

# 酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆微生物类群与感官品质的相关性分析

王玉荣<sup>1,2</sup>, 马佳佳<sup>1,2</sup>, 田龙新<sup>2,3</sup>, 刘菊珍<sup>2,3</sup>, 周加平<sup>2,3</sup>, 郭壮<sup>1,2\*</sup>

(1. 湖北文理学院湖北省食品配料工程技术研究中心, 湖北襄阳 441053) (2. 襄阳市酱香型白酒固态发酵企业联合创新中心, 湖北襄阳 441053) (3. 酱香型白酒固态发酵襄阳市重点实验室, 湖北襄阳 441053)

**摘要:** 该研究采用高通量测序技术对酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆不同位置酒醅的微生物类群进行了解析, 继而使用常规和仿生检测对其品质进行了评价, 最后将微生物与感官品质间进行了关联性分析。理化结果表明, 醅堆不同位置酒醅中酸度、酒精度和淀粉含量差异显著 ( $P < 0.05$ )。感官结果表明, 整个醅堆挥发性风味物质以有机硫化物和萜类物质为主, 滋味变化主要体现在酸味上。MiSeq 结果表明, 醅堆中微生物类群结构存在明显差异, 其主要细菌属为高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*, 26.46%)、克罗彭斯特菌属 (*Kroppenstedtia*, 23.42%) 和乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*, 19.05%) 等, 主要真菌属为酵母属 (*Saccharomyces*, 6.15%)、嗜热子囊菌属 (*Thermoascus*, 4.85%) 和嗜热真菌属 (*Thermomyces*, 2.05%) 等, 相互菌属之间存在着密切的演替作用。相关性结果表明, 醅堆不同位置酒醅中微生物与风味指标相关性不显著 ( $P > 0.05$ ), 与滋味指标相关性显著 ( $P < 0.05$ ), 且微生物代谢与酒醅中酸味的形成密切相关。由此可见, 第六轮次堆积发酵醅堆不同位置酒醅的理化指标和微生物存在明显差异, 且醅堆中微生物对酒醅品质的影响更多体现在滋味品质上。

**关键词:** 酱香型白酒; 堆积发酵; 高通量测序; 微生物类群; 相关性

文章编号: 1673-9078(2024)09-107-117

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.1014

## Correlation Analysis between Microbial Taxa and Sensory Quality of the Sixth-round of Stacking Fermentation Piles of the Jiang-flavored Liquor

WANG Yurong<sup>1,2</sup>, MA Jiajia<sup>1,2</sup>, TIAN Longxin<sup>2,3</sup>, LIU Juzhen<sup>2,3</sup>, ZHOU Jiaping<sup>2,3</sup>, GUO Zhuang<sup>1,2\*</sup>

(1. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Ingredients, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China) (2. Xiangyang Jiangxiang Baijiu Solid State Fermentation Enterprise-School Joint Innovation Center, Xiangyang 441053, China) (3. Xiangyang Key Laboratory of Solid State Fermentation of Jiangxiang Baijiu, Xiangyang 441053, China)

引文格式:

王玉荣, 马佳佳, 田龙新, 等. 酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆微生物类群与感官品质的相关性分析[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 107-117.

WANG Yurong, MA Jiajia, TIAN Longxin, et al. Correlation analysis between microbial taxa and sensory quality of the sixth-round of stacking fermentation piles of the jiang-flavored liquor [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 107-117.

收稿日期: 2023-08-27

基金项目: 襄阳市重大科技计划项目 (2021AAS003037); 湖北文理学院教师科研能力培育基金“科技创新团队” (2020kypyt009); 湖北文理学院科研启动基金 (kyqdf2021014)

作者简介: 王玉荣 (1993-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品微生物与生物技术, E-mail: wangyurong1993@163.com

通讯作者: 郭壮 (1984-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: guozhuang@vip.163.com

**Abstract:** In this study, high-throughput sequencing technology was used to analyze the microbial taxa at different positions of the sixth-round stacking fermentation piles of Jiang-flavored liquor spent grain, and then the quality was evaluated using the routine detection and biomimetic detection. Finally, the correlation between microorganisms and sensory quality was analyzed. The physicochemical results showed that the acidity, alcohol content and starch content varied significantly with different sites of the spent grain pile ( $P < 0.05$ ). The sensory results showed that the volatile flavor substances of the whole pile were mainly organic sulfides and terpenes, and the taste changes were mainly reflected in the sour taste. The MiSeq results showed that there were significant differences in the structure of microbial communities of the whole piles and the main bacterial genera were *Thermoactinomyces* (26.46%), *Kroppenstedtia* (23.42%) and *Lactobacillus* (19.05%), the main fungal genera were *Saccharomyces* (6.15%), *Thermoascus* (4.85%) and *Thermomyces* (2.05%), and there was a close succession between the mutual genera. The results of correlation analysis showed that the correlation between microorganisms and flavor indexes at different sites of the spent grain pile was not significant ( $P > 0.05$ ), and the correlation between microorganisms and the taste index was significant ( $P < 0.05$ ), with the microbial metabolism being closely related to the formation of sour taste in the spent grain pile. Accordingly, there are obvious differences in the physicochemical indexes and microorganisms at different sites of the sixth-round stacking fermentation piles of spent grain, and the influence of the microorganisms in the spent grain pile on the quality of the pile is more reflected in the taste quality.

**Key words:** sauce-flavor liquor; stacking fermentation; high-throughput sequencing; microbial taxa; correlation

酱香型白酒是中国最古老的三大典型香型白酒之一，因其“酱香突出、口感醇厚、回味悠长”的酒体风格而深受广大消费者青睐<sup>[1]</sup>，不仅如此，其生产工艺遵循“12987”进行，具有“四高两长、一大一多”的风格特征<sup>[2]</sup>。高温堆积发酵是酱香型白酒在酿造过程中独有的生产方式，其目的是为了网络空气中酿酒微生物，继而产生多种酶类并经相互作用来合成酒体前驱物质及香味物质，为入池发酵提供多种酶类和重要微生物，堆积发酵过程是酒醅充分利用环境中微生物进行二次制曲的过程<sup>[3]</sup>。酱香型白酒在酿造过程中共需要经历七次取酒，经研究证实，不同轮次基酒其整体品质以第三、第四和第五轮次最好，被统称为“大回酒”，其产量一般占到总基酒产量的55%以上<sup>[4]</sup>，第六轮次基酒品质虽不及大回酒轮次，但其酱香突出，具有醇和，糊香好和味长的酒体特征，故而被称为“小回酒”<sup>[5]</sup>。

近年来，众多学者利用 MiSeq 高通量测序技术对不同轮次酱香型白酒发酵基质中的微生物类群进行了更为高效和准确地解析，并进一步揭示了白酒品质与发酵微生物之间的密切联系<sup>[6]</sup>。胡小霞等<sup>[7]</sup>采用 MiSeq 技术对酱香型白酒第一轮次堆积发酵酒醅中细菌群落结构进行了研究，发现乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、埃希氏-志贺氏菌属 (*Escherichia-Shigella*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 为主要细菌属，且各个细菌属之间通过相互作用共同促进了白酒风

味品质的形成。张春林等<sup>[8]</sup>采用 MiSeq 技术对酱香型白酒第二轮次堆积发酵酒醅中微生物群落结构进行了研究，发现 *Bacillus*、*Lactobacillus* 和海洋芽孢杆菌属 (*Oceanobacillus*) 为主要细菌属，曲霉属 (*Aspergillus*)、假丝酵母属 (*Candida*) 和裸孢壳属 (*Emericella*) 为主要真菌属，且优势菌属与各理化指标之间存在着显著相关性。王玉荣等<sup>[9]</sup>采用 MiSeq 技术对酱香型白酒第四轮次不同分层酒醅中微生物群落结构进行了研究，发现不同分层酒醅中微生物类群结构在整体上存在明显差异，且微生物与理化特性之间存在着较为复杂的关联性。综合以上研究可知，不同轮次酱香型白酒酒醅在堆积发酵过程中其微生物类群及品质存在明显差异，且同一轮次不同位置酒醅中微生物及品质亦存在明显差异。

目前对于酱香型白酒“小回酒”轮次堆积发酵酒醅，尤其是醅堆不同位置酒醅研究尚少，其微生物发酵与品质之间的关系暂不明确。因此，本研究以湖北省襄阳市某酒厂的酱香型白酒第六轮次堆积发酵酒醅为研究对象，采用传统可培养方法和 Illumina MiSeq 高通量测序技术对醅堆不同位置共 15 份酒醅中微生物类群进行解析，同时结合各理化指标、风味及滋味指标的测定，系统阐述微生物类群与品质之间的作用关系，以期对酱香型白酒“小回酒”轮次堆积发酵机理和酱酒品质的提升提供理论参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

第六轮次堆积发酵酒醅采集自湖北省襄阳市保康县 (E110°45'~111°31', N31°21'~32°06') 某酒厂制曲车间, 采集时间为2021年7月中旬, 采集样品共15份。

平板计数琼脂培养基 (PCA) 和 MRS 培养基, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA), 北京奥博星生物技术有限公司; 参比溶液、阴阳离子溶液和内部溶液, 日本 Insent 公司; QIAGEN DNeasy mericon Food Kit DNA 基因组提取试剂盒, 德国 QIAGEN 公司;  $5\times$ TransStart™ FastPfu Buffer、dNTPs Mix 和 FastPfu Fly DNA Polymerase, 北京全式金生物技术有限公司; 正反向引物 338F/806R (338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3' 和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 和 ITS3F/ITS4R (ITS3F: 5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3' 和 ITS4R: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 均由上海桑尼生物科技有限公司合成; MiSeq 高通量测序配套试剂, 美国 Illumina 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

DG250 厌氧工作站, 英国 Don Whitley 公司; PEN3+EDU3 电子鼻, 德国 Airsense 公司; SA402B 电子舌, 德国 Airsense 公司; AND 日本 MS-70 快速水分测定仪, 上海右一仪器有限公司; K1100 全自动凯氏定氮仪, 山东海能科学仪器有限公司; Veriti FAST PCR 仪, 美国 ABI 公司; DYY-12 电泳仪, 北京六一仪器厂; UVPCDS8000 凝胶成像分析系统, 美国 ProteinSimple 公司; ND-2000C 微量紫外分光光度计, 美国 Nano Drop 公司; PE300 MiSeq 高通量测序平台, 美国 Illumina 公司; R930 机架式服务器, 美国 DELL 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品采集

本研究在采样过程中所涉及的醅堆如图1所示, 按照图中取样标记点分别对第六轮次堆积发酵醅堆的上层、中上层、中层、中下层和下层进行样品采集, 使用三点取样法对五个层面样品进

行采集, 每份酒醅样品分别采集 500 g, 并一式三份于无菌自封袋中, 一份用于活菌计数和高通量测序, 一份用于理化、风味和滋味指标的测定, 另一份于 -40 °C 下保存备用。

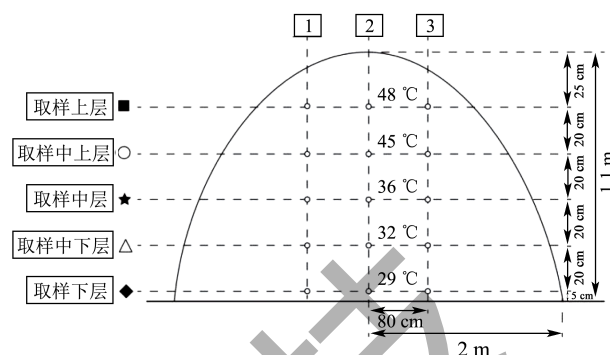


图1 第六轮次堆积发酵醅堆的取样示意图

Fig.1 Schematic diagram of sampling points of the sixth-round of stacked fermentation Jiupei

#### 1.3.2 细菌及酵母菌和霉菌的活菌计数

分别参照 GB 4789.2-2022 《食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定》和 GB 4789.15-2016 《食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母计数》对醅堆不同位置酒醅中细菌总数、酵母菌和霉菌总数进行计数, 同时分别在 PCA 和 PDA 培养基中添加制霉菌素和氯霉素以防止杂菌污染, 每份样品重复计数三次。

#### 1.3.3 理化指标的测定

根据 DB 34/T 2264-2014 《固态发酵酒醅分析方法》分别对醅堆不同位置酒醅酸度、酒精度、还原糖含量和淀粉含量进行测定, 使用快速水分测定仪测定水分含量, 根据 GB 5009.5-2016 《食品中蛋白质的测定》使用全自动凯氏定氮仪测定蛋白质含量。

#### 1.3.4 感官品质的测定

风味品质的测定: 准确称取 10 g 酒醅样品于电子鼻专用样品瓶中封口, 将其置于 45 °C 水浴锅中保温 20 min, 并于室温下平衡 30 min 后, 参照尚雪娇等<sup>[10]</sup>的方法使用电子鼻对酒醅进行风味品质的数字化测定。

滋味品质的测定: 准确称取 60 g 酒醅样品与 180 mL 去离子水充分混合, 于室温下平衡 30 min 后 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液并抽滤, 参照王丹丹等<sup>[11]</sup>的方法使用电子舌对酒醅 5 个基本味 (酸味、苦味、涩味、咸味和鲜味) 和 3 个回味 (涩的回味、苦的回味和鲜的回味) 亦进行数字化测定。

表 1 醅堆不同位置酒醅理化指标分析

Table 1 Analysis of physicochemical indexes of Jiupai at different sites of grain dump

指标	上层	中上层	中层	中下层	下层
酸度/(mmol/10 g)	3.09 ± 0.16 <sup>c</sup>	3.78 ± 0.17 <sup>b</sup>	4.12 ± 0.20 <sup>a</sup>	4.19 ± 0.09 <sup>a</sup>	4.07 ± 0.23 <sup>ab</sup>
水分含量/%	49.69 ± 0.54 <sup>a</sup>	49.91 ± 0.57 <sup>a</sup>	49.50 ± 0.64 <sup>a</sup>	49.33 ± 2.77 <sup>a</sup>	50.95 ± 0.45 <sup>a</sup>
酒精度/(V/V)	0.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.01 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.02 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.02 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.11 ± 0.09 <sup>a</sup>
淀粉含量/%	12.63 ± 0.39 <sup>ab</sup>	13.09 ± 0.50 <sup>a</sup>	12.90 ± 1.20 <sup>ab</sup>	12.17 ± 0.11 <sup>ab</sup>	11.54 ± 1.01 <sup>b</sup>
还原糖含量/%	1.33 ± 0.33 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.55 ± 0.29 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.23 <sup>a</sup>
蛋白质含量/%	11.37 ± 1.73 <sup>a</sup>	11.91 ± 0.94 <sup>a</sup>	11.44 ± 0.38 <sup>a</sup>	11.66 ± 1.37 <sup>a</sup>	11.36 ± 0.25 <sup>a</sup>

注: 平均值 ± 标准差, 同一行所含不同字母的数据差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

### 1.3.5 Illumina MiSeq高通量测序

称取各酒醅样品 2 g 于无菌离心管中, 参照试剂盒的说明对酒醅中微生物宏基因组 DNA 进行提取, 并以其为模板, 使用加入核苷酸标签 (Barcod) 的引物 338F/806R 和 ITS3F/ITS4R 分别对细菌 16S rRNA V<sub>3</sub>-V<sub>4</sub> 区和真菌 ITS 区进行 PCR 扩增, 扩增体系和扩增程序分别参照 Guo 等<sup>[12]</sup>和陈怡等<sup>[13]</sup>的方法进行, 并使用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行检测, 将检测合格的 PCR 产物置于干冰中寄往上海美吉生物医药科技有限公司完成 Illumina MiSeq 高通量测序。

### 1.3.6 生物信息学分析

参照 Wang 等<sup>[14]</sup>的质控方法对 MiSeq 测序平台产生的对端序列进行拼接和高质量筛选, 基于 QIIME (V1.9.0) 平台对合格序列进行生物信息学分析<sup>[15]</sup>。首先以 97% 相似性为阈值构建分类操作单元 (Operational Taxonomic Units, OTU), 继而使用 UCHIME 去除潜在嵌合体, 然后通过 Greengenes (v13.5)、RDP (v11.5) 和 SILVA (v132) 数据库对细菌物种进行注释, 同时通过 UNITE (v7.2) 数据库对真菌物种进行注释, 最终计算各样品中微生物的发现物种数和香农指数, 并通过加权 UniFrac 距离对其进行主坐标分析。

### 1.3.7 统计分析

使用 Origin 2017 软件绘制折线图, 使用 R (v4.1.3) 软件绘制气泡图、相关性拟合曲线图、PCoA 图和普氏分析图, 使用 Cytoscape 软件绘制相关性网络图。表格中各指标数据的处理均在 Excel 2016 中进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 醅堆不同位置酒醅理化指标分析

酒醅作为白酒发酵的重要基质, 其理化特性与白酒的品质息息相关<sup>[16]</sup>。本研究首先对醅堆不同位置酒醅中各理化指标进行了测定, 结果如表 1 所示。

由表 1 可知, 在测定的 6 个理化指标中, 中层、中下层和下层酒醅的酸度值显著高于上层和中上层 ( $P < 0.05$ ), 有研究指出, *Lactobacillus* 等乳酸菌为酒醅中的优势细菌属, 其在生长代谢过程中可产生乳酸和乙酸等有机酸, 由于重力作用的影响有机酸自然下渗导致其含量逐渐增加<sup>[17]</sup>。下层酒醅的酒精度显著高于其他四个位置 ( $P < 0.05$ ), 而其淀粉含量显著低于其他四个位置 ( $P < 0.05$ )。水分含量、还原糖含量和蛋白质含量在醅堆不同位置酒醅中差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。由此可见, 醅堆不同位置酒醅中理化指标存在较大差异。

### 2.2 醅堆不同位置酒醅感官品质分析

酒醅的风味特性在一定程度上亦可以反应白酒的品质。因此, 本研究进一步使用电子鼻和电子舌对醅堆不同位置酒醅的风味和滋味指标进行了数字化分析, 结果如表 2 所示。

由表 2 可知, 在风味指标上, 仅 W1W 和 W2S 这 2 个传感器对第六轮次堆积发酵醅堆的响应强度较大, 由此可见, 醅堆挥发性风味物质主要体现在有机硫化物和萜烯类物质上。在醅堆的五个位置中, W1W、W2S、W2W 和 W3S 传感器对上层酒醅挥发性风味物质的检测响应值均显著低于其他四个位置 ( $P < 0.05$ ), W1C、W3C 和 W5C 传感器对上层、中下层和下层酒醅芳香类风味物质的检测响应值均显著高于中上层和中层 ( $P < 0.05$ )。测其原因, 可能与重力作用有关, 致使部分有机物向下沉积。在滋味指标上, 除酸味指标外其余 7 个滋味指标相对强度较为接近, 其中, 中下层和下层酒醅的涩味相对强度显著高于其他三个位置 ( $P < 0.05$ ), 而其鲜味和丰度相对强度均显著低于其他三个位置 ( $P < 0.05$ )。值得注意的是, 随着醅堆深度的加深其酒醅酸味逐渐显著加重 ( $P < 0.05$ ), 这与理化指标中酸度的测定结果基本一致。

表 2 醅堆不同位置酒醅风味和滋味指标分析

Table 2 Analysis of flavor and taste indexes of Jiupei at different sites of grain dump

品质	指标	上层	中上层	中层	中下层	下层
风味	W1C(芳香型化合物)	0.09 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>ab</sup>
	W3C(芳香型化合物)	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.09 ± 0 <sup>ab</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>ab</sup>
	W5C(烷烃芳香成分)	0.07 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.06 ± 0 <sup>abc</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>
	W1W(有机硫化物和萜烯类)	96.06 ± 3.82 <sup>b</sup>	113.06 ± 1.54 <sup>a</sup>	108.23 ± 12.61 <sup>ab</sup>	100.7 ± 2.95 <sup>ab</sup>	100.2 ± 6.95 <sup>ab</sup>
	W2S(乙醇)	20.84 ± 2.61 <sup>b</sup>	31.17 ± 1.24 <sup>a</sup>	30.53 ± 8.18 <sup>a</sup>	25.39 ± 2.2 <sup>ab</sup>	24.57 ± 3.44 <sup>ab</sup>
	W2W(有机硫化物)	2.68 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.25 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.37 <sup>a</sup>	3.09 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.96 ± 0.19 <sup>ab</sup>
	W3S(烷烃类)	1.90 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.72 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.69 ± 0.67 <sup>a</sup>	2.36 ± 0.17 <sup>ab</sup>	2.25 ± 0.23 <sup>ab</sup>
滋味	酸味	-2.44 ± 0.39 <sup>c</sup>	-2.31 ± 0.25 <sup>c</sup>	-1.56 ± 0.10 <sup>c</sup>	4.20 ± 1.56 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.98 <sup>a</sup>
	苦味	1.63 ± 0.42 <sup>a</sup>	1.37 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.53 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.98 <sup>a</sup>
	涩味	-0.01 ± 0.11 <sup>b</sup>	-0.14 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.35 <sup>b</sup>	1.94 ± 0.90 <sup>a</sup>	1.59 ± 1.04 <sup>a</sup>
	咸味	0.20 ± 0.56 <sup>a</sup>	-0.55 ± 0.48 <sup>a</sup>	-0.68 ± 1.42 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.56 <sup>a</sup>	-0.44 ± 0.67 <sup>a</sup>
	鲜味	3.34 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.24 ± 0.28 <sup>a</sup>	3.45 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.72 ± 0.42 <sup>b</sup>	2.46 ± 0.16 <sup>b</sup>
	后味-A(涩的回味)	0.78 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.42 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.89 <sup>a</sup>
	后味-B(苦的回味)	0.98 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.04 <sup>a</sup>	-2.16 ± 0.93 <sup>b</sup>	0.37 ± 1.43 <sup>a</sup>
丰度(鲜的回味)	0.85 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.56 <sup>a</sup>	-1.53 ± 0.96 <sup>b</sup>	-1.82 ± 0.67 <sup>b</sup>	

表 3 醅堆不同位置微生物类群α多样性指数和活菌计数分析

Table 3 Analysis of α diversity index and viable bacteria count of microbial taxa in different sites of grain dump

微生物类群	指标	上层	中上层	中层	中下层	下层
细菌	细菌数/(lg CFU/g)	5.70 ± 0.18 <sup>b</sup>	5.94 ± 0.14 <sup>ab</sup>	6.00 ± 0.18 <sup>ab</sup>	6.00 ± 0.10 <sup>ab</sup>	6.11 ± 0.20 <sup>a</sup>
	发现物种数	862.13 ± 92.21 <sup>a</sup>	828.45 ± 174.64 <sup>a</sup>	868.57 ± 63.5 <sup>a</sup>	859.22 ± 72.83 <sup>a</sup>	862.13 ± 92.21 <sup>a</sup>
	香农指数	3.61 ± 0.54 <sup>b</sup>	3.97 ± 0.41 <sup>ab</sup>	4.36 ± 0.09 <sup>a</sup>	4.24 ± 0.22 <sup>ab</sup>	4.37 ± 0.15 <sup>a</sup>
真菌	酵母菌和霉菌数/(lg CFU/g)	6.09 ± 0.11 <sup>b</sup>	6.10 ± 0.12 <sup>b</sup>	6.62 ± 0.21 <sup>a</sup>	6.67 ± 0.17 <sup>a</sup>	6.41 ± 0.29 <sup>ab</sup>
	发现物种数	379.61 ± 147.29 <sup>b</sup>	577.52 ± 164.62 <sup>ab</sup>	565.66 ± 163.36 <sup>ab</sup>	747.73 ± 55.3 <sup>a</sup>	774.31 ± 41.82 <sup>a</sup>
	香农指数	2.63 ± 1.21 <sup>b</sup>	3.97 ± 0.52 <sup>a</sup>	3.44 ± 0.76 <sup>ab</sup>	4.28 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.52 ± 0.17 <sup>a</sup>

### 2.3 基于MiSeq技术醅堆不同位置酒醅中微生物群落结构解析

本研究采用高通量测序技术从第六轮次堆积发酵醅堆中共获得 657 886 条高质量 16S rRNA 基因序列和 1 051 379 条高质量 ITS 序列, 经 UCLUST 聚类划分后, 共得到 16 407 个细菌 OTU 和 5 516 个真菌 OTU。基于此, 本研究首先对其微生物 α 多样性进行了分析, 同时结合纯培养技术对其细菌、酵母菌和霉菌进行了菌落计数分析, 其结果如表 3 所示。

由表 3 可知, 第六轮次堆积发酵醅堆中细菌、酵母菌和霉菌的活菌量基本保持在 10<sup>6</sup> CFU/g 数量级波动, 其中, 中上层、中层、中下层和下层酒醅中细菌活菌数显著高于上层 ( $P < 0.05$ ), 同时中层、中下层和下层酒醅中酵母菌和霉菌活菌数显著高于

上层和中上层 ( $P < 0.05$ )。整个醅堆中, 中上层、中层、中下层和下层酒醅中微生物多样性和丰富度均显著高于上层 ( $P < 0.05$ ), 这可能是受到重力、氧气含量和温度等多种因素的作用, 导致菌体下沉进行富集<sup>[18]</sup>。

为明确醅堆不同位置酒醅中微生物类群的结构特征, 本研究进一步在属水平上对其优势微生物菌群(平均相对含量 > 1.00%)进行了解析, 其优势细菌属的群落结构组成如图 2 所示。

由图 2a 和 2b 可知, 整个醅堆中细菌群落结构主要由 6 个优势细菌属组成, 分别为高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*, 26.46%)、克罗彭斯特菌属 (*Kroppenstedtia*, 23.42%)、乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*, 19.05%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 7.65%)、海洋芽孢杆菌属 (*Oceanobacillus*, 2.31%)

和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*, 1.28%)。值得注意的是,在整个醅堆不同位置中出现了 *Thermoactinomyces*、*Kroppenstedtia* 和 *Lactobacillus* 相对含量分布不均一的现象。*Lactobacillus* 在上层和中上层酒醅中平均相对含量分别为 52.76% 和 41.48%, 而其中层、中下层和下层中平均相对含量显著偏低 ( $P < 0.05$ )。 *Thermoactinomyces* 在中层、中下层和下层酒醅中平均相对含量分别为 34.45%、31.50% 和 35.99%, *Kroppenstedtia* 平均相对含量分别为 29.42%、33.39% 和 23.77%, 而两者在上层和中上层中平均相对含量均显著偏低 ( $P < 0.05$ )。由图 2c、2d 和 2e 可知,整个醅堆中 *Kroppenstedtia* 与 *Lactobacillus* 相对含量呈现极显著负相关 ( $P < 0.001$ ), *Thermoactinomyces* 与 *Lactobacillus* 相对含量亦呈现极显著负相关 ( $P < 0.001$ ), 而 *Thermoactinomyces* 与 *Kroppenstedtia* 相对含量呈现显著正相关 ( $P < 0.05$ )。由此可见,整个醅堆在堆积发酵过程中不同位置细菌属之间存在共生或竞争的演替作用。

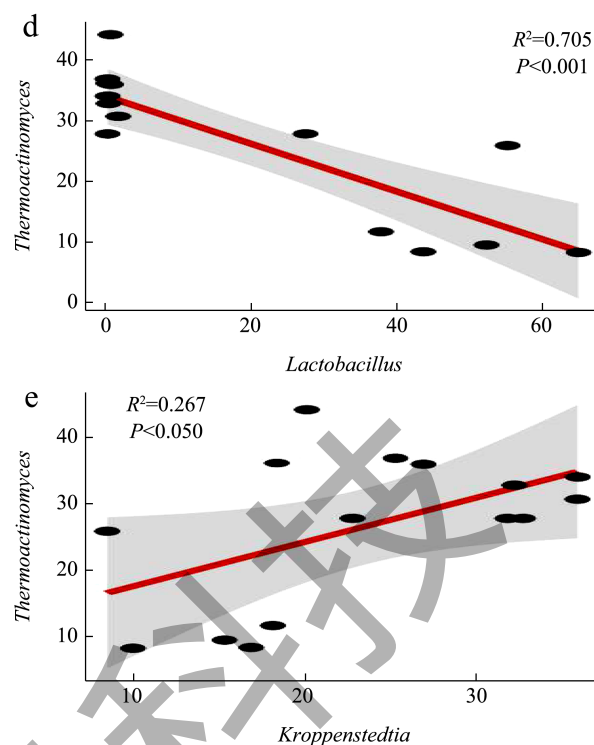
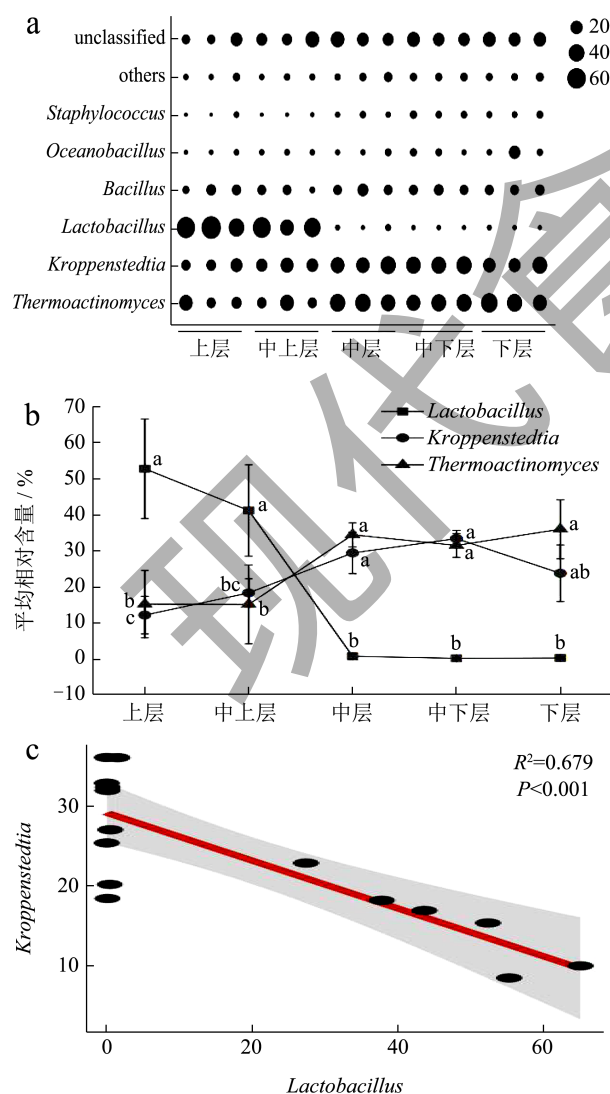


图 2 醅堆不同位置酒醅中平均相对含量 > 1.0% 的细菌属含量变化及物种相关性分析

Fig.2 Variation of bacterial genera abundance and species correlation analysis with average relative abundance of > 1.0% of Jiupei at different sites of grain dump

注: a: 优势细菌属相对含量气泡图; b: 醅堆不同位置部分细菌属平均相对含量变化折线图; c、d 和 e: 相关性拟合曲线图。

本研究进一步对醅堆不同位置酒醅中优势真菌属的群落结构组成进行了解析,其结果如图 3 所示。

由图 3a 和 3b 可知,整个醅堆中真菌群落结构主要由 8 个优势真菌属组成,分别为接合酵母属 (*Zygosaccharomyces*, 23.19%)、曲霉属 (*Aspergillus*, 18.58%)、帚枝霉属 (*Sarocladium*, 16.41%)、假丝酵母属 (*Candida*, 14.77%)、丝衣霉属 (*Byssoschlamys*, 8.71%)、酵母属 (*Saccharomyces*, 6.15%)、嗜热子囊菌属 (*Thermoascus*, 4.85%) 和嗜热真菌属 (*Thermomyces*, 2.05%)。亦值得注意的是,在醅堆不同位置中出现了 *Saccharomyces*、*Thermoascus* 和 *Thermomyces* 相对含量分布不均一的现象。*Saccharomyces* 在下层酒醅中平均相对含量为 19.61%, 而其中层、中上层、中层和中下层中平均相对含量显著偏低 ( $P < 0.05$ )。 *Thermoascus* 在中下层和下层酒醅中平均相对含量分别为 7.09% 和 8.65%, *Thermomyces* 在中下层和下层酒醅中平均相对含量分别为 4.21% 和 5.15%, 而两者在上层、中上层和中层中平均相对含量均显著偏低

( $P < 0.05$ )。由图 3c、3d 和 3e 可知，整个醅堆中 *Thermoascus* 与 *Thermomyces* 相对含量呈现显著正相关 ( $P < 0.05$ )，*Saccharomyces* 与 *Thermomyces* 相对含量呈现极显著正相关 ( $P < 0.001$ )，*Saccharomyces* 与 *Thermoascus* 相对含量亦呈现显著正相关 ( $P < 0.05$ )。由此可见，整个醅堆在堆积发酵过程中不同位置真菌属之间更多地体现为共生的演替作用。整体来看，第六轮次堆积发酵醅堆中不同位置酒醅其微生物类群结构存在明显差异。

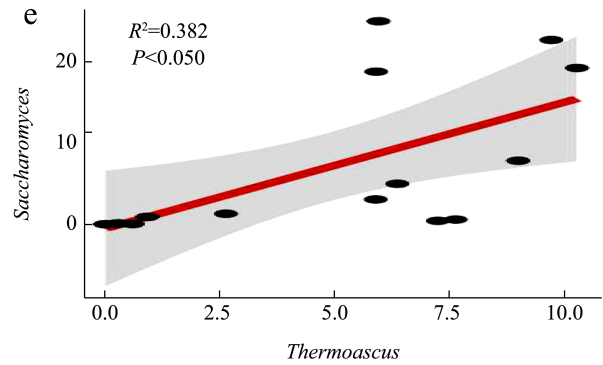
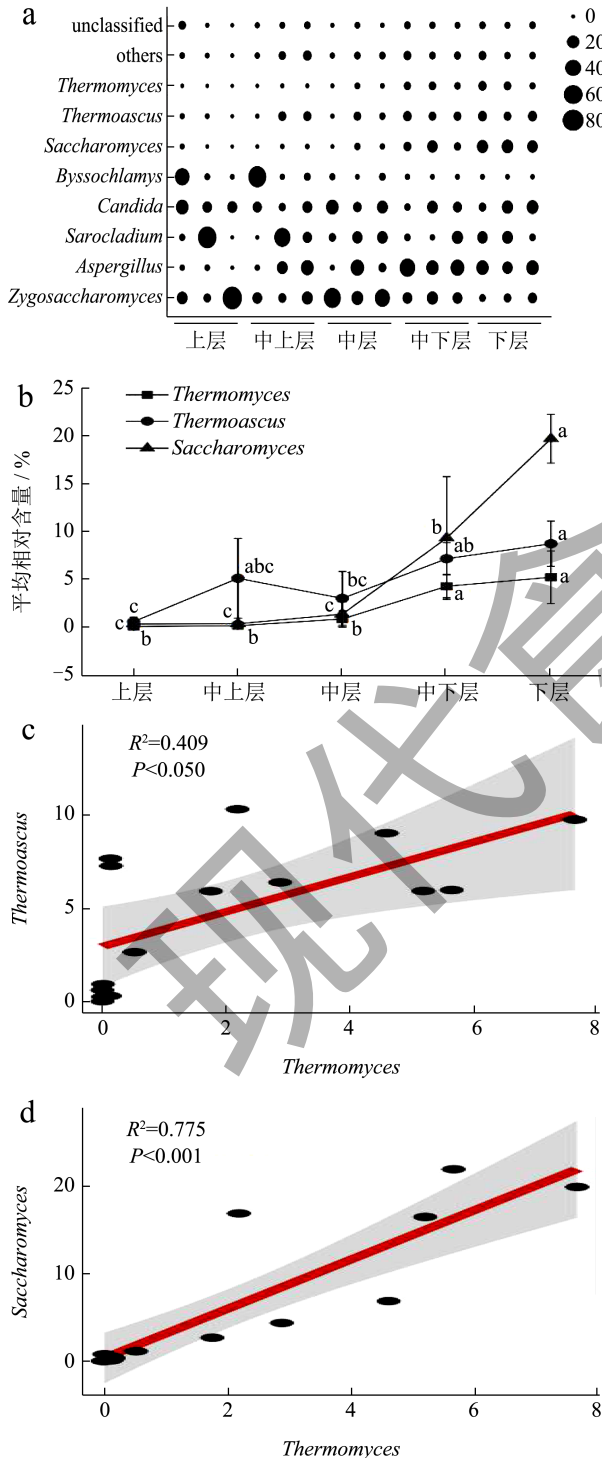


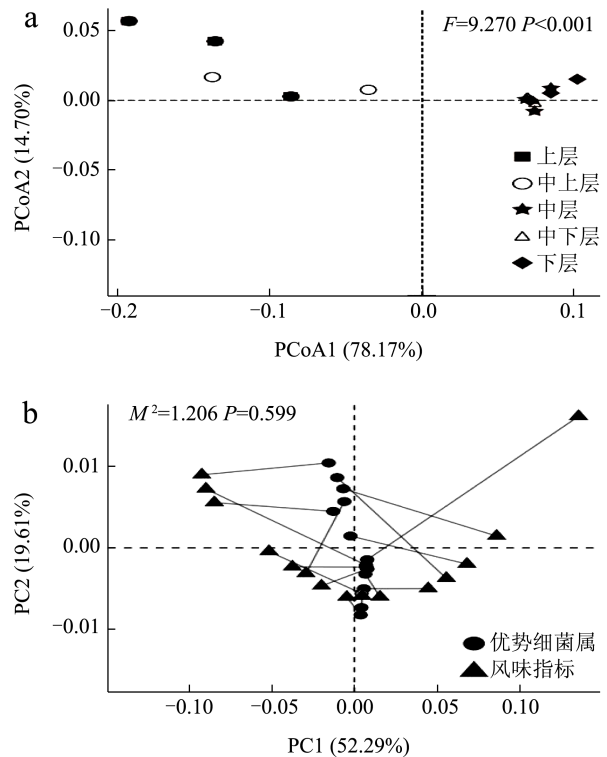
图 3 醅堆不同位置酒醅中平均相对含量 >1.0% 的真菌属含量变化及物种相关性分析

Fig.3 Variation of fungal genera abundance and species correlation analysis with average relative abundance of >1.0% of Jiupei at different sites of grain dump

注：a：优势真菌属相对含量气泡图；b：醅堆不同位置部分真菌属平均相对含量变化折线图；c、d 和 e：相关性拟合曲线图。

#### 2.4 醅堆不同位置酒醅中优势菌属与感官品质的相关性分析

在对醅堆不同位置酒醅中微生物类群进行解析的基础上，本研究进一步基于加权 UniFrac 距离对其群落结构差异进行了评估，同时使用普氏分析法揭示了微生物类群与风味和滋味之间的相关性，结果如图 4 所示。



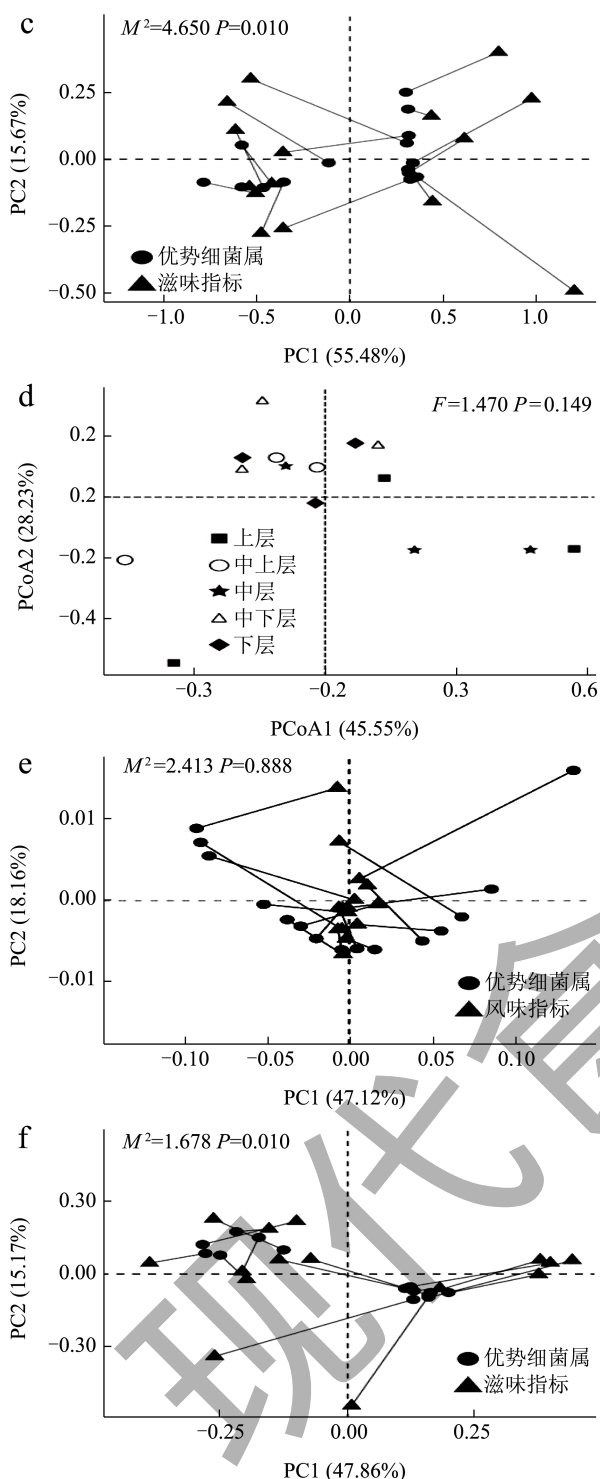


图4 基于加权 UniFrac 距离的微生物 PCoA 分析及菌属与感官指标的普氏分析

Fig.4 PCoA analysis of microorganisms based on weighted UniFrac distances and procrustes analysis of genus and sensory indexes

注: a: 基于加权 UniFrac 距离的细菌 PCoA 分析; b: 风味指标与细菌属的普氏分析; c: 滋味指标与细菌属的普氏分析; d: 基于加权 UniFrac 距离的真菌 PCoA 分析; e: 风味指标与真菌属的普氏分析; f: 滋味指标与真菌属的普氏分析。

由图 4a 可知, 纳入本研究的醅堆不同位置酒醅中, 上层和中上层酒醅分布在 X 轴负方向, 中层、中下层和下层酒醅分布在 X 轴正方向, 五个不同位置酒醅虽存在明显的重叠现象, 但亦具有一定的分离趋势, 经 Permanova 分析表明细菌群落组间存在极显著差异 ( $F=9.27, P<0.001$ )。由图 4b 和 4c 可知, 经普氏分析对优势细菌属与风味和滋味之间相关性进行映射显示, 优势细菌属与风味指标之间呈现不显著相关性 ( $P>0.05$ ), 而其与滋味指标之间呈现非常显著相关性 ( $P=0.01$ )。由图 4d 可知, 纳入本研究的醅堆不同位置酒醅中, 各样品在空间分布整体比较分散, 经 Permanova 分析表明真菌群落组间差异不显著 ( $F=9.27, P>0.05$ )。由图 4e 和 4f 可知, 经普氏分析对优势真菌属与风味和滋味之间相关性进行映射显示, 优势真菌属与风味指标之间亦呈现不显著相关性 ( $P>0.05$ ), 而其与滋味指标直之间亦呈现非常显著相关性 ( $P=0.01$ )。由此可见, 醅堆不同位置酒醅中微生物类群结构差异仅体现在细菌类群上, 且在整个醅堆中微生物类群与风味指标之间相关性不显著, 而其与滋味指标存在显著相关性。因此, 本研究进一步揭示了醅堆不同位置酒醅中优势菌属与滋味指标之间的关联性, 结果如图 5 所示。

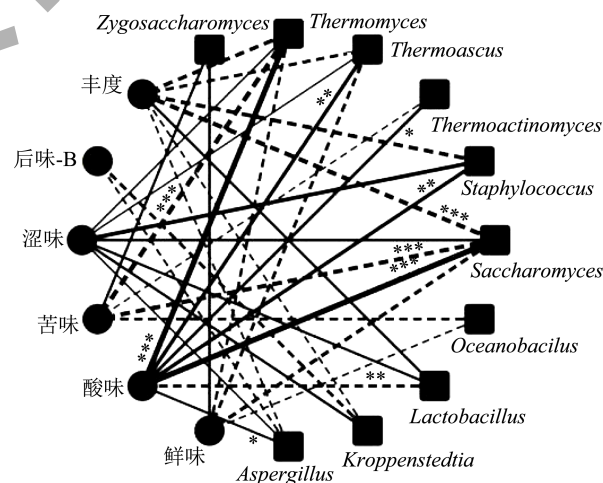


图5 滋味指标与优势菌属的相关性网络图  
Fig.5 Correlation network of taste index and dominant genus genera

注: 实线表示正相关, 虚线表示负相关, 线越粗相关性越大; “\*”表示  $P<0.05$ , 相关性显著; “\*\*”表示  $P<0.01$ , 相关性非常显著; “\*\*\*”表示  $P<0.001$ , 相关性极显著。

由图 5 可知, 纳入本研究的 15 份酒醅样品中存在 7 个优势菌属与酸味的形成呈现显著相关性。其中, *Saccharomyces* 和 *Thermomyces* 与酸味呈极显著正相关



( $P < 0.001$ ), *Staphylococcus* 和 *Thermoascus* 与酸味呈非常显著正相关 ( $P < 0.01$ ), *Thermoactinomyces* 和 *Aspergillus* 与酸味呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。而 *Lactobacillus* 与酸味呈非常显著负相关 ( $P < 0.01$ )。由此可见, 第六轮次堆积发酵酒醅其滋味品质的形成是多种微生物共同作用的结果。

### 3 讨论

酒醅作为酱香型白酒酿造发酵的重要基质, 其酸度、淀粉和水分等含量与出酒率和酒体质量息息相关, 且酒醅中生成的风味物质在一定程度上反映了白酒的风味品质<sup>[19]</sup>。第六轮次醅堆不同位置酒醅中酸度指标的测定结果与王贵军实验结果具有较大程度一致性<sup>[20]</sup>, 由此可见, 酒醅在堆积发酵过程中微生物的生长代谢不仅会产热和产酸, 而且可能是受重力作用影响其酸类物质也在不断地下沉累积, 这与王文洁等于今年早期提出的观点非常契合<sup>[21]</sup>。除此之外, 随着醅堆从上层到下层的深入, 酒醅中淀粉含量呈现逐渐降低的趋势, 结合 MiSeq 技术对醅堆中微生物类群的解析, 醅堆从中层到下层开始其 *Thermoactinomyces* 和 *Kroppenstedtia* 相对含量逐渐增加, 两者可将酒醅中淀粉和蛋白质等大分子物质降解并生成香味物质<sup>[22]</sup>。同时 *Bacillus* 的代谢亦可产生淀粉酶等将酒醅水解为发酵前体物质<sup>[23]</sup>。

高通量测序结果显示醅堆不同位置酒醅中细菌与真菌类群结构存在明显差异。在细菌类群结构中, *Lactobacillus* 相对含量在醅堆上层和中上层酒醅中占主导地位。一方面, 醅堆在堆积发酵过程中, 上层和中上层酒醅由于受到外界温度和压强等因素的影响逐渐进入高渗和厌氧状态<sup>[24]</sup>, 大量厌氧菌开始代谢并累积乳酸, 致使酒醅环境 pH 值逐渐降低, 在这种环境下 *Thermoactinomyces*、*Kroppenstedtia* 和 *Bacillus* 等革兰氏阳性细菌的生长受到抑制, 而 *Lactobacillus* 由于耐酸性好大量繁殖, 其相对含量随之增加。另一方面, 醅堆上层大部分酒醅裸露在空气中, 增加了与周围环境的接触面积, 来源于酿造空气中的部分 *Lactobacillus* 共同参与了醅堆的发酵过程<sup>[25]</sup>。在醅堆的中层、中下层和下层酒醅中 *Thermoactinomyces* 和 *Kroppenstedtia* 相对含量呈现增加趋势, 这与酒醅中营养物质的存在、发酵环境的变化和微生物相互作用有关。两者不仅具有糖化力、液化力和蛋白质分解力, 还可产生吡嗪和芳香类物质, 对酱香型白酒的风味具有重要的作用<sup>[1]</sup>。

在真菌类群结构中, 醅堆上层处于高温状态下多为丝状真菌且生长较为稳定, 随着醅堆内部温度的降低, 酒醅在堆积时从环境中网络而来的酵母菌和霉菌等微生物不断生长繁殖, 到达下层时, 由于氧气耗尽、酸度升高和代谢产物累积等因素的改变, 部分酵母菌和霉菌又逐渐衰亡<sup>[26]</sup>。值得注意的是, *Saccharomyces*、*Thermoascus* 和 *Thermomyces* 随着醅堆的深入, 其相对含量均呈现增加趋势, 进一步对酱香型白酒产酒率和香味组分的形成发挥着积极作用<sup>[27]</sup>。

酱香型白酒在生产过程中具有“四高两长”的工艺特点, 其中“四高”为高温制曲、高温堆积、高温发酵和高温缓慢馏酒<sup>[28]</sup>。拌如高温大曲后的粮醅在堆积和发酵过程中, 高温条件促进了酒醅中化学反应、生物反应和美拉德反应的进行, 为酒精的生成和酱香物质的最后形成提供了一个有利的环境<sup>[29]</sup>。而本研究的相关性结果显示醅堆不同位置酒醅中微生物与风味指标间呈现不显著相关性, 而与其与滋味指标间呈现显著相关性。究其原因可能在于整个醅堆中风味物质的产生更多地来源于酒醅在堆积发酵过程中发生的化学反应, 而非微生物代谢。虽然微生物代谢会对醅堆风味物质的产生具有一定影响<sup>[30]</sup>, 但其作用力被发酵中酒醅发生的化学反应所掩盖, 以致微生物与风味指标间并未呈现显著相关性。整个醅堆中酸味物质的形成与微生物间的相互作用密不可分, 其中 *Aspergillus* 等霉菌在酒醅发酵过程中可通过代谢有机酸和脂肪酸等而产生芳香酯类物质<sup>[31]</sup>。*Saccharomyces* 能够促进产酸菌的生长代谢<sup>[32]</sup>。*Lactobacillus* 能够通过同型和异型乳酸两种发酵方式产生大量乳酸, 然而当乳酸含量积累到一定浓度后会抑制自身的生长从而达到动态平衡, 此时 *Lactobacillus* 对酸味的形成已不是促进作用<sup>[33]</sup>。综上所述, 酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆中不同位置酒醅的理化指标和微生物类群均存在明显差异, 且经相关性研究可知, 醅堆中微生物代谢对酒醅感官品质的影响更多地体现在滋味品质上。然而多数研究表明, 酱香型白酒不同轮次堆积发酵醅堆中微生物对酒醅风味品质的形成发挥着重要作用, 因此, 在后续相关研究中应进一步扩大对醅堆样品的采集数量和采集位置, 并结合宏基因组学、感官和色谱分析探究微生物对酒醅风味品质的影响, 以深入揭示醅堆中微生物间的演替作用与酱香型基酒品质之间的内在联系, 为不同轮次酱酒品质的提升奠定基础。

## 4 结论

酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆中不同位置酒醅的理化指标、感官品质和微生物类群间均存在明显差异,其中醅堆不同位置酒醅的酸度、酒精度和淀粉含量差异显著,感官品质差异主要体现在滋味指标的酸味上,*Lactobacillus*、*Thermoactinomyces*、*Kroppenstedtia*、*Saccharomyces*、*Thermoascus* 和 *Thermomyces* 在醅堆不同位置酒醅的相对含量差异亦显著。研究证明整个醅堆在堆积发酵过程中不同位置酒醅微生物间存在共生或竞争的演替作用,且微生物代谢与酒醅滋味品质间的相关性显著,其中 *Saccharomyces*、*Thermomyces*、*Staphylococcus*、*Thermoascus*、*Thermoactinomyces* 和 *Aspergillus* 均与酸味的形成相关。本研究进一步为酱香型白酒“小回酒”轮次堆积发酵机理的了解提供了数据支撑。

## 参考文献

- [1] WANG L. Research trends in Jiang-flavor Baijiu fermentation: from fermentation microecology to environmental ecology [J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(4): 1362-1374.
- [2] WANG M Y, YANG J G, ZHAO Q S, et al. Research progress on flavor compounds and microorganisms of Maotai flavor Baijiu [J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(1): 6-18.
- [3] DAI Y, TIAN Z, MENG W, et al. Microbial diversity and physicochemical characteristics of the Maotai-flavored liquor fermentation process [J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, 20(7): 4097-4109.
- [4] DAI Y, TIAN Z, MENG W, et al. Changes in microbial diversity, physicochemical characteristics, and flavor substances during Maotai-flavored liquor fermentation and their correlations [J]. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 2019, 13(3): 290-307.
- [5] 张娇娇,郭松波,余硕文,等.基于多元色谱和主成分分析解析酱香型白酒大回酒风味品质研究[J].*中国酿造*, 2021,40(11):161-168.
- [6] YANG Y, WANG S T, LU Z M, et al. Metagenomics unveils microbial roles involved in metabolic network of flavor development in medium-temperature Daqu starter [J]. *Food Research International*, 2021, 140(2): 110037.
- [7] 胡小霞,黄永光,涂华彬,等.酱香型白酒1轮次酿造细菌的菌群结构[J].*食品科学*,2020,41(14):175-182.
- [8] 张春林,杨亮,李喆,等.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.
- [9] 王玉荣,侯强川,田龙新,等.酱香白酒第四轮次窖池不同分层酒醅微生物群落与理化性质差异分析[J].*现代食品科技*,2023,39(2):180-187.
- [10] 尚雪娇,雷炎,代凯文,等.当阳地区鲜广椒品质的评价[J].*食品研究与开发*,2018,39(24):33-38.
- [11] 王丹丹,凌霞,王念,等.基于电子舌技术对市售生抽酱油滋味品质的评价[J].*食品与发酵工业*,2017,43(6):244-249.
- [12] GUO Z, WANG Y, XIANG F, et al. Bacterial diversity in pickled cowpea (*Vigna unguiculata* [Linn.] Walp) as determined by illumina MiSeq sequencing and culture-dependent methods [J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(4): 1286-1297.
- [13] 陈怡,刘洋,蒋立文,等.基于高通量测序分析不同浏阳豆豉中真菌的多样性[J].*中国酿造*,2020,39(11):66-70.
- [14] WANG Y, CAI W, WANG W, 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.
- [15] CAI W, WANG Y, NI H, et al. Diversity of microbiota, microbial functions, and flavor in different types of low-temperature Daqu [J]. *Food Research International*, 2021, 150(12): 110734.
- [16] TAO Y, LI J B, RUI J P, 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.
- [17] 雷学俊,杨康卓,张建敏,等.多粮浓香型白酒糟醅中香气成分的空间分布规律[J].*食品与发酵工业*,2020,46(21): 48-54.
- [18] ZHANG M, WU X, MU D, et al. Profiling the influence of physicochemical parameters on the microbial community and flavor substances of zaopei [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(15): 6300-6310.
- [19] 赵蒙,孙安,谭功全.白酒酒醅检测技术的研究进展与展望[J].*食品科技*,2022,47(12):250-257.
- [20] 王贵军,沈才洪,张洪远,等.酱香型白酒糟醅堆积与窖内发酵工艺研究[J].*酿酒科技*,2011,32(5):36-37,41.
- [21] 王文洁,马春玲,刘玉涛,等.芝麻香白酒堆积及发酵过程中酒醅理化指标变化的研究[J].*酿酒科技*,2023,44(4):17-21.
- [22] 李豆南,黄魏,王晓丹,等.酱香型大曲中高温放线菌的筛选及风味成分分析[J].*食品科学*,2018,39(6):171-176.
- [23] 尚柯,韩兴林,潘学森,等.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, 36(10):1-4.
- [24] LIU M, TANG Y, GUO X, 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(9): 68-76.

- [25] 栗连会,肖辰,陆震鸣,等. 泸型酒发酵酒醅中乳酸菌群落的来源、演替规律及功能预测[J]. 食品与生物技术学报, 2018,37(12):1242-1247.
- [26] 宋哲玮,杜海,聂尧,等. 酱香型白酒发酵过程中核心酵母的鉴别及其功能[J]. 微生物学通报,2020,47(11):3504-3514.
- [27] DU Y K, XIN W, XIA Y, et al. Analysis of fermentation control factors on volatile compounds of primary microorganisms in Jiang-flavor Daqu [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(6): e14277.
- [28] 汪强. 酱香型白酒“四高两长”酿酒理论的作用、价值和地位[J]. 食品安全导刊,2023,17(4):168-170.
- [29] 郭松波,谢三款,张娇娇,等. 茅台地区酱香大回酒轮次发酵机理分析[J]. 中国酿造,2022,41(7):38-44.
- [30] WANG L, HUANG Y, HU X, et al. The impact of environmental factors on the environmental bacterial diversity and composition in the Jiang-flavoured Baijiu production region [J]. LWT, 2021, 149(9): 111784.
- [31] 夏珂,罗惠波,周平,等. 不同处理方式的大曲真菌群落差异分析[J]. 食品科学,2018,39(22):166-172.
- [32] ZHOU Q, MA K, SONG Y, et al. Exploring the diversity of the fungal community in Chinese traditional *Baijiu* Daqu starters made at low-, medium-and high-temperatures [J]. LWT, 2022, 162(6): 113408.
- [33] RAWOOF S A A, KUMAR P S, VO D V N, et al. Production of optically pure lactic acid by microbial fermentation: a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2021, 19(1): 539-556.

现代食品科技