

不同发酵条件对荔枝酒中高级醇生成的影响

蒋龙冬¹, 张 斌², 陈 勇¹, 肖利民¹

(1. 广东帝浓酒业有限公司, 广东 惠来 515226; 2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘 要: 采用 4 因素 3 水平的正交试验, 分析了影响荔枝酒中高级醇含量的酿造工艺。通过极差分析表明, 正交试验 4 因素中发酵液的 α -氨基氮含量对荔枝酒酿造过程中高级醇生成量影响最大, 其次是接种量、发酵温度, 影响最小的因子是发酵液的初始 pH 值。荔枝酒发酵中高级醇生成量较少的工艺条件为: α -氨基氮含量为 190 mg/L, 接种量为 150 mg/L, 发酵温度为 15 °C, 发酵液的初始 pH 值为 3.5。

关键词: 发酵酒; 荔枝酒; 发酵; 高级醇

中图分类号: TS262.7; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2008)10-0026-04

Study on the Effects of Different Fermentation Conditions on Higher Alcohols Production in Litchi Fruit Wine

JIANG Long-dong¹, ZHANG Bin², CHEN Yong¹ and XIAO Li-Min¹

(1: Guangdong Dinong Winery Co., Ltd, Huilai Guangdong, 515226; 2: College of Light Industry and Food Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510640 Guangdong, China)

Abstract: The techniques influencing higher alcohols content in litchi fruit wine were investigated by orthogonal experiments (four factors & three levels). It was revealed from range analysis that among the four factors, the content of α -amino nitrogen in the fermenting solution had the strongest influence on the production of higher alcohols (then inoculum concentration, and then fermentation temperature, and initial pH value of fermenting solution had the least influence). The optimum technical conditions to produce less higher alcohols in the fermentation of litchi fruit wine were summarized as follows: the content of α -amino nitrogen was 190 mg/L, inoculum concentration was 150 mg/L, fermentation temperature was at 15 °C, and initial pH value of fermenting solution was 3.5. (Tran. by YUE Yang)

Key words: fermented wine; litchi fruit wine; fermentation; higher alcohols

荔枝(Litchi)为岭南特色佳果,其色、香、味俱佳,富含钙、磷、蛋白质、维生素等成分,既是果中珍品,又是名贵的补品,有食疗两用之功效^[1]。荔枝全汁酿造果酒以其果香优雅怡人、口感舒顺、风格独特等特点,正受到越来越多的消费者青睐。荔枝酒中的高级醇类是酒中芳香物质的组成成分,但如果在酒中的含量过高会严重影响酒的品质,并能够引起饮用者的头痛,即所谓的“上头”。高级醇对人体的中毒和麻痹作用比乙醇强,其在人体内的氧化速度慢,停留时间较长^[2~4]。

不同的酵母接种量、氮源水平、发酵温度及初始 pH 值都会对荔枝酒中高级醇产生影响^[5~8]。本研究采用 4 因素 3 水平的正交试验,探索分析了酵母接种量、氮源水平、发酵温度及初始 pH 值对荔枝酒中高级醇生成的影响,并确定最佳工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

基金项目:广东省教育部产学研项目资助(2007A090302053);粤港关键领域重点突破项目资助(20054983207)。

收稿日期:2008-08-02

作者简介:蒋龙冬(1968-),男,大学本科,工程师,广东帝浓酒业有限公司生产总监,研究方向:果葡酒酿造。

荔枝汁:新鲜压榨荔枝汁,广东帝浓酒业有限公司;
酿酒酵母:AWRI R2, Mauri YEAST Australia PTY LTD;

果胶酶:pectinex 5XL, 丹麦诺维信公司;

精氨酸:生化试剂, MBCHEM;

谷氨酸:生化试剂, MBCHEM;

色谱纯:无水乙醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇,天津市华东试剂厂;

分析纯:无水乙醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇,天津市华东试剂厂。

1.2 试验仪器

气相色谱仪:HP-6890 气相色谱仪;

色谱柱:HP-FFAP 30 m×0.25 mm×0.25 μ m;

生化培养箱:LRH-250A 型,广东省医疗器械一厂生产;

高压灭菌锅:YXQG02 型,山东新华医疗器械股份

有限公司生产;

干燥箱:天津市中环实验电炉有限公司;

紫外分光光度计:SP-2000UV 型,上海光谱仪器有限公司;

电子恒温水浴锅:北京光明医疗仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 生产工艺流程

荔枝果肉 → 榨汁 → 成分调整(调酸、接种酵母菌) → 酒精发酵 → 酒脚分离 → 陈酿 → 荔枝酒

1.3.2 荔枝酒发酵过程

用食品级酒石酸调整发酵液总酸,用食品级白砂糖调整发酵液总糖度到 250 g/L,榨汁过程中添加 SO_2 含量为 6 % 的食品级亚硫酸(H_2SO_3) 40 mg/L,发酵初始再补加 20 mg/L。计算称取一定量的 R2 酵母于 38 °C 下活化 30 min,将活化好的酵母液加入到荔枝汁中,发酵 15 d。

1.3.3 标准溶液的配制

①乙醇标准溶液的配制

准确量取 550 mL 无水乙醇,蒸馏水定容至 1000 mL,得到 55 %vol 的乙醇基础溶液。

②标准物质溶液的配制

准确量取正丙醇、异丁醇、异戊醇和活性戊醇各 2 mL,分别用乙醇标准溶液定容至 100 mL,得正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇 2 % 的标准溶液,冷藏备用。

③混合标准溶液的配制

准确量取正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇各 2 mL,用乙醇标准溶液定容至 100 mL,得到各物质浓度分别为 2 % 的混合标准溶液,冷藏备用。

1.3.4 样品的制备

采用减压蒸馏法,用容量瓶取 100 mL 荔枝酒,同时用 50 mL 蒸馏水分 3 次洗涤,将酒液和洗涤液合并入蒸馏瓶中,用旋转蒸发器减压蒸发,收集馏出液至 95 mL 左右,停止蒸馏,用蒸馏水定容至 100 mL,为待测样品。

1.3.5 分析方法

1.3.5.1 定性分析

分别进样正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇标准溶液,测定保留时间。再进样,根据各物质保留时间来定性。

1.3.5.2 定量分析

色谱条件参照 GB11856-1997 白兰地中高级醇的测定方法,该标准中采用内标法进行定量测定,其内标物价格昂贵且每次测定都需加入,操作较繁琐。鉴于试验要求测定结果能较准确地反映荔枝酒中高级醇的组成和变化即可,故采用外标法进行定量。所谓外标法就

是用欲测组分的纯物质来制作标准曲线,建立标准物质含量和峰面积的线性关系,以此对荔枝酒中的待测物质定量^[9]。

1.3.5.3 色谱条件

载气流速 1.6 mL/min; 程序升温 45 °C (0 min)-15 mL/min-260 °C (2 min); 分流比 1:50; 进样量 2 μL 。

1.3.6 不同条件的发酵试验

1.3.6.1 不同酵母接种量的发酵试验

在果酒酿造中对酵母菌的添加量有一定的限制,接种量过少,起酵时间和发酵周期会相应延长,而接种量过大,易使酒体带有酵母味。所以,应选择合适的接种量。本实验采用添加活性干酵母的方式,添加量分别为 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L,然后在 15 °C 条件下进行恒温发酵,发酵结束后测定荔枝酒中高级醇含量。

1.3.6.2 发酵醪中添加不同氮源的发酵试验

先测定发酵醪中的 α -氨基氮含量,再向发酵醪中分别加入谷氨酸、精氨酸,使 α -氨基氮含量达到不同浓度,然后接种 150 mg/L 的 R2 活性干酵母,在 15 °C 条件下进行恒温发酵,同时做对照实验,发酵结束后测定高级醇含量。

1.3.6.3 不同温度的发酵试验

在发酵醪中接种 150 mg/L 的 R2 活性干酵母,分别在 10 °C、15 °C、20 °C、25 °C、30 °C 条件下进行发酵,发酵结束后测定荔枝酒中高级醇的含量。

1.3.6.4 发酵醪不同初始 pH 值的发酵试验

用食品级酒石酸调整发酵液总酸,使发酵醪的初始 pH 值分别为 2.5、3.0、3.5、4.0、4.5,然后接种 150 mg/L 的 R2 活性干酵母在 15 °C 条件下进行恒温发酵,同时做对照实验,发酵结束后测定高级醇含量。分析不同发酵条件下高级醇生成变化趋势,找出高级醇生成量较少的发酵条件。

1.3.7 正交试验

分别对试验因子酵母接种量 A (mg/L), α -氨基氮含量 B (mg/L), 发酵温度 C (°C), 发酵液初始 pH 值 D, 进行正交试验,每个因子设 3 个水平,各试验因子水平在单因子试验后确定,以期寻找适宜的工艺条件。试验用 $L_9(3^4)$ 正交表安排设计,试验因子、水平对照表如表 1, $L_9(3^4)$ 试验结果分析见表 1、表 2。

本试验每个处理样均设 3 个重复平行样,结果取其平均值。

2 结果与分析

2.1 不同酵母接种量的影响

发酵结束后测定高级醇含量,结果见表 3 和图 1。

表 1 正交试验因子对照表

水 平	因素			
	A(mg/L)	B(mg/L)	C(℃)	D
1	100	190	10	3.5
2	150	200	15	4.0
3	200	210	25	4.5

注: A 为酵母接种量,B 为 α-氨基氮含量, C 为发酵温度, D 为发酵液初始 pH 值。

表 2 正交试验结果分析

试验号	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	3	3
5	2	2	2	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

注: 本试验每个处理样均设 3 个重复平行样, 结果取其平均值。

表 3 不同酵母添加量对高级醇生成的影响 (mg/L)

接种量	高级醇生成量
50	413.55
100	389.20
150	317.91
200	378.13
250	423.05

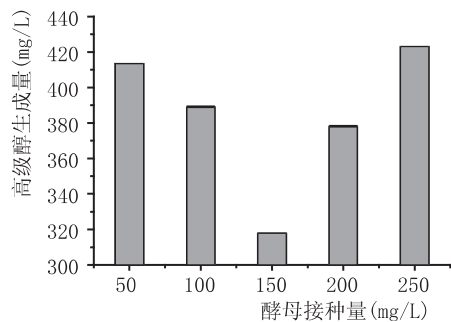


图 1 酵母接种量对高级醇生成的影响

由表 3 和图 1 可知,在一定的发酵液中,适当增大酵母的接种量,可以减少高级醇的生成量,随着酵母接种量的增加,高级醇的浓度逐渐下降,当接种量达到一定数值(150 mg/L)时,高级醇的含量降至最低,而后高级醇的生成量随着接种量的加大而急剧上升,造成果酒风味的降低。

2.2 发酵液中添加不同氮源的发酵试验

用紫外分光光度计法分析测定待发酵荔枝汁中 α-氨基氮含量为 162.5 mg/L^[10]。

向发酵液中添加谷氨酸和精氨酸,使其 α-氨基氮含量分别达到 170 mg/L、180 mg/L、190 mg/L、200 mg/L、210 mg/L。发酵结束过后测定高级醇含量,结果见表 4

和图 2。

表 4 添加谷氨酸和精氨酸后高级醇的生成量 (mg/L)

发酵液中 α-氨基氮含量	高级醇生成量
170	435.90
180	410.04
190	320.48
200	378.36
210	421.88

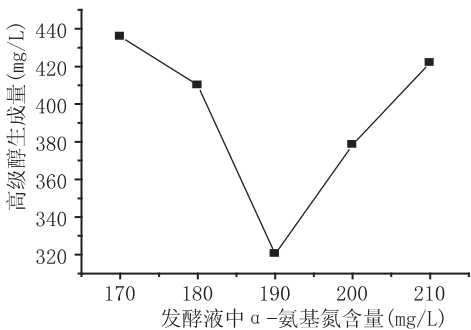


图 2 发酵液中不同的 α-氨基氮含量对高级醇生成量的影响

由表 4 和图 2 可看出,当 α-氨基氮总量为 180~200 mg/L 时高级醇的生成量较低。当发酵液中 α-氨基氮总量为 190 mg/L 时高级醇的生成量达到最低,随着 α-氨基氮含量的增加,高级醇的生成量又逐渐升高。可见,发酵液中 α-氨基氮的含量过高或过低都会显著增加高级醇的生成量。

2.3 不同发酵温度的影响

不同温度下发酵结束后测定荔枝酒中高级醇含量,结果见表 5 和图 3。

表 5 不同发酵温度对高级醇生成量的影响

发酵温度 (℃)	高级醇生成量 (mg/L)
10	310.47
15	336.10
20	376.06
25	426.73
30	477.25

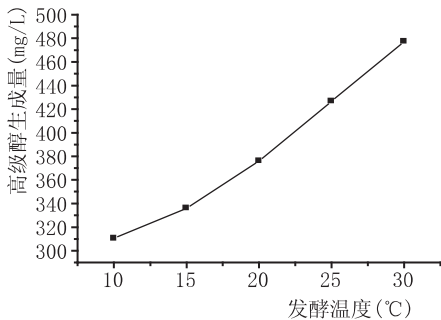


图 3 发酵温度对高级醇生成量的影响

表 5 和图 3 结果表明,随着发酵温度的升高,酵母代谢活动增强,高级醇生成量显著增大。在 10℃ 时高级醇生成量较少,但在该温度下,起酵时间和发酵周期过

长,在 15~20 ℃ 时,起酵时间较短、发酵速度较快且高级醇生成量较低。

2.4 不同初始 pH 值对高级醇生成的影响

发酵液在不同初始 pH 值下发酵,发酵结束后测定荔枝酒高级醇含量,结果见表 6 和图 4。

表 6 不同发酵液初始 pH 值的高级醇生成量

pH 值	高级醇生成量 (mg/L)
2.5	326.90
3.0	340.17
3.5	365.25
4.0	398.69
4.5	421.48

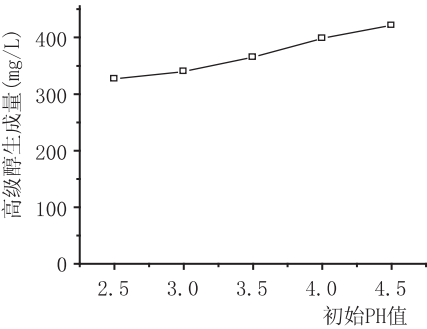


图 4 不同 pH 值对高级醇生成量的影响

表 6 和图 4 结果表明,发酵液初始 pH 值的升高,显著地促进了高级醇的生成。pH 值在 3.5 以下时能够抑制酵母的代谢活动,从而能控制酵母迅速而大量地增殖,有利于抑制高级醇的生成。

2.5 高级醇生成量较低的荔枝酒酿造工艺的确定

采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行荔枝酒发酵试验,根据单因子试验结果,将接种量 A 设为 100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L 3 个水平; α -氨基氮含量 B 设为 190 mg/L、200 mg/L、210 mg/L 3 个水平;发酵温度(℃)设为 10 ℃、15 ℃、25 ℃ 3 个水平;发酵液的初始 pH 值 D 设为 3.5、4.0、4.5 3 个水平。发酵结束后测定高级醇含量,结果见表 7。

由表 7 可知,4 因子中发酵液的 α -氨基氮含量对荔枝酒酿造过程中高级醇生成量影响最大,其次是接种量、发酵温度,影响最小的因子是发酵液的初始 pH 值。在试验因子水平范围内,选择高级醇生成量较少的工艺条件为 $B_1A_2C_2D_1$,即: α -氨基氮含量为 190 mg/L,接种量为 150 mg/L,发酵温度为 15 ℃,发酵液的初始 pH 值为 3.5。

3 结论

3.1 正交试验 4 因素中发酵液的 α -氨基氮含量对荔枝

表 7 正交试验结果分析

处理号	A	B	C	D	高级醇含量 (mg/L)
1	1	1	1	1	320.16
2	1	2	2	2	345.9
3	1	3	3	3	391.37
4	2	1	2	3	311.53
5	2	2	3	1	352.09
6	2	3	1	2	385.38
7	3	1	3	2	344.1
8	3	2	1	3	360.17
9	3	3	2	1	387.81
K1	352.48	325.26	355.24	353.35	
K2	349.67	352.72	348.41	358.46	
K3	364.03	388.19	362.52	354.36	
k ₁	117.49	108.42	118.41	117.78	
k ₂	116.56	117.57	116.14	119.49	
k ₃	121.34	129.39	120.84	118.12	
R	14.36	62.92	14.11	5.11	

酒酿造过程中高级醇生成量影响最大,其次是接种量、发酵温度,影响最小的因子是发酵液的初始 pH 值。

3.2 荔枝酒发酵中高级醇生成量较少的工艺条件为: α -氨基氮含量为 190 mg/L,接种量为 150 mg/L,发酵温度为 15 ℃,发酵液的初始 pH 值为 3.5。

参考文献:

[1] 方未文.谈荔枝[J].中国对外贸易,1995,(2):47-50.
[2] 陈海昌,刘中山,等.酵母酒精发酵中杂醇油形成影响因素的研究[J].食品与发酵工业,1985,(5):18-24.
[3] 甘水洋.啤酒中高级醇的产生及控制办法[J].福建轻纺,1998,(1):1-4.
[4] 汪江波,郭健.啤酒酿造过程中的高级醇[J].湖北工学院学报,2003,(3):75-77.
[5] Cullere L,Escudeor A, Cacho J,et al.Gas chromatography-olfactome and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2004,(6):1653-1675.
[6] 熊子书.饮料酒中醇类的生成机理与感官特性[J].酿酒,1985,(1):1-10.
[7] Rapp A, Mandery H. New progress in wine and wine research [J]. Experientia.1987,(42):873-884.
[8] Roes C V, Snow R E. Reduction of higher alcohols by fermentation with a Leucme-auxotrophic mutant of wine yeast[J]. Journal of the Institute of Brewing, 1983, 89(4):274-278.
[9] 黄宏慧,周锡生.野生山葡萄酒杂醇油含量偏高的原因及对策[J].中外葡萄与葡萄酒,2002,(2):55-56.
[10] Snyman J P. Quantitative simultaneous gas chromatographic determination of specific higher alcohols and esters in wine[J]. Vitis.1977,(4):295-299.