

# 果胶酶对山楂果酒酿造过程中 甲醇及主要杂醇油含量的影响

张文叶, 张磊, 迟雷, 吴庆伟

(郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001)

**摘要:**通过考察加酶时间和果胶酶用量,研究了果胶酶对山楂果酒酿造过程中甲醇及主要杂醇油含量的影响.结果表明:果胶酶对山楂果酒发酵过程中总糖及酒精度的变化没有显著影响;经果胶酶处理发酵的山楂果酒总酸高于未经果胶酶处理的山楂果酒;发酵前未经果胶酶处理的山楂酒样发酵过程中果胶含量呈先降低后稳定的变化趋势,但果胶含量仍在2 g/L以上;发酵前山楂酒样经果胶酶处理后甲醇含量增高,发酵后增加不明显,但其含量是未经果胶酶处理山楂酒样(对照样)的5.7倍,不同时间进行果胶酶处理对主要杂醇油含量影响不明显;发酵前和发酵后添加果胶酶,甲醇含量随着其用量的增加而增加,当其用量大于0.1 g/L时,甲醇含量增加缓慢,发酵后进行添加果胶酶对山楂果酒中主要杂醇油含量影响不显著.

**关键词:**果胶酶;山楂果酒;甲醇;杂醇油

**中图分类号:**TQ925<sup>+</sup>.3;TS262 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.2095-476X.2015.3/4.001

## Effect of pectinase on methyl alcohol and main fusel oil content in the process of Hawthorn fruit wine fermentation

ZHANG Wen-ye, ZHANG Lei, CHI Lei, WU Qing-wei

(College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Through investigating the adding time and dosage of pectinase, the effect of pectinase treatment on methyl alcohol and main fusel oil content was studied. The result suggested that pectinase had no significant influence on the change of total sugar and alcohol content in the process of Hawthorn fruit wine fermentation. The total acid content of the Hawthorn fruit wine with pectinase treatment was higher than that without pectinase treatment. The curve of pectin content in the Hawthorn fruit wine fermentation, which was not treated by pectinase before fermentation, declined firstly and then stabilized above 2 g/L. The methanol content was increasing in the wine with pectinase treatment before fermentation, which was 5.7 times higher than the wine without pectinase treatment (control sample), but changing slightly after fermentation. Different pectinase treatment time had no obvious effect on the main fusel oil content. The methanol content increased with increasing dosage of pectinase adding before or after fermentation, and changed slowly when the dosage was more than 0.1 g/L. Besides, effects of pectinase treatment at different timing on main fusel oil content were not obvious.

收稿日期:2015-03-05

基金项目:河南省科技攻关项目(142102110061)

作者简介:张文叶(1965—),女,河南省辉县市人,郑州轻工业学院教授,主要研究方向为食品生物技术.

**Key words:** pectinase; Hawthorn fruit wine; methyl alcohol; fusel oil

## 0 引言

山楂为蔷薇科植物<sup>[1]</sup>,又名山里红、红果,在我国种植广泛,是药食兼用的特色果品.山楂作为水果鲜食量很少,而传统的山楂加工产品仅有山楂罐头、山楂酱、山楂果脯等,品种少,远不能满足人们对山楂产品的需求<sup>[2]</sup>.

山楂中含有大量的果胶、糖类和氨基酸等物质,以山楂为原料发酵制成山楂果酒既能解决山楂保鲜、贮藏的问题,又能增加产品附加值,带动地区经济发展.果胶酶是应用于果汁、果酒生产中的重要酶制剂之一,它可以有效地提高水果的出汁率,改善果汁的过滤效率,从而澄清、稳定果酒,减少化学澄清剂的用量,缩短加工时间,提高生产效率<sup>[3-5]</sup>.果酒中的甲醇主要由果胶在甲酯酶的作用下水解和甘氨酸转化而成<sup>[6]</sup>,山楂果酒中甲醇含量较高,会对人体造成伤害,食用10 mL以上可损害视神经,导致人失明<sup>[5]</sup>;而果酒中的杂醇油也称高级醇,主要由蛋白质和糖类的代谢产物转化形成<sup>[7]</sup>,它是酒食品工业的副产品<sup>[8]</sup>,其产生决定于酶、含氮物质的添加及发酵和精馏条件<sup>[9]</sup>,它虽然是果酒香味的主要构成物质之一,但含过多的杂醇油除了会对果酒的风味产生不良影响,还会使饮用者口干头痛,长期摄入过量的杂醇油甚至会引起慢性中毒<sup>[10]</sup>.因此,控制山楂果酒发酵过程中甲醇及杂醇油的含量对于确保山楂果酒的品质非常重要.

本文拟对山楂果酒发酵过程中果胶酶对甲醇及主要杂醇油含量的影响进行初步研究,以期对山楂果酒的研究和生产提供工艺参数及理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

材料:新鲜山楂,河南省辉县市上八里村产;甲醇(色谱级),天津市四友精细化学品有限公司产;异丁醇(分析纯)、异戊醇(分析纯)、无水乙醇(色谱级),均由天津市科密欧化学试剂有限公司产;葡萄糖(分析纯),天津市永大化学试剂有限公司产;果胶酶(食品级),宁夏和氏璧生物技术有限公司产;安琪葡萄酒高活性干酵母(食品级),湖北宜昌市安琪酵母股份有限公司产.

仪器:PB303-E型分析天平,上海光正医疗仪器有限公司产;FE20型pH计,梅特勒-托利多仪

器上海有限公司产;DKB-501S型超级恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司产;SHP-250型智能生化培养箱,上海鸿都电子科技有限公司产;7820A型气相色谱仪,美国Agilent公司产.

### 1.2 山楂果酒发酵工艺流程

山楂果酒发酵工艺流程见图1.

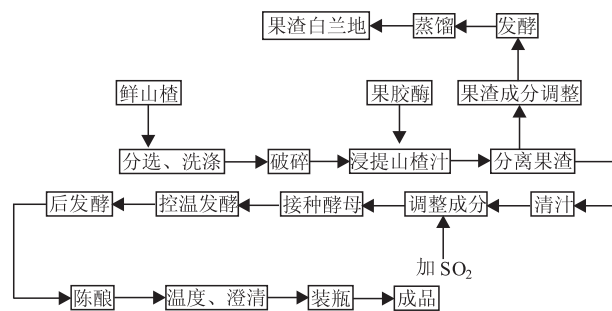


图1 山楂果酒发酵工艺流程

### 1.3 工艺要点

**1.3.1 原料预处理** 山楂:选取色泽鲜艳、个体完整、无损伤的山楂,洗涤、破碎;山楂汁:按料水比( $w/v$ )1:3混合均匀,采用热浸法,在 $(90 \pm 1)^\circ\text{C}$ 浸提10 min,然后自然冷却至 $45^\circ\text{C}$ .

**1.3.2 工艺条件** 果胶酶:用量 $0.1\text{ g/L}$ ,酶解温度 $45^\circ\text{C}$ ,酶解时间2 h;调整成分:用冰糖调整糖至 $150\text{ g/L}$ ,pH值 $2.9 \sim 3.0$ ;加 $\text{SO}_2$ :加入 $30\text{ mg/L}$ 的 $\text{SO}_2$ ;发酵:将活化好的安琪葡萄酒高活性干酵母按接种量 $0.2\text{ g/L}$ 加入处理好的山楂酒样发酵液,并置于 $2.5\text{ L}$ 广口瓶中发酵,温度控制在 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ .当总糖含量降到 $10\text{ g/L}$ 以下时,转至 $4^\circ\text{C}$ 下储存,测定其糖度、酒精度和酸度等指标.

### 1.4 加酶时间、加酶量对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量的影响

分别选择在发酵前和主发酵结束后进行酶处理;果胶酶添加量分别为 $0\text{ g/L}$ , $0.10\text{ g/L}$ , $0.15\text{ g/L}$ , $0.20\text{ g/L}$ , $0.25\text{ g/L}$ , $0.30\text{ g/L}$ , $0.35\text{ g/L}$ , $0.40\text{ g/L}$ , $0.45\text{ g/L}$ , $0.50\text{ g/L}$ ,经酶处理后,定量分析发酵液中甲醇及主要杂醇油的含量.

### 1.5 检测方法与条件

总糖/还原糖测定:斐林试剂法(GB/T 15038—2006);酒精度测定:酒精计比重法;总酸测定:酸碱滴定法(GB/T 12456—2008);果胶测定:NY/T 2016—2011;甲醇及主要杂醇油含量测定:气相色谱法<sup>[11-12]</sup>.

气相色谱条件:色谱柱为 Innowax 柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm);升温程序 45 °C (2 min)  $\xrightarrow{3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  200 °C (5 min);分流比 20:1;进样口温度 200 °C;检测器温度 280 °C;载气 He(纯度 99.999%);配制甲醇、异丁醇和异戊醇混标,浓度范围均在 20 ~ 600 mg/L(决定系数  $R^2$  均在 0.999 以上)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 山楂果酒发酵过程中主要指标变化的分析

在山楂果酒生产中,总糖、总酸、果胶含量是主要考察指标.其中,总糖含量决定了酒精度的高低,果胶含量对酒中的甲醇含量有着关键性影响。

#### 2.1.1 山楂果酒发酵过程中总糖含量及酒精度的变化

山楂果酒发酵过程中总糖含量及酒精度的变化如图 2 所示(实线指总糖含量,虚线指酒精度).由图 2 可知,经果胶酶处理与未经果胶酶处理的酒样总糖含量变化趋势没有显著差异;随着发酵时间的延长,总糖含量逐渐降低,发酵结束后总糖含量均在 9.6 g/L 以下.而酒精度在 0 ~ 8 d 时增加较快,8 d 后缓慢增加,24 d 后趋于稳定,最终酒精度度均在 7% ~ 8% 之间.说明果胶酶对山楂果酒发酵过程中总糖及酒精度的变化没有显著影响。

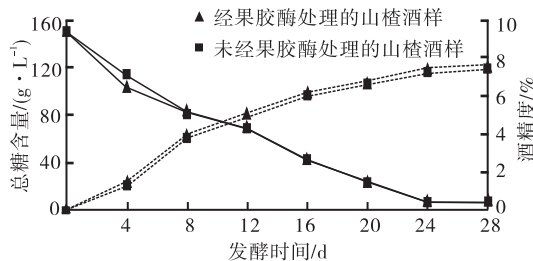


图 2 山楂果酒发酵过程中总糖含量及酒精度的变化

#### 2.1.2 山楂果酒发酵过程中总酸含量的变化

山楂果酒发酵过程中总酸含量的变化如图 3 所示.由图 3 可知,发酵前经果胶酶处理的山楂酒样总酸高于未经果胶酶处理的山楂酒样,这与张志军<sup>[13]</sup>的研究结论相符,即加入果胶酶后可提高发酵液中的含酸量;发酵过程中发酵液总酸含量变化趋势不大,增加平缓;发酵结束后,经果胶酶处理发酵的山楂果酒总酸高于未经果胶酶处理的山楂果酒。

#### 2.1.3 山楂果酒发酵过程中果胶含量的变化

未经果胶酶处理的山楂果酒发酵过程中果胶含量的变化如图 4 所示.由图 4 可知,发酵前未经果胶酶处

理的山楂酒样,从第 4 d 开始果胶含量迅速降低,第 8 d 后变化趋于平缓,但果胶含量仍在 2 g/L 以上,而胡冀太<sup>[14]</sup>的研究结果则是带果肉发酵的酒样中果胶含量逐渐升高,出现峰值后,下降至最低;发酵前加入果胶酶处理的酒样,经国标 NY/T 2016—2011 未检测出果胶,说明果胶分解较彻底。

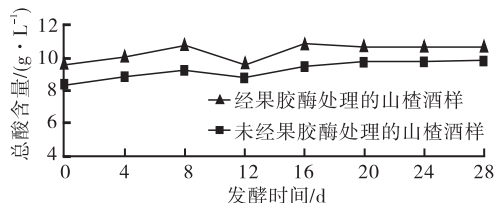


图 3 山楂果酒发酵过程中总酸含量的变化

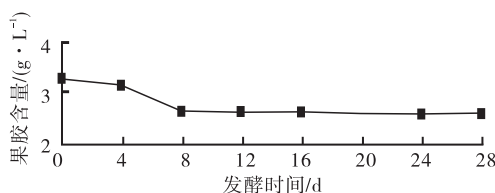


图 4 未经果胶酶处理的山楂果酒发酵过程中果胶含量的变化

### 2.2 山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量变化的分析

#### 2.2.1 加酶时间对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量的影响

加酶时间对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量的影响如表 1 所示.由表 1 可知,山楂酒样发酵前经果胶酶处理后甲醇含量增高,约为 362.35 mg/L,发酵后甲醇含量约为 375.12 mg/L,增加不明显,但其含量是未经果胶酶处理(对对照)的山楂酒样的 5.7 倍;而主要杂醇油发酵前未检测出,发酵结束后主要杂醇油含量约为 192.32 mg/L,比对照样降低 19.00 mg/L 左右.山楂酒样发酵结束后经果胶酶处理,甲醇含量约为 266.33 mg/L,其含量是对照样的 4 倍,比发酵前经酶处理的山楂汁降低 108.79 mg/L;主要杂醇油含量变化不明显.这表明,果胶酶对山楂果酒中甲醇含量具有显著影响,而发酵结束后添加果胶酶甲醇含量比发酵前添加果胶酶的低。

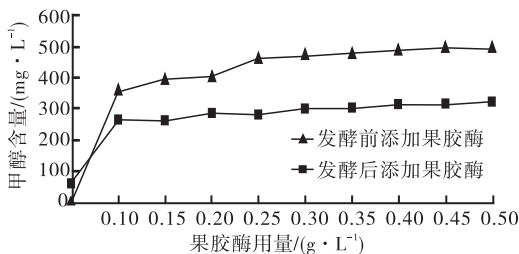
#### 2.2.2 果胶酶用量对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量的影响

果胶酶用量对山楂果酒中甲醇含量及主要杂醇油含量的影响变化如图 5 所示.由图 5a)可知,发酵前和发酵后添加果胶酶,山楂果酒中甲醇含量变化趋势相似,均随着果胶酶用量的增加而增加,当果胶酶用量 > 0.10 g/L 时,甲醇含量增加缓慢.发酵后进行果胶酶处理酿造的山楂果酒中

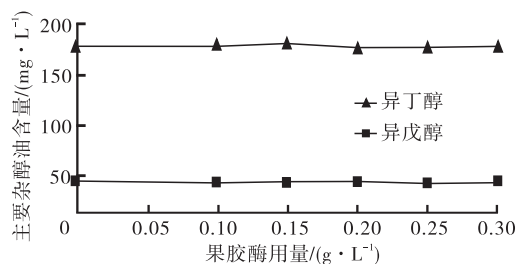
表1 加酶时间对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油含量的影响结果

mg · L<sup>-1</sup>

加酶时间	检测时间	甲醇	异丁醇	异戊醇	主要杂醇油
发酵前	发酵前	362.35 ± 6.60	0.00	0.00	0.00
	发酵后	375.12 ± 10.32	38.73 ± 0.65	153.59 ± 3.06	192.32
发酵后	发酵加酶处理后	266.33 ± 5.12	46.28 ± 1.12	165.66 ± 3.16	211.94
对照样	发酵前	10.88 ± 4.47	0.00	0.00	0.00
	发酵后	65.70 ± 6.86	46.13 ± 1.06	165.62 ± 3.20	211.75



a) 对甲醇含量的影响



b) 对主要杂醇油含量的影响

图5 果胶酶用量对山楂果酒中甲醇含量及主要杂醇油含量的影响变化

的甲醇含量低于发酵前进行果胶酶处理的甲醇含量.由图5b)可知,发酵结束后添加果胶酶,山楂果酒中杂醇油的主要成分异丁醇和异戊醇含量没有显著变化,说明发酵后添加果胶酶对山楂果酒中主要杂醇油含量影响不显著.

### 2.2.3 发酵过程中甲醇及主要杂醇油含量的变化

图6为山楂果酒发酵过程中甲醇含量的变化.由图6可知,经果胶酶处理的酒样发酵过程中甲醇含量在360~375 mg/L内逐渐增加,这与张丽芝<sup>[15]</sup>报道的枣酒中甲醇含量从0开始逐渐增加的变化趋势稍有不同.而未经果胶酶处理的酒样发酵过程中甲醇含量逐渐增加,但最终不超过100 mg/L,这可能是由于加入果胶酶后,酒样中的果胶迅速分解产生甲醇,而发酵过程中果胶不易分解产生甲醇;而未加果胶酶处理的酒样中果胶分解缓慢,由图4还可知,果胶分解的量很较少,即18%左右,所以产生的甲醇含量较少.由图5a)和图6可知,山楂果酒中甲醇含量主要受果胶酶的影响,添加果胶酶后甲醇含

量显著增加;发酵过程中产生的甲醇含量低且变化不明显.

图7为山楂果酒发酵过程中异丁醇含量的变化.由图7可知,两种酒样发酵过程中异丁醇含量均从0开始呈线性关系逐渐增长,二者中异丁醇含量没有显著差异,但在16 d后,对照样中异丁醇的含量开始高于添加果胶酶的酒样,发酵结束后对照样中异丁醇的含量仍高于添加果胶酶的酒样;结合图5b)可知,发酵结束后添加果胶酶对异丁醇含量没有显著影响.

图8为山楂果酒发酵过程中异戊醇含量的变化.由图8可知,两种酒样在发酵过程中异戊醇含量的变化趋势与异丁醇相似,但在20 d后对照样中异

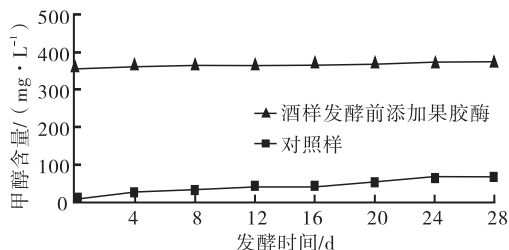


图6 山楂果酒发酵过程中甲醇含量的变化

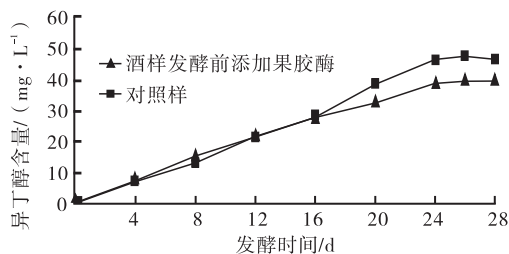


图7 山楂果酒发酵过程中异丁醇含量的变化

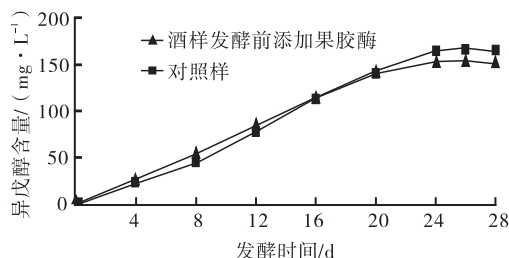


图8 山楂果酒发酵过程中异戊醇含量的变化

戊醇含量开始高于添加果胶酶的酒样,发酵结束后酒样中异戊醇含量仍高于添加果胶酶的酒样;结合图5b)可知,发酵结束后添加果胶酶对异戊醇含量没有显著影响。

### 3 结论

由山楂发酵制成山楂果酒,分析了山楂果酒发酵过程中总糖、酒精度、总酸及果胶含量变化,并以加酶时间和果胶酶用量为考察对象,研究了果胶酶对山楂果酒酿造过程中甲醇及主要杂醇油含量的影响。实验结果表明,果胶酶对山楂果酒发酵过程中总糖及酒精度的变化无显著影响;加入果胶酶可提高山楂果酒发酵液中的含酸量,且发酵过程中总酸含量变化趋势不明显;发酵前未经果胶酶处理的山楂酒样发酵过程中果胶含量先迅速降低,第8 d后趋于平缓,但果胶含量仍在2 g/L以上,发酵前加入果胶酶的酒样未检测出果胶;果胶酶对山楂果酒甲醇含量具有显著影响,而发酵后添加果胶酶的甲醇含量比发酵前添加的含量低;发酵前和发酵后添加果胶酶,甲醇含量随着其用量的增加而增加,当其用量大于0.1 g/L时,甲醇含量增加缓慢,发酵后进行添加果胶酶对山楂果酒中主要杂醇油含量影响不明显。

本文初步研究了果胶酶对山楂果酒中甲醇及主要杂醇油的影响,还需进一步研究酒中杂醇油对酒感官品质的影响及香气成分与杂醇油的关系,才能科学控制山楂果酒的酿造工艺条件。

#### 参考文献:

[1] 万连步,杨力,张民.山楂[M].济南:山东科学技术出版社,2004:1-2.

- [2] 赵玉平,杜连祥.新型山楂汁饮料的研制[J].食品与发酵工业,2003,29(9):98.
- [3] 钦传光,丹·娃伦婷娜,丁诺·狄安娜.果胶酶高产菌种的筛选[J].中国酿造,2000(4):14.
- [4] 侯炳炎,李兰岭.果胶酶的开发与应用[J].天津微生物,1991(3):20.
- [5] 陈亮,刘冉,辛秀兰,等.果胶酶澄清红树莓果酒的研究[J].食品研究与开发,2014,35(7):58.
- [6] 黄亚东.杨梅酒中甲醇形成及其毒性分析[J].酿酒科技,1999(2):60.
- [7] 徐庭超.酒精生产中杂醇油的生成与提取[J].酿酒,1995(6):9.
- [8] Nemestóthy N, Gubicza L, Fehér E, et al. Biotechnological utilisation of fusel oil, a food industry by-product [J]. Food Technology and Biotechnology, 2008, 46(1):44.
- [9] Patil A G, Koolwal S M, Butala H D. Fusel oil: composition, removal, and potential utilization [J]. International Sugar Journal, 2002, 104(1238):51.
- [10] 延鑫.气相色谱法测定地方白酒中乙酸乙酯、杂醇油含量[J].北京联合大学学报:自然科学版,2009,23(3):53.
- [11] 彭松,锁然,霍莉.气相色谱法测定不同酒龄枣酒中甲醇含量[J].食品工业科技,2013,34(12):54.
- [12] 彭松,锁然,霍莉,等.气相色谱法测定枣酒中高级醇含量[J].酿酒科技,2013(9):93.
- [13] 张志军.果胶酶处理对山楂汁提取及理化指标影响的研究[J].天津农业科学,2003,9(4):18.
- [14] 胡冀大.不同工艺及酵母对山楂酒发酵过程及成品酒品质的影响[D].泰安:山东农业大学,2012.
- [15] 张丽芝.发酵枣酒中的甲醇和杂醇油控制[J].酿酒科技,2013(8):36.