

耐酸性清酒酵母 A 发酵工艺研究

蒋军^{1,2}, 吴天祥^{1*}, 李运华³ (1. 贵州大学化学与化工学院, 贵州贵阳 550055; 2. 安徽农业大学茶与食品科技学院, 安徽合肥 230036; 3. 安徽亳州市产品质量监督检验所, 安徽亳州 366803)

摘要 [目的] 为生产优质清酒奠定理论基础。[方法] 以优质粳米为原料, 在单因素试验的基础上, 采用正交试验法研究耐酸性清酒酵母 A 的发酵规律。[结果] 水料比为 1~2 时, 清酒酒精度较高。水料比为 0.5 时, 发酵醪的糖浓度和渗透压较高。水料比为 3 时, 发酵醪的淀粉浓度降低, 清酒酒精度低。酒母量为 20% 时, 利于清酒双边发酵, 清酒的可溶物含量约为 11%。米曲量为 30%~50% 时, 清酒色度低, 苦涩味轻。乳酸添加量为 8‰~12‰ 时, 发酵结束后米曲中糖化酶的活力约为 290 mg/(g·h)。乳酸量超过 12‰ 时, 酶活力下降比较快, 清酒有异杂味感。15℃ 下发酵 21 d 的清酒酒精度达 17.1% (V/V), 淀粉利用率为 88.1%。[结论] 利用耐酸性清酒酵母发酵生产清酒, 简化了生产工艺, 缩短了发酵时间, 提高了原料利用率。

关键词 清酒; 清酒酵母; 发酵参数; 正交试验

中图分类号 TS262.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)21-10144-03

Study on the Technology of Fermentation with Acid-resistant *Saccharomyces sake* A

JIANG Jun et al (College of Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550055)

Abstract [Objective] The purpose of the study was to lay a theoretical foundation for producing high-quality sake. [Method] With high-quality round shaped rice as raw material, on the basis of single factor experiment, the fermentation law of acid-resistant *Saccharomyces sake* A was studied through orthogonal experiment. [Result] When the water-material ratio was 1-2, the alcohol degree of sake was higher. When the water-material ratio was 0.5, the sugar concentration and osmotic pressure of fermenting mash were higher. When the water-material ratio was 3, the starch concentration of fermenting mash was decreased and the alcohol degree of sake was low. When the seeding yeast dosage was 20%, it was favorable to the dual fermentation of sake and the soluble content of sake was about 11%. When the rice starter dosage was 30%-50%, the sake had low colority and light bitterness and astringency. When the lactic addition was 8‰-12‰, the activity of *Aspergillus oryzae* was about 290 mg/g when the fermentation was finished. When the lactic content was higher than 12‰, the enzyme activity was decreased faster and the sake had off-flavors. The alcohol degree of sake produced by fermentation at 15℃ for 21 d was up to 17.1% (V/V) and its starch utilization ratio was 88.1%. [Conclusion] The production of sake by fermentation with acid-resistant *S. sake* simplified production process, shortened fermentation time and increased the utilization ratio of raw material.

Key words Sake; *Saccharomyces sake*; Fermentation parameters; Orthogonal test

纯米酿造的特级清酒色泽呈淡黄色或无色, 清亮透明, 芳香宜人, 爽口, 绵柔。酒精含量在 16% 以上, 成分多达 240 多种^[1], 含有多种氨基酸、维生素, 尤其含有改善高血压与健忘症的肽, 能阻止高血压患者的高血压蛋白宁(ACE)的作用, 使血压下降。在清酒菌种的研究上, 日本采用的生酩酵母发酵性能强, 在酒精度为 12% (V/V), pH 值为 3 的条件下能保持长时间的活性^[2]。而我国清酒发酵一般都是采用半固态三段式发酵^[3]工艺, 发酵时间长, 出酒率低, 生产过程中容易受到杂菌污染。该试验以粳米为原料, 人工制备米曲, 选用耐酸性清酒酵母 A 菌株, 通过正交试验研究清酒 2 次发酵规律, 确定在酸性条件下各因素对试验结果的影响程度^[4], 优化耐酸清酒酵母的发酵条件, 缩短发酵时间, 提高原料利用率, 为解决清酒发酵过程中的污染问题提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料及仪器

1.1.1 材料。香粳米, 购自江苏无锡; 清酒酵母菌株 A, 安徽农业大学茶与食品科技学院实验室保存; 米曲霉菌株 C, 安徽农业大学茶与食品科技学院实验室保存。

1.1.2 仪器。超净工作台; 分析天平; 全自动发酵罐; 全自动高压灭菌锅; 生化培养箱; pH 计。

1.2 方 法

1.2.1 测定方法。糖的测定: 直接滴定法^[5]; 酒精度的测

定: 酒精计法^[5]; pH 的测定: 酸度计法^[5]; 可溶性固形物测定: 糖度计测定; 糖化力测定见参考文献[6]。

1.2.2 酒母和米曲的制备方法。参照参考文献[3]。

1.2.3 清酒发酵工艺。采用二次发酵工艺, 将 60% 大米清洗煮后, 冷却, 加入水、米曲、酒母, 品温控制为 15℃, 初投发酵 9 d, 发酵结束后, 将 40% 的大米进行蒸煮, 冷却后, 与酒母和米曲混合, 投入到发酵醪中, 温度控制为 15℃, 再发酵 10 d。

1.2.4 单因素研究。分别以不同的水料比、酒母添加量、米曲添加量及乳酸为单因素, 考察各单因素对清酒发酵的影响。

1.2.5 清酒发酵工艺的正交试验。在单因素试验基础上, 设计 L₉(3⁴) 正交试验, 研究 4 因素之间的主次顺序, 确定最佳试验参数。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 水料比。分别选择 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 的水料比, 发酵温度为 15℃, 总发酵时间为 19 d。图 1 显示, 水料比为 1~2 时酒精度较高。水料比为 0.5 时, 发酵醪中糖的浓度高, 渗透压高, 酵母生长和代谢都会受到抑制^[7], 双边发酵失衡, 出酒率低。水料比为 3.0 时, 发酵醪中淀粉浓度降低, 营养物质浓度低, 导致发酵过早结束, 使得清酒酒度低。

2.1.2 酒母量。A1、A2、A3 3 个初投试验中, 分别添加 10%、20%、30% 的酒母。发酵温度为 15℃, 初投发酵时间为 9 d。发酵醪中可溶物含量的变化规律如图 2 所示, 酒母量在 20% 时, 利于清酒双边发酵, 可溶物的含量达 11% 左右。酒

基金项目 贵州大学研究生创新项目(2006019)。

作者简介 蒋军(1977-), 男, 江苏泰兴人, 在读硕士, 讲师, 从事发酵工程研究。* 通讯作者。

收稿日期 2009-04-08

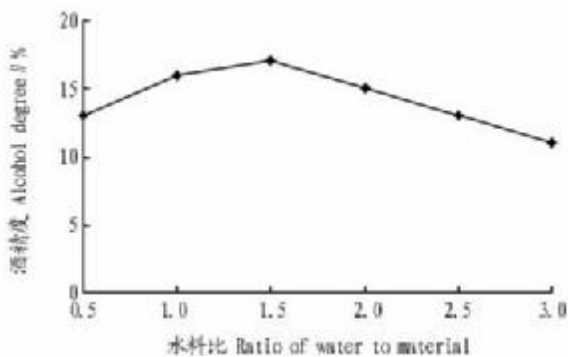


图1 水料比对清酒发酵的影响

Fig. 1 Effects of the ratio of water to material on the fermentation of sake

母量在 10% 时,起酵慢,糖分积累多,渗透压高。酒母量在 30% 时,清酒发酵速度快,产热多,营养利用大大超过了营养供给,发酵醪中泡沫多而大,代谢副产物多,清酒品质受到影响。

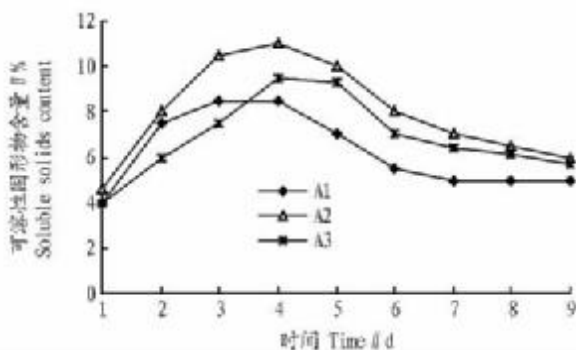


图2 酒母量对清酒发酵的影响

Fig. 2 Effect of amount of sake yeast on the sake fermentation

2.1.3 米曲量。试验中分别添加 10%、30%、50%、70%、90% 的米曲,发酵温度为 15 ℃,初投发酵时间为 19 d。清酒色度如图 3 所示,米曲量在 30% ~ 50%,清酒色度低,苦涩味轻。米曲添加量过低,清酒色度小,清酒发酵慢。米曲添加量过高,清酒色度大,并且醪中糖分高,渗透压高,酵母繁殖旺盛,衰老快,杂醇油含量高。

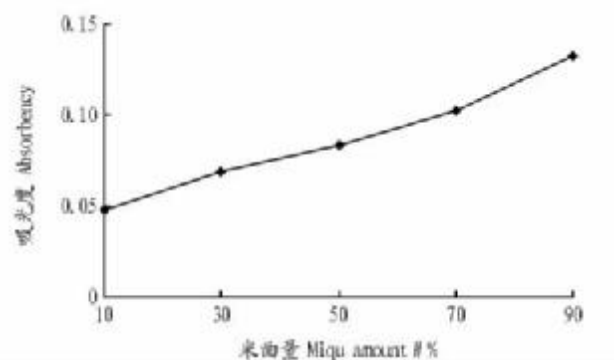


图3 米曲量对清酒发酵的影响

Fig. 3 Effects of Miqu amount on the sake fermentation

2.1.4 乳酸量。在初投试验中分别添加 6‰、8‰、10‰、12‰、14‰ 的乳酸,发酵温度为 15 ℃,初投发酵时间为 9 d。结果如图 4 所示,乳酸添加量在 8‰ ~ 12‰ 时,发酵结束后的米曲中糖化酶的活力在 290 mg/(g·h) 左右,与发酵前米曲中糖化酶活力相比,降幅比较小,糖化速度比较快。当乳酸

量超过 12‰ 时酶活力下降比较快,乳酸量过高的清酒会呈现涩味等异杂味感。

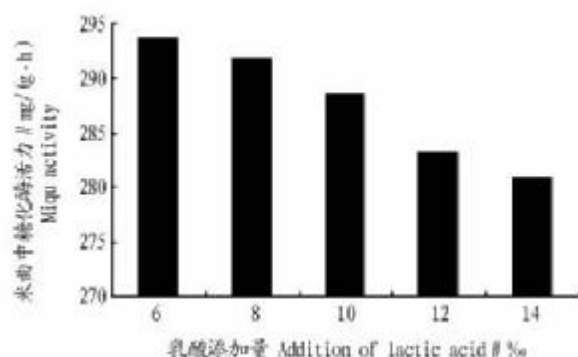


图4 米曲量对清酒发酵的影响

Fig. 4 Effects of Miqu amount on the sake fermentation

2.2 清酒发酵工艺的优化 正交试验在单因子试验基础上,对影响清酒发酵的乳酸量、水料比、米曲量、酵母量进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,发酵温度为 15 ℃,总发酵时间为 19 d,2 次重复。正交试验设计见表 1。

表1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平 Levels	A(乳酸量) //‰ Lactic acid amount	B(水料比) Water-material ratio	C(米曲量) % Miqu amount	D(酵母量) //‰ Wine yeast amount
1	8	1.0	30	15
2	10	1.5	40	20
3	12	2.0	50	25

由表 2 可知,各因素作用的主次顺序依次为:酒母量 > 水料比 > 米曲量 > 乳酸量。经方差分析表明(表略),4 因素对清酒发酵结果呈显著性影响,进一步证明了酒母量是关键因素。综合分析最优条件为 $D_2B_2C_3A_1$,经全自动发酵罐验证试验,温度控制为 15 ℃,发酵时间为 21 d,酒精度达到 17.1% (V/V),淀粉的利用率为 88.1%,清酒香气纯正、浓郁,口味绵甜柔和。

3 讨论

(1) 原料对清酒的品质起着关键作用,以精白度高、米香味浓的新鲜大米为最好。

(2) 米曲是决定清酒风味的一个主要辅料,要求米曲表面为白色,菌丝分布均匀,质地疏松,新鲜干燥,曲香味浓,无异味,糖化力高,液化力强。

(3) 选用耐酸性清酒酵母发酵,提高发酵醪的酸度,增强抗杂菌能力。二次投料,简化了生产工艺,缩短了发酵时间,提高了原料利用率。试验结果表明:在发酵温度控制为 15 ℃,发酵时间为 19 d,水料比为 1.5:1.0、酒母量为 20%、米曲量为 50%、乳酸量 8‰ 的条件下,清酒酒精度达到 17.1% (V/V),淀粉的利用率为 88.1%。

(4) 清酒发酵过程中,米曲霉和清酒酵母共存,糖化和发酵并存,泡沫控制显得特别重要。发酵过程中泡沫的产生增加了菌体的非均一性,容易引起菌体分化甚至自溶^[7],必须严格监测发酵过程中泡沫的类型,及时机械消泡,防止出现大量逃液。

(5) 清酒的风味受到气候、原料产地、大米品种的影响,

今后应继续加强对清酒风味物质和功能成分方面的基础研究。

表2 正交试验结果与分析

Table 2 The results and analysis of orthogonal experiment

试验号	A(乳酸量)	B(水料比)	C(米曲量)	D(酒母量)	单位组1(酒度)//%	单位组2(酒度)//%
Test No.	Lactic acid amount	Water-material ratio	Miqu amount	Wine yeast amount	Randomized block 1	Randomized block 2
1	1	1	1	1	12.9	13.1
2	1	2	2	2	15.9	15.7
3	1	3	3	3	13.0	14.0
4	2	1	2	3	11.0	12.0
5	2	2	3	1	16.5	16.8
6	2	3	1	2	14.0	13.5
7	3	1	3	2	13.8	14.0
8	3	2	1	3	12.0	11.8
9	3	3	2	1	13.8	13.0
K_1	84.6	76.8	77.3	86.1		
K_2	83.8	88.7	81.4	86.9		
K_3	78.4	81.3	88.1	73.8		
\bar{K}_1	14.1	12.8	12.9	14.4		
\bar{K}_2	14.0	14.8	13.6	14.5		
\bar{K}_3	13.0	13.6	14.7	12.3		
极差 Range	1.0	2.0	1.8	2.2		

参考文献

- [1] 顾国贤. 酿造酒工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
 [2] 杨荣华. 日本酿造研究的最近动向及其成果[J]. 中国酿造, 2001(3): 41-42.
 [3] 傅金泉. 黄酒生产技术学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

- [4] 李云雁. 实验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
 [5] 国家质量技术监督局. (黄酒) GB/T 13662-2000[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
 [6] 李大和. 白酒工人培训教程[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004.
 [7] 韦革宏. 发酵工程[M]. 北京: 科学出版社, 2008.

(上接第 10132 页)

山地资源开发系统中, 由山地经济物质形态与山地经济非物质形态两大子系统构成。规划时以战略高度将时间、空间、结构、环境、效益、公益、发展、规划、管理和服 务, 置于系统结构中布局。

在这个耐用消费品向日用消费品时代转型、产能和产品均过剩的时代, 偏远落后的山地区域无需模仿国内外发达城市工商业的发展模式, 可以靠山吃山, 靠水吃水。原本偏远的地方由于未受大工业的污染, 而幸存着青山绿水, 这为城市人们对绿色食品、有机食品和绿色生态休闲度假等提供了得天独厚的环境。

3 结语

基于中观经济学范畴的山地资源系统开发借助山体的垂直立体分布及其地面上的动植物、叠山美、石山美, 以及四季和二十四节气更替等所能发挥的景观、景区和景点, 结合人文地理, 从山地审美角度, 开发旅游、休闲、度假的经济形态, 将山地产品的物理性与审美特征和效果体现出来, 在城市产能产品过剩、乡村环境生态化以及人们向往空气清新、

产品绿色和有机食品的条件下, 非物质的经济产品比物质化产品更具有较高价值^[7]。

在山地资源开发系统中, 将山地资源系统开发的物质形态与其非物质形态结合与联结, 采取“种-养-殖-畜-牧-渔-农-林-科-工-贸-城市规划建设一体化”发展模式, 可实现山地区域的优化发展。

参考文献

- [1] 张立文. 和合学概论——21世纪文化战略的构想[M]. 北京: 首都师范大学出版社, 1996: 2, 71-72.
 [2] 钟祥浩. 20年来我国山地研究回顾与新世纪展望[J]. 山地学报, 2002, 20(12): 646-659.
 [3] 饶会林, 崔卫华, 张明贵. 试论中观经济学的基本范畴[J]. 财经问题研究, 2002, 227(10): 19-25.
 [4] 冯佺光. 我国山地资源综合开发与山地经济可持续发展[J]. 农业现代化研究, 2008, 29(6): 696-701.
 [5] 冯佺光, 赖景生. 我国西南地区山地经济业态及其开发发展模式研究[J]. 生态经济, 2006(5): 95-99.
 [6] 唐淑云. 论山地经济的发展前景及途径[J]. 山地学报(中文版), 2002(2): 81.
 [7] 冯佺光, 赖景生. 我国西南地区山地经济业态及其开发发展模式研究[J]. 生态经济, 2006(5): 95-99.