日本米曲霉菌株特性及通风制曲工艺

周立平,陈旭峰,孙佰申
(浙江工业大学生物和环境学院,浙江 杭州 310014)

摘 要: 将 3 株日本米曲霉及 2 株中国米曲霉菌种进行理化性质比较,优选出 1 株日本菌株进行实验,结果表明:1.日本米曲的培养周期较短,一般 48 h 内即成曲。出曲时间可通过检测总酸变化,在总酸消长曲线达高值后 15 h 左右即可。2.培养温度为 32~36 ℃,不能波动太大。3.当菌株糖化力与液化力同时达到高峰时,对制曲非常有利。该工艺经过通风制曲生产,其糖化力可达 1200 u/g·h,所酿的酒符合成品酒质量。(丹妮)

关键词: 微生物; 通风制曲; 米曲霉; 米曲; 生产工艺
中图分类号: TQ925.7; TS261.1; TS261.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2004)04-0023-02

Japanese *Aspergillus Oryzae* Strain Properties & Ventilated Starter-making Technology

ZHOU Li-ping, CHEN Xu-feng and SUN Bai-shen
(Biology and Environment College of Zhejiang Technical University, Hangzhou, Zhejiang 310014, China)

Abstract: Three Japanese *aspergillus oryzae* strains and two Chinese *aspergillus oryzae* strains were compared in physiochemical properties and one optimal Japanese strain was selected for experiment and the test results indicated that: 1. Japanese *aspergillus oryzae* strains had shorter culture period, usually matured within 48 h. Through the measurement of the changes of total acids content, about 15 h after the growth and decline curve of total acids achieved peak value was the mature time; 2. culture temperature was at 32~36 ℃, drastic temperature fluctuation must be prohibited; 3. it was the optimal time for starter-making when strain saccharifying power and liquefying power achieved the peak simultaneously. The saccharifying power of the strain by ventilated starter-making technology could achieve 1200 u/g·h. Liquor produced by the strain met the quality requirement of quality liquor. (Tran. by YUE Yang)

Key words: microbe; ventilated starter-making; *aspergillus oryzae*; rice starter; production technology

如同中国的黄酒、德国的啤酒、法国的葡萄酒,日本的清酒被认为是日本的民族酒。以粳米为原料,用米曲霉培养的米曲是清酒酿造的糖化剂。米曲霉作为一种糖化菌,它含有一定量的 α-淀粉酶、活性强的糖化酶和适量的蛋白酶。

制曲是清酒酿造的主要环节,日本历来有一曲二酒母三酿造的说法。曲的主要作用有 3 个方面:一是为酒母和醪提供酶源,使饭粒的淀粉、蛋白质和脂肪等溶出和分解;二是在曲菌繁殖和产酶的同时生成葡萄糖、氨基酸、维生素等成分,这是清酒酵母的营养源,并用以生成有机酸、高级醇及酯类成分;三是曲香及曲的其他成分(如丙三醇等)赋予清酒独特的风味。

曲的老嫩与干湿程度对酒质及原料利用率有直接的影响。老曲湿曲制成的酒味浓厚,酸多,或有杂味,易着色及老熟。嫩而硬的曲酵母不易繁殖,发酵力弱,酒质淡薄,产糟多。因此对制曲设备等条件需要不断探讨改进[1,2]。

在制曲过程中,无论是自然或通风制曲,均以温度、水分、通气量及无菌条件为主要因素。成曲一般以糖化力为主要指标,本研究围绕提高曲的产量、质量及降低成本等展开。

1 材料与方法

1.1 菌株

日本米曲霉菌株 1#,2#,3#:日本酿造企业所赠;

国内米曲霉菌株 4#,5#:浙江工业大学酿酒研究所保存。

1.2 培养基

12°BX 的琼脂米曲汁培养基。

1.3 测定方法[3-5]

1.3.1 水分:烘干法。

1.3.2 总酸:碱滴定法,用 0.1N NaOH 溶液滴定。

1.3.3 糖化力:斐林试剂快速滴定法,每 1 g 绝干米曲在 30 ℃,pH4.6,1 h 内水解可溶性淀粉为葡萄糖的毫克数。

1.3.4 液化力:碘反应法,以每 1 g 绝干米曲在 30 ℃下作用 1 h 液化淀粉的克数表示。

1.4 米曲通风制曲工艺

1.4.1 米曲通风制曲工艺流程

1.4.2 米曲生产操作说明

1.4.2.1 洗米:用清水冲洗,除去大米表层的夹杂物。

1.4.2.2 浸渍:粳米倒入池中,在室温 20 ℃左右,浸米 20 h。

1.4.2.3 蒸饭:粳米装甑,通蒸汽蒸饭,至蒸汽全面透气时,取洁净的麻袋覆盖再蒸 5~6 min 即可。

收稿日期:2003-12-24; 修回日期:2004-03-10
作者简介:周立平(1947-),男,浙江人,本科,副教授,专门从事中国传统酒、红曲及其相关产业的教学及研究工作。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.4.2.4 摊晾 :蒸饭完毕,即取出在竹席上摊晾,将饭团打散,一般摊冷至 30~35 ℃即可。

1.4.2.5 接种 :待摊冷至所需温度,即接入米曲种,接种量一般为 0.1 %(粒状米曲种)。

1.4.2.6 堆积 :接种后的米饭入曲室堆积 2~3 h,使水分及温度均一后拌匀,盖上布保温。

1.4.2.7 翻曲 :接种后 12~14 h,品温上升 0.5~1 ℃,饭粒失去光泽,这时为了防止料层干燥或内部品温过高, 要供给氧气, 及时翻拌后,继续堆积,上面仍要盖布。

1.4.2.8 平摊 :翻曲后约 12 h,饭粒表面出现白斑,品温比接种时高 1~2 ℃,曲菌开始繁殖,为使热量及水分散发应及时摊平,料层厚 10 cm 左右,上面盖布保温。

1.4.2.9 通风培养 :摊平 6~8 h 后,品温上升,此时应及时翻曲,并调温 36 ℃,过 5 h 后调温 38 ℃,继续培养 6~8 h 后出曲。

1.4.2.10 出曲 :将培养好的曲移至干燥室鼓风干燥,或在太阳下晒干后使用。

2 结果与讨论

2.1 米曲霉的理化性质比较

把 5 株米曲霉分别接种于粳米上,于 32 ℃下培养 48 h 后,于 38 ℃烘箱中烘 6 h,然后测定它们的理化性质。其结果见表 1。

表 1 5 株米曲霉理化性质测定数据

菌株	水分 (%)	总酸 (ml/100 g)	液化力 (g/g·h)	糖化力 (mg/g·h)
1#	8.75	2.71	35	1013
2#	10.23	3.60	13	650
3#	10.51	2.34	18	1072
4#	11.24	2.60	24	935
5#	8.00	2.07	24	1130

作为一种好的糖化曲菌株,它必须具有以下几点:

(1)在米粒上繁殖速度快;

(2)制成的曲含有对饭粒能充分溶解和消化的 α-淀粉酶、糖化酶;

(3)不产生霉菌毒素;

(4)孢子柄短,易于通风制曲;

(5)曲香好;

(6)制曲种时,产孢子容易,孢子量多。

经试验,1# 日本菌株较符合以上条件。

2.2 通风制曲工艺

在米曲制作中,不时从不同曲层、不同位置取样,进行糖化力、液化力、水分及总酸等理化性质的测定,其结果见表 2。

表 2 米曲制作过程中的理化性质分析记录

培养时间 (h)	品温 (℃)	水分 (%)	总酸 (ml/100 g)	液化力 (g/g·h)	糖化力 (mg/g·h)
16	33	34.14	1.73	12	362
19	33	32.33	1.96	14	670
23	33	32.02	2.37	18	721
27	35	30.09	2.72	34	794
39	38	28.08	2.64	67	1280
46	40	25.80	2.60	65	1200
53	37	25.36	2.57	65	1200
65	33	24.39	2.51	42	1185
72	30	22.05	2.39	31	1150
90	30	17.90	2.10	29	1070

2.2.1 糖化力分析(糖化力的变化曲线见图 1)

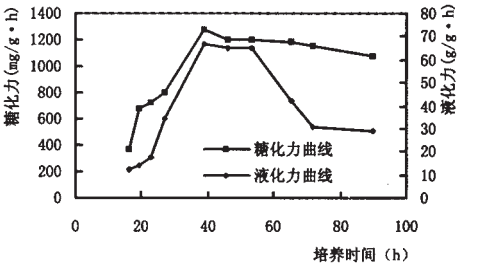

图 1 糖化力及液化力变化曲线

分析图 1 中糖化力变化曲线,其糖化酶活力较高,这是米曲的一大特点。一开始,米曲处于孢子萌发和定殖生长阶段,糖化力逐渐上升。在培曲中期时,米曲霉大量繁殖,糖化力迅速上升达到高峰,但若培养温度过高,后期米曲霉大量着生孢子,此时糖化力略有下降,但比较平稳 :米曲的糖化力在后期基本上保持在较高的水平上,未迅速下降,这表明,在米曲培养时,只要控制好温度,即使出曲时间稍晚,糖化力的损失也不大,但培养时间过长,米曲霉大量产生孢子,用于酿酒苦味增加,对操作人员健康亦有影响,故应及时出曲。

2.2.2 液化力分析(液化力变化曲线见图 1)

从图 1 中可看出,此菌株的液化力较高。在米曲培养初期,液化力迅速上升,在 38 h 左右达到高峰,平稳持续 15 h,此后又急剧下降,到达一个较低水平后又保持平稳。

图 1 表明,菌株的糖化力与液化力同时达到高峰,这对制曲非常有利。

2.2.3 总酸消长曲线与糖化力曲线关系 (总酸消长曲线与糖化力变化曲线见图 2)

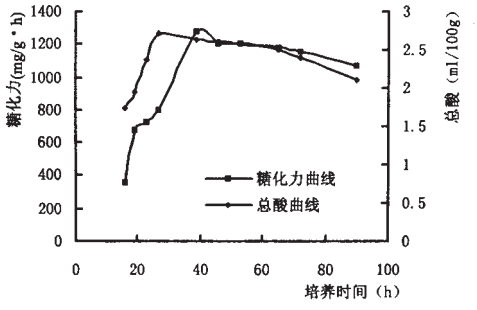

图 2 糖化力及总酸变化曲线

分析图 2 中两条变化曲线,在 15~30 h 这一阶段,总酸迅速上升,此后逐渐下降,而糖化力在总酸达到高峰之后仍继续增长,15 h 后达到峰值。

从图 2 可以看出,在制曲后期,米曲的糖化力、液化力均有所下降,故最佳出曲时间的确定至关重要。米曲霉在接种至 38 h 后,糖化力、液化力都已达到高峰,再继续接着培养,米曲霉孢子大量生成,导致成曲酶活力下降,且大量形成的孢子污染环境,所以适时出曲非常重要。

出曲时间的确定,一般用测定糖化力的方法,在糖化酶活力达到最高时出曲,但测定米曲糖化力的操作繁琐且时间较长,难以及时准确地指导生产, 而根据米曲总酸消长曲线与糖化力变化曲线之间的相应关系,通过简便地检测总酸变化情况,从而推知曲霉生长及产酶情况,即在总酸消长曲线达高峰值后 15 h 左右为糖化力最高点,即可出曲。本方法可在生产中推广应用。

2.2.4 水分对米曲制作的影响

(下转第 26 页)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

此消彼长,几种主要生化指标一直在变动,直到曲块成熟,水分降到 15 %以下,才基本趋向一个平衡。根据品温的变化,大曲培养发酵过程可分为 5 个阶段。

2.1 发酵前期

原料自加水后,内部开始发生变化,糖化酶迅速增加,糖化力能达到 1500~1800 u,蛋白酶略有增加,而此时液化力基本为零。细菌和酵母菌开始增加,而霉菌略有减少,但其孢子正在准备萌发。

2.2 升温期

曲块入房培养 2 d 左右,品温从入房室温升至 45 ℃。这期间各类微生物已适应环境,而且温湿度比较适宜,细菌、霉菌、酵母菌生长繁殖都很快,其数量可增加 100~1000 倍。蛋白酶增加[3],由于原料本身所含糖化酶稳定性差,随着温度的升高,糖化力下降。液化力此时仍然为零。

培养 5~6 d 后,曲块品温升至 50 ℃以上,由于温度高,微生物大量死亡,除部分芽孢杆菌外,其余的大部分微生物数量从第 3~4 天开始下降。细菌中耐热菌株增加,不耐热菌株减少,但综合数量是降低的。酵母菌因不耐热,其群体数量迅速下降至接近为零。这段时间,液化酶开始产生,液化力曲皮大于曲心。蛋白酶曲心继续增加,曲皮因失去水分蛋白酶基本稳定。曲块糖化酶活力全面下降,但曲心降得比曲皮快些,在接近高温期时糖化酶的量有回升。

2.3 高温期

品温维持在 55 ℃左右 5~6 d,在该时期,大多数微生物不能生长,因各类微生物耐热性不同,下降趋势也不一样。酵母菌数量降到接近零,细菌群体主要由芽孢杆菌组成,也缓慢下降,但是,霉菌检出数回升,可能是形成的孢子留在曲中,测量时由孢子形成的。除蛋白酶基本稳定外,糖化酶和液化酶都缓慢下降。

2.4 降温期

大曲培养温度降至 45 ℃之前,各类微生物及酶,除蛋白酶外,仍呈下降趋势。当温度降到 45 ℃以下时,存活的微生物活动明显增加,特别是酵母菌类数量增加很迅速。曲皮部分几种酶活力均回升,而曲心部分变化不大。

2.5 成熟期

当大曲曲块品温逐渐接近环境温度时,除酵母菌还有所增加外,其余微生物数量基本稳定。但是微生物活动并没有停止,只是繁殖与死亡达到平衡,特别是曲皮部分,液化酶和糖化酶都仍在增加。当曲块水分降到 15 %以下时,各类微生物数量及大部分生化指标变化越来越慢,逐步趋于稳定。

3 生产应用分析

通过以上大曲培养过程几个阶段的分析,我们可以看到,微生物及酶的变化是有规律的。“ 前火不可过大 ”,大曲培养前期温度升得过快过高,微生物不能充分生长繁殖,短短的几天对后期培养会造成很大影响。“ 后火不可过小 ”,降温期是大曲中保留微生物及酶增长的重要时期,但在实际的生产过程中,我们往往很容易忽视这一段时期的培养管理,如果温度降得太快或控制得太低,微生物不能充分生长,酶系形成量也不足,而且由于发热量少,曲块水分排不干,将严重影响大曲的质量。

参考文献:

[1] 胡承,等.浓香型(泸型)大曲的研究及其应用[J].酿酒科技,2004,(1):33-36.
[2] 李大和.浓香型大曲酒生产技术[M].北京:中国轻工业出版社,1997.
[3] 蒋红军,等.制曲微生物及蛋白质分解能力的关系初探[J].酿酒科技,2003,(1):32-34.
[4] 山东兰陵美酒股份有限公司.兰陵大曲制曲工艺分析[J].酿酒科技,1995,(3):78.

(上接第 24 页)

米曲霉孢子在发芽前,首先要吸水膨胀,孢子体积增大,在吸水膨胀过程中,孢子内部物质溶解,为发芽创造条件。孢子发芽需要一定的温度,一般制曲要求相对湿度不低于 90 %,制曲前期保湿工作相当重要。

水分对菌丝的生长亦很重要,当水分适合时,能促进米曲霉的生长;但同时应注意通风换气。

2.2.5 温度对米曲制作的影响

在有充足的水分情况下,米曲霉孢子发芽期及迟滞期长短受温度控制,其生长速率 25 ℃<30 ℃<35 ℃,30~35 ℃下培养 24 h,肉眼就能看到生长的菌丝,而在 25 ℃下则未见。待发芽期与迟滞期过后,菌丝生长加快,但米曲霉培养温度达 45 ℃便会受到抑制,50 ℃则完全停止,此时若迅速将培养温度降下来,仍可重新生长,但恢复期相当长,有时需要 10 h。试验表明,制曲时温度不能波动太大。

菌丝生长适宜温度略低于酶的产生温度,菌的生长适宜水分略高于酶生成的适宜水分,菌丝量与酶量往往不呈同步关系,所以不能仅以外观来判断曲的质量。

3 结论

3.1 经试验,供试日本米曲霉的菌株的特性如下:

(1)日本米曲的培养周期较短,一般 48 h 以内成曲;

(2)若培养温度较高,可抑制孢子的产生,但菌丝超过 50 ℃即死灭。

3.2 对日本米曲霉进行通风制曲试验后,制订的米曲大生产工艺,经工厂通风制曲批量生产(500 kg 蒸米/曲池),其糖化力可达 1200 u/g·h;并经酿酒试验,符合成品酒质量要求,可在大生产中推广应用。

参考文献:

[1] 无锡轻工业学院,等.微生物学(第 1 版)[M].北京:中国轻工业出版社,1980.
[2] 康明官.日本酿酒技术(第 1 版)[M].北京:中国轻工业出版社,1986.
[3] 无锡轻工业学院,等.酒精与白酒工艺学(第 1 版)[M].北京:中国轻工业出版社,1982.
[4] 无锡轻工业学院,等.酿造酒工艺学(第 1 版)[M].北京:中国轻工业出版社,1982.
[5] 周家骐.黄酒生产工艺(第 1 版)[M].北京:中国轻工业出版社,1988.
[6] 周立平.'94 国际酒文化学术研讨会文集(第 1 版)[C].杭州:浙江大学出版社,1994.

祝贺《酿酒科技》成为全国中文核心期刊!

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net