

两株麸曲优势菌株的筛选及应用研究

许士池, 吴天祥

(贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 从大曲酱香酒醅中筛选出 GQ-c 和 GQ-d 2 株霉菌, 以这 2 株霉菌与白曲霉分别制备麸曲进行发酵酿酒。GQ-c 属于高产糖化酶菌株, 其糖化酶活力在 60 °C 左右达到最大 1823 U/g 曲, 是适合高温麸曲制作的霉菌; GQ-d 糖化力低, 但其产酸能力对改善酒的风味和口感具有重要作用。

关键词: 微生物; 麸曲; 霉菌; 酿酒

中图分类号: TS261.1; Q93-3; TS262.33; Q814 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2012)08-0048-03

Screening of Two Mold Strains and Research on Their Application

XU Shichi and WU Tianxiang

(Life Science College of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: Two mold strains GQ-c and GQ-d were isolated from fermented grains of Maotai-flavor Daqu, then the two mold strains were used respectively coupled with *Aspergillus candidus* Link to produce bran starter for liquor-making. Strain GQ-c had high saccharifying power and its glucoamylase activity could reach up to 1823 U/g at about 60 °C. Accordingly, it was suitable for the preparation of high-temperature bran starter. Strain GQ-d had low saccharifying power, but its acid-producing capacity played important roles in improving liquor taste and liquor flavor.

Key words: microbes; bran starter; mold; liquor-making

麸曲是以麸皮为主要原料, 蒸熟后接入纯种霉菌, 在人工控温控湿条件下培养的散曲。这种曲具有制作周期短、出酒率高等特点, 适于中、低档白酒的酿制。但纯种霉菌制成的麸曲, 其产酒与大曲酒相比在风味和香味上有所不足。在麸皮中接种酿酒优势菌株, 采用混合菌种培养制成麸曲, 有望解决上述问题。

本研究从酿酒用微生物出发, 从大曲酒醅中筛选菌株, 选出优势菌株制成麸曲。通过发酵试验, 以酒精产率和风味成分等为指标, 以期筛选出酿酒用优势菌株。为相关方面的研究提供可借鉴的方法及思路。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种: GQ-c、GQ-d, 贵阳酒厂大曲酒醅中筛选; 白曲霉 3917, 四川微生物菌种保藏中心; 酿酒酵母, 安琪耐高温酿酒活性干酵母。

制曲及酿酒原料: 麸皮、高粱、小麦, 购于粮油市场。

1.2 培养基

霉菌筛选培养基(察氏培养基): 硝酸钠 3 g, 磷酸氢

二钠 1 g, 硫酸镁 0.5 g, 氯化钠 0.5 g, 硫酸亚铁 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1000 mL。

霉菌液体培养基: PDA 培养基。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种筛选^[2]

取 1 g 贵阳酒厂大曲酒醅放入 50 mL 无菌蒸馏水中, 摇匀。采用稀释涂布法接种于察氏培养基, 28 °C 培养 7 d。用接种针挑取霉菌孢子, 划线于察氏培养基上, 直到分离出单菌落为止。

分离到在 28 °C 下 3 d 即可长出菌落的 2 株霉菌, 分别编号为 GQ-c, GQ-d。这 2 株霉菌在 25~35 °C 均可生长。其余筛选霉菌由于生长时间过长或生长温度太低而不适合麸曲制作。

1.3.2 麸曲制作

麸皮除杂。每个 1000 mL 三角瓶装入 175 g 含水率为 55% 的麸皮, 121 °C 灭菌 30 min。每瓶接入 4 mL 霉菌液体培养液, 28 °C 培养 72 h。后于 35 °C 烘干, 使含水率为 10% 左右即成麸曲。

1.3.3 酒母制备

基金项目: 贵阳市科技局工业公关项目 [2009]筑科 2 合同字第 1-057 号。

收稿日期: 2012-05-29

作者简介: 许士池(1985-), 男, 湖北人, 硕士研究生, 研究方向: 应用微生物。

通讯作者: 吴天祥, 教授, 硕士生导师, Email: wutianxiang0808@yahoo.cn。

优先数字出版时间: 2012-07-20; 地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20120720.1426.010.html>。

将安琪耐高温酿酒活性干酵母加入 38 ℃ 的 4 % 葡萄糖水中, 活性干酵母添加量为 10 % (即采用 1:10 的复水活化用水量), 小心混匀, 静置使之复水、活化, 每隔 10 min 搅拌 1 次, 经 20~30 min (最多不超过 30 min) 培养的酵母复水活化即成酒母, 直接添加到酒醅中应用。酒母添加量为 5 %。

1.3.4 酿酒实验^[3-4]

高粱粉碎至 4~6 瓣, 小麦粉碎至 2~3 瓣。高粱、小麦、粗麸皮分别占总粮的 80 %、15 %、5 %, 混料。用不低于 90 ℃ 的水润粮 1 h, 后于 121 ℃, 30 min 蒸煮糊化, 达到“疏而不透, 内无生心”。每个 1000 mL 三角瓶加入 445 g 酒醅, 分别添加麸曲和酒母, 混匀。第 1 天采用 18 ℃ 培养, 尽量达到“低温入窖”的要求, 24 h 后转入 30 ℃ 发酵 9 d。采用固态蒸馏法收集酒, 15 d 后测定酒的总酸、总酯、总醛含量。

麸曲糖化酶的测定^[5], 酶活定义: 在 40 ℃, pH4.6 的条件下, 1 h 降解可溶性淀粉酶产生 1 mg 葡萄糖所需酶量即为 1 个酶活力单位, 单位为 U/g 曲。

1.3.5 总酸、总酯的测定

参照 GB/T 10345—2007 测定。

1.3.6 总醛的测定^[5]

吸取待测酒样 50.0 mL, 置于 250 mL 碘量瓶中, 准确加入 20.00 mL 0.025 mol/L NaHSO₃ 溶液, 于暗处反应 30 min, 期间需经常摇动以利反应。准确加入 25.0 mL 0.1 mol/L 碘标准滴定溶液, 摇匀, 立即用 0.05 mol/L Na₂S₂O₃ 标准滴定溶液滴定至浅黄色, 加 1.00 mL 0.5 % 淀粉指示剂, 再继续滴定至蓝色消失。同时做试剂空白试验, 不加酒样, 其余操作同上。

总醛 (以乙醛计, g/100mL) = $(V - V_0) \times c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times 0.02203 \times 100 / 50.0$

式中: V——试样测定时消耗 Na₂S₂O₃ 标准滴定溶液的体积, mL;

V₀——空白试验时消耗 Na₂S₂O₃ 标准滴定溶液的体积, mL;

c(Na₂S₂O₃)——Na₂S₂O₃ 标准滴定溶液的实际浓度, mol/L;

0.02203——与 1.00 mL Na₂S₂O₃ 标准滴定溶液 [c(Na₂S₂O₃) = 1.000 mol/L] 相当的乙醛质量, g。

2 结果与分析

2.1 霉菌麸曲

分别将白曲霉、GQ-c 和 GQ-d 制成麸曲, 表 1 为制曲后相互间的比较。

表 1 分别制曲后麸曲比较

项目	曲种		
	白曲霉曲	GQ-c 曲	GQ-d 曲
72 h 后含水率 (%)	62.8	64.18	64.41
烘干后颜色	金黄色	灰白色	淡红色
37 ℃ 糖化酶酶活 (U/g 曲)	1250	1238	66

霉菌在白酒生产中主要起糖化作用。优良的糖化菌应该具有糖化力好、适应性强、繁殖速度快等特点^[6]。由表 1 可以看出, 白曲霉和 GQ-c 制成的曲糖化力较高, 基本符合麸曲酿酒的条件; 而 GQ-d 糖化力很低, 基本不适合用作麸曲酿酒。

2.2 麸曲糖化力温度曲线

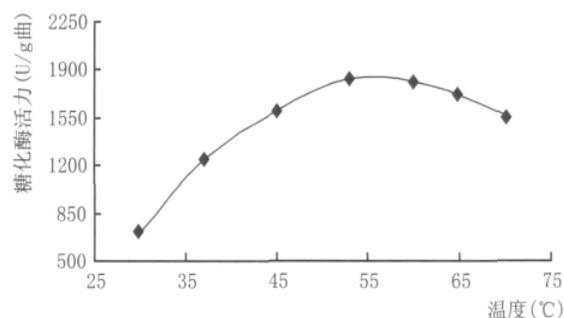


图 1 白曲霉曲糖化力温度曲线

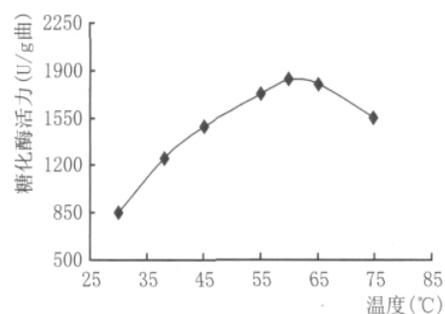


图 2 GQ-c 曲糖化力温度曲线

由白曲霉曲和 GQ-c 曲的糖化力温度曲线发现, 其产糖化酶均为高温糖化酶。白曲霉产糖化酶在 55 ℃ 左右时达到最大, 为 1839 U/g 曲, 而 GQ-c 产糖化酶在 60 ℃ 左右达到最大, 为 1823 U/g 曲。白曲霉与 GQ-c 均为麸曲酿酒有益菌株, 白曲霉曲更适合中温酿酒, GQ-c 更适合高温酿酒。

2.3 分析比较

糖化酶高低只是霉菌是否适合酿酒的一个判别依据。为了深入了解霉菌是否对酿酒有利, 本课题组将霉菌所制成的麸曲用以发酵酿酒, 通过酒的成分分析来判定霉菌的利弊。

麸曲添加量为 12 %, 发酵 10 d, 采用固态蒸馏法收集酒。密封保存 15 d 后检测酒的成分, 结果见表 2。

表 2 分别酿酒后酒成分含量

项目	样品		
	白曲霉酒	GQ-c 酒	GQ-d 酒
酒精度 (%vol)	51	45	21
总酸 (g/L)	0.0808	0.1156	1.217
总酯 (g/L)	0.574	0.556	0.42

通过分析发现, 白曲霉曲和 GQ-c 曲的酒精产率较

高,而GQ-d曲的酒精产率低,这与3个曲样的糖化酶活力息息相关;GQ-d曲发酵的酒总酸是其他2种的10倍以上,这3种酒的总酸总酯含量及比例都不理想。

2.4 麸曲混合发酵酒比较

由于采用单一菌株糖化,麸曲酒的总酸总酯比例不佳,口感不好。为了使麸曲酿造酒的总酸总酯达到合适的比例,以增加酒的香气与口感,本课题组设计了白曲霉曲与GQ-d曲混合酿酒实验。白曲霉曲与GQ-d曲的比例分别为2:1、1:1、1:2。麸曲添加量为12%,其他酿酒条件同上,结果见表3。

表3 白曲霉曲与GQ-d曲混合发酵酒比较

项目	白曲霉曲:GQ-d曲		
	2:1	1:1	1:2
酒精度(%vol)	41	31	32
总酸(g/L)	0.204	0.207	0.244
总酯(g/L)	0.432	0.317	0.335
总醛(g/100 mL)	0.026	0.015	0.019

表3表明,当白曲霉曲的添加量减少后,酒精度明显下降;但因为添加了GQ-d曲,酒的总酸与总酯的比例增加,总酸较单独用白曲霉曲酿酒时增加明显,而3个比例酿造的酒总酸彼此相差不大,同时酒的总醛含量也偏小。综合酒精度、总酸含量、总酸与总酯的比例,选择白曲霉曲与GQ-d曲为2:1时发酵酿酒较好。GQ-d虽然糖化力低,但其产酸能力却对酿酒有益。

3 讨论

3.1 麸曲发酵酒需要高糖化力菌种,但过分强调糖化力而忽视菌种酿酒的其他作用,很容易忽视一些低糖化力

有益菌种。单一糖化菌发酵酿酒容易出现酒体香气和口感不佳等现象,混合菌株发酵适当调整总酸、总酯的含量及总酸总酯比例,对改善酒的口感和香气能起到较大作用。酿酒有益菌种的筛选和利用,是缩小麸曲酒与大曲酒差异的可靠途径。

3.2 白酒中的酸类组分是形成白酒口味的主要香味成分,也是生成酯类的前体物质^[7]。对白酒色谱骨架的分析发现:白酒风味及风格主要由酸类物质(丁酸、己酸、庚酸等),高级醇(正己醇、仲丁醇、正丁醇等),酯类物质(乙酸乙酯、乳酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯等)及乙醛、乙缩醛等决定^[8]。各种香型白酒对总酸、总酯含量都有规定,合理配置总酸、总酯及其比例,对特定香型酒的酿造具有重要意义。

参考文献:

- [1] 肖冬光.白酒生产技术[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [2] 赵斌,何绍江.微生物学实验[M].北京:科学教育出版,2002.
- [3] 吴广黔.贵州麸曲酱香型白酒的酿造工艺特点[J].酿酒科技,2008(2):33-35.
- [4] 高林峰,汤庆莉,吴天祥,等.麸曲酱香型白酒发酵过程控制条件的优化[J].酿酒科技,2011(12):40-43
- [5] 吴国峰,李国全,马永强,等.工业发酵分析[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [6] 熊子书.麸曲白酒优良菌种的选育[J].酿酒科技,1998(1):17-18.
- [7] 余乾伟.传统白酒酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2010.
- [8] 吴天祥,田志强.品鉴贵州白酒[M].北京:北京理工大学出版社,2012.

林城老酒专家品鉴会在筑举行

本刊讯 2012年7月25日,贵州林城老酒专家品鉴会在贵州省贵阳市南天酒店隆重举行。本次会议由贵州省轻工业科学研究所及贵州商报《酒周刊》主办,会议由贵州省轻工业科学研究所所长、贵州省白酒专家黄平主持。应邀出席会议的有全国著名白酒资深专家沈怡方、高景炎、高月明、于桥、庄名扬、徐岩,贵州省白酒专家黄平、方长仲、贾翹彦、李其书、吴天祥、黄永光、吴广黔与黑龙江省白酒专家高军,以及各新闻媒体记者。

会上,贵州林城酒业有限公司董事长朱文旺致词,并向与会专家及来宾介绍了公司简况。此次品鉴会上,专家组对林城酒业的3款系列酒(10年陈、15年陈、30年陈)做了细致认真的品评,专家组从酒质等方面提出了中肯的评价:微黄透明,酱香突出,醇和绵柔,优雅细腻,回味长,空杯留香久,酱香风格典型。

最后,专家组组长沈怡方先生对此次品鉴会作了总结性发言,秘书长方长仲先生公布此次品鉴结果。

此次会议圆满完成各项议程,顺利结束。(莹子、晓文)



会议现场