

虫草枸杞葡萄酒的研制

王华丽, 徐海蒂, 王 晶

(北京林业大学生物学院食品科学与工程系, 北京 100083)

摘 要: 采用液体深层发酵生产出虫草菌丝发酵液, 然后把虫草菌丝浸提液、枸杞子汁和葡萄汁按比例混合, 接种葡萄酒酵母进行酒精发酵, 生产出发酵型虫草枸杞葡萄酒。本产品虫草枸杞葡萄酒富含虫草多糖、枸杞多糖等生物活性物质, 具有补肾壮阳、润肺益肝、明目、止咳化痰、调节机体免疫力、抑制肿瘤、抗癌、延缓衰老等功效, 外观、风味类似于传统葡萄酒, 为一种高级保健葡萄酒。该产品属国内首创, 现已申报国家发明专利。

关键词: 蛹虫草, 枸杞, 葡萄, 发酵

中图分类号: TS262.6 文献标识码: B
文章编号: 1002-0306(2005)07-0126-03

冬虫夏草具有止咳、化痰、补肾壮阳、润肺、调节人体免疫功能、抗衰老、抗癌的功效。虫草发酵液其成分、药效和天然虫草相似。枸杞子同样具有补肾益肝, 调节机体免疫力, 抑制肿瘤, 延缓衰老等功能, 并具有降血脂、降血压的功效。因此, 用虫草和枸杞子与葡萄汁一起发酵生产葡萄酒, 是具有很大保健价值的, 既顺应了现代人对营养保健型葡萄酒的需求, 又为保健葡萄酒的生产提供了一种高新技术, 同时为合理利用我国丰富的枸杞资源开辟了新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

蛹虫草菌种 [*Cordyceps militaris* (L.) Link] 购于中科院微生物所; 枸杞 宁夏产, 优级品; 葡萄 酿酒优级品; 葡萄酒酵母 安琪高活性干酵母; 三角瓶 液体培养基 马铃薯 200g, 葡萄糖 20g, 蛋白胨 10g, 磷酸氢二钾 0.5g, 硫酸镁 0.2g, 水 1000mL; 种子罐及发酵罐培养基 玉米粉 12%, 白砂糖 3%, 大豆粉 2%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2%, pH6.5; Vc 分析纯; 番茄红素 食品级; 蔗糖。

SHK-99-II 台式空气恒温摇床, 50L 不锈钢标准式通风搅拌发酵罐, 3t 不锈钢标准式通风搅拌发酵罐。

收稿日期: 2005-05-12

作者简介: 王华丽(1982-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程。

1.2 工艺过程

1.2.1 虫草菌丝发酵液的生产 斜面菌种→三角瓶液体菌种→摇瓶机(25℃, 120r/min, 6d)→50L 种子罐(25℃, 7d)→3t 发酵罐(25℃, 搅拌速度 70r/min, 通入无菌空气, 通气量与培养液体积比为 0.5/min, 8d) 达到每 100mL 发酵液含菌丝干重 1.5g→虫草菌丝发酵液

1.2.2 虫草菌丝浸提液的制备 虫草菌丝发酵液→过滤→虫草菌丝体→加 4 倍水→煮沸浸提 3h→虫草菌丝浸提液

1.2.3 葡萄酒配料 虫草菌丝浸提液 15%, 枸杞子 3%, 葡萄汁 82%, Vc 0.1%, 番茄红素 0.2%。

1.2.4 虫草枸杞葡萄酒生产工艺

虫草菌丝浸提液+枸杞子

↓
葡萄→挑选清洗→榨汁→调配→磨浆→调配(加糖至 22%)→酒精发酵(接入 2%的酵母粉)→过滤除渣→调配→装桶陈酿→换桶→过滤除菌→装瓶→成品

1.3 操作要点

1.3.1 虫草菌丝发酵液的生产 将斜面菌种接入三角瓶液体培养基中, 在 25℃, 120r/min 的摇瓶机上培养 6d。然后接入 50L 种子罐中, 在 25℃, 培养 7d 后进行扩大培养, 即接入 3t 发酵罐进行发酵培养, 当镜检时发现菌丝体开始老化, 即部分菌丝体原生质有收缩现象, 出现空胞或菌丝体刚开始自溶, 菌丝体饱满粗壮, 发酵液呈淡黄色, 有特殊的虫草菌香味时, 即可停止培养。

1.3.2 葡萄汁的制取 葡萄除梗清洗后榨汁, 让果皮与葡萄汁一起发酵, 在发酵过程中将果皮中的色素、芳香成分及部分单宁浸提于酒液中。

1.3.3 调配, 磨浆 将已预先泡软的枸杞子加到虫草菌丝浸提液中共同进入胶体磨磨浆, 将磨好的浆液与葡萄汁混合均匀。

1.3.4 接种发酵 将混匀的浆液放入调配罐进行调配, 加蔗糖调到含糖 22%, 随后接入 2%的安琪活性干酵母, 进入发酵罐(把葡萄皮、籽一同放入发酵罐)进行酒精发酵。温度控制在 25℃, 当达到所要求的酒精度时终止发酵。若酒精度不够, 则可二次加蔗糖到

表1 培养温度、转速、培养时间对菌丝生长的影响

	培养温度(°C)			转速(r/min)			培养时间(d)		
	18	25	30	100	120	150	4	6	8
菌丝湿重(g/100mL)	1.88	3.09	2.16	1.92	2.47	3.24	1.94	2.30	2.41

含糖 10%,进行二次发酵达到要求。

1.3.5 陈酿 放出发酵液,进入压滤机进行过滤除渣,滤液进行调配,加入 0.1%Vc,0.2%番茄红素,将调配好的酒液装入橡木桶进行陈酿,中间需沉淀、澄清、换桶。

2 结果与讨论

2.1 虫草菌丝发酵液生产工艺的确定

2.1.1 培养温度对菌丝生长的影响 将已接种的三角瓶分别在 18、25、30°C下,120r/min 培养 6d,测定菌丝湿重,结果发现,冬虫夏草在 18~30°C内均能生长。发酵温度低,生长的速度稍慢;温度过高,长得也相对慢些,只有 24~26°C时,冬虫夏草丝生长最好,结果见表 1。

2.1.2 摇瓶转速对菌丝生长的影响 将已接种好的三角瓶放在 25°C,转速分别为 100r/min、120r/min、150r/min 的摇床上,培养 6d,测定菌丝湿重,结果见表 1。

2.1.3 培养时间对菌丝生长的影响 将已接种好的三角瓶放在 25°C,120r/min 的摇床上,分别培养 4、6、8d,测定菌丝湿重,结果发现,在 6~8d 内菌丝没有明显增加,所以发酵时间以 6d 为最佳,结果见表 1。

由表 1 可以看出,虫草菌丝发酵液的最适培养温度为 25°C,最适摇瓶转速为 120r/min,最佳培养时间为 6d。

2.2 最佳配方的确定

原料配比(虫草菌丝浸提液:葡萄汁:枸杞子)(A)、蔗糖添加量(B)、pH(C)是影响本葡萄酒感官品质的关键因素。因此,选定这几项指标作为评价的标准,即采用 $L_9(3^3)$ 正交实验,随机选定具有一定代表性的数名消费者进行品尝,每人对 9 个配方组合进行评分,最后取平均值,其中,虫草枸杞葡萄酒的感官评分以代表虫草枸杞葡萄酒品质的颜色、风味和酒度三项主要指标进行考察,每项满分为 100 分,并按颜色(35%)、味道(35%)、酒度(30%)的比例将各项分数相加为产品的感官评分,结果见表 2。

表2 实验方案表

水平	因素		
	A	B 蔗糖(%)	C pH
1	10:89:1	12	4.5
2	15:82:3	10	5.5
3	20:75:5	8	6.5

注:A 为虫草菌丝浸提液:葡萄汁:枸杞子。

由表 2 可知,最佳配方组合为 $A_2B_2C_1$,即原料的

最佳配比为 15%的虫草浸提液,82%的葡萄汁,3%的枸杞子,蔗糖添加量为 10%,pH 正常为 4.5,此时葡萄酒的颜色、味道和酒度最佳。由极差分析 R 值得, $A>B>C$,即在产品中原料配比对品质影响最大,其次为蔗糖添加量,再次为 pH。

3 产品质量指标

3.1 感官指标

色泽:桃红色,澄清透明,无悬浮物,无杂质。

香气:清新纯正,具有醇厚、优雅、愉悦、和谐的果香与酒香。

滋味:具有纯净、幽雅、爽怡的口味,酒体丰满,协调爽净。

风味:既类似于传统葡萄酒风味,又具有虫草枸杞葡萄酒特有的风格。

3.2 理化指标

虫草多糖:1485mg/L;枸杞多糖:273mg/L;酒度:10%~12%(v/v);滴定酸:6.0g/L;含糖:干型 0.5%,甜型 12%。

3.3 卫生指标

致病菌未检出,卫生指标完全符合 GB-2758-87 要求。

4 结论

4.1 虫草枸杞葡萄酒的特点是:采用液体深层发酵生产虫草菌丝体发酵液,将葡萄汁、枸杞子汁和虫草菌丝浸提液混合在一起,利用微生物发酵技术进行酒精发酵,生产出虫草枸杞葡萄酒。

4.2 虫草枸杞葡萄酒原料配比为 15%虫草菌丝浸提液,82%葡萄汁,3%枸杞子,蔗糖添加量为 10%,pH 为 4.5,此时颜色、味道、酒度最佳。

4.3 虫草枸杞葡萄酒富含虫草多糖、枸杞多糖等生物活性物质,具有补肾壮阳、润肺益肝、明目、止咳化痰、调节机体免疫力、抑制肿瘤、抗癌、延缓衰老等功效,外观、风味类似于传统葡萄酒,为一种高级保健葡萄酒。

参考文献:

- [1] Dahl R, Henriksen JM, Harving H. Red wine asthma: a controlled challenge study[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology,1986,78(6):1126~1129.
- [2] Bakker J, Bridle, Bellworthy S J, et al. Effect of sulfur dioxide and must extraction on color, phenolic, composition and sensory quality of red table wine[J]. The Science of Food and Agricultural,1998,78(3):297~307.

55℃。

2.4.5 pH的选择 确定温度、物液比、时间、酶用量等其余条件,变化酶作用的pH,研究对游离氨基酸态氮含量的影响,结果见表6。

表6 不同pH对游离氨基酸态氮含量的影响

pH	6.0	6.5	7.0	8.0
游离氨基酸态氮含量(mg/100mL)	247	289	280	217

pH过低或过高均会造成蛋白酶变性失活。表6显示,pH为6.5~7.0时,游离氨基酸态氮含量较高。当pH为其它条件时,则游离氨基酸态氮含量较低。因此,选择pH6.5~7.0为木瓜蛋白酶的pH作用范围。

2.5 酶水解最佳作用条件的确定

选用L₉(3⁴)正交表进行正交组合实验,并对结果进行极差分析,其结果如表7所示。

表7 酶水解最佳作用条件正交组合实验

实验号	A 酶用量 (U/g 原料)	B 物液比	C 温度 (℃)	D pH	游离氨基酸态氮 (mg/100mL)
1	1(3500)	1(1:1)	1(45)	1(6.0)	217
2	1	2(1:1.5)	2(50)	2(6.5)	235
3	1	3(1:2)	3(55)	3(7.0)	157
4	2(4000)	1	2	3	264
5	2	2	3	1	290
6	2	3	1	2	289
7	3(4500)	1	3	2	290
8	3	2	1	3	237
9	3	3	2	1	251
K ₁	609	771	743	758	
K ₂	843	744	750	814	
K ₃	778	697	698	658	
K ₁	203.0	257.0	247.7	252.7	
K ₂	281.0	248.0	250.0	271.3	
K ₃	259.3	232.3	232.7	219.3	
R	78.0	24.7	17.3	52.0	

由表7的结果得到实验较优组合为A₂B₁C₂D₂,且因素之间影响力为A>D>B>C。按该组合进行实验的测定结果表明,游离氨基酸态氮含量高。再结合感官评定结果,发现同样是该组合风味最好。

2.6 双酶复合水解

根据以上的实验结果,将木瓜蛋白酶和复合风味酶双酶同时加入、同时水解,并按照风味酶的特点

(上接第127页) [3] 徐桂香,周广麒,王世龙.蚕蛹虫草液体培养基的研究[J].大连轻工业学报,1997(4):14~18.

[4] 冯健,王红旗,张鸿军.新引进冬虫夏草菌液体深层发酵试验[J].微生物学杂志,2002(5):55~78.

[5] 高平,赵建英,冯彩萍.虫草灵芝酒的开发与研制[J].酿酒科技,2000(3):95~96.

[6] 吕炳义,樊瑞霞.浅谈枸杞子的成分作用[J].河北中医药学报,1998(4):29~30.

进行适当调整。测定最终水解液的游离氨基酸态氮含量和水解度,并进行感官评定,所得结果如表8所示。

表8 双酶复合水解实验结果

水解度 DH(%)	游离氨基酸态氮含量 (mg/100mL)	气味 (分)	味道 (分)	色泽 (分)
42.2	293	7	7.5	8

不同酶作用于底物的方式不同,酶水解产物的风味会有不同,几种不同作用方式的酶配合使用,可以产生协同促进作用,改善风味。木瓜蛋白酶和复合风味酶配合使用,可以同时利用外切酶和内切酶的功能,降解苦味多肽,降低苦涩味的产生,从而得到品质良好的产品。

3 结论

实验利用木瓜蛋白酶和复合风味酶协同作用,水解工艺条件确定为:温度50℃、pH6.5、酶用量各4000U/g原料、物液比1:1、水解时间3.0h。水解结束后升温至130~140℃保温1.0h以灭酶,同时让水解物和氨基酸一起与还原糖发生Maillard反应,提高风味。

相比于二种酶前后顺序加入,同时添加两种蛋白酶即缩短了酶解时间,简化了操作,又提高了水解度。

通过此方法制得的水解液色泽橙黄,澄清透亮,苦味有一定程度降低。

本实验中采用的原料为新鲜草鱼肉,并获得了高品质的水解液制品。实验过程中会产生鱼头、鱼皮、鱼骨、内脏等下脚料,如果能对该部分废弃物进行水解再利用,可使制品附加值进一步提高,这可作为今后研究开发的努力方向。

参考文献:

[1] 赵占西,等.我国淡水水产品加工业的现状和前景展望[J].河海大学常州分校学报,2001(12):30~32,37.

[2] 纪家笙.水产品工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1999.

[3] 熊光权,张弘.低值淡水鱼的酶法水解[J].中国水产,1992(8):37~38.

[7] 谢晓霞,朱丽萍,付贵海.枸杞葡萄酒工艺的探讨[J].石河子科技,2001(4):37~38.

[8] 王希光,任俊根,季德胜.枸杞浓酒生产工艺研究[J].酿酒科技,1999(5):94~95.

[9] 陈旭红.枸杞酒中枸杞多糖的测定[J].宁夏农林科技,1998(5):32.

[10] 安家彦编.酿酒工艺与设备选用手册[M].化学工业出版社,2003,4.