

己酸菌培养方法及其主要关联产物生成

谢国排

(安徽金钟子酒业股份有限公司, 安徽 阜阳 236038)

摘要: 己酸菌是窖泥中的主要功能菌之一,其含量的多少,活性的强弱,一定程度上决定着窖泥质量的优劣和窖泥活性的大小;己酸菌与浓香型白酒中的己酸、己酸乙酯的生成关系密切。就己酸菌在小体积培养和生产大体积培养过程的培养方法及结果进行了阐述,结果表明,有机培养基质的加入有利于己酸菌的生长代谢和己酸的积累;乙醇也是基质中十分重要的营养成分,乙醇的缺少,不利于己酸的积累。

关键词: 微生物; 己酸菌; 窖泥; 浓香型大曲酒

中图分类号: TS262.31; TS261.4; Q93-3

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2011)03-0063-02

Culture Methods of Caproic Acid Bacteria & the Formation of Its Main Linked Products

XIE Guo-pai

(Jinzhongzi Liquor Industry Co.Ltd., Fuyang, Anhui 236038, China)

Abstract: Caproic acid bacteria is one of the main functional bacteria in pit mud and its content and its activity may determine pit mud quality and pit mud activity to some extent. Caproic acid bacteria is closely related to the formation of caproic acid and ethyl caproate in Luzhou-flavor liquor. In this paper, the culture methods and culture results of caproic acid bacteria at small-scale or large-scale were elaborated. The results suggested that the addition of organic culture mediums was beneficial to the metabolism and the growth and the accumulation of caproic acid bacteria, and ethanol was a very important component in culture medium and its absence was bad for the accumulation of caproic acid bacteria.

Key words: microbe; caproic acid bacteria; pit mud; Luzhou-flavor Daqu

己酸菌又叫梭状芽孢杆菌,属嫌气性微生物,但因为不同单位分离到的菌株不同,其要求的厌氧程度也不同。可分为专性厌氧、耐氧性和好氧性菌。其形状典型的为梭状,另有短杆形、长杆形等;因为浓香型大曲酒主体香味物质为己酸乙酯,和其前体物质己酸的生成,都离不开己酸菌的作用,即均与己酸菌关系密切。在大曲酒发酵过程中,己酸菌不仅能促进己酸及己酸乙酯的生成,而且还能促进戊酸、庚酸等多种微量成分的生成^[1],形成浓香型大曲酒的独特风味,即在某种程度上说,己酸菌可以决定浓香型大曲酒的质量与风格。己酸菌与窖泥的关系也较为密切,因为窖泥中己酸菌数量的多少和其活性的大小基本上可决定窖泥质量的优劣。己酸菌适宜在微酸、厌氧且营养物质丰富的环境下生长,而浓香型大曲酒生产的窖泥,因长期与酒醅接触,不仅营造了一个良好的微酸性环境,而且还从酒醅中逐渐吸取了大量的醇、醛、酸、酯等微量物质及丰富的营养物质;而且酒醅发酵的绝大多数时间是在厌氧条件下进行的,所以窖泥是己酸菌最适宜的生长环境。为此,如何确定己酸菌的培养方式与培养方法来实现己酸菌的最适宜培养条件则尤为重要。笔者就不同时期、不同阶段、不同菌株、不同培养条件对己酸菌的

生长代谢能力进行介绍。

1 己酸、己酸乙酯的生成途径

1.1 己酸的生成

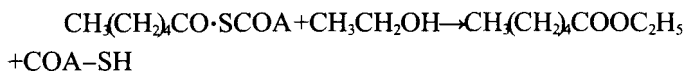
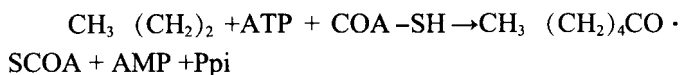
浓香型大曲酒主体香味物质是己酸乙酯,己酸是己酸乙酯的前体,己酸的生成主要有以下几条途径^[1]:①酒精和乙酸合成己酸;②酒精和乙酸生成丁酸,丁酸再和酒精合成己酸;③淀粉糖化后,先生成丙酮酸,丙酮酸再生成丁酸,丁酸与乙酸合成己酸。

酒醅在窖池内发酵时,上述反应均有可能发生,主要是己酸菌利用生物酶促进上述反应的发生,使己酸大量生成。

1.2 己酸乙酯的合成

己酸乙酯的合成,一般认为主要有两种方式^[2]:

1.2.1 己酸与酒精通过酰基辅酶 A 反应形成己酸乙酯

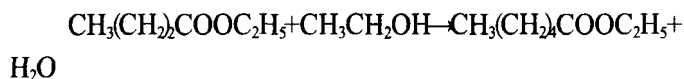
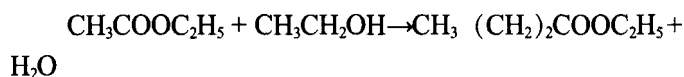


1.2.2 己酸菌利用乙酸乙酯为承受体生成己酸乙酯

收稿日期:2010-11-01

作者简介:谢国排(1977-),男,大学本科,工程师,车间主任,发表论文多篇。

己酸菌利用乙酸乙酯为承受体,加入乙醇为丁酸乙醇,再与乙醇生成己酸乙酯:



2 己酸菌小体积培养

1975年,内蒙古轻工科学研究院提出了经改进和简化了的7种成分合成培养基,其成分为:乙酸钠5g,硫酸铵0.5g,磷酸氢二钾0.4g,硫酸镁0.2g,酵母膏1g,乙醇20mL(灭菌后,接种前加), CaCO_3 10g(同乙醇),水1000mL。并试验证明:乙醇、乙酸是己酸菌重要营养成分,且一旦缺少,就不产己酸;酵母膏是己酸菌的生长因子,缺失则严重影响其产酸能力。

梁家驊等用克氏梭菌M1菌株,在实验室对该菌株产酸能力进行试验。其培养基为:乙酸钠2.5g,冰醋酸2.5g, K_2HPO_4 0.3g, KH_2PO_4 0.2g, NH_4Cl 0.25g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1g,对氨基苯甲酸2mg,指示剂刀天青1mg,加蒸馏水成1000mL,调pH7.0。将下列成分单独配成溶液后,用细菌过滤膜除菌(容器中充氮气):50%乙醇溶液,2% $\text{Na}_2\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$,10% NaHCO_3 ,10%酵母膏溶液,每100mL含50mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液,每100mL含20 μg 生物素溶液。用HUGATE(亨格特)厌氧技术制培养基。按上述分量配好的液体培养基于200mL圆底烧瓶中,在氮气保护下煮沸并冷却,分装于带丝扣的试管(5mL)或血清瓶中(每瓶20mL),加塞拧紧再用氮气置换,121℃灭菌30min。接种时在每个试管加入0.05mL Na_2S 溶液,0.1mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液,0.2mL NaHCO_3 溶液,0.05mL生物素溶液,或0.1mL酵母膏溶液,0.15mL无水乙醇。每管接种0.5mL,35℃培养4d测挥发酸含量,结果:反应前乙酸底物浓度为4.8g/L,反应后,乙酸浓度为0.95g/L,己酸浓度为7.4g/L,丁酸浓度为1.9g/L。

谢国排利用从安徽种子酒厂优质窖泥中分离得的己酸菌种在15%的泥炭水解液中培养,己酸菌数量可提高31%,己酸菌量达到2301万个/mL,己酸含量提高至390mg/100mL^[3]。其培养基配方为:0.5%醋酸钠,0.05%硫酸铵,0.02%硫酸镁,0.04%磷酸氢二钾,0.1%酵母膏,0.2%碳酸钙,2%乙醇,泥炭水解液15%,pH6.5~6.8。

3 己酸菌大体积培养

中科院成都生物所王西等以从泸州曲酒厂老窖泥中分离得到的10株己酸菌进行大体积培养试验^[1]。培养条件:30℃深层培养9d,装量系数95%,结果如下(产酸能力:mg/100mL):

1#为巴氏培养基(7组分):产丁酸103.2mg/100mL,产己酸411.8mg/100mL;

2#为乙酸钠合成培养基:产丁酸181.4mg/100mL,

产己酸623.8mg/100mL;

3#培养基:小麦粉1%,高粱粉0.5%,硫酸铵0.5%,酵母膏0.05%,乙酸钠0.5%,酒尾2%,酒糟浸液25%。实验结果为:产丁酸455.0mg/100mL,产己酸173.4mg/100mL;

4#、2#为合成培养基:添加小麦粉1%,高粱粉0.5%。实验结果为:产丁酸429.7mg/100mL,产己酸133.2mg/100mL;

5#培养基:乙酸钠0.5%,硫酸铵0.5%,酵母膏0.05%,酒尾2%,酒糟浸液25%。实验结果为:产丁酸149.7mg/100mL,产己酸550.3mg/100mL;

6#培养基:乙醇2%,碳酸钙0.5%,酒糟浸液100%。实验结果为:产丁酸551.6mg/100mL,产己酸137.2mg/100mL。

从实验结果可看出,淀粉类碳源的添加不利于己酸的产生;酒糟水中添加乙酸钠十分重要,当乙醇含量2%时,己酸产量以乙酸钠含量1.5%时最高。

谢国排利用从安徽种子酒厂优质窖泥中分离得的己酸菌种在30%的浓香型大曲酒底锅水中培养。培养液成分为:0.5%醋酸钠,0.05%硫酸铵,0.02%硫酸镁,0.04%磷酸氢二钾,0.1%酵母膏,0.2%碳酸钙,2%乙醇,底锅水30%,pH自然。结果:己酸菌数量最大可提高30%,己酸菌量可达到2229.5万个/mL,己酸含量最高可达380mg/100mL^[4]。

4 小结与思考

己酸菌为芽孢杆菌,因其孢子有耐热性,而其营养细胞不耐热,所以为了纯化菌种,大多采用热处理。菌种经热处理后培养时间要延长,以使健壮纯化的菌种逐步繁殖,提高菌种活性,增强产酸能力。

随着企业深入内部挖潜,降低生产成本工作的进一步开展,如何利用各类副产物,减少三废排放,在不影响产品质量与安全的前提下,即不影响己酸菌活性及产酸能力的前提下,将是下一步各酒厂研究关注的方向。

通过对己酸菌小体积培养与大容积培养试验与检测结果表明:有机培养基质的加入有利于己酸菌的生长代谢,尤其是有机基质中添加乙酸钠则是十分必要的,其添加有利于己酸的积累;同时,乙醇也是基质中十分重要的营养成分,乙醇的缺少,不利于己酸的积累。

参考文献:

- [1] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
- [2] 章克昌.白酒与蒸馏酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2002.
- [3] 谢国排.泥炭水解液培养己酸菌的研究[J].酿酒科技,2005,(7):116.
- [4] 谢国排.用曲酒生产的底锅水培养己酸菌[J].酿酒科技,2006,(9):58-59.