

液态深层发酵型木瓜果酒的发酵工艺研究

周 杨¹ 陈 伟² 龚加顺¹ 董文明¹ 肖 茜¹ 胡小静¹

1(云南农业大学食品科技学院,昆明,650201)2(云南丽江宁蒗女儿珍生物工程有限公司,宁蒗县,674307)

摘 要 以云南药木瓜为原料,安琪高活性干酵母为菌种,采用液态深层发酵酿制木瓜果酒。研究分析了温度、酵母接种量、加糖量、初始酸度、发酵时间对产酒发酵的影响。确定了木瓜果酒酿制的工艺参数为:温度 28℃、接种量 0.3g/100mL、初始酸度(以柠檬酸计)2.3 g/100 mL、加糖量 15 %、发酵时间 4 d,发酵率达到 66.7%。在该工艺条件下发酵,酵母菌在发酵第 3 天达到对数生长期。酿制出来的木瓜果酒颜色金黄,澄清透亮,酒味浓郁,酒体丰满,同时具有木瓜的特殊清香味。

关键词 药木瓜,果酒,澄清化处理

药木瓜 (*Chaenomeles lagenaria* koidz) 别名皱皮木瓜。其营养价值可与猕猴桃媲美,以“百益之果”著称,木瓜中主要药用成分是齐墩果酸,用于急性病毒性肝炎的治疗,总有效率为 94.4%,治愈率为 64.8%,是卫生部首批公布的药食兼用食品^[1]。

由于木瓜本身含有丰富的有机酸,达 1.83%~3.58%,其中含有较高的低碳二酸,如苹果酸(12.05%)、柠檬酸(20.74%)和较多的芳香酸,如苯甲酸(16.51%)、对甲氧基苯甲酸(5.82%)等,并且还含有不常见的 C9 的烷、烯、炔酸^[2],发酵成果酒,技术处理比较困难。本实验利用安琪高活性干酵母液态深层发酵木瓜果酒,获得了木瓜果酒酿制的较佳发酵参数,为木瓜果酒的工业化生产奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 实验材料

药用皱皮木瓜(云南丽江宁蒗女儿珍生物工程有限公司)、安琪葡萄酒用高活性干酵母(湖北宜昌酵母有限公司)、木瓜蛋白酶(200~300u/mg)、纤维素酶(250u/ml)、半纤维素酶(300u/mg)、果胶酶(24.7u/mg),均为 Sigma 公司进口分装,考马斯亮兰(Coomassie Blue G250)、牛血清蛋白(Albumin),昆明杰辉生物技术有限公司。

1.1.2 实验试剂

葡萄糖、琼脂、明胶、活性炭、单宁、3,5-二硝基水杨酸、重铬酸钾、茚三酮、H₂SO₄、蒽酮、PVPP,国产。

1.1.3 实验仪器

JM-L80 型胶体磨(温州七星乳品设备厂)、

FCD-208S 型冰柜(青岛海尔股份有限公司)、722 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、HH-60 电热恒温水浴锅(常州市华普达教学仪器有限公司)、电热鼓风干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂)、电子天平(沈阳龙腾电子有限公司)、Q/BKYY10-2000 型隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂)、SH10A 水分快速测定仪(上海恒平科学仪器有限公司)、R-52A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)、SHZ-88 水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验仪器厂)、WYT-32 型手持糖度仪(泉州光学仪器厂)、血球计数板(江苏省丹阳市延陵医疗器械厂)、XS-213 型显微镜(上海跃进医疗器械厂)。

1.2 实验方法^[3~5]

1.2.1 木瓜酒的酿制流程

木瓜清洗→切块→压榨→调整糖度(葡萄糖)→接种酵母→乙醇发酵→澄清化处理→巴氏杀菌→陈化成品。

1.2.2 测定指标

木瓜水分测量:采用 SH10A 水分快速测定仪进行测定。

可溶性固形物含量:采用 WYT-32 型手持糖度仪进行测定(°Brix)。

总糖的测定:硫酸蒽酮比色法^[6]。

氨基酸的测定:茚三酮比色法^[6]。

蛋白质的测定:考马斯亮兰染色法^[7]。

还原糖测定:3,5-二硝基水杨酸比色法(DNS 法)^[8]。

乙醇体积分数(% ,20℃);重铬酸钾氧化法^[9]。

总酸:酸碱滴定法测定(以柠檬酸计)^[10]。

酵母菌细胞数测定:血球计数法^[11]、浊度计算^[12]、生物量计数法^[13],3 种方法进行对比,重复 3 次。

第一作者:硕士研究生(龚加顺为通讯作者)。

收稿日期:2006-07-24, 改回日期:2006-10-24

乙醇发酵率计算^[14]。

1.2.3 乙醇发酵过程的研究

在正交试验得出的最佳工艺条件下,采用不同方法测定其发酵过程中酵母生长。

1.2.3.1 木瓜榨汁

取原料木瓜 23.00 kg,测定木瓜水分含量,除残果去核,净得 20.50 kg,加 5.35 kg 水,胶体磨榨汁,过滤除渣,得 20.70 L 木瓜原汁,备用,计算榨汁率,木瓜汁中可溶性固形物含量、初始酸度。

1.2.3.2 干酵母活化

称取 0.2 g 葡萄糖,加入 10 mL 蒸馏水,搅拌均匀,添加 0.3 g 安琪高活性干酵母,置于 35℃ 水浴中,先静置 5-10 min,再不断搅拌,活化 30 min。

1.2.3.3 温度对乙醇发酵的影响

取 100 mL 木瓜汁,加入 15 g 葡萄糖,测定其可溶性固形物含量,接种 10% (v/v) 酵母活化液(按 0.2 g/100mL 接种量计算),分别在 26℃、28℃、30℃、32℃、35℃ 和 38℃ 下静置发酵,每隔 12 h 测定其可溶性固形物含量,至残糖 < 0.5 g/100 mL,发酵完毕。

1.2.3.4 接种量对乙醇发酵的影响

取 100 mL 木瓜汁,加入 15 g 葡萄糖,测定其可溶性固形物含量,分别接种 10% (v/v) 酵母活化液(按 0.1 g/100 mL、0.2 g/100mL、0.3 g/100 mL、0.4 g/100mL、0.4 g/100mL 接种量计算),在 1.2.3.3 温度下静置发酵,每隔 12 h 测定其中溶性固形物含量,残糖 < 0.5 g/100 mL,发酵完毕。

1.2.3.5 初始酸度对乙醇发酵的影响

调整木瓜汁的酸度分别为 1.40 g/100 mL、1.60 g/100 mL、1.80 g/100 mL、1.90 g/100 mL 和 2.10 g/100 mL,加入 15% 葡萄糖,在前面实验确定的最佳温度、接种量下,静置发酵,每隔 12h 测定其可溶性固形物含量,残糖 < 0.5 g/100 mL,发酵完毕。

1.2.3.6 加糖量对乙醇发酵的影响

取 100 mL 木瓜汁,分别加入 5、8、10、13、15 g 葡萄糖,在前面实验确定的最佳条件下,静置发酵,每隔 12 h 测定其可溶性固形物含量,残糖 < 0.5 g/100 mL,发酵完毕。

1.2.3.7 正交试验

在前面单因素试验的基础上,进行正交试验 $L_{16}(4^5)$,研究温度、酵母接种量、初始酸度、加糖量、发酵时间对木瓜果酒发酵的影响,每个试验号取木瓜汁 100 mL。

1.2.3.8 发酵参数变化

在前面试验确定的发酵条件下,测定其糖度、酒

度、总酸的动态变化。

2 结果与分析

2.1 木瓜原汁

水分 85.3%,榨汁率为 80.07%。木瓜原汁初始酸度 2.34 g/100 mL,可溶性固形物含量 6.4°Brix。

2.2 温度对乙醇发酵的影响

如图 1,温度过高发酵效果不佳,28℃ 是酵母发酵的最适的温度,乙醇发酵率为 61.44%;其次是 30℃,乙醇发酵率为 54.21%。发酵完,当残糖 < 0.5 g/100 mL 时,酸度为 1.84 g/100mL,可溶性固形物含量为 4.8,说明一部分有机酸被酵母利用转化为乙醇^[15],酸度下降可使木瓜酒酸性变柔和,改善口感。而低温发酵也可以防止过氧化,有利于提高木瓜果酒的风味。

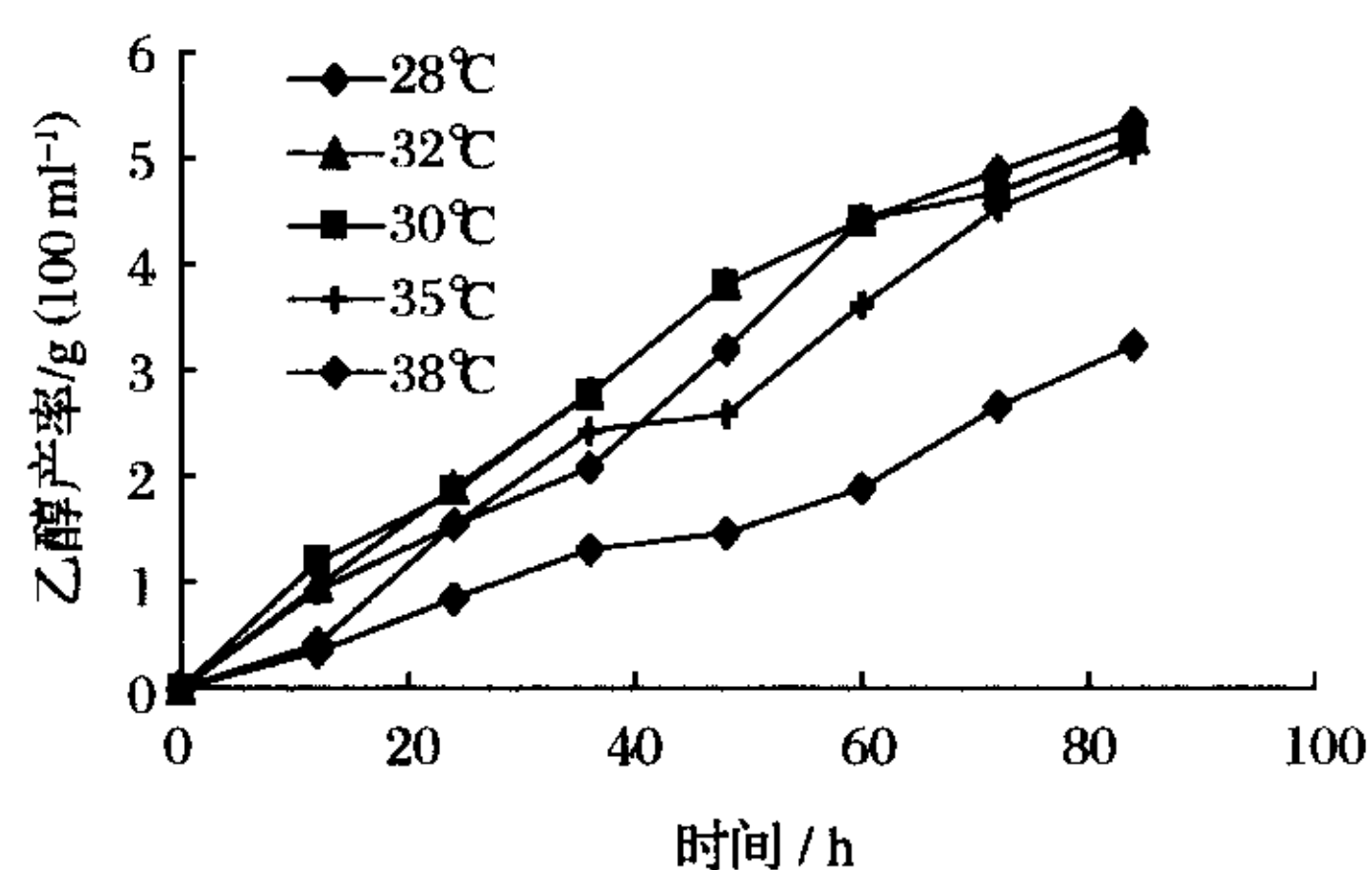


图1 温度对乙醇发酵的影响

2.3 酵母接种量对木瓜果酒发酵的影响

如图 2,接种量为 0.3 g/100 mL、0.4 g/100 mL 的发酵效果比较好,乙醇发酵率都为 58.97%。发酵结束,0.3 g/100 mL、0.4 g/100 mL 接种量的可溶性固形物含量都下降到了 6.4°Brix,而接种量分别为 0.1 g/100 mL、0.2 g/100 mL、0.5 g/100 mL 样品的可溶性固形物含量高于接种量分别为 0.3 g/100 mL、0.4 g/100 mL 的样品,发酵不彻底。酵母接种量是影响乙醇发酵的重要因素之一,在不同的接种量的条件下,酵母利用各种发酵性物质转化为酒精的量是不同的。接种量少,酵母的生物量不够,原料转化

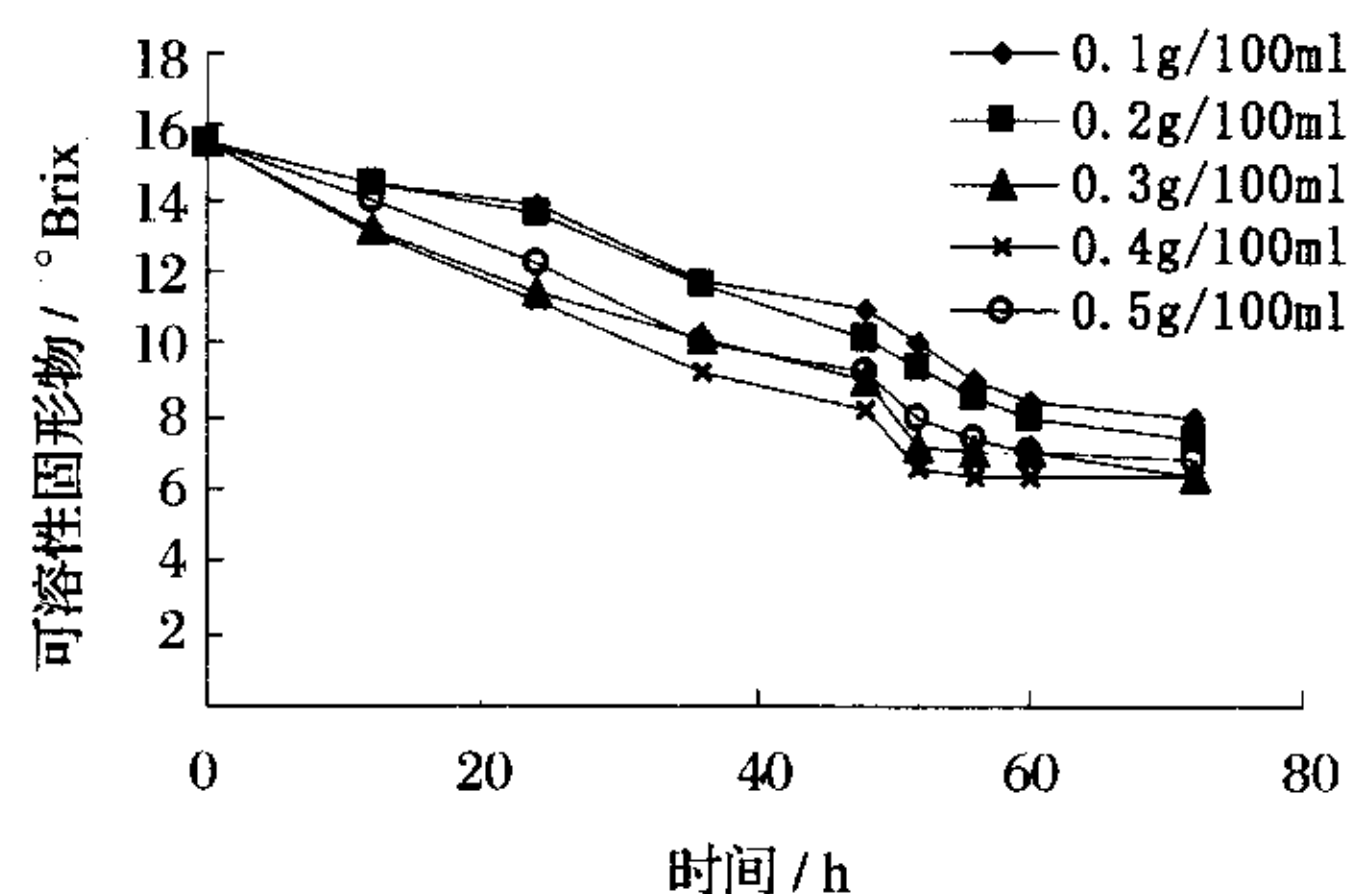


图2 接种量对乙醇发酵的影响

为酒精不完全,残糖高;接种量过大,酵母自身生长繁殖消耗木瓜原汁大量的糖分,乙醇产量反而降低。

2.4 初始酸度对乙醇发酵的影响

如图 3 所示,将木瓜原汁调成不同的初始酸度进行发酵,可溶性固形物下降的幅度无明显差别,可以用原汁进行发酵。稀释酸度进行发酵,发酵的条件要求较低,但产品风味不足,原汁发酵是为了突出木瓜有机酸丰富,具有消食开胃等功能的主要特点。

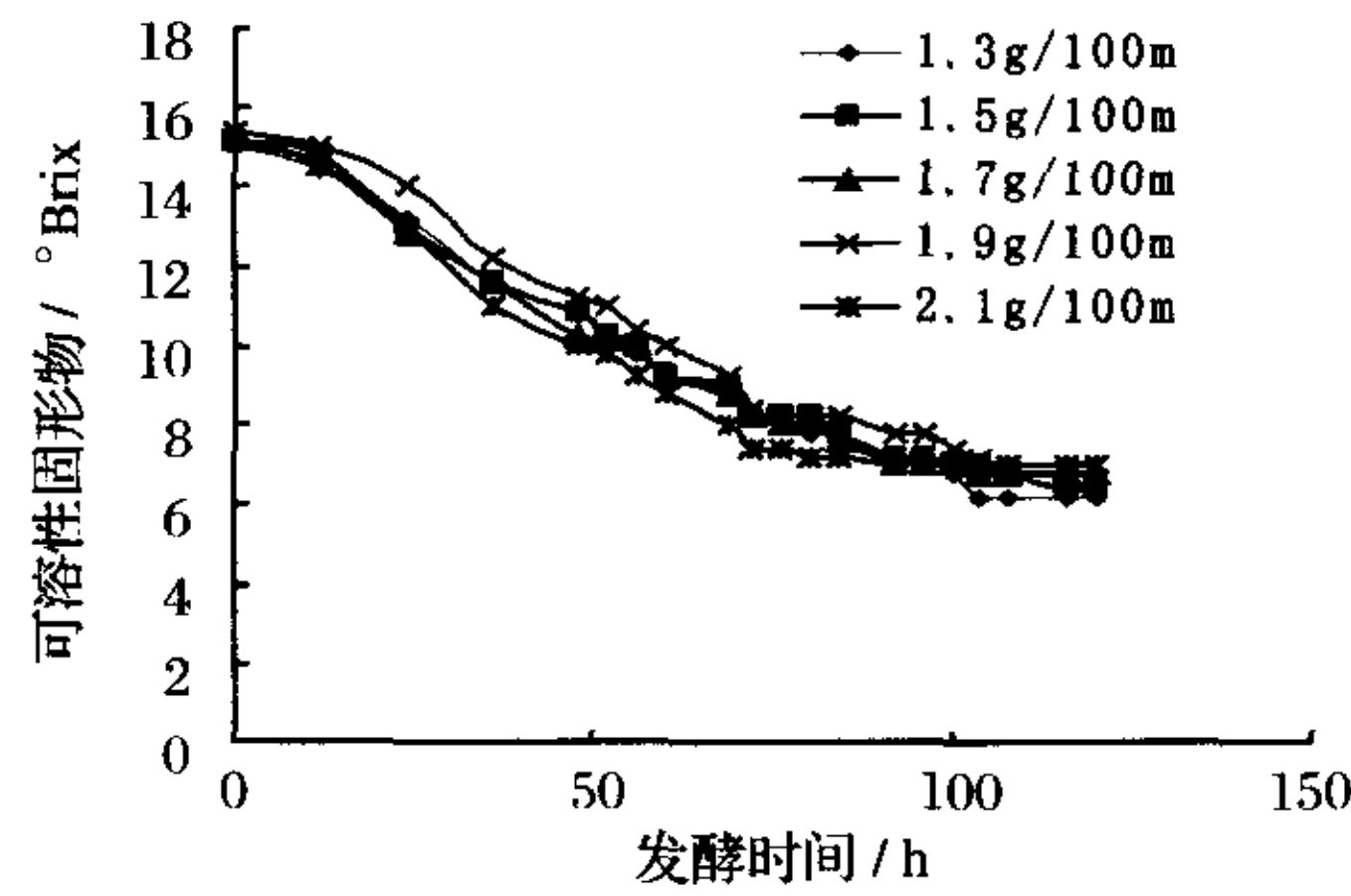


图 3 初始酸度对乙醇发酵的影响

2.5 加糖量对乙醇发酵的影响

如图 4,在不同加糖量发酵过程中,葡萄糖糖度下降幅度差异不显著。发酵过程中,酵母先利用的是木瓜汁中的一部分有机酸,然后再利用加入的葡萄糖。一般当加入的葡萄糖>10%时,发酵时间为 3 d 时,部分葡萄糖没有被发酵完,剩余的葡萄糖有利于中和木瓜汁的酸味和涩味,可以使口感更佳。所以从口感方面考虑,加糖量为 10%、13% 比较合适,而 15% 的加糖量会使工业生产成本增加。

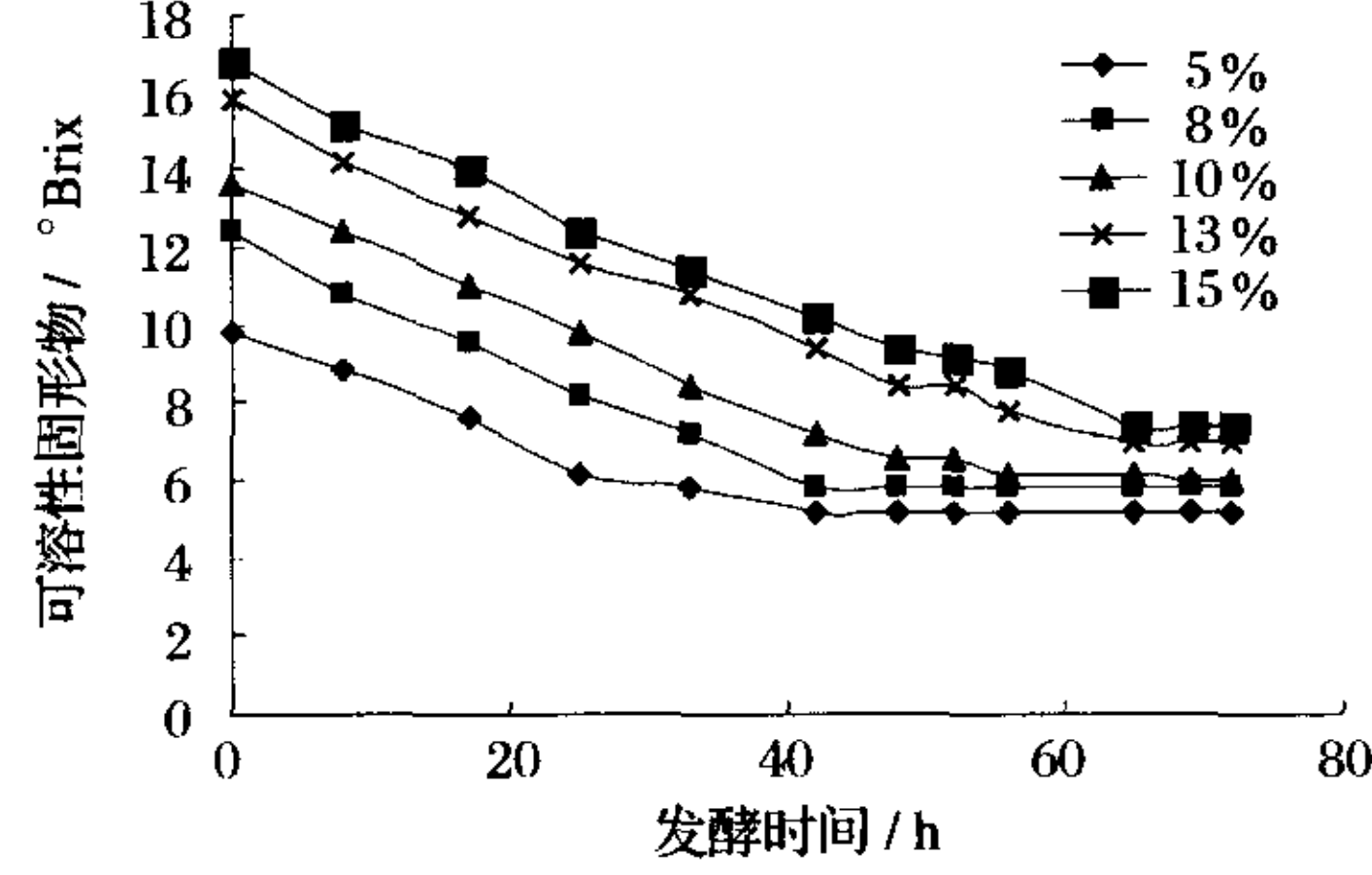


图 4 加糖量对乙醇发酵的影响

2.6 正交试验

表 1 因素与水平

因 素	水 平			
	1	2	3	4
温度/℃	28	30	32	35
接种量/g·(100 mL) ⁻¹	0.1	0.2	0.3	0.4
初始酸度/g·(100 mL) ⁻¹	1.7	1.9	2.1	2.3
加糖量/%	8	10	13	15
发酵时间/h	48	72	96	120

表 2 正交试验结果 L₁₆(4⁵)

实验号	因 素					
	温度 /℃	接种量/ g·(100mL) ⁻¹	初始酸度/ g·(100mL) ⁻¹	加糖量 /%	发酵时乙醇体 积/h	乙醇体 积分数/%
1	28	0.1	1.7	8	48	3.4
2	28	0.2	1.9	10	72	6.6
3	28	0.3	2.1	13	96	9.0
4	28	0.4	2.3	15	120	10.2
5	30	0.1	1.9	13	120	7.8
6	30	0.2	1.7	15	96	7.8
7	30	0.3	2.3	8	72	6.2
8	30	0.4	2.1	10	48	6.2
9	32	0.1	2.1	15	72	4.2
10	32	0.2	2.3	13	48	5.0
11	32	0.3	1.7	10	120	7.0
12	32	0.4	1.9	8	96	5.8
13	35	0.1	2.3	10	96	7.6
14	35	0.2	2.1	8	120	6.2
15	35	0.3	1.9	15	72	8.4
16	35	0.4	1.7	13	48	6.6
K ₁	29.2	23.0	24.8	21.6	25.0	
K ₂	28.0	25.6	28.6	27.4	23.6	
K ₃	22.0	30.6	25.6	28.4	30.2	
K ₄	28.8	28.8	29.0	30.6	31.2	
k ₁	7.3	5.75	6.2	5.4	6.25	
k ₂	7.0	6.4	7.15	6.85	5.9	
k ₃	5.5	7.65	6.4	7.1	7.55	
k ₄	7.2	7.2	7.25	7.65	7.8	
R	1.8	1.9	1.05	2.25	1.9	
主次因素	D>B=E>A>C					
最优组合	D ₄ B ₃ E ₄ A ₁ C ₄					

如表 1 和表 2 所示,由极差分析得出影响乙醇发酵的最大因素为加糖量(R=2.25),其次为接种量(R=1.9)和发酵时间(R=1.9),最后是温度(R=1.8),初始酸度(R=1.05),最佳工艺条件为加糖量 15%,接种量 0.3 g/100 mL,发酵时间 4d,温度 28℃,初始酸度 2.3 g/100 mL,发酵率达到 66.7%。

2.7 产酒发酵过程的研究结果

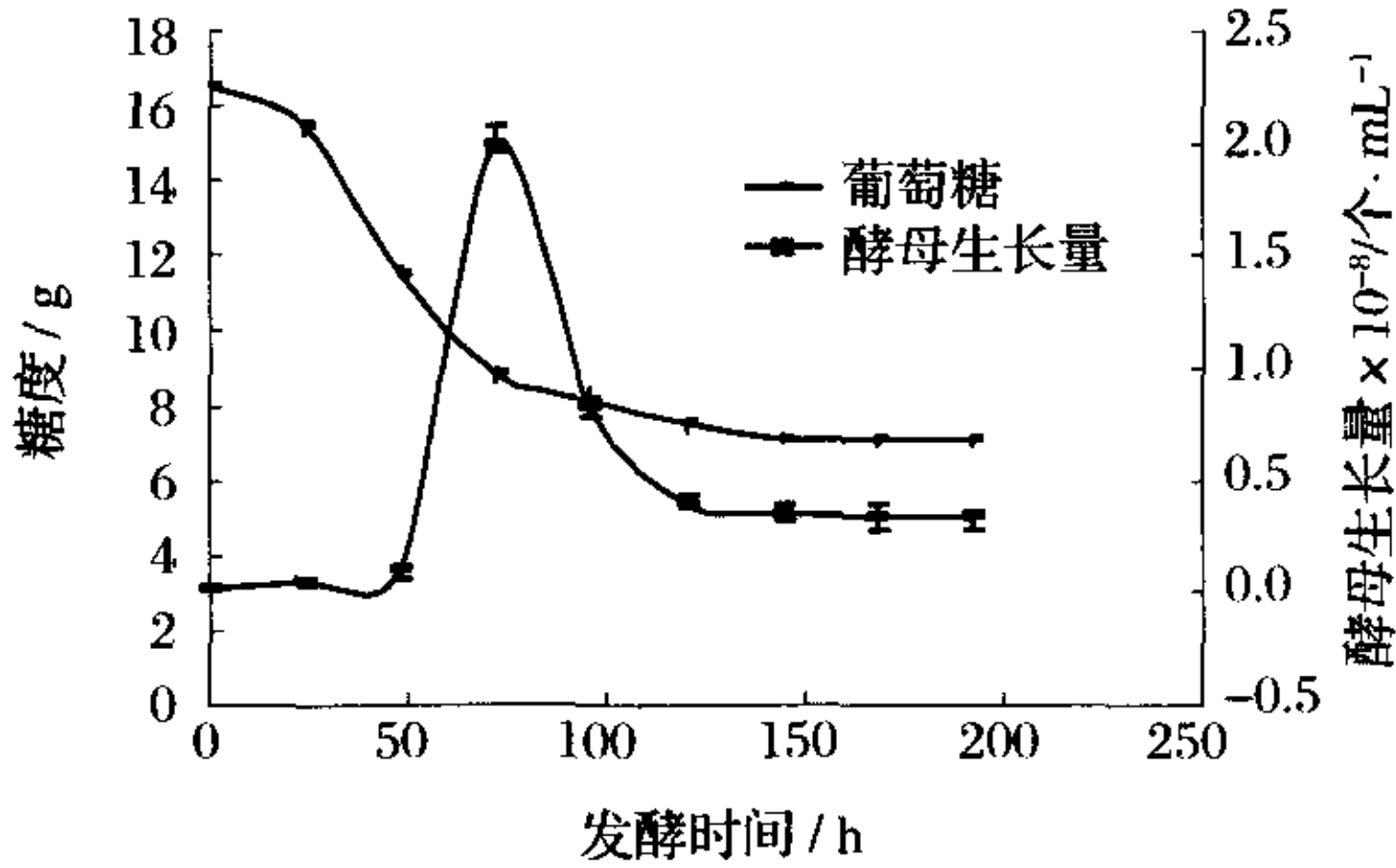


图 5 乙醇发酵过程中葡萄糖变化曲线和酵母生长曲线

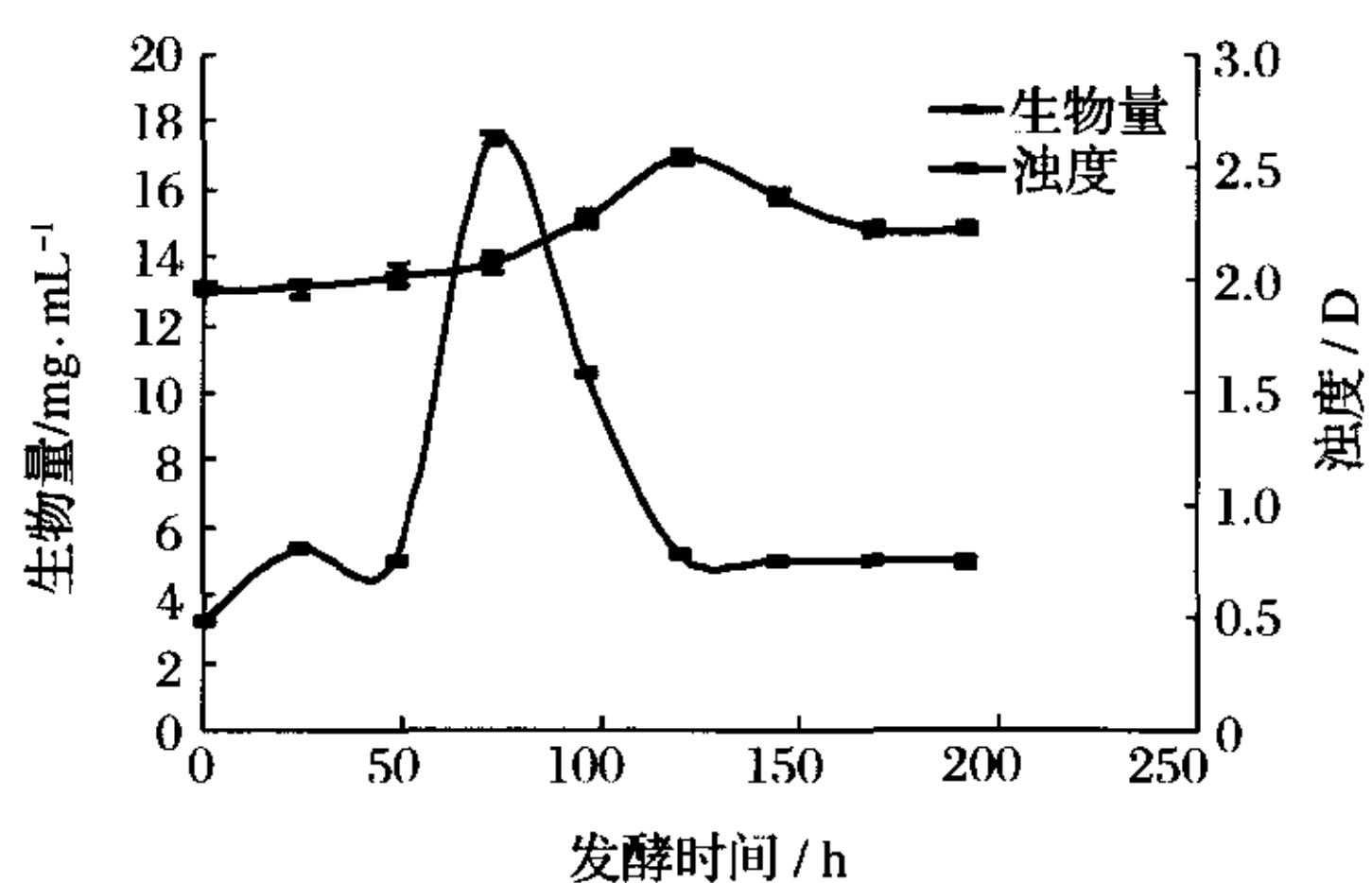


图6 乙醇发酵过程中酵母菌生物量和浊度变化

如图5和图6,在最佳工艺条件下发酵,酵母菌在发酵第3天达到对数生长期,葡萄糖的消耗速率最大值出现时间与酵母对数生长期、酵母菌生物量最大值以及浊度最大值出现时间大致相同,说明酵母的生长呈生长关联型。

2.8 技术指标

2.8.1 感官指标

发酵完的木瓜果酒,澄清透亮,色泽金黄色,酒味浓郁,酒体丰满,具有木瓜的特殊清香味,干纯爽口,酸味柔和。

2.8.2 理化指标

乙醇体积分数(20°) ≤ 10% 总糖 12.0~24.0g/L,总酸(以柠檬酸计) ≤ 1.8 g/100 mL,还原糖(以葡萄糖计) 1.2~5.0g/L 蛋白质 0.12% 氨基酸 0.016%。

3 结论

(1)木瓜果酒酿造的发酵条件为:温度 28℃、接种量 0.3 g/100 mL、初始酸度(以柠檬酸计)2.1 g/100 mL、加糖量 15 g/100 mL、发酵时间 4d。

(2)在该工艺条件下发酵,酵母菌在发酵第3天达到对数生长期,有关乙醇发酵及酵母生长机理的研究有待进一步研究。

参考文献

- 1 项昭保,任绍光.木瓜资源的开发和利用[J].中国野生植物资源,2002,21(5):26~27
- 2 高诚伟,雷泽模.皱皮木瓜中有机酸的研究[J].云南大学学报(自然科学版),2003,24(2):110~114
- 3 万红贵,洪厚胜.云南酸木瓜酒研究工艺[J].江苏食品与发酵,2003(1):33~36
- 4 夏杏洲,彭球生.番木瓜酒的酿制工艺[J].食品科技,2001(3):48~49
- 5 王文平,周文美.木瓜果酒加工工艺[J].酿酒工艺,2005,(7):100~102
- 6 黄意欢.茶学实验技术[M].北京:中国农业出版社,1995. 135~136
- 7 李建武,余瑞元,陈丽蓉.生物化学实验原理和方法[M].北京:北京大学出版社,2001.174~177
- 8 Stenesh, J. Experimental Biochemistry[M]. Boston: Allyn & Bacon, Inc., 1984.237~245
- 9 楼纯菊.简易的酒精定量测定法[J].微生物学通报,1984,(5):235~237
- 10 国家质量技术监督局.发酵酒卫生标准 GB2758—1987
- 11 程丽娟主编.微生物学实验技术[M].天则出版社,1993
- 12 吴八斤,刘延林.葡萄酒(汁)中酵母菌检测方法研究[J].酿酒科技,2001(4):76~78
- 13 MTR,D,ECS. 微生物学[M].北京:科学出版社,1981
- 14 奚惠萍.中国果酒[M].北京:中国轻工业出版社,1998
- 15 潘晓飏,冯春梅,莫云彬.杨梅果酒果浆发酵技术研究[J].台州农业,2001(3):45~48

Study on Liquid State Deep Fermented *Chaenomeles lagenaria* Koidz Fruit Wine

Zhou Yang¹ Chen Wei² Gong Jiashun¹ Dong Wenming¹

Xiao Qian¹ Hu Xiaojing¹

1(Faculty of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

2(Nverzhen Biotechnical and Engineering company, Lijiang 674307, China)

ABSTRACT This study used *Chaenomeles lagenaria* koidz as raw material and angel instant active dry yeast as strain to produce *Chaenomeles lagenaria* koidz fruit wine. The effects of alcoholic fermentation processing such as fermentation temperature, yeast inoculums amount, adding amount of glucose, initial total acidity and fermentation time were studied as well as clarification craft. Result showed that optimum parameter are 28℃, 0.3g/100mL inoculums amount, 2.1g/100mL initial total acidity(calculate as acetic acid), 15% adding amount of glucose and 4d fermentation time, fermented rate is 66.7%; the best clarification dealing method is adding agar for 0.1%, heat for 30 min at 65℃ or adding cellulase 100 μL/100 mL and hemicellulase 0.05 g/100 mL, heat for 2h at 40℃. Product has a golden color, lucidus, full-bodied, *Chaenomeles lagenaria* koidz original faint scent quality.

Key words *Chaenomeles lagenaria* koidz, fruit wine, clarification