

综 述

对浓香型大曲酒中主体香 ——己酸乙酯的几点思考

顾国贤 谢国银

(发酵工程系)

在白酒工业中,我国每年生产四、五百万吨白酒,而这四、五百万吨白酒却有85%左右的粗酒精饮料^[1],严重影响了广大劳动人民的生活水平。我国的浓香型大曲酒,如五粮液、泸州老窖、古井贡酒、洋河大曲、双沟酒、剑南春等都享誉海内外,深受广大人民群众喜爱。但由于产量低,价格高,尚不能满足广大劳动人民的需要。近几年,浓香型大曲酒的生产在全国各地迅速发展,这方面的科研报道越来越多,已引起了广大酿酒行业的科研工作者的重视。

1 己酸乙酯是大曲酒的主体香

在大曲酒中,四大酯:乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯和己酸乙酯的含量均较高,但由于四大酯的含量和味阈值均不一样,其Fu值也不一样,因而对大曲酒香味的贡献也相差很大。Fu值是评价这些成分对浓香型大曲酒贡献的最客观的标准。 $Fu = \frac{\text{酯的含量}}{\text{味阈值}}$ 几种典型的大曲酒中四大酯含量的数据见表1^[2]。其中各种酯的Fu值见表2。

从表中可以看出,无论在五粮液、泸州老窖中,还是在洋河大曲中或剑南春中,己酸乙酯均是其中的主体香,对浓香型大曲酒的贡献最大,其赋予浓香型大曲酒“芳香浓郁的特征”。

表1 大曲酒中的四大酯含量*

	五粮液 (mg/100ml)	泸州老窖 (mg/100ml)	洋河大曲 (mg/100ml)	剑南春 (mg/100ml)	味阈值 (mg/100ml)
乙酸乙酯	76.5	73.8	45.2	81.6	17
丁酸乙酯	16.5	10.0	8.8	16.2	0.15
乳酸乙酯	114.0	141.5	78.5	85.3	14.0
己酸乙酯	174.7	119.0	176.0	137.0	0.075

* 表中酯的含量是气相色谱分析结果。

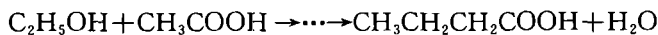
收稿日期:1992-10-29

表 2 四大酯中的 Fu 值

	五粮液	泸州老窖	洋河大曲	剑南春
乙酸乙酯	4.50	4.31	2.66	4.80
丁酸乙酯	110	66.67	58.67	108
乳酸乙酯	8.14	10.11	5.61	6.09
己酸乙酯	2329.33	1586.67	2346.67	1826.67

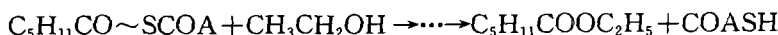
2 主体香的合成机理

关于浓香型大曲酒中主体香己酸乙酯的生成是由于泥中栖息着大量嫌气性梭状杆菌。这些菌由于芽孢具有耐热性,生产代谢过程耗能低,可以长期寄生在土壤中,在环境适宜、营养充足时,通过两个阶段合成己酸。即:



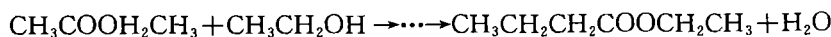
在酿酒时,酒醅的多种微生物提供了生成己酸的原料,同时窖泥环境及酒窖的厌氧条件又利于梭状杆菌的活动,因此有可能形成大量的己酸。参与上述反应的酶有 10 余种,还有辅酶 A、NADP 等辅酶。但并不是在酒醅发酵的整个过程中都有利于合成己酸,从上面的反应可以看出,乙醇是合成己酸不可缺少的前驱物质,一般认为乙醇浓度为 2% 时为宜。成都生物所认为泸州老窖酒己酸菌可以耐较高浓度的乙醇,他们从酒醅中分离出的 LC-0 号菌当乙醇浓度达 6% 时,产酸量仍能维持较高水平。LC-4 菌乙醇浓度在 1%~4% 范围内,以 3% 浓度产酸量最高。茅台试点认为酒醅浸出液中,在含 CaCO_3 的情况下,耐乙醇能力为 5%,但在 2% 时产己酸量最多。由此可见:乙醇浓度在 2%~3% 时,最宜生成己酸^[3]。

生成己酸后,第二步则将己酸转变成己酸乙酯。这一步可由己酸菌完成,亦可由酵母完成。在浓香型大曲酒发酵过程中,当乙醇的含量增加到一定时,酵母的发酵作用逐渐减弱,以至停止。此时,在酵母的微粒体中,以以下途径将己酸转变成己酸乙酯,方程式如下:



中国科学院微生物研究所著名的工业微生物创始人方心芳教授根据多年的研究指出:“若在己酸发酵液中加入产酯酵母菌及乙醇,则产生多量的己酸乙酯。”为了促进己酸到己酸乙酯的合成,四川省科委曾下达过《产酯酵母的选育及应用》的重点科研项目,并筛选出了产酯能力在 700mg/100ml 以上的优良酵母菌株,使基础酒提高了 1~2 个等级。酒中己酸乙酯的含量净增 40%,同时也能使四大酯保持协调。但值得注意的是:当产酯酵母应用于浓香型大曲酒生产中,若无其它有效微生物的配合及相应工艺的配合,会使得其它酯的含量也偏高^[4]。

合成己酸乙酯的途径除上述的外,还有另一途径,反应式如下:



但此途径研究得不多。

3 己酸菌和甲烷菌对合成己酸乙酯的贡献

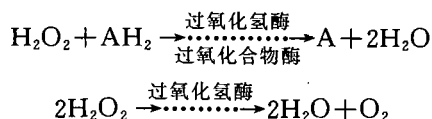
要合成己酸乙酯这个主体香物质,离开己酸菌这台机器则寸步难行。己酸菌是梭状芽孢杆菌属中产己酸的细菌,嫌氧,有氧时活性较低。菌体呈梭状,大小为 $5 \sim 9 \times 0.8 \sim 1.0 \mu\text{m}$,营养细胞单个或成对,通常不形成链,个别也有成串长链,生荚膜,周生鞭毛,芽孢端生,属革兰氏阴性菌,菌落(在酵母发酵液上)呈圆形不规则状,边缘波状,表面突起成台状或平滑状,颜色呈乳白色,大小为 $2 \sim 4 \text{mm}^2$ 。最适温度在 $32 \sim 34^\circ\text{C}$,而产己酸最适温度均在 30°C (对不同的己酸菌都一样),产己酸的最适 pH 值为 $5 \sim 7$,pH 在 4 以下不产己酸。

甲烷菌是单细胞、无色、非光合性、无芽孢的球状细菌,直径可超过 $2 \mu\text{m}$,多形态,单个或排列成团,革兰氏阳性^[8],1970 年发现在甲烷菌细胞内部都含有 F_{420} 、 F_{342} 等荧光物质。至 1985 年人们发现甲烷菌有 30 种^[6]。甲烷菌是严格的绝对厌氧微生物,只有在氧化还原电位达 -300mV 左右才能生长,因而培养和保存都很困难。有氧的条件下,有些甲烷菌生长受到严重的抑制,有些则被杀死。

为什么这些嫌氧菌在有氧的环境中生长受到抑制或被杀死?这是一个比较复杂的问题,机理尚不十分清楚,现在认为主要原因有:

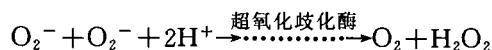
(1) 厌氧菌缺乏细胞色素和细胞色素氧化酶。在有氧的情况下培养基中的物质转变成的氧化型增多,需要氧化还原电势高的酶才能氧化电势较高的化合物,而细胞色素和细胞色素氧化酶具有较高的氧化还原电位,因此能产生能量供细胞生长繁殖。而厌氧菌缺乏上述二种酶,这样就不能氧化氧化还原电势高的物质,使得能量供给不足,因而不利于厌氧菌的生长。

(2) 部分厌氧菌缺少过氧化氢酶(Catalase)和过氧化物酶(Peroxidase)。细菌在有氧环境下进行新陈代谢时常生成 H_2O_2 , H_2O_2 是一种氧化剂,有杀菌作用。但 H_2O_2 在过氧化氢酶或过氧化物酶的作用下能被分解,其反应如下:



现在发现许多厌氧菌也可以产生过氧化氢酶,但即使将过氧化氢酶加入培养基也不能保证所有厌氧菌都能在在有氧条件下生长。因此这不是主要原因。

(3) 1971 年,McCord 等提出超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase)的新理论解释了氧对嫌氧菌的毒害。他们认为某些细菌的氧代谢的最终产物是超氧化物自由基 O_2^- (Superoxide radical),它可对细菌产生激烈反应和损失,其毒性要比 H_2O_2 大得多。对于需氧菌,可通过产生歧化酶的催化作用,免除 O_2^- 的毒性作用,其反应如下:



一般认为:专性厌氧菌大多缺乏歧化酶,兼性厌氧菌具有活性的歧化酶。细菌对氧的耐受性与歧化酶、细胞色素氧化酶、过氧化氢酶这三个酶的关系是:兼性厌氧菌有细胞色素氧化酶、过氧化氢酶和歧化酶;微嗜氧菌无前二种酶,但有歧化酶;严格厌氧菌三种酶都缺乏。

(4) 分子氧干扰厌氧菌的繁殖。这种干扰系分子氧对 NADH 氧化酶的作用所致。细菌含有大量的递氢体及电子传递体。如 NADH、FADH 等、NADH 氧化酶可使还原型 NADH 脱氢而转变成氧化型的 NAD。当氧浓度较高时,此酶活性增加,以致还原型的 NADH 被大量消耗,细胞内生物合成代谢功能所必须的还原力减弱,从而干扰了细胞的生长繁殖。

己酸菌是一种微嗜氧菌,其在 300~600mmHg 的条件下发酵,比好气及厌氧条件下都要旺盛^[3]。而甲烷菌则是严格厌氧的微生物,在有氧的情况下,代谢立即停止。同时却认为甲烷菌和己酸菌之间存在着共生关系^[6]。在窖内厌氧的环境中,存在着厌氧菌间“种间氢转移”的关系,即两种细菌为了利用共同的基质建立了一种互利共生的关系。甲烷菌的存在对己酸菌生长是有益的,但不是生死攸关的。并且当甲烷菌与己酸菌混合发酵时,则产生己酸明显增加,见表 3^[6]。

表 3 己酸菌与甲烷菌混合培养与单独培养对生成己酸和甲烷的对照

	己酸量(mg/L)	甲烷量(%)
己酸菌发酵	8355.38	
甲烷菌发酵		21.87
己酸菌与甲烷菌混合发酵	9181.90	26.73
比对照增加(%)	8.61	22.22

4 如何增加主体香——己酸乙酯及抑制乳酸乙酯

己酸乙酯是浓香型大曲酒的主体香,它的含量多少与酒质的优劣有直接关系。许多地方生产的深香型大曲酒普遍存在的问题是:酒的芳香组分中己酸乙酯偏低,而乳酸乙酯过高,因而使酒的后味不爽口,甚至变涩。要增己抑乳可采取如下措施:

(1) 增加酒醅与窖泥的接触面,以促进己酸的发酵,提高酒的质量。许多酒厂在生产实践中证实了这条规律。如河南杜康酒厂。要增加接触面可采用:改变窖形,即体积固定时,接触面是个变数,可找到最大接触面;窖内加入香泥板,实践证明,在窖内加入香泥板发酵,增加接触面 40%,可使己酸乙酯大幅度增加。

(2) 人工添加己酸菌。此方法是提高大曲酒质量的一个有效措施。老窖的产香通常是在窖泥与醅子的接触面上进行,反应产物在窖泥和醅子之间相互渗透。但接触面总是有限的,因此可采用添加己酸菌使己酸菌的数量增大而达到产酯能力的增加。另外亦可采用固定化己酸菌的方法^[9],这样既可增加己酸菌的接触,又可增加己酸菌的数量。从而可大幅度提高己酸乙酯的含量。

(3) 加强卫生工作,减少甄房内乳酸菌的污染和繁殖。但不能单靠消灭乳酸菌来达到抑制乳酸乙酯的合成。我们知道在浓香型大曲酒发酵中己酸乙酯和乳酸乙酯有相互抑制作用,己酸乙酯增加了,乳酸乙酯则相对降低。巴斯德认为:自然发酵一般是乳酸菌打头阵、丁酸菌随后。这道理是:乳酸菌是微需氧菌,它繁殖以后,发酵液中还原性物质增大,厌氧的丁酸菌、己酸菌就随着生长起来。乳酸是丁酸的前体。即乳酸可作为丁酸菌生长所需的碳源。

因此在浓香型大曲酒生产中创造窖内发酵条件,使得乳酸发酵以后能及时转入丁酸、己酸发酵、使已生成的乳酸作为丁酸菌、己酸菌生长的碳源,这样可减少酒醅中乳酸菌的含量,使乳酸酯类相对降低。

(4) 蒸馏过程中的影响。经蒸馏,己酸乙酯因分解呈减少的趋势,而乳酸乙酯因合成而呈增加的趋势^[10]。另外,蒸馏过后,己酸乙酯主要存在于蒸馏后的醅子中,即说明经长期发酵所产生的香味成分即使经过蒸馏,大部分仍残留在醅子中。同时乳酸乙酯主要集中于酒尾中,而且稍微降低接酒浓度,都可使乳酸乙酯超标,而大幅度降低酒的质量。所以合理掐酒在增己抑乳中很重要。

5 窖的化学生态环境及微生物菌群

众所周知,窖泥是浓香型大曲酒生产的摇篮。要生产优质大曲酒,离开老熟的窖则寸步难行,因此有必要对窖进行分析。人们虽然一直致力于这方面的研究——促进新窖的老熟,但效果并不理想。这是由于窖的化学生态环境及其中微生物菌群的复杂性所导致。只有对它们进行充分的研究才能确实有效地促进新窖的老熟和防止老窖窖泥的退化。

一般认为窖泥提供给己酸菌的营养物质主要是腐植酸、有效磷、氨态氮、乙醇、乙酸、生长素等。在老窖与新窖之间,这些营养物质相距甚远。表 4 是五粮液酒厂百年老窖两年新窖的营养成分对照表。

从表 4^[7]可以看出,二年新窖的营养成分远远差于百年老窖,在这样的物质基础上怎么可能生长出理想的微生物菌群? 怎么可能造出理想的浓香型大曲酒。

表 4 新老窖的营养成分对比

	百年老窖	二年新窖
有机碳平均含量(%)	7.97	4.42
腐植质平均含量(%)	2.39	0.36
全氮平均含量(%)	1.152	0.532
全磷平均含量(%)	2.187	0.288
pH 值	5.41	6.15

人们研究发现,在新老窖中,微生物有显著的差别。在老窖中己酸菌占优势,而在新窖中丁酸菌占优势。老窖中己酸菌多,甲烷菌也多,新窖中己酸菌少,甲烷菌也少。除了这两种微生物外,还有乳酸菌、硫酸盐还原菌、硝酸盐还原菌等。这些中大部分是窖泥中的有益菌。在新老窖泥之间存在着很大差别。

参 考 文 献

- 1 顾国贤. 近代酿酒新科技
- 2 陈全庚, 袁菊如等. 江西“特”型白酒香味成份特征研究初报
- 3 周恒刚. 老窖泥讲座
- 4 李大和. 产酯酵母在浓香型大曲酒生产中的应用
- 5 吴衍庸. 窖泥厌氧功能菌及泸型曲酒
- 6 吴衍庸. 窖泥甲烷细菌与浓香型曲酒
- 7 吴衍庸, 刘爱华等. 五粮液老窖厌氧菌群的分布及其作用的研究
- 8 V. B. D 斯克尔曼. 细菌属的鉴定指导
- 9 工业微生物. Vol 18(2) 14~16
- 10 徐岩, 顾国贤. 浓香型大曲酒蒸馏中酯类物质变化的研究