No.1 2003 Tol.115

# Liquor-making Science & Technology

# 机械化黄酒生产中酵母的生长及控制

# 张秋汀 魏桃英

(浙江东风绍兴酒有限公司,浙江 绍兴 312030)

要: 机制黄酒始于20世纪50年代,主要采用纯种发酵工艺,酵母菌的生长对酒质影响较大。以85#酵母、生麦曲和 苏-16#纯种培养熟麦曲混合曲(9:1)为糖化发酵剂,采用大罐发酵工艺,探讨糖度变化与酵母生长条件的关系。试验结 果表明 机制黄酒最高糖化温度仅31 ℃左右 :酵母接种量以2.5 %~3.0 %为宜 .接种酵母应为稳定期 .即培养40 h左右 的速酿酵母,可有效缩短酵母生长迟缓期;在酵母对数生长期,应保持有充足的糖分提供给酵母营养,一般为50~150 g/L. 稳定期酵母浓度可达4亿/ml左右、糖度下降速度可达7.5 g/L·h. 酒精度上升1.75 %/h左右; 当醪液酒精度达到10 %( v/v ) 糖度4~5 g/L 酵母浓度3亿/ml左右时 ,即进入衰退期 ,衰退期的酵母不再增殖 ,当酒精度达18 %( v/v )时 ,出现 酵母凝聚现象 发酵液变清 酵母出芽率几乎为零 揭示整个发酵结束。(一平)

关键词: 机械化黄酒; 纯种酵母; 生长条件

中图分类号:TS262.4;TS261.1 文献标识码: A 文章编号:1001-9286(2003)01-0077-03

# Growth of Yeast in the Brewing of Mechanized Yellow Rice Wine and Its Control

ZHANG Oiu-ding and WEI Tao-ving (Dongfeng Shaoxing Wine Co. Ltd., Shaoxing, Zhejiang 312030, China)

Abstract: Mechanized yellow rice wine initiated in 1950s and the technique of pure species fermentation was mainly applied, as a result, the growth of yeast had great effects on wine quality. In the test, 85# yeast and the mixed starter by raw wheat starter and steamed wheat starter by pure species cultivation with Su-16# (9:1) was used as the saccharification and fermentation agents, the technique of big pot fermentation was applied, and the correlations of sugar content changes and yeast growth conditions were investigated. The results suggested that the highest saccharification temperature was about 31 °C; the best inoculation quantity of yeast was 2.5 %~3.0 %; and the yeast for inoculation should be in its stable period, namely, the yeast should be rapid fermentation yeast by about 40 d culture which could effectively shorten the slowness period of the yeast; during the logarithmic growth phase of the yeast, sufficient sugar ensured to provide yeast nutrition (usually 50~150 g/L); the yeast concentration could achieve 0.4 billion/ml in the stable phase and the reduction rate of sugar content achieved 7.5 g/L·h with alcohol content increased about 1.75 %/h; when the alcohol content in mash liquid, sugar content and yeast concentration achieved 10 \( \lambda \text{(v/v)} \), 4~5 g/L and 0.3 billion/ml respectively, it indicated the regression phase in fermentation, no more proliferation in this phase and as the alcohol content reached 18 %(v/v), yeast agglomeration presented, the ferment liquid became clear and the budding ratio of yeast tended to be zero, the whole fermentation ended (Tran. by YUE Yang)

Key words: mechanized yellow rice wine; pure species yeast; growth condition

黄酒经过几千年的发展,已经总结出一整套行之有效的科学 发酵工艺。其中一些很独特的工艺,如糖化、发酵并行,以酸制酸 等,对现行发酵工艺有重大的借鉴意义。但是长期以来,对黄酒发 酵机理研究还不够深入,这种理论上的滞后性,对20世纪50年代兴 起的机械化黄酒生产(以下简称机黄酒生产)带来的影响尤其突 出,它严重制约了机黄酒生产稳定性和品质的提高。本文通过对机 黄酒发酵过程中酵母生长及控制的分析,揭示机黄酒发酵的过程。

1 材料与方法

酵母 1.1

收稿日期 2002-06-18

黄酒发酵是双边发酵(糖化、发酵并行),因此分析酵母生长必 须结合糖化作用分析,本文直接用大罐发酵作为分析对象。

无锡市酒厂85#酵母。

1.2 糖化曲

自然培养的生麦曲和用苏-16#纯种培养的熟麦曲混合,两者 比例为9:1。

1.3 酒母工艺 速酿酒母 培养时间40 h。

1.4 大罐发酵工艺流程

曲 酒母 水

糯米→浸米→蒸饭→投料→主发酵→后发酵→压榨→清酒

1.5 糖度

用斐林试剂测定(g/L,以葡萄糖计)。

作者简介: 张秋汀(1968-), 男, 绍兴人, 大专, 助理工程师, 发表论文数篇。

No.1 2003 Tol.115

#### 2 糖度变化

## 2.1 机黄酒生产糖度变化的特殊性

由于糖化温度低,最高温度仅31  $^{\circ}$  C左右(传统酒高达37~38  $^{\circ}$  ,最高40  $^{\circ}$  ),虽经长时间作用,但糖化酶仍保持一定的活力。表1 是2001年冬酿时其中5批经25 d发酵后糖化率测定结果。

表 1 2001 年冬酸糖化率测定结果

项目	测定时间				
	11 - 05	11 – 19	12 - 01	12 - 08	12 - 29
总淀粉酶 (麦芽糖 mg/ml)	162.4	158.9	152.4	163.5	170.3
原始总淀粉酶 (麦芽糖 mg/ml)	245	232	238	252	228

注:(1)淀粉酶活力指 1 ml 酶溶液在 40  $\mathbb{C}$ , pH4.6 以下, 15 min 所产生的麦芽糖毫克数;(2)测原始酶活力为混合曲加投料配方相同比例的水,本例中为 6 倍水。

从表1可以看出,酶活力是原来的65%左右,因此发酵周期就变得比传统酒要短得多。

事实上,从淀粉利用率上也可以看出,一般传统加饭酒为60%左右<sup>[1]</sup>,而机加饭酒可达70%。

#### 2.2 糖度变化曲线图(见表2、图1)

表 2	发酵醪中糖度变化	(g/L)	
拠定时间	1#样	2#样	
0 h	0	0	
12 h	84.9	100.6	
14 h	97.4	87.5	
16 h	80.9	79.4	
18 h	71.7	63.0	
20 h	59.8	52.8	
24 h	43.5	42.7	
28 h	31.6	30.9	
2 d	27.6	25.6	
5 d	20.8	18.4	
10 d	15.4	14.8	
15 d	11.6	9.8	
25 d	8.0	6.2	

注:(1)1井榉取样时间为2001年12月25日,2井榉取样时间为2002年3月1日,前者是前性酒代表,后者为后性酒代表;(2)以投料结束为0h。

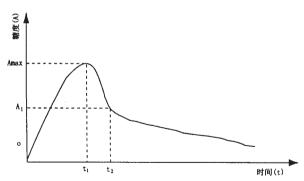


图1 机黄酒发酵过程中糖度变化曲线

图1中,一般以t。以前为主发酵点以后为后发酵。

主发酵期间变化剧烈 ,后发酵就比较缓慢。一般发酵正常 $t_1$ 值 为28~30 h ,判断 $t_2$ 值详见3.4讨论。 $A_1$ 值是判断主发酵正常与否的一个重要指标 ,它直接影响酵母在后发酵期间的生长和发酵 ,但需要指出 ,高值害处更大 ,它直接带来后发酵控制困难 ,一般机加饭酒要求在35~25 g/L之间。

Amax值和 $(t_2-t_1)$ 差值是判断酵母生长状况和发酵能力的一

个重要指标,经大量数据统计,笔者认为Amax值在100 g/L左右, $(t_0-t_1)$ 差值为18 h左右为正常。

Amax值的大小与t<sub>1</sub>时间的长短,除与酵母有关,还与糖化曲所含酶的活力有关,酶活力越高,Amax值就越大 t<sub>1</sub>就越短,但是必须注意到Amax值对酵母的限制作用。高值必将遏制酵母生长,因而酶活力并不是越高越好,一般要求2500 u/g即可。

#### 3 酵母生长及控制

机黄酒生产大多采用纯种酵母,有的厂用1株,也有用2株(一株产酒精较好,活性高,另一株口感较好),但采用纯种培养,无论1株还是2株,其最高酵母浓度都比传统低,一般传统酒因酵母数能达5亿/ml以上<sup>[1]</sup>,而纯种酵母最高只能达到3亿/ml,一般只有2亿/ml。但是在形态上纯种酵母要强壮得多,镜检比较一般要差2倍以上,我们认为主要原因是传统酵母虽经长时间驯养,但仍具有一定的野生优势,就象野生作物和种植作物一样,经合理培养,其增殖速度明显快于纯种酵母,但其发酵能力比纯种酵母差。

酵母生长分为4个阶段:一是迟缓期,糖化作用开始,酵母适应环境,未增殖;二是对数期,酵母开始快速增殖;三是稳定期,酵母浓度变化不大,发酵作用强烈;四是衰减期,由于营养物质减少,酒精大量生成,环境条件变差,酵母浓度开始逐渐减少。

下面从酵母的4个时期进行讨论。

### 3.1 迟缓期

酵母加入发酵罐后,一方面,必须经过一段时间才有足够的糖分供酵母生长所需,另一方面,酵母从酒母环境进入大罐后,必须有一段时间来适应,因此迟缓期在机黄酒发酵中必定存在。

迟缓期过长不仅浪费时间,而且增加感染杂菌的机会,因此,必须尽可能地缩短迟缓期。

迟缓期长短受到接种量、酵母生理条件、糖化速度及环境条件等因素影响。

# 3.1.1 接种量和糖化速度对迟缓期的影响

对于接种量和糖化速度的影响已有大量试验表明,并且有明确的结论,加大接种量能有效地缩短迟缓期,但到一定量后效果不明显,再加上从经济角度考虑,一般采用接种量2.5%~3.0%最佳。糖化速度快能缩短迟缓期,但糖化速度过快,给后面的发酵带来困难,因此也有一个适度问题,见前述。

# 3.1.2 酵母生理条件对迟缓期的影响

这里指的是加入酵母时、酵母处于什么样的生理状况。有些文章提出最好处于对数期、笔者认为未必、原因(1)在对数期的酵母出芽率高,一旦进入发酵罐后,由于糖化作用刚开始,营养供应肯定跟不上(2)处于对数期的酵母,对环境条件较敏感,而一下子进入发酵罐后,环境条件如温度、pH值等发生很大变化、很容易引起死亡。因此、酵母应处于最大浓度时添加,即处于稳定期后期,一般速酿酒母在40 h左右。

#### 3.2 对数生长期

在对数生长期中,酵母浓度可以用以下公式来表示[2]:

 $lnx_1 = lnx_0 + \mu t$ 

式中 :x-酵母浓度;

t—时间;

μ-比生长速率( h-1);

x。—初始酵母浓度;

x.—经t小时培养后酵母的浓度。

对数期是机黄酒发酵过程中最关键的阶段,据统计 50 %以上的酸败是对数期酵母生长异常引起的。对数期中最主要的问题

是如何尽快地达到酵母最大浓度 ,也就是使 $\mu$ 尽量达到 $\mu_{max}$  ,这主要由于机黄酒发酵是敞口发酵 , 酵母必须尽快占优势来遏制杂菌生长。

从上述公式可以看出 ,要使 $x_i$ 大有两条途径 ,一是增加 $x_o$ 量 ,二 是增加 $\mu$ 量 ,在实际生产中两条途径都可以运用 ,并产生了两种不同工艺 :一种是喂饭法 ,逐步投料 ,使 $x_o$ 量增大 ;另一种是摊饭法 ,一次性投料  $x_o$ 量变化小。从最终黄酒品质来讲 ,第二种工艺要远优于第一种工艺。因此 ,大多数机黄酒都采用第二种工艺生产 ,这样 $x_o$ 值可以认为是恒定的 ,因此必须在 $\mu$ 值上下功夫。

#### 3.2.1 糖度变化对μ值的影响

在对数生长期内 ,只有在充足的糖分存在时 ,酵母才能以 $\mu_{max}$ 下生长。

因此,在图1中, $t_1$ 时间以前的糖度变化直接关系到酵母能否以 $\mu_{max}$ 生长,只有糖度增加值高于所消耗值,也就是以整个 $t_a$ 到 $t_1$ 阶段糖分始终过量,才能为酵母以 $\mu_{max}$ 生长提供基础。

并不是糖分过量了 ,酵母一定以 $\mu_{max}$ 生长 ,过量值即A值下限 ,据Pivt and kurowski在1971年测定为50 g/L ,上限为150 g/L  $^{[3]}$ 。

在实际生产中,经常碰到的问题就是A值上升慢,即酒谚所讲"咬不进",主要原因是浸米结束后,米浆水pH值偏高及糖化曲糖化率不够,导致淀粉颗粒疏松度不够,糖化困难,从而使A值上升缓慢。这又使得酵母不能以 $\mu_{max}$ 生长,往往引起杂菌污染。一般采用增加糖化曲的方法,但结果并不理想,还必须在浸米操作中下功夫。

# 3.2.2 环境因素对μ值的影响

环境因素除pH值、品温外,还有含氧量,虽然黄酒发酵是厌氧发酵,但在对数期特别是前期氧气含量很重要,一般要求对数前期氧气含量最好能达到临界值。因此,在制订工艺时,必须充分考虑到这一点,一般可采用的方法是让投料水从喷咀中喷出,与空气充分接触,反对采用大口径管道直接添加。

# 3.3 稳定期

事实上稳定期的提法并不科学,在此期间,酵母浓度也在不断发生变化,不过变化幅度要比对数期小,称为"最大群体期"更贴机

在此阶段,酵母浓度达到最大值,发酵作用强烈,酒精含量迅速上升,而且与对数期的最大区别是一些其他代谢产物开始产生  $^{[4]}$ ,一般此阶段酵母浓度最高可达4亿/ml左右,糖度下降速度可达 7.5 g/L·h,酒精度上升为1.75 %/h左右。

在此阶段,影响酵母生长和发酵的最大因素是糖化和发酵两者速度平衡。平衡不等于两者速度相等,而是两者速度被控制。两者比例关系在不同阶段要求不同,同时又与对环境温度的调控能力密切相关。两者中以发酵速度为主,以发酵速度来调节糖化速度。

事实上,要求糖化和发酵速度两者平衡是始终的,也就是说整个黄酒发酵过程中,都要求两者平衡,那么为什么此阶段显得重要,主要是由于发酵进入旺盛期后,品温不断上升,pH值不断降低,为了让一些其他代谢物产生,又必须经常对两者进行调控,又由于前面几道工序未被发现的缺陷,到此阶段都开始显露出来,这

些都会给维持两者平衡关系带来很大困难。

在此阶段由于品温高,酒精度上升快,酵母很容易衰老,为了保持较高的酵母浓度,在兼顾发酵作用的前提下,应该间隔一定时间通一次氧,间隔时间要根据发酵情况而定,可以每隔4~5 h通一次氧,时间为2~3 min。

此阶段结束确定,传统以口尝为主,以口尝到甜味不明显为标志,也就是酒谚所说"淡味出来"。事实上以发酵现象来讲,升温幅度减慢,醪液翻滚变缓,罐四周有薄薄的糟盖形成,在化验数据上表现为,酒精度在10%(v/v)以上,糖度在4~5~g/L以下,酵母浓度在3亿个/ml左右。

#### 3.4 衰减期

经过上一阶段,黄酒酒体已基本定型,随着酒精度上升,糖度不断降低,酵母所面对的环境越来越恶劣,因此,酵母浓度开始逐渐降低,但很奇怪,在实际检测中酵母死亡率并不高,一般在20%左右,笔者认为主要与糖化曲中所含的蛋白酶活性高有关。

机黄酒在此阶段后期,在酒精度上升到18%(v/v)以上时,如果pH合适(本文所用的85#酵母在pH4.2时),就会发生酵母凝聚现象,发酵液变清,当此现象发生时,酵母出芽率几乎为零,发酵出现了停滞现象,但糖化作用在继续,因此糖度会升高,这时必须及时开榨,不然很容易酸败。

在此阶段,控制酵母生长的最大难点在于控制品温,对于前期,主要控制冷却速度,冷却速度必须与上一阶段发酵情况相匹配,不然很容易引起酵母在整个后发酵期间活力低下,正常情况下,采取0.5~1  $^{\circ}$ C/h的冷却速度,如上一阶段结束时糖度高则降低冷却速度,酸度高则加快,反之亦然,一般冷却到15~10  $^{\circ}$ C即可。对于后期,主要是通过调控环境温度来维持前期到达的低温,如果发生温度继续下降,一般在8  $^{\circ}$ C以下,酵母自溶减少,就有氨基酸含量达不到标准的危险,在18  $^{\circ}$ C以上,酵母自溶加快,氨基酸含量过高,pH值就有超标的危险。

#### 4 结束语

机械化黄酒生产和传统黄酒在工艺上最大不同,就是采用了纯种酵母,由于只有1种或2种酵母,酵母特性很容易摸清,这样就有利于创造各种条件,让酵母良好生长,发酵效率提高,但是黄酒酿造不仅仅是酒精发酵,而且必须兼顾其他代谢产物的含量。这样才能使酒体丰满,品质提升。因此在研究酵母生长的同时,必须结合酵母发酵特性,才能更好地通过控制酵母发酵来提升机械化黄酒的品质。

# 参考文献:

- [1] 轻工业部科学研究设计院,黄酒酿造[M].北京 轻工业出版社, 1960.87-156
- [2] P.Stanbury A.Whitaker.Principles of Fermentation Technology[M]. Pergamon Press Ltd.1984.
- [3] Pivt S.J.and Kurowski.An Extension of the Org of the Chemostat with Feedback of Organism. It's Experimental Realisation with a Yeast Culture[J].W.M. 1970 (63) 357–366.
- [4] Bull.Microbial Growth in Companion to Biochemistry Selected Topics for Further Study[J].A.T ,1974.415-442.

# 欢迎订阅《酿酒科技》