

浓香型白酒生产中的功能微生物 及其协同作用研究进展

焦凯瑞¹, 邓 波², 宋 萍³, 连 宾⁴

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)

(2. 国家固态酿造工程技术研究中心, 四川 泸州 646000)

(3. 南京师范大学食品与制药工程学院, 江苏 南京 210023)

(4. 南京师范大学海洋科学与工程学院, 江苏 南京 210023)

[摘要] 浓香型白酒因其窖香浓郁、香味协调, 在中国白酒市场最为畅销。它是以谷物为原料, 采用中温大曲作为糖化发酵剂, 经过固态发酵、蒸馏、陈酿、勾调而成的发酵食品。在浓香型白酒酿造过程中涉及大曲、窖泥和酒醅中多种类型微生物的参与, 不同的酿酒微生物在不同的发酵阶段协同驱动发酵原料发生一系列复杂的生物化学转化, 并最终影响白酒的风味特征和品质。基于现有的研究报道, 本文从浓香型白酒大曲、酒醅和窖泥中的优势微生物类群、优势微生物功能、微生物之间的协同作用及其对白酒风味的影响等方面综述了浓香型白酒功能微生物的研究进展, 并展望了白酒微生物的未来研究方向, 为浓香型白酒的品质提升提供基础资料。

[关键词] 浓香型白酒, 窖泥, 酒醅, 大曲, 微生物协同作用

[中图分类号] TS201.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2024)04-0068-09

Research Progress of Functional Microorganisms and Their Synergistic Effects in Luzhou-flavor Liquor Production

Jiao Kairui¹, Deng Bo², Song Ping³, Lian Bin⁴

(1. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

(2. National Engineering Research Center of Solid State Brewing, Luzhou 646000, China)

(3. School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

(4. College of Marine Science and Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Luzhou-flavor liquor is the best-selling liquor in the Chinese liquor market because of its strong cellar aroma and harmonious fragrance. It is a fermented food made from grains, using medium-temperature Daqu as the saccharification and fermentation agent, and undergoing solid-state fermentation, distillation, aging and blending. The brewing process of Luzhou-flavor liquor involves the participation of multiple types of microorganisms in the Daqu, pit mud, and fermented grains, and different brewing microorganisms synergistically drive a series of complex biochemical transformations of fermented raw materials at different stages of fermentation, which ultimately affects the flavor characteristics and quality of liquor. Based on the existing research reports, this paper summarizes the research progress of functional microorganisms in Luzhou-flavor liquor from the dominant microbial taxa in the Daqu, fermented grains and pit mud, the functions of the dominant microorganisms, the synergistic effects among varied microorganisms and their influence on the flavor of the liquor, etc., and proposes an outlook of the future direction of related functional microorganisms, in order to provide the basic information for the improvement of the quality of Luzhou-flavor liquor.

Key words: Luzhou-flavor liquor, pit mud, fermented grains, Daqu, microbial synergy

浓香型白酒是中国传统白酒的重要组成部分, 因其窖香浓郁、香味协调、尾净余长等特点受到了广大消费者的喜爱, 其销量更是占据了我国白酒市场销售总额的 70% 以上^[1-2]。浓香型白酒一般以高粱、小麦

收稿日期: 2023-09-23.

基金项目: 泸州老窖-南京师范大学文化与科技创新研究中心自主研究项目 (CY2X202200201).

通讯作者: 连宾, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 资源与环境微生物, 地质微生物. E-mail: lianbin@njnu.edu.cn; 宋萍, 博士, 副教授, 研究方向: 微生物天然产物生物合成与合成生物学. E-mail: songping@njnu.edu.cn

等谷物为原料,采用中温大曲作为糖化发酵剂,经过固态发酵、蒸馏、陈酿和勾调等步骤制作而成^[3]。在浓香型白酒酿造过程中会涉及大曲、酒醅和窖泥中微生物的参与,多种微生物的代谢活动及其协同作用共同决定了浓香型白酒的风味和品质^[4-5]。近年来,随着高通量测序、宏基因组和代谢组学等现代生物学技术在浓香型白酒酿造微生物领域的普及,人们对白酒发酵过程中酿酒微生物的优势类群、生理特性、代谢途径、演替规律及其协同作用有了更加清晰的认识^[6-7],关于浓香型白酒发酵机理的神秘面纱也被层层揭晓,并在此基础上逐步发展出人工窖泥^[8]和强化大曲^[9]等技术,不仅增加了白酒的产量,还显著提高了白酒的风味与品质。

本文基于已有的研究报道,对浓香型白酒大曲、酒醅和窖泥中的优势微生物类群、功能以及微生物之间的协同作用及其对白酒风味影响的研究进展进行分析和评述,并对浓香型白酒酿造微生物领域未来的研究方向提出建议。

1 近 10 年来浓香型白酒微生物研究领域的文献分析

为进一步了解浓香型白酒微生物领域的重要研究进展,基于中国知网 (CNKI) 和 Web of Science (WOS) 两大数据库,以“浓香型白酒”、“窖泥”、“大曲”、“酒醅”及“strong flavor Baijiu”,“strong flavor liquor”,“Luzhou-flavor liquor”,“pit mud”,“Daqu”,“fermented grains”等为关键词,检索了 2013 年 1 月—9 月该领域的论文发表量,共检索出 760 篇中文论文及 130 篇英文论文,通过浏览及阅读文献分析了该领域的主流研究方向 (表 1)。

表 1 2013 年以来浓香型白酒酿造微生物领域的主要研究方向

| Table 1 Main research directions in the field of microorganisms in the brewing of Luzhou-flavor liquor since 2013 | | | |
|---|---------------------|--|---------------|
| 主要研究方向 | 方法技术 | 主要研究内容 | 参考文献 |
| 解析风味物质组成 | 高效液相色谱、气相色谱-质谱联用等技术 | 研究白酒发酵过程中风味物质的组成特征及变化规律 | [10-12] |
| 分离筛选优势功能微生物 | 富集培养、平板涂布等传统培养方法 | 研究菌株的生理特性及代谢产物 | [13-15] |
| 有益微生物的强化应用 | 人工窖泥、强化大曲 | 向窖泥或大曲中人工接种功能菌株,定向调控微生物群落结构,进而增加白酒风味物质的含量 | [6,8,9,16,17] |
| | 高通量测序技术 | 探究不同窖龄窖泥微生物群落结构差异 | [18] |
| | 宏基因组学 | 揭示中温大曲微生物在风味物质产生中的作用;分析退化窖泥在生物修复过程中微生物群落结构和功能的变化;研究窖泥微生物群落的组成和功能 | [7,19,20] |
| 采用现代生物学技术解析微生物群落结构和演替规律 | 代谢组学 | 研究了 30 年、100 年和 300 年窖泥中微生物群落的代谢特征 | [21] |
| | 蛋白质组学 | 通过将微生物群落表达的蛋白质与特定微生物联系起来,进而深入了解白酒发酵过程中微生物群落的功能和多样性 | [6] |
| | 宏转录组学 | 揭示了酵母菌和乳酸杆菌在硫化物生产中的协同作用;揭示了老熟与退化窖泥中的微生物群落的组成差异 | [22,23] |

由表 1 可知,近 10 年来浓香型白酒酿造微生物研究领域主要有四大研究方向:(1)解析白酒发酵过程中风味物质的组成特征和变化规律;(2)基于传统培养方法分离筛选优势功能微生物;(3)通过接种有益微生物提高窖泥或大曲质量;(4)结合现代生物技术探究大曲、酒醅和窖泥中微生物群落结构的多样性和演替规律。总之,微生物在浓香型白酒发酵系统中始终发挥着至关重要的作用,本文将对大曲、酒醅和窖泥中的优势微生物类群、功能及其相互作用展开介绍。

图 1 结果显示,近 10 年来浓香型白酒酿造微生物领域的中英文发文量稳步提升,说明自 2013 年中国酒业协会提出“中国白酒 3C 计划”以来,浓香型白酒酿造微生物领域的研究取得了重要进展。特别是 2019 年之后,中英文论文发表量均有较大幅度的提升。

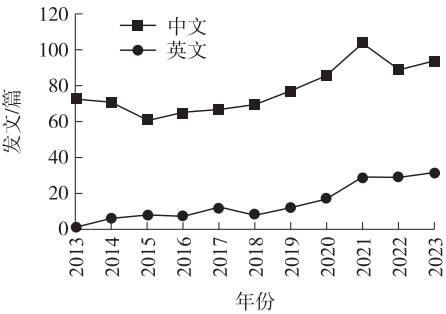


图 1 2013 年以来浓香型白酒酿造微生物领域的年度发文量

Fig. 1 Annual publications in the field of microbiology of Luzhou-flavor liquor brewing since 2013

2 优势微生物类群

2.1 大曲中的优势微生物类群

大曲被称为“酒之骨”,是白酒生产过程中的发酵剂、糖化剂和生香剂. 浓香型白酒的发酵采用中温大曲,大曲发酵温度通常控制在 50 ℃~60 ℃^[24-25]. 大曲是在开放环境中以小麦(或添加大麦、豌豆等)为原料,经过粉碎浸湿、压曲成形和发酵储存等步骤生产而成(图 2),因此会富集来自谷物原料和环境(例如空气、地面和设备表面)中的大量微生物,这些微生物的代谢活动可为白酒酿造提供各种风味物质和丰富的酶类(例如蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、酯化酶等),对白酒的风味和质量具有深远影响^[26]. 浓香型白酒大曲中的优势微生物类群如表 2 所示.

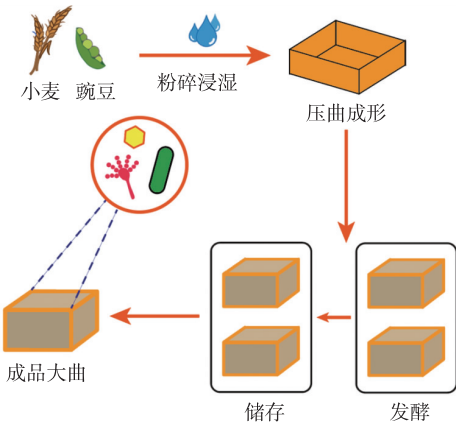


图 2 大曲生产示意图
Fig. 2 Schematic diagram of Daqu production

表 2 浓香型白酒大曲中的优势微生物类群
Table 2 The dominant microbial groups in the Daqu of Luzhou-flavor liquor

| 类群 | 优势微生物具体种类 | 参考文献 |
|--------------------------------|---|---------|
| 细菌(Bacteria) | 植物乳杆菌(<i>Lactobacillus plantarum</i>)、庞氏乳杆菌(<i>Lactobacillus pontis</i>)、醋酸杆菌(<i>Acetobacter</i>)、蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)、枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)、淀粉芽孢杆菌(<i>Bacillus amyloliquefacien</i>)、片球菌(<i>Pediococcus</i>)、魏斯氏菌(<i>Weissella</i>)、木葡萄球菌(<i>Staphylococcus xylosus</i>)、假单胞菌(<i>Pseudomonas</i>) | [27-30] |
| 酵母菌(<i>Saccharomycopsis</i>) | 酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)、纤维酵母(<i>Fibrous yeast</i>)、毕赤酵母(<i>Pichia</i>)、假丝酵母(<i>Candida</i>)、威克汉姆菌(<i>Wickerhamomyces</i>) | |
| 霉菌(Mildew) | 米曲霉(<i>Aspergillus oryzae</i>)、黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)、红曲霉(<i>Monascus</i>)、根霉(<i>Rhizopus</i>)、毛霉(<i>Mucor</i>)、青霉(<i>Penicillium</i>) | |

由表 2 可知,浓香型白酒大曲中的优势微生物通常以细菌、酵母菌和霉菌为主. 在细菌组成方面,乳杆菌、芽孢杆菌、醋酸杆菌、魏斯氏菌、片球菌在大曲中占据优势;大曲真菌主要以纤维酵母、毕赤酵母、假丝酵母、曲霉和根霉为主^[27-30]. 这些微生物在大曲制作过程中不断演替,一般经过 5 个月左右的存储便可投入使用^[30].

2.2 酒醅中的优势微生物类群

浓香型白酒在酿造时会将上一批发酵得到的酒醅与新的高粱、稻壳等混合后放入甑桶蒸馏,然后将蒸馏剩下的粮糟冷却后与大曲混合得到新一批的酒醅,新酒醅放入窖池内继续发酵,如此循环往复(图 3). 因此,酒醅是一个复杂而独特的微生物生态系统,是浓香型白酒生产过程中微生物的重要栖息地、生化反应系统和

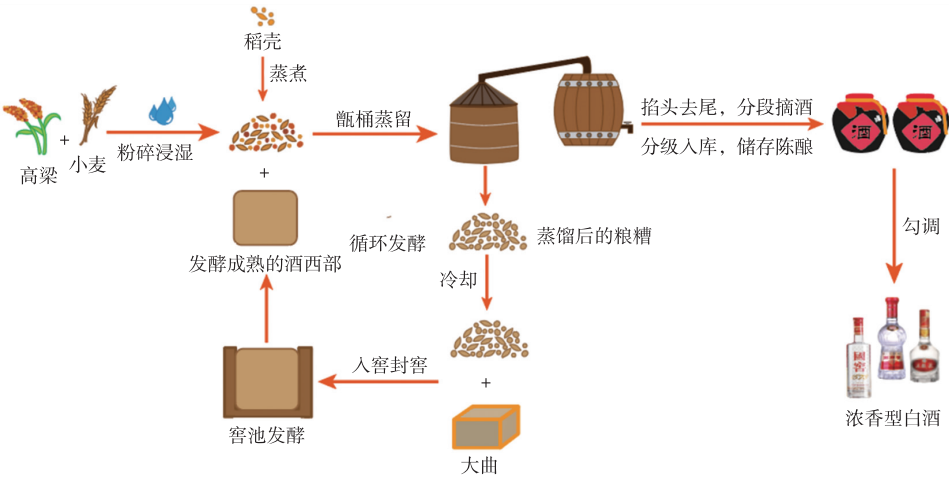


图 3 浓香型白酒生产工艺流程图
Fig. 3 Process flow diagram for the production of Luzhou-flavor liquor

风味化合物的直接来源^[31-32].表3列举了浓香型白酒酒醅中的优势微生物类群.

表3 浓香型白酒酒醅中的优势微生物类群

Table 3 Dominant microbial groups in fermented grains of Luzhou-flavor liquor

| 类群 | 优势微生物具体种类 | 参考文献 |
|-----------------------|---|------------|
| 细菌(<i>Bacteria</i>) | 乳酸杆菌(<i>Lactobacillus</i>)、高温放线菌(<i>Thermoactinomyces</i>)、醋酸杆菌(<i>Acetobacter</i>)、哈萨克斯坦菌(<i>Kazachstania</i>)、水杆菌(<i>Aquabacterium</i>)、片球菌(<i>Pediococcus</i>)、芽孢杆菌(<i>Bacillus</i>)、拟杆菌(<i>Bacteroidia</i>) | [30,33-35] |
| 真菌(<i>Fungi</i>) | 酵母菌(<i>Saccharomycetales</i>)、毛孢子菌(<i>Trichosporon</i>)、假丝酵母(<i>Candida</i>)、曲霉(<i>Aspergillus</i>)、红曲霉(<i>Monascus</i>) | |

酒醅中具有丰富的微生物多样性,主要以细菌和真菌为主.其中,乳酸杆菌在细菌类群中最为丰富,其相对丰度可达50%以上^[33].此外,高温放线菌、醋酸杆菌、哈萨克斯坦菌、水杆菌、片球菌、芽孢杆菌、拟杆菌等也是酒醅细菌中的优势类群^[34-35].在真菌组成方面,酒醅主要以酵母菌、假丝酵母、毛孢子菌和曲霉为主^[30].

2.3 窖泥中的优势微生物类群

浓香型白酒酿造最为典型的特征就是利用泥质窖池进行固态厌氧发酵.长期的生产实践经验表明,窖池的窖龄越高,其产出的白酒质量也越好^[21,36].窖泥为微生物的生长代谢创造了独特的发酵环境,有助于酿酒原料的糖化和酒精发酵^[37-38].越来越多的研究表明,窖泥中的微生物对于浓香型白酒风味特征的形成发挥了关键作用^[39-40].表4列举了浓香型白酒窖泥中的优势微生物类群.

表4 浓香型白酒窖泥中的优势微生物类群

Table 4 Dominant microbial groups in pit mud of Luzhou-flavor liquor

| 类群 | 优势微生物具体种类 | 参考文献 |
|-----------------------|---|--------------------|
| 细菌(<i>Bacteria</i>) | 梭菌(<i>Clostridium</i>)、乳酸杆菌(<i>Lactobacillus</i>)、己酸菌(<i>Caproiciproducens</i>)、沉积杆菌(<i>Sedimentibacter</i>)、氨基杆菌(<i>Aminobacterium</i>)、合养单胞菌(<i>Syntrophomonas</i>)、理研菌(<i>Petrimonas</i>)、氢孢子菌(<i>Hydrogenispora</i>)、瘤胃球菌(<i>Ruminococcaceae</i>) | [7, 21, 36, 39-41] |
| 古菌(<i>Archaea</i>) | 甲烷杆菌(<i>Methanobacterium</i>)、甲氧杆菌(<i>Methanobrevibacter</i>)、甲烷八叠球菌(<i>Methanosarcina</i>)、甲烷囊菌(<i>Methanoculleus</i>) | |
| 真菌(<i>Fungi</i>) | 子囊菌(<i>Ascomycota</i>)、曲霉(<i>Aspergillus</i>)、根霉(<i>Rhizopus</i>)、镰刀菌(<i>Fusarium</i>)、木霉(<i>Trichoderma</i>)、毛霉(<i>Trichosporon</i>) | |

在窖泥中的菌群中,细菌和古菌占据绝对优势,其相对丰度可达95%以上,而真菌的相对丰度一般不足5%^[42].随着窖龄增加,窖泥微生物的群落结构也出现了显著变化^[41].如乳酸杆菌一般在低龄窖泥中占据主导地位.老熟窖泥主要以梭菌和己酸菌为主,它们是浓香型白酒中主体风味物质己酸乙酯的主要贡献者,二者的相对丰度可达细菌总丰度的40%以上^[21];其次是以产甲烷菌为代表的古菌,例如甲烷杆菌、甲氧杆菌、甲烷八叠球菌和甲烷囊菌^[7,21].此外,窖泥中还存在着沉积杆菌、氨基杆菌、合养单胞菌、理研菌、氢孢子菌、瘤胃球菌等重要的功能菌,它们对白酒发酵都起到了至关重要的作用^[36].

在真菌组成方面,窖泥真菌主要以曲霉、根霉、镰刀菌和子囊菌为主,但相对丰度一般较低^[7,36].

3 优势微生物的功能

浓香型白酒的生产离不开多种优势微生物发挥其功能作用.表5和表6总结了白酒发酵过程中优势细菌和优势真菌的功能.

表5 浓香型白酒中优势细菌的功能

Table 5 Function of dominant bacteria in Luzhou-flavor liquor

| 优势细菌 | 功能 | 参考文献 |
|-------------------------------|--|------|
| 乳酸杆菌(<i>Lactobacillus</i>) | 利用葡萄糖产生乳酸、乙醇、乙酸、乙醛和2,3-丁二酮等风味物质,赋予白酒奶油香、果香等风味特征;其中乳酸是合成乳酸乙酯的前体物质;产生的高浓度的乳酸和细菌素可以抑制 γ -变形菌(<i>Gamma</i> proteobacteria)和 α -变形菌(<i>Alphaproteobacteria</i>)等病原和腐败微生物的生长,进而改善酿酒环境 | |
| 梭菌(<i>Clostridium</i>) | 参与窖泥中的糖分解、氨氧化和硫酸盐还原等过程;能产生乙酸、丁酸和己酸,这些酸是合成乙酸乙酯、己酸乙酯和丁酸乙酯的重要前体物质;有的梭菌还能利用乳酸合成正己酸 | |
| 氢孢子菌(<i>Hydrogenispora</i>) | 可以利用葡萄糖等产生乙醇、乙酸和H ₂ 等 | |

| 续表 5 Table 5 continued | | |
|-------------------------------------|--|--------------------------------|
| 优势细菌 | 功能 | 参考文献 |
| 沉淀杆菌 (<i>Sedimentibacter</i>) | 参与窖泥中糖分解、氨氧化和硫酸盐还原等过程;能将氨基酸降解为乙酸和丁酸;可以利用氨基酸、丙酮酸和酵母提取物生成乙酸、丁酸和乳酸等风味物质 | [17, 20, 27, 28, 39, 41, 43] |
| 芽孢杆菌 (<i>Bacillus</i>) | 能够产生淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶;分泌的水解纤维素酶和半纤维素酶,有助于发酵过程中双乙酰等挥发性化合物的形成;能产生 2-5-二甲基吡嗪、四甲基吡嗪、3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇等口味强烈的风味化合物 | |
| 产甲烷菌 (<i>Methanogens</i>) | 能利用 H ₂ 、CO ₂ 或甲酸、乙酸产甲烷;有的菌株具有产己酸的潜力 | |
| 醋酸杆菌 (<i>Acetobacter</i>) | 能将乙醇氧化成乙酸 | |
| 魏斯氏菌 (<i>Weissella</i>) | 能够分泌多种水解酶;有的菌株能利用乳酸脱氢酶将丙酮酸转化为乳酸,丰富白酒口感 | |
| 理研菌 (<i>Petrimonas</i>) | 参与糖分解、氨氧化和硫酸盐还原过程;能将葡萄糖发酵成乙酸、H ₂ 和 CO ₂ | |
| 己酸菌 (<i>Caproiciproducens</i>) | 产生的己酸是合成己酸乙酯的重要前体物质 | |
| 瘤胃球菌 (<i>Ruminococcaceae</i>) | 可以产生己酸 | |
| 氨基杆菌 (<i>Aminobacterium</i>) | 可以发酵氨基酸形成乙酸和丁酸 | |
| 合养单胞菌 (<i>Syntrophomonas</i>) | 参与窖泥中的糖分解、氨氧化和硫酸盐还原过程;与产甲烷菌共培养时能利用油酸产甲烷;共培养能够产生乙酸和丙酸;能将 C4-C8 的长链脂肪酸降解为乙酸、丙酸和 H ₂ ;还可以将前异辛酸降解为前异己酸,前异己酸为合成己酸的重要前体物质 | |
| 水杆菌属 (<i>Aquabacterium</i>) | 可以产生葡聚糖支化酶影响淀粉水解 | |

| 表 6 浓香型白酒中的优势真菌类群及其功能 Table 6 Dominant fungal groups and their functions in Luzhou-flavor liquor | | |
|---|--|-------------------|
| 优势真菌 | 功能 | 参考文献 |
| 曲霉(<i>Aspergillus</i>) | 分泌糖化酶、液化酶、蛋白酶、α-淀粉酶、葡萄糖苷酶、内切葡聚糖酶等多种酶,可以将谷物中的淀粉、蛋白质等大分子物质转化为葡萄糖和氨基酸等小分子物质,为微生物的生长提供碳源和氮源;产生苯乙酸乙酯、苯甲醛、糠醛和苯乙醇等风味物质,提升酒体风味 | [9, 28, 36, 41] |
| 根霉(<i>Rhizopus</i>) | 产生除糖化酶以外的多种酶(如淀粉酶、蛋白酶等),其中米根霉(<i>Rhizopus oryzae</i>)分泌的乳酸脱氢酶有利于乳酸杆菌产生乳酸;产生柠檬酸、琥珀酸和乳酸等有机酸 | |
| 毕赤酵母(<i>Pichia</i>) | 发酵过程中的主要酵母,能分泌多种糖化酶和糖基转移酶,是大曲糖化的关键菌群;分泌酯化酶促进乙酸乙酯等酯类物质的生成;可以利用蔗糖和葡萄糖产生多种芳香族化合物,例如苯乙醇、4-羟基-2-丁酮 | |
| 哈萨克斯坦菌(<i>Kazachstania</i>) | 发酵过程中的主要酵母,能够产生乙醇、蓝-苯乙醇和脂肪酸乙酯(提供白酒花果香气) | |
| 假丝酵母(<i>Candida</i>) | 产生脂肪酶促进酯化反应的进行 | |

4 微生物协同作用对浓香型白酒发酵的影响

浓香型白酒的发酵涉及多种微生物之间复杂的相互作用. 大曲主要为酒醅发酵提供丰富的酶类和发酵菌剂,而窖泥则是酒醅中厌氧菌的重要来源^[30]. 大曲、酒醅和窖泥微生物群之间的协同作用对白酒的风味和品质具有深远影响^[44-46]. 图 4 为浓香型白酒中大曲、酒醅和窖泥中部分微生物的协同作用模式图.

白酒发酵时,酒醅内的谷物会在各种微生物及酶的作用下不断水解,形成一种液态的发酵副产物——黄水^[30,47]. 黄水会在重力作用下沉积至窖泥和酒醅的交界处. 此时,酒醅中的微生物会在重力等作用下通过黄水转移至窖泥,而窖泥中的一些细菌(梭菌、沉积杆菌、己酸菌、合养单胞菌、甲烷杆菌等)也会通过黄水迁移至酒醅^[30]. 大量研究表明,酒醅微生物群产生的乳酸、乙酸可以被窖泥中的梭菌和己酸菌转化为丁酸和己酸^[13,21,48]. 例如,3 mol 的乳酸可以生成 1 mol 的己酸. 乳酸的转化会消耗酒醅中的 H⁺,使其 pH 值升高^[49]. 此外,窖泥中的一些厌氧微生物,如沉淀杆菌、氨基杆菌和喜热菌可以将酒醅中的氨基酸降解为短链和支链挥

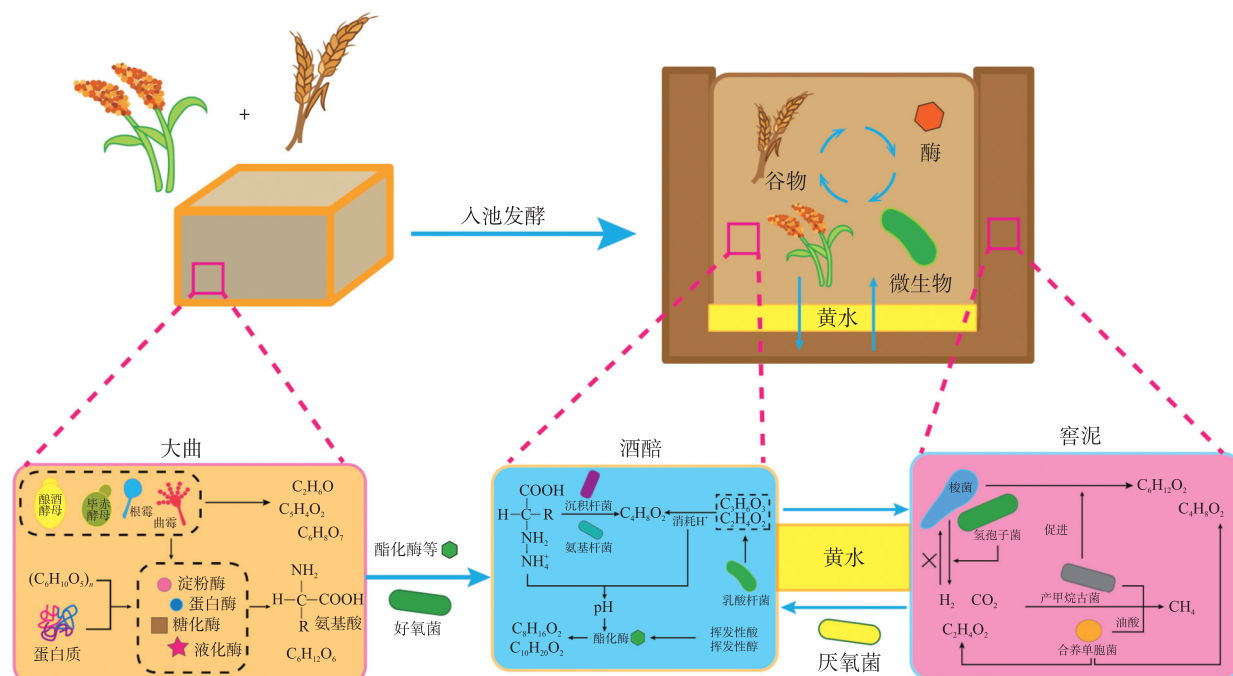


图4 浓香型白酒中大曲-酒醅-窖泥微生物协同作用模式图(部分反应)

Fig. 4 Microbial synergism pattern of Daqu-fermented grains-pit mud in Luzhou-flavor liquor (partial reaction)

发性酸,氨基酸通过脱氨反应释放出的 NH_4^+ 也会进一步提高酒醅的 pH 值. 由于大曲微生物产生的酯化酶的最佳 pH 值通常是中性,因此酒醅 pH 值升高会进一步增强大曲酯化酶的酯化能力. 最终,窖泥微生物产生的挥发性酸性物质(例如丁酸、戊酸、己酸、辛酸和异戊酸)和挥发性醇(例如 1-丁醇、1-己醇和 1-辛醇)在酒醅中被大曲酯化酶选择性酯化,形成己酸乙酯和辛酸乙酯等重要的中链脂肪酸乙酯^[50].

在浓香型白酒酿造系统中,梭菌与产甲烷菌之间可以通过种间氢转移机制互利共生^[51]. 梭菌在代谢过程中会产生乙酸等脂肪酸和 H_2 . 一方面,乙酸的过度累积会降低窖泥的 pH 值,这会抑制大多数微生物的代谢活动;另一方面, H_2 含量过高又不利于梭菌自身合成己酸,而窖泥中产甲烷菌的存在就是解决这一问题的关键. 例如,氢营养型产甲烷菌可以将梭菌产生的乙酸和 H_2 等转化为甲烷,有效地避免了 pH 值的降低和 H_2 的过度积累. 此外, H_2 消耗的同时也能刺激梭菌的生长,进而促进白酒风味物质的合成^[7,30,51].

除了上述几种典型的微生物种间协同作用类型,还有其他的一些种间协作关系. 例如,合养单胞菌与产甲烷菌共培养时能利用油酸产甲烷、乙酸和丙酸^[4]. 曲霉与地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)之间通过协作可以产生更多的芳香族化合物(例如 2-甲氧基苯酚、4-乙基-2-甲氧基苯酚、苯乙酸乙酯、苯甲醛、糠醛和苯乙醇)^[4]. 乳酸杆菌与假丝酵母通过协作也可以提高酯类物质的产量,为白酒增添果香风味^[9]. 酿酒酵母(*Saccharomycetales cerevisiae* JZ109)和布氏乳酸杆菌(*Lactobacillus buchneri* JZ-JN-2017)在含硫化合物的生产中存在协同作用,二者共存时可以显著提高 3-(甲硫基)-1-丙醇和二甲基二硫的生成,进一步影响白酒的风味^[22]. 值得注意的是,在持续几十年甚至上百年的酿酒活动影响下,多种微生物的演替互作也会引起窖池发酵环境和窖泥物质组成的变化,这些改变又会对微生物群落起到富集、筛选和淘汰的作用. 因此,探究发酵过程中窖池环境因素的变化及其对微生物群落结构的影响具有重要意义. Pu 等^[52]发现,水分、pH 值和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是影响窖泥真菌群落分布的 3 个最重要的环境因素. Zhang 等^[39]认为乳酸、pH 值和可溶性 Ca^{2+} 的变化决定了年轻和老熟窖泥中原核微生物群落结构的分布. 这些研究丰富了人们对白酒发酵过程中窖池环境变化规律的认识,但仍缺乏对窖泥中关键物质组分影响窖泥老熟机理的探究. Jiao 等^[53]研究发现,随着窖龄增加,窖泥中游离铁矿物和晶质铁矿物的含量显著下降,而无定形铁(氢)氧化物的含量显著增加;溶解性有机质(DOM)分子的丰富度、不饱和度、芳香度以及木质素/酚类、多酚类和多环芳烃的比例也随着窖龄增加而显著提高;此外,DOM 化合物与含铁矿物的相互作用改变了窖泥中的有机物和无机物的组成,并进一步改变了窖泥的理化性质,影响窖泥老熟. 总之,在浓香型白酒酿造系统中,窖泥中的关键矿物组分和有机组分变化参与并影响了白酒的发酵过程,大曲、窖泥和酒醅中

不同的功能微生物在不同的发酵阶段通过协同作用驱动发酵原料和窖泥环境发生了一系列复杂的生物化学转化过程,最终影响白酒的风味特征和品质。

5 结论与展望

随着研究的不断深入,人们对浓香型白酒中的关键风味物质组成、优势微生物类群、功能以及微生物群落结构多样性等方面已经有了较为清晰的认识,促进了我国白酒行业的蓬勃发展。然而,已有的研究依然未能深度解析浓香型白酒的微生物协同发酵机制。为继续提升白酒产量和品质,建议在以下几个方向开展更多的研究:

(1)大量微生物无法通过传统培养方法进行分离,这极大地限制了菌种资源的开发利用,因此迫切需要开发新的培养方法来拓宽白酒有益微生物的应用研究。例如,产甲烷菌等严格厌氧菌对于维持窖泥环境的稳定至关重要,但由于其生长特性的限制,只有极少数严格厌氧菌被分离出来,关于产甲烷菌与其他微生物相互作用的研究还较为匮乏,因此加强产甲烷菌的分离筛选并探究产甲烷菌与其他微生物的相互作用对白酒发酵的影响至关重要。

(2)某些种类的微生物,例如葡萄球菌(*Staphylococcus* spp.)和大卫氏菌(*Davidiella* spp.)等,虽然在白酒发酵过程中占据优势,但也有研究指出它们可能是潜在致病菌^[36,54],因此需要进一步研究这些微生物对白酒生产的贡献和潜在的负面影响。

(3)在功能菌株的发酵应用方面,如何保证接种菌株在人工窖泥和强化大曲中持续发挥作用是一个关键问题,有效的菌株固定化技术及其应用值得进一步研究。

(4)白酒发酵过程中微生物分泌的信号分子如何调控微生物群落的动态演替及其影响白酒发酵的机制值得深入探究。

(5)酒醅中存在着大量的非挥发性物质,但非挥发性物质对白酒品质的影响尚未完全知晓,因此仍然需要加强对非挥发性物质的研究。

(6)结合高分辨质谱分析,深入剖析大曲、酒醅和窖泥中的风味物质组成特征,对了解这些风味物质的形成和转化过程非常重要。

[参考文献]

- [1] LIU H L, SUN B G. Effect of fermentation processing on the flavor of Baijiu[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2018, 66(22): 5425–5432.
- [2] 胡景辉, 陈禹锜, 薛新新, 等. 浓香型白酒发展概述[J]. 中国酿造, 2022, 41(6): 24–30.
- [3] JIN G Y, ZHU Y, XU Y. Mystery behind chinese liquor fermentation[J]. Trends in food science & technology, 2017, 63: 18–28.
- [4] ZOU W, ZHAO C Q, LUO H B. Diversity and function of microbial community in Chinese strong-flavor Baijiu ecosystem: a review[J]. Frontiers in microbiology, 2018, 9: 671.
- [5] 程伟, 吴丽华, 徐亚磊, 等. 浓香型白酒酿造微生物研究进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(3): 1–4.
- [6] LIU M K, TANG Y M, GUO X J, et al. Structural and functional changes in prokaryotic communities in artificial pit mud during Chinese Baijiu production[J]. Msystems, 2020, 5(2): e00829–19.
- [7] FU J X, CHEN L, YANG S Z, et al. Metagenome and analysis of metabolic potential of the microbial community in pit mud used for Chinese strong-flavor liquor production[J]. Food research international, 2021, 143: 110294.
- [8] MU Y, HUANG J, ZHOU R Q, et al. Effects of daqu attributes on distribution and assembly patterns of microbial communities and their metabolic function of artificial pit mud[J]. Foods, 2022, 11(18): 2922.
- [9] HE G Q, HUANG J, ZHOU R Q, et al. Effect of fortified daqu on the microbial community and flavor in Chinese strong-flavor liquor brewing process[J]. Frontiers in microbiology, 2019, 10: 56.
- [10] WEI Y, ZOU W, SHEN C H, et al. Basic flavor types and component characteristics of Chinese traditional liquors: a review[J]. Journal of food science, 2020, 85(12): 4096–4107.
- [11] 高江婧, 任聪, 刘国英, 等. 浓香型白酒酒醅风味物质和微生物菌群结构随发酵时间的变化规律[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(20): 1–6.
- [12] 李俊刚, 郭文字, 罗英, 等. 利用 GC-MS 法对不同窖龄下浓香型白酒风味物质的研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(9): 141–144.

- [13] WANG H L, GU Y, ZHOU W C, et al. Adaptability of a caproate-producing bacterium contributes to its dominance in an anaerobic fermentation system[J]. Applied and environmental microbiology, 2021, 87(20): e120321.
- [14] ZHAO Q W, ZHU H W, TONG X, et al. Comparative genomic analyses reveal carbohydrates-rich environment adaptability of *Lentilactobacillus laojiaonis* sp. Nov. Im3328[J]. Food bioscience, 2023, 53: 102737.
- [15] ZHANG Z D, DONG Y, XIANG F S, et al. Analysis of bacterial diversity and genetic evolution of *Lactocaseibacillus paracasei* isolates in fermentation pit mud[J]. Journal of applied microbiology, 2022, 133(3): 1821–1831.
- [16] HE G Q, HUANG J, WU C D, et al. Bioturbation effect of fortified daqu on microbial community and flavor metabolite in Chinese strong-flavor liquor brewing microecosystem[J]. Food research international, 2020, 129: 108851.
- [17] MU Y, HUANG J, ZHOU R Q, et al. Exploring the response patterns of strong-flavor Baijiu brewing microecosystem to fortified daqu under different pit ages[J]. Food research international, 2022, 155: 111062.
- [18] 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.
- [19] 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: 110037.
- [20] LIU M K, LIU C Y, TIAN X H, et al. Bioremediation of degraded pit mud by indigenous microbes for Baijiu production[J]. Food microbiology, 2022, 108: 104096.
- [21] CHAI L J, QIAN W, ZHONG X Z, et al. Mining the factors driving the evolution of the pit mud microbiome under the impact of long-term production of strong-flavor Baijiu[J]. Applied and environmental microbiology, 2021, 87(17): e88521.
- [22] LIU J, WU Q, WANG P, et al. Synergistic effect in core microbiota associated with sulfur metabolism in spontaneous Chinese liquor fermentation[J]. Applied and environmental microbiology, 2017, 83(24): e01475–17.
- [23] ZHOU W, LIAO Z M, WU Z Y, et al. Analysis of the difference between aged and degenerated pit mud microbiome in fermentation cellars for Chinese Luzhou-flavor Baijiu by metatranscriptomics [J]. Journal of the science of food and agriculture, 2021, 101(11): 4621–4631.
- [24] GUAN T W, YANG H, OU M Y, et al. Storage period affecting dynamic succession of microbiota and quality changes of strong-flavor baijiu daqu[J]. LWT—food science and technology, 2021, 139: 110544.
- [25] 黄平, 王子豪, 郑佳, 等. 浓香型白酒大曲微生物群落结构研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(7): 3170–3186.
- [26] 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.
- [27] SAKANDAR H A, HUSSAIN R, FARID K Q, et al. Functional microbiota in Chinese traditional Baijiu and mijiū qu (starters): a review[J]. Food research international, 2020, 138: 109830.
- [28] DU H, WANG X S, ZHANG Y H, et al. Exploring the impacts of raw materials and environments on the microbiota in Chinese daqu starter[J]. International journal of food microbiology, 2019, 297: 32–40.
- [29] 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]. Applied and environmental microbiology, 2017, 83(23): e01550–17.
- [30] WANG X S, DU H, XU Y. Source tracking of prokaryotic communities in fermented grain of Chinese strong-flavor liquor[J]. International journal of food microbiology, 2017, 244: 27–35.
- [31] 敖灵, 梅军兰, 郎召伟, 等. 泸型酒酿造过程中各层酒醅挥发性物质变化规律[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 28–33.
- [32] 汪慧慧, 高俊杰, 李庆腾, 等. 浓香型酒醅发酵过程中真核微生物群落的研究[J]. 食品科技, 2022, 47(8): 14–20.
- [33] CHAI L J, LU Z M, ZHANG X J, et al. Zooming in on butyrate-producing clostridial consortia in the fermented grains of Baijiu via gene sequence-guided microbial isolation[J]. Frontiers in microbiology, 2019, 10: 1397.
- [34] XU S S, ZHANG M Z, XU B Y, et al. Microbial communities and flavor formation in the fermentation of Chinese strong-flavor Baijiu produced from old and new Zaopei[J]. Food research international, 2022, 156: 111162.
- [35] JIAO W J, XIE F, GAO L, et al. Identification of core microbiota in the fermented grains of a Chinese strong-flavor liquor from Sichuan[J]. LWT—food science and technology, 2022, 158: 113140.
- [36] LIU M K, TANG Y M, ZHAO K, 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.
- [37] 高占争, 吴正云, 张文学. 浓香型白酒窖泥微生物群落研究进展[J]. 中国酿造, 2020, 39(6): 1–7.
- [38] 吴浪涛, 丁文骏, 谢专, 等. 不同时期窖泥理化因子、风味物质和细菌组成的相关性[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1030–1047.
- [39] 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.

- [40] 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.
- [41] 张应刚, 许涛, 郑蕾, 等. 窖泥群落结构及功能微生物研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4327–4343.
- [42] TAO Y, WANG X, LI X Z, 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.
- [43] CHAI L J, XU P X, QIAN W, et al. Profiling the Clostridia with butyrate-producing potential in the mud of Chinese liquor fermentation cellar[J]. International journal of food microbiology, 2019, 297: 41–50.
- [44] 罗晶, 祝水兰, 王丽, 等. 浓香型白酒酿造微生物与风味物质组成的研究进展[J]. 中国酿造, 2020, 39(4): 1–6.
- [45] 陈继良. 浓香型白酒在酿造中的功能菌研究进展[J]. 酿酒, 2020, 47(2): 15–18.
- [46] 胡晓龙, 田瑞杰, 李保坤, 等. 基于宏转录组学技术解析浓香型酒醅活性微生物群落结构及功能变化特征[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 124–132.
- [47] 王莉, 袁宁, 管桂坤, 等. 黄水对浓香型白酒酒质的影响[J]. 酿酒科技, 2020(10): 83–86.
- [48] QIAN W, LU Z M, CHAI L J, et al. Cooperation within the microbial consortia of fermented grains and pit mud drives organic acid synthesis in strong-flavor Baijiu production[J]. Food research international, 2021, 147: 110449.
- [49] 信春晖, 许玲, 董乔娟, 等. 酿酒微生物对酒体质量及风格的影响[J]. 酿酒, 2016, 43(2): 38–47.
- [50] GAO J J, LIU G Y, LI A J, et al. Domination of pit mud microbes in the formation of diverse flavour compounds during Chinese strong aroma-type Baijiu fermentation[J]. LWT, 2021, 137: 110442.
- [51] ZOU W, YE G B, ZHANG K Z. Diversity, function, and application of Clostridium in Chinese strong flavor Baijiu ecosystem: a review[J]. Journal of food science, 2018, 83(5): 1193–1199.
- [52] PU S C, YAN S B. Fungal diversity profiles in pit mud samples from Chinese strong-flavour liquor pit[J]. Foods, 2022, 11(22): 3544.
- [53] JIAO K R, DENG B, SONG P, et al. Difference analysis of the composition of iron (Hydr)oxides and dissolved organic matter in pit mud of different pit ages in Luzhou Laojiao and its implications for the ripening process of pit mud[J]. Foods, 2023, 12(21): 3962.
- [54] GUAN T W, LIN Y J, CHEN K B, et al. Physicochemical factors affecting microbiota dynamics during traditional solid-state fermentation of Chinese strong-flavor Baijiu[J]. Frontiers in microbiology, 2020, 11: 2090.

[责任编辑: 黄 敏]