

DOI: 10.13907/j.cnki.nykxyj.2026.03.002

水凝胶基固定化酵母的构建及其低温葡萄酒发酵性能

王辰琛, 陈梦荣, 陈其玲

(新疆农业大学 食品科学与药学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: 针对传统葡萄酒发酵工艺中商业酵母干粉需要活化且低温条件下易出现发酵迟滞的问题, 以食品级聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(Alg)为主要材料, 借助扫描电子显微镜(SEM)和傅里叶变换红外光谱(FT-IR)等表征技术, 比较不同负载方式水凝胶基固定化酵母双网络体系的结构特征、稳定性及发酵性能。结果表明: 以 $m_{PVA}:m_{Alg}=4:1$ 构建双网络体系、经 3 次冻融循环处理, 结合表面负载方式固定酵母, 所构建的水凝胶基固定化酵母具有较好的结构稳定性和保水能力, 能够有效降低酵母脱落率; 并且在 14 °C 低温条件下, 还原糖消耗速率和乙醇生成速度均优于游离商业酵母对照组。

关键词: 酵母固定; 材料; 直投式发酵; ‘和田红’葡萄

中图分类号: TS262.6

文献标志码: A

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是主导葡萄酒酒精发酵的重要微生物, 其发酵能力决定发酵进程及产品品质^[1]。目前, 在葡萄酒生产中需要将酿酒酵母预先活化, 再接种至发酵体系, 以确保发酵的顺利启动^[2]。然而, 活化再接种的工艺流程相较于直投式接种更为烦琐; 此外, 在低温发酵中常常出现发酵迟滞, 甚至发酵中止, 这会对葡萄酒香气等品质的形成产生不利影响^[3-4]。研究显示, 固定化酵母在低温发酵条件下具有较好的稳定性和发酵活性^[5-7], 有助于提升酒体感官质量^[8], 在改善酿酒酵母发酵性能、优化发酵工艺方面展现出巨大潜力^[9]。

食品级海藻酸钠(sodium alginate, Alg)和聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)因具有较好的生物相容性、传质性能和机械强度, 被广泛用于微生物固

定化研究。已有研究表明, 固定化酵母载体的孔隙结构、保水能力和机械稳定性会直接影响酵母负载效率、储藏稳定性、重复使用性能及发酵活性^[10]。其中, 海藻酸钠固定化酵母已在蜂蜜酒等发酵体系中表现出较好的发酵性能和重复利用潜力^[11], PVA/海藻酸盐复合体系可以提高固定化细胞的操作稳定性和转化效率^[12]。此外, 双网络水凝胶通过刚性网络与柔性网络的协同作用, 能够增强材料韧性和结构稳定性, 这为进一步稳定固定化酵母载体提供了新思路^[13]。

然而, 现有研究多集中于固定化酵母载体材料制备、固定化效率和重复使用性能评价, 针对葡萄酒低温发酵场景的直投式固定化酵母制剂研究仍相对有限。尤其是在低温条件下, 如何通过优化 PVA 与 Alg 的复合比例、交联方式及酵母负载方

收稿日期: 2026-05-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32302049); 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2023B02029)

作者简介: 王辰琛(2004—), 葡萄与葡萄酒工程专业本科生。

通信作者: 陈其玲, 副教授, 博士, 主要从事葡萄酒功能微生物资源挖掘与定向选育、微生物耐胁迫分子机制解析, 电子邮箱: Chenqiling@xjau.edu.cn。

引用格式: 王辰琛, 陈梦荣, 陈其玲. 水凝胶基固定化酵母的构建及其低温葡萄酒发酵性能[J]. 农业科学研究(中英文), 2026, 47(3): 12-20.

Citation: Wang Chenchun, Chen Mengrong, Chen Qiling. Construction of hydrogel-based immobilized yeast and its performance in low-temperature wine fermentation[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2026, 47(3): 12-20.

式,实现载体稳定性与酵母发酵活性的协同提升,仍有待进一步研究。因此,本研究通过利用食品级海藻酸钠和聚乙烯醇,构建水凝胶基固定化酵母体系,并比较不同制备方式下材料的结构特征、稳定性及低温葡萄酒发酵性能,以期直投式水凝胶基固定化酵母制剂的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料有酿酒酵母 CECA (*Saccharomyces cerevisiae*),产自安琪酵母股份有限公司;食品级聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(Alg),均购自上海源叶生物科技有限公司;葡萄酒样为张裕解百纳干红葡萄酒,2021年;葡萄原料为‘和田红’葡萄果实,于2024年10月取自新疆和田地区。葡萄经除梗破碎后获得葡萄汁,其还原糖质量浓度为 $216\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,总酸质量浓度为 $10.99\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (以酒石酸计),pH为3.75,卫生状况良好。

1.2 试验仪器与设备

仪器与设备有恒温发酵箱,上海赫田科学仪器有限公司;磁力加热搅拌器,北京大龙兴创实验仪器股份公司;超声清洗机,兰杰柯科技有限公司;电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;高速冷冻离心机,德国艾本德公司;冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;扫描电子显微镜(SEM),蔡司(ZEISS)公司;傅里叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技公司;恒温干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;FOSS多功能葡萄酒分析仪(WineScan),丹麦福斯(FOSS A/S)。

1.3 水凝胶基固定化酵母材料的选择

水凝胶基固定化酵母制备方案(图1)如下:

a. 将4 g PVA颗粒加入50 mL去离子水中,通过磁力搅拌分散溶胀30 min,然后升温至 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热搅拌约2 h,直至PVA完全溶解。保持加热搅拌状态,并向溶液中缓慢添加1 g Alg粉末使之分散,待溶液温度稳定降低至 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,加入10 mL质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的酵母溶液,继续搅拌1 h至完全溶解。超声除泡后,将溶液注入聚四氟乙烯模具($100\text{ mm}\times 50\text{ mm}\times 2\text{ mm}$),然后放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱过夜。通过上述方案得到酵母基双网络水凝胶。

b. 将4 g PVA颗粒加入50 mL去离子水中,通过磁力搅拌分散溶胀30 min,然后升温至 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热搅拌约2 h,直至PVA完全溶解。保持加热搅拌状态,并向溶液中缓慢添加1 g Alg粉末使之分散,继续搅拌1 h至完全溶解。超声除泡后,将溶液注入聚四氟乙烯模具($100\text{ mm}\times 50\text{ mm}\times 2\text{ mm}$),然后放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱过夜。取出水凝胶后,在其表面涂布1层10 mL质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的酵母溶液。将水凝胶放入自封袋内密封并于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内储存,得到酵母基双网络水凝胶。

第1次制备后发现,所得水凝胶基酵母材料在发酵应用中存在酒体不易自然澄清的问题,材料网络结构和酵母固定稳定性仍需进一步提高。因此,在第1次方案的基础上,第2次制备时进一步引入冻融循环处理,以优化水凝胶结构。具体操作:水凝胶在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下初步成形后,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻16 h,再于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下解冻8 h,循环3次。方案a为内混成形后直接进行冻融循环;方案b为先制备并冻融成形PVA/Alg水凝胶,再在表面涂布酵母溶液。冻融处

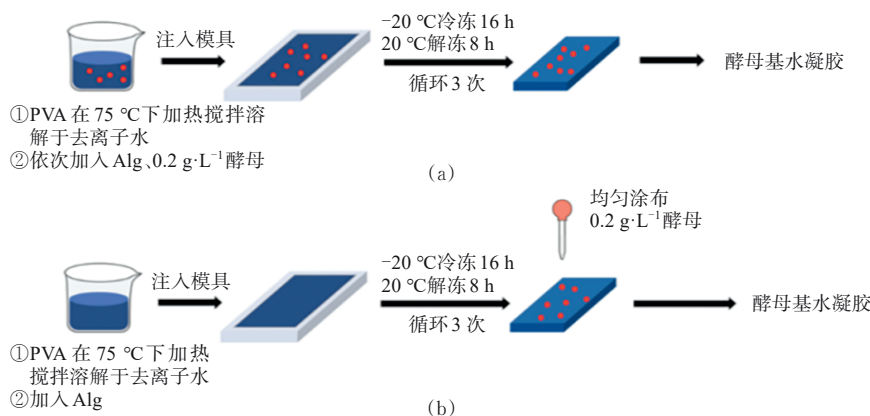


图1 水凝胶基固定化酵母的制作流程

Fig. 1 Preparation procedure for hydrogel-based immobilized yeast

理有助于促进PVA物理交联网络形成,提高水凝胶机械稳定性,并增强酵母固定效果。

1.4 水凝胶基固定化酵母样品检测

1.4.1 扫描电镜检测 取水凝胶在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下预冷72 h后,冷冻干燥24 h(冷冻干燥机设置冷凝温度为 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$,真空度为8 Pa),使用SEM在加速电压15.0 kV条件下分别观察冻干后水凝胶横截面。SEM观察之前,用镀膜仪在样品表面溅射喷铂,厚度为5.0 nm。

1.4.2 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)测试 取水凝胶样品($30\text{ mm}\times 30\text{ mm}$),按照与扫描电镜测试中同样的方法进行冷冻干燥。将冻干后的样品研磨成颗粒或碎片,在傅里叶变换红外光谱仪上使用衰减全反射(ATR)红外光谱法在 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 范围内测试,分析水凝胶的化学结构。

1.4.3 含水率测试 取水凝胶(尺寸约 100 mm^2),称量起始质量(记为 W_0),然后放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥箱中干燥。每隔一段时间称量各组样品的质量(t 时刻的质量记为 W_t),直至水凝胶干燥至质量恒定,最终质量记为 W_{dry} 。每组水凝胶取3块样品平行测试,称量结果取平均值,得到各组水凝胶在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温干燥条件下的失水曲线,并计算各组水凝胶的平衡含水率(EWC)。EWC计算式如下:

$$\text{EWC} = \frac{W_0 - W_{\text{dry}}}{W_0} \times 100\%。$$

1.4.4 酵母脱落率测试 将采用a和b方式制备的负载酵母的水凝胶分别称取10 g,置于200 mL张裕解百纳干红葡萄酒中,经不同时间搅拌后,取葡萄酒样品离心收集脱落酵母,弃去上清液后称量酵母沉淀质量,并根据脱落酵母质量与初始负载酵母质量计算酵母脱落率。另外,以PVA溶液不经冻融步骤直接形成的水凝胶附着酵母样品进行对比测试。

1.5 水凝胶基固定化酵母发酵性能检测

1.5.1 发酵处理 将‘和田红’葡萄果实破碎取汁,添加 SO_2 ($p=40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、果胶酶($p=30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),室温下静置6 h,然后放置在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下静置48 h,分离清汁。将葡萄汁分装于9个250 mL三角瓶,每个三角瓶200 mL。商业活性干酵母组按照 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的接种量直接投入葡萄汁中,每瓶添加酵母40 mg;水凝胶基固定化酵母组每瓶固定化酵母中所含酵母总量与商业活性干酵母组一致。所有处理均在 $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下发酵。将制备好的水凝胶基固定化酵母直

接投放于澄清的葡萄汁中,将酵母干粉直投入同一批葡萄汁中发酵作为对照。间隔1 d取样。每个处理设置3个独立发酵重复。

1.5.2 理化指标检测 采用FOSS WineScanTM Flex葡萄酒全自动分析系统(型号79063)检测葡萄汁发酵酒样理化特性,进行样品检测前按照仪器操作规范完成系统校准与清洗。将葡萄酒样品于 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下进行离心处理,取上清液作为待测样品;葡萄汁样品经适当预处理后直接检测。根据样品类型分别选择“Must”或“Wine”检测程序,测定还原糖质量浓度、乙醇体积分数、甘油质量浓度等理化指标。检测完成后,利用配套软件导出试验数据并进行后续分析。

1.6 数据处理

试验所得数据使用Microsoft Excel软件进行整理和计算。部分指标采用IBM SPSS Statistics 29.0.2.0软件进行统计分析,并对不同处理组之间的差异进行显著性检验。使用GraphPad Prism 10.1.2、Adobe Photoshop软件制图。

2 结果与分析

2.1 水凝胶基固定化酵母扫描电镜分析

本研究以食品级聚乙烯醇为主要水凝胶基固定化酵母材料,利用其在酒体中溶解度极低、化学稳定性良好的特性,辅以食品级海藻酸钠作为辅助成胶材料,并通过 Ca^{2+} 与海藻酸钠之间的离子交联作用构建双网络骨架,以增强凝胶的机械强度及固定化酵母的稳定性。

双网络水凝胶是由两套相互贯穿、各自交联的聚合物网络构成的水凝胶体系^[14-15]。该体系通常通过刚性网络耗散能量、柔性网络维持结构完整,从而表现出显著优于单网络水凝胶的力学强度与韧性^[16]。近年来,利用离子键等可逆非共价作用构建双网络水凝胶已受到广泛关注,其中以 Ca^{2+} 交联海藻酸盐所形成的离子网络,能够在受力过程中通过离子键的可逆断裂实现有效的能量耗散,并赋予凝胶一定的自恢复能力^[17-18]。基于上述特性,本研究采用PVA与Alg构建双网络水凝胶载体,以期提高载体结构稳定性并改善酵母固定化效果。

图2显示了不同处理方案水凝胶的表面形貌。结果显示,方案a和方案b所制备的水凝胶表面均具有丰富的蜂窝状多孔结构,孔径分布不均等。发达

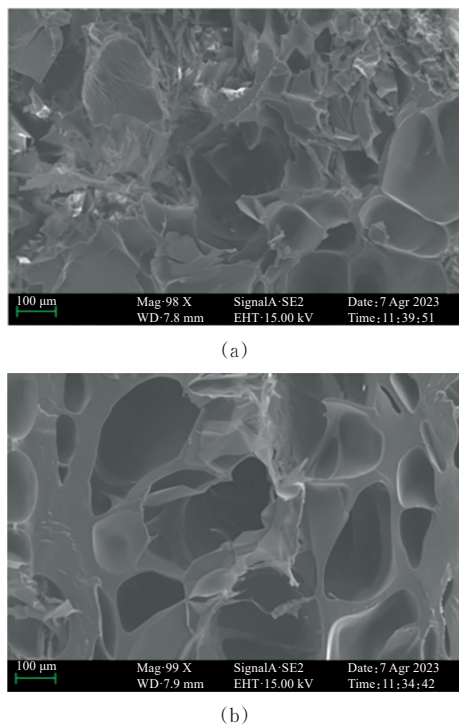


图2 不同制作方法水凝胶基固定化酵母材料扫描电子显微镜图

Fig. 2 Scanning electron microscopy images of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by different methods

的表面孔隙有利于酵母的渗透与扩散。方案a因将酵母直接混入水凝胶前体中,对水凝胶孔结构产生了一定影响,但水凝胶整体仍保持较为完整的三维多孔网络结构,能够满足发酵过程中的物质传递和酵母代谢需求,因此在实际发酵测试中并未表现出明显的发酵性能下降。

2.2 水凝胶基固定化酵母红外检测分析

傅里叶变换红外光谱(FT-IR)主要提供分子的官能团和化学键结构信息,可以用于分析红外谱图中各吸收峰对应的结构信息^[19]。由于不同化学键和官能团在红外光谱图中通常具有相对固定的特征吸收区域,当材料复合过程中形成新的化学键或生成新物质时,常表现为新吸收峰的出现,或原有吸收峰峰位、峰强及峰形的变化^[20]。因此,本研究通过比较PVA、Alg及PVA/Alg复合水凝胶(PVA/Alg composite hydrogel, PAG)的FT-IR红外谱图,判断复合水凝胶中是否形成新的化学结构,并进一步分析不同组分间的相互作用。

FT-IR分析表明,试验制备过程未产生新的化学基团或物质。鉴于聚乙烯醇为食品级高分子材料,海藻酸钠为食品级增稠剂,在确认无新化学物

质引入的前提下,所制备的固定化酵母载体可视为安全无毒。PVA的红外光谱如图3所示,3 100~3 500 cm^{-1} 之间的宽吸收峰为O—H伸缩振动产生,来源于PVA中存在的羟基,羟基形成的大量氢键增大了峰的宽度。碳链方面,2 939 cm^{-1} 与2 910 cm^{-1} 处的吸收峰源自 CH_2 和C—H的伸缩振动,而1 325 cm^{-1} 处的吸收峰源自C—H的变角振动与 CH_2 的面外摇摆振动。由于所使用的PVA的醇解度仅为88%,所以PVA侧链上存在部分未醇解的乙酸酯基团(CH_3COO —)。这反映在红外光谱图上:酯羰基的C=O伸缩振动在1 732 cm^{-1} 处产生吸收峰,与酯羰基相连的C—O伸缩振动在1 242 cm^{-1} 处产生吸收峰,而1 428 cm^{-1} 和1 374 cm^{-1} 附近的特征峰则是 CH_3 基团反对称和对称变角振动的结果。1 000~1 150 cm^{-1} 之间的吸收峰为与主链相连的醇羟基或酯键的C—O伸缩振动产生。对于946 cm^{-1} 与845 cm^{-1} 处的吸收峰,有一些资料显示与PVA的间规结构有关。与PVA的红外光谱相比,双网络水凝胶的红外光谱中出现了1 604 cm^{-1} 处的吸收峰,为Alg链上—COO—反对称伸缩振动产生。羟基O—H的伸缩振动吸收峰移动到3 301 cm^{-1} 处,表明PVA与Alg分子链间形成了氢键,这在一定程度上提高了水凝胶的机械性能,确保在负载酵母后仍有良好的机械性能。

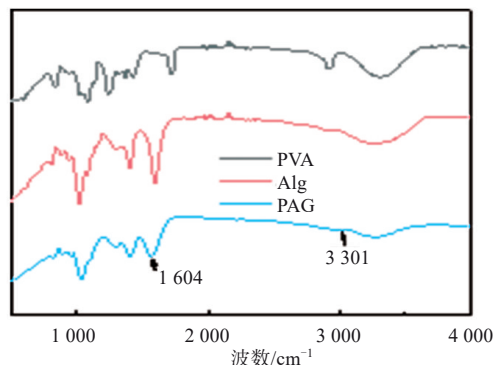


图3 不同制作方案水凝胶基固定化酵母材料红外光谱图

Fig. 3 FT-IR spectra of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by different methods

2.3 水凝胶基固定化酵母含水率分析

含水率与保水能力是水凝胶材料的核心性能指标之一^[21]。本试验初始制备方案旨在比较不同酵母负载方式对水凝胶基固定化酵母材料保水性能的影响,冻融优化方案则在前述基础上进一步调整材料制备条件,通过优化PVA/Alg复合配比及冻融

循环工艺,提高材料结构稳定性和制备一致性。图4和图5分别展示了2种方案下不同制备方法水凝胶基固定化酵母材料在37℃恒温条件下的干燥失水曲线。总体来看,2组曲线均呈现先快后慢的失水规律:前期(约0~200 min)水凝胶中自由水快速蒸发,失水速度较快;随着自由水逐渐减少,水分主要以结合水形式存在,失水速度显著下降,曲线趋于平缓。在2种优化条件下,各组样品失水率均在6 h左右时基本趋于稳定,表明所制备的水凝胶具有较好的保水能力和结构稳定性,在干燥条件下仍可维持相对稳定的网络结构。

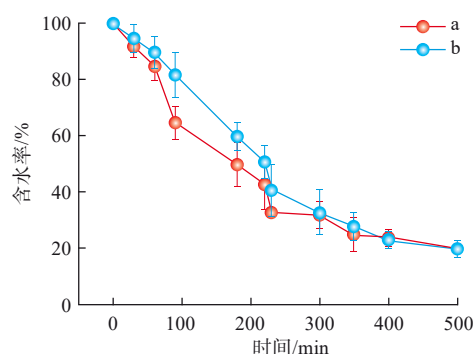


图4 初始制备方案下不同制作方法水凝胶基固定化酵母材料含水率分析

Fig. 4 Water contents of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by different methods under the initial preparation protocol

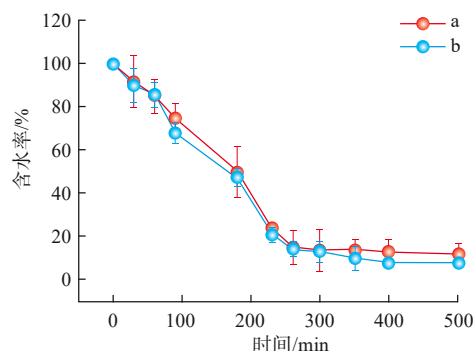


图5 冻融优化方案下不同制作方法水凝胶基固定化酵母材料含水率分析

Fig. 5 Water contents of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by different methods under the optimized freeze-thaw protocol

从不同制备方法的结果比较看,在初始制备方案下,方案a和方案b的整体失水趋势基本一致。然而,在中前期阶段(约100~300 min),方案b的 W_t/W_0 整体高于材料a组,说明该阶段方案b的保水能力相对更强。到了后期(>300 min),2组之间

的差异逐渐减小,最终接近相同的稳定水平。这表明,2种制备方法都能够形成具有一定保水性的水凝胶网络,但相比之下,方案b在前期更有利于水分的保持和缓慢释放。在冻融优化方法下,方案a和方案b的曲线整体更加接近,并且在200~250 min后, W_t/W_0 迅速下降并进入较低的平台区。这说明经冻融优化后,水凝胶内部自由水释放更加充分,干燥过程更快趋于稳定;同时2组后期的稳定值差距较小,提示冻融优化在一定程度上提高了材料制备的一致性,使不同方法间的含水率差异进一步减小。综合图4与图5可知,冻融优化后材料失水曲线的离散度降低、曲线更为集中,表明水凝胶网络结构更稳定,制备重复性更佳。

2.4 水凝胶基固定化酵母脱落率分析

如图6所示,在初始制备方案下,方案a与方案b制备的水凝胶负载酵母的脱落率均随着时间推移而逐渐升高,呈现较为典型的先快后缓的变化趋势,说明在搅拌作用及酒体环境下,载体表面或孔隙中存在的一定量的弱结合酵母会优先脱落,随后脱落速度趋缓并逐步稳定。对2种负载方式进行比较,可以看出方案b制备的水凝胶在各时间点的酵母脱落率整体高于方案a。这说明在表面涂覆方式下,酵母细胞主要附着在水凝胶外表面,受到搅拌剪切和界面冲刷的影响更明显,因此更容易发生脱落。相比之下,方案a采用内混型负载方式,其酵母细胞更多分布在水凝胶网络内部或孔隙结构中,直接受到外界剪切作用的程度较小,所以酵母整体脱落率更低,表现出更好的负载稳定性。

在冻融优化方案下(图7),进一步将方案a、方

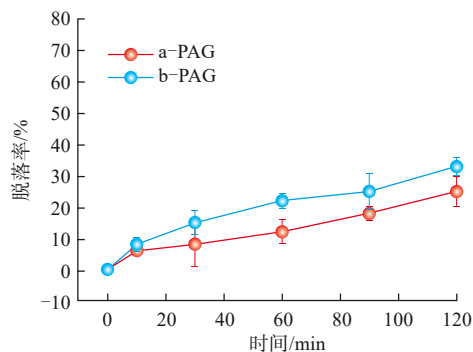


图6 初始制备方案下a、b 2种负载方式下水凝胶基固定化酵母脱落率变化

Fig. 6 Changes in the yeast detachment rates of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by loading methods a and b under the initial preparation protocol

案b与纯PVA水凝胶进行比较。结果显示,纯PVA水凝胶的酵母脱落率随着时间推移明显升高,在搅拌120 min时达到较高水平,约为65%。这表明,仅依靠传统PVA成胶形成的网络结构,对酵母的固定作用较弱,难以在持续搅拌或动态环境下稳定保持酵母。与之相比,方案a和方案b制备的PAG水凝胶的酵母脱落率明显降低,在120 min时分别约为12%和20%。这说明PVA/Alg双网络水凝胶形成的交联网络能够明显提高材料的机械稳定性和细胞固定能力,从而减少酵母的脱落与流失。与此同时,冻融优化后方案a的脱落率仍低于方案b,进一步说明内混型负载方式在稳定性方面更具优势。方案b虽然脱落率相对较高,但由于其工艺操作较为简便,且酵母与酒体接触更直接,因此在实际应用中仍具有一定可行性。

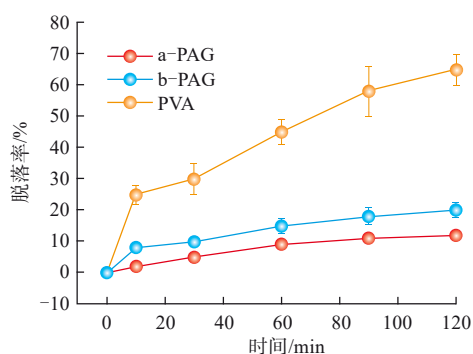


图7 冻融优化方案a、b及PVA 3种负载方式水凝胶基固定化酵母脱落率变化

Fig. 7 Changes in the yeast detachment rates of hydrogel-based immobilized yeast materials prepared by loading methods a, b, and PVA under the optimized freeze-thaw protocol

2.5 水凝胶基固定化酵母发酵性能分析

2.5.1 低温下发酵速率分析 如图8所示,还原糖含量可作为评估葡萄酒酒精发酵进程与完成情况的重要指标^[22]。比较不同处理组在14℃低温发酵条件下的还原糖质量浓度,发现在发酵第5天以后,经固定化处理的酵母还原糖质量浓度下降速率快于对照组,其中方案b还原糖质量浓度下降幅度更大,且在第14天已完成酒精发酵,而方案a和对照组仍未完成发酵(还原糖质量浓度分别为11.00和26.85 g·L⁻¹)。这表明,方案b固定化酵母在低温条件下具有较高的发酵效率和胁迫耐受能力。

2.5.2 低温下发酵过程中乙醇体积分数的比较分析 如图9所示,乙醇体积分数是反映糖分转化效

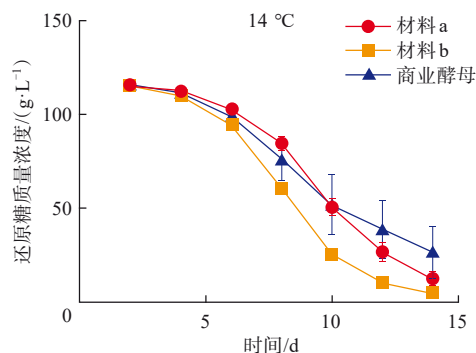


图8 低温发酵过程还原糖质量浓度变化曲线

Fig. 8 Changes in the mass concentration of reducing sugars during low-temperature fermentation

率和酒精发酵进程的重要指标^[23]。比较不同处理组在14℃低温发酵条件下的乙醇积累情况,发现发酵第7天以后,经固定化处理的酵母乙醇生成速率整体快于商业酵母组,其中方案b的乙醇积累最高。此外,发酵第14天时,方案b组乙醇体积分数显著高于商业酵母组($P=0.017$)。该结果与还原糖下降趋势一致,表明方案b中固定化酵母在14℃低温条件下能够更有效地促进糖分向乙醇转化,具有较高的发酵效率和低温适应性。

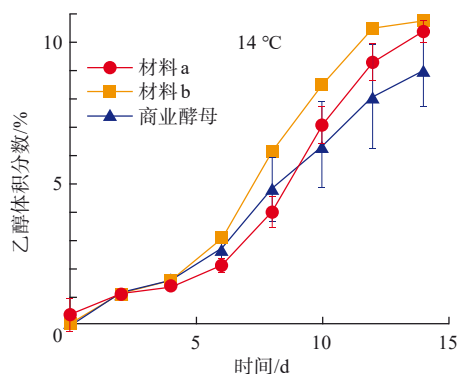


图9 低温发酵过程中乙醇体积分数的变化曲线

Fig. 9 Changes in the ethanol volume fraction during low-temperature fermentation

值得注意的是,方案b的乙醇体积分数并未随着还原糖质量浓度降低呈等比例升高,说明糖分消耗与乙醇积累并非完全线性对应。本试验所用‘和田红’葡萄汁总酸质量浓度为10.99 g·L⁻¹,苹果酸质量浓度达4.1 g·L⁻¹以上。已有研究表明,低温葡萄酒发酵中乙醇的生成受菌株、温度以及相关酶活性影响^[24]。此外,酿酒酵母对L-苹果酸的代谢具有菌株差异,葡萄酒发酵过程中有机酸的组成,也可能影响酵母代谢状态^[25-26]。结合本试验‘和田红’葡萄汁苹果酸质量浓度达4.1 g·L⁻¹以上的原料特征,

推测在14℃低温条件下,糖代谢中的碳流可能受到温度胁迫及酸胁迫的共同影响。综上所述,方案b在14℃条件下仍能维持较强的乙醇生成能力,说明水凝胶基固定化体系有助于增强酵母在低温胁迫下的代谢稳定性。

2.5.3 低温下发酵过程中甘油质量浓度的比较分析 如图10所示,甘油是葡萄酒酒精发酵过程中重要的副产物,其含量可反映酵母在低温胁迫条件下的代谢调节能力^[27]。比较不同处理组在14℃低温发酵条件下甘油的质量浓度,发现在发酵第8天以后,经固定化处理的酵母甘油质量浓度积累速率快于对照组,其中方案b的甘油质量浓度积累最为明显。发酵第14天时,方案a、方案b和对照组甘油质量浓度分别为5.20、5.85和5.25 g·L⁻¹,且方案b显著高于对照组($P=0.003$)。这表明,方案b中固定化酵母在低温条件下更有利于维持甘油的代谢与积累,具有较好的低温适应性。

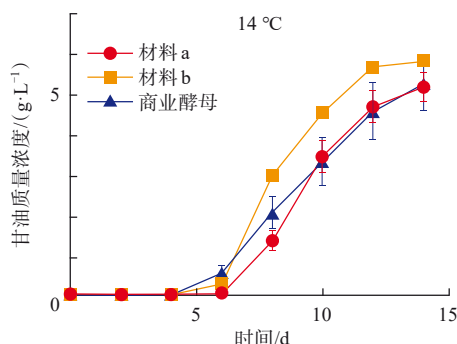


图10 低温发酵过程中甘油质量浓度变化曲线

Fig. 10 Changes in the mass concentration of glycerol during low-temperature fermentation

综合还原糖和乙醇结果分析,14℃条件下方案b的还原糖质量浓度下降较快,乙醇体积分数显著高于对照组,且甘油质量浓度亦显著增加,表明部分糖酵解碳流可能分配至甘油合成途径。Michnick等^[28]研究表明,甘油生成与酵母细胞氧化还原平衡及胁迫响应密切相关,GPD1基因编码的甘油-3-磷酸脱氢酶是调控甘油生成的关键酶,其表达水平变化会影响乙醇和甘油产量的分配比例。因此,本试验结果可能与‘和田红’葡萄汁苹果酸质量浓度较高及低温发酵共同形成的复合胁迫有关。在胁迫条件下,酵母可通过增强甘油生成来维持细胞氧化还原平衡和环境适应性。因此,方案b中较高的甘油积累可能反映了固定化酵母在低温酸性环境下

较强的代谢稳定性。鉴于本研究尚未测定甘油合成相关关键酶活性及代谢中间产物,上述关于糖代谢碳流分配的推测仍需后续通过代谢组学、酶活性分析或相关基因表达进一步验证。

3 讨论与结论

针对传统葡萄酒发酵中商业活性干酵母需预活化、低温条件下易出现发酵迟滞等问题,本研究以食品级PVA和Alg为主要材料,构建水凝胶基固定化酵母体系,并比较了不同负载方式及冻融优化处理对材料结构、稳定性和发酵性能的影响。结果表明,PVA/Alg复合体系可形成具有蜂窝状孔结构的水凝胶网络,有利于酵母附着和发酵过程中的物质传递;红外光谱图分析显示,PVA与Alg之间主要通过氢键等分子间作用形成稳定复合网络,未观察到明显的新特征吸收峰,说明该体系具有较好的结构稳定性和食品安全性。经冻融优化后,水凝胶的保水能力和酵母固定效果进一步改善,在搅拌120 min时,方案a和方案b的酵母脱落率分别约为12%和20%,均明显低于PVA对照组约65%的脱落率,表明PVA/Alg双网络结构和冻融处理能够有效降低酵母的脱落与流失。

发酵性能分析表明,所制备的水凝胶基固定化酵母能够在葡萄汁体系中顺利启动并推进酒精发酵,具备作为直投式发酵剂的初步可行性。在14℃低温条件下,水凝胶基固定化酵母组的还原糖质量浓度下降速度和乙醇积累速度均快于商业酵母直投组,说明固定化体系有助于维持酵母在低温环境下的代谢活性。其中,采用4:1 PVA/Alg比例构建双网络体系、经3次冻融循环并结合表面负载酵母的方案b,在还原糖消耗、乙醇积累和甘油生成方面表现相对较好。综上所述,PVA/Alg水凝胶基固定化酵母体系在低温葡萄酒发酵中具有一定应用潜力,可为直投式固定化酵母制剂的开发提供试验依据和理论参考。

参考文献:

- [1] 冯军,冯晓红,李可,等.酵母及其衍生物在果酒酿造中的特性及应用进展[J].中国酿造,2025,44(1):26-34.
- [2] 刘嘉璐,孙玉梅,黄超,等.活性干酵母活化时间与级数对葡萄酒发酵的影响[J].中国酿造,2018,37(7):101-106.

- [3] 翟一闻,王兴亚,尹拍燃,等.葡萄酒微生物育种技术研究进展[J].食品工业科技,2025,46(22):32-41.
- [4] 马小英,单守明.发酵温度及果实成熟度对北红葡萄酒香气的影响[J].农业科学研究,2023,44(3):51-57.
- [5] Wang Y, Xiao G, Wang S, et al. Application of nanomaterials in dark or light-assisted fermentation for enhanced biohydrogen production: a mini-review[J]. Bioresource Technology Reports, 2023, 21: 101295.
- [6] 李黎明,刘庆国.表面固定化酵母产高浓度乙醇工艺优化[J].酿酒科技,2026(3):55-60.
- [7] Canonico L, Moretti L, Agarbati A, et al. Free and immobilized cells of *Torulaspora delbrueckii* and *Lachancea thermotolerans* in sparkling wine: innovative application in secondary bottle fermentation[J]. Foods, 2025, 14(17): 3007.
- [8] 章雪玲,杨茜,杨敏,等.固定化酵母酿造百香果玫瑰茄复合果酒发酵工艺优化[J].中国酿造,2025,44(4): 213-220.
- [9] Brunet I S, Erceg T, Janjušević L, et al. Materials for yeast immobilization in alcoholic fermentation: bridging conventional techniques and 3D bioprinting[J]. Polymers, 2025, 17(23): 3094-3094.
- [10] Zhao C, Sun Y, Zhou H, et al. Fabrication of yeast-immobilized porous scaffolds using a water-in-water emulsion-templating strategy[J]. Catalysts, 2025, 15(10): 925.
- [11] Sousa-Dias M L, Paula V B, Dias L G, et al. Mead production using immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae*: reuse of sodium alginate beads[J]. Processes, 2021, 9(4): 724(1-16).
- [12] Radosavljević M, Lević S, Belović M, et al. Immobilization of *Lactobacillus rhamnosus* in polyvinyl alcohol/calcium alginate matrix for production of lactic acid[J]. Bio-process and Biosystems Engineering, 2020, 43(2): 315-322.
- [13] Gong J P, Katsuyama Y, Kurokawa T, et al. Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength[J]. Advanced materials, 2003, 15(14): 1155-1158.
- [14] 王文昊,臧逸,尤艳丽,等.海藻酸钠/壳聚糖/钙离子双网络水凝胶的制备及其冻融稳定性[J].食品工业科技, 2026, 47(10): 205-217.
- [15] 薛亮,黄祖新,罗招城,等.海藻酸钠-PVA固定化酿酒酵母制备工艺的优化[J].酿酒科技, 2009(2): 27-30.
- [16] Panteli P A, Patrickios C S. Multiply interpenetrating polymer networks: preparation, mechanical properties, and applications[J]. Gels, 2019, 5(3): 36.
- [17] Sun J Y, Zhao X, Illeperuma W R K, et al. Highly stretchable and tough hydrogels[J]. Nature, 2012, 489(7414): 133-136.
- [18] Hui C Y, Xiang M W, Hussain H, et al. Strengthening alginate/polyacrylamide hydrogels using various multivalent cations[J]. ACS applied materials & interfaces, 2013, 5(21): 10418-22.
- [19] 王敬尊,王霆.如何解释红外谱图[J].大学化学, 2016, 31(6): 90-97.
- [20] Azam F, Ahmad F, Ahmad S, et al. Preparation and characterization of alginate hydrogel fibers reinforced by cotton for biomedical applications[J]. Polymers, 2022, 14(21): 4707.
- [21] Karoyo A H, Wilson L D. A review on the design and hydration properties of natural polymer-based hydrogels[J]. Molecules, 2021, 26(17): 5368.
- [22] 张烨,孙玉梅,俞志敏,等.糖分对葡萄酒发酵的影响[J].食品与发酵工业, 2017, 43(4): 280-285.
- [23] 李伟,张众,王礼,等.贺兰山东麓‘美乐’自然发酵干红葡萄酒品质特性[J].食品科学, 2022, 43(8): 204-212.
- [24] Gao Y T, Zhang Y S, Wen X, et al. The glycerol and ethanol production kinetics in low-temperature wine fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2019, 54(1): 102-110.
- [25] Mendes Ferreira A, Mendes-Faia A. The role of yeasts and lactic acid bacteria on the metabolism of organic acids during winemaking[J]. Foods, 2020, 9(9): 1231.
- [26] Vion C, Yeramian N, Hranilovic A, et al. Influence of yeasts on wine acidity: new insights into *Saccharomyces cerevisiae*[J]. OENO one, 2024, 58(4).
- [27] 王春晓,俞俊竹,周文亚,等.非酿酒酵母属酵母的葡萄酒发酵应用研究进展[J].中国农业科学, 2023, 56(3): 529-548.
- [28] Michnick S, Roustian J L, Remize F, et al. Modulation of glycerol and ethanol yields during alcoholic fermentation in *Saccharomyces cerevisiae* strains overexpressed or disrupted for GPD1 encoding glycerol 3-phosphate dehydrogenase[J]. Yeast, 1997, 13(9): 783-793.

Construction of hydrogel-based immobilized yeast and its performance in low-temperature wine fermentation

Wang Chenchun, Chen Mengrong, Chen Qiling

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: To address the need to activate commercial active dry yeast before use in conventional wine fermentation and the susceptibility of such fermentation to sluggishness at low temperatures, food-grade polyvinyl alcohol (PVA) and sodium alginate (Alg) were used as the main materials in this study. Characterization techniques, including scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and other technologies were employed to compare the structural characteristics, stability and fermentation performance of the double network hydrogel systems with immobilized yeast prepared using different loading methods. The results show that the hydrogel-based immobilized yeast prepared using a double network system with an $m_{\text{PVA}}:m_{\text{Alg}}$ ratio of 4:1, three freeze-thaw cycles, and surface loading exhibited good structural stability and water-retention capacity and effectively reduced the yeast detachment rate. Moreover, at a low fermentation temperature of 14 °C, its reducing sugar consumption rate and ethanol production rate were both higher than those of the free commercial yeast control.

Keywords: yeast immobilization; hydrogel materials; direct-inoculation fermentation; ‘Hetianhong’ grape

(责任编辑 魏 乐)

土壤微生物与根际健康专栏征稿启事

《农业科学研究(中英文)》拟开设土壤微生物与根际健康专栏,现面向国内外科研人员、高等院校师生、农业技术企业及政策研究者公开征稿,诚邀您分享前沿成果,共筑中国根际微生物研究的学术高地。

一、征稿范围

专栏聚焦(包括但不限于)以下研究方向。

1. 根际微生物组多样性与空间结构。根际与非根际微生物组的空间分异与动态演化;不同作物、种植模式、土壤类型下根际微生物“指纹图谱”的构建与“微生物风土”关联性分析;原生动物、线虫、噬菌体等非细菌组分在根际微生态网络中的调控作用;地域性菌群结构与农产品品质表型的因果关联。
2. 功能微生物的筛选、鉴定与机制解析。具有抑病或固氮、溶磷、解钾、产铁载体等促生特性细菌与真菌的分离、鉴定与功能评价;根际微生物介导的植物免疫激活路径与分泌物调控机制;环二肽、挥发性有机物等微生物代谢产物对植物发育的直接调控证据。
3. 根际微生物组的精准调控与微生物菌剂开发。基于“土壤养分调控→根系分泌物重塑→有益菌富集”路径的绿色管理技术;合成微生物群落、微生物-有机肥协同制剂的田间应用效果与稳定性评估;微生物菌剂在盐碱地、退化农田、设施农业中的适应性改良与增产增效案例。
4. 根际健康评价体系与生态服务功能。基于微生物多样性指数、功能基因丰度、网络稳定性等指标的根际健康量化标准构建;根际微生物组在碳封存、氮素保留、污染物降解、连作障碍消减中的贡献评估;旱区、寒区、盐碱地等特殊生态系统中根际健康与作物生产力的关联模型。
5. 多组学技术与智能分析新范式。宏基因组、宏转录组、代谢组、蛋白组等多组学联用解析根际微生物功能网络;基于人工智能与机器学习的根际微生物功能预测、关键菌属识别与互作网络建模。
6. 根际微生物资源库建设与产业化应用。根际功能菌株的系统收集、保藏、活性评价与共享平台建设;拥有自主知识产权的根际微生物菌剂产品注册、田间试验数据与经济效益分析;微生物技术在“减肥减药”“耕地质量提升”“碳中和农业”国家战略中的落地路径与政策建议。

二、征稿类型

研究论文、综述等。

三、征稿截止日期

2027年3月31日。