

人工贵腐葡萄酒的研制(Ⅱ)

——人工贵腐葡萄酒的试酿

金其荣 张继民 朱宝镛

(发酵工程系)

摘要 本文系统地介绍了人工贵腐葡萄酒的试酿情况。实验表明,用固定化灰葡萄孢可以在24h内完成贵腐发酵,固定化菌体性能稳定。加葡萄干提高糖浓度经酵母发酵后能获得良好的干果风味。冷热处理可以促进贵腐酒的陈酿。硅藻土过滤法是试酿酒的适宜澄清方法。快速酿制的人工贵腐葡萄酒可以获得良好的稳定性。

主题词 贵腐葡萄酒; 灰葡萄孢; 固定化菌丝; 促进陈酿

0 前言

本研究第一报(见本刊1990年第1期)已经谈到,葡萄在接近成熟期感染灰葡萄孢以后可以发生贵腐作用,以贵腐葡萄为原料可以酿制贵腐葡萄酒。

但是,灰葡萄孢感染对于葡萄来说,一般是有害的,称为“灰霉病”。只有在感染之后天气晴朗干燥,才能发生有效的贵腐作用。这种天然贵腐作用对气候条件的要求十分苛刻,从而天然贵腐葡萄酒的产量很少,生产贵腐葡萄酒的风险也大。即使是有名的贵腐葡萄酒产区,平均10年中也只有2—3年能获得成功^[1]。因此,贵腐葡萄酒物稀价高,只有富豪贵族才能享用得起,所以又称为“贵府葡萄酒。”

由于天然贵腐葡萄酒的来源有限,为了扩大产量,世界一些国家的酿酒工作者研究过用人工方法来生产贵腐葡萄酒,其中包括贵腐室法^[2]、添加菌体法^[3]、深层发酵法^[4]等,但至今尚未见在工业规模上生产人工贵腐葡萄酒的报道。本文系统地探讨了人工贵腐葡萄酒的有关生产工艺。为了克服贵腐发酵速度慢、周期长和易于感染杂菌等缺点,本研究中采用了固定化菌体快速发酵和半连续发酵等现代生物工程方法。

1 材料与amp;方法

1.1 灰葡萄孢游离细胞发酵

培养基白羽葡萄原汁,连云港1988年产,巴氏杀菌(60℃, 30min)后,于4℃冰箱中贮

藏。汁的糖度(直接折光法测定)为13.8%(W/W), pH值为3.0。

仪器 恒温摇瓶机, 偏心距30mm, 迴转式, 转速140r/min, 山东大学制造。

方法 250ml三角瓶装液80ml, 121℃灭菌15min, 冷至室温后接种灰葡萄孢子2环, 摇瓶培养。发酵条件见讨论部分。

1.2 灰葡萄孢固定细胞发酵

孢子固定方法 采用海藻酸钙包埋法^[5]。

固定化细胞培养条件 采用BC液体培养基(见第一报), 250ml三角瓶装液80ml, 接入固定化孢子凝胶珠, 在20℃下摇瓶, 进行种子培养, 待凝胶珠表面长出约1mm的菌丝, 用无菌纱布滤去培养液, 加入发酵培养基摇瓶发酵。

发酵条件 参考游离细胞发酵试验的结果, 采用温度20℃, 不加SO₂, 不调节糖浓度和酸度, 直接用白羽葡萄汁灭菌后发酵, 250ml瓶装液80ml。在半连续发酵中, 每隔24~48h更换一次发酵液。

1.3 酵母发酵

菌种 葡萄酒酵母1450。

发酵液的制备 灰葡萄孢固定化细胞发酵后, 用无菌纱布滤去菌体, 滤液直接接种酵母发酵, 或加入葡萄干提高糖浓度进行发酵。

发酵方法 500ml三角瓶装液300ml, 用装有K₂S₂O₅溶液的发醇栓封口。加葡萄干时, 每瓶加入葡萄干150g, 接种后在15℃下发酵。

1.4 促进陈酿试验方法

当酵母发酵结束后, 为了终止发酵, 在滤除葡萄干残渣后, 将原酒转入4℃冰箱中, 7d后用虹吸法换瓶一次除去酒脚, 继续在冰箱中放置15d后, 进行下述促进陈酿的试验:

(1) 冷处理 在-6℃温度下放置10d。

(2) 分别在45℃、50℃、55℃温度下放置3d。

1.5 分析方法

常规分析还原糖、总酸采用QB921—84的方法, 发酵液残糖量用WYT—4型手持折光仪直接测定。pH用精密试纸测定。菌体量的测定采用离心法脱水, 再称量湿菌体。

甘油含量测定 参照筱原隆等的方法^[6]。

有机酸的纸色谱分析 用3°新华层析滤纸, 展开剂用CH₃CH₂CH₂CH₂OH:88%HCOOH:H₂O=10:3:3, 上行法展开约4d。显色剂用pH10的0.2%(W/V)C₂₁H₁₄O₅Br₄S绿溶液。

酒的稳定性预测 参照郭其昌介绍的方法^[11], 即分别在55℃、-6℃温度下和加入1.5% H₂O₂后处理观察7d。考察清浑度和色度等情况。

2 结果与讨论

2.1 灰葡萄孢游离细胞的发酵条件

从预实验的结果看, BC2菌株的生长力强, 产生贵腐香味较浓, 因此下述发酵试验均用BC2作为菌种。

2.1.1 温度的影响 据文献报道, 灰葡萄孢的适宜生长温度在20℃左右^[7], 因此本发酵试验考虑在15—25℃之间进行, 摇瓶发酵3d的结果见表1。

表1 温度对灰葡萄孢发酵的影响

| 温度 (°C) | 糖浓度 (%) | | pH | | 滴定酸度 (g/l) | | 菌体量 (g/80ml) | 香味 |
|------------|---------|------|-----|-----|------------|------|-----------------|----|
| | 初 | 终 | 初 | 终 | 初 | 终 | | |
| 15 | 13.8 | 13.7 | 3.0 | 3.0 | 7.83 | 7.80 | 1.8 | + |
| 20 | 13.8 | 13.4 | 3.0 | 3.2 | 7.83 | 7.71 | 4.0 | ++ |
| 25 | 13.8 | 13.5 | 3.0 | 3.0 | 7.83 | 7.76 | 3.1 | + |

注：滴定酸度以酒石酸计

从表1可知，采用20℃发酵时，酸和糖的消耗最多，菌体生成量也多，香味较浓，说明灰葡萄孢发酵采用20℃的温度是适宜的。虽然有文献报道这种发酵在15℃最好^[4]，但本实验中15℃的发酵长菌不良，效果较差。灰葡萄孢的降酸作用对葡萄酒的口味和酒石酸盐稳定性都有良好影响。经过对比品尝也发现，经葡萄孢发酵后的葡萄汁，酸味轻，而且柔和得多。

2.1.2 pH的影响 在温度试验基础上，采用适宜温度20℃发酵，初pH用K₂CO₃饱和溶液调节，其余试验条件与温度试验相同。发酵3d后的分析结果见表2。如表所示，初pH值在3.0(即不加碱调节)时，滴定酸度下降较多，而其它指标与初pH3.5及4.0相差不大。从工业应用考虑，不加碱调节是最为方便的。

表2 初pH对灰葡萄孢发酵的影响

| 初 pH | 糖含量 (%) | | pH | 滴定酸度 (g/l) | | 菌体量 (g/80ml) | 香味 |
|------|---------|------|-----|------------|------|-----------------|----|
| | 初 | 终 | 终 | 初 | 终 | | |
| 3.0 | 13.8 | 13.7 | 3.2 | 7.83 | 7.70 | 3.9 | ++ |
| 3.5 | 13.8 | 13.6 | 3.5 | 5.61 | 5.50 | 4.1 | ++ |
| 4.0 | 13.8 | 13.6 | 4.0 | 3.97 | 3.90 | 4.0 | + |
| 4.5 | 13.8 | 13.6 | 4.5 | 2.88 | 2.87 | 3.2 | - |
| 5.0 | 13.8 | 13.7 | 5.0 | 2.12 | 2.12 | 3.1 | - |

注：滴定酸度以酒石酸计

2.1.3 SO₂浓度的影响 在前述试验的基础上，采用温度20℃，初pH3.0，加入不同量的K₂S₂O₅进行耐SO₂浓度的试验。考虑到SO₂可能抑制孢子的发芽，故接种物采用已摇瓶培养16d的菌悬液，每瓶接入10ml，发酵3d的实验结果如表3所示。试验结果说明，K₂S₂O₅浓度达100mg/l(相当于SO₂50mg/l)时，灰葡萄孢已不能生长，而50mg/l的K₂S₂O₅已有轻微的抑制作用。因此，常规白葡萄酒酿造中，榨汁后立即加入50—100mg/lSO₂进行静置澄清后的葡萄汁，已不能适应灰葡萄孢发酵。从本实验看，这种发酵不加SO₂为好。

表3 SO₂对灰葡萄孢发酵的影响

| K ₂ S ₂ O ₅ 添加量(mg/l) | 糖浓度(%) | | pH | | 滴定酸度(g/l) | | 菌体量 (g/80ml) | 香味 |
|---|--------|------|-----|-----|-----------|------|-----------------|----|
| | 初 | 终 | 初 | 终 | 初 | 终 | | |
| 50 | 13.8 | 13.6 | 3.0 | 3.0 | 7.83 | 7.79 | 1.2 | + |
| 100 | 13.8 | 13.8 | 3.0 | 3.0 | 7.83 | 7.83 | 不生长 | - |
| 150 | 13.8 | 13.8 | 3.0 | 3.0 | 7.85 | 7.86 | 不生长 | - |
| 200 | 13.8 | 13.8 | 3.0 | 3.0 | 7.86 | 7.89 | 不生长 | * |
| 250 | 13.8 | 13.8 | 3.0 | 3.0 | 7.88 | 7.90 | 不生长 | * |

*已有SO₂味

2.1.4 接种量的影响 本试验接种量以浓度为10⁸/ml的孢子悬浮液的ml数表示,其余试验条件同前。发酵3d的分析结果如表4所示。接种量为1ml是前述试验所用的条件,即发酵液中孢子浓度约为10⁶/ml,从实验结果看,这样的接种量已经足够。虽然增加接种量可以更好地降低酸度和产生甘油,但菌体量增多导致发酵液粘度增大,菌体难以分离。这种现象可能是产生了灰葡萄孢多糖,而且多糖的生成量与菌体的生长量成正比^[8]。更不利的是增加接种量后产香水平反而降低,这可能是因为香味物质的合成需要好氧条件,而菌体多和粘度大的情况下溶氧不足,影响了香味物质的合成。因此贵腐发酵中菌体的浓度是有限的。

表4 接种量对灰葡萄孢发酵的影响

| 接种量 (ml) | 糖浓度(%) | | pH | | 滴定酸度(g/l) | | 甘油 (g/l) | 菌体量 (g/180ml) | 香味 |
|-------------|--------|--------|-----|-----|-----------|------|-------------|------------------|----|
| | 初 | 终 | 初 | 终 | 初 | 终 | | | |
| 1 | 13.8 | 13.6 | 3.0 | 3.2 | 7.83 | 7.71 | 0.24 | 3.8 | ++ |
| 2 | 13.8 | 13.5 | 3.0 | 3.2 | 7.83 | 7.70 | 0.92 | 5.6 | ++ |
| 4 | 13.8 | 13.3 | 3.0 | 3.3 | 7.83 | 7.61 | 0.88 | 6.9 | + |
| 6 | 13.8 | 13.2 | 3.0 | 3.5 | 7.83 | 7.50 | 0.50 | 8.1* | - |
| 8 | 13.8 | 18.2** | 3.0 | 3.5 | 7.83 | 7.49 | - | ** | - |

*发酵液粘度很大,离心后菌体经洗涤,再离心后称重

**发酵液粘度极大,不能离心分离出菌体,折光法测糖度的误差也很大

2.1.5 糖浓度的影响 用加果葡糖浆(含糖80%)的方法调节糖浓度,其它条件为前述试验的最适条件,发酵3d的结果如表5所示。在原汁浓度(13.8%)和15%范围内,发酵结果无大的变化,而糖浓度提高至20%时,菌体的生长已受到不利影响,降酸和产香味能力略有降低,这与渡边等的试验结果相符^[4]。因此灰葡萄孢的发酵直接用糖度为15%左右的原汁为好。

表5 糖浓度对灰葡萄孢发酵的影响

| 初糖 (%) | 终糖 (%) | pH | | 滴定酸度 (g/l) | | 甘油 (g/l) | 菌体量 (g/80ml) | 香味 |
|-----------|-----------|-----|-----|------------|------|-------------|-----------------|----|
| | | 初 | 终 | 初 | 终 | | | |
| 13.8(对照) | 13.6 | 3.0 | 3.2 | 7.83 | 7.69 | 0.31 | 3.9 | ++ |
| 15.0 | 14.7 | 3.2 | 3.2 | 7.29 | 7.20 | 0.40 | 3.8 | ++ |
| 20.1 | 19.9 | 3.5 | 3.5 | 7.10 | 7.06 | 0.22 | 2.9 | + |
| 25.0 | 24.7 | 3.6 | 3.5 | 6.98 | 6.95 | 0 | 2.4 | - |

2.2 灰葡萄孢固定化细胞的制备培养和发酵方法

灰葡萄孢游离细胞发酵存在贵腐香味太淡，发酵速度慢而周期长，发酵过程易受杂菌污染，增加菌体浓度和发酵时间容易产生多糖等问题。从现代生物工程的观点看，固定化菌体发酵具有菌体密度大，发酵速率高，不易感染杂菌，菌体可以反复利用和便于连续操作等优点，因而从理论上说可以避免上述游离细胞发酵时存在的很多缺陷。

2.2.1 关于固定化凝胶珠的制备 实验表明，海藻酸钙包埋法是本发酵适用的方法，它具有来源广、价廉、操作方便、发酵稳定、安全无毒等优点。关于凝胶珠内孢子的最佳浓度，试验结果如表6所示。结果表明，未与海藻酸钠溶液混合前，孢子悬浮液的浓度以 10^5 /ml为好。浓度过低，凝胶珠表面菌丝长不满，不均匀；过浓则造成浪费。孢子悬浮液与海藻酸钠溶液等体积混合后，其中的孢子浓度为 5×10^4 /ml，这种混合液每ml约可以制成100粒凝胶珠，因此每粒凝胶珠中的孢子数约为500个。

表6 固定化孢子浓度对固定效果的影响

| 孢子悬浮液浓度 (ml^{-1}) | 每粒凝胶珠中含孢子数(大约) | 培养 48h 后的生长状态 |
|---------------------------------|----------------|-----------------|
| 10^5 | 50 | 凝胶珠外零星长出菌丝，不均匀。 |
| 10^6 | 500 | 凝胶珠外基本长满菌丝。 |
| 10^7 | 5000 | 凝胶珠外菌丝密集。 |
| 10^8 | 50000 | |

注：凝胶珠培养方法为：用20%的4Bx BC培养基，温度 20°C ，250ml瓶装液80ml，接入凝胶珠10ml(以混合液体积计)摇瓶培养。

2.2.2 关于固定化细胞的培养方法 本研究第一报中已经指出，灰葡萄孢在BC培养基上生长最快，因此可以考虑用BC培养基代替葡萄汁进行固定化菌体的预培养，即种子培养。但是直接用BC液体培养基，菌体生长过于旺盛，培养时间稍长(40h以上)则造成菌丝过长而分散生长，培养液粘度很高，与菌体分离困难。因此有必要降低培养基浓度和确定最佳培养时间。

改变培养浓度的试验结果见表7。培养条件参照游离细胞的最适发酵条件。结果表明，采用稀释5倍的4Bx液体培养基营养已足够，长出的菌丝长度适中，培养液粘度低，分离容易，

延长培养8h也无大变化。但稀释10倍的培养液已显得营养不足。

表7 种子培养基浓度对培养效果的影响

| BC 培养基 : 水 | 培养 48 h 后的生长状态 | 延长至 56 h 的生长状态 |
|------------|------------------|----------------|
| 10 : 90 | 长出凝胶珠外的菌丝极少 | 凝胶珠外菌丝仍偏少 |
| 20 : 80 | 长出的菌丝基本布满表面, 粘度低 | 菌丝布满凝胶珠表面 |
| 30 : 70 | 菌丝布满表面, 培养液粘度偏高 | 粘度进一步增高 |
| 40 : 60 | 菌丝布满表面, 培养液粘度很高 | 粘度进一步增高 |
| 60 : 40 | 菌丝布满表面, 培养液粘度很高 | 粘度进一步增高 |

所以, 用稀释5倍的4°Bx 培养液, 在20℃下培养时, 以48h为好。

2.2.3 关于固定化菌体的发酵方法 固定化菌体按上述方法培养好后, 用无菌纱布滤去培养液, 并用无菌水洗涤一次, 接入灭过菌的白羽葡萄原汁中摇瓶发酵, 发酵条件参照游离细胞的最适发酵条件。改变接种量的试验结果如表8所示。实验表明, 接种量5ml已经足够, 产贵腐香味的最好水平在发酵的第24h左右。但是, 用增加接种量或延长发酵时间的方法来加快产香速度和提高产香浓度是不行的, 因为这些做法都会使发酵液粘度明显升高, 而产生的香味并不增浓。另外需要说明的是, 固定化菌体需要反复利用, 在产多糖的情况下, 会给发酵液的分离带来困难。

表8 不同接种量的试验结果

| 接种量 (ml) | 项 目 | 时 间 (h) | | | | | |
|-------------|---------|------------|------|------|------|------|------|
| | | 8 | 16 | 24 | 32 | 40 | 48 |
| 5 | 酸度(g/l) | 7.82 | 7.80 | 7.74 | 7.69 | 7.66 | - |
| | 甘油(g/l) | 0 | 0 | 0.30 | 0 | 0 | - |
| | 香味 | (+) | + | ++ | ++ | ++ | + |
| | 粘度 | - | - | (+) | (+) | + | ++ |
| 10 | 酸度(g/l) | 7.79 | 7.68 | - | - | - | - |
| | 甘油(g/l) | 0.21 | 0.20 | 0.36 | - | - | - |
| | 香味 | (+) | + | ++ | ++ | + | + |
| | 粘度 | + | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 15 | 酸度(g/l) | 7.77 | 7.68 | - | - | - | - |
| | 甘油(g/l) | 0 | 0.22 | - | - | - | - |
| | 香味 | (+) | + | + | - | - | - |
| | 粘度 | + | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

注: 接种量以海藻酸钠——孢子混合液体积计

香味程度: (+)稍有香味, +有轻淡香味, ++有明显香味

粘度：-未升高，(+)略升高，+轻度升高，++明显升高，+++大幅度升高，++++发酵液呈胶胨状。

从表8可知，固定化菌体发酵也能使汁的酸度有所下降，其降酸能力与游离细胞发酵大致相同。在提高接种量的情况下，降酸程度也有所提高，这说明贵腐发酵确实具有降酸作用。纸层析的分析表明，被分解的主要是酒石酸。这种降酸作用对葡萄酒的酿造有重要意义^[7]。

灰葡萄孢发酵可以产生大量的甘油，甘油含量高是贵腐葡萄酒的一大特征。本实验的贵腐发酵液中，多数检出了甘油，尽管含量很低，但对葡萄酒的酿造也具有重要意义，因为甘油能赋予酒甘美、醇厚的感觉。

2.2.4 利用固定化菌体的半连续发酵 从间歇发酵的结果看，贵腐香味在24h时已达到最好水平，而且发酵液的粘度未明显升高。置换发酵液的半连续发酵，以24h置换一次发酵液为好。本实验连续置换了22批发酵液，其中前16批是经过巴氏灭菌(60℃, 30min)的白羽葡萄原汁，最后6批未经灭菌直接加入。最后1批作延长时间的发酵，即发酵3d不置换发酵液。在24d的发酵中，总酸和残糖的变化如表9所示。实验表明，固定化菌体的发酵是相当稳定的，所产香味可以保持在几乎最好的水平上。这种发酵的另一个优点是抗染菌力强，在整个发酵过程中未见杂菌污染，即使发酵液不经过灭菌也是如此。

表9 固定化菌体的置换发酵试验

| | | | | | | | | | | | | |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 发酵时间 (d) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 残糖 (%) | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.6 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.6 |
| 总酸 (g/l) | 7.74 | 7.74 | 7.74 | 7.75 | 7.74 | 7.74 | 7.74 | 7.74 | 7.75 | 7.74 | 7.74 | 7.74 |
| 香味 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 发酵时间 (d) | 13 | 14 | 15 | 16* | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22** | 23 | 24 |
| 残糖 (%) | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.5 | 13.4 | 13.2 |
| 总酸 (g/l) | 7.74 | 7.74 | 7.75 | 7.75 | 7.76 | 7.75 | 7.75 | 7.75 | 7.75 | 7.75 | 7.74 | 7.73 |
| 香味 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + |

注：*培养液不经过灭菌 **不再置换发酵液

从最后一批延长时间的发酵分析，所出现的情况与间歇发酵的结果类似，即随着时间的延长菌体增多，残糖和总酸继续下降，粘度升高，贵腐香味减弱而出现霉味。这时取出一粒凝胶珠放在平板上培养，仍能长出正常的菌落和产生孢子。这些现象表明，固定化菌体活性仍然存在，发酵能力也一直是存在的。

2.3 酵母发酵

高糖浓度发酵是天然贵腐葡萄酒的特征之一，贵腐汁的糖度在26—50%之间，而人工贵腐发酵汁只有15%左右。为了提高糖浓度，本实验采用了加葡萄干的方法。这种方法不仅可以使糖浓度提高到30%左右，而且还能赋予贵腐酒必须具有的干果香味。这种高糖浓度的酵母发酵如表10所示。

表10 高糖浓度的酵母发酵

| | | | | | | | | | | |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 发酵时间 (d) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 残 糖 (%) | 28.2 | 27.9 | 27.2 | 26.4 | 25.2 | 23.6 | 21.8 | 19.7 | 17.6 | 15.6 |
| 累计失重 (g) | 1.0 | 2.5 | 5.0 | 8.5 | 12.4 | 17.3 | 22.7 | 28.8 | 34.6 | 40.5 |
| 发酵时间 (d) | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | |
| 残 糖 (%) | 13.7 | 11.8 | 10.5 | 9.51 | 8.6 | 7.9 | 7.3 | 6.9 | 6.6 | |
| 累计失重 (g) | 45.6 | 50.0 | 53.9 | 56.7 | 59.4 | 61.0 | 62.8 | 64.2 | 65.0 | |

本实验结果表明,葡萄酒酵母1450能在接近30%的高糖浓度下正常发酵,旺盛发酵期在2—15d范围内。这种发酵原酒具有浓郁的葡萄干果香味,而灰葡萄孢发酵产生的贵腐香味依然存在,基本没有损失。到19d时,发酵速度已明显减慢,为了保留残糖和终止发酵,用纱布滤去葡萄干的残渣后,酒液转入4℃冰箱中。

2.4 促进陈酿的方法

天然贵腐葡萄酒的陈酿期很长,一般要3年以上,甚至长达30—40年^[9]。本实验试制的酒经过换瓶一次除去酒脚后,口味不够柔和,酸涩味偏重。为了加速陈酿,本试验采用了冷、热处理方法。

样品酒的冷处理是装在750ml酒瓶中进行的,在-6℃下放置10d,可在瓶底部观察到结晶状和泥状沉淀物,这是酒石酸盐等物质的沉淀。恢复常温后品尝,发现酒的酸涩味有所减轻。将这种酒再次换瓶除去酒脚后,用25ml比色管分装一部分酒,分别在45℃、50℃和55℃温度下保湿3d,进行热处理。热处理后,酒的外观都没有变化。冷却至常温后品尝发现经过较高温度(50℃和55℃)处理后的酒有煮熟味,而45℃处理后的酒风味较好,而且比未经热处理的酒风味还要好,处理后的酒干果香味更浓,贵腐香味也没有明显损失,酒的口味也柔和得多,从而更接近于天然贵腐风味。因此,冷热处理是可以促进人工贵腐葡萄酒的陈酿的。

2.5 酒的澄清方法

与一般葡萄酒相比,贵腐葡萄酒的澄清是比较困难的,这是由于贵腐酒的浸出物含量高、保留有很多残糖及灰葡萄孢产生的多糖影响了澄清的缘故。其中,灰葡萄孢多糖的存在是天然贵腐葡萄酒澄清困难的主要原因^[8]。本研究用明胶下胶、离心和硅藻土过滤法对试酿酒进行澄清。

用明胶下胶的试验采用朱梅等推荐的方法^[10]结果表明,试酿酒的澄清需要用明胶60mg/l单宁48mg/l。但是,明胶下胶对这种酒的风味有较大影响,口味变得平淡,当明胶用量达到澄清要求时,酒中已出现胶味。所以,用明胶下胶不是理想的澄清方法。

实验表明,样品酒用硅藻土过滤法澄清是有效的,过滤后酒澄清透明,呈淡金黄色,香味也损失很小。因此在工业上采用硅藻土过滤器过滤,是一种有希望的可行的澄清方法。

2.6 酒的稳定性预测

快速酿制的人工贵腐酒的稳定性尚未见文献报道。本实验采用郭其昌推荐的方法^[11]对

试酿酒进行了稳定性预测。实验表明，试酿酒是很稳定的。在7d的观察过程中，酒样均未出现浑浊现象。从色度看，加 H_2O_2 处理的酒严重退色，一个月后完全无色。但是，样品酒在室温下敞口放置一个月，也未见有浑浊和色变现象，这说明人工快速酿制的贵腐葡萄酒具有良好的稳定性。

3 结论

(1) 在摇瓶规模上，贵腐发酵的适宜条件为：糖浓度约15%、pH3.0—3.5、接种量10⁷个孢子/ml、温度20℃，时间72h，不加 SO_2 。

(2) 固定化菌体贵腐发酵可以使游离细胞发酵的72h缩短到24h，可以连续置换发酵液20批以上，操作稳定，抗染菌力强。

(3) 加葡萄干可以将葡萄醪的糖度提高到约30%，并能赋予良好的干果香味，在这种情况下，葡萄酒酵母1450能正常发酵。

(4) 冷热处理能够促进人工贵腐酒的陈酿。

(5) 硅藻土过滤是人工贵腐酒的适宜的澄清方法，而明胶下胶法不可取。

(6) 快速酿制的人工贵腐葡萄酒也能获得良好的稳定性。

(7) 灰葡萄孢发酵中易于产生多糖，造成发酵条件恶化而带来一系列的问题，有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 朱梅等.葡萄酒工艺学.轻工业出版社, 1986; 102
- 2 Nelson K E, Nightingale M S. Am J Enol Viliic 1959; 10: 135
- 3 Jong D W et al. Am J Enol Viliic, 1968; 19:228
- 4 渡边正澄, 岛津喜美. 发酵工艺学杂志, 1976; 54(7): 471—478
- 5 Kierstan M P J et al. In "Immob Cells and Enzymes", 1985; 44
- 6 筱原隆, 渡边正澄. 日酿协, 1976; 77(11): 888—889
- 7 后藤昭二. 日酿协, 1985; 80(12): 856—861
- 8 Ribcreall—Gayon J et al. In The Biology of Botrytis, 1980;251
- 9 食品にマバh 1988; 1: 63—64
- 10 文献1, 1986; 298—299
- 11 郭其昌. (酿酒), 增刊, 1982; 128

Studies on the Making of Artificial Noble Wine

Report 2

Jin Qiron Gzhang Jimin Zhu Baoyong

(Dept. of Fermentation Eng.)

Abstract This article studied the enology of artificial noble wine systematically. Experiments showed that the noble-wine fermentation with the immobilized hypha of the *Botrytis cinerea* can finish in 24 hours, and the activity of the immobilized hypha was steady. The addition of raisins can not only increase the sugar content of the must, but also offer an excellent dried-grape flavor. Cooling and heating treatments can accelerate the clarifying method of wine. The fast-made noble wine can obtain an ideal stability.

Subjectwords Noble wine; *Botrytis cinerea*; Immobilized hypha; Accelerating-aging