

利用葡萄糖氧化酶研制低醇干红葡萄酒

李 艳, 李 静

(河北科技大学生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018)

摘 要: 利用葡萄糖氧化酶制备低醇干红葡萄酒, 可有效地降低潜在酒精度, 把一部分葡萄糖转化成葡萄糖酸。研究发现, 影响葡萄糖氧化酶活力的主要因素有温度、pH、 SO_2 等, 该酶的最大活力表现在加酶后的第 0~24h, 最佳温度 30~40℃, 最佳 pH 4.0~5.0。影响葡萄糖转化的主要工艺条件有酵母加量、酶加量和添加时间、发酵温度、pH 等。酿酒酵母和葡萄糖氧化酶对葡萄糖构成竞争性抑制, 协调好两者的比例才能更好的酿制出优质的低醇干红葡萄酒。经葡萄糖氧化酶处理过的葡萄酒, 其酒精度 7.62% (V/V), pH 降低, 可滴定酸增加, 颜色加深。经过苹果酸乳酸发酵后可降低葡萄酒酸度, 使葡萄酒更成熟, 达到口感协调的效果。

关键词: 低醇干红葡萄酒; 葡萄糖氧化酶; 葡萄糖酸; 发酵

Preparation of Low-alcohol Dry Red Wine by Glucose Oxidase

LI Yan, LI Jing

(College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: This experiment mainly studied the use of glucose oxidase for production of low-alcohol dry red wine. The process reduces potential alcohol by converting a part of glucose to gluconic acid. The key factors affecting activity of glucose oxidase were temperature, pH, SO_2 etc. Maximum glucose oxidase activity was observed during the first 0~24 h of treatment. The optimum temperature is 30~40℃, and the optimum pH is 4.0~5.0. The main fermentation conditions affecting on glucose converting were addition amount of yeast, addition amount and addition time of glucose oxidase, fermentation temperature and pH. Yeast and glucose oxidase as competitive inhibitors of glucose, by coordinating their ratio high quality and low-alcohol dry red wine can be produced. Alcohol of wine treated by glucose oxidase is 7.62% (V/V) with decrease of pH, increase of titratable acidity and color becoming darker. Malolactic fermentation can decrease titratable acidity of the wine, and make wine more mature and its taste more harmonious.

Key words low-alcohol dry red wine; glucose oxidase; gluconic acid; fermentation

中图分类号: TS262.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)02-0172-04

众所周知, 葡萄酒是一种健康型的饮料酒。据报道, 葡萄酒中含有 23 种氨基酸, 多种维生素, 如 VB_1 、 VB_2 、 VB_6 、泛酸、烟酸和生物素等, 还含有一些微量成分, 如白藜芦醇, 具有防癌、抗癌的作用。可见饮葡萄酒有利于身体健康, 但葡萄酒中的酒精, 一般酒精含量为 12% (V/V) 又对健康和安全也造成了一定的隐患。对于驾驶员、青少年、育龄期妇女及不能摄入过多酒精的病人来说葡萄酒的酒精度相对还是偏高。近年来, 国内外研究者对于低醇葡萄酒的研究兴趣逐渐增加。研究开发低酒精度的红葡萄酒有着良好的社会意义和市场空间。本实验对利用葡萄糖氧化酶 (GOX) 水解赤霞珠葡萄汁中的葡萄糖转化为葡萄糖酸, 研制低醇干红葡萄酒进行初步研究。图 1 表明了葡萄糖氧化酶-过氧化氢酶体系的反应机制^[2]。

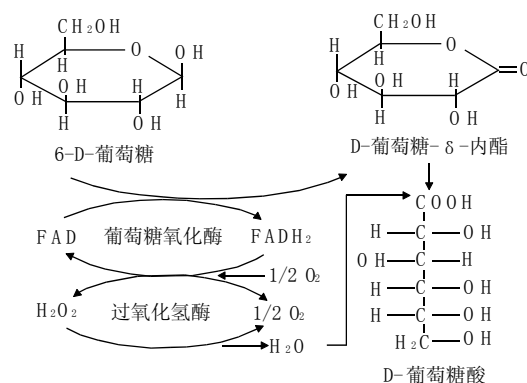


图 1 葡萄糖氧化酶反应机理图

Fig.1 Reaction mechanism of glucose oxidase

1 材料与方法

收稿日期: 2007-01-20

作者简介: 李艳 (1958-), 女, 教授, 研究方向为传统发酵技术创新。E-mail: lymdh5885@163.com

1.1 材料、试剂与仪器

酿酒酵母Laffort公司; 赤霞珠浓缩葡萄汁 本实验室保藏。

葡萄糖氧化酶(活力单位>300U/mg) Sigma公司。

Delta320 pH计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 影响葡萄糖氧化酶活力因素的考察

分别考察了不同pH值和温度对葡萄糖氧化酶活力的影响。

1.2.2 低醇干红葡萄酒工艺的探索

分别对酶用量和酶的添加时间对葡萄汁中葡萄糖转化效率的影响进行了研究。

工艺流程为: 赤霞珠浓缩红葡萄汁→稀释→加入GOX、果胶酶、SO₂ 80mg/L→人工控制发酵→低醇葡萄酒→实验检测→感官品尝及理化指标分析

1.3 分析方法

酒精度、总酸、挥发酸、总SO₂、游离SO₂、浸出物、总糖的测定均以GB/T 15038—1994中的分析方法进行^[3]; 葡萄糖以分光光度法进行检测; 可溶性固形物用手持糖度折光仪; pH值用Delta320 pH计测定。实验用可滴定酸(以酒石酸盐计算, 用TA表示)的增加量来间接测定葡萄糖到葡萄糖酸的转化和酶的效率; 葡萄汁、酒的色泽分析方法参考《酿酒分析与检测》^[8]; 葡萄酒感官评定方法参考《葡萄酒品尝学》^[7]。

2 结果与分析

2.1 影响酶活力的因素

2.1.1 pH对酶活力的影响

浓缩葡萄汁稀释后基本组成是TA 6.2g/L, 糖含量180g/L, 总SO₂ 80mg/L, 果胶酶20mg/L, 酵母250mg/L。开始时加入3mg/L的GOX, 用酒石酸调节pH值到葡萄酒的pH范围内(葡萄汁中所含的酸主要有酒石酸和苹果酸, 用酒石酸调pH不影响葡萄汁的组成), 分别为2.83、3.32、3.79, 实验在28℃下用450ml相同的葡萄汁样品进行, 结果见图2、3。

由图3可知, 在pH为2.83、3.32、3.79的实验中可滴定酸的增长量有明显差异, 表明了葡萄糖转化效率不同。较低的pH值限制葡萄汁中葡萄糖的转化, 是影响转化效率的主要因素。据报道^[10], GOX催化的最适pH在5.0~6.0之间, 该酶在pH4.5~7.0之间稳定。但实验证明GOX在较低的pH环境下仍有相当高的稳定性。由文献^[10]提供的图表数据可推知, 在pH为3(低于葡萄酒pH范围最低点)时, 大约能保留55%的相对GOX活力。酶在酸性条件下活性降低是由于反应速率的降低而不是因为酶的不稳定性, GOX可能在相对不利的条件下(包括极端pH值), 仍能在原有或添加葡萄糖底物中保持稳定^[2]。在葡萄汁的pH值3~5的范围内, 为提

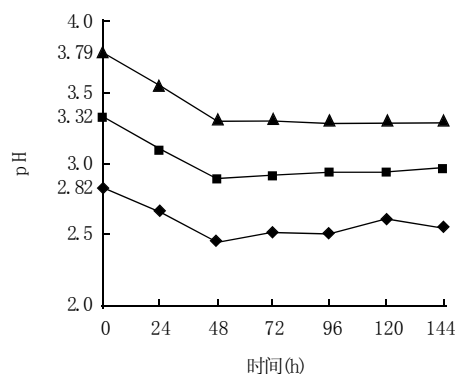


图2 不同pH变化曲线

Fig.2 Different pH changes curves

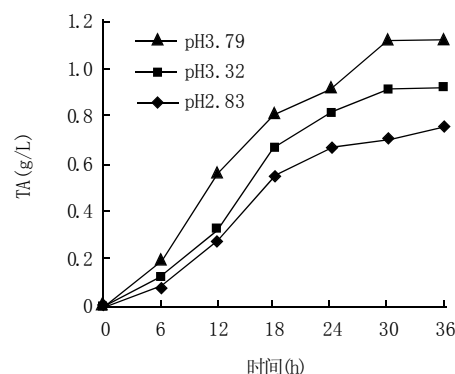


图3 不同pH对酶活力的影响

Fig.3 Effects of different pH values on enzyme activity

高葡萄糖的转化率降低酒精度, 可在发酵以前相应地降酸, 较高的pH条件下利用GOX来保持其较高的活力。

2.1.2 温度对酶活力的影响

调整葡萄汁pH到3.32, 其所含物质主要有: TA 6.2g/L, 糖180g/L, 总SO₂ 80mg/L, 果胶酶20mg/L。酵母250mg/L, 开始时加入3mg/L的GOX。调节温度分别为20、30、40℃下用450ml同样的葡萄汁样品进行实验, 结果见图4。

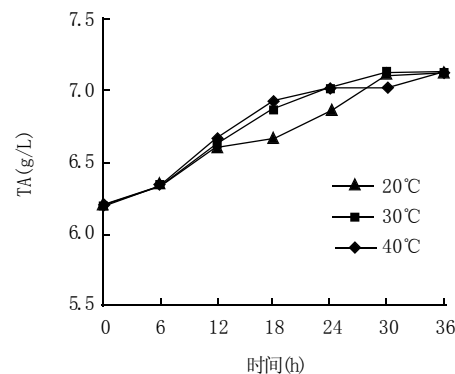


图4 不同温度对酶活力的影响

Fig.4 Effects of different temperatures on enzyme activity

由图4可见, 不同温度下GOX的催化活性没有差别。GOX反应体系含有气体反应物——氧气, 因此,

反应温度的变化意味着反应中底物浓度和氧气浓度平衡的变化。当温度升高时,反应体系中氧的溶解度下降,这将抵消由于温度升高所带来的优势^[11]。低温处理可能由于其抑菌作用和保持葡萄汁质量的作用反而有利于发酵。基于这种结果,为了更好的保留葡萄香气,可以确定在本实验操作条件下尽量控制较低温度。

2.1.3 其他因素对酶活力的影响

SO₂是葡萄酒酿造过程中常用的抗氧化剂和抑菌剂。有报道指出SO₂对葡萄酒中GDX系统的活性有抑制作用,当游离SO₂含量在40mg/L时,酶的速率降低20%^[12]。本实验没有对葡萄汁中SO₂可能存在抑制GDX的作用进行专门研究。然而在预备实验中,不同的SO₂用量对实验结果没有明显影响,可推测对酶活力没有显著影响。

2.2 工艺条件探索

2.2.1 酶的用量

调节葡萄汁的pH到3.67,其所含物质为:糖度180g/L,TA 8.75g/L,总SO₂ 80mg/L,果胶酶20mg/L,酵母250mg/L。起始添加GDX,酶用量分别为1、2、3、4、5mg/L,28℃下,用450ml相同的葡萄汁样品进行实验,结果见图5。

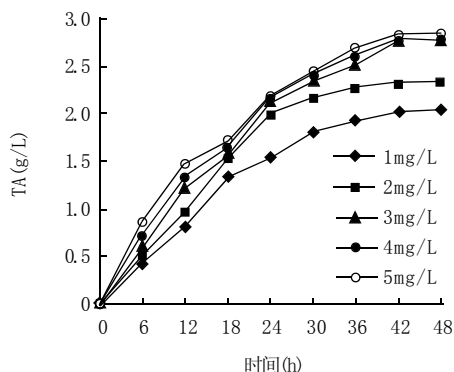


图5 酶用量对葡萄糖转化效率的影响

Fig.5 Effects of enzyme dose on glucose conversion efficiency

图5所示,酶用量的增加使葡萄糖转化速率和转化程度都有增加,但增加趋势逐渐缓慢。若使用高剂量的酶以提高反应速率,从经济角度考虑,在较高速率时,酶的消耗费用过高,综合考虑酒的附加值和酶效率,本实验采用3mg/L的剂量。

2.2.2 酶的添加时间

调节葡萄汁的pH到3.67,其主要组分为:糖180g/L,TA 8.75g/L,总SO₂ 80mg/L,果胶酶20mg/L,酵母250mg/L,GDX 3mg/L。添加时间分别为反应开始后0、12、24h,在28℃用450ml相同的葡萄汁样品进行实验,结果见图6、7。

结果发现,在不同时间添加GDX对葡萄酒的色度和葡萄糖的转化率都有显著的影响,在开始的24h内葡萄糖氧化酶的催化活力达最大值,随后葡萄糖酸的生成速率明显降低。葡萄糖氧化酶和酵母构成葡萄糖的竞争

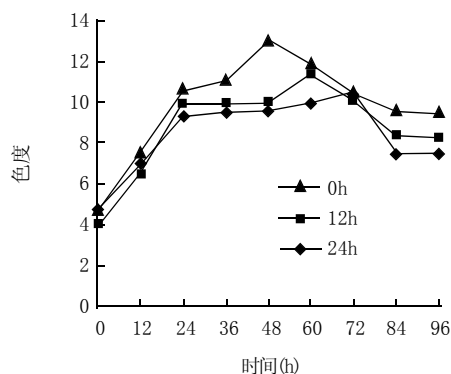


图6 酶添加时间对葡萄酒色度的影响

Fig.6 Effects of addition time on color

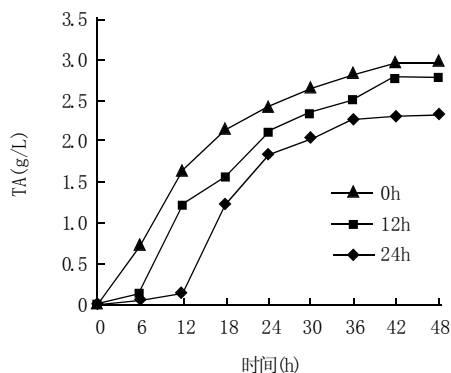


图7 酶添加时间对葡萄糖转化效率的影响

Fig.7 Effects of addition time on glucose conversion efficiency

抑制作用,与酵母菌同时添加GDX时,由于酵母菌接种到新环境需要有一定的适应期。此时,GDX会发挥其最大活力,快速将一部分葡萄糖转化成葡萄糖酸。如果发酵开始后添加GDX,一部分葡萄糖已经被酵母先利用,从而降低了GDX的转化速率。而且,越早添加GDX对葡萄酒颜色的形成越有利。

2.3 优化实验

在上述实验的基础上,对赤霞珠葡萄汁的发酵条件进行了优化实验。实验条件为:糖198g/L,TA 7.47g/L,pH3.80,总SO₂ 80mg/L,果胶酶20mg/L,酵母250mg/L,GDX 3mg/L,发酵初始添加GDX,环境温度28℃。

对经此优化条件处理的葡萄汁中TA、葡萄糖、果糖、葡萄糖酸含量及色度进行了测定和研究,结果见图8~10。从葡萄糖酸和乙醇的产生量可以看出,64%的葡萄糖可被转化。在开始的0~24h内酶的催化活力达最大值,48h后酶的作用基本消失。在用GDX处理其他品种的葡萄汁时,观察到相似的TA增加和pH降低的情形。

对优化条件下所制得的低醇干红葡萄酒,在研究室范围内进行了感官品评,结果见表1。并对该产品进行了理化分析,结果见表2。

表2表明,低醇干红葡萄酒的各项理化指标符合低醇葡萄酒的标准。酿制过程中产生的某些酸,可能会使酒体不协调,但通过苹果酸-乳酸发酵,可降低该酸度,使葡萄酒更成熟,达到口感协调的效果。

表2 低醇干红葡萄酒各项理化指标
Table 2 Physicochemical indexes of low-alcohol dry red wine

检测指标	总糖(g/L)	总酸(g/L)	pH	挥发酸(g/L)	游离SO ₂ (mg/L)	总SO ₂ (mg/L)	酒精度(V/V)	色度
酒样	1.2	8.47	3.34	0.129	26.8	58.4	7.62	8.41

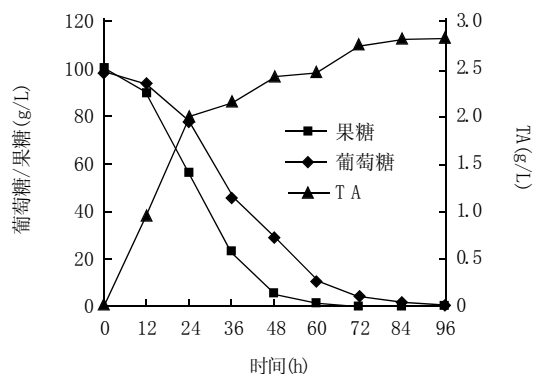


图8 葡萄糖、果糖及TA变化曲线
Fig.8 Curves of TA, glucose, fructose changes

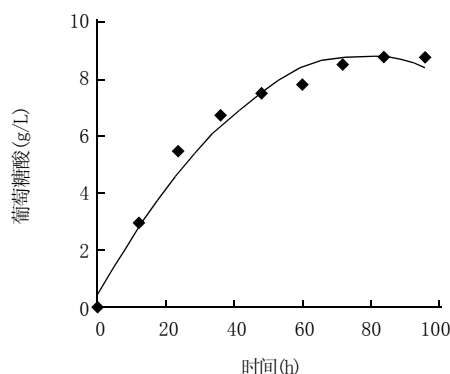


图9 葡萄糖酸变化曲线
Fig.9 Curves of gluconic acid changes

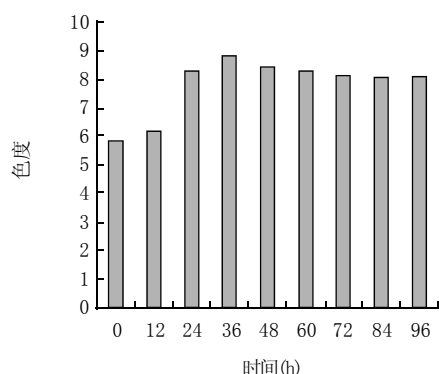


图10 色度变化柱状图
Fig.10 Color changes

3 结论

实验研究发现GOX的添加量和添加时间,以及pH值是影响GOX转化葡萄糖速率和程度的主要因素。温度、SO₂加量等是次要因素。当葡萄的酸度和糖度偏低

表1 低醇干红葡萄酒的感官评价

Table 1 Sensory score of low-alcohol dry red wine

指标	感官评价
色泽	深宝石红色、鲜艳美丽、协调
澄清度	澄清透亮、无明显沉淀物和悬浮物、没有失光现象
香气	具有赤霞珠葡萄的果香和酒香、香气协调纯正、果香浓郁
风味和口味	入口清爽、口感纯净、协调、有余香、无异味、无寡淡感

时,利用GOX水解部分葡萄糖,生产低醇葡萄酒是可行的。我们确立的葡萄糖转化的优化过程为,在发酵初期与酵母一起添加GOX,加量为3mg/L,可发挥葡萄糖氧化酶的最大活力。同时,可在发酵起始时进行搅拌或适当通入空气。利用GOX处理的葡萄汁的方法所酿制的低醇干红葡萄酒色泽鲜亮,成深宝石红色,口感柔和果香浓郁,具有低醇葡萄酒的风格,适合消费者口味,有着广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] 尹卓容. 低醇(无醇)葡萄酒的生产[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2002(6): 50-52.
- [2] 张树政. 酶制剂工业[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 671-692.
- [3] 秦含章. 葡萄酒酿造的科学技术: 第一册[M]. 北京: 全国食品与发酵工业科技情报站, 1989.
- [4] 秦含章. 葡萄酒分析化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [5] 朱宝镛. 葡萄酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989.
- [6] 朱华. 葡萄酒的芳香成分[J]. 酿酒科技, 1996(2): 52-53.
- [7] 李华. 葡萄酒品尝[M]. 北京: 中国青年出版社, 1992.
- [8] 王福荣. 酿酒分析与检测[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [9] GOMEZ E, MARTINEZ A, LAENCINA J. Prevention of oxidative browning during wine storage[J]. Food Research International, 1995, 28(3): 213-217.
- [10] OUGH C S. Further investigations with glucose oxidase-catalase enzyme systems for use with wine[J]. Am J Enol Vitic, 1975, 26(1): 36-41.
- [11] PICKERING G J. The production of reduced-alcohol wine using glucose oxidase[D]. New Zealand: Lincoln University, 1997.
- [12] PICKERING G J. The use of glucose oxidase in winemaking[C]// Proceedings of the 1st EIT Oenology and Viticulture Seminar Series. New Zealand: Eastern Institute of Technology, 2000: 11-21.
- [13] 储炬, 李友荣, 俞俊荣. 葡萄糖氧化酶发酵动力学研究[J]. 华东理工大学学报, 1997(6): 303-309.
- [14] 刘伟, 李剑. 高年发. 低醇葡萄酒的初步研究[J]. 酿酒, 2001(6): 98-101.
- [15] 屈慧鸽. 国外对低醇果酒的研究[J]. 酿酒, 2003(3): 50-53.
- [16] 高玉荣, 王霞. 低醇甜白葡萄酒生产工艺的研究[J]. 酿酒, 2000(5): 81-83.
- [17] 刘志强. 天然低度葡萄酒[J]. 食品工业, 1997(4): 20-21.
- [18] 李磊. 无醇及低醇饮料的研制方法[J]. 酿酒科技, 2005(3): 65-68.