DOI:10.12441/spyswjs.20250117002 [文章编号] 1673-1689(2025)03-0057-09

堆积发酵过程中大曲慢生芽孢杆菌的演替规律及代谢特性分析

曹 倩[1,4] 梁晋鄂[2] 陆震鸣[1,5*] 张晓娟[1] 柴丽娟[1] 王松涛[5] 沈才洪[5] 史劲松[4] 许正宏[3,5]

(1. 江南大学生物工程学院，江苏 无锡 214122；2. 中国食品工业协会，北京 100073；3. 四川大学轻工科学与技术学院,四川 成都 610065；4. 江南大学生命科学与健康工程学院,江苏 无锡 214122；5. 国家固态酿造工程技术研究中心,四川 泸州 646000)

摘要:【目的】了解大曲慢生芽孢杆菌(*Lentibacillus daqui*,*L.daqui*)在堆积发酵酒醅中的演替规律及代谢特性。【方法】采用扩增子测序方法分析了堆积发酵酒醅中的细菌群落结构,采用纯培养固态发酵方法评价了原料种类、氧含量和培养温度对 *L. daqui* ZS110521T 生长、产酶和产香能力的影响。【结果】*L. daqui* ZS110521T 在堆积发酵前期(0~60 h)为酒醅细菌群落的优势属(相对丰度>10%)。纯培养发酵结果表明,*L. daqui* ZS110521T 在小麦培养基中生长能力和酶活力更高,而在高粱小麦混合培养基(质量比 1∶1)中则更有利于吡嗪类化合物的积累。有氧条件下菌株的酶活力更强,吡嗪类化合物的积累更多。菌株在 37~45 ℃培养 36 h 时的基因拷贝数达到最高,在 45~55 ℃培养时酶活力最强。当发酵温度升高到 65 ℃培养至 120 h 时,主要积累了 2,5-二甲基吡嗪、2,4-二叔丁基苯酚、苯甲醛、壬醛、乙偶姻等挥发性化合物。【结论】为明确 *L. daqui* ZS110521T 在堆积发酵中的产酶和产香功能提供了科学依据。

关键词:大曲慢生芽孢杆菌;固态发酵;酶活特性;挥发性化合物

Succession Law and Metabolic Characteristics of *Lentibacillus daqui* During Stacking Fermentation

CAO Qian[1,4] *LIANG Jin'e*[2] *LU Zhenming*[1,5*] *ZHANG Xiaojuan*[1] *CHAI Lijuan*[1]
WANG Songtao[5] *SHEN Caihong*[5] *SHI Jinsong*[4] *XU Zhenghong*[3,5]

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. China National Food Industry Association, Beijing 100073, China; 3. College of Light Industry Science and Technology, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 4. School of Life Sciences and Health Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 5. National Engineering Research Center of Solid-State Brewing, Luzhou 646000, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to understand the succession and metabolic characteristics of *Lentibacillus daqui* (*L. daqui*) in fermented grains during stacking fermentation. [**Method**] The bacterial community structure in fermented grains during stacking fermentation was analyzed by amplicon sequencing. The effects of raw materials, oxygen content, and culture temperature on the biomass, enzyme production, and aroma production of *L. daqui* ZS110521T were evaluated by the pure culture solid-state fermentation method. [**Result**] *L. daqui* ZS110521T was the dominant genus (relative abundance>10%) in the bacterial community in the early stage (0~60 h) of stacking fermentation. The results of pure culture showed that *L. daqui* ZS110521T

基金项目:国家科技基础资源调查专项项目(2021FY100900)。
通信作者:陆震鸣(1981—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事酿造微生态研究。E-mail:zmlu@jiangnan.edu.cn
收稿日期:2025-01-17 **修回日期:**2025-03-04

had higher biomass and enzyme activity in the wheat medium, while more pyrazines were accumulated in the sorghum-wheat (mass ratio of 1∶1) mixed medium. Under aerobic conditions, the enzyme activity and pyrazine content of the strain was higher. The gene copies reached the highest when the strain was cultured at 37~45 ℃ for 36 h, and the enzyme activity was the strongest when the strain was cultured at 45~55 ℃. When the strain was cultured at 65 ℃ for 120 h, 2,5-dimethylpyrazine, 2,4-di-tert-butylphenol, benzaldehyde, nonanal, and acetoin were mainly accumulated. [**Conclusion**] This study provided a scientific basis for clarifying the enzyme production and aroma production functions of *L. daqui* ZS110521T in stacking fermentation.

Keywords: *Lentibacillus daqui*; solid-state fermentation; enzyme activity characteristic; volatile compound

酱香型白酒的生产采用独特的“12987”酿造工艺，即整个发酵周期需要经历 1 年时间、2 次投粮、9 次蒸煮、8 次发酵和 7 次取酒[1]。其中，每个发酵轮次都包括堆积发酵和窖池发酵 2 个阶段。在堆积发酵阶段，蒸煮后的高粱或酒醅与粉碎后的高温大曲相混合，两者质量比接近 1∶1，因此高温大曲的品质对于堆积发酵和窖池发酵的影响非常显著。另外，环境微生物也会不断进入发酵酒醅并富集，继而代谢产生各类风味物质。

有研究表明，堆积发酵酒醅的细菌群落中 95.6% 的物种来源于大曲[2]。在堆积发酵的初期，酒醅中芽孢杆菌科（*Bacillaceae*）细菌呈现竞争优势[3]。该现象与高温大曲中富含芽孢杆菌科细菌（平均相对丰度可达到 23.5%~61.6%）的微生物组成特征高度契合[4]。在属分类单元中，慢生芽孢杆菌（*Lentibacillus*）是高温大曲芽孢杆菌科细菌中的核心优势属之一，相对丰度可达到 15.73%[5]。该属的优势物种 *L. daqui* 是 2023 年从高温大曲分离鉴定的新种[6]，能够在 45 ℃小麦固态发酵过程中产生糖化酶、纤维素酶和蛋白酶等多种酶系，并且产生川芎嗪、2，3，5-三甲基吡嗪、愈创木酚、乙偶姻等多种挥发性化合物[7]。尽管现有研究已初步发现 *L. daqui* 在小麦单菌发酵体系中的代谢功能，但其在堆积发酵中的代谢特性及其对产品风味的影响仍不清楚。

作者采用 16S rRNA 基因扩增子测序，分析堆积发酵酒醅中的细菌群落结构，明确慢生芽孢杆菌的发酵动态变化；通过纯培养固态发酵，评价原料种类、氧含量、培养温度等条件对 *L. daqui* 固态发酵过程中生长特性、产酶特性和产香特性的影响，为解析 *L. daqui* 在酒醅发酵过程的代谢功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从贵州省仁怀市茅台镇某酱酒厂采集酒醅样本，装入无菌自封袋中并用干冰运送至实验室，于 −20 ℃冰箱中保存。另外，取该企业酿酒所用的高粱和小麦样品（破碎比例 20%），用于固态发酵试验。

1.2 试验菌株

L. daqui ZS110521T 分离自高温大曲。

1.3 试剂与仪器

NaOH 标准滴定溶液（0.100 1 mol/L）、DNS 试剂（分析纯）、可溶性淀粉（分析纯）、福林试剂（分析纯）、碳酸钠（分析纯）、氯化钠（分析纯）、乙醇（分析纯）、琼脂粉：中国国药化学试剂（上海）有限公司；胰酪蛋白大豆胨培养基（tryptic soy broth，TSB）：青岛海博生物有限公司；土壤微生物 DNA 提取试剂盒：美国 Omega 公司；细菌基因组 DNA 提取试剂盒：南京诺唯赞生物科技公司。

气相色谱−质谱联用仪：GC7890B-MSD5977B 型，美国安捷伦科技有限公司；毛细色谱柱：DB-WAX 型自动进样系统，美国安捷伦科技有限公司；固相微萃取三相萃取头：HS-SPME-GC-MS 型，美国安捷伦科技有限公司；实时荧光定量 PCR 仪：CFX96 型，美国伯乐生命医学产品公司；超微量分光光度计：N50 Touch 型，德国 IMPLEN 公司。

1.4 DNA 提取、测序和细菌群落的分析

使用 E.Z.N.A.® 土壤 DNA 试剂盒从酒醅样品中提取微生物群落基因组 DNA。使用超微量分光光度计检测 DNA 纯度和浓度，然后进行 1 g/dL 琼脂糖凝胶电泳，验证 DNA 的完整性。为了获取酒醅微生物群落结构信息，利用细菌 16S rRNA 基因可变（V3—V4）区的通用引

物 338F（5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'）和 806R（5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'）扩增基因[8]。通过 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序。测序数据采用 QIIME2 进行分析，并用 R 包 micoreco 计算各分类水平的相对丰度。

1.5　纯培养固态发酵

种子液的制备方法：从 *L. daqui* ZS110521T 固体平板上挑取单菌落，接种于 TSB 液体培养基，30 ℃培养至对数期，8 000 r/min 离心 10 min 获得菌体沉淀。使用生理盐水重悬，重复以上步骤 2 次作为种子液，接种至固体发酵培养基，接种体积分数 5%。

分别以高粱、小麦或高粱小麦混合物（质量比 1∶1）制备固体发酵培养基。具体步骤如下：高粱、小麦或高粱小麦混合物（质量比 1∶1）中加入 95 ℃等质量的水，润粮 5 h 后于 115 ℃灭菌 30 min，降温至 60 ℃时加入 200 U/g 糖化酶并保温 2 h，按照每个 250 mL 三角瓶中 30 g 进行分装，121 ℃灭菌 30 min 后备用。每组设置 3 个平行试验。

1.5.1　原料种类的影响

分别考察高粱、小麦以及高粱小麦混合物（质量比 1∶1）对 ZS110521T 固态发酵过程的影响。将 ZS110521T 分别接种至 3 种不同原料培养基，37 ℃静置培养 120 h。以不接菌种的培养基作为对照组，其他试验条件相同。

1.5.2　氧含量的影响

将 ZS110521T 接种至高粱小麦培养基（质量比 1∶1），37 ℃有氧培养 48 h，随后转至 37 ℃厌氧培养 72 h。同时，将 ZS110521T 接种至高粱小麦培养基（质量比 1∶1），于 37 ℃有氧培养 120 h。以不接菌种的培养基作为对照组，其他试验条件相同。

1.5.3　培养温度的影响

将 ZS110521T 接种至高粱小麦培养基（质量比 1∶1），37 ℃有氧静置培养 60 h，随后于 45 ℃有氧培养 36 h，55 ℃有氧培养 12 h，65 ℃有氧培养 12 h。对照组为不接种 ZS110521T 的高粱小麦培养基（质量比 1∶1），其他试验条件相同。

发酵结束时收集发酵醅，进行糖化酶、蛋白酶和纤维素酶的酶活力测定。

1.6　理化指标检测

对固态发酵试验的理化性质展开分析，包括糖化酶活力（U，mg/(g·h)）、中性蛋白酶活力（U，mg/(g·h)）、纤维素酶活力（U，mg/(g·h)）等，具体操作参照轻工行业标准 QB/T 4257—2011 酿酒大曲通用分析方法[9]、SB/T 10317—1999 蛋白酶活力测定法[10]、QB 2583—2003 纤维素酶制剂[11]。

1.7　基因拷贝数的测定

采用荧光定量 PCR 测定发酵产物中的基因拷贝数，反应体系（20 μL）：AceQ Universal SYBR Green qPCR Master Mix 10 μL，P1/P2 引物（20 μmol/L）各 1 μL，模板 1 μL，补充 ddH_2O 至 20 μL。反应程序：95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 15 s，54 ℃退火 15 s，72 ℃延伸 15 s，50 个循环；然后体系从 65 ℃逐渐升温至 95 ℃，每隔 0.5 ℃读一次板，每次维持 0.05 s，绘制溶解曲线。每次检测均含有 3 个平行试验。

1.8　挥发性化合物测定

称取 1 g 固态发酵产物，加入 15 mL 气相瓶中，加入 5 mL 饱和 NaCl 溶液和 10 μL 内标 2-辛醇（20 mg/L），采用 HS-SPME-GC-MS 检测挥发性化合物组成，检测条件参照文献[12]。

1.9　数据分析及绘图

采用 R 包 tidyverse 对原始数据进行处理，再利用 R 包 ggplot 对数据进行可视化。

2　结果与讨论

2.1　堆积发酵过程中细菌群落结构分析

堆积发酵过程中，内外层酒醅的细菌群落相对丰度大于 1% 的前 5 个属均是 *Weissella*（16.21%）、*Oceanobacillus*（14.95%）、*Lentibacillus*（12.40%）、*Kroppenstedtia*（10.31%）、*Acetilactobacillus*（8.62%），见图 1。在内层酒醅中，*Lentibacillus* 在发酵前期（0~60 h）的相对丰度保持在 10% 以上，随后 *Weissella* 逐渐成为优势属；在外层酒醅中，*Lentibacillus* 在发酵前期（0~36 h，即堆积发酵开始后 60~96 h）的相对丰度大于 17%，随后 *Acetilactobacillus* 逐渐成为优势属。酒醅内外层微生物分布的空间结构差异可能是由于不同位置的环境因子差异所导致[13]。

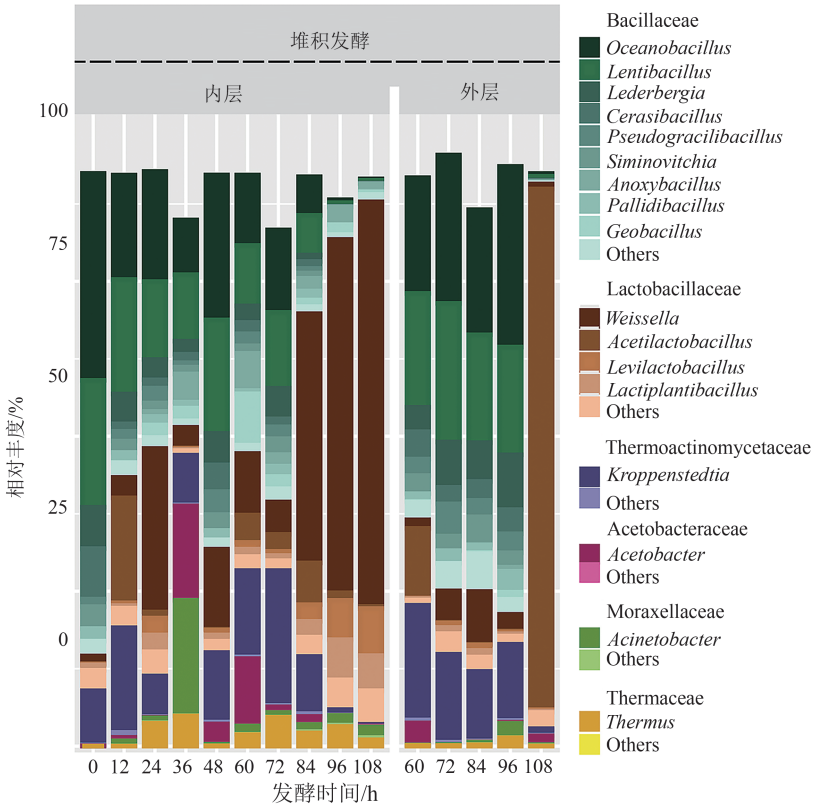


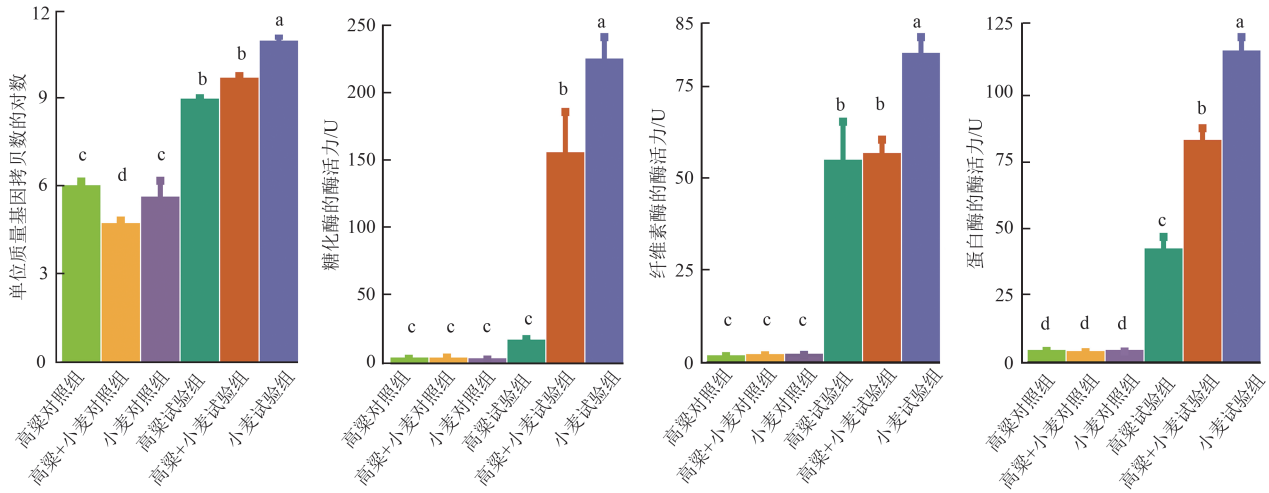
图 1　堆积发酵过程中细菌群落结构组成

Fig. 1　Bacterial community composition during stacking fermentation

2.2　原料种类对 *L. daqui* 固态发酵的影响

2.2.1　基因拷贝数

与空白对照组相比，*L. daqui* 在不同固态基质中发酵 120 h 后，试验组的基因拷贝数显著增高，说明接种 *L. daqui* 后，其在基质中显著生长。对比 *L. daqui* 在不同基质中的生长情况，发现其在纯小麦中的生长显著优于纯高粱和高粱小麦混合物（$P<0.05$），说明小麦更有利于慢生芽孢杆菌的生长，见图 2。



图中不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

(a) 基因拷贝数　(b) 糖化酶的酶活力　(c) 纤维素酶的酶活力　(d) 蛋白酶的酶活力

图 2　原料种类对 *L. daqui* 固态发酵下基因拷贝数和酶活力的影响

Fig. 2　Effects of raw materials on gene copies and enzyme activity of *L. daqui* in solid-state fermentation

2.2.2　产酶特性

*L. daqui*在高粱、小麦、以及高粱小麦混合物（质量比1∶1）中均具有发酵产生糖化酶、纤维素酶与蛋白酶的能力。其中，发酵小麦组中3种酶活力均最高，平均酶活力分别为224.55、83.79、116.60 U。相较于高粱，小麦在发酵过程中为微生物提供了更多的蛋白质[14]，蛋白质作为微生物生长的速效氮源，其水解通常会伴随相关蛋白酶的酶活力提高[15]。

2.2.3　挥发性化合物组成

*L. daqui*在不同原料中固态发酵后产生的挥发性化合物见图3。高粱、小麦、高粱小麦混合物（质量比1∶1）在固态发酵下产生的挥发性化合物的种类分别为32、34、37种，表明多种原料的组合能够促进白酒风味的多样性。

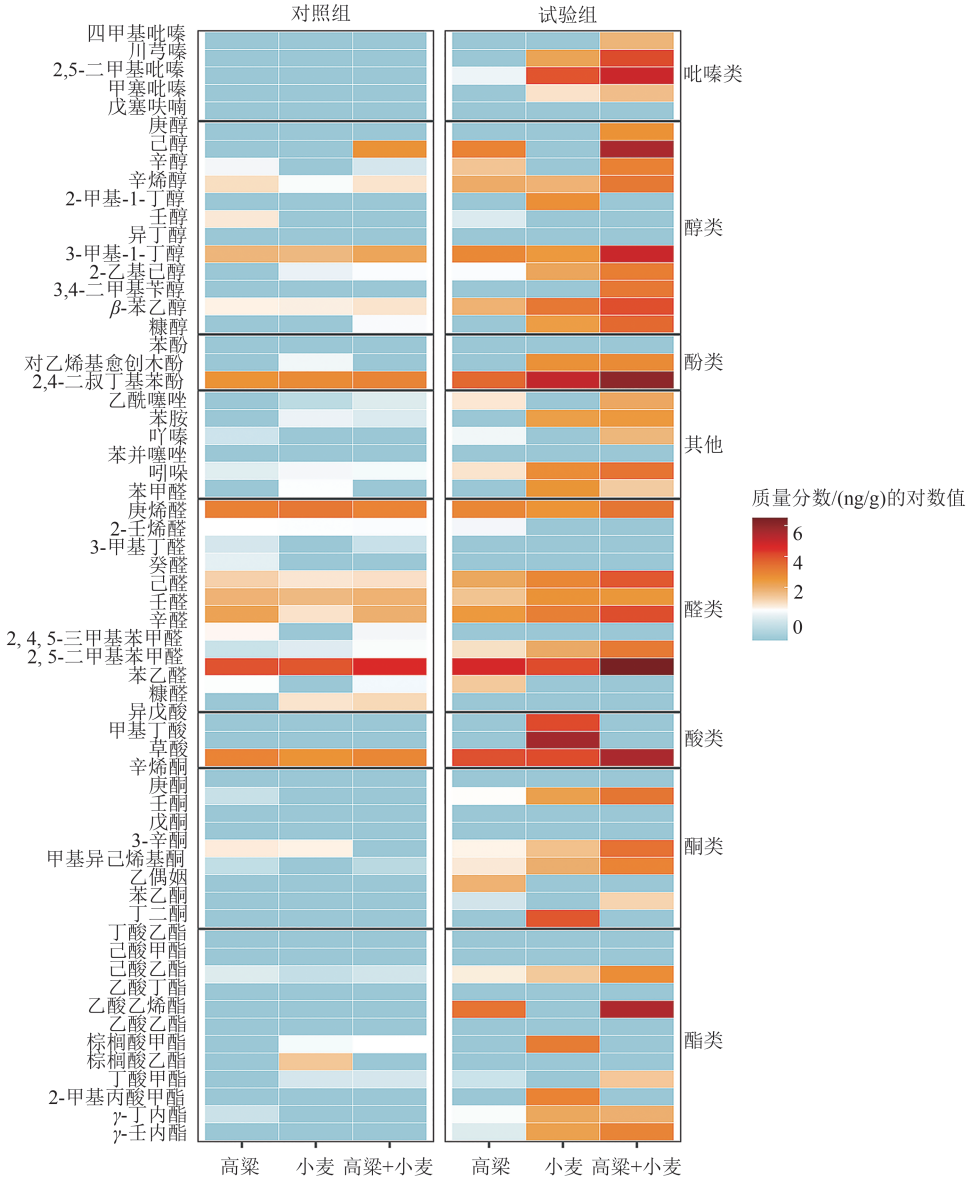


图3　*L. daqui*在不同原料固态发酵下的挥发性化合物组成

Fig. 3　Composition of volatile compounds in solid-state fermentation of *L. daqui* with different raw materials

以小麦为培养基的固态发酵试验组积累酸类物质最多，总质量分数达到399.44 ng/g，主要积累异戊酸（276.37 ng/g）。以高粱小麦混合物（质量比1∶1）为培养基的固态发酵试验组中醛类、醇类、酚类、酯类和吡嗪类化合物质量分数比其他组高，分别为803.47、594.73、437.99、279.22、209.55 ng/g；其中醛类物质以2,5-二甲基苯甲醛为主，质量分数为659.06 ng/g；醇类物质以己醇

为主，质量分数为 255.20 ng/g；以 2，5-二甲基吡嗪为主的吡嗪类化合物是酱香型白酒中的标志性风味物质，质量分数为 100.86 ng/g，是高粱组和小麦组的 3.11~7.13 倍。酯类是酱香型白酒中最重要的挥发性风味物质，可产生果香、花香等愉悦的香气[16]，其中己酸乙酯在高粱小麦混合物为培养基的试验组中质量分数最高，为 15.56 ng/g，具有菠萝果香气味；乙酸乙烯酯是以高粱为发酵基质的特征化合物，主要在以高粱为培养基的固态发酵试验组中，质量分数最高达到 234.91 ng/g。表明不同原料中的糖类、氨基酸等成分在发酵过程中被微生物利用转化为醇类、酯类、醛类、吡嗪类等挥发性化合物，赋予了酒醅独特的风味特征。

2.3 氧气体积分数对 *L. daqui* 固态发酵的影响

2.3.1 基因拷贝数

L. daqui 在有氧和厌氧的环境下均能较好生长，经过 120 h 发酵后，其基因拷贝数无显著差异，见图 4。该结果与文献[7]报道一致，说明氧气并未影响 *L. daqui* 的生长。

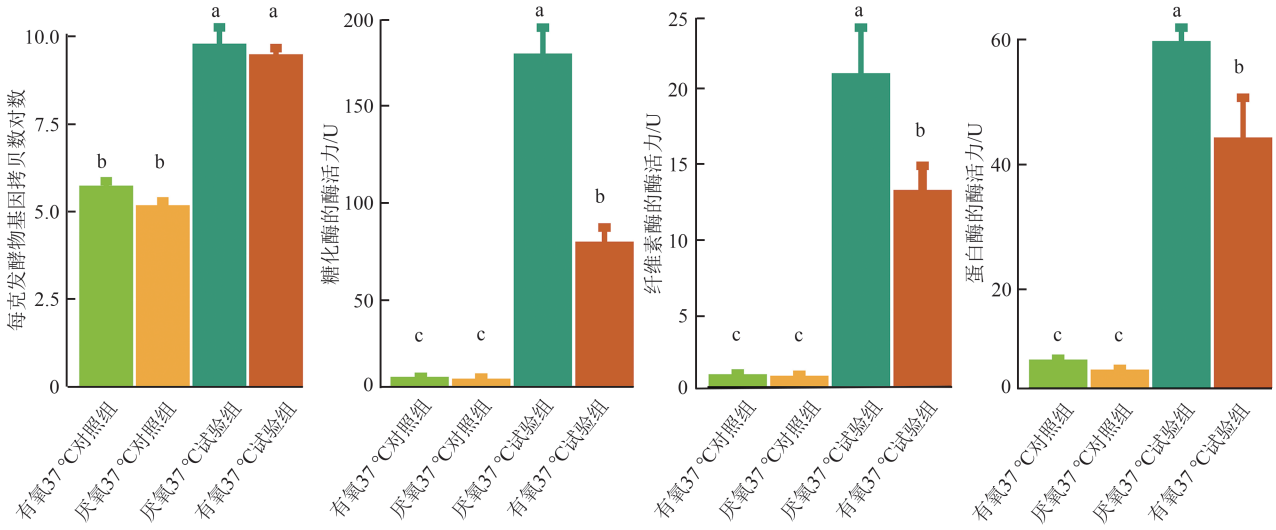


图 4 氧气对 *L. daqui* 固态发酵下基因拷贝数和酶活力的影响

Fig. 4 Effects of oxygen content on gene copies and enzyme activity of *L. daqui* in solid-state fermentation

2.3.2 产酶特性

L. daqui 能够在高粱小麦混合培养基中发酵产生糖化酶、纤维素酶、蛋白酶等多种酶系。其中，有氧环境下 *L. daqui* 发酵酒醅产生的糖化酶、纤维素酶、蛋白酶的酶活力分别为 171.09、20.55、65.16 U，均显著高于厌氧环境（$P<0.05$）。

2.3.3 风味特性

在酱香型白酒堆积发酵过程中，堆子由内至外不同空间的温度和氧气体积分数都存在差异，导致不同空间层次富集的微生物存在明显多样性，进而导致不同环境因素下酒醅积累的化合物种类和含量存在差异[17]。在有氧发酵和厌氧发酵的酒醅中分别检出 42 种和 39 种挥发性化合物，见图 5。其中，有氧条件下主要积累醇类、醛类、吡嗪类等物质，质量分数分别为 3431.14、439.02、245.11 ng/g，是厌氧发酵的 34.59、2.39、11.18 倍。

3-甲基-1-丁醇、2，5-二甲基苯甲醛、三甲基吡嗪是发酵酒醅中质量分数最高的 3 种挥发性化合物。其中 3-甲基-1-丁醇在有氧发酵下质量分数最高，为 72.04 ng/g，是厌氧发酵的 4.42 倍，其在低质量浓度时具有类似于香蕉或苹果的香气，能够提升酒醅香气的丰富度[18]。2，5-二甲基苯甲醛在有氧发酵下质量分数为 335.87 ng/g，是厌氧发酵的 2.29 倍。在关于青稞酒的研究中，这种醛类物质具有温和的果香和苦杏仁味[19]。以三甲基吡嗪为代表的吡嗪类化合物质量分数为

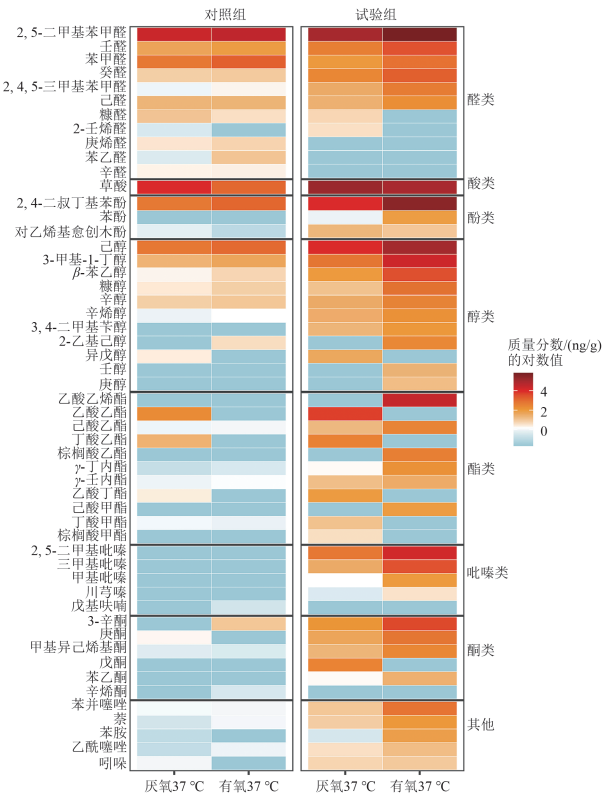


图 5　*L. daqui* 在不同氧气体积分数下固态发酵的挥发性化合物组成

Fig. 5　Composition of volatile compounds from solid-state fermentation of *L. daqui* under the influence of oxygen content

236.23 ng/g，是厌氧发酵的 4.86 倍，其香气特征通常表现为坚果、烘烤、焦香等风味[20]。

2.4　培养温度对 *L. daqui* 的影响

2.4.1　基因拷贝数

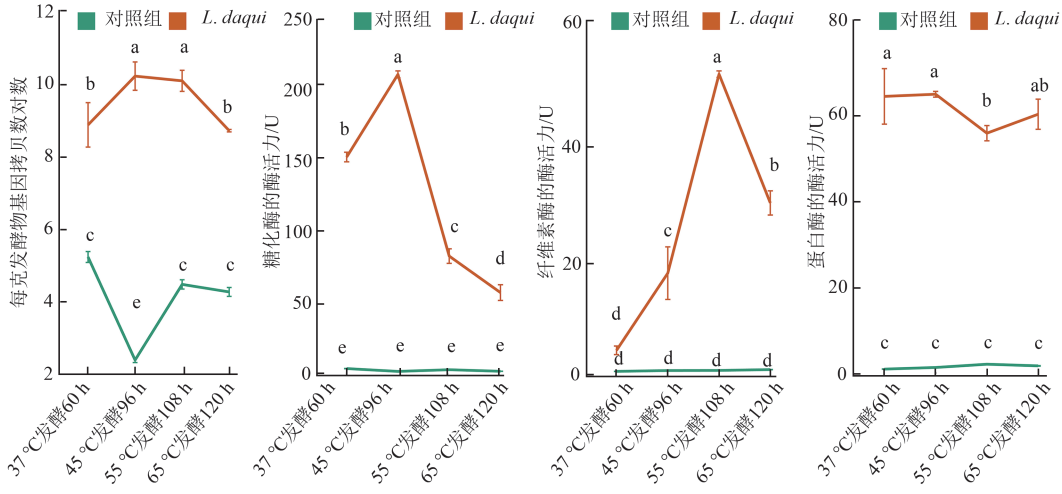
参考 1.5 的方法，以高粱和小麦混合物（质量比 1∶1）为培养的基对 *L. daqui* 进行纯培养固态发酵，分析发酵过程中基因拷贝数的变化，见图 6。结果发现，*L. daqui* 在 45 ℃发酵 36 h 时，基因拷贝数达到最高值，对数值为 4.50。当温度升高至 55 ℃以上，*L. daqui* 的基因拷贝数随着发酵的进行持续下降，当 60 ℃培养 12 h 后，基因拷贝数达到最低，对数值为 5.42，这可能与 *L. daqui* 能适应 10~55 ℃的温度有关[7]，且在 45 ℃下依然保持较好地生长。

2.4.2　产酶特性

分析发酵温度对 *L. daqui* 产酶特性的影响，发现经过 45 ℃发酵后，糖化酶的酶活力和蛋白酶的酶活力达到最高，分别为 203.88 U 和 65.03 U。经过 55 ℃发酵后，纤维素酶的酶活力达到最高，为 54.35 U。

2.4.3　挥发性化合物组成

在连续升温发酵过程中，分别对经过 37、45、55、65 ℃发酵的酒醅进行挥发性化合物的检测，化合物的种类分别为 43、46、47、41 个，见图 7。表明不同温度下产生的挥发性化合物种类存在差异，温度是影响物质合成的一个因素。温度在 37 ℃时主要积累醛类、酚类化合物，总质量分数分别为 51.98、71.61 ng/g。随着温度的升高，在



图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 基因拷贝数　(b) 糖化酶的酶活力　(c) 纤维素酶的酶活力　(d) 蛋白酶的酶活力

图 6　培养温度对 *L. daqui* 固态发酵下基因拷贝数和酶活力的影响

Fig. 6　Effects of culture temperature on gene copies and enzyme activity of *L. daqui* in solid-state fermentation

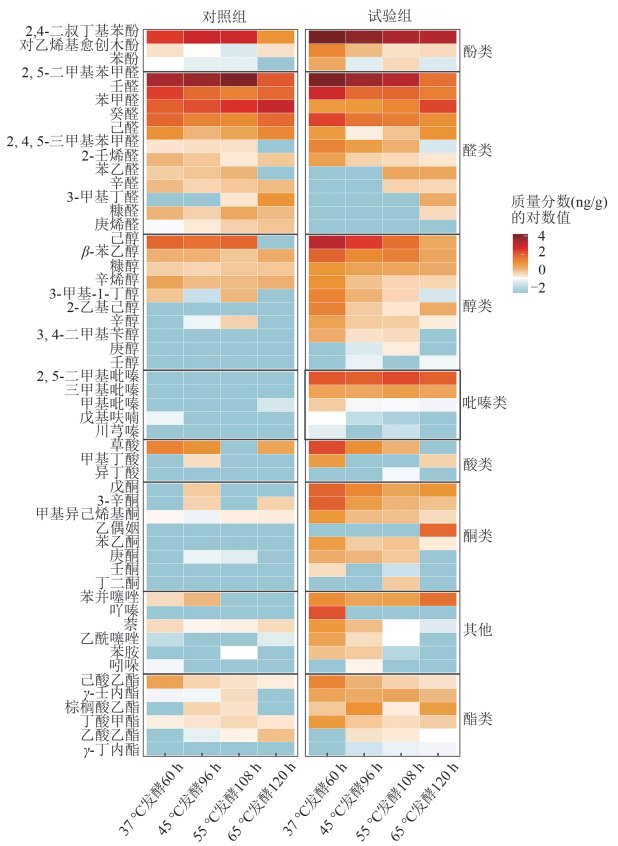


图 7 不同培养温度下 *L.daqui* 固态发酵的挥发性化合物组成

Fig. 7 Composition of volatile compounds in solid-state fermentation of *L.daqui* under different culture temperature

堆积发酵温度达到 65 ℃培养至 120 h 时，主要积累 2,5-二甲基吡嗪、2,4-二叔丁基苯酚、苯甲醛、壬醛、乙偶姻等化合物，其中 2,5-二甲基吡嗪在 55 ℃时积累最多，质量分数达到 8.98 ng/g；2,4-二叔丁基苯酚在 45 ℃时积累最多，质量分数达到 36.92 ng/g；乙偶姻主要在 65 ℃时积累，质量分数为 6.06 ng/g。此外，随着温度的增加，*β*-苯乙醇、3-甲基-1-丁醇等化合物呈现逐渐减少趋势。有研究表明，3-甲基-1-丁醇等白酒中高级醇类物质的质量分数过高会影响饮用舒适度[21]。因此，升高温度能使酱香型白酒的典型挥发性化合物挥发出来，从而消减一些具有不良风味的化合物。

3 结论

通过对堆积发酵过程中的细菌群落结构进行分析，发现 *L. daqui* 是堆积发酵中的优势属，并且在发酵酒醅外层的相对含量要高于内层。通过分析纯培养固态发酵下 *L. daqui* 的生长、产酶特性和风味化合物代谢特征等生物学特性，发现原料种类对 *L. daqui* 的生长和所产酶的酶活力具有显著影响（$P<0.05$）。以小麦为培养基更有利于其生长，且糖化酶、纤维素酶和蛋白酶的酶活力提高，而高粱和小麦混合物（质量比 1∶1）为培养基能产生更多的吡嗪类化合物。氧气体积分数虽然不影响 *L. daqui* 的生长，但在有氧条件下，该菌株具有较高的糖化酶、纤维素酶和蛋白酶的酶活力，同时有利于吡嗪类和酮类化合物的积累。通过模拟堆积发酵过程中逐渐升温的发酵环境，对 *L. daqui* 进行变温发酵，发现其在 37~45 ℃时迅速生长，且在 45 ℃时糖化酶和蛋白酶的酶活力最高，在 55 ℃时纤维素酶的酶活力最高。酱香型白酒的酿造包括了制曲和发酵阶段，虽然 *L. daqui* 在大曲中的功能已有报道，但是对其发酵阶段的演替规律及代谢特性尚不明确。因此，探究不同原料、氧气体积分数和温度对 *L. daqui* 在酱香型白酒酿造过程中演替规律及代谢特性的影响，为其在酱香型白酒酿造中的应用提供参考。但是在纯培养固态发酵条件下，*L. daqui* 在堆积发酵和窖池发酵中的具体酿造功能仍需用原位发酵进行验证。

参考文献

[1] 山其木格，梁慧珍，张长霞，等. 糟醅堆积过程中微生物种群的变化规律[J]. 食品与生物技术学报，2016，35（3）：330-335.
SHAN Q M G，LIANG H Z，ZHANG C X，et，al. Variation of microbial population during the accumulation of fermented grains[J]. Journal of Food and Biotechnology，2016，35（3）：330-335.（in Chinese）

[2] ZHANG H，WANG L，TAN Y W，et al. Effect of *Pichia* on shaping the fermentation microbial community of sauce-flavor Baijiu [J] . International Journal of Food Microbiology，2021，336：108898.

[3] Wang L，Wang Y Y，Wang D Q，et al. Dynamic changes in the bacterial community in Moutai liquor fermentation process characterized by deep sequencing[J]. Journal of the Institute of Brewing，2015，121（4）：603-608.

[4] SHI W，CHAI L J，FANG G Y，et al. Spatial heterogeneity of the microbiome and metabolome profiles of high-temperature Daqu in the same workshop[J]. Food Research International，2022，156：111298-111298.

[5] WANG Y R，CAI W C，WANG W P，et al. Analysis of

microbial diversity and functional differences in different types of high-temperature Daqu[J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(2): 1003-1016.

[6] LIANG Y, LU ZM, SHI W, et al. *Lentibacillus daqui sp*. nov., isolated from high-temperature Daqu, a starter for production of Chinese Jiang-flavour Baijiu [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2023, 73(8): 005962.

[7] 刘续,陆震鸣,张晓娟,等. 高温大曲中大曲慢生芽孢杆菌的分离鉴定与特性分析[J].微生物学通报，2025，52(5)：2189-2202.
LIU X, LU Z M, ZHANG X J, et, al. Isolation, identification and characterization of *Bacillus* slow-growing in high-temperature Daqu[J]. Microbiology Bulletin, 2025, 52(5): 2189-2202. (in Chinese)

[8] CHEN Z P, CAO Q, MENG T T, et al. Yeast community in the first-round fermentation of sauce-flavor Baijiu: Source, succession and metabolic function[J]. Food Research International, 2025, 200: 115466.

[9] 中华人民共和国工业和信息部. 酿酒大曲通用分析方法：QB/T 4257—2011[S]. 北京:中国标准出版社,2011.

[10] 国家国内贸易局. 蛋白酶活力测定法：SB/T 10317—1999[S]. 北京:中国标准出版社:1999.

[11] 全国食品工业标委会工业发酵分委会. 纤维素酶制剂：QB 2583-2003[S]. 北京:中国标准出版社:2003.

[12] YANG S B, FU, J J, HE, J H, et al. Decoding the Qu-aroma of medium-temperature Daqu starter by volatilomics, aroma recombination, omission studies and sensory analysis[J]. Food Chemistry, 2024, 457: 140186.

[13] YANG L, CHUN X, PENG L, et al. The spatio-temporal diversity and succession of microbial community and its environment driving factors during stacking fermentation of Maotai-flavor baijiu[J]. Food Research International, 2023, 169: 112892.

[14] 姚万春，唐玉明，任道群，等. 不同品种大麦与高粱的酿酒性能对比[J]. 酿酒科技，2018(11)：35-39.
YAO W C, TANG Y M, REN D Q, et al. Comparison of liquor-making performance of different species of barley and sorghum[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2018(11): 35-39. (in Chinese)

[15] 程度. 酿酒用高粱原料对酱香型白酒品质影响的初步研究[D]. 贵阳:贵州大学,2022.

[16] 孙细珍,熊亚青,杜佳炜,等. 不同品种高粱小曲白酒感官表征及重要风味物质对比分析[J]. 食品与发酵工业，2022，48(9):34-40.
SUN X Z, XIONG Y Q, DU J W, et al. Sensory characterization and comparative analysis of important flavor substances of different varieties of sorghum Xiaoqu liquor[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(9):34-40. (in Chinese)

[17] CHEN L Q, QIN X, WANG G Z, et al. Oxygen influences spatial heterogeneity and microbial succession dynamics during Baijiu stacking process[J]. Bioresource Technology, 2024, 403: 130854.

[18] QIN Y, ZHANG K Z, WEI Z, et al. Three main flavour types of Chinese Baijiu: characteristics, research, and perspectives[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2021, 127(4): 317-326.

[19] 车富红,黄和强,陈占秀,等. 青稞原酒风味物质变化及其相关性分析[J]. 酿酒科技,2022,(12):32-38,45.
CHE F H, HUANG H Q, CHEN Z X, et al. Changes of flavor substances in highland barley base wine and their correlation analysis[J]. Brewing Technology, 2022, (12): 32-38,45.(in Chinese)

[20] 曾庆军,周鸿翔,曾佳佳,等. 赤水河流域不同产区酱香白酒挥发性风味物质差异分析[J]. 中国酿造,2023,42(10):65-72.
ZENG Q J, ZHOU H X, ZENG J J, et al. Difference analysis of volatile flavor compounds in Maotai-flavor liquor from different producing areas in Chishui River Basin[J]. Chinese Brewing, 2023,42(10): 65-72. (in Chinese)

[21] 孙金旭. 酱香型白酒发酵过程中异戊醇的控制研究[J]. 现代食品科技,2012,28(11):1541-1544.
SUN J X. Study on the control of isoamyl alcohol in the fermentation process of Maotai-flavor liquor[J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(11): 1541-1544.(in Chinese)

（责任编辑：李春丽）