

复合酯化酶在固态法白酒发酵过程中对微量成分影响的研究

吴生文,陈 飞,张志刚

(四特酒有限责任公司,江西 樟树 331200)

摘 要: 研究了复合酯化酶在固态法白酒发酵过程中对基酒中醛、有机酸、酯、醇等呈香呈味物质的影响。结果表明,总酸、乙酸、己酸含量有提高,乳酸、丙酸则呈现出逐步降低的趋势,杂醇类物质下降明显;复合酯化酶在固态法白酒酿造过程对乙酸乙酯的影响不明显,己酸乙酯随复合酯化酶用量的增加而增加显著,当复合酯化酶的用量为 2.5 % 时,己酸乙酯浓度达到对照组的 26.9 倍。

关键词: 复合酯化酶; 固态法白酒; 微量成分

中图分类号: TS262.3; Q814; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2011)09-0017-03

Investigation on the Effects of Composite Esterifying Enzyme on the Trace Components in Liquor by Solid Fermentation

WU Shengwen, CHEN Fei and ZHANG Zhigang

(Site Liquor Co.Ltd., Zhangshu, Jiangxi 331200, China)

Abstract: The effects of composite esterifying enzyme on the trace components in base liquor including aldehydes, organic acids, esters and alcohols etc. in the process of solid fermentation were investigated. The results were as follows: the content of total acid and acetic acid and caproic acid increased, the content of lactic acid and propionic acid decreased gradually, the content of fusel oil decreased evidently, the change of ethyl acetate content was not obvious, the content of ethyl caproate increased with the increase of the use level of composite esterifying enzyme (as the use level of composite esterifying enzyme was 2.5 %, ethyl caproate content increased by 26.9 times compared with that in the control group).

Key words: composite esterifying enzyme; liquor by solid fermentation; trace components

酯化酶不是酶学上的术语,白酒生产中是指脂肪酶、酯合成酶、磷酸酯酶的统称,其主要作用是催化有机酸与乙醇经生物化学作用生成相应的乙酯。复合酯化酶是生物酶和活菌体的生态混合体,其在白酒酿造中的主要作用有:强化有机酸酯化酶活性,可将酒醅中大部分有机酸迅速酯化为相应的乙酯;含有耐酸性产己酸的梭状芽孢杆菌,可利用酒醅中乙酸和乙醇合成己酸;具有大量糖化微生物,耐酸性强,水解淀粉速率平稳,活力持久,酒醅残糖低;发酵能力强;含有高产酸性蛋白酶的微生物,增强了大曲蛋白酶活力,使原料中的蛋白水解彻底,丰富了发酵微生物的营养,增加了白酒香味成分的前体物质,使酒体丰满,酒味谐调。

将复合酯化酶用于提高白酒酒质的报道主要集中在对白酒整体品质提高的研究上,而对于复合酯化酶对固

态法白酒发酵过程中微量成分的探讨鲜有报道,因此,本文以大曲配合复合酯化酶作为糖化发酵剂,通过单因素实验,系统地分析研究复合酯化酶对固态法白酒发酵中酸、酯、醛、醇等微量成分产生的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

复合酯化酶: 济南久益生物工程有限公司;大曲: 四特酒有限责任公司。

小型甑桶: 四特酒有限责任公司;气相色谱仪: Agilent HP-6820, 安捷伦科技有限公司;液相色谱仪: Agilent 1200HLC, 安捷伦科技有限公司;陶坛(25 L): 市场上购买。

1.2 方法

基金项目 江西省科技支撑计划项目(项目编号 2009BGA02800) 分支项目。

收稿日期: 2011-03-17

作者简介 吴生文(1965-),男,山西人,硕士,副总经理,主要从事健康食品及酒类产品的生产技术研究、新产品开发。

优先数字出版时间 2011-04-22,地址 <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20110422.1053.002.html?uid=>。

1.2.1 实验方法

在晾床上取摊晾后准备下曲的原料糟醅 100 kg, 均匀地分成 5 份, 每份准备曲粉 1.5 kg。将称好的复合酯化酶同备好的曲粉一起与酒醅混合均匀, 最终使酒糟中复合酯化酶的用量分别达到投粮量的 0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%, 装坛, 密封, 置于保温室内发酵。27 d 后, 从陶坛中取出酒醅样品, 用 30 L 小甬桶分别对发酵酒醅进行蒸馏, 蒸馏基酒送色谱室进行色谱分析。

1.2.2 酒样乳酸的测定

采用美国 Agilent 1200HLC 型液相色谱仪测定。

1.2.2.1 样品液的制备

白酒样品经 0.45 μm 有机滤膜过滤后, 直接进样。

1.2.2.2 液相色谱分析条件

色谱柱: ZORBOX SB-C₁₈ (4.6×250 mm); 流动相: 甲醇: 磷酸二氢钾为 4:60。

分析参数: 检测波长 210 nm, 流速 0.8 mL/min, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 5 μL 。

1.2.3 酒样微量成分的测定

采用美国 Agilent HP-6820 型气相色谱仪测定。

1.2.3.1 样品液的制备

准确移取 10 mL 酒样于 10 mL 容量瓶中, 加入 2% 的三内标(叔戊醇、醋酸正戊酯、二乙基正丁酸)混合液 0.1 mL, 摇匀。

1.2.3.2 进样

用 10 μL 微量进样器吸取已配制好的样品液, 进样 1 μL 。

1.2.3.3 色谱分析条件

色谱柱: CP-Wax 石英毛细管柱 (50 m×0.25 mm×0.2 μm)

分析参数: 进样口温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 1 min 后, 按照 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 80 $^{\circ}\text{C}$, 再按照 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 100 $^{\circ}\text{C}$, 继而 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 200 $^{\circ}\text{C}$ 后, 保持 24 min。

2 结果与分析

将色谱分析结果换算为标准酒度 60 %vol 时各微量成分的含量。考察复合酯化酶对基酒微量成分的影响。

2.1 复合酯化酶对基酒中醛类物质生成的影响

分析酒体中的醛类物质, 结果见表 1。

微量成分	复合酯化酶用量 (%)					
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
乙 醛	3.63	3.41	4.30	4.29	3.41	3.03
乙缩醛	1.27	-	1.15	2.07	-	3.83
异戊醛	1.15	1.65	1.16	0.87	1.41	1.46
糠 醛	1.16	1.51	1.12	0.87	2.38	1.71

从表 1 可看出, 基酒中醛类物质的生成随复合酯化

酶的变化, 有增有减, 并没有明显的规律性, 白酒发酵中醛类的合成途径主要有醇的氧化、酮酸脱羧、氨基酸脱氨、脱羧等, 与复合酯化酶并没有直接性的联系。

2.2 复合酯化酶对基酒中酸类物质生成的影响

对基酒中的酸类物质进行分析, 其结果见表 2。

表 2 复合酯化酶用量对酸类物质的影响

微量成分 (g/L)	酶用量 (%)						相对变化量 (%)
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	
总 酸	0.351	0.348	0.368	0.368	0.397	0.487	38.6
乙 酸	0.241	0.208	0.213	0.213	0.243	0.284	17.9
丙 酸	0.074	0.069	0.069	0.063	0.063	0.061	-17.4
己 酸	0.087	0.058	0.067	0.098	0.106	0.142	62.8
乳 酸	0.076	0.086	0.077	0.073	0.066	0.057	-25.9
异丁酸	0.038	0.035	0.037	0.041	0.051	0.037	-2.6

从表 2 可看出, 复合酯化酶的加入能逐步提高基酒中的总酸、乙酸、己酸的量, 与没有添加复合酯化酶的对照组相比, 当复合酯化酶的添加量为 2.5 % 时, 总酸提高了 38.6 %, 乙酸提高了 17.9 %, 己酸的提高最明显, 达到 62.8 %; 乳酸、丙酸则呈现出逐步降低的趋势, 当复合酯化酶的添加量为 2.5 % 时, 乳酸降低了 25.9 %, 丙酸降低了 17.4 %。复合酯化酶中含有较多的己酸菌、米曲霉、根霉, 这些微生物的存在极大地丰富了糟醅中的有机酸及己酸, 同时, 由于己酸菌能够利用乳酸合成己酸, 因此使糟醅中的乳酸浓度大幅下降, 己酸浓度大幅上升。由于乳酸的量被己酸菌大量利用, 丙酸菌能利用的乳酸相对减少, 产丙酸的量也逐步减少。复合酯化酶的添加对异丁酸的产量几乎没有影响。

2.3 复合酯化酶对基酒中杂醇类物质生成的影响

在白酒发酵过程中, 杂醇类物质的生成途径主要有两条: 一是酵母以糖为基质的合成代谢路径, 常发生在发酵材料中氨基酸氮过低时, 酵母不得通过糖代谢, 走酮酸路径去合成必需的氨基酸, 进而合成自身细胞蛋白, 其中间体酮酸在酶的作用下脱羧、还原, 生成杂醇; 二是酵母以氨基酸为基质的降解代谢路径, 常发生在发酵物料中氨基氮充足时, 过多的氨基酸在酵母酶系的作用下, 脱氨基、脱羧基生成比氨基酸少一个碳原子的杂醇^[1]。表 3 为复合酯化酶用量对杂醇油的影响结果。

表 3 复合酯化酶用量对杂醇油的影响 (g/L)

微量成分	酶用量 (%)						相对变化量 (%)
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	
异戊醇	0.536	0.484	0.462	0.359	0.287	0.275	-48.6
正丙醇	0.198	0.197	0.199	0.170	0.165	0.154	-22.4
异丁醇	0.239	0.253	0.230	0.172	0.127	0.120	-49.8

从表 3 可看出, 在复合酯化酶的添加量为 0~1 % 时, 异戊醇、正丙醇、异丁醇含量缓慢下降, 在添加量为投粮的 1%~2% 时, 上述三者下降迅速, 异戊醇从

0.462 g/L 下降到 0.287 g/L, 正丙醇从 0.199 g/L 下降到 0.165 g/L, 异戊醇则从 0.462 g/L 下降到 0.287 g/L, 此后再增加酯化酶的用量, 杂醇类物质产量只有少量的减少, 当添加量为 2.5 % 时, 相对于没有添加复合酯化酶的对照组相比, 异戊醇、正丙醇、异丁醇的量分别减少了 48.6 %、22.4 % 和 49.8 %, 总体下降明显。复合酯化酶中含有高产酸性蛋白酶的微生物, 增强了酒醅中的蛋白酶活性, 使糟醅中的氨基酸氮的量有所增加, 从而避免了酮酸在酶的作用下脱羧、还原, 生成杂醇。继续增加则会产生过多的氨基酸, 其在酵母酶系的作用下, 脱氨基、脱羧基生成比氨基酸少一个碳原子的杂醇, 从而使杂醇油的减少变缓。

2.4 复合酯化酶对基酒中酯类物质生成的影响

白酒在酿造发酵过程中, 有机酸与乙醇经生物化学作用而生成乙酯, 称为乙酯化。从微生物而论, 酵母菌、霉菌和细菌都有酯化能力, 人们对四大乙酯的认识、实验与应用主要集中在霉菌与酵母菌上^[2]。运用复合酯化酶来提高基酒中的各种酯类的含量在白酒生产中的应用越来越受到重视。图 1 为酯化酶对酯类物质生成的影响。

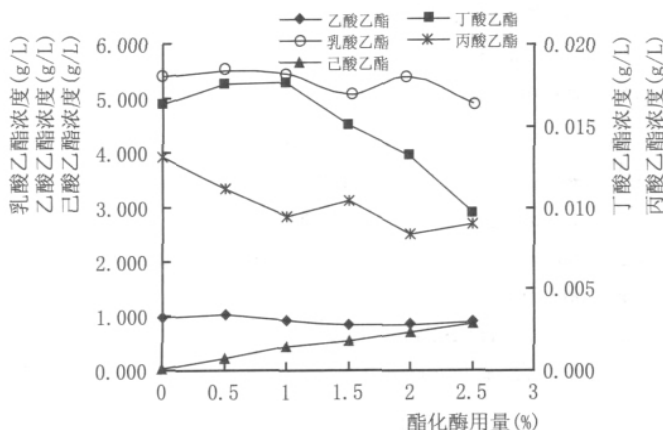


图 1 酯化酶对酯类物质生成的影响

从图 1 中可以看出, 复合酯化酶在固态法白酒发酵工艺下, 对乙酸乙酯的影响不明显, 乙酸乙酯主要是产酯酵母在生长初期, 有微量氧的情况下形成的, 与糟醅中乙酸菌、乙酸的量并没有很大的关系, 因此, 复合酯化酶的加入虽然能够提高糟醅中乙酸的含量, 但对于乙酸乙酯的形成并不会产生影响^[3]; 复合酯化酶的加入对乳酸乙酯的影响呈现出波动性变化, 变化幅度不显著; 丁酸乙酯的量随着复合酯化酶用量的增加呈现出先上升后下降的

趋势, 当复合酯化酶的添加量为 1 % 时, 丁酸乙酯的量达到 0.018 g/L, 比对照组提高了 8.44 %, 此后, 随复合酯化酶的增加而逐渐降低; 丙酸乙酯随复合酯化酶的增加而不断降低, 当复合酯化酶的添加量为 2 % 时, 相比于对照组降低了 47.3 %; 己酸乙酯随复合酯化酶的添加而增加显著, 当复合酯化酶的添加量为 2.5 % 时, 己酸乙酯浓度达到对照组的 26.9 倍, 表明复合酯化酶在固态法白酒发酵过程中能发挥很好的产己酯能力。产酸微生物的存在是生成酯类物质的基础, 复合酯化酶在强化了有机酸酯化酶活性的基础上, 提高了糟醅中产酸微生物的量, 这对于提高糟醅中酯类含量具有明显效果。

3 讨论

中国白酒中酯类的生成途径主要有两条: 一是通过有机化学反应生成酯, 常温下进行缓慢, 往往需要经过几年时间才能使酯化反应达到平衡; 二是由微生物的生化反应生成酯, 这是白酒生产中产酯的主要途径。从本研究结果中可以看出, 复合酯化酶的添加不但能够在一定程度上降低基酒中大部分杂醇类物质的含量, 也能丰富基酒中酯类物质的含量, 尤其是己酸乙酯含量提高显著, 比未添加复合酯化酶的对照组提高了 26.9 倍, 达到了 0.858 g/L, 这与复合酯化酶中含有的大量己酸菌与产酯微生物分不开。

白酒中 98 %~99 % 的成分是乙醇和水, 它们构成了白酒的主体, 其他 1 %~2 % 的成分主要由微量的有机酸、酯、杂醇、醛、酮、含硫化合物、含氮化合物以及极其微量的无机化合物(固形物)等组成, 它们的浓度及比例决定了白酒的香和味, 构成了白酒的典型性和风格。本研究系统地分析了复合酯化酶对固态法白酒发酵过程中各种微量成分的影响, 从微观方面对白酒发酵风味物质的形成进行了研究, 丰富了复合酯化酶用于固态法白酒的发酵理论。

参考文献:

- [1] 李长文, 梁慧珍, 马树奎. 固态白酒发酵中多因素对杂醇油生产影响的研究[J]. 酿酒, 2006, 33(6): 43-45.
- [2] 沈怡方. 白酒中四大乙酯在酿造发酵中形成的探讨[J]. 酿酒科技, 2003(5): 28-41.
- [3] 王瑞明, 王渤. 浓香型白酒生产中酯类生成规律初探[J]. 山东轻工业学院学报, 1994, 8(3): 57-61.

2011 年 1~6 月中国白酒产量累计增速近 28%

本刊讯 据《糖酒快讯-食品资讯》8 月 8 日报道, 今年上半年, 全国白酒产量近 480 万千升, 累计增速近 28 %。1~5 月, 全国白酒销售收入达到 1424.56 亿元人民币, 同比增长 36.4 %, 利润总额达到 217.05 亿元人民币, 同比增长 38.9 %, 毛利率达到 34.06 %, 对应净利率 14.85 %。

(小小荐)

来源 糖酒快讯-食品资讯 2011-08-08