

## 酵母混菌强化发酵提高麦曲黄酒的风味品质

袁钰洁<sup>1,2</sup>, 梁梓华<sup>1,2</sup>, 侯思文<sup>1,2</sup>, 杨梓翊<sup>1,2</sup>, 郭伟灵<sup>1,3</sup>, 艾连中<sup>4</sup>, 倪莉<sup>1,2</sup>, 吕旭聪<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</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>2</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>3</sup>江南大学食品学院 益生菌与肠道健康国际联合研究中心 江苏无锡 214122

<sup>4</sup>上海理工大学健康科学与工程学院 上海食品微生物工程技术研究中心 上海 200093)

**摘要** 目的:探究酵母菌以单菌及混菌方式强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中生物胺及风味物质生成的调控作用。方法:以异常威克汉姆酵母和米卡塔酵母为研究对象,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,探究酵母菌以单菌及混菌方式强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中生物胺及风味物质生成的调控作用。结果:无论是异常威克汉姆酵母,还是米卡塔酵母强化发酵,均可有效降低麦曲黄酒酿造过程中生物胺的生成。米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵不仅能消减麦曲黄酒酿造中生物胺的生成(消减率高达 89.03%),还能显著提升麦曲黄酒中乙酸乙酯、乳酸丁酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、乳酸丁酯等特征香气组分的含量,进而达到“降胺增香”的双重调控效果。此外,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵可明显降低麦曲黄酒的酸度(降低 48.31%),显著提升酒中氨基酸态氮的含量(提升 36.9%)。感官品评分析表明,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵酿造的麦曲黄酒酸甜适中、香气浓郁、口感柔和协调,酒液呈明显的花果香味,风味品质得到明显提升。结论:米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵对麦曲黄酒生产中生物胺的消减及特征香气的生成有明显的改善作用,有助于提升麦曲黄酒的风味品质,促进黄酒酿造产业的健康可持续发展。

**关键词** 酵母混菌; 强化发酵; 麦曲黄酒; 生物胺; 挥发性风味物质

**文章编号** 1009-7848(2024)12-0178-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.016

中国黄酒在世界酿造史上独树一帜,与葡萄酒、啤酒并称为世界三大古酒,享有“国酒”之美誉,是中华民族的文化瑰宝<sup>[1-2]</sup>。酒曲是黄酒酿造中重要的糖化发酵剂,对黄酒风味品质的形成起着决定性的作用<sup>[3]</sup>。作为黄酒的典型代表,麦曲黄酒以糯米为主要原料,添加麦曲为糖化发酵剂,在开放式的环境下经多种微生物相互作用酿造而成<sup>[4]</sup>。麦曲黄酒具有独特的风味特征,曾多次荣获国家级酒类大赛金奖而享誉海内外,具有广阔的发展前景和巨大的市场潜力<sup>[5]</sup>。

生物胺是一类含氮的低分子质量碱性有机化合物的总称,根据其化学结构的差异可分为三大类:脂肪族生物胺(腐胺、尸胺、精胺和亚精胺等)、芳香族生物胺(酪胺、苯乙胺和苯丙胺等)和杂环族生物胺(组胺和色胺等)<sup>[6-7]</sup>。作为生物体内多种生化反应的重要介质,微量的生物胺对人体各项

生理机能具有一定的调节作用<sup>[8]</sup>,而外源生物胺过量摄入具有潜在的生理毒性,会引起头痛、瘙痒、呕吐、腹泻、呼吸困难、心力衰竭、休克等过敏反应及中毒症状<sup>[9]</sup>。目前,已有多个国家对食品中生物胺含量提出限量标准<sup>[10]</sup>,而我国对黄酒至今未有相关限量标准。发酵食品中的生物胺对消费者健康构成潜在的安全隐患,生物胺的消减调控成为发酵食品产业亟需解决的重要问题。

作为中国传统发酵食品的典型代表,黄酒中生物胺的浓度普遍较高,平均质量浓度高达 115 mg/L,远高于白酒、啤酒和葡萄酒等酿造酒<sup>[11]</sup>。黄酒中的乙醇会显著抑制体内胺氧化酶的活性,进一步增强生物胺在体内的积累和生理毒性<sup>[12]</sup>。此外,生物胺也会显著抑制乙醇的代谢速率,影响黄酒饮后的醉酒和醒酒速率,从而影响黄酒的饮后舒适性<sup>[12]</sup>。有研究显示,黄酒中生物胺含量过高是导致其饮后“上头、宿醉”等不适症状的主要原因之一,当生物胺浓度较低时,黄酒的整体感官体验较为理想<sup>[6,13]</sup>。黄酒酿造过程中,如何有效消减生物胺的生成,提升黄酒的饮用安全性和风味品质,

收稿日期: 2023-12-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32072204)

第一作者: 袁钰洁,女,硕士生

通信作者: 吕旭聪 E-mail: xucong1154@163.com

是当前黄酒产业亟需解决的瓶颈问题。

黄酒酿造过程中生物胺生成的消减方法主要包括降低游离氨基酸的含量<sup>[13-14]</sup>,促进生物胺的降解<sup>[15-16]</sup>以及功能微生物强化<sup>[17-18]</sup>。作为生物胺合成的重要前体物质,氨基酸是生物胺合成的重要限制因子。降低发酵体系中游离氨基酸的含量可减少生物胺的生成<sup>[13]</sup>。然而,氨基酸同时也赋予黄酒独特的滋味和营养,降低氨基酸含量会对黄酒风味品质带来不利影响<sup>[19]</sup>。生物胺降解酶是一类能将生物胺氧化成醛类的酶,然而,其活性在很大程度上会受酒中乙醇的抑制<sup>[2]</sup>。利用胺氧化酶来减少黄酒酿造中生物胺的累积可行性较差。功能微生物强化的发酵调控被证明能有效抑制发酵体系中产胺微生物的生长和代谢活性,可用于消减黄酒酿造中生物胺的生成。通常选用低产/不产生物胺的乳酸菌菌株来强化黄酒酿造,抑制产胺微生物的生长和代谢活性,降低黄酒酿造中生物胺的积累<sup>[8]</sup>。然而,乳酸菌强化发酵的同时会导致黄酒酿造总酸含量偏高,以及抑制某些特征酯类香气组分的生成,在一定程度上影响黄酒的风味品质。

作为黄酒酿造的灵魂,酵母菌不仅能将糖转化为乙醇和二氧化碳,还可以通过系列生化代谢途径生成脂肪酸、醇类和酯类等特征风味物质<sup>[20]</sup>。然而,关于酵母菌强化发酵对黄酒酿造过程生物胺和风味形成的影响,至今未见相关研究报道。本研究以课题组前期筛选的异常威克汉姆酵母和米卡塔酵母为研究对象,探究酵母菌以单菌及混菌方式强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中生物胺及风味物质生成的调控作用。研究工作为提升黄酒的安全性和风味品质提供科学依据,为我国黄酒产业的健康可持续发展奠定科学依据。此外,构建的酿造微生物代谢调控技术,对我国其它传统发酵食品风味调控也有借鉴作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验菌株

本文基于课题组前期筛选的 2 株低产生物胺的米卡塔酵母 NY02 (*Saccharomyces mikatae* NY02, Sm) 和异常威克汉姆酵母 NY12 (*Wickerhamomyces anomalus* NY12, Wa),以单菌及混菌的方式对麦曲黄酒传统酿造进行强化发酵,探究

酵母菌强化发酵对麦曲酒生物胺及风味组分生成的调控作用。

### 1.2 材料与试剂

酿酒所用糯米(东北产),福建省辉业食品集团有限公司;酵母浸出粉葡萄糖(YPD)培养基,青岛海博生物技术有限公司;色谱级乙腈,中国安耐吉公司;色谱级甲醇,美国赛默飞公司;组胺盐酸盐(纯度高于 99%)、腐胺盐酸盐(纯度高于 98%)、尸胺盐酸盐(纯度高于 98%)、苯乙胺盐酸盐(纯度高于 98%)、酪胺盐酸盐(纯度高于 98%)、色胺盐酸盐(纯度高于 98%)、亚精胺盐酸盐(纯度高于 98%)和精胺盐酸盐(纯度高于 98%)等生物胺标准品,Sigma-Aldrich 公司;丹磺酰氯衍生化试剂(纯度高于 99%),源叶生物科技有限公司;聚乙烯吡咯烷酮 K30、碳酸钠、碳酸氢钠、丙酮、3,5-二硝基水杨酸、氢氧化钠、丙三醇、无水葡萄糖、茚三酮、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠和乙醇等试剂(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;乙醇、乙酸乙酯、正丙醇、异丁醇、正戊醇、异戊醇、苯甲醇、苯乙醇、苯甲酸等挥发性风味物质(色谱纯),阿拉丁公司;2-辛醇(色谱纯),德国 Dr. Ehrensoffer 公司。

### 1.3 仪器与设备

高效液相色谱(1100 Series),美国安捷伦科技有限公司;气相色谱-质谱联用仪(7890-B/5977A),美国安捷伦科技有限公司;SPME 固相微萃取手柄(57330-U)、固相微萃取纤维头(50  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS),美国 Supelco 公司。

### 1.4 试验方法

1.4.1 酵母菌的活化培养 酵母菌活化:从超低温保存箱中取出甘油管中保存的菌种,取 100  $\mu$ L 菌液接种于 100 mL 的 YPD 液体培养基中,于 28  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中活化培养 48 h。

酵母菌培养:将活化培养后的菌液吸取 1 mL 接种至 50 mL 的 YPD 液体培养基中,于 30  $^{\circ}$ C 恒温振荡培养箱中在 200 r/min 转速下振荡培养 24 h,然后在 4  $^{\circ}$ C 下离心(10 000 g)获得菌体沉淀,经无菌生理盐水重悬获得菌悬液,根据平板稀释涂布的结果计算菌悬液中酵母菌的活菌数(CFU/mL)。

1.4.2 基于酵母菌强化发酵麦曲黄酒的酿造工艺

麦曲黄酒酿造工艺流程图见图1,主要步骤:将圆糯米称重后洗净随后隔夜浸泡,蒸熟后冷却称重,将麦曲和熟糯米混匀放入酒坛中[麦曲:糯米=1.6:10(g/g)],加入酵母菌菌液(终浓度 $1 \times 10^5$  CFU/mL),最后加入1.5倍凉开水,放入18℃恒温

培养箱中进行糖化发酵。本研究设置4组试验组:空白对照组、米塔卡酵母组(Sm组)、异常威克汉姆酵母组(Wa组)、异常威克汉姆酵母+米塔卡酵母混菌强化组(Wa+Sm组)。

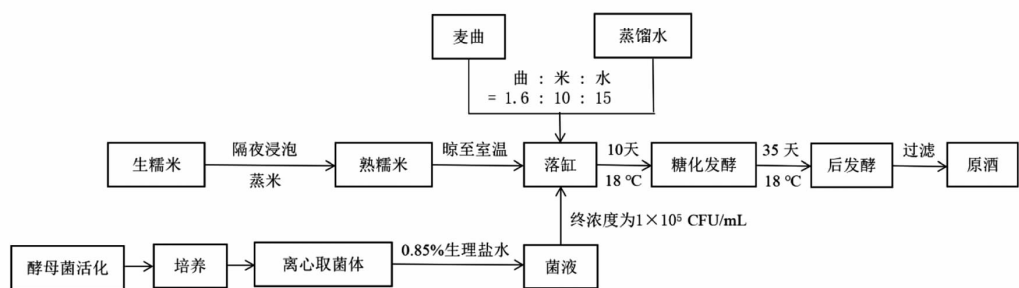


图1 酵母菌强化发酵麦曲黄酒的酿造工艺

Fig.1 Maiqu Huangjiu brewing process with yeast-enhanced fermentation

1.4.3 样品的采集与处理 分别在酿造过程的第1,3,5,7,10,15,20,30和45天,将发酵瓶内酒醪样搅拌均匀后进行取样,样品迅速放入-80℃冰箱,待后续检测分析。

1.4.4 麦曲黄酒中生物胺含量的检测 将1 mL样品和0.05 g聚乙烯吡咯烷酮K30混合,在25℃、500 r/min的条件下恒温振荡15 min,过滤,随后取100 μL滤液,分别加入400 μL碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液、300 μL丙酮和200 μL丹磺酰氯溶液,混匀后在60℃的水浴锅中水浴60 min,用0.22 μm微孔有机滤膜过滤待用,采用高效液相色谱法测定生物胺含量,以色谱峰面积对生物胺标准品浓度进行线性回归分析,高效液相色谱条件和梯度洗脱程序参照Pineda等<sup>[21]</sup>前期研究报道的方法。

1.4.5 麦曲黄酒理化指标的检测 按照《黄酒》(GB/T 13662-2008)对酒样中的总酸含量及氨基酸态氮含量进行检测;酒精含量、乙酸乙酯含量、高级醇含量采用气相色谱仪进行检测,气相色谱使用条件参考文献<sup>[22]</sup>;还原糖采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定<sup>[23]</sup>。

1.4.6 麦曲黄酒挥发性风味物质测定 将固相微萃取纤维头(50 μm DVB/CAR/PDMS)插入到气相色谱仪的进样口(250℃)进行老化后,吸取6 mL样品(10倍稀释)于15 mL顶空萃取样品瓶

中,加入2.0 g NaCl、10 μL 2-辛醇(10 mg/L)和磁力搅拌子,在60℃的集热式磁力搅拌器中预热10 min,于60℃的集热式磁力搅拌器中进行萃取吸附45 min;利用萃取纤维头于进样口(250℃)解析5 min。参考Maria等<sup>[24]</sup>的方法对麦曲黄酒挥发性风味物质进行检测。

气相色谱温度程序:初始温度设定为40℃,保持5 min,然后以3℃/min升至120℃并保持2 min,最后以10℃/min升至240℃,保留5 min;后运行温度240℃,后运行时间5 min;色谱柱:HP-INNOWAX色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气:高纯度氮气(>99.999%),流速为1 mL/min,分流模式:不分流。质谱条件:接口温度280℃;连接杆温度150℃;EI电离源,电子能量70 eV,离子源温度230℃,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:将测得的物质色谱图与NIST11和Wiley中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,测定样品的相对挥发性浓度。

1.4.7 麦曲黄酒感官评定<sup>[25]</sup> 挑选15名评价人员进行评定,对每杯酒样采用10分法独立打分,评价人员在评分之前需用清水漱口,评价不同样品需间隔5 min。感官品评方法参照中国轻工业出

版社 2020 年 3 月出版的《黄酒酿造技术》及其 2018 年 5 月出版的《黄酒品评技术》,具体感官评价的指标包括色泽、澄清度、曲香、酸香、酱香、醇香、果香、花香、烟薰香、蜂蜜香、青草香、甜味、酸味、苦味、涩味、鲜味、协调、醇厚、柔和以及余味。

### 1.5 数据分析

每个样品设置 3 个平行,数据结果均以平均值 $\pm$ 标准差值表示;利用 GraphPad Prism 9 软件绘制柱状图;利用 R 语言绘制热图,展示发酵样品中的挥发性组分的相对丰度;利用 SIMCA 14.1 软件对酒样进行主成分分析(PCA),以表示酒样挥发性风味组分的差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒基本理化影响

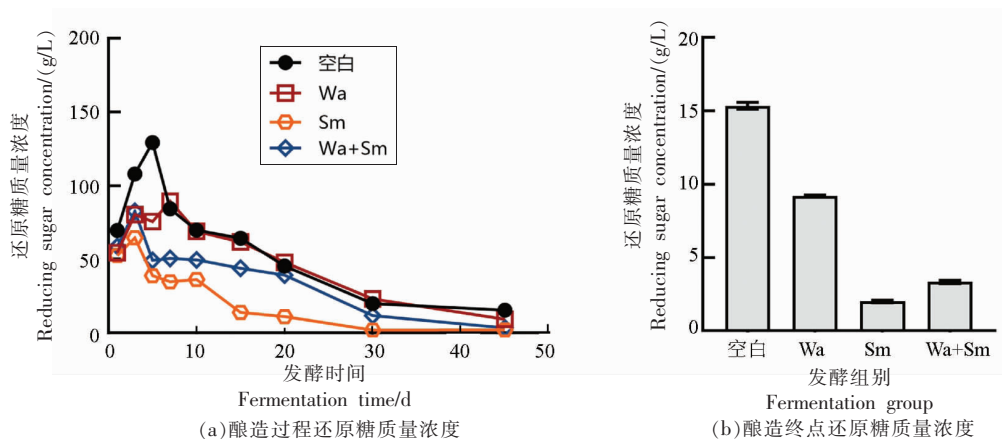


图 2 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造过程还原糖浓度的影响

Fig.2 Effect of yeast-enhanced fermentation on the production of reducing sugar in Maiqu Huangjiu brewing

2.1.2 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒乙醇浓度的影响 乙醇浓度的变化可作为衡量麦曲黄酒发酵程度的指标。与空白组相比,米卡塔酵母在发酵过程中能够提升还原糖转化为乙醇的速率(图 3a)。然而,在发酵终点空白组与异常威克汉姆酵母混菌强化发酵组、米塔卡酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵组的乙醇浓度无明显差异,分别为  $(110.16\pm 0.23)$ ,  $(115.45\pm 2.05)$  g/L 和  $(110.50\pm 1.54)$  g/L(图 3b)。这一研究结果表明,米塔卡酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵对麦曲黄酒乙醇浓度无显著性影响。

2.1.1 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒还原糖浓度的影响 如图 2a 所示,4 个发酵组的还原糖含量的变化趋势相似:由于产液化酶和糖化酶的丝状真菌能够将酿造原料中的淀粉水解为小分子的葡萄糖等系列低聚糖,在发酵初期(第 1~3 天)还原糖浓度迅速增加,然后在酵母菌的发酵作用下还原糖会进一步被代谢转化为乙醇、乳酸等代谢产物,还原糖浓度呈现逐渐下降的趋势。如图 2b 所示,发酵终点空白组麦曲黄酒中还原糖质量浓度为  $(15.36\pm 0.24)$  g/L,而酵母菌强化发酵的麦曲黄酒还原糖浓度均低于空白组,这表明酵母菌强化发酵能促进发酵底物的利用,尤其是米塔卡酵母参与的发酵组(Sm 组、Wa+Sm 组),对还原糖的利用更为彻底<sup>[26]</sup>。

2.1.3 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒总酸含量的影响 如图 4a 所示,在麦曲黄酒的发酵过程中,空白组和异常威克汉姆酵母强化组(Wa 组)在总酸含量上与其它两组表现出明显的差异;至发酵结束时,两组的总酸含量分别为  $(10.64\pm 0.07)$  g/L 和  $(12.78\pm 0.10)$  g/L,使得酒味偏酸刺舌。相比之下,Sm 组和 Wa+Sm 组中总酸含量更为适中,能够确保大部分酸类物质都能与醇类物质相互结合形成酯类物质,这些物质赋予了酒体芳香和醇厚的口感,酸度的协调也使酒体能够保持香味的平衡<sup>[27]</sup>。

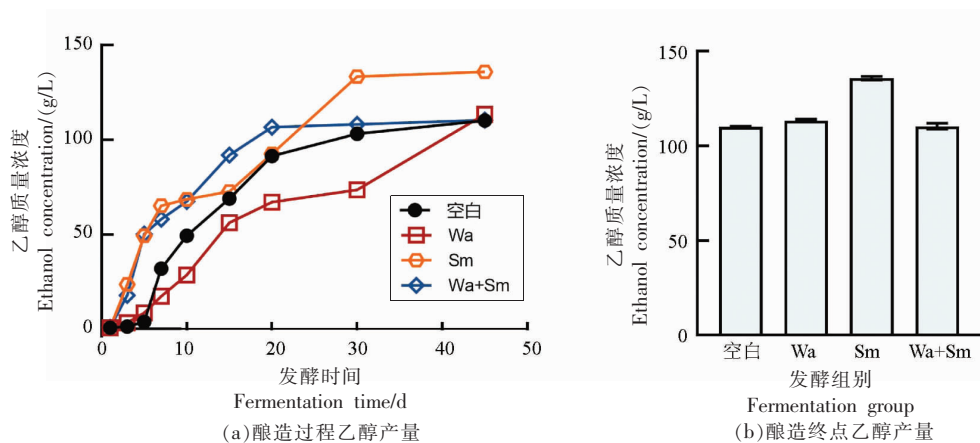


图3 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中乙醇产量的影响

Fig.3 Effect of yeast-enhanced fermentation on the production of alcohol in Maiqu Huangjiu brewing

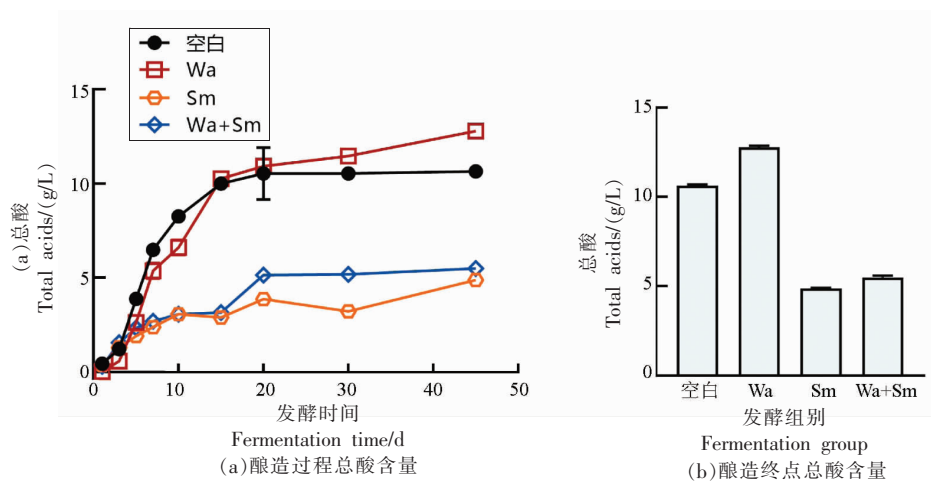


图4 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中总酸含量的影响

Fig.4 Effect of yeast-enhanced fermentation on the content of total acids in Maiqu Huangjiu brewing

2.1.4 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒乙酸乙酯含量的影响 乙酸乙酯在酒类饮品中被视为重要的呈香物质,适量乙酸乙酯有利于提升黄酒的香气<sup>[28]</sup>,而乙酸乙酯过量则会导致酒体风味失衡、香气不正、典型性差,严重影响酒的风味品质<sup>[29]</sup>。根据图5a显示,各试验组在发酵前10d均呈现乙酸乙酯的大量累积。在此期间,Sm组的乙酸乙酯积累较少,而其它试验组在发酵的第10天后呈现出明显差异。结合发酵终点的数据(图5b)进行进一步分析,异常威克汉姆酵母表现出较高的产香能力,其强化发酵酿造的麦曲黄酒中乙酸乙酯含量高达393.85 mg/L。值得注意的是,Wa+Sm组乙酸乙酯的含量降至 $(224.53 \pm 1.69)$ mg/L,这表明米塔卡酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵在一定程度上

上控制了乙酸乙酯的生成,保持麦曲黄酒原有的香气特性。

2.1.5 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒高级醇含量的影响 根据江南大学毛健教授课题组开展的锦鲤鱼宿醉模型实验研究,高级醇与生物胺被认为是黄酒中潜在的危害物,过量会导致黄酒饮后不适症状的出现<sup>[30-31]</sup>。因此,本研究还监测了麦曲黄酒酿造过程中高级醇含量的变化趋势,研究结果如图6a所示,Sm组麦曲黄酒的总高级醇含量最高,并且在发酵后期持续增加至峰值,而其余3组则在发酵第20天后略微减少。具体而言,在Sm组麦曲黄酒中,正丙醇、异丁醇和异戊醇(图6c~6h)的含量明显偏高,特别是在发酵终点,Sm组的正丙醇含量在发酵终点时达到了 $(50.44 \pm 5.39)$ mg/L,

比其它组多了 150%,这说明米卡塔酵母单菌强化发酵会增加麦曲黄酒中高级醇的产量,不利于提升麦曲黄酒的风味品质<sup>[32]</sup>。然而,米塔卡酵母-异

常威克汉姆酵母混菌强化发酵能一定程度上有效抑制正丙醇、异丁醇、异戊醇和苯乙醇的生成。

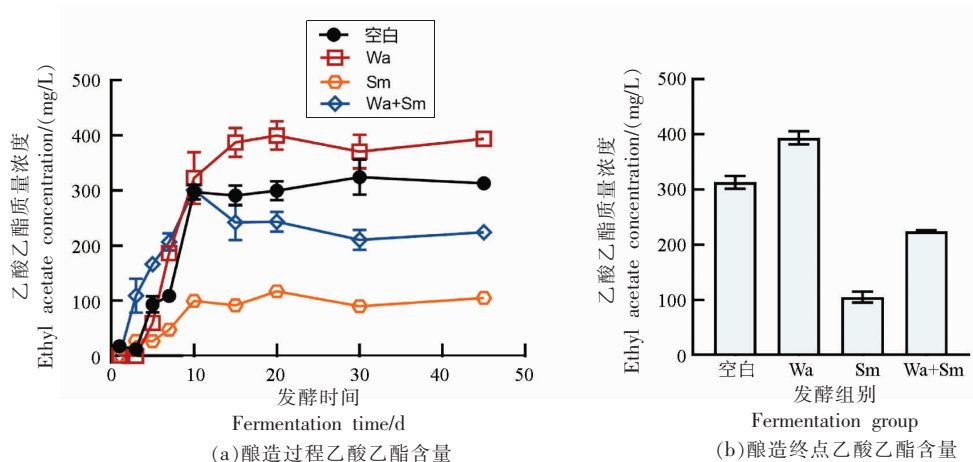
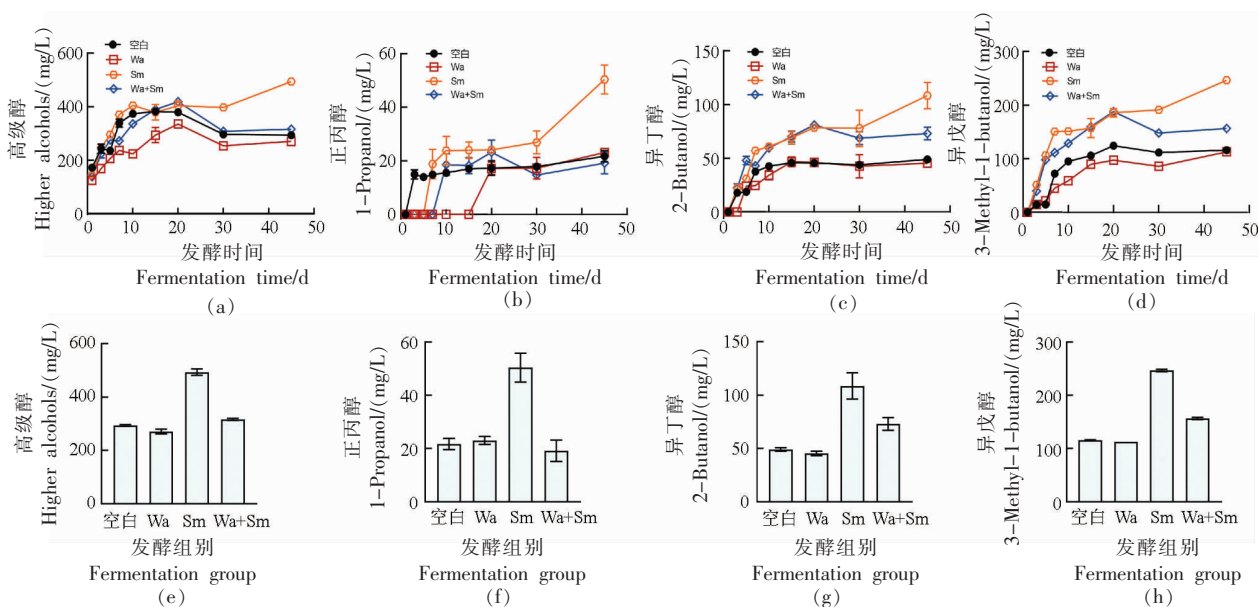


图 5 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中乙酸乙酯生成的影响

Fig.5 Effect of yeast-enhanced fermentation on the production of ethyl acetate in Maiqu Huangjiu brewing



注:a-e:酿造过程高级醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇含量;f-j:酿造终点高级醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇含量。

图 6 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒高级醇生成的影响

Fig.6 Effect of yeast-enhanced fermentation on the production of higher alcohols in Maiqu Huangjiu brewing

2.1.6 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒氨基酸态氮含量的影响 氨基酸态氮是黄酒中呈鲜味的重要成分之一。大部分市售黄酒中的氨基酸态氮含量在 0.7 g/L 左右<sup>[33]</sup>,黄酒中氨基酸态氮含量偏低不仅影响黄酒的质量等级,还影响了其整体风味品质。本研究发现,氨基酸态氮含量在麦曲黄酒酿造过

程中呈上升趋势,与发酵天数呈正相关的关系(图 7a)。图 7b 显示了各个试验组在发酵终点时的氨基酸态氮含量,空白组为(0.84±0.04)g/L,而外源添加酵母菌强化发酵可促进氨基酸态氮含量的提升,其中 Wa+Sm 组可达(1.15±0.03)g/L。该研究结果表明,酵母菌强化发酵可以有效提升麦曲黄酒

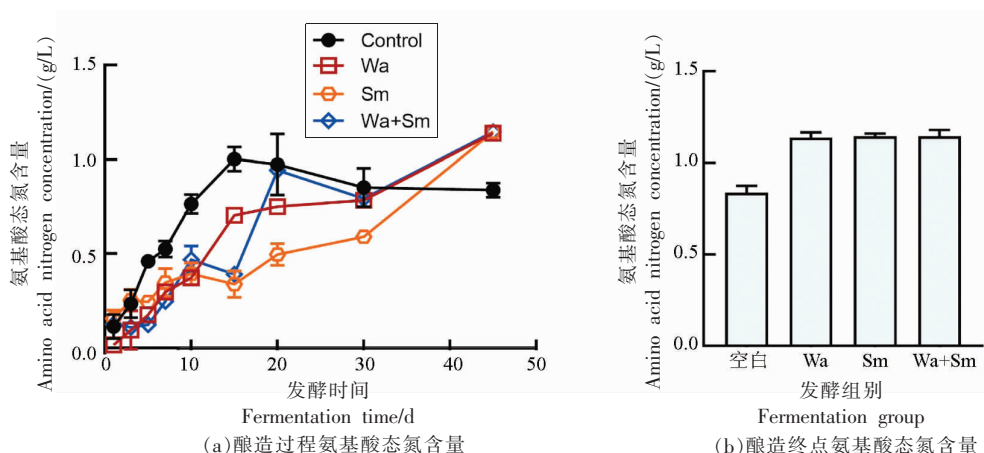


图7 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒氨基酸态氮含量的影响

Fig.7 Effect of yeast-enhanced fermentation on the content of amino acid nitrogen in Maiqu Huangjiu brewing

中氨基酸态氮的含量,达到增强麦曲黄酒鲜味的作用。

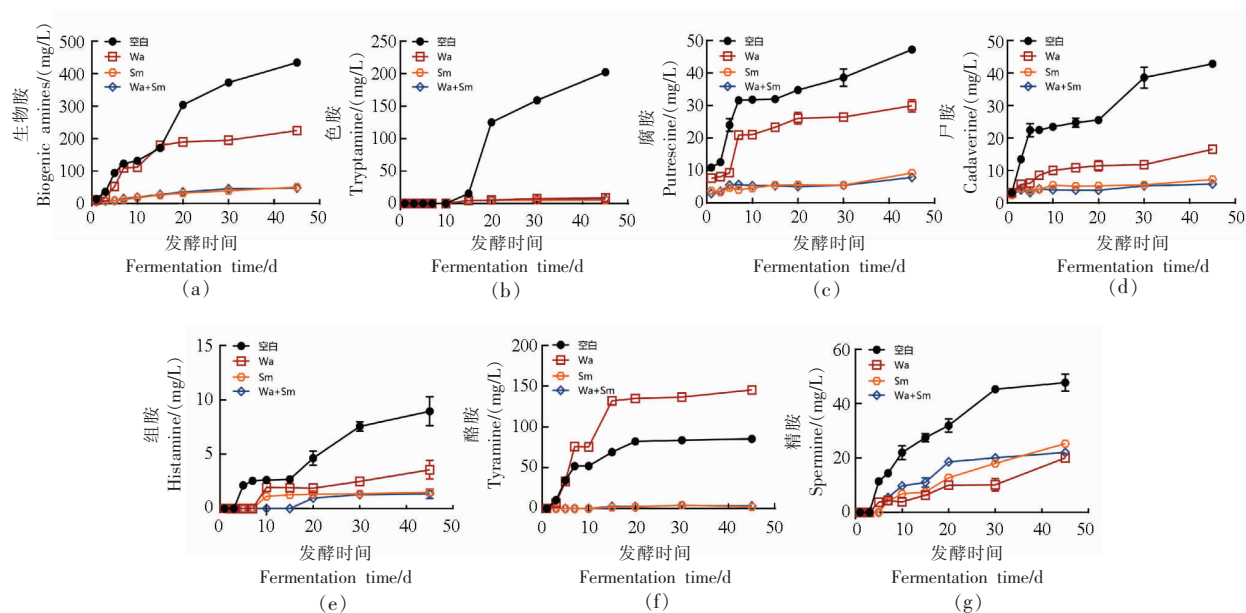
## 2.2 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒生物胺生成的影响

根据对酿造过程中麦曲黄酒生物胺总量的动态变化分析(图 8a),发现空白组与 Sm 组、Wa+Sm 组在发酵的第 5 天开始出现差异,而与 Wa 组相比,这种差异则在发酵的第 20 天开始显现,并且持续增加直至发酵结束。这说明在麦曲黄酒的发酵过程中,早期差异可能与 Sm 组和 Wa+Sm 组中特定微生物菌群的活性有关,而较晚出现的差异可能受到其它因素的影响,例如酵母的生长和代谢情况。在发酵结束时(图 9a),不同组别之间的生物胺总量差异显著。空白组的生物胺总量最高,为 $(434.56 \pm 2.85)$ mg/L,其次是 Wa 组,为 $(224.62 \pm 4.30)$ mg/L,消减率仅为 48.31%。而其它组别依次是 Sm 组和 Wa+Sm 组,它们的生物胺总量分别为 $(50.52 \pm 1.42)$ mg/L 和 $(47.66 \pm 1.63)$ mg/L,消减率分别为 88.37%和 89.03%。分析检测到的 6 种生物胺(图 8b~8g)发现,随着发酵的进行,每种生物胺的含量都在不断累积。具体而言,色胺对生物胺消减率做出最显著贡献。色胺直接导致了空白组与其它各组之间的差异,空白组在发酵第 20 天时色胺含量迅速增加,而经酵母菌强化发酵后则没有产生太大的变化(图 8b)。因此,Wa 组、Sm 组和 Wa+Sm 组的色胺消减率分别达到了 95.62%,97.44%,96.37%(图 9b)。这可能是由于色胺的生成与微生物之间复杂的相互作用密切相关,而酵母菌能够

抑制部分杂菌的生长,从而避免了产色胺的微生物的生成,例如大肠杆菌和阴沟肠杆菌等<sup>[34]</sup>。相比之下,精胺的影响较小。Wa 组、Sm 组和 Wa+Sm 组的精胺消减率分别为 58.17%,47.21%和 54.02%(图 9g)。这一结果表明,酵母菌强化发酵主要通过抑制产生色胺的微生物来发挥作用,对产精胺的微生物(乳酸片球菌和金黄色葡萄糖球菌)没有很好的抑制效果。色胺、精胺等大部分生物胺在发酵第 3 天后产生,而腐胺和尸胺则在发酵开始时就存在于麦曲黄酒中(图 8c、8d),这可能是因为麦曲黄酒的原料中含有短乳杆菌、志贺氏菌等产腐胺和尸胺的微生物。值得注意的是,与其它生物胺不同,Wa 组的酪胺出现了负增长(图 8f)。发酵前期,Wa 组和空白组的酪胺生长曲线基本吻合,但在发酵第 20 天,Wa 组中酪胺的含量急剧增加,在发酵终点时,Wa 组中的酪胺含量高达 $(145.64 \pm 0.79)$ mg/L(图 9f)。这可能是由于微生物之间存在竞争关系,空白组中促色胺生长的微生物相对丰度较大,从而抑制了产酪胺微生物的生长。然而,在米卡塔酵母的参与下(Sm 组、Wa+Sm 组),酪胺的生成得到极大地抑制,降低了麦曲黄酒中酪胺的毒性。

## 2.3 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒挥发性风味组分生成的影响

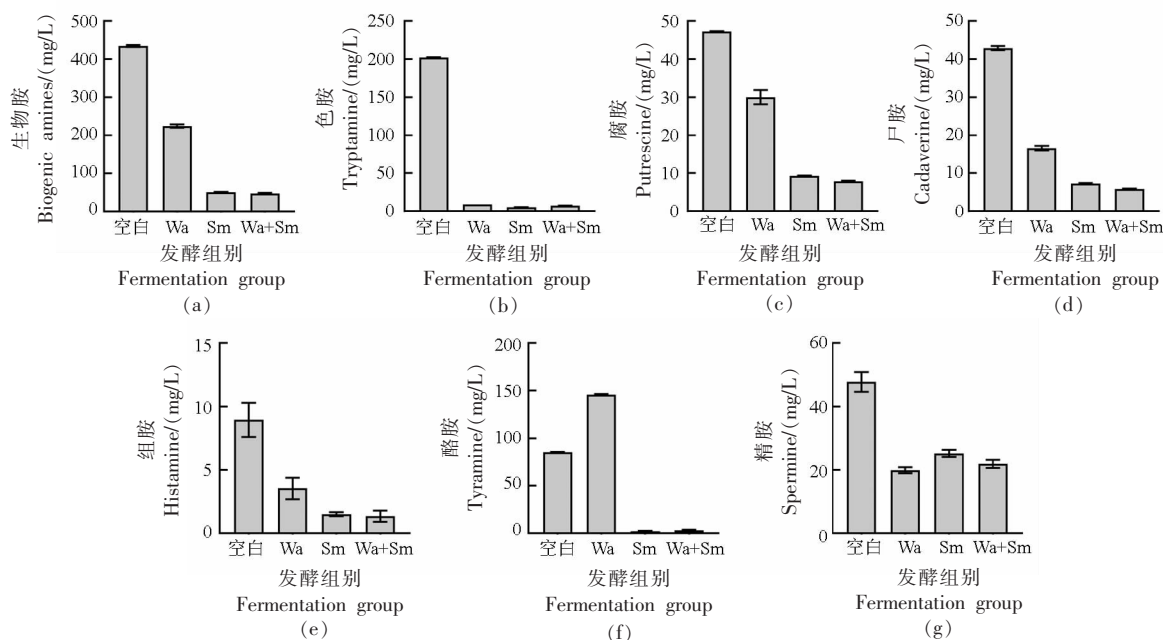
采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析酵母菌强化发酵对麦曲黄酒挥发性风味组分生成的影响,共检测到 89 种挥发性成分,包括 32 种酯类、25 种醇类、9 种醛类、6 种酸类、6 种酚类、2



注:a-g: 酿造过程生物胺、色胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、精胺含量。

图 8 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造过程生物胺生成的影响

Fig.8 Effects of yeast-enhanced fermentation on biogenic amines production in the brewing process of Maiqu Huangjiu



注:a-g: 酿造终点生物胺、色胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、精胺含量。

图 9 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒酿造终点生物胺含量的影响

Fig.9 Effect of yeast-enhanced fermentation on the contents of biogenic amines at the end of Maiqu Huangjiu fermentation

种酮类和 9 种其它化合物。其中,醇类和酯类是麦曲黄酒的主要挥发性风味成分(详见表 1)。Wa+Sm 组在大部分酯类化合物上都表现出了特殊性,如巴豆酸乙酯[C6]、己酸乙酯[C9]、癸酸乙酯[C15]、

2-庚醇[C16]和癸酸乙酯[C45]等化合物在该组中的含量明显增高,这表明在酵母菌混菌的协同作用可能对这些特定的酯类化合物产生了积极的影响,丰富了麦曲黄酒的挥发性风味成分。



表1 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒挥发性风味成分含量的影响

Table 1 Effects of yeast-enhanced fermentation on the contents of volatile flavor components in Maiqu Huangjiu

类别	挥发性风味物质名称	RI 值	挥发性风味物质含量/( $\mu\text{g/mL}$ )				P 值
			空白组	Wa+Sm 组	Sm 组	Wa 组	
酯类	乙酸乙酯 [C1]	841.87	5.29 $\pm$ 0.61	5.89 $\pm$ 0.78	3.70 $\pm$ 0.19	5.83 $\pm$ 2.09	0.3166
	乙酰乙酸乙酯 [C2]	969.16	0.04 $\pm$ 0.02	0.53 $\pm$ 0.13	0.41 $\pm$ 0.25	0.23 $\pm$ 0.14	0.0584
	乙酸异戊酯 [C4]	1 056.22	0.83 $\pm$ 0.23	0.89 $\pm$ 0.22	0.56 $\pm$ 0.09	0.59 $\pm$ 0.06	0.2079
	巴豆酸乙酯 [C6]	1 096.72	n.d.	0.10 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.04	n.d.	0.012
	己酸乙酯 [C9]	1 160.54	0.86 $\pm$ 0.60	1.59 $\pm$ 0.17	1.58 $\pm$ 0.01	0.89 $\pm$ 0.31	0.1101
	苯甲酸乙酯 [C11]	1 217.49	n.d.	0.13 $\pm$ 0.06	0.24 $\pm$ 0.04	0.13 $\pm$ 0.03	0.0024
	癸酸乙酯 [C15]	1 258.59	0.06 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.05	0.005
	乳酸乙酯 [C17]	1 273.55	0.39 $\pm$ 0.10	0.10 $\pm$ 0.07	0.13 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.14	0.037
	2-甲氧基苯甲酸乙酯 [C22]	1 336.52	0.03 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.1073
	辛酸乙酯 [C23]	1 355.79	1.27 $\pm$ 0.23	3.34 $\pm$ 0.56	3.07 $\pm$ 0.18	0.93 $\pm$ 0.91	0.0047
	4-甲氧基扁桃酸乙酯 [C32]	1 445.36	0.21 $\pm$ 0.05	0.24 $\pm$ 0.07	0.13 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.04	0.2703
	壬酸乙酯 [C33]	1 452.09	0.04 $\pm$ 0.00	0.25 $\pm$ 0.09	0.11 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.01	0.0161
	乳酸丁酯 [C34]	1 455.30	0.08 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.12	n.d.	n.d.	0.0174
	乳酸异戊酯 [C37]	1 482.22	0.18 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.00	0.27 $\pm$ 0.10	0.011
	丁内酯 [C41]	1 521.88	0.01 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.00	0.335
	十一酸乙酯 [C45]	1 550.25	0.08 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.11	0.19 $\pm$ 0.03	0.08 $\pm$ 0.03	0.0035
	苯甲酸乙酯 [C46]	1 563.19	0.08 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.07	0.15 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.04	0.035
	琥珀酸二乙酯 [C48]	1 584.12	0.44 $\pm$ 0.02	1.10 $\pm$ 0.04	1.95 $\pm$ 0.11	0.65 $\pm$ 0.57	0.0038
	2-氯丙烯酸甲酯 [C53]	1 633.93	n.d.	n.d.	0.02 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.03	0.0593
	苯乙酸乙酯 [C58]	1 680.29	0.04 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.06	0.0099
	4-乙基苯甲酸环己酯 [C59]	1 685.98	0.89 $\pm$ 0.25	0.51 $\pm$ 0.39	0.13 $\pm$ 0.08	0.44 $\pm$ 0.08	0.0706
	乙酸苯乙酯 [C61]	1 703.72	0.62 $\pm$ 0.05	0.68 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.02	0.65 $\pm$ 0.22	0.2776
	丁酸烯丙酯 [C62]	1 740.30	0.01 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.0196
	丁酸丁酯 [C65]	1 763.04	0.04 $\pm$ 0.00	0.16 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	<0.0001
	3-羟基十二酸乙酯 [C66]	1 783.32	0.04 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.03	0.0372
	2-苯乙基丁酸酯 [C69]	1 845.86	n.d.	0.02 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	n.d.	<0.0001
	辛二酸二乙酯 [C75]	1 987.28	0.02 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.006
	棕榈酸乙酯 [C81]	2 113.89	0.05 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.03	0.216
	巯基乙酸异辛酯 [C83]	2 155.38	n.d.	0.16 $\pm$ 0.03	n.d.	0.03 $\pm$ 0.01	<0.0001
	戊酸乙酯 [C86]	2 203.09	n.d.	0.03 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.0002
	邻苯二甲酸丁酯 [C88]	2 396.37	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00	0.2113
	邻苯二甲酸二丁酯 [C89]	2 543.70	0.04 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.0152
	酯类化合物总量			11.69 $\pm$ 2.31	17.42 $\pm$ 3.12	13.69 $\pm$ 1.22	11.98 $\pm$ 5.00
醇类	异丁醇 [C3]	1 049.29	0.07 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.22	0.66 $\pm$ 0.39	0.21 $\pm$ 0.23	0.1943
	1-丁醇 [C5]	1 090.69	n.d.	n.d.	n.d.	0.04 $\pm$ 0.03	0.1205
	3-甲基-1-丁醇 [C8]	1 155.68	6.65 $\pm$ 1.72	10.62 $\pm$ 0.92	14.95 $\pm$ 1.36	7.23 $\pm$ 2.42	0.0042
	3-甲基-2-丁醇 [C13]	1 255.86	n.d.	0.09 $\pm$ 0.05	n.d.	n.d.	0.0165
	2-庚醇 [C16]	1 259.03	n.d.	0.03 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02	n.d.	0.0192
	1-己醇 [C18]	1 283.53	0.15 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.02	0.0036
	3-辛醇 [C21]	1 323.24	0.02 $\pm$ 0.00	n.d.	n.d.	n.d.	<0.0001
	2-壬烯-1-醇 [C24]	1 364.51	0.01 $\pm$ 0.01	n.d.	0.01 $\pm$ 0.02	n.d.	0.5483
1-壬烯-3-醇 [C26]	1 375.03	0.03 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.00	0.06 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	0.0288	

(续表 1)

类别	挥发性风味物质名称	RI 值	挥发性风味物质含量/( $\mu\text{g/mL}$ )				P 值
			空白组	Wa+Sm 组	Sm 组	Wa 组	
	1-庚醇 [C27]	1 378.61	0.13 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.02	0.031
	2-乙基-1-己醇 [C28]	1 410.94	0.34 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.06	0.22 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.04	0.0347
	2-壬醇 [C31]	1 442.73	0.02 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.00	0.006
	5-壬醇 [C35]	1 458.73	n.d.	0.07 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	<0.0001
	1-辛醇 [C36]	1 476.29	0.38 $\pm$ 0.04	0.30 $\pm$ 0.04	0.36 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.03	0.0245
	2,3-丁二醇 [C38]	1 489.16	0.36 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.05	0.0001
	3-甲基-2-戊醇 [C39]	1 495.69	n.d.	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	n.d.	<0.0001
	3-甲氧基-2-丁醇 [C40]	1 508.12	0.01 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.00	n.d.	n.d.	<0.0001
	2-癸醇 [C42]	1 532.02	0.02 $\pm$ 0.01	n.d.	n.d.	n.d.	0.0001
	1-壬醇 [C47]	1 572.01	0.21 $\pm$ 0.00	0.26 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.04	0.0008
	3-壬烯-1-醇 [C49]	1 589.69	0.02 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.06 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.002
	香茅醇 [C57]	1 673.51	0.13 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.02	0.11 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.00	0.2982
	苯乙醇 [C67]	1 791.17	12.17 $\pm$ 1.46	15.15 $\pm$ 1.20	24.82 $\pm$ 1.71	13.89 $\pm$ 2.94	0.0008
	2-苯基-1-丁醇 [C70]	1 860.78	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.0015
	柏木醇 [C74]	1 982.14	0.06 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.00	0.0368
	黄褐醇 [C79]	2 080.23	n.d.	0.01 $\pm$ 0.00	n.d.	n.d.	<0.0001
	醇类化合物总量		20.80 $\pm$ 3.47	27.74 $\pm$ 2.61	42.19 $\pm$ 3.58	22.65 $\pm$ 5.87	
醛类	4-甲基-1,3-二氧戊环 [C7]	1 108.79	0.05 $\pm$ 0.03	n.d.	n.d.	n.d.	0.0151
	辛醛 [C10]	1 211.10	0.08 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01	0.0173
	壬醛 [C20]	1 311.46	0.30 $\pm$ 0.05	0.12 $\pm$ 0.08	0.18 $\pm$ 0.06	0.13 $\pm$ 0.06	0.0776
	十二醛 [C25]	1 368.80	0.02 $\pm$ 0.01	n.d.	0.03 $\pm$ 0.01	n.d.	0.0002
	癸醛 [C29]	1 416.73	n.d.	0.08 $\pm$ 0.05	0.24 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.06	0.0033
	苯甲醛 [C30]	1 428.11	0.06 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.03	0.0018
	苯乙醛 [C43]	1 539.72	0.14 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	0.0224
	2-乙基丁醛 [C55]	1 666.07	n.d.	0.02 $\pm$ 0.00	n.d.	n.d.	0.0001
	3,4-二甲基苯甲醛 [C60]	1 695.49	1.75 $\pm$ 0.21	2.09 $\pm$ 0.11	2.15 $\pm$ 0.10	2.16 $\pm$ 0.42	0.3493
	醛类化合物总量		2.40 $\pm$ 0.35	2.54 $\pm$ 0.29	2.96 $\pm$ 0.24	2.63 $\pm$ 0.59	
酸类	$\beta$ -羧基肉豆蔻酸 [C52]	1 629.08	0.19 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.00	0.18 $\pm$ 0.04	0.2081
	辛酸 [C73]	1 943.76	0.21 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.01	0.34 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.09	0.0235
	壬酸 [C77]	2 046.70	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.5883
	对茴香酸 [C80]	2 088.06	0.07 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	<0.0001
	正癸酸 [C82]	2 124.12	0.07 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.02	0.0854
	十二烷酸 [C84]	2 151.19	0.02 $\pm$ 0.00	n.d.	n.d.	n.d.	<0.0001
	酸类化合物总量		0.57 $\pm$ 0.10	0.74 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.05	0.42 $\pm$ 0.17	
酚类	愈创木酚 [C63]	1 746.58	0.06 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	0.0038
	苯酚 [C71]	1 881.27	0.03 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.00	0.0208
	4-乙基愈创木酚 [C72]	1 902.14	0.96 $\pm$ 0.07	0.28 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.06	<0.0001
	4-乙基苯酚 [C76]	2 041.31	0.01 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.00	0.0281
	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚 [C78]	2 059.74	1.48 $\pm$ 0.13	6.34 $\pm$ 0.32	8.59 $\pm$ 0.72	4.25 $\pm$ 1.51	0.0002
	2,4-二叔丁基苯酚 [C85]	2 177.32	0.44 $\pm$ 0.02	0.81 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.02	<0.0001
	酚类化合物总量		2.97 $\pm$ 0.24	7.55 $\pm$ 0.38	9.80 $\pm$ 0.80	5.09 $\pm$ 1.60	
酮类	苯乙酮 [C44]	1 546.92	n.d.	0.05 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	<0.0001
	香叶基丙酮 [C64]	1 751.53	0.04 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.04	0.0009

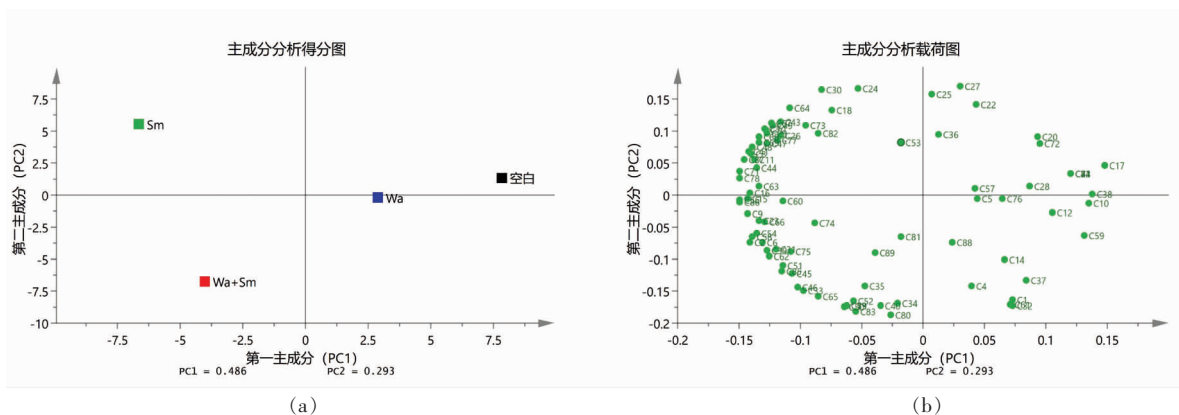
(续表 1)

类别	挥发性风味物质名称	RI 值	挥发性风味物质含量/( $\mu\text{g/mL}$ )				P 值
			空白组	Wa+Sm 组	Sm 组	Wa 组	
	酮类化合物总量		$0.04 \pm 0.01$	$0.11 \pm 0.02$	$0.29 \pm 0.03$	$0.12 \pm 0.05$	
其它	乙酰苯甲酰 [C12]	1 222.26	$0.24 \pm 0.07$	$0.08 \pm 0.05$	n.d.	n.d.	0.0014
	吡啶 [C14]	1 238.67	$0.01 \pm 0.01$	$0.01 \pm 0.01$	n.d.	n.d.	0.4275
	戊酰胺 [C19]	1 298.96	n.d.	$0.01 \pm 0.00$	n.d.	n.d.	<0.0001
	1,3-二硫代烷 [C50]	1 613.63	$0.02 \pm 0.00$	$0.03 \pm 0.01$	$0.02 \pm 0.01$	$0.02 \pm 0.01$	0.5334
	萘 [C51]	1 625.02	$0.01 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.00$	$0.01 \pm 0.00$	0.0085
	4-甲基吡啶 [C54]	1 653.75	$0.01 \pm 0.00$	$0.03 \pm 0.01$	$0.03 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.01$	0.0478
	<i>N,N</i> -二丁基甲酰胺 [C56]	1 669.28	n.d.	$0.03 \pm 0.02$	$0.04 \pm 0.00$	$0.02 \pm 0.01$	0.0224
	苯并噻唑 [C68]	1 823.60	$0.05 \pm 0.01$	$0.10 \pm 0.01$	$0.18 \pm 0.02$	$0.08 \pm 0.04$	0.0044
	库马兰 [C87]	2 245.30	$0.03 \pm 0.00$	$0.08 \pm 0.00$	$0.12 \pm 0.01$	$0.06 \pm 0.02$	0.0008
	其它风味化合物总量		$0.38 \pm 0.10$	$0.39 \pm 0.12$	$0.40 \pm 0.05$	$0.22 \pm 0.08$	0.014

注:n.d.表示该挥发性化合物未被检测到;P值表示多组间的统计学分析。

针对不同酒样的挥发性成分含量进行研究,得到对应的主成分得分图和载荷图(图 10a、10b)和聚类分析图(图 10c)。在 PCA 双标图中,Wa+Sm 组位于第四象限,与空白组相比存在明显差异,表明混菌强化发酵在挥发性风味物质形成中发挥着至关重要的作用。基于偏最小二乘法-判别模型(PLS-DA)的 VIP 值柱形图分析(图 10e)。在该图中,17 种 VIP 值较高的化合物可以用于区分空白组和酵母菌强化发酵组,这些化合物可能是在强化发酵过程中显著增强的关键香气物质,为麦曲黄酒的风味特征提供重要线索。综合表 1 的数据,对 VIP 值大于 1 的 17 种挥发性风味物质进行进一步分析。在 Wa+Sm 组中,乙酸酯[C1]、辛酸乙酯[C23]、己酸乙酯[C9]和乙酰乙酸乙酯[C2]等 14

种挥发性风味物质的含量较高,其中乙酰乙酸乙酯[C2]具有鲜味和苹果味的特征,己酸乙酯[C9]具有明显的甜果味和菠萝味<sup>[35]</sup>,而辛酸乙酯[C23]则可赋予酒体果香味、葡萄酒味和甜香味等香气特征。研究表明,米塔卡酵母和异常威克汉姆酵母混菌强化发酵模式能够显著提升麦曲黄酒中乙酸酯、乳酸丁酯、对茴香酸等挥发性组分的含量,使得挥发性风味组分与空白组有明显差异。这表明该强化发酵模式对麦曲黄酒中挥发性物质的生成产生了显著影响,并且在保持醇香的酒味基础上增添了香甜的水果味。由于这些特征风味物质的增加,麦曲黄酒的口感得以极大丰富,同时甜果味也赋予了酒体更为诱人的风味特征。



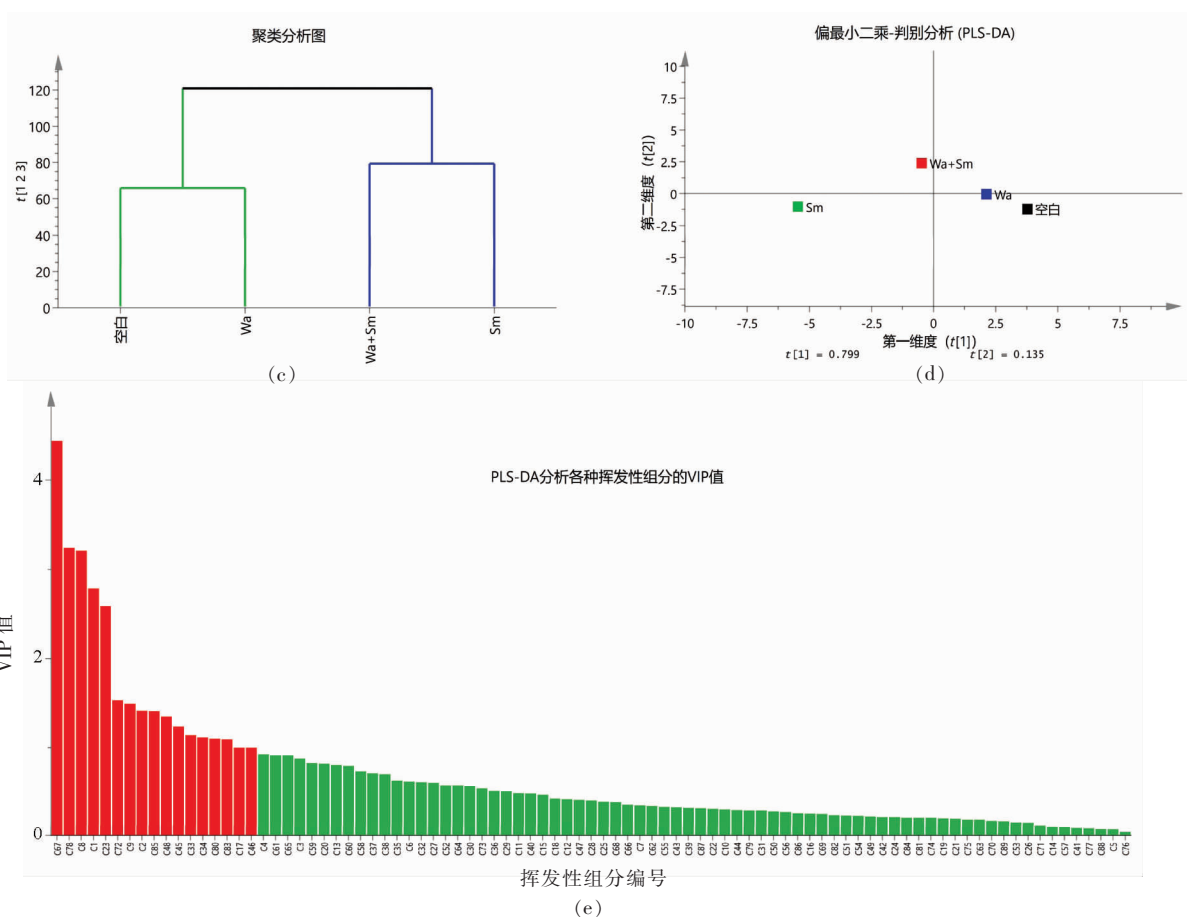


图 10 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒中挥发性物质含量的影响及统计学差异分析

Fig.10 Effects of yeast-enhanced fermentation on volatile components in Maiqu Huangjiu and statistical analysis

### 2.4 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒感官品质的影响

根据麦曲黄酒的风味感官评定数据分析显示,通过米塔卡酵母和异常威克汉姆酵母混菌强化发酵的麦曲黄酒在感官风味特征中展现出独特的优势。具体而言,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵酿造的麦曲黄酒 (Wa+Sm 组)在香气感官方面表现突出,特别是在烟薰香、蜂蜜香和果香这些方面较为突出。此外,从滋味感官方面来看,相较于其它试验组,Wa+Sm 组在鲜味和协调性方面较为突出;而在风格评分方面,Wa+Sm 组在醇厚度、柔和度和余味等指标表现较为突出。

综上感官品评分析结果,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵酿造的麦曲黄酒具有独特的风味,酸甜适中、香气浓郁、口感柔和协调,酒液呈现明显的花果香味,风味品质得到明显提升。

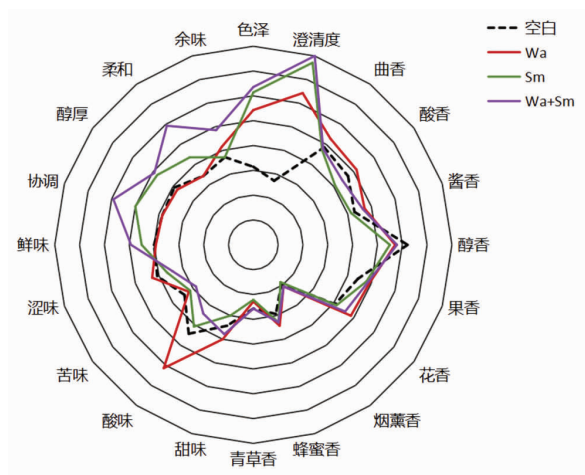


图 11 酵母菌强化发酵对麦曲黄酒风味感官品质的影响

Fig.11 Effects of yeast-enhanced fermentation on flavor sensory quality of Maiqu Huangjiu

### 3 结论

本研究以异常威克汉姆酵母和米卡塔酵母为

研究对象,探究酵母菌以单菌及混菌方式强化发酵对麦曲黄酒酿造过程中生物胺及风味物质生成的调控作用。研究表明:无论是异常威克汉姆酵母还是米卡塔酵母强化发酵,均可显著降低麦曲黄酒酿造过程中生物胺的生成;米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵不仅能有效消减麦曲黄酒酿造中生物胺的生成,还能显著提升麦曲黄酒中乙酸乙酯、乳酸丁酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、乳酸丁酯等特征香气组分的含量,进而达到"降胺增香"的双重调控效果;此外,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵可有效降低麦曲黄酒的酸度,显著提升酒中氨基酸态氮含量;感官品评分析结果表明,米卡塔酵母-异常威克汉姆酵母混菌强化发酵酿造的麦曲黄酒酸度适中、香气浓郁、口感柔和协调,酒液呈现明显的花果香味。因此,本研究构建的基于酵母混菌强化发酵技术,对麦曲黄酒生产中生物胺的消减以及特征香气的改善都具有积极的影响,有助于提升麦曲黄酒的饮用安全性及风味品质,促进我国黄酒酿造产业的健康可持续发展。后续研究可通过多维宏组学技术研究酵母混菌强化发酵对麦曲黄酒生物胺及风味品质形成的调控途径,为提升我国黄酒的安全性和风味品质提供科学依据。

### 参 考 文 献

- [1] CHEN G M, HUANG Z R, WU L, et al. Microbial diversity and flavor of Chinese rice wine (Huangjiu): An overview of current research and future prospects[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 42: 37-50.
- [2] 孙洁. 央企引领推动行业创新发展——食品发酵院为食品产业高质量发展提供科技支撑[J]. *中国农村科技*, 2021(5): 28-31.  
SUN J. Central enterprises leading to promote industry innovation and development—food fermentation institute to provide scientific and technological support for high-quality development of food industry [J]. *China Rural Science and Technology*, 2021(5): 28-31.
- [3] CAO Y, XIA Q L, CHEN J B, et al. Understanding of microbial diversity in three representative Qu in China and characterization of the volatile compounds in the corresponding Chinese rice wine [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2022, 164: 113680.
- [4] QI P, CHEN X P, ZHENG H J, et al. Spatial and temporal distribution of environmental microbiota in Chinese rice wine (*Huangjiu*) natural fermentation wineries[J]. *Food Bioscience*, 2023, 55: 102929.
- [5] YANG Y J, XIA Y J, YAN X, et al. Insights into whereby raw wheat Qu contributes to the flavor quality of Huangjiu during brewing[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2023, 178(15): 114619.
- [6] 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.
- [7] EKICI K, OMER A K. Biogenic amines formation and their importance in fermented foods, BIO Web of Conferences, 28 February, 2020[C]. Paris: EDP Sciences, 2020.
- [8] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods[J]. *Efsa Journal*, 2011, 9(10): 2393.
- [9] RIO B D, REDRUELLO B, LINARES D M, et al. The dietary biogenic amines tyramine and histamine show synergistic toxicity towards intestinal cells in culture[J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 249-255.
- [10] WANG B S, TAN F L, CHU R C, et al. The effect of non-*Saccharomyces* yeasts on biogenic amines in wine[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 116: 1029-1040.
- [11] ZHONG J J, YE X Q, FANG Z X, et al. Determination of biogenic amines in semi-dry and semi-sweet Chinese rice wines from the Shaoxing region [J]. *Food Control*, 2012, 28(1): 151-156.
- [12] GARCÍA-RUIZ A, GONZÁLEZ-ROMPINELLI E M, BARTOLOMÉ B, et al. Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 148(2): 115-120.
- [13] 刘慕妆, 任红, 孙哲, 等. 黄酒生物胺的研究进展 [J]. *中国酿造*, 2022, 41(3): 30-37.  
LIU M Z, REN H, SUN Z, et al. Research progress of bioamines in rice wine[J]. *China Brewing*, 2022, 41(3): 30-37.
- [14] GUO X W, GUAN X Y, WANG Y Z, et al. Reduction of biogenic amines production by eliminating

- the PEP4 gene in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation of Chinese rice wine[J]. *Food Chemistry*, 2015, 178: 208–211.
- [15] LARANJO M, GOMES A, AGULHEIRO-SANTOS A C, et al. Impact of salt reduction on biogenic amines, fatty acids, microbiota, texture and sensory profile in traditional blood dry-cured sausages [J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 129–136.
- [16] 孙梦菲. 黄酒中降生物胺糖多孢菌的筛选及其胺氧化酶性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- SUN M F. Screening of *Polyspora bioglucosaminoglycosa* from rice wine and study on the properties of amine oxidase[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [17] LIU S P, SUN H L, LIU C X, et al. Reducing biogenic amine in seriflux and huangjiu by recycling of seriflux inoculated with *Lactobacillus plantarum* JN01[J]. *Food Research International*, 2021, 150: 110793.
- [18] NIU T J, LI X, GUO Y M, et al. Identification of a lactic acid bacteria to degrade biogenic amines in Chinese rice wine and its enzymatic mechanism[J]. *Foods*, 2019, 8(8): 312.
- [19] LIU D, QI Y M, ZHAO N, et al. Multivariate analysis reveals effect of glutathione-enriched inactive dry yeast on amino acids and volatile components of Kiwi wine[J]. *Food Chemistry*, 2020, 329(1): 127086.
- [20] WANG J, YAN J J, ZHANG W J, et al. Comparison of potential *Wickerhamomyces anomalus* to improve the quality of Cabernet Sauvignon wines by mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, 173(1): 114285.
- [21] PINEDA A, CARRASCO J, PEÑA-FARFAL C, et al. Preliminary evaluation of biogenic amines content in Chilean young varietal wines by HPLC[J]. *Food Control*, 2012, 23(1): 251–257.
- [22] 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 standard materials for calibration of column gas chromatograph for wine analysis[J]. *Chemical Analysis and Metrology*, 2022, 31(1): 1–4.
- [23] 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 of detection methods of sugar in food [J]. *Modern Food*, 2022, 28(6): 43–47.
- [24] MARINAKI M, SAMPSONIDIS I, LIOUPI A, et al. Development of two-level design of experiments for the optimization of a HS-SPME-GC-MS method to study greek monovarietal PDO and PGI wines[J]. *Talanta*, 2023, 253: 123987.
- [25] 秦连, 孙健, 樊阿萍. 黄酒感官品评数据的统计分析与应用[J]. *酿酒科技*, 2022(3): 47–53.
- QIN L, SUN J, FAN A P. Statistical analysis and application of sensory evaluation data of yellow rice wine[J]. *Wine Science and Technology*, 2022(3): 47–53.
- [26] 毛亚玲, 李俊娥, 于静, 等. 酒酒球菌和酿酒酵母共接种发酵动力学模型建立[J]. *食品科学*, 2023, 44(2): 156–164.
- MAO Y L, LI J E, YU J, et al. Modeling the fermentation kinetics of co-inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Food Science*, 2023, 44(2): 156–164.
- [27] CHARLOTTE V, MAITENA M, MARGAUX B, et al. New malic acid producer strains of *Saccharomyces cerevisiae* for preserving wine acidity during alcoholic fermentation[J]. *Food Microbiology*, 2023, 112: 104209.
- [28] LI S Q, BI P F, SUN N, et al. Effect of sequential fermentation with four non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* on nutritional characteristics and flavor profiles of kiwi wines[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 109: 104480.
- [29] 魏亚楠, 王金晓, 林良才, 等. 适量产乙酸酯酿酒酵母菌株的选育[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(13): 98–106.
- WEI Y N, WANG J X, LIN L C, et al. Selection and breeding of suitable acetate producing brewer's yeast strains[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(13): 98–106.
- [30] ZHOU Z L, NI W, JI Z W, et al. Development of a rapid method for determination of main higher alcohols in fermented alcoholic beverages based on dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13(3): 591–600.
- [31] IVANA R, BORIS S, PAVLINA J, et al. Detection of microbiota during the fermentation process of wine in relation to the biogenic amine content [J]. *Foods*,

- 2022, 11(19): 3061.
- [32] LIU W H, JI R J, AIMAIER A, et al. Adjustment of impact phenolic compounds, antioxidant activity and aroma profile in Cabernet Sauvignon wine by mixed fermentation of *Pichia kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Chemistry: X, 2023, 18(30): 100685.
- [33] 潘慧青. 黄酒中氨基酸态氮的来源及酿造工艺的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- PAN H Q. Sources of amino acid nitrogen in yellow wine and the influence of brewing process[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.
- [34] HE X, MA K, HA S, et al. Research progress on the formation and inhibition of biogenic amines in food[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(18): 294–300.
- [35] CHEN Y F, LUO W W, GONG R, et al. Improved ethyl caproate production of Chinese liquor yeast by overexpressing fatty acid synthesis genes with OPII deletion[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2016, 43(9): 1261–1270.

### Improving the Brewing Flavor Quality of Maiqu Huangjiu by Enhanced Fermentation with Yeast Mixed-culture

Yuan Yujie<sup>1,2</sup>, Liang Zihua<sup>1,2</sup>, Hou Siwen<sup>1,2</sup>, Yang Ziyi<sup>1,2</sup>, Guo Weiling<sup>1,3</sup>,  
Ai Lianzhong<sup>4</sup>, Ni Li<sup>1,2</sup>, Lü Xucong<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Food Science and Technology, College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350108

<sup>2</sup>Institute of Advanced Manufacturing, Food Nutrition and Health Research Center, Fuzhou University, Jinjiang 362200, Fujian

<sup>3</sup>International Joint Research Center for Probiotics and Intestinal Health, School of Food Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu

<sup>4</sup>Shanghai Engineering Research Center of Food Microbiology, School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093)

**Abstract** Objective: To investigate the regulatory effects of yeast fermentation in single-strain and mixed-strain modes on the production of biogenic amines and flavor compounds during the brewing process of Maiqu Huangjiu. Methods: With *Wickhamomyces anomalus* and *Saccharomyces mikatae* as the research subjects, the regulatory effects of yeast fermentation in single-strain and mixed-strain modes on the production of biogenic amines and flavor compounds during the brewing process of Maiqu Huangjiu were explored through techniques such as headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and sensory evaluation analysis. Results: The results of this study showed that both *W. anomalus* and *S. mikatae* enhanced fermentation significantly reduced the production of biogenic amines during the brewing process of Maiqu Huangjiu. *S. mikatae* - *W. anomalus* mixed-culture enhanced fermentation not only reduced the production of biogenic amines by 89.03%, but also significantly increased the contents of certain characteristic aroma components, including ethyl acetate, butyl lactate, ethyl caproate, ethyl caproate, butyl caproate, etc., thus achieving a dual regulatory effect of reducing biogenic amines and enhancing aromatic flavor quality. Moreover, *S. mikatae* - *W. anomalus* mixed-culture enhanced fermentation can significantly reduce the acidity of Maiqu Huangjiu by 48.31% and notably increase the amino acid nitrogen content in the wine by 36.9%. The result of sensory evaluation and analysis demonstrated that the Maiqu Huangjiu produced by enhanced fermentation of *S. mikatae* - *W. anomalus* mixed-culture exhibited a balanced sweet-sour taste, rich aroma, and smooth harmony. Conclusion: The enhanced fermentation of *S. mikatae* - *W. anomalus* mixed-culture exhibits a significant effect on reducing biogenic amines and improving the characteristic aroma in the production of Maiqu Huangjiu. This practice contributes to enhancing the safety and flavor quality of Maiqu Huangjiu, thereby promoting the healthy and sustainable development of the Huangjiu brewing industry.

**Keywords** yeast mixed-culture; enhanced fermentation; Maiqu Huangjiu; biogenic amine; volatile components