

## 酱香型白酒发酵中酵母群落结构及其对风味组分的影响

邵明凯 王海燕 徐岩\* 聂尧

(工业生物技术教育部重点实验室 江南大学生物工程学院 酿酒科学与酶技术中心 江苏 无锡 214122)

**摘要:**【目的】研究酱香型白酒发酵过程中酵母群落结构, 及其对酱香型白酒生产的影响。【方法】通过变性梯度凝胶电泳(DGGE)和实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)技术分别对产量、酒质较高的第五轮次和较低的第七轮次发酵过程中的酵母群落结构进行解析, 同时利用顶空固相微萃取气质联用(HS-SPME-GC-MS)以及高效液相色谱(HPLC)技术分析酒醅中的代谢组分, 初步分析了酵母群落对酱香型白酒产量及品质的影响。【结果】用 DGGE 方法从酒醅中的检测到 *Issatchenkia orientalis*、*Torulaspora delbrueckii*、*Pichia galeiformis*、*Schizosaccharomyces pombe*、*Galactomyces geotrichum*、*Trichosporon asahii*、*Zygosaccharomyces bailii*、*Saccharomyces cerevisiae* 和 *Pichia fabianii* 等 9 种含量丰富的酵母, 其中 *G. geotrichum* 和 *S. cerevisiae* 是第五轮的优势酵母, 而第七轮的优势酵母增加了 *I. orientalis* 和 *Z. bailii* 两种酵母, 且 *Sc. pombe* 未检测到。第七轮发酵过程中 5 种酵母在发酵后期衰亡明显, 第五轮酵母群落结构相对更稳定; 发酵前期第五轮酵母总量是第七轮的 2–5 倍, 而发酵结束时第五轮乙醇含量达到第七轮次的 2.45 倍。酒醅中挥发性风味组分种类丰富, 第五轮中酯类等白酒中重要的风味物质含量明显高于第七轮, 有机酸和杂醇油含量低于第七轮。【结论】酱香型白酒酿造过程中酵母菌群多样性较丰富, 酵母菌群结构变化对白酒产量及品质影响明显, 这为酱香型白酒酿造机制研究奠定了基础。

**关键词:** 酱香型白酒, 酵母群落, 风味组分

Yeast community structure and its impact on flavor components during the fermentation process of Chinese *Maotai*-flavor liquor

SHAO Ming-Kai WANG Hai-Yan XU Yan\* NIE Yao

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Center for Brewing Science and Enzyme Technology, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

**Abstract:** [Objective] To analyze yeast community structure and its influence on brewing during the fermentation process of Chinese *Maotai*-flavour liquor. [Methods] The yeast community in the fifth round (higher yield and quality of the liquor) and the seventh round of fermentation process (lower yield and quality of the liquor) were analyzed using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2012AA021301 2013AA102108) 国家自然科学基金项目(No. 31000806 31371822, 31271921); 2011 协同创新计划项目

\*通讯作者: Tel: 86-510-85918201; Fax: 86-510-85864112; 邮箱: yxu@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2014-03-13; 接受日期: 2014-04-17; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-05-13

and real-time quantitative PCR (RT-qPCR). The metabolic components in the fermented grains were investigated through headspace-solid phase microextraction gas chromatograph-mass spectrometer (HS-SPME-GC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC). Finally, the effects of yeast communities on the yield and quality of *Maotai*-flavor liquor were analyzed. **[Results]** At least nine yeasts were detected in the fermented grains, including *Issatchenkia orientalis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia galeiformis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Galactomyces geotrichum*, *Trichosporon asahii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia fabianii*. Among them, *G. geotrichum* and *S. cerevisiae* was dominant yeasts of the fifth round, while the other two yeast, *I. orientalis* and *Z. bailii*, were also advantage in seventh round and *Sc. pombe* was not detected. In addition, five kinds of yeasts declined significantly during latter period of the seventh round fermentation process, but the yeast community structure during the fifth round was relatively more stable. The total yeasts during the early stage of the fifth round fermentation is 2–5 times more than the seventh round's, while ethanol content of fifth round fermented grains was 2.45 times as higher as the seventh's at the end of fermentation. Besides, volatile metabolic component of fermented grains was rich in species. The content of esters of the fifth round was remarkably higher than the seventh round, while organic acids and fusel oils were lower than the seventh round. **[Conclusion]** During *Maotai*-flavour liquor brewing process, there is rich diversity in yeast species, and the dynamics of yeast community structure affect liquor's yield and quality obviously, which provides the basis for the study of *Maotai*-flavour liquor brewing mechanism.

**Keywords:** *Maotai*-flavour liquor, Yeast community structure, Flavor components

作为我国三大基本香型白酒之一,酱香型白酒独特的酿造工艺使酿造体系中形成了复杂的微生物群落结构,最终其产品获得了特殊的酱香型风格,如酱香突出、酒体醇厚、幽雅细腻、空杯留香持久、回味悠长等特点。因此,研究酱香型白酒酿造过程微生物群落结构,对解析我国酱香型白酒酿造机理、提高白酒产量及品质具有重大意义。

中国白酒固态发酵过程中,酵母是对出酒率、风味和品质贡献最大的微生物群体<sup>[1-2]</sup>。因此,从酵母群落结构出发,研究酱香型白酒发酵过程中酵母代谢组分的影响对白酒酿造技术发展和工艺优化有巨大推动作用。国际上对发酵食品生产过程中复杂微生物区系与代谢产物的影响进行了较多研究,包括奶酪制作中的微生物以及对品质的影响<sup>[3-6]</sup>,葡萄酒酿造过程中酵母群落变化与酒质关系<sup>[7-10]</sup>等。Duthoit F.等<sup>[4]</sup>研究了萨莱奶酪成熟过程中微生物动态与感官特征之间的关系,为奶酪品质和安全控制提供了科学依据。另外, Van-Diep L. 等<sup>[11]</sup>通过研究成熟阶段的汾酒大曲,得到了 19 种化合物与微生物变化有密切关系,通过监测制曲阶段的这些化合物对大曲质量进行控制,保证了大曲

质量的稳定,提高了生产效率。通过对各自体系的微生物动态及其对产品品质的研究,均提高了发酵食品的产品质量,推动了发酵食品生产科学理论的发展。

以上研究充分表明了研究酱香型白酒酵母群体微生物结构及其对白酒生产品质影响具有重要价值。但是,目前对酱香型白酒发酵过程中复杂的酵母群落结构没有科学系统地认识<sup>[12]</sup>,且酵母对酱香型白酒生产的影响研究甚少,只简单地向发酵过程中加入菌株强化发酵易造成调控的盲目性,往往达不到预期效果。因此,结合中国酱香型白酒酿造多轮次取酒的工艺特点,即七个轮次取酒,不同轮次产酒量及酒质风格特点各不相同(第三、四、五轮次酒的产量较高且品质最优,第六、七轮次产酒量则显著下降且酒质较差)。本文研究了酱香型白酒发酵过程中好差轮次(第五轮和第七轮)的酵母群落结构,并分析了其与白酒产量和品质的相关性,确定了酱香型白酒发酵过程中酵母群落结构对白酒生产的影响。这对解析酱香型白酒酿造机制,调控酱香型白酒生产具有重要价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 样品来源:** 样品取自贵州某酱香型白酒厂, 于 2012 年 5 月和 7 月分别对入窖发酵第五轮和第七轮的酒醅取样。从入窖发酵起始至发酵 30 d 结束, 每隔 5 d 取样一次, 每次分别在窖池同一水平面的 5 个位置点各取 50 g, 混匀, 于  $-70^{\circ}\text{C}$  保存。

**1.1.2 试剂:** 丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、去离子甲酰胺、尿素、EDTA、引物, 购自上海生工生物工程有限公司;  $2\times\text{Taq PCR MasterMix}$ , 购自天根生化科技有限公司; PCR 试剂、PCR 产物纯化试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、pMD19-T Vector、Plasmid Mini Kit I, 购自宝生物工程(中国)有限公司; SYBR Green Supermix, 购自美国伯乐公司; 其余试剂均为国产或进口分析纯。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 酒醅基因组提取:** 方法参照文献[13]。

**1.2.2 酒醅中酵母菌群结构分析:** 以酒醅基因组为模板, 用 NL1 和 LS2 引物<sup>[14-15]</sup>(引物序列见表 1) PCR 扩增酵母 26S rRNA D1 区, 扩增条件详见文献[14], 扩增产物约 250 bp, 经琼脂糖凝胶电泳检测后进行 DGGE 电泳。DGGE 电泳条件: 变性梯度为 24%–45%, 电压为 100 V, 时间为 200 min。电泳结束后, 用含有 SYBR-Green 的  $1\times\text{TAE}$  电泳缓冲液染色, 用凝胶成像仪成像观察。从电泳胶中选取优势条带进行切胶回收, 将扩增并纯化后的 PCR 产物连接 pMD19-T, 转化 *Escherichia coli*

JM109 感受态细胞, 涂布于 LB 氨苄平板, 再次经 DGGE 比对验证阳性克隆, 送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果在 GenBank 中进行比对, 确定对应条带种属信息。

**1.2.3 统计分析:** 采用 Quantity One 软件将 DGGE 图谱数字化、标准化后得到记录 DGGE 胶中条带迁移位置及其相对含量的数字化矩阵, 然后运用主成分分析(PCA)方法分析不同发酵轮次酵母群落结构, 以此来评价酒醅中酵母菌群多样性的变化。数据的方差分析等均利用 SPSS 20.0 软件进行。

**1.2.4 荧光定量 PCR (RT-qPCR)** 测定酒醅中酵母生物量: 以酒醅中分离到的酿酒酵母为标准酵母, 提取基因组, 采用定量引物 YeastR 和 YeastF<sup>[16]</sup>(引物序列见表 1)对基因组中酵母 26S rRNA D1 区的编码 DNA 进行 PCR 扩增, 反应程序详见文献[16], 扩增产物为 126 bp, 连接 T 载体构建质粒。以重组质粒连续 10 倍梯度稀释液作为模板, 进行 Real-time PCR, 反应体系与扩增程序参照文献[16]。每个稀释梯度做 3 组平行实验。以阈值循环数  $C_t$  为纵坐标, 质粒拷贝数的对数为横坐标绘制标准曲线。标准曲线为  $y=-3.1371x+43.7360$ ,  $R^2=0.9986$ 。扩增效率为 108.3%, 检测范围为  $5.82\times 10^4$ – $5.82\times 10^{11}$  copies/g 酒醅。

用酱香型白酒酒醅样品总 DNA 为模板, 采用相同条件进行 RT-qPCR 特异性扩增, 每个样品做 3 组平行, 并根据标准曲线计算每克酒醅中酵母的拷贝数。

表 1 DGGE 和荧光定量所用引物  
Table 1 Primers for DGGE and RT-qPCR

引物名称 Primers name	引物序列 Primer sequences (5'→3')
NL1*	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG
LS2	ATCCCAAACAACCTCGACTC
YeastR	TCTCTTTTCCAAAGTTCTTTTCATCTTT
YeastF	GAGTCGAGTTGTTTGGAATGC

注: \*: GC 夹(5'-GCGGGCCGCGCGGCCCGGGCCGCGCGGCCGCGGCGG-3')添加在引物的 5'端。

Note: \*: Add GC clamp (5'-GCGGGCCGCGCGGCCCGGGCCGCGCGGCCGCGGCGG-3') to the 5' end of primer.

**1.2.5 酒醅中乙醇含量测定:** 称取 1 g 酒醅加入装有 3 mL 超纯水的 5 mL 离心管中混匀, 12 000 r/min 离心 5 min, 取 700  $\mu$ L 上清。加入 700  $\mu$ L 10% 三氯乙酸混匀, 静置 30 min, 离心。用 0.22  $\mu$ m 有机滤膜过滤上清液, 滤液转移至液相小瓶进行检测。色谱条件: 色谱柱为 Bio-Rad Aminex HPX-87H (300 mm $\times$ 7.8 mm, 9  $\mu$ m), 柱温 60  $^{\circ}$ C, 流动相为 3 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 流速 0.6 mL/min, 进样量 10  $\mu$ L, 检测器为示差折光 (RID)。标准曲线为  $y=0.000\ 014\ 487\ 6x-0.007\ 96$ ,  $R^2=0.999\ 16$ 。其中  $x$  代表峰面积,  $y$  代表浓度 (mg/L)。

**1.2.6 酒醅中风味代谢组分的检测:** 方法参考文献[17-18]。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中酵母群落多样性分析

根据 DGGE 电泳图谱(图 1)显示, 酒醅中酵母 DGGE 条带至少 14 条, 说明酵母种类丰富, 对图谱

中主要 DNA 条带的鉴定结果(表 2)表明, 第五轮发酵过程检测到 *Issatchenkia orientalis*、*Torulaspora delbrueckii*、*Pichia galeiformis*、*Schizosaccharomyces pombe*、*Galactomyces geotrichum*、*Trichosporon asahii*、*Zygosaccharomyces bailii*、*Saccharomyces cerevisiae* 等酵母, 其中 *S. cerevisiae* 和 *G. geotrichum* 是酒醅中的优势酵母。各发酵时间点的泳道中主要酵母条带数量和亮度变化不大, 发酵过程中酵母菌群较稳定。

白酒产量较低和酒质较差的第七轮次酵母菌群有所不同。除 *S. cerevisiae* 和 *G. geotrichum* 外, *I. orientalis*、*Z. bailii* 条带亮度明显增加也成为该发酵轮次的优势酵母; 未检测到 *Sc. pombe*, 且仅在发酵结束检测到 *Pichia fabianii*, 该酵母首次在酱香型白酒中发现; *I. orientalis*、*T. delbrueckii*、*P. galeiformis*、*Z. bailii*、*S. cerevisiae* 对应的 DNA 条带亮度逐渐减弱, 随着发酵时间延长这几种酵母衰亡明显。

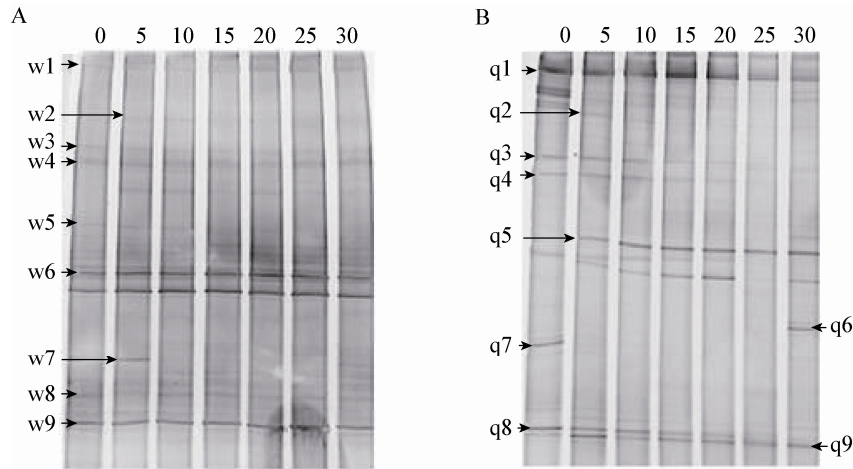


图 1 不同轮次发酵过程酵母 DGGE 图谱  
Figure 1 DGGE dynamic changes of yeasts in different round fermentation

注: A: 第五轮发酵过程酵母 DGGE 图谱, w1-w9 是较为明显的 DNA 条带测序编号; B: 第七轮发酵过程酵母 DGGE 图, q1-q9 是较为明显的 DNA 条带测序编号。0、5、10、15、20、25、30 分别代表发酵 0、5、10、15、20、25、30 d 的酒醅样品。

Note: A: DGGE dynamic changes of yeasts in the fifth round fermentation, the positions of obvious bands sequenced are indicated by letters from w1 to w9; B: DGGE dynamic changes of yeasts in the seventh round fermentation, the positions of obvious bands sequenced are indicated by letters from q1 to q9. The lane of 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 corresponding to the culture sample of the 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d fermentation.

表 2 切胶条带测序结果  
Table 2 Sequencing results of the bands

条带编号 Bands No.	相似菌株(登录号) Similar strains (accession No.)	相似度 Identity (%)
w1/q1	<i>Issatchenkia orientalis</i> (FJ770560.1)	100
w2/q2	<i>Torulaspora delbrueckii</i> (HE660079.1)	100
w3/q3	<i>Pichia galeiformis</i> (JX880397.1)	100
w4/q4	<i>Pichia galeiformis</i> (JX880397.1)	100
w5	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (HE964968.1)	100
w6/q5	<i>Galactomyces geotrichum</i> (JN974271.1)	99
q6	<i>Pichia fabianii</i> (U73573.1)	100
w7/q7	<i>Trichosporon asahii</i> (FJ463648.1)	100
w8/q8	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> (EU441913.1)	99
w9/q9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (EU441887.1)	100

## 2.2 发酵过程中酵母群落统计分析

通过对两个轮次酵母群落结构主成分分析,将多维变量降维成 2 个变量进行分析,第一主成分(PC1)贡献率达 63.9%,第二主成分(PC2)贡献率为 18.7%,前 2 个主成分提供的分类贡献达 82.6%。结果表明,两个轮次发酵过程中菌群变化差异显著( $P<0.05$ )。如图 2 所示,第五轮发酵过程的样品聚类较好,说明该轮次酵母群落变化不大,结构较稳定,且 *Sc. pombe*、*S. cerevisiae* 和 *G. geotrichum* 为该轮次的特征贡献酵母;而第七轮样品则分散在各象限,表明该轮次发酵过程中酵母菌群变化明显,群落结构稳定性差,且 *I. orientalis* 和 *Z. bailii* 两种酵母含量较第五轮丰富。这与 DGGE 图谱中显示的酵母条带的变化趋势相一致。

## 2.3 酒醅中酵母生物量和乙醇含量的分析

第五轮和第七轮发酵过程中酵母总量的测定结果见图 3。两个轮次发酵过程中酵母总量变化趋势一致,即发酵起始含量最高,且发酵前期第五轮发酵酒醅中酵母含量是第七轮的 2–5 倍,发酵前 10 天酵母数量急剧下降,随后下降缓慢,到发酵 20 d 后酵母量基本稳定,约  $2.0 \times 10^5$  copies/g 酒醅。这是由于经过堆积过程,酒醅中酵母得到富集,含量很高。入池发酵后由于氧含量降低,营养物质消耗及代谢物积累,导致酵母逐渐衰亡。

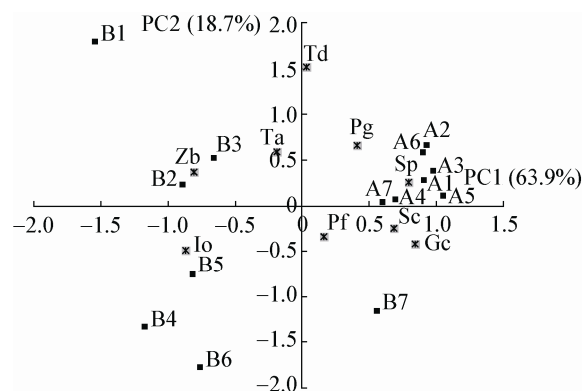


图 2 酵母群落结构主成分分析

### Figure 2 Principal component analysis of yeast community structure

注: ■: 样品; \*: 酵母种属。A1–A7 分别代表第五轮发酵 0、5、10、15、20、25、30 d 的酒醅样品; B1–B7 分别代表第七轮发酵 0、5、10、15、20、25、30 d 的酒醅样品。Io: *I. orientalis*; Td: *T. delbrueckii*; Pg: *P. galeiformis*; Sp: *Sc. pombe*; Gc: *G. geotrichum*; Ta: *T. asahii*; Pf: *P. fabianii*; Zb: *Z. bailii*; Sc: *S. cerevisiae*。

Note: ■: Samples; \*: Yeast species. A1–A7 corresponding to the culture sample of the 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d during the fifth fermentation; B1–B7 corresponding to the culture sample of the 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d during the seventh fermentation. Io: *I. orientalis*; Td: *T. delbrueckii*; Pg: *P. galeiformis*; Sp: *Sc. pombe*; Gc: *G. geotrichum*; Ta: *T. asahii*; Pf: *P. fabianii*; Zb: *Z. bailii*; Sc: *S. cerevisiae*。

如图 4 所示,发酵起始,两轮次酒醅中乙醇含量相近。然而,第五轮次发酵前 5 天,酒醅中乙醇迅速积累,第七轮次中乙醇含量始终仅是缓慢增加,到发酵结束时,第五轮乙醇含量达到第七轮的 2.45 倍。在发酵前 10 天,第五轮酵母总量明显高于第七轮(图 3),而该阶段正是乙醇产生的关键时期。因此,发酵体系中酵母生物量影响了酒醅中乙醇浓度,最终导致实际生产中第五轮白酒产量明显高于第七轮。

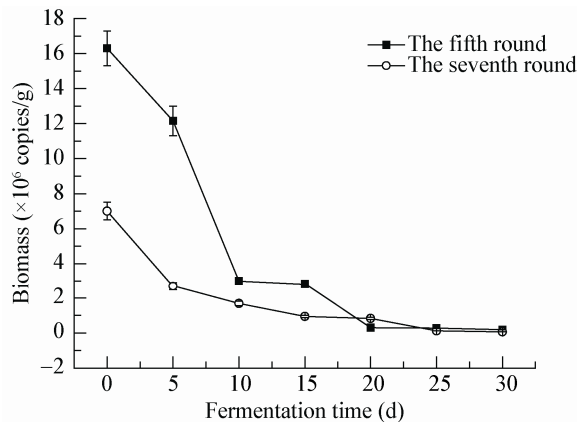


图 3 酱香型白酒第五轮和第七轮酵母生物量  
Figure 3 Yeast biomass during the fifth and seventh round fermentation of Maotai-flavor liquor

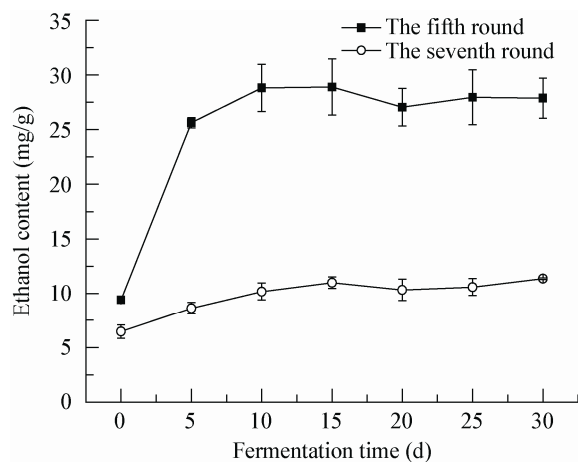


图 4 第五轮和第七轮发酵过程中酒醅乙醇含量  
Figure 4 Ethanol concentration in the fifth and seventh round of fermented grains

## 2.4 发酵酒醅中主要风味代谢组分分析

检测第五轮和第七轮次酒醅中挥发性风味组分,取对酱香型白酒风味贡献大<sup>[19]</sup>的和色谱峰面积大于 10 000 的共 42 种重要的风味物质进行分析,其中含有酯类 20 种,醇类 6 种,有机酸类 7 种,芳香类物质 7 种,杂环类物质 2 种。

分析表明(图 5),第五轮次和第七轮次发酵酒醅中,风味代谢组分种类基本一致。但第五轮和第七轮样品明显聚为两类,表明两个轮次酒醅中物质含量差异明显。根据物质含量差异,酒醅中的风味物质也明显聚为两大类,其中乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯等各种酯类风味物质在第五轮样品中高于第七轮次样品,而第七轮次酒醅中乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、辛酸、庚酸等有机酸和 2-丁醇和正辛醇等杂醇油含量较高,有机酸和杂醇油含量过高易造成白酒品质下降<sup>[20-21]</sup>。这些是实际生产中第七轮酒质低于第五轮的直接原因。

## 3 讨论

酱香型白酒酿造过程中,酵母菌是重要的微生物群落,它对乙醇和对白酒风味贡献最大的酯类物质的产生有重要作用。实际生产中,酱香型白酒酿造的第五轮次白酒产量较高且品质较好:酱香浓郁,味醇厚,酒体丰满,后味长,杂味少;而第七轮次白酒产量很低且酱香品质差:酱香明显,醇和、有糊香,微苦有杂味<sup>[22]</sup>。本研究表明,酱香型白酒发酵过程中酵母群落多样性丰富,其差异是造成好和差轮次白酒产量和品质上差异的重要原因。

发酵第五轮次酵母含量高导致产酒量更高,而第五轮发酵前期产生较高含量的乙醇为发酵中后期酯类等风味物质形成提供了基础,直接造成了第五轮酯类等重要的白酒风味成分含量更高。第七轮次酵母群落结构不稳定,这是由于酒醅中有机酸含量高,体系较高的酸度影响了酵母正常的生长代谢,因此这也极可能是第七轮酯类物质含量低的重要原因。而根据 DGGE 和 PCA 结果,*I. orientalis*



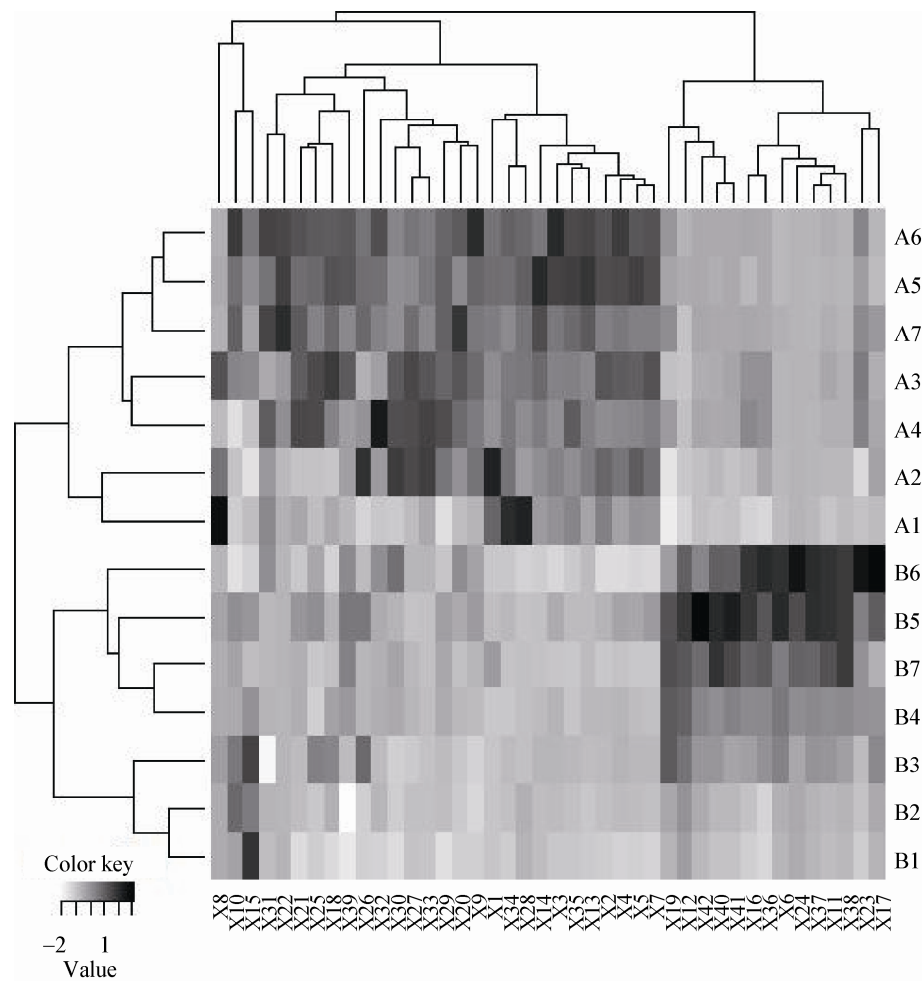


图 5 第五轮和第七轮发酵酒醅中的风味物质含量热图

Figure 5 Heat map of flavor substances in the fermented grains during the fifth and seventh round fermentation

Note: A1–A7 corresponding to the culture sample of the 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d during the fifth fermentation; B1–B7 corresponding to the culture sample of the 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d during the seventh fermentation. X1: 1-Propanol, 2-methyl-; X2: Linoleic acid ethyl ester; X3: Ethyl oleate; X4: Hexadecanoic acid ethyl ester; X5: Pentadecanoic acid ethyl ester; X6: Octanoic acid; X7: Tetradecanoic acid ethyl ester; X8: Phenylethyl alcohol; X9: Benzenepropanoic acid ethyl ester; X10: Benzyl alcohol; X11: Hexanoic acid; X12: Acetic acid 2-phenylethyl ester; X13: Benzenecetic acid ethyl ester; X14: Butanedioic acid diethyl ester; X15: 2-Furanmethanol; X16: Butanoic acid; X17: 1-Octanol; X18: Furfural; X19: Acetic acid; X20: Octanoic acid ethyl ester; X21: 1-Hexanol; X22: Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester; X23: Heptanoic acid ethyl ester; X24: Hexanoic acid propyl ester; X25: Acetic acid hexyl ester; X26: Butanoic acid pentyl ester; X27: Hexanoic acid ethyl ester; X28: 1-Butanol, 3-methyl-; X29: 1-Butanol; X30: Pentanoic acid ethyl ester; X31: Propanoic acid, 2-methyl-, pentyl ester; X32: Acetic acid butyl ester; X33: Butanoic acid ethyl ester; X34: Propanoic acid ethyl ester; X35: Ethyl acetate; X36: 4-Methyl phenol; X37: Heptanoic acid; X38: Pentanoic acid; X39: Benzaldehyde; X40: Propanoic acid; X41: 2-Butyl alcohol; X42: n-Propyl acetate.

在第七轮含量丰富，*Sc. pombe* 和 *S. cerevisiae* 在第五轮中含量较丰富。相应地，Wu 等<sup>[12]</sup>研究发现，用高粱汁培养基发酵从酱香型白酒中筛选到的酵母时，*I. orientalis* 产酸最丰富，*Sc. pombe* 和 *S. cerevisiae* 产酯丰富，且 *Sc. pombe* 是低产高级醇的

酵母。这也是第七轮的有机酸和杂醇油含量高、酯类含量低的原因所在。综上所述，酵母的群落结构动态变化对酱香型白酒产量和质量有关键影响。

本文通过对酱香型白酒酿造过程中酒醅酵母群落与风味代谢组分的分析，对酵母群落结构对白

酒挥发性风味成分的影响有了初步认识,但针对酱香型白酒更多发酵轮次的全面研究分析有待进行。这不仅对深入研究酱香型白酒发酵机理、认识酱香型白酒主体香气香味成分的形成过程有着重要的指导意义,而且有利于定向调控酱香型白酒的生产工艺,提高酒体产量及质量。

## 参 考 文 献

- [1] Wu Q, Chen LQ, Xu Y. Yeast community associated with the solid state fermentation of traditional Chinese *Maotai*-flavor liquor[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 166(2): 323-330.
- [2] Xu Y, Ji KL. *Moutai(Maotai)*: production and sensory properties[A]/Piggott J. Alcoholic Beverages: Sensory Evaluation and Consumer Research[M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2012: 315-330.
- [3] Irlinger F, Mounier J. Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(2): 142-148.
- [4] Duthoit F, Callona C, Tessier L, et al. Relationships between sensorial characteristics and microbial dynamics in “Registered Designation of Origin” salers cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(3): 259-270.
- [5] O’Sullivan DJ, Giblin L, McSweeney PLH, et al. Nucleic acid-based approaches to investigate microbial-related cheese quality defects[J]. Frontiers in Microbiology, 2013(4): 1-15.
- [6] Ordiales E, Martín A, Benito MJ, et al. Role of the microbial population on the flavor of the soft-bodied cheese *Torta del Casar*[J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(9): 5477-5486.
- [7] Čuš F, Jenko M. The influence of yeast strains on the composition and sensory quality of *Gewürztraminer* wine[J]. Food Technology & Biotechnology, 2013, 51(4): 547-553.
- [8] Holt H, Cozzolino D, McCarthy J, et al. Influence of yeast strain on Shiraz wine quality indicators[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(3): 302-311.
- [9] Zott K, Thibon C, Bely M, et al. The grape must non-*Saccharomyces* microbial community: Impact on volatile thiol release[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 151(2): 210-215.
- [10] Capece A, Romaniello R, Siesto G, et al. Diversity of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts associated to spontaneously fermenting grapes from an Italian “heroic vine-growing area”[J]. Food Microbiology, 2012, 31(2): 159-166.
- [11] Van-Diep L, Zheng X, Ma K, et al. Characterization of Fen-Daqu through multivariate statistical analysis of <sup>1</sup>H NMR spectroscopic data[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2011, 117(4): 516-522.
- [12] Wu Q, Xu Y, Chen LQ. Diversity of yeast species during fermentative process contributing to Chinese *Maotai*-flavour liquor making[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 55(4): 301-307.
- [13] 许伟, 张晓君, 许泓瑜, 等. 镇江香醋醋酸发酵过程中细菌群落组成分析[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 646-649.
- [14] Mills DA, Johannsen EA, Cocolin L. Yeast diversity and persistence in botrytis-affected wine fermentations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(10): 4884-4893.
- [15] Renouf V, Claisse O, Lonvaud-Funel A. Inventory and monitoring of wine microbial consortia[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 75(1): 149-164.
- [16] Hierro N, Esteve-Zarzoso B, González Á, et al. Real-time quantitative PCR (QPCR) and reverse transcription-QPCR for detection and enumeration of total yeasts in wine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(11): 7148-7155.
- [17] 范文来, 张艳红, 徐岩. 应用 HS-SPME 和 GC-MS 分析白酒大曲中微量挥发性成分[J]. 酿酒科技, 2008(12): 74-78.
- [18] Fan WL, Qian MC. Headspace solid phase microextraction and gas chromatography olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese “Yanghe Daqu” liquors[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(20): 7931-7938.
- [19] 沈海月. 酱香型白酒香气物质研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2010.
- [20] 王忠彦, 尹昌树. 白酒色谱骨架成分的含量及比例关系对香型和质量的影响[J]. 酿酒科技, 2000(6): 93-96.
- [21] Chung H, Yoon MK, Kim M, et al. Volatile hazardous compounds in alcoholic beverages[J]. Journal of Applied Biological Chemistry, 2012, 55(3): 141-148.
- [22] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 358-359.