

混料方法在酱香麸曲制曲中的应用研究

许士池¹ 吴天祥¹ 李然洪² 孙放鸣³ 彭正东³

(1.贵州大学生命科学学院,贵州 贵阳 550025;2.贵州大学化学与化工学院,贵州 贵阳 550025;

3.贵州贵酒有限责任公司,贵州 贵阳 550002)

摘要: 采用混料实验设计方案,将白曲霉曲、GQ-d曲、GJ-曲和GY04曲混合发酵,研究所产酒中的总酸、总酯、酒精度及酸酯比的变化。经色谱分析验证,结果表明,当白曲霉曲、GQ-d曲、GJ-曲和GY04曲的比例为0.342:0.362:0.0:0.295时,酒的风味成分和品质比纯种霉菌发酵有较大提升。麸曲白酒与大曲白酒存在较大差距,通过科学设计和实践,有望缩小差距,提升麸曲白酒品质。

关键词: 混料试验设计; 麸曲; 白酒

中图分类号:TS262.3;TS261.4;TS261.1

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2013)04-0046-04

Application of Yeast-mixing Method in the Production of Bran Starter Jiang-flavor Liquor

XU Shichi¹, WU Tianxiang¹, LI Ranhong², SUN Fangming³ and PEN Zhengdong³

(1.School of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025;2.School of Chemistry and Chemical Engineering,

Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025;3.Guizhou Guijiu Co.Ltd., Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: The experimental design of mixed fermentation of white *Aspergillus* starter, GQ-d starter, GJ- starter and GY04 starter was adopted and the change in total acids content, total esters content, alcohol content and the ratio of acids and ester in liquor was investigated. Chromatographic analysis suggested that as the ratio of white *Aspergillus* starter, GQ-d starter, GJ- starter and GY04 starter was 0.342:0.362:0.0:0.295, the flavoring components and the quality of the produced liquor got improved greatly than the liquor produced by pure-species yeast fermentation. However, the quality of the produced bran starter liquor was still far interior to Daqu and such gap might be narrowed through scientific design and practice.

Key words: yeast-mixing method; bran starter; liquor

麸曲是指以麸皮为主要原料,蒸熟后接入纯种霉菌,在人工控温控湿条件下所培养的散曲。这种曲具有制作周期短、出酒率高等特点,适于中、低档白酒的酿制。但纯种霉菌制成的麸曲,其所产酒与大曲酒相比风味和品质不足。在麸皮中接入酿酒有益微生物,采用混合麸曲酿酒,能使酒的品质得到改善。本课题组通过前期实验,筛选出对酿酒有益的霉菌GQ-d^[1]、酵母GJ-和细菌GY04。通过在麸皮上单独接种培养,制得能显著提高酒总酸的GQ-d曲,提高酒总酯的GJ-曲,产蛋白酶高的GY04曲。结合糖化力高的白曲霉曲,通过混料实验,按比例混合成麸曲。然后将酿造的酒进行气相色谱分析,发现混合麸曲对酒的风味、品质有较大的提高。

混料试验的设计方法,自1958年Scheffe提出了单纯格子与单纯重心设计后,发展到今天,已有多种设计

方法。混料设计在工业、农业和科学试验中都得到了广泛的应用^[2],但是将混料试验设计应用到麸曲制曲中进行科学生产研究还鲜有报道。本课题组用混料试验设计来进行麸曲混料制曲,以期在理论和实践上有所改进,找出最佳麸曲混料比例。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种来源:GQ-d、GJ-、GY04,从贵阳酒厂大曲酒醅中筛选得到;白曲霉3917,四川微生物菌种保藏中心;酿酒酵母,安琪耐高温酿酒活性干酵母。

制曲及酿酒原料:麸皮、高粱、小麦均购于粮油市场。

1.2 实验方法

1.2.1 麸曲制备

基金项目:贵阳市科技局工业技改项目,筑科2合同字[2012101]05号。

收稿日期:2013-01-14

作者简介:许士池(1985-),男,湖北房县人,硕士研究生,研究方向:应用微生物。

通讯作者:吴天祥,教授,硕士生导师,E-mail:wutianxiang0808@yahoo.cn。

优先数字出版时间:2013-03-26;地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20130326.1630.003.html>。

表1 试验设计方案及试验结果

Run	不同配料				总酸 (g/L)	总酯 (g/L)	酒精度 (%vol)	酸酯比
	白曲霉曲(g)	GQ-d曲(g)	GJ-IV曲(g)	GY-04曲(g)				
1	35.6	0	26.7	26.7	0.1106	0.3889	27.8	0.2844
2	35.6	26.7	26.7	0	0.1304	0.3666	29	0.3557
3	48.95	0	0	40.05	0.1048	0.4249	28.8	0.2466
4	48.95	0	40.05	0	0.0967	0.4141	27	0.2335
5	8.9	40.05	40.05	0	0.1339	0.3962	25.6	0.3379
6	8.9	0	80.1	0	0.1106	0.4159	31	0.2659
7	89	0	0	0	0.0908	0.4788	30	0.1896
8	8.9	26.7	26.7	26.7	0.156	0.2901	24.7	0.5378
9	28.925	20.025	20.025	20.025	0.1164	0.4213	29.8	0.2762
10	48.95	40.05	0	0	0.1456	0.4429	26.1	0.3287
11	35.6	26.7	0	26.7	0.1269	0.5957	32.2	0.213
12	8.9	0	0	80.1	0.1479	0.4932	30.4	0.2999
13	8.9	40.05	0	40.05	0.1351	0.4249	29.8	0.3179
14	8.9	0	40.05	40.05	0.1176	0.5364	34.4	0.2192
15	8.9	80.1	0	0	0.1514	0.5131	29.4	0.2951

GQ-d 曲的制备:麸皮过 40 目筛,得到粗麸皮和细麸皮。将 80 % 的细麸皮与 20 % 的粗麸皮混合。在每个 1000 mL 三角瓶中装入含水量 55 % 的混合麸皮 200 g, 121 °C 灭菌 30 min。晾冷后每瓶接入 30 mL GQ-d 种子液,于 28 °C 培养 72 h,40 °C 烘干备用。

GJ- 曲的制备:麸皮过 40 目筛,得到粗麸皮和细麸皮。每 1000 mL 三角瓶中装入含水量 55 % 的细麸皮 200 g,121 °C 灭菌 30 min。晾冷后每瓶接入 15 mL GJ- 种子液,于 28 °C 培养 60 h,40 °C 烘干备用。

GY04 曲的制备:麸皮过 40 目筛,得到粗麸皮和细麸皮。将 80 % 的细麸皮与 20 % 的粗麸皮混合。每 1000 mL 三角瓶中装入含水量 45 % 的混合麸皮 200 g, 121 °C 灭菌 30 min。晾冷后每瓶接入 20 mL GY04 种子液,于 37 °C 培养 72 h,50 °C 烘干备用。

1.2.2 白曲霉曲的制备

按文献[3]进行。

1.2.3 酿酒实验^[4]

高粱粉碎至 4~6 瓣,小麦粉碎至 2~3 瓣。高粱、小麦、粗麸皮分别占总粮的 80 %、15 %、5 %,混合。用温度不低于 90 °C 的水润粮 1 h,后于 121 °C,30 min 蒸煮糊化,达到“疏而不透,内无生心”。每个 1000 mL 三角瓶加入 445 g 酒醅,分别添加麸曲和酒母,混匀。第 1 天采用 18 °C 培养,尽量达到“低温入窖”的要求,24 h 后转入 37 °C 发酵 9 d。采用固态蒸馏法收集酒。每瓶收集 100 mL 酒样,15 d 后测定酒的总酸总酯。

1.2.4 酒总酸、总酯的测定

参照 GB/T 10345—2007 测定。

1.2.5 气相分析条件

Agilent 7820A 气相分析仪,安捷伦科技有限公司; AT.LZP-930 白酒专用色谱柱,中科院兰州化学物理研究所。

进样口 250 °C,检测器 230 °C,流速 1.2 mL/min,分流比 35:1,升温程序为:35 °C 保留 5 min,以 5 °C/min 升至 100 °C 保留 5 min,再以 6 °C/min 升至 150 °C,后以 10 °C/min 升至 220 °C 保留 5 min。

1.2.6 发酵试验设计

应用试验设计软件 Design-Expert 8.0.6.1 中混料 (mixture) 设计中的 Simplex Centroid 方法,将白曲霉曲、GQ-d 曲、GJ- 曲和 GY04 曲按照软件设计的比例混合,见表 1。每瓶酒醅 445 g,加曲量为 20 %,即 89 g 曲。为了保证糖化发酵,白曲霉曲最低为 8.9 g,最高为 89 g;其他 3 种曲最低为 0 g,最高位 80.1 g。

2 结果与分析

2.1 酒样指标检测

传统麸曲白酒主要使用曲霉菌糖化发酵,本课题组选用了产酸高的 GQ-d 霉菌,产酯高的 GJ- 酵母菌,和产蛋白酶高的 GY04 细菌混合发酵。但是不同菌混合在一起,会有相互影响或拮抗。为了保证酒的糖化,设计了麸曲中白曲霉曲的最低比例为 10 %,即 8.9 g。发酵 9 d 后,采用固态蒸馏方式收集 100 mL 酒样,15 d 测定酒样中的总酸、总酯、酒精度及酸酯比的变化见表 1。

白酒中的主要成分为酒精,麸曲白酒一般在 7 d 时已经发酵完成,酒精度达到最大。但麸曲白酒的呈香呈味远远达不到大曲白酒的要求,所以,麸曲白酒口感不佳。总酸、总酯在白酒中含量微少,主要起到调节口感的作用。无论是浓香型白酒,还是酱香型白酒或其他香型的白酒,均对总酸、总酯有特定要求^[9]。总体上,白酒中总酸、总酯的含量都是越多越好,所以对总酸、总酯及酒精度的考察指标设计为越多越好。而总酸、总酯的量不能失调,不然亦会影响口感,课题组选择了酸酯比在 0.3~0.5 之间。试验变量和响应值的目标范围见表 2。

表2 试验变量和响应值的目标范围

名称	目标	最低值	最高值
白曲霉曲(g)	8.9~89	8.9	89
GQ-d 曲(g)	0~80.1	0	80.1
GJ-IV 曲(g)	0~80.1	0	80.1
GY04 曲(g)	0~80.1	0	80.1
总酸(g/L)	最大值	0.0908	0.156
总酯(g/L)	最大值	0.2901	0.5957
酒精度(%vol)	最大值	24.7	34.4
酸酯比	0.3~0.6	0.1896	0.5378

2.2 建立模型

根据表1的试验结果,利用软件对响应值进行二次多项式回归拟合,分别建立4个指标(总酸、总酯、酒精度、酸酯比)的回归模型,A、B、C、D分别代表白曲霉、GQ-d 曲、GJ- 曲、GY04 曲。各回归模型方程如下:

$$Y_{\text{总酸}} = 0.085A + 0.15B + 0.11C + 0.14D + 0.091AB + 0.012BC - 0.060BD - 0.035CD + 0.63BCD$$

$$R^2 = 0.9111 \quad P = 0.0114 < 0.05$$

$$Y_{\text{总酯}} = 0.46A + 0.52B + 0.40C + 0.50D - 0.24AB - 0.32AD - 0.30BC - 0.33BD + 0.25CD + 5.34ABD - 3.88BCD$$

$$R^2 = 0.9111 \quad P = 0.0931$$

$$Y_{\text{酒精度}} = 30.01A + 29.41B + 31.01C + 30.41D - 14.84AB - 14.44AC - 6.04AD - 18.84BC - 0.84BD + 14.36CD + 122.29ABC + 134.89ABD - 45.11ACD - 125.81BCD$$

$$R^2 = 0.9880 \quad P = 0.3020$$

$$Y_{\text{酸酯比}} = 0.23A + 0.35B + 0.27C + 0.28D - 2.61ABD + 5.75BCD$$

$$R^2 = 0.7860 \quad P = 0.0075 < 0.01$$

结果表明,二次模型总酸达到了0.05的显著水平,酸酯比达到了0.01的非常显著的水平,而总酯和酒精度没有显著性。固态发酵条件较难控制,各菌株之间的相互影响作用不确定,但是本模型较好的拟合了4种不同麸曲的配比与指标。

2.3 混料比例对总酸、总酯、酒精度及酸酯比的影响

混料设计可以根据各分组的三元等值线图直观地观察各组分间的变化对指标的影响^[6]。配方中有4种成分,固定一个成分,可以比较其他3种成分的交互作用对指标的影响。酱香酒醅中都含有一定的蛋白质,产蛋白酶的细菌能有效分解蛋白质,使氨基酸与单糖等发生羰氨反应、酮糖基胺反应等美拉德褐变的非酶促褐变反应,是酱香型白酒香味的主要来源^[7]。试验分析过程中,将细菌曲的用量作为固定成分,考察其他3种曲的比例变化对白酒成分变化的影响。

GY04 细菌曲在固定水平时,白曲霉曲、GQ-d 曲和 GJ- 曲对总酸的影响见图1,可以看出,GQ-d 曲提升酒总酸的能力大于 GJ- 曲和白曲霉曲。酒醅发酵过程中,适当的增加酸度能抑制细菌等杂菌的快速繁殖,从而为霉菌和酵母等有益菌的生长提供良好条件。酸的提高,

使得酒醅中酸醇发生酯化反应,能提高酒醅中酯的含量,赋予白酒酯香。白曲霉曲、GQ-d 曲和 GJ- 曲对总酯的影响见图2。白曲霉曲和 GQ-d 曲提升总酯的能力要大于 GJ- 曲。GJ- 是一株酵母菌,在筛选过程中发现酵母对总酯的提升还是很明显的,但是在多种菌混合发酵过程中,GJ- 酵母提升总酯的能力反而不如霉菌。这可能是多菌株混合发酵,对 GJ- 的产酯能力产生了拮抗作用所造成的。白曲霉曲、GQ-d 曲和 GJ- 曲对酒精度的影响见图3。白曲霉曲、GQ-d 曲和 GJ- 曲对酒精度提升的效果都不明显,只有 GJ- 曲具有小幅提升酒精的能力。微生物通过厌氧呼吸产生酒精,酒精度升高又会影响微生物的生长。酒醅发酵过程中,添加了酒母(安琪耐高温酿酒活性干酵母活化而来),发酵过程表明,酒精主要由安琪酵母产生,与麸曲配比相关性不大。白曲霉曲、GQ-d 曲和 GJ- 曲对酸酯比的影响见图4。GQ-d 曲和 GJ- 曲提升酸酯比的能力要大于白曲霉曲,较高的酸酯比可以使酒的口感舒适。

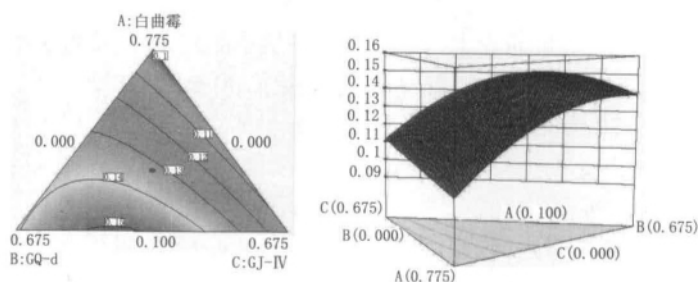


图1 白曲霉曲、GQ-d 曲、GJ-IV 曲和 GY04 曲的交互作用对总酸的影响

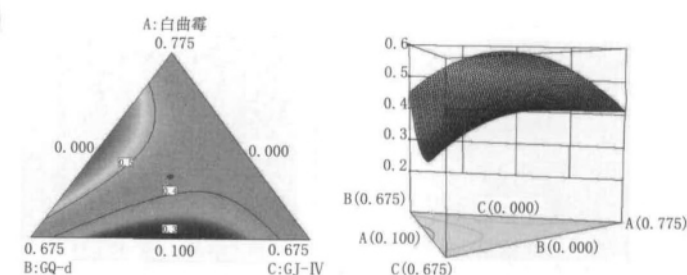


图2 白曲霉曲、GQ-d 曲、GJ-IV 曲和 GY04 曲的交互作用对总酯的影响

2.4 最佳混料设计方案

混料设计实验得到的最佳混料比例见表3。

2.5 气相色谱验证试验

将混料设计4种最佳配比的酒样进行色谱分析,见表4。方案1的酒样中丙酸、乙酸、乙酸乙酯、丁酸乙酯的含量均多于其他酒样,风味成分明显多于其他酒样;方案2的酒样中正丙醇、异丁醇、异戊醇等高级醇含量较其他酒样少,但酒样中酸基本没有检测出来;方案3由于只是采用2种麸曲发酵,酒样中的风味物质比较少,但是丁酸有检出;方案4采用白曲霉曲和细菌曲混合发酵,酒样中

表 3 混料试验得到的最佳混料方案

编号	不同配料				总酸 (g/mL)	总酯 (g/mL)	酒醅酒精度 (%vol)	可行性
	白曲霉曲(g)	GQ-d曲(g)	GJ-IV曲(g)	GY04曲(g)				
1	30.438	32.218	0	26.255	0.13302	0.58799	32.4473	0.796
2	8.9	0	15.931	64.08	0.13051	0.51905	32.8156	0.725
3	8.9	80.1	0	0	0.15268	0.51693	29.4122	0.699
4	8.9	0	0	80.1	0.14259	0.49973	30.4122	0.685

表 4 4 种最佳方案的酒样基本成分分析

检测项目	方案 1		方案 2		方案 3		方案 4	
	峰面积	峰面积(%)	峰面积	峰面积(%)	峰面积	峰面积(%)	峰面积	峰面积(%)
甲酸乙酯	49.6	0.022	294.2	0.151	337	0.152	347.1	0.134
乙醛	337.2	0.147	44.3	0.023	21.2	0.10	95.3	0.037
甲醇	49.6	0.022	54.2	0.028	72.9	0.033	84.6	0.033
乙醇	227921	99.195	192811	99.247	220889	99.384	256356	99.262
正丙醇	155.5	0.068	105.4	0.054	115	0.052	—	—
乙酸乙酯	215.8	0.094	140.9	0.073	113.9	0.051	343.5	0.133
异丁醇	389.3	0.169	314.3	0.162	301.4	0.136	383.9	0.149
乙缩醛	6.2	0.003	4.5	0.002	9.8	0.004	14.8	0.006
正丁醇	23.2	0.010	22.6	0.012	12.8	0.006	24.3	0.009
异丁酸乙酯	10.4	0.005	—	—	—	—	1.6	0.001
异戊醇	340.2	0.148	431.4	0.222	258.4	0.116	567.1	0.220
丁酸乙酯	151.4	0.066	4.6	0.002	118.4	0.053	—	—
丙酸	4.4	0.002	—	—	—	—	—	—
丁酸	4.9	0.002	—	—	9.3	0.004	—	—

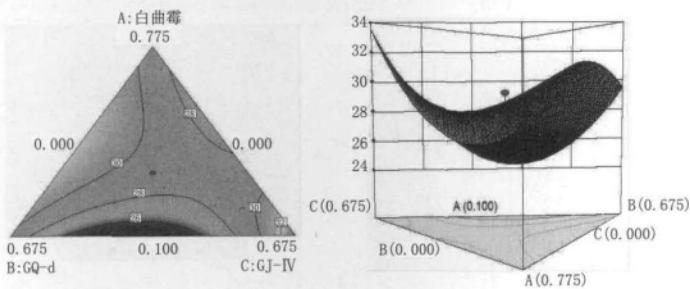


图 3 白曲霉曲、GQ-d 曲、GJ-IV 曲和 GY04 曲的交互作用对酒精度的影响

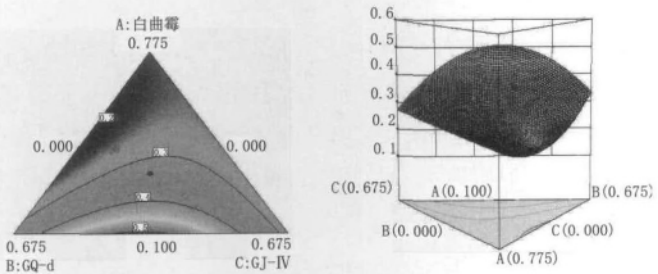


图 4 白曲霉曲、GQ-d 曲、GJ-IV 曲和 GY04 曲的交互作用对酸酯比的影响

的异戊醇含量明显高于其他酒样,但是基本没有检出酸。综合色谱图分析,方案 1 的酒样风格和质量优于其他 3 种酒样,与混料设计试验得到的结果相同,但 4 种酒样中的高级醇等成分较高,后续实验有待加强改进。

3 讨论

3.1 自从 1935 年原黄海化学研究社提出用纯种曲霉制

造麸曲生产白酒以来,麸曲白酒酿造技术经过多次改革,酒质已经得到很大提高。通过科学的设计和试验,结合传统技术生产实践,既保留了传统的风味又达到了生产实践的高效、科学、安全的要求。传统与科学的结合,麸曲白酒的质量肯定会越来越好。

3.2 纯种微生物单独发酵和多种微生物混合发酵,通过分析比较,可以找到白酒酿造过程中各微生物相互关系和作用。在大曲生产过程中,微生物更迭迅速,往往不能很好的找出发酵过程中的优势微生物。通过麸曲的纯种发酵,加深了对各微生物的特性和相互影响的了解,有望对大曲酿造微生物更好的了解。

参考文献:

[1] 许士池,吴天祥.两株麸曲优势菌株的筛选及应用研究[J].酿酒科技,2012(8):33-35.
[2] 徐向宏,何明珠.试验设计与 Design-Expert、SPSS 应用[M].北京:科学出版社,2010.
[3] 高林峰,汤庆莉,吴天祥.麸曲制备工艺的优化研究[J].中国酿造,2010(8):62-65.
[4] 吴广黔.贵州麸曲酱香型白酒的酿造工艺特点[J].酿酒科技,2008(2):43-46.
[5] 吴天祥,田志强.品鉴贵州白酒[M].北京:北京理工大学出版社,2012.
[6] 刘睿,倪光远,万楚筠,等.应用混料实验设计制备秸秆复合降解菌剂[J].中国生物工程杂志,2009,29(9):50-55.
[7] 崔利.褐变反应与酱香型白酒(上)[J].酿酒科技,2007(7):54-56.