

不同发酵周期对清香型白酒生化指标的影响

王明成 王 冶 徐 锦 王雪飞 黄淮学院生物与食品工程学院 河南驻马店 463000

作者简介: 王明成(1978.07—), 男, 汉族, 河南泌阳人, 高级实验师, 在读博士, 研究方向: 微生物资源的开发与利用。

摘要: 研究以水、高粱、豌豆、小麦、大枣、稻米和板栗为原料, 以低温大曲和酵母菌为菌种, 经“清蒸二排清”工艺酿造纯粮清香型白酒。为检验 120 d 发酵周期的纯粮白酒部分生化指标是否满足国家食品安全要求, 研究通过分析不同发酵时期清香型白酒中特征指标含量的变化得出以下结论: 与 30 d 发酵周期的纯粮白酒相比, 120 d 发酵周期的纯粮白酒部分生化指标中乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯、仲丁醇含量显著升高($P < 0.05$), 异戊醇、异丁醇含量显著降低($P < 0.05$)。甲醇、正丙醇、正丁醇含量略有升高, 但差异不显著($P > 0.05$)。

关键词: 发酵周期; 清香型白酒; 气相色谱分析

发酵周期就是将各种原料配比调整合适的糟醅装入发酵容器中经糖化发酵, 产生醇、酸及其酯等多种微量成分所需要的时间^[1]。清香型白酒采用“清蒸二排清”的生产工艺^[2], 即两次发酵, 两次蒸馏。清香型白酒的发酵周期从 21 d 到 60 d 不等。为了追求白酒更好的品质, 必须不断试验改进发酵周期, 并且由于不同原料配方生产的清香型白酒对发酵周期的要求不尽相同。根据不同的企业计划和目的, 探索适合自己配方以及达到自己要求的发酵周期是每个企业的追求和理想^[3]。

研究以水、高粱、豌豆、小麦、大枣、稻米和板栗为原料, 以低温大曲和酵母菌(小曲)为菌种, 经“清蒸二排清”的工艺蒸馏生产纯粮清香型白酒。经反复试验, 每次发酵周期为 30 d。2020 年因“新冠”疫情影响, 已经发酵的纯粮清香型白酒的发酵周期由 30 d 延长到 120 d。在蒸馏过程中发现, 发酵周期为 120 d 的出酒量比发酵周期为 30 d 的出酒量提高 6.67%。

感官评价发现, 发酵周期为 120 d 的 52 %vol 的纯粮清香型白酒酒体清澈透明、无悬浮、无沉淀, 且清香纯

正、典雅协调、带有乙酸乙酯的果香, 口感也更加地绵甜甘冽、清爽宜人、余味更加悠长。通过产量和感官评价指标, 发现适当延长发酵时间, 提高了纯粮清香型白酒的产量和风味, 但不知发酵周期为 120 d 的纯粮清香型白酒中的生化指标是否符合国家食品安全要求, 对此进行了进一步研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

发酵周期分别为 30 d、120 d 的纯粮清香型白酒。

1.2 实验方法

利用气质分析仪(赛默飞, TRACE1300)对发酵周期分别为 30 d、120 d 的纯粮清香型白酒中部分生化指标的含量进行分析。

1.3 实验过程

内标品的制备: 标准品采用高纯度的己酸正丁酯为内标物质, 溶剂为 60 % 的乙醇水溶液, 重量法配制而成。每次吸入 10 mL 的样品, 加入 100 μ L 的内标, 混标, 然



后进入气质色谱仪中进行测定。该次的测定操作过程严格按照 GB/T10345-2007 的规定进行。

2 结果与分析

根据标准品含量, 计算出了纯粮清香型白酒中部分生化指标的含量, 详见表 1。

由表 1 分析可知, 与 30d 发酵周期的纯粮清香型白酒相比, 120 d 发酵周期的纯粮白酒部分生化指标中的乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯、仲丁醇含量显著升高 ($P < 0.05$), 异戊醇、异丁醇含量显著降低 ($P < 0.05$), 甲醇、正丙醇、正丁醇含量略有升高, 但差异不明显 ($P > 0.05$)。

发酵周期为 120 d, 发酵周期为 30 d 的纯粮清香型白酒中甲醇的含量没有超过国家清香型白酒的食品安全标准。

3 讨论

3.1 不同发酵周期对纯粮清香型白酒酯类物质含量的影响

研究显示, 乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯含量在 120 d 发酵周期的纯粮清香型白酒中显著增高, 且差异性显著 ($P < 0.05$)。

乙酸乙酯的产生主要有三条途径^[4], 第一条途径是酵母菌代谢产生, 在酵母菌细胞内通过各种酶促反应得到。第二条途径是, 在酵母菌细胞外, 胞外酶作用于乙醇与乙酸反应得到。第三条途径是乙醇与乙酸发生缓慢

的酯化反应得到, 与酶促无关。乙酸乙酯的生成前两条途径主要是在发酵中期形成。第三条途径是在发酵后期, 乙醇与乙酸大量积累的情况之下合成^[5]。研究数据和分析结果得到, 在 120 d 发酵周期中由于发酵时间的延长, 乙酸菌的繁殖与积累, 发酵中后期乙醇与乙酸大量的产生, 在合适的条件之下乙醇与乙酸酯化反应生成乙酸乙酯。由于乙酸乙酯是香型白酒的主体香气物质, 是香型白酒的主要香气物质, 乙酸乙酯含量的高低直接决定了香型白酒的质量、香味和口感, 建议在酿造过程中适当延长发酵周期。小曲和大曲发酵时应加产乙酸乙酯的酵母菌, 并控制其他杂菌的进入。发酵温度也同样影响乙酸乙酯的产生, 其最佳发酵温度为 30-35℃, 发酵时应控制好温度。

乳酸乙酯是由乳酸菌产生的乳酸和酵母菌产生的乙醇酯化反应得来。乳酸主要来源于乳酸菌, 而乳酸菌在发酵过程中随着温度和湿度的增加而不断地增加扩繁^[6]。除此之外, 夏季温度偏高, 有利于乳酸菌的繁殖, 并且随着发酵时间的延长, 发酵培养基内 pH 降低, 温度升高, 这些条件都有利于乳酸菌的生长^[7]。乳酸菌的增加也增加了乳酸的产生量, 在延长发酵周期的情况之下, 乳酸与乙醇发生酯化反应, 从而提高了乳酸乙酯的含量。因为乳酸乙酯对于清香型白酒品质的影响仅次于乙酸乙酯, 且是清香型白酒提供香气的必需物质, 所以建议在今后纯粮清香型白酒生产过程中, 应适当调整发酵周期, 控制发酵温度在正常范围 30-35℃及发酵培养基 pH5.5-5.8^[8], 将乳酸乙酯

表 1 不同发酵周期纯粮清香型白酒中部分生化指标的含量对比表

序号	指标	30 d (g/L)	120 d (g/L)	清香型白酒 GB10781.2-2006
1	乙酸乙酯	0.68 ^a ± 0.00092	1.45 ^b ± 0.0016	总酯 g/L: 优级 ≥ 1.00, 一级 ≥ 0.60
2	乳酸乙酯	0.23 ^a ± 0.0054	0.87875 ^b ± 0.0011	
3	己酸乙酯	0.00 ^a ± 0.00	0.00365 ^b ± 0.00011	
4	仲丁醇	0.00 ^a ± 0.00	0.015 ^b ± 0.00078	新国标无要求
5	异丁醇	0.35 ^a ± 0.0040	0.20 ^b ± 0.00	
6	正丁醇	0.0060 ^a ± 0.00014	0.0055 ^a ± 0.00042	
7	正丙醇	0.080 ^a ± 0.024	0.11805 ^a ± 0.00064	
8	异戊醇	1.057 ^a ± 0.022	0.7393 ^b ± 0.00057	
9	甲醇	0.113 ^a ± 0.0047	0.1361 ^a ± 0.0033	甲醇 ≤ 0.40 g/L

注: 表中平均数右肩字母相同代表差异不显著 ($P > 0.05$), 不相同代表差异显著 ($P < 0.05$)。



含量控制在合适范围,并且严格控制杂菌的污染和白酒大曲中乳酸菌的含量^[9]。

己酸乙酯的合成微生物可分为两类,一类是胞内酯化生产己酸乙酯分泌到胞外的微生物,据现有报道包括有酵母菌和己酸菌。第二类则是通过微生物自身产酯酶分泌到胞外酯化己酸与乙醇形成的己酸乙酯,其中酵母菌包括产酯酵母^[10]、生香酵母,霉菌有红曲霉、根霉,己酸菌包括芽孢杆菌、伯克霍尔德菌^[11]。在胞外酶的作用之下乙酸乙酯与乙醇反应生成丁酸乙酯,然后丁酸乙酯再与乙醇反应生成己酸乙酯。发酵时间延长有利于己酸与乙醇反应得到己酸乙酯。己酸乙酯为浓香型白酒的主体香物质^[12],但是在清香型白酒中己酸乙酯也起到了重要的作用,丰富了清香型白酒的香气,提升了清香型白酒的口感,所以建议在今后纯粮清香型白酒生产当中,适当延长发酵周期,提高大曲质量,添加适量的产酯酵母有助于纯粮清香型白酒己酸乙酯的生成。

3.2 不同发酵周期对纯粮清香型白酒杂醇油类物质含量的影响

由分析结果可知,异戊醇、异丁醇含量显著降低($P < 0.05$),甲醇、正丙醇、正丁醇含量略有升高,但差异不显著($P > 0.05$)。

杂醇油包括仲丁醇、异丁醇、异戊醇、正丁醇、正丙醇。杂醇油也属于酵母菌代谢产物,主要在发酵后期产生,且杂醇油之间也会相互转化从低级醇转化为高级醇^[13-14]。清香型白酒中规定杂醇油总含量不得高于1.20 g/L,杂醇油产生于清香型白酒的发酵后期,主要是由于发酵过程中,温度控制不及时导致发酵温度过高。适量的杂醇有助于提升清香型白酒的香味和口感,建议在今后纯粮清香型白酒生产中适当延长发酵周期,控制发酵温度。当然,发酵温度不宜过高,温度太高,则会造成杂醇油太高从而造成酒味苦涩。此外,增加小曲的用量来降低杂醇油的生成量,增加小曲类似于增加蛋白质含量,从而提高氮的含量来降低杂醇油的产生。

4 结论

通过分析不同发酵时期清香型白酒纯粮白酒中特征指标含量的变化得出以下结论:与30 d发酵周期的纯粮白酒相比,120 d发酵周期的纯粮白酒部分生化指标中乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯、仲丁醇含量显著升高(P

< 0.05),异戊醇、异丁醇含量显著降低($P < 0.05$),甲醇、正丙醇、正丁醇含量略有升高,但差异不显著($P > 0.05$)。

参考文献

- [1] 刘建英. 浅析发酵周期过长及调整措施[J]. 酿酒科技, 2001(02):37-35.
- [2] 白光辉, 刘彦龙, 胡铁功. 两排清工艺夏季生产适宜参数研究[J]. 酿酒, 2011(01):74-75.
- [3] 冯文静. 汾酒的坚守与传承[J]. 中国酒, 2015(07):56-58.
- [4] 尚立成, 徐万秀, 李建民. 气相色谱测定清香型白酒中乙酸乙酯不确定度评定[J]. 食品与发酵科技, 2014(3):57-59.
- [5] 李莉, 王秋叶, 盛夏, 等. 白酒中酯类对酒质的影响[J]. 食品安全导刊, 2016(36):124.
- [6] 王进明, 刘忠军. 清香型白酒乳酸乙酯偏高的原因及解决措施[J]. 酿酒, 2012, 39(04):81-84.
- [7] 张琦, 李文, 林燕, 等. 高浓度发酵中酵母菌性能调控及优化[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(03):5-11.
- [8] 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(05):28-31.
- [9] 刘志磊. 清香型白酒发酵过程主要功能微生物代谢特性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2011.
- [10] 王朝阳. 清香型大曲白酒产酯酵母的筛选及鉴定[D]. 太原: 山西大学, 2019.
- [11] 梁龙元, 王露, 薛栋升. 白酒酿造中酯酶及己酸乙酯的研究进展[J]. 酿酒, 2018, 45(01):17-23.
- [12] 王月梅, 赵迎路. 清香型白酒发酵中的酯化研究[J]. 酿酒科技, 2003(01):35-37+39.
- [13] 王尹叶. 白酒中挥发性呈苦和/或涩味物质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- [14] 陈海昌, 刘中山, 刘静, 等. 酵母酒精发酵中杂醇油形成影响因素的研究[J]. 食品与发酵工业, 1985(05):23-29.

