

提高酯化酶制作质量及其应用效率的措施

钟怀利

(贵州茅台酒厂(集团)习酒有限责任公司,贵州 习水 564622)

摘要: 酯化酶工程技术在传统白酒和串香白酒生产中起着重要作用。稳定、提高酯化酶的制作质量 ①选育出活力强、产酶高、适应性强、不易变异的红曲霉菌种。②严格无菌操作。实验室培养温度控制在 30~32℃为宜。③三级种扩大培养室采取二次灭菌。④用优质麦麸作培养基。⑤培养基的水分控制在 40%~50%之间。⑥培养过程温度控制在 28~35℃之间。⑦应低温通风干燥后保藏。酯化酶的应用方法有 ①酯化液蒸馏分配使用 ②酯化液固形物用于后期上甑 ③酯化酶参与双轮底、回沙窖发酵等,从而提高酯化酶的使用效率。(小雨)

关键词: 白酒; 酯化酶; 制作质量; 应用效率

中图分类号: TS262.3; TS261.4; TQ925; Q814.9 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2005)04-0054-02

Measures to Improve Production Quality and Use Efficiency of Esterifying Enzyme

ZHONG Huai-li

(Xijiu Co. Ltd. of Guizhou Maotai Group, Xishui, Guizhou 564622, China)

Abstract: Esterifying enzyme-engineering techniques plays important roles in the production of traditional liquors and flavor-crossing liquors. The following measures were practiced to improve production quality of esterifying enzyme: ①breeding of *monascus* species (hardly mutate) of high activity, high enzyme-producing capability and strong compatibility; ②strict sterile operation and the optimal culture temperature in lab at 30~32℃; ③secondary sterilization for culture room for expanded three-grade culture; ④quality wheat bran as culture medium; ⑤moisture content of culture medium controlled between 40%~50%; ⑥temperature controlled between 28~35℃ during culture process; ⑦storage processed after low-temperature aeration drying. Esterifying enzyme was used in the following processes: ①distilling and dispensing of esterified liquid; ②late-stage steaming of esterifying liquid solids; ③involvement in double-bottom fermentation etc. to improve use efficiency of esterifying enzyme.(Tran. by YUE Yang)

Key words: liquor; esterifying enzyme; production quality; use efficiency

酯化酶工程技术是 20 世纪 80~90 年代发展起来的一项应用于传统白酒生产的新技术。酯化酶的理论基础为酶在有机溶剂中作用,将酸与醇酶促合成酸酯。该酶具有多项合成功能,能受控制同时合成己酸乙酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯、丁酸乙酯等酯类物质。众所周知,浓香型白酒含有种类繁多的香味物质,其中主要以己酸乙酯的含量及其他酯类物质的比例关系而决定酒质的优劣。根据这一理论,酯化酶技术应用于传统白酒生产,将大幅度提高浓香型白酒优质品率,应用于串香白酒,可起到增香排杂作用,从而免除化学香料调香中存在的“浮香”。

10 多年来,酯化酶技术在浓香型白酒生产厂家得到了广泛应用,各厂取得了良好的经济效益和社会效益。我公司在 1992 年与成都生物研究所合作,从本厂曲药中选育出酯化酶红曲霉功能菌,制作成粗酶制剂,应用于制曲、窖内发酵、串蒸等环节,也取得了较好的经济效益。但在酯化酶生产制作及使用过程中,有许多因素会影响酯化酶的质量,结合我厂生产实践,笔者总结出一系列稳定、提高酯化酶质量及其应用效率的措施,供同行参考。

1 生产工艺

1.1 酯化酶粗酶制剂制作

收稿日期: 2005-01-04

作者简介: 钟怀利(1964-),男,贵州人,大专,工程师,总经理助理,发表论文数篇。

酯化酶菌种→试管斜面培养→三角瓶二级种培养→三级种扩大培养

1.2 酯化酶粗酶制剂应用

粗酶制剂→制作酯化液→串蒸酒醅
粗酶制剂→加入糟醅→参与发酵
粗酶制剂→风干→制曲发酵→酯化曲

2 酯化酶生产中常见的问题

试管斜面培养时产生黑色、黄色菌落或不产生任何菌丝。

三角瓶二级种产生黑色菌丝或表面长红曲霉菌丝,但不向培养基内部渗透生长。

三级种培养时升温太快,一般在 24 h 升温超过 40℃。

三级种培养时变馊臭。

三级种长黑灰色菌丝,且生长速度非常迅猛。

三级种起硬团,起疙瘩,菌丝生长不好。

三级种颜色为麦麸本色,断面不长菌丝,无酯化酶特殊清香味。

酯化曲与对照曲相比,升温过猛,一般 24 h 超过 50℃。

3 提高酯化酶制作质量措施

3.1 菌种

分离选育菌种时宜把春、夏、秋、冬的曲药都进行选育,一定要选育出活力强、产酶高、适应性强、不易变异的红曲霉菌种。必须加强菌种的保藏工作,按时转种,最好一个季度检测一次活力,发现菌种退化,立即进行分离纯化,有条件的单位还可采取诱变处理措施。

3.2 实验室操作

实验室接种严格无菌操作,培养基蒸汽灭菌时注意排完空气,压力达到 0.08 MPa。实验室生化培养箱培养酯化酶,温度一定要控制好,一般掌握在 30~32℃为宜。

3.3 培养室灭菌

对三级种扩大培养室采取二次灭菌,第一次采用硫磺熏杀 10 h 以上,第二次再用高锰酸钾-甲醛熏杀一晚上。对扩大培养时采用的竹帘、簸箕、纱布、工具等先用蒸汽蒸 2 h 以上,再放入培养室一起二次灭菌。

3.4 蒸料、接种

用优质麦麸作培养基,应特别注意水分的含量,一般加入麦麸重量的 50%,料一定要蒸熟,熟料要求疏松,不能有水团子疙瘩。接种温度必须控制在 35℃以下,接种量掌握在 8%~10%之间。

3.5 水分控制

酯化酶培养过程中,水分是重要的控制参数,培养

基的水分一般控制在 40%~50%之间。水分过大,培养基不疏松,不利于微生物的生长繁殖,而且内外温差较大,培养基内部厌氧菌占优势,红曲霉生长受到抑制,严重的就会使麦麸变馊臭而失败。水分过小,培养基过于疏松,菌种有氧生长太快,升温过猛,可能导致“烧料”。一般控制水分的办法是将烧开水的水冷却至 35℃以下,然后浇洒在纱布上或整个培养室内,必要时还可开启门窗调节。

3.6 温度控制

控制品温是酯化酶培养的核心,整个培养过程均应控制在 28~35℃之间,切忌品温低于 25℃,超过 40℃。品温一般通过调节水分、开启门窗来控制。

3.7 保藏、制作酯化曲

酯化酶制作好后最好立即使用,若需保藏,应低温通风干燥后再保藏。酯化酶制作酯化曲的接种量应视季节气候而定,一般冬季制曲接种量大一点,春秋少一点,夏季不宜添加,否则会使发酵升温太猛。

总之,制作酯化酶一是要细心,二是严格控制工艺参数,三是严格操作。做好以上这些工作,才能培养出颜色粉红、断面菌丝稠密、清香浓郁的高质量酯化酶。

4 提高酯化酶应用效率的办法

4.1 酯化液的制作

经过对比试验及多年来生产探索,笔者总结出以下酯化液原材料配比,能得到较理想的酯化液(试验过程略)。

酯化液配制及条件:优质黄水 55%,次品酒 15%~20%(v/v),酯化酶 5%~7%,曲粉 1%~2%,己酸 0.5%,pH 值 3.5~4.0,酯化温度 35℃,酯化时间 7 d。

4.2 酯化液蒸馏分配使用

白酒中的许多香味物质特别是酯类物质主要通过蒸馏时酒精浸提拖带而出。酒精浓度越高,浸出的香味成分越多。酯化液倒入底锅串蒸酒糟,即是引用这一原理。在生产中我们发现将一桶 A kg 的酯化液全部倒入底锅中串蒸,其己酸乙酯的提取率不是很高,还有一部分没有被提馏出来。但是,在酯化液 A kg 不变的前提下,从中取出少量 B kg 拌入糟醅中,用于后期上甑,可增加 10%左右的己酸乙酯。实践证明,只要 B 的大小适量,便不会造成热锁闭现象,即“踏汽”现象。B 用量要视糟醅疏松度、水分、酒精含量等条件而定。

4.3 酯化液固形物使用办法

酯化液成熟后,大量的香味物质除互溶在液相层外,还有相当一部分是以吸附性贮存和毛细管贮存于粗酶制剂固形物中的,要想这一部分有益成分完全依靠重

(下转第 57 页)

促使窖泥样的气相色谱分析成分有所改变,改变的结果是添加了‘TW80’的窖泥样,其气相色谱分析成分结果总体要比未添加‘TW80’的窖泥样高。

2.1 添加‘TW80’的窖泥样浸提液,其己酸乙酯、乳酸乙酯的含量比未添加‘TW80’的窖泥样中己酸乙酯、乳酸乙酯含量分别高出 6.6 倍和 1.8 倍之多。

2.2 添加‘TW80’的窖泥样浸提液中己酸乙酯含量(5.87 mg/mL)是乳酸乙酯含量(1.29 mg/mL)的 4.5 倍。

2.3 添加‘TW80’的窖泥样浸提液中微量成分乙醛、乙缩醛、高级醇的含量也有较大幅度的增加。

3 结果讨论

窖泥的研究是白酒行业提高浓香白酒质量研究的主导措施之一。这方面的文献很多,许多资料表明:窖泥是多种功能菌生酸生酯的主要场地,主要是梭状芽孢杆菌和甲烷杆菌等。在窖泥课题研究中,采用强化窖泥或人工培养窖泥提高浓香型白酒质量无外乎是以人工培养梭状芽孢杆菌、甲烷杆菌、丁酸菌等功能菌加入,使酒醅中增加己酸、己酸乙酯等来实现浓香白酒质量的提高。

从本试验分析结果可以看出:添加‘TW80’的窖泥浸提液中己酸乙酯、乳酸乙酯的含量均有较大的提高。众所周知,浓香型白酒中的呈香物质主要是己酸乙酯、乳酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯四大酯,其来源途径除了窖泥外还有酒醅,本试验仅提供了窖泥中己酸乙酯、乳酸乙酯分别增加了 6.6 倍和 1.8 倍,和“己、乳”比为 4.5 倍这个事实,这个发现是乐观的,因为己酸乙酯是浓香型白酒香气成分的主体香,按照浓香型白酒质量提高的学说之一,就是“增己降乳”,那么添加‘TW80’的窖泥其

己酸乙酯、乳酸乙酯按 4.5 倍的增加能否有助于承载酒醅的浓香型白酒的质量提高呢?尚需实验来验证!

一般来说,窖泥中栖息了大量的微生物菌群,它们严格或兼性厌氧微生物,它们的代谢过程所产生的各种成分是直接影响酒质的关键所在,那么‘TW80’是以什么方式促使窖泥中两大酯类、醛类及高级醇的含量有所增加的呢?是‘TW80’诱导了梭状芽孢杆菌、甲烷杆菌、酯化酶系统,还是其他微生物发生了什么样的代谢活动而产生的‘增香物’呢?其机理目前尚不十分清楚,有待进一步研究。

尽管如此,非离子表面活性剂添加于窖泥中产酯非凡的试验还是向我们展示了它在酿酒工业中的应用前景!这是因为梭状芽孢杆菌和甲烷杆菌的人工分离不是一件轻而易举的事,而且该过程投入到生产实际中投资也不小,非离子表面活性剂添加于窖泥中实现提高浓香型白酒的质量的目标不失为一种有效途径。

非离子表面活性剂在酿酒工业中的应用很多,在其他工业研究领域也有广泛的应用。提出这个问题,只是抛砖引玉,希望同行对此问题进行深入的研究。

参考文献:

- [1] 刘大江,等.窖泥中氨基酸含量对其曲酒质量的影响(第一报)窖泥成分对酒质影响的研究[J].酿酒科技,1987 (4):2-5.
- [2] 刘大江,等.窖泥中无机及微量元素对酒质的影响——窖泥成分对酒质的影响(第二报)[J].酿酒科技,1988 (3):2-7.
- [3] 刘大江,等.窖泥中的白色团块和白色晶体的研究——窖泥成分对酒质的影响(第三报)[J].酿酒科技,1990 (1):9-13.
- [4] 刘大江,等.窖泥中有机酸含量及其对酒质的影响——窖泥成分对酒质的影响(第四报)[J].酿酒科技,1990 (2):2-5.
- [5] 周恒刚.关于窖泥微生物(上)[J].酿酒科技,1987 (1):2-6.
- [6] 周恒刚.关于窖泥微生物(下)[J].酿酒科技,1987 (2):2-4.

(上接第 55 页)

力作用从固形物中滴流出来是不可能的。一是因为粗酶制剂固形物表面粗糙,表面积大,有较强的吸附力,酯化液中相当一部分物质被吸附;二是在固形物集中到一定程度后,酯化液的表面张力使部分液滴悬挂其中;三是在粗酶制剂的固形物中,由于培菌过程中消耗了大量的养分,便由蛋白质纤维网络形成了深层的愈来愈小的狭窄毛细管通道,这些地方也呈现出极强的吸液性,也会贮存一部分有益成分。我们的做法是将固形物从酯化液中取出,在上甑时离甑沿约 20 cm 处均匀撒于酒醅上,使己酸乙酯的提取率增加 10 %左右,从而进一步提高己酸乙酯的使用效率。

4.4 酯化酶粗酶制剂制曲、酿造应用范围

根据我公司生产情况,在各季制曲时接种 5 %的红

曲霉,有利于曲坯升温,而在入窖发酵方面,出于生产成本和操作原因,一般只将酯化酶用于双轮底和回沙酒糟醅,目的是提高双轮底酒和回沙酒的质量,多产优质调味酒。

以上措施是笔者几年来一些生产体会,文中有不妥之处,还望专家学者、同行指出为谢。

参考文献:

- [1] 吴衍庸.提高中国白酒质量的酶工程技术[J].酿酒科技,2003 (5):32.
- [2] 苏富贵,赵吕均.红曲酯化菌在浓香型大曲酒生产中的应用[J].酿酒科技,1994 (5):30.
- [3] 周恒刚.漫谈己酸乙酯的酯化[J].酿酒科技,1998 (3):18-22.