2025, 65(10): 4667-4683
CSTR: 32112.14.j.AMS.20250247
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20250247

微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

Research Article 研究报告

小曲清香型白酒酿造中乳酸杆菌的演替及优势乳酸杆菌发酵特性分析

马丹，张秋波，王涵，王欢，孙春虹，王瑞鑫，武晓乐*，陈叶福*

天津科技大学，工业发酵微生物教育部重点实验室，天津

马丹, 张秋波, 王涵, 王欢, 孙春虹, 王瑞鑫, 武晓乐, 陈叶福. 小曲清香型白酒酿造中乳酸杆菌的演替及优势乳酸杆菌发酵特性分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(10): 4667-4683.

MA Dan, ZHANG Qiubo, WANG Han, WANG Huan, SUN Chunhong, WANG Ruixin, WU Xiaole, CHEN Yefu. Analysis of succession of *Lactobacillus* during Xiaoqu Qingxiang Baijiu fermentation and fermentation characteristics of dominant *Lactobacillus* spp.[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(10): 4667-4683.

摘　要：【目的】阐释乳杆菌在小曲清香型白酒酿造中的演替规律，以及优势乳杆菌在发酵过程中对酒体乙乳比的影响。【方法】采用高通量测序技术解析小曲及酒醅中乳杆菌种水平的演替规律；结合改良培养基与富集培养方法从酒醅中分离乳杆菌；对优势乳杆菌进行耐受性评价、单一碳源发酵实验、高粱水解液发酵实验以及实验室模拟固态强化乳杆菌发酵实验，探究不同乳杆菌的生理生化特征、对单一碳源的发酵特征，以及对酒体中乙乳比的影响。【结果】从酒醅中共筛选出 15 种乳杆菌，并通过高通量数据分析确定了 8 种优势乳杆菌(欧研会黏液乳杆菌、瑞士乳杆菌、布氏慢生乳杆菌、希氏慢生乳杆菌、短发酵剂乳杆菌、发酵黏液乳杆菌、植物乳植杆菌与耐醋乳杆菌)。进一步耐受性分析与单一碳源发酵特征研究表明 8 种优势乳杆菌均能耐受实际发酵环境(乙醇/乙酸/乳酸)，其中植物乳植杆菌存在麦芽糖利用缺陷，耐醋乳杆菌存在 D-半乳糖利用缺陷；瑞士乳杆菌与欧研会黏液乳杆菌在单一碳源中发酵呈现单产物特征；短发酵剂乳杆菌、布氏慢生乳杆菌与希氏慢生乳杆菌在单一碳源与高粱水解液中发酵呈现多产物发酵特征。实验室模拟固态强化乳杆菌发酵实验结果显示，与对照组相比强化希氏乳杆菌可使酒体中乳酸乙酯及乙酸乙酯含量分别提升 175% 和 44%，乙乳比降至 0.357；强化布氏慢生乳杆菌可使酒体中乙酸乙酯含量提升 50%，乳酸乙酯含量降低 71%，乙乳比升至 4.496。【结论】小曲清香型白酒酒醅中的优势乳杆菌总体耐受性较强，优势乳杆菌对单一碳源的发酵存在差异，强化不同优势乳杆菌发酵对酯类的调控效果不同。本研究结果为实现小曲清香型白酒发酵过程中关键风味物质的动态调控提供了重要理论依据。

关键词：小曲清香型白酒；乳杆菌演替规律；耐受性；碳源利用；乙乳比

资助项目：国家自然科学基金(31671843)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31671843).
*Corresponding authors. E-mail: WU Xiaole, wuxiaole@tust.edu.cn; CHEN Yefu, yfchen@tust.edu.cn
Received: 2025-03-27; Accepted: 2025-05-08; Published online: 2025-06-24

Analysis of succession of *Lactobacillus* during Xiaoqu Qingxiang Baijiu fermentation and fermentation characteristics of dominant *Lactobacillus* spp.

MA Dan, ZHANG Qiubo, WANG Han, WANG Huan, SUN Chunhong, WANG Ruixin, WU Xiaole*, CHEN Yefu*

Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin, China

Abstract: [Objective] To clarify the succession patterns of *Lactobacillus* and their regulatory effects on the ethyl acetate-to-ethyl lactate ratio during Xiaoqu Qingxiangxing Baijiu fermentation. **[Methods]** High-throughput sequencing was employed to analyze the species-level succession patterns of *Lactobacillus* in Xiaoqu and fermented grains (Jiupei). Modified culture media and enrichment methods were employed to isolate *Lactobacillus* from Jiupei. The dominant *Lactobacillus* strains were then evaluated for tolerance, subjected to single-carbon-source fermentation experiments, sorghum hydrolysate fermentation experiments, and lab-scale simulated solid-state fermentation with *Lactobacillus*. The physiological and biochemical characteristics of different *Lactobacillus* strains, their fermentation characteristics on single carbon sources, and their impact on the ethyl acetate-to-ethyl lactate ratio in the Baijiu were investigated. **[Results]** A total of 15 *Lactobacillus* strains were isolated from Jiupei, and high-throughput data analysis identified eight dominant species: *Limosilactobacillus pontis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lentilactobacillus buchneri*, *Lentilactobacillus hilgardii*, *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, and *Lactobacillus acetotolerans*. Further tolerance tests and single-carbon-source fermentation characterization revealed that all the eight dominant strains could withstand actual fermentation conditions (ethanol/acetic acid/lactic acid). However, *L. plantarum* exhibited impaired maltose utilization, while *L. acetotolerans* showed defective D-galactose metabolism. *L. helveticus* and *L. pontis* displayed a single-product fermentation profile in single-carbon-source cultures, whereas *L. brevis*, *L. buchneri*, and *L. hilgardii* exhibited multi-product fermentation patterns in both single-carbon-source and sorghum hydrolysate media. In lab-scale simulated solid-state fermentation with *Lactobacillus*, compared with the control, supplementation with *L. hilgardii* increased the ethyl lactate and ethyl acetate content by 175% and 44%, respectively, reducing the ethyl acetate-to-ethyl lactate ratio to 0.357. Supplementation with *L. buchneri* increased the ethyl acetate content by 50% while decreasing the ethyl lactate by 71%, raising the ethyl acetate-to-ethyl lactate ratio to 4.496. **[Conclusion]** The dominant *Lactobacillus* strains in Xiaoqu Qingxiangxing Baijiu fermentation exhibit strong overall environmental tolerance, and their metabolic profiles vary in single-carbon-source fermentation. The supplementation with different dominant *Lactobacillus* strains differentially modulates ester formation. These findings provide a theoretical foundation for dynamically regulating key flavor

✉ actamicro@im.ac.cn, ☏ 010-64807516

compounds during Xiaoqu Qingxiangxing Baijiu fermentation.
Keywords: Xiaoqu Qingxiangxing Baijiu; *Lactobacillus* succession pattern; tolerance; carbon source utilization; ethyl acetate-to-ethyl lactate ratio

中国白酒是传统固态发酵蒸馏酒的典型代表，其酿造依赖于复杂微生物群落的动态演替与协同代谢[1]。小曲清香型白酒作为十二大香型中的典型代表，以高粱等为原料，小曲作为糖化发酵剂，凭借清雅纯正的风味在白酒体系中独树一帜[2]。近年来，宏基因组学与代谢组学等技术揭示了传统酿造体系中乳酸菌在风味塑造及群落构建中的关键作用[3]。其中，乳杆菌在小曲清香型白酒，甚至其他香型白酒发酵的中后期作为主要功能菌属，通过产生酸、醇等代谢产物对酒醅酸度、挥发性风味物质以及酿造环境稳定性产生显著影响[4-5]。因此，乳杆菌对小曲清香型白酒的酿造过程极为关键。

目前小曲清香型白酒中关于乳杆菌的研究主要聚焦于 2 个方面。一方面，借助扩增子测序及相关性分析探究乳杆菌对风味的贡献。例如，Tang 等[6]对酒醅进行宏基因组测序，发现随着发酵的推进乳杆菌在细菌群落中的占比逐渐升高，90 d 后占比达 65%，同时酒醅中乳酸及乳酸乙酯含量持续上升。Hu 等[7]对比了机械化与传统生产发酵对白酒生产中微生物群落和风味的影响，发现现代化工艺相比传统发酵工艺乳杆菌丰度占比更高，其高级醇含量也更低。Wang 等[8]利用高通量测序方法发现初始高含水量酒醅发酵能促进乳杆菌增殖，提升乙酸含量，降低高级脂肪酸乙酯、乳酸乙酯等风味物质的生成。另一方面，通过传统可培养技术扩充乳杆菌的种质资源库，并进行简单的性能评价。李锐等[9]研究传统固态发酵中功能细菌群落的动态，从酒醅中筛选获得的 5 种乳杆菌均具有产酸性能。江威等[10]用传统分离法从酒醅中分离出 11 种乳杆菌，通过添加布氏慢生乳杆菌进行强化固态发酵发现布氏慢生乳杆菌具有提高乙酸乙酯与乳酸乙酯含量的作用。然而，通过分析乳杆菌群落结构与风味的相关性仅得到数学统计学关系，还需要通过后续实验进一步验证；而传统可培养方法受培养基限制及营养偏好影响，且缺乏科学理论指导无法体现实际发酵过程中乳杆菌的结构。因此结合高通量测序与可培养手段，既能揭示乳杆菌种水平的演替规律，又能筛选关键菌株进行功能评价与发酵表征。

本研究解析了小曲清香型白酒发酵过程中乳杆菌在种水平上的动态演替规律，通过优化培养方法成功分离获得发酵体系中的优势乳杆菌菌种。在此基础上进一步考察了这些优势菌株在实际酿造环境关键胁迫因子下的生长耐受性，并探究了不同碳源条件下的发酵特征差异。通过实验室模拟固态发酵实验，采用乳杆菌强化接种策略揭示了优势乳杆菌菌种对小曲清香型白酒中关键风味物质合成的调控作用。本研究阐明了乳杆菌在小曲清香型白酒发酵过程中的关键作用，以期为定向调控风味物质比例提供理论支撑，同时为乳杆菌资源在食品发酵工业中的精准应用奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

葡萄糖、麦芽糖、D-半乳糖，天津市化学试剂三厂；琼脂粉，天津市河西区珠江卫生材料厂；乳酸、乙酸，天津市化学试剂一厂；吐温-80，天津市化学试剂六厂；硫酸锰、硫酸镁、磷酸二氢钾、半胱氨酸试剂，国药集团化学试剂有限公司；厌氧气体，天津市军粮城常福气体有限公司；高粱、酒糟、谷壳、酒曲均取自湖北某清香型白酒酒厂。

生化恒温培养箱，上海博迅实业有限公司；厌氧培养箱，Gene Science 公司；PCR 扩增仪，Eppendorf 公司；恒温摇床，上海智城分析仪器

制造有限公司；气相色谱仪、液相色谱仪，安捷伦科技有限公司；恒温水浴锅，天津中环电炉股份有限公司。

1.2 主要培养基

基础 MRS 培养基(g/L)：蛋白胨 10.00，酵母浸粉 4.00，牛肉膏 4.00，乙酸钠 5.00，硫酸镁 2.00，磷酸氢二钾 2.00，柠檬酸氢二铵 2.00，硫酸锰 0.04，吐温-80 1.00。改良 MRS 培养基(g/L)：基础 MRS 培养基基础上，添加葡萄糖 20.00，半胱氨酸 2.00。富集 MRS 培养基：分别取发酵过程中第 0、5、10、15 天酒醅 100.00 g，加 300.00 mL 水，密封超声浸提 30 min，四层纱布过滤得到酒醅滤液，5 000 r/min 离心 10 min 取得上清液，26.00 mL，MRS 改良培养基 26.00 g，均匀混合后定容至 1.00 L。不同碳源培养基：选择葡萄糖、D-半乳糖、麦芽糖分别以初始浓度 20.00 g/L 加入基础 MRS 培养基中。高粱水解液培养基：参考阮玉磊[11]高粱水解液培养基制作方法，最终将其糖度调整至 16° Brix。医生培养基均 115 ℃灭菌 20 min 使用。

1.3 酒醅微生物扩增子测序及生物信息学分析

本研究所用样品来源于中国湖北省某酒厂酿造过程的发酵阶段。整个发酵周期为 21 d，样品采集从小曲入醅糟开始，记为第 0 天，此后每隔 5 d 采集 1 次，直至发酵过程结束。采样点为槽车的上、中、下层(每层采 5 个点)，采集后立即用无菌袋包装，并将同一天采集的所有样品均匀混合作为一个处理，每个处理设 3 个重复，最终共获得 21 个混合样品。酒醅乳杆菌扩增子测序及生物信息学分析参考 Wang 等[8]的方法进行。

1.4 酒醅中乳杆菌的分离与鉴定

取 10 g 酒醅加入 100 mL 灭菌的生理盐水中，30 ℃、180 r/min 振荡 30 min 得到酒醅浸提液。取 1 mL 酒醅浸提液上清加入 9 mL MRS 富集培养基中，37 ℃静置培养 3 d。分别取酒醅浸提液与酒醅富集液用灭菌的生理盐水进行梯度稀释，选择合适梯度，取 100 μL 稀释液涂布在 MRS 改良培养基平板上，并分别在有氧和厌氧条件下于 37 ℃培养 3–5 d。根据培养平板上单菌落的形态、大小和颜色挑取不同单菌落分别在 MRS 培养基上划线进行纯化。菌株基因组提取与鉴定方法参考阮玉磊[11]的方法。

1.5 乳杆菌发酵胁迫因子的耐受性评价

1.5.1 乳杆菌耐乙醇能力测定方法

挑取适量乳杆菌菌泥接入含 5 mL MRS 培养基的试管中，37 ℃静置培养 24 h；按 10% 接种量再次转接于装有 45 mL MRS 培养基的容器中，37 ℃静置培养 24 h。将种子液调至 OD_{600}=0.5，吸取 100 μL 菌液，梯度稀释至 10^{-5}，分别吸取 2 μL 稀释液涂板到含有不同乙醇体积分数(0–25%)的 MRS 固体培养基上，于 37 ℃厌氧条件(气体配比：85% N_2，10% H_2，5% CO_2)下培养 3 d，观察菌落生长大小，并拍照记录。

1.5.2 乳杆菌耐乙酸能力测定

种子液培养参见 1.5.1 节方法，将种子液调至 OD_{600}=0.5，吸取 100 μL 菌液，梯度稀释至 10^{-5}，分别吸取 2 μL 稀释液涂板到含有不同乙酸浓度(3–15 g/L)的 MRS 固体培养基上，于 37 ℃厌氧条件(气体配比：85% N_2，10% H_2，5% CO_2)下培养 3 d，观察菌落生长大小并拍照记录。

1.5.3 乳杆菌耐乳酸能力测定

种子液培养参见 1.5.1 节方法，将种子液调至 OD_{600}=0.5，吸取 100 μL 菌液，梯度稀释至 10^{-5}，分别吸取 2 μL 稀释液涂板到含有不同乳酸浓度(2–10 g/L)的 MRS 固体培养基上，于 37 ℃，厌氧条件(气体配比：85% N_2，10% H_2，5% CO_2)下培养 3 d，观察菌落生长大小，并拍照记录。

1.6 乳杆菌单一碳源发酵能力评价

挑取适量乳杆菌菌泥接入含 5 mL MRS 培养基的试管中，37 ℃静置培养 24 h；按 10% 接

种量再次转接于装有 45 mL MRS 培养基的容器中，37 ℃静置培养 24 h。将种子液调至 OD_{600}=0.5，按 5% 的接种量接入含不同碳源(葡萄糖、D-半乳糖、麦芽糖)培养基的大试管中(80 mL)，37 ℃静置发酵 7 d。发酵结束后将发酵液过膜处理，用示差折光检测器(refractive index detector, RID)检测发酵产物及残存碳源含量。依据碳源残存量计算碳源利用率及产物生成率，以此评价乳杆菌对单一碳源的发酵能力。

1.7 乳杆菌对高粱水解液发酵能力的评价

挑取适量乳杆菌菌泥接入含 5 mL MRS 培养基的试管中，37 ℃静置培养 24 h；按 10% 接种量再次转接于装有 45 mL MRS 培养基的容器中，37 ℃静置培养 24 h。将种子液调至 OD_{600}=0.5，按 5% 的接种量接入至含高粱水解液培养基的大试管中(80 mL)，37 ℃静置发酵 7 d。发酵结束后将发酵液过膜处理，用高效液相色谱检测发酵产物及碳源含量。依据碳源残存量计算碳源利用率及产物生成率，以此评价乳杆菌对高粱水解液的发酵能力。

1.8 实验室模拟小曲清香型白酒固态发酵

参照某小曲清香型酒厂发酵工艺，在实验室条件下建立等比例缩小的模拟固态发酵体系。具体实施过程中保持关键工艺参数与生产实际一致：实验室模拟固态发酵时先在 72 ℃润粮 20 h，然后在 115 ℃蒸粮 20 min，摊晾冷却至 40 ℃后拌曲，30 ℃糖化培菌 24 h (糖化期间用湿纱布覆盖于糖化醅表面，保持一定湿度)，之后根据醅糟配比约为 1:2 拌入酒糟(控制水分在 65%−69%)，装入 500 mL 锥形瓶中密封，置于恒温培养箱中(内置水盘维持空气湿度)在 25 ℃条件下静置发酵 15 d。对照组 CK 在原工艺的酒曲基础上补加 10 mL 灭菌水(控制糖化醅水分为 51%−54%)；实验组是在原工艺酒曲的基础上糖化培菌前添加 10 mL 乳杆菌菌悬液，接种量为 2×10^5 CFU/g (原粮质量)，每个方案总添加乳杆菌菌量为 5.4×10^7 CFU。

1.9 酒醅理化指标与风味物质的测定方法

酒醅的水分、残糖、残淀、酸度与风味物质的测定参考阮玉磊[11]的方法。

1.10 数据处理

使用 Origin 2024、GraphPad 9、IBM SPSS 25.0、TBtools 进行绘图处理及统计学分析。

2 结果与讨论

2.1 酿造过程中乳杆菌的演替规律

为探究小曲清香型白酒酿造过程中乳杆菌的种水平演替规律，对小曲、糖化醅以及发酵酒醅进行高通量测序，得到不同发酵阶段中乳杆菌的相对丰度百分比，并对乳杆菌的相对丰度百分比进行聚类分析。如图 1 所示，整个酿造过程中共检出 16 个乳杆菌种(其中 1 种为未分类)，且不同乳杆菌的演替具有显著的阶段特异性。短发酵剂乳杆菌(*Levilactobacillus brevis*)与植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)在小曲中占主导地位，合计相对丰度达 92.17%。经培菌糖化后，*L. brevis*、*L. plantarum* 和酸鱼宿主关联乳杆菌(*Ligilactobacillus acidipiscis*)的相对丰度随发酵进程呈显著衰减趋势，分别从初始(小曲中)相对丰度 48.30%、44.60% 和 1.35%，降至发酵终点(21 d)时合计相对丰度均仅为 0.87%。发酵黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*)、美洲豹乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus pantheris*)以及内格尔氏液体乳杆菌(*Lacitilactobacillus nagelii*)在培菌糖化阶段表现出快速增殖特性，从初始(小曲中)合计相对丰度 1.27% 跃升至 15.00%，但进入厌氧发酵阶段后丰度持续下降至合计相对丰度仅为 0.02%。该现象与其兼性厌氧代谢特征相关，表明其生长可能受环境厌氧条件的限制[7]。欧研会黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus pontis*)与瑞士乳杆菌

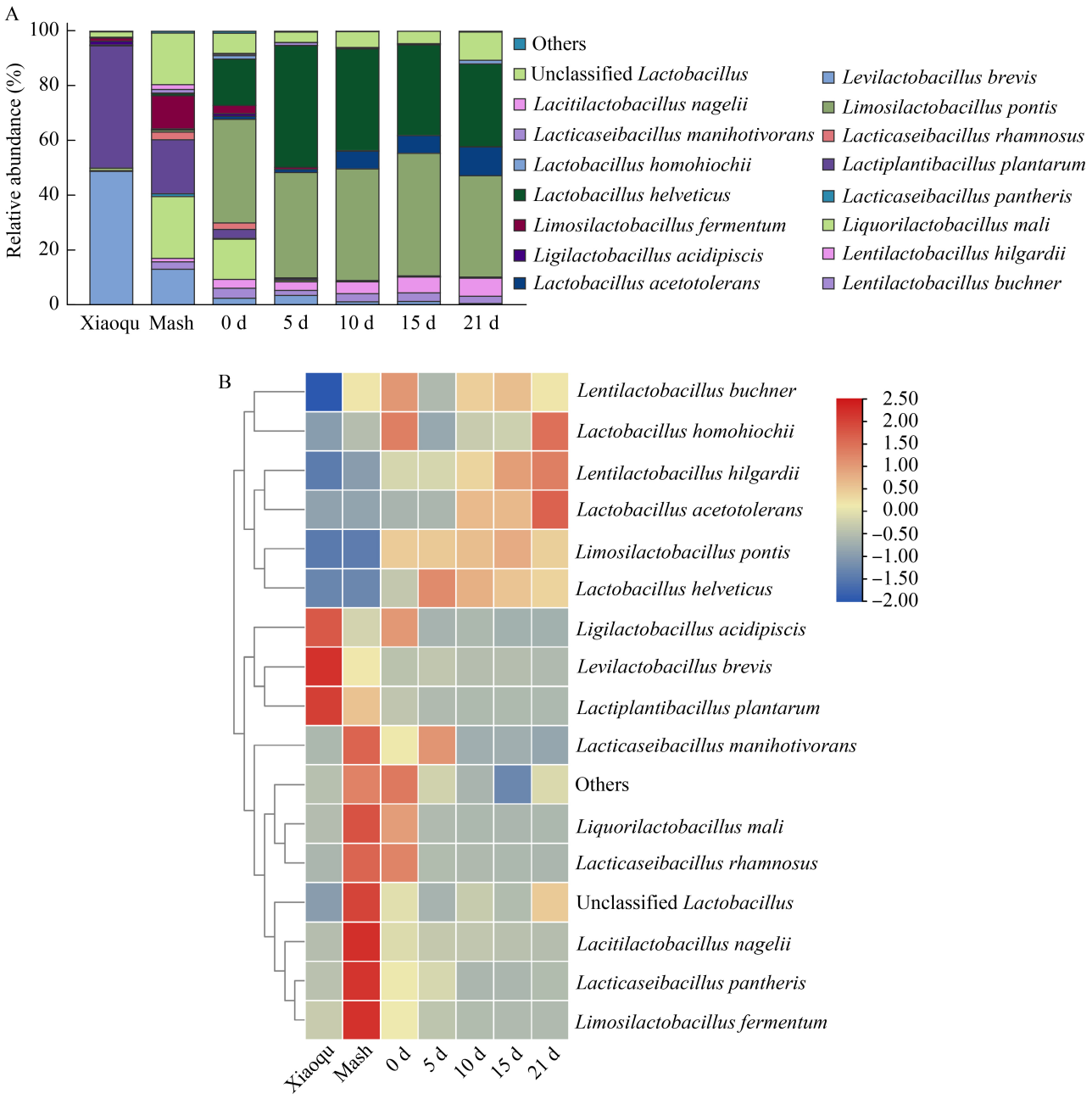

图1　小曲清香型白酒酿造过程中乳杆菌的演替。A：不同发酵阶段中乳杆菌相对丰度百分比；B：不同发酵阶段中乳杆菌的聚类热图。

Figure 1　Succession of *Lactobacillus* during the fermentation process of Xiaoqu Qingxiangxing Baijiu. A: The percentage of the relative abundance of *Lactobacillus* in different fermentation stages; B: The clustering heatmap of *Lactobacillus* in different fermentation stages.

(*Lactobacillus helveticus*)在糖化醅至初始发酵阶段(0−5 d)均呈现增长模式，二者丰度分别达到峰值37.21%(第5天)和44.08%(第15天)，并在后期发酵阶段(15−21 d)维持高丰度，表明其可能具

有较强的发酵胁迫耐受性。希氏慢生乳杆菌(*Lentilactobacillus hilgardii*)与耐醋乳杆菌(*Lactobacillus acetotolerans*)丰度分别从3.15%和4.32%提升至9.87%和11.23%，可能与该类菌株携带耐酸相关基因簇[12-13]，适应酒醅酸性环境有关。此外，布氏慢生乳杆菌(*Lentilactobacillus buchner*)在整个发酵过程中丰度始终维持在2.15%–4.98%，推测是因为其耐受性较强且利用碳谱广、代谢较稳定、能稳定地在酿造过程中发挥作用[14]。

2.2 乳杆菌的分离鉴定及优势乳杆菌的确定

通过观察菌株在MRS改良培养基和固体富集培养基上的单菌落特征，结合乳杆菌典型菌落形态特征，初步分离纯化获得34株潜在乳杆菌菌株。这些菌落普遍呈现典型乳杆菌特征：菌落直径较小，形态规则呈圆形，表面质地多为干燥或粗糙，颜色以黄色、米白色和白色为主。经16S rRNA基因测序及NCBI BLAST同源性分析表明，得到的34株潜在乳杆菌归属于乳杆菌属与乳酸片球菌属2个属共计16个种，其16种代表菌株的形态特征如图2所示，系统发育树如图3所示。其中32株归属于乳杆菌属的15个种，包括布氏慢生乳杆菌(*L. buchneri*)、植物乳植杆菌(*L. plantarum*)、食丙二醇慢生乳杆菌(*Lentilactobacillus diolivorans*)、哈尔滨施莱费尔氏乳杆菌(*Schleiferilactobacillus harbinensis*)、干酪乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus casei*)、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)、短发酵剂乳杆菌(*L. brevis*)、发酵黏液乳杆菌(*Lm. fermentum*)、耐醋乳杆菌(*L. acetotolerans*)、面包黏液乳杆菌(*Lm. panis*)、欧研会黏液乳杆菌(*Lm. pontis*)、酒液体乳杆菌(*Liquorilactobacillus vini*)、淀粉乳杆菌(*Amylolactobacillus amylophilus*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)和希氏慢生乳杆菌(*L. hilgardii*)。另有2株被鉴定为乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)。具体菌株鉴定结果如表1所示。

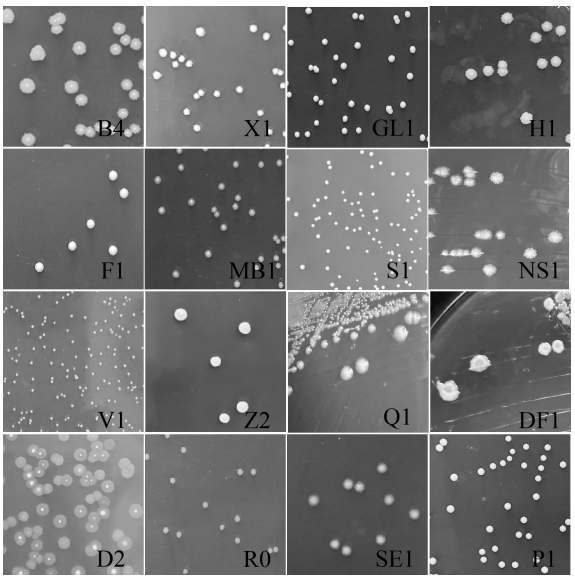

图2 16株代表菌株的菌落形态

Figure 2 Colony morphology of 16 representative strains.

与乳杆菌高通量测序结果对比发现，在筛选获得的15种乳杆菌中有8种乳杆菌，包括布氏慢生乳杆菌、植物乳植杆菌、瑞士乳杆菌、短发酵剂乳杆菌、发酵黏液乳杆菌、耐醋乳杆菌、欧研会黏液乳杆菌和希氏慢生乳杆菌，其在发酵过程中乳杆菌属相对丰度高(在某一阶段发酵中相对丰度>1%)，且这8种乳杆菌合计相对丰度在整个发酵阶段占总乳杆菌属>75%，确认这8种乳杆菌为小曲清香型白酒发酵过程中的优势乳杆菌；其余筛选出的7种乳杆菌在高通量数据中丰度过低而未检出。比较高通量测序检测到的16种乳杆菌，此次筛选未获得的乳杆菌中除苹果液体乳杆菌外，其他乳杆菌在整个发酵过程中的丰度小于1%，说明本次筛选方法能获得发酵过程中的绝大多数重要乳杆菌。此外，食二酸迟缓乳杆菌、耐醋乳杆菌、面包黏液乳杆菌、欧研会黏液乳杆菌、酒液体乳杆菌、嗜淀粉乳杆菌在小曲清香型白酒中首次筛出。研究表明耐醋乳杆菌、欧研会黏液乳杆菌属厌氧菌株[12-13,15]，这表明此次改良的方法对于

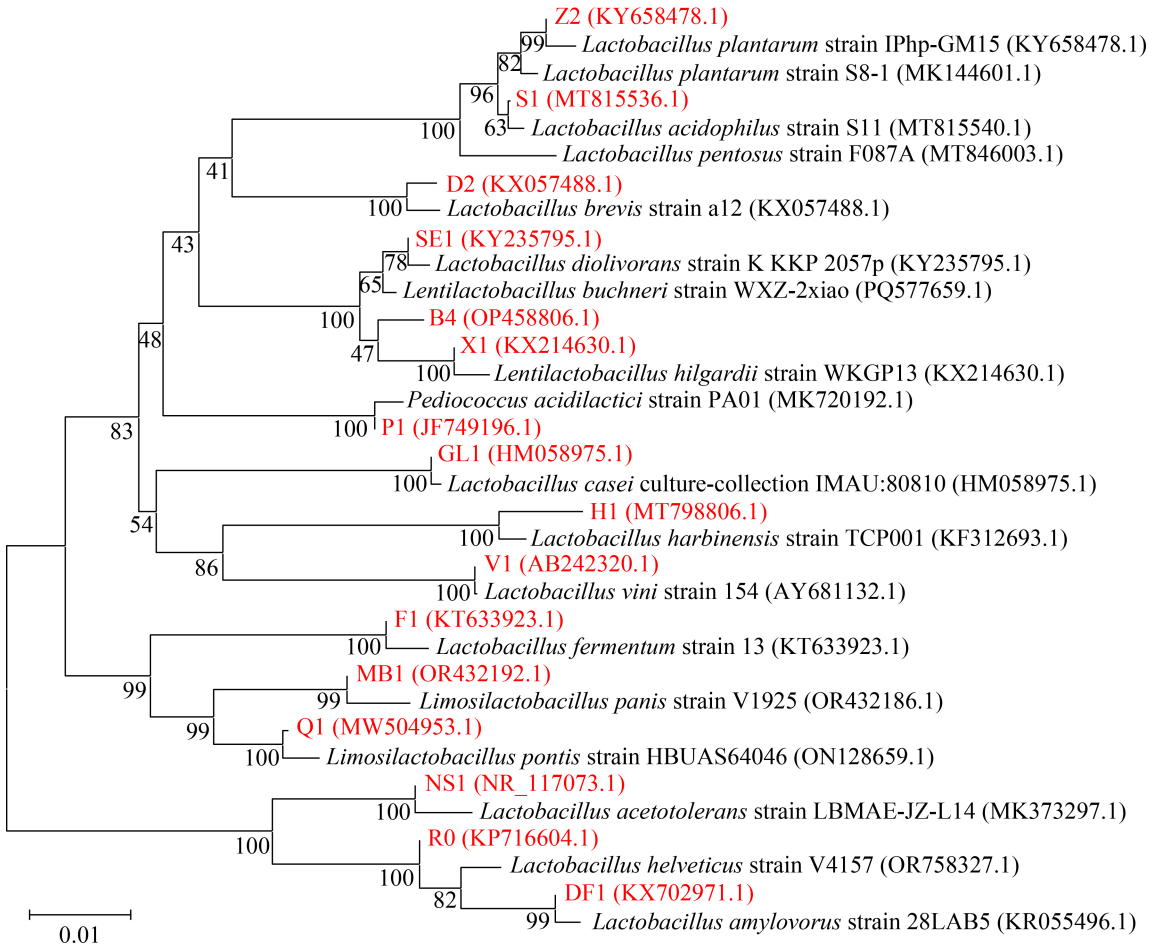

图3　基于16S rRNA基因序列构建的16株代表菌株系统发育树。括号内的序号为GenBank登录号；节点处的数字为bootstrap支持度；标尺表示进化距离。

Figure 3　The phylogenetic tree of 16 representative strains based on 16S rRNA gene sequences. The serial number in parentheses is the GenBank accession number, and the number at the node is bootstrap support. The ruler represents the evolutionary distance.

厌氧菌株的筛选有较好的作用。

2.3　乳杆菌胁迫因子耐受性探究

在传统固态白酒发酵过程中酒醅环境呈现动态变化的复合胁迫压力，随着发酵进程推进乳酸等有机酸的积累以及乙醇浓度的升高等因素共同构成严苛的微生态环境[1]。乳杆菌作为发酵中后期的优势功能菌群，其在发酵中后期的主导地位与其对严苛发酵环境的适应性密切相关。根据筛选获得的 8 种、23 株优势乳杆菌的鉴定结果，发现其中部分菌株基因库登录号相同，因此最终确定 8 种、共计 19 株优势乳杆菌。分别在含有不同浓度乙醇(体积分数)、乙酸和乳酸的固体培养基上进行胁迫性稀释点板实验，探究不同乳杆菌对发酵环境的耐受能力。

对于乙醇胁迫，大部分乳杆菌均能够耐受体积分数为 10% 的乙醇，其中短发酵剂乳杆菌 D2、植物乳植杆菌 Z5、瑞士乳杆菌 R0、希氏慢生乳杆菌(X1、X2)、布氏慢生乳杆菌(B4、B5、B6)在体积分数为 25% 的乙醇平板上仍能够生长(图 4)。对于乙酸胁迫，大部分乳杆菌均

表1 34株潜在乳杆菌鉴定结果

Table 1 Identification results of 34 potential *Lactobacillus* strains

菌株编号 Strain number	菌株数 Number of strains	种属 Species
D1, D2	2	短发酵剂乳杆菌*L. brevis*
B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7	7	布氏慢生乳杆菌*L. buchner*
X1, X2	2	希氏慢生乳杆菌*L. hilgardii*
GL1, GL2	2	干酪乳杆菌*L. case*
H1, H2	2	哈尔滨施莱弗乳杆菌*S. harbinensis*
R0	1	瑞士乳杆菌*L. helveticus*
F1, F2	2	发酵黏液乳杆菌*L. fermentum*
MB1	1	面包黏液乳杆菌*Limosilactobacillus panis*
NS1, NS1	2	耐醋乳杆菌*L. acetotolerans*
SE1	1	食二酸迟缓乳杆菌*L. diolivorans*
V1	1	酒液体乳杆菌*L. vini*
Z1, Z2, Z3, Z4, Z5	5	植物乳植杆菌*L. plantarum*
Q1, Q2	2	欧研会黏液乳杆菌*L. pontis*
DF1	1	嗜淀粉乳杆菌*A. amylophilus*
S1	1	嗜酸乳杆菌*L. acidophilus*
P1, P2	2	乳酸片球菌*P. acidilactici*

能够在乙酸浓度为 6 g/L 的条件下生长，其中短发酵剂乳杆菌 D2、布氏慢生乳杆菌(B2、B4、B6)、希氏慢生乳杆菌(X1、X2)、瑞士乳杆菌 R0 与欧研会黏液乳杆菌(Q1、Q2)在乙酸浓度为 12 g/L 时仍能够生长。对于乳酸胁迫，大部分乳杆菌均能够在乳酸浓度为 6 g/L 的条件下生长，其中布氏慢生乳杆菌(B2、B4、B6)、耐醋乳杆菌 NS1、瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌(Q1、Q2)在乳酸浓度为 10 g/L 时仍能够生长。

通过对比酒醅实际发酵体系内乙醇的体积分数(0−6.0%)、乙酸浓度(1.5−3.0 g/L)和乳酸浓度(2.0−3.5 g/L)的动态浓度区间，发现 8 种优势乳杆菌整体均能够耐受实际发酵体系中的乙醇、乙酸、乳酸浓度。其中，整体耐受性较强的为欧研会黏液乳杆菌、瑞士乳杆菌、布氏慢生乳杆菌、希氏慢生乳杆菌与短发酵剂乳杆菌。因此从每种优势乳杆菌中各挑选一株耐受性较好的菌株(布氏慢生乳杆菌 B4、植物乳植杆菌 Z5、瑞士乳杆菌 R0、短发酵剂乳杆菌 D2、发酵黏液乳杆菌 F1、耐醋乳杆菌 NS1、欧研会黏液乳杆菌 Q1、希氏慢生乳杆菌 X1)共计 8 株乳杆菌，进一步考察优势乳杆菌在单一碳源发酵中的产酸特性。

2.4 单一碳源条件下乳杆菌发酵特性

白酒风味的复杂性源于酿造过程中微生物对原料的代谢转化[1]。高粱作为小曲清香型白酒原料，其中的多糖(主要为淀粉)在发酵过程中被各种碳水化合物水解酶水解生成葡萄糖、麦芽糖、D-半乳糖(果胶、半纤维素降解产物)等可发酵性糖，作为微生物的主要碳源[16]。在白酒固态发酵的中后期阶段，乳杆菌作为优势功能菌群主要通过糖酵解途径(embden-meyerhof-parnas pathway, EMP)和磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)等关键碳代谢途径实现产物的转化[17-18]。研究表明乳杆菌对不同碳源的代谢存在差异，这种差异不仅影响其能量获取效率，更直接决定了乳酸、乙酸等有机酸的合成比例及积累量。作为白酒风味形成的关键

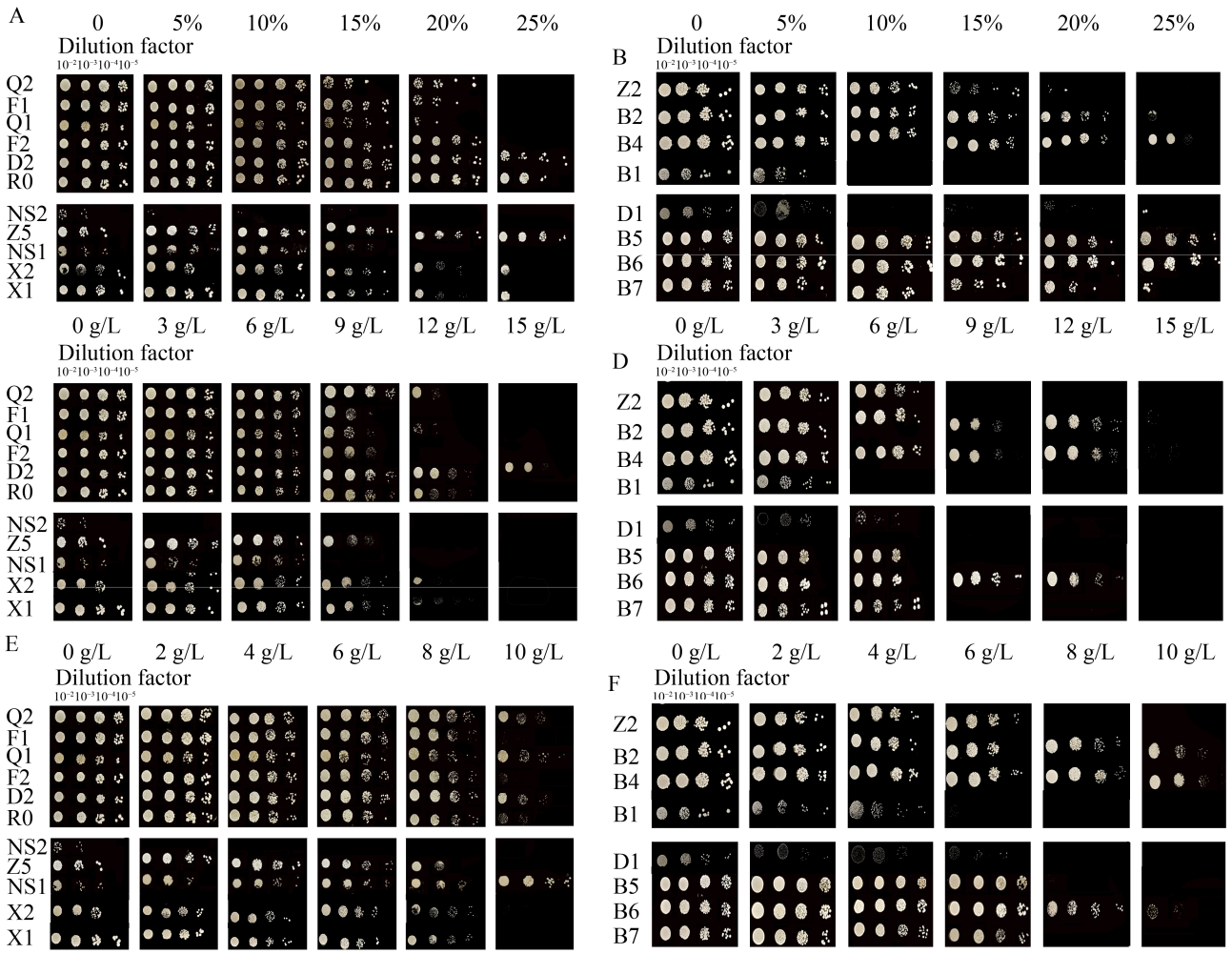

图4　乳杆菌不同胁迫条件下耐受能力。A、B：乙醇耐受能力；C、D：乙酸耐受能力；E、F：乳酸耐受能力。

Figure 4　The tolerance capacity of *Lactobacillus* under different stress conditions. A, B: Ethanol tolerance; C, D: Acetic acid tolerance; E, F: Lactic acid tolerance.

前体物质，这些有机酸在发酵体系中进一步与乙醇发生酯化反应生成乳酸乙酯、乙酸乙酯等特征性香气成分，最终塑造了白酒独特的风味[18-19]。基于此，本研究采用葡萄糖、麦芽糖和 D-半乳糖作为单一碳源配制培养基，分别接种不同乳杆菌菌株进行发酵培养。通过测定发酵终止后的残糖含量及发酵产物组成从发酵产物角度探究单一碳源对优势乳杆菌发酵的影响。

发酵结束后对培养基中的碳源进行检测，并计算碳源利用率，结果如表 2 所示。所有乳杆菌在以葡萄糖为唯一碳源的培养基中能完全利用培养基中的葡萄糖(发酵结束后未检测到残余)，证实葡萄糖是乳杆菌属的普适性碳源。不同乳杆菌菌株对 D-半乳糖、麦芽糖的发酵能力存在显著差异(P<0.05)。在 D-半乳糖利用方面菌株间表现出明显差异：发酵黏液乳杆菌 F1、希氏慢生乳杆菌 X1 和布氏慢生乳杆菌 B4 展现出显著的 D-半乳糖利用优势，而耐醋乳杆菌 NS1 对 D-半乳糖利用率仅为 6.36%，表明耐醋乳杆菌对 D-半乳糖存在利用缺陷。在麦芽糖利用方

表2 乳杆菌在不同碳源培养基中的碳源利用率

Table 2 Carbon source utilization efficiency of *Lactobacillus* in media with different carbon sources

菌株 Strain	葡萄糖 Glucose (%)	D-半乳糖 D-galactose (%)	麦芽糖 Maltose (%)
R0	100.00±0.00a	80.15±5.55b	100.00±0.00a
Q1	100.00±0.00a	81.35±1.40b	100.00±0.00a
NS1	100.00±0.00a	6.36±1.05c	60.10±4.15b
F1	100.00±0.00a	90.60±0.25a	61.35±2.80b
Z5	100.00±0.00a	80.15±5.00b	2.65±0.30c
D2	100.00±0.00a	82.75±3.95b	100.00±0.00a
X1	100.00±0.00a	90.80±0.25a	100.00±0.00a
B4	100.00±0.00a	90.50±0.35a	100.00±0.00a

表中数据为平均值±标准差。同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

The data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in same column indicate significant differences (P<0.05).

面，瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌 Q1、短发酵剂乳杆菌 D2、希氏慢生乳杆菌 X1 和布氏慢生乳杆菌 B4 能够完全利用麦芽糖，而植物乳植杆菌 Z5 对麦芽糖利用率仅为 2.65%，表明该菌株存在明显的麦芽糖利用缺陷。

本研究比较了 8 株优势乳杆菌在以葡萄糖、麦芽糖与 D-半乳糖为唯一碳源时的主要发酵产物种类与转化率的差异。如图 5 所示，所有菌株均以乳酸为主要产物。其中，瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌 Q1 在 3 种碳源中发酵的产物只有乳酸；布氏慢生乳杆菌 B4、短发酵剂乳杆菌 D2、希氏慢生乳杆菌 X1 与耐醋乳杆菌 NS1 在 3 种碳源中发酵的产物均为乳酸、乙酸或乙醇；此外，部分菌株在不同碳源下发酵产物不同，发酵黏液乳杆菌 F1 在葡萄糖与 D-半乳糖为碳源时只产乳酸，以麦芽糖为碳源时发酵产乳酸与乙酸；植物乳植杆菌 Z5 在以葡萄糖、D-半乳糖时仅产乳酸，以麦芽糖为唯一碳源的培养基中进行发酵时能够微量利用麦芽糖产生乳酸与乙酸。因此，根据同一乳杆菌在不同碳源培养后的碳源消耗量和产物产量计算其在不同碳源发酵下的产物转化率(g/g)，并比较在不同碳源培养基中的产物转化率。发酵黏液乳杆菌 F1 与短发酵剂乳杆菌 D2 以葡萄糖为唯一碳源时乳酸转化率最高，转化率分别为 89.15% 与 45.45%，表现为发酵葡萄糖高效率特征；植物乳植杆菌 Z5 与希氏慢生乳杆菌 X1 在以 D-半乳糖为唯一碳源时乳酸转化率最高，分别为 63.92% 与 47.60%，表现为发酵 D-半乳糖高效率特征；瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌 Q1、耐醋乳杆菌 NS1 在以麦芽糖为唯一碳源时乳酸转化率最高，分别为 62.40%、95.33% 与 53.65%，表现为发酵麦芽糖高效率特征。

2.5 优势乳杆菌高粱水解液基本发酵性能

参考阮玉磊[11]通过高粱水解液培养基对酿造过程中核心微生物发酵性能的评价方法，本研究拟在已有不同碳源发酵特性研究的基础上，进一步探究真实发酵原料(高粱，其淀粉、蛋白质含量相对固定，水解产物谱也相对固定)特性下，小曲清香型白酒发酵过程中 8 株优势乳杆菌的发酵性能。通过检测发现高粱水解液中的碳源主要为葡萄糖(160 g/L)，而 D-半乳糖、麦芽糖等因含量过低而未检测到。发酵结束后 8 种乳杆菌对碳源的利用率(以葡萄糖消耗量计)如图 6 所示。其中，短发酵剂乳杆菌 D2、植物乳植杆菌 Z5 在高粱水解液培养基中表现出较高的代谢活性，其碳源利用率高于其他菌株。其次，乳杆菌在高粱水解液培养基中的发酵产物主要为乳酸。欧研会黏液乳杆菌 Q1、耐醋乳杆菌 NS1、发酵黏液乳杆菌 F1 与短发酵剂乳杆菌 D2 发酵时伴随着少量乙酸产生；希氏慢生乳杆菌 X1 与布氏慢生乳杆菌 B4 发酵时伴随着乙酸、乙醇的产生；布氏慢生乳杆菌 B4 表现出合成乳酸乙酯 (2−3 mg/L)的能力；其中在高粱水解液培养基中，耐醋乳杆菌 NS1、植物乳植杆菌 Z5、布氏慢生乳杆菌 B4 的乳酸转化率较高，分别为 45.06%、56.78% 和 43.79%。

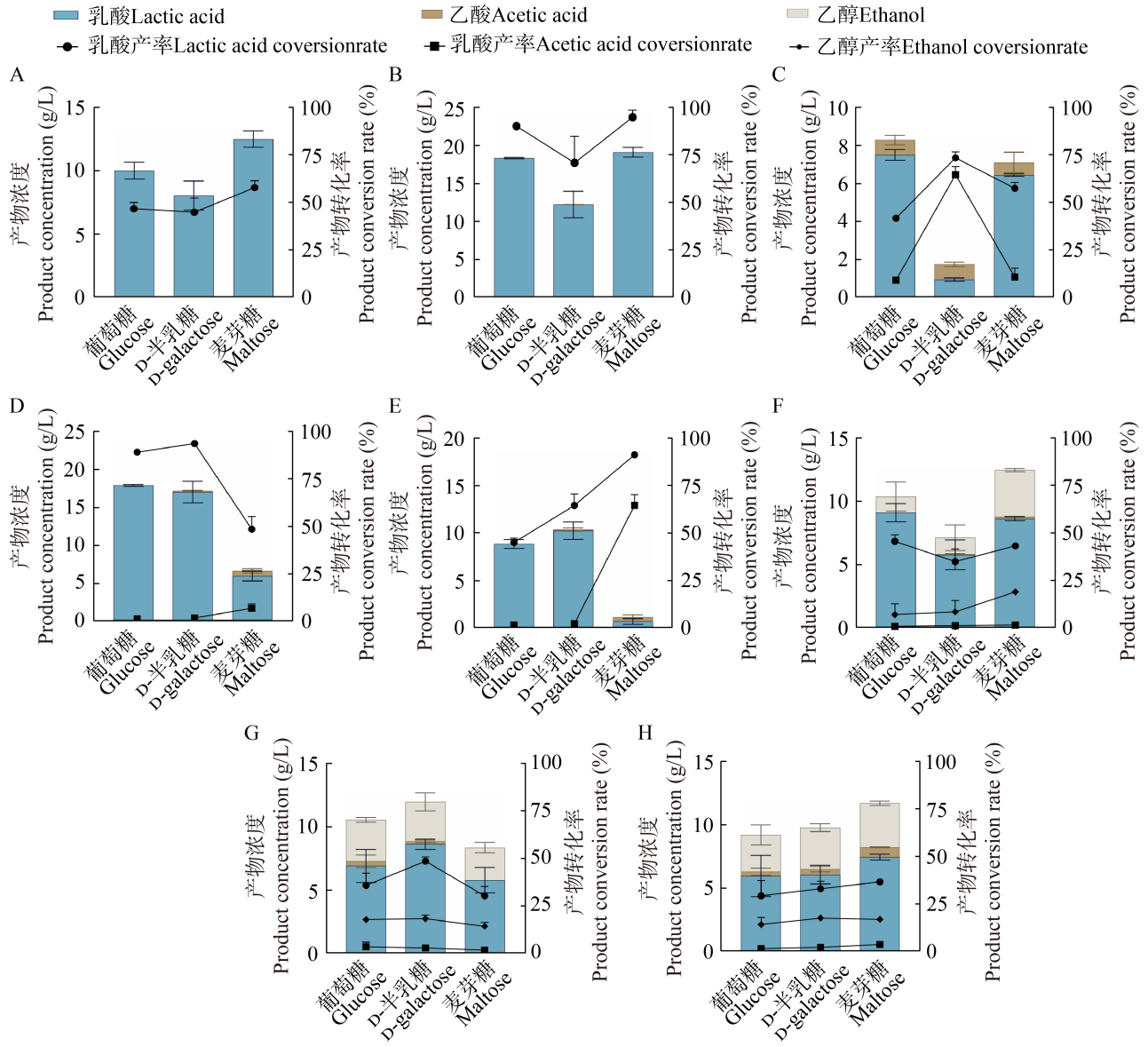

图5　单一碳源下乳杆菌发酵产物浓度及其转化率。A：瑞士乳杆菌R0；B：欧研会黏液乳杆菌Q1；C：耐醋乳杆菌NS1；D：发酵黏液乳杆菌F1；E：植物乳植杆菌Z5；F：短发酵剂乳杆菌D2；G：希氏慢生乳杆菌X1；H：布氏慢生乳杆菌B4。

Figure 5　Concentration and conversion rate of *Lactobacillus* fermentation products under single carbon source conditions. A: *L. helveticus* R0; B: *L. pontis* Q1; C: *L. acetotolerans* NS1; D: *L. fermentum* F1; E: *L. plantarum* Z5; F: *L. brevis* D2; G: *L. hilgardii* X1; H: *L. buchneri* B4.

比较不同乳杆菌菌株在单一碳源培养基和高粱水解液培养基中的发酵特性异同。瑞士乳杆菌和植物乳植杆菌发酵产生单一产物(乳酸)，短发酵剂乳杆菌、耐醋乳杆菌、希氏慢生乳杆菌和布氏慢生乳杆菌则发酵产生多种产物(乙酸或乙醇、乳酸)。相比之下，欧研会黏液乳杆菌和发酵黏液乳杆菌在高粱水解液培养基中有微量乙酸生成，与在单一碳源培养基中的发酵结

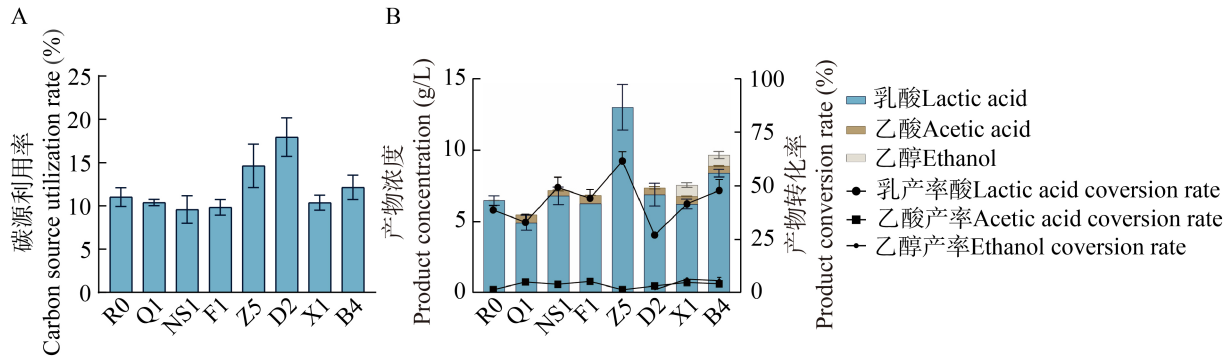

图6 乳杆菌高粱水解液发酵的碳源利用和产物生成情况。A：碳源利用率；B：发酵产物浓度与转化率。

Figure 6 *Lactobacillus* carbon source utilization and product formation in sorghum hydrolysate fermentation. A: Carbon source utilization efficiency; B: Fermentation product concentration and conversion rate.

果有差异。分析这种发酵差异可能源于高粱水解液的复杂成分特性(存在多种碳源和氮源物质等复杂基质)，可能影响乳杆菌的代谢途径，导致发酵产物出现差异[18]。该研究结果可为白酒发酵中乳杆菌发酵特性的调控提供理论依据。

2.6 实验室模拟乳杆菌强化固态发酵

为了进一步探究 8 株优势乳杆菌在小曲清香型白酒固态发酵中对关键风味物质合成的影响，本研究以制备菌悬液的方式在原工艺基础上选择在糖化前添加乳杆菌液，进行模拟小曲清香型白酒乳杆菌强化固态发酵。发酵实验结束后对酒醅中乳酸及乙酸含量进行检测；同时蒸馏发酵结束后的酒醅，获得酒样，对酒样中的乙酸乙酯与乳酸乙酯进行检测。

在小曲清香型白酒酿造过程中乙酸和乳酸通过双重作用共同塑造酒体风味特征。首先，作为直接呈味物质，二者的含量及比例直接影响酒体的酸度和口感特征；其次，作为关键前体物质，它们通过酯化反应生成乙酸乙酯和乳酸乙酯等风味成分。这种协同作用最终形成了小曲清香型白酒清雅纯正、醇甜爽净的典型风味风格。如图 7 所示，相比对照组，强化 NS1 (耐醋乳杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、X1 (希氏慢生乳杆菌)和 B4 (布氏慢生乳杆菌)可显著增加乙酸含量，其含量分别提升 57%、56%、79%、109%、103%，与各菌株在高粱水解液培养基中具有产乙酸能力的结果相一致。强化 R0 (瑞士乳杆菌)、NS1 (耐醋乳杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、X1 (希氏慢生乳杆菌)可显著增加乳酸含量，其含量分别提升 24%、39%、50%、60%；最终，添加 4 株优势乳杆菌 NS1 (耐醋乳杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、X1 (希氏慢生乳杆菌)对乙酸与乳酸含量均有显著提高的作用。

乙酸乙酯和乳酸乙酯及其比例(乙乳比)是小曲清香型白酒中衡量优质酒的重要指标[1]。如图 7C 所示，相比对照组，在乳酸乙酯方面，强化 R0 (瑞士乳杆菌)、NS1 (耐醋乳杆菌)和 X1 (希氏慢生乳杆菌) 3 株乳杆菌可显著提高乳酸乙酯含量，其含量分别提升 84%、103% 和 175%；强化 Q1 (欧研会黏液乳杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、Z5 (植物乳植杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、B4 (布氏慢生乳杆菌) 5 株乳杆菌可显著降低乳酸乙酯含量，其含量分别降低 60%、63%、48%、57% 与 71%。NS1 (耐醋乳杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、Z5 (植物乳植杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、X1 (希氏慢生乳杆菌)、B4 (布氏慢生乳杆菌)等 6 株乳杆菌能显著提高乙酸乙酯含量，其含量分别提升 16%、20%、33.48%、37.48%、44% 和 50%；强化欧研会黏液乳杆菌

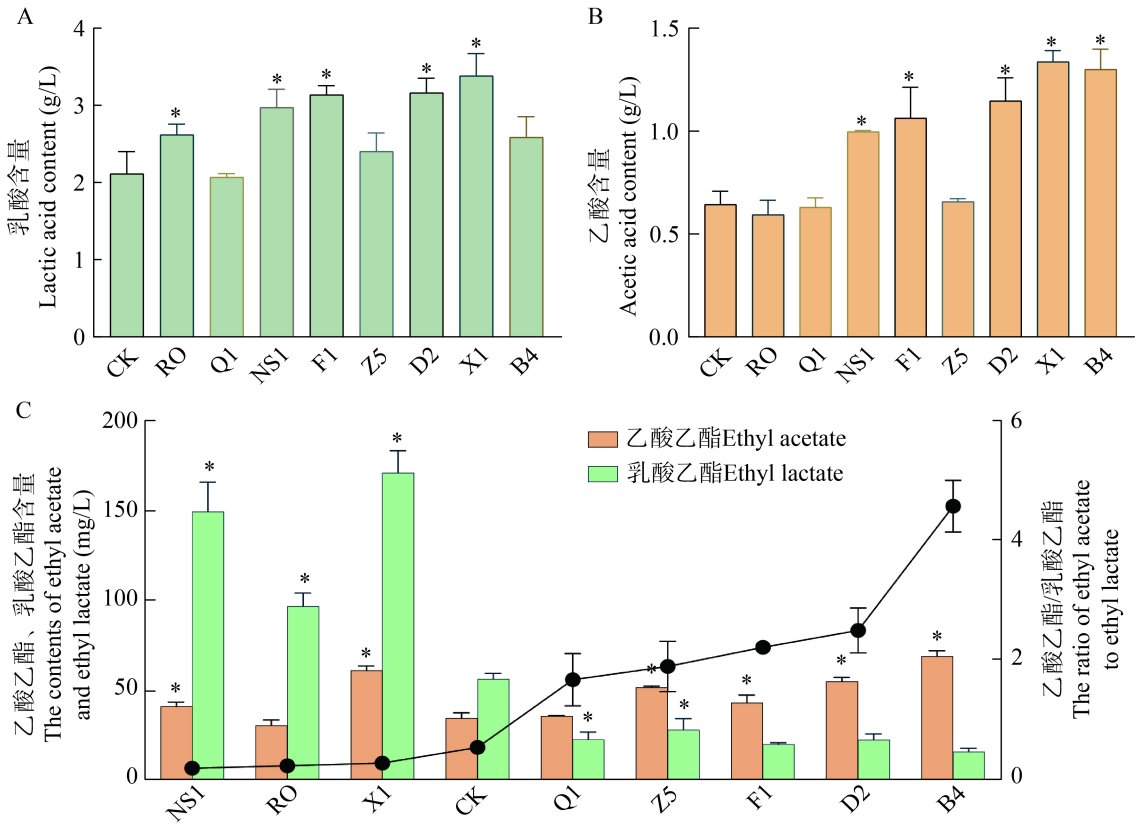

图7　模拟强化固态发酵条件下酒醅中的酸酯生成。A：乳酸；B：乙酸；C：乙酸乙酯、乳酸乙酯及乙乳比。

Figure 7　Simulated enhanced solid-state fermentation conditions for acid and ester generation in fermented grains. A: Lactic acid; B: Acetic acid; C: Ethyl acetate, ethyl lactate content, and ethyl acetate to ethyl lactate ratio *Lactobacillus*. *: Indicates a significant correlation with the control group CK (P<0.05).

Q1、瑞士乳杆菌 R0 进行固态发酵对乙酸乙酯含量影响不显著。

综上所述，有 R0 (瑞士乳杆菌)、X1 (希氏慢生乳杆菌) 2 株菌能够显著提高乙酸乙酯与乳酸乙酯含量，而存在 4 株乳杆菌 F1 (发酵黏液乳杆菌)、Z5 (植物乳植杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、B4 (布氏慢生乳杆菌)能够显著降低乳酸乙酯含量、提高乙酸乙酯含量。Q1 (欧研会黏液乳杆菌)、Z5 (植物乳植杆菌)、F1 (发酵黏液乳杆菌)、D2 (短发酵剂乳杆菌)、B4 (布氏慢生乳杆菌) 5 株菌能够提升乙乳比，其中以布氏慢生乳杆菌 B4 提升乙乳比效果最佳。江威等[10]通过在糖化前强化布氏慢生乳杆菌进行 20 kg 固态发酵实验，乙酸乙酯含量增加 16.79%、乳酸乙酯增加 37.38%，本研究在糖化前强化布氏慢生乳杆菌 B4，乙酸乙酯提高了 50.00%、乳酸乙酯降低了 73.21%。分析造成乙酸乙酯与乳酸乙酯增幅不同的原因：(1) 采用不同菌株进行发酵，其发酵性能可能存在显著差异；(2) 不同发酵规模发酵体系导致的传质传热效率差异，可能进一步影响菌体的生长与代谢活性，从而导致乙酸乙酯与乳酸乙酯在产量增幅上的差异[20-23]。结合乳杆菌在不同碳源发酵特征分析结果，布氏慢生乳杆菌 B4 能够均衡利用多种碳源，具有发酵产生多种产物(乳酸、乙酸与乙醇)及降解乳酸等发酵特性[21]，可能是其在固态发酵中能够显著

提高乙酸乙酯含量、降低乳酸乙酯含量、显著提高乙乳比的原因。

对于部分乳杆菌强化组未显示出乳酸与乙酸含量的显著变化(但并未出现显著性降低)，这一现象可能由以下两方面因素导致：(1) 菌株发酵特性差异，不同乳杆菌菌株在白酒固态发酵体系中表现出显著的发酵差异，可能与某些乳杆菌菌株在复杂发酵环境中优先利用可溶性糖类等碳源维持菌体生长，而非大量产酸[24]；(2) 微生物群落互作效应，白酒发酵体系中的复杂微生物网络可能影响到乳杆菌在培菌糖化阶段，使其受竞争抑制未显著增殖，从而在发酵阶段与原酒曲中乳杆菌(培菌糖化阶段得到显著增殖)相比未体现出强化发酵产酸性能[25]，进而导致终产物中乳酸或乙酸含量与对照组相比未呈现显著差异。综上所述，基于固态发酵中调控酯类的合成是多菌种互作的结果，未来可利用宏基因组和宏转录组技术进一步探索强化乳杆菌影响小曲清香型白酒风味的发酵机制。

3 结论

本研究基于白酒发酵过程中酒醅微生物群落的高通量测序数据解析了乳杆菌在种水平上的演替规律。通过改良筛选培养基并结合酒醅富集培养方法，从小曲清香型酒醅中分离纯化获得 34 株潜在乳杆菌，经鉴定共计有 15 种乳杆菌，其中 8 种乳杆菌(欧研会黏液乳杆菌、瑞士乳杆菌、布氏慢生乳杆菌、希氏慢生乳杆菌、短发酵剂乳杆菌、发酵黏液乳杆菌、植物乳植杆菌与耐醋乳杆菌)在整个发酵过程中的相对丰度>75%，被确认为优势乳杆菌。本研究选择乳酸、乙酸和乙醇 3 种胁迫条件对优势乳杆菌进行耐受性评价。综合比较发现瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌 Q1、希氏慢生乳杆菌 X1 和布氏慢生乳杆菌 B4 在高胁迫条件下仍能够生长，这与高通量数据揭示的其在发酵后期仍保持增殖能力的特性高度吻合。对优势乳杆菌株的碳源发酵特征进行分析表明，不同乳杆菌对单一碳源的发酵特征存在差异：植物乳植杆菌存在麦芽糖利用缺陷，而耐醋乳杆菌则对 D-半乳糖存在利用缺陷；发酵黏液乳杆菌 F1 与短发酵剂乳杆菌 D2 表现为发酵葡萄糖高效率特征；植物乳植杆菌 Z5 与希氏慢生乳杆菌 X1 表现为发酵 D-半乳糖高效率特征；瑞士乳杆菌 R0、欧研会黏液乳杆菌 Q1、耐醋乳杆菌 NS1 表现为发酵麦芽糖高效率特征。希氏慢生乳杆菌 X1、布氏慢生乳杆菌 B4、短发酵剂乳杆菌 D2 在高粱水解液发酵条件下具有产乙酸能力。在实验室模拟固态发酵中，相较于对照组强化希氏乳杆菌 X1 可使酒体中乳酸乙酯及乙酸乙酯含量分别提升 175% 和 44%，从而将乙乳比降低至 0.357；强化布氏慢生乳杆菌 B4 可使酒体中乙酸乙酯含量提升 50%，乳酸乙酯含量降低 71%，从而将乙乳比提升至 4.496，因此强化不同乳杆菌菌株对调控酒体中乙乳比具有不同效果。

本研究聚焦于小曲清香型白酒发酵体系，初步探索了发酵过程中优势乳杆菌对单一碳源及高粱水解液的发酵特征。在糖化前接种优势乳杆菌株，进行强化乳杆菌实验室模拟固态发酵，揭示了其对酯类物质合成的影响，成功实现了乙乳比的动态调控。本研究结果为小曲清香型白酒生产中酒体的风味调控提供了指导和参考。

作者贡献声明

马丹：实验操作，论文撰写与修改；张秋波：参与论文绘图；王涵：协助实验操作；王欢：提出论文概念；孙春虹：参与实验方案讨论；王瑞鑫：协助论文修改；武晓乐：论文构思和设计，论文修改；陈叶福：获取基金，论文修改与审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] 肖冬光. 赵树欣, 陈叶福, 杜丽萍. 白酒生产技术[M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 202307.31-313.
XIAO DG, ZHAO SX, CHEN YF, DU LP. Liquor Production Technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 202307.31-313 (in Chinese).

[2] 王震, 叶宏, 朱婷婷, 黄明泉, 魏金旺, 吴继红, 张璟琳. 清香型白酒风味成分的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(7): 232-244.
WANG Z, YE H, ZHU TT, HUANG MQ, WEI JW, WU JH, ZHANG JL. Progress in research on the flavor components of light-flavor Baijiu[J]. Food Science, 2022, 43(7): 232-244 (in Chinese).

[3] 阎春悦, 利佳炜, 张茜, 常煦, 陈雄, 李欣. 不同香型白酒酿造过程乳酸菌的研究进展[J]. 酿酒科技, 2023(9): 114-120.
YAN CY, LI JW, ZHANG Q, CHANG X, CHEN X, LI X. Research progress in lactic acid bacteria in the production of Baijiu of different flavor types[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2023(9): 114-120 (in Chinese).

[4] WANG HY, XU Y. Microbial succession and metabolite changes during the fermentation of Chinese light aroma-style liquor[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 125(1): 162-170.

[5] HUANG XN, FAN Y, LU T, KANG JM, PANG XN, HAN BZ, CHEN JY. Composition and metabolic functions of the microbiome in fermented grain during light-flavor *Baijiu* fermentation[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1281.

[6] TANG J, LIU YC, LIN B, ZHU H, JIANG W, YANG Q, CHEN SX. Effects of ultra-long fermentation time on the microbial community and flavor components of light-flavor Xiaoqu Baijiu based on fermentation tanks[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2021, 38(1): 3.

[7] HU YL, YANG Q, CHEN D, FU B, ZHANG Y, ZHANG Y, XIA X, PENG N, LIANG YX, ZHAO SM. Study on microbial communities and higher alcohol formations in the fermentation of Chinese Xiaoqu Baijiu produced by traditional and new mechanical technologies[J]. Food Research International, 2021, 140: 109876.

[8] WANG H, SUN CH, YANG SZ, RUAN YL, LYU LJ, GUO XW, WU XL, CHEN YF. Exploring the impact of initial moisture content on microbial community and flavor generation in Xiaoqu Baijiu fermentation[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100981.

[9] 李锐, 杨玉贤, 杨强, 陈申习, 还萍, 李华南, 马向东. 劲酒传统发酵过程中可培养功能细菌群落的动态变化初步研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2019, 41(6): 572-577.
LI R, YANG YX, YANG Q, CHEN SX, HUAN P, LI HN, MA XD. Preliminary study on the dynamical variation of culturable functional bacterial groups in the fermentation process of Fen-flavor xiaoqu Jingjiu[J]. Journal of Hubei University (Natural Science), 2019, 41(6): 572-577 (in Chinese).

[10] 江威, 王路瑶, 张宗杰, 林斌, 唐洁, 李群, 朱丽萍, 杨强, 陈申习. 清香型小曲白酒酒醅中乳酸菌的筛选鉴定及其发酵特性研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(8): 57-63.
JIANG W, WANG LY, ZHANG ZJ, LIN B, TANG J, LI Q, ZHU LP, YANG Q, CHEN SX. Screening, identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria in fermented grains of light-flavor Xiaoqu Baijiu[J]. China Brewing, 2022, 41(8): 57-63 (in Chinese).

[11] 阮玉磊. 小曲清香型白酒合成微生物群落的构建[D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
RUAN YL. Construction of synthetic microbial community of xiaoqu Qingxiang Baijiu[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2023 (in Chinese).

[12] 赵皓静. 耐醋乳杆菌产酸特性及酸胁迫应答机制[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
ZHAO HJ. Acid-producing characteristics of *Lactobacillus acetotolerans* and acid stress response mechanism[D]. Guiyang: Guizhou University, 2022 (in Chinese).

[13] 冯浩, 毛健, 黄桂东, 姬中伟, 张敏. 黄酒发酵过程中乳酸菌的分离、鉴定及生物学特性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 224-227, 244.
FENG H, MAO J, HUANG GD, JI ZW, ZHANG M. Study on isolation, identification and biological properties of lactic acid bacteria from the fermentation of Chinese rice wine[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(16): 224-227, 244 (in Chinese).

[14] HEINL S, GRABHERR R. Systems biology of robustness and flexibility: *Lactobacillus buchneri*: a show case[J]. Journal of Biotechnology, 2017, 257: 61-69.

[15] 陆勇军, 许敏青, 葛振煌, 杨静. 一株欧研会黏液乳杆菌JT3及其在制备抗过敏和抗衰食品药品中的应用: CN117603947A[P]. 2024-02-27.
LU YJ, XU MQ, GE ZH, YANG J. *Lactobacillus bridged* mucus JT3 and application thereof in preparation of anti-allergic and anti-aging foods and medicines: CN117603947A[P]. 2024-02-27 (in Chinese).

[16] 蒋力力, 尹艳艳, 杨军林, 田栋伟, 冯小兵, 陈明学, 程平言. 酿酒原料高粱对白酒品质影响的研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(8): 6-11.
JIANG LL, YIN YY, YANG JL, TIAN DW, FENG XB, CHEN MX, CHENG PY. Research progress on the effect of sorghum as brewing material on Baijiu quality[J]. China Brewing, 2022, 41(8): 6-11 (in Chinese).

[17] 刘志磊. 清香型白酒发酵过程主要功能微生物代谢特性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2011.
LIU ZL. Studies on metabolism characteristics of main microorganisms in the fermentation of Fen-flavour Chinese spirits[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2011 (in Chinese).

[18] ZHENG JS, WITTOUCK S, SALVETTI E, FRANZ CMAP, HARRIS HMB, MATTARELLI P, O'TOOLE PW, POT B, VANDAMME P, WALTER J, WATANABE K, WUYTS S, FELIS GE, GÄNZLE MG, LEBEER S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*[J]. International

Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(4): 2782-2858.
[19] 赵欣怡, 甄攀, 赵鑫锐, 韩英, 李江华, 王军燕, 堵国成, 陈坚. 清香型白酒立醅期酒醅中主体酸和细菌菌群结构动态解析[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(9): 26-33.
ZHAO XY, ZHEN P, ZHAO XR, HAN Y, LI JH, WANG JY, DU GC, CHEN J. Dynamic analysis of main acids and bacterial flora structure in the Fen-flavor fermented grains during LiPeiQi[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(9): 26-33 (in Chinese).
[20] 张松. 白酒酿造系统中布氏乳杆菌的多样性及其功能研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2020.
ZHANG S. Study on the diversity and function of *Lactobacillus buchner* in brewing Baijiu system[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2020 (in Chinese).
[21] KROONEMAN J, FABER F, ALDERKAMP AC, OUDE ELFERINK SW, DRIEHUIS F, CLEENWERCK I, SWINGS J, GOTTSCHAL JC, VANCANNEYT M. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(Pt 2): 639-646.
[22] 莫玉婷, 袁思棋, 周帅, 税梁杨, 杨明永, 刘君, 杨周林, 范宏筠. 新型生物反应器对浓香型酒醅微生物群落及理化指标的影响[J]. 中国酿造, 2024, 43(4): 135-143.
MO YT, YUAN SQ, ZHOU S, SHUI LY, YANG MY, LIU J, YANG ZL, FAN HJ. Effects of new bioreactor on microbial community and physicochemical indexes of strong-flavor fermented grains[J]. China Brewing, 2024, 43(4): 135-143 (in Chinese).
[23] CHEN HZ. Principles of solid-state fermentation engineering and its scale-up[M]//Modern Solid State Fermentation: Theory and Practice. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013: 75-139.
[24] WU Q, LIN JC, CUI KX, DU RB, ZHU Y, XU Y. Effect of microbial interaction on urea metabolism in Chinese liquor fermentation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(50): 11133-11139.
[25] YU XY, HUANG TT, HUANG ZJ, WU ZY, CHE JW, QIN FY, ZHANG WX. Effects of six commercially available koji (Chinese Xiaoqu) on the production of ethyl acetate, ethyl lactate, and higher alcohols in Chinese Baijiu (distilled spirit) brewing[J]. Heliyon, 2023, 9(7): e17739.