

大曲发酵酒醅微生物区系的初步研究

罗志腾

(天津大兴建筑分校微生物室)

用大曲发酵生产白酒是我国酿酒工业的重要特点之一,但对其窖池内发酵酒醅的微生物种类组成及其变化规律的调查研究,以往做得不多^[1]。我们曾对西安大曲窖池内酒醅反复多次取样分析,进行过多菌种液态白酒发酵研究^[2]。现将酒醅微生物区系调查结果报告如下。

材料与方 法

1.大曲与醅料:以小麦、豌豆等制成大曲,制曲品温控制在 55° — 58° C之间;醅料为高粱。曲粮比,曲占20%。基本上按清渣法入泥窖,入窖时醅料水份掌握在50%左右。

2.取样:用自制的自动开合取样器对池内醅作东西南北中五点采集,每点又分上中下三层。每次共取15个样品,用无菌纸袋分装,注明点层,并现场测出各点层pH值和温度。另取两个窖池做对照。三个池均取入池第2、5、7、9、11天醅及出池酒醅样品。

3.培养基:细菌用肉汁琼脂培养基;酵母用麦芽汁琼脂;霉菌用PDA培养基。

4.平板分离计数:参用Davis点滴法^[3],稀释 10^{-8} ,分别取 10^{-6} 、 10^{-7} 和 10^{-8} 涂琼脂平板。同时制备高温蜡封平板分离厌氧菌。细菌培养8至12小时, $34\pm 1^{\circ}$ C;酵母和霉菌培养24小时, $27\pm 1^{\circ}$ C。用暗背景解剖镜计算菌落。分种统计。

5.鉴定方法:按文献[4]、[5]和[6]鉴定到属。

结 果

(一) 窖池内微生物类群组成

75份样品中,得到192株微生物,计24种,其中细菌15种,酵母4种,霉菌5种。细菌中

数量超过 2×10^6 个/g的主要有芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)两种,节杆菌(*Arthrobacter* sp.)一种,醋酸杆菌(*Actiobacter* sp.)两种,其余为短杆菌。酵母有汉逊酵母(*Hansenula* sp.),假丝酵母(*Candida* sp.),酿酒酵母(*Saccharomyces* sp.)和红酵母(*Rhodotorula* sp.)。霉菌有根霉(*Rhizopus* sp.),毛霉(*Mucor* sp.)青霉(*Penicillium* sp.)和曲霉(*Aspergillus* sp.)。

(二) 醅微生物类群的数量关系

从大曲窖池内发酵第2、5、7、9和13天出池分别五点三层取样,平板分离归类统计的结果。调查表明,细菌总数占全窖池微生物数量的47.68%,酵母占48.37%,霉菌占3.93%。

但是,窖池内各类群数量在整个发酵过程中,实际上分布存在着极大的不平衡。酵母的数量优势仅在发酵前期,而中期(第7天后)数量直线下降,并随时间延长而迅速递减为零。细菌总数随发酵时间延长而逐渐增加,后期达到数量高峰。而霉菌除入窖后头3天内有少量存在外,第7天后就没有被发现(见图1)。

(三) 窖池深度与微生物数量关系

从图2可见,同一发酵期不同层深,微生物数量变化有一个共同规律,即窖池浅层微生物数量多于深层。以发酵中期(第7天)的优势菌酵母为例(汉逊酵母),浅层20cm处数量达 3×10^8 个,而80cm处仅 0.5×10^8 个。但是,细菌优势菌芽孢杆菌的数量高峰却出现在中层醅内,这可能与嗜中高温及嗜酸的生理特性有关。西安酒厂一般大曲窖池最深约150cm。本调查对底部抽样表明,第9天仅存细菌,其数量在 10^3 个/g以下。

(四) 发酵时间与 pH 的关系

本研究工作是在西北大学工业微生物教研室任教时完成的。承西安酒厂支持,特此致谢。

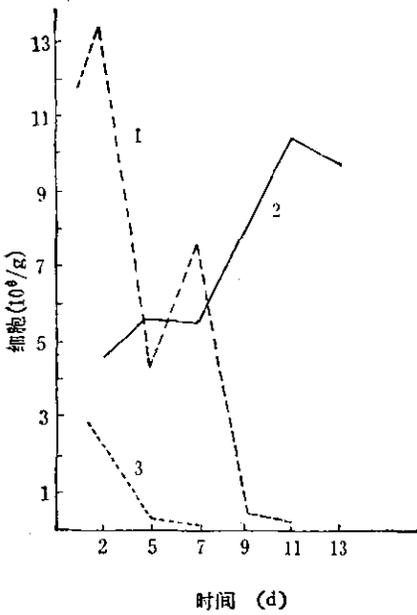


图1 微生物各类群数量与发酵时间的关系
1. 酵母 2. 细菌 3. 霉菌

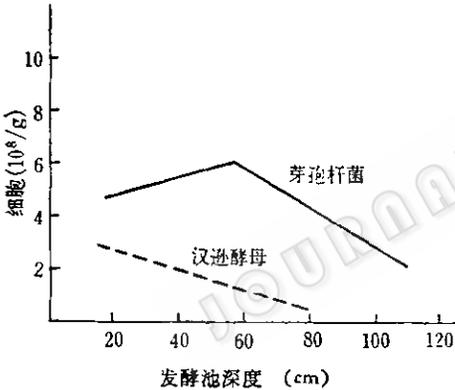


图2 发酵中期(第7天)主要优势菌数量与窖池深度的关系

酵醅的 pH 值随发酵时间的延长发生 V 形的显著变化。图 3 是各层平均 pH 值。图 3 表明, 酵醅第 7 天 pH 值急剧下降, 而后又有所回升。整个发酵过程中, 发酵中期(第 7 天) pH 值最低, 即酸度最高。由此可知, 发酵中期大曲发酵酒醅微生物代谢最为兴旺。

(五) 发酵酒醅厚度与发酵温度的关系

图 4 是发酵第 9 天的记录。可见发酵温度随发酵酒醅的厚度而增加, 底层醅厚 120cm 处可达 60℃。但入池 24 小时, 表层 (10—20 cm 处) 酵醅温度仅 14—20℃ (五点范围)。而第 6

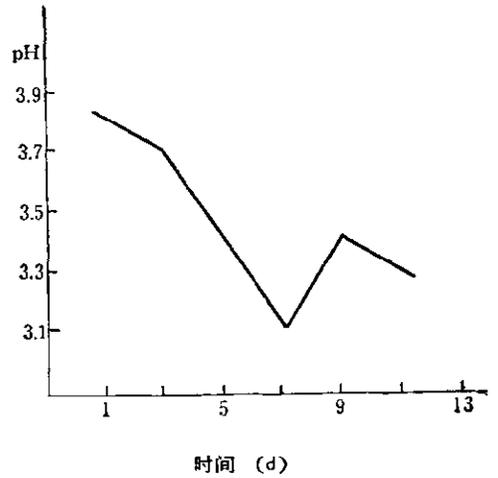


图3 发酵时间与 pH 值的关系

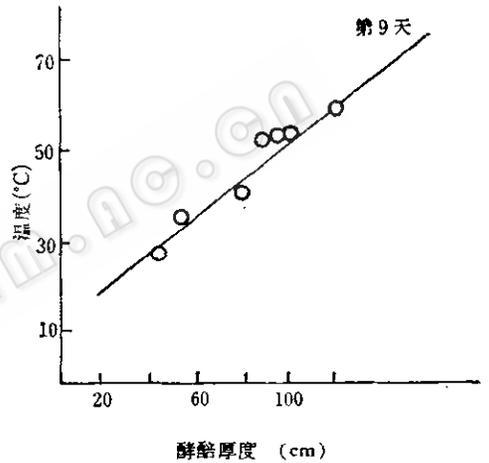


图4 酒醅厚度与发酵温度关系

天品温迅速增高, 浅层 (20cm 处) 达 30℃, 中层 (80cm 处) 达 40℃。发酵后期(第 13 天)底层 (150cm 处) 品温达 70℃。

讨 论

1. 大曲发酵酒醅微生物类群组成问题: 整个发酵过程, 微生物类群组成处于不断发生变化状态。我们的调查表明, 大曲醅料入窖池时, 醅内微生物种类组成无疑受大曲内部微生物群的影响。但是, 随着发酵进程, 各种微生物数量迅速发生变化。有的种类数量由多变少, 最后趋于绝灭(如霉菌和酵母); 有的则由少而多, 逐渐成为优势(如细菌)。因此, 整个大曲发酵酒

(下转第 80 页)

(上接第60页)

醅中的微生物组成终究呈由多类群变成单一类群(细菌),最后仅存耐高温的细菌进行细菌发酵了。这是固体深层发酵时,品温增高、酸性增强、醇度增浓共同作用的结果。

辽宁陵川酒厂试点和贵州茅台试点^[1],情况类似。

但是,各地固体深层酒醅微生物类群的变化彼此不同。这种关键性的变化,就西安大曲的发酵酒醅来说,发生在发酵中期(第7天)。入池前大曲所含的霉菌与酵母在发酵过程中逐步被分别淘汰;其中霉菌在中期淘汰,酵母在中后期淘汰。

2. 关于酵母的数量消长。本研究表明,酵母在入池后第2天达到数量高峰(图1),但紧接着迅速下降。虽然中期稍有回升,但又很快下降,一直趋于零。这种现象的出现,我们认为主要受品温和 pH 值的综合影响。

A. 品温。随发酵时间延长,品温增高,酵母数量下降。调查表明,发酵第6天浅层温度已达 30℃,中层达 40℃ 以上。发酵中期后品温普遍上升,尤其中层品温大多数在 40℃ 以上。

这时,酵母生长受到严重影响。图2中汉逊酵母数量下降正说明了这一点。

B. pH 值。整个发酵过程, pH 值最低点在发酵中期,酵母由于培养环境酸性较强不能适应而大量死亡,酵母数量此后下降趋于零。

3. 从经济效益考虑,凤型酒发酵期似乎可以适当缩短。西安大曲酒醅发酵约半个月,其它凤型酒发酵期类似。从本调查看来,酵母在发酵中期产酒过程已经完成,因此发酵前中期是发酵产酒关键。而中后期是细菌发酵,这可能是产芳香物质的关键。这个后期应该保持多少天较好,尚待作进一步的实验研究。

参 考 文 献

- [1] 沈怡芳: 轻工化工科技, 1: 23, 1975.
- [2] 罗志鹏等: 微生物学通报, 6(2): 15-18, 1979.
- [3] Davis, J. G.: *Process Biochem.*, 6 (5): 31-32, 1971.
- [4] John, G. H.: *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th, 1977.
- [5] Lodder, J.: *The yeasts*, 2nd Ed., 1970.
- [6] Ainsworth, G. C. et al.: *The fungi*, Academic Press, New York and London, 1973.