

基于磷脂脂肪酸剖析不同老熟方法的窖泥微生物群落结构

刘琨毅¹, 王琪^{1*}, 周书来², 吴冬梅³, 龙治国⁴

(1. 宜宾职业技术学院 五粮液技术学院, 四川 宜宾 644003; 2. 乐山职业技术学院 药理学系, 四川 乐山 614000;
3. 泸州职业技术学院 白酒学院, 四川 泸州 646005; 4. 宜宾县吉鑫制酒有限责任公司, 四川 宜宾 644000)

摘要: 针对白酒发酵过程中窖泥微生物群落结构的特殊性, 采用磷脂脂肪酸(PLFA)指纹图谱法对不同老熟方法制备的窖泥的微生物群落特征进行研究。结果表明, 使用方法C制得的窖泥经三轮次酿酒生产后, 其中的微生物多样性较方法A与方法B丰富, 且特征PLFA的种类与50年以上窖龄窖池窖泥相同; 使用方法C制得的窖泥微生物含量高于方法A与方法B, 并接近于50年以上窖龄窖池窖泥; 使用方法C制得的窖泥微生物群落结构特征与50年以上窖龄窖池的相似度最高。使用方法C的窖池所生产的浓香型白酒出酒率最高, 为(36.52±0.67)%, 窖香浓郁、酒体丰满、入口醇甜、味长、尾净。因此, 使用方法C所制得的窖泥优于方法A与方法B。

关键词: 磷脂脂肪酸; 窖泥; 微生物群落; 老熟方法

中图分类号: TS262.3

文章编号: 0254-5071(2019)01-0134-06

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2019.01.027

引文格式: 刘琨毅, 王琪, 周书来, 等. 基于磷脂脂肪酸剖析不同老熟方法的窖泥微生物群落结构[J]. 中国酿造, 2019, 38(1): 134-139.

Analysis of microbial community structure in pit mud with different aging methods based on phospholipid fatty acid

LIU Kunyi¹, WANG Qi^{1*}, ZHOU Shulai², WU Dongmei³, LONG Zhiguo⁴

(1. Wuliangye Technical College, Yibin Vocational and Technical College, Yibin 644003, China; 2. Department of Pharmacy, Leshan Vocational and Technical College, Leshan 614000, China; 3. Baijiu College, Luzhou Vocational and Technical College, Luzhou 646005, China; 4. Yibin Jixin Liquor Making Co., Ltd., Yibin 644000, China)

Abstract: For the specificity of microbial community structure in pit mud during fermentation process of Baijiu (Chinese liquor), the microbial community characteristics of pit mud prepared by different aging methods were studied through phospholipid fatty acid (PLFA) fingerprint method. The results suggested that the microbial diversity of pit mud prepared by method C and produced after three rounds of brewing was richer than that of method A and method B, and the type of characteristic PLFA was the same as that of pit mud prepared in the aged pit above 50 years. The microbial content of pit mud prepared by method C was higher than that of method A and method B, and closed to the content of pit mud prepared in the aged pit above 50 years. The microbial community structure characteristics of pit mud prepared by method C had the highest similarity with that of pit mud prepared in the aged pit above 50 years. Strong-flavor Baijiu produced in pit by method C had the highest liquor yield (36.52±0.67)%, the liquor had rich pit-flavor, full body, mellow and sweet entrance, long taste and clean tail. Therefore, the pit mud produced by method C was superior to method A and method B.

Key words: phospholipid fatty acid; pit mud; microbial community; aging method

川派浓香型白酒因其独特的混蒸混烧、续糟配料、泥窖发酵的酿造工艺而使栖息在其中的微生物长期处于高酸和无氧的极端环境中, 而微生物又在其酿造过程中发生了协同的生化反应及产生了独特的调控方式, 这赋予了川派浓香型白酒独特的风格特点^[1-9]。浓香型白酒生产过程中所需的微生物主要生长在窖池窖泥中, 窖泥质量的优劣直接影响着浓香型白酒的质量^[7]。新窖产酒一般酒质较差, 而老窖窖泥在长期生产与驯化过程中, 逐渐富集了大量与酿酒有关的各类功能微生物, 因此, 老窖出好酒^[8-9]。

为了缩小新窖与老窖酒质之间的差距, 新窖老熟便应运而生^[10]。如何在短时间内使新窖窖泥达到老窖窖泥的

水平并生产出优质白酒, 许多酒类企业陆续根据自己的实际情况, 设计出了新窖老熟的各种制备方法^[11-12]。如何在众多方法中快速而有效地寻找到适合川派浓香型白酒窖池的方法是近年来研究的热点^[17]。目前, 应用于窖泥微生物群落结构的快速分析方法主要有以聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术为核心的现代分子生物学方法、Biolog法、生化指纹图谱法等免培方法^[9]。但由于PCR扩增容易受到引物特异性及微生物群落结构复杂等因素的影响, Biolog法仅能粗略反映群落结构特征及动态变迁规律, 所以两种方法都难以全面剖析窖泥中微生物的群落结构特征及动态变迁规律^[13]。磷脂脂肪酸 (phos-

收稿日期: 2018-08-17

修回日期: 2018-11-03

基金项目: 四川省教育厅科研项目 (No.18ZB0664); 宜宾职业技术学院科研项目 (No.ybzysc16-17)

作者简介: 刘琨毅 (1987-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为白酒酿造技术。

*通讯作者: 王琪 (1989-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为白酒分析与检测。

pholipid fatty acid, PLFA) 指纹图谱技术是一种研究微生物群落结构的快捷方法^[14], 已成功应用于浓香型白酒酿造窖池等复杂体系的微生物群落及动态变迁规律的研究^[15-17]。本研究采用PLFA技术分析3种常见的窖泥老熟方法的窖泥微生物群落结构, 以期寻找到适合川派浓香型白酒酿造窖池快速有效的窖泥老熟方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

新窖窖泥(呈黄色、黏性大、无香味)、50年以上窖龄窖池窖泥(表层呈灰白色, 内层呈乌黑色; 质感湿润、无粘稠性; 香气协调, 有明显的硫化氢气味和氨气味。上层, O1; 中层, O2; 下层, O3)、50年以上窖龄窖池生产的酒醅、窖皮窖泥、黄水、酒尾、大曲粉: 宜宾J酒厂。

1.1.2 试剂

柠檬酸、柠檬酸钠、氯仿、丙酮、甲苯、醋酸、氢氧化钾、尿素、过磷酸钙(均为分析纯): 成都科龙化工试剂厂; 甲醇(色谱纯): 德国Darmstadt公司。

1.2 仪器与设备

PHs-3c型精密pH计: 上海理达仪器厂; BS210S型电子分析天平: 北京赛多利斯天平有限公司; HH-ZK型恒温水浴锅: 上海卫凯仪器设备有限公司; ZHWY-103D型恒温培养振荡器: 上海智城分析仪器制造有限公司; MD200-1型氮气吹扫仪: 杭州奥盛仪器有限公司; QP2010型气-质联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC) 仪: 日本岛津公司; TR-5MS型色谱柱(30.0 m×320 μm×0.25 μm): 美国Thermo公司; SPE型硅胶层析小柱(3 mL, 250 mg): 德国Hardwee公司; Sherlock 6.0微生物鉴定系统: 美国MIDI公司。

1.3 方法

1.3.1 窖泥老熟方法

窖泥老熟方法A: 分别将1 600 kg 50年以上窖龄窖池窖泥的窖壁上层、中层和下层窖泥与1 600 kg窖皮窖泥、225 kg黄水、50 kg大曲粉、6 kg尿素、30 kg过磷酸钙、15 kg酒尾(酒精度<40%vol) 充分拌匀并自然堆积发酵15 d, 在新窖窖池窖底铺上厚度为25 cm经堆积发酵后的下层窖泥, 窖壁的不同位置分别用力甩上厚度为20 cm的对应位置经堆积发酵后的窖泥并抹平。

窖泥老熟方法B: 将50年以上窖龄窖池生产的酒醅按照浓香型白酒跑窖法^[18]拌曲后入新窖窖池(传统人工窖泥的新窖) 发酵。

窖泥老熟方法C: 将方案A中经堆积发酵后的窖泥(分为窖壁上层、中层和下层窖泥), 分别使用到新窖窖池对应的窖层中, 并采用方案B中的酒醅入窖方式酿酒。

1.3.2 窖泥取样方法

距窖口50 cm均匀取样为上层窖泥, 距窖底50 cm均匀取样为中层窖泥, 窖池底部均匀取样为下层窖泥, 共取得

36份样品, 所有的样品均在3 h内完成预处理。窖泥样品具体信息如表1所示。

表1 窖泥样品编号
Table 1 Code of pit mud samples

序号	窖泥编号	窖泥老熟方法	新窖发酵轮次/轮	窖泥位置
1	A01	A	0	上层
2	A02	A	0	中层
3	A03	A	0	下层
4	A11	A	1	上层
5	A12	A	1	中层
6	A13	A	1	下层
7	A21	A	2	上层
8	A22	A	2	中层
9	A23	A	2	下层
10	A31	A	3	上层
11	A32	A	3	中层
12	A33	A	3	下层
13	B01	B	0	上层
14	B02	B	0	中层
15	B03	B	0	下层
16	B11	B	1	上层
17	B12	B	1	中层
18	B13	B	1	下层
19	B21	B	2	上层
20	B22	B	2	中层
21	B23	B	2	下层
22	B31	B	3	上层
23	B32	B	3	中层
24	B33	B	3	下层
25	C01	C	0	上层
26	C02	C	0	中层
27	C03	C	0	下层
28	C11	C	1	上层
29	C12	C	1	中层
30	C13	C	1	下层
31	C21	C	2	上层
32	C22	C	2	中层
33	C23	C	2	下层
34	C31	C	3	上层
35	C32	C	3	中层
36	C33	C	3	下层

1.3.3 PLFA的分析方法

(1) 窖泥的预处理

分别准确称取窖泥5.0 g, 加入30 mL柠檬酸缓冲液(0.1 mol/L、pH 4.0), 涡旋振荡10 min后经4层无菌纱布过滤, 其滤清液经2 500 r/min离心15 min, 取上清液, 10 000 r/min离心10 min, 收集沉淀。柠檬酸缓冲液重复洗涤3次后备用, 上述样品均设3个重复。

(2) PLFA的提取

在上述沉淀中加入19 mL柠檬酸缓冲液、甲醇与氯仿

(0.8:2.0:1.0, V/V) 的混合液, 避光振荡 2 h, 加入 10 mL 柠檬酸缓冲液与氯仿 (1:1, V/V) 的萃取溶剂, 静置避光萃取 24 h, 收集氯仿相, 利用氮吹仪吹干样品; 5 mL 氯仿溶解干燥样品后, 加入提前经氯仿浸润的硅胶层析小柱内, 依次采用 10 mL 氯仿、10 mL 丙酮、10 mL 甲醇进行洗脱, 收集甲醇相, 并用氮气吹干干燥^[16-17], 即为 PLFA。

(3) PLFA 的甲基化

利用 1 mL 甲苯与甲醇 (1:1, V/V) 的混合液溶解 PLFA, 加入 1 mL 氢氧化钾-甲醇溶液 (0.2 mol/L), 37 °C 水浴保温 30 min, 用 1 mol/L 乙酸溶液将 pH 调至 6.0, 加正己烷和超纯水各 2 mL, 漩涡振荡 5 min, 将有机相移入洁净样品瓶中, 氮气吹干待测^[14-5]。

(4) PLFA 的气相色谱分析

TR-5MS 型色谱柱 (30.0 m × 320 μm × 0.25 μm), 进样口温度: 250 °C, 分流比: 10:1, 载气: 氦气 (He), 流速: 1 mL/min, 进样量: 0.5 μL。升温程序: 起始柱温 40 °C, 保持 2 min; 再以 5 °C/min 升至 220 °C, 保持 9 min。电子电离 (electron ionization, ED 源, 电子能量: 70 eV; 离子源温度: 230 °C; 扫描范围: 35~400 amu^[14-15]。

(5) PLFA 的微生物群落表征

磷脂脂肪酸 (PLFA) 的命名参考郑佳等^[3]的命名方法, PLFA 的通式用 X:YωZ 表示, 其中 X 代表脂肪酸甲酯主链上的总碳原子数, Y 表示不饱和双键的数目, ω 代表含有双键, Z 代表双键距甲基末端的位置。测定结果为 i13:0、a14:0、i15:0、a15:0、a16:0 和 i16:0 代表革兰氏阳性菌; 16:1ω5c、16:1ω7c、16:1ω9、cy17:0 和 18:1ω6 代表革兰氏阴性菌; 15:0、i16:0、i17:0 代表好氧菌; cy17:0、cy19:0 代表厌氧菌; 18:3ω6, 9, 12、18:2ω6, 9 和 18:1ω9 代表真菌。其中前缀 i 表示 PLFA 中含有异构甲基支链, a 表示 PLFA 中含有反异构甲基支链, cy 代表含有环丙基。

1.3.4 浓香型白酒出酒率的计算

$$\text{浓香型白酒出酒率} = \frac{\text{蒸馏酒总质量}}{\text{粮食总质量}} \times 100\%$$

式中: 蒸馏酒总质量需换算成酒精浓度 50% vol 的质量。

1.3.5 浓香型白酒感官评定

由 7 名四川省白酒评委组成的感官评定组, 在环境幽静、空气流通、光线充足的品酒室, 按照浓香型白酒的感官评定标准^[19-20]进行感官评定。

1.3.6 数据分析

采用美国 MIDI 公司开发的基于细菌细胞脂肪酸成分鉴定的 Sherlock 6.0 系统进行 PLFA 的鉴定和分析。

2 结果与分析

2.1 经三轮次发酵后不同窖泥老熟方法窖泥 PLFA 指纹图谱的比较

采用 3 种不同窖泥老熟方法对窖泥进行三轮次发酵, 窖泥的 PLFA 气相色谱图见图 1, 窖泥的 PLFA 含量见图 2。

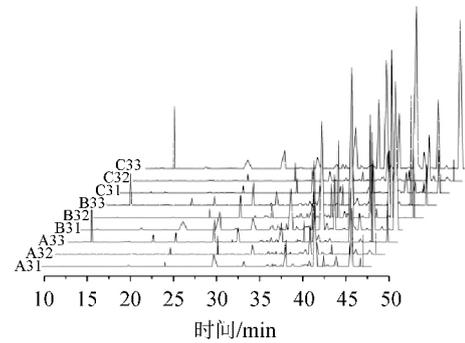


图 1 3 种不同老熟方法窖泥的磷脂脂肪酸气相色谱图
Fig. 1 Gas chromatogram of phospholipid fatty acid in pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

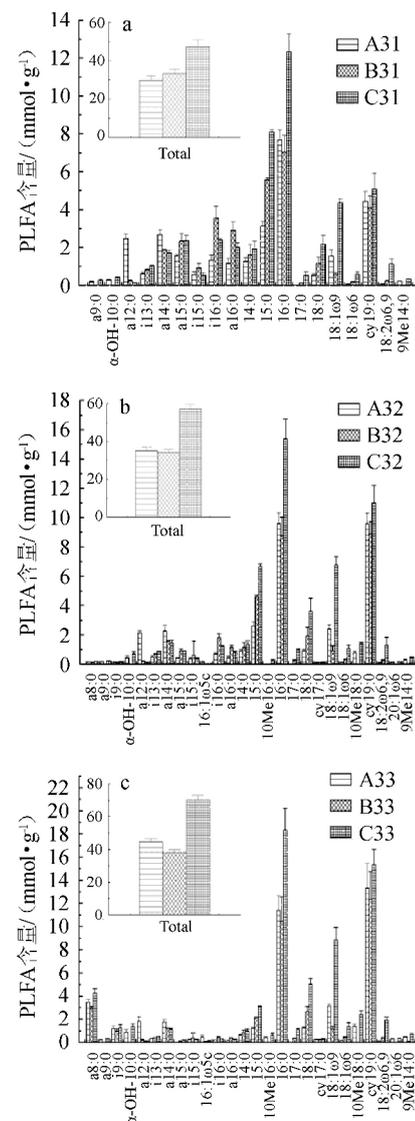


图 2 3 种不同老熟方法上层 (a)、中层 (b) 和下层 (c) 窖泥中磷脂脂肪酸含量
Fig. 2 Phospholipid fatty acid contents in the upper (a), middle (b) and lower (c) layer of pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

由图 1 和图 2 可知, 经三轮次发酵后, 在 3 种不同窖泥老

熟方法窖泥中, C₈~C₂₀的PLFA 26种, 其中直链饱和脂肪酸 (linear saturated fatty acids, LSFA) 5种、支链饱和脂肪酸 (branched saturated fatty acids, BRFA) 14种、环丙基脂肪酸 (cyclopropyl fatty acids, CPFA) 2种、单不饱和脂肪酸 (monounsaturated fatty acids, MUFA) 4种、多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 1种。

由图2a可知, 在3种不同窖泥老熟方法老熟的上层窖泥中, C₈~C₂₀的PLFA 19种, 其中LSFA 5种、BRFA 10种、CPFA 1种、MUFA 2种、PUFA 1种。其中, 在方法C老熟的上层窖泥中, PLFA总含量最高, 为(47.26±3.57) nmol/g, 其次为方法B老熟的上层窖泥, 为(33.14±2.53) nmol/g, 在方法A老熟的上层窖泥中PLFA总含量最低, 为(29.70±2.35) nmol/g。

由图2b可知, 在3种不同窖泥老熟方法老熟的中层窖泥中, C₈~C₂₀的PLFA 26种, 其中在窖泥样品A32中未检出10Me16:0与17:0, 在窖泥样品B32中未检出a9:0、α-OH-10:0、10Me16:0、10Me18:0与20:1ω6。在方法C老熟的中层窖泥中PLFA总含量最高, 为(57.22±2.35) nmol/g, 在方法A老熟的中层窖泥中PLFA总含量其次, 为(35.14±1.72) nmol/g, 在方法B老熟的中层窖泥中PLFA总含量最低, 为(34.17±1.47) nmol/g。

由图2c可知, 在3种不同窖泥老熟方法下层窖泥中, C₈~C₂₀的PLFA 26种, 其中在窖泥样品A33中未检出a15:0与17:0, 在窖泥样品B33中未检出a9:0、α-OH-10:0、10Me16:0、10Me18:0与20:1ω6。在方法C老熟的下层窖泥中PLFA总含量最高, 为(70.27±2.66) nmol/g, 在方法A老熟的下层窖泥中PLFA总含量其次, 为(44.66±1.94) nmol/g, 在方法B老

熟的下层窖泥中PLFA总含量最低, 为(38.09±1.73) nmol/g。

经三轮次发酵后, 3种老熟方法不同泥层窖泥中PLFA总含量均为下层最高, 分别为A33: (44.66±1.94) nmol/g; B33: (38.09±1.73) nmol/g; C33: (70.27±2.66) nmol/g, 中层其次, 分别为A32: (35.14±1.72) nmol/g; B32: (34.17±1.47) nmol/g; C32: (57.22±2.35) nmol/g, 上层最低, 分别为A31: (29.70±2.35) nmol/g; B31: (33.14±2.53) nmol/g; C31: (47.26±3.57) nmol/g。这表明窖泥微生物的数量从窖池上层向下层逐渐增多, 可能是由于窖池中的酿酒微生物在生产过程中产生了大量的菌体自溶物、腐殖质、有机酸等营养物质, 随黄水逐渐渗透到窖池的底部, 使酿酒微生物能够更好地生长繁殖^[20]。

2.2 不同窖泥老熟方法对窖泥特征PLFA图谱的影响

由图3a可知, 在使用窖泥老熟方法A的上层窖泥中, 革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及厌氧菌的含量均随着酿酒轮次的增加而增加, 并逐渐趋近于50年以上窖龄窖池上层窖泥(O1)革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及厌氧菌含量; 好氧菌及真菌的含量则随着酿酒轮次的增加呈现先减少后增加的趋势, 但也逐渐趋近于O1, 这可能是由于使用方法A所制得的上层窖泥中含有一些不适合酿酒生产环境的好氧菌及真菌, 其在投入生产过后逐渐消亡。由图3b与图3c可知, 同样是在使用方法A老熟的中层及下层窖泥所含的革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌、真菌的含量均随着酿酒轮次的增加而增加, 并逐渐趋近于50年以上窖龄窖池中层窖泥(O2)及50年以上窖龄窖池下层窖泥(O3)的含量。

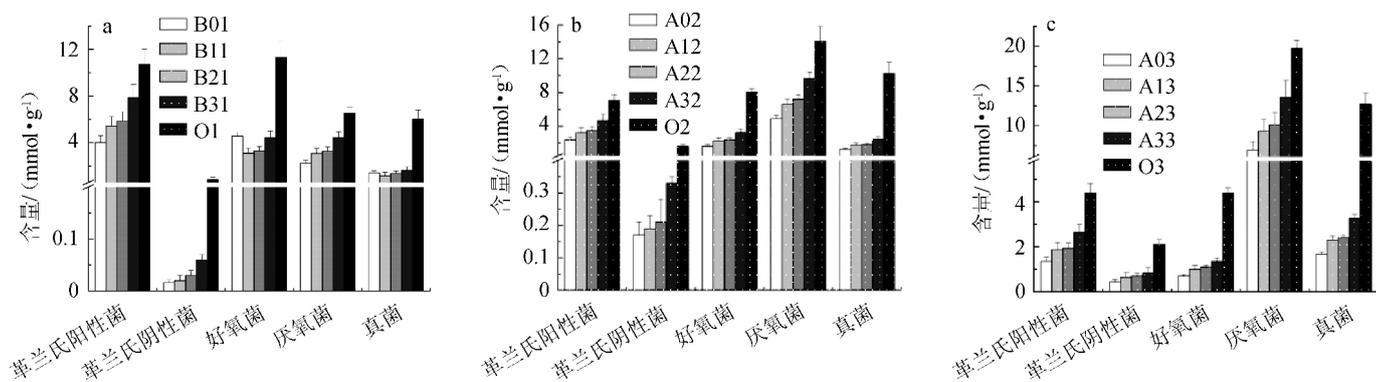


图3 3种不同老熟方法上层窖泥的各类型微生物含量

Fig. 3 Content of each type of microbes in the upper layer of pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

由图4a可知, 在使用窖泥老熟方法B的上层窖泥中, 革兰氏阳性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的含量随着酿酒轮次的增加而增加, 其中好氧菌、厌氧菌及真菌的含量逐渐趋近于O1; 革兰氏阴性菌的含量则随着酿酒轮次的增加而减少, 其含量也未呈现出逐渐接近于O1的趋势。由图4b可知, 在方法B老熟的中层窖泥中, 革兰氏阳性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的含量随着酿酒轮次的增加而增加, 并逐渐趋近于

O2; 革兰氏阴性菌的含量则随着酿酒轮次的增加而减少, 并逐渐低于O2中革兰氏阴性菌的含量(1.63±0.20) nmol/g, 表明使用方法B老熟的中上层和中层的窖泥里含有有益于酿酒的革兰氏阴性菌在酿酒过程的前三轮中并未显著生长。由图4c可知, 在方法B老熟的下层窖泥中, 革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌、真菌的含量均随酿酒轮次的增加而增加, 并逐渐接近于O3的含量。

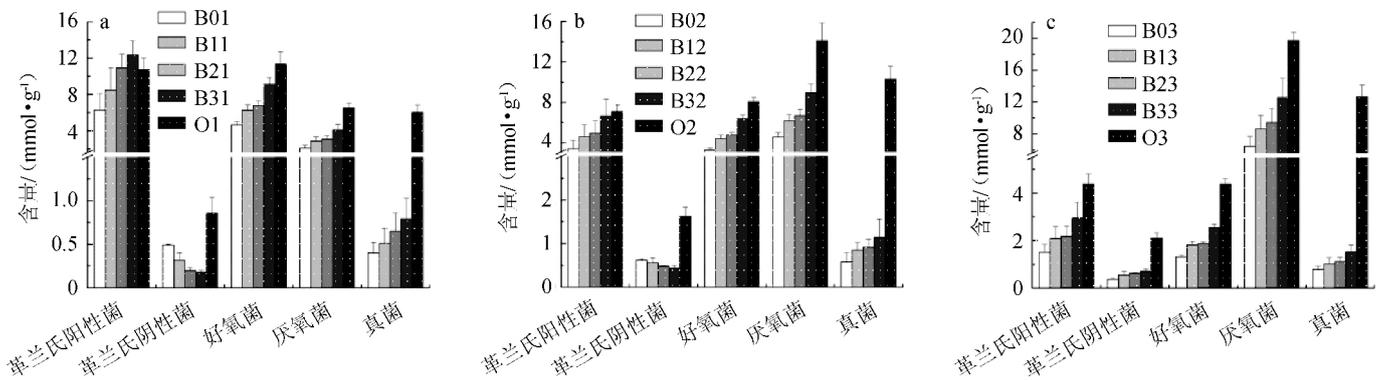


图4 3种不同老熟方法中层窖泥的各类型微生物含量

Fig. 4 Content of each type of microbes in the middle layer of pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

由图5a~5c可知,在使用窖泥老熟方法C的上、中、下层的窖泥中,革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的含量均随着酿酒轮次的增加而增加,也逐渐趋

近于50年以上窖龄窖池窖泥中所对应的微生物含量。这表明窖泥老熟方法C优于方法A及方法B。

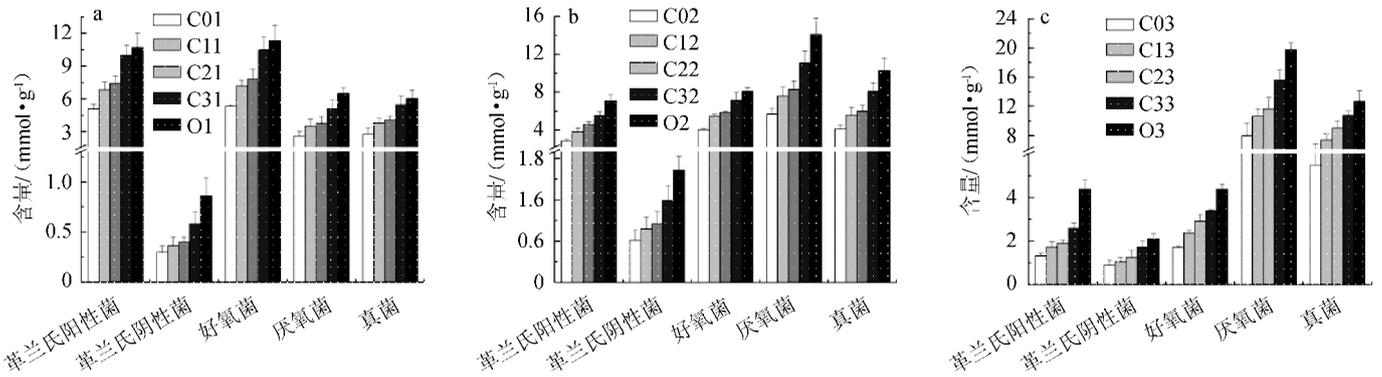


图5 3种不同老熟方法下层窖泥的各类型微生物含量

Fig. 5 Content of each type of microbes in the lower layer of pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

2.3 不同窖泥老熟方法对窖泥中微生物群落结构特征的影响

由图6a可知,经三轮次发酵后,50年以上窖龄窖池上层窖泥(O1)中,革兰氏阳性菌相对于其他3种上层窖泥的百分含量最低(30.22%),而革兰氏阴性菌相对于其他3种上层窖泥的百分含量最高(2.42%),这可能是由于老窖池在浓香型白酒生产过程中,微生物产生的有机酸和醇类等

物质逐渐积累形成了高酸度、高乙醇的微生态环境,使得其中的微生物之间进行优胜劣汰;好氧菌及厌氧菌的百分含量在4种样品中差异不显著;而真菌的百分含量在上层窖泥C31与O1中均显著高于A31与B31,表明A31与B31中适合酿酒生产的真菌还需要进一步生长繁殖;C31与O1中革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的百分含量相对接近,达到了窖泥快速老化的目的。

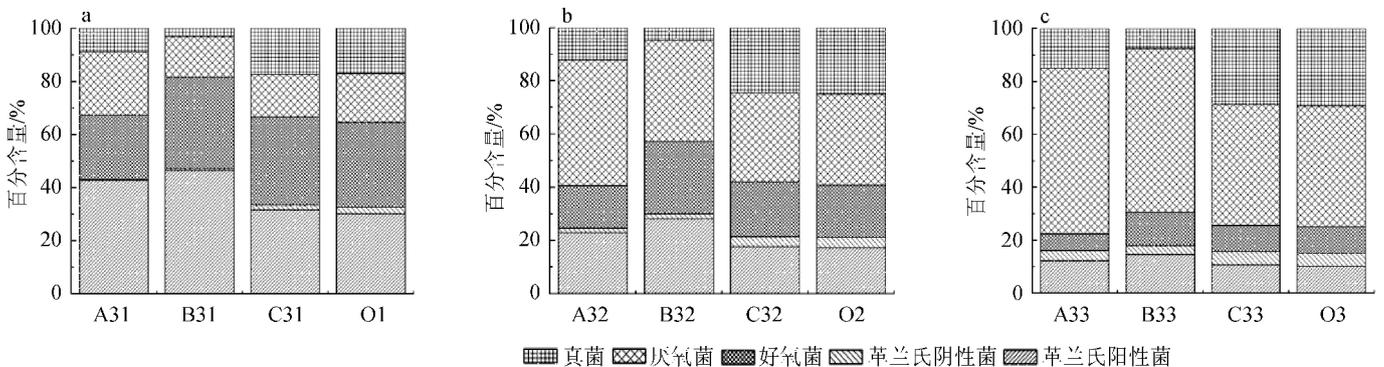


图6 3种不同老熟方法窖泥中各类型微生物的百分含量

Fig. 6 Percent content of each type of microbes in pit mud prepared by 3 kinds of aging methods

由图6b可知,经三轮次发酵后,在4种中层窖泥样品中,C32与O2的革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的百分含量相对接近;A32与O2相比,其革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、厌氧菌及真菌的百分含量差异较为显著;B32与O2相比,其革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌的百分含量差异较为显著。这表明经过三轮次的浓香型白酒生产,方法C所制得的中层窖泥优于方法A与方法B。

由图6c可知,经三轮次发酵后,在4种下层窖泥样品中,厌氧菌的百分含量均>45%,好氧菌的百分含量均<13%,这表明窖池下部含氧量极低,微生物在窖池中不同位置的生长繁殖受氧气的胁迫差异明显;C33与O3中革兰氏阴性菌及真菌的百分含量均高于A33与B33,而革兰氏阳性菌与厌氧菌则相反的,这可能由于老窖池在长期酿造过程中,酿酒微生物产生了大量的有机酸、菌体自溶物、腐殖质等物质,并随生产过程中产生的黄水逐渐渗透到窖池的底部,使窖池下层的微生物生长繁殖呈现出有别与上层、中层不同的特征;在3种不同的窖泥老熟方法中,只有使用方法C的下层窖泥其革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、好氧菌、厌氧菌及真菌的百分含量与O3相对接近。

综上,经过三轮次发酵的窖泥,在使用方法C老熟的窖泥中微生物群落结构特征与50年以上窖龄窖池的相似,故使用方法C所制得的窖泥优于方法A与方法B。

2.4 不同窖泥老熟方法对浓香型白酒出酒率及感官特征的影响

表2 不同老熟方法浓香型白酒的出酒率

Table 2 Liquor yield of strong-flavor Baijiu prepared by different aging methods

项目	新窖窖池	方法A的窖池	方法B的窖池	方法C的窖池	50年以上窖龄窖池
出酒率/%	29.31±0.89	34.05±0.56	32.54±1.03	36.52±0.67	38.39±0.42

由表2可知,经三轮次发酵后,使用窖泥老熟方法C的窖池,其白酒出酒率在3种窖泥老熟方法中最高,为(36.52±0.67)%,窖泥老熟方法A的窖池出酒率其次,为(34.05±0.56)%。使用窖泥老熟方法A的窖池所生产的浓香型白酒窖香明显、酒体较绵甜、味长、尾较净;使用窖泥老熟方法B的窖池所生产的浓香型白酒具有一定的窖香、酒体较绵甜、稍冲、味长、尾较净;使用窖泥老熟方法C的窖池所生产的浓香型白酒窖香浓郁、酒体丰满、入口醇甜、味长、尾净。经过感官品评后发现,使用窖泥老熟方法C的窖池产酒优于窖泥老熟方法A和B的窖池。

3 结论

优良的窖池环境对浓香型白酒的香味和品质有着极为重要的影响,本试验基于PLFA剖析3种不同窖泥老熟方法所制得的窖泥微生物群落结构。结果表明,使用方法C制得的窖泥经三轮次酿酒生产后,其中的微生物多样性较方法A与方法B丰富,且特征PLFA的种类与50年以上窖龄窖

池相同;微生物含量也高于方法A与方法B,并接近于50年以上窖龄窖池的含量;微生物群落结构特征与50年以上窖龄窖池的相似度最高。使用窖泥老熟方法C的窖池所生产的浓香型白酒出酒率最高,为(36.52±0.67)%,窖香浓郁、酒体丰满、入口醇甜、味长、尾净。故使用方法C所制得的窖泥优于方法A与方法B,但与50年以上窖龄窖池窖泥微生物群落结构还有一定的差距,需要借助于高通量测序等微生物群落结构的分析方法将窖池中的微生物确定到种属水平后进行深入研究,以期达到进一步优化窖泥老熟方法的目的。

参考文献:

- [1] 刘燕梅,王艳丽,李永博,等.气相色谱及气相色谱-质谱联用研究窖泥微生物[J].环境化学,2018,37(4):902-905.
- [2] 黄莹娜,熊小毛,胡远亮,等.基于PCR-DGGE和高通量测序分析白云边窖泥细菌群落结构与多样性[J].微生物学通报,2017,44(2):375-383.
- [3] 孙夏冰,王松涛,陆震鸣,等.浓香型大酒窖泥中挥发性化合物的测定与分析[J].食品与机械,2013,29(6):54-58.
- [4] 陈彬,闫寅卓,王德良,等.浓香型白酒窖泥钙化成因及缓解措施的初步探究[J].中国酿造,2016,35(10):36-40.
- [5] 罗惠波,甄攀,黄治国.浓香型白酒窖池细菌群落[J].微生物学通报,2010,37(11):1621-1627.
- [6] 王涛,田时平,赵东,等.宜宾浓香型白酒窖泥中细菌的系统发育多样性[J].食品与发酵工业,2011,37(10):11-18.
- [7] 王偃铨,张良,刘来雁,等.泸州古酿酒窖池中两株产甲烷杆菌比较研究[J].应用与环境生物学报,2010,16(6):840-844.
- [8] 胡晓龙.浓香型白酒窖泥中梭菌群落多样性与窖泥质量关联性研究[D].无锡:江南大学,2015.
- [9] 黄治国,罗惠波,侯海波,等.浓香型白酒酒醅细菌群落结构及其变化规律[J].中国酿造,2012,31(3):100-104.
- [10] 张东跃,沈才洪,敖宗华,等.模糊综合评价法在人工窖泥老熟感官评价中的应用[J].中国酿造,2013,32(1):120-123.
- [11] 武玉涛.浅析人工窖泥退化的原因及其预防[J].邯郸职业技术学院报,2010(5):55-59.
- [12] 曹建全,赵德义,孙伟,等.利用双轮糟醅加快浓香窖池老熟的方法[J].酿酒,2018,45(2):60-63.
- [13] SCHUTTER M E, DICK R P. Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities[J]. Soil Sci Soc Am J, 2000, 64(5): 1659-1668.
- [14] 曾清苹,何丙辉,毛巧芝,等.缙云山马尾松林和柑橘林土壤微生物PLFA沿海拔梯度的变化[J].环境科学,2015,36(12):4667-4675.
- [15] 郑佳,张良,沈才洪,等.浓香型白酒窖池微生物群落结构特征[J].应用生态学报,2011,22(4):1020-1026.
- [16] 刘珉毅,卢中明,郑佳,等.浓香型白酒窖泥微生物群落PLFA指纹图谱方法[J].应用与环境生物学报,2012,18(5):831-837.
- [17] 刘珉毅,陈帅,郑佳,等.基于PLFA指纹图谱表征浓香型酒糟醅微生物群落结构[J].应用生态学报,2012,23(6):1620-1628.
- [18] 姚万春,唐玉明,任道群,等.液体窖泥培养过程微生物和香气成分变化趋势[J].中国酿造,2013,32(2):45-48.
- [19] 邵燕,张宿义,祝成,等.浓香型白酒风味物质与感官评定相关性研究[J].中国酿造,2012,31(8):92-95.
- [20] 李永博,邓波,刘燕梅,等.基于PLFA分析不同窖龄窖泥微生物群落结构[J].中国酿造,2017,36(9):74-77.