

响应面法优化紫薯酒的发酵工艺及香气分析

潘年龙,王孝荣

(西南大学食品科学学院,重庆 400715)

摘要:通过单因素和响应面法对紫薯酒的发酵工艺条件进行优化,得到了紫薯酒发酵的最佳工艺参数:pH3.4、安琪酿酒高活性干酵母添加量0.08%、发酵温度20.7℃,发酵7d,即可得到11.23°的紫薯酒;采用顶空固相微萃取法提取紫薯酒的香气,利用气相色谱-质谱联用仪对紫薯酒的香气成分进行分析和鉴定,结果表明:从紫薯酒中共鉴定出香气物质35种,大部分是酯类,其中辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯相对含量较高。

关键词:紫薯酒,发酵工艺,响应面法,香气成分,气相色谱-质谱

Optimization of fermentation conditions with response surface methodology and the analysis of aroma-active components for purple potato wine

PAN Nian-long, WANG Xiao-rong

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: The optimization of fermentation conditions was determined by single factor experiments and response surface methodology. Purple potato wine of approximately 11.23° was obtained on optimization conditions that the fermentation time was seven days with 0.08% angel alcohol active dry yeast at 20.7℃ and pH 3.4. Aroma-active components of purple potato wine were extracted by solid-phase microextraction (SPME) and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Thirty-five aroma-active components were identified from purple potato wine. The major aroma-active components were esters and the relative content of ethyl octanoate, ethyl decylate, ethyl laurate, ethyl palmitate were higher.

Key words: purple potato wine; fermentation; response surface methodology; aroma-active components; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号:TS262.7

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2013)06-0202-06

紫薯 (*Solanum tuberosum*), 原名川山紫, 又名紫红薯、紫甘薯, 属于旋花科一年生草本植物^[1]。紫薯是近年来开发出来的一种新甘薯品种, 其块根呈紫红或者紫黑色, 富含花色苷等色素物质^[2]。经研究报道, 花色苷具有抗氧化^[3]、抗突变、抗癌、缓解肝功能障碍等^[4]生理功能, 因此, 以紫甘薯为原料的深加工越来越受到了人们的关注。随着人们生活水平的提高, 人们的消费习惯正发生着深刻的变化, 近年来, 营养丰富的低度酒备受青睐, 消费量正在逐年增加^[5]。杜琨等^[6]利用石榴发酵出来的果酒, 酒体呈桃红色且清亮透明, 酒香浓郁, 口感醇正, 营养丰富, 酒度低; 郑静^[7]酿制出的菠萝果酒, 典型性突出, 营养丰富, 酒度低; 赵贵红^[8]利用木瓜发酵出的果酒, 不仅营养价值高, 风味独特, 而且还具有一定的保健功能。以紫薯为原

料酿制的低度发酵酒, 不仅风味独特, 兼备葡萄酒和黄酒的气味, 而且紫红色素在酿酒过程中保留在酒液中, 形成漂亮的紫红色, 使产品更具有吸引力^[9]。因此, 以紫薯为原料酿制的酒, 酒度低, 营养价值高, 符合当今酒类发展的趋势, 有着广阔的市场前景。本文通过响应面法对紫薯酒的发酵工艺进行优化, 并对得到产品的香气进行系统分析, 为以后进行工业化生产提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫甘薯 购于永辉超市; α -淀粉酶 (>3700U/g)、糖化酶 (>105U/g) 北京奥博星生物技术有限责任公司; 法国拉曼酵母 (D_{254}) 上海杰兔工贸有限公司; 酿酒高活性干酵母 安琪酵母有限公司; 马利干酵母 哈尔滨马利酵母有限公司; 其他试剂 均为分析纯。

QP2010型气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司; 萃取头 (polyacrylate/PA, 85 μ m) 美国Supelco公

收稿日期:2012-10-08

作者简介:潘年龙(1988-),男,硕士研究生,研究方向:现代食品加工理论与技术。

司;手动固相微萃取进样器 美国珀金-埃尔默公司;数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 紫薯水解液化和糖化条件的确定 参照文献[10]。

1.2.2 紫薯酒发酵工艺单因素实验设计

1.2.2.1 酵母菌种类的确定 紫薯经液化和糖化处理后,调节初始pH为4.0,添加不同种类的酵母,酵母菌的添加量为0.10%,在发酵温度为27℃的条件下发酵7d后,测定发酵液的酒度和花色苷的含量,各处理重复3次。

1.2.2.2 酵母菌添加量的确定 紫薯经液化和糖化处理后,调节pH为4.0,分别添加经活化过后的安琪酿酒高活性干酵母0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%,在发酵温度27℃的条件下发酵7d后,测定发酵液的酒度和花色苷含量,各处理重复3次。

1.2.2.3 料液初始pH的确定 紫薯经液化和糖化处理后,分别调节初始pH为3.0、3.5、4.0、4.5、5.0,添加经活化过后的安琪酿酒高活性干酵母0.10%,在发酵温度27℃的条件下发酵7d后,测定发酵液的酒度和花色苷含量,各处理重复3次。

1.2.2.4 发酵温度的确定 紫薯经液化和糖化处理后,调节初始pH为3.5,添加0.10%经过活化过后的安琪酿酒高活性干酵母,分别在16、20、24、28、32℃条件下发酵,发酵7d后,测定发酵液的酒度和花色苷含量,各处理重复3次。

1.2.3 响应面实验设计 在单因素实验的基础上,本实验采用3因素3水平的Box-Behnken响应面设计方法,选择料液初始pH、酵母菌添加量(安琪酿酒高活性干酵母)、发酵温度这3个对实验影响较大的因素进行响应面实验设计,以酒度为优化指标,并进行3次重复实验。具体因素实验水平见表1。

表1 Box-Behnken响应面实验设计因素水平
Table 1 Coded values and corresponding real values of the fermentation conditions tested in Box-Behnken experimental design

因素	编码水平		
	-1	0	1
A 料液初始pH	3.0	3.5	4.0
B 酵母菌添加量(%)	0.05	0.10	0.15
C 发酵温度(℃)	16	20	24

1.2.4 紫薯酒香气分析

1.2.4.1 紫薯酒香气物质的固相微萃取(SPME)提取 将固相微萃取的萃取纤维头在气相色谱的进样口老化,老化温度为280℃,老化时间1h。取紫甘薯酒原酒10mL,放入20mL聚四氟乙烯硅橡胶垫密封的顶空进样瓶中,盖上盖子,插入PA萃取纤维头,于45℃下顶空吸附20min^[11]。

1.2.4.2 GC-MC参数条件 色谱条件^[12]:色谱柱HP-5MS(30mm×0.25mm,0.25μm);升温程序:35℃保持3min,以8℃/min升至110℃保持2min,以6℃/min升至150℃并保持2min,以8℃/min升至230℃并保持6min;

载气(He):流量1.00mL/min,压力53.5kPa,进样口的温度250℃,进样量0.5μL;不分流。

质谱条件:电子轰击(ED)离子源;电子能量:70eV;离子源温度:230℃;接触面温度为250℃;ACQ方式:Scan;质量扫描范围为40~400amu;扫描速度:769/s。

1.2.5 指标测定方法

1.2.5.1 花色苷的测定 花色苷的测定采用消光系数法^[13],即取1mL发酵液用酸化乙醇稀释,静置1h,测定其A_{530nm}和A_{720nm}值。其中酸化乙醇为95%乙醇与1.5mol/L HCl体积比为85:15。

$$\text{花色苷含量}(\mu\text{g/mL}) = \frac{(A_{530\text{nm}} - A_{720\text{nm}}) \times \text{稀释倍数}}{98.2}$$

式中:98.2为花色苷平均消光系数。

1.2.5.2 其他指标的测定 水解度:GB/T 5009.9-2008,酸水解法;还原糖含量:GB/T 5009.7-2008,直接滴定法;pH:pH计直接测定;酒度:GB/T 5009.48,比重计法,以乙醇体积分数计。

1.2.6 数据处理方法 利用SPSSv19.0、EXCEL2003对单因素实验进行数据处理;利用Design-Expert软件对响应面实验得到的数据进行回归和方差分析;利用质谱分析结果、通过检索与NIST 05提供的标准质谱进行定性,用面积归一法计算各部分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 酵母菌种类的确定

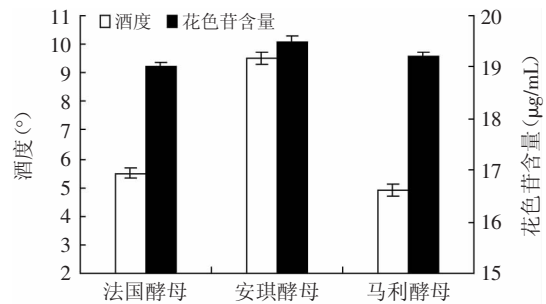


图1 不同酵母菌对紫薯酒酒度和花色苷含量的影响
Fig.1 Effects of yeast type on alcohol and anthocyanin contents of purple potato wine

从图1可知,利用安琪酵母发酵出的紫薯酒的酒度和花色苷含量都较高,且香味纯正,故本实验采用安琪酿酒高活性干酵母。

2.2 紫薯酒发酵工艺的单因素实验研究

2.2.1 酵母添加量对发酵紫薯酒酒度和花色苷含量的影响 由图2可知,当料液中酵母菌添加量为0.1%时,紫薯发酵酒的酒度最高;当添加量小于0.1%时,料液中糖不能被完全转化为酒精,故酒度较低;当添加量大于0.1%时,酒度下降,这是因为发酵液中的营养物质被过多地消耗在菌体的生长繁殖上,使得用于生产酒精的营养物质减少,而且有较多的有害代谢物质产生,使菌体所处的环境提前恶化,细胞解体,细胞成分溶解到酒中,降低了原酒的品质质量^[14]。安琪酿酒高活性干酵母添加量对发酵紫薯酒中花色苷含量的影响不是很大。

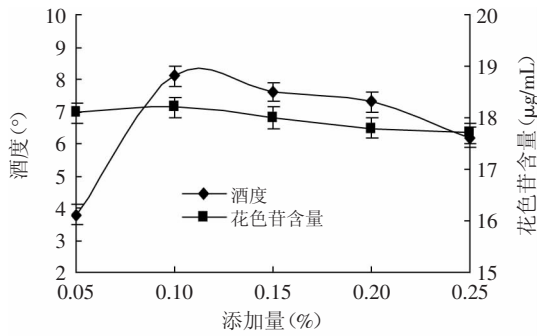


图2 安琪酿酒高活性干酵母添加量对发酵紫薯酒的酒度和花色苷含量的影响

Fig.2 Effects of added yeast amount on alcohol and anthocyanin contents of purple potato wine

2.2.2 料液初始pH对发酵紫薯酒的酒度和花色苷含量的影响 由图3可知,紫薯发酵液酒度随着初始pH的升高呈先升后降的趋势,当发酵液的初始pH为3.5时,紫薯酒的酒度最高,且此时花色苷的相对含量也较高,这是因为紫薯酒中的花色苷在酸性条件下保存量较高,弱酸性或中性条件下花色苷不稳定^[13]。

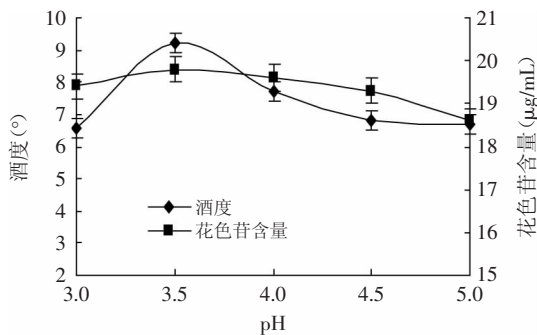


图3 pH对紫薯发酵酒的酒度和花色苷含量的影响

Fig.3 Effects of pH on alcohol and anthocyanin contents of purple potato wine

2.2.3 发酵温度对发酵紫薯酒的酒度和花色苷含量的影响 由图4可知,当发酵温度为20℃时,紫薯发酵酒的酒度和花色苷含量都较高;当温度低于20℃时,随着温度的升高,酵母的活性增强,酒度、花色苷增加;当温度大于20℃时,酒度、花色苷均降低,这是因为温度过高,发酵剧烈,酵母老化速度快,生成酒

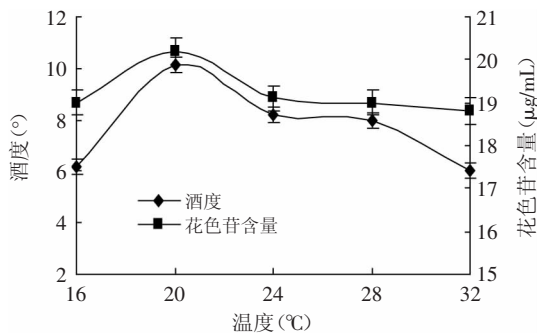


图4 发酵温度对发酵紫薯酒的酒度和花色苷含量的影响

Fig.4 Effects of fermentation temperature on alcohol and anthocyanin contents of purple potato wine

精量少,导致酒度过低^[15]。

2.3 紫薯酒发酵的响应面优化实验研究

2.3.1 紫薯酒发酵的响应面优化实验设计及结果

Box-Behnken响应面设计水平及结果见表2。

表2 响应面设计及结果

Table 2 Box-Behnken experimental design and results for optimizing fermentation conditions

实验号	A	B	C	Y 酒度 (°)
1	0	0	0	11.3
2	-1	0	1	8.2
3	0	0	0	10.7
4	-1	0	-1	5.6
5	-1	-1	0	9.7
6	0	0	0	11.4
7	1	-1	0	8.6
8	1	1	0	8.8
9	1	0	-1	5.4
10	0	0	0	10.9
11	-1	1	0	8.4
12	0	-1	-1	5.1
13	0	0	0	11.3
14	0	1	1	5.7
15	0	-1	1	8.9
16	1	0	1	5.8
17	0	1	-1	4.9

通过软件分析,得到优化后响应值的动态参数方程为: $Y=11.12-0.41A-0.56B+0.95C+0.37AB-0.55AC-0.75BC-1.07A^2-1.17B^2-3.80C^2$ 。

2.3.2 回归分析 由表3方差分析可知,该模型的F值为39.53,且引起误差的最大变化几率仅有0.01%,表明该模型显著。失拟项 $p=0.0728>0.05$ ($\alpha=0.05$)不显著,该方程决定系数 $R^2=0.9559$,表明该模型的拟合度较好,建模成功。

表3 回归模型的方差分析

Table 3 Variance analysis for the fitted regression equation with alcohol degree as a function of various fermentation conditions

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值
模型	91.51	9	10.17	39.53	<0.0001
A	1.36	1	1.36	5.29	0.0550
B	2.53	1	2.53	9.84	0.0164
C	7.22	1	7.22	28.07	0.0011
AB	0.56	1	0.56	2.19	0.1827
AC	1.21	1	1.21	4.70	0.0667
BC	2.25	1	2.25	8.75	0.0212
A ²	4.84	1	4.84	18.83	0.0034
B ²	5.79	1	5.79	22.50	0.0021
C ²	60.72	1	60.72	236.07	<0.0001
残差	1.80	7	0.26		
失拟	1.43	3	0.48	5.19	0.0728
纯误差	0.37	4	0.092		
总和	93.31	16			

C、A²、B²、C²对紫薯酒的酒度影响极显著 ($p < 0.01$)；B对其影响显著 ($p < 0.05$)；BC交互项对其影响显著 ($p < 0.05$)；因素A、AB交互项、AC交互项对其影响不显著 ($p > 0.05$)。

2.3.3 各因素交互作用的响应面图 由图5~图7交互作用对响应值的影响结果可看出，B与C的交互作用较显著。

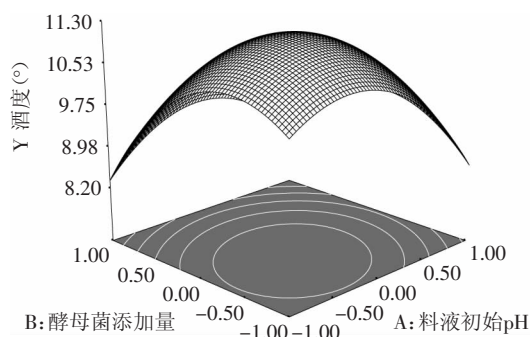


图5 pH和安琪酿酒高活性干酵母添加量的交互作用对紫薯酒酒度影响的响应面图

Fig.5 Response surface graph the interactive effects of pH and yeast dose on alcohol content of purple potato wine

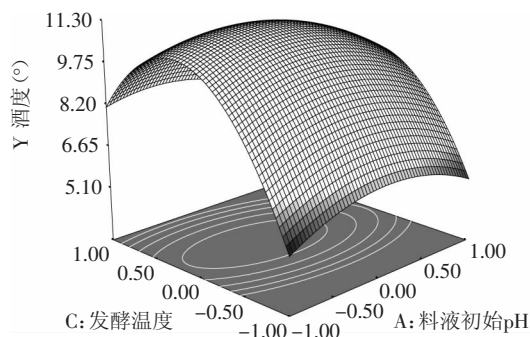


图6 pH和发酵温度的交互作用对紫薯酒酒度影响的响应面图

Fig.6 Response surface graph the interactive effects of pH and temperature on alcohol content of purple potato wine

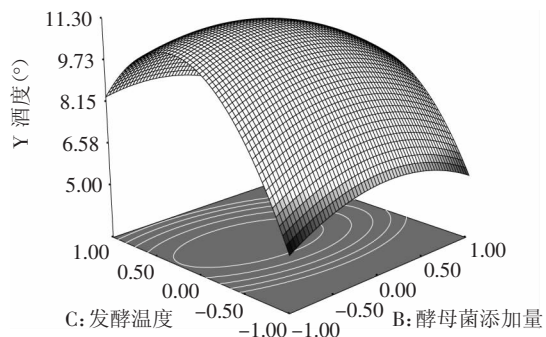


图7 安琪酿酒高活性干酵母添加量和发酵温度的交互作用对紫薯酒酒度影响的响应面图

Fig.7 Response surface graph the interactive effects of yeast dose and temperature on alcohol content of purple potato wine

2.3.4 验证实验 经过优化，得到的最佳工艺参数为：pH3.4，安琪酿酒高活性干酵母的添加量0.08%，发酵温度20.7°C。通过验证实验，重复测定三次，酒度实测值为11.23°，与预测值11.4001°接近，说明该模型可

靠，可用于预测发酵紫薯酒酒度与发酵条件的关系。

2.4 紫薯酒的香气分析

2.4.1 紫薯酒香气成分的GC-MS总离子流图 经GC-MS对香气成分进行分析，总离子流图见图8。

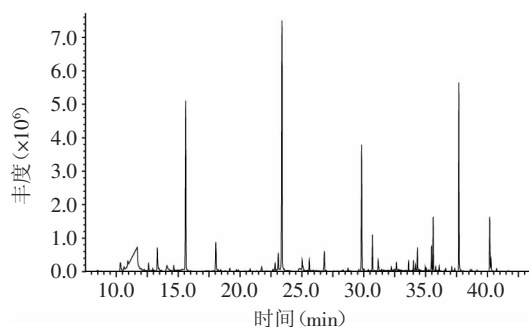


图8 紫薯酒香气成分总离子流图

Fig.8 Total ion chromatogram of aroma components of the purple potato wine

2.4.2 香气成分分析 由表4可知，发酵得到的紫薯酒共检测出香气成分35种，占总峰面积的97.03%。在紫薯酒香气成分中，酯类24种、醇类5种、烷类2种、酮类2种、酚类1种、萜类1种，相对含量分别为86.71%、5.51%、0.82%、1.51%、1.82%、0.66%。

紫薯酒中相对含量较高的香气物质有：丙三醇2.41%、苯乙醇2.2%、辛酸乙酯14.9%、乙酸苯一酯3.27%、癸酸乙酯25.53%、月桂酸乙酯10.9%、十五酸乙酯5.54%、棕榈酸乙酯12.96%、亚油酸乙酯4.35%。

3 结论

3.1 通过单因素实验和Box-Behnken响应面优化实验，建立了紫薯酒发酵的多项式模型： $Y = 11.12 - 0.41A - 0.56B + 0.95C + 0.37AB - 0.55AC - 0.75BC - 1.07A^2 - 1.17B^2 - 3.80C^2$ ；并确立了紫薯酒发酵的最佳工艺条件：pH3.4，安琪酿酒高活性干酵母的添加量0.08%，发酵温度20.7°C，并通过验证实验实测得酒度为11.23°，与预测值11.4001°接近，说明该模型可用于预测紫薯酒酒度与发酵条件的关系。

3.2 采用顶空固相微萃取法对紫薯酒的香气成分进行提取，并利用气相色谱-质谱联用仪对香气成分进行了分析和鉴定，共检测出35种香气物质，其中相对含量较高的有丙三醇2.41%、苯乙醇2.2%、辛酸乙酯14.9%、乙酸苯一酯3.27%、癸酸乙酯25.53%、月桂酸乙酯10.9%、十五酸乙酯5.54%、棕榈酸乙酯12.96%、亚油酸乙酯4.35%。

3.3 利用该工艺发酵得到的紫薯酒营养丰富，酒度低，这一工艺不仅延伸了紫薯的食用价值，而且又符合国内外酒精饮料的发展方向，具有十分广阔的市场前景。

参考文献

[1] 冯晓群. 紫薯的保健功能及应用前景[J]. 甘肃科技, 2011, 27(9): 8-9.
 [2] 楚文婧, 滕建文. 紫甘薯酒发酵工艺条件研究[J]. 资源开发与市场, 2010, 26(8): 686-688.
 [3] Cho J, Kang JS, Long PH, et al. Antioxidant and Memory

表4 紫薯酒香气成分GC-MS分析结果

Table 4 The aroma components of the purple potato wine

编号	分子式	峰面积(%)	峰高(%)	相似度	相对分子质量	化合物名称
1	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.33	0.36	94	144	正己酸乙酯
2	C ₃ H ₈ O ₃	2.41	1.21	98	98	丙三醇
3	C ₁₀ H ₁₈ O	0.51	0.65	85	154	芳樟醇
4	C ₈ H ₁₀ O	2.2	1.99	98	122	苯乙醇
5	C ₆ H ₈ O ₄	0.72	0.40	85	144	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-吡喃酮
6	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	14.9	15.04	96	172	辛酸乙酯
7	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	3.27	2.47	97	164	乙酸苯一酯
8	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.11	0.13	89	186	壬酸苯一酯
9	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.16	0.18	90	186	癸酸甲酯
10	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.32	0.32	87	178	3-苯丙酸乙酯
11	C ₁₁ H ₂₄ O	0.23	0.14	94	172	1-十一醇
12	C ₁₃ H ₁₈ O	0.79	0.70	86	190	突厥酮
13	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	25.53	22.25	95	200	癸酸乙酯
14	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	1.53	1.55	87	198	壬烯癸酸乙酯
15	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	1.26	1.32	95	214	3-甲基辛酸丁酯
16	C ₁₅ H ₂₄ O	1.82	1.75	96	220	2,6-二叔丁基甲苯酚
17	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	0.26	0.29	88	340	二十酸乙酯
18	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	10.9	11.21	94	228	月桂酸乙酯
19	C ₁₇ H ₃₆	0.3	0.27	90	240	十七烷
20	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	1.07	1.36	96	242	3-甲基癸酸丁酯
21	C ₁₈ H ₂₀	0.66	0.72	90	236	2,3-二氢-1,1,3-三甲基-3-苯基-1-茛
22	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.68	0.93	88	242	十三烷酸乙酯
23	C ₁₈ H ₂₂	0.52	0.53	93	238	2,3-二甲基-2,3-二苯基丁烷
24	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1.57	2.06	91	256	十四酸乙酯
25	C ₁₅ H ₂₆ O	0.16	0.23	89	222	3,7,11-三甲基-2,6,10-十三烷烯-1-醇
26	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	5.54	7.50	91	270	十五酸乙酯
27	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.29	0.42	88	198	反-4-癸烯酸乙酯
28	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.18	0.26	92	270	棕榈酸甲酯
29	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	12.96	17.17	92	284	棕榈酸乙酯
30	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.15	0.23	89	282	9-十六碳烯酸乙酯
31	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.09	0.14	86	298	十七酸乙酯
32	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	0.07	0.12	87	326	十九烷酸乙酯
33	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	4.35	4.82	93	308	亚油酸乙酯
34	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1.01	1.03	93	306	亚麻酸乙酯
35	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.18	0.22	89	312	硬脂酸乙酯

Enhancing Effects of Purple Sweet Potato Anthocyanin and *Codyceps Mushroom Extract*[J]. Archives of Pharmacal Research, 2003, 26(10):1182-1187.

[4] Suda I, Oki T, Masuda M, *et al.* Direct absorption of acylated anthocyanin purple-fleshed sweet potato into rats [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1672-1676.

[5] 贺小贤. 低度石榴酒的加工技术[J]. 农产品加工, 2003(9): 18-20.

[6] 杜琨, 刘钊. 低度石榴果酒的生产工艺[J]. 酿酒科技, 2006(11):81-82.

[7] 郑静. 菠萝果酒酿造工艺的研究[J]. 酿酒, 2006, 33(5): 105-107.

[8] 赵贵红. 营养型木瓜果酒的酿制技术[J]. 中国酿造, 2007(1): 73-74.

[9] 杨瑞, 苏慧, 张伟. 低度紫薯酒及其发酵规律的研究[J]. 酿酒科技, 2008(9):55-57.

[10] 杨雅利, 阚健全, 沈海亮, 等. 紫甘薯酒发酵工艺条件的优化[J]. 食品科学, 2012, 33(03):157-162.

[11] 胡博然, 徐文彪, 杨新元, 等. 霞多丽干白葡萄酒品种香和发酵香成分变化的比较研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(12):191-194.

[12] 刘树文, 涂正顺, 李华, 等. 猕猴桃果酒陈酿期间香气成分的变化[J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(11):34-38.

[13] 沈昌. 优良果酒酵母筛选与紫甘薯酒发酵工艺研究[D]. 南京:南京农业大学, 2007.

[14] 张明. 紫甘薯酒加工工艺以及抗氧化性研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2011.

[15] 楚文靖. 紫甘薯酒的加工和抗氧化活性研究[D]. 南宁:广西大学, 2008.