

研究报告

功能微生物组对浓香型白酒上层酒醅发酵微生物群落及挥发性风味物质的影响

葛怀锐¹, 赵赟¹, 陈非凡¹, 卫春会³, 李文瑶¹, 黄治国³, 马立娟^{1,2*}, 杜丽平^{1,2}, 费立发⁴, 宋瑞雪⁴

1 天津科技大学 生物工程学院, 天津 300457

2 工业发酵微生物教育部重点实验室 天津市工业微生物重点实验室, 天津 300457

3 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川轻化工大学, 四川 宜宾 644002

4 沧州御河酒业有限公司, 河北 沧州 050051

葛怀锐, 赵赟, 陈非凡, 卫春会, 李文瑶, 黄治国, 马立娟, 杜丽平, 费立发, 宋瑞雪. 功能微生物组对浓香型白酒上层酒醅发酵微生物群落及挥发性风味物质的影响[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 402-419.

GE Huairui, ZHAO Yun, CHEN Feifan, WEI Chunhui, LI Wenyao, HUANG Zhiguo, MA Lijuan, DU Liping, FEI Lifa, SONG Ruixue. Effects of the functional microbiome on the microbial community and volatile flavor compounds of the upper-layer fermented grains of Nongxiangxing Baijiu[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 402-419.

摘要: 【背景】浓香型白酒上层酒醅发酵普遍存在原料利用率低、风味品质差等问题。【目的】提升浓香型白酒上层酒醅出酒率和原酒品质。【方法】采用功能微生物组(高产淀粉酶和酯类化合物)进行强化发酵。【结果】功能微生物组强化使得上层酒醅中淀粉利用率提高了 23.6%，原酒中乙醇含量提高了 33.3%，酯类风味物质含量提高了 31.4%；同时显著提升了酒醅中乳杆菌属(*Lactobacillus*)、毕赤酵母属(*Pichia*)和嗜热子囊菌属(*Thermoascus*)的相对丰度，降低了芽孢杆菌属(*Bacillus*)、克罗彭斯特菌属(*Kroppenstedtia*)和曲霉属(*Aspergillus*)的相对丰度，这些微生物属相对丰度的变化导致基酒中己酸、辛酸、己酸乙酯和乙酸乙酯等 13 种挥发性化合物含量存在显著差异。Spearman 相关性分析表明，酒醅中水分、还原糖含量及酸度与主要微生物属具有显著的正相关性，是酒醅发酵过程中重要的驱动因子。分析预测了酒醅的不同发酵阶段微生物代谢途径中丰度差异显著的功能酶，表明酒醅微生物群落的变化是不同发酵时期代谢差异的主要原因。【结论】系统探究了功能微生物组扰动对浓香型白酒上层酒醅发酵过程的理化特性、微生物群落演替及挥发性风味物质合成的影响作用，为通过功能微生物强化的方式优化浓香型白酒酿造工艺提供参考。

关键词: 浓香型白酒；功能微生物组；微生物群落；挥发性风味物质；生物扰动

资助项目：天津市科技计划(22YFZCSN00240)；酿酒生物技术及应用四川省重点实验室开放基金(NJ2021-06, NJ2022-01)

This work was supported by the Tianjin Science and Technology Program (22YFZCSN00240) and the Open Fund of Liquor Brewing Biotechnology and Application of Key Laboratory of Sichuan Province (NJ2021-06, NJ2022-01).

*Corresponding author. E-mail: malj@tust.edu.cn

Received: 2025-05-09; Accepted: 2025-07-07; Published online: 2025-08-08

Effects of the functional microbiome on the microbial community and volatile flavor compounds of the upper-layer fermented grains of Nongxiangxing Baijiu

GE Huairui¹, ZHAO Yun¹, CHEN Feifan¹, WEI Chunhui³, LI Wenyao¹, HUANG Zhiguo³, MA Lijuan^{1,2*}, DU Liping^{1,2}, FEI Lifa⁴, SONG Ruixue⁴

1 School of Biological Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

2 Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, Tianjin 300457, China

3 Liquor Brewing Biotechnology and Application of Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644002, Sichuan, China

4 Cangzhou Yuhe Liquor Co., Ltd., Cangzhou 050051, Hebei, China

Abstract: **[Background]** In the fermentation of the upper-layer fermented grains of Nongxiangxing Baijiu, there are widespread issues such as low raw material utilization rate and poor flavor quality. **[Objective]** To improve the yield and quality of Nongxiangxing Baijiu from the upper-layer fermented grains. **[Methods]** In this study, functional microbiomes (with high yields of amylase and ester compounds) were used for enhanced fermentation. **[Results]** The results showed that the enhancement with the functional microbiome increased the starch utilization rate in the upper-layer fermented grains by 23.6%, the content of ethanol in the crude Baijiu by 33.3%, and the content of ester flavor substances by 31.4%. At the same time, the functional microbiome significantly increased the relative abundance of *Lactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Pichia*, and *Thermoascus* while decreasing the relative abundance of *Bacillus*, *Kroppenstedtia*, and *Aspergillus* in the fermented grains. The changes in the relative abundance of these microbial genera led to significant differences in the content of 13 volatile compounds such as caproic acid, caprylic acid, ethyl caproate, and ethyl acetate in crude Baijiu. Spearman correlation analysis indicated that moisture, reducing sugar content, and acidity had significant positive correlations with the main microbial genera and were important driving factors in the fermentation process of fermented grains. Analysis indicated that the functional enzymes and their abundance of the microbial community in the fermented grains showed significant differences at different fermentation stages. It suggested that the microbial community changes in the fermented grains were the main cause of metabolic differences at different fermentation stages. **[Conclusion]** This study systematically investigated the effects of functional microbiome disturbance on the physical and chemical properties of the upper-layer fermented grains of Nongxiangxing Baijiu, the succession of the microbial community, and the synthesis of volatile flavor substances during the fermentation process, providing a reference for optimizing the brewing process of Nongxiangxing Baijiu through enhancement with functional microbiomes.

Keywords: Nongxiangxing Baijiu; functional microbiome; microbial communities; volatile flavor compounds; biological disturbance

中国白酒是世界六大蒸馏酒之一,相较于国外其他蒸馏酒,白酒中含有丰富的酯类、醇类、酸类、醛酮类、吡嗪类及芳香族类等化合物^[1],这些风味物质的组成和含量决定了白酒的香型^[2]。浓香型白酒作为中国白酒的重要代表,以谷物为酿造原料,利用中高温大曲作为糖化发酵剂,采用独特的固态泥窖发酵模式^[3],因而其酒体呈现窖香浓郁、绵甜醇厚、尾净余长等特点,深受广大白酒消费者的喜爱。

目前,浓香型白酒酿造工艺的核心和特色在于窖池内糟醅的分层操作,即分层起糟、分层蒸馏和分层入窖^[4-5]。由于空间异质性导致发酵过程中各层糟醅的理化指标、微生物群落组成等存在显著差异。例如,王思浓等^[6]研究发现浓香型白酒发酵过程窖池内中下层糟醅还原糖的含量高于上中层酒醅。罗海等^[7]对比窖池发酵过程中不同空间位置的生态因子以及微生物代谢活动的动态变化,结果发现上层糟醅中残淀粉含量低且其与窖泥的接触面积少,导致其微生物发酵比较缓慢。此外,发酵过程产生的黄水由于重力作用通常在窖池底部积累,导致上层酒醅中微生物的多样性和丰度显著低于中下层酒醅,进而造成上层糟醅发酵效率低、出酒率低及酒体风味品质较差等问题。

已有研究表明,通过接种功能微生物进行强化发酵,不仅能够显著改善食品的风味,同时还能缩短发酵周期^[8]。例如,He等^[9]将贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)用于大曲强化发酵,改变了大曲的生物群落演替,同时增加了大曲中吡嗪、醇和酯类化合物的含量,为微生物强化接种控制大曲质量和改善白酒风味奠定了基础。黄晓宁等^[10]将2株高产淀粉酶和蛋白酶的芽孢杆菌应用于清香型白酒强化发酵,使得酒醅中的4-乙基-2-甲氧基苯酚、辛酸乙酯、3-甲基丁酸乙酯、四甲基吡嗪含量显著升高。Tong等^[11]将一株贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) DQA21用于浓香型白酒发酵过程,结果表明,微生物群落

结构受到了显著影响,酒醅中风味物质含量得到了提高,其中总酯、总醇、总酸含量分别提高了19.1%、81.1%、25.9%。由此可见,功能微生物强化发酵对提高大曲或白酒品质起到了一定的调控作用。然而,利用不同功能微生物混合强化以提高浓香型白酒上层糟醅基酒品质及其影响机制的研究相对较少。

为提高浓香型白酒上层酒醅出酒率和基酒品质,本研究采用在浓香型白酒酒醅中筛选得到的高产淀粉酶和酯类化合物的芽孢杆菌和酵母菌进行混合强化发酵,通过分析功能微生物强化前后酒醅中微生物群落结构、酒醅理化指标及基酒中的挥发性化合物,探究不同功能微生物混合强化对浓香型白酒上层酒醅发酵的影响作用及其背后的潜在影响机制,以期通过功能微生物组强化的方式优化浓香型白酒酿造工艺提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品

地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) DY55、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) NJ、异常克汉姆酵母(*Wickerhamomyces anomalus*) YC,本实验室保藏。

本研究所用的窖池上层酒醅、大曲、高粱均由河北省沧州市某酒厂提供。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

酵母浸出粉胨葡萄糖(yeast extract peptone dextrose, YPD)液体培养基^[12](g/L): 酵母浸提物 10.0, 蛋白胨 20.0, 葡萄糖 20.0。YPD 固体培养基: 在液体培养基中加入 2%的琼脂粉^[12]。LB 液体培养基^[13](g/L): 蛋白胨 10.0, 酵母浸粉 5.0, 氯化钠 5.0。LB 固体培养基: 在液体培养基中加入 2%的琼脂粉^[13]。异丙醇,上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 2-辛醇、2-乙基丁酸、乙酸戊酯(色谱纯), 国药集团化学试剂有限公司; 硫酸、柠檬酸、无水硫酸铜、浓盐酸、氢氧化钠,天津市化学试剂六厂; 琼脂粉、葡萄

糖、蛋白胨、酵母浸提物，北京索莱宝科技有限公司。培养箱，浙江宁东仪器有限公司；高速冷冻离心机，安徽嘉文仪器装备有限公司；梯度PCR仪，Eppendorf公司；超净台，上海智城分析仪器制造有限公司；萃取头，Sigma-Aldrich公司；气相色谱质谱联用仪，安捷伦科技有限公司。

1.3 浓香型白酒模拟发酵工艺

将功能微生物菌株制备成悬浮液后，按照菌株 DY55:NJ:YC 为 100:10:1 的比例制备成混合菌悬液(即菌株 DY55、NJ、YC 的浓度分别为 1×10^7 、 1×10^6 、 1×10^5 CFU/mL，等体积混合)，按 10%接种量(以酒醅质量计)接种到浓香型白酒上层酒醅(蒸酒后添加 30%的大曲)，拌匀后

的酒醅置于尺寸为 20 cm×13.5 cm×7 cm 的食品级保鲜盒中，密封后置于培养箱中进行发酵，采用浓香型白酒生产工艺流程在实验室进行发酵，具体生产流程如图 1 所示。参考酒厂窖池发酵过程的实际温度对模拟发酵过程的温度进行控制，19–21 °C发酵 3 d，22–24 °C发酵 5 d，33–35 °C发酵 10 d，降温 30–32 °C发酵 10 d，共 28 d。每组每次各取 3 瓶进行实验，分别在第 0、7、14、28 天采样进行各项指标的测定。4 个实验组分别如表 1 所示。

1.4 发酵酒醅理化指标分析

参考尚柯等^[14]的方法测定不同发酵阶段酒醅中的水分、还原糖、淀粉和酸度。原酒中酒精含量的测定：取 100 g 发酵酒醅置于 500 mL 三

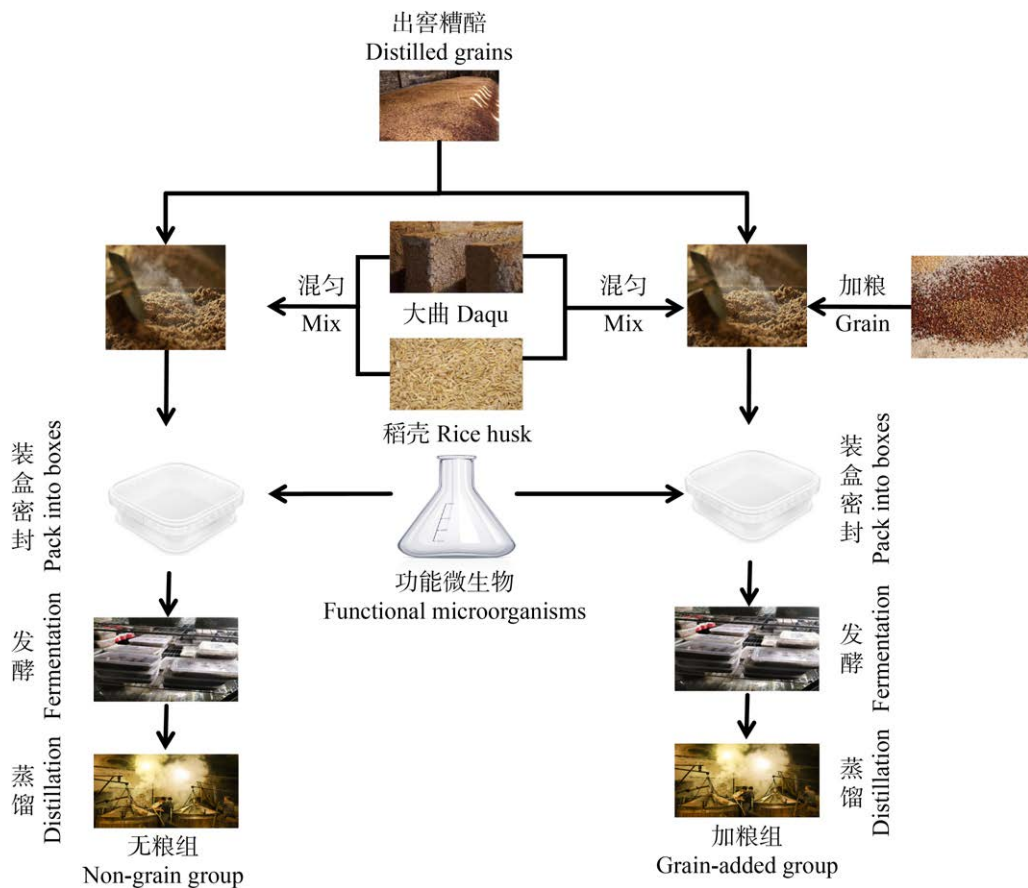


图 1 浓香型白酒上层酒醅模拟固态发酵工艺

Figure 1 Simulated solid-state fermentation process of the upper-layer fermented grains of Nongxiangxing Baijiu.

表 1 各实验组酒醅的模拟条件

Table 1 Specific conditions of each experimental group

Experimental group number	The amount of grain added ^a (%)	The amount of Daqu added (%)	The addition amount of functional microbiome (%)
Group 1 (WLS)	–	30	Physiological saline 10
Group 2 (WLW)	–	30	Addition amount 10
Group 3 (JLS)	20	30	physiological saline 10
Group 4 (JLW)	20	30	Addition amount 10

–: 未添加粮食; ^a: 使用的粮食配比, 比例为高粱:糯米:大米:小麦:玉米=32:24:19:19:6。

–: No grains added; ^a: The proportion of grains used, the proportion is sorghum:glutinous rice:rice:wheat:corn=32:24:19:19:6.

角瓶中, 加 250 mL 去离子水, 全玻璃器蒸馏出 100 mL 溶液, 采用比重法测定酒精度^[15]。所有实验均进行 3 次重复。

1.5 微生物群落组成分析

用 Omega Soil DNA Kit 提取酒醅总基因组 DNA^[16], 使用引物 338F (5'-ACTCCTACGGG AGGCAGCA-3'), 806R (5'-GGACTACHVGGGT WTCTAAT-3')对细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行扩增; 使用引物对 ITS5 (5'-GGAAGTAA AAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS2 (5'-GCTGCGT TCTTCATCGATGC-3')对真菌 ITS1 区进行扩增。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 94 °C 15 s, 55 °C 15 s, 72 °C 5 min, 30 次循环。反应体系 (20 μL): DNA 模板(500 ng/μL) 1 μL, 上、下游引物(5 μmol/L)各 1 μL, 2×*Taq* PCR Master Mix 10 μL, 无菌水 7 μL。回收目的片段并进行纯化后送上海派森诺生物科技股份有限公司进行测序验证。

1.6 酒样中风味化合物检测

酒样预处理: 取蒸馏后酒样 8 mL 至 20 mL 顶空进样瓶中, 加入 3 g 氯化钠, 然后加入 5 μL 5 g/L 的内标(2-辛醇、2-乙基丁酸、乙酸戊酯), 在 60 °C 平衡 30 min 后, 插入萃取头恒温涡旋 50 min, 放入质谱仪中进行分析, 在 250 °C 的气相色谱进样口解析 10 min^[17]。

气相色谱条件^[18]: 开始以 40 °C 维持 3 min, 以 5 °C/min 的升温速率升温至 120 °C, 保持 3 min; 再以 3 °C/min 的升温速率升温至 240 °C, 保持 5 min 进样口温度为 250 °C, 色谱柱前压

设定为 2.9 psi; 载气: 氦气(99.9%); 载气流量: 1.5 mL/min; 质谱条件: EI 源; 70 eV; 温度 230 °C; 四极杆温度: 200 °C; 全扫描模式: 扫描范围 35–400 amu。

酒样中挥发性物质半定量分析: 根据挥发性物质质谱特征, 对特征离子进行提取, 采用 NIST 2011 MS 谱库检索, 得到各峰对应的物质, 将各风味物质的峰面积与内标的峰面积之比作为半定量结果^[19]。

1.7 感官品评

对蒸馏后的酒样进行感官分析, 由国家级白酒品酒师, 以及酿造与蒸馏、发酵工程等相关专业背景的 15 人组成感官品评小组(8 名女性和 7 名男性)^[20], 经过培训后, 能够较为准确地描述样品之间香气强度等级以及感官描述词(粮香、花香、曲香、甜香、果香、窖香)。在感官实验室正常光照下、室温 25 °C, 约 10 mL 样品被随机放在标有 3 个数字的测试酒杯中, 小组成员按照随机顺序进行感官评价, 针对每项感官描述词, 依据其感知强度在 1–9 分范围内进行量化评分(“1”表示该风味极弱, “9”表示该风味极强)^[21]。

1.8 数据处理

利用 OriginPro 2024 软件对数据进行处理及作图分析、使用派森诺基因云平台(<https://www.genescloud.cn/home>)对微生物群落进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)。采用 IBM SPSS Statistics 27 软件分析优势微生物属与差异挥发性化合物间的相关性, 使用 Cytoscape 对相关

进行可视化并构建共现网络。采用 SIMCA-P 13 软件对酒体中挥发性风味物质的定量结果进行偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)。PICRUSt 工具对导入的 OTU 分类信息进行在线功能预测, 使用 Castor 算法推测特征序列的相近的序列物种及基因家族拷贝数, 采用 MinPath 预测样本中基因家族丰度, 并根据 KEGG 数据库中相关基因功能的注释绘制代谢途径, 根据酶的丰度信息绘制气泡图。

2 结果与分析

2.1 功能微生物组强化对酒醅理化指标的影响

由图 2 中显示的不同发酵阶段酒醅的理化因子变化曲线可知, 在发酵前 14 天, 各实验组还原糖含量呈显著下降的趋势。相较于不加粮实验组(WLS 和 WLW), 加粮实验组(JLS 和 JLW) 酒醅中还原糖含量降低速率较快(图 2A)。从发酵初期至发酵结束, JLS 组的水分含量增加幅度较小, 第 28 天时增加至 64.0%; 而 JLW 组的水分含量从 58.0%提高至 65.0% (图 2B)。淀粉含量的变化规律与还原糖相似, 总体呈现先下降后平稳的趋势。通过对比发现, JLS 组酒醅中淀粉含量从发酵初期的 36.2%降至发酵结束时的 20.5%, 而 JLW 组则由 36.3%降至 19.6%, 接种功能微生物组后酒醅中淀粉利用率提高了 5.7%; WLS 组酒醅中淀粉含量从发酵初期的 25.1%降至发酵结束的 17.2%, 而 WLW 组则由 26.5%降至 16.8%, 接种功能微生物组后酒醅中淀粉利用率提高了 23.6% (图 2C)。

在发酵过程中, WLS 与 WLW 组的酒醅酸度呈现出先降低后增加的趋势。而 JLW 组的酒醅酸度随发酵的进行逐渐升高, 发酵结束时最高, 达到 3.55 mmol/10 g (图 2D)。发酵第 28 天时, JLW 组的酒体酒精度达到 6.4% Vol, 比 JLS 组的提高了 20.2%; WLW 组比 WLS 组酒体酒精度提高了 33.3% (图 2E)。

2.2 功能微生物组强化对酒醅中微生物群落演替的影响

酒醅中真菌属相对丰度如图 3A 所示。其中, 毕赤酵母属 (*Pichia*)、嗜热子囊菌属 (*Thermoascus*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、根毛霉属 (*Rhizomucor*)、散囊菌属 (*Eurotium*)、横梗霉属 (*Lichtheimia*)、酵母属 (*Saccharomyces*)、嗜热丝孢菌属 (*Thermomyces*)、轮层炭壳属 (*Daldinia*) 及青霉属 (*Penicillium*) 等的相对丰度较高。不同发酵阶段, 相对丰度变化较大的有 *Pichia* (32.6%–99.1%) 和 *Thermoascus* (1.2%–69.3%)。加粮组中, 发酵初期酒醅中以 *Pichia*、*Thermoascus* 和 *Aspergillus* 为主。随着发酵的进行, *Aspergillus* 相对丰度降低, *Pichia* 相对丰度先升高后降低, *Thermoascus* 则呈现相反趋势。从第 0 天到第 14 天, 添加功能微生物酒醅中 *Pichia* 相对丰度在第 7 天时达到最小(8.1%), 第 14 天后增加至 25.9%, 而 *Thermoascus* 相对丰度在第 7 天时达到最大(87.8%), 第 14 天后降低至 69.1%。未添加粮组中, 在发酵初期酒醅中优势真菌属与加粮组相同, 但变化规律与加粮组差异较大。发酵初期, 酒醅中的优势菌属主要为 *Pichia*、*Thermoascus*、*Aspergillus*。随着发酵的进行, *Pichia* 增加至 95.0%以上, *Thermoascus* 则减少至 3.0%以下。发酵第 7 天后, WLW 组酒醅中 *Rhizomucor* 相对丰度从 2.1%达到 7.5%, 而 WLS 组中则由 1.8%降至几乎为 0。

如图 3B 所示, 酒醅中相对丰度较高的前 10 种细菌属包括乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、黏液乳杆菌属 (*Limosilactobacillus*)、克罗彭斯特菌属 (*Kroppenstedtia*)、糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*)、魏斯氏菌属 (*Weissella*)、醋杆菌属 (*Acetobacter*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*)、高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*) 和大洋芽孢杆菌属 (*Oceanobacillus*) 等菌属。随着发酵的进行, JLS 组中的优势微生物属由第 0 天的 *Kroppenstedtia* (20.2%)、*Limosilactobacillus* (16.9%)、*Saccharopolyspora* (19.1%) 和 *Weissella*

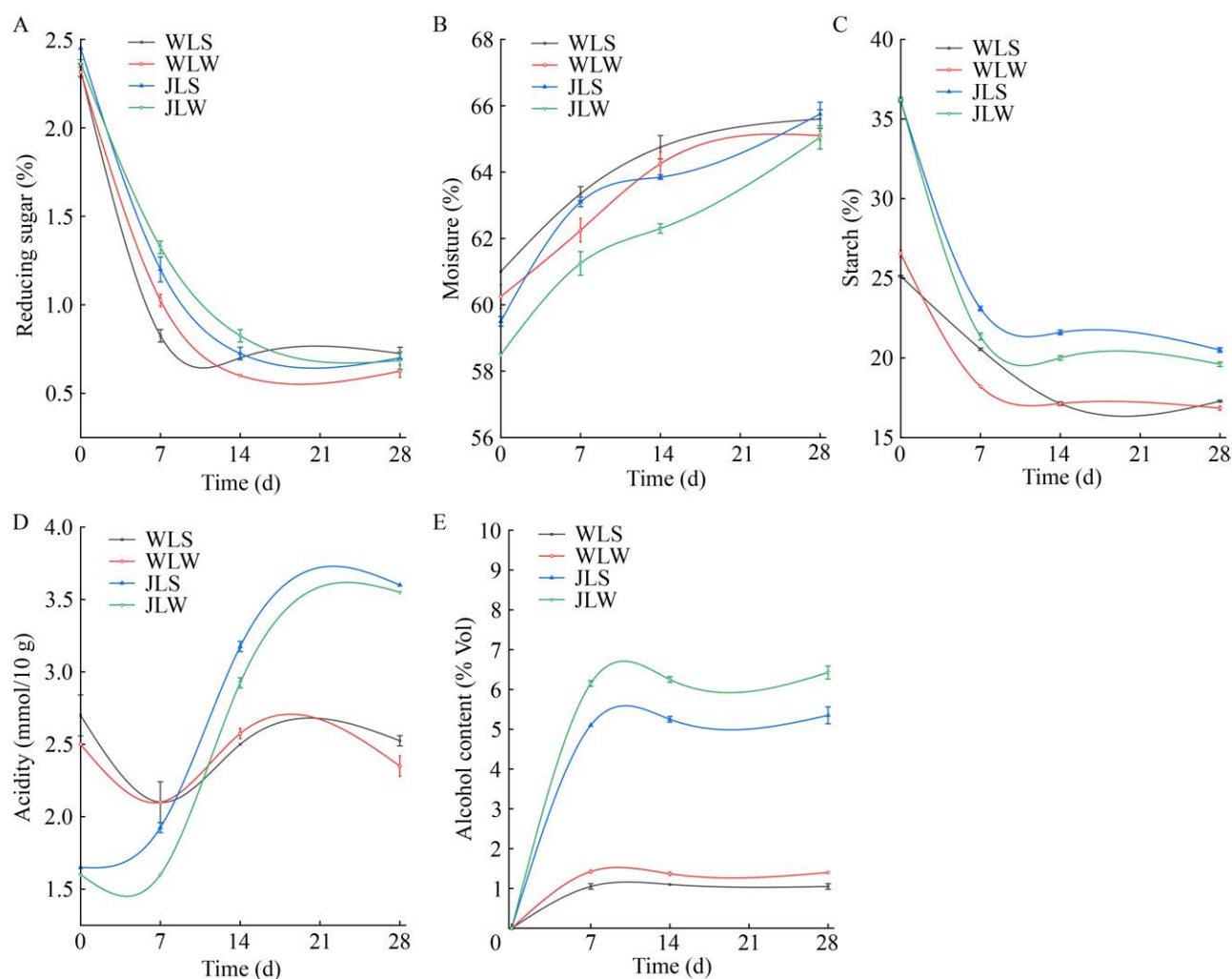


图 2 发酵过程中酒醅理化指标的变化 A: 还原糖含量; B: 水分含量; C: 淀粉含量; D: 酒醅酸度; E: 酒精含量。

Figure 2 Physicochemical changes in fermented grains at different fermentation stages. A: Reducing sugar content; B: Moisture content; C: Starch content; D: The acidity of the fermented grains; E: Alcohol content.

(10.1%)等变成发酵结束时的 *Lactobacillus* (99.8%); 而 JLW 组则是由 *Bacillus* (87.4%)、*Kroppenstedtia* (2.1%)、*Weissella* (3.1%)等变为发酵结束时的 *Lactobacillus* (99.8%)。同时, WLS 组中的优势微生物属由发酵开始时的 *Kroppenstedtia* (31.1%)、*Saccharopolyspora* (13.1%)、*Weissella* (14.4%)和 *Pseudonocardia* (4.9%)等变成发酵结束时的 *Lactobacillus* (86.3%)和 *Limosilactobacillus* (6.6%); 而 WLW 组则是由 *Bacillus* (91.4%)、*Limosilactobacillus* (1.5%)和

Saccharopolyspora (1.6%)变为发酵结束时的 *Lactobacillus* (94.5%)和 *Limosilactobacillus* (3.6%)。

2.3 酒醅中理化因子和微生物群落的相互作用

冗余分析是一种多变量统计分析方法,常用于研究环境因子与微生物群落之间的关系^[22]。对真菌属的冗余分析如图 4A 所示,水分、淀粉含量与微生物群落呈显著的正相关,尤其是与毕赤酵母属微生物;酸度与 *Saccharomyces* 呈显著的正相关;还原糖含量与 *Aspergillus*、

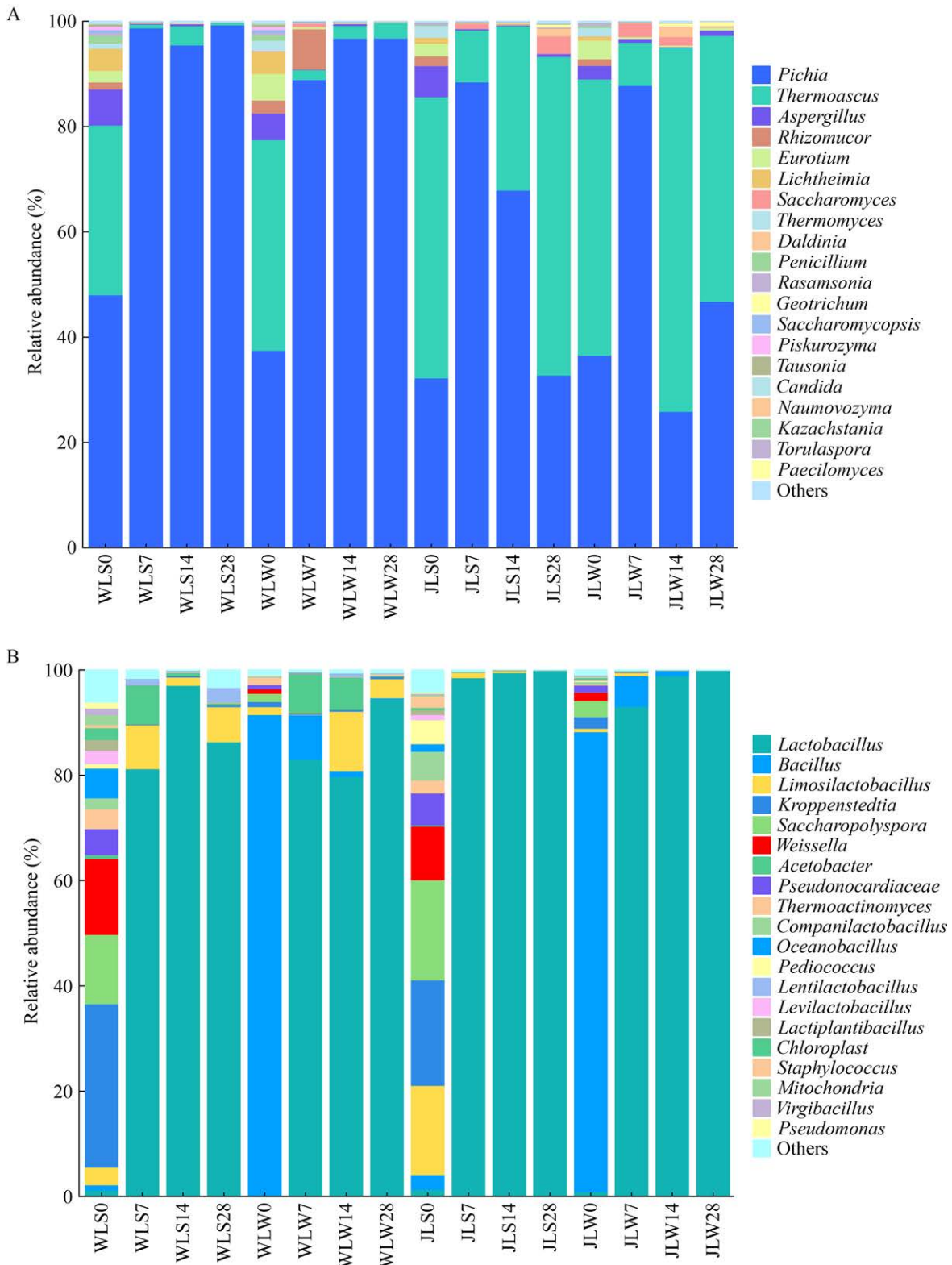


图 3 真菌(A)和细菌(B)属水平群落结构组成分布

Figure 3 Distribution of fungi (A) and bacteria (B) community structure at genus level.

Thermomyces 和 *Rhizomucor* 微生物呈正相关;淀粉含量与 *Penicillium* 和 *Thermosaccus* 呈正相关。

细菌群落的冗余分析图 4B 表明,还原糖含量、水分含量与微生物群落结构呈显著正相关,酸度、酒精含量与微生物群落结构呈显著负相关。水分含量与 *Lactobacillus* 具有较强的正相关性;酸度与 *Acetobacter* 和 *Limosilactobacillus* 呈负相关;淀粉含量与 *Bacillus* 和 *Pseudonocardia* 呈正相关;还原糖含量与 *Thermoactinomyces* 和 *Weissella* 呈正相关。

2.4 功能微生物组强化对酒体挥发性风味物质的影响

2.4.1 挥发性风味物质含量比较

如图 5A 所示,不同实验组酒醅蒸馏后的酒体中共检测到 69 种挥发性化合物,包括 30 种酯类、13 种酸类、10 种醇类、7 种醛类、5 种酚类和 4 种酮类化合物。其中,酯类物质以己酸乙酯(ethyl caproate)、乙酸乙酯(ethyl acetate)、乙酸苯乙酯(phenethyl acetate)、棕榈酸乙酯(ethyl

palmitate)及 3-苯丙酸乙酯(ethyl 3-phenylpropionate)为主。分析发现, JLW 组中己酸乙酯含量为 20.11 mg/L,较 JLS 组提高了近 1 倍;此外,同是微生物强化组,添加粮食的 JLW 组中棕榈酸乙酯的含量(3.55 mg/L)比未加粮组 WLW 中的含量(11.87 mg/L)提高了 2.4 倍,有助于增加酒的丰满感和延长酒的后味。酸类物质以乙酸(acetic acid)、己酸(caproic acid)和辛酸(caprylic acid)为主。JLW 组中己酸含量达到 37.60 mg/L,比 JLS 组高 36.38%,这表明添加功能微生物能够提高酒醅中己酸含量。

醇类物质中以异戊醇(isoamyl alcohol)、正己醇(n-hexanol)及苯乙醇(phenylethyl alcohol)为主。JLW 的酒样中,异戊醇和苯乙醇含量分别为 1.71 mg/L 和 9.89 mg/L,显著高于 JLS 组中的 1.10 mg/L 和 4.19 mg/L。添加微生物之后醛类物质含量有所提高,例如糠醛(furfural)和苯甲醛(benzaldehyde),JLW 组中糠醛含量为 1.43 mg/L 远高于 JLS 组中的 0.83 mg/L。而

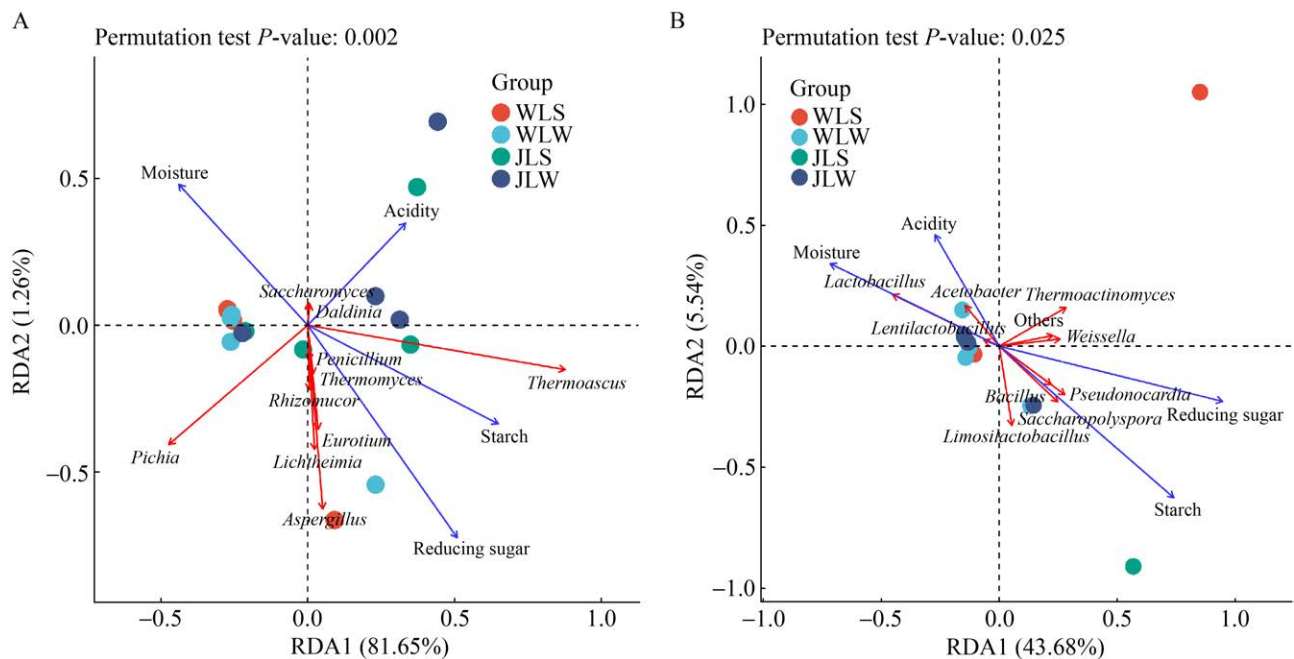


图 4 主要微生物属与理化因子之间的冗余分析 A: 真菌属; B: 细菌属。

Figure 4 Redundancy analysis (RDA) of the relationships between dominant microbial genera and physicochemical factors. A: Fungi; B: Bacteria.

WLW 组中苯甲醛量为 0.55 mg/L, 比 WLS 组中高 1.9 倍。

由图 5B 可见, JLW 组在发酵结束后总酯含量达到 136.41 mg/L, 较 JLS 组提高了 62.0%; 而 WLW 组发酵结束后总酯含量达到 75.19 mg/L, 较 JLS 组提高了 31.4%。由图 5C 可见, 微生物组强化可提高酒体中醇类物质的总含量, 特别是加粮组 JLW 中醇类物质总含量显著高于 JLS 中。由图 5D 可见, 相较于加粮组 JLS 和 JLW, 未加粮组 WLS 与 WLW 的酒体中总酸含量较高; 相较于 WLS 组, 微生物组强化(WLW 组)使得酒体中总酸含量略有下降。

2.4.2 功能微生物组强化对酒体风味化合物的差异性分析

为了进一步探究添加功能微生物对酒体挥发性风味物质的影响, PLS-DA 分析结果如图 6A 所示。PLS-DA 模型参数为 $R^2_X=0.932$, $R^2_Y=0.984$, $Q^2=0.966$, 表明模型对自变量 X 和因变量 Y 的拟合程度高, 拟合效果较好。WLW 组主要分布于第 1 象限, WLS 组主要在第 1、4 象限, 两组均为未加粮食, WLW 组与 WLS 组在发酵过程中风味物质存在较大差异, 表明添加功能微生物组对整个发酵过程的风味物质做出了显著贡献。而 JLS 组与 JLW 组分布则比较集中, 主要分布于第 3 象限, 表明接种功能微生物后并不会立刻改变酒醅中的挥发性风味物质, 但随着发酵时间的进行, JLS 组与 JLW 组表现出显著的差异。

图 6B 为判别模型, 经过 200 次置换检验, $R^2=0.226$, $|Q^2|=1.24$, $Q^2>0.5$ 表明此模型可靠, 未出现过度拟合, 此方法可用于酒醅发酵过程中差异化合物的区分。变量投影重要性值(variable importance in projection, VIP)可量化 PLS-DA 每个变量对分类的贡献度, 是 PLS-DA 变量的重要性因子, 不同差异风味物质成分如图 6C 所示, VIP 值越大, 变量在 2 组酒醅间的差异越显著^[23]。根据 VIP 值>1 的标准, 确定了各实

验组之间有显著差异的挥发性风味物质 13 种, 包括己酸(VIP=3.845)、辛酸(VIP=2.388)、己酸乙酯(VIP=2.351)、乙酸乙酯(VIP=2.071)、庚酸(VIP=2.013)、L-2 羟基丙酸乙酯(VIP=1.960)、乙酸(VIP=1.865)、丁酸(VIP=1.639)、棕榈酸乙酯(VIP=1.621)、3-苯丙酸乙酯(VIP=1.472)、戊酸(VIP=1.275)、乙酸丁酯(VIP=1.029)、2-甲基丁酸(VIP=1.021), 这些差异风味化合物对浓香型白酒的风味有较大的贡献。

2.4.3 差异风味化合物与微生物的相关性分析

为进一步确定添加功能微生物对差异风味化合物的影响, 基于 Spearman 相关性分析($|r|>0.5$, $P<0.05$), 将酒醅的相对丰度前 20 的微生物属与差异挥发性代谢产物构建共现网络, 经 Cytoscape 可视化, 结果如图 7 所示。20 种微生物属与 13 种差异挥发性风味物质呈显著相关。

其中, *Pichia* 与多种风味物质(如戊酸、丁酸、庚酸)呈现正相关性, 表明其在这些风味物质的产生中起到促进作用或其代谢产物可以促进这些风味物质的生成。结合微生物群落分析结果, 无论是加粮组还是未加粮组, 功能微生物的添加均提高了酒醅中 *Pichia* 的相对丰度, 促进了酸类等风味物质的生成与转化。此外, *Saccharomyces* 与乙酸乙酯、棕榈酸乙酯等风味物质表现出显著的正相关性, *Naumovozyma*、*Saccharomyces*、*Kazachstania* 与乳酸乙酯均呈现出正相关性。相关性分析结果显示, 细菌群落中的 *Lactobacillus* 与乙酸乙酯、己酸乙酯等多种风味物质呈现显著正相关性。结合微生物群落分析, 虽然接种功能微生物组后对发酵过程中细菌群落的组成有一定的影响, 但发酵结束时优势细菌属均变为 *Lactobacillus*, 与酸类、酯类等风味物质的生成关系密切。

2.5 酒醅发酵过程中微生物代谢的变化

将酒醅不同发酵阶段相对丰度较高的基因家族信息与 KEGG 数据库已注释功能的基因进

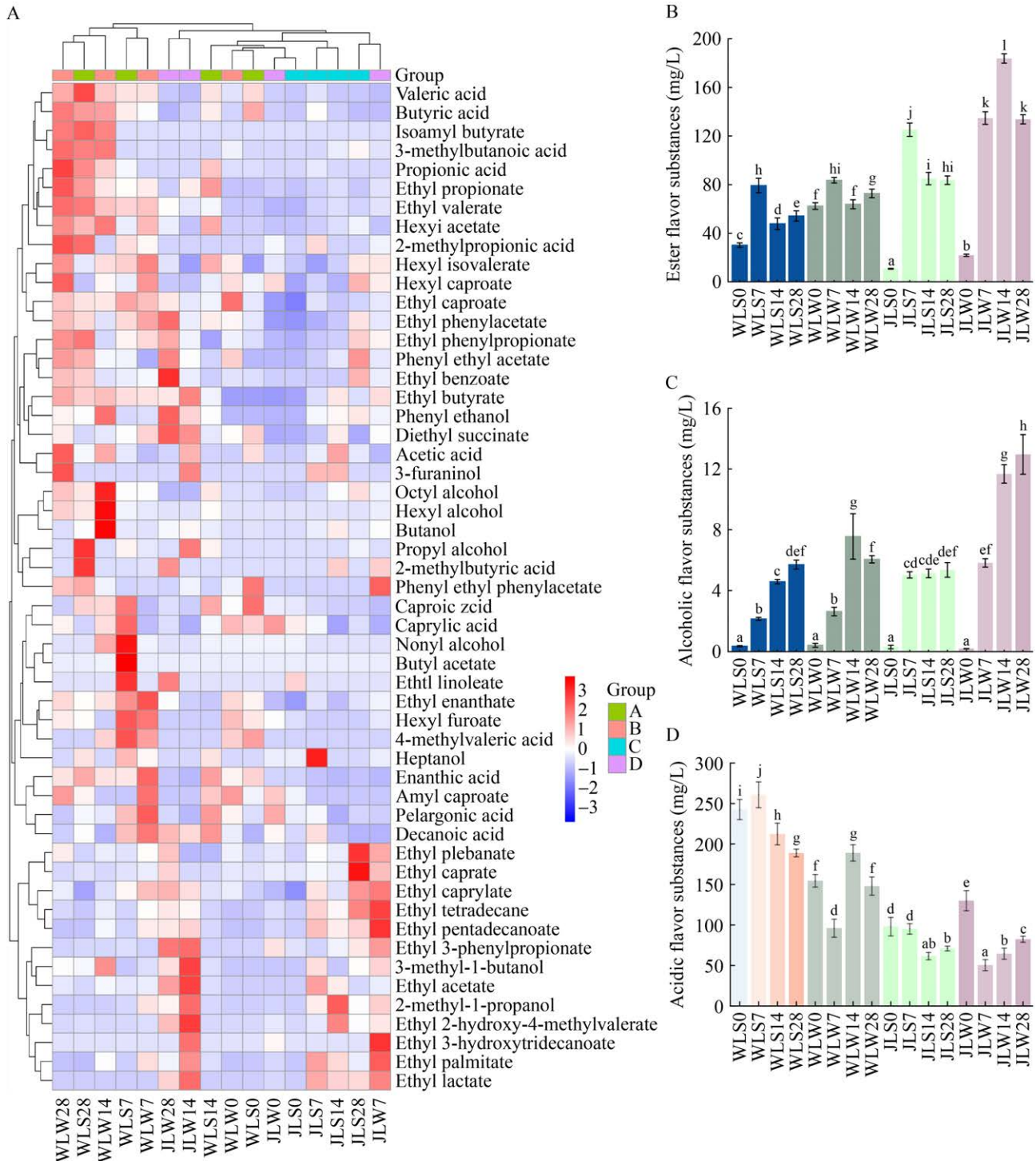


图 5 酒体中挥发性风味物质含量分析 A: 热图分析; B: 酯类风味物质; C: 醇类风味物质; D: 酸类风味物质。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Figure 5 Content analysis of volatile flavor substances in liquor. A: Heat map; B: Ester flavor substances; C: Alcohol flavor substances; D: Acid flavor substances. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

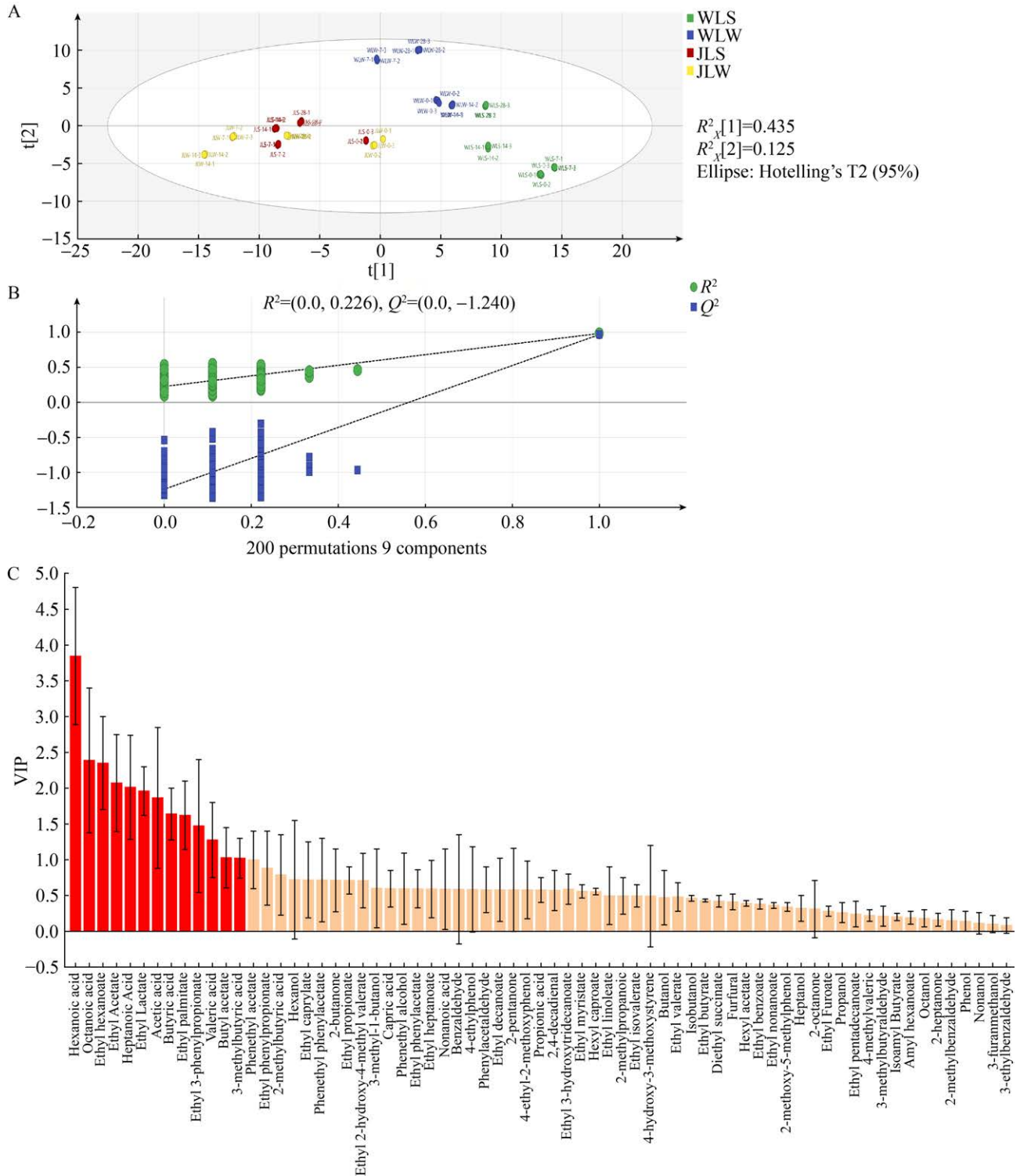


图 6 不同实验组酒体中挥发性风味化合物差异性分析 A: PLS-DA 散点图; B: 置换检验; C: VIP>1 挥发性风味化合物。

Figure 6 Analysis of the difference in volatile flavor compounds in liquor of different experimental groups. A: PLS-DA scatter plot; B: Permutation test; C: Volatile flavor compounds with VIP>1.

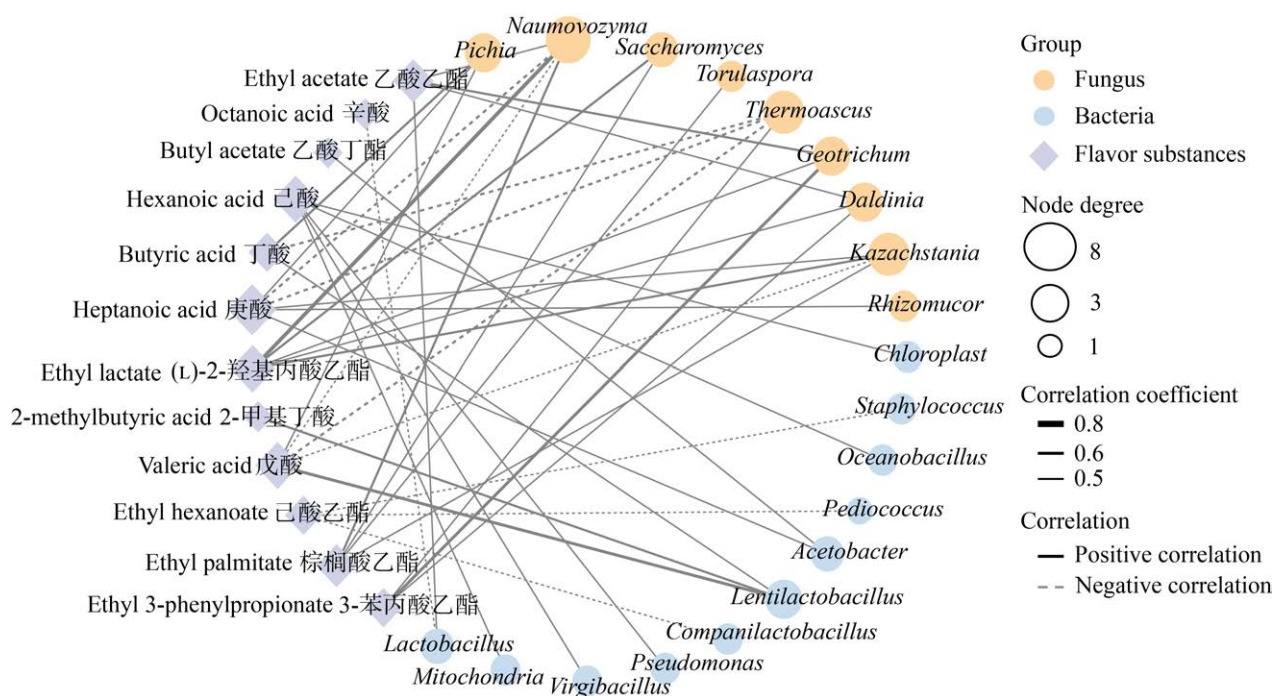


图 7 优势微生物菌属与差异挥发性风味物质之间显著相关性的共现网络图

Figure 7 Co-occurrence network diagram of significant correlation between dominant microbial genera and differential volatile flavor substances.

行比对, 绘制主要微生物的代谢途径, 如图 8A 所示, 主要包括糖酵解、乙醇合成和酯酸代谢等途径。

图 8B 显示了酒醅不同发酵阶段主要微生物属代谢途径中的关键酶及其相对丰度的预测结果。在发酵初期, 葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.20)、磷酸葡萄糖变位酶(EC 5.4.2.2)、葡萄糖-6-磷酸异构酶(EC 5.3.1.9)和 3-磷酸甘油醛脱氢酶(EC 1.2.1.12)等表达水平较高, 它们参与胞外的淀粉水解以及胞内的糖酵解途径, 与发酵第 7 天淀粉含量快速下降的结果一致。而发酵 14 d 后, 随着酒醅中 *Bacillus* 和 *Lactobacillus* 的相对丰度发生显著变化, 磷酸葡萄糖变位酶(EC 5.4.2.12)、磷酸甘油酸变位酶(EC 5.4.2.11)、磷酸烯醇式丙酮酸(EC 4.2.1.11)、丙酮酸激酶(EC 2.7.1.40)和乳酸脱氢酶(EC 1.1.1.27)等多种酶的表达水平逐渐升高, 乳酸脱氢酶的高表达可能导致酒醅中乳酸含量的升高, 进而导致酒醅酸度在发酵过程中不断升高。酯类的合成主要由乙酰辅酶

A 在丙二酰转移酶(EC 2.3.1.39)作用下经缩合、还原、脱水生成长链酰基-ACP 再通过 FabZ (EC 3.1.2.21)和 FabA (EC 3.1.2.14)催化, 转化为长链脂肪酸(long-chain fatty acid)。该过程中乙酰辅酶 A 可能是芽孢杆菌属等合成分泌的淀粉酶(EC 3.2.1.1)将原料中的淀粉降解为葡萄糖进而由酵母菌属合成的丙酮酸还原酶(EC 1.2.7.1)将丙酮酸还原转化而得。

2.6 不同酒体的感官特征构成

感官评价风味剖面图如图 9 所示, 不同实验组感官特征在香气评价特征上存在较大的差异。加粮组(JLS 组和 JLW 组)酒样的粮香、花香、甜香及果香强度显著高于无粮组(WLS 组和 WLW 组)酒样。WLS 组在粮香上表现最为突出, 在“果香”维度上表现相对较弱。WLW 组在曲香和粮香上表现较好, 在甜香和果香上表现相对较弱。JLS 组在粮香和曲香上表现最为突出。在甜香和果香维度上表现相对较弱。JLW 组在粮香维度上表现较好, 在甜香和果香维度上表现相

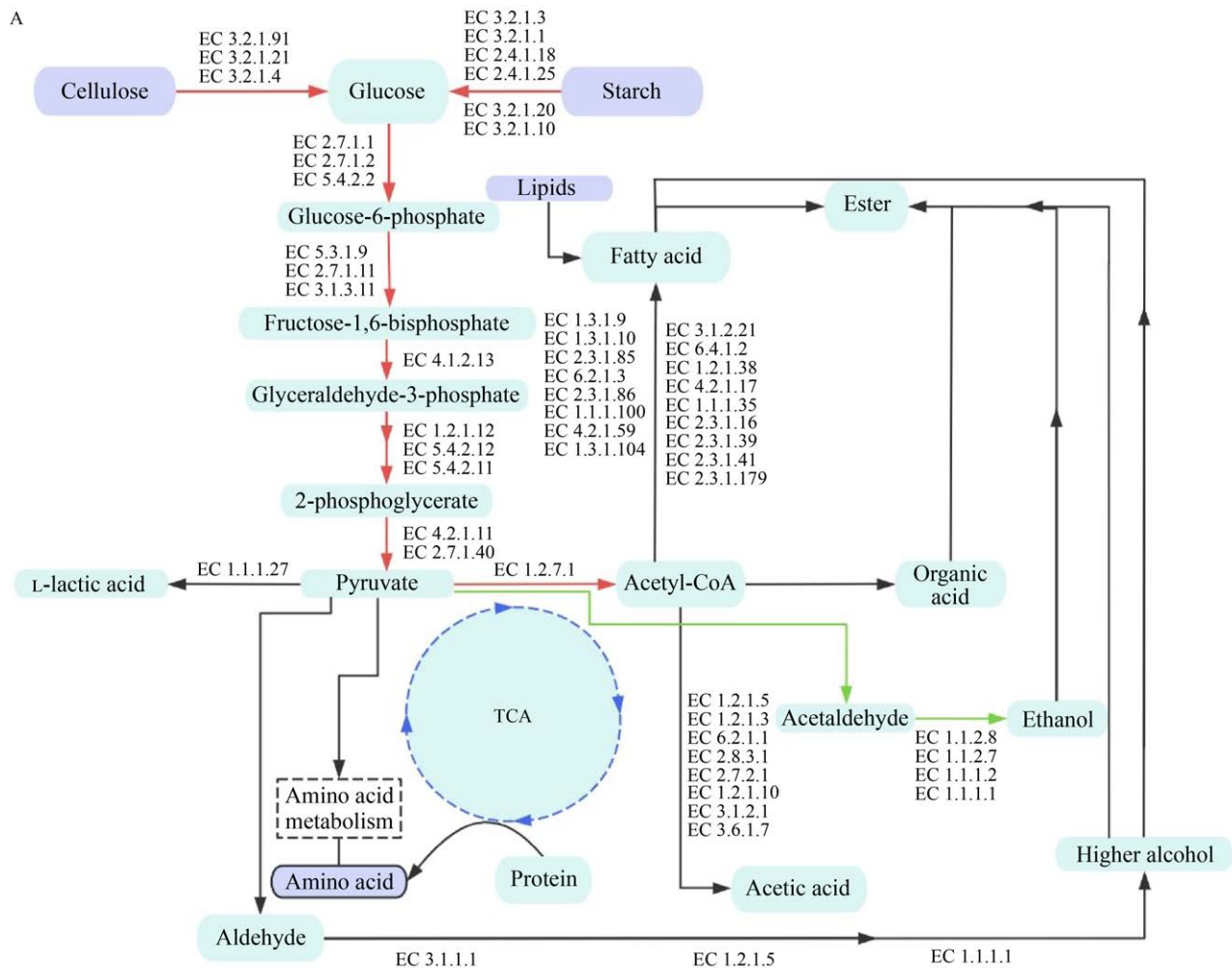
对较弱。JLW 组的酒样在果香与甜香上比 JLS 组的酒样香气更强。

3 讨论

酒醅作为重要的发酵基质，其理化特性直接影响着白酒的品质^[24]。浓香型白酒发酵过程中，由于微生物种类和数量差异、环境的空间异质性等众多因素作用，导致上层酒醅中微生物的多样性和丰度显著低于中下层酒醅，进而造成上层糟醅发酵效率低、出酒率低及酒体风味品质较差等问题^[25]。本研究采用从浓香型白酒酒醅中筛选得到的高产淀粉酶和酯类化合物的芽孢杆菌和酵母菌进行混合强化发酵。添加功能微生物能够促进酒醅中淀粉的分解，淀粉

利用率得到了显著提高。微生物在利用淀粉时产生大量的热量，同时糖化过程会产生大量水分，导致酒醅中的水分含量呈现出上升趋势，这一结果与文献[26]报道中一致。此外，酒醅中的有机酸是酒体重要的风味物质并且参与酯化过程，适宜的酸度可以抑制部分有害杂菌的繁殖^[27]，本研究中无粮组和加粮组酒醅酸度的变化趋势有所不同，可能是由于加粮组酒醅营养物质相对丰富使得厌氧与兼性厌氧微生物快速生长从而导致酸度升高^[28]。

功能微生物的添加对酒醅中微生物群落的组成产生了一定的影响，显著提升了 *Bacillus* 和 *Thermoascus* 相对丰度，同时降低了 *Limosilactobacillus* 和 *Pichia* 的相对丰度。无论



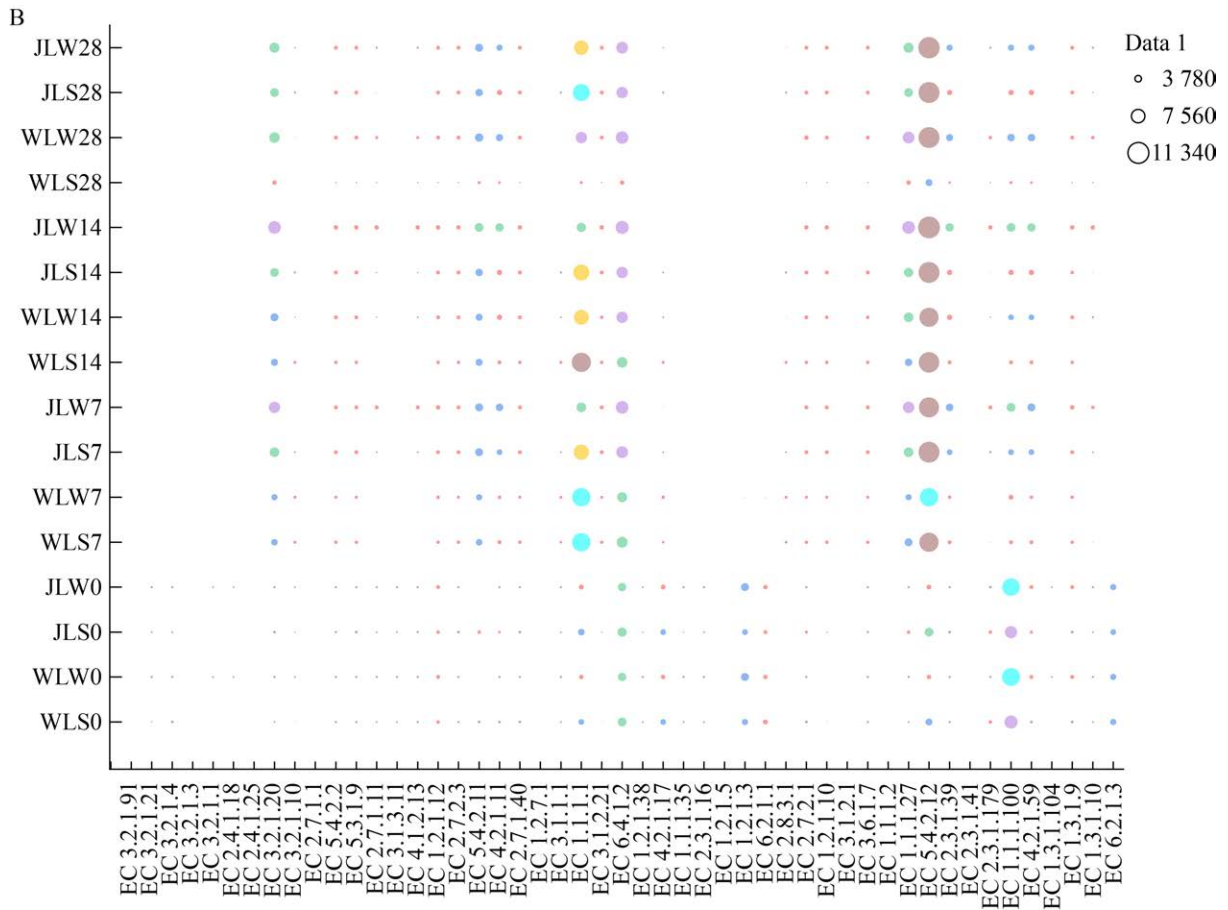


图 8 酒醅微生物参与的代谢(A)及其相关酶的丰度变化(B)

Figure 8 Metabolism involving microorganisms in fermented grains (A) and changes in the abundance of associated enzymes (B).

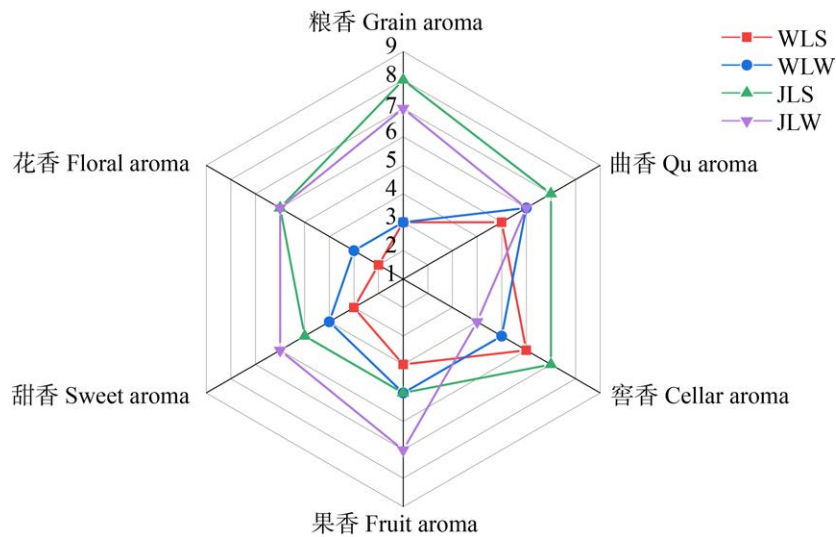


图 9 酒体的感官定量描述分析

Figure 9 Sensory quantitative description and analysis of liquor.

是加粮组还是未加粮组, 接种功能微生物组后发酵结束时优势细菌属均变为 *Lactobacillus*, 这可能是由于环境因子的影响, 随着发酵的进行, 氧的含量逐渐减少甚至趋于无氧状态, 这有利于 *Lactobacillus* 等兼性厌氧微生物的生长^[27]。本研究发现酒醅中水分、还原糖含量及酸度与主要微生物属具有显著的相关性, 是酒醅发酵过程中重要的驱动因子, 与贾勇磊等^[29]研究结果一致。

功能微生物的添加导致酒醅中微生物代谢活动发生变化, 对发酵过程中风味物质产生较大的影响, 显著提高了原酒酒体中酯类和醇类的风味物质含量, 而总酸含量有所降低。研究表明, 少量酸可以促进酯的释放, 但随着酸浓度的增加, 这种促进作用变为抑制作用^[30]。因此, 本研究中添加功能微生物组的酒样总酸含量的降低有利于果香、花香、甜香属性的增加^[31]。研究发现, 添加微生物组乙酸乙酯、乳酸乙酯、棕榈酸乙酯等酯类风味物质含量得到提高, 其中, 乳酸乙酯能够增加白酒的醇厚感, 丰富酒体, 调节白酒口味, 使白酒更加协调、甘甜、回味悠长, 是白酒的重要呈香物质^[32]。

分析各个发酵时期酒醅中微生物的潜在功能, 有助于解释发酵过程中出现的差异和变化原因^[33]。本研究中, 通过 PICRUST 预测发现, 微生物在发酵初期主要以生长为主, 主要表现为参与糖酵解代谢相关的酶在发酵前期较活跃; 而酸、酯合成相关的酶系在发酵中后期较活跃。可能是由于环境变化驱动微生物群落发生变化, 进而酶丰度在发酵过程中出现差异表达。

综上所述, 功能微生物组强化对酒醅发酵过程具有重要影响, 能够提高淀粉利用率、改善酒体风味, 其作用机制可能与微生物群落的演替规律和代谢活动密切相关。发酵过程中微生物群落的演替规律和理化指标的变化规律可以为发酵过程的优化提供参考, 为浓香型白酒的酿造工艺优化提供理论依据。

4 结论

本研究采用地衣芽孢杆菌、酿酒酵母和异常威克汉姆酵母对浓香型白酒上层酒醅进行强化发酵, 显著提升了酒醅中 *Lactobacillus*、*Limosilactobacillus*、*Pichia* 和 *Thermoascus* 的相对丰度, 降低了 *Bacillus*、*Kroppenstedtia* 和 *Aspergillus* 的相对丰度; 功能微生物的强化导致糖酵解等途径中的关键酶葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.20)、磷酸葡萄糖变位酶(EC 5.2.2.2)等丰度提高, 使得上层酒醅中淀粉利用率提高了 23.6%, 原酒中乙醇含量提高了 33.3%, 酯类风味物质含量提高了 31.4%。进一步分析发现, 水分、还原糖含量及酸度与主要微生物属具有显著的正相关性, 是浓香型白酒酒醅发酵的重要驱动因子。本研究揭示了添加多种功能微生物对浓香型白酒上层酒醅微生物群落结构及挥发性风味物质的影响, 为浓香型白酒的生产实践提供了重要的理论依据和参考, 具有较高的应用价值和指导意义。

作者贡献声明

葛怀锐: 实验数据获取, 撰写文章; 赵赞: 样品处理, 数据分析; 陈非凡: 数据分析, 图表绘制; 卫春会: 修改文章; 李文瑶: 实验数据获取, 撰写文章; 黄治国: 修改文章; 马立娟: 获取基金, 实验设计, 文章修改; 杜丽平: 辅助实验设计; 费立发、宋瑞雪: 提供实验材料, 辅助模拟发酵工艺。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 刘玉平, 黄明泉, 郑福平, 陈海涛, 孙宝国. 中国白酒中挥发性成分研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 437-441.
LIU YP, HUANG MQ, ZHENG FP, CHEN HT, SUN BG. Recent advances in extraction and analysis of volatile flavor compounds in Chinese liquor[J]. Food Science, 2010, 31(21): 437-441 (in Chinese).
- [2] DU RB, WU Q, XU Y. Chinese liquor fermentation: identification of key flavor-producing *Lactobacillus* spp. by quantitative profiling with indigenous internal

- standards[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(12): e00456-20.
- [3] JIN GY, ZHU Y, XU Y. Mystery behind Chinese liquor fermentation[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 63: 18-28.
- [4] CAI WC, XUE YA, TANG FX, WANG YR, YANG SY, LIU WH, HOU QC, YANG XQ, GUO Z, SHAN CH. The depth-depended fungal diversity and non-depth-depended aroma profiles of pit mud for strong-flavor Baijiu[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 789845.
- [5] 赖高淮, 李恒昌, 游定国. 论浓香型白酒“原窖分层酿制工艺”[J]. 酿酒, 1990, 17(4): 5-10.
LAI GH, LI HC, YOU DG. On the “original cellar layered brewing process” of Strong-Aroma Baijiu[J]. Brewing, 1990, 17(4): 5-10 (in Chinese).
- [6] 王思浓, 张宿义, 钟世荣, 敖宗华, 杨艳, 贾勇磊, 贾俊杰, 李寿富, 薛瑞琪, 张榆俊, 刘芮荻. 泸型酒新老窖池酒醅理化指标变化的分析研究[J]. 酿酒科技, 2023(4): 58-64.
WANG SN, ZHANG SY, ZHONG SR, AO ZH, YANG Y, JIA YL, JIA JJ, LI SF, XUE RQ, ZHANG YJ, LIU RD. Study on physicochemical indexes of fermented grains of Nongxiang Baijiu in new and old fermentation pits[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2023(4): 58-64 (in Chinese).
- [7] 罗海, 刘森, 田伟, 梁华忠, 向文良. 浓香型白酒窖池微生物生态因子的动力学分析[J]. 中国酿造, 2011, 30(7): 108-112.
LUO H, LIU S, TIAN W, LIANG HZ, XIANG WL. Dynamic analysis of microbial ecological factors in the fermentation pit of Luzhou-flavor Chinese liquor[J]. China Brewing, 2011, 30(7): 108-112 (in Chinese).
- [8] GUAN TW, WU XT, HOU R, TIAN L, HUANG Q, ZHAO F, LIU Y, JIAO SR, XIANG SQ, ZHANG JX, LI D, LUO J, JIN ZY, HE ZJ. Application of *Clostridium butyricum*, *Rummeliibacillus suwonensis*, and *Issatchenkia orientalis* for Nongxiangxing Baijiu fermentation: improves the microbial communities and flavor of upper fermented grain[J]. Food Research International, 2023, 169: 112885.
- [9] HE GQ, DONG Y, HUANG J, WANG XJ, ZHANG SY, WU CD, JIN Y, ZHOU RQ. Alteration of microbial community for improving flavor character of Daqu by inoculation with *Bacillus velezensis* and *Bacillus subtilis*[J]. LWT, 2019, 111: 1-8.
- [10] 黄晓宁, 刘晶晶, 韩北忠, 陈晶瑜. 基于酶学特性筛选大曲来源芽孢杆菌用于强化酿酒[J]. 食品科学, 2021, 42(10): 218-224.
HUANG XN, LIU JJ, HAN BZ, CHEN JY. Screening of *Bacillus* from daqu by enzymatic characteristics to enhance the fermentation of Chinese Baijiu[J]. Food Science, 2021, 42(10): 218-224 (in Chinese).
- [11] TONG WH, WANG H, LI JW, ZHANG LL, HUANG ZJ, YANG Y, QIAO ZW, LUO HB, HUANG D. Strengthening the microbial community and flavor structure of Jiupi by simulating strong-aroma Baijiu fermentation with *Bacillus velezensis* DQA21[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(9): 5338-5349.
- [12] 薛冰, 庞振斌, 马莹, 王璋倩, 董星星, 祝丹, 程水源, 何毅. 高富硒酵母菌的筛选鉴定及其产香气物质成分分析[J]. 中国酿造, 2024, 43(11): 77-84.
XUE B, PANG ZB, MA Y, WANG ZQ, DONG XX, ZHU D, CHENG SY, HE Y. Screening and identification of high selenium-enriched yeast and analysis of aroma-producing substances[J]. China Brewing, 2024, 43(11): 77-84 (in Chinese).
- [13] 郭明威, 耿予欢. 酱油发酵过程中一株4-乙基愈创木酚转化菌的筛选及鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 18-23.
GUO MW, GENG YH. Screening and identification of a 4-ethyl guaiacol producing strain in soy sauce fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(21): 18-23 (in Chinese).
- [14] 尚柯, 韩兴林, 潘学森, 刘民万, 王德良, 舒冬梅. 酱香型白酒高温堆积过程相关理化参数变化情况的初步分析[J]. 酿酒科技, 2015(10): 1-4.
SHANG K, HAN XL, PAN XS, LIU MW, WANG DL, SHU DM. The change of physicochemical indexes of Jiangxiang fermented grains in the process of high-temperature stacking[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2015(10): 1-4 (in Chinese).
- [15] 谢翔云. 酱香型白酒功能性霉菌的筛选与应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2022: 45-46.
XIE XY. Screening and applying of functional mold in Moutai-flavor Baijiu[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2022: 45-46 (in Chinese).
- [16] LI XR, MA EB, YAN LZ, MENG H, DU XW, ZHANG SW, QUAN ZX. Bacterial and fungal diversity in the traditional Chinese liquor fermentation process[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 146(1): 31-37.
- [17] LIU MK, TANG YM, GUO XJ, ZHAO K, PENTTINEN P, TIAN XH, ZHANG XY, REN DQ, ZHANG XP. Structural and functional changes in prokaryotic communities in artificial pit mud during Chinese Baijiu production[J]. mSystems, 2020, 5(2): e00829-19.
- [18] 张朝正, 张天爽, 董思文, 孙伟, 赵华. 窖泥中挥发性物质和微生物群落的空间分布规律及其关系[J]. 食品工业科技, 2022, 43(5): 147-157.
ZHANG CZ, ZHANG TS, DONG SW, SUN W, ZHAO H. Spatial distribution and relationship of volatile compounds and microbial community in pit mud[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(5): 147-157 (in Chinese).
- [19] 陈荻, 杨康卓, 刘志鹏, 赵东, 郑佳. 包包曲风味萃取方式的对比及 GC×GC-TOFMS 在其风味化合物鉴定中的应用[J]. 酿酒科技, 2023(6): 71-76.
CHEN D, YANG KZ, LIU ZP, ZHAO D, ZHENG J. Comparison of flavor compounds extraction methods of bulgy daqu and application of GC×GC-TOFMS in the identification of the compounds[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2023(6): 71-76 (in Chinese).
- [20] 王栋, 经斌, 徐岩, 赵光鳌. 中国黄酒风味感官特征及其风味轮的构建[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 90-95.
WANG D, JING B, XU Y, ZHAO GA. Sensory flavor characteristics of Chinese yellow rice wine and construction of flavor wheel[J]. Food Science, 2013, 34(5): 90-95 (in Chinese).
- [21] 马宁原, 姚凌云, 孙敏, 王化田, 宋诗清, 常煦, 冯涛. 基于 GC-IMS 和 GC-MS 分析不同发酵方式对黄桃酒香气成分的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(12): 306-314.
MA NY, YAO LY, SUN M, WANG HT, SONG SQ,

- CHANG X, FENG T. Effect of different fermentation methods on aroma composition of yellow peach wine analyzed by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. *Food Science*, 2023, 44(12): 306-314 (in Chinese).
- [22] MU Y, HUANG J, ZHOU RQ, ZHANG SY, QIN H, TANG HL, PAN QL, TANG HF. Bioaugmented Daqu-induced variation in community succession rate strengthens the interaction and metabolic function of microbiota during strong-flavor Baijiu fermentation[J]. *LWT*, 2023, 182: 114806.
- [23] MAHIEU B, QANNARI EM, JAILLAIS B. Extension and significance testing of variable importance in projection (VIP) indices in partial least squares regression and principal components analysis[J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2023, 242: 104986.
- [24] 张春林, 杨亮, 李喆, 甘广东, 何珺珺. 酱香型白酒二轮次堆积酒醅微生物群落与理化指标相关性研究[J]. *中国酿造*, 2021, 40(11): 31-36.
ZHANG CL, YANG L, LI Z, GAN GD, HE JJ. Correlation between microbial community and physicochemical indexes in fermented grains of stacking fermentation process of the second rounds sauce-flavor Baijiu[J]. *China Brewing*, 2021, 40(11): 31-36 (in Chinese).
- [25] 万梦洁, 郭铮祥, 文章, 邓杰, 程鑫凯, 刘益男, 周伟, 王灵香, 何朝玖. 浓香型白酒机械化生产各层酒醅挥发性风味物质变化规律[J]. *中国酿造*, 2025, 44(3): 114-120.
WAN MJ, GUO ZX, WEN Z, DENG J, CHENG XK, LIU YN, ZHOU W, WANG LX, HE CJ. Changes of volatile flavor substances in different layers of fermented grains in the mechanized production of strong-flavor Baijiu[J]. *China Brewing*, 2025, 44(3): 114-120 (in Chinese).
- [26] 曾波, 饶家权, 邹永芳, 文静, 黄治国, 邓杰. 浓香型白酒酒醅发酵过程中微生物群落结构演替及其与理化指标相关性[J]. *食品科学*, 2024, 45(7): 111-118.
ZENG B, RAO JQ, ZOU YF, WEN J, HUANG ZG, DENG J. Structural succession of microbial communities in fermented grains for nongxiangxing Baijiu during the fermentation process and its correlation with physicochemical indicators[J]. *Food Science*, 2024, 45(7): 111-118 (in Chinese).
- [27] 王一然, 程寒, 孙敏, 曾珊, 沈才洪, 杨雅琼, 敖灵. 白酒酿造过程中微生物多样性的研究进展[J]. *中国酿造*, 2024, 43(1): 1-6.
WANG YR, CHENG H, SUN M, ZENG S, SHEN CH, YANG YQ, AO L. Research progress on microbial diversity during Baijiu brewing[J]. *China Brewing*, 2024, 43(1): 1-6 (in Chinese).
- [28] 申登晋. 中国小曲清香型白酒酿造功能微生物群落演替模式解析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021: 45-46.
SHEN DJ. Analysis of the succession pattern of functional microbial communities in the brewing of Chinese Small-Qu Clear-Aroma Baijiu[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021: 45-46 (in Chinese).
- [29] 贾勇磊, 张宿义, 许德富, 王思浓, 敖宗华, 贾俊杰, 杨艳, 陈垚, 黄志久, 付鑫, 张榆俊. 泸型酒糟醅中微生物组学和挥发性代谢物关联性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(13): 72-81.
JIA YL, ZHANG SY, XU DF, WANG SN, AO ZH, JIA JJ, YANG Y, CHEN Y, HUANG ZJ, FU X, ZHANG YJ. Correlation analysis of microbiomics and volatile metabolites in fermented grains from Luzhou-flavor liquor[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(13): 72-81 (in Chinese).
- [30] 苏永平. 有机酸对酒醅发酵过程中风味组成及微生物群落结构动态变化的影响研究[D]. 自贡: 四川轻化工大学, 2022: 28-29.
SU YP. Research on the influence of organic acids on the dynamic changes of flavor composition and microbial community structure during the fermentation process of wine mash[D]. Zigong: Sichuan University of Science & Engineering, 2022: 28-29 (in Chinese).
- [31] 王依文, 田瑶瑶, 张克粉, 张宿义, 高洁, 唐红杰, 宋川, 唐羽, 孙铭君, 左勇, 李琦. 不同季节及层级浓香型白酒窖泥微生物群落多样性与风味物质的比较及相关性分析[J]. *食品科学*, 2025, 46(4): 100-109.
WANG YW, TIAN YY, ZHANG KF, ZHANG SY, GAO J, TANG HJ, SONG C, TANG Y, SUN MJ, ZUO Y, LI Q. Comparison and correlation analysis of microbial community diversity and flavor compounds in different layers of pit mud for Luzhou-flavor Baijiu in different seasons[J]. *Food Science*, 2025, 46(4): 100-109 (in Chinese).
- [32] 杨荣, 华进, 周亚宾. 白酒酿造过程中乳酸乙酯产生机理及“降乳”技术研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(20): 398-406.
YANG R, HUA J, ZHOU YB. Progress in the research of the mechanism of ethyl lactate production and “ethyl lactate reduction” techniques in the Baijiu brewing process[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(20): 398-406 (in Chinese).
- [33] 文悦, 贾俊杰, 敖宗华, 陈垚, 毛振宇, 宋攀, 秦辉, 张宿义. 浓香型白酒糟醅发酵过程微生物群落演替研究进展[J]. *中国酿造*, 2025, 44(4): 20-26.
WEN Y, JIA JJ, AO ZH, CHEN Y, MAO ZY, SONG P, QIN H, ZHANG SY. Research progress on the succession of microbial communities during the fermentation process of strong-flavor Baijiu Zaopei[J]. *China Brewing*, 2025, 44(4): 20-26 (in Chinese).