

HS-SPME-GC-MS 分析高产酯低产高级醇酿酒酵母发酵酒的风味物质

李维, 崔丹瑶, 王建辉, 张翠英, 肖冬光

(天津市工业微生物重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用(HS-SPME-GC-MS), 分析添加不同高产酯低产高级醇酿酒酵母发酵得到酒样中的挥发性成分, 并采用气相色谱对其中的主要风味物质进行定量分析。气相色谱质谱联用在酿酒酵母 AY15、AY15-BAT2、AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1 的酒样中分别分离鉴定出 62、56、63、59 种挥发性成分, 主要包括酯类、醇类、醛类、酸类、烷烃、芳香烃和酚类等。三株具有不同高级醇和酯生成能力的酿酒酵母发酵得到的酒样中酯类与高级醇的比例相比野生菌株 AY15 均有不同程度的提高, 其中, AY15-BAT2+ATF1 酒样中新检出乙酸正丁酯、乙酸庚酯、乙酸辛酯、乙酸苯乙酯、乙酸-甲氧基-2-苯乙酯五种乙酸酯。定量结果表明, AY15-BAT2+ATF1 与 AY15-IAH1+ATF1 显著提高了乙酸乙酯和乙酸异戊酯的含量, AY15-BAT2 则不影响主要酯类物质的生成; 同时, 这三株酿酒酵母不同程度的降低了酒中正丙醇、异丁醇和异戊醇的含量。

关键词: 顶空固相微萃取气质联用; 酿酒酵母; 白酒; 风味物质; 酯; 高级醇

文章编号: 1673-9078(2018)03-248-254

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.036

HS-SPME-GC-MS Analysis of Flavor Compounds in Liquor Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* Strains with High Ester Yield and Low Higher-alcohol Yield

LI Wei, CUI Dan-yao, WANG Jian-hui, ZHANG Cui-ying, XIAO Dong-guang

(Tianjin Industrial Microbiology Key Laboratory, College of Biotechnology of Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Volatile components in Chinese liquor fermented by different *Saccharomyces cerevisiae* strains with high ester yield and low higher-alcohol yield were analyzed by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The main volatile flavor compounds were quantitatively analyzed by GC. 62, 56, 63, and 59 volatile compounds in liquor samples fermented by the strains AY15, AY15-BAT2, AY15-BAT2+ATF1, and AY15-IAH1+ATF1 were isolated and identified by GC-MS, respectively, mainly including esters, alcohols, aldehydes, acids, alkane, aromatic hydrocarbon, phenols, and so on. Compared with liquor sample by AY15, the proportions of esters and higher alcohols were improved with various degrees in those by AY15-BAT2, AY15-BAT2+ATF1 and AY15-IAH1+ATF1. Among them, n-Butyl acetate, heptyl acetate, octyl acetate, phenylethyl acetate and acetic acid-methoxy-2-phenylethyl ester were newly identified in liquor sample by AY15-BAT2+ATF1. Quantitative analysis results indicated that the contents of ethyl acetate and isoamyl acetate were significantly improved by AY15-BAT2+ATF1 and AY15-IAH1+ATF1, while AY15-BAT2 did not affect the generation of the main esters. Meanwhile, the contents of n-propanol, isobutanol and isoamyl alcohol were reduced with various degrees by AY15-BAT2, AY15-BAT2+ATF1 and AY15-IAH1+ATF1.

Key words: headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry; *Saccharomyces cerevisiae*; Chinese liquor; flavor compounds; esters; higher alcohols

收稿日期: 2017-11-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471724); 天津市科委自然科学基金项目(14JCZDJC32900)

作者简介: 李维(1989-), 男, 在读博士, 研究方向: 现代酿造技术

通讯作者: 张翠英(1979-), 女, 教授, 研究方向: 现代酿造技术; 肖冬光(1956-), 男, 教授, 研究方向: 现代酿造技术

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是一种单细胞真核生物, 是人类接触和应用最早的微生物, 在食品、医药和饲料等领域被广泛应用^[1]。在酿酒工业的发酵过程中, 酿酒酵母将进入细胞的葡萄糖等单糖在酶的作用下, 转化为酒精和二氧化碳等成分^[2]。酿酒工业是全球很多国家和地区的传统优势产业, 在经济发展中扮演着重要的角色。我国是最早拥有酿造制酒技术的国家之一, 至今已有数千年。白酒是我国特有的蒸馏酒, 在酿造过程中, 以酵母菌、霉菌等自然微生物制作酒曲(大曲、小曲和米曲等)作为发酵剂是我国酿酒技术领域的重大发明之一^[3]。

白酒的主要成分是水 and 乙醇, 由酒曲微生物代谢、原料分解及化学反应生成的风味物质虽然占比只有 1%~2%, 但决定着酒的品质和风格。目前白酒可检测到的微量成分有 300 多种, 除极少量的无机化合物之外, 均是具有挥发性的有机化合物^[4,5]。根据化学属性, 白酒中的风味物质可分为酯类、醇类、酸类、醛类、酮类、内酯类、吡嗪类、芳香族和呋喃类等^[6]。这些化合物所具有的特定的呈香呈味基团, 互相补充、配合、衬托、制约, 构成了不同香型和风格白酒的典型特征^[7]。风味物质中, 高级醇主要由酿酒酵母在酿造的主发酵时间段生成^[8,9]。适量的高级醇可以赋予酒特殊的香气, 使口感丰满柔和, 圆润醇厚, 给人愉快舒适的感觉^[10]; 若浓度过高, 则有令人不快的杂异味, 并且饮用后容易“上头”, 危害人体健康^[11]。酯类物质来自酵母的生物合成、酒曲中酯化酶的催化合成以及贮藏陈酿过程中的酯化反应^[12-14]。酯普遍具有果香味, 且阈值较低, 对各种酒类风味典型性的形成有着关键的作用^[15]。如何将酒中高级醇的含量控制在合适的范围内, 将酯的含量在合适的范围内提高, 是酿酒行业一直关注的课题^[14,16]。

本研究采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用 (HS-SPME-GC-MS) 检测由不同的高产酯低产高级醇酿酒酵母参与发酵的酒中的风味成分, 比较它们对酒风味形成的差异, 并采用气相色谱对其中主要的风味物质进行定量分析, 旨在研究这几株酿酒酵母对酒中高级醇和酯含量的影响, 为其实际应用奠定坚实的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌株: 酿酒酵母工业菌株 AY15 (CICC32315)、低产高级醇酿酒酵母菌株 AY15-BAT2^[17]、高产酯低产高级醇酿酒酵母菌株 AY15-BAT2+ATF1^[17] 和

AY15-IAH1+ATF1^[17], 均由天津科技大学天津市工业微生物重点实验室保藏。

材料: 浓香大曲、高粱粉, 某浓香型白酒厂提供; 玉米粉, 市售; 液化酶、糖化酶, 来自诺维信(中国)生物技术有限公司。

试剂: 乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯、乙酸正戊酯、正丙醇、异丁醇、异戊醇、乙酸、丁酸、己酸(均为色谱纯), 来自天津光复精细化工研究所。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪、7890A 气相色谱仪、G4512A 自动进样器, 来自美国 Agilent 公司; 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头、固相微萃取 (SPME) 手柄, 来自美国 Supelco 公司; IT-09A 恒温磁力加热搅拌器, 来自上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 白酒发酵

将高粱粉碎, 60%以上通过 20 目筛孔; 500 mL 三角瓶称取高粱 80 g, 加入到 200 mL 60 $^{\circ}\text{C}$ 水中, 加入液化酶 20 μL , 加热至 85~90 $^{\circ}\text{C}$, 维持 1 h; 115 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min, 冷却至 60 $^{\circ}\text{C}$, 加入糖化酶 40 μL , 维持 30 min; 冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$, 加酸性蛋白酶, 维持 30 min; 冷却至 30 $^{\circ}\text{C}$, 加入大曲 20 g, 加脂肪酶 0.08 g, 接酵母(细胞数 500 万/mL), 总体积补充至 300 mL, 搅拌均匀; 30 $^{\circ}\text{C}$ 静置发酵, 48 h 添加己酸 (500 mg/L); 发酵 5 d, 将三瓶发酵醪合并蒸馏, 蒸馏至酒度为 50% (V/V)。

1.3.2 萃取^[18]

将酒样稀释至 12% (V/V), 取 8 mL 置于 20 mL 螺口顶空样品瓶, 加 3 g 氯化钠, 放入磁性转子, 用聚四氟乙烯将瓶口紧密封好。样品在恒温磁力搅拌器中 60 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 10 min, 将萃取头插入瓶内顶空吸附 40 min。萃取后将萃取头插入 GC-MS 系统进样口, 250 $^{\circ}\text{C}$ 解吸附 5 min。

1.3.3 GC-MS 条件^[18]

气相色谱条件: 色谱柱为 Agilent CP-Wax (60 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.5 \mu\text{m}$); 进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 不分流; 载气氦气流速为 0.8 mL/min; 升温程序为起始 40 $^{\circ}\text{C}$ 维持 2 min, 按照 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升到 100 $^{\circ}\text{C}$, 再按照 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升到 230 $^{\circ}\text{C}$, 维持 3 min。

质谱条件: EI; 70 eV; 扫描范围 30~500 u; 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.4 GC 条件^[17]

检测条件：检测器为 FID，色谱柱为 Agilent 1909N-213 (30 m×320 μm×0.5 μm)，高纯度氮气载气流速设置为 2 mL/min，进样口温度为 200 °C，检测器温度为 200 °C，进样量为 1 μL，分流比为 10:1。起始色谱柱温度为 50 °C 并维持 8 min，然后按照 5 °C/min 的速度提升到 120 °C，维持 5 min。

1.4 数据处理

定性：GC-MS 的结果经 NIST08 谱库进行定性分析，对样品中各挥发性成分的相对含量进行计算，利用面积归一法。

定量：以乙酸正戊酯作为内标，对样品中含量较多的风味物质进行定量分析。

2 结果与讨论

2.1 不同高产酯低产高级醇酿酒酵母挥发性

风味物质的鉴定及分析

在 AY15、AY15-BAT2、AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1 参与发酵的酒样中分别鉴定出 62、56、63、59 种挥发性成分，结果如表 1。

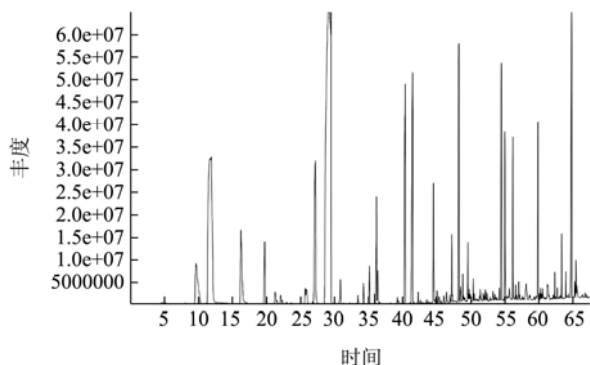


图 1 AY15 酒样挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.1 TIC of volatile components in liquor sample by AY15

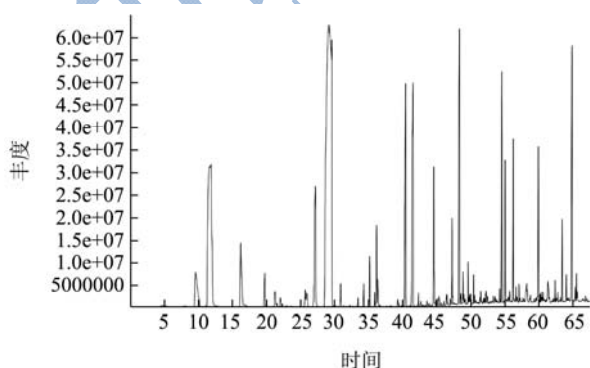


图 2 AY15-BAT2 酒样挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.2 TIC of volatile components in liquor sample by

AY15-BAT2

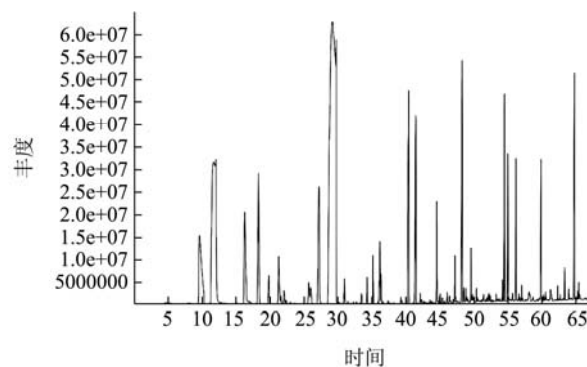


图 3 AY15-BAT2+ATF1 酒样挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.3 TIC of volatile components in liquor sample by
AY15-BAT2+ATF1

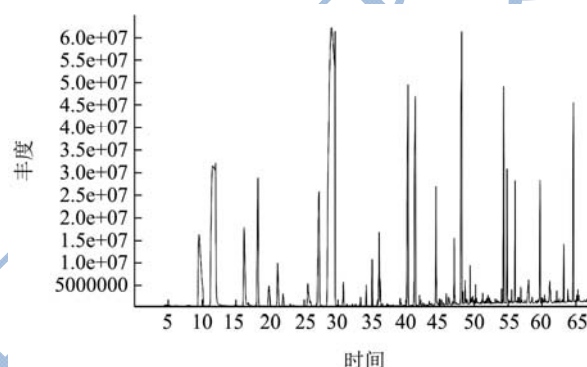


图 4 AY15-IAH1+ATF1 酒样挥发性成分的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.4 TIC of volatile components in liquor sample by
AY15-IAH1+ATF1

在白酒发酵过程中，分别添加酿酒酵母野生菌株 AY15 和拥有不同高级醇和酯生成能力的酿酒酵母菌株 AY15-BAT2、AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1，对其发酵后蒸馏得到的酒样进行 HS-SPME-GC-MS 检测分析，总离子流色谱图 (total ion chromatogram, TIC) 见图 1、2、3 和 4。

有 AY15 参与发酵的酒样主要挥发性成分有 42 种酯类、除乙醇外 6 种醇类、2 种醛类、3 种酸类、5 种烷烃、1 种芳香烃、1 种酚类和 1 种萜类。其中，酯醇酸醛四大类物质的含量分别占总挥发性成分的 60.90%、6.32%、0.08%和 2.62%，其它物质的含量占挥发性成分的 0.60%。有 AY15-BAT2 参与发酵的酒样主要挥发性成分有 36 种酯类、除乙醇外 7 种醇类、1 种醛类、3 种酸类、5 种烷烃、1 种酮类、1 种酚类、1 种萜类。其中，酯醇酸醛四大类物质的含量分别占总挥发性成分的 54.35%、4.62%、0.04%和 2.14%，醇类物质的相对含量相比 AY15 降低了 26.93%；其它物质的含量占挥发性成分的 0.65%。

有 AY15-BAT2+ATF1 参与发酵的酒样主要挥发性成分有 44 种酯类、除乙醇外 5 种醇类、1 种醛类、3 种酸类、5 种烷烃、1 种芳香烃、1 种酮类、1 种酚

类、1种萜类。其中，酯醇酸醛四大类物质的含量分别占总挥发性成分的67.15%、4.28%、0.03%和2.19%，酯类物质的相对含量相比AY15提高了10.27%，醇类物质的相对含量相比AY15降低了32.30%；其它物质的含量占挥发性成分的0.45%。与AY15相比，AY15-BAT2+ATF1样品中新检出乙酸正丁酯、乙酸庚酯、乙酸辛酯、乙酸苯乙酯、乙酸-甲氧基-2-苯乙酯五种乙酸酯。有AY15-IAH1+ATF1参与发酵的酒样主要挥发性成分有42种酯类、除乙醇外6种醇类、1种醛

类、3种酸类、3种烷烃、1种芳香烃、1种酚类、1种萜类。其中，酯醇酸醛四大类物质的含量分别占总挥发性成分的68.21%、4.50%、0.04%和1.90%，酯类物质的相对含量相比AY15提高了12.01%，醇类物质的相对含量相比AY15降低了28.73%；其它物质的含量占挥发性成分的0.35%。与AY15相比，AY15-IAH1+ATF1样品中新检出乙酸正丁酯、乙酸辛酯两种乙酸酯。

表1 挥发性成分在不同酿酒酵母菌株酒样中的相对含量

Table 1 Relative contents of volatile components in liquor samples by different yeast strains

序号	保留时间/min	挥发性成分名称	面积百分含量/%			
			AY15	AY15-BAT2	AY15-BAT2+ATF1	AY15-IAH1+ATF1
酯类						
1	9.67	乙酸乙酯	2.48	2.05	4.33	4.44
2	16.32	丁酸乙酯	2.53	2.12	3.06	2.45
3	17.13	2-甲基丁酸乙酯	-	0.03	-	-
4	18.36	乙酸正丁酯	-	-	3.16	2.92
5	21.26	乙酸异戊酯	0.36	0.44	1.25	1.00
6	22.04	戊酸乙酯	0.26	0.25	0.34	0.26
7	23.55	丁酸异丁酯	0.05	0.02	0.02	0.02
8	25.70	异己酸乙酯	0.27	-	-	-
9	27.34	甲酸异戊酯	-	-	-	3.34
10	29.16	己酸乙酯	32.89	33.66	37.00	34.45
11	30.86	丁酸戊酯	0.41	-	-	-
12	30.93	丁酸异戊酯	-	-	0.35	0.35
13	31.46	乙酸己酯	0.02	-	0.04	-
14	32.23	乙基-5-己酸甲酯	0.03	-	-	-
15	33.46	3-己烯酸乙酯	0.13	0.14	0.15	0.15
16	34.29	己酸丙酯	0.26	0.28	0.30	0.24
17	35.16	庚酸乙酯	0.45	0.59	0.55	0.54
18	36.18	己酸异丁酯	1.55	1.10	0.71	1.06
19	36.66	正戊酸异戊酯	0.03	0.03	0.03	0.03
20	37.37	乙酸庚酯	-	-	0.03	-
21	39.28	己酸丁酯	0.11	-	0.09	-
22	39.41	丁酸己酯	0.03	0.04	0.03	0.04
23	41.51	己酸异戊酯	5.14	-	3.51	4.61
24	42.13	乙酸辛酯	-	-	0.09	0.10
25	43.56	己酸戊酯	0.01	-	0.04	0.04
26	43.67	山梨酸乙酯	-	0.01	0.02	0.02
27	44.55	壬酸乙酯	1.49	1.70	1.12	1.33
28	45.04	己酸羟乙酯	-	-	-	0.08
29	45.32	反式-2-辛烯酸乙酯	0.07	0.15	0.04	0.09
30	45.38	甲酸辛酯	-	-	0.05	-

转下页

接上页

31	47.23	己酸己酯	0.63	0.84	0.41	0.62
32	48.85	辛酸 3-甲基丁酯	-	0.29	0.13	0.20
33	49.17	反式-4-癸烯酸乙酯	0.04	0.29	0.03	0.04
34	49.58	丁二酸二乙酯	0.55	0.39	0.48	0.33
35	49.72	苯甲酸乙酯	0.08	0.08	0.06	0.06
36	49.94	9-癸烯酸乙酯	0.12	-	0.07	-
37	50.90	癸酸正丙酯	-	-	-	0.02
38	51.31	4,8,12-三甲基-癸酸乙酯	0.05	0.07	-	0.04
39	51.43	十一酸乙酯	0.17	0.14	0.09	0.12
40	53.28	苯乙酸乙酯	0.13	0.15	0.10	0.08
41	54.21	乙酸苯乙酯	-	-	0.21	-
42	54.52	月桂酸乙酯	-	-	2.71	2.98
43	56.18	3-苯丙酸乙酯	1.66	1.67	1.33	1.13
44	57.21	十三酸乙酯	0.06	0.07	0.03	0.03
45	58.17	油酸乙酯	0.50	0.49	0.24	0.61
46	59.87	十四酸乙酯	1.67	1.45	1.22	1.02
47	60.96	己酸苯乙酯	-	-	-	0.01
48	61.29	亚油酸乙酯	0.42	0.55	0.27	0.47
49	61.49	辛二酸二乙酯	0.07	-	-	-
50	62.33	13-甲基十四酸乙酯	-	0.07	-	0.11
51	62.34	十五酸乙酯	0.23	0.21	0.12	-
52	63.35	乙酸-甲氧基-2-苯乙酯	-	-	0.28	-
53	63.36	己酸-2-苯乙酯	0.61	0.78	-	0.51
54	64.77	棕榈酸乙酯	4.70	3.71	2.81	2.11
55	65.26	9-十六碳烯酸乙酯	0.34	0.41	0.24	0.18
56	65.27	E-11-十六碳烯酸乙酯	0.17	-	-	-
57	66.45	9,12-十六碳二烯酸乙酯	0.10	0.09	0.02	-
58	67.21	14-甲基十六酸乙酯	0.01	0.01	-	-
醇类						
59	11.67	乙醇	13.12	12.03	13.25	13.36
60	16.80	正丙醇	0.08	0.06	-	-
61	19.97	异丁醇	1.10	0.59	0.52	0.60
62	23.12	正丁醇	0.04	0.03	-	0.04
63	27.34	异戊醇	4.46	3.32	3.22	3.34
64	36.34	正己醇	0.42	0.33	0.35	0.30
65	48.02	三十烷醇	-	-	0.01	-
66	52.14	油醇	-	-	-	0.05
67	57.04	苯乙醇	0.21	0.23	0.18	0.18
68	57.81	十二硫醇	-	0.05	-	-
醛类						
69	42.20	糠醛	0.02	-	-	-
70	44.72	苯甲醛	0.05	0.04	0.03	-
71	51.12	E-14-十六烷烯醛	-	-	-	0.04

转下页

接上页

酸类						
72	48.51	丁酸	-	0.17	0.20	0.18
73	54.99	己酸	2.23	1.83	1.91	1.63
74	60.56	辛酸	0.14	0.14	-	0.10
75	65.56	癸酸	0.25	-	0.07	-
其它						
76	38.11	十四烷	0.01	0.01	0.00	0.01
77	42.62	十五烷	0.05	0.06	0.03	-
78	46.51	十六烷	0.06	0.11	0.06	-
79	47.33	石竹烯	0.07	0.08	0.05	0.08
80	49.82	十七烷	0.07	0.11	0.09	0.07
81	52.40	萘	0.13	-	0.09	0.09
82	52.87	十八烷	0.02	0.04	0.02	0.02
83	53.65	2-十三烷酮	-	0.06	0.02	-
84	56.60	2,6-二叔丁基对甲酚	0.18	0.20	0.08	0.07

注：“-”表示未检出。

2.2 挥发性风味物质定量分析

对酒样中含量较多的挥发性风味物质进行 GC 定量分析, 结果见表 2。

表 2 不同酿酒酵母酒样中主要挥发性成分定量分析结果

Table 2 Quantitative analysis results of main volatile components in liquor samples by different yeast strains

名称	含量/(mg/L)			
	AY15	AY15-BAT2	AY15-BAT2+ATF1	AY15-IAH1+ATF1
乙酸乙酯	819.06	781.56	1559.43	1598.89
乙酸异戊酯	6.22	6.61	12.96	15.40
丁酸乙酯	103.83	92.52	114.84	97.57
己酸乙酯	1216.91	1092.37	1114.30	1019.81
乳酸乙酯	263.70	234.42	252.69	223.98
正丙醇	102.57	93.13	87.52	87.13
异丁醇	383.71	214.37	158.51	257.69
异戊醇	665.38	540.79	459.40	492.72
乙酸	209.24	194.79	215.72	227.33
丁酸	134.20	131.28	123.63	127.72
己酸	276.79	286.32	256.55	249.43

2.2.1 酯类物质

酯类物质是白酒中含量最多的风味物质之一, 是酒中香气的主要来源^[15]。有 AY15-BAT2 参与发酵酒样的乙酸乙酯与乙酸异戊酯相比 AY15 没有显著差异。有 AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1 参与发酵酒样的乙酸乙酯与乙酸异戊酯则有显著提高, 乙酸乙酯生成量分别为 1559.43 mg/L 和 1598.89 mg/L, 相比 AY15 提高 90.39%和 95.21%; 乙酸异戊酯生成量分别为 12.96 mg/L 和 15.40 mg/L, 相比 AY15 提高 108.39%和 147.55%。其它的主要酯类物质丁酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯, 四株酿酒酵母之间没有明显区

别。结果表明高产酯低产高级醇的两株酿酒酵母可以在不影响其它主要酯含量的情况下, 显著提高酒中主要乙酸酯的含量; 低产高级醇酿酒酵母不影响主要酯类物质的生成。

2.2.2 高级醇

高级醇不仅衬托出酯香, 还使口感丰满柔和, 圆润醇厚^[10], 但若其浓度过高, 则有令人不快的杂异味, 并且饮用后容易“上头”^[11]。有 AY15-BAT2、AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1 参与发酵酒样的正丙醇、异丁醇和异戊醇相比 AY15 均有显著减少且程度各不相同: AY15-BAT2 样品中三种高级醇的含

量分别降低了 9.2%、44.13% 和 18.72%，AY15-BAT2+ATF1 样品中三种高级醇的含量分别降低了 14.67%、58.69% 和 30.96%，AY15-IAH1+ATF1 样品中三种高级醇的含量分别降低了 15.06%、32.84% 和 25.95%。结果表明三种酿酒酵母在白酒发酵过程中具有不同的高级醇生成能力，结合其不同的乙酸酯生成能力，使得最终得到的酒样中的酯与高级醇的比例有不同程度的提高。

2.2.3 酸类物质

酸类物质是形成口感和味道的重要成分，也是形成酯的前体物质，对酒的后味起到平衡和协调的作用^[19]。有 AY15-BAT2、AY15-BAT2+ATF1、AY15-IAH1+ATF1 参与发酵酒样的乙酸、丁酸、己酸相比 AY15 均没有显著差异。结果表明三株酿酒酵母菌株在改变酯与高级醇含量比例的情况下，对酸类物质的含量没有明显影响。

3 结论

采用 HS-SPME-GC-MS 检测由不同的高产酯低产高级醇酿酒酵母参与发酵白酒中的挥发性成分，发现酯与高级醇的比例相比野生菌株均有不同程度的提高。其中，AY15-BAT2+ATF1 样品中新检出乙酸正丁酯、乙酸庚酯、乙酸辛酯、乙酸苯乙酯、乙酸-甲氧基-2-苯乙酯五种乙酸酯，AY15-IAH1+ATF1 样品中新检出乙酸正丁酯、乙酸辛酯两种乙酸酯。对酒样中的主要风味物质进行定量分析，两株高产酯低产高级醇酿酒酵母在不影响其它主要酯含量的情况下，显著提高乙酸乙酯和乙酸异戊酯的含量；低产高级醇酿酒酵母则不影响主要酯类物质的生成。三种酿酒酵母不同程度的降低了酒中正丙醇、异丁醇和异戊醇的含量，结合其不同的乙酸酯生成能力，最终不同程度的提高了酯与高级醇的比例。研究结果为这三株高产酯低产高级醇酿酒酵母在工业中的实际应用提供实验依据。

参考文献

[1] 熊子书.中国酿酒酵母菌的研究-不同酒类酵母筛选与应用纪实(上)[J].酿酒科技,2002,4:23-27
XIONG Zi-shu. Research on liquor-making yeasts in china-records on screening of varieties of yeast and their applications [J]. Liquor-making Science & Technology, 2002, 4: 23-27

[2] 叶世超,薛婷,何文锦,等.酿酒酵母育种技术的研究进展[J].食品工业科技,2013,34(16):372-375
YE Shi-chao, XUE Ting, HE Wen-jin, et al. Research progress in the technique of the *Saccharomyces cerevisiae*

breeding [J]. Science & Technology of Food Industry, 2013, 34(16): 372-375

[3] Dung N T P, Rombouts F M, Nout M J R. Development of defined mixed-culture fungal fermentation starter granulate for controlled production of rice wine [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2005, 6(4): 429-441

[4] 康文怀,徐岩.中国白酒风味分析及其影响机制的研究[J].北京工商大学学报(自然科学版),2012,30(3):53-58
KANG Wen-huai, XU Yan. Review on aroma compounds and its formation mechanism in Chinese liquors [J]. Journal of Beijing Technology & Business University (Natural Science Edition), 2012, 30(3): 53-58

[5] 霍丹群,宋春霞,李俊杰,等.一种可视化快速鉴别白酒的新方法研究[J].现代食品科技,2014,30(5):267-272
HUO Dan-qun, SONG Chun-xia, LI Jun-jie, et al. Development of a colorimetric sensor array for rapid discrimination of Chinese liquors [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(5): 267-272

[6] 范文来,徐岩.中国白酒风味物质研究的现状与展望[J].酿酒,2007,34(4):31-37
FAN Wen-lai, XU Yan. The review of the research of aroma compounds in Chinese liquors [J]. Liquor Making, 2007, 34(4): 31-37

[7] 张丽敏,张生万.中国白酒与风味物质[J].酿酒科技,2002,3:41-42
ZHANG Li-min, ZHANG Sheng-wan. Chinese liquors & their flavoring materials [J]. Liquor-making Science & Technology, 2002, 3: 41-42

[8] 肖敏,王贵银,刘复今.高粱固态白酒发酵中菌类产生高级醇的研究[J].食品与发酵工业,1996,3:1-7
XIAO Min, WANG Gui-yin, LIU Fu-jin. Study on higher alcohol production by microbes in the course of sorghum solid-state Chinese-liquor fermentation [J]. Food and Fermentation Industries, 1996, 3: 1-7

[9] 刘芳志,张翠英,李维,等.BAT 基因改造对酿酒酵母高级醇生成量的影响[J].现代食品科技,2016,32(6):142-147
LIU Fang-zhi, ZHANG Cui-ying, LI Wei, et al. Effects of BAT genetic modification on the yield of higher alcohols from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(6): 142-147

[10] 徐成勇,郭波,周莲,等.白酒香味成分研究进展[J].酿酒科技,2002,3:38-40
XU Cheng-yong, GUO Bo, ZHOU Lian. Advance in aromatic compositions of Chinese spirits [J]. Liquor-making Science & Technology, 2002, 3: 38-40

- [11] 林志国.啤酒中高级醇的控制[J].酿酒科技,2001,2:55-56
LIN Zhi-guo. Control of the higher alcohol in beer [J].
Liquor-making Science & Technology, 2001, 2: 55-56
- [12] Fan W, Qian M C. Headspace solid phase microextraction
and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of
young and aged Chinese “Yanghe Daqu” liquors [J]. Journal
of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(20): 7931-7938
- [13] Saerens S M G, Delvaux F, Verstrepen K J, et al. Parameters
affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae*
during fermentation [J]. Applied and Environmental
Microbiology, 2008, 74(2): 454-461
- [14] 刘彩霞,郭学武,李玲玲,等.高产酯酿酒酵母与乳酸菌共发
酵过程中的相互作用研究[J].现代食品科技,2017,33(7):79
-84
LIU Cai-xia, GUO Xue-wu, LI Ling-ling, et al. Interactions
of high ester producing *Saccharomyces cerevisiae* and lactic
acid bacteria during Co-fermentation [J]. Modern Food
Science and Technology, 2017, 33(7): 79-84
- [15] 王东新.白酒中酯类化合物稳定性的研究及应用[D].太原:
山西大学,2005
WANG Dong-xin. Study on stability of fatty acid esters in
alcohol liquor and its application [D]. Taiyuan: Shanxi
University, 2005
- [16] 孙金旭,朱会霞.蛋白酶对酱香型白酒中杂油醇含量的影响
研究[J].现代食品科技,2012,28(9):1146-1148
SUN Jin-xu, ZHU Hui-xia. The effect of protease on fusel oil
in wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2012,
28(9): 1146-1148
- [17] Li W, Wang J H, Zhang C Y, et al. Regulation of
Saccharomyces cerevisiae genetic engineering on the
production of acetate esters and higher alcohols during
Chinese Baijiu fermentation [J]. Journal of Industrial
Microbiology & Biotechnology, 2017, 44(6): 949-960
- [18] Du L, He T, Li W, et al. Analysis of volatile compounds in
chinese laobaigan liquor using headspace solid-phase
microextraction coupled with GC-MS [J]. Analytical
Methods, 2015, 7(5): 1906-1913
- [19] 贾巧唤,任石苟.浅述酸、酯、醇等成分对白酒的影响[J].
食品工程,2008,4:12-13
JIA Qiao-huan, REN Shi-gou. Influence of acids content,
esters content, alcohols content on Chinese liquor [J]. Food
Engineering, 2008, 4: 12-13