

doi:10.11937/bfyy.20170620

## 茯苓葡萄酒的澄清工艺

崔培梧, 陈林, 廖彦, 鲁耀邦

(湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208)

**摘要:**以茯苓葡萄酒为试材,采用单因素试验,对果胶酶、皂土、壳聚糖、PVPP 4 种澄清剂的澄清效果进行了对比分析,在此基础上采用 Box-Behnken 响应面设计对其澄清工艺进行优化。结果表明:最佳澄清剂为皂土,最佳澄清条件为皂土浓度  $2.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、温度  $16.56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、澄清时间  $2.79 \text{ d}$ 。在此条件下,茯苓葡萄酒透光率可达  $(97.90 \pm 0.57)\%$ ,并经冷热处理和静置处理试验验证,处理后的酒体稳定性良好。经 Box-Behnken 响应面设计法得到的茯苓葡萄酒澄清工艺参数可为发酵型果酒的工业化澄清工艺提供必要的技术支持。

**关键词:**茯苓葡萄酒;澄清工艺;Box-Behnken 设计;响应面分析

**中图分类号:**TS 262.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0138-07

果酒是指以新鲜水果为原料,在保存水果原有营养成分的前提下通过酵母分解糖分而酿造出的具有保护心肌、软化血管、美容、促进消化等多重保健功效的营养酒饮<sup>[1]</sup>,因其色泽诱人、酸甜可口而备受欢迎。然而果酒中的单宁、色素、蛋白质、多糖、果胶质等成分多以胶体形式存在,为高度分散的热力学不稳定体系<sup>[2]</sup>,在后期陈酿及贮存过程中极易因其果酒的浑浊和沉淀而影响果酒的感官,也对其品质和风味带来重要影响<sup>[3]</sup>。因此,果酒的澄清处理工艺一直是果酒酿造过程中的关键环节。

茯苓(*Poria cocos*)是重要的药食同源菌物,主要活性成分为多糖和三萜类化合物,且二者均

具有显著的抗炎、免疫调节、抗肿瘤、抗氧化、保肝、降低移植手术后受体排斥反应等功能<sup>[4-6]</sup>,因此课题组以茯苓发酵液和优质葡萄为原料尝试了茯苓葡萄酒的研制,经二次发酵,最后得到  $13.72\%$ (体积百分比)的茯苓葡萄酒<sup>[7]</sup>,但由于该果酒中富含茯苓菌胞外代谢产物,成分比普通果酒更加复杂。因此,很有必要对其澄清工艺进行系统研究,以探索提高酒的感官和品质的处理工艺。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试茯苓葡萄酒为课题组前期研制而成<sup>[7]</sup>。

果胶酶(食品级,深圳恒生生物科技有限公司),皂土(食品级,法国 Laffort),壳聚糖(食品级,苏州欣祥缘生物科技有限公司),PVPP(聚乙烯吡咯烷酮,国药集团化学试剂有限公司),熊果酸(HPLC 级,纯度  $\geq 98\%$ ),购于中国药品生物制品检定所;其余试剂均为国产分析纯。

恒温培养箱(泰斯特 MJX-250BX);紫外-可见分光光度计(日本岛津 UV-1800);便携式 pH 酸度计(上海雷磁 PHB-4);酒精计;数字糖度计(ATAGO PAL- $\alpha$ )等。

**第一作者简介:**崔培梧(1983-),男,博士研究生,讲师,研究方向为生物发酵与酿造工程。E-mail: cuipeiwu@126.com.

**责任作者:**鲁耀邦(1963-),男,教授,硕士生导师,现主要从事中药药性与药效及中药资源综合开发利用等研究工作。E-mail: luyb414@sina.com.

**基金项目:**湖南省教育厅科学计划资助项目(12C0271);湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金资助项目(ZYFT201404);湖南中医药大学生物工程专业重点学科资助项目(校行科[2012]2号)。

**收稿日期:**2017-04-11

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 澄清剂母液的配制

1.0%果胶酶:称取1 g果胶酶,先用50 mL 40℃温水溶解后,再加入至50 mL温水中稀释,摇匀搅拌,配制成1%的果胶酶溶液,放置1~2 h后备用。1.0%皂土:称取1.0 g硅藻土,加入80 mL水,60℃恒温浸泡24 h,不断搅拌,直至完全成糊状,加水定容至100 mL。1.0%壳聚糖:称取1.0 g壳聚糖,加入80 mL 2%柠檬酸水溶液,充分溶解后加水定容至100 mL,振荡混匀后备用。1.0% PVPP:称取1.0 g PVPP,加入100 mL水,振荡混匀后备用。

### 1.2.2 澄清剂的筛选试验

果胶酶的澄清试验:取6份茯苓葡萄酒20 mL于小烧杯中,加入适量1.0%果胶酶母液分别调果胶酶浓度至20、40、60、80、100、120 mg·L<sup>-1</sup>,充分混匀,用保鲜膜封口,在20℃恒温培养箱中静置2 d,然后取其上清液于4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,以蒸馏水为空白,以未加澄清剂处理的茯苓葡萄酒为对照,测定透光率。

皂土的澄清试验:取6份茯苓葡萄酒20 mL于小烧杯中,加入适量1.0%皂土母液分别调皂土浓度至0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g·L<sup>-1</sup>,充分混匀,用保鲜膜封口,在20℃恒温培养箱中静置2 d,然后取其上清液于4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,以蒸馏水为空白,以未加澄清剂处理的茯苓葡萄酒为对照,测定透光率。

壳聚糖的澄清试验:取6份茯苓葡萄酒20 mL于小烧杯中,加入适量1.0%壳聚糖母液分别调壳聚糖浓度至0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g·L<sup>-1</sup>,充分混匀,用保鲜膜封口,在20℃恒温培养箱中静置2 d,然后取其上清液于4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,以蒸馏水为空白,以未加澄清剂处理的茯苓葡萄酒为对照,测定透光率。

PVPP的澄清试验:取6份茯苓葡萄酒20 mL于小烧杯中,加入适量1.0% PVPP母液分别调PVPP浓度至0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g·L<sup>-1</sup>,充分混匀,用保鲜膜封口,在20℃恒温培养箱中静置2 d,然后取其上清液于4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,以蒸馏水为空白,以未加澄清剂处理的茯苓葡萄酒为对照,测定透光率。

最佳澄清剂的筛选:将上述4种澄清剂试验中获得的最佳澄清度酒液进行对比,分析其透光率、酒精度、残糖、pH、茯苓多糖、茯苓三萜等指标,并进行综合评价,以确定最佳澄清剂。

### 1.2.3 茯苓葡萄酒澄清工艺条件的优化

采用3因素3水平的Box-Behnken设计,以澄清剂浓度、澄清温度和澄清时间3个因素对所筛选的处理工艺条件进行优化,并对优化后的最佳澄清工艺条件进行验证。

### 1.2.4 经澄清处理后的茯苓葡萄酒稳定性考察

冷热处理:取2份50 mL经澄清处理后的茯苓葡萄酒,一份置于80℃水浴中加热10 min,另一组置于-4℃冷冻3 d,处理好后将2组茯苓葡萄酒在室温下放置10 d,观察沉淀情况,并测定透光率以判断酒体是否稳定。

静置法:在室温下,将澄清的茯苓葡萄酒分别静置1~6个月,观察其外观是否有变化,有无沉淀,并测定其透光率以判断酒体是否稳定。

### 1.2.5 茯苓葡萄酒透光率最佳波长的确定

取茯苓葡萄酒于8 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min后,吸取上清液,以蒸馏水做空白,用分光光度计在400~800 nm波长范围内测定透光率最佳波长。

## 1.3 项目测定

### 1.3.1 澄清度的测定

取离心后的茯苓葡萄酒,以蒸馏水做空白,用分光光度计于透光率最佳波长条件下测定透光率。

### 1.3.2 其它指标的测定

酸度、酒精度分别用糖度计、酸度计(GB/T15038-2006)、酒精计(GB/T15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法)直接测量,残糖含量测定采用菲林试剂滴定法<sup>[8]</sup>,茯苓多糖含量测定采用硫酸苯酚法<sup>[9]</sup>,茯苓三萜含量测定采用香草醛-高氯酸显色法<sup>[10]</sup>。

## 1.4 数据分析

采用Statistica 10.0软件对试验数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 吸收波长对茯苓葡萄酒透光率的影响

果酒澄清效果的评价通常用透光率来描述,

而透光率又受到吸收波长的影响,因此在评价澄清效果之前需要对果酒的光吸收规律进行分析。由茯苓葡萄酒在 400~800 nm 的透光率数据可知(图 1),随着波长增加,茯苓葡萄酒的透光率逐步增大,在波长为 700 nm 时,其透光率达到最高,且不再随波长增加而变化。因此,确定 700 nm 作为茯苓葡萄酒透光率的测定波长。

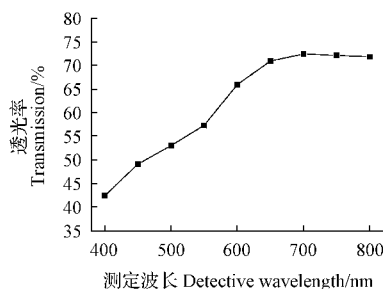


图 1 吸收波长对茯苓葡萄酒透光率的影响

Fig. 1 Effects of absorption wavelength on *Poria cocos* grape wine transmittance

## 2.2 单一澄清剂对茯苓葡萄酒澄清效果的分析

由图 2 A 可知,不同浓度、不同类型的澄清剂对茯苓葡萄酒的透光率均有相应的影响,果酒酶浓度为  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时茯苓葡萄酒的透光率最大,

为 91.2%;由图 2 B 可知,  $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的皂土对茯苓葡萄酒具有较佳澄清效果,为 92.8%;由图 2 C 可知,壳聚糖在  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时使得茯苓葡萄酒表现出最佳的透光率,为 91.3%;由图 2 D 可知, PVPP 的最佳工作浓度为  $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,此时茯苓葡萄酒的透光率为 88.9%。

试验表明,4 种澄清剂均可对茯苓葡萄酒表现出较好的澄清效果,都可使透光率达到 90% 左右,但如要确定最佳澄清剂,还需对经澄清处理后的茯苓葡萄酒的其它相关指标进行系统评价,该试验对 4 种澄清剂最佳工作浓度条件下的茯苓葡萄酒相关指标进行系统对比。由表 1 可知,4 种澄清剂对酒体酒精度、pH、残糖、茯苓多糖和茯苓三萜含量均表现出轻微影响,其中皂土对上述指标的影响最小,同时获得最佳的透光率,为 92.8%。而果胶酶显著降低了酒体中茯苓多糖的含量,壳聚糖和 PVPP 也降低了茯苓多糖的含量,应该与其强大的交联度和吸附能力有关<sup>[11]</sup>,但这在一定程度上对酒体品质造成了影响,且从操作方便性角度考虑,皂土因具有较好的机械强度而更方便大规模压滤处理,因此后续澄清处理工艺中选择皂土作为最佳澄清剂。

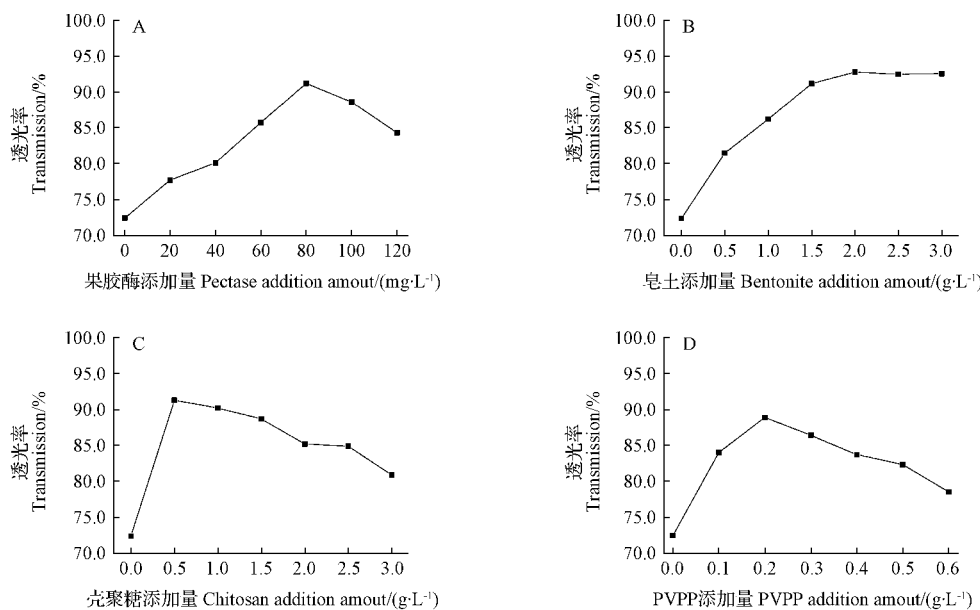


图 2 不同浓度果胶酶(A)、皂土(B)、壳聚糖(C)和 PVPP(D)对茯苓葡萄酒透光率的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of pectase(A), bentonite(B), chitosan(C) and PVPP(D) on transmittance of *Poria cocos* wine

表 1  
Table 1  
不同澄清剂处理效果的比较  
Comparison of clarification effects of different clarifying agents

澄清剂 Clarifying agents	用量 Addition amount /(g · L <sup>-1</sup> )	澄清时间 Clarifying time /d	透光率 Transmittance /%	酒精度 Alcohol content/%	pH	残糖 Residual dextrose /(g · L <sup>-1</sup> )	茯苓多糖 Pachymaran /(g · L <sup>-1</sup> )	茯苓三萜 <i>Poria cocos</i> triterpene /(g · L <sup>-1</sup> )
空白对照 CK	0	2	72.4	13.72	3.52	52.1	6.27	0.44
果胶酶 Pectase	0.08	2	91.2	13.48	3.48	50.5	4.94	0.42
皂土 Bentonite	2.0	2	92.8	13.49	3.49	46.3	6.15	0.42
壳聚糖 Chitosan	0.5	2	91.3	13.26	3.46	48.3	5.46	0.41
PVPP	0.2	2	88.9	12.85	3.42	46.6	4.38	0.39

2.3 皂土澄清茯苓葡萄酒工艺条件的优化

Box-Behnken 设计可实现以较少的运行成本反应较全面的响应变量数据,因而成为最受欢迎的响应面设计,被广泛应用于发酵过程优化<sup>[12]</sup>、

工艺设计<sup>[13]</sup>等领域,取得了较好的优化效果。因此,该研究拟从皂土浓度( $X_1$ )、澄清温度( $X_2$ )、澄清时间( $X_3$ )对皂土澄清茯苓葡萄酒的工艺条件进行优化,具体试验设计及结果见表 2。

表 2  
Table 2  
Box-Behnken 试验设计及其结果  
Design and results of Box-Behnken experiment

序号 No.	$X_1$ 皂土浓度 Bentonite concentration/(g · L <sup>-1</sup> )	$X_2$ 温度 Temperature/℃	$X_3$ 澄清时间 Clarifying time/d	Y 透光率 Transmittance/%
1	1	15	4	94.6
2	3	15	4	96.7
3	1	25	4	92.6
4	3	25	4	95.6
5	1	20	2	92.1
6	3	20	2	97.1
7	1	20	6	96.7
8	3	20	6	94.2
9	2	15	2	98.1
10	2	25	2	95.6
11	2	15	6	94.3
12	2	25	6	97.2
13	2	20	4	96.8
14	2	20	4	98.2
15	2	20	4	97.8

所得结果经 Statistica 10.0 软件处理分析,建立的多元二次回归方程为,澄清度  $Y=80.375+11.8X_1+0.4625X_2+0.29375X_3+0.045X_1X_2-0.9375X_1X_3+0.135X_2X_3-2X_1^2-0.029X_2^2-0.14375X_3^2$ 。为验证该模型的可信度,对所得模型进行方差分析(表 3),结果显示模型项、 $X_1$ 、 $X_1X_3$ 、 $X_2X_3$ 、 $X_1^2$  对响应变量的影响均具有显著性,而  $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_1X_2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$ 、模型失拟项不显著,说明皂土浓度对茯苓葡萄酒的澄清效果影响较大,且皂土浓度与澄清温度、皂土浓度与澄清时间之间的交互作用均对澄清效果有重要影响,而

其它项及模型失拟项均对所建模型无显著影响,因此可用所建模型来对茯苓葡萄酒的澄清效果进行分析和预测。

为进一步直观分析响应面优化效果,采用 Statistica 10.0 软件对所得试验数据绘制任意 2 个因素对响应变量影响的三维曲面图(图 2),结果显示对于任意 2 个因素,响应变量均存在极大值。结合所见二次模型,对该极大值进行求解,得出最优变量组合为皂土浓度  $2.80\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、温度  $16.56\text{ }^\circ\text{C}$ 、澄清时间  $2.79\text{ d}$ ,此时茯苓葡萄酒理论透光率为  $98.15\%$ 。

表 3 Box-Behnken 试验回归模型方差分析  
Table 3 Variance analysis of regression equation of Box-Behnken experiment

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Source of variance	Sum of square	Degree of freedom	Mean square	F value	P value	Significance
模型	46.24	9	5.14	4.83	0.049	显著
$X_1$	7.22	1	7.22	6.79	0.048	显著
$X_2$	0.91	1	0.91	0.86	0.397	不显著
$X_3$	0.03	1	0.03	0.03	0.871	不显著
$X_1X_2$	0.20	1	0.20	0.19	0.681	不显著
$X_1X_3$	14.06	1	14.06	13.22	0.015	显著
$X_2X_3$	7.29	1	7.29	6.85	0.048	显著
$X_1^2$	14.77	1	14.77	13.89	0.014	显著
$X_2^2$	1.94	1	1.94	1.82	0.235	不显著
$X_3^2$	1.22	1	1.22	1.15	0.333	不显著
残差	5.32	5	1.06			
失拟项	4.28	3	1.43	2.74	2.74	不显著
纯误差	1.04	2	0.52			
总误差	51.56	14				

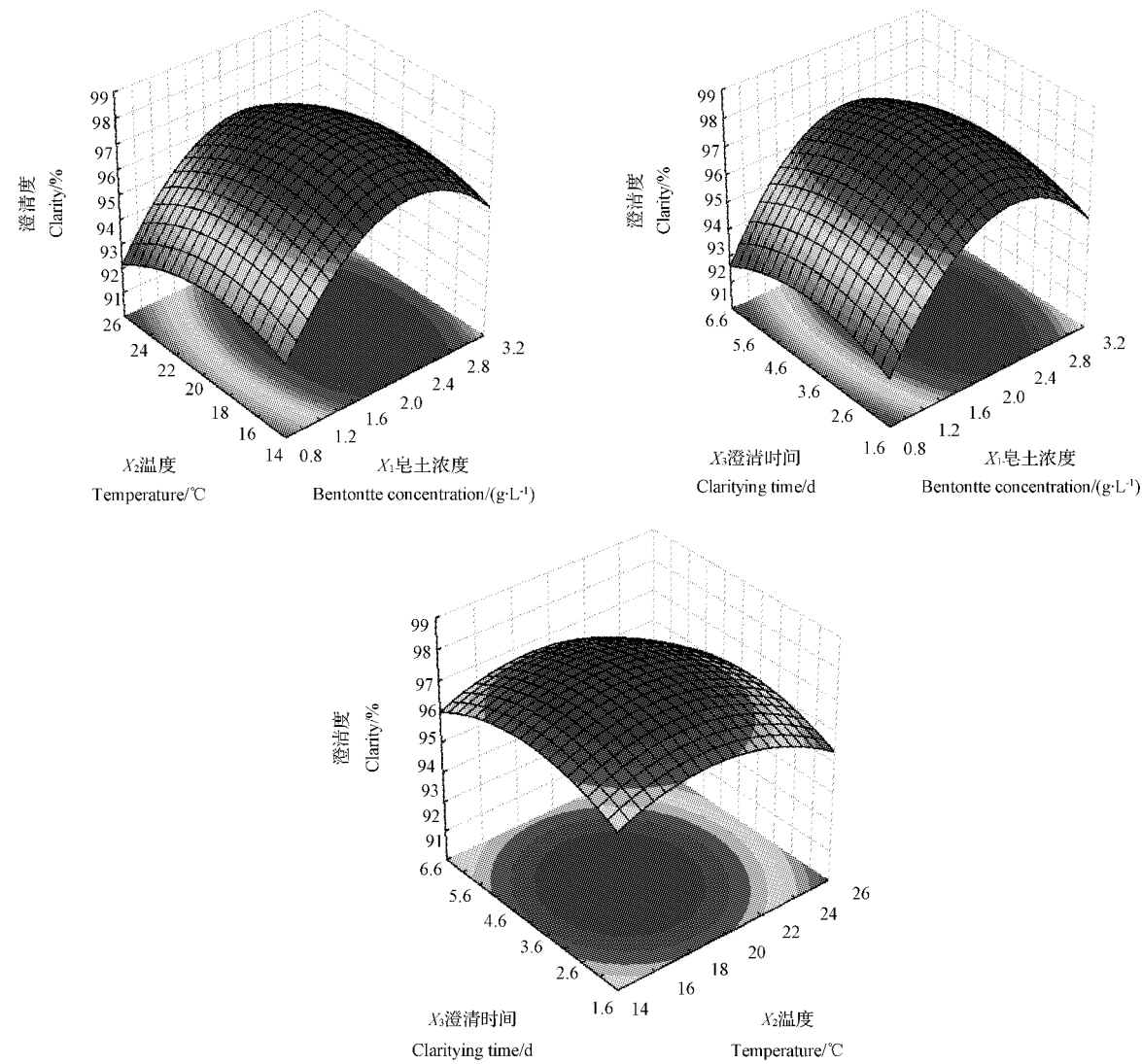


图 3 皂土浓度( $X_1$ )、温度( $X_2$ )和澄清时间( $X_3$ )交互作用对茯苓葡萄酒澄清效果的响应曲面  
Fig. 3 Response surface plots of effects of interaction among concentration of bentonite ( $X_1$ ), clarifying process temperature ( $X_2$ ) and clarifying process time ( $X_3$ ) on clarification effects of *Poria cocos* wine

为验证所建模型预测数据的准确性,依据最优变量组合进行了验证试验,结果显示澄清度为 $(97.90\pm0.57)\%$ ,实际值与理论值偏离小于5%,说明所建模型有效。故皂土处理茯苓葡萄酒的最优条件为皂土浓度 $2.80\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、温度 $16.56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、澄清时间 $2.79\text{ d}$ 。

2.4 经皂土澄清后的茯苓葡萄酒稳定性考察

酒体的陈酿和贮存是缓慢的生物化学变化,因此对经澄清处理后的酒体稳定性进行系统考察

可以更加客观的验证澄清效果。该试验分别考察了皂土澄清后的茯苓葡萄酒的冷热处理稳定性和静置稳定性,结果见表4、5。冷热处理结果显示酒体的透光率、酒精度、pH、残糖、茯苓多糖、茯苓三萜的含量等指标稳定性均良好;同时6个月的静置处理显示,澄清处理后的茯苓葡萄酒各项指标也保持较好的稳定性。该研究进一步证实,皂土是一种理想的茯苓葡萄酒澄清剂,且该研究建立的澄清处理工艺可达到理想的效果。

表 4 冷热处理后各项指标的变化

Table 4 Change of *Poria cocos* wine indicators before and after cooling and heating treatment

处理方法 Processing method	酒体外观 Wine body appearance	沉淀 Sediment	透光率 Transmittance /%	酒精度 Alcohol content/%	pH	残糖 Residual dextrose /(g·L <sup>-1</sup> )	茯苓多糖 Pachymaran /(g·L <sup>-1</sup> )	茯苓三萜 <i>Poria cocos</i> triterpene /(g·L <sup>-1</sup> )
热处理 Heat treatment	枣红色、清亮透明	无	97.6	13.16	3.70	50.16	5.95	0.40
冷处理 Cold treatment	枣红色、清亮透明	无	98.0	13.23	3.51	52.34	6.12	0.42

表 5 静置过程中各项指标的变化

Table 5 Change of *Poria cocos* wine indicators during holding treatment

时间 Time	酒体外观 Wine body appearance	沉淀 Sedimentg	透光率 Transmittance /%	酒精度 Alcohol content/%	pH	残糖 Residual dextrose /(g·L <sup>-1</sup> )	茯苓多糖 Pachymaran /(g·L <sup>-1</sup> )	茯苓三萜 <i>Poria cocos</i> triterpene /(g·L <sup>-1</sup> )
1个月 1 month	枣红色、清亮透明	无	98.1	13.26	3.53	52.96	6.20	0.41
2个月 2 months	枣红色、清亮透明	无	98.2	13.28	3.52	52.76	6.22	0.41
3个月 3 months	枣红色、清亮透明	无	97.6	13.28	3.53	51.90	6.18	0.41
4个月 4 months	枣红色、清亮透明	无	97.2	13.21	3.56	52.69	6.22	0.42
5个月 5 months	枣红色、清亮透明	无	97.6	13.16	3.56	52.16	6.20	0.41
6个月 6 months	枣红色、清亮透明	无	97.3	13.23	3.56	52.41	6.17	0.41

3 讨论与结论

果酒的澄清工艺一直是果酒酿造行业普遍关注的重点课题之一<sup>[2,11,14]</sup>。该研究以课题组前期研发的茯苓葡萄酒为试材,对果胶酶、皂土、壳聚糖和PVPP 4种澄清剂的处理效果进行了对比,筛选出最优澄清剂为皂土,采用Box-Behnken设计对其处理茯苓葡萄酒的澄清工艺进行了优化,最佳澄清处理工艺为皂土浓度 $2.80\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、温度 $16.56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、澄清时间 $2.79\text{ d}$ ,经该工艺处理后的茯苓葡萄酒透光率可达 $(97.90\pm0.57)\%$ ,并经冷热处理和静置处理试验验证,显示澄清后的酒体稳定性良好。

与其它澄清剂相比,皂土因具有良好的吸附特性而在果酒澄清工艺中发挥出独特优势,并被应用于不同类型的葡萄酒澄清、红枣蜂蜜酒澄清等工艺中<sup>[14-15]</sup>。但果酒澄清效果还需依赖于与果酒性质相适应的工艺条件,因此该研究在筛选出皂土澄清剂后,继续结合Box-Behnken响应面设计对澄清工艺进行了优化,促使澄清效果进一步提高,最终澄清度优于已报道的柔桃红葡萄酒<sup>[14]</sup>、浓甜红葡萄酒<sup>[14]</sup>、红枣蜂蜜酒<sup>[15]</sup>,体现了响应面优化的重要性。该研究为发酵型果酒澄清工艺的探索提供了思路,也可为果酒酿造企业的澄清工艺研发提供必要的试验基础和技术支持。

## 参考文献

- [1] 邵志芳. 葡萄酒品质分析方法研究进展[J]. 中国酿造, 2015, 34(4): 17-20.
- [2] 孙洪浩, 张家庆, 徐国俊, 等. 不同澄清剂对猕猴桃干酒澄清效果的影响[J]. 酿酒, 2014, 41(6): 57-61.
- [3] 吴明霞, 刘瑞芳, 方晓淋. 不同澄清剂对苹果酒的影响[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(21): 15-20.
- [4] RIOS J L. Chemical constituents and pharmacological properties of *Poria cocos*[J]. Planta Medica, 2011, 77(7): 681-691.
- [5] WANG L, LI T, ZHAO Y, et al. Contents of some metabolites in the peel and flesh of the medicinal mushroom *Wolfiporia cocos* (F. A. Wolf) Ryvarden et Hilb. (higher basidiomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2012, 14(1): 79-83.
- [6] XU Z Y, TANG W R, XIONG B, et al. Effect of revulsive cultivation on the yield and quality of newly formed sclerotia in medical *Wolfiporia cocos*[J]. Journal of Natural Medicines, 2014, 68: 576-585.
- [7] 崔培梧, 曹婧, 米洁, 等. 发酵型茯苓葡萄酒的研制及品质评价[J]. 中国酿造, 2015, 34(7): 48-52.
- [8] 朱宝铺. 葡萄酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995.
- [9] WEI Z H, DUAN Y Y, QIAN Y Q, et al. Screening of *Ganoderma* strains with high polysaccharides and ganoderic acid contents and optimization of the fermentation medium by statistical methods[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2014, 37(7): 1789-1797.
- [10] FAZENDA M L, HARVEY L M, MCNEIL B. Effects of dissolved oxygen on fungal morphology and process rheology during fed-batch processing of *Ganoderma lucidum*[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 20(4): 844-851.
- [11] 邵晓庆, 负建民, 艾对元, 等. 不同澄清剂对野草莓果酒澄清效果的比较[J]. 甘肃农业大学学报, 2015, 50(4): 121-127, 134.
- [12] YANG F, LONG L, SUN X, et al. Optimization of medium using response surface methodology for lipid production by *Scenedesmus* sp. [J]. Marine Drugs, 2014(12): 1245-1257.
- [13] 崔培梧, 黎继烈, 肖作为. 环氧基树脂固定化青霉菌柚苷酶的工艺条件[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(5): 87-92.
- [14] 张会宁, 祁新春, 卫磊鹏, 等. 两种澄清剂对4种鲜葡萄酒的下胶效果分析[J]. 中国酿造, 2016, 35(1): 133-136.
- [15] 邹璐. 发酵型红枣蜂蜜酒的澄清及稳定性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 366-369.

Clarification Process of *Poria cocos* Grape Wine

CUI Peiwu, CHEN Lin, LIAO Yan, LU Yaobang

(College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208)

**Abstract:** *Poria cocos* grape wine was used as test material, single factor experiment design was employed to screen the best clarifying agent among pectase, bentonite, chitosan and polyvinyl polypyrrolidone for *Poria cocos* grape wine clarifying. Then, Box-Behnken response surface design was used to optimize the clarifying process conditions with screened clarifying agent. The results showed that bentonite was the best clarifying agent, and the optimized clarifying process conditions were bentonite concentration  $2.80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , process temperature  $16.56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , and process time 2.79 days. Under conditions, the transmittance of *Poria cocos* grape wine could reach to  $(97.90 \pm 0.57)\%$ , and also no significant indicator change was found after cooling and heating treatment, holding treatment experiments, respectively. These data concluded from Box-Behnken design experiments could provide the necessary technical support for the clarifying process of fermented wine in industry level.

**Keywords:** *Poria cocos* wine; clarification process; Box-Behnken design; response surface analysis