

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2025.06.021

# 新建曲房春冬两季中高温大曲微生物群落结构的差异性

余苗,马叶胜,刘晓静,王冕,曹润洁,何宏魁,李静心,李安军  
(安徽瑞思威尔科技有限公司,安徽 亳州 236800)

**摘要:**大曲的培曲过程受季节的影响,不同季节的环境条件差异对大曲的质量存在一定影响。通过对新建曲房冬季和春季中高温大曲理化指标和微生物群落结构进行解析,发现新建曲房冬季和春季中高温大曲水分、酸度和发酵力存在显著差异( $P<0.05$ ),冬季和春季中高温大曲细菌群均以乳杆菌和克罗彭斯特菌属为主要优势菌群,真菌群均以复膜孢酵母属、伊萨酵母属和嗜热真菌属为主要优势菌群,冬季和春季大曲微生物群落组成较一致,但春季曲微生物群落分布更均衡。中高温大曲冗余分析结果表明,春季曲和冬季曲可以被很好地区分,且一半以上的优势微生物与春季曲、酸度、糖化力和发酵力呈正相关。

**关键词:**中高温大曲;理化指标;微生物群落;季节;冗余分析

## Differences in Microbial Community Structure of Middle-high Temperature Daqu in New Rooms of Daqu between Spring and Winter

YU Miao, MA Yesheng, LIU Xiaojing, WANG Mian, CAO Runjie, HE Hongkui, LI Jingxin, LI Anjun  
(Anhui Risewell Technology Co., Ltd., Bozhou 236800, Anhui, China)

**Abstract:** The production of Daqu is influenced by seasons, and the quality of Daqu is influenced by the different weather and temperatures in different seasons. The physical and chemical indicators and microbial community structure of middle-high temperature Daqu in new rooms of Daqu were compared between winter and spring. The results showed that the moisture, acidity, and fermentation capacity of middle-high Temperature Daqu in new rooms of Daqu differed between winter and spring ( $P<0.05$ ). *Lactobacillus* and *Kroppenstedtia* were the main dominant bacteria in both winter and spring, and *Saccharomycopsis*, *Issatchenkia*, and *Thermascus* were the dominant fungi. The microbial community composition of Daqu was consistent between winter and spring, while it demonstrated more balanced distribution in spring. The redundancy analysis results of middle-high temperature Daqu indicated that spring and winter Daqu were well distinguished, and more than 50% of the dominant microorganisms were positively correlated with spring Daqu, acidity, saccharification power, and fermentation capacity.

**Key words:** middle-high temperature Daqu; physical and chemical indicators; microbial community; season; redundancy analysis

引文格式:

余苗,马叶胜,刘晓静,等.新建曲房春冬两季中高温大曲微生物群落结构的差异性[J].食品研究与开发,2025,46(6):161-168.

YU Miao, MA Yesheng, LIU Xiaojing, et al. Differences in Microbial Community Structure of Middle-high Temperature Daqu in New Rooms of Daqu between Spring and Winter[J]. Food Research and Development, 2025, 46(6): 161-168.

大曲是以小麦为主要原料采用生料发酵方式制成的含有多菌类的曲块<sup>[1]</sup>。大曲是曲酒生产过程中的糖化和发酵剂,酿酒行业有“曲为酒之骨”、“曲定酒型”等

说法,因此,酒曲在酿酒过程中扮演着重要的角色<sup>[2]</sup>。成品大曲质量受到气候、原料、工艺、制曲环境等因素的影响<sup>[3]</sup>,而成品大曲质量的优劣会对白酒酿造中的

作者简介:余苗(1996—),女(汉),硕士研究生,研究方向:发酵工程。

出酒率、酒质等造成直接影响<sup>[4]</sup>。不同季节生产的大曲,其发酵性能往往不同<sup>[5]</sup>,造成差异的主要原因是曲块内在的微生物群落结构的差异。宋瑞滨等<sup>[6]</sup>对不同季节生产浓香型中高温包包曲的理化指标和微生物数量进行了分析和探讨;李尧等<sup>[7]</sup>对不同月份的风型大曲理化指标变化情况进行了分析与讨论;蔡鹏飞等<sup>[8]</sup>分析了春夏两季成品大曲感官、理化指标、酶活力和液态发酵指标的变化;Wang等<sup>[9]</sup>采用高通测序技术,研究了不同季节成品大曲中细菌微生物群落结构的差异;王艳等<sup>[10]</sup>采用16S rRNA及真菌种属鉴定(internal transcribed spacer identification, ITS)高通量测序方法和非靶向代谢组学对秋夏生产的贮存期大曲进行分析。综上,目前关于不同季节大曲中微生物群落结构的差异和香味成分的差异研究具有一定的片面性,对季节影响新建曲房所产大曲的微生物群落结构和香味的认识不足。

基于此,本试验采用高通量测序技术和多元统计方法,对新建曲房春冬两季大曲的理化、微生物群落结构和香味成分进行差异分析,通过系统分析研究春冬两季节对大曲生产的影响,以期今后工厂不同季节制曲的工艺调整提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 材料

本研究所用大曲采自某白酒企业,分别采集同一间新建曲房冬季(11月份)生产的大曲样品A和春季(3月份)生产的大曲样品B作为样品来源。取样按照五点取样法,将取得的大曲混合为一个样品为该曲房的代表样品,共2个大曲样品,编号分别为QA、QB,本研究中的大曲均以纯小麦为原料,小麦经破碎和压制成型后,在曲房经过一系列的自然发酵过程制作而成。

#### 1.1.2 试剂

氢氧化钠、酚酞、磷酸氢二钠、柠檬酸、可溶性淀粉、三氯乙酸、硫酸(均为分析纯):国药集团化学试剂有限公司;碘、碘化钾、氯化钴、重铬酸钾、铬黑T、无水葡萄糖、硫酸铜、亚甲基蓝、酒石酸钾钠、亚铁氰化钾、乳酸、乳酸钠、硼砂(均为分析纯):天津永晟精细化工有限公司;福林试剂、酪氨酸(均为分析纯):北京酷来搏科技有限公司;土壤基因组脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)提取试剂盒:美国Omega Bio-tek公司;DNA凝胶回收试剂盒:美国Axygen公司。

### 1.2 仪器与设备

FA2104N电子天平:上海菁海有限公司;XMTD-8222恒温水浴锅:上海精宏实验设备有限公司;UV9000型紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有

限责任公司;DHG-9053A电热鼓风干燥箱、GHP-9080恒温培养箱:上海一恒科学仪器有限公司;MiSeq测序仪:美国Illumina公司;9700型聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪:美国ABI公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 大曲理化指标的测定

水分含量、酸度、糖化力、发酵力的测定参照QB/T 4257—2011《酿酒大曲通用分析方法》。

#### 1.3.2 大曲样品微生物菌群多样性分析

参照DNA提取试剂盒说明书提取大曲样品基因组DNA,提取的基因组DNA产物用1%琼脂糖凝胶电泳和分光光度法进行质量和浓度检测。质检合格的样本进行高通量测序,ITS采用ITS3-ITS4通用引物,即5'-GCATCGATGAAGAACGCAG-3',5'-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3'扩增真菌ITS rDNA的ITS2区;16S采用338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACNNGGTTATCTAAT-3')扩增16S V3-V4区域,使用Illumina MiSeq高通量测序平台进行PE300 Paired-end测序。

下机数据使用iTools Fqtools fqcheck(v.0.25)进行质控,采用cutadapt(v.2.6)去除接头与引物,并采用readfq(v.1.0)进一步过滤获得Clean Data。采用FLASH(v.1.2.11)进行Tags拼接。利用软件QIIME2中的DADA2(divisive amplicon denoising algorithm)方法去噪,获得不同扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs)序列,使用Unite数据库对ASVs代表序列进行物种类别注释,进而得到特征表(Feature)。采用R语言进行Alpha多样性、Beta多样性和物种聚类等分析。以上过程在武汉华大基因科技有限公司完成。

#### 1.3.3 挥发性成分分析方法

##### 1.3.3.1 大曲前处理方法

称取5g曲粉放入50mL离心管中,加20mL超纯水,涡流振荡5min混匀,冰浴超声30min,4℃过夜,5000r/min,4℃离心10min。预先在顶空瓶中加入1.5g NaCl,吸取5mL上清液置于顶空瓶中,再加入10μL薄荷醇作为内标。

##### 1.3.3.2 大曲气相色谱质谱检测方法

采用顶空固相微萃取气相色谱-质谱检测大曲的挥发性化合物。7890A-5975C配备DB-Wax毛细管柱(60m×0.25mm×0.25μm)作为色谱柱。将5mL大曲浸泡液和10μL内标(薄荷醇)准确添加到顶空瓶中,挥发性化合物使用50/30μm DVB/CAR/PDMS萃取头在50℃下萃取40min,然后,在230℃下脱附5min。气相色谱条件:进样口温度230℃;载气高纯氮(>99.999%);流速1mL/min。升温条件:40℃保持2min,2℃/min至100℃,4℃/min至180℃,6℃/min至230℃

后保持 15 min。

质谱条件:离子源温度 230 °C;传输线温度 230 °C;电离模式:电子电离(70 eV);采用全扫描方式,质量采集范围(m/z)35~500。MS 库:MS Search 2.0(NIST 2011)。

### 1.4 数据处理

理化数据和微生物 α-多样性采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行单因素方差分析(One - Way ANOVA),采用 Duncan 氏法比较组间差异显著性,结果用平均值±标准差表示。微生物 β-多样性采用 Origin 9.0 进行绘图分析。挥发性成分热图采用 HemI 软件进行绘制。冗余分析图采用 Canoco 5 进行绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 中高温大曲样品理化指标的分析

不同季节中高温大曲样品的理化指标见表 1。

由表 1 可知,2 种中高温大曲的水分含量、酸度和发酵力存在显著性( $P<0.05$ )差异,糖化力无显著性差异。其中,QA 的水分含量和发酵力显著高于 QB( $P<0.05$ ),酸度显著低于 QB( $P<0.05$ )。大曲水分和酸度指标在一定程度上能够反映大曲品质,是目前大曲质量评价的重要指标<sup>[11]</sup>,根据 QB/T 4259—2011《浓香大曲》,浓香型白酒大曲水分含量<14.0%,而 QA 水分含

表 1 春冬两季中高温大曲理化指标

Table 1 Physical and chemical data of middle-high temperature Daqu in spring and winter

组别	水分含量/%	酸度/(mmol/10 g)	糖化力/[mg/(g·h)]	发酵力/[g/(100 g·72 h)]
QA	14.90±0.42 <sup>a</sup>	0.93±0.07 <sup>b</sup>	1 128.00±64.90 <sup>a</sup>	77.10±16.01 <sup>a</sup>
QB	13.21±0.84 <sup>b</sup>	1.13±0.03 <sup>a</sup>	1 078.00±76.27 <sup>a</sup>	48.97±3.18 <sup>b</sup>

注:同列不同字母表示存在显著性差异( $P<0.05$ )。

量>14%,或许是因为冬季气温低,大曲发酵不彻底。本研究中大曲发酵力较其它研究中的大曲发酵力低<sup>[12-13]</sup>,这可能是由于本研究中大曲取自新建曲房,因新建曲房尚不成熟,会导致大曲制作过程中发酵不彻底使理化指标出现一定的差异。大曲酸度指标在 0.3~1.5 mmol/10 g 均为正常,本研究中酸度与已有研究中的中高温大曲酸度较一致<sup>[12]</sup>。综上结果表明,不同季节大曲的理化指标存在差异性,推测 QA 水分含量较高的原因是冬季制曲时气温较低,导致曲块失温过快,对曲块后续升温发酵有影响。

### 2.2 中高温大曲微生物多样性指数分析

不同季节中高温大曲样品的 α 多样性分析见表 2。

由表 2 可知,QB 细菌的 Chao1 指数和 ACE 指数

表 2 春冬两季中高温大曲 α 多样性分析

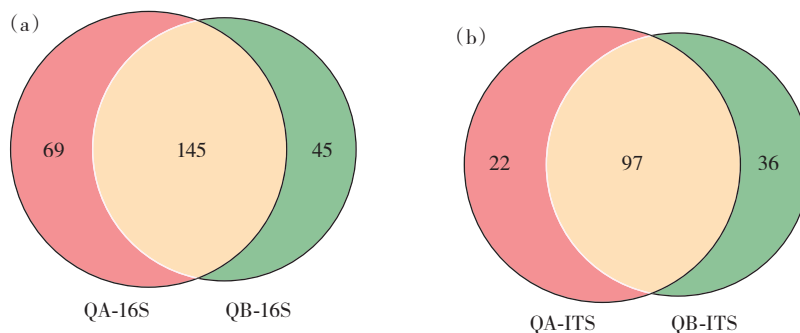
Table 2 Alpha diversity of microorganisms in middle-high temperature Daqu in spring and winter

组别	16S			ITS		
	Chao1 指数	ACE 指数	Shannon 指数	Chao1 指数	ACE 指数	Shannon 指数
QA	150.50±15.01 <sup>a</sup>	151.68±11.79 <sup>a</sup>	2.66±0.08 <sup>a</sup>	102.61±3.09 <sup>a</sup>	106.24±5.11 <sup>a</sup>	1.63±0.54 <sup>a</sup>
QB	167.38±15.08 <sup>a</sup>	190.81±29.32 <sup>a</sup>	2.11±0.40 <sup>a</sup>	111.67±15.11 <sup>a</sup>	123.15±25.81 <sup>a</sup>	1.59±0.26 <sup>a</sup>

注:同列相同字母表示不存在显著性差异( $P>0.05$ )。

高于 QA,但不存在显著性差异,同时,QB 真菌的 Chao1 指数和 ACE 指数高于 QA,但不存在显著性差异,QB 细菌和真菌的 Shannon 指数低于 QA,但不存在显著性差异。综上说明,QB 的微生物丰富度高于 QA,微生物均匀度稍低于 QA,但 QA 与 QB 的两项微

生物 α 多样性指数不存在显著性差异。大曲的 α 多样性指数反映大曲微生物的物种丰富度和多样性,表明春季大曲 QB 的物种丰富度更好,说明春季大曲微生物生长繁殖的更好。春冬两季中高温大曲 ASVs 数目见图 1。



(a)细菌水平(16S)ASVs 数目;(b)真菌水平(ITS)ASVs 数目。

图 1 春冬两季中高温大曲 ASVs 数目

Fig.1 Number of ASVs in middle-high temperature Daqu in spring and winter

由图1可知,从大曲中共检出259个细菌ASVs和155个真菌ASVs,其中大曲细菌共有ASVs是145个,QA特有ASVs个数最多有69个,QB有45个;真菌共有ASVs有97个,QA和QB特有ASVs分别有22个和36个。应用Illumina MiSeq高通量测序技术对中高温度大曲的细菌和真菌的物种组成进行分析,结果见图2。

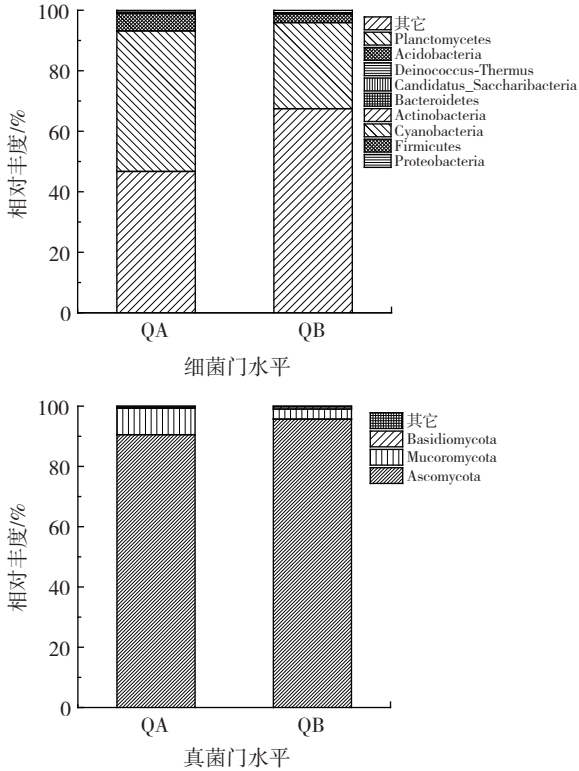


图2 春冬两季中高温度大曲细菌和真菌门水平组成分析

Fig.2 Bacterial and fungal community composition at the phylum level in middle-high temperature Daqu in spring and winter

由图2可知,细菌水平共得到9个细菌门、16个细菌纲和99个细菌属,真菌水平共得到3个真菌门、10个纲和66个细菌属。大曲中9个细菌门分别是变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、装甲菌门(Candidatus\_Saccharibacteria)、异常球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)、酸杆菌门(Acidobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes),这与其它学者的研究结果一致<sup>[13-14]</sup>。大曲中变形菌门(57.11%)、厚壁菌门(37.44%)和蓝藻菌门(4.34%)相对丰度均大于1%,为大曲中的绝对优势细菌门,QB中变形菌门相对丰度(67.50%)高于QA(46.73%),厚壁菌门(28.41%)和蓝藻菌门(2.91%)相对丰度低于QA(46.46%和5.77%);大曲中3个真菌菌门是子囊菌门(Ascomycota)、毛霉菌门(Mucoromycota)和担子菌门(Basidiomycota)。大曲中子囊菌门(93.11%)和毛霉菌

门(6.11%)相对丰度均大于1%,为大曲中绝对优势真菌菌门。QB中子囊菌门相对丰度(95.69%)大于QA(90.54%),但其毛霉菌门相对丰度(3.34%)低于QA(8.78%)。从大曲门水平的物种组成上来看,冬季大曲和春季大曲门水平优势微生物相对丰度存在一定的异质性,但种类不存在明显差异。春冬两季中高温度大曲细菌和真菌属水平组成见图3。

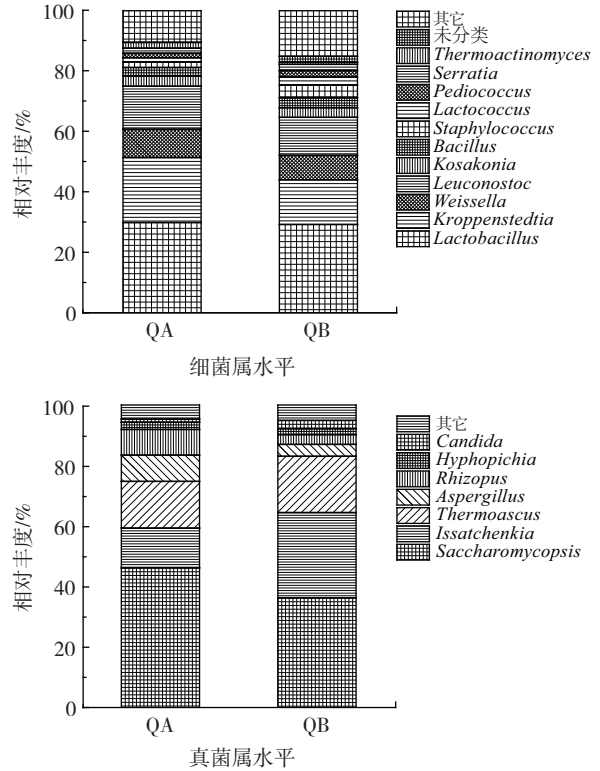


图3 春冬两季中高温度大曲细菌和真菌属水平组成

Fig.3 Bacterial and fungal community composition at the genus level in middle-high temperature Daqu in spring and winter

由图3可知,从大曲中共得到99个细菌属和67个真菌属,其中核心细菌微生物(相对丰度>1%)共有13个属,分别是Lactobacillus(乳杆菌属)、Kroppenstedtia(克罗彭斯特菌)、Weissella(魏斯氏菌)、Leuconostoc(明串珠菌)、Kosakonia(科萨克氏菌)、Bacillus(芽孢杆菌属)、Staphylococcus(葡萄球菌)、Lactococcus(乳球菌)、Pediococcus(片球菌属)、Serratia(沙雷氏菌)、Thermoactinomyces(高温放线菌属);核心真菌微生物(相对丰度>1%)共有7个属,分别是Saccharomycopsis(复膜孢酵母属)、Issaxchenkia(伊萨酵母属)、Thermoascus(嗜热子囊属)、Aspergillus(曲霉属)、Rhizopus(根霉属)、Hyphopichia(丝孢毕赤酵母属)、Candida(假丝酵母属)。

QA和QB大曲中在属水平上的优势细菌属种类大体相似但略有不同,且相对丰度有一定差异。2种大曲中第一大优势细菌属均为乳杆菌属,相对丰度分别是QA(29.69%)和QB(29.04%),有研究报道,乳杆

菌属作为白酒发酵过程中重要的微生物,是形成乳酸乙酯和乳酸的主要基础物质<sup>[15]</sup>,是白酒风味物质演替的推动者之一。大曲中第二大优势菌属是克罗彭斯特菌属,相对丰度分别是 21.55%(QA)和 14.81%(QB),该菌属在白酒发酵过程中能够促进乳酸和乙酸乙酯等物质的生成<sup>[16]</sup>,在一定程度上会影响白酒的风味。QA 中魏斯氏菌属(9.43%)的相对丰度与乳杆菌属和克罗彭斯特菌属这 4 个菌属的相对丰度占 QA 细菌总丰度的 60% 以上,但 QB 中魏斯氏菌属(8.15%)、乳杆菌属和克罗彭斯特菌这 4 个菌属的相对丰度占 QB 细菌总丰度的 50% 以上,当这 4 种菌属占据较大优势时,其它微生物群相对丰度会较低,导致样品微生物的丰富度偏低,因此相对而言 QB 菌属的丰富度更高,结合 QB 的  $\alpha$  多样性指数可知 QB 的物种丰富度和物种丰度均更高。

QA 和 QB 大曲中真菌微生物群落结构组成较一致,但优势菌属的相对丰度分布存在一定的异质性,2 种大曲中第一大优势真菌属均为复膜孢酵母属,相对丰度分别是 45.98%(QA)和 36.01%(QB),该结果与任宇婷等<sup>[16]</sup>和王清龙等<sup>[12]</sup>得出的中高温大曲中第一大优势属是嗜热子囊菌属的结果不一致,可能是由于地区的差异、制曲工艺不同等因素造成真菌多样性不同。复膜孢酵母属具有分泌  $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶在内多种水解酶的能力<sup>[17]</sup>,其对大曲的酶活力具有一定的影响。QA 第二大优势真菌属是嗜热真菌属(15.49%),QB 第二大优势真菌属是伊萨酵母菌属(28.30%),QA 的伊萨酵母菌属相对丰度是 13.15%,QB 中嗜热真菌属的相对丰度是 18.62%,QA 和 QB 中复膜孢酵母属、伊萨酵母属和嗜热真菌属的相对丰度占总丰度的 74% 以上。据报道,嗜热子囊菌属多容易出现在高温大曲中,对酱香风味的形成具有重要作用<sup>[18]</sup>。伊萨酵母是大曲曲皮中主要功能菌群<sup>[19]</sup>,在白酒酿造过程中能产生各种酯类和芳香类物质<sup>[20]</sup>。

### 2.3 大曲的挥发性组分分析

从 2 种大曲中共检出 8 大类 59 种挥发性成分,具体见表 3。

表 3 春冬两季中高温大曲挥发性成分分析

Table 3 Volatile components of middle-high temperature Daqu in spring and winter

序号	分类	中文名称	含量/(mg/L)	
			QA	QB
1	酸类	异戊酸	0.00	40.45
2	酸类	乙酸	7.26	20.98
3	酸类	己酸	11.20	9.92
4	酸类	3-甲基戊酸	6.83	0.18
5	酸类	异丁酸	1.72	4.33
6	酸类	辛酸	2.28	3.05
7	酸类	2-甲基己酸	3.58	0.00
8	醇类	苯乙醇	154.92	244.09

续表 3 春冬两季中高温大曲挥发性成分分析

Continue table 3 Volatile components of middle-high temperature Daqu in spring and winter

序号	分类	中文名称	含量/(mg/L)	
			QA	QB
9	醇类	异戊醇	111.14	94.07
10	醇类	正己醇	67.22	54.47
11	醇类	(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇	14.74	28.84
12	醇类	2-甲基-1-丁醇	25.11	15.26
13	醇类	2-乙基己醇	18.32	12.23
14	醇类	1-戊醇	17.75	11.37
15	醇类	2,3-丁二醇	11.63	13.79
16	醇类	1-辛烯-3-醇	18.14	4.30
17	醇类	苜醇	4.37	8.37
18	醇类	庚醇	4.04	3.53
19	醇类	1-辛醇	4.38	3.08
20	醇类	S-(-)-2-甲基-1-丁醇	0.00	6.62
21	醇类	糠醇	2.40	3.99
22	醇类	DL- $\beta$ -乙基苯乙基乙醇	0.76	1.82
23	醇类	5-甲基-2-呋喃甲醇	0.00	2.03
24	酯类	棕榈酸乙酯	61.30	41.30
25	酯类	油酸乙酯	15.70	9.15
26	酯类	正己酸乙酯	13.33	5.67
27	酯类	十四酸乙酯	8.41	4.04
28	酯类	辛酸乙酯	5.37	4.09
29	酯类	$\alpha$ -戊基- $\gamma$ -丁内酯	8.55	0.00
30	酯类	壬酸乙酯	0.97	2.51
31	酯类	乙酸乙酯	0.45	2.27
32	酯类	癸酸乙酯	1.55	0.67
33	醛类	苯甲醛	156.38	100.52
34	醛类	异戊醛	29.67	20.02
35	醛类	2-甲基丁醛	7.14	5.52
36	醛类	己醛	6.24	6.22
37	醛类	乙醛	6.65	2.77
38	醛类	反式-2-壬烯醛	3.91	2.10
39	醛类	3-甲基-2-丁烯醛	3.36	2.47
40	醛类	糠醛	2.59	2.73
41	醛类	壬醛	3.80	1.44
42	醛类	2-吡咯甲醛	0.00	3.31
43	醛类	2-苯基巴豆醛	2.29	0.52
44	酮类	2-庚酮	3.08	3.60
45	酮类	3-辛酮	4.14	0.42
46	酮类	2,4-二羟基苯乙酮	0.00	4.28
47	酮类	仲辛酮	1.89	2.17
48	吡嗪类	2,3,5-三甲基吡嗪	26.77	36.92
49	吡嗪类	2,3,5,6-四甲基吡嗪	14.30	24.92
50	吡嗪类	2,6-二甲基吡嗪	14.39	23.58
51	吡嗪类	2,5-二甲基吡嗪	9.94	15.53
52	吡嗪类	2,3-二甲基吡嗪	6.79	8.90
53	吡嗪类	2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	0.00	8.00
54	吡嗪类	2-甲基吡嗪	2.78	2.74
55	酚类	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	15.61	50.16
56	酚类	苯酚	4.52	3.29
57	酚类	4-乙基-2-甲氧基苯酚	4.42	0.00
58	其它类	邻苯二甲醚	3.36	0.00
59	其它类	1-石竹烯	2.30	0.00

由表3可知,挥发性成分有异戊酸、乙酸、己酸和辛酸等7种酸类,苯乙醇、异戊醇、正己醇和1-辛醇等16种醇类,棕榈酸乙酯、油酸乙酯、己酸乙酯和乙酸乙酯等9种酯类,苯甲醛、异戊醛、2-甲基丁醛和己醛等11种醛类,2-庚酮、3-辛酮、2,4-二羟基苯乙酮和仲辛酮共4种酮类,2,3,5-三甲基吡嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪和2,6-二甲基吡嗪等7种吡嗪类,以及3种酚类和2种其它类。QA中共检出53种挥发性成分,QB中共检出54种挥发性成分,醇类、酯类、醛类是2种大曲中的主要风味成分,在QA和QB大曲中的占比分别为48.41%和51.37%,12.31%和7.05%,和23.63%和14.93%。

表3结果显示,大曲中苯乙醇含量最高,其中QA含量为154.92 mg/L,QB含量为244.09 mg/L,苯乙醇有新鲜的面包香、清甜的玫瑰花香,是白酒中主要的挥发

性成分之一<sup>[21]</sup>;大曲中含量次高的挥发性物质是苯甲醛,QA中含量为156.38 mg/L,QB中含量为100.52 mg/L,苯甲醛具有杏仁味道<sup>[22]</sup>,是醛类中贡献最大的香味成分;酯类中棕榈酸乙酯含量最高,QA中含量为61.3 mg/L,QB中含量为41.3 mg/L,棕榈酸乙酯是高沸点酯类,对白酒香味具有一定贡献,但质量浓度超过2 mg/L时,在低于25% vol白酒中容易引起白酒浑浊<sup>[23]</sup>;2种大曲中检出7种吡嗪类物质,且三甲基吡嗪和四甲基吡嗪的含量较高,吡嗪类物质一般都具有烘焙和坚果香<sup>[24]</sup>,目前认为吡嗪类物质是酱香型白酒的主要香味成分和功能因子<sup>[25]</sup>。

#### 2.4 大曲理化指标与优势微生物冗余分析

对大曲中优势微生物和理化结果进行冗余分析(redundancy analysis, RDA),结果见图4。

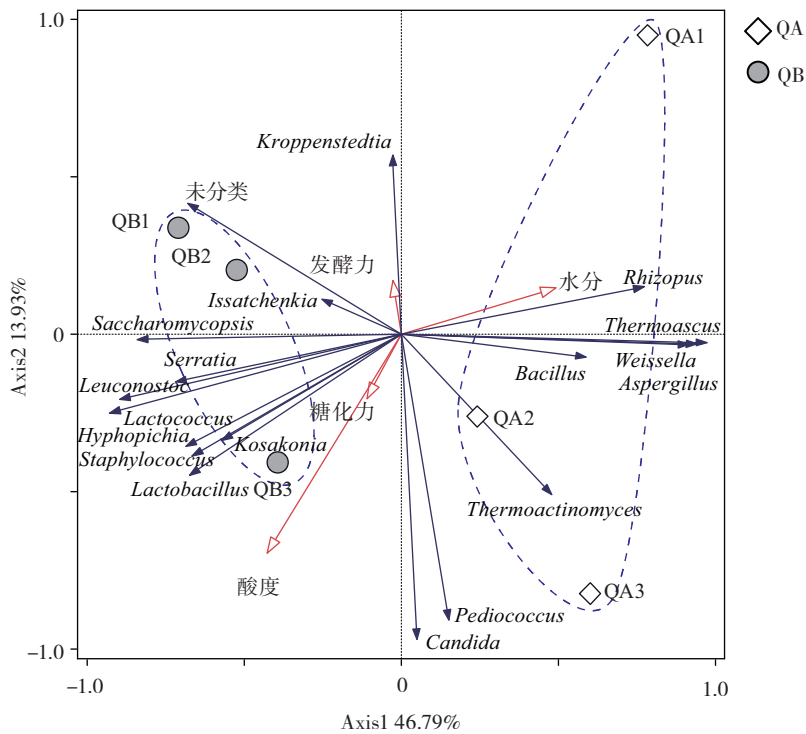


图4 大曲理化指标和优势微生物 RDA 分析

Fig.4 Redundancy analysis of physical and chemical indicators and dominant microbial groups in Daqu

由图4可知,QA和QB分布于Axis1轴左右两侧,且Axis1区分度为46.79%,说明冬季曲和春季曲在理化和微生物水平上能被很好的区分开。大曲水分含量和大曲中40%的优势微生物(根霉、嗜热真菌属、曲霉属、高温放线菌、芽孢杆菌和魏斯氏菌)呈正相关关系,并且大曲水分的箭头方向与样品QA1、QA2、QA3均分布于Axis1轴右侧,说明冬天的大曲普遍水分含量较高,这与理化数据分析结果一致。大曲发酵力与克罗彭斯特菌呈正相关关系,大曲糖化力和酸度与大曲中一半以上的优势微生物(乳杆菌、科萨克氏菌、葡萄球菌、乳球菌、明串珠菌、沙雷氏菌、丝孢毕赤

酵母、复膜孢酵母菌、伊萨酵母菌属)呈正相关关系,这表明大曲中大部分优势菌属参与大曲中酸度、发酵力和糖化力的供给。

### 3 结论

大曲的培曲过程受季节的影响,因不同季节天气温度的差异对大曲的质量存在一定影响,从而对大曲内在的理化指标和微生物群落结构造成一定的影响。文中采用化学分析方法和高通量测序技术对新建曲房冬季和春季大曲理化指标和微生物群落结构进行解析,发现冬季和春季大曲水分、酸度和发酵力存在显著

性差异,大曲的 $\alpha$ 多样性结果表现为春季大曲的物种丰度和物种丰富度优于冬季大曲, $\beta$ 多样性结果表明冬季和春季大曲细菌群都以乳杆菌和克罗彭斯特菌属为主要优势菌群,真菌群都以复膜孢酵母菌属、伊萨酵母菌属和嗜热真菌属,冬季和春季大曲微生物群落组成较一致,但相对而言春季曲微生物群落分布更均衡。利用HS-SPME-GC-MC方法从2种大曲中共检出8大类59种挥发性成分,结果发现大曲中苯乙醇含量最高,且春季曲含量高于冬季曲,苯乙醇有新鲜的面包香、清甜的玫瑰花香,是白酒中主要的挥发性成分之一。大曲冗余分析结果表明,春季曲和冬季曲可以被很好的区分开,且一半以上优势微生物与春季曲呈正相关,且与酸度、糖化力和发酵力呈正相关,以上结果均表明春季曲和冬季曲从理化、微生物群落结构和香味成分上存在差异。

本研究得到新建曲房春季曲和冬季曲理化、微生物群落结构和香味成分上存在差异,说明不同季节制曲对大曲品质会造成一定的影响,这为今后不同季节制曲的品质评价具有指导性意义。今后将进一步扩大研究范围,探讨四季曲的内在差异,为工厂不同季节制曲的工艺调整提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] LI J J, SUN H Z, WANG Q, et al. Microbial community spatial structures in Luzhou-flavored liquor pit muds with different brewing materials[J]. PeerJ, 2022, 10: e12987.
- [2] 吴树坤, 谢军, 程铁轅, 等. 不同地区浓香型大曲质量指标与细菌群落相关性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(4): 158-164. WU Shukun, XIE Jun, CHENG Tiejuan, et al. Correlation between quality index and bacterial community of Luzhou flavor daqu[J]. Food Research and Development, 2019, 40(4): 158-164.
- [3] 廖天月, 杨阳, 朱亮, 等. 白酒酿造大曲的生产及自动化研究现状[J]. 酿酒科技, 2023(6): 106-111. LIAO Tianyue, YANG Yang, ZHU Liang, et al. Research progress in automatic production of daqu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2023(6): 106-111.
- [4] 李大和, 李国红. 提高浓香型白酒质量的技术措施(二)[J]. 酿酒科技, 2020(10): 52-59. LI Dahe, LI Guohong. Technical measures for improving the quality of Nongxiang Baijiu ( II ) [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2020(10): 52-59.
- [5] FU G M, DENG M F, CHEN Y, et al. Analysis of microbial community, physicochemical indices, and volatile compounds of Chinese te-flavor Baijiu daqu produced in different seasons[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(15): 6525-6532.
- [6] 宋瑞滨, 邵泽良, 宋军. 不同季节生产浓香型中高温包包曲的分析与探讨[J]. 酿酒, 2022, 49(5): 80-86. SONG Ruibin, SHAO Zeliang, SONG Jun. Analysis and discussion on production of luzhou-flavored Baobao qu with medium and high temperature in different seasons[J]. Liquor Making, 2022, 49(5): 80-86.
- [7] 李尧, 闫宗科, 张永利. 季节变化对凤型大曲理化指标的影响[J]. 酿酒, 2021, 48(6): 71-75. LI Yao, YAN Zongke, ZHANG Yongli. Effects of seasonal changes on physicochemical indexes of Feng-type daqu[J]. Liquor Making, 2021, 48(6): 71-75.
- [8] 蔡鹏飞, 郑珊珊, 张建桥, 等. 春夏季节变化对扳倒井成品大曲质量的影响[J]. 酿酒, 2019, 46(1): 70-74. CAI Pengfei, ZHENG Shanshan, ZHANG Jianqiao, et al. The influence of seasonal variation from spring to summer on bandongjing daqu quality[J]. Liquor Making, 2019, 46(1): 70-74.
- [9] WANG L M, CHENG Y X, HU X X, et al. Analysis of bacterial diversity and functional differences of Jiang-flavored Daqu produced in different seasons[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 9: 1078132.
- [10] 王艳, 周文, 权诗凯, 等. 生产季节对贮存期大曲的微生物群落结构和非挥发性代谢物组成的影响[J]. 食品科技, 2023, 48(10): 10-17. WANG Yan, ZHOU Wen, QUAN Shikai, et al. Influence of production seasons on the structure of microbial community and the composition of non-volatile metabolites in the stored daqu[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(10): 10-17.
- [11] 向港兴, 陈莹琪, 沈毅, 等. 不同等级浓香型大曲微生物群落结构与理化性质的比较分析[J]. 食品科学, 2022, 43(18): 184-191. XIANG Gangxing, CHEN Yingqi, SHEN Yi, et al. Comparative analysis of microbial community structure and physicochemical properties of different grades of Nongxiangxing Daqu[J]. Food Science, 2022, 43(18): 184-191.
- [12] 王清龙, 李海登, 刘延波, 等. 河南不同地区浓香型白酒大曲理化性质和微生物多样性分析[J]. 中国酿造, 2022, 41(11): 31-38. WANG Qinglong, LI Haideng, LIU Yanbo, et al. Physicochemical property and microbial diversity of strong-flavor Baijiu Daqu in different regions of Henan[J]. China Brewing, 2022, 41(11): 31-38.
- [13] 马梦月, 郭壮, 李学思, 等. 临沂和周口地区中高温大曲细菌群落结构与基因功能差异性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 155-161. MA Mengyue, GUO Zhuang, LI Xuesi, et al. Research on the differences in bacteria community structure and gene function of medium-high temperature daqu in Linyi and Zhoukou areas[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(1): 155-161.
- [14] 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.
- [15] CHEN Y R, LI K M, 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]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 592421.
- [16] 任宇婷, 乔美灵, 乌力吉德布兴, 等. 不同北方浓香型白酒大曲中微生物组成及理化差异分析[J]. 中国酿造, 2022, 41(11): 49-55. REN Yuting, QIAO Meiling, WULJIDOBXIN, et al. Analysis of microbial composition and physicochemical differences in different northern strong-flavor Baijiu Daqu[J]. China Brewing, 2022, 41(11): 49-55.
- [17] XIE Z B, ZHANG K Z, KANG Z H, et al. *Saccharomycopsis fibuligera* in liquor production: A review[J]. European Food Research and Technology, 2021, 247(7): 1569-1577.
- [18] JIANG Q E, WU X Y, XU Y Q, et al. Microbial composition and dynamic succession during the Daqu production process of Northern Jiang-flavored liquor in China[J]. 3 Biotech, 2021, 11(5): 224.
- [19] 张艳, 孟勤燕, 杨美媛, 等. 凤型大曲培曲阶段不同部位理化指标动态变化及微生物群落演替规律分析[J]. 酿酒科技, 2022(3): 35-46. ZHANG Yan, MENG Qinyan, YANG Meiyuan, et al. Dynamic changes of physicochemical indexes and succession rules of micro-

- bial communities in different parts of Fengxiang daqu during cultivation[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2022(3): 35-46.
- [20] 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.
- [21] QIN D, LV S L, SHEN Y, et al. Decoding the key compounds responsible for the empty cup aroma of soy sauce aroma type Baijiu [J]. *Food Chemistry*, 2024, 434: 137466.
- [22] PEI H, HE S D, LIU S Y, et al. Aroma characteristics and odor source analysis of roasted Xinjiang thin-shell walnuts (*Juglans regia* L.) by using multivariate statistical analysis[J]. *Food Bioscience*, 2023, 56: 103312.
- [23] 刘奕霏, 廉哲, 梁鲁宁, 等. GC-MS 测定白酒中棕榈酸乙酯、油酸乙酯及亚油酸乙酯[J]. *刑事技术*, 2016, 41(2): 111-115.  
LIU Yifei, LIAN Zhe, LIANG Luning, et al. Determination of ethyl palmitate, ethyl oleate and ethyl linoleate in liquor by gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS)[J]. *Forensic Science and Technology*, 2016, 41(2): 111-115.
- [24] YAN Y, CHEN S, HE Y X, et al. Quantitation of pyrazines in Baijiu and during production process by a rapid and sensitive direct injection UPLC-MS/MS approach[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 128: 109371.
- [25] 王颖, 邱勇, 王隆, 等. 不同产区酱香型高温大曲黑、白、黄曲的理化、挥发性成分差异性分析[J]. *中国调味品*, 2022, 47(6): 155-159.  
WANG Ying, QIU Yong, WANG Long, et al. Analysis on the differences of physicochemical indexes and volatile components of black, white and yellow koji at high temperature with Maotai flavor in different production areas[J]. *China Condiment*, 2022, 47(6): 155-159.

责任编辑:冯娜  
收稿日期:2024-01-09