

酵母菌和果胶酶对干红葡萄酒发酵浸提的影响

王建刚,刘玉田,时磊,孙婧超

(烟台大学食品科学与工程研究所,山东 烟台 264005)

摘要: 采用 CIELAB 法研究蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中颜色的变化规律,探讨不同酵母和果胶酶对原料葡萄色素的浸提作用及引起颜色变化的影响情况。结果表明,蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中,红色色调值在发酵前期迅速上升,颜色在第3天最深,后期逐渐下降;黄色色调值逐渐上升;果胶酶对颜色的影响略高于酵母,Zymaflore F15 酵母促进果香的生成,而 Actiflore F33 酵母转化乙醇能力较高,Lafase HE 果胶酶对单宁、色素的浸提更加有利,而 Optizyme 果胶酶有利于酒液的澄清,Zymaflore F15 酵母与 Lafase HE 果胶酶组合,更适于酿造更显果香、圆润、平衡和醇厚的蛇龙珠干红葡萄酒。

关键词: 蛇龙珠干红葡萄酒; 颜色; CIELAB; 酵母; 果胶酶

中图分类号:TS261.1;TS262.6;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2010)08-0040-03

The Influence of Yeast and Pectinase on Fermentation of Dry Red Wine

WANG Jian-gang,LIU Yu-tian,SHI Lei and SUN Jing-chao

(Institute of Food Science and Engineering, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, China)

Abstract: The change of color for *Cabernet Gernischet* dry red wine in brewing process was studied by CIELAB method. In the same time, different yeast and pectinase having different influence of the color change in the brewing process also take into considered. The results showed that the color was deepest at the third day; red tone was reached a peak in the early period of fermentation, and then kept falling in the evening; yellow tone was going up in the whole process; the influence of color for pectinase slightly higher than the yeast; the yeast Zymaflore F15 can promote the generation of aroma; the yeast Actiflore F33 has the high ability of ethyl alcohol transformed; the pectinase Lafase HE is advantageous to lixiviate the tannin and pigment; the pectinase Optizyme help to clarify the wine; combination of the yeast Zymaflore F15 and the pectinase Lafase HE is more suitable for brewing the *Cabernet Gernischet* dry red wine which is fruity, round, elegant and thick.

Key words: *Cabernet Gernischet* dry red wine; color; CIELAB; yeast; pectinase

葡萄酒的外观色泽对葡萄酒质量起着非常重要的作用,红葡萄酒的颜色受多方面因素的影响,如原料质量、发酵条件、稳定工艺、酵母种类、各种添加物(单宁、有机酸、色素、酶等)以及陈酿和贮存等^[1]。因此,葡萄酒酿造过程中的颜色变化一直是酿酒者研究的焦点。CIELAB 法是利用分光光度计直接测定特征波长下的吸光度或透光率,然后建立函数运算体系,得出相应的颜色参数,从而验证葡萄酒在颜色上的差别。与其他色度表示方法相比,CIELAB 法能够更好地描述葡萄酒的颜色,在葡萄酒、白兰地颜色的测定中应用广泛^[2]。本研究采用 CIELAB 法探讨蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中颜色的变化,旨在阐明其在酿造过程中的变化规律,明确酵母、果胶酶对其影响的程度,为葡萄酒工艺的优化提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期:2010-06-17

作者简介:王建刚(1986-),男,山东烟台人,在读硕士研究生。

1.1.1 葡萄

蛇龙珠葡萄:总糖(以葡萄糖计)176.5 g/L,总酸(以酒石酸计)4.4 g/L。由烟台同心酒业有限公司提供。

1.1.2 酿酒辅料

单宁:烟台久丰科技有限公司提供;酵母、果胶酶:烟台通商国际贸易有限公司提供。

1.2 实验仪器

TU-1900 型双光束紫外可见分光光度计、分析天平、水浴锅、不锈钢发酵罐。

1.3 实验方法

号组合(酵母:Zymaflore F15,果胶酶:Lafase HE); 号组合(酵母:Actiflore F33,果胶酶:Lafase HE); 号组合(酵母:Zymaflore F15,果胶酶:Optizyme); 号组合(酵母:Actiflore F33,果胶酶:Optizyme)。

将成熟蛇龙珠葡萄除梗破碎后,分装入4个不锈钢发酵罐,分别添加 号、 号、 号和 号酵母果胶酶组

合(酵母用量 100 mg/L, 果胶酶用量 20 mg/L), 24 h 后添加单宁(用量 150 mg/L), 按照干红葡萄酒典型酿造工艺进行酿造, 入桶 12 h 后第一次取样, 发酵期间每隔 24 h 取一次样。取样后立即用 0.45 μm 膜过滤, 然后以双蒸水为参比, 在 440 nm、540 nm、610 nm 波长下分别测定样品吸光度, 重复测定 3 次取平均值。采用 CIELAB 法^[3]计算亮度 L^* 值(与葡萄酒颜色呈反比)、红色色调 a^* 值、黄色色调 b^* 值、颜色饱和度 C^* 值。其计算公式如下:

$$L^* = 116 * [(Y/Y_0)^{1/3} - 0.1379]$$

$$a^* = 500 * [(X/X_0)^{1/3} - (Y/Y_0)^{1/3}]$$

$$b^* = 200 * [(Y/Y_0)^{1/3} - (Z/Z_0)^{1/3}]$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

其中:

$$X = 14.172 * T_{440} + 28.583 * T_{540} + 52.727 * T_{610} - 0.462$$

$$Y = 9.005 * T_{440} + 62.965 * T_{540} + 28.168 * T_{610} - 0.063$$

$$Z = 94.708 * T_{440} + 15.889 * T_{540} - 5.233 * T_{610} + 1.777$$

$$X_0 = 97.29; Y_0 = 100; Z_0 = 116.14;$$

$$T_{440} = 10^{A_{440}}; T_{540} = 10^{A_{540}}; T_{610} = 10^{A_{610}}$$

A_{440} 为 440 nm 波长下样品的吸光度;

A_{540} 为 540 nm 波长下样品的吸光度;

A_{610} 为 610 nm 波长下样品的吸光度。

2 结果与分析

2.1 蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中亮度 L^* 值的变化

对发酵过程蛇龙珠干红葡萄酒亮度 L^* 值的变化进行测定, 结果见图 1。

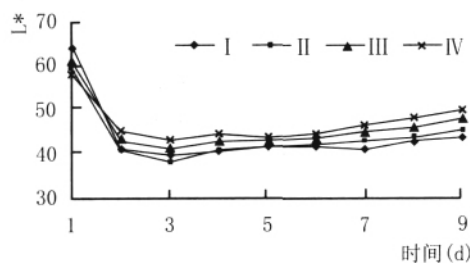


图 1 蛇龙珠葡萄酒酿造过程中亮度 L^* 值的变化

如图 1 所示, 随着发酵的进行, 发酵液的亮度迅速下降, 颜色逐渐加深, 在第 3 天颜色达到最深, 而后亮度开始回升, 也就是说, 颜色深度呈逐渐下降的趋势。可以明显看出, Lafase HE 果胶酶对颜色的影响明显高于 Optizyme 果胶酶; Zymaflore F15 酵母对颜色的影响明显高于 Actiflore F33 酵母; 号组合酿制的葡萄酒颜色最深。

2.2 干红葡萄酒酿造过程中红色色调 a^* 值的变化

对蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中的红色色调 a^* 值的变化进行测定, 结果见图 2。

由图 2 可以看出, 在发酵的开始阶段, 随着花色苷等物质的浸提, 红色色调值迅速上升, 且红色色调高峰均出现在第 4 天左右, 随后红色色调值逐渐下降, 在发酵后

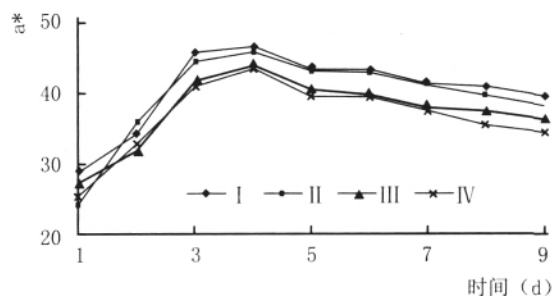


图 2 蛇龙珠葡萄酒酿造过程中红色色调 a^* 值的变化

期, 各酒样的红色色调值逐渐拉开差距, Lafase HE 果胶酶对红色色调值的影响明显高于 Optizyme 果胶酶, Zymaflore F15 酵母对红色色调值的影响明显高于 Actiflore F33 酵母, 且 号组合更有利于保护葡萄酒的红色色调。

2.3 干红葡萄酒酿造过程中黄色色调 b^* 值的变化

对蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中黄色色调 b^* 值的变化进行测定, 结果见图 3。

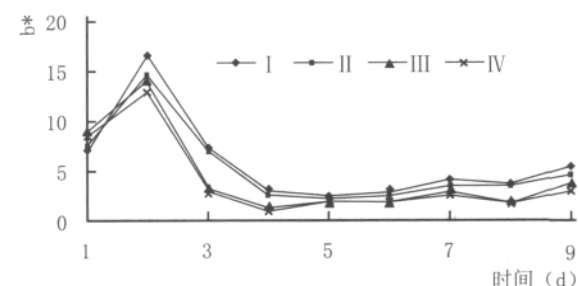


图 3 蛇龙珠葡萄酒酿造过程中黄色色调 b^* 值的变化

如图 3 所示, 发酵第 1 天添加单宁后, 使第 2 天的黄色色调值达到峰值, 随着单宁与花色苷、酚类等物质的聚合等, 黄色迅速下降, 第 5 天后, 随着越来越多的酚类物质的浸出, 黄色色调值又呈上升趋势。Lafase HE 果胶酶对单宁、色素等多酚类物质的有效浸提, 使其对黄色色调的影响略重, 号组合更能有效地增加对葡萄酚类物质的浸出和对酚类物质的保护, 所以其黄色色调值较高于其他组合。

2.4 干红葡萄酒酿造过程中颜色饱和度 C^* 值的变化

对蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中颜色饱和度 C^* 值进行测定, 其变化结果见图 4。

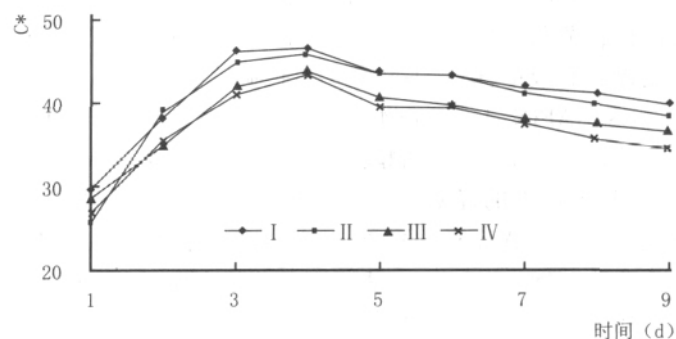


图 4 蛇龙珠葡萄酒酿造过程中颜色饱和度 C^* 值的变化

表1 不同酒样皮渣分离时的主要差异

项目	I	II	III	IV
酵母泥黏度	++++	++	+++	+
青草味	++++	++	+++	+
皮渣硬度	++++	+++	+	+
酒精度(%vol)	11.5	12.0	11.2	12.2
得率(%)	78.2	79.3	80.1	81.3

注:“+”越多代表黏度越大或气味越浓或硬度高。

由图4可知,发酵前期蛇龙珠干红葡萄酒的饱满度迅速上升,至第4天达到最大值,之后随着发酵的进行,饱满度均有所下降,但I号组合仍略高,可见I号组合对提高葡萄酒的饱满度方面更加优越。

2.5 蛇龙珠干红葡萄酒皮渣分离的主要差异

从表1可以看出,在蛇龙珠干红葡萄酒酿造过程中,Actiflore F33酵母产乙醇效率较高;Zymaflore F15酵母在青草味凸显上更有作用;分离得率Optizyme果胶酶比Lafase HE果胶酶优越。

3 讨论

3.1 花色苷及色素对酒的外观影响

葡萄酒在发酵、陈酿、贮存中,其颜色的色调、组成成分等都在发生着变化。新鲜葡萄酒的颜色主要是由单体花色苷组成^[1]。Ribereau-Gayon认为,红葡萄酒新酒的颜色主要是由花色苷的种类和浓度、pH、二氧化硫浓度和辅色素等决定,尤其辅色素化对新鲜红葡萄酒的红色有显著的加强作用^[4]。随着发酵的进行,花色苷类物质被浸提出来,葡萄酒的颜色、红色色调和颜色饱满度迅速上升,达到最大值。但是在发酵的中后期,酒精浓度的上升所导致的辅色素化的减弱;葡萄皮渣和酵母菌对花色苷的吸收;沉淀和酒石酸氢钾结晶的包裹造成的花色苷损失;花色苷和单宁类聚合形成聚合物;以及由于pH改变导致各种花色苷的平衡改变等,而使葡萄酒的颜色、红色色调值和颜色饱满度产生一定程度的下降。

3.2 酚类物质对酒的外观影响

酚类物质是产生葡萄酒黄色色调的主体,在发酵过程中,其产生和增长从时间上看落后于花色苷类物质,它们对葡萄酒的颜色和风味也起了很大的作用。随着发酵的进行,葡萄果皮和葡萄籽中大量非花色苷类酚类物质被浸提到酒液中,引起葡萄酒黄色色调值的上升。

ES-SAFIN认为,在葡萄酒发酵后期以及陈酿期间,花色苷在4位上易与丙酮酸、乙醛、对乙烯基苯酚等反应,并与5位上的羟基成环形成新的吡喃花色苷;另外,花色苷还可与黄烷醇类缩合,形成相应的缩合产物。聚合花色苷逐渐增加并成为红葡萄酒颜色的主要成分。结果使红葡萄酒的色调由紫红色转变为砖红色,苦涩味降低,口味趋向醇厚柔和^[5]。在本研究蛇龙珠干红葡萄酒发酵后期和贮藏期间,黄色色调增加主要与上述原因有关,但

关于其他多酚类物质对葡萄酒黄色色调的影响还需进一步研究。

3.3 酵母对蛇龙珠干红葡萄酒发酵浸提的影响

酵母对葡萄酒颜色和酚类物质的浸提影响各有千秋。王志东等研究表明,RC212酵母能增强葡萄酒颜色稳定性和酚类物质的浸提。另外,酵母菌的细胞壁对花色苷类物质的吸附也有一定的选择性^[6]。在蛇龙珠干红葡萄酒发酵浸提的影响中,Zymaflore F15酵母对颜色的稳定性和酚类物质的浸提强于Actiflore F33酵母,就可能与上述原因有关,具体是哪种影响大还需进一步研究。

3.4 果胶酶对蛇龙珠干红葡萄酒发酵浸提的影响

在葡萄酒酿造过程中添加果胶酶,将原果胶分解为可溶性的果胶酸和果胶酯酸,有利于增强多酚物质的浸提。添加合适的果胶酶,可很大程度地浸提出葡萄果实中游离态和部分结合态的优质单宁,提高葡萄酒的出汁率和增加葡萄酒香气等^[7-8]。在本研究中,Lafase HE果胶酶更有利于色素类物质的浸提,使葡萄酒结构平衡、酒体丰富和色泽艳丽,而Optizyme果胶酶对提高葡萄酒的出汁率非常有效。

4 结论

蛇龙珠干红葡萄酒在酿造过程中,在第3天颜色达到最深;红色色调值在发酵前期迅速上升,后期逐渐下降;黄色色调值逐渐上升;果胶酶对酿造过程中颜色的影响高于酵母;Zymaflore F15酵母有利于青草香味的突显;Actiflore F33酵母有利于乙醇的生成;Lafase HE果胶酶有利于对单宁、色素的提取;Optizyme果胶酶有利于酒液的澄清;综合考虑,Zymaflore F15酵母与Lafase HE果胶酶组合,更适于酿造初级香气浓郁、圆润、平衡和醇厚的蛇龙珠干红葡萄酒。

红葡萄酒酿造过程的颜色变化还与葡萄原料品种与成熟度、发酵容器、皮渣接触方式、分离时间等具有密切关系,在葡萄酒的酿造过程中,应根据原料状况和葡萄酒的特点,合理选择适宜的浸渍方式等工艺条件,采用CIELAB法对葡萄酒进行监控,以便生产出具有良好颜色、和谐的优质葡萄酒。

参考文献:

- [1] 陈继峰.红葡萄酒颜色的研究[J].酿酒科技,2008,(5):95-99.
- [2] SOMERS T C, EVANS M E. Spectral evaluation of young red wines:Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, and “chemical age”[J]. J Sci Food Agric, 1977,28: 279-287.
- [3] AYALAF, ECHAVARRI J F, NEGUERUELA A I. A new simplified method for measuring the color of wines. III. All wines and Brandies [J]. Am J E nol Vitic, 1999,50:359-363.
- [4] 于庆泉,段长青.蛇龙珠葡萄酒酿造过程中颜色变化规律研究(下转第45页)

表2 正交列表及实验结果

试验号	因子			结果 OD ₆₀₀
	1	2	3	
1	1	3	1	12.8
2	2	2	1	12.0
3	3	3	1	8.3
4	3	2	2	11.4
5	1	2	2	10.8
6	2	3	2	9.0
7	1	1	3	4.5
8	3	1	3	4.4
9	2	1	3	5.3
I	28.1	14.2	33.1	
II	26.3	34.2	31.2	
III	24.1	30.1	14.2	
R	1.33	6.67	6.30	

注: I—水平 1 之和, II—水平 2 之和, III—水平 3 之和, R—极差。

光度为 9.2, 该最佳理论组合吸光度小于组合 pH 7.0、小麦粉浓度 1.5 %、培养温度 35 °C (OD₆₀₀=12.8) 的实验值。

因此, 当蛋白胨 1 %, 酵母膏 0.5 %, 氯化钠 1 %, 磷酸氢二钾 0.5 %, pH 7.0, 小麦粉浓度 1.5 %, 培养温度 35 °C, 培养时间 12 h, 为该株枯草芽孢杆菌的较优液态培养条件。

2.2 运用液液萃取方法对枯草芽孢杆菌发酵液中代谢产物的分析

在优化液态培养条件下, 该菌株所得发酵液经乙醚萃取, N₂ 吹浓缩, 将浓缩液过滤进 GC-MS 分析检测, 结果见图 4。并以未接种枯草芽孢杆菌的优化液态培养基作空白对照, 结果见图 5。

检测到该菌株的代谢产物有 30 多种, 为酸、酯、醛、酮、醇及芳香族化合物等, 其主要代谢产物为: 3-甲基丁酸、2-甲基丙酸、3-羟基丁酮、苯乙醇、13-甲基-十四酸乙酯、十六酸乙酯, 这些物质均为茅台酒中重要的风味物质成分。

3 结论

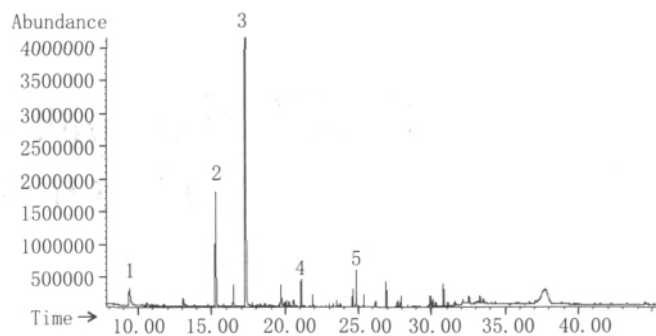
3.1 对枯草芽孢杆菌培养条件单因素分析, 能大致了解各因素对菌株生长情况的影响, 而通过正交实验进行多因素分析, 能得到该菌株比较合理的培养条件组合。由多因素分析结果可知, 单因素培养的最佳值组合, 不一定为培养的实际最佳条件 (由于各因素间相互的交叉影响),

(上接第 42 页)

[J]. 中国酿造, 2006, (11): 28-30.

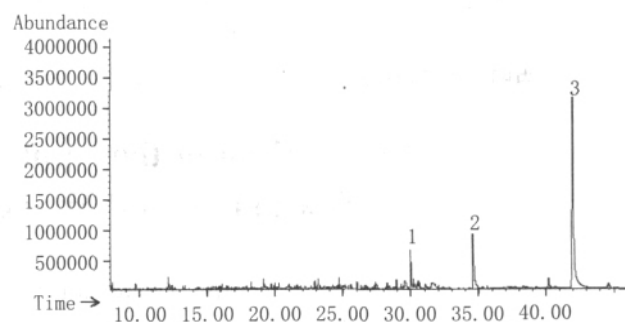
- [5] ES-SAFIN, CHEYNIER V, MOUTOUNET M. Interaction between cyanidin-3-O-glucoside and furfural derivatives and their impact on food color change [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 5586-5595.

- [6] 王志东, 张军翔, 王琨, 等. 不同酵母及果胶酶对红葡萄酒综合



1.3-羟基丁酮, 2.2-甲基丙酸, 3.3-甲基丁酸, 4.苯乙醇, 5.13-甲基-十四酸乙酯

图4 枯草芽孢杆菌液态发酵产物图谱



1.香草醛, 2.十六酸, 3.亚油酸

图5 枯草芽孢杆菌液态发酵产物空白对照图谱

研究分析中需要进行多因素的正交实验确定其最佳培养条件。实验最后确定 pH 7.0、小麦粉浓度 1.5 %、培养温度 35 °C、培养时间 12 h 为该菌株较理想的培养条件。

3.2 分析枯草芽孢杆菌的液态发酵产物, 主要为酸、酯类, 其中主要代谢产物 3-甲基丁酸 (异戊酸)、2-甲基丙酸、3-羟基丁酮等为茅台酒中的重要物质成分, 可了解该菌株在茅台酒生产过程中起到某些功能性作用。

参考文献:

- [1] 范光先, 王和玉, 崔同弼. 茅台酒生产过程中的微生物研究进展[J]. 酿酒科技, 2006, (10): 75-77.
- [2] 邵元龙, 谢和. 两株枯草芽孢杆菌蛋白酶的提取及产酱香研究[J]. 郑州轻工业学院学报, 2005, (3): 51-53.
- [3] 霍虹, 姚丽华. 大豆粕残油的影响因素及正交实验[J]. 中国油脂, 2005, (5): 29-31.
- [4] 秦颖. 正交实验设计法在造纸实验中的应用[J]. 龙江造纸, 2006, (1): 42-43.

理化指标的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒. 2007, (2): 18-20.

- [7] ROGER B B 等著, 赵光鳌, 等译. 葡萄酒酿造学——原理及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [8] GUERRAND D, GERVAIS J P, 郭永亮, 等. 优质红葡萄酒酿造中浸提多酚物质最有效的工具[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2003, (2): 41-44.