

醋酸菌及霉菌

在食醋工业上的应用

包 启 安

我国早在三千多年前的周朝就曾设“醢人”职称，“醢人”掌共五齐、七菹。也就是掌管有关由醋酸菌、乳酸菌酿制的食品或由其加工而成的食品，由此可以推知当时食醋是非常重要的调味品。在许多医药古籍中也记载有不少关于它的保健和医疗效果。例如元朝忽思慧所著《饮膳正要》中有“醋味酸温，消痈肿、散水气、杀邪毒、破血通，除癥块坚积。醋有数种：酒醋、桃醋、麦醋、葡萄醋、枣醋、米醋为上，入药用。”的记载。明李时珍所著《本草纲目》更汇集了附方多种，所以食醋不单是人民饮食生活中不可缺少的传统调味品，而且也是一种很好的天然保健食品。

随着科学的发展，食醋的生产也接受了现代科学的洗礼，从原料处理、糖化、酒精发酵、醋酸发酵以至于制成成品，各个阶段的机理都得到比较明确的阐明，各各工序都取得了很大的改进；尤其是由于人们生活水平不断地提高，食醋的需求数量也逐年增加，因此推动了生产技术的改革，逐步进入工业化的生产行列。本文着重地就食醋原料糖化微生物霉菌及醋酸菌应用方面的问题进行探讨。

一、醋酸菌的特征及其应用

食醋酿造中主要微生物醋酸菌广泛地存在于自然界中，所以很容易为人们所利用。制酒条件不适当时，由于醋酸菌大量繁殖，就将酒精氧化成醋酸而变成食醋，这一现象就是最早的食醋。自古以来主要依靠从空气中的醋酸菌酿造食醋的，或用发酵好的醋液（或醋醅）作为醋母来引发醋酸发酵。到目前的工业生产也都是留一部分发酵醪或醅作为下批醋酸发酵的醋种。但是由于科学技术的进步，以及人们生

活水平的提高，对食醋的质量有了更高的要求，所以新工艺不断出现，为了改进新工艺风味不足和创出新型香气风味的食醋，认为有必要大力开展新菌种的筛选和应用的研究，这里应包括生理、生化特性的基础研究。

目前工业上应用的醋酸杆菌，一般除具有氧化乙醇为醋酸的性能外，还有氧化醋酸成二氧化碳及水的性质，但是它们有部分是不氧化葡萄糖的。氧化醋酸成二氧化碳及水的性质对食醋的酿造不利。由于可以调节环境使之不再氧化醋酸为二氧化碳及水，所以现在还在使用这类醋酸菌。目前生产食醋的方法主要有液态及固态两种形式，固态发酵法是糖化，酒精、醋酸发酵同时进行，所以有人称之为复式发酵。在这样的情况下，醋酸很容易被氧化成二氧化碳及水，造成不必要的损失。液态发酵法为我国最早的制醋法；有浅层发酵和深层发酵两类，前者在长时间或发酵条件不适当时，必然会使醋酸继续氧化而生成二氧化碳及水，导致醋酸的损失。通气培养的深层发酵所用醋酸菌应该是耐酒精、醋酸能力强的菌种，酒精浓度可达10%左右，在这种条件下发酵就不会发生过氧化作用，这是大型工厂采用这种方法的原因之一。这类醋酸菌在分类学上称之为醋酸杆菌属(*Acetobacter*)，以日本广泛使用的纹膜醋酸菌(*Acetobacter aceti*)及我国应用的恶臭醋酸杆菌(*Acetobacter rancens*)为其代表。

根据日本朝井倡议另设一属、并为波捷手册第八版所采用的葡萄糖细菌属(*Gluconobacter*)则与上述醋酸杆菌属有明显的生理性能区别。这些菌氧化酒精为醋酸的能力不如醋酸

杆菌属那样强，甚至有的不产生醋酸，不氧化醋酸成二氧化碳及水，但是有较强的葡萄糖氧化性能，生成味美的各种葡萄糖酸。还未看到应用这类醋酸菌于食醋工业的报导，但已有用于清凉饮料的试验。

一切微生物都在不断地演进，这两类醋酸菌也不是截然毫无亲缘关系，由二者之间存在着中间型的醋酸菌，就可以得到证明。例如有一种醋酸菌的氧化葡萄糖能力很强，从其代谢形式来看，很像葡萄糖细菌，但是其鞭毛为周毛，而且有氧化醋酸的能力，这点却是醋酸杆菌属的特性。另一种中间型的是近藤·诘山所分离出的，鞭毛与葡萄糖细菌属的一样，是极毛，也有氧化醋酸成二氧化碳和水的性质，氧化葡萄糖能力很强。所以，各种类型醋酸菌对酒精、葡萄糖的氧化反应是不同的。兹将食醋工业常用纹膜醋酸菌和典型的弱氧化葡萄糖细菌(*Gluconobacter suboxyclans*)以及这两种中间型的差别归纳如下：

- 1 纹膜醋酸杆菌
鞭毛 周毛
酒精 \rightarrow 醋酸 $\rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
 \rightarrow 葡萄糖 $\rightarrow \alpha$ -酮基葡萄糖酸
- 2 弱氧化葡萄糖细菌
鞭毛 极毛
酒精 \rightarrow 葡萄糖酸 \rightarrow $\begin{cases} \rightarrow 2\text{-酮基葡萄糖酸} \\ \rightarrow 5\text{-酮基葡萄糖酸} \end{cases}$
酒精 \rightarrow 醋酸 \rightarrow
- 3 中间型 1
鞭毛 周毛
酒精 \rightarrow 醋酸 $\rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
葡萄糖 \rightarrow 葡萄糖酸 \rightarrow $\begin{cases} \rightarrow 2\text{-酮基葡萄糖酸} \rightarrow \\ 2.5\text{-二酮基葡萄糖酸} \\ \rightarrow 5\text{-酮基葡萄糖酸} \end{cases}$
- 4 中间型 2
鞭毛 极毛
葡萄糖 \rightarrow 葡萄糖酸 \rightarrow $\begin{cases} \rightarrow 2\text{-酮基葡萄糖酸} \rightarrow \\ 2.5\text{-二酮基葡萄糖酸} \\ \rightarrow 2.5\text{-二酮基葡萄糖酸} \end{cases}$
酒精 \rightarrow 醋酸 $\rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

近藤·诘山早在1957年发现醋酸杆菌属的 *Acetobacter acetosus* Henneberg NRRL, *Acetobacter orleonense* Hen, *Acetobacter dioxyaceticus* Asai在含酒精及葡萄糖的培养

基上培养并不氧化其所生成的醋酸。但是如果将实用的纹膜醋酸杆菌 (*Acetobacter aceti* Bei jerinck ATCC) 培养于这种培养基上，就氧化所生成的醋酸，氧化完了醋酸后就开始氧化葡萄糖而生成葡萄糖酸。根据B型醋酸菌的特性，也说明具有葡萄糖酸细菌属生理特性的中间型菌的存在，如果使用这种醋酸菌生产食醋就较使用A型的要安全得多。即使发酵时间长些也不会损失醋酸，而且还生成葡萄糖酸，可以改进食醋风味。所以认为我国食醋工业加强醋酸菌的筛选工作，选出耐酸性强、生酸能力(尤其是葡萄糖酸生产能力强)的菌株，或两种以上不同生理性能的醋酸菌的混合应用是提高出醋率、改进风味或创制新风味产品的有力措施之一。

在我国东北辽宁及山东滨海地区农村习惯常用糖水和少量酒所培养的醋蛾来制食醋，这似乎就是一种中间型的醋酸菌，它既可以氧化醋酸成二氧化碳及水，又能很好地把葡萄糖氧化成葡萄糖酸、2-酮基葡萄糖酸、5-酮基葡萄糖酸，从这一特性来讲很接近葡萄糖细菌属。另一个特点是在发酵液面上结成多糖类组成的像皮膜的厚膜，与其他醋酸菌很容易区别，这就是闻名于世的胶醋酸菌 (*Acetobacter xylinum*)。虽然现在仍然把它划入醋酸杆菌属，却有葡萄糖细菌属的特性，并且能很好的氧化山梨糖醇成为山梨糖酸，所以有人称之为山梨糖细菌、其糖代谢较为复杂，除以利用葡萄糖进行无氧发酵生成醋酸和乳酸的单磷酸己糖(HMP)途径为主外，尚有戊糖回路、EMP通路等。根据笔者试验在封闭不供给氧条件下进行培养，结果产酸很好，风味也良好。这一特性对应用于生产食醋倒是非常有利的条件。另外，封闭培养的胶质厚膜的生成较通气培养的要少，加用酒精于糖液生成的酸多，而胶质厚膜并不增多，这都是制食醋的有利条件，因此认为使用葡萄糖液和酒精生香酵母以及胶醋酸菌生产食醋是很有希望的。

在工业醋酸发酵很少进行纯粹培养，到现在仍然是反复使用所谓“种醋”或称“醋母”。

的。这也是获得一定风味产品所采取的步骤，传统醋酸发酵方法中绝不是单一的醋酸菌或酵母，而是在一定的培养条件下进行着性质相似2~3种菌的混合培养，因此为了增加风味，在深层发酵也不一定采用单一的纯粹培养，这点与其他发酵工业一样，使用培养条件相似的多种菌种是有利的。食醋制造尚未脱离旧式的混合培养的发酵，种醋中的醋酸菌由于长时间驯化于发酵室的条件，只要发酵很旺盛就可以比较安全地使用它，所以为人所采用。另一方面，纯粹培养的与种醋相比较，一般很难超过使用种醋的质量，因此可以说完全使用纯粹培养的倾向并不是那么大。研究高效菌的分离，使用发酵条件一致的多菌种的探讨，是目前促进食醋工业进步的重要途径。

醋酸发酵过程中酵母或酵母膏对发酵起着很大的作用，这是为很多人所证实的效果，但是究竟是什么物质在起着促进发酵的作用尚未完全得到阐明。甘油、L-丙氨酸及琥珀酸对恶臭醋酸杆菌醋酸发酵是有卓效的，并有专利。豆酱及酱油中也含有促进醋酸发酵的物质，例如南场等就从日本白酱油中分离出了这种物质。照井等获得添加麦根作为醋酸发酵促进剂的专利。由这些研究成果看来，明确醋酸发酵促进物质的本质，添加或使用含有这种物质的原料一定会取得高效率的发酵，所以认为这方面的研究是大有可为的。

醋酸菌的保存一般使用曲浸出液琼脂培养基，可保存于冷藏库，每月移植一次即可。但是为了长期不发生变异地进行保存，以采用冻结干燥法较好。其具体方法可参考有关文献。

正井氏所用培养基为米曲浸出液琼脂培养基（Ball 7°）30℃培养24~48小时后，将其悬浮于含蒸气杀菌牛乳5%、蔗糖2.5%、谷氨酸钠2.5%的分散媒中，装入安瓿，冻结干燥后保存于冰箱，使用时使其液化即可。

二、糖化用霉菌的应用

用粮食为原料的制醋工艺和酿酒一样，首先是对原料进行糖化。以前多用米曲霉AS 3.384及AS.3800；后来多使用糖化力较强的

黑曲霉，如甘薯曲霉AS.3.324、AS.3.758等，近来逐步改用糖化力更强的黑曲霉的变种白曲AS.3.583及AS.3.4309。笔者曾利用红曲霉进行液态糖化及酒精发酵，最后进行固态醋酸发酵，糖化程度也很高，所得产品风味特别好。

黑曲霉的淀粉酶有一特性，对生淀粉的糖化力较米曲霉及麦芽的淀粉酶要强得多。各种淀粉酶对白薯生淀粉的水解程度是不同的，同时对各种生淀粉的糖化程度也是不一样的。大米淀粉、玉米淀粉等谷物淀粉较薯类的根茎淀粉容易糖化得多。薯类中的木薯淀粉较玉米淀粉容易消化，因此日本已开始使用木薯进行生料糖化制酒精的试验，并取得了很好的结果，这是值得注意的。由这些研究看来，选用较合适的霉菌完全可以应用于以生谷物为原料的制醋工业。

利用生料制曲以及霉菌糖化生淀粉原料在我国古代就已进行，利用大曲糖化生淀粉原料制醋就是一个例子。但是，过去制醋的生产周期较长，糖化及酒精发酵、醋酸发酵基本上是同时进行的固态发酵，糖化反应时间较长，糖化可以持续得比较长，因此糖化进行的较为彻底。目前北京龙门醋厂自1972年改为生料制醋工艺，所用曲霉为黑曲霉AS.3.758。生料为大米及高粱以及填充辅料麦夫及谷糠。生产周期为35天，为固态醋酸发酵。据统计每斤粮食可出4.5%食醋10斤，淀粉利用率达到41.5%的水平，风味基本上没有什么差异，并为国家节约了大量能源消耗。如能选用优良生料糖化微生物，选择适当糖化温度及pH等技术条件，并与其他种酶如纤维素酶、半纤维素酶等与淀粉酶协同作用，就会在更短时间内完成糖化，并提高糖化效果。这一生料糖化工艺不仅实用于生产周期较长的固态发酵工艺，而且也会应用到液态发酵工艺上。合理使用或节约能源是我们科研及生产单位努力解决的重要课题。使用生料糖化不仅是食醋工业上的问题，也是酒精工业、制酒工业、淀粉糖化工业的大问题，如都能实现这一新工艺，将为国家节约能源是非常大的。