

# 后火低温大曲曲皮和曲心细菌多样性及基因功能预测

刘忠军<sup>1,2,3</sup>, 冯廷闯<sup>1,2</sup>, 刘继明<sup>2,3</sup>, 钟吉安<sup>2,3</sup>, 蔡文超<sup>1,2</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. 襄阳市酿酒生物技术与应用企校联合创新中心, 湖北 襄阳 441053; 3. 清香型白酒生物技术襄阳市重点实验室, 湖北 襄阳 441053)

**摘要:** 采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对后火低温大曲曲皮和曲心的细菌多样性进行解析, 并采用 PICRUSt 对其基因功能进行预测。 $\alpha$  多样性分析发现, 曲皮中细菌类群丰度和物种多样性均高于曲心。在属水平上, 链霉菌属 (*Streptomyces*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、泛菌属 (*Pantoea*)、欧氏杆菌属 (*Erwinia*) 和肠杆菌属 (*Enterobacter*) 的含量在曲皮中极显著偏高 ( $P < 0.001$ ); 糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*) 和高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*) 含量在曲心中显著偏高 ( $P < 0.05$ ); 芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 在曲心中极显著偏高 ( $P < 0.001$ )。经  $\beta$  多样性发现, 曲皮和曲心样品间差异极显著 ( $P < 0.001$ )。在分类操作单元 (operational taxonomic units, OTU) 水平上, 曲皮和曲心中共有大量的核心 OTU 细菌类群, 同时存在部分独特的细菌类群, 但其含量较少。经 LEfSe (linear discriminant analysis effect size) 分析发现导致差异的菌群主要为 *Streptomyces* 和 *Bacillus* 等优势细菌属。PICRUSt 分析发现氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢以及转录在后火大曲细菌类群中有较高表达, 曲皮中细菌在细胞骨架的表达上非常显著偏高 ( $P < 0.01$ )。由此可见, 曲皮和曲心中细菌群落结构差异显著, 后火低温大曲中具有更强的氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢以及转录功能的细菌类群。

**关键词:** 后火低温大曲; 曲皮; 曲心; 高通量测序技术; 细菌多样性

## Bacterial Diversity and Gene Functional Prediction in Different Parts of Houhuo Low-temperature Daqu

LIU Zhong-jun<sup>1,2,3</sup>, FENG Ting-chuang<sup>1,2</sup>, LIU Ji-ming<sup>2,3</sup>,  
ZHONG Ji-an<sup>2,3</sup>, CAI Wen-chao<sup>1,2</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, Hubei, China; 2. Xiangyang Liquor Brewing Biotechnology and Application Enterprise-University Joint Innovation Center, Xiangyang 441053, Hubei, China; 3. Xiangyang Fen-flavor Baijiu Biotechnology Key Laboratory, Xiangyang 441053, Hubei, China)

**Abstract:** In this study, Illumina MiSeq high-throughput sequencing technique was used to analyze the bacterial diversity in Daqu skin and Daqu heart of Houhuo low-temperature Daqu. PICRUSt was applied to predict the gene functions.  $\alpha$  diversity analysis found that both bacterial taxa abundance and diversity of species in Daqu skin were higher than in Daqu heart. At the genus level, *Streptomyces*, *Lactobacillus*, *Pantoea*, *Erwinia*, and *Enterobacter* were extremely abundant in Daqu skin ( $P < 0.001$ ), while *Saccharopolyspora* and *Thermoactinomyces* were significantly abundant in Daqu heart ( $P < 0.05$ ). *Bacillus* was extremely abundant in Daqu heart ( $P < 0.001$ ).  $\beta$  diversity analysis found that there were significant differences between Daqu skin and Daqu heart samples ( $P < 0.001$ ). At the level of operational taxonomic units (OTU), there were a large number of core OTU bacterial taxa in the Daqu skin and Daqu heart, while some unique bacterial taxa existed with less content. After linear discriminative analysis effect size (LEfSe) analysis, the flora that resulted in the difference

基金项目: 襄阳市市级重大科技计划项目 (2020AAS002141); 湖北文理学院教师科研能力培育基金“科技创新团队” (2020kypyt009)

作者简介: 刘忠军 (1977—), 男 (汉), 工程师, 本科, 研究方向: 食品生物技术。

\* 通信作者: 郭壮 (1984—), 男 (汉), 副教授, 博士, 研究方向: 食品生物技术。

was mainly the dominant bacterial genera such as *Streptomyces* and *Bacillus*. PICRUSt identified that amino acid transport and metabolism, carbohydrate transport and metabolism, and transcription were highly expressed among bacterial taxa in Houhuo low-temperature Daqu, and bacteria in Daqu skin showed extremely high expression of in the cytoskeleton ( $P < 0.01$ ). In conclusion, the bacterial community structures in the Daqu skin and Daqu heart were significantly different, and the bacterial taxa in the Houhuo low-temperature Daqu had strong functions of amino acid transport and metabolism, and carbohydrate transport and metabolism, and transcription.

**Key words:** Houhuo low-temperature Daqu; Daqu skin; Daqu heart; high-throughput sequencing technology; bacterial diversity

引文格式:

刘忠军,冯廷闯,刘继明,等.后火低温大曲曲皮和曲心细菌多样性及基因功能预测[J].食品研究与开发,2022,43(21):176-183.

LIU Zhongjun, FENG Tingchuang, LIU Jiming, et al. Bacterial Diversity and Gene Functional Prediction in Different Parts of Houhuo Low-temperature Daqu[J]. Food Research and Development, 2022, 43(21): 176-183.

清香型白酒又称汾香型白酒,是我国白酒的主要香型之一,具有清香纯正、醇甜柔和、自然谐调和余味爽净的特点,以山西汾酒、湖北黄鹤楼和霸王醉为代表,属大曲酒类<sup>[1-2]</sup>。清香型白酒酿造使用低温大曲,酒曲具有糖化、发酵和生香等作用,是酿酒必不可少的辅料之一<sup>[3]</sup>。低温大曲微生物类群构成直接影响了白酒的风味品质,因而对低温大曲微生物多样性进行解析是极为必要的。张双燕等<sup>[4]</sup>对北京地区低温大曲中微生物多样性进行分析发现,乳杆菌属(*Lactobacillus*)、片球菌属(*Pediococcus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、醋杆菌属(*Acetobacter*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)为细菌优势类群,假丝酵母属(*Candida*)、曲霉属(*Aspergillus*)、毛霉属(*Mucor*)和维克汉姆酵母属(*Wickerhamomyces*)为真菌优势类群。周森等<sup>[5]</sup>对5个不同地区的11种清香型低温大曲微生物多样性进行研究发现,*Bacillus*、放线菌(*Actinomyces*)、泛菌属(*Pantoea*)和葡萄球菌(*Staphylococcus*)为其优势细菌类群。

低温大曲可分为红心曲、清茬曲和后火曲<sup>[6]</sup>,其中清茬曲断面一般为灰黄色且无杂色,红心曲断面中间有一道红,而后火曲断面一般会出现两道眉<sup>[7]</sup>。叶光斌等<sup>[8]</sup>采用指纹图谱技术对汾酒3种低温大曲的细菌群落结构进行比较亦发现,不同类型低温大曲的细菌群落结构存在一定的差异。后火曲的制作工艺具有重排列、重翻曲以及重热晾的特点,与清茬曲和红心曲的工艺流程基本一致,主要区别为对醅曲的温度要求不同,清茬曲中温大晾,后火曲大热大晾,而红心曲多热

少晾<sup>[9]</sup>。有研究表明3种低温大曲中后火曲的发酵率和产酯量最高<sup>[10]</sup>。目前关于后火低温大曲中微生物群落的报道较少,关于后火低温大曲曲皮与曲心中微生物多样性的研究亦鲜见报道。

高通量测序技术具有成本低以及能快速实现多个样本间的平行比较的特点,近年来在发酵乳制品<sup>[11]</sup>、发酵肉制品<sup>[12]</sup>、发酵豆制品<sup>[13]</sup>以及发酵蔬菜制品<sup>[14-15]</sup>中广泛应用,全面解析了其富含的微生物类群<sup>[16]</sup>。本研究以后火低温大曲曲皮和曲心为试验对象,通过高通量测序技术研究解析了其细菌多样性,同时使用PICRUSt (phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states)软件对其细菌类群的基因功能进行预测,以期为襄阳地区清香型白酒酿造微生物菌株的收集、保藏和筛选提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

后火低温大曲:采集自某酒厂曲库。

DNA基因组提取试剂盒:德国QIAGEN公司;10×聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)缓冲液、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)酶、脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphate, dNTPs):北京全式金生物技术有限公司;引物27F、1495R、M13:武汉天一辉远生物科技有限公司。

800Y粉碎机:永康市铂欧五金制品有限公司;Illumina 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;Veriti 96孔梯度PCR

仪:美国 AB 公司;ND-2000C 微量紫外分光光度计:美国 Nano Drop 公司;CR21N 高速冷冻离心机:日本 HITACHI 公司;FluorChem FC3 型化学发光凝胶成像系统:美国 Protein Simple 公司。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 样品采集

2020 年 12 月于某酒厂曲库中选取库存 30 d~35 d 的低温大曲,使用瓦刀将其从中部位置砍断后,根据截面情况对其进行分类,典型的后火低温大曲截面如图 1 所示。

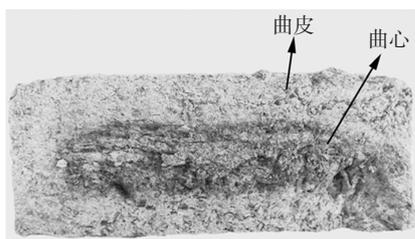


图 1 后火大曲

Fig.1 Houhuo Daqu

共选择 10 个典型的后火大曲,将图 1 中浅色区域定义为曲皮,使用经酒精擦拭后的刀片将其切下并打成粉,编号为 QP1~QP10,将图 1 中深色区域定义为曲心,亦使用经酒精擦拭后的刀片将其切下并打成粉,编号为 QX1~QX10。其中相同数字编号的曲皮和曲心样品来自于同一块后火低温大曲。所采集的后火低温大曲以小麦为主要原料,经润粮、粉碎、加水拌合后加入曲母,混合均匀后填充到模具(37 cm×18 cm×7 cm)中,然后入室发酵,酒曲从入库到成熟经历上霉(35℃~37℃)、晾霉(24℃~28℃)、潮火(40℃~47℃)、大火(32℃~46℃)以及后火期(30℃~38℃)5 个步骤,翻曲 9 次~13 次,周期约为 24 d~26 d。

### 1.2.2 宏基因组 DNA 的提取、16S rRNA 序列扩增及 Illumina 高通量测序

按照试剂盒中的方法分别对 20 份样品进行宏基因组 DNA 提取,参照文献[17]中的方法对细菌 16S rRNA 序列 V<sub>4</sub>-V<sub>5</sub> 进行扩增,合格的 PCR 产物进行清洁后寄送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序。

### 1.2.3 生物信息学分析

参照 Zhang 等<sup>[18]</sup>和 Wang 等<sup>[19]</sup>的方法对序列进行拼接和质控。使用 QIIME(v1.9.1)分析平台对质控后的序列进行生物信息学分析。依次将序列利用 PyNAST 软件对齐,构建分类操作单元(operational taxonomic units, OTU),比对代表性序列。本研究对同一测序深度

下的  $\alpha$  多样性指标进行分析,同时基于 UniFrac 距离的主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)和 UPGMA 聚类进行  $\beta$  多样性解析。

若某一 OTU 在所有后火大曲样品中均存在,则该 OTU 定义为核心 OTU;将平均相对含量大于 1.0% 的门和属定义为优势门和属;若某一 OTU 在曲皮中均存在,而在曲心中均不存在,则将该 OTU 定义为曲皮中的特有 OTU,反之亦然<sup>[20]</sup>。

### 1.2.4 PICRUSt 基因功能预测

使用 PICRUSt 软件对后火大曲曲皮和曲心中细菌的基因功能进行预测,并参照蛋白质直系同源簇数据库(clusters of orthologous groups of proteins, COG)进行注释。

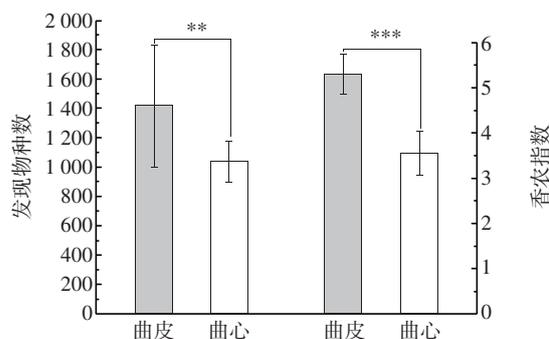
### 1.2.5 多元统计

使用 Past3 软件中威尔科克森检验(Wilcoxon test)和多元方差分析(multivariate analysis of variance, MANOVA)对曲皮和曲心样品的差异性进行分析,对关键细菌类群使用 LEfSe(linear discriminant analysis effect size)分析进行甄别。使用 Excel 2016、R 软件(v4.0.3)、Origin 2017 以及在线网页(<https://www.omicstudio.cn/tool/24>)进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\alpha$ 多样性分析

本研究经 MiSeq 高通量测序发现,20 个样品共得到 989 900 条序列,每个样品平均测序深度为 49 495 条。在构建系统发育树的基础上,对曲皮和曲心细菌类群的  $\alpha$  多样性进行计算,结果如图 2 所示。



\*\* 表示差异非常显著,  $P < 0.01$ ; \*\*\* 表示差异极显著,  $P < 0.001$ 。

图 2 曲皮和曲心  $\alpha$  多样性指标比较分析

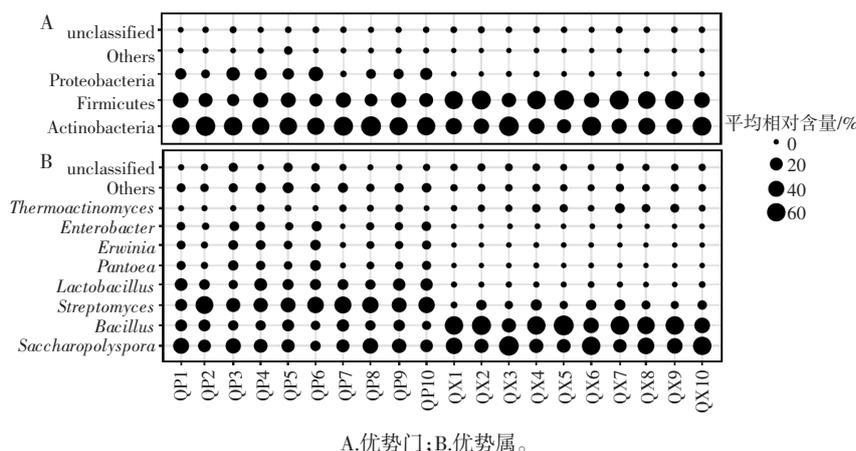
Fig.2 Comparative analysis of  $\alpha$  diversity index in different parts of Houhuo Daqu

由图 2 可知,当测序深度为 40 010 条序列时,曲皮和曲心细菌类群的发现物种数分别为  $1416 \pm 419$  和

1 036±141(平均值±标准差),香农指数的值分别为 5.30±0.45 和 3.55±0.48。使用 Wilcoxon 检验发现两者的发现物种数差异非常显著( $P<0.01$ ),香农指数差异极显著( $P<0.001$ )。由此可见,低温后火大曲曲皮中细菌类群丰度和物种多样性均高于曲心。

## 2.2 基于门和属水平的细菌群落结构分析

纳入本研究的曲皮中的细菌类群可鉴定为 34 个门和 317 个属,而曲心中细菌类群仅鉴定为 9 个门和 48 个属,低温大曲不同部位优势门和属相对含量比较分析如图 3 所示。



A.优势门;B.优势属。

图3 曲皮和曲心中优势门和属相对含量比较分析

Fig.3 Comparative analysis of dominant phyla and genera in different parts of Houhuo Daqu

由图 3A 可知,曲皮中的优势细菌门为 Actinobacteria、Firmicutes 和 Proteobacteria,平均相对含量分别为 58.61%、27.54%和 12.94%;曲心中的优势细菌门为 Actinobacteria 和 Firmicutes,平均相对含量分别为 46.85%和 52.47%。经 Wilcoxon 检验发现,Proteobacteria 在曲皮中的含量极显著偏高( $P<0.001$ ),其在曲心中的平均相对含量仅为 0.079%,Actinobacteria 在曲皮的含量显著偏高( $P<0.05$ ),而 Firmicutes 在曲心中的含量极显著偏高( $P<0.001$ )。

由图 3B 可知,曲皮中的优势细菌属分别为隶属于 Actinobacteria 的链霉菌属 (*Streptomyces*, 34.07%)、糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*, 23.45%) 和 *Staphylococcus* (1.14%),隶属于 Firmicutes 的 *Lactobacillus* (12.18%)、*Bacillus* (10.60%) 和 *Weissella* (1.23%),隶属于 Proteobacteria 的 *Pantoea* (4.12%)、欧氏杆菌属 (*Erwinia*, 3.96%) 和肠杆菌属 (*Enterobacter*, 3.67%)。曲心中的优势细菌属分别为隶属于 Actinobacteria 的 *Saccharopolyspora* (38.79%) 和 *Streptomyces* (5.68%),隶属于 Firmicutes 的 *Bacillus* (49.58%) 和 *Thermoactinomyces* (2.36%)。经 Wilcoxon 检验发现,*Streptomyces*、*Lactobacillus*、*Pantoea*、*Erwinia* 和 *Enterobacter* 含量在曲皮中极显著偏高( $P<0.001$ ),平均相对含量分别为 34.07%、12.18%、4.12%、3.96% 和 3.67%;*Saccharopolyspora* 和 *Thermoactinomyces* 含量在曲心中显著偏高( $P<0.05$ ),相对含量分别为 38.79% 和 2.36%;*Bacillus* 在曲心中极

显著偏高( $P<0.001$ ),相对含量为 49.58%。由此可见,低温后火大曲曲皮和曲心细菌群落结构存在一定差异,而造成这种差异的原因可能在于制曲过程中两个部位所接触的温度、水分以及空气环境有所不同。

## 2.3 $\beta$ 多样性分析

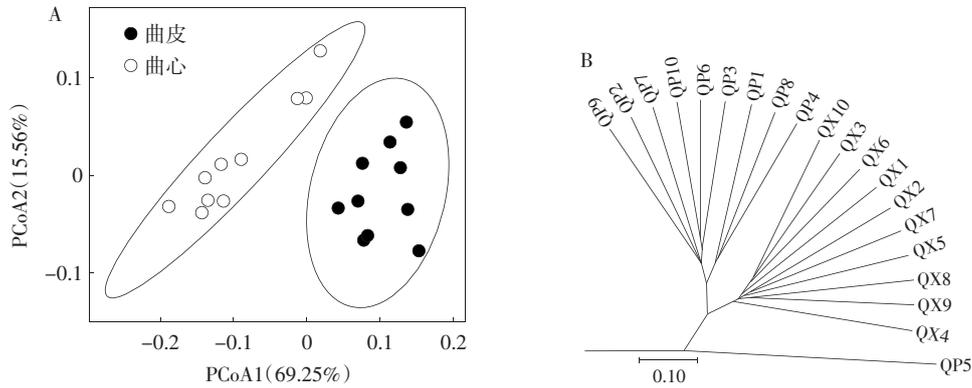
进一步采用基于 UniFrac 距离的 PCoA 和 UPGMA 聚类对曲皮和曲心细菌类群的  $\beta$  多样性进行分析,结果如图 4 所示。

由图 4A 和图 4B 可知,曲皮和曲心样品均呈现明显的分离趋势,经 MANOVA 分析发现,曲皮和曲心样品间差异极显著( $P<0.001$ ),这说明后火低温大曲曲皮和曲心样品间细菌类群存在显著差异。由图 4B 可知,曲皮 QP5 样品单独一个分支,其余 9 个样品形成一个聚类,曲心 10 个样品形成一个聚类,说明 QP5 细菌类群与其他样品存在较大差异。

## 2.4 曲皮和曲心 OTU 水平的细菌群落结构分析

本研究经过 100% 和 97% 相似度进行 OTU 划分后共得到 23 124 个 OTU,研究发现核心 OTU 有 95 个,平均相对含量仅为 0.41%。其中平均相对含量 >1.0% 的 OTU 如图 5 所示。

由图 5 可知,平均相对含量 >1.0% 的核心 OTU 有 7 个,包含的序列数占总序列数的 67.89%。由此可见,曲皮和曲心中共有大量的核心 OTU 细菌类群。其相对含量分别为 OTU13549 (28.34%)、OTU12521 (16.64%)、OTU20433 (6.46%)、OTU16513 (7.82%)、OTU21812



A.主坐标分析;B.聚类分析。

图4 基于主坐标分析和聚类分析的 $\beta$ 多样性分析

Fig.4 Beta diversity analysis based on principal coordinate analysis and cluster analysis

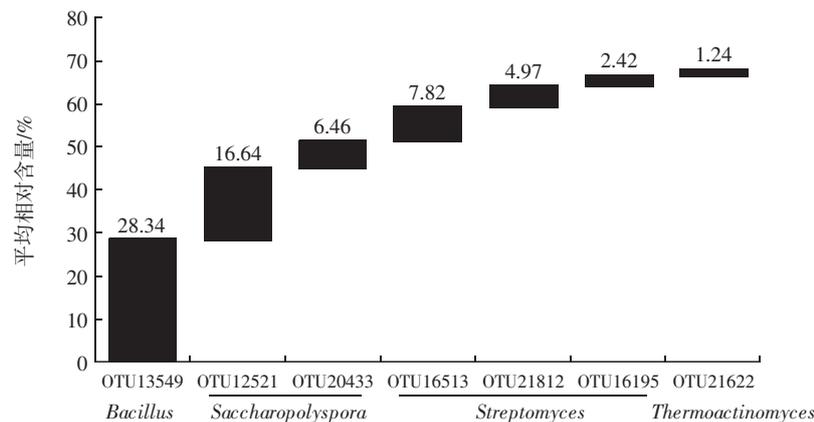


图5 核心 OTU 相对含量的瀑布图

Fig.5 Waterfall plot of relative content of core OTU

(4.97%)、OTU16195(2.42%)和 OTU21622(1.24%)，其中 OTU13549 隶属于 *Bacillus*，OTU12521 和 OTU20433 隶属于 *Saccharopolyspora*，OTU16513、OTU21812 以及 OTU16195 隶属于 *Streptomyces*，OTU21622 隶属于 *Thermoactinomyces*。进一步说明了 *Bacillus*、*Saccharopolyspora*、*Streptomyces* 和 *Thermoactinomyces* 为后火低温大曲中的优势属。

本研究发现后火低温大曲曲皮和曲心中均存在特有 OTU，结果如表 1 所示。

表 1 曲皮和曲心特有 OTU 的相对含量

Table 1 Relative abundance of unique OTU in different parts of Houhuo Daqu

样品	鉴定结果	特有 OTU 数量	累计平均相对含量/%	合计/%
曲皮	<i>Kocuria</i>	1	0.04	0.37
	<i>Lactobacillus</i>	2	0.09	
	<i>Paenibacillus</i>	1	0.03	

续表 1 曲皮和曲心特有 OTU 的相对含量

Continue table 1 Relative abundance of unique OTU in different parts of Houhuo Daqu

样品	鉴定结果	特有 OTU 数量	累计平均相对含量/%	合计/%
曲皮	<i>Sphingomonas</i>	1	0.01	
	<i>Staphylococcus</i>	1	0.02	
	<i>Streptomyces</i>	2	0.02	
	<i>Weissella</i>	1	0.01	
	unclassified Firmicutes	1	0.04	
	unclassified Enterobacteriaceae	3	0.11	
曲心	<i>Bacillus</i>	2	0.02	0.07
	<i>Thermoactinomyces</i>	1	0.01	
	unclassified Firmicutes	1	0.02	
	unclassified Bacillaceae	2	0.02	
	unclassified Actinopolysporaceae	1	<0.01	

由表 1 可知，曲皮中存在 13 个特有 OTU，包含序列数占总序列数的比例为 0.37%，其中各有 2 个鉴定

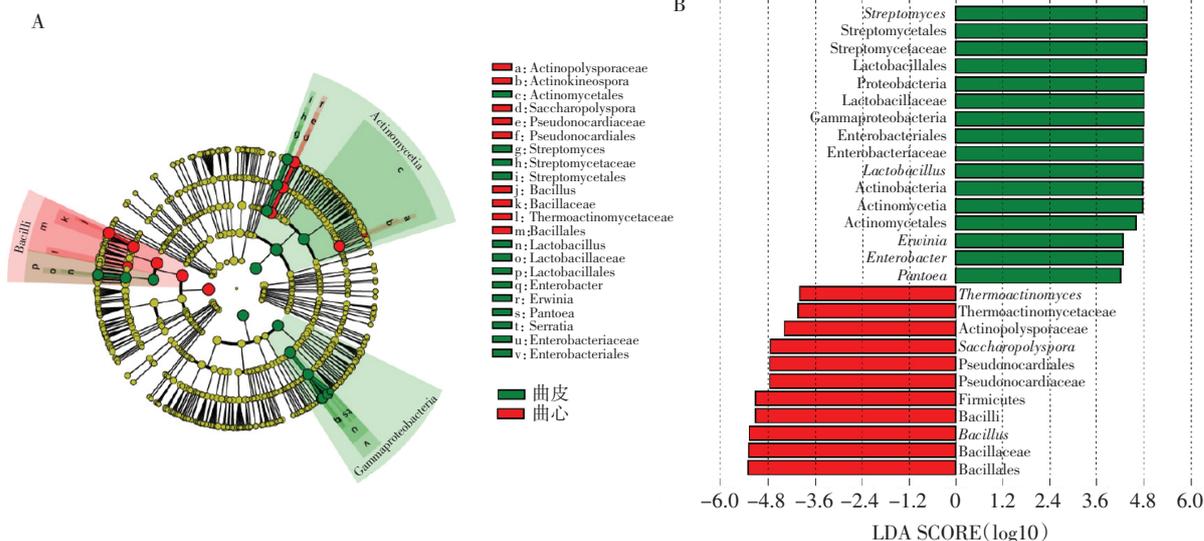
为 *Lactobacillus* 和 *Streptomyces*, 各有 1 个鉴定为 *Kocuria*、*Paenibacillus*、*Sphingomonas*、*Staphylococcus* 和 *Weissella*, 而其余 4 个 OTU 无法鉴定到属水平。曲心中存在 7 个特有 OTU, 包含序列数占总序列数的比例仅为 0.07%, 其中 2 个鉴定为 *Bacillus*, 1 个鉴定为 *Thermoactinomyces*, 其余 4 个 OTU 亦无法鉴定到属水平。由此可见, 后火低温大曲曲皮和曲心均存在部分独特的细菌

类群, 但其含量较少。

### 2.5 关键细菌类群甄别

LEfSe 分析常用于分类学水平物种特征及差异的认识与揭示<sup>[21]</sup>。为进一步揭示后火低温大曲曲皮和曲心中菌群的结构差异, 本研究使用 LEfSe 分析进行了甄别, 结果如图 6 所示。

由图 6 可知, 检测到 27 个 (LDA 评分在 4 以上)



A. 进化分支图, 差异以最丰富纲表示; B. LDA 分布直方图。

图 6 细菌类群的 LEfSe 分析

Fig.6 LEfSe analysis of bacterial taxa

在曲皮和曲心样品中差异显著 ( $P < 0.05$ ) 的分类单元。由图 6A 可知, 曲皮中特定细菌的系统分类地位主要为隶属于放线菌纲 (Actinobacteria) 和变形菌纲 (Gammaproteobacteria), 曲心中主要隶属于芽孢杆菌纲 (Bacilli)。由图 6B 可知, 有 8 个丰度差异显著的菌属, 其中曲皮中关键细菌类别明显多于曲心样品。曲皮中差异显著的菌属有 5 个, 分别为 *Streptomyces*、*Lactobacillus*、*Er-*

*winia*、*Enterobacter* 和 *Pantoea*。曲心中有 3 个, 分别为 *Thermoactinomyces*、*Saccharopolyspora* 和 *Bacillus*。由此可见, 导致后火低温大曲曲皮和曲心细菌群落结构存在差异的主要为 *Streptomyces* 和 *Bacillus* 等优势细菌属。

### 2.6 基于 PICRUSt 功能预测分析

纳入本研究的 20 个样品共注释到隶属于 23 个功能大类的 4412 个 COG, 结果如图 7 所示。

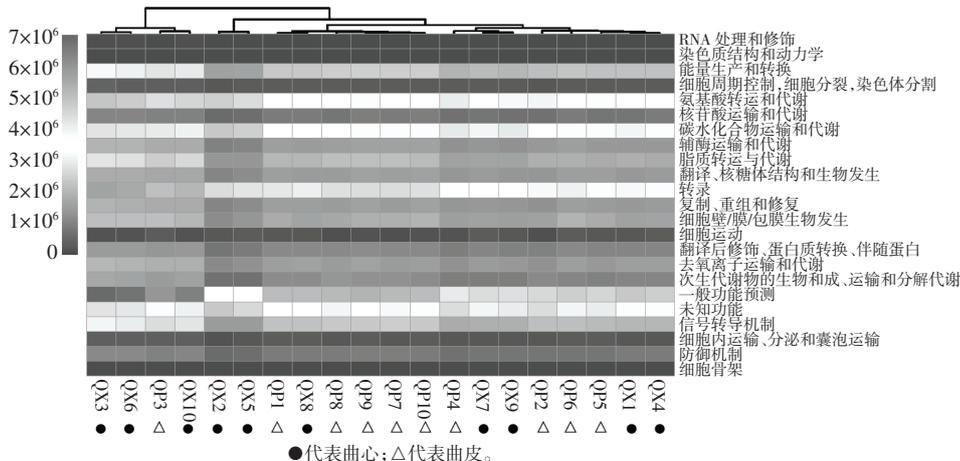


图 7 基因功能预测热图

Fig.7 The heatmap of gene functional prediction

由图7可知,氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢以及转录在后火低温大曲中细菌类群中有较高表达,而在RNA的处理与修饰、染色质结构与动力学及细胞骨架的表达较低。*Weissella*有一定的耐酸性,能分解葡萄糖产生乳酸,有利于乳酸乙酯的形成<sup>[21]</sup>。*Bacillus*可产生蛋白酶、乳酸以及淀粉酶等,可有效降解大分子蛋白为肽类和氨基酸,从而促进人体消化吸收<sup>[23]</sup>。*Saccharopolyspora*能产生酶类、维生素降解促进因子<sup>[24]</sup>,*Thermoactinomyces*可产蛋白酶和纤维素酶<sup>[25]</sup>,而这些因素可能是造成后火低温大曲中氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢等功能较强的原因。经Wilcoxon检验发现,曲皮中细菌在细胞骨架的表达上非常显著偏高( $P<0.01$ )。

### 3 结论

后火低温大曲曲皮和曲心中细菌类群差异显著,曲皮中细菌丰富度及多样性均显著偏高,曲皮中以*Streptomyces*、*Lactobacillus*、*Saccharopolyspora*和*Bacillus*等为主,曲心中以*Bacillus*和*Saccharopolyspora*为主。此外,PICRUSt功能预测发现后火低温大曲具有较强的氨基酸转运和代谢、碳水化合物运输和代谢以及转录等功能,曲皮中的细菌类群在细胞骨架的表达上非常显著偏高( $P<0.01$ )。

### 参考文献:

- [1] 赵向东,翟旭龙,相里加雄,等.谈谈清香型白酒的风格[J].酿酒科技,2016,37(9):135-136.  
ZHAO Xiangdong, ZHAI Xulong, XIANGLI Jiaxiong, et al. Discussion on the style of Qingxiang Baijiu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2016, 37(9): 135-136.
- [2] 杨玲,王琪,郭旭凯,等.高粱单宁含量对清香型大曲白酒酒醅中细菌种群的影响[J].中国酿造,2020,39(7):83-88.  
YANG Ling, WANG Qi, GUO Xukai, et al. Effect of tannin content of *Sorghum* on bacterial community in fermented grains of Fen-flavor Daqu Baiju[J]. China Brewing, 2020, 39(7): 83-88.
- [3] 成林,成坚,王琴,等.酒曲微生物菌群对酿造酒产品风味影响的研究进展[J].中国酿造,2020,39(10):1-4.  
CHENG Lin, CHENG Jian, WANG Qin, et al. Research progress on the effect of Jiuqu microbial flora on the flavor of brewed alcoholic drink[J]. China Brewing, 2020, 39(10): 1-4.
- [4] 张双燕,廖永红,纪南,等.基于高通量测序技术分析北京清香型大曲微生物多样性[J].中国酿造,2016,35(11):49-53.  
ZHANG Shuangyan, LIAO Yonghong, JI Nan, et al. Analysis on microbial diversity of Beijing light-flavor Daqu by high-throughput sequencing[J]. China Brewing, 2016, 35(11): 49-53.
- [5] 周森,胡佳音,崔洋,等.应用高通量测序技术分析清香型大曲微生物多样性[J].中国食品学报,2019,19(6):244-250.  
ZHOU Sen, HU Jiayin, CUI Yang, et al. Microbial diversity analysis of flight-flavor Daqu using high-throughput sequencing[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(6): 244-250.
- [6] 赵良贵,程丽君,王凤仙,等.汾酒大曲后火曲定量分析方法的研究[J].食品与发酵工业,2009,35(5):145-148.  
ZHAO Gengui, CHENG Lijun, WANG Fengxian, et al. Determination of houhuoqu in Fen Daqu admixture by amylase isozyme electrophoresis[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(5): 145-148.
- [7] 熊子书.中国三大香型白酒的研究(三)清香·杏花村篇[J].酿酒科技,2005(7):17-21.  
XIONG Zishu. Research on three flavor type liquors in China(III) Fen-flavor liquor-Xinghuacun[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2005(7): 17-21.
- [8] 叶光斌,王彩虹,王毅,等.清香型大曲细菌群落结构的比较分析[J].食品与机械,2015,31(3):11-15,73.  
YE Guangbin, WANG Caihong, WANG Yi, et al. Comparative analysis of bacterial community structure of Chinese Fen-Daques[J]. Food & Machinery, 2015, 31(3): 11-15, 73.
- [9] 赵景龙.浅谈清香型酒三种大曲的差异性[J].酿酒,2000,27(5):43-44.  
ZHAO Jinglong. On the difference of three kinds of Daqu in Qingxiang liquor[J]. Liquor Making, 2000, 27(5): 43-44.
- [10] 刘勇.清茬、红心、后火三种大曲贮存期间的酶活性变化及合理使用[J].酿酒,1993,20(3):13-14.  
LIU Yong. Changes of enzyme activity and rational use of three Daqu during storage[J]. Liquor Making, 1993, 20(3): 13-14.
- [11] 杜瑞,王柏辉,罗玉龙,等.应用Illumina MiSeq测序技术比较传统发酵乳、肉食品中细菌多样性[J].中国食品学报,2021,21(2):269-277.  
DU Rui, WANG Bohui, LUO Yulong, et al. Comparison of bacterial diversity in traditional fermented dairy and meat products by Illumina MiSeq sequencing[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 269-277.
- [12] 席啦,凌霞,刘长玲,等.张家界市酸鱼细菌类群解析及其功能预测[J].中国酿造,2021,40(2):92-96.  
XI La, LING Xia, LIU Changling, et al. Bacterial group analysis and functional prediction of sour fish in Zhangjiajie[J]. China Brewing, 2021, 40(2): 92-96.
- [13] WAN H F, LIU T, SU C W, et al. Evaluation of bacterial and fungal communities during the fermentation of Baixi sufu, a traditional spicy fermented bean curd[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(4): 1448-1457.
- [14] 金华,吕嘉桢,罗潇.传统自然发酵蔬菜的显微表征及其细菌群落多样性分析[J].中国调味品,2021,46(3):11-17.  
JIN Hua, LV Jialin, LUO Xiao. Analysis of microscopic characterization and diversity of bacterial community in traditional natural fermented vegetables[J]. China Condiment, 2021, 46(3): 11-17.

- [15] 向凡舒, 龙旭霞, 赵楠, 等. 原料对盐渍泡菜细菌类群及基因功能的影响[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(2): 191-196.  
XIANG Fanshu, LONG Xuxia, ZHAO Nan, et al. Effect of raw materials on bacterial flora and gene function in saline pickles[J]. Food Research and Development, 2021, 42(2): 191-196.
- [16] DERAKHSHANI H, TUN H M, KHAFIPOUR E. An extended single-index multiplexed 16S rRNA sequencing for microbial community analysis on MiSeq illumina platforms[J]. Journal of Basic Microbiology, 2016, 56(3): 321-326.
- [17] 王玉荣, 杨成聪, 葛东颖, 等. 扩增区域对鲜广椒细菌 MiSeq 测序的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 134-140.  
WANG Yurong, YANG Chengcong, GE Dongying, et al. Influence of different amplified regions on results of bacterial diversity in Zhaguangjiao, a Chinese traditional fermented chili product, by MiSeq sequencing[J]. Food Science, 2019, 40(10): 134-140.
- [18] ZHANG W B, LUO Q Q, ZHU Y, et al. Microbial diversity in two traditional bacterial Douchi from Gansu Province in northwest China using Illumina sequencing[J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0194876.
- [19] WANG Y R, XIANG F S, ZHANG Z D, et al. High-throughput sequencing-based analysis of fungal diversity and taste quality evaluation of Douchi, a traditional fermented food[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(12): 6612-6620.
- [20] ZHANG J C, GUO Z, XUE Z S, et al. A Phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities[J]. The ISME Journal, 2015, 9(9): 1979-1990.
- [21] WANG Y R, HOU Q, GUO Z, et al. Bacterial community structure in acidic gruel from different regions and its influence on quality[J]. Food Research International, 2021, 141: 110130.
- [22] 李中华, 段雄波, 李金钟. 魏斯菌属细菌的分类与鉴定新进展[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(8): 721-723.  
LI Zhonghua, DUAN Xiongbo, LI Jinzhong. New progress in classification and identification of *Weissella*[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2006, 27(8): 721-723.
- [23] 罗俊成. 浓香型白酒糟醅中芽孢杆菌属细菌的分类鉴定和 16S rDNA 序列系统发育分析[D]. 成都: 四川大学, 2007.  
LUO Juncheng. Identification of *Bacillus* isolated from Chinese Luzhou-flavor fermentation grain and phylogenetic analysis of complete sequence of 16S rDNA[D]. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [24] 吴树坤, 谢军, 卫春会, 等. 四川不同地区浓香型大曲微生物群落结构比较[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 144-152.  
WU Shukun, XIE Jun, WEI Chunhui, et al. Comparison of microbial community structure of starter cultures (daqu) for Luzhou-flavor liquor in different regions of Sichuan[J]. Food Science, 2019, 40(14): 144-152.
- [25] 程古月. 高温放线菌 CDF 芽胞表面蛋白酶及胞外丝氨酸蛋白酶的 性质和功能研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2010.  
CHENG Guyue. Characterization of a spore-associated protease and an extracellular serine protease from *Thermoactinomyces* sp. CDF[D]. Wuhan: Wuhan University, 2010.

加工编辑:冯娜

收稿日期:2021-08-16