

葛根酒的发酵工艺优化

张丽杰, 赵天涛, 全学军, 陆天健

(重庆工学院生物工程学院, 重庆 400050)

摘要: 以葛根为原料, 液化后采用糖化酶进行糖化, 使用活性干酵母为发酵剂生产葛根保健酒。利用响应曲面法对有交互作用的糖化酶、 α -淀粉酶和酵母菌 3 个因素进行了优化。结果表明, 当糖化酶的量 165 u/g 原料、 α -淀粉酶的量 89 u/g 原料、酵母菌为 1.03 g 时, 可得最大酒精度 6.4 %vol, 最大总黄酮溶出量为 28.66 mg/mL。

关键词: 保健酒; 葛根; 发酵工艺; 响应曲面法; 总黄酮

中图分类号: TS262.91; TS261.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2007)10-0040-03

Fermentation Optimization of Pueraria lobata Health Wine by Response Surface Methodology

ZHANG Li-jie, ZHAO Tian-tao, QUAN Xue-jun and LU Tian-jian

(Chongqing University of Technology Bioengineering College, Chongqing 400050, China)

Abstract: The Pueraria lobata was used as the raw material, and glucoamylase used for saccharification after the liquefaction, and active dry yeast used as ferment. Using response surface methodology (RSM), by which the interaction between the three factors: glucoamylase, α -Amylase and active dry yeast and their optimum levels were studied. The results showed that the highest alcohol concentration was 6.4 %vol and the highest flavone concentration was 28.69 mg/mL when the fermentation was carried out with glucoamylase concentration of 165 u/g raw material, α -Amylase concentration of 90 u/g raw material and active dry yeast concentration of 1.041 g.

Key words: health wine; Pueraria lobata; fermentation; Response surface methodology; Flavone

葛根富含淀粉、葛根素、大豆黄酮、大豆黄酮甙、葛根素木糖甙、花生酸等多种药效成分。现代医学研究发现葛根素和总黄酮能扩张冠状动脉和脑血管, 改善心、脑的血液循环, 减慢心率、降低心肌的好氧量; 葛根素能抑制二磷酸腺苷诱导的血小板凝聚以及凝血酶诱导血小板中五羟色胺的释放, 因而对阻止血栓形成和治疗偏头痛很有意义, 被现代医学界誉为“人体心、脑、血管微循环系统的调整专家”, 并享有“亚洲人参”之美誉^[1,2]。因此, 开发葛根的药用、食用价值更为重要^[1]。本实验以葛根粉为原料采用双酶法酿造酒, 并用响应曲面法对糖化酶、 α -淀粉酶和酵母菌有交互作用的 3 个因素进行优化设计, 主要目的是通过酿造工艺的优化减少酶的用量, 降低生产成本, 同时使酒的质量稳定。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种: 安琪牌酒精活性干酵母^[3], 安琪酵母股份有限公司生产;

酶制剂: ①糖化酶, 50000 u/g, 无锡市博立生物制品有限公司生产, 实测 41000 u/g; ② α -淀粉酶, 40000 u/g, 连云港华瑞化工有限责任公司生产, 实测 28000 u/g;

原料: 野生葛根, 重庆产。

1.2 仪器设备

全玻璃蒸馏器、电炉、紫外分光光度计 UV2000、酒精比重计、糖度计、手提式不锈钢灭菌锅、恒温摇床、粉碎机、pH 计等。

1.3 方法

1.3.1 葛根保健酒的生产工艺流程

水 α -淀粉酶 糖化酶 活化酵母
↓ ↓ ↓ ↓
葛根粉→搅拌均匀→蒸煮→液化→糖化→发酵→过滤→杀菌→装瓶→成品

收稿日期: 2007-06-06

作者简介: 张丽杰(1975-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为生物发酵与分离。

1.3.2 方法

1.3.2.1 葛根的预处理

取重庆产天然野生葛根,洗净晾干后切成 1 cm^3 的小块,用植物粉碎机粉碎后过60目筛,分别得60目以上的粉料(以下简称粗料)和60目以下的粉料(以下简称细料)。

1.3.2.2 干酵母的活化

取适量干酵母加入到2%的葡萄糖溶液中,再置于 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的摇床上(水浴)振荡活化2 h。

1.3.2.3 加水量的确定

先确定原料的加入量。水量过少,料液粘稠,且糊化阶段易形成疙瘩,不利于液化;水量过大,固形物含量不足,导致发酵后酒度过低,不符合产品要求。本实验选用的料液比为1.6。水分4次加入,对于本实验中50 g原料,糊化阶段加入35 mL水,剩下的水分别在液化、糖化和酵母菌接种时加入,总水量为300 mL。

1.3.2.4 液化的温度、pH值和时间的确定

α -淀粉酶在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下较为稳定,最适作用温度为 $60\sim 70\text{ }^{\circ}\text{C}$;在 $70\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间,随着温度升高,其反应速度加快,但是失活也加快。 $\text{pH}6.0\sim 7.0$ 较为稳定;最适作用 $\text{pH}6.0\sim 6.5$, $\text{pH}5.0$ 以下失活严重。本实验选用温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{pH}6.0\sim 6.5$ 、液化时间为28 h。

1.3.2.5 糖化的温度、pH值和时间的确定

糖化酶在室温至 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 起糖化作用,最适温度 $58\sim 62\text{ }^{\circ}\text{C}$;超过 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 酶活力失活严重。 $\text{pH}3.0\sim 5.5$ 较为稳定;最适作用 $\text{pH}4.0\sim 4.5$, $\text{pH}3.0$ 以下失活严重。本实验选用温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{pH}4.0\sim 4.5$ 、糖化时间为28 h。

1.3.2.6 接种量及发酵时间的确定

接种量过少,发酵不完全,残糖剩余量多,酒精度小;接种量过大,微生物繁殖过快,会在发酵旺盛期产生大量气泡,容易出现溢液和染菌现象。本实验用响应曲面法对接种量进行设计。发酵时间为7 d、发酵温度为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.3 分析测定方法^[4]

酒精体积分数测定:蒸馏-比重法;

总黄酮测定^[6]:紫外分光光度计法;

残糖测定:用折光糖度计直接测定。

2 结果与分析

2.1 葛根粉料的确定

取粗细不同的葛根粉各2份,每份料为50 g,其中2份不做任何处理为粗生料和细生料,另2份蒸煮,蒸料前加入35 mL水,在 0.05 MPa 下蒸15 min;2份生料各加35 mL水浸泡2 h,使粉料充分溶胀。然后按照上述实验条件和工艺进行发酵,发酵结束后测残糖、酒精度

和总黄酮含量,结果见表1。

表1 葛根粉料粗细及蒸煮与否对发酵的影响

项目	粗生料	粗熟料	细生料	细熟料
酒精度(%vol)	1.4	6.1	1.1	6.0
残糖量(%)	1.1	1.0	2.1	1.5
总黄酮含量(mg/mL)	11.36	13.71	16.83	24.14

由表1可以看出,熟料的酒精度远远大于生料,这说明蒸煮工艺有利于发酵,因为葛根中的淀粉经过蒸煮后,原料内部的淀粉膜破裂,内容物流出,变成可溶性淀粉,有利于后序的液化、糖化及酵母菌发酵,所以酒精度高;同时,由表1还可以看出,细料的总黄酮量高于粗料,细料有利于总黄酮的溶出,因此,本实验采用细熟料作为发酵原料。

2.2 糖化酶、 α -淀粉酶及酵母菌的量对发酵的影响及其交互作用

实验发现,糖化酶、 α -淀粉酶及酵母菌的量对酒精度的影响存在交互作用。液化程度低,糖化酶的用量少,最终导致发酵用的葡萄糖含量少,酵母菌利用率低,酒精度小;而液化程度高,也不利于糖化酶作用^[7],影响催化效率,糖化液最终产葡萄糖含量少,影响发酵。因此,利用Box-Behnken 3因素3水平的响应曲面法进行实验设计^[8],在选定的水平下考察3种物质的相互影响,具体实验设计见表2、表3。

2.2.1 不同因素的水平选取

设计因素水平及编码的选取见表2。

表2 Box-Behnken 实验设计因素水平及编码

项 目	变 量		
	-1	0	1
糖化酶(X_1)(u/g 原料)	120	160	200
淀粉酶(X_2)(u/g 原料)	80	110	140
酵母菌(X_3)(g)	0.75	1.00	1.25

Box-Behnken的3因素3水平实验的取值见表3,共需进行15组实验,数据处理使用SAS统计软件。表3中实验值为实际的反应结果,预计值是数据经SAS软件拟和出方程后,计算出的酒精度。

2.2.2 Box-Behnken 实验设计结果与分析

通过SAS软件的数据处理,建立响应曲面回归模型,并进而寻求最优化响应因子水平。根据拟和出的最大值中3个因素的不同取值进行实验,得出酒精度为 $6.4\text{ }^{\circ}\text{vol}$,说明拟和的结果是可信的。

2.3 酒精度和总黄酮的关系

考查了相应曲面优化实验中每组实验的酒精度和总黄酮含量的变化关系,结果见图1。

从图1可以看出,总黄酮的变化趋势和酒精度基本

表 3 Box-Behnken 设计实验值及预测值

实验 次数	糖化酶 (u/g 原料)	α -淀粉酶 (u/g 原料)	酵母菌 (g)	酒精度(%vol)		总黄酮 (mg/mL)
				预计值	实验值	实验值
1	200	140	1.00	5.0	5.0	19.46
2	200	80	1.00	5.8	5.7	24.82
3	120	140	1.00	5.0	5.1	20.88
4	120	80	1.00	5.4	5.4	21.16
5	200	110	1.25	5.6	5.8	27.49
6	200	110	0.75	5.2	5.2	24.83
7	120	110	1.25	5.1	5.2	24.76
8	120	110	0.75	5.2	5.0	18.50
9	160	140	1.25	5.5	5.3	24.59
10	160	140	0.75	5.4	5.5	23.99
11	160	80	1.25	6.2	6.1	25.42
12	160	80	0.75	6.0	6.2	24.35
13	160	110	1.00	6.3	6.3	28.21
14	160	110	1.00	6.3	6.3	27.98
15	160	110	1.00	6.3	6.3	28.12

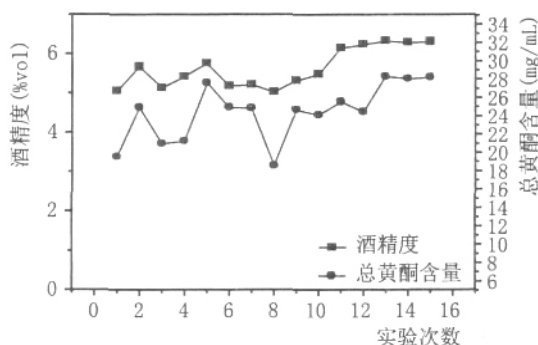


图 1 酒精度和总黄酮含量的关系

上是一致的。与水溶液相比,黄酮类物质在乙醇中有更高的溶解度,在发酵过程中,较高浓度的乙醇对总黄酮的浸提溶解起到了积极的作用。

3 结论

3.1 蒸煮工艺对酒精度的提高起决定作用,而粉料的粗细对总黄酮的浸出含量影响较大。因此采用葛根粉的细熟料为发酵原料。

3.2 通过响应曲面实验,考查了在糖化酶、 α -淀粉酶和活性干酵母的交互作用下,酒精发酵的最优值,即糖化酶的量 165 u/g 原料, α -淀粉酶的量 89 u/g 原料和酵母菌 1.03 g 时,可得最大酒精度 6.4 %vol。

3.3 高浓度的乙醇对总黄酮的浸提溶解起到了积极的作用,在得到最高酒精度的同时可以得到最大总黄酮溶出量 28.66 mg/mL。

参考文献:

- [1] 王克明,王雪筠.葛根保健酒的研究[J].酿酒科技,1996,(1): 55-55.
- [2] Corley R.N.; Woldegehebriel A.; Murphy M.R..Evaluation of the nutritive value of kudzu (Pueraria lobata) as a feed for ruminants[J]. Animal Feed Science and Technology, 1997,68(1): 183-188.
- [3] 傅金泉,黄建平.安琪耐高温活性干酵母在夏酿黄酒生产上的应用[J].酿酒科技,1998,(2): 39-40.
- [4] 王卫国,刘志林.黄酒高产优质技术初探[J].周口师范高等专科学校学报,2001,18(2): 41-43.
- [5] 钟秋平,周文化,左美雨,刘群芳.芦荟糯米黄酒的研制[J].食品工业,2003,(4): 30-31.
- [6] 王万能,全学军,陆天健.均匀设计超声循环提取豆粕异黄酮的研究[J].大豆科学,2005,24(1): 75-77.
- [7] 张力田.淀粉糖(修订版)[M].北京:中国轻工业出版社,1998. 144.
- [8] Douglas C.Montgomery.Design And Analysis Of Experiments (Third Edition)[M],1991.591.

五部门联合发出通知部署 2007 年质量月活动

本刊讯:2007 年 8 月 21 日,中共中央宣传部、国家质检总局、国家发展改革委、中华全国总工会、共青团中央联合发出通知,就开展 2007 年质量月活动作出部署。今年质量月的主题为“质量安全共同的责任”,各部门将围绕主题重点开展 8 个方面的活动:一是紧紧围绕人民群众生命健康安全,开展以食品安全为重点的产品质量专项整治行动。二是组织开展打假保名优专项活动。三是召开中国名牌表彰大会,表彰一批优秀企业。四是发布 2006 年度全国产品质量竞争力指数专项公报。五是开展“降废减损提质,节能降耗增效”活动。六是开展全员质量知识普及及教育,进一步调动广大职工参与管理、改进质量的积极性。七是继续开展“质量专家革命老区行”、“质量专家西部行”等活动。八是围绕“质量安全共同的责任”开展广泛的宣传。(妮)

泸州酒业上半年产销激增

本刊讯:2007 年 1~6 月份,泸州市完成白酒产量 22.04 万千升,同比增长 61.51%;实现销售 23 万千升,同比增长 66.14%;实现销售收入 45.36 亿元,同比增长 61.58%;入库税金 6 亿元,同比增长 41.36%;实现利润 5.92 亿元,同比增长 72.23%。其中,泸州老窖集团依然发挥了酒业龙头的作用,上半年销售收入和实现的利润分别占全市的 44%、77%;完成白酒销量 6.27 万千升,同比增长 93.55%;实现销售收入 20.23 亿元,同比增长 44.45%;入库税金 4.05 亿元,同比增长 32.17%,利润同比增长 60.53%。郎酒集团完成白酒销量 9162 千升,同比增长 97.84%;实现销售收入 6.81 亿元,同比增长 119.63%;入库税金 5922 万元,同比增长 64.55%;利润同比增长 135.43%。青岛啤酒(泸州)分公司完成啤酒销量 4.29 万千升,同比增长了 33.94%;实现销售收入 6270 万元,同比增长了 36.63%;入库税金 1176 万元,同比增长 26.05%;实现利润 800 万元,同比增长 73.16%。(君)