

研究报告

中国酱香型白酒酿造酿酒酵母的独特生理代谢特征

路晓伟 吴群* 徐岩*

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

摘要:【目的】酿酒酵母是白酒发酵的主要微生物,对白酒的产量及质量都有重要影响。而酱香酒酿造环境具有高温、酸性、高乙醇等胁迫因素,研究其中酿酒酵母的生理代谢特征并有目的地应用于白酒实际生产中。【方法】从酱香酒酿造环境中筛选一株性能优良的酿酒酵母菌株,比较其与酿酒酵母模式菌株 S288c 和商业酵母的生理代谢特征。【结果】从酱香型酒醅中筛选得到性能优良的 *Saccharomyces cerevisiae* MT1,该菌株可耐受高温 42 °C,高浓度乙醇(16%,体积比),低 pH (2.0),其最大比生长速率和最大比产乙醇速率分别达到了 S288c 的 125% 和 114%,其乙醇转化率也要高于其他菌株。一些挥发性物质只有在 MT1 的发酵液中可检测到,包括苯并噻唑、2,3-二氢苯并呋喃、4-乙烯基愈创木酚以及丁羟甲苯等,MT1 的苯乙醇、法尼醇、橙花叔醇、乙偶姻和大马酮量也要高于 S288c。另外,MT1 可以利用多种碳源发酵产乙醇,如半乳糖、麦芽糖、蜜二糖、松二糖、海藻糖和棉子糖等。【结论】来源于酱香酒酿造的 *S. cerevisiae* MT1 具有高耐受力、高效的发酵性能及更广泛的碳源利用图谱,并能生成多种挥发性物质。

关键词: 酱香型白酒, 酿酒酵母, 耐受性, 高效发酵

Specific physiological characteristic of *Saccharomyces cerevisiae* in Chinese *Maotai*-flavor liquor making

LU Xiao-Wei WU Qun* XU Yan*

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

Abstract: [Objective] *Saccharomyces cerevisiae* is the predominant microbe in *Maotai*-flavor liquor producing which has several stressors. Learning its physiological characteristic would provide an insight in improving the yield and quality of liquor. [Methods] One *S. cerevisiae* strain with excellent performance was selected from the fermented grains of *Maotai*-flavor liquor making. Then the physiological characteristics of this strain were compared with other *S. cerevisiae* strains. [Results] One strain named as *S. cerevisiae* MT1 with excellent performance was selected from the fermented grains in *Maotai*-flavor liquor making. MT1 could tolerate high temperature (42 °C), high

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

*通讯作者: 吴群: ☐: wuqun_1981@163.com

徐岩: Tel: 86-510-85918201; Fax: 86-510-85864112; ☐: yxu@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2015-01-10; 接受日期: 2015-04-07; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-04-24

concentration of ethanol (16%, *V/V*) and strong acid environment (pH 2.0). The maximum specific growth rate and the maximum ethanol production rate of MT1 were as high as 125% and 114% of those of S288c, respectively. Its ethanol conversion rate was also higher than other strains. Several volatile compounds only can be detected in fermentation liquor of MT1. MT1 could also yield more phenethyl alcohol, farnesol, nerolidol, beta damascene and acetoin. In addition, MT1 could utilize and ferment a variety of carbon source to produce ethanol. **[Conclusion]** Compared with the model strain S288c and other strains, MT1 has the higher environmental stress tolerance, more efficient fermentation performance and wider range of carbon source utilization.

Keywords: Maotai-flavor liquor, *Saccharomyces cerevisiae*, Tolerance, Efficient fermentation

近年来研究表明,不同酿造环境中(葡萄酒、啤酒、清酒和面包等)的酵母菌株,尤其是 *Saccharomyces cerevisiae* 具有不同的表型特征以适应不同环境^[1],即使是同一种属的不同菌株之间的性质,包括耐受性、发酵性能以及在发酵食品风味中的功能也会不同^[2-4]。Jeyaram 等^[5]分析了来自两个不同地域的 16 株 *S. cerevisiae* 的遗传多态性,发现其基因组结构有很少的同质性,包括染色体数量、染色体长度及基因序列等。Romano 等^[6]发现野生葡萄酒酿造中不同菌株产生挥发性产物不同。Tristezza 等^[7]发现不同 *S. cerevisiae* 菌株的高级醇产量显著不同。与国外研究相比,目前国内研究领域对 *S. cerevisiae* 的认识仅限于耐受性或发酵力等一两个方面的特性,缺乏生理代谢的系统性研究。

中国酱香型白酒采用高温制曲、高温堆积、高温发酵的独特酿造工艺,造就了特殊酿造环境,具有高温、高酸、高浓度乙醇等多种胁迫因素。例如,其制曲过程中温度最高可达 60 °C,堆积过程中表面温度最高达 48-49 °C,发酵过程中温度最高达 38-39 °C^[8],同时发酵过程中酸度可达 pH 2.0 左右^[9]、乙醇可达 15% (体积比)^[10]以上。特殊的酿造环境通过长时间的驯化作用积累了具有独特理化特征的微生物菌群。

酵母菌作为白酒发酵生产中的主要菌群,其种类与数量在不同香型白酒中有很大的不同。酱香型白酒特殊的酒体风格在于其独特酿造工艺所形成的特殊微生物区系。但是,酵母菌通常在发酵过程前期具有较强新陈代谢,随着发酵过程中各项胁迫因子的提高,酵母菌的生理代谢活动逐渐受到抑

制,对发酵原料的转化利用能力及乙醇的发酵生产能力逐渐下降,甚至停止^[11]。因此,选育高胁迫环境条件下仍具有旺盛的生理代谢活动及乙醇发酵生产能力的酿酒酵母并进行功能研究,有目的地将其应用于白酒实际生产中,是白酒生产实践中提高原料利用率和产酒率及酒质的技术关键。优良发酵性能酵母菌的筛选及应用,将改善传统的白酒生产工艺。此外,认识解读其不同于其他工业酿造酵母的生理代谢特征,对中国白酒的发展将具有重大现实意义。

本文通过对贵州茅台酒某名优酒厂酱香型酒醅中酵母菌的分离筛选,并结合现代分子鉴定手段鉴定得到一株酿酒酵母 MT1 (CCTCC M 2014463)。通过与模式菌株 *S. cerevisiae* S288c 及其他菌株的生理生化特征的比较分析,发现 MT1 具有高耐受力、高效的发酵性能及广泛的碳源利用图谱,并能生成多种挥发性物质。将其应用于白酒实际生产中,将改善传统的白酒生产工艺,提高白酒生产的产量与产值,产生较大的经济效益。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品及菌种: 酒醅采集于贵州茅台酒某名优酒厂酱香型白酒车间正常发酵窖池。模式菌株 *S. cerevisiae* S288c (ATCC204508) 购于 Biological Resource Center, NITE (NBRC)。商业酵母菌株为丹宝利酿酒酵母(酒类专用,型号 133)与安琪酿酒酵母(白酒酿造用,商品编号 1138678700),清酒酵母 K9 来自本实验室。

1.1.2 培养基: WL 培养基^[12], TTC 上层培养基^[12], YPD 培养基^[12], 发酵培养基: 高粱粉碎后称 500 g, 加 4 倍体积水, 加入适量液化酶后蒸煮至糖度达 18 °BX, 冷却后加入糖化酶, 60 °C 保温 4 h, 过滤离心后加水稀释至糖度 10 °BX。

1.1.3 试剂: 培养基试剂购自国药集团化学试剂有限公司; PCR 试剂购自宝生物工程(大连)有限公司; 乙醇、薄荷醇等色谱纯化学试剂购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 方法

1.2.1 优良酿酒酵母菌株的筛选: (1) 分离纯化。取 5 g 酒醅至加有玻璃珠的 100 mL 生理盐水中, 30 °C、200 r/min 培养 20 min; 采用平板稀释法^[13]分离菌株, 在 WL 平板上涂布 10^0 – 10^{-3} 4 个稀释度, 每个稀释度 3 个平行, 30 °C 培养; 挑选菌落形态呈圆形, 中央绿色或蓝绿色, 边缘白色, 表面光滑, 边缘整齐的菌株^[14]进行划线纯化。(2) TTC 法和杜氏管发酵法初筛。将分离纯化的菌株转接到 YPD 平板上, 30 °C 培养 1–2 d, 倒入 TTC 上层培养基, 避光保温 2–3 h, 挑选红色较深的菌株; 将 TTC 法初筛得到的菌株接种 YPD 液体试管于 30 °C、200 r/min 培养后等量接种含有杜氏小管的 YPD 培养液中于 30 °C 培养, 每隔 3 h 观察产气情况, 每株 2 个平行, 挑选产气多且快的菌株。(3) 耐受性和发酵性能复筛。将初筛得到的菌株接种 YPD 培养液于 30 °C、200 r/min 培养获得种子液, 等量转接至相应培养基静置培养 48 h; 以 YPD 培养液为基础培养基, 耐受条件分别为 42 °C, 12% (体积比) 乙醇, pH 2.7 (乳酸调), 每个条件 3 个重复; 将初筛得到的菌株接种高粱汁试管于 30 °C、200 r/min 培养获得种子液; 取 250 mL 三角瓶装液量 100 mL, 接种量 2% 后装发酵栓并称量, 于 30 °C 培养, 每隔 12 h 振荡称重, 记录失重量, 当 12 h 失重量小于 0.2 g 时, 停止发酵, 12 000 r/min 离心 15 min 取上清。(4) 菌株分子鉴定。基因组 DNA 提取采用珠磨法^[15], PCR 反应以 NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGG

AGGAAAA-3') 和 NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGA CGG-3') 为 26S rDNA 序列的上下游引物。PCR 反应体系(25 μL)为: 模板 DNA 1 μL, 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, 上下游引物(20.0 μmol/L)各 0.50 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2.00 μL, *rTaq* DNA 聚合酶 (5.0 U/μL) 0.15 μL, ddH₂O 18.35 μL。PCR 反应条件为: 94 °C 4 min; 94 °C 45 s, 60 °C 45 s, 72 °C 60 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物送上海生物工程技术有限公司测序后进行相似性鉴定。

1.2.2 耐受性能研究: 等量接种于 9 个不同酒精梯度(0%–16%, 体积比)、9 个不同 pH 梯度(2.0–6.0)、3 个不同温度梯度(30、37、44 °C)的 YPD 液体培养基, 每个梯度 3 个重复。

1.2.3 发酵性能研究: 以 DNS 法^[16]测定残糖, 标准曲线为 $Y=0.6348X+0.008$, $R^2=0.9987$; 乙醇测定采用 HPLC 法^[17], 标准曲线为: $Y=0.0000144876X-0.00796$, $R^2=0.99916$ 。

1.2.4 产挥发性物质测定: 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法^[18]。

1.2.5 碳源同化: 见 Biolog YT Microplate 使用说明。

2 结果与分析

2.1 优良酿酒酵母 MT1 的筛选

经分离纯化及初筛共得到 20 株代谢旺盛, 产气多且快的菌株进行耐受性测试。如图 1 所示, 各菌株的乙醇耐受差异不明显, 但是温度耐受及酸耐受的差异很大。其中, 13、15、16、17、20 号菌株温度和酸耐受都较差, 5、6 号菌株高温耐受强但酸耐受差, 7、8、9、10、18、19 号菌株的酸耐受强但高温耐受差, 1、2、3、4、11、12、14 号菌株 3 种耐受性都较好。

通过三角瓶扩大实验测定发酵性能相关指标。由表 1 可知, 上述三项耐受性都较强的菌株中 1、2、4、11、12、14 号菌株的乙醇转化率都高于 85%, 发酵性能较好。但是 4、14 号菌株产生较多异戊醇。1 号菌株不仅在较短时间产生较多乙醇, 其乙醇转

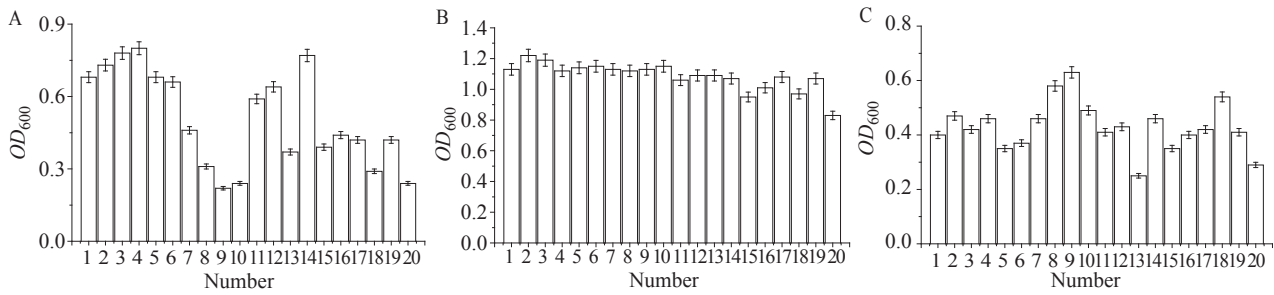


图 1 耐受性试验复筛

Figure 1 Screening by tolerance test

注: A: 温度耐受性; B: 乙醇耐受性; C: 酸耐受性.

Note: A: Temperature tolerance; B: Ethanol tolerance; C: Acid tolerance.

表 1 高粱汁发酵试验复筛
Table 1 Screening by fermentation test with sorghum juice

| 编号 Number | 尿素含量 Concentration of urea (mg/L) | 乙醇含量 Concentration of ethanol (g/L) | 乙醇转化率 Ethanol conversion rate (%) | 异戊醇含量 Concentration of isoamyl alcohol (mg/L) | 发酵时间 Fermentation time (h) |
|--------------|---|---|---|---|----------------------------------|
| 1 | 28.61 | 34.29 | 91.78 | 2.79 | 108 |
| 2 | 26.00 | 30.79 | 85.76 | 4.08 | 120 |
| 3 | 26.71 | 28.77 | 81.21 | 4.68 | 132 |
| 4 | 27.47 | 29.06 | 85.75 | 8.87 | 132 |
| 5 | 47.62 | 24.06 | 71.65 | 8.82 | 132 |
| 6 | 43.43 | 26.91 | 76.76 | 3.38 | 132 |
| 7 | 25.00 | 19.30 | 61.22 | 7.25 | 120 |
| 8 | 27.20 | 22.13 | 66.93 | 6.66 | 108 |
| 9 | 21.20 | 18.64 | 57.36 | 7.84 | 132 |
| 10 | 24.90 | 21.10 | 63.76 | 6.71 | 120 |
| 11 | 25.65 | 31.31 | 89.05 | 4.06 | 120 |
| 12 | 27.81 | 28.29 | 86.14 | 3.17 | 132 |
| 13 | 25.54 | 23.97 | 75.72 | 2.41 | 132 |
| 14 | 24.98 | 28.67 | 85.39 | 4.81 | 132 |
| 15 | 26.30 | 24.41 | 76.24 | 3.67 | 132 |
| 16 | 25.87 | 23.84 | 75.03 | 5.95 | 120 |
| 17 | 25.55 | 24.80 | 76.66 | 6.18 | 120 |
| 18 | 24.02 | 20.42 | 67.78 | 3.55 | 120 |
| 19 | 38.69 | 23.80 | 69.51 | 5.54 | 132 |
| 20 | 35.47 | 21.97 | 64.92 | 6.02 | 132 |

化率达到复筛菌株中的最高值(91.78%), 其异戊醇量也是最少的(2.79 mg/L)。综合复筛试验, 选择 1、2、11、12 号菌株进行菌株鉴定。

2.2 菌株分子鉴定

复筛得到的 4 株菌经分子鉴定都是酿酒酵母。综合初筛及复筛实验结果, 确定 1 号菌株为目的菌株进行各项生理代谢研究。将其命名为 *Saccharomyces cerevisiae* MT1 并保存于中国典型培养物保藏中心(CCTCC M 2014463)。

2.3 *S. cerevisiae* MT1 的耐受性能研究

以模式菌株 S288c、商业酵母和清酒酵母为对照, 研究了 *S. cerevisiae* MT1 的耐受能力。由图 2 可知, 当各项胁迫条件高于一定限度时

(温度 ≥ 37 °C, 乙醇浓度 $\geq 12\%$ 及 pH ≤ 3.5), MT1 的生长逐渐优于其他菌株。在 44 °C 或 16%乙醇或 pH 2.0 条件下, 模式菌株及清酒酵母不再生长甚至开始死亡, MT1 仍然可以很好生长。此外, MT1 具有略高于商业酵母的耐受性水平, 尤其是酸耐受性。综上所述, MT1 具有较高的环境耐受力, 尤其是酸耐受力。

2.4 *S. cerevisiae* MT1 的发酵性能研究

采用高粱汁培养基比较分析了各项发酵动力学参数, 如表 2 所示。除生物量对底物的得率系数 ($Y_{x/s}$) 之外, MT1 的其他各项指标均要高于 S288c。MT1 不仅可以更好地生长且可以更快地耗糖产乙醇, 其最大比生长速率(μ_{max})和最大比乙醇生成速率

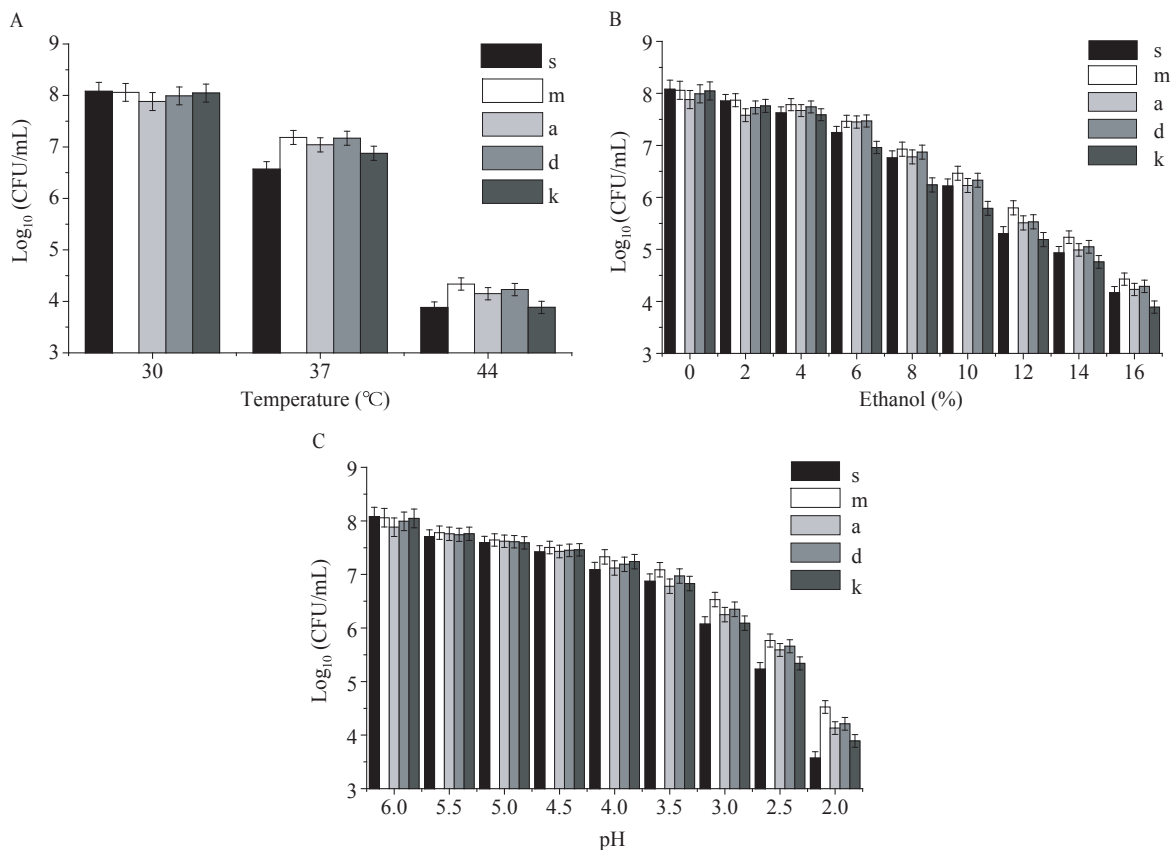


图 2 *S. cerevisiae* MT1 耐受能力

Figure 2 Tolerance of *S. cerevisiae* MT1

注: A: 温度耐受性; B: 乙醇耐受性; C: 酸耐受性。s: S288c; m: MT1; a: 安琪商业酵母; d: 丹宝利商业酵母; k: 清酒酵母 K9。

Note: A: Temperature tolerance; B: Ethanol tolerance; C: Acid tolerance. s: S288c; m: MT1; a: Angel commercial yeast; d: Lesaffre commercial yeast; k: Sake yeast K9.

表 2 发酵动力学参数、生物量、底物消耗以及产乙醇能力的比较
Table 2 Comparison of fermentation kinetics, biomass, substrate consumption and ethanol production

| 菌株 Strain | μ_{\max} (h^{-1}) | $q_{s\max}$ ($g/(g \cdot h)$) | $q_{p\max}$ ($g/(g \cdot h)$) | $Y_{x/s}$ (g/g) | $Y_{p/s}$ (g/g) | S_c (g/L) | $ETOH_f$ (g/L) | 乙醇转化率 Ethanol conversion rate (%) |
|--------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| s | 0.36 | 3.51 | 1.53 | 0.024 | 0.47 | 83.71 | 39.34 | 92.15 |
| m | 0.45 | 3.64 | 1.75 | 0.024 | 0.51 | 86.30 | 43.43 | 98.68 |
| a | 0.43 | 3.69 | 1.67 | 0.025 | 0.48 | 84.13 | 40.15 | 93.58 |
| d | 0.39 | 3.55 | 1.56 | 0.024 | 0.48 | 81.97 | 39.59 | 94.71 |
| k | 0.43 | 3.49 | 1.69 | 0.023 | 0.49 | 82.27 | 41.13 | 98.04 |

注: s: S288c; m: MT1; a: 安琪商业酵母; d: 丹宝利商业酵母; k: 清酒酵母 K9. μ_{\max} : 最大比生长速率; $q_{s\max}$: 最大比底物消耗速率; $q_{p\max}$: 最大比乙醇生成速率; $Y_{x/s}$ 和 $Y_{p/s}$: 生物量和乙醇对底物的得率系数; S_c : 还原糖消耗量; $ETOH_f$: 乙醇终浓度.

Note: s: S288c; m: MT1; a: Angel commercial yeast; d: Lesaffre commercial yeast; k: Sake yeast K9. μ_{\max} : Maximum specific growth rate; $q_{s\max}$: Maximum specific sugar consumption rate; $q_{p\max}$: Maximum specific ethanol production rate; $Y_{x/s}$ and $Y_{p/s}$: Yields of biomass and ethanol; S_c : Consumed substrate concentration; $ETOH_f$: Final ethanol concentration.

($q_{p\max}$)分别达到了 S288c 的 125%和 114%。还原糖消耗量(S_c)显示 MT1 在糖浓度很低时仍然可以继续发酵。另外, MT1 的乙醇转化率明显高于模式菌株及商业酵母, 甚至略高于因高产乙醇而著名的清酒酵母。总之, MT1 的较高的乙醇终浓度($ETOH_f$)是由生长优势、高发酵力以及优良的发酵性能决定的。酵母菌最重要的功能是产乙醇, 工业发酵过程中糖的利用率、乙醇转化率和酒的出酒率主要是由酵母发酵能力决定的。MT1 具有高于 98%的乙醇转化率, 且发酵终乙醇浓度高达 43.4 g/L, 具有很大的工业应用价值。

2.5 挥发性物质生成的研究

通过比较 MT1 和 S288c 的挥发性产物生成发现, 二者挥发性产物种类差异较小, 而含量差异较大。如图 3 所示, MT1 的各项挥发性物质总量都高于 S288c, 尤其是 MT1 的总醇量达到 S288c 的 4 倍, 其中 MT1 的苯乙醇产量达到 S288c 的 8 倍, 法呢醇和橙花叔醇产量为 S288c 的 2 倍。这 3 种醇类都是白酒中的主要风味物质, 苯乙醇具有柔和、愉快而持久的玫瑰香气; 橙花叔醇干甜而少清, 带有像玫瑰、铃兰和苹果花的气息, 微带木香, 香气持久; 法呢醇具有甜香、花香、青香。另外, MT1 的乙偶姻和大马酮产量分别达到 S288c 的 9 倍和 3 倍, 乙

偶姻是一种有令人愉快的奶香物质, 且具有特殊药理作用; 大马酮则具有令人愉快的玫瑰香气。图 4 显示了所有风味物质在两株菌的发酵液中的含量差异。MT1 和 S288c 的主要酸类物质都是己酸和辛酸, 只有在 MT1 的发酵液中可检测到的酸类物质有 2-甲基己酸(42.14 $\mu g/L$)、壬酸(34.80 $\mu g/L$)、2-甲基丁酸(79.07 $\mu g/L$)、2-苯乙基 3-甲基丁酸(163.91 $\mu g/L$)、2-苯乙基 2-甲基丙酸(291.11 $\mu g/L$)、山梨酸(42.81 $\mu g/L$)等。MT1 和

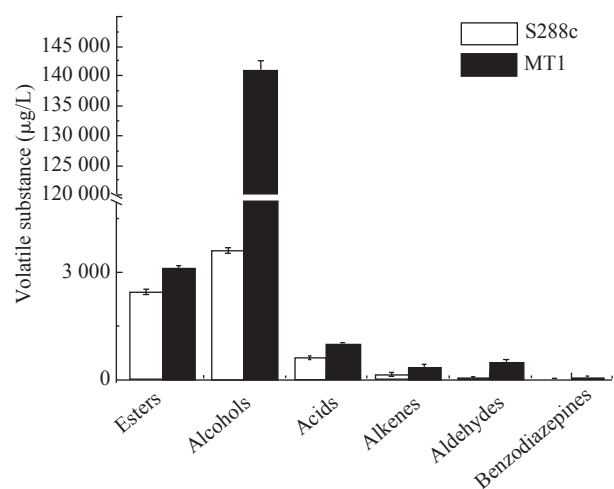


图 3 挥发性物质总量比较

Figure 3 Comparison of the total volatile substances

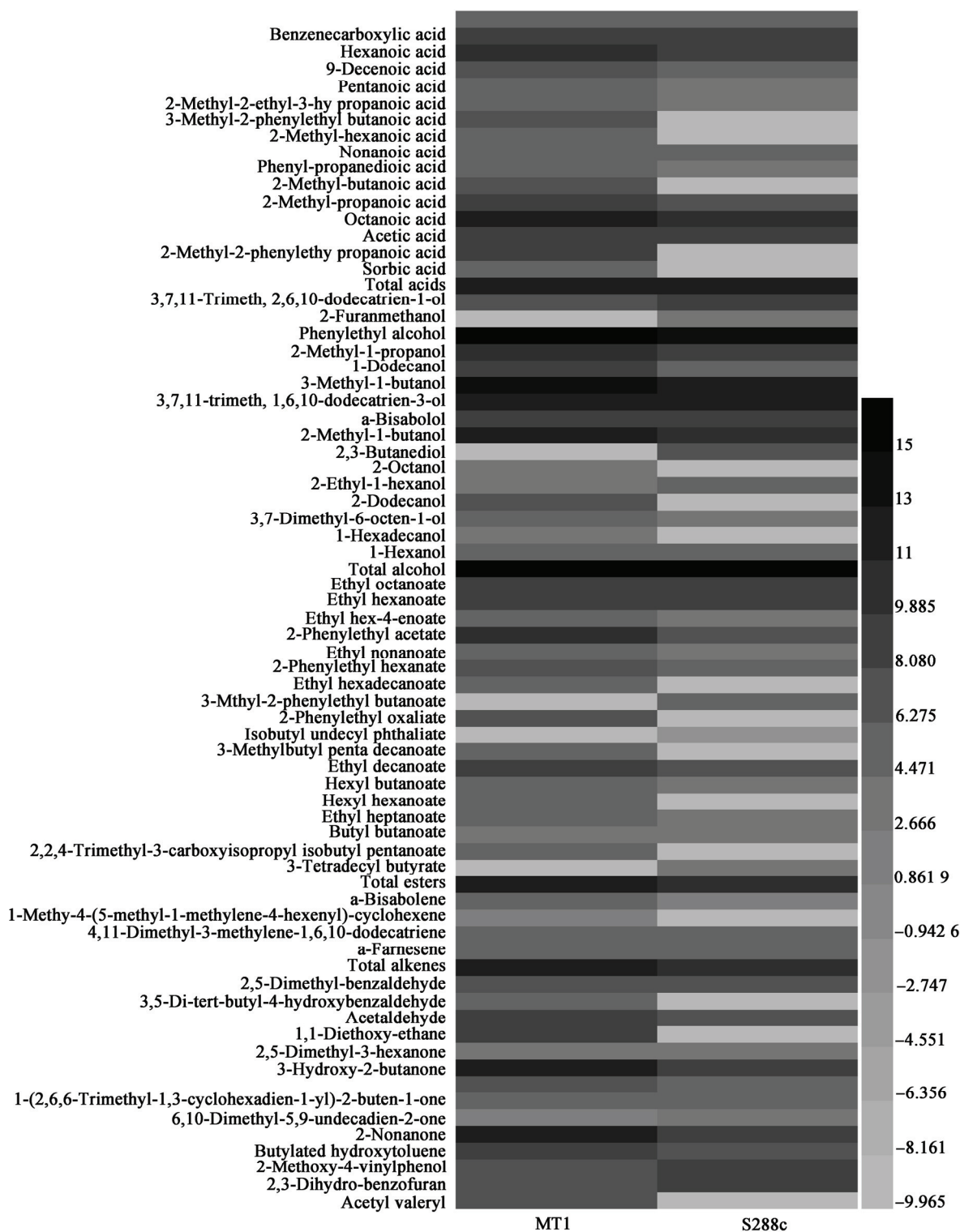


图4 挥发性产物热图

Figure 4 Heat map based on the volatile compounds

注：所有的数据用 Z-score 方法进行了标准化处理。

Note: All datas have been standardized by Z-score methods.

S288c 产生的主要酯类物质都是己酸乙酯, 只在 MT1 发酵液中检测到的酯类物质有: 棕榈酸乙酯 (62.88 $\mu\text{g/L}$)、二-(2-苯乙基)-草酸酯(163.91 $\mu\text{g/L}$)、十五烷酸-3-甲基丁酯(45.68 $\mu\text{g/L}$)、己酸己酯

(76.04 $\mu\text{g/L}$)等。此外, 还检测到 MT1 合成了一定量的苯并噻唑(144.98 $\mu\text{g/L}$)、2,3-二氢苯并呋喃(622.33 $\mu\text{g/L}$)、4-乙炔基愈创木酚(404.79 $\mu\text{g/L}$)及具有抗氧化能力的丁羟甲苯(358.37 $\mu\text{g/L}$)等。

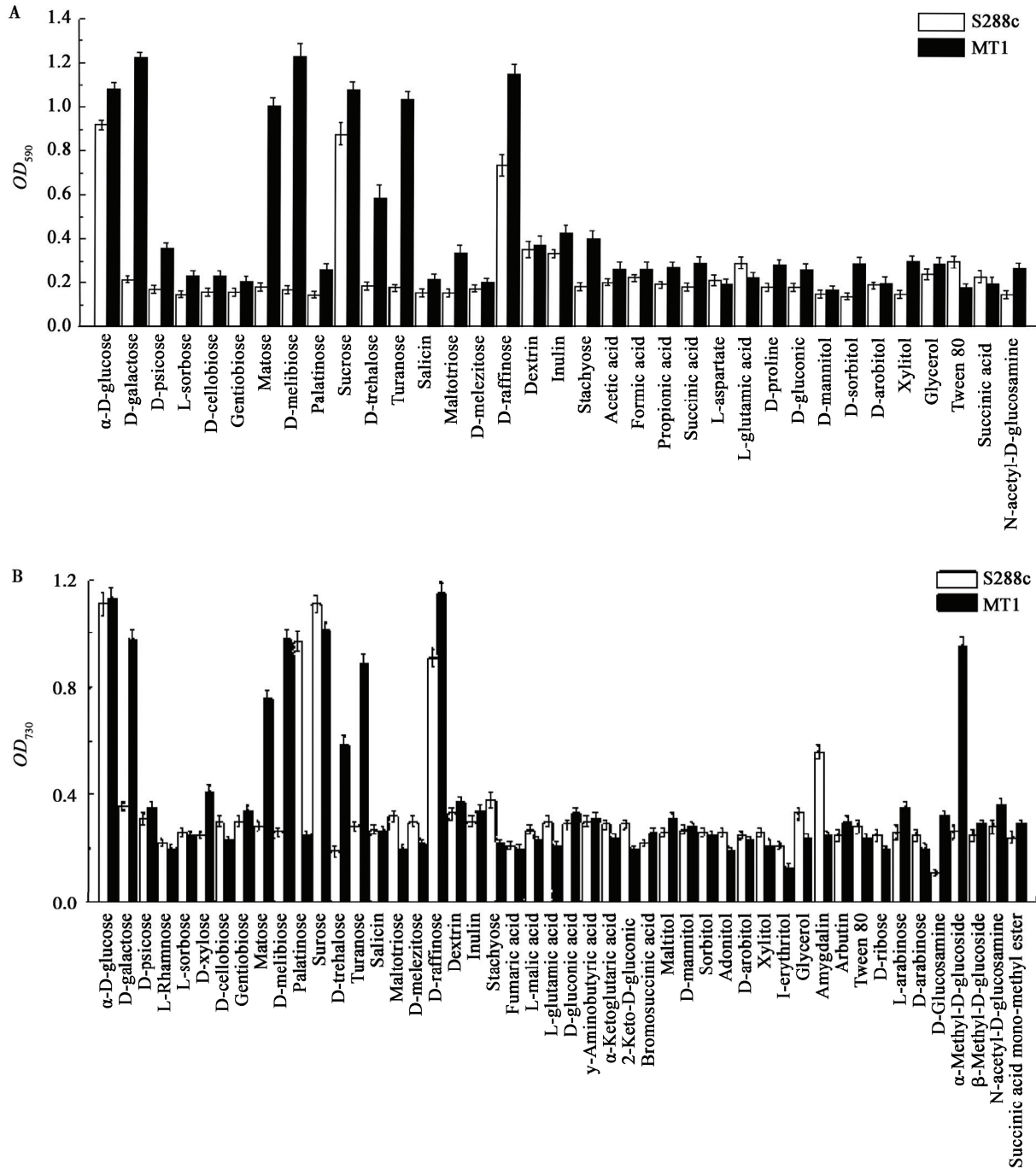


图 5 碳源利用图谱

Figure 5 Map of carbon source utilization

酱香酒香气成分研究始于 20 世纪 60 年代, 乙基愈创木酚、乙偶姻、呋喃类等被认为是其主体香。马荣山等^[19]从麸曲酱香型酒醅中分离得到 7 株酵母菌, 发现部分酵母酿造产酒具有明显酱香风格。Wu 等^[8]系统分析 9 个种属酵母的酿造特性, 发现 *S. cerevisiae* 和 *Schizosaccharomyces pombe* (粟酒裂殖酵母) 很有可能是主要产酱香的酵母属。吴徐建^[20]系统追踪酱香型白酒酿造体系中酵母群落结构并分析不同酵母种属对酱香物质形成的贡献, 研究发现 *Zygosaccharomyces bailii* (拜耳接合酵母)、*S. cerevisiae*、*S. pombe* (粟酒裂殖酵母) 对酱香的产生具有积极贡献。而本文对 MT1 的挥发性物质生成的研究发现其确实对酱香酒的风味形成具有积极贡献。

2.6 碳源同化研究

如图 5 所示, 与 S288c 相比, MT1 可以利用更多种类的碳源, 如葡萄糖、蔗糖、半乳糖、木糖、阿洛酮糖、麦芽糖、蜜二糖、松二糖、海藻糖、棉子糖和 α -甲基-D-葡糖苷。这一典型特征与酱香型白酒的酿造工艺是密不可分的。由于酱香型白酒酿造属于同步糖化发酵过程, 以高粱、麸皮等为原料进行发酵, 将糖化过程和发酵过程两个工序结合到一起, 使得该体系中含有多种多样的碳源组分, 除了多种单糖(葡萄糖、半乳糖和果糖等)之外, 不乏各种二糖(蔗糖、麦芽糖、蜜二糖和海藻糖等)、三糖及多糖。在长期的环境压力驯化下, 环境中的微生物可以通过基因重组或基因漂移等方式获得相应的基因型从而具有独特的生理生化特征^[21]。如 Novo 等通过全基因组学研究发现 *S. cerevisiae* EC1118 中有一些关键基因通过基因漂移由 *Z. bailii* 物种获得^[22]。

3 结论

通过各项生理代谢的系统性研究, 可以看出酱香酒酿造中酿酒酵母 MT1 具有高环境耐受力、高效发酵和多碳源利用的特征, 并可产生多种挥发性物质。众所周知, 酿酒酵母是白酒生产中的主要微

生物, 对白酒的产量、质量及风味等方面具有重要作用。而在工业发酵过程中不可避免地存在一些因素对酿酒酵母产生胁迫作用(如酒精毒性, 高温胁迫等), 酿酒酵母对这些胁迫条件的耐受性直接关系到工艺、设备的确定, 进而影响经济效益。因此提高菌株对胁迫条件的耐受性是酿酒酵母工业菌株改良的重要目标之一。另一方面, 目前发酵产业中存在发酵过程副产物浓度偏高、底物转化率偏低和生长周期过长等问题, 构建少产副产物而高产乙醇的酿酒酵母工业菌株是近年来的研究热点。而通过基因改造等手段构建的工程菌则面临菌株性能不稳定的关键问题。因此, 选育性能优良的菌株并有目的地将其应用于白酒实际生产中, 是白酒生产实践中提高原料利用率和产酒率及酒质的技术关键, 将改善传统的白酒生产工艺, 促进白酒生产的产量与产值的提高, 产生较大的经济效益。

参考文献

- [1] Naumova ES, Korshunova IV, Jespersen L, et al. Molecular genetic identification of *Saccharomyces sensu stricto* strains from African sorghum beer[J]. FEMS Yeast Research, 2003, 3(2): 177-184
- [2] Pérez-Coello MS, Briones Pérez AI, Ubeda Iranzo JF, et al. Characteristics of wines fermented with different *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from the La Mancha region[J]. Food Microbiology, 1999, 16(6): 563-573
- [3] Patel S, Shibamoto T. Effect of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* on production of volatiles in Napa Gamay wine and Petite Sirah wine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(20): 5649-5653
- [4] Callejon RM, Clavijo A, Ortigueira P, et al. Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 660(1/2): 68-75
- [5] Jeyaram K, Singh WM, Capece A, et al. Molecular identification of yeast species associated with 'Hamei'—a traditional starter used for rice wine production in Manipur, India[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 124(2): 115-125
- [6] Romano P, Capece A, Serafino V, et al. Biodiversity of wild strains of *Saccharomyces cerevisiae* as tool to complement and optimize wine quality[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 24(9): 1797-1802
- [7] Tristezza M, Vetrano C, Bleve G, et al. Biodiversity and safety aspects of yeast strains characterized from vineyards and spontaneous fermentations in the Apulia Region, Italy[J]. Food Microbiology, 2013, 36(2): 335-342
- [8] Wu Q, Xu Y, Chen L. Diversity of yeast species during fermentative process contributing to Chinese *Maotai*-flavour liquor making[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 55(4): 301-307
- [9] Shen YF. Liquor Production Technology Encyclopedia[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1998: 326 (in Chinese)
沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 326

- [10] Dong YS, Wang RM. Preliminary study on the derepression of ethanol in solid fermentation of liquor[J]. *Liquor-Making Science*, 2007(7): 20-22,25 (in Chinese)
董永胜, 王瑞明. 白酒固态发酵中解除产物乙醇抑制作用的初步研究[J]. *酿酒科技*, 2007(7): 20-22,25
- [11] Gibson BR, Lawrence SJ, Leclaire JPR, et al. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2007, 31(5): 535-569
- [12] Kong Y, Wu Q, Zhang Y, et al. *In situ* analysis of metabolic characteristics reveals the key yeast in the spontaneous and solid-state fermentation process of chinese light-style liquor[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(12): 3667-3676
- [13] Du LX, Lu FP. *Microbiology Experiment Technology*[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005: 365 (in Chinese)
杜连祥, 路福平. *微生物学实验技术*[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 365
- [14] Cavazza A, Grando MS, Zini C. Rilevazione della flora microbica di mosti e vini[J]. *Vignevini*, 1992, 9: 17-20
- [15] Austin FM, 布伦特 R, 金斯顿 RE, et al. *Choreography Molecular Biology Lab Manual*[M]. Jin YX, Bao HZ, Zhao LY, et al. Trans. Beijing: Science Press, 2008: 7-9 (in Chinese)
奥斯伯 FM, 布伦特 R, 金斯顿 RE, 等. *精编分子生物学实验指南*[M]. 金由辛, 包慧中, 赵丽云, 等译. 北京: 科学出版社, 2008: 7-9
- [16] Wang JL, Nie GX, Li SZ, et al. Optimal wavelength for determining the content of reducing sugar by DNS method[J]. *Henan Agricultural Science*, 2010, 4(4): 115-118 (in Chinese)
王俊丽, 聂国兴, 李素贞, 等. DNS法测定还原糖含量时最适波长的确定[J]. *河南农业科学*, 2010, 4(4): 115-118
- [17] Watanabe T, Watanabe I, Yamamoto M, et al. A UV-induced mutant of *Pichia stipitis* with increased ethanol production from xylose and selection of a spontaneous mutant with increased ethanol tolerance[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 1844-1848
- [18] Fan WL, Hu GY, Xu Y. Quantification of volatile terpenoids in Chinese medicinal liquor using headspace-solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2012, 33(14): 110-116 (in Chinese)
范文来, 胡光源, 徐岩. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定药香型白酒中萜烯类化合物[J]. *食品科学*, 2012, 33(14): 110-116
- [19] Ma RS, Liu T, Guo W. Isolation, screening, and application of yeasts from fermented bran-koji of maotai-flavor liquor[J]. *Chinese Brewing*, 2008, 27(1): 17-18 (in Chinese)
马荣山, 刘婷, 郭威. 麸曲酱香酒醅中酵母菌的分离、筛选及应用[J]. *中国酿造*, 2008, 27(1): 17-18
- [20] Wu XJ. Diversity and dynamics of yeasts and bacteria during the solid state fermentative process contributing to Chinese Maotai-flavor liquor making[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2013 (in Chinese)
吴徐建. 酱香型白酒固态发酵过程中酵母与细菌群落结构变化规律的研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2013
- [21] Liti G, Louis EJ. Yeast evolution and comparative genomics[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 135-153
- [22] Novo M, Bigey F, Beyne E, et al. Eukaryote-to-eukaryote gene transfer events revealed by the genome sequence of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* EC1118[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(38): 16333-16338