



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102102084 A

(43) 申请公布日 2011. 06. 22

(21) 申请号 201010520135. 2

(22) 申请日 2010. 10. 26

(71) 申请人 湖北白云边酒业股份有限公司

地址 434200 湖北省荆州市松滋市新江口镇
民主大道 28 号

申请人 武汉工业学院

(72) 发明人 熊小毛 缪礼鸿 张明春 曾驰

杨团元 宋瑶 刘婷婷

(74) 专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务

所(特殊普通合伙) 42222

代理人 张火春

(51) Int. Cl.

C12N 1/16(2006. 01)

C12N 1/00(2006. 01)

C12N 1/18(2006. 01)

C12G 3/02(2006. 01)

C12R 1/645(2006. 01)

C12R 1/865(2006. 01)

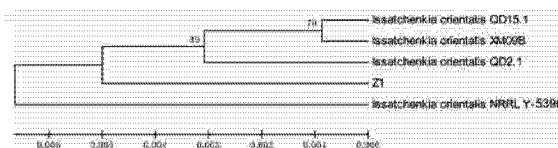
权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 1 页

(54) 发明名称

东方伊萨酵母菌、其组合物和应用

(57) 摘要

本发明提供了一株新的东方伊萨酵母菌,含该菌的酿酒菌剂组合物以及东方伊萨酵母菌及酿酒菌剂组合物在白酒酿造中的应用。本发明还提供制备酿酒菌剂组合物的方法。本发明提供的东方伊萨酵母菌耐高温,且具有高产酯率和高酒精产率。采用该菌株发酵可形成白酒独特风味。



1. 一株东方伊萨酵母菌,其特征在于,该菌株为东方伊萨酵母 Z1 株(*Issatchenkia orientalis* Z1),保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号为 CCTCC M2010167。

2. 一种含权利要求 1 中所述菌株的酿酒菌剂组合物。

3. 根据权利要求 2 中所述的酿酒菌剂组合物,其特征在于它含有下列组份(活菌数比):

东方伊萨酵母 50%

酒精酵母 50%

其中东方伊萨酵母为 CCTCC M2010167,酒精酵母为 CCTCC AY92003。

4. 根据权利要求 2 中所述的酿酒菌剂组合物,其特征在于所述的酿酒菌剂组合物为固态菌剂。

5. 制备权利要求 4 中所述的固态酿酒菌剂组合物的方法,包括如下步骤:

菌种活化:分别接种东方伊萨酵母 Z1 株和酒精酵母 CCTCC AY92003 于灭菌的糖度为 12 巴林的麦芽汁或米曲汁三角瓶培养基中,28 ~ 30℃摇床培养 18-24 天;

固体培养:固体培养的配料是麸皮 70%、玉米面 30%,用玉米糖化液润料,加 1%浓硫酸,蒸煮冷散后,将活化培养 2 种酵母菌液按 1:1 体积比混合接种后装盒,保持室温 20℃左右。品温 25℃左右,培养发酵 2 天;

真空干燥:对发酵后的固体样品在 45℃进行真空干燥处理,样品含水率低于 10% 后真空包装。

6. 权利要求 1 所述的东方伊萨酵母 Z1 株在白酒酿造上的应用。

7. 权利要求 2 或 3 或 4 中所述的任何一种酿酒菌剂组合物在白酒酿造上的应用。

东方伊萨酵母菌、其组合物和应用

[0001] 发明所属领域：

[0002] 本发明属于白酒酿造领域，具体地说，本发明涉及东方伊萨酵母菌、含该菌的酿酒菌剂组合物，及该酵母菌和其组合物在白酒酿造中的应用

背景技术：

[0003] 中国白酒香味物质种类繁多，包括醇、醛、酮、酸、酯、缩醛、芳香族化合物、含氮化合物、含硫化合物、醚类、内酯类等化合物达数百种之多（庄名扬，酿酒，2007，34（2）：109-113）。中国白酒风味物质的形成，是微生物代谢的产物，同时也是原料中基本组分及非基本组分，在各类生物酶的直接或间接催化下的生物合成、非酶促化学反应和热降解反应等多种因素共同作用结果。

[0004] 白酒的风味与酿造微生物及酿造工艺也有直接关系。酿造基酒质量的高低对产品的最终质量的好坏起决定性的作用。白酒酿造中的生香酵母又称产酯酵母，主要属于产膜酵母和假丝酵母，大多为异型汉逊酵母及少数小圆型酵母属，是白酒和黄酒发酵产香的重要菌种（熊子书，酿酒科技，2002，5：19-21）。浓香型白酒以己酸乙酯为主的复合香，是由梭状芽孢杆菌，俗称己酸菌的作用，产于泥质发酵老窖或人工培养泥窖中，发酵周期长；清香型白酒以醋酸乙酯为主体香，在小曲、麸曲或液态法白酒中添加生香酵母，在发酵过程中生成醋酸及其乙酯。酒精发酵过程中酯的产生量与特殊的酵母菌种类有密切关系。

[0005] 白酒发酵要求酿酒菌剂具有产酯率高、产酒精率高并耐高温。重量和质量相同的原料使用不同的酿酒菌剂，形成不同的酒精产量和酯含量。好的酿酒菌剂使同样的原料酒精产量高、富含酯类，并使白酒纯香。但传统大曲虽然产酯率高，产酒率却较低，特别是大曲构成成份复杂，使白酒质量不稳定；而单个酵母菌或酿酒菌剂组合物不耐高温，虽发酵产酒率高但产酯率低，白酒品质较差。

[0006] 在中国专利 CN200710175714.6 中公开了一种东方伊萨酵母在木质纤维素水解产物中的应用；中国专利 CN200810180438.7 公开了东方伊萨酵母和其组合物制剂降解除去存在于半纤维素水解物中微生物代谢抑制物；中国专利 CN200710026730.9 也公开了东方伊萨酵母在杨梅果酒中降酸的应用。目前还没有东方伊萨酵母菌应用于白酒发酵的报道。

[0007] 发明技术内容：

[0008] 本发明的一个目的是提供一种新的东方伊萨酵母菌株，该菌株耐高温，使用该菌株发酵生产白酒，具有高产酯率和高酒精产率，并形成白酒独特风味。

[0009] 本发明的另一个目的是提供一种含有东方伊萨酵母菌的酿酒菌剂组合物。

[0010] 本发明的再一个目的是提供制备酿酒菌剂组合物的方法。

[0011] 本发明的再一个目的是提供东方伊萨酵母菌株在白酒发酵中的应用。

[0012] 本发明的再一个目的是提供酿酒菌剂组合物在白酒发酵中的应用。

[0013] 本发明公开了一株新的东方伊萨酵母菌，其特征在于，该菌株为东方伊萨酵母 Z1 株 (*Issatchenkia orientalis* Z1)，保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏编号为 CCTCC M2010167，保藏日期是 2010 年 7 月 2 日。东方伊萨酵母 Z1 株从湖北白云边酒池分离经筛

选获得。该菌株有如下特征：东方伊萨酵母 Z1 株可耐 42℃ 高温，液体发酵乙酸乙酯产量高达 229.06 毫克 / 升，液体发酵产物酒精度可达 5.2%。即东方伊萨酵母 Z1 株具有耐高温，高乙酸乙酯产力和较强的产酒精能力。

[0014] 东方伊萨酵母 Z1 株形态特征是：菌落乳白色、形状为规则圆形、表面较平坦、干燥，培养较长时间后，芽生孢子延长呈梳状交错，假菌丝分支分布，细胞呈圆形或椭圆形。

[0015] 东方伊萨酵母 Z1 株生化特征是：可发酵利用果糖，蔗糖；不能发酵利用 D- 半乳糖，纤维二糖，绵子糖，D- 阿拉伯糖，L- 阿拉伯糖，D- 海藻糖，L- 鼠李糖，L- 山梨糖和 D- 木糖。

[0016] 东方伊萨酵母 Z1 株耐高温及生长特征是：YPD 平板上划线接种，分别在 33℃ 至 42℃ 下培养均生长良好。在 37℃ 培养时，菌株 Z1 在 YPD 培养基中延迟期明显比生香产酯酵母菌短，在早期的生长中具有明显的优势，而市售生香产酯酵母菌——安琪生香活性干酵母具有较长的延迟期。

[0017] 东方伊萨酵母 Z1 株耐酒精能力特征是：接种菌种到酒精度 0-14% 的 YPD 液体培养基中，30℃ 摇床培养 24 小时，OD_{630nm} 测定酵母菌的生长浓度，东方伊萨酵母 Z1 株最高耐受酒精度为 10%，表明酵母菌 Z1 的耐酒精能力好。

[0018] 东方伊萨酵母 Z1 株 26S rDNA D1/D2 区域基因序列分析显示：东方伊萨酵母 Z1 株与东方伊萨酵母 NRRL Y-5396 株的同源性超过 99%。

[0019] 本发明还公开了一种含东方伊萨酵母 Z1 株菌的酿酒菌剂组合物，该酿酒菌剂组合物主要成份是东方伊萨酵母 Z1 株及胞外产物。

[0020] 优先地，本发明还公开了一种含东方伊萨酵母 Z1 株酿酒菌剂组合物，其特征在于它含有下列组份（活菌数比）：

[0021] 东方伊萨酵母 50%

[0022] 酒精酵母 50%

[0023] 其中东方伊萨酵母为 CCTCC M2010167，酒精酵母为 CCTCC AY92003。酒精酵母 CCTCC AY92003 为常用普通微生物菌种，登载于中国典型培养物保藏中心目录，处于公开状态，科学工作者可向中国典型培养物保藏中心索取。

[0024] 本发明公开的酿酒菌剂组合物为液态或固态。优先的，本发明公开的酿酒菌剂组合物为固态。

[0025] 本发明还公开了制备固态酿酒菌剂组合物的方法，包括如下步骤：

[0026] 1) 菌种活化：分别接种东方伊萨酵母 Z1 株和酒精酵母 CCTCC AY92003 于灭菌的糖度为 12 巴林的麦芽汁或米曲汁三角瓶培养基中，28 ~ 30℃ 摇床培养 18-24 天；

[0027] 2) 固体培养：固体培养的配料是麸皮 70%、玉米面 30%，用玉米糖化液润料，加 1% 浓硫酸，蒸煮冷散后，将 1) 中活化培养的 2 种酵母菌液按 1：1 体积比混合接种后装盒，保持室温 20℃ 左右，品温 25℃ 左右，培养发酵 2 天；

[0028] 3) 真空干燥：对发酵后的固体样品在 45℃ 进行真空干燥处理，样品含水率低于 10% 后真空包装。

[0029] 本发明还公开了新的东方伊萨酵母菌 Z1 株在白酒酿造中的应用。

[0030] 本发明还公开了酿酒菌剂组合物在白酒酿造中的应用。

[0031] 本发明的优点：

[0032] 1、本发明提供的东方伊萨酵母 Z1 株是一株新的菌株,该菌株可耐 42℃ 高温,液体发酵乙酸乙酯产量高达 229.06 毫克/升,液体发酵产物酒精度可达 5.2%。即东方伊萨酵母 Z1 株具有耐高温,高乙酸乙酯产力和较强的产酒精能力。其乙酸乙酯的产生能力远高于一般酵母菌株。

[0033] 2、东方伊萨酵母 Z1 与酒精酵母混合制备的菌剂进行液态发酵制酒,乙酸乙酯含量比安琪生香活性干酵母发酵样品提高了 38.3%,而产酒率相同。

[0034] 3、东方伊萨酵母 Z1 株与酒精酵母混合制备酿酒菌剂,在目前通用的白酒固态发酵物料中添加酿酒菌剂进行发酵制酒,与不添加酿酒菌剂的对照组相比出酒率提高了 2.7%,同时原酒中总酯的含量增加了 9.6%,对改善口感作用明显。

附图说明

[0035] 图 1. 东方伊萨酵母菌 Z1 株 26S rDNAD1/D2 区序列系统发育树

[0036] 图 2. 东方伊萨酵母菌 Z1 株及对照菌株在 0-14% 酒精浓度下生长曲线

[0037] Z1 代表东方伊萨酵母菌 Z1 株;XG-1 代表酒精酵母 CCTCC AY92003;TRADY 代表安琪耐高温酿酒酵母。

具体实施方式

[0038] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应当理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不能限制本发明的保护范围。

[0039] 实施例

[0040] 实施例 1 东方伊萨酵母 Z1 的分离与鉴定

[0041] 1.1 东方伊萨酵母 Z1 株的分离:从白云边酒厂堆积发酵料,包括堆积后高温酒醅、刚混合的酒醅和堆积后中等温度的酒醅中取样,将样品活化后加入到 pH4.5-5.0 的 YPD 液体培养基中,转速 200rpm,温度 30℃ 时富集培养 48 小时,然后取 100 μl 经过一定梯度稀释后的培养液涂布到 YPD 培养基固体平板上,30℃ 培养 48 小时后,挑取典型酵母形态的单菌落,再在相同培养基固体平板上重复划线纯化三次后,4℃ 保存。然后通过粮食水解液发酵实验检验这些分离出来的菌株在发酵过程中的乙醇产率、乙酸乙酯产率,最后根据发酵试验结果筛选出产酒精能力和产酯率均较高的菌株。本发明人将分离的一株新的东方伊萨酵母菌 Z1 株 (*Issatchenkia orientalis* Z1) 保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号为 CCTCC M2010167。保藏日为 2010 年 7 月 2 日。

[0042] 1.2 东方伊萨酵母菌 Z1 株的鉴定:通过形态特征观察、生理生化测定及 26SrDNA D1/D2 区域基因序列分析结果对 Z1 进行鉴定。在鉴定中,本实验选择安琪耐高温酿酒酵母 TRADY、东方伊萨酵母 *Issatchenkia orientalis* NRRL Y-5396,和 *Saccharomyces cerevisiae* CCTCC AY92003 菌株作为对照菌株。安琪耐高温酿酒酵母 TRADY 为市场流通商品;东方伊萨酵母 *Issatchenkia orientalis* NRRL Y-5396 和酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* CCTCC AY92003 为常用普通微生物菌种,分别登载于美国农业部菌种保藏中心和中国典型培养物保藏中心目录,处于公开状态,科学工作者可向保藏中心索取。

[0043] 1.2.1 东方伊萨酵母菌 Z1 株形态特征观察:菌落乳白色、形状为规则圆形、表面较平坦、干燥,培养较长时间后,芽生孢子延长呈梳妆交错,假菌丝分支分布,细胞呈圆形或椭

圆形。

[0044] 1.2.2 通过 26S rDNA D1/D2 区域序列分析进行系统发育地位鉴定

[0045] 用酵母菌基因组 DNA 提取试剂盒 (BioFlux 杭州博日科技有限公司提供) 提取 Z1 的全 DNA, 然后以提取出来的全 DNA 为模板, 进行 PCR 扩增, 正向引物 NL1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3', 反向引物 NL4: 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'。按以下的反应条件共进行 30 个循环: 94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 1min, 59℃ 退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 30 个循环后, 72℃ 延伸 5min。所得 PCR 产物由北京奥科生物技术公司进行纯化及序列测定。将测定出来的 Z1 的 26S rDNA D1/D2 区域与 GenBank 核酸序列数据库中的序列进行比对, 采用 ClustalX 软件进行匹配排列 (align), 用 MEGA4.0 软件中的 neighbor-joining 分析法构建系统发育树, 并进行 1000 次 Bootstraps 检验, 最后用 TreeView 软件显示系统树。

[0046] 实验得到 571bp 的基因序列, 在 Genbank 核酸序列数据库中进行同源序列搜索, Z1 与 *Issatchenkia orientalis* NRRL Y-5396 的同源性超过 99%, 符合 Kuttzman&Robnett 所定的同种内不同菌株见差异不超过 1% 的标准。图 1 是根据 26S rDNA D1/D2 区域序列所做的系统发育树。

[0047] 1.2.3: 东方伊萨酵母菌 Z1 株的生理生化实验测定结果:

[0048] (1) 发酵试验:

[0049]

果糖	蔗糖	D- 半乳糖	纤维二糖	绵子糖	D-阿拉伯糖	L-阿拉伯糖	D- 海藻糖	L- 鼠李糖	L- 山梨糖	D- 木糖
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[0050] (2) 东方伊萨酵母菌 Z1 株与酒精酵母耐高温能力比较结果

[0051] 将酵母菌株在 YPD 平板上划线接种, 分别在 33℃ 和 42℃ 下培养。

[0052]

	CCTCC AY92003	TRADY	NRRL Y-5396	Z1
33℃	++	++	++	++
42℃	+-	+-	+-	++

[0053] 注: ++ 表示生长良好; +- 表示生长微弱; - 表示不生长。

[0054] 1.2.4 东方伊萨酵母菌 Z1 株与酒精酵母耐酒精能力比较结果:

[0055] 将 Z1 株以及作为对照菌株的酿酒酵母 CCTCC AY92003 和安琪耐高温酿酒酵母 TRADY 分别接种到酒精度 0-14% 的 YPD 液体培养基中, 30℃ 摇床培养 24h, 以不加菌的空白液体培养基做对照, OD_{630nm} 测定酵母菌的生长浓度, 结果表明酵母菌 Z1 最高耐受酒精度达 10%, 与酿酒酵母 CCTCC AY92003 和安琪耐高温酿酒酵母 TRADY 耐受酒精度能力相当, 见图 2, 高于 NRRL Y-5396 和安琪生香活性干酵母的耐酒精能力。NRRL Y-5396 和安琪生香活性干酵母的耐酒精能力均低于 9%。

[0056] 实施例 2 Z1 的白酒发酵及产物分析

[0057] 以白云边酒业公司提供的高粱为发酵原料,经粉碎、液化、糖化后分别接种纯种酵母菌株 Z1,并以 NRRL Y5396, CCTCC AY92003 及 TRADY 为对照,进行液体酒精发酵。每个菌种接种 2 瓶重复。高粱淀粉浓度测定为 68.96%,料水比为 1 : 3.5,液化糖化,33℃静止发酵 72 小时。酒精蒸馏物用于气相色谱分析。

[0058] 酒精发酵能力测定结果见表 1。

[0059] 表 1 酵母菌酒精发酵能力测定结果

[0060]	菌株	酒精度 (%) (V/V)	成熟醪酵母菌总 数 (亿/ml)	成熟醪 pH 值
	CCTCC AY92003	10.5	3.8	3.72
	TRADY	10.4	3.5	3.75
	NRRL Y-5396	7.2	2.8	3.80
	Z1	5.2	2.1	3.88

[0061] 对上述酒精蒸馏样品作气相色谱分析,每个样品作 2 次重复。结果见表 2。由表中可以看出,酵母菌 Z1 的乙酸乙酯产量高达 229.06mg/L,比另外三株菌株产量高近 30 倍。

[0062] 表 2 各酵母菌株酒精蒸馏样品气相色谱分析结果 (单位 mg/L)

[0063]

组份	CCTCC AY92003	Z1	TRADY	NRRL Y-5396
正丙醇	25.36±0.23	14.54±0.24	21.77±1.26	14.91±0.10
异丁醇	78.92±1.19	188.64±5.41	80.37±3.02	194.25±2.52
异戊醇	235.61±3.59	181.47±4.77	307.92±6.96	175.19±1.19
正戊醇	14.25±0.10	14.88±0.03	14.0±0.15	11.36±0.10
正己醇				
乙醛	1.45	38.72±2.02	32.33±2.83	25.22±2.06
丙酮			0.076	
乙酸乙酯	9.46±0.02	229.06±47.83	7.28±0.6	112.91±0.10
乙缩醛				
异戊醛	0.32±0.02	0.18±0.004	0.307±0.007	
己酸乙酯				
醋喻	9.58±0.35	15.08±0.41	7.97±1.2	13.92±1.46
乳酸乙酯	2.67±0.99	3.30	2.07±0.06	
乙酸	40.97±9.5	87.06±8.30	15.37±1.46	30.81
丙酸	47.08±2.06	31.07±0.33	32.04±1.91	14.98±0.33
异丁酸	9.03±0.34	28.84±0.31	7.13±0.13	23.4±0.62
2, 3-丁二醇	2.63±0.14	1.79±0.22	2.26±0.17	1.89±0.02
丁酸	53.36±16.13	16.1±3.8	30.62±4.32	4.33±0.02
异戊酸	4.39±0.10	6.65±0.83	3.62±0.04	5.17±0.02
戊酸	3.02	2.18±0.63		
己酸	26.28±7.23	34.39±0.22	4.48	11.49±0.34
β-苯乙醇	144.52±8.73	52.7±4.7	151.01±7.0	45.47±1.46
庚酸	16.73±2.90	10.47±2.33	9.86±0.62	4.06±0.14
活性戊醇	70.97±0.94	50.92±1.63	78.43±2.57	

[0064] 实施例 3. 酿酒菌剂组合物的白酒发酵及发酵产物分析

[0065] 将东方伊萨酵母菌 Z1 株和酒精酵母 CCTCC AY92003 以不同活菌数比混合作发酵剂,并以安琪生香活性干酵母作对照,结果见表 3。

[0066] 表 3 酵母菌混合菌株酒精发酵结果

	菌株	菌株混合比例	酒精度 %	残还原糖
			(V/V)	(g/100ml)
[0067]	安琪生香活性干酵母		8	0.15
	CCTCC AY92003/Z1	1/1	9	0.35
	CCTCC AY92003/Z1	1/2	9	0.10
	CCTCC AY92003/Z1	2/1	8	0.20

[0068] 酿酒菌剂组合物发酵液酒精度都较高,与安琪生香活性干酵母相当。

[0069] 对上述混合发酵酒精蒸馏样品进行气相色谱分析,结果见表 4。

[0070] 由色谱分析可以看出,本实验室筛选的按 2 种不同比例混合的酵母菌酒精发酵样品中乙酸乙酯含量均比安琪生香活性干酵母发酵样品要高。其中,将菌株 CCTCC AY92003 和 Z1 的活菌数按 1 : 1 混合的发酵样品乙酸乙酯含量比安琪生香活性干酵母产品发酵样品提高了 38.3%。

[0071] 表 4 酵母菌混合菌株发酵酒精蒸馏样品分析 (单位 mg/L)

组份	CCTCC	CCTCC	CCTCC	安琪生香酵母
	AY92003/Z1=1:1	AY92003/Z1=1:2	AY92003/Z1=2:1	
正丙醇	13.55±0.29	12.05±1.01	15.34±2.04	16.14
异丁醇	108.60±1.19	101.86±0.18	76.71±4.61	100.96
异戊醇	214.23±6.68	203.60	182.11±19.05	275.55
正戊醇	7.89±0.06	8.32±0.57	7.64±0.15	7.65
正己醇				
乙醛	48.59±1.228	66.37±2.97	46.07±10.64	40.91
丙酮		0.23		
乙酸乙酯	95.12±0.76	81.33±15.07	66.72±4.31	68.77
乙缩醛		1.08±0.1	1.48	
异戊醛		0.158	0.198	
己酸乙酯				
醋喻	8.72±0.58	12.74±0.61	10.51±2.21	6.7163
乳酸乙酯	2.77	4.26	3.79±0.61	2.30
乙酸	63.25±2.75	78.34±8.79	66.93±3.15	31.53±8.33
丙酸	31.26±2.02	38.61±1.69	45.33±9.69	30.94
异丁酸	6.28±0.41	6.22±0.21	4.48±0.02	6.19
2, 3-丁二醇	2.65±0.13	2.73±0.06	3.22±0.13	2.41
丁酸	21.49±16.432	9.06±2.67	27.62±8.62	6.11
异戊酸	2.76±0.29	3.41±0.472	3.10±0.08	3.33
戊酸	1.51±0.13	6.29±1.67	3.86±1.35	6.14
己酸	26.28±7.23	6.16	35.48	53.06
β-苯乙醇	25.40±5.72	46.23±5.54	65.89±31.44	117.66
庚酸	0.98±0.13	2.98±1.38	3.33±1.65	4.04
活性戊醇	58.95±2.05	55.31±2.83	51.53±6.54	63.67

[0073] 实施例 4 酿酒菌剂组合物的制备方法

[0074] 4.1 菌种活化 :分别接种东方伊萨酵母 Z1 株和酒精酵母 CCTCC AY92003 于灭菌的糖度为 12 巴林的麦芽汁或米曲汁三角瓶培养基中, 28 ~ 30℃ 摇床培养 18-24 小时 ;

[0075] 4.2 固体培养 :固体培养的配料是 :麸皮 70%、玉米面 30%, 用玉米糖化液润料, 加 1% 浓硫酸, 蒸煮冷散后, 将 4.1 活化培养 2 种酵母菌液按 1 : 1 体积比混合接种后装盒, 保持室温 20℃ 左右 . 品温 25℃ 左右, 培养 2 天发酵完毕 ;

[0076] 4.3 真空干燥 :对发酵后的固体样品在 45℃ 进行真空干燥处理, 样品含水率低于

10%后真空包装；

[0077] 4.4 酵母菌制剂组合物测定结果：采用稀释平板测定实验室制备的生香活性干酵母的活菌数达到 20 亿 /g 左右。东方伊萨酵母 Z1 和 CCTCC AY92003 活菌数比例是 1 : 1

[0078] 实施例 5 酿酒菌剂组合物在白酒发酵中的应用

[0079] (1) 试验方法

[0080] 酒醅蒸酒后配入 900kg 粉碎的高粱、清蒸稻壳后蒸料，摊凉后将大曲、生香活性干酵母撒入，搅拌均匀，入池发酵 30 天后出池蒸馏。大曲用量为投料量 20%。实验组为酿酒菌剂组合物的活性干酵母用量为投料量的 0.1%。对照组不加酿酒菌剂组合物。

[0081] 有关酒醅、酒样的检测参见相关文献；酒的理化指标检测按 GB10345-89 的白酒试验方法检测；主要仪器：色谱分析仪。

[0082] (2) 试验结果及分析

[0083] 由表 5 可以看出：实验组酒样总酸量比对照组稍低，总酯和乙酸乙酯都比对照高。感官品评对比为：对照组酒样为醇厚、香味谐调、尾净爽口；实验组酒样为绵甜醇厚、香味谐调、酒体丰满。由于乙酸乙酯为白酒的主要香味成分，表明配合使用生香活性干酵母可以明显改善酒质，使酒中的香气更加协调，口感更佳。对出酒率情况统计表明，对照组的出酒率为 45.1%，含酿酒菌剂组合物活性干酵母的实验组出酒率为 47.8%，出酒率提高了 2.7%。同时原酒中总酯的含量增加了 9.6%，对改善口感作用明显。

[0084] 表 5 主要理化指标及微量成分统计（单位：g/L）

[0085]

项目	对照组	实验组
乙醛	0.35	0.34
甲醇	0.21	0.20
杂醇油	0.70	0.57
乙酸乙酯	0.71	0.75
乳酸乙酯	1.34	1.37
总酯	2.5	2.74
总酸	1.8	1.77

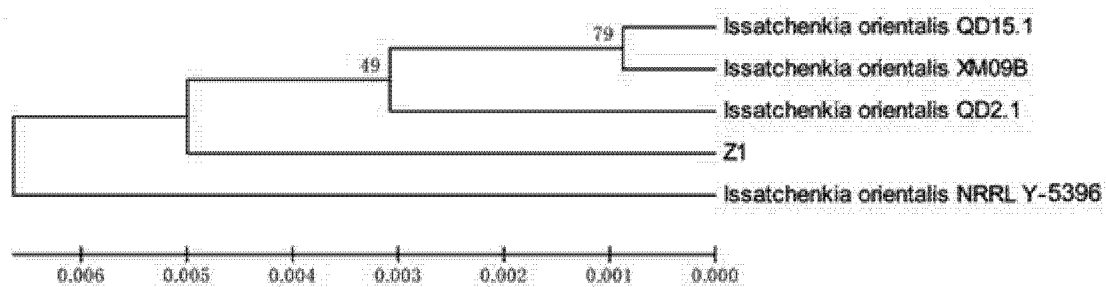


图 1

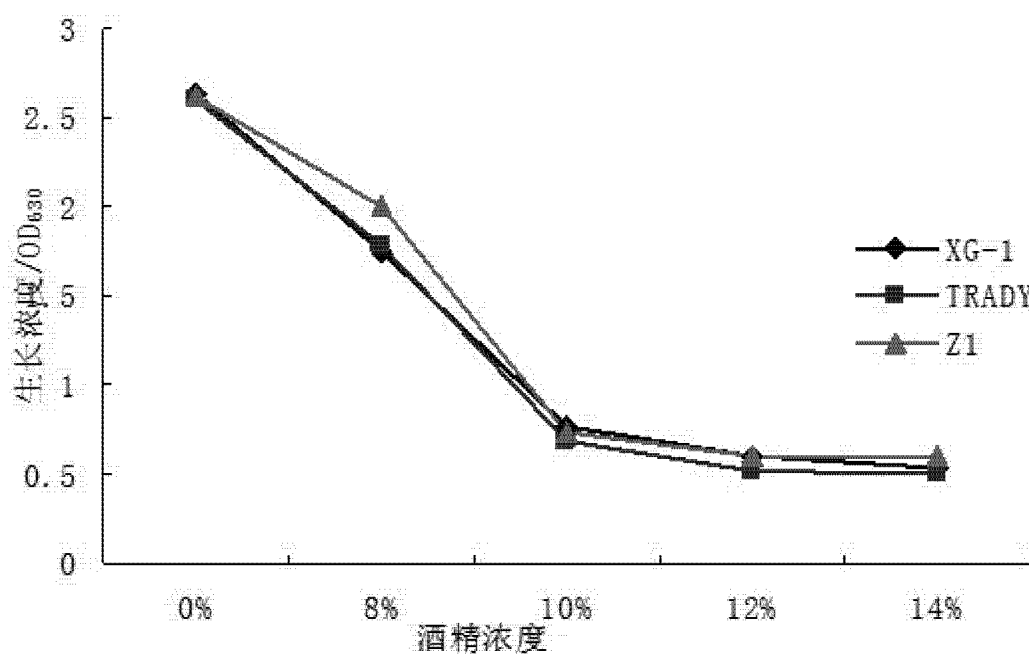


图 2