

多粮浓香型酒厂空气中霉菌多样性研究

陈泽军¹,周瑞平¹,田文¹,王涛²

(1.四川省宜宾市叙府酒业技术中心,四川 宜宾 644000;2.宜宾学院发酵资源与应用四川省高校重点实验室,四川 宜宾 644000)

摘要: 对长期生产的酿酒区域内和区域外空气中霉菌种类和数量进行比较研究。结果表明,生产车间内霉菌的种类和数量显著高于厂区和厂区外。制曲车间空气中的霉菌种类和数量最多,分别占分离菌株总数的 43.1 % 和分类总属数的 68 %;发酵车间次之,分别为 38.9 % 和 46.4 %;而其他 3 个采样点一共占 18 % 和 25 %。在生产车间空气中,霉菌存在一定程度的多样性和特殊性,葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 为优势属。

关键词: 微生物; 分类鉴定; 霉菌; 多样性

中图分类号: Q93-3; TS261.1; TS262.31

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2009)02-0060-03

Study on Aerial Mildew Diversity in Multiple-grains Luzhou-flavor Distillery

CHEN Ze-jun¹, ZHOU Rui-ping¹, TIAN Wen¹ and WANG Tao²

(1. Technical Center of Xufu Liquor Industry Co.Ltd., Yibin, Sichuan 644000; 2. Sichuan Key Lab of Fermentation Resources & Application, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: The varieties and quantity of mildew in air and around long-term liquor-making region were studied. The results showed that the varieties and quantity of mildew in production plant were evidently higher than other places. The varieties and quantity of mildew in starter-making plant were the highest (43.1 % of total mildew strains and 68 % of total mildew varieties respectively), in fermenting plant were the second highest (38.9 % of total mildew strains and 46.4 % of total mildew varieties respectively), and then in other three sampling spots (added up to 18 % and 25 % respectively). In production plant, *Oedocephalum* preuss was the prevailing mildew strains. (Tran. by YUE ayng)

Key words: microbe; classification and determination; mildew; diversity

中国白酒是我国特有的传统工艺,主要依赖于环境中酿酒微生物,在漫长的发展过程中,由于长期不间断的生产和对酿酒环境微生物长期的驯化就形成了独特的酿酒微生物区系。参与酿酒发酵生产的微生物种类很多,究其来源,主要是制曲过程中和酿酒生产过程中富集于曲药和糟醅中的空气微生物,其种类和数量对曲药和糟醅内的微生物及其酶类的代谢产生重要影响;经过长期的驯化就形成特定的微生物区系。这种区系的客观存在,在很大程度上决定了白酒的风味和品质。若能对曲药生产环境以及糟醅生产环境中空气微生物的种类、数量、分布情况、形成原因等作深入的研究,无疑对于寻找影响白酒风味和品质的形成机理、有效控制环境条件有着积极的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

A:公司中制曲车间;

B:发酵车间;

C:距离发酵车间 1000 m 的公司食堂前;

D:距离制曲车间 2 km 的翠屏山前山;

E:距离公司 7 公里的宜宾学院校园内。

1.2 方法^[1~3]

1.2.1 分离培养基

分离培养基: 常规 PDA 培养基中加入链霉素(40000 U/L)。

鉴别培养基: 常规 PDA 培养基(不含链霉素)。

保存培养基: 常规 PDA 培养基(不含链霉素)。

1.2.2 真菌的分离

在不同的采样点选择不同的位置放置分离培养基,采用自然沉降法开盖接种 5 min。放入恒温培养箱中培养。每 12 h 观察分离平板,挑取单菌落划线纯化于常规 PDA 斜面上。

1.2.3 内生真菌鉴定^[4~5]

纯化培养 7~10 d 后,制片观察菌丝形态、孢子梗

收稿日期:2008-10-06

作者简介 陈泽军(1953-),公司董事长、总经理,高级经济师,国家特邀评委,发表论文多篇。

通讯作者 周瑞平。

形态、孢子形态以及孢子与营养体之间的着生情况,对照有关资料确定真菌的分类学地位。未产孢菌株按柯梅丽等的方法^[5]进行产孢诱导。接种于产孢培养基上,分别用黑光灯、散射光交替培养、重复3次。在培养过程中人为切断生长的菌丝诱导其产孢,将仍未产孢的真菌纯培养物放4℃冰箱中,5个月后再进行观察。最后未产孢菌株根据菌丝的结构、有无菌核、菌核的特征和菌落形态特征,将其鉴定到属。

1.2.4 数据处理

采用 Shannon 指数(H)分析真菌的群落多样性^[6]。采用植物相似性计算公式(王荷生, 1992):

$$s=(2a/b+c) \times 100\%$$

式中: s ——相似性系数;

a ——对比两地的共有属数;

b, c ——出现于同一地的属数,分析真菌的相似性^[7]。

2 结果与分析

2.1 采样点霉菌组成及多样性分析

根据以上方法,各采样点霉菌组成及多样性分析结果见表1。

从表1可看出,本实验共分离出霉菌72株,其中从公司制曲车间的空气环境中分离出31株霉菌(占霉菌总数的43%),分属19个属(占霉菌分布属的68%);从酿酒车间空气环境中分离出28株霉菌(占霉菌总数的39%),分属13个属(占霉菌分布属的46.4%);从公司食堂前空气环境中分离出5株霉菌(占霉菌总数的6.9%),分属4个属(占霉菌分布属的14.3%);从翠屏山前山的空气环境中分离出2株霉菌(占霉菌总数的2.8%),分属2个属(占霉菌分布属的7.1%);从宜宾学院校园内空气环境中分离出6株霉菌(占霉菌总数的8.3%),分属2个属(占霉菌分布属的1%)。从厂区内生产车间空气环境中所分离出59株霉菌(占总菌数的82%),分属于26个属(占霉菌分布属的93%),其中齿梗孢霉属 *Xenopus* Penz.et Sacc、黑葱花霉属 *Periconia* Tode ex Schw.、角囊头孢霉属 *Rhopalomyces* Harder et Sörgel、曲霉属棒曲霉组 *A. clavatus*、射丝孢属 *Asteroma* Dc.ex Fr.、葱花霉属 *Oedocephalum* Prens. 为其2个采样点所共有的分布属,而且葱花霉属 *Oedocephalum* Prens. 占这两点总菌数的32.2%。从 Shannon-Wiener 指数来看,厂内制曲车间环境中霉菌的多样性最高,翠屏山前山环境中霉菌的多样性最低。

表1 属一级分类水平上各采样点霉菌组成及多样性分析

分类地位	A点	B点	C点	D点	E点
齿梗孢霉属	1	2	0	1	0
刺茎点菌属	1	0	0	0	0
单梗曲霉属	1	0	0	0	0
黑葱花霉属	1	1	0	0	0
筒枝单孢霉属	1	0	0	0	0
角囊头孢霉属	3	1	0	0	0
卵形孢霉属	1	0	0	0	0
青霉属	1	0	0	0	0
青霉属匍匐青霉组	1	0	0	0	0
球节孢霉属	1	0	0	0	0
曲霉属棒曲霉组	3	2	1	0	0
曲霉属烟色曲霉组	5	0	0	0	2
曲霉属杂色曲霉组	1	0	0	0	0
射丝孢属	1	3	0	0	0
穗霉属	1	0	0	0	2
头囊霉属	1	0	0	0	0
峡链孢曲霉属	2	0	1	0	1
须壳孢属	1	0	0	0	0
葱花霉属	4	9	0	1	1
梭孢霉属	0	0	0	0	0
平座球壳孢属	0	1	0	0	0
瓶梗青霉属	0	1	0	0	0
球孢霉属	0	3	0	0	0
曲霉属瓜曲霉组	0	1	0	0	0
曲霉属黄-米曲霉组	0	2	0	0	0
粘帚霉属	0	1	0	0	0
曲霉属赭曲霉组	0	1	2	0	0
单梗曲霉属	0	0	1	0	0
菌株总数	31	28	5	2	6
总属数	19	13	4	2	4
Shannon-Wiener 指数	2.189172	1.973691	1.578558	1.30103	1.577465

2.2 不同采样点霉菌相似性分析

2个不同采样点霉菌的相似性系数分析结果见表2。

表2 2个不同采样点霉菌相似性系数 (%)			
项目	相似性系数	项目	相似性系数
A & B	46.15	B & D	30.77
A & C	19.05	B & E	12.50
A & D	21.05	C & D	0.00
A & E	42.11	C & E	28.57
B & C	25.00	D & E	40.00

从表2可以看出,2个不同采样点霉菌的相似性系数都小于50%。通过表1、表2中的数据分析表明,不同采样点的霉菌在数量、种群分布方面有很大的差异。这充分说明霉菌在酒厂厂区内呈多样性分布。

在表2中,制曲车间和发酵车间分离的霉菌共有6个相同的属,分别为:齿梗孢霉属 *Xenopus* Penz.et Sacc.、黑葱花霉属 *Periconia* Tode ex Schw.、角囊头孢霉属 *Rhopalomyces* Harder et Sörgel、曲霉属棒曲霉组 *A. clavatus*、射丝孢属 *Asteroma* Dc.ex Fr.、葱花霉属 *Oedo-*

cephalum Preuss, 其中葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 和曲霉属棒曲霉组 *A. clavatus* 为优势菌属。

3 讨论

3.1 各采样点霉菌的比较

通过本次实验看出,厂区内环境区系中微生物的种类和数量明显多于厂区外部环境。一方面是由于白酒生产是典型的微生物参与发酵,而且生产工艺为自然接种,半开放的生产状态,自然密闭发酵,因此在长期的生产过程中,酿酒车间和制曲车间的环境区系内又不断的对酿酒微生物进行选择 and 积累,继而形成了一个复杂而又独特的微生物区系,其中的各种微生物建立了互利、共生以及相互制约的关系,就形成了一个相对稳定的微生物环境区系。另一方面,企业在生产过程中,形成了一个营养丰富的生态环境,这给微生物的生长繁殖提供了良好的生存场所。而在厂区外,如翠屏山山前和宜宾学院校内,由于环境中营养物质较少,微生物的生存环境比较恶劣,因而微生物的种类和数量较少。

3.2 环境中霉菌多样性分析

从整个实验结果可以看出,在生产车间空气环境中曲霉属棒曲霉组 *A. clavatus*、曲霉属烟色曲霉组 *A. fumigatus*、葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 为优势菌属,尤其是在制曲车间,霉菌分布属较广,这就为曲药的制备提供了丰富的微生物菌种资源,但同时也增大了杂菌感染的机率。而在发酵车间,霉菌分布属相对较少,且葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 占主导地位,这也许是因为在酿酒车间封窖后,窖内处于厌氧环境,不利于霉菌的生长,而窖外空气环境中营养较制曲车间少,且酿酒车

间空气环境中还含有易挥发的醇、酸、酯、醛等物质,抑制了部分霉菌的生长,因而酿酒车间环境中的霉菌的种类较制曲车间少。实验中所分离出来的葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 中有些为植物病原菌,尤其是在高粱根部较为常见。在多粮发酵生产白酒的原料中,高粱为主要原料之一,高粱储存仓又紧靠制曲车间,这就可能是该菌属的重要来源的原因之一,而在翠屏山前山空气环境中也分离出了葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss,因厂区建在翠屏山上,所以这也是葱花霉属 *Oedocephalum* Preuss 为优势菌属的重要原因。

通过本次实验,对酒厂内部和酒厂以外的空气环境中的微生物的多样性进行了较为系统的研究,得到了大量的微生物资源,为日后进一步研究微生物与白酒生产的内在联系奠定了基础。

参考文献:

[1] 唐玉明,廖建民,姚万春,任道群.制曲车间不同环境场地空气微生物差异研究[J].酿酒,1999,130(1):51-53.
[2] 王佳堂,等.兼香型白云边酒生产环境中微生物分布探讨——“白云边酒微生物研究”报告之一[J].酿酒,1992,(4):23.
[3] 安维彬,李大和,李天道,等.制曲过程微生物的研究[J].酿酒,1989,(2):36-40.
[4] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:科学技术出版社,1979.
[5] 柯海丽,宋希强,谭志琼,等.野生五唇兰根部内生真菌多样性研究[J].生物多样性,2007,15(5):456-462.
[6] 姚万春,唐玉明,廖建民,任道群.浓香型酒制曲环境空气微生物分布探讨[J].酿酒科技,1999,94(4):21-23.
[7] 图力古尔,李玉.大青沟自然保护区大型真菌区系多样性的研究[J].生物多样性,2000,8(1):73-80.

(上接第 59 页)

表 2 理化检测结果

项目	包包曲	平板曲	加老曲 平板曲
酸度	1.2~1.7	1.2~1.5	1.2~1.5
水分(%)	11~12	11~12	11~12
淀粉含量(%)	59~60	60~62	60~61
糖化力(mg 葡萄糖/g.h)	800~840	850~920	850~900
液化力(g 淀粉/g·h)	5.2	5.4	4.9

3 讨论

3.1 包包曲与平板曲相比,其具有培养温度范围宽、代谢产物丰富、微生物区系复杂的特点。其中,“包包曲”部分温度高、湿度大、高温持续长,加速了蛋白质的转化及

酒中前体物质的形成,对提高曲质起到重要作用。

3.2 糖化力、液化力是大曲质量考核的基本指标。但不应过分夸大这些指标的作用。只有在温和条件下各种微生物参与同步发酵、各项指标适宜,才能平衡窖内发酵的各种反应过程。

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] 肖冬光.白酒生产技术[M].北京:化学工业出版社,2005.
[3] 马加军.包包曲生产工艺的实践[J].酿酒科技,2003,(1):35-36.