

安琪耐高温酿酒高活性干酵母在酒精浓醪发酵中的应用

李志军,王 敏,李家飏

(天津科技大学,天津 300222)

摘 要: 使用安琪耐高温酿酒高活性干酵母,以玉米为原料生产酒精,通过在发酵过程中添加复合酶,采用边糖化边发酵工艺,从三角瓶小试,到5 t罐中试,取得了一定效果,残还原糖为0.21%,酒分达到13.6%(v/v)。同时证明了在稀醪条件下适当提高发酵温度可加快酵母的产酒,但在浓醪情况下,提高温度会增加乙醇对酵母的毒性,导致出酒率下降。

关键词: 安琪酵母; 耐高温酿酒高活性干酵母; 酒精; 浓醪发酵; 复合酶

中图分类号: TS261.1; TS262.2; TS261.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2004)01-0091-03

Application of Angel High-temperature Resistant & Highly-active Dry Yeast in the Fermentation of High-concentration Mash

LI Zhi-jun, WANG Min and LI Jia-biao

(Tianjin Science & Technology University, Tianjin 300222, China)

Abstract: Angel high-temperature resistant & highly-active dry yeast was used to produce alcohol with corn as raw materials. Composite enzymes were added during fermentation and the technique of saccharification and fermentation simultaneously was applied at the same time. Whatever in flask test or in trial production in tins of 5 tons volume, satisfactory results were obtained: the contents of residual reducing sugar and alcohol were 0.21% and 13.6% respectively. The results also proved that proper increase of fermentation temperature could enhance the output rate. However, under the hypothesis of high-concentration mash, the increase of temperature would lead to toxic effects of alcohol on yeast, which would decrease liquor yield. with high content of main fermentation mash. (Trans. by YUE Yang)

Key words: angel yeast; high-temperature resistant and highly-active dry yeast; alcohol; fermentation of high-concentration mash; composite enzymes

酒精浓醪发酵,即在酒精生产过程中采用高浓度的醪液进行发酵。其目的在于:(1)降低能耗,在酒精生产过程中能耗是继粮耗以外的主要成本。从粮耗上讲,理论上淀粉出酒率为61.4%,在实际生产过程中,一般出酒率达到54%,即得率为88%,考虑酵母增殖所耗糖分,实际已达到92%,为此酒精生产成本中能耗起主导作用。经验表明,酒分每增加1度,蒸汽用量将减少300 kg。(2)节约工艺用水,目前一般酒精厂的料水比为1:2.5左右,采用浓醪工艺为1:1.8~1:2.0,吨酒精用水节约2 t以上。(3)降低DDGS的生产成本,提高其出率。发酵醪浓度高,固形物含量也高,分离、干燥费用就低,其出率也高。(4)减少废水量。(5)提高设备利用率。

酒精作为新型能源的基础原料,凭借在资源利用、环境保护等诸多方面的优势,发展前景愈加被看好^[1]。2001年中国酒精产量为250万吨,预计到2005年将达到400万吨,到2015年可达到600万吨(其中燃料酒精300万吨)。而我国酒精发酵技术的整体水平与发达国家相比还存在着差距,同时我国酒精行业的竞争已经白热化。目前我国酒精的实际生产能力已经超过600万吨,还有正在新建、扩建,计划新建、扩建的,而市场需求约300万吨。生产的原材料、产品价格、质量竞争等已全面展开。安琪是酒精生产企业主要的酵母供应厂家,面对酒精厂的竞争、面对国内外酵母同行的竞争需要,开展安琪耐高温酿酒高活性干酵母在酒精浓醪发酵中的应用课题研究。

究。

1 三角瓶小试

1.1 实验原料

1.1.1 玉米:水分13.7%,淀粉64.44%(折算),粒度89.63%。

1.1.2 淀粉酶:诺维信耐温淀粉酶。

1.1.3 糖化酶:诺维信糖化酶。

1.1.4 蛋白酶:肇东产。

1.1.5 复合酶:安琪产。

1.1.6 干酵母:安琪产。

1.2 实验方案

试验采用3个加水比1:1.8,1:2.0,1:2.3,4种工艺方案,具体工艺方案如下:

方案Ⅰ:原料→调浆→蒸煮→液化→加复合酶糖化发酵

方案Ⅱ:原料→调浆→液化→糖化→加复合酶发酵

方案Ⅲ:原料→调浆→液化→糖化→加蛋白酶发酵

方案Ⅳ:原料→调浆→液化→加复合酶糖化发酵

小实验的基本条件如下:

(1)原料玉米量:150 g。

(2)调浆方法:60℃,30 min。

(3)蒸煮:121℃,10 min。

收稿日期:2003-12-03

作者简介:李志军(1967-),男,湖北仙桃人,工程硕士,湖北安琪酵母股份有限公司高级工程师,发表论文多篇。

三角瓶浓醪发酵结果								
实验号	方案	料水比	酒度 (%,v/v)	挥发酸	总酸	残糖 (%)	还原糖 (%)	折算出酒率 (%)
1	Ⅱ	1:2.3	12.7	0.16	6.0	2.25	0.25	51.96
2	Ⅲ	1:2.3	13.1	0.17	6.0	2.35	0.20	53.39
3	Ⅱ	1:2.0	14.1	0.24	6.5	2.83	0.28	51.95
4	Ⅲ	1:2.0	13.4	0.22	7.0	3.53	1.50	49.62
5	Ⅱ	1:1.8	14.85	0.25	7.0	3.40	1.60	50.86
6	Ⅲ	1:1.8	13.15	0.27	6.5	7.06	3.45	45.52
7	Ⅰ	1:1.8	14.7	0.25	7.5	3.58	0.31	50.44
8	Ⅰ	1:2.0	13.7	0.19	7.2	3.03	0.23	50.64
9	Ⅰ	1:2.3	12.85	0.15	6.0	2.78	0.26	52.48
10	Ⅳ	1:1.8	14.8	0.22	7.0	3.25	0.49	50.76
11	Ⅳ	1:2.0	13.8	0.20	6.9	3.15	0.20	50.98
12	Ⅳ	1:2.3	12.5	0.11	6.5	2.65	0.24	51.13

(4)液化 90℃ 90 min。
(5)糖化 pH4.5 60℃ 30 min。
(6)淀粉酶用量 0.65 kg/t料,相当于22 u/g原料。
(7)糖化酶用量 1.05 kg/t料,相当于105 u/g原料。
(8)干酵母用量 0.2%。
(9)发酵时间 65~68 h。

1.3 实验结果(见表1)
从结果看可得出如下几点结论:
1.3.1 采用蒸煮液化与仅90℃液化效果相差不大。
1.3.2 复合酶在料水比1:2.0,1:1.8时效果较好,比采用单一蛋白酶,出酒率提高幅度很大。
1.3.3 采用边糖化边发酵工艺,最终残还原糖较先糖化后发酵工艺有大幅度降低。
1.3.4 以玉米为原料的浓醪发酵,采用液化酶分次加入,液化温度90~95℃,液化90 min,无糖化,添加安琪复合酶的发酵工艺能取得很好的效果。

2 5 t发酵罐中试实验

2.1 实验原料

玉米:水分15.5%,淀粉63.44%(折算),粒度91%。

淀粉酶:诺维信耐温淀粉酶。
糖化酶:诺维信糖化酶。
复合酶:安琪产。
干酵母:安琪产。

2.2 实验方案
2.2.1 浓醪发酵
采用小试确定的方案,即液化酶分次加入,液化温度90~95℃,液化90 min,无糖化,添加安琪复合酶的发酵工艺。其他实验条件如下:
投料量:1200 kg,减去损失,约计1180 kg。
料水比:按1:1.8配制,最后实测为1:2.2。

液化效果:粘度210(61℃),密度1.0868,还原糖5.125%,干物质25%,DE值20.5%,碘反应:深棕色。
淀粉酶用量 0.65 kg/t料,相当于22 u/g原料。
糖化酶用量 1.05 kg/t料,相当于105 u/g原料。
干酵母用量 0.1%。

2.2.2 对照试验
无糖化、单一酶发酵,其他条件如下:
投料量:1219.55 kg。
料水比:1:2.4331。
液化效果:密度1.0757,还原糖4.375%,干物质21.9%,DE值20,碘反应:蓝紫色。
淀粉酶用量 0.65 kg/t料,相当于22 u/g原料。
糖化酶用量 1.05 kg/t料,相当于105 u/g原料。
干酵母用量 0.1%。

2.3 结果与分析
5 t发酵罐的浓醪发酵试验结果见表2,对照实验结果见表3。
从实验结果看,中试实验达到了较高的技术水平,在浓醪发酵状态下,前期出芽率高,酵母活性高,表现为发酵速度快,后期酵母死亡率高,残还原糖下降缓慢或上升,淀粉出酒率达到52%以

5 t发酵罐浓醪发酵结果												
时间 (h)	外观糖 (Bx)	还原糖 (%)	酸度	挥发酸	酒度 (%,v/v)	残总糖 (%)	过滤总糖 (%)	残淀粉 (%)	酵母数 (亿/ml)	芽生率 (%)	死亡率 (%)	密度
1	23.0		2.5							55		
4	20.5		4.3						2.08	30		
8	19.7		4.5						3.20	8		
12	14.11		5.0		5.5					5		
16	10.99		5.5		7.8				3.0	1		
24	6.44	3.75	6.7	0.06	10.0				3.25		0	1.01274
32	3.04	2.8		0.08	11.5						3.4	
40	0.53	0.73	7.6	0.1	13.1						8.5	
48	0.43	0.14	7.0	0.09	13.3						29	1.0001
52	-0.82	0.11		0.11	13.5						36	
56	-0.89	0.25	7.0	0.12	13.5	2.45	0.90	1.40			39	0.9962
62	-1.00	0.21	7.2	0.13	13.6	2.38	0.90	1.33			50	0.9952

5 t发酵罐对照试验结果												
时间 (h)	外观糖 (Bx)	还原糖 (%)	酸度	挥发酸	酒度 (%,v/v)	残总糖 (%)	过滤总糖 (%)	残淀粉 (%)	酵母数 (亿/ml)	芽生率 (%)	死亡率 (%)	密度
3	20.50	4.13							1.76	42		
24	9.64	5.5	5.3	0.06	6.9				3.5	2	1	1.0532
48	1.47	1.80	6.5	0.08	11.0						3	1.0128
成熟醪 (65)	-0.79	0.16	6.5	0.09	12.0	1.8	0.75	0.95			6	0.9992

上,残总糖略有提高。

3 发酵温度对酵母产乙醇的影响

3.1 实验材料

液化酶20 u/g原料,糖化酶120 u/g原料;复合酶;营养盐;安琪耐高温活性干酵母。

3.2 实验方法

取100 g玉米粉,用60℃温水拌料后加入液化酶,升温至90~95℃,液化90 min。然后冷却至32℃,加入糖化酶、复合酶、营养盐、安琪耐高温活性干酵母。发酵65~68 h。

3.3 实验结果

发酵温度对酒精发酵的影响见表4。从表4可看出,发酵醪液在低浓度下,随温度的升高,酵母发酵能力增强,随着醪液浓度的增加,乙醇对酵母的毒性加大,酵母发酵能力下降。

表 4 温度对酒精发酵的影响

项目	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]
发酵温度(℃)	30	40	30	40
料水比	1:4.0	1:4.0	1:2.3	1:2.3
酒分(%,v/v)	8.9	9.3	15.0	11.9
出酒率(%)	48	50	52	42
残总糖(%)	1.16	1.00	1.8	5.4
残还原糖(%)	0.25	0.20	0.30	4.6
酸度	3.6	4.5	4.25	5.4

4 讨论

乙醇是酵母代谢产生的,是初级代谢产物,属于生长联系统。这决定了酒精发酵不仅与酵母的基因有关,而且与酵母的生理阶段有关(过去人们仅认为与基因有关)。为此,引出了酵母耐乙醇性能、酵母产乙醇能力、乙醇毒性等鉴定菌种性能的方法。实验表明,这3种性能都是一个变数,但有一个共性:受外界条件影响较大,如营养、温度、渗透压等等。

4.1 温度的影响

由于高温可增加酒精对酵母的毒性,为此选择耐高温酵母菌株来提高酵母的酒精耐性。采用浓醪发酵时酵母对温度敏感,当温度较低时,酵母发酵能力随温度升高而升高,发酵产生乙醇的速度加快,但温度过高时酵母发酵酶系活力呈现钝化,发酵产生酒精速度减慢^[2-5]。我国大部分酒精企业只把在高温环境下发酵作为目的,没有考虑酵母在低温条件下的发酵。实践证明,以玉米为例,发酵前期温度32~33℃,后期34~35℃,酒精浓度可达14%以上,残总糖在1.5%左右,残还原糖在0.2%左右。

4.2 营养的影响

Thomas和Ingledew证实^[6],在高浓度酒精发酵中主要是营养缺乏,而不是积累的酒精导致发酵活性降低的。Casey^[7]也指出抑制酿

酒酵母生产酒精的因素不是酒精毒性,而是营养物,如果满足它的营养需要,可能会增加酒精发酵的最终酒精浓度。在发酵中可能缺乏的营养物质包括低分子量氮、维生素、无机盐如锌、磷、硫、镁、钙等。在一般条件下我们大多数人只知道酵母菌的生长曲线中有一个延迟期、对数生长期、稳定期、衰亡期,即一次生长曲线,而在各种不同营养物丰富的情况下,酵母菌的生长是一条二次生长曲线。

4.3 渗透压的影响

在高浓度下维持酵母活性和增加乙醇含量,必须降低渗透压对细胞膜和膜结合蛋白的损害作用。高渗透压抑制了酵母产生的乙醇向发酵液中的扩散,导致胞内积累高浓度酒精,从而使酵母的活性和发酵力下降,同时副产物将大量产生,实践证明,分批流加或连续流加有助于导致酒精度的增加;另外,在高浓度发酵条件下加入甘氨酸和脯氨酸等渗透压保护剂,有助于酒精产量和酵母得率而提高。但这些方法要么大幅度增加成本,要么使工艺复杂化,不适合我国现有和将来酒精企业的现状,同时高渗透压必然导致葡萄糖效应,造成底物抑制。为了解决这个问题,我们选择边糖化边发酵工艺,采用乙醇代谢、酵母增殖、糖化3步同时进行的低成本高产出的技术路线。

安琪耐高温酿酒高活性干酵母菌种的特性:主发酵温度可达到42℃,证明此菌种具有很高的抗乙醇毒性。按常规检测耐乙醇性能的方法,此菌种可耐乙醇13%,通过目前我们的实验以及一些高校、院所的实验表明,安琪耐高温酒酵母在实验室发酵过程中酒分可达到17%以上(体积百分比)。一些大型酒精企业中试时以玉米为原料达14%,以小麦淀粉为原料达16%,耐渗实验表明该菌株耐蔗糖达60%。以上事实证明,安琪耐高温酿酒高活性干酵母具备浓醪发酵的潜在能力。

参考文献:

- [1] 上海市食品工业公司.酒精生产技术[M].1984.
- [2] 吴晓萍,李文清,罗进贤,后茂立,林资诚.α-淀粉酶和糖化酶的表达及酿酒酵母工程菌的构建[J].中山大学学报(自然科学版),1999,38(2):80-84.
- [3] 王建玲,梁新乐,王敏,杜连祥.糖化酵母在酒精工业中应用的研究(II)——原生质体融合构建能分解淀粉的高温酒精酵母[J].天津轻工业学院学报,1997,(1):1-7.
- [4] 郭秀君,王迪,李新刚,张伟.一种获得酵母融合株的简易方法[J].山东大学学报,1997,32(4):477-480.
- [5] 黎碧莲,涂桂洪.酿酒酵母与拟内孢霉属间原生质体融合的研究[J].济南大学学报(自然科学版),1998,5(19):120-124.
- [6] Thomas.K.C and Ing.Ledew.W.M.[J].Applied and environmental microbiology,1990.7.2046-2050.
- [7] G.P.Casey & W.M.Ingledew[J].ASBCJ.1983.Vol.41.148.
- [8] Ingledew.W.M.F.W.Sosulski and.C.A.Magnus[J].J.Am.1986.

“久香”牌天下第一曲获原产地保护验收

本刊讯 2003年11月4日,具有679年悠久历史的“久香”牌泸州老窖天下第一曲这一中国酒文化的珍贵遗产通过了国家原产地标记注册保护审核验收,成为国家原产地标记保护对象,加上此前已获保护的泸州老窖特曲和国窖·1573,泸州老窖集团已成为全国名酒企业中唯一获得两项原产地标记保护的企业。

“久香”牌泸州老窖天下第一曲,由中国制曲之父郭怀玉于元朝泰定元年(公元1324年)始创,至今已有679年历史。其制曲发酵微生物种群,在泸州老窖制曲传统工艺保护下,受泸州独特土壤、水质、气候等环境资源的长期滋养,传承至今,成为中国酿酒界不可多得的稀缺制曲资源和传世瑰宝。酒界泰斗秦含章、周恒刚为代表的众多白酒专家对其倾注了宝贵的心血,社会各界给予了热情关注和积极支持。因此,得以不断发扬光大,发展成为规模巨大的生态制曲产业园,造福行业及人类,成为酿酒界一个引人注目的亮点。

验收活动结束后,验收组专家有感于泸州博大精深的名酒历史文化长河,欣然命笔题词——“天下第一曲,原产泸州城”。(程鹏)