

乳酸菌在苹果酒酿造中的应用

李记明^{1**} 司合云¹ 段辉¹ 徐岩² 王栋²

(张裕集团公司技术中心 烟台 264001)¹ (江南大学生物工程学院 无锡 214036)²

摘要: 乳酸菌用于苹果酒酿造中, 可以触发苹果酸-乳酸发酵, 通过分解苹果酸, 产生乳酸, 并引起其他有机酸的变化而使苹果酒的口感质量得以改善。供试的3个乳酸菌种中, L3由于具有较高的苹果酸分解速率, 发酵的苹果酒感官质量优良而成为苹果酒苹果酸-乳酸发酵的优良菌种。pH、温度、二氧化硫、酒度通过影响乳酸菌的活动而对苹果酸-乳酸发酵产生一定的影响。

关键词: 乳酸菌, 苹果酸-乳酸发酵, 苹果酒, 有机酸

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 05-0081-04

Application of Lactic Acid Bacteria in Apple Winemaking

Li Ji-Ming^{1**} Si He-Yun¹ DUAN Hui¹ XU Yan² WANG Dong²

(Center of Science Technology, Zhangyu Group Company Ltd, Yantai 264001)¹

(College of Bio-engineer Jiangnan University, Wuxi 214036)²

Abstract: Applying the lactic bacteria to apple wine making can start malolactic fermentation. By resolving malate, developing lactic acid and changing other organic acids, improve quality of apple wine. Among 3 bacteria strains, L3 have higher malate resolving rate and better sensory quality of apple wine. pH, fermentation temperature, dioxide sulphur and ethanol content influence malolactic fermentation through affecting lactic bacteria activity.

Key words: Lactic acid bacteria, Malolactic fermentation, Apple wine, Organic acid

苹果酒是除葡萄酒外全球贸易量最大的果酒。但是, 我国苹果酒的, 年产量仅仅有1万吨左右, 与我国年产苹果2,000万吨的苹果大国地位极不相称。因此, 开展苹果酒工艺技术研究, 对于提高苹果酒的加工水平, 进一步使其产业化, 将资源优势转化为经济优势具有重要的意义。

苹果酸是苹果酒中的主要酸类, 大量苹果酸的存在, 造成苹果酒口味尖酸, 口感粗糙, 并使苹果酒存在细菌不稳定的问题。目前, 在国内, 乳酸菌主要用于干红葡萄酒的苹果酸-乳酸发酵(MLF)中, 而在苹果酒中的应用还未见报道。因此, 我们比较了不同乳酸菌在苹果酒中的苹果酸乳酸发酵, 包括降酸效果, 环境因素对乳酸菌发酵的影响等, 以期为这一工艺的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌种: L1, CECT-4727, 酒酒球菌 (*Oenococcus oeni*), 来源于葡萄酒; L2, CECT-4730, 酒酒球菌 (*Oenococcus oeni*), 来源于澳大利亚葡萄酒; L3, CECT-218, 酒

* 国家科技部“十五重大科技专项”(No.2001BA501A0F)

** 联系人 Tel: 0535-6664451 6691291, E-mail: lijm@changyu.com.cn

作者还有: 樊 策² 赵光鳌²

收稿日期: 2003-12-22, 修回日期: 2004-03-18

酒球菌 (*Oenococcus oeni*), 来源于美国红葡萄酒。

1.1.2 试验样品: 按正常工艺生产的干型苹果酒, 采用 50 dm³ 发酵容器, 样品量 50L。

1.2 试验方法

苹果酒有机酸测定采用高压液相色谱法。色谱条件: 色谱柱: ZORBAX-SB-C₁₈, 250 × 4.6 mm, 5 μm, 柱温: 25℃, 流动相: 0.1 mol/L K₂HPO₄, pH 2.5。

苹果酒常规指标的分析方法参照葡萄酒国家标准 (GB/T15038-94) 进行。

2 结果与讨论

2.1 乳酸菌的苹果酸-乳酸发酵作用

2.1.1 不同乳酸菌对苹果酒有机酸的影响: 在苹果酒酒精发酵结束后的酒液环境中, 选择了3种乳酸菌分别进行苹果酸-乳酸发酵, 对各自的发酵速率及其对有机酸的影响进行了比较 (表1)。可以看出, 接种乳酸菌对苹果酒的苹果酸-乳酸发酵有明显的促进作用, 但乳酸菌不同, 分解酸的速率不同, 并最终导致分解酸的能力不同。在供试的3个菌种中, 菌株 L2 和 L3 具有较高的苹果酸-乳酸发酵速率。

表1 不同乳酸菌对苹果酒酸类指标的影响

	L1	L2	L3
苹果酸降解速率 (mg/L·d)	29.75	213.21	228.52
苹果酸乳酸发酵时间 (d)	15	15	15
挥发酸含量 (mg/L)	106.92	101.78	186.06
挥发酸升高值 (mg/L)	25.92	20.78	105.06
总酸 (g/L)	3.48	2.35	2.57
降酸克数 (g/L)	1.57	2.66	2.44
降酸幅度 (%)	31.33	46.91	51.29
pH升高值	0.07	0.26	0.26

在接种乳酸菌进行了苹果酸-乳酸发酵后, 苹果酒的总酸有不同程度的降低, 其中以 L3 降酸幅度最大, L1 最小; 挥发酸均有不同程度的升高, 以 L3 升幅最大, L1 与 L2 接近; 由于酸是构成苹果酒风味的主要成分, 因此, 乳酸菌在完成苹果酸-乳酸发酵的同时, 通过对苹果酒的主要理化指标的影响而对苹果酒的感官质量产生影响, 不同菌种之间有明显的差异。

2.1.2 乳酸菌发酵过程中有机酸的变化: 在乳酸菌进行苹果酸-乳酸发酵过程中, 苹果酸、乳酸是变化最大的两种有机酸。随着发酵时间的变化, 苹果酸浓度有不同程度的降低, 乳酸明显增加, 不同乳酸菌表现的结果不同, 例如, 菌种 L1 的苹果酸降低很少, 乳酸几乎没有增加, 而菌种 L3 两种酸的变化幅度都很大 (图1); 琥珀酸在发酵过程中浓度升高, 在发酵 15 d 后趋于稳定, 这和 Duenas M 的研究结果一致^[2]。奎尼酸在发酵过程中变化不大。结合感官品尝认为, 乳酸菌应用于苹果酒的苹果酸-乳酸发酵, 发酵时间以 9d 较好, 发酵时间过长, 会造成口味寡淡。

比较主要有有机酸在苹果酸乳酸发酵前后的变化可以看出 (表2): 发酵前的苹果酒中, 有机酸以苹果酸为主要酸; 发酵后的酒中, 乳酸则成为主要酸, 可见, 发酵前后琥珀酸在量上有所变化, 但幅度不大。苹乳发酵前后有机酸构成的变化是引起苹果酒口味变化的主要原因之一。

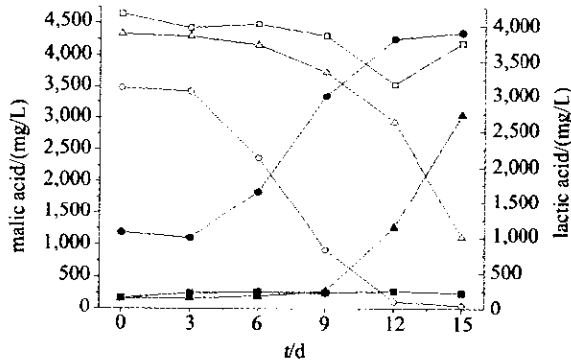


图1 乳酸菌发酵中苹果酸(空心)和乳酸(实心)的变化

□ L1, △ L2, ○ L3

2.1.3 乳酸菌发酵后苹果酒感官质量的变化: 经过苹果酸-乳酸发酵后, 苹果酒的常规指标差别不大, 但总酸、挥发酸差别较大, 其中 L3 最低, L1 最高, 与此相对应, L3 的感官评分最高, 表明其质量最好(表 2, 3)。因此, 在供试的 3 个菌种中, L3 的综合性能最好, 是苹果酒进行苹果酸-乳酸发酵的优良菌种。

表 2 苹果酸-乳酸发酵前后有机酸的变化

有机酸	L1		L2		L3	
	MLF 前	MLF 后	MLF 前	MLF 后	MLF 前	MLF 后
苹果酸	4648.31	4202.09	4332.02	1133.86	4202.09	54.02
乳酸	147.33	227.73	136.12	2733.82	227.73	3906.93
乙酸	79.29	106.92	79.76	101.78	106.92	186.06
奎尼酸	147.19	146.67	133.66	139.70	146.67	144.67
柠檬酸	未检测到	未检测到	未检测到	56.00	未检测到	31.50
富马酸	4.68	7.33	8.65	0.88	7.33	0.26
琥珀酸	83.53	77.09	46.94	77.32	77.09	76.24

表 3 苹果酸-乳酸发酵后苹果酒质量指标

菌种	酒精度 (%)	残糖 (g/L)	总酸 (g/L)	挥发酸 (g/L)	总酚 (mg/L)	单宁 (mg/L)	PH	色度	感官评分
Ck1	11.7	2.22	3.75	036	1422.1	1435.7	3.82	0.072	87.3
L1	11.8	2.3	3.48	1.5	1411.0	1434.9	3.91	0.087	85.31
Ck2	12.0	2.35	3.88	0.38	1305.3	1311.5	3.71	0.071	86.3
L2	12.1	2.32	2.35	0.89	1296.2	1307.7	3.98	0.082	87.65
Ck3	11.4	2.31	3.95	0.30	1313.7	1441.8	3.70	0.044	87.61
L3	11.4	2.27	2.57	0.38	1318.5	1446.8	3.89	0.046	90.01

注: ck1、ck2、ck3 分别为 L1、L2、L3 的对照

2.2 影响苹果酸-乳酸发酵的因素

研究表明, PH、温度、酒度、二氧化硫对乳酸菌的生长发育有重要影响^[1-3]。因此, 我们以 L3 为研究对象, 探讨这些条件对苹果酒苹果酸-乳酸发酵的影响。

2.2.1 pH、温度对苹果酒 MLF 的影响: 较高的 pH 有利于乳酸菌的活动而促进苹果酸-乳酸发酵^[1-3]。本试验中, 酒精发酵结束后苹果酒的 pH 为 3.72, 升高或降低 pH 对苹

果酸-乳酸发酵的速度没有影响。但是,降低 pH 会使挥发酸升幅减少,而升高 pH 则使挥发酸显著升高,由于挥发酸是反映苹果酒质量优劣的指标。因此在该苹果酒的 pH 下不宜通过升高 pH 来促进苹果酸乳酸发酵的进行(表 4)。

温度的高低明显影响苹果酸乳酸发酵的进行,温度升高完成苹果酸-乳酸发酵的时间缩短,18℃的发酵温度较 12℃的发酵温度时间缩短了 16 d,因此要保证苹果酸-乳酸发酵的顺利进行,温度是重要因素。本试验显示,苹果酸乳酸发酵的温度应控制在 16℃-18℃,以避免因发酵时间过长而引起挥发酸的过分升高(表 4)。

表 4 pH、温度、二氧化硫、酒度对苹果酸乳酸发酵的影响

指标	pH			温度 (°C)		SO ₂ (mg/L)			酒度 (%)		
	3.72	3.82	3.62	12	18	对照	10	20	11.5	12.5	13.5
总酸 (g/L)	3.38	3.75	3.75	3.38	3.56	3.38	3.75	3.38	3.38	3.47	3.19
挥发酸 (g/L)	0.72	1.23	0.69	0.72	0.9	0.72	0.96	0.57	0.72	0.72	0.51
发酵天数 (d)	71	71	71	71	55	71	71	71	71	71	71

2.2.2 二氧化硫、酒度对苹果酒 MLF 的影响: 二氧化硫含量特别是游离二氧化硫对苹果酸乳酸发酵有抑制作用^[1]。在本试验条件下,少量增加二氧化硫对苹果酸乳酸发酵的进程影响不明显,但较高的二氧化硫含量可以防止挥发酸的过分升高(表 4)。

苹果酒发酵结束后,在酒精度为 11.5%~13.5% 范围内,提高酒度不会影响苹果酸-乳酸发酵的进程,但会降低挥发酸的增幅(0.51g/L)(表 4)。

3 结论

在苹果酒中接种乳酸菌触发苹果酸-乳酸发酵,使得苹果酒中有机酸的构成发生变化。即苹果酸浓度有不同程度的降低,乳酸明显增加,并成为主要酸。同时乙酸也有较大幅度的升高,其他有机酸变化不大。苹果酸-乳酸发酵使苹果酒的口味有所改善,尖酸、粗燥的口感消失,代之以柔和、协调的味感。但发酵时间过长,会造成口味寡淡,挥发酸味重等不良特点。采用本试验中所提供的 3 个菌种,发酵时间以 9 天左右为宜。

由于苹果酸-乳酸发酵的实质是酶促反应过程,苹果酸乳酸发酵的关键酶是苹果酸乳酸酶。因此,供试的 3 株菌种其发酵能力的差异很可能是其分泌酶的差异,就其发酵能力及对苹果酒的质量影响来看,13 是苹果酒苹果酸-乳酸发酵的优良菌种。

在本试验的 pH 值范围内,调节 pH 对促进苹果酸乳酸发酵的效果不明显,不宜通过升高 pH 来促进苹果酸乳酸发酵的进行。而温度的高低明显影响苹果酸乳酸发酵的进行,温度升高完成苹果酸乳酸发酵的时间明显缩短,但是挥发酸升高,因此,苹果酸乳酸发酵的温度应控制在 16℃~18℃ 之间。二氧化硫特别是游离二氧化硫的含量对苹果酸乳酸发酵有抑制作用,二氧化硫添加量不宜过高。提高酒精度对苹果酸乳酸发酵的抑制作用不明显,适当高的酒度可以防止挥发酸的过分升高。由于挥发酸是苹果酒质量缺陷的指标,因此,苹果酸-乳酸发酵过程中对环境因素的调控应以确保发酵进行而挥发酸不过分升高为限(0.60g/L)。

参考文献

- [1] 李 华. 现代葡萄酒工艺学. 西安: 陕西人民出版社, 2000.
- [2] Duenas M. Microbial. Journal of Food Science, 1994, 59 (5) 1060~1064.
- [3] Salih A G. Journal of the Institute of Brewing, 1990, 96 (6): 389~372.