

绿衣观音土曲中细菌的研究

冯 春¹,汪光明²,梁运祥²,田焕章²,王丽新²

(1.劲牌有限公司,湖北 大冶 435100; 2.华中农业大学,湖北 武汉 430070)

摘 要: 通过对湖南和湖北两省 8 个酒厂提供的 7 种绿衣观音土曲和 3 种母曲进行微生物数量的统计,经分析,小曲中细菌数量达 10^8 个/g 曲。经过鉴定,小曲中优势细菌以葡萄球菌属、微球菌属、酒明串珠菌属和葡萄糖细菌属居多。

关键词: 微生物; 细菌; 分离; 土曲; 鉴定

中图分类号: TS261.1 Q93-33

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2004)04-0027-02

Research on Bacteria in Green-covering Guanying Tuqu

FENG Chun, WANG Guang-ming and LIANG Yun-xiang et al

(1. Jing Brand Co. Ltd., Daye, Hubei 435100; 2. Huazhong Agriculture University, Wuhan, Hubei 430070, China)

Abstract: Through the statistical analysis of microbes quantity of seven species of Green-covering Guanying Tuqu (provided by eight distilleries in Hu'nán province and Hubei province) and of three species of maternal starter, it was found that bacteria quantity in per gram Xiaoqu achieved 10^8 particles. The subsequent chemical identification indicated that the predominant bacteria in Xiaoqu were *staphylococcus*, *micrococcus*, *Leuconostococcus* and *Glucosepediococcus*. (Tran. by YUE Yang)

Key words: microbes; bacteria; separation; tuqu; chemical identification

1 材料

1.1 细菌来源

大冶劲酒厂土曲、母曲和另 7 个酒厂的土曲、母曲。

1.2 细菌分离培养基^[1]

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 5 g,蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,琼脂 15~20 g,水 1000 ml,pH7.0~7.2,121 °C 灭菌 30 min。

1.3 细菌鉴定培养基^[2-4]

1.3.1 油脂培养基^[4]:蛋白胨 10 g,牛肉膏 5 g,氯化钠 5 g,香油 10 g,1.6 % 中性红水溶液 1 ml,琼脂 15~20 g,水 1000 ml,pH7.2,121 °C 灭菌。水、油和琼脂先加热,调节好后再加中性红,分装需不断搅拌。

1.3.2 明胶培养基^[2-4]:牛肉膏蛋白胨液体 100 ml,明胶 12~118 g,pH7.2~7.4。

1.3.3 蛋白胨水培养基^[2-4]:蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,水 1000 ml,pH7.6。

1.3.4 糖发酵培养基^[2-4]:蛋白胨水培养基 1000 ml,1.6 % 溴甲酚紫乙醇溶液 2~3 滴,pH7.6,另 20 % 葡萄糖 10 ml。

1.3.5 硝酸盐还原培养基^[2-4]:蛋白胨 10 g,水 1000 ml,硝酸钾 1 g,pH7.4。

1.3.6 M.R-V.P 实验培养基(葡萄糖蛋白胨培养基)^[2-4]:葡萄糖 5 g,蛋白胨 5 g,磷酸二氢钾 5 g,水 1000 ml,pH7.2~7.4。

1.3.7 牛肉膏蛋白胨水培养基^[2]:与牛肉膏蛋白胨培养基相同,只少琼脂。

1.3.8 所需试剂:碘液、甲基红、4 % KOH 和 α -萘酚溶液、过氧化氢、吡啶试剂、蔡氏试剂、格林试剂 1 和 2。

1.3.9 淀粉培养基^[2]:牛肉膏蛋白胨培养基的基础上,加入可溶性

淀粉 10~20 g。

2 试验方法

2.1 细菌分离

2.1.1 称取曲样:将母曲、土曲研碎,过 80 目筛称取曲样各 10 g。

2.1.2 样品稀释:将 10 g 曲样倒入有 90 ml 无菌水三角瓶中,振荡 20 min,取 1 ml 菌液加入 9 ml 无菌水试管中反复稀释几次,直到 10^{-7} 。

2.1.3 平板分离:用牛肉膏蛋白胨培养基倒平板,用吸管向 3 种有培养基平皿中加 0.1 ml 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 菌液,并用玻璃刮铲涂平板。

2.1.4 培养:把培养皿倒置于 28 °C 恒温箱中培养 3~4 d。

2.1.5 观察计数:待菌落清晰易辨后,对菌落进行计数,选取有代表性单菌落观察其边缘、生长特点、质地、颜色和表面结构等特征,并将这些菌分离纯化后保存。

2.2 细菌鉴定

依据菌落、个体形态特征和 10 项生化反应进行鉴定^[1,3,5]。

3 分离计数结果和分析

3.1 细菌量鉴定结果(见表 1)

表 1		本厂母曲、土曲中细菌量			(个/g)
曲别	第一次	第二次	第三次	平均值	
土 曲	7.5×10^7	8.1×10^7	9.3×10^7	8.3×10^7	
母 曲	2.8×10^8	1.1×10^8	1.7×10^8	1.8×10^8	

由表 1 可看出,在牛肉膏蛋白胨培养基上,母曲中细菌数为土曲中细菌数的 2 倍左右,母曲中细菌量较土曲高。

同时我们也对另 7 个厂的土曲和母曲进行了分离,结果相类似,见表 2。

收稿日期:2003-09-04; 修回日期:2004-01-13

作者简介:冯春(1970-),男,大学本科,工程师,发表论文 7 篇。

表 2 不同土曲细菌数量 (个/g)

曲别	细菌	曲别	细菌
岳阳.王承波.土曲	1.1×10^8	大冶.土曲	9.3×10^7
园林清.土曲	3.0×10^7	园林清.母曲	1.3×10^8
临澧.秋生.土曲	1.6×10^7	公安.刘新国.土曲	6.3×10^7
公安.富强.母曲	1.6×10^8	公安.张才文.土曲	9.7×10^6
大冶.母曲	1.7×10^8	卫农粮曲.土曲	9.3×10^7

表 3 不同菌株细菌的特征^[3,6]

项目	1 号菌	2 号菌	3 号菌	4 号菌
形态特征	球状, 单个	球状, 呈葡萄状	球状, 大部分呈四链状	呈椭圆形
菌落特征	黄色, 有光泽, 圆形, 突起	半透明状, 有光泽, 圆形, 突起	黄色, 平展, 边缘不呈圆形, 表面干燥	透明, 菌落很小, 表面光滑
革兰氏染色	G+	G+	G+	G-
淀粉利用	—	—	—	—
油脂利用	—	—	+	—
分解葡萄糖	+	—	+	—
还原硝酸盐	+	++	+	+
M.R 反应	—	—	—	—
V.P 反应	+	+	—	—
吲哚	—	—	—	+
明胶液化	—	—	+	+
产氨	—	—	+	+
过氧化氢酶反应	+	+	微	+

注: G+ 为阳性, G-为阴性, +为阳性, —为阴性, ++为产酸产气, 微为略有阳性。

3.2 细菌鉴定与分析

从 3 次分离计数中, 通过在牛肉膏蛋白胨培养基上长势较旺盛的菌落^[1], 而且普遍存在于每次重复中, 筛选出 4 株有代表性的细菌, 经菌种纯化后, 对其进行属的鉴定, 鉴定结果见表 3。

由表 3 的实验结果, 依据《伯杰氏细菌鉴定手册》可以判断, 1 号菌属于微球菌属 2 号菌属于葡萄球菌属 3 号菌属于链球菌科明串珠菌属 4 号菌属于葡萄糖细菌属^[6-8]。

参考文献:

- [1] 王大铝. 细菌分类基础[M]. 上海: 上海科学出版社, 1977.
- [2] 武汉大学生物系微生物分类学教学组. 微生物分类学实验(内部资料)[C]. 1991.
- [3] 林万明, 等. 细菌分子遗传学分类鉴定法[M]. 上海: 上海科学出版社, 1990.
- [4] 方心芳. 应用微生物学实验法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.
- [5] 中国科学院微生物所. 一般细菌常见鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1985.

- [6] Williams, S. T. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 4[M]. 1989.
- [7] Kazubhiko Tanzawa, Seigo Iwado, Yosaio Tsujita et al. Preparation of Monacolin K[P]. 03204966A:41-42.
- [8] Sneath, P. H. A. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.2[M]. 1986.

(上接第 29 页)

水分 12%~15%, 酸度 0.5%~0.7%, 淀粉 45%~50%, 糖化力 300~700 mg 葡萄糖/g 曲·h, 发酵力 1.30~1.80 g CO₂/g 曲·72 h。

3 曲的病害及其处理

3.1 不挂衣

曲坯入房后 2~3 d, 仍未见表面菌落白斑, 这是温度过低、湿度太小、水分蒸发太快所致, 这时应当加盖湿麦草和在席子上喷洒 40℃ 以上的温水, 使曲块表面湿润, 然后封闭门窗进行保温, 使曲块表面长霉。

3.2 受风

曲块表面干燥, 不长菌落, 内部出现红色或黄色现象俗称受凉, 原因是靠近门窗的曲受风吹, 表面水分蒸发, 品温偏低, 内部引起分泌红色色素菌类的繁殖所造成。因此, 应经常变换曲块的位置, 并在门窗直对附近, 多加席子和草等保温材料, 以防风直接吹到曲块上。

3.3 受热

曲坯进入中火期, 是菌类繁殖旺盛期, 若操作不当, 曲体温度过高, 曲子内部烧黑, 圈老, 色泽灰暗, 酶活力降低, 此时要适当拉

宽曲块的距离, 使散热流畅, 通过散热降温后, 逐渐恢复正常。

3.4 生心

主要是曲中的微生物在发育的后期, 由于温度降低得太快, 菌类失去生长繁殖的条件造成的, 可采取覆盖麦草和把曲块收紧堆高, 将生心大的曲块放在中间的上层, 加盖大席, 提高室温, 尚可挽回。

3.5 皮厚

主要是晾曲时间较长, 曲体表面干燥, 拉皮时间较晚造成的。这种病害无法挽回, 只有吸取教训, 以后注意前火放潮, 晾曲时间不可过长, 及时拉皮拢火, 使曲块保持一定的水分和温度, 使微生物的繁殖达到内外一致, 防止皮厚现象。

滩溪大曲是复杂的物系、酶系、菌系, 加强对其培养管理, 防止大曲病害的发生, 提高大曲质量, 通过酿酒真实体现“曲为酒之魂”的内涵。

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] 康明官. 白酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1991.

《酿酒科技》成为全国中文核心期刊

《酿酒科技》经过多年的努力和广大编者、作者、读者的支持, 业内专家、学者的扶助和关爱, 于 2004 年 4 月被确定为食品工业类的全国中文核心期刊。

经过研究人员对相关文献的检索计算和分析, 并通过学科专家评审, 《酿酒科技》被编入《中文核心期刊要目总览》2004 版。

2004 年版核心期刊评选, 采用了被引量、被摘量、被引量、它引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录等 7 个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库(个别为文摘刊物)有 51 种, 统计到的文献数量共计 9435301 篇次, 涉及期刊 39893 种次。参加核心期刊评审的学科专家达 1873 位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的近 12000 种中文期刊中评选出 1800 种核心期刊。《酿酒科技》名列其中。(健君)