

浓香型白酒主要发酵产物生成与微生物类群的动态变化

余有贵¹, 罗俊², 熊翔², 杨志龙², 肖庚成²

(1.邵阳学院生物与化学工程系, 湖南邵阳 422000;

2.湖南湘窖酒业有限公司, 湖南邵阳 422004)

摘要:为了探索浓香型白酒发酵过程中物质变化趋势,采用气相色谱分析和常规分析的方法,跟踪测定不同层次粮糟在不同发酵时间的主要代谢产物含量。研究表明:糟醅中乙醇、总酸、总酯含量与微量香味成分随着发酵时间的延长呈现一定的规律性;下层糟醅中的产物相应高于上层糟醅中产物;微生物类群数量的相对变化幅度为:酵母菌>细菌>霉菌;上层糟醅的霉菌、酵母菌与细菌的数量分别略高于其下层糟醅的霉菌、酵母菌与细菌数量。本研究初步揭示了浓香型白酒的发酵机理。

关键词:浓香型白酒;固态发酵;糟醅;代谢产物;微生物区系;动态分析

Dynamic Variation of Main Products and Microflora during the Fermentation of Luzhou-flavor Liquor

YU You-gui¹, LUO Jun², XIONG Xiang², YANG Zhi-long², XIAO Geng-cheng²

(1. Department of Biology and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China;

2. Hunan Xiang Jiao Liquor Co. Ltd., Shaoyang 422004, China)

Abstract: Main fermentation products in fermented grains were determined by GC and conventional analysis methods at different depth and time points in order to explore the fermentation process of Luzhou-flavor liquor. The results showed that ethanol, total acids, total esters and aroma components in fermented grains changed regularly in the whole process of fermentation. The main fermentation products in the lower fermented grains were higher than the counterparts in the upper fermented grains. The relative variation ranges in the numbers of different species of microbes decreased in the following order: yeast > bacteria > fungi. The numbers of mold, yeast and bacteria in the upper fermented grains were slightly higher than those in the lower fermented grains. This study preliminarily reveals the fermentation mechanism of Luzhou-flavor liquor.

Key words: Luzhou-flavor liquor; solid-state fermentation; fermented grains; metabolites; microflora; dynamic analyses

中图分类号: TS262.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)01-0170-04

浓香型白酒的生产以泥窖为基础,发酵过程是栖息于窖池糟醅、窖泥的庞大微生物区系在糟醅固、液、气三相界面复杂的物质能量代谢过程,产生的代谢产物构成了浓香型白酒特有的风格^[1]。浓香型白酒的产量约占中国白酒总产量的70%,由于不同地区的土壤、气候条件等存在差异,酿酒微生物生长、繁殖的生态环境也会跟着变化。尽管对提高浓香型白酒质量方面的研究报道较多,但粮糟发酵过程中风味物质形成的动态变化研究少见^[2-4]。

为了探索发酵过程中物质变化趋势、白酒质量与组成成分之间的相互关系,本实验以湖南湘窖酒业有限公司酿酒车间正常发酵窖池为实验场地,跟踪测定不同层次粮糟发酵过程中主要代谢产物的含量与主要微生物类群数量的变化,以便更好地指导企业生产,提高白酒产品的产量与质量。

1 材料与方法

1.1 实验窖池、取样与培养基

收稿日期: 2011-09-30

基金项目: 邵阳市科技计划项目(C1142; C1021); 湖南省科技计划项目(2009NK3120)

作者简介: 余有贵(1964—),男,教授,博士,研究方向为发酵技术与酶制剂的应用开发。E-mail: yufly225@yahoo.com.cn

酒醅：以湖南湘窖酒业有限公司生态工业园酿造一车间正常发酵窖池为实验窖池，在粮糟的一个发酵周期(60d)内，用取样器对指定位置的入窖粮糟的糟醅进行定点跟踪取样(4~6月)，取样的位置分别为窖池的上层和下层，上层距窖顶0.6m，下层距窖顶1.6m，取得的粮糟醅样品装入无菌袋中密封。

细菌分离培养基(营养琼脂培养基)、酵母菌分离培养基(麦芽汁培养基) 杭州微生物试剂有限公司；霉菌分离培养基(PDA培养基) 自制^[5]。

1.2 仪器与设备

500mL全玻璃蒸馏器、酸碱滴定仪器 南京三爱玻璃仪器公司；DMA5000密度仪 奥地利安东帕(中国)有限公司；GC-14c型气相色谱 日本岛津公司。

1.3 测定方法

乙醇体积分数：采用密度测定法^[5]。取100.0g新鲜粮糟样品，加入300mL蒸馏水，用500mL全玻璃蒸馏器蒸馏，收集100mL前馏出液，采用密度仪测定乙醇体积分数，并查表校正为20℃时乙醇体积分数，用%表示。

总酸含量：采用中和滴定法^[6]，用mmol/100g表示。

总酯含量：采用皂化反滴定法^[6]，用mmol/100g表示。

微量有机酸和酯含量：采用气相色谱法。取100.0g新鲜粮糟样品，加入300mL蒸馏水，用500mL全玻璃蒸馏器蒸馏，收集100mL前馏出液，采用气相色谱法测定各有机酸和酯的含量^[6]，用mg/100mL表示。

微生物总数：采用稀释平板分离法，计数菌落数(CFU)，用lg(CFU/g)表示。

2 结果与分析

2.1 粮糟发酵过程中酒精体积分数的变化

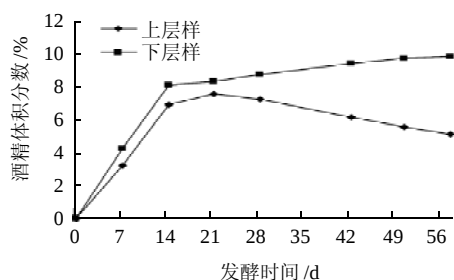


图1 粮糟发酵过程中酒精体积分数的变化

Fig.1 Changes in ethanol content of fermented grains during fermentation

从图1可知，下层糟醅发酵过程中酒精体积分数呈现前期缓慢上升、中期快速升至高峰基本稳定、后期缓慢下降的趋势。由于入窖温度低，前期糖化速度较慢，相应地酵母菌发酵也慢，生成的酒精少；随着发酵温度的升高，酒醅进入旺盛的酒精发酵阶段，酒度

逐渐增加，至15~20d左右达到最高值；后期的发酵温度逐渐降低，酵母菌逐渐趋向衰老死亡，酒精的生成量趋于稳定，但随着细菌和其他微生物数量增加，酒精等醇类和各种酸类进行缓慢而复杂的酯化作用，酒精体积分数会稍有下降^[7-8]。

下层糟醅较上层糟醅的酒精体积分数高。一方面是因为处于窖池下部糟的厌氧程度高于上部糟，酵母菌发酵产酒精早而多；另一方面，随着发酵的进行，由于重力的作用，黄水将上部糟产生的酒精下沉扩散到窖池下部糟中，尽管下层酒精虽因酯化作用等消耗，但上层的沉积所产生的效果更加明显，所以下层糟后期一直呈缓慢上升趋势。

2.2 粮糟发酵过程中总酸含量的变化

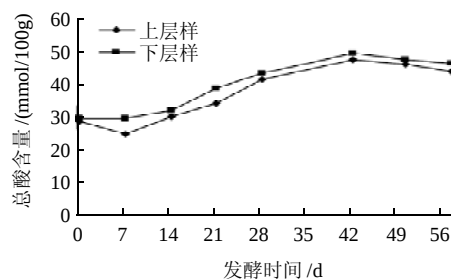


图2 粮糟发酵过程中总酸含量的变化

Fig.2 Changes in total acid content of fermented grains during fermentation

从图2可知，下层糟醅总酸含量前期缓慢上升、中后期快速升高、后期有所下降。前期由于产酸微生物的代谢作用，产生一定量的酸类物质，且微生物的生酸量要大于酯化减少的量，总酸含量增加；旺盛的酒精发酵阶段之后，随着细菌和其他微生物数量增加，厌氧代谢加快生酸，总酸含量会渐渐升高；到了后期微生物产酸作用减弱，酯化作用加强，酸的消耗量大于生成量，总酸含量下降^[9]。

上层粮糟醅与下层粮糟醅的总酸含量整体变化趋势相同，但下层糟醅总酸含量略高于上层糟醅的总酸含量，主要是发酵产生的黄水将上部糟产生的酸下沉扩散到窖池下部糟中积累所致。

2.3 粮糟发酵过程中乙酸、丁酸与己酸含量的变化

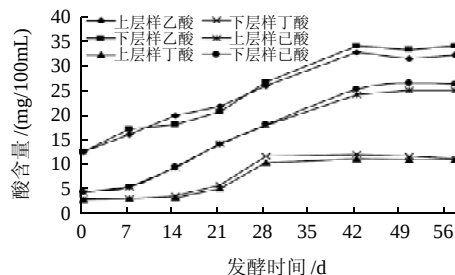


图3 粮糟发酵过程中3种酸含量的变化

Fig.3 Changes in acetic acid, butyric acid and caproic acid contents of fermented grains during fermentation

从图3可知,3种酸的变化与总酸度的变化趋势基本相同;3种酸的含量大小依次为:乙酸>己酸>丁酸;且同一酸成分在上层糟醅和下层糟醅中相差不大。

2.4 粮糟发酵过程中总酯含量的变化

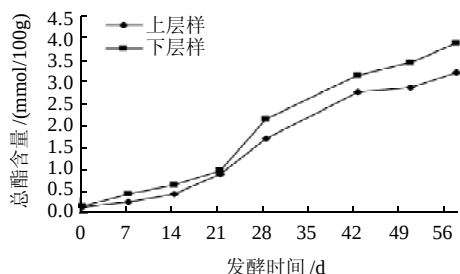


图4 粮糟发酵过程中总酯含量的变化

Fig.4 Changes in total ester content of fermented grains during fermentation

从图4可知,糟醅中总酯的含量一直在增加,前期变化较缓慢,而中期和后期增长较快。由于前期以酒精发酵为主,酯化作用较弱,前期产酯少;随着发酵进行,细菌的生酸作用使酸度上升,酯化作用的底物(醇类和酸类)浓度增加,所以酯化反应的正向反应大于逆向反应,所以发酵中期和后期的酯含量逐渐上升。

下层糟醅较上层糟醅的总酯含量高。一方面是因为在窖池的生态环境中,除下层糟醅中微生物酯化作用积累酯类物质外,由于窖底泥厌氧功能菌多、代谢更旺盛,导致窖底泥产生的酯类等代谢产物不断地进入糟醅中,使窖池下部糟醅酯含量高;另一方面,发酵产生的黄水将上部糟醅产生的酯类物质下沉扩散到窖池下部糟醅中积累所致^[1]。

2.5 粮糟发酵过程中3种酯类含量的变化

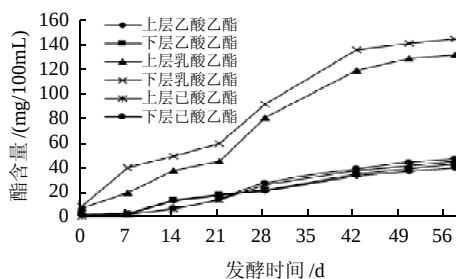


图5 粮糟发酵过程中3种酯含量的变化

Fig.5 Changes in ethyl acetate, ethyl lactate and ethyl caproate contents of fermented grains during fermentation

从图5可知,糟醅中3种酯含量呈现前期缓慢上升、中后期快速上升、后期缓慢上升的趋势。3种酯的含量大小依次为:乳酸乙酯>己酸乙酯>乙酸乙酯,其中乳酸乙酯的变化趋势与总酯的变化趋势具有相似性。在粮糟发酵的一个周期内,由于固态配醅发酵带入了上一轮

次糟中的酸,在微生物生长和主要进行酒精发酵的前期和中期,进行着缓慢的酯化反应。随着发酵进入中后期,以产香为主的细菌占优势,酯化反应加快而呈上升趋势。尤其是乳酸菌发酵产生乳酸增多,乳酸乙酯的合成加快,它的含量几乎在总酯中占有支配地位,使得其变化趋势与总酯的变化趋势具有较好的相似性。

同一酯成分含量为下层糟醅略高于上层糟醅,主要是黄水的沉降作用和栖息于窖泥中的功能菌产生的代谢产物不断地进入底部糟醅中所致,从而促进了酒质的提高。

2.6 粮糟发酵过程中微生物类群的变化

表1 粮糟发酵过程中微生物类群的变化

Table 1 Changes in microflora during fermentation

发酵时间/d	lg(CFU/g)					
	上层酒醅微生物			下层酒醅微生物		
	霉菌	酵母菌	细菌	霉菌	酵母菌	细菌
0	4.6232	5.6812	4.0473	4.6385	5.6385	4.0374
7	4.5119	6.3820	5.1945	4.3222	6.2541	5.1430
14	3.6435	5.9566	5.5653	3.4314	5.9190	5.4417
21	4.0512	5.5911	5.2776	3.9800	5.4624	5.2901
28	4.0170	5.4548	5.6385	3.9934	5.3757	5.6230
42	4.1761	3.2672	5.1335	4.1367	3.1324	5.0394
57	4.1123	3.2553	5.3818	4.0719	3.1061	5.1180

从表1可知,霉菌在粮糟入窖发酵第1周略有减少,第2周进入低谷,第3周回升到 10^4 CFU/g左右,在以后的发酵过程中变化幅度较小;霉菌数量变化总体相对较小,其中上层糟醅的霉菌数略高于下层糟醅的霉菌数。酵母菌在粮糟入窖发酵第1周略有增加,第2~4周略有回落,第6周迅速下降进入低谷 10^3 CFU/g左右,在以后的发酵过程中变化极小;酵母菌数量变化总体相对较大,其中上层糟醅的酵母菌数略高于下层糟醅的酵母菌数。细菌在粮糟入窖发酵第1周迅速增加,第2周略有增加,在以后的发酵过程中变化较小;细菌数量变化总体相对适中,其中上层糟醅的细菌数略高于下层糟醅的细菌数。

3 讨论

浓香型大曲酒的发酵过程在泥窖内密封条件下进行,大曲粉、窖泥、生产环境和工用器具等提供了糟醅中的微生物类群。在入窖前期,好氧和兼性好氧微生物(包括霉菌、酵母菌、好氧细菌)利用糟醅颗粒间形成的缝隙所含的稀薄空气进行繁殖,从而使相应类群的数量增加。其中霉菌是糖化的动力,能将可溶性淀粉转化成葡萄糖;当好氧微生物将窖内氧气消耗殆尽以后,酵母菌在无氧环境中将葡萄糖发酵生成酒精。因此,在粮糟入窖的前3周,霉菌和酵母菌协同作用下边

糖化边发酵,进入生成以酒精为主要代谢产物的主发酵期^[10]。

有机酸是浓香型白酒的重要呈味物质,在糟醅的发酵过程中,酸的种类与酸的生成途径是多种多样的,其中细菌的代谢活动是窖内发酵产酸的主要途径,如醋酸菌将霉菌代谢产生的葡萄糖发酵生成醋酸,醋酸菌还可将回酒入窖的酒精和发酵过程产生的酒精氧化生成醋酸,乳酸菌同样可将葡萄糖发酵生成乳酸,窖泥或酯化液中已酸菌利用淀粉、葡萄糖、乙酸或丁酸等进行发酵合成己酸。因此,发酵的中后期糟醅中的有机酸会大量积累,但是,酸类物质是酯类物质生成的前体物质,酯类的生成会消耗一部分醇和酸而降低糟醅中醇和酸的含量^[1,11]。

酯类物质是浓香型白酒的主要呈香呈味物质,其中己酸乙酸、丁酸乙酯、乳酸乙酯、乙酸乙酯的含量与配比决定着浓香型白酒的质量及风格^[6-7]。随着发酵窖池中微生物代谢的进行,积累了大量的有机酸和乙醇,在微生物所含酯酶的作用下通过一系列的生化反应生成了乙酯类成分。因此,发酵的中后期既是生酸期又是酯

化期,尽管醇、酸酯化作用缓慢,但通过适当延长发酵周期可提高糟醅中的酯类物质含量。

参考文献:

- [1] 余有贵,李侦,熊翔,等.窖泥微生态的主要特征研究[J].食品科学,2009,30(21):258-261.
- [2] 张文学,岳元媛.浓香型白酒酒醅中化学物质的变化及积累规律性[J].四川大学学报:工程科学版,2005,37(4):44-48.
- [3] 沈怡方.白酒中四大乙酯在酿造发酵中形成的探讨[J].酿酒科技,2003(8):28-31.
- [4] 舒代兰,张丽莺,张文学,等.浓香型白酒糟醅发酵过程中香气成分的变化趋势[J].食品科学,2007,28(6):89-92.
- [5] 杨文博.微生物学实验[M].北京:化学工业出版社,2004:217.
- [6] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2009:656-756.
- [7] 章克昌.酒精与蒸馏酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2004:462-465.
- [8] 吕辉,张宿义,冯治平,等.浓香型白酒发酵过程中微生物消长与香味物质变化研究[J].食品与发酵科技,2010(3):37-59.
- [9] 郝建宇,张宿义,赵金松,等.浓香型白酒质量糟醅发酵过程中的动态研究[J].中国酿造,2011(6):37-59.
- [10] 沈怡芳.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2009:270-332.
- [11] 刘园园,毛晓东,张玉梅.白云边酒入池发酵过程酒醅中的微生物分析[J].酿酒,2011,38(3):32-34.