

DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20230156

数字出版日期: 2024-04-17; 数字出版网址: <https://link.cnki.net/urlid/12.1355.N.20240416.1637.004>

鲁氏结合酵母与酿酒酵母顺序发酵对米酒发酵性能及 关键香气物质的影响

崔荣荣, 刘学礼, 乔赫梁, 王其峰, 姚云平, 赵国忠
(食品营养与安全国家重点实验室, 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 以鲁氏结合酵母 (*Zygosaccharomyces rouxii*) SC01 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) GJM、VIC 为研究对象, 采用不同顺序接种方式进行米酒发酵, 监测发酵过程中菌落数、理化指标的变化和发酵结束时挥发性化合物的差异。结果表明: 与单菌发酵相比, 鲁氏结合酵母的菌落数在顺序接种中有不同程度的减少, 在 SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组表现更为明显。在发酵过程中, 随着酿酒酵母的添加, 还原糖和糖度迅速降低, 酒精度迅速升高。此外, 米酒的香气特征也有显著增强。实验组的关键醇、酯和醛含量较商业米酒有明显提高, 尤其是 SC01 + 48hVIC 发酵组。因此, 鲁氏结合酵母与酿酒酵母顺序接种策略可以提高米酒的发酵性能并改善风味, 为米酒的新产品开发提供新思路。

关键词: 米酒; 鲁氏结合酵母; 酿酒酵母; 顺序发酵; 理化指标; 香气化合物

中图分类号: TS261.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2024)04-0015-11

Effects of Sequential Fermentation of *Zygosaccharomyces rouxii* and *Saccharomyces cerevisiae* on Fermentation Performance and Key Aroma Substances of Rice Wine

CUI Rongrong, LIU Xueli, QIAO Heliang, WANG Qifeng, YAO Yunping, ZHAO Guozhong
(State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, College of Food Science and Engineering,
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: *Zygosaccharomyces rouxii* SC01 and *Saccharomyces cerevisiae* GJM and *Saccharomyces cerevisiae* VIC were taken as the research subjects in our present study. Rice wine fermentation was carried out with the use of different sequential inoculation methods, and the changes in the number of colonies, physical and chemical indicators during the fermentation process and the differences in volatile compounds at the end of fermentation were monitored. The results showed that compared with single bacterial fermentation, the colony number of *Z. rouxii* decreased to varying degrees during sequential inoculation, and was more pronounced in the SC01 + 48hGJM and SC01 + 24hVIC fermentation group. During fermentation, with the addition of *S. cerevisiae*, the reducing sugar and sugar content of rice wine decreased rapidly, while the alcohol content increased rapidly. In addition, the aroma characteristics of rice wine were significantly enhanced. The content of key alcohols, esters and aldehydes in the experimental group was significantly higher than that in the commercial sample, especially SC01 + 48hVIC fermentation group. In conclusion, the sequential inoculation strategy of combined *Z. rouxii* and *S. cerevisiae* can improve the fermentation performance and flavor of rice wine, thus providing a new idea for the development of new products of rice wine.

Key words: rice wine; *Zygosaccharomyces rouxii*; *Saccharomyces cerevisiae*; sequential fermentation; physical and chemical indicators; aromatic compounds

收稿日期: 2023-08-21; 修回日期: 2023-11-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32272458)

作者简介: 崔荣荣 (1998—), 女, 陕西人, 硕士研究生; 通信作者: 赵国忠, 教授, zhaoguozechong@tust.edu.cn

引文格式:

崔荣荣,刘学礼,乔赫梁,等. 鲁氏结合酵母与酿酒酵母顺序发酵对米酒发酵性能及关键香气物质的影响[J]. 天津科技大学学报, 2024, 39(4): 15-25.

CUI R R, LIU X L, QIAO H L, et al. Effects of sequential fermentation of *Zygosaccharomyces rouxii* and *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation performance and key aroma substances of rice wine[J]. Journal of Tianjin university of science & technology, 2024, 39(4): 15-25.

米酒作为起源最早的酒类之一,在中国具有重要地位。米酒因其酒精含量低、营养价值高而广受消费者的青睐^[1]。米酒通常以糯米、大米、小米为原料,经糖化、液化和酒精发酵酿造而成^[2]。商业酿酒酵母具有合成乙醇速率高、发酵过程易于控制等特点被广泛应用在米酒的工业生产。但是,单一酿酒酵母菌种发酵,米酒风味不够饱满,在一定程度上影响消费者的接受程度^[3]。非酿酒酵母在发酵体系中发生复杂的生化反应,形成 β -葡萄糖苷酶、酯类和其他的有益代谢物,可以用来提升酒类产品的风味^[4]。近年来,通过非酿酒酵母与酿酒酵母协同发酵,从而调节米酒香气特征,成为改善工业米酒寡淡风味的有效手段之一^[5]。

非酿酒酵母属包括毕赤酵母属(*Pichia*)^[6]、抱汉逊酵母属(*Hanseniaspora*)^[7]、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)和抱圆酵母属(*Torulaspora*)^[8]。通过分析不同非酿酒酵母与酿酒酵母共发酵对米酒发酵性能的影响发现,非酿酒酵母通过改变酒中关键风味物质的构成和含量(高级醇、乙酯、萜烯类和含硫化物)调节酒类的风味。例如,耐热克鲁维酵母与酿酒酵母共发酵可以提高2-苯乙醇、乙酸异戊酯、乳酸乙酯和萜烯类化合物的含量^[9]。异常威克汉姆酵母与酿酒酵母共发酵可以提高高级醇和总酯的含量^[10]。目前,鲁氏结合酵母被大量应用于酱油发酵中,其在酿酒方面的研究很少被提及,鲁氏结合酵母的高级醇和酯的代谢特性使其有望成为酿酒的潜在菌株^[11]。

随着混菌发酵研究的进一步深入,不同的接种策略也会对酒类产品产生影响。有研究^[12-14]表明,在非酿酒酵母和酿酒酵母混菌发酵过程中,非酿酒酵母在发酵前期对米酒的挥发性香气和感官特性有重大影响。随着营养物质的消耗和酿酒酵母产乙醇量的增加,非酿酒酵母的生长和代谢迅速被抑制。因此,通过开发新型的发酵工艺,充分释放发酵过程中非酿酒酵母的发酵潜力或将成为米酒品质提升的关键。

本实验以鲁氏结合酵母和两株酿酒酵母为研究对象,采用不同的顺序接种方式进行米酒发酵,动态监测发酵过程中菌落数、理化指标的变化和发酵结束

时挥发性化合物的差异,分析关键香气物质与微生物代谢之间的关系,为酿造米酒品质提升提供新的技术方案。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与菌株

大米购自重庆市,选农家自种天然、无农药、无化肥的优质大米用于酿造米酒。100 g 大米中含碳水化合物 77.60 g、蛋白质 6.76 g、脂肪 1.18 g。

商业样品(商业米酒)购于天津市滨海新区明耀超市。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) GJM 为本实验室保藏的本土酿酒酵母,筛选自内蒙古民间酸奶。商业酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) VIC 和鲁氏结合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*) SC01 由安琪酵母股份有限公司提供。

1.1.2 试剂与仪器

α -淀粉酶(20 000 U/g)、糖化酶(100 000 U/g)、蛋白酶(100 000 U/g),安琪酵母股份有限公司;3,5-二硝基水杨酸(分析纯),上海吉至生化科技有限公司;氢氧化钠(分析纯),天津市风船化学试剂科技有限公司;酒石酸钾钠(分析纯),天津基准化学试剂有限公司;结晶酚(分析纯),上海泰坦科技股份有限公司;亚硫酸氢钠(分析纯),天津市富宇精细化工有限公司;酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YPD)、WL 营养琼脂固体基础培养基、蛋白胨均为生物试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司;异丁醇、正丁醇、乙缩醛二乙醇、异戊醇、2-甲基丁醇、(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸丁酯、丁酸丁酯、苯乙醇乙酸酯、癸酸乙酯、棕榈酸乙酯、棕榈酸甲酯、辛酸乙酯、乙醛、壬醛、癸醛等标准品,阿拉丁试剂(上海)有限公司。

ZHJH-C1115C 型超净工作台、ZWY-100H 型恒温振荡培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;ZQZY-AF8ES 型振荡培养箱,上海知楚仪器有限公司;DY04-13-44-00 型立式压力蒸汽灭菌锅,上海东

亚压力容器制造有限公司; MTZ18H009 型离心机, 美国贝克曼库尔特有限公司; H1750R 型高速台式冷冻离心机, 湘仪离心机仪器有限公司; QP2010Ultra 型气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪, 日本岛津公司; UV-1800 型紫外-可见分光光度计, 上海安谱实验科技股份有限公司; 固相微萃取头(50/30 μm DVB/CAR/PDMS), 美国 Supelco 公司; pH 计, 梅特勒-托利多(上海)有限公司; 糖度仪, 上海淋誉贸易有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 米酒发酵

采用鲁氏结合酵母 SC01 和酿酒酵母 GJM、VIC 按照 1 : 1 进行顺序混菌发酵米酒。发酵模式为:

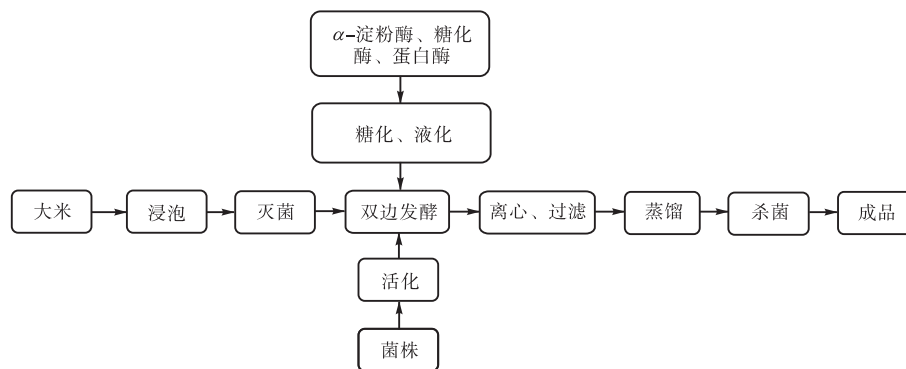


图 1 米酒的酿造工艺

Fig. 1 Brewing technology of rice wine

菌株活化: 取保存于 -80°C 甘油管的菌株接种于 100 mL YPD 液体培养基中, 在 30°C 、120 r/min 恒温培养 24 h, 使培养基中细胞达到对数期, 传代 2 次备用。吸取 2 mL 菌液置于离心管中, 10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 用无菌水清洗菌体, 重复 2~3 次, 添加至大米汁中, 30°C 恒温培养箱静置培养。每天定时取样, 测定细胞数; 发酵液经 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 测定还原糖和糖度; -4°C 、8 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 测定酒精度。实验均重复 3 次。

1.2.2 酵母菌落数的测定

酵母菌落数采用平板计数法测定^[15]。在酵母计数前, 先使用无菌水进行梯度稀释, 将 50 μL 不同浓度的菌液均匀涂布在 YPD 固体平板上, 30°C 恒温培养 48 h, 计数时选择菌落数在 30~300 之间的平板, 平行实验 3 次。

单菌发酵体系: 使用 YPD 固体培养基进行计数。

混菌发酵体系: 使用 WL 固体培养基^[16]进行鲁氏结合酵母和酿酒酵母的区分, 根据酵母的颜色和形

态进行区分。SC01 + 24hGJM、SC01 + 48hGJM, 即先接种鲁氏结合酵母 SC01, 再分别间隔 24 h、48 h 接种酿酒酵母 GJM; SC01 + 24hVIC、SC01 + 48hVIC, 即先接种鲁氏结合酵母 SC01, 再分别间隔 24 h、48 h 接种酿酒酵母 VIC。

米酒的酿造工艺如图 1 所示。将大米洗净后浸泡在清水中 12 h, 使其充分吸水; 沥干后, 将 25 g 大米和 50 mL 蒸馏水添加到 250 mL 锥形瓶中, 121°C 灭菌 20 min; 灭菌结束后加入 100 mL 灭菌水, 使料液比达到 1 : 6, 同时添加酶制剂和菌种(接种量为 10^6 CFU/mL)进行双边发酵, 其中 α -淀粉酶 0.10%、糖化酶 0.20%、蛋白酶 0.05% (添加量以大米干质量为基准)。

态进行区分。

1.2.3 理化指标的测定

使用 pH 计测定发酵液的 pH。发酵液的还原糖含量用 DNS 法测定^[17]。发酵液的总酸和酒精度根据 GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》测定。糖度测定使用便携式折光仪。

1.2.4 挥发性化合物的测定

米酒发酵所产生的挥发性风味物质使用顶空固相微萃取的方法进行测定^[18]。首先, 将发酵完成的米酒 2 mL 和内标 2-辛醇 50 μL 置于顶空瓶中, 然后将顶空瓶放置在带有磁力搅拌器的加热装置上, 60°C 、120 r/min 平衡 20 min, 再将老化完的 50/30 μm DVB/CAR/PMDS 萃取头暴露在顶空瓶液体上方的空间中, 吸附 30 min。萃取完成后, 通过气相色谱-质谱法(GC-MS)分析挥发性化合物。

气相色谱条件参考 Zhou 等^[19]的方法。气相色谱条件: 40°C 持续 3 min, 然后以 $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速率上升至 150°C 并保持 1 min, 以 $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速率上升至 250°C 并保持 6 min; 载气为氦气; 进样温度

为 250 ℃; 时间为 1 min。质谱条件: 离子源温度 200 ℃, 扫描范围 33 ~ 500 m/z , 电子能量 70 eV, 扫描速率 3.00 次/s。

定性方法: 选取相似度 $\geq 80\%$ 的化合物, 根据 NIST11 数据库进行检索, 并结合离子碎片及保留指数进行定性。

定量方法: 没有标准品的化合物采用 2-辛醇作为内标物质进行半定量, 按式(1)计算挥发性风味物质的质量浓度。

$$\rho_x = A_x \rho_s / A_s \quad (1)$$

式中: ρ_x 为目标未知物质的质量浓度 (mg/L), A_x 为目标未知物质的峰面积, A_s 为内标物质的峰面积, ρ_s 为内标物质的质量浓度 (mg/L)。

异丁醇、正丁醇等 18 种有标准品的化合物用外标标准曲线法^[20]并加以修改进行准确定量。采用选择离子法计算各化合物的峰面积, 以化合物与内标物的峰面积比为横坐标、质量浓度比为纵坐标, 建立标准曲线进行定量, 在相同条件下重复测定 3 次。

气味活性值 (odor activity value, OAV), 用符号 V_{OA} 表示, 根据特定风味物质的含量与其在水中的阈值的比值计算^[21], 如式(2)所示。

$$V_{OA} = \rho_x^* / T_x \quad (2)$$

式中: ρ_x^* 为外标标准曲线法定量目标未知物质的质量浓度 (mg/L), T_x 为该化合物在溶剂中的嗅觉阈值

(mg/L)。

1.2.5 感官分析

采用定量描述性分析 (QDA) 对米酒样品的感官特性进行分析^[22]。感官评价成员由天津科技大学 10 名年龄在 21 ~ 40 岁之间的人员 (5 名女性和 5 名男性) 组成, 感官评价成员均已经过 150 h 以上的培训。共使用 6 种不同属性的试剂表征感官特性: 乙醇 (醇香)、乙酸 (酸味)、乙酸乙酯 (苹果味)、乙酸丁酯 (香蕉味)、苯乙醇 (花香味、甜味) 和 2-乙酰-1-吡咯啉 (米香)。每个样本均用 3 个随机数编码。样品的风味强度从 1 (最低强度) 至 9 (最高强度) 进行评分, 结果均用平均值表示。

1.3 数据处理

所有实验均设置 3 组平行, 所得数据通过 IBM SPSS Statistics 20 单因素检验并进行差异显著性分析。采用 Excel 2019 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 发酵米酒过程中酵母菌菌落数的变化

米酒发酵过程中微生物的菌落数与其发酵能力有一定的相关性^[10]。菌种的生物量用每毫升中菌落数的常用对数表示。不同接种方式发酵米酒过程中菌落数的变化如图 2 所示。

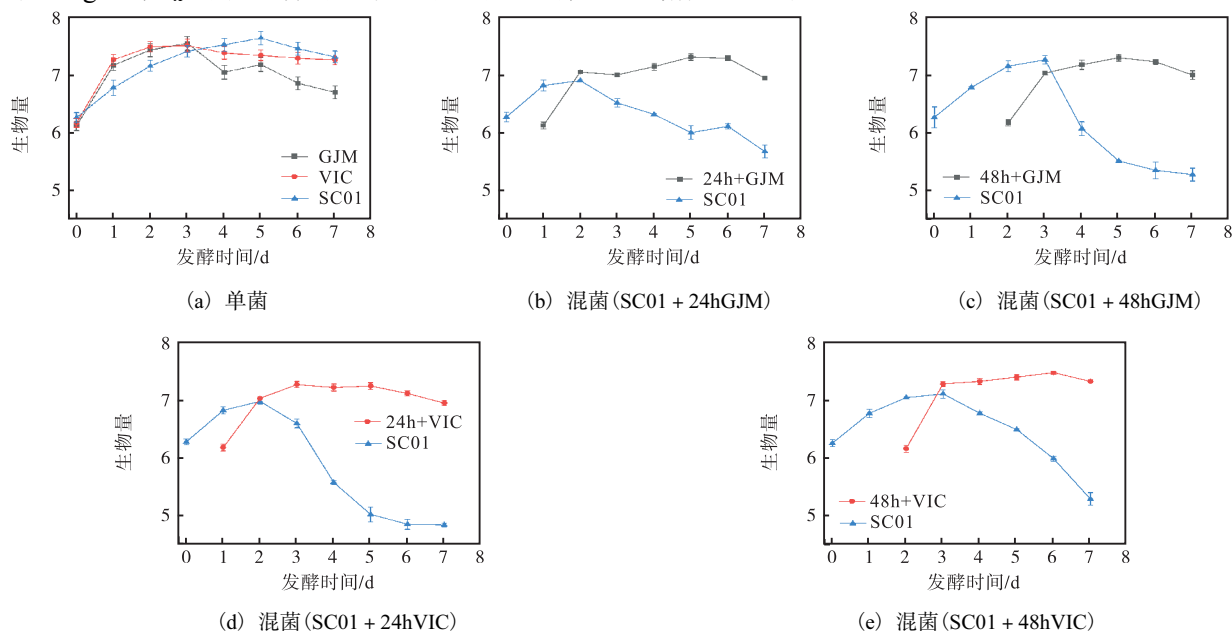


图 2 不同接种方式发酵米酒过程中菌落数的变化

Fig. 2 Changes in the number of bacterial colonies during the fermentation of rice wine with different inoculation methods

由图 2(a)可以看出, 在单菌发酵米酒过程中, 酿酒酵母 GJM 和 VIC 在发酵第 1 天菌落数的增长速

度比鲁氏结合酵母 SC01 快, 第 3 天生物量分别达到最大值 7.55 和 7.51, 之后呈现下降趋势, 而鲁氏结合

酵母在发酵第 5 天达到最大值 7.64, 之后呈现下降的趋势, 表明大米体系中的糖类营养物质已消耗完, 菌株受到抑制。酿酒酵母 GJM 和 VIC 的菌落数在前 3 d 高于 SC01 的, 而在发酵后期则恰好相反。由图 2(b) 一图 2(e) 可知, 在顺序接种发酵米酒过程中 SC01 的生物量分别在发酵前 2 d 和前 3 d 明显增加并达到最大值, SC01 + 24hGJM、SC01 + 48hGJM、SC01 + 24hVIC 和 SC01 + 48hVIC 发酵组的生物量分别为 6.89、7.25、6.96 和 7.11, 然后生物量呈下降趋势, 并且相比单菌发酵下降得更迅速, 这一结果不仅说明发酵后期营养物质不足, 还说明鲁氏结合酵母在与酿酒酵母相互作用过程中处于劣势。这可能是酿酒酵母对非酿酒酵母的抑制和干扰, 如有毒代谢物、

营养竞争、细胞与细胞接触等^[22]。根据现有研究^[23]发现, 一些酿酒酵母菌株也会分泌抗菌肽抑制非酿酒酵母的生长。酿酒酵母在后期发酵过程中菌落数并未发生明显变化, 而鲁氏结合酵母菌落数则快速下降, 这种现象可归因于酿酒酵母产生的酒精及其具有较强的抗胁迫能力^[24]。SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组相比于 SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组米酒体系中鲁氏结合酵母菌落数的抑制程度更为严重。

2.2 发酵米酒过程中理化指标的动态变化

不同顺序接种方式发酵米酒过程中的还原糖、酒精度和糖度, 以及发酵结束后的 pH 和可滴定酸如图 3 和表 1 所示。

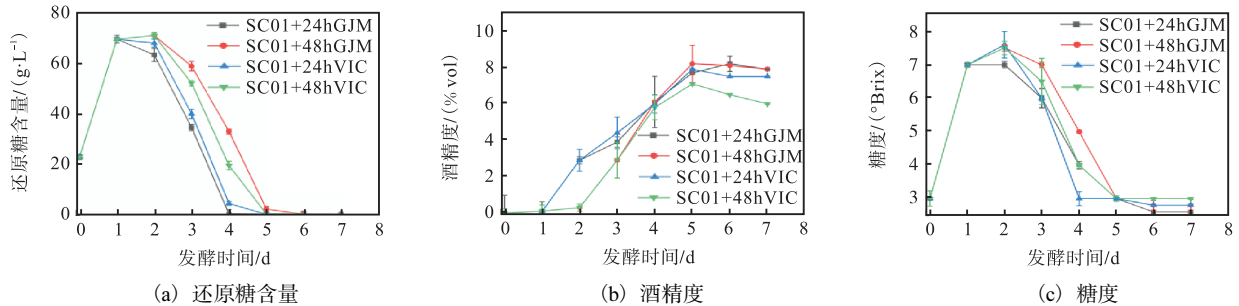


图 3 不同顺序接种方式发酵米酒过程中理化指标的变化

Fig. 3 Changes in physical and chemical indicators during the fermentation of rice wine with different sequential inoculation methods

随着酿酒酵母 GJM 和 VIC 的添加, 酒精度快速升高。从图 3(a) 可以看出, 第 3 天 SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组还原糖含量分别为 59.24 g/L 和 52.48 g/L, 明显高于 SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组, 与图 3(b) 酒精度相反。这说明非酿酒酵母不具备最佳的酒精发酵能力, 需要与酿酒酵母共接种发酵^[25]。图 3(c) 糖度的变化趋势和还原糖保持一致。此外, 米酒的酒精度 $\geq 0.5\%$ vol, 符合 NY/T 1885—2017《绿色食品 米酒》标准要求。

表 1 不同顺序接种方式发酵米酒样品理化指标分析

Tab. 1 Analysis of physical and chemical indexes of fermented rice wine samples with different sequential inoculation methods

种类	pH	可滴定酸含量/(g·L ⁻¹)
SC01 + 24hGJM	3.99 ± 0.01 ^b	1.90 ± 0.03 ^c
SC01 + 48hGJM	4.25 ± 0.02 ^a	3.17 ± 0.11 ^a
SC01 + 24hVIC	4.04 ± 0.01 ^b	2.42 ± 0.21 ^b
SC01 + 48hVIC	4.28 ± 0.03 ^a	2.31 ± 0.12 ^b

注: 数据为平均值 ± 标准偏差, 在 95% 置信水平下, 具有相同字母的同一列中的平均值没有显著差异 (Duncan's test)。

酸度对于调节米酒的平衡发挥着重要作用, 不同顺序接种方式对米酒的 pH 和可滴定酸有不同的影

响。SC01 + 24hGJM 发酵组的 pH 低于其他组, 而 SC01 + 48hGJM 发酵组的可滴定酸含量高于其他组。米酒的酸度在 1 ~ 3 g/L, 符合 NY/T 1885—2017《绿色食品 米酒》标准要求。

2.3 发酵米酒的挥发性风味物质

表 2 显示了不同接种顺序发酵米酒的挥发性化合物, 一共检测出 47 种挥发性化合物, 包括 13 种醇类物质、23 种酯类物质、4 种醛类物质、2 种酸类物质、1 种烷烃类物质和 4 种其他物质。不同顺序接种方式发酵米酒和商业米酒都表现出挥发性化合物含量和种类的差异。顺序接种发酵米酒的挥发性化合物显著高于商业米酒 ($P < 0.05$), SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组较 SC01 + 24hVIC 和 SC01 + 48hGJM 发酵组挥发性风味物质的丰富度更高。在米酒发酵过程中, 原料经淀粉酶、糖化酶等各种酶制剂转化为糖类物质, 微生物利用这些糖类物质生成酒精、二氧化碳和甘油等。这些生成物将会被作为酒精发酵的反应物或中间产物继续经过一系列复杂的生化反应, 发酵产生各种挥发性香气物质, 如醇、酯、醛、酸、酮和酚等, 还有一些微量物质也会影响米酒

的感官特征。

表 2 不同顺序接种方式发酵米酒样品中的挥发性化合物
Tab. 2 Volatile compounds in fermented rice wine samples by different sequential inoculation methods

物质类别	序号	中文名称	质量浓度/(mg·L ⁻¹)				
			SC01 + 24hGJM	SC01 + 48hGJM	SC01 + 24hVIC	SC01 + 48hVIC	商业米酒
醇类	1	乙醇	16.228 3 ± 1.186 5 ^c	21.142 6 ± 1.006 7 ^b	13.484 6 ± 1.398 6 ^c	38.789 1 ± 2.029 8 ^a	8.335 5 ± 0.203 8 ^d
	2	乙缩醛二甲醇	0.023 3 ± 0.005 8 ^a	0.044 2 ± 0.007 3 ^a	0.039 5 ± 0.002 3 ^a	—	—
	3	1,3-戊二醇	0.107 2 ± 0.017 0 ^a	—	—	0.215 1 ± 0.057 4 ^a	—
	4	异丁醇*	0.831 2 ± 0.010 1 ^c	1.077 6 ± 0.334 0 ^b	1.000 1 ± 0.022 1 ^b	1.719 0 ± 0.056 2 ^a	0.356 7 ± 0.012 3 ^d
	5	正丁醇*	1.002 1 ± 0.121 2 ^b	0.793 2 ± 0.031 1 ^c	0.296 0 ± 0.043 8 ^d	10.783 4 ± 0.104 2 ^a	0.216 8 ± 0.025 4 ^d
	6	乙缩醛二乙醇*	0.102 3 ± 0.002 7 ^a	0.116 3 ± 0.027 7 ^a	0.090 1 ± 0.022 1 ^a	—	—
	7	异戊醇*	1.427 1 ± 0.195 6 ^d	2.931 8 ± 0.075 6 ^a	1.403 1 ± 0.406 2 ^d	1.762 1 ± 0.027 2 ^b	1.502 8 ± 0.020 7 ^c
	8	2-甲基丁醇*	0.489 9 ± 0.004 3 ^a	—	0.490 1 ± 0.043 3 ^a	—	—
	9	(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇*	—	0.044 0 ± 0.001 1 ^c	—	0.256 1 ± 0.012 1 ^a	0.128 3 ± 0.001 2 ^b
	10	正己醇	—	—	—	0.055 1 ± 0.001 1 ^a	—
	11	苯乙醇*	1.030 8 ± 0.030 8 ^c	1.338 1 ± 0.066 2 ^b	0.628 4 ± 0.013 3 ^d	1.146 9 ± 0.020 1 ^c	2.386 2 ± 0.100 8 ^a
	12	DL-薄荷醇	—	—	—	0.010 9 ± 0.002 3 ^a	—
	13	β-桉叶醇	—	—	—	—	0.017 3 ± 0.002 3 ^a
酯类	1	乙酸乙酯*	3.951 7 ± 0.013 3 ^b	3.931 8 ± 0.027 1 ^b	4.540 8 ± 0.043 3 ^a	3.173 3 ± 0.088 8 ^c	0.449 8 ± 0.054 2 ^d
	2	乙二醇乙醚醋酸酯	—	—	—	—	0.015 7 ± 0.021 0 ^a
	3	丁酸乙酯	0.023 2 ± 0.001 2 ^c	0.124 3 ± 0.001 2 ^b	0.054 7 ± 0.003 1 ^c	0.574 1 ± 0.018 7 ^a	0.156 0 ± 0.076 1 ^b
	4	乙酸丁酯*	0.053 9 ± 0.010 2 ^c	0.035 7 ± 0.011 1 ^c	0.043 1 ± 0.003 1 ^c	0.519 4 ± 0.021 2 ^a	0.164 6 ± 0.022 3 ^b
	5	乙酸异戊酯	0.038 3 ± 0.002 1 ^a	0.035 7 ± 0.000 1 ^a	0.043 6 ± 0.000 5 ^a	0.073 9 ± 0.000 3 ^a	0.035 6 ± 0.001 1 ^a
	6	丁酸丁酯*	—	—	—	0.035 8 ± 0.010 1 ^a	0.015 5 ± 0.001 1 ^a
	7	DL-白氨酸乙酯	0.017 0 ± 0.000 2 ^a	—	—	0.068 4 ± 0.000 7 ^a	—
	8	苯乙醇乙酸酯*	0.279 9 ± 0.005 8 ^b	0.284 7 ± 0.000 3 ^b	0.455 4 ± 0.000 2 ^a	—	—
	9	癸酸乙酯*	1.092 3 ± 0.020 1 ^a	—	—	1.328 3 ± 0.002 1 ^a	—
	10	月桂酸乙酯	0.165 6 ± 0.000 1 ^a	—	—	—	—
	11	十四酸乙酯	0.187 7 ± 0.001 9 ^a	0.043 6 ± 0.003 1 ^b	—	—	—
	12	十五碳酸乙酯	2.047 3 ± 0.000 2 ^a	—	—	—	—
	13	棕榈酸乙酯*	1.159 6 ± 0.001 8 ^b	0.349 3 ± 0.000 1 ^c	1.299 4 ± 0.001 3 ^b	2.239 3 ± 0.003 1 ^a	0.138 3 ± 0.012 3 ^d
	14	油酸乙酯	0.133 0 ± 0.002 1 ^b	0.325 2 ± 0.002 1 ^a	0.106 8 ± 0.000 2 ^b	0.298 1 ± 0.000 3 ^a	—
	15	十七烷酸乙酯	0.340 3 ± 0.002 1 ^a	—	—	—	—
	16	十八碳二烯-[9,12]-酸乙酯	0.171 7 ± 0.003 1 ^b	—	—	0.313 2 ± 0.001 2 ^a	—
	17	反油酸乙酯	0.193 5 ± 0.000 2 ^a	—	—	—	0.052 3 ± 0.003 2 ^b
	18	十八碳酸乙酯	0.091 5 ± 0.000 3 ^b	—	0.227 0 ± 0.000 1 ^a	0.096 5 ± 0.000 3 ^b	—
	19	棕榈酸甲酯*	—	0.015 1 ± 0.000 2 ^a	—	0.140 3 ± 0.002 1 ^a	—
	20	辛酸乙酯*	—	—	—	0.134 0 ± 0.003 8 ^a	0.006 1 ± 0.003 1 ^b
	21	辛酸正丁酯	—	—	—	0.076 3 ± 0.003 1 ^a	—
	22	癸酸丁酯	—	—	—	0.128 2 ± 0.032 1 ^a	—
	23	水杨酸三甲环己酯	—	0.039 2 ± 0.001 1 ^a	—	—	—
醛类	1	乙醛*	0.063 2 ± 0.001 1 ^c	0.131 0 ± 0.002 1 ^b	0.157 7 ± 0.211 3 ^a	—	—
	2	金合欢基乙醛	—	—	—	—	—
	3	壬醛*	0.023 8 ± 0.001 2 ^a	—	0.039 3 ± 0.003 5 ^a	0.025 6 ± 0.001 1 ^a	0.020 0 ± 0.001 2 ^a
	4	癸醛*	—	0.044 4 ± 0.001 1 ^b	—	0.054 1 ± 0.000 2 ^a	0.023 2 ± 0.010 1 ^c
酸类	1	乙酸	0.198 8 ± 0.002 1 ^b	0.076 9 ± 0.003 4 ^b	0.020 1 ± 0.021 0 ^c	1.373 5 ± 0.043 1 ^a	0.040 3 ± 0.000 1 ^b
	2	丁酸	—	0.117 2 ± 0.340 1 ^b	—	0.176 2 ± 0.035 2 ^a	—
烷烃类	1	十一烷	0.083 8 ± 0.004 1 ^b	0.108 7 ± 0.032 1 ^a	0.103 6 ± 0.010 1 ^a	0.070 1 ± 0.003 1 ^b	0.051 5 ± 0.002 2 ^c
其他物质	1	(S)-2-氨基-N-乙基丙酰胺	0.082 9 ± 0.003 9 ^b	0.092 6 ± 0.030 2 ^b	0.085 4 ± 0.023 1 ^b	0.176 2 ± 0.001 2 ^a	0.053 4 ± 0.006 1 ^c
	2	2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环	—	—	—	—	0.039 0 ± 0.004 1 ^a
	3	3-羟基-2-丁酮	—	—	—	—	0.019 5 ± 0.000 7 ^a
	4	3-乙基-2,2-二甲基环氧乙烷	—	—	0.070 5 ± 0.031 2 ^a	—	—

注:所示数值代表 3 份样品的平均水平(数据为平均值 ± 标准偏差),在 95% 置信水平下,具有相同字母的同一行中的平均值没有显著差异(Duncan's test);—表示未检出,*表示用外标标准曲线对挥发性物质进行定量分析。

在米酒风味中发挥首要作用的化合物为高级醇,其次是酯类、酸类和醛类,主要是这4类物质调节米酒的风味特征^[26]。

高级醇是米酒风味的重要贡献物质之一,在合成高级醇的过程中,首先由原料中的氨基酸转氨形成中间体 α -酮酸,随后通过脱羧成醛,然后被酵母细胞还原成高级醇,即 Ehrlich 途径^[26]。在不同接种方式发酵的米酒中,一共检测出13种醇类,提供香气的主要物质为异丁醇、正丁醇、异戊醇、苯乙醇。异丁醇和正丁醇主要提供杂醇油和醇香,苯乙醇主要提供玫瑰香、蜂蜜香、桃香^[27]。异丁醇和正丁醇在 SC01 + 48hVIC 发酵组中含量最高,分别为 1.719 0 mg/L 和 10.783 4 mg/L。异戊醇主要提供苹果白兰地香气、香辛料味和焦香,在 SC01 + 48hGJM 发酵组中含量最高,达到 2.931 8 mg/L。

酯类是米酒花香味和果香味的贡献者,主要通过高级醇发生酯化反应生成,如乙酸异戊酯、苯乙醇乙酸酯分别由异戊醇和 2-苯乙醇生成。研究^[27]表明,乙酸酯比脂肪酸酯对米酒的香气影响更明显。乙酸乙酯作为米酒中较为重要的酯类之一,低含量的乙酸乙酯(<150 mg/L)能给米酒带来愉悦的果香^[27]。通过检测发现,不同顺序接种发酵米酒的乙酸乙酯含量在 3.173 3 ~ 4.540 8 mg/L 之间,对米酒的风味产生积极的影响。乙酸乙酯在 SC01 + 24hVIC 发酵组中含量达到最大值 4.540 8 mg/L,比商业米酒提高了 9.1 倍,极大地提高了米酒宜人的香气,而在 SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组中其他脂肪酸酯较多。

醛类物质主要是由脂肪酸氧化和微生物发酵降解氨基酸产生,低浓度的醛类物质可以提供给米酒果香的气味^[30]。在发酵米酒过程中主要检测出了乙醛、金合欢基乙醛、壬醛和癸醛 4 种醛类。在 SC01 + 24hVIC 发酵组中乙醛含量为 0.157 7 mg/L,较其他组高。

酸类物质在米酒中起平衡风味和香气的作用。在所有样品中检测到的酸类只有乙酸和丁酸两种,适量的脂肪酸可以产生奶油味,而过量的脂肪酸则会产生酸臭味^[31]。在所有组中都检测出了乙酸,而丁酸只出现在 SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组中。SC01 + 48hVIC 发酵组中的总酸含量最高,为 1.549 8 mg/L,说明该发酵组对米酒香气产生较强的平衡作用。

在样品中也检测到了烷烃类和其他类物质,如十一烷、3-乙基-2,2-二甲基环氧乙烷、(S)-2-氨基-

N-乙基丙酰胺等。在商业米酒中检测出了 3-羟基-2-丁酮,它主要提供奶香味,而在实验组并没有检测出来。

综上所述,与商业米酒相比,发酵组具有较高的异丁醇、正丁醇和异戊醇等高级醇和乙酸乙酯、乙酸异戊酯和苯乙基乙酸酯等酯类物质,与目前关于提高米酒风味的研究一致。王奇盛等^[32]测定了 3 种酿酒酵母发酵米酒的风味,结果发现有机酸降低和酯类含量提高对米酒的口感和香气有一定提升。李泽洋等^[33]利用菌种 11Z1 发酵米酒,共测定出 21 种香气物质,其中乙酸乙酯、2-苯乙醇、乳酸乙酯的量分别提高了 1.6 倍、2.2 倍和 1.4 倍。

2.3.1 不同顺序接种方式发酵米酒中关键风味物质的确定

一般认为 $OAV \geq 1$ 的化合物为样品中的主要贡献物质,然而近年来研究^[33]发现, $OAV \geq 0.1$ 的风味化合物也对样品具有较为重要的作用,尤其是通过叠加与其相似的香气化合物可以促进样品体系风味的提升,从不同接种发酵的米酒中一共检测出 18 种关键风味物质(表 3)。

2.3.2 不同顺序接种方式发酵米酒中关键香气化合物的层次聚类分析

不同顺序接种方式发酵米酒的关键香气化合物可以用层次聚类分析的树状图表示。SC01 + 48hVIC 发酵组的关键香气化合物组成更接近于商业米酒样品的关键香气化合物组成(图 4),这也表明不同的接种策略使米酒最终的香气化合物呈现出较为明显的差异。然而,根据聚类分析可以发现,SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组的米酒关键香气化合物没有呈现出差别。关键香气化合物主要包括两大类,第一类主要包括异戊醇、苯乙醇、2-甲基丁醇,正丁醇、乙缩醛二乙醇,也包括乙酸丁酯和癸酸丁酯等,第二类主要包括棕榈酸甲酯、辛酸乙酯、丁酸丁酯、棕榈酸乙酯,也包括异丁醇等。SC01 + 48hVIC 发酵组和商业样品的第一类化合物含量较高,SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组中第二类化合物含量较高。

2.3.3 不同接种发酵方式发酵米酒中关键风味物质的主成分分析

为了进一步区分不同接种发酵方式发酵米酒之间香气化合物的差异,采用 GC-MS 数据中 $OAV \geq 0.1$ 的 18 种关键香气物质进行主成分分析,结果如图 5 所示。

Tab. 3 OAV of volatile compounds in fermented rice wine samples inoculated in different orders

序号	香气化合物名称	OAV					香气描述
		SC01 + 24hGJM	SC01 + 48hGJM	SC01 + 24hVIC	SC01 + 48hVIC	商业米酒	
1	异丁醇	0.127 8	0.165 7	0.153 7	0.264 3	0.054 8	杂醇油和酒精味
2	正丁醇	2.182 3	1.727 4	0.644 6	23.483 0	0.472 1	杂醇油味
3	乙缩醛乙醇	20.877 6	23.734 7	18.387 8	—	—	醇香
4	异戊醇	356.775 0	744.000 0	350.775 0	440.525 0	375.700 0	苹果白兰地香气、香辛料味
5	2-甲基丁醇	30.811 3	—	30.823 9	—	—	焦味
6	(2R,3R)–(–)-2,3-丁二醇	—	0.462 7	—	2.693 0	1.349 1	酒精味
7	苯乙醇	1.826 9	2.371 6	1.113 7	2.032 7	4.229 1	玫瑰香、蜂蜜香
8	乙酸乙酯	790.340 0	786.360 0	908.160 0	634.660 0	89.960 0	果香、酒香
9	乙酸丁酯	0.929 3	0.615 5	0.743 1	8.955 2	2.837 9	水果香、苹果味、草莓味
10	丁酸丁酯	—	—	—	0.089 5	0.038 8	菠萝味、香蕉味、苹果味
11	苯乙醇乙酸酯	1.121 4	1.140 7	1.824 6	—	—	花香味
12	癸酸乙酯	218.460 0	—	—	265.660 0	—	菠萝味、水果香、花香
13	棕榈酸乙酯	0.579 8	0.174 7	0.649 7	1.119 7	0.069 2	蜡香、奶油香气
14	棕榈酸甲酯	—	0.006 0	—	0.056 1	—	焦味
15	辛酸乙酯	—	—	—	6.943 0	0.316 1	花香、香蕉味
16	乙醛	2.517 9	5.219 1	6.282 9	—	—	果香
17	壬醛	21.636 4	—	35.727 3	23.272 7	18.181 8	柑橘香
18	癸醛	—	14.800 0	—	18.033 3	7.733 3	花香

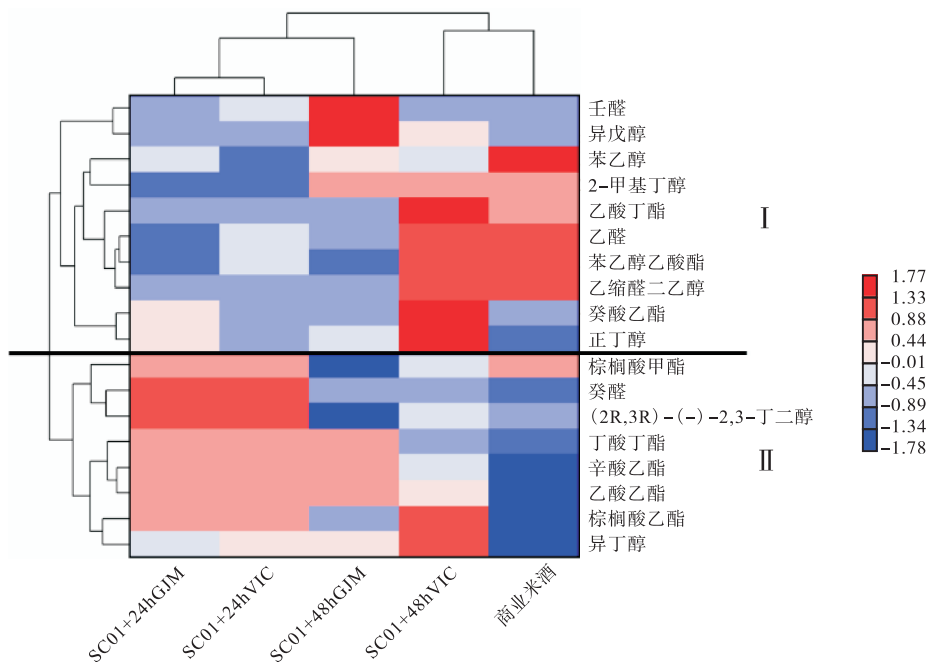


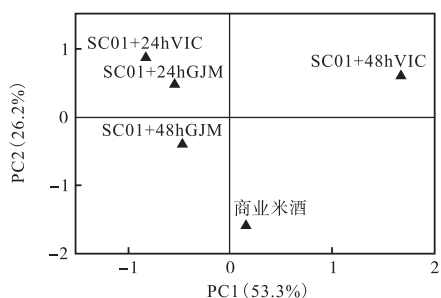
图4 不同顺序接种方式发酵米酒样品挥发性化合物的层次聚类 and 热图

Fig. 4 Hierarchical clustering and thermogram of volatile compounds in rice wine samples fermented by different sequential inoculation methods

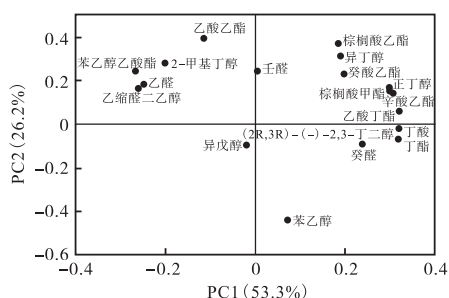
由图 5(a)可以看出,第一主成分和第二主成分分别占总变异的 53.3%和 26.2%,并且不同的接种顺序发酵方式以及商业米酒的得分分布较为分散,说明不同接种发酵方式的米酒和商业米酒的挥发性香气化合物有显著差异。由图 5(b)可以看出,SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组关键风味物质分

布的区域主要与乙酸乙酯、2-甲基丁醇和乙缩醛二乙醇一致,表明与米酒的醇类具有较强的相关性。SC01 + 48hVIC 分布的区域主要与辛酸乙酯、癸酸乙酯、乙酸丁酯、棕榈酸甲酯和棕榈酸乙酯一致,表明与米酒的酯类具有较强的相关性。SC01 + 48hGJM 发酵组产生的异戊醇含量较高,商业米酒与苯乙醇密

切相关,与 GC-MS 的检测结果一致。



(a) 主成分得分图



(b) 载荷图

图 5 米酒样中 OAV ≥ 0.1 的香气化合物的主成分得分图和载荷图

Fig. 5 Principal component scores and load graphs of aromatic compounds with OAV ≥ 0.1 in rice wine samples

2.4 发酵米酒感官分析

与商业米酒相比,混菌发酵的米酒具有较高的感官得分。更为明显的是,混菌发酵米酒的香蕉味、苹果味、花香和醇香都得到了明显提高。挥发性化合物的丰富度也会影响各种香气的产生。不同顺序接种方式发酵米酒样品的感官评价结果如图 6 所示。

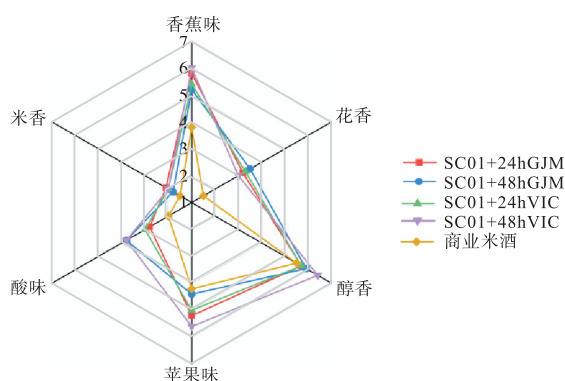


图 6 不同顺序接种方式发酵米酒样品的感官评价

Fig. 6 Sensory evaluation of fermented rice wine samples with different sequential inoculation methods

SC01 + 48hVIC 拥有较高得分的香蕉味、醇香和苹果味,因为其有较高含量的辛酸乙酯、丁酸乙酯、

正丁醇和异丁醇。SC01 + 48hGJM 拥有较高的花香,因为其有较高含量的苯乙醇、苯乙醇乙酸酯、癸酸乙酯和较为丰富的芳香化合物。相反,商业米酒虽然具有最高含量的苯乙醇,但其芳香化合物丰富度低,造成花香味得分最低。不同混菌处理和不同接种顺序对于米酒风味感官特征都有影响,表明研究不同的微生物混合发酵以及顺序发酵对米酒的感官特征具有重要意义。

3 结 论

利用鲁氏结合酵母分别与两株酿酒酵母按不同顺序接种方式发酵米酒。结果表明,不同的接种策略对米酒品质的影响也有一定差异。在不同顺序接种发酵米酒过程中,鲁氏结合酵母的生长会受到酿酒酵母的抑制,其中 SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组体现得更明显。SC01 + 48hGJM 和 SC01 + 48hVIC 发酵组要比 SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 24hVIC 发酵组的酒精度增长更慢,说明酿酒酵母在酒精发酵过程中起重要作用。SC01 + 24hGJM 和 SC01 + 48hGJM 发酵组分别相比于 SC01 + 24hVIC 和 SC01 + 48hVIC 发酵组,还原糖消耗更快,乙醇生成量更高,说明酿酒酵母 GJM 相比酿酒酵母 VIC 更能促进酒精发酵。在不同顺序接种发酵米酒的风味优于商业米酒,尤其是 SC01 + 48hVIC 发酵组。不同顺序接种发酵米酒的关键香气化合物经过层次聚类分析、主成分分析和感官分析发现也有明显差异,尤其是商业米酒与关键香气物质的相关性较差,SC01 + 48hVIC 发酵组与关键香气物质的相关性较强、感官得分较其他发酵组和商业米酒更高。不同接种顺序提高了米酒品质,但不同接种比例对酿造米酒品质的影响还需进一步研究,这些研究可为提升米酒品质提供新的技术方案。

参考文献:

- [1] MU Z Y, YANG Y J, XIA Y H, et al. Enhancement of the aromatic alcohols and health properties of Chinese rice wine by using a potentially probiotic *Saccharomyces cerevisiae* BR14[J]. LWT-Food science and technology, 2023, 181: 114748.
- [2] REN Q, SUN L P, WU H J, et al. The changes of microbial community and flavor compound in the fermentation process of Chinese rice wine using *Fagopyrum tataricum* grain as feedstock[J]. Scientific reports, 2019, 9: 3365.

- [3] LEONARDO P, VITTORIO C, CARMEN B, et al. Microbial resources and enological significance: opportunities and benefits[J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8: 995.
- [4] 李柔, 刘源, 宋开阔, 等. 非酿酒酵母与酿酒酵母在米酒混菌发酵中的相互作用机制分析[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(2): 41–47.
- [5] VAN WYK N, GROSSMANN M, WENDLAND J, et al. The whiff of wine yeast innovation: strategies for enhancing aroma production by yeast during wine fermentation[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2019, 67(49): 13496–13505.
- [6] GAO M M, HU J N, WANG X J, et al. Effects of *Pichia kluyveri* on the flavor characteristics of wine by co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *European food research and technology*, 2023, 249: 1449–1460.
- [7] HU L L, LIU R, WANG X H, et al. The sensory quality improvement of citrus wine through co-fermentations with selected non-*Saccharomyces* yeast strains and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 323.
- [8] ZHANG B Q, TANG C, YANG D Q, et al. Effects of three indigenous non-*Saccharomyces* yeasts and their pairwise combinations in co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* on volatile compounds of Petit Manseng wines[J]. *Food chemistry*, 2022, 368: 130807.
- [9] BENITO S, HOFMANN T, LAIER M, et al. Effect on quality and composition of Riesling wines fermented by sequential inoculation with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *European food research and technology*, 2015, 241(5): 707–717.
- [10] CHEN L H, LI D N, REN L X, et al. Effects of simultaneous and sequential co-fermentation of *Wickerhamomyces anomalus* and *Saccharomyces cerevisiae* on physicochemical and flavor properties of rice wine[J]. *Food science & nutrition*, 2021, 9(1): 71–86.
- [11] ESCOTT C, FRESNO J D, LOIRA I, et al. *Zygosaccharomyces rouxii*: control strategies and applications in food and winemaking[J]. *Fermentation*, 2018, 4(3): 69.
- [12] CIANI M, COMITINI F, MANNAZZU I, et al. Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking[J]. *FEMS Yeast research*, 2010, 10(2): 123–133.
- [13] DOMIZIO P, LENCIONI L, CIANI M, et al. Spontaneous and inoculated yeast populations dynamics and their effect on organoleptic characters of Vinsanto wine under different process conditions[J]. *International journal of food microbiology*, 2007, 115(3): 281–289.
- [14] FLEET G H. Wine yeasts for the future[J]. *FEMS Yeast research*, 2008, 8(7): 979–995.
- [15] 张潇月. 平板计数法测定果酒中菌落总数的不确定度分析[J]. *食品安全导刊*, 2022(1): 180–182.
- [16] LI S, BI P, 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.
- [17] 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.
- [18] ZHANG Y J, FENG Y X, SHI H Q, et al. Impact of steam explosion pretreatment of defatted soybean meal on the flavor of soy sauce[J]. *LWT-Food science and technology*, 2022, 156: 113034.
- [19] ZHOU X Y, GUO T, LU Y L, et al. Effects of amino acid composition of yeast extract on the microbiota and aroma quality of fermented soy sauce[J]. *Food chemistry*, 2022, 393: 133289.
- [20] GAO X L, SHAN P, FENG T, et al. Enhancing selenium and key flavor compounds contents in soy sauce using selenium-enriched soybean[J]. *Journal of food composition and analysis*, 2022, 106: 104299.
- [21] 曲艾钰, 张彦民, 王菲, 等. 酵母抽提物添加时间对酱油风味的影响[J]. *中国酿造*, 2022, 41(3): 146–151.
- [22] SHI H Q, LI J J, ZHANG Y J, et al. Effect of wheat germination on nutritional properties and the flavor of soy sauce[J]. *Food bioscience*, 2022, 48: 101738.
- [23] ALBERGARIA H, FRANCISCO D, GORI K, et al. *Saccharomyces cerevisiae* CCM1 885 secretes peptides that inhibit the growth of some non-*Saccharomyces* wine-related strains[J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 2010, 86(3): 965–972.
- [24] FLEET G H. Yeast interactions and wine flavour[J]. *International journal of food microbiology*, 2023, 86(1/2): 11–22.
- [25] PÉREZ-NEVADO F, ALBERGARIA H, HOGG T, et al. Cellular death of two non-*Saccharomyces* wine-related

- yeasts during mixed fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. International journal of food microbiology, 2006, 108: 336–345.
- [26] STANZER D, HANOUSEK C K, BLESIC M, et al. Alcoholic fermentation as a source of congeners in fruit spirits[J]. Foods, 2023, 12(10): 1951.
- [27] IGNACIO B, JAVIER R, ESTEBAN-FERNÁNDEZ A, et al. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement[J]. Molecules, 2017, 22(2): 189.
- [28] YU H Y, XIE T, XIE J R, et al. Characterization of key aroma compounds in Chinese rice wine using gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry[J]. Food chemistry, 2019, 293: 8–14.
- [29] WEI J P, ZHANG Y X, QIU Y, et al. Chemical composition, sensorial properties, and aroma-active compounds of ciders fermented with *Hanseniaspora osmophila* and *Torulaspora quercuum* in co- and sequential fermentations[J]. Food chemistry, 2020, 306: 125623.
- [30] ZHAO G Z, KUANG G L, LI J J, et al. Characterization of aldehydes and hydroxy acids as the main contribution to the traditional Chinese rose vinegar by flavor and taste analyses[J]. Food research international, 2020, 129: 108879.
- [31] NIU Y, WANG P, XIAO Z, et al. Evaluation of the perceptual interaction among ester aroma compounds in cherry wines by GC-MS, GC-O, odor threshold and sensory analysis: an insight at the molecular level[J]. Food chemistry, 2019, 275: 143–153.
- [32] 王奇盛, 高瑞杰, 缪礼鸿, 等. 酵母菌混合发酵制备米酒及其工艺优化[J]. 中国酿造, 2022, 41(7): 155–161.
- [33] 李泽洋, 伍时华, 龙秀锋, 等. 米酒生香酵母的分离筛选鉴定及其性能研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 43–50.
- [34] 李记明, 宋长冰, 贺普超. 葡萄与葡萄酒芳香物质研究进展[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(5): 108–112.

责任编辑: 郎婧

(上接第 14 页)

- et al. TP53BP1, a dual-coding gene, uses promoter switching and translational reinitiation to express a smORF protein[J]. iScience, 2023, 26(5): 106757.
- [12] GODFREY J D, HEJAZI D, DU X, et al. HER2 C-terminal fragments are expressed via internal translation of the HER2 mRNA[J]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(17): 9549.
- [13] WANG X, MARCHISIO M A. Synthetic polycistronic sequences in eukaryotes[J]. Synthetic and systems biotechnology, 2021, 6(4): 254–261.
- [14] SHAIMARDANOVA A A, KITAEVA K V, ABDRAKHMANOVA I I, et al. Production and application of multicistronic constructs for various human disease therapies[J]. Pharmaceutics, 2019, 11(11): 580.
- [15] KARGINOV T A, PASTOR D P H, SEMLER B L, et al. Mammalian polycistronic mRNAs and disease[J]. Trends in genetics, 2017, 33(2): 129–142.

责任编辑: 郎婧