

酱香型白酒核心产区大曲的酶系分析

印丽, 邱树毅, 曹文涛, 班世栋, 王晓丹

(贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州大学贵州省发酵工程与生物制药重点实验室, 贵州贵阳 550025)

摘要: 本研究以茅台镇酱香型白酒核心产区大曲及从中分离的霉菌为研究材料, 分析茅台镇酱香白酒 5 个酒厂酿造大曲的理化指标、水解酶活及其霉菌水解酶组成及酶活, 以进一步解析酱香大曲霉菌与大曲功能的关系。结果显示, 酱香型大曲间糖化力 86.91~535.06 mg/(g·h) 差异较大, 其它理化指标无显著差异, 且 5 种大曲中都能检测到多种水解酶酶活, 但液化酶、糖化酶、纤维素酶、脂肪酶、植酸酶差异较大, 可能与大曲中的霉菌种类有关。此外, 分析从大曲中分离霉菌产酶活性, 发现分离霉菌能产多种酶, 且霉菌产糖化酶酶活 (0~1724.56 U/g) 和中性蛋白酶酶活 (0~2671.00 U/g) 差异较大。曲霉主要产糖化酶、蛋白酶、果胶酶等, 毛霉主要产糖化酶和蛋白酶, 根霉主要产糖化酶, 青霉主要产脂肪酶和果胶酶, 说明霉菌对大曲中酶系的形成有重要作用。

关键词: 酱香型大曲; 霉菌; 酶活

文章篇号: 1673-9078(2021)03-89-96

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0749

Analysis of Daqu Enzymes from the Core Production Area of Maotai-flavor Liquor

YIN Li, QIU Shu-yi, CAO Wen-tao, BAN Shi-dong, WANG Xiao-dan

(School of Liquor and Food Engineering Guizhou University, Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biological Pharmacy of Guizhou Province Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In this study, Daqu from the Maotai-flavor liquor core production area of Maotai Town and the molds isolated from the Daqu were used as research materials, the physicochemical indices, hydrolase activity, fungal hydrolase composition and enzyme activities of the Daqu samples of five Maotai-flavor liquor distilleries were analyzed, and the relationship between the molds of Maotai-flavor Daqu and the function of Daqu. The results showed that the saccharification power of Maotai-flavor Daqu differed significantly 86.91~535.06 mg/(g·h), with insignificant differences in other physical and chemical indices. The activities of various hydrolases were detected in all the five Daqu samples, but the differences of liquefaction enzyme, saccharification enzyme, cellulase, lipase and phytase were relatively large, which might be related to the mold species in Daqu. In addition, the analysis of the enzyme-producing activity of the mold isolated from Daqu revealed that the isolated molds could produce a variety of enzymes, and the activities of saccharification enzyme (0~1724.56 U/g) and neutral protease (0~2671.00 U/g) were different. *Aspergillus* sp. mainly produced saccharification enzyme, protease and pectinase, *Mucor* sp. Mainly produced saccharification enzyme and protease, *Rhizopus* sp. mainly produced saccharification enzyme, *Penicillium* sp. mainly produced lipase and pectinase, indicating that molds play an important role in the formation of the enzymatic system in Daqu.

Key words: Maotai-flavor Daqu; mold; enzyme activity

引文格式:

印丽, 邱树毅, 曹文涛, 等. 酱香型白酒核心产区大曲的酶系分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(3): 89-96

YIN Li, QIU Shu-yi, CAO Wen-tao, et al. Analysis of Daqu enzymes from the core production area of maotai-flavor liquor [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 89-96

收稿日期: 2020-08-12

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2018]2834; 黔科合平台人才[2018]5251; 黔科合平台人才[2019]5645); 贵州大学培育项目(黔科合平台人才[2017]5788-23)

作者简介: 印丽(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物代谢调控

通讯作者: 王晓丹(1980-), 女, 博士, 正高级实验师, 研究方向: 发酵工程

酱香型大曲是以纯种小麦为原料制成的含多种微生物和酶的发酵剂, 制曲温度在 60~65 °C, 为白酒提供微生物、酶系、风味物质, 以及风味前体物质^[1-3]。在大曲的发酵以及贮存过程中, 由于微生物的生理生化代谢会产生一系列的酶, 如酸性蛋白酶、中性蛋白酶、液化酶、糖化酶、纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶、脂肪酶、单宁酶和植酸酶等, 进而形成了酱香大

曲特有的酶系^[4-6]。这些酶能将原料中大分子物质降解成为小分子,以供微生物生长利用及发酵代谢^[7]。其中一些代谢产物是白酒中重要的风味物质或风味前体物质,这些代谢产物虽含量低,但对酱香型白酒风格特征的形成具有重要作用。

大曲中含有丰富的霉菌,且大多数的霉菌都参与酒醅发酵^[8],研究表明,霉菌代谢为大曲提供了丰富的酶系^[9],推动了大曲的发酵成熟,对大曲质量以及功能特性的形成起着关键作用^[10]。酱香大曲分离的霉菌均能产生糖化酶、液化酶、蛋白酶,是酿造原料降解的高活性酶^[11],青霉、曲霉、毛霉是产这三种酶的主要菌群^[12]。有研究对酱酒各主酿区霉菌差异性进行分析,发现各主酿区霉菌种群结构在大曲样品中的差异性较高,但主体发酵菌相似^[13,14];同时有研究发现,酿造大曲各轮次霉菌之间传承性较强,起主导作用霉菌具有极强的传承性^[15]。

一直以来学界缺乏针对大曲霉菌多样性类群结构与产酶特性之间联系的研究,不同种类的霉菌在酿造过程中代谢的酶类存在差异,发挥不同的功能,霉菌类群的差异必然影响酶种类及酶活差异,因此探究二者的关系可以更加明确酱香大曲各种具体特征品质的来源。本研究以贵州遵义地区的酱香大曲及从中分离的霉菌为研究材料,研究大曲的理化指标和水解酶系,同时测定了霉菌水解酶的组成及酶活,对比分析大曲霉菌与大曲酶系及理化指标的关系,以进一步研究大曲微生物与大曲功能的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与培养基

1.1.1 材料

样品:贵州遵义茅台镇区域5个酒厂酿酒曲粉。样品编号为MF01、MF02、MF03、MF04、MF05。

1.1.2 菌种

菌株为筛选自茅台镇5个酒厂大曲的66株霉菌,其中:20株曲霉属、10株散囊菌属、8株毛霉属、8株拟青霉属、6株横梗霉属、5株青霉属、3株犁头霉属、2株根毛属、2株根毛霉属、1株红曲霉属及1株嗜热子囊菌。

1.1.3 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯浸粉0.5%,葡萄糖2%,琼脂1.5%,氯霉素0.01%,pH 5.8~6.2。

麸皮培养基:15g麸皮(过40目筛)、15g蒸馏水,121℃灭菌20min。

1.2 仪器与设备

超净工作台(SW-CJ-LFD),苏州市金净净化设备科技有限公司;霉菌培养箱(BMJ-250B-Z),上海博讯实业有限公司医疗设备厂;立式压力蒸汽灭菌锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;可见光分光光度计(722S),上海菁华科技仪器有限公司;光学显微镜,日本尼康;电子天平(FA2004N),上海菁海仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大曲的理化指标测定

大曲的酸度、淀粉、水分、氨基酸态氮、发酵力、酯化力、糖化力和液化力的测定参照行业标准《酿酒大曲通用分析方法》^[16]。

1.3.2 霉菌粗酶液制备

将从大曲中分离得到的霉菌接种到PDA斜面上活化,挑取单菌落接种到PDA斜面培养,用无菌生理盐水洗去试管斜面上的孢子,以10%的接种量接种到麸皮培养基培养,称取培养物稀释10倍,40℃水浴1h,每隔15min搅拌一次,滤纸过滤,用于测定酶活^[16]。

1.3.3 酶活测定方法

酸性、中性蛋白酶测定方法参照国标蛋白酶活力测定法^[17];液化酶测定测定方法采用Young J. Yoo改良法^[18];糖化酶测定测定方法采用DNS法^[19];纤维素酶测定测定方法采用DNS法^[20];半纤维素酶测定测定方法采用DNS法^[21];果胶酶测定测定方法采用国标食品工业用酶制剂GB 1886.174-2016^[22];脂肪酶测定测定方法采用国标脂肪酶酶活检测方法GB/T 23535-2009^[23]中电位滴定法;单宁酶测定测定方法采用分光光度法^[24];植酸酶测定测定方法采用国标饲用植酸酶活性的测定GB/T 18634-2009^[25]。

2 结果与分析

2.1 大曲的理化指标和大曲的酶系

大曲是以纯种小麦为原料制成的含有多种微生物和酶类的发酵剂,以5个酱香大曲作为实验材料,测定大曲的各理化指标(酸度、淀粉、水分、氨基酸态氮、发酵力、酯化力、糖化力和液化力)以及蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、半纤维素酶、脂肪酶、果胶酶、单宁酶和植酸酶构成的酶系。

大曲的水分、酸度、淀粉、氨基酸态氮等是评价大曲质量的主要理化指标,对5种酱香大曲测定理化

指标及大曲水解酶活测定结果如表 1、2 所示。大曲水分含量与大曲微生物生长及酶的生成密切相关, 对大曲品质具有显著影响, 一般成品曲水分含量不高于 13%, 若大曲中水分含量太高, 大曲易发生二次生霉^[26], 同时水分含量亦不可过低, 过低则影响微生物生长代谢及酶活, 使大曲质量降低。大曲微生物不能直接利用淀粉进行发酵, 因此需要将原料中的淀粉进行糖化降解, 大曲糖化力与糖化酶活力和液化酶活力密切相关, 糖化力高则大曲中淀粉利用率高, 关系到原料的糖化结果, 影响白酒的出酒率。结果显示各大曲

均有糖化酶和液化酶含量高而淀粉含量低的趋势。大曲样品中糖化酶活力在 445 U/g~1263 U/g, 差别很大, 使得各大曲的糖化力差异大。而糖化酶和液化酶活力大小与大曲中微生物的生长、繁殖、代谢直接相关, 尤其是霉菌, 其中曲霉、根霉对大曲糖化力影响较大。糖化酶作为淀粉水解酶, 作用于淀粉的非还原性末端的 α -1,4-葡萄糖苷键, 可将淀粉、糊精等水解为葡萄糖, 且有助于酵母分解葡萄糖生成乙醇^[19,27]。酱香大曲由纯种小麦制得, 而小麦中淀粉的含量最高, 为微生物生长代谢提供丰富的糖源。

表 1 大曲理化指标

Table 1 The physicochemical parameters in five Daqu

大曲	水分/%	酸度/ (mmol/10 g)	淀粉含量 (g/100 g)	氨基酸态氮 (g/kg)	酯化力/ (mg/50 g·7 d)	发酵力/ (g/0.5 g·72 h)	液化力/ (g/g·h)	糖化力/ (mg/g·h)
MF01	9.54±0.07	1.40±0.02	63.84±0.00	3.28±0.00	9.68±1.49	0.09±0.01	0.01±0.00	204.21±6.61
MF02	12.13±0.05	1.27±0.05	66.47±0.00	3.43±0.02	8.93±0.74	0.58±0.01	0.01±0.00	86.91±0.68
MF03	7.78±0.07	1.10±0.00	62.64±0.06	4.00±0.01	14.88±3.71	0.32±0.01	0.01±0.00	186.10±2.91
MF04	11.63±0.06	1.69±0.02	59.84±0.98	4.33±0.04	13.60±7.56	0.42±0.06	0.01±0.00	535.06±0.00
MF05	9.10±0.03	1.66±0.04	67.70±0.09	3.70±0.02	8.31±0.76	0.37±0.02	0.01±0.00	304.83±1.22

表 2 大曲的水解酶系 (U/g)

Table 2 The hydrolytic enzymes in five Daqu

样品	酸性蛋白酶	中性蛋白酶	液化酶	糖化酶	纤维素酶
MF01	45.72±11.59	20.66±3.00	156.60±10.45	732.58±12.87	0.00±0.00
MF02	72.19±4.23	11.70±2.42	15.68±4.83	445.65±12.66	0.00±0.00
MF03	69.75±1.64	11.92±4.64	357.12±0.65	727.92±19.64	0.00±0.00
MF04	20.52±2.97	19.25±1.67	308.06±1.95	1263.13±42.02	45.49±1.02
MF05	12.76±4.65	11.71±2.49	389.58±1.58	523.46±16.13	3.61±1.80
样品	半纤维素酶	脂肪酶	果胶酶	单宁酶	植酸酶
MF01	0.06±0.01	3.18±0.95	147.02±4.14	0.47±0.15	4.78±1.57
MF02	0.06±0.00	23.15±7.00	124.55±20.76	0.19±0.08	1.49±0.29
MF03	0.17±0.01	3.27±0.73	133.32±14.36	1.31±0.20	1.00±0.00
MF04	0.00±0.00	1.36±0.34	180.95±4.16	0.07±0.06	43.92±1.71
MF05	0.00±0.00	10.24±2.79	179.96±4.14	0.12±0.05	33.61±0.58

同时, 大曲中果胶、蛋白质、脂肪和纤维素等的降解也有利于原料中淀粉的降解, 各样品中都检测到酸性蛋白酶、中性蛋白酶和果胶酶, 而纤维素酶只有在 MF04 和 MF05 中检测到, 半纤维素酶在这两个大曲中并未检测到, 而这两种酶的加入好像对淀粉含量没有太大影响, 可能与大曲制作时就已经粉碎, 原料中就已经有大量的淀粉有关。大曲中氨基酸态氮的含量与大曲中酸性蛋白酶的活力以及产酸微生物有着密切关系, 蛋白酶降解小麦中的蛋白质成小分子的多肽和氨基酸, 使得大曲中的酸度增高, 由于蛋白质对淀粉的包裹作用, 阻遏淀粉的降解速度, 因此提高蛋白质的降解速度, 有利于淀粉的降解, 大曲中 MF01、

MF03 和 MF02 的两种蛋白酶活性相对较高, 但酸性并不高, 说明降解的氨基酸参与了微生物的生长代谢。在微生物生长过程中, 氮源的含量影响微生物的生长代谢, 高含量的氨基酸促进酵母的代谢, 同时为美拉德反应提供了前驱物质。此外产酒酵母和产酯酵母是提供大曲发酵力和酯化力的主要微生物, 从结果可知, 各样品都有一定的发酵力和酯化力, MF01 的发酵力很低, 应该与酵母的数量和种类有关, 酯化力没有明显差异。大曲中的生酸微生物能够利用淀粉、脂肪、蛋白质的降解以及有机酸代谢产酸, 因此大曲酸度与大曲中糖化酶、液化酶、酸性蛋白酶、脂肪酶等活力高低以及产酸微生物密切相关, 但从结果可以看到

MF02 的蛋白酶和脂肪酶含量都比较高,但酸度并不高,可能生成酸代谢为其它物质,如酯类。此外,酸性蛋白酶分解大曲原料中蛋白质生成的多肽及氨基酸等白酒呈香物质或者前驱物质,同时,氨基酸和还原糖可以发生美拉德反应,生成了白酒呈香物质的前驱物质,有文献报道大曲中的酸性蛋白酶的主要来源为米曲霉、黑曲霉、根霉^[28],这种酶活的差别可能与霉菌的类群组成有关系。

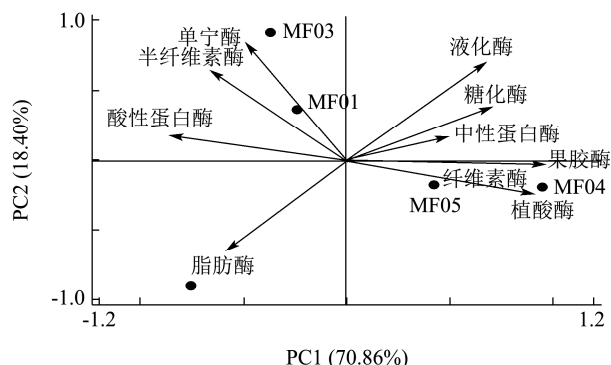


图1 大曲酶系主成份分析图

Fig. 1 The principle analysis of Daqu enzymes

由图1的主成分分析图可以明确看出各个样品之间酶类组成的差异,以及形成这种差异的酶类。单宁酶(Tannase)是直接影响MF01与其他样品差异的酶类,高粱为白酒发酵原料,高粱含有单宁,单宁能和蛋白质发生络合反应而沉淀,从而影响了微生物的代谢和生长,而微生物产生的单宁酶能降解原料中的单宁,降低单宁的毒性作用,而且单宁酶可降低白酒的苦涩味,对白酒的口感有改善作用^[24,29]。半纤维素酶(Hemicellulase)、植酸酶(phytases)是影响MF04与MF05位置关系的酶类,微生物降解半纤维素比纤维素快,半纤维素降解产物在代谢过程中有乙醇、呋喃衍生物和芳香化合物的生成,而且有些脂肪酸会抑制降解半纤维素^[30]。脂肪酶(Lypase)决定了MF02与其他样品的区别,在白酒发酵过程中,脂肪酶对酒酯发酵时的酯类物质影响较大,能提高白酒总酯的含量,从而促进白酒中酸、醇和酯的平衡^[31-33]。

白酒作为一种具有独特发酵工艺和复杂微生物群落传统固态发酵产物,是由酵母、霉菌、细菌等多种微生物构成的发酵微生物群落在自然环境和人为调节的影响下通过天然发酵形成的风味代谢产物。酱香大曲生产过程中,微生物的生长繁殖代谢过程会产生各种酶类,从而形成了酱香大曲的酶系,使得酱香大曲具有酯化力、发酵力、糖化力、液化力等。由于制作大曲的原料品质不同以及地理位置和制作工艺等存在一定差异导致微生物菌群存在差异性,因此5个酒厂大曲理化指标存在一定差异。而大曲这些动态理化

数据体现了大曲的品质,为进一步提高酱香大曲品质提供了理论依据。

2.2 大曲中霉菌产酶与霉菌类群关系

霉菌是作为固态法白酒酿造过程中的关键微生物,具有协同发酵的作用,能够大量产生糖化酶、蛋白酶等重要水解酶类,为整个发酵体系提供基础酶动力。各种霉菌生长代谢对大曲中酵母菌和细菌等微生物群落结构的形成以及菌种代谢途径有着十分重要的影响,因此环境及菌群的差异造就了大曲不同的酶活特性。通过探究霉菌的产酶特征,并分别绘制霉菌产酶箱线图以及星形图反映检测的霉菌类群对大曲酶活体系的影响。

2.2.1 不同大曲中霉菌产酶星形图

星形图反映了大曲中各株霉菌产水解酶活力信息(图2),其中,每个小星形图代表了一种霉菌菌种,以不同颜色星形图扇形表示水解酶系的种类,且各水解酶相对活力大小以扇形半径表示,扇形半径越长则代表此扇形所对应酶的相对酶活力越大。

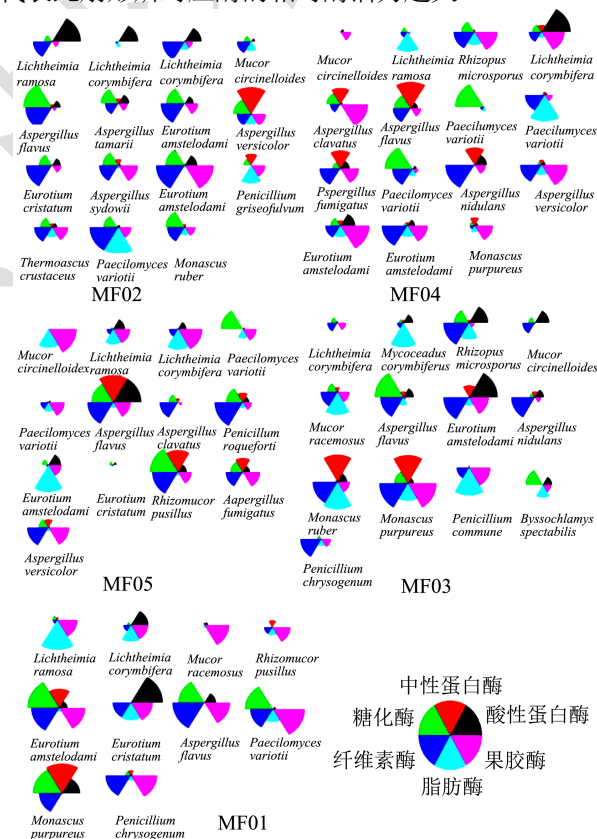


图2 五种酱香大曲霉菌产酶星形图

Fig.2 Star graph of fungus' enzyme production in five kinds of sauce-flavor Daqu

在产糖化酶上,5种酱香大曲中有六种霉菌表现了较高的产糖化酶能力包括: *Aspergillus flavus*、*Rhizomucorpusillus*、*Monascus purpureu*、*Mucor*

purpureu、*Paecilomyces variotii*、*Eurotium amstelodami*、*Penicillium roqueforti*, 酶活力>1000 U/g。 *Aspergillus flavus*、*Rhizomucorpusillus*、*Monascus purpureu*、*Mucor purpureu* 菌株有研究证实实在清香^[34]、酱香大曲^[35]、酱油^[36]、黄豆酱^[37]和食醋^[38,39]等发酵产品中为糖化酶的重要来源。特别是 *Aspergillus flavus* 在酱香大曲中表现了很强的糖化酶活力。 *Paecilomyces variotii*、*Eurotium amstelodami*、*Penicillium roqueforti* 三株霉菌则为此次酱香大曲中发现的新型主要糖化菌株。

霉菌菌株也是酱香大曲中蛋白酶的主要来源, 研究中共有 9 株霉菌包括: *Aspergillus flavus*、*Aspergillus tamarii*、*Monascus purpureus*、*Lichtheimia corymbifera*、*Lichtheimia ramosa*、*Eurotium cristatum*、*Eurotium amstelodami*、*Aspergillus fumigatus* 和 *Aspergillus nidulans*, 酶活力>100 U/g。其中 *Aspergillus flavus*、*Aspergillus tamarii*、*Monascus purpureus* 在酱油、食醋、浓香及酱香白酒酿造中是蛋白酶的主要分泌菌株。此外, *Lichtheimia corymbifera*、*Lichtheimia ramosa*、*Eurotium cristatum*、*Eurotium amstelodami*、*Aspergillus fumigatus* 和 *Aspergillus nidulans* 等是此次研究新发现的高产蛋白酶活菌株。

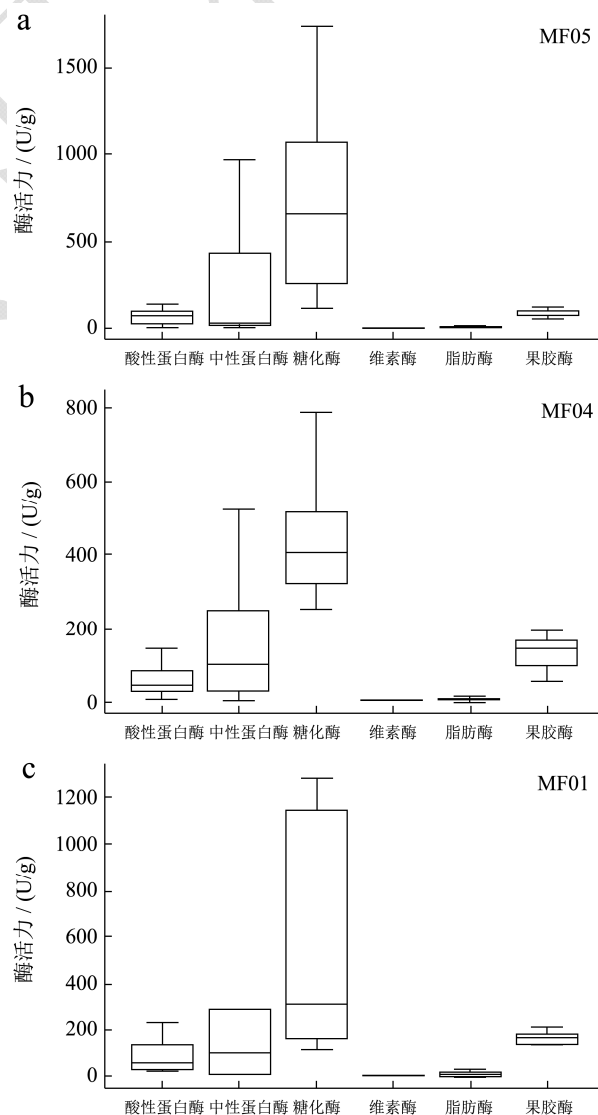
与图 2 对比发现大曲中的纤维素酶活力较低有的样品几乎没有, 大曲中多数霉菌产纤维素酶活力 0.36~2.07 U/g。脂肪酶活力整体也不高, 在脂肪酶活力>20.0 U/g 的菌株中发现, *Penicillium griseofulvum* 是一种耐酸微生物, 主要代谢产生苯并呋喃酮类、内酯类及聚酮类化合物^[40], 本实验首次发现其具有产脂肪酶能力。

与图 2 对比发现大曲中的果胶酶活力 120~180 U/g, 霉菌为大曲提供了大量的果胶酶; *Eurotium amstelodami*、*Penicillium chrysogenum*、*Paecilomyces variotii*、*Monascus purpureus*、*Aspergillus sydowii* 提供了超过 180 U/g 的果胶酶。

Monascus ruber、*Monascus purpureus* 菌株均属于红曲霉属, 是浓香型白酒发酵的主要功能菌, 能产生蛋白酶、糖化酶、麦芽糖酶、果胶酶等酶类以及红曲色素、麦角甾醇、 γ -氨基丁酸等生理活性物质^[41], 由实验证明他们在酱香型白酒高温大曲中也表现出较高的产酶特性。通过上述分析, 可见酱香大曲中的各种霉菌类群的产酶功能性呈现出多样性特点, 不同种类的霉菌在酿造体系中各司其职, 产出多种水解酶类以促进原料的降解; 大曲霉菌类群结构与产酶特性之间的确存在重要的联系, 也正是由于独特的霉菌类群结构特征, 造就了大曲产酶特性, 从而赋予酱香大曲优秀的品质。

2.2.2 大曲中霉菌产酶箱线图

结合图 3 分析各大曲霉菌产水解酶能力, 分析霉菌类群组成与总体霉菌产酶特征的联系。图中矩形方框的大小表示一种大曲中各霉菌菌属生产该种水解酶能力的大小, 方框跨越的范围越大, 产酶能力差异也越大。酱香大曲总体产糖化酶的活力都明显高于其它水解酶类(表 2), *Aspergillus* sp.、*Rhizopus* sp.等菌属具有较为突出产糖化酶能力, 而酱香性大曲以 *Aspergillus* sp.、*Rhizopus* sp.、*Lichtheimia* sp.为主要优势菌群的霉菌群落结构, 必然造成大曲呈现出良好的糖化降解性能, 同时各大曲间存在的糖化酶活力差异, 也与优势菌属含量分布的不同有密切联系。如 MF03 样品产蛋白酶能力较弱, 另 4 种样品则具有较高能力且产酶能力相似, 但具体功能菌株差异较大, 主要产酶优势菌群 *Aspergillus* sp.、*Rhizopus* sp.总体含量高, 进而导致了类似且突出的产蛋白酶能力^[42,43], 也由于 *Lichtheimia* sp.、*Eurotium* sp.等重要功能菌类群结构的区别, 形成了样品间的差异。



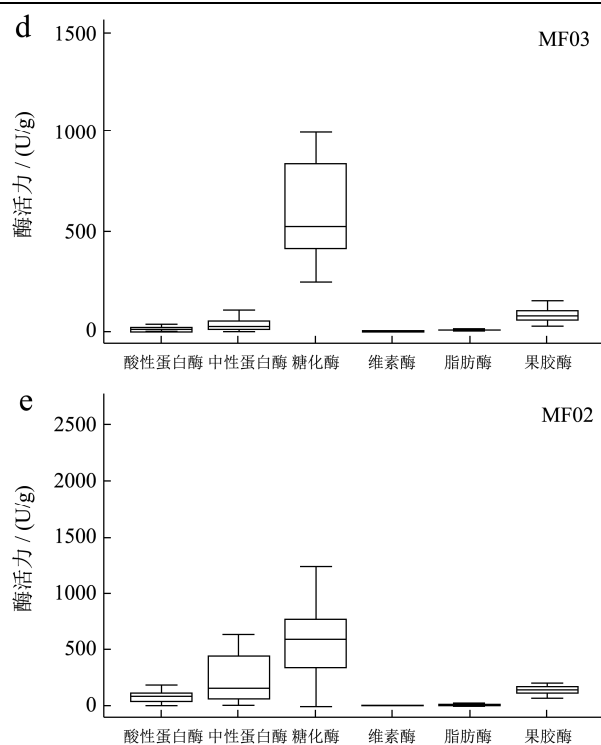


图3 五种酱香大曲霉菌产酶箱线图

Fig.3 The boxplot of fungus' enzyme production in five kinds of sauce-flavor Daqu

大曲中果胶酶活力高于纤维素酶、脂肪酶, 高产菌株中多种属于类群优势菌属 *Aspergillus* sp. 样品间无太大差异。而 MF04 含较多高产果胶酶菌株, 如 *Aspergillus* sp.、*Eurotium* sp. 等, 因此较其他大曲具有更高的果胶酶活力。生产纤维素酶、脂肪酶类能力较高的菌株在大曲中总体分布很低但含量接近, 因而总体活性较低且类似。

总之, 酱香大曲霉菌总体产酶特征与霉菌类群结构组成密切相关, 正是由于大曲霉菌群落结构的多样性造就了独特的产酶特征, 优势菌属与非优势菌属均会对产酶情况造成影响, 但做出的贡献存在区别。

3 结论

3.1 本文对酱香型白酒核心产区大曲理化指标、酶活及分离霉菌酶活分析, 发现大曲部分理化指标与酶活之间存在显著的相关性, 确定大曲理化指标中酸度与曲中酸性蛋白酶和脂肪酶活力紧密联系; 淀粉含量与曲中的液化酶活力、糖化酶活力、酸性蛋白酶活力、纤维素酶活力、半纤维素酶活力、和果胶酶活力紧密联系, 大曲都有糖化酶和液化酶活力高淀粉含量低的趋势; 液化力、糖化力和曲中的液化酶活力、糖化酶活力紧密联系; 氨基态氮含量与曲中酸性蛋白酶活力紧密联系。

3.2 霉菌产中性蛋白酶、糖化酶、果胶酶的能力高于

产酸性蛋白酶、纤维素酶和脂肪酶的活力。酱香大曲中分离的 66 株霉菌产酶能力差异很大, 曲霉属产中性蛋白酶能力最强, 根霉、黄曲霉产糖化酶能力最强。通过对照分析, 酱香大曲霉菌总体产酶特征与霉菌类群结构组成密切相关, 霉菌群类结构对大曲酶活体系具有深远影响, 为整个发酵体系提供基础酶动力。

参考文献

- [1] 张志刚, 李长文. 高温大曲生产技术进展及发展趋势[J]. 中国酿造, 2013, 32(6): 9-11
ZHANG Zhi-gang, LI Chang-wen. Progress and development trend of production technology of high temperature Daqu [J]. China Brewing, 2013, 32(6): 9-11
- [2] 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 Min. Study on microecological diversity of Maotai flavor Daqu based on high throughput sequencing [D]. Guiyang: Guizhou University, 2018
- [3] WANG Qiang, ZHANG Hong-xun, LIU Xiu. Microbial community composition associated with Maotai liquor fermentation [J]. Pubmed, 2016, 81(6): 1485-1494
- [4] LIU Jing-jing, CHEN Jing-yu, FAN Yi, et al. Biochemical characterisation and dominance of different hydrolases in different types of Daqu-a Chinese industrial fermentation starter [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(1)
- [5] 李兵, 张超, 王玉霞, 等. 白酒大曲功能微生物与酶系研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(6): 7-12
LI Bing, ZHANG Chao, WANG Yu-xia, et al. Research progress on functional microbes and enzymes in Daqu of Baijiu [J]. China Brewing, 2019, 38(6): 7-12
- [6] WANG Chang-lu, SHI Dong-jian, GONG Guo-li. Microorganisms in Daqu: a starter culture of Chinese Maotai-flavor liquor [J]. Springer Netherlands, 2008, 24(10): 2183-2190
- [7] ZHENG Xiao-Wei, Tabrizi M R, Nout M J R, et al. Daqu - a traditional Chinese liquor fermentation starter [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2012, 117(1): 82-90
- [8] 戴奕杰, 李宗军, 田志强. 酱香型白酒大曲和糟醅的真菌多样性分析[J]. 现代食品科技, 2018, 34(7): 97-104
DAI Yi-jie, LI Zong-jun, TIAN Zhi-qiang. Analysis of Maotai-flavor Daqu and fungal diversity of fermented grains [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(7): 97-104
- [9] 李绍亮, 李学思, 侯小歌, 等. 宋河酒曲中主要霉菌的鉴定及

- 其产酶特性的研究[J].酿酒,2016,43(6):24-29
- LI Shao-liang, LI Xue-si, HOU Xiao-ge, et al. Study on the identification of important mould isolated from Songhe Daqu and the function of enzyme production by mould [J]. Liquor Making, 2016, 43(6): 24-29
- [10] 李豆南,邱树毅.酱香大曲微生物菌群结构及微生物功能研究概述[J].中国酿造,2017,36(1):5-11
- LI Dou-nan, QIU Shu-yi. Overview of microbial community structure and function in Moutai-flavor Daqu [J]. China Brewing, 2017, 36(1): 5-11
- [11] 戴奕杰,李宗军,田志强,等.酱香型白酒酿造过程中微生物及其代谢产物研究进展[J].酿酒科技,2018,11:85-96
- DAI Yi-jie, LI Zong-jun, TIAN Zhi-qiang, et al. Research progress in microbes and their metabolites during the fermentation of Jiangxiang Baijiu [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2018, 11: 85-96
- [12] 袁庆云.酱香型白酒发酵过程中微生物的功能研究[J].酿酒,2016,43(4):15-20
- YUAN Qi-yun. Research microbial functions in the fermentation process of Maotai-flavor liquor [J]. Liquor Making, 2016, 43(4): 15-20
- [13] 朱治宇,黄永光.基于高通量测序对茅台镇酱香白酒主酿区域霉菌菌群结构多样性的解析[J/OL].食品科学,1-11[2020-07-16].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200313.1610.044.html>
- ZHU Zhi-yu, HUANG Yong-guang. Structural diversity analysis of mold fungi in Maotai Zhenjiu liquor based on high-throughput sequencing [J/OL]. Food Science, 1-11[2020-07-16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200313.1610.044.html>
- [14] 孙利林,李立郎,胡萍,等.酱香型白酒大曲的微生物菌群结构及风味成分分析[J].现代食品科技,2020,36(8):299-306+193
- SUN Li-lin, LI Li-lang, HU ping, et al. Analysis of microbial community structure and flavor composition of Maotai-flavor Daqu [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 299-306+193
- [15] 朱治宇,黄永光.茅台镇酱香白酒不同轮次主酿区可培养霉菌种群结构多样性[J].食品科学,2020,41(22):184-192
- ZHU Zhi-yu, HUANG Yong-guang. Mutant population structure diversity of Maotai Town's sauce-flavored liquor in different rounds [J]. Food Science, 2020, 41(22): 184-192
- [16] 班世栋.酱香大曲中霉菌菌群和酶系研究[D].贵州:贵州大学,2015
- BAN Shi-dong. Study on fungal groups and enzyme system in Maotai-flavor Daqu [D]. Guizhou: Guizhou University, 2015
- [17] SB/T 10317-1999,蛋白酶活力测定法[S]
- SB/T 10317-1999, Measurement of proteinase activity [S]
- [18] 姜涌明,史永昶,隋德新.枯草芽孢杆菌 86315 α -淀粉酶的研究 II.分离提纯、性质及动力学[J].江苏农学院学报,1992,2:47-56
- JIANG Yong-ming, SHI Yong-chang, SUI De-xin. A Study on α -amylase from *Bacillus subtilis* 86315 II. Purification, properties and kinetics [J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 1992, 2: 47-56
- [19] 孙淑琴,邵冬梅.比色法快速测定糖化酶活力新方法[J].河北省科学院学报,1997,2:36-40
- SUN Shu-qin, SHAO Dong-mei. A new method for rapid determination of glucoamylase activity by colorimetry [J]. Journal of the Hebei Academy of Sciences, 1997, 2: 36-40
- [20] 赵玉萍,杨娟.四种纤维素酶活力测定方法的比较[J].食品研究与开发,2006,3:116-118
- ZHAO Yu-ping, YANG Juan. Comparison of four cellulase activity measurement methods [J]. Food Research and Development, 2006, 3: 116-118
- [21] 董国强,张孟白,林开江.半纤维素酶的 DNS 液显色法测定[J].浙江农业科学,1989,2:88-89
- DONG Guo-qiang, ZHANG Meng-bai. LIN Kai-jiang. Determination of hemicellulase with DNS solution [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 1989, 2: 88-89
- [22] GB 1886.174-2016,食品安全国家标准食品添加剂食品工业用酶制剂[S]
- GB 1886.174-2016, National Food Safety Standard Food Additives Enzyme Preparations for Food Industry [S]
- [23] GB/T 23535-2009,脂肪酶制剂[S]
- GB/T 23535-2009, Lipase Preparation[S]
- [24] 蔡淑娟.产单宁酶酵母菌株的筛选[D].济南:山东轻工业学院,2012
- CAI Shu-juan. Screening of tannase producing yeast strains [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2012
- [25] GB/T 18634-2009,饲用植酸酶活性的测定分光光度法[S]
- GB/T 18634-2009, National feed industry standardization technical committee. Determination of Phytase Activity-Spectrophotometric Method [S]
- [26] 胡宝东,王晓丹,王婧,等.酱香型大曲生产工艺与大曲品质的关系研究[J].食品工业,2016,37(2):260-264
- HU Bao-dong, WANG Xiao-dan, WANG Jing. Relationship between production technology of Maotai-flavor Daqu and its quality [J]. The Food Industry, 2016, 37(2): 260-264

- [27] 龙茜萍,王晓丹,谭静,等.一株高产糖化酶菌株的筛选与鉴定[J].酿酒科技,2013,8:7-9
LONG Qian-ping, WANG Xiao-dan, TAN Jing, et al. Screening and identification of a high-yield glucoamylase-producing Strain [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2013, 8: 7-9
- [28] 胡宝东,王晓丹,班世栋,等.白酒大曲酶系研究进展[J].酿酒, 2015,42(1):17-22
HU Bao-dong WANG Xiao-dan, BAN Shi-dong, et al. Research progress of enzyme of Daqu in Chinese liquors [J]. Liquor Making, 2015, 42(1): 17-22
- [29] Augustin S. Antimicrobial properties of tannins [J]. Pergamon, 1991, 30(12): 3875-3884
- [30] 屈慧鸽,李荣,缪静,等.果胶酶对红葡萄酒主要成分的影响[J].酿酒科技,2005,8:71-73
QU Hui-ge, LI Rong, MIAO Jing, et al. Effects of pectase on main compositions of red grape wine [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2005, 8: 71-73
- [31] 吴华昌,由耀辉,卢中明,等.脂肪酶应用于白酒催陈的初探[J].中国酿造,2011,3:75-77
WU Hua-chang, YOU Yao-hui, LU Zhong-ming, et al. Application of lipase in the aging of liquor [J]. China Brewing, 2011, 3: 75-77
- [32] 冯骏,王晓.脂肪酶和纤维素酶对中国白酒微量成分的影响的探讨[J].河南科技,2013,20:200
FENG Jun, WANG Xiao. Effects of lipase and cellulase on trace components of Chinese liquor [J]. Henan Science and Technology, 2013, 20: 200
- [33] 郭建华,郭宏文,江成英,等.白酒酒醅发酵过程中酶活与酯类生成的灰色关联度分析[J].食品工业,2014,35(2):236-239
GUO Jian-hua, GUO Hong-wen, JIANG Cheng-ying, et al. Gray relational grade analysis of enzyme activities and esters production during fermentation of liquor fermented grains [J]. The Food Industry, 2014, 35(2): 236-239
- [34] 张秀红,马冰,孔健,等.清香型大曲淀粉水解酶系解析[J].酿酒科技,2012,11:46-50,53
ZHANG Xiu-hong, MA Bing, KONG Jian, et al. Analysis of starch hydrolytic enzymes of Fen-flavor Daqu [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2012, 11: 46-50, 53
- [35] Fulchieri M M, Estrella M J, Iglesias A A. Characterization of *Rhizobium loti* strains from the Salado River Basin [J]. Kluwer Academic Publishers, 2001, 79(2): 199-125
- [36] 孙常雁,李德海,孙莉洁.传统酿造酱及酱油中酶系的作用[J].中国食品添加剂,2009,3:164-169
SUN Chang-yan, LI De-hai, SUN Li-jie. The function of enzymes in naturally fermented soybean paste and soybean sauce products [J]. China Food Additives, 2009, 3: 164-169
- [37] 贡汉坤,姚清海.传统酱类自然发酵的微生物学分析[J].中国调味品,2003,10:9-12
GONG Han-kun, YAO Qing-hai. The microbiology analysis of spontaneously fermentation for traditional salted and fermented soybean paste [J]. China Condiment, 2003, 10: 9-12
- [38] 聂志强,汪越男,郑宇,等.传统食醋酿造过程中微生物群落的多样性及功能研究进展[J].中国酿造,2012,31(7):1-6
NIE Zhi-qiang, WANG Yue-nan, ZHENG Yu, et al. The diversity and functional feature of microflora in traditional vinegar brewing process [J]. China Brewing, 2012, 31(7): 1-6
- [39] 冯晓涵.不同醋厂大曲霉菌种群、理化特性及优良霉菌产酶优化[D].晋中:山西农业大学,2019
FENG Xiao-han. Mould population from different vinegar factory Daqu and physiochemical indexes, function of enzyme production by mould [D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2019
- [40] Shimada T, Saitoh T, Sasaki E, et al. Role of tannin-binding salivary proteins and tannase-producing bacteria in the acclimation of the Japanese wood mouse to acorn tannins [J]. Pubmed, 2006, 32(6): 1165-1180
- [41] 郭宝禹,郝林.红曲霉产物的功能及研究进展[J].酿酒科技, 2010,6:89-91
GUO Bao-yu, HAO Lin. Research progress in *Monascus* products functions [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2010, 6: 89-91
- [42] 孙剑秋,刘雯雯,臧威,等.基于 26S rDNA D1/D2 序列分析酱香型白酒酒醅中酵母菌的群落结构[J].微生物学报,2012, 52(10):1290-1296
SUN Jian-qiu, LIU Wen-wen, ZANG Wei, et al. Analysis of yeast community structure in fermented grains of Maotai flavor liquor based on 26S rDNA D1/D2 sequences [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(10): 1290-1296
- [43] TENG Yun, XU Yan, WANG Dong. Production and regulation of different lipase activities from *Rhizopus chinensis* in submerged fermentation by lipids [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2008, 57(1): 292-298