

降低和田红枣白兰地中 甲醇含量的发酵前处理工艺优化

李桂林, 彭昕, 李泽涵, 邵永明, 杨凡, 李函伦, 杨兴元
(新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830000)

摘要: 本研究以新疆和田地区的干制红枣为原料酿制白兰地, 探究了不同水平的发酵前处理条件对红枣白兰地中甲醇含量、酒精度、高级醇、感官评分等的影响。在单因素试验的基础上, 以甲醇含量为响应值, 选取低甲醇果胶酶添加量、酶解温度和沸浸时间进行三因素三水平 Box-Behnken 试验, 运用 Design Expert 8.0.6.1 软件进行试验数据分析, 得到降低甲醇含量最佳的前处理条件。结果表明, 低甲醇红枣白兰地最佳前处理工艺为: 沸浸时间 11.00 min、低甲醇果胶酶添加量 1.00 mL/kg、酶解温度 46.00 °C、酶解时间 6.00 h。在此条件下甲醇含量为 1.37 g/L, 酒精度 31.50% vol, 综合感官评分为 94.63 分, 与响应面最低甲醇预测值 1.39 g/L 基本相似。因此, Box-Behnken 响应面法可用于红枣白兰地发酵前处理工艺优化, 降低甲醇含量, 提升白兰地酒的品质。

关键词: 红枣; 白兰地; 甲醇; 前处理

文章编号: 1673-9078(2021)07-74-82

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.7.0953

Optimization of Pretreatment Process Before Fermentation to Reduce the Methanol Content in Hetian Dried Red Jujube Brandy

LI Gui-lin, PENG Xin, LI Ze-han, SHAO Yong-ming, YANG Fan, LI Han-lun, YANG Xing-yuan
(School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830000, China)

Abstract: In this study, dried red jujube fruits from the Hetian area of Xinjiang were used as the raw materials to brew brandy. The effects of different conditions of pretreatment prior to fermentation on the methanol content, alcohol content, higher alcohol and sensory score of jujube brandy were investigated. On the basis of single factor experiments, the methanol content was chosen as the response value, low amount of added methanol pectinase, enzymolysis temperature and boiling time, were selected for the three-factor three-level Box-Behnken test. The experiment data were analyzed using Design-Expert 11.0 software to obtain the optimal pretreatment conditions for reducing methanol content. The results showed that the optimal pretreatment process conditions for producing low-methanol dried red jujube brandy were: boiling immersion time, 11.00 min; amount of added methanol pectinase, 1.00 mL/kg; enzymolysis temperature, 46.00 °C; enzymolysis time, 6.00 h. Under the conditions, the methanol content was 1.37 g/L (similar to the response surface minimum methanol prediction value: 1.39 g/L), alcohol content was 31.50% vol, and comprehensive sensory score was 94.63. Therefore, the Box-Behnken response surface method can be used to optimize the pretreatment process of dried red jujube brandy fermentation, to reduce the methanol content while improving the quality of brandy.

Key words: jujube; brandy; methanol; pretreatment

引文格式:

李桂林, 彭昕, 李泽涵, 等. 降低和田红枣白兰地中甲醇含量的发酵前处理工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(7): 74-82

LI Gui-lin, PENG Xin, LI Ze-han, et al. Optimization of pretreatment process before fermentation to reduce the methanol content in hetian dried red jujube brandy [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 74-82

红枣, 鼠李科枣属木枣树的果实, 又称中华大枣、干枣、美枣等^[1]。红枣原产于我国, 具有悠久的栽培历史, 在古代文献中, 红枣被列为“五果之一”。红枣

收稿日期: 2020-10-16

基金项目: 新疆维吾尔自治区乡村振兴产业发展科技行动 (2020NC060)

作者简介: 李桂林 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程

通讯作者: 杨兴元 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 葡萄与葡萄酒

营养丰富, 富含人体所需的蛋白质、脂肪、碳水化合物、氨基酸、矿物质、膳食纤维以及多种维生素^[2]。《本经》中详细阐述了红枣具有性温、味甘、无毒的特性^[3], 入脾经、心经、胃经, 可入药膳, 具有改善脾胃功能, 补气血, 护肤美容等养生功效^[3,4]。红枣具有重要的药用价值, 长期食用可以起到抗肿瘤、抗癌、防止心血管疾病等作用^[5]。我国是红枣种植大国, 其种

植面积占全世界 90%以上, 主要分布于新疆、河北、河南、陕西等省份。近年来, 新疆和田地区的红枣因果实大、味道甜等原因广受消费者喜爱, 红枣加工生产链也在日益完善, 但单一的种植产出让农民受益有限, 开发以红枣为原料的酒精饮品是枣农增收, 资源综合利用的有利途径。

红枣白兰地是以干制红枣为原料经液态发酵、蒸馏、调配、陈酿而得。红枣自身具有较高的含糖量和丰富的多酚、黄酮等多种生理活性物质^[6], 具有很大的发酵潜力。但因红枣果实中果胶物质含量高, 在酿制过程中对红枣原料处理不恰当容易产生过量的甲醇^[7,8], 人体摄入过量甲醇会对神经系统和血液系统造成不可逆的危害, 严重者可能会死亡^[9]。张丽芝^[10]通过监测红枣酒发酵过程中甲醇和杂醇油含量变化, 得出了不同发酵期甲醇和杂醇油含量的变化规律; 武晓娜^[11]等采用基因诱变的方式选育得到低甲醇的酿酒酵母, 完善了低甲醇甘蔗酒的酿造工艺; 卢鹭滨^[12]等探究了低甲醇金桔蒸馏酒的酿造工艺; 夏亚男^[13]等研究了煮沸处理对大枣白兰地中的甲醇的控制; 董文娟^[14]等从原料预处理、酵母菌种和发酵温度三个方面对降低山楂酒中甲醇含量进行了探讨。但对优化红枣白兰地液态发酵前处理工艺降低甲醇含量鲜有报道。本研究主要对红枣白兰地液态发酵前处理工艺进行优化, 这是由于红枣白兰地中甲醇产生主要集中于原料前处理阶段^[8], 当果胶酶作用于枣浆时, 果胶酯酶延底物分子随机切除甲酯化果胶中的甲基, 产生甲醇和游离羧基。本研究采用的低甲醇果胶酶是一种特殊的果胶裂解酶, 通过特有的甲酯化苯环同步切分方式有效规避甲酯化基团单独游离枣浆中带来的高甲醇的风险。通过研究不同前处理水平对甲醇含量的影响, 以期得到甲醇浓度符合国标 GB 2757-2012^[15]规定(甲醇浓度 ≤ 2.00 g/L)的红枣白兰地并为工业生产提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

红枣, 新疆和田市; 葡萄酒活性酵母 ADT, 安琪酵母股份有限公司; 低甲醇果胶酶 RF, 45~55 °C/30~60 min、助滤破壁果胶酶 BXL, 40~45 °C/1~2 h 均产自德国 AB 酶制剂公司; 甲醇(色谱纯), 北京迪科马科技有限公司; 乙醇(色谱纯); 4-甲基-2-戊醇(色谱纯)。其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

岛津 GC-2010Pro 气相色谱仪, 上海善可精密仪

器有限公司; JSB30-1 电子计重秤, 上海浦春计量仪器有限公司; LE203E/02 分析天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; DZKW 电热恒温水浴锅, 北京永光明医疗仪器有限公司; LAL2T 酒精计, 广州速为电子科技有限公司; HPX-9052MBE 恒温培养箱, 上海博迅实业有限公司; TGL-16G 高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; DH-Z100 夏朗德壶式蒸馏器, 合肥大汉机械制造有限公司; 小型自制蒸馏锅。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程

红枣→分选→清洗→沸浸→复水→破碎→果胶酶酶解→接种酵母→酒精发酵→红枣原酒→一次蒸馏→原红枣白兰地→二次蒸馏→调配→陈酿→成品

1.3.2 操作要点

分选清洗: 挑选表面无腐烂破损的干枣, 清洗干净表面灰尘污物。

沸浸: 向蒸锅中倒入常温纯净水, 同时加入红枣, 慢慢煮沸后保持 15 min 左右, 沸浸提汁, 以便加快干红枣吸水胀裂且灭火红枣自身果胶酶。

复水: 向沸浸过的红枣中加入 3 倍质量的纯净水, 复水 24 h 充分提汁同时起到降温作用。

破碎: 经过沸浸和复水后, 红枣已变得非常柔软, 后经破碎机充分破碎成浆糊状。

果胶酶酶解: 分别添加助滤破壁果胶酶和低甲醇果胶酶, 在 40 °C 恒温水浴锅内酶解。

发酵: 接入干制红枣质量分数 0.02%左右的葡萄酒活性酵母 ADT, 发酵温度为 25 °C, 于恒温培养箱内发酵 6 d 左右。每 24 h 检测其基础理化指标并记录发酵情况。

蒸馏: 红枣原酒初蒸时不掐头, 当瞬时酒度降到 20%vol 时停止蒸馏得到原白兰地, 以便对甲醇、杂醇油和出酒率进行定量分析。复蒸采用夏朗德壶式蒸馏, 掐去 60%vol 前的酒头, 去除 25%vol 后的酒尾得到红枣白兰地。

1.3.3 优化红枣白兰地前处理工艺的单因素试验

在酵母接种量为 0.02%、发酵温度为 24 °C、助滤破壁果胶酶添加量为 2.00 mL/kg (每 1 kg 干制红枣添加 2.00 mL 果胶酶, 下同) 的条件下, 按 1.3.2 中发酵和蒸馏的方法获得红枣白兰地。考察低甲醇果胶酶添加量 (0、0.40、0.80、1.20、1.60、2.00 mL/kg) 对红枣白兰地中高级醇、酒精度、甲醇含量的影响, 酶解温度 (30、35、40、45、50 °C)、酶解时间 (0、3、6、9、12 h) 对红枣白兰地中甲醇含量及酒精度的影响,

沸浸时间(0、5、10、15、20 min)对发酵醪液中还原糖以及红枣白兰地中酒精度、甲醇含量、高级醇含量、感官评价的影响。

1.3.4 响应面试验设计

表1 响应面试验因素及水平

编码	因素	水平		
		-1	0	1
A	沸浸时间/min	5	10	15
B	低甲醇果胶酶添加量/(mL/kg)	0.40	0.80	1.20
C	酶解温度/°C	40	45	50

在单因素试验的基础上,选择低甲醇果胶酶添加量、沸浸时间和酶解温度作为考察因素,甲醇含量和酒精度为响应值,按照 Box-Behnken 设计原理,运用 Design Expert 8.0.6.1 软件进行响应面试验设计,响应

表2 红枣白兰地感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation standards of cider

项目	评分标准	评分/分
色泽	澄清透亮有光泽,无沉淀及悬浮	18~20
	澄清透亮无光泽,无沉淀及悬浮	15~17
	较为澄清透亮,稍浑浊,有少量沉淀及悬浮	12~14
香气	果香和谐,酒香醇和香气协调浓郁	28~30
	具有明显的红枣香,酒香	25~27
	红枣香、酒香较淡,但无异味	22~24
	香气不足,稍有异味,	19~21
	香气不足,稍有刺鼻的异味	19分以下
口感	酒体丰满醇厚,细腻绵延,爽口,后味甘甜	37~40
	酒质柔和,爽口、酒体协调、纯正无杂	33~36
	欠浓郁,不协调,纯正完整	29~32
	酒体寡淡,饮后稍有辛辣感	26~29
	较完整,后味苦涩	26分以下
风格	具有典型的风格,优雅独特	9~10
	典型明确,风格较突出	7~8
	典型性不明显,较突出的风格,	5~6
	不具有红枣白兰地的典型性	5分以下

感官评定:感官评定采用百分制法,参考 GB 11856-2008^[19]中白兰地评价标准和参考前人结果^[20,21]修正后,制定出红枣白兰地感官评分标准(见表2),由20名经过培训的具有一定感官评定经验的评定员,对经过复蒸后的各个酒样从色泽(满分20分)、香气(满分30分)、口感(满分40分)、风格(满分10分)4个方面进行感官评定,取其感官评定分数的平均值作为评定结果。

2 结果与讨论

面试验设计因素及水平见表1。

1.4 测定方法

酒精度的测定:采用酒精计法^[16];还原糖:采用直接滴定法^[17]。

甲醇和高级醇的测定:采用气相色谱法^[18]。色谱条件:载气 N₂;检测器,氢火焰离子化检测器(FID);以保留时间定性,外标法定量;进样量 1 μL;分流比:20:1;进样口温度:220 °C;检测温度 230 °C;柱温在 40 °C 保持 2 min,以 5 °C/min 升温至 80 °C,以 20 °C/min 升到 200 °C,保持 5 min。

$$\text{甲醇含量的计算方法: } X = \frac{\rho}{C \times 1000}$$

式中: X 代表试样中的甲醇含量(g/L); ρ 代表试样中的甲醇浓度(mg/L); C 代表试样的酒精度(% vol)。

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 低甲醇果胶酶添加量对红枣白兰地中甲醇含量、高级醇、酒精度的影响

从表3可知,当酶添加量增加到 1.60 mL/kg 时,高级醇含量达到最大值,异丁醇含量为 136.47 mg/L,异戊醇含量为 550.16 mg/L。通过对比表3中异丁醇、异戊醇和感官评分的变化趋势,可以看出在增加低甲醇果胶酶添加量的同时,感官评分逐渐升高,当酶添加量为 1.20 mL/kg 时,红枣白兰地的评分最高,为

91.82。这是因为酶添加量使得还原糖含量升高,白兰地的口感更加甘冽,酒体更加充盈,而酶添加量继续加大,果胶质分解越多,发酵过程中高级醇生成的越多,当异丁醇为 136.47 mg/L、异戊醇 550.16 mg/L 时,感官评分逐渐降低。对于未经陈酿的蒸馏酒,没有充足的时间条件令高级醇类物质分解^[22],而高级醇的存在会使饮用者出现舌燥,头昏等不良反应,这是感官评分随高级醇含量升高而降低的重要原因。

表 3 低甲醇果胶酶添加量对红枣白兰地中高级醇含量和感官评分的影响

Table 3 Effect of low methanol gel enzyme addition on the advanced alcohol content and sensory score of red jujube brandy

酶添加量 / (mL/kg)	异丁醇 / (mg/L)	异戊醇 / (mg/L)	感官评分 / 分
0.00	105.84	431.79	85.40
0.40	107.16	437.51	85.14
0.80	112.43	440.68	89.72
1.20	110.71	444.76	91.82
1.60	136.47	550.16	88.17
2.00	126.74	512.90	86.33

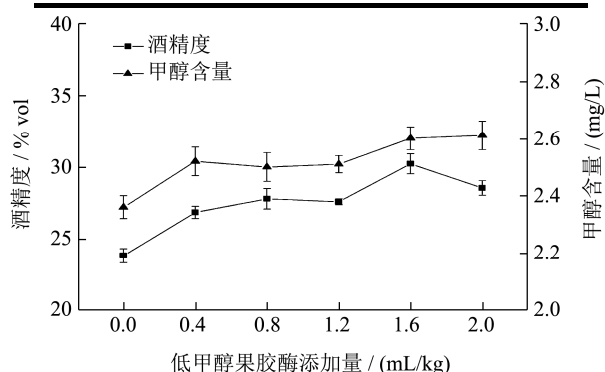


图 1 低甲醇果胶酶添加量对红枣白兰地中甲醇含量和酒精度的影响

Fig.1 Effect of low methanol gel enzyme addition on the content and alcohol content of red jujube brandy methanol

由图 1 可知,酶添加量从 0.40 到 2.00 mL/kg,甲醇含量依次为 2.52、2.50、2.51、2.60、2.61 g/L,与对照组的 2.36 mL/kg 相比,分别增加了 0.16、0.14、0.15、0.24、0.25 g/L,方差分析显示 0.4、0.8、1.2 mL/kg 处理组均显著高于对照组 ($p < 0.05$), 1.6、2.0 mL/kg 处理组均极显著高于对照组 ($p < 0.01$)。当酶添加量达到 1.60 mL/kg 后,枣浆中的溶出的果胶质基本被酶解完,所得样品的酒精度为 30.22% vol,达到最高值,同时甲醇含量基本达到峰值。此时,随着果胶质被大量分解,甲醇的生成速率变低,继续加酶,其变化趋向稳定。不同种类果胶酶处理对白兰地中甲醇含量的

影响不同^[23]。张少云^[24]的研究结果显示添加 0.15% 的通用果胶酶,蒸馏酒中的甲醇含量增加了一倍,但本试验添加 2 mL/kg (质量分数为 0.2%) 果胶酶,样品中甲醇含量最多只增长了 10.59%。这是由于本试验选用的低甲醇果胶酶以甲酯化苯环键位切分方式裂解果胶从而避免了甲酯化基团的单独切割游离带来的高甲醇风险,在提高出酒率的同时有效抑制甲醇含量的增加。为了避免发酵过程中残余的果胶酶继续发挥作用^[23]并结合实际生产成本需要,本文最佳酶添加量为 0.80 mL/kg,此时,酒精度增加了 17% 而甲醇含量只增加了 0.59%,符合降低甲醇的目标,适合工业化生产。

2.1.2 酶解温度对红枣白兰地中甲醇含量及酒精度的影响

由图 2 可知,甲醇含量和酒精度随着酶解温度的增大而增加。方差分析显示,35 °C 处理组的甲醇含量极显著高于其他处理组 ($p < 0.01$), 50 °C 处理组的甲醇含量极显著低于其他处理组 ($p < 0.01$), 40 °C 处理组的酒精度极显著高于其他处理组 ($p < 0.01$)。当酶解温度为 35 °C 时,甲醇含量达到最大值,继续增大酶解温度到 40 °C,甲醇含量逐渐降低,而酒精度达到最大值。当酶解温度大于 40 °C 后,甲醇含量和酒精度均迅速降低。在 35 °C 时,甲醇含量达到 2.69 g/L,与对照组 (30 °C 处理组) 的 2.53 g/L 相比增加了 0.16 g/L,甲醇含量的迅速增加是因为随着酶解温度的增大,果胶酶活性增强,分解果胶质的速率增大,在 40 °C 时,甲醇含量降低到 2.62 g/L,但此时酒精度增加到 32.05% vol。原因是随着果胶质大量分解,促进可溶性固形物溶出,但温度不断增大抑制了酶活性,果胶分解速率降低,可溶性固形物溶出速率变低但溶出量仍在增加。考虑到降低甲醇并保证较高出酒率,本文最佳酶解温度为 45 °C,此时酒精度高达 29.10% vol,甲醇含量为 2.49 g/L。

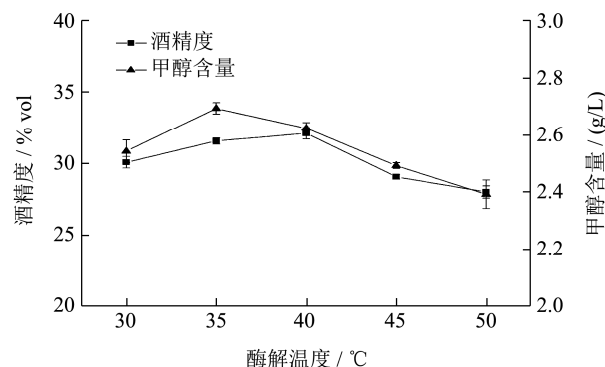


图 2 酶解温度对红枣白兰地中甲醇含量和酒精度的影响
Fig.2 Effect of enzymatic temperature on methanol content and alcohol content of red jujube brandy

表4 沸浸时间对红枣白兰地中高级醇含量和感官评分的影响

Table 4 Effect of boiling time on the advanced alcohol content and sensory score of red jujube brandy

沸浸时间/min	发酵液中还原糖/(g/L)	异丁醇/(mg/L)	异戊醇/(mg/L)	感官评分/分
5	213.66	105.84	357.66	87.11
10	179.51	81.57	344.61	84.65
15	177.38	85.87	325.85	83.93
20	154.25	70.13	316.99	83.60
25	149.23	77.03	323.06	81.54

2.1.3 酶解时间对红枣白兰地中甲醇含量及酒精度的影响

由图3可知,与对照组(没有在40℃恒温水浴锅内酶解)的甲醇含量2.75 g/L相比,处理组酶解时间从3到12 h,甲醇含量分别增加了0.31、0.23、0.14、0.28 g/L。而酒精度先增加后降低,当酶解时间为6 h时,酒精度达到最大值30.18% vol。经方差分析,除了9 h处理组外,其余三组处理间甲醇含量没有显著差异($p>0.05$)。酶解时间大于6 h后酒精度迅速降低,酶解9 h,酒精度降低到最小值25.58% vol,此时甲醇含量为2.88 g/L。原因可能是,酶解时间的延长,给了果胶酶充足的时间酶解枣浆中的果胶质,酶解时间为3~6 h时,果胶质基本被果胶酶酶解完毕,再延长酶解时间相反增加了被杂菌侵染的可能,在接种酵母后,无法快速建立起菌群优势^[25],从而影响发酵,使得酒率降低。朱香滢^[26]等人对甘蔗汁酶解时,最适酶解时间为3.5 h,果胶分解物质D-半乳糖醛酸增加了约99%。考虑到本试验酶解底物为枣浆,能量消耗必然增大,但酶解时间不宜过长,所以本文最佳酶解时间为6 h。

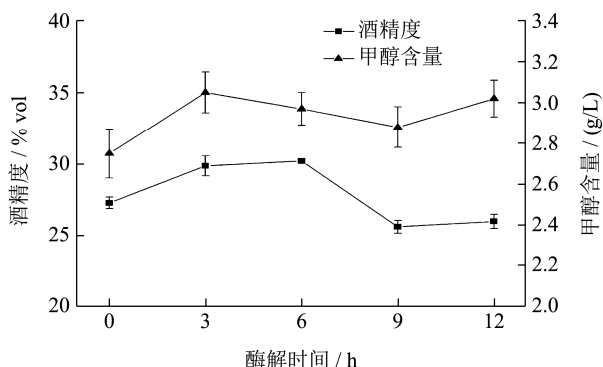


图3 酶解时间对红枣白兰地中甲醇含量和酒精度的影响

Fig.3 Effect of enzymatic time on methanol content and alcohol content of red jujube brandy

2.1.4 沸浸时间对红枣白兰地中还原糖、甲醇含量、高级醇、酒精度的影响

由表4可知,还原糖和高级醇含量随着沸浸时间的延长而逐渐降低。当沸浸时间为25 min时,还原糖含量达到最低值149.23 g/L,相较于5 min的处理组,

降低了64.43 g/L。沸浸处理抑制了红枣自身酶活性,分解果胶能力降低,导致还原糖含量降低。尹宝颖^[27]研究了蒸煮处理对蒸馏酒中高级醇的影响,认为不同蒸煮时间可以不同程度地降低高级醇含量。对比表2与表4中的高级醇含量可知,经过沸浸处理过的红枣白兰地异丁醇与异戊醇的含量均极显著低于未经沸浸处理的($p<0.01$)。这是由于高级醇属于酵母代谢产物,初始还原糖不足导致酵母不能良好的生长,高级醇含量随之降低^[28],一定程度上降低了白兰地的醇厚性^[29]。对比表2,经过沸浸处理的红枣白兰地感官评分均低于未沸浸的,经过沸浸处理后的白兰地,枣香味浓郁,但口感较寡淡,辛辣感强烈。

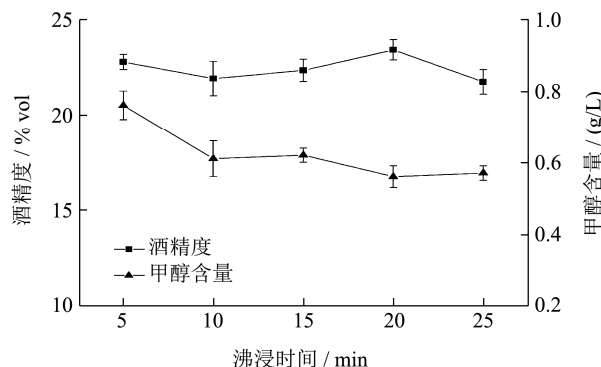


图4 沸浸时间对红枣白兰地中甲醇含量和酒精度的影响

Fig.4 Effect of boiling time on methanol content and alcohol content of red herring brandy

由图4可知,经沸浸处理过的样品甲醇含量分别为0.76、0.61、0.62、0.56、0.57 g/L,酒精度分别为22.77%、21.90%、22.33%、23.40%、21.73%,甲醇含量和酒精度均极显著低于图1、2、3中未经沸浸处理的($p<0.01$)。这与夏亚男^[13]研究蒸煮处理影响红枣白兰地中甲醇含量的结果一致。随着沸浸时间的延长,甲醇含量逐渐降低,酒精度变化无规律。沸浸时间为10 min时甲醇含量下降较快,当沸浸时间为20 min时,甲醇含量达到最低值0.56 g/L,继续延长沸浸时间至25 min,酒精度有明显的下降趋势。沸浸处理大幅降低红枣白兰地中的甲醇含量和酒精度,是因为甲醇主要由果胶在甲基酯酶的作用下水解和甘氨酸转化而成^[30],高温加热抑制了红枣本身的果胶甲基酯酶活性,

从而阻止了甲醇的产生同时因为酶的失活, 出酒率降低。在沸浸到 10 min 时, 果胶甲基酯酶基本失活, 再继续加热对甲醇含量的影响不大, 所以沸浸处理最适时间为 10 min。

2.2 响应面结果分析

2.2.1 响应面方差试验分析

根据单因素试验结果, 选取红枣白兰地甲醇含量为响应值, 沸浸时间(A)、低甲醇果胶酶添加量(B)、酶解温度(C)为考察因素进行 3 因素 3 水平的 BBC 试验。响应面试验设计与结果见表 5, 方差分析结果见表 6。

表 5 响应面试验设计与结果

Table 5 Response surface test design and results

试验号	A 沸浸时间/min	B 酶添加量/(mL/kg)	C 酶解温度/℃	甲醇含量/(g/L)
1	5.00	0.40	45.00	1.89
2	15.00	0.40	45.00	1.87
3	5.00	1.20	45.00	1.73
4	15.00	1.20	45.00	1.55
5	5.00	0.80	40.00	1.81
6	15.00	0.80	40.00	1.71
7	5.00	0.80	50.00	1.86
8	15.00	0.80	50.00	1.59
9	10.00	0.40	40.00	1.76
10	10.00	1.20	40.00	1.69
11	10.00	0.40	50.00	1.83
12	10.00	1.20	50.00	1.42
13	10.00	0.80	45.00	1.43
14	10.00	0.80	45.00	1.43
15	10.00	0.80	45.00	1.41
16	10.00	0.80	45.00	1.45
17	10.00	0.80	45.00	1.46

表 6 响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 6 Analysis results of response surface fitting regression equation

方差来源	总方差	自由度	均方差	F 值	Prob>F 值	显著性
模型	0.52	9	0.058	55.83	<0.0001	**
A	0.041	1	0.041	39.24	0.0004	**
B	0.12	1	0.12	111.30	<0.0001	**
C	9.113E-003	1	9.113E-003	8.80	0.0209	*
AB	6.400E-003	1	6.400E-003	6.18	0.0418	*
AC	7.225E-003	1	7.225E-003	6.98	0.0333	*
BC	0.029	1	0.029	27.92	0.0011	**
A ²	0.16	1	0.16	155.88	<0.0001	**
B ²	0.069	1	0.069	66.91	<0.0001	**
C ²	0.052	1	0.052	49.90	0.0002	**
残差	7.245E-003	7	1.035E-003			
失拟项	5.725E-003	3	1.908E-003	5.02	0.0765	
纯误差	1.520E-003	4	3.800E-004			
总和	0.53	16				

注: “*”表示差异显著 ($0.01 < p < 0.05$), “**”表示差异极显著 ($p < 0.01$), $R^2=0.9863$, $Adj R^2=0.9686$, $Pre R^2=0.82$ 。

利用 Design-Expert 8.0.6.1 软件对表试验数据进行多元回归拟合, 获得以红枣白兰地的甲醇含量为响应值的回归方程:

$$\text{甲醇含量} = 1.44 - 0.071 \times A - 0.12 \times B - 0.034 \times C - 0.040 \times A \times B - 0.042 \times A \times C - 0.085 \times B \times C + 0.20 \times A^2 + 0.13 \times B^2 + 0.11 \times C^2$$

由表 6 可知, 回归模型极显著 ($p < 0.01$), 失拟项不显著 ($p > 0.05$), 回归模型的决定系数 $R^2 = 0.9863$, 调整系数 $\text{Adj}R^2 = 0.9686$, 说明该回归模型与试验拟合较好, 可以用于对红枣白兰地甲醇含量的理论预测。从回归方程系数显著性检验可知, 各因素对红枣白兰地甲醇含量影响程度依次为低甲醇果胶酶添加量 (B) > 沸浸时间 (A) > 酶解温度 (C)。一次项 A、B 交互项 BC 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对结果影响极显著 ($p < 0.01$), 一次项 C 与交互项 AB、AC 对结果影响显著 ($p < 0.05$), 其他相对结果影响不显著 ($p > 0.05$)。

2.2.2 响应面曲面图分析

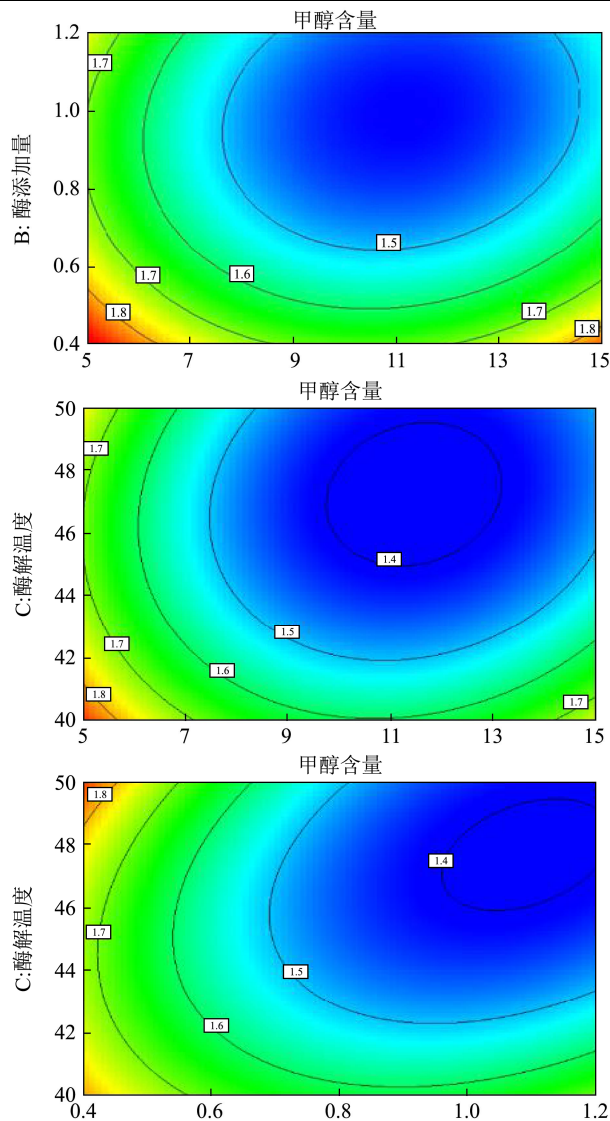
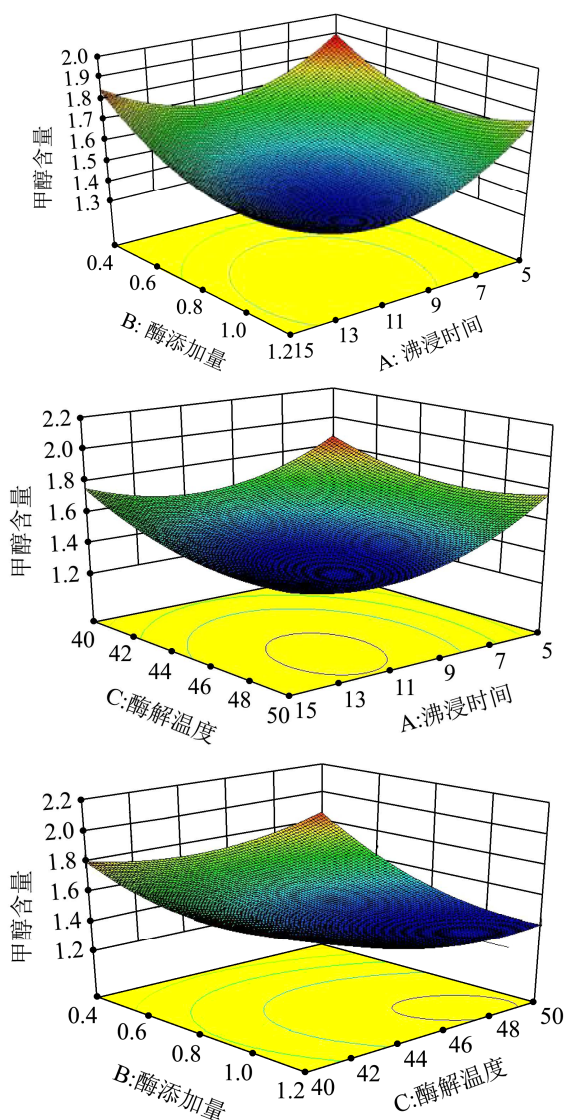


图 5 各因素之间三维响应面图和等高线图

Fig.5 Three-dimensional response between the various factors and contour lines

对红枣白兰地甲醇含量影响显著的交互作用的响应面及等高线见图 5。由图 5 可知, 随着各因素水平的增大, 响应值呈先减小后逐渐稳定的趋势。交互项 AB、BC 和 AC 对甲醇含量影响的响应面均呈现抛物面, 即说明 3 个交互项所在选取的试验范围内, 响应值均存在极小值。等高线均呈椭圆形, 即说明 3 个交互项对结果影响显著, 与方差分析结果一致。

运用 Design Expert 8.0.6.1 响应面分析软件对试验结果进行优化, 得到降低红枣白兰地甲醇含量的最佳前处理条件: 沸浸时间 10.71 min、低甲醇果胶酶添加量 0.97 mL/kg、酶解温度 45.57 °C。在此最优条件下, 红枣白兰地甲醇含量最小预测值为 1.39 g/L。综合实际操作要求, 将上述最优前处理条件调整为沸浸时间 11.00 min、低甲醇果胶酶添加量 1.00 mL/kg、酶解温

度 46.00 °C, 按上述前处理工艺制作红枣白兰地, 进行 3 次重复试验, 得到的甲醇含量为 1.37 g/L, 接近预测值, 且初次蒸馏酒精度平均值为 31.50% vol, 异丁醇含量为 87.92 mg/L, 异戊醇含量为 306.46 mg/L, 感官评分 94.63 分。说明此响应面法优化得到的红枣白兰地前处理工艺在实践中可行。

3 结论

本研究在单因素的基础上, 通过响应面试验优化红枣白兰地的前处理工艺, 达到了降低红枣白兰地中甲醇含量的目的, 确定最优前处理工艺为: 沸浸时间 11.00 min、低甲醇果胶酶添加量 1.00 mL/kg、酶解温度 46.00 °C。在此优化条件下, 经过一次蒸馏和复蒸得到的红枣白兰地酒体澄清透明, 口感绵延醇厚, 杀口感适中, 回味甘甜, 具有独特的红枣香气, 甲醇含量 1.37 g/L, 酒精度 31.50% vol, 异丁醇含量为 87.92 mg/L, 异戊醇含量为 306.46 mg/L, 综合感官评分高达 94.63 分。本试验为红枣白兰地的酿制提供了发酵前处理试验基础, 对于指导生产实践, 开发红枣酒精饮品填补市场空缺有一定的意义。

参考文献

- [1] 张洁,张大为,闫佳,等.发酵型红枣酒工艺条件的优化[J].中国酿造,2018,37(9):191-195
ZHANG Jie, ZHANG Da-wei, YAN Jia, et al. Optimization of processing conditions of fermented red jujube wine [J]. Brewing in China, 2018, 37(9): 191-195
- [2] 鲁周民,刘坤,闫忠心,等.枣果实营养成分及保健作用研究进展[J].园艺学报,2010,37(12):2017-2024
LU Zhou-min, LIU Kun, YAN Zhong-xin, et al. Research progress on the nutritional components and health effects of jujube fruits [J]. Acta Horticulture, 2010, 37(12): 2017-2024
- [3] 李娜,陈瑶瑶,单春会,等.骏枣预处理方式对红枣酒品质的影响[J].食品研究与开发,2020,41(18):79-84
LI Na, CHEN Yao-yao, SHAN Chun-hui, et al. The effect of jujube pretreatment methods on the quality of jujube wine [J]. Food Research and Development, 2020, 41(18): 79-84
- [4] 马千里,田英姿,英犁,等.利用隶属函数模型评价新疆红枣的品质[J].现代食品科技,2014,30(1):211-216
MA Qian-li, TIAN Ying-zi, YING Li, et al. Evaluation of the quality of Xinjiang jujube using the membership function model [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 211-216
- [5] 肖波,柳全文,王晓洁,等.红枣关键功能性组分及其生理功能[J].食品研究与开发,2018,39(16):210-214
XIAO Bo, LIU Quan-wen, WANG Xiao-jie, et al. Key functional components of red dates and their physiological functions [J]. Food Research and Development, 2018, 39(16): 210-214
- [6] ZHANG Hao, JIANG Lu, YE Shu, et al. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) from China [J]. Food & Chemical Toxicology, 2010, 48(6): 1461-1465
- [7] 赵红岩.果胶酶在果蔬汁加工中的应用研究[J].中国酿造,2012,31(12):18-19
ZHAO Hong-yan. Research on the application of pectinase in fruit and vegetable juice processing [J]. China Brewing, 2012, 31(12): 18-19
- [8] 张钟,陈海蓉.影响荔枝酒甲醇含量的因素[J].中国酿造,2014,33(3):125-127
ZHANG Zhong, CHEN Hai-rong. Factors affecting the methanol content of lychee wine [J]. China Brewing, 2014, 33(3): 125-127
- [9] ZHANG Hui, Woodams Edward E, HANG Yong-dong. Factors affecting the methanol content and yield of plum brandy [J]. Journal of Food Science, 2012, 77(4-6): T79-T82
- [10] 张丽芝.发酵枣酒中的甲醇和杂醇油控制[J].酿酒科技,2013,8:36-39
ZHANG Li-zhi. Methanol and fusel oil control in fermented jujube wine [J]. Liquor Science and Technology, 2013, 8: 36-39
- [11] 武晓娜,康富帅,阎锐鸣,等.低甲醇甘蔗酒的酿造工艺研究[J].现代食品科技,2012,28(6):670-671,683
WU Xiao-na, KANG Fu-shuai, YAN Rui-ming, et al. Research on the brewing technology of low-methanol sugarcane wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(6): 670-671, 683
- [12] 卢鹭滨,杨帆.低甲醇金桔蒸馏酒工艺的探究[J].食品工业,2019,40(2):148-151
LU Lu-bin, YANG Fan. Research on the distillation process of low methanol kumquat [J]. The Food Industry, 2019, 40(2): 148-151
- [13] XIA Ya-nan, MA Yan-li, HOU Li-juan, et al. Studies of boil treatment on methanol control and pilot factory test of jujube brandy [J]. International Journal of Food Engineering, 2017, 13(2)
- [14] 董文娟,杜金华,付元真.降低山楂酒中甲醇含量的研究[J].酿酒,2015,42(2):40-45
DONG Wen-juan, DU Jin-hua, FU Yuan-zhen. Research on reducing methanol content in hawthorn wine [J]. Liquor

- Making, 2015, 42(2): 40-45
- [15] GB 2757-2012 食品安全国家标准《蒸馏酒及其配制酒》[S]
- [16] GB 5009.225-2016 食品安全国家标准《酒中乙醇浓度的测定》[S]
- [17] GB/T 15038-2006 《葡萄酒果酒通用分析方法》[S]
- [18] GB 5009.266-2016 食品安全国家标准《食品中甲醇含量的测定》[S]
- [19] GB/T 11856-2008 《白兰地》[S]
- [20] 李凤霞,胡元庆,林瑞炳,等.香蕉菠萝复合果酒发酵工艺参数的研究[J].酿酒科技,2017,11:36-39
LI Feng-xia, HU Yuan-qing, LIN Rui-bing, et al. Research on fermentation process parameters of banana and pineapple compound fruit wine [J]. Winemaking Science and Technology, 2017, 11: 36-39
- [21] 杨辉,杨嫚.响应面法优化海红果白兰地发酵工艺条件[J].食品工业科技,2015,36(3):254-259,265
YANG Hui, YANG Man. Optimization of fermentation conditions for sea red fruit brandy by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(3): 254-259, 265
- [22] 孙金旭.酱香型白酒发酵过程中异戊醇的控制研究[J].现代食品科技,2012,28(11):1541-1544
SUN Jin-xu. Control of isopentyl alcohol in maotai-flavor liquor fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(11): 1541-1544
- [23] 陈静,郝俊光,蔡秋杏.巨峰葡萄酒发酵过程中甲醇杂醇油变化规律研究[J].食品研究与开发,2020,41(13):31-36
CHEN Jing, HAO Jun-guang, CAI Qiu-xing. Study on the change of methanol fusel oil during the fermentation of kyoho wine [J]. Food Research and Development, 2020, 41(13): 31-36
- [24] 张少云.低甲醇红枣蒸馏酒的固态发酵工艺研究[D].保定:河北农业大学,2018
ZHANG Shao-yun. Study on solid-state fermentation technology of low-methanol jujube distilled liquor [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2018
- [25] Uroš Miljić, Vladimir Puškaš, Vesna Vučurović. Investigation of technological approaches for reduction of methanol formation in plum wines [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2016, 122: 635-643
- [26] 朱香滢,曹雨珊,伍淑婕,等.酿酒甘蔗汁酶解工艺研究[J].食品研究与开发,2017,38(19):51-55
ZHU Xiang-hao, CAO Yu-shan, WU Shu-jie, et al. Research on enzymatic hydrolysis of sugarcane juice [J]. Food Research and Development, 2017, 38(19): 51-55
- [27] 尹宝颖,王颖,孙剑锋.蒸煮处理对红枣白兰地中高级醇含量的影响[J].食品科技,2014,39(4):47-50
YIN Bao-ying, WANG Jie, SUN Jian-feng, et al. Effect of cooking treatment on high alcohol content in jujube brandy [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(4): 47-50
- [28] 李维,崔丹瑶,王建辉,等.HS-SPME-GC-MS 分析高产酯低产高级醇酿酒酵母发酵酒的风味物质[J].现代食品科技,2018,34(3):248-254,230
LI Wei, CUI Dan-yao, WANG Jian-hui, et al. HS-SPME-GC-MS analysis of flavor compounds in fermented wine with high-yield esters and low-yield high alcohol brewer's yeast [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(3): 248-254, 230
- [29] 齐晓茹,师旭,王颖,等.赤霞珠干红葡萄酒中甲醇、乙酸乙酯、高级醇含量的测定[J].酿酒科技,2018,3:98-101,105
QI Xiao-ru, SHI Xu, WANG Jie, et al. Determination of methanol, ethyl acetate and higher alcohol content in Cabernet Sauvignon dry red wine [J]. Winemaking Technology, 2018, 3: 98-101, 105
- [30] 张文叶,张磊,迟雷,等.果胶酶对山楂果酒酿造过程中甲醇及主要杂醇油含量的影响[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版),2015,30(Z1):1-5
ZHANG Wen-ye, ZHANG Lei, CHI Lei, et al. The effect of pectinase on the content of methanol and main fusel oil during the brewing of hawthorn wine [J]. Journal of Zhengzhou University of Light Industry (Natural Science Edition), 2015, 30(Z1): 1-5