

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.11.037

苹果酸-乳酸发酵对美乐低醇桃红葡萄酒香气的影响

祝霞^{1,2} 王诗¹ 赵丹丹¹ 韩舜愈^{1,2} 杨学山^{1,2}

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室, 兰州 730070)

摘要: 为探讨苹果酸-乳酸发酵(Malolactic fermentation, MLF)对美乐(Merlot)低醇桃红葡萄酒品质的影响,在对不同接种方式进行优选的基础上,以美乐酿酒葡萄为原料,采用本土酒球菌(*Oenococcus oeni*, *O. oeni*)和商业酵母菌同时接种,进行酒精发酵与MLF试验,并对混菌发酵接种量进行优化,通过微酿试验分析MLF对酒体香气品质的影响。结果表明,与未进行MLF的对照组相比,MLF组产生的酯类物质种类最多(28种)、含量最高(质量浓度3 229.52 μg/L),且酯类、酸类、醛酮类化合物含量与其他4个处理组之间存在显著性差异($P < 0.05$);由单因素和正交试验得出影响美乐低醇葡萄酒MLF菌株接种量的主次顺序依次为:*O. oeni*接种量、非酿酒酵母接种量、酿酒酵母接种量,最优接种量为:*O. oeni*接种量7%、酿酒酵母接种量0.25 g/L、非酿酒酵母接种量0.35 g/L,在此条件下完成发酵的酒体柔和指数最高(1.229),酒样中酯类、醇类、酸类化合物含量明显升高;感官评价显示,采用同时接种进行苹果酸-乳酸发酵,在赋予酒样强烈果香、花香的同时还增强了酒体香气的复杂性和层次感。综合分析,进行苹果酸-乳酸发酵可明显提升美乐低醇桃红葡萄酒的香气和感官品质。

关键词: 低醇葡萄酒; 酒球菌; 苹果酸-乳酸发酵; 香气分析; 感官分析

中图分类号: TS262.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2020)11-0338-11

OSID:



Effect of Malolactic Fermentation on Volatile Compounds of Merlot Low Alcohol Rose Wine

ZHU Xia^{1,2} WANG Shi¹ ZHAO Dandan¹ HAN Shunyu^{1,2} YANG Xueshan^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

2. Gansu Key Laboratory of Viticulture and Enology, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To explore the effect of malolactic fermentation (MLF) on the quality of Merlot low alcohol rose wine, the experiment was carried out according to the optimization of different inoculation methods. Merlot grapes were used as material for alcoholic fermentation (AF) and MLF induced by commercial yeast and *Oenococcus oeni* (*O. oeni*) inoculated simultaneously, then the inoculation amounts of mixed fermentation were optimized and the effect of MLF on wine aroma quality was analyzed by micro fermenting experiment. The results showed that the most kinds (28) and the highest content (3 229.52 μg/L) of esters were detected in the fermentation samples with MLF compared with the control group without MLF, and the content of esters, acids, aldehydes and ketones had significant differences with the other four treatment groups ($P < 0.05$). According to the single factor and orthogonal test, the factors influencing inoculation amounts of MLF for Merlot low alcohol rose wine were as follows: the *O. oeni* (7%), non-*Saccharomyces cerevisiae* (0.35 g/L) and *Saccharomyces cerevisiae* (0.25 g/L). Under this conditions, the softness index of the fermented wine was the highest (1.229) and the contents of esters, alcohols and acid compounds were increased significantly. The sensory analysis showed that MLF induced with simultaneous inoculation not only imparted strong fruit and floral aromas to the wine, but also enhanced the complexity and layers of the aroma. Comprehensive analysis showed that MLF could significantly improve the aroma and sensory quality of Merlot low alcohol rose wine.

Key words: low alcohol wines; *Oenococcus oeni*; malolactic fermentation; aroma analysis; sensory analysis

收稿日期: 2020-01-13 修回日期: 2020-02-08

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(31660455、31760454)、甘肃省重点研发计划项目(17YF1NA060)和甘肃省葡萄酒产业发展基金项目(20180820-07、20180820-08)

作者简介: 祝霞(1977—),女,副教授,博士生,主要从事葡萄与葡萄酒风味品质调控研究,E-mail: zhux@gsau.edu.cn

通信作者: 杨学山(1977—),男,副教授,主要从事葡萄酒酿造微生物及风味品质调控研究,E-mail: yangxs@gsau.edu.cn

0 引言

酒精度小于 7%vol 的低醇葡萄酒具有干型葡萄酒颜色、香气、营养成分等基本性状,而且可有效避免酒精对人体的伤害^[1-2]。相对成熟的低醇葡萄酒生产工艺主要包括减少可发酵糖^[3]、脱醇^[4]以及特种微生物发酵^[5]等,这些工艺在降低酒精度的同时,不可避免地造成了葡萄酒香气风味损失,有时甚至还会产生异味^[6-7]。文献[8-9]的研究表明,采用产酒精能力较弱的非酿酒酵母与酿酒酵母菌株混菌发酵能明显提升贵人香、美乐低醇葡萄酒的香气品质,在赋予酒体强烈花香、果香的同时,增强了香气的复杂性和层次感。但混菌发酵生产低醇葡萄酒也存在酒体残糖和 L-苹果酸含量较高,容易引起二次发酵等问题,限制了其规模化生产。

苹果酸-乳酸发酵(Malolactic fermentation, MLF)是在酒球菌(*Oenococcus oeni*, *O. oeni*)的主导下,利用苹果酸-乳酸酶将酒体中酸涩感较强、易被微生物利用的 L-苹果酸降解为柔顺、稳定的 L-乳酸,在提高生物稳定性、降低酸度的同时,进一步改善了口感,突出果香、增加了复杂性^[10-13]。文献[14]研究表明,MLF 不仅使酒样中的高级醇、高级酯、萜烯等化合物的种类和含量均有增加,而且口感更柔和,提升了复杂性和层次感。文献[15-16]研究显示,MLF 后酒体的总酸度和柠檬酸含量降低,pH 值和乳酸含量增加,橙花醇、乙酸异戊酯、辛酸乙酯含量分别升高 75%、75%、100%。文献[17]将酿酒酵母与 *O. oeni* 同时接种进行发酵,发酵后酒样中的挥发酸含量降低,水果香气、黄油和奶油香气突出,酒样香气浓郁、复杂。文献[18]对樱桃酒同时进行酒精发酵和苹果酸-乳酸发酵,酒样颜色红艳,入口柔顺,酒体圆润,果香味馥郁协调。文献[19-20]采用乳酸菌与酵母菌对低醇苹果酒、梨酒进行混合发酵,发现低醇酒的总酸、总糖含量分别下降了约 27.51%、36.06%,柔和指数明显升高。目前,MLF 对低醇葡萄酒理化和香气品质的影响研究很少。本文以模拟葡萄汁发酵筛选产香性能较好的本土 *O. oeni* 和商业酵母菌发酵接种方式为基础,采用甘肃省河西走廊产区的酿酒葡萄主栽品种美乐为原料,通过微酿试验探究 MLF 对低醇葡萄酒品质的影响,以期生产代表产区风土特色的高品质低醇葡萄酒提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酿酒葡萄:美乐,2019 年采摘于甘肃武威莫高

葡萄酒业有限公司葡萄种植基地,葡萄浆果糖度(以葡萄糖计)为 194.75 g/L,总酸质量浓度(以酒石酸计)为 6.56 g/L。

商业酿酒酵母 ES488(意大利 Enartis 公司);商业非酿酒酵母 MP346 (*Mtschnikowia pulcherrima*346)(法国 Lallemand 公司);本土酒球菌菌株 ZX-1,由甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室分离鉴定并保存。

香茅醇、香叶醇、芳樟醇、异戊醇、苯乙醇、乙酸异戊酯、乙酸己酯等香气化合物和内标物 2-辛醇标准品(美国 Sigma 公司);无水葡萄糖、纤维二糖、磷酸氢二铵、酒石酸氢钾、L-苹果酸、柠檬酸、磷酸氢二钾、硫酸镁、偏重亚硫酸钠、酵母浸粉、氢氧化钠等试剂均为国产分析纯(天津市光复精细化工研究所);L-苹果酸检测试剂盒(爱尔兰 Megazyme 公司)。

1.2 仪器与设备

LRH-150 型生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);722N 型可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司);pHS-3C 型 pH 计(上海雷磁责任有限公司);LDZX 型立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);TRACE 1310-ISQ 型气相色谱-质谱联用仪、ISQ 型单四级杆质谱仪(美国 Thermo Scientific 公司);50/30 μm DVB/CAR-PDMS 型萃取头(上海安谱科学仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 模拟葡萄汁配制

模拟汁配方^[21]:葡萄糖 200 g/L、纤维二糖 0.2 g/L、磷酸氢二铵 1.5 g/L、磷酸氢二钾 1.14 g/L、硫酸镁 1.23 g/L、酒石酸氢钾 2.5 g/L、L-苹果酸 3.0 g/L、柠檬酸 0.2 g/L、酵母浸粉 1.0 g/L。

1.3.2 菌株活化

(1)本土 *O. oeni* 菌株

将冷冻保存在斜面上的 *O. oeni* 菌株于 28℃ 培养箱活化 2 h 后,用接种环挑取 2 环至灭菌后的 ATB 培养基中,于 28℃ 厌氧培养至对数生长期(600 nm 处吸光度约 1.2),备用。

ATB 培养基^[17]:葡萄糖 10 g/L,蛋白胨 10 g/L,酵母浸粉 5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L,盐酸半胱氨酸 0.5 g/L,番茄汁体积分数 25%,121℃ 灭菌 20 min。

(2)非酿酒酵母菌株

称取非酿酒酵母活性干粉,溶于 10 倍体积的无菌水中,放置在 28℃ 恒温水浴锅中活化 15 min,再加入等体积的葡萄汁,于 25℃ 下活化 15 min。

(3)酿酒酵母菌株

将称取的酿酒酵母干粉用 10 倍体积的无菌水

溶解,置于 28℃ 下恒温水浴活化 10 min 后,加入等体积的葡萄汁,在 25℃ 水浴锅中活化 10 min。

1.3.3 接种方式

本试验在文献[8-9]混菌发酵低醇葡萄酒所采用接种方式的基础上,为消除酿酒葡萄原料自身香气对试验结果的干扰,以模拟葡萄汁为基质,设计 5 个处理组对接种方式进行评价筛选。其中,ZX-1 菌株接种时按照接种量,取 100 mL 二次扩培菌液,3 000 r/min 离心 10 min 后弃去上清液,将沉淀用等体积模拟葡萄汁洗入发酵瓶中。

A 组:MP346 菌粉与 ZX-1 同时接种;B 组:先接种 MP346,当 L-苹果酸降至 0.30 g/L 以下时,再接种 ES488 菌粉;C 组:MP346 与 ZX-1 同时接种,发酵至酒精度为 3.5%vol 时,接种 ES488;D 组:先接种 ZX-1,当 L-苹果酸降到 0.30 g/L 以下时,接种 MP346,发酵至酒精度为 3.5%vol 时接种 ES488;E 组(对照组):先接种 MP346,发酵至酒精度为 3.5%vol,接种 ES488。处理组中 ZX-1 菌株接种量体积分数为 5%,MP346 菌粉、ES488 菌粉分别按照推荐用量 0.25、0.20 g/L 接种。各处理组均发酵至酒精度为 6.5%vol 时,终止发酵,取样检测。

1.3.4 混菌发酵接种工艺优化

根据 1.3.3 节的研究结果,选择最佳的接种方式,参照文献[9]酿造美乐低醇桃红葡萄酒的工艺流程,进行混菌发酵接种量的优化。

混菌发酵低醇桃红葡萄酒工艺流程:美乐葡萄→除梗破碎,带皮渣浸渍(4℃,48 h;添加 30 mg/L SO₂、20 mg/L 果胶酶)→过滤除皮渣→接种酵母与 *O. oeni* 菌株,发酵至酒精度为 6.5%vol→恒温静置→取澄清液进行错流过滤→灌装。

1.3.5 单因素试验

(1) *O. oeni* 接种量

将 60 L 浸渍后过滤除皮渣的美乐葡萄汁分装入 15 个 5 L 玻璃发酵瓶中,分别按接种量 3%、4%、5%、6%、7% 接入 ZX-1 菌株,同时接入 MP346 (0.25 g/L),20℃ 恒温发酵至酒精度为 3.5%vol,再接入 ES488 (0.20 g/L),发酵至酒精度为 6.5%vol 时终止发酵。取样测定总酸含量、单宁含量、酒精度、挥发酸含量。每个酒样重复 3 次,下同。

(2) 非酿酒酵母接种量

将浸渍后过滤除皮渣的美乐葡萄汁等份分装,分别以接种量 0.15、0.20、0.25、0.30、0.35 g/L 接入 MP346,同时接入 5% 的 ZX-1,20℃ 发酵至酒精度为 3.5%vol,再接入 ES488 (0.20 g/L),酒精度为 6.5%vol 时终止发酵。发酵结束后取样测定总酸含量、单宁含量、酒精度、挥发酸含量。

(3) 酿酒酵母接种量

分别向分装于发酵瓶的葡萄汁中,同时接种 0.25 g/L 的 MP346 和 5% 的 ZX-1,20℃ 恒温发酵至酒精度为 3.5%vol,再分别按接种量 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 g/L 接种 ES488,发酵结束后(酒精度为 6.5%vol)分别取样测定总酸含量、单宁含量、酒精度、挥发酸含量。

1.3.6 正交试验

根据单因素试验结果,选择 *O. oeni* 接种量(即 ZX-1 接种量)、非酿酒酵母接种量(即 MP346 接种量)和酿酒酵母接种量(即 ES488 接种量)进行三因素三水平正交试验,以发酵结束后酒样柔和指数作为评价指标,试验因素水平见表 1。重复测定 3 次。

表 1 试验因素水平

Tab.1 Factors and levels of design

水平	因素		
	ZX-1 接种量/ %	MP346 接种量/ (g·L ⁻¹)	ES488 接种量/ (g·L ⁻¹)
1	5	0.25	0.20
2	6	0.30	0.25
3	7	0.35	0.30

1.3.7 微酿试验

参照 1.3.4 节的发酵工艺,采用正交试验优化结果进行微酿试验。发酵至酒精度为 6.5%vol 时,分别将酒样澄清液进行错流过滤,灌装即得低醇葡萄酒。取成品酒样测定相关指标。

1.3.8 葡萄酒理化指标测定

还原糖含量、总酸含量、挥发酸含量、酒精度、pH 值、总酚含量、单宁含量、总硫含量、游离硫含量的测定均参照文献[22]中的方法进行。L-苹果酸含量的测定按照试剂盒说明书方法进行。柔和指数测定参照文献[23]。试验均重复 3 次,结果以平均值 ± 标准偏差表示。

柔和指数计算公式为

$$S = A - (T + C) \quad (1)$$

式中 S——酒样柔和指数

A——酒精度,%vol

T——单宁质量浓度,g/L

C——总酸质量浓度,g/L

1.3.9 挥发性香气化合物的测定

参照文献[24]的方法,利用固相微萃取结合气相色谱-质谱技术(Solid phase microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry, SPME-GC-MS)对样品中的挥发性香气化合物进行定性定量分析检测,其中 SPME 主要用于香气成分的萃取,GC-MS 用于香气物质的定性定量分

析。采用保留指数 (Retention index, RI) 和 NIST-11、Wiley 数据库及香精香料谱库检索比对进行定性分析; 对已有标准品的化合物, 利用标准曲线 ($R^2 > 0.995$) 定量, 无标准品的化合物采用化学结构和官能团相似、碳原子数相近的标准物质进行半定量。

1.4 感官评价

参照 GB/T 15038—2006 及文献 [9] 的方法, 并略作修改。各酒样随机编号后, 分别从外观、香气和口感方面 (表 2) 进行 3 轮盲品。使用 10 分结构化数值尺度来量化, 0~10 分表示感觉强烈程度逐渐增大。

表 2 美乐低醇桃红葡萄酒感官评价标准

Tab.2 Sensory evaluation criteria for Merlot low alcohol rose wine

评价项目	评价角度	评价标准
外观 (20 分)	澄清度、颜色强度	色泽鲜明光亮, 呈紫红色、宝石红色 (0~10 分)
		澄清透明、无明显悬浮物 (0~10 分)
香气 (30 分)	花果香、脂肪味、浓郁度	具有优雅、愉悦、和谐的花果香 (0~10 分)
		脂肪、奶油味突出 (0~10 分)
		香气浓郁、复杂 (0~10 分)
口感 (50 分)	甜味、酸度、余味长短、平衡感	醇厚协调、愉悦优雅 (0~10 分)
		酒体丰满、圆润 (0~10 分)
		酸甜适中、平衡感良好 (0~10 分)
		酒香留口、余味悠长 (0~10 分)
		风格典型、独特 (0~10 分)

1.5 数据处理

利用 Microsoft Excel 2016 对试验所得数据进行分析 and 制图, 使用 IBM SPSS Statistics 19.0 进行主成分分析及多重比较 (Duncan 法, $P < 0.05$), 试验结果均以平均值 \pm 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 模拟汁发酵酒样理化指标分析

表 3 为采用不同接种方式发酵处理组的酒样

理化指标。由表可知, 各理化指标均符合国标 GB/T 15038—2006 要求。5 组酒样酒精度无显著性差异, A、B、C、D 4 个处理组的还原糖、总酸、L-苹果酸含量显著低于 E 组 (对照组) ($P < 0.05$), pH 值、挥发酸含量显著高于 E 组 (对照组) ($P < 0.05$), 这说明 MLF 不仅能够转化性质活泼、能够被细菌利用的 L-苹果酸, 而且会消耗酒样中的部分还原糖, 降低二次发酵的风险。

表 3 不同接种方式发酵酒样基本理化指标

Tab.3 Basic physical and chemical indexes of wine samples fermented with different inoculation methods

组别	还原糖质量浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	总酸质量浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	挥发酸质量浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	pH 值	L-苹果酸质量浓度/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	酒精度/% vol
A	(88.75 \pm 1.00) ^b	(4.95 \pm 0.02) ^d	(0.80 \pm 0.01) ^b	(3.27 \pm 0.01) ^b	(0.10 \pm 0.01) ^b	(6.50 \pm 0.01) ^a
B	(80.75 \pm 1.00) ^d	(5.36 \pm 0.02) ^b	(0.60 \pm 0.01) ^d	(3.34 \pm 0.02) ^a	(0.07 \pm 0.01) ^c	(6.60 \pm 0.02) ^a
C	(85.25 \pm 0.50) ^c	(4.78 \pm 0.01) ^c	(0.77 \pm 0.01) ^c	(3.26 \pm 0.01) ^b	(0.11 \pm 0.02) ^b	(6.50 \pm 0.01) ^a
D	(81.75 \pm 1.00) ^d	(5.05 \pm 0.01) ^c	(0.82 \pm 0.01) ^a	(3.35 \pm 0.01) ^a	(0.06 \pm 0.01) ^c	(6.60 \pm 0.01) ^a
E	(93.25 \pm 0.50) ^a	(5.66 \pm 0.02) ^a	(0.55 \pm 0.01) ^e	(3.04 \pm 0.02) ^c	(2.99 \pm 0.01) ^a	(6.50 \pm 0.02) ^a

注: 同列不同小写字母代表差异显著, $P < 0.05$ 。

2.2 不同接种方式对模拟汁发酵酒样中挥发性香气化合物的影响

不同接种方式下模拟汁发酵酒样中的主要香气物质 GC-MS 检测结果如图 1 (图中同种类别香气物质不同字母表示不同处理组差异显著) 所示。试验共检测出 85 种香气化合物, 其中酯类 33 种、醇类 18 种、酸类 15 种、萜烯类 7 种、醛酮类 11 种以及其他类 1 种。由图 1 可知, A~E 处理组分别检测出 66、63、75、69、69 种香气物质, 总量依次为

4 830.19、5 836.61、5 732.50、5 940.60、6 750.99 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。不同处理组发酵的酒样产生同类香气物质的种类和含量存在差异。C 和 D 处理组产生酯类种类最多, 均有 28 种, 并且 C 组的酯类产量最高 (质量浓度 3 229.52 $\mu\text{g}/\text{L}$), 与其他处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。A、C、D 3 个处理组醇类最多, 分别为 15、17、17 种, 且 C 组的醇类产量最高 (983.44 $\mu\text{g}/\text{L}$), 比对照组 (E 组) 高出约 24.00%。C 组产生的酸类化合物和醛酮类化合物种类相对较

多,质量浓度分别为 2 383.18、132.53 $\mu\text{g}/\text{L}$,且含量与其他处理组之间差异较显著 ($P < 0.05$)。萜烯类化合物感官阈值低,香气浓郁,是葡萄酒的特征香气,与对照组相比,其他 4 个处理组均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。其他类化合物检出含量较少,处理组之间差异不大。

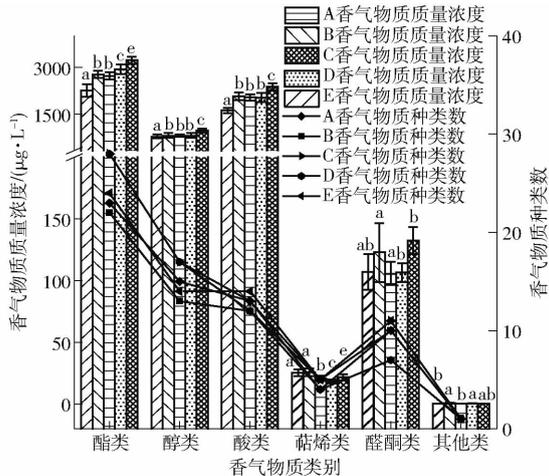


图1 不同接种方式处理组的香气物质比较

Fig. 1 Comparison of aroma compounds in different inoculation treatment groups

由于试验检测到的挥发性香气物质种类繁多、含量差异较大,为综合分析不同接种组合的产香特征,故对本试验检出的香气化合物中气味活性值 (Odor activity value, OAV) 大于 0.1 的物质进行主成分分析 (Principal component analysis, PCA)^[25],并以特征值大于 1 进行主成分抽提,得到 PC1、PC2 和 PC3 贡献率分别为 48.549%、22.861%、19.318%,3 个主成分累计解释总方差为 90.728%,即这 3 个主成分能基本反映原数据的全部变异,并根据主成分分析结果得到图 2 和图 3。由图 2 可知,乙酸异戊酯 (果香)、芳樟醇 (玫瑰香、柑橘果香)、香叶醇 (柠檬、天竺葵味)、己酸乙酯 (香蕉、青苹果味) 等物质在 PC1 正半轴上的得分较高,即 PC1 正半轴主要反映了葡萄酒中的花香、果香特征,而 PC1 负半轴反应的香气信息较少;9-癸烯酸 (脂肪味)、癸酸乙酯 (果香、脂肪味)、丁酸乙酯 (香蕉、草莓味)、正己酸 (乳酪味) 等物质在 PC2 正半轴上的得分较高,即 PC2 正半轴主要反映了果香、脂肪香的香气特征,而化合物壬醛 (蜡香、柑桔香)、辛酸 (脂肪味)、正戊醇 (果香、青草味)、辛酸乙酯 (菠萝、梨、果香味) 等物

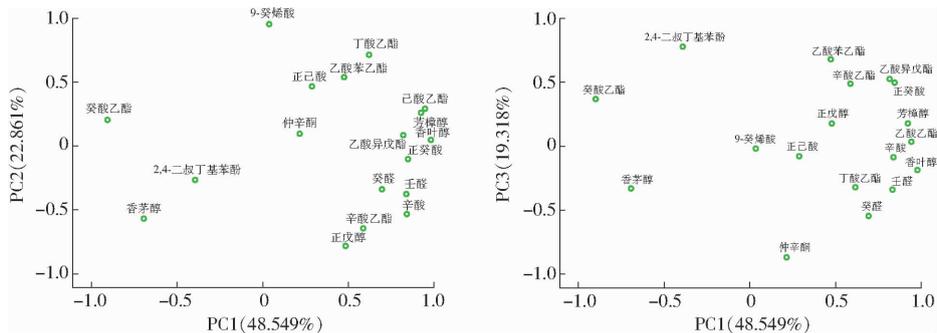


图2 香气化合物 PCA 因子载荷图

Fig. 2 Factor loading plot of PCA for aroma compounds

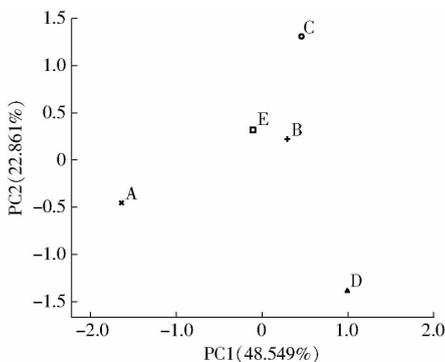


图3 不同接种方式处理组的发酵香气 PCA 分布图

Fig. 3 PCA distribution of fermentation aroma in different inoculation treatment groups

质在 PC2 负半轴上的得分较高,即代表葡萄酒中脂肪味以及淡淡的果香特征。由图 3 可知,5 个处理组酒样的香气特征可在这 2 个主成分所形成的二维平面上被很好地区分,其中 C 处理在 PC1、PC2 正半

轴有较高得分,因而其酒样的花香、果香特征突出;A、B、E 处理组所在区域信息较少,香气特征不突出;D 处理组 PC1 得分较高,但 PC2 得分较低,即该组合酒样香气特征单一,香气缺乏复杂性与层次性。综合分析可知,C 处理组酒样香气特征明显优于其他 4 个处理组,所产香气物质可赋予酒样花香、果香味。因此,选择 C 处理组接菌组合进行后续微酿试验发酵。

2.3 单因素试验分析

2.3.1 *O. oeni* 接种量

挥发酸是葡萄酒中以游离状态或以盐的形式存在的所有乙酸系脂肪酸的总和,其中乙酸约占 90%,在酒中的最佳质量浓度为 0.3~0.8 g/L,过高的挥发酸含量会产生腐败味,严重影响感官品质^[26]。此外,酒精度、总酸含量和单宁含量之间的

平衡能很好地判断和反映酒体的协调性,而柔和指数则是利用这 3 个因素构建的综合指标,通过将酒体的风味变化进行量化处理,从而更为直观地判断 MLF 对于葡萄酒香气的整体贡献^[27]。如图 4(图中不同字母表示差异显著,下同)所示,随着 ZX-1 接种量的增加,酒体柔和指数和挥发酸含量均呈升高趋势且差异显著($P < 0.05$)。当接种量为 6% 时,柔和指数为 1.046,挥发酸质量浓度为 0.83 g/L;而 *O. oeni* 接种量为 7% 时,柔和指数虽然最高(1.116),但挥发酸质量浓度高达 1.07 g/L。究其原因,挥发酸的产生与柠檬酸代谢相关,而在 MLF 过程中,*O. oeni* 通过代谢葡萄酒中的柠檬酸而产生乙酸^[28],因此,接种量增加后菌株的代谢活动增强,进而导致挥发酸含量升高。综合考虑柔和指数与挥发酸质量浓度,选择接种量 6% 较佳。

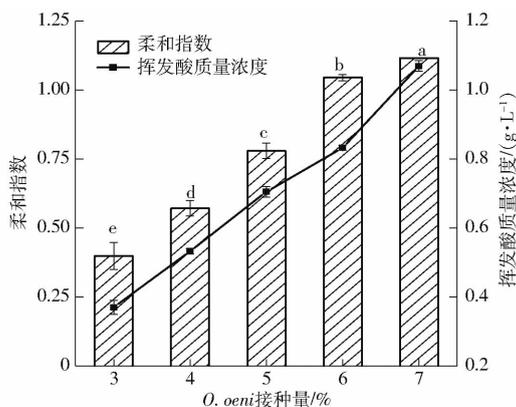


图 4 接种量对葡萄酒柔和指数和挥发酸的影响
Fig. 4 Effect of *O. oeni* inoculation amounts on soft index and volatile acid of wine samples

2.3.2 非酿酒酵母接种量

非酿酒酵母菌株具有独特的代谢通路和较强的风味酶活性,可以在降低酒精生成的同时增加甘油、萜烯和酯类含量,降低乙酸含量,增加葡萄酒的结构、香气、本土特色及复杂感,进而改善葡萄酒整体品质^[29]。由图 5 可知,当 MP346 接种量为 0.30 g/L 时,柔和指数达到最大值 0.643,挥发酸质量浓度为 0.80 g/L,此时葡萄酒中的酸度、单宁含量、酒精度较平衡,葡萄酒的口感最佳。当 MP346 接种量为 0.35 g/L 时,酒体柔和指数最低(0.335),而 MP346 接种量为 0.15 g/L 时,挥发酸含量最高(质量浓度 0.83 g/L),较低的柔和指数表明葡萄酒不太浓厚,酒体不够饱满,而过高的挥发酸含量,不仅掩盖了葡萄酒的香气,还会使葡萄酒失去平衡性^[30]。综合考虑柔和指数与挥发酸质量浓度,选择非酿酒酵母接种量 0.30 g/L 较佳。

2.3.3 酿酒酵母接种量

酵母接种量是影响发酵进程的主要因素之一,

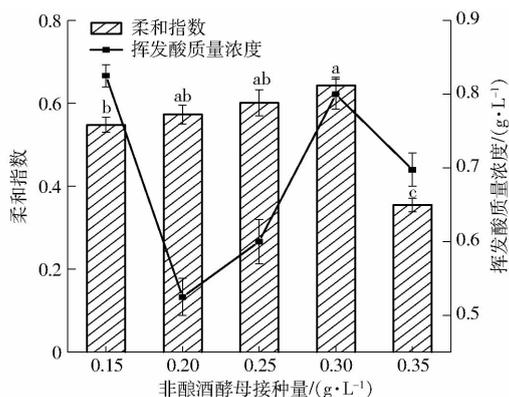


图 5 非酿酒酵母接种量对葡萄酒柔和指数和挥发酸的影响
Fig. 5 Effect of non-*S. cerevisiae* inoculation amounts on soft index and volatile acid of wine samples

接种量较少,启酵速度慢;接种量大,启酵速度快,但酒质粗糙,葡萄酒品质较差^[31]。由图 6 可知,随着 ES488 接种量的增加,柔和指数先升高后下降。ES488 接种量为 0.25 g/L 时,柔和指数最高(0.695),且挥发酸含量较低(质量浓度 0.62 g/L),发酵时间短(30 h),当 ES488 接种量为 0.30 g/L 时,虽然发酵时间最短(24 h),但酒体柔和指数最低(0.298),挥发酸含量与接种量为 0.25 g/L 时没有显著性差异($P > 0.05$),这是由于过大的接种量,导致酒体中的总酸含量过高,酒体柔和指数降低^[32]。当 ES488 接种量为 0.10 g/L 时,发酵时间长(48 h),同时挥发酸含量高,柔和指数偏低。综合考虑柔和指数与挥发酸质量浓度,选择酿酒酵母接种量 0.25 g/L 较佳。

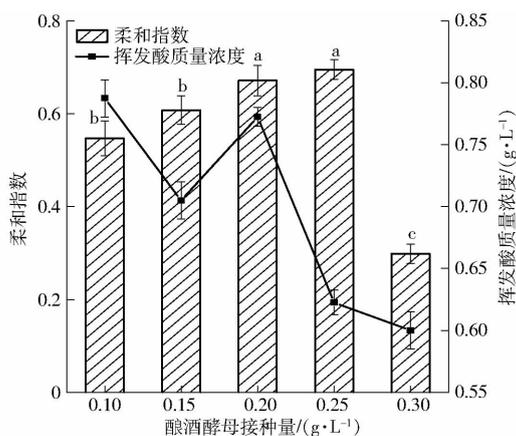


图 6 酿酒酵母接种量对葡萄酒柔和指数和挥发酸质量浓度的影响
Fig. 6 Effect of *S. cerevisiae* inoculation amounts on soft index and volatile acid concentration of wine sample

2.4 正交试验分析

由表 4(表中 X、Y、Z 分别表示 *O. oeni* 接种量、非酿酒酵母接种量、酿酒酵母接种量的水平值)中 R 值可以看出,影响葡萄酒 MLF 的主次顺序依次为

X、Y、Z,即 *O. oeni* 接种量是影响美乐低醇葡萄酒 MLF 的最主要因素,其次为非酿酒酵母接种量,酿酒酵母接种量对美乐低醇葡萄酒 MLF 的影响最小。由 *K* 值可确定最优组合为 $X_3Y_3Z_2$,即:ZX-1 接种量 7%,MP346 接种量 0.35 g/L,ES488 接种量 0.25 g/L,该组合为正交试验中的处理 9,其柔和指数为 1.229,高于其他 8 个处理组。由表 5 可知,ZX-1 接种量、MP346 接种量对美乐低醇葡萄酒 MLF 有显著性影响($P < 0.05$),而 ES488 接种量对葡萄酒 MLF 影响不显著。

表 4 正交试验结果

Tab. 4 Results of orthogonal design

试验序号	X	Y	Z	柔和指数
1	1	1	1	0.759
2	1	2	2	1.000
3	1	3	3	1.029
4	2	1	2	0.875
5	2	2	3	0.787
6	2	3	1	1.038
7	3	1	3	1.158
8	3	2	1	1.177
9	3	3	2	1.229
K_1	0.929	0.931	0.991	
K_2	0.900	0.988	1.035	
K_3	1.188	1.099	0.991	
R	0.288	0.168	0.043	

表 5 正交试验方差分析

Tab. 5 Variance analysis of orthogonal test

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
X	0.151	2	0.075	4.774	*
Y	0.440	2	0.022	1.386	*
Z	0.004	2	0.002	0.119	
误差	0.032	2	0.016		

注: $R^2 = 0.963$; * 表示影响显著($P < 0.05$)。

文献[33]研究发现采用 *O. oeni*、非酿酒酵母和酿酒酵母进行混菌发酵时,酒样挥发性酸度和乙醛降低了 60%。在本试验中,当 MP346 与 ES488 的接种量一定时,因 *O. oeni* 可以分解柠檬酸产生乙酸,所以随着 ZX-1 接种量的增大,酒样的挥发酸质量浓度升高至 1.07 g/L,当 MP346 接种量增大时,因非酿酒酵母可降低乙酸含量,增加乙酯类等香气物质含量,所以本试验选用 ZX-1 接种量 7%、MP346 接种量 0.35 g/L、ES488 接种量 0.25 g/L,即 $X_3Y_3Z_2$ 是 3 种发酵菌株的最佳接种比例。

2.5 微酿试验分析

2.5.1 美乐低醇桃红葡萄酒基本理化指标

由表 6 可知,在酒精度基本一致时,F 组的残糖质量浓度(81.63 g/L)低于 H 组(91.00 g/L),说明

O. oeni 会消耗部分还原糖;与 H 组相比,F 组 MLF 后酒样的总酸质量浓度降低 0.58 g/L,pH 值升高 0.3,L-苹果酸完全降解(质量浓度小于 0.3 g/L);挥发酸是葡萄酒健康状况和腐败情况的评判指标之一^[34],微酿试验酒样挥发酸质量浓度为 0.51 g/L,符合国标 GB/T 15037—2006 的要求;酚类物质对葡萄酒的感官品质、抗氧化性及失光沉淀起着关键作用^[35],单宁可使酒体保持一定的结构稳定性和口感收敛性^[36]。MLF 后美乐低醇桃红葡萄酒的总酚质量浓度降低 0.01 g/L,单宁质量浓度降低 0.02 g/L。柔和指数体现出酒样口感的协调性以及葡萄酒的肥硕、柔和特性^[37],MLF 后酒样的柔和指数升高 0.8,说明 MLF 可提高葡萄酒样的柔和性,对美乐低醇桃红葡萄酒品质的提升具有积极作用。因此,与对照组(H 组)相比,接入 *O. oeni* 的低醇葡萄酒不仅酒体饱满,平衡性好,且挥发酸含量低,酒体品质良好。

表 6 美乐低醇桃红葡萄酒理化指标的变化

Tab. 6 Changes of physical and chemical indexes of Merlot low alcohol rose wine

参数	数值	
	F 组	H 组
残糖质量浓度/(g·L ⁻¹)	81.63 ± 0.38	91.00 ± 0.75
pH 值	3.78 ± 0.01	3.48 ± 0.01
总酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	5.32 ± 0.01	5.90 ± 0.01
挥发酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.51 ± 0.02	0.44 ± 0.01
L-苹果酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.10 ± 0.04	2.89 ± 0.03
酒精度/% vol	7.00 ± 0.01	6.80 ± 0.01
单宁质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.01
柔和指数	1.37 ± 0.01	0.57 ± 0.01
色度	0.36 ± 0.03	0.49 ± 0.06
色调	1.09 ± 0.03	0.93 ± 0.03
总酚质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01
总 SO ₂ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	23.00 ± 1.00	39.00 ± 1.00
游离 SO ₂ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	16.40 ± 0.10	19.20 ± 0.80

注:F 组:非酿酒酵母 MP346(0.35 g/L)与酒球菌 ZX-1(7%)同时接种,发酵至酒精度为 3.5%vol 时,接种酿酒酵母 ES488(0.25 g/L);H 组:先接种非酿酒酵母 MP346(0.25 g/L),发酵至酒精度为 3.5%vol,接种酿酒酵母 ES488(0.20 g/L),以该组为对照组。

2.5.2 香气物质分析

对表 7^[38-43]和图 7 进行综合分析可知:试验共检测出 110 种香气化合物(表 7 中仅列出部分种类),其中酯类 42 种、醇类 26 种、酸类 14 种、萜烯类 10 种、醛酮类 13 种以及其他类 5 种。由图 7 知,其中酯类香气物质种类最多,质量浓度也最高(6 267.99 μg/L),质量浓度排在前 6 位的香气物质分别为辛酸(3 916.20 μg/L)、辛酸乙酯(2 023.05 μg/L)、己酸乙酯(1 732.93 μg/L)、乙酸异戊酯(1 261.03 μg/L)和正戊醇(1 114.70 μg/L)。

F、H 组分别检出 105、80 种香气物质,其总质量浓度分别为 8 111.59、5 957.92 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。*O. oeni* 拥有广泛的代谢途径和多种酶,能赋予葡萄酒复杂的香气,从而改变酒中酯类、高级醇类、酸类和萜烯

类等物质成分的含量及平衡关系^[44]。F 组的酯类、醇类、酸类香气化合物的含量与种类均高于 H 组,尤其是辛酸乙酯、乙酸异戊酯、正己醇(表 7 中未列出)、辛酸的含量比 H 组分别高出约

表 7 美乐低醇桃红葡萄酒挥发性香气化合物

Tab.7 Volatile aroma compounds of Merlot low alcohol rose wine

序号	保留时间/ min	香气物质	阈值 ^[38-40] / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		香气描述 ^[41-43]
				F 组	H 组	
1	13.65	丁酸乙酯	35	52.46	41.97	香蕉、草莓味
2	17.28	乙酸异戊酯	30	903.10	357.93	果香、香蕉味
3	22.04	己酸乙酯	14	900.60	832.33	香蕉、青苹果
4	30.12	辛酸乙酯	5	1 180.41	842.64	菠萝、梨、花香
5	26.21	癸酸乙酯	200	134.66	81.36	果香、脂肪味
6	43.38	乙酸苯乙酯	250	108.01	87.03	花香
7	44.02	月桂酸乙酯	83	14.14	4.50	花果香、奶香
酯类总量				32 93.38 \pm 130.19	2 247.76 \pm 46.57	
8	20.97	正戊醇	1 000	602.63	512.07	水果香、青草味
醇类总量				602.63 \pm 19.48	512.07 \pm 10.39	
10	41.7	正癸酸	1 000	473.61	83.18	酸腐味、脂肪味
11	48.34	9-癸烯酸	1 000	193.98	119.71	脂肪味
12	51.55	辛酸	1 000	2 000.59	1 915.61	涩味、奶油味
酸类总量				2 668.18 \pm 8.70	2 118.5 \pm 5.49	
14	41.6	香茅醇	40	16.29	13.80	柠檬、柑橘香
15	44.3	香叶醇	20	14.49	7.56	柠檬、天竺葵味
16	34.17	芳樟醇	15	25.61	11.31	玫瑰花香、柑橘味、果香
17	44.51	香叶基丙酮	60	19.50	17.34	青草味、果香味
18	43.66	大马士酮	0.05	21.86	21.23	花香、果香、紫丁香
萜烯类总量				97.75 \pm 1.38	71.24 \pm 1.81	
19	24.21	仲辛酮	0.25	10.66	10.55	花香、青果香、樟脑味
20	24.36	正辛醛	15	5.22	0.39	不良的化学气味、苦味、柠檬味
21	28.51	壬醛	15	2.00	2.44	蜡香、柑桔香、脂肪香、花香
22	32.49	癸醛	10	26.27	23.87	香皂、橙皮味
23	45.35	2,4-二叔丁基苯酚	200	51.20	-	酚味
醛酮类总量				95.35 \pm 0.64	37.25 \pm 1.97	

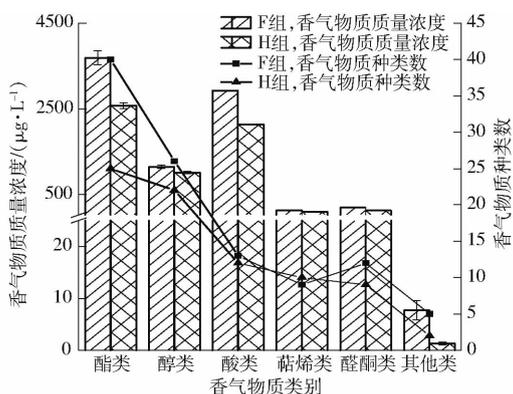


图 7 美乐低醇桃红葡萄酒的香气物质比较

Fig.7 Comparison of aromacompounds in Merlot low alcohol rose wine

40.08%、152.00%、8.58% 和 4.44%, F 组的萜烯类质量浓度高于 H 组。综合分析,经过 MLF 的葡萄酒样不仅酯类物质尤其是具有果香、花香味的乙酯类化合物含量增多,而且还增加了葡萄酒香气的复杂性,使酒体香气更加浓郁、圆润。即对于美乐低醇桃红葡萄酒而言,采用 F 组发酵方式更有利于提高香气品质。

2.5.3 感官评价分析

图 8 为美乐低醇桃红葡萄酒感官分析雷达图。F 组与 H 组在色泽方面并无较大差异,但 F 组的花香、果香、余味长短均高于 H 组,这是由于 MLF 提高了酒样中的酯类、酸类、醇类化合物含量,与文

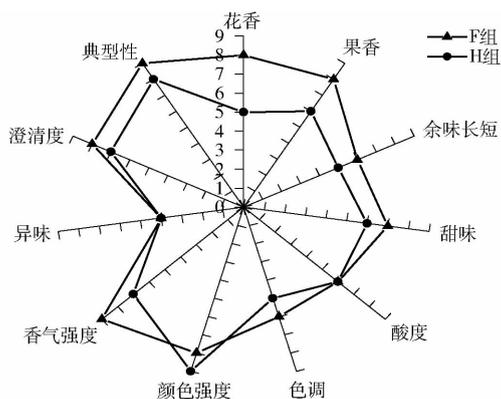


图8 美乐低醇桃红葡萄酒感官分析雷达图

Fig.8 Radar map of sensory analysis for Merlot low alcohol rose wine

献[44]的研究结果相一致。从口感方面分析可知, MLF使酒样的口感变得更加柔和圆润。因此,采用MLF后的F组酒样更有利于花果香的形成,使酒体典型性更突出。

3 结论

(1)以不同MLF接种方式进行模拟汁发酵的酒精香气化合物分析表明:本土酒球菌ZX-1与非酿酒酵母MP346同时接种,发酵至酒精度3.5%vol时再接种酿酒酵母ES488,发酵产生的酯类种类最多(28种)、含量最高(质量浓度3229.52 μg/L),并且酯类、酸类、醛酮类化合物含量与其他4个处理组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。

(2)微酿试验表明,ZX-1接种量、MP346接种量对美乐低醇葡萄酒MLF有显著性影响($P < 0.05$),在*O. oeni*接种量7%、非酿酒酵母接种量0.35 g/L、酿酒酵母接种量0.25 g/L的混菌发酵条件下,美乐低醇葡萄酒中的酯类、醇类、酸类化合物含量明显升高,在赋予酒样强烈果香、花香的同时还增强了酒体香气的复杂性和层次感,风格典型性突出,与感官评价结果相一致。总体而言,对美乐低醇葡萄酒进行苹果酸-乳酸发酵可明显提升香气品质。

参 考 文 献

- [1] PULIGUNDLA P, PYUN Y R, MOK C. Pulsed electric field (PEF) technology for microbial inactivation in low-alcohol red wine[J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(6):1691-1696.
- [2] 崔艳, 吕文, 尹吉泰, 等. 低温浸渍对“玫瑰香”低醇桃红葡萄酒品质的影响[J]. 北方园艺, 2017, 18(15):103-108. CUI Yan, LÜ Wen, YIN Jitai, et al. Effect of low temperature maceration technique on quality of low alcohol rose ‘muscat hamburg’ wine[J]. The North Garden, 2017, 18(15):103-108. (in Chinese)
- [3] VARELA C, SENGLER F, SOLOMON M. Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*[J]. Food Chemistry, 2016, 209(11):57-64.
- [4] 靳玉, 孙祖莉, 任素宁, 等. 樱桃低醇酒终止发酵方法研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(12):84-89. JIN Yu, SUN Zuli, REN Suning, et al. Termination of fermentation for low-alcohol cherry wine[J]. China Brewing, 2016, 35(12):84-89. (in Chinese)
- [5] 崔艳, 梁丽雅, 尹吉泰, 等. 低温结合超声波工艺酿造低醇甜白葡萄酒的研究[J]. 保鲜与加工, 2018, 18(6):89-94. CUI Yan, LIANG Liya, YIN Jitai, et al. Low alcohol sweet white wine brewing by low temperature treatment combined with ultrasonic technology[J]. Preservation and Processing, 2018, 18(6):89-94. (in Chinese)
- [6] 曾林, 陈鑫璐, 郑根, 等. 低醇起泡脐橙果酒酿造技术研究[J]. 食品科技, 2017, 42(8):114-119. ZENG Lin, CHEN Xinlu, ZHENG Gen, et al. The process of low-alcohol sparkling orange wine[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(8):114-119. (in Chinese)
- [7] CONTRERAS A, HIDALGO C, HENSCHKE P A, et al. Evaluation of *non-Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 80(7):1670-1678.
- [8] 祝霞, 王媛, 刘琦, 等. 混菌发酵对贵人香低醇甜白葡萄酒香气影响分析[J]. 食品与发酵工业, 2019(4):95-102. ZHU Xia, WANG Yuan, LIU Qi, et al. Effects of co-fermentation on the aroma of Italian Riesling low-alcohol sweet white wine[J]. Food and Fermentation Industry, 2019(4):95-102. (in Chinese)
- [9] 王媛, 祝霞, 杨学山, 等. 混菌发酵对美乐低醇桃红葡萄酒香气的影响[J]. 核农学报, 2018, 32(11):2195-2207. WANG Yuan, ZHU Xia, YANG Xueshan, et al. Effects of co-fermentation on volatile compounds of Merlot low alcohol rose wine[J]. Journal of Nuclear Agronomy, 2018, 32(11):2195-2207. (in Chinese)
- [10] ESCRIBANO V R, GONZALEZ A L, PORTU J, et al. Wine aroma evolution throughout alcoholic fermentation sequentially inoculated with *non-Saccharomyces/Saccharomyces* yeasts[J]. Food Research International, 2018, 112:17-24.
- [11] SUMBY K M, GRBIN P R, JIRANEK V. Microbial modulation of aromatic esters in wine: current knowledge and future prospects[J]. Food Chemistry, 2010, 121(1):15-42.
- [12] DAI C, SHAO-QUAN L. Transformation of chemical constituents of lychee wine by simultaneous alcoholic and malolactic fermentations[J]. Food Chemistry, 2016, 196:988-995.
- [13] MARKKINEN N, LAAKSONEN O, NAHKU R, et al. Impact of lactic acid fermentation on acids, sugars, and phenolic compounds in black chokeberry and sea buckthorn juices[J]. Food Chemistry, 2019, 286:204-215.
- [14] TRISTEZZA M, FEO L D, TUFARIELLO M, et al. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: effects on

- fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine[J]. LWT—Food Science and Technology, 2016, 66: 406–412.
- [15] PEREZ-MARTIN F, IZQUIERDO-CANAS P M, SESEAN S, et al. Aromatic compounds released from natural precursors by selected *Oenococcus oeni* strains during malolactic fermentation[J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(3): 609–618.
- [16] BRIZUELA N S, BRAVO-FERRADA B M, HENS D V L, et al. Comparative vinification assays with selected Patagonian strains of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum*[J]. LWT—Food Science and Technology, 2017, 77:348–355.
- [17] MARIA S C, GIACOMO Z, ANTONIO L. Linking wine lactic acid bacteria diversity with wine aroma and flavour[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 243:16–27.
- [18] 张沁芳, 张云舒, 李鹏, 等. 酿酒酵母-酒类酒球菌接种方式对樱桃酒品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(6):116–121.
ZHANG Qinfang, ZHANG Yunshu, LI Peng, et al. The influence of *Saccharomyces cerevisiae* - *Oenococcus oeni* inoculation mode on the quality of cherry[J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(6):116–121. (in Chinese)
- [19] 王嘉伟. 酵母-乳酸菌共发酵低醇苹果酒的研制[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015.
WANG Jiawei. Development of low-alcohol cider fermentation by yeast and lactic acid bacteria[D]. Yangling:Northwest A&F University, 2015. (in Chinese)
- [20] 焦媛媛. 酵母菌-乳酸菌共发酵低醇梨酒的研制[D]. 天津:天津科技大学, 2018.
JIAO Yuanyuan. Preparation of yeast-lactic acid bacteria co-fermented low alcohol pear wine[D]. Tianjin:Tianjin University of Science and Technology, 2018. (in Chinese)
- [21] 刘琦, 祝霞, 赵丹丹, 等. 葡萄酒泥酵母海藻糖提取工艺优化及对 3 株非酿酒酵母乙醇耐受性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2018, 53(4):152–158.
LIU Qi, ZHU Xia, ZHAO Dandan, et al. Optimization of extracting processing condition of trehalose from wine yeast and its effect on ethanol tolerance of three non-*Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2018, 53(4): 152–158. (in Chinese)
- [22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2006.
- [23] 林西, 吕兆林, 姚永红, 等. 添加肠膜明串珠菌后的苹果酒苹果酸乳酸发酵工艺优化研究[J]. 酿酒科技, 2011(3): 17–20.
LIN Xi, LÜ Zhaolin, YAO Yonghong, et al. Optimization of malo-lactic fermentation parameters of cider after the addition of *Leuconostoc mesenteroides* WZ30-2[J]. Brewing Technology, 2011(3):17–20. (in Chinese)
- [24] 祝霞, 刘琦, 赵丹丹, 等. 干白葡萄酒增香酿造工艺参数优化[J]. 农业工程学报, 2019, 35(18):282–291.
ZHU Xia, LIU Qi, ZHAO Dandan, et al. Parameter optimization aroma enhancement fermentation technology of dry white wine [J]. Transactions of the CSAE, 2019, 35(18):282–291. (in Chinese)
- [25] 张亚强, 刘双平, 毛健, 等. 粟酒裂殖酵母与酿酒酵母顺序发酵酿造低酸度野樱莓果酒[J]. 食品科技, 2019, 44(4): 1–6.
ZHANG Yaqiang, LIU Shuangping, MAO Jian, et al. Use of *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae* strains in sequential fermentations to ferment low-acidity aronia wine[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(4):1–6. (in Chinese)
- [26] 石晶, 张丽芝. 4 种酵母对贺兰山东麓赤霞珠干红葡萄酒理化指标的影响[J]. 现代食品, 2019(9):84–88.
SHI Jing, ZHANG Lizhi. Effects of four yeasts on physicochemical indexes of Cabernet Sauvignon dry red wine in eastern Helan Mountains[J]. Modern Food, 2019(9):84–88. (in Chinese)
- [27] MARINA B, PHILIPPE S, ISABELLE M-P. Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 122(3):312–320.
- [28] BALMASEDA A, BORDONS A, REGUANT C, et al. Non-*Saccharomyces* in wine:effect upon *Oenococcus oeni* and malolactic fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9:534–542.
- [29] 刘洁莹. 葡萄酒混菌苹果酸-乳酸发酵的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2018.
LIU Jieying. The research of wine by mix malolactic fermentation [D]. Yangling:Northwest A&F University, 2018. (in Chinese)
- [30] 雷昌贵, 孟宇竹, 陈锦屏, 等. 响应面法优化伏牛山野生猕猴桃果酒酿造工艺[J]. 饮料工业, 2019, 22(5):40–45.
LEI Changgui, MENG Yuzhu, CHEN Jinping, et al. Optimization of fermentation process for wild kiwifruit wine in Funiu Mountain by response surface methodology[J]. Beverage Industry, 2019, 22(5):40–45. (in Chinese)
- [31] ENGLEZOS V, CACHON D, DAVID C, et al. Effect of mixed species alcoholic fermentation on growth and malolactic activity of lactic acid bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(18):7687–7702.
- [32] COMITINI F, GOBBI M, DOMIZIO P, et al. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *S. cerevisiae*[J]. Food Microbiol., 2011, 28(5): 873–882.
- [33] 刘福强, 赵新节. 葡萄酒酿造中苹果酸-乳酸发酵的应用[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2009, 23(7):65–68.

- LIU Fuqiang, ZHAO Xinjie. Research on characteristics of malolactic fermentation by *Oenococcus oeni*[J]. Chinese and Foreign Grape Wine, 2009, 23(7):65-68. (in Chinese)
- [34] 刘伟, 钟奇, 付伟, 等. 海拔对美乐和赤霞珠葡萄酒中酚类物质含量、抗氧化活性及酯类香气成分的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(20):47-54.
- LIU Wei, ZHONG Qi, FU Wei, et al. Effect of cultivation altitudes on phenolics compounds content, antioxidant activities and ester aromatic components of Merlot and *Cabernet Sauvignon* wines[J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(20):47-54. (in Chinese)
- [35] 袁春龙, 周亚丽, 韩富亮, 等. 糖对葡萄酒中聚合色素与单宁 A-H 法测定的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(2):280-287.
- YUAN Chunlong, ZHOU Yali, HAN Fuliang, et al. Effect on determining polymeric pigments and tannins in wine with high content of sugars by A-H method[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(2):280-287. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20160237&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2016.02.037. (in Chinese)
- [36] FROST S, HERBERTSON J F, HEYMANN H. A full factorial study on the effect of tannins, acidity, and ethanol on the temporal perception of taste and mouthfeel in red wine[J]. Food Quality and Preference, 2017, 242(4):609-623.
- [37] 陶永胜, 彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分关联分析[J/OL]. 农业机械学报, 2012, 43(3):130-139.
- TAO Yongsheng, PENG Chuantao. Correlation analysis of aroma characters and volatiles in chardonnay dry white wines from five districts in China[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(3):130-139. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20120325&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2012.03.025. (in Chinese)
- [38] 陶永胜, 朱晓琳, 马得草, 等. 葡萄汁有孢汉逊酵母糖苷酶增香酿造葡萄酒的潜力分析[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(10):280-286.
- TAO Yongsheng, ZHU Xiaolin, MA Decao, et al. Application of glycosidase from *Hanseniaspora uvarum* on wine aroma enhancement[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(10):280-286. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20161035&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.10.035. (in Chinese)
- [39] 卜潇, 薛雪, 程静, 等. 葡萄酒中植物乳杆菌苹果酸-乳酸发酵潜能评价[J]. 中国农业科学, 2017, 50(5):959-968.
- BU Xiao, XUE Xue, CHENG Jing, et al. Evaluation on malolactic fermentation potential of wine *Lactobacillus plantarum*[J]. Chinese Journal of Agricultural Sciences, 2017, 50(5):959-968. (in Chinese)
- [40] 刘沛通, 王亚钦, 燕国梁. 复合添加支链氨基酸对“赤霞珠”干红葡萄酒挥发性物质的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(2):174-182.
- LIU Peitong, WANG Yaqin, YAN Guoliang. Effects of adding branched-chain amino acids on major volatile compounds in *Cabernet sauvignon* wines[J]. Chinese Journal of Food Science, 2008, 18(2):174-182. (in Chinese)
- [41] 陶永胜, 刘吉彬, 兰圆圆, 等. 人工贵腐葡萄酒香气的仪器分析与感官评价[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(2):270-279.
- TAO Yongsheng, LIU Jibin, LAN Yuanyuan, et al. Instrumental and sensory aroma analysis of noble-rot wine from artificial botrytized grapes[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(2):270-279. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20160236&flag=1. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2016.02.036. (in Chinese)
- [42] 陶永胜, 牟含, 李国, 等. 野生胶红酵母糖苷酶水解媚丽新酒中香气糖苷研究[J/OL]. 农业机械学报, 2014, 45(12):249-254.
- TAO Yongsheng, MOU Han, LI Guo, et al. Catalytic hydrolysis of aroma glycosides in Meili young wine using glycosidase from wild *Rhodotorula mucilaginosa*[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(12):249-254. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20141237&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2014.12.037. (in Chinese)
- [43] STERNES P R, COSTELLO P J, CHAMBERS P J, et al. Whole transcriptome RNAseq analysis of *Oenococcus oeni*, reveals distinct intra-specific expression patterns during malolactic fermentation, including genes involved in diacetyl metabolism[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 257:216-224.
- [44] MATURANO C, SAGUIR F M. Influence of glycosides on behavior of *Oenococcus oeni* in wine conditions: growth, substrates and aroma compounds[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(8):150-153.