

南酸枣酿酒酵母菌分离及南酸枣酒酿制研究

刘素纯,周传云,李宗军,林亲录

(湖南农业大学食品科技学院,湖南 长沙 410128)

摘要: 从南酸枣野果酒醪中分离出酿制南酸枣酒的最优酵母菌株,经初步鉴定为啤酒酵母菌;并以南酸枣果为原料接种分离筛选出的酵母菌进行果酒发酵,获得含糖8%,酒精度10%(v/v)的口味较佳的南酸枣果酒。

关键词: 南酸枣; 酿酒酵母; 分离鉴定; 南酸枣果酒

中图分类号: TS261.1; TS262.7; TS261.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2006)01-0017-04

Separation of *S.cerevisiae* & Study on the Production of Nansuanzhao Fruit Wine

LIU Su-chun, ZHOU Chuan-yun, LI Zong-jun and LIN Qin-lu

(College of Foodstuff Science and Technology of Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: The best yeast strains for the production of Nansuanzhao (*Choerospondias axillaries* (Forsk.) Burl. et Hill) fruit wine were separated from the fermented wine mash and identified as beer *S.cerevisiae*. Then delicious Nansuanzhao fruit wine (8% sugar content and 10% (v/v) alcohol degree) could be produced by the inoculation of the separated strains with Nansuanzhao fruits syrup. (Trans. by YUE Yang)

Key words: Nansuanzhao; *S.cerevisiae*; separation and identification; Nansuanzhao fruit wine

南酸枣 [*Choerospondias axillaries* (Forsk.) Burl. et Hill], 又名南酸枣树、山枣树、山枣子、五眼果、广枣等, 为漆树科南酸枣属落叶乔木。果实为浆果, 椭圆形。在我国主要分布于湖南、湖北、广西、广东、浙江、海南、福建、江西、贵州、安徽、江苏、四川等气候温湿、阳光充足、土壤条件合适的温带地区; 南酸枣在印度及中南半岛一些国家和地区也有分布^[1]。南酸枣营养丰富, 含糖量高, 含有有机酸、蛋白质、脂肪酸、磷、钙及维生素等, 每100g鲜果含维生素C和磷分别高达1200mg和2000mg, 比山楂高12.4倍, 比猕猴桃高2倍, 比苹果高几十倍^[2]。民间有长期食用或药用南酸枣果实的传统。据文献^[3]记载, 南酸枣仁含白桦脂酸、白桦脂酸醇、酸枣皂苷等, 南酸枣果味酸、涩、性凉, 有清热、解毒、消炎、止血、止痛等功效, 南酸枣果肉有健脾胃、助消化、增食欲、治疗食滞腹痛和便秘、防暑解毒和醒酒解酒等作用。南酸枣果皮、肉和果仁中都含有黄酮和南酸枣皂苷等强生物活性物质, 其中从南酸枣果实中提取的黄酮有抗心律失常作用, 对动物耐缺氧和急性心肌缺血有很好的保护作用; 南酸枣

苷对治疗动脉硬化、高血压等症有显著疗效。南酸枣果仁味甘酸、性平, 可安神养心, 主治失眠多梦、神经衰弱等症, 也有提高记忆力的作用^[4-6]。

南酸枣果酒饮料系用南酸枣鲜果为原料经酒精发酵加工而成的纯天然营养保健饮料。本饮品对铁、铜、钙、锌等微量元素缺乏症有缓解和治疗作用, 对食欲不振、厌食和食滞腹痛有良好的治疗作用, 还有醒酒解酒、止渴和减肥等作用。

1 材料与方法

1.1 材料

原料: 湖南宁乡花明楼地区采摘的南酸枣; 白砂糖、食用酒精均为市售。

分离培养基: 改良PDA培养基^[5](添加5%南酸枣汁的马铃薯培养基); 固液两种葡萄糖蛋白胨培养基^[5]; 生化培养基: 糖发酵实验培养基: 用马铃薯(不加糖)分别配制(葡萄糖5%, 蔗糖5%, 乳糖5%, 棉子糖5%, 木糖5%, 甘露糖5%); 耐酒精实验培养基: 马铃薯液

基金项目: 湖南省教育厅青年基金(04B027)。

收稿日期: 2005-09-28

作者简介: 刘素纯(1966-), 女, 理学博士生, 副教授, 主要研究方向食品发酵。

体培养基+95%乙醇(添加量分别为5%,10%,15%,20%,25%和30%);耐糖实验培养基:马铃薯培养基分别配制成含蔗糖(20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%和90%)培养基;耐酒精实验培养基:马铃薯液体培养基+95%乙醇(乙醇含量分别为5%,10%,15%,20%,25%和30%);DBB培养基;保藏菌种培养基:PDA。

1.2 方法

1.2.1 酵母菌的分离纯化

1.2.1.1 南酸枣发酵醪制取

将南酸枣果洗净,用无菌剪刀将枣刺破与核一起放入容器中,加入含5%的冷糖开水(南酸枣重量糖水重量=1:1),让其自然发酵,28~30℃,72 h后,采用水浸片法在显微镜下观察酵母数量,如发酵醪中有较多的酵母菌细胞便过滤去渣,取发酵好的带有酒味的汁液备用。

1.2.1.2 酵母菌分离

参照文献[7]采用平板划线法和混菌法两种方法从发酵醪中分离酵母菌。

1.2.1.3 纯化

取经28~32℃培养72 h后的平板表面菌落特征与酵母菌相似的单个孤立菌落移入斜面,移接10个菌落,经28℃,24~48 h培养后,用美兰染色液水浸片法^[7]制片镜检,反复上述操作,直到得出形态大小基本一致的酵母状细胞,保藏于4~6℃的冰箱中备用。

1.2.2 鉴定

1.2.2.1 温度实验

将已接有纯种酵母的36个培养皿分别置于20℃,25℃,28℃,30℃,32℃,35℃,38℃,40℃、42℃的恒温箱中培养48 h后,用美兰染色法镜检观察酵母菌的个体形态。计算其成活率。

1.2.2.2 糖发酵、耐糖、耐酒精实验

将纯化菌株分别移入糖发酵、耐糖、耐酒精培养基内,于28℃恒温箱中培养24 h,观察发酵情况及进行美兰染色法镜检^[7],并计算酵母菌死亡率,记录观察结果。

1.2.2.3 脲酶试验

参照文献[8]用无菌操作,分别吸取0.5 mL培养基于多支试管中,并且深度冷冻贮存6周。取1环培养1~2 d的酵母菌培养物,接种在上述培养基中,在37℃条件下培养48 h,记录观察结果。

1.2.2.4 DBB试验^[9](重氮基蓝)

把培养在麦芽汁-蛋白胨-葡萄糖-酵母膏琼脂上至少10 d的所分离出的酵母菌置于55℃下数小时,后浸没在冰冷的DBB试剂中,观察结果。

以上各试验重复3次。

1.2.3 南酸枣果酒的酿制

1.2.3.1 工艺流程

南酸枣果清洗→热烫→冷却→破碎→酶解→接种→发酵→过滤去渣→后发酵→陈酿→勾兑→灭菌→灌装→成品

1.2.3.2 工艺操作要点

酸枣的处理:南酸枣果品质量对产品的加工及风味影响很大,未成熟果实皮青色,酸涩味太重,糖分及其他营养成分含量低,且果实硬,加工困难,果汁的色香味均差,故用已成熟的黄色果实为佳,采摘时间约在10月份。收获或采摘的果实,洗去泥沙,用清水浸泡,剔除烂果及枝叶等杂物,用清水洗净,装入竹筐中沥水待用。

热烫软化和灭酶:果实软化便于破碎加工,分离果皮、果肉和果核。酸枣皮有韧性且和果核贴得很紧密,果核又硬,果肉呈白色极易被氧化成黄褐色。因此,沥水后,将竹筐中的酸枣浸入90℃左右的热水中2~3 min,既可以使果实软化易于和果核分离破碎,又可以杀灭果实中的多酚氧化酶活性,抑制氧化,但加热时间不宜过长,以免果实中营养成分特别是VC损失太大。然后过滤去核,得南酸枣汁,添加0.5%果胶酶和50 mg/L SO_2 ,静置4~6 h。

发酵:将分离得的纯酵母扩大培养后与处理好的南酸枣汁混合均匀,其接种量为南酸枣发酵剂=10:0.5(v/v)。在发酵缸上加稻草盖上,并在25~28℃条件下发酵4~5 d,加入适量的糖水,拌匀,继续于25℃左右,并在搅拌条件下发酵5~7 d。

贮存管理:用经巴氏灭菌的纱布过滤得汁液,将过滤的酒液放在容器中经1个月的后发酵期,期间诱导苹果酸-乳酸发酵(MLF),调节酸度。在后发酵所得的果酒液中添加2%的蜂蜜(质量百分比)或者5%~6%的白砂糖,再用葡萄白兰地调节酒精度为12%(v/v)。将果酒液装入坛中,加入质量百分比为0.02%的 NaHSO_3 ,用盖密封,置于酒窖中,贮存半年。将酒液升温到85℃保温5 min,立即灌入洗净的瓶中即得成品。

1.2.4 产品质量指标

1.2.4.1 感官评定指标

感官评定标准见表1。

1.2.4.2 理化分析^[9]

可溶性固形物:采用折光法;总酸(柠檬酸):酸碱滴定法;糖(蔗糖):斐林法;酸度:pH计;酒精浓度:重铬酸钾法。

1.2.4.3 微生物检测^[10]

细菌总数:平板稀释菌落记数法;大肠菌群:MPN法。

表1 感官评定标准

等级	评分	口感	风味	色泽
差	1~2分	差、涩味	酸枣味,酸甜不够	无色透明
较差	3~4分	差	甜酸比不够,较酸	无色透明
中	5~6分	一般	甜酸比不协调,酸枣味,味淡	浅黄色,透明度低
好	7~8分	好	甜酸比协调,味浓,柔和	浅黄色
良好	9~10分	好	甜酸比协调,味浓厚,柔和	南酸枣金黄色

2 结果与分析

2.1 酵母菌的分离与鉴定结果

2.1.1 个体形态与菌落特征

酵母菌个体形态特征呈椭圆形,以出芽繁殖为主;在PDA平板上菌落为圆形,白色,表面中心微凸,较厚。

2.1.2 温度试验结果

在不同温度下对被筛选酵母菌进行培养,可获得不同的结果(见表2)。

表2 温度试验结果

温度(℃)	菌落直径(mm)	平均值	成活率(%)
20	2.1890	2.1685	100
	2.1630		
	2.1534		
	3.0000		
25	3.8000	3.6000	100
	4.0000		
	6.6890		
	7.2430		
28	7.3560	7.0960	100
	4.0000		
	5.0123		
	6.1250		
30	4.0010	5.0457	90
	4.0020		
	3.0250		
	2.0000		
32	2.0010	3.6760	70
	2.0200		
	1.9800		
	1.0880		
35	1.0230	1.3630	40
	1.0880		
40	///	/	0
42	///	/	0

试验得知,酵母菌的最适生长温度为28℃,此时生长最旺盛,菌落最大,因而发酵培养温度选择28℃。

2.1.3 酵母菌的糖发酵试验结果

酵母菌对不同种类糖的发酵试验结果见表3。酵母菌能够利用5种糖,但效果不同,其中南酸枣菌对葡萄糖的利用最好,有特别的酸枣香味。

2.1.4 酵母菌的耐糖试验结果

表3 糖发酵试验结果

糖类	现象
蔗糖	产气+++ ,产香++ ,产酒+++
葡萄糖	产气+++ ,产香+++ ,产酒+++
木糖	浑浊(产气),产酸枣香味+
乳糖	浑浊(产酸枣香味,沉淀+)
甘露糖	产气++++ ,沉淀++

注:“+++”为良好,“++”为一般,“+”为稍有。

酵母菌对不同浓度的蔗糖发酵结果见表4。由表4可知,渗透压对酵母菌有很大影响,酵母耐糖能力强,可在含糖70%的溶液里生长,在含糖10%~15%的溶液里,酵母菌生长是最好的。

表4 耐蔗糖试验结果

蔗糖质量分数(%)	现象	成活率(%)	蔗糖质量分数(%)	现象	成活率(%)
20	+++	100	60	+	10
	+++			+	
30	++	90	70	/	0
	++			/	
40	++	60	80	/	0
	++			/	
50	+	20	90	/	0
	+			/	

注:“+++”为生长良好,“++”为生长一般,“+”为稍生长,“/”为不生长。

2.1.5 酵母菌的耐酒精试验结果

酵母菌对不同的酒精浓度忍耐试验结果见表5。从表5可知,酵母菌的耐酒精能力强,从侧面也反映出生成酒精的能力比较强,可达到4%,因而可以利用其特点进行果酒的研制。

表5 耐酒精试验结果

质量分数(%)	现象	成活率(%)
5	+++	100
10	+++	80
15	++	50
20	+	40
25	+	0
30	—	0

注:“+++”为生长良好,“++”为生长一般,“+”为稍生长,“—”为不生长。

2.1.6 其他生化试验结果

脲酶试验呈阳性(+);DBB试验呈阳性(+).

2.2 产品质量

2.2.1 感官指标

色泽:为原果肉的浅黄色或金黄色。

香气:具有南酸枣鲜果香气和酒香。

滋味:有南酸枣鲜果特有的味道,清凉爽口,酸甜适口,酒味柔和醇厚,无异味。

通过感官评定(表6)可以得出最佳配比:以原果酒

汁添加 7%~8% (质量分数) 的糖和以苹果酒酿造所得酒精调配到 8%~13% (v/v), 这样所得的饮料果酒口味最好, 评价最高。

表 6 感官评定结果

酒精 (%)	蔗糖质量分数 (%)	感官评定	评分
4	2.5	酒味低淡, 酸味重, 甜度不够	3
6	5.0	偏向酸, 酒味适中, 甜度不够	5
8	7.0	甜酸比好, 口感很好, 酒味适合	9.5
10	8.0	甜酸比协调, 口感好, 有酒香	10
12	10.0	甜度高, 有腻感, 酒味较重	8

2.2.2 理化及微生物卫生指标

通过测定, 酸枣果酒饮料的理化和微生物指标见表 7。南酸枣果酒的理化和卫生指标均符合国家饮料酒标准, 因而酿酒工艺的流程合理。

表 7 南酸枣果酒饮料的理化、卫生指标

项目	测定值
可溶性固形物 (%)	<4.0
总酸 (%)	>0.35
糖 (%)	>12.0
添加剂 (%)	未添加
菌落总数 (cfu/mL)	<100
大肠菌群 (MPN/100 mL)	<5
致病菌 (cfu/mL)	未检出
酸度 pH	<4.0
酒精浓度 (% v/v)	10

3 结论

3.1 南酸枣的营养成分丰富, 处理工艺简单, 设备投资少, 适宜酿酒, 酿制得的酒其风味特殊、营养丰富, 可增加果酒的种类。

3.2 从南酸枣附生的野生菌中分离得的酵母报道极少, 本文通过对南酸枣发酵醪中酵母菌的分离及其生化试验, 初步鉴定为啤酒酵母菌。

3.3 南酸枣果酿酒不同于其他水果, 其酸度较高, 发酵醪的 pH<4.0, 使成品酒的酸度较大, 除加甜味剂进行调整外, 还需进行苹果酸-乳酸发酵调整到适口的酸度。

3.4 南酸枣果酒饮料的加工工艺简单, 生产设备投资较少, 产品无化学农药污染, 具有丰富的营养价值, 属天然的绿色食品, 不加添加剂, 食用安全, 是纯天然营养保健饮品。

参考文献:

- [1] 江苏植物研究所. 江苏植物志(下册)[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1982.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1979.
- [3] 中国药学会文摘编辑部. 中国药学会文摘 [M]. 国家医药管理局技术情报所, 1985.
- [4] 李增希. 广枣总黄酮对动物缺铁和急性心肌缺血的保护作用 [J]. 中草药, 1984, 15(6): 25-27.
- [5] 李增希. 广枣总黄酮抗心律失常作用 [J]. 中国药理学报, 1984, 5(4): 251-254.
- [6] 熊冬生, 浦跃, 吴晓英. 南酸枣植物在药物方面的研究概况及其应用前景 [J]. 广东药学, 2000, 10(5): 8-10.
- [7] JA. 巴尼特, R. W. 佩恩, D. 亚罗, 等. 酵母菌的特征与鉴定手册 [M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1990.
- [8] 上海商品检验局. 食品化学分析 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [9] 无锡轻工业大学, 天津轻工业学院. 食品分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [10] GB/T 4789-2003, 食品卫生微生物学检验 [S].

广西可年产燃料酒精 2100 万吨

本刊讯: 广西科学院院长黄日波教授介绍: 据科学估算, 广西利用甘蔗和木薯资源, 有望每年生产 2100 万吨生物酒精, 与现在年产 4800 万吨原油的大庆油田相比, 产能比其 1/3 还多。

据了解, 我国目前年产酒精 300 万吨, 55% 的生产原料是玉米。生产的酒精 270 万吨自己消费, 30 万吨出口。由于国际市场酒精价格历来比国内高 30% 以上, 加入世贸组织对我国酒精出口十分有利。目前我国正在或将要生产燃料酒精的地区主要有吉林、河南、安徽、黑龙江等省。黄日波认为, 和这些地区相比, 广西热带作物种植区面积达 11.40 万平方公里, 占全国的 38.42%, 发展生物质产业有天然的地域优势。

广西蔗糖产业实力雄厚, 2004 年产糖 588 万吨, 占全国总产糖量的 58.5%。同时木薯产量也相当可观, 2004 年木薯淀粉产量占全国 70% 左右。黄日波表示, 如果全区适合种植甘蔗的 2100 万亩土地全部用上, 都采用优良品种并有 70% 实施“吨糖田”计划, 广西蔗糖产量将近 1500 万吨, 仅此一项可产酒精 830 万吨。同时, 用全区 2500 万亩荒坡旱地种木薯, 并全部推广优良品种, 可年产鲜薯 1 亿吨, 产酒精 1300 万吨。两项相加, 年产酒精足有 2100 万吨。如能将蔗糖生产中大量产生的废糖蜜、甘蔗渣, 以及东盟诸国的木薯资源利用起来, 每年增加的酒精产量也当在百万吨级。

黄日波表示, 基于这些分析, 广西将生物质产业与其他优势产业, 如微型汽车用燃料, 电解铝、锰等耗电行业结合起来考虑, 是最科学的战略规划。他说: “2100 万吨燃料酒精, 直接产值可达近 1000 亿元; 如果全部转化为乙烯, 这个数字还要乘上 5, 即达到 5000 亿元! 正是基于这一认识, 我们提出大力发展生物质产业, 每三年造出一个可持续的大庆”。(珠源)