

白云边酒入池发酵过程酒醅中的微生物分析

刘圆圆 张明春 张玉梅 毛晓东

(湖北白云边酒业股份有限公司,湖北 松滋 434200)

摘要: 以白云边酒厂第4轮次入池酒醅正常生产窖池为研究对象,研究酒醅在窖池内不同空间位置的微生物动态变化。结果表明,酒醅在窖池内发酵过程中的微生物主要是酵母菌、细菌、芽孢杆菌及少量霉菌。窖池内上、中、下层不同层面糟的微生物区系在数量上存在一定的差别,总的分布趋势是上层高于中、下层,原酒中微量成分的含量也是上层大于中、下层。

关键词: 白云边酒; 窖池; 酒醅; 微生物; 微量成分

中图分类号:TS262.3;TS261.4

文献标识码:B

文章编号:1001-9286(2011)06-0051-03

Investigation on Dynamic Change of Microbes in Fermented Grains of Baiyunbian Liquor in Pit Entry Fermentation Process

LIU Yuanyuan, ZHANG Mingchun, ZHANG Yumei and MAO Xiaodong

(Baiyunbian Liquor Industry Co.Ltd., Songzi, Hubei 434200, China)

Abstract: Pit entry fermented grains in normal production pits (the 4th production turn) in Baiyunbian Distillery was used as research object to investigate the dynamic change of microbes in fermented grains at different space in pits. The results indicated that microbes in the fermentation process mainly included microzyme, bacteria, bacillus and a small amount of mildew. There was certain difference in the quantity of microflora at different layer (upper layer, middle layer and bottom layer) in pits and the distribution trend was upper layer higher than middle layer and bottom layer. Besides, trace components content of brut liquor in upper layer was also higher than that in middle layer and bottom layer.

Key words: Baiyunbian liquor; pits; fermented grains; microbes; trace components

白云边酒是浓酱兼香型白酒的典型代表,既有酱香型白酒的幽雅细腻又有浓香型白酒的绵柔甘冽,酱浓协调,风格独特。白云边酒的发酵生产,与其独特的兼香型白酒生产工艺和一定地理环境条件下的特定微生物群落息息相关,也与窖内庞大的微生物区系紧密相连。窖池内发酵,前期是酒精发酵为主,中期以酯化生香为主,后期以美拉德反应为主。伴随着酒醅发酵的不断进行,窖池内微生物区系不断发生着动态消长变化,发酵酒醅中的各种微生物形态不断地产生和消失,最终形成白云边酒与众不同的香味成分和风味特征。同时,来自曲药、原料、生产环境以及高温堆积、高温发酵形成的微生物区系,在窖池内酒醅发酵过程中也在不断进行着消长和变化。

为了搞清楚白云边酒入池发酵过程中酒醅微生物区系的演变规律,为白云边酒醅发酵机理的深入探讨奠定良好的研究基础,弄清发酵过程中微生物变化趋势与原酒质量及微量成分组成之间的关系,更好地指导白云边酒的酿造生产,公司以高温堆积的酒醅为研究对象,跟踪研究其在窖池内发酵过程中不同空间位置的微生物变化

动态及与原酒质量的关系。

1 材料与方法

1.1 试验窖池

白云边酒厂酿一车间第4轮次入池酒醅,采用兼香型白酒生产工艺。

1.2 酒醅样品

使用日常所用的酒醅取样器正常取样,发酵过程分别按入池0 d、2 d、4 d、7 d、12 d、18 d、25 d和30 d(出窖)时间跟踪取样8次,每次按上层(10~50 cm)、中层(140~170 cm)、底层(240~270 cm)取样,同区域取3点样进行混合平均;8次取样共22个样品(入窖样只取1个混合样品)。

1.3 微生物分离培养及计数

采用稀释平板菌落分离计数法^[1-2],培养温度为37℃;细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,酵母菌和霉菌采用PDA培养基,放线菌采用高氏一号培养基。

1.4 主要实验仪器

收稿日期:2011-02-21

作者简介:刘圆圆,女,大学本科,助理工程师,技师,一直从事微生物研究及品尝工作。

DHP-9082 型电热恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;MJX-250 恒温恒湿培养箱,广东医疗器械厂;ZHJH-C1112B 垂直流超净工作台,上海智城分析仪器制造有限公司;YS100 尼康显微镜(1500倍);YXQ-SG41 手提式灭菌锅,上海医核;JWC 温度传感器,北京瑞利威尔科技发展有限公司。

2 结果与分析

2.1 温度测定

在酒醅入窖后,测定上、中、下层3个点的温度变化,采用温度传感器,精度为 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$,测定时间为每天7:00和17:30,同时测定窖内3个点和窖外的温度。

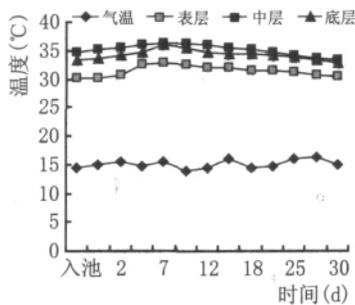


图1 温度变化情况

通过温度测定,在窖池内总的温度变化趋势是入窖后温度有所上升,2~8 d达到高峰,之后上、中、下层温度都呈缓慢下降趋势。表层温度变化幅度最大,窖底层温度变化幅度最小。

2.2 好氧细菌及芽孢杆菌数量变化

对窖内发酵过程的好氧细菌进行取样分析,其变化规律见图2;图3为好氧芽孢杆菌变化规律。

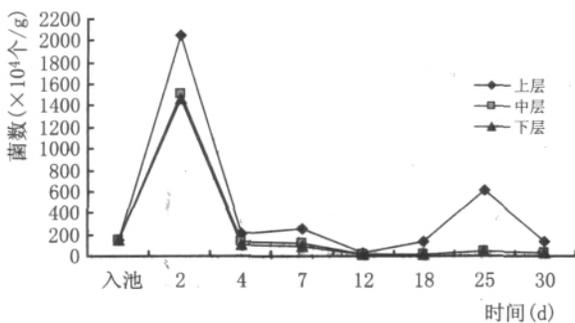


图2 好氧细菌变化规律

图2结果表明,总的变化趋势是各层的好氧细菌数量从入窖到发酵2 d,基本上都有一个迅速增加的过程,随后又逐渐减少,到发酵12 d时,降低到低谷,此后又略有回升。从不同层位看,上层酒醅的好氧细菌数量明显高于中下层,呈现以上趋势的原因,估计是由于刚入窖时酒醅中氧气和营养成分都比较充足,适于好氧细菌的繁殖,而后由于酒醅中氧气的消耗, CO_2 的积累,pH值的降低,好氧细菌的繁殖受到一定的抑制,上层酒醅中

氧气含量高于中下层,因而好氧细菌的数量也明显高于中下层。

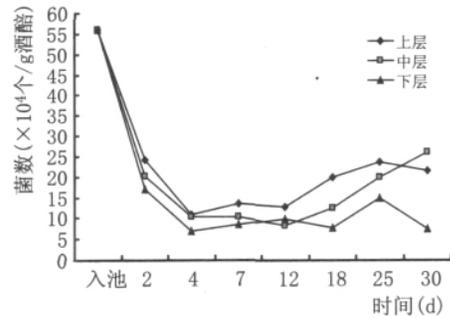


图3 好氧芽孢杆菌变化规律

图3结果表明,好氧芽孢杆菌的总体变化趋势与好氧细菌数量略有差异,主要变化在各层入窖后,其好氧芽孢杆菌有下降趋势,基本维持在 10^4 个/g酒醅~ 10^5 个/g酒醅,各层数量差异不大,仅上层略高于中下层。

2.3 兼性厌氧细菌及芽孢杆菌的数量变化动态

图4为窖内发酵过程兼性厌氧细菌的变化趋势;图5为兼性厌氧芽孢杆菌的变化趋势。

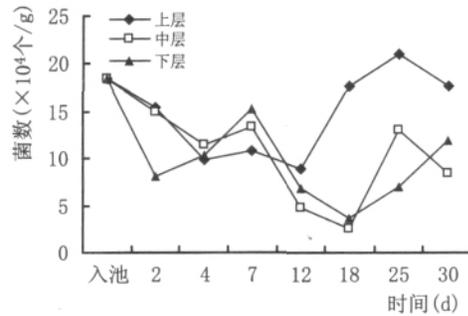


图4 兼性厌氧细菌变化趋势

图4表明,发酵过程中,上、中、下层酒醅中的兼性厌氧细菌总趋势是各层数量基本维持在 10^4 个/g酒醅~ 10^5 个/g酒醅的数量级,入窖后数量略有下降,上层酒醅在12 d、中下层酒醅在18 d呈现低谷,此后又略有上升。

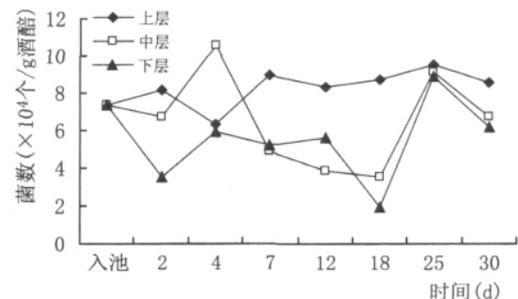


图5 芽孢杆菌变化趋势

图5表明,芽孢杆菌的变化趋势与兼性厌氧细菌的变化趋势基本一致,上层酒醅在4 d、中下层酒醅在18 d出现低谷,此后又略有回升,整个发酵过程基本维持在 10^4 个/g酒醅的数量级,且上层糟醅的数量略大于中、下层。

2.4 酵母菌类的数量变化

发酵过程中上、中、下层酒醅中的酵母菌的动态变化结果见图 6。

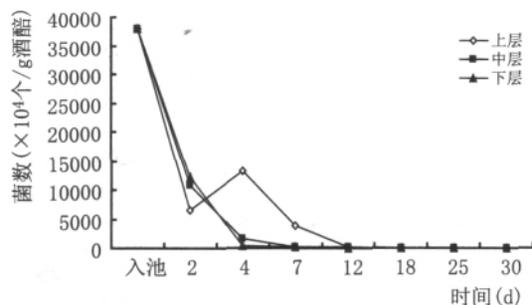


图 6 酵母菌变化趋势

图 6 表明,入窖后各层酒醅中的酵母菌数量均呈下降趋势,7 d 后下降幅度虽然有明显降低,但是直到出窖时都一直保持缓慢下降趋势。发酵前期,窖池内的营养物质较丰富,酵母菌的数量较多,随着发酵的进行,营养物质逐渐消耗,可利用的营养物质越来越少,酵母菌的数量也逐渐减少。各层酵母菌数量从入窖时的 10^8 个/g 酒醅下降到出窖时的 10^4 个/g 酒醅,除下层在 2 d 时的数量高于中上层外,整个发酵过程中,上层的酵母菌数量均高于中下层,这表明,白云边入池发酵酒醅发酵产酒所需的酵母菌类主要来源于高温堆积过程。

2.5 霉菌的数量变化

对发酵过程中各个空间位置的霉菌的动态变化进行分析,结果见图 7。

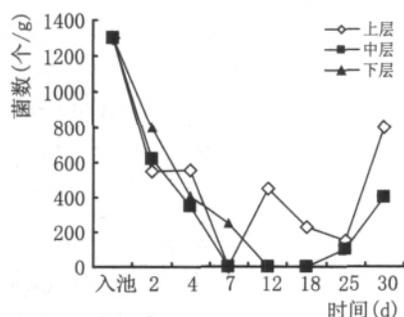


图 7 霉菌的数量变化趋势

从图 7 看出,霉菌在酒醅入池发酵过程中的数量相对较少。发酵前期,霉菌含量呈下降趋势,数量在 $10^2 \sim 10^3$ 个/g 酒醅,到发酵中后期出现回升,并逐渐趋于稳定,特别是上层霉菌的变化表现得比较明显,数量稳定在 10^2 个/g 酒醅。由于霉菌主要来源于曲药和酒醅在堆积过程中堆表层所生长的部分霉菌类,且好氧,因而在发酵前期,霉菌数量较多,并主要参与完成淀粉质原料的糖化过程。中后期因厌氧化程度增加,导致霉菌数量减少。

2.6 上、中、下层酒醅蒸馏所产原酒的色谱分析结果

对上、中、下层发酵酒醅蒸馏得的酒各取 4 个样,对

各酒样的主要微量成分进行色谱分析,结果见图 8(含量为平均值)。

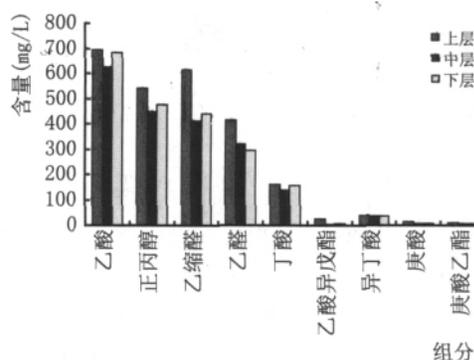


图 8 上、中、下层发酵酒醅蒸馏得酒样主成分分析结果

从图 8 可以看出,上层酒醅蒸馏所得原酒中微量成分含量多于中、下层,这与酒醅中微生物的含量变化一致。通过品尝分析,上层酒样香味较浓厚,优于中下层。

3 结论与讨论

3.1 在本研究中,酒醅经过高温堆积后,富集了大量的微生物,入池后可利用的营养物质较为丰富而且充足,微生物代谢活动较快,温度会迅速上升,2~8 d 达到高峰,以后呈缓慢下降趋势。中层温度最高,底层次之,表层最低,且底层的变化幅度最小。

3.2 酒醅上、中、下层不同层面的各类微生物区系在数量上存在一定差异,好氧细菌、芽孢杆菌、酵母菌、霉菌等总的分布趋势是上层高于中下层。这与酱香型白酒的研究结果类似^[3]。

3.3 各层酒醅蒸酒后,对原酒进行色谱分析:白云边酒中主要微量成分含量是上层含量高于中、下层,这与酒醅中微生物的数量一致。发酵过程中各层酒醅中酒精含量的变化趋势测定结果及大生产上甑蒸馏试验结果亦是上层酒醅的酒精含量高于中下层,这与酒醅中微生物的数量趋势一致。

3.4 白云边酿造 1~7 轮下高温曲,需要高温堆积后入池;第 8 轮开始下中温曲,直接入池。白云边酒生产窖池的设计充分考虑了酱浓结合的特点,将窖壁下部三分之一用黄泥垒成,上部三分之二用砖砌成,窖池底用优质窖泥铺满。酒醅堆积达到相关工艺指标后,高温入池,迅速入池,保持酒醅的温度,以提高窖内发酵温度,有益于嗜热微生物的生长繁殖,使产香物质进一步得到加强。

3.5 白云边酒醅入池后,并不马上封池,而是等酒醅自然沉降 24 h,再用窖泥封窖,这样做等于将窖池上部的醅料进行再次的堆积发酵,继续生香。由于酒醅入池时是采用行车抛放,窖池酒醅疏松,因此入池时将行车入池改为用铁锹,在池内发酵过程中,酒醅不会继续沉降,这样就

(下转第 55 页)

定了窖泥质量优劣的理化、微生物和感官标准。通过各种生物科技手段,模拟老窖泥发酵环境,尽量缩短窖泥成熟时间。此阶段为窖泥培养的理性阶段。如四川省有关研究单位与企业合作,曾于20世纪60年代末期就做了很多试验,利用优质黄泥(有粘性、含沙少),窖皮泥、大曲粉、黄水、酒尾等材料,通过调整不同材料的配比,进行多种配方的人工窖泥培养,以期实现人工培养窖泥的根本目的——如何有效提高窖泥中的有效成分含量,为窖泥微生物提供丰富的营养物质,提高窖泥的生物活性。具体试验如下^[1]:

①老窖皮泥 1600 kg、优质头曲窖泥 1600 kg、黄水 225 kg、大曲粉 50 kg、尿素 6 kg、过磷酸钙 30 kg、酒尾 15 kg,密封发酵 15 d;

②二曲窖泥 1265 kg、窖皮泥 1922.5 kg、二曲窖红糟 160 kg、黄水 150 kg、过磷酸钙 36 kg、尿素 7 kg、曲粉 50 kg,密封发酵 30 d;

③窖皮泥 1600 kg、二曲窖泥 800 kg、优质泥 1600 kg、黄水 150 kg、尿素 10 kg、过磷酸钙 54 kg、曲粉 50 kg,堆积发酵 15 d;

④优质泥 2240 kg、窖皮泥 960 kg、尿素 12.5 kg、磷酸铵 60 kg、黄水 200 kg、大曲粉 50 kg、丁酸菌液 22 L、己酸菌液 6 L,堆积保温发酵 15 d 左右;

⑤二曲三曲窖泥 3200 kg、尿素 12 kg、过磷酸钙 82 kg、酒尾 12 kg、黄水 150 kg、曲粉 50 kg、青肥腐殖质 15 kg、丁酸菌液 40 L、己酸菌液 11 L、碳酸钠溶液 3 L,保温发酵 15 d 左右。

2 窖泥养护三阶段

2.1 用黄水、酒尾的不正确养护

早期人们由于缺乏对窖泥的认识,认为窖泥老化现象为板结、缺水,于是就有认为黄水、酒尾都是正常发酵的结果,用黄水、酒尾对窖泥养护就能改善其质量。但是由于黄水、酒尾本身酸度较高,且其中发酵阻碍物也多,而窖泥老化的一个重要原因就是长期发酵带来的酸度偏高,所以此方法效果不好,而且更易使窖泥老化速度加快。

2.2 利用营养液进行窖泥养护

随着对窖泥老化的研究,人们发现老化窖泥中水分

严重缺失,营养跟不上,且有营养失调现象。于是人们开始制作营养液来进行窖泥养护;而且发现,经常使用营养液,不但可以改善窖泥质量,而且可延缓窖泥老化时间。

2.3 利用营养液、微生物复合养护法

随着对窖泥和老化窖泥研究的不断深入,对老化窖泥和正常优质窖泥进行物化、理化和微生物检测对比后发现,老化窖泥中不仅一些营养成分不足,甚至失调,水分缺失较多,而且窖泥有益微生物含量明显降低。于是在制作营养液的同时亦培养窖泥有益微生物共同对窖泥进行养护。

2.3.1 窖泥养护液制作

乙酸钠 0.5%、酵母膏 0.05%、硫酸铵 0.05%、磷酸氢二钾 0.04%、硫酸镁 0.01%、碳酸钙 0.05%、乙醇 2%。将以上物料配制成水溶液(碳酸钙单独灭菌并与乙醇在上述水溶液灭菌冷却后加入),灭菌冷却后,按10%的比例接种己酸菌液,35±2℃培养7d左右(根据窖泥营养物质缺失情况,本着“少什么,补什么”的原则,适当调整上述配比)。

2.3.2 窖泥养护

首先将池壁及池底糟醅清扫干净后,用五角叉在池壁、池底扎眼(越往上扎眼,密度越大,深度越深);用85℃以上的热水沿四壁均匀泼洒,再均匀撒上一层偏高温大曲面后,将己酸菌窖泥养护液均匀沿四壁下淋,最后将扎眼抹平即可。

3 小结

3.1 因为窖泥对浓香型白酒质量与风格起着十分重要的作用,所以如何改善和提高窖泥质量则是广大白酒厂必须想尽方法解决的问题,这就需要在窖泥培养和养护窖泥方面下功夫。

3.2 不同的酒厂其窖泥质量不一样,其老化原因也不尽相同,即使是同一酒厂的不同班组、车间也不一样。这就需要在弄清楚现状的基础上,即窖泥老化原因,窖泥中缺什么,有针对性地进行窖泥培养和窖泥养护,才能达到最终目的。

参考文献:

- [1] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,1998:311-312.

参考文献:

- [1] 沈萍.微生物学[M].北京:高等教育出版社,2000.
[2] 陈声明,张立钦.微生物学研究技术[M].北京:科学出版社,2006.
[3] 唐玉明,姚万春,任道群,等.酱香型白酒窖内发酵过程中糟醅的微生物分析[J].酿酒科技,2007(12):50-53.

(上接第53页)

保证了窖池严格密封,保证发酵效果,酒醅中微生物的消长变化受温度、水分、pH值等多种因素的相互制约与影响,但对微生物的具体作用机制、微生物的种类数量与微量成分的对对应关系、相互影响及美拉德反应产物将在今后的研究中作进一步的探讨。