

香蕉菠萝果酒生产酵母的固定化条件及发酵特性研究

陈智理^{1,2}, 杨昌鹏^{1,2*}, 覃海元², 潘嫣丽²

(1. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004; 2. 广西农业职业技术学院, 广西南宁 530007)

摘要 [目的]探讨发酵生产香蕉菠萝果酒酵母的固定化条件及发酵特性。[方法]测定不同浓度海藻酸钠和CaCl₂固定的干酵母强度,及发酵过程各阶段果酒酒精度、残糖、总酸度等指标。[结果]结果表明,酵母的最佳固定条件为:浓度2.0%的海藻酸钠和浓度4.0%的CaCl₂。固定化酵母发酵生产的果酒品质优于游离酵母。[结论]采用固定化酵母发酵生产香蕉菠萝复合果酒具有发酵速度快、可连续使用、节约生产成本等优点。

关键词 固定化酵母; 游离酵母; 发酵; 果酒

中图分类号 TS261 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)34-17058-03

Study on the Immobilized Condition and Fermentation Characteristics of Yeast for the Production of Composite Banana-Pineapple Wine

CHEN Zhi-li et al (Institute of Light Industry and Food, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004)

Abstract [Objective] The research aimed to study the best immobilized condition of yeast and the fermentation characteristics of immobilized yeast used in the production of composite banana-pineapple wine. [Method] The dry yeast used for fruit wine production was immobilized by calcium alginate as a carrier. Then the intensity of dry yeast immobilized by calcium alginate and CaCl₂, and the indices such as alcoholic strength, residual sugar and total acidity in the process of fermentation were determined. [Result] The results showed that the best immobilized conditions were 2.0% sodium alginate and 4.0% CaCl₂. The quality of the fruit wine fermented by immobilized yeast was better than by free yeast. [Conclusion] The production of composite banana-pineapple wine by immobilized yeast had several advantages such as first, continuous and economical.

Key words Immobilized yeast; Free yeast; Fermentation characteristic; Fruit wine

发酵型果酒是一类以水果为主要原料发酵酿制的低度酒,具有较高的营养价值,适量饮用具有促进机体代谢、控制体内胆固醇水平、改善心脑血管等功能^[1]。香蕉和菠萝是我国南方重要的水果,产量高,原料足,且能周年供应,利用香蕉和菠萝为原料生产果酒具有重要意义。

利用固定化酵母发酵生产果酒具有生长快、反应迅速、抗污染能力强、可连续使用、产物易分离等优点^[2],在果酒发酵工业中的应用越来越广泛。目前,用于酵母细胞固定化的方法较多,可分为吸附法、包埋法、交联法、共价结合法等,其中以包埋法应用最普遍。笔者利用海藻酸钙凝胶为载体包埋酵母,以香蕉、菠萝果实为原料发酵生产复合果酒,探讨酵母的固定化条件及发酵特性,以期食品工业上利用固定化酵母发酵生产香蕉菠萝果酒提供参考。

1 材料与方

1.1 材料 成熟的香蕉、菠萝。

1.2 试剂 葡萄酒用高活性干酵母(湖北安琪酵母股份有限公司生产);活性为50 000单位的果胶酶(武汉生发生物科技生产)。海藻酸钠、无水氯化钙、亚硫酸氢钠均为分析纯。

1.3 仪器 pHSJ-3F型pH计(上海精密科学仪器有限公司生产);GY-I型压力计(牡丹江市机械研究所生产)、HH-S数显恒温水浴锅等。

1.4 工艺流程

1.4.1 固定化酵母的制备。取一定量的干酵母→用浓度2%蔗糖溶液活化→与海藻酸钠溶液混合→滴入低温CaCl₂溶液中形成凝胶→无菌水洗涤→平衡,在冰箱中固化24 h→固定化酵母。

1.4.2 果酒生产工艺流程。香蕉、菠萝原料→去皮,切分→按一定比例混合→添加果胶酶液混合打浆→果胶酶酶解(50℃,2 h)→过滤混合果汁→杀菌(90℃,15 min)→冷却→糖酸调配(20°Brix)→硫处理(100 mg/L)→添加固定化酵母(或游离酵母)→发酵→测定酒度、糖度→结果分析。

1.5 酵母固定化条件确定 为探讨海藻酸钠载体对酵母的适宜固定化条件,在预备试验的基础上,设海藻酸钠浓度为1.0%、2.0%、3.0%,CaCl₂浓度为4.0%、6.0%、8.0%,进行2因素3水平的随机组合试验,在其他条件完全相同的情况下,制作成固定化凝胶粒子,比较固定化凝胶粒子的机械强度。称取香蕉、菠萝混合果肉900 g 9份,每份加入浓度0.3%的果胶酶和100 ml的水进行打浆,调糖至20%,按表2分别加入由用量为0.01%干酵母及不同浓度的固化剂制成的9个浓度组合固定化酵母,在室温下进行重复发酵5次,每次发酵结束后观察固定化粒子的完好程度并测定果酒的酒精度,以确定果酒酵母最佳的固定化条件。

1.6 固定化酵母发酵特性研究 称取香蕉、菠萝混合果肉900 g 2份,每份加入浓度0.3%的果胶酶和100 ml的水分别进行打浆,调糖至20%,pH值为3.85,分别加入游离酵母和固定酵母,隔1 d测定1次残糖含量,并将固定酵母在相同的发酵条件下重复发酵3次。同时测定pH值与果酒酒精度、残糖、总酸度等指标。

1.7 测定项目与方法 残糖含量:折光法^[3];酒精含量:酒精计法(按GB/T15038-2006测定);总酸:电位滴定法(按GB/T15038-2006测定);pH:pH计法^[3];固定化酵母机械强度的测定:取30个固定化酵母颗粒,用压力计测定使其变形一半时所需的压力^[4]。

2 结果与分析

2.1 酵母最佳固定化条件的确定

2.1.1 载体浓度对凝胶固定化效果的影响。由表1可知,

基金项目 广西教育厅科研项目(200708MS102)。

作者简介 陈智理(1979-),女,广西玉林人,在读硕士,讲师,从事食品科学方面的研究。*通讯作者,博士,教授,硕士生导师。

收稿日期 2009-09-10

固定化粒子的机械强度随着海藻酸钠浓度的增加而显著升高,相比之下, CaCl₂ 溶液浓度的增加对提高固定化凝胶粒子机械强度的效果不明显。在未进行发酵的情况下,适宜的固定化条件为浓度 3.0% 的海藻酸钠和浓度 6.0% 的 CaCl₂。

表 1 载体浓度对固定化凝胶粒子机械强度的影响

Table 1 Effects of carrier concentration on the mechanical strength of immobilized gel particles

试验号 Test no.	海藻酸钠 用量//% Amount of sodium alginate	CaCl ₂ 用 量//% Amount of CaCl ₂	固定化强 度// × 10 ⁵ Pa Immobilized strength
1	1.0	4.0	10.40
2	1.0	6.0	10.80
3	1.0	8.0	10.80
4	2.0	4.0	12.00
5	2.0	6.0	12.80
6	2.0	8.0	13.00
7	3.0	4.0	14.10
8	3.0	6.0	15.00
9	3.0	8.0	14.80

表 2 固定化酵母的完好程度及发酵力

Table 2 Intact degree and fermentation ability

试验号 Test no.	海藻酸钠 用量//% Amount of sodium alginate	CaCl ₂ 用量//% Amount of CaCl ₂	一酵 First fermentation		二酵 Second fermentation		三酵 Third fermentation		四酵 Fourth fermentation		五酵 Fifth fermentation	
			酒精度//% 酒精度//%	完好程度	酒精度//% 酒精度//%	完好程度	酒精度//% 酒精度//%	完好程度	酒精度//% 酒精度//%	完好程度	酒精度//% 酒精度//%	完好程度
1	1.0	4.0	10.6	完好	10.6	完好	10.6	略溶	10.2	破碎	10.4	破碎
2	1.0	6.0	10.9	完好	10.4	完好	11.0	略溶	10.4	破碎	10.2	破碎
3	1.0	8.0	10.7	完好	10.2	完好	11.2	略溶	10.7	破碎	10.6	破碎
4	2.0	4.0	11.4	完好	12.2	完好	11.6	完好	11.6	开裂	11.4	破碎
5	2.0	6.0	11.2	完好	11.4	完好	11.6	完好	11.4	开裂	11.4	破碎
6	2.0	8.0	11.2	完好	11.4	完好	11.4	完好	11.2	开裂	11.2	破碎
7	3.0	4.0	10.7	完好	11.0	完好	11.0	开裂	10.6	开裂	10.4	破碎
8	3.0	6.0	10.7	完好	10.4	完好	11.2	开裂	10.6	开裂	10.6	破碎
9	3.0	8.0	11.2	完好	11.2	完好	11.1	开裂	10.2	开裂	10.6	破碎

酵母的最佳固定化条件为:海藻酸钠浓度 2.0%、CaCl₂ 浓度 4.0%。有报道表明,利用以海藻酸钙为载体的固定化酵母发酵生产猕猴桃酒^[5]、香蕉酒^[6]、杨梅酒^[7]、菠萝酒^[8]的适宜固定化条件为浓度 1.5% ~ 3.0% 的海藻酸钠与浓度 2% ~ 6% 的 CaCl₂, 与该研究结果相似。

2.1.2 发酵过程中固定化酵母强度及发酵力的变化。由表 2 可知,一酵和二酵结束后,9 个浓度组合的固定化粒子都是完好的;但三酵结束后,浓度 1.0% 的海藻酸钙粒子表面凝胶开始溶解,浓度为 3.0% 的海藻酸钙粒子也大部分开始产生裂缝,而浓度为 2.0% 的海藻酸钙粒子只是少量开裂,大部分完好;但四酵结束后,浓度 1.0% 海藻酸钙粒子大规模破碎,浓度为 2.0% 和 3.0% 的海藻酸钙粒子也大部分开始产生裂缝;五酵结束后,9 个浓度组合的固定化粒子全部破碎。而 CaCl₂ 溶液的浓度对固定化粒子的强度亦无太大影响。从产酒率来看,浓度 2.0% 海藻酸钠制成的固定化酵母发酵生产的果酒其酒精度较高,在每一次发酵中,浓度 2.0% 海藻酸钠浓度组合产生的酒精浓度都比其他组合高 0.2% ~ 1.0%。其原因可能是浓度 2.0% 的海藻酸钙凝胶的强度和表面积都比较适合底物和产物的自由扩散,从而生成较高的酒精度。

由于 CaCl₂ 溶液的浓度对固定化酵母的强度及产酒率的影响不大,从成本考虑,采用 4.0% 的浓度为宜。因此确定

继续进行发酵并使残糖量继续下降至 6.5%。这说明由于海藻酸钙凝胶的阻隔,开始糖无法很快被酵母利用,但在发酵后期,糖在海藻酸钙凝胶中扩散速度和在稠厚的香蕉、菠萝汁混合液中的基本相同,同时,由于海藻酸钙凝胶对香蕉、菠萝汁中抑制酵母细胞中酶活性的物质有阻碍作用^[9],故可以将残糖降得更低。

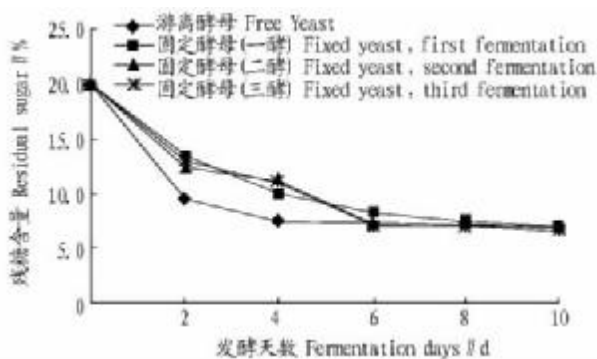


图 1 发酵过程中残糖的变化

Fig. 1 Residual sugar changes in the fermentation process

2.2 固定化酵母的发酵特性

2.2.1 发酵过程中残糖的变化。由图 1 可知,发酵初期游离酵母发酵速度较快,第 2 天就能将残糖浓度降低到 10.0% 以下,但后期游离酵母发酵速度明显降低且无法继续使残糖量降低,而固定化酵母,尤其是重复发酵第 2 次的酵母,仍可

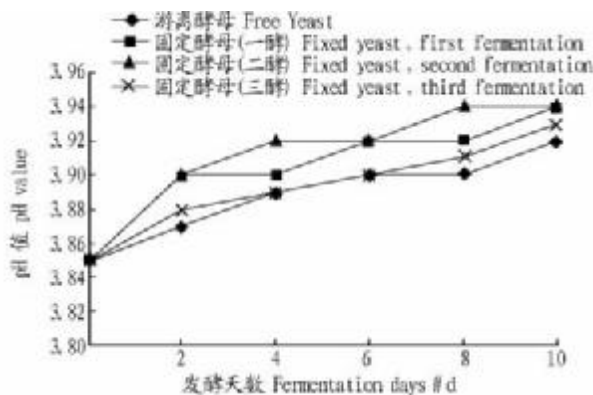


图 2 发酵过程中 pH 值的变化

Fig. 2 Changes of pH value in fermentation process

2.2.2 发酵过程中的 pH 值的变化。固定化酵母在发酵过程中 pH 值的变化情况如图 2 所示。在整个发酵过程中,利用固定化酵母发酵的果酒中的 pH 值都比游离酵母发酵的稍

高,但无论是固定化酵母发酵还是游离酵母发酵,其发酵过程的 pH 值都保持在 3.85~3.94,故利用固定化酵母细胞发酵香蕉、菠萝复合果酒,对发酵过程中发酵液的 pH 值影响不大。

2.2.3 固定化酵母发酵对香蕉菠萝复合果酒品质的影响。在主发酵结束后,对固定化酵母发酵的香蕉菠萝复合果酒的酒精度、残糖、总酸度等指标进行检测,其结果见表 3。

表 3 主发酵结束后香蕉菠萝复合果酒的品质比较

Table 3 Comparison the quality of composite Banana-Pineapple wine after main fermentation finishing

批次 Batch	酵母 Yeast	酒精度//% Alcohol degree	残糖//% Residual sugar	总酸度//% Total acidity	外观 Appear- ance
一酵 First fermentation	固定	10.1	7.0	0.62	澄清
	游离	9.6	7.0	0.67	浑浊
二酵 Second fermentation	固定	10.5	6.5	0.65	澄清
	游离	9.8	7.0	0.69	浑浊
三酵 Third fermentation	固定	10.9	6.8	0.66	澄清
	游离	9.8	7.0	0.70	浑浊

由表 3 可知,固定化酵母发酵可产生更高的酒精度,第 1 次发酵就比游离酵母发酵的产酒率高 0.5%,而且重复利用第 3 次时,固定化酵母可产生 10.9% 的酒精度,比游离酵母的产酒率高 1.1%,这与吴茂玉^[10]报道的采用固定化酵母生产苹果酒的发酵速度快于游离细胞发酵速度的结果相似。其原因可能是酿造果酒的发酵阶段除生成乙醇和 CO₂ 外,也会产生甲酸、乙酸、乳酸、甘油等副产物。这些物质会对酵母菌的生理活性产生一定的毒害作用,从而进一步抑制发酵。固定化酵母由于凝胶的包裹作用,抵御这些发酵抑制物的能力相对强于游离酵母,而且包裹在海藻酸钙凝胶中的酵母细

胞在重复发酵的过程中不断增殖,显示出更强的活性,从而产生较高的酒精度。此外,主发酵结束后,固定化酵母发酵的香蕉菠萝复合果酒的酒体已经完全澄清,但游离酵母发酵的果酒在残糖已经稳定的条件下酒体还比较浑浊,其原因需进一步探讨。

3 结论

(1)利用海藻酸钙凝胶为载体包埋酵母,发酵生产香蕉菠萝复合果酒的最佳酵母固定化条件为浓度 2.0% 海藻酸钠和浓度 4.0% CaCl₂。

(2)采用固定化酵母发酵生产香蕉菠萝复合果酒具有发酵速度快、可连续使用、节约生产成本等优点。

(3)与游离酵母发酵相比,固定化酵母发酵生产香蕉菠萝复合果酒的酒液残糖含量更低,酒精产率更高,酒体澄清更快。

参考文献

- [1] 赵霖. 果酒与健康[J]. 中国酿造,1998(6):36-37.
- [2] 张磊,张焯,侯红萍. 固定化细胞技术的研究进展[J]. 四川食品与发酵,2006,42(1):5-7.
- [3] 王喜萍. 食品分析[M]. 北京:中国农业出版社,2006:58-110.
- [4] 谭峰,易欣欣. 酵母细胞固定化的研究[J]. 北京农学院学报,1996,11(2):45-50.
- [5] 朱建华,钟瑞敏,陈崇贵. 海藻酸铝固定化酵母猕猴桃果酒发酵工艺及酒体澄清研究[J]. 酿酒,2006,33(4):75-77.
- [6] 周世水,丁金国,姚汝华,等. 固定化酿酒酵母发酵香蕉酒的研制[J]. 酿酒,2002,29(3):64-66.
- [7] 刘锋,钟瑞敏,曾庆孝,等. 固定化细胞酿造杨梅果酒的研究[J]. 食品与机械,2005,21(1):7-9.
- [8] 叶日英. 固定化酵母低温发酵菠萝酒研究[J]. 食品科技,2000(2):46-47.
- [9] 余冬生,张海波,马立志,等. 固定化酵母发酵制备菠萝酒[J]. 酿酒科技,2004,122(2):107-109.
- [10] 吴茂玉. 固定化多菌种生产苹果酒和苹果醋的研究[D]. 济南:山东大学,2001:67-69.

(上接第 17049 页)

急处理及后续监测中,全面统计生态环境损害的内容,以便对生态环境损害物理量 and 价值进行全面合理地统计和核算。

参考文献

- [1] 庄敬华. 德国环境损害赔偿法律问题初探[J]. 法学论坛,2005,20(5):55-59.
- [2] 竺效. 反思松花江水污染事故行政处罚的法律尴尬——以生态损害填补责任制为视角[J]. 法学,2007(3):6-15.
- [3] 李光宇,李震宇,黄海. 环境侵权的经济学解读[J]. 税务与经济,2008(6):13-16.
- [4] 刘传江,侯伟丽. 环境经济学[M]. 武汉:武汉大学出版社,2006:25-30.
- [5] 许劲,孙俊贻,罗平. 自然资源价值探讨[J]. 重庆建筑大学学报,2003,25(6):100-103.
- [6] COSTANZA R, D'ARCE R. 全球生态系统服务与自然资本的价值估算

- [J]. 生态学杂志,1999,18(2):70-78.
- [7] 侯瑜,张天柱,温宗国,等. 突发性水污染事故的生态经济损失评估[J]. 环境经济,2006(11):35-38.
- [8] 刘年丰,谢鸿宇,肖波. 生态容量及环境价值损失评价[M]. 北京:化学工业出版社,2005:69-80.
- [9] 赵秋燕. 东昌湖生态系统服务功能价值评估研究[D]. 济南:山东大学,2007.
- [10] 李文华,欧阳志云,赵景柱. 生态系统服务功能研究[M]. 北京:气象出版社,2002:1-33.
- [11] 胡德秀,周孝德,李怀恩. 区域生态环境经济价值评价方法述评[J]. 新疆环境保护,2005,27(3):26-31.
- [12] 吴俊河,葛月兰,吴海涛. 江北水城河湖湖水系生态系统服务功能价值评估研究[J]. 中国水利,2008(3):62-64.
- [13] 欧阳志云,赵同谦,王效科,等. 水生态服务功能分析及其间接价值评价[J]. 生态学报,2004,24(10):2091-2099.