

冠突散囊菌对大曲发酵性能、微生物区系以及白酒风味的影响

杨凤英, 秦洋, 赵千慧, 余有贵

Effects of *Eurotium cristatum* on Fermentation Performance, Microbial Flora and Baijiu Flavor of Daqu

YANG Fengying, QIN Yang, ZHAO Qianhui, and YU Yougui

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022100208>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

冠突散囊菌发酵杜仲茶的工艺优化

Process Optimization of Fermentation of *Eucommia ulmoides* Tea by *Eurotium cristatum*

食品工业科技. 2019, 40(21): 118-123 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.019>

冠突散囊菌发酵对葛根的活性物质和抗氧化活性的影响

Effect on Bioactive Components and Antioxidant Activity of *Pueraria lobata* Fermented by *Eurotium cristatum*

食品工业科技. 2021, 42(1): 121-125,131 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019120314>

冠突散囊菌医药价值研究进展

Research Process on Medical Value of *Eurotium cristatum*

食品工业科技. 2018, 39(24): 336-339 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.24.057>

冠突散囊菌固体发酵铁观音茶的主要活性成分及其抗氧化性分析

Analysis on the Main Active Components and Antioxidant Activity of Tieguanyin Tea Fermentation by *Eurotium cristatum*

食品工业科技. 2021, 42(22): 369-375 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020174>

Saccharomyces cerevisiae对浓香型白酒发酵的影响

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the fermentation of strong-flavoured liquor

食品工业科技. 2017(21): 142-146 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.21.029>

不同氮源组成麦汁对酿酒酵母发酵性能的影响

Effect of worts with different nitrogen compositions on fermentation performance of brewer's yeast

食品工业科技. 2017(09): 119-123 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.09.014>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨凤英, 秦洋, 赵千慧, 等. 冠突散囊菌对大曲发酵性能、微生物区系以及白酒风味的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 180-186. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100208

YANG Fengying, QIN Yang, ZHAO Qianhui, et al. Effects of *Eurotium critatum* on Fermentation Performance, Microbial Flora and Baijiu Flavor of Daqu[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(16): 180-186. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100208

· 生物工程 ·

冠突散囊菌对大曲发酵性能、微生物区系 以及白酒风味的影响

杨凤英^{1,2}, 秦 洋^{1,2,*}, 赵千慧^{1,2}, 余有贵^{1,2}

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南邵阳 422000;

2. 邵阳学院生态酿酒新技术与应用湖南省高校重点实验室, 湖南邵阳 422000)

摘要: 糖化发酵是白酒生产过程中的重要工序, 直接决定白酒的产量。冠突散囊菌 (*Eurotium critatum*) 具有协同糖化作用, 加入冠突散囊菌会影响大曲微生物的分布和白酒的风味。本文对比添加冠突散囊菌的大曲与传统大曲主要的生化指标、微生物区系以及发酵的白酒风味成分, 分析冠突散囊菌对大曲质量和白酒风味的影响。结果显示, 添加冠突散囊菌的大曲与传统大曲相比, 具有更高的酯化力、发酵力和糖化力, 分别提高了 6.70%、125.0% 和 28.35%。功能性微生物种类和数量明显增加, 细菌、酵母菌、霉菌和乳酸菌含量分别是传统大曲的 6.68、2.12、2.25 和 6.02 倍。添加冠突散囊菌发酵的白酒与传统大曲发酵的白酒相比, 主要风味物质的种类和乳酸乙酯、川芎嗪等含量明显增加, 改善了白酒品质。

关键词: 冠突散囊菌, 五粮型白酒, 发酵性能, 白酒风味, 微生物区系

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)16-0180-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100208



本文网刊:

Effects of *Eurotium critatum* on Fermentation Performance, Microbial Flora and Baijiu Flavor of Daqu

YANG Fengying^{1,2}, QIN Yang^{1,2,*}, ZHAO Qianhui^{1,2}, YU Yougui^{1,2}

(1. College of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China;

2. Hunan Provincial Higher Education Key Laboratory of New Technology and Application for Ecological Baijiu Production, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China)

Abstract: Saccharification and fermentation are essential processes in the production of Baijiu and directly determine the yield of Baijiu. *Eurotium critatum* has a synergistic glycation effect, and the addition of *Eurotium critatum* affects the Daqu microbial distribution and flavor of Baijiu. In this paper, the main biochemical indexes, microflora and fermented Baijiu flavor components of Daqu added with *Eurotium cristatum* and traditional Daqu were compared, and the effects of *Eurotium cristatum* on Daqu quality and Baijiu flavor were analyzed. The results showed that the added *Eurotium critatum* culture had higher esterification, fermentability and saccharification power compared with the traditional Daqu, which increased by 6.70%, 125.0% and 28.35%, respectively. The functional microbial species and quantity were significantly increased, with 6.68, 2.12, 2.25 and 6.02 times more bacteria, yeast, mold and lactic acid bacteria, respectively, than those in the traditional Daqu. The types of major flavor substances and the contents of ethyl lactate and ligustrazine were significantly increased in the Baijiu fermented with the addition of *Eurotium critatum* compared with those fermented with traditional Daqu, which improved the quality of the Baijiu.

Key words: *Eurotium critatum*; five-grain Baijiu; fermentation performance; Baijiu flavor; microflora

收稿日期: 2022-10-21

基金项目: 湖南省自然科学基金(2022JJ50199); 邵阳学院 2021 年研究生科研创新项目(CX2021SY071)。

作者简介: 杨凤英(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物技术与工程, E-mail: 1735880662@qq.com。

* 通信作者: 秦洋(1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 淀粉质食品的糖化发酵, E-mail: 466031343@qq.com。

五粮型白酒酿造的原料主要是富含淀粉类的粮食, 粮食中淀粉的消耗直接反映了白酒的糖化作用^[1]。提高糖化效率是酿酒工作的重点^[2], 对白酒生产具有重要意义。目前通过添加纯种、混合高糖化力微生物培养大曲以及大小曲联合发酵等方式提高大曲糖化能力, 是当前研究热点之一。

冠突散囊菌 (*Eurotium critatum*) 能显著提高大曲糖化能力, 对冠突散囊菌协同发酵大曲以及传统大曲淀粉分别作直链淀粉含量、GPC、SEM、XRD 分析。结果显示: 添加冠突散囊菌的大曲淀粉的直链淀粉含量增加, 分子量降低, 结构变化明显, 结晶度降低, 这一系列淀粉分子的变化均能够揭示冠突散囊菌对大曲糖化能力的影响机制^[3]。此外, 冠突散囊菌作为一种益生菌, 具有抑菌、降血糖、抗氧化等功效^[4-5], 因此, 利用冠突散囊菌培养大曲具有很好的可行性和科学性。

由于大曲的微生物区系十分丰富, 主要包括糖化作用的霉菌、酯化作用的细菌和产酒的酵母, 冠突散囊菌能够与根霉属完成协同糖化作用^[6]。但由于引入冠突散囊菌会对大曲的微生物区系有一定的影响, 进一步影响白酒风味。有研究显示, 大曲作为白酒酿造发酵剂和糖化剂, 在发酵过程中所含的微生物菌群、理化指标和风味物质间接或直接影响着白酒的风味^[7]。研究大曲微生物区系及其与理化指标的关联性逐渐增多^[8-9], 因此, 研究冠突散囊菌对大曲发酵能力、微生物区系以及白酒风味的影响具有重要的意义。

本文分析冠突散囊菌培养的大曲(试验组大曲)与传统大曲的发酵性能、微生物区系以及发酵的五粮型白酒风味的影响。将试验组大曲与传统大曲在相同条件下进行酿酒试验。同时, 通过两组大曲理化指标并结合微生物种类与数量等, 分析冠突散囊菌对大曲发酵性能以及微生物区系的影响。最后对比试验组大曲与传统大曲发酵白酒的主要理化指标以及微量气味组分, 分析其对白酒风味和品质的影响, 为冠突散囊菌在白酒糖化发酵领域的应用奠定理论基础。由于在食品发酵领域, 冠突散囊菌主要应用于茶叶、谷类等发酵^[4,10], 在白酒酿造领域的研究鲜有报道, 因此, 采用冠突散囊菌糖化能力应用于大曲的培养以及白酒的酿造领域, 是具有重要科学意义以及理论依据的。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

糯米、玉米、高粱、小麦和大米 购于某超市; 传统大曲 湖南湘窖酒业股份有限公司; 试验组大曲 实验室自制; $C_6H_{12}O_6$ 、NaOH、HCl、淀粉酶、糖化酶、MRS、孟加拉红培养基等 上海康朗生物科技有限公司, 分析纯; E.Z.N.A.® soil 试剂盒 杭州西顿生物科技有限公司。

HR-T16M 台式高速冷冻离心机 湖南赫西仪

器装备有限公司; PE.28 pH 计、UV5Nano 超微量分光光度计 梅特勒-托利多仪器有限公司; DH-360 恒温培养箱、FW-400A 中草药粉碎机、YA28×6T 全自动灭菌锅 北京科伟永兴仪器有限公司; Epoch 全波长酶标仪、7890A-5975C 气相色谱质谱联用仪 美国 Agilent 公司; RE-52AA 旋转蒸发器、KF960 PCR 扩增仪、SDS-PAGE 凝胶电泳、Enose 电子鼻 上海雅荣生化设备仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 粮食预处理 选择无霉变的粮食, 按照经典的五粮型白酒配方^[11], 36% 高粱、18% 糯米、22% 大米、16% 小麦和 8% 玉米, 玉米粉碎过 20 目筛, 设置为 300 g/份粮食干重, 一组三个平行, 温水润粮 12 h, 过滤水分, 蒸锅中蒸 2.5 h 后摊凉为 35 °C, 装罐。

1.2.2 制曲 试验组大曲: 分别添加 11.43 mL/100 g 的冠突散囊菌(浓度约为 1×10^5 cfu/mL)、3.68 mL/100 g 的胶红酵母(浓度约为 1×10^6 cfu/mL)、1.692 g/100 g 的甜酒曲(根霉菌约为 1×10^6 cfu/g)到小麦粉中, 水分为 36.08%, 进行人工踩曲; 传统大曲: 不添加冠突散囊菌, 由湖南湘窖酒业股份有限公司制曲。将大曲放置在曲房培曲 30 d。

1.2.3 拌曲 按照粮食干重的 20%, 称取 60 g 曲粉, 将试验组大曲和传统大曲分别添加到上述粮食样品中, 搅拌均匀, 32 °C 发酵 30 d。

1.2.4 粮醅残余淀粉含量的测定 从 1.2.3 发酵后的粮醅, 参照 DB34/T 2264-2014《固态发酵酒醅分析方法》, 采用盐酸溶液进行加热回流水解, 葡萄糖标准溶液反滴定法, 用斐林试剂测定生成的糖。公式如下:

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{(V_0 - V_1) \times c}{m \times \frac{2}{500}} \times 100 \times 0.9$$

式中: V_0 表示空白滴定消耗标准溶液的体积, mL; V_1 表示测定消耗标准溶液的体积, mL; c 表示标准溶液的浓度, g/mL; m 表示酒醅的质量, g; 2 表示待测液体积, mL; 500 表示定容体积, mL; 0.9 表示换算系数。

1.2.5 大曲生化指标以及理化指标的测定 大曲糖化力、酯化力、发酵力、淀粉、水分、酸度和氨基酸态氮参照 QB/T 4259-2011《酿酒大曲通用分析方法》, 蛋白质参照 GB 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》, 还原糖参照 GB 5009.7-2016《食品中还原糖的测定》。

1.2.6 大曲微生物菌落数的测定 菌落总数参照 GB 4789.2-2016《菌落总数测定》, 细菌参照《白酒生产技术全书》^[2], 乳酸菌参照 GB 4789.35-2016《乳酸菌检验》, 霉菌和酵母参照 GB 4789.15-2016《霉菌和酵母计数》。

1.2.7 大曲微生物区系分析 样品的预处理: 分别

取 10 g 的试验组大曲和传统大曲过 80 目筛,加入灭菌的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液进行悬浮,加入适量玻璃珠振荡 5 min, 300 r/min 离心 5 min, 取上清液,沉淀用缓冲液重复洗涤 3 次,将所收集的上清液混匀,进行 9000 r/min 离心 3 min, 收集细胞沉淀。再用缓冲液洗 3 次并离心, 收集沉淀^[12]。

DNA 的提取:按照 He 等^[13]方法提取总 DNA。用 E.Z.N.A.® soil 试剂盒进行总 DNA 抽提,使用微量分光光度计初检测其浓度和纯度。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测其分子大小和纯度。

微生物区系分析:所提基因组 DNA 的浓度和纯度符合测序要求的标准,后续实验由飞凡标准技术服务(苏州)有限公司对 DNA 进行 PCR 扩增。进行对真菌 ITS 基因测序鉴定,细菌 16S rDNA 基因测序鉴定。

基因序列分析:测序完成后,采用 Illumina 平台对真菌类和细菌类基因序列进行数据分析与序列优化。使用 NCBI BLAST 软件在将序列的相似性 $\geq 99\%$ 进行系统进化树分析,将高质量的基因序列与数据库中的序列进行同源性比较,以获得该基因序列的物种信息。

1.2.8 白酒的理化指标分析 分别取 400 g 用试验组大曲和传统大曲发酵 30 d 的粮醅,旋转蒸发仪 100 °C 蒸馏 20 min,将蒸馏好的白酒进行密封保存,酒精度、总酸、总酯和酸酯总量参照 GB/T 10345-2022《白酒分析方法》。

1.2.9 电子鼻分析白酒的风味轮廓 分别量取 10 mL 酒样,装入 40 mL 顶空样品瓶中,静置 30 min,平行测定 3 次,检测样品后对传感器(表 1)清洗 600 s 再测定下一个样品^[14]。电子鼻检测参数:采样时间 60 s,数据采集周期 0.5 s,采集延迟时间 250 s,分析持续

表 1 电子鼻传感器性能
Table 1 Electronic nose sensor performance

阵列序号	传感器名称	传感器性能描述	阵列序号	传感器名称	传感器性能描述
S1	W1C	苯等芳香类成分	S6	W1S	甲烷等短链烷烃
S2	W5S	氮氧化合物	S7	W1W	无机硫化物
S3	W3C	氨水,芳香成分	S8	W2S	醇醚醛酮类
S4	W6S	氢气	S9	W2W	芳香成分,有机硫化物
S5	W5C	烷烃类芳香成分	S10	W3S	长链烷烃类成分

表 2 试验组大曲与传统大曲的理化指标对比

Table 2 Comparison of physical and chemical indexes between experimental group Daqu and traditional Daqu

分类	水分(%)	酸度(mmol/10 g)	还原糖(%)	淀粉(%)	氨基酸态氮(g/kg)	蛋白质(%)
试验组大曲	12.63±0.30 ^a	1.00±0.06 ^a	2.65±0.13 ^a	53.52±0.57 ^b	3.36±0.01 ^a	0.15±0.02 ^a
传统大曲	11.49±0.13 ^b	0.95±0.05 ^a	0.77±0.06 ^b	61.56±0.47 ^a	2.91±0.04 ^b	0.11±0.02 ^b

注: 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$); 表 3~表 5 同。

时间 340 s, 载气流速 150 mL/s。

1.2.10 GC-MS 分析白酒风味物质 用有机系 0.45 μm 过滤器对两组酒样进行过滤, 装进 2 mL 离心管中, 写好标签送至上海微谱技术检测科技集团股份有限公司进行后续实验, 前处理取 0.5 mL 样品稀释 20 倍。

GC: 色谱柱为 DB-WAX 毛细管柱(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm) 和 TG-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); 升温程序: 柱温初始温度 50 °C, 保持 3 min, 以 10 °C/min 升温到 100 °C, 保持 0 min, 以 15 °C/min 升温到 280 °C, 保持 4 min, 然后以 30 °C/min 升温到 320 °C, 保持 8 min。前 SS 进样口 He, 分流, 加热器 300 °C, 压力 7.6522 psi, 总流量 39 mL/min, 隔垫吹扫流量 3 mL/min, 载气节省 20 min 后 2 mL/min, 分流比 35:1, 分流流量 35 mL/min。载气为高纯度氦气, 恒流: 柱流速 1 mL/min, 进样量 1 μL ;

MS: 全扫描模式; EI 离子源, 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C, 扫描范围 30~350 amu, 扫描时间 0.2 s^[15]。

1.3 数据处理

运用 IBM SPSS Statistics22 软件进行数据处理分析, 且每组实验重复 3 次(结果均以平均值 \pm 标准差表示)与相关性分析, 应用 Origin 2019 作图。

2 结果与分析

2.1 冠突散囊菌对大曲发酵性能的影响

2.1.1 大曲的理化指标分析 由表 2 可知, 试验组大曲的水分明显高于传统大曲, 可能原因是培曲过程中试验组大曲水分散失慢, 导致产酸微生物的生长, 产酸微生物进行的有机酸代谢以及淀粉和蛋白质的降解会增加大曲的酸度^[16]。试验组大曲的还原糖含量显著($P < 0.05$) 比传统大曲高, 淀粉含量比传统大曲低, 在之前的研究证明冠突散囊菌能够与霉菌协同生长, 大曲的糖化能力显著提高^[3]。试验组大曲的蛋白质含量和氨基酸态氮显著($P < 0.05$) 高于传统大曲, 可能因为冠突散囊菌能促进试验组大曲中产蛋白酶的微生物生长, 水分高有利于蛋白质的水解并且蛋白酶将蛋白质转化为氨基酸^[17], 又促进了氨基酸态氮的增加。因此, 冠突散囊菌能促进大曲中产蛋白酶、淀粉酶、糖化酶等的微生物的生长, 使大曲的酶活增强。

2.1.2 冠突散囊菌对大曲主要的生化指标的影响 由表 3 可知, 试验组大曲的酯化力显著高($P < 0.05$) 于

传统大曲, 因此冠突散囊菌有利于产酯化酶的微生物生长繁殖^[18], 将氨基酸分解成高级醇, 由于试验组大曲水分高于传统大曲, 可能富含产酸微生物代谢有机酸, 醇与酸酯化, 有利于白酒风味物质的形成^[19]。试验组大曲发酵力显著($P<0.05$)高于传统大曲, 大曲在发酵糖化液过程中, 淀粉的液化、糖化、酒化等能力显著($P<0.05$)高于传统大曲。说明试验组大曲中富含糖化发酵功能微生物, 有利于提高大曲糖化发酵以及产醇能力, 因此试验组大曲发酵力增强^[20]。所以, 冠突散囊菌可以提高大曲的酯化力和发酵能力, 提升大曲的质量, 为后续白酒的酿造增强风味。试验组大曲糖化力显著($P<0.05$)高于传统大曲, 其糖化力反应了霉菌和细菌等产生淀粉酶和糖化酶的能力。由表 4 可知, 试验组大曲糖化发酵的粮醅淀粉含量低于传统大曲, 同时表 2 表明了试验组大曲还原糖含量高于传统大曲, 在之前的研究基础上, 冠突散囊菌有助于

表 3 试验组大曲与传统大曲的生化指标对比
Table 3 Comparison of biochemical indexes between experimental group Daqu and traditional Daqu

分类	酯化力 (mg/50 g·7d)	发酵力 (g/0.5 g·72 h)	糖化力 (mg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
试验组大曲	710.14±5.61 ^a	0.54±0.09 ^a	863.7±12.06 ^a
传统大曲	665.56±3.72 ^b	0.24±0.05 ^b	672.95±0.7 ^b

表 5 试验组大曲与传统大曲的主要微生物菌落对比

Table 5 Comparison of main microbial colonies between experimental group Daqu and traditional Daqu

分类	菌落总数($\times 10^7$ cfu/g)	细菌($\times 10^7$ cfu/g)	酵母菌($\times 10^6$ cfu/g)	霉菌($\times 10^6$ cfu/g)	乳酸菌($\times 10^6$ cfu/g)	冠突散囊菌($\times 10^6$ cfu/g)
试验组大曲	88.64±6.87 ^a	85.5±4.28 ^a	8.48±0.29 ^a	22.9±1.47 ^a	9.88±0.84 ^a	3.44±0.46
传统大曲	14.22±1.26 ^b	12.8±1.39 ^b	4.0±0.25 ^b	10.17±1.54 ^b	1.64±0.46 ^b	/

表 4 试验组大曲与传统大曲的发酵的粮醅残余淀粉对比
Table 4 Comparison of residual starch in fermented grains between experimental group Daqu and traditional Daqu

分类	残余淀粉(%)
试验组大曲	20.46±0.22 ^b
传统大曲	23.33±0.37 ^a

大曲协同糖化作用^[3]。所以, 添加冠突散囊菌进行培养大曲, 有利于糖化微生物的生长, 提高白酒的糖化效率。

2.2 冠突散囊菌对微生物区系的影响

2.2.1 大曲的主要微生物菌落分析 由表 5 可知, 试验组大曲霉菌数量显著($P<0.05$)高于传统大曲, 冠突散囊菌数量为 3.44×10^6 cfu/g, 说明冠突散囊菌能与霉菌协同生长, 能够产生淀粉酶、糖化酶等, 因此促进了大曲的糖化能力^[3], 试验组大曲中的淀粉被淀粉酶、糖化酶等分解为小分子糖, 有益于利用糖的酿酒酵母菌以及乳酸菌的生长, 因此试验组大曲的酵母菌和细菌数量显著性($P<0.05$)增加。从表 3 得知, 试验组大曲具有高酯化力, 说明试验组大曲富含产酯化酶的微生物, 乳酸菌具有产乳酸的能力并且能够催化合成乳酸乙酯^[18], 因此, 冠突散囊菌有助于大曲中产酯化酶和产有机酸微生物的生长, 增加大曲酶活性, 为

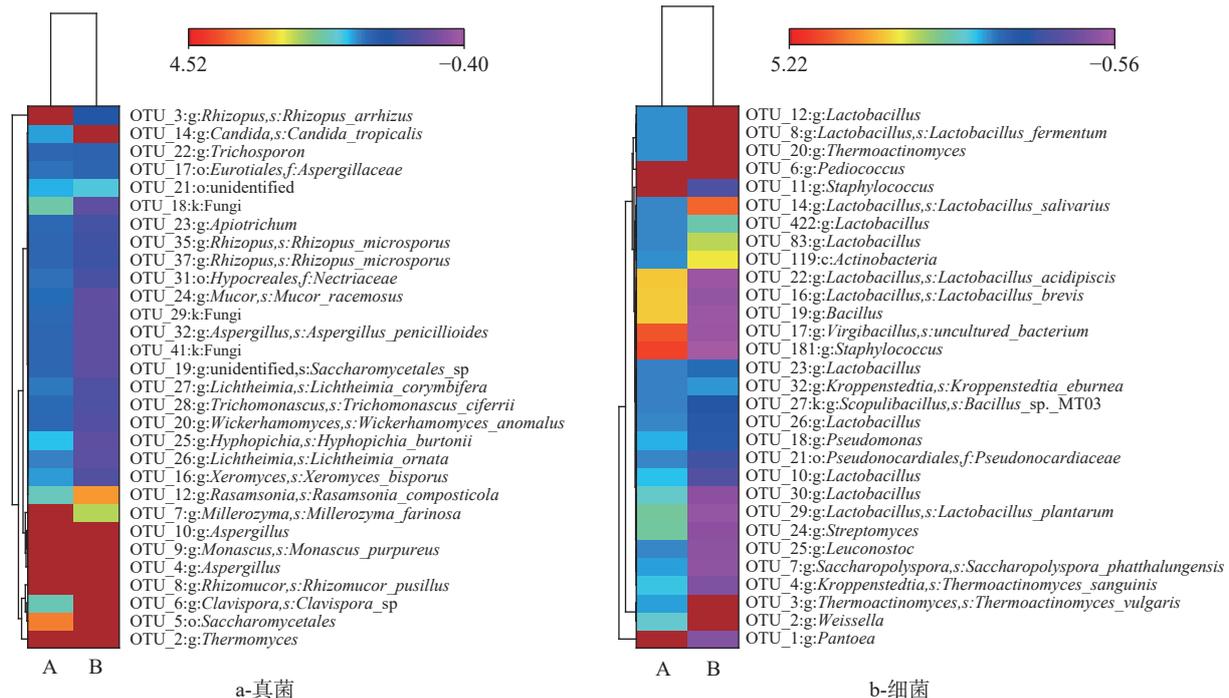


图 1 试验组大曲(A)与传统大曲(B)的真菌和细菌聚类热图对比

Fig.1 Comparison of fungal and bacterial cluster heat maps of the experimental group Daqu (A) and the traditional Daqu (B)

后续酿酒奠定一定的微生物条件。

2.2.2 大曲主要的细菌和真菌聚类热图分析 由图 1b 可知, 试验组大曲与传统大曲的优势细菌是 *Pantoea*、*Weissella*、*Thermoactinomyces*、*Lactobacillus*。试验组大曲与传统大曲相比, 试验组大曲含丰富的产酯化酶和产有机酸的 *Lactobacillus*, 具有催化合成乳酸乙酯酶活力高^[18]、可促进其他酯类的生成、抑制杂菌等作用, 其代谢产物主要影响白酒的气味与品质^[21]。由图 1a 可知, 试验组大曲与传统大曲的优势真菌是 *Rhizopus*、*Thermomyces*、*Clavispora*、*Rhizomucor*、*Aspergillus*, 试验组大曲与传统大曲相比, 试验组大曲中含丰富的产酯化酶、糖化酶以及淀粉酶的米根霉、曲霉^[19]。霉菌的种类和含量远远高于传统大曲, 有助于提高白酒的糖化效率和酯化能力。主要的酵母菌为 *Millerozyma*, 试验组大曲的酵母菌数量远高于传统大曲, 试验组大曲具有高乙醇耐受性和较强的产酯、产醇能力的酵母菌^[22], 可以提升大曲的产酒能力。

试验组大曲与传统大曲相比, 添加冠突散囊菌有利于大曲微生物区系的生长繁殖, 使微生物的数量和种类显著的增加。促进了细菌类产酸、酯化能力强的微生物的生长, 有助于产糖化酶、淀粉酶、酯化酶等真菌类曲霉、根霉以及产酒能力强的酵母菌的生长。增强了试验组大曲的酶活, 为白酒酿造营造了良好的糖化发酵条件, 提升白酒的品质与增加一定的风味物质。

2.3 冠突散囊菌对白酒风味的影响

2.3.1 白酒的主要风味物质分析 表 6 所呈现的是白酒主要风味物质。添加冠突散囊菌发酵白酒的主要风味物质有五种, 传统发酵白酒有三种。由于试验组大曲中乳酸菌等产酸、酯化作用的微生物含量丰富, 在酯化酶的作用下乳酸与乙醇酯化反应生成乳酸乙酯, 添加冠突散囊菌发酵白酒呈香风味物质乳酸乙酯高于传统发酵白酒。川芎嗪具有甜香、花香等呈香味物质^[23], 白酒的功能性成分之一, 能抑制血小板聚集、改善微循环等生理功效^[24]。3-羟基-2-丁酮在白酒中起着缓冲、平衡香气的作用^[25]。有研究者在

表 6 添加冠突散囊菌发酵白酒与传统发酵白酒主要的风味物质对比

Table 6 Comparison of main flavor substances between traditional fermented Baijiu and Baijiu fermented by the addition of *Eurotium critatum*

分类	匹配物质	添加冠突散囊菌发酵白酒峰面积(%)	传统发酵白酒峰面积(%)
1	乙醇	97.10±1.02 ^b	98.75±2.37 ^a
2	3-羟基-2-丁酮	0.44±0.05 ^b	0.70±0.06 ^a
3	乳酸乙酯	1.90±0.13 ^a	0.56±0.04 ^b
4	川芎嗪	0.39±0.03	/
5	十甲基环五硅氧烷	0.17±0.02	/

注: 同行不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

蜂蜜酒和春生田头菇中检测出风味物质十甲基环五硅氧烷^[26]。添加冠突散囊菌发酵白酒相对于传统发酵白酒来说具有醇厚感、绵甜感, 淡淡的花果香。

由于酿酒条件限制, 本研究酒样制备于实验室, 不具备真正意义上的五粮型白酒酿造, 而且风味物质检测条件限制, 酒样前处理对检测结果有很大影响, 稀释 20 倍后直接进样检测, 没有能够较全面的将白酒中不同性质组分进行前处理, 分流比对检测过程中组分含量的影响较大。分流比(35:1)大, 检测到组分数量较少, 引起含量低的组分流失, 影响出峰个数^[27]。但是冠突散囊菌促进白酒风味物质生成是显著可见的, 因此, 试验组大曲酿造白酒有助于改善白酒的风味物质, 使白酒的风味显著提升。

2.3.2 白酒理化指标 由图 2 可知, 添加冠突散囊菌发酵白酒酒精度、总酸、总酯以及酸酯含量显著高于传统发酵白酒。从前文 2.1 和 2.2 得知试验组大曲的糖化力、发酵力和酯化力比传统大曲高, 并且大曲主要的微生物种类和数量比传统大曲多。说明试验组大曲中具有糖化、酯化和发酵作用的微生物比较丰富, 有利于粮醪的糖化发酵^[28]。真菌类霉菌和细菌类产酸、酯化微生物主要与白酒酸类和酯类物质呈正相关^[29-30]。试验组大曲中乳酸菌含量的增高, 提升了白酒中有机酸含量; 酒化类酵母菌含量的增加, 提高白酒酒精度; 酸类物质与醇类物质进行酯化反应, 白酒的乳酸乙酯含量增高。因此, 试验组大曲有利于白酒后期的发酵微生物的生长, 提升白酒的品质。

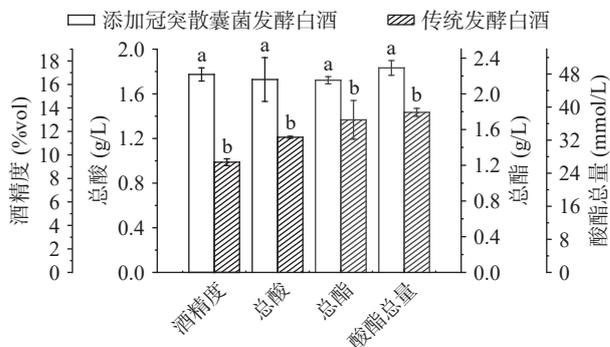


图 2 添加冠突散囊菌发酵白酒与传统发酵白酒的主要理化指标对比

Fig.2 Comparison of the main physicochemical indexes of Baijiu fermented by the addition of *Eurotium critatum* and traditional Baijiu

2.3.3 白酒风味的主成分分析 由图 3 可知, 两组酒样的芳香类成分都很丰富, 传感器对短链烷烃、无机硫化物、醇醚醛酮类、芳香成分、有机硫化物、长链烷烃类成分等敏感度相同, 说明酒样的这些气味相差不大。添加冠突散囊菌发酵白酒的传感器 W5S、W3C、W6S、W5C 比传统发酵白酒的风味比较敏感, 从白酒的风味物质成分以及理化指标可以得出, 添加冠突散囊菌发酵白酒风味明显突出, 说明白酒的氮氧化合物、芳香成分、烷烃类芳香成分比传统发酵

白酒丰富^[14]。从主成分分析图可知, 第一主成分高达 98.86%, 第二主成分为 0.45%, 累计达到 99.31%。说明两组白酒的挥发性风味物质有差异, 电子鼻能将风味能明显区别出来^[31], 在相同的糖化发酵条件下, 与传统发酵白酒相比, 添加冠突散囊菌发酵白酒的主要风味比较突出, 风格比较明显。

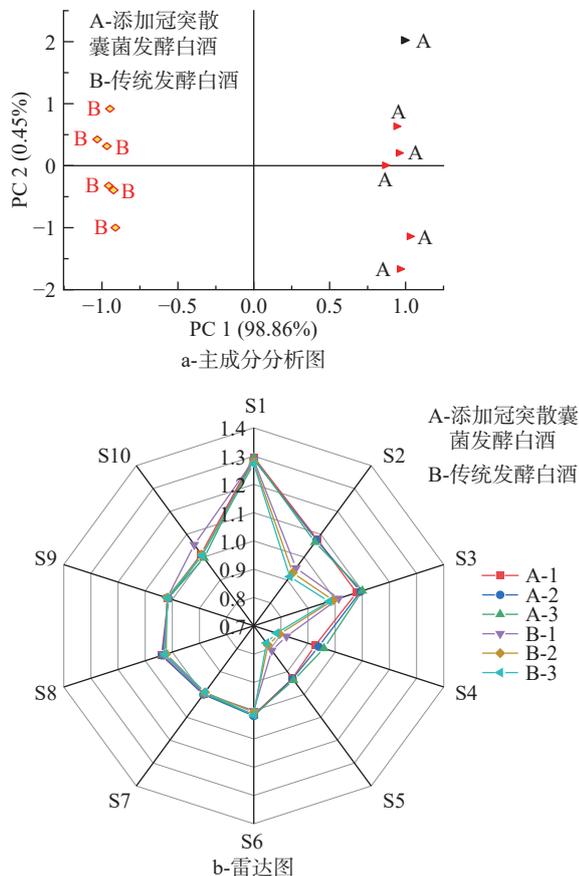


图 3 添加冠突散囊菌发酵白酒与传统发酵白酒的主成分分析以及雷达图对比

Fig.3 Principal component analysis and radar map comparison between traditional fermented Baijiu and Baijiu fermented by the addition of *Eurotium cristatum*

3 结论

与传统大曲相比, 添加冠突散囊菌培养的大曲, 能够促进大曲中微生物的生长繁殖, 冠突散囊菌能与酵母菌、霉菌以及增香细菌协同生长, 增加大曲主要微生物的种类和数量, 促进了酒曲微生物区系, 给白酒酿造提供了丰富的酶活, 提高了大曲的糖化力、酯化力以及发酵力等, 能够改善大曲的发酵性能。冠突散囊菌培养的大曲有利于功能性微生物的生长, 产酸、酯化能力强的乳酸菌, 产糖化酶、淀粉酶、酯化酶等曲霉和根霉以及产酒能力强的酵母菌。为白酒酿造营造了良好的糖化发酵条件, 因此添加冠突散囊菌发酵白酒的主要风味物质种类比传统发酵白酒丰富, 白酒的风格比较突出, 提升了白酒的质量。

本试验培曲条件有限, 培曲的量小, 采用实验室酿酒试验, 使用旋转蒸发器蒸馏白酒, 各种条件的影响, 白酒酿造的结果与工业化生产的白酒有差距^[17]。

本文主要是研究冠突散囊菌对白酒酿造的影响, 希望后续有研究者基于冠突散囊菌的糖化发酵机理, 可以作用于五粮型酒曲与白酒的工业化生产, 提高大曲糖化发酵能力, 提高白酒的风味与品质, 并且对工业化培养的大曲进行微生物多样性分析, 以及对大曲发酵期理化、微生物区系和风味物质进行检测分析, 分析其对工业化酿造的五粮型白酒的风味物质的影响。

参考文献

- [1] 时伟, 郑红梅, 柴丽娟, 等. 酒用高粱的营养成分及其酿造性能研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(21): 307-317. [SHI W, ZHENG H M, CHAI L J, et al. Research progress on the nutritional components and brewing performance of brewing sorghum [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2022, 48(21): 307-317.]
- [2] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2022. [SHEN Y F. Full book on liquor production technology[M]. Beijing: China Light Industry Publishing House, 2022.]
- [3] 杨凤英, 秦洋. 冠突散囊菌对酒曲糖化能力的影响及影响机制研究[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(5): 81-87. [YANG F Y, QIN Y. Study on the impact and mechanism of *Eurotium cristatum* on the saccharification ability of Jiuqu[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2023, 49(5): 81-87.]
- [4] XIAO X, SIDOU Z, DAVID J D, et al. Multistarter fermentation of glutinous rice with Fu brick tea: Effects on microbial, chemical, and volatile compositions[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309(C): 125790.
- [5] XIAO Y, LI M Y, LIU Y, et al. The effect of *Eurotium cristatum* (MF800948) fermentation on the quality of autumn green tea[J]. *Food Chemistry*, 2021, 358: 129848.
- [6] WANG B, WU Q, XU Y, et al. Synergistic effect of multiple saccharifying enzymes on alcoholic fermentation for Chinese Baijiu production[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(8): e00013-20.
- [7] WANG J S, CHEN H, WU Y H, et al. Uncover the flavor code of strong-aroma Baijiu: Research progress on the revelation of aroma compounds in strong-aroma Baijiu by means of modern separation technology and molecular sensory evaluation[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022: 104499.
- [8] 陈蒙恩, 赵聪, 韩素娜, 等. 基于高通量测序的陶融型大曲微生物群落结构分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(8): 106-113. [CHEN M N, ZHAO C, HAN S, et al. High-throughput sequencing reveals the microbial community structure in Taorong-type Daqu[J]. *Food Science*, 2021, 42(8): 106-113.]
- [9] 向慧平, 林宜锦, 关统伟, 等. 四川浓香型大曲生产中酵母菌、芽孢杆菌与工艺指标的关联性分析[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 196-201. [XIANG H P, LIN Y J, GUAN T W, et al. Diversities of culturable yeast and *Bacillus* and their relationship with process parameters during the production of Sichuan Luzhou-flavor Daqu[J]. *Food Science*, 2020, 41(2): 196-201.]
- [10] XIAO Y, WU X, YAO X S, et al. Metabolite profiling, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of buckwheat processed by solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1[J]. *Food Research International*, 2021, 143: 110262.
- [11] 姚亚林, 黄治国, 邓霖, 等. 不同五粮配方的成分解析及其酿造特性对比研究[J]. *中国酿造*, 2020, 39(7): 89-94. [YAO Y L, HUANG Z G, DENG L, et al. Comparison of composition and brewing characteristics of different five-grain formulas[J]. *China Brewing*, 2020, 39(7): 89-94.]

- [12] 郭敏. 基于高通量测序对酱香大曲制曲微生物多样性的研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2018. [GUO M. Study on microecological diversity of Maotai-flavor Daqu based on high throughput sequencing[D]. Guiyang: Guizhou University, 2018.]
- [13] HE G Q, DONG Y, HUANG J, et al. Alteration of microbial community for improving flavor character of Daqu by inoculation with *Bacillus velezensis* and *Bacillus subtilis*[J]. *LWT*, 2019, 111: 1-8.
- [14] 刘丽丽, 杨辉, 荆雄, 等. 基于GC-IMS和电子鼻技术分析贮酒容器对凤香型白酒香气成分的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(4): 257-263. [LIU L L, YANG H, JING X, et al. Influence of different storage containers on the aroma composition of Fengxiang-type Baijiu analyzed by gas chromatography-Ion mobility spectroscopy and electronic nose[J]. *Food Science*, 2022, 43(4): 257-263.]
- [15] 刘芳, 杨康卓, 张建敏, 等. 基于电子鼻和气质联用技术的浓香型白酒分类[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(2): 73-78. [LIU F, YANG K Z, ZHANG J M, et al. Classification of strong-flavor Baijiu using electronic nose and GC-MS technologies[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2020, 46(2): 73-78.]
- [16] 夏珂. 浓香型大曲主发酵阶段微生物群落结构变化及与挥发性化合物的相关性研究[D]. 自贡: 四川轻化工大学, 2019. [YU X. Correlation between microbiota and volatile compounds in Luzhou-flavour Daqu of the main fermentation stages[D]. Zigong: Sichuan University of Science & Engineering, 2019.]
- [17] 赵红平, 罗惠波, 刘森, 等. 不同上甑条件对浓香型白酒乙醇及风味物质馏出的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(5): 101-108. [ZHAO H P, LUO H B, LIU M, et al. Effect of different steaming conditions on ethanol and aroma compounds of Nongxiangxing Baijiu[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2023, 49(5): 101-108.]
- [18] 邢爽. 白酒发酵过程中酯类物质形成机理的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018. [XING S. Research of the formation mechanism of esters in process of liquor fermentation[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018.]
- [19] 马鹏. 高酯化力、糖化力和液化力霉菌的筛选及强化大曲的研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2022. [MA P. Screening of molds with high esterification power, saccharification power and liquefaction power and research on strengthening Daqu[D]. Alar: Tarim University, 2022.]
- [20] 张红霞. 酱香型白酒酿造菌群形成规律及稳态调控机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021. [ZHANG H X. Study on the formation regularity and steady-state regulation mechanism of fermentation community in sauce-flavor Baijiu[D]. Wuxi: Southern Yangtze University, 2021.]
- [21] 薛蓓, 卢灏泽, 杨帆, 等. 高通量测序技术分析西藏不同海拔地区曲拉微生物多样性[J]. *食品科学*, 2022, 43(14): 176-182. [XUE B, LU H Z, YANG F, et al. High-throughput sequencing technology to analyze microbial community diversity in Qula at different altitudes in Tibet[J]. *Food Science*, 2022, 43(14): 176-182.]
- [22] 石馨, 惠明, 田青, 等. 均匀设计优化 *Wickerhamomyces anomalus* Y-1 菌株产酯条件及其产香分析[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2022, 43(1): 75-82. [SHI X, HUI M, TIAN Q, et al. Uniform design optimization of ester production conditions and aroma analysis of *Wickerhamomyces anomalus* Y-1 strain[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2022, 43(1): 75-82.]
- [23] 孙啸涛, 王宗元, 刘森, 等. 涡旋辅助液液微萃取结合GC-MS法检测67种白酒中四甲基吡嗪、4-甲基愈创木酚和4-乙基愈创木酚[J]. *食品科学*, 2017, 38(18): 73-79. [SUN X T, WANG Z Y, LIU M, et al. Determination of tetramethylpyrazine-4-methyl guaiacol and 4-ethyl guaiacol in 67 Chinese Baijiu samples by vortex assisted liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2017, 38(18): 73-79.]
- [24] YAO C D, NAN W Y, CAI L L, et al. Increasing yield of 2,3,5,6-tetramethylpyrazine in Baijiu through *Saccharomyces cerevisiae* metabolic engineering[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 596306.
- [25] YOSHIMI S, MIKIO U, MASAZUMI W. Transformation of citric acid to acetic acid, acetoin and diacetyl by wine making lactic acid bacteria[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 2014, 49(7): 2147-2157.
- [26] 陆欢, 徐宁, 刘建辉, 等. 基于HS-SPME-GC-MS法分析春生田头菇子实体不同部位挥发性成分[J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(8): 95-104. [LU H, XU N, LIU J H, et al. Analyses of volatile components in different parts of *Agrocybe praecox* by HS-SPME-GC-MS[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2021, 40(8): 95-104.]
- [27] 徐军. 浓香型枝江白酒香味成分的分析研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019. [XU J. Study on aroma components of strong-aroma Zhijiang Baijiu[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019.]
- [28] 贾丽艳, 郭晋田, 刘帅, 等. 清香型白酒发酵过程中微生物及理化指标的变化规律[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(8): 162-167. [JIA L Y, GUO J T, LIU S, et al. The changes of microbiology and physicochemical indexes during the brewing process of mild flavour Baijiu[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(8): 162-167.]
- [29] HU X L, TIAN R J, WANG K L, et al. The prokaryotic community, physicochemical properties and flavors dynamics and their correlations in fermented grains for Chinese strong-flavor Baijiu production[J]. *Food Research International*, 2021, 148: 110626.
- [30] 吴成, 程平言, 谢丹, 等. 酱香型白酒四轮次堆积发酵理化因子、风味物质与微生物群落相关性研究[J]. *食品科学*, 2023, 44(2): 240-247. [WU C, CHENG P Y, XIE D, et al. Relationship analysis among physicochemical parameters, flavor compounds and microbial community during fourth round heap fermentation of Jiang-flavored Baijiu[J]. *Food Science*, 2023, 44(2): 240-247.]
- [31] 张春林. 泸州老窖大曲的质量、微生物与香气成分关系[D]. 无锡: 江南大学, 2012. [ZHANG C L. The relationship between quality microorganisms and flavour components of Luzhou Laojiao Daqu[D]. Wuxi: Southern Yangtze University, 2012.]