

# 酱香型白酒大曲的微生物菌群结构及风味成分分析

孙利林<sup>1</sup>, 李立郎<sup>2</sup>, 胡萍<sup>1</sup>, 田亚<sup>1</sup>, 麻颖焱<sup>1</sup>, 袁再顺<sup>1</sup>

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

(2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550014)

**摘要:** 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 联用技术对两酱香型酒厂 (A、B) 大曲中的挥发性风味成分进行分析鉴定, 同时运用 MiSeq 高通量测序技术解析不同酱香酒厂 (A、B) 大曲的微生物菌群结构。结果表明: 从 A、B 两酱香型酒厂大曲中共检测 43 种挥发性成分, 且两酒厂的大曲的挥发性风味组分存在显著差异; 两酒厂大曲主要优势细菌菌群为芽孢杆菌科的未定义菌属 (*Bacillaceae unclassified*) (A: 19.14%、B: 13.56%)、海洋芽孢杆菌属 (*Oceanobacillus*) (A: 11.13%、B: 15.28%) 和芽孢杆菌目的其他菌群 (*Bacillales Other*) (A: 8.53%、B: 11.12%) 等; 主要真菌优势菌群为曲霉属 (*Aspergillus*) (A: 55.00%、B: 7.58%)、嗜热子囊菌属 (*Thermoascus*) (A: 28.11%、B: 49.85%) 和嗜热真菌属 (*Thermomyces*) (A: 11.70%、B: 19.24%)。两酒厂大曲 (A、B) 微生物菌群的组成相似但丰度存在明显差异, 说明酱香型白酒大曲中主要发酵微生物菌相是相似的, 但组成比例有差异。

**关键词:** 酱香型白酒; 大曲; 挥发性风味成分; 微生物多样性

文章编号: 1673-9078(2020)08-299-306

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.8.0044

## Analysis of Microbial Community structure and Flavor Composition of Maotai-flavor Daqu

SUN Li-lin<sup>1</sup>, LI Li-lang<sup>2</sup>, HU Ping<sup>1</sup>, TIAN Ya<sup>1</sup>, MA Ying-yao<sup>1</sup>, YUAN Zai-shun<sup>1</sup>

(1. College of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China) (2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China)

**Abstract:** Headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) was applied to analyze and identify the volatile flavor components in the Daqus of two Maotai-flavor distilleries (A and B), with their microbial community structure being analyzed using MiSeq high-throughput sequencing technology. The results showed that a total of 43 volatile components were detected in all Daqu samples, and there were significant differences in volatile flavor composition between the two distilleries. The predominant bacterial flora of the Daqu samples from the two distilleries were unclassified *Bacillaceae* (A: 19.14%, B: 13.56%), *Oceanobacillus* (A: 11.13%, B: 15.28%), and other *Bacillales* species (A: 8.53%, B: 11.12%). The dominant fungal flora were *Aspergillus* (A: 55.00%, B: 7.58%), *Thermoascus* (A: 28.11%, B: 49.85%) and *Thermomyces* (A: 11.70%, B: 19.24%). The microbial flora of the Daqu samples from the two Maotai-flavor distilleries (A and B) had similar compositions but different abundance. These results indicate that the main fermentation microorganisms in the Daqus of Maotai-flavor liquor are similar, but the compositions and ratios of species are different.

**Key words:** Maotai-flavor liquor; Daqu; volatile flavor components; microbial diversity

引文格式:

孙利林, 李立郎, 胡萍, 等. 酱香型白酒大曲的微生物菌群结构及风味成分分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 299-306

SUN Li-lin, LI Li-lang, HU Ping, et al. Analysis of microbial community structure and flavor composition of Maotai-flavor Daqu [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 299-306

中国白酒与白兰地 (Brandy)、威士忌 (Whisky)、伏特加 (Vodka)、金酒 (Gin) 和朗姆酒 (Rum) 并称

收稿日期: 2020-01-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31460444)

作者简介: 孙利林 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 胡萍 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技

世界六大蒸馏酒, 而中国白酒以其独特的酒体风味和酿造技艺, 在世界酒林中独树一帜<sup>[1]</sup>。酱香型白酒是我国主要香型白酒之一, 因其酒体醇厚、酱香突出、幽雅细腻、空杯留香持久、香味谐调、回味悠长等特点而独具风格<sup>[2,3]</sup>。酱香型白酒的独特风味与其特殊的酿造工艺有关, 其酿造工艺被专家们概括为“四高一

长”，即高温制曲、高温堆积、高温发酵、高温馏酒和贮存时间长<sup>[4]</sup>。“粮是酒之肉，水是酒之血，曲是酒之魂（骨）”、“好曲产好酒”，以小麦为原料制成的酱香型高温大曲含有多种菌种及酶类<sup>[5,6]</sup>，在酱香型白酒生产过程中起着菌种剂、糖化、发酵、生香以及提供营养底物的功能，大曲的质量直接关系到酒的风格和质量<sup>[7-10]</sup>。高温制曲是酱香型白酒酿造的特殊工艺之一，制曲温度可达 62~68 °C<sup>[11,12]</sup>，这为耐热微生物的生长提供了良好的环境。高温大曲经微生物的代谢过程产生的代谢产物和原料的分解产物可以形成白酒的香味前体物质或香味物质，使白酒具有独特的风味特征<sup>[13]</sup>。因此探究酱香型高温大曲培养过程的微生物群落组成和功能有助于解析酱香型白酒的风味信息，对酱香型白酒的酿造具有深远的意义。

综合大曲微生物研究现状可知，研究手段从传统微生物可培养研究方法逐渐向未培养等分子生物学技术过渡。20 世纪 80 年代后期，随着对传统固态发酵白酒的再认识，大曲微生物的研究逐渐进入高潮<sup>[14]</sup>。国内对大曲微生物群落研究主要还是应用传统培养、分离、纯化以及进行一系列生理生化实验等手段<sup>[15,16]</sup>，也有利用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳方法进行研究的报道<sup>[17]</sup>。高通量测序技术（high-throughput sequencing）不需要对微生物进行分离培养，就可以检测到低丰度的微生物，同时还能更加全面而准确地反映样品的微生物群落构成和多样性<sup>[18,19]</sup>。目前，国内应用高通量测序技术分析研究浓香型、清香型白酒发酵酒醅中细菌或真菌微生态多样性已有报道<sup>[20-23]</sup>，且高通量测序技术也被用于研究不同发酵食品中的微生物生态，包括醋<sup>[24]</sup>和牛奶<sup>[25]</sup>，而在酱香型白酒酿造领域还很少涉入。

本文采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱（HS-SPME-GC-MS）联用技术对两酱香型酒厂（A、B 厂）大曲中的挥发性风味成分进行检测，同时运用 MiSeq 高通量测序技术解析不同酱香酒厂大曲（A、B 厂）的微生物菌群结构。研究结果将为酱香型白酒主体香的确定提供一定的理论依据，为优化利用酿酒微生物和生产质量控制提供理论支撑。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

样品采自贵州省仁怀市茅台镇 A 酒厂和 B 酒厂的制曲车间。采样方式为每层中心和四角收集，每 100 g 混合样品装于采样袋，3 份重复，置于 -80 °C 冰箱中备用。

### 1.2 设备与仪器

HP6890/5975C GC/MS 联用仪，美国安捷伦公司；手动固相微萃取装置，美国 Supelco 公司（2 cm-50/30 μm DVB/CAR/PDMS StableFlex 萃取纤维头）；DNA 提取试剂盒，OMGEA 公司；ABI GeneAmpR 9700 型聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）仪，美国 ABI 公司；Illumina Miseq 测序平台，上海美吉生物医药科技有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品前处理

挥发性成分的测定前处理：A 酒厂和 B 酒厂大曲样品各取 10 g，分别与 10 mL 60%乙醇混合，振荡 40 min 后，6000 r/min 冷冻离心 8 min，过滤膜后上机。

取 10 g 酒醅样品放入用封口膜包好的三角瓶中，同时加入 20 mL 的去离子水，混匀，静置 30 min 后，吸取 8 mL 混合物于装有 3 g 氯化钠与磁石的 20 mL 顶空瓶中，放置磁力搅拌器上搅拌 15 min 后，将顶空瓶置于 50 °C 水浴锅中恒温萃取 45 min，萃取完毕后将萃取头取出，插入气相色谱进样口热解析 6 min，用于气相色谱分析。

DNA 提取前处理：A 酒厂和 B 酒厂大曲样品冻干后各取 10 g 研磨，分别加入 90 mL 超纯水混匀，用 4 层纱布过滤后保留各自上清液，利用低温离心机离心（8000 r/min、4 °C、10 min），收集沉淀（菌体）。

#### 1.3.2 色谱条件

色谱柱 ZB-5MSI 5% Phenyl-95% DiMethylpolysiloxane（30 m×0.25 mm×0.25 μm）弹性石英毛细管柱，柱温 40 °C（保留 2 min），以 4 °C/min 升温至 260 °C，保持 2 min；汽化室温度 250 °C；载气为高纯 He（99.999%）；柱前压 7.62 psi，载气流量 1.0 mL/min；不分流进样；溶剂延迟时间 1.5 min<sup>[26-29]</sup>。

#### 1.3.3 质谱条件

离子源为 EI 源，离子源温度 230 °C；四极杆温度 150 °C；电子能量 70 eV；发射电流 34.6 μA；倍增器电压 1625 V；接口温度 280 °C；质量范围 20-450 u<sup>[26-29]</sup>。

#### 1.3.4 GC-MS 数据分析

定性定量分析：总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索并与美国国家标准技术研究所（national institute of standards and technology, NIST）2005 和 Wiley 275 标准质谱图核对，对各挥发性成分进行定性；按峰面积-归化法进行计算求得各化学成分的相对质量分数；利用 EXCLE 等软件分析 A 酒厂和

B 酒厂挥发性风味成分含量的差异。

### 1.3.5 样品 DNA 提取及 MiSeq 测序分析

将收集的菌体利用 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (D5625-01) 提取菌体 DNA。完成基因组 DNA 抽提后,利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA,用 NanoDrop2000 进行浓度的检测。细菌使用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')<sup>[18]</sup>扩增 V4 高变区,真菌使用引物 ITS3 (5'-GATGAAGAACGYA GYRAA-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATG C-3')<sup>[30]</sup>扩增高变区。每个样本 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后用 2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, Tris\_HCl 洗脱; 2%琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合。再利用 Illumina MiSeq 进行测序分析。

### 1.3.6 高通量测序数据统计分析

测序得到的序列信息,首先根据双端序列数据之间的对应关系,将成对的数据拼接成一条序列,同时对其质量和拼接效果进行质控过滤,根据序列首尾两端的序列和引物序列区分样品得到有效序列,并校正序列方向。最后使用 UCLUST 把高质量的序列根据 97%序列相似度聚成不同的操作性分类单元,分析鉴定不同酒厂酒曲中的微生物菌群分布<sup>[31-34]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 大曲中挥发性成分的测定

两酱香型酒厂大曲中挥发性成分的总离子流图见图 1。通过 HPMSD 化学工作站,结合 Nist 2005 标准质谱图库和 WILEY 质谱图库,进行物质鉴定,用峰面积归一化法测定了各风味成分的相对质量分数,结果见表 1。

结合图 1 和表 1 可知,两酱香型酒厂大曲中共检测到 43 种挥发性风味物质,包括酯类物质 19 种、醇类物质 8 种、烷烃类物质 7 种、吡嗪类物质 5 种、酮类物质 4 种。这与杨萍<sup>[29]</sup>等人的研究结果一致,她运用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 联用技术对不同酱香酒厂酒曲的挥发性成分进行检测,共检测酯类、酸类、醇类、酮类、醛类、烷烃类和吡嗪类化合物。由表 1 还可知,两酒厂大曲含有共同的挥发性风味成分有 13 种,分别为己酸乙酯、乙酸乙酯、庚酸乙酯、辛酸乙酯、戊酸乙酯、乙醇、正丙醇、2-甲基-1-丁醇、3-甲基-1-丁醇、2,3,5,6-四甲基吡嗪、2,2,4,4,6-五甲基庚烷、苯乙烯、三甲胺。

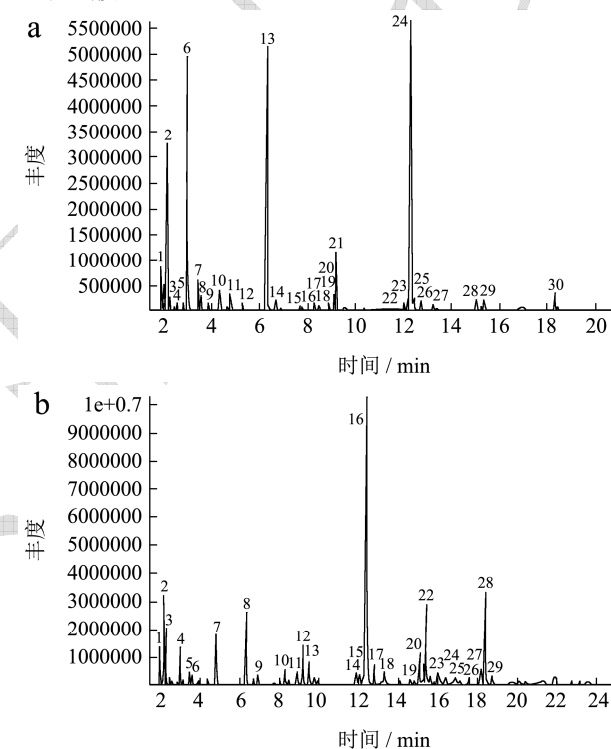


图 1 A 酒厂和 B 酒厂大曲中挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.1 GC-MS total ion flow chromatogram of volatile components of Daqu in two sauce-flavor distilleries (A and B)

注: a: A 酒厂; b: B 酒厂。

表 1 A 酒厂和 B 酒厂大曲中主要的挥发性成分

Table 1 Main volatile components of Daqu in two sauce-flavor distilleries (A and B)				
序号	化合物	保留时间/RT	相对含量/%	
			A 酒厂	B 酒厂
1	丁酸己酯	18.15	1.26	--
2	丁酸乙酯	6.29	3.34	18.63
3	庚酸乙酯	15.37	4.49	0.96
4	己酸丙酯	15.24	1.12	--

转下页

接上页

5	己酸乙酯	12.37	43.65	27.57
6	己酸异丁酯	16.36	0.42	--
7	戊酸乙酯	9.16	2.31	4.73
8	辛酸乙酯	18.33	5.82	1.52
9	乙酸己酯	12.72	1.04	0.85
10	乙酸辛酯	18.71	0.44	--
11	2-甲基丁酸乙酯	7.68	--	0.39
12	3-甲基丁酸乙酯	7.77	--	0.30
13	丙酸乙酯	4.31	--	1.12
14	醋酸丁酯	6.67	--	0.77
15	丁酸丙酯	9.10	--	1.21
16	丁酸丁酯	12.17	--	0.92
17	乙酸乙酯	2.97	--	12.40
18	乙酸异戊酯	8.46	--	0.41
19	异丁酸乙酯	5.30	--	0.49
20	2-甲基-1-丁醇	3.42	0.51	1.02
21	苯乙醇	15.95	1.04	--
22	乙醇	2.13	3.73	7.51
23	异丁醇	2.97	1.33	--
24	正丙醇	2.55	1.82	0.39
25	正辛醇	14.57	0.40	--
26	3-甲基-1-丁醇	4.78	2.70	2.95
27	1-己醇	8.27	--	0.69
28	2-乙基-3-甲基吡嗪	12.46	2.03	--
29	2,3,5,6-四甲基吡嗪	15.02	2.11	1.27
30	2,6-二甲基吡嗪	9.47	2.11	--
31	甲基吡嗪	6.86	0.53	--
32	三甲基吡嗪	12.41	--	1.19
33	2-丁酮	2.82	3.34	18.63
34	2,3-丁二酮/双乙酰	2.76	--	0.34
35	3-甲基-2-丁酮	3.89	--	0.08
36	乙基戊基甲酮	11.86	--	0.52
37	2,2,4,4,6-五甲基庚烷	12.00	0.88	--
38	3-甲基十一烷	17.53	0.74	0.8
39	三甲基胺/叔胺	1.89	0.367	--
40	间二甲苯	8.24	0.41	0.343
41	苯乙烯	8.87	0.64	--
42	柠檬烯	13.25	0.72	0.51
43	邻苯二甲醚	16.84	--	0.53

注：“--”表示未检出。

## 2.2 两酒厂大曲中挥发性成分种类及含量分析

结合表 1 和图 2 可知, A 酒厂大曲中共检测到 28 种风味成分, B 酒厂大曲中共检测到 29 种风味成分。

酯类、醇类、吡嗪类是 A 酒厂和 B 酒厂大曲中的主要风味成分, 在 A 酒厂和 B 酒厂大曲中的占比分别为 63.88%和 72.23%, 11.74%和 12.55%, 和 6.77%和 2.46%。

决定白酒香型的主要是酯类<sup>[26,35]</sup>,由于己酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸己酯、乳酸乙酯四大酯的比例不同,就形成了各具特色风格的香型白酒<sup>[27]</sup>。丁酸乙酯、庚酸乙酯、己酸乙酯、戊酸乙酯、辛酸乙酯、乙酸己酯是两酒厂所共有的酯类,其中己酸乙酯相对含量均最高(43.65%和27.57%)。汪玲玲等人<sup>[36]</sup>应用LLME结合GC-MS并通过缺失试验发现乙酸乙酯、己酸乙酯、丁酸乙酯、3-甲基丁醇是酱香白酒中重要的香气物质。A酒厂大曲中丁酸乙酯(3.34%)、庚酸乙酯(4.49%)、戊酸乙酯(2.31%)、辛酸乙酯(5.82%)、乙酸己酯(1.04%)的相对含量都较高,而在B酒厂大曲中丁酸乙酯和乙酸乙酯的相对含量最突出,可达(18.63%)和(12.40%),戊酸乙酯(4.73%)、辛酸乙酯(1.52%)的相对含量都较高,庚酸乙酯(0.94%)、乙酸己酯(0.85%)的相对含量较低。

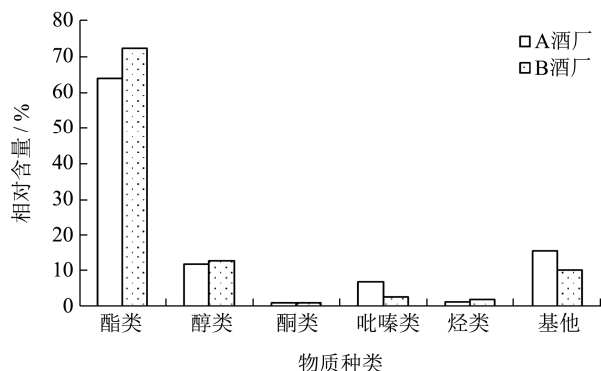


图2 A酒厂和B酒厂大曲中挥发性风味种类及含量对比

Fig.2 Types and contents of the volatile components of Daqu in two sauce-flavor distilleries (A and B)

醇类是白酒最主要的成分<sup>[27]</sup>,2-甲基-1-丁醇、3-甲基-1-丁醇、乙醇、正丙醇是A、B两酒厂大曲共有的醇类,其中乙醇的相对含量均最高(3.73%和7.51%),3-甲基-1-丁醇也较高(2.91%和2.95%)。范文来等<sup>[37]</sup>研究指出,吡嗪类化合物不是酱香物质的主体香或关键香气成分,但它却是酱香型白酒的特征成分,是白酒的健康因子。2,3,5,6-四甲基吡嗪是A、B两酒厂大曲共有的吡嗪类物质,且其相对含量均最高(2.11%和1.27%)。2,3,5,6-四甲基吡嗪具有烘烤花生、榛子和可可的香气,还有治疗心血管疾病、改善学习障碍等作用<sup>[3]</sup>。研究发现2,3,5,6-四甲基吡嗪在酱香型白酒吡嗪类物质中含量最高,因此被认为可能是酱香型白酒中重要的香味物质<sup>[29]</sup>。A酒厂大曲中除甲基吡嗪(0.53%)外其他吡嗪类相对含量较高:2,3,5,6-四甲基吡嗪(2.11%)、2,6-二甲基吡嗪(2.11%)、2-乙基-3-甲基吡嗪(2.03%)。而在B酒厂中2,3,5,6-四甲基吡嗪(1.27%)、三甲基吡嗪(1.19%)的相对含量较高。虽然A、B两酒厂大曲检测到的挥发性风味

物质数量和种类相似,但其相对含量存在明显差异。这说明即使是酱香型白酒生产大曲,但不同酒厂的大曲所含挥发性风味物质的相对含量差异较大。

### 2.3 两酒厂酒曲中的微生物菌群结构分析

#### 2.3.1 细菌菌群结构分析

基于属水平上的样品细菌群落结构柱状图,结果如图3。

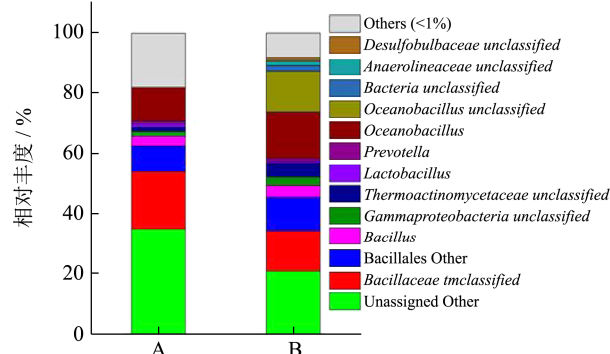


图3 基于属水平的样品细菌群落组成柱状图

Fig.3 Bacterial community barplot of samples based on genus level

由图3分析可知,A酒厂与B酒厂大曲相比主要优势细菌菌群的组成相似但其丰度差异显著。未定义微生物菌(Unassigned Other)、芽孢杆菌科的未定义菌属(Bacillaceae unclassified)、海洋芽胞杆菌属(Oceanobacillus)和芽孢杆菌目的其他菌群(Bacillales Other)是A酒厂和B酒厂大曲中的优势细菌菌群,在A和B中占有丰度分别是35.06%和20.86%,19.14%和13.56%,11.13%和15.28%,8.53%和11.12%,这表明芽胞杆菌是高温大曲中的主要微生物菌群。该结果与戴奕杰<sup>[38]</sup>的研究结果一致,他从三个不同时期的酱香大曲中,发现细菌微生物主要有芽孢杆菌、梭菌属、乳酸菌组成,且以芽孢杆菌为优势菌。芽孢杆菌是酱香型白酒生产过程中的主要产酱香功能菌,具有较强的分泌蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶等酶类的能力,可分解大分子物质形成双乙酰、含氮化合物等芳香物质,对酱香型白酒风味物质的形成具有重要贡献作用<sup>[39]</sup>。有研究表明<sup>[40]</sup>,芽孢杆菌属与2,6-二甲基吡嗪存在显著的相关性。黄永光等<sup>[41]</sup>对三种芽孢杆菌的生成物进行对比分析,结果表明不同芽孢杆菌在培养后都可形成较纯正、较典型的酱香风味,虽然最终风味各有特色,但都有诸如3-甲基丁醇、2,3-二丁醇、2-甲基丙酸、3-羟基-2-丁酮、2,3,5-三甲基吡嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪等特征性共性风味成分。越来越多的研究表明<sup>[42]</sup>,芽孢杆菌能够在酱香白酒酿造过程中代谢产生以3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇、吡嗪类、酯

类物质为主的多种风味成分。

### 2.3.2 真菌菌群结构分析

基于属水平上的样品真菌群落结构柱状图, 结果如图4。

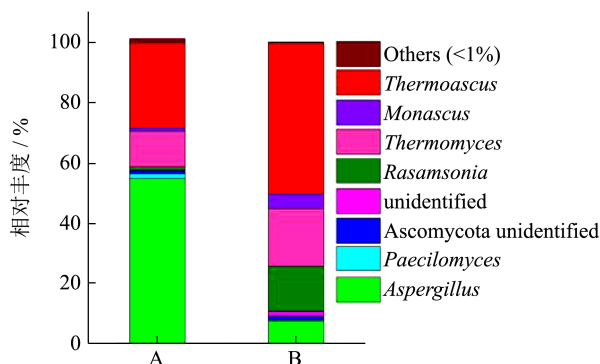


图4 基于属水平的样品真菌群落组成柱状图

Fig.4 Fungal community barplot of samples based on genus level

由图4分析可得:A酒厂大曲中曲霉属(*Aspergillus*)占绝对优势,占有丰度达到55%。这与Wang<sup>[43]</sup>等人的研究结果一致,他对五个不同酒厂的高温大曲的霉菌进行分离鉴定,结果表明曲霉属是高温大曲中的主要霉菌属。有报道称酱香大曲中可分离出的霉菌就达到40多种,霉菌可代谢产生柠檬酸、草酸等有机酸,其中曲霉代谢可产生具抑制癌细胞活性的甾角甾醇,所以推测霉菌对酱香白酒风味形成及保健功能具有一定作用<sup>[44]</sup>。其次A酒厂大曲中优势真菌群还有嗜热子囊菌属(*Thermoascus*)28.11%和嗜热真菌属(*Thermomyces*)11.70%,以及拟青霉属(*Paecilomyces*)1.44%、踝节菌属(*Rasamsonia*)1.17%、子囊菌纲未鉴别菌属(*Ascomycota* unidentified)1.14%、红曲霉属(*Monascus*)1.11%、毛孢子菌属/丝孢酵母属(*Trichosporon*)0.04%等。B酒厂大曲中的优势真菌群落为嗜热子囊菌属(*Thermoascus*)49.85%、嗜热真菌属(*Thermomyces*)19.24%、踝节菌属(*Rasamsonia*)14.90%、曲霉属(*Aspergillus*)7.58%、红曲霉属(*Monascus*)4.89%以及其他真菌组成。Liu等<sup>[45]</sup>研究表明嗜热子囊菌属是高温大曲的优势菌群,然而它们在大曲中的功能仍然未知。

红曲霉能产生有药用价值的红曲霉素,也能分泌酯化酶,液态发酵时能够产生醇、醛、酸、酯类物质,散发出酒香、果香和蜜甜香味;固态发酵时产生一些酯类物质,在酱香型白酒中发现有红曲霉的大曲是好曲<sup>[46]</sup>。A酒厂大曲与B酒厂大曲相比主要优势真菌菌群的组成相似但丰度存在明显差异,说明酱香型白酒生产大曲中主要发酵微生物菌相是相似的,但组成比

例有差异。主要原因可能是不同酱香型白酒厂制曲工艺相似,但具体的工艺参数及酿酒环境有所不同,这也是同一地区不同品牌白酒质量和风味有所差异的原因之一。

### 3 结论

HS-SPME结合GC-MS实验结果表明:从A、B两酱香型酒厂大曲中检测到的挥发性物质共43种,A酒厂与B酒厂大曲之间差异显著的挥发性物质有20种。菌群高通量测序结果表明:两酒厂大曲主要优势细菌菌群为芽孢杆菌科的未定义菌属(*Bacillaceae* unclassified)、海洋芽孢杆菌属(*Oceanobacillus*)和芽孢杆菌目的其他菌群(*Bacillales* Other)等;主要真菌优势菌群为霉属(*Aspergillus*)、嗜热子囊菌属(*Thermoascus*)和嗜热真菌属(*Thermomyces*)等。两酒厂大曲检测到的挥发性风味物质数量和种类以及微生物菌属种类相似,但其挥发性风味物质相对含量和菌属的相对丰度存在明显差异。本研究分析了两酱香型酒厂大曲中微生物菌群结构及挥发性风味组分,对进一步解析酱香型白酒产香机理和提升其风味品质都具有重要的理论指导价值。

### 参考文献

- [1] 杨国华,邱树毅,黄永光.酱香白酒生产中产香微生物研究[J].中国酿造,2011,4:24-27  
YANG Guo-hua, QIU Shu-yi, HUAN Yong-guang. Study on the aroma-producing microorganisms in the production of sauce-flavored liquor [J]. China Brewing, 2011, 4: 24-27
- [2] 季克良.茅台酒在中国白酒发展中的影响、地位及作用[J].酿酒科技,2003,4:29-31  
JI Ke-liang. The influence, status and function of moutai in the development of Chinese liquor [J]. Brew Science and Technology, 2003, 4: 29-31
- [3] 孙时光,左勇,张晶,等.酱香型白酒中的风味物质及功效[J].中国酿造,2017,36(12):10-13  
SUN Shi-guang, ZUO Yong, ZHANG Jing, et al. Flavor substances and their effects in sauce-flavored liquor [J]. China Brewing, 2017, 36(12):10-13
- [4] 许焰.酱香型白酒酿造拜耳接合酵母风味代谢特征及机制分析[D].无锡:江南大学,2017  
XU Yan. Analysis of flavor metabolism characteristics and mechanism of Bayer zygote yeast brewed in Maotai-flavor liquor [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017
- [5] 申孟林,张超,王玉霞.白酒大曲微生物酶系研究进展[J].中国酿造,2018,37(4):7-11

- SHEN Meng-lin, ZHANG Chao, WANG Yu-xia. Research progress of liquor daqu microbial enzymes [J]. China Brewing, 2018, 37(4): 7-11
- [6] 李豆南,邱树毅.酱香大曲微生物菌群结构及微生物功能研究概述[J].中国酿造,2017,36(1):5-11  
LI Dou-nan, QIU Shu-yi. An overview of the study on the microbial flora structure and microbial function of Maotai Daqu [J]. China Brewing, 2017, 36 (1): 5-11
- [7] Jin G, Zhu Y, Xu Y. Mystery behind Chinese liquor fermentation [J]. Trend Food Sci Technol, 2017, 63: 18-28
- [8] 徐增伟,曾黄麟,陶雪容.基于粗神经网络的大曲理化指标对白酒质量和产量影响[J].中国酿造,2011,30(11):107-109  
XU Zeng-wei, ZENG Huang-lin, TAO Xue-rong. Effects of large queric chemical indexes on liquor quality and yield based on rough neural network [J]. China Brewing, 2011, 30 (11): 107-109
- [9] Xu Y, Sun B, Fan G, et al. The brewing process and microbial diversity of strong flavor Chinese spirits: a review [J]. J Inst Brew, 2017, 123(1): 5-12
- [10] Pan L, Wei F L, Xiong L, et al. Environmental factors affecting microbiota dynamics during traditional solid-state fermentation of Chinese Daqu starter [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 1237
- [11] 明红梅,刘宇驰,卓毓崇,等.制曲温度对酱香型大曲质量的影响[J].中国酿造,2010,7:157-160  
MING Hong-mei, LIU Yu-chi, ZHUO Yu-chong, et al. Influence of Koji temperature on the quality of sauce-type daqu [J]. China Brewing, 2010, 7: 157-160
- [12] 张志刚,李长文.高温大曲生产技术进展及发展趋势[J].中国酿造,2013,32(6):9-11  
ZHANG Zhi-gang, LI Chang-wen. Progress and development trend of high temperature Daqu production technology [J]. China Brewing, 2013, 32(6): 9-11
- [13] 王忠彦,寇运同,门芸,等.高温大曲微生物区系的初步研究[J].酿酒科技 1995,3:66-67  
WANG Zhong-yan, KOU Yun-tong, MEN Yun, et al. Preliminary study on microbial flora of high temperature daqu [J]. Brewery Science and Technology, 1995, (3): 66-67.
- [14] 邢钢,敖宗华,邓波.大曲中微生物研究和检测进展[J].酿酒科技,2012,12:86-89  
XING Gao, AO Zong-hua, DENG Bo. Research & detection progress of microbes in Daqu [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2012, 12: 86-89
- [15] 施安辉,关纪奎,张文璞,等.徐坊大曲的微生物区系及其优势菌的鉴定[J].酿酒科技,2001,6:26-28  
SHI An-hui, GUANG Ji-kui, ZHANG Wen-pu, et al. Analysis of microbial species in Xufang Daqu & determination of the dominant microbes [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2001, 6: 26-28
- [16] 邢钢,敖宗华,邓波.大曲中微生物研究和检测进展[J].酿酒科技,2012,12:86-89  
XING Gang, AO Zong-hua, DENG Bo. Research & detection progress of microbes in Daqu [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2012, 12: 86-89
- [17] WANG Hai-yan, GAO Yi-bao, XU Yan. Characterization and comparison of microbial community of different typical Chinese liquor daqus by PCR-DGGE [J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 53(2): 134-140
- [18] Li R, Zhu H, Ruan J, et al. De novo assembly of human genomes with massively parallel short read sequencing [J]. Genom Res, 2010, 20(2): 65-72
- [19] Yang F, Zeng X, Ning K, et al. Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations [J]. ISME J, 2012, 6(1): 1-10
- [20] Sun W N, Xiao H Z, Peng Q, et al. Analysis of bacterial diversity of Chinese Luzhou-flavor liquor brewed in different seasons by Illumina Miseq sequencing [J]. Ann Microbiol, 2016, 66(3): 1293-1301
- [21] Liu M K, Zhao K, Tang Y M, et al. Analysis of clostridium cluster i community diversity in pit mud used in manufacture of Chinese Luzhou-flavor liquor [J]. Food Sci Biotechnol, 2015, 24(3): 995-1000
- [22] Li X R, Ma E B, Yan L Z, et al. Bacterial and fungal diversity in the starter production process of fen liquor, a traditional Chinese liquor [J]. J Microbiol, 2013, 51(4): 430-438
- [23] Liang H P, Li W F, Luo Q C, 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]. J Sci Food Agr, 2014, 95(13): 2729-2735
- [24] Li P, Li S, Cheng L L, et al. Analyzing the relation between the microbial diversity of Daqu and the turbidity spoilage of traditional Chinese vinegar [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2014, 98(13): 6073-6084
- [25] Liu W J, Zheng Y, Kwok L Y, et al. High-throughput sequencing for the detection of the bacterial and fungal diversity in Mongolian naturally fermented cow's milk in Russia [J]. BMC Microbiol, 2015, 15(1): 45
- [26] 沈海月.酱香型白酒香气物质研究[D].无锡:江南大学,2010  
SHEN Hai-yue. Study on aroma substances of sauce-flavored

- liquor [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010
- [27] 朱燕, 范文来, 徐岩. 应用 DI-SPME 和 GC-MS 分析白酒中游离挥发性酚类化合物[J]. 食品与发酵工业, 2010, 38(10): 138-143  
ZHU Yan, FAN Wen-lai, XU Yan. Analysis of free volatile phenolic compounds in liquor by DI-SPME and GC-MS [J]. Food and Fermentation Industry, 2010, 38(10): 138-143
- [28] 胡风艳, 张秋月, 郑萌萌, 等. 应用 DI-SPME 和 GC-MS 分析白酒香气成分(上)[J]. 酿酒, 2012, 39(5): 39-43  
HU Feng-yan, ZHANG Qiu-yue, ZHENG Meng-meng, et al. Analysis of the aroma components of liquor by DI-SPME and GC-MS (Part I) [J]. Wine, 2012, 39(5): 39-43
- [29] 杨萍, 胡萍, 樊敏, 等. 酱香型酒曲及窖内酒醅挥发性成分的分析[J]. 中国酿造, 2018, 37(11): 166-171  
YANG Ping, HU Ping, FAN Min, et al. Analysis of volatile components in sauce-flavored liquor and cellar [J]. China Brewing, 2018, 37(11): 166-171
- [30] Tojuh, Tanabe A S, Yammamoto S, et al. High-coverage its primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples [J]. PloS One, 2012, 7(7): e40863-e4084
- [31] Edgar R C. Uparse: Highly accurate otu sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998
- [32] 王鹏, 吴群, 徐岩. 中国白酒发酵过程中的核心微生物群及其与环境因子的关系[J]. 微生物学报, 2018, 1: 142-153  
WANG Peng, WU Qun, XU Yan. Core microorganisms in Chinese liquor fermentation and their relationship with environmental factors [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 1: 142-153
- [33] Zheng Q, Lin B, Wang Y, et al. Proteomic and high-throughput analysis of protein expression and microbial diversity of microbes from 30- and 300-year pit muds of Chinese Luzhou-flavor liquor [J]. Food Research International, 2015, 75: 305-314
- [34] Kuczynski J, Stombaugh J, Walters W A, et al. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from microbial communities [J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2012, 27(1): 1-20
- [35] 张博. 白酒中酸酯含量及平衡性在勾兑中的作用[J]. 酿酒科技, 2005, 3: 52-53  
ZHANG Bo. The role of ester content and balance in liquor in blending [J]. Brew Science and Technology, 2005, 3: 52-53
- [36] 汪玲玲. 酱香型白酒微量成分及大曲香气物质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013  
WANG Ling-ling. Study on the trace constituents and aroma components of Daqu liquor [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013
- [37] 范文来, 徐岩. 酱香型白酒中呈酱香物质研究的回顾与展望[J]. 酿酒, 2012, 39(3): 8-16  
FAN Wen-lai, XU Yan. Review and prospect of research on sauce-flavoring substances in sauce-flavored liquor [J]. Liquor Making, 2012, 39(3): 8-16
- [38] 戴奕杰, 李宗军, 田志强. 酱香型白酒大曲和糟醅的细菌多样性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(4): 152-159  
DAI Yi-jie, LI Zong-jun, TIAN Zhi-qiang. Analysis of bacterial diversity of Daqu and spoiled liquor [J]. Food Science, 2019, 40(4): 152-159
- [39] 郭敏, 黄永光, 邱树毅, 等. 高通量测序在酱香白酒微生物多样性研究中的应用[J]. 中国酿造, 2017, 36(5): 146-151  
GUO Min, HUANG Yong-guang, QIU Shu-yi, et al. Application of high-throughput sequencing in the study of micro-ecological diversity of Maotai liquor [J]. China Brewing, 2017, 36(5): 146-151
- [40] 梁晨, 杜海, 徐岩. 大曲贮存过程中原核微生物群落结构及风味成分演替规律[J]. 微生物学通报, 2017, 44(2): 384-393  
LIANG Chen, DU Hai, XU Yan. Community structure and flavor succession of prokaryotic microorganisms during Daqu storage [J]. Bulletin of Microbiology, 2017, 44(2): 384-393
- [41] 黄永光, 杨国华, 张肖克, 等. 产酱香风味芽孢杆菌类菌株发酵代谢产物及其酶分析研究[J]. 酿酒科技, 2013, 1: 41-45  
HUANG Yong-guang, YANG Guo-hua, ZHANG Xiao-ke, et al. Analysis of fermentation metabolites and enzymes of *Bacillus* sp. producing strains [J]. Liquor Science and Technology, 2013, 1: 41-45
- [42] 黄魏, 程平言, 张健, 等. 酱香型白酒风味形成的影响因素及主体风味成分研究进展[J]. 酿酒科技, 2020, 4: 85-93  
HHUANG Wei, CHENG Ping-yan, ZHANG Jian, et al. Research Progress on Influential Factors and Main Flavor Components of Maotai-flavor Liquor [J]. Liquor Science and Technology, 2020, 4: 85-93
- [43] Wang X D, Ban S D, Qiu S Y. Analysis of the mould microbiome and exogenous enzyme production in Moutai-flavor Daqu [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2018, 124: 91-99

(下转第 193 页)