

大曲白酒发酵中不同入窖酸度对糟醅微生物群落结构的影响

李义¹, 邓杰^{1,2}, 张娟³, 黄治国^{1,2}, 刘勇¹, 任志强^{1,2*}

(1. 四川轻化工大学酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川宜宾 644000) (2. 中国轻工业酿酒生物技术及智能制造重点实验室, 四川宜宾 644000) (3. 四川江口醇隆鼎酒业有限公司, 四川巴中 636400)

摘要: 在白酒的酿造生产过程中, 酸度是一项重要的酿造指标。酸胁迫对白酒生产有着重要的影响, 主要体现在随着发酵的进行对曲药中的微生物群落结构进行重塑等方面。该研究在实验室构建白酒固态发酵模型, 分别设置低、中、高三种酸度条件, 探究白酒酿造过程中的酸胁迫对糟醅微生物群落结构的影响。结果表明: 在酸度的影响下, 产酸细菌和耐酸性强的芽孢杆菌相对丰度增加, 耐酸性差的细菌相对丰度降低; 真菌门中子囊菌门占绝对优势, 窖内容氧的降低和发酵起始酸度的增加使得真菌属都呈先增后降的趋势。通过分析不同糟醅中各类微生物的数量发现细菌和乳酸菌随酸度的增加而下降; 己酸菌在酸度为 15 mmol/100 g 时数目最多; 酵母数量随酸度增加而下降。对糟醅进行理化性质分析, 结果显示随着酸度的增加, 糟醅中淀粉含量越多; 在高酸度下, 糟醅中乙醇含量低。该研究分析了酸度对糟醅微生物群落结构的重塑过程, 分析了酿造有益菌在不同酸度下的生长情况, 能保证有益微生物在良好的条件下生长繁殖, 为白酒酿造提供了科学理论指导。

关键词: 酸度; 白酒酿造; 群落结构

文章编号: 1673-9078(2023)07-68-74

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0880

Effects of Mash Acidity on the Microbial Community Structure of Fermenting Grains during the Brewing of Daqu Baijiu

LI Yi¹, DENG Jie^{1,2}, ZHANG Juan³, HUANG Zhiguo^{1,2}, LIU Yong¹, REN Zhiqiang^{1,2*}

(1. Sichuan Key Laboratory of Brewing Biotechnology and Application, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, China) (2. China Key Laboratory of Light Industry Brewing Biotechnology and Intelligent Manufacturing, Yibin 644000, China) (3. Sichuan Jiangkou Alcohol Longding Wine Industry Co. Ltd., Bazhong 636400, China)

Abstract: Acidity is an important parameter in the brewing of Daqu baijiu. Acid stress plays a key role in the production of baijiu, as it reshapes the microbial community structure of the fermentation starter during the brewing process. To study the impact of acid stress on microbial community structure in fermenting grains during baijiu brewing, a solid-state model of baijiu brewing was constructed with three different acidity levels (low, medium, and high). The results showed that increasing acidity increased the relative abundance of acidogenic bacteria and acid-tolerant *Bacillus* bacteria, and decreased the relative abundance of acid-intolerant microbes. The dominant microbes were members of the Ascomycota fungal phylum, and their numbers initially increased with decreases in dissolved oxygen and increases in acidity in the mash before decreasing. According to the microbe numbers in the fermenting grains, increasing acidity decreased the number of aerobic bacteria and lactic acid bacteria. Caproic acid-producing bacteria were the most abundant when the acidity level was 15 mmol/100 g. Furthermore, the yeast population decreased with increasing acidity. The physicochemical analysis of fermenting grains showed that increasing

引文格式:

李义, 邓杰, 张娟, 等. 大曲白酒发酵中不同入窖酸度对糟醅微生物群落结构的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 68-74.

LI Yi, DENG Jie, ZHANG Juan, et al. Effects of mash acidity on the microbial community structure of fermenting grains during the brewing of Daqu Baijiu [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 68-74.

收稿日期: 2022-07-13

基金项目: 四川江口醇隆鼎酒业有限公司院士(专家)工作站项目(HX2022065); 四川轻化工大学研究生创新基金项目(y2021045)

作者简介: 李义(1995-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 酿酒生物技术及应用, E-mail: 1358003600@qq.com

通讯作者: 任志强(1985-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 酿酒生物技术及应用, E-mail: zhiqren@foxmail.com

acidity increased starch content in the grains and that high acidity resulted in low ethanol content. Overall, by analyzing how acidity reshapes the microbial bacterial structure of fermenting grains and the growth of desirable microbes under different levels of acidity, this study has identified the optimal conditions for the proliferation of desirable microbes and thereby provides scientific guidelines for the brewing of baijiu.

Key words: acidity; baijiu brewing; community structure

大曲, 被誉为“酒之骨”^[1], 它是一种同时含有微生物菌系、酶系和物系的微生态制品, 在大曲酒酿造过程中承担着产酒和生香的重要任务^[2]。从大曲的制作到成曲的贮存管理, 都是一个敞口作业的过程, 所以其微生物来源丰富, 菌落结构复杂。采用不同的生产原料和工艺, 大曲的微生物群落结构会发生变化, 如 Wang 等^[3]利用 PCR-DGGE 技术对比分析了来自四川、湖北、陕西、江苏等地的 10 个低温、中高温和高温大曲微生物群落组成, 结果表明, 在不同地理气候以及不同工艺的大曲中, 其微生物群落结构存在较大差异; Wang^[4]和 Chen 等^[5]发现, 微生物的群落组成与分布与制曲温度有关; Du 等^[6]对河北某酒厂生产的中高温大曲微生物群落组成及其来源进行了研究, 研究表明, 大曲中的真菌大部分来源于制作环境中; Chen 等^[7]发现生产特型酒的大曲表层和中部微生物群落组成及分布存在显著差异。由此可见, 大曲微生物群落结构复杂, 制作工艺、温度、环境和地理位置的差异对群落构成有着很大的影响。

在没有续糟的前提下, 糟醅中的微生物来源于大曲。糟醅中微生物的组成、分布和重塑过程的变化规律对白酒的产量和质量有重要影响。研究表明, 随着发酵进程的进行, 糟醅中微生物群落的时空分布具有显著差异; 不同香型白酒由于生产工艺不同, 微生物群落的分布和变化规律也各有不同。在大曲酒的酿造过程中, 控制糟醅合适的入窖酸度, 给有益微生物的生长、繁殖、发酵创造良好条件, 有助于提高大曲酒的产量和质量。因此, 本研究从大曲酒酿造指标酸度的角度出发, 探索起始酸度对糟醅微生物群落结构的影响。

1 材料与方法

1.1 原料

大曲, 取自川南某酒厂。

1.2 主要仪器设备

JJ-CJ-2FD-超净工作台, 苏州市华宇净化设备有限公司; GI54DS-立式自动蒸汽灭菌器, 厦门致微有限公司; DH4000BII-电热恒温培养箱, 天津泰斯特仪器有限公司; LS-I201-微生物培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; HYC-260-医用冷藏箱, 青岛海尔特种

电器有限公司; 5430R-高速冷冻离心机, 北京世贸远东科学仪器有限公司; Driect-Q3-超纯水仪, 美国密理博; CP214-电子天平, 常州奥豪斯仪器有限公司。

1.3 实验材料与试剂

材料: 厌氧发酵罐、蒸馏设备等; 试剂: 硫酸铜、甲基蓝、蛋白胨-生理盐水、酒石酸钾钠、亚铁氰化钾(黄血盐)、18 mg/mL 的氯霉素溶液、吐温 80、无水乙酸钠、孟加拉红试剂、30 mg/mL 制霉菌素溶液、食用乳酸等。

1.4 试验方法

本研究以清香型发酵工艺为基础参照, 模拟白酒窖内发酵。实验过程中, 设置糟醅初始水分含量为 60%, 糟醅的入窖酸度调节采用混合酸 ($m_{\text{乳酸}}:m_{\text{乙酸}}=1:4$), 酸度分别设置为 0、15、30 mmol/100 g (编号为 A0、A15、A30), 发酵周期为 15 d (在前期预实验中, 发酵 15 d 后糟醅乙醇含量降低, 因此选择发酵周期为 15 d)。在不同入窖酸度的调控下, 结合传统可培养技术和高通量测序技术, 对不同酸度条件下的糟醅微生物群落结构进行对比研究。

1.4.1 培养基的配制

MRS 培养基: 蛋白胨 10.0 g; 牛肉膏 5.0 g; 酵母膏 4.0 g; 柠檬酸氢二铵 2.0 g; 葡萄糖 20.0 g; 吐温 80 1.0 mL; 乙酸钠 5.0 g; 磷酸氢二钾 2.0 g; 硫酸镁 0.2 g; 硫酸锰 0.05 g; 琼脂 15.0 g; 水 1 000 mL; pH 值 6.2~6.6, 121 °C 下灭菌 20 min。

孟加拉红培养基: 蛋白胨 5.0 g; 葡萄糖 10.0 g; 磷酸二氢钾 1.0 g; 硫酸镁 0.5 g; 琼脂 20 g; 水 1 000 mL; 加入 1/3 000 (m/V) 的孟加拉红溶液 100 mL; 在 121 °C 下灭菌 20 min。

巴氏培养基: 乙酸钠 5.0 g; 硫酸铵 0.5 g; 硫酸镁 0.2 g; 磷酸氢二钾 0.5 g; 酵母膏 1.0 g; 水 1 000 mL; 121 °C 下灭菌 20 min。灭菌完加入: 碳酸钙 10.0 g; 无水乙醇 20 mL。

牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3.0 g; 蛋白胨 10.0 g; NaCl 5.0 g; 琼脂粉 15~25 g; pH 值 7.4~7.6; 水 1 000 mL; 121 °C 下灭菌 20 min。

1.4.2 糟醅理化特性测定方法

糟醅淀粉含量参照国家标准 GB 5009.9-2016 中酸

水解法^[8]；糟醅还原糖含量参照国家标准 GB 5009.7-2016 中直接滴定法^[9]；糟醅乙醇含量测定参照国家标准 GB 5009.225-2016 中密度瓶法^[10]；糟醅水分测定参照 GB 5009.3-2016^[11]。

1.4.3 涂布平板法计数

分别取各样（大曲、发酵前糟醅、发酵后糟醅）10 g 于 250 mL 三角瓶中，加入 90 mL 蛋白胨-生理盐水溶液，在 150 r/min 摇床上摇匀 30 min，过滤，取 1 mL 菌液于 9 mL 无菌水中做进一步稀释（ 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ），分别接种于各个培养基中进行培养。

1.4.4 细胞的显微形态观察

细胞形态采用光学显微镜进行观察^[12]。

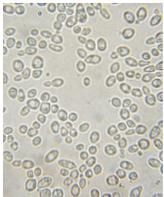
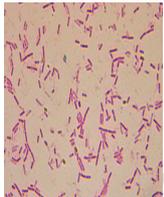
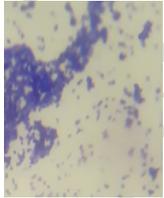
2 结果与讨论

2.1 菌落形态和显微形态

大曲中的微生物主要为霉菌、酵母菌和细菌，它们在白酒发酵过程中各司其职，扮演着不同的角色^[13]，从大曲及发酵前后的糟醅中取样进行稀释涂布，分离出大致四种菌，结果如表 1 所示。

表 1 微生物菌落和显微形态

Table 1 Microbial colonies and microscopic morphology

菌种	菌落形态	显微形态	菌落形态特征描述
酵母菌			菌落中等大小，呈亮白色，湿润，光滑，中央凸起，边缘规则，不透明，有明显香味。显微结构呈球状，有出芽。
细菌			菌落呈现白色斑状，微微隆起其表面湿润，光滑，边缘参差不齐，整个菌落呈中等大小。显微结构呈细长条状，较小，有鞭毛。
乳酸菌			菌落呈点状和圆斑状，乳白色表面湿润且比较光滑，易于挑取，菌落背面颜色微微泛黄。显微结构呈短杆状有的呈棒状，多个菌链成短链。经过革兰氏染色呈现阳性。
乙酸菌			菌落呈乳白色小圆点边缘整齐且光滑湿润，四周向中间微微凸起，子细胞群体易被挑取。显微结构呈梭，杆状。

2.2 理化性质及其菌落数

2.2.1 各个酸度下糟醅的理化性质

在不同酸度条件下，混合菌群的代谢及演替的差异性会使得整个发酵过程呈现不同的规律，从而表现为糟醅理化指标的变化，故糟醅理化指标的检测有助于监控发酵过程是否正常和解释发酵微生物菌群的动态变化，为窖内的物质转化提供科学依据。所以有必要对各个酸度梯度下糟醅理化进行检测，结果如图 1。

水分的变化速度反应发酵过程中微生物生长代谢活动的的能力，水分变化越快，表明微生物生长代谢越旺盛，反之微生物的代谢活动可能受到抑制。由图 1

可知，随着酸度的增加，水分相比发酵前增加，分析其原因是由于微生物对于淀粉等原料的消耗，代谢产生了更多的水分，所以整个发酵周期的水分呈增加的趋势^[14]。

糟醅中的淀粉降解成还原糖，并被微生物生长代谢所利用，糟醅的还原糖和淀粉含量的变化可以体现微生物发酵代谢的变化趋势。由图 1 可知，发酵后的淀粉含量相比发酵前都降低，在人为控酸的条件下，淀粉含量随着酸度的增加而增加，分析其原因可能是酸度上升时，其中利用糖和淀粉的微生物会随着酸度增加其代谢活动受到抑制，使得微生物糖化能力下降，利用粮食中淀粉的能力降低，淀粉的含量升高。由

图 1 可知, 发酵后糟醅中的还原糖含量相比发酵前减少, 实验组中糟醅中还原糖含量随着酸度的增加而减少, 当酸度达到 15 mmol/100 g 时, 还原糖趋于稳定的状态, 分析其原因可能是当发酵过程酸度上升时, 利用糖类的微生物会被抑制, 而部分微生物会继续生长, 利用糟醅中的糖类, 当糟醅的糖被利用完后, 会有一些菌继续分解淀粉使得糟醅中的糖类处于动态平衡状态, 所以发酵完后的糟醅还原糖基本保持不变。

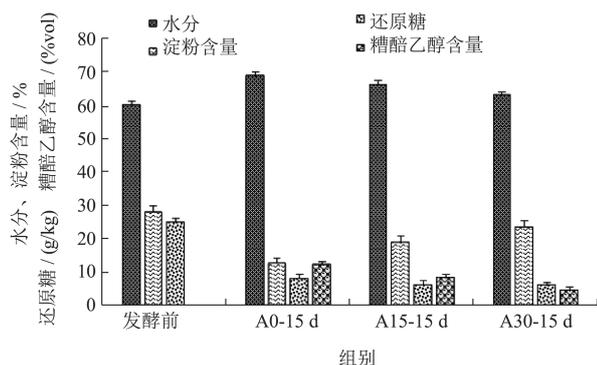


图 1 糟醅理化测定

Fig.1 Physicochemical determination of fermented grains

白酒固态发酵主要是淀粉质原料在微生物和酶作用下, 转变为还原性糖类, 再被微生物利用生成大量乙醇的物质代谢, 因此糟醅乙醇含量是衡量发酵是否正常的重要指标。本试验研究了不同起始酸度对发酵过程中糟醅乙醇含量变化的影响。由图 1 可知, 在发酵过程中, 随着酸度的增加, 糟醅中乙醇含量降低, 分析其原因可能是酸对有益菌 (主要是酵母菌) 产生抑制作用, 影响了正常的发酵, 导致糟醅中乙醇含量降低。

2.2.2 酸度对 4 类微生物菌数的影响

为考察酸度对酵母、己酸菌、乳酸菌和细菌 (好氧) 菌数的影响, 采用平板菌落计数法对低、中、高三种起始酸度的糟醅进行计数, 以发酵前糟醅中的各类菌数为对照, 结果如图 2 所示。

酵母菌是白酒发酵的极其重要微生物之一^[15], 起着产酒生酯的关键作用^[16]。由图 2 可知: 发酵后糟醅中的酵母菌数高于发酵前, 表明酵母在糟醅中得到了增殖, 一般来说, 酵母属于耐酸微生物, 据相关文献报道, 其最适生长 pH 值为 4.5~5.5^[17], 且酵母为兼性微生物, 在厌氧条件下能通过发酵产能, 如酿酒酵母在厌氧条件下通过发酵产生乙醇产能, 因此酵母能适应厌氧和酸性条件; 酸度对酵母数量影响整体呈现抑制的趋势, 随着起始酸度的增加, 发酵后糟醅中的酵母菌数逐步降低, 表明酸度对酵母菌依然具有毒害作用, 当酵母数降到一定水平将影响产酒, 如高酸度条件下, 糟醅中的酒精体积分数仅为 4.50%, 结果表明

酸度可通过影响酵母的数量影响产酒, 与前面糟醅理化中的糟醅乙醇含量实验结果相对应。

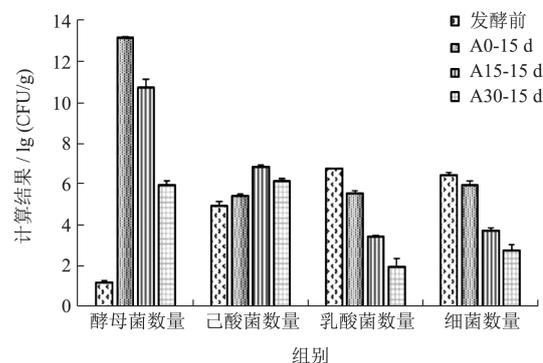


图 2 稀释涂布菌落数

Fig.2 Diluted coating colony count

栖息在窖泥或曲药中的梭状芽孢杆菌能代谢生成己酸, 己酸与酵母代谢生成的乙醇反应生成己酸乙酯^[18], 己酸乙酯又是浓香白酒的特征香气物质^[19]。因此在研究酸度对大曲微生物群落结构的影响中, 考查酸度对己酸菌生长的影响是必不可少的。由图 2 可知: 发酵后糟醅中的己酸菌数高于发酵前, 表明随着发酵的进行, 窖内溶氧的降低使得己酸菌在糟醅中得到了增值。己酸菌作为耐酸微生物的代表, 且适宜生长的 pH 值为 5.8~6.8^[20], 与在 A15 酸度梯度下己酸菌数目最多的实验结果相对应; 当酸度过高时, 酸会对己酸菌的生长代谢环境造成影响, 抑制己酸菌的生长代谢, 与在 A30 酸度梯度下己酸菌数目最少的实验结果相对应。

乳酸菌代谢生成的乳酸^[21]是酵母菌生成乳酸乙酯的重要前体物质^[22], 还有一些窖泥中的细菌代谢生成己酸的营养物质^[23], 因此有必要对发酵前后糟醅中的乳酸菌计数, 研究酸胁迫对乳酸菌生长的影响。由图 2 可知: 发酵后糟醅中的乳酸菌数相比发酵前都减少, 表明随着发酵的进行, 乳酸菌的生长在糟醅中受到了抑制。换言之, 在产酒期, 随着起始酸度的增加, 糟醅的可培养乳酸菌的活菌数量呈下降趋势, 且入窖酸度越高, 抑制现象越严重。

白酒酿造中, 当杂菌含量过高时, 会大量产酸, 适宜的酸度可抑制酿造中不需要的杂菌, 防止大量产酸, 即起到“以酸治酸”的目的, 所以我们有必要对发酵前后糟醅中的细菌进行涂布计数。由图 2 可知: 在不同酸度发酵后, 细菌数目一直呈下降趋势。随着发酵过程的进行, 窖内溶氧的降低和酸度的增加, 因大部分细菌属于好氧菌, 且细菌的最适 pH 值是微碱性, 所以在厌氧和酸度增加时大部分的细菌都会被抑制无法生长, 细菌数目减少。

目前对于酒质好坏的判断主要是通过酒内脂类化合物、醇类化合物和酸类化合物的多少来决定, 而醇

母菌、己酸菌和乳酸菌这三种微生物作为产酸产脂的代表，它们的生长状态会影响代谢物质的生成，进一步影响酒质。由图 2 可知：在高酸度条件下（A30），酵母菌、己酸菌和乳酸菌的生长都被抑制得较严重，即起始酸度的增加可能会抑制风味物质的生成，高酸发酵条件可能会使得酯和醇含量降低。

2.3 发酵前后糟醅的菌落结构

白酒酿造的本质是混合菌群和生物酶共同作用^[24]，协同发酵产生乙醇和多种风味物质的过程。糟醅作为固态发酵体系的微生物菌群代谢与演替的培养基，包含了复杂的发酵功能菌群，其间微生物的多样性都受到糟醅入窖条件的影响^[25]。不同酸度条件下，混合菌群的生长与消亡会直接影响到白酒酿造的发酵过程。本研究通过可培养方法和高通量测序技术对不同入窖酸度的发酵糟醅微生物群落进行分析^[26]，探索酸度对微生物群落的影响。

2.3.1 糟醅中细菌的菌落结构

2.3.1.1 测序结果的有效性分析

稀释曲线可以用来比较测序量不同的样本中生物类群的丰富度及反映微生物的物种信息。如图 3 所示，随着测序样品丰度足够多，随稀释曲线变得平缓，表明测序的生物量已经足够丰富，已经能够反映样本中大多数的微生物的物种信息。

2.3.1.2 糟醅细菌菌落组成

本研究通过高通量测序技术获得微生物群落的物种信息，选择其中丰度大于 0.01 的分类作图，其余丰度小于 0.01 的归为 other。由图 4 可知，共有 6 个细菌门，包括厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、蓝细菌

门、拟杆菌门和异常球菌门，其中占优势的菌群是厚壁菌门和变形菌门。随着发酵的进行，厚壁菌门在糟醅中的相对含量增加，而随着起始酸度的增加，其丰度降低；蓝细菌门丰度在发酵后随着起始酸度增加而增加，在 A30 酸度条件下生长受到抑制，逐渐被淘汰。

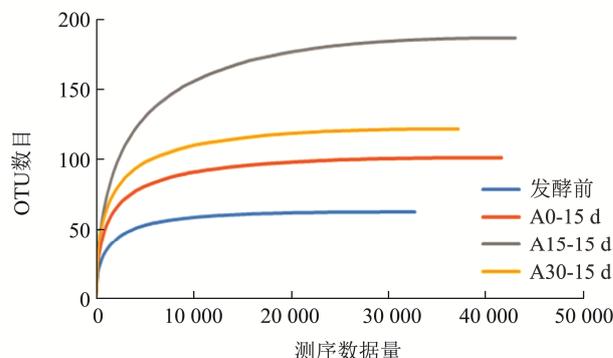


图 3 发酵前后糟醅中细菌的稀释曲线

Fig.3 Dilution curves of bacteria in fermented grains before and after fermentation

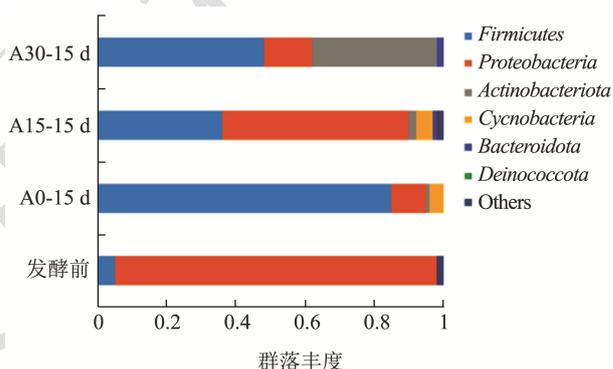


图 4 基于门水平的糟醅细菌菌群分布

Fig.4 Bacterial flora distribution of fermented grains based on phylum level

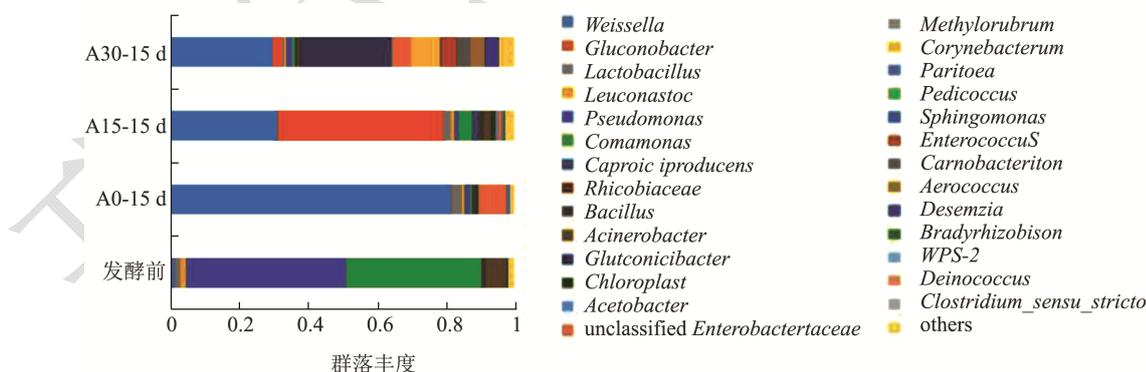


图 5 基于属水平的糟醅细菌菌群分布

Fig.5 Bacterial flora distribution of fermented grains based on genus level

由图 5 可知，丰度较高的 6 个菌群是魏斯氏菌属、葡糖杆菌属、乳杆菌属、假单胞菌属、明串珠菌属和丛毛单胞菌属，是发酵过程的优势菌群。发酵后，魏斯氏菌属相比发酵前增加，而随着起始酸度增加，魏斯氏菌属的生长受到抑制，相对丰度明显下降，因魏

斯氏菌属本身耐酸性不强，在高酸度环境的选择下，会从优势菌属到逐渐淘汰。葡糖杆菌属和乳杆菌属随着起始酸度的增加先增殖，酸度升高后丰度降低，葡糖杆菌属是醋酸菌科比较重要的属，与食醋等酸性发酵食品的生产密切相关^[27]，其本身具有一定的耐酸

性,可能是发酵中糖类物质的减少和高乳酸的胁迫使得其丰度呈先增后降的动态变化趋势。芽孢杆菌属和醋杆菌属在低起始酸度糟醅的发酵过程中变化不明显,而在高起始酸度入窖的糟醅中生物量逐渐累积。由此可见,在酸度的影响下,产酸菌和耐酸性特别强的芽孢杆菌等依旧能够生长积累,大部分耐酸性差的微生物被淘汰,起到了抑制杂菌的效果。

2.3.2 糟醅中真菌的菌落结构

2.3.2.1 测序结果的有效性分析

如图6所示,随着测序样品丰度足够多,随稀释曲线变得平缓,表明测序的生物量已经足够丰富,已经能够反映样本中大多数的微生物的物种信息。

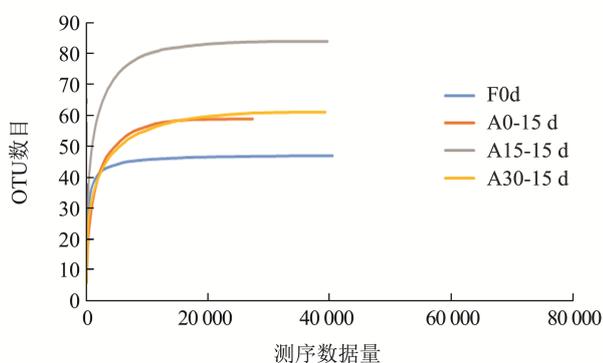


图6 发酵前后糟醅中真菌的稀释曲线

Fig.6 Dilution curves of fungi in fermented grains before and after fermentation

2.3.2.2 糟醅真菌菌落组成

由图7可知,发酵前后共三个真菌门:子囊菌门、毛霉菌门和担子菌门,其中子囊菌门占绝对优势,是白酒酿造中的主要优势菌群。由图8可知,在属水平

上,随着发酵进行,酿酒酵母属、曲霉科属、威克汉逊酵母属、伊萨酵母属等7个属在发酵过程占优势地位。起始酸度 A0 的糟醅在发酵过程中,酿酒酵母迅速增值,从相对丰度<0.01 的情况下,变为菌群的优势菌,而随着起始酸度增加,酿酒酵母的生长繁殖受到抑制,起始酸度为 A30 的酿酒酵母属在发酵 15 d 时相对丰度才上升到 34.03%。威克汉逊酵母属和伊萨酵母属随着发酵的进行,因厌氧和酸性环境的双重选择,逐渐变为劣势菌属。曲霉科属和假丝酵母属等在糟醅中呈动态变化,且曲霉科属、曲霉属在高酸入窖的糟醅中丰度相对较高。在整个发酵期中,随着发酵时间的延长,因产酸菌的生长和酿酒酵母产酒导致糟醅变成高酸、高酒的生长环境,导致发酵结束后大部分真菌属都成先增后降的趋势,表明窖内溶氧的降低和发酵的酸度对真菌属的群落演替具有推动作用。

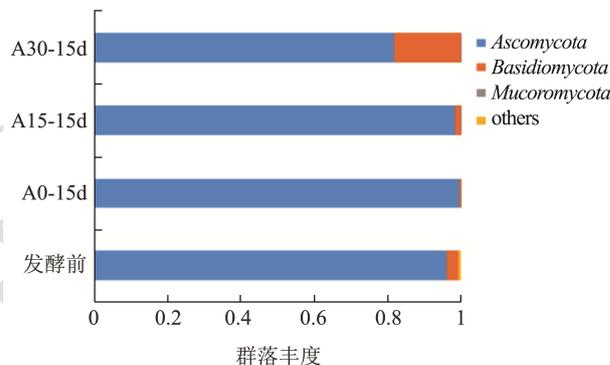


图7 基于门水平的糟醅真菌菌群分布

Fig.7 Fungal flora distribution of fermented grains based on phylum level

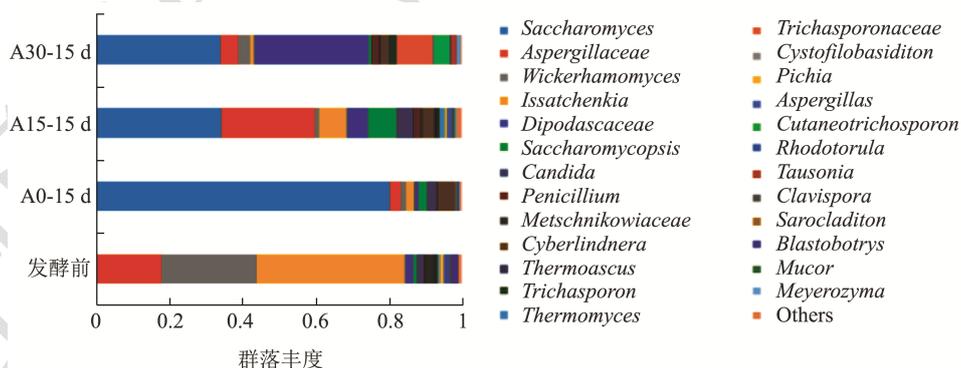


图8 基于属水平的酒醅真菌菌群分布

Fig.8 The distribution of the fungal flora of fermented grains based on the genus level

3 结论

本研究通过人为控酸的方法,探索了酸度对糟醅微生物群落结构的影响。结果显示:随着酸度的升高,糟醅中淀粉含量越高;当酸度为 30 mmol/100 g 时糟醅中乙醇含量最低。群落结构方面:细菌群落组成上,

魏斯氏菌属在发酵过程属于优势菌群,随着入窖酸度的增加,细菌多样性降低;真菌群落组成上,以酿酒酵母为核心的酵母菌群发生差异性演替,随着起始酸度的增加,酵母菌群多样性降低,酿酒酵母属、威克汉逊酵母属、伊萨酵母属和毕赤酵母属等的相对丰度降低,而曲霉属、青霉菌属、季也蒙毕赤酵母的相对

丰度上升。结果表明：酸度是微生物群落演替的关键环境推动力。对酿造生产有益的微生物如酵母菌群、乳酸杆菌属等在高酸度条件下生长繁殖会被抑制，这样的情况可能会影响白酒产量和造成酒体风味物质的缺失。其次，酸度会影响微生物群落结构的重塑过程，对微生物群落结构的生长繁殖具有选择性，因微生物生长特性不同，酸度和窖内溶氧量的双重选择使得不同酸度下的群落结构具有差异性，因菌属本身耐酸性的强弱导致在不同起始酸度发酵下，各个酸度梯度下的优势菌属各有不同，进一步导致白酒产量和风味物质的差异性。

参考文献

- [1] 田德雨,闫子茹,危晶晶,等.清香型白酒酿造微生物和风味物质的研究进展[J].中国酿造,2021,40(4):20-25.
- [2] Fan W, Qian M C. Characterization of aroma compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" liquors by aroma extract dilution analysis [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2695-2704.
- [3] Wang H Y, Gao Y B, Fan Q W, et al. Characterization and comparison of microbial community of different typical Chinese liquor Daqus by PCR-DGGE [J]. Lett Appl Microbiol, 2011, 53(2): 134-140.
- [4] Wang Z Y, Li P, Luo L, et al. *Daqu* fermentation selects for heat-resistant Enterobacteriaceae and Bacilli [J]. Appl Environ Microbiol, 2018, 84(21): e01483-18.
- [5] Xiao C, Lu Z M, Zhang X J, et al. Bio-heat is a key environmental driver shaping the microbial community of medium-temperature Daqu [J]. Appl Environ Microbiol, 2017, 83(23): e01550-17.
- [6] Du H, Wang X, Zhang Y, et al. Exploring the impacts of raw materials and environments on the microbiota in Chinese Daqu starter [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 297: 32-40.
- [7] Chen Y R, Li K, Liu T, et al. Analysis of difference in microbial community and physicochemical indices between surface and central parts of Chinese special-flavor baijiu Daqu [J]. Front Microbiol, 2021, 11: 3340.
- [8] GB 5009.9-2016,食品安全国家标准食品中淀粉的测定[S].
- [9] GB 5009.7-2016,食品安全国家标准食品中还原糖的测定[S].
- [10] GB 5009.225-2016,食品安全国家标准食品乙醇浓度的测定[S].
- [11] GB 5009.3-2016,食品安全国家标准食品中水分的测定水分[S].
- [12] 王霜.光学显微镜在高中生物实验的应用[J].宿州教育学院学报,2008,3:133134.
- [13] Zheng X W, Yan Z, Nout M J, et al. Characterization of the microbial community in different types of Daqu samples as revealed by 16S rRNA and 26S rRNA gene clone libraries [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2015, 31(1): 199-208.
- [14] 赖登燊,陈万能,梁诚.入窖七因素的变化规律及相互关系的研究(三):入窖水分[J].酿酒科技,2011,2:32-35,42.
- [15] Xu D, Yin Y, Ali B, et al. Isolation of yeast strains from Chinese liquor Daqu and its use in the wheat sourdough bread making [J]. Food Bioscience, 2019, 31: 100443.
- [16] Wu Q, Chen L, Xu Y. Yeast community associated with the solid state fermentation of traditional Chinese Maotai-flavor liquor [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 166(2): 323-330.
- [17] 沈萍.陈向东.微生物学(第八版)[M].北京:高等教育出版社.2016.
- [18] 李超,王金晓,冯鹏鹏,等.己酸菌选育及在浓香型白酒生产中的应用[J].中国酿造,2020,39(8):1-6.
- [19] 李大和,李国红.浓香型白酒的独特魅力[J].酿酒科技,2018, 7:5.
- [20] 姚继承,张宗奇.影响己酸菌生长代谢的因素与培养应用[J].酿酒科技,2008,2:82-85.
- [21] 江鹏,何朝玖,刘燕梅,等.浓香型大曲白酒窖泥微生物研究进展[J].中国酿造,2020,39(4):19-22.
- [22] H Y, Wang, Y B, et al. 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.
- [23] Liu M K, Tang Y M, Guo X J, 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.
- [24] Fu Z L, Sun B G, Li X T, et al. Isolation and characterization of a high-quality Baijiu [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2018, 32(5): 1218-1227.
- [25] Gan S H, Yang F, Sahu S K, et al. Deciphering the composition and functional profile of the microbial communities in Chinese Moutai liquor starters [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1540.
- [26] Zhang H M, Meng Y J, Wang Y L, 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: 126084-126093.
- [27] 孙红,柴丽娟,陆震鸣,等.镇江香醋核心酿造微生物醋酸杆菌和乳酸杆菌共培养对生长代谢的影响[J].微生物学报, 2021,61(7):2065-2076.