

# 复合酶技术在白酒发酵中的应用与展望

刘 念<sup>1</sup>, 杜明松<sup>2</sup>, 张清辉<sup>2</sup>

(1.四川省食品发酵工业研究设计院, 四川 温江 611130;

2.深圳绿微康生物工程有限公司, 广东 深圳 518057)

**摘 要:** 白酒的发酵是多种微生物的多菌多酶体系作用过程, 曲的低酶活、纯酶的单一催化个性影响着白酒发酵技术进展, 适应酿造环境的菌株选育、酶的合成, 酶的复配是继承传统制曲、提高发酵技术的核心和关键。复合酶制剂的应用是白酒发酵技术发展的主要方向。

**关键词:** 白酒生产; 酶; 复合酶制剂

中图分类号: Q814; TS262.3; TQ925 文献标识码: B 文章编号: 1001- 9286(2006) 12- 0065- 03

## Application & Prospect of Compounding Zymin in Liquor Fermentation

LIU Nian<sup>1</sup>, DU Ming-song<sup>2</sup> and ZHANG Qing-hui<sup>2</sup>

(1.Sichuan Food Fermentation Industry Research & Design Institute, Wenjiang, Sichuan 611130;

2. Luweikang Bioengineering Co. Ltd., Shenzhen, Guangdong 518057, China)

**Abstract:** Liquor fermentation is the interaction process of multiple enzyme systems and multiple microbes. The low enzyme activity of starter and the single catalysis property of pure enzyme are the influencing factors of the development of liquor fermentation techniques. The breeding of proper strains suitable for liquor-making environment, the synthesis of enzymes, and the compounding of enzymes are the keys to the inheritance of traditional starter-making and the improvement of fermentation techniques. The application of compounding zymin is the main development trend for liquor fermentation.

**Key words:** liquor production; enzyme; compounding zymin

制曲发酵技术在中国已有两千多年的历史, 大曲的培养实质上就是由母曲自然接种, 通过控制温度、湿度、空气、养分、微生物种类等因素来控制微生物在麦曲上的生长。纯种微生物强化制曲也有十几年的经验, 给白酒工业带来了新的技术进步。事实上, 不论是曲母接种也好, 纯种添加功能曲也好, 制曲的过程就是一个酶的粗生产过程, 随着技术进步, 酶工程的不断创新, 高效酶制剂已经进入了酿造发酵领域。

酶是生物细胞合成的具有高度催化活性物质的特殊蛋白质, 是一种生物催化剂。酿酒工业中广泛应用的酶主要是糖化酶、液化淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶、脂肪酶、酯化酶等, 具有酶活力强、用量少、使用方便等优点。但是, 纯种微生物合成酶的高催化单一性, 也给传统白酒发酵带来了一定问题, 影响到了白酒发酵的周期性, 因此复合酶发酵攻关技术成为了白酒发酵的一个新课题, 我们从小曲酒着手对复合酶在白酒发酵中的应用进行了实验, 然后引入清香型、酱香型、浓香型的生产和应用, 对提高产量, 改善口感, 保留传统风格等方面都取得

了明显的效果。

### 1 白酒用酶的现状

#### 1.1 糖化酶

糖化酶又称葡萄糖淀粉酶, 它能从淀粉的非还原性末端开始, 依次水解  $\alpha$ -1, 4 葡萄糖苷键, 也能缓慢水解  $\alpha$ -1, 6 键和  $\alpha$ -1, 3 键, 转化为葡萄糖。其作用条件为 40~65℃, pH 3.0~5.5。应用于酿酒生产, 既要保持原酒的风味特色, 又要提高出酒率、简化操作, 故特别要重视保持原有的生产工艺, 尤其是传统工艺。

#### 1.2 中温 $\alpha$ -淀粉酶

该酶能以随机的方式切断淀粉分子的  $\alpha$ -1, 4 葡萄糖苷键, 使淀粉分解成长短不一的短链糊精和少量的低分子量糖类, 从而使淀粉的粘度迅速下降, 达到液化淀粉的作用, 故称其为液化酶。其作用条件为 60~70℃, pH6.0~7.0。

#### 1.3 酸性蛋白酶

酸性蛋白酶是一种在酸性环境下 (pH2.5~5.0) 催化

收稿日期: 2006- 10- 24

作者简介: 刘念 (1969-), 男, 四川人, 大学, 高级工程师, 所长, 参加国家、省科研项目多项, 长期从事酿酒研究、科研设计、技术转让和技术培训工作, 发表论文数十篇, 出版著作 2 部。

水解动植物蛋白质的酶制剂。在白酒生产过程中添加适量酸性蛋白酶能提高出酒率(促进原料中蛋白质降解为氨基酸,使得酵母营养丰富,活力增强,从而提高出酒率);改善风味(氨基酸本身是风味物质,又可进一步转化为其他风味成分,从而改进风味);降低杂醇油含量,其作用条件为 35~42℃, pH3.0~5.0。

#### 1.4 纤维素酶

纤维素酶是指能水解纤维素 1,3 和 1,4 葡萄糖苷键,使纤维素变成纤维二糖和葡萄糖的一组酶的总称。它不是单一酶,而是起协同作用的多组分酶系:由葡聚糖内切酶(EC3.2.1.4,也称Cx酶)、葡聚糖外切酶(EC3.2.1.91,也称CI酶)、 $\beta$ -葡萄糖苷酶(EC2.1.2.1,也称CB酶或纤维二糖酶)3个主要成分组成的诱导型复合酶系。CI酶和Cx酶主要溶解纤维素,CB酶主要将纤维二糖、纤维三糖转化为葡萄糖,当3个主要成分的活性比例适当时,就能协同作用完成对纤维素的降解在低温蒸煮酒精发酵过程中应用纤维素酶处理原料,出酒率提高3%以上,而且可降低醪液粘度。其作用条件为 50~60℃, pH4.0~5.0<sup>[1]</sup>。

#### 1.5 脂肪酶

脂肪酶作为一种在异相系统即在油-水界面起催化作用的特殊酯键水解酶,作用底物主要为天然油和脂肪,水解产物为甘油二酯、甘油单酯、甘油和脂肪酸。脂肪酶在白酒制曲和发酵期间,可以水解原料中所含的脂肪,使原料中的淀粉充分接触酵母,促进发酵代谢进程;同时产生有机酸和甘油,有机酸是白酒最好的呈味剂。可以使酒口味丰富而不单一,增长酒的后味;酸量适度,比例谐调,可使酒出现甜味和回甜感。甘油作为一种多元醇助香剂,可以消除糙辣感,增加白酒的醇和度。更重要的是,脂肪酶同时还可以催化有机酸与大量存在的乙醇生成己酸乙酯、乙酸乙酯等酯类香味物质,从而提高白酒中酯类香味物质含量,加快白酒中各种酸、醇、酯的反应平衡,缩短贮存老熟时间,调节白酒中各种香味物质的含量和比例,提高白酒品质。其作用条件为 30~45℃, pH6.0~10.0。

#### 1.6 木聚糖酶<sup>[2]</sup>

木聚糖酶类主要是由内切-木聚糖醇 endo-1,4-D-xylan xylanohydrolase、Ec3.2.1.8)和外切型-木糖苷酶(exo-1,4-D-xylan xylanohydrolase, Ec3.2.1.37)组成,对半纤维素的降解起重要作用。酶解时,木聚糖酶以内切方式从主链内部作用于长链木聚糖的糖苷键上,将木聚糖随机地切为不同链长的木质低聚糖后,再由-木聚糖酶作用于木质低聚糖的末端,将短链低聚糖降解为木糖。它在丢糟的再利用发酵中起到重要作用。

#### 1.7 酯化酶粗酶制剂

酯化酶不是酶学上的术语,酶学上名为解脂酶,是脂肪酶、酯合成酶、酯分解酶及磷酸酯酶的统称<sup>[3]</sup>。20世

纪90年代初期,中科院成都生物所从大曲中分离选育出一株M-101活性高而稳定的酯化酶生产菌株,由该菌株生产粗酶制剂,将该酶制剂应用于生产,可缩短发酵期1/3,优质酒率提高20%以上,而且可提高己酸乙酯含量。

## 2 复合发酵过程中酶的作用条件与白酒发酵的关系

单一的酶制剂各自都具有各自的适应温度、pH环境和应用工段,因此研究酶的复配工艺,使他们恰当的比例和用量、适应酿造环境是我们进行菌的选育、酶的合成、酶的复配的核心和关键,通过小曲酒到大曲酒工艺长期的应用实践,我们最终筛选出了合理的配方。

### 2.1 通过试验应用对白酒发酵的酶进行复配

酶的复配是使它由多种不同条件的酶进行量比适应性试验,得到一种适应白酒发酵环境的复合新酶,从酶作用pH、温度图(图1,图2)中可以判断出酶的pH酶活作用范围和温度作用范围基本是适应白酒发酵的条件,发酵初期酶保持了较高的活性,酶的水解功能明显得到提高,促进了原料中纤维、脂肪、蛋白的充分水解,随着原料物质的能量消耗,原料逐渐开始发酵产生乙醇和二氧化碳,物质的分解也促使了酵母活性的提高,随着发酵逐渐变化,酶的水解功能逐渐降低。而在后发酵过程中合成能力逐渐增强。

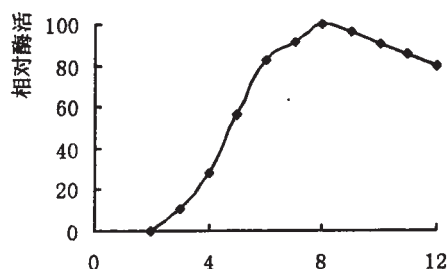


图1 酶的作用pH及其作用范围

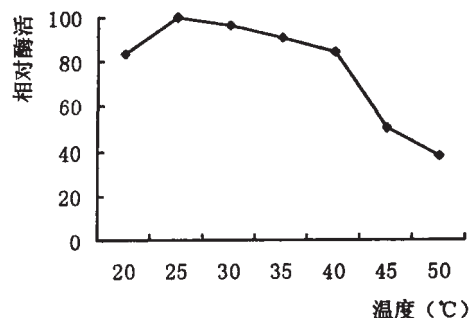


图2 酶的作用温度适用范围

### 2.2 酶对发酵原料的预处理

原料中脂肪、蛋白质类物质的存在,会抑制发酵过程中酵母的正常作用。在润料时,取原料量万分之一的复合酶溶于36℃左右的温水中,将润粮水(水温要求与酶液温度一致)与原料按正常比例加入,在翻搅过程中,

用喷雾器将酶液均匀喷洒入原料中,使酶液与原料充分浸润,时间不能低于4h,浸润期间应多次反复搅拌,保证酶液充分作用。

作用效果:原料中脂肪类物质在原料蒸煮过程中即使在140~160℃高温下也难以分解,通过上述的预处理方案后,脂肪、蛋白质的分解析出,原料会变得酥软,蒸煮糊化过程中,可缩短蒸煮时间;在发酵前期加速糖化发酵,后期促进酯化合成,增加香味成分的含量<sup>[4]</sup>。

### 2.3 窖池发酵温度变化

根据酶的最佳作用温度与窖池发酵温度变化可以发现,酶在入窖温度高、升温速率快的窖内,发酵质量好于温度低的(表1,表2)。丢糟发酵和小曲酒发酵过程与酒质量的关系可得到验证。

表1 大曲粮糟窖发酵温度变化

发酵时间(d)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
温度变化(℃)	16.5	16.5	18	19	21	23	26	28	29	30
发酵时间(d)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
温度变化(℃)	31	31	30.5	30.5	30	30	30	29	29	29

表2 小曲酒发酵温度变化

项目	发酵时间(d)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
温度变化(℃)	20	28	34	36	33	31.5	29	28.5	28.5	28

### 2.4 发酵过程中水分变化和丢糟酒的质量关系

从酒质的口感评定结果看,丢糟酒的绵柔老熟程度较理想,甚至丢糟酒比部分粮糟优质酒质量还要好,主要因素是,丢糟经长期发酵,可利用淀粉已很少,但糟醅中长期多轮次发酵积累了大量不被发酵分解的原料脂肪、纤维素和蛋白,为增香酶提供了丰富的底物;另外丢糟中含水量约65%,高水分的环境下使得脂肪、纤维素的分解作用明显增强,而粮糟中的水分为56%~58%,相比较而言水分较低,分解效果低于丢糟。

### 2.5 发酵底物对酶的影响

酸的影响:糟醅的酸度较低,影响醇酸酯化;从在丢糟中的使用情况看,发酵几轮后,酸类物质或酸类的前体物质在糟醅中积聚较多,为酯化反应提供了物质基础,所以酒质较好,酯的含量也较高,而且发酵期只有30d,效果是比较明显的。

### 2.6 原料粉碎粒度对酶作用的影响

从小曲复合酶作用可以看出,由于采用新工艺法对原料进行充分的粉碎,颗粒较细,结果酒的理化质量、口感都比传统浸泡法好一些,充分证明了酶接触面积大时作用效果要优于整粒粮食。此法不适应大曲酒,因为大曲酒发酵周期长,又是续糟发酵,粉状粮食效果差。

## 3 复合发酵过程中酶的作用效果和问题探讨

### 3.1 复合酶的作用明显提高大曲酒小曲酒优质品率

其提高不是单纯提高了主体香味物质,而且对于多碳链脂肪酸酯、醛、酮、醇、酸等微量香味组分,都有不同程度的改变,特别是高级脂肪酸酯、多元高级醇、氨基酸类的增加使酒质窖香浓郁、绵甜爽冽、香味协调、余味悠长;使得酒体中的异味减少,缩短了老熟贮存时间。

### 3.2 复合酶的作用

复合酶在作用过程使得原料中难以分解转化的脂肪、蛋白质、纤维素等物质得到充分转化,对丢糟中的残余物质进行充分分解,可提高原料出酒率6%以上。

### 3.3 缩短发酵贮存老熟时间,提高酒质

复合酶在小曲酒发酵过程中的发酵作用可缩短贮存老熟时间,提高小曲酒、米酒优质品率。改善酒的绵柔度,提高醇和度,酒质口感清雅、入口绵甜、落口爽净、回味怡畅。

### 3.4 复合酶对白酒香味物质的增强作用

复合酶在白酒发酵的应用中有一定效果,但在催化底物不足的情况下,香味物质增加效果不明显,这也在提醒我们在研究酶的过程中还需要对菌系产酸幅度提高的研究。由于各地区自然界生物菌系不同,发酵过程中各类微生物此消彼长,环境气候存在差异,窖池粮糟发酵中温度、pH值不同,黄水质量的差别,窖泥酸度、水分、己酸菌活性、数量、营养环境,其他菌体的活动强度等差别造成了最终酒体质量的差异。这些因素也促使我们加深对复合酶和发酵工艺的深入研究。

## 4 复合酶的前景展望

复合酶发酵技术是现代化的必然趋势,复合酶在啤酒发酵中的应用推动了啤酒工艺自动化的步伐,黄酒工业也在高效酶的作用下走上了自动化发酵的道路,小曲酒工艺也在纯种制曲、高酶活曲的作用下,节约了大量的粮食,减少了劳动力的投入。中国传统白酒是以大用量的曲为糖化、发酵、生香发酵剂,它也是民族传统工业的代表,但是,随着复合酶工程技术的发展,产酸增香细菌固定化发酵技术探讨,模拟适应细菌、霉菌、酵母多菌多酶发酵的现代化工艺也终将会把传统白酒发酵工艺从手工提升到自动化工艺中去,那时将会大幅度降低粮耗,提高生产效率。这就是白酒酶工程未来所研究的方向。

### 参考文献:

- [1] 刘明,等.纤维素酶在酒精工业中的应用进展[J].酿酒科技,2006,(7):83-86.
- [2] 范文来,等.大曲酶系的研究与回顾[J].酿酒,2000,(3):35-40.
- [3] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工出版社,1998.
- [4] 杜明松,等.绿微康复合增香酶在浓香型白酒中的应用[J].酿酒科技,2006,(2):63-64.