

## 铵盐补偿对红曲黄酒酿造中高级醇及风味品质形成的调控作用

杨梓翊<sup>1,2</sup>, 侯思文<sup>1,2</sup>, 梁梓华<sup>1,2</sup>, 吴琪<sup>1,2</sup>, 袁钰洁<sup>1,2</sup>, 邱允滔<sup>3</sup>, 倪莉<sup>1,2</sup>, 吕旭聪<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>福州大学先进制造学院 食品营养与健康研究中心 福建晋江 362200

<sup>2</sup>福州大学生物科学与工程学院 食品科学技术研究所 福州 350108

<sup>3</sup>福建惠泽龙酒业股份有限公司 福建宁德 352303

**摘要** 目的:研究铵盐补偿对红曲黄酒酿造中高级醇及风味品质形成的调控作用。方法:通过顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术结合感官品评分析等方法,探究铵盐补偿对红曲黄酒酿造过程高级醇及风味品质形成的影响,通过功能微生物组合发酵验证铵盐补偿对酿酒酵母发酵中高级醇代谢的消减调控作用。结果:在红曲酒传统酿造体系中添加磷酸二氢铵和磷酸氢二铵均可显著降低红曲黄酒中高级醇的含量,其中添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵对红曲黄酒中高级醇总量的消减调控效果最佳,消减率高达 35.79%,还可显著增加酒中乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯和辛酸乙酯等特征酯类香气组分的含量,有效提升红曲黄酒的果香、酱香、花香、木香等特征香气,降低红曲黄酒中的涩味、苦味、辣味等不良滋味;此外,基于功能微生物组合发酵体系,铵盐补偿(磷酸二氢铵 400 mg N/L)对酿酒酵母发酵中高级醇的代谢具有明显的消减调控作用,消减率为 28.99%。结论:铵盐补偿尤其是磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒酿造中高级醇的生成具有明显的消减作用,对红曲黄酒的风味品质有明显的提升作用。研究结果将促进铵盐补偿技术在红曲黄酒酿造产业中的应用,为提升红曲黄酒的饮用安全性和风味品质提供科学依据。

**关键词** 铵盐补偿; 红曲黄酒; 高级醇; 挥发性组分; 酿酒酵母

**文章编号** 1009-7848(2024)12-0163-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.015

黄酒在世界酿造史上独树一帜,与啤酒、葡萄酒并称为世界三大古酒,是中华民族的文化瑰宝,享有“国酒”之美誉<sup>[1]</sup>。红曲黄酒是以糯米为原料,以红曲为糖化发酵剂,经多种微生物酿造而成。红曲黄酒以色红、味醇、香浓而著称,不仅具有丰富的营养成分,还因添加了红曲而具备多种生理功效,是中国黄酒中颇具特色的一类黄酒<sup>[2]</sup>,曾与麦曲黄酒并驾齐驱,享誉海内外。

传统工艺酿造的红曲黄酒风味独特,深受广大消费者的青睐。然而,红曲黄酒饮后易引起“上头”、“宿醉”等不适症状,成为红曲黄酒市场拓展的主要问题,严重影响红曲黄酒产业的经济效益。有研究表明:造成黄酒饮后“上头”、“宿醉”等不适症状的主要原因是黄酒中高级醇的含量偏高<sup>[3-4]</sup>。高级醇是黄酒风味的重要组成部分,也是形成某些酯类香气组分的前驱物。适量的高级醇赋予黄

酒特有的醇香和口感,然而其含量过高会产生异杂味并损伤脑部神经系统,使饮用者产生“上头”“宿醉”等不适症状<sup>[5]</sup>。对现有研究数据的对比显示:在所有酿造酒中,黄酒中高级醇(以异丁醇、异戊醇和 $\beta$ -苯乙醇为主)的含量相对较高<sup>[6]</sup>。课题组前期对不同类型黄酒中的挥发性风味物质进行检测,发现红曲黄酒中的高级醇含量普遍比其它黄酒高。适当降低红曲黄酒中高级醇的含量,对提高其饮用的舒适度和风味品质具有重要的意义。

近年来,相关学者在黄酒高级醇的调控及其脱除技术方面进行了大量的研究,发现通过合理控制酿酒原料、糖化剂、酵母菌种、发酵工艺以及后处理工艺,可在一定程度上降低黄酒中高级醇含量<sup>[7-10]</sup>。黄酒中的高级醇主要是由酵母菌代谢产生的,可通过筛选低产高级醇的酵母菌株来降低酒中高级醇含量<sup>[11-12]</sup>,然而,高级醇也是某些酯类香气组分合成的重要前体物质,低产高级醇的酵母菌株往往酒精发酵力较差且特征酯类香气产量不足,难以在黄酒酿造产业中大规模推广应用<sup>[13]</sup>。根据酯类和高级醇的合成代谢途径,通过基因工程手段敲除和过表达某些关键基因构建工程菌

**收稿日期:** 2023-12-05

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(32072204);中央引导地方科技发展资金项目(2022L3075)

**第一作者:** 杨梓翊,女,硕士生

**通信作者:** 吕旭聪 E-mail: xucong1154@163.com

株, 可实现对关键酯类香气组分和高级醇合成的双向调控<sup>[14]</sup>, 然而, 基因工程菌株还需要严格的安全性评估, 目前尚未在黄酒酿造产业中推广应用。也有学者曾尝试通过树脂吸附、反渗透、膜过滤、超声波、高压脉冲电场等物理脱除工艺降低新酿黄酒中高级醇含量, 然而, 这些方法也会除去黄酒中的酯类香气组分, 对黄酒的最终风味品质造成不利影响<sup>[15-16]</sup>。传统酿造工艺及其复杂的微生物群落赋予红曲黄酒独特的风味品质, 在不改变传统酿造工艺的前提下, 寻求一种有效的微生物菌群代谢调控策略, 实现对高级醇和关键酯类香气组分合成的双向调控, 对提高红曲黄酒的安全性和风味品质具有重要的意义。

黄酒中的高级醇主要是通过氨基酸分解代谢途径 (Ehrlich 途径) 和糖代谢合成途径 (Harris 途径) 合成的<sup>[17]</sup>。高级醇的合成受发酵体系中氮素营养状况的调控, 当醪液中氮素营养充足时, 高级醇主要通过 Ehrlich 途径合成, 即氨基酸经支链氨基酸转氨酶作用脱氨生成  $\alpha$ -酮酸, 进一步在  $\alpha$ -酮酸脱羧酶和乙醇脱氢酶作用下生成高级醇; 而当醪液中氮素营养缺乏时, 高级醇主要通过 Harris 途径合成, 即酵母通过糖代谢合成其所需氨基酸的过程中, 因氨化作用有限而导致氨基酸前体物  $\alpha$ -酮酸过度累积, 经脱羧、还原转化产生大量的高级醇<sup>[18]</sup>。黄酒传统酿造过程尤其是酿造初期是一个碳源相对充足、氮素营养相对缺乏的发酵体系, 高级醇生成受“酮酸溢出机制”调控, 即酒中高级醇主要通过 Harris 途径生成<sup>[18]</sup>。通过“氮素补偿”策略控制 Harris 途径, 减少了葡萄糖通过  $\alpha$ -酮酸向高级醇的转化, 理论上可有效降低黄酒酿造中高级醇的生成。

氮素种类繁多, 并非所有的氮素补偿都能有效降低黄酒中高级醇的生成。作为酵母菌, 在发酵中优先利用的氮源, 铵盐是降低黄酒酿造中高级醇生成的合适氮素。有研究发现, 在麦曲黄酒传统酿造体系中补充适量的铵盐, 可在一定程度上消减麦曲黄酒中高级醇的含量<sup>[19]</sup>, 而铵盐补偿对红曲黄酒酿造过程中高级醇生成及风味品质形成的影响, 至今未见相关研究报道。本研究探究铵盐补偿对红曲黄酒酿造过程中高级醇及风味品质形成的影响, 并通过功能微生物组合发酵体系, 验证铵

盐补偿对酿酒酵母发酵代谢生成高级醇的消减调控作用, 促进铵盐补偿技术在红曲黄酒酿造产业中的应用, 旨在为提升该酒的饮用安全性和风味品质提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

酿造红曲由福建省泉州市安溪县龙涓乡钱塘村提供; 糯米、籼米均购自福州市闽侯县上街镇永辉超市; 马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基、酵母浸出粉胨葡萄糖 (YPD) 培养基, 均购自青岛海博生物技术有限公司; 磷酸氢二铵、磷酸二氢铵、3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、丙三醇、无水葡萄糖、氯化钠、无水乙醇为分析纯, 均购自国药集团化学试剂有限公司; 2-辛醇 (98%) 为色谱纯, 购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司; 异丁醇、异戊醇、苯乙醇为分析纯, 均购自阿拉丁公司。

### 1.2 仪器与设备

Synergy HTX 型多功能酶标仪, 基因有限公司; ZD-2 型电位滴定仪, 上海仪电科学仪器股份有限公司; 7890A 型气相色谱仪、7890B/5977A 型气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦科技有限公司; 50  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS 型固相微萃取头, 美国 Supelco 公司; 57330-U 型 SPME 固相微萃取手柄, 美国 Supelco 公司; YXOSG41280 型立式高压蒸汽灭菌锅, 上海医用核子仪器厂; SHP-150 生化培养箱, 上海精宏实验设备有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 红曲黄酒传统酿造工艺流程 将糯米按需称重、洗净, 用蒸馏水室温浸泡 12 h 后, 用蒸笼将糯米蒸熟 (时间约 40 min), 摊凉至室温后称重, 以 1 L 酒坛加入 300 g 生糯米计算, 按红曲: 生糯米: 蒸馏水 = 1: 10: 15 的比例充分混匀后加入酒坛中, 将铵盐溶液加入到酒坛中并搅匀, 用透气的封口膜封口, 放入恒温的生化培养箱中 18  $^{\circ}\text{C}$  恒温发酵 45 d (发酵第 10 天, 将透气的封口膜换成塑料膜, 进行密封无氧发酵)。添加的铵盐种类和浓度见表 1, 每个试验组别均设置 3 个平行。待发酵结束时 (发酵第 45 天), 过滤离心收集酒液样品, 于 -20  $^{\circ}\text{C}$  下贮存待用。

表 1 红曲黄酒传统酿造添加的铵盐种类和浓度  
Table 1 Types and concentration of ammonium salt added in Hongqu rice wine during brewing

铵盐类型	相对分子质量	可利用的 N 数	氮素质量浓度/(mg N/L)	铵盐量/g
磷酸二氢铵 (ADP)	115.03	1	100	0.37
			200	0.74
			400	1.48
磷酸氢二铵 (APD)	132.06	2	100	0.21
			200	0.42
			400	0.85

1.3.2 功能微生物组合发酵体系 以实验室前期分离筛选的红曲菌 M3 菌株通过纯种发酵制备纯种红曲,然后与米根霉 RO 和酿酒酵母 D3 作为发酵菌剂,以蒸熟灭菌后的糯米作为发酵基质,进行纯种红曲-米根霉 RO-酿酒酵母 D3 组合发酵(功

能微生物组合发酵体系)。具体操作步骤如下:称取糯米,洗净后用蒸馏水室温浸泡 12 h,用蒸笼蒸 30 min,摊凉至室温后称重,计算熟糯米的吸水膨胀率,在 250 mL 锥形瓶中加入熟糯米(以 50 g 生糯米计算),用透气的封口膜封口后 121 °C 灭菌 10 min,室温冷却后,按纯种红曲:糯米:无菌水=1:10:15 的比例称取纯种红曲、糯米和无菌水加入 250 mL 锥形瓶中,然后加入米根霉 RO 孢子液(浓度为  $10^6$  个孢子/g 糯米)、酿酒酵母 D3 菌液(浓度为  $10^6$  CFU/g 糯米),加入磷酸二氢铵(400 mg N/)搅匀,用透气的封口膜封口,将锥形瓶放入恒温的发酵箱中 18 °C 进行恒温发酵 45 d,其中在第 10 天时将透气的封口膜换成塑料膜进行密封无氧发酵,每个试验组别均设置 3 个平行。待发酵结束时(发酵第 45 天),过滤离心收集酒液样品,于 -20 °C 下贮存待用。

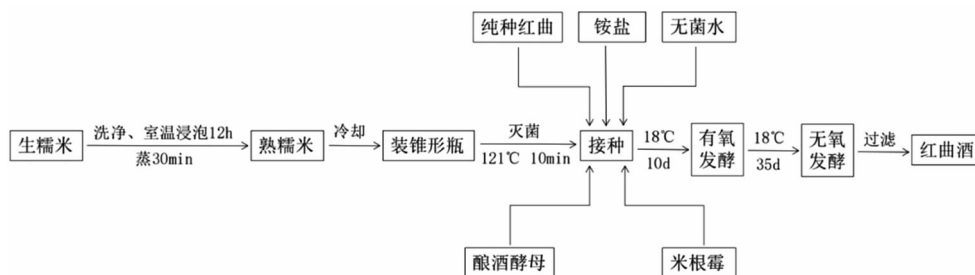


图 1 功能微生物组合发酵工艺流程图

Fig.1 Functional microorganism combined fermentation process

1.3.3 理化参数和高级醇的测定 按照国家标准《黄酒》(GB/T 13662-2018)对酒样中的总酸、氨基酸态氮含量进行检测<sup>[20]</sup>;酒精度和高级醇通过气相色谱仪进行检测<sup>[21]</sup>;还原糖采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定<sup>[22]</sup>。

1.3.4 挥发性风味物质的测定 将固相微萃取纤维头(50  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS)插入到气相色谱仪的进样口(250 °C)进行老化 30 min;吸取 6 mL 样品(10 倍稀释的酒样)于 15 mL 玻璃样品瓶中,加入 2.0 g 氯化钠、10  $\mu$ L 2-辛醇(内标,10 mg/L)和磁力搅拌子,密封后于集热式磁力搅拌器中 60 °C 预热 10 min;而后插入完成老化的固相微萃取纤维头,60 °C 萃取吸附 45 min;将萃取纤维头收起,从顶空萃取样品瓶中取出,迅速插入到气相色谱

仪进样口(250 °C),解析 5 min,进行 GC-MS 检测分析。

气相色谱升温程序:初始温度 40 °C,保持 5 min,以 3 °C/min 升至 120 °C 并保持 2 min,以 10 °C/min 升至 240 °C,保留 5 min;后运行温度 240 °C,时间 5 min<sup>[23]</sup>;色谱柱:HP-INNOWAX 色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m);载气:高纯度氦气(>99.999%),流速:1 mL/min,分流模式:不分流。质谱检测条件:接口温度 280 °C;连接杆温度 150 °C;EI 电离源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,质量扫描范围  $m/z$  为 35~450;ACQ 方式为 Scan 模式。挥发性化合物鉴定:通过 NIST11 和 Wiley 标准谱库进行检索对比,并与相关文献报道的挥发性物质描述和保留指数相比较,确证所检

出各种化学成分;通过与内标(2-辛醇)浓度的比较,换算样品中挥发性风味物质的相对浓度<sup>[24]</sup>。

1.3.5 感官品评分析 组建红曲黄酒感官品评小组(12人,其中男6人,女6人),在空气清新、光线充足和安静舒适的感官品评分析室下进行感官品评。将提前过滤离心的两组红曲黄酒样品放置室温,等量分装于玻璃酒杯中,选取曲香、米香、酱香、花香、果香等12个香气指标,以及酸味、苦味、涩味、辣味等6个滋味指标,进行感官定量品评分析,用0~10的分数来表示香气和滋味的感官强度。

#### 1.4 统计学分析

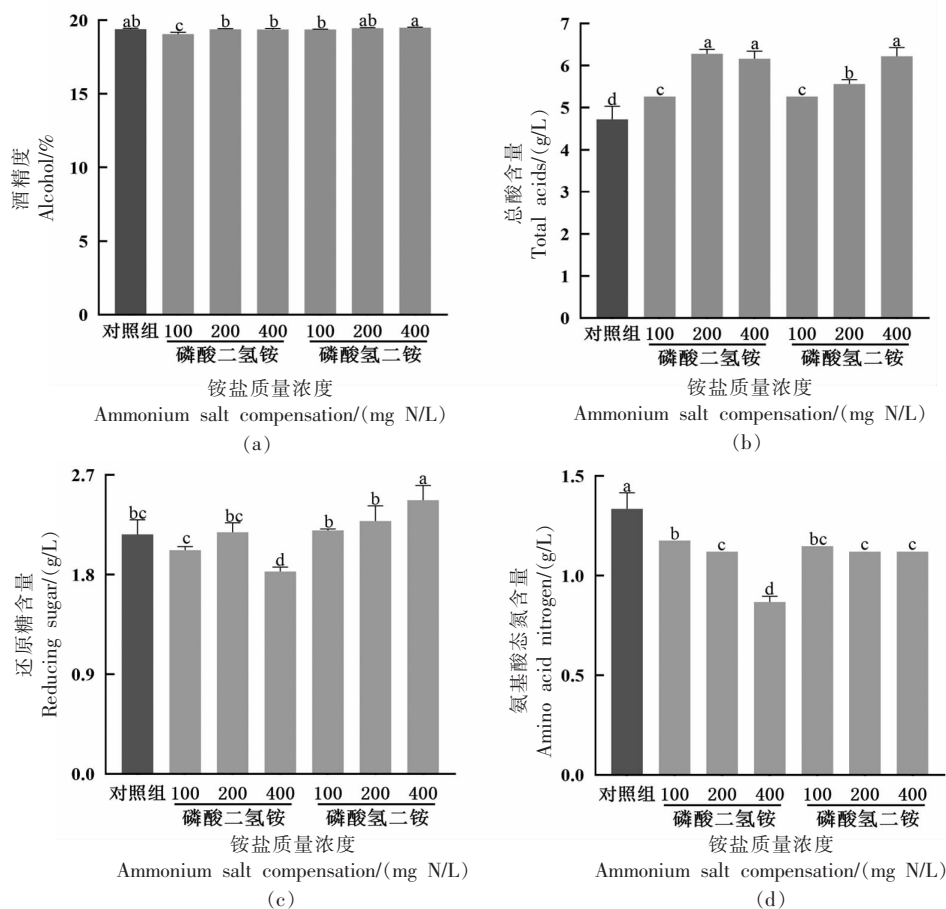
数据均以平均值±标准差值表示;利用GraphPad Prism绘制柱状图和折线图,分析铵盐补偿对红曲黄酒中理化参数和高级醇含量的影响;利用R语言绘制热图,利用SIMCA绘制主成

分分析图、载荷图和聚类图等,分析铵盐补偿对红曲黄酒挥发性风味物质生成的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 铵盐补偿对红曲黄酒理化参数的影响

酒精度、总酸、还原糖和氨基酸态氮等理化参数能一定程度上反映黄酒酿造中的微生物的状态<sup>[25]</sup>,可用来判断黄酒的发酵状态和风味品质。由图2a可见,空白对照组红曲黄酒的酒精度为 $19.39\% \pm 0.05\%$ 。与空白对照组相比,添加100 mg N/L磷酸二氢铵的红曲黄酒酒精度降低至 $19.05\% \pm 0.13\%$  ( $P < 0.05$ ),而其它铵盐调控组的红曲黄酒酒精度与空白对照组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),说明铵盐补偿对红曲黄酒的酒精度影响不大,这与Liu等<sup>[26]</sup>的研究结果相似。红曲黄酒中的总酸主要以有机酸的形式存在,是黄酒风味的重要组成部分<sup>[27]</sup>,



注:图中的小写字母标注为组间差异的显著性分析结果,不同字母代表组间有显著性差异( $P < 0.05$ )。

图2 铵盐补偿对红曲黄酒中理化参数的影响

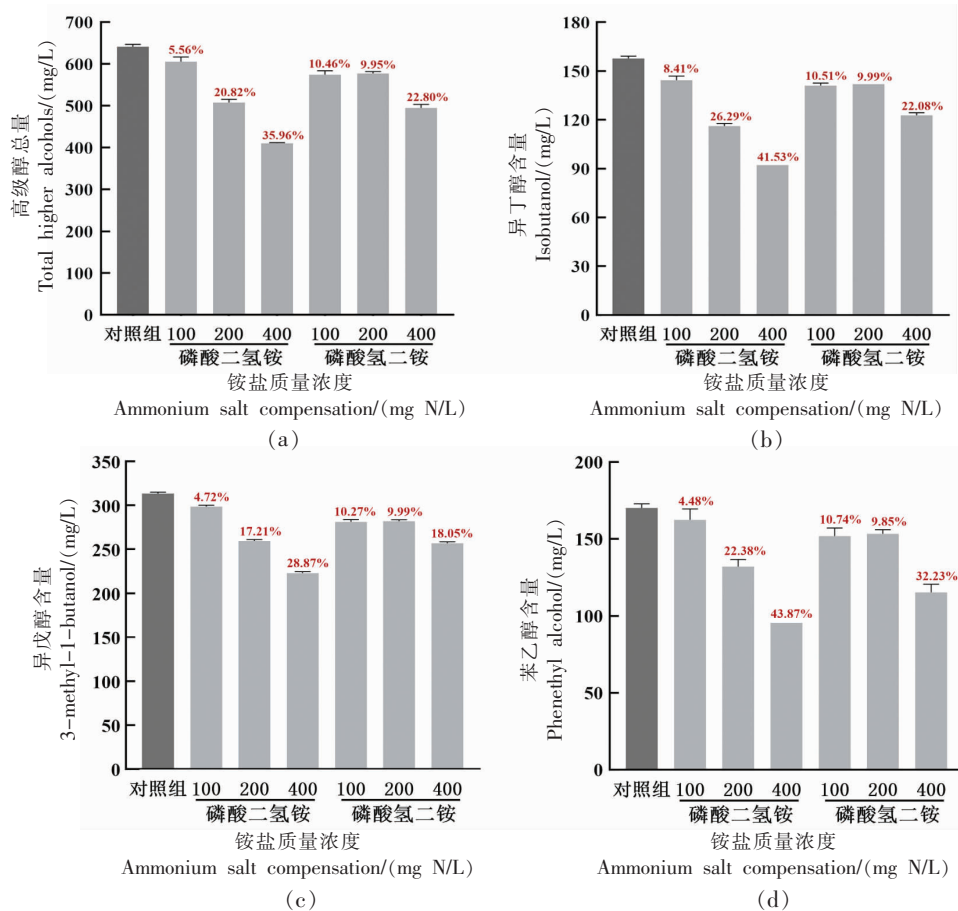
Fig.2 Effect of ammonium salt compensation on physicochemical parameters of traditional brewing of Hongqu rice wine

有机酸可以缓冲其它风味成分,改善酒风味的协调性<sup>[28]</sup>。由图 2b 可见,铵盐补偿可显著增加红曲黄酒中总酸含量( $P<0.05$ ),其中空白对照组总酸含量为(4.72±0.31)g/L,而添加 200 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒总酸含量最高(6.28 g/L±0.10 g/L,符合国家标准)。与磷酸二氢铵调控组相比,磷酸氢二铵补偿后的红曲黄酒总酸含量存在更明显的剂量依赖效应。Liu 等<sup>[26]</sup>的研究也发现,在麦曲黄酒中添加磷酸氢二铵后其总酸含量显著增加,且存在明显的剂量依赖效应,这与本研究的结果相似。由图 2c 可见,在红曲黄酒酿造中添加磷酸二氢铵,还原糖含量显著低于添加磷酸氢二铵组( $P<0.05$ ),其中空白对照组的还原糖含量为(2.16±0.13)g/L,而添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒还原糖含量最低(1.83 g/L±0.04 g/L),添加 400 mg N/L 磷酸氢二铵的红曲黄

酒还原糖含量最高(2.47 g/L±0.13 g/L)。如图 2d 所示,铵盐补偿显著降低红曲黄酒中的氨基酸态氮含量,其中添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒氨基酸态氮含量最低(0.87 g/L±0.03 g/L),而空白对照组红曲黄酒的氨基酸态氮含量为(1.33±0.08)g/L。

## 2.2 铵盐补偿对红曲黄酒中高级醇含量的影响

高级醇对红曲黄酒的风味品质及饮用舒适度起着重要作用<sup>[29-30]</sup>。适量高级醇会增加酒的丰满度和协调性,但过量则会赋予异杂味,且饮后易导致“上头、宿醉”等不适症状<sup>[5]</sup>。Liu 等<sup>[26]</sup>研究已证实,异丁醇、异戊醇和苯乙醇等高级醇是导致黄酒饮后“上头、宿醉”的关键化学物质。因此,本文针对红曲黄酒中异丁醇、异戊醇和苯乙醇进行消减调控研究。由图 3a 可见,空白对照组红曲黄酒中高级醇总量为 641.24 mg/L,添加磷酸二氢铵或磷酸



注:图中的数值为添加对应铵盐后对高级醇的消减率。

图 3 铵盐补偿对红曲黄酒中高级醇的影响

Fig.3 Effect of ammonium salt compensation on higher alcohols of traditional brewing of Hongqu rice wine

氢二铵皆可显著降低红曲黄酒中高级醇的总量,且存在明显的铵盐剂量依赖消减效应。随着铵盐补偿浓度的增加,磷酸二氢铵对红曲黄酒高级醇的消减调控效果更佳,添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒高级醇总量为 410.63 mg/L(消减率为 35.96%),而添加 400 mg N/L 磷酸氢二铵的红曲黄酒高级醇总量为 495.03 mg/L(消减率为 22.80%)。由图 3b~3d 可见,铵盐补偿可显著降低红曲黄酒中异丁醇、异戊醇和苯乙醇的含量( $P < 0.05$ )。具体来看,空白对照组红曲黄酒中异丁醇含量为 157.65 mg/L,而添加 400 mg N/L 磷酸氢二铵的红曲黄酒异丁醇含量为 122.84 mg/L(消减率为 22.08%),添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒异丁醇含量为 92.17 mg/L(消减率高达 41.53%);空白对照组红曲黄酒中异戊醇含量为 313.42 mg/L,而添加 400 mg N/L 磷酸氢二铵的红曲黄酒异戊醇含量为 256.86 mg/L(消减率为 18.05%),添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒异戊醇含量为 222.93 mg/L(消减率为 28.87%);空白对照组红曲黄酒中苯乙醇含量为 170.18 mg/L,

而添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒苯乙醇含量为 95.53 mg/L(消减率为 43.87%),添加 400 mg N/L 磷酸氢二铵的红曲黄酒苯乙醇含量为 115.33 mg/L(消减率为 32.23%)。

### 2.3 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中理化特性的影响

由上述的研究结果可见,添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵对红曲黄酒高级醇的消减调控效果最佳。因此,本文重点研究磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒酿造过程理化参数变化的影响。如图 4a 所示,添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵对红曲黄酒的酒精度几乎无显著性影响。随着酿造的进行,两组红曲黄酒的酒精度含量变化曲线基本重合,其中添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒在酿造终点时酒精度为 19.47%,而空白对照组红曲黄酒酒精度为 19.24%。如图 4b 所示,添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵的红曲黄酒总酸含量(7.73 g/L)明显比空白对照组的红曲黄酒总酸含量(5.27 g/L)高,但符合行业标准《红曲酒》(QB/T 5534-2018)对红曲酒总酸的要求<sup>[31]</sup>。此外,适当的

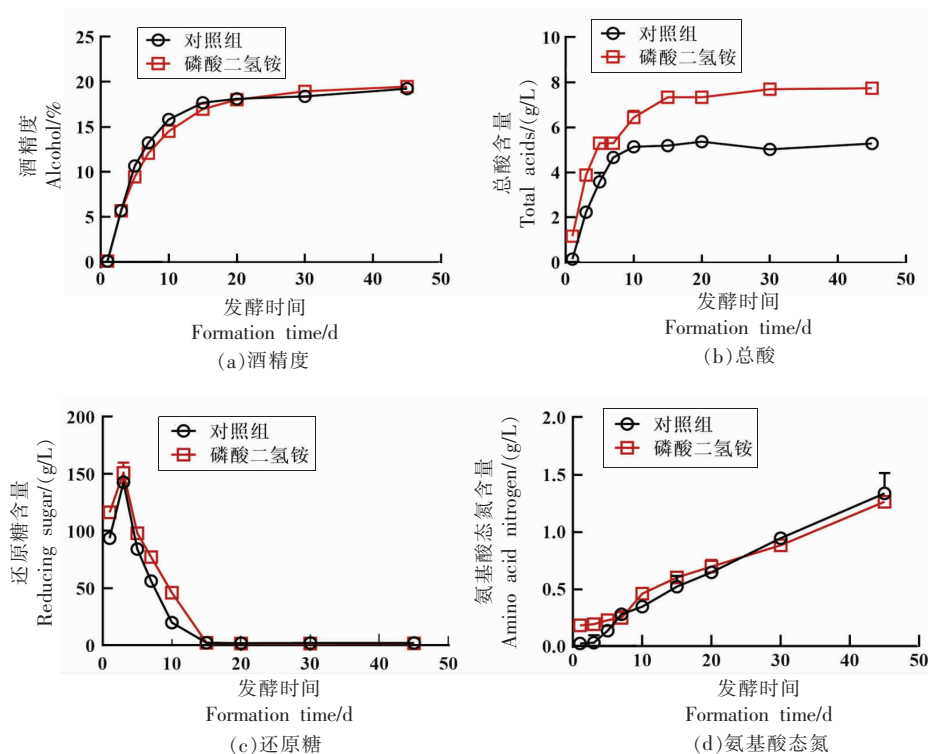


图 4 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中理化参数生成的影响

Fig.4 Effect of ammonium dihydrogen phosphate on physicochemical parameter formation of Hongqu rice wine during brewing

氮素补充可促进酿造微生物的生长代谢,从而加快酿造微生物对原料中淀粉的降解和葡萄糖的转化代谢<sup>[32]</sup>。如图 4c 所示,在酿造第 1 天的空白对照组红曲黄酒的还原糖含量明显低于磷酸二氢铵补偿组(添加量 400 mg N/L),其含量分别为 93.69 g/L 和 116.49 g/L。红曲黄酒酿造过程中还原糖含量在酿造第 2 天达到峰值,其中空白对照组还原糖含量为 142.76 g/L,而磷酸二氢铵补偿组(添加量 400 mg N/L)还原糖含量为 150.94 g/L,达到峰值后迅速被微生物代谢消耗降低至 2.12 g/L 和 1.68 g/L。由图 4d 可见,空白对照组和磷酸二氢铵补偿组红曲黄酒酿造过程氨基酸态氮的变化趋势相似,在酿造终点(第 45 天),空白对照组红曲黄酒的氨基酸态氮含量为 1.33 g/L,而磷酸二氢铵补偿组(添加量 400 mg N/L)的氨基酸态氮含量为 1.26 g/L。值得注意的是,在酿造初期(第 1 天)空白对照组红曲黄酒酒醅中氨基酸态氮含量为 0.02 g/L,而磷酸二氢铵补偿组(添加量 400 mg N/L)红曲黄酒酒醅中氨基酸态氮含量为 0.18 g/L,这可能是磷酸二氢铵通过铵离子同化效应增加了酒醅中谷氨酰胺和谷氨酸的产量<sup>[33]</sup>。

## 2.4 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中高级醇生成的影响

如图 5 所示,对照组和磷酸二氢铵补偿组(添加量 400 mg N/L)的高级醇(异丁醇、异戊醇和苯乙醇)含量变化趋势相似,都呈现先迅速升高后保持恒定的趋势,在酿造第 10 天开始基本保持稳定。磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)后红曲黄酒总高级醇、异丁醇、异戊醇和苯乙醇含量都呈现明显降低。在酿造终点,对照组的高级醇总量为  $(613.05 \pm 10.73)$  mg/L,而磷酸二氢铵补偿组红曲黄酒的高级醇总量为  $(393.65 \pm 5.34)$  mg/L,消减率高达 35.79%。其中,对照组的异丁醇含量为  $(162.54 \pm 2.97)$  mg/L,磷酸二氢铵补偿组红曲黄酒的异丁醇含量为  $(94.87 \pm 1.48)$  mg/L,消减率为 41.64%;对照组的异戊醇含量为  $(300.39 \pm 1.49)$  mg/L,磷酸二氢铵补偿组红曲黄酒的异戊醇含量为  $(224.05 \pm 1.49)$  mg/L,消减率为 25.41%;对照组的苯乙醇含量为  $(150.12 \pm 6.28)$  mg/L,磷酸二氢铵补偿组红曲黄酒的苯乙醇含量为  $(74.73 \pm 2.37)$  mg/L,消减率高达 50.22%。

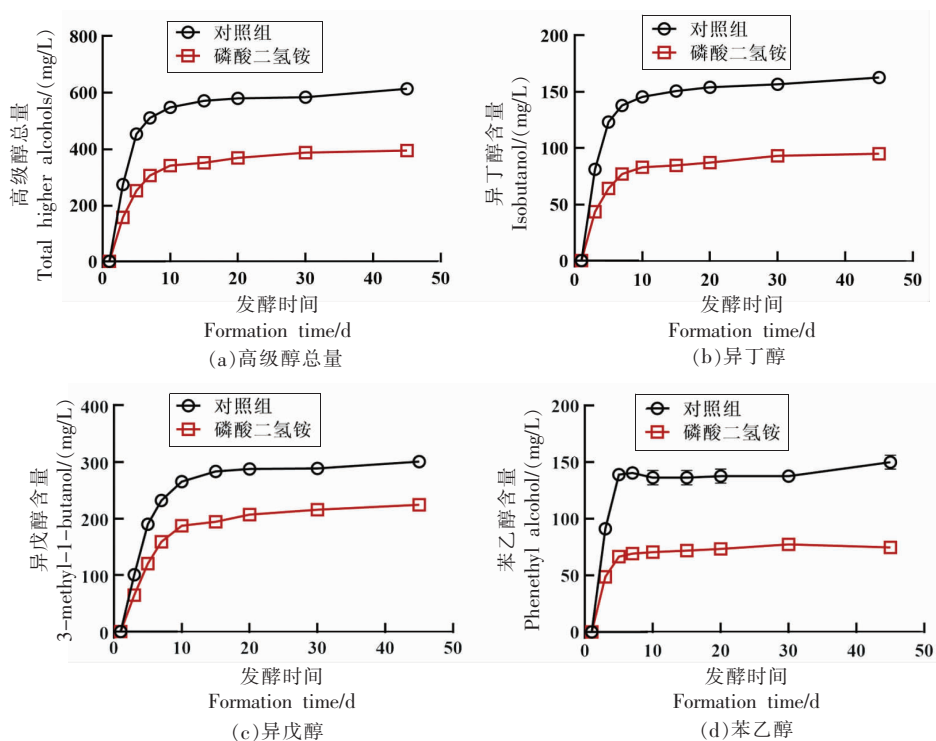


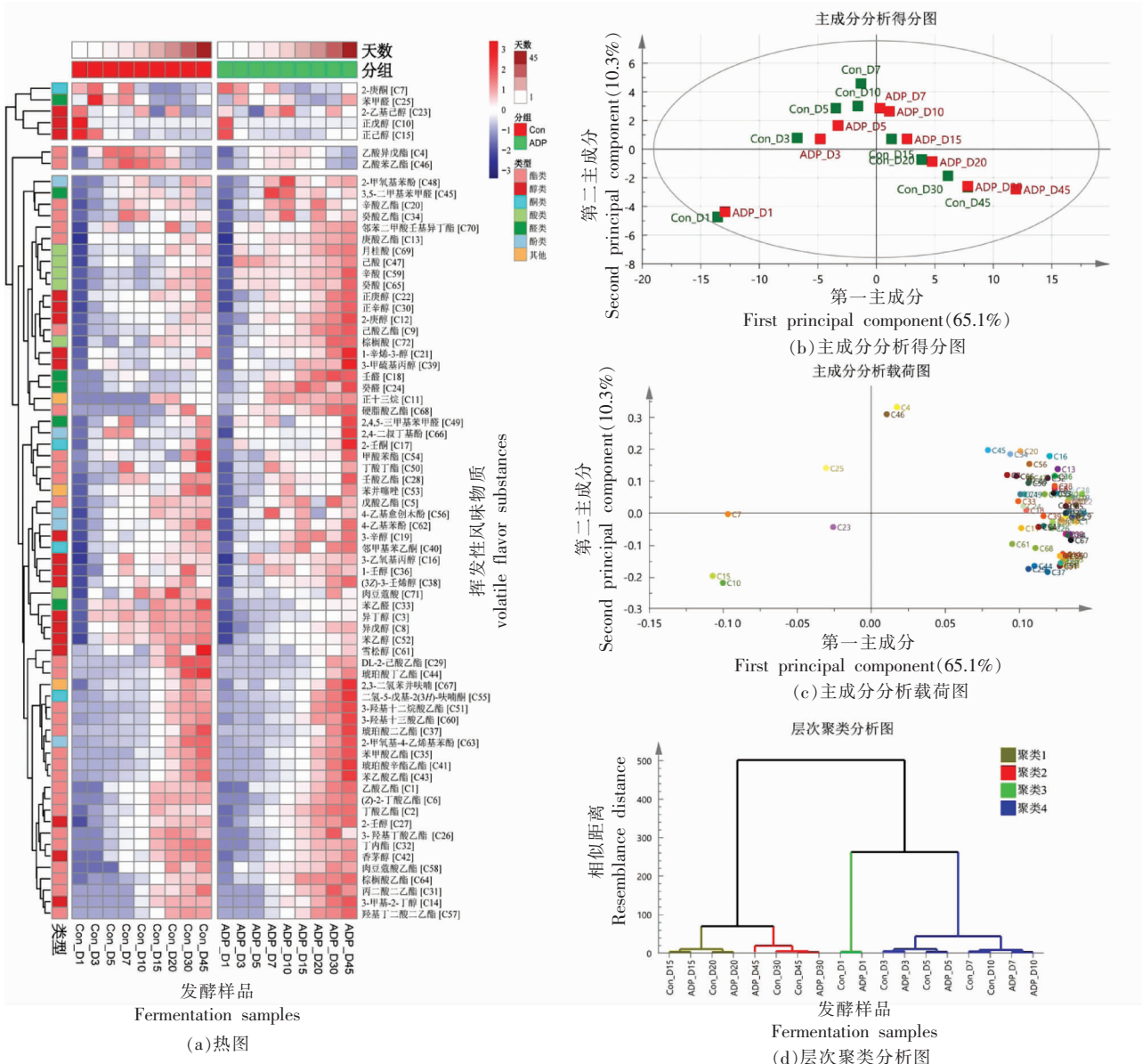
图 5 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中高级醇生成的影响

Fig.5 Effect of ammonium dihydrogen phosphate on the formation of higher alcohols of Hongqu rice wine during brewing

### 2.5 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中挥发性风味物质生成的影响

如图6所示,在红曲黄酒中共鉴定出72种挥发性风味物质,包括6种酸类、19种醇类、6种醛类、29种酯类、4种酮类、5种酚类和3种其它化合物。添加400 mg N/L磷酸二氢铵后,红曲黄酒中的异丁醇(C3)、异戊醇(C8)、正戊醇(C10)、正

己醇(C15)、苯乙醇(C52)、雪松醇(C61)、乙酸异戊酯(C4)、乙酸苯乙酯(C46)、肉豆蔻酸(C71)和苯乙醛(C33)的含量明显降低,而乙酸乙酯(C1)、丁酸乙酯(C2)、己酸乙酯(C9)、庚酸乙酯(C13)、辛酸乙酯(C20)、丙二酸二乙酯(C31)、苯甲酸乙酯(C35)、2-庚醇(C12)、3-甲基-2-丁醇(C14)、1-辛烯-3-醇(C21)、正庚醇(C22)、正辛醇(C30)、3-甲



注:Con和ADP分别为对照组和400 mg N/L磷酸二氢铵组的简称;D1、D3、D5、D7、D10、D15、D20、D30和D45代表红曲黄酒的发酵天数。

图6 磷酸二氢铵对红曲黄酒酿造过程中挥发性风味物质生成的影响

Fig.6 Effect of ammonium dihydrogen phosphate on the formation of volatile flavor substances in Hongqu rice wine brewing



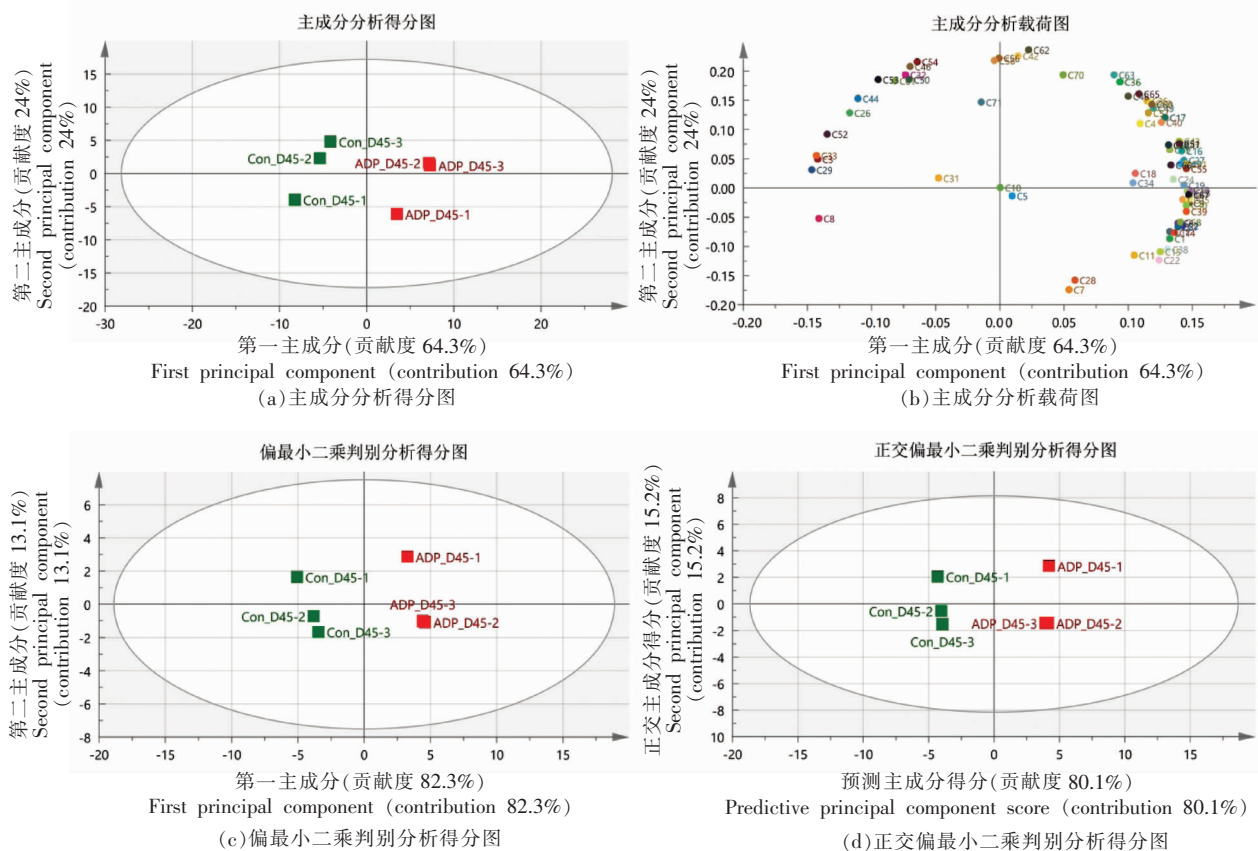
硫基丙醇(C39)、己酸(C47)、辛酸(C59)、癸酸(C65)、月桂酸(C69)、棕榈酸(C72)、壬醛(C18)、3,5-二甲基苯甲醛(C45)、2-甲氧基苯酚(C48)、2-甲氧基-4-乙烯基苯酚(C63)和二氢-5-戊基-2(3H)-咪喃酮(C55)的含量明显降低。以上研究结果表明,磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)可提升红曲黄酒中特征挥发性风味物质的含量。此前已有研究发现,在酒中氮含量是对挥发性风味组分生成影响最大的因素,如丁酸乙酯、己酸乙酯和辛酸乙酯等乙基酯的产量随着初始氮含量的增加而增加,而乙酸苯乙酯的产量与氮含量呈负相关<sup>[34]</sup>。

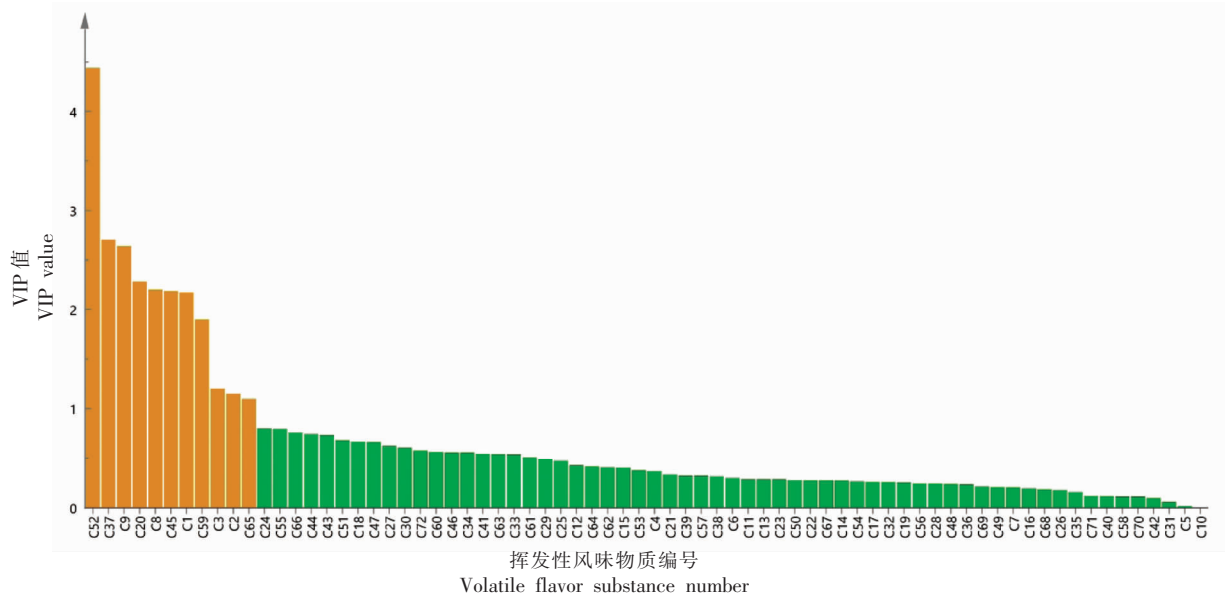
采用主成分分析探究磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒酿造过程中挥发性风味物质组成动态变化的影响。主成分分析得分图(见图6b)显示,第1主成分的贡献度为65.1%,第2主成分的贡献度为10.3%,空白对照组和磷酸二氢铵补偿组(添加量400 mg N/L)在酿造初期(第1天)都处于第3象限,随着酿造的进行都先向第二象限移动,再向第四象限移动,且磷酸二氢铵补偿组的移动速度更快,这说明磷酸二氢铵补偿并不

会明显改变红曲黄酒酿造过程中挥发性风味物质的生成规律。由主成分分析载荷图(见图6c)可见,在酿造初期,空白对照组和磷酸二氢铵组红曲黄酒挥发性风味物质的种类较为单一,主要由正戊醇(C10)、正己醇(C15)等组成,而在酿造后期挥发性风味物质的种类和含量较为丰富,这与热图显示的结果一致。层次聚类分析图(见图6d)显示,红曲黄酒在酿造过程中可分为4类:Ⅰ类(Con\_D1、ADP\_D1)、Ⅱ类(Con\_D3-D10、ADP\_D3-D10)、Ⅲ类(Con\_D15-D20、ADP\_D15-D20)和Ⅳ类(Con\_D30-D45、ADP\_D30-D45)。

## 2.6 磷酸二氢铵对红曲黄酒中特征挥发性风味物质的影响

为探究磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒挥发性风味物质含量影响,本文进行了酿造终点红曲黄酒挥发性风味组分的多元统计分析,包括主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。如图7a和7c所示,对照组聚集在第一主成分的负半轴,而磷酸二氢铵组聚集在第一主成分





(e)正交偏最小二乘判别分析VIP值柱形图

注:Con和ADP分别为对照组和400 mg N/L磷酸二氢铵组的简称;D45-1、D45-2和D45-3为红曲黄酒发酵第45天的3个试验平行。

图7 磷酸二氢铵对红曲黄酒中挥发性风味物质含量的影响

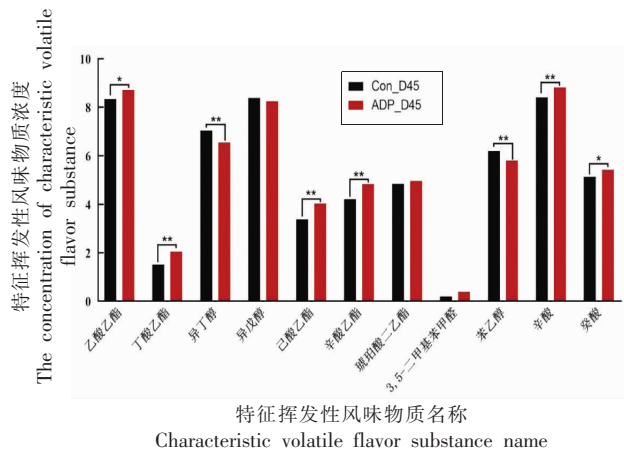
Fig.7 Effect of ammonium dihydrogen phosphate on characteristic volatile flavor substances formation of Hongqu rice wine

的正半轴,这表明磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒酿造终点挥发性风味物质的组成及含量有着明显的影响,两组红曲黄酒在酿造终点的特征挥发性风味物质组成可见图7b。为进一步确定磷酸二氢铵补偿对红曲黄酒中特征挥发性风味物质的影响,对红曲黄酒酿造终点的挥发性风味组分进行正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)(图7d),并通过VIP值分析筛选出乙酸乙酯(C1)、丁酸乙酯(C2)、异丁醇(C3)、异戊醇(C8)、己酸乙酯(C9)、辛酸乙酯(C20)、琥珀酸二乙酯(C37)、3,5-二甲基苯甲醛(C45)、苯乙醇(C52)、辛酸(C59)和癸酸(C65)共11个特征挥发性风味物质(VIP值大于1)(图7e)。

由图8可知,与空白对照组相比,磷酸二氢铵补偿(添加量400 mg N/L)可显著增加红曲黄酒中乙酸乙酯(C1)、丁酸乙酯(C2)、己酸乙酯(C9)、辛酸乙酯(C20)、辛酸(C59)和癸酸(C65)的含量,显著降低红曲黄酒中异丁醇(C3)、苯乙醇(C52)的含量。

2.7 磷酸二氢铵对红曲黄酒风味感官特性的影响

为明确磷酸二氢铵补偿对红曲黄酒风味感官特性的影响,本文对发酵45 d的红曲黄酒进行感



注:Con\_D45和ADP\_D45分别为对照组和磷酸二氢铵组红曲黄酒样品(酿造第45天)。

图8 磷酸二氢铵对红曲黄酒中特征挥发性风味物质含量的影响(VIP值大于1的特征挥发性风味物质)

Fig.8 Column chart of the concentration of characteristic volatile flavor substances with VIP pred more than 1

官品评分析。由图9可见,空白对照组的红曲黄酒有着醇香、米香、曲香、果香、酱香等香气特征以及酸味、涩味和苦味等滋味特征,磷酸二氢铵补偿对红曲黄酒整体风味感官特征没有太大改变,但可一定程度提升红曲黄酒的果香、酱香、花香、木香、

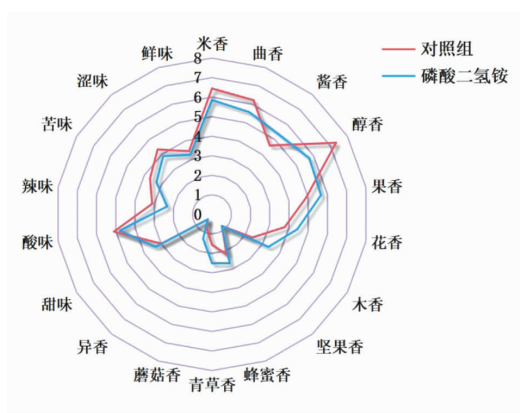


图 9 磷酸二氢铵对红曲黄酒风味感官特性的影响

Fig.9 Effect of ammonium dihydrogen phosphate compensation on sensory of Hongqu rice wine

坚果香、青草香和蜂蜜香等香气特征,降低醇香、米香和曲香等香气特征以及涩味、苦味、辣味等滋味特征。根据 2.6 节的研究结果,磷酸二氢铵补偿可显著提升红曲黄酒中的部分特征挥发性风味物质,其中乙酸乙酯(C1)、己酸乙酯(C9)等具有果香和青草香<sup>[35]</sup>,丁酸乙酯(C2)具有果香<sup>[36-37]</sup>,辛酸

乙酯(C20)具有果香和醇香<sup>[38-39]</sup>,这些特征风味物质可在一定程度上可提升红曲黄酒的风味感官品质。此前也有学者研究发现,添加在酿造体系中添加合适的氮源(如铵盐)会影响酵母菌代谢,进而影响酒的风味品质<sup>[40-41]</sup>。

## 2.8 磷酸二氢铵对功能微生物组合发酵理化参数及高级醇生成的影响

由上述研究结果可知,在酿造初始添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵不仅可显著降低红曲黄酒中高级醇的含量,还可有效提升红曲黄酒中果香、酱香、花香、木香等香气,以及降低酒中涩味、苦味、辣味等不良滋味。本研究进一步通过功能微生物组合发酵体系,验证磷酸二氢铵补偿对酿酒酵母发酵代谢生成高级醇的消减调控作用。研究结果表明,添加 400 mg N/L 磷酸二氢铵可显著提升酿酒酵母的乙醇代谢,空白对照组红曲黄酒的酒精度(14.62%±0.14%)显著低于磷酸二氢铵组(18.60%±0.20%)(见图 10a);磷酸二氢铵补偿对酿酒酵母产酸水平影响不显著,其中磷酸二氢铵

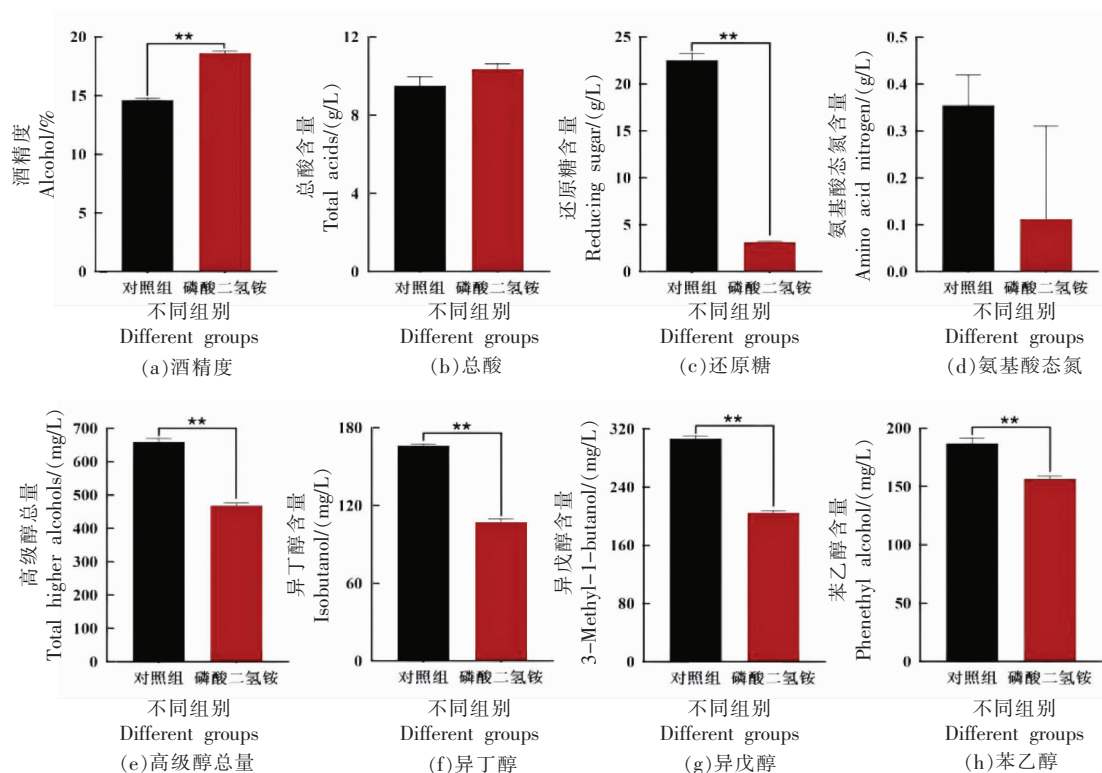


图 10 磷酸二氢铵对功能微生物组合发酵中理化参数和高级醇生成的影响

Fig.10 Effects of ammonium dihydrogen phosphate on physicochemical parameters and higher alcohols in combination fermentation

组的总酸含量为 $(10.35\pm 0.27)$ g/L,空白对照组的总酸含量为 $(9.51\pm 0.45)$ g/L。此外,空白对照组的还原糖含量为 $(22.50\pm 0.75)$ g/L,显著高于磷酸二氢铵组 $(3.13\text{ g/L}\pm 0.10\text{ g/L})$ (图10c),这可能是磷酸二氢铵作为氮源补偿剂加快了酵母菌的生长和代谢<sup>[42]</sup>,因而消耗了更多的还原糖。已有研究表明,酵母主要利用还原糖进行生长繁殖并发酵产生酒精<sup>[43]</sup>,因此这也可解释为何磷酸二氢铵组的酒精度更高。由图10d可见,与磷酸二氢铵组相比,对照组的氨基酸态氮含量更高但差异不显著,这与上文的研究结果一致。

由图10e可见,空白对照组的高级醇产量为 $(659.33\pm 9.99)$ mg/L,而磷酸二氢铵组的高级醇产量为 $(468.21\pm 8.14)$ mg/L(消减率为28.99%),这说明磷酸二氢铵作为氮源补偿剂可显著降低组合发酵体系中高级醇的产量。具体来看,添加400 mg N/L磷酸二氢铵作为氮源补偿剂可显著降低组合发酵体系中异丁醇、异戊醇和苯乙醇的产量。其中,对照组的异丁醇含量为 $(165.93\pm 1.44)$ mg/L,而磷酸二氢铵组的异丁醇含量为 $(107.09\pm 2.49)$ mg/L(消减率为35.46%);对照组的异戊醇含量为 $(306.46\pm 3.99)$ mg/L,而磷酸二氢铵组的异戊醇含量为 $(204.66\pm 3.01)$ mg/L(消减率为33.22%);对照组的苯乙醇含量为 $(186.93\pm 4.57)$ mg/L,而磷酸二氢铵组的苯乙醇含量为 $(156.46\pm 3.88)$ mg/L(消减率为16.30%)。

### 3 结论

本文主要探究了铵盐补偿对红曲黄酒酿造过程高级醇及风味品质形成的影响,研究结果表明:磷酸二氢铵和磷酸氢二铵均可显著降低红曲黄酒中高级醇的含量,其中添加400 mg N/L磷酸二氢铵对红曲黄酒中高级醇总量的消减调控效果最佳(消减率高达35.79%),还可显著增加酒中乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯和辛酸乙酯等特征酯类香气组分的含量,有效提升红曲黄酒的果香、酱香、花香、木香等特征香气,降低红曲黄酒中的涩味、苦味、辣味等不良滋味。在此基础上,本文还通过功能微生物组合发酵体系,验证磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对酿酒酵母发酵代谢生成高级醇的消减调控作用,研究结果表明:添加400 mg N/L

磷酸二氢铵可显著降低功能微生物组合发酵体系中高级醇的产量,消减率高达28.99%。因此,铵盐补偿尤其是磷酸二氢铵补偿(400 mg N/L)对红曲黄酒的风味品质具有明显的提升作用。研究结果促进了铵盐补偿技术在红曲黄酒酿造产业中的应用,为提升红曲黄酒的饮用安全性和风味品质提供了科学依据。铵盐补偿对红曲黄酒酿造微生物菌群组成及其代谢途径的调控作用机制仍有待通过多维组学技术进一步深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 张文森,江建华,林玉明.福建红曲黄酒现状及发展方向[J].福建轻纺,2009,2(25):49-50.  
ZHANG W S,JIANG J H,LIN Y M. Present situation and development direction of Fujian Hongqu rice wine[J]. The Light & Textile Industries of Fujian, 2009, 2(25): 49-50.
- [2] 花井四郎.中国的红曲与红曲酒[J].酿酒科技,2000,4:82-84.  
HUAJING S L. Red koji and red koji wine in China[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2000, 4: 82-84.
- [3] 戈瑚瑚,倪莉.黄酒饮用后产生上头上火的原因探究[J].食品与发酵工业,2010,36(8):136-139.  
GE H H, NI L. Research on the reason of 'Headache & Dizzy' and 'Excessive Internal Heat' after drinking rice wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(8): 136-139.
- [4] SUN H L, LIU S P, MAO J Q, et al. New insights into the impacts of huangjiu components on intoxication[J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126420.
- [5] 彭林,钱肖华,毛健,等.黄酒中不同物质对乙醇代谢的影响研究[J].酿酒科技,2019,6(6):17-22.  
PENG L, QIAN X H, MAO J, et al. Effects of different compounds in Huangjiu on ethanol metabolism[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2019, 6(6): 17-22.
- [6] 毛青钟,石彩琴.黄酒中主要上头物质及控制技术的研究[J].江苏调味副食品,2010,27(3):17-21.  
MAO Q Z, SHI C Q. Study on the intoxication matter in yellow rice wine and its controlling technology[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2010, 27

- (3): 17-21.
- [7] 张兴亚. 黄酒中高级醇含量控制的工艺研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2012.  
ZHANG X Y. Process study on higher alcohols control in Chinese rice wine[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2012.
- [8] 荣智兴, 周建弟, 钱斌, 等. 大米精白度对黄酒主发酵阶段高级醇含量的影响[J]. 中国酿造, 2013, 32(1): 28-32.  
RONG Z X, ZHOU J D, QIAN B, et al. Effect of the polishing degree of rice on higher alcohols content during the main fermentation of Chinese rice wine[J]. China Brewing, 2013, 32(1): 28-32.
- [9] 闫春明. 降低新酿黄酒中高级醇含量研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.  
YAN C M. Study on reducing the content of higher alcohols in semi-dry yellow wine[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.
- [10] 孔小勇, 冷云伟, 孙然, 等. 影响黄酒中高级醇含量的工艺因素探讨[J]. 中国酿造, 2011, 30(10): 163-166.  
KONG X Y, LENG Y W, SUN R, et al. Technical factors influencing content of higher alcohols in rice wine[J]. China Brewing, 2011, 30(10): 163-166.
- [11] YANG J Y, XIA Y J, LIN X N, et al. Improvement of flavor profiles in Chinese rice wine by creating fermenting yeast with superior ethanol tolerance and fermentation activity[J]. Food Research International, 2018, 108: 83-92.
- [12] 杨鲁君, 蒋予箭, 李余动. 黄酒酵母优良抗逆菌株的筛选、鉴定及发酵特性研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 71-77.  
YANG L J, JIANG Y J, LI Y D. Screening, identification and fermentation characteristics of a Chinese rice wine yeast strain with high stress tolerance [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(9): 71-77.
- [13] TOKPOHOZIN S E, FISCHER S, BECKER T. Selection of a new *Saccharomyces* yeast to enhance relevant sorghum beer aroma components, higher alcohols and esters[J]. Food Microbiology, 2019, 8: 181-186.
- [14] ZHANG C Y, QI Y N, MA H X, et al. Decreased production of higher alcohols by *Saccharomyces cerevisiae* for Chinese rice wine fermentation by deletion of Bat aminotransferases[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2015, 42(4): 617-625.
- [15] 王兴龙, 袁敏, 袁留政, 等. 黄酒中安全风险性物质及控制的研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2015, 51(1): 96-100.  
WANG X L, YUAN M, YUAN L Z, et al. Study of controlling security risk substances in yellow rice wine[J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2015, 51(1): 96-100.
- [16] ZHANG Q A, XU B W, CHEN B Y, et al. Ultrasound as an effective technique to reduce higher alcohols of wines and its influencing mechanism investigation by employing a model wine[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 61: 104813.
- [17] GONZALEZ R, MORALES P. Wine secondary aroma: Understanding yeast production of higher alcohols[J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(6): 1449-1450.
- [18] ZHONG X F, WANG A L, ZHANG Y B, et al. Reducing higher alcohols by nitrogen compensation during fermentation of Chinese rice wine[J]. Food Science and Biotechnology, 2019, 29(6): 805-816.
- [19] SEGUINOT P, BLOEM A, BRIAL P, et al. Analysing the impact of the nature of the nitrogen source on the formation of volatile compounds to unravel the aroma metabolism of two non-*Saccharomyces* strains[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 316: 108441.
- [20] 国家标准化管理委员会. 黄酒: GB 13662-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1-26.  
Standardization Administration. Huangjiu: GB 13662-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 1-26.
- [21] 张房宇. 酒类分析专用柱气相色谱仪校准用标准物质的选择[J]. 化学分析计量, 2022, 31(1): 1-4.  
ZHANG F Y. Selection of reference material for the calibration of gas chromatography using a polyethylene glycol capillary column for liquor analysis[J]. Chemical Analysis And Meterage, 2022, 31(1): 1-4.
- [22] 苏骏敏, 沈昌莹, 张树权. 食品中糖的检测方法研究进展[J]. 现代食品, 2022, 28(6): 43-47.  
SU J M, SHEN C Y, ZHANG S Q. Research progress on the detection methods of sugar content in food[J]. Modern Food, 2022, 28(6): 43-47.

- [23] LIU Z B, WANG Z Y, LV X C, et al. Comparison study of the volatile profiles and microbial communities of Wuyi Qu and Gutian Qu, two major types of traditional fermentation starters of Hong Qu glutinous rice wine [J]. *Food Microbiology*, 2018, 69: 105–115.
- [24] HUANG Z R, GUO W L, ZHOU W B, et al. Microbial communities and volatile metabolites in different traditional fermentation starters used for Hong Qu glutinous rice wine [J]. *Food Research International*, 2019, 121: 593–603.
- [25] ZHAO C, SU W, MU Y C, et al. Correlations between microbiota with physicochemical properties and volatile flavor components in black glutinous rice wine fermentation [J]. *Food Research International*, 2020, 138(B): 109800.
- [26] LIU S P, MA D L, LI Z H, et al. Assimilable nitrogen reduces the higher alcohols content of huangjiu [J]. *Food Control*, 2021, 121: 107660.
- [27] LIU D F, ZHANG H T, XIONG W L, et al. Effect of temperature on Chinese rice wine brewing with high concentration presteamed whole sticky rice [J]. *Biomed Research International*, 2014, 2014: 426929.
- [28] ZHU F B. Influence of vacuum soaking on the brewing properties of japonica rice and the quality of Chinese rice wine [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2020, 130(2): 159–165.
- [29] VALERO E, MOYANO L, MILLAN M C, et al. Higher alcohols and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must [J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(1): 57–61.
- [30] STRIBNY J, QUEROL A, PEREZ-TORRADO R. Differences in enzymatic properties of the *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces uvarum* alcohol acetyltransferases and their impact on aroma-active compounds production [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7(e97626): 897.
- [31] 中华人民共和国工业和信息化部. 红曲酒: QB 5334-2018[S]. 北京: 中国轻工业出版社, 2018: 1–16.  
Ministry of Industry and Information Technology of the People's Republic of China. Hongqujiu: QB 5334-2018[S]. Beijing: China Light Industry Press, 2018: 1–16.
- [32] 董书甲. 氮源对酿酒酵母代谢产物的影响[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2018.  
DONG S J. Effects of nitrogen sources on the metabolites of *Saccharomyces cerevisiae* [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2018.
- [33] 雷宏杰. 高浓麦汁氮源组成对酵母氨基酸同化及发酵调控影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.  
LEI H J. Study of the effects of nitrogen composition in high gravity wort on the assimilation of amino acids by lager yeast and fermentation control [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.
- [34] ROLLERO S, BLOEM A, CAMARASA C, et al. Combined effects of nutrients and temperature on the production of fermentative aromas by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(5): 2291–2304.
- [35] CHAVES M, ZEA L, MOYANO L, et al. Changes in color and odorant compounds during oxidative aging of Pedro Ximenez sweet wines [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(9): 3592–3598.
- [36] MOYANO L, ZEA L, MORENO J, et al. Analytical study of aromatic series in sherry wines subjected to biological aging [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(25): 7356–7361.
- [37] SCHIEBERLE P. Primary odorants of pale lager beer [J]. *European Food Research and Technology*, 1991, 193(6): 558–565.
- [38] 韦广鑫, 杨笑天, 周永文, 等. 葡萄酒中酯类化合物研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2015, 36(14): 394–399.  
WEI G X, YANG X T, ZHOU Y W, et al. Review on research progress of esters in wine [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(14): 394–399.
- [39] 苗丽平, 赵新节, 董书甲, 等. 商业酵母对马瑟兰干红葡萄酒香气成分的影响 [J]. *中国酿造*, 2016, 35(10): 56–61.  
MIAO L P, ZHAO X J, DONG S J, et al. Effects of commercial yeasts starter on aroma components of Marselan dry red wine [J]. *China Brewing*, 2016, 35(10): 56–61.
- [40] RAPP A, VERSINI G. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines [J]. *Developments in Food Science*, 1995, 37(6): 1659–1694.

- [41] VOS P J A, GRAY R S. The origin and control of hydrogen sulfide during fermentation of grape must [J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1979, 30: 187–197.
- [42] LEKKAS C, STEWART G G, HILL A, et al. The importance of free amino nitrogen in wort and beer [J]. *Technical quarterly – Master Brewers Association of the Americas*, 2005, 42(2): 113–116.
- [43] YANG Y J, XIA Y J, WANG G Q, et al. Comparison of oenological property, volatile profile, and sensory characteristic of Chinese rice wine fermented by different starters during brewing [J]. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(3): S3195–S3211.

### Regulation Effects of Ammonium Salt Compensation on the Formation of Higher Alcohols and Flavor Quality in the Brewing Process of Hongqu Rice Wine

Yang Ziyi<sup>1,2</sup>, Hou Siwen<sup>1,2</sup>, Liang Zihua<sup>1,2</sup>, Wu Qi<sup>1,2</sup>, Yuan Yujie<sup>1,2</sup>, Qiu Yuntao<sup>3</sup>, Ni Li<sup>1,2</sup>, Lü Xucong<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>*Food Nutrition and Health Research Center, College of Advanced Manufacturing, Fuzhou University, Jinjiang 362200, Fujian*

<sup>2</sup>*Institute of Food Science and Technology, College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108*

<sup>3</sup>*Fujian Huizelong Alcohol Co., Ltd., Ningde 352303, Fujian*)

**Abstract** Objective: The purpose of this study was to explore the regulation effects of ammonium salt compensation on the formation of higher alcohols and flavor quality in the brewing process of Hongqu rice wine. Methods: By using the headspace solid phase microextraction, gas chromatography–mass spectrometry combined with sensory evaluation and analysis, the effect of ammonium salt compensation on the reduction and regulation of higher alcohol metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* was also verified by functional microbial combination fermentation. Results: The addition of ammonium dihydrogen phosphate and diammonium dihydrogen phosphate could reduce the content of higher alcohols in Hongqu rice wine, and the addition of 400 mg N/L ammonium dihydrogen phosphate had the best reduction effect on the total amount of higher alcohols in Hongqu rice wine, with the reduction rate reaching 35.79%, which can also significantly increase the contents of ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl caproate and ethyl caprylate in Hongqu rice wine, and effectively enhanced the characteristic aroma of fruit, sauce, floral and woody, and reduce the bad taste of astringency, bitter and spicy in Hongqu rice wine. In addition, based on the functional microbial combination fermentation system, ammonium salt compensation (400 mg N/L ammonium dihydrogen phosphate) has a significant reduction effect on the metabolism of higher alcohols in *Saccharomyces cerevisiae* fermentation, with a reduction rate of 28.99%. Conclusion: Ammonium salt compensation, especially ammonium dihydrogen phosphate compensation (400 mg N/L), can obviously reduce the formation of higher alcohols in the brewing of red koji rice wine, and improve the flavor quality of red koji rice wine. The research results will promote the application of ammonium salt compensation technology in the brewing industry of Hongqu rice wine, and provide scientific basis for improving the drinking safety and flavor quality of Hongqu rice wine.

**Keywords** ammonium salt compensation; Hongqu rice wine; higher alcohols; volatile flavor components; *Saccharomyces cerevisiae*