

玉米酒精浓醪发酵工艺研究

刘代武, 彭 涛, 邬善远, 罗必英, 李志军
(安琪酵母股份有限公司, 湖北 宜昌 443003)

摘 要: 采用安琪耐高温酒精活性干酵母, 以玉米为原料进行浓醪发酵最适工艺条件的研究, 结果表明, 双酶法液化法, 添加 180 u/g 糖化酶, pH4.5~5.0, 酵母接种量 0.15%, 适当添加无机盐和营养剂, 发酵 70 h, 最终达到发酵酒度 14.7% (v/v), 残糖 0.92%, 残还原糖 0.2%, 淀粉利用率 84.9% 的良好效果。

关键词: 安琪酵母; 酒精; 浓醪发酵; 工艺条件

中图分类号: TS262.2; TS261.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2005)02-0087-03

Study on High-concentration Mash Fermentation Technology

LIU Dai-wu, PENG Tao, WU Shan-yuan and LI Zhi-jun
(Angel Yeast Co. Ltd., Yichang, Hubei 443003, China)

Abstract: The optimal technical conditions for high-concentration mash fermentation were studied with the use of Angel high temperature resistant alcohol active dry yeast and corn as raw materials. The experiments indicated that when double-enzymes liquidifying fermentation was applied, 180 u/g saccharifying enzyme added, pH value as 4.5~5.0, yeast inoculation quantity as 0.15%, inorganic salt and nutrient added adequately, and 70 d fermentation time operated, satisfactory fermentation results could be achieved (the ultimate fermentation alcoholicity as 14.7% (v/v), 0.92% residual sugar, 0.2% residual reducing sugar, and 84.9% use ratio of amylum). (Tran. by YUE Yang)

Key words: Angel yeast; alcohol; high-concentration mash fermentation; technical condition

我国酒精生产行业中普遍存在以下期待解决的问题: 发酵强度低, 生产成本低, 能耗大。如果通过高产酒精酵母菌株的选育和发酵工艺的改进, 实现酒精浓醪发酵, 就能大大提高发酵强度, 降低能耗、减少污染, 增加综合经济效益, 是酒精行业生存和发展的关键。最近几年已有一些企业试图采用浓醪发酵生产酒精, 但是以单一原料发酵, 成熟醪酒精含量能连续长期稳定在 12% 以上的企业并不多。

本研究采用目前国内最优良的酵母菌株——安琪耐高温酒精活性干酵母, 以玉米为原料进行酒精浓醪发酵的工艺及技术条件的研究, 对酒精浓醪发酵的企业具有一定的指导和借鉴意义。

1 材料与方

1.1 实验材料

菌种, 安琪耐高温酒精活性干酵母。
市售玉米粉, 过筛 40 目, 淀粉含量 75.1%。

α -淀粉酶: 诺维信耐高温淀粉酶, 20000 u/g。

糖化酶: 诺维信, 100000 u/g。

无机盐: 自行配制, 按照原料的一定比例添加。

营养剂: 自行研制, 按照一定比例与干酵母混合。

1.2 方法

1.2.1 检验方法

1.2.1.1 残糖的测定

采用酸水解法。

1.2.1.2 残还原糖的测定

采用直接滴定法。

1.2.1.3 酒精度的测定

取成熟发酵醪 100 mL, 加入 100 mL 蒸馏水, 混匀后用常温蒸馏, 收集 100 mL 馏出液, 用酒精计测定酒精度, 同时测定温度, 换算成 20 °C 时的酒精度 (% (v/v))。

1.2.1.4 酵母细胞数和活细胞率的测定

采用血球计数板和次甲基蓝染色法, 测定发酵液中

收稿日期: 2004-10-13

作者简介: 刘代武(1971-), 男, 工程师, 发表论文多篇。

的酵母细胞数和活细胞率。

1.2.1.5 淀粉利用率

淀粉利用率=

酒精总量(96%)÷(原料质量×75.1%×0.6054)

其中:75.1%——原料的淀粉含量;

0.6054——为淀粉理论上生成酒精量。

注:计算时首先直接读出20℃的酒精度(v/v),通过查表换算成重量百分比(w/w),然后除以0.9385即可换算成96%浓度下的重量百分比(w/w)。

1.2.2 实验方法

1.2.2.1 发酵醪制备

准确称取玉米粉100.0g,加 α -淀粉酶15u/g料,加65℃温水230mL,于90~95℃水浴中液化90min,冷却至55~58℃,用硫酸调pH至4.5~5.0,加糖化酶,继续冷却至32℃,定量至330~340g,接种发酵。

1.2.2.2 最适糖化条件的研究

实验一:在冷却至32℃,pH4.5~5.0的液化醪中,加糖化酶50u/g,100u/g,150u/g,200u/g料,添加无机盐、营养剂和干酵母,定量至330~340g,于33℃发酵70h,比较最终酒度、残糖、残还原糖。

实验二:在冷却至55~58℃,pH4.5~5.0的液化醪中,加糖化酶(由实验一确定),分别糖化0min和60min,添加无机盐、营养剂和干酵母,定量至330~340g,于33℃发酵70h,比较最终酒度、残糖、残还原糖。

1.2.2.3 最适发酵pH的研究

调节冷却液化醪的pH至3.6,4.0,4.5,5.0,其他不变,比较最终酒度、残糖、残还原糖。

1.2.2.4 最适发酵温度的研究

将接种后的发酵醪置于30~32℃,34~36℃,40~42℃环境中发酵70h,比较最终酒度、残糖、残还原糖。

1.2.2.5 最适接种量的研究

将发酵醪酵母接种量调节为0.05%,0.1%,0.15%,0.2%,0.25%,其他条件不变,比较最终酒度、残糖、残还原糖。

1.2.2.6 玉米浓醪发酵实验

取玉米粉700g,加 α -淀粉酶15u/g料,加65℃温水1650mL,于90~95℃水浴中液化90min,根据前述实验所得最佳工艺,进行糖化、接种、发酵,定时检测酵母细胞数、酒度和糖度变化,32h后检测酵母死亡率,记录最终发酵结果。

2 结果与分析

2.1 最适糖化条件的研究

实验1结果见表1。

实验2:添加糖化酶180u/g料,在55~58℃分别糖

表1 糖化酶不同添加量对玉米浓醪发酵的影响

| 项目 | 酶用量(u/g) | | | | |
|-----------------|----------|------|------|------|------|
| | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 |
| 酒精分(% v/v, 20℃) | 14 | 14.8 | 15.4 | 15.7 | 15.5 |
| 残还原糖(%) | 1.08 | 0.46 | 0.32 | 0.30 | 0.34 |
| 残总糖(%) | 3.21 | 2.35 | 2.04 | 1.99 | 1.78 |

化0min,60min,实验结果见表2。

表2 不同糖化时间对玉米浓醪发酵的影响

| 项目 | 糖化时间(min) | |
|-----------------|-----------|------|
| | 0 | 60 |
| 酒精分(% v/v, 20℃) | 15.2 | 15.5 |
| 残还原糖(%) | 0.41 | 0.67 |
| 残总糖(%) | 2.12 | 2.38 |

上述两个实验表明,糖化酶用量为150~250u/g原料较为合适;接种前不糖化比糖化60min好,即采用边糖化边发酵工艺优于先糖化再发酵工艺。

2.2 最适发酵pH的研究

分别调节发酵醪液的pH为3.6,4.0,4.5,5.0,发酵结果见表3。

表3 不同pH对玉米浓醪发酵的影响

| 项目 | pH | | | |
|-----------|------|------|------|------|
| | 3.6 | 4.0 | 4.5 | 5.0 |
| 酒度(% v/v) | 14.5 | 14.6 | 14.6 | 14.5 |
| 残淀(%) | 1.99 | 1.97 | 1.97 | 2.01 |
| 残糖(%) | 0.48 | 0.40 | 0.33 | 0.44 |

从表3可以看出,不同pH条件下实验结果没有太大的差别,生产中为了抑制杂菌的繁殖,一般控制发酵pH值在4.0~4.5之间。实验条件下,pH宜在4.5~5.0。

2.3 最适发酵温度的研究

将发酵醪分别置于30~32℃,34~36℃和40~42℃的环境中发酵,实验结果见表4。

表4 不同发酵温度对玉米浓醪发酵的影响

| 项目 | 温度(℃) | | |
|-----------|-------|-------|-------|
| | 30~32 | 34~36 | 40~42 |
| 酒度(% v/v) | 14.8 | 14.4 | 8.6 |
| 残淀(%) | 1.84 | 2.25 | 11.17 |
| 残糖(%) | 0.44 | 0.76 | 11.34 |

实验表明,在浓醪发酵条件下,温度对最终发酵结果的影响很大,随着温度的升高,酒精对酵母的毒性作用增强,酵母的发酵能力减弱。因此,生产中应该尽量控制好温度在一个适宜的范围($\leq 35^\circ\text{C}$)。

2.4 最适接种量的研究

其他发酵条件不变,将干酵母和营养剂按照0.05%,0.1%,0.15%,0.2%接种量接种,实验结果见表5。

实验结果表明,随着干酵母和营养剂添加量的增加,最终发酵结果显著改善。实验室条件下,以添加

表5 干酵母不同接种量对玉米浓醪发酵的影响

| 项目 | 接种量(%) | | | | |
|------------|--------|------|-------|------|-------|
| | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 |
| 酒度(%, v/v) | 14.2 | 14.6 | 14.75 | 14.9 | 15.15 |
| 残淀(%) | 2.31 | 1.59 | 1.43 | 1.17 | 1.08 |
| 残糖(%) | 1.36 | 0.55 | 0.34 | 0.29 | 0.34 |

0.15%~0.2%为宜。

2.5 玉米浓醪发酵实验

采用无糖化工艺,调节 pH 在 4.5~5.0,添加糖化酶 180 u/g 料,适当加入无机盐和营养剂,接种干酵母占原料重量的 0.15%,于 30~33℃发酵,实验结果见表 6。

表6 玉米浓醪发酵实验

| 项目 | 2# | 项目 | 2# |
|------------|---------|----------|-------|
| 原料重(g) | 700 | 酸度 | 2.98 |
| 实际料水比 | 1:2.419 | 残糖(%) | 0.24 |
| 醪初重(g) | 2393.3 | 残淀(%) | 0.98 |
| 外观糖(Bx) | 25 | 最终 pH | 4.61 |
| 初始 pH | 5.03 | 最终糖度(Bx) | -0.45 |
| 最终醪重(g) | 2140.25 | 淀粉利用率(%) | 84.9 |
| 酒度(%, v/v) | 14.7 | | |

3 讨论

3.1 液化

以玉米为原料进行酒精浓醪发酵,浓度过高,醪液粘度大,生产上容易造成堵塞管道。本研究采用适温润料,让淀粉充分吸收水分,用高温淀粉酶在高温下长时间水解,能显著降低醪液粘度,达到很好的液化效果。实验中还探索了在润料时添加小部分高温淀粉酶,高温灭菌后再添加高温淀粉酶的双酶液化法,效果与此相同,但此法更简洁。

3.2 无糖化发酵工艺

前辈同行的大量研究表明,在高浓度酒精发酵的初期,较高的底物浓度常给酵母细胞形成一个高渗透压环境,高渗透压条件会阻碍酵母产生的乙醇向培养基中扩散,从而使细胞内的酒精对酵母细胞产生毒害作用。因此,减小环境的渗透压有利于维持细胞的高活性。显然,

减少甚至去除发酵前糖化的时间,适当降低发酵初期醪液中还原糖的含量,即采用无糖化发酵工艺有利于高浓度酒精发酵的顺利进行。实验结果也验证了这一工艺的科学性。

3.3 浓醪发酵条件

酵母对乙醇的耐性不仅仅是由于酵母本身对不同水平乙醇的耐受性内在能力,酵母原生质膜的脂类组成及功能、发酵营养状况(尤其是不饱和脂肪酸和同化氮)、环境参数(特别是温度)、碳水化合物基质加入方式(渗透压等)因素对乙醇耐性也有着显著的影响。安琪耐高温酵母是目前国内最优良的酵母菌种之一,我们在实验中以木薯为原料进行高浓度酒精发酵时,其最高发酵醪液酒度可达到 17.01%(v/v)。以此菌株为浓醪发酵的出发菌,能有力的保证实验结果达到一个较高的水平。渗透压和温度是影响酵母产酒的最显著的应激因子。高渗透压阻碍了酵母产生的乙醇向培养基中的扩散,从而加剧了酒精对酵母细胞的毒害作用。而高温能够增加高酒精度对酵母的毒害作用,进一步降低甚至杀死酵母细胞,使发酵后期酵母活性减弱,导致最终发酵不彻底。提高酵母质膜的通透性和改善培养基的营养状态有助于提高酵母的耐乙醇特性。本实验在发酵中添加了无机盐和营养剂,对酵母起到一定的保护和营养补充的作用。

4 总结

本研究选用耐高温淀粉酶,采用双酶法液化,有效避免了醪液粘度大带来的系列工艺问题;采用同步糖化、高浓度酵母、控温发酵,降低了染菌的机会,同时减少了应激因子(温度、渗透压)对酵母产酒的影响。在发酵中,适当补充几种营养物质,改善了发酵醪液的营养状况,加强了对酵母质膜的保护,有效地提高了菌株的产酒能力。最终实现了浓醪发酵。发酵 70 h,最终达到发酵酒度 14.7%(v/v),残糖 0.92%,残还原糖 0.2%,淀粉利用率 84.9%。●

国窖·1573 最具文化品位

本刊讯:历时近半个月的“2004 年度新浪网文化频道最具文化品位白酒调查”活动结果日前揭晓,我国四大名酒之一的泸州老窖主打品牌国窖·1573 酒以微弱优势摘得桂冠,茅台酒、五粮液分别荣获第二和第三名。四川六朵金花之一的剑南春和安徽名酒古井贡酒分获此次调查的第四、五名。

据悉,此次新浪网文化频道举办的“谁是 2004 年度中国最具文化品位白酒?”的调查分为历史内涵、人文背景、酿造技艺、酿酒原料、包装特色等五项白酒文化组成元素展开投票,评判规则根据五个单项各自获得的票数总和评出谁是 2004 年度最具文化品位白酒。在单项投票中,国窖·1573 获人文背景、酿酒技艺调查的第一、历史内涵、酿酒原料、包装特色等项目第二,茅台酒在历史内涵和包装特色两项调查中获得了网民最多的票数,五粮液获酿酒原料项目的第一。(江源)