

浓香型大曲糖化酶特性研究

任 飞

(西南科技大学生命科学与工程学院,四川 绵阳 621010)

摘 要: 大曲作为大曲酒生产的糖化剂、发酵剂,含有多种微生物及其产生的多种酶类。研究表明,大曲糖化酶的最适温度为 50℃,最适 pH 值为 6.0,低浓度(0~2 mg/L)的 Cu^{2+} 对大曲糖化酶有激活作用,高浓度(2~12 mg/L)的 Cu^{2+} 对糖化酶有抑制作用。

关键词: 浓香型大曲; 糖化酶; 酶学性质

中图分类号:TS262.3;Q814;TQ920

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2011)02-0040-03

Study on the Enzymatic Properties of Saccharifying Enzyme of Luzhou-flavor Daqu

REN Fei

(College of Life Science and Technology, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China)

Abstract: Luzhou-flavor Daqu, as the saccharifying agent and fermenting agent in the production of Daqu liquor, contains varieties of microbes and various enzymes produced by the microbes. The optimum technical parameters of saccharifying enzyme of Luzhou-flavor Daqu were summed up as follows through experiments: temperature was at 50℃ and pH value was 6.0, and Cu^{2+} was an activator for the catalysis of saccharifying enzyme in the concentration range of 0~2 mg/L, however, it became an inhibitor in the concentration range of 2~12 mg/L.

Key words: Luzhou-flavor Daqu; saccharifying enzyme; enzymatic properties

大曲是酿酒生产的糖化、发酵和生香剂,其品质对曲酒的出酒率和酒质都有极大的影响,常有“曲是酒之骨”之称^[1]。浓香型大曲酒的发酵是在中温(或中温偏高温)大曲的作用下,边糖化边发酵。大曲在大曲酒发酵中的作用有以下几个方面:为大曲酒醅中原料的分解提供多种复合的粗酶制剂如糖化酶、液化酶、蛋白酶、纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶类等水解酶类;为大曲酒醅发酵提供部分菌种来源,如霉菌、酵母菌、细菌等;为大曲酒提供一些香味物质及香味前体物质;为大曲酒发酵提供部分发酵原料,如大曲中所含淀粉高达 57%左右^[2]。

大曲的糖化力是生产中用来测定液体或固体曲中的 α -1,4-葡萄糖苷酶和 α -1,6-葡萄糖苷酶转化可溶性淀粉生成还原性糖的能力,当然也包括其他酶对原料中组成物作用生成还原性物质的能力。

固体曲糖化力的定义:1 g 绝干的固体曲在 (30℃, pH4.6) 1 h 内水解可溶性淀粉生成葡萄糖的 mg 数,以表示糖化型淀粉酶的活力。固体曲中糖化酶活力的测定,采用可溶性淀粉为底物,在一定的反应条件下,使之水解为葡萄糖,用斐林试剂法测定。

在生产中,曲药的作用条件并非标准条件 (30℃,

pH4.6),在本实验中,在不同的温度、pH、离子浓度条件下,测定大曲的糖化力,研究反应条件对大曲酶活力的影响,为大曲在酿酒中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大曲:由四川某浓香型大曲酒厂提供。乙酸,乙酸钠,次甲基蓝,亚铁氰化钾,可溶性淀粉,葡萄糖,酒石酸钾钠,硫酸铜,氢氧化钠,实验中所用试剂均为分析纯,实验用水为纯净水。

1.2 仪器与设备

25 mL 酸式滴定管;万用电炉:北京中兴伟业仪器有限公司;恒温水浴锅:上海科析试验仪器厂;PHS-25 数字酸度计:上海雷磁仪器厂;电子天平:德国 Sartorius;电热恒温鼓风干燥箱:重庆银河试验仪器有限公司。

1.3 测定方法

斐林试剂法^[3]。

2 结果与讨论

2.1 温度对酶活力的影响

收稿日期:2010-10-21

作者简介:任飞(1972-),男,硕士,讲师,研究方向为食品与发酵工程。

用 pH4.6 的乙酸-乙酸钠缓冲溶液,在不同的温度条件下测定大曲的糖化力,温度对酶活力的影响见图1。

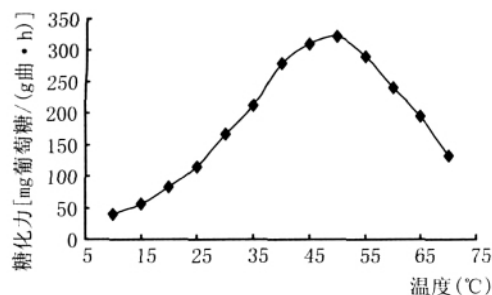


图1 温度对大曲糖化力的影响

从图1可以看出,在一定的温度范围内(10~50℃)大曲的糖化力随温度的升高而增加,超过50℃,大曲的糖化力反而下降,温度对酶促反应速率的影响表现在两个方面:一方面,当温度升高时,酶催化反应与一般化学反应一样,反应速率加快。在10~50℃时,大曲糖化酶的 Q_{10} (反应温度提高10℃时,酶反应速率与原来的反应速率之比称为反应的温度系数,用 Q_{10} 表示)为1.1。另一方面,由于酶是蛋白质,所以随着温度升高,使蛋白质逐渐变性而失活,引起酶促反应速率下降。酶所表现的最适温度就是这两种影响的综合结果。在酶反应的初级阶段,酶蛋白的变性尚未表现出来,因此,反应速率随温度的升高而增加,但高于最适温度时酶蛋白变性逐渐突出,反应速率随温度的升高的效应将逐渐为酶蛋白变性效应所抵消,反应速率迅速下降,因此表现出最适温度^[4]。

在正常情况下,酒窖内糟醅的发酵温度最高不超过40℃^[5]。在此温度范围内,大曲的糖化力随温度的升高而增加。夏季,在浓香型大曲酒的生产过程中,窖池内温度常在36~37℃以上,严重影响了酵母菌的生长繁殖,又降低了其发酵力,而且温度越高发酵力越低。由于夏季气温较高,入窖温度无法降低到低温入窖(低于20℃)的范围,故入窖后糟醅出现升温快,酵母达到最大密度的时间提早,主发酵期也提前到入窖后第3~7天(冷季一般在入窖后第7~11天),酵母在高温下早衰,使发酵无法彻底进行,到中期,发酵极其微弱,所以导致出酒率下降^[7]。

2.2 pH对酶活力的影响

pH影响酶活力的原因可能有以下几个方面:过酸或过碱可以使酶的空间结构破坏,酶活性丧失;当pH改变不很剧烈时,酶虽未变性,但活力受到影响;pH影响维持酶分子空间结构的有关基团的解离,从而影响了酶活性部位的构象,进而影响酶的活性^[4]。

糖化反应的温度控制在30℃,在不同的pH条件下大曲糖化力的变化结果见图2。

当pH在3.0~6.0时,随着pH的升高,糖化酶的活力逐渐增加;当pH在6.0~8.0范围时,糖化酶的活力逐

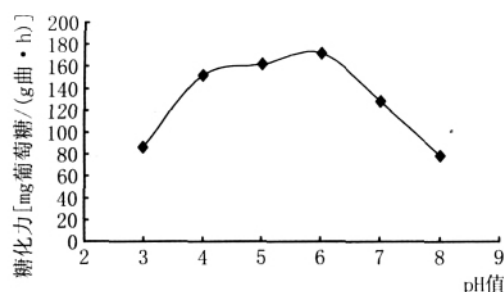


图2 pH对大曲糖化力的影响

渐降低;pH6.0是大曲糖化酶的最适pH值。在浓香型大曲酒的生产过程中,控制发酵糟醅的pH,使边糖化边发酵顺利进行,有利于发酵,从而提高大曲酒的产质量。

夏季由于酒醅入窖温度高,有利于乳酸菌的大量繁殖,乳酸菌的生长繁殖和酒醅酸度的快速升高相一致,酒醅酸度过高,有力抑制酵母菌的生长和发酵,淀粉和糖分被乳酸菌利用而转化为乳酸,严重影响出酒率。酸度每增加1度,相当于降低原料出酒率3.68%(60%vol)^[6-7]。由于温度、酸度的升高,还会影响其他酶的活性。要防止大曲酒夏季掉排,必须从两个主要方面解决,其一是降温,其二是控酸。由于温度受自然条件的限制,采取降温措施难以奏效,主要采取如下工艺措施:适当降低入窖淀粉浓度;控制入窖水分,减少用曲量、使用高温曲;加强滴窖适当缩短发酵期。

2.3 抑制剂对大曲糖化力的影响

金属离子以3种主要的途径参加催化过程:通过结合底物为反应物定向;通过可逆改变金属离子的氧化态调节氧化还原反应;通过静电稳定或屏蔽负电荷^[4]。凡是能提高酶活性的物质都称为激活剂,其中大部分是无机离子或简单的有机化合物。激活离子对于同一种酶,可因浓度不同而起不同的作用。含 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 的重金属盐,在低浓度时对某些酶的活性产生抑制作用;在高浓度时能使酶蛋白变性失活。对于NADP⁺合成酶,当 Mg^{2+} 浓度为 $(5\sim10)\times10^{-3}$ mol/L时起激活作用,但当浓度升高为 30×10^{-3} mol/L时则酶活性下降^[4]。有些酶需要加入某种离子后,活力才能提高,例如糖激酶需要 Mg^{2+} ,醛缩酶需要 Mn^{2+} ,唾液淀粉酶需要 Cl^- ^[8]。如图3所示,低浓度(0~2mg/L)的 Cu^{2+} 对大曲糖化酶有激活作用;当 Cu^{2+} 的浓度在2~12mg/L时对大曲糖化酶有抑制作用,在较高浓度时, Cu^{2+} 可能会破坏酶或辅基的活性基团或改变活性部位的构象,对大曲糖化酶起抑制作用;当 Cu^{2+} 的浓度12~20mg/L时糖化力基本不变,这可能是由于大曲糖化酶是一种多种霉菌、细菌的代谢产物,是一种混合酶,其中一些酶可能不受 Cu^{2+} 的抑制作用。

在浓香型大曲酒的生产中,酿造用水中含有的无机离子对大曲的糖化力会产生影响,较高浓度的重金属离

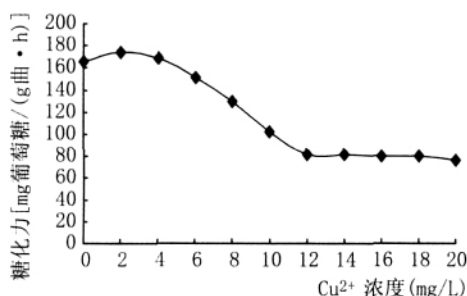


图3 Cu²⁺ 对大曲糖化力的影响

子会对大曲中各种酶的催化作用产生抑制作用,同时也可能对微生物的生长产生不利影响;如果酿造用水中不含微量元素,也不利于酒的酿酒,因为微量元素可能是大曲中一些酶的激活剂,另一方面微生物的生长也需要微量元素。“名酒必有佳泉”,必须采用优质的酿造用水。

3 结论

大曲作为大曲酒生产用的糖化剂、发酵剂,含有多种微生物及其产生的多种酶类。大曲糖化酶的催化作用受温度、pH值、金属离子浓度等因素的影响。研究表明,大曲糖化酶的最适温度为50℃、最适pH值为6.0;低浓度

(0~2 mg/L)的Cu²⁺对大曲糖化酶有激活作用,高浓度(2~12 mg/L)的Cu²⁺对糖化酶有抑制作用。根据不同季节控制生产工艺条件,调剂大曲的糖化力,有利于浓香型大曲酒的生产。

参考文献:

- [1] 李祖明,王德良,马美荣,等.不同酒曲酶系与发酵性能的比较研究[J].酿酒,2010,(1):17-22.
- [2] 胡承,邬捷锋,沈才洪,等.浓香型(泸型)大曲的研究及其应用[J].酿酒科技,2004,(1):33-36.
- [3] 天津轻工业学院.工业发酵分析[M].北京:中国轻工业出版社,2007.18-20.
- [4] 王镜岩.生物化学(上册,第三版)[M].北京:高等教育出版社,2002.323-480.
- [5] 练顺才,李杨华,王芳,等.大曲分析方法[J].酿酒科技,2010,(6):97-98.
- [6] 李大和,李国红,李国林.浅谈浓香型大曲酒入窖发酵条件与产质量的关系[J].酿酒,2002,29(5):20-24.
- [7] 章克昌.酒精与蒸馏酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2007.451-465.
- [8] 郑集,陈钧辉.普通生物化学(第三版)[M].北京:高等教育出版社,1998.275-280.

(上接第39页)

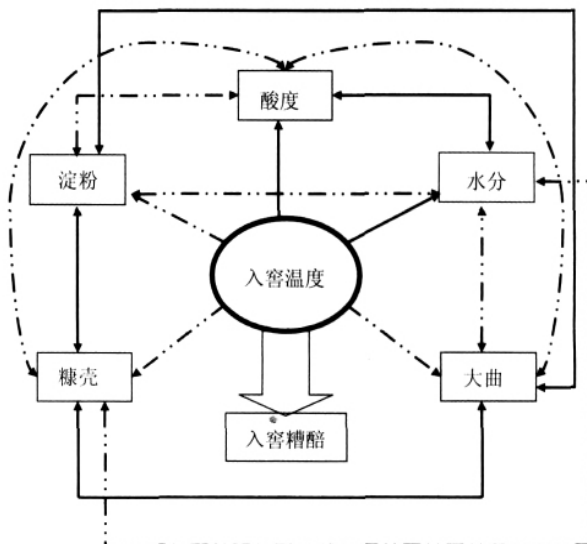
- [2] 吴衍庸.浓香型曲酒微生物技术[M].成都:四川科学技术出版社,1987.
- [3] 姚万春,唐玉明,廖建民,等.浓香型酒制曲环境空气微生物分布探讨[J].酿酒科技,1999,94(4):21-23.
- [4] Martinez K, Sheehy J, Jone J. Microbial containment in conventional fermentation processes[J]. Appl Ind Hyg, 1988, 3: 177-181.
- [5] 李涛.空气微生物采样及发展趋势[J].中国卫生检验杂志,2003,(13):538-539.
- [6] 中国科学院微生物研究所.常见与常用真菌[M].北京:科学出版社,1973.
- [7] 叶世泰.中国致敏空气真菌学[M].北京:人民出版社,1992.
- [8] 戴芳澜.真菌的形态和分类[M].北京:科学出版社,1987.
- [9] Rosas I, Calderon C, Martinez L, Ulloa M, Lacey J. Indoor and outdoor airborne fungal propagule concentrations in Mexico City [J]. Aerobiologia, 1997, 13 (1):23-30.
- [10] Archisio VF, Airaudi D. Temporal trends of the airborne fungi and their functional relations with the environment in a suburban site[J]. Mycologia, 2001, 93 (5):831-840.
- [11] 任启文,王成,杨颖,等.城市绿地空气微生物浓度研究—以北京元大都公园为例[J].干旱区资源与环境,2007,21:80-83.
- [12] 谢慧玲,袁秀云.植物挥发性分泌物对空气微生物灭杀作用的研究[J].河南农业大学学报,1999,(2):127-133.
- [13] 方治国,欧阳志云,胡利锋,等.城市生态系统空气微生物群落

研究进展[J].生态学报,2004,(4):315-322.

- [14] 符春兰,何文华,贾建华,等.我国四城市空气真菌特别调查[J].微生物学通报,2000,(27):264-269.

(上接第35页)

勘误:本刊2010年第11期(总第197期)《入窖七因素的变化规律及相互关系的研究(一)》文中(P.31)图2更正如下:



说明: → 表示正相关关系; - - - → 表示负相关关系