

甲醇和杂醇油在红枣发酵酒中的 变化及其控制研究^{*}

张宝善¹, 陈锦屏¹, 杨 莉², 阎亚岚³

(1 陕西师范大学 食品工程系, 陕西 西安 710062; 2 长安大学 环境工程学院, 陕西 西安 710064;

3 陕西省产品质量监督检验所, 陕西 西安 710054)

[摘 要] 研究了红枣酒发酵过程中甲醇和杂醇油的变化规律及其控制技术。结果表明: 鲜枣和干枣发酵酒中的杂醇油含量相近, 用半焦枣发酵时的杂醇油含量较高; 酶解提汁可促进红枣酒甲醇的生成, 热水提汁可促进杂醇油的生成; 用红枣浓缩汁发酵, 杂醇油含量较在清汁中添加蔗糖和葡萄糖发酵液时低; 用葡萄酒酵母菌发酵红枣汁效果较好, 生成的甲醇和杂醇油少; 主发酵温度越高, 甲醇和杂醇油生成量越多; 陈酿降低了红枣酒中甲醇和杂醇油的含量, 用橡木桶贮酒效果最好。

[关键词] 红枣; 发酵酒; 甲醇; 杂醇油

[中图分类号] S665.109⁺.2; TS262.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2004)04-0024-05

红枣(*Zizyphus jujuba* Mill)系中国的特产果品,因富含营养保健成分而成为国际市场无竞争对象的“补品王”^[1]。近年来,随着国家退耕还林政策的实施,枣树已成为黄河中下游地区的主要生态与经济兼用树种,栽培面积迅速扩大,随之红枣产量也迅速增加,因此,红枣深加工产品的开发迫在眉睫。红枣酒是以红枣为原料,经过发酵生产的一种新型果酒,甲醇和杂醇油(丙醇、异丁醇、戊醇等)是发酵的副产物,其含量高低是评价酒品质量的重要指标之一。甲醇和杂醇油是合成红枣酒香气的主要物质,但由于红枣较葡萄、苹果等水果富含多糖和氨基酸等物质^[2],在发酵过程中易产生过量的甲醇和杂醇油而对人体造成伤害(GB 2757-81《蒸馏酒及配制酒卫生标准》规定甲醇 0.4 g/L,杂醇油 2 g/L)。本研究对红枣酒发酵过程中甲醇和杂醇油的变化规律及控制方法进行分析,以期对红枣酒的工业化大规模生产提供工艺参数和理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要材料

供试红枣为陕西省佳县油枣,2000-10-15 采摘;

发酵菌种为葡萄酒酵母菌(*Saccharomyces ellipsoidicus*)、椭圆啤酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae* var.)、小椭圆啤酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae* var.)、粟酒裂殖酵母菌(*Schizosaccharomyces pombalina*)、K 氏酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae* var.);另有果浆酶(瑞士)和麦芽汁培养基。

1.2 主要仪器

发酵罐(自制);灭菌锅(上海医用核子仪器厂);无菌操作台(苏州苏净集团公司);恒温培养箱(上海安亭科学仪器厂);手持糖量计(上海智理科学仪器有限公司);天平(梅特勒公司);旋转薄膜蒸发器(上海青浦沪西仪器厂);HP3398A 型气相色谱仪(惠普公司);722 分光光度计(上海分析仪器总厂)。

1.3 试验项目及方法

1.3.1 红枣酒发酵^[3] 工艺流程:红枣 清洗 破碎 提汁 糖酸调整 灭菌 添加 SO₂ 接种发酵 主发酵 酒渣分离 后发酵 澄清 调配 巴氏杀菌 包装。操作要点:红枣经挑选剔除霉烂、变质果实后,破碎加 5 倍枣重的水提汁,然后再往果渣中加 3 倍干枣重的水提汁,两次提取的汁合并;测定枣汁含糖量和酸度,用可发酵性糖和柠檬酸调整

* [收稿日期] 2003-05-26

[基金项目] 国家科技攻关计划项目(2000-D095);陕西省科技攻关计划项目(2002K02-G16)

[作者简介] 张宝善(1968-),男,甘肃张掖人,副教授,博士,主要从事食品微生物与发酵研究。E-mail: baoshan2@snnu.edu.cn

糖度至可溶性固形物(SSC) 200 g/kg, 酸度 7 g/L (以硫酸计); 红枣汁于 100 °C 杀菌 15 min, 冷却, 添加 N aH S O₃, 接入体积分数 3% 的酵母菌种, 菌种的活化步骤为: 酵母菌 麦芽汁斜面菌种^{48 h} 麦芽汁三角瓶培养^{24 h} 含 SSC 50 g/kg 红枣汁培养^{24 h} 接种; 主发酵温度 21~ 25 °C, 时间 10 d 左右, 发酵结束后, 分离酒中沉淀物, 换罐将酒盛放于橡木桶中陈酿; 枣酒陈酿约 6 个月后, 澄清、过滤、杀菌、装瓶。

1.3.2 成分测定^[4,5] 可溶性固形物(SSC)的测定

采用手持折光仪法, 还原糖测定采用斐林试剂法, 酒度测定采用酒精比重计法, 甲醇测定采用气相色谱仪法; 杂醇油(异丁醇和戊醇)测定采用气相色谱仪法。

2 结果与分析

2.1 红枣干制程度对枣酒甲醇和杂醇油的影响

分别选用鲜枣、烘干枣(60 °C 热风干制, 含水量 350 g/kg)和半焦枣(80 °C 经过长时间干制, 部分果肉已焦化), 经过提汁后, 加蔗糖接种发酵, 其发酵产物的成分组成见表 1。

表 1 红枣的干制程度对枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 1 Effect of degree of drying Chinese jujube on changes of methanol and fusel oil

红枣 Chinese jujube	发酵前 Before fermentation			发酵后 After fermentation		
	SSC/ (g · kg ⁻¹)	还原糖/ (g · L ⁻¹) Reducing sugar	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/ (mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
鲜枣 Fresh Chinese jujube	200	18.72	11.0	17.22	17.33	236.67
烘干枣 Dried Chinese jujube	200	19.85	11.5	16.54	21.76	237.42
半焦枣 Burning Chinese jujube	200	48.27	6.0	4.56	21.89	178.75

由表 1 可见, 红枣的干制程度对酒的发酵影响较大, 将红枣烘至半焦状态, 会阻止酒精发酵的进行, 表现为发酵不彻底, 酒度比较低。半焦枣、鲜枣和烘干枣中杂醇油异丁醇和戊醇的生成量相差不大, 但从最终发酵程度和单位酒度杂醇油生成量考虑, 半焦枣发酵生成的杂醇油比较高; 鲜枣和烘干枣相

比, 甲醇和杂醇油的变化相差不大。说明用以发酵酒的红枣不宜过度烘制。

2.2 提取方法对枣酒甲醇和杂醇油的影响

采用 3 g/kg 果浆酶和 95 °C 热水提取枣汁, 然后加蔗糖调整糖度, 接种发酵的试验结果见表 2。

表 2 酶解和加热提取红枣汁对枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 2 Effect of Chinese jujube juice extracted by enzyme and hot water on methanol and fusel oil contents

提取方法 Methods	发酵前 Before fermentation			发酵后 After fermentation		
	SSC/ (g · kg ⁻¹)	还原糖/ (g · L ⁻¹) Reducing sugar	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/ (mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
40 °C 酶解提汁 Juice extracted by enzyme at 40	200	82.64	10.0	121.10	17.93	121.41
95 °C 热水提汁 Juice extracted by hot water at 95	200	22.54	10.0	16.66	22.42	270.32

从表 2 可以看出, 酶解提汁可提高发酵汁的还原糖含量, 促进发酵的进行, 但同时使酒中的甲醇含量大大升高。与用热水提取的枣汁相比, 前者的甲醇含量是后者的 7 倍多, 其主要原因可能是红枣中含有大量的果胶质、多糖等, 酶解使这些物质水解, 产生更多的还原糖和甲氧基, 致使枣酒中的甲醇含量增加。据报道^[6], 发酵酒中的甲醇产生与原料来源密切相关, 而与发酵过程关系不大, 这与本研究结果一致。用热水提取的红枣酒中, 异丁醇和戊醇含量远高

于酶解提取的红枣酒, 但其深层机理还有待于进一步研究。

2.3 可发酵性糖对枣酒甲醇和杂醇油的影响

将红枣破碎加 8 倍重量水分, 分 2 次在 95 °C 条件下提汁, 获得 SSC 为 80 g/kg 的红枣清汁, 分别进行如下处理: 80 g/kg 红枣清汁直接接种发酵; 红枣清汁 SSC 真空浓缩至 200 g/kg 后, 接种发酵; 红枣清汁加蔗糖接种发酵; 红枣清汁加葡萄糖接种发酵。其试验结果见表 3。

表 3 可发酵性糖对枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 3 Effect of fermentable sugars on methanol and fusel oil in Chinese jujube wine

处理 Treatment	发酵前 Before fermentation			发酵后 After fermentation		
	SSC/ (g · kg ⁻¹)	还原糖/ (g · L ⁻¹) Reducing sugar	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/ (mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
80 g/kg 清汁 80 g/kg Filtered juice	80	8.25	4.0	16.25	13.75	116.27
浓缩汁 Concentration juice	200	19.85	10.0	16.42	22.42	270.32
清汁+蔗糖 Filtered juice+ sugar	200	159.85	11.3	17.83	25.28	230.44
清汁+葡萄糖 Filtered juice+ glucose	200	90.50	10.0	15.78	13.34	139.90

表 3 表明,虽然发酵枣汁中糖类型不同,浓缩汁中可发酵性糖成分复杂,有单糖、双糖,还有多糖,其中蔗糖是非还原性糖,葡萄糖是还原性糖,但 4 种发酵汁均能彻底发酵,且酒度基本相近,因红枣清汁中可发酵性糖比较少,故酒度较低。4 种处理的甲醇生成量基本相同,说明无论用红枣本身含有的糖发酵,还是添加蔗糖或葡萄糖发酵,糖的种类对甲醇的

产生影响不大。杂醇油(异丁醇和戊醇)随添加糖的种类不同而变化较大,添加蔗糖和葡萄糖发酵产生的杂醇油较多,红枣浓缩汁发酵产生的杂醇油少。

2.4 发酵菌种对枣酒甲醇和杂醇油的影响

将红枣热水提汁,用蔗糖调整 SSC 为 200 g/kg 后,接入不同的酵母菌种,主发酵结束后,测定甲醇和杂醇油含量的变化,结果见表 4。

表 4 酵母菌对红枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 4 Effect of yeast strains on methanol and fusel oil in Chinese jujube wine

菌种 Strains	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/ (mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
葡萄酒酵母菌 <i>S. ellipsoides</i>	12.0	16.42	20.67	225.33
椭圆啤酒酵母菌 <i>S. cerevisiae</i> var	11.5	16.48	26.66	303.32
小椭圆啤酒酵母菌 <i>S. cerevisiae</i> var	11.0	17.22	36.67	240.51
粟酒裂殖酵母菌 <i>S. pombalina</i>	9.5	16.40	36.72	270.12
K 氏酵母菌 <i>S. cerevisiae</i>	10.2	16.44	23.33	280.74

表 4 结果表明,用 5 种酵母菌发酵红枣汁后,红枣酒中甲醇含量变化基本相同;小椭圆啤酒酵母菌和粟酒裂殖酵母菌发酵的红枣酒,其杂醇油异丁醇含量最高,椭圆啤酒酵母菌发酵酒戊醇含量最高,而葡萄酒酵母菌发酵红枣酒的甲醇和杂醇油均最低。

2.5 主发酵温度对枣酒甲醇和杂醇油的影响

主发酵温度是影响红枣酒质量的重要因素之一。将红枣提汁后,用蔗糖调 SSC 至 200 g/kg,接种葡萄酒酵母菌,在不同温度下发酵,结果见表 5。

表 5 主发酵温度对枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 5 Effect of main fermentation temperature on methanol and fusel oil in Chinese jujube wine

温度/ Temperature	主发酵期/d Main fermentation period	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/ (mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
16~20	12	9.8	17.33	20.67	121.54
21~25	10	11.5	20.64	23.66	237.67
26~30	6	11.0	41.51	54.67	384.66

由表 5 可知,随主发酵温度升高,主发酵期缩短,同时红枣酒中的甲醇和杂醇油含量增加。发酵温度升高 10℃,主发酵期缩短 6 d,甲醇含量增加 2 倍多,异丁醇增加 1 倍多,戊醇增加 3 倍多。若单从甲醇和杂醇油的产生角度考虑,主发酵温度应为 16~20℃,但温度过低,会延长主发酵期,且发酵的酒度

也较低。因此,主发酵温度应以 21~25℃ 为宜。

2.6 陈酿容器对枣酒甲醇和杂醇油的影响

红枣酒发酵结束后,过滤除去沉淀物,将酒盛放于不同的容器中,陈酿半年,测定甲醇和杂醇油的变化,试验结果见表 6。

表6 贮酒容器对枣酒中甲醇和杂醇油含量的影响

Table 6 Effect of fermentor for post fermentation on methanol and fusel oil in Chinese jujube wine

容器 Fermentor	酒度/% Alcohol content	甲醇/ (mg · L ⁻¹) Methanol	异丁醇/(mg · L ⁻¹) Isobutyl alcohol	戊醇/ (mg · L ⁻¹) Amyl alcohols
对照(陈酿前)CK (before post fermentation)	12.0	16.48	22.42	270.32
玻璃缸 Glass container	12.5	13.54	20.51	246.67
不锈钢罐 Stainless steel container	12.6	13.98	21.22	236.62
橡木桶 Oak oval	13.0	12.65	20.34	160.00

由表6可知, 红枣酒经过陈酿后, 酒度上升, 与对照相比甲醇和杂醇油都呈下降趋势, 说明陈酿有利于提高红枣酒的质量。橡木桶陈酿酒中的甲醇和杂醇油含量低于其他容器存放的酒, 因此, 橡木桶更有利于红枣酒的陈酿。

3 讨论

红枣原产于中国, 是我国的特产品。有关红枣酒的生产, 国内多见于直接用酒精浸泡红枣, 不经过发酵生产配制酒的报道, 以红枣为原料, 经提汁, 接种发酵生产红枣酒的报道极少。红枣发酵酒的生产完全不同于葡萄、苹果、柑桔等果酒, 首先, 葡萄酒、苹果酒的生产是用新鲜原料, 直接压榨取汁、发酵, 其发酵液的糖度已基本接近于潜在酒度, 而红枣含水量低, 必须加水提取汁液, 生产工序更复杂, 且红枣汁的提取直接影响到酒的质量。其次, 红枣较葡萄、苹果等水果富含营养, 红枣中的含糖量是葡萄的3~4倍, 其经过发酵可转化为高酒度的果酒; 红枣中还含有C-AMP、芦丁等营养、保健价值极高的物质^[2], 这些物质通过酒精发酵后转化、水解, 溶解性提高, 吸收率增大, 使枣的营养价值相对提高。但是, 由于红枣缺乏单宁等多酚类物质, 缺乏葡萄、苹果特

有的浓郁果香, 所以酿造的酒无特色, 酒体滞重, 缺乏酒香^[3]。

果酒中的甲醇含量对果酒的香气和品质有很大影响。但是, 众所周知, 过量甲醇会引起中毒, 造成机体的严重危害。据报道^[7], 果酒的甲醇主要来源于原料, 原料中果胶物质水解, 氨基酸脱氨和发酵原料的霉变均会造成甲醇的大量产生, 本研究也证实了这一点。红枣中含有丰富的果胶质和氨基酸, 用果胶酶提取的红枣汁发酵, 红枣酒中的甲醇含量明显升高。本试验发现, 发酵菌种和发酵温度会引起甲醇的大量产生, 关于这一点还有待进一步研究, 而陈酿会促进甲醇的下降, 用橡木桶盛放尤甚^[8]。

杂醇油因溶解性低, 在果酒中呈油状分布而得名, 主要成分为异丁醇、戊醇类和正丙醇等。杂醇油生成机理有两种: 一种是埃利希机制, 该学说认为蛋白质发酵中水解生成的亮氨酸、异亮氨酸和酪氨酸等是杂醇油的主要前体物; 另一种是合成代谢机制学说, 认为75%的杂醇油来源于糖的代谢^[9]。本试验研究表明, 红枣汁的提取方法、发酵枣汁中添加糖的种类、主发酵温度、酵母菌种、陈酿容器等都会引起杂醇油的变化。因此, 对红枣酒中杂醇油生成的控制, 应从原料和发酵工艺过程等多方面入手。

[参考文献]

- [1] 陈贻金, 陈必芳. 大枣营养成分定量分析[J]. 林业科技通讯, 1991, (3): 25- 27.
- [2] 王 军, 张宝善. 红枣的营养成分及其功能研究概况[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(2): 68- 72.
- [3] 李 华. 现代葡萄酒工艺学[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1995. 20- 250.
- [4] 杨惠芬. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997. 53- 66; 577- 617.
- [5] Soufleros E H, Pissa I. Instrumental analysis of volatile and other compounds of Greek kiwi wine; sensory evaluation and optimization of its composition[J]. Food Chemistry, 2001, 75: 487- 500.
- [6] 黄亚东. 杨梅酒中甲醇形成及其毒性分析[J]. 酿酒科技, 1999, 92(2): 60- 61.
- [7] Polychroniadou E, Kanellaki M. Grape and apple wine volatile fermentation products and possible relation to spoilage[J]. Bioresource Technology, 2003, 87: 337- 339.
- [8] Kourkoutas Y, Koutinas A A. Continuous wine fermentation using a psychrophilic yeast immobilized on apple cuts at different temperatures[J]. Food Microbiology, 2002, 19: 127- 134.

[9] 黄宏慧,周锡生 野生山葡萄酒中杂醇油含量偏高的原因及对策[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2002, (2): 55- 56

Study on change and control of methanol and fusel oil in fermentation process of Chinese Jujube wine

ZHANG Bao-shan¹, CHEN Jin-ping¹, YANG L I², YANG Ya-lan³

(1 Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China;

2 College of Environment Engineering, Chang'an University, Xi'an, Shaanxi 710064, China;

3 Shaanxi Province Institute of Product Quality Supervision and Inspection, Xi'an, Shaanxi 710054, China)

Abstract: The regular change and technologic control of methanol and fusel oil in fermentation process of Chinese jujube wine were studied. The results showed that in comparison of fermentation using fresh Chinese jujube to using dried Chinese jujube, the content of fusel oil in two types of fermentation is similar, but the content of fusel oil is high relatively using dried to burning Chinese jujube. The fermentation using Chinese jujube juice, which extracted by pectolytic enzyme leads to rise in the content of methanol in wine, and using juice, which extracted by hot water leads to rise in content of fusel oil. The content of fusel oil in the fermentation using vacuum concentrated Chinese jujube juice is lower than filtered juice, which adjusted to SSC 20% with sugar or glucose. *S. ellipsoides* strain is suitable for fermentation of Chinese jujube wine, its content of methanol and fusel oil is lower. The higher the temperature, the more methanol and fusel oil was produced. Post fermentation can decrease the content of methanol and fusel oil in wine, and the oak oval is the best container for wine.

Key words: Chinese jujube; fermentation wine; methanol; fusel oil

· 简 讯 ·

2002 年度西北农林科技大学科技论文数、基金论文数名列高等农林牧渔院校第一

据中国科学技术信息研究所日前公布的《2002 年度中国科技论文统计与分析》年度报告, 2002 年度西北农林科技大学以 1 001 篇论文在“2002 年我国高等院校科技论文数前 50 名”排行表中名列第 34 位, 另一位进入该排行表的农林类院校为中国农业大学, 其以 772 篇论文名列第 45 位。在“2002 年农林牧渔高等学校科技论文数前 30 名”排行表中, 我校以 1 001 篇名列第 1, 比名列第 2 位的中国农业大学(772 篇)多 229 篇。在“2002 年我国高等学校基金论文前 50 名”排行表中, 我校以 585 篇名列第 27 位, 在农林牧渔类院校中名列第 1; 进入该排行表的另外 3 家农林类期刊分别是中国农业大学(468 篇, 第 35 名)、南京农业大学(394 篇, 第 40 名)和华中农业大学(317 篇, 第 50 名)。另外, 在“2002 年《SCIE》收录的中国农林牧渔领域论文机构排序”中, 我校以 4 篇名列第 13 位, 前 3 位分别是中国农业大学(26 篇)、浙江大学(22 篇)和中科院南京土壤所(13 篇)。

(温晓平 供稿)