

产酱香风味芽孢杆菌类菌株发酵代谢产物及其酶分析研究

黄永光¹, 杨国华¹, 张肖克¹, 姜 莹¹, 黄 平¹, 杨占南²

(1. 贵州省轻工科学研究所, 贵州 贵阳 550007; 2. 贵州师范大学贵州省山地环境信息系统和生态环境保护重点实验室, 生命科学学院, 贵州 贵阳 550001)

摘 要: 酱香白酒生产过程中的制曲、堆积等工艺环节可富集大量芽孢杆菌, 这些芽孢杆菌是酱香风味成分形成的基础和关键。对从酱香型白酒生产制曲、堆积酒醅和发酵期酒醅中分离的地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌 3 类芽孢杆菌的分离、鉴定、产香、产酶等进行总结, 详述了 3 类产香芽孢杆菌发酵代谢产香的特征性成分、特征性酶、产香过程风味的特征性变化和群体微生物发酵机制。

关键词: 酱香白酒; 芽孢杆菌; 分离鉴定; 发酵; 代谢风味物质; 产香特征

中图分类号: TS262.33; Q93-3; TS261.1; TS261.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2013)01-0041-05

Study on the Metabolites of Jiang-flavor-producing *Bacillus*

HUANG Yongguang¹, YANG Guohua¹, ZHANG Xiaoke¹, JIANG Ying¹, HUANG Ping¹ and YANG Zhannan²

(1. Guizhou Light Industry Scientific Research Institute, Guiyang, Guizhou 550007; 2. Key Lab for Information System of Mountainous Area and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, School of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: A large amount of *Bacillus* is accumulating in the process of starter-making and stacking of Jiang-flavor liquor and these *Bacillus* are the base for the formation of Jiang-flavor. In this paper, the separation, identification, aroma-producing capacity, and enzyme-producing capacity of three kinds of *Bacillus* including licheniformis, amyloliquefaciens and *Bacillus* separated from starter-making and stacked fermented grains and fermented grains in fermentation stage were summarized. Furthermore, the characteristic metabolic flavoring components, characterized enzyme, characteristic change of flavor, and group microbial fermentation mechanism of the three kinds of *Bacillus* were introduced in details.

Key words: Jiang-flavor liquor; *Bacillus*; isolation and identification; fermentation; metabolic flavoring components; aroma-producing characteristics

酱香型白酒是中国老三大香型白酒之一, 被誉为中国目前最有发展潜力、科学性最复杂、最具科学研究价值的白酒。从“茅台试点”后就引起业内外关注, 特别是国酒茅台的产销及其科研动态的引领作用, 更是将酱香型白酒的科学研究推向前沿。近年, 受茅台酒的影响, 酱香型白酒发展的速度较快, 企业和产能规模不断扩大, 质量、效益得到明显提高。其经典工艺如高温制曲、高温堆积发酵等被许多名优浓香型白酒生产企业、甚至是其他香型白酒生产企业所吸收、借鉴、应用, 发挥了较好的功效。

近年来, 与酱香型白酒产酱香风味关联度大的芽孢杆菌类细菌引起相关研究机构和研究人员的高度重视, 企业也对其应用效果产生极大的兴趣, 成为行业的研究

热点, 产酱香风味菌株也逐步得以科学研究证实和公认。酱香型白酒高温制曲、高温堆积过程富集了许多芽孢杆菌类细菌, 这些微生物的种类和量直接反映大曲、发酵酒醅质量的优劣, 一定程度上也决定了产酒的酒质差异和风格的典型性。高温制曲、高温堆积是酱香型白酒生产中重要的工艺环节。在高温制曲、高温堆积后期, 这些芽孢杆菌类微生物发挥了举足轻重的作用。酱香型白酒生产过程对酱香风味贡献度较大的芽孢杆菌类细菌包括: 地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌等。

本课题组长期从事酱香型白酒微生物、工艺及其风味研究, 现将产酱香风味的几类芽孢杆菌其酿酒发酵风

基金项目 贵州省工业攻关项目(黔科合 GZ 字(2011) 3015) 资助。

收稿日期: 2012-12-20

作者简介 黄永光(1976-), 男, 贵州人, 高级工程师, 副总工, 发酵工程在读博士, 贵州省酿酒工业协会副秘书长, 贵州省白酒专家组专家, 贵州省白酒评委, 从事酱香白酒微生物及其应用、酿酒生产工艺、行业产业政策研究及科技期刊编辑工作; 发表学术论文 50 余篇。

味产物特征及其酶进行概括总结,以供同行交流,学习。

1 材料与方法

1.1 材料

菌源材料:刚出仓的新高温酱香大曲、贮存期半年的高温酱香大曲、堆积后期酒醅、下窖前酒醅、发酵 10 d 窖期酒醅;样品来源于茅台镇 10 个生产优质酱香型大曲白酒规模以上的生产企业,样品即采即用,不进行实验室贮存。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离鉴定

菌株的初筛分离采用梯度稀释法、平板涂布培养法;产风味菌株筛选采用固态发酵、液态发酵感官闻香法、GC-MS 和 GC-O 对比法;生理生化指标鉴定参考文献《伯杰细菌鉴定手册》^[1]和《常见细菌系统鉴定手册》^[2];分子水平鉴定采用提取菌株 DNA 和 16S rDNA PCR' 扩增法^[3-6],菌株的部分特异性基因序列分析参考文献^[7]分析。

1.2.2 发酵风味产物分析

主要仪器:Agilent 7890A-5975 C 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS);安捷伦 6890N 气相色谱配备 5975 质谱仪,等。

主要试剂:分析试剂为色谱纯、分析纯,试剂名称略。

培养基:产香培养基为贵州仁怀市产优质高粱、小麦,培养基形态有固态和液态两种形式(培养基选择高粱、小麦,主要是尽可能还原和模拟酿酒生产实践);研究过程生化培养基为 LB 培养基。

发酵产物分析:发酵方式分别采取固态发酵、液态发酵,发酵温度分别设定为 30℃ 和 37℃,未采取高温发酵,主要是鉴定菌株在最适生长温度和相对较低的温度下是否产酱香风味成分及其产酱香风味。发酵酒醅、发酵产物预处理及其分析方法参考文献^[8-10]。

2 结果与分析

2.1 产风味菌株分离鉴定

根据 1.2.1 节方法进行实验研究,获取产酱香风味微生物菌株,并对菌株进行风味、形态、生化、分子水平的定性鉴定,其结果见表 1。

表 1 中的芽孢杆菌类菌株是本课题组在研究和应用过程获取的部分产酱香风味比较典型菌株的鉴定和产香结果。从研究结果表明,其在酱香型白酒生产过程对酱香风味贡献的强度依次为地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌。

2.2 发酵产物及其风味分析

2.2.1 发酵过程菌株代谢风味成分解析

根据对产酱香风味贡献强度大的表 1 中的几株菌的固态发酵、液态发酵代谢产物的定性鉴定结果和风味结

表 1 产酱香风味微生物分离鉴定结果

菌株鉴定类别	菌株编号	酱香风味强度
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>B. subtilis</i> qybs005	++
	<i>B. subtilis</i> qybs011	+++
	<i>B. subtilis</i> qybs017	+++
	<i>B. subtilis</i> qybs021	+++
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>B.licheniformis</i> qybl010	++++
	<i>B.licheniformis</i> qybl011	++++
	<i>B.licheniformis</i> qybl016	++++
	<i>B.licheniformis</i> qybl022	+++
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>B.amyloliquefaciens</i> qyba002	+++
	<i>B.amyloliquefaciens</i> qyba007	++++
	<i>B.amyloliquefaciens</i> qyba015	+++
	<i>B.amyloliquefaciens</i> qyba021	+++

注:酱香风味强度用++~++++表示,“+”越多表示酱香风格越典型。

果进行分析,其基本特征结果如下:

枯草芽孢杆菌类菌株发酵代谢产特征性共性(相对含量较高的)风味成分有:乙醇、3-甲基-4-戊烯-2-醇、二甲基丙酸、2-羟基-2-甲基丙酸、3,4-二甲基二氢呋喃-2,5-二酮、烯酮、乙酸乙酯、环氧丙烷、3,5-二甲基呋喃、2,3-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基-6-乙基吡嗪、2,3,6-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-甲氧基苯酚。

地衣芽孢杆菌类菌株发酵代谢产特征性共性(相对含量较高的)风味成分有:草酸、2-羟基丙酸、4-甲基戊酸、2-酮基戊酸、2,3-己二醇、三甲基硅醇、乙醇、3,5-二甲基-2-呋喃酮、2,3-庚二酮、甲酸乙酯、2-羧基丙酸乙酯、乳酸异丙酯、2-甲基丙酸乙酯、羧基二(1-甲基乙基)酯、2-甲基丙酸异丙酯、2-甲基丙酸乙酯、甲酸异丙酯、乙酰-2-酮-丁酯、2-酮基丙酸丁酯、丙酮醛、2,2-二甲基丙醛、硫乙烷、2,2,3-三甲基戊烷、2,5,5-三甲基庚烷、2,2-二甲基丁烷、2-氧基苯酚、2,3-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基-6-乙基吡嗪、2,3,6-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、四甲基吡嗪、三甲基呋喃。

解淀粉芽孢杆菌类菌株发酵代谢产特征性共性(相对含量较高的)风味成分有:异丁醇、α-松油醇、丁醇、1,3-丁二醇、5-甲基-2-呋喃醇、2-戊酮、3-甲基-2-戊酮、4-羟基-2-丁酮、2-庚酮、5-羟基-4-辛酮;丙酸、3-甲基-2-丁酸、4-甲基-3-戊烯酸、2-甲基吡嗪、2-甲基-2-羟基丙酸乙酯、3-甲基丁酸丁酯、5-甲基-2-呋喃甲醛、愈创木酚、异冰片、冰片。

枯草、地衣、解淀粉芽孢杆菌发酵代谢产特征性共性风味成分有:乙醇、异丙醇、正丁醇、3-甲基丁醇、2,3-丁二醇、2-甲基丙酸、丁酸、3-甲基丁酸、2-甲基丁酸、2,3-丁二酮、3-羟基-2-丁酮、2,3,5-三甲基吡嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪。

对酱香型白酒主体酱香风格贡献度大的风味成分 23 种,放香功能成分 5 种,空杯留香成分 3 种。

2.2.2 风味特征分析

在枯草芽孢杆菌类菌株发酵过程中呈现的特征性风味为:醇香、水果香、甜香;醋酸香、奶酪香、油脂腐臭;奶香;炒芝麻香、坚果香、青椒香、焙烤香;玫瑰花香、杏仁香;芳香、香兰素香、麝香;酱香。

在地衣芽孢杆菌类菌株发酵过程中呈现的特征性风味为:辛香、水果香、甜香、蜂蜜香;醋酸香、油脂腐臭、奶酪香;水果香、芳香、醚香;奶油香、草莓果香;炒芝麻香、坚果香、青椒香、烤玉米香;玫瑰花香、杏仁香;异臭;略微氨臭味;酱香。

在解淀粉芽孢杆菌类菌株发酵过程中呈现的特征性风味为:醇香、辛香、水果香、丁香;酸臭、油脂腐臭;奶酪香;水果香;杏仁香;芳香、奶油香、豆蔻香;焙烤香、青椒香;玫瑰花香、蜂蜜香;焦酱香、药香;酱香。

2.2.3 固态发酵过程风味特征变化

几类菌株在固态发酵过程酒醅的呈香特征也存在差异;但总体特征为菌株在接种发酵 2 d 后产生风味,随着发酵时间的延长发酵醅的风味发生明显的变化。菌株发酵过程发酵醅风味的变化特征:发酵第 2 天发酵醅产生不愉快的风味,香气似腐青草、腐青椒风味较明显,还带有微酸、微醇香风味;随着发酵的进行,腐青草、腐青椒味逐渐减弱,在发酵中期发酵醅风味向醇香、酯香和水果香发展,发酵醅闻香较舒适,在中后期风味逐渐转向酱香风味;到发酵时间达到 6 d 后,发酵醅的酱香风味越来越浓,酱香风味也越来越纯正,产酱香明显的菌株到发酵风味稳定期发酵醅还呈现出类似酱香白酒空杯留香的风味。

同时,在发酵后期发酵醅也呈现出酱香酒醅的糟香味,酒醅色泽呈现为黑褐色,发酵堆积酒醅还产生腰线。

2.3 菌株发酵过程酶系分析

2.3.1 代谢产主要降解底物功能酶

芽孢杆菌在自然界中广泛分布,与其他微生物相比,具有耐酸、耐盐、耐高温等优点,在生产中具有较高的稳定性^[11]。贵州茅台镇特殊的地理、气候、环境条件,特别是传统酱香型白酒高温制曲、高温堆积、高温发酵的极端环境更是对其中的芽孢杆菌类提供了耐高温、耐酸、耐酒精、耐盐等驯化条件,使其中的芽孢杆菌类功能菌得到适应生产性能的驯化^[12]。

虽然,各类芽孢杆菌具有其自身独特的生长环境条件和生理调节机制,但在长期共同的发酵环境下,也驯化出对环境适宜性的一些共同特征和功能作用。这种驯化一方面来源于芽孢杆菌的共同特征机制,另一方面也可能存在共性极端环境下所发生的基因突变、基因水平转移等分子水平上的变化。

酱香型高温大曲制曲温度一般为 55~62 ℃,持续时间较长,有利于高温酶系功能的发挥。在制曲过程后期富集了大量芽孢杆菌类,芽孢杆菌大多能分泌高活性的胞外产物酶,如蛋白酶^[13]、淀粉酶、脂肪酶等水解酶和果胶酶、葡聚糖酶、纤维素酶等分解原料中的蛋白质、淀粉、非淀粉多糖等。在这些芽孢杆菌的胞外产物酶中,淀粉酶是重要的组分之一,其产生的淀粉酶有 5 类,即:α-淀粉酶、β-淀粉酶、葡糖淀粉酶、异淀粉酶、支链淀粉酶,其中以 α-淀粉酶居多,且具有很好的热稳定性。

2.3.2 菌株生长过程代谢分泌相关功能酶

酱香型高温大曲生产、高温堆积发酵长期驯化富集的芽孢杆菌类细菌,除了产生大量对发酵底物高粱、小麦内溶物降解的功能酶外,其在生长过程也分泌大量自身生长需求和代谢合成风味产物所需要的丰富酶系(见表 2)。这些复杂的酶系为代谢的通路和初级代谢产物及其次生代谢产物的形成提供了关键动力,这些芽孢杆菌产风味成分的主要代谢途径见表 3。

2.3.3 产风味成分主要代谢途径及其初级代谢成分

葡萄糖生物合成氨基酸途径:产物有组氨酸、戊糖、丁糖、丙糖;通过莽草酸可以合成苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸;通过丙糖可以合成色氨酸、甘氨酸、半胱氨酸;通过丙酮酸可以合成丙氨酸、缬氨酸;通过乙酰辅酶 A 可以合成柠檬酸、α-酮戊二酸、草酰乙酸,再通过草酰乙酸实现天冬氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸,α-酮戊二酸途径合成脯氨酸、谷氨酸、精氨酸。

丙酮酸代谢途径:参与的反应主要有 14 个生化反应,最终产物有乙醇、乙醛、乙酸、丙酮、丁醛、异丙醇、丁醛、丁醇、丁酸;丙酮酸分支点的竞争途径产物有丙酮酸、乳酸、乙醛、甲酸、乙醇、乙酸、CO₂、H₂。

谷氨酸族生物合成代谢:通过 α-酮戊二酸实现谷氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸、赖氨酸、精氨酸代谢。

芳香族氨基酸生物合成:包括色氨酸、预苯氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸代谢。色氨酸代谢途径产物为:4,6-二羟基喹啉、4,6-二羟基吡啶、5-甲氧基喹啉乙酸、吲哚乙酸、4,8-二羟基喹啉、3-羟基苯甲酸、异吩噻嗪等。苯丙氨酸、酪氨酸代谢途径产物为:2-苯乙酰胺、苯乙胺、苯乙醛、苯乙酸、苯乙醇、2,6-二羟基苯乙酸、2,3-二羟基肉桂酸、富马酸、丙酮酸、乙醛、琥珀酸、柠檬酸;酪氨酸代谢途径产物有:4-羟基苯乙醛、4-羟基苯乙酸、琥珀酸、2,5-二羟基苯乙酸、羟基苯乙酸、3,4-二羟基苯乙醛、3,4-二羟基苯乙酸、3-羟基-3-甲氧基苯酸。

α-乙酰乳酸途径合成双乙酰、3-羟基丁酮、2,3-丁二醇、2,3-丁二酮、3-羟基-2-丁酮。

L-苏氨酸代谢途径产物:1,4-二甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、3-羟基丁酮、1,4-二氢四甲基吡嗪、四甲基吡嗪。

表 2 酱香型白酒中主要产酱香风味的 3 类芽孢杆菌代谢过程分泌酶系

酶类	发酵生长代谢过程产酶
降解型功能酶	α -淀粉酶,蛋白酶,麦芽糖酶,极限糊精酶,纤维素酶,内切-1,4- β -D-葡聚糖酶,果聚糖蔗糖酶,壳聚糖酶,转化酶
脱氢酶	乙醇脱氢酶,乙醛脱氢酶(NAD^+),L-乳酸脱氢酶,乳酸脱氢酶,甘油醛-3-磷酸脱氢酶,丙酮酸脱氢酶,UDP-葡萄糖-6-脱氢酶,UDP-葡萄糖脱氢酶,2-脱氧-D-葡萄糖酸-3-脱氢酶
激酶	6-磷酸果糖激酶,葡萄糖激酶(磷酸化),丙酮酸激酶,磷酸烯醇式丙酮酸激酶,磷酸甘油酸激酶,木酮糖激酶(磷酸化)
异构酶	丙糖磷酸异构酶,葡萄糖-6-磷酸异构酶,核酮糖磷酸-3-异构酶,L-核酮糖-5-磷酸-4-异构酶,葡萄糖醛酸异构酶,糖醛异构酶,L-阿拉伯糖异构酶,L-阿拉伯糖酮醇异构酶,木糖异构酶,D-木糖异构酶,UDP-N-乙酰葡萄糖胺-2-异构酶,UDP-葡萄糖-4-异构酶,UDP-半乳糖-4-异构酶,甘露糖-6-磷酸异构酶
糖苷酶	6-磷酸- β -葡萄糖苷酶,磷酸- β -葡萄糖苷酶,木聚糖-1,4- β -木糖苷酶,麦芽糖-6-磷酸葡萄糖苷酶, α -葡萄糖苷酶,寡-1,6-葡糖苷酶, β -呋喃果糖苷酶, α -N-阿拉伯呋喃糖苷酶,阿拉伯糖基糖苷酶,氨基己糖苷酶
变位酶	磷酸甘油酸变位酶, β -葡萄糖磷酸变位酶,磷酸葡萄糖胺变位酶,葡萄糖磷酸变位酶;磷酸甘露糖变位酶
转移酶	UTP-葡萄糖-1-磷酸尿苷酰转移酶,蔗糖-6-果糖基转移酶,磷酸葡萄糖转移酶,葡糖胺-1-磷酸-N-乙酰基转移酶,UDP-N-乙酰葡萄糖胺-1-羧基转移酶,谷氨酰胺-果糖-6-磷酸转氨酶,1-磷酸葡萄糖转移酶
缩酶	果糖二磷酸醛缩酶,醛缩酶,2-脱氢-3-脱氧-磷酸醛缩酶,4-羟基-2-氧代戊二酸醛缩酶
磷酸化酶	葡萄糖-1-磷酸盐磷酸化酶,果糖二磷酸盐酶,己糖二磷酸盐酶,磷酸化酶,肌磷酸化酶,果糖、果糖激酶(磷酸化酶),麦芽糖磷酸酶,半乳糖、半乳糖(磷酸化酶),磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(ATP),磷酸丙酮酸水合酶,烯醇化酶
其他	辅酶 A 醛酮酶,乙酸-辅酶 A 连接酶,乙酰-CoA 合成酶

表 3 酱香型白酒中主要产酱香风味的 3 类芽孢杆菌的主要风味成分代谢途径

类别	代谢
糖代谢	淀粉和蔗糖代谢,糖酵解,磷酸戊糖途径,果糖和甘露糖代谢,半乳糖代谢,氨基糖和核苷酸的糖代谢,肽聚糖生物合成代谢,聚酮糖合成代谢,甘油脂代谢,甘油磷脂代谢
主要节点代谢	柠檬酸循环(TCA 循环),丙酮酸代谢
氨基酸代谢	丙氨酸代谢,天门冬氨酸和谷氨酸代谢,赖氨酸生物合成代谢,苯丙氨酸代谢,色氨酸代谢,酪氨酸和色氨酸生物合成代谢,D-丙氨酸代谢,D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢
其他代谢	苯甲酸降解羟化途径,磷酸肌醇代谢,酮合成和降解代谢,丙酸酯的合成代谢,丁酸代谢, C_6 -支链二元酸代谢,膦酸酯和膦酸代谢,硫胺素代谢,维生素 B6 代谢,核黄素代谢

丙酮酸族氨基酸生物合成:包括丙氨酸、亮氨酸、甘氨酸代谢。

丝氨酸族氨基酸生物合成:包括丝氨酸、甘氨酸、半胱氨酸代谢。

2.4 酱香白酒中产酱香风味芽孢杆菌的群体微生物发酵机制

芽孢杆菌发酵过程胞外酶的生物学活性与其风味成分合成分泌过程中其他活性因子密切相关。其次,在芽孢杆菌的胞外产物中存在多种活性物质,并且其中各成分对彼此的分泌量和活性功能均具有一定的相互调控作用。如在发酵过程中发现解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)分泌的 α -淀粉酶的稳定性随中性蛋白酶的增加而降低,中性蛋白酶成为影响 α -淀粉酶活性稳定性的重要因素。碱性蛋白酶则使 α -淀粉酶活性丧失较大(60%以上);枯草芽孢杆菌的中性蛋白酶对 α -淀粉酶的合成则有一定促进作用。同时,芽孢杆菌发酵过程分泌的胞外产物中含有丰富的抑菌物质,可有效抑制其他生产非功能型和破坏型微生物的生长和功能发挥。芽孢杆菌分泌的抗菌类物质较多,如有肽类、脂肽类、磷脂类、多烯类、氨基酸类、核酸类等,不同的抑菌成分有不同的生物学活性,研究结果表明,芽孢杆菌所分泌的胞外抑菌物质能抑制真菌、细菌、病毒等多种致病因子。如地衣芽孢杆

菌产生的脂肽类、肽类、磷脂类、多烯类和氨基酸类等多样抗生素,对巴氏杆菌、大肠杆菌、葡萄球菌有较明显的拮抗作用。

所以酱香型白酒高温制曲后期、堆积过程及其窖期都能检测出很多芽孢杆菌,主要也源于芽孢杆菌在发酵过程的群体微生物调节作用。因此,笔者认为酱香型白酒中所检测出的多种健康因子,也源于这些芽孢杆菌代谢过程分泌的抗生因子,这些因子对酱香型白酒的风味也具有一定的贡献。

3 讨论

3.1 经形态培养观察、生理生化 and 分子水平鉴定表明,酱香型白酒生产中产酱香风味的微生物主要为 *Bacillus licheniformis*、*Bacillus amyloliquefaciens*、*Bacillus subtilis*, 其中对酱香型白酒酱香风味贡献度最大的是 *Bacillus licheniformis* 类细菌。而且 *Bacillus licheniformis*、*Bacillus amyloliquefaciens*、*Bacillus subtilis* 普遍存在于茅台镇优质酱香型白酒生产环境中。

3.2 研究表明,这几类芽孢杆菌在以高粱和小麦为底物的发酵过程中,其产香十分复杂,最终能形成较纯正、较典型的酱香风味。发酵过程前期、中期、后期所呈现的风味及其风味力挺的时间长短存在明显差异,酱香香气的纯正程度也不一样。醇香、酯香、焦香、酱香、空杯香强度

也存在明显差异。研究结果表明,这些风味的变化与代谢产生的风味物质生成的先后、种类多寡和含量高低有直接的关系。

3.3 地衣芽孢杆菌(*B.licheniformis*)在以高粱和小麦为底物的发酵过程生成的风味物质较丰富,本研究结果和相关报道已证实^[14-16]。从茅台酱香型白酒生产大曲、酒醅中分离产酱香风味的芽孢杆菌类功能菌发酵代谢风味物质种类比较丰富,特别是吡嗪类物质、醛、酮、酯等种类和含量都比较高,同时还有其他部分关键性特征成分(另文报道)的含量也较高,笔者认为,这与酱香白酒的酱香风味的形成有很直接的关系,对酱香风味有重要的贡献。

3.4 茅台酱香型白酒生产核心区在长年酱香型白酒生产的驯化、微生物态构建、微生物优化进程中形成了特殊的微生物结构,其中的适应性功能微生物在制曲、堆积发酵过程随曲母、空气微粒、生产器具等进入生产场,随生产的拌料、踩曲、晾堂翻拌、堆积等工序进入生产领域,在生产过程富集,其富集过程也是产香芽孢杆菌产风味成分富集的过程,酱香白酒酱香风味的形成过程正是这些功能群体微生物相互调节、此消彼长的发酵机理的体现。这与浓香型白酒制曲、发酵过程的芽孢杆菌类的多态性存在较大的差异。

3.5 加入产风味型芽孢杆菌类菌株在高温大曲制曲、发酵过程,所形成的酶系多态性得到明显提高,风味物质种类增多,含量明显增加,酱香丰度提升显著。

参考文献:

- [1] R.E.布坎南,N.E.吉本斯.伯杰细菌鉴定手册[M].8版.北京:科学出版社,1984.
- [2] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001.
- [3] Quan CS, Liu Q, Tian WJ, et al. Biodegradation of an endocrine-

- disrupting chemical, di-2-ethylhexyl phthalate, by *Bacillus subtilis*[J]. Appl Microbio Biotech, 2005, 66(661):701-7101.
- [4] Kimura M.A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J].J Mol Evol,1980:111-120.
 - [5] Stackebrandt E.Ebers,J.Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standard[J].Microbiol Today,2006,33:152-155.
 - [6] Oleg NR, Christina D, Johan M, et al. Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria related to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 48:249-259.
 - [7] 范文来,张艳红,徐岩.应用 HS-SPME 和 GC-MS 分析白酒大曲中微量挥发性成分[J]. 酿酒科技,2007(12):74-78.
 - [8] 赵东,李杨华,向双全.顶空固相微萃取气相色谱质谱法测定曲药中的香味成分[J]. 酿酒科技,2006(5):81-83.
 - [9] 赵书圣,范文来,徐岩,张国强,徐钦祥,李志强.酱香型白酒生产酒醅中吡嗪类物质研究[J]. 中国酿造,2008(21):10-13.
 - [10] 范文来,徐岩.白酒 79 个风味化合物嗅觉阈值测定[J]. 酿酒,2011,38(4):80-84.
 - [11] 范光先,王和玉,崔同弼.茅台酒生产过程中的微生物研究进展[J].酿酒科技,2006(10):75-77.
 - [12] 黄永光,黄旭,黄平.茅台酒酿酒极端环境与极端酿酒微生物[J].酿酒科技,2006(12):47-50.
 - [13] 杨国华,邱树毅,黄永光.酱香大曲中产香细菌发酵产蛋白酶的条件优化[J].中国酿造,2011,237(12):47-50.
 - [14] 王和玉,杨帆,姚翠屏,林琳,王莉,吕云怀,季克良.枯草芽孢杆菌利用不同基质所产代谢物的分析对比[J].酿酒科技,2009(12):93-95.
 - [15] 徐岩,范文来,王海燕,吴群.风味分析定向中国白酒技术研究的进展[J].酿酒科技,2010(11):73-78.
 - [16] 杨国华,邱树毅,黄永光.酱香白酒生产中产香微生物研究[J]. 中国酿造,2011,229(4):24-27.

(上接第 40 页)

AVF;60 %vol 的红花酒精湿敷 AVF,能够有效软化 AVF 血管瘢痕,特别是轻型、中型患者,当 AVF 血管变硬,弹性降低的时候,及时给予 60 %vol 的红花酒精热敷,能够有效缩小硬结,保持 AVF 通畅。而红花酒精针对重型患者,疗效欠于轻、中型患者,因此,提倡早使用、早预防。红花酒精制作方便,使用红花酒精湿热敷操作简单,费用低廉,安全实用,针对透析患者居家自我护理 AVF 有一定意义,能有效维持血液透析患者“生命线”,具有一定推广价值。

参考文献:

- [1] 米绪华,唐万欣,付平等.自体动静脉内瘘早期失功及其影响因素的分析[J].中国血液净化,2009,8(7):365-368.
- [2] 梁燕萍.喜疗妥在血液透析患者动静脉内瘘中应用的效果评

价[J].广东医学院学报,2007,25(5):558-559.

- [3] 沈映君.中药药理学[M].上海:上海科学技术出版社,2002:133.
- [4] 张莉红.红花酒精湿敷预防药物刺激性静脉炎[J].右江民族医学院报,2007(2):281.
- [5] 肖雪芬,林伟茹,林晓婷.红花酒精热敷对甘露醇静滴所致静脉炎的疗效观察及护理[J].现代护理临床,2004,6(3):34-35.
- [6] 蒋宇峰,何立群,邵命海.红花注射液对动静脉内瘘成形术的影响[J].中国血液净化,2005,4(8):434-436.
- [7] 蒋宇峰,何立群,沈沛成.红花注射液对家兔动静脉内瘘术后血中内皮素及一氧化氮水平的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2006,13(6):345-347.
- [8] 韩剑宇,郝立君,庞建华,等.红花对增生性瘢痕成纤维细胞增殖和胶原合成的影响[J].哈尔滨医科大学学报,2005,39(4):337-339.