

菊芋低醇饮料发酵工艺条件的优化研究

王彦博,王丽威,李飞飞,刘 欢,赵富宝
(辽宁工程技术大学 理学院,辽宁 阜新 123000)

摘要:为提高菊芋低醇饮料的质量,研究了酵母发酵菊芋低醇饮料工艺条件。单因素试验结果表明,发酵菌种、发酵温度、发酵时间、蔗糖添加量、初始 pH 和接种量对菊芋低醇饮料品质的影响极显著;对发酵温度、初始 pH 和接种量三个因素进行正交试验,优化后的菊芋低醇饮料的发酵条件为:蔗糖添加量 8%,初始 pH 为 5.0,接种量 1.0%,发酵温度为 25℃,发酵时间 36 h。

关键词:菊芋;低醇饮料;发酵条件;优化

中图分类号:TS275.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)12-0108-05

菊芋(*Helianthus tuberosus* L.)别名洋姜、鬼子姜和地姜。菊芋块茎中富含菊糖和寡果糖(占块茎干重的 80%以上),菊糖作为一种功能性食品原料,具有膳食纤维和双歧因子益生元的双重功效。低醇饮料(low-alcohol beverage)是以水果和果蔬为原料,通过酵母适当发酵而成的一种低酒精度饮品,酒精度一般在 1.0%~5.0%^[1]。其营养丰富,口感独特,兼具酒香与果香。同时还减少了酒精对人体的伤害,符合绿色健康的消费理念^[2],是一类具有重要开发价值的饮料。发酵菊芋汁制成的低醇饮料不但含有丰富的维生素、矿物质等多种营养成分,还具有低聚果糖和菊糖“双歧因子”等的保健功效,符合大众对低醇饮料口味的需求。菊芋汁低醇功能饮料的加工能够大大提高菊芋的附加值,为菊芋产品深加工提供一条新的途径,符合国家“限制粮食酒,发展非粮食酒”的产业政策。

采用单因素试验和正交优化试验,对酵母菌发酵菊芋低醇饮料的工艺条件进行探索,旨在优化得到发酵工艺参数,为工业生产提供技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

原辅料有菊芋,属红色品种,产于阜新农业园区试验田,4 月上旬采收;白砂糖和柠檬酸均为市售。

发酵菌种见表 1。

培养基有斜面活化培养基:蛋白胨 20 g、酵母浸粉 10 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 20 g 和蒸馏水

1 000 mL,pH5.8~6.0,121℃灭菌 30 min;种子培养基:蛋白胨 20 g、酵母浸粉 10 g、葡萄糖 20 g 和蒸馏水 1 000 mL,pH5.8~6.0,121℃灭菌 30 min;发酵培养基:100 mL 菊芋汁放入 250 mL 三角瓶中,加适量的糖,121℃灭菌 30 min。

表 1 发酵菌种

编号	菌种	来源
1	果酒酵母	辽宁工程技术大学生物工程实验室
2	啤酒酵母	辽宁工程技术大学生物工程实验室
3	活性干酵母	安琪酵母股份有限公司

1.2 方法

1.2.1 工艺流程 菌种→活化→扩大培养→接种
菊芋汁→加糖→调整 pH→灭菌→发酵培养基
→发酵→分离→成品

1.2.2 操作要点 ①菊芋汁的制备:菊芋经修整、清洗后,切成厚约 2 mm 的薄片,放入 0.5%的柠檬酸中浸泡 20 s,按 1:1 比例加水,热烫 5 min,用料理机打成浆液后,于沸水浴中浸提 1 h,100 目滤布过滤,收集滤液,滤渣加水于沸水浴加热 1 h,过滤,合并滤汁,按 1 kg 菊芋制 1 L 菊芋汁的比例加水定容,制成菊芋汁。②菌种的活化及扩大培养:取一定量的安琪酿酒酵母,加入无菌水中,摇晃混匀,挑取菌液接种到平板 YEPD 培养基中划线,培养至长出单菌落,挑取单菌落转接到斜面培养基,保存待用。将保存的啤酒酵母和果酒酵母斜面菌种转接到斜面培养基中,30℃活化培养 1 d,连续转接 2 次。挑取活化好的菌种,接到种子培养基中,30℃下培养 18 h。每隔 2 h 测定种子液中酵母菌数,绘制生长曲线,确定菌种培养时间。③接种发酵及发酵过程的监控:待各菌株种子液中酵母菌数达到 10^7 个·mL⁻¹,按试验设计的接种量接种到发酵培养基中,30℃下发酵。④酒液的分离:当发酵液中酒

收稿日期:2011-07-26

基金项目:辽宁工程技术大学大学生创新性实验计划资助项目(101014733)

第一作者简介:王彦博(1988-),男,河北省衡水市人,在读学士,从事微生物发酵研究。E-mail:1242303858@qq.com。

精度达到低醇饮料的要求时,停止发酵,真空抽滤,得成品,取样进行理化指标测定和感官品评。

1.2.3 正交试验 正交试验因素水平见表 2。

表 2 因素水平

水平	因素		
	A 发酵温度/℃	B 初始 pH	C 接种量/%
1	30	4.0	1.0
2	28	4.5	1.5
3	25	5.0	2.0

1.2.4 试验指标测定方法 菊芋中总糖含量测定采用苯酚-硫酸法^[3],菊芋中还原糖含量测定采用

DNS 比色法^[3],菊芋中蛋白质含量测定采用凯氏定氮法^[4],脂肪含量测定采用索氏抽提法^[5],菊芋低醇饮料理化指标和感官指标测定依据国标葡萄酒测定方法进行^[6]。试验研究中,参考了低醇啤酒^[7]、南瓜低醇饮料^[2]、石榴低醇酒^[8]等一些发酵低醇饮料理化指标的质量标准,结合菊芋发酵低醇饮料特点,制定了质量评定标准,其中理化评定标准见表 3,感官评定标准见表 4。

综合评分 = 感官评分 × 80% + 理化评分 × 20%。

表 3 菊芋低醇饮料理化评定标准

项目	标准	分数	评定标准
酒精含量/%	4.0±0.5	30	测定结果在指标要求范围内为满分,超出该范围需相应扣分,每超出 0.2%扣 1 分,不足 0.2%的按 0.2%计,超过 5%此项分数记为 0。
总糖含量/g·L ⁻¹	50.0±5.0	40	总糖含量的测定结果在指标要求范围内为满分,超出该范围需相应扣分,每超过 2 g·L ⁻¹ 扣 1 分,不足 2 g·L ⁻¹ 的按 2 g·L ⁻¹ 计。
总酸含量/g·L ⁻¹	3.5±0.1	30	总酸含量的测定结果在指标要求范围内为满分,超出该范围需相应扣分,每超过 0.1 g·L ⁻¹ 扣 1 分,不足 0.1 g·L ⁻¹ 的扣 1 分。

表 4 菊芋低醇饮料感官评定标准

项目	优	良	好	中	差
色泽(5)	4.5~5.0 浅黄或金黄(规定色)协调悦目	4.0~4.4 与规定色略有出入,较协调悦目	3.5~3.0 黄色较深,不太悦目	3.0~3.4 与规定色出入较大,不悦目	3.0 以下 失去本类酒应有色泽
澄清度(5)	4.5~5.0 澄清、发亮,有光泽	4.0~4.4 澄清、发亮	3.5~3.9 澄清透明有不明悬浮物	3.0~3.4 澄清度差,有悬浮物	3.0 以下 澄清透明有不明悬浮物
滋味(40)	37~40 清香爽口,纯正协调,酸甜适当	33~36 口味较纯正协调	28~32 口味较好,但稍有异味	24~27 较酸,涩,苦	23 以下 过酸、涩、苦有异味
风格(20)	18~20 风格独特优美,典型性好	16~17 风格优良,典型性较好	14~15 典型性,风格良好	12~13 典型性较差,风格一般	11 以下 失去典型性,风格不好。
香气(30)	28~30 香气协调,酒香悦人	25~27 酒香较协调悦人	21~24 香气稍淡,无异香	18~20 香气较弱,稍有异香	17 以下 不具有果酒香气,有异味感

2 结果与分析

2.1 菊芋原材料营养成分测定结果

由表 5 可以看出,菊芋汁中缺乏酵母菌可发酵糖,需要添加蔗糖以满足发酵低醇饮料产品所需要的糖含量和酒精含量。

表 5 菊芋块茎中营养成分测定结果

营养成分	蛋白质	总糖	还原糖	脂肪
含量/%	1.27	22.27	3.32	0.99

2.2 种子培养液中酵母生长曲线的测定

从图 1 中可知,各酵母菌株在开始的 2~3 h 生长速度很慢,处于适应期,随后进入对数生长期,

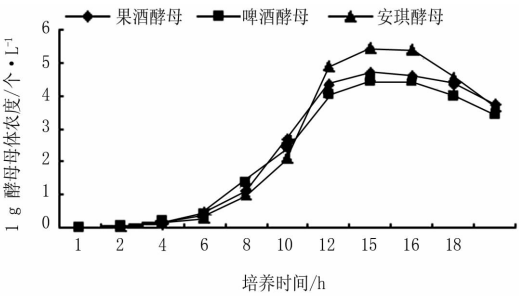


图 1 种子培养液中酵母生长曲线

12 h 时酵母群体数量达到高峰,12~15 h 内处于稳定期。15 h 以后,群体走向衰亡。因此,种子液的培养时间应为 12 h。

2.3 单因素试验结果

2.3.1 发酵菌种对菊芋低醇饮料品质的影响 各酵母菌株活化扩大培养后,按1%的接种量接种到发酵培养基中,30℃下培养36 h,结果见图2和图3。

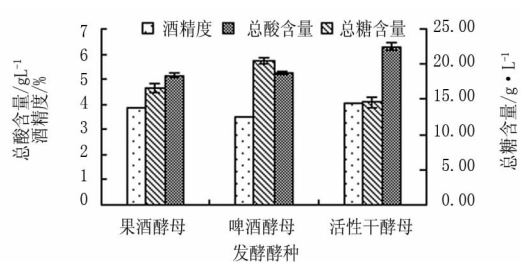


图2 不同菌种发酵产品理化指标的测定

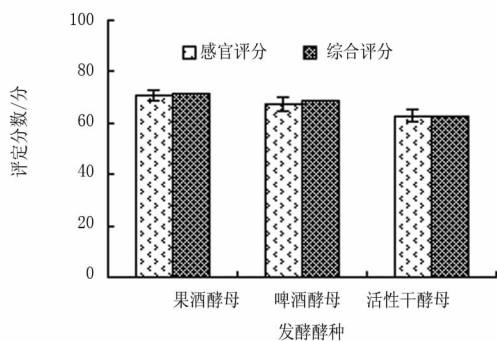


图3 不同菌种发酵产品感官评定及综合评分

由图2可以看出,安琪活性干酵母消耗糖的速度最快,发酵液酒精含量最高,总酸含量最高。啤酒酵母菌的消耗糖速率最慢,产生的酒精含量最低,果酒酵母菌各项理化指标居中。由图3中可以看出,果酒酵母发酵产品综合评分最高,因此,确定果酒酵母菌为合适的发酵菌种。

2.3.2 发酵温度对菊芋低醇饮料的品质的影响 果酒酵母经活化扩大培养后,按1%的接种量接种到发酵培养基中,置于不同温度下发酵36 h,结果见图4和图5。

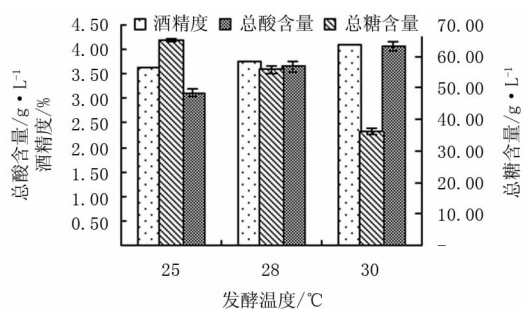


图4 不同发酵温度发酵产品理化指标测定

由图4可以看出,随着发酵温度的升高,发酵

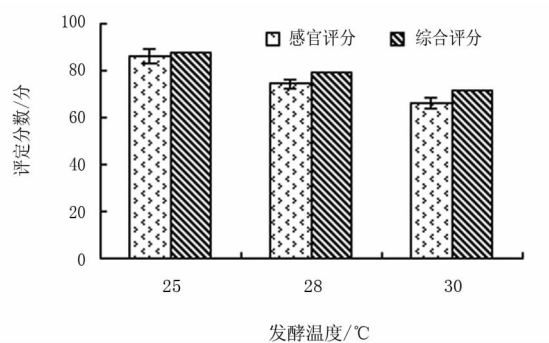


图5 不同发酵温度所得的发酵产品感官评定及综合评分结果

产品的酒精度不断升高,总酸含量不断增加,总糖含量不断下降,这说明酵母的发酵活力随着温度的升高不断增加,但同时发酵产酸量也增加。由图5可以看出,当发酵温度为25℃时所得产品综合评分最高,确定25℃为适宜的发酵温度。

2.3.3 发酵时间对菊芋低醇饮料品质的影响

果酒酵母经活化扩大培养后,按1%的接种量接种到发酵培养基中,25℃下发酵72 h,每隔12 h测定发酵产品的理化指标见图6,感官评分与综合评分结果见图7。可知,随发酵时间的增加,发酵液的总糖含量不断的减少,酒精度不断上升,总酸含量先增加后趋于稳定;发酵时间为36 h所得的综合评分最高,确定36 h为合适发酵时间。

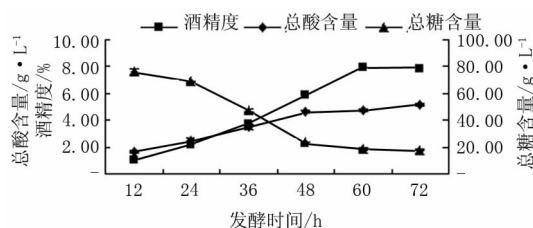


图6 不同发酵时间发酵产品理化指标测定

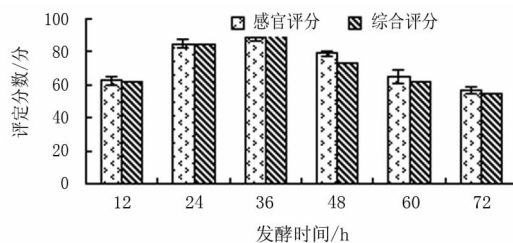


图7 不同发酵时间发酵产品感官评定及综合评分

2.3.4 蔗糖添加量对菊芋低醇饮料品质的影响

由图8和图9看出,随着蔗糖添加量的增加,产品酒精度、总糖浓度不断增加,总酸含量不断下降,当蔗糖添加量为8.0%时,所得产品的综合评定分数最高。因此,确定发酵培养基中应添加8.0%的蔗糖,发酵出的低醇饮料酸甜适中。

2.3.5 初始pH对菊芋低醇饮料品质的影响 发

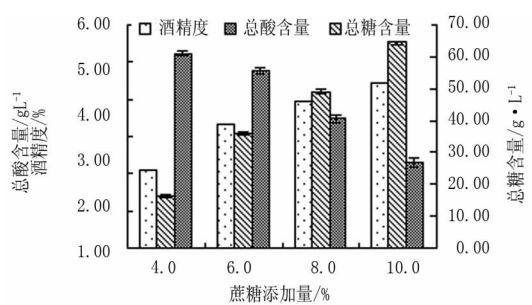


图 8 不同蔗糖添加量发酵产品理化指标测定

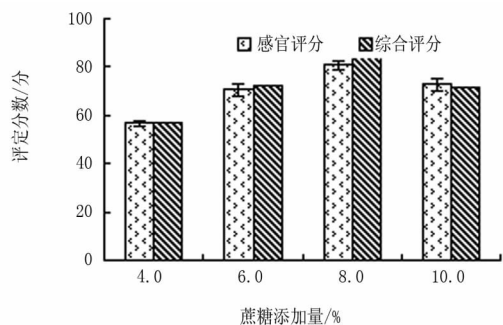


图 9 不同蔗糖添加量发酵产品感官评定及综合评分

酵培养基初始 pH 不但影响发酵产品的口味,而且对酵母发酵过程影响也很大。由图 10 可以看出,随着初始 pH 的增加,发酵产品的总酸含量不断降低,酒精度和总糖含量不断升高。由图 11 可以看出,当初始 pH 为 4.5 时,综合评定分数最高。因此,确定发酵最适的初始 pH 为 4.5 左右。

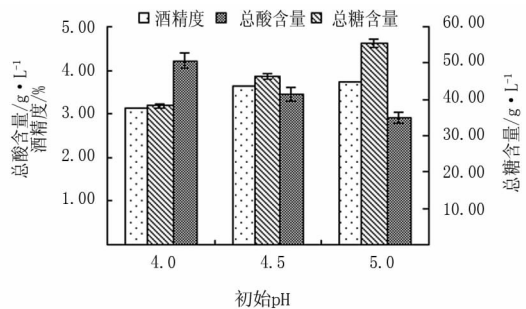


图 10 不同初始 pH 发酵产品理化指标测定

2.3.6 接种量对菊芋低醇饮料品质的影响 接种量过高,发酵过快,影响产品的口味,也容易出现菌种老化问题。接种量过低,发酵过慢,影响生产效率。由图 12 可以看出,随着接种量的增加,产品酒精度和总酸含量不断增加,总糖含量不断下降。由图 13 可以看出,在接种量为 1.0% 时,菊芋低醇饮料综合评定分数最高。因此,确定酵母接种量为 1.0% 左右。

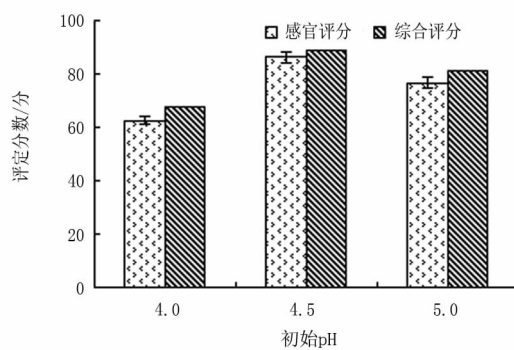


图 11 不同初始 pH 发酵产品感官评定及综合评分

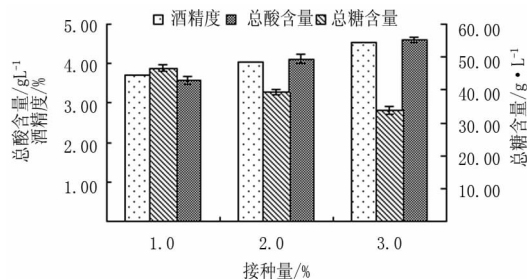


图 12 不同接种量发酵产品理化指标测定

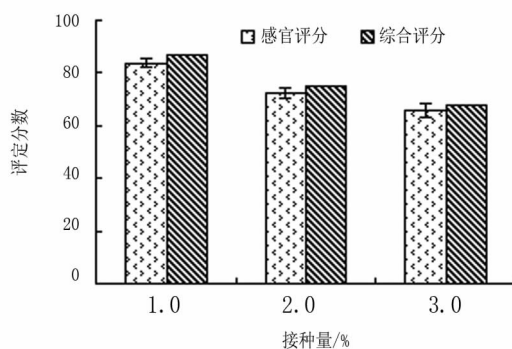


图 13 不同接种量发酵产品感官评定及综合评分

2.4 正交试验结果

在单因素试验的基础上,选取发酵温度、初始 pH、接种量 3 个因素进行正交试验,结果表明,由极差和方差分析结果可知,发酵温度(A)、初始 pH(B)、接种量(C) 3 个因素对产品质量的影响均极显著,其影响的主次顺序为: B>A>C,通过多重比较可看出发酵工艺参数最优水平组合为 B₃ A₃ C₁,即初始 pH 5.0,发酵温度 25℃,接种量 1.0%。由于该组合没有在正交试验中出现,因此需要进行验证性试验。采用该工艺条件发酵产品综合评分达 92.25,为所有处理中最高。

表 3 发酵工艺条件正交试验结果 $[L_9(3^4)]$

编号	因素				产品的综合评分(重复 3 次)			
	发酵温度/℃	A	初始 pH	B	接种量/%	C	空列	
1	1(30)		1(4.0)		1(1.0)		1	73.15
2	1		2(4.5)		2(1.5)		2	76.6
3	1		3(5.0)		3(2.0)		3	78.89
4	2(28)		1		2		3	69.53
5	2		2		3		1	75.35
6	2		3		1		2	84.68
7	3(25)		1		3		2	76.71
8	3		2		1		3	91.17
9	3		3		2		1	89.14
K_{1j}	692.94		660.93		749.62		713.46	T=2140.78
K_{2j}	679.62		723.09		699.80		710.99	
K_{3j}	768.22		756.76		691.36		716.33	
\bar{K}_{1j}	76.99		73.44		83.29		79.27	
\bar{K}_{2j}	75.51		80.34		77.76		79.00	
K_{3j}	85.36		84.08		76.82		79.59	
\bar{K}_{3j}	9.84		10.65		6.47		0.59	

表 4 正交试验方差分析

变异来源	SS	df	MS	F	F_{α}
发酵温度 A	507.20	2	253.60	127.20**	$F_{0.05}(2,20)=3.49$
初始 pH B	525.22	2	262.61	131.72**	$F_{0.01}(2,20)=5.85$
接种量 C	220.28	2	110.14	55.24**	
误差	39.87	20	1.99		
总变异	1292.57	26			

表 5 各因素各水平均值多重比较结果(SSR)

因素		水平		
		1	2	3
发酵温度	A	76.99 bB	75.51 cB	85.36 aA
初始 pH	B	73.44 cC	80.34 bB	84.08 aA
接种量	C	83.29 aA	77.76 bB	76.82 bB

3 结论

经测定,菊芋中含有蛋白质 1.27%,总糖 22.27%,还原糖 3.32%,脂肪 0.99%,需加糖调整后发酵生产低醇饮料。酵母菌种子液培养时间为 12 h。

单因素试验确定发酵菌种为果酒酵母菌,发酵温度 25℃,发酵时间 36 h,蔗糖添加量 8.0%,接种量 1.0%,初始 pH4.5 左右。

正交优化试验结果表明,发酵温度、初始 pH、接种量对菊芋低醇饮料品质的影响极显著,其主次

顺序为:初始 pH>发酵温度>接种量,最优水平组合为:发酵温度 25℃,初始 pH5.0,接种量 1.0%,所得产品综合评分最高。

参考文献:

- [1] 李磊,谭淑娟,肖泽仪. 无醇及低醇饮料的研制[J]. 酿酒科技, 2005,129(3):65-68.
- [2] 王丽威,郑彦山,陶敏慧,等. 低醇南瓜汁饮料发酵工艺条件的优化[J]. 西北农业学报,2010,19(2):194-197.
- [3] 魏凌云. 菊粉的分离纯化过程和功能产品研究[D]. 杭州: 浙江大学,2006.
- [4] GB 5009.5-2010,食品中蛋白质的测定[S]. 2010.
- [5] GB 5009.6-2003,食品中脂肪的测定[S]. 2003.
- [6] GB 15037-2006 葡萄酒[S]. 北京:中华人民共和国国家质量监督检验检疫局,中国国家标准化管理委员会,2006.
- [7] 孙丙升. 产香白地霉发酵无醇类啤酒饮料的研究[D]. 济南: 山东轻工业学院,2009.
- [8] 田晓菊. 石榴发酵酒加工工艺的研究[D]. 西安:陕西师范大学,2007.

Optimization of Fermentation Conditions of Low-alcoholic Jerusalem artichoke Fermented Beverage

WANG Yan-bo, WANG Li-wei, LI Fei-fei, LIU Huan, ZHAO Fu-bao

(Science College of Liaoning Technology University, Fuxin, Liaoning 123000)

Abstract: The fermentation conditions of low-alcoholic *Jerusalem artichoke* beverage were studied to improve its quality. The single factor experiment results showed that fermentation strains, temperature, fermentation time, sugar addition amount, initial pH and inoculums size all had significant effect on the quality of low-alcoholic *Jerusalem artichoke* fermented beverage. Fermentation temperature, initial pH, inoculums size were optimized using orthogonal design. The optimal fermentation conditions were sugar content 8%, initial pH 5.0, inoculums size 1.0%, temperature 25℃, fermentation time 36 h.

Key words: *Jerusalem artichoke*; low-alcohol beverage; fermentation conditions; optimizing