

浓香型白酒窖泥菌群结构、菌种功能及其改良研究进展

张会敏^{1,2}, 孟雅静¹, 王艳丽¹, 李安军¹, 邢新会², 梁金辉¹, 周庆伍¹, 王录¹, 刘国英¹, 丁峰¹

(1. 安徽省固态发酵工程技术研究中心, 安徽亳州 236820) (2. 清华大学化工系, 北京 100084)

摘要: 窖泥质量对浓香型白酒的发酵具有重要影响。一般来说, 窖龄越大, 窖泥质量越好, 酿酒质量越好。近年来, 以提高窖泥质量、促进窖泥老熟为导向的研究成为热点。本文按照从基础理论到改良应用研究的逻辑顺序, 参考相关文献资料, 就窖泥菌群结构、菌种功能及人工窖泥改良三方面进行综述。在时间维度上, 随窖龄增加, 窖泥原核菌群多样性逐渐增加, 菌群结构逐渐趋于稳定(老熟), 而真核菌群多样性逐渐减少, 甚至消失。在空间分布上, 池底窖泥原核菌群多样性大于池壁泥, 而真核菌群相反, 且其在池底老窖泥中趋于消失状态。窖泥中一些菌种参与己酸合成, 如克氏梭菌(*Clostridium kluyveri*)和 *Ruminococcaceae CPB6*, 随窖泥老熟, 窖泥菌群逐渐形成了完整的代谢网络。人工窖泥改良可以有效促进窖泥菌群的老熟。通过本综述, 为进一步的窖泥菌群理论及应用研究提供了新思路。

关键词: 窖泥; 微生物群落结构; 菌种功能; 窖泥改良; 研究进展

文章编号: 1673-9078(2020)10-331-340

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0218

Research Advances in the Pit Mud Microbial Community Structure, Function and Artificial Improvement for Strong-flavor Baijiu Fermentation

ZHANG Hui-min^{1,2}, MENG Ya-jing¹, WANG Yan-li¹, LI An-jun¹, XING Xin-hui², LIANG Jin-hui¹,
ZHOU Qing-wu¹, WANG Lu¹, LIU Guo-ying¹, DING Feng¹

(1. The Center for Solid-state Fermentation Engineering of Anhui Province, Bozhou 236820, China)

(2. Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The quality of Pit-mud (PM) has an important influence on the fermentation of Chinese strong-flavor Baijiu (CSFB). In general, the older the pit, the better the quality of the PM and the better the quality of CSFB. In recent years, researches focused on improving the quality of PM and promoting the maturity of PM have become a hot spot. Based on the logical sequence from basic theory to improvement and application researches, the PM microbial community structure, species function, and artificial PM improvement were reviewed in this article. In the time dimension, with the increase of pit age, the diversity of the PM prokaryotic community gradually increased, and gradually stabilized (maturation), while the diversity of the eukaryotic flora gradually decreased, or even disappeared. In terms of spatial distribution, the diversity of bottom PM prokaryotic flora was greater than that of the wall PM. On the contrary, eukaryotes in PM tend to disappear at the bottom of the old pit. Some species in PM were found to be involved in caproic acid synthesis, such as *Clostridium kluyveri* and *Ruminococcaceae CPB6*. As PM matured, the PM flora gradually formed a complete metabolic network. The artificial PM can be effectively used to promote the maturation of

引文格式:

张会敏,孟雅静,王艳丽,等.浓香型白酒窖泥菌群结构、菌种功能及其改良研究进展[J].现代食品科技,2020,36(10):331-340

ZHANG Hui-min, MENG Ya-jing, WANG Yan-li, et al. Research advances in the pit mud microbial community structure, function and artificial improvement for strong-flavor Baijiu fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 331-340

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 安徽古井贡酒股份有限公司企业博士后项目基金

作者简介: 张会敏(1984-),女,博士,工程师,研究方向: 发酵微生物及其应用

通讯作者: 李安军(1970-),男,正高级工程师,研究方向: 酿酒工艺及其酿酒微生物

PM. Through this review, new ideas were provided for further theoretical and application researches.

Key words: pit mud; microbial community structure; species function; pit mud improve; research progress

浓香型白酒的发酵是在窖池中进行的固态发酵，发酵主体-酒醅中的厌氧菌主要来自于窖泥^[1]，窖泥是发酵厌氧菌的重要缓释源^[2]。窖泥菌群的代谢作用对浓香型白酒风味物质的形成具有重要作用^[2-6]。一般而言，适当的窖泥养护有利于窖泥质量的提高；窖泥养护不当导致窖泥退化，对酿酒质量不利^[2]。窖泥老熟程度或者窖泥质量与窖龄有直接关系，一般来说，窖龄越大，窖泥越好。因此，以提高窖泥质量，即提高窖泥老熟程度为导向的研究成为近几年的研究热点。窖泥质量的差异主要表现在窖泥微生物群落结构和代谢功能方面，其中前者主要表现在不同质量，或者不同窖龄窖泥之间的差异递变规律，后者主要与浓香型白酒的特征风味物质（己酸乙酯）前体一己酸的生成代谢相关菌种的研究。限于窖泥中大量未可培养菌的存在^[4]，从窖泥中纯化分离的菌种并不多。窖泥的老熟，本质上是窖泥菌群的老熟，即窖泥菌群代谢网络的完整。以目前对菌群结构和菌群代谢功能的理论研究为基础，通过改良窖泥菌群结构，改善窖泥菌群的代谢功能，促进窖泥菌群的老熟。窖泥菌群的理论与应用研究，前者为理论基础，后者为实际应用，两者相互支撑。本文对窖泥菌群结构、菌种功能及其改良研究等内容统一进行综述，为从事窖泥菌群结构和代谢功能的基础研究人员提供窖泥改良现状介绍，为传统浓香型白酒酿造行业的从业人员提供窖泥菌群和功能基础研究现状分析。

1 窖泥微生物群落结构研究进展

1.1 窖泥原核微生物群落结构研究进展

窖泥中原核菌群占绝对优势（95.3%）^[6]，主要由兼性或者绝对厌氧菌组成^[1,2,4]。随着高通量测序等免培养技术的发展，窖泥菌群结构研究更全面。目前窖泥原核微生物群落结构研究，主要分为两个方面。在时间维度上，窖泥原核微生物群落结构随窖龄递增而递变的规律；在空间维度上，窖泥原核微生物群落结构在池壁，池底，以及随窖泥深度增加而递变的规律。

首先，在时间维度上，窖泥菌群随着窖龄递增而递变的规律反应的是窖泥菌群随窖泥质量提高而递变的规律，尽管窖泥质量与窖池保养有一定关系，目前一般认为窖泥老熟过程中“窖池越老，窖泥越好”，窖泥菌群的多样性和丰度均增加^[5]；窖泥老熟后，窖泥

菌群结构稳定，随窖龄增加主要表现为菌群丰度的变化^[4,7]。Deng 等人^[8]通过变性梯度凝胶电泳（PCR-DGGE）发现窖泥菌群同时存在的合作和抑制关系导致窖泥菌群结构的进化演变。一些关于不同窖龄或者不同老熟程度的窖泥原核微生物群落结构的变化规律研究，如表 1 所示。

由表 1 可知，由于取样位点，取样方法，实验方法（如高通量测序序列的注释数据库不同）等差异，窖泥原核微生物群落组成存在一定差异。随窖龄逐渐增大，窖泥原核菌群多样性和丰度增加，到一定年限后，窖泥菌群结构趋于稳定。窖泥老熟的本质是窖泥菌群的老熟（稳定），窖泥菌群老熟的本质是窖泥菌群逐渐适应酿酒功能而形成稳定代谢网络的过程。大约需要 25 年^[5]，窖泥菌群逐渐从 *Lactobacillus* 占绝对优势的菌群结构^[2,3,5,8,12,13]，逐渐转变为 *Caproiciproducens*, *Methanoculleus*, *Sedimentibacter*, *Synergistetes*, *Aminobacterium* 等众多优势菌属共生依存的菌群结构^[2,4,5,10,12,13]。Tao 等人^[5]提出了窖泥老熟过程的三阶段模型：阶段 I 是一个初始驯化阶段，其特征为丰富的 *Lactobacillus*；阶段 II 是一个过渡阶段，*Lactobacillus* 丰度迅速降低，拟杆菌（*Bacteroidetes*）与甲烷菌（*Methanogens*）增加；阶段 III 是一个稳定阶段，原核菌群整体丰度继续增强。综上窖泥菌群结构的研究初步揭开了窖泥原核微生物群落结构随窖泥质量变化的神秘面纱。不过，窖泥作为一个丰富的厌氧菌库，到目前为止仍然存在大量的未知菌。相信随着技术进步和窖泥研究深入，未知菌会陆续得到研究。

其次，在空间维度上，窖池原核微生物群落结构在池壁、池底、以及不同深度窖泥中存在菌群组成和丰度差异。王春艳等人^[13]通过 Illumina 高通量测序，发现相同窖龄池底泥的细菌群落多样性高于池壁泥。刘茂柯等人^[14]通过 PCR-DGGE 发现相同窖龄池底泥的古菌丰度大于池壁泥。罗杰等人^[15]通过 16S rRNA 扩增片段限制性酶切和 DNA 测序发现池底泥与池壁泥的菌群组成存在差异，*Synergistetes* 仅存在于池底泥中。Ding Xiaofei 等人^[16]通过巢式 PCR-DGGE 发现 200 年池壁泥与池底泥的古菌组成类似，优势甲烷菌为 *Methanobrevibacter*，*Methanoculleus*，*Methanobacterium* 和甲烷丝菌属（*Methanosaeta*）；两者真细菌菌群组成存在差异，*Actinobacteria* 仅存在于池壁泥中。

表 1 一些关于不同窖龄或者不同老熟程度窖泥原核微生物群落结构研究

Table 1 Some studies on the prokaryotic microbial community structure in PMs with different ages or different maturities

窖池窖龄/老熟程度	研究方法	窖泥原核菌群结构分析结论	参考文献
1, 10, 25, 50 年	焦磷酸高通量测序	窖泥中 4 个优势菌门是: 厚壁菌门 (<i>Firmicutes</i> , 53.99%~95.68%), 拟杆菌门 (<i>Bacteroidetes</i> , 1.37%~23.32%), 广古菌门 (<i>Euryarchaeota</i> , 0.58%~12.61%) 和螺旋体门 (<i>Spirochaetes</i> , 0.12%~3.88%)。随窖龄 1~25 年增加, <i>Firmicutes</i> 中最大的乳酸杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>) 含量递减 (62.28~3.28%); 沉积菌属 (<i>Sedimentibacter</i> , 1.57~4.78%), 梭菌属 (<i>Clostridium IV</i> , 1.12~12.71%) 和互营单胞菌属 (<i>Syntrophomonas</i> , 0.45~4.74%) 递增; <i>Bacteroidetes</i> , <i>Spirochaetes</i> 和 <i>Euryarchaeota</i> 中的各种甲烷菌 (诸如: 甲烷囊菌属 <i>Methanoculleus</i> , 甲烷细菌属 <i>Methanobacterium</i>) 递增。25 年和 50 年窖泥的群落结构无显著差异。	Tao Yong 等 ^[5]
5, 30, 100 年	Roche GS junior 高通量测序	窖泥中 <i>Firmicutes</i> 占主要优势 (79%), 其次为放线菌门 (<i>Actinobacteria</i> , 4.9%), <i>Bacteroidetes</i> (4.1%), 互养菌门 (<i>Synergistetes</i> , 2.5%) 等。 <i>Actinobacteria</i> 和 <i>Synergistetes</i> 随着窖龄增加递增; <i>Clostridiaceae</i> 未在 5 年窖龄窖泥中检出。窖泥中古菌主要为 <i>Euryarchaeota</i> , 窖泥古菌群落多样性与窖龄呈负相关。	邓杰等 ^[9,10]
20, 50, 150 年	16S rDNA 克隆文库	20 年与 50/150 年窖泥菌群差异大, 50 与 150 年窖泥群落结构相似, 20 年窖泥的优势菌是 <i>Syntrophomonas</i> , <i>Petrimonas</i> 和 <i>Proteiniphilum</i> , 50/150 年窖泥的优势菌为 <i>Natronoanaerobium</i> 和无法分类的 <i>Clostrida</i> 。	王明跃等 ^[11]
20, 50, 100, 200, 300 年	PCR-DGGE	窖泥中好氧菌随窖龄增加而递减, 20 年窖泥除外。窖泥中的主要微生物为 <i>Clostridiales</i> , <i>Lactobacillales</i> 和 <i>Bacillales</i> 。与其余更老的窖泥相比, 20 年窖泥菌群 C19:0 的磷脂脂肪酸值 (PLFAs) 更高。	ZHENG Jia 等 ^[7]
40, 400 年	Illumina 高通量测序	40 与 400 年窖泥菌群结构无显著差异, 后者的菌群丰度略有提高。两者丰度最高的 5 个门是: <i>Firmicutes</i> (58.04%), <i>Bacteroidetes</i> (16.88%), <i>Euryarchaeota</i> (11.70%), <i>Synergistetes</i> 和变形菌门 (<i>Proteobacteria</i>)。丰度最高的 11 个属为: 甲烷短杆菌属 (<i>Methanobrevibacter</i>), 己酸菌属 (<i>Caproiciproducens</i>), <i>Petrimonas</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Sedimentibacter</i> , <i>Proteiniphilum</i> , <i>Syntrophomonas</i> , 胺杆菌属 (<i>Aminobacterium</i>), 克里斯滕森菌科 (<i>Christensenellaceae R-7</i>), <i>Caldicoprobacter</i> 和欧陆森氏菌属 (<i>Olsenella</i>)。此外, 40/400 年老窖泥中有大量未知菌属 (26%), 大多来自于梭状芽孢杆菌 (<i>Clostridia</i>)。	LIU Mao-ke 等 ^[4]
6 年, >50 年	Illumina 高通量测序	6 年表层新窖泥和 >50 年表层老窖泥菌群组成差异显著。6 年表层老窖泥中 <i>Lactobacillus</i> 含量最大 (12.80~42.72%), 其次为 <i>Clostridium_sensu_stricto_1</i> 、贪铜菌属 (<i>Cupriavidus</i>) 等; >50 年表层窖泥 <i>Lactobacillus</i> 大量减少 (1.0%), 优势菌属变为 <i>Caproiciproducens</i> (34.79%)、甲烷囊菌属 (<i>Methanoculleus</i>) 和 <i>Syntrophomonas</i> 等。	ZHANG Hui-min 等 ^[12]
老熟窖泥、正在老熟窖泥	PCR-DGGE	<i>Firmicutes</i> 在老熟窖泥和未老熟窖泥均占优势。老熟窖泥中 <i>Clostridiales</i> 较占优势, 未老熟窖泥 <i>Bacillales</i> 和 <i>Lactobacillales</i> 较占优势。	LIANG Hui-peng 等 ^[3]
退化、正常、优质窖泥	Illumina 高通量测序	从退化窖泥到优质窖泥, <i>Clostridia</i> , 克氏梭菌 (<i>Clostridium kluyveri</i>), 拟杆菌纲 (<i>Bacteroidia</i>) 和甲烷杆菌 (<i>Methanobacteria</i>) 显著增加; <i>Lactobacillus</i> 显著降低。梭菌纲 (<i>Clostridia</i>), 拟杆菌 (<i>Bacteroidia</i>), 甲烷杆菌 (<i>Methanobacteria</i>) 和甲烷微菌纲 (<i>Methanomicrobia</i>) 对维持窖泥生态稳定性很重要, 却容易被快速增长的乳酸菌 (如 <i>Lactobacillus</i>) 破坏, 而导致窖泥“退化”。	HU Xiao-long 等 ^[2]

本课题组前期通过 Illumina 高通量测序分析了浓香型白酒新(5年)、老(50年)窖池的池壁泥与池底泥的原核微生物群落结构,其菌群丰度由低到高依次为新窖池池壁泥,新窖池池底泥,老窖池池壁泥和老窖池池底泥。新窖池池壁泥的菌群结构最单一,主要为 *Lactobacillus* 和 *Caproiciproducens*, 随菌群丰度增加, *Lactobacillus* 依次减少, *Caproiciproducens* 依次增多。老窖池池底泥中除了优势菌属 *Caproiciproducens* 外, *Aminobacterium*, *Sedimentibacter* 等厌氧菌和未知菌属的含量最多, 菌群组成最丰富。

综上所述,池底泥的原核菌群多样性和丰度高于池壁泥,可能与两者的理化环境差异^[17,18]有关,比如氧含量差异可能导致池壁泥中的兼性厌氧菌相对较多(如 *Lactobacillus*),池底泥中的绝对厌氧菌(如甲烷菌)较多。此外, Zhang Huimin 等人^[12]深入分析了新老窖池分层池底泥的原核菌群结构随窖泥深度增加而递变的规律,发现 50 年老窖泥随窖泥深度增加, *Caproiciproducens* 丰度递减, *Hydrogenispora*, *Haloplasma*, *Fastidiosipila* 递增,其余各优势菌属保持稳定,诸如: *Methanoculleus*, *Syntrophomonas*, *Sedimentibacter*, *Fermentimonas*, *Proteiniphilum*, *Aminobacterium* 等;与老窖泥不同,5 年新窖泥中的丰度显著降低, *Lactobacillus*, *Clostridium-sensu-stricto-1*, *Cupriavidus*, *Burkholderia* 等占相对优势,新窖池的池底泥越靠近池壁,深度越深,菌群组成越接近于老窖泥。

1.2 窖泥真核微生物群落结构研究进展

余有贵等人^[18]证实窖泥中可培养真菌数量小于可培养细菌。Tao Yong 等人^[6]通过免培养方法证实窖泥中真核菌群仅占 1.8%。窖泥菌群主要在浓香型白酒发酵后期充当厌氧菌群的缓释源^[1],窖泥的厌氧环境不利于真核微生物生存,窖泥中真核菌群多为好氧菌或兼性好氧菌(如各种酵母菌),直接来自酒醅,间接来自大曲^[1]。

刘绪等人^[19]采用平板稀释分离法从浓香型白酒窖泥中分离并鉴定出毛霉属(*Mucor*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)、红曲霉属(*Monascus*)、犁头霉属(*Absidia*)、串珠霉属(*Monilia*)、密丝明孢曲霉属(*Sartorya*)和小卵孢霉属(*Ovularia*)等 8 个丝状真菌分类属,以 *Mucor*、*Aspergillus* 和 *Monascus* 3 个属为主要优势菌。杨舒雯等人^[20]对某浓香型酒厂窖泥中分离出的 98 株酵母菌进行实验,筛选出 5 株耐高温、耐酒精和呼吸强度较高的菌株,经鉴定分别属于粟酒裂殖酵母,耐热克鲁

维酵母、多形汉逊酵母、酿酒酵母、鲁氏接合酵母。王福帧等人^[21]通过 454 高通量测序对窖泥真核微生物群落分析发现,在门水平上,主要由 *Opisthokonta*、*Archaeplastida*、*SAR*、*Amoebozoa*、*Excavata* 五个门组成;在属水平上,优势属主要有 *Ascomycota*、*Streptophyta*、*Mucorales*、*Craniata*、*Arthropoda*。Zheng Jia 等人^[7]利用 PCR-DGGE 法研究泸州老窖不同窖龄窖泥的真核菌群多样性,结果仅鉴定出 3 个属,分别为威克汉逊酵母(*Wickerhamomyces*)、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)和毕赤酵母属(*Pichia*)。Liu Maoke 等人^[22]通过 PCR-DGGE 和 Illumina 高通量测序对泸州老窖 5 年和 100 年窖泥真核菌群研究发现,5 年窖泥中根霉(*Rhizopus*)、茎点霉属(*Phoma*)和丝孢酵母属(*Trichosporon*)相对丰富,100 年窖泥中 *Aspergillus* 和假丝酵母属(*Candida*)相对丰富。易彬等人^[23]通过平板计数法研究泸州老窖不同窖龄窖泥霉菌与酵母菌变化,发现窖壁泥和窖底泥的霉菌数量均较少,池底泥的霉菌数量略低于窖壁泥;100 年和 40 年窖龄窖壁泥和窖底泥基本上检测不出酵母菌。本课题组采用 Illumina 高通量测序分析浓香型白酒新老窖池池壁泥与池底泥的真核菌群结构。在门的水平上,窖泥的绝对优势门均为 *Ascomycota*,新老窖池池底泥的真菌组成相似,新老窖池池壁泥的真菌组成相似。在属的水平上,新窖池池底泥中 *Candida* 占绝对优势,新老窖池池壁泥中的真菌组成更接近且更丰富,优势菌属包括 *Candida*、*Pichia*、*Aspergillus* 等。大多数老窖池池底泥中的真菌含量非常少,甚至消失。

综上所述,窖泥真核微生物主要为酵母菌、霉菌等,多样性较低,可能窖泥厌氧环境不利于好氧或者兼性好氧窖泥真菌生长所致^[7]。尤其是池底泥,常年处于发酵所形成的黄水的浸泡中,更偏向为厌氧环境;而池壁泥到发酵后期才可能为厌氧状态,氧气的含量较多。因此池壁泥与池底泥中真核菌群组成差异很大。

2 窖泥菌群相关菌种代谢功能研究进展

窖泥菌群对浓香型白酒风味物质的形成具有重要作用,主要表现在形成浓香型白酒的特征风味物质-己酸乙酯及其前体己酸,因此关于窖泥菌群中己酸合成的相关研究相对较多。窖泥中己酸的合成主要与原核菌群相关,目前,比较公认的己酸的合成通路是以乙酸、丁酸等短链脂肪酸为前体通过 β -氧化的逆反应形成己酸^[24-26]。Hu Xiaolong 等人^[27]分别通过培养法和 PCR-DGGE 法检测了 15 个梭菌纲(*Clostridia*)和 8 个杆菌纲(*Bacilli*)的菌属,确定克氏梭菌(*Clostridium kluyveri*)是主要己酸产生菌。*Clostridium kluyveri* 是

一种厌氧菌,可以乙醇和乙酸为底物,生成丁酸、己酸和 H_2 ^[24]。Yin Yannan 等人^[28]通过批量发酵实验证实 *Clostridium khuyveri* 合成己酸受乙酸/乙醇比例影响,乙酸浓度增加促进己酸生成,乙醇浓度超过 700 mM 抑制己酸生成,乙酸/乙醇为 1:10 达到最高己酸浓度。不过, Zhu Xiaoyu 等人^[29]通过将 20 年老窖泥菌群以无菌黄水稀释液为培养基经厌氧发酵发现窖泥菌群具有不同于 *Clostridium khuyveri* 的代谢通路,即消耗乳酸,而不是消耗乙醇,同时生成己酸的代谢过程。Zhu Xiaoyu 等人^[30]接着从窖泥菌群中分离出了菌株 *Ruminococcaceae CPB6*,证实了该菌可以代谢乙酸和丁酸辅酶 A 生成丁酸,代谢乙酸/丁酸和己酸辅酶 A 生成己酸。Wang Han 等人^[31]进一步发现 *Ruminococcaceae CPB6* 可以发生由乳酸(电子供体)和 C2-C5 短链脂肪酸(电子受体)生成 C6-C7 羧酸的反应,即可以转化乳酸为己酸。另外,在 Liu Maoke^[4]和 Zhang Huimin^[12]对窖泥菌群的研究中都发现老窖泥中 *Caproiciproducens* 占优势地位,*Caproiciproducens* 是一种严格厌氧的革兰氏阳性,不产生孢子的棒状细菌,与菌株 BS-1^T 具有亲缘性,属于 *Ruminococcaceae*,其可以代谢产生乙醇、乙酸、丁酸和己酸^[32]。*Ruminococcaceae CPB6* 与 *Caproiciproducens* 同属 *Clostridium IV*。

限于窖泥中存在大量不可培养菌,窖泥众多菌种的代谢功能无法通过纯化菌种的传统方式实现。Tao Yong 等人^[6]通过宏基因组测序和 16S rDNA、16S rRNA 测序分析发现 30 年老窖泥中存在参与乳酸降解代谢、己酸合成代谢、氢营养型/乙酸分解生成甲烷的基因等,并给出了众多菌种参与的以乳酸和乙醇为前体合成丁酸和己酸的代谢通路图,说明窖泥中各种菌属已经形成了代谢网络^[2]。窖泥越老,窖泥菌群的代谢网络越完整。新窖泥中乳酸菌占相对优势^[5,12],老窖泥中梭菌纲(*Clostridia*)和甲烷菌占相对优势^[2],如 Liu Maoke^[4]和 Zhang Huimin^[12]都发现 *Caproiciproducens* 在老窖泥中的优势地位。窖泥菌群老熟过程中,其优势菌属由 *Lactobacillus* 逐渐变为 *Caproiciproducens* 的原理很值得探讨。Stephen J. Andersen 等人^[33]发现己酸等中长链脂肪酸对菌群具有毒性,尤其是乳酸菌,窖泥中己酸的含量可能对窖泥菌群结构在老熟过程中的转变有一定影响。尽管如此,*Lactobacillus* 始终参与老窖泥菌群的代谢,说明 *Lactobacillus* 在窖泥菌群中具有重要作用。*Lactobacillus* 除了参与合成乳酸,在厌氧条件下还参与降解乳酸生成乙酸等^[34,35],而且 *Lactobacillus* 与 *Clostridium IV* (包括 *Caproiciproducens*,

Ruminococcaceae CPB6 等)在降解乳酸生成己酸的代谢中存在合作关系^[33]。

另外,与新窖泥相比,老窖泥丰富的优势菌属对完整代谢网络的形成具有重要作用,如 *Syntrophomonas*, *Sedimentibacter*, *Aminobacterium*, *Methanoculleus*, *Methanobrevibacter*, *Hydrogenispora* 等。*Syntrophomonas* 可以降解 C4-C8 的中长链脂肪酸(如己酸和丁酸等)产生乙酸、丙酸和 H_2 ^[36]。*Sedimentibacter*^[37,38]和 *Aminobacterium*^[39]与甲烷菌共生,具有降解氨基酸生成乙酸,丙酸,丁酸和铵态氮等小分子的功能。*Methanobrevibacter*^[40,41]为氢营养型革兰氏阳性菌,以 H_2 、 CO_2 以及甲酸盐为底物生成甲烷。*Methanoculleus*^[42,43]为氢营养型革兰氏阴性菌,其生长以 H_2 、 CO_2 和乙酸作为底物,可以使用乙醇/仲醇作为电子供体产生甲烷。甲烷菌(如 *Methanoculleus* 和 *Methanobrevibacter*)虽不直接产生浓香型白酒的风味物质,其与氢气产生菌(如 *Clostridium*、*Caproiciproducens* 和 *Syntrophomonas*)之间的氢转移,解除代谢过程中的氢抑制,促进了窖泥菌群代谢功能(包括己酸合成)持续进行。甲烷菌是窖泥老熟的标志性菌^[44],甲烷菌的存在代表窖泥菌群代谢网络的完善。综上,老窖泥菌群相对完善的代谢网络更有利于浓香型白酒风味物质的产生。不过,传统浓香型白酒生产工艺是相对复杂的多变量影响体系,受各方面影响,其特征风味物质己酸乙酯的产量也不总是稳定,需要具体情况具体分析。

与原核菌群相比,窖泥中的真核菌群丰度较小,直接来自酒醅,间接来自大曲^[1],包括 *Candida*、*Pichia*、*Aspergillus*、*Rhizopus*、*Trichosporon*、*Mortierella*、*Penicillium*、*Thermoascus* 等^[22]。*Candida* 和 *Pichia* 均属于非酿酒酵母,具有 β -葡萄糖苷酶的能力,可产生萜烯类香气物质^[45]。*Candida* 是生香酵母,可产生酯化酶,促进酯类物质生成^[46],具有一定发酵能力^[47],还具有产硫化氢等能力^[48]。*Aspergillus* 具有产葡萄糖氧化酶、蛋白酶、淀粉酶和木聚糖酶能力^[47,49]。高粱是生产浓香型白酒的主要原料,含有丰富的浓缩单宁,可能会对白酒的品质产生负面影响,造成苦味和涩味^[50]。在发酵过程中,*Candida* 和 *Aspergillus* 的某些种对浓缩单宁有协同作用^[51],因此可能有助于减少高粱的高单宁含量,从而提升酒体口感。*Rhizopus* 能产生大量的淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶,而且还能产生柠檬酸、葡萄糖酸、乳酸、琥珀酸等有机酸^[52,53],对白酒风味的形成具有重要作用。*Penicillium* 不仅能分泌比较全的降解天然木质纤维材料的聚糖酶系,而且产生较多 β -葡萄糖苷酶^[54]和酯酶^[55]。研究表明窖泥中

Mucor、*Aspergillus*、*Monascus* 3 个属为主要优势菌，其中 *Mucor* 能糖化淀粉，生成草酸、琥珀酸和少量乙醇，产生蛋白酶且分解蛋白质的能力很强^[19]。*Monascus* 能够在弱酸环境以乳酸为碳源生长繁殖，同时产生酯化合成酶提高总酯的含量^[56]。

3 窖泥的改良应用研究进展

窖泥质量与酿酒质量息息相关。因此，人工加快窖泥老熟是提高酿酒质量的重要方法。窖泥老熟的本质是窖泥菌群的“老熟”，即窖泥菌群丰度和多样性提高到一定程度，实现窖泥菌群代谢网络（链）的完整。窖泥菌群“老熟”过程中，窖泥菌群与窖泥理化性质相互适应相互影响，窖泥的理化性质逐渐得到改善，窖泥菌群的丰度和多样性逐渐得到升高。

目前，对窖泥的改良分为两方面：一方面，改良窖泥的理化性质，给窖泥菌群提供一个适宜生存的环境，间接促进窖泥老熟^[57-59]；另一方面，通过添加窖泥菌群菌种的方式直接改善窖泥菌群结构^[60-66]。目前对窖泥的改良方式至少涉及一方面，后者偏多，或者两者兼顾。窖泥菌群养护制剂的形式主要分为固体和液体两种，固体形式，即人工堆积培养固体人工窖泥后用于窖泥养护^[63,67]；液体形式，即培养形成窖泥养护液通过喷洒于窖泥表面或者插孔淋入窖泥深处等方式用于窖泥养护^[60-62,65,66]。无论是固体人工窖泥培养，还是液态窖泥养护液培养，其基本要素包括两方面，即提供菌群生长所需要的理化环境和菌群来源；前者包括水分、pH 值、铵态氮、厌氧环境、有效磷、有效钾、豆粕、黄泥、腐殖质、酵母膏、醋酸钠、磷酸氢二钾等理化因素或者理化条件；后者包括老窖泥^[62,63]、大曲^[64]、母糟^[61]、人工培养己酸菌^[65,66]等，或者多项兼顾^[60,61]，其中鉴于己酸对浓香型白酒特征风味物质己酸乙酯的前体作用，研发己酸菌为核心的窖泥养护制剂是窖泥改良应用研究的热点^[68]。

对窖泥改良效果的评价主要通过对窖泥理化性质、菌群结构、菌群或者功能菌种（诸如己酸菌）丰度等指标的改善程度来衡量。Zhang L 等人^[67]通过巢式 PCR-DGGE 分别检测了人工堆积培养 1 年、2 年窖泥的菌群结构，发现与堆积培养 1 年人工窖泥相比，堆积培养 2 年人工窖泥的菌群丰度有所增加，真细菌和古细菌组成进一步改进，真菌组成基本保持不变，人工堆积是促进窖泥中酿酒功能菌群富集的有效手段，堆积培养的人工窖泥的菌群结构与老窖泥类似。Ding Xiaofei 等人^[69]通过 PCR-DGGE 和 FISH（Fluorescence In Situ Hybridization）分析了人工窖泥经发酵使用 1、2、3 和 4 年后真细菌和古细菌群落的

变化。结果显示：人工窖泥菌群的真细菌和古细菌的丰度随发酵时间的增加而增加，窖泥菌群中优势科为 Clostridiaceae，占 46.2%，Ruminococcaceae 只在 4 年窖龄的人工窖泥中发现，以上两者均为典型老窖泥中的优势菌。综上说明，通过人工窖泥改良可以有效促进窖泥菌群的老熟。

4 结语

综上所述，浓香型白酒窖池窖泥对浓香型白酒的质量具有重要作用。窖泥菌群中主要为原核微生物，窖泥的原核菌群组成越丰富，越有利于提高酿酒质量。窖泥的自然老熟，即窖泥菌群结构的稳定，大约需要 25 年。窖泥中真核菌群丰度较低，尤其是在老熟窖泥的池底窖泥中，真核菌群逐渐消失。老窖泥中丰富多彩的原核菌种形成了完整的代谢网路，为浓香型白酒特征风味物质的形成提供了菌种保障。因此，对新窖泥或者老化窖泥的改良，一方面需要提高窖泥菌群结构的完整性，另一方面需要提高窖泥菌群的整体丰度。目前，限于窖泥中大量非可培养菌属的存在，以及分子鉴定技术限制，窖泥中仍然存在许多未知菌属有待研究。或许，可以通过深入分析新、老窖泥理化性质的关键差异因素，找到一种方法，通过改善新窖泥或者退化窖泥的关键理化性质，免除人工培养和分离纯化环节，最终加快促进新窖泥菌群结构的完整和新窖泥菌群丰度的提高，即促进新窖泥老熟。相信随着窖泥研究的深入，将逐步实现对窖泥菌群及其酿酒质量的人工调控。

参考文献

- [1] HU Xiao-long, DU Hai, REN Cong, et al. Illuminating anaerobic microbial community and cooccurrence patterns across a quality gradient in Chinese liquor fermentation pit muds [J]. Appl Environ Microbiol, 2016, 82(8): 2506-2515
- [2] WANG Xue-shan, DU Hai, XU Yan. Source tracking of prokaryotic communities in fermented grain of Chinese strong-flavor liquor [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 244: 27-35
- [3] LIANG Hui-peng, LI Wen-fang, LUO Qing-chun, et al. Analysis of the bacterial community in aged and aging pit mud of Chinese Luzhou-flavour liquor by combined PCR-DGGE and quantitative PCR assay [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(13): 2729-2735
- [4] LIU Mao-ke, TANG Yu-ming, GUO Xiao-jiao, et al. Deep sequencing reveals high bacterial diversity and phylogenetic novelty in pit mud from Luzhou Laojiao cellars for Chinese

- strong-flavor baijiu [J]. Food Research International, 2017, 102: 68-76
- [5] TAO Yong, LI Jia-bao, RUI Jun-peng, et al. Prokaryotic communities in pit mud from different-aged cellars used for the production of Chinese strong-flavored liquor [J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80(7): 2254-2260
- [6] TAO Yong, WANG Xiang, LI Xiang-zhen, et al. The functional potential and active populations of the pit mud microbiome for the production of Chinese strong-flavour liquor [J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(6): 1603-1615
- [7] ZHENG Jia, LIANG Ru, ZHANG Li-qiang, et al. Characterization of microbial communities in strong aromatic liquor fermentation pit muds of different ages assessed by combined DGGE and PLFA analyses [J]. Food Research International, 2013, 54(1): 660-666
- [8] DENG Bo, SHEN Cai-hong, SHAN Xiao-hu, et al. PCR-DGGE analysis on microbial communities in pit mud of cellars used for different periods of time [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2012, 118(1): 120-126
- [9] 邓杰,黄治国,卫春会,等.基于高通量测序的浓香型白酒窖池细菌群落结构分析[J].现代食品科技,2015,31(7):50-55
DENG Jie, HUANG Zhi-guo, WEI Chun-hui, et al. High-throughput sequencing reveals bacterial structure in the mud pits of heavy-fragrance Baijiu [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(7): 50-55
- [10] 邓杰,卫春会,边名鸿,等.浓香型白酒不同窖龄窖池窖泥中古菌群落结构分析[J].食品科学,2017,38(8):37-42
DENG Jie, WEI Chun-hui, BIAN Ming-hong, et al. Archaeal community analysis of pit mud from cellars of different ages for Luzhou-flavor liquor [J]. Food Science, 2017, 38(8): 37-42
- [11] 王明跃,张文学,王海英,等.不同窖龄窖泥细菌的系统发育多样性分析[J].食品科学,2013,34(11):177-181
WANG Ming-yue, ZHANG Wen-xue, WANG Hai-ying, et al. Analysis of bacterial phylogenetic diversity of pit muds with different cellar ages [J]. Food Science, 2013, 34(11): 177-181
- [12] ZHANG Hui-min, MENG Ya-jing, WANG Yan-li, et al. Prokaryotic communities in multidimensional bottom-pit-mud from old and young pits used for the production of Chinese strong-flavor baijiu [J]. Food Chemistry, 2020, 312(15): 126084
- [13] 王春艳,宋建阳,吕慧鑫,等.基于高通量测序的宋河浓香型白酒不同窖龄窖泥细菌群落结构分析[J].中国酿造,2019, 38(9):163-166
WANG Chun-yan, SONG Jian-yang, LYU Hui-xin, et al. Analysis of bacterial community structure in strong-flavor baijiu pit mud with different cellar ages from Songhe distillery based on high-throughput sequencing [J]. China Brewing, 2019, 38(9): 163-166
- [14] 刘茂柯,唐玉明,邹兰,等.浓香型白酒窖泥古菌群落结构及其多样性[J].食品与发酵工业,2013,39(10):22-28
LIU Mao-ke, TANG Yu-ming, ZOU Lan, et al. Archaeal community and diversity in the pit mud of Chinese Luzhou-flavour liquor [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(10): 22-28
- [15] 罗杰,张宿义,敖宗华,等.浓香型白酒窖池窖泥中原核微生物菌群的研究[J].酿酒科技,2016,2:55-60
LUO Jie, ZHANG Su-yi, AO Zong-hua, et al. Prokaryotic bacteria communities in pit mud of Nongxiang baijiu [J]. Liquor Making Science & Technology, 2016, 2: 55-60
- [16] DING Xiao-fei, WU Chong-de, ZHANG Li-qiang, et al. Characterization of eubacterial and archaeal community diversity in the pit mud of Chinese Luzhou-flavor liquor by nested PCR-DGGE [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 30(2): 605-612
- [17] 李恒,孙夏冰,陆震鸣,等.白酒窖池中不同部位窖泥挥发性化合物的差异性分析[J].食品与发酵工业,2013,39(3):158-162
LI Heng, SUN Xia-bing, LU Zhen-ming, et al. Differentiation analysis of volatile constituents in the pit muds from different parts of Chinese liquor cellar [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(3): 158-162
- [18] 余有贵,李侦,熊翔,等.窖泥微生态的主要特征研究[J].食品科学,2009,30(21):258-261
YU You-gui, LI Zhen, XIONG Xiang, et al. Main characteristics of microecology in cellar mud [J]. Food Science, 2009, 30(21): 258-261
- [19] 刘绪,张磊,王超凯,等.窖泥中优势丝状真菌的分布规律及分类鉴定[J].食品与发酵科技,2012,48(1):16-19
LIU Xu, ZHANG Lei, WANG Chao-kai, et al. Distribution and identification of the dominant mold in pit-mud [J]. Food and Fermentation Technology, 2012, 48(1): 16-19
- [20] 杨舒雯,周志江,韩焯,等.浓香型白酒窖泥中酵母种类的研究[J].食品工业科技,2011,32(5):138-41
YANG Shu-wen, ZHOU Zhi-jiang, HAN Ye, et al. Study on varieties of yeast in cellared mud used for brewing white alcohol [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(5): 138-41
- [21] 王福桢.北方浓香型白酒发酵微生物多样性分布模式解析[D].呼和浩特:内蒙古大学,2014

- WANG Fu-zhen. Analysis of microbial diversity's distribution pattern in fermentation of liquor [D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2014
- [22] LIU Mao-ke, TANG Yu-ming, ZHAO Ke, et al. Determination of the fungal community of pit mud in fermentation cellars for Chinese strong-flavor liquor, using DGGE and Illumina MiSeq sequencing [J]. Food Research International, 2017, 91: 80-87
- [23] 易彬,任道群,唐玉明,等.不同窖龄窖泥微生态变化研究[J].酿酒科技,2011,6:32-34
- YI Bin, REN Dao-qun, TANG Yu-ming, et al. Study on the change of microbes in pit mud of different pit age [J]. Liquor Making Science & Technology, 2011, 6: 32-34
- [24] Seedorf H, Fricke W F, Veith B, et al. The genome of *Clostridium kluyveri*, a strict anaerobe with unique metabolic features [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(6): 2128-2133
- [25] Barker H, Kamen M, Bornstein B. The synthesis of butyric and caproic acids from ethanol and acetic acid by *Clostridium kluyveri* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1945, 31(12): 373
- [26] Grootsholten Ten T, Steinbusch K, Hamelers H, et al. Chain elongation of acetate and ethanol in an upflow anaerobic filter for high rate MCFAs production [J]. Bioresource Technology, 2013, 135: 440-445
- [27] HU Xiao-ling, DU Hai, XU Yan. Identification and quantification of the caproic acid-producing bacterium *Clostridium kluyveri* in the fermentation of pit mud used for Chinese strong-aroma type liquor production [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 214: 116-122
- [28] YIN Ya-nan, ZHANG Yi-feng, Karakashev D B, et al. Biological caproate production by *Clostridium kluyveri* from ethanol and acetate as carbon sources [J]. Bioresource Technology, 2017, 241: 638-644
- [29] ZHU Xiao-yu, TAO Yong, LIANG Cheng, et al. The synthesis of n-caproate from lactate: a new efficient process for medium-chain carboxylates production [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 14360
- [30] ZHU Xiao-yu, ZHOU Yan, WANG Yi, et al. Production of high-concentration n-caproic acid from lactate through fermentation using a newly isolated *Ruminococcaceae* bacterium CPB6 [J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10(1): 102
- [31] WANG Han, LI Xiang-zhen, WANG Yi, et al. Improvement of n-caproic acid production with Ruminococcaceae bacterium CPB6: selection of electron acceptors and carbon sources and optimization of the culture medium [J]. Microbial Cell Factories, 2018, 17(1): 99
- [32] Kim B-C, Jeon B S, Kim S, et al. *Caproiciproducens galactitolivorans* gen. nov., sp. nov., a bacterium capable of producing caproic acid from galactitol, isolated from a wastewater treatment plant [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(12): 4902-4908
- [33] Andersen S J, De Groof V, Khor W C, et al. A *Clostridium* group IV species dominates and suppresses a mixed culture fermentation by tolerance to medium chain fatty acids products [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2017, 5: 8
- [34] Lindgren S E, Axelsson L T, Mcfeeters R F. Anaerobic L-lactate degradation by *Lactobacillus plantarum* [J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, 66(1-3): 209-213
- [35] Elferink S J O, Krooneman J, Gottschal J C, et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by *Lactobacillus buchneri* [J]. Applied Environmental Microbiology, 2001, 67(1): 125-132
- [36] ZHANG Chun-yang, LIU Xiao-li, DONG Xiu-zhu. *Syntrophomonas erecta* sp. nov., a novel anaerobe that syntrophically degrades short-chain fatty acids [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(2): 799-803
- [37] Obst M, Krug A, Luftmann H, et al. Degradation of cyanophycin by *Sedimentibacter hongkongensis* strain KI and *Citrobacter amalonaticus* strain G isolated from an anaerobic bacterial consortium [J]. Applied Environmental Microbiology, 2005, 71(7): 3642-3652
- [38] Imachi H, Sakai S, Kubota T, et al. *Sedimentibacter acidaminivorans* sp. nov., an anaerobic, amino-acid-utilizing bacterium isolated from marine subsurface sediment [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(3): 1293-1300
- [39] Hamdi O, Hania W B, Postec A, et al. *Aminobacterium thunnarium* sp. nov., a mesophilic, amino acid-degrading bacterium isolated from an anaerobic sludge digester, pertaining to the phylum Synergistetes [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(2): 609-614
- [40] Lee J-H, Kumar S, Lee G-H, et al. *Methanobrevibacter boviskoreani* sp. nov., isolated from the rumen of Korean

- native cattle [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(11): 4196-4201
- [41] Oren A. The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea [M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014, 165-193
- [42] Oren A. The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea [M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014, 231-246
- [43] CHENG Lei, QIU Tian-lei, LI Xia, et al. Isolation and characterization of *Methanoculleus receptaculi* sp. nov. from Shengli oil field, China [J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, 285(1): 65-71
- [44] 吴衍庸,刘光焯.窖泥甲烷细菌与浓香型曲酒[J].酿酒,1988, 2:29-32
- WU Yan-yong, LIU Guang-ye. The methane bacteria in pit mud and Chinese strong-flavor baijiu [J]. Liquor Making, 1988, 2: 29-32
- [45] 牟含.川南白酒酿造环境中葡萄酒增香酿造酵母菌株的筛选[D].杨凌:西北农林科技大学,2015
- MU Han. Screening yeast strains for the winemaking of aeoma enhancement from the brewing ecosystem of Luzhou flavor liquor in south Sichuan [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015
- [46] 周庆伍,汤斌,李安军,等.基于纯种分离技术对古井贡酒桃花曲微生物进行分离鉴定的研究[J].酿酒科技,2016,3:37-41
- ZHOU Qing-wu, TANG Bin, LI An-jun, et al. Isolation and identification of microbes in Gujing Daqu based on purebred separation technology [J]. Liquor Making Science & Technology, 2016, 3: 37-41
- [47] 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
- [48] Goldblatt A, Strauss S, Hess P. A replication and extension of findings about the development of visual acuity in infants [J]. Infant Behavior and Development, 1980, 3: 179-182
- [49] 陈国参,刘德海,解复红,等.一株产复合酶真菌菌株的筛选,鉴定及发酵产酶研究[J].中国酿造 2012,31(9):70-74
- CHEN Guo-can, LIU De-hai, XIE Fu-hong, et al. Isolation, identification of a fungi strain with compound enzyme and study on production enzymes [J], China Brewing, 2012, 31(9): 70-74
- [50] Lesschaeve I, Noble A C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(1): 330S-335S
- [51] SHI Bi, HE Qiang, YAO Kai, et al. Production of ellagic acid from degradation of valonea tannins by *Aspergillus niger* and *Candida utilis* [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 2005, 80(10): 1154-1159
- [52] 龙可,赵中开,马莹莹,等.酿酒根霉菌研究进展[J].现代食品科技,2013,29(2):443-447
- LONG Ke, ZHAO Zhong-kai, MA Ying-ying, et al. Progresses of researches on *Rhizopus* for liquor-making [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(2): 443-447
- [53] Meussen J, DE Graaff L H, Sanders J P, et al. Metabolic engineering of *Rhizopus oryzae* for the production of platform chemicals [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 94(4): 875-886
- [54] 刘念,刘绪,张磊,等.浓香型白酒糟醅中真菌菌群的研究[J].食品与发酵科技,2011,47(2):28-31
- LIU Nian, LIU Xu, ZHANG Lei, et al. Fungal diversity of fermented grains in Luzhou-flavor liquor pits [J]. Food and Fermentation Technology, 2011, 47(2): 28-31
- [55] 王涛,赵东,游玲,等.浓香型白酒酿造环节中产酯化酶的霉菌多样性[J].食品与发酵工业,2012,38(5):37-41
- WANG Tao, ZHAO Dong, YOU Lin, et al. Diversity of molds producing esterifying enzyme during fermentation of strong-flavor liquor [J]. Food and Fermentation Industries, 2012, 38(5): 37-41
- [56] 余伟民,曾志,吴生文,等.红曲霉对特香型白酒风味风格物质影响[J].中国酿造,2012,31(3):87-91
- YU Wei-min, ZENG Zhi, WU Sheng-wen, et al. Influence of *Monascus* on the style and flavor components of special-flavor liquor [J]. China Brewing, 2012, 31(3): 87-91
- [57] 崔凤元,江中伟,靳宝常,等.醋酸钠在窖池养护上的应用[J].酿酒科技,2016,12:71-73
- CUI Feng-yuan, JIANG Zhong-wei, JIN Bao-chang, et al. Application of sodium acetate in pit maintenance [J]. Liquor Making Science & Technology, 2016, 12: 71-73
- [58] 刘乐乐,靳宝常,朱永怀,等.泥炭在窖池养护中的应用[J].酿酒科技,2018,2:83-87
- LIU Le-le, JIN Bao-chang, ZHU Yong-huai, et al. Application of peat soil in the maintenance of pit [J]. Liquor Making Science & Technology, 2018, 2: 83-87
- [59] 刘小刚,熊燕飞,敖宗华,等.人工老熟窖泥对固态酿造白酒

- 质量的影响研究[J].酿酒科技,2018,11:26-29
- LIU Xiao-gang, XIONG Yan-fei, AO Zong-hua, et al. Effects of manmade aged pit mud on the quality of baijiu by solid-state fermentation [J]. Liquor Making Science & Technology, 2018, 11: 26-29
- [60] 杜礼泉,饶家权,唐聪,等.窖泥功能菌液在窖泥养护中的应用[J].酿酒,2019,49(1): 61-64
- DU Li-quan, RAO Jia-quan, TANG Cong, et al. Application of pit mud functional bacterial liquid in pit mud [J]. Liquor Making, 2019, 49(1): 61-64
- [61] 桑其明,王超凯,陕小虎,等.浓香型窖泥养护液的研究和应用[J].酿酒科技,2017,4: 71-75
- SANG Qi-ming, WANG Chao-kai, SHAN Xiao-hu, et al. Research on and application of pit mud maintenance liquid of Nongxiang baijiu [J]. Liquor Making Science & Technology, 2017, 4: 71-75
- [62] 梁萌,毕良玉,姚元滋,等.浓香型窖泥培养液在白酒生产中的应用[J].酿酒, 2017,44(4):52-56
- LIANG Meng, BI Liang-yu, YAO Yuan-zi, et al. Application of Luzhou flavor pit mud culture in liquor production [J]. Liquor Making, 2017, 44(4): 52-56
- [63] 刘淼,姚万春,唐玉明,等.功能性人工窖泥的培养和应用[J].酿酒科技,2014,6:80-83
- LIU Miao, YAO Wan-chun, TANG Yu-ming, et al. Culture of functional manmade pit mud and its application [J]. Liquor Making Science & Technology, 2014, 6: 80-83
- [64] 崔凤元,江中伟,靳宝常,等.高温曲应用于窖池养护的实践研究[J].酿酒科技,2016,11:80-82
- CUI Feng-yuan, JIANG Zhong-wei, JIN Bao-chang, et al. Application of high-temperature starter in pit maintenance [J]. Liquor Making Science & Technology, 2016, 11: 80-82
- [65] 崔世亮,杨玉珍,节秀娟.己酸菌的选育与应用研究[J].酿酒科技,2003,4:38-42
- CUI Shi-liang, YANG Yu-zhen, JIE Xiu-juan. Breeding selection of caproic acid bacteria and its application [J]. Liquor Making Science & Technology, 2003, 4: 38-42
- [66] 徐军.己酸菌液在浓香型白酒生产中的应[J].酿酒科技, 2012,1:77-81
- XU Jun. Application of caproic acid bacteria functional liquid in Luzhou-flavor liquor production [J]. Liquor Making Science & Technology, 2012, 1: 77-81
- [67] ZHANG Li-qiang, ZHOU Rong-qing, NIU Mei-can, et al. Difference of microbial community stressed in artificial pit muds for Luzhou-flavour liquor brewing revealed by multiphase culture-independent technology [J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 119(5): 1345-1356
- [68] 刘茂柯,唐玉明,赵珂,等.浓香型白酒窖泥微生物群落结构及其选育应用研究进展[J].微生物学通报,2017,44(5):1222-1229
- LIU Mao-ke, TANG Yu-ming, ZHAO Ke, et al. Recent advances in research on the community, isolation, and application of microbes in the pit mud used in manufacture of Chinese strong-flavor baijiu [J]. Microbiology China, 2017, 44(5): 1222-1229
- [69] DING Xiao-fei, WU Chong-de, HUANG Jun, et al. Eubacterial and archaeal community characteristics in the man-made pit mud revealed by combined PCR-DGGE and FISH analyses [J]. Food Research International, 2014, 62: 1047-1053

欢迎订阅中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

每期定价 40 元，全年 12 期 480 元。欢迎食品及相关行业的机构和科学工作者到各地邮局订阅，并踊跃投稿和建立产学研合作关系。

地址：广州五山华南理工大学食品科学与工程学院麟鸿楼 506 室，邮编：510640

电话：020-87113352

E-mail: xdspkj@126.com

投稿系统: <http://xdspkj.ijournals.cn>