

# 红曲代谢产物的测定及分析

王旭亮<sup>1</sup>, 王德良<sup>1</sup>, 刘桂君<sup>2</sup>, 刘红霞<sup>2</sup>, 张五九<sup>1</sup>

(1.中国食品发酵工业研究院, 北京 100027; 2.北京顺鑫农业股份有限公司牛栏山酒厂, 北京 101301)

**摘要:** 采用两种不同培养方法对红曲进行培养, 并对红曲与白酒质量有关的主要代谢产物进行了测定和分析。结果显示, 红曲主要代谢产物为乙酸、丙酸、丁酸、己酸、 $\beta$ -苯乙醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇、壬酸乙酯、癸酸乙酯, 两种培养方法, 红曲代谢产物部分产量相对稳定, 但产量相差很大。红曲能产生多种微量风味成分, 可能是其提高酒质的主要原因。红曲在白酒产酯的贡献中可能以提供酸为主, 乳酸乙酯产量低, 且乳酸没有检出, 其具有“增己降乳”和“增乙降乳”的功能。

**关键词:** 白酒; 红曲; 代谢产物; 分析

中图分类号: TS262.3; TQ925.7; TS261.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2009)09-0119-03

## Detection and Analysis of Metabolites of Red Starter

WANG Xu-liang<sup>1</sup>, WANG De-liang<sup>1</sup>, LIU Gui-jun<sup>2</sup>, LIU Hong-xia<sup>2</sup> and ZHANG Wu-jiu<sup>1</sup>

(1.China National Research Institute of Food and Fermentation Industry, Beijing 100027; 2. Beijing Niulanshan Distillery, Shunxin Agriculture Co.Ltd., Beijing 101301, China)

**Abstract:** Red starter was cultured by two different culture methods and the main metabolites of red starter related to liquor quality were detected and analyzed. The results showed that the main metabolites of red starter were acetic acid, propionic acid, butyric acid, hexanoic acid,  $\beta$ -phenylethanol, n-propanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol, ethyl nonylate, ethyl caproate and ethyl decylate. There was great difference in the yield of metabolites of red starter for different culture method (part of the metabolites had stable yield). Red starter could produce multiple trace flavoring compositions, which was the main reason for the improvement of liquor quality. The main role of red starter in ester-producing in liquor might be the provision of acids. However, the yield of ethanol lactate was comparatively low and lactic acid was undetectable. Therefore, red starter had the functions of increasing ethyl caproate and ethyl acetate content and decreasing ethyl lactate content in liquor.

**Key words:** liquor; red starter; metabolites; analysis

红曲霉属于真菌门 (*Eumycophyta*)、子囊菌纲 (*Ascomycetes*)、真子囊菌亚纲 (*Euscomycetes*)、曲霉目 (*Eurotiales*)、曲霉科 (*Eurotiaceae*)、红曲霉属 (*Monascus*)<sup>[1-2]</sup>。

红曲与根霉、犁头霉、毛霉、黄曲霉、黑曲霉是大曲中主要霉菌菌株<sup>[3]</sup>。在清香型白酒发酵过程中始终存在<sup>[4]</sup>, 也是浓香型白酒窖池中的主要菌种之一<sup>[5]</sup>。因此, 对其代谢产物的研究具有重要的意义。

近年来, 对红曲在白酒中的应用越来越受到白酒业内人士的重视, 也做了大量的研究, 主要集中在红曲的酯化能力和糖化能力上, 对于其与白酒密切相关的代谢产物的测定却未见详细报道。本文采用两种不同的培养基和相应不同的培养方法对红曲进行培养, 并测定其与白酒质量密切相关的代谢产物的产量情况, 并对结果进行分析, 以期进一步了解红曲在白酒生产中的作用机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 菌种

收集白酒常用菌种红曲菌株, 共 6 株, 编号为 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、M<sub>3</sub>、M<sub>4</sub>、M<sub>5</sub>、M<sub>6</sub>。

#### 1.1.2 培养基

麦芽汁培养基: 12°P 麦芽汁, 分装, 于 115 °C 灭菌 20 min。

#### 1.1.3 主要仪器

气相色谱: PerkinElmer 气相色谱仪配有 FID 检测器。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 培养方法

将 6 种红曲分别接种于 100 mL 麦芽汁中, 分别进

基金项目 科技部“十一五”国家科技支撑计划“我国优势传统食品白酒和黄酒制造业关键技术研究与应用”项目(2007BAK36B00)。

收稿日期: 2009-05-19

作者简介: 王旭亮(1984-), 男, 河南洛阳人, 硕士研究生, 主要研究方向为工业发酵及食品加工。

通讯作者: 张五九。

行静置培养(28℃, 8 d)和摇床培养(35℃, 180 r/min, 4 d)。

### 1.2.2 蒸馏提取

然后转入 500 mL 的圆底烧瓶中, 加入 100 mL 60 %vol 乙醇进行蒸馏, 收集 100 mL 馏分, 用气相色谱测定其中与白酒有关的风味物质的含量。

### 1.2.3 色谱条件

气相色谱条件:

毛细管柱: CP-WAX 57: 50 m×0.25 mm 色谱柱。

进样口温度: 240℃, 检测器温度: 260℃, 载气: 氮气 (1 mL/min)。

色谱柱升温程序: 35℃保温 4 min, 4℃/min 升温至 60℃, 10℃/min 升到 130℃, 15℃/min 升温至 205℃, 保温 15 min。

## 2 结果与分析

### 2.1 风味物质含量

对两种不同培养基和不同培养方法的红曲培养液中风味物质含量进行测定, 结果见表 1。

### 2.2 分析与讨论

#### 2.2.1 红曲代谢产物分析

由表 1 测定结果可以看出, 与白酒风味密切相关的酸类物质中的乙酸、丙酸、丁酸、己酸在不同菌株发酵液中均有大量检出, 表明红曲有很强的产酸能力; 各菌株的β-苯乙醇产量均相对较高; 醇类物质中的正丙醇、异丁醇、异戊醇在红曲发酵液中相对产量较大; 酯类物质中壬酸乙酯、癸酸乙酯的产量较大, 而乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯类产量较少。

由测定结果还可以看出, 对于相应的培养方法, 各菌株之间代谢产物的相对含量比较稳定, 说明红曲内有相对稳定的代谢途径, 和相对比较稳定的代谢产物; 但有的菌株个别代谢产物相对较高, 可以作为此种代谢产物的强化菌株。

#### 2.2.2 不同培养方法对红曲代谢产物的影响

由表 1 可以看出, 除 M<sub>3</sub> 外, 摇床方法培养的培养基代谢产物总量均比静置培养要多 52.35%~94.98%; 这可能是由于两种不同培养方法中培养基中氧气的含量不同所造成的。

对于不同的物质来说, 两种培养方法培养的培养基中各对应的物质含量差别较大, 并呈现出一定的规律性。

表 1 红曲代谢产物含量测定结果

(mg/L)

| 项目    | 菌株编号和培养方法      |        |                |        |                |        |                |         |                |        |                |        |
|-------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|---------|----------------|--------|----------------|--------|
|       | M <sub>1</sub> |        | M <sub>2</sub> |        | M <sub>3</sub> |        | M <sub>4</sub> |         | M <sub>5</sub> |        | M <sub>6</sub> |        |
|       | 摇床             | 静置     | 摇床             | 静置     | 摇床             | 静置     | 摇床             | 静置      | 摇床             | 静置     | 摇床             | 静置     |
| 乙酸    | 83.96          | 98.35  | 154.80         | 149.97 | 191.67         | 203.44 | 80.73          | 167.31  | 347.57         | 178.32 | 220.34         | 54.11  |
| 丙酸    | 11.86          | 15.55  | 2.31           | 4.28   | 120.30         | 262.62 | 31.46          | 206.99  | 317.12         | 2.17   | 168.67         | 48.95  |
| 丁酸    | 58.25          | 76.10  | 45.45          | 71.90  | 5.90           | 21.85  | 54.26          | 52.87   | 67.62          | 55.80  | 15.10          | 21.34  |
| 己酸    | 131.32         | 109.50 | 108.98         | 115.08 | 18.60          | 24.15  | 201.05         | 64.58   | 87.22          | 110.62 | 58.48          | 64.57  |
| β-苯乙醇 | 122.92         | 48.41  | 116.66         | 37.67  | 80.05          | 107.94 | 116.03         | 140.03  | 72.44          | 78.06  | 98.72          | 67.66  |
| 乙醛    | 151.81         | 133.23 | 63.98          | 41.34  | 14.02          | 43.22  | 59.49          | 32.46   | 34.71          | 27.24  | 60.60          | 25.85  |
| 乙缩醛   | 4.39           | 0.47   | 0.55           | 0.39   | 0.55           | 0.50   | 0.33           | 0.40    | 0.34           | 1.43   | 1.26           | 0.31   |
| 异丁醇   | 158.57         | 39.87  | 117.09         | 30.61  | 45.45          | 69.02  | 212.50         | 150.01  | 128.34         | 47.73  | 61.93          | 34.97  |
| 异戊醇   | 61.58          | 39.89  | 45.41          | 23.64  | 36.78          | 55.97  | 54.82          | 36.22   | 35.25          | 44.50  | 47.96          | 35.32  |
| 甲醇    | 19.73          | 5.76   | 20.81          | 7.00   | 14.10          | 15.67  | 16.77          | 24.77   | 5.72           | 23.47  | 23.41          | 16.69  |
| 仲丁醇   | 1.20           | 0.10   | 0.16           | 0.13   | 0.10           | 0.15   | 0.16           | 0.20    | 0.12           | 0.15   | 0.31           | 0.11   |
| 正丙醇   | 46.36          | 13.29  | 38.54          | 19.10  | 36.68          | 53.70  | 68.92          | 65.79   | 42.71          | 17.04  | 34.22          | 36.69  |
| 正丁醇   | 36.46          | 1.70   | 17.10          | 2.49   | 1.16           | 1.07   | 13.18          | 6.67    | 14.19          | 1.96   | 1.12           | 0.55   |
| 正己醇   | 0.62           | 0.54   | 0.62           | 0.31   | 0.55           | 0.17   | 1.36           | 0.12    | 0.85           | 0.92   | 0.60           | 1.12   |
| 壬酸乙酯  | 119.43         | 8.76   | 68.13          | 16.24  | 18.23          | 0.99   | 410.20         | 0.97    | 43.51          | 14.33  | 23.12          | 11.52  |
| 癸酸乙酯  | 111.71         | 0.15   | 75.47          | 12.86  | 8.38           | 12.02  | 333.58         | 19.77   | 9.62           | 12.12  | 6.94           | 10.93  |
| 甲酸乙酯  | 4.36           | 5.36   | 2.02           | 2.00   | 2.00           | 4.91   | 2.96           | 2.35    | 1.12           | 3.39   | 5.71           | 3.23   |
| 乙酸乙酯  | 11.38          | 1.75   | 3.46           | 3.45   | 2.47           | 3.17   | 12.65          | 2.87    | 10.16          | 0.65   | 1.54           | 1.35   |
| 丁酸乙酯  | 0.12           | 0.18   | 1.14           | 0.24   | 0.73           | 0.14   | 0.09           | 0.14    | 0.16           | 0.11   | 0.47           | 0.08   |
| 异戊酸乙酯 | 0.21           | 0.50   | 0.14           | 0.13   | 0.19           | 0.25   | 0.24           | 0.11    | 0.11           | 0.15   | 0.13           | 0.21   |
| 乙酸异戊酯 | 0.13           | 0.25   | 0.34           | 0.17   | 0.27           | 0.17   | 0.56           | 0.44    | 0.55           | 0.10   | 0.15           | 0.16   |
| 戊酸乙酯  | 0.16           | 0.12   | 0.13           | 0.17   | 0.63           | 0.10   | 0.19           | 0.22    | 0.13           | 0.22   | 0.27           | 0.22   |
| 己酸乙酯  | 1.08           | 0.15   | 0.58           | 0.12   | 0.17           | 0.71   | 0.64           | 0.62    | 0.47           | 0.27   | 0.24           | 0.45   |
| 乳酸乙酯  | 2.67           | 0.32   | 1.15           | 0.55   | 4.36           | 2.17   | 2.72           | 1.33    | 12.58          | 1.86   | 5.96           | 0.79   |
| 辛酸乙酯  | 0.81           | 0.16   | 0.58           | 1.17   | 0.59           | 1.41   | 1.50           | 1.36    | 0.85           | 1.32   | 1.05           | 0.66   |
| 十四酸乙酯 | 2.92           | 1.02   | 1.83           | 5.03   | 1.76           | 1.46   | 1.28           | 2.78    | 1.92           | 1.01   | 2.00           | 1.92   |
| 棕榈酸乙酯 | 0.65           | 1.12   | 0.80           | 1.35   | 0.24           | 1.34   | 1.16           | 0.61    | 1.68           | 0.63   | 1.21           | 1.85   |
| 汇总    | 1144.65        | 587.05 | 888.22         | 547.39 | 605.93         | 888.30 | 1678.82        | 1101.97 | 1237.07        | 625.55 | 841.48         | 441.59 |

对于酸类物质来说,基本上是摇床培养的培养基中各酸含量低于静置培养;对于 $\beta$ -苯乙醇来说,对于不同培养方法来讲,不同菌株发酵的产量差异较大,并且两种培养方法培养的培养基中物质含量没有固定模式;酯类物质,对于含量较多的壬酸乙酯来说,摇床培养要明显多于静置培养,其他酯类则没有呈现明显的规律性;对于醇类物质来说,摇床培养要多于静置培养的规律性。

### 2.3 红曲在白酒生产中的作用分析

#### 2.3.1 红曲提高白酒酒质的原因分析

P. PATAKOVA, -JOZLOV 等人测定出红曲代谢产生的 80 种挥发性风味物质<sup>[6]</sup>。我们所检测的 28 项与白酒有关的主要风味物质在红曲代谢产物中均能检出,这一方面印证了 P. PATAKOVA, -JOZLOV 等人的测定结果,说明红曲能产生多种微量风味物质。并且红曲的主要代谢产物是一些与白酒质量密切相关的有机酸和醇类物质,其中白酒四大酸中的己酸、乙酸、丁酸产量都较高,醇类物质包括正丙醇、异戊醇、异丁醇、 $\beta$ -苯乙醇,这都与白酒风味密切相关,其中与白酒风味相关的其他微量成分也都有产出,实验组用这些红曲制成的强化大曲所酿出的白酒风味普遍比对照组有所提高,很有可能就是因为红曲主要代谢产物与白酒酒体一致,并且还大量微量代谢产物有关。酿造清香型麸曲白酒时,添加红曲霉制成的糖化发酵剂比不添加红曲霉的糖化发酵剂的酒香气较持久<sup>[7]</sup>,回味绵长,也很可能与红曲的多种微量代谢产物有关。

#### 2.3.2 红曲与白酒中的酯类

有研究表明,在酒醅或酒曲中强化红曲酯化剂、或用红曲做酯化剂、利用黄水做酯化液,可以提高酒中酯含量并改善成品酒感官品质<sup>[9-10]</sup>。但是对红曲代谢产物的测定显示,发酵液中己酸乙酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯、丁酸乙酯含量均很低。这可能是由于乙醇含量过少,不能使各种酯类物质与其进行酯化作用;也可能是在水溶液中红曲的酯化率很低,再加上酸类物质相对很少,不能使其转化为酯类物质<sup>[8]</sup>;红曲对白酒品质的提高,很有可能只是利用红曲产酸特性,再由酒醅和黄水中自身所含的酯酶或其他产酯酶微生物来讲红曲所产的酸转化为相应的酯类。

#### 2.3.3 红曲与白酒“降乳”

红曲在白酒生产中也常用作“增己降乳”和“增乙降乳”的功能菌株<sup>[11]</sup>,测定结果显示,红曲代谢产物中乳酸乙酯含量均较低。这从一方面印证了红曲有作为“增己降乳”和“增乙降乳”菌株的可能性。

### 3 结论

由以上研究可知,红曲主要代谢产物是与白酒风味密切相关的一些酸醇类物质,并且可能具有稳定的代谢途径和代谢产物;红曲同时产生很多微量的风味物质,很有可能是其提高酒质的原因;红曲在白酒酯类生成的贡献中极有可能以提高有机酸类物质为主,在白酒生产的环境中其产生的酯酶能否起作用还需进一步证实。根据生产实际和测定结果,红曲确有“增乙降乳”和“增己降乳”的功效。

#### 参考文献:

- [1] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学出版社,1997.
- [2] 中国科学院微生物研究所.常见与常用真菌[M].北京:科学出版社,1978.
- [3] 沈怡方.白酒风味质量形成的主要因素[J].酿酒科技,2005,(11):30-34.
- [4] 李增胜,任润斌.清香型白酒发酵过程中酒醅中的主要微生物[J].酿酒,2005,32(5):33-34.
- [5] 张文学,乔宗,向文良,等.中国浓香型白酒窖池微生态研究进展[J].酿酒,2004,31(2):31-35.
- [6] P. Patáková-Júzlová, T. Řezanka and I. Viden et. Identification of volatile metabolites from rice fermented by the fungus *Monascus purpureus*[J]. 1998, 43(4):407-410.
- [7] 马美荣,梁洪艳,王春娜.红曲霉在白酒生产中应用研究现状[J].酿酒科技,2004,(4):53-54.
- [8] 刘光桦,卢世晰,黄德英,等.红曲霉胞外酯酶催化己酸乙酯合成研究[J].生物工程学报,1995,11(3):288-290.
- [9] 闻长生,李顺成,沈波.大曲中酯化菌的分离及在黄浆水酯化技术中的应用[J].酿酒科技,1999,(5):28-31.
- [10] 伍显兵,卓忠惠,张庆国,等.黄水、滴窖水、己酸菌液酯化效果对比试验[J].酿酒.2004, 31(1):33-35.
- [11] 沈怡方.白酒中四大乙酯在酿造发酵中形成的探讨[J].酿酒科技,2003,(5):28-31.

## 国密董酒被指定为投洽会唯一国宾专用酒

本刊讯 近日,有着“思乡酒”、“友谊酒”之称的国密董酒被指定为第十三届中国国际投资贸易洽谈会唯一国宾专用酒。

据了解,“投洽会”以引进外资和鼓励中国企业赴境外投资为主题,以项目洽谈和投资政策宣传产品展示推介为主要内容,是中国目前唯一以促进双向投资为目的的国际投资促进活动,也是唯一通过国际展览业协会(UFI)认证的全球规模最大的投资性展览会。

而董酒公司将在投洽会上设置“董酒品鉴馆”,向来自五湖四海的客商推介贵州董酒,让往来客商品味素有“思乡酒”、“友谊酒”之称的董酒,体验董酒独特的工艺、独特的风格和独特的香味组成成分。(小小)