

衡水老白干酒醅发酵主要酶活与微生物变化

张煜行^{1,2}, 黄建华¹, 王明远², 杜惠丽², 赵长新¹

(1.大连轻工业学院 生物与食品工程学院, 辽宁 大连 116034;

2.河北衡水老白干酿酒集团, 河北 衡水 053000)

摘要: 以 4 月份入池酒醅为例, 监测衡水老白干酒老五甑工艺发酵过程中主要酶系、微生物的动态变化。初步弄清了老白干香型白酒酒醅发酵过程中主要微生物和酶活力的变化趋势。这将为发酵过程的人工模拟及老白干香型白酒资源库的建立提供可靠的理论依据。

关键词: 微生物; 老白干香型; 发酵; 酒醅; 酶

中图分类号: Q93- 3; TS262.3; TS261.1 文献标识码: A 文章编号: 1001- 9286(2007) 03- 0032- 03

Changes of Enzyme and Biology in the Fermented Grains for Hengshui Laobaigan- flavor Liquor

ZHANG Yu-hang^{1,2}, HUANG Jian-hua¹, WANG Ming-yuan², DU Hui-li² and ZHAO Chang-xin¹

(1.College of Bio. & Food Tech., Dalian Institute of Light Industry, Dalian, Liaoning 116034;

2. Hengshui Laobaigan Liquor-making Group, Hengshui Hebei 053000, China)

Abstract: The changes of enzyme and microbe in the fermented grains were detected continually and analysed dynamically during multiple feeding solid fermentation technology of Laobaigan Liquor in April. The change trend of enzyme and microbe in the fermented grains during the fermentation was made clear. It could offer the artificial simulation of the microbial ecosystems in the fermentation pits and construct the resource database of the Laobaigan-flavor Liquor.

Key words: microbe; Laobaigan-flavour; fermentation; fermented grains; enzyme

衡水老白干酒的生产历经了 2000 多年的发展积累, 已经形成了自己独特而完善的生产工艺。其主要特点有: 纯小麦中温大曲; 采用续茬混蒸混烧老五甑工艺; 地缸发酵。现已成为中国名优白酒之一, 是老白干香型白酒的代表^[1]。

白酒发酵是化学物质、生化代谢、微生物之间的协调作用的过程, 发酵酒醅在窖池环境中充当着物质循环、能量流动和信息传递的载体^[2]。白酒固态发酵过程中的生物学系统是由多种微生物和多酶体系组成, 但由于检测困难, 目前对白酒发酵生物学特征深入研究较少^[3]。本文结合现代生物学技术, 通过测定老白干酒发酵过程中酸度、主要酶系的活性、微生物数量变化, 来揭示老白干酒发酵过程中的生物学特性及其作用机制, 试图通过改变生产工艺条件, 提高酶活力和协同作用效率、微生物的活力, 提高出酒率及品质。

1 实验

1.1 实验仪器

收稿日期: 2006- 12- 31

作者简介: 张煜行(1967-), 男, 河北人, 工程硕士在读, 主要从事固态发酵方面的研究。

通讯作者: 赵长新, E-mail: zhaolangxin@126.com。

分析天平(上海海康电子仪器厂)、电子天平(上海海康电子仪器厂)、pH- 29A 型酸度计(上海雷磁仪器厂)、721 分光光度计(上海精密仪器科学公司)、SHZ- A 水浴恒温振荡器(上海精密仪器仪表有限公司)、显微镜(重庆仪器厂)、恒温培养箱(哈尔滨市东明医疗仪器厂)、蒸馏装置。

1.2 样品来源及采样方法

样品来自衡水老白干酒厂, 每次取样时分别是发酵缸的上、中、下 3 层, 每层取 3 个点并将其混匀作为一个样品, 进行平行实验。发酵过程按入池 0 d、2 d、4 d、6 d、8 d、11 d、14 d、17 d、20 d、25 d 和 28 d 分别采样。

1.3 检测方法

pH 值: 酒醅压制成汁, 用酸度计测量;

酸度: 酸碱滴定法^[4];

糖化酶酶活: 硫代硫酸钠滴定法^[4];

酸性蛋白酶酶活: 福林- 酚法^[4];

酵母菌对数值: 活菌计数法^[5];

细菌对数值: 活菌计数法^[5];

霉菌对数值: 活菌计数法^[9]。

2 结果与讨论

2.1 酸度变化 图 1 和图 2

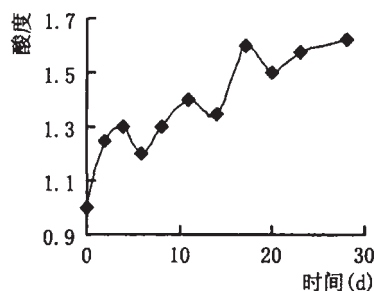


图 1 酒醅发酵过程中酸度随时间的变化趋势

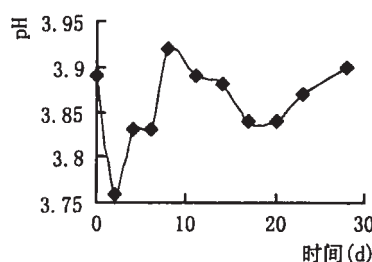


图 2 酒醅发酵过程中 pH 随时间的变化趋势

发酵过程中的酒醅是作为一个缓冲体系存在, pH 值的变化是微生物在特定环境下代谢活动的综合指标。测定酒醅发酵过程中 pH 值和总酸, 能够快速监测微生物的消长和酒醅中的酶活力的变化, 对指导白酒生产具有积极意义。如图 2 所示, 入池酒醅 pH 3.89, 发酵前期 pH 变化曲线呈波浪式上升, 发酵 10 d 以后趋于平稳, 出池时 pH 3.9。这是因为酒醅发酵的前期发酵微生物处于微氧状态, 快速繁殖, 导致 pH 快速下降, 酸度增加。在中后期因为微生物代谢趋缓和数量递减, 酒醅发酵过程中 pH 和酸度曲线的整体变化趋势平稳。出现 pH 曲线变化趋势与酸度变化曲线趋势不相同, 这是由于酒醅中缓冲物质积累所导致。

2.2 主要酶活力的变化

2.2.1 糖化酶活力变化(图 3)

在发酵过程中, 糖化酶主要来自于曲霉分泌, 老白干酒发酵中的糖化酶是耐酸型。如图 3 所示, 糖化酶活力在酒醅发酵过程中呈下降趋势, 在 2 d 和 8 d 出现 2 个峰值, 分别是 19.32 u/g 和 10.92 u/g。这是因为入池后大曲中的糖化酶分解淀粉, 而发酵开始时, 酵母数量较少, 还原糖被积累, 酒醅糖浓度增加对糖化酶活力产生抑制作用, 5 d 后糖化酶活力降至最低点; 随着酵母菌数量的不断增加, 对糖的利用也逐渐提高, 酒醅中的糖浓度降低, 对糖化酶的抑制减弱。此时, 糖化酶活力升高, 对淀粉的分解能力加强, 糖化酶活力在发酵过程中呈现振荡状态, 随微生物代谢的减弱而降低。

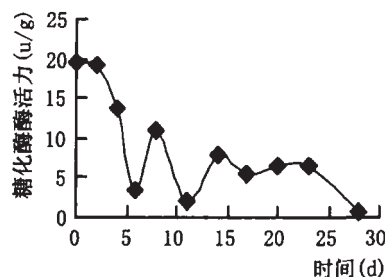


图 3 酒醅发酵过程中糖化酶活力随时间的变化趋势

2.2.2 酸性蛋白酶活力变化(图 4)

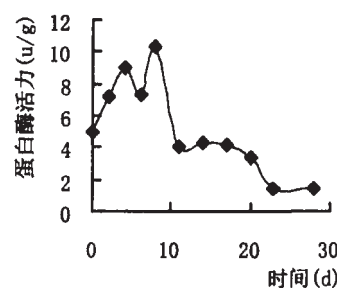


图 4 酒醅发酵过程中蛋白酶活力随时间的变化趋势

酸性蛋白酶水解蛋白质和多肽, 产生的氨基酸是微生物生长的营养成分, 也是产生高级醇、有机酸的前体物质。如图 4 所示, 发酵前 10 d 中酸性蛋白酶活力呈波动升高, 酒醅中酸性蛋白酶活力高峰出现在第 8 天, 为 10.27 u/g, 随后逐渐降低; 在 10 ~ 20 d 酸性蛋白酶酶活变化平稳。在发酵前期, 因为氧气充足, 温度适宜, 使酒醅中微生物迅速生长, 分泌大量的酸性蛋白酶; 在发酵中后期, 酒醅中的微生物处于厌氧状态, 造成了后期微生物产酶能力下降, 导致酒醅中酸性蛋白酶活力降低。

2.2.3 纤维素酶活力变化(图 5)

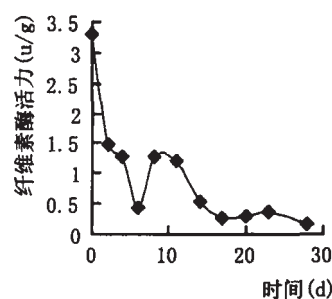


图 5 酒醅发酵过程中蛋白酶活力随时间的变化趋势

纤维素酶能使纤维素分解成为纤维二糖和葡萄糖。如图 5 所示, 酒醅入池时纤维素酶活力最高, 然后迅速下降, 在 6 d 时酶活力降至最低点, 为 0.45 u/g, 之后酶活力迅速上升; 在第 8 天时出现峰值, 为 1.27 u/g。之后逐渐下降, 在第 17 天降为 0.27 u/g。在 17 ~ 28 d 酶活力变化趋于稳定。在发酵的前 6 d, 酒醅中产纤维素酶微生物繁殖缓慢, 造成了酶活力下降; 入池酒醅含有大量氧气, 这也抑制了产酶微生物的活力。随着纤维素酶活力

降至最低, 氧气消耗殆尽, 还原糖含量也在不断降低, 这一切有利于微生物分泌大量纤维素酶, 提高了纤维素酶活力。

2.3 微生物生长的变化

2.3.1 酵母细胞数变化(图 6)

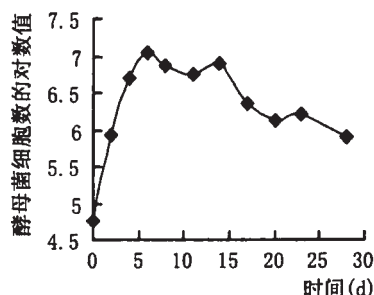


图 6 酒醅发酵过程中酵母菌对数曲线

发酵过程中酵母菌的动态变化如图 6 所示。在 0~6 d 酵母菌数量急剧增加, 酵母细胞数目的对数最高可达 7.04(1.1×10^7 个/g), 由于淀粉质原料的糖化作用, 还原糖含量达到最大值。品温度 4 d 达到最高点 22℃, 说明在 4 d 后, 就基本上完成了酵母菌从菌体增殖向酒精发酵方向的角色转换, 在 4~14 d 是酒精发酵的最旺盛期间, 14 d 后酒精发酵趋于减弱。在发酵后期酵母菌基本上一直处于厌氧和酸性的环境, 一些有机酸代谢产物的积累不利于酵母菌的大量增殖。

2.3.2 细菌细胞数变化(图 7)

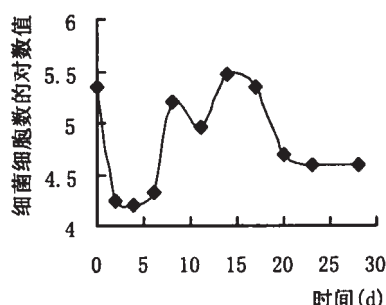


图 7 酒醅发酵过程中细菌对数曲线

发酵过程中细菌的动态变化如图 7 所示。在 0~4 d, 细菌的含量迅速降低, 最低时的细胞数的对数值可达 4.21(1.62×10^4 个/g), 之后又逐渐升高, 14 d 细菌数达到最大对数值 5.45(3×10^5 个/g), 14 d 后, 细菌数不断下降。产生这种现象的原因是酒醅发酵细菌分为兼性厌氧细菌和兼性好氧菌, 在发酵前期, 酒醅中氧气不断减少, 使兼性好氧菌数量下降; 因氧气消耗殆尽, 使兼性厌氧细菌迅速繁殖, 产生了波动上升的曲线。在发酵后期, 主要的细菌是能产生乳酸的乳酸菌。

2.3.3 霉菌细胞数变化(图 8)

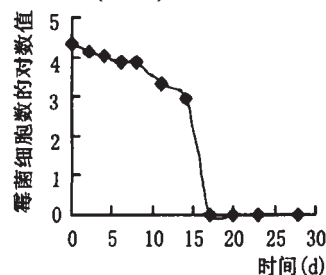


图 8 酒醅发酵过程中霉菌对数曲线

发酵过程中霉菌的动态变化情况如图 8 所示。在 0~4 d, 霉菌含量稳中有降, 维持在一个较高的范围对数 4.34~4.03 ($2.17 \times 10^4 \sim 1.08 \times 10^4$ 个/g), 4~11 d 是个相对平稳的过程, 在 11 d 以后, 霉菌迅速减少, 到 17 d 后, 霉菌数几乎为零。原因是霉菌主要是来源于曲, 且好氧, 因而在发酵前期霉菌的数量较多, 并主要参与完成淀粉质原料的糖化过程。发酵后期, 由于氧气的缺失严重, 霉菌数量急剧减少, 在发酵后期基本消失。

3 结论

通过对发酵过程中酶活力变化进行的动态检测和分析, 4 月份入池酒醅在发酵过程中酶活力变化存在一定的变化趋势。

3.1 酒醅的酶活变化: 糖化酶在前 2 d 迅速增加, 之后开始下降, 在 8 d 有小幅回升, 然后变化趋于平稳。酸性蛋白酶在在发酵前 8 d 呈波动上升, 然后迅速回落。

3.2 酒醅中微生物变化: 酵母数量在发酵前期不断增加, 在发酵 6 d 数量为最大, 然后进入一个相对平稳阶段, 14 d 后酵母数量开始减少。细菌数在前 2 d 迅速减少, 4~14 d 时开始波动增加, 之后开始不断减少, 出池时为 5000 个/g。霉菌总数在 0~14 d 不断减少, 17 d 之后已经无法检测到霉菌数。

对于衡水老白干酒发酵过程中酶系和微生物的分析, 有助于对老白干酒的生产工艺调节控制。

参考文献:

- [1] 衡水地区制酒厂. 衡水老白干[M]. 北京: 中国食品出版社, 1988: 2-7.
- [2] 张文学, 乔宗伟, 向文良, 等. 中国浓香型白酒窖池微生态研究进展[J]. 酿酒, 2004, (2): 34-38.
- [3] 徐岩. 现代生物技术发展思考传统白酒酿造技术的研究[J]. 酿酒, 2004, (3): 15-16.
- [4] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 598-608.
- [5] 杨文博. 微生物学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 37-41.

《酿酒科技》全国中文核心期刊