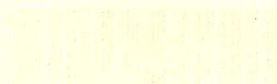


食品发酵工程指导书

多种经营专业

1995. 1



ISBN 7-5024-2012-0

目 录

实验一	发酵种子制备	(1)
实验二	发酵原料含糖量的测定	(2)
实验三	原料含氮量的测定	(6)
实验四	测定液体比重的仪器及其原理	(9)
实验五	果酒制作	(13)
实验六	酒精发酵	(16)

实验一 发酵种子制备

在发酵时,都需要有发酵微生物的参与。在果酒自然发酵中,它利用的是果实果皮上自带的酵母菌来完成的,而工业生产上多是选择优势酵母菌株,进行前期扩大培养再接种到发酵液中进行发酵而成的。

纯种酵母的扩大培养,工艺流程是:原菌种→一级培养→二级培养→三级培养→酒母桶培养(投入生产)。

实验材料、用具:

三角瓶、试管、麦芽汁或葡萄汁培养基

扩大生产步骤:

1. 原菌种保存:

制斜面:取澄清葡萄汁(或麦芽汁)调整糖浓度 12—14%, pH5~6, 加入 2—2.5% 琼脂的培养基加热溶化, 装入斜面试管。

灭菌试管:每日在 100℃ 下杀菌 30—40 分钟之后放于恒温箱中保留 3 天, 看有无杂菌生长。

接原菌种:将灭菌彻底的斜面接入原菌种, 放于 28℃~30℃ 温箱中培养三天。取出后放于 10℃ 以下保存, 可达 3 个月。

2. 一级培养:液体试管或三并瓶培养。将新鲜、干净的葡萄汁分装于无菌试管或三角瓶中。在 0.6—1.0 kg/cm² 下灭菌 30 分钟。接入酵母菌。摇动使果汁分散, 在 25℃—28℃ 下培养 24—28 小时, 发酵旺盛时, 可供下一级培养。

3. 二级培养

将新鲜葡萄汁装于 100ml 烧瓶或三角瓶中进行消毒, 将一级培养液接入、继续培养。

4. 三级培养:采用 10 升至 15 升的卡氏罐或大玻璃瓶盛新鲜葡萄汁至瓶容积的 70%。杀菌方法同前。如加热杀菌不方便, 也可采用 SO₂ 或偏重亚硫酸钾杀菌, 以 1 升果汁含 150 毫克为宜。采用 SO₂ 杀菌须放置一天后才可接种、接种须在接种室进行。接入二级培养液, 接种量为培养液的 2—5%。在 28℃ 下培养 1—2 天, 待繁殖旺盛后, 供再扩大培养用。

5. 酒母桶培养:

在生产中视生产规模而定酒母桶容积。依然是将三级培养液接入新鲜葡萄汁中。要注意的是葡萄汁灭菌, 可以加热杀菌, SO₂ 薰杀(以含 SO₂ 150 毫克/升为宜), 但最好用蒸汽杀菌 15—30 分钟。培养时 1 天左右酒母即可成熟而接种到发酵液中去。

由于葡萄汁成本较高, 在培养酵母菌时常采用麦芽汁。麦芽汁培养基的制做如下:

称取一定量的干麦芽粉, 加 4 倍的水, 在 58—65℃ 下糖化, 3—4h, 每隔一定时间用碘液测定蓝色反应, 如显蓝色, 说明还没糖化彻底, 直到加碘液无蓝色反应为止。这样得到的麦芽汁糖度在 10°(勃力克氏), 煮沸后用纱布过滤调节 pH 至 6.0, 121℃ 灭菌 15 分钟。

麦芽粉制法:取新鲜大麦(或小麦若干, 去杂, 用水洗净浸渍 6—12h, 使其发芽, 但芽

不能过长)。然后将发芽的麦粒晒干或烘干,磨以粉末即得麦芽粉。

以水果等为原料进行发酵时,多采用酵母菌做为发酵微生物,而淀粉质原料的发酵,多以曲做为原料的糖化剂,将淀粉转化为糖再进行发酵。

曲按状态可分为液体曲和固体曲;曲按生产的原料、所接种的微生物的不同又可分为大曲和小曲。

发酵原料、目的制品不同,曲的制作不同本实验仅以一简单液体曲为例:

培养基配方:

玉米	5%	米糠	1%	麸皮	1.5%
NaNO ₃	0.1~0.2%	盐酸(36%)	0.05~0.1%		

培养基中总固形物为7.5%。将液体曲培养基灭菌,接入黑曲霉。在32℃下培养72—96小时。

实验二 发酵原料含糖量的测定

——斐林试剂滴定法测原料中的淀粉含量

一、目的、原理

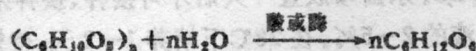
糖是食品发酵中所需的主要碳源。糖主要指淀粉、糊精、双糖、单糖等。

在发酵原料中,淀粉的含量高低是原料质量优劣的重要指标。在发酵过程中,糖量的变化可以衡量出发酵的正常与否。

由于所有单糖都具有游离羰基(=CO),具有还原性,称为还原糖。有些双糖如蔗糖为非还原性的糖,经转化也可以变为单糖而具有还原性。

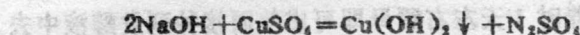
糖的测定,通常选用氧化剂——斐林试剂来滴定测得。即将斐林试剂中的二价铜(Cu²⁺)在碱性条件下被还原糖还原为一价的氧化亚铜(Cu₂O)。

淀粉经酸或酶水解生成葡萄糖:

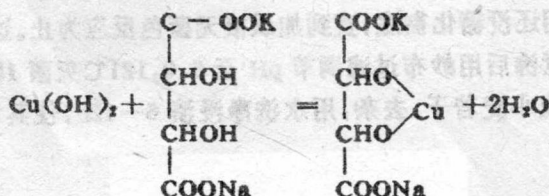


所生成的葡萄糖用斐林试剂测定。

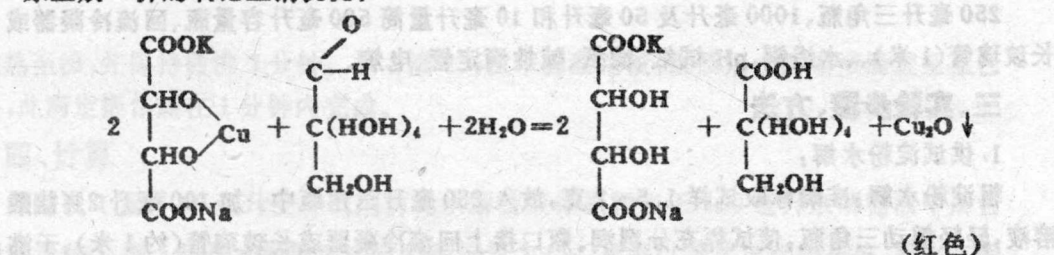
斐林试剂由甲乙液组成。甲液为硫酸铜溶液,乙液为氢氧化钠与酒石酸钾钠溶液。平时甲乙液分别贮存,测定时甲乙液等体积混合。混合时,硫酸铜与氢氧化钠反应,生成氢氧化铜沉淀:



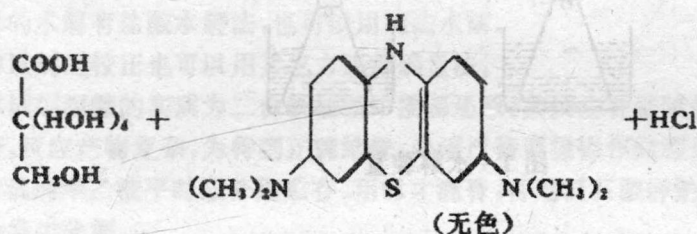
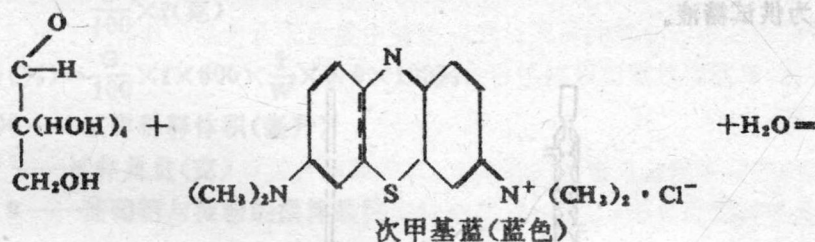
所生成的氢氧化铜沉淀与酒石酸钾钠反应,生成酒石酸甲钠铜络合物,使氢氧化铜溶解:



酒石酸钾钠铜络合物中二价铜是一个氧化剂,能使还原糖中羰基氧化,而二价铜被还原生成一价的氧化亚铜沉淀:



反应终点用次甲基蓝指示剂显示。因次甲基蓝氧化能力较二价铜弱,故待二价铜被全部还原后,过量一滴还原糖立即使次甲基蓝还原,溶液蓝色消失以示终点:



滴定时保持沸腾以防大气中氧气的氧化作用引起误差。

二、实验材料、用具

实验材料:粗淀粉

实验试剂:

1)斐林试剂:

甲液:称取 69.3 克硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),用水溶解并稀释至 1000 毫升,如有不溶物可用滤纸过滤。

乙液:称取 346 克酒石酸钾钠,100 克氢氧化钠,用水溶解并稀释至 1000 毫升。静置 1 至 2 天,石棉过滤溶液,备用。

2. 2%盐酸溶液:量取 4.5 毫升盐酸,用 95.5 毫升水稀释。

3. 20%氢氧化钠溶液:称取 200 克氢氧化钠,用水溶液并稀释至 1000 毫升。

4. 1%次甲基蓝溶液:

称取 1 克甲基蓝,加 100 毫升水,加热溶解,贮存于棕色瓶中。

5. 0.2%标准葡萄糖溶液:准确称取 2 克无水葡萄糖(预先在 $10 \sim 105^\circ\text{C}$ 烘干),用水溶解,加 5 毫升浓盐酸,用水定容至 500 毫升。

实验用具：

250 毫升三角瓶、1000 毫升及 50 毫升和 10 毫升量筒 500 毫升容量瓶、回流冷凝器或长玻璃管(1 米)、水浴锅、pH 试纸、滤纸、碱性滴定管、电炉。

三、实验步骤、方法

1. 供试淀粉水解：

粗淀粉水解：准确称取试样 1.5~2 克，放入 250 毫升三角瓶中。加 100 毫升 2% 盐酸溶液，轻轻摇动三角瓶，使试样充分湿润。瓶口接上回流冷凝器或长玻璃管(约 1 米)，于沸水浴中回流水解 3 小时。取出，迅速冷却，用 20% 氢氧化钠溶液中和至中性或微酸性(用 pH 试纸试验)。滤纸过滤，滤液用 500 毫升容量瓶接收，用水充分洗涤残渣，然后用水定容至刻度，摇匀，为供试糖液。

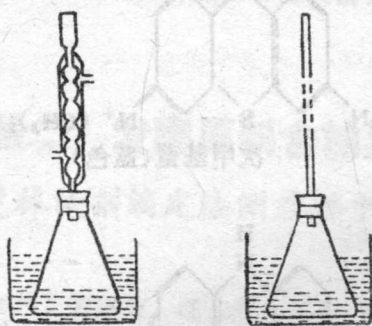


图 1 水解装置

2. 斐林试剂的校正：

1) 吸取斐林试剂甲、乙溶液各 5 毫升置于 250 毫升三角瓶中，加 20 毫升水。

2) 再从滴定管中加入约 24 毫升 0.2% 标准葡萄糖溶液(其量应控制在以后滴定时消耗 0.2% 标准葡萄糖溶液 1 毫升以内)，摇匀。

3) 将三角瓶置于电炉上加热至沸，并保持微沸 2 分钟。加 2 滴 1% 次甲基蓝溶液，继续用 0.2% 标准葡萄糖溶液滴定至蓝色消失，此滴定要在 1 分钟之内完成，即滴定在沸腾状态下进行。总耗糖量为 V 毫升。

校正值的计算：

先求得 10 毫升斐林试剂相当的葡萄糖克数(F)：

$$F = CV$$

其中：C —— 标准葡萄糖溶液的浓度(克/毫升)

再从斐林试剂糖量表(见附表 1)中查得 V 毫升时相当的葡萄糖克数(F₀)，斐林试剂校正值 f 为：

$$f = \frac{F}{F_0} = \frac{CV}{F_0}$$

3. 定糖：

吸取斐林试剂各 5 毫升，置入 250 毫升三角瓶中，加 20 毫升水，并从滴定管中预先加入适量的水解糖液(其量应控制在以后滴定时消耗水解糖液在 1 毫升以内)，摇匀，在电炉

上加热至沸,并保持微沸2分钟。加2滴1%次甲基蓝溶液,继续用水解糖液滴定至蓝色消失,此滴定操作需在1分钟内完成。

四、计算

从附表1查得10毫升斐林试剂消耗水解糖液体积相当于100毫升水解糖液中所含葡萄糖量(G),则1毫升水解糖液中含葡萄糖量为 $\frac{G}{100}$,再乘以斐林试剂校正值,即为1毫升水解糖液中实际含葡萄糖量:

$$\text{粗淀粉}(\%) = \frac{G}{100} \times f(\text{克}) \times \frac{1}{W} \times 500 \times 0.9 \times 100\%$$

上式中 500——试样稀释体积(毫升)

W——试样重量(克)

0.9——葡萄糖与淀粉的换算系数

五、讨论:

1) 淀粉的水解有盐酸水解法,也可以用酶法水解。

2) 斐林试剂的校正也可以用其它方法如碘量法。

3) 斐林试剂测糖的实质为二价铜被糖中羰基还原。其反应在强碱性溶液中,且在沸腾情况下进行,反应产物复杂,为得到正确结果,必须严格遵循操作规程进行。

a. 斐林试剂甲乙液平时应分别贮存,用时才混合,否则酒石酸钾钠铜络合物长期在碱性条件下会发生分解。

b. 斐林试剂吸取量要准确,特别是甲液。因为起反应的是二价铜,故吸量不准就会引入较大误差。

c. 测定时,反应液的酸碱度要一致,这就要严格控制反应液的体积。由于被试糖液浓度有变动,故需补加适量水予以调整。

d. 反应温度需一致。一般采用800瓦电炉,电炉温度恒定后才能进行加热,并控制在2分钟内沸腾。否则煮沸时间就会改变,引起蒸发量改变,使反应液浓度发生变化,从而引入误差。

e. 滴定速度要一致,一般以4~5秒1滴的速度进行。滴定速度过快,消耗量增加,否则消耗量就减少。

f. 次甲基蓝指示剂也是一个氧化还原性物质,过早加入与加量过多也会引入滴定误差。

g. 反应产物中氧化亚铜极不稳定,易被空气所氧化而增加耗糖量。故滴定时不能随意摇动三角瓶,更不能从电炉上取下后再进行滴定。

4) 试样经水解后应立即冷却,并用碱中和,因在强酸性或强碱性溶液中,会有部分糖被分解。

5) 葡萄糖与淀粉换算系数的确定,根据反应式:



淀粉分子量为 $162 \times n$,葡萄糖分子量为180,其比值为:

$$\frac{162 \times n}{n \times 180} = 0.9$$

补充说明:现在测溶液含糖量,不仅可以用化学方法,也可以用仪器直接测得,如:手持糖量计、糖度计等。

实验三 原料含氮量的测定

——凯氏定氮

一、目的

氮是发酵微生物所必须的氮源。发酵原料中氮蛋白质含量的高低对发酵制品的质量关系很大。因此,就需要对发酵原料进行含氮量的测定

二、原理

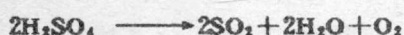
含氮量的测定常用凯氏定氮法来测定。其原理是将试样与浓硫酸共热消化,使蛋白质分解,其中氮与硫酸化合生成硫酸铵,然后碱化蒸馏使氮游离,用标准酸接收,过量酸用标准碱滴定。

凯氏定氮法所测得的为试样中总氮量,它除蛋白质中氮外,还包括氨基酸、酰胺、核酸等物质中的氮,换算成蛋白质,称为粗蛋白质。

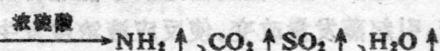
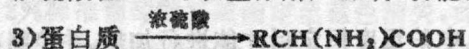
浓硫酸的作用:

1)脱水使有机物炭化。

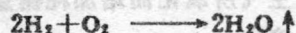
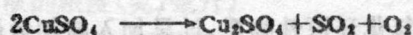
2)氧化:



浓硫酸在 338℃ 以上分解产生氧气,能使有机物破坏,生成二氧化碳和水。



硫酸铜的作用(催化剂)

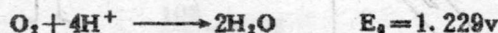
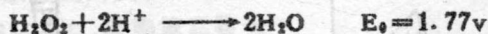


硫酸钾的作用(提高沸点):



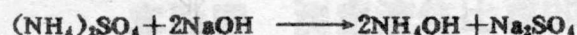
使沸点提高到 400℃

过氧化氢的作用:



过氧化氢氧化能力比氧强,能加速有机物分解。

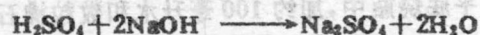
30%氢氧化钠作用:



蒸馏出的氨被硫酸吸收:



过量的硫酸用氢氧化钠滴定:



三、实验材料:

试剂:

1) 浓硫酸

2) 硫酸钾

3) 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

4) 过氧化氢 (30%)

5) 30% 氢氧化钠溶液

6) 0.1N 硫酸溶液: 量取 2.8 毫升浓硫酸, 用水稀释至 1000 毫升, 标定。

7) 0.1N 氢氧化钠溶液: 取 4 克氢氧化钠, 用水溶解并稀释至 1000 毫升, 标定。

8) 0.1% 甲基红指示剂: 称取 0.1 克甲基红, 溶于 100 毫升 95% 乙醇中。

器材:

凯氏定氮瓶、天平、消煮炉、排风厨、漏斗、容量瓶、蒸馏管、滴定管、小玻璃珠、烘箱。

材料: 面粉

四、操作步骤

1. 样品的处理及消化

将样品研磨细, 置于 105℃ 烘箱干燥 4 小时, 降至恒温时称量, 再干燥再称量, 直至恒重为止。

称量 2 克干燥样品于凯氏定氮烧瓶中, 加 3 克硫酸钾和 1 克硫酸铜, 加 20 毫升浓硫酸, 瓶口安放一只小三角漏斗, 于电炉上加热消化, 消化装置如图 2。若消化液色泽较难褪去, 则冷却后, 加 3~5 毫升过氧化氢, 继续加热, 直至消化液清澈透明为止。冷却, 转入 100 毫升容量瓶中 (瓶中预先加入约 20 毫升水), 用水充分洗涤凯氏定氮瓶, 冷却到室温, 再用水定容至刻度, 摇匀。

消化时注意通风, 消化开始时要注意控制火力, 使消化液不至冲出来。

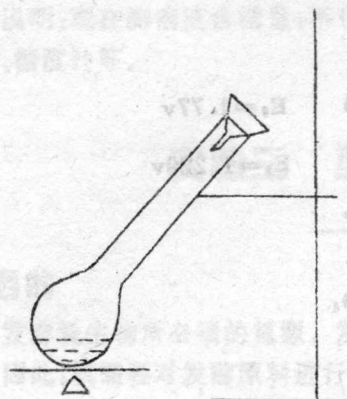


图 2 消化装置

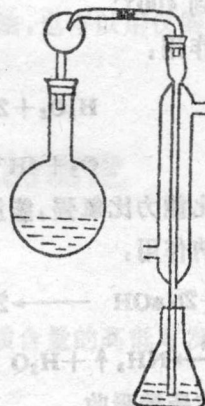


图 3 蒸馏装置

2. 加热蒸馏

吸取 50 毫升稀释消化液，置入 500 毫升平底烧瓶中，加约 100 毫升水和数粒沸石，加 60 毫升 30% 氢氧化钠溶液（或在烧瓶上安一分液漏斗加碱），立即盖严，蒸馏约 45 分钟（或蒸出原液体积约 1/3）。接收瓶中预先准确加入 25 或 50 毫升 0.1N 硫酸溶液。蒸馏装置见图 3。

3. 滴定：

蒸馏之后，水洗冷凝器，取出接收瓶，加 4 滴 0.1% 甲基红指示剂，用 0.1N 氢氧化钠溶液滴定至黄色。

五、计算

$$\text{全氮}(\%) = [(NV)_{H_2SO_4} - (NV)_{NaOH}] \times 0.01401 \times \frac{100}{50} \times \frac{1}{W} \times 100\%$$

式中：(NV)_{H₂SO₄}——接收瓶中硫酸溶液的当量浓度与体积(毫升)

(NV)_{NaOH}——滴定时消耗氢氧化钠溶液的当量浓度与体积(毫升)

0.01401——氮的毫克当量(克)

$\frac{100}{50}$ ——稀释倍数

W——试样重量(克)

$$\text{粗蛋白质}(\%) = 6.25 \times \text{全氮}(\%)$$

式中 6.25——氮与蛋白质的换算系数

六、讨论

1) 凯氏定氮法即适用于有机氮，又适用于无机氮，其测定范围较宽，能测出 40 毫克～0.05 毫克氮。

2) 消化时必须在通风柜中进行。开始消化时宜用火加热，稳定后，才用强火加热，中途需摇动凯氏定氮瓶，使附在瓶壁上的黑点冲下。

3) 凯氏定氮法消化时催化剂也可采用硒，蒸馏时也有加数粒锌防暴沸，接收液也可采用 2~4% 硼酸溶液，用标准酸滴定，其指示剂为甲基红——溴甲酸绿混合指示剂，其终点

变色敏锐。

4)氮与蛋白质的换算系数是由实验确定,不同原料,其蛋白质的换算系数稍有不同。蛋白质中含氮量一般在 16%左右,故换算系数为

$$\frac{100}{16}=6.25$$

实验四 测定液体比重的仪器及其原理

测定液体比重的仪器有:比重计、比重瓶和比重天平等。

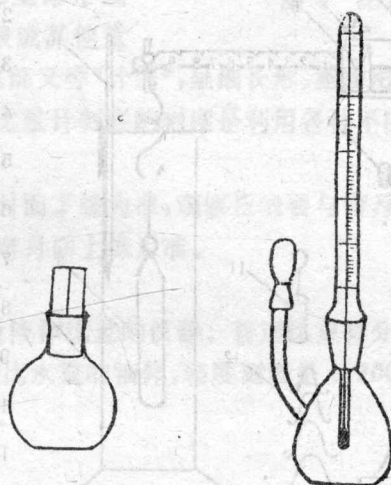


图 4 比重瓶

一、比重瓶

比重瓶是测定液体比重最准确的仪器。比重瓶种类很多,大小形状不一,有的还附有温度计,如图 4。常用的比重瓶体积为 25 毫升与 50 毫升两种。利用比重瓶测定液体比重时应分三步进行。

1. 空比重瓶的重量测定

新的比重瓶先用重铬酸钾—硫酸洗涤液浸泡,然后用自来水、蒸馏水依次洗涤,最后用丙酮洗去残余水分,待丙酮挥发尽后准确称重。也可用酒精除去残余水分,然后以乙醚除去酒精。也可以采用烘箱去残余水分,其温度应低于 40℃。重复称重 2—3 次,两次之差应小于 1 毫克,取平均值为比重瓶重量。这个数值可长期使用,但经一段时间之后需校核一次。

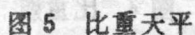
2. 比重瓶与被测样品重量测定:

用少量被测样品荡涤已知重量的比重瓶几次,之后再将被测样品充满比重瓶,置入恒温水浴中,待温度平衡后取出比重瓶,用滤纸将毛细管上端及周围的水珠吸除,盖上瓶帽,称得比重瓶与被测液体重量之和。

方法同比重瓶与被测样品的重量测定。此时要注意洗涤。(或者先称瓶与水的重量, 比重瓶与样品重量。)

$$d_t = \frac{\text{比重瓶与被测液体重量之和} - \text{比重瓶重}}{\text{比重瓶与蒸馏水重量之和} - \text{比重瓶重}}$$

这是以阿基米德原理制成的测定液体比重的特殊天平。



2. 天平使用

3. 液体比重的测定:

比重天平的骑码分为 5、0.5、0.05、0.005 克四种,分别代表比重位数为 1、0.1、0.01、0.001,若再与横梁上刻度(应以分数表示)相乘即得比重读数。如 0.5 克骑码置于刻度 6 上其比重读数是 $0.1 \times \frac{6}{10} = 0.06$,其余依次类推。当测定液体比重大于 1 时,将 5 克骑码

应挂在测锤上部挂钩上。图 6 为读数示例。

比重天平的准确度校正可用蒸馏水校正,附表 2 为蒸馏水密度校正表。

三、比重计

比重计也是根据阿基米德原理制成的

比重计的种类很多,有普通比重计、波美比重计、糖度比重计、酒精比重计等。

各种比重计的结构都大致相同,都是由玻璃外壳制成,头部呈球形或圆锥形,里面灌有铅珠、水银或其他重金属。中部是胖肚空腔。尾部又称“计杆”,呈细长形,里面附有刻度标记。精密测量的比重计,其中还附有温度计。比重计刻度的刻度是利用各种不同比重的液体,制成不同标度的比重计。

比重计读数时,应以弯月面下缘为准,观察视线要与弯月下缘相平。对有色液体,因不易看清弯月下缘,则以观察弯月面上缘为准。

1. 普通比重计

这是一类最常见的测量液体比重的仪器。普通比重计分重表与轻表两种。重表刻度是 1.000~2.000,用于测量比水重的液体,轻度刻度是 0.700~1.000,用于测量比水轻的液体。如下表:轻表及重表。

2. 波美比重计

它是以波美度(Baumé,简写“Bé”)表示液体的浓度,适用于某一测定范围的一类比重计。由于它的标度条件(即规定温度与浸在何种液体中刻制零点和其它刻度)不同,形成了许多种类的波美比重计。波美比重计又分为轻、重两种波美比重计。液体的波美度和比重间都有一定的换算关系,这种关系有表可查,也可以通过计算求得。

常见的几种波美标度有:“合理”标度、美国标度、荷兰标度。不同的标度,与比重的换算关系不同。这三者中以“合理”标度应用最广,美国国标度次之。下面以“合理”标度为例说明波美标度与比重的换算关系。

“合理”标度:它的刻制温度是 15℃。

重波美比重计:0°Bé 相当于比重计浸在蒸馏水中的深度,66°Bé 相当于比重计浸在比重 1.842 浓硫酸中的深度。比重与波美度的换算关系为:

$$d_4^{20} = \frac{144.3}{144.3 - \text{°Bé}}$$

轻波美比重计:0°Bé 相当于比重计浸在蒸馏水中的深度,10°Bé 相当于比重 0.9851。比重与波美度的换算关系为:

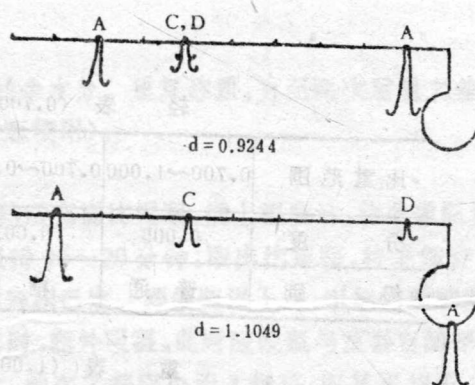


图 6 比重天平读数示例

轻 表 (0.700~1.000)

比重范围	0.700~1.000	0.700~0.800	0.800~0.900	0.900~1.000
分 度	0.005	0.001	0.001	0.001
级 别	普 通	精 密	精 密	精 密

重 表 (1.000~2.000)

比重范围	1.000~2.000	1.000~1.200	1.200~1.400	1.400~1.600
分 度	0.01	0.002	0.002	0.002
级 别	普 通	精 密	精 密	精 密

比重范围	1.600~1.800	1.800~2.000	1.000~1.500	1.500~2.000
分 度	0.002	0.002	0.005	0.005
级 别	精 密	精 密	中 级	中 级

轻表 重表

$$d_{15}^{20} = \frac{144.3}{144.3 + Bx}$$

3. 糖度比重计

它是以刻度直接表示溶液所含纯蔗糖的重量百分含量。糖度比重计有以下两种刻度。

糖锤度计(又称勃力克斯比重计 Brixscale, 简写 Bx); 其刻度表示纯蔗糖溶液的重量百分数, 20℃为规定温度, 常分 0~30、30~60、60~90 三组。

巴林比重计(Balling): 以 15.5℃为规定温度, 其刻度也是表示含糖的重量百分数, 自 0~24%。

4. 酒精比重计

它的刻度表示溶液内酒精的体积百分含量。其规定温度一般采用 20℃, 在不同温度下测量时, 可以通过查《酒精度与温度校正表》来校正酒精度, 如附表 3。

四、液体比重的测定:

1. 麦芽汁(也适用于果汁)比重的测定

麦芽汁比重是计算原麦芽汁浓度的基础数据。因此, 准确测定其比重是很重要的。通常使用比重瓶来测量。

测定步骤如下:

(1)空比重瓶重量的测定:

先将比重瓶洗涤干净,且洗去或烘干残余水分。重复称重,直至两次重量之差小于1毫克,取其均值为比重瓶的重量(详见比重瓶使用)。

(2)比重瓶与蒸馏水重量测定:

将煮沸后的蒸馏水冷却至15~17℃,然后充满比重瓶,插上温度计,将此重瓶置于20±0.1℃的恒温水浴中,温度平衡后继续保持15~20分钟,取出比重瓶,将毛细管上端及周围的水珠吸除,盖上瓶帽,至此蒸馏水的容积已定。即使瓶温上升,引起体积膨胀,外溢的水分仍存于瓶帽内。但当室温高于20℃时,瓶外吸湿,此时应使瓶与室温自然平衡。用干绸布擦干瓶外壁水分,准确称重2~3次,两次之差应小于1毫克,取其平均值,此数值也可以长期使用,但经一段时间需再校核一次。

(3)比重瓶与麦芽汁样品重量测定:用少量被测样品荡洗比重瓶数次,同比重瓶与蒸馏水重量测定步骤来测定比重瓶和样品的重量。测啤酒及其它发酵液比重时要事先用两只大烧杯反复倾倒约50次,以除去二氧化碳。

(4)结果计算

$$\text{比重 } d_{20}^{20} = \frac{\text{比重瓶与被测样品重量} - \text{比重瓶重量}}{\text{比重瓶与蒸馏水重量} - \text{比重瓶重量}} \\ = \frac{\text{被测样品重量}}{\text{蒸馏水重量}}$$

2. 发酵后的成熟发酵醪(1&o)中酒精分的测定。

原料发酵后一部分被酵母利用转变为二氧化碳,一部分生成了酒精。酒精分是指啤酒或发酵液中所含酒精的重量百分浓度。由于啤酒中所含酒精量较少,用酒精比重计测量时误差太大,宜采用比重瓶法。欲使酒精与其他可溶性成分(如糊精、氨基酸等)分开,测定时需预先蒸馏。

测定步骤如下:

用已知重量的500毫升烧瓶(可固定一瓶,瓶重称出后可长期使用),在粗天平上称取样品100克,加50毫升水,安上冷凝器,冷凝器下端用一已知重量的100毫升容量瓶接收馏出液。

若室温较高,为防止酒精挥发,可将容量瓶浸于冷水或冰水中。开始蒸馏时用文火加热,沸腾后可加强火焰,蒸馏到馏出液近100毫升时停止蒸馏,取下容量瓶,于粗天平上加水至馏出液为100克重,摇匀,用比重瓶准确测定比重,查《比重和酒精对照表》附表4,求得酒精含量。

实验五 果酒制作

果酒是以果实为原料而制成的含醇饮料,是单发酵酒。果酒酒精含量低约7~16%(容积),并且果酒中含有许多浸出物如糖、有机酸、酯类及维生素等,所以酒味醇和、浓郁、既有陈酿的香味,又有水果的芳香,且营养丰富,色泽透明,为许多人所喜欢。

果酒种类较多,依水果的原料可以分为:葡萄酒、苹果酒、梨酒、甜橙酒等多种。其中以葡萄酒为最多,果酒按制作方法又可分为三大类:

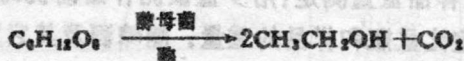
果酒 { 果实发酵酒、果酒
(广义) { 果实蒸馏酒、果实白酒(果实白兰地)
果实配制酒

果实白酒是果实原料经发酵后,进行蒸馏而成的酒。配制酒是用果酒或白酒加入其他物料如果汁、果皮、香料、药物、鲜花等一起浸泡,配制而成。

果酒与蒸馏酒的区别在于酒精发酵后,不再进行蒸馏,果酒与粮食酒的不同,在于酒精发酵前无糖化过程。

一、果酒酿造原理:

果汁中所含的葡萄糖在酵母菌及酶的作用下,经过一系列复杂的化学变化,生成二磷酸己糖、磷酸甘油醛、丙酮酸、乙醛等中间产物,最后生成乙醇和二氧化碳。这一过程称作酒精发酵。反应式简述如下:



通常可将整个过程分成三步:①葡萄糖磷酸化形成糖的磷酸酯;②磷酸己糖分解成二个三碳糖;③三碳糖通过脱氢、脱羧、还原等反应形成乙醇,在此同时还放出二氧化碳。在这个反应中,有热能释放,使温度上升,这个反应还需在无氧条件下进行,一旦有氧,则整个过程就会转向有氧呼吸,从丙酮酸转入三羧酸循环,所以酿酒时,在发酵阶段应隔绝氧气。

酒精发酵的主要微生物是酵母菌,酵母菌生长的最适宜温度为 $22^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$,在 25°C 最理想。酵母菌的最适环境为 pH5.5 左右。含酸量 0.8~1.0%。酵母菌是兼性厌氧性菌,在有氧条件下繁殖个体,而在缺氧条件下,酵母繁殖缓慢,但可进行酒精发酵。据此,在果酒酿造初期供给酵母菌充足氧气,使其大量繁殖,而后再供给一个缺氧环境,使其产生大量酒精,完成酒精发酵的全过程。酵母菌活动所需要的营养是果汁中的糖分。所以发酵时,有时需加入糖。

二、果酒制作材料:

水果(葡萄、梨或其他)、无菌三角瓶、灭菌发酵栓。

培养好的酵母液。

三、制作步骤

1. 原料选择:选择品质优良、成熟度好,健康无病斑、腐烂的果实。
2. 制备酵母菌:选择优良的酵母种,进行扩大培养成酵母种子液。
3. 发酵液的制备:将原料破碎、压榨、除梗,注意只破外皮,不碎种子以防带来异味,捣烂。装入无菌三角瓶中,加入凉开水(无菌)。保留 1/5 体积的空隙,以防发酵液外溢。
4. 发酵液的调整:为了得到适宜的酒度及酸度,常需对发酵液进行人为调整。
糖分调整:先测果汁的含糖量,大约 1 升果汁中含糖 17 克,可产生酒精 1 度即 1%。一般果酒酒精浓度为 12—13 度。而一般果实含糖量为 5—23%。所以为达成品酒度要求,需加入蔗糖来补充糖分。但加糖不应使含糖量超过 24%。

酸度调整:发酵时果汁酸分以 0.8—1.0% 为宜,使最后具有 0.6—0.8% 的酸分。pH

值 5~5.5 为宜。酸分高可以加入蔗糖或用酒石酸钾中和,也可以用含酸量低的果汁按比例混合以达所需。而酸度过低的果汁,可加入柠檬酸或酒石酸进行调整,或用含酸量高的果汁混合配比来提高酸度。酸分高也可暂不调整,因发酵可降低酸分,酵母能耗一些酸分,而且酸分还能抑制杂菌生长。

养分调整:加入 0.1~0.15% 的硫酸铵来增加酵母的营养。

5. 灭菌:让发酵液在 60~65℃ 下,灭菌 30 分钟即可;或加入 0.02% 偏重亚硫酸钾。若用 SO_2 消毒须在接入酵母的前一天进行。使用量为 0.01%。

6. 发酵:

自然发酵:果汁经糖酸调整后,直接密闭发酵。为了便于二氧化碳逸出和阻止空气进入,在发酵瓶上要安装发酵栓,装置如图 7。

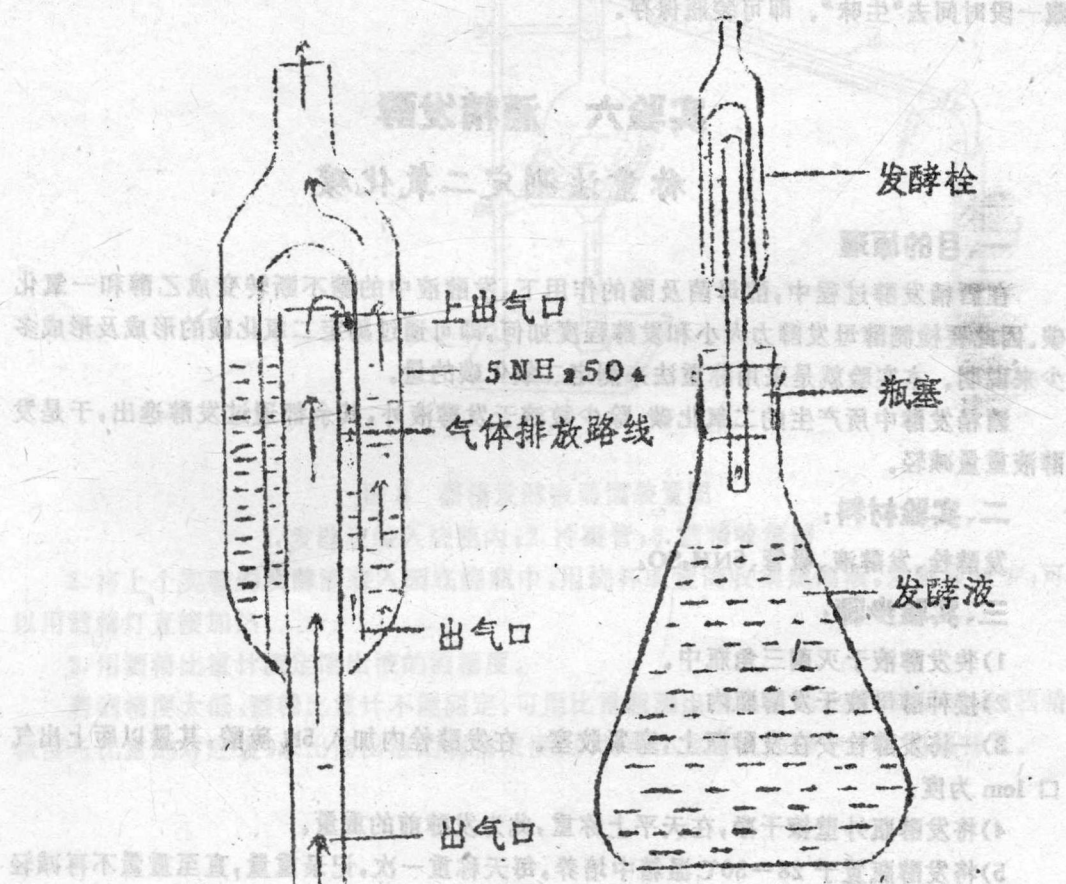


图 7 发酵装置

人工发酵法:在酸度、糖度调整后,进行杀菌消毒,然后再按发酵装置接入种酵母进行发酵。

发酵过程中,注意控制温度,20℃~30℃ 为宜,25℃ 最适。约 7~10 天。发酵期间应记录发酵液温度、糖度、酒度、酸度的变化,以及酵母发酵力的变化。