

# 艾草对米酒品质的影响研究和艾草米酒发酵工艺优化

黄瑶雁,叶婉琳,林继辉,唐恩  
(闽南科技学院 生命科学与化学学院,福建 南安 362332)

**摘要:**以糯米为原料,通过优选的艾草、甜酒曲搭配,进行复合发酵,制备艾草米酒.通过测定艾草米酒的pH值、总糖、氨基酸和抗氧化性能等,探讨添加艾草后所酿米酒的品质变化.试验结果表明,相对于普通米酒,艾草米酒的pH值不变,含糖量、抗氧化性等都大大提高,氨基酸总体含量基本没有变化,但是其必需氨基酸的含量却有所提高,说明米酒添加艾草发酵有利于提高米酒的品质.通过单因素和响应面试验研究了艾草米酒最佳发酵工艺为艾草提取液0.17 g/mL、酒曲接种量1.41 g、发酵时间34 h,得到米酒的抗氧化性为53.58%.

**关键词:**艾草;米酒;抗氧化;响应面;氨基酸

**中图分类号:**TS262.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)01-0050-06

中国米酒采用发酵米工艺生产,其因含丰富氨基酸及微量元素<sup>[1-2]</sup>,酒精度低等特点,成为中国最受欢迎的酒精饮料之一.适量饮用米酒可促进血液循环,提高免疫力和延长寿命的作用<sup>[3-4]</sup>.

随着生活水平的提高,人们越来越关注自身的营养和健康,以及其对身体正常功能的影响意识亦日益增强,这鼓励食品制造商需研发安全且可促进健康成分的产品.目前,市面上售卖的米酒种类比较单一,因此,越来越多的研究学者开始研究独特且营养丰富的米酒<sup>[5-7]</sup>,但目前国内外关于艾草米酒的研究鲜见报道.

艾草是一种非常重要的野生功能性植物,含倍半萜烯内酯,木质素和类黄酮等活性物质<sup>[8-9]</sup>,具有止血、去湿、消炎、抗过敏、抗菌、抗癌等作用<sup>[10-11]</sup>,同时还有较强的抗氧化能力<sup>[12]</sup>.艾草营养价值多样化,既可食用也可药用,是现今食品和医药工业研究的热点之一.因此,试验在米酒发酵过程中添加艾草,分析艾草对米酒中的酒精度、总糖、氨基酸等影响,并采用响应面法对艾草米酒生产制备工艺进行优化,得出艾草米酒的最佳生产工艺,为艾草米酒的生产制备提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

艾草、糯米(南安市康美镇农贸市场);甜酒曲(苏州粮油食品有限公司);其它化学试剂为国药集团化学试剂有限公司.

### 1.2 仪器与设备

PB-10 酸度计(北京赛多利斯科学仪器有限公司);紫外可见分光光度计、高效液相色谱(美国安捷伦科技公司).

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 艾草米酒生产工艺

米酒制备工艺参见文献[13],其工艺流程如图1所示.

艾草提取液:用200 g艾草加至1 000 mL超净水中煮沸,过滤后,根据需要制备成不同浓度的艾草提取液.

收稿日期:2023-02-24.

基金项目:福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JAT200973, JAT200976, JAT200972);福建省一流专业建设点(SJZY202001).

作者简介:黄瑶雁(1985-),女,工程师.主要从事生态环境与绿色食品研究.

通信作者:唐恩(1972-),男,博士,教授.主要从事配位化学及功能性食品化学研究.

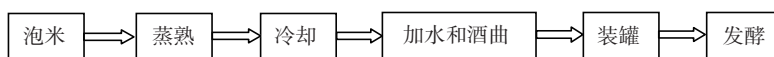


图1 米酒制备工艺流程图

用不同质量浓度的艾草提取液(0.04、0.08、0.12、0.16和0.20 g/mL)替代超净水,制得艾草米酒(1)(2)(3)(4)(5).

### 1.3.2 单因素与响应面实验

根据预试验,初步确定艾草添加量0.1 g/mL,酒曲添加量2 g,发酵时间40 h,发酵温度30 ℃.在此基础上,改变不同艾草提取液配比(0.04、0.08、0.12、0.16和0.20 g/mL);改变发酵时间(30、35、40、45和50 h);改变酒曲添加量(1、1.5、2、2.5和3 g)来探究米酒抗氧化性.

通过单因素实验来确定各个因素的显著影响范围,用艾草提取液添加量(A)、发酵时间(B)、酒曲添加量(C)为考察因素,以米酒抗氧化评分为响应值,根据表1设计出响应面实验.

表1 艾草米酒酿造工艺优化响应面实验因素与水平表

因素	水平值				
	-1.682	-1	0	1	1.682
A 艾草提取液/(g·mL <sup>-1</sup> )	0.09	0.12	0.16	0.20	0.23
B 时间/h	26.6	30	35	40	43.4
C 酒曲添加量/g	0.66	1	1.5	2	2.34

### 1.3.3 测定方法

#### 1) 理化指标

pH的测定 参照文献[14]直接采用pH测定酒液.

酒精度参考《食品安全国家标准酒中乙醇浓度的测定》(GB5009.225—2016)中酒精计法测定.

含糖度的测定 参照文献[15]通过DNS比色法检测酒中的总糖含量.准确吸取0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL的1.0 mg/mL葡萄糖标准溶液,分别置于7支具塞刻度管中,并补蒸馏水至2 mL,加入2 mL DNS溶液,摇匀,水浴加热5 min,冷却至室温,用蒸馏水稀释到10 mL,以0号作空白,在540 nm波长处测定光吸收值,绘制标准曲线.

取糯米酒发酵液1 mL定容至10 mL,取艾草米酒发酵液1 mL定容至50 mL.

总糖的测定 取稀释后发酵液1.0 mL,加入6 mol/L HCL溶液0.75 mL,沸水浴20 min(保证水解完毕),冷却至室温,加入1 d 酚酞指示剂,加入6 mol/L NaOH溶液中和至微碱性,后加入DNS 2 mL,水浴加热5 min,冷却至室温,用蒸馏水稀释到10 mL,在540 nm波长处测定光吸收值.根据标准曲线算出总糖含量.

#### 2) 艾草米酒氨基酸成分检测

参照文献[16]利用高效液相检测艾草米酒氨基酸含量,样品需水解和衍生.色谱条件为色谱柱:ODS-4;流动相:乙酸钠(0.02 mol/L);流速:1.0 mL/L;进样量:10 μL;波长:254 nm.

#### 3) 抗氧化性测试

抗氧化性大小通过清除羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的能力来表征,羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )清除步骤参照文献[17],并适当修改.将样品稀释10倍,取稀释后酒样1 mL,分别加入1 mL 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液,1 mL 6 mmol/L 双氧水溶液,静置10 min后,最后加入1 mL 6 mmol/L 水杨酸,混匀后37 ℃水浴反应30 min,在510 nm处测定吸光度,羟基自由基清除率按式(1)计算.

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = \left[ 1 - \frac{(A_i - A_0)}{A_0} \right] \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_i$ 为样品的吸光值; $A_0$ 为不加显色剂的吸光值; $A_0$ 为空白组吸光值.

### 1.3.4 数据分析

采用Design-Expert 8进行响应面实验设计与分析,采用Excel 2007进行数据处理和图表制作.

## 2 结果与分析

### 2.1 艾草添加对酒品质的影响

添加艾草后,米酒的色度随加入艾草浓度的变化而呈现出诱人的淡黄色和淡绿色,同时酒香具有独特的米酒香和艾草香味.文献[9]报道自制米酒酒精度一般偏低,艾草米酒的酒精度也不高,与文献[18]报道的米酒类似,且艾草的加入对酒精度的影响不大.在普通发酵米酒中,米酒酸度约为2.8~4.0.加入艾草后,其米酒酸度与未加艾草米酒无明显变化.米酒中的糖主要来自酶催化水解米中的碳水化合物,是影响米酒口味的重要物质之一<sup>[19-20]</sup>.试验制备的纯米酒含糖量为14.4 g/L,与文献[21]发酵米酒的总糖(14 g/L)含量基本一致.试验制备的米酒和艾草米酒均属于在国家标准 GB13662—2000 中半干型(15.1 g/L < 总糖 < 40 g/L)的黄酒,说明添加艾草发酵不会影响酒的含糖量.米酒的抗氧化性随着艾草添加浓度的增加而增加,而抗氧化性的提高有利于增强人体的抗病能力.以上几个指标说明了添加艾草发酵后提高了米酒的品质,对人体的健康有利.

表2 艾草增加量对米酒品质的影响

	糯米酒	艾草米酒(1)	艾草米酒(2)	艾草米酒(3)	艾草米酒(4)	艾草米酒(5)
感官描述	澄清、透明,醇香,无异味	澄清、淡黄色,酒香怡人	澄清、淡黄色,浓郁怡人	澄清、淡绿色,浓郁怡人	澄清、淡绿色,浓郁怡人	澄清、淡绿色,浓郁怡人
酒精度% vol	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1
pH	3.66 ± 0.01	3.59 ± 0.01	3.75 ± 0.01	3.73 ± 0.01	3.72 ± 0.01	3.66 ± 0.01
含糖量/(mg · mL <sup>-1</sup> )	14.40 ± 0.01	29.68 ± 0.01	27.68 ± 0.01	27.04 ± 0.01	26.01 ± 0.02	25.60 ± 0.01
抗氧化率/%	22.23 ± 0.01	36.3 ± 0.02	41.48 ± 0.01	43.69 ± 0.01	45.06 ± 0.01	46.32 ± 0.02

### 2.2 米酒氨基酸成分检测

氨基酸不仅是蛋白质的必需成分,而且在能量代谢,神经传递和脂质转运中也很重要<sup>[22]</sup>.米酒中氨基酸主要来自蛋白质的水解反应和发酵过程中形成的.从表3中看出添加艾草提取液进行发酵,没有改变米酒中氨基酸的含量,而且在艾草发酵酒中甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸这些必需氨基酸的含量有所提高.

表3 艾草米酒中氨基酸成分

代码	氨基酸名称	味道	糯米酒/(nmol · L <sup>-1</sup> )	艾草米酒/(nmol · L <sup>-1</sup> )
Asp	天冬氨酸	鲜味	3.534	1.147
Glu	谷氨酸	鲜味	1.071	0.720
Ser	丝氨酸	甜味	0.003	0.064
Gly	甘氨酸	甜味	0.107	0.888
His	组氨酸	苦味	0.224	0.210
Thr	苏氨酸	甜味	0.102	0.128
Arg	精氨酸	苦味	0.045	0.058
Pro	脯氨酸	甜味	3.219	5.979
Ala	丙氨酸	甜味	0.677	0.538
Tyr	酪氨酸	涩味	0.659	1.056
Val	缬氨酸	微甜而后苦	0.305	0.390
Met	甲硫氨酸	苦味	0.000	0.066
Cys	半胱氨酸	苦味	0.000	0.006
Ile	异亮氨酸	苦味	0.168	0.436
Leu	亮氨酸	苦味	0.154	1.548
Phe	苯丙氨酸	甜味	0.077	0.304
Lys	赖氨酸	甜味、鲜味、微苦	0.133	0.085

## 2.3 单因素分析与响应面优化实验

### 2.3.1 单因素实验

发酵时间在 30 ~ 35 h 间,抗氧化率有一个明显的升高,之后随发酵时间的增加,抗氧化率反而降低. 可能原因是随着发酵时间的增加,米酒中还原性物质增多,对自由基捕获能力增强,时抗氧化率提高;由于随着发酵时间的进行,溶液的温度升高,导致溶液中活性物质的自然降解速度加快,从而导致抗氧化性降低(见图 2a).

当酒曲添加量升高至 1.5 g 左右,抗氧化率达到最高,随之抗氧化率降低. 可能原因是当酒曲添加量 < 1.5 g 时,糖化速度较慢,酵母生长速度受到限制,不易形成生长优势,引起杂菌污染,从而导致抗氧化率较低;当酒曲添加量 > 1.5 g 时,会使酵母繁殖旺盛,发酵过于剧烈,产生大量的  $\text{CO}_2$  和热量,引起发酵温度上升,使酒精产量减少,副产物增加,从而导致抗氧化性降低<sup>[23]</sup>(见图 2b).

艾草浓度添加量在 0 ~ 0.12 g/mL 间,随着浓度的升高,抗氧化率大幅提高. 在浓度 0.12 ~ 0.20 g/mL 间,抗氧化率上升幅度逐渐缓慢. 可能原因是随着艾草提取液添加量的增加,提取液中半萜烯内酯、木质素和类黄酮等活性物质也相应增多<sup>[24]</sup>,加之在发酵过程还原性糖类及氨基酸的产生,增强了米酒的抗氧化能力,因此随着艾草提取液含量的增加,米酒的抗氧化率也随之增加(见图 2c).

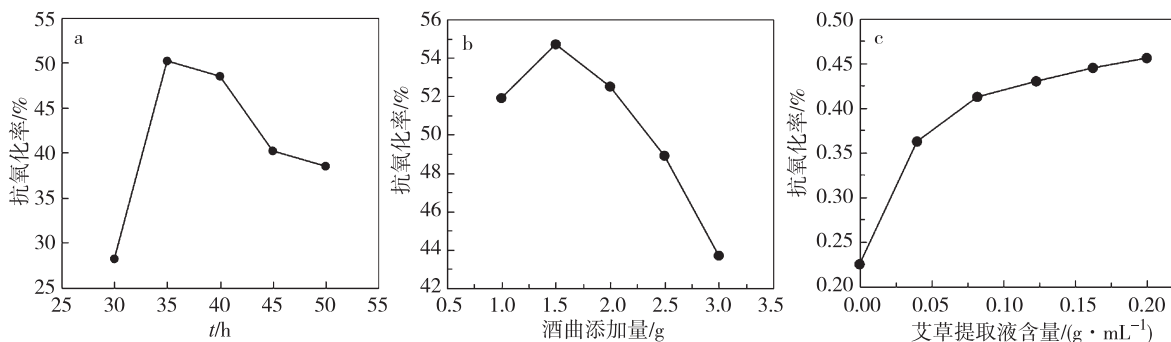


图2 各因素对艾草米酒抗氧化率影响

### 2.3.2 响应面实验设计与结果

根据单因素的试验结果,确定 30 °C 发酵,以抗氧化性为响应值,以艾草提取液(A)、发酵时间(B)酒曲添加量(C)为考察因素,进行响应面试验,试验设计与结果见表 4,方差分析见表 5.

表4 艾草米酒酿造工艺优化响应面试验设计及结果

试验号	A 艾草提取液/(g · mL <sup>-1</sup> )	B 发酵时间/h	C 酒曲添加量/g	抗氧化/%
1	0.23	35	1.50	20.52
2	0.20	30	2.00	25.41
3	0.12	40	2.00	18.11
4	0.16	35	2.34	17.89
5	0.20	40	2.00	39.00
6	0.16	35	1.50	52.21
7	0.16	43.4	1.50	43.68
8	0.16	35	1.50	56.84
9	0.16	35	1.50	50.81
10	0.20	30	1.00	34.5
11	0.12	40	1.00	18.11
12	0.16	35	1.50	53.61
13	0.16	35	1.50	49.31
14	0.12	30	1.00	31.42
15	0.16	26.6	1.50	42.71
16	0.16	35	1.50	55.64
17	0.20	40	1.00	23.95
18	0.16	35	0.66	35.23
19	0.12	30	2.00	13.68
20	0.09	35	1.50	11.21

表 5 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	4 348.25	9	483.14	39.75	<0.000 1	**
A 艾草提取液	239.55	1	239.55	19.71	0.001 3	**
B 发酵时间	1.30	1	1.30	0.11	0.750 7	
C 酒曲	122.74	1	122.74	10.10	0.009 9	**
AB	17.76	1	17.76	1.46	0.254 5	
AC	70.21	1	70.21	5.78	0.037 1	*
BC	219.24	1	219.24	18.04	0.001 7	**
A <sup>2</sup>	2 617.41	1	2 617.41	215.35	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	209.65	1	209.65	17.25	0.002 0	**
C <sup>2</sup>	1 354.69	1	1 354.69	111.46	<0.000 1	**
残差	121.54	10	12.15			
失拟项	80.45	5	16.09	1.96	0.239 3	不显著
纯失误	41.09	5	8.22			
总离差	4 469.80	19				

相关系数  $R^2 = 0.950 5$  调整相关系数  $R^2 = 0.906 0$

注：“\*\*”表示结果对影响极显著( $P < 0.01$ )、“\*”表示结果对影响显著( $P < 0.05$ )。

分析实验多个变量间的回归关系,得出二次回归方程为:

$$Y = 53.12 + 4.19A - 0.31B - 3.00C + 1.49AB + 2.96AC + 5.24BC - 13.48A^2 - 3.81B^2 - 9.70C^2$$

从表 5 中可解释模型响应中的变异极显著( $P < 0.01$ ),失拟项不显著( $P > 0.05$ ),说明所得模型拟合度符合标准. 相关系数  $R^2 = 0.9728$ ,调整相关系数  $R^2 = 0.9483$ ,说明此模型准确、真实,能够模拟预测出艾草米酒的发酵工艺条件. 在该模型中, A、C、AC、BC、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 对艾草米酒抗氧化评分的影响有很好的显著作用( $P < 0.05$ ),其他因素对抗氧化评分的影响不显著( $P > 0.05$ ).

根据 F 值大小可知,各因素对艾草米酒抗氧化评分影响次序为:A(艾草提取液) > C(酒曲添加量) > B(发酵时间).

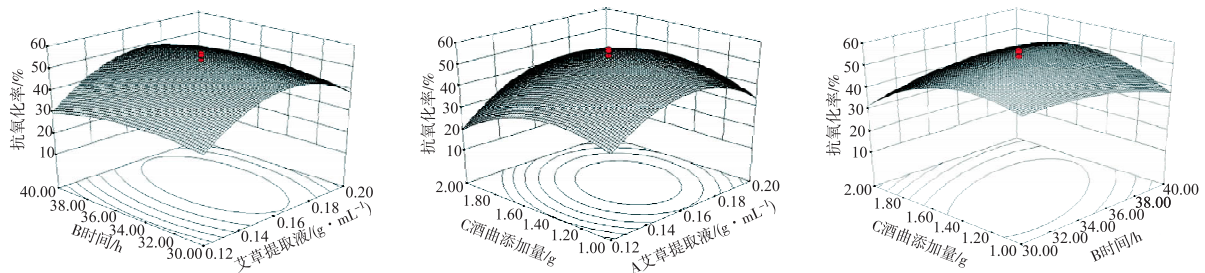


图 3 三因素交互影响抗氧化性的响应面及等高线图

从图 3 中可直观看出各个因素之间的相互关系对艾草米酒抗氧化指标的影响,曲线越陡,表明该因素对艾草米酒抗氧化评分的影响越大,与方差分析结果一致. 通过软件分析,以抗氧化作为指标,艾草米酒最佳酿造工艺为艾草提取液 0.17 g/mL、酒曲接种量 1.41 g、发酵时间 34.34 h. 在此工艺条件下,艾草米酒的抗氧化性为 53.67%,根据实际情况,将工艺修正为艾草提取液 0.17 g/mL、酒曲接种量 1.41 g、发酵时间 34 h,得到米酒的抗氧化性为 53.58%,与理论值 53.17% 接近且 RSD 为 0.77%,说明响应面优化艾草米酒发酵工艺条件是可行的,该模型有一定的应用价值.

### 3 结语

试验以艾草、糯米为原料开发研制艾草米酒,通过 pH、总糖、抗氧化性等对比米酒与艾草米酒之间的品质. 试验结果表明相对于普通米酒,艾草米酒的 pH 值不变,抗氧化性大大提高,普通米酒和艾草米酒中总氨基

酸含量相差不大,但是艾草米酒中必需氨基酸含量提高.以上结果表明通过在原料中添加艾草发酵米酒,不但保持了米酒的独特风味,还增加对人体健康有益的抗氧化性,对促进人体健康有重要意义.

#### 参考文献:

- [1] CHEN S, XU Y, QIAN M C. Aroma characterization of chinese rice wine by gas chromatography – olfactometry, chemical quantitative analysis, and aroma reconstitution[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(47):11295 – 11302.
- [2] 潘天全,程伟,张杰,等.两款不同原料酿制风味米酒的检测分析与对比研究[J].酿酒科技,2018,25(12):83 – 87.
- [3] LIUR, FUZ K, ZHANGF J, et al. Effect of yellow rice wine on anti – aging ability in aged mice induced by D – galactose[J]. Food Science and Human Wellness, 2020, 9(2):184 – 191.
- [4] JI P, LI C C, WEI Y M, et al. Screening study of blood – supplementing active components in water decoction of angelica sinensis processed with yellow rice wine based on response surface methodology[J]. Pharmaceutical Biology, 2020, 58(1):1167 – 1176.
- [5] ZHENG H L, ZHANGWEI P, XU G Q, et al. The impact of different saccharomyces cerevisiae strains on microbial composition and quality of chinese rice wine fermentations[J]. Yeast, 2020, 38(2):147 – 156.
- [6] 刘晓明,刘盛,姜贵全,等.黑果腺肋花楸 – 杞叶唐棣复合米酒的研制[J].食品科技,2022,47(10):141 – 147.
- [7] 张雪桐,林丰.五味子米酒制作工艺研究[J].食品研究与开发,2019,40(3):136 – 140.
- [8] LIUT T, WU H B. Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) as a promising nematicidal and antifungal agent: chemical composition, comparison of extraction techniques and bioassay – guided isolation[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 133:295 – 303.
- [9] NGUYEN, H T, RADACSIP, GOSZTOLA B, et al. Effects of temperature and light intensity on morphological and phytochemical characters and antioxidant potential of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2018, 79: 1 – 7.
- [10] LIU C X. Discovery and development of artemisinin and related compounds [J]. Chinese Herbal Medicines. 2017, 9(2):101 – 114.
- [11] AUGUSTINY, STAINESH M, KRISHNA S. Artemisinins as a novel anticancer therapy: targeting a global cancer pandemic through drug repurposing[J]. Pharmacology & Therapeutics, 2020, 216:107706.
- [12] 王娜,张昊宇,宁灿灿,等.艾草黄酮提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品与机械,2022,38(7):174 – 179 + 240.
- [13] XIA X L, ZHANG Q W, ZHANG B, et al. Insights into the biogenic amine metabolic landscape during industrial semidry chinese rice wine fermentation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(39):7385 – 7393.
- [14] 刘小翠,赵思明,王莲.糯米甜酒的发酵动力学及工艺优化[J].食品科学,2007,28(12):263 – 267.
- [15] 张高楠,苏钰亭,赵思明,等.4种甜米酒主要营养成分与滋味特征对比及分析[J].华中农业大学学报,2018,37(2):89 – 95.
- [16] SHEN F, YING Y B, LI B B, et al. Multivariate classification of rice wines according to ageing time and brand based on amino acid profiles[J]. Food Chemistry, 2011, 129(2):565 – 569.
- [17] NARDINIA M, GARAGUSO I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers[J]. Food Chemistry, 2020, 305:125437.
- [18] 温承坤,陈孝,王奕芳,等.米酒功能性成分研究进展[J].中国酿造,2019,38(12):5 – 8.
- [19] NIU X Y, SHEN F, YU Y, et al. Analysis of sugars in chinese rice wine by fourier transform near – infrared spectroscopy with partial least – squares regression[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56:7271 – 7278.
- [20] 汪建国,徐亮.我国黄酒的特征及展望[J].江苏调味副食品,2005,22(6):5 – 9.
- [21] 母应春,姜丽,苏伟.两种酒曲制备米酒品质对比研究[J].中国酿造,2019,38(3):114 – 119.
- [22] SHEN F, NIU XY, YANG DT, et al. Determination of amino acids in chinese rice wine by fourier transform near – infrared spectroscopy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58:9809 – 9816.
- [23] 李昱鼎.竹茶酒发酵工艺优化及抗氧化特性研究[D].福州:福建农林大学,2023.
- [24] WANG Y L, XIAO J C, JIE B, et al. Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 62(14):3833 – 3854.