

科学传承、集成创新 走中国白酒技术持续发展的道路

——对芝麻香酒的看法和认识

徐 岩

(江南大学生物工程学院酿酒科学与酶技术中心,江苏 无锡 214122)

摘 要: 介绍了在以风味导向技术为学术思想指导下所进行的中国白酒酿造基础研究的最新进展情况,包括中国白酒中重要风味物质的形成机理、微生物群体组合发酵等基础和应用基础的相关研究的情况。系统地将白酒酿造的研究从传统微生物学层面提升到分子微生物学的层面,从个体微生物层面提升到群体微生物学层面,从经验性的应用工作延伸到探索中国白酒自身酿造规律以及科学提升酿造技术水平的应用基础研究层面。建立的群体微生物学应用技术对于丰富我国白酒酿造的理论和实践有着重要价值。

关键词: 白酒; 群体微生物; 风味导向技术; 代谢机制; 美拉德反应

中图分类号: TS262.3; TS261.4; Q93-3; TS971 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2013)04-0017-04

Scientific Heritage and Integrated Innovation for Sustainable Development of Liquor-making Techniques——Viewpoints of Sesame-flavor Liquor

XU Yan

(Wine-making Science & Enzyme Technology Center, Bioengineering College of Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

Abstract: The latest development status of basic research on liquor-making under the guidance of flavor-oriented academic thought was introduced in this paper including the formation mechanism of important flavoring substances in liquor and the combined fermentation of microbial populations etc. The research on liquor-making nowadays has already upgraded from traditional microbiological level to molecular microbiological level, from individual microbial level to microbial groups level, and from empirical application to deep exploration on liquor-making rules and liquor-making technical improvement. The explored applied technology of microbial groups is of important values in perfecting liquor-making theories and liquor-making practice. (Tran. by YUE Yang)

Key words: liquor; microbial population; flavor-oriented technology; metabolic mechanism; Maillard reaction

芝麻香型白酒是我国建国后所创新的白酒香型,具有“芝麻香突出,诸味协调,丰满细腻,回味悠长”的风格特点。由于其独特的风味,使其成为白酒行业中发展最为迅速的白酒香型之一。同时,芝麻香型白酒的科学价值主要体现在以下两点:首先,芝麻香型白酒在科学传承中国白酒千百年传统酿造经验的基础上,针对白酒微生物群体固态发酵的特征,针对今后白酒发展的必然趋势为纯种发酵的创新思想,是中国白酒技术发展的方向,成为最早在国内外采用纯种微生物群体发酵技术的香型白酒之一;其次,芝麻香型白酒集成了浓、清、酱 3 种香型白酒生产技术之精华,是对各香型白酒精华的集成创新。

中国白酒风味特点的物质基础是风味化合物,而风味物质的产生是由各种微生物及其生产工艺所决定。风

味物质丰富而复杂,其产生途径也极为复杂,因此,认识白酒风味物质产生途径,解析白酒酿造的生物学过程和价值,应用现代生物工程技术加速白酒生产的技术创新将是白酒技术发展和进步的重要内容,也是我国白酒工业持续发展的迫切需要。与国外饮料酒生产工艺相比,中国白酒的特征是采用边糖化边发酵的多微生物固态发酵生产方式,因此,风味物质形成的机理必然是不同的。例如对于酯类化合物,在啤酒和葡萄酒中主要是依靠酵母的酰基转移酶进行转酯化反应来生成的,而在中国白酒生产过程中的根霉具有极高活性的酯酶,它对白酒中酯类形成具有重要贡献。这些都表明,国外经典的风味物质形成机理是无法照搬至中国白酒,只有经过我国自主的研究与实践,才能确定中国白酒的风味物质形成机理。

收稿日期:2012-10-12

作者简介:徐岩(1962-),男,浙江慈溪人,教授,博士,目前主要研究酿造微生物与酶学,Email: yxu@jiangnan.edu。

优先数字出版时间 2012-12-05;地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20121205.1716.001.html>。

总之,中国白酒的酿造最主要的特征在于微生物群体的多样性和固态发酵等特征的复杂性。尽管目前粗放的传统经验式操作模式使产品品质的稳定性等困难始终难以解决,传统酿造过程的低效率也都影响着大规模工业化和现代化的发展。但是,近年来随着行业内对传统酿造的机理和机制等基础研究的不断深入,采用纯种微生物群体发酵已经成为中国白酒可持续发展的必然要求和趋势。以下学术观点是根据多年研究后提出的,希望能够对生产企业在进行芝麻香型白酒的研究实践时具有启发作用。

1 关于吡嗪类化合物形成的非-美拉德反应途径

1.1 中国白酒中的风味物质是否由美拉德反应形成

美拉德反应(Maillard 反应)是一种广泛分布于食品工业中的非酶褐变反应。美拉德反应是食品在加工和储藏过程中羰基化合物(主要是还原糖)和氨基化合物(胺、氨基酸、肽和蛋白质等)在一定温度下发生的一系列非酶褐变反应的总称,其结果是生成了棕黑色的大分子物质类黑精或称拟黑素。除产生类黑精外,反应过程中还会产生成百上千个具有不同气味的中间体分子,包括还原酮、醛和杂环化合物,这些物质为食品提供了宜人可口的风味和诱人的色泽。那么,中国白酒中的风味物质是美拉德反应形成的吗?以下将从反应条件、反应途径及安全等方面对此进行阐述。

温度是美拉德反应重要的影响因素。2001年,荷兰瓦格宁根大学的 van Boekel 报道,在较低的温度(20~60℃)下的反应活性远低于高温(100~150℃)。2005年, Martins 等人研究了温度(80~120℃)对美拉德反应的影响,发现在80℃时葡萄糖和甘氨酸反应生产拟黑素的量是非常少,这也表明80℃下反应效率是非常低的。芝麻香型白酒生物发酵过程,除了高温大曲和堆积过程的发酵最高温度分别达到60℃和50℃左右外,其余大部分阶段都是属于正常生物发酵温度。因此,针对芝麻香型白酒的反应温度的影响,美拉德反应的作用是非常微小的。

美拉德反应非常复杂,分为3个阶段,包含至少8个反应:糖类与氨基化合物的缩合反应;Amadori 重排反应;糖类失水;糖类裂解;氨基酸降解(Strecker 降解);羟醛缩合;醛类与氨基化合物的缩合反应以及含氮杂环化合物的生成等。但是,到目前为止,没有任何研究证据表明中国白酒发酵中含有大量美拉德反应的中间产物。

美拉德反应在对食品独特风味形成产生贡献的同时,所带来的安全问题也日益引起人们的关注,由于在复杂的反应过程中会产生大量的包括羟甲基糠醛在内的对

人体有害的化学物质,其对人体健康的危害性不容忽视。因此,美拉德反应具有很大潜在的安全隐患,但是实践证明,中国白酒内源性最安全。因此,综合以上因素,美拉德反应对中国白酒中风味物质的形成作用值得商榷。

1.2 中白酒中吡嗪类化合物的形成机理

“中国白酒 169 计划”经过5年的研究首次在国际上证明了中国白酒吡嗪类物质是由微生物产生,而非化学的美拉德产生途径。本研究从酱香型高温大曲中筛选到1株高产吡嗪的枯草芽孢杆菌 CCTCC:M 208157。利用 GC-MS 和 HPLC 对微生物形成 4-甲基吡嗪(TTMP)的代谢途径以及主要代谢物进行了分析研究,确定菌株 XZ1124 的主要代谢途径:由糖降解产生丙酮酸,两分子的丙酮酸缩合生成 α -乙酰乳酸, α -乙酰乳酸脱羧产生乙偶姻,发酵体系中的乙偶姻和氨作用生成 TTMP(图1)。以上结果证明了白酒的风味问题主要是生物学问题,并非化学问题。

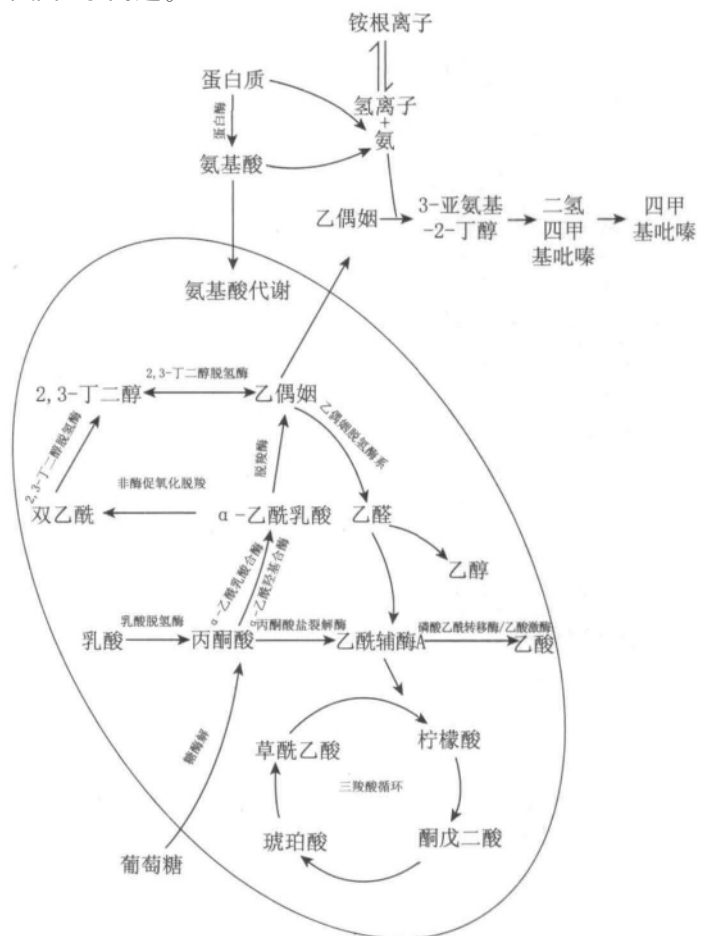


图1 四甲基吡嗪产生途径

1.3 中国白酒中重要风味物质的形成机理

经过前期大量研究证明,对我国中部白酒中重要风味物质形成机理研究取得了较大的进展,大部分的重要风味物质与微生物代谢是有密切联系的。例如酱香型白

酒中的酱香特征风味物质、清香型白酒中的特征风味物质以及浓香型白酒中的特征风味物质等,都是与微生物具有密不可分的关系。同时,本研究对以上风味物质产生的重要功能微生物的发酵特征及其代谢机制进行解析。本研究解析的功能微生物及其呈香呈味物质形成机制不仅丰富了我国白酒微生物的理论,而且为传统酿造过程走向机械化、现代化奠定了基础。以酱香型白酒中高效产酱香风味微生物及其发酵代谢特征为例说明。

通过将风味导向与微生物生理特征导向相结合原理,建立了高温大曲中特征香高效产生细菌的有效筛选方法,从不同代表性来源的高温大曲中筛选获得多株具有不同特征的产酱香功能细菌。产酱香功能细菌为革兰氏阳性杆菌,有芽孢,兼性厌氧。经形态学、生理生化特性和 16S rDNA 序列分析,鉴定为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)。菌株目前已受国家发明专利保护,保藏编号分别为 CGMCC 3962、CGMCC3963、CGMCC3964。首次采用转录组学技术和风味化学技术研究了功能细菌发酵特征及代谢风味特征,明确了产酱香重要影响因素以及酱香产生的关键代谢途径及其调控机制。此部分内容已开展成果鉴定。

2 中国白酒生产中的功能微生物及其功能

芝麻香型白酒的生产是纯种群微生物发酵的过程,优质的功能微生物菌种是纯种发酵的关键之一,因此,微生物菌种及其发酵功能的鉴定是群体微生物得以有效应用的关键条件之一。针对该关键前提条件,本研究建立了白酒微生物培养库,并对微生物的发酵功能及其代谢机制进行深入解析。

江南大学酿酒微生物研究室从 20 世纪 90 年代开始建立中国白酒生产的优质菌种库,通过“中国白酒 169 计划”的研究,从不同产地、来源、香型和酿造工艺与环境分离获得了 1000 多株,已经证实了 300 多株具有生产价值的中国白酒功能微生物菌种,建立了白酒酿造功能微生物库,形成一批国家专利的菌种。包括酱香/芝麻香型白酒生产中的产酒酵母、产酸酵母、产酯酵母、产酱香细菌、高产吡嗪细菌、产酸细菌以及不同种属的霉菌等;清香型白酒中的产酒酵母、产清香特征风味物质酵母、产酯酵母、产糠味细菌、产香细菌等;浓香型白酒生产中的产酒酵母、产酸酵母以及产酯酵母、高产酯的华根霉、产陈味细菌、己酸菌、乳酸菌、丁酸菌等。其中,一些菌种属于新发现的菌种,如在酱香堆积中发现的高产酒精的酵母以及一些产酸酵母;另外一些菌种具有新的功能,如某些酵母可产清香型特征风味物质。并有一些菌种目前已进入实际生产,应用效果极其明显,如产酱香的功能

细菌等。

3 功能微生物的群体组合发酵

群体微生物组合发酵是纯种发酵关键之二。芝麻香型白酒是创新的酒种,是采用群体微生物组合发酵的典型代表,但是目前芝麻香型白酒生产仍然面临以下问题:单个纯种应用效果与白酒各自的特点的矛盾;白酒口味与风味协调性;酒质与酒量双丰收,同时也正是目前微生物群体应用需要解决的问题。

尽管,目前中国白酒工业在白酒微生物的研究与应用方面已取得了一定的成果,从简单的单一微生物菌剂到混合的微生物菌剂在白酒生产中的强化应用等。例如,单一的细菌、酵母和霉菌菌剂的应用,混合的细菌、混合的酵母以及混合的霉菌菌剂的应用,以及多株细菌和酵母混合菌剂的应用;多株酵母和霉菌混合菌剂的应用等。但是此类微生物强化应用的方式还是无法解决以上关键问题。本研究针对上述问题从根源上去思考,建立了基于酿造微生物群体结构的关键微生物组合发酵技术。同时,解决了白酒口味、风味协调性的问题以及酒质与酒量双丰收的问题。

3.1 小曲清香型白酒功能微生物群体的应用

清香型小曲白酒是清香型白酒的重要组成,其生产具有发酵周期短、出酒率高等优点,但由于传统粗放式生产工艺,导致存在生产可控性差,酒质、出酒率稳定性差等问题。本研究以典型清香型小曲白酒劲酒为研究对象,通过分子生态学技术和传统微生物培养方法分析其清香型小曲中微生物的载体,明确了生产中重要的功能微生物及其功能。将清香型小曲白酒功能微生物 *S. cerevisiae*、*I. orientalis*、*R. oryzae* 等菌种进行纯种制曲生产,按比例混合用于酿造阶段。与用小曲作为起始发酵剂进行生产相比,出酒率增加 2.79%,达到 55%以上;乙酸乙酯含量增长近 1 倍;乙醛、乙醛、乳酸乙酯等其他指标也有不同幅度的提高,从而提升了白酒品质。

3.2 大曲白酒功能微生物群体的应用

白酒生产中微生物的相互作用对微生物群落的有效应用具有重要作用。例如,霉菌与酵母的相互作用影响着糖化与产酒的速度;产酒酵母与产香酵母的相互作用影响着白酒的品质与产量;产香细菌与产酒酵母的相互作用也影响着白酒的品质与产量。因此,在功能微生物群落的应用中,本研究分别对以上 3 类关系从分子水平上进行深入探讨,然后对 3 类关系进行了调控优化,实现了酒质与酒量的共同提升。

在山东孔府家芝麻香型白酒、古贝春酱香型白酒等多家企业的生产规模水平上,通过对白酒酿造微生物群

落的研究,确定了4株霉菌、8株不同功能的酵母、以及4株不同功能的细菌作为关键功能微生物,通过对各种功能及其相互关系的认识,以及各种微生物数量的复配优化,最终将上述微生物按照一定的细胞数量比例进行组合应用,堆积40 h后,入池发酵30 d,出酒率较对照样提高了3%。同时白酒的特征香、丰满度、细腻感、甜度、舒适感、协调感等方面都明显提高。对酒的风味成分测定,酯类、醇类、挥发酸类、芳香环类、苯酚类、吡嗪类成分均得到一定程度的提高。表明该微生物菌剂应用效果明显。

4 结束语

芝麻香型白酒是中国创新的白酒香型,它在科学传承中国白酒千年酿造经验的基础上,取其精华,去除糟粕,进行了集成创新。它的生产技术代表着中国白酒先进的生产技术,也引领着中国白酒的前进方向,相信芝麻香型白酒的发展必将促进中国白酒整个传统产业的技术升级和现代化,也将促进中国白酒的可持续性发展。

参考文献:

- [1] 沈怡方.白酒生产技术全书[J].北京:中国轻工业出版社,1998.
- [2] 沈怡方,赵彤.对于白酒香型的认识与学术性探讨[J].酿酒,2007,34(1):3-4.
- [3] Xu Y, Wang D, Fan W, Mu X, Chen J. Traditional Chinese Biotechnology[J]. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, 2010. 122:189-233.
- [4] Xu Y, Ji K. Moutai (Maotai): production and sensory properties [J]. Alcoholic beverages: Sensory Evaluation and Consumer Research. Woodhead Publishing Limited. 2012:315-330.
- [5] Zhu B, Xu Y, Fan W. Tetramethylpyrazine production by fermentative conversion of endogenous precursor from glucose by *Bacillus sp*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009:108.
- [6] Zhu B, Xu Y, Fan W. Study of tetramethylpyrazine formation in fermentation system from glucose by *Bacillus subtilis* XZ1124 [J]. New Biotechnology, 2009: 25S:S237 (doi:10.1016/j.nbt.2009.06.224).
- [7] Zhu B, Xu Y. High-yield fermentative preparation of tetramethylpyrazine by *Bacillus sp.* using an endogenous precursor approach[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2010. 37:179-186.
- [8] Zhu B, Xu Y. A feeding strategy for tetramethylpyrazine production by *Bacillus subtilis* based on the stimulating effect of ammonium phosphate[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2010:(doi: 10.1007/s00449-010-0419-5).
- [9] Zhu B, Xu Y. Production of tetramethylpyrazine by batch culture of *Bacillus subtilis* with optimal pH control strategy[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2010:(doi: 10.1007/s10295-010-0726-5).
- [10] Wang H, Zhang X, Zhao L, Xu Y. Analysis and comparison of the bacterial community in fermented grains during the fermentation for the different styles of Chinese Liquor[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2008:603-609.
- [11] Wang H, Gao Y, Fan Q, Xu Y. Characterization and comparison of microbial community of different typical Chinese liquor Daqu by PCR-DGGE[J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 53:134-140.
- [12] Du H, Xu Y. Determination of the microbial origin of Geosmin in Chinese Liquor[J]. J. Agric. Food Chem,2012, 60(9): 2288-2292.
- [13] Wu Q, Xu Y. Transcriptome profiling of heat-resistant strain *Bacillus licheniformis* CGMCC3962 Producing Maotai Flavor [J].J. Agric. Food Chem.2012, 60, 2033-2038.
- [14] Wu Q, Xu Y, Chen L. Diversity of yeast species during fermentative process contributing to Chinese Maotai-flavour liquor making[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, doi: 10.1111/j.1472-765X.2012.03294.x.
- [15] Wu Q, Xu Y, Wang W. Identification and formation mechanism of key flavor compound damascenone in Chinese light style liquor[J]. IBS 2012, Reference No. : Temp_O-S1-ST4-0560.
- [16] 王薇,吴群,徐岩.清香型白酒固态酿造过程中酵母种群结构和多样性分析[J].微生物学通报,2012:9.
- [17] 唐洁,王海燕,徐岩.酿酒酵母和异常毕赤酵母混菌发酵对白酒液态发酵效率和风味物质的影响 [J].微生物学通报,2012, 39(7): 921-930.
- [18] 高亦豹,王海燕,徐岩.利用 PCR-DGGE 未培养技术对中国白酒高温和中温大曲细菌群落结构的分析[J].微生物学通报, 2010, 37(7): 16.
- [19] 张荣,徐岩,范文来,王海燕.酱香大曲中地衣芽孢杆菌及其风味代谢产物的分析研究[J]. 工业微生物, 2010,40(1): 1-7.
- [20] 张海林,范文来,徐岩.高产 2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮(DMHF)酵母菌的选育[J].中国酿造, 2009, 212(11):20-23.
- [21] 王海燕,张晓君,徐岩,赵立平.浓香型和芝麻香型白酒酒醅中微生物菌群的研究[J].酿酒科技, 2008(2): 86-89.

2013年前两月 贵州出口白酒增长逾六成

本刊讯 2013年前两个月,贵州省出口白酒货值900万美元,同比增长67%。在贵阳海关刚刚公布的2003年1~2月外贸数据中,白酒0.09亿美元,占初级产品出口规模的第三位,同比增长67%。

据了解,出口白酒绝大多数为酱香型白酒,出口市场主要为港、澳、美国、日本、新加坡等地区和国家。(小小)