

文章编号:1673-1689(2008)05-0095-07

黄酒麦曲天然发酵中真菌群落的成因初探

曹钰¹, 陈建尧¹, 谢广发², 陆健^{*1,3}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司, 浙江 绍兴 312000; 3. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 对所有可能参与黄酒麦曲发酵的影响因素, 包括小麦原料、拌料用水、辅助用具稻草和谷壳, 以及发酵车间、压型车间和厂区的空气溶胶中的真菌分布进行了研究, 其中的真菌涉及曲霉属、青霉属、犁头霉属、毛霉属、裸胞壳属、毕赤酵母属、红酵母属、锁掷酵母属、镰刀霉属、平脐蠕孢属、尖孢属和链格孢属。结合麦曲发酵过程中真菌的动态变化, 发现小麦原料和发酵中所使用的稻草对麦曲发酵过程中出现的真菌影响较大, 拌料用水、谷壳和麦曲发酵车间对麦曲堆放成型过程中的影响有限, 而压型车间和厂区环境中的空气所含的真菌对麦曲的真菌的形成影响很小。

关键词: 黄酒; 麦曲; 发酵; 影响因素; 真菌

中图分类号: TQ 920

文献标识码: A

Study on the Factors of Fungal Community Formation during the Fermentation Course of Wheat Qu

CAO Yu¹, CHEN Jian-yao¹, XIE Guang-fa², LU Jian^{*1,3}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Zhejiang Guyue Longshan Shaoxing Wine Co. Ltd. Shaoxing 312030, China; 3. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The factors of fungal community formation during the wheat Qu fermentation process were investigated, include wheat, water, haulm, rice hull and the air samples collected from fermentation house, shape house and surrounding environment. The results revealed that representative fungi belonged to *Aspergillus*, *Penicillium*, *Absidia*, *Mucor*, *Emmericella*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Sporidiobolus*, *Fusarium*, *Bipolaris*, *Cladosporium* as well as *Alternaria*. Meanwhile, wheat and haulm were found to play the most important roles during wheat Qu fermentation, which greatly affected the fungal community of wheat Qu. The fungi existed in water, rice hull and the air of fermentation house also influenced the fungal community of wheat Qu. But the fungi which existed in the shape house and the surrounding environment had less effect during the course of wheat Qu fermentation.

Key words: Rice wine wheat Qu; fermentation; effect factors; fungi

收稿日期: 2007-07-25.

基金项目: 长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0532), 工业生物技术教育部重点实验室开放课题项目(KLIB-KF200709), 江苏省“青蓝工程”资助项目, 绍兴市重点科研工业项目(2006A21036).

作者简介: 曹钰(1971-), 女, 江苏泰兴人, 讲师, 工学硕士, 主要从事工业微生物方面的研究.

* 通讯作者: 陆健(1968-), 男, 江苏南京人, 教授, 工学博士, 博士生导师, 主要从事发酵工程方面的研究.

Email: jlu@jiangnan.edu.cn

“以麦制曲,用曲酿酒”是中国黄酒的特色,在黄酒生产中麦曲的用量约占原料米的1/6,小麦制曲是黄酒造工业的一项传统技术,生产带有明显的季节性。一般选择农历7~8月,以当年新收小麦和水为原料,在开放式培养环境中,网罗自然环境中的微生物群落,借助于原料中的营养,通过发酵过程中温湿度的控制,实现有益微生物群落的生长和代谢。麦曲的发酵工艺流程^[1]为:生小麦→过筛→轧碎→加水拌曲→成型→曲房堆曲发酵→保温培养→通风干燥→成品麦曲。经过天然固态发酵所形成的麦曲既是黄酒浓醪发酵的物质基础,也是奠定黄酒风格的重要保障。

当前随着黄酒生产规模的快速拓展,麦曲的季节性发酵日益成为发展的瓶颈,能否实现全年常规化生产不仅需要尝试,更需要对影响麦曲中微生物群落的成因开展研究。由于在麦曲的天然发酵过程中,来源于小麦原料自身、制曲工具携带和空气中的微生物,都可以参与或影响发酵过程,对于其中的微生物影响尚未见报道,而在与之类似的白酒大曲已经开展了较多的研究^[2-4]。

针对麦曲通常被认为是典型的霉菌曲,作者对黄酒麦曲发酵中各个可能的影响因素进行了研究,包括真菌分布以及结合发酵过程中曲坯真菌群落的变化来探讨麦曲发酵的真菌成因。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 采集绍兴某黄酒厂麦曲发酵所用的小麦原料、拌料用水及辅助工具,包括覆盖用的稻草和铺洒在发酵车间地面的谷壳。采用真空泵抽滤的方式分别采集连续6 d的麦曲发酵车间、加水拌曲成型车间、黄酒厂厂区的空气样本,收集于无菌滤膜上,保存在7 mL无菌离心管中。所有样品于4℃冰箱保存并及时分离。

1.1.2 培养基

1) 察氏培养基: NaNO_3 2 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, KCl 0.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, 蔗糖 30 g/L。用于样品中真菌的分离培养,分别加入30 U/mL的链霉素和300 mg/L的去氧胆酸钠,用于抑制细菌的生长和菌丝的蔓延。

2) 土豆培养基:马铃薯200 g/L,葡萄糖20 g/L,用于保藏分离获得的纯种。

1.2 方法

1.2.1 真菌微生物的分离纯化 对采集的小麦和稻草、谷壳按四分法取样10 g,用无菌水制成10%

的浸提液,振荡洗涤;收集于0.25 μm 无菌滤膜上的空气样本和经过膜过滤截留的水样,用无菌水振荡洗涤含滤膜的离心管,适当稀释。取不同稀释度的稀释液200 μL 均匀涂布于含查氏培养基的平板中,每个样品平行涂布3块。平板倒置于30℃培养箱中培养3~5 d,根据菌落形态和颜色的不同进行挑菌,分离纯化得到纯种,分离纯种保存于土豆斜面中。

1.2.2 微生物基因组DNA提取 对分离得到的纯种真菌菌丝体富集后,采用氯化苄法^[5]提取真菌DNA。在7 mL离心管中依次加入1 mL提取液,1.8 mL 10% SDS,2 mL 氯化苄,混合均匀,在50℃水浴中放置1 h,每隔15 min颠倒摇晃一次。加入1.5 mL 30% NaAc,在冰浴中放置15 min,10 000 r/min离心15 min,吸取上清液于另一离心管中,加入0.6倍体积的预冷的异丙醇,0.1倍体积的0.3 mol/L NaAc,混合在一20℃冰箱中保存过夜。10 000 r/min下离心10 min,弃去上清液,加200 μL TE溶解沉淀,加100 μL 苯酚和100 μL 氯仿抽提,混合均匀,在12 000 r/min下离心5 min,取上清液于另一1.5 mL离心管中,苯酚-氯仿抽提2次。加入与上清液等体积的异戊醇,12 000 r/min下离心5 min,取上清液于另一个1.5 mL的离心管中,加入3倍体积的无水乙醇,冰浴中放置30 min,12 000 r/min离心2 min,弃去上清液,用100 μL 70%乙醇洗涤沉淀,16 000 r/min下离心2 min,弃去上清液,倒置至干,加40 μL TE于一20℃中放置。

1.2.3 PCR扩增及琼脂糖凝胶电泳 PCR扩增采用真菌通用引物ITS1和ITS4进行^[6]。PCR反应体系为50 μL 。其中39.5 μL 水,5 μL Mg^{2+} (1.5 mmol/L),1 μL dNTP(200 $\mu\text{mol/L}$),引物ITS1和ITS4各1 μL (0.5 $\mu\text{mol/L}$),2 μL DNA模板,0.5 μL Taq酶(2.5 U)。94℃5 min,(94℃1 min,52℃1 min,72℃1 min)30个循环,72℃10 min。PCR扩增产物在1.8 g/dL的琼脂糖凝胶中电泳,每块胶中加入1 μL gold viewer,1 μL loading buffer,5 μL PCR产物。

1.2.4 PCR产物的序列分析和比对 PCR产物经PCR快速纯化试剂盒(上海博彩生物科技有限公司产品)纯化后,由上海生工生物工程技术有限公司测序。测序结果提交GenBank数据库,利用Blastn软件进行序列比对,获得与所得序列相似性程度最高的菌株。

2 结果与讨论

2.1 麦曲发酵原料中真菌的分布

黄酒麦曲固态天然发酵中的原料小麦为当年

新收小麦,经过筛轧碎,加入 20%~22%清水拌匀,在曲模中压成型。对小麦和拌料用水中的真菌进行分离培养,其中原料小麦中真菌的含量高达 10^6 ~ 10^7 /g 小麦,拌料水中真菌含量为 10~100 mL。对纯株进行 ITS 序列分析,结果见表 1。

表 1 从麦曲发酵原料中分离出的真菌及其 ITS 序列的相似性
Tab. 1 Identification of pure isolates obtained from raw material of the wheat *Qu* fermentation

来源	菌株	ITS 片段 长度/bp	相似菌株	相似 百分比/%
原料小麦	WH1	932	<i>Aspergillus oryzae</i> (AM909647)	99
	WH2	783	<i>Absidia corymbifera</i> (AF944897)	98
	WH3	507	<i>Emericella nidulans</i> (AY373888)	100
	WH4	569	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> (AF417115)	100
	WH5	561	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (AF033476)	99
	WH6	598	<i>Mucor racemosus</i> (DQ118996)	99
	WH7	684	<i>Penicillium crustosum</i> (DQ123647)	99
拌料用水	WA1	932	<i>Aspergillus oryzae</i> (AM909647)	99
	WA2	783	<i>Absidia corymbifera</i> (AF944897)	98
	WA3	507	<i>Emericella nidulans</i> (AY373888)	100
	WA4	691	<i>Actinomucor elegans</i> (AB113008)	99

分离培养的结果显示,麦曲发酵的原料小麦中不仅真菌含量高,而且包含的真菌种类也较多,包括了曲霉(*Aspergillus*)、犁头霉(*Absidia*)、青霉(*Penicillium*)、毛霉(*Mucor*)和锁掷孢酵母(*Sporidiobolus*)。相比而言,拌料用水是符合饮用水标准的清水,其中的真菌含量低,且种类基本都存在于小麦原料中。结合料水比来看,拌料压型的曲坯中真菌基本都来源于小麦籽粒中存在的真菌。

目前已有的粮食微生物调查研究结果显示,新收小麦的表面和内部都含有大量的微生物,尤其是丝状真菌的数量很高,籽粒内外真菌数量级为 10^3 ~ 10^5 /g^[7],种类极具多样性^[8],包括田间微生物(以链格孢霉、芽枝霉、镰孢霉为主要种类)和贮藏微生物(以曲霉、青霉为主要种类)。微生物的含量和种类与不同产地和品种有关^[9],长江流域及平原地区的带菌量远高于丘陵山地,且小麦微生物的污染呈现逐年增高趋势。

黄酒厂每年从各地收购的新小麦袋装堆放在原料车间,通常可达 2 至数月。由于小麦本身的营养、含水量,加上适宜的温度,存在于小麦籽粒中的真菌会有一个缓慢生长的过程,导致原料中的含菌量很高。

2.2 麦曲发酵中辅助用具上的真菌分布

在麦曲发酵过程中,需要使用的辅助用具包括稻草和谷壳。将压成型的曲坯侧立成“丁”字型叠放,预先在打扫干净的发酵车间地面上铺上谷壳,曲坯上面覆盖上稻草帘保温,3~5 d 后取掉保温帘。对这两类辅助用具上的真菌进行分离培养,结果见表 2。

分离结果表明,两类辅助用具上真菌的单位含量基本与小麦中的含量接近,且所含真菌的种类非常丰富。除了原料小麦中所含有的真菌外,还含有黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和青霉(*Penicillium vinaceum*)。

这两类用具都具有保温、保湿和透气性,一般发酵车间地面铺洒的谷壳为当年新碾,而覆盖保温用的稻草帘则是反复使用的,只要不腐烂,往往是经年沿用。

2.3 环境空气中真菌的分布

采集发酵车间、拌水成型车间、生产厂区空气样本,研究气溶胶中真菌微生物的分布情况,结果见表 3。霉菌孢子广泛存在于空气之中,从空气样本中共分离培养获得 17 种真菌,其中米曲霉、构巢曲霉、伞枝犁头霉和锁掷孢酵母在所有的空气溶胶

样本中均可分离获得。

表 2 从麦曲发酵辅助用料中分离出的真菌及其 ITS 序列的相似性

Tab. 2 Identification of pure isolates obtained from aids material of the wheat *Qu* fermentation

来源	菌株	ITS 片段 长度/bp	相似菌株	相似 百分比/%
稻草	HA 1	932	<i>Aspergillus oryzae</i> (AM909647)	99
	HA 2	550	<i>Aspergillus flavus</i> (EF556205)	99
	HA 3	783	<i>Absidia corymbifera</i> (AF944897)	98
	HA 4	507	<i>Emericella nidulans</i> (AY373888)	100
	HA 5	542	<i>Penicillium vinaceum</i> (DQ681340)	99
	HA 6	561	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (AF033476)	99
	HA 7	598	<i>Mucor racemosus</i> (DQ118996)	99
	HA 8	684	<i>Penicillium crustosum</i> (DQ123647)	99
谷壳	HU 1	932	<i>Aspergillus oryzae</i> (AM909647)	99
	HU 2	550	<i>Aspergillus flavus</i> (EF556205)	99
	HU 3	783	<i>Absidia corymbifera</i> (AF944897)	98
	HU 4	507	<i>Emericella nidulans</i> (AY373888)	100
	HU 5	569	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> (AF417115)	100
	HU 6	542	<i>Penicillium vinaceum</i> (DQ681340)	99
	HU 7	561	<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (AF033476)	99
	HU 8	598	<i>Mucor racemosus</i> (DQ118996)	99
	HU 9	684	<i>Penicillium crustosum</i> (DQ123647)	99

表 3 从不同空气溶胶中分离出的真菌及其 ITS 序列的相似性

Tab. 3 Identification of pure isolates obtained from different bioaerosol samples

菌株	厂区	车型 车间	发酵 车间	ITS 片段 长度/bp	相似菌株	相似 百分比/%
AF1	+	+	+	932	<i>Aspergillus oryzae</i> (AM909647)	99
AF2	+			550	<i>Aspergillus flavus</i> (EF556205)	99
AF3		+	+	549	<i>Aspergillus clavatus</i> (AY373847)	100
AF4			+	1060	<i>Aspergillus sydowii</i> (AM883163)	99
AF5	+		+	555	<i>Aspergillus aculeatus</i> (AAU65309)	99
AF6			+	553	<i>Aspergillus fumigatus</i> (DQ981399)	99
AF7	+	+	+	507	<i>Emericella nidulans</i> (AY373888)	100
AF8			+	758	<i>Emericella rugulosa</i> (EU301644)	99
AF9		+	+	942	<i>Penicillium chrysogenum</i> (AF034450)	98
AF10	+	+	+	783	<i>Absidia corymbifera</i> (AF944897)	98
AF11		+		554	<i>Pichia anomala</i> (AY939800)	99
AF12	+		+	479	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (EU177580)	96
AF13	+	+	+	569	<i>Sporidiobolus pararoseus</i> (AF417115)	100
AF14	+	+		491	<i>Fusarium proliferatum</i> (EF534188)	100
AF15		+		532	<i>Bipolaris spiciifera</i> (EF503562)	99
AF16			+	540	<i>Cladosporium oxysporum</i> (DQ912837)	100
AF17	+		+	534	<i>Alternaria tenuissima</i> (AY751455)	99

+: 表示分离获得真菌

比较不同采集地点空气溶胶中的真菌,可以看出其存在种类相差较大,其中发酵车间的空气溶胶中分离出真菌种类多达 13 种,且有 7 种曲霉。分离培养的结果还表明,发酵车间的空气溶胶中真菌的含量比其他两个采集点高 1~2 个数量级。

结合具体生产现场来看,由于麦曲拌水压型车间空间小,温度相对较高,而这一生产环节中工人的劳动强度较大,因而在车间内使用大功率的风扇降温,以便适合工人作业,所以拌水压型车间内空气流通性相对较大。而发酵车间是一个相对密闭的环境,车间的面积巨大,空气的流动性差,伴随着大量麦曲的批次发酵,真菌孢子飞散到空气溶胶

中,导致车间内空气中真菌在数量和种类(尤其是曲霉的种类)丰富,孢子的沉降可能对于后续批次的发酵产生影响。

2.4 麦曲发酵过程中真菌动态变化

采集黄酒麦曲发酵过程中不同发酵时间下的曲坯,进行真菌的分离培养,根据菌落在察氏培养基上的形态和颜色不同,分别进行挑菌并估算每种菌株在各样品中的菌落数,来估算黄酒麦曲样品中每种真菌的相对含量。根据菌落大小、形态和颜色等表型特征进行初步筛选和分离纯化,共获得 10 株纯种菌株,其相对含量见表 4。

表 4 黄酒麦曲发酵过程中不同发酵时间下曲坯中所含真菌的相对含量
Tab. 4 Estimation of representative species on different days during the course of Wheat Qu fermentation

菌株	发酵时间/d											
	1	2	3	4	5	7	10	13	17	19	21	25
FH1		+	+	++	+				+	++	++	+
FH2		+	+	+	++	+++	++	+	+	+++	+++	++
FH3								+	+		+	+
FH4	+	+	++	++	+	+	++	+++	+++	+++	++	+
FH5						+	+	++	++	++	+	+
FH6								+	+	+		
FH7	+	++	++	+++	+++	++	+		+	++	+	
FH8	+		+	++	+	+						
FH9	+		+	+								
FH10	+	+		+							+	+

+, ++, +++ 分别表示分离真菌出现的多少

对上述 10 株分离自黄酒麦曲发酵过程中纯种真菌进行 ITS-PCR 扩增及序列分析,通过 BLAST 搜索软件在 NCBI 数据库中比对它们的最相似菌

株,结果见表 5。分析表 4 和表 5 结果,可以看出在黄酒麦曲的发酵过程中,存在的主要真菌种属随着发酵的进行而发生有规律的变化。

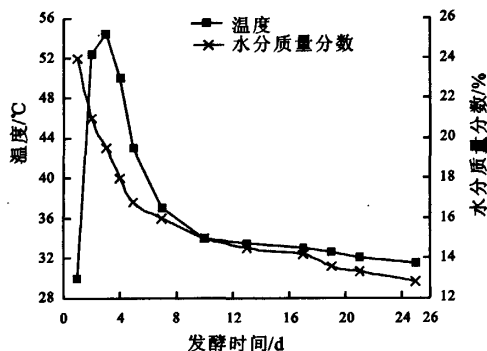
表 5 分离真菌的 ITS 测序结果及其与 GenBank 中参比序列的相似性

Tab. 5 Identification of pure isolates obtained with traditional culture-dependent method from the stack of Shaoxing Rice Wine Wheat Qu

菌株	ITS 片段长度/bp	相似菌株	相似百分比/%	提交 GenBank 的登陆号
FH1	568	<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	99	EU409803
FH2	737	<i>Absidia corymbifera</i>	97	EU409804
FH3	532	<i>Bipolaris spiciifera</i>	99	EU409805
FH4	773	<i>Aspergillus oryzae</i>	100	EU409806
FH5	865	<i>Emericella nidulans</i>	99	EU409807
FH6	521	<i>Eurotium amstelodami</i>	98	EU409808
FH7	564	<i>Rhizomucor pusillus</i>	99	EU409809
FH8	560	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	99	EU409810
FH9	577	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	90	EU409811
FH10	942	<i>Penicillium chrysogenum</i>	98	EU409812

在发酵第1周中, *Sporidiobolus pararoseus* (FH1)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*, FH4)、微小根霉(*Rhizomucor pusillus*, FH7)发生明显的生长过程,伴随着发酵过程中品温和水分含量的变化,见图1。*Sporidiobolus pararoseus*的生长终止于品温达到50℃,水分含量低于18%的第4天;微小根霉则能在比较宽的品温和水分含量范围内生长,而米曲霉在品温最高的第3—4天,含量达到该阶段的较高点,此后仍保持一定的含量。比较有趣的是伞枝犁头霉(*Absidia corymbifera*, FH2),这种真菌直到发酵的第2天才开始出现,随后受制于高温的影响,随着品温的逐步降低而快速生长,到发酵一周时含量达到最大。

在黄酒麦曲发酵的后两周中, *Sporidiobolus pararoseus*在第3周中又有一个生长过程,而米曲霉从第10天开始,生长繁殖非常迅猛。伞枝犁头霉则始终存在于后两周中,并在第3周有明显的生长变化。在发酵后两周中,值得注意的是构巢曲霉(*Emericella nidulans*, FH5)出现明显的数量变化,说明存在生长繁殖过程。



注:曲坯堆放到发酵车间后第1天傍晚覆盖稻草,第3~4天撤除覆盖物,以控制曲坯品温

图1 黄酒麦曲发酵过程中曲坯的水分含量及品温的变化

Fig. 1 Time courses of water content and temperature during the fermentation of wheat Qu

2.5 麦曲发酵中各因子对真菌群落的影响分析

从麦曲生产原料、辅助用具及环境空气溶胶中的真菌分布研究结果来看,米曲霉、伞枝犁头霉、构巢曲霉存在于所有样品中,同时它们也是成品麦曲的主要真菌,并且在不同年度的成品麦曲中保持稳定^[10]。

在麦曲发酵生产中,轧碎后的小麦拌水后,在曲模中机械压成型送入发酵车间,第1天傍晚覆盖上稻草帘保温保湿,关闭门窗,品温上升到50~55

℃以上,麦粒表面菌丝繁殖旺盛,水分大量蒸发,及时取掉覆盖物并适当开启门窗降温通气。一般发酵4~5 d左右,曲坯表面开始变得坚硬。

结合麦曲的生产工艺和分离研究结果进行分析,认为虽然米曲霉存在于所有样品中,但从数量级上可以推断,出现在麦曲发酵早期的米曲霉主要是由轧碎的小麦籽粒带入的。发酵第一周中的 *Sporidiobolus pararoseus* 存在于小麦、谷壳和全部的空气溶胶样品中,起始生长多源于小麦。比较奇怪的是微小根霉未能从任何原料、环境样品中分离获得,分析可能是在菌落挑取中与其他形态类似的菌混淆而遗漏了。比较3个年度之间的成品麦曲,发现微小根霉的含量存在波动。

而对于出现在发酵第2天的伞枝犁头霉,虽然能从所有的样品中都分离获得,但由于其并未在发酵起始就出现,而是在稻草覆盖后才出现,结合生产工艺推断含菌量较高的辅助用具稻草可能是其主要来源。

然而存在于所有样品中的构巢曲霉直到发酵第2周才出现,比较难以解释,推测可能涉及真菌之间的相互作用或是该菌的营养要求及生长特性有关,但构巢曲霉是成品麦曲中的稳定的特征菌之一,对其可能来源尚需进一步研究。

3 结 语

研究了小麦制曲生产中的原料小麦、拌料用水、辅助用具稻草和谷壳,及其厂区、压型车间、发酵车间的空气样品中真菌的分布情况,涉及11个属的真菌,它们是曲霉属(裸胞壳属)、青霉属、犁头霉属、毛霉属、毕赤酵母属、红酵母属、锁掷酵母属、镰刀霉属、平脐蠕孢属、尖孢属和链格孢属。结合麦曲发酵过程中真菌的动态变化,可以明确小麦原料和发酵中所使用的稻草对麦曲发酵过程中出现的真菌影响较大,相对而言拌料用水、谷壳和麦曲发酵车间对麦曲堆放成型过程中的影响有限,而压型车间和厂区环境中的空气所含的真菌对麦曲的真菌的形成影响很小。这些环境因素中存在的生物因素或多或少对麦曲中的真菌群落有一定的影响,而麦曲发酵车间中的温度、湿度等非生物因素是麦曲发酵过程中真菌群落演变的关键选择条件。生物和非生物因素的有机结合为绍兴黄酒麦曲的区域性特征提供了基础和保证。

参考文献(References):

- [1] 傅金泉, 黄酒生产技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] 许德富, 沈才萍. 制约大曲质量品质的条件剖析及前景展望[J]. 酿酒, 2003(5): 24—25.
XU De-fu, SHEN Cai-ping. Analysis of disadvantageous conditions affecting Daqu quality and prospective development of Daqu[J]. *Liquor Making*, 2003(5): 24—25. (in Chinese)
- [3] 周恒刚, 中国曲与日本曲之我见[J]. 酿酒科技, 1995(3): 19—20.
ZHOU Heng-gang. Comparison between Chinese Qu and Japanese koji[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 1995(3): 19—20. (in Chinese)
- [4] 罗惠波, 唐玉明, 卓毓崇. 制曲车间空气微生物及其对曲药质量的影响研究[J]. 中国酿造, 2004(8): 19—22.
LUO Hui-bo, TANG Yu-ming, ZHUO Yu-cong. Study on air-borne microbes in koji-making workshops and impact on koji quality[J]. *China Brewing*, 2004(8): 19—22. (in Chinese)
- [5] 朱衡, 瞿峰, 朱立煌. 利用氯化苄提取适于分子生物学分析的真菌 DNA[J]. 真菌学报, 1994, 13(1): 34—40.
ZHU Heng, QU Feng, ZHU Li-huang. Isolation of genomic DNA from fungi using benzyl chloride[J]. *Acta Mycologica Sinica*, 1994, 13(1): 34—40. (in Chinese)
- [6] White T J, Bruns T, Lee S. A Guide to Methods and Applications[M]. New York: New York Academic Press Inc., 1990: 315—322.
- [7] 陈宪明, 粮食微生物及其防治[J]. 粮食储藏, 1994(2): 105—111.
CHEN Xian-ming. Microorganism on the grain and control[J]. *Grain Storage*, 1994(2): 105—111. (in Chinese)
- [8] 岳红宾, 王守正. 小麦种子内生真菌区系分析[J]. 河南农业大学学报, 1996(4): 354—357.
YUE Hong-bin, WANG Shou-zheng. Analysis of endophytic fungiflora in wheat seeds[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*, 1996(4): 354—357. (in Chinese)
- [9] 徐淑霞, 靳赛, 吴坤, 等. 小麦表面微生物多样性研究[J]. 粮食储藏, 2004(6): 41—43.
XU Shu-xia, JIN Sai, WU Kun. Studies on diversities of the microorganism on the surface of wheat[J]. *Grain Storage*, 2004(6): 41—43. (in Chinese)
- [10] 陆健, 曹钰, 方华, 等. 绍兴黄酒麦曲中真菌的初步研究[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(2): 78—83.
LU Jian, CAO Yu, FANG Hua, et al. Fungal community of wheat Qu of shaoxing rice wine[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2008, 27(2): 78—83. (in Chinese)

(责任编辑: 李春丽)

《江南大学学报(自然科学版)》

征稿、征订启事

《江南大学学报(自然科学版)》(双月刊)是由教育部主管、江南大学(国家“211工程”重点建设高校)主办的自然科学类学术期刊。本刊主要刊载通信与控制工程、信息工程、机械工程、产品系统设计理论、纺织工程、应用化学、材料工程、土木工程、数理科学等学科的学术论文、研究报告,以及反映学科前沿研究动态的高质量综述。

本刊优先刊登国家自然科学基金和省部级及其以上科研项目析出论文,同时发表与企业及生产实际密切相关的应用性研究成果。热忱欢迎广大高校教学、科研人员及相关领域的专家、学者,在读硕士、博士研究生赐稿。

本刊为A4开本,128页,每册订价8.00元;全年共6期,48.00元;本刊邮发代号:28—189,全国各地邮局均可订阅,亦可向本刊编辑部直接订购。本刊可破季订阅。热忱欢迎广大读者订阅本刊。

邮编:214122

电子邮箱:xbzrkx@jiangnan.edu.cn

地址:江苏省无锡市蠡湖大道1800号

电话:0510—85913519

《江南大学学报(自然科学版)》编辑部