

利用剑麻茎酿酒的研究

鹿志伟^{1,2},高建明²,覃海燕²,刘巧莲²,易克贤³

(1. 海南大学农学院,海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所,海南 海口 571101; 3. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海南 海口 571101)

摘要:以工业废弃物剑麻茎为材料,通过正交试验设计,研究剑麻酒酿造的最佳发酵条件。结果表明,将高温蒸煮过的剑麻茎打碎后,添加 0.4%的 α -淀粉酶,在 65 °C、pH 6.4 条件下进行液化处理 2 h;然后添加 0.4%的糖化酶,在 60 °C、pH 4.5 的条件下进行糖化处理 4 h;最后添加 0.8%的安琪酿酒曲和 0.8%的安琪高活性酿酒酵母,在 pH 6.5、28 °C 下进行发酵 20 d,一次蒸馏得到 15 °左右的独特香味的剑麻酒。

关键词:剑麻;剑麻酒;发酵

中图分类号:S563.8;TS261.4

文献标识码:A

文章编号:1004-874X(2015)08-0061-05

Research on making wine by sisal stalk fermentation

LU Zhi-wei^{1,2},GAO Jian-ming²,QIN Hai-yan²,LIU Qiao-lian²,YI Ke-xian³

(1. College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract:By designing several orthogonal experiments, the optimum fermentation conditions of sisal wine were studied using sisal stalks as the raw materials. The optimum fermentation conditions were as follows: sisal stalks were cooked at high temperature and broken, the broken stalks were liquefied with 0.4% α -amylase for 2 h at pH 6.4 and 65 °C; then the samples were saccharified with 0.4% glucoamylase for 4 h at pH 4.5 and 60 °C; finally, the samples were fermented for 20 d with 0.8% Angel distillers yeast and 0.8% Angel high active wine yeast at 28 °C and pH 6.5. After distilling once, the sisal wine of approximately 15 ° with unique flavor was obtained.

Key words:sisal; sisal wine; fermentation

剑麻(Agave Sisalana)属于龙舌兰科龙舌兰属植物,又叫菠萝麻、西纱尔麻、龙舌兰麻^[1],原产于墨西哥的龙加丹半岛,我国于 20 世纪 60 年代初从东非引入剑麻良种 H.11648,主要在广东、广西、福建及海南等地种植。剑麻作为一项宝贵的热作资源,是我国极具特色的热带经济作物,具有广阔的发展前景^[2-3]。

剑麻纤维具有颜色洁白、质地坚韧、富有弹性、拉力强、耐酸碱、耐摩擦、耐低温等优良性能,广泛应用于国防、交通运输、汽车和飞机轮胎的帘布等

产品的制造,是很好的工业原料,随着科技水平的日益提高,人们利用剑麻纤维不易产生静电等优点,开发出了许多新的纤维制品,如剑麻地毯、剑麻抛光轮等^[4],用其开发的剑麻工业产品现已成为热门的出口产品。此外,剑麻还具有药用、生态修复、园林绿化等作用,如剑麻中的皂素有“激素之母”和“医药黄金”的美称,是合成甾体激素类药物的医药中间体,可用于合成皮质激素药物、促蛋白同化与心血管疾病的甾体药物、抗心律失常药物以及具有抗癌活性的衍生物药物等^[5]。剑麻除含有大量纤维(60%)外,还含有蛋白质、糖、果胶、维生素和丰富的微量元素等物质^[6]。目前,国内外已着眼于剑麻中含量居第 2 位的糖(18.1%),并研究出新的剑麻产品。例如,墨西哥人采用机械化程序,提取剑麻蜜汁,发酵后酿成一种白色饮料,含酒精 4%~8%,蒸馏后制成一种烈性酒,叫麦斯克尔(Mescal),是墨西哥名酒之一^[7];杨世军等^[8]利用剑麻柄(H.11648)进行发酵生产出具有典型剑麻香味和营养丰富的剑麻保健酒。

收稿日期:2014-10-27

基金项目:国家麻类产业技术体系建设专项(CARS-19);海南省自然科学基金(312052);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ITBB110213)

作者简介:鹿志伟(1990-),男,在读硕士生,E-mail:luzhiwei@163.com

通讯作者:易克贤(1964-),男,博士,研究员,E-mail:yikexian@126.com

本研究以剑麻茎为原料,通过正交试验,探讨发酵生产剑麻酒的最佳配方和工艺技术,使剑麻得到最广泛的开发利用,产生更多的社会和经济效益。

1 材料与方法

1.1 试验材料

剑麻茎采自海南昌江,品种为 H 11648;糖化酶、 α -淀粉酶(上海酶联生物科技有限公司),安琪酿酒曲、安琪耐高温酿酒高活性干酵母(安琪酵母股份有限公司)。

仪器设备:STUART RE-300 旋转蒸发仪(比比科技(亚洲)有限公司),SSW 型电热恒温水槽(上海博迅实业有限公司),HIRAYAMA HVE-50 全自动高压灭菌锅(華粵行儀器有限公司),STARTER 3C pH 计(奥豪斯仪器(上海)有限公司),手持玻璃酒精计,手持玻璃糖度计,大容量豆浆机,实验室自制发酵室(含往复摇床)。

1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程 剑麻茎 去皮切块 蒸煮糊化 打浆 调节 pH α -淀粉酶酶解液化 调节 pH 糖化酶酶解糖化 调节 pH 加酿酒酵母或者酒曲 发酵 20 d 蒸馏 原酒 陈酿 成品。

1.2.2 原料预处理 将剑麻茎清水冲洗去皮后切成 0.3 cm×2.0 cm 的小块,称取一定量的剑麻块放入高压灭菌锅中,按料液比 1:1 添加等量的蒸馏水,蒸煮 1.5 h 后用豆浆机打碎与滤液混匀,添加一定量的 α -淀粉酶和糖化酶进行糖化,最后使用蔗糖将糖浓度调节至 20%,备用。

1.2.3 菌种活化 酒曲活化:用 5 倍的温水活化 1 h 即可使用。酵母活化:先在 35℃ 下,用 2% 的糖水水浴 20 min,然后室温放置 1 h 即可使用。

1.2.4 α -淀粉酶液化条件筛选 以剑麻预处理液作为处理对象,pH、温度、时间、 α -淀粉酶添加量为影响因素,进行四因素三水平正交试验(表 1),测定每组剑麻预处理液的水解度,以确定最佳的 α -淀粉酶作用条件。其中,pH 值使用柠檬酸和 NaOH 进行调节,每个处理 3 次重复。

表 1 α -淀粉酶酶解液化条件筛选正交试验设计

因素	水平		
	1	2	3
A pH	6.2	6.4	6.8
B 温度(℃)	60.0	65.0	70.0
C 时间(h)	1.0	2.0	4.0
D α -淀粉酶(%)	0.1	0.2	0.4

1.2.5 糖化酶糖化条件筛选 以 1.2.4 筛选最佳条件的剑麻液化料液为处理对象,pH、温度、时间、糖化酶添加量为影响因素,进行四因素三水平正交试验(表 2),测定每组剑麻液化液的还原糖含量,以确定最佳的糖化酶作用条件。其中,pH 值使用柠檬酸和 NaOH 进行调节,每个处理 3 次重复。

表 2 糖化酶酶解糖化条件筛选正交试验设计

因素	水平		
	1	2	3
A pH	4.0	4.5	5.0
B 温度(℃)	40.0	50.0	60.0
C 时间(h)	1.0	2.0	4.0
D 糖化酶(%)	0.1	0.2	0.4

1.2.6 剑麻酒发酵条件筛选 以 1.2.5 筛选的最优剑麻糖化液为处理对象,采用安琪耐高温酿酒高活性干酵母和安琪酿酒曲等量混合的发酵方式。以发酵温度、料液初始 pH、菌种添加量为影响因素,酒精度和剑麻酒风味为指标,进行三因素四水平正交试验(表 3)。其中 pH 值使用柠檬酸和 NaOH 进行调节,每个处理 3 次重复。

表 3 剑麻酒发酵条件筛选正交试验设计

因素	水平			
	1	2	3	4
A pH	3.5	4.5	5.5	6.5
B 温度(℃)	20.0	24.0	28.0	36.0
C 菌种添加量(%)	0.1	0.2	0.4	0.8

1.2.7 蒸馏 将不同发酵条件的发酵液置于实验室自制发酵室内,发酵 20 d 后,使用旋转蒸发仪对发酵液进行蒸馏得到原酒,然后进一步进行陈酿,使酒体更加柔和醇厚。

1.3 测定指标及方法

pH 值:使用 pH 计进行测定;水解度:采用 GB/T 5009.9-2008《食品中淀粉的测定》中的酸水解法;酒精度:使用玻璃酒精计进行测定;还原糖含量:采用 GB/T 5009.7-2008《食品中还原糖的测定》的直接滴定法。

使用 SPSS19.0 和 Excel 2007 软件对试验数据进行处理和分析^[9-11]。

2 结果与分析

2.1 α -淀粉酶液化条件筛选

使用 SPSS19.0 软件对 α -淀粉酶液化条件筛选

结果进行方差分析,从表 4 可见,首先,每个因素的 P 值都小于 0.05,表示每个因素都对水解度有显著影响。其次由 型平方和可知:各个因素对水解度的影响顺序为温度 > - 淀粉酶添加量 > 时间 > pH。因此,最佳的 - 淀粉酶液化作用组合为:A₂B₂C₂D₃。

但该组合没有在表 4 的正交试验表格中出现,需要进一步验证,经验证该组合的水解度为 93.00%。所以最佳的 - 淀粉酶液化剑麻预处理液的条件组合为:温度 65 ,pH 6.4,时间 2 h, - 淀粉酶添加量 0.4%,因此选用该组合进行糖化酶处理组正交试验。

表 4 - 淀粉酶酶解液化条件筛选正交试验 SPSS 分析结果

处理	温度()	pH	时间(h)	- 淀粉酶添加量 (%)	水解度(%)		
					1	2	3
1	1(60)	1(6.2)	1(1)	1(0.1)	90.00	90.05	90.03
2	1	2(6.4)	2(2)	2(0.2)	91.50	91.55	91.62
3	1	3(6.8)	3(4)	3(0.4)	90.35	90.40	90.38
4	2(65)	1	2	3	92.52	92.61	92.56
5	2	2	3	1	90.20	90.25	90.24
6	2	3	1	2	91.58	91.50	91.60
7	3(70)	1	3	2	85.30	85.40	85.36
8	3	2	1	3	86.50	86.56	86.60
9	3	3	2	1	85.00	85.38	85.21
k ₁	90.653	89.341	89.380	88.484			
k ₂	91.451	89.447	89.772	89.490			
k ₃	85.701	89.044	88.653	89.831			
型平方和	174.670	0.756	5.801	8.823			
P	0.000	0.000	0.000	0.000			

2.2 糖化酶糖化条件筛选

使用 SPSS19.0 软件对糖化酶糖化条件筛选结果进行方差分析,从表 5 可以看出,每个因素的 P 值均小于 0.05,表明每个因素均对还原糖含量有

显著影响;由 型平方和可知,每个因素对还原糖含量的影响程度依次为温度 > 糖化酶添加量 > 时间 > pH;最佳的糖化酶酶解剑麻茎液化液的组合为 A₃B₂C₃D₃,即温度 60、pH 4.5、时间 4 h、糖化酶添

表 5 糖化酶酶解糖化条件筛选正交试验 SPSS 分析结果

处理	温度()	pH	时间(h)	糖化酶添加量 (%)	还原糖含量(%)		
					1	2	3
1	1(40)	1(4.0)	1(1)	1(0.1)	9.50	9.62	9.48
2	1	2(4.5)	2(2)	2(0.2)	9.75	9.81	9.80
3	1	3(5.0)	3(4)	3(0.4)	9.80	10.11	10.12
4	2(50)	1	2	3	10.32	10.29	10.31
5	2	2	3	1	10.00	10.10	9.99
6	2	3	1	2	9.91	9.89	10.00
7	3(60)	1	3	2	11.35	11.36	11.29
8	3	2	1	3	11.67	11.54	11.58
9	3	3	2	1	11.13	11.20	11.25
k ₁	9.777	10.391	10.354	10.252			
k ₂	10.090	10.471	10.429	10.351			
k ₃	11.374	10.379	10.458	10.638			
型平方和	12.903	0.045	0.051	0.722			
P	0.000	0.049	0.035	0.000			

加量 0.4%, 但该组合没有在表 5 正交试验表格中出现, 经验证该组合的还原糖含量为 11.89%。因此选用该组合进行剑麻酒发酵正交试验。

2.3 剑麻酒发酵条件筛选

使用 SPSS19.0 软件对剑麻酒发酵条件筛选结果进行方差分析, 从表 6 可以看出, 温度和菌种添加量的 P 值均小于 0.05, 表明温度和菌种对剑麻茎

发酵酒精度均有显著影响; 而 pH 的 P 值为 0.081, 大于 0.05, 差异不显著, 表明 pH 对剑麻茎发酵酒精度影响较小。由 型平方和可知, 每个因素对剑麻酒酒精度的影响依次为温度 > 菌种添加量 > pH; 剑麻酒发酵的最佳条件组合为 A₃B₂C₄, 即温度 28 °C、pH 4.5、菌种添加量 0.8%, 但该组合没有在表 6 中出现, 经验证该组合的酒精度为 15 %。

表 6 剑麻酒发酵条件筛选正交试验 SPSS 分析结果

处理	温度(°C)	pH	菌种添加量 (%)	酒精度(%)		
				1	2	3
1	1(20)	1(3.5)	1(0.1)	5.65	5.70	5.65
2	1	2(4.5)	2(0.2)	6.00	6.50	6.20
3	1	3(5.5)	3(0.4)	6.50	6.50	6.60
4	1	4(6.5)	4(0.8)	6.80	6.80	6.90
5	2(24)	1	2	8.50	8.65	8.50
6	2	2	1	8.90	8.80	8.80
7	2	3	4	9.50	9.80	9.90
8	2	4	3	10.00	10.00	10.50
9	3(28)	1	3	13.00	13.20	13.20
10	3	2	4	14.50	14.50	14.20
11	3	3	1	11.50	11.50	12.50
12	3	4	2	11.00	11.30	11.10
13	4(36)	1	4	7.00	7.00	7.10
14	4	2	3	6.50	6.50	6.00
15	4	3	2	6.60	6.80	6.80
16	4	4	1	5.50	5.00	5.60
k ₁	6.317	8.596	7.925			
k ₂	9.321	8.950	8.163			
k ₃	12.625	8.708	9.042			
k ₄	6.367	8.375	9.500			
型平方和	322.902	2.061	19.668			
P	0.000	0.081	0.000			

2.4 蒸馏结果

将发酵液置于旋转蒸发仪中蒸馏 1 次, 回收到原酒液, 回收率约 95%。

3 结论与讨论

本研究通过对影响剑麻酒酿造的多种因素设立一系列的正交试验, 并利用 SPSS19.0 软件对正交试验结果进行方差分析, 对比温度、pH 值、处理时间和酶添加量这 4 个主要因素对 α-淀粉酶和糖化酶的作用, 在此基础上进一步探索发酵温度、pH 值和菌种添加量这 3 个因素对剑麻酒酿造的作用, 最

终确定温度为剑麻酒酿造的主导因素, 且最佳作用温度 28 °C, 而菌种添加量、pH 等其他自变量的大小波动对因变量的影响相对较小。本研究结果与利用黄芪、高粱、紫甘薯以及玉米等进行酿酒的研究相似^[12-15]。周瑶等^[12]认为, 酵母接种量和蔗糖质量分数对黄芪酒发酵影响很大, 而发酵温度影响作用相对较小; 习林哲等^[13]认为发酵时间和温度对甜高粱秆固态发酵的影响最大; 杨雅利等^[14]认为, 发酵温度对紫甘薯酒发酵影响最大, 其次是菌种添加量和 pH; 刘晓鹏等^[15]研究认为, 对玉米甜酒酿的感官评定值的影响作用由大到小依次为加曲量、发酵温度、

蒸煮时间、发酵时间。这些研究结果表明,在不同原料的酒精发酵过程中,影响发酵结果的多种作用因素发挥的作用大小不同。虽然剑麻酒(Mescal)^[7]在墨西哥已实行工业化生产,金文英等^[6]、杨世军等^[8]也有关于利用剑麻柄进行酿酒的报道,并成功获得12°左右的剑麻保健酒,但是他们并没有对影响剑麻酒酿造过程的各个因素进行主次作用分析。剑麻酒酿造是一个受发酵液液化和糖化程度、发酵温度、pH值、菌种添加量等多种因素影响的复杂过程,且各因素在发酵过程中发挥的作用大小不同。本研究对影响剑麻酒发酵的多个因素的作用大小进行了系统科学的分析,结果表明温度对剑麻酒酿造过程具有主导性调控作用,而其他因素作用较小,该结果为剑麻酒酿造生产提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 王彦超,孙昊,周菲菲,等. 流动注射化学发光法检测剑麻皂苷元[J]. 广西植物,2014,34(1):135-138.
- [2] 张兰兰,郝再彬,李洋,等. 蒸汽爆破和微生物酶解处理对剑麻纤维结构的影响[J]. 广西植物,2011,31(2):270-274.
- [3] 陈叶海,蔡泽祺. 中国剑麻发展概况与展望[A]. 中国热带作物学会第七届代表大会学术论文集[C]. 海口,2004.
- [4] 熊和平. 麻类作物育种学[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2008:319-321.
- [5] 李华锋,覃佑康,王俊,等. 剑麻皂甙元高效液相色谱分析方法[J]. 化工技术与开发,2013,42(8):60-62.
- [6] 金文英,海洪,吴开运,等. 剑麻茎汁液发酵生产蒸馏酒工艺研究[J]. 广西轻工业,2011(11):13-14.
- [7] Héctor M Durán-García, Emilio J González-Galván, Pastor Matadamas-Ortíz. Mechanization process in the production of mescal[J]. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2007, 5(3-4):32-35.
- [8] 杨世军,卢璐. 剑麻柄保健酒的工艺研究[J]. 酿酒科技,2005(7):94-96.
- [9] 何秋月. SPSS在L9(3⁴)正交试验数据处理中的应用[J]. 中国中医药现代远程教育,2005(12):27-29.
- [10] 刘瑞江,张业旺,闻崇炜,等. 正交试验设计和分析方法研究[J]. 实验技术与管理,2010,27(9):52-55.
- [11] 高忠江,施树良,李钰. SPSS方差分析在生物统计的应用[J]. 现代生物医学进展,2008,8(11):2116-2120.
- [12] 周瑶,徐怀德,米林峰,等. 响应面法优化黄芪酒发酵工艺[J]. 食品科学,2011,32(4):293-296.
- [13] 习林哲,王颀,孙剑锋,等. 甜高粱秆固态发酵影响因素研究[J]. 食品科技,2009,34(9):111-116.
- [14] 杨雅利,阚建全,沈海亮,等. 紫甘薯酒发酵工艺条件的优化[J]. 食品科学,2012,33(3):157-162.
- [15] 刘晓鹏,姜宁,徐世伟,等. 玉米甜酒酿发酵工艺的优化[J]. 食品与发酵工业,2012,38(8):97-100.

(责任编辑 邹移光)