

香蕉白兰地的发酵工艺研究

袁德保, 郑杰琼, 李芬芳, 谭琳, 李奕星, 陈娇, 郑晓燕, 郑丽丽, 金志强

(中国热带农业科学院海口实验站, 海南省香蕉遗传改良重点实验室, 海南海口 570102)

摘要: 本文研究了AWRi R2酿酒酵母在不同条件下(发酵温度、接种量和初始外观糖度等)对香蕉发酵工艺的影响。结果表明: 该菌种的生物量随着培养温度的升高而有所增加, 其对数生长期为培养时间4~20 h之间。发酵温度对发酵过程影响较大, 当发酵温度为28 °C时, pH值(或总酸含量)的稳定性、糖(总糖或还原糖)的消耗量及产酒精量都要优于其他温度组。接种量为2%时, 产酒量最高。综合考虑糖消耗速率和产酒量, 初始外观糖度为20%时, 发酵效果最好。本研究可为AWRi R2酿酒酵母在香蕉白兰地生产中的应用奠定一定的基础。

关键词: 香蕉; AWRi R2酿酒酵母; 发酵

文章编号: 1673-9078(2013)5-1302-1305

Effect of AWRi R2 Saccharomyces cerevisiae on the Fermentation Process of Banana Brandy

YUAN De-bao, ZHENG Jie-qiong, LI Fen-fang, TAN Lin, LI Yi-xing, CHEN Jiao, ZHENG Xiao-yan, ZHENG Li-li, JIN Zhi-qiang

(Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Hainan Key Laboratory of Banana Genetic Improvement, Haikou 570102, China)

Abstract: In order to explore the role of AWRi R2 saccharomyces cerevisiae in the fermentation process of banana brandy, the effect of technological parameters such as fermentation temperature, inoculum size and initial appearance Brix on indicators related to banana brandy fermentation process, such as pH, total acid, total sugar, reducing sugar, and alcoholicity, were studied. First, the results of the growth curve of AWRi R2 saccharomyces cerevisiae at different temperatures showed that, the biomass of the bacteria increased as the culture temperature rose, and the logarithmic growth phase was about 4~20 h in the whole incubation time. The fermentation temperature had great effect on the fermentation process, i.e., the stability of the pH value (or total acid content), the consumption of sugar and the amount of ethanol production were better than other temperature groups, when the fermentation temperature was 28 °C. When the inoculum size was 2%, the alcoholicity was highest. Taking the sugar consumption rate and the production of alcohol into consideration, the initial appearance of Brix was 20% was best. This study laid a certain foundation for the application of AWRi R2 Saccharomyces cerevisiae in banana brandy fermentation.

Key words: banana; AWRi R2 saccharomyces cerevisiae; fermentation

全世界香蕉有50多个种, 约300多个栽培品种。大致可分: 观赏类香蕉、纤维类香蕉、果蔬类香蕉。果蔬类香蕉又分为香蕉和芭蕉两种。Musa acuminata(A)和Musa balbisiana(B)的多倍体或者杂交多倍体就构成了香蕉和芭蕉家族。香蕉家族包括AAA型(巴西蕉)和AA型(如皇帝蕉)等, 芭蕉家族包括ABB型(东

收稿日期: 2013-01-06

基金项目: 国家自然科学基金(31101328); 中国热带农业科学院院本级基本科研业务费资助(1630052012009)

作者简介: 袁德保(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 从事热带农产品贮藏与加工方面的研究

通讯作者: 李芬芳(1981-), 女, 硕士, 研究实习员, 从事热带农产品贮藏与加工方面的研究

南亚和非洲一些地区人口的粮食蕉)和AAB型(广东等地盛产的大蕉)等^[1]。

香蕉是呼吸跃变型果实, 近年采后损失在30~50%^[2]。此外, 我国香蕉价格常常因多种因素的影响波动较大而使得果农遭受巨大损失。农产品的精深加工具有规避市场、自然灾害的风险、提高产品附加值的作用^[3]。香蕉果肉富含淀粉、蔗糖、葡萄糖、果糖、氨基酸等营养物质, 而淀粉或糖分能发酵产酒精。目前, 已有一些研究报道。徐云升等^[4-5]研究了常温发酵法和酶解发酵法生产香蕉果酒的工艺。赵文红等^[6]考察了葡萄酒酵母和异常汉逊酵母混菌发酵生产香蕉果酒的工艺研究。此外, 以大蕉为原料, 郭晓明等^[7]研究了不同酿酒干酵母对果酒酿造的影响, 得出安琪

酵母和 AWRi R2 酿酒酵母在果酒酿造方面具有一定优势, 并采用响应曲面法优化了工艺参数^[8]。白兰地原意是指以葡萄为原料经过发酵、蒸馏、贮藏、陈酿而成, 目前广义地指一切由水果做成的蒸馏酒^[9]。相比香蕉果酒, 香蕉白兰地可以避其香气不够浓烈和果酒难澄清的问题。

AWRi R2 酿酒酵母是产自澳大利亚控股有限公司 Maurivin 的一株葡萄酒酵母, 因具有良好的发酵性能而被国内的一些葡萄酒厂使用^[10]。目前国内诸多文献也以该菌株进行了系列相关研究^[11-12]。然而截止目前, 尚未见以 AWRi R2 酿酒酵母为出发菌株, 研究其对香蕉白兰地发酵工艺的影响。本文将 AWRi R2 酿酒酵母为出发菌株, 考察不同发酵条件(如发酵温度、表观含糖量、接种量等)对香蕉白兰地的发酵工艺参数的影响。本研究将为 AWRi R2 酿酒酵母在香蕉白兰地中的应用奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

香蕉: 八九成熟, 中国热带农业科学院海口实验站基地采收; AWRi R2 酿酒酵母: Mauri YEAST Australia PTY LTD; 果胶酶: 食品级, 广州品研香料有限公司; 葡萄糖: 分析纯, 广州化学试剂厂; 琼脂: 食品级, 廉江市台兴海洋生物科技有限公司; 蔗糖: 食品级, 海口大润发超市购买。

1.2 仪器与设备

榨汁机, 广州市善友机械设备有限公司; 5L 玻璃发酵罐, 北京西化仪科技有限公司; CSG11-SGB-5L; 生化培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 灭菌锅, 致微仪器有限公司 G154DW; 紫外分光光度计, 岛津仪器有限公司 UV-1800; 旋转浓缩仪, 上海亚荣生化仪器厂 RE-5203; pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司 AL204。

1.3 工艺流程

香蕉→清洗→剥皮→打浆→酶解→冷却→接种→发酵→蒸馏

↑
酵母干菌→活化→扩大培养
↓
测生长曲线

1.4 工艺要点说明

1.4.1 香蕉

香蕉要求无腐烂变质、无变软、无病虫害等现象。

1.4.2 酶解

酶解时果胶酶添加量为 0.01%, 45 °C 酶解 3 h。

1.4.3 菌种活化

将香蕉汁加入液体培养基中, 加入量约为 10%。

1.4.4 接种

酶解原浆的续冷却到室温, 再按一定比例添加活化酵母液。

1.4.5 生长曲线的测定

取斜面酵母菌 1 环, 接种于 100 mL 香蕉汁液体培养基中, 27 °C、静置培养 24 h, 备用。将系列三角瓶装入 10 mL 香蕉汁液体培养基, 分别向三角瓶中接入种子培养液 0.1 mL, 将三角瓶摇匀后分别放入 25 °C、28 °C、32 °C 和 35 °C 培养箱中培养, 每隔 4 h 取出不同培养温度下的三角瓶一只, 测定菌悬液的 OD₆₀₀ 值。

1.4.6 发酵

每日定时取样测定酒精度、还原糖、总糖、总酸、pH 值, 直到还原糖和总糖连续两天不变化即终止发酵。考察接种量的影响时(1%、2%、3%和4%), 发酵温度为 28 °C, 初始外观糖度为 16%; 考察不同发酵温度的影响时(25 °C、28 °C、32 °C和35 °C), 初始外观糖度为 16%, 接种量为 2%; 考察初始外观糖度的影响时(16%、20%、24%和28%), 发酵温度为 28 °C, 接种量为 2%。

1.5 检测方法

酒精度的测量: 采用蒸馏法^[13]; 酸度: 酸碱滴定法^[14]; 还原糖测量: 3,5-二硝基水杨酸比色法^[15]; 总糖的测量: 蒽酮法^[16]。

2 结果与分析

2.1 AWRi R2 酿酒酵母的生长曲线

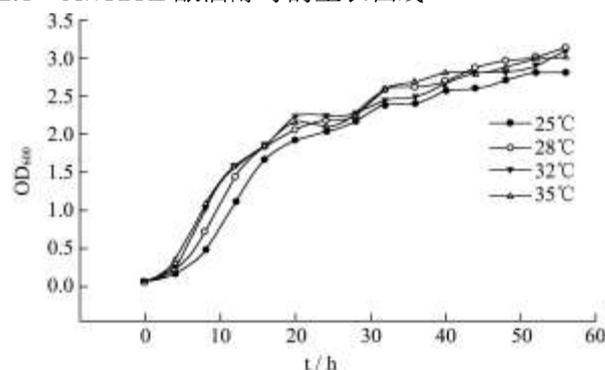


图1 酵母菌 YL01 不同温度下的生长曲线

Fig.1 The growth curves of Yeast YL01 at different temperatures

AWRi R2 酿酒酵母在不同培养温度(25、28、32 和 35 °C)下的生长曲线见图 1。随着发酵温度升高, 其延滞期逐渐缩短。对各培养温度而言, 对数生长期对应的培养时间约为 4-20 h。同一培养时间下, 25 °C 和 28 °C 下的生物量明显要低于 32 °C 和 35 °C。进入

稳定期后（尤其是后期），菌株在 28 °C 时生长最快。在整个培养过程中，该菌种在 25 °C 条件下的生长最缓慢。因对数生长期后期培养液中的酵母菌数量多，且生长旺盛。所以，酿酒酵母的发酵种子选取在 28 °C 条件下培养 20~24 h 的培养液。

2.2 不同接种量对发酵最终酒精度的影响

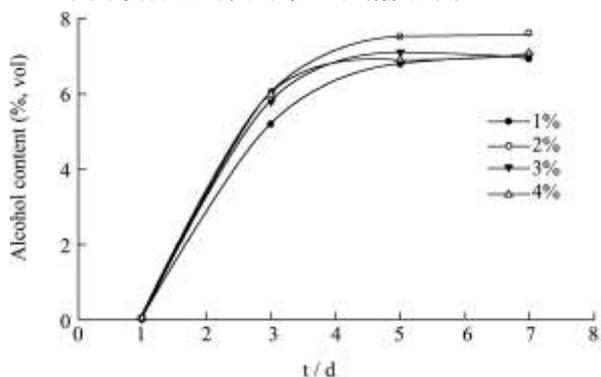


图 2 接种量对酒精度的影响

Fig.2 Effect of inoculation quantity on alcoholicity

从图 2 可看出，随发酵时间的延长，各个处理的酒精含量逐渐增大。其中，接种量为 1% 在发酵期间的酒精度最低。当接种量为 2% 时，发酵 7 d 时的酒精度最高，达到 7.6%。当接种量为 3%、4% 时，发酵前 3 d 酒精生产快，但发酵完成时反而酒精度比 2% 接种量更低。可能是随着酵母接种量的增加，酒醪中产生更多的代谢物，反而影响正常发酵^[17]。因此，AWRi R2 酿酒酵母的最佳接种量为 2%。

2.3 不同发酵温度对发酵过程的影响

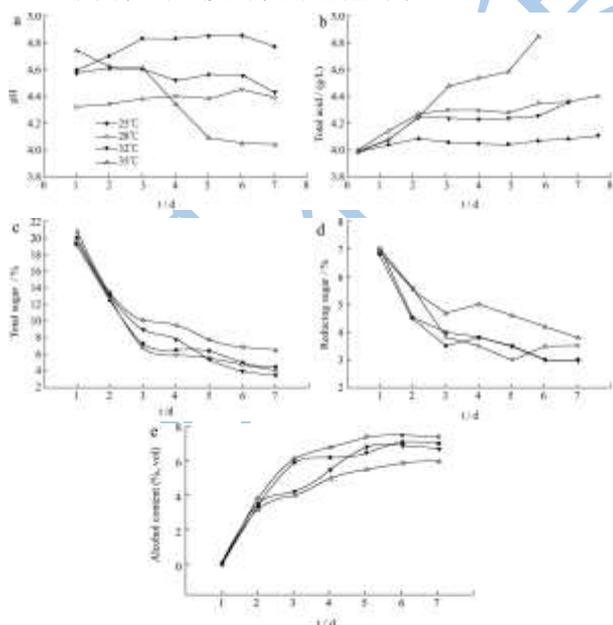


图 3 温度对发酵过程的影响

Fig.3 Effect of temperature on fermentation process

如图 3 a 所示，发酵过程中，发酵温度为 25 °C 和 28 °C 时，对应 pH 值先呈上升，然后渐趋稳定状态（分

别稳定在 4.8 和 4.3 附近）。而发酵温度为 32 °C 和 35 °C 时，pH 值皆呈下降趋势，尤其以 35 °C 时最为明显。图 3 b 指发酵过程中的总酸变化，不易看出，总酸变化趋势与 pH 变化趋势相吻合。

总糖和还原糖的结果见图 3 c 和 3 d。各处理的总糖和还原糖在前 3 d 均急剧降低，然后降低速度变慢，到第 7 d 时，总糖和还原糖含量渐趋稳定。

结合图 3 c、3 d 和 3 e，不难看出，总糖、还原糖在前三天的急剧下降正对应着前三天酒精度的急剧升高，尤其以发酵温度为 25 °C 和 28 °C 时最为明显。随着发酵时间的延长，总糖、还原糖的消耗速率减慢，而乙醇生成量积累速度减慢。从图 3 e 不难看出，发酵温度为 28 °C 时，发酵到第 5 d 时，酒精含量已达到最大，约为 7.5%，而其他温度组的产酒精量均低于该组。其中，最为明显的是，发酵温度为 35 °C 时，其最大酒精含量低于 6%。综上，不易看出，最佳发酵温度为 28 °C，其次为 25 °C。

2.4 不同初始外观糖度对发酵过程的影响

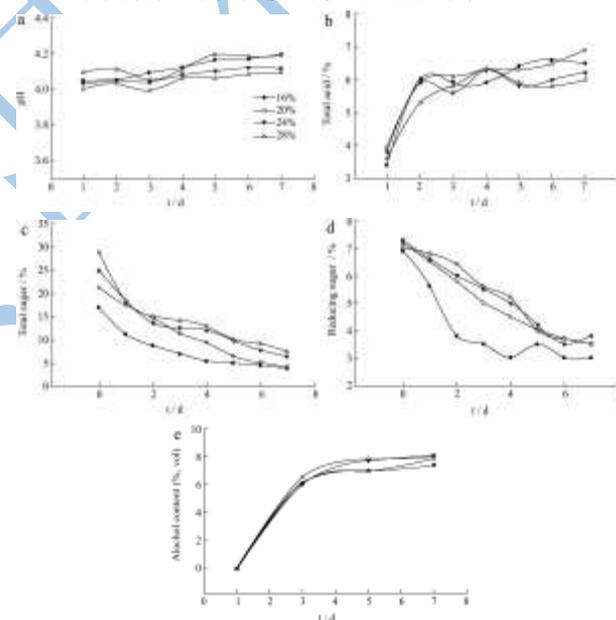


图 4 初始外观糖度对发酵过程的影响

Fig.4 Effect of initial appearance of Brix on fermentation process

由图 4 a 可知，发酵期间各处理 pH 值整体上呈略微上升趋势，pH 值变化幅度较小，范围基本在 4.0~4.2 之间。从图 4 b 可以看出，各处理的总酸含量在整个发酵期间，特别是在发酵第 2 至第 7 d 时，数值较为稳定，该结果基本与 pH 值的变化一致。总糖的变化见图 4 c，各处理在发酵期间的总糖呈逐渐下降趋势。发酵期间总糖变化大致可以分成两个阶段，发酵前两天时，总糖消耗速度较快，两天后，总糖消耗速度有所下降。各处理组间也呈现一定差异，发酵过

程中,总糖含量下降速度如下:16%组<20%组<24%组<28%组。还原糖的变化见图4 d,其变化趋势和总糖变化趋势有较大相似之处,都是呈逐渐下降趋势,但是不同处理间呈现较大差异,特别是16%组和其它组之间,16%组在发酵前两天时,还原糖消耗速度较快,发酵三天以后,还原糖消耗速度变慢。相比之下,20%、24%、28%处理组,发酵前6 d,还原糖消耗速度一直都呈现较快,虽然消耗速率要慢于16%处理组发酵前2 d的消耗速率(从对应的斜率大小可以看出)。图4 e反映的是各处理组在发酵期间的酒精度的变化。可以看出,各处理组在发酵前三天的酒精的产量增加迅速,发酵3 d后,酒精生产速度减慢,酒精含量渐趋稳定。整体上讲,初始外观糖度高的处理组酒精产量要高于其他组,而20%处理组酒精产量最高,这可能是因为,24%处理组和28%处理组时,渗透压大幅提高抑制了酵母对糖的代谢,从而使酒精产量并没有进一步增多^[8]。

3 结论

AWRi R2 酿酒酵母的生长曲线表明,该菌种的生物量随着培养温度的升高而有所增加,其对数生长期为培养时间4~20 h之间。接种量为2%时,产酒量最高。发酵温度对发酵过程影响较大,当发酵温度为28 ℃时,pH值(或总酸含量)的稳定性、糖的消耗量及产酒精量都要优于其他温度组。综合考虑糖消耗速率和产酒量,初始表观糖度为20%时,发酵效果最好。本研究为下一步优化香蕉白兰地的发酵工艺(以AWRi R2 酿酒酵母为出发菌株)奠定了一定基础。

参考文献

[1] 中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1995

- [2] 赵国建,杨公明.香蕉的加工现状及发展对策[J].食品与机械,2005,21:81-82
- [3] 袁德保,李芬芳,郑晓燕,等.香蕉深加工在香蕉产业中的作用、发展现状与趋势及存在问题[J].热带农业科学,2012,32(8):54-57
- [4] 徐云升,宋维春,陈军.常温发酵法生产香蕉酒工艺的研究[J].琼州大学学报,2006,13(2):18-22
- [5] 王天陆,钟秋平,杨颖,等.香蕉果酒酿造工艺研究[J].中国酿造,2010,6:175-177
- [6] 郭晓明,焦艳丽,温海祥,等.不同干酵母对香蕉果酒酿造的影响[J].中国食物与营养,2011,12:32-35
- [7] 郭晓明,温海祥,吕顺,等.响应面法优化香蕉酒的制作工艺[J].现代食品科技,2011,27(11):1382-1386
- [8] 赵文红,任文彬,白卫东,等.香蕉果酒工艺的研究[J].酿酒科技,2008,5:90-94
- [9] 王晓红,王霞.白兰地的蒸馏理论[J].酿酒科技,2001,106:46-47
- [10] 李慧,王惠玲,吴雅琨,等.天然葡萄酒酵母菌种的分离、鉴定和酿造性能评价[J].食品与发酵工业,2010,36(11):14-20
- [11] 彭邴,曾新安.高糖胁迫下低温对酿酒酵母生理特性的影响[J].中国酿造,2011,233(8):122-124
- [12] 彭邴,曾新安.高糖胁迫对生长期酿酒酵母生理代谢的影响[J].现代食品科技,2011,27(4):397-399
- [13] 陆寿鹏.果酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1999
- [14] 北京大学生物化学教研室编.生物化学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1979
- [15] 武平,赵文婧.测定葡萄酒中总糖方法的探讨[J].中国酿造,2011,1:163-165
- [16] 秦含章.葡萄酒分析化学[M].北京:中国工业出版社,1991
- [17] Cheirsilp B, Umsakul K. Processing of banana-based wine product using pectinase and α -amylase [J]. Journal of Food Process Engineering, 2008, 31: 78-90