响应面法优化蜂蜜酒发酵工艺

彭 涛[1],马文锦[1],王贵春[1],金 红[1],殷 欣[1],张 辉[2],白艳茗[2]

(1.甘肃省轻工研究院,甘肃 兰州 730000;2.兰州理工大学 生命科学与工程学院,甘肃 兰州 730050)

摘 要:以狼牙蜂蜜为原料,考察发酵液糖度、温度、pH值等参数对蜂蜜酒品质的影响。试验采用Box-Behnken试验设计和响应面法优化蜂蜜酒发酵工艺,确定最优的发酵条件。结果表明,当初始糖度为25 °Bx、发酵温度为25 ℃、pH值为5.0时所酿制蜂蜜酒的品质最佳,且产品具有蜂蜜独特的风味。

关键词:蜂蜜酒;酿酒酵母;发酵工艺;优化

中图分类号:TS262.91 文献标识码:A 文章编号:0254-5071(2015)07-0104-04

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2015.07.025

Optimization of honey wine fermentation process by response surface methodology

PENG Tao[1], MA Wenjin[1], WANG Guichun[1], JIN Hong[1], YIN Xin[1], ZHANG Hui[2], BAI Yanming[2]

(1.The Institute of Gansu Province Light Industrial Scientific Research, Lanzhou 730000, China;
2.School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Using langya honey as experimental material, the effect of sugar content, fermentation temperature, pH on the quality of honey wine was investigated. The fermentation process of honey wine was studied by Box-Behnken design and response surface methodology. The optimal fermentation process of honey wine was determined: sugar content 25 °Bx, fermentation temperature 25 ℃ and pH 5.0. Under this condition, the honey wine had the optimal quality and unique flavor.

Key words: honey wine; *Saccharomyces cerevisiae*; fermentation process; optimization

蜂蜜酒有近3 000年的文化底蕴,是贵族酒的一种。蜂蜜酒是以蜂蜜作为原料,经过发酵得到的酒精饮料,不仅保留了天然蜂蜜营养成分和保健功能,而且提高了氨基酸,维生素、矿物质等重要生理活性物质的含量,有很好的营养保健功效[1-3]。

我国蜂蜜年产量约为43万t,尽管产量大,但是对蜂蜜酒的研究起步较晚,生产规模小且生产厂家较少,生产工艺也比较落后,产量有限,满足不了国内外市场的大量需求,市场前景良好[4-6]。葡萄糖、果糖和蔗糖均为蜂蜜中的主要成分,可作为酵母所直接利用的发酵底物,本试验对蜂蜜酒发酵工艺进行优化,建立一套成熟的蜂蜜酒发酵工艺,最终获得品质优良的蜂蜜酒产品,以满足人们对天然蜂蜜发酵产品的消费需求,增加了蜂产品的种类,开拓蜂蜜产品消费市场,同时也为蜂产品开辟了一条新的发展途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

狼牙蜂蜜(糖度75 °Bx):购于陕西省宝鸡市;酿酒高活性干酵母:安琪酵母股份有限公司;柠檬酸:天津市科密欧化学试剂有限公司;蛋白酶:苏柯汉(潍坊)生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

PYXDHS-50型恒温培养箱:上海跃进医疗器械厂;LDZF-50KB立式压力蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械有限公司;DK-98-I电子恒温水浴锅:余姚市东方电子仪器厂;WZ101手持糖度计:浙江托普仪器有限公司;PHS-2C型酸度计:上海精密科学仪器有限公司;AR2140型电子分析天平:奥豪斯国际贸易有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蜂蜜酒加工工艺流程

调整成分
↓
原料挑选→稀释蜂蜜→蛋白酶酶解→灭菌→调节pH→添加酵母发酵→澄清过滤→调制→成品

1.3.2 发酵工艺参数优化单因素试验

初始糖度的确定:以无菌水稀释蜂蜜以达到相应的糖度,设定糖度分别为5 °Bx、15 °Bx、25 °Bx、35 °Bx、45 °Bx,根据蜂蜜酒的综合评价,确定其最适发酵糖度[7]。

收稿日期:2015-04-14

基金项目:甘肃省技术研究与开发专项计划(0912TCYA031);甘肃省食品发酵重点试验室(GQK2014008);甘肃省农产品深加工生物发酵创新团队(GQK2013012)

作者简介:彭 涛(1970-),男,高级工程师,硕士,研究方向为食品发酵。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

发酵液pH值的确定[8]：采用柠檬酸调节发酵液的pH值，分别调节至3.0、4.0、5.0、6.0、7.0，根据蜂蜜酒的综合评价，确定其最适发酵pH值。

发酵温度的确定：设定发酵温度为20 ℃、25 ℃、30 ℃、35 ℃，根据蜂蜜酒的综合评价，确定其最适发酵温度。

1.3.3 Box-Behnken中心试验设计及响应面法优化蜂蜜酒发酵工艺

在单因素试验基础上，将处理好的蜂蜜汁进行发酵，选取发酵液糖度、发酵pH值、发酵温度3个因素，以产品综合指标（Y）为响应值，进行响应面分析，响应面分析试验因素水平见表1。

表1　蜂蜜酒发酵工艺优化响应面试验因素水平

Table 1 Factors and levels of response surface analysis for honey wine fermentation technology optimization

水平	*A* 发酵液糖度/°Bx	*B* 发酵液pH值	*C* 发酵温度/℃
-1	20	4.5	20
0	25	5.0	25
1	30	5.5	30

1.3.4 蜂蜜酒综合评价方法

对蜂蜜酒的色泽、香气、口感和后味等感官特性及产品指标进行综合评价，满分100分，评分方法及依据综合参考国标GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》、GB/T 5009.49—2008《发酵酒及其配制酒卫生标准的分析方法》、GB/T 4789.25—2003《食品卫生微生物学检验酒类检验》[9-11]。综合评价标准如表2所示。

表2　蜂蜜酒综合评价标准

Table 2 Comprehensive evaluation standard of honey wine

项 目		标 准	分 数
感官评价（80分）	色 泽	清亮透明	16~20
		澄清无明显悬浮物	12~15
		浑浊沉淀	12
	香 气	酒香浓郁	16~20
		有淡淡的酒香	12~15
		酒香不足有异味	12
	口 感	甘甜爽口	16~20
		略有酸涩	12~15
		口味酸涩，口感不佳	12
	后 味	回味醇香，入喉有余香	16~20
		略有回味，入口柔和	12~15
		回味不足，较难入口	12
产品检测指标（20分）	理化指标	参照GB/T 5009.49—2008	10
	微生物指标	参照GB/T 4789.25—2003	10

2 结果与分析

2.1 蜂蜜酒发酵初始糖度的确定

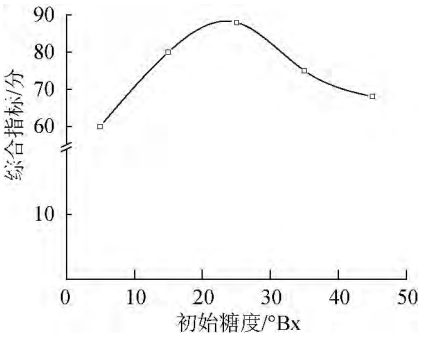

图1　初始糖度对蜂蜜酒品质的影响

Fig. 1 Effect of initial sugar content on honey wine quality

发酵液中糖度过高，一方面会阻遏乙醇产生途径中乙醇脱氢酶的活性而抑制发酵，不利于酒精产物的积累；另一方面会造成高渗透压环境而抑制酵母的生长[12]。发酵液糖度过小又会使酵母生长缓慢，并且糖分几乎全为酵母生长所用，酒精发酵不能正常进行，几乎不能产生酒精。蜂蜜中含糖量极高，必须予以合理的稀释，使发酵液的糖度达到合理的范围才能既利于酵母的生长又利于发酵产物的积累。由图1可以看出，在一定范围内，随着糖度的增加，蜂蜜酒的综合评分增加，随后呈现下降趋势。糖度为5 °Bx时，所发酵蜂蜜酒酒香不足，口味酸涩，综合指标为60分；而糖度为25 °Bx时，所发酵的蜂蜜酒清亮透明，酒味浓厚协调，甘甜爽口，蜂蜜酒品质达到较理想状态，综合指标为88分。糖度＞25 °Bx时，影响酵母生长，导致成品风味不足。因此选择初始糖度25 °Bx为宜。

2.2 蜂蜜酒发酵液pH值的确定

发酵液pH是影响酵母生长的重要因素，酸性或碱性过强都会抑制其生长，而酵母的生长情况是发酵工艺中的关键，直接影响产品品质，因此，合理pH值的选取至关重要。由图2可知，当pH值为3.0时，蜂蜜酒浑浊、入口蜜甜、无酒香，综合指标63分；随着pH值的增大，蜂蜜酒品质发生显著变化，当pH值为5.0时，蜂蜜酒清亮透明、酒味浓厚、甘甜爽口、后味足，蜂蜜酒品质达到较理想状态，综合指标为86分。当pH值＞5.0时，产品综合指标下降。因此选择发酵pH 5.0为宜。

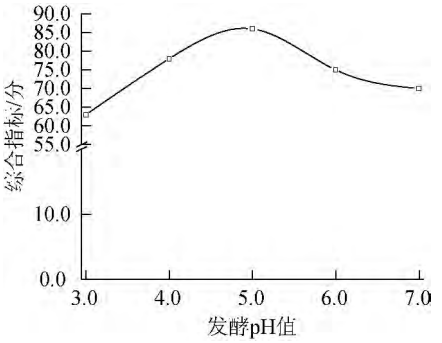

图2　发酵pH对蜂蜜酒品质的影响

Fig. 2 Effect of fermentation pH on honey wine quality

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.3 蜂蜜酒发酵温度的确定

温度对发酵起着决定性的作用，直接表现为糖的消耗，间接影响口感和芳香物质的形成，温度是发酵参数控制中的重中之重[13-15]。图3为发酵温度对蜂蜜酒综合指标的影响。由图3可知，温度过高或过低都会影响蜂蜜酒的发酵，降低产品品质，当温度为25 ℃时，蜂蜜酒清亮透明，酒香浓郁，口味醇香，产品品质达到较理想状态，综合指标为84分。因此选择发酵温度25 ℃为宜。

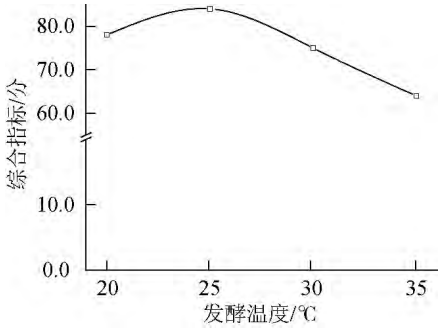

图3 发酵温度对蜂蜜酒品质的影响

Fig. 3 Effect of fermentation temperature on honey wine quality

2.4 蜂蜜酒发酵工艺优化

2.4.1 Box-Behnken中心试验设计及响应面法优化蜂蜜酒发酵工艺

Box-Behnken试验设计方案及结果见表3。

表3 Box-Behnken试验设计方案及试验结果

Table 3 Design and results of Box-Behnken experiment

试验号	A	B	C	综合指标/分
1	0	0	0	85.5
2	0	0	0	85.6
3	1	0	1	72.2
4	0	0	0	86.0
5	1	-1	0	70.5
6	-1	0	1	67.5
7	0	-1	1	72.2
8	0	0	0	86.0
9	-1	0	-1	70.0
10	-1	-1	0	69.8
11	0	-1	-1	76.8
12	0	1	-1	76.8
13	1	1	0	69.0
14	0	0	0	87.3
15	-1	1	0	70.5
16	0	1	1	72.8
17	1	0	-1	68.9

2.4.2 模型建立及显著性检验

利用Design-Expert软件对表3中试验数据进行二次线性回归拟合，得到数学模型，并对模型进行方差分析，结果见表4，对各因素进行二次多项式回归拟合后，得到二次多项回归方程：

$$Y=-861.42+20.80A+227.00B+9.74C-0.22AB+0.058AC+0.080BC-0.421\,6A^2-22.36B^2-0.235\,6C^2$$

表4 回归统计分析结果

Table 4 Results of regression statistical analysis

系数来源	平方和	自由度	均方	F值	Prob＞F	显著性
模型	840.22	9	93.36	42.86	＜0.000 1	+++
A	0.98	1	0.98	0.45	0.523 9	
B	0.020	1	0.020	0.009 182	0.926 3	
C	7.22	1	7.22	3.31	0.111 5	
AB	1.21	1	1.21	0.56	0.480 4	
AC	8.41	1	8.41	3.86	0.090 2	
BC	0.16	1	0.16	0.073	0.794 2	
A^2	467.75	1	467.75	214.73	＜0.000 1	+++
B^2	131.57	1	131.57	60.40	0.000 1	++
C^2	146.07	1	146.07	67.06	＜0.000 1	+++
残差	15.25	7	2.18			
失拟	13.18	3	4.39	10.69	0.032 9	
净误差	2.07	4	0.52			
R^2	0.982 2					
R_{adj}^2	0.959 3					

注："+++"表示影响极显著；"++"表示影响显著。

由表4可知，模型极显著（P＜0.000 1），因变量与所考察自变量之间的线性关系显著（R^2=0.982 2），表明所建立的模型可以用来解释98.22%的响应变化，模型调整确定系数0.959 3，说明该模型能解释95.93%响应值的变化，只有4.07%的总变异没有包括其中，拟合程度较好，失拟项不显著（P＞0.01），说明本试验所得二次回归方程高度显著，能够很好地对响应值进行预测。二次项A^2与C^2影响极显著，B^2影响显著，而发酵液糖度影响最大，且所考察因素对响应值影响不是简单的一次线性关系。

2.4.3 蜂蜜酒发酵响应面分析及优化

通过Design-Expert软件分析，得到响应面及等高线图（见图4），可直观反映各因素间的交互作用对响应值的影响，其中等高线的形状可反映出交互效益的强弱，椭圆形表示两因素之间交互作用显著，圆形则与之相反。

利用Design-Expert软件分析得到最优发酵条件，当糖度为25.06 °Bx、发酵温度为24.60 ℃、pH值为5.00时，蜂蜜酒综合指标为86.1分，即各因素选取最优值后所得最大响应值。考虑到实际操作性，设定糖度为25 °Bx、发酵温度为25 ℃、pH值为5.0。对以上最优工艺进行5批验证试验，综合指标平均值为86.7分，表明预测值与试验平均值结果基本一致，故确定蜂蜜酒发酵最优工艺 糖度为25 °Bx、发酵温度为25 ℃、pH值为5.0。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

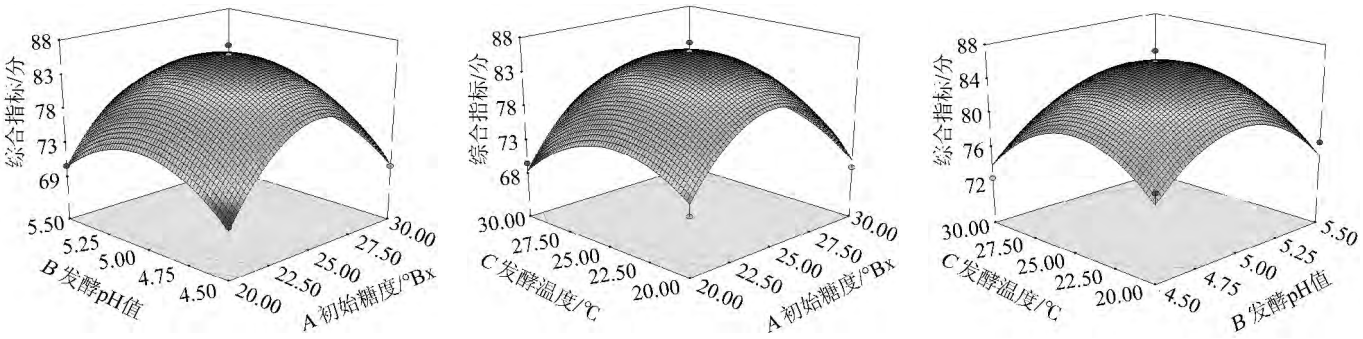

图4　初始糖度、发酵pH值以及温度交互作用对蜂蜜酒感官评分影响的响应面和等高线

Fig. 4 Response surface plots and contour line of effect of interaction between initial sugar content, pH and temperature on sensory evaluation score of honey wine

3 结论

在单因素试验的基础上，利用Box-Behnken中心试验设计及响应面法确定了蜂蜜酒的最佳发酵工艺：发酵液初始糖度为25 °Bx、发酵温度为25 ℃、发酵pH值为5.0。在此工艺条件下所酿造的蜂蜜酒综合评价分数为86.7分，品质最佳，具有独特的风味。

参考文献：

[1] 傅国城. 蜂蜜酒酿造工艺技术的研究与应用[J]. 酿酒，2014，41（4）：90-93.

[2] 曾志将. 养蜂学[M]. 北京：中国农业出版社，2009.

[3] 张丽珍，曾志将，颜伟玉，等. 山乌桕蜂蜜酒的酿造工艺研究[J]. 中国酿造，2010，29（9）：180-182.

[4] 翟文俊. 蜂蜜酒的营养价值与保健作用[J]. 食品科技，2004，30（8）：62-65.

[5] 李　礼，陈尚武，张　文，等. 葡萄酒酵母和酵母营养物对蜂蜜酒发酵的影响[J]. 酿酒，2005，32（2）：68-70.

[6] 马美范. 蜂蜜发酵酒的研制[J]. 食品研究与开发，2013，34（4）：47-49.

[7] 刘功良，马　磊，陈华玲，等. 荆条蜜酒发酵工艺的研究[J]. 中国酿造，2014，33（6）：157-160.

[8] 黄根树，张庆华. 红枣蜂蜜保健酒的酿造工艺研究[J]. 中国酿造，2014，33（5）：161-164.

[9] 中华人民共和国卫生部，国家标准化管理委员会. GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京：中国标准出版社，2006.

[10] 中华人民共和国卫生部，国家标准化管理委员会. GB/T 5009.49—2008 发酵酒及其配制酒卫生标准的分析方法[S]. 北京：中国标准出版社，2008.

[11] 中华人民共和国卫生部，国家标准化管理委员会. GB/T 4789.25—2003 食品卫生微生物学检验酒类检验[S]. 北京：中国标准出版社，2003.

[12] 刘　磊，吴　晖，刘冬梅，等. 黄酒生产用酵母的分离与筛选[J]. 现代食品科技，2007，23（7）：5-8.

[13] 王　淼. 蜂蜜酒发酵参数控制研究[J]. 蜂蜜杂志，2005（11）：5-6.

[14] 王准生，伍佳琪. 天麻、刺梨、蜂蜜复合发酵酒的研制[J]. 中国酿造，2006，25（1）：76-78.

[15] 马荣山，郭　丹. 流加法发酵生产较高酒精度蜂蜜酒[J]. 中国酿造，2008，27（21）：56-59.

《中国酿造》杂志广告征订启事

《中国酿造》创刊于1982年，是由中国商业联合会主管，中国调味品协会及北京食品科学研究院主办的综合性科技月刊（国内统一刊号CN 11-1818/TS，国际标准刊号ISSN 0254-5071，广告许可证号：京宣工商广字第0033号）。全国各地邮局均可订阅，邮发代号：2-124；国外总发行：中国国际图书贸易总公司，国外发行代号：BM1437。《中国酿造》历次被评为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、《中国知网》重点收录期刊、《万方数据库》全文收录期刊、《中文科技期刊数据库》来源期刊、中国学术期刊网络出版总库收录期刊、美国《乌利希期刊指南》（UPD）收录期刊、英国《食品科学文摘》（FSTA）收录期刊、英国《国际农业与生物科学研究中心》（CABI）收录期刊、美国《化学文摘》（CA）收录期刊、俄罗斯《文摘杂志》（AJ）收录期刊、中国科学评价研究中心（RCCSE）数据库收录期刊，也是学位与研究生教育的中文重要期刊。

《中国酿造》重点报道调味品、酿酒、食品微生物、食品添加剂、发酵乳制品、生物工程技术、生物化工、生物质能源的开发利用等研究方向的新工艺、新技术、新设备、分析检测、安全法律法规及标准、保鲜与贮运技术、综合利用、质量保障体系等方面的基础理论、应用研究及综述文章。设有“研究报告”、“专论综述”、“创新借鉴”、“经验交流”、“分析检测”、“产品开发”、“酿造文化”、“海外文摘”等栏目。

《中国酿造》发行历史长、范围广、行业知名度高，广告影响面大，效果甚佳，而且价格合理，是一个理想的宣传媒体。欢迎新老广告客户来函、来电、来人联系办理广告业务，我们将提供一切方便，竭诚为您服务。

《中国酿造》是您企业品牌推广、品质提升、技术交流、产品推介的最佳平台。

邮箱：zgnzzz@163.com　网站：www.chinabrewing.net.cn　电话：010-83152738/83152308

《中国酿造》杂志社

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net