氧化碳失重即发酵前后发酵液重量的变化, 二氧化碳失重/g=发酵前一天重量-发酵当天重量, 称重前充分晃动发酵瓶, 使溶解于发酵液中二氧化碳完全溢出^[24]。

1.3.4.6 pH 值的测定

使用 pH 计测定树莓紫薯复合果酒的 pH 值。

1.3.4.7 感官评价

表 1 树莓紫薯复合果酒感官评价标准表

Table 1 Sensory evaluation criteria of raspberry & purple sweet potato compound fruit wine

指标 (100分)	评价标准	分值 /分
外观 (20分)	澄清透明, 有光泽, 亮红色	18~20
	透明度稍差, 深红色, 光泽稍不明显	15~17
	稍浑浊, 颜色较深, 光泽不明显	10~14
	浑浊, 深棕红色或黑红色, 无光泽	0~10
滋味 (40分)	醇香爽口, 酒体丰满, 无异味	37~40
	酸甜适中, 柔和爽口	31~36
	略甜或者略酸, 酒体淡薄	26~30
	酒体淡薄、苦涩, 太甜或者太酸	20~25
香气 (30分)	苦涩味较重, 有异味	0~20
	具有清新的树莓果香、紫薯香气和酒香	26~30
	树莓果香、紫薯香气良好, 且无异味	20~25
典型性 (10分)	无香气且有异味	0~20
	典型完美, 酒体协调	9~10
	有典型性, 酒体尚协调	6~8
	无典型性, 酒体不协调	0~6

本次试验的感官评定组是由 10 名经培训的食品专业人员组成, 参考 GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法中感官评定要求, 根据表 1 感官评价标

准进行评分, 取平均值作为感官评价结果。

1.3.5 数据处理

试验结果以平均值±标准偏差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 25.0 统计软件单因素方差分析 ANOVA (one-way analysis of variance) 和多重比较检验分析 Duncan's 分析多组样本数据之间的显著性, 独立样本 T 检验分析两组样本数据之间的显著性, $p < 0.05$ 表示存在显著差异, 采用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 紫薯液化糖化工艺研究

2.1.1 液化条件对紫薯液化液糖含量的影响

2.1.1.1 液化酶种类对紫薯液化液糖含量的影响

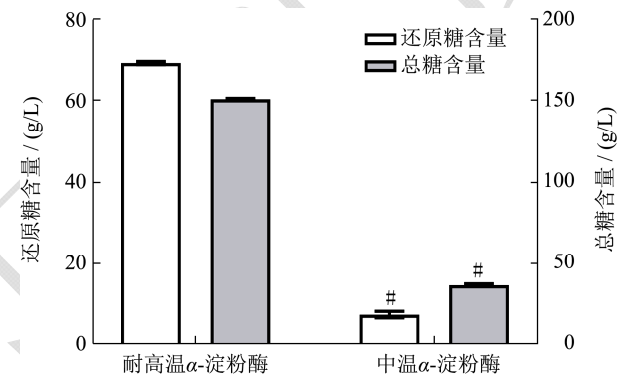


图 1 液化酶种类对糖含量的影响

Fig.1 Effect of liquefaction enzyme types on content of total sugar and reducing sugar

注: #表示同一颜色柱数据间存在显著差异, $p < 0.05$ 。

从图 1 可以看出, 采用耐高温 α -淀粉酶液化紫薯淀粉后, 还原糖和总糖含量显著高于中温 α -淀粉酶的糖含量, 表明其液化效果优于中温 α -淀粉酶, 可能由于淀粉颗粒吸水、受热后发生膨胀, 粘度增大, 对酶有一定阻碍作用, 而耐高温 α -淀粉酶可利用高温条件使淀粉糊化, 粘度下降, 淀粉分子间氢键断裂, 分子空间增大, 有助于液化酶与淀粉分子的结合, 且淀粉酶酶解糊化淀粉的速率快于酶解淀粉颗粒, 与王强毅^[25]研究结果一致。因此, 选择耐高温 α -淀粉酶液化紫薯淀粉较为合适。

2.1.1.2 液化酶添加量对紫薯液化液糖含量的影响

由图 2 所示, 随着液化酶添加量的增加, 还原糖和总糖含量逐渐升高, 当液化酶添加量在 0.1~0.6 mL/kg 范围时, 淀粉分子可与液化酶充分结合, 酶解效率升高, 还原糖和总糖含量上升速率较快; 当液化酶添加量在 0.6~0.9 mL/kg 范围时, 由于紫薯淀粉含量减少使得液化酶相对过剩, 还原糖和总糖含量增长速度减缓; 当液化酶添加量超过 0.9 mL/kg 时, 增长速

度进一步减缓,综合考虑液化效率和节约成本等因素,液化酶添加量为 0.9 mL/kg 较为适宜。

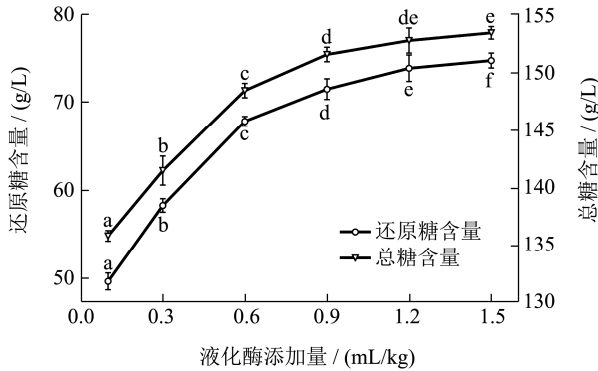


图 2 液化酶添加量对糖含量的影响

Fig.2 Effect of liquefaction enzyme amount for addition on content of total sugar and reducing sugar

注: 同一条线不同字母代表数据间存在显著差异, $p < 0.05$ 。

图 3、4 同。

2.1.1.3 液化时间对紫薯液化液糖含量的影响

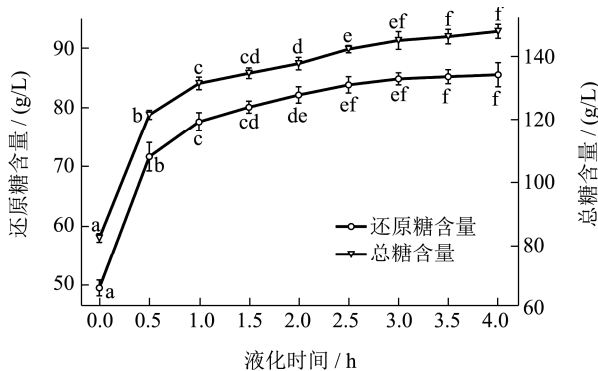


图 3 液化时间对糖含量的影响

Fig.3 Effect of liquefaction time on content of total sugar and reducing sugar

由图 3 可知,随着液化时间的推移,还原糖和总糖含量呈现先快速增长后缓慢增长的趋势。可能由于 0.5 h 之前,紫薯淀粉发生糊化,分子结构被破坏,液化酶迅速与之结合,断裂淀粉分子 α -1,4 糖苷键生成低聚糖和糊精,糖含量升高;液化 0.5 h 后,耐高温 α -淀粉酶只能缓慢水解 α -1,6 糖苷键,导致糖含量增加速度减缓^[26]。也可能是耐高温 α -淀粉酶作用于直链淀粉所导致,分为两个阶段:第一,将直链淀粉全部转化为麦芽糖、麦芽三糖、支链麦芽低聚糖等,此阶段水解速度快;第二,将第一阶段产物继续分解成麦芽糖和葡萄糖,受到液化酶添加量等因素,水解速度减慢^[27]。同时,产生的底物增多也可能抑制酶的活性,使增长速度减缓。综合考虑液化程度和节约生产时间等因素,液化时间 3 h 为宜。

2.1.2 糖化条件对紫薯糖化液还原糖含量的影响

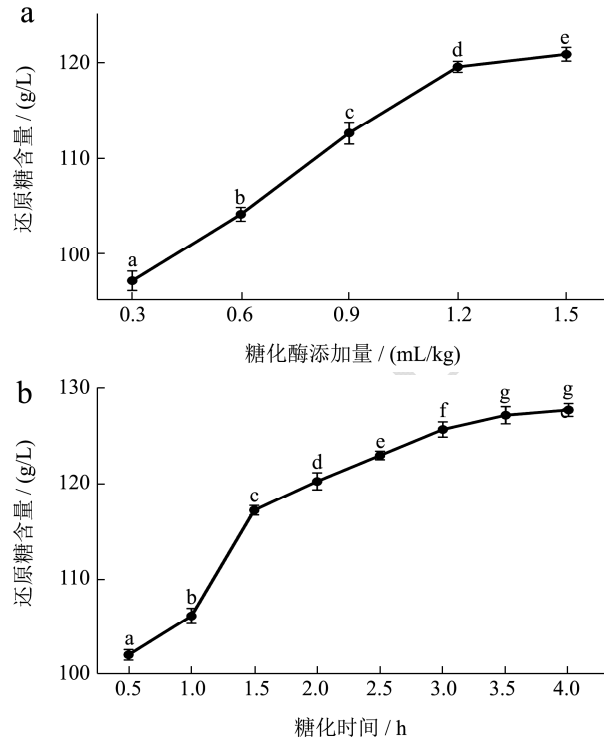


图 4 糖化酶添加量 (a) 和糖化时间 (b) 对还原糖含量的影响

Fig.4 Effect of saccharifying enzyme amount for addition (a) and saccharification time (b) on reducing sugar content

由图 4a 可知,随着糖化酶添加量的增加,还原糖含量缓慢上升,当添加量超过 1.2 mL/kg 时,还原糖含量的增长趋于平缓,可能由于底物浓度较低而糖化酶相对过剩。因此,最佳糖化酶添加量为 1.2 mL/kg。

由图 4b 可知,当糖化时间在 0.5~3.5 h 范围内时,还原糖含量逐渐增加,当糖化时间超过 3.5 h 时,还原糖含量趋于平稳。可能在糖化前期,复合糖化酶中葡萄糖淀粉酶水解 α -1,4 糖苷键,普鲁兰酶水解支链和直链中的 α -1,6 糖苷键,不断产生葡萄糖,从而还原糖含量逐渐增加;在糖化后期,底物浓度降低,酶解速率减缓,从而还原糖含量增加缓慢。综合考虑生产成本等因素,最佳糖化时间为 3.5 h。

2.2 树莓紫薯复合果酒发酵工艺研究

2.2.1 不同发酵方式对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

采用三种发酵方式 (SSF、SHF1、SHF2) 酿造复合果酒,测定其理化指标 (如表 2 当中所示)。SSF 与 SHF2 相比,酒精度一致,而还原糖和总糖含量较低,可能是 SSF 的 pH 和温度不是糖化酶最适酶解条件,糖化酶无法完全发挥其酶解能力,导致糖化不完全,糖含量较低^[28]。SSF 酿造的果酒酒精度低于 SHF1,可能由于 SSF 产生的可发酵糖少于 SHF1,产酒能力低于 SHF1。SHF2 的酒精度低于 SHF1,而还原糖和

总糖含量高于后者,可能是 SHF2 加入树莓糖化后产生的糖为非发酵糖,从而产酒能力较低。SHF1 酿造的果酒花色苷含量高于其余两种方式,可能是 SHF1 的条件为液化酶和糖化酶的最适酶解条件,花色苷的

提取效率与稳定性提高,从而花色苷含量较高;而三种发酵方式酿造的果酒总酸均较高,其中 SHF1 略高。综合考虑认为,树莓紫薯复合果酒最佳发酵方式为 SHF1。

表 2 发酵方式对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

Table 2 Effect of fermentation methods on physicochemical indexes of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine

发酵方式	酒精度/% vol	还原糖/(g/L)	总糖/(g/L)	总酸/(g/L)	花色苷/(mg/L)
SSF	8.1	4.91±0.49 ^a	9.17±0.37 ^a	18.9±0.38 ^a	41.27±4.18 ^a
SHF1	9.4	7.45±0.80 ^b	13.09±0.81 ^b	22.8±0.19 ^b	46.23±3.70 ^a
SHF2	8.1	11.25±0.02 ^c	19.09±0.20 ^c	19.6±0.07 ^c	42.64±3.78 ^a

注:同一列不同字母代表数据间有显著差异, $p < 0.05$ 。

表 3 不同酵母对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响(第 12 d)

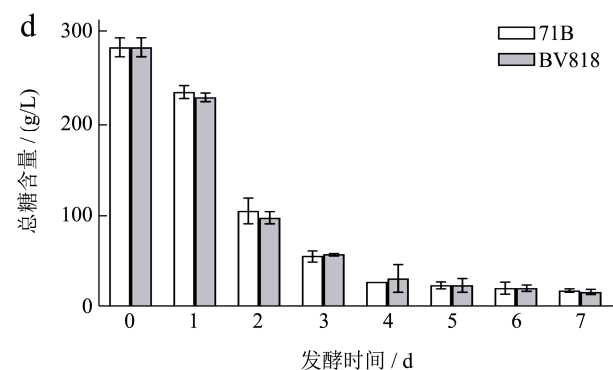
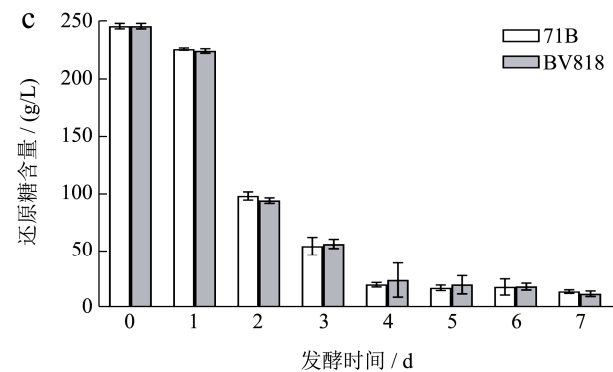
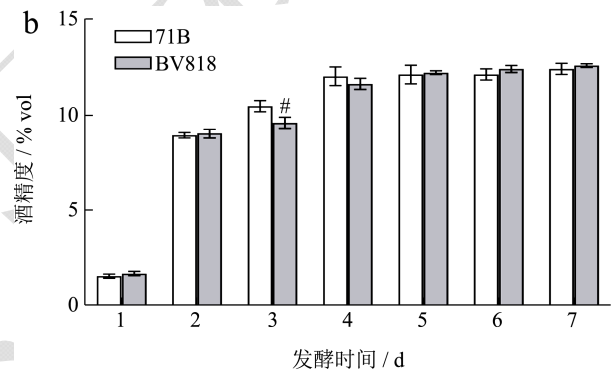
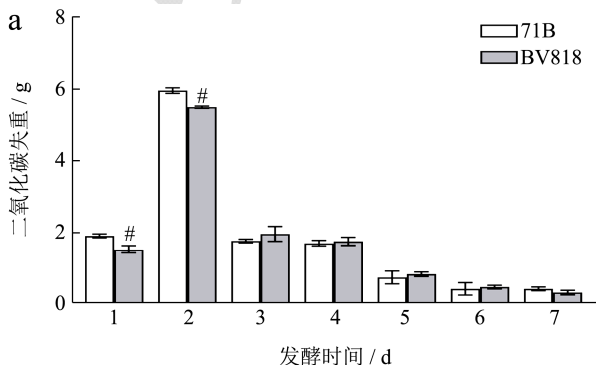
Table 3 Effect of different yeast species on physicochemical indexes of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine (12 days)

酵母品种	酒精度/% vol	还原糖/(g/L)	总糖/(g/L)	总酸/(g/L)	花色苷/(mg/L)
BV818 酵母	12.23	2.49±0.06	4.02±0.19	17.10±0.16	54.03±1.40
Lalvin-71B 酵母	12.11	3.82±0.01 [#]	6.17±0.08 [#]	17.06±1.16	49.74±0.86 [#]

注: #表示同一列数据间存在显著差异, $p < 0.05$ 。表 4、5 同。

2.2.2 酵母种类对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

如图 5 所示, CO_2 失重和酒精度呈现先增长较快后增长减慢的趋势,还原糖和总糖含量呈现先减少较快后减少缓慢的趋势,最终四个指标均趋于稳定,可能是发酵后期酒精的抑制作用、营养物质不足、活酵母数减少等原因^[29]。发酵前期 Lalvin-71B 酵母组 CO_2 失重和酒精度略高于 BV818 酵母组,发酵后期结果相反,可能由于 Lalvin-71B 酵母起酵较 BV818 酵母早, Lalvin-71B 酵母前期消耗更多营养物质产生较多 CO_2 和酒精,而后期营养物质较早不足,导致其早衰。对于果酒 pH 值和总酸,两组整体变化均比较平稳,由于酒体本身是一个缓冲体系,因而 pH 值变化不大。由表 3 可知,发酵 12 d 后, BV818 酵母组酒精度略高于 Lalvin-71B 酵母组,还原糖和总糖含量较低,可能是 Lalvin-71B 酵母早衰不能继续利用果酒中的糖。两组总酸含量接近,而 BV818 酵母组花色苷含量高于 71B 酵母组。综合考虑, BV818 酵母更适合酿造树莓紫薯复合果酒。



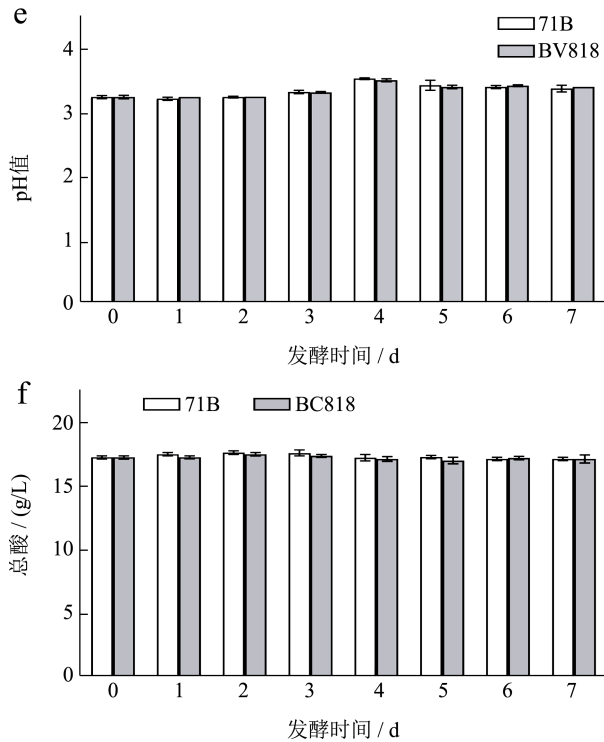


图5 不同酵母对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

Fig.5 Effect of different yeast species on physicochemical indexes of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine

注: #代表同一横坐标不同颜色柱数据间存在显著差异, $p < 0.05$ 。下图同。

2.2.3 发酵温度对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

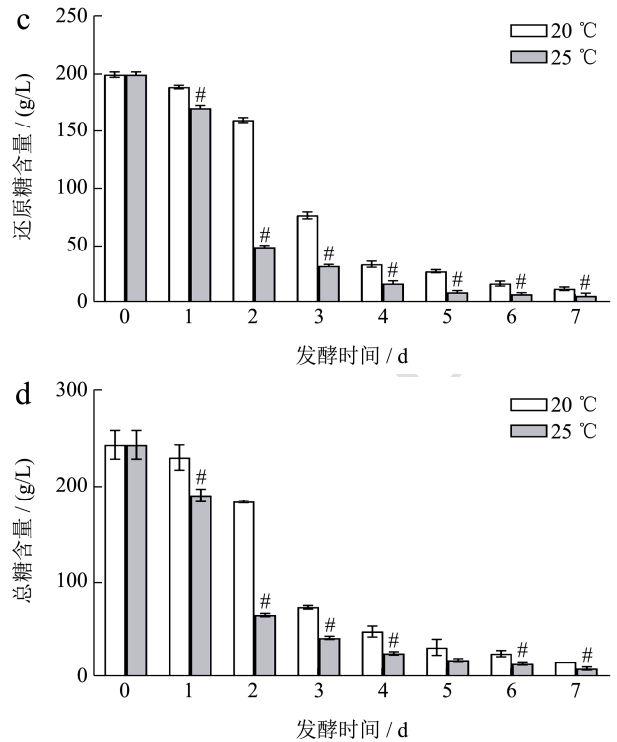
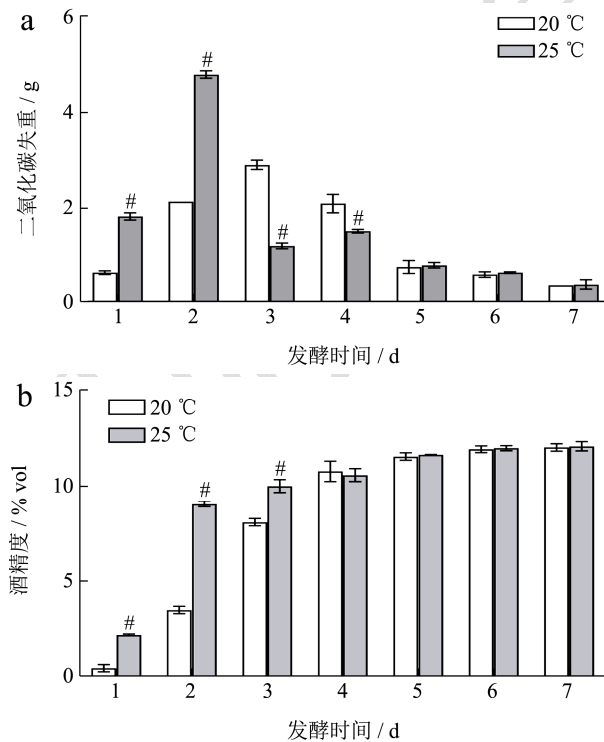


图6 发酵温度对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

Fig.6 Effect of fermentation temperature on indicators of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine

由图6可以看出,发酵前期25 °C下果酒的CO₂失重和酒精度明显高于20 °C组,25 °C下前2 d CO₂失重明显,而20 °C下第2 d开始失重明显,发酵中期结果相反,发酵后期两组结果接近,而整个发酵过程

25 °C组还原糖和总糖含量低于 20 °C组, 表明 25 °C 下起酵早, 发酵速度快, 周期短, 较快形成生长优势, 抑制杂菌生长, 对酒质有初步保证, 且产酒降糖能力优于 20 °C组^[29]。温度对果酒 pH 值和总酸含量影响不明显, 可能是由于温差较小。由表 4 可知, 发酵 12

d 后, 两组果酒酒精度和总酸含量接近, 而 25 °C 下还原糖、总糖和花色苷含量低于 20 °C组, 可能由于 20 °C 下酵母生长较缓慢, 残留糖含量较高; 花色苷受温度影响, 温度越高, 花色苷含量越低^[30]。综合考虑各指标及发酵周期, 25 °C 为最适发酵温度。

表 4 发酵温度对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响(第 12 d)

Table 4 Effect of fermentation temperature on physicochemical indexes of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine (12 d)

发酵温度	酒精度/% vol	还原糖/(g/L)	总糖/(g/L)	总酸/(g/L)	花色苷/(mg/L)
20 °C	12.00	3.81±0.00	6.80±0.27	17.25±0.12	63.43±1.81
25 °C	12.03	2.69±0.04 [#]	4.66±0.07 [#]	17.20±0.25	58.89±1.61 [#]

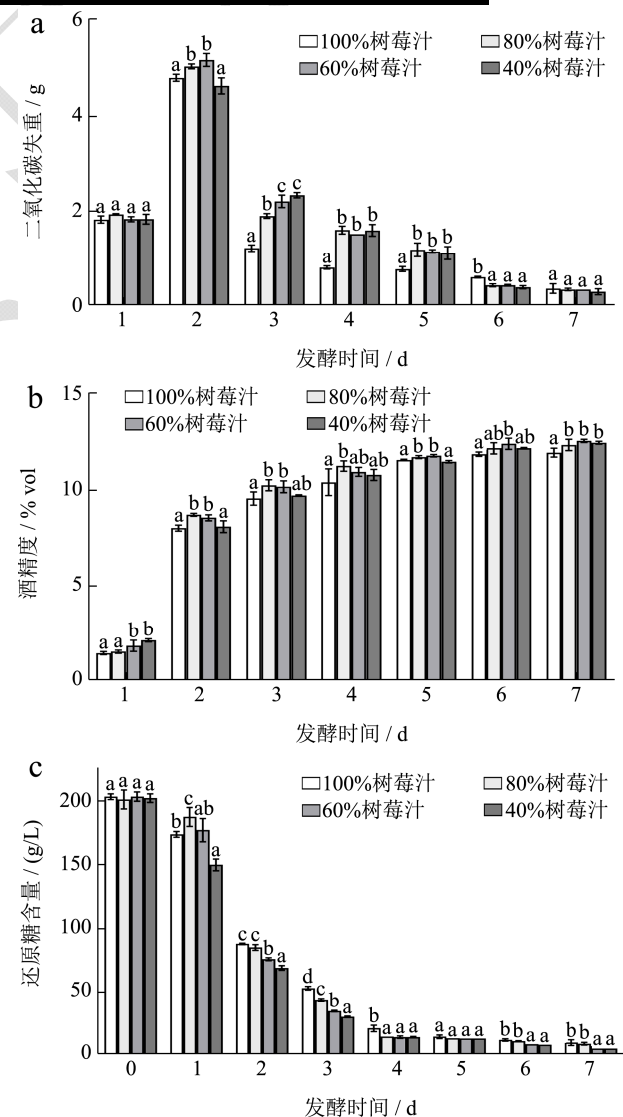
表 5 树莓汁添加量对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响(第 12 d)

Table 5 Effect of raspberry juice amount for addition on physicochemical indexes of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine (12 d)

树莓添加量	酒精度/% vol	还原糖/(g/L)	总糖/(g/L)	总酸/(g/L)	花色苷/(mg/L)	感官评价
100%	11.97	3.69±0.04 ^d	6.26±0.07 ^d	18.48±0.25 ^d	54.42±4.93 ^b	78.36
80%	11.72	2.82±0.03 ^e	4.97±0.21 ^c	14.46±0.08 ^c	49.93±2.46 ^{ab}	80.32
60%	11.70	2.35±0.12 ^b	4.66±0.07 ^b	11.08±0.11 ^b	50.32±1.61 ^{ab}	83.95
40%	11.72	1.88±0.05 ^a	4.14±0.09 ^a	9.06±0.10 ^a	46.42±1.35 ^a	79.55

2.2.4 树莓汁添加量对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

树莓添加量不同, 则酸度不同, 不仅影响微生物的生长繁殖进而影响产酒能力, 还会影响果酒的口感。从图 7 当中可以得出, 树莓添加量越多, 总酸含量越高, pH 值越低; 随发酵时间的延长, pH 值变化不大, 总酸含量呈现先上升后下降的趋势, 可能由于酵母前期生长繁殖产酸, 而后期进行苹果酸-乳酸发酵, 总酸含量降低。随树莓添加量的降低, 还原糖和总糖含量越低, 表明降糖能力逐渐提升, 可能是在此 pH 范围内, pH 值越高, 越适合酵母生长繁殖。对于 CO₂ 失重和酒精度, 发酵前期 100%和 40%树莓汁添加量组较其余两组低, 可能由于 100%树莓汁添加量 pH 较低, 不利于酵母生长繁殖, 降低了其产酒能力, 而 40%树莓汁添加量 pH 较高, 导致了杂菌生长, 同样影响产酒能力, 发酵后期四组酒精度趋于稳定, 且差异减小。从表 5 当中可以得出, 发酵 12 d 以后, 还原糖、总糖和总酸含量随树莓添加量的降低而降低。100%树莓汁添加量组花色苷含量略高, 40%树莓汁添加量组花色苷含量略低, 可能由于酸度越高花色苷越稳定。此外, 有机酸作为风味物质对果酒口感与风味影响较大, 如果酸度较高, 则会导致果酒口感酸涩, 并伴有尖刻感; 如果酸度不足, 则会使果酒口感上缺乏特有韵味, 通过感官评价发现, 60%树莓汁添加量组得分最高, 果酒呈紫红色, 澄清透明, 醇香爽口、酒体协调。综合考虑各理化指标及感官评价, 最佳树莓汁添加量为 60%。



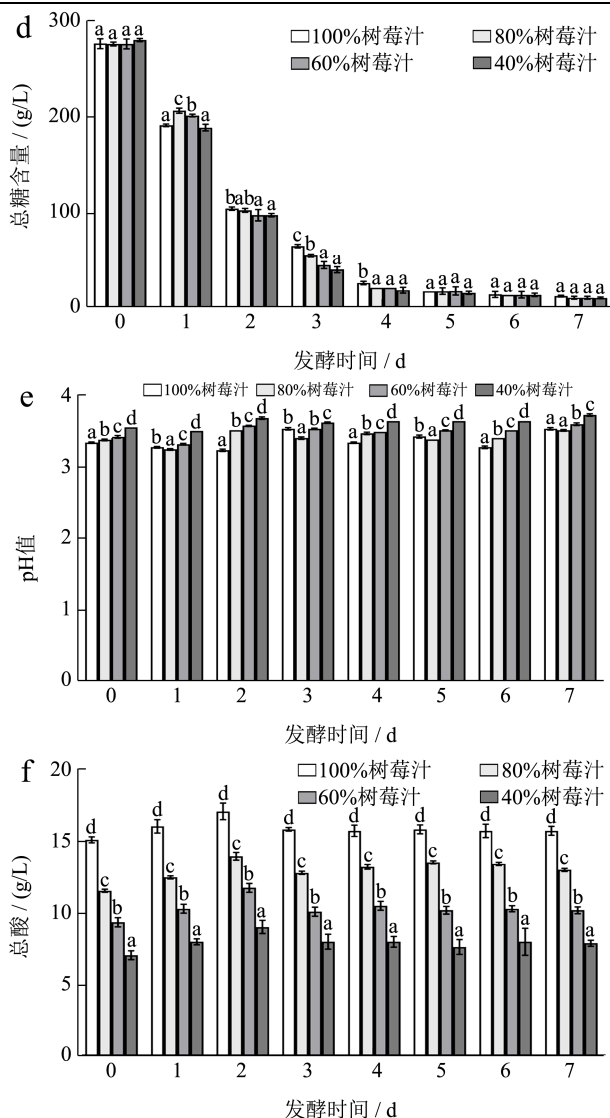


图7 树莓汁添加量对树莓紫薯复合果酒理化指标的影响

Fig.7 Effect of raspberry juice amount for addition on indicators of raspberry-purple sweet potato compound fruit wine

2.2.5 树莓紫薯复合果酒花色苷稳定性结果

从图8可以看出,随着贮藏时间的延长,三种酒的花色苷相对含量均逐渐下降,温度越高,下降速率越快,37℃贮藏45d后三种酒花色苷含量均未降至0,而47℃贮藏第28d树莓酒花色苷含量已降至0,第45d紫薯酒花色苷含量降至0,由于花色苷遇热,会从有色化合物形式向无色化合物形式转变^[20]。37℃贮藏前7d花色苷含量由大到小为紫薯酒>复合果酒>树莓酒,紫薯酒和复合果酒花色苷含量仍高于初始值的50%,而树莓酒花色苷含量已不足初始值的50%,从第21d开始复合果酒花色苷含量高于紫薯酒,47℃贮藏趋势基本一致,从第28d开始复合果酒花色苷含量高于紫薯酒,可能由于树莓中主要为非酰基化花色苷,而紫薯中主要为酰基化花色苷,酰基化可

提高花色苷的稳定性,后期可能由于辅色作用使得复合果酒中花色苷较紫薯酒的稳定^[14,20]。因此,采用树莓紫薯复合发酵对于树莓酒花色苷稳定性具有一定提高作用。

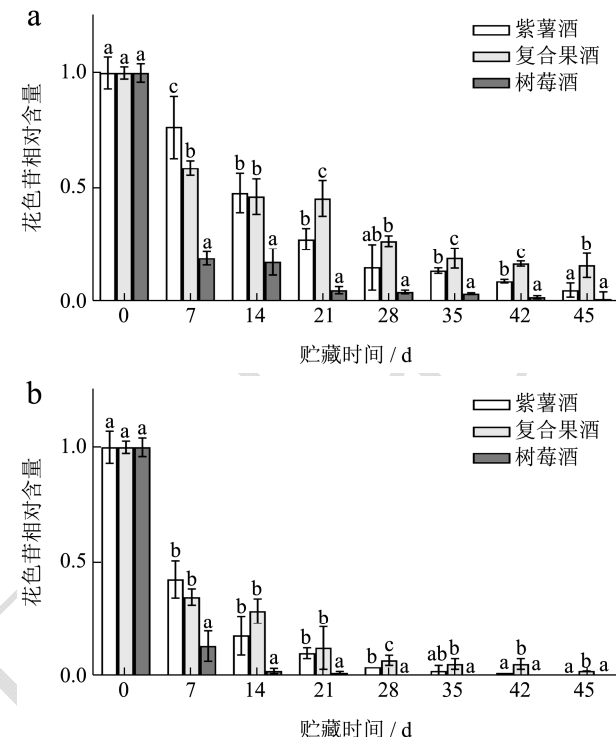


图8 37℃(a)和47℃(b)下复合果酒花色苷相对含量的变化
Fig.8 Changes in the anthocyanin relative content of compound fruit wine at 37℃(a) and 47℃(b)

3 结论

通过研究酶种类、酶添加量和水解时间对紫薯液化糖化效果的影响,结果表明:最佳液化条件:酶种类为耐高温α-淀粉酶,添加量0.9mL/kg,液化时间3h;最佳糖化条件:复合糖化酶添加量1.2mL/kg,糖化时间3.5h。采用树莓与紫薯共同发酵酿造树莓紫薯复合果酒,研究表明:异步糖化发酵为最佳发酵方式,酵母种类为BV818酵母,发酵温度25℃,树莓添加量60%,所得果酒感官评价总分最高,达83.95,果酒呈紫红色,澄清透亮,果香、酒香良好,酒质爽口饱满,酒体协调。通过加速贮藏实验,发现树莓与紫薯共同发酵对于树莓酒花色苷稳定性有一定提高作用。

参考文献

[1] 司旭,陈芹芹,毕金峰,等.树莓主要功能性成分研究进展[J].食品工业科技,2015,36(4):376-381
SI Xu, CHEN Qin-qin, BI Jin-feng, et al. Research Progress in main functional compounds in raspberry [J]. Science and

- Technology of Food Industry, 2015, 36(4): 376-381
- [2] 延海莹, 乔乐克, 张京良, 等. 树莓营养及活性研究进展[J]. 食品工业, 2018, 39(7): 281-284
YAN Hai-ying, QIAO Le-ke, ZHANG Jing-liang, et al. study on the nutrition and activity of raspberries [J]. The Food Industry, 2018, 39(7): 281-284
- [3] Rao A V, Snyder D M. Raspberries and human health: A review [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7): 3871-3883
- [4] CHEN Wei, SU Hong-ming, XU Yang, et al. Protective effect of wild raspberry (*Rubus Hirsutus Thunb.*) extract against acrylamide-induced oxidative damage is potentiated after simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2016, 196: 943-952
- [5] God J, Tate P L, Larcom L L. Red raspberries have antioxidant effects that play a minor role in the killing of stomach and colon cancer cells [J]. Nutrition Research, 2010, 30(11): 777-782
- [6] Shukitt-Hale B, Thangthaeng N, Kelly M E, et al. Raspberry differentially improves age-related declines in psychomotor function dependent on baseline motor ability [J]. Food & Function, 2017, 8(12): 4752-4759
- [7] 刘畅, 张海华, 柴洋洋, 等. 红树莓提取物降低油酸诱导 HepG2 细胞脂肪的积累[J]. 现代食品科技, 2019, 35(2): 24-31, 178
LIU Chang, ZHANG Hai-hua, CHAI Yang-yang, et al. Effect of raspberry extract on reducing oleic acid-induced fat accumulation in HepG2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(2): 24-31, 178
- [8] LI Xuan-yi, LI Yan, States V A, et al. The effect of black raspberry extracts on mnsod activity in protection against concanavalin A induced liver injury [J]. Nutrition and Cancer, 2014, 66(6): 930-937
- [9] 杨国慧, 范婷婷, 陈效杰, 等. 树莓叶果中水杨酸含量测定及其抑菌性分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(23): 181-183
YANG Guo-hui, FAN Ting-ting, CHEN Xiao-jie, et al. Determination of salicylic acid in leaves and fruits of raspberry and analysis of its bacteriostasis [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(23): 181-183
- [10] 高辰哲, 姜帆, 王艳菲, 等. 响应面法优化红树莓酒发酵工艺[J]. 中国酿造, 2016, 35(12): 108-112
GAO Chen-zhe, JIANG Fan, WANG Yan-fei, et al. Optimization of fermentation technology of red raspberry wine by response surface methodology [J]. China Brewing, 2016, 35(12): 108-112
- [11] 刘亚娜. 红树莓酒酿造工艺及其抗氧化活性的研究[D]. 黑龙江八一农垦大学, 2016
LIU Ya-na. Studies on the brewing technology and antioxidation activities of red raspberry wine [D]. Heilongjiang: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2016
- [12] 佟凤琴, 李峰. 野生红树莓果酒酿造发酵条件的探究[J]. 辽宁师专学报(自然科学版), 2016, 18(3): 91-94
TONG Feng-qin, LI Feng. Study on brewing technology of wild raspberry wine [J]. Journal of Liaoning Teachers Colleges(Natural Science Edition), 2016, 18(3): 91-94
- [13] 胡廷, 冉旭. 加工工艺对紫薯饮料淀粉转化率和花青素保留率的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 101-105
HU Ting, RAN Xu. Effect of processing technology on starch conversion and anthocyanin retention in purple sweet potato beverage [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(5): 101-105
- [14] HE Wei, ZENG Mao-mao, CHEN Jie, et al. Identification and quantitation of anthocyanins in purple-fleshed sweet potatoes cultivated in China by UPLC-PDA and UPLC-QTOF-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 64(1): 171-177
- [15] Sugata M, Lin C Y, Shih Y C. Anti-inflammatory and anticancer activities of taiwanese purple-fleshed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L. Lam) extracts [J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 768093
- [16] ZHANG Xin, YANG Yang, WU Zu-fang, et al. The modulatory effect of anthocyanins from purple sweet potato on human intestinal microbiota *in vitro* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(12): 2582-2590
- [17] 李祥, 张泽生, 汤新慧, 等. 紫薯提取物对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J]. 现代食品科技, 2017, 33(10): 1-6.
LI Xiang, ZHANG Ze-sheng, TANG Xin-hui, et al. Effects of purple sweet potato extract on the lifespan of *Caenorhabditis elegans* [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(10): 1-6
- [18] SHAN Qun, ZHENG Yuan-lin, LU Jun, et al. Purple sweet potato color ameliorates kidney damage *via* inhibiting oxidative stress mediated NLRP3 inflammasome activation in high fat diet mice [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 69: 339-346
- [19] 陈梅香, 魏俊杰, 贾春风. 紫薯的营养保健功能及发展趋势[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(8): 199-201
CHEN, Mei-xiang, WEI Jun-jie, JIA Chun-feng. Nutritional function and development processing of purple sweet potato

- [J]. Food Research and Development, 2012, 33(8): 199-201
- [20] 闫征. 黑米花色苷的酶法酰基化及产物稳定性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016
- YAN Zheng. Study on enzymatic acylation of anthocyanin isolated from black rice and the stability of the acylated derivatives [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016
- [21] 赵凯, 许鹏举, 谷广焯. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536
- ZHAO Kai, XU Peng-ju, GU Guang-ye. Study on determination of reducing sugar content using 3, 5-dinitrosalicylic acid method [J]. Food Science, 2008, 29(8): 534-536
- [22] 郭雷, 吕明生, 王淑军, 等. 苯酚-硫酸法测定樱桃酒中总糖[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(6): 130-132
- GUO Lei, LYU Ming-sheng, WANG Shu-jun, et al. Determination of total sugar from cherry wine by phenol-sulfuric acid method [J]. Food Research and Development, 2010, 31(6): 130-132
- [23] Lee J, Durst R W, Wrolstad R E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the ph differential method: Collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2005, 88(5): 1269-1278
- [24] Rodríguez-Porrata B, Novo M, Guillamón J, et al. Vitality enhancement of the rehydrated active dry wine yeast [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 126(1-2): 116-122
- [25] 王强毅. 酶法制备紫甘薯饮料工艺研究[D]. 福建: 集美大学, 2015
- WANG Qiang-yi. Study on enzymatic hydrolysis for production of purple sweet potato beverage [D]. Fujian: JiMei University, 2015
- [26] 韩晓鹏, 牟德华, 赵英莲, 等. 紫甘薯红酒酿造工艺优化及成分分析[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 201-206
- HAN Xiao-peng, MOU De-hua, ZHAO Ying-lian, et al. Optimization of fermentation conditions for purple sweet potato red wine and its chemical analysis [J]. Food Science, 2015, 36(17): 201-206
- [27] 李新华, 董海洲. 粮油加工学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002
- LI Xin-hua, DONG Hai-zhou. Processing of Cereals and Oils [M]. Beijing: China Agriculture University Press, 2002
- [28] Ask M, Olofsson K, Felice T D, et al. Challenges in enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated arundo donax revealed by a comparison between SHF and SSF [J]. Process Biochemistry, 2012, 47(10): 1452-1459
- [29] 李媛媛, 李星, 张立伟, 等. 不同酵母对大米生料酿酒的酿造特性研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(20): 185-189
- LI Yuan-yuan, LI Xing, ZHANG Li-wei, et al. Study on brewing characteristics of rice raw materials by different yeasts [J]. Food Research and Development, 2018, 39(20): 185-189
- [30] 梁敏, 包怡红. 蓝靛果酒发酵工艺优化及发酵过程对花色苷的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 151-157
- LIANG Min, BAO Yi-hong. Optimization of fermentation process of Ionicera caerulea berry wine and effect of fermentation on anthocyanin composition [J]. Food Science, 2018, 39(10): 151-157

(上接第 131 页)

- [22] 李玉晶, 刘玉梅. 啤酒花活性成分与抗氧化活性的相关性研究[J]. 食品科学, 2019, 40(5): 24-30
- LI Yu-jing, LIU Yu-mei. Correlation of antioxidant activity with bioactive components of hops [J]. Food Science, 2019, 40(5): 24-30
- [23] 王会, 郭立, 谢文磊. 抗氧化剂抗氧化活性的测定方法(二)[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(4): 98-102
- WANG Hui, GUO Li, XIE Wen-lei. Methods for determining antioxidant activity of antioxidants (II) [J]. Food and Fermentation Industries, 2006, 32(4): 98-102
- [24] 黄海兰, 徐可, 王震功. 浒苔提取物抑制食用油脂过氧化能力研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 124-126
- HUANG Hai-lan, XU Ke, WANG Zhen-gong. Inhibition of lipid peroxidation by extracts from *Enteromorpha prolifera* (Muell.) J. Ag. [J]. Food Science, 2009, 30(15): 124-126
- [25] 李栋. 竹叶黄酮的提取、纯化、鉴定及其抗氧化和抑菌活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008
- LI Dong. Study on extraction, purification, identification, antioxidation and antibacteria of the flavonoids from bamboo leaves [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008
- [26] 王慧. 七种竹叶提取物抗氧化活性及提取工艺优化研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2012
- WANG Hui. Antioxidant activity of bamboo leaf extracts from seven varieties and extraction process optimization [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2012