

# 酒用酸性蛋白酶在黄酒生产上的应用小试

杜士良<sup>1</sup>, 黄建平<sup>2</sup>

(1. 浙江余杭市微生物发酵研究所, 浙江 余杭 311121; 2. 富阳市九友生化发酵有限公司, 浙江 富阳 311404)

**摘要:** 酒用酸性蛋白酶在黄酒生产上应用的小型试验结果表明, 在以 Q303 菌种等川黔型根霉纯种麸皮酒曲中添加适量酸性蛋白酶, 对促进根霉和酵母更健壮生长、提高酒曲的糖化发酵能力有明显作用, 提高了原料出酒率。但酸性蛋白酶添加于绍兴白药和上海型根霉制作的谷粉小曲中基本无作用或作用较小。

**关键词:** 黄酒; 酒用酸性蛋白酶; Q303 纯种根霉麸曲; 绍兴白药; 酿酒小曲

**中图分类号:** TS262. 4; TS261. 4; Q814. 9 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001- 9286(2001) 04- 0067- 02

## Trial Application of Acid Protease in the Production of Yellow Rice Wine

DU Si- liang<sup>1</sup> and HUANG Jian- ping<sup>2</sup>

(1. Yuhang Microbial Fermentation Research Institute, Yuhang, Zhejiang 311121, China;

2. Fuyang Jiuyou Biochemical Fermentation Co. Ltd., Fuyang, Zhejiang 311404, China)

**Abstract:** Trial application of acid protease for alcoholic beverage in the production of yellow rice wine indicated that the adequate addition of acid protease in Q303 pure *rhizopus* bran koji could advance healthy growth of *rhizopus* and yeast, effectively improve the saccharifying fermentation ability of koji and enhance liquor yield. And it also indicated that the addition of acid protease had rare effects on farinaceous Xiaoqu produced by Shaoxing White Koji and Shanghai type *rhizopus*. (Tran. by YUE Yang)

**Key words:** yellow rice wine; acid protease for alcoholic beverage; Q303 pure *rhizopus* bran koji; Shaoxing White Koji; Xiaoqu

目前黄酒生产中, 用纯种根霉麸皮小曲培养酿缸(淋饭酒母)已较为普遍。但是, 由于根霉缺乏酸性蛋白酶, 对熟料加热过程中变性的蛋白质不能充分利用, 因而根霉在熟料上的生长远不及在生料上生长旺盛<sup>[1]</sup>。而且为了降低生产成本, 用于黄酒生产的大米原料精白率下降, 使用黄斑米的厂家为数不少, 使黄酒大米原料蛋白含量偏高, 影响了黄酒成品的风味。鉴于以上两个原因, 我们进行了酒用酸性蛋白酶添加于酒曲之中的模拟黄酒酿缸(淋饭酒母)三角瓶糖化发酵试验, 结果如下。

### 1 材料

1.1 原料 黄斑米, 淀粉含量以 74% 计。糯米, 较糙, 已陈放 2 月, 淀粉含量按 78% 计。

1.2 小曲 纯种麸皮根霉菌, 菌种 Q303。传统绍兴白药, 由早米粉、辣蓼草、曲母制成, 菌种为上年留娘种。酿酒小曲, 由早谷粉制成的块曲, 菌种新 2<sup>#</sup>、新 6<sup>#</sup> (该菌种编号为九友发酵有限公司厂内编号)。以上 3 个小曲样品均由富阳市九友发酵有限公司提供。

1.3 酒用酸性蛋白酶 活力 50000u/g 浙江海宁金潮实业有限公司生产。

### 2 试验方法

#### 2.1 糖分和酸度试验方法

模拟黄酒实际生产操作。每样浸粳米 100g, 浸米时间约 20h (视气温), 一次蒸饭, 取 60℃左右热水浸饭吃水 2min, 二次蒸饭, 用清水淋饭至 30~ 32℃, 控制出饭率在 210%~ 220% 之间, 米饭

做到熟而不烂。每样饭接纯种根霉菌 0.3g 或酿酒小曲 0.5g, 保温 30℃培菌糖化 36h 后化验。绍兴白药试验用糯米, 只试验曲药发酵率。

#### 2.2 发酵率试验方法

按 1987 年轻工出版社出版的《黄酒生产分析检验》第二章曲的分析中发酵率测定方法试验。具体操作如下:

称取大米 (粳米或糯米) 50.0g 于 500ml 三角瓶中, 加自来水 50ml, 浸 10h, 用油纸包扎棉塞于 1MPa 蒸汽灭菌 20min。取出稍冷, 用玻璃棒搅散饭团, 冷至 30℃时, 小心撒入粉末(酒曲) 0.25g, 拌匀, 置 30℃恒温培养箱培养 26~ 30h, 取出加水 100ml, 再保温 (30℃) 培养约 90h, 全部时间 120h。

### 3 酒用酸性蛋白酶添加方案

添加量: 以每 1g 原料添加 0、6u、14u、20u 4 个样品试验。添加方法, 用万分之一天平称所需小曲和蛋白酶, 混匀, 接种于蒸煮米饭中。

### 4 化验方法

#### 4.1 糖分测定

吸取米饭中糖汁 5ml 于 100ml 小烧杯中, 添加蒸馏水 5ml, 充分混匀, 用 WYT- 32 型手持糖量折光仪 (范围: 0%~ 32%, 精度 ±0.2%) 测定糖分百分含量。

#### 4.2 酸度测定

吸取试饭中糖汁 5ml 于 250ml 三角瓶中, 加蒸馏水 30ml, 1% 酚酞指示剂 2 滴, 用 0.1mol/L NaOH 标准溶液滴定。

收稿日期: 2001- 01- 21

作者简介: 杜士良 (1947- ), 男, 浙江余杭人, 大专, 工程师, 副所长, 参加科研项目多项, 获国家级新产品称号 1 项, 市政及五小成果奖 4 项, 发表论文 3 篇。

$$\text{总酸}(\text{g}/100\text{ml}, \text{以琥珀酸计}) = \frac{V \times N \times 0.059}{5}$$

4.3 发酵率测定

将成熟酒醅倒入 1000ml 圆底烧瓶中, 用 100ml 水洗涤三角瓶后, 洗液亦倒入, 进行酒精蒸馏, 测定酒精度。计算按以下公式进行:

$$\text{发酵率}(\%) = \frac{\text{纯酒精}(\text{g})}{50 \times \text{大米淀粉含量}(\%) \times 0.5678}$$

5 试验结果

见表 1~ 表 5。

| 表 1 根霉酒曲添加酸性蛋白酶试饭糖酸测定 |      |       |       |       |
|-----------------------|------|-------|-------|-------|
| 项目                    | 编号   |       |       |       |
|                       | 1    | 2     | 3     | 4     |
| 黄斑粳米(g)               | 100  | 100   | 100   | 100   |
| 根霉曲添加量(g)             | 0.3  | 0.3   | 0.3   | 0.3   |
| 酸性蛋白酶添加量(u/g 原料)      | 0    | 6     | 14    | 20    |
| 糖分(%)                 | 33.4 | 34.6  | 35    | 35.2  |
| 总酸(g/100ml)           | 0.59 | 0.584 | 0.573 | 0.584 |

| 表 2 酿酒小曲添加酸性蛋白酶试饭糖酸测定 |       |       |       |       |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 项目                    | 编号    |       |       |       |
|                       | 1     | 2     | 3     | 4     |
| 黄斑粳米(g)               | 100   | 100   | 100   | 100   |
| 酿酒小曲添加量(g)            | 0.5   | 0.5   | 0.5   | 0.5   |
| 酸性蛋白酶添加量(u/g 原料)      | 0     | 6     | 14    | 20    |
| 糖分(%)                 | 37.8  | 37.9  | 37.8  | 37.8  |
| 总酸(g/100ml)           | 0.602 | 0.673 | 0.673 | 0.673 |

| 表 3 根霉酒曲添加酸性蛋白酶后的发酵率 |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 项目                   | 编号    |       |       |       |
|                      | 1     | 2     | 3     | 4     |
| 黄斑粳米(g)              | 50    | 50    | 50    | 50    |
| 酸性蛋白酶添加量(u/g 原料)     | 0     | 6     | 14    | 20    |
| 根霉酒曲添加量(g)           | 0.2   | 0.2   | 0.2   | 0.2   |
| 实测酒度(%, v/v)         | 19.8  | 20.2  | 21    | 21.1  |
| 折纯酒精(g)              | 15.63 | 15.95 | 16.58 | 16.65 |
| 发酵率(%)               | 74.4  | 75.9  | 78.9  | 79.3  |

| 表 4 酿酒小曲添加酸性蛋白酶后的发酵率 |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 项目                   | 编号    |       |       |       |
|                      | 1     | 2     | 3     | 4     |
| 黄斑粳米(g)              | 50    | 50    | 50    | 50    |
| 酸性蛋白酶添加量(u/g 原料)     | 0     | 6     | 14    | 20    |
| 酿酒小曲添加量(g)           | 0.25  | 0.25  | 0.25  | 0.25  |
| 实测酒度(%, v/v)         | 19.5  | 19.6  | 19.6  | 19.8  |
| 折纯酒精(g)              | 15.39 | 15.46 | 15.46 | 15.63 |
| 发酵率(%)               | 73.3  | 73.7  | 73.7  | 74.4  |

| 表 5 绍兴白药添加酸性蛋白酶后的发酵率 |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| 项目                   | 编号    |       |       |       |
|                      | 1     | 2     | 3     | 4     |
| 糯米(g)                | 50    | 50    | 50    | 50    |
| 酸性蛋白酶添加量(u/g 原料)     | 0     | 6     | 14    | 20    |
| 绍兴白药添加量(g)           | 0.25  | 0.25  | 0.25  | 0.25  |
| 实测酒度(%, v/v)         | 20    | 20.05 | 20    | 20    |
| 折纯酒精(g)              | 15.79 | 15.83 | 15.79 | 15.79 |
| 发酵率(%)               | 71.3  | 71.5  | 71.3  | 71.3  |

试验结果表明, 酒用酸性蛋白酶添加在 Q303 纯种麸曲中有较明显的作用, 提高了酒曲的糖化发酵能力, 其试饭糖分提高 5%, 发酵率提高 6.5%。添加量为 14u/g 原料较为适宜, 基本达到试验设想目的。但是试验结果同样表明酸性蛋白酶添加于绍兴白药与酿酒小曲, 对小曲糖化发酵基本上不起作用。

6 分析与推论

- 6.1 由于米饭中添加了酸性蛋白酶, 在根霉培养期间已同步分解饭中蛋白质为氨基酸, 为根霉和酵母的生长提供了氮源, 促进了根霉与酵母更健壮地生长, 因而提高了酒曲的糖化发酵能力, 亦提高了出酒率。
- 6.2 由于黄酒生产中酿缸(淋饭酒母)的培养温度一般为 28~32℃(落缸), 以后靠微生物生长逐步升温达 38℃左右。pH 值落缸时为 6~6.5。随着微生物的培养, pH 值直线下跌至 3~4, 因此这样的环境条件较适合酒用酸性蛋白酶发挥作用。
- 6.3 绍兴白药是自然留种培养的酒药, 含有根霉、毛霉、细菌等多种微生物, 因此它的酶系较复杂、丰富, 又是生米粉培养, 我们认为它本身就含一定量的酸性蛋白酶, 故而添加酸性蛋白酶是不会起作用的。
- 6.4 酿酒小曲所用菌种是九友生化有限公司从上海崇明八二曲中分离培养而来, 而“八二曲”固体面中有一株根霉能分解米蛋白生成氨基酸<sup>[2]</sup>, 而且该曲用淀粉浓度高的谷粉培养, 同样理由, 我们认为该曲本身含蛋白酶较多, 因此外界添加酸性蛋白酶, 亦无多大作用。
- 6.5 推论, 酒用酸性蛋白酶在黄酒生产中可用于粳米或籼米淋饭酒母培养, 特别添加在川黔型根霉如 Q303、GY5-5、C-24 等菌种培养的麸皮酒曲上, 有较明显的作用。

7 结束语

由于受到设备条件的限制, 无条件做更完善的试验, 例如酒醅中的氨基酸含量测试等, 也未能进行大生产试验。

参考文献:

[1] 周恒刚. 酸性蛋白酶在酿酒上的功用[J]. 酿酒科技, 1998, (6): 15.  
[2] 顾复昌, 等. 米酒发酵新工艺[J]. 工业微生物, 1989, (5): 38.

浓香型酒传统工艺要点七十二字

滴窖减水, 加醅减糠。

柔熟不腻, 脆松不燥。

人工老窖, 双轮底糟。

稳准配料, 细致操作。

量质摘酒, 熟糠配料。

开窖鉴定, 记录认真。

量准温度, 低温入窖。

回酒发酵, 分层堆糟。

强化卫生, 管理科学。

(肖世政)