

酶对茅台酒酒糟再利用的影响

张艳梅,王昌禄*,郭坤亮,张民,陈勉华,刘秀

(天津科技大学食品工程与生物技术学院,天津 300222)

摘要: 在茅台酒酒糟中添加纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 和糖化酶 (60 u/g 酒糟), 于 58 ℃ 水浴中保温 6 h, 还原糖含量增加到 18.78 g/L, 乳酸产量达到 7.01 % 左右, 出酒率提高 2 % 左右, 可提高茅台酒酒糟的再利用价值。

关键词: 茅台酒; 酒糟; 酶制剂

中图分类号: TS262.33; TS261.9; Q814.9 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286 (2005) 10-0081-02

Effects of Enzymes on Reuse of Distiller's Grains of Maotai Liquor

ZHANG Yan-mei, WANG Chang-lu and GUO Kun-liang et al.

(Food Engineering and Biotech College of Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: The addition of cellulose (10 u/g distiller's grains) and saccharifying enzyme (60 u/g distiller's grains) in distiller's grains of Maotai Liquor and then 6 h heat preservation in 58 ℃ water bathing could improve the reuse of the distiller's grains by increasing reducing sugar content to 18.78 g/L, lactic acid output by 7.01 % and liquor yield by about 2 %. (Tran. by YUE Yang)

Key words: Motai Liquor; distiller's grains; zymen

茅台酒采用传统生产工艺进行酿造, 经 9 次糊化、8 次发酵、7 次蒸馏^[1]后的干丢糟残余淀粉在 8 % 左右, 纤维素在 20 % 左右, 还原糖在 3 % 左右, 还含有氨基酸、有机酸等大量的营养物质。可见, 茅台酒酒糟还有很大的利用价值, 如果把残余淀粉、粗纤维降解后进行再利用, 不仅可以保护环境, 节约资源, 而且可以降低酒的生产成本。添加纤维素酶, 不但能将丢糟中的纤维素降解转化成可发酵性糖, 而且由于纤维素酶对纤维素的降解, 破坏了原料的植物细胞壁, 使其包含的淀粉释放出来, 有利于糖化酶的作用^[2]。两种酶共同作用可以把纤维素、淀粉等大分子物质转化为可发酵性糖, 有利于酒糟的再利用。本文主要研究在茅台酒酒糟中添加酶制剂对生成还原糖的影响。

1 材料与方法

1.1 实验仪器与材料

TG328A 型电光分析天平, 上海天平仪器厂产; 恒温水浴锅, 天津市中环实验有限公司生产; 干酒糟, 茅台酒厂生产; 纤维素酶 (2000 u/g), 联星公司生产; 糖化酶 (10⁵ u/g), 诺和诺德公司产; 其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 检测项目 还原糖、淀粉、粗纤维测定^[3]。

1.2.2 纤维素酶用量的确定 将干酒糟粉碎, 过 40 目筛, 取 100 g 酒糟放入 500 mL 三角瓶中, 加入 400 mL 水, 摇匀, 添加不同量纤维素酶, 放入 60 ℃ 水浴中保温 2 h, 保持体积不变, 过滤, 测还原糖含量。

1.2.3 糖化酶用量的确定 将干酒糟粉碎, 过 40 目筛, 取 100 g 酒糟放入 500 mL 三角瓶中, 加入 400 mL 水, 摇匀, 添加不同量糖化酶, 放入 60 ℃ 水浴中保温 2 h, 保持体积不变, 过滤, 测还原糖含量。

1.2.4 固定纤维素酶用量进行不同糖化酶用量试验 将干酒糟粉碎, 过 40 目筛, 取 100 g 酒糟放入 500 mL 三角瓶中, 加 400 mL 水, 摇匀, 添加纤维素酶 (10 u/g 酒糟), 再添加不同量糖化酶, 放入 60 ℃ 水浴中保温 2 h, 保持体积不变, 过滤, 测还原糖含量。

1.2.5 酶最佳作用温度的确定 将干酒糟粉碎, 过 40 目筛, 取 100 g 酒糟放入 500 mL 三角瓶中, 加 400 mL 水, 摇匀, 添加纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 和糖化酶 (60 u/g 酒糟), 放入不同温度水浴中保温 2 h, 保持体积不变, 过滤, 测还原糖含量。

1.2.6 酶最佳作用时间的确定 将干酒糟粉碎, 过 40 目筛, 取 100 g 酒糟放入 500 mL 三角瓶中, 加 400 mL 水, 摇匀, 添加纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 和糖化酶 (60 u/g 酒糟), 放入 58 ℃ 水浴中保温不同时间, 过滤, 测还原糖

收稿日期: 2005-05-28

作者简介: 张艳梅 (1978-), 女, 河北保定人, 天津科技大学食品科学与生物工程 2003 级硕士。

* 通讯作者: 王昌禄 (1960-), 男, 秦皇岛市人, 教授, 博导。

含量。

2 结果与讨论

2.1 纤维素酶用量对还原糖含量的影响

按 1.2.2 方法进行操作,测定加入不同量纤维素酶对酒糟溶液还原糖含量的影响,其结果见表 1。

表 1 不同量纤维素酶作用结果 ($\bar{X} \pm SD$, $n=6$)

序号	纤维素酶用量 (u/g 酒糟)	还原糖含量 (g/L)	粗纤维含量 (g/L)
1	0	1.80±0.024	36.48±0.030
2	5	1.84±0.023	33.21±0.024
3	10	1.98±0.014	32.13±0.025
4	15	2.01±0.020	31.82±0.032
5	20	2.09±0.018	30.01±0.028

从表 1 看出,随着纤维素酶用量的增加,酒糟液中还原糖含量逐渐增加,粗纤维含量逐渐减少,然而纤维素酶用量过大,导致成本过高,抵消了酒糟再利用的效益,纤维素酶用量过少,虽成本较低,但还原糖产量也不高。确定纤维素酶用量为 10 u/g 酒糟。

2.2 糖化酶用量对还原糖含量的影响

按 1.2.3 方法进行操作,测定加入不同量糖化酶对酒糟溶液还原糖含量的影响,其结果见表 2。

表 2 不同量糖化酶作用结果 ($\bar{X} \pm SD$, $n=6$)

序号	糖化酶加入量 (u/g 酒糟)	还原糖含量 (g/L)	淀粉含量 (g/L)
1	0	1.80±0.004	15.12±0.024
2	20	1.82±0.012	15.01±0.026
3	40	1.90±0.014	14.00±0.029
4	60	1.93±0.004	13.65±0.014
5	80	1.95±0.010	13.21±0.018

由表 2 可知,糖化酶作用效果不如纤维素酶作用效果好,原因是所用茅台酒酒糟中淀粉含量不高,而纤维含量很高,有些淀粉在植物细胞壁中,糖化酶无法将这部分淀粉糖化,因此,单独提高糖化酶加入量对酒糟生成还原糖作用效果不明显。

2.3 固定纤维素酶用量不同量糖化酶对还原糖的影响

按 1.2.4 方法进行操作,固定纤维素酶用量 10 u/g 酒糟,加入不同量糖化酶,测定对还原糖的影响,其结果见表 3。

表 3 固定纤维素酶用量不同量糖化酶的作用效果
($\bar{X} \pm SD$, $n=6$)

序号	糖化酶用量 (u/g 糟)	还原糖含量 (g/L)	纤维素含量 (g/L)	淀粉含量 (g/L)
1	0	1.98±0.009	32.13±0.030	15.56±0.024
2	20	2.02±0.010	31.54±0.028	15.38±0.014
3	40	2.34±0.008	30.02±0.023	14.60±0.017
4	60	2.80±0.012	28.38±0.024	13.85±0.018
5	80	2.88±0.015	28.11±0.018	13.41±0.015
6	100	2.91±0.013	28.01±0.011	13.22±0.014

由表 3 可知,两种酶共同作用更利于粗纤维和淀粉降解,利于酒糟溶液中还原糖的生成,通过比较,最佳纤维素酶用量 10 u/g 酒糟,糖化酶用量 60 u/g 酒糟。

2.4 酶最佳作用温度的确定

按 1.2.5 方法进行操作,其结果见表 4。

表 4 酶最佳作用温度试验结果 ($\bar{X} \pm SD$, $n=6$)

序号	温度 (℃)	还原糖含量 (g/L)	纤维素含量 (g/L)	淀粉含量 (g/L)
1	50	2.48±0.008	30.78±0.018	15.39±0.014
2	55	2.68±0.012*	29.53±0.024*	14.65±0.016*
3	58	2.80±0.008*	28.40±0.020*	13.86±0.011*
4	60	2.80±0.010	28.38±0.019	13.85±0.012

注: $p<0.05$ * 有差异, $p<0.01$ ** 有显著差异。

由表 4 可知,当加入纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 糖化酶 (60 u/g 酒糟) 时,随着温度升高,酶的作用效果增加,在 58℃ 时,作用效果较好,降解纤维素和淀粉效率最高,还原糖含量较高,60℃ 与 58℃ 没有差异,因此最佳作用温度为 58℃。但由于糖化、液化时间较短,酶制剂没有充分发挥作用,使淀粉和粗纤维降解不充分。

2.5 酶最佳作用时间的确定

按 1.2.6 方法进行操作,其结果见表 5。

表 5 酶最佳作用时间试验结果 ($\bar{X} \pm SD$, $n=6$)

序号	时间 (h)	还原糖含量 (g/L)	纤维素含量 (g/L)	淀粉含量 (g/L)
1	2	2.80±0.006	28.40±0.014	13.86±0.016
2	4	8.34±0.004**	26.53±0.020**	12.65±0.015**
3	5	14.80±0.010**	24.38±0.018**	11.86±0.011**
4	6	18.78±0.008**	22.38±0.016**	10.85±0.014**
5	7	19.01±0.005*	21.68±0.014*	10.23±0.013*

注: $p<0.05$ * 有差异, $p<0.01$ ** 有显著差异。

由表 5 可知,加入纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 和糖化酶 (60 u/g 酒糟),在 58℃ 水浴中保温 6 h 后,粗纤维和淀粉已基本被完全降解,还原糖含量比原来增加 16 g/L,达到 18.78 g/L,提高了酒糟再利用的价值。作用 7 h 与 6 h 差异不显著,从节约能源考虑,6 h 最好。

3 结论

本实验以茅台酒酒糟为原料,经过酶处理后的酒糟溶液中还原糖含量有所提高,更利于酒糟的再利用,纤维素酶和糖化酶共同作用比单一作用效果好,纤维素和淀粉降解更充分,最佳作用条件是添加纤维素酶 (10 u/g 酒糟) 和糖化酶 (60 u/g 酒糟),于 58℃ 水浴中保温 6 h,还原糖含量可增加到 18.78 g/L,可提高茅台酒酒糟的再利用价值。

王忠彦等^[4]发现,经酶处理的酒糟再进行乳酸发酵比不经过酶处理还原糖含量提高了 3.1% 左右。张礼星等^[5]发现,经过酶处理的酒糟再进行酿酒,出酒率提高了

(下转第 85 页)

不同的无机盐溶液(浓度为干料的0.1%)培养后测定木聚糖酶相对酶活,结果见图5。

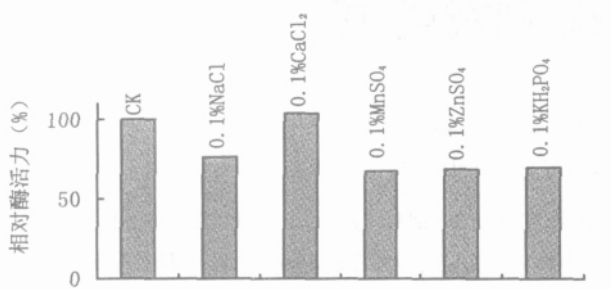


图5 无机盐对产酶的影响

从图5可知,在培养基中添加0.1% CaCl₂对菌种产酶有促进作用。添加其他无机盐则不利于木聚糖酶的分泌产生。

2.6 产酶培养基组分的正交优化

在单因素实验的基础上,采用L₉(3⁴)正交试验法对复合碳源组分比、无机盐种类、Tween 80添加量、NH₄NO₃添加量这4个影响产酶的培养基组分进行优化,结果见表2、表3。

表2 正交试验因素水平

水 平	1	2	3
啤酒糟:玉米芯:麸皮(A)	6:2:2	7:2:1	8:1:1
NH ₄ NO ₃ 添加量(%), (B)	1.5	2.0	2.5
无机盐种类(C)	CaCl ₂	NaCl	KH ₂ PO ₄
Tween 80添加量(%), (D)	0.1	0.2	0.3

经极差分析,从表3可知,各因素对产酶影响次序为A>B>C>D;其中,复合碳源组分比是主要的影响因素。最佳组合是A₁B₂C₁D₁,不在9次试验内,而表观最佳组合是A₁B₁C₁D₁。

为验证正交试验结果,按正交最佳组合和表观最佳组合的配方进行验证试验,结果表明,正交最佳组合酶活力为6196.803 IU/g干曲;表观最佳组合酶活力为5719.506 IU/g干曲。可见,按正交分析所得最佳组合制备培养基,进行发酵产酶的产酶量更高。

3 小结

(上接第82页)

1.05%。本文还对茅台酒酒糟中加入酶后乳酸发酵和酒精发酵进行了初步研究,结果表明,乳酸产量达到7.01%左右,出酒率比原酒糟提高2%左右,如果再进行发酵条件优化,乳酸产量和出酒率还会有提高。

参考文献:

- [1] 范光先.产酒酵母AS2109在茅台酒丢糟中的应用[J].酿酒科技,2002,(5):44-46.

表3 正交试验结果

实验号	A	B	C	D	酶活力 (IU/g干曲)
1	1	1	1	1	5546.112
2	1	2	2	2	5216.912
3	1	3	3	3	5049.168
4	2	1	2	3	4968.096
5	2	2	3	1	5056.272
6	2	3	1	2	4805.6
7	3	1	3	2	4661.088
8	3	2	1	3	4958.688
9	3	3	2	1	4716.752
I	5270.731	5058.432	5103.467	5106.379	
II	4943.323	5077.291	4967.253	4894.533	
III	4778.843	4857.173	4922.176	4991.984	
R	491.888	220.118	181.291	211.846	

3.1 用黑曲霉固态发酵啤酒糟生产木聚糖酶的最佳培养基组分及其配比为:复合碳源及其组分比为啤酒糟:玉米芯:麸皮=6:2:2,氮源为NH₄NO₃ 2%,再添加Tween80 0.1%,CaCl₂ 0.05%。在此基质上以1:1加水;3.5%的接种量接入菌液,在30℃下培养约65h,酶活可达6196.803 IU/g,比优化前的酶活力提高41.74%。

3.2 黑曲霉An54-2-1能利用啤酒生产的啤酒糟作为主要的营养源,产生具有较高活性的木聚糖酶,对降低成本,进行工业化、扩大生产具有一定的现实意义。

3.3 将此木聚糖酶作为饲料添加剂,可用于畜牧养殖业,为综合开发利用啤酒糟再生资源开辟新途径,还可有效避免啤酒糟对环境的污染,具有一定的经济效益和社会效益。

参考文献:

- [1] 牟德华,李艳.啤酒糟的成分分析及综合利用[J].食品科学,1991,(9):28-31.
- [2] 王金华,郭健.啤酒糟膳食纤维饮料的研制[J].粮油食品科技,2003,(11):18-19.
- [3] 蔡俊.啤酒糟发酵生产蛋白饲料的研究[J].粮食与饲料工业,2001,(3):30-31.
- [4] 曾莹,钟晓凌,夏服宝.木聚糖酶活力测定条件研究[J].生物技术,2003,(13):21-22.

- [2] 胡志明,陈坚刚.纤维素酶提高黄酒残糟出酒率的研究[J].酿酒科技,2003,(2):63-64.
- [3] 大连轻工业学院,华南理工大学.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,1999.157-159,223-225,180-183.
- [4] 王忠彦,黄英.酒糟水为基质固定化乳酸发酵[J].酿酒科技,1995,(4):55-56.
- [5] 张礼星,王华,等.里氏木霉纤维素酶在大曲酒丢糟中的应用[J].酿酒科技,2000,(3):52-53.