

茅台酒大曲微生物的研究

贵州省轻工业局科学研究所食品发酵研究室

(贵阳)

为了了解各种微生物在大曲中的作用及其代谢产物对酒香味的影响,我们对茅台酒制曲过程中的样品进行了多次微生物分离。共得细菌 47 株,霉菌 29 株,酵母菌 19 株,共 95 株。通过初步鉴定和生理生化特性测定,选择有代表性的菌株,进行了纯种及混合种制曲试验。所制曲的外观、气味和化学分析结果与生产用曲相似,比未接种的对照曲好。现将研究结果报道如下。

一、制曲过程中化学成分的变化及微生物动态

制曲过程中每天记录室内干湿球温度,曲的品温,并定期取样进行常规分析和微生物的

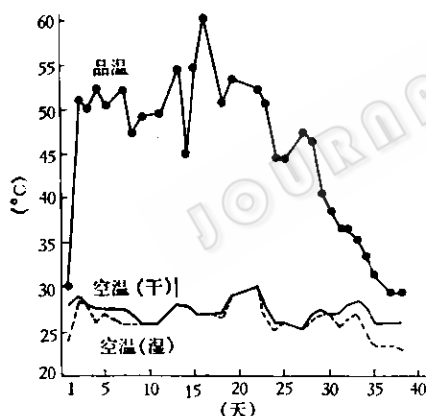


图1 制曲过程中发酵温度的变化(第7、14天翻曲)

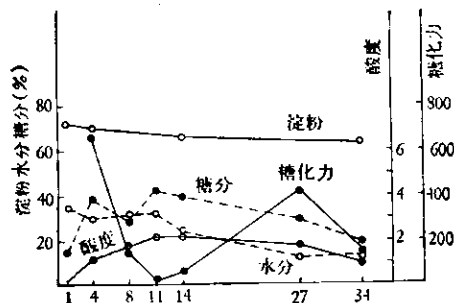


图2 制曲过程中化学成分的变化

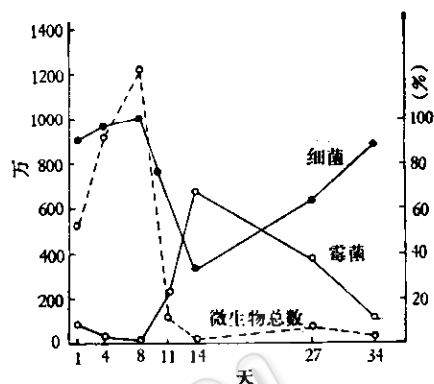


图3 制曲过程中微生物数量的变化

分离。测定结果见图1—3。

图1—3说明,曲块进房后,酸度和糖分逐渐上升,在第二次翻曲前达到高峰。由于小麦粉本身带来了淀粉酶,开始时糖化力较高,随着品温的上升而显著下降。第二翻曲后,水分减少,霉菌增殖,糖化力又有所回升,但总的来说,茅台大曲的糖化力是很小的。

大曲中的微生物主要来自曲母、麦粉。开始时在曲块表面生长的霉菌主要是毛霉类,随着温度的上升,霉菌的生长受到抑制。至第二次翻曲时,水份减少,曲霉类和红曲霉类代之而起,直至出仓曲霉经常出现。细菌在制曲过程中占有绝对优势,在高温阶段分离到的细菌多数是嗜热芽孢杆菌。而酵母菌在制曲过程中出现较少,在进房至第11天偶尔可分离到假丝酵母,拟内孢霉和地霉属酵母菌。

二、制曲过程中分离菌株的初步鉴定

对19株酵母菌进行鉴定^[1],它们分别属于拟内孢霉属 (*Endomycopsis*)、地霉属 (*Geotrichum*)、汉逊酵母属 (*Hansenula*)、假丝酵母属

(*Candida*)、毕赤酵母属 (*Pichia*)、酵母属 (*Saccharomyces*)、红酵母属 (*Rhodotorula*)。47 株细菌中,多数属于芽孢杆菌属。其中有能在 50—55℃ 下生长的嗜热芽孢杆菌,它们大都属于孢囊不膨大,菌体直径小于 0.9 微米的枯草芽孢杆菌群,少数孢囊膨大成球拍状。还有微球菌属,气杆菌属的细菌^[1]。29 株霉菌分别属于曲霉属、毛霉属、犁头霉属、红曲霉属、青霉属、拟青霉属等^[1]。

三、不同条件下的制曲试验

菌株通过生理、生化的测定,进行单株纯种制曲试验,选择有代表性的芽孢杆菌属细菌 7

株;霉菌选择红曲霉属 3 株;曲霉属 3 株;毛霉科 3 株,共 9 株;酵母菌中选择拟内孢霉属 3 株,汉逊酵母属、毕赤酵母属、假丝酵母属、地霉属各 1 株,共 7 株。

(一) 纯种混合曲的制曲和测定

将添加 30% 水的粗小麦粉培养基,分装于三角瓶中,在 1 公斤压力下灭菌 30 分钟。将上述 23 株菌株逐株在三角瓶中制好种曲,采用相同的培养基,再按细菌 (7 株混合)、酵母菌 (7 株混合)、霉菌 (9 株混合) 两两结合的方式制纯种混合曲。每组接种 5 个三角瓶,35℃ 培养,在第 4、7、11、15 天取样进行分析,用第一天灭菌的麦粉作对照,结果见表 1。

表 1 纯种混合曲和小试验曲的分析结果*

结果分析项目 样品名称及取样日期		淀粉 (无水)%	水份%	酸 度	糖化力	糖 份 (无水)%	氨态氮
酵母菌、霉菌曲	12.16	78.89	32.5	0.210	0	2.16	0.002
	.19		30.1	0.814	228	3.03	0.159
	.22	62.07	39.4	0.814	433	3.47	0.225
	.26		44.0	0.919	514	1.72	0.361
	.30		53.8	1.050	1205	2.17	0.335
细菌、酵母菌曲	12.16	78.89	32.5	0.210	0	2.16	0.002
	12.19		36.3	0.368	429	1.77	0.088
	.22	73.83	41.5	0.420	138	1.20	0.171
	.26		46.2	0.886	110	2.07	0.340
	.30	55.32	55.7	0.945	105	1.15	0.390
细菌、霉菌曲	12.16	78.89	32.5	0.210	0	2.16	0.002
	.19		38.1	0.761	67	5.51	0.212
	.22	63.28	38.4	0.961	543	3.24	0.213
	.26		47.3	1.103	943	3.63	0.289
	.30	46.35	55.0	1.155	1004	2.44	0.442
小试验曲	12.16	79.30	39.5	0.210	1176	1.12	0.001
	.19		31.5	0.935	1262	3.94	0.324
	.22	73.15	27.9	0.945		3.72	0.360
	.26		23.7	1.181	1133	3.22	0.412
	.30		25.5	1.181	1362	2.47	0.331
对照曲	12.16	79.30	39.5	0.210	1176	1.12	0.001
	12.30	67.89	21.4	1.550	1376	1.40	0.489

* 糖化力单位: 毫克葡萄糖/克曲·小时; 酸度单位: 消耗 0.1NNaOH 毫升数/克曲; 氨态氮单位: 克/100 克曲。

表 1 说明, 酸度和氨态氮由于糖代谢产酸和蛋白质的分解而升高。糖化力由于霉菌的作用而明显增强, 第 15 天细菌酵母菌混合曲的糖

化力仅为其它两种曲的十分之一。

(二) 小试验曲的制曲和测定

按前法将上述 23 株菌逐株制好种曲, 以

8% 的接种量接入添加了 40% 水的粗小麦粉(未经灭菌)中,用曲模压成曲块,每块 1 公斤左右,垫隔以无菌稻草,置 35℃ 保温箱中,注意保持湿度。对照曲(未接入培养的菌种)也一起置箱中培养 14 天,第 7 天翻曲一次,定期取样进行化学分析(见表 1),并注意曲子的颜色、气味与对照曲的差别。试验表明,进箱后酸度与氨态氮明显增加,糖份第 4 天达到高峰,之后糖被微生物所利用而下降,糖化力却自始至终保持稳定。

试验曲由于接入大量的微生物,前期品温迅速上升,第 3 天达到 53℃ 的高峰,翻曲后,第 8 天品温又回升至 50℃,以后逐渐下降。而对照曲由于麦粉中微生物数量很少,前期品温上升缓慢,至第 11 天才达到 45℃,见图 4。

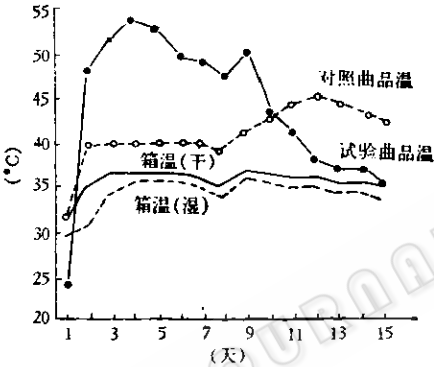


图 4 小试验曲的温度变化(第 7 天翻曲)

对照曲的酸度高,出箱时曲子霉味重。试验曲的外观、香气与茅台大曲相类似。

(三) 生产试验曲的制曲和测定

用上述 23 株菌制种曲,按 4% 的接种量踩制大曲。每块曲用麦粉 5.5 公斤,加水 37%。另以生产曲(添加 5% 茅台大曲粉)和空白曲(不添加任何种曲)作为对照。分别垫隔无菌稻草,和大生产的曲子一起进房培养。第 7 天和第 14 天翻曲时取样分析,并注意曲的品温、形态、气味的变化,结果见表 2。

从成品曲的形态、颜色、气味来看,试验曲与生产曲很接近,有酱香味与对照曲则有明显差别。

大曲进房后,由于品温迅速升高,糖化力大

表 2 生产、试验曲的测定

结果分析项目		生化分析				微生物细胞数(万/克曲)			
		水份	糖份	酸度	糖化力	总数	细菌	酵母	霉菌
取样日期及样品名称	试验曲	(%)	(%)						
		39.0	0.83	0.1	600	9984	9664	112	208
		34.1	5.09	1.3	26	19776	19728	16	32
4.6	空白曲	26.7	5.09	3.0	19	864	816	—	48
		39.0	0.42	0.1	658	2208	1216	64	928
		32.5	3.61	1.5	0	2571	1200	1136	235
4.6	生产曲	30.0	5.09	1.9	0	688	576	—	112
		36.0	0.42	0.1	595	2208	1216	64	928
		34.8	5.09	1.5	0	352	208	80	64
4.6	生产曲	30.5	3.56	2.4	5	272	192	—	80

大下降,酸度则明显升高,至第二次翻曲时酸度增加高达 20 倍以上。由于品温高,微生物数量明显减少,而且都分离不出酵母菌。成品曲与生产曲很接近,有较好的酱香气味,而空白曲则有明显差别。

(四) 纯种曲香气成分分析

将上述 7 株细菌逐株制成三角瓶纯种曲,培养基仍为添加 30% 水的灭菌小麦粉,培养时间为 15 天,培养温度从 35℃ 起逐渐升高,最高温度为 60℃。成品曲都不同程度地带有酱香气味。称曲 50 克,研成粉加乙醚 150 毫升,浸泡过夜,过滤后吸 1 毫升于空烧杯中,挥发去乙醚,闻香并以生产曲粉作对照。结果表明,香气接近,能闻到香草醛的气味,有的样品还可闻到烟熏气味。另将乙醚浸出液以 0.1N NaHCO₃ 调 pH 至 7.5—8.0,醚层水洗后进行纸上层析,普遍可见到香草醛、阿魏酸、丁香酸的斑点。

(五) 讨论

在研究茅台酒制曲过程中分离的微生物时,用单株细菌制的成品曲都不同程度带有酱香气味。可以说这些嗜热芽孢杆菌是茅台酒生产的有益菌类,其代谢产物在高温条件下生成的香味物质,和茅台酒的香味有密切关系。

制曲过程中常见的曲霉、毛霉、红曲霉等霉菌,有些也能耐受 50—55℃ 高温,它们也有较强的糖化力及蛋白质分解力,与细菌一起起着

重要的作用。酵母菌则只在制曲的前期有时出现,随着温度升高,其生长受到抑制并逐渐死亡。

选择优良菌株,进行不同条件下的制曲试验,所得结果说明存在着利用分离菌株制曲,提高大曲质量的可能性。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所《常见与常用真菌》编写组: 常见与常用真菌,第一版,科学出版社,北京,1973年,第250—263页。
- [2] 王大耜: 细菌分类基础,第一版,科学出版社,北京,1977年,第126—159页。