

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.05.006

黑茶菌添加量对包包曲培菌过程品质的影响

The effect of dark tea fungus on the quality of wrapped starter culture process

范斌强^{1,2} 吴浩人³ 余有贵^{1,2} 刘安然⁴ 熊翔⁴

FAN Bin-qiang^{1,2} WU Hao-ren³ YU You-gui^{1,2} LIU An-ran⁴ XIONG Xiang⁴

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南 邵阳 422000; 2. 生态酿酒技术与应用湖南省
高校重点实验室, 湖南 邵阳 422000; 3. 湖南省茶业集团股份有限公司, 湖南 长沙 410000;
4. 湖南湘窖酒业有限公司, 湖南 邵阳 422000)

(1. College of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China;
2. Hunan Key Laboratory of Ecological Brewing Technology and Application, Shaoyang,
Hunan 422000, China; 3. Hunan Tea Group Company Limited, Changsha, Hunan 410000, China;
4. Xiangjiao Distillery Co., Ltd., Shaoyang, Hunan 422000, China)

摘要:以偏高温包包曲制作工艺为基础,在传统小麦制曲原料中,分别按小麦重量的 0%, 5%, 10%, 15%, 20% 添加含冠突散囊菌的黑茶培养物制曲坯,研究培菌管理过程中主要微生物类群、酶活力和常规理化指标的变化。结果表明:在培菌管理的 28 d 内,与传统大曲对照组相比,各黑茶菌添加组的微生物类群数量(霉菌、酵母、细菌和冠突散囊菌)、常规理化指标(培菌温度、酒曲水分、酸度和淀粉含量)和酶活力(发酵力、液化酶活力和糖化酶活力)均有不同程度的变化,且各黑茶菌添加组之间也呈不同程度的变化。在传统偏高温包包曲中,采用含冠突散囊菌的黑茶菌培养物进行强化,在培菌管理结束的第 28 天入库时,15% 和 20% 的黑茶菌添加组的霉菌、细菌和酵母数量均与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$),说明添加黑茶菌能显著促进大曲中霉菌的生长繁殖、抑制大曲中细菌和酵母菌的生长繁殖;同时,15% 和 20% 的黑茶菌添加组的液化酶活力和糖化酶活力均与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$),说明添加黑茶菌

能显著提高大曲的液化酶活力和糖化酶活力。

关键词:黑茶;冠突散囊菌;强化大曲;培菌过程;酒曲品质

Abstract: On the basis of the high-temperature wrapped starter production process, in the traditional wheat koji-making raw materials, 0%, 5%, 10%, 15%, and 20% of the weight of the wheat are added to the dark tea culture medium containing *Eurotium cristatum*. The changes of main microbial groups, enzyme activities and conventional physical and chemical indexes in the process of culture management were investigated. The results showed that, within 28 days of culture management, the number of microbial groups (mold, yeast, bacteria and *E. cristatum*), conventional physical and chemical indexes (culture temperature, Koji moisture, acidity and starch content) and enzyme activity (fermentability, liquefying enzyme activity and saccharifying enzyme activity) of each dark tea fungus addition group were changed in varying degrees, compared with the traditional Daqu control group. Moreover, there were different degrees of changes among different groups. In that traditional high-temperature wrap koji, the dark tea fungus culture containing *E. cristatum* is adopt for strengthening. At the 28th day after the end of culture management, the number of mold, bacteria and yeast in the 15% and 20% dark tea fungus addition groups was significantly different from that in the traditional Daqu control group ($P < 0.05$), indicating that the addition of dark tea fungus could significantly promote the growth and reproduction of mold in Daqu and inhibit the growth of fine yeast in Daqu Growth and reproduction of yeasts and yeasts. In addition, the liquefying power and saccharifying power of 15% and 20% dark tea fungus addition groups were sig-

基金项目:湖南省教育厅科学研究重点项目(编号:18A383);湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(编号:19B505);湖南省重点研发计划项目(编号:2020SK2140, 2018NK2036);邵阳市科技计划项目(编号:2017NS17, 2018CG18);邵阳学院研究生科研创新项目(编号:CX2019SY031);国家级和湖南省大学生创新创业训练计划项目(编号:湘教通[2020]191号-3387, 2019[100]-1886)

作者简介:范斌强,男,邵阳学院在读硕士研究生。

通信作者:余有贵(1964—),男,邵阳学院教授,博士。

E-mail: yufly225@163.com

收稿日期:2021-02-26

nificantly different from those of traditional Daqu control group ($P < 0.05$), indicating that the addition of dark tea fungus could also significantly improve the liquefying power and saccharifying power of Daqu.

Keywords: dark tea; *Eurotium cristatum*; fortified Daqu; course of cultivating the microorganism; koji quality

白酒生产过程中,大曲为白酒发酵提供霉菌、酵母菌、细菌以及酶类^[1],因此控制大曲质量是白酒酿造的关键^[2]。大曲是通过富集自然环境中各种微生物经发酵培养制成^[3],而强化大曲是将分离出来具有某种特定功能的微生物添加到大曲的制曲原料中^[4],以增强大曲的某种性能,从而提高酿酒原料的出酒率或改善白酒的品质。Li 等^[5]将片球菌、酵母菌等纯种微生物接种至酒曲中,丰富了大曲中微生物群落结构。刘宇^[6]通过添加纯种细菌和霉菌至酱香大曲中,改善了白酒的风味。姜鹏^[7]将高产酯的酵母菌添加至大曲中提高了出酒率和白酒中总酸、总酯含量。王晓娜^[8]研究了夏秋茶制作大曲的工艺对大曲品质和固态发酵茶酒的影响。冠突散囊菌(*Eurotium cristatum*)又称金花菌,是茯砖茶在适宜条件下,通过“发花”工艺生长的有益菌^[9]。冠突散囊菌在发酵期间会通过代谢产生对人体健康有益的产物,使茯砖茶具有降血糖、抗氧化以及调节肠胃等功能^[10]。目前,冠突散囊菌的研究大多集中在分离鉴定^[11]、抑菌活性^[12]、工艺优化^[13]、抗氧化性^[14]等方面,关于冠突散囊菌的黑茶培养物制成强化大曲方面的研究尚未见报道。研究拟以偏高温包包曲制作工艺为基础,采用含冠突散囊菌黑茶制备强化大曲,对培菌管理过程中主要微生物类群、酶活力和常规理化指标的动态变化进行对比分析,探索黑茶强化大曲与传统大曲的差异,为黑茶大曲的开发和提高酒曲的糖化力提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

黑毛茶:要求黑褐油润、紧结肥壮,湖南省茶业集团股份有限公司;

冠突散囊菌:从传统黑茶的金花中分离获得,湖南省茶业集团股份有限公司;

黑茶菌:根据参考文献^[15]的研究方法进行制备改良,以黑毛茶为原料,杀菌处理后接种冠突散囊菌悬液,发酵条件为接种量 9%,料液比 1.0:14.5 (g/mL),发酵时间 125 h,干燥后获得黑茶菌培养物,简称黑茶菌,用于包包曲强化,生态酿酒技术与应用湖南省高校重点实验室;

小麦:选用颗粒饱满,无虫害的小麦,粉碎过 20 目筛,湖南湘窖有限公司;

葡萄糖、琼脂、蛋白胨、可溶性淀粉、酒石酸钾钠、浓盐酸、氢氧化钠、次甲基蓝等:分析纯,邵阳市科仪化玻有限公司。

1.1.2 主要仪器和设备

恒温培养箱:DH-420 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

恒温水浴锅:DK-99-3 型,江苏金坛中大仪器厂;

磁力搅拌器:HJ-1 型,常州越新仪器制造有限公司;

自动压力蒸汽灭菌器:GI54DWS 型,致微(厦门)仪器有限公司;

便携式 pH 计:LE438 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

超净工作台:SW-CJ-1FD 型,苏州智净净化设备有限公司。

1.2 工艺流程

以湖南湘窖酒业有限公司的偏高温包包曲的制曲工艺为基础,以常规小麦包包曲为对照组,每块曲坯重 3.2 kg;分别按小麦重量的 5%,10%,15%,20%添加黑茶菌,经混合润粮,制备曲坯,每个添加量制作 10 块曲坯、3 批次,经入室安曲、培菌管理制成新曲,其工艺流程图如图 1 所示^[16]。

1.3 试验方法

1.3.1 培养基配制

(1) 孟加拉红培养基:蛋白胨 5 g、磷酸二氢钾 1.0 g、硫酸镁 0.5 g、葡萄糖 10.0 g、氯霉素 0.1 g、孟加拉红 0.033 g、琼脂 20.0 g,蒸馏水 1 000 mL。

(2) 营养琼脂培养基:蛋白胨 10 g、牛肉膏 3 g、氯化钠 5 g、琼脂 15~20 g,蒸馏水 1 000 mL。

(3) 察氏琼脂培养基:硝酸钠 3 g、磷酸氢二钾 1 g、硫酸镁 0.5 g、氯化钾 0.5 g、硫酸亚铁 0.01 g、蔗糖 30 g、琼脂 15 g,pH (6.2±0.2),蒸馏水 1 000 mL。

1.3.2 微生物的培养与计数 准确称取 25 g 大曲粉至装有 225 mL 无菌稀释液的三角瓶中,充分振荡,取 1 mL 至装有 9 mL 无菌稀释液的试管中,得到 10^{-2} 稀释液,依次操作得到 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 稀释液。吸取 1 mL 稀释液加至培养皿中,倒入温度适中的营养琼脂培养基、孟加拉红培养基、察氏琼脂培养基,摇晃混匀,待凝固后倒置,营养琼脂培养基放入 35 °C 培养箱中,其余放入 28 °C 培养箱中,培养 1~2 d,分别对细菌、酵母菌、霉菌和冠突

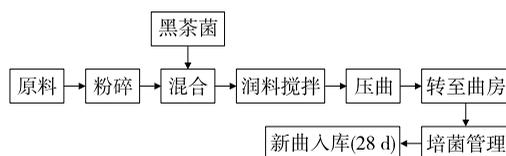


图 1 黑茶曲工艺路线

Figure 1 Technological route of dark tea Jiuqu

散囊菌进行计数。

1.3.3 大曲的理化指标与酶活检测 参照 QB/T 4257—2011《酿酒大曲通用分析方法》。

2 结果与分析

2.1 对培菌过程中微生物类群动态变化的影响

2.1.1 霉菌和冠突散囊菌 由表 1 可知,随着发酵时间的增加,霉菌数量先升后降,并在培菌第 3 天达最大值。随着发酵时间的增加,大曲温度逐渐升高,霉菌生长受到抑制,霉菌数量开始减少;随着大曲温度的降低,霉菌数量略有回升,并在入库时趋于稳定。黑茶曲添加组的霉菌数量与传统大曲对照组之间呈显著变化($P < 0.05$)。

培菌前期,温度、湿度适宜,霉菌数量增加,培菌第 2 天,各黑茶曲添加组之间差异显著($P < 0.05$);随着发酵时间的增加,大曲温度在培菌第 8 天达到顶温,15%黑茶菌添加组的霉菌数与对照组之间差异显著($P < 0.05$);随着大曲温度的降低,传统大曲对照组的霉菌与黑茶菌添加组之间差异显著($P < 0.05$)。在培菌管理结束的第 28 天入库时,15%和 20%黑茶菌添加组的霉菌数与对照组之间差异显著($P < 0.05$)且协同促进霉菌的生长;15%和 20%黑茶菌添加组的霉菌数量与 5%,10%黑茶菌添加组之间存在显著性差异($P < 0.05$),但 5%和 10%黑茶菌添加组之间的差异不显著。

表 1 大曲中霉菌总数的动态变化[†]

Table 1 Total number of molds in different *Aspergillus* ×10⁵ CFU/g

| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | | |
|----------|------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 |
| 5 | 16.43±0.49 | 20.80±0.62 ^b | 46.33±3.06 ^c | 26.33±0.58 ^d | 18.67±3.06 | 1.03±0.15 ^b |
| 10 | 12.33±0.58 | 14.83±0.35 ^d | 69.33±4.04 ^b | 35.33±0.58 ^b | 21.67±4.16 | 1.63±0.15 ^b |
| 15 | 13.67±0.42 | 16.33±0.29 ^c | 112.67±6.51 ^a | 34.67±1.15 ^b | 16.00±3.61 | 5.33±2.52 ^a |
| 20 | 15.57±0.60 | 27.03±0.55 ^a | 62.67±11.37 ^b | 32.33±0.58 ^c | 35.33±3.06 | 1.10±0.36 ^b |
| 对照组 | 23.90±0.30 | 27.23±0.25 ^a | 59.67±2.08 ^b | 39.67±1.15 ^a | 36.33±4.04 | 2.33±0.31 ^b |

| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | |
|----------|------------------------|-----------|-----------|-------------------------|-------------------------|
| | 12 | 14 | 15 | 16 | 28 |
| 5 | 0.68±0.10 ^a | 0.62±0.07 | 0.74±0.05 | 0.85±0.01 ^{cd} | 0.79±0.02 ^d |
| 10 | 0.45±0.04 ^b | 0.46±0.03 | 0.48±0.04 | 0.84±0.04 ^d | 0.83±0.02 ^{cd} |
| 15 | 0.55±0.05 ^b | 0.59±0.06 | 0.69±0.03 | 0.88±0.02 ^c | 0.92±0.02 ^b |
| 20 | 0.73±0.03 ^a | 0.77±0.02 | 0.78±0.02 | 1.00±0.02 ^a | 1.05±0.03 ^a |
| 对照组 | 0.75±0.05 ^a | 0.64±0.02 | 0.79±0.04 | 0.94±0.02 ^b | 0.84±0.00 ^c |

† 同行字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

考虑到培菌管理前、中期冠突散囊菌在小麦培养基中生长不明显,故只在培菌结束的新曲入库时进行检测。由表 2 可知,强化大曲中有冠突散囊菌检出,说明冠突散囊菌能够在小麦包包曲中生长繁殖。

2.1.2 酵母菌 由表 3 可知,随着发酵时间的增加,酵母菌先升后降再缓慢上升。主要原因在于培菌前期温度适

宜,大曲中酵母菌大量繁殖;而当发酵温度上升至 50 °C 时,超过酵母菌最佳生长繁殖温度,酵母菌生长处于抑制状态;发酵培菌后期随着温度的降落,酵母菌略有增加,但基本处于稳定状态。黑茶菌添加组的酵母菌数量与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$)。培菌第 3 天,5%黑茶菌添加组的酵母菌数量与传统大曲对照组之间无显著性差异,但其他黑茶菌添加组与传统大曲对照组之间呈显著性差异($P < 0.05$)。进入高温发酵阶段,酵母菌数量降低,培菌第 12 天,黑茶菌添加组与传统大曲对照组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。随着大曲温度的降低,传统大曲对照组的酵母菌数量与其他黑茶添加组之间差异显著($P < 0.05$)。在培菌管理结束的第 28 天入库时,黑茶菌添加组的酵母菌数量与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$)且抑制酵母菌的生长;但各黑茶菌添加组之间的酵母菌数量差异不显著。酒曲中黑茶菌、霉菌和酵母菌的生长繁殖均需要耗氧,可能是黑茶菌、霉菌的生长

表 2 培菌第 28 天大曲中冠突散囊菌总数

Table 2 Total number of *Corona aspergillus* in different Daqu ×10⁵ CFU/g

| 黑茶曲添加量/% | 冠突散囊菌总数 |
|----------|-----------|
| 5 | 0.01±0.01 |
| 10 | 0.01±0.01 |
| 15 | 0.02±0.01 |
| 20 | 0.07±0.01 |
| 对照组 | 0.00±0.00 |

繁殖能力强,对酵母菌具有竞争性抑制作用,从而在大曲中强化黑茶菌会相对减少酵母菌的数量。

2.1.3 细菌 由表 4 可知,培菌前期养分比较充足,细菌数量在入房前 3 d 增加,随着发酵时间的延长,大曲温度升高,不耐高温的微生物数量减少,细菌在第 4 天时处于最大值,此时温度恰好适合耐高温的细菌生长繁殖;进入高温发酵培菌阶段后,细菌开始减少。随着大曲温度的下降,细菌数量有所回升。黑茶菌添加组的细菌数量与传统大曲对照组之间差异显著 ($P < 0.05$)。大曲培养第 2,3 天,5%黑茶菌添加组的细菌数量与传统大曲对照组之间无显著差异,但其他黑茶菌添加组的细菌数量与传统大曲对照组之间差异显著 ($P < 0.05$)。在培菌管理

结束的第 28 天入库时,黑茶菌添加组的细菌数量与传统大曲对照组之间差异显著 ($P < 0.05$)且抑制细菌的生长;且 5%的黑茶菌添加组的细菌数量与其他各添加量之间差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 对培菌过程中理化指标的影响

2.2.1 大曲温度 由图 2 可知,大曲温度随发酵时间的增加先增加后缓慢下降,第 5 天时达到顶温 58 °C,共持续 7 d;第 12 天大曲温度缓慢降低,第 16 天时大曲温度降至室温(26 °C),符合中高温大曲“前缓中挺后缓落”的变化趋势。第 28 天入库,大曲温度为 20 °C。

2.2.2 水分 由图 3 可知,随着发酵时间的增加,大曲的水分含量迅速降低。大曲刚入房成“川”字摆放,有助于

表 3 大曲中酵母菌总数的动态变化[†]
Table 3 Total number of yeast in different Daqu $\times 10^5$ CFU/g

| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | | |
|----------|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 |
| 5 | 13.13±0.65 | 44.33±4.04 ^a | 46.33±2.08 ^c | 14.00±4.58 ^c | 11.30±0.80 | 2.03±0.15 ^{cd} |
| 10 | 14.17±0.65 | 39.67±4.16 ^a | 72.33±3.51 ^{ab} | 13.30±2.52 ^c | 5.87±0.55 | 1.57±0.31 ^d |
| 15 | 14.67±0.76 | 44.33±4.16 ^a | 73.00±5.57 ^a | 46.00±3.16 ^a | 18.00±3.00 | 2.33±0.21 ^c |
| 20 | 14.77±0.55 | 46.33±2.51 ^a | 64.00±4.58 ^b | 31.67±1.53 ^b | 8.63±0.38 | 5.93±0.45 ^a |
| 对照组 | 20.70±0.44 | 42.00±3.46 ^a | 49.00±6.58 ^c | 41.67±3.51 ^a | 11.67±3.06 | 4.66±0.61 ^a |
| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | | |
| | 12 | 14 | 15 | 16 | 28 | |
| 5 | 1.12±0.11 ^d | 1.13±0.07 | 1.35±0.06 | 1.49±0.08 ^b | 1.24±0.05 ^c | |
| 10 | 1.69±0.06 ^b | 0.78±0.03 | 0.98±0.03 | 1.51±0.08 ^b | 1.28±0.02 ^{bc} | |
| 15 | 1.94±0.56 ^a | 1.35±0.06 | 1.32±0.07 | 1.52±0.08 ^b | 1.19±0.06 ^c | |
| 20 | 1.71±0.56 ^a | 1.78±0.03 | 1.50±0.00 | 61.56±0.05 ^a | 1.22±0.07 ^c | |
| 对照组 | 1.37±0.05 ^c | 1.09±0.08 | 1.21±0.03 | 1.20±0.06 ^c | 1.36±0.05 ^a | |

† 同行字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 4 大曲中细菌总数的动态变化[†]
Table 4 Total number of bacteria in different Daqu $\times 10^5$ CFU/g

| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | | |
|----------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 |
| 5 | 8.37±0.47 | 36.67±1.53 ^a | 38.33±0.58 ^a | 43.33±1.53 ^c | 35.67±1.15 | 0.59±0.08 ^b |
| 10 | 5.97±0.21 | 14.33±6.03 ^b | 17.33±4.16 ^b | 43.67±2.31 ^c | 32.67±1.15 | 1.31±0.04 ^a |
| 15 | 8.97±0.21 | 20.33±3.21 ^b | 24.00±6.08 ^b | 72.67±2.08 ^a | 41.33±1.53 | 0.54±0.04 ^b |
| 20 | 15.40±0.40 | 20.33±4.93 ^b | 23.67±3.21 ^b | 63.33±4.93 ^b | 42.67±0.58 | 0.58±0.01 ^b |
| 对照组 | 14.67±1.53 | 32.00±3.46 ^a | 35.67±4.04 ^a | 39.00±2.65 ^c | 33.33±1.53 | 1.43±0.13 ^a |
| 黑茶曲添加量/% | 培菌时间/d | | | | | |
| | 12 | 14 | 15 | 16 | 28 | |
| 5 | 0.36±0.03 ^b | 0.52±0.03 | 0.37±0.03 | 0.35±0.01 ^c | 0.32±0.02 ^c | |
| 10 | 0.37±0.01 ^b | 0.52±0.02 | 0.37±0.07 | 0.37±0.05 ^{bc} | 0.37±0.01 ^b | |
| 15 | 0.33±0.02 ^b | 0.33±0.01 | 0.36±0.02 | 0.38±0.01 ^c | 0.39±0.01 ^b | |
| 20 | 0.44±0.04 ^a | 0.38±0.02 | 0.43±0.04 | 0.37±0.05 ^a | 0.36±0.01 ^b | |
| 对照组 | 0.44±0.04 ^a | 0.40±0.02 | 0.43±0.03 | 0.43±0.04 ^{ab} | 0.43±0.02 ^a | |

† 同行字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

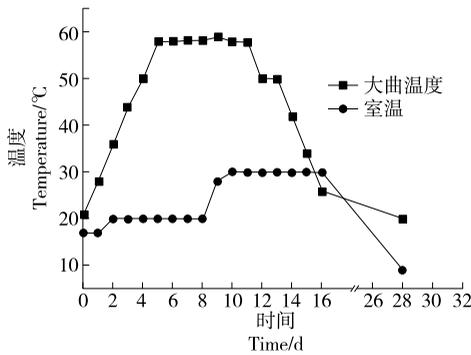


图2 大曲温度的变化趋势

Figure 2 Trend of temperature variation of different Daqu

水分挥发。培菌前期,大曲温度较低,水分减少较缓。随着发酵时间的增加,大曲进入高温发酵阶段,水分开始迅速降低。第28天入库,各黑茶菌添加组的大曲水分维持在15%左右,说明大曲水分变化与大曲温度密切相关。

2.2.3 酸度 由图4可知,培菌第1~4天,产酸微生物迅速繁殖,酸度增加;培菌第5~11天,进入高温发酵阶段,不耐高温的微生物开始死亡,酸度降低,此阶段大曲温度维持在58℃左右;培菌第12~16天,大曲温度逐渐降低,微生物开始生长繁殖,酸度增加。第28天入库时,大曲温度趋于室温,微生物死亡与代谢速率基本维持稳定,酸度也基本维持稳定。

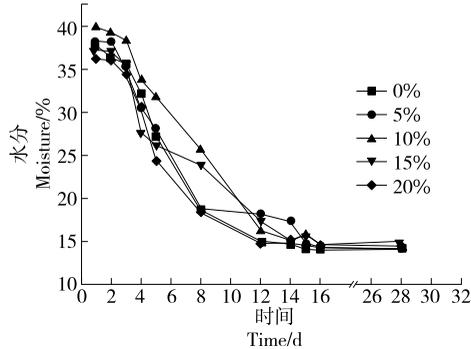


图3 大曲水分动态变化图

Figure 3 Dynamic changes of water in different Daqu

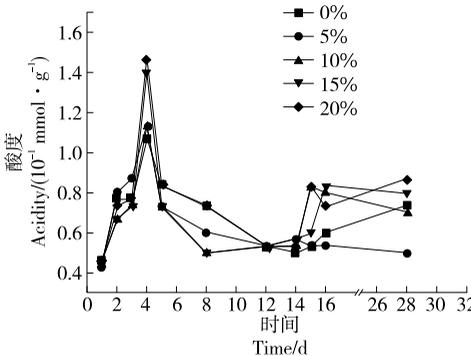


图4 大曲酸度动态变化图

Figure 4 Dynamic changes of acidity of different Daqu

2.2.4 淀粉含量 由图5可知,淀粉含量在整个发酵过程中呈下降趋势。培菌前期,合适的温度导致微生物数量快速增加,并且由于淀粉是多糖,为大曲中微生物生长提供所需的能量,因此微生物对原料中淀粉分解和消耗增加;进入高温发酵期后,大量微生物死亡导致对淀粉的利用率降低,淀粉含量趋于平缓;第28天入库时,大曲温度趋于室温,且水分含量降低,微生物生长趋于平衡,微生物对淀粉的消耗比较稳定。

2.3 对培菌过程中酶活力的影响

2.3.1 发酵力 由图6可知,发酵力在整个发酵过程中先升高后降低。培菌前期,发酵力开始增加;培菌第5~12天进入高温发酵期,微生物的生长繁殖速度降低,发酵力随温度的升高开始降低;进入高温发酵后期,温度降低,微生物数量缓慢回升,发酵力基本维持稳定。

由图6还可知,黑茶菌添加组的发酵力与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$)。培菌第2天,10%和20%的黑茶菌添加组的发酵力与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$);但培菌第3,4,8,12天,有部分黑茶菌添加组的发酵力与传统大曲对照组之间差异显著($P < 0.05$);培菌第16天,茶曲试验组发酵力与对照组之间差异显著($P < 0.05$);在培菌管理结束的第28天入库时,5%

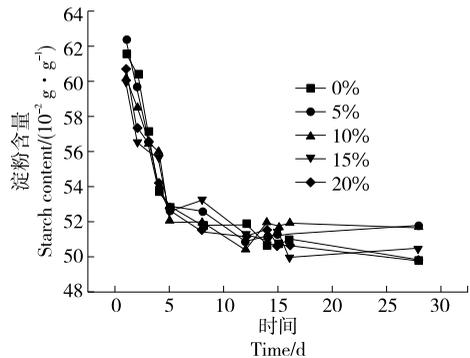


图5 大曲淀粉含量动态变化图

Figure 5 Dynamic changes of starch content in different Daqu

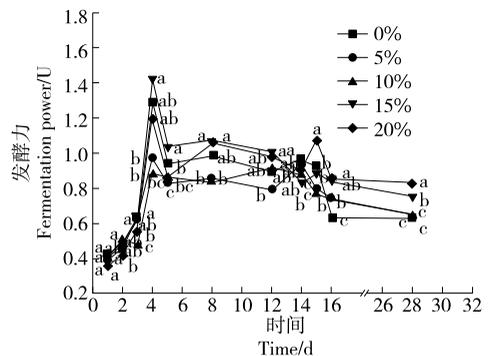
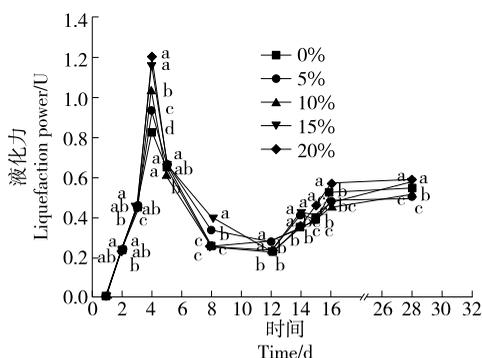


图6 大曲发酵力动态变化

Figure 6 Dynamic changes of fermentation power of different Daqu

和 10% 的黑茶菌添加组的发酵力与传统大曲对照组之间无差异显著 ($P>0.05$), 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的发酵力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$), 且能显著提高大曲的发酵力。大曲中功能霉菌以曲霉和根霉为主, 其中黑曲霉和根霉含有较强的酒化酶, 有产乙醇能力^[17], 试验以 15% 和 20% 含冠突散囊菌的黑茶菌制备强化大曲, 虽然竞争性抑制了发酵力强的酵母菌的生长繁殖, 但可能是霉菌数量显著增多而具有较强的发酵力, 因此试验组的发酵力有明显提升。

2.3.2 液化酶活力 由图 7 可知, 大曲的液化力在入库发酵时为 0, 培菌前期微生物开始生长繁殖, 液化力增加; 液化力在高温发酵期开始降低; 培菌第 12~16 天, 温度逐渐趋于室温, 液化力升高, 是由于此时微生物开始繁殖。



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

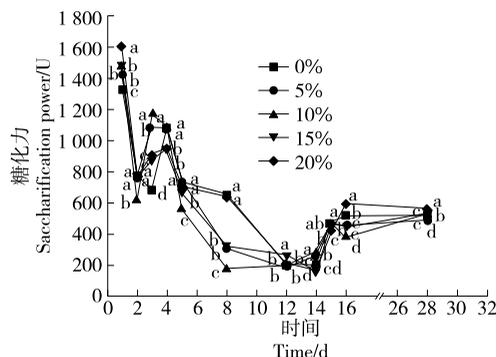
图 7 大曲液化力动态变化

Figure 7 Dynamic changes of Daqu liquefaction force

由图 7 还可知, 黑茶菌添加组的液化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$)。培菌第 2 天, 黑茶菌添加组的液化力与传统大曲对照组之间无显著差异; 但培菌第 3, 4, 8, 12, 16 天, 有部分黑茶菌添加组的液化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$), 且 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的液化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$)。在培菌管理结束的第 28 天入库时, 黑茶菌添加组的液化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$) 且能显著提高大曲的液化力; 各黑茶菌添加组之间的液化力无显著差异。

2.3.3 糖化酶活力 由图 8 可知, 大曲刚进入培菌期时, 由于原料中带有一定量的糖化酶, 因此大曲具有很高的糖化力, 随着发酵时间的增加, 环境温度升高, 微生物大量死亡, 尤其是霉菌的大量死亡, 微生物代谢产生的酶量减少, 糖化力较大幅度降低; 培菌第 12~16 天, 糖化力有所回升; 第 28 天入库时, 糖化力均维持在稳定状态。

由图 8 还可知, 黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$)。培菌第 2 天, 只有 10% 黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$); 培菌第 3 天, 黑茶菌添加组的糖化力与传统大



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

图 8 大曲糖化力动态变化

Figure 8 Dynamic changes of Daqu saccharification power

曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$) 且能显著提高糖化力; 培菌第 4 天, 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$) 且能显著降低糖化力; 培菌第 8 天, 5%, 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$) 且能显著降低糖化力; 培菌第 12 天, 只有 15% 黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$) 且能显著提高糖化力; 培菌第 16 天, 黑茶菌添加组的糖化力与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$), 其中 20% 的黑茶菌添加组能显著提高糖化力, 但其他黑茶菌添加组能显著降低糖化力。第 28 天入库时, 除 10% 的黑茶菌添加组外, 其他 3 个黑茶菌添加组的糖化力与对照组之间差异显著 ($P<0.05$), 且 15% 和 20% 的黑茶菌添加组能显著提高大曲的糖化力, 但 5% 的黑茶菌添加组能显著降低大曲的糖化力; 且各黑茶菌添加组之间的糖化力均有显著性差异 ($P<0.05$)。

3 结论

在培菌管理的 28 d 内, 与传统大曲对照组相比, 各黑茶菌添加组会引起微生物类群数量 (霉菌、酵母、细菌和冠突散囊菌)、常规理化指标 (培菌温度、酒曲水分、酸度和淀粉含量) 和酶活力 (发酵力、液化力和糖化力) 均有不同程度的变化, 且各黑茶菌添加组之间也呈不同程度的变化。在传统偏高温包曲中, 采用含冠突散囊菌的黑茶菌培养物进行强化, 在培菌管理结束的第 28 天入库时, 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的霉菌、细菌和酵母数量与传统大曲对照组之间差异显著 ($P<0.05$), 说明黑茶菌的添加能显著促进大曲中霉菌的生长繁殖、抑制大曲中细菌和酵母菌的生长繁殖; 同时, 15% 和 20% 的黑茶菌添加组的液化力和糖化力与传统大曲对照组之间呈显著性差异 ($P<0.05$), 说明黑茶菌的添加能显著提高大曲的液化力和糖化力。利用现代分子生物技术, 后续可进一步对黑茶菌强化大曲微生物区系的作用机理进行分析。

(下转第 77 页)

2.4.3 测定结果 采用高效液相色谱法测定辣椒和橙子中维生素C,当取样量为1.000 0 g, $k=2$ (置信水平95%)时,辣椒中维生素C含量为 (33.7 ± 1.4) mg/kg;橙子中维生素C含量为 (42.3 ± 1.7) mg/kg。

3 结论

从样品的称量、提取、稀释及标准物质的称量、配制、线性拟合以及测量的重复性等方面对高效液相色谱法测定蔬菜和水果中维生素C含量的不确定度进行了分析与评定。结果表明,高效液相色谱法测定蔬菜和水果中维生素C含量的不确定度主要来源于标准物质的纯度、配制及标准曲线的拟合过程,其次是测试的重复性和回收率,样品的前处理过程影响较小。针对水果、蔬菜中维生素C含量的测定,国家标准中规定了液相色谱法、荧光光度法和滴定法,试验仅对液相色谱法进行了不确定度评估,未对另外两种方法进行不确定度评估,后续有待进行另外两种方法的不确定度评估,并进行3种方法的比较。

参考文献

- [1] 徐攀攀,许会艳.果蔬中维生素C含量测定方法研究进展[J].广州化工,2020,48(8):18-20.
- [2] SHANAMIRIFARADS A, GHAEDI M. A new electrochemical sensor for simultaneous determination of arbutin and vitamin C based on hydroxyapatite-ZnO-Pd nanoparticles modified carbon paste electrode[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 141: 111474.
- [3] 张秀芹,王敏,顾莹,等. HPLC检测食品中L-抗坏血酸、D-异抗坏血酸及抗坏血酸总量[J].中国卫生检验杂志,2013,23(9):

2 056-2 061.

- [4] MAZUREK A, WLODARCZYK-STASIAK M, PANKIEWICZ U, et al. Development and validation of a differential pulse polarography method for determination of total vitamin C and dehydroascorbic acid contents in foods[J]. LWT, 2020, 118: 108828.
- [5] 罗志辉,陈丽娜,陈冠丹,等.新型紫外可见光法测定沙田柚中维生素C的含量[J].食品安全质量检测学报,2018,9(10):2 321-2 325.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定:GB 5009.86—2016[S].北京:中国标准出版社,2016:2-3.
- [7] 李晓东.磷钼钼蓝分光光度法测定水果、蔬菜及饮料中L-抗坏血酸[J].理化检验(化学分册),2018,54(5):579-583.
- [8] 杨媛,冯晓元,石磊,等.高效液相色谱法同时测定水果蔬菜中L-抗坏血酸、d-异抗坏血酸、脱氢抗坏血酸及总维生素C的含量[J].分析测试学报,2015,34(8):934-938.
- [9] 宁霄,金绍明,梁瑞强,等.超高效液相色谱—串联质谱法测定猪肉中 β -受体激动剂残留量的不确定度分析[J].食品科学,2017,38(6):315-320.
- [10] 刘柱,徐潇颖,赵超群,等.同位素稀释—超高效液相色谱—串联质谱法测定水产品中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物残留量的不确定度评定[J].食品工业科技,2020,48(5):206-214.
- [11] 黄坤,王会霞,范小龙,等.超高效液相色谱—串联质谱法测定炒货中组胺含量的不确定度评定[J].食品与机械,2019,35(8):64-68.
- [12] 陈梦,卢光英,王伟影,等.高效液相色谱—串联质谱法测定红酒中安赛蜜含量的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2020,11(5):1 611-1 615.

(上接第32页)

参考文献

- [1] 刘延波,张世凯,赵志军,等.高产淀粉酶细菌的分离鉴定及产酶条件优化[J].食品与机械,2020,36(1):65-71.
- [2] 申孟林,张超,王玉霞,等.白酒大曲微生物酶系研究进展[J].中国酿造,2018,37(4):7-11.
- [3] 黄治国,刘娜,卫春会,等.高温大曲曲房空气中可培养细菌的分离鉴定及产酶特性研究[J/OL].食品与机械.(2020-11-24)[2021-04-19].<https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ&dbname=CAPJLAST&filename=SPJX20201123002&v=MDIxOTFHWk9zTlI3OU16bVJuNm01N1QzZmxxV00wQ0xMN1I3cWRadVpyRkNua1c3ckpJVjA9TmozQmRyRzRITkhOcm8x>.
- [4] 柯涛,周业皓,姜鹏,等.中高温强化大曲生产工艺及特性研究[J].中国酿造,2019,38(2):47-52.
- [5] LI Pan, LIN Wei-feng, LIU Xiong, et al. Effect of bioaugmented inoculation on microbiota dynamics during solid-state fermentation of Daqu starter using autochthonous of Bacillus, Pediococcus, Wickerhamomyces and Saccharomyces[J]. Food Microbiology, 2017, 61: 83-92.
- [6] 刘宇,管桂坤,万自然,等.复合功能微生物在酱香型白酒生产中的应用研究[J].酿酒科技,2019(12):98-104,118.
- [7] 姜鹏.一种增香高酯中高温强化大曲的生产及应用[D].南阳:

南阳师范学院,2017:36-37.

- [8] 王晓娜.夏秋茶大曲的研制及混合固态发酵茶酒的研究[D].合肥:安徽农业大学,2019:10-22.
- [9] 刘静,李湘利,许秀媛,等.茯砖茶中冠突散囊菌的分离及培养条件优化[J].食品科技,2020,45(10):41-45.
- [10] 张亚,黄亚亚,韩卓潇,等.微型茯砖茶加工及“金花”菌鉴定[J].食品科技,2018,43(7):116-122.
- [11] 张月,崔旋旋,刘英学,等.茯砖茶中冠突散囊菌的分离鉴定及其发酵工艺和生物活性研究[J].食品与发酵工业,2020,46(22):202-207.
- [12] 肖哈汕,李滔滔,涵涵,等.冠突散囊菌繁殖体提取物抑菌活性研究[J].食品与发酵工业,2020,46(14):65-69.
- [13] 李鹏程,肖咪,薛宏坤,等.冠突散囊菌发酵枸杞工艺优化及其抗氧化活性研究[J].食品科技,2021,46(2):51-58.
- [14] 刘梦培,铁珊珊,王璐,等.发酵条件对杜仲茶组分及抗氧化性的影响[J].食品科技,2018,43(2):105-108.
- [15] 卢恒谦.冠突散囊菌液态发酵制备速溶黑茶及其功能研究[D].合肥:安徽农业大学,2016:37-40.
- [16] 刘安然,罗俊,易贵云,等.包包曲生产和应用试验[J].酿酒科技,2006(7):62-64.
- [17] 潘菲.高糖化力霉菌的筛选及其对特香型白酒酿造出酒率和风味的影响[D].南昌:南昌大学,2018:23-25.