

自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒香气物质及理化性质的影响

王 征^{1,2}, 杨 慧^{2,3}, 张 众², 孙文静¹, 朱袁正鸿¹, 张军翔^{1,4*}

¹ 宁夏大学葡萄酒与园艺学院 银川 750021

² 宁夏大学生命科学学院 银川 750021

³ 宁夏医科大学医学科学技术研究中心 银川 750004

⁴ 宁夏大学葡萄与葡萄酒教育部工程研究中心 银川 750021)

摘要 为明确自然发酵对贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒品质特征形成的影响,取 2 个酒庄的“赤霞珠”为试材,以接种商业酿酒酵母发酵为对照组,研究自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒不同时期理化指标的影响,采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME/GC-MS)方法分析香气物质的差异性,并对发酵结束后葡萄酒的感官特性进行分析。结果表明,自然发酵对最终葡萄酒的总酸(5.67,6.67 g/L)、pH 值(3.52,3.37)、甘油(12.53,12.79 g/L)、总酚(1 871.01,1 614.33 mg/L)、花色苷(363.31,440.57 mg/L)含量有显著影响($P<0.05$),且随发酵的进行,总酸和多酚类物质逐渐增加,甘油和花色苷含量先升高后降低,pH 值先降低后升高。香气物质方面,自然发酵的“赤霞珠”葡萄酒中的正丙醇(631 944.22,480 893.41 $\mu\text{g/L}$)、3-甲基-1-戊醇(204.61,147.07 $\mu\text{g/L}$)、正己酸(2 297.09,3 054.19 $\mu\text{g/L}$)、反式-3-己烯醇(24.21,31.43 $\mu\text{g/L}$)、4-萜烯醇(4.65,6.39 $\mu\text{g/L}$)的含量显著($P<0.05$)高于接种发酵,其中香气总量(1 495 527.85,1 410 009.04 $\mu\text{g/L}$)以及酯类(70 686.36,135 191.45 $\mu\text{g/L}$)、高级醇(1 373 156.7,1 219 543.05 $\mu\text{g/L}$)、脂肪酸(50 933.23,53 754.49 $\mu\text{g/L}$)随发酵均呈递增趋势,醛酮类(566.51,1 331.15 $\mu\text{g/L}$)含量先升高后降低,类异戊二烯和其它类物质的含量相对稳定。感官特性方面,自然发酵的葡萄酒整体评分(77,76.06)高于接种发酵。结合 OAV 分析和 PCA 可知自然发酵与 29 种典型性香气物质中的酯类物质正相关。Pearson 相关性分析表明,自然发酵与总糖、总酸、总酚、酯类、高级醇、类异戊二烯类物质之间呈正相关,其中与总酸呈显著正相关($P<0.05$),与 pH 值、挥发酸、甘油、花色苷、脂肪酸类物质之间呈负相关。总之,自然发酵对贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒不同时期的理化指标、香气物质有显著影响。与接种发酵相比,自然发酵的葡萄酒风味品质较好。

关键词 自然发酵;“赤霞珠”葡萄酒;理化指标;香气物质;感官特性

文章编号 1009-7848(2024)12-0372-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.034

近年来,消费者对葡萄酒典型性的需求日益增强,自然葡萄酒也成为一种广受欢迎的葡萄酒产品^[1]。自然发酵是自然葡萄酒生产的主要环节,即以自然酵母进行发酵,在不添加任何商业酿酒酵母、SO₂等酿酒辅料并尽可能少地对发酵进行人工干预^[2]。自然发酵的葡萄酒由于种种不可控因素,因此其品质往往被认为不如接种商业酵母的葡萄酒,然而自然发酵能够生产出具有不同风土特色的葡萄酒,在一定程度上解决了葡萄酒同质化严重等系列问题^[3]。目前对自然发酵的研究越来越多,并且多数研究主要通过微生物途径揭示自然发酵的特性。有研究表明,相比于接种发酵,自

然发酵是一个更复杂的混菌发酵系统^[4]。Figueiredo 等^[5]认为自然发酵的葡萄酒通常具有更加丰富、复杂的香气。Shi 等^[6]发现,自然葡萄酒的芳香族化合物,如苯乙烯和香叶醛,比接种发酵的葡萄酒含量要高出很多。Wang 等^[7]研究发现,自然发酵的葡萄酒,其理化性质不同于接种酵母发酵:自然发酵的葡萄酒酸度相对较低,而且颜色和深度也与传统发酵的葡萄酒不同等。然而,目前关于自然发酵仍存在较多空白:自然发酵下的酒精发酵是否彻底;缺少 SO₂是否会导致葡萄酒有害微生物大量繁殖;自然发酵的葡萄酒的品质稳定性等等^[8-9]。

对贺兰山东麓“美乐”自然发酵干红葡萄酒的品质特性进行研究,发现该酒品质突出,风格独特^[10]。本文研究自然发酵对贺兰山东麓葡萄酒品质的影响,揭示自然发酵过程中香气物质及理化指标变化的规律,明晰其感官特征。同时以接种酿

收稿日期:2023-12-22

基金项目:国家自然科学基金项目(U21A20269)

第一作者:王征,男,硕士生

通信作者:张军翔 E-mail: zhangjunxiang@126.com

酒酵母 BDX 发酵为对照,以酒精发酵消耗糖的量将发酵过程分为 5 个时期,探究自然发酵对其发酵不同时期香气物质及理化指标形成的影响,并做感官特征分析,以期更好地调控自然发酵葡萄酒的生产。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葡萄原料“赤霞珠”于 2022 年 10 月 2 日分别采于贺兰山东麓产区的汇达阳光酒庄(A 酒庄)和宝源大地酒庄(B 酒庄),发酵前葡萄汁的总糖质量浓度分别为 237.38,216.26 g/L,总酸质量浓度分别为 2.27,3.35 g/L, pH 值分别为 3.68,3.54。

酿酒辅料:BDX 活性干酵母,ENOFERM 法国莱蒙特公司^[11];Vinozym vintage FCE 果胶酶,法国 LAMOTHE-ABIET 公司。

试剂及标准品:偏重亚硫酸钾,法国 LAMOTHE-ABIET 公司;氯化钠(分析纯),徐州天鸿化工有限公司;C8~C20 正构烷烃($\geq 99.7\%$, GC);GC-MS 内标:4-甲基-2-戊醇($\geq 98.0\%$, GC),日本 TCI 公司。

1.2 仪器

7890B 气相色谱-7000D 质谱联用仪、DB-WAX 色谱柱(60 m \times 250 μ m, 0.25 μ m),美国 Agilent 公司;PAL3 自动进样器,瑞士 CTC 公司;雷磁 PHS-3C pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公

司;Enology Y15 葡萄酒全自动分析仪,西班牙 Biosystems 公司。

1.3 方法

1.3.1 葡萄酒的酿造及取样 两个酒庄的“赤霞珠”葡萄采收后进行人工筛选,并使用小型除梗破碎机进行除梗、破碎处理,然后按照试验要求分装至 10 L 玻璃广口发酵罐(装置 8 L 刻度线处),加入果胶酶 20 mg/L,加干冰低温浸渍 1 d。试验前,除梗破碎机和发酵设备均用质量分数 10%偏重亚硫酸钾的水清洗并用蒸馏水润洗干净。葡萄醪回温后,自然发酵不做处理,接种发酵浸渍结束后接种 BDX 活性干酵母 200 mg/L。酒精发酵期间,每天人工压帽 2 次,压帽过程保证葡萄皮与葡萄汁充分混匀。使用普通比重计对发酵过程中葡萄酒的糖进行检测,比对葡萄汁中的比重与糖分和酒精换算表^[12],进行比重与糖分之间的换算。结束发酵后,进行皮渣分离。

试验分组如下,发酵 5 个时期的样品编号及取样标准见表 1。发酵时期的划分参考了陈雪莲等^[13]的方法,并在其基础上进行了适当的修改。

对照组:汇达阳光酒庄“赤霞珠”接种发酵,宝源大地酒庄“赤霞珠”接种发酵,各 3 个重复。样品编号分别为:AF、BF。

试验组:汇达阳光酒庄“赤霞珠”自然发酵,宝源大地酒庄“赤霞珠”自然发酵,各 3 个重复。样品编号分别为:AN、BN。

表 1 “赤霞珠”葡萄酒取样时期划分标准及样品编号

Table 1 Sampling period division standard and sample number of Cabernet Sauvignon wine

时期	样品编号及取样标准
第 1 时期	AN1, AF1, BN1, BF1(发酵前,未消耗糖,葡萄处于葡萄醪状态)
第 2 时期	AN2, AF2, BN2, BF2(发酵开始,起酵,消耗 10 g 糖左右)
第 3 时期	AN3, AF3, BN3, BF3(发酵前期,酒精发酵消耗 1/4 糖,酒精度约 4%vol)
第 4 时期	AN4, AF4, BN4, BF4(发酵后期,酒精发酵消耗 3/4 糖)
第 5 时期	AN5, AF5, BN5, BF5(发酵结束,酒精发酵结束,总糖小于 4 g/L)

1.3.2 理化指标测定 总糖、总酸、挥发酸、酒精度等常规理化指标:参照《葡萄酒、果酒通用分析方法》(GB/T 15038-2006);pH 值:pH 计直接测定;甘油、多酚类、花色苷含量使用葡萄酒全自动分析仪测定。

1.3.3 香气物质测定 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(Head space-solid phase microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry, HS-SPME-GC-MS)技术对 5 个时期样本的香气物质进行检测^[14]。称取 1.5 g NaCl 于 20

mL 顶空瓶中,然后加入 5 mL 样本,并添加 10 μ L 的 4-甲基-2-戊醇(1.0083 g/L,用色谱乙醇稀释)作为内标物,密封顶空瓶。在 250 $^{\circ}$ C 下对 DVB/CAR/PDMS 萃取头老化 5 min,样本在 40 $^{\circ}$ C 以 250 r/min 稳定 5 min,随后将萃取头插入到顶空瓶中进行吸附,在 40 $^{\circ}$ C 以 250 r/min 吸附 30 min,然后将萃取头插入到 GC 进样口中,在 240 $^{\circ}$ C 下脱附 10 min,进样模式为不分流进样。

GC-MS 条件:柱箱温度条件如下:初始温度为 50 $^{\circ}$ C 保持 1 min,之后以 3 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 220 $^{\circ}$ C,保持 5 min。流路载气为纯度 \geq 99.999% 的高纯度氦气,MS 传输线温度为 250 $^{\circ}$ C,离子源温度 230 $^{\circ}$ C,电子能量 70 eV,扫描模式 Scan,扫描范围 m/z 29~300。

香气物质定性定量分析:将总离子流色谱图的每个峰与 NIST Library 17 谱库进行匹配,并根据 C8~C20 正构烷烃混合标准品的保留时间,用保留指数法(Retention Index, RI)计算各香气物质的保留指数并进行定性分析;对有标准品的香气物质用其标准曲线进行定量分析,没有标准品的香气物质以 4-甲基-2-戊醇为内标进行半定量分析^[15]。

1.3.4 感官品鉴 评分标准参考国际葡萄与葡萄酒组织(OIV)对静止葡萄酒制定的百分制感官评价体系对葡萄酒品质进行打分^[16]。葡萄酒感官品鉴小组由宁夏大学葡萄酒相关专业的老师和学生组成,酒龄要求在 1 年以上,其中男生 6 名,女生 10 名,共计 16 名。感官品鉴在宁夏大学的标准葡萄酒品尝室进行。

1.4 数据统计分析

使用 Microsoft Office 365 对数据统计分析;IBM SPSS Statistics 27 软件对不同发酵时期的样品的理化指标及香气物质进行单因素方差分析(one-way analysis of variance,One-way ANOVA),Duncan 法进行事后多重比较,差异显著($P < 0.05$);对第 5 时期气味活性值(Odor Activity Value,OAV)大于 1 的 29 种香气物质进行主成分分析及相关性分析,其中各个香气物质的 OAV 是由物质的含量除以其阈值得到。使用 Origin 2021 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒不同发酵时期理化指标的影响

图 1a 为“赤霞珠”葡萄酒发酵 5 个时期的总糖质量浓度变化情况,酒精发酵结束后,葡萄酒的总糖含量通常应该低于 4.0 g/L。AN、AF、BN、BF 在第 5 时期的总糖含量分别为 3.19、3.39、3.51、3.16 g/L,且处理组之间均不存在显著性差异。这表明贺兰山东麓产区的“赤霞珠”葡萄酒能在自然发酵的条件下将葡萄汁中的糖发酵彻底,这与李伟等^[8]的研究结果相似。

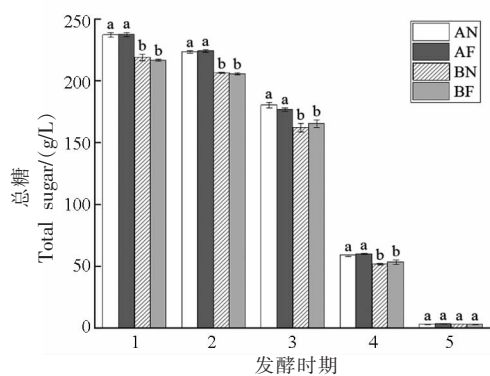
总酸和 pH 值是葡萄酒的重要理化指标。总酸含量能够影响葡萄酒的口感、风味和稳定性^[17]。如图 1b 所示,“赤霞珠”葡萄酒发酵过程中的总酸含量都呈现逐渐上升的趋势,在发酵的初始阶段(2、3 时期)两个酒庄人工接种酵母的葡萄酒(AF2、BF2、BF3、BF4)总酸都呈上升趋势,自然发酵的酸上升较慢,发酵后期(4 时期)和发酵结束(5 时期),最终分别为:5.67、6.80、6.67、5.90 g/L,其中 BN5 的总酸含量显著高于 BF。如图 1c 所示,整个发酵过程自然发酵与接种发酵的 pH 值变化并不大,最终葡萄酒的 pH 值介于 3.37~3.55 之间。总酸的变化较大而 pH 值变化较小,这可能是酸的种类不同,表现为 pH 值的不同^[18]。随着发酵的进行在发酵的第 1 至 4 时期 pH 值逐渐降低,可能是葡萄酒中酒石酸的含量不断升高导致^[19]。在发酵的第 5 时期,pH 值表现稳定或略有升高,可能是葡萄酒中的细菌,如乳酸菌将苹果酸转化为乳酸^[20](苹果酸的酸性强于乳酸),从而升高了葡萄酒的 pH 值。

甘油作为酒精发酵的主要副产物之一,能使葡萄酒的口感更加圆润柔和,亦能使葡萄酒的香气成分更加稳定^[21]。其在葡萄酒中质量浓度一般在 3~14 g/L 之间,但在高糖发酵的酒中也可能高于 15 g/L^[22]。如图 1d 所示,随着发酵的进行,自然发酵和接种发酵的葡萄酒的甘油含量均呈现出先升高后降低的趋势。在发酵的 1 至 3 时期甘油含量不断升高,其中 AN、AF 和 BN 在第 4 时期,甘油含量达到最高,BF 在第 3 时期达到最高。第 5 时期,两个酒庄的自然发酵与接种发酵的甘油含量均降低,分别为 12.53、12.15、12.79、13.87 g/L,

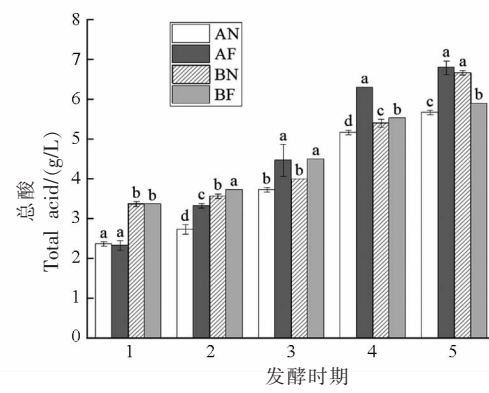
其中 AN 的甘油含量显著高于 AF。甘油作为糖代谢途径的中间产物^[23],发酵前期随着酒精发酵进行,糖被消耗,甘油的含量逐渐升高;发酵后期,甘油含量略微降低,可能是其被一些腐败的乳酸菌(LAB)降解^[24]。另外,有研究发现在接种非酿酒酵母,如毕赤克鲁维酵母、发酵毕赤酵母时,可以增加葡萄酒中的甘油含量。

葡萄酒中的多酚类物质主要来源于葡萄浆果,包括了丹宁和色素^[25]。而花色苷作为天然的色素物质,属于多酚化合物的一种,对葡萄酒的稳定性和感官属性都有重要影响。如图 1e 所示,随着发酵的进行,葡萄酒中的总酚呈增加趋势。第 1 至 4 时期,葡萄酒中总酚含量增加较快,这可能是由于乙醇体积分数的升高加快了多酚类物质在葡萄酒中的浸渍效果^[26-28]。第 5 时期,“赤霞珠”葡萄酒中总酚的含量达到最大,分别为 1 871.01, 2 126.05, 1 614.33, 1 419.33 mg/L。由图 1f 可以得

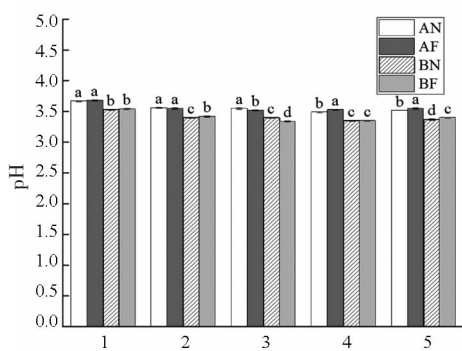
出,花色苷的含量先升高后降低,第 1~4 时期其含量增加,第 5 时期降低,最终降至 363.31, 440.33, 440.57, 410.33 mg/L。随着发酵的进行葡萄皮、籽中的酚类物质浸渍到了葡萄酒中,导致葡萄酒酚类物质增加,有研究表明葡萄酒中酚类物质含量与葡萄果实的成熟度呈正相关^[29],A 酒庄的葡萄果实成熟度高于 B 酒庄,图 1e 中多酚类物质 A 酒庄显著高于 B。图 1f 中花色苷的含量在 5 时期降低,可能是由于花色苷被氧化分解^[30],其分解产物于丹宁化合,形成更稳定的化合物,有研究表明,葡萄酒中的花色苷以多种形式存在,这依赖葡萄酒 pH 值的平衡,当 pH 值降低时,花色苷转变为花色苷离子,从而导致能检测到的花色苷含量下降^[31]。第 5 时期的多酚类物质和花色苷含量,AN 显著($P<0.05$)低于 AF, BN 显著($P<0.05$)高于 BF,表明自然发酵对最终葡萄酒多酚类和花色苷含量有显著影响。



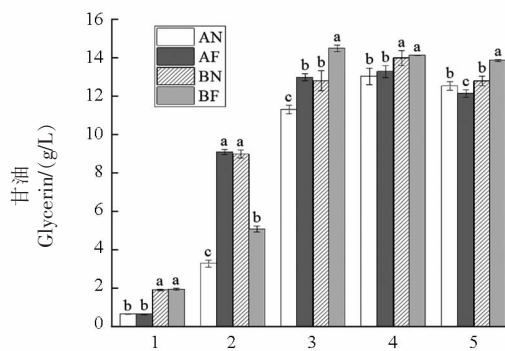
(a) 总糖变化情况



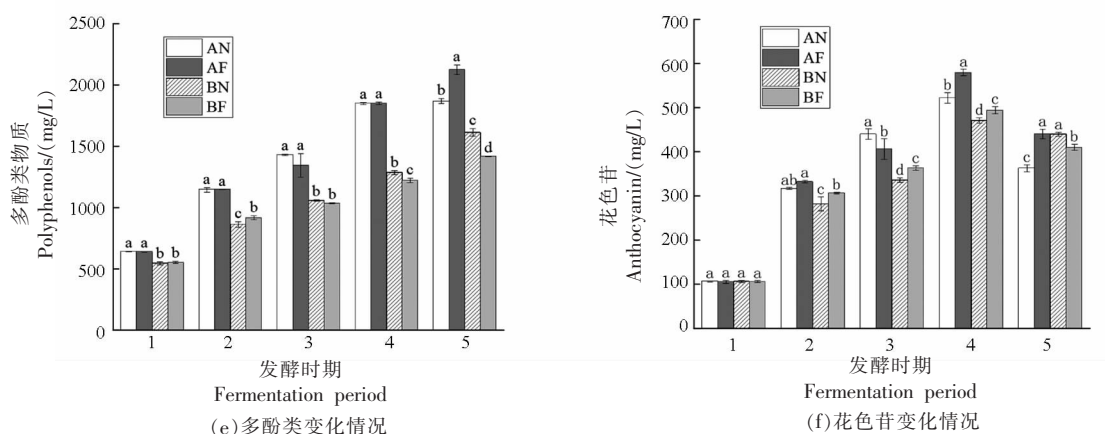
(b) 总酸变化情况



(c) pH 值变化情况



(d) 甘油变化情况



注:图中小写字母表示不同处理之间各指标在 0.05 水平下的显著性差异标注,同一时期的不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 1 “赤霞珠”葡萄酒发酵 5 个时期的理化指标变化情况

Fig.1 Changes of physical and chemical indexes in 5 periods of fermentation of ‘Cabernet Sauvignon’ wine

2.2 自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒不同发酵时期香气物质的影响

通过 HS-SPME-GC-MS 分析了自然发酵与接种发酵的“赤霞珠”葡萄酒发酵第 1,2,3,4 和 5 时期香气物质组成的变化。将色谱图的每个峰与 NIST Library 17 谱库进行匹配,并根据 C8~C20 正构烷烃混合标准品的保留时间,用保留指数法计算各香气物质的保留指数并进行定性分析^[32]。通过对比筛选,共检测到 64 种香气物质,其中酯类物质 22 种,高级醇类物质 18 种,醛酮类物质 7 种,脂肪酸类物质 6 种,类异戊二烯类物质 7 种,其它 4 种。如图 2 的左图所示,在发酵第 1 时期,香气物质的总含量较低,其中 B 酒庄的酯类含量

较高。发酵第 2,3,4 时期酯类、高级醇类、脂肪酸类、醛酮类含量不断增加,类异戊二烯和其它类物质含量相对稳定。其中高级醇类的含量呈指数级增长,逐渐占据香气物质含量的主导地位。这与前人研究贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒发酵过程中香气变化的趋势相同^[33]。第 5 时期,AF 的香气物质的总量最高,BN 的香气物质总量显著($P < 0.05$)高于 BF。表明自然发酵与接种 BDX 发酵对贺兰山东麓的“赤霞珠”葡萄酒的香气物质总量及主要成分的含量有显著影响,自然发酵条件下,B 酒庄最终葡萄酒的香气含量相比其接种发酵更高。

由图 2 右图可以看出,高级醇类物质的比例在发酵的不同时期占据较大比例,在第 3 时期,A、

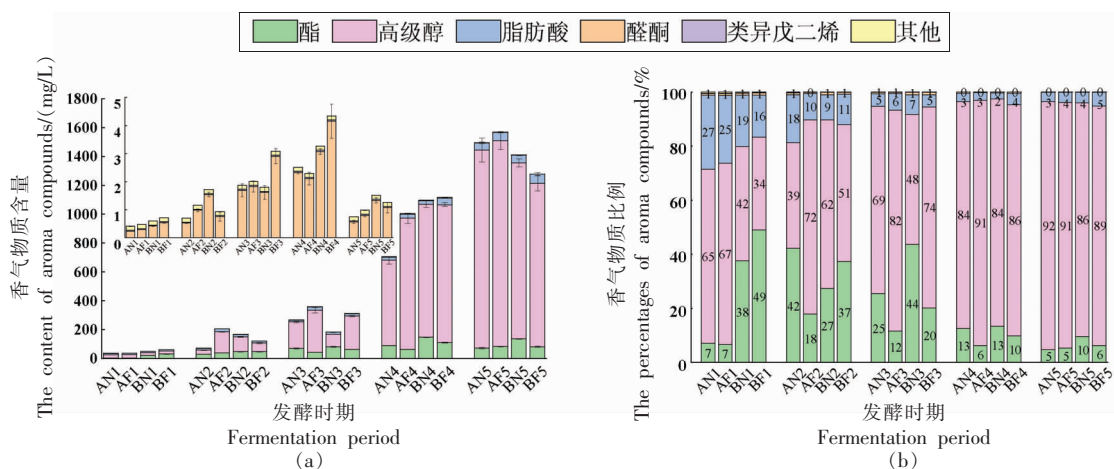


图 2 “赤霞珠”葡萄酒 5 个发酵时期各类香气物质含量及比例的变化

Fig.2 Changes of contents and percentage of aroma substances in 5 fermentation periods of Cabernet Sauvignon wine

B 的自然发酵高级醇占比分别为 69% 和 48%，均低于同时期的接种发酵，这可能是由于添加的酿酒酵母 BDX 在这个时期活动较强，酒精发酵产生了更多的醇类物质^[34]。酯类物质的比例在发酵过程中呈先升高后降低的趋势，5 时期，BN 酯类的比例 BF 高 4%。脂肪酸类物质的比例总体呈降低趋势。醛酮、类异戊二烯和其它类的相对比例较小，且从发酵的第 4 时期开始，这些香气物质的占比均小于 1%。因此从葡萄酒的香气物质占比可以得出，自然发酵对各类香气物质比例的影响相对较小。

为进一步分析自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒发酵过程 5 个时期不同香气物质变化的影响，对上述 64 种香气物质进行聚类热图分析(图 3)，热图中的不同色阶代表每一种香气物质在发酵过程中的相对含量变化(数据用 Z-score 进行标准化)。发酵第 1 时期(葡萄醪)香气物质种类相对较少，共 47 种，其中酯类物质含量，除乙酸乙酯在 BN、BF 的葡萄醪中含量较高外，主要是以“赤霞珠”典型的品种香气成分为主，如癸酸乙酯、丁二酸二乙酯、乙酸苯乙酯、月桂酸乙酯等。这些香气物质随着发酵时期的变化，其含量相对稳定。这与李亚军等^[35]的研究结果相似。高级醇的相对含量较高，主要有异丁醇、正丁醇、正己醇、反式-3-己烯醇、2,3-丁二醇、苯乙醇，还有 3-甲硫基丙醇(硫醇类化合物)。此外在各处理的葡萄醪中乙酸、异丁酸、己酸、辛酸、癸酸、3-甲基丁酸、2,3-丁二酮、4-乙基-2-甲氧基苯酚等脂肪酸类、醛酮类、酚类的相对含量均较高。

发酵第 2,3,4 时期，自然发酵和接种发酵的香气物质种类不断增加，含量呈指数级上升。其中乙酸乙酯、乙酸异戊酯、正己酸乙酯、辛酸乙酯、正丙醇、异丁醇、正己醇、2,3-丁二醇、3-甲硫基丙醇、苯乙醇、乙酸、异丁酸、3-甲基丁酸、己酸、2,3-丁二酮等香气物质的相对含量显著增加。自然发酵条件下，乙酸乙酯的含量在发酵期间均显著高于接种发酵($P < 0.05$)。乙酸乙酯是葡萄酒中一种重要的酯类，它能给葡萄酒带来水果、花香香气^[36]。

发酵第 5 时期，该时期的香气物质是葡萄醪经过酒精发酵后，最终保留在葡萄酒中的香气成分，此时期的香气物质种类最丰富，且各类香气物

质的含量相对稳定，是衡量葡萄酒中挥发性成分的重要标准。如图所示，A 酒庄自然发酵“赤霞珠”葡萄酒与接种发酵相比，含量较高的香气物质是反式-3-己烯醇、4-乙基-2-甲氧基苯酚、4-萜烯醇、3-甲基-1-戊醇、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、正辛醛、 β -紫罗酮、正己醇、反式-2-己烯醇、壬醛、苯酚、异丁酸、4-甲基-1-戊醇、乳酸乙酯、正丙醇。B 酒庄自然发酵“赤霞珠”葡萄酒相比接种发酵含量较高的香气物质是芳樟醇、反式-3-己烯醇、正丁醇、乙酸乙酯、4-萜烯醇、3-甲基-1-戊醇、呋喃甲醛、正己醇、 α -松油醇、顺-2-己烯醇、己酸、癸酸乙酯、1-辛烯-3-醇、正戊醇、正己酸乙酯、异丁酸、乙酸、棕榈酸乙酯、4-甲基-1-戊醇、乳酸乙酯、乙酸乙酯。自然发酵的香气物质中，正丙醇、3-甲基-1-戊醇、正己酸、反式-3-己烯醇、4-萜烯醇、正己醇、异丁酸、己酸的含量相对较高，其中正丙醇、3-甲基-1-戊醇、正己酸、反式-3-己烯醇、4-萜烯醇显著高于接种发酵($P < 0.05$)。自然发酵中微生物的多样性更丰富，能够是葡萄酒具有更丰富的挥发性成分。目前有的研究认为自然发酵葡萄酒的香气物质在总量和质量上相对于接种发酵更有优势，与本文关于 B 酒庄自然发酵的香气物质的研究结果相似。

气味活性值(OAV)是用来评估某种香气物质对整体风味的气味强度的指标。一般认为 OAV > 1 的香气物质对葡萄酒的整体香气有重要贡献，而且 OAV 值越大表示其贡献作用越大^[37]。分别对发酵第 5 时期贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒的主要香气物质的气味活性值(OAV)进行计算，并对贺兰山东麓产区“赤霞珠”干红葡萄酒典型香气进行分析。如表 2 所示，自然发酵和接种 BDX 发酵的“赤霞珠”葡萄酒中共有 29 种香气物质的 OAV 值均大于 1，其中酯类 9 种，分别是乙酸乙酯、丁酸乙酯、正己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、丁二酸二乙酯、乙酸苯乙酯、水杨酸乙酯、橡木内酯；高级醇类 8 种，分别是正丙醇、异丁醇、异戊醇、反式-2-乙烯醇、顺式-2-己烯醇、1-辛烯-3-醇、3-甲硫基丙醇、苯乙醇；脂肪酸类 4 种，分别是异丁酸、3-甲基丁酸、己酸、辛酸；醛酮类 2 种，分别是苯甲醛、2,3-丁二酮。类异戊二烯类 3 种，分别是 4-萜烯醇、 α -大马酮、 β -紫罗酮。另外，还有两种甲氧基类化

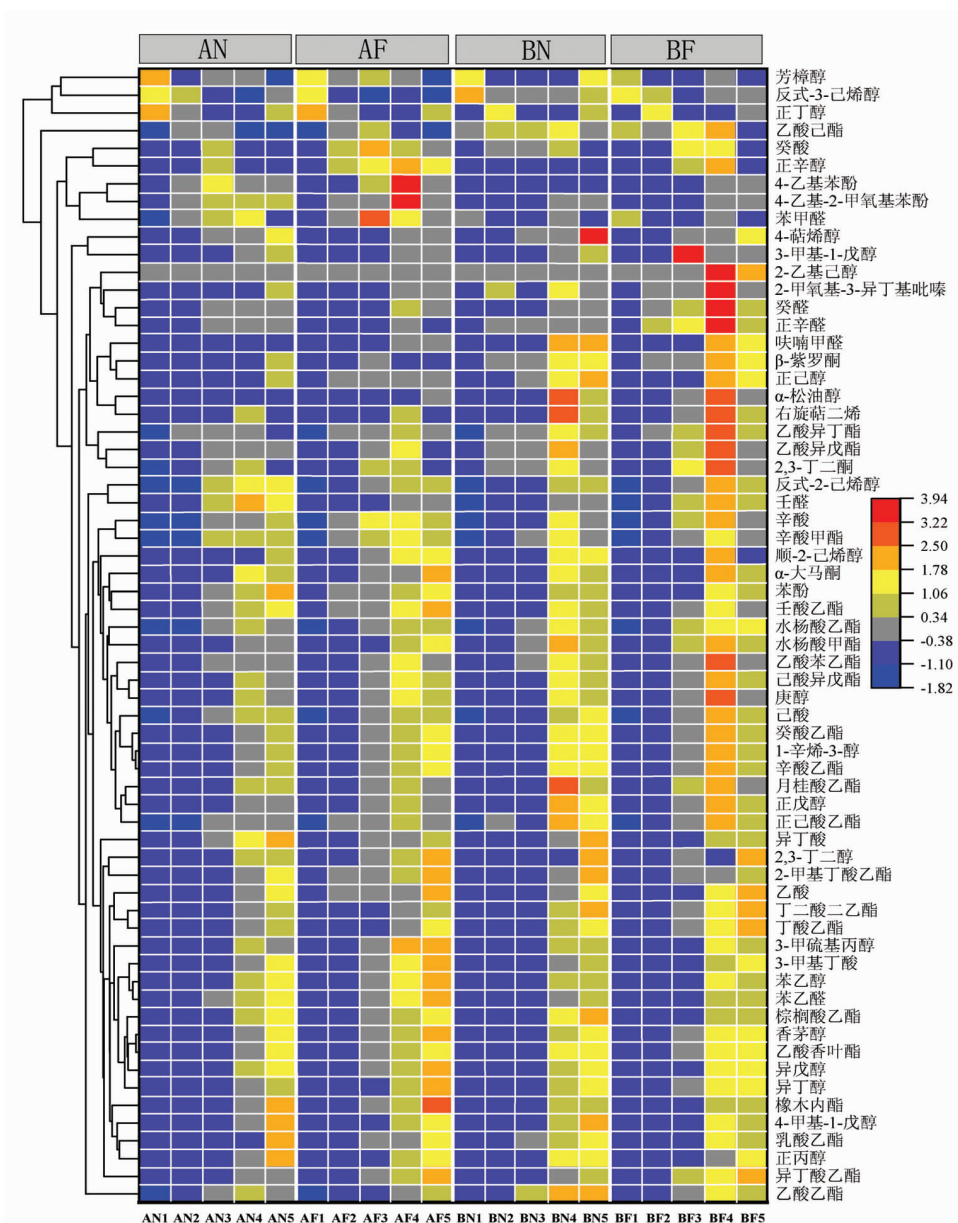


图3 两种发酵方式的“赤霞珠”葡萄酒5个发酵时期各种香气物质的相对含量热图

Fig.3 Heat map of the relative content of various aroma substances in 5 fermentation periods of Cabernet Sauvignon wine

化合物的OAV也大于1,分别是4-乙基-2-甲氧基苯酚和2-甲氧基-3-异丁基吡嗪。

孙丽君^[80]利用GC-O-MS技术,将对香气强度>3(15种)和OAV>1(17种)的香气物质在重构后的酒样中,确定了贺兰山东麓“赤霞珠”干红葡萄酒中25种典型香气成分,其与本研究结果相同的化合物有11种。其中丁酸乙酯和正己酸乙酯是具有草莓和青苹果味的香气物质,癸酸乙酯、丁二酸二乙酯和异戊醇是具有浓厚果香味的香气物质,乙酸苯乙酯是具有花香和桃子味的香气物质,

苯乙醇和辛酸乙酯是具有花香味的香气物质。己酸和辛酸是具有奶酪味的香气物质,3-甲硫基丙醇是具有硫化味和洋葱味的香气物质。通过对比这11种物质的相对含量的结果表明,正己酸乙酯、癸酸乙酯、异戊醇、乙酸苯乙酯、辛酸、3-甲硫基丙醇在自然发酵B酒庄的“赤霞珠”葡萄酒中的含量高于接种发酵。这说明自然发酵对贺兰山东麓的“赤霞珠”葡萄酒中典型性香气物质的含量有影响。

表 2 自然发酵与接种发酵的“赤霞珠”葡萄酒第 5 时期的香气物质分类汇总表
 Table 2 Aroma substances of 'Cabernet Sauvignon' wine in the 5th phase of natural fermentation and inoculated fermentation

RI	CRI	香气成分	质量浓度(μg/L)				香气描述 ^[39-40]
			AN5	AF5	BN5	BF5	
		酯类总量	70 686.36 ± 5 272.28 ^b	82 134.27 ± 2 537.07 ^b	135 191.45 ± 1 581.46 ^a	80 554.23 ± 4 408.84 ^b	
888	895	乙酸乙酯	65 673.11 ± 8 830.08 ^b	76 605.13 ± 4 189.38 ^b	128 542.49 ± 2 679.64 ^a	74 763.14 ± 6 977.65 ^b	水果、溶剂
961	997	异丁酸乙酯	1.84 ± 0.6 ^b	3.85 ± 0.28 ^a	2.49 ± 0.75 ^b	3.46 ± 0.16 ^a	糖果、橡胶
1 012	1 022	乙酸异丁酯	10.5 ± 2.06 ^d	19.43 ± 1.41 ^c	29.43 ± 3.67 ^b	36.16 ± 2.97 ^a	香蕉、果香
1 035	1 047	丁酸乙酯	210.09 ± 32.4 ^b	342.68 ± 25.34 ^a	341.28 ± 14.61 ^a	344.58 ± 18.79 ^a	果香、草莓、青苹果
1 051	1 065	2-甲基丁酸乙酯	1.55 ± 0.26 ^b	1.61 ± 0.06 ^{ab}	1.95 ± 0.11 ^a	1.03 ± 0.22 ^c	香蕉味、果香
1 122	1 129	乙酸异戊酯	428.87 ± 12.13 ^c	248.28 ± 18.61 ^d	735.22 ± 20.06 ^b	467.93 ± 12.71 ^a	热带水果味
1 233	1 237	正己酸乙酯	488.36 ± 77.12 ^c	506.23 ± 47.37 ^c	882.53 ± 3.58 ^a	674.61 ± 125.46 ^b	草莓、青苹果
1 272	1 270	乙酸乙酯	Nd	Nd	11.38 ± 0.13 ^a	4.98 ± 1.55 ^b	苹果、茴香
1 347	1 347	乳酸乙酯	5.18 ± 0.42 ^a	4.5 ± 0.1 ^a	4.33 ± 0.09 ^a	3.45 ± 0.81 ^b	150 000 乳香
1 385	1 382	辛酸甲酯	3.92 ± 0.53 ^a	4.35 ± 0.34 ^{ab}	3.55 ± 0.07 ^b	2.78 ± 0.43 ^c	果香、柑橘、甜橙
1 435	1 438	辛酸乙酯	1 043.65 ± 194.69 ^{bc}	1 348.45 ± 95.81 ^a	1 292.39 ± 55.21 ^{ab}	960.39 ± 198.85 ^c	菠萝、梨、花香
1 451	1 456	己酸异戊酯	11.2 ± 1.54 ^b	16.57 ± 1.15 ^a	17.67 ± 0.97 ^a	16.94 ± 3.07 ^a	香蕉、果香
1 531	1 537	壬酸乙酯	14.05 ± 0.76 ^b	15.14 ± 0.42 ^a	13.52 ± 0.25 ^{bc}	12.65 ± 0.41 ^c	果香、玫瑰花
1 638	1 641	癸酸乙酯	1 338.37 ± 58.9 ^{ab}	1 415.83 ± 35.34 ^a	1 391.65 ± 24.7 ^a	1 295 ± 47.46 ^b	脂肪、果香
1 680	1 675	丁二酸二乙酯	823.3 ± 104.71 ^b	929.02 ± 34.07 ^b	1 206.22 ± 74.3 ^a	1 307.07 ± 234.04 ^a	15 水果清香
1 752	1 761	乙酸香叶酯	6.73 ± 0.26 ^a	6.96 ± 0.13 ^a	6.89 ± 0.07 ^a	6.7 ± 0.28 ^a	100 草莓、花卉
1 765	1 810	水杨酸甲酯	8.88 ± 0.01 ^a	8.95 ± 0.06 ^c	8.93 ± 0.02 ^a	8.91 ± 0.04 ^a	25 桃子、草莓
1 813	1 835	乙酸苯乙酯	247.02 ± 9.75 ^c	278.47 ± 6.67 ^b	310.18 ± 5.85 ^a	282.62 ± 20.36 ^b	250 花香、桃子
1 820	1 841	水杨酸乙酯	5.32 ± 0.01 ^b	5.36 ± 0.02 ^{ab}	5.36 ± 0.02 ^{ab}	5.38 ± 0.03 ^a	2 花香
1 841	1 845	月桂酸乙酯	198.84 ± 2.73 ^b	196.03 ± 1.88 ^b	203.9 ± 1.03 ^a	197.67 ± 2.76 ^b	1 500 果香、花香、奶酪
1 957	1 916	橡木内酯	88.37 ± 3.97 ^a	89.39 ± 4.95 ^a	86.72 ± 0.1 ^a	86.83 ± 0.25 ^a	500 木香、香叶
2 251	2 220	棕榈酸乙酯	77.2 ± 12.2 ^a	88.04 ± 8.94 ^a	93.39 ± 9.16 ^a	71.96 ± 13.48 ^a	1 500 苹果、菠萝、奶油
		高级醇类总量	1 373 156.7 ± 83 585.33 ^{ab}	1 427 033.85 ± 62 410.33 ^a	1 219 543.05 ± 28 370.93 ^{bc}	1 132 915.84 ± 51 824.91 ^c	
1 036	1 045	正丙醇	631 944.22 ± 102 413.8 ^a	464 890.62 ± 72 940.56 ^b	480 893.41 ± 16 212.01 ^b	427 094.38 ± 6 929.53 ^b	50 000 酒精味
1 092	1 101	异丁醇	97 439.06 ± 6 871.7 ^b	138 096.84 ± 6 210.1 ^a	109 207.56 ± 6 308.71 ^b	127 348.53 ± 7 503.59 ^a	75 000 轻甜、醇香
1 142	1 141	正丁醇	1 731.07 ± 148.96 ^c	1 887.77 ± 121.78 ^a	1 404.76 ± 41.37 ^b	811.68 ± 143.32 ^c	150 000 醇味、草药
1 209	1 208	异戊醇	491 265.37 ± 47 535.06 ^b	610 137.04 ± 24 665.9 ^a	486 742.96 ± 20 928.43 ^b	452 963.87 ± 58 764.61 ^b	30 000 香蕉、果香

(续表2)

RI	CRI	香气成分	质量浓度 ($\mu\text{g/L}$)					阈值 ^[39-40] ($\mu\text{g/L}$)	香气描述 ^[39-40]
			AN5	AF5	BN5	BF5			
1 250	1 239	正戊醇	4 989.76 ± 1 307.31 ^c	5 378.51 ± 800.17 ^{bc}	10 999.77 ± 1 69.24 ^a	7 710.72 ± 2 063.18 ^b	100 000	香草、杏仁	
1 315	1 314	4-甲基-1-戊醇	65.62 ± 4.85 ^a	49.86 ± 9.59 ^{bc}	64.24 ± 4.89 ^{ab}	38.81 ± 9.84 ^c	5 000	生青味	
—	1 326	3-甲基-1-戊醇	204.61 ± 13.08 ^a	86.27 ± 7.64 ^c	147.07 ± 13.66 ^b	46.01 ± 9.81 ^d	500	辛辣、青草	
1 355	1 347	正己醇	2 297.09 ± 204.19 ^b	1 833.76 ± 100.6 ^c	3 054.19 ± 144.95 ^a	2 529.96 ± 348.55 ^b	8 000	辛辣、青草	
1 367	1 376	反式-3-己烯醇	24.21 ± 2.11 ^b	6.98 ± 0.54 ^c	31.43 ± 4.5 ^a	24.61 ± 4.5 ^b	400	香菜	
1 405	1 406	反式-2-己烯醇	718.39 ± 181.71 ^a	609.5 ± 38.84 ^c	600.57 ± 40.38 ^b	638.4 ± 122.62 ^a	400	草本、蔬菜、烟草	
1 416	1 419	顺-2-己烯醇	10 880.2 ± 668.97 ^b	14 156.39 ± 1 065.97 ^a	13 276.83 ± 678.1 ^a	409 ± 118.3 ^c	400	青草味	
1 450	1 441	1-辛烯-3-醇	911.97 ± 199.86 ^{bc}	1 212.04 ± 89.48 ^a	1 142.23 ± 60.27 ^{ab}	821.08 ± 203.11 ^c	20	草本、花香	
1 453	1 453	庚醇	138.28 ± 32.04 ^c	249.84 ± 23.77 ^a	202.77 ± 7.21 ^b	145.42 ± 26.61 ^c	2 500	生青、甜味	
1 491	1 477	2-乙基己醇	Nd	Nd	Nd	1.16 ± 0.27 ^a	0.15	奶油、酸奶	
1 557	1 554	正辛醇	7.23 ± 0.87 ^b	29.64 ± 1.41 ^a	7.71 ± 0.12 ^b	7.61 ± 0.21 ^b	900	茉莉花、柠檬	
1 556	1 571	2,3-丁二醇	11 890.75 ± 2 943.33 ^a	20 689.65 ± 8 212.44 ^a	17 729.01 ± 1 973.46 ^c	17 706.76 ± 6 036.4 ^b	120 000	果香、奶油	
1 719	1 729	3-甲硫基丙醇	1 267.1 ± 278.71 ^b	2 798.28 ± 253.02 ^a	1 798.92 ± 280.95 ^b	1 765.14 ± 456.71 ^b	300	硫化物味、洋葱味	
1 906	1 931	苯乙醇	117 381.77 ± 31 853.21 ^b	164 920.86 ± 9 701.86 ^a	92 239.64 ± 7 865.32 ^b	92 852.7 ± 24 571.12 ^b	1 400	玫瑰花、花粉、香水	
1 449	1 451	脂肪酸类总量	50 933.23 ± 6 339.62 ^a	59 471.12 ± 3 570.39 ^a	53 754.49 ± 2 666.23 ^a	63 853.62 ± 10 015.83 ^a	200 000	醋酸味	
1 570	1 569	异丁酸	41 224.69 ± 9 790.87 ^a	51 048.44 ± 5 983.52 ^a	44 392.31 ± 3 655.39 ^a	56 323.95 ± 15 439.41 ^a	2 300	腐臭、黄油、奶油	
1 666	1 667	3-甲基丁酸	6 265.42 ± 1 013.93 ^a	4 573.16 ± 119.47 ^a	6 011.9 ± 1 046.45 ^a	4 285.77 ± 1 455.56 ^a	33	汗臭、腐臭	
1 846	1 846	己酸	1 457.74 ± 151.34 ^b	1 942.76 ± 90.98 ^a	1 203.14 ± 145.95 ^b	1 314.65 ± 217.8 ^b	420	奶酪、腐臭	
2 060	2 059	辛酸	1 278.98 ± 186.32 ^a	1 190.5 ± 29.83 ^a	1 450.69 ± 89.27 ^a	1 256.34 ± 223.1 ^a	500	奶酪、涩味	
2 276	2 236	癸酸	534.91 ± 27.39 ^a	533.3 ± 7.46 ^c	524.74 ± 1.57 ^a	511 ± 26.24 ^a	1 000	脂肪味	
1 289	1 301	2,3-丁二酮	171.5 ± 12.79 ^{ab}	182.97 ± 11.08 ^a	171.7 ± 5.32 ^a	161.91 ± 7.2 ^b	50	丁香、水果	
1 391	1 405	正辛醛	566.51 ± 60.24 ^c	799.44 ± 39.6 ^{bc}	1 331.15 ± 90.59 ^a	1 082.75 ± 192.26 ^{ab}	15	香草、奶油坚果	
1 462	1 474	壬醛	473.53 ± 103.28 ^c	692.67 ± 78.53 ^{bc}	1 239.35 ± 158 ^a	984.45 ± 319.06 ^{ab}	14 100	香草、烤面包	
1 498	1 510	吡喃甲醛	2.08 ± 0.07 ^b	1.46 ± 0.1 ^c	1.71 ± 0.31 ^{bc}	3.75 ± 0.34 ^a	10	皮革、牛脂	
1 520	1 545	癸醛	10.55 ± 2.93 ^a	4 ± 1.4 ^c	6.56 ± 0.96 ^{bc}	8.38 ± 1.97 ^{ab}	0.15	香料	
1 640	1 662	苯甲醛	13.31 ± 0.07 ^b	15.35 ± 3.29 ^b	24.3 ± 0.23 ^a	22 ± 1.83 ^a	5	蜂蜜、糖果	
1 013	979	苯乙醛	7.58 ± 2.01 ^b	6.74 ± 2.27 ^b	7.58 ± 0.41 ^b	12.92 ± 1.51 ^a	100	奶油	
			8.04 ± 0.64 ^a	8.67 ± 0.09 ^{ab}	7.67 ± 0.04 ^b	7.48 ± 0.53 ^b			
			51.42 ± 12.61 ^b	70.55 ± 7.16 ^a	43.98 ± 3.55 ^b	43.76 ± 9.5 ^b			

(续表2)

RI	CRI	香气成分	质量浓度 ($\mu\text{g/L}$)					香气描述 ^[39-40]
			AN5	AF5	BN5	BF5	阈值 ^[39-40] ($\mu\text{g/L}$)	
		类异戊二烯类总量	40.24 ± 0.19 ^b	38.76 ± 0.17 ^b	46.09 ± 1.79 ^a	40.59 ± 0.37 ^b		
—	1 212	右旋萜二烯	0.01 ± 0 ^b	Nd	0.35 ± 0.02 ^a	0.33 ± 0.02 ^a	1.5 柠檬、橙子	
1 547	1 546	芳樟醇	1.22 ± 0.06 ^b	1.24 ± 0.07 ^b	1.51 ± 0.19 ^a	1.28 ± 0.08 ^b	25 果香	
1 602	1 612	4-萜烯醇	4.65 ± 0.14 ^b	2.73 ± 0.03 ^c	6.39 ± 0.87 ^a	3.95 ± 0.59 ^b	0.01 柑橘	
1 697	1 710	α -松油醇	4.47 ± 0.07 ^b	4.51 ± 0.03 ^b	7.48 ± 2.5 ^c	5.06 ± 0.93 ^{ab}	250 柑橘、水果	
1 765	1 761	香茅醇	6.32 ± 0.42 ^a	6.83 ± 0.28 ^a	6.74 ± 0.12 ^a	6.35 ± 0.49 ^a	40 青草、柠檬、丁香	
1 841	1 830	α -大马酮	19.88 ± 0 ^a	19.88 ± 0 ^a	19.88 ± 0 ^a	19.88 ± 0 ^a	0.05 水果罐头、干杏	
1 958	1 940	β -紫罗酮	3.67 ± 0.06 ^a	3.57 ± 0.01 ^b	3.75 ± 0.04 ^a	3.75 ± 0.05 ^a	0.09 海藻、花香、树莓	
		其他总量	144.82 ± 2.17 ^a	143.41 ± 2.46 ^a	142.82 ± 2.18 ^a	142.45 ± 1.03 ^a		
1 517	1 536	2-甲氧基-3-异丁基吡嗪	4.06 ± 0 ^a	4.06 ± 0 ^a	4.06 ± 0 ^a	4.06 ± 0 ^a	0.005 土壤、香料、青椒	
2 000	2 025	苯酚	22.25 ± 3.74 ^a	20.9 ± 4.28 ^a	20.32 ± 3.72 ^a	19.96 ± 1.82 ^a	5 900 草药	
2 032	2 052	4-乙基-2-甲氧基苯酚	101.97 ± 0.03 ^a	101.88 ± 0.02 ^b	101.91 ± 0.07 ^{ab}	101.87 ± 0.01 ^b	33 糖果、中草药、香烟	
2 187	2 171	4-乙基苯酚	16.55 ± 0.01 ^{ab}	16.58 ± 0.02 ^a	16.52 ± 0.01 ^b	16.56 ± 0.02 ^a	440 香料	
		香气物质总量	1 495 527.85 ± 91 833.86 ^{ab}	1 569 620.84 ± 65 205.19 ^a	1 410 009.04 ± 31 196.9 ^b	1 278 589.48 ± 66 346.18 ^b		

注:计算保留指数(calculated retention index, CRI)根据 DB-wax 毛细管柱计算所得;RI 值在 NIST 化学成分网站(<https://webbook.nist.gov/>)查询得到;—表示未查到相关资料;Nd 表示未检出;数据表示为 $\bar{x} \pm s$,同行不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),下同。

2.3 自然发酵对“赤霞珠”干红葡萄酒的感官品质的影响

A、B 两酒庄“赤霞珠”葡萄酒自然发酵和接种发酵感官评分结果如表 3 所示,AN、AF、BN、BF 分别从外观、香气、口感及总体评价 4 个方面进行评分,并对 4 个方面的感官得分和计算感官品鉴的总分。其中 AN 的感官评分总分最高为 77, BN 为 76.06, 接种发酵的两个处理 AF、BF 总分依次为 76.13, 75.13。所有酒样的感官品鉴总分均在 75 分以上,属于优质健康的干红葡萄酒。外观属性方面,自然发酵与接种发酵均没有明显差异。所有酒样澄清透亮且均呈浅紫红色色调,色度也基本一致。香气品质方面,AN 的纯正度、浓郁度和优雅度得分高于

接种发酵的 AF、B 酒庄“赤霞珠”的自然发酵与接种发酵则相反。由此可见自然葡萄酒的综合香气评价并不总是比传统工艺下接种商业酿酒酵母的低。口感方面,接种发酵的口感纯正度高于自然发酵,自然发酵的香气持久度略高于接种发酵,口感的浓郁度、结构、协调度和余味无明显规律,表现出自然发酵和接种发酵各有优势。本试验贺兰山东麓的“赤霞珠”自然葡萄酒的总体评价和总分都高于接种发酵,虽然没有显著性差异,但是仍可表明自然发酵的葡萄酒品质被认可,口感风味相比接种发酵的葡萄酒更好。这与李伟和丁银霆等人的自然发酵的葡萄酒感官品鉴结果较为相似^[41]。

表3 “赤霞珠”干红葡萄酒感官评分结果表
Table 3 Sensory score of Cabernet Sauvignon dry red wine

感官特征		AN	AF	BN	BF
外观	澄清度	5.19 ± 0.75 ^a	5 ± 0.89 ^a	4.88 ± 1.09 ^a	5.06 ± 0.85 ^a
	色调	5.13 ± 0.62 ^a	5.38 ± 0.62 ^a	4.94 ± 0.68 ^a	4.88 ± 0.89 ^a
	色度	5.13 ± 0.72 ^a	5.19 ± 0.83 ^a	4.88 ± 0.81 ^a	5.13 ± 0.62 ^a
香气	纯正度	5.31 ± 1.08 ^a	4.75 ± 0.93 ^a	4.88 ± 0.89 ^a	5.06 ± 0.85 ^a
	浓郁度	6.06 ± 0.68 ^a	5.94 ± 0.93 ^a	5.94 ± 0.68 ^a	6.06 ± 1.06 ^a
	优雅度	6.13 ± 0.5 ^a	5.94 ± 1 ^a	5.81 ± 0.75 ^a	6.06 ± 1 ^a
	协调度	5.63 ± 0.96 ^a	5.94 ± 0.93 ^a	6.13 ± 1.02 ^a	5.94 ± 0.77 ^a
口感	纯正度	4.81 ± 0.91 ^a	5.06 ± 0.57 ^a	5 ± 0.52 ^a	5.19 ± 0.66 ^a
	浓郁度	5.56 ± 0.73 ^b	5.69 ± 0.48 ^{ab}	6.25 ± 0.86 ^a	5.44 ± 1.03 ^b
	结构	5.63 ± 0.62 ^a	5.75 ± 0.68 ^a	5.69 ± 1.2 ^a	5.25 ± 1 ^a
	协调度	5.63 ± 0.72 ^a	5.25 ± 0.77 ^a	5.56 ± 1.09 ^a	5.56 ± 0.96 ^a
	香气持久度	5.56 ± 0.73 ^a	5.38 ± 0.5 ^a	5.13 ± 1.5 ^a	5 ± 1.32 ^a
	余味	4.81 ± 0.75 ^a	4.81 ± 0.75 ^a	4.63 ± 0.72 ^a	4.44 ± 1.03 ^a
	总体评价	6.44 ± 0.81 ^a	6.06 ± 0.68 ^a	6.38 ± 1.02 ^a	6.06 ± 1 ^a
	总分	77 ± 1.53 ^a	76.13 ± 1.19 ^a	76.06 ± 1.47 ^a	75.13 ± 1.28 ^a

2.4 自然发酵对“赤霞珠”葡萄酒品质特性的主成分分析及相关性分析

为进一步分析,自然发酵对第5时期“赤霞珠”葡萄酒香气物质的影响,利用PCA对自然发酵和接种发酵中OAV>1的29种香气物质进行差异性分析(图4),其共解释了79.8%总方差变量,其中,PCA1和PCA2分别解释了46.7%和33.1%的变量,且样品点都能够被很好的区分。发酵第5时期,第一象限OAV>1的香气物质共12种,第二象限共8种,第三象限3种,第四象限6种。AF、AN分别位于第一、四象限,两处理在PC1和PC2的投影得分具有较大差异,A酒庄自然发酵,有助于橡木内酯、辛酸、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、正丙醇、反式-2-己烯醇、4-乙基-2-甲氧基苯酚等香气物质的积累;A酒庄接种发酵与OAV>1的绝大多数高级醇类(6种)呈显著正相关关系。BN、BF都位于第二象限,但BN5在OAV>1的香气物质化合物方向上的得分较高,表明自然发酵可以丰富贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒中丁酸乙酯、水杨酸乙酯、乙酸苯乙酯、丁二酸二乙酯、乙酸乙酯、正己酸乙酯等酯类物质的含量。

为了更进一步揭示自然发酵对贺兰山东麓“赤霞珠”葡萄酒的香气物质、理化指标及感官品

质之间的影响,本文对自然发酵与接种BDX发酵下的“赤霞珠”葡萄酒的香气物质、理化指标及感官品质得分进行Pearson相关性分析(图5),可以得出发酵方式与总糖、总酸、总酚、酯类、高级醇、类异戊二烯类之间呈正相关关系,与pH值、挥发酸、甘油、花色苷、脂肪酸类物质之间呈负相关关系,与酒精度和醛酮类之间的关系较弱。自然发酵和接种发酵与葡萄酒的香气物质、理化指标及感官品质之间,除总酸存在显著的正相关性($P < 0.05$),其它均不存在显著的相关性。这进一步表明,自然发酵对贺兰山东麓的“赤霞珠”葡萄酒的理化指标、香气物质及感官品质产生显著的影响。

3 结论

贺兰山东麓的“赤霞珠”葡萄酒在自然发酵的情况下能够正常完成酒精发酵,且与接种发酵相比,理化指标的数值也均在合理范围之内。自然发酵的“赤霞珠”葡萄酒在发酵过程中,随着葡萄醪中总糖含量不断降低,总酸和多酚类物质逐渐增加,甘油和花色苷含量先升高后降低,而pH值则相反,并且自然发酵对最终葡萄酒的理化指标有显著影响。香气物质聚类分析表明,自然发酵的葡萄酒各种香气物质在发酵过程中的变化趋势与接

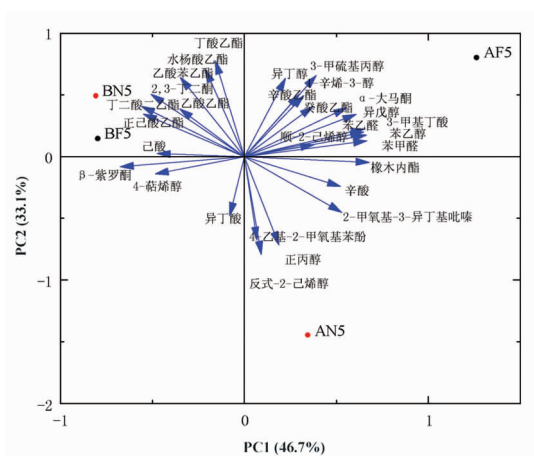


图 4 “赤霞珠”葡萄酒的香气物质(OAV>1)主成分分析图

Fig.4 Principal component analysis of aroma substances (OAV>1) in Cabernet Sauvignon wine

种发酵相同。其中酯类、高级醇类、脂肪酸类物质含量随着发酵时期的进行不断升高，类异戊二烯和其它类香气含量相对稳定；但自然发酵的葡萄酒中正丙醇、3-甲基-1-戊醇、正己酸、反式-3-己烯醇、4-萜烯醇显著高于接种发酵，且通过与贺兰山东麓的“赤霞珠”葡萄酒中典型性香气物质相比较，其中正己酸乙酯、癸酸乙酯、异戊醇、乙酸苯乙酯、辛酸、3-甲硫基丙醇在自然发酵 B 酒庄的“赤霞珠”葡萄酒中的含量高于接种发酵。感官分析表明，自然发酵的“赤霞珠”葡萄酒总得分高于接种发酵，且自然发酵的葡萄酒的香气和口感独特性更突出。综上所述，自然发酵对贺兰山东麓“赤霞珠”干红葡萄酒的理化指标和香气物质有不同的影响，其能够显著提升葡萄酒中香气物质的含量，并增加一些典型性香气物质的含量，并且自然发酵能够使葡萄酒具有不同的个性，感官品鉴相比接种商业酿酒酵母发酵更好，本研究对贺兰山东麓自然发酵的“赤霞珠”葡萄酒的生产有一定指导意义。

参 考 文 献

[1] GONZALEZ P A, DANS E P, FERNANDEZ R F. Certification of natural wine: Policy controversies and future prospects[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2022, 6: 875427.

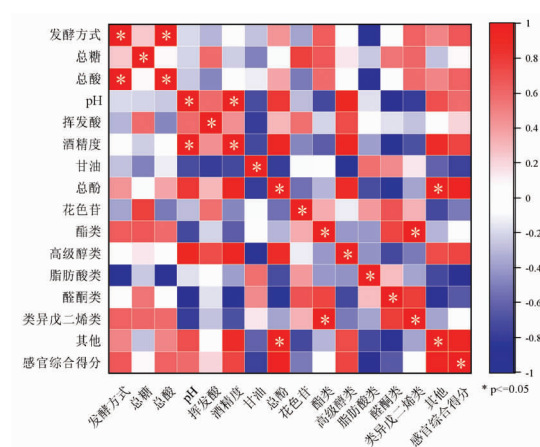


图 5 不同发酵方式的 Pearson 指数相关性热图

Fig.5 Pearson index correlation heat maps of different fermentation methods

[2] ALONSO G P, PARGA D E. Natural wine: Do consumers know what it is, and how natural it really is?[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 251: 119635.

[3] WEI R T, WANG L, DING Y T, et al. Natural and sustainable wine: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 63 (26): 8249–8260.

[4] ENGLEZOS V, POLLON M, RANTSIOU K, et al. *Saccharomyces cerevisiae*–*Starmerella bacillaris* strains interaction modulates chemical and volatile profile in red wine mixed fermentations[J]. *Food Research International*, 2019, 122: 392–401.

[5] FIGUEIREDO G M, CANCHO G B, SIMAL G J. Effects on colour and phenolic composition of sugar concentration processes in dried-on-or dried-off-vine grapes and their aged or not natural sweet wines[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2013, 31(1): 36–54.

[6] SHI X, CHEN F, XU Y N, et al. Aromatic components produced by non-*Saccharomyces cerevisiae* derived from natural fermentation of grape[J]. *Natural Product Research*, 2015, 29(19): 1870–1873.

[7] WANG Y, WANG M, LI W, et al. Indigenous yeast can increase the phenolic acid and volatile ester compounds in Petit Manseng wine [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 1031594.

[8] 李伟, 张众, 王礼, 等. 贺兰山东麓‘美乐’自然发酵

- 干红葡萄酒品质特性[J]. 食品科学, 2022, 43(8): 204-212.
- LI W, ZHANG Z, WANG L, et al. Quality characteristics of natural fermented dry red wine from the eastern foot of Helan Mountain[J]. Food Science, 2022, 43(8): 204-212.
- [9] PATRIGNANI F, MONTANARI C, SERRAZANETTI D I, et al. Characterisation of yeast microbiota, chemical and sensory properties of organic and biodynamic Sangiovese red wines[J]. Annals of Microbiology, 2017, 67(1): 99-109.
- [10] 李伟. 贺兰山东麓‘梅鹿辄’自然葡萄酒品质及微生物菌群研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2021.
- LI W. Study on the quality and microflora of natural wine ‘Merlot’ from the eastern foot of Helan Mountain [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2021.
- [11] ZHANG B Q, XU D D, DUAN C Q, et al. Synergistic effect enhances 2-phenylethyl acetate production in the mixed fermentation of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Process Biochemistry, 2020, 90: 44-49.
- [12] 李华, 王华, 袁春龙, 等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 367-370.
- LI H, WANG H, YUAN C L, et al. Wine Technology [M]. Beijing: Science Press, 2007: 367-370.
- [13] 陈学莲, 藏伟, 刘宇, 等. 生物动力种植模式对‘赤霞珠’葡萄酒酵母菌群和香气成分的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(20): 136-145.
- CHEN X L, ZANG W, LIU Y, et al. Effects of biodynamic planting patterns on yeast flora and aroma components in ‘Cabernet Sauvignon’ wine [J]. Food Science, 2023, 44(20): 136-145.
- [14] WEI R T, DING Y T, CHEN N, et al. Diversity and dynamics of microbial communities during spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) from different regions of China and their relationship with the volatile components in the wine [J]. Food Research International, 2022, 156: 111372.
- [15] 夏鸿川, 张众, 孙丽君, 等. 混菌发酵对贺兰山东麓‘赤霞珠’干红葡萄酒香气的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 165-175.
- XIA H C, ZHANG Z, SUN L J, et al. Effect of mixed fermentation on aroma of ‘Cabernet Sauvignon’ dry red wine from eastern foot of Helan Mountain[J]. Food Science, 2022, 43(14): 165-175.
- [16] 李华. 葡萄酒品尝学[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 127-139.
- LI H. Wine Tasting[M]. Beijing: Science Press, 2006: 127-139.
- [17] HORAK M, BALIK J, BIENIASZ M. Effect of leaf area size on the main composition in grape must of three varieties of *Vitis vinifera* L. in an organic vineyard[J]. Sustainability, 2021, 13(23): 13298.
- [18] PARK L K E, LIU J, YIACOUMI S, et al. Contribution of acidic components to the total acid number (TAN) of bio-oil[J]. Fuel, 2017, 200: 171-181.
- [19] WU Z S, SUN X F, LI C. Effects of bentonite clarificants on organic acids contents in red wine during clarification [C] // Proceedings of the 2nd International Conference on Manufacturing Science and Engineering, Guilin: 2011, 194/195/196: 802-805.
- [20] 金刚, 张雪, 谷晓博, 等. 贺兰山东麓不同子产区赤霞珠葡萄自然发酵对葡萄酒香气的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 153-160.
- JIN G, ZHANG X, GU X B, et al. Effect of natural fermentation of Cabernet Sauvignon grapes in different growing areas at the eastern foot of Helan Mountain on wine aroma[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(7): 153-160.
- [21] NIEUWOUDT H H, PRIOR B A, PRETORIUS I S, et al. Principal component analysis applied to Fourier transform infrared spectroscopy for the design of calibration sets for glycerol prediction models in wine and for the detection and classification of outlier samples [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(12): 3726-3735.
- [22] NAGY B, VARGA Z, MATOLCSI R, et al. Impact of using organic yeast in the fermentation process of wine[J]. Processes, 2021, 9(1): 155.
- [23] BIEBL H, MENZEL K, ZENG A P, et al. Microbial production of 1,3-propanediol[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1999, 52(3): 289-297.
- [24] PASTERIS S E, STRASSER DE SAAD A M. Sugar-glycerol cofermentations by *Lactobacillus hilgardii* isolated from wine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(9): 3853-3858.
- [25] KEREM Z, CHETRIT D, SHOSEYOV O, et al. Protection of lipids from oxidation by epicatechin, trans-resveratrol, and gallic and caffeic acids in-

- testinal model systems[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(26): 10288–10293.
- [26] BANDIC L M, ZULJ M M, FRUK G, et al. The profile of organic acids and polyphenols in apple wines fermented with different yeast strains[J]. *Journal of Food Science and Technology–Mysore*, 2019, 56(2): 599–606.
- [27] LACHOWICZ S, WOJDYLO A, CHMIELEWSKA J, et al. The influence of yeast type and storage temperature on content of phenolic compounds, antioxidant activity, colour and sensory attributes of chokeberry wine [J]. *European Food Research and Technology*, 2017, 243(12): 2199–2209.
- [28] SIDARI R, POSTORINO S, CAPARELLO A, et al. Evolution during wine aging of colour and tannin differences induced by wine starters [J]. *Annals of Microbiology*, 2007, 57(2): 197–201.
- [29] GARCIA E I, ANDRES G P, ALCALDE E C, et al. Relationship between agronomic parameters, phenolic composition of grape skin, and texture properties of *Vitis vinifera* L. cv. tempranillo[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(35): 7663–7669.
- [30] CHEN J, TAO X Y, ZHANG M, et al. Properties and stability of blueberry anthocyanin–bovine serum albumin nanoparticles[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(9): 1781–1786.
- [31] 潘秋红, 段长青, 王军, 等. 葡萄酒化学[M]. 北京: 科学出版社, 2019: 144–153.
- PAN Q H, DUAN C Q, WANG J, et al. *Wine chemistry*[M]. Beijing: Science Press, 2019: 144–153.
- [32] 李智, 解双瑜, 孙波, 等. 盐度对紫甘蓝酸菜发酵过程中挥发性风味物质及理化指标的影响[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(4): 214–227.
- LI Z, XIE S Y, SUN B, et al. Effect of salinity on volatile flavor compounds and physicochemical properties in red cabbage sauerkraut during fermentation[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(4): 214–227.
- [33] ZHANG Z, ZHANG Q C, YANG H, et al. Bacterial communities related to aroma formation during spontaneous fermentation of ‘Cabernet Sauvignon’ wine in Ningxia, China[J]. *Foods*, 2022, 11(18): 2775.
- [34] JAMES A, YAO T, KE H M, et al. Microbiota for production of wine with enhanced functional components[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(5): 1481–1492.
- [35] 李亚军, 郑明朋, 张众, 等. 贺兰山东麓赤霞珠干红葡萄酒发酵过程中香气成分与感官特征变化[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(24): 118–124.
- LI Y J, ZHENG M P, ZHANG Z, et al. Changes of aroma components and sensory characteristics of Cabernet Sauvignon dry red wine in the eastern foot of Helan Mountain during fermentation[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2023, 49(24): 118–124.
- [36] 臧小敏. 本土酿酒酵母 CECA 的产香特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- ZANG X M. Study on aroma production characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* CECA[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [37] WEI R T, CHEN N, DING Y T, et al. Correlations between microbiota with physicochemical properties and volatile compounds during the spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) wine[J]. *Lwt–Food Science and Technology*, 2022, 163: 113529.
- [38] 孙丽君. 贺兰山东麓赤霞珠和美乐干红葡萄酒香气典型性研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2022.
- SUN L J. Study on aroma typicality of Cabernet Sauvignon and merlot dry red wine from eastern foot of Helan mountain[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2022.
- [39] 陶永胜, 李娜. 葡萄酒中香气物质研究进展[J]. *食品科学技术学报*, 2023, 41(3): 28–40.
- TAO Y S, LI N. Wine aroma substances in research progress[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2023, 41(3): 28–40.
- [40] CAMPO E, FERREIRA V, ESCUDERO A, et al. Quantitative gas chromatography–olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563(1/2): 180–187.
- [41] 丁银霆. 爱格丽葡萄生长和葡萄酒自然发酵连续体中微生物群落多样性和动态研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- DING Y T. Study on the diversity and dynamics of microbial community in the continuum of grape growth and wine natural fermentation in Agely[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University of Science and Technology, 2022.

Effects of Natural Fermentation of Cabernet Sauvignon Wine on Aroma Component and Physicochemical Properties

Wang Zheng^{1,2}, Yang Hui^{2,3}, Zhang Zhong², Sun Wenjing¹, Zhu Yuanzhenghong¹, Zhang Junxiang^{1,4*}

(¹College of Enology and Horticulture, Ningxia University, Yinchuan 750021

²School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021

³Research Center of Medical Science and Technology, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004

⁴Ningxia Grape and Wine Engineering Technology Center, Ningxia University, Yinchuan 750021)

Abstract This study aimed to investigate the influence of natural fermentation on the quality characteristics of Cabernet Sauvignon wines produced at the Helan Mountain east foothill during different periods. Two different wineries were selected, and commercial brewing yeast was used as a control group to compare the effects of natural fermentation on the physical and chemical parameters. The analysis of aroma compounds was performed using headspace solid phase microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry (HS–SPME/GC–MS). Sensory evaluations were conducted to assess the wine’s sensory characteristics after fermentation. The results demonstrated that natural fermentation significantly affected the physical and chemical composition of the final Cabernet Sauvignon wines. Parameters such as total acid (5.67, 6.67 g/L), pH (3.52, 3.37), glycerol (12.53, 12.79 g/L), total phenol (1 871.01, 1 614.33 mg/L), and anthocyanin content exhibited (363.31, 440.57 mg/L) significant variations ($P<0.05$). Throughout the fermentation process, total acids and polyphenols gradually increased, while glycerol and anthocyanin content initially increased and then decreased. pH values showed an initial decrease followed by an increase. Aroma analysis revealed that several aroma compounds, including n-propanol (631 944.22, 480 893.41 $\mu\text{g/L}$), 3-methyl-1-pentyl alcohol (204.61, 147.07 $\mu\text{g/L}$), n-caproic acid (2 297.09, 3 054.19 $\mu\text{g/L}$), trans-3-hexenol (24.21, 31.43 $\mu\text{g/L}$), and 4-terpenol (4.65, 6.39 $\mu\text{g/L}$), were significantly higher in naturally fermented Cabernet Sauvignon wines compared to the control group ($P<0.05$). Total aroma (1 495 527.85, 1 410 009.04 $\mu\text{g/L}$), esters (70 686.36, 135 191.45 $\mu\text{g/L}$), higher alcohols (1 373 156.7, 1 219 543.05 $\mu\text{g/L}$), fatty acids (50 933.23, 53 754.49 $\mu\text{g/L}$) showed an increasing trend with fermentation. The content of aldehydes and ketones (566.51, 1 331.15 $\mu\text{g/L}$) first increased and then decreased, whereas the content of isoprene and other substances remained relatively stable. Sensory evaluation indicated that the overall rating of naturally fermented wines was slightly higher than that of inoculated fermentation. Odor Activity Value (OAV) analysis and principal component analysis (PCA) revealed a positive correlation between natural fermentation and ester compounds among 29 typical aroma substances. Pearson correlation analysis showed that natural fermentation was positively correlated with total sugars, total acids, total phenols, esters, higher alcohols, and isoprene substances, with a significant positive correlation observed with total acids ($P<0.05$). Conversely, it was negatively correlated with pH, volatile acids, glycerol, anthocyanins, and fatty acids. In conclusion, natural fermentation significantly influenced the physical and chemical parameters and aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines produced at the eastern foot of Helan Mountain. Natural fermentation resulted in wines with superior flavor quality compared to inoculated fermentation.

Keywords natural fermentation; cabernet sauvignon wine; physicochemical index; aroma substance; sensory characteristics