

# 戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒风味品质的影响

贾世宽<sup>1</sup>, 刘亚琼<sup>1</sup>, 陈佳威<sup>2</sup>, 杨学威<sup>2</sup>, 傅晓方<sup>2</sup>, 王 颖<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 河北农业大学食品科技学院 河北保定 071000

<sup>2</sup> 中国长城葡萄酒有限公司 河北张家口 075400

**摘要** 为探讨混合发酵对马瑟兰葡萄酒风味品质的影响,以酿酒酵母单独发酵为对照组,戴尔有孢圆酵母和酿酒酵母同时接种和顺序接种发酵为处理组,采用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱质谱(GC-MS)技术测定该葡萄酒的挥发性香气成分,高效液相色谱(HPLC)测定有机酸含量,并对葡萄酒进行感官评价。结果表明:与对照相比,混合发酵残糖含量降低了 0.03~0.46 g/L,总酸含量降低了 0.30~0.93 g/L;混合发酵酒样中苹果酸和酒石酸显著降低( $P<0.05$ );顺序和同时接种发酵显著提高了马瑟兰葡萄酒中酯类和醇类含量( $P<0.05$ ),其中顺序接种的乙酸酯和醇类化合物含量较高( $P<0.05$ ),尤其是乙酸异戊酯、正己醇、苯乙醇、异戊醇和异丁醇等化合物。主成分分析表明,混合发酵可以改变葡萄酒的香气轮廓,提升葡萄酒的复杂性。感官评价显示顺序接种得分最高。结论:顺序接种发酵可有效提升马瑟兰葡萄酒的风味品质。

**关键词** 戴尔有孢圆酵母; 混合发酵; 有机酸; 香气成分; 马瑟兰葡萄酒

文章编号 1009-7848(2023)10-0157-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.10.017

马瑟兰(Marselan)是一种原产于法国,由“赤霞珠”和“歌海娜”杂交获得的红色酿酒葡萄品种,兼具歌海娜的耐热性和赤霞珠的细致感,2001年首次由怀来中法庄园引入,目前我国已成为世界上马瑟兰最大的产区之一<sup>[1-2]</sup>。河北怀来昼夜温差大,光照充足,无霜期可达到 180~270 d,是我国最大的县级酿酒葡萄种植加工基地,特殊的地理气候条件造就了优质的马瑟兰酿酒葡萄,用其酿造的单品种和混酿葡萄酒风味独特,具有广阔的市场前景<sup>[3-4]</sup>。

葡萄酒酿造是酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、非酿酒酵母(Non-*Saccharomyces cerevisiae*)和多种微生物共同作用的结果<sup>[5]</sup>。目前,商业酿酒酵母的广泛使用导致葡萄酒同质化现象日益严重<sup>[6]</sup>。在自然发酵过程中丰富的非酿酒酵母有助于提高葡萄酒的复杂度和芳香性<sup>[7]</sup>。近年来,非酿酒酵母与酿酒酵母混合发酵受到葡萄酒行业的广泛关注<sup>[8]</sup>。非酿酒酵母如戴尔有孢圆酵母(*Torulopsis delbrueckii*)、发酵毕赤酵母(*Pichia fermentans*)、有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)等

报道用于葡萄酒酿造<sup>[9-11]</sup>。其中,戴尔有孢圆酵母(*T. delbrueckii*)在酿酒条件下具有高代谢活性以及对乙醇和 SO<sub>2</sub> 的抗性,是葡萄酒酿造中最常使用的商业非酿酒酵母之一<sup>[12-13]</sup>。有研究表明,戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母顺序发酵可促进脂肪酸乙酯的合成,尤其是己酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯,对葡萄酒的香气具有积极影响<sup>[14]</sup>。然而,戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵对马瑟兰葡萄酒风味品质的影响鲜有报道。

本文以河北怀来产区马瑟兰酿酒葡萄为原料,研究戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母同时接种和顺序接种发酵对马瑟兰葡萄酒基本理化指标、有机酸和挥发性风味物质的影响,并进行感官品评,以期对戴尔有孢圆酵母改善马瑟兰干红葡萄酒风味品质提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

马瑟兰葡萄:2021年10月从河北张家口中粮长城葡萄酒(怀来)有限公司葡萄园采摘,葡萄果实含糖量(以葡萄糖计)为 251.73 g/L,含酸量(以酒石酸计)为 5.33 g/L, pH 值为 3.49。

收稿日期: 2022-10-20

基金项目: 河北省重点研发计划项目(19227120D)

第一作者: 贾世宽,男,硕士生

通信作者: 王颖 E-mail: wj591010@163.com

酿酒酵母(*S. cerevisiae*)XR, LAMOTHE ABI-ET 公司;非酿酒酵母(*T. delbrueckii*)NS-D, 安琪酵母股份有限公司。

3-辛醇(标准品),美国 Sigma-Aldrich 公司;果胶酶(食品级),法国 LAFFORT 公司;氯化钠(分析纯)、偏亚硫酸钾(食品级),国药集团有限公司;柠檬酸(分析纯)、磷酸(分析纯),天津市北辰方正试剂厂;磷酸氢二钠(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;有机酸混合标准品(苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸),坛墨质检科技股份有限公司;甲醇(色谱纯),北京迪科马科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

7890B-5977A 气相色谱质谱联用仪,美国 Agilent 公司;57328-u 顶空固相微萃取纤维头,Supelco 公司;HP-INNOWAX 毛细管色谱柱(60 m×250 μm, 0.25 μm),美国 Agilent 公司;Autosampler2707 高效液相色谱仪,Waters 公司;Wine Scan FT 120 FOSS 仪,丹麦 FOSS 公司;T6 新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.3 试验方法

发酵工艺流程:马瑟兰葡萄→穗选与粒选→除梗破碎→葡萄浆(果胶酶 50 mg/L)→焦亚硫酸钾处理(100 mg/L)→冷浸渍 24 h→接种戴尔有孢圆酵母(200 mg/L)和酿酒酵母(100 mg/L)→25℃发酵→发酵结束→皮渣分离、调硫→稳定澄清→马瑟兰干红葡萄酒。

酵母的活化:将商业非酿酒酵母 NS-D 活性干粉按 200 mg/L 置于无菌蒸馏水中,于 30℃水浴锅活化 15 min。将商业酿酒酵母 XR 活性干粉按 100 mg/L 置于无菌蒸馏水中,于 30℃水浴锅活化 15 min。

本试验设 3 个处理组,1)SE:先接种戴尔有孢圆酵母,24 h 后接种 XR;2)CO:同时接种 XR 和戴尔有孢圆酵母;3)XR:只接种酿酒酵母 XR。将除梗破碎后的葡萄果浆分别置于 9 个 5 L 发酵罐内(每处理 3 个罐,每罐 4 L 葡萄浆)。发酵过程中,每天记录发酵液的比重,直到比重小于 0.996,残糖小于 4 g/L 后,进行皮渣分离。将发酵前、后的样品放入 100 mL 塑料瓶中,密封后置于-80℃冰

箱贮存,用于理化指标、有机酸含量、挥发性风味物质测定及感官评价。

### 1.4 测定方法

1.4.1 理化指标的测定 利用 FOSS 仪从波数 926 cm<sup>-1</sup> 到 5 012 cm<sup>-1</sup> 进行透射扫描,测定葡萄酒的 pH 值、残糖、总酸和酒精度等基本理化指标。

色度、色调值:参照梁冬梅等<sup>[15]</sup>方法测定,酒样经 0.45 μm 水系膜过滤,用与酒样 pH 值一致的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液,0.1 mol/L 柠檬酸溶液)将酒样稀释 10 倍,用 1 cm 比色皿用紫外分光光度计在波长 420,520,620 nm 处测定其吸光值,其中:色度= $A_{420\text{nm}}+A_{520\text{nm}}+A_{620\text{nm}}$ ,色调= $A_{420\text{nm}}/A_{520\text{nm}}$ 。

1.4.2 挥发性化合物的测定 参照夏亚男等<sup>[16]</sup>方法并稍加改进。顶空固相微萃取:样品解冻后,吸取 7.5 mL 葡萄酒,加入 20 mL 顶空瓶中,同时加入 10 μL 3-辛醇(300 mg/L)和 1 g NaCl,40℃水浴预平衡 15 min 后,插入萃取头吸附 40 min,于 GC 进样口解析 6 min。

色谱分析条件:柱温箱的升温程序为:50℃保持 2 min,然后以 3℃/min 的速率升至 80℃,再以 5℃/min 速率升至 230℃,持续 6 min。采用不分流进样,进样口温度 240℃,载气 He,流量 1 mL/min。质谱条件:EI 电离源,电子能量 70 eV,离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃。溶剂延迟时间 8 min,总离子流扫描范围  $m/z$  35~550。

定性分析:利用质谱扫描图谱与 NIST14.L 谱库进行比对定性,对匹配度 80%以上的组分进行分析。

定量分析:各成分的含量采用内标法进行半定量,计算样品中各香气组分含量。

1.4.3 有机酸测含量的测定 参照 GB/T 5009.157-2003《食品中有机酸的测定》<sup>[17]</sup>,并稍作修改。色谱柱:C18 (4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:A 为纯甲醇,B 为 0.1%磷酸溶液;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL;检测器(Agilent DAD)波长:220 nm;柱温:40℃;梯度洗脱程序:0~4 min,90%B;4~5 min,90%~40%B;5~7 min,40%~10%B;7~9 min,10%B;9~10 min,10%~90%B。

1.4.4 感官评价 专家组成员为葡萄酒生产企业中具有品酒师资质的人员和研发人员共 11 人组

成(女性 7 人,男性 4 人,年龄 29~65 岁,平均 40 岁)。分别从酒样的外观(颜色、澄清度)、口感(酸度、甜度)、香气(浓郁度、典型性、氧化味)和总体评分 4 个方面对各葡萄酒样品进行感官评价,评分范围从 0(弱)到 10(最大强度),结果为所有评估小组成员得分的平均值。

### 1.5 试验结果统计分析方法

采用 SPSS26.0 统计分析软件对数据进行差异显著性分析,采用单因素方差分析 Dun-can 检验两两比较,显著性水平  $P<0.05$ 。使用 Origin 2021 软件进行图形绘制和主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 基本理化指标测定结果

酒精发酵前、后的主要理化指标见表 1。酒精发酵后各处理组残糖含量范围为 2.77~3.23 g/L,均低于 4 g/L。CO 残糖含量显著低于其它处理组 ( $P<0.05$ ),酒精度显著高于 XR 和 SE ( $P<0.05$ ),发酵最为彻底,这与尹雪林等<sup>[9]</sup>研究的戴尔有孢圆酵母混菌发酵猕猴桃酒的结果一致。与 XR 相比,SE 和 CO 总酸含量显著降低,pH 显著增加 ( $P<0.05$ ),总酸和 pH 值的变化一般是由发酵过程有机酸的产生和降解介导<sup>[18]</sup>。XR 色度显著高于 SE 和 CO ( $P<0.05$ ),CO 色调显著高于 XR 和 SE ( $P<0.05$ ),后者之间无显著差异。色调值越高,表明葡萄酒黄色比例越高,红色比例越低,这可能与戴尔有孢圆酵母与葡萄酒中儿茶素直接缩合生成锦葵苷二聚体有关<sup>[19-20]</sup>。

表 1 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒主要理化指标的影响

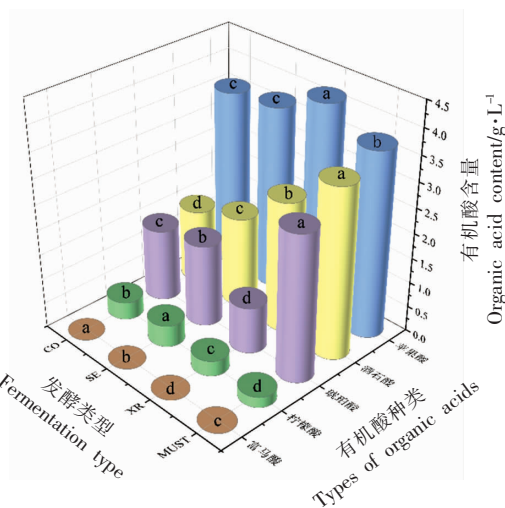
Table 1 Effect of mixed fermentation on main physical and chemical indexes of Marselan dry red wine

理化指标	葡萄汁	XR	SE	CO
残糖/g·L <sup>-1</sup>	251.73 ± 1.97	3.23 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.77 ± 0.06 <sup>b</sup>
酒精度/%	0.00 ± 0.00	13.85 ± 0.02 <sup>b</sup>	13.75 ± 0.04 <sup>c</sup>	13.92 ± 0.01 <sup>a</sup>
总酸/g·L <sup>-1</sup>	5.33 ± 0.11	5.70 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.40 ± 0.10 <sup>b</sup>	4.77 ± 0.15 <sup>c</sup>
pH	3.49 ± 0.01	3.11 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.22 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.02 <sup>a</sup>
色度	1.43 ± 0.00	15.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	13.56 ± 0.02 <sup>b</sup>	8.51 ± 0.03 <sup>c</sup>
色调	5.06 ± 0.00	4.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.34 ± 0.00 <sup>b</sup>	4.99 ± 0.02 <sup>a</sup>

注:不同字母代表差异性显著 ( $P<0.05$ )。

### 2.2 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒有机酸含量的影响

混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒有机酸含量的影响如图 1 所示。葡萄汁中主要有有机酸含量依次为苹果酸、酒石酸、琥珀酸和柠檬酸。混合发酵样品中苹果酸和酒石酸含量显著低于 XR ( $P<0.05$ ),表明戴尔有孢圆酵母具有较强的降解苹果酸和酒石酸能力,这与 Belda 等<sup>[21]</sup>的研究结果一致。混合发酵酒样中琥珀酸和柠檬酸含量显著高于 XR ( $P<0.05$ ),与 Martín-García 等<sup>[22]</sup>关于戴尔有孢圆酵母琥珀酸和柠檬酸的报道相异,可能与使用的菌株和发酵条件有关。有机酸可赋予葡萄酒清新爽快的口感、平衡饱满的酒体,并与醇类化合物作用生成酯,发酵过程中有机酸消长对葡萄酒的香气、颜色、风味和口感会产生重要影响<sup>[23-24]</sup>。



注:不同字母代表差异性显著 ( $P<0.05$ )。

图 1 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒有机酸含量的影响

Fig.1 Effect of mixed fermentation on organic acid content of Marselan dry red wine

## 2.3 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒挥发性成分的影响

混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒挥发性成分的影响见表2。从马瑟兰干红葡萄酒中共检出38种挥发性香气化合物,包括16种酯、14种醇、4种脂肪酸和4种其它化合物。方差分析结果表明,不同处理对马瑟兰干红葡萄酒挥发性成分的影响差异显著( $P<0.05$ ),SE挥发性成分含量显著高于CO和XR( $P<0.05$ )。

**2.3.1 混合发酵对酯类物质含量的影响** 顺序接种和同时接种的酯类含量分别比对照组高出145.06  $\mu\text{g/L}$ 和84.64  $\mu\text{g/L}$ ,表明混合发酵有助于提高葡萄酒中酯类含量,这与宋茹茹等<sup>[14]</sup>的研究结果一致。酯类化合物包括乙酸酯和脂肪酸乙酯两种重要的香气化合物,对葡萄酒中水果香气特征具有积极贡献<sup>[25]</sup>。本试验共检出4种乙酸酯,其中SE乙酸异戊酯含量显著高于其它处理组( $P<0.05$ ),且超过其阈值,赋予葡萄酒愉悦的水果味。耿仕瑾等<sup>[26]</sup>研究发现戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母顺序接种,可显著提高小芒森葡萄酒乙酸异戊酯的含量( $P<0.05$ )。本试验中检出的9种脂肪酸乙酯中辛酸乙酯(白兰地、果香)、癸酸乙酯(果香、脂香)、己酸乙酯(香蕉、青苹果)OAV>1,十二酸乙酯(花香)OAV>0.2,对葡萄酒香气有积极的贡献<sup>[27]</sup>。同时接种的马瑟兰葡萄酒具有较强的产脂肪酸乙酯能力,辛酸乙酯、癸酸乙酯、庚酸乙酯、己酸乙酯和9-癸烯酸乙酯含量较高。其中辛酸乙酯是所有脂肪酸酯中含量最高的化合物,会产生令人愉悦的水果风味<sup>[28]</sup>。有研究表明,戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母顺序发酵可增加龙眼葡萄酒丁酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯的含量<sup>[29]</sup>。原苗苗等<sup>[30]</sup>研究表明,戴尔有孢圆酵母明显提高了赤霞珠脂肪酸乙酯的含量,提高了乙酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯的含量。综上所述,辛酸乙酯和癸酸乙酯有可能是戴尔有孢圆酵母的特征香气。

**2.3.2 混合发酵对醇类物质含量的影响** 醇类也是构成葡萄酒香气的基本化合物。在氨基酸或糖的作用下,通过Ehrlich途径由酵母代谢产生高级醇<sup>[31]</sup>。高级醇与有机酸反应生成芳香的酯类,而过量可能会导致难闻的酒精味<sup>[32]</sup>。不同处理对马瑟兰干红葡萄酒醇类物质含量的影响差异显著( $P<$

0.05),混合发酵的葡萄酒醇类含量高于对照组( $P<0.05$ )。祝霞等<sup>[33]</sup>研究发现,戴尔有孢圆酵母顺序接种发酵可显著增加醇类化合物含量,提高酒体的层次感。本试验结果表明SE醇类化合物的含量最高,主要有正己醇、异戊醇、苯乙醇和异丁醇等物质,其中异戊醇是高级醇中含量占比最高,达到2 969.75  $\mu\text{g/L}$ ,比含量最低的对照组高出989.25  $\mu\text{g}$ ,给葡萄酒带来酒精味、溶剂味和指甲油的气味<sup>[34]</sup>。苯乙醇赋予葡萄酒令人愉悦的果香,顺序接种的苯乙醇含量显著高于其它处理组( $P<0.05$ ),苯乙醇含量的增加可能与戴尔有孢圆酵母中 $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性有关,也有可能是酵母中 $\beta$ -葡萄糖苷酶与L-苯丙氨酸共同作用的结果<sup>[30]</sup>。C6醇为葡萄酒提供了青草和植物味道,正己醇含量占C6醇90%以上。正己醇在不同处理组差异显著,顺序接种的含量最高(603.71  $\mu\text{g/L}$ ),同时接种的含量最低(532.28  $\mu\text{g/L}$ )。

**2.3.3 混合发酵对脂肪酸类物质含量的影响** 脂肪酸是葡萄酒复杂性和水果香气平衡的重要挥发性物质,也是发酵过程中酵母和乳酸菌代谢产生的副产物。本试验中检测到4种酸类:乙酸、辛酸、癸酸和己酸,顺序接种与对照组脂肪酸含量差异不大,同时接种含量最少,这与Azzolini等<sup>[35]</sup>的报道一致,即戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵后,脂肪酸含量显著降低。乙酸是发酵食品中特有的风味化合物,具有刺鼻的醋酸味,其中同时接种的含量最高达到16.5  $\mu\text{g/L}$ 。各处理组中酸类含量均低于阈值,降低了不良风味的影响。

## 2.4 主成分分析

不同接种方式香气物质的主成分分析如图2所示。其中PC1和PC2分别占57.1%和29.3%,累计贡献达到86.4%。根据不同接种方式,可以将其分为3类。

葡萄汁分布在PC1负极和PC2正极,棕榈酸乙酯(Y13)、反式-2-己烯-1-醇(Y20)、1-辛烯-3-醇(Y30)和正己醛(Y37)在汁中含量较高。SE分布在PC1正极和PC2的负极,与乙酸苯乙酯(Y3)、辛酸乙酯(Y5)、丁酸乙酯(Y8)、辛酸3-甲基丁酯(Y14)、正己醇(Y17)、苯乙醇(Y24)、异戊醇(Y25)、异丁醇(Y26)、D-香茅醇(Y27)、2,3-丁二醇(Y28)和己酸(Y34)等物质的相关性较强,主要

表2 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒挥发性香气成分含量的影响  
Table 2 Effect of mixed fermentation on the content of volatile aroma components in Marseelan dry red wine

香气物质	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				阈值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				OAV	气味描述
	葡萄汁	XR	SE	CO	XR	SE	CO	CO		
乙酸酯	ND	255.16 ± 2.45 <sup>a</sup>	103.44 ± 3.11 <sup>c</sup>	121.7 ± 2.95 <sup>b</sup>	7500	0.03	0.01	0.02	0.02	菠萝、清漆
Y1 乙酸乙酯	ND	255.16 ± 2.45 <sup>a</sup>	103.44 ± 3.11 <sup>c</sup>	121.7 ± 2.95 <sup>b</sup>	7500	0.03	0.01	0.02	0.02	菠萝、清漆
Y2 乙酸异戊酯	ND	788.54 ± 1.27 <sup>a</sup>	954.67 ± 14.17 <sup>c</sup>	499.41 ± 3.92 <sup>b</sup>	40	19.71	23.37	12.49	12.49	香蕉
Y3 乙酸苯乙酯	ND	ND	6.6 ± 0.05 <sup>a</sup>	ND	250	-	0.03	-	-	-
Y4 乙酸庚酯	ND	19.72 ± 2.67 <sup>a</sup>	3.94 ± 0.35 <sup>c</sup>	9.37 ± 0.52 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	玫瑰香气、杏仁味
合计	ND	1 063.42 ± 2.54 <sup>b</sup>	1 168.66 ± 9.34 <sup>a</sup>	800.48 ± 1.88 <sup>c</sup>	-	-	-	-	-	-
脂肪酸乙酯	ND	1 488.76 ± 66.72 <sup>a</sup>	988.77 ± 71.29 <sup>b</sup>	1 560.61 ± 35.17 <sup>a</sup>	580	2.57	1.7	2.69	2.69	白兰地、果香
Y5 辛酸乙酯	ND	1 488.76 ± 66.72 <sup>a</sup>	988.77 ± 71.29 <sup>b</sup>	1 560.61 ± 35.17 <sup>a</sup>	580	2.57	1.7	2.69	2.69	白兰地、果香
Y6 癸酸乙酯	ND	297.25 ± 4.35 <sup>b</sup>	184.49 ± 3.74 <sup>c</sup>	500.73 ± 11.66 <sup>a</sup>	200	1.49	0.92	2.5	2.5	果香、脂香
Y7 庚酸乙酯	ND	5.23 ± 0.07 <sup>c</sup>	8.74 ± 0.73 <sup>b</sup>	21.66 ± 0 <sup>a</sup>	300	0.02	0.03	0.07	0.07	新鲜果香
Y8 丁酸乙酯	ND	ND	4.81 ± 0.55 <sup>a</sup>	ND	400	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	苦杏仁味
Y9 己酸乙酯	ND	847.29 ± 2.35 <sup>a</sup>	765.09 ± 10.44 <sup>b</sup>	848.23 ± 5.94 <sup>a</sup>	80	10.59	9.56	10.6	10.6	香蕉、青苹果
Y10 十二酸乙酯	ND	54.73 ± 0.67 <sup>b</sup>	19 ± 3.71 <sup>c</sup>	86.91 ± 3.2 <sup>a</sup>	330	0.17	0.06	0.26	0.26	花瓣温和香气
Y11 十四酸乙酯	ND	3.16 ± 0.52 <sup>b</sup>	ND	5.75 ± 0.61 <sup>a</sup>	800	-	<0.01	0.01	0.01	鸚尾油香气
Y12 9-癸烯酸乙酯	ND	178.94 ± 3.39 <sup>b</sup>	33.43 ± 4.22 <sup>c</sup>	197.77 ± 7.01 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-
Y13 棕榈酸乙酯	5.38 ± 0.37	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-
合计	5.38 ± 0.37	2 875.36 ± 54.34 <sup>b</sup>	2 896.34 ± 45.34 <sup>b</sup>	3 221.67 ± 34.33 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-
其它酯	ND	ND	6.38 ± 0.21 <sup>a</sup>	ND	-	-	-	-	-	-
Y14 辛酸 3-甲基丁酯	ND	ND	6.38 ± 0.21 <sup>a</sup>	ND	-	-	-	-	-	-
Y15 丁酸香茅酯	ND	ND	ND	1.27 ± 0.07 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-
Y16 丙酸-2-苯乙酯	ND	ND	12.46 ± 2.3 <sup>a</sup>	ND	-	-	-	-	-	-
合计	ND	ND	18.84 ± 1.33 <sup>a</sup>	1.27 ± 0.07 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-
酯类	5.38 ± 0.65	3 938.78 ± 80.45 <sup>c</sup>	4 083.84 ± 70.48 <sup>a</sup>	4 023.42 ± 69.48 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-
Y17 正己醇	151.73 ± 2.44	554.54 ± 1.56 <sup>b</sup>	603.71 ± 7.13 <sup>a</sup>	528.76 ± 4.37 <sup>c</sup>	5 200	0.11	0.12	0.1	0.1	青草味
Y18 (E)-3-己烯-1-醇	2.25 ± 0.05	10.92 ± 1.42 <sup>a</sup>	ND	3.63 ± 1.1 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-
Y19 3-己烯-1-醇	ND	9.2 ± 0.28 <sup>a</sup>	ND	ND	-	-	-	-	-	-
Y20 反式-2-己烯-1-醇	55.74 ± 1.83	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-
合计	209.71	574.65 ± 1.22 <sup>b</sup>	603.71 ± 7.13 <sup>a</sup>	532.38 ± 3.26 <sup>c</sup>	-	-	-	-	-	-

(续表 2)

香气物质	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				阈值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			OAV	气味描述
	葡萄酒	XR	SE	CO	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	XR	SE		
高级醇	ND	$82.81 \pm 1.4^a$	$55.16 \pm 4.36^c$	$71.8 \pm 2.8^b$	1 000	0.08	0.06	0.07	
Y21 庚醇	ND	$82.81 \pm 1.4^a$	$55.16 \pm 4.36^c$	$71.8 \pm 2.8^b$	1 000	0.08	0.06	0.07	
Y22 1-壬醇	ND	$1.63 \pm 0.03^a$	ND	ND	2 500	-	-	-	
Y23 1-癸醇	ND	$4.72 \pm 0.31^a$	ND	$3.92 \pm 0.4^b$	58	0.08	-	0.07	
Y24 苯乙醇	ND	$145.61 \pm 1.97^c$	$284.76 \pm 19.63^a$	$193.8 \pm 16.2^b$	14 000	0.01	0.02	0.01	玫瑰花香
Y25 异戊醇	ND	$1 980.5 \pm 51.31^b$	$2 969.75 \pm 56.49^a$	$2 197.42 \pm 53.89^b$	30 000	0.07	0.1	0.07	溶剂味
Y26 异丁醇	ND	$61.39 \pm 1.77^b$	$111.85 \pm 4.21^a$	$59.4 \pm 3.16^b$	40 000	<0.01	<0.01	<0.01	生青
Y27 D-香茅醇	ND	ND	$7.1 \pm 0.15^a$	$3.49 \pm 0.24^b$	-	-	-	-	
Y28 2,3-丁二醇	ND	ND	$8.23 \pm 1.23^a$	$10.6 \pm 3.64^a$	120 000	<0.01	<0.01	<0.01	黄油
Y29 1-辛醇	ND	$17.86 \pm 0.68^a$	ND	$15.92 \pm 1.42^b$	120	0.15	<0.01	0.13	茉莉、柠檬味
Y30 1-辛烯-3-醇	$2.41 \pm 0.03$	ND	ND	ND	-	-	-	-	
合计	$2.41 \pm 0.03$	$2 869.17 \pm 34.44^c$	$4 040.57 \pm 68.25^a$	$3 088.74 \pm 43.65^b$					
合计	$212.13 \pm 5.47$	$2 869.17 \pm 45.57^c$	$4 040.57 \pm 50.48^a$	$3 088.74 \pm 61.24^b$					
脂肪酸	$1.85 \pm 0.48$	$12.49 \pm 1.79^a$	$11.13 \pm 0.59^a$	$16.56 \pm 4.53^a$	200 000	<0.01	<0.01	<0.01	醋味
Y31 乙酸	$1.85 \pm 0.48$	$12.49 \pm 1.79^a$	$11.13 \pm 0.59^a$	$16.56 \pm 4.53^a$	200 000	<0.01	<0.01	<0.01	醋味
Y32 辛酸	ND	$44.53 \pm 1.17^b$	$50.06 \pm 1.15^a$	$28.99 \pm 0.8^c$	500	0.09	0.1	0.06	酸腐味、脂肪味
Y33 癸酸	ND	$16.21 \pm 0.32^a$	ND	ND	1 000	0.02	<0.01	<0.01	脂肪味
Y34 己酸	$2.6 \pm 0.31$	$30.12 \pm 1.61^b$	$42.45 \pm 1.38^a$	$31.54 \pm 0.29^b$	420	0.07	0.1	0.08	脂肪味
合计	$4.45 \pm 0.22$	$103.34 \pm 2.15^a$	$103.63 \pm 2.24^a$	$77.09 \pm 1.95^b$					
酚类	ND	ND	$5.31 \pm 0.18^a$	ND	200	<0.01	0.03	<0.01	
Y35 2,4-二叔丁基苯酚	ND	ND	$5.31 \pm 0.18^a$	ND	200	<0.01	0.03	<0.01	
Y36 2,5-二叔丁基酚	ND	ND	$3.31 \pm 0.17^a$	$3.70 \pm 0.12^a$	-	-	-	-	
合计	ND	ND	$8.62 \pm 0.15^a$	$3.70 \pm 0.11^b$					
醛类	$62.6 \pm 0.82$	ND	ND	ND	-	-	-	-	脂肪和草味
Y37 正己醛	$62.6 \pm 0.82$	ND	ND	ND	-	-	-	-	脂肪和草味
Y38 反式-2-己烯醛	$273.85 \pm 3.02$	ND	ND	ND	-	-	-	-	
合计	$336.46 \pm 2.24$	ND	ND	ND					
合计	$558.41 \pm 12.34$	$6 199.29 \pm 70.88^c$	$8 236.66 \pm 78.34^a$	$7 192.95 \pm 58.33^b$					

注:ND. 未检测到该物质;- . 未查到该阈值;不同字母代表差异性显著( $P<0.05$ )。

是为葡萄酒贡献比较浓郁的果香和花香。XR 和 CO 分布在 PC1 和 PC2 的正极, 同时接种葡萄酒中一些重要酯类如己酸乙酯 (Y9)、十二酸乙酯 (Y10)、丁酸香茅酯 (Y15) 和乙酸 (Y31) 的含量较高; 而 XR 中乙酸己酯 (Y1)、乙酸庚酯 (Y4)、(E)-3-己烯-1-醇 (Y18)、3-己烯-1-醇 (Y19)、1-壬醇 (Y22)、1-癸醇 (Y23)、1-辛醇 (Y29)、癸酸 (Y33) 含量较高。以上表明不同接种方式发酵可以改变葡萄酒的香气轮廓, 提升葡萄酒香气的复杂性。

## 2.5 混合发酵对马瑟兰干红葡萄酒感官品质的影响

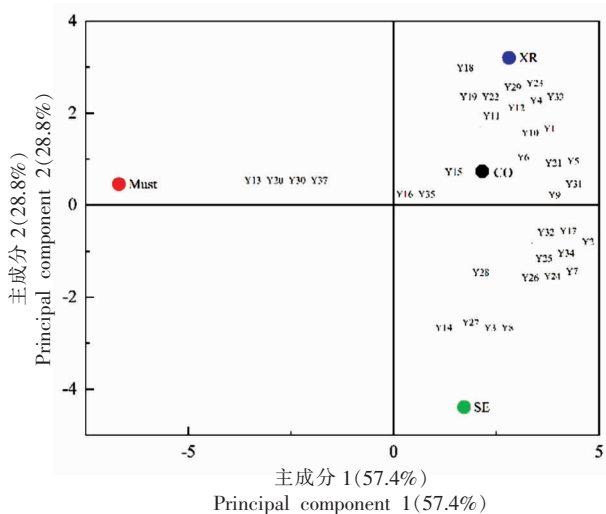


图 2 香气化合物主成分分析的因子载荷图

Fig.2 Factor load diagram of principal component analysis of aroma compounds

## 3 结论

本文主要研究戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母顺序和同时接种对马瑟兰葡萄酒品质的影响。3 个试验组的葡萄酒均能完成酒精发酵, 残糖、总酸、酒精度均达到国家标准。戴尔有孢圆酵母混合发酵较对照组显著降低了苹果酸和酒石酸含量, 增加了琥珀酸和柠檬酸含量。在香气方面, 戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵显著提高了马瑟兰葡萄酒中酯类和醇类含量。同时接种处理组的脂肪酸乙酯类含量最高, 顺序接种乙酸酯和醇类含量明显高于其它处理组, 尤其是乙酸异戊酯、正己醇、苯乙醇、异戊醇和异丁醇等物质, 赋予马瑟兰葡萄酒花果香味。感官评价表明顺序发酵能够增

加葡萄酒香气, 改善葡萄酒口感。综上所述, 戴尔有孢圆酵母和酿酒酵母顺序接种发酵能够有效改善马瑟兰葡萄酒的风味品质, 为其在马瑟兰葡萄酒生产中的应用提供理论依据<sup>[1]</sup>。

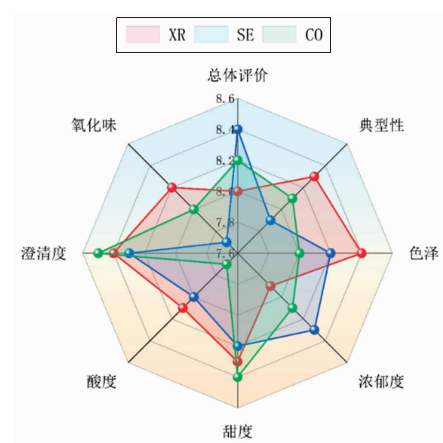


图 3 马瑟兰干红葡萄酒感官雷达图

Fig.3 Sensory radar of Marselan dry red wine

## 参 考 文 献

- [1] LI M M, GUO Z J, NAN J, et al. Evaluation of eight rootstocks on the growth and berry quality of 'Marselan' grapevines[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 248: 58-61.
- [2] 王舒伟, 马雪蕾, 马银凤, 等. '马瑟兰'葡萄在我国的栽培表现及研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2019(3): 66-70.

- WANG S W, MA X L, MA Y F. et al. Cultivation performance and research progress on 'Marselan' grapevine in China[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2019(3): 66-70.
- [3] LU Y, SUN F, WANG W X, et al. Effects of spontaneous fermentation on the microorganisms diversity and volatile compounds during 'Marselan' from grape to wine[J]. LWT, 2020, 134: 110193.
- [4] LYU J, MA Y, XU Y, et al. Characterization of the key aroma compounds in Marselan wine by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission tests[J]. Molecules, 2019, 24(16): 2978.
- [5] 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.
- [6] LIU S, LAAKSONEN O, YANG B. Volatile composition of bilberry wines fermented with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts in pure, sequential and simultaneous inoculations[J]. Food Microbiology, 2018, 80(6): 25-39.
- [7] 宿萌, 李蕊蕊, 王欢, 等. 戴尔有孢圆酵母对品丽珠和马瑟兰葡萄酒香气物质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(21): 62-69.
- SU M, LI R R, WANG H, et al. Effects of *Torulaspota delbrueckii* on the aroma compounds of Cabernet Franc and Marselan wines[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(21): 62-69.
- [8] 谭玉岩, 郝宁. 酿酒酵母与非酿酒酵母混合发酵对果酒品质的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(8): 353-359.
- TAN Y Y, HAO N. Effect of mixed fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces cerevisiae* on fruit wine quality[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(8): 353-359.
- [9] 尹雪林, 龚丽娟, 钟武, 等. 戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵对猕猴桃酒香气的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(22): 216-223.
- YIN X L, GONG L J, ZHONG W, et al. Effect of mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* on the aroma of kiwifruit wine[J]. Food Science, 2021, 42(22): 216-223.
- [10] 陈景桦, 马小琛, 李婷, 等. 优选发酵毕赤酵母与酿酒酵母混合发酵的葡萄酒酿造应用潜力[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(5): 26-34.
- CHEN J H, MA X C, LI T, et al. Evaluating application potential of mixed fermentation with *Pichia fermentans* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 36(5): 26-34.
- [11] 崔艳, 刘尚, 邓琪缘, 等. 葡萄汁有孢汉逊酵母与酿酒酵母混酿低醇葡萄酒[J]. 食品工业, 2020, 41(8): 60-64.
- CUI Y, LIU S, DENG Q Y, et al. Mixed fermentation of *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* for low alcohol white wine[J]. The Food Industry, 2020, 41(8): 60-64.
- [12] AZZOLINI M, TOSI E, LORENZINI M, et al. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspota delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(2): 1-17.
- [13] MARCON A R, SCHWARZ L V, DUTRA S V, et al. Contribution of a Brazilian *Torulaspota delbrueckii* isolate and a commercial *Saccharomyces cerevisiae* to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato Branco wines[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2018, 24(4): 461-468.
- [14] 宋茹茹, 段卫朋, 祝霞, 等. 戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母顺序接种发酵对干红葡萄酒香气的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(24): 1-9.
- SONG R R, DUAN W P, ZHU X, et al. Effects of sequential inoculation with *Torulaspota delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on aroma profile of dry red wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(24): 1-9.
- [15] 梁冬梅, 李记明, 林玉华. 分光光度法测葡萄酒的色度[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2002(3): 9-10, 13.
- LIANG D M, LI J M, LIN Y H. Measuring the color of red wine by a spectrophotometer[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2002(3): 9-10, 13.
- [16] 夏亚男, 王颀. 红枣白兰地陈酿期间香气成分的变化规律研究[J]. 食品工业, 2014, 35(10): 243-247.
- XIA Y N, WANG J. Changes of aroma components in jujube brandy during aging process[J]. The Food Industry, 2014, 35(10): 243-247.
- [17] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中有机酸的测定: GB 5009.157-2016[S]. 北京:



- 中国标准出版社, 2017: 1-5.
- National Health and Family Planning Commission. National food safety standards determination of food organic acids: GB 5009.157-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 1-5.
- [18] WEI J P, ZHANG Y X, WANG Y W, et al. Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non-*Saccharomyces yeasts* in pure and mixed fermentations[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 318: 108471.
- [19] MORATA A, ESCOTT C, LOIRA I, et al. Influence of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in the formation of pyranoanthocyanins and polymeric pigments during red wine making[J]. Molecules, 2019, 24(24): 1-18.
- [20] WEI J P, ZHANG Y X, YUAN Y H, et al. Characteristic fruit wine production via reciprocal selection of juice and non-*Saccharomyces* species[J]. Food Microbiology, 2018, 79: 66-74.
- [21] BELDA I, NAVASCUÉS E, MARQUINA D, et al. Dynamic analysis of physiological properties of *Torulaspota delbrueckii* in wine fermentations and its incidence on wine quality[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99(4): 1911-1922.
- [22] MARTÍN-GARCÍA A, BALMASEDA A, BORDONS A, et al. Effect of the inoculation strategy of non-*Saccharomyces* yeasts on wine malolactic fermentation[J]. OENO One, 2020, 54(1): 101-108.
- [23] BALMASEDA A, ROZÈS N, BORDONS A, et al. *Torulaspota delbrueckii* promotes malolactic fermentation in high polyphenolic red wines[J]. LWT- Food Science and Technology, 2021, 148(4): 111777.
- [24] CHEN K, ESCOTT C, LOIRA I, et al. Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: Influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines[J]. Food Microbiology, 2018, 69(2): 51.
- [25] ZHANG B Q, LUAN Y, DUAN C Q, et al. Use of *Torulaspota delbrueckii* co-fermentation with two *Saccharomyces cerevisiae* strains with different aromatic characteristic to improve the diversity of red wine aroma profile[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 606.
- [26] 耿仕瑾, 姜娇, 曲睿, 等. 戴尔有孢圆酵母调控晚采小芒森葡萄酒乙酸和香气[J]. 农业工程学报, 2021, 37(7): 293-300.
- GENG S J, JIANG J, QU R, et al. Managing volatile acidity and aroma of Petit Manseng wine using *Torulaspota delbrueckii*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37(7): 293-300.
- [27] LYUMUGABE F, IYAMARERE I, KAYITARE M, et al. Volatile aroma compounds and sensory characteristics of traditional banana wine 'Urwagwa' of Rwanda[J]. Rwanda Journal, 2018, 2(1): 1-24.
- [28] JULIANE E W, MAURO Z, MARCELO L, et al. Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine[J]. Food Research International, 2014, 59(1): 85-99.
- [29] WANG S W, LU Y, FU X F, et al. Sequential fermentation with *Torulaspota delbrueckii* and selected *Saccharomyces cerevisiae* for aroma enhancement of Longyan dry white wine[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2021, 57(1): 576-589.
- [30] 原苗苗, 姜凯凯, 孙玉霞, 等. 戴尔有孢圆酵母对葡萄酒香气的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 99-105.
- YUAN M M, JIANG K K, SUN Y X, et al. Effects of *Torulaspota delbrueckii* on wine aroma[J]. Food Science, 2018, 39(4): 99-105.
- [31] HAZELWOOD L A, DARAN J M, MARIS A, et al. The ehrlich pathway for fusel alcohol production: A century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(12): 2259-2266.
- [32] 胡苑, 王雅静, 张敏, 等. 4种酿酒酵母对马瑟兰干红葡萄酒香气成分的影响[J]. 酿酒科技, 2021(7): 41-48.
- HU Y, WANG Y J, ZHANG M, et al. Effects of four different yeasts on the aroma components of Marselan dry red wine[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2021(7): 41-48.
- [33] 祝霞, 王媛, 刘琦, 等. 混菌发酵对贵人香低醇甜白葡萄酒的香气影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(4): 95-102.
- ZHU X, WANG Y, LIU Q, et al. Effects of co-fermentation on the aroma of Italian Riesling low-alcohol sweet white wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(4): 95-102.

- [34] 苗丽平, 赵新节, 董书甲, 等. 商业酵母对马瑟兰干红葡萄酒香气成分的影响[J]. 中国酿造, 2016, 35(10): 56–61.  
MIAO L P, ZHAO X J, DONG S J, et al. Effects of commercial yeasts starter on aroma components of Marselan dry red wine[J]. China Brewing, 2016, 35(10): 56–61.
- [35] AZZOLINI M, EDRIZZI B F, TOSI E, et al. Effects of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed cultures on fermentation and aroma of Amarone wine[J]. European Food Research and Technology, 2012, 235(2): 303–313.

### Effects of Mixed Fermentation of *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on Flavor Quality of Marselan Dry Red Wine

Jia Shikuan<sup>1</sup>, Liu Yaqiong<sup>1</sup>, Chen Jiawei<sup>2</sup>, Yang Xuewei<sup>2</sup>, Fu Xiaofang<sup>2</sup>, Wang Jie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, Hebei

<sup>2</sup>China Great Wall Wine Co., Ltd., Zhangjiakou 075400, Hebei)

**Abstract** In order to study the effect of mixed fermentation on the flavor quality of marselan wine, single inoculation of *Saccharomyces cerevisiae* was used as the control group, and *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* were inoculated simultaneously and sequentially as the treatment group. The volatile aroma components were determined by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), the content of organic acids was determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and the sensory evaluation of the wine was carried out. The results showed that compared with the control, the residual sugar content of mixed fermentation decreased by 0.03–0.46 g/L, and the total acid content decreased by 0.30–0.93 g/L. Malic acid and tartaric acid in mixed fermented wine samples decreased significantly ( $P<0.05$ ); Sequential and simultaneous inoculation with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* significantly increased the contents of esters and alcohols in marselan wine ( $P<0.05$ ). The contents of acetate and alcohol compounds inoculated in sequence are high ( $P<0.05$ ), especially isoamyl acetate, hexyl alcohol, phenethyl alcohol, isoamyl alcohol and isobutyl alcohol. Principal component analysis showed that mixed fermentation could change the aroma profile of wine and enhance the complexity of wine; Sensory evaluation showed that sequential inoculation scored the highest. Conclusion: Sequential inoculation and fermentation can effectively improve the flavor quality of Marselan wine.

**Keywords** *Torulaspora delbrueckii*; mixed fermentation; organic acid; aroma components; Marselan wine