

摘要

“以麦制曲，用曲酿酒”是中国黄酒的特色，麦曲作为黄酒酿造的糖化发酵剂，其质量对酒的品质有着极大的影响。接种生麦曲是指用未经灭菌的小麦为原料，通过接种特定微生物、固态发酵后得到的糖化发酵剂。发酵过程中理化因子（如温度、水分、气体浓度等）时刻影响着微生物的结构，进而影响麦曲的质量。微生物的群落随着理化因子的分布差异而存在着不同的组成和特征导致麦曲的空间异质性。目前，关于黄酒生麦曲微生物群落结构已有研究，在智能制曲发展需求背景下，缺乏基于数理统计和模拟的分析方法，这严重制约了生麦曲现代化生产的发展。因此，本研究旨在应用一种基于数理统计和模拟的分析方法，以揭示黄酒生麦曲微生物群落结构的特点和变化规律，解析黄酒生麦曲群落结构与空间异质性的关系，对于促进黄酒生麦曲智能化发展与稳定麦曲品质具有重要意义。本论文主要研究内容如下：

(1) 接种生麦曲关键制曲工艺优化。分析不同发酵温度、发酵时间、含水量、接种量对麦曲微生物群落、酶活性的影响，结果表明，在多种培养条件中，发酵时间对微生物的生长影响最大，发酵时间过长会导致微生物死亡，因此固定其发酵时间为 96 h；基于单因素验证结果进行响应面实验优化接种生麦曲的制曲条件，确定最优制曲条件为：初始含水量 30%，米曲霉苏-16 总接种量 6%，发酵温度 40°C。在此条件下制得的接种生麦曲糖化酶、 α -淀粉酶的酶活最高分别为 1099.8 U·g⁻¹ 和 6.1 U·g⁻¹，较传统黄酒麦曲分别提高了 38.6%，106%。同时检测优化后的接种生麦曲微生物数量，表明细菌和真菌能够达到一个平衡的生长状态，产酶能力大大加强。

(2) 解析发酵过程中曲房存在的热湿传递规律。利用多物理场仿真软件 (COMSOL Multiphysics) 建立曲房的物理模型，为了更加准确地描述和预测曲房内部的温度和流场，将曲房三维模型简化为二维模型，通过数值计算和仿真得出曲房内部的速度场和温度场。研究发现，发酵过程中不同位置的麦曲有一个较大的温度梯度，最大温度差为 4°C，单位厘米变化约为 0.13 °C·cm⁻¹。由于自然对流的存在，上、中、下曲层间的速度分布出现差异，其中上曲层空气流速相对较高，最高达 0.06 m·s⁻¹，而下曲层空气流动速度相对较低，最高为 0.01 m·s⁻¹。研究还分析了生产空间的异质性对麦曲微生物群落和理化性质的影响，得出麦曲在发酵过程中质量出现差异的原因。最终结果表明，发酵过程中曲房内热湿传递呈现出一定程度的耦合性，温度与湿度的分布规律为，温度呈现中间高、两边低的现象，湿度则呈现下高上低的现象。

(3) 验证模型模拟效果。基于上述模型模拟的结果，以麦曲糖化酶、 α -淀粉酶的酶活力，微生物数量、挥发性风味含量为评价指标，设置两组实验验证实际生产曲房内环境分布对麦曲质量的影响。结果显示，实验组与对照组相比，实验组曲房内环境达到了较优的状态，糖化酶活力相比较对照组提高了 10.2%，液化酶活力提高了 54.1%。表明控制曲房环境异质性减少，有利于麦曲中微生物的生长和质量稳定。

关键词：接种生麦曲；微生物；模拟；环境异质性；工艺优化；固态发酵

Abstract

"Using wheat to produce Qu, and using Qu to brew alcohol" is a characteristic of Chinese Huangjiu, and the quality of wheat Qu as a saccharification and fermentation agent has a great impact on the quality of the Chinese Huangjiu. Inoculating raw wheat Qu refers to using raw wheat as a material, and obtaining a saccharification and fermentation agent through inoculation of specific microorganisms and solid-state fermentation. During the fermentation process, physicochemical factors (such as temperature, moisture, gas composition, etc.) constantly affect the microbial structure, thereby affecting the quality of wheat Qu. Microbial communities exist with different compositions and characteristics depending on the distribution of physicochemical factors. Currently, research has been conducted on the microbial community structure of Huangjiu raw wheat Qu. However, under the background of the development of intelligent wheat Qu production, there is a lack of analysis methods based on mathematical statistics and simulation, which severely restricts the modernization of raw wheat Qu production. Therefore, this study aims to apply a method based on mathematical statistics and simulation to reveal the characteristics and variation rules of the microbial community structure of Huangjiu raw wheat Qu, and to analyze the relationship between the structure of the Huangjiu raw wheat Qu community and spatial heterogeneity. This is of great significance for promoting the modernization of Huangjiu raw wheat Qu production and improving the quality of Huangjiu. The main research content of this paper is as follows:

(1) Optimization of the key fermentation process of inoculated wheat Qu. The effects of different fermentation temperature, fermentation time, moisture content and inoculation amount on microbial community and enzyme activity properties of wheat starter were analyzed the results showed that fermentation time had the greatest impact on microbial growth under various culture conditions, and excessive fermentation time could lead to microbial death. Therefore, the fermentation time was fixed at 96 hours. Based on the results of single-factor verification, response surface experiments were conducted to optimize the brewing conditions of inoculated wheat Qu. The optimal fermentation conditions were determined as follows: initial moisture content of 35%, total inoculation amount of 6% for *Aspergillus oryzae* Su-16, and fermentation temperature of 35°C. The highest enzymatic activities of amylase and α -glucosidase in inoculated wheat Qu produced under these conditions were 1099.8 U·g⁻¹ and 6.1 U·g⁻¹, respectively, which increased by 38.6% and 106%, respectively, compared to traditional Chinese Huangjiu wheat Qu. The microbial population of the optimized inoculated wheat Qu was also measured, indicating that the balance between bacteria and fungi was achieved, and the enzymatic production capability was significantly enhanced.

(2) Analyzing the heat and moisture transfer patterns within a Qu room during the

fermentation process. A physical model of the Qu room was established using multiphysics simulation software (COMSOL Multiphysics), and the velocity and temperature fields within the room were obtained through numerical calculations and simulations. To accurately describe and predict the temperature and flow fields within the Qu room, the three-dimensional model of the room was simplified to a two-dimensional model, and the mesh of the structural model was determined. The study found that there is a large temperature gradient in the different locations of the Qu during the fermentation process, with a maximum temperature difference of 4°C, approximately $0.13^{\circ}\text{C}\cdot\text{cm}^{-1}$. Due to the existence of natural convection, there were differences in the velocity distribution between the upper, middle, and lower Qu layers, with the air velocity in the upper layer being relatively higher, reaching a maximum of $0.06\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, while the air velocity in the lower layer was relatively lower, with a maximum of $0.01\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. The study also analyzed the impact of heterogeneity in the production environment on the microbial community and physicochemical properties of the Qu, and determined the reasons for differences in quality during the fermentation process. The final results showed that there is a certain degree of coupling between heat and moisture transfer within the Qu room during the fermentation process, with the temperature exhibiting a pattern of being higher in the middle and lower on the sides, while the humidity showed a pattern of being higher at the bottom and lower at the top.

(3) Validation of the simulation model. Based on the results of the above model simulation, two sets of experiments were conducted to verify the effect of the actual environmental distribution within the Qu room on the quality of the Qu, using the enzymatic activity of saccharifying enzymes and alpha-amylase, microbial quantity, and volatile flavor content as evaluation indicators. The results showed that, compared to the control group, the experimental group achieved a more favorable environment within the Qu room, with saccharifying activity increasing by 10.2% and liquefying activity increasing by 54.1%. This indicates that controlling the variation of environmental factors within the Qu room and reducing its heterogeneity is conducive to the growth of microorganisms in the Qu and to the stability of its quality.

Keywords : Spatial heterogeneity; Simulation; Process optimization; Inoculation of raw wheat Qu; Solid state fermentation

目 录

第一章 绪论.....	1
1.1 黄酒麦曲概述.....	1
1.1.1 黄酒麦曲的生产工艺.....	1
1.1.2 黄酒麦曲的机械化控制.....	2
1.2 酒曲研究进展.....	3
1.2.1 环境与酒曲质量研究进展.....	4
1.2.2 空间异质性在酒曲中研究进展.....	5
1.3 立题意义.....	6
1.4 研究内容及目标.....	6
第二章 材料与方法	8
2.1 实验材料.....	8
2.1.1 菌株与原料.....	8
2.1.2 实验仪器.....	8
2.1.3 实验药品及试剂.....	8
2.2 实验方法.....	8
2.2.1 实验室生麦曲制曲工艺.....	8
2.2.2 单因素实验.....	9
2.2.3 Box-Behnken 响应面实验因素与水平的选取	10
2.3 曲房数值模型建立方法.....	10
2.3.1 曲房模型	10
2.3.2 曲房二维模拟.....	10
2.3.3 基本方程.....	11
2.3.4 发酵过程中能量传递.....	12
2.3.5 气体流动模型.....	13
2.3.6 壁面函数法.....	14
2.3.7 微分方程的离散与求解.....	14
2.4 测定方法.....	15
2.4.1 黄酒生麦曲发酵过程中环境因子及理化指标的测定	15
2.4.2 挥发性风味物质的测定.....	15
第三章 结果与讨论	16
3.1 接种生麦曲制曲工艺条件优化	16
3.1.1 初始含水量对微生物数量及酶活力的影响	16
3.1.2 接种量对微生物数量及酶活力的影响	17
3.1.3 发酵温度对微生物数量及酶活力的影响	19

3.1.4 发酵时间对微生物数量及酶活力的影响	20
3.2 生麦曲制作工艺响应面优化	22
3.2.1 响应面实验结果	23
3.2.2 建立模型与方差分析	23
3.2.3 响应曲线和等高线图分析	25
3.2.4 最优工艺条件的确定	27
3.3 基于 COMSOL 的曲房二维热流建模与仿真	28
3.3.1 生物量测定及拟合	28
3.3.2 曲房温度场二维模拟	29
3.3.3 曲房速度场二维模拟	30
3.3.4 曲房二维热流规律的确定	31
3.4 实验验证模型模拟效果	33
3.4.1 空间异质性对麦曲质量的影响	33
3.4.2 减少空间异质性对接种生麦曲的影响	34
3.4.3 微生物数量分布差异	35
3.4.4 风味物质分布差异	36
主要结论与展望	38
主要结论	38
展望	38
参考文献	40

第一章 绪论

1.1 黄酒麦曲概述

黄酒^[1]，作为我国独有的传统酒类，是以稻米、黍米、玉米、小麦等为主要原料，同时加入麦曲或者部分酶制剂经长时间的发酵酿制而成的发酵酒，黄酒发酵具有曲法酿造、开放式多菌种参与、糖化与发酵同时进行、后发酵低温长时等特征^[2]。其中独特的“曲法酿造”是中华民族宝贵财富和珍贵遗产，现为我国国家级非物质文化遗产，被中外学者、专家誉为古代的“第五大发明”^[3]。麦曲在酿酒过程中不仅是重要的糖化发酵和生香剂，也是主要的原材料。以麦制曲、用曲酿酒是中国黄酒的特色，也是我国黄酒酿造工艺重要的一项传统操作技艺，因此麦曲又有“酒之骨”的美誉^[4]。

黄酒生产用曲分为大曲（麦曲）、小曲和红曲。根据制曲原料的不同可以分为麦曲、米曲和麸曲；根据制曲方式的不同可以分为手工曲和机制曲（包括圆盘制曲和机械压制曲）；根据曲的形状可以分为散曲、饼曲和块曲；根据制作工艺不同又可以分为生麦曲、熟麦曲、接种生麦曲^[5]。用酒曲作为糖化发酵剂的曲法酿造工艺，是有别于其他世界各国的中国独有的酿造工艺^[6]。麦曲作为一种综合性的生化酶制剂，在传统浓醪液态发酵黄酒中扮演着重要的角色，其功能包括增香、增味、提色等多个方面，是黄酒生产的重要保障，曲的制作、培养及其保存方法至今仍有实用价值和理论研究价值^[7]。

1.1.1 黄酒麦曲的生产工艺

黄酒麦曲是一种用于酿造黄酒的微生物发酵剂，是以粉碎的小麦为原料，在特定条件下培养制成的^[8]。作为一种发酵剂，酿造黄酒的过程中，麦曲通过发酵作用将淀粉转化为糖分，进而将糖分转化为乙醇和二氧化碳，产生黄酒的特殊风味和香气，同时麦曲本身对黄酒的风味物质形成具有重要的作用^[9]。黄酒酿造用麦曲种类繁多，根据不同的分类方式可以分为不同的类别。根据制曲工艺的不同可以分为生麦曲、熟麦曲、接种（强化）生麦曲。目前生麦曲与熟麦曲广泛应用于黄酒的酿造过程^[10]。熟麦曲是一种较为简单的发酵工艺，它通过将粉碎的小麦经过蒸、煮灭菌后接种米曲霉来制作。相比之下，生麦曲的生产工艺更为复杂，涵盖了轧麦、润料、成型、堆曲、通风等多个步骤。而接种（强化）生麦曲作为新兴的发酵技术，是近年来在黄酒制造中广泛应用的一种技术，可以有效地提高黄酒的品质和口感。

自然培养曲亦称生麦曲，包括块曲、挂曲、草包曲等^[11]。自然培养麦曲是一种传统的制曲方法，通常使用粉碎的小麦为基质，加入水通过自然发酵培养数天或数周的时间，使微生物在基质中繁殖和发酵，最终得到生麦曲。这种制曲方法可以使麦曲在天然条件下形成，适应性强，成本低廉，同时还可以保留麦曲菌群的多样性和稳定性。大部分黄酒厂一般在每年的农历八、九月间，将生小麦轧碎拌水压制成型后，堆积在曲室内接种周围环境中的微生物，经 25~30 d 自然固态发酵而成，自然培养曲在传统酿造中有广泛的应用。但是，这种方法制曲周期长、品质不稳定，且容易受到外界环境和微生物污染的影响^[12]。近年来，随着科技的进步和生物工程技术的发展，自然培养麦曲逐渐被工业化生产和人工培养替代。

为适应黄酒机械化生产的需求，纯种麦曲逐渐走向黄酒生产的舞台^[13]。纯种熟麦曲是将纯培养的菌种，接入到经过蒸煮灭菌的小麦原料中，使菌种在灭菌的小麦中生长繁殖、分泌酶系并累积代谢产物。与生麦曲相比，纯种熟麦曲的菌种纯度高，质量稳定，能够快速地进行发酵并产生大量的酶，使得黄酒的发酵速度加快，同时由于酶活力高，能够更好地分解麦芽中的淀粉和蛋白质，提高黄酒的产率，对酒的口感和香味的调控更加精准，因此在黄酒酿造等食品加工行业中得到了广泛应用^[14]。

接种生麦曲是在生麦曲和熟麦曲制曲工艺的基础上加以改进与发展而来的。如图 1-1，接种生麦曲采用未经灭菌的小麦制曲，在保留小麦自身微生物的同时与接种的特定微生物相结合，形成了新的较为复杂的微生物群落结构，这一工艺变革在黄酒麦曲制作的历史上具有重要意义^[15]。接种生麦曲中微生物主要来源于发酵环境（包括空气、未经灭菌的小麦、制曲用水等）^[16]。这样开放式的制作工艺使接种生麦曲具备较高的酶活，同时又携带相对复杂多样的微生物群落结构^[11]。相较于传统的麦曲制作方法，强化生麦曲制作工艺在配料和发酵条件上进行了优化和调整，使得麦曲的产量和发酵效率得到了提高。同时，适当的辅料添加还可以改善麦曲的品质和口感。但是需要注意的是，在制作过程中需要注意卫生和质量控制，避免因不当操作导致麦曲污染和品质下降。

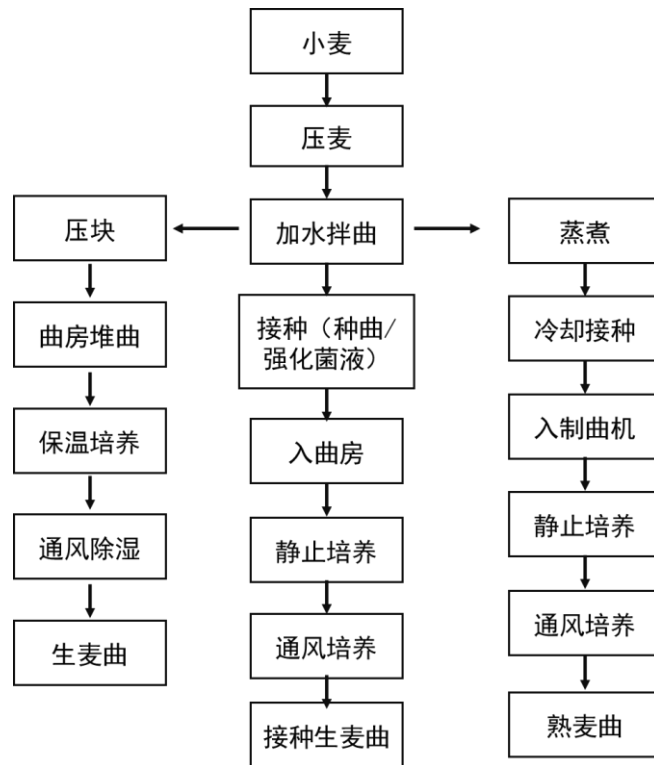


图 1-1 黄酒接种生麦曲生产工艺流程图

Figure 1-1 Huang jiu wheat Qu synthesis process

1.1.2 黄酒麦曲的机械化控制

在黄酒酿造过程中，麦曲品质对黄酒的质量起着重要作用。随着市场的不断扩大和人们消费水平的增加，麦曲的质量需要进一步的稳定和提高^[17]。接种生麦曲是利用未经灭菌的小麦，通过自然固态发酵，培养和丰富曲中微生物，应用于黄酒酿造，所酿的酒香气较浓，口

味醇厚^[18]。

由于在开放式的环境中进行发酵，环境因素复杂，发酵环境的温度、湿度等因素显著地影响麦曲的微生物群落的多样性、品温和水分，从而影响麦曲的质量及黄酒的产率和品质，这给麦曲的质量控制带来了很大的困难^[18, 19]。因此如何稳定麦曲的质量的一直困扰着制曲厂家，目前工厂对麦曲的品质控制工艺比较模糊，主要是以制曲师傅的实际操作经验为主，由于管理模式比较保守，缺乏量化指标和工艺解析，因此难以有效地控制和保障麦曲品质。这一现状对制曲行业的现代化发展和进步造成了巨大的阻碍^[20]。吴秋霞^[21]等探讨了空间位置对麦曲参数的影响，发现麦曲的位置对酶活力、微生物量有较大影响，另外，温度和湿度对麦曲的质量也有显著的影响。毛健^[22]团队用响应面法探究接种生麦曲生产工艺与品质的相关性，提高了接种生麦曲的酶活力。微生物群落和环境指标是监测和控制生麦曲发酵过程的关键参数^[23]。贾湖酒业集团有限责任公司^[24]从 2019 年开始引进自动化制曲工艺，实现了机械化制曲，可以很好地提高麦曲生产效率，降低生产成本，稳定麦曲的质量提供了保障，改善了工人们的工作环境。然而这些研究方法忽略了由于传质传热导致的空间异质性对微生物的影响，难以揭示接种生麦曲发酵过程中空间位置条件与微生物之间的关系^[25]。自动化和智能化制曲工艺是未来麦曲行业发展的趋势，对制曲工艺的量化和优化已经迫在眉睫^[26]。

我国制曲行业源远流长，然而其产业化进程却相对缓慢^[27]。当前，对麦曲的发酵质量控制主要依赖于操作经验，对麦曲的研究也集中于基础理化性质、菌株筛选、微生物群落结构和挥发性风味等方面，而麦曲制曲工艺优化的研究相对较少^[27-29]。基于文献调研^[30-32]可知，建立科学客观的麦曲品质控制方法，需以探究麦曲质量形成原因，丰富和完善优化麦曲品质的指标项目为首要任务，同时制曲工艺的研究为我们深入了解麦曲的品质提供了重要见解，并为麦曲的可持续管理和利用提供了理论基础^[33]。

1.2 酒曲研究进展

在黄酒发酵过程中，麦曲扮演着多重角色，其作用包括但不限于：提供酶类物质来分解原料中的淀粉和蛋白质；产生芳香物质，提高黄酒的风味和香气；分解苦味物质，保护黄酒的质量。因此，可以说麦曲对黄酒的质量影响非常重要^[34, 35]。黄酒麦曲的发酵过程是粗放式的，受到工艺、温度、空气、水分等条件的影响^[36, 37]，其发酵过程中始终受到曲房环境条件的影响，其麦曲的质量均存在差异，从而也决定了黄酒复杂、独特的口味^[38]。过去，由于生产技术和生产条件的落后，以及市场对酒类产品数量的追求，研究人员们着重从麦曲的生产技术和微生物等方面对麦曲进行深入研究^[39]。其中余培斌^[40]、陈亮亮^[41]等人通过探讨优化黄酒麦曲的生产工艺以及制曲技术，将纤维素酶和木聚糖酶活力提高至米曲霉苏-16 单独制曲的 7.9 倍和 10.9 倍，实现提升酒曲质量的同时也提升了黄酒的产率。

随着科技的进步和发展，酒曲的研究逐渐转向微观领域，研究酒曲内部微生物群落结构及演替对酒曲及酒品质的影响^[42]。近年来，对黄酒麦曲微生物的研究逐渐增多，主要采用的方法包括平板分离筛选法、凝胶电泳法、扩增子测序技术以及宏基因组等。通过联用这些分析方法，可以更加清晰地解析黄酒麦曲中微生物群落的组成和演替规律，揭示微生物在黄酒发酵过程中的作用机制^[43]。张子洁^[44]等人通过分析黄酒麦曲的组成成分，分离有酒曲中产香

的菌株，并经过通过制曲条件的优化，最终实现了麦曲配方的优化，以及产香菌株的分离和培养。通过对产香菌株的分离培养与接种提高其在麦曲中的丰度，从而实现麦曲质量提高。这些研究对于优化麦曲品质、提高黄酒产业水平和推动产业现代化发展具有积极的意义^[40]。

经过前人的研究，黄酒麦曲生产已经获得了有效的成果。麦曲内丰富的菌系和酶系既受自然环境的影响，也密切关联于制曲工艺^[45]。目前，传统手工式控制发酵环境仍是主流。一般情况下，通过手工监测局部参数来评估整个曲房内的环境条件，虽然测量手段不断更新，测量精度也不断提高，但仍无法准确模拟曲房内整体环境的情况^[46]。现代技术为了确保准确获取曲房内环境，一些研究采用了更多的测量元件或先进的监测系统，通过采用传感器、控制器等智能化技术，实时监测和控制曲房内的环境参数，提高酒曲的生产工艺以及曲房的现代化，实现酒曲的产量和品质的同步提升，但这也会带来过高的成本。其中毛青钟^[47]等人就对黄酒麦曲的自动化生产工艺进行了研究，利用物联网等技术的为黄酒酒曲生产监控的数字化提供了支持，实现了高检测精度自动监控网络的设计。虽然现代化技术在黄酒酒曲生产中得到广泛应用，但麦曲质量的稳定性和均一性仍不能得到有效的控制^[48]。

因此，如何通过既精确、方便又经济的方法得到曲房内环境的整体分布同时控制曲房内温度、湿度、气体浓度等条件，并使其分布均匀，达到麦曲适宜的发酵环境就成为主要的问题^[49]。计算流体力学（CFD）技术是一种数值模拟技术，可以利用计算机模拟流体在各种复杂条件下的流动、传热、传质等现象，具有成本低廉、周期短、资料完备且可以模拟复杂工况等特点^[50]。通过 CFD 技术可以较准确地分析曲房内环境，寻找适宜微生物生长的温度场、湿度场以及气体浓度场等环境条件，为曲房的优化设计提供参考依据，同时对稳定和提高麦曲的质量起到重要作用^[51]。

1.2.1 环境与酒曲质量研究进展

发酵过程中微生物群落结构受到发酵环境中多种因素的影响，包括但不限于温度、湿度、水分含量、气体浓度等环境因素，以及淀粉含量、酶活力、pH 值等理化指标。这些环境因子被定义为发酵环境中的驱动力，研究它们对发酵过程中微生物群落结构演替的作用是非常重要的^[52]。

近年来关于酒曲发酵环境对曲块质量的影响已有大量研究，如表 1-1 所示。徐岩^[53]团队在高温麦曲发酵过程中的群落演替规律时发现，温度是影响高温麦曲微生物群落结构的主要因素，采用恒温培养和梯度温度培养相结合的方法，研究了温度对微生物群落结构的影响。结果表明，在泸型酒中，高温会显著影响麦曲发酵过程中芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）、高温放线菌（*Thermoactinomyces*）及嗜热子囊菌（*Thermoascus*）等耐热微生物的相对丰度^[54]。这一结果表明，温度是影响微生物群落结构的重要因素之一，不同的温度条件下，微生物的生长和代谢会发生明显的变化。这一发现有助于深入理解黄酒发酵过程中微生物的演替规律，为酿造出更好的黄酒提供了理论依据。李涛^[55]等通过对浓香型麦曲生产过程中的微生物及温度变化规律的研究，解析了不同发酵温度的酿造微生物群与对应的发酵行为之间的关联性，基于关联性控制麦曲的风味物质含量，采用随机森林机器学习模型预测环境因子与风味物质含量，并提出了区域、距离、气候与地形等对发酵微生物群落演替的影响。

表 1-1 酒曲发酵环境与曲块质量研究进展

Table 1-1 Research progress on the fermentation environment and quality in Jiuqu fermentation

研究内容	方法	环境因子	结论
山西老陈醋麦曲 ^[52]	顶空固相微萃取结合气-质联用技术, 液相, 主成分分析	该实验研究了山西老陈醋麦曲制备过程中理化因子、微生物群落变化及风味物质形成的规律。	麦曲制备过程中理化因子对酶活力的变化、有机酸以及挥发性香气成分的变化、生成规律均有影响
浓香型麦曲 ^[55]	《酿酒麦曲通用分析方法》检测	探讨微生物消长规律与曲温、品温和室温的关系, 以及水分、糖化力在麦曲生产过程中的变化规律	温度的变化可以快速判断微生物的生长
高温麦曲 ^[54]	扩增子测序、相关性分析	温度、水分、葡萄糖、乳酸	温度不仅影响微生物的生存特征和相互作用, 而且改变了自身的代谢功能。此外, 温度也影响了 VOCs 的形成
中高温麦曲 ^[53]	扩增子测序、相关性分析	温度	生物热(温度)是中高温麦曲微生物群落形成的主要因素

1.2.2 空间异质性在酒曲中研究进展

接种生麦曲属于典型的传统固态发酵体系, 其微生物群落的数量受到环境的温度、湿度和气体浓度的影响, 在空间和时间上发生变化被定义为空间异质性。传统发酵过程中, 麦曲受到曲房空间、通风措施、翻曲等操作的影响, 不同空间位置之间存在较大的温湿度差, 严重影响麦曲的质量和一致性^[56, 57]。使曲房内各区域温湿度保持均匀是麦曲质量稳定的关键^[58]。随着计算机模拟技术的迅速发展, 专家学者逐渐开始使用计算流体力学技术进行仿真^[59]。通过对仿真结果中气体流动速度和温度场的分析, 研究人员在空间结构优化的问题上应用了众多的改进措施^[60]。例如, 在温室大棚、楼房设计和运动场馆中, 通过对温度场仿真结果的分析, 选择合适的功率、进风角度和进风速度, 以实现节能的同时更好控制温度的分布, 提高人们的舒适度。最早谢洪^[61]等人利用 $k-\epsilon$ 模型, 通过稳态分析空调车室空间气体流场, 仿真不同送风角度对内部空气流速场和温度场的影响, 研究人员成功优化了空调车室的进风设计方案。这一优化方案既能够节省汽车能源, 同时又能提高车室内的舒适性。近年来, 随着大数据和智能计算技术的进步, 计算流体力学仿真技术正在广泛应用于解决越来越多的复杂流体问题^[62]。其中承银辉^[63]等人通过计算流体力学技术, 分析了不同位置的进风方式对菇房中温湿度分布的影响, 提出了底部进风、顶部出风的菇房培养模式。

近年来, 对麦曲空间异质性的研究取得了显著进展。探索麦曲中不同区域之间的差异, 以及这些差异对麦曲的生态功能和微生物群落结构的影响。研究人员通过采用的空间采样和先进的分析技术, 深入了解麦曲的空间异质性。他们发现, 麦曲中存在着明显的空间异质性, 表现为微生物群落的物种组成、丰度和功能潜力在不同区域之间的差异, 揭示了麦曲内部微生物群落的空间分布格局^[25]。不同麦曲样品之间的微生物组成差异显示出明显的空间结构, 其中一些微生物物种或功能特定于特定区域。这些发现为优化麦曲管理和利用微生物资源提供了理论基础。然而, 尽管麦曲空间异质性的研究取得了进展。如何解析空间异质性的驱动

因素,以及它们如何相互作用影响微生物群落的组成和功能仍是挑战和待解决的问题。此外,还需要进一步开发更精细的研究方法,以更全面地了解麦曲内部的微生物多样性和功能。目前已有的麦曲品质研究和控制方法不够全面和系统,对黄酒行业整体的产业化发展不利。

我国虽然已经针对麦曲的质量研究有很大的进步和发展,由于麦曲的机械化智能化起步晚,在曲房的环境条件控制中研究较少^[64]。对麦曲空间异质性的研究为我们深入了解麦曲的微生物生态系统提供了重要见解。目前,流体力学研究已经广泛应用在冷库货物、房间家具以及厂房设备的摆放对温度场的影响,同时提供优化措施改善、温度、湿场分布的均匀性。针对不同环境条件下温度、湿度和气流的多物理场耦合问题,学者们采用了不同的手段,包括理论推导、实验研究和数值模拟等方法,深入探究了其发生机理及影响因素。这些研究方法和理论成果为曲房麦曲发酵过程中环境参数的耦合问题提供了较多的理论指导和问题分析方法思路,随着技术的不断进步和研究的深入,我们对麦曲空间异质性的理解将不断深化^[65, 66]。

1.3 立题意义

接种生麦曲被广泛应用于清爽型黄酒的酿造,这种生产用曲在黄酒酿造中起着重要的作用。然而,麦曲的质量稳定一直是困扰厂家的重要问题。目前,缺乏对接种生麦曲进行系统分析的研究,这导致了生产中的一系列问题。

在麦曲的发酵过程中,存在许多环境因子的分布差异,导致微生物及其分泌酶类的特殊性能差异,这是形成麦曲酒特有风格的重要原因之一。因此,麦曲微生物的种类和数量可以反映麦曲的质量同时与酒的酿造密切相关。麦曲微生物区系是在一定的生态环境条件下微生物种类和数量的组成,以及它们的生命活动的综合体现。麦曲微生物数量的变化很大,不同的发酵时间、水分、温度以及不同的空间位置,都可以导致麦曲中微生物数量的变化。完全了解麦曲微生物区系的特征以及在工艺条件改变时区系的相应变化,可以有意识地通过控制曲房环境条件来改变微生物的生长和繁殖活动,发挥它们的有利作用,提高麦曲质量。

本研究旨在优化生麦曲的发酵工艺,提高麦曲酶活力,解析麦曲发酵过程中环境异质性对微生物、酶活力和风味物质的影响。可以提高麦曲的产品品质,降低对自然天气的依赖,并在一定范围内降低用曲量、节约生产成本、改善员工工作环境、降低劳动强度、提高生产效率。通过优化麦曲酿造黄酒,不仅可以提高出酒率和优质品率,而且可以降低生产成本。

1.4 研究内容及目标

目前,麦曲的研究主要集中于微生物种类动态变化的,而对发酵过程中微生物数量和曲房环境空间异质性的研究较为不足。因此,通过优化麦曲的制备工艺、探究曲房内环境温湿度变化规律及其分布状况、加强对麦曲质量的控制,制造高质量的麦曲是提高酿造黄酒质量和风味的有效方法。本文针对江苏地区黄酒发酵过程中接种生麦曲的微生物、空间异质性和挥发性风味变化进行研究,主要包括以下几个方面:

(1) 采用单因素及响应面实验,以糖化酶、 α -液化酶活力为判断依据,解析发酵时间、初始含水量、功能菌株接种量、培养温度等对黄酒生麦曲质量的影响,探究影响黄酒生麦曲质量的关键因素。

(2) 建立曲房数值模型, 采用 CFD 技术针对接种生麦曲生产过程所出现的空间异质性, 将曲房三维模型简化为二维模型, 通过分析仿真结果的速度场、温度场和流体运动特性, 选择合适的计算模型、控制方程和气体流动模型, 建立适合于曲房内部的环境数值模型。研究生产空间的异质性对麦曲微生物群落和理化性质的影响, 解析麦曲在发酵过程中质量出现差异的原因。

(3) 基于曲房二维模型模拟的结果, 以实验室模拟生产的接种生麦曲为对象, 进行生麦曲模拟发酵验证, 探究模拟曲房麦曲发酵过程中微生物演替、理化性质以及挥发性代谢产物规律、分析黄酒麦曲核心参数的内在关联, 进一步控制和提高麦曲质量, 为自动化、智能化麦曲的制备提供理论基础。

第二章 材料与amp;方法

2.1 实验材料

2.1.1 菌株与原料

本文中制曲用小麦、麸皮购买于无锡三里桥农贸市场；机制曲和手工曲、熟麦曲等由无锡玉祁酒业有限公司提供，麦曲均为 2020 年样品；米曲霉苏-16 由中国工业菌种库（CICC）购买得到。

2.1.2 实验仪器

表 2-1 本论文中所用的实验仪器

Table 2-1 The experimental instruments used in this paper

仪器名称	型号	来源
电子天平	BSA223S	赛多利斯科学仪器有限公司
冷冻高速离心机	CF15RX II	日本日立上海有限公司
高压灭菌锅	MLS-3750	三洋电机国际贸易有限公司
超净工作台		苏州净化设备有限公司
智能生化培养箱	SPT-P58C	北京博翔兴旺科技有限公司
PCR 仪	S1000TM	美国 Bio-Rad 仪器公司
超纯水仪	XMTD-6000	北京昊诺斯生物
琼脂糖凝胶电泳仪	DYY-10C	北京六一生物科技有限公司
台式空气恒温振荡箱	MQT-60	上海旻泉仪器有限公司
电热恒温水浴锅	MILI-Q	北京长风仪器仪表公司
可见分光光度计	UNIC7200	上海尤尼柯仪器有限公司
pH 计	PB-10	赛多利斯科学仪器有限公司
数显恒温水浴锅	HH-3A	国华仪器制造有限公司
多功能电磁炉	C21-WT2120	广东美的生活电器制造有限公司
ISQ 单四级杆气质联用仪	Trace1310-ISQ LT	美国赛默飞世尔科技公司
摇床	Qilinbeier TS-1000	海门市其林贝尔仪器制造有限公司

2.1.3 实验药品及试剂

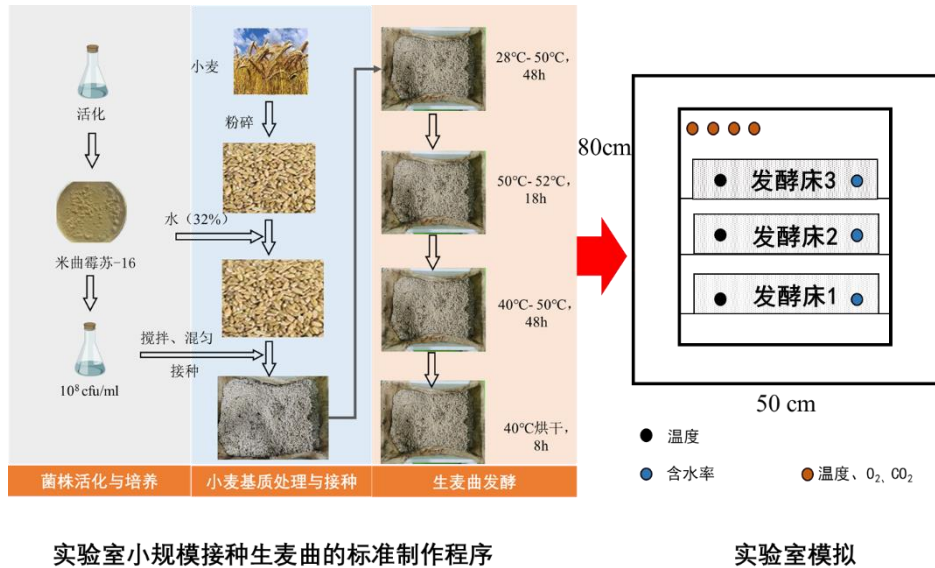
葡萄糖、蛋白胨、酵母膏、马铃薯琼脂培养基（PDA），孟加拉红培养基，细菌培养基购自国药集团化学试剂有限公司；氢氧化钠、可溶性淀粉、氯化钠、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸（DNS）、无水乙酸钠、冰乙酸、碘化钾、可溶性淀粉、硫酸铜购等均为分析纯，购自北京索莱宝生物科技有限公司。

2.2 实验方法

2.2.1 实验室生麦曲制曲工艺

制曲工艺要点：制曲工艺参考相关论文与书籍结合实地考察加以改进，以小麦为原料，

经过筛选、轧碎、拌料、接种，采用固态发酵（散曲）的方式，在适宜的气温和水分条件下，堆积于发酵床内保温培养，期间翻曲 1~2 次，经 5 d 左右的固态发酵而成^[67-70]。



实验室小规模接种生麦曲的标准制作程序

实验室模拟

图 2-1 实验室小规模生麦曲生产工艺流程图

Figure 2-1 Laboratory small-scale wheat Qu making process

(1) 原料预处理：制曲小麦应该是当年的新小麦，含水量在 13% 以下，将制曲小麦每粒压碎至 3~10 片，呈梅花瓣状，细粉越少越好。

(2) 拌料：添加水拌曲，添加水的量是小麦总质量的 25%~35%，使小麦均匀充分吸水，翻拌必须快速而均匀，冬天可采用 30°C 左右的温水，拌料以后含水量应为 35% 左右，根据天气灵活选择水温。

(3) 微生物接种：在实验室小规模制曲中，由于种曲接种不易于混匀，因此通常采用悬液接种的方式。悬液接种的接种量通常以孢子悬液的体积与原料质量的比值计算 (v/w)，接种量在 3%~6% 之间。需要注意的是，总接种量应与采用种曲接种时相同。为了保证悬液接种的效果，孢子悬液的浓度通常设定为 10^7 个/mL。

(4) 孢子悬液制备方法：将活化后菌种的分生孢子用无菌水洗入三角瓶中，在超净台上无菌脱脂棉过滤，旋涡振荡均匀，血球计数板计数，孢子浓度调为 10^7 个/mL。接种量以孢子悬浮液体积与原料质量比值计算 (v/w)。

(5) 保温培养：在恒温恒湿培养箱中培养，温度在 30°C 左右，湿度 90% 以上，注意测定品温。

(6) 低温烘干：防止过高的温度影响酶活力，温度设定在 50°C 以下，根据具体情况设定烘干时间，一般为 8~10 h，烘干至水分在 15% 以下。

2.2.2 单因素实验

以米曲霉苏-16 为强化菌株，进行初始含水量、接种量、发酵时间、发酵温度等影响因素的固态发酵单因素实验。

(1) 初始含水量对酶活力的影响

在固定接种量 (4%) 和发酵时间 (96 h)、发酵温度 (30°C) 的条件下，改变初始含水量

(20%, 25%, 30%, 35%, 40%) 制作接种生麦曲, 研究初始含水量对麦曲酶活的影响。

(2) 接种量对麦曲酶活力的影响

固定发酵温度 (30°C) 和发酵时间 (96 h)、初始含水量 (30%), 接种量分别取 (2%, 4%, 6%, 8%, 10%) 制作接种生麦曲, 研究接种量对麦曲酶活的影响。

(3) 发酵时间对酶活力的影响

固定接种量 (4%) 和初始含水量 (30%)、发酵温度 (30°C), 发酵时间 (24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h) 制作接种生麦曲, 研究发酵时间对麦曲酶活的影响。

(4) 发酵温度对酶活力的影响

在固定接种量 (4%) 和发酵时间 (96 h) 的条件下, 固定初始含水量 (30%), 改变发酵温度 (20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C) 制作接种生麦曲, 研究发酵温度对麦曲酶活的影响。

2.2.3 Box-Behnken 响应面实验因素与水平的选取

本研究采用了 Box-Behnken 程序设计实验, 来筛选出对麦曲发酵过程中糖化力和液化力影响最显著的因素。选取发酵温度、初始含水量和接种量这三个因素, 分别以 A、B、C 表示, 每个变量分别有低、中、高三个水平, 以 -1、0、1 编码, 以糖化力 Y_1 和液化力 Y_2 为优化指标, 设计 3 因素 3 水平表。

表 2-2 实验设计水平表
Table 2-2 Experimental design levels table

水平	-1	0	1
A:发酵温度 (°C)	35	40	45
B:初始水分 (%)	25	30	35
C:接种量 (%)	4	6	8

2.3 曲房数值模型建立方法

2.3.1 曲房模型

本次研究的接种生麦曲, 属于自然固态发酵, 发酵过程所需时间长。微生物生长产生的生物热导致曲房内温度难以保持稳定和均匀分布, 同时温度分布差异性会影响微生物的群落结构, 进而影响麦曲的质量。因此有必要对温度分布情况进行深入研究, 以确保提供稳定的发酵环境, 保证麦曲质量的稳定性。

为了模拟曲房的环境, 我们采用了一个恒湿恒温的培养箱。这个箱子很好地隔绝了外界辐射和空气对流的影响。箱子内有机通风设备和温控机组, 可以控制曲房内的温度和通风。我们将曲房内的物质和气体分为四个部分: 屋顶和围护结构、机械通风装置、微生物和基质、室内空气。在模拟中, 我们假设曲房的结构间隙对外部环境的热量交换没有影响。曲房的热量交换主要是通过通风来实现的, 通风是曲房与外界环境质热交换的主要途径。

2.3.2 曲房二维模拟

根据曲房实际模拟情况, 结合本文所研究的内容, 建立物理模型, 并将其简化为二维模

型及其他必要的简化，以提高求解的速度和收敛性^[71]。

(1) 本文是以曲房内部的气体为研究对象，研究气体流动速度和环境温度分布，因此需要对各个因素进行建模和考虑其对气流和温度的影响。对于忽略外部气流环境的影响，需要通过设定边界条件来模拟曲房内部的气体流动和温度分布。

(2) 简化计算，例如温湿度控制器、风扇、灯泡等，不对其进行建模，可能会导致模拟结果与实际情况存在一定偏差^[72]。

(3) 麦曲是微生物的生长和繁殖的主要场所同时也是主要的产热和蓄热物体，因此对其进行建模，并用以表示基质对气流的阻碍作用。

(4) 微生物实体体积较小，因此忽略对微生物菌体的建模。

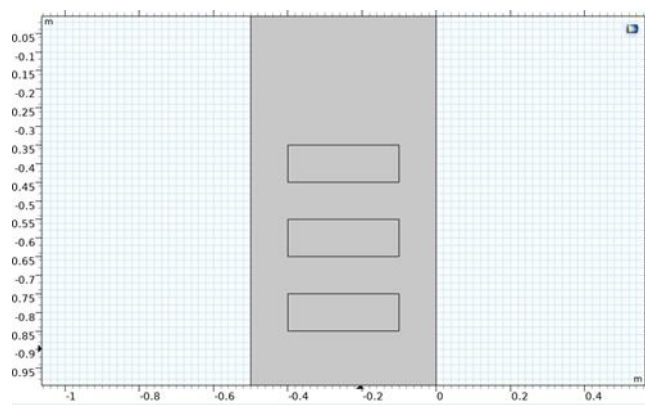


图 2-2 曲房模拟二维平面图

Figure 2-2 Curved room simulation 2D floor plan

本文使用三维模型模拟曲房内空气流动和温度分布，在流动过程中，质量、动量和能量均得到守恒。实际发酵过程中，曲房内气体流速较低且压强变化不大的情况，因此可以将曲房内气体视为不可压缩流体^[73]。

2.3.3 基本方程

基本方程：CFD 的数值模拟基于流体力学的基本方程组，包括质量守恒方程、动量守恒方程和能量守恒方程^[74]。

(1) 质量守恒方程

质量守恒方程描述了流体的质量在空间和时间上的守恒。在不可压缩流体的情况下，它可以写成以下形式：

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla(\rho v) = 0 \quad (1)$$

其中， ρ 是流体的密度， v 是流体的速度。

(2) 动量守恒方程

动量守恒方程描述了流体的动量在空间和时间上的守恒。它可以写成以下形式：

$$\rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + v \times \nabla v \right) = -\nabla p + \nabla \tau + f \quad (2)$$

其中， p 是流体的压力， τ 是应力张量， f 是外力。应力张量描述了流体内部的分子间相互作用力，通常分为两部分：黏性应力和压力应力。黏性应力与流体内部分子的相互作用力有

关，压力应力与流体压力梯度有关。

(3) 能量守恒方程

能量守恒方程描述了流体的能量在空间和时间上的守恒。它可以写成以下形式：

$$\rho C_v \left(\frac{\partial T}{\partial t} + \mathbf{v} \times \nabla T \right) = \nabla \cdot (k \nabla T) + q \quad (3)$$

其中， T 是流体的温度， C_v 是定容比热容， k 是热导率， q 是体积源项。体积源项是由流体内部的化学反应、燃烧等因素产生的热量。

2.3.4 发酵过程中能量传递

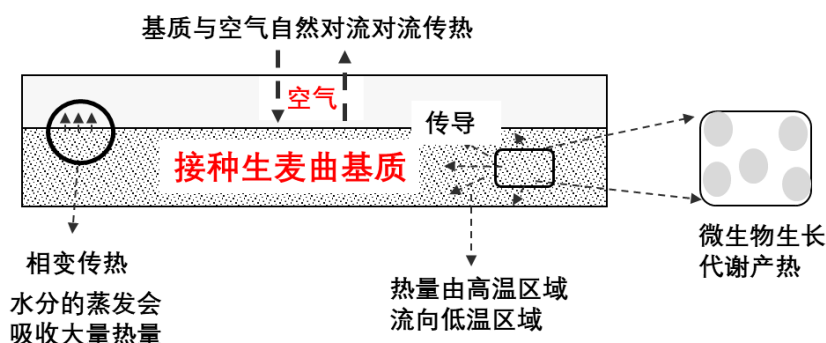


图 2-3 曲块能量传递示意图

Figure 2-3 Diagram of energy transfer

(1) 固态培养中的能量传递

在去除人为因素干扰及强制通风时，曲房内的环境因素的变化主要是由于微生物的生理活动造成的。麦曲中微生物的主要生理生长活动包括呼吸作用、碳代谢、氮代谢、脂质代谢、蛋白质合成、酵素分泌等。呼吸作用吸收氧气，消耗基质内有机物，产生热量，并释放二氧化碳^[75]。由于呼吸作用产生热量导致基质的温度比周围空气温度稍高，因此两者之间会进行热量交换，同时也会引起蒸发现象。这些活动对麦曲的发酵过程和最终的发酵产品的品质产生了重要的影响。

固态培养中的传热方程通常采用能量平衡方程来描述，它包括传热方程和生物学方程^[76]。传热方程描述了热量在培养基质中的传递，而生物学方程描述了微生物在培养基质中的生长和代谢过程。固态培养的传热方程可以表示为：

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda \nabla^2 T + h(T_s - T) + S \quad (4)$$

其中， ρ 是培养基质的密度， C_p 是质量比热容， T 是培养基质的温度， t 是时间， λ 是培养基质的热导率， h 是传热系数， T_s 是环境温度， S 是代表生物学反应的源项。该方程描述了培养基质中的传热过程，包括对流传热、辐射传热和传导传热。该方程中的第一项表示了培养基质内部的传热过程，它与热导率和温度梯度有关。第二项表示了培养基质与环境之间的传热过程，它与传热系数 h 、环境温度 T_s 和培养基质温度 T 有关。第三项表示了培养基质中的生物学反应，它与生物学反应速率有关，包括微生物生长、代谢、产酶等过程。

需要注意的是，固态培养中的传热方程具有复杂性和非线性性，它涉及多个参数和变量，包括培养基质的物理性质、微生物的生物学特性、培养条件等。因此，在实际应用中需要根

据具体情况进行调整和修正，以保证传热方程的可靠性和适用性^[77]。

(2) 固态培养中的生物学方程

固态培养中的生物学方程描述了微生物在培养基质中的生长和代谢过程^[78]。Logistic 方程是用于描述微生物生长动力学的最常用模型之一^[79]，尤其在系统生物学和计算生物学中。该方程通常用于拟合基于光密度 (OD) 的生长曲线。Logistic 模型最初是由 Veshulst 在 1838 年提出，其微分方程形式可以很好地描述生物的生长曲线。方程为：

$$dX/dt = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \quad (5)$$

其中参数： μ =微生物比生长速率， X =生物量， X_m =最大生物量。在固态培养中，微生物生长速率受到许多因素的影响，如温度、氧气、pH、水分等^[80]。例如：温度影响：微生物的生长速率随着温度的升高而增加，但是过高的温度会导致微生物死亡或失活；氧气影响：氧气是微生物代谢的必需气体，缺氧或氧气不足会限制微生物的生长速率；pH 影响：微生物生长需要适宜的 pH 范围，过高或过低的 pH 都会抑制微生物的生长；水分影响：水分是微生物生长的必需因素，过高或过低的水分都会限制微生物的生长速率。因此，在固态培养中，生物学方程需要考虑这些因素的综合影响，以更准确地描述微生物的生长和代谢过程。此外，还需要考虑到微生物产酶的过程，例如产生酶解聚合物的酶或产生抗生素等^[81]。

2.3.5 气体流动模型

气体流动模型是描述气体在空间内流动状态的理论模型^[82]。在计算流体力学中，常用的气体流动模型包括 Navier-Stokes 方程、Reynolds 平均 Navier-Stokes 方程、湍流模型等。其中，Navier-Stokes 方程是描述气体连续性、动量守恒和能量守恒的基本方程，可以用来描述气体在不同条件下的流动行为。但是，由于 Navier-Stokes 方程求解的复杂度很高，通常需要采用数值计算方法来求解。而且在实际应用中，流体中存在的湍流等复杂现象会使得 Navier-Stokes 方程难以准确描述气体流动，因此需要引入湍流模型进行修正。湍流模型是用于模拟湍流流动的数学模型，可以通过计算机模拟来预测湍流流动的特性和行为^[83]。常见的湍流模型包括：

(1) 经验模型

经验模型是根据实验数据和经验公式推导而来的，如 Prandtl-Kolmogorov 模型、K- ϵ 模型、K- ω 模型等。这些模型通常基于实验数据来描述湍流的各种物理特性，如湍流能量、湍流剪切应力等。经验模型具有计算速度快的优点，但是其精度较低，仅适用于一定的流动条件。

(2) 大涡模拟 (LES)

大涡模拟是通过数值方法直接求解湍流中的大尺度结构，而将小尺度结构视为随机的小涡旋，通过统计的方法考虑它们的影响。它可以提供比经验模型更精确的湍流模拟结果，但需要较高的计算资源。

(3) 直接数值模拟 (DNS)

直接数值模拟是通过数值方法对湍流流动中的每一个小尺度结构进行求解，提供最为准确的湍流模拟结果。但由于需要求解的涡旋数量巨大，计算资源要求非常高，通常只适用于

小尺度流动模拟。

不同的流动模型适用于不同的流动条件和精度要求，曲房中的气体流动方式属于自然对流。在曲房中，由于发酵产生的热量和水分的蒸发，使得曲房内部形成了温度和湿度的差异。这些差异导致空气产生密度的差异，上升的热空气和下降的冷空气形成了一个闭合的环流，从而形成了气流。自然对流模型可以用 Navier-Stokes 方程描述，该方程考虑了气体的连续性、动量守恒和能量守恒。本文中，采用计算流体力学（CFD）软件来模拟气体流动。通过建立曲房的物理模型，将 Navier-Stokes 方程离散化，然后通过数值计算和仿真得出曲房内部的速度场和温度场。根据我们的实验条件选择 K- ε 模型。K- ε 模型是计算流体力学（CFD）中一种经典的湍流模型，用于模拟不可压缩流体的湍流流动。它是基于雷诺平均方法（Reynolds Averaged Navier-Stokes, RANS）和湍流能量方程推导而来的。该模型中的“K”代表湍流动能，而“ ε ”代表湍流耗散率，通过求解 K- ε 方程组来计算湍流中的速度、压力、湍动强度和湍流粘度等物理量。K- ε 模型适用于大多数湍流问题，例如边界层流动、旋转机械和内部流动等，是 CFD 中最常用的湍流模型之一^[84]。K- ε 模型与 K- ω 模型相比，可以更好地处理流场中的剪切层和旋转流动，因此在较高的雷诺数流动中具有优势。K- ε 模型的方程组包括两个方程：K 方程和 ε 方程。它们可以写成以下形式：

(a) K 方程：

$$\frac{\partial(\rho K)}{\partial t} + \nabla \times (\rho K \mathbf{u}) = \nabla \times (\mu \nabla k) + G_k - \rho \varepsilon \quad (6)$$

其中， ρ 是流体的密度， k 是流动动能， \mathbf{u} 是速度向量， μ 是湍流动力黏度， G_k 是源项， ε 是湍流耗散率。

(b) ε 方程：

$$\frac{\partial(\rho \varepsilon)}{\partial t} + \nabla \times (\rho \varepsilon \mathbf{u}) = \nabla (\mu \nabla \varepsilon) + C_{1\varepsilon} \frac{\varepsilon}{k} G_k - C_{2\varepsilon} \rho \frac{\varepsilon^2}{k} \quad (7)$$

其中， ε 是湍流耗散率。

2.3.6 壁面函数法

壁面函数法是一种在计算流体力学（CFD）模拟中用于模拟壁面附近流动的方法^[85]。在 CFD 模拟中，由于液体或气体的流动是由流体靠近壁面处的摩擦力所控制的，因此需要对壁面附近的流动进行设置。本文研究接种生麦曲发酵过程中自然对流，因此在 CFD 模拟中，将曲房的门、窗在建模时忽略，曲房的四周墙面与地面设置为绝热边界，即与外界没有热量交换；同时设置为无滑移边界条件，即流体在壁面处的速度（或相对速度）为零。

虽然壁面函数法是一种常用的方法，它可以大幅度减少计算量，同时可以提高计算效率和计算准确性，但需要注意的是，壁面函数法也有其局限性，如只适用于靠近壁面处流动的粗略描述，不能准确地描述复杂的涡流结构和涡旋的相互作用。因此，在需要精确描述流动场的情况下，可能需要使用更为复杂的方法来解决液体或气体与壁面之间的交互作用。

2.3.7 微分方程的离散与求解

微分方程的离散化和求解是数值方法中的一个重要领域^[86]。在实际应用中，常常需要使用计算机对微分方程进行求解。由于微分方程通常是连续的，而计算机只能处理离散的数值

数据，因此需要将微分方程转化为离散形式，并使用数值方法进行求解^[87]。

离散化是将微分方程转化为一个离散形式，即将自变量和因变量离散化为一组离散的数值点，从而将微分方程转化为一个离散的方程组。离散化的方法有多种，如有限差分法、有限元法等。其中，有限差分法是最常用的方法之一，它将微分方程中的导数用有限差分代替，从而将微分方程转化为一个差分方程。有限元法和谱方法则是利用离散化后的微分方程建立数值模型，并使用数值方法进行求解^[88]。

求解离散化后的微分方程通常采用数值方法，如欧拉法、龙格-库塔法、Adams-Bashforth 法等^[89]。这些数值方法通常基于初始条件和边界条件，通过迭代求解离散化后的方程组，从而得到微分方程的数值解。这些数值方法具有不同的优缺点，在实际应用中需要根据具体问题的特点选择合适的数值方法。需要注意的是，离散化和求解微分方程都会引入一些误差，如截断误差、舍入误差等。这些误差可能会影响数值解的精度和稳定性，因此需要进行误差分析和优化。

2.4 测定方法

2.4.1 黄酒生麦曲发酵过程中环境因子及理化指标的测定

温度的测定方法：接种生麦曲制作完成后将电子温度计插入麦曲中，测量时读取温度计示数。

微生物数量测定方法：取适量粉碎好的麦曲样品，置于已经灭菌的蒸馏水中，并加入一些玻璃珠，以每分钟 200 次的速度进行均匀震荡，以制得悬浮液。接下来，对悬浮液进行不同程度的稀释处理。稀释好的悬浮液，将其均匀涂布于不同种类的分离培养基平板上。每个稀释梯度在每种培养基上均匀涂布 3 块平板^[90]。

参考 QBT4257-2011《酿酒大曲通用分析方法》测定生麦曲中的水分含量、糖化酶活力、液化酶活力，并略作修改。

2.4.2 挥发性风味物质的测定

本研究使用顶空固相微萃取（HS-SPME）技术和气相色谱-质谱（GC-MS）技术联用，对接种生麦曲的挥发性风味物质进行了分析^[91]，具体操作参照相关文献并加以改进：

（1）样品前处理：将 5 g 麦曲样品粉碎并装入 15 ml 顶空瓶中，将萃取头老化处理 30 min，然后在 50℃的自动平衡设备中平衡 5 min 之后，以 500 r/min 的速度进行 30 min 萃取。

（2）气相色谱条件：使用 TR-FFAP 毛细管气相色谱柱，柱长 30 cm，内径为 0.25 mm，液膜厚度为 0.25 μm；进样口温度为 250℃；氮气流速 1 mL/min；系统升温程序：初始温度为 45℃，保持时间为 3 min，以 4 °C/min 升温速率升温至 230℃，保持时间为 6 min。质谱条件：电子轰击电离；电子能量为 70 eV；四级杆温度为 150℃，离子源温度为 260℃，采集模式为全扫描，扫描范围 35~550 m/z。

（3）相对含量计算：经过 GC-MS 实验测定后，使用 Xcalibur 软件处理数据并将麦曲化合物质谱图与 NIST 和 Wiley 谱库进行比对。筛选出正反匹配度大于 800 的物质，并根据它们的峰面积比值计算出麦曲挥发性化合物的相对含量。

第三章 结果与讨论

3.1 接种生麦曲制曲工艺条件优化

3.1.1 初始含水量对微生物数量及酶活力的影响

3.1.1.1 初始含水量对微生物数量的影响

在麦曲发酵过程中微生物群落结构的变化是由多个因素共同驱动的，其中水分含量是一个重要的因素。初始含水量对微生物群落结构的影响如图 3-1 所示，对于细菌来说，随着含水量的增加，黄酒生麦曲中细菌数量呈现先增加后减少的趋势，在初始水分达到 30% 时细菌微生物数量达到最大，为 $8.5 \pm 0.2 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ，随后下降；在霉菌方面，30% 的初始含水量时霉菌微生物数量达到最大值，为 $8.4 \pm 0.2 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ，当初始含水量多于 20% 时，霉菌的微生物数量显著高于初始含水量低于 20% 的样品；在酵母菌方面，40% 的初始含水量时酵母的微生物数量达到最大，最大值为 $8.2 \pm 0.1 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果表明，麦曲水分含量对于曲内微生物群落的影响不容忽视，较高的水分含量可能会导致高湿微氧的环境的形成，从而影响麦曲的发酵性能。随着初始含水量的增加对微生物群落结构有显著的影响。因此，在生产实践中，需要合理控制麦曲的水分含量，以确保其发酵性能和产量。

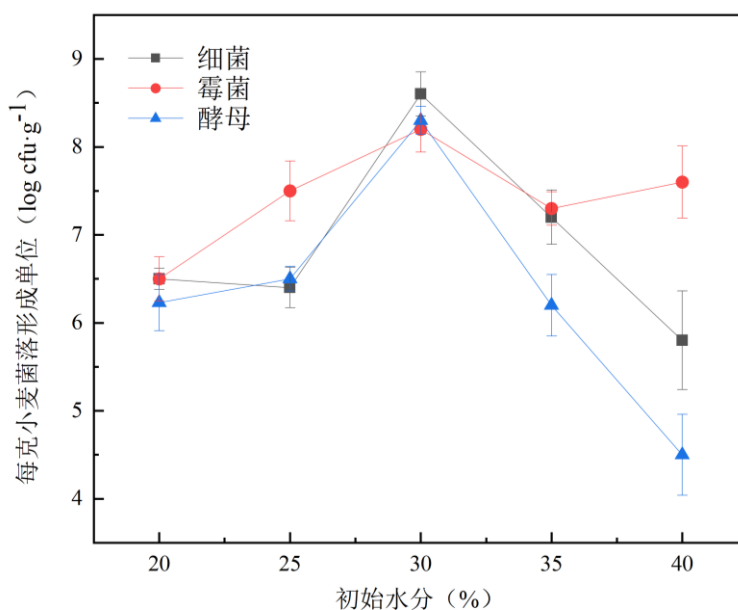


图 3-1 初始水分对微生物数量的影响

Figure 3-1 Effect of initial moisture on microbial population

3.1.1.2 初始含水量对酶活力的影响

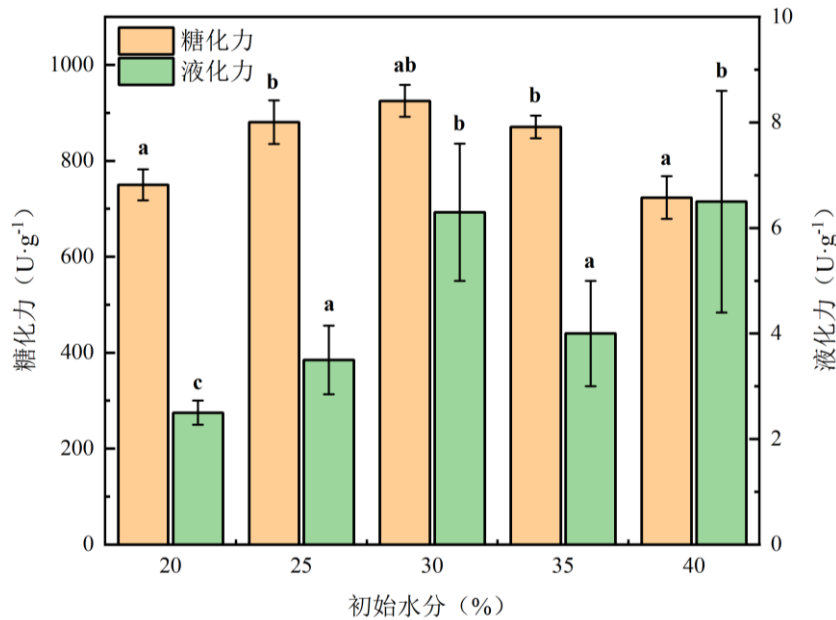


图 3-2 初始水分对酶活力的影响

Figure 3-2 Effect of initial moisture on enzyme activity

为了确保麦曲的品质，在固态发酵过程中选择初始含水量低于 40% 的水平进行酶活力验证。这是因为当初始含水量超过 40% 时，小麦粉会出现粘连并渗出水分，从而影响麦曲的品质和发酵过程。由图 3-2 可知不同初始含水量麦曲的酶活力有所不同，当初始含水量小于 30% 时，糖化力随着含水量的增加而增加，在 30% 时糖化力达到最大值，为 $960.8 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ，随着初始含水量的进一步增加，糖化力有降低的趋势，并在 40% 初始含水量达到最低值；液化力方面，初始含水量小于 30% 时，液化力随着含水量的增加而增加，在 40% 时糖化力达到最大值，为 $6.8 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ ，初始含水量为 35% 时，液化力反而下降。这可能与初始含水量过多导致麦曲内部水分过高，微生物死亡有关。因此，建议麦曲的初始水分含量应该控制在 30% 左右。

3.1.2 接种量对微生物数量及酶活力的影响

3.1.2.1 接种量对微生物数量的影响

不同的接种量直接影响微生物的初始数量，对微生物的生长有一定的影响，接种量的多少对固态发酵有较大的影响。接种量过小，发酵启动时间会相对延长，导致发酵温度过低、增加染杂菌的危险；接种量过大，菌株生长过快，导致发酵温度短时间内上升过快，底物发酵不完全，同时基质易粘结成块，不利于微生物的生长，麦曲质量不易控制。图 3-3 表明，微生物数量随着接种量的增加呈现先增加后减少的趋势，在接种量为 6% 时，细菌、霉菌、酵母的数量达到最大值，分别为 $8.9 \pm 0.3 \log \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $9.5 \pm 0.2 \log \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $7.1 \pm 0.2 \log \text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在固态发酵过程中，接种量的大小会对微生物生长的强度和底物的利用率产生影响。如果接种量过少，微生物生长缓慢，发酵时间长，产量低。相反，当接种量过多时，霉菌大量繁殖，导致单位面积内的营养物质和溶解氧供应不足，影响了微生物代谢产物的积累和营养物质的转化，同时细菌数量和酵母菌数量也会减少。因此，接种量为 6% 时，可以更适宜微生物的生长。

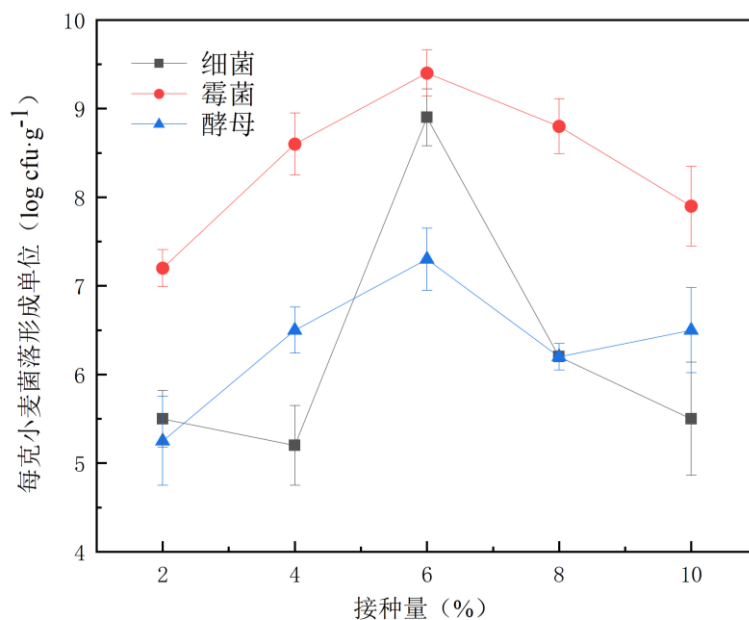


图 3-3 接种量对微生物数量的影响

Figure 3-3 Effect of inoculation volume on the number of microorganisms

3.1.2.2 接种量对酶活力的影响

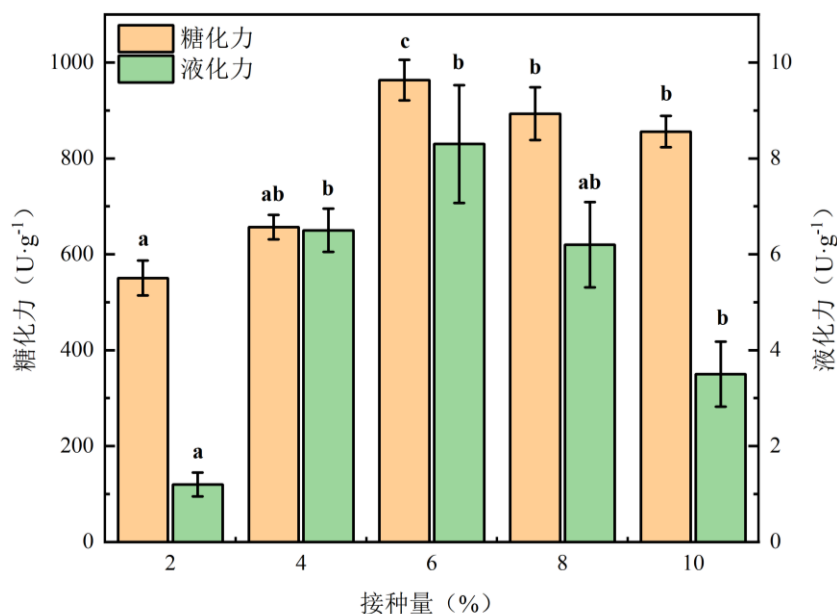


图 3-4 接种量对酶活力的影响

Figure 3-4 Effect of inoculum amount on enzyme activity

功能菌株和种曲是生麦曲的主要微生物来源，其中功能菌株对麦曲酶活影响显著，其接种量决定麦曲糖化力和液化力。接种量是指在发酵过程中添加的微生物数量。一般来说，适当的接种量可以促进微生物的生长繁殖，提高发酵速度和产酶量；而过高或者过低的接种量则可能对酶的活力产生负面影响。因此，本文考察了米曲霉苏-16 接种量对麦曲产糖化酶和液化酶活力的影响，结果如图 3-4 可知，随着接种量的增大，糖化酶和液化酶酶活力不断增加，当接种量为 6.0% 时，分别达到最大值 $980.2 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $8.1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。当接种量小于 6.0% 时，接种量过低，微生物数量较少，营养过剩，产酶滞后；当接

种量大于 6.0%时, 接种量过大, 菌体迅速生长, 微生物数量迅速增长导致后期营养不足, 曲温升高, 不利于产酶, 故糖化酶活力和液化酶活力不断下降。

对于酶的活力, 一般来说, 酶活性与其浓度成正比, 即酶浓度越高, 则酶活性越强。因此, 如果接种量过高, 微生物数量过多, 则产生酶的种类可能会过多, 从而导致主要酶活性下降。另外, 过高的微生物数量也可能导致过多的代谢产物, 如酒精和酸, 进一步影响酶的活力。相反, 如果接种量过低, 则微生物数量不足, 可能会导致发酵过程缓慢, 酶的产生不足, 从而影响酶的活力。因此, 在发酵过程中, 需要控制适当的接种量, 以确保微生物数量的合适, 从而促进酶的产生和活力。因此, 实验较佳接种量为 6.0% (v/w)。

3.1.3 发酵温度对微生物数量及酶活力的影响

3.1.3.1 发酵温度对微生物数量的影响

温度对发酵过程的影响十分重要, 需要根据不同的微生物发酵过程控制适宜的温度范围, 以促进微生物的生长、代谢和产物形成, 同时提高发酵效率和产品品质。

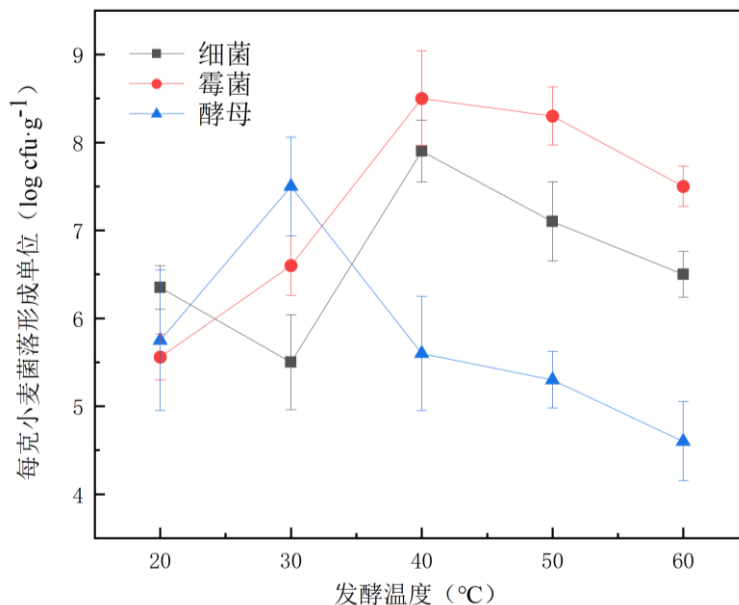


图 3-5 发酵温度对微生物数量的影响

Figure 3-5 Effect of fermentation temperature on the number of microorganisms

一般来说, 不同的微生物在不同的温度范围内具有最适合生长和繁殖的条件。因此, 控制发酵温度可以促进或抑制微生物的生长和繁殖, 从而影响微生物数量进而影响微生物的生理生化过程。温度通过影响微生物生长进而影响麦曲的质量。所以本研究旨在确定麦曲固态发酵条件下微生物混合生长的最适温度。根据图 3-5 显示, 不同的发酵温度会对微生物群落数量产生影响。当温度升高到高温 (40°C、50°C、60°C) 时, 与低温 (20°C、30°C) 相比, 生麦曲中的微生物群落结构会发生明显的变化。低温时, 微生物群落的多样性较高, 数量趋近于相似, 这表明低温对微生物群落的影响较小, 可能是因为较低的温度有利于大量微生物的生长。对比不同温度条件下微生物数量结构, 发现在 20°C~30°C 时, 微生物处于快速生长阶段, 霉菌和酵母的数量快速增长, 而细菌数量稍

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/915300244103011113>