

白酒工业微生物资源的发掘与应用

吴衍庸

(中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041)

摘要: 对中国白酒中微生物(特殊功能菌)的发掘与应用研究,进行了深入研究和不懈的努力,取得了可喜的成果,为中国白酒的发展做出了重大贡献。利用甲醇的生丝微菌的发现与分离,可降低白酒中甲醇含量,还可利用其去除再利用水中的硝酸盐。分离到了高乙醇浓度特殊环境中甲烷氧化菌,其应用方面范围广、潜力大。从浓香型酒老窖中分离出一株产甲烷杆菌,开发出甲烷细菌与己酸菌共酵的二元发酵技术。从泸州老窖泥中分离出产己酸的细菌,为推广人工老窖发酵浓香型酒作出了重要贡献。杂醇油利用菌的发现与分离,为酒精工业降低杂醇油提供了新方法。从郎酒高温曲中分离得到一株嗜热芽孢杆菌。从泸型麦曲中分离出一株红曲霉菌,用于强化菌曲的研究。(陶然)

关键词: 微生物; 白酒工业; 细菌; 特殊功能菌; 研究与应用

中图分类号: Q93-3; TS262.3; TS261.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2006)11-0111-02

Exploration & Application of Microbial Resources in Liquor-making Industry

WU Yan-yong

(Chengdu Biology Research Institute of CAS, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Much effort has been made in the exploration and the application of microbes (bacteria of special function) in liquor-making industry and great accomplishments have been achieved as follows: the discovery and successful separation of Hyphomicrobium, which could be used to reduce methanol content in liquor and to eliminate nitrate in recycling water; the separation of methane oxygenated bacteria from high alcohol concentration environment, which has wide application range and great application potential; the separation of a methane-producing bacilli from Luzhou-flavor aged pits, which could be further developed into dual fermentation technique (co-fermentation of methane bacteria and caproic acid bacteria); the separation of caproic acid-producing bacteria from Luzhou Laojiao pit mud, which has made great contribution in the popularization of Luzhou-flavor liquor fermentation by manmade aged pits; the discovery and separation of fusel oil using strain, which provides a new method for reducing fusel oil content in alcohol industry; the separation of a Bacillus sp. from high-temperature starter of Langjiu; the separation of a monascus strain from Lu-type wheat starter, which could be used in the study of strengthening bacteria. (Tran. by YUE Yang)

Key words: microbe; liquor-making industry; bacteria; bacteria of special function; research and application

1 利用甲醇的生丝微菌的发现与分离

生丝微菌是一类以甲醇作为唯一碳源和能源的通过出芽过程繁殖的柄细菌,具有独特的形态学特征,过去的研究更多在形态学方面,主要原因是缺乏一种快速培养分离的方法,富集培养至少也需 5 周至 10 周时间;其二,极低的生产率使纯培养研究也失去价值,1972 年在分离方法上取得重大进展,以采用甲醇作为底物和厌

氧富集步骤才获得一定成功,使生丝微菌(Hyphomicrobium)得到适宜的生长条件。又克服了其他微生物在富集过程中过量生长的问题,从而才对该菌有了从形态到生理生化方面的研究。笔者提出的研究生论文题目^[1],从酒窖中分离嗜甲醇的菌株,我们首次从酒窖环境分离出生丝微菌(Hyphomicrobium)的一株纯培养菌株。该菌不仅对佳酿白酒有着重要意义,由于该菌消耗甲醇的生理

收稿日期: 2006-08-30

作者简介: 吴衍庸(1926-),男,成都市人,大学,研究员,硕导,微生物学家,名白酒研究专家,第二、第三届国际酒文化研讨会学术委员,国务院政府津贴首批获得者。从事泸型酒理论及应用研究近 40 年,获国家自然科学基金理论成果奖 1 项,省市重大科技成果奖多项,完成国家自然科学基金白酒微生物研究项目 3 项,创新白酒微生物技术 3 项,发表论文近百篇,出版专著 1 部。指导白酒微生物硕士研究生 8 名。

特征, 可望作为解决某些酒厂产品出现甲醇超标的一种方法, 生丝微菌在老窖中的发现和分离, 更加深了在理论上对老窖传统工艺的特殊意义的认识, 突出了老窖佳酿的价值所在和老窖发酵过程微生物的作用, 使甲醇含量得到有效调控。如何利用微生物学方法, 通过强化酒窖中的甲醇利用菌来降低其甲醇含量, 无疑是一项重要而有意义的工作, 值得关注, 列入专项研究。再从工业微生物其他领域考虑, 生丝微菌又是环境指示菌, 它的存在说明水体被污染, 现在环境污染已成为人们最为关心的问题, 该菌还可去除再利用水中的硝酸盐, 此外, 将甲醇作为碳源, 用甲醇利用菌生产氨基酸、维生素、多糖物质等, 开辟出更多的新领域, 从老窖发酵糟中分离出生丝微菌实属首次, 有待扩展到新领域的研究并服务于人类。

2 高乙醇浓度特殊环境中甲烷氧化菌的发现

甲烷氧化菌的分离, 纯培养和保存都十分困难, 在高乙醇浓度特殊环境中分离甲烷氧化菌是一个大胆的设想。笔者指导的研究生进行了这项创新研究^[2], 第一步确实经过特殊设计方法发现老窖中确有甲烷氧化作用, 以后再进入甲烷菌的分离工作, 在乙醇浓度高达 6 % Vol ~ 7 % Vol, pH 低至 3 ~ 4 的浓香型酒窖发酵糟中, 首次检测并分离到一株专性的甲烷氧化菌 *Methylomonas* sp.854- 1, 通过对其形态学细胞内膜结构、营养和生长特性等的研究, 发现它不同于文献上已报道过的任何一个已知种, 该菌突出的两个特征是: 在 45 °C 温度下生长良好, 能耐受 2 % 的甲醇和 0.5 % 的乙醇, 是迄今所报道的对有机醇耐受性最强的一株甲烷氧化菌。甲烷氧化菌以其生理和生物化学特性不仅是细胞学、生物化学、能量代谢和生态学等多学科所研究的新颖材料, 应用方面范围广、潜力大, 生产单细胞蛋白、发酵产品包括生物多聚糖、-羟丁酸、氨基酸, 特别是在当前更具有重要价值, 在污水处理及排除煤矿瓦斯、生物电池方面均成为急需解决的问题, 我们所分离的 *Methylomonas* sp.854- 1, 不仅在酒窖微生物种群间相互关系上有特殊生态意义, 保持酒窖发酵中气压平衡的特殊作用, 而在工业生产上微生物新领域中的研究潜力巨大, 有待开发。

3 泸州老窖泥中产甲烷杆菌的发现和分离

浓香型白酒传统酿造是在泥窖中完成发酵, 窖泥中栖息的细菌特别是厌氧细菌是浓香型酒呈香的决定因素, 己酸乙酯是浓香型酒主体香成分, 己酸发酵产生己酸, 甲烷发酵产生甲烷, 产甲烷菌在酒窖中存在具有特殊意义, 甲烷菌的“种间氢转移”有利窖内各种产氢型发酵, 更有利于促进己酸发酵, 有利于己酸乙酯的合成, 这就说明甲烷菌在酒窖中存在的生态学意义, 从泸型酒老

窖中发现各种产甲烷细菌的存在不是偶然的, 它是甲烷菌存在的又一生态系统的发现, 为中国特有。我们采用特殊手段, 绝对厌氧方法首次从中国酒窖中分离出一株产甲烷杆菌, 被鉴定为布氏甲烷杆菌 *CS* (*Methanobacterium bryantii* cs)。往后开发出的甲烷细菌与己酸菌共酵的二元发酵技术对中国白酒的发展作出了重大贡献^[3]。

4 老窖己酸菌分离及应用

20 世纪 60 年代, 笔者曾从泸州老窖泥中分离出产己酸的细菌, 并已应用于名酒发酵“人工老窖”的雏型, 对产己酸的细菌只作了产酸的纸上层析的检测, 对己酸菌未作系统的生物学鉴定。20 世纪 80 年代初再次列入研究生论文题目^[4], 泸州老窖己酸菌分离特性及产酸条件的研究, 研究组内又从五粮液老窖中进行己酸菌的分离和研究, 对泸州老窖和五粮液老窖中分离的己酸菌和其他分离菌株均进行了形态、生理、生化特性的鉴定, 同时对菌株产酸条件也进行了研究, 反应均有高产己酸的特性, 泸州己酸菌在初期产酸量高达 20000 mg/kg 以上。在实验过程中产酸量有所下降, 产酸性能不够稳定, 有待进一步研究。从五粮液老窖分离所得的己酸菌 w-1, 产酸量可达 10000 mg/kg 左右, 在生产应用方面所分离的菌株均反应出极佳的效果, 为推广“人工老窖”发酵浓香型酒作出了重要贡献。

5 一株杂醇油利用菌的发现与分离

为结合一般白酒存在杂醇油含量偏高或超标的问题, 由笔者选题指导的研究生论文^[5], 试图寻找能嗜高醇类(杂醇油)的有效菌株加以开发利用, 菌种分离以郎酒高温曲为材料, 开始用一般方法难以得到, 经摸索后, 通过富集培养, 定向诱导得到一株嗜异戊醇的 w-2 菌, 该菌能与异戊醇或其他某些多碳醇作为唯一的碳源和能源进行生长, w-2 菌经形态、生理生化鉴定为假单胞菌属中的铜绿假单胞菌的一个变种, 初步定名为 *Pseudomonas aeruginosa* w-2。杂醇油是微生物在酿酒发酵中产生乙醇、有机酸和酯的同时得到的次生代谢产物。主要为异戊醇、异丁醇、正丙醇及其他一些多碳醇, 其中异戊醇占杂醇油总量的 50 % 以上。少量的高级醇可以赋予白酒独特的香味, 但是在白酒中含量过高又会使酒失去特有的风味。

w-2 菌的特性为: pH8.5 ~ 9.0, 对异戊醇的利用率达 84.4 %, 最适生长异戊醇浓度为 4.5 g / 1000 mL, 本研究仅作为基础性研究, 但尚未进入生产性试验, 结合中国酒实际, 从中国酒曲中分离得到的这株菌具有特殊意义, 该菌在酒精工业方面寻求降低杂醇油的新方法, 以生物学途径求得解决, 当前在结合酒精能源问题上, 应列入创新研究项目, 有待深入研究。

(下转第 115 页)

还没有力量面对国内众多的啤酒生产企业进行大规模推广。这在一定程度上会影响企业的积极性,但啤酒包装塑料化的进程不会改变。

4 市场前景

据媒体报道,2005年11月21日,加拿大赫斯基、法国西德乐、德国克朗斯风等世界塑料包装巨头云集珠海,对啤酒包装塑料化前景进行了探讨,对此充满信心。随着中富公司等企业研发技术的日益成熟,我们有理由相信,此项技术也会像10多年前开发5加仑PC矿泉水桶一样,取得令人瞩目的成就,给中国的啤酒包装业带来一次革命。从近几年的资料可看出,两年前国内啤酒企业因受多方制约,还处在尝试、关注之中;而目前已有多个品牌啤酒开始使用中富、上海紫江等公司生产的PET啤酒瓶;蓝贝啤酒甚至走上了合作更加紧密的联体生产线道路(两家公司已在河北省滦县蓝贝啤酒公司联线生产PET啤酒瓶,将于10月份投产^[10])。吹瓶机与灌装线联线后,生产出的PET啤酒瓶经传送带直接送入啤酒灌装线,有效地避免了二次污染,经简单的冲瓶后即可灌装。此举与玻璃瓶相比,可大大减少运输、洗瓶、上瓶等中间环节,既提高了生产效率,保证了卫生,也大大节省了劳动力。可以肯定的是,今后的几年中,全国各地的消费者会逐渐发现新型塑料啤酒包装在大街小巷闪亮登场,凭借其诸多优势,逐渐成为国际、国内啤酒包

装的新宠。在未来的啤酒包装行业中,PET瓶未必能完全替代玻璃瓶,但它会逐渐占据一定的市场份额,并快速增长。

参考文献:

- [1] 汪建萍,等.新型啤酒包装材料- PET[J].包装世界,2000,(2): 80- 81.
- [2] 尹礼宁,郭玲.PEN及其在包装行业的应用[J].中国包装,1997,17(6): 66- 69.
- [3] 傅志红.美国、北美洲塑料包装的现状与预测[J].包装世界,2000,(3): 76.
- [4] 明景熙.取代啤酒玻璃瓶的PET及PEN啤ET[J].中国包装,1999,19(4): 50- 51.
- [5] 邹盛欧.新型包装材料PEN的开发与应用[J].中国包装,1999,19(6): 100- 101.
- [6] 单层PET瓶:啤酒塑料包装新选择[EB/OL].<http://www.Keyin.cn/input/Article/Html/2005-12-10/59054.html>, 2005-12-10.
- [7] 刘国信.单层PET啤酒瓶开发受关注[J].包装世界,2005,(5): 70.
- [8] 孔凡真.啤酒塑料包装一路走高[EB/OL].<http://news.pack.net.cn/newscenter/xzyd/2006-08-12/10484646.shtml>, 2006-08-12.
- [9] 邹东恢,等.啤酒新型包装材料的研究与开发[J].包装与食品机械,2002,20(4): 28- 29.
- [10] 证券时报.珠海中富塑料啤酒瓶业务前景展望[EB/OL].<http://www.cnfol.com>, 2005-09-30.

(上接第112页)

6 一株嗜热芽孢杆菌的分离及产淀粉酶的研究

由笔者指导的研究生论文^[6],从郎酒高温曲中分离得到经鉴定为地衣芽孢杆菌Js-5a,该菌在90℃高温时具有强的活性,糊精化淀粉作用温度高达100℃,产酶条件pH范围4.5~10.5,对该菌的进一步深入研究可望选育成工业生产菌种,基础研究论文已在1989年《微生物学报》^[6]上发表。

7 红曲酯化酶产生菌的分离

酯化酶研究在理论上解决了老窖发酵己酸乙酯合成机理,20世纪80年代以前对己酸与乙醇合成己酸乙酯的生物化学一无所知。20世纪80年代初,我们从泸型麦曲中分离出一株红曲霉菌,首先用于“强化菌曲”试验,用于产酒具有生香功能,也是酯化曲的早期应用。该菌的分离、鉴定及酯化试验早期论文发表在1990年的《食品发酵工业》上^[7],从研究到生产应用,不仅解决了己酸乙酯生物合成途径,菌种及酯化,在白酒工业生产上开辟了新的广阔空间,掀起了酯化酶的研究热,还望在今后的生产应用上有所突破,在发展生产上作出更大贡献。

8 后记

浓香型酒老窖、酱香型酒高温曲均是我国微生物资源的宝库,从中可发现、发掘出更多的工业微生物有效菌株,用于创新研究、发展生产、服务于人类。我们的研究在应用方面己酸菌、甲烷菌、酯化菌仍在继续发挥着作用,而甲烷氧化菌、甲醇利用菌在当前对环境的污染、能源问题特别重视的情况下,很值得拓宽领域去研究。

参考文献:

- [1] 吴衍庸,易伟庆.泸酒老窖己酸菌分离特性及产酸条件的研究[J].食品与发酵工业,1986,(5): 1- 5.
- [2] 郑坚,赵树杰,吴衍庸.酒窖高乙醇浓度特殊环境中甲烷氧化菌的发现[J].山东微生物,1985,(5).
- [3] 刘光烨,赵一章,吴衍庸.泸酒老窖泥中布氏甲烷杆菌的分离和特性[J].微生物学通报,1987,(4): 154- 159.
- [4] 王岩,吴衍庸.浓香型酒窖中生丝微菌的分离与特性[J].微生物学通报,1991,18(2): 25- 27.
- [5] 刘武,吴衍庸.酒类发酵降低杂醇油含量的生物学途径的研究[J].湖南食品发酵,1992,(1).
- [6] 李佑红,吴衍庸.地衣芽孢杆菌Js-5a淀粉酶的研究[J].微生物学报,1989,29(4): 314- 316.
- [7] 吴衍庸,郭世则.浓香型酒己酸乙酯合成的生物学研究[J].食品与发酵工业,1990,(5): 1- 3.