

SO₂及其他环境因子对苹果酸-乳酸细菌的影响*

莫海珍¹, 张 浩¹, 李 华²

(1.河南职业技术学院食品学院, 河南 新乡 453003 2.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 选择酒明串珠菌31DH和SD-1作为研究菌株,在ATB培养基中研究了SO₂对苹果酸-乳酸细菌菌株的影响以及SO₂与酒精和低pH之间的协同作用。结果表明,SO₂的抑菌效果受pH值影响,pH值越低抑制作用越强烈,结合态SO₂与酒精存在协同作用,但当浓度>40 mg/L时,结合态SO₂浓度的增加对酒精抑制作用的增强并不明显。

关键词: 葡萄酒; 苹果酸-乳酸发酵; SO₂; 抑制作用

中图分类号: TS262.6; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2003)05-0071-02

Effects of SO₂ and Other Environmental Factors on Malolactic Bacteria

MO Hai-zhen¹, ZHANG Hao¹ and LI Hua²

(1. Food College of He'nan Occupational Technique Normal School, Xinxing, He'nan 453003;

2. Grape Wine College of Northwest Agriculture & Forestation Science & Technology University, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: *Oenococcus* 31DH and SD-1 were selected as research microbial strains. The effects of SO₂ on malolactic bacteria in ATB culture medium and the conspiracy of SO₂ and alcohol or low pH value were studied. The research results indicated that the bacteriostasis effects of SO₂ were influenced by pH value and lower pH value had stronger inhibitory effects, the combinative SO₂ had conspiracy with alcohol, as SO₂ concentration above 40mg/L, the increase of SO₂ concentration had unobvious inhibitory effects on alcohol. (Tran. by YUE Yang)

Key words: wine; malolactic fermentation; SO₂; inhibition

苹果酸-乳酸发酵(MLF)是葡萄酒尤其是干红葡萄酒降酸的方法之一,苹果酸-乳酸细菌可将苹果酸分解成乳酸和CO₂,使粗糙酸涩的新酒变得柔和圆润,还可起到风味修饰和增加葡萄酒的生物稳定性的作用^[1-4]。

SO₂作为葡萄酒酿造工艺中常用的添加剂,对苹果酸-乳酸细菌的生长特性有较大的影响^[2,5,6],研究SO₂添加量的变化对于苹果酸-乳酸细菌生长的影响及其与其他限制因子之间的协同作用,对于控制苹果酸-乳酸发酵的正常进行,防止不良风味的产生具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验菌株 选用酒明串珠菌*Oenococcus* 31DH和从我国山东干红葡萄酒中分离出的酒明串珠菌SD-1作为试验菌株。

1.2 培养基 选用改良的ATB培养基在12000 r/min离心10 min后取上清液调节总SO₂、pH值和酒精浓度,以5%接种量分别接入处于对数生长期的菌株,25℃培养,10 d后在600 nm下测吸光度。

ATB培养基配方^[7]:蛋白胨1%,葡萄糖1%,酵母浸膏0.5%,MgSO₄·7H₂O 0.2 g/L, MnSO₄·4H₂O 0.05 g/L,番茄汁25%,盐酸半胱氨酸0.5 g/L,115℃灭菌30 min。

2 结果与分析

2.1 SO₂对菌株的影响(见表1)

由表1可以看出,随着SO₂浓度的增加,菌株的吸光度迅速降低,说明菌株的生长受到较大的抑制。另外从表1还可以看出,

表1 SO₂对菌株的影响

菌株	SO ₂ (mg/L)					
	0	10	20	30	40	50
SD-1	0.778	0.717	0.625	0.544	0.379	0.217
31DH	0.842	0.767	0.614	0.543	0.363	0.103

注:处理中 pH 值为 3.4。

31DH和SD-1对于SO₂的抗性存在明显差异。

2.2 SO₂与酸度之间的协同作用

SO₂对苹果酸-乳酸细菌的作用受到溶液中pH值的较大影响,游离SO₂的浓度随pH值的降低而升高,见图1。

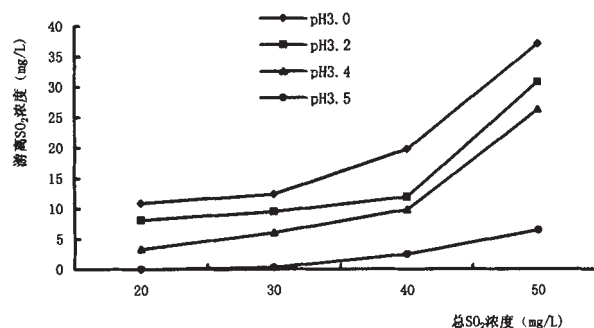


图1 不同pH值培养基中游离SO₂浓度

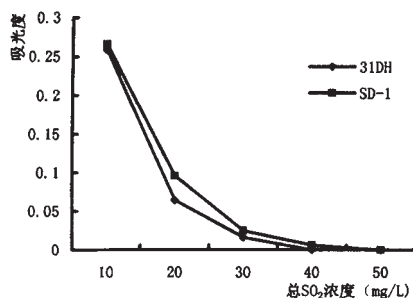
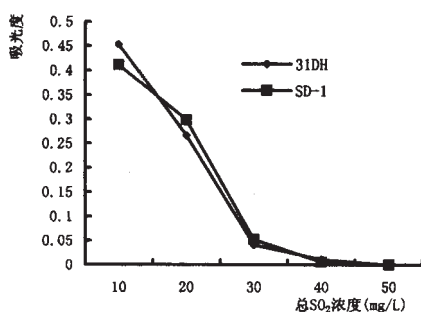
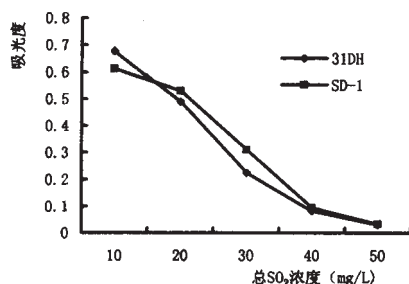
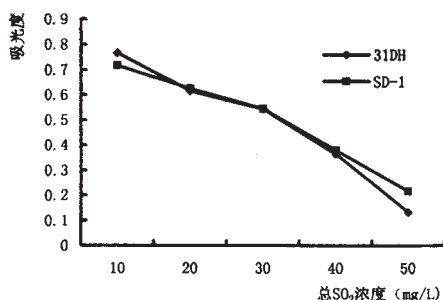
SO₂在葡萄酒溶液中主要以两种形式存在:游离态SO₂和结合态SO₂,这主要是pH值的变化影响SO₂的电离平衡。游离SO₂具有杀

收稿日期: 2003-04-21 修回日期: 2003-05-21

*本课题为河南职业技术学院重点资助科研项目。

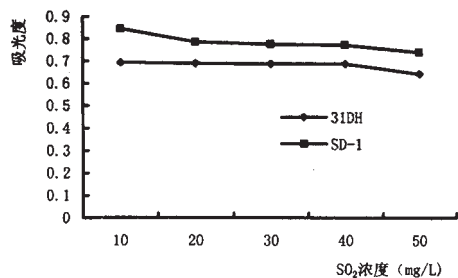
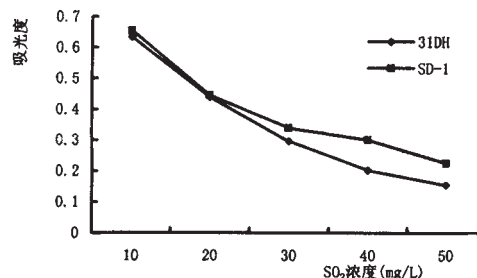
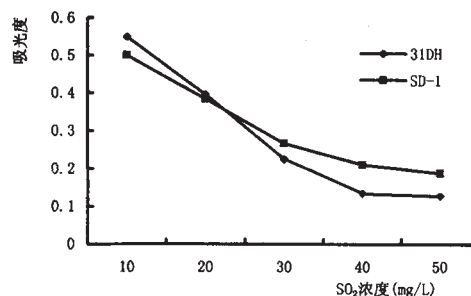
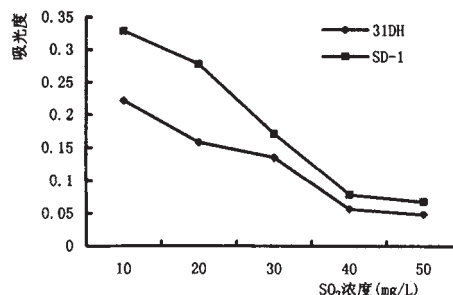
作者简介: 莫海珍(1972-),女,河南人,硕士,讲师,发表论文10余篇,独著1部,参编教材3部。

菌作用,因此被称为活性 SO_2 ,其比例决定于溶液的pH值^[2,5,6]。从图1可以看出,在 SO_2 总浓度相同的情况下,随着pH值的降低,溶液中游离 SO_2 的浓度显著增大,pH值越低,游离 SO_2 浓度增加的速率越大。

图2 pH值3.1时菌株对 SO_2 的抗性图3 pH值3.2时菌株对 SO_2 的抗性图4 pH值3.3时菌株对 SO_2 的抗性图5 pH值3.4时菌株对 SO_2 的抗性

从图2~图5可以看出,10 mg/L的 SO_2 对菌株的抑制作用并不明显,随着 SO_2 浓度的增加,菌株的生长势迅速下降。pH值越低,这种现象越明显。 SO_2 对菌株的影响还极大地受到pH的影响。在pH值为3.4时,浓度50 mg/L的 SO_2 对菌株虽然也有较强的抑制,但此时细菌的数目仍然较大,如SD-1的吸光度为0.217,此时菌体数目仍可达 10^9 cfu/ml。而当pH值为3.1时,在 SO_2 50 mg/L的溶液中苹果酸-乳酸细菌的生长基本停止。

2.3 SO_2 和酒精的协同作用 (图6~图9)

图6 酒精度9%时菌株对 SO_2 的抗性图7 酒精度10%时菌株对 SO_2 的抗性图8 酒精度11%时菌株对 SO_2 的抗性图9 酒精度13%时菌株对 SO_2 的抗性

从图6可以看出,在9%的酒精度下,菌株的生长势十分旺盛,在培养基中添加 SO_2 对菌株的生长不构成明显抑制,即使当总 SO_2 浓度达50 mg/L时菌株的生长仍没有明显降低的趋势。Peynaud^[4]研究认为酒精含量超过10% (v/v)时,可成为MLF的抑制因子,是人工接种的主要障碍。 SO_2 在这个处理中对菌株的抑制力比较弱似乎可以解释为pH值较高,因此虽然总 SO_2 浓度为50 mg/L,但游离 SO_2 的浓度却接近于零,因此也就对菌株不构成明显抑制。

但在其他酒精浓度的处理中,随着总 SO_2 浓度的升高,菌株的生长势明显减弱,而这些处理中pH值仍为4.8,游离 SO_2 的浓度也没有变化。可以看出,在酒精和 SO_2 的处理中,结合态 SO_2 对酒精的抑制作用有增强作用,随着 SO_2 浓度的增加,抑制作用增强,但当 SO_2 浓度超过40 mg/L时,这种增强趋势趋于平缓。

(下转第70页)

2.3 根据确定的关键控制点(CCP),建立关键控制点的安全指标及监控程序,确定补救措施,建立完整的档案记录,即制定出红葡萄酒生产中HACCP计划表,见表2。

3 讨论

3.1 实施HACCP计划的前提条件

HACCP是一个较大的控制体系,必须建立在一个坚实的基础上,红葡萄酒生产企业必须具备以下条件。

3.1.1 执行GB14881《食品企业通用卫生规范》中的法规。现场人员按操作规程操作,控制危害因素,保证红葡萄酒质量。

3.1.2 制订本企业的卫生操作程序(SOP)。

3.1.3 对企业员工进行必要的培训,使他们掌握HACCP内容,自觉地执行HACCP的7项基本原则和卫生标准操作程序,确保产品卫生、安全、符合标准。

3.1.4 产品进行标识,配有质量追踪和回收系统。

3.1.5 确保HACCP的全员承诺。

3.2 关键控制点及控制参数的确定

(上接第 67 页)

在发酵时酵母增殖倍数越大,合成细胞副产物高级醇一般较高。同时,麦汁中氨基酸含量愈高,酵母增殖密度愈大,形成的高级醇也愈多,但可同化氮含量过低,使酵母必须通过糖代谢的酮酸路线去合成必需的氨基酸,用以合成细胞蛋白质,这样也会产生较多的高级醇。因此,啤酒中的高级醇是酵母合成细胞蛋白质时的副产物。

2.7 后酵结束理化指标(见表2)

从表2可以看出,控制麦汁的 α -AN含量为167 mg/L时,产生的酒精和控制的发酵度都比较适中。

3 结论

由实验得出,将麦汁中 α -AN含量控制在167 mg/L时是比较适当的,利用这样的麦汁发酵会产生较适含量的高级醇和双乙酰,同时得到比较适当pH值的啤酒等。并且这样适中的 α -AN含量的麦汁在糖化配料时,可以辅之一定的辅料,节约了生产成本。因此,在扩大生产时,控制麦汁中 α -AN含量在160~180 mg/L,都会酿造出口味比较协调的优质啤酒。

参考文献:

(上接第 72 页)

Beech^[8]研究认为苹果酒中结合态的SO₂能够强烈地抑制酒明串珠菌的活力。

3 讨论

3.1 SO₂的抑菌效果是与溶液的pH值紧密相关的,溶液中酸度的变化影响游离SO₂的浓度,同时SO₂与低pH之间存在协同作用。

3.2 9%的酒精度对菌株的抑制作用并不明显,10%的酒精浓度能较强烈地抑制菌株活力,结合态SO₂对酒精的抑制有增强作用,随着SO₂浓度的增加,抑制作用增强,但当SO₂浓度超过40 mg/L时,结合态SO₂浓度的增加对酒精抑制作用的增强并不明显。

参考文献:

- [1] 张春晖,夏双梅,莫海珍.微生物降酸技术在葡萄酒酿造中的应用[J].酿酒科技,2000,(2):66-69.
- [2] Peynaud E. 朱宝镛,赵光鳌,张继民,等译.葡萄酒科学与工艺[M].

依据有经验的专家对葡萄酒生产工艺进行的研究分析,确认关键控制点及控制标准,并在CCP的控制过程中,检查标准是否足以控制不安全因素。

3.3 生产过程中,要认真填写原辅料收购记录、破碎压榨记录、发酵记录、调配记录、原酒贮存记录、杀菌记录及灌装记录等,并且作好规范化管理,一旦出现质量问题,及时查找原因,使危害因素得到有效控制,确保产品质量。

3.4 建立确认HACCP正常运作程序 由政府部门(如商检、防疫、技术监督部门)企业专家对HACCP计划实施检测方法程序,危害分析论述、防止措施、监测手段、关键控制检查等项目进行反复论证、验证,综合确定红葡萄酒生产企业HACCP系统,确保其正常运行,保证红葡萄酒的质量。

参考文献:

- [1] 吕晓莲,等.我国食品企业应尽快建立HACCP体系[J].食品科学,2002,(7):141.
- [2] 沈志远.酿造食醋HACCP体系的建立[J].食品科学,2002,(8):320.
- [3] 顾国贤.酿造酒工艺学[M].北京:中国轻工出版社,1996.

表2 不同 α -AN含量的麦汁后酵结束理化指标比较

α -氨基氮 含量 (mg/L)	理化指标					
	双乙酰 (mg/L)	高级醇 (mg/L)	酒精度 %(w/w)	原麦汁 浓度 %(w/w)	真正 浓度 (%)	真正发 酵度 (%)
118	0.435	68.6	5.45	14.20	3.75	73.6
145	0.540	67.0	5.32	15.90	5.78	63.7
167	0.339	57.2	5.27	13.90	3.85	72.3
183	0.492	72.2	5.32	13.90	3.75	73.0
206	0.446	61.9	5.38	15.30	5.11	66.6
231	0.445	67.2	4.70	13.50	4.43	67.2

- [1] 顾国贤.酿造酒工艺学(第二版)[M].北京:轻工业出版社,1996.
- [2] 管敦仪.啤酒工业手册[M].北京:轻工业出版社,1985.
- [3] GB/T4928—2001.啤酒分析方法[S].
- [4] 周德庆.微生物学实验手册[M].上海:科学技术出版社,1986.
- [5] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:轻工业出版社,1987.
- [6] 曹程节.影响啤酒中高级醇形成的因素[J].酿酒科技,2000,(6):70-71.

北京:轻工业出版社,1992.

- [3] Bordons A, Carme Masque M and Vidal M. The management of malolactic fermentation and quality of wine[J]. 1998,51-56.
- [4] Kunkee R E. Some roles of malic acid in the malolactic fermentation in wine making[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1991, 88(1): 55-72.
- [5] Villant H P, Formieyn and Gerbaux V. Malolactic fermentation of wine: study of the influence of some physico-chemical factors by experimental design assays[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1995, (79): 645-650.
- [6] Wibowo D, Eschenbruch R, Davis C R. Occurrence and growth of Lactic acid bacteria in wine[J]. Am.J.Enol.Vitic. 1985, 36(4): 302-313.
- [7] 凌代文.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999.
- [8] Beech F W. Yeast in Cider Making[A]. The Yeasts.Vol.5[M]. Academic Press.1993.