

黑加仑干酒酵母菌的研究

孙尤海 李明霞* 毕晓霞 鄂文杰

(黑龙江横道河子果酒厂)

摘要 从几百份样品中分离到 185 株酵母菌,经筛选得到了适用于黑加仑干酒发酵的横酒 1 号菌株。本文重点报道了菌种的分离、筛选与鉴定,测试了菌种的产酒力,耐 SO_2 能力,耐乙醇能力,耐酸力,并用气相色谱法,对比了有关菌株的产酯情况。

关键词 黑加仑干酒发酵;横酒 1 号菌株;鉴定

在果酒生产中,以葡萄酒为例,我国的葡萄酒总产量仅 3 万吨左右,约为全世界总产量的 0.08%。出口量约 2000 吨,约占世界出口量的 0.03%^[1]。我国的果品资源丰富,因此葡萄酒与其他果酒工业是大有前途的,而黑加仑子酿制的果酒比一般的葡萄酒更具特色。

黑加仑子 (Black Currant) 又名黑茶藨子或黑穗醋栗,是虎耳草科 (Saxifragaceae) 茶藨子属的一种小灌木。果实为浆果,穗形似葡萄,黑龙江称之为“黑豆果”又称“黑豆”。

黑加仑子营养丰富,其维生素 C 含量很高,是酿酒、制果汁、制果酱的好材料,具有很高的经济价值。它主要分布在北半球气候寒冷的地区。世界上生产黑加仑子较多的国家为英国,波兰和西德,其他国家如苏联、美国亦有零星栽培。在我国主要分布在黑龙江省,近年来产量

大幅度提高,但多数仍以生产甜酒与果汁为主。我厂用黑加仑子生产甜酒已有很久历史,酒质良好并多次获奖。为了进一步满足我国人民生活水平以及国际市场的需要,我们研究了黑加仑干酒发酵的有关菌种,结果报道如下。

材料与方 法

(一) 菌种

从不同品种的黑加仑子果实,以及不同地区黑加仑子果园土,用 12°Brix 麦芽汁培养基进行菌种分离^[2,3]。麦芽汁 pH 3.8 或加有少量链霉素。于 27℃ 培养 48 小时后,用稀释法分离,或培养 3 天至 1 周后,直接于麦芽汁平皿上划

本工作曾得到秦含章、方心芳教授的支持与关怀,韩者芳同志绘图,特此致谢。

* 工作单位:中国科学院微生物研究所。

线分离,挑取不同类型的菌落,纯化。

所分离菌株与中国科学院微生物研究所的葡萄酒酵母 AS2.374、AS2.612 以及生香酵母 AS2.300、AS2.470、AS2.1182 等进行了对比测试。

(二) 主要性状的测试

1. 产酒力: 将需测试的酵母接入 12° Brix 麦芽汁液体培养基中, 27°C 培养 96 小时后, 经蒸馏, 用酒精比重计测酒精含量, 比较产酒力。

2. 耐 SO₂: 将需测试的酵母接入含 6 种不同浓度 SO₂ 的培养基 (含 SO₂ 1/万—4/万, W/V) 的杜氏发酵管中, 于 27°C 培养 48 小时, 观察发酵情况, 判断其耐 SO₂ 的能力。

3. 耐乙醇: 将需测试的酵母用含 5 种不同浓度乙醇的麦芽汁培养基 (含乙醇 12—20%, W/V) 的杜氏发酵管中, 经接种, 于 27°C 培养 2 天和 7 天, 根据发酵力, 判断其耐乙醇的能力。

4. 耐酸力: 将需测试的酵母接种于含 4 种不同浓度柠檬酸的麦芽汁培养基 (含 1—3.4%, W/V) 的杜氏发酵管中, 于 27°C 培养 2—7 天, 根据发酵力强弱, 判断耐酸力。

5. 产酯: 将测试菌株接入含 5% 葡萄糖的 12° Brix 麦芽汁液体培养基中, 经 96 小时发酵后, 用日本 GC-5A 气相色谱仪分析有关的

酯类。

结果与讨论

(一) 菌种分离与筛选

经过对 100 多份黑加仑子与 100 多份黑加仑果园土壤及车间黑加仑子自然发酵液的分离, 共分到 185 株酵母菌。在初步测试发酵力的基础上, 选择了一株产酒较高的菌株 (编号为横酒 1 号), 将横酒 1 号菌与其他产酒与产酯酵母对比, 结果如下。

1. 酵母产酒力的比较: 6 株酵母经 96 小时发酵后, 所产酒精量以横酒 1 号最高, 产酒达 5.1% (W/V); 另二株葡萄酒酵母较低, 其中

表 1 7 株酵母产酒力的比较

菌株	各菌株产酒量 (%W/V)
横酒 1 号	5.1
横酒 2 号	1.8
AS.2.300	1.5
AS.2.374	3.7
AS.2.470	1.7
AS.2.612	2.0
AS.2.1182	4.5

AS2.612 为 4.5%, AS2.374 为 3.7%。其他产酯酵母如 AS2.300、AS2.470、AS2.1182 虽能生

表 2 6 株酵母耐 SO₂ 的比较

培养基含 SO ₂ 量 W/V	培养时间	发 酵					
		横酒 1 号	横酒 2 号	AS 2.300	AS 2.470	AS 2.1182	AS 2.374
1/万	48小时	+++	+	+	-	-	-
	1周		++	++	+++	+	+
1.5/万	48小时	+++	-	-	-	-	-
	1周		++	+	+	+	-
2/万	48小时	+++	-	-	-	-	-
	1周		+	+	+	+	-
2.5/万	48小时	+++	-	-	-	-	-
	1周		-	-	+	-	-
3/万	48小时	-	-	-	-	-	-
	1周	-	-	-	-	-	-
4/万	48小时	-	-	-	-	-	-
	1周	-	-	-	-	-	-

- 不发酵; + 发酵; ++ 较强发酵; +++ 强发酵

香但产酒力很低, 只达 1.5—2.0%, 结果见表 1。

2. 酵母耐 SO₂ 的比较: 6株酵母在含 1.5/万、2/万、2.5/万、3/万、4/万的不同浓度 SO₂ 的培养基中, 经 48 小时及一周发酵后, 横酒 1 号的耐 SO₂ 能力最高, 在 SO₂ 浓度为 4/万时仍正常发酵, 而 AS2.374 最差。其他几株产酯酵母中以 AS2.470、与 AS2.300 的耐 SO₂ 的能力较强, 其他则较差 (表 2)。

3. 酵母耐酒精的比较: 6株酵母在含 12%、14%、16%、18%、20% (V/V) 的酒精培养基中, 经 48、96 小时发酵后, 横酒 1 号的耐酒精力最强。经 48 小时培养后, 在含 18% 酒精的培养基中仍发酵良好。经 96 小时培养后在含

20% 酒精培养基中发酵也良好, 而其他菌株则较差, 结果见表 3。

4. 酵母耐酸力的比较: 6株酵母在含 1%、1.8%、2.6%、3.4% (W/V) 的不同浓度柠檬酸的培养基中, 经 72 小时及 1 周培养后, 发现横酒 1 号耐酸力最强。在含柠檬酸 1.8% 以下时, 经培养 48 小时后, 发酵很旺盛, 当含柠檬酸 3.4% 时, 培养一周后, 仍能发酵。而 AS2.374 在含酸 2.6% 以上就停止发酵。在产酯酵母中则以 AS2.300 的耐酸力为好, 结果见表 4。

5. 酵母产酯的比较: 酵母菌对乙醇饮料所赋予的香味是由于不同的化合物形成的, 不同化合物有不同的香味阈值^[3], 一般根据嗅觉也能初步判别。经初筛认为 AS2.300 的发酵液香

表 3 6 株酵母耐酒精的比较

培养基含酒精量 (%, V/V)	发酵时间	发 酵					
		横酒 1 号	横酒 2 号	AS 2.300	AS 2.1182	AS 2.470	AS 2.374
12	48小时	+++	+++	++	+++	+++	+
	1周	-	-	+++	-	-	+
14	48小时	+++	+++	+	+++	+++	+
	1周	-	-	+++	-	-	+
16	48小时	+++	+	-	+++	+++	-
	1周	-	++	++	-	-	-
18	48小时	+++	-	-	+++	++	-
	1周	-	+	+	++	++	-
20	48小时	+	-	-	+	-	-
	1周	+++	+	+	+	+	-

- 不发酵; + 发酵; ++ 较强发酵; +++ 强发酵

表 4 6 株酵母耐酸力的比较

培养基含柠檬酸量 (%, W/V)	培养时间	发 酵					
		横酒 1 号	横酒 2 号	AS 2.300	AS 2.1182	AS 2.470	AS 2.374
1	48小时	+++	+	++	+	+	+++
	1周	-	+	++	+	+	-
1.8	48小时	+++	-	-	-	+	+++
	1周	-	+	+	+	+	-
2.6	48小时	+	-	-	-	-	-
	1周	+++	+	+	+	+	-
3.4	48小时	-	-	-	-	-	-
	1周	+	-	-	-	-	-

- 不发酵; + 发酵; ++ 较强发酵; +++ 强发酵

味最浓，又经过对三株酵母的发酵液所进行的气相色谱层析的比较分析，AS 2.300 产酯量较高，其中乙酸乙酯的量达 69.9 mg/100ml (表 5)。可考虑在黑加仑干酒发酵中配合使用 AS 2.300 以增加香味。

(二) 酵母菌的鉴定

根据上述试验可见横酒 1 号在产酒、耐 SO₂、耐酸、耐酒精方面都是比较理想的菌株，同时经过气相色谱分析，证明 AS 2.300 生香较好。因此在对横酒 1 号进行鉴定的同时，也全面测试了 AS 2.300 的各种性状，其生理特征经多次重复基本符合异常汉逊酵母 (*Hansenula anomala*)。

表 5 3 株酵母发酵液的气相色谱分析

产 物	产物含量 (mg/100ml)		
	横酒 2 号	AS 2.1182	AS 2.300
乙酸乙酯	22.7	32.7	19.9
己醇	0.9	1.16	2.3
辛酸乙酯	1.7	1.42	2.1
糖醛	2.4	3.11	4.6
2,3-丁二醇	44	43.4	55.9
癸酸乙酯	29.2	18.3	38.2
庚酸乙酯	13	12.5	27.6

横酒 1 号的鉴定:

1. 形态与培养特征: 在麦芽汁液体培养基中, 经 25℃ 培养 3 天后, 细胞呈短椭圆形, 细胞大小为 (3.1—3.6) × (6—11.5) μm, 培养一月后不形成醭。

在麦芽汁琼脂培养基上, 25℃ 3 天培养后细胞呈长椭圆形, 多边缘芽殖, 细胞大小为 (2.7—3.2) × (5.6—11) μm (图 1-1), 培养 1 月后, 菌落呈奶油色, 表面较光滑。

在克氏 (Kleyn) 生孢子培养基上, 能形成子囊孢子。孢子椭圆形, 不太规则, 大小为 (2.7—3.0) × (3.0—3.4) μm, 每个子囊含 1—3 个子囊孢子 (见图 1-2), 不形成假菌丝。

2. 生理性状: 横酒 1 号能发酵葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖与棉子糖, 不发酵蜜二糖、乳糖 (表 6)。能同化葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖、松三糖、乙醇、甘油、山梨醇、α-甲



图 1 横酒 1 号的细胞形态
上: 营养细胞; 下: 子囊孢子

表 6 酵母对 7 种糖的发酵

糖 类	发 酵	
	横酒 1 号	AS 2.300
葡萄糖	++	+
半乳糖	+++	+
蔗糖	+	+
麦芽糖	+++	-
乳糖	-	-
蜜二糖	-	-
棉子糖	+	+

- 不发酵; + 发酵; ++ 较强发酵; +++ 强发酵

基-葡萄糖苷、乳酸、柠檬酸、不同化所测的其他碳源, 如 L-山梨糖、纤维二糖、乳糖、蜜二糖、菊糖、可溶性淀粉、D-木糖、L-阿拉伯糖、D-阿拉伯糖、D-核糖、L-鼠李糖、赤藓醇、阿东糖醇、卫矛醇、D-甘露醇、水杨甙、琥珀酸、柠檬酸、肌醇。在氮源方面不同化 KNO₃、盐酸乙胺。在无维生素培养基上不生长、在 100 与 1000ppm 放线双酮的培养基中不生长, 不分解脲素与杨梅甙。

根据上述形态与生理特征, 横酒 1 号定名为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。

关于黑加仑干酒的发酵, 由于黑加仑子含糖量较低, 仅为 6—10g/100ml (葡萄糖汁), 利用这样的原料酿制干酒是十分困难的。以往我们虽然与有关单位成功地攻克了工艺上的降酸难关, 但在菌种方面, 未加以研究。因此发酵后残糖高, 风味也达不到干酒应有的效果。本文通过一系列菌种的分离筛选, 又与有关菌种作了对比研究, 得到了适于黑加仑干酒发酵的横

酒 1 号菌株, 从而为黑加仑干酒发酵奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 唐明官, 唐是雯编: 果酒与配制酒生产问答, 轻工业出版社, 北京, 1987。
- [2] Phaff, H.J. et al.: *The Life of Yeasts* (Second Edition), Harvard University Press Cambridge, Massachusetts and London, England, 1978.
- [3] Berry, D.R. 编, 楼纯菊译: 酵母菌生物学, 复旦大学出版社, 上海, 1986。
- [4] Kreger-van Rij N.J.W.: *The Yeasts—A Taxonomic Study* (Third Edition), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1984.
- [5] Lodder, J.: *The Yeasts—A Taxonomic Study* (Second Edition), North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1970.
- [6] 施安辉: 中国酿造, 1: 25—31, 1988。