

苹果酒发酵中酵母菌株的筛选

周静芳, 肖冬光, 许引虎, 刘代武

(天津科技大学, 天津 300222)

摘要: 酵母菌的性能是决定果酒品质的关键因素之一, 本实验以苹果酒为研究对象, 采用安琪酵母公司研发中心菌种保藏室收藏的 10 株果酒酵母(3#~11#, 522#)为备选菌株, 在干型苹果酒生产发酵工艺的指导下, 通过系统的对比实验和结果评价, 确定出 9# 酵母菌最适合苹果酒的酿造。

关键词: 苹果酒; 果酒酵母; 酵母; 发酵果酒

中图分类号: TS262.7; TS261.4; TS261.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2006)08-0031-04

Screening of Yeast Strains in the Fermentation of Apple Fruit Wine

ZHOU Jing-fang, XIAO Dong-guang and XU Yin-hu et al.

(Tianjing Science & Technology University, Tianjing 300222, China)

Abstract: The properties of yeast are the key determining factor to fruit wine quality. Apple fruit wine was used as research object in the experiments. Ten fruit wine yeast strains (3#~11#, 522#) developed by Angel Yeast Co. were also used in the test. Through the contrast experiments and the results evaluation, it proved that 9# yeast strain was the most suitable strain for apple fruit wine production. (Tran. by YUE Yang)

Key words: apple fruit wine; fruit wine yeast; yeast; fermenting fruit wine

酵母菌是一种单细胞微生物, 属真菌类。从酵母菌分类系统来讲属于真酵母属(*Saccharomyces*), 通常以出芽方式进行繁殖, 繁殖速度较霉菌快; 有坚韧的细胞壁, 不同于原生动物; 菌体较大, 多为圆形、卵形、椭圆形或腊肠形等; 内有细胞核和颗粒物质, 形态复杂^[1]。酵母菌广泛地存在于自然界中, 是发酵工业的重要微生物, 能分解碳水化合物产生酒精和二氧化碳等成分, 是酵母属中的酿酒酵母种, 凡是有糖的地方就可能存在着酵母菌。

早在公元前 3000 多年前, 人类就开始利用酵母来制作发酵产品。因酵母菌在发酵过程中起着重要的生理生化作用, 其发酵力的好坏, 副产物的多少, 直接影响生产的高低, 间接影响产品的风味, 因此具有重大的研究价值^[2]。

1 材料与方法

1.1 实验材料

苹果原料: 市场购买。

果酒活性干酵母菌株: 安琪酵母股份有限公司保藏的果酒酵母 3#~11#, 522#。

试剂与辅料: 啡啉试剂 A, B 液, 葡萄糖标准液, 甲基蓝指示剂, NaOH 溶液、硫酸溶液, 淀粉指示剂、NaOH 标准液, 酚酞指示剂、柠檬酸, Vc, 偏重亚硫酸钾, 果胶酶, 精制蔗糖, PVPP, 硅藻土等。

1.2 实验仪器

灭菌锅, 大三角瓶(1.5 L 以上) 10 个, 齿式破碎机, 过滤装置, 酒精计, 蒸馏装置、滴定装置, LI567 型全自动分析天平, 酒精计, 手持糖量计, 恒温培养箱, 电炉量瓶, 温度计, 塑料桶若干, 贮酒瓶若干等。

注意: 各种辅助设备在使用之前应准备好, 必须洗刷干净, 室内及容器使用前均需消毒。

1.3 实验方法

1.3.1 果酒活性干酵母的活化和扩大培养

自然状态的酵母含水量多在 70% 以上, 而活性干酵母要长期保存, 含水量一般在 5% 以下。因此, 在活性干酵母使用前必须让其吸收大量水分, 恢复至自然状态的细胞含水量, 使其恢复原有生理活性, 以增强其发酵活力^[3]。

1.3.2 工艺流程

收稿日期 2006-06-19

原料 分选、去核 添加 Vc 和 SO₂ 护色 打浆压榨、分离皮渣 优质果汁(加 SO₂ 50 mg/L、膨润土 1 g/L) 澄清(24 h) 测糖和含酸量 澄清葡萄汁 加活性干酵母 200 mg/L 酒精发酵(16~20 ℃)(酒精发酵触发后) 加糖、倒罐 酒精发酵监控(测温度、比重、含糖量) 11%Vol 苹果酒(还原糖 < 4 g/L)(保持 50 mg/L SO₂) 分离倒罐(加游离 SO₂ 30 mg/L) 成分分析 澄清密封贮存(陈酿、游离 SO₂ 30 mg/L) 分析评价 装瓶 成品

1.3.3 工艺操作要点

1.3.3.1 原料的机械处理: 将清洗后的苹果原料去核打浆。为防止苹果汁严重褐变, 可在去核的过程中选用 SO₂ 50~70 mg/L +10 mg/L Vc +1 g/L 柠檬酸进行护色, 同时 SO₂ 还具有杀菌、澄清等综合作用, 打浆压榨后立即加入 50 mg/L SO₂, 并搅拌均匀。SO₂ 应为 > 5% 的亚硫酸溶液或偏重亚硫酸钾(以 50% 的 SO₂)。如果原料未经冷处理, 则 SO₂ 的用量应加大到 70 mg/L。

1.3.3.2 苹果汁的澄清: 盛装苹果汁的容器, 应在使用前用 SO₂ 处理。将苹果汁的温度降到 1~2 ℃, 加入 500 mg/L PVPP, 摇匀后, 静止澄清 12~24 h。苹果本身野生状态的酵母少, 再加上漂洗以及自然温度低。所以, 澄清时间可适当延长, 一般为 1~2 d, 不产生发酵现象之前分离最合适。防止在澄清过程中使用果胶酶。这一方面是果胶酶在低温下作用不明显, 另一方面是影响对不同苹果原料的沉渣量的观测。

1.3.3.3 澄清汁的分离: 将澄清苹果汁与沉渣用虹吸或其他方式分开。并在分离过程中加入膨润土 1.5 g/L, 摇匀, 同时以 200 mg/L 的标准对活性干酵母进行活化, 然后添加到发酵醪液中。

1.3.3.4 发酵容器: 用于小试的发酵容器最好是大于 1.5 L 的玻璃瓶, 因为, 所酿造的葡萄酒还要用于取样分析、感官质量分析、品评鉴定以及陈酿实验。在发酵容器中, 苹果汁的量约为容量的 3/4, 并用水封发酵栓封闭, 这样可及时有效地控制发酵醪中氧气的含量。

1.3.3.5 加糖: 加糖量(kg) = [要求发酵酒度 17.5 g/L - 果汁含糖量(g/L)] × 果汁入罐量(kL) × 出汁率(70%); 加糖时间: 发酵旺盛时, 即苹果汁的糖度比入罐时原始糖度降低了 20% 左右。加糖后应混合均匀。

1.3.3.6 酒精发酵: 酒精发酵的温度控制在 15~19 ℃, 此温度下可酿造优质的高档苹果酒。在这种温度下, 发酵时间持续约 14 d。在发酵过程中, 如果发酵速度异常缓慢, 则应摇动发酵瓶, 并升高温度。这个时期要仔细地记录原始数据的记录并及时绘制发酵曲线。

1.3.3.7 酒精发酵后的管理: 当发酵醪中的糖度降到 5 g/L 以下, 即表示酒精发酵结束。将苹果酒与酒泥分离后, 加入适量的 SO₂, 使其总的含量保持在 50 mg/L 的水平。

1.3.3.8 分离转罐: 酒精发酵结束后, 如果苹果酒的酸度太高, 可在分离时用碳酸钙进行降酸。14 d 后, 进行第一次分离换瓶, 并在此后对苹果酒进行分析检测和蛋白质的稳定试验, 同时进行第一次品评分析和质量鉴定。根据试验结果, 如果需要, 可进行一次膨润土处理; 第二次分离的时间, 可根据观测结果决定。在第二次分离后, 苹果酒应在玻璃瓶中陈酿 3 个月, 以使之稳定成熟。

注意: 在酒精发酵结束后的整个陈酿过程中, 应保证苹果酒的游离 SO₂ 在 30~40 mg/L 之间。在装瓶时, 将澄清苹果酒通过膜过滤后再装瓶。酒瓶应事前清洗、杀菌、烘干。苹果酒装瓶时的游离 SO₂ 浓度应保持在 35 mg/L^[4-9]。

1.4 实验分析方法

糖度的测定: 糖度计直接测定法;

酒精度的测定: 酒精计法;

残糖的测定: 非林试剂热滴定法;

总酸的测定: 直接滴定法;

二氧化硫的测定: 直接碘量法;

酵母性能的测定: 显微镜, 血球计数板等综合测定法;

原酒评价: 感官品评鉴定法。

注: 以上皆采用葡萄酒、果酒通用实验方法^[10]测定。

2 结果与分析

2.1 酵母产品质量的测定(表 1)

为满足酿酒工业的需要, 尤其是在特殊产品领域和特殊的环境条件下, 优良的活性干酵母产品应具备表 1 中的优良特性。

本次实验所用的 10 株酵母菌株的感官指标、理化指标和卫生指标见表 2~表 4。

由表 2~表 4 可知, 这 10 株酵母菌株的感官指标和卫生指标完全符合微生物分析国际标准。其理化指标上产生的微小差异和不足的原因可能是: 不是同批次的产品, 生产工艺、时间、环境有差异; 保存包装不严格, 放置时间过久; 实验室生产条件不同于实际生产情况。

活性干酵母复水活化的最佳温度为 30~35 ℃, 活化时间为 20~30 min, 活化时的糖度为 5% 左右, 活化液的用量是活化酵母用量的 20~30 倍。在此条件下, 上

表 1 优良的果酒活性干酵母产品应具备的特性^[2]

特性	含水量 (%)	蛋白质 (%)	细胞数 (×10 ⁹ 个/g)	活细胞率 (%)	年失活率 (%)		保质期 (月)
					20℃	4℃	
指标	<5	40~45	25~45	>80	20	5~10	24

注: 生长速率快; 耐高糖; 耐 SO₂; 耐酒精、耐高/低温; 发酵平稳, 产率高; 残糖 < 4%。

表2 果酒酵母10株菌株的感官指标

项目	指标
色泽	乳白色至淡棕黄色
气味	具有酵母的特殊气味, 无腐败, 无异臭味
杂质	无异物
粒度	颗粒

表3 果酒酵母10株菌株小罐试制干酵母的理化指标 (%)

酵母	水分	蛋白质	P ₂ O ₅	海藻糖	活细胞率	细胞总数(亿个/g)
3#	6.46	37.04	2.47	14.12	85	435
4#	4.53	43.54	2.99	14.52	72	458
5#	7.92	45.66	2.73	15.46	88	445
6#	7.2	40.78	2.57	15.18	74	536
7#	7.25	45.12	2.68	15.98	86	500
8#	4.42	33.40	2.38	12.12	74	402
9#	7.28	39.92	2.29	16.22	72	321
10#	6.16	43.6	2.6	14.98	78	318
11#	4.87	37.96	2.38	16.49	79	511
522#	3.24	39.43	2.27	19.43	75	379

表4 果酒酵母10株菌株的卫生指标

项目	指标
细菌总数(个/g)	≤1×10 ⁶
致病菌(肠道致病菌)	未检出

述10株酵母菌株在发酵过程中的性能表现见表5。

表5 不同酵母菌株在苹果酒发酵过程中性能

酵母	活化过程中	发酵完毕
3#	易活化, 起发快, 泡沫多	凝集性一般
4#	易活化, 起发快, 泡沫多	凝集性较好
5#	活化较慢	凝集性一般
6#	起发较慢	凝集性一般
7#	起发较快	沉降力好, 凝集性好
8#	活化较慢	沉降力好, 凝集性好
9#	起发较快	凝集性较好
10#	起发较快, 泡沫明显	凝集性较好
11#	起发较快, 泡沫明显	凝集性一般
522#	活化较慢	凝集性较差

由表5可看出, 酵母菌株3#和4#起发快, 活力强, 但凝集性一般, 这对生产高档优质苹果酒来说不是很有利; 10#, 11#菌株起发较快, 但酵母凝集性一般, 7#酵母不但活力较强, 凝集性也好, 符合生产要求; 5#, 6#, 8#, 9#, 522#酵母起发较慢, 但8#, 9#凝集性好, 可根据具体要求 and 实际情况来选择适用的酵母。

2.2 发酵性能实验

2.2.1 酿酒实验

为方便实验室操作, 本实验采用容量为1.5 L的大三角瓶作为发酵容器, 实验的基本条件如下。

起始糖度: 210 g/L, 目标酒度

11 %Vol。苹果汁中含糖量较低时以精制蔗糖来补充差额糖度;

装液量: 总发酵醪液的体积为1.2 L;

接种量: 各果酒活性干酵母以200 mg/L的标准来添加;

发酵条件: 由于外界自然环境温度对此实验影响较大, 所以接种后把其置于18℃的生化培养箱中发酵;

发酵期间: 每天分早晚两次测定发酵醪液的发酵失重(本实验采取测糖度的方法)。当糖度降至4 g/L以下后, 主发酵结束, 进行酒的分离装瓶等相关处理, 同时测定原酒的各项感官指标和理化指标。

2.2.2 果酒质量分析

2.2.2.1 感官指标

10株酵母菌株发酵的苹果酒的感官品质见表6。

由表6可以看出, 4#, 6#, 8#, 9#酵母菌株发酵的苹果酒原酒色泽呈金黄或浅金黄色, 具有很好的发酵酒香和苹果香气, 酒体透明、澄清、美观、优雅, 有典型的苹果酒风味; 3#, 7#, 11#酵母菌株对糖的发酵能力较好, 酒味明显, 但果香保留欠佳, 在发酵结束过程中, 3#酵母的凝集性也很差, 酒体浑浊; 5#, 10#, 522#酵母菌株差别不明显, 果香较好, 但酒味不明显, 典型性一般, 522#发酵结束时的凝集性也较差, 酒体欠美观。

2.2.2.2 理化指标(见表7)

由表7可知, 10株酵母菌株发酵所得的苹果原酒的酸度、游离SO₂差别不大; 5#, 6#, 10#, 522#酵母菌株发酵的苹果酒残总糖、残还原糖含量高(大于10 g/L), 不符合优良果酒酵母的要求; 11#, 7#, 4#, 8#发酵力次之, 残总糖、残还原糖含量较高(5.0~10 g/L), 但7#, 8#, 11#的酒度较高; 3#, 9#发酵力最强, 残总糖、残还原糖含量低, 尤其是9#酵母菌株的发酵转化能力强, 残糖低, 酒度高, 酸度也不明显, 符合实际生产的需要。

3 讨论

3.1 此次实验用的10株酵母菌株其感官指标、理化指标和卫生指标基本符合标准。但由于准备不足及实验条

表6 不同酵母菌株发酵苹果酒的感官评价

酵母	色泽	香气	滋味	澄清度	典型性
3#	禾杆黄	酒香不足	酸味较重单薄	浑浊	苹果酒风味弱
4#	浅金黄	果香酒香浓郁	口感清爽, 后味明显	澄清	典型苹果酒风格
5#	禾杆黄	果香浓郁, 酒香一般	口感绵长, 较丰富	较澄清	苹果酒风格较明显
6#	黄色	典型果香, 有酒香	酒体清爽, 口感协调	较澄清	典型苹果酒风格
7#	金黄色	有干燥气味, 果酒香一般	较平淡, 酸味重	澄清透明	苹果酒风味弱
8#	金黄色	果香明显, 酒香浓郁	酒体清爽, 结构感强	澄清透明	典型苹果酒风格
9#	浅金黄	较好果香, 酒香	清爽, 后味较淡	澄清	苹果酒风味明显
10#	禾杆黄	果香好酒香弱	口感较淡协调性好	较澄清	苹果酒风味较弱
11#	浅金黄	酒味重	平淡, 味较酸	澄清	苹果酒风味弱
522#	禾杆黄	果香明显, 酒味弱	有酸味, 酒体醇厚	较浑浊	苹果酒风味较弱

表7 不同酵母菌株发酵苹果酒的理化指标

酵母编号	主酵时间(d)	酒精度(%Vol)	残总糖(g/L)	残还原糖(g/L)	总酸(苹果酸计,g/L)	游离SO ₂ (mg/L)	总SO ₂ (mg/L)
3#	17	9.8	5.0	5.0	6.60	8.50	83.53
4#	15	10.5	9.6	9.5	5.13	6.42	69.40
5#	15	10.4	11.4	11.2	5.72	7.72	83.55
6#	15	10.7	15.0	14.8	6.31	8.38	93.81
7#	13	10.5	7.7	7.4	5.32	8.35	74.54
8#	13	10.7	10.7	8.7	5.91	9.12	115.66
9#	12	11.8	2.9	2.8	5.13	8.35	82.25
10#	17	9.7	13.3	13.2	6.41	8.00	78.39
11#	13	10.7	6.6	6.0	6.21	8.21	87.38
522#	17	10.5	13.2	13.2	6.70	7.07	82.25

件所限,本实验没有对每个酵母菌株同时做两个发酵实验,即平衡(对照)实验,所以其实验结果带有一定的偶然性。

3.2 苹果酒发酵分主发酵和后发酵两个阶段。主发酵阶段要注意每天轻轻地摇动发酵容器和短时间的通气或放气,保证发酵顺利进行,后发酵阶段要注意及时倒瓶,除去死的酵母细胞和果渣等沉降物,倒瓶时要尽量减少苹果酒与空气的接触时间,以免杂菌污染。

3.3 不同的酵母菌株对同一种果汁进行发酵的结果是明显不同的。在苹果原料和生产工艺已经确定的条件下,优良的酵母菌株不但要能产生浓郁优雅的果香、酒香,健康悦目的外观,发酵力强,还要有在特殊环境(如高温、高酒度、高SO₂浓度)条件下维持正常发酵的优良性能。

3.4 在实际生产应用中,优良的果酒酿酒酵母不但要注重其活化性能、发酵力和发酵产品的质量,同时也要考虑在使用过程中酵母的耐酒精能力、耐SO₂程度、最佳使用量、适用温度等其他指标。由于实验条件的影响,

这些方面的研究还需在以后的实验中继续开展,不断探索,争取筛选出最适于酿造苹果酒的酵母菌株及其最佳的使用参数。

4 结论

通过系统的对比实验和结果评价,包括酵母菌理化指标的测定、发酵力测定、发酵实验和发酵原酒品评表明,9#酵母的感官、理化、卫生等自身指标基本符合安琪酵母股份有限公司企业生产标准:Q/YB.J02.05-2001;在应用于苹果酒的发酵过程中表现出起发迅速、旺盛,发酵持续、平稳,残糖含量低,发酵原酒色泽优美,香气醇正,有典型的苹果酒风格,所以9#酵母比较适合酿造苹果酒。其最理想的使用指标等特性还有待于在以后的实验研究中继续验证。

参考文献:

- [1] 周德庆.微生物学教程[M].2002.213- 223.
- [2] 熊子书.中国酿酒酵母菌的研究[J].酿酒科技,2002,(4):23- 27.
- [3] 郭氏葡萄酒技术中心,等.国际葡萄酒药典-葡萄酒辅料标准[M].北京:中国轻工业出版社,2002.
- [4] 周新春.干白苹果酒的生产工艺[J].酿酒科技,1997,(5):56- 57.
- [5] 李华.小容器酿造葡萄酒[J].酿酒科技,2002,(4):70- 74.
- [6] Viegas C A ,Sa Correia I, [J].International Journal of Food Microbiology.1997,34(3):267- 277.
- [7] 高年发.葡萄酒生产技术[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [8] Vyas K. K. ,Kochhar A.P.S. [J].Indian Food Packer,1993,47(4): 15- 21.
- [9] 邵长富,顾晋府.软饮料工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2001.
- [10] GB/T 15038- 94,葡萄酒、果酒通用实验方法[S].

(上接第30页)

小时的CO₂失重分别是0.13g,0.16g,0.17g和0.16g。从总的趋势来看,pH值对发酵曲线的影响不如温度对它的影响大。在前48h内发酵最旺盛,发酵48h,pH值在3.5,4.0,4.5和5.5时的CO₂失重分别占总失重的75.3%,84.3%,82.4%和83%,pH4.0时发酵力略高于其他时刻的pH值。从最终结果看,在pH4.5时总发酵力略高于其他时刻的pH值,总发酵力为12.5g,平均发酵力为0.17g/h。

3 结论

3.1 通过试验确定了Y-5菌株的最适生长温度为36℃,最适生长pH值为4.5。温度和接种量对生长曲线的影响显著,pH值对生长曲线的影响不显著。

3.2 确定了Y-5菌株的最适发酵温度为30℃,最适发

酵pH值为4.5。温度和接种量对发酵曲线的影响显著,pH值对发酵曲线的影响不显著。

参考文献:

- [1] 郝荣庭.中国鸭梨[M].北京:中国林业出版社,1999.
- [2] 佟屏亚.果树史话[M].北京:中国农业出版社,1983.
- [3] 王秋芳.利用资源优势发展以果代粮酿酒[J].酿酒,1997,(3):1- 2.
- [4] Hunt. J; Alcolicfruit drinks grow up[J]. Food Review, 2000,27(6): 21- 22.
- [5] Rainier, S; Pretorius, I. S., Selection and improment of wine yeasts[J]. An. Microbiol,2000, 50(1): 15- 31.
- [6] 吴思方,孙灿,等.产酯酵母产酯条件的研究[J].武汉工业学院学报,1996,(1): 62- 64.