王嘉丽, 何卓, 王松涛, 等. 高温大曲地衣芽孢杆菌的分离鉴定及其产香特性解析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(18): 14−23. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110022

WANG Jiali, HE Zhuo, WANG Songtao, et al. Isolation and Identification of *Bacillus licheniformis* in High-temperature Daqu and Analysis of Its Aroma-producing Characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(18): 14−23. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110022

·特邀主编专栏—食品风味感知前沿与应用（客座主编：刘源、孙金沅、寇兴然、程焕；产业顾问：陈丽）·

高温大曲地衣芽孢杆菌的分离鉴定及其产香特性解析

王嘉丽[1], 何　卓[1], 王松涛[2], 明红梅[1], 杨　阳[2], 牛曼思[2], 赵秋伟[3], 张正杰[1], 李　姝[2,*], 敖宗华[1,2,*]

（1.四川轻化工大学食品与酿酒工程学院, 四川 宜宾 644005;
2.泸州老窖股份有限公司, 国家固态酿造工程技术研究中心, 四川 泸州 646000;
3.中国科学院微生物研究所, 微生物资源前期开发国家重点实验室, 微生物生理与代谢工程研究室, 北京 100101）

摘　要: 为明确酱香型白酒高温大曲中地衣芽孢杆菌（*Bacillus licheniformis*）的产香特性及其对白酒风味形成的贡献，本研究从高温大曲中分离纯化得到 16 株 *B. licheniformis*，采用程序升温固态发酵结合人工感官评定，并利用顶空固相微萃取（Headspace Solid-Phase Microextraction，HS-SPME）和气相色谱-质谱（Gas Chromatography-Mass Spectrometry，GC-MS）联用技术，系统分析同种不同株的代谢谱与其感官属性之间的关联。结果表明，不同菌株固态发酵产物的风味特征可分为五类：烘焙香-坚果油脂香、豆豉香、硫味、酱香-酱油香及果酸香。挥发性组分分析共鉴定出 198 种化合物，其中吡嗪类物质在各类菌株中均占主导，其他挥发性成分组成存在明显差异：烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及硫味菌株中醛类、酮类和醇类较多；酱香-酱油香菌株中醛类、酸类和醇类较多；果酸香菌株则为酸类和酮类较多。进一步通过正交偏最小二乘判别分析（Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis，OPLS-DA）与 VIP 值（Variable Importance in Projection，VIP）大于 1.0 筛选出关键差异香气成分，并结合相对气味活度值（Relative Odor Activity Value，ROAV）大于 1.0，最终确定这 5 种物质对不同感官类别 *B. licheniformis* 的香气特征具有重要判别作用：4-甲氧基苯酚（为烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及酱香-酱油香菌株的共同关键成分）、异戊酸（豆豉香与果酸香菌株共同的共同关键成分）、2-辛酮（果酸香菌株的关键成分）、2,3,5-三甲基吡嗪（烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及硫味菌株的关键成分）、2,3,5,6-四甲基吡嗪（酱香-酱油香菌株的关键成分）。

关键词: 高温大曲, 地衣芽孢杆菌, 风味, HS-SPME-GC-MS, OPLS-DA

中图分类号: TS261.1　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)18−0014−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110022　　本文网刊:

Isolation and Identification of *Bacillus licheniformis* in High-temperature Daqu and Analysis of Its Aroma-producing Characteristics

WANG Jiali[1], HE Zhuo[1], WANG Songtao[2], MING Hongmei[1], YANG Yang[2], NIU Mansi[2], ZHAO Qiuwei[3], ZHANG Zhengjie[1], LI Shu[2,*], AO Zonghua[1,2,*]

（1.School of Food and Liquor Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Yibin 644005, China;

收稿日期: 2025−11−05

基金项目: 四川省中央引导地方科技发展专项资助项目（2024ZYD0252）; 泸州市科技计划资助项目（2024JYJ104）; 国家固态酿造工程技术研究中心资助项目（PCGS-2021000136）。

作者简介: 王嘉丽（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物发酵代谢调控, E-mail: 2075534697@qq.com。

*** 通信作者:** 李姝（1991−）, 女, 博士, 工程师, 研究方向: 白酒生产技术、酿造微生物、天然产物与功效评价, E-mail: lishu@lzlj.com。

敖宗华（1971−）, 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 发酵产品风味物质研究和功能因子分析, E-mail: aozh@lzlj.com。

2.National Engineering Research Center of Solid-State Brewing, Luzhou Laojiao Co., Ltd., Luzhou 646000, China；
3.Department of Microbial Physiological & Metabolic Engineering, State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China）

Abstract: To clarify the aroma-producing characteristics of *Bacillus licheniformis* in high-temperature Daqu of sauce-flavor Baijiu and its contribution to Baijiu flavor formation, this study isolated and purified 16 strains of *B. licheniformis* from high-temperature Daqu. Using programmed temperature solid-state fermentation combined with artificial sensory evaluation, as well as headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), the relationship between metabolic profiles and sensory attributes of different strains of the same species was systematically analyzed. The results showed that the flavor characteristics of solid-state fermentation products from different strains could be classified into five categories: Roasted/nutty-fatty aroma, douchi aroma, sulfurous notes, soy sauce/fermented paste aroma, and fruity-acidic aroma. A total of 198 volatile compounds were identified through volatile component analysis. Pyrazines were dominant in all strain types, while the composition of other volatile compounds showed distinct differences: Aldehydes, ketones, and alcohols were more abundant in strains with roasted/nutty-fatty aroma, douchi aroma, sulfurous notes; Aldehydes, acids, and alcohols were higher in soy sauce/fermented paste aroma strains; Acids and ketones were predominant in fruity-acidic aroma strains. Key differential aroma components were further screened by orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) with a variable importance in projection (VIP) value>1.0, and combined with a relative odor activity value (ROAV)>1.0. Five substances were ultimately identified as crucial for discriminating the aroma profiles of different sensory categories of *B. licheniformis*: 4-methoxyphenol (a key common component of roasted/nutty-fatty aroma, douchi aroma, and soy sauce/fermented paste aroma strains), isovaleric acid (a key common component of douchi aroma and fruity-acidic aroma strains), 2-octanone (a key component of fruity-acidic aroma strains), 2,3,5-trimethylpyrazine (a key component of roasted/nutty-fatty aroma, douchi aroma, and sulfurous notes strains), and 2,3,5,6-tetramethylpyrazine (a key component of soy sauce/fermented paste aroma strains).

Key words: high-temperature Daqu; *Bacillus licheniformis*; flavor; HS-SPME-GC-MS; OPLS-DA

高温大曲（亦称酱香型大曲）以小麦为原料，经粉碎、调湿、成型、高温发酵、熟化等工序制成，是酿造酱香型白酒的重要糖化发酵剂[1]。在酱香型白酒酿造中，高温大曲与高粱的比例约为 1.1∶1，这一高比例的大曲使用量被认为是塑造酱香型白酒独特风味的重要因素[2]。尽管目前酱香主体香成分的确认仍存在争议，但普遍认为其香型的形成与高温大曲中微生物的代谢密切相关[3−4]。

研究表明，芽孢杆菌属（*Bacillus*）在高温大曲的微生态结构中占据主导地位[5]。其中，地衣芽孢杆菌（*Bacillus licheniformis*）作为一种革兰氏阳性兼性厌氧菌[6]，其生态优势主要源于其卓越的耐热特性与广泛的代谢能力。已有研究指出，该菌在固态发酵过程中能够产生超过 70 种代谢产物，包括芳香族化合物、C4 类物质、吡嗪类以及有机酸等。此外，*B. licheniformis* 还可合成多种酶类，如蛋白酶、脂肪酶、热稳定性 α-淀粉酶、纤维素酶和半纤维素酶，这些酶协同促进原料中高分子物质的降解及褐变产物的形成，因此其被视为形成酱香风味的关键功能菌属之一[7−8]。

黄晓宁等[9] 从不同香型大曲中筛选出一株具有优秀的产淀粉酶和蛋白酶能力的 *B. licheniformis*，实际应用到白酒生产中，检测到酒醅中挥发性风味物质的含量显著提高。张颖等[10] 从酱香大曲中筛选出的具有较强产香能力的 *B. licheniformis*，其能够代谢愈创木酚、吡嗪类、呋喃类等风味物质。TANG 等[11] 从太空大曲中筛选出突变的 *B. licheniformis*，将其应用于强化大曲中，增加了吡嗪、2,3-丁二醇等特征风味的含量。以上研究表明 *B. licheniformis* 是一种功能多样且应用潜力较大的菌种。然而，目前行业针对高温大曲 *Bacillus* 中各成员的风味成分及其感官特征研究仍相对有限，特别是关于 *B. licheniformis* 的关键风味物质及其对酒体风味形成的影响机制，尚缺乏系统深入的探讨。

本研究通过平板划线法分离纯化高温大曲中的 *Bacillus* 菌株，通过形态学观察、16S rDNA 序列分析对菌株进行鉴定。重点对其中的 *B. licheniformis* 菌株进行程序升温模拟发酵，结合人工感官评分与 HS-SPME-GC-MS 技术对其香气特征进行测定分析，并建立高温大曲来源 *B. licheniformis* 判别模型，旨在为 *B. licheniformis* 的发酵机制以及代谢差异提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

高温大曲　采集自泸州市江阳区某酒厂；所有大曲样品都经过了完整的发酵和储存过程。从大曲堆的顶部、中部和底部随机选择六块大曲，随后将曲块粉碎并充分混合。重复取样三次（每个样品 500 g）。大曲粉被转移至无菌包装袋中，立即运输至实验室，4 ℃ 保存，并立即开展可培养菌株筛选实验；胰蛋白胨大豆琼脂培养基（TSA）：胰蛋白胨 15.0 g，氯化钠 5.0 g，大豆胨 5.0 g，琼脂 15 g，加水至 1000 mL，pH 调至 7.3±0.2，于 121 ℃ 湿热灭菌

15 min; 酵母-麦芽琼脂培养基(ISP2): 酵母浸粉 4.0 g, 麦芽浸粉 10.0 g, 葡萄糖 4.0 g, 琼脂 20.0 g, pH 调至 7.2±0.2, 于 121 ℃ 湿热灭菌 15 min; 营养琼脂培养基(NA): 蛋白胨 10.0 g, 牛肉浸粉 3.0 g, 氯化钠 5.0 g, 琼脂 15.0 g, pH 调至 7.3±0.2, 于 121 ℃ 湿热灭菌 15 min; 改良高氏 2 号(G2): 胰蛋白胨 10.0 g, 牛心浸粉 17.5 g, 氯化钠 5.0 g, 葡萄糖 2.0 g, 磷酸氢二钠 2.5 g, 琼脂 15.0 g, pH 调至 7.4±0.2, 于 121 ℃ 湿热灭菌 15 min; 胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB): 胰蛋白胨 17.0 g, 大豆蛋白胨 3.0 g, 氯化钠 5.0 g, 磷酸氢二钾 2.5 g, 葡萄糖 2.5 g, pH 调至 7.3±0.2, 于 121 ℃ 湿热灭菌 15 min; 小麦固态发酵培养基: 取粉碎后的小麦(过 20 目筛), 按料水比 1∶0.8 加水混合均匀, 润湿 2 h, 分装于 150 mL 组培瓶中, 每瓶装料 40 g 湿润小麦碎, 121 ℃ 灭菌 30 min, 冷却备用; 氯化钠　分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 2-辛醇　色谱级, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒　南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

QP2020NXnci SYSTEM 气相色谱-质谱联用仪　日本岛津有限公司; SAAB57328U 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头　广州智达实验室科技有限公司; HP-INNOWAX(60 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细管色谱柱　美国安捷伦公司; IFA-240-8 强制对流型培养箱　新加坡艺思高科技有限公司; HCB-1300V 超净工作台　青岛海尔生物医疗股份有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　高温大曲中 *B. licheniformis* 的分离与纯化　分离与纯化: 在洁净环境下称取 10 g 大曲溶解于 90 mL 无菌带玻璃球的生理盐水中, 28 ℃、180 r/min振荡 30 min, 再转入 85 ℃ 恒温水浴锅中恒温 10 min, 边加热边振荡。按 10 倍系列梯度稀释至 10^{-6}, 吸取 10^{-2}~10^{-6} 梯度稀释液 100 μL 均匀涂布于不同碳氮源的固体培养基上(TSA、ISP2、NA、G2), 在不同温度(37、45、50、55 ℃)下的生化培养箱倒置培养 36~48 h。重复三次实验后, 整体挑取形态特征明显的单菌落划线于固体培养基中, 反复划线纯化至菌落一致。

保藏: 挑取单菌落于 TSB 培养基中, 37 ℃、180 r/min 条件下培养 12 h, 并与 50% 甘油等体积混合, 保存于−20 ℃ 冰箱, 备用。

1.2.2　*B. licheniformis* 的鉴定　形态鉴定: 依据不同的形态、生理生化特征, 参照《伯杰细菌鉴定手册》进行鉴定。

分子鉴定: 利用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株 DNA, 采用细菌通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'和 1492R: 5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增。扩增体系(20 μL): DNA 模板 1.5 μL, 引物上下游各 1 μL, 2× Taq Master Mix (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)10 μL, 无菌 ddH_2O 6.5 μL。反应条件: 95 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 20 s, 55 ℃ 退火 20 s, 72 ℃ 延伸 1 min 30 s(35 次循环); 72 ℃ 延伸 10 min。将扩增产物送至上海生工生物有限公司检测, 将最终检测的 16S rRNA 基因序列与 NCBI 数据库中的序列进行比对。

1.2.3　程序升温模拟发酵　将保藏的 *B. licheniformis* 菌株经 TSB 液体培养基两级活化(1 mL→5 mL)制备种子液。随后, 以 10%(v/w)的接种量将种子液接入小麦固态发酵培养基, 并添加 20%(v/w)无菌水调节湿度, 混匀密封后, 置于强制对流箱中模拟高温大曲的升温流程培养 7 d(图 1)。设置接种无菌 TSB 培养基的空白对照。发酵产物最终通过感官评定与挥发性组分分析进行评估。

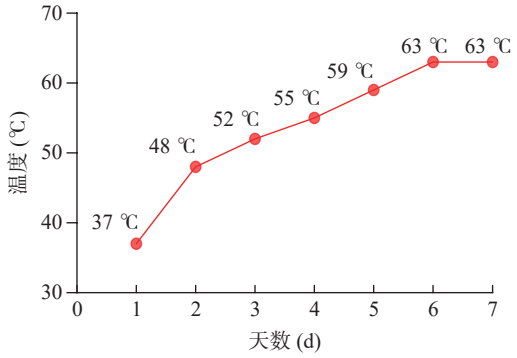


图 1　程序升温示意图

Fig.1　Schematic diagram of the programmed temperature

1.2.4　感官评定体系建立　根据文献 [12−13] 提出的研究思路, 并借鉴酱香型大曲感官风味评价体系的构建方法及相关酱香功能菌风味鉴定的研究成果[14−15], 本研究建立了系统的闻香评价参照体系。该



图 2　产香功能菌发酵物闻香评定风味旭日图

Fig.2　Fermentation product of aroma-producing functional bacteria for fragrance evaluation and flavor sunburst chart

体系以酱香型白酒标样为主要参照，同时涵盖酱香型酒醅、酱香型大曲、商品酱油、商品豆豉、坚果、太妃糖以及多种果蔬作为嗅觉参比实物样，以未接菌的碎小麦作为空白对照。基于上述参照体系，绘制了如图 2 所示的产香功能菌闻香风味旭日图，作为菌种发酵产物感官评定中的风味标度，用以有效区分不同产香微生物的主体香气特征。每种感官香气模块以 5(±0.5)分计，0 分为未闻到，5 分为闻到的气味最强，按照排名前 10 的风味标度，并取平均值作风味雷达图。

按照国标 GB/T 13868-2009《感官分析建立感官分析实验室的一般导则》来准备闻香环境，根据文献 [16] 建立品评小组，共 10 人（5 男 5 女，22~35 岁），均经过系统的白酒品评专业培训且具有 2 年以上白酒品评经验，其中 5 名均为省级白酒评委，具备国家品酒师资格。

1.2.5　挥发性物质含量分析　参照文献 [17]，使用 HS-SPME-GC-MS 技术测定 *B. licheniformis* 发酵醅。

样品前处理：取 0.5 g 样品加入顶空瓶中，加入 2 g 氯化钠，5 mL 纯水，10 μL 2-辛醇（0.264 μg/μL）为内标物，将制备好的样品于 55 ℃ 保温平衡 5 min 后，用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头在 55 ℃ 萃取 45 min，萃取结束后在 GC 进样口 250 ℃ 解吸 5 min。

GC 条件：HP-INNOWAX 色谱柱（60 m×0.25 mm×0.25 μm）；升温程序：起始温度 40 ℃，保持 1 min，以 2.5 ℃/min 升到 75 ℃，以 3 ℃/min 升至 162 ℃，以 6 ℃/min 升至 230 ℃，保持 5 min，载气为高纯氦气（1.0 mL/min）；进样口温度 250 ℃，不分流。

MS 条件：电子电离（Electronic Ionization，EI）源，电子能量 70 eV；电子倍增器电压 350 V；离子源温度 230 ℃；传输线温度 250 ℃；扫描范围 m/z 40.00~450.00。

定性及半定量分析：以保留时间及保留指数为定性依据，通过美国国家标准技术研究所 NIST（National Institute of Standards and Technology）20 谱库检索，筛选并去除相似度<80% 的峰和硅氧烷类杂质。利用各化合物峰面积与内标物质峰面积之比，计算出各挥发性风味物质含量，公式按式（1）计算。

$$\text{待测香气物质含量}(\mu g/g) = \frac{\text{待测香气物质峰面积} \times \text{内标物含量}(\mu g/g)}{\text{内标物峰面积}} \quad \text{式（1）}$$

气味活度值（Odor Activity Value，OAV）与相对气味活度值（Relative Odor Activity Value，ROAV）的计算参照文献 [18] 所述方法。OAV 定义为香气成分在样品中的含量与其嗅觉阈值的比值，用于评估各组分对发酵醅整体香气的贡献程度。通常认为，当 OAV>1 时，该成分对发酵醅呈香具有重要贡献；当 OAV>10 时，其对香气的贡献尤为显著。为进一步量化不同挥发性成分对发酵醅整体香气的相对贡献程度，引入 ROAV 进行分析。一般认为，ROAV≥1.00 的组分为关键呈香物质，其值越大，香气贡献越大；0.10≤ROAV<1.00 的组分则对整体香气具有修饰作用。ROAV 按公式（2）计算：

$$\text{ROAV} = \frac{\text{OAV}}{\text{对发酵醅挥发性成分贡献最大的OAV}} \times 100 \quad \text{式（2）}$$

1.3　数据处理

差异香气成分筛选：通过正交偏最小二乘判别分析（Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis，OPLS-DA）进行筛选。基于该模型计算各挥发性成分的变量投影重要性（Variable Importance in Projection，VIP）值，以 VIP>1.0 作为筛选标准，识别出发酵醅中的差异香气成分。

使用 GraphPad Prism 10.1.2 和 Origin 2025 软件制作折线图、堆叠柱状图、雷达图、upset 图、旭日图；MEGA11 软件构建系统进化树；对每个挥发性化合物分别采用 Z-score 方法标准化，ChiPlot（https://www.chiplot.online/）绘制了相关热图；SIMCA 14.1 软件进行主成分分析法（Principal Component Analysis，PCA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA），计算预测变量重要性投影（VIP）。

2　结果与分析

2.1　*B. licheniformis* 的分离及鉴定

2.1.1　菌株的分离及形态学特征　本研究采用热处理法，在不同分离培养基及温度条件下，从高温大曲中分离并筛选得到 74 株 *Bacillus* 菌株。经形态学初步鉴定，有 16 株为潜在的 *B. licheniformis*，占 *Bacillus* 菌株总数的 21.6%。将 16 株菌株接种于 TSA 培养基上，于 37 ℃ 条件下培养，并参照《伯杰细菌鉴定手册》对其菌落形态进行系统观察与分析。结果如图 3、表 1 所示，通过观察菌落形态可以发现虽然这些菌株可能为同种，但不同菌株的菌落形态仍表现出一定差异。如 TSA-37-28 以及 NA-55-51 均为表面整体粗糙、有褶皱，ISP2-55-41 整体隆起且光滑，与其他菌株差异较大，这说明在 *B. licheniformis* 种内仍存在较大多样性，有必要进一步开展不同菌株间发酵特性的比较分析，以揭示其功能差异。

2.1.2　分子生物学鉴定　采用 MEGA 软件，基于邻接法构建系统进化树，并以贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*）Yb-1 的 16S rRNA 基因序列作为外群。系统发育分析结果（图 4）表明，所有测试菌株均与 *B. licheniformis* 的不同模式菌株聚为高支持率的进化支。具体而言，菌株 TSA-37-28、TSA-37-48、TSA-50-47 和 TSA-50-26 与模式菌株 *B. licheniformis* CICC 10087 的 16S rRNA 基因序列相似性最高，分别为 99.93%、100.00%、100.00% 和 100.00%；TSA-50-27

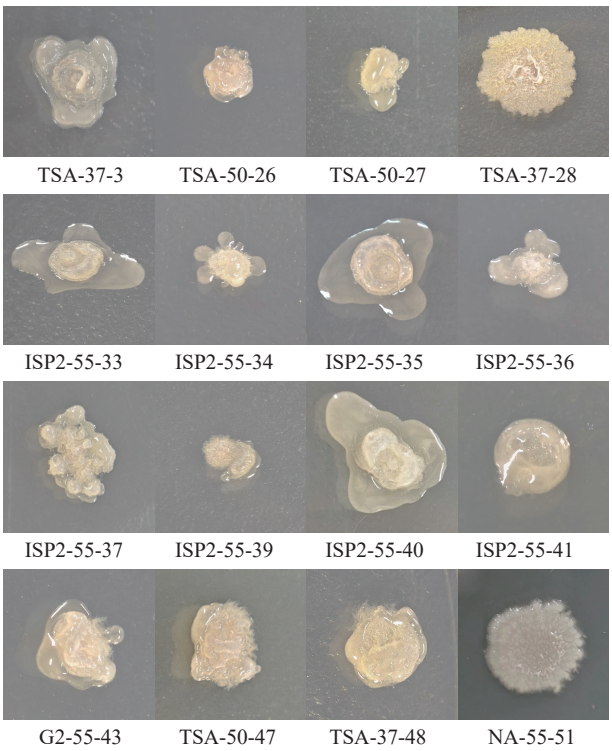


图 3 *B. licheniformis* 菌落形状及其编号

Fig.3 Colonial morphology and strain designations of *B. licheniformis*

和 G2-55-43 与模式菌株 *B. licheniformis* CPO C11 的相似性最高，分别为 99.93% 和 99.79%；NA-55-51 与模式菌株 *B. licheniformis* HBUAS67301 的相似性为 99.92%；其余菌株（TSA-37-3、ISP2-55-33 至 ISP2-55-43）与模式菌株 *B. licheniformis* GZ-1 的序列相似性均高于 99.50%。基于上述结果（所有菌株与相应最近模式菌株的 16S rRNA 基因序列相似性均不低于 99.50%），本研究将全部 16 株菌鉴定为 *B. licheniformis*。

2.2 *B. licheniformis* 菌株的产香特性分析

2.2.1 *B. licheniformis* 感官分析　在长时间的高温阶段中，嗜热菌属能够分泌多种耐热酶，这些酶有助于促进美拉德反应的进行，并与酱香型风味物质的生成密切相关。美拉德反应对高温大曲最终风味的形成具有决定性作用[19]。对前期筛选与分子鉴定所得的 16 株 *B. licheniformis* 分别进行小麦固态发酵，在 7 d 程序升温培养后，对其进行感官评定。结果如图 5 所示，各菌株发酵产物的风味特征具有明显差异，具体描述如下：菌株 TSA-50-26 与 TSA-50-27（图 5A）以坚果油脂香和烘焙香为主导，伴随轻微的焦糊香与酱油香；菌株 NA-55-51 与 TSA-37-48（图 5B）主体呈豆豉香，并带有烘焙香、生麦香及黄瓜香气；菌株 TSA-37-28 与 TSA-50-47（图 5C）以硫香为主，辅以淡弱豆豉香与轻微坚果油脂及烘焙香气；菌株 ISP2-55-41 与 G2-55-43（图 5D）呈现典型的酱香与酱油香，风格偏向焦甜香，同时具备豆豉香与烘烤香，并略带氨味；其余菌株（图 5E、图 5F）整体表现为果酸香，具有明显发酵酸类气息，并伴随水果香、生麦味及青椒、青草等气息。综合感官评分雷达图与描述语分析，将上述 16 株 *B. licheniformis* 固态发酵产物的主体风味归纳为 5 大类。菌株编号及其对应风味类型归纳如表 2 所示。

2.2.2 *B. licheniformis* 发酵醅挥发性成分鉴定与定量分析　为解析高温大曲中 *B. licheniformis* 的产香特性，本研究采用 HS-SPME-GC-MS 技术对 16 株 *B. licheniformis* 在单菌固态发酵体系中所产生的挥发性成分进行定性分析。结果表明，*B. licheniformis* 发酵醅中共鉴定出 198 种挥发性化合物，涵盖酮类（47 种）、醇类（35 种）、吡嗪类（21 种）、酯类（20 种）、

表 1 *B. licheniformis* 分离情况以及菌落形状描述

Table 1 Isolation and colonial morphology of *B. licheniformis*

序号	菌株编号	分离情况		菌落形态					
		分离温度（℃）	分离培养基	形态	边缘	表面性状	隆起度	正面颜色	透明度
1	TSA-37-3	37	TSA	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
2	TSA-50-26	50	TSA	不规则	锯齿状	整体光滑	整体隆起褶皱	灰白色	不透明
3	TSA-50-27	50	TSA	不规则	锯齿状	整体光滑	整体隆起	黄色	不透明
4	TSA-37-28	37	TSA	近圆形	锯齿状	整体粗糙	中央隆起褶皱	黄白色	不透明
5	ISP2-55-33	55	ISP2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
6	ISP2-55-34	55	ISP2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
7	ISP2-55-35	55	ISP2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
8	ISP2-55-36	55	ISP2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	白色	半透明
9	ISP2-55-37	55	ISP2	不规则	锯齿状	整体光滑	整体隆起	黄色	不透明
10	ISP2-55-39	55	ISP2	不规则	锯齿状	边缘光滑，中间粗糙	中央隆起褶皱	黄白色	不透明
11	ISP2-55-40	55	ISP2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
12	ISP2-55-41	55	ISP2	近圆形	波浪状	整体光滑	整体轻微隆起	黄白色	不透明
13	G2-55-43	55	G2	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
14	TSA-50-47	50	TSA	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
15	TSA-37-48	37	TSA	不规则	波浪状	边缘光滑，中间粗糙	中央轻微隆起	黄白色	半透明
16	NA-55-51	55	NA	近圆形	锯齿状	整体粗糙	整体轻微褶皱	白色	不透明

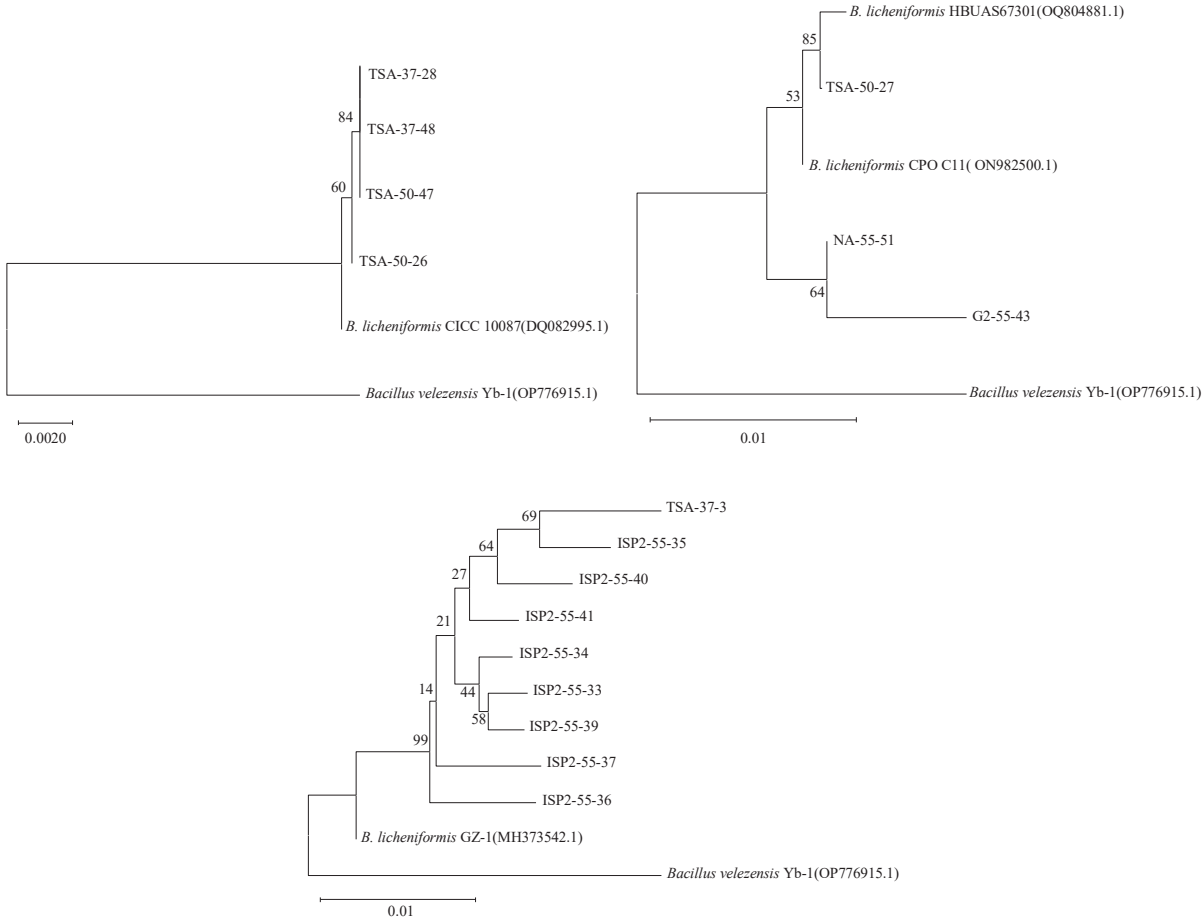


图 4　基于 16 株菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统进化树

Fig.4　Phylogenetic tree of the 16 strains based on 16S rRNA gene sequences

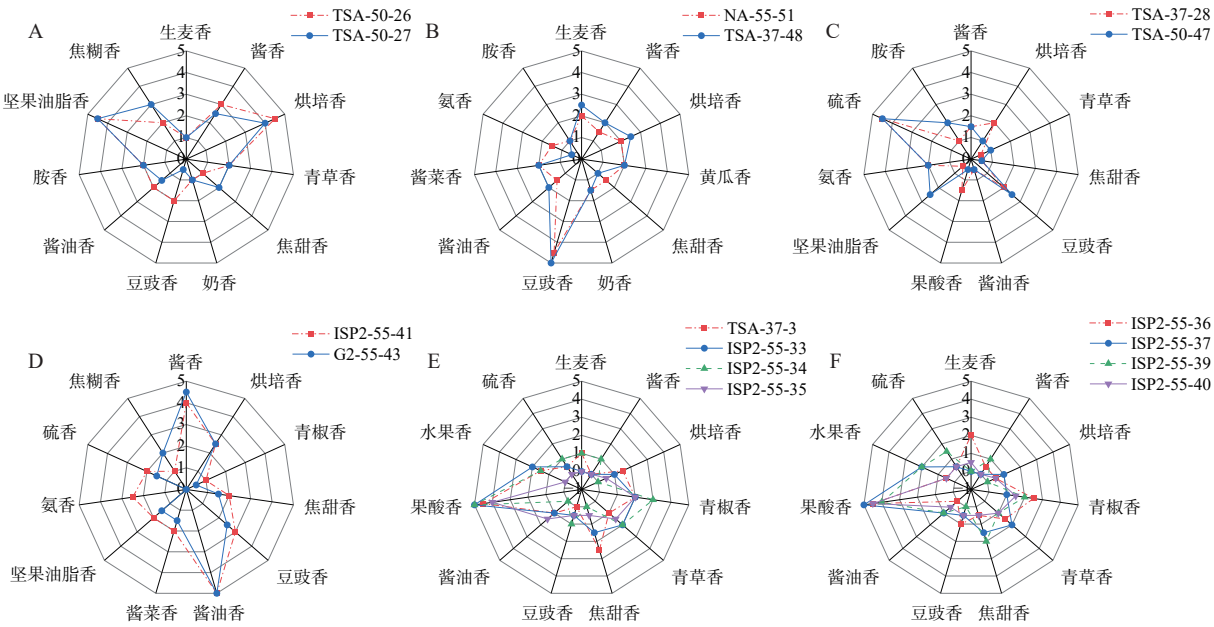


图 5　16 株 *B. licheniformis* 固态发酵物感官雷达图

Fig.5　Sensory radar chart of solid-state fermentation products from 16 *B. licheniformis*

注：A 为烘焙香-坚果油脂香菌株；B 为豆豉香菌株；C 为硫味菌株；D 为酱香-酱油香菌株；E 和 F 为果酸香菌株。

酸类（19 种）、醛类（13 种）、酚类（10 种）及其他类别（33 种），并根据发酵醅的主体风味特征，将菌株划分为不同风味类别（图 6）；在风味物质种类方面（图 6A），呈现烘焙香-坚果油脂香、豆豉香、硫味以及酱香-酱油香风味的菌株及其空白小麦培养基中，共鉴定出 77~94 种风味物质；而具有果酸味特征的菌株所产风味物质种类相对较少，仅鉴定出 42~57 种；在风味物质含量方面（图 6B），空白组中挥发性风

表 2　*B. licheniformis* 固态发酵产物香型分类及菌株编号

Table 2　Aroma type classification and strain designations of solid-state fermentates from *B. licheniformis*

菌株编号	发酵醅主体风味
TSA-50-26	烘焙香-坚果油脂香
TSA-50-27	烘焙香-坚果油脂香
NA-55-51	豆豉香
TSA-37-48	豆豉香
TSA-37-28	硫味
TSA-50-47	硫味
ISP2-55-41	酱香-酱油香
G2-55-43	酱香-酱油香
TSA-37-3	果酸香
ISP2-55-33	果酸香
ISP2-55-34	果酸香
ISP2-55-35	果酸香
ISP2-55-36	果酸香
ISP2-55-37	果酸香
ISP2-55-39	果酸香
ISP2-55-40	果酸香

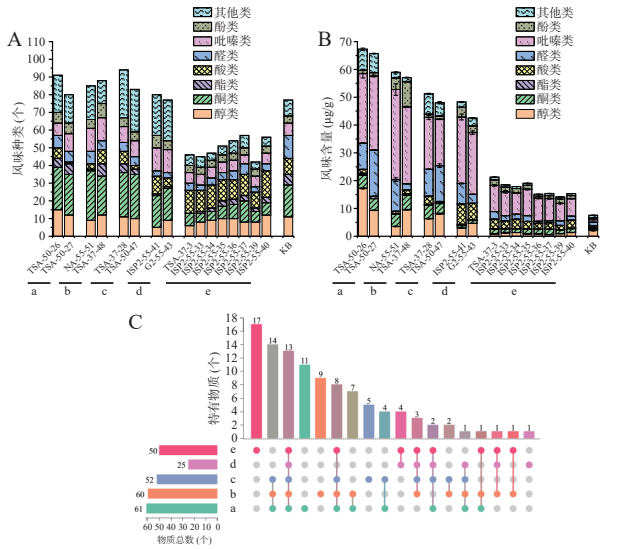


图 6　16 种 *B. licheniformis* 发酵产生的挥发性风味物质种类堆积柱状图（A）、挥发性风味物质含量堆积柱状图（B）、风味种类 Upset 图（C）

Fig.6　Stacked bar chart of volatile flavor compound varieties produced by fermentation of 16 *B. licheniformis* strains (A), stacked bar chart of volatile flavor compound contents (B), and Upset plot of flavor categories (C)

注：a. 烘焙香-坚果油脂香；b. 豆豉香；c. 硫味；d. 酱香-酱油香；e. 果酸香。

味物质总含量显著低于 *B. licheniformis* 发酵组，空白培养基的风味组成以醇类、酯类和醛类为主，辅以少量酸类与酮类化合物；相比之下，*B. licheniformis* 发酵产物中则以吡嗪类、醛类为主，同时检测到含量较高的酚类和醇类，以及较低含量的酸类、酮类及酯类等组分。已有研究指出，酚类、醛类与吡嗪类化合物是构成酱香型白酒典型风味结构的关键组分[20−21]，由此可见，*B. licheniformis* 可能是这几类关键香气物质在高温大曲发酵过程中的潜在重要微生物来源。

进一步分析不同菌株风味含量情况（图 6B），呈现烘焙香-坚果油脂香的菌株 TSA-50-26 风味物质总含量最高，达 67.29±2.23 μg/g；而呈现果酸香的菌株 ISP2-55-39 总含量最低，仅为 14.15±1.86 μg/g。在不同风味类别的菌株中，各类挥发性物质的含量存在显著差异。在烘焙香-坚果油脂香类别中，菌株 TSA-50-26 的醇类物质含量最高（17.24±0.24 μg/g），而菌株 TSA-50-27 则在酯类（0.78±0.01 μg/g）和醛类（16.63±0.13 μg/g）物质含量上最高。在豆豉香类别中，菌株 NA-55-51 的吡嗪类物质含量最高（32.42±2.07 μg/g），菌株 TSA-37-48 则在酮类（5.30±0.09 μg/g）和酚类（9.03±0.07 μg/g）物质含量上表现最优。本研究结果表明，*B. licheniformis* 能够产生多样且具特征性的气味谱，其中具有烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及酱香-酱油香特征的菌株，在白酒大曲的风味定向强化方面展现出良好的应用前景。

基于前期分析，进一步采用 Upset 图（图 6C）展示了不同感官评定发酵醅中特有挥发性化合物的种类组成。结果显示，果酸香型发酵醅中特有化合物种类最多，共鉴定出 17 种，涵盖 7 种酸类、2 种吡嗪类、2 种醇类、2 种酮类、1 种酯类及 3 种其他类化合物，代表性成分包括糠醇、环己烷羧酸、苯并噻唑和 7-甲基辛酸等。烘焙香-坚果油脂香组中检出 11 种特有成分，主要包括 3 种酯类、2 种醇类、1 种酸类、1 种酮类及 4 种其他类化合物，如己酸、2-苯基-1-丙醇和 2-十三烷酮等。豆豉香组中共鉴定出 9 种特有化合物，分别为 2 种吡嗪类、2 种酮类、1 种酚类及 4 种其他类，代表性物质包括 2-甲基-6-乙烯基吡嗪、愈创木酚和 2-哌啶酮等。硫味组中检出 5 种特有成分，包括 2 种酮类、1 种醇类及 2 种其他类，如异丙基苯基酮和 3,5-辛二烯-2-酮等。酱香-酱油香组中仅检出 1 种特有挥发性物质，即乙偶姻。

2.2.3　*B. licheniformis* 发酵醅挥发性成分的差异比较分析　为明确高温大曲中 *B. licheniformis* 的特征香气组分，本研究对 16 株菌株产生的香气化合物及其相对含量进行了聚类分析。从中鉴定出 44 种共有香气成分（定义为在不少于 8 株菌中均检出的物质[22]），包括 10 种酸类、8 种醇类、6 种吡嗪类、6 种酮类、5 种酚类、4 种醛类、1 种酯类以及 4 种其他类型化合物。以这 44 个共有香气组分为因变量，不同感官评定结果为自变量，采用主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）进行分析。

PCA 结果显示（图 7A），前两个主成分累计贡献率为 80.8%，可以看出能够很好区分酱香-酱油香菌株以及果酸香菌株，其他组别区分效果不明显。进一步进行 OPLS-DA 统计分析（图 7B），可以实现 5 类感官评定的 *B. licheniformis* 有效区分，本次分析中的自变量拟合指数（R^2_X）为 0.975，因变量拟合指数（R^2_Y）为 0.915，模型预测指数（Q^2）为 0.69，R^2 和 Q^2 超过 0.5 表示模型拟合结果可接受[23]。经过 200 次

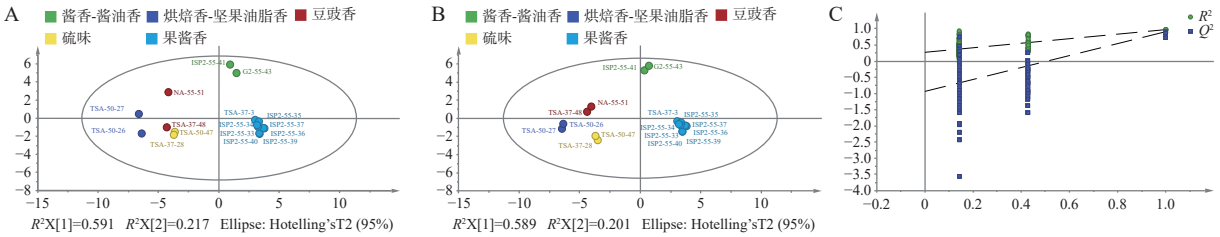


图 7　不同感官评定 *B. licheniformis* 风味的聚类分析

Fig.7　Grouping of *B. licheniformis* based on sensory evaluation

注：A. PCA 图；B. OPLS-DA 图；C. 模型交叉验证结果。

表 3　不同感官评定 *B. licheniformis* 差异香气成分分析表

Table 3　Analysis of differential aroma compounds in *B. licheniformis* with distinct sensory profiles

CAS	香气成分	VIP值	阈值（μg/g）	16株菌株			香气描述
				物质浓度(μg/g)	OAV	ROAV	
1124-11-4	2,3,5,6-四甲基吡嗪	2.77966	1	2.55~16.94	2.55~16.94	1.32~1.02	坚果、泥土、烘烤
14667-55-1	2,3,5-三甲基吡嗪	2.35279	0.35	1.14~10.91	3.24~31.17	1.68~1.87	坚果、青草、可可
100-52-7	苯甲醛	2.29784	0.188	0.09~5.49	0.46~29.19	0.24~1.75	苦杏仁、樱桃及坚果香
123-32-0	2,5-二甲基吡嗪	2.24002	1.82	0.23~8.82	0.13~4.85	0.07~0.29	烘烤坚果
503-74-2	异戊酸	2.05454	0.012	0.4~5.57	33.37~464.21	17.31~27.87	酸味、湿奶酪
123-51-3	异戊醇	1.63511	0.2	0.23~6.45	1.13~32.24	0.59~1.94	威士忌、香熏、果味
100-51-6	苯甲醇	1.53613	0.62	0.09~5.49	0.14~8.85	0.07~0.53	蜂蜜、花香、玫瑰、甜香
150-76-5	4-甲氧基苯酚	1.50669	0.0027	0.52~4.44	193.2~1667.5	100	动物皮毛
98-86-2	苯乙酮	1.15115	65	0.03~1.85	0~0.03	0	甜香、樱桃香气、香草
60-12-8	苯乙醇	1.11371	0.56	0.37~2.06	0.66~3.68	0.34~0.22	玫瑰香气、花香
111-13-7	2-辛酮	1.00845	0.04	0.13~1.92	3.17~45.81	1.64~2.75	花香、草香

注：气味阈值以及香气描述参考《化合物香味阈值汇编》(第二版)与文献[22,32]。

置换检验，如图 7C 所示，Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0，说明模型不存在过拟合，模型验证有效，认为该结果可用于 *B. licheniformis* 发酵香气的感官表现鉴别分析。

为了进一步分析不同香气成分对区分 5 类感官评定的 *B. licheniformis* 发酵醅的贡献率，基于有效

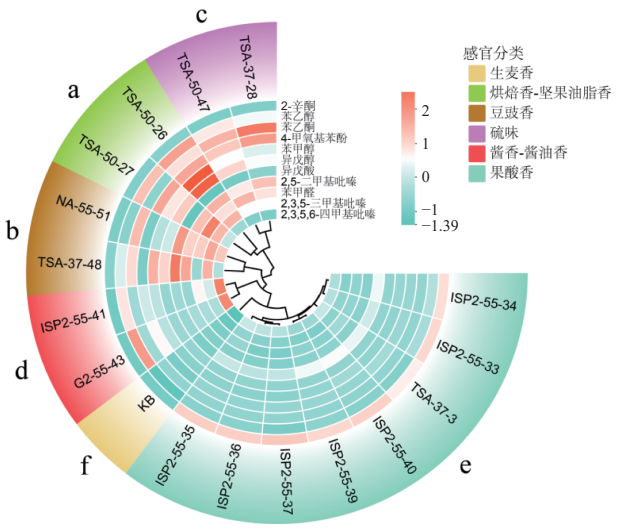


图 8　不同感官评定 *B. licheniformis* 的差异香气成分聚类热图

Fig.8　Clustered heatmap of differential aroma compounds in sensorily distinct groups of *B. licheniformis*

注：a：烘焙香-坚果油脂香、b：豆豉香、c：硫味、d：酱香-酱油香、e：果酸香、f：生麦香(KB)。

判别模型，采用变量重要性投影(VIP)来评定各组样本分类判别的影响，通常以 VIP>1.0 为条件筛选具有显著差异的香气物质[24]。如图 8 所示，本研究共筛选出 11 种差异香气物质，其中吡嗪类 3 种、醇类 3 种、酮类 2 种、醛类 1 种、酸类 1 种、酚类 1 种。与空白对照组相比，各产香菌株均具有其独特的特征性风味化合物。

单个香气成分含量的高低并不能作为判定酱酒香气特征的依据，通常赋予酱酒香气特征的是具有较高 OAV 的香气成分[25]。同时 ROAV 可用于综合评价挥发性成分对基酒香味的贡献程度[26]。结果如表 3 所示，4-甲氧基苯酚在物质浓度最高菌株和最低菌株中 OAV 最高，为对发酵醅挥发性成分贡献最大的 OAV，进一步将其用于计算 ROAV 以量化比较各挥发性成分对发酵醅整体呈香的贡献度。

综合图 8 与表 3 数据可知，在物质浓度最低与最高的菌株中，共有 5 种化合物的 ROAV 值均大于 1。其中，4-甲氧基苯酚(ROAV=100~100)为香气贡献最突出的挥发性成分，能够有效区分烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及酱香-酱油香菌株与其他类型；文献报道该化合物在某些白酒中可能呈现类似动物毛皮的气味[27]。异戊酸(ROAV=17.31~27.87)在豆豉香与果酸香菌株中含量较高，呈现酸味与湿奶酪样气息，已有研究确认其为豆豉的关键香气成分之一[28]。仲辛酮(2-辛酮，ROAV=1.64~2.75)在果酸香菌株中

含量偏高(1.21~1.92 μg/g),可作为该类菌株的鉴别指标,其香气特征表现为花香与草香[29]。2,3,5-三甲基吡嗪(ROAV=1.68~1.87)能够区分烘焙香-坚果油脂香、豆豉香及硫味菌株,文献中其风味通常与坚果、青草及可可等相关[30]。2,3,5,6-四甲基吡嗪(ROAV=1.02~1.32)为酱香-酱油香菌株的特征性化合物,在该类菌株中含量最高(16.36~16.94 μg/g),且在酱香型白酒中占比突出,是极为重要的风味物质[31]。表明这 5 种差异香气物质可能对判别不同感官判定 *B. licheniformis* 的香气特征具有重要作用。

3 结论

本研究成功从高温大曲中分离并鉴定出 16 株 *B. licheniformis*,通过人工感官评定将其固态发酵产物划分为五类主体风味,包括烘焙香-坚果油脂香、豆豉香、硫味、酱香-酱油香及果酸香。采用 HS-SPME-GC-MS 技术共鉴定出 198 种挥发性化合物,*B. licheniformis* 组风味总含量显著高于空白对照组,并以吡嗪类、醛类为主,同时检测到含量较高的酚类和醇类,以及较低含量的酸类、酮类及酯类等组分。PCA 分析与 OPLS-DA 分析有效区分了不同感官评定的菌株,模型拟合良好且预测能力可靠。通过变量重要性投影(VIP>1.0)筛选出 11 种关键差异香气成分,其中 5 种成分(包括 4-甲氧基苯酚、异戊酸、仲辛酮、2,3,5-三甲基吡嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪)在各类菌株中相对气味活度值(ROAV)均大于 1,表明其对 *B. licheniformis* 固态发酵的总体风味具有重要贡献。

本研究首先系统解析了酱香型高温大曲中 *B. licheniformis* 的产香特性与代谢多样性,并建立了不同菌株代谢谱与其感官属性之间的关联。其次,研究发现在相同酿造环境下,同一物种的不同菌株会表现出截然不同的感官特性,这直接构成了白酒风味多样性的微生物学基础。鉴于此,本研究建立的判别模型与关键香气指标体系,为后续开展风味导向的优良菌种选育及强化大曲开发提供了坚实的理论依据与数据支持。未来研究可聚焦于关键菌株的功能基因挖掘及代谢调控网络解析。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LI Hongmei, HOU Yaochuan, ZOU Wei, et al. Synthesis of an autochthonous microbiota responsible for the prepared process improving, flavor profile and brewing attributes of high-temperature Daqu[J]. Food Bioscience, 2025, 68: 106444.

[2] YANG Liang, FAN Wenlai, XU Yan. Qu-omics elucidates the formation and spatio-temporal differentiation mechanism underlying the microecology of high temperature Daqu[J]. Food Chemistry, 2024, 438: 137988.

[3] DING Hexia, YANG Jiekai, CHENG Mai, et al. Comparative characterization of key compounds of Sauce-flavored rounded-Baijiu in northern and Southern China and the potential possibility of similar quality of their combined products[J]. Food Chemistry: X, 2024, 24: 101970.

[4] PANG Z, LI W, HAO J, et al. Correlational analysis of the physicochemical indexes, volatile flavor components, and microbial communities of high-temperature Daqu in the northern region of China[J]. Foods, 2023, 12(2).

[5] WANG Chuan, YANG Lianli, LUO Lunan, et al. Purification and characterization of glucoamylase of *Aspergillus oryzae* from Luzhou-flavour Daqu[J]. Biotechnology Letters, 2020, 42(11): 2345−2355.

[6] MURAS A, ROMERO M, MAYER C, et al. Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2021, 41(4): 609−627.

[7] 王嘉丽, 杨阳, 何卓, 等. 酱香型大曲功能微生物鉴定、强化策略及应用研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业, 1−12[2025-09-17]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.043340. [WANG J L, YANG Y, HE Z, et al. Research progress on the identification, strengthening strategies and application of functional microorganisms in sauce-flavor Daqu[J/OL]. Food and Fermentation Industries, 1−12[2025-09-17]. https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.043340.]

[8] WANG Yurong, CAI Wenchao, WANG Wenping, et al. Analysis of microbial diversity and functional differences in different types of high-temperature Daqu[J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(2): 1003−1016.

[9] 黄晓宁, 刘晶晶, 韩北忠, 等. 基于酶学特性筛选大曲来源芽孢杆菌用于强化酿酒[J]. 食品科学, 2021, 42(10): 218−224. [HUANG X N, LIU J J, HAN B Z, et al. Screening of *Bacillus* from Daqu by enzymatic characteristics to enhance the fermentation of Chinese Baijiu[J]. Food Science, 2021, 42(10): 218−224.]

[10] 张颖. 酱香型白酒高产四甲基吡嗪芽孢杆菌的筛选及应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2021. [ZHANG Y. Screening and application of *Bacillus* with high yield tetramethyl pyrazine in Maotai-flavor liquor[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021.]

[11] TANG Qiuxiang, CHEN Xiaoru, HUANG Jun, et al. Mechanism of enhancing pyrazines in daqu *via* inoculating *Bacillus licheniformis* with strains specificity[J]. Foods, 2023, 12(2): 304.

[12] 王小平, 黄永光, 周文美. 产酱香风味菌株的分离筛选及鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 179−184. [WANG X P, HUANG Y G, ZHOU W M. Isolation, screening and identification of Maotai-flavor producing strains[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(10): 179−184.]

[13] 赵英, 翟忠英, 姜庆昊, 等. 产酱香风味芽孢杆菌的选育及特征香气分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(1): 18−25. [ZHAO Y, ZHAI Z Y, JIANG Q H, et al. Breeding of *Bacillus* for producing sauce-flavor and analysis of characteristic aroma[J]. Food and Machinery, 2025, 41(1): 18−25.]

[14] 赵兴秀, 何义国, 赵长青, 等. 产酱香功能菌的筛选及其风味物质研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(6): 196−200. [ZHAO X X, HE Y G, ZHAO C Q, et al. Screening of sauce flavor producing bacteria and flavor compounds research[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(6): 196−200.]

[15] 沈世明, 梁明锋, 张娇娇, 等. 酱香高温大曲风味轮的初步构建及其香气特征分析[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(1): 73−78. [SHEN S M, LIANG M F, ZHANG J J, et al. Preliminary construction of sauce-flavored high temperature Daqu flavor wheel and

its aroma characteristic analysis[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(1): 73−78.]
[16] LEZAETA A, BORDEU E, AGOSIN E, et al. White wines aroma recovery and enrichment: Sensory-led aroma selection and consumer perception[J]. Food Research International, 2018, 108: 595−603.
[17] WEI Yang, ZHANG Liqiang, RAN Maofang, et al. Investigation on fresh bamboo replacing rice husks for brewing light-aroma Baijiu[J]. Journal of Food Science, 2023, 88(4): 1224−1236.
[18] 王丽, 林渊松, 李菊花, 等. 基于电子鼻与顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术的 5 个高香品种红茶关键香气成分分析[J]. 食品科学, 2025, 46(18): 219−230. [WANG L, LIN Y S, LI J H, et al. Analysis of key aroma components in five high-fragrance black teas using electronic nose and headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2025, 46(18): 219−230.]
[19] DENG Ling, MAO Xiang, LIU Dan, et al. Comparative analysis of physicochemical properties and microbial composition in high-temperature daqu with different colors[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 588117.
[20] LIN Yao, YUAN Dandan, ZHANG Shaoji, et al. Differences in flavor characteristics of rounds of Sauce-based Baijiu based on GC-IMS, GC-MS, and electronic tongue[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 135: 106696.
[21] WANG Dan, CHEN Yan, MA Xinyu, et al. A fusion strategy of multivariate flavor analysis techniques for the discrimination of aged sauce-flavor Baijiu[J]. Food Chemistry: X, 2025, 31: 102986.
[22] 邵淑贤, 徐梦婷, 林燕萍, 等. 基于电子鼻与 HS-SPME-GC-MS 技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 232−239. [SHAO S X, XU M T, LIN Y P, et al. Differential analysis of aroma components of Huangguanyin oolong tea from different geographical origins using electronic nose and headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2023, 44(4): 232−239.]
[23] YUN Jing, CUI Chuanjian, ZHANG Shihua, et al. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea[J]. Food Chemistry, 2021, 360: 130033.
[24] YANG Yanqin, ZHU Hongkai, CHEN Jiayu, et al. Characterization of the key aroma compounds in black teas with different aroma types by using gas chromatography electronic nose, gas chromatography-ion mobility spectrometry, and odor activity value analysis[J]. Lwt, 2022, 163: 113492.
[25] LI Shuai, LI Tao, HAN Yueran, et al. Machine learning discrimination and prediction of different quality grades of sauce-flavor Baijiu based on biomarker and key flavor compounds screening[J]. Food Chemistry: X, 2024, 24: 101877.
[26] 廖凤梅, 陈仁远, 杨雪莉, 等. 基于 GC-IMS 酱香型白酒不同典型体基酒挥发性成分差异分析[J]. 中国酿造, 2025, 44(3): 53−58. [LIAO F M, CHEN R Y, YANG X L, et al. Analysis on the differences in volatile components of different typical base liquor of sauce-flavor Baijiu based on GC-IMS[J]. China Brewing, 2025, 44(3): 53−58.]
[27] QIAO Lina, WANG Jing, WANG Ruifang, et al. A review on flavor of Baijiu and other world-renowned distilled liquors[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100870.
[28] HE Yifan, LIU Yafeng, SUN Jiashuo, et al. Characterization of the key aroma-active compounds causing the Douchi aroma in high-temperature Daqu via integrated molecular sensory science, metabolomics, and molecular docking[J]. Food Chemistry, 2025, 493: 146125.
[29] 李甜, 雷雨, 李东, 等. 不同非酿酒酵母与酿酒酵母顺序发酵对茵红李果酒风味的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 179−187. [LI T, LEI Y, LI D, et al. Impact of sequential fermentation with different non-*Saccharomyces* yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma of Yinhong plum wine[J]. Food Science, 2023, 44(24): 179−187.]
[30] LIN Liyun, CHEN K F, CHANGCHIEN L L, et al. Volatile variation of *Theobroma cacao* Malvaceae L. beans cultivated in Taiwan affected by processing via fermentation and roasting[J]. Molecules, 2022, 27(10): 3058.
[31] 向玲, 吴奇霄, 贾俊杰, 等. 不同产地酱香型白酒中吡嗪类化合物差异分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(11): 263−272. [XIANG L, WU Q X, JIA J J, et al. Analysis of pyrazine compounds of sauce-flavor Baijiu from different regions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(11): 263−272.]
[32] DENG Jie, ZHENG Jia, LI Xing, et al. Characterization of Qu-aroma of medium–high temperature Daqu from different production areas using sensory evaluation, E-nose, and GC–MS/O analysis[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2025, 12(1): 40.