

# 高温大曲中的微生物研究

杨代永, 范光先, 汪地强, 吕云怀

(贵州茅台酒股份有限公司技术中心, 贵州 仁怀 564501)

**摘要:** 通过对茅台高温大曲制曲发酵过程进行跟踪检测, 初步分离出地霉属、汉逊酵母属、假丝酵母属、毕赤酵母属、丝孢酵母属、红酵母属 6 种酵母; 枯草杆菌群、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌等 41 种细菌; 曲霉属、毛霉属、根霉属、犁头霉属、红曲霉属、青霉属、拟青霉属等 51 种霉菌, 共 98 种微生物。研究发现, 高温大曲发酵过程中的微生物总数以细菌为主, 高达  $2.118 \times 10^7$  cfu/g·曲; 霉菌次之, 为  $6.446 \times 10^6$  cfu/g·曲; 酵母最少, 仅有  $6.6 \times 10^4$  cfu/g·曲。种类却以霉菌为最多, 高达 51 种; 细菌次之, 为 41 种; 酵母最少, 仅发现 6 种。随着发酵过程的进行, 微生物呈现出不同的消长规律, 前期以细菌为主, 中后期霉菌大幅度增多, 在前期和后期酵母偶有发现。

**关键词:** 微生物; 高温大曲; 消长规律

中图分类号: Q93-3; TQ925.7; TS261.1 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2007)05-0037-02

## Microbes in High Temperature Starter

YANG Dai-yong, FAN Guang-xian, WANG Di-qiang and LU Yun-huai

(Technical Center of Moutai Distillery Co. Ltd., Renhuai, Guizhou 564501, China)

**Abstract:** There were 98 strains separated from the high temperature fermenting Maotai Daqu starter including 6 yeast genera, 41 bacteria species, and 51 mildew species. Yeast genera included *Geotrichum*, *Hansenula*, *Candida*, *Pichia*, *Trichosporon* sp. and *Rhodotorula*; Bacteria species included *Bac.Subtilis*, *Bac.lieheniformis*, *Bac.coagulans*, *Bac.cereus* and *Bac.thuringiensis*; Mildew species included *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Monascus* sp., *Penicillium* and *Paecilomyces variotii*. The results showed that the amount of bacteria was  $2.118 \times 10^7$ cfu, the highest in high temperature Daqu during fermentation, while mildews,  $6.446 \times 10^6$ cfu and yeasts,  $6.6 \times 10^4$ cfu. However, the species amount ranked in decreasing sequence as mildew (51 species), bacteria (41 species), and yeast (6 species). Microbes presented different growth and decline rules with the proceeding of the fermentation (the bacteria as the major species in fermenting prophase, while the mildew increased rapidly in metaphase and anaphase, but only a little yeast existed in prophase and anaphase).

**Key words:** microbes; high temperature Daqu starter; growth and decline rule

以茅台酒生产用曲为主的高温大曲完全是利用传统工艺, 在特殊的自然生态环境条件下发酵生产的, 它主要是为制酒发酵富集微生物, 提供以糖化酶为主的各类酶类和各种香味前驱物质, 是酱香酒主体香味成分的重要来源。由于其对自然生态环境的特殊依赖性, 形成了中国白酒的各种风格和分类, 也使以茅台酒为主要代表的中国白酒成为世界发酵食品中的一枝奇葩。

为此, 对中国白酒的研究一直成为历代食品发酵工程技术人员的重要课题, 为什么中国白酒要分为酱、浓、清、凤等香型, 为什么不同香型的酒会呈现出各种各样

的风格特征, 为什么适量饮用严格按照传统工艺生产出来的白酒有益于人体健康, 为什么环境因素、工艺特点是白酒质量、风格的决定性因素。带着这些疑问, 本文作者着重研究了高温大曲发酵过程中的微生物及其与其他理化指标的变化关系。

### 1 制曲过程中的微生物

#### 1.1 实验方法

本文利用生物传感技术、选择性分离培养技术、BI-OLOG 鉴定系统、生理生化鉴定技术<sup>[1]</sup>、电子显微技术、

收稿日期: 2007-03-06

作者简介: 杨代永(1963-), 贵州省天竹县人, 现任贵州茅台酒股份有限公司技术中心常务副主任, 工程师, 省级白酒评委, 曾多次参与贵州茅台酒及其系列产品国家标准的制订和完善工作。

超低温保藏技术跟踪监测制曲发酵过程中的温湿度、水分、酸、糖、淀粉、糖化力等指标的变化规律,测定制曲发酵过程中微生物的消长规律,分类鉴定并保藏微生物菌种。了解制曲发酵过程中微生物的种类、数量及其与温度、湿度等理化指标变化的相互关系,最终通过对发酵过程中各理化指标及香味成分变化的规律来揭示微生物在制曲发酵过程中的作用。

## 1.2 主要微生物分析

根据生产特点对不同季节、不同地点制曲发酵过程中的微生物进行了选择性分离培养,通过形态鉴定和生理生化特性测定,得到高温大曲发酵过程中的主要微生物,共分得细菌 41 种、霉菌 51 种、酵母菌 6 种。

1.2.1 酵母菌中有地霉属、汉逊酵母属、假丝酵母属、毕赤酵母属、丝孢酵母属、红酵母属等,见表 1。

表 1 高温大曲中常见的微生物 ( $\times 10^4$  个/g 曲)

细菌名称	数量	真菌名称	数量
苏云金芽孢杆菌	8	伞枝梨头霉	200
坚强芽孢杆菌	12	拟青霉	300
迟缓芽孢杆菌	16	毛状根霉	0.3
腊状芽孢杆菌	11	米根霉	0.7
枯草杆菌	52	卡盛毛霉	23
短小芽孢杆菌	5	总状毛霉	4
枯草杆菌	800	微小毛霉	1.6
地衣芽孢杆菌	600	构巢毛霉	16
凝结芽孢杆菌	500	烟曲霉	0.4
腐生葡萄球菌	50	黑曲霉	3
巨大芽孢杆菌	3	温特曲霉	6
环状芽孢杆菌	2	寄生曲霉	7
嗜热脂肪芽孢杆菌	43	米曲霉	60
芽孢杆菌	17.5	红曲霉	8.6
栗褐芽孢杆菌	1	紫红曲霉	5
短芽孢杆菌	1	红色红曲霉	3
地衣芽孢杆菌红色变种	93	烟色红曲霉	6
芽孢杆菌	7.5	假丝酵母	5.2
		异常汉逊酵母	1
		丝孢酵母属	0.4
总数	2118.5	总数	651.2

从表 1 看出,酵母菌的数量达到  $5.6 \times 10^4$  cfu/g·曲。它们主要来源于空气、场地、原辅料、母曲及人体,偶尔出现在制曲发酵的前期和后期。高温大曲发酵中期品温较高,达 65℃,酵母菌已不能够生存。

1.2.2 细菌中多数属于芽孢杆菌属,其中有能在 60~65℃ 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  $\mu\text{m}$  的枯草杆菌群、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、苏云金芽孢杆菌、坚强芽孢杆菌、迟缓芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、环状芽孢杆菌、栗褐芽孢杆菌、腐生葡萄球菌,还有巨大芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌等。细菌主要来源于空气、场地、原辅料、母曲及人体。从表 1 中可以看出,细菌的数量可以达

到  $2.118 \times 10^7$  cfu/g·曲。图 1 也表明,细菌在制曲前期能够达到一个峰值,中期有所回落,后期又有所回升。

1.2.3 霉菌有曲霉属中的黄曲霉、米曲霉、黑曲霉、烟曲霉、温特曲霉、寄生曲霉;毛霉属中的总状毛霉、卡盛毛霉、微小毛霉、构巢毛霉;根霉属中有毛状根霉、米根霉、黑根霉、华根霉;犁头霉属中有伞枝梨头霉、蓝色梨头霉;红曲霉属中有红色红曲霉、紫色红曲霉、烟色红曲霉、橙色红曲霉;青霉属中有青霉、桔青霉、岛青霉、拟青霉属等。它们主要来源于空气、场地、原辅料、母曲及人体。表 1 表明,它们的数量可达  $6.446 \times 10^6$  cfu/g·曲;并从图 1 可看出,它们在发酵前期出现较少,中后期逐渐增多。

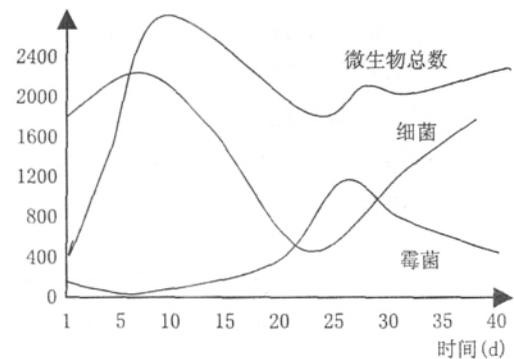


图 1 制曲过程中微生物总数的变化

## 2 微生物与理化指标的变化关系(图 2、图 3)

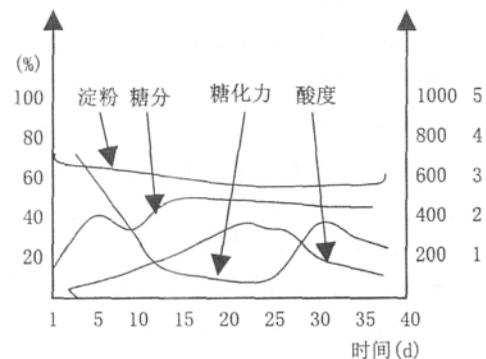


图 2 制曲过程中化学成分的变化

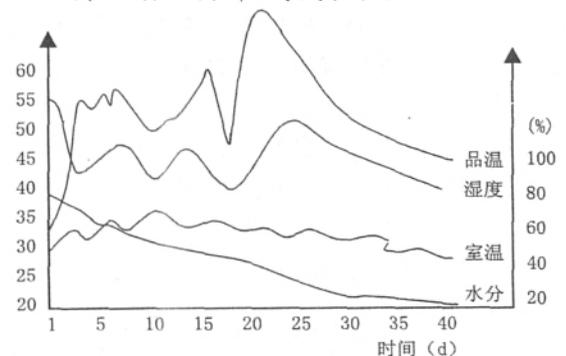


图 3 制曲过程中温度、湿度及水分的变化

从图 2、图 3 可以看出,曲块进仓后酸度和糖分逐 (下转第 41 页)

经过稳定性实验,最后选取 2<sup>#</sup> 菌株进行 1200 mL 小型放大试验,发酵 14 d 后,双乙酰含量为 0.07 mg/L,峰值为 0.36 mg/L,真正发酵度为 65.8%,啤酒风味基本不变。检测指标见图 1。

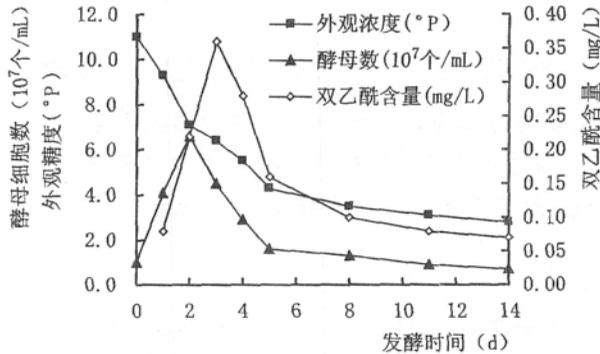


图 1 2<sup>#</sup> 菌株发酵曲线

### 3 结论

最后筛选得到 1 株大小为 5.1 μm × 7.5 μm, 双乙酰峰值为 0.36 mg/L, 成品啤酒真正发酵度为 65.8%, 风味基本不变的较理想菌株。

#### 参考文献:

[1] 管敦仪.啤酒工业手册(上册)[M].北京:轻工业出版社,

1982.473- 503.

- [2] 李绒.啤酒生产过程中双乙酰的控制[J].酿酒科技,2002,110(2): 66- 67.
- [3] 顾国贤.新世纪中国啤酒工业发展展望[J].酿酒科技,2002,112(4): 28- 30.
- [4] Enari,T.M.One hundred years of brewing research[J].Journal of the Institute of Brewing,1995,101(3): 89- 97.
- [5] 顾国贤.酿造酒工艺学(第二版)[M].北京:轻工业出版社,1996.172- 223.
- [6] 管敦仪.啤酒工业手册(中册)[M].北京:轻工业出版社,1982.211- 216.
- [7] 诸葛健,王正祥.工业微生物实验技术手册[M].北京:轻工业出版社,1994.544- 545.
- [8] 檀耀辉.微生物学(第二版)[M].北京:轻工业出版社,1994.542- 546.
- [9] 杜绿君,袁惠民.啤酒酵母和微生物管理[M].北京:轻工业出版社,1990.109- 111.
- [10] 黄祖新.控制啤酒酿造过程中的双乙酰的生物工程技术进展[J].酿酒,1998,126(3): 12- 14.
- [11] 郑国昌.细胞生物学(第二版)[M].北京:高等教育出版社,1992.204.
- [12] 葛清秀,黄祖新.应用遗传育种技术控制啤酒双乙酰生成量[J].泉州师范学院学报(自然科学),2001,19(2): 68- 70.
- [13] 周德庆.微生物学教程[M].北京:高等教育出版社,1993.102- 103.

(上接第 38 页)

渐上升,在第二次翻曲前达到高峰,由于小麦本身带来的淀粉酶,开始糖化力较高,随着品温的上升而下降;第二次翻曲后水分减少,霉菌增殖,糖化力又有所回升,最后稳定在 200~300 之间。

大曲中的微生物来自曲母、麦粉、稻草、发酵仓、空气、人体和水。开始时在曲块表面生长的霉菌主要是毛霉类,随着温度上升,霉菌的生长受到抑制,到第二次翻曲时,水分减少,曲霉类尤其是拟青霉、梨头霉及红曲霉代之而起,直至出仓一直存在。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。而酵母在制曲过程中出现较少,进仓前 5 d 及撤仓时偶尔可以分离到白地霉、汉逊酵母、假丝酵母等。

从表 1 中也可看出,细菌是茅台大曲中的主要微生物,数量很大,主要是耐高温(60~65℃)的芽孢杆菌。

霉菌有毛霉、根霉、曲霉、红曲霉和拟青霉等,酵母很少见到。

对筛选出的有代表性的 7 株芽孢杆菌株,逐株制成三角瓶曲,培曲温度为 35~65℃,15 d 后,成品曲都不同程度地带有酱香气。并用乙醚浸提后,挥发乙醚,闻香并与生产曲粉作对照,结果表明,香气相近,纸上层析分析可见到香草醛、阿魏酸及丁香酸的斑点,可以说明这些嗜热芽孢杆菌是茅台酒生产的有益菌株,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<sup>[2]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 俞子牛.细菌的分类[M].北京:科学出版社,1980.
- [2] 严淳泰.酿造学[M].武汉:华中农业大学出版社,1978.

## 湖北枝江酒业实现首季开门红

本刊讯:记者从湖北枝江酒业股份有限公司获悉,今年头 3 个月,湖北枝江酒业主要经济指标大幅度超同期、超进度,全面实现首季开门红。

2007 年 1~3 月,湖北枝江酒业集团实现现价工业总产值 8.09 亿元,比去年同期的 4.85 亿元增长 66.9%,占全年考核目标 19 亿万元的 42.6%;集团完成营业收入 5.60 亿元,比去年同期的 4.48 亿万元增长 25%,其中,湖北枝江酒业股份有限公司资金回笼 4.23 亿万元,同比增长 29.8%;集团入库税金 3683 万元,其中,湖北枝江酒业股份有限公司入库税金 3573.8 万元,同比增长 41.4%;集团实现利润总额 1355 万元,比去年同期的 1073 万元增长 26.3%。(杨至爱)