

生料酿酒用高糖化及酯化能力 红曲霉菌株的选择

张东亮¹, 王启军¹, 林 萍², 姜晓冰¹, 李 祯¹

(1华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

(2东莞市英芝堂生物工程, 广东东莞 510515)

摘要: 生料酿酒所用的酒曲是酶制剂、曲霉等的混合物, 曲霉生成的酯类是生料酿酒中主要香气成分的来源, 其糖化能力也对生料酿酒过程中酒精的产生有重要作用, 本实验通过两个实验筛选出了具有较高糖化、酯化能力的曲霉。

关键词: 酒曲, 酶, 糖化, 酯化

Abstract The raw starter used in brewing with uncooked material is a mixture of enzyme and monascus, the ester produced by monascus is the primary source of the wine's flavor and the saccharification of the monascus also has important function for the brewing. In this experiment the monascus which has higher capability of saccharification and esterification were selected.

Keywords raw starter, enzyme, saccharification, esterification

中图分类号: TS261.1⁺ 1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2007)10-0111-02

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

大米 市售; NaOH、乙酸、乙醇、硫酸镁、乙酸等均为分析纯。

高压蒸汽灭菌锅, 干燥灭菌箱, 恒温培养箱, 恒温水浴锅, 分析天平, 物理天平, 冰箱, 电炉, pH计, 三角瓶, 烧杯, 量筒, 大铝锅, 移液管, 试管, 培养皿, 玻璃棒, 胶头吸管, 漏斗。

1.2 实验方法

1.2.1 红曲霉液体种子的制备 取 500mL 锥形瓶, 加水 200mL, 加入 3% 葡萄糖、5% 甘油、2% 蛋白胨、0.1% MgSO₄、0.3% NaNO₃、0.1% KH₂PO₄、0.1% K₂HPO₄、0.2% 乙酸, 分装到 10 个瓶中, 121℃ 下灭菌 30min 冷却, 接入试管保藏菌种, 培养 3d。

1.2.2 红曲霉制剂的制备 大米淘洗, 加 3% 与大米等重的乙酸溶液, 浸泡 40min, 将米用纱布沥干, 分别加入大米重量 10% 的麸皮和豆粕, 蒸煮。分装 10 个锥形瓶中, 在 0.1MPa 121℃ 下灭菌 20min, 接入 6mL 的液体种子, 培养 12d 32℃ 烘干磨碎, 备用。

1.2.3 较高糖化能力红曲霉菌株的选育 配制 2% 的可溶性淀粉 500mL, 分装 20 个锥形瓶, 每瓶 20mL。分别在每个瓶中加入制备好的 10 种红曲霉制剂 1g 35℃ 水浴 1h 以改进快速滴定法测定其中还原糖含量, 取甲乙两液各 5mL 混合加入水 10mL, 加热保持沸腾状态滴定至无色。同时作空白对照, 在滴定空白样品时, 若空白样品用量过多, 则过量的菲林试剂用 1% 葡萄糖标准溶液滴定至终点, 记录, 并按下式计算还原糖含量:

空白样品用量少时糖化酶活力为:

$$A = \left(\frac{1}{Y} - \frac{1}{K} \right) * 0.001 * D * 200 \quad (1)$$

空白样品用量过多时糖化酶活力为:

$$A = \left(\frac{1}{Y} - \frac{1}{K} \right) * 0.001 * D * 200 - P * 0.001 \quad (2)$$

式中: K: 空白样品用量, mL; Y: 样品反应液消耗量, mL; P: 空白样品用量超过 15mL 时过量的菲林试剂消耗葡萄糖标准溶液量, mL; D: 标定菲林试剂用葡萄糖标准溶液量, mL。

1.2.4 较高酯化能力红曲霉菌株的选择 分别称取其 2.5g 各加入到 100mL 含有 1% 的乙酸、10% 的乙醇酯化液中, 于 32℃ 恒温酯化 120h, 分别测定各试样滤液中乙酸乙酯的含量。采用改进的电位滴定法^[1-3]。吸取样品 25.0mL 于 150mL 锥形瓶中, 以 0.1mol/L NaOH 标准溶液中和至终点为 pH 8.20, 记录消耗 NaOH 标准溶液的毫升数。再准确加入 0.1mol/L NaOH 标准溶液 12.50mL, 密闭封口, 在 30℃ 的培养箱中静止皂化 24h, 然后用 0.05mol/L H₂SO₄ 标准溶液进行反滴定, 滴定至 pH 9.20 为终点, 记录消耗 0.05mol/L H₂SO₄ 标准溶液的体积, 并按下式计算总酯(以乙酸乙酯, mg/100mL)的含量:

收稿日期: 2007-02-05

作者简介: 张东亮 (1981-), 男, 硕士, 研究方向: 食品发酵与调味品。

基金项目: 东莞市发展科研专项基金资助 (B12D8064130)。

$$X = (C_1 \cdot 12.50 - 2 \cdot C_2 \cdot V) \cdot 88 \cdot 100 / 25$$

式中: X: 100mL 待测样品中总酯的含量 (以乙酸乙酯计), mg/100mL; C: NaOH 标准溶液的摩尔浓度, mol/L; 12.5 皂化时, 加 0.1mol/L NaOH 标准溶液的体积, mL; C₂: H₂SO₄ 标准溶液的摩尔浓度, mol/L; V: 测定时, 消耗 0.05mol/L H₂SO₄ 标准溶液的体积, mL; 88 与 1.00mL NaOH 标准溶液 [C(NaOH) = 1.00mol/L] 相当的毫克表示的乙酸乙酯; 25.0 取样体积, mL。

2 结果与分析

几种红曲霉的糖化、酯化能力如表 1。

表 1 红曲霉的糖化、酯化能力

名称	酶活力	酯化能力
1st	407	46.8
2nd	204	38.9
3rd	212.1	42.6
4h	405	49.6
5h	262.5	50.2
6h	371.2	56.3
7h	236.25	50
8h	406.1	51.2
FM002	182.5	51.3
GM011	125	52

由图 1 可以直观的得出样品 8st 的糖化酶、酯化酶活力都很强, 故可用 8st 作为生料酿酒的酶制剂。

3 讨论

由图 1 可知, 糖化能力高的红曲霉菌株, 其酯化能力相对较低。浓香型白酒己酸乙酯的形成原理说法不一, 但多数学者认为它由己酸菌群产生的己酸

(上接第 110 页) 极显著 ($p < 0.01$)。极差分析中得到的发酵最佳条件与实验中所得的实验结果相一致, 确定最佳发酵条件为: 嗜热链球菌: 干酪乳杆菌 = 1:2, 总接种量为 0.02%。

3 结论

3.1 在脱蛋白乳清中, 嗜热链球菌为 42°C, 乳脂链球菌为 30°C, 保加利亚乳杆菌和干酪乳杆菌在不同温度下 8h 内产酸速度相接近, 但随着温度的提高保加利亚乳杆菌在发酵初期产酸速度有一定程度的提高。

3.2 在各自最适的温度下, 产酸速度依次为: 嗜热链球菌 > 乳脂链球菌 > 保加利亚乳杆菌 > 干酪乳杆菌。干酪乳杆菌产酸能力较弱, 但在发酵过程中能够产生一种类似于干酪的风味。

3.3 为了在各自最适的温度下得到较快的产酸速度, 保加利亚乳杆菌与干酪乳杆菌复配的比例为 1:1, 嗜热链球菌与干酪乳杆菌复配的比例为 1:1 或 2:1, 乳脂链球菌与干酪乳杆菌复配的比例为 2:1。

3.4 通过复配发酵正交实验得到, 发酵时间为 4h, 嗜热链球菌与干酪乳杆菌比为 1:2, 总接种量为

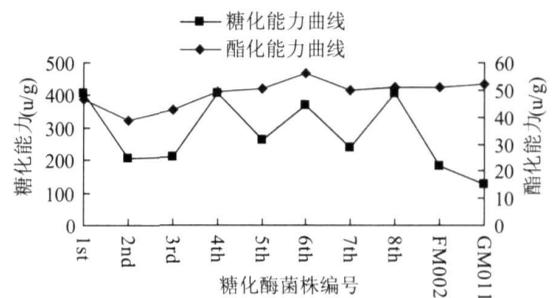


图 1 红曲霉糖化、酯化能力曲线

与乙醇酯化而成。据此白酒界在分离优良的己酸菌株, 研究己酸菌培养的配方及培养条件方面做了许多工作, 使其多产己酸和稳定己酸产率, 并向白酒醅中灌入己酸菌液。但采用上述提高成品酒中己酸乙酯含量的方法, 因酯化速度太慢, 故在极有限的时间内, 酯化率较低^[4]。本文对红曲霉菌进行纯种培养, 使红曲霉菌最大限度的合成己酸乙酯合成酶, 然后应用于酿酒上, 加快窖内己酸乙酯的合成速度, 提高酯化率, 从而达到提高优质酒中乙酸产率的目的。

参考文献:

- [1] 齐凤元. 关于酱油中总酸、总酯含量的连续分析技术的研究 [J]. 中国酿造, 2004(6): 34-35.
- [2] 刘群. 用电位法测定“产酯酵母”的总酯 [J]. 中国调味品, 1996(5): 27-28.
- [3] 郑淑芳. 现行白酒、食醋中总酯测定方法的改进意见 [J]. 中国调味品, 2003(1): 34-35.
- [4] 沈怡方. 白酒生产技术全书 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 192-193.

0.02%, 接种发酵酸度上升值最大, 为 12.97°T, 乳糖降解率为 7.13%。

参考文献:

- [1] 蒋福虎, 马偕珍, 等. 低度乳清酒的研制 [J]. 山西农业大学学报, 1998, 18: 54-57.
- [2] 谢继志, 杨文, 葛庆丰, 张爱晖. 乳清酒发酵条件及发酵动态的研究 [J]. 中国乳品工业, 1999(1): 3-6.
- [3] 中华人民共和国国家标准 牛乳检验方法, GB 5409-85 [S].
- [4] 中华人民共和国国家标准 婴幼儿配方食品和乳粉乳糖、蔗糖和总糖的测定, GB/T 5413.5-1997 [S].
- [5] R I Dave, N P Shah. Evaluation of media for selective enumeration of streptococcus thermophilus, lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus, lactobacillus acidophilus and bifidobacteria [J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79: 1529-1536.
- [6] 樊爱斌, 耿丹. 乳清发酵特性研究 [J]. 山西农业科学, 2001, 29(3): 86-89.
- [7] 张秀红, 马偕珍, 刘润生. 发酵型乳清饮料的加工工艺 [J]. 中国食物与营养, 2000(4): 32-33.