

中国酒曲中酵母菌的代谢及其微生物互作研究进展

冯莹莹¹, 范相蓉¹, 李玮琳¹, 胡哲源¹, 陈小雪^{1,2,3*}

(1. 中原食品实验室, 河南 漯河 462000; 2. 中国农业大学 营养与健康系, 北京 100091;
3. 中国农业大学 中国轻工业酒曲品质工程重点实验室, 北京 100091)

摘要: 酒曲作为混菌发酵剂用于酿酒生产具有悠久的历史, 其中酵母菌在发酵过程中的核心作用尤为重要。酵母菌作为酒曲中关键的功能微生物, 对产品的产量、品质和风味具有重要影响。该文对酒曲及功能酵母菌进行了介绍, 系统综述了酒曲中酵母菌的代谢及其微生物互作研究进展, 重点从酒曲微生物群落多样性特征、酵母菌代谢特性及其与其他微生物的互作机制、功能酵母菌株的筛选、改良及其工业应用等方面展开论述。旨在从酵母菌及其菌群互作的视角深入理解酒曲微生物的生物学奥秘, 以期酒曲微生物资源的高效开发与利用研究提供参考。

关键词: 酒曲; 酵母; 代谢; 微生物互作; 改良应用

中图分类号: TS261.2

文章编号: 0254-5071(2026)02-0001-08

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2026.02.001

引文格式: 冯莹莹, 范相蓉, 李玮琳, 等. 中国酒曲中酵母菌的代谢及其微生物互作研究进展[J]. 中国酿造, 2026, 45(2): 1-8.

Research progress on yeast metabolism and its microbial interaction in Chinese *Jiuqu*

FENG Yingying¹, FAN Xiangrong¹, LI Weilin¹, HU Zheyuan¹, CHEN Xiaoxue^{1,2,3*}

(1. Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe 462000, China; 2. Department of Nutrition and Health, China Agricultural University, Beijing 100091, China; 3. Key Laboratory of Jiuqu Quality and Engineering of China Light Industry, China Agricultural University, Beijing 100091, China)

Abstract: *Jiuqu*, as a mixed microbial starter, has a long history of application in alcoholic drink production, among which the core role of yeast in the fermentation process is particularly significant. As a key functional microorganism in *Jiuqu*, yeast has a significant impact on the yield, quality and flavor of the product. *Jiuqu* and functional yeasts were introduced, and the research progress on yeast metabolism as well as its microbial interaction in *Jiuqu* were systematically reviewed in this paper. The diversity characteristics of microbial communities in *Jiuqu*, yeast metabolism and its interaction mechanisms with other microorganisms, as well as the screening, improvement, and industrial application of functional yeast strains were focus-edly discussed. So as to deeply understand the biological mysteries of *Jiuqu* from this perspective of yeast and its microbial community interaction, aiming to provide reference for the efficient development and utilization research of *Jiuqu* microbial resources.

Key words: *Jiuqu*; yeast; metabolism; microbial interaction; improvement and application

1 酒曲及功能酵母菌简介

1.1 酒曲的定义及分类

酒曲是传统白酒酿造过程中广泛使用的混菌发酵剂, 通常以小麦、豌豆、大麦、米粉、麸皮等为主要原料制作而成^[1], 其富含在酿酒生产中发挥不同作用的微生物类群。复杂的微生物类群及其生长代谢活动为发酵过程提供了丰富的酶和物质基础, 在白酒酿造过程中扮演着至关重要的角色, 对白酒的品质与风味具有重要影响。

酒曲的分类多种多样, 根据原料可分为麦曲和米曲, 其中米曲包括米粉制成的小曲和熟米饭制成的红曲或乌衣红曲等; 根据原料的生熟可分为生曲和熟曲; 根据曲的形态和体积可分为大曲、小曲和散曲; 根据酒曲中微生物

的来源可分为传统酒曲和纯种酒曲, 其中传统酒曲天然接种微生物, 纯种酒曲接种特定的功能微生物, 包括米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 曲、根霉 (*Rhizopus*) 曲和黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 曲等^[2]。

大曲和小曲是酿酒生产中最常见的类型。大曲以小麦或豌豆和大麦为原料, 经堆积培菌制成的形状较大且含有丰富的菌系、物系和酶系的固态发酵剂。大曲根据固态培菌制曲的最高温度可分为高温大曲、中温大曲和低温大曲; 根据酿酒的种类还可分为酱香型大曲、浓香型大曲和清香型大曲等。小曲是以米粉或米糠为原料, 接种微生物后加入一定比例的水, 制成曲丸、曲粒和曲饼等不同形状, 经人工控制温度、湿度等条件自然培菌而制成的混菌发酵剂,

收稿日期: 2025-03-17

修回日期: 2025-07-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272275)

作者简介: 冯莹莹(1995-), 女, 研究实习员, 硕士, 研究方向为酿酒工程。

*通讯作者: 陈小雪(1988-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为酿酒微生物组学、功能酒产品的开发和功能验证。

小曲的菌群复杂度相比大曲较为简单。小曲中添加中草药或香辛料可制成药曲^[3]。

1.2 酒曲微生物群落的多样性

酒曲中的微生物主要来源于三个方面:制曲原料、水等所携带的微生物;曲母中的微生物;制曲场所和空气中的微生物,这三种来源的微生物通过自然筛选、培养、富集等过程,最终形成富含功能微生物的酿酒糖化发酵剂——酒曲^[3]。中国酒曲的制作环境大多与空气直接接触,不同的地区空气中的微生物各有差异,导致不同地区的酒曲特质各异。另外生产工艺的不同,更加使得酒曲中的微生物繁杂多样。有研究表明,同一批曲样的不同曲块、同一曲块的不同部位的微生物群落结构也有差异^[4-6]。

不同酒曲中的微生物群落结构有所差异,其中起关键作用的微生物称为功能微生物。研究表明,酒曲中的微生物主要有三类,酵母菌、霉菌和细菌,不同的微生物生存习性差异较大,功能迥异^[1]。酒曲中功能霉菌可以将淀粉等物质分解为小分子糖从而为其他微生物提供营养;功能酵母主要有酒化生成乙醇、分泌乙酸乙酯、己酸乙酯和丁酸乙酯等风味物质的作用;功能细菌则通过产酸和产酯使酒体的风味更加丰富独特^[1]。总结来说:霉菌负责糖化,酵母菌

负责发酵,细菌负责产香。酒曲微生物的糖化、酒化和产酯等功能对酒的品质与风味起着决定性的影响。通常,具备高产乙醇、高糖化率、高蛋白酶活性、低产高级醇、高产酯类、耐酒精、耐高温和耐酸等特性的菌株被视为功能微生物^[7]。酒曲功能微生物的筛选以菌株的发酵性能以及酒体所需要的风格为前提。

1.3 功能酵母在酒曲中的作用

随着酒曲微生态研究的不断深入,各种微生物的功能也逐渐清晰。酒曲中的功能酵母菌主要包括酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和非酿酒酵母(non-*Saccharomyces*),酵母菌的发酵特性和性能主要是酒化、产酯、高耐受性和低产高级醇。用于中国白酒发酵的酒曲主要有大曲、小曲和麸曲,不同酒曲中功能酵母的种类有所差异,酒曲中的功能酵母菌主要有产酒酵母、产酯酵母和假丝酵母等,不同酒曲中功能酵母的种类及其分布见表1。酿酒酵母作为酒类发酵中最重要的产酒功能酵母,广泛存在于绝大多数类型的酒曲之中;相比之下,非酿酒酵母如产酯酵母(汉逊酵母等)、假丝酵母属(产酸,产酯,分解蛋白)和毕赤酵母属(耐高温,产酶,降酸)等在不同酒曲中的分布呈现出差异性。

表1 不同酒曲中的优势酵母菌种类
Table 1 Dominant yeast species in different Jiuqu

酒曲类型	酵母菌种类(优势菌株)	参考文献
大曲	高温 酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)、葡萄汁有孢汉逊酵母(<i>Hanseniaspora uvarum</i>)、有孢汉逊酵母属(<i>Hanseniaspora</i>)、汉逊酵母属(<i>Hansenula</i>)、假丝酵母属(<i>Candida</i>)、异常毕赤酵母(<i>Pichia anomala</i>)	[8-10]
	中温 扣囊复膜酵母(<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>)、异常毕赤酵母(<i>Pichia anomala</i>)、霍尔姆假丝酵母(<i>Candida holmii</i>)	[9-10]
	低温 酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)、扣囊复膜酵母(<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>)、异常毕赤酵母(<i>Pichia anomala</i>)、异常威克汉姆酵母(<i>Wickerhamomyces anomalus</i>)	[11-13]
小曲	- 酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)、扣囊复膜酵母(<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>)、异常毕赤酵母(<i>Pichia anomala</i>)、异常汉逊酵母(<i>Hansenula anomala</i>)	[14-17]
麸曲	- 酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)、扣囊复膜酵母(<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>)、异常威克汉姆酵母(<i>Wickerhamomyces anomalus</i>)	[11,18-20]

酵母菌在酿造过程中的代谢主要包括初级代谢和次级代谢。初级代谢维持酵母菌的生长和存活,主要生成乙醇、乙酸和乙醛等代谢产物;次级代谢非生长和存活所必需,主要生成酯类、高级醇、硫醇和萜烯类化合物等代谢产物^[21-23]。产酒精的能力是功能酵母菌筛选的关键指标之一,对发酵效率、酒精生成量以及酒体的质量具有决定性影响。高产酒酵母的初筛多使用2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5- triphenyl tetrazolium chloride, TTC)培养基来进行, TTC的显色反应程度与微生物细胞内脱氢酶活性呈正相关,这一特性可用于评估酵母的乙醇合成效能^[24]。另外,乙醇含量的测定可采用多种分析技术,包括密度计法和气相色谱分析法等,这些定量研究方法对高产乙醇酵母的选育、功能评价和工业化应用具有重要意义。

功能酵母菌主要为产酒酵母和产酯酵母。产酒酵母主

要为酿酒酵母,而产酯酵母即非酿酒酵母主要包括汉逊酵母属、假丝酵母属和球拟酵母属^[25]。产酒酵母作为酒曲中的主要酵母,承担着关键的发酵任务,对酒的产量和品质起着至关重要的作用。产酯酵母是一类能分泌酯、醇、醛等挥发性芳香物质的酵母菌,也称生香酵母^[26]。产酯酵母主要将有机酸和醇类反应结合,负责酯类风味物质的合成,其发酵产酒能力相对较弱^[25]。

2 酒曲中功能酵母菌的代谢特性

2.1 功能酵母菌中的高级醇代谢途径

高级醇可以由氨基酸分解代谢产生,即Ehrlich途径。首先氨基酸在转氨酶的作用下生产相应的 α -酮酸,然后 α -酮酸经过脱羧反应生成相应的醛,最后醛在醇脱氢酶的作用下加氢生成相应的高级醇^[27-28]。酵母菌代谢产生的高级醇主要包括异丁醇、异戊醇、苯乙醇和2-甲基-1-丁醇等,由支

链氨基酸转化生成。当前,酵母菌高级醇的代谢工程改造主要聚焦于氨基转移酶、 α -酮酸合成与分解代谢、乙酸酯代谢以及碳氮代谢等领域^[29-30]。

2.1.1 氨基酸代谢途径

不同的氨基酸由相应的氨基转移酶催化转氨生成相应的 α -酮酸,转氨过程根据底物氨基酸的不同主要由两类酶催化,一类是支链氨基酸氨基转移酶,由BAT1和BAT2基因编码,另一类底物较广泛,主要是芳香族氨基酸,由ARO8和ARO9基因编码;此外,由ILV1基因编码的苏氨酸脱氨酶也具有脱氨基的功能^[29]。目前,酿酒酵母中研究最多的是BAT基因。EDEN A等^[31]研究发现,在酿酒酵母中敲除BAT1或BAT2基因均能够有效抑制高级醇的合成,过表达BAT2基因使高级醇生成量明显提高;然而同时敲除BAT1和BAT2基因,高级醇的合成水平却显著提高($P<0.05$)。STYGER G等^[21]在酵母菌中过表达BAT1基因,研究发现高级醇合成受到明显抑制。COLÓN M等^[32-33]研究发现,BAT1和BAT2基因编码的酶类虽然相同,但两者的亚细胞定位与功能存在显著差异,BAT1主要在线粒体中催化 α -酮酸生成相应的氨基酸,而BAT2主要在细胞质中催化支链氨基酸生成相应的 α -酮酸。刘芳志等^[34-35]过量表达BAT1基因同时敲除BAT2基因,获得了高级醇合成能力显著降低的酵母菌株。ARO8基因和ARO9基因分别主要参与苯丙氨酸和色氨酸的脱氨基反应,有研究表明^[36],在酿酒酵母中敲除ARO8基因,导致2-苯乙醇合成量明显提升。然而,有研究发现在酿酒酵母中过表达ARO8或ARO9基因,也能使2-苯乙醇的产量有一定的提升^[37-38]。这种矛盾现象可能是出现了补偿效应:一个基因的缺失激发了另一个同类基因更多的表达,从而提高了 β -苯乙醇的产量^[33]。以上研究表明,抑制氨基酸代谢途径中氨基转移酶的活性,能降低 α -酮酸的合成,进而降低高级醇的合成。

2.1.2 α -酮酸合成代谢途径

氨基酸合成过程中氨基供应不足时,过量的 α -酮酸会转化为相应的高级醇^[29]。在酵母的代谢机制中, α -酮酸的生成与丙酮酸合成代谢途径密切相关。通过对丙酮酸合成代谢的调控,能够有效调节酵母细胞内 α -酮酸的合成代谢水平,进而实现对高级醇合成的调控^[29]。相关研究指出,参与丙酮酸合成代谢途径的关键基因主要为ILVs和LEUs基因^[30]。AVALOS J L等^[39]将Ehrlich途径的酶靶向酿酒酵母线粒体实现了更多高级醇的合成,具体通过组合过量表达ILV2(乙酰乳酸合酶基因)、ILV3(脱羧基酸脱水酶基因)、ILV5(酮酸还原异构酶基因)基因,使异丁醇的生成量提高了2.6倍。LI W等^[40]研究发现,在酵母菌中敲除LEU1基因后,异戊醇的合成量降低了33.74%,正丙醇的合成量提高了14.09%,异丁醇的合成量提高了41.72%;敲除LEU2基因后,异丁醇的生成量提高了52.18%。以上研究表明,不同

的高级醇对同一基因调控的响应差异明显,这些差异响应与菌种和外部环境可能有一定的关系。

2.1.3 α -酮酸分解代谢途径

在酿酒酵母的代谢调控研究中发现,对 α -酮酸分解代谢途径中相关基因表达进行调控,可显著影响高级醇的合成水平,尤其是异丁醇、异戊醇以及2-苯乙醇等的合成^[41]。 α -酮酸被脱羧酶催化脱羧形成醛类物质;醛类物质被醇脱氢酶催化加氢形成相应的醇;因此,降低高级醇的合成水平可以通过降低脱羧酶和醇脱氢酶的活性或者提高醛脱氢酶的活性来实现。目前两个酶的研究主要集中丙酮酸脱羧酶基因(PDC、PDC5、PDC6)、芳香族 α -酮酸脱羧酶基因(ARO10)、类丙酮酸脱羧酶基因(THI3)以及乙醇脱氢酶基因等基因上^[42]。另外,也有研究表明^[43], α -酮酸的分解代谢对高级醇代谢的调控表现出了一定的多样性和不确定性,例如异戊醇的合成受L-亮氨酸和氮源浓度以及BAT基因的表达协同调控。

2.1.4 乙酸酯代谢途径

酿酒过程中产生的高级醇类物质,其中一小部分可以在ATF1、ATF2、Lg-ATF1基因编码的醇酰基转移酶的催化下和乙酰辅酶A反应生成相应的乙酸酯类化合物^[2]。反之,高级醇也可以由相应的乙酸酯类化合物通过水解反应生成,该类反应由IAH1基因编码的水解酶催化完成^[21,44-47]。因此,提高白酒中的酯类并降低高级醇的产量可以通过提高酿酒酵母中醇酰基转移酶的活性,或者降低由IAH1基因编码的水解酶的活性来实现^[46]。

2.1.5 碳氮代谢途径

由于氨基酸、丙酮酸的合成代谢途径与氮、碳代谢有关,因而酿酒酵母中高级醇的合成代谢与碳氮源的吸收和代谢息息相关^[48]。其中包括丙酮酸代谢、氨基酸代谢、糖酵解、三羧酸循环等,对以上代谢途径进行代谢工程改造可以有效调控高级醇的合成代谢水平^[30]。ROSSOUW D等^[49]研究发现,过表达乙酰辅酶A合成酶亚型编码基因ACS1对酵母菌高级醇合成水平有轻微的提升。孙中贯等^[48]研究发现,敲除非特异性氨基酸转运蛋白编码基因GAP1,啤酒酵母中高级醇产量显著降低。

2.2 功能酵母菌中酯类代谢途径

酯类是白酒中重要风味物质,酯类物质主要通过微生物的酯化反应途径、醇酰基转移酶途径和醇脱氢酶途径3个途径合成^[25]。白酒中的酯类物质主要分为乙酸酯类和脂肪酸乙酯类,前者主要由醇酰基转移酶催化乙酰辅酶A和乙醇反应生成,后者主要由酰基辅酶A和乙醇在醇酰基转移酶的催化下合成^[50]。酵母通过糖酵解途径将葡萄糖转化成醇类和有机酸,然后醇类和有机酸在酯酶的作用下生成酯类物质。

有研究显示^[51],酿酒酵母中的醇酰基转移酶由ATF1、

ATF2、Lg-ATF1基因编码,部分酿酒过程中生成的高级醇会在该酶的催化下与乙酰辅酶A反应生成相应的乙酸酯。乙酰辅酶A是酯类合成的重要前体物质,增加其积累并减少其消耗是促进酯类合成的重要手段^[52]。积累的乙酰辅酶A将在醇乙酰转移酶的作用下与乙醇结合生成乙酸乙酯。ZHANG C Y等^[53]对啤酒酵母S5过表达ATF1基因、敲除BAT2基因,获得的工程菌株S5-2和S5-4的乙酸乙酯的质量浓度分别提高了7.7倍和10.5倍,异戊醇的质量浓度是亲本的65%和51%。LI W等^[54]在酿酒酵母中过表达ATF1基因的情况下分别敲除IAH1基因和BAT2基因或同时敲除IAH1基因和BAT2基因,结果显示,IAH1和BAT2双基因缺失时乙酸酯的浓度较高,高级醇的浓度较低。另外也证明了IAH1基因的缺失减少乙酸酯的水解,从而有效增加了乙酸异丁酯和乙酸异戊酯的合成。

3 酒曲中酵母菌和其他功能菌的相互作用

白酒发酵是一个自发的过程,涉及复杂的微生物生态系统。微生物群落之间存在广泛的相互作用,这些相对有利或有害的相互作用包括:酵母-酵母相互作用、细菌-酵母相互作用、细菌-细菌相互作用和丝状真菌-酵母相互作用等。微生物之间的物理接触、群体感应、捕食、寄生、共生和抑制都是直接相互作用。间接相互作用通过细胞外代谢物发挥作用,包括共生和竞争等。有研究表明^[55],挥发性有机化合物能介导中国白酒发酵中微生物之间的相互作用。这些具有挥发性的有机化合物通过细胞壁或细胞膜扩散,促进微生物种内或种间的交流和互动,影响微生物的生长和代谢,协调微生物种群水平,进而促进白酒酿造高效进行。两种微生物之间也可能存在基因水平转移和脱氧核糖核酸(deoxyribo nucleic acid, DNA)交换,可能使其中一个受益^[56]。微生物之间的相互作用是发酵过程的主要驱动因素,会影响生态演替和进化过程中的群落分布,是生产富含许多风味物质白酒的前提。

3.1 酵母-酵母相互作用

由于大多数非酿酒酵母的乙醇耐受性较低,酿酒酵母会通过生产酒精抑制其他一些非酿酒酵母菌的生长^[57]。发酵过程中形成的其他化合物也可能影响菌体的生长或死亡。不同酵母种类产生的短脂肪酸、中链脂肪酸、乙酸(包括乙酸、己酸、辛酸和癸酸)和乙醛都已被证明具有相互拮抗作用^[58-59]。

ZHA M U等^[57]筛选了两种天然功能性白酒酵母菌,共培养发酵实验表明,初级代谢产物的积累会影响微生物间的相互作用以及白酒的风味和品质,混合培养发酵中产生乙醇和乙酸乙酯较多。FAN G S等^[60]研究了两种功能酵母(菌株Y3401和Y3604)的相互作用,菌株Y3604对Y3401的发酵性能影响不大,菌株Y3401可以改善混合培养物的发酵性能。菌株Y3401提供了更多的乙醇可作为菌株Y3604合

成乙酸乙酯前体。在柠檬形克勒克氏酵母(*Kloeckera apiculata*)-酿酒酵母共培养物中,酿酒酵母活力保持的时间比纯培养更长^[61]。一些具有高细胞外蛋白水解活性的非酿酒酵母菌可以水解培养基中的蛋白质释放氨基酸,为酿酒酵母提供营养。CHERAITIN等^[62]研究发现,葡萄汁酵母可以产生大量能被酿酒酵母利用的乙醛,使得酿酒酵母和酿酒酵母-葡萄汁酵母杂交菌株混合培养的最大种群数量远高于纯培养中生长的两种菌株的最大种群数量之和。

3.2 酵母-细菌相互作用

WU Q等^[63]研究发现,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和球形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus sphaericus*)共培养可以促进尿素代谢相关基因的转录表达,从而促进尿素的降解。与单一菌培养相比,共培养菌中与尿素生物合成相关的CAR1、DAL2和argA基因的转录分别下降了51%、36%和69%。与尿素降解相关的DUR1和ureA基因的转录分别增加了227%和70%。WU Q等^[64]研究发现,芝麻香型白酒中地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)的加入减轻了酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、膜醭毕赤酵母(*Pichia membranifaciens*)、东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis*)之间的竞争,改变了它们的生长速度和风味产生,共培养增加了风味化合物的产量。

由于具有较强的抗逆性能(包括高乙醇、高有机酸、低pH值、低氧和某些营养物质的缺乏等)以及发酵能力,使得酿酒酵母在酿酒过程中主导发酵的最后阶段。近年来,一些研究表明,酿酒酵母还通过不同机制来介导防御策略,例如通过细胞间接触和抗菌肽的分泌,来对抗其他微生物^[65]。酵母可以通过乙醇破坏细菌的脂膜抑制其生长,乙醇增加了细胞膜通透性,从而增强被动质子流入和细胞代谢物的泄漏。另外酵母分泌的抗菌肽也能破坏细菌的细胞膜。酵母通过解毒途径释放硫化物抑制细菌生长,其分子作用机制可能涉及蛋白质中二硫键的断裂。酵母细胞中的中链脂肪酸可以通过简单的扩散释放到细胞外环境中,并抑制细菌的生长^[66]。

细菌拮抗酵母的研究还比较少,乳酸菌属代谢产生的短链羧酸如乙酸等,可能会酸化酵母细胞内环境并加速酵母菌死亡^[66]。细胞外 β -1,3-葡聚糖酶活性的存在意味着乳酸菌可能具有降解酵母细胞壁的功能^[67]。有研究表明^[68],细菌素样化合物也可抑制酵母菌生长。

3.3 酵母-霉菌相互作用

霉菌是中国白酒酿造中不可或缺的糖化功能菌,它能分泌丰富的酶类,将淀粉、蛋白质等分解成葡萄糖、氨基酸等小分子物质,为酵母等微生物提供营养物质。目前酒曲中关于酵母与霉菌的相互作用研究较少。王小壮等^[69]研究发现,黄酒酿造中酿酒酵母和黄曲霉(*Aspergillus flavus*)

的变化与醇类和酸类物质分别呈正相关和负相关,发酵后期酿酒酵母占真菌总量的94%。黄曲霉的添加可促进酿酒酵母的生长繁殖和发酵速率(耗糖和产酒精),提高醪液中的氮源水平。酿酒过程中,丝状真菌产生水解酶,将淀粉降解为糖类,酵母将糖转化为乙醇和风味物质,WU Q等^[70]研究发现,酵母和米曲霉的比例影响糖化速率,进而影响乙醇和风味物质的产量。ZHOU J M等^[71]研究发现,酿酒酵母的添加增加了黑曲霉半乳糖醛酸酶的活性。以上研究表明发酵前期霉菌可能作为优势菌群,为酵母菌的生长代谢和繁殖积累营养物质。

4 功能酵母菌种改良与应用

4.1 功能酵母菌育种

当前,功能酵母菌育种研究主要集中于培育高产酒精、低产高级醇、高产酯类物质以及高环境耐受性的优势酵母菌株。酒曲功能酵母育种主要通过自然选育、诱变及适应性进化育种、原生质体融合和基因工程育种等方式实现^[72]。

4.1.1 自然选育

自然选育指从自然界微生物中分离筛选理想菌种,步骤包括菌样采集、富集培养、纯种分离和性能鉴定。林斌等^[73]从大曲中筛选分离出一株低产正丙醇的酿酒酵母Y19,添加菌株Y19的强化曲白酒中正丙醇含量降低了29.9%。牟飞燕等^[74]从清香型大曲中分离出4株酵母,经耐受性能分析得到两株可耐受39℃、pH值为3、酒精度12%vol、葡萄糖质量浓度400 g/L环境条件的酵母菌。自然选育是目前最常用的育种方法,但其操作较为繁琐具有较大的局限性。

4.1.2 诱变及适应性进化育种

诱变育种也是功能酵母育种的常用方法之一,包括紫外、X射线、化学、复合及再生诱变等。适应性进化是将微生物置于一定选择压力下,通过长期驯化,筛选获得具有特定表型突变菌株的方法。刘安等^[72]采用高浓度乙醇胁迫环境逐步驯化的方法获得了一株能耐受体积分数为13%乙醇、450 g/L葡萄糖、45℃和pH 3.5的酿酒酵母,糖醇转化率达到79.22%,较出发菌株提高了7.72%。

4.1.3 原生质体融合育种

细胞工程中的原生质体融合技术为微生物育种提供了创新性策略。该技术通过酶解去除细胞壁后,将两个具有优良表型且遗传背景不同的微生物细胞进行人工诱导融合,从而获得整合双亲优势性状的重组菌株^[75]。酵母菌的原生质体融合育种研究主要涉及双酿酒酵母亲本融合,以及酿酒酵母与非酿酒酵母之间的融合。XIN Y等^[76]将分别具有高乙醇耐受和高产乙醇特性的两株酿酒酵母亲本进行原生质体融合,获得了兼具双亲优良性状的融合子。YE M Q等^[77]将酿酒酵母与非酿酒酵母进行原生质体融合,获得的杂交酵母既保留了较强的发酵性能,又改善了果酒的香气和风味多样性。另外也有酵母菌与非酵母菌融合育

种的研究报道,钟科等^[78]以酿酒酵母与根霉为亲本,利用原生质体融合技术进行亲本杂交并筛选融合子,获得了乙醇产量和发酵能力均优于单一亲本的融合子。

4.1.4 基因工程育种

随着分子生物技术的发展,基因工程育种在功能菌株选育中的应用也日益广泛。刘港等^[79]将酿酒酵母中的丙酮酸脱羧酶基因PDC1用植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)的乳酸脱氢酶基因Idh L1替代,获得了重组菌株P,发酵乳酸和乳酸乙酯的产量有明显的提升。成簇规则间隔短回文重复序列相关蛋白9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR associated protein 9, CRISPR/Cas9)基因编辑技术是一种简便高效的操作微生物基因组的方法,它利用核糖核酸-脱氧核糖核酸(ribonucleic acid-deoxyribonucleic acid, RNA-DNA)碱基配对的原理通过单链向导RNA(single-guide RNA, sgRNA)靶向外源目标基因,引导DNA核酸内切酶对基因组进行剪切。LÖBS A K等^[80]设计RNA聚合酶Ⅲ杂合启动子用于CRISPR-Cas9系统中sgRNA的表达,并成功将该系统应用于探究马克斯克鲁维酵母(*Kluyveromyces marxianus*)中醇脱氢酶和醇-O-乙酰转移酶基因对乙酸乙酯和乙醇合成的影响。然而,传统的CRISPR/Cas9系统易产生脱靶效应。LI P等^[81]针对此问题利用核酸内切酶I-SCEI来切断DNA双链,通过两步整合法进行无缝基因敲除,该方法快速高效,优化了影响二次同源重组效率的不利因素。

4.2 酒曲功能酵母在酿酒中的应用

功能微生物可以用来强化原生微生态系统。有研究表明,利用功能性酿酒酵母和异常威克汉姆酵母来强化大曲,使发酵力和酯化力分别提高了208.4%和64.3%,主要风味成分含量也显著增加^[82],另外也丰富了窖池中的微生物种类和代谢物质,增加了群落之间的相互作用,改善了浓香白酒发酵窖池的微生态系统。张学林等^[83]从低温大曲中筛选到一株库德里阿兹威毕赤酵母(*P. kudriavzevii*),该酵母能明显提高白酒中的 β -苯乙醇、苯乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸乙酯和异丁醇等香味组分,丰富了白酒的风味,提升了原酒的口感和品质。功能微生物还可以用来改善或修复原生微生态系统。游玲等^[84]利用长孢洛德酵母(*Lodderomyces elongisporus*)进行发酵,改变了糟醅中的微生态结构,改善了白酒的风味,尤其是糟醅中还原糖和己酸的含量。LIU J J等^[85]在中高温大曲添加20%异常威克汉姆酵母(*W. anomalus*)应用于浓香型白酒的发酵,白酒中的乳酸乙酯、己酸乙酯和丁酸乙酯含量分别提高了3.27 mg/kg、0.58 mg/kg和0.54 mg/kg,改善了浓香型白酒风味和品质。

5 总结与展望

酒曲的生产是以谷物为培养基质从环境中富集微生物,并逐步形成独特的“菌系-酶系-物系”为一体的微生态

系统的过程。从上世纪的可培养分离鉴定到当前的宏基因组、转录组、蛋白质组和代谢组学研究,传统酒曲中的关键功能微生物和酶逐渐清晰,研究者们从外部环境因子和内部微生物相互作用等角度揭示了酒曲微生态下群落演替的规律和驱动机制。然而,功能酵母与多菌群互作机制的研究还较为浅显,探究制曲和白酒酿造中功能酵母菌、细菌和霉菌的群落演替,揭示微生物之间的相互作用和物质合成代谢之间的相互关系,对于提升白酒的产量和品质意义深远。

近年来,功能酒曲酵母的研究多以改善酒的产量、质量和风味为目的。将功能酵母菌与传统酒曲相结合研制强化酒曲发酵剂,对提高白酒的品质与产量具有重要的意义。随着基因工程、代谢工程、蛋白质工程、酶工程等现代生物技术的进一步发展,未来还需深入挖掘和构建功能酒曲微生物,全面提升我国酒曲的品质,从而推动我国传统酿酒工业向现代化迈进。

参考文献:

- [1] 李大和. 神奇的中国白酒及待解之谜[J]. 酿酒, 2025, 52(4): 2-4.
- [2] 陈孝, 温承坤, 巩园园, 等. 酒曲的研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(10): 7-11.
- [3] KANG J M, XUE Y S, CHEN X X, et al. Integrated multi-omics approaches to understand microbiome assembly in *Jiuqu*, a mixed-culture starter[J]. **Compr Rev Food Sci Food Saf**, 2022, 21(5): 4076-4107.
- [4] 余有贵. 邵阳大曲培养过程微生物的研究[J]. 酿酒科技, 1999(2): 16-18.
- [5] 施安辉, 关圻奎, 张文璞, 等. 徐坊大曲的微生物区系及其优势菌的鉴定[J]. 酿酒科技, 2001(6): 26-28.
- [6] 姚万春, 唐玉明, 任道群, 等. 泸州老窖国窖曲曲坯层间微生物差异研究[J]. 酿酒, 2005, 28(5): 35-37.
- [7] 王春晓, 唐佳代, 吴鑫颖, 等. 酿酒小曲中功能微生物的研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 309-316.
- [8] XU H G, XU X, TAO Y D, et al. Optimization by response surface methodology of supercritical carbon dioxide extraction of flavour compounds from Chinese liquor vinasse[J]. **Flavour Fragrance J**, 2015, 30(4): 275-281.
- [9] WANG H Y, XU Y. Effect of temperature on microbial composition of starter culture for Chinese light aroma style liquor fermentation[J]. **Lett Appl Microbiol**, 2015, 60(1): 85-91.
- [10] ZHENG X W, YAN Z, NOUT M J R, et al. Characterization of the microbial community in different types of Daqu samples as revealed by 16S rRNA and 26S rRNA gene clone libraries[J]. **World J Microbiol Biotechnol**, 2015, 31(1): 199-208.
- [11] GOU M, WANG H Z, YUAN H W, et al. Characterization of the microbial community in three types of fermentation starters used for Chinese liquor production[J]. **J I Brewing**, 2015, 121(4): 620-627.
- [12] FARAJ A, VASANTHAN T. Soybean isoflavones: effects of processing and health benefits[J]. **Food Rev Int**, 2004, 20(1): 51-75.
- [13] ISANGA J, ZHANG G N. Soybean bioactive components and their implications to health-a review[J]. **Food Rev Int**, 2008, 24(2): 252-276.
- [14] HUANG Z R, HONG J L, XU J X, et al. Exploring core functional microbiota responsible for the production of volatile flavour during the traditional brewing of Wuyi Hong Qu glutinous rice wine[J]. **Food Microbiol**, 2018, 76: 487-496.
- [15] JESKE S, ZANNINI E, LYNCH K M, et al. Polyol-producing lactic acid bacteria isolated from sourdough and their application to reduce sugar in a quinoa-based milk substitute[J]. **Int J Food Microbiol**, 2018, 286: 31-36.
- [16] SU C, ZHANG K Z, CAO X Z, et al. Effects of *Saccharomycopsis fibuligera* and *Saccharomyces cerevisiae* inoculation on small fermentation starters in Sichuan-style Xiaoqu liquor[J]. **Food Res Int**, 2020, 137: 109425.
- [17] ZHENG X W, YAN Z, NOUT M J R, et al. Microbiota dynamics related to environmental conditions during the fermentative production of Fen-Daqu, a Chinese industrial fermentation starter[J]. **Int J Food Microbiol**, 2014, 182-183: 57-62.
- [18] LI L, GAO B, ZHANG W X, et al. Development of the *Rhodiola rosea* Fuqu and *Rhodiola rosea* soy sauce, and the determination of their functional properties[J]. **J I Brewing**, 2016, 122(2): 355-362.
- [19] LI X R, MA E B, YAN L Z, et al. Bacterial and fungal diversity in the traditional Chinese liquor fermentation process[J]. **Int J Food Microbiol**, 2011, 146(1): 31-37.
- [20] LIU Z B, WAANG Z Y, LV X C, et al. Comparison study of the volatile profiles and microbial communities of Wuyi Qu and Gutian Qu, two major types of traditional fermentation starters of Hong Qu glutinous rice wine[J]. **Food Microbiol**, 2018, 69: 105-115.
- [21] STYGER G, JACOBSON D, BAUER F F. Identifying genes that impact on aroma profiles produced by *Saccharomyces cerevisiae* and the production of higher alcohols[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2011, 91(3): 713-730.
- [22] HIRST M B, RICHTER C L. Review of aroma formation through metabolic pathways of *Saccharomyces cerevisiae* in beverage fermentations[J]. **Am J Enol Vitic**, 2016, 67(4): 361-370.
- [23] BSØRENSEN A, PETERSEN M A, GARDE A, et al. The consumption of amino acids and production of volatile aroma compounds by *Yarrowia lipolytica* in brewers' wort[J]. **Ferment**, 2022, 8(11): 579.
- [24] 王勇. 牛栏山酒厂优良酿酒酵母的筛选及鉴定[J]. 酿酒科技, 2017(4): 61-64, 67.
- [25] 袁海珊, 刘功良, 白卫东, 等. 产酯酵母在发酵食品中的应用研究进展[J]. 中国酿造, 2023, 42(1): 15-20.
- [26] 张安东, 贝盏临, 张欣, 等. 产香酵母在食品工业中的应用[J]. 绿色科技, 2015(11): 260-264.
- [27] PIRES E J, TEIXEIRA J A, BR?NAYIK T, et al. Yeast: the soul of beer's aroma-a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2014, 98(5): 1937-1949.
- [28] CHOI Y J, LEE J M, JANG Y S, et al. Metabolic engineering of microorganisms for the production of higher alcohols[J]. **mBio**, 2014, 5(5): e01524.
- [29] 李园子, 郭慧敏, 田伏锦, 等. 酒中高级醇调控的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(1): 160-169.
- [30] 孙中贯, 刘琳, 王亚平, 等. 酿酒酵母高级醇代谢研究进展[J]. 生物工程学报, 2021, 37(2): 429-447.
- [31] EDEN A, VAN-NEDERVELDE L, DRUKKER M, et al. Involvement of branched-chain amino acid aminotransferases in the production of fusel alcohols during fermentation in yeast[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**,

- 2001, 55(3): 296-300.
- [32] COLÓN M, HERNÁNDEZ F, LÓPEZ K, et al. *Saccharomyces cerevisiae* *Bat1* and *Bat2* aminotransferases have functionally diverged from the ancestral-like *Kluyveromyces lactis* orthologous enzyme[J]. **PLoS ONE**, 2017, 6(1): e16099.
- [33] PIRKOV I, NORBECK J, GUSTAFSSON L, et al. A complete inventory of all enzymes in the eukaryotic methionine salvage pathway[J]. **The FEBS J**, 2008, 275(16): 4111-4120.
- [34] 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.
- [35] MA L J, HUANG S Y, DU L P, et al. Reduced production of higher alcohols by *Saccharomyces cerevisiae* in red wine fermentation by simultaneously overexpressing *BAT1* and deleting *BAT2*[J]. **J Agr Food Chem**, 2017, 65(32): 6936-6942.
- [36] DEED R C, HOU R Y, KINZURIK M I, et al. The role of yeast *ARO8*, *ARO9* and *ARO10* genes in the biosynthesis of 3-(methylthio)-1-propanol from L-methionine during fermentation in synthetic grape medium[J]. **FEMS Yeast Res**, 2019, 19(2): 109.
- [37] YIN S, ZHOU H, XIAO X, et al. Improving 2-phenylethanol production via Ehrlich pathway using genetic engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. **Curr Microbiol**, 2015, 70(5): 762-767.
- [38] BOSU K, BO-RAM C, JI-SOOK H. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of 2-phenylethanol via Ehrlich pathway[J]. **Biotechnol Bioeng**, 2014, 111(1): 115-124.
- [39] AVALOS J L, FINK G R, STEPHANOPOULOS G. Compartmentalization of metabolic pathways in yeast mitochondria improves the production of branched-chain alcohols[J]. **Nat Biotechnol**, 2013, 31(4): 335-341.
- [40] LI W, CHEN S J, WANG J H, et al. Genetic engineering to alter carbon flux for various higher alcohol productions by *Saccharomyces cerevisiae* for Chinese *Baijiu* fermentation[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2018, 102(4): 1783-1795.
- [41] YUAN J F, CHEN X, MISHRA P, et al. Metabolically engineered *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced isoamyl alcohol production[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2017, 101(1): 465-474.
- [42] STYGER G, JACOBSON D, PRIOR B A, et al. Genetic analysis of the metabolic pathways responsible for aroma metabolite production by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2013, 97(10): 4429-4442.
- [43] YOSHIMOTO H, FUKUSHIGE T, YONEZAWA T, et al. Genetic and physiological analysis of branched-chain alcohols and isoamyl acetate production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2002, 59(4-5): 501-508.
- [44] 雷宏杰. 高浓麦汁氮源组成对酵母氨基酸同化及发酵调控影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [45] MARISKA L, BAUER F F, LAMBRECHTS M G, et al. The effect of increased yeast alcohol acetyltransferase and esterase activity on the flavour profiles of wine and distillates[J]. **Yeast**, 2006, 23(9): 641-659.
- [46] ZHANG J W, ZHANG C Y, DAI L H, et al. Effects of overexpression of the alcohol acetyltransferase-encoding gene *ATF1* and disruption of the esterase-encoding gene *IAH1* on the flavour profiles of Chinese yellow rice wine[J]. **Int J Food Sci Technol**, 2012, 47(12): 2590-2596.
- [47] ZHANG J, ZHANG C, QI Y, et al. Acetate ester production by Chinese yellow rice wine yeast overexpressing the alcohol acetyltransferase-encoding gene *ATF2*[J]. **GMR**, 2014, 13(4): 9735-9746.
- [48] 孙中贯, 王孟祺, 王亚平, 等. *GAP1*基因缺失对上面发酵酵母高级醇代谢能力的影响[J]. 天津科技大学学报, 2020, 35(1): 10-17.
- [49] ROSSOUW D, NÆS T, BAUER F. Linking gene regulation and the exo-metabolome: A comparative transcriptomics approach to identify genes that impact on the production of volatile aroma compounds in yeast[J]. **BMC Genomics**, 2008, 9(1): 530.
- [50] 彭立影, 刘功良, 费永涛, 等. 产酯酵母及其产酯关键酶的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 275-282.
- [51] 钟婧威, 刘功良, 屈春云, 等. 白酒酿造中乳酸乙酯调控的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(20): 209-216.
- [52] 郑楠, 郭庆焕, 何亚辉, 等. 乙酰辅酶A含量对酿酒酵母乙酸乙酯合成的影响[J]. 中国酿造, 2018, 37(5): 150-156.
- [53] ZHANG C Y, LIU Y L, QI Y N, et al. Increased esters and decreased higher alcohols production by engineered brewer's yeast strains[J]. **Eur Food Res Technol**, 2013, 236(6): 1009-1014.
- [54] 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]. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2017, 44(6): 949-960.
- [55] HAO H Y, YAN R Y, MIAO Z J, et al. Volatile organic compounds mediated endogenous microbial interactions in Chinese *Baijiu* fermentation[J]. **Int J Food Microbiol**, 2022, 383: 109955.
- [56] LIU Y Z, ROUSSEAU S, TOURDOT-MARÉCHAL R, et al. Wine microbiome: A dynamic world of microbial interactions[J]. **Crit Rev Food Sci Nutr**, 2017, 57(4): 856-873.
- [57] ZHA M U, SUN B G, WU Y P, et al. Improving flavor metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* by mixed culture with *Wickerhamomyces anomalus* for Chinese *Baijiu* making[J]. **J Biosci Bioeng**, 2018, 126(2): 189-195.
- [58] IVEY M, MASSEL M, PHISTER T G. Microbial interactions in food fermentations[J]. **Annu Rev Food Sci Technol**, 2013, 4(1): 141-162.
- [59] GIANNATTASIO S, GUARAGNELLA N, CORTE-REAL M, et al. Acid stress adaptation protects *Saccharomyces cerevisiae* from acetic acid-induced programmed cell death[J]. **Gene**, 2005, 354: 93-98.
- [60] FANG S, TENG, XU C, et al. Enhanced production of ethyl acetate using co-culture of *Wickerhamomyces anomalus* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. **J Biosci Bioeng**, 2019, 128(5): 564-570.
- [61] MENDOZA L M, NADRA M C M D, FARÍAS M E. Kinetics and metabolic behavior of a composite culture of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* wine related strains[J]. **Biotechnol Lett**, 2007, 29(7): 1057-1063.
- [62] CHERAITI N, GUEZENEC S, SALMON J M. Redox interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum* in mixed culture under enological conditions[J]. **Appl Environ Microbiol**, 2005, 71(1): 255-260.
- [63] WU Q, LIN J C, CUI K X, et al. Effect of microbial interaction on urea metabolism in Chinese liquor fermentation[J]. **J Agr Food Chem**, 2017, 65(50): 11133-11139.
- [64] WU Q, LING J, XU Y. Starter culture selection for making Chinese sesame-flavored liquor based on microbial metabolic activity in mixed-

- culture fermentation[J]. **Appl Environ Microbiol**, 2014, 80(14): 4450-4459.
- [65] ALBERGARIA H, ARNEBORG N. Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes: role of physiological fitness and microbial interactions[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2016, 100(5): 2035-2046.
- [66] BAYROCK D P, INGLEDEW W M. Inhibition of yeast by lactic acid bacteria in continuous culture: nutrient depletion and/or acid toxicity? [J]. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2004, 31(8): 362-368.
- [67] GUILLOUX-BENATIER M, PAGEAULT O, MAN A, et al. Lysis of yeast cells by *Oenococcus oeni* enzymes[J]. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2000, 25(4): 193-197.
- [68] DÜNDAR H, ÇELİKBIÇAK Ö, SALİH B, et al. Large-scale purification of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* using diatomite calcium silicate[J]. **Turk J Biol**, 2014, 38(5): 611-618.
- [69] 王小壮, 刘双平, 孙海龙, 等. 黄酒发酵环境对黄曲霉生长的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 149-159.
- [70] WU Q, CHEN B, XU Y. Regulating yeast flavor metabolism by controlling saccharification reaction rate in simultaneous saccharification and fermentation of Chinese Maotai-flavor liquor[J]. **Int J Food Microbiol**, 2015, 200: 39-46.
- [71] ZHOU J M, GE X Y, ZHANG W G. Improvement of polygalacturonase production at high temperature by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **Bioresour Technol**, 2011, 102(21): 10085-10088.
- [72] 刘安, 王丹阳, 王振, 等. 高耐受性酿酒酵母的适应性驯化选育与发酵[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 1018-1032.
- [73] 林斌, 唐洁, 江威, 等. 低产正丙醇酵母菌的筛选及其在清香型白酒中的应用[J]. 中国酿造, 2023, 42(4): 131-136.
- [74] 牟飞燕, 夏博宇, 张维, 等. 清香大曲中高耐受性功能酵母的筛选[J]. 中国酿造, 2023, 42(11): 163-168.
- [75] 颜佳, 张立钊, 熊香元, 等. 微生物原生质体融合育种技术及其在发酵食品生产中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(22): 8455-8462.
- [76] XIN Y, YANG M, YIN H, et al. Improvement of ethanol tolerance by inactive protoplast fusion in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **BioMed Res Int**, 2020, 2020(1): 1979318.
- [77] YE M Q, YUE T L, YUAN Y H, et al. Production of yeast hybrids for improvement of cider by protoplast electrofusion[J]. **Biochem Eng J**, 2013, 81: 162-169.
- [78] 钟科, 晏铭泽, 阮莎, 等. 原生质体融合技术构建酿酒酵母-根霉融合菌株对乙醇代谢通路的影响[J/OL]. 食品与发酵工业, 1-12[2026-02-03]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.043327>.
- [79] 刘港, 李洁, 任津莹, 等. 产乳酸乙酯酿酒酵母菌株的构建[J]. 中国酿造, 2018, 37(7): 72-77.
- [80] LÖBS A K, ENGEL R, SCHWARTZ C, et al. CRISPR-Cas9-enabled genetic disruptions for understanding ethanol and ethyl acetate biosynthesis in *Kluyveromyces marxianus*[J]. **Biotechnol Biofuels**, 2017, 10(1): 164.
- [81] LI P, GE J L, GAO Y Y, et al. A seamless gene deletion method and its application for regulation of higher alcohols and ester in *Baijiu Saccharomyces cerevisiae*[J]. **BioMed Res Int**, 2019, 2019: 6723849.
- [82] PU S C, ZHANG Y, LU N, et al. Yeasts from Chinese strong flavour Daqu samples: isolation and evaluation of their potential for fortified Daqu production[J]. **AMB Express**, 2021, 11(1): 176-176.
- [83] 张学林, 季斌, 许玲, 等. 清香型大曲中产 β -苯乙醇酵母的分离、鉴定及在白酒酿造中的应用[J]. 中国酿造, 2022, 41(1): 123-127.
- [84] 游玲, 李美华, 王陟垚, 等. 1株 *Lodderomyces elongisporus* 酵母对浓香型白酒发酵的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(3): 9-13.
- [85] LIU J J, CHN Y, FU G M, et al. Improvement of the flavor of major ethyl ester compounds during Chinese Te-flavor *Baijiu* brewing by *Wickerhamomyces anomalus*[J]. **Food Biosci**, 2022, 50(PA): 102022.