

# 麦曲紫甘薯清酒加工工艺 及微生物群落演替规律研究

刘晓莉,李 静,谭海刚,于翠芳,王世清

(青岛农业大学 食品科学与工程学院,山东 青岛 266109)

**摘要:**以酒精度、感官评定、pH和糖度为指标,利用麦曲和等离子体诱变选育的耐酒精酵母S45对紫甘薯清酒加工工艺进行单因素实验和正交实验。结果表明,麦曲紫甘薯清酒的最佳加工工艺为:发酵温度25℃,发酵时间7d,麦曲添加量3%,酿酒酵母添加量3%,酿酒酵母添加时间为即时添加。最佳工艺条件下发酵后经过滤得紫甘薯清酒,其酒精度(v/v)为11.3%,总糖为3.55g/L,固形物为4.3g/L,pH3.34,总酸为3.90g/L。对发酵过程中菌落演替规律的研究表明,细菌在酿酒过程中最先繁殖,数量增长快但后又迅速减少,之后为霉菌,酵母菌繁殖最慢,但发酵7d后,与发酵初始时相比,酵母菌数量基本保持一致,而细菌和霉菌则明显减少。

**关键词:**紫甘薯清酒;加工工艺;麦曲;群落演替

**中图分类号:**TS 261.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2017)03-0077-05

## Studies on the processing technology and the succession law of microbial community of wheat koji purple sweet potato sake

LIU Xiao-li, LI Jing, TAN Hai-gang, YU Cui-fang, WANG Shi-qing

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao Shandong 266109)

**Abstract:** The purple sweet potato wine processing technology was optimized by single-factor experiment and orthogonal experiment with alcohol content, sensory evaluation, pH value and sugar content as the indicators, wheat koji and *Saccharomyces cerevisiae* S45 bred from plasma mutagenesis as additive. The results showed that the optimum fermentation conditions were: fermentation temperature 25℃ for 7 days, addition amount of wheat koji 3%, and addition amount of *Saccharomyces cerevisiae* 3% which was added immediately. The alcohol content of the purple sweet potato sake was 11.3% (v/v), total sugar content 3.55 g/L, solids content 4.3 g/L, pH 3.34, total acid 3.90 g/L. The research on community succession in the process of fermentation showed that bacteria bred earlier than the other fungoid, and the quantity increased quickly at first then slow down rapidly. Next was mould then the yeast. After fermentation for 7 d, compared with the initial fermentation the quantity of yeast kept the same, while those of bacteria and mould decreased significantly.

**Key words:** purple sweet potato sake; processing technology; wheat koji; community succession

紫甘薯是甘薯中的新型特有品种,紫甘薯中富含淀粉、蛋白质、矿物质、脂肪酸和维生素等多种营养成分<sup>[1-2]</sup>。紫甘薯中,铁、硒等矿物质元素是普通红甘薯的3~8倍,有研究表明紫甘薯的总酚含量高于其他种类甘薯<sup>[3-5]</sup>。另外,紫甘薯因其含有丰富的紫甘薯色素,具有极高的营养价值,有抗癌、抗氧化

化<sup>[6-7]</sup>、抗突变、保护肝脏等生理功能<sup>[8]</sup>。近几年,我国不断开发出新的紫甘薯品种,紫甘薯的产量日益提高,但是利用率仍然很低<sup>[9]</sup>。因此,紫甘薯在食品领域仍有较大的开发空间。以紫甘薯为原料生产出的紫甘薯清酒,以其优良的感官特性和抗氧化、预防心脑血管疾病、降低血糖等保健功能表现出极大的发展潜力<sup>[10]</sup>。

麦曲是一种集生香、增味、成色等诸多功能的复合生化酶制剂。小麦含有的木质素可生成4-乙基愈疮木酚,是构成酒香的重要成分之一。同时,小麦

收稿日期:2016-09-26

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31271963)

作者简介:刘晓莉,1991年出生,女,硕士研究生。

通讯作者:王世清,1963年出生,男,教授。

原料本身带有的挥发性成分以及麦曲中微生物的代谢产物,在酒的酿造中参与糖化发酵,生成多种不挥发性成分与挥发性成分溶解到酒醪中,构成酒中独有的曲香味<sup>[11]</sup>。麦曲中的微生物有一个异常复杂并与环境相适应的微生物区系,且具有多样性<sup>[12]</sup>,主要包括霉菌、酵母菌和细菌3个微生物群<sup>[13]</sup>,其在很大程度上决定了酒的风味、口感。研究发现,霉菌主要产生淀粉酶,降解淀粉变成可发酵的糖类;酵母菌把糖转化为酒精;细菌是最有可能的污染菌<sup>[14]</sup>。

酿酒酵母在酒类发酵过程中起着非常重要的作用,但普遍存在耐酒精能力弱、发酵速度慢等问题。采用大气压等离子体技术对酿酒酵母进行诱变,通过最佳诱变条件处理后,得本实验使用的酿酒酵母,其对酒精耐受性 $\geq 18\%$ 。

紫甘薯清酒的传统糖化过程为先对紫甘薯进行酶解,之后添加红曲,采用酶解工艺对原料进行预处理耗时长。本实验利用麦曲作为紫甘薯清酒糖化剂酿造清酒,节省了酶解时间,节约粮食,而且形成了麦曲紫甘薯清酒的独特风味。本实验研究酒中微生物群落的演替规律,不仅为纯菌酿造紫甘薯清酒提供了一定的理论依据,而且对改善紫甘薯清酒的风味和口感具有一定的帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料及主要试剂

紫甘薯、麦曲:市售;酿酒酵母 S45:青岛农业大学食品安全保藏实验室保藏。

#### 1.1.2 实验仪器、设备

SW-CJ-2D 无菌超洁净工作台:青岛正恒实验设备;恒温培养箱 YY0027-90:龙口市先科仪器公司;分析天平 AR224CN:奥豪斯仪器有限公司;500 mL 酒精蒸馏装置:上海标仪仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 麦曲紫甘薯清酒加工工艺的确定

挑选颜色鲜紫、无霉变的紫甘薯,经清洗、去皮、蒸熟后,按照熟紫甘薯:水=1:2的比例切丁,进行实验。以酒精度、感官评定、pH和糖度作为指标,研究发酵温度、发酵时间、麦曲添加量、酿酒酵母添加量和酿酒酵母添加时间对发酵紫甘薯清酒的影响(其中麦曲添加量和酿酒酵母添加量均以紫甘薯用量计算)。

##### 1.2.1.1 发酵温度对发酵的影响

向紫甘薯丁中添加2%的麦曲、2%的酿酒酵母,酿酒酵母及麦曲均即时添加,分别在10、15、20、25、30℃条件下发酵10d,研究发酵温度对发酵的影响。

##### 1.2.1.2 发酵时间对发酵的影响

向紫甘薯丁中添加2%的麦曲、2%的酿酒酵母,酵母菌即时添加,在25℃条件下分别发酵4、7、10、13、16d,研究发酵时间对发酵的影响。

##### 1.2.1.3 麦曲添加量对发酵的影响

向紫甘薯丁中添加2%的酿酒酵母,酵母菌即时添加,分别添加2%、3%、4%、5%、6%的麦曲,在25℃条件下发酵10d,研究不同麦曲添加量对发酵的影响。

##### 1.2.1.4 酿酒酵母添加量对发酵的影响

向紫甘薯丁中添加2%的麦曲,酵母菌即时添加,分别添加1%、2%、3%、4%、5%的酿酒酵母,在25℃条件下发酵10d,研究不同酿酒酵母添加量对发酵的影响。

##### 1.2.1.5 酿酒酵母添加时间对发酵的影响

向紫甘薯丁中添加2%的麦曲,25℃发酵10d,并在发酵后的0、1、2、3、4d分别添加2%酿酒酵母,研究不同酿酒酵母添加时间对发酵的影响。

##### 1.2.1.6 麦曲紫甘薯酒感官评定标准

根据酒的外观、香气和口味对麦曲紫甘薯清酒的感官进行评价,进行平行实验,取平均得分,评定标准见表1。

表1 麦曲紫甘薯清酒感官评定标准

指标	分数/分	评分标准
外观 (满分30分)	25~30	亮玫红色,有光泽,无白色泡沫产生
	20~25	玫红色,有一定的光泽
	10~20	浅玫红,基本无光泽
	0~10	色泽暗淡
香气 (满分30分)	25~30	有紫甘薯酒典型香气
	20~25	有酒香味
	10~20	酒香味不足,但无异味
	0~10	酒香味淡且有异味
口味 (满分40分)	30~40	醇香适口,风味协调
	20~30	酒体平衡,无杂感
	10~20	酒味无浓郁感
	0~10	酒味平淡,涩口

#### 1.2.2 加工工艺正交实验

结合单因素实验结果,对发酵温度、发酵时间、麦曲添加量、酿酒酵母添加量和酿酒酵母添加时间进行正交实验,因素水平见表2。

表2 正交实验因素水平

水平	A 发酵温度 /℃	B 发酵时间 /d	C 麦曲添加量 /%	D 酵母添加量 /%	E 酵母添加 时间/d
1	15	4	2	1	0
2	20	7	3	2	1
3	25	10	4	3	2
4	30	13	5	4	3

### 1.2.3 过滤

将发酵后的紫甘薯物料在 2 000 r/min 下离心, 以达到粗滤效果。再将离心的酒液在低温下放置 1~2 d, 弃去下层沉淀, 将上层清液装入袋中置于机内进行压榨, 榨出的酒液静置 2~3 d, 用虹吸管吸出上面澄清液<sup>[15]</sup>。

### 1.2.4 理化指标的测定

按照 GB/T 15038—2006 中规定的方法测定样品酒精度、总糖、pH 值、固形物、总酸。其中酒精度采用酒精计法, pH 值采用 pH 计法测定, 总糖的测定采用直接滴定法(以葡萄糖计), 总酸和固形物采用指示剂法进行测定。

### 1.2.5 麦曲紫甘薯清酒中微生物群落演替规律

在最佳发酵工艺参数条件下, 采用平板计数法测定不同发酵时间下各种微生物数量, 分别采用改良 PDA 培养基(加入 100 μg/mL 青霉素)、改良 YPD 培养基(加入 50 μg/mL 青霉素)和营养琼脂培养基测定霉菌、酵母菌和细菌的数量, 采用 CPU 法计算培养长出的菌落数。

## 2 结果与分析

### 2.1 麦曲紫甘薯清酒加工工艺条件的确定

#### 2.1.1 发酵温度对紫甘薯清酒品质的影响

发酵温度对发酵的影响, 结果如图 1 所示。

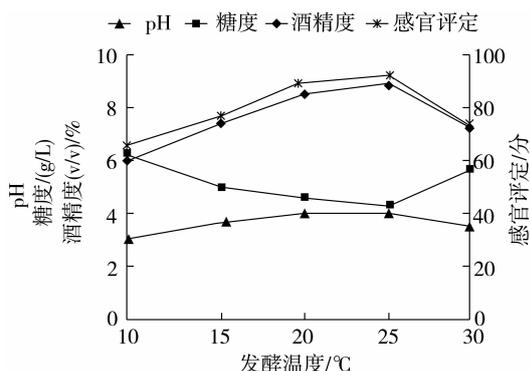


图 1 发酵温度对紫甘薯清酒品质的影响

由图 1 可知, 10~25 °C 时, 麦曲中微生物繁殖速度随温度的升高而加快, 糖度利用率逐渐升高, 酒精度也随之上升, 但酒中香气不足, 色泽暗淡; 在 25 °C 时, 发酵效果达到最好, 麦曲微生物繁殖速度快, 糖度利用率高, 酒精度(v/v)和感官评定分数达到最大值, 分别为 8.8% 和 86 分, 糖度最低, 在此条件下得到的紫甘薯清酒有发酵典型香气、色泽鲜亮、几乎无白色泡沫产生; 超过 25 °C 后, 酒精度、pH 随着发酵温度的升高而下降, 且清酒酒样色泽暗淡, 无香味, 产生大量白色泡沫。因此, 综合考虑发酵时间宜选择 25 °C。

#### 2.1.2 发酵时间对紫甘薯清酒品质的影响

发酵时间对发酵的影响, 结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出, 在发酵 7 d 时, 酒精度(v/v)和感官评定分数达到最大值, 分别为 8.6% 和 85 分, 在此条件下发酵的酒样, 酒香味浓郁, 有玫红色光泽, 无白色泡沫产生。随着发酵时间的继续延长, 样品中微生物逐渐失活, 酒精度和 pH 逐渐下降, 且酒样色泽暗淡, 酒香味低。综合感官评定和酒精度的结果, 选择发酵时间为 7 d 合适。

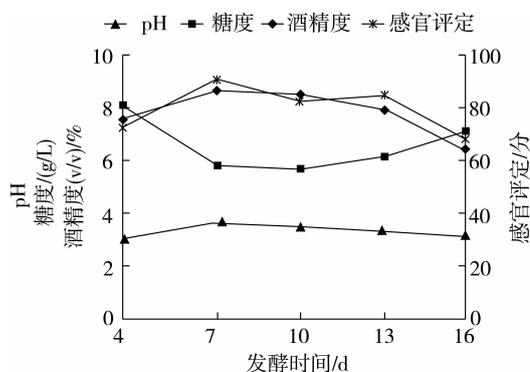


图 2 发酵时间对紫甘薯清酒品质的影响

#### 2.1.3 麦曲添加量对紫甘薯清酒品质的影响

麦曲添加量对发酵的影响, 结果如图 3 所示。

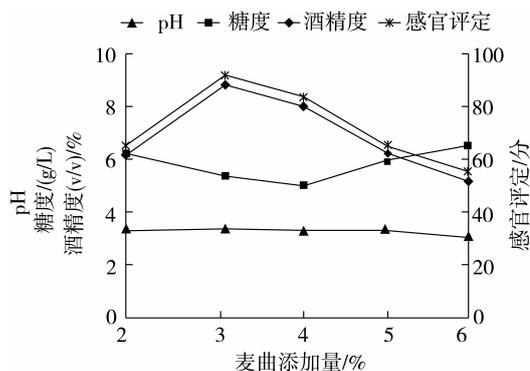


图 3 麦曲添加量对紫甘薯清酒品质的影响

由图 3 可以看出, 在麦曲添加量为 3% 时, 样品发酵速度最快, 酒精度(v/v)和感官评定分数达到最大值, 分别为 8.1% 和 83 分, 且清酒中具有典型香气, 麦曲风味明显, 无白色泡沫产生。随着麦曲添加量的增加, 酒样中微生物数量增多, 样品中营养物质减少, 酒精度逐渐下降, 且酒样色泽暗淡, 酒香味低。麦曲添加量少于 3% 时, 酒中微生物数量有限, 不能将过多的糖转化为酒精, 随着酒中微生物生长繁殖, 可将糖逐渐转化成酒精, 使酒精度呈上升趋势。综合酒精度和感官评定, 应选择添加 3% 麦曲。

#### 2.1.4 酿酒酵母添加量对紫甘薯清酒品质的影响

酿酒酵母添加量对发酵的影响, 结果如图 4 所示。

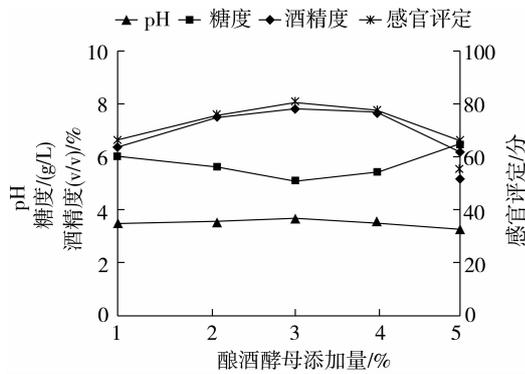


图4 酿酒酵母添加量对紫甘薯酒品质的影响

由图4可以看出,酿酒酵母添加3%时,酒精度(v/v)和感官评定分数出现最大值,分别为8.4%和85分,且清酒紫甘薯香气浓郁,风味协调,无白色泡沫产生。在添加量为1%~3%时,由于酿酒酵母接种量过少,有限的酿酒酵母未能完全利用底物,导致酒精度低<sup>[16]</sup>。而过高的接种量,使得发酵液中的营养物质过多地消耗在菌体细胞的生产繁殖上,减少了营养物质,导致了酒精度的下降。综合酒精度和感官评定,选择酿酒酵母接种量为3%较为合适。

2.1.5 酿酒酵母添加时间对紫甘薯清酒品质的影响

酿酒酵母添加时间对发酵的影响,结果如图5所示。

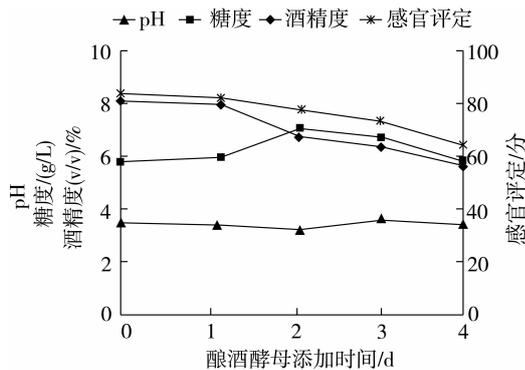


图5 酵母添加时间对紫甘薯清酒品质的影响

由图5可知,即时添加酿酒酵母,酒精度(v/v)和感官评定都达到了最大值,分别为8.1%和83分,且清酒色泽鲜亮,几乎无白色泡沫产生,有紫甘薯清酒发酵的典型香气。而在发酵后第2 d添加,酒精度出现了较为明显的下降,并随着时间的继续增加,呈下降趋势,在接下来的发酵中易腐败变质,产生大量白色泡沫,产生有别于酒香的特殊异样气味。随着发酵时间的变化,底物与麦曲发生作用,不同时间产生不同物质,酿酒酵母加入后与不同实时底物作用,出现不同的实验结果。综合考虑,酿酒酵母即时添加为宜。

2.1.6 加工工艺正交实验

根据单因素实验结果进行正交实验,结果见表3。

表3 加工工艺正交实验

实验号	A	B	C	D	E	酒精度 /%	感官评定 /分
1	1	1	1	1	1	6.3	70
2	1	2	2	2	2	7.3	75
3	1	3	3	3	3	7.7	78
4	1	4	4	4	4	6.5	72
5	2	1	2	3	4	7.5	77
6	2	2	1	4	3	8.1	82
7	2	3	4	1	2	7.9	81
8	2	4	3	2	1	8.3	87
9	3	1	3	4	2	8.2	85
10	3	2	1	3	1	10.5	98
11	3	3	4	2	4	7.9	81
12	3	4	2	1	3	9.1	90
13	4	1	4	2	3	7.8	79
14	4	2	3	1	4	8.3	87
15	4	3	2	4	1	9.7	96
16	4	4	1	3	2	7.4	75
K <sub>1</sub>	6.950	7.450	8.075	7.900	8.700		
K <sub>2</sub>	7.950	8.550	8.400	7.825	7.700		
K <sub>3</sub>	8.925	8.300	8.125	8.275	8.175		
K <sub>4</sub>	8.300	7.825	7.525	8.125	7.550		
R	1.975	0.725	0.875	0.450	1.150		
K <sub>1</sub> '	73.750	77.750	81.250	82.000	87.750		
K <sub>2</sub> '	81.750	85.500	84.500	80.500	79.000		
K <sub>3</sub> '	88.500	84.000	84.250	82.000	82.250		
K <sub>4</sub> '	84.250	81.000	78.250	83.750	79.250		
R'	14.75	7.75	6.25	3.25	8.75		

注:K<sub>i</sub>、R 对应酒精度,K<sub>i</sub>'、R' 对应感官评定,i=1、2、3、4。

由表3可知,比较K值大小得出,酒精度最高的组合为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>E<sub>1</sub>,即发酵温度为25℃,发酵时间为7d,麦曲添加量为3%,酿酒酵母添加量为3%,酿酒酵母添加时间为即时添加。因R<sub>A</sub>>R<sub>E</sub>>R<sub>C</sub>>R<sub>B</sub>>R<sub>D</sub>,所以发酵温度对酒精度的影响最大,而酿酒酵母添加量对酒精度的影响最小。

由表3可知,比较K'值大小得出,感官评定评分最高的组合为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>E<sub>1</sub>,即发酵温度为25℃,发酵时间为7d,麦曲添加量为3%,酿酒酵母添加量为4%,酿酒酵母添加时间为即时添加。因R<sub>A</sub>'>R<sub>E</sub>'>R<sub>B</sub>'>R<sub>C</sub>'>R<sub>D</sub>',所以发酵温度对感官评定的影响最大,而酿酒酵母添加量对感官评定的影响最小。

2.1.7 验证实验

根据正交实验,以酒精度和感官评定为主要指标,分别在A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>E<sub>1</sub>和A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>E<sub>1</sub>条件下进行麦曲紫甘薯清酒发酵,结果见表4。

表4 验证实验结果

组合	酒精度(v/v) %	感官评定 /分
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	11.3	98
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>4</sub> E <sub>1</sub>	9.9	87

通过实验发现, A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>E<sub>1</sub>条件下酿出的麦曲紫甘薯清酒酒精度(v/v)为11.3%,感官评定分数为98分,优于以上正交实验所酿麦曲紫甘薯清酒。因此,麦曲紫甘薯清酒的最佳加工工艺为:发酵温度25℃,发酵时间7d,麦曲添加量3%,酿酒酵母添加量3%,酿酒酵母添加时间为即时添加。在此条件下发酵后经过滤得紫甘薯清酒,测得其各项指标为:酒精度11.3%,总糖3.55g/L,固形物4.3g/L, pH 3.34,总酸3.90g/L。以上指标符合低度保健酒的品质要求,得到的麦曲紫甘薯清酒呈亮玫红色,有光泽,无白色泡沫产生,有麦曲紫甘薯清酒的典型香气,醇香适口,酒度适中。

### 2.2 麦曲紫甘薯清酒中微生物群落演替规律

在不同的发酵时间,麦曲微生物量检测结果见图6。

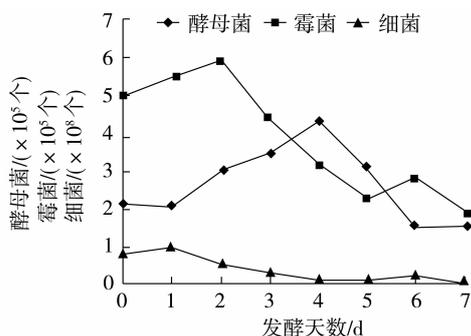


图6 不同发酵时间酵母菌、霉菌和细菌的数量

由图6可以看出,霉菌数量随着发酵时间的延长先上升后下降,且在第2d达到最大值 $5.8 \times 10^8$ 个;酵母菌在发酵第4d时达到最高峰 $4.34 \times 10^5$ 个,随着发酵时间的延长,酵母菌数量呈逐渐减少趋势;细菌数量在发酵第1d出现最大值 $1.16 \times 10^8$ 个,之后随着发酵时间的延长呈减少趋势,但在发酵第6d又有所回升。从图中可以初步发现,在最佳发酵工艺条件下生产出的紫甘薯酒中微生物群落的动态变化规律为:细菌在酿酒过程中最先繁殖,数量增长快但后又迅速减少,之后为霉菌,酵母菌繁殖最慢,但发酵7d后,与发酵初始时相比,酵母菌数量基本保持一致,而细菌和霉菌则明显减少。

### 3 结论

研究得出,麦曲紫甘薯清酒最佳加工条件为:发酵温度25℃,发酵时间7d,麦曲添加量3%,酿酒酵母添加量3%,酿酒酵母添加时间为即时添加。在此条件下得到的麦曲紫甘薯清酒酒精度(v/v)为11.3%,感官评定分数为98分,呈亮玫红色,有光泽,无白色泡沫产生,有麦曲紫甘薯酒的典型香气,醇香适口,酒度适中。麦曲紫甘薯清酒中微生物群落演替规律为:酵母菌数量在发酵第4d达到最大

值,为 $4.34 \times 10^5$ 个,霉菌在发酵第2d达到最大值,为 $5.8 \times 10^8$ 个,细菌数量在发酵第1d出现最大值,为 $1.16 \times 10^8$ 个。本实验利用麦曲作为紫甘薯酒糖化剂,减少了酶解工艺的复杂步骤,节省了时间,提高了紫甘薯的农业增收及综合利用,为生产具有营养保健功能的发酵型紫甘薯酒提供了一定的研究思路。同时,初步探究了麦曲紫甘薯清酒中微生物群落的演替规律,为以后的纯菌种发酵酿酒提供了一定的参考价值。

### 参考文献:

- [1]王新龙.紫薯酒加工及相关工艺特性研究[D].南昌:江西农业大学,2014.
- [2]孔芳,高勇,薛正莲,等.紫甘薯的营养保健功能及研究进展[J].安徽农学通报,2013,19(5):11-13.
- [3]Ji-Myoung K, Sun-Jin P, Chang-Sun L, et al. Functional properties of different Korean sweet potato varieties[J]. Food Science and Biotechnology, 2011(20):1501-1507.
- [4]Lavanya R, Anna L, Creighton Miller J. Determination of phenolic content, composition and their contribution to antioxidant activity in specialty potato selections[J]. American Journal of Potato Research, 2007(84):275-282.
- [5]Ge-fu W, Nowak J. Potato after-cooking darkening[J]. American Journal of Potato Research, 2004(81):7-16.
- [6]Kano M, Takayanagi T, Harada K, et al. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki[J]. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 2005, 69(5):979-988.
- [7]Suda I, Furuta S, Nishiha Y, et al. Reduction of liver induced by carbon tetrachloride in rats administered purple-colored sweet potato juice[J]. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-shi, 1997, 44(4):315-318.
- [8]杨瑞,苏慧,张伟.低度紫甘薯酒及其发酵规律的研究[J].酿酒科技,2008(9):55-57.
- [9]贾登三,李成青.紫薯市场潜力大依据用途选良种[J].北京农业,2004(6):38.
- [10]Saigusa N, Kawashima N, Ohba R. Maintaining the anthocyanin content and improvement of the aroma of an alcoholic fermented beverage produced from raw purple-fleshed sweet potato[J]. Food Science and Technology Research, 2007, 13(1):23-27.
- [11]方华.绍兴黄酒麦曲中微生物的初步研究[D].无锡:江南大学,2006.
- [12]候召华,宁浩然,聂帅,等.国内外酒曲研究进展[J].特产研究,2013(2):72-76.
- [13]宋北,王继华,杜丛,等.大米酒酒曲中优势菌群的探究[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,2010,26(2):69-73.
- [14]Dung N T P, Rombouts F M, Nout M J R. Characteristics of some traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (men)[J]. LWT - Food Science and Technology, 2007, 40(1):130-135.
- [15]王家金.鲜红薯酿制黄酒[J].云南农业科技,2003(3):49.
- [16]田卫政.紫薯酒发酵工艺优化及功能成分研究[D].青岛:青岛农业大学,2014.