

衡阳酒药中微生物的初步分离

周红丽, 余 冰

(湖南农业大学食品科技学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 通过平板稀释分离法, 对衡阳酒药的微生物组成、菌落形态以及主要酶活力进行初步分离和分析。结果表明, 自然制曲成熟的衡阳酒药中主要的微生物为酵母菌、霉菌和细菌, 放线菌数量不多, 霉菌中根霉的淀粉酶和蛋白酶活力旺盛。

关键词: 微生物; 酒药; 酶活

中图分类号: Q93- 3; TS261.1; TQ925.7 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001- 9286(2007) 02- 0046- 02

Separation of the Microorganism from Hengyang Wine Drug

ZHOU Hong-li and YU Bing

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan 410128 China)

Abstract: The microflora and compositions of Hengyang wine drug produced by natural fermentation were separated and analyzed by the method of plate dilution. The results showed that the main microbes in the wine drug were mainly yeasts, molds and bacteria, and less counting of actinomycetes. Among the separated microbe, Rhizopus has high starch and protein enzyme activity.

Key words: microbes; wine drug; enzyme activity

酒药又称小曲、酒饼、白药等, 主要用于生产淋饭酒母或以淋饭法酿制甜酒。酒药含有的主要微生物是根霉、毛霉、酵母及少量的细菌和梨头霉等。利用酒药保藏优良微生物菌种是我国古代劳动人民的独创方法^[1~3]。但是由于各地方的传统制曲方法、原料不同, 气候等差异, 各地方的酒药中的微生物种类和数量也有差异。本试验所用酒药来自湖南衡阳白水乡, 在当地广泛使用, 不仅用来酿酒, 很多时候作为治疗小孩腹泻、腹痛的药使用, 有助消化、利于吸收等作用。其基本制作流程是将新早糙米磨粉后, 拌入水和辣蓼草粉, 混匀切块, 接入陈酒药, 入缸保温培养, 再晒药, 制成成品。本文主要是用不同的培养基对这种地方酒药的微生物组成进行初步分离、研究, 并对所分离菌株的酶活进行比较测定。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

酒药: 衡阳地区的一种民间酒药, 其功效除作甜酒外, 还作治疗消化不良的药物用。

根霉: 湖南农业大学微生物教研室提供 Q303 根霉。

1.1.2 培养基^[4]

马铃薯培养基、牛肉膏蛋白胨培养基、高氏一号培养基、孟加拉红培养基、淀粉培养基、酪蛋白琼脂培养基。其配制方法参见参考文献[4]。

1.2 方法

1.2.1 微生物的分离^[5]

采用稀释平板分离计数法。取衡阳酒药 5 g 在无菌条件下放入装有 95 mL 无菌水三角瓶中进行振荡稀释 30 min, 然后采用 10 倍梯度稀释, 取适当稀释度分别涂布于马铃薯培养基平板(分离霉菌, 培养温度为 30 °C(± °C), 72 h 计数); 牛肉膏蛋白胨培养基平板(分离细菌, 培养温度 37 °C(± °C), 24 h 计数); 高氏一号培养基平板(分离放线菌, 培养温度为 30 °C(± °C), 5~7 d 计数); 孟加拉红培养基平板(分离霉菌, 培养温度 30 °C(± °C), 72 h 计数)。每稀释度 3 个重复, 进行菌落形态描述并计数。

1.2.2 酒药根霉与 Q303 根霉酶活比较

1.2.2.1 淀粉平板与酪素平板的制作

将灭菌后冷却至 45 °C 左右的淀粉培养基与酪蛋白琼脂培养基在无菌操作台上倒入培养皿中, 冷却, 即为淀粉平板和酪素平板。

1.2.2.2 接种培养

收稿日期: 2006- 12- 04

作者简介: 周红丽(1972-), 女, 湖南常宁人, 讲师, 主要研究方向为发酵食品加工。

从分离计数平板上挑取根霉孢子点接到 PDA 平板上进行进一步纯化, 所得菌株命名为 Z06, 在无菌操作台上, 用接种环分别取适量 Z06 根霉孢子和已活化的根霉 Q303 的孢子于无菌水中制成孢子悬液, 再分别点植到淀粉平板和酪素平板上, 30 °C (± 1 °C) 恒温箱中培养 3 d。

2 结果与讨论

2.1 菌落形态描述

选用稀释梯度较高的且单个存在便于观察的典型菌落进行菌落形态的描述, 结果见表 1。

表 1 典型菌落的形态描述

微生物种类	典型菌落的形态描述
霉菌型 1	气生菌丝相当发达, 菌落扩展性很强, 菌丝可以布满整个平皿, 菌丝初期呈灰白色, 随着生长时间的延长, 菌丝老化呈灰褐色, 孢子呈黑色
霉菌型 2	气生菌丝较多, 发达, 可布满整个平皿, 初期纯白色, 老后色泽有所加深, 孢子较少, 培养温度较高
酵母菌	菌落较大, 隆起, 边缘齐整, 呈矿烛色, 容易挑起, 菌落湿润, 表面光滑, 质地均匀, 正面与反面以及边缘与中央部位的颜色一致
细菌	菌落较小, 湿润, 较透明, 表面有光泽

2.2 显微镜观察结果

挑取表 1 中典型菌落进行显微镜观察, 基本判断出衡阳酒药中微生物的属类, 见表 2。

表 2 衡阳酒药中主要微生物菌类组成

微生物种类	显微镜检测特征	微生物属
霉菌类	菌丝无隔膜, 有假根和匍匐枝	根霉属
	菌丝无隔膜, 多核单细胞, 无假根和匍匐枝	毛霉属
	细胞椭圆形, 有芽体	酿酒酵母
细菌类	长杆菌, 短杆菌	杆菌属

从表 1 和表 2 中可以看出, 该酒药中主要微生物种类是霉菌和酵母菌及细菌, 没有分离出放线菌。

2.3 分离计数结果

选择合适稀释度平板, 采用平板计数法, 分别计数不同培养基上同种类型微生物的菌落数, 结果见表 3。

表 3 酒药中不同微生物的数量

微生物种类	有效稀释度	检测计数结果 (cfu / g)
酵母菌	10 ⁻⁵	7.0 × 10 ⁶
根霉	10 ⁻⁴	4.3 × 10 ⁵
毛霉	10 ⁻⁴	2.2 × 10 ⁵
细菌	10 ⁻²	3.5 × 10 ³

由表 3 可以看出, 数量最多的是酵母菌, 其次是根霉和毛霉, 以及少量的细菌。而放线菌没有分离到。酵母菌的检出以及其数量多说明了为什么该地区的酒药在

当地可用作治疗小孩腹泻的偏方。

2.4 酒药根霉与 Q303 根霉酶活比较结果

将 Z06 根霉孢子和本实验室保存的 Q303 根霉 (已事先活化好) 孢子制成孢子悬液, 分别点接到淀粉培养基平板、酪素平板上, 30 °C 培养 3 d, 测量透明圈的大小, 结果见表 4 和表 5。

表 4 淀粉平板上透明圈大小比较

项目	根霉	
	Z06	Q303
生长状况	良好*	基本不生长
菌落直径 (r, cm)	3.1	—
分解淀粉能力 (滴加碘液后透明圈的直径, R, cm)	4.2	—
R/r	1.35	—

* 菌丝生长, 可见少量孢子。

表 5 酪素平板上透明圈大小比较

根霉	生长状况	菌落直径 (r, cm)	透明圈的直径 (R, cm)	R/r
Z06	良好*	2.5	3.4	1.36
Q303	基本不生长	—	—	—

* 菌丝生长, 可见少量孢子。

从表 4 可见, Z06 与 Q303 分解淀粉和蛋白质能力相当, 经过进一步的性能测定后, 可以作为优良菌株保存下来。

3 小结

从分离得到的结果来看, 制作衡阳酒药的过程应该是一个多菌种混合发酵的过程。因为发酵的主要菌类涉及到霉菌和酵母菌两大类, 而且酵母菌占优势。另外, 根霉的淀粉酶和蛋白酶活力较强, 这也就验证了在当地为什么流行用酒药治疗小孩腹泻了。细菌的存在因其是自然制曲无法避免, 其作用是否对酒药的功效形成有密切关系还有待进一步研究。此次对衡阳酒药的微生物分析因没有采用特定的分离培养基进行分离, 因此在分析结果上可能与实际的菌相组成有所差异, 而得到的根霉属和酵母属也只是发酵完成后的优势菌种而已。毛霉应该是发酵初期可能生长的微生物。有关优势菌的基本性质和与酒药的功效形成的关系有待深入的研究和探讨。

参考文献:

- [1] 顾国贤. 酿造酒工艺学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [2] 江汉湖. 食品微生物学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] 刘冠民. 食品加工学 [M]. 长沙: 湖南农业大学, 2003.
- [4] 周传云. 食品微生物学实验技术 [M]. 长沙: 湖南农业大学食品科技学院微生物研究室, 2002.
- [5] 蒋立文, 夏波. 浏阳豆豉发酵微生物的初步研究 [J]. 中国酿造, 2004, (12): 11-13.