

胶红酵母的分离筛选、产香特性及在黄酒发酵中的应用

张德福¹, 余梦珠^{1,2}, 李昌鹏³, 王胜晓³, 刘晓晨⁴, 冯张羿^{1,2}, 方松^{1,2}, 赵禹宗^{2*}

¹渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121000

²中国农业科学院烟草研究所 山东青岛 266000

³山东中烟工业有限责任公司 济南 250000

⁴青岛饮料集团有限公司 山东青岛 266000)

摘要 目的:获得产香优良、性能稳定的胶红酵母,用来提升黄酒发酵风味品质。方法:通过耐受性、 β -葡萄糖苷酶活性以及产香特性分析,从9株分离株中筛选出发酵性能最优的菌株,并与酿酒酵母共发酵制备黄酒。采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术结合感官评价和理化指标测定,探究共发酵对黄酒风味品质的影响。结果:筛选得到9株菌株,被鉴定为胶红酵母。所有菌株在温度10~35℃、pH 5.0~6.5条件下生长较好,具有较好的低温和酸耐受性及较高的 β -葡萄糖苷酶活(253.7~492.2 U/mL),不同菌株的乙醇耐受性差异较大,在酒精度高于6% vol时,生长受到明显抑制。JH-6菌株发酵液中,醇、醛、酸和酯类含量都显著高于其它菌株,具有良好的产香性能。胶红酵母JH-6与酿酒酵母共发酵黄酒符合《黄酒》(GB/T 13662—2018)的规定,相比于未接种JH-6生产的黄酒,酒精度降低,酯类含量明显提高,口感柔和协调,花果香突出,风味品质得到明显提升。结论:本研究对胶红酵母进行系统的筛选及评价,得到1株耐受性较好、产香特性最佳的菌株JH-6,利用该菌与酿酒酵母共发酵,提升了黄酒风味品质,为胶红酵母在黄酒发酵中的应用提供了技术支持。

关键词 胶红酵母; 筛选; 产香特性; 黄酒共发酵; 风味品质

文章编号 1009-7848(2026)01-0349-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2026.01.031

胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)是一种非酿酒酵母(non-*Saccharomyces yeasts*, NONs)。最初科学家因NONs发酵能力弱,酒精耐受低,可能产生影响风味的物质,故认为NONs是不良菌株^[1]。然而,近年研究表明,利用酿酒酵母和NONs共发酵生产的酒精饮料,可以保证发酵完全且不会产生不良副产物,同时能够增加风味的丰富性,改善产品的最终风味^[2]。NONs可产生活性较高的胞外酶,如 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, BGL)、脂肪酶、蛋白酶和碳硫裂解酶等,这些酶有利于酯类、醇类及醛类化合物的产生^[3]。研究发现胶红酵母能够降解发酵食品中的氨基甲酸乙酯含量,提高食品的安全性^[4]。李爱华等^[5]将胶红酵母和酿酒酵母(*S. cerevisiae*)顺序接种发酵白葡萄酒,延长了胶红酵母作用时间,提高了糖苷酶活性。利用胶

红酵母和酿酒酵母共发酵生产葡萄酒,提升了发酵环境中的几种重要的糖苷酶活性,显著提高了葡萄酒品种香气成分含量^[6]。胶红酵母在酒精饮料生产中具有较好的应用价值,然而目前尚未有关于其在黄酒生产中提升风味品质的研究。

BGL是酿酒中重要的酶类之一,可以水解各种糖苷类物质生成酚醛酸和挥发性酚类等风味物质,在发酵酒精饮料特性形成中发挥重要作用^[7]。有研究表明,胶红酵母产生的BGL可以结合苯类化合物,产生带奶油味的壬酸,在发酵过程中有利于产生花香和果香^[8],而酿酒酵母通常缺乏合成BGL的能力^[9]。筛选不同发酵特性高产BGL的胶红酵母菌株,并将其用于酒类生产,能够促进酒体香气物质的产生,提升酒体品质。

目前,产香酵母多来源于发酵酒原料中,鲜有从其它微生物群落丰富的发酵制品原料中筛选的研究报道。本研究从发酵酒曲、酿造环境土壤、麦曲、黄酒发酵醪液和雪茄烟叶等中筛选并鉴定菌株,系统评价不同菌株的生长特性、耐受性及BGL活性和发酵产香特性,探究性能最佳的胶红酵母与酿酒酵母共发酵对黄酒风味品质的影响,旨在

收稿日期: 2025-01-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(32502154);中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-TRIC07);辽宁省教育厅基本科研项目(LJ212510167019)

第一作者: 张德福,男,博士,副教授

通信作者: 赵禹宗 E-mail: zhaoyuzong@caas.cn

为胶红酵母在黄酒发酵中的应用提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要原料与试剂 酒曲、酿造环境土壤、麦曲、黄酒发酵醪液和发酵雪茄烟叶等,用于菌株的筛选;高温 α -糖化酶(苏宏牌, 10^6 U/mL)、液化酶($1.2 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^5$ U/mL),诺维信(中国)生物技术有限公司。

PBS、YPD 培养基、无水乙醇、氯化钠、醋酸、氢氧化钠、甲醛、2-辛醇(色谱级,内标),国药集团化学试剂有限公司。BGL 活性检测试剂盒,北京盒子生工科技有限公司。

大米糖化液培养基用于黄酒模拟发酵:将生米和水按质量比 1:4 混合,加入大米质量 2% 的液化酶、1% 的糖化酶,60 °C 水浴 4 h,用纱布过滤,115 °C 灭菌 20 min,冷却后备用。

1.1.2 仪器与设备 SW-CJ-2F 超级洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;MS105UD 电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多有限公司;GI54DS 自动压力蒸汽灭菌器,致微(厦门)仪器有限公司;SPX-25 生化培养箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;WFZ UV-2100 紫外可见分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;PHS-3E pH 计,Mettler Toledo 公司;ZHWHY-1102C 恒温振荡培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;5804R 高速冷冻离心机,Eppendorf 公司;DW-86L726G PCR 基因扩增仪,上海宝予德科学仪器有限公司;Trace 1300 ISO 气相色谱-质谱联用仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的分离、纯化 称取样品 10.0 g,加入 100 mL PBS,30 °C,150 r/min 富集培养 30 min。取上述培养液 1 mL 稀释至 $10^{-3} \sim 10^{-7}$,每稀释度分别取 100 μ L 均匀涂布于 YPD 固体培养基上,30 °C 恒温培养 36~48 h,挑选具有胶红酵母菌落特征的单菌落进行划线纯化 3 次以上,至平板上无其它形态菌落。

1.2.2 菌株分子生物学鉴定 利用 ITS 序列进行扩增,扩增产物送青岛蔚蓝科技有限公司测序,将测序得到的序列与 NCBI 数据库进行同源比对分

析^[10]。

1.2.3 胶红酵母分离株生长曲线测定 将酵母以 1% 接种量接种于 YPD 液体培养基,30 °C,150 r/min 摇床培养 48 h,每间隔 4 h,取样测定波长 600 nm 处的吸光度,绘制菌株生长曲线。

1.2.4 胶红酵母分离株耐受性分析 乙醇、酸耐受性:将分离出的菌株按照 1% 接种量接种于不同体积分数乙醇(0%~12%)和不同 pH 值(2.0~6.0) YPD 液体培养基中,30 °C,150 r/min 摇床培养 48 h,测定波长 600 nm 处的吸光度。温度耐受性:将分离出的菌株按照 1% 接种量接种至 YPD 液体培养基中,10.0~45.0 °C,以 5.0 °C 为增长梯度,共 8 个梯度,150 r/min 摇床培养 48 h,测定波长 600 nm 处的吸光度。

1.2.5 胶红酵母分离株 BGL 酶活性测定 按照 BGL 酶活性检测试剂盒说明书测定,建立标准曲线。酶活计算公式如下:

$$\text{BGL(U/mL)} = \frac{x \cdot V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}} \cdot T} \quad (1)$$

式中: $V_{\text{样}}$ 为反应体系中加入粗酶液的体积,0.1 mL; $V_{\text{反应}}$ 为反应体系总体积,1 mL; T 为反应时间,0.5 h;以 300,200,100,50,25,12.5 nmol/mL 为横坐标(x),以其对应的 ΔA 标准为纵坐标(y)绘制标准曲线,得到标准方程 $y = kx + b$,将 ΔA 测定带入公式中得到 x (nmol/mL)。

1.2.6 黄酒发酵及理化指标测定 按照文献[11]的方法进行黄酒发酵。参照《黄酒》(GB/T 13662—2018)进行酒精度测定。采用 DNS 法测定黄酒中还原糖含量^[12]。pH 值采用 pH 计测定。总酸(以乳酸计)和氨基酸态氮含量使用自动滴定系统测定。

1.2.7 挥发性风味物质分析 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用 (Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry,HS-SPME-GC-MS)进行挥发性风味物质分析。取 6 mL 样品于顶空进样瓶中,加入 2.0 g 氯化钠和 2.0 μ L 内标溶液(2-辛醇,0.0167 mg/L),于 60 °C 下先平衡 25 min,再萃取 30 min 后进行手动进样,进样针于 230 °C 进样口中解吸 10 min。参考文献[11]报道方法对共发酵黄酒挥发性风味物质进行检测。

定性和定量方法:根据所测质谱图与美国国

家标准与技术研究院 (National institute of standards and technology, NIST) 11 谱库检索, 并结合保留指数进行定性分析, 采用内标法进行半定量, 利用待测物质与内标物质的峰面积比计算待测物质含量, 计算公式如下:

$$x = x_0 \cdot \frac{A}{A_0} \quad (2)$$

式中: x 为各挥发性物质的含量, mg; x_0 为 2-辛醇的含量, mg; A 为各挥发性物质的峰面积; A_0 为 2-辛醇的峰面积。

1.2.8 感官评价 感官评价参考文献[13]报道的方法。香气评价指标包括醇香、烟熏香、曲香、草药香、焦糖香和果香, 味道评价包括酸味、甜味、苦味、涩味和鲜味。

评价员独立地对所有样品和属性进行感官评价, 采用 5 点线性标度的方式, 5 点分别代表感知度强弱, 2 个样品相互比较, 0(不可感知), 1(基本感知不到), 2(轻微感知), 3(适度感知), 4(明显感知), 5(强烈感知), 每个样品做 3 次重复测试。

1.3 数据分析

使用 SPSS 27.0 对数据进行差异性分析, Origin 2021 进行柱状图及折线图绘制, SIMCA 14.1 进行 PCA 聚类分析, 利用 <https://biit.cs.ut.ee/clustvis/#general> 在线网站制作热图。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选结果

2.1.1 外观鉴定 将筛选得到的 9 株菌分别编号为 JH-1~JH-9, 9 株菌的菌落颜色均为橙红色, 微光泽, 形状为圆形, 黏稠, 表面光滑、湿润, 中央和边缘颜色均一, 易被挑起(表 1)。不同菌株菌落颜色差异可能与产油脂和 β -胡萝卜素、虾青素等活性物质含量差异有关^[14]。

2.1.2 分子生物学鉴定 将菌株 ITS 基因序列上传至 NCBI 数据库进行 BLAST 同源性比对, 序列与胶红酵母(*R. mu-cilaginoso*)已完成鉴定的序列 KY488461.1 覆盖度为 100%, 相似度为 99.53%~99.84%, 因此, 所筛选 9 株菌株均为胶红酵母。菌株相关信息见表 1。

2.1.3 胶红酵母菌株生长曲线 对 9 株菌株 48 h 内每 4 h 的生长状况进行测定, 确定了菌株的生长曲线, 不同菌株的延滞期、对数期和稳定期差异不明显, 都是 0~4 h 时处于延滞期, 4~28 h 为对数生长期; 在 28 h 后, 其 OD_{600nm} 值变化较小, 达到稳定期(图 1)。










2.2 胶红酵母菌株耐受性

不同发酵环境中, 酵母所受到的胁迫因素可能有所不同, 而酒精度、温度、酸度通常是酿造环境中酵母面临的主要应激因素^[15]。因此, 通过测定 9 株胶红酵母菌株对酿造环境的耐受性来判断其发酵性能。

2.2.1 乙醇耐受性 如图 2 所示, 随着乙醇体积

表 1 菌株序列比对结果

Table 1 Strain sequence alignment results

菌落形态	覆盖度/%	相似度/%	菌落形态	覆盖度/%	相似度/%	菌落形态	覆盖度/%	相似度/%
	100	99.69		100	99.69		100	99.53
JH-1			JH-2			JH-3		
	100	99.84		100	99.53		100	99.69
JH-4			JH-5			JH-6		
	100	99.68		100	99.84		100	99.63
JH-7			JH-8			JH-9		

分数的增加,OD_{600nm}值逐渐降低,耐受能力逐渐减弱,当乙醇体积分数达到6%时,除JH-1之外,其余菌株生长均受到抑制,当乙醇体积分数在8%~12%时,所有菌株的OD_{600nm}值变化均不大,表明该酒精度已完全抑制其生长。在发酵酒精饮料生产过程中,乙醇会随着发酵时间延长而逐渐积累,进

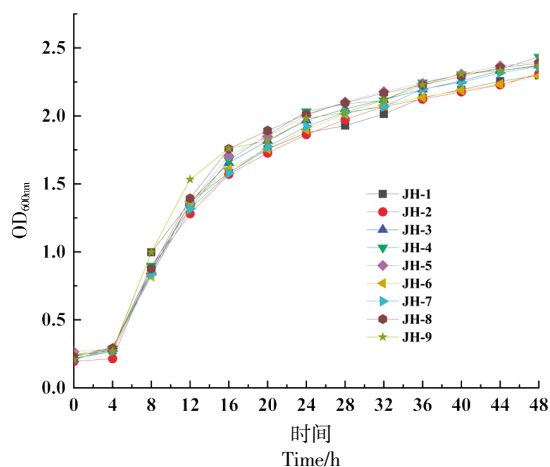


图1 胶红酵母生长曲线

Fig.1 Growth curve of *R. mucilaginosa*

2.2.2 温度耐受性 如图3所示,OD值随温度的变化先升高再降低,在10~35℃范围内生长较好,25℃时生物量达到最高,说明它们的最适生长温度是25℃;温度为10℃时,菌株的OD值在1以上,表明其低温情况下生长相对较好,温度超过40℃,其生长逐渐被阻碍。温度会影响发酵过程中微生物的数量及活性,发酵温度较高时乙醇及香气成分挥发,风味物质流失,并且影响最终产品质量^[18]。低温发酵常被用于啤酒、日本清酒及白葡萄酒的生产中来改善发酵酒的风味^[19]。黄酒生产的温度变化一般在10~34℃,较长的时间处于低温发酵阶段^[20]。相比于已报道的异常威克汉姆酵母菌,本研究筛选的胶红酵母菌株具有更好的低温耐受性^[21]。

2.2.3 酸耐受性 如图4所示,随着pH值降低,各菌株生物量呈先升后降的趋势。在pH 4.0以上时,各菌株的生长明显较快,生物量较高,表明此条件有利于菌株生长。在pH值为5.0时,各菌株生长最好,当pH值降低至4.0以下时,生长受到抑制。酸度(pH值)是传统酿造食品发酵过程中重

而抑制微生物生长,因此较高的乙醇耐受性是酵母发挥作用的保证^[16]。结果表明,胶红酵母在黄酒发酵前期能够发挥作用。该结果与发酵酒精饮料生产中常用的异常威克汉姆酵母菌(*Wickerhamomyces anomalus*)酒精耐受性相似,均在4% vol~6% vol^[17]。

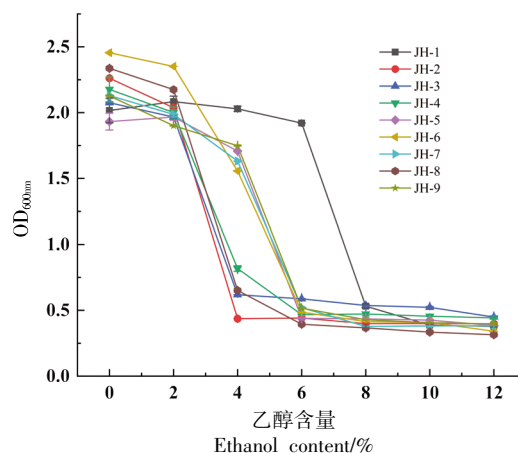


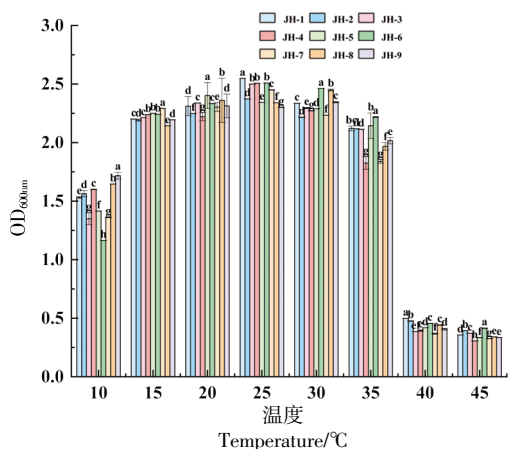
图2 胶红酵母乙醇耐受性

Fig.2 Alcohol tolerance of *R. mucilaginosa*

要的环境驱动因子,不仅直接影响微生物生长,还会影响微生物代谢途径中各种酶活性以及代谢产物的形成。合适的pH值有利于抑制杂菌生长、繁殖,促进酵母菌的生长和发酵^[22]。结果表明,胶红酵母酸耐受性较好,能够在黄酒发酵条件中生存。该结果与异常威克汉姆酵母菌的耐受性相似,适宜pH值均为4.0~6.0^[23]。

2.3 胶红酵母菌株BGL酶活

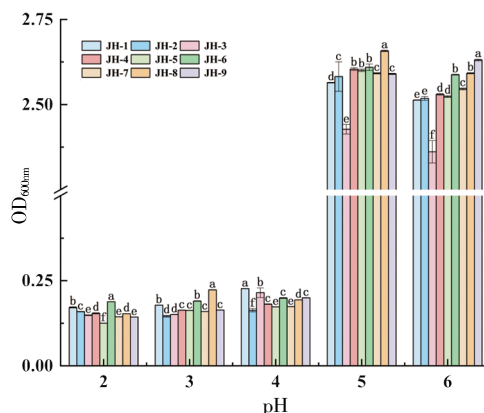
由表2可知,筛选得到的菌株中BGL酶活相对较高的是JH-9、JH-8、JH-6和JH-2,酶活都在400.0 U/mL以上,JH-5、JH-7、JH-1和JH-3次之,酶活在300.0~400.0 U/mL之间,JH-4酶活相对最低。大部分NONs都可以合成和释放BGL,然而NONs具有非常强的菌株特异性,导致菌株产生的BGL酶活力存在着种间差异和种内差异,而且不同酵母细胞中BGL的存在位置和聚合方式也有所不同^[24]。BGL可水解糖苷结合态香气物质释放出葡萄糖和游离态香气物质,可作为风味酶用于酒精饮料的增香和脱苦^[25]。结果表明,胶红酵母菌株具有较好的BGL酶活。



注:不同字母代表样本之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 3 胶红酵母温度耐受性

Fig.3 Temperature tolerance of *R. mucilaginosa*



注:不同字母代表样本之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 4 胶红酵母酸耐受性

Fig.4 Acid tolerance of *R. mucilaginosa*

表 2 胶红酵母 β -葡萄糖苷酶酶活

Table 2 Enzyme activity of β -glucosidase of *R. mucilaginosa*

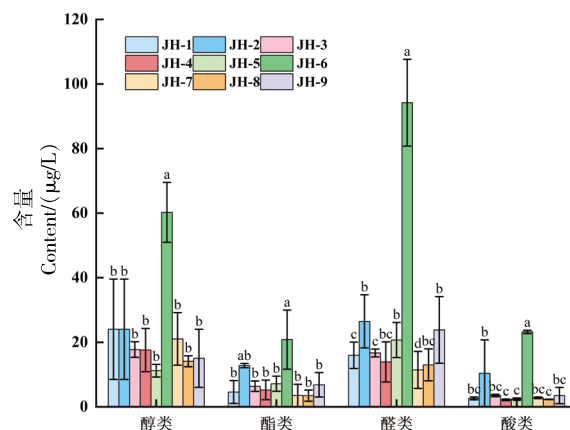
菌株	BGL 酶活/(U/mL)	菌株	BGL 酶活/(U/mL)	菌株	BGL 酶活/(U/mL)
JH-1	378.1 \pm 17.6 ^b	JH-4	253.7 \pm 18.2 ^a	JH-7	393.4 \pm 23.7 ^{bc}
JH-2	421.7 \pm 21.2 ^c	JH-5	394.7 \pm 14.4 ^{bc}	JH-8	478.1 \pm 26.7 ^d
JH-3	339.2 \pm 26.9 ^b	JH-6	464.0 \pm 24.4 ^d	JH-9	492.2 \pm 24.4 ^d

注:值为至少 3 项独立检验的“平均值 \pm 标准差”;不同字母代表不同菌株酶活存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4 胶红酵母菌株挥发性风味物质

香气是评价发酵酒类质量的重要指标之一^[26]。为了评估不同菌株在黄酒风味品质中潜在的增香特性,本研究通过 HS-SPME-GC-MS 分析了菌株在大米发酵液中接种培养后的挥发性风味物质。共检出 63 种挥发性成分,其中,含有醇类 16 种,酯类 6 种、醛类 8 种、酸类 6 种、酮类 10 种、呋喃类 6 种、酚类 7 种、吡嗪类 4 种,其中 JH-6 接种后各类成分含量占据明显优势(图 5)。

在发酵过程中,糖苷、氨基酸和脂肪酸等前体物质能形成多种饱和及不饱和的酯、醇、醛、酸等,增添发酵液香气^[27]。高级醇是酵母菌株代谢次级产物之一,大多具有醇香及水果香味,可使酒体浓厚丰满,也是形成酯类化合物的前体物质^[28]。JH-6 样品中检测出的 1-壬醇含量占比极高,这使得 JH-6 整体醇类含量突出。1-壬醇具有甜味及水果味,对爱格丽干白葡萄酒的香气具有明显贡献^[6]。



注:不同字母代表样本之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 5 模拟发酵试验各发酵组挥发性风味物质种类含量

Fig.5 The types and contents of volatile aroma compounds in each fermentation group of the simulated fermentation experiment

酯类物质也是酒精饮料的主要香气成分之一,在呈香中起着十分重要的作用,酯类含量越多,果香或花香越明显^[29]。菌株发酵液中酯类物质含量最高的是 JH-6,且肉桂酸甲酯(9.71 $\mu\text{g/L}$)在酯类含量占比最大。肉桂酸甲酯具有类似草莓、樱桃等甜美的果香以及甜带涩的桂甜琥珀膏香,能增添独特的香气和丰富的口感层次,使酒的风味更加浓郁、丰富^[30]。

醛类物质对酒精饮料的香气具有放大和增强作用,并可贡献杏仁香和甜香^[31]。苯甲醛是占比最大的醛类物质,其具有典型的杏仁香气,并且已被证实是与“黄酒陈香”具有显著相关性的物质之一^[32]。此外,JH-6 中辛醛含量较高(78.75 $\mu\text{g/L}$),其具有强烈的水果香味,可增加酒的丰富度和层

次感^[33-34]。

酸类物质是酯类的前体物质,有减少刺激、缓冲平衡及维持酯香气的作用^[35]。醋酸为 9 种样品中相对含量较高的酸类物质,其可以提高酒体的爽净感。JH-6 的异戊酸含量(18.14 $\mu\text{g/L}$)相对最高,其是生成异戊酯类的前体物质,具有甜润的果香^[36]。

根据挥发性物质含量绘制层次聚类热图分析了不同菌株发酵大米糖化液挥发性成分的差异。如图 6 所示,色阶颜色从蓝到红的变化代表了相对含量从低到高,9 种组别根据相关性产生聚类,其中 JH-2、JH-6、JH-9 因挥发性风味物质种类和含量特征相似聚为一类。

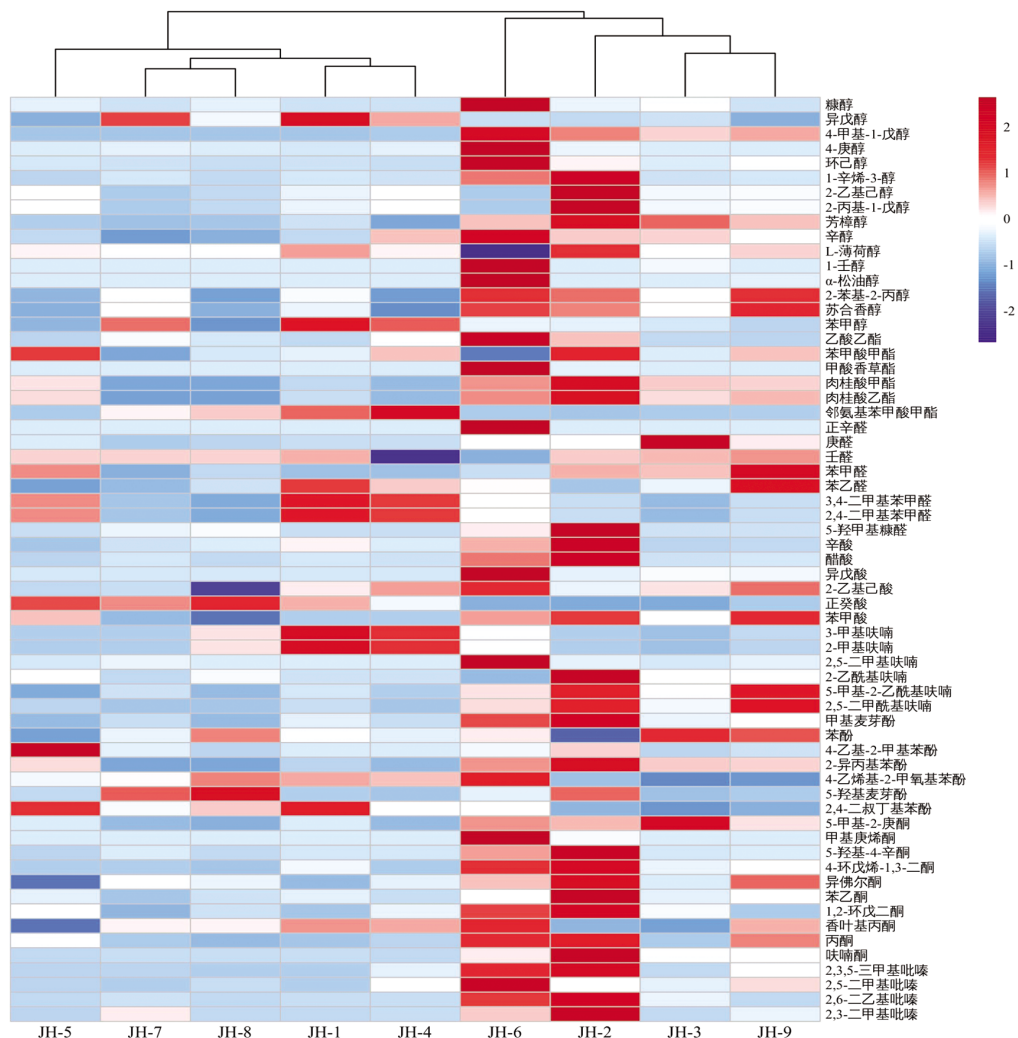


图 6 挥发性风味物质热图

Fig.6 Heat map of volatile flavor compounds

采用主成分分析(Principal component analysis, PCA) 样本组间和组内挥发性香气成分的差异。由图 7 可知,PC1 与 PC2 分别占数据总体方差的 44.4%和 24.2%,总贡献率为 68.6%。9 个样品基本被区分为 2 个部分,从左至右进行分析,JH-1、JH-3、JH-4、JH-5、JH-7、JH-8 位于第 1 主成分的负向端,主要与一些呈味不明显的挥发性化合物相接近。JH-2、JH-6、JH-9 位于第 1 主成分的

正向端,大部分醇类、酯类、醛类和酸类等呈味物质物质分布在其周围。

综上,不同菌株发酵产生的香气成分种类差异较大。JH-6 发酵产生主要挥发性风味物质醇类、醛类、酸类和酯类含量都显著高于其它菌株,具有良好的产香性能和发酵性能。因此,选定胶红酵母 JH-6 与酿酒酵母共发酵黄酒。

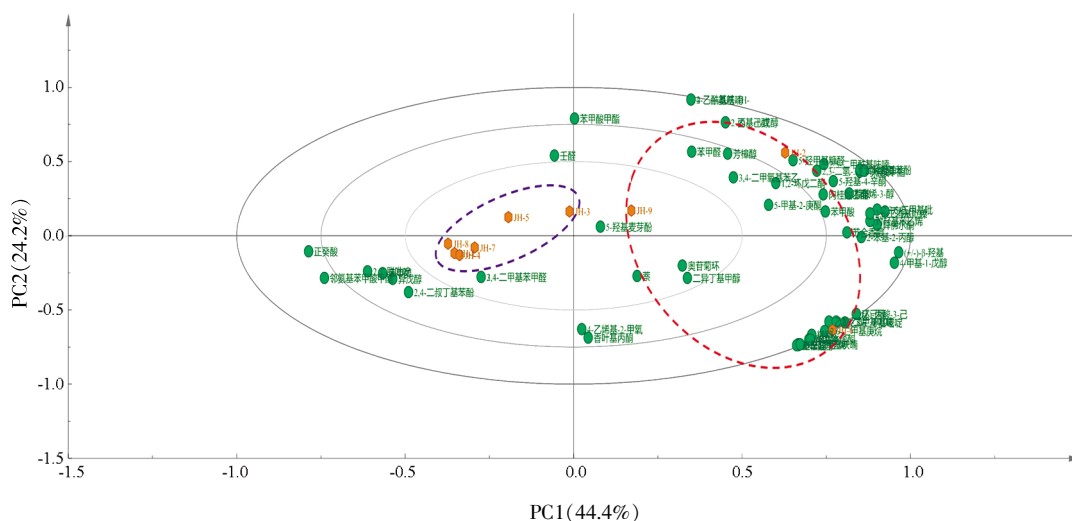


图 7 不同胶红酵母与发酵液各挥发性物质相关性分析

Fig.7 Correlation analysis of different strains and volatile substances in fermentation broth

2.5 胶红酵母 JH-6 与酿酒酵母共发酵黄酒品质评价

2.5.1 理化指标 对前酵和后酵结束后黄酒的基本理化性质进行测定,结果如表 3 所示。试验组胶

红酵母 JH-6 与酿酒酵母共发酵的黄酒酒精度显著低于对照组,总酸、还原糖含量和氨基酸态氮含量都满足国标要求,表明 JH-6 可用于黄酒发酵。

表 3 黄酒模拟发酵理化指标

Table 3 Physical and chemical indexes of simulated fermentation of Huangjiu

指标	前酵		后酵	
	对照组	试验组	对照组	试验组
pH	4.28 ± 0.05	4.33 ± 0.08*	4.24 ± 0.08	4.27 ± 0.04
酒精度/% vol	11.90 ± 0.00	11.90 ± 0.00	16.80 ± 0.00	15.10 ± 0.00*
还原糖/(g/L)	37.21 ± 0.42	36.28 ± 0.04*	26.28 ± 0.46	25.92 ± 0.53
总酸(以乳酸计)/(g/L)	4.83 ± 0.19	4.35 ± 0.27*	4.95 ± 0.27	4.80 ± 0.60
氨基酸态氮/(g/L)	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.36 ± 0.01	0.37 ± 0.01

注:数值为至少 3 项独立检验的“平均值±标准差”。* 代表对照组和试验组样品之间存在显著性差异(P<0.05)。

2.5.2 挥发性风味物质 采用 HS-SPME-GC-MS 对共发酵黄酒挥发性风味物质进行分析,共检测到 63 种挥发性成分,包括 28 种酯类、12 种醇类、

11 种醛类、12 种酸类。其中,酯类、醇类、酸类和醛类是共发酵黄酒的主要挥发性成分(详见表 4)。共发酵黄酒(试验组)中酯类物质,如乙酸异戊酯、

正己酸乙酯、3-羟基丁酸乙酯、3-苯丙酸乙酯等含量明显升高。乙酸异戊酯具有明显的果香^[37],3-苯丙酸乙酯具有明显的花香和果香^[38]。这表明添加

了JH-6共发酵增加了黄酒的挥发性风味成分,并有可能增加黄酒独特的果香。

表4 共发酵对黄酒挥发性风味物质含量的影响

Table 4 Effect of co-fermentation on the content of volatile flavor compounds in Huangjiu

类别	化合物名称	CAS号	相对含量/($\mu\text{g/L}$)	
			对照组	试验组
酯类	乙酸乙酯	141-78-6	13.82 \pm 0.94	11.56 \pm 0.21*
	乙酸异丁酯	110-19-0	0.29 \pm 0.04	0.25 \pm 0.11
	丁酸乙酯	105-54-4	0.11 \pm 0.05	0.19 \pm 0.01*
	乙酸异戊酯	123-92-2	85.47 \pm 17.00	94.61 \pm 3.35*
	正己酸乙酯	628-97-7	110.53 \pm 5.37	115.41 \pm 6.11*
	乳酸乙酯	97-64-3	1.17 \pm 0.05	1.63 \pm 0.25*
	辛酸乙酯	106-32-1	0.26 \pm 0.03	0.23 \pm 0.02
	3-羟基丁酸乙酯	5405-41-4	1.66 \pm 0.26	5.02 \pm 0.59*
	甲酸辛酯	112-32-3	0.46 \pm 0.09	0.36 \pm 0.03*
	γ -丁内酯	96-48-0	0.75 \pm 0.18	1.35 \pm 0.29*
	癸酸乙酯	110-38-3	0.06 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01
	苯甲酸乙酯	93-89-0	0.04 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01*
	2-羟基戊酸乙酯	6938-26-7	0.89 \pm 0.09	1.12 \pm 0.2*
	丁二酸二乙酯	123-25-1	0.15 \pm 0.00	0.17 \pm 0.03
	甲酸玫瑰酯	105-85-1	0.34 \pm 0.01	0.34 \pm 0.04
	苯乙酸乙酯	101-97-3	3.43 \pm 0.10	4.07 \pm 0.4*
	乙酸苯乙酯	103-45-7	19.01 \pm 0.52	22.55 \pm 2.51*
	3-苯丙酸乙酯	2021-28-5	333.29 \pm 7.45	434.54 \pm 12.42*
	3-羟基辛酸乙酯	7367-90-0	0.13 \pm 0.03	0.24 \pm 0.01*
	丙位壬内酯	104-61-0	0.43 \pm 0.04	0.61 \pm 0.14*
	6-己内酯	502-44-3	0.21 \pm 0.01	0.29 \pm 0.06
	辛二酸二乙酯	2050-23-9	0.02 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00*
	棕榈酸甲酯	112-39-0	0.47 \pm 0.02	1.15 \pm 0.14*
	棕榈酸乙酯	628-97-7	0.41 \pm 0.02	0.40 \pm 0.04
	苯乙酸-2-丙烯酯	1797-74-6	0.39 \pm 0.03	0.80 \pm 0.16*
	硬酯酸甲酯	112-61-8	0.10 \pm 0.01	0.33 \pm 0.03*
亚油酸乙酯	544-35-4	0.19 \pm 0.03	0.18 \pm 0.03	
苯甲酸苄酯	120-51-4	0.02 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00*	
小计			563.91 \pm 3.12	697.77 \pm 2.15*
醇类	正丁醇	71-36-3	0.54 \pm 0.05	0.53 \pm 0.05
	异戊醇	123-51-3	130.13 \pm 6.27	136.49 \pm 7.67
	正庚醇	111-70-6	5.86 \pm 1.03	10.72 \pm 1.09*
	2-乙基己醇	104-76-7	0.05 \pm 0.01	0.12 \pm 0.02*
	(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇	24347-58-8	11.96 \pm 1.32	36.41 \pm 3.74*
	辛醇	111-87-5	0.24 \pm 0.05	4.77 \pm 0.68*
	1-环己基乙醇	4442-79-9	0.02 \pm 0.00	0.04 \pm 0.00*
	1-壬醇	143-08-8	0.29 \pm 0.00	0.35 \pm 0.06
	香茅醇	106-22-9	0.34 \pm 0.01	0.34 \pm 0.04
	橙花醇	106-25-2	1.34 \pm 0.07	2.17 \pm 0.19*
	法尼醇	4602-84-0	0.20 \pm 0.04	0.19 \pm 0.01

(续表 4)

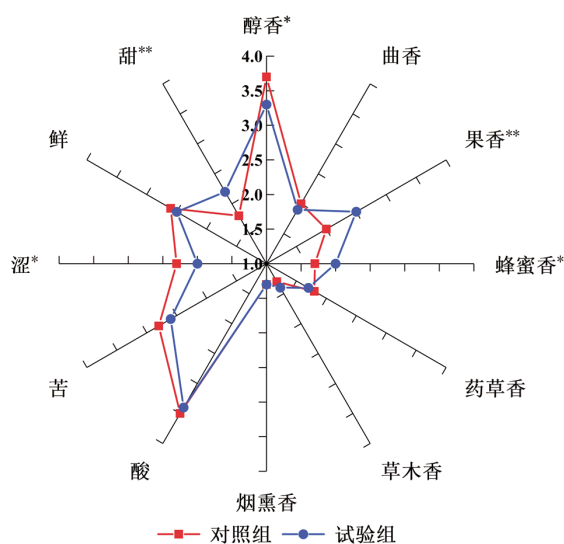
类别	化合物名称	CAS 号	相对含量/($\mu\text{g/L}$)	
			对照组	试验组
醛类	十六烷醇	36653-82-4	0.85 ± 0.05	0.87 ± 0.25
	小计		153.22 ± 1.78	$195.33 \pm 2.47^*$
	正辛醛	124-13-0	0.02 ± 0.01	$0.14 \pm 0.01^*$
	壬醛	124-19-6	2.97 ± 0.18	$0.19 \pm 0.03^*$
	癸醛	112-31-2	0.10 ± 0.02	$0.19 \pm 0.02^*$
酸类	苯甲醛	100-52-7	0.09 ± 0.00	$0.13 \pm 0.01^*$
	小计		3.18 ± 0.20	$0.65 \pm 0.13^*$
	乙酸	64-19-7	12.9 ± 1.13	$10.04 \pm 0.45^*$
	异丁酸	79-31-2	4.28 ± 0.21	4.16 ± 0.17
	异戊酸	503-74-2	0.30 ± 0.02	$0.44 \pm 0.05^*$
	2-甲基丁酸	116-53-0	0.60 ± 0.19	$1.12 \pm 0.19^*$
	2-甲基己酸	4536-23-6	0.34 ± 0.05	$0.48 \pm 0.01^*$
	正戊酸	109-52-4	1.56 ± 0.17	1.50 ± 0.18
	己酸	142-62-1	3.38 ± 0.22	$3.85 \pm 0.07^*$
	庚酸	111-14-8	6.57 ± 0.68	$5.84 \pm 0.57^*$
	辛酸	124-07-2	2.15 ± 0.22	2.92 ± 0.61
	正壬酸	112-05-0	0.15 ± 0.15	$0.56 \pm 0.02^*$
	正癸酸	334-48-5	1.94 ± 0.13	1.37 ± 0.11
	十五烷酸	1002-84-2	—	$0.03 \pm 0.01^*$
	小计		34.21 ± 2.98	31.25 ± 1.78

注:数值为至少 3 项独立检验的“平均值 \pm 标准差”;* 代表试验组与对照差异显著($P < 0.05$)。

2.5.3 感官评价 风味感官评价数据分析显示(图 8),共发酵(试验组)黄酒在感官风味特征中展现出明显的优势。在香气感官方面,蜂蜜香和果香 2 个指标明显优于对照组,与上述试验结果相符。此外,在味道感官方面,增强了甜味,降低了涩味、苦味、酸味。综上,感官评价分析结果表明,胶红酵母与酿酒酵母共发酵酿造的黄酒具有独特的风味,口感柔和、香气浓郁、酒体呈现明显的花果香味,风味品质得到明显提升。

3 结论

本研究通过从不同发酵环境样品中筛选酵母菌株,对鉴定的 9 株胶红酵母进行生长曲线、耐受性、酶活特性以及产香风味分析,确定了菌株的不同发酵特性。筛选到 1 株胶红酵母 JH-6,具备较好的酒精、低温、酸耐受力和较好的 β -葡萄糖苷酶活力,且产香性能较强。将胶红酵母 JH-6 与酿酒酵母进行共发酵,不仅能有效降低黄酒的酒精度、还原糖和总酸,还能显著提升黄酒中乙酸异戊酯、正己酸乙酯、3-羟基丁酸乙酯、3-苯丙酸乙酯



注:* 代表试验组与对照差异显著($P < 0.05$)。

图 8 共发酵对黄酒风味感官品质的影响

Fig.8 Effect of co-fermentation on the flavor sensory quality of Huangjiu

等特征香气组分的含量;共发酵黄酒具有酸甜适中、口感柔和,具有明显的花果香的特点。

参 考 文 献

- [1] CONTRERAS-RUIZ A, ALONSO-DEL-REAL J, BARRIO E, et al. *Saccharomyces cerevisiae* wine strains show a wide range of competitive abilities and differential nutrient uptake behavior in co-culture with *S. kudriavzevii* [J]. Food Microbiology, 2023, 114: 104276.
- [2] CHEN L H, LI D N, REN L X, et al. Effects of simultaneous and sequential cofermentation of *Wickerhamomyces anomalus* and *Saccharomyces cerevisiae* on physicochemical and flavor properties of rice wine[J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(1): 71-86.
- [3] QIU S, CHEN K, LIU C, et al. Non-*Saccharomyces yeasts* highly contribute to characterisation of flavour profiles in greengage fermentation[J]. Food Research International, 2022, 157: 111391.
- [4] 赵雅敏, 吴群, 徐岩, 等. 胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)及其降解氨基甲酸乙酯的研究[J]. 工业微生物, 2013, 43(5): 44-48.
- ZHAO Y M, WU Q, XU Y, et al. Study on *Rhodotorula mucilaginosa* and its degradation of ethyl carbamate[J]. Industrial Microorganisms, 2013, 43(5): 44-48.
- [5] 李爱华, 王星晨, 彭文婷, 等. 胶红酵母与酿酒酵母混合酒精发酵中酵母生长与糖苷酶动力学[J]. 西北农业学报, 2018, 27(6): 896-903.
- LI A H, WANG X C, PENG W T, et al. Kinetics of biomass and glycosidase activities during mixed alcoholic fermentation of selected *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2018, 27(6): 896-903.
- [6] 王星晨. 基于优选胶红酵母与酿酒酵母混合酒精发酵的葡萄酒增香酿造研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- WANG X C. Study on wine aroma enhancement brewing based on the mixed alcohol fermentation of *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae* [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2018.
- [7] VILLENA M A, IRANZO J F Ú, PÉREZ A I B. β -Glucosidase activity in wine yeasts: Application in enology [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(3): 420-425.
- [8] ZHONG Y X, ZOU Y K, ZHENG Z M, et al. Impact of inoculating with indigenous *Bacillus marcorestinum* YC-1 on quality and microbial communities of Yibin Yacai (fermented mustard) during the fermentation process[J]. Foods, 2022, 11(22): 3593.
- [9] 方可, 李婷, 朱艳冰, 等. β -葡萄糖苷酶和 α -L-鼠李糖苷酶对速溶绿茶粉水溶液香气的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(1): 36-44.
- FANG K, LI T, ZHU Y B, et al. Effects of β -glucosidase and α -L-rhamnosidase on the aroma of instant green tea infusion[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2019, 38(1): 36-44.
- [10] 胡江南, 高慢慢, 马立娟, 等. 葡萄酒发酵优良酵母的筛选、鉴定及应用[J]. 中国酿造, 2023, 42(7): 43-50.
- HU J N, GAO M M, MA L J, et al. Screening, identification and application of superior yeast strains for wine fermentation[J]. China Brewing, 2023, 42(7): 43-50.
- [11] ZHAO Y Z, LIU S P, YANG Q L, et al. Effects of simultaneous inoculation of non-*Saccharomyces yeasts* and *Saccharomyces cerevisiae* Jiangnan1# on overall quality, flavor compounds, and sensory analysis of Huangjiu[J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102539.
- [12] MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Chemistry, 1959, 31(3): 426-428.
- [13] 袁钰洁, 梁梓华, 侯思文, 等. 酵母混菌强化发酵提高麦曲黄酒的风味品质[J]. 中国食品学报, 2024, 24(12): 178-192.
- YUAN Y J, LIANG Z H, HOU S W, et al. Improving the brewing flavor quality of Maiqu Huangjiu by enhanced fermentation with yeast mixed-culture[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(12): 178-192.
- [14] 庄荣玉, 王如晨, 邱晓挺, 等. 胶红酵母产生生物活性物质研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 318-329.
- ZHUANG R Y, WANG R C, QIU X T, et al. Bioactive substances produced by *Rhodotorula mucilaginosa*: A comprehensive review [J]. Food Science, 2020, 41(1): 318-329.

- [15] CHEN Y R, YANG Y L, CAI W Q, et al. Research progress of anti-environmental factor stress mechanism and anti-stress tolerance way of *Saccharomyces cerevisiae* during the brewing process [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(33): 12308-12323.
- [16] YANG Y J, 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.
- [17] 吴瑞章, 陈兰, 周清丽, 等. 自然发酵猕猴桃果酒中产香酵母的筛选及发酵性能研究 [J]. *农产品加工*, 2024(20): 6-11, 16.
WU R Z, CHEN L, ZHOU Q L, et al. Screening and fermentation performance of dominant microorganism in naturally fermented kiwi wine [J]. *Agricultural Products Processing*, 2024(20): 6-11, 16.
- [18] 何静静, 杨晓宽. 板栗果酒发酵工艺优化及香气成分分析 [J]. *中国酿造*, 2023, 42(5): 212-219.
HE J J, YANG X K. Fermentation process optimization and aroma component analysis of chestnut wine [J]. *China Brewing*, 2023, 42(5): 212-219.
- [19] 盛风云, 徐俊敏, 宋科峰, 等. 发酵温度对黄酒酿造及风味物质形成影响研究 [J]. *酿酒科技*, 2021(5): 56-61.
SHENG F Y, XU J M, SONG K F, et al. Effect of low temperature on the fermentation process and flavor quality of Huangjiu [J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2021(5): 56-61.
- [20] ZHAO Y Z, LIU S P, HAN X, et al. Combined effects of fermentation temperature and *Saccharomyces cerevisiae* strains on free amino acids, flavor substances, and undesirable secondary metabolites in Huangjiu fermentation [J]. *Food Microbiology*, 2022, 108: 104091.
- [21] 赵书田, 丁波, 熊灵, 等. 产香酵母的筛选及桑葚酒发酵特性分析 [J]. *食品科技*, 2023, 48(12): 9-15.
ZHAO S T, DING B, XIONG L, et al. Screening of fragrant yeast and analysis of fermentation characteristics of mulberry wine [J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(12): 9-15.
- [22] 宰红玉, 汤有宏, 万春环. 入池酒醅酸度测定结果的不确定度评定 [J]. *酿酒*, 2018, 45(5): 3.
ZAI H Y, TANG Y H, WAN C H. Evaluation of uncertainty in the determination of acidity of fermented grains [J]. *Brewing*, 2018, 45(5): 3.
- [23] 张亭妍, 王宏雁, 刘钟栋. 一株产香酵母菌的筛选及应用于发酵馒头的研究 [J]. *中国酿造*, 2020, 39(7): 69-73.
ZHANG T Y, WANG H Y, LIU Z D. Screening of an aroma-producing yeast strain and its application in fermented steamed bread [J]. *China Brewing*, 2020, 39(7): 69-73.
- [24] 覃秋杏, 韩小雨, 黄卫东, 等. 非酿酒酵母产生的 β -葡萄糖苷酶在发酵酒中的应用研究进展 [J]. *食品科学*, 2022, 43(3): 306-314.
TAN X Q, HAN X Y, HUANG W D, et al. Research progress on the application of β -glucosidase produced by non-*Saccharomyces cerevisiae* in fermented wine [J]. *Food Science*, 2022, 43(3): 306-314.
- [25] 周林芳, 江波, 张涛, 等. 糖苷水解酶第3家族 β -葡萄糖苷酶的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(14): 330-335.
ZHOU L F, JIANG B, ZHANG T, et al. Research progress of glycoside hydrolase family 3 β -glucosidase [J]. *Food Industry Technology*, 2017, 38(14): 330-335.
- [26] 任青峰, 翁玲, 谭昊, 等. 赤水河流域酱香型白酒酿造二十四节气气候相似度研究 [J]. *酿酒科技*, 2025(7): 59-64.
REN Q F, WENG L, TAN H, et al. Study on climate similarity of twenty-four solar terms in Maotai-flavor liquor brewing in Chishui River Basin [J]. *Brewing Technology*, 2025(7): 59-64.
- [27] 刘宜睿, 魏雯丽, 苏瑶, 等. 桑葚酒用产香酵母的选育及特性分析 [J]. *食品科技*, 2022, 47(12): 1-7.
LIU Y R, WEI W L, SU Y, et al. Breeding and characterization of aroma-producing yeast for mulberry wine [J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(12): 1-7.
- [28] 王喆, 张梦思, 孙细珍, 等. 小曲清香型白酒中关键风味成分分析 [J]. *食品科学*, 2022, 43(14): 264-271.
WANG Z, ZHANG M S, SUN X Z, et al. Analysis of key flavor components in Xiaoqu Fen-flavor liquor [J]. *Food Science*, 2022, 43(14): 264-271.
- [29] ZHANG G R, LI L L, LIU J J, et al. Comparing the metabolite components of Sichuan sun vinegar and other kinds of vinegar based on non-targeted

- metabolomic[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2022, 164: 113640.
- [30] 刘兵, 张婷婷, 马飞洋, 等. 基于热空气处理的草莓果实采后挥发性成分稳定化规律动态分析[J]. *食品科学*, 2025, 46(7): 206–216.
- LIU B, ZHANG T T, MA F Y, et al. Effect of hot air treatment on maintaining volatile components in strawberry fruits during postharvest storage [J]. *Food Science*, 2025, 46(7): 206–216.
- [31] 赵雯琪. 赖茅酒特征香气成分鉴定及香与味的感知相互作用研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2023.
- ZHAO W Q. Study on the identification of characteristic aroma components and the interaction between aroma and taste perception in Laimao wine[D]. Shanghai: Shanghai University of Applied Sciences, 2023.
- [32] 杨冬莹, 张晓蒙, 张辉, 等. 不同年份黄酒中风味成分变化研究[J]. *酿酒科技*, 2024(9): 17–23.
- YANG D Y, ZHANG X M, ZHANG H, et al. Study on the changes of flavor components in different years of Huangjiu[J]. *Brewing Technology*, 2024 (9): 17–23.
- [33] 沈棚, 薛红玮. 基于 GC-IMS 不同年份黄酒挥发性风味物质分析[J]. *中国酿造*, 2023, 42(12): 237–243.
- SHEN P, XUE H W. Analysis of volatile flavor compounds in rice wines from different years based on GC-IMS[J]. *China Brewing*, 2023, 42(12): 237–243.
- [34] FERREIRA V, CULLERÉ L, LÓPEZ R, et al. Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1028(2): 339–345.
- [35] 方超, 刘治国, 乔潞, 等. 基于感官定量描述分析法和 GC-MS 对山庄老酒 3 种香型白酒挥发性特征风味的分析[J]. *食品科学*, 2023, 44(10): 291–299.
- FANG C, LIU Z G, QIAO L, et al. Quantitative sensory description analysis and GC-MS were used to analyze the volatile flavor characteristics of three kinds of flavor liquor in Shanzhuang Laojiu[J]. *Food Science*, 2023, 44(10): 291–299.
- [36] 张霞, 雷学俊, 刘芳, 等. 五粮液车间空气中的特征酵母菌及其挥发性风味物质分析[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(17): 242–249.
- ZHANG X, LIE X J, LIU F, et al. Analysis of characteristic yeasts and volatile flavor compounds in the air of Wuliangye workshop[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2021, 47(17): 242–249.
- [37] 刘佳明, 吴国锋, 卿纯, 等. 百合酒酿造适宜发酵剂筛选[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1–10. (2025-01-08)[2025-01-25]. <https://link.cnki.net/doi/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.041432>.
- LIU J M, WU G F, QING C, et al. Screening of suitable starter cultures for lily wine brewing[J/OL]. *Food and Fermentation Industry*: 1–10. (2025-01-08)[2025-01-25]. <https://link.cnki.net/doi/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.041432>.
- [38] 陈淑钧, 刘亚楠, 翁佩芳, 等. 不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜细菌群落结构和挥发性风味物质的影响[J]. *中国食品学报*, 2024, 24(11): 310–324.
- CHEN S J, LIU Y N, WENG P F, et al. Effects of different lactic acid bacteria inoculation and fermentation on bacterial community structure and volatile flavor compounds of pickled snow vegetables [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(11): 310–324.

Isolation and Screening, Aroma-Producing Characteristics of *Rhodotorula mucilaginosa* and Application in Huangjiu

ZHANG Defu¹, YU Mengzhu^{1,2}, LI Changpeng³, WANG Shengxiao³, LIU Xiaochen⁴, FENG Zhangyi^{1,2}, FANG Song^{1,2}, ZHAO Yuzong^{2*}

¹College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121000, Liaoning

²Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266000, Shandong

³Shandong Tobacco Industry Co., Ltd., Jinan 250000

⁴Qingdao Beverage Group Co., Ltd., Qingdao 266000, Shandong)

Abstract Objectives: To obtain a stable *Rhodotorula mucilaginosa* with excellent aroma production for enhancing the flavor quality of Huangjiu fermentation. Methods: The optimal fermentation strains were selected from nine isolates by analyzing tolerance, β -glucosidase activity and aroma production characteristics, and co-fermented with *Saccharomyces cerevisiae* to investigate the effect of co-fermentation on the flavor quality of Huangjiu. This study further used headspace solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in combination with sensory evaluation and physicochemical indexes to investigate the effect of co-fermentation on the flavor quality of Huangjiu. Results: Nine strains of *R. mucilaginosa* were identified and screened. All strains grew well under the conditions of 10–35 °C and pH 5.0–6.5, with good low temperature and acid tolerance and high β -glucosidase enzyme activity (253.7–492.2 U/mL), and the ethanol tolerance of different strains varied greatly. The content of alcohol, aldehyde, acid and ester in the fermentation broth of JH-6 strain was significantly higher than that of other strains, and it had good aroma-producing performance. The co-fermentation of *R. mucilaginosa* JH-6 and *S. cerevisiae* with Huangjiu conformed to the national standard GB/T 13662—2018 of Huangjiu, and compared with the Huangjiu produced without inoculation of JH-6, the alcoholic strength was lowered, the content of ester was increased, the texture was soft and harmonious, the aroma of flowers and fruits was prominent, and the flavor quality was obviously improved. The flavor quality of the wine was significantly improved with the prominent aroma. Conclusion: In this study, *R. mucilaginosa* was systematically screened and evaluated, and a strain JH-6 with good tolerance and optimal aroma production characteristics was obtained, and the flavor quality of Huangjiu was improved by co-fermentation of this bacterium with *S. cerevisiae*, and the study provides technological support for the application of *R. mucilaginosa* in the fermentation of Huangjiu.

Keywords *R. mucilaginosa*; screening; aroma-producing characteristics; Huangjiu co-fermentation; flavor quality