

# 固定化活性干酵母发酵生产苹果酒工艺及澄清技术研究

李湘利<sup>1</sup>, 刘 静<sup>1</sup>, 胡彦营<sup>1</sup>, 王雪静<sup>2</sup>

(1. 济宁学院生物系, 山东 曲阜 273155; 2. 河北农业大学食品科技学院, 河北 保定 071001)

**摘 要:** 以苹果为原料, 研究了海藻酸钙固定活性干酵母制备干型苹果酒的发酵及下胶澄清工艺技术。结果表明: 苹果破碎时用 0.1% 柠檬酸和 0.1% 异 VC 进行护色, 并添加 0.02% 果胶酶和 0.05% 纤维素酶处理 20min, 接种 0.5% 固定化活性干酵母在 20~25℃ 下发酵至高泡期, 经糖分调整至潜在酒精度 10, 再进行二次发酵, 苹果原酒中添加 0.2g/L 明胶、0.2g/L 皂土和 0.1g/L 壳聚糖澄清 30min, 可得金黄透亮、香气优雅、口感纯净的干型苹果酒。

**关键词:** 海藻酸钙; 固定化; 活性干酵母; 苹果酒; 澄清剂

## Study on Fermentation Production Process of Dry Cider with Immobilized Dried Active Yeast Power and Its Clarification Technology

LI Xiang-li<sup>1</sup>, LIU Jing<sup>1</sup>, HU Yan-ying<sup>1</sup>, WANG Xue-jing<sup>2</sup>

(1. Department of Biology, Jining College, Qufu 273155, China;

2. College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

**Abstract:** Apple juice was fermented by calcium alginate-immobilized dried active yeast power to produce dry cider and clarification technology of the cider was studied. Results showed that the optimal fermentation conditions are as follows: inoculation amount of the calcium alginate-immobilized dried active yeast power 0.5%, fermentation temperature 20~25 °C, and potential alcohol content reaching 10% (V/V) by adding sugars at the stationary phase. Then raw cider is obtained after the second fermentation. After being clarified by 0.2 g/L gelatin, 0.2 g/L bentonite and 0.1 g/L chitosan, the cider product is obtained with the characteristics of light yellow color, transparence, pleasant odor and pure flavor.

**Key words:** calcium alginate; immobilization; dried active yeast power; cider; clarifier

中图分类号: TS262.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)07-0127-03

苹果是营养丰富的大宗果品之一, 含有 10 余种维生素、17 种氨基酸及锌、铁、钙、磷等微量元素, 其种植面积及产量均居水果之首, 供需矛盾日益突出, 严重影响了果农收益。苹果深加工不仅能提高苹果采后增值, 还能满足人们日益增长的消费需要, 发展前景十分广阔。苹果酒是一种新世纪的酒精饮料, 除含有一定浓度的酒精外, 还含有原料多种氨基酸、有机酸、维生素、芳香物质及人体必需的铁、钙等矿物元素。有研究认为, 适当饮用苹果酒, 可以增进食欲、帮助消化、补充营养, 还能防止肥胖症及糖尿病, 有益于人体健康<sup>[1]</sup>。为此, 作者结合多年苹果酒发酵工艺研究经验, 研究了海藻酸钙固定活性干酵母发酵生产苹果酒及复合澄清工艺技术, 旨在为苹果酒的发酵生产提供可借鉴资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

红富士苹果购于山东省曲阜市果品批发市场; 白砂糖(食用级)市售; 柠檬酸(食用级) 江苏无锡市民丰试剂厂; 果胶酶(活性 > 32U/mg) 天津利华酶制剂有限公司; 纤维素酶(活性 > 15U/mg) 上海源聚生物科技有限公司; 安琪酿酒活性干酵母 湖北安琪酵母股份有限公司; 其他测试试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

苹果酒(汁)生产线 靖江食品机械制造公司; 手持折光仪、酸度计、酒精计、电子天平、723 型可见分光光度计。电热恒温水浴锅等。

### 1.3 测定方法

收稿日期: 2007-08-15

作者简介: 李湘利(1979-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为食品发酵与贮运技术。E-mail: lixiangli221@yahoo.com.cn

澄清度：采用可见分光光度计法；糖度：采用手持折光仪法；酸度：采用酸度计测定法；还原糖：采用斐林试剂滴定法；果酒风味：采用感官评定法<sup>[2]</sup>。

#### 1.4 工艺流程及要点

##### 1.4.1 工艺流程

果胶酶、纤维素酶  
↓  
苹果→分选→洗涤→榨汁→成分调整→离心→巴氏杀菌→接种→前发酵→  
补糖  
↓  
二次发酵→倒罐→后发酵→分离酒脚→下胶→澄清→过滤→巴氏杀菌→陈酿→调配→成品

##### 1.4.2 工艺要点

###### 1.4.2.1 苹果汁的制备与成分调整

取新鲜红富士苹果用螺旋榨汁机组榨汁，以0.1%柠檬酸和0.1%异VC进行护色，按果汁量添加0.02%果胶酶和0.05%纤维素酶，静置12~18h<sup>[3]</sup>。为避免杂菌污染可添加80~100mg/L偏重亚硫酸钾<sup>[4]</sup>。取上清液作为发酵醪液，以柠檬酸调整pH3.5~3.8，用白砂糖调整醪液含糖量至15%。

###### 1.4.2.2 固定化活性干酵母得制备与接种发酵

酿酒高活性安琪干酵母用5%蔗糖液(酵母重:糖水重=1:9)于37~40℃活化30min。用热水配制3.0%海藻酸钠经湿热灭菌、冷却至20~25℃，与活化的干酵母混匀后，用微注射器(11#注射针头)滴加至2.0%的CaCl<sub>2</sub>溶液中造粒30min，用无菌水冲洗固定化酵母后，重新以2.0%的CaCl<sub>2</sub>溶液固定24h，并用2.0g Al<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>固定4h，以置换固定化菌种中Ca<sup>2+</sup>，从而提高菌种的发酵性能。最后用无菌水清洗三次，用于发酵正交试验。

###### 1.4.2.3 酒精发酵与下胶澄清

苹果汁经糖酸调整后低温离心、巴氏杀菌、入酒精发酵罐、接种固定化活性干酵母，于20~25℃发酵。在酒体产生大量气泡时，补加5%的蔗糖，继续发酵，当发酵液酒度不再上升时转入后发酵。为提高澄清和脱涩效果，采用明胶、皂土、壳聚糖复合澄清剂进行处理24h后，进行过滤。

## 2 结果与分析

### 2.1 分次补糖对苹果酒质量的影响

由表1可知，加糖方法不同，成品苹果酒风味有很大差别。从不加糖到二次加糖，所得产品的酒精度从5.5%升高到11.0%。将糖度补至20%所得成品酒度增至10%(V/V)以上，其中分次加糖可得酒精含量最高，为11.0%，且成品酒含酸量比一次加糖低0.08%。这可能是因为高糖度(20%)对发酵液中酵母的生长与发酵产生一定的抑制作用，致使有机酸有所累积，偏离酵母作用的最适pH。酵母对未加糖果汁有较高的乙醇转化率，

且护色液中添加的柠檬酸等参与了酵母代谢，故以不加糖所得产品含酸量最低。感官评定结果认为，二次补糖所得产品质量最佳，其口感纯净、微酸爽口，消费人群易接受。

表1 不同补糖方式对成品苹果酒风味的影响

Table 1 Effects of different adding sugar methods on cider sensory quality

加糖方式	不加糖	一次补糖	二次补糖
潜在糖度(%)	10	20	15+5
成品酒度(%, V/V)	5.5	10.2	11.0
成品酸度(以苹果酸计, %)	0.508	0.520	0.512
成品风味	口味淡薄、 酒香弱	口味粗糙、 微酸、略苦	口感纯净、微酸 爽口、略苦

### 2.2 最适发酵条件的选择

固定化活性干酵母发酵苹果酒受多种因素影响，为此本试验选取补糖后苹果汁潜在糖度、发酵温度、固定化活性干酵母接种量及发酵液pH四个因素，采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)进行正交试验，各因素的水平如表2所示。各试验均采用分次补糖工艺，在小型玻璃水封发酵罐中发酵，并对成品苹果酒采用感官评定方法进行综合评价，统计结果如表3所示。由表3可知，所选各发酵因素对

表2 发酵工艺条件试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal test on fermentation technology conditions

水平	因素			
	A 潜在糖度(%)	B 温度(℃)	C 接种量(%)	D pH
1	18	20	0.05	3.2
2	20	22	0.10	3.5
3	22	25	1.15	3.8

表3 苹果酒发酵工艺条件正交试验统计结果

Table 3 Results of orthogonal test on cider fermentation technology conditions

试验号	A 潜在糖度(%)	B 温度(℃)	C 接种量(%)	D pH	评分 结果
1	1	1	1	1	62.3
2	1	2	2	2	71.5
3	1	3	3	3	85.6
4	2	1	2	3	95.7
5	2	2	3	1	82.1
6	2	3	1	2	89.4
7	3	1	3	2	69.8
8	3	2	1	3	64.4
9	3	3	2	1	93.9
K <sub>1</sub>	219.4	227.8	216.1	238.3	
K <sub>2</sub>	267.2	218.0	261.1	230.7	
K <sub>3</sub>	228.1	268.9	237.5	245.7	
k <sub>1</sub>	73.13	75.93	72.03	79.43	
k <sub>2</sub>	89.07	72.67	87.03	76.90	
k <sub>3</sub>	76.03	89.63	79.17	81.90	
R	15.94	16.96	15.00	5.00	

成品苹果酒质量的影响顺序为：发酵温度>潜在糖度>固定化酵母接种量>发酵液 pH，较优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>，即发酵温度 25℃，潜在糖度 20%，固定化酵母接种量 0.1%，发酵液 pH3.8。试验结果表明，活性干酵母经固定化后其作用的最适 pH 有所提高，而最适发酵温度无明显变化。

### 2.3 澄清剂的选择与添加量对苹果酒澄清度的影响

明胶、壳聚糖和皂土可与蛋白质、单宁等结合成沉淀，明胶还能消除苹果酒的苦涩异味，故澄清剂的加入对苹果酒的口感及改善其质量有非常重要的作用<sup>[5]</sup>。不同澄清剂及添加量处理苹果酒原酒实验结果如表 4 所示。

表 4 不同澄清剂及添加量对成品苹果酒质量的影响

Table 4 Effects of different clarifiers and their amounts on cider quality

澄清剂及添加量 (g/L)	酒精度 (%, V/V)	残糖 (g/L)	可滴定酸 (g/L)	蛋白质 (mg/L)	透光率 (%)
皂土(0.5)	10.4 <sup>Cc</sup>	2.20 <sup>Ff</sup>	6.50 <sup>BChc</sup>	15.8 <sup>Ff</sup>	92.3 <sup>Aa</sup>
明胶(0.5)	10.5 <sup>Bb</sup>	2.28 <sup>Ee</sup>	6.58 <sup>Aa</sup>	50.4 <sup>Aa</sup>	84.2 <sup>Ff</sup>
壳聚糖(0.2)	10.6 <sup>Aa</sup>	2.56 <sup>Bb</sup>	6.44 <sup>Dd</sup>	28.6 <sup>Cc</sup>	87.7 <sup>Dd</sup>
皂土(0.25)+明胶(0.25)	10.4 <sup>Cc</sup>	2.25 <sup>EFef</sup>	6.52 <sup>Bb</sup>	18.3 <sup>Dd</sup>	88.4 <sup>Cc</sup>
皂土(0.25)+壳聚糖(0.1)	10.5 <sup>Bb</sup>	2.44 <sup>Cc</sup>	6.48 <sup>Cc</sup>	16.5 <sup>Ee</sup>	90.6 <sup>Bb</sup>
明胶(0.25)+壳聚糖(0.1)	10.5 <sup>Bb</sup>	2.72 <sup>Aa</sup>	6.52 <sup>Bb</sup>	34.2 <sup>Bb</sup>	86.9 <sup>Ee</sup>
皂土(0.2)+明胶(0.2)+ 壳聚糖(0.1)	10.6 <sup>Cc</sup>	2.36 <sup>Dd</sup>	6.46 <sup>CDcd</sup>	15.4 <sup>Ff</sup>	92.5 <sup>Aa</sup>

注：表中大、小写字母分别表示邓肯氏新复极差法测验在 0.01 和 0.05 水平上的差异显著性。

由表 4 可知，澄清剂的添加量对苹果酒质量影响很大，但各种澄清剂对酒精的吸附差异在 0.2% 以内，成品酒可滴定酸含量无显著差异；以复合澄清剂(0.2g/L 皂土+0.2g/L 壳聚糖+0.1g/L 明胶)处理效果最佳，其成品酒蛋白质含量仅为 15.4mg/L，酒精含量较单一皂土处理高 0.2%；0.5g/L 皂土处理原酒也能明显降低酒中蛋白质含量，且酒液透光率达到 92.2% 以上，极显著的高于除复合澄清剂外的其他处理，这可能是由于皂土的强吸附能力造成的。

## 3 讨 论

### 3.1 游离酵母发酵与固定化酵母发酵

固定化酵母既具有发酵产酒精的能力，又易回收、反复使用，能够达到连续应用于发酵的目的，但酵母细胞经过固定化后其催化反应的性质有所改变<sup>[6]</sup>。本实验表现最明显的是固定化酵母发酵苹果汁的最适 pH 有所升高(pH3.8)，催化活性有一定损失，与游离酵母发酵相比，在恒定时间内生产相同酒精度的苹果酒，应适当提高其接种量。该工艺将固定化酵母接种量提升至 0.1%，由于固定化酵母易回收再利用，故生产成本明显低于传统游离酵母发酵。

### 3.2 复合酶制剂在苹果榨汁中的应用

果胶酶和纤维素酶之所以应用于澄清果汁处理，是因为它们能够水解苹果果汁中引起混浊的果胶物质和纤

维素，从而使果汁变成清亮透明，提高了苹果出汁率<sup>[7]</sup>。本研究采用果胶酶和纤维素酶相结合在压榨榨汁时进行酶解，取得了较好效果，明显的提高了出汁率。前人曾经用壳聚糖、果胶酶等对菠萝汁进行澄清实验，但并没有对整个榨汁工艺进行彻底探讨<sup>[8]</sup>。通过对比单一酶解、复合酶解与对照，得出果胶酶的最佳用量为 0.02%，纤维素酶的最佳用量为 0.05%，酶解温度为 25~45℃，酶解时间在 60~100min。在以上最适工艺条件下，所得苹果汁透光率最高，且清汁中总可溶性固形物含量变化不大，出汁率较单一果胶酶处理提高了 5%，酒中果胶和纤维素含量也明显降低。

### 3.3 补糖方式与苹果酒质量的关系

苹果汁含糖量的高低直接影响苹果酒的酒度，通过加糖，可使苹果酒的酒度明显提高，同时增加了成品对外界不良环境的抵抗能力，降低了生产成本<sup>[9]</sup>。但不同的加糖方式和加糖量，会对苹果酒的酒度和风味产生重大影响<sup>[10]</sup>。本实验确定了苹果酒发酵过程中理想的加糖方式为分次加糖，加糖量均为 5%。不同加糖方式和加糖量所制苹果酒的感官品评结果认为，苹果酒的酒度为 10.0%~11.0% 比较适宜。发酵产品的酒度随加糖量的增加而提高，但当发酵醪液补糖后潜在糖度达到 20% 以上时，酵母的增殖与发酵明显受到糖度和酒精度的双重抑制，最终导致发酵迟缓，成品残糖量增加，口感变差。

## 4 结 论

### 4.1 感官指标

色泽：呈金黄色或淡黄色，外观澄清透明，无悬浮物；香气及滋味：具有清晰、幽雅、协调的苹果香与酒香；口味：清新爽口，酒体醇厚，余味幽长；典型性：具有苹果酒的典型风格。

### 4.2 理化指标

总酸(以苹果酸计)：≤ 6.0g/L；酒精度(V/V)：10.0%~11.0%；还原糖(以葡萄糖计)：≤ 4.0g/L；其他：参照 GB/T15037—94 执行。

### 4.3 卫生指标

符合 GB2719 规定。

## 参考文献：

- [1] 陈志周, 张子德, 牟建楼, 等. 苹果酒生产技术研究[J]. 食品科技, 2005 (6): 64-66.
- [2] 王晓茹, 王颖. 苹果酒酿造工艺及高级醇的气相色谱分析[J]. 中国食品学报, 2006(1): 351-356.
- [3] 唐小俊, 池建伟, 张名位, 等. 果胶酶和纤维素酶澄清荔枝提取液研究[J]. 食品工业, 2007(2): 11-14.
- [4] 顾国贤. 酿造酒工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996.
- [5] 丁筑红, 王准生, 谭书明, 等. 壳聚糖、皂土澄清剂对发酵酒澄清作用的研究[J]. 中国酿造, 2005(11): 11-15.
- [6] 党亚丽, 张富新, 田园, 等. 海藻酸钠固定化乳酸菌促熟干酪效果的研究[J]. 食品科学, 2006(9): 159-163.
- [7] 赵志华, 岳田利, 王燕妮, 等. 苹果酒发酵条件优化及模型的建立研究[J]. 食品工业科技, 2007(3): 103-105.
- [8] 郭敏辰, 王瑾, 刘月, 等. 果胶酶生产及其在苹果汁澄清中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2006(12): 134-137.
- [9] 徐贵青, 樊培清, 王泽刚. 安琪果酒酵母用于冰爽苹果酒的试验研究[J]. 酿酒科技, 2006(2): 67-68.
- [10] 马兆瑞, 祝战斌, 张坐省. 不同加糖方式和加糖量对苹果酒风味的影响[J]. 酿酒, 2004(3): 89-91.