

## 小片球菌苹果酸-乳酸发酵对不同品种葡萄酒风味的影响

浩 楠, 马腾臻\*, 强文乐

(甘肃农业大学食品科学与工程学院 甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室  
甘肃省葡萄与葡萄酒产业技术研发中心 兰州 730070)

**摘要** 苹果酸-乳酸发酵是影响红葡萄酒稳定性及风味品质的重要环节。近年来本土乳酸菌的筛选和应用越来越受到研究者和酿酒师的重视。以甘肃河西走廊葡萄酒产区筛选的野生小片球菌 C30 为供试菌株, 探究其在不同品种葡萄酒苹果酸-乳酸发酵过程中的动力学参数, 以及对葡萄酒理化指标、挥发性香气化合物和感官品质的影响。结果表明: 小片球菌 C30 和商品乳酸菌可在 12~36 d 完成苹果酸-乳酸发酵(黑比诺和美乐 12~18 d, 赤霞珠 21~36 d), 所得酒样的残糖、酒精度、总酸和挥发酸等理化指标均符合国家标准要求。C30 菌株发酵的黑比诺和赤霞珠葡萄酒中酯类和醇类香气物质含量显著高于对照酒样, 使得酒样呈现出更为浓郁的果香和花香风味。感官评价结果显示, 小片球菌 C30 发酵的赤霞珠酒样香气最为浓郁优雅, 酒体醇厚协调, 表明该菌株具有酿造产区特色干红葡萄酒的潜力。

**关键词** 葡萄酒; 苹果酸-乳酸发酵; 发酵动力学; 挥发性化合物; 感官评价

**文章编号** 1009-7848(2024)04-0186-13    **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.018

葡萄酒酿造由酵母菌主导的酒精发酵(Alcoholic fermentation) 和乳酸菌主导的苹果酸-乳酸发酵(Malolactic fermentation, MLF)构成<sup>[1]</sup>。其中, MLF 作为葡萄酒的“二次发酵”, 不仅可以将尖酸的 L-苹果酸转化为较柔和的 L-乳酸, 降低总酸度, 而且可以改善葡萄酒的口感, 丰富葡萄酒的风味, 并增加其生物稳定性<sup>[1-2]</sup>。目前, 可在葡萄酒中进行苹果酸-乳酸发酵的乳酸菌主要是酒球菌属(*Oenococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)和片球菌属(*Pediococcus*)<sup>[3]</sup>, 其中酒类酒球菌(*Oenococcus oeni*)因能较好地耐受葡萄酒严苛生境而被广泛使用<sup>[4]</sup>。然而, 商品乳酸菌的过度使用加剧了我国不同产区葡萄酒品质同质化严重的现象, 为更好地呈现和塑造具有地域特色的葡萄酒, 本土乳酸菌被越来越多地用于产区特色风格葡萄酒的酿造中<sup>[5]</sup>。

片球菌也是进行苹果酸-乳酸发酵的主要乳酸菌, 尽管过去研究认为片球菌属是葡萄酒的腐败菌, 可能会引起葡萄酒黏稠、损失葡萄酒颜色并产生不良风味物质<sup>[6-7]</sup>。Juega 等<sup>[8]</sup>在 Albariño 和 Caino 葡萄酒中使用本土有害片球菌(*Pediococcus*

*damnosus*)进行 MLF, 结果发现酿造的葡萄酒酒香浓郁, 具有蜂蜜香气, 符合产区葡萄酒的特殊风格。在前期研究中, 本课题组获得 1 株具有优良酿造特性的小片球菌 C30<sup>[3]</sup>, 进一步研究表明在酒精发酵的早、中、后期接种该菌株均可完成 MLF, 缩短葡萄酒的发酵时间, 然而在酒精发酵后期接种所得葡萄酒的品质最佳<sup>[9]</sup>。作为 1 株新筛选和鉴定的本土菌株, 小片球菌 C30 在当地主栽酿酒葡萄品种中的发酵特性以及对所得葡萄酒成分影响的研究还未见报道。

本试验以甘肃河西走廊产区主栽酿酒葡萄品种——黑比诺、美乐和赤霞珠为原料, 按照传统发酵方式将小片球菌 C30 分别接种于酒精发酵结束的葡萄原酒中, 并以商品菌株 OMEGA 与 VP41 为对照启动 MLF, 探究其在不同品种葡萄酒苹乳发酵过程中的发酵动力学参数, 以及对葡萄酒理化指标、挥发性香气化合物和感官品质的影响, 以期为产区特色葡萄酒酿造提供理论依据与技术支持。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料与试剂

葡萄原料采自甘肃莫高实业发展股份有限公司葡萄园, 黑比诺(Pinot Noir)含糖量约为 22.0~22.2 °Brix; 美乐(Merlot)含糖量约为 24.1~24.3 °Brix; 赤霞珠(Cabernet Sauvignon)含糖量约为

收稿日期: 2023-08-05

基金项目: 甘肃省自然科学基金青年基金项目(20JR10RA551)

第一作者: 浩楠, 女, 博士生

通信作者: 马腾臻 E-mail: matengzhen@hotmail.com

26.2~26.4 °Brix。

酿酒酵母(LALVIN BM4X4)、商品酒酒球菌(*O. oeni*)OMEGA 和 VP41, 法国 Lallemand 公司; 小片球菌(*P. parvulus*)C30 由本实验室筛选。果胶酶(Cuvee Blanc), 法国 Lallemand 公司; 2-辛醇(色谱纯)、福林酚(Folin&Ciocalteu's phenol)、福林丹尼斯(Folin-Denis), 美国 Sigma 公司; *L*-苹果酸、*L*-乳酸含量测定试剂盒, 爱尔兰 Megazyme 公司; 蛋白胨、酵母浸粉、无水葡萄糖等其它试剂, 天津市光复精细化工研究所。

## 1.2 仪器与设备

TRACE 1310 气相色谱-质谱联用仪、Genesis 10S 紫外-可见分光光度仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 固相微萃取装置、萃取头(DVB/CAR/PDMS), 美国 Surpelo 公司; 气相色谱柱 DB-WAX (60 m×2.5 mm×0.25 μm), 美国 Agilent Technologies 公司; SX-500 高压蒸汽灭菌锅, 日本 TOMEY 公司; 827 型 pH 计, 上海雷磁公司; SW-CJ-1FD 超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; SPX-150-II 生化培养箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司; WineScan 葡萄酒成分分析仪, 丹麦 FOSS 公司。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 酿造试验** 葡萄酒酿造: 选取优质黑比诺、美乐和赤霞珠葡萄, 除梗破碎后分装于 5 L 发酵罐中, 添加 40 mg/L SO<sub>2</sub>(以偏重亚硫酸钾形式计) 及 20 mg/L 果胶酶, 20 °C 浸渍 12 h 后, 接种 0.2 g/L 酿酒酵母 BM4X4 并于 25 °C 下进行酒精发酵, 残糖低于 4 g/L 时终止发酵(约 10 d), 分离皮渣, 然后将小片球菌 C30、酒酒球菌 OMEGA 和 VP41 按 10<sup>7</sup> CFU/mL 接种量接种于自流酒中进行苹果酸-乳酸发酵(20 °C, 约 15 d)。苹乳发酵结束后倒罐去除酒泥, 过滤灌装, 并于酒窖中贮存备用。所有试验均设置 3 个重复。

**1.3.2 发酵动力学测定** 菌落总数监测: 采用平板计数法<sup>[10]</sup>进行计数, 每 3 d 取 1 次样, 用 0.85% 的生理盐水以 10 倍梯度稀释。吸取 100 μL 10<sup>-4</sup>~10<sup>-7</sup> 的菌株稀释液, 涂布于添加 50 mg/L 放线菌酮的 ATB 培养基上, 26 °C 培养 5 d 后进行计数, 菌落总数以菌落形成单位(CFU/mL)表示。

***L*-苹果酸和 *L*-乳酸含量监测:** 采用试剂盒

(ZME-K-LMAL-58A 和 ZME-K-LATE) 进行测定, 每 3 d 取 1 次样, 将待测酒样以 1:10 的比例进行稀释后, 用 96 孔微孔板在波长 340 nm 下进行分析, 根据公式进行计算:  $g/L = (\Delta A_{sample} \times 0.15 \times F) / \Delta A_{standard}$ , 结果以 g/L 表示, 标准 *L*-苹果酸和 *L*-乳酸的质量浓度为 0.15 mg/mL, *F* 为稀释倍数<sup>[11]</sup>。

**1.3.3 葡萄酒理化指标的测定** 残糖、总酸(以 g/L 酒石酸计)、挥发酸(以 g/L 乙酸计)、pH 值和酒精度(以% V/V 计), 由 WineScan 葡萄酒成分分析仪测定。

**单宁的测定:** 采用福林-丹尼斯(Folin-Denis) 法测定<sup>[12]</sup>, 根据标准曲线方程( $y = 0.7194x + 0.0198$ ,  $R^2 = 0.9938$ )计算单宁含量(mg/L)。

**总酚的测定:** 采用福林酚(Folin-Ciocalteu) 法测定<sup>[12]</sup>, 根据标准曲线方程( $y = 1.2302x - 0.015$ ,  $R^2 = 0.9959$ )计算总酚含量(mg/L)。

**总花色苷的测定:** 采用 pH 示差法测定<sup>[13]</sup>, 酒样总花色苷含量  $W$  (mg/L) =  $(A \times MW \times DF \times 1000) / (\varepsilon \times 1)$ ,  $A = (A_{520} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4.5}$ , MW 为二甲花翠素葡萄糖苷相对分子量 493.5, DF 为稀释倍数;  $\varepsilon$  为二甲花翠素葡萄糖苷的消光系数 28 000。

**色度、色调测定:** 用 0.1 mm 比色皿分别测定酒样在波长 420, 520, 620 nm 处的吸光度值, 定义为  $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ , 酒样的色度值为  $A_1$ 、 $A_2$  与  $A_3$  之和, 酒样的色调值为  $A_1/A_2$ <sup>[14]</sup>。

**柔和指数<sup>[15]</sup>:**  $S = A - (T+C)$ , 式中,  $S$ —样品柔和指数;  $A$ —酒精度(体积分数), %;  $T$ —总酸含量, g/L;  $C$ —单宁含量, g/L。

**1.3.4 葡萄酒香气成分测定** 将 8 mL 酒样、10 μL 内标(81.06 μg/L 2-辛醇)和 1.5 g 氯化钠加入 20 mL 带有转子的顶空瓶中, 萃取结束后使用气相色谱-质谱联用仪检测<sup>[16]</sup>。色谱条件: 氮气载气, 流速 1.5 mL/min; 初始温度 40 °C, 保持 5 min, 2 °C/min 升至 130 °C, 5 °C/min 升至 220 °C 并保持 10 min。质谱条件: 电子轰击离子源(EI), 电子能量 70 eV, 传输线和离子源温度分别为 220 °C 和 250 °C, 质谱扫描范围  $m/z$  50~350。香气物质的定性分析通过保留指数(RI)和 NIST-11、Wiley 及香精香料谱库检索比对定性, 采用内标法进行半定量分析。香气物质的质量浓度:  $X$  (μg/L) =  $A \times C \times 1 / A_0$ ,

$A$ ——测得香气物质的峰面积;  $C$ ——内标物的质量浓度,  $\mu\text{g}/\text{L}$ ;  $A_0$ ——测得内标物的峰面积。

1.3.5 葡萄酒感官评价 参照 Ribeiro 等<sup>[17]</sup>的方法,选择 13 名经过葡萄酒品鉴培训的老师和学生进行评定,分别从 10 个属性:外观(澄清度和颜色强度)、香气(浓郁度、复杂性、果香和花香)和口感(酸度、涩味、持久性和平衡性)进行评价。采用十点强度量进行量化,0~10 表示感觉强烈程度逐渐增大,评价结果以雷达图呈现。

#### 1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据统计,IBM SPSS Statistics 19.0 进行数据的差异显著性分析(多因素方差分析,Duncan 法, $P<0.05$ ),主成分分析和图表绘制使用 GraphPad Prism 9.0 软件。

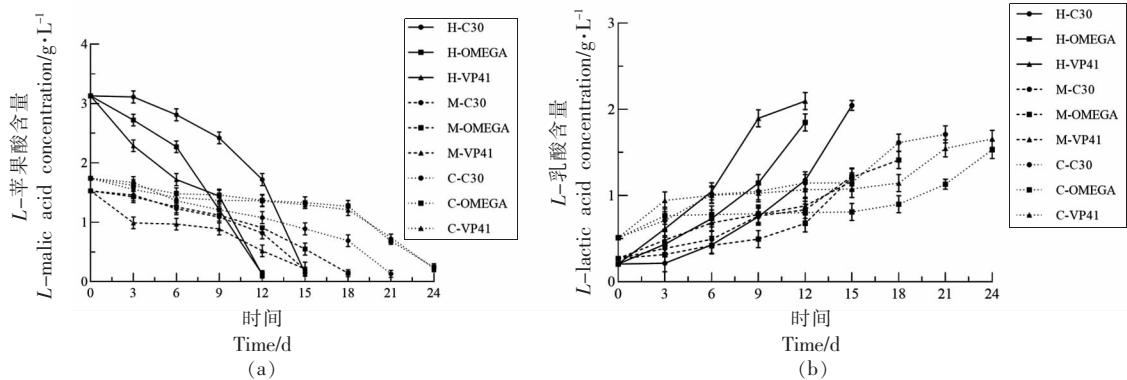


图 1 MLF 发酵中  $L$ -苹果酸(a)和  $L$ -乳酸(b)含量变化  
Fig.1 Kinetics of  $L$ -malic acid (a) and  $L$ -lactic acid (b) during MLF

2.1.2 菌株生物量分析 对不同品种葡萄酒 MLF 过程中菌体数量进行监测,结果如图 2 所示,菌体数量呈先下降后上升再下降的趋势。发酵第 3 天,黑比诺葡萄酒中菌落总数为  $10^6 \text{ CFU/mL}$ , 美乐和赤霞珠葡萄酒中为  $10^4 \text{ CFU/mL}$ , 这可能是由于发酵初期葡萄酒环境对乳酸菌的抑制作用所致<sup>[21-22]</sup>。就发酵时间而言, 小片球菌 C30 在黑比诺葡萄酒中完成 MLF 的时间(15 d)比 OMEGA 和 VP41(12 d)长;然而在美乐葡萄酒中的时间(15 d)与 VP41(15 d)相同,比 OMEGA(18 d)短;在赤霞珠葡萄酒中的时间(21 d)优于 OMEGA 和 VP41(24 d),表明上述菌株均可在较短时间内完成革乳发酵,而发酵时间受葡萄品种的影响较大。

## 2 结果与分析

### 2.1 苹果酸-乳酸发酵动力学分析

2.1.1  $L$ -苹果酸和  $L$ -乳酸含量变化 由图 1 可知,随着发酵时间的延长,  $L$ -苹果酸含量逐渐降低,  $L$ -乳酸含量逐渐升高。发酵结束后,小片球菌 C30 在黑比诺葡萄酒中  $L$ -苹果酸的含量为  $0.139 \text{ g/L}$ , 在美乐葡萄酒中  $L$ -苹果酸的含量为  $0.181 \text{ g/L}$ , 在赤霞珠葡萄酒中  $L$ -苹果酸的含量为  $0.150 \text{ g/L}$ , 这与 Capozzi 等<sup>[18]</sup>研究结果一致,即片球菌属菌株能够消耗  $L$ -苹果酸,最终质量浓度低于  $0.46 \text{ mg/L}$ 。此外,与商品菌株相比,小片球菌 C30 发酵所得赤霞珠葡萄酒中  $L$ -苹果酸的含量最低,黑比诺葡萄酒中  $L$ -乳酸含量最高,这种差异可能归因于不同菌株内在的苹果酸代谢相关酶活性差异,以及对不同葡萄品种的偏好性及对不同葡萄酒生境的适应性不同<sup>[8,19-20]</sup>。

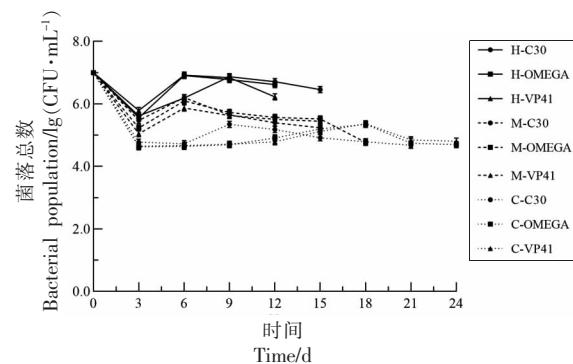


图 2 MLF 过程中菌株生物量变化  
Fig.2 The biomass of LAB strains during MLF

**2.2 不同品种葡萄酒理化参数分析** 试验所得葡萄酒的理化参数如表1所示,与未MLF酒样相比,MLF后酒样的残糖含量均有所减少,这可能与乳酸菌代谢有关<sup>[23]</sup>。挥发酸也是MLF发酵的主要监测指标,MLF后酒样挥发酸含量显著升高,新生成的挥发酸可能与柠檬酸的降解有关<sup>[24]</sup>。此外,MLF后酒样的总酸含量均有所降低,其中黑比诺与赤霞珠酒样中总酸含量显著下

降,pH值和柔和指数显著升高。Brizuela等<sup>[25]</sup>研究结果也表明,乳酸菌将二元L-苹果酸降解为一元L-乳酸,使得总酸含量下降,pH值升高。此外,MLF后酒样的色度值降低、色调值升高,单宁、总酚和总花色苷含量均有所降低,这与Lisov等<sup>[26]</sup>研究结果相近。与商品乳酸菌相比,小片球菌C30发酵的黑比诺和赤霞珠葡萄酒总花色苷含量显著较高。

表1 不同品种葡萄酒MLF后的理化指标  
Table 1 The physical-chemical parameters of different wine varieties after MLF

处理	残糖/g·L <sup>-1</sup>	酒精度/%(V/V)	挥发酸/g·L <sup>-1</sup>	总酸/g·L <sup>-1</sup>	pH	柔和指数	总酚/g·L <sup>-1</sup>	单宁/g·L <sup>-1</sup>	总花色苷/mg·L <sup>-1</sup>	色度	色调
<b>黑比诺</b>											
H-未MLF	3.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	12.23 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.44 ± 0.02 <sup>d</sup>	7.88 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.74 ± 0.07 <sup>c</sup>	1.38 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	108.62 ± 2.93 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>bc</sup>
H-C30	2.76 ± 0.05 <sup>b</sup>	12.23 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.02 <sup>c</sup>	6.22 ± 0.07 <sup>c</sup>	3.42 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.79 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.04 <sup>a</sup>	102.75 ± 2.29 <sup>b</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>b</sup>
H-OMEGA	2.74 ± 0.03 <sup>b</sup>	12.03 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.59 ± 0.05 <sup>b</sup>	3.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.29 ± 0.33 <sup>b</sup>	1.30 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.01 <sup>b</sup>	78.09 ± 2.83 <sup>d</sup>	0.39 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>c</sup>
H-VP41	3.06 ± 0.06 <sup>b</sup>	12.22 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.78 ± 0.35 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.28 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.28 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.16 ± 0.02 <sup>b</sup>	91.01 ± 0.89 <sup>c</sup>	0.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.01 <sup>a</sup>
<b>美乐</b>											
M-未MLF	3.13 ± 0.06 <sup>a</sup>	13.33 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.72 ± 0.14 <sup>a</sup>	3.28 ± 0.01 <sup>c</sup>	4.92 ± 0.40 <sup>b</sup>	2.51 ± 0.31 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.02 <sup>a</sup>	267.74 ± 0.35 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.03 <sup>b</sup>
M-C30	2.66 ± 0.05 <sup>b</sup>	13.38 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.09 ± 0.62 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.57 ± 0.16 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.62 ± 0.03 <sup>b</sup>	219.00 ± 5.28 <sup>c</sup>	1.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.01 ± 0.02 <sup>a</sup>
M-OMEGA	2.76 ± 0.04 <sup>b</sup>	13.28 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.19 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.40 ± 0.02 <sup>a</sup>	5.48 ± 0.61 <sup>a</sup>	2.47 ± 0.21 <sup>ab</sup>	1.61 ± 0.01 <sup>b</sup>	244.02 ± 1.42 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>b</sup>
M-VP41	2.78 ± 0.05 <sup>b</sup>	13.42 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.97 ± 0.42 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.81 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.29 ± 0.06 <sup>ab</sup>	1.64 ± 0.04 <sup>b</sup>	212.55 ± 7.76 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.00 ± 0.03 <sup>a</sup>
<b>赤霞珠</b>											
C-未MLF	3.14 ± 0.09 <sup>a</sup>	14.08 ± 0.32 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>c</sup>	7.07 ± 0.29 <sup>a</sup>	3.44 ± 0.03 <sup>c</sup>	3.63 ± 0.38 <sup>b</sup>	2.20 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.09 <sup>a</sup>	197.75 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.06 <sup>b</sup>
C-C30	3.02 ± 0.08 <sup>ab</sup>	14.77 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.25 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.81 ± 0.01 <sup>a</sup>	7.81 ± 0.52 <sup>a</sup>	1.94 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.58 ± 0.03 <sup>a</sup>	195.64 ± 0.54 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.03 <sup>a</sup>
C-OMEGA	2.97 ± 0.09 <sup>b</sup>	14.63 ± 0.46 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.81 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.72 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.38 ± 0.71 <sup>a</sup>	2.17 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	164.28 ± 1.94 <sup>c</sup>	1.12 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.01 <sup>a</sup>
C-VP41	3.10 ± 0.08 <sup>ab</sup>	14.13 ± 0.71 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.69 ± 0.19 <sup>b</sup>	3.74 ± 0.01 <sup>b</sup>	6.91 ± 0.51 <sup>a</sup>	1.96 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.53 ± 0.07 <sup>a</sup>	184.36 ± 3.35 <sup>b</sup>	1.20 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.70 ± 0.03 <sup>a</sup>

注:表中同一指标数据后不同字母表示样本量( $n=3$ )在 $P<0.05$ 水平上的显著性差异。

### 2.3 MLF 对不同品种葡萄酒挥发性化合物的影响

如表 2 所示,试验共检出 55 种香气化合物,包括酯类(22 种)、高级醇类(17 种)、脂肪酸类(5 种)、萜烯类(8 种)和醛类(3 种)。与 MLF 前相比,MLF 后 3 个品种葡萄酒的香气物质总量均升高,其中小片球菌 C30 在黑比诺和赤霞珠葡萄酒中的酯类(9 529.36 μg/L 和 11 075.12 μg/L)、醇类(13 153.49 μg/L 和 17 637.02 μg/L)和萜烯类(502.13 μg/L 和 401.69 μg/L)香气物质含量均显著高于商品菌株 OMEGA 和 VP41 发酵酒样,乙酸乙酯(菠萝、脂香,0.1<OAV<1)、辛酸乙酯(果香,OAV>1)、癸酸乙酯(脂肪味、花香,OAV>1)和 α-松油醇(清香、木香,0.1<OAV<1)的浓度显著升高。在美乐葡萄酒中,小片球菌 C30 酒样的香气物质总含量(29 380.00 μg/L)显著低于商品菌株酒样(OMEGA:38 062.57 μg/L,VP41:35 647.44 μg/L)。

酯类物质对葡萄酒果香和花香风味具有极大影响<sup>[21]</sup>。与商品菌株相比,小片球菌 C30 发酵所得黑比诺和赤霞珠葡萄酒中酯类含量最高,主要为丁酸乙酯、乙酸异戊酯,己酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯(OAV>1),可赋予葡萄酒更多花香、果香和乳香,分别占酯类总含量的 70.28% 和 62.33%;VP41 发酵酒样中酯类含量最低,占酯类总含量的 68.71% 和 60.33%。高级醇也是葡萄酒香气的主要组成部分,可赋予葡萄酒香气更为丰富的层次和复杂感<sup>[27-28]</sup>。OMEGA 菌株发酵所得美乐酒样中高级醇类物质含量最高,占香气物质总含量的 72.28%,主要包括戊醇、己醇、壬醇和苯乙醇,可能与 MLF 过程中菌株对苯丙氨酸、亮氨酸等氨基酸的分解代谢有关<sup>[29]</sup>。

脂肪酸类物质通常呈现奶酪味或腐臭味,其含量过高会掩盖葡萄酒的花香和果香香气<sup>[30]</sup>。小片球菌 C30 发酵酒样酸类物质总量最低,分别为黑比诺:1 679.61 μg/L;美乐:940.96 μg/L;赤霞珠:1 020.51 μg/L。虽然葡萄酒中的脂肪酸会带来脂肪、酸腐等不愉悦的风味,但当该类物质含量低于其阈值时,也会赋予葡萄酒奶香和乳酪香<sup>[27,29]</sup>。萜烯是葡萄酒中呈果香和花香的主要物质<sup>[30]</sup>,小片球菌 C30 发酵所得黑比诺和赤霞珠葡萄酒中萜烯类物质的总含量显著高于商品菌株,包括香茅醇、

金合欢醇、大马士酮、香叶基丙酮和 β-紫罗兰酮,可赋予葡萄酒柑橘香、百合花香、紫罗兰花香等特征香气;而在美乐葡萄酒中,C30 酒样萜烯类物质的总含量显著低于商品菌株。

为进一步探究香气化合物与菌株的相关性,选择气味活性值(Odor activity values,OAV)大于 0.1 的物质进行主成分分析,其中 PC1(39.31%)和(PC2)(34.86%)2 个主成分的累计方差贡献率达 74.17%,可解释原变量大多数变异信息。如图 3 所示,不同品种葡萄酒以及同一品种革乳发酵前、后酒样均可在 PCA 图中实现良好区分。黑比诺葡萄酒中,C30 发酵酒样处于 PC1 的正向限,主要与癸酸乙酯、辛酸乙酯、大马士酮、香叶基丙酮、金合欢醇、β-紫罗兰酮等物质相关,可呈现柠檬、柑橘和玫瑰花等香气。美乐葡萄酒中,C30 酒样与商品菌株酒样均处于 PC1 的负向限,主要与乙酸苯乙酯、水杨酸甲酯、壬醇和苯乙醇相关,可使葡萄酒呈现出玫瑰香、蔷薇香等特征。赤霞珠葡萄酒中,C30 酒样与商品菌株均处于 PC2 的正向端,与戊醇、己酸乙酯、乙酸乙酯和月桂酸乙酯相关性较大,可使葡萄酒呈现更多的菠萝味、酒香和果香。

### 2.4 感官分析

由图 4 可知,所有酒样外观均澄清透明,无明显的悬浮物,颜色明亮;香气分析显示,与原始酒样相比,MLF 后香气复杂性显著提升,其中小片球菌 C30 发酵的赤霞珠酒样香气最为浓郁、复杂;口感分析表明,MLF 后各酒样的酸味显著降低,酒体平衡性显著提升。与商品乳酸菌发酵酒样相比,小片球菌 C30 发酵的赤霞珠酒样香气浓郁度和复杂性最佳,酒体更加圆润丰满,表明小片球菌 C30 可用于不同品种葡萄酒革乳发酵,而在赤霞珠葡萄酒中表现最优。

试验将甘肃河西走廊产区筛选的优良乳酸菌-小片球菌 C30 应用于该产区主栽品种黑比诺、美乐和赤霞珠葡萄酒的 MLF 中,研究发现其在完成苹果酸-乳酸发酵的基础上,可对黑比诺和赤霞珠葡萄酒香气品质产生较为积极的影响。已有研究表明部分片球菌属菌株在酿造产区特色葡萄酒中的重要性<sup>[36-37]</sup>,降解 L-苹果酸,降低葡萄酒的酸涩口感并通过赋予葡萄酒特殊的花香、果香和蜂蜜味等提升香气的复杂性<sup>[8]</sup>。本试验结果证实了小

表2 不同品种葡萄酒MLF前后葡萄酒香气成分及含量  
Table 2 Volatile compounds concentration in different varieties of wine before and after MLF

(续表 2)

香气化合物	阈值 <sup>[31-35]</sup> / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	黑比诺含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				美乐含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				赤霞珠含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				OAV	香气描述
		H-未	MLF	H-C30	H-OMEGA	H-VPA1	M-未	MLF	M-C30	M-OMEGA	M-VP41	C-未	MLF	C-C30	C-OMEGA
水杨酸甲酯	40	ND	ND	ND	ND	ND	31.46 ±	23.43 ±	15.55 ±	2.35 ±	2.65 ±	2.30 ±	4.55 ±	>0.1	冬青叶香 <sup>[33]</sup>
乙酸苯乙酯	250	ND	ND	ND	ND	57.91 ±	63.49 ±	104.91 ±	76.27 ±	33.03 ±	44.81 ±	55.58 ±	103.70 ±	>0.1	花香、甜味 <sup>[32]</sup>
月桂酸乙酯	1 500	142.64 ±	243.06 ±	274.11 ±	255.60 ±	112.41 ±	146.36 ±	215.40 ±	135.20 ±	317.96 ±	448.60 ±	416.45 ±	427.61 ±	>0.1	花香 <sup>[32]</sup>
丁酸丁酯	100	ND	ND	ND	ND	3.59 ±	ND	ND	1.61 ±	ND	ND	ND	ND	<0.1	苦杏仁、青草 <sup>[31]</sup>
肉豆蔻酸乙酯	2 000	25.43 ±	35.36 ±	45.45 ±	91.82 ±	33.53 ±	23.40 ±	24.13 ±	21.76 ±	22.07 ±	40.53 ±	27.11 ±	31.14 ±	<0.1	香蕉、甜果味 <sup>[31]</sup>
十五酸乙酯	48	2.49 ±	0.72 ±	3.77 ±	3.63 ±	3.89 ±	0.20 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.47 <sup>b</sup>	0.57 <sup>c</sup>	1.31 <sup>d</sup>	0.30 <sup>a</sup>	1.28 <sup>c</sup>	0.23 <sup>b</sup>	脂肪味、水果味 <sup>[33]</sup>
苯甲酸-2-乙基己酯	0.21 <sup>b</sup>	0.32 <sup>c</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.26 <sup>b</sup>	0.27 <sup>c</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.27 <sup>c</sup>	0.46 <sup>b</sup>	0.46 <sup>c</sup>	0.13 <sup>b</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.01 <sup>ab</sup>	0.03 <sup>ab</sup>	草药、醇味 <sup>[33]</sup>
棕榈酸乙酯	1 000	5.39 ±	5.26 ±	5.29 ±	7.51 ±	8.20 ±	1.61 ±	3.66 ±	1.85 ±	0.59 ±	ND	ND	ND	<0.1	香蕉 <sup>[32]</sup>
总量	5 543.54 ±	9 529.36 ±	8 811.63 ±	7 320.06 ±	4 915.19 ±	8 367.82 ±	8 970.15 ±	7 383.52 ±	6 281.05 ±	11 075.12 ±	8 704.36 ±	8 878.29 ±	7 30 <sup>ab</sup>	28.71 ±	<0.1 脂肪、水果味 <sup>[32]</sup>
醇类	50.13 <sup>d</sup>	21.38 <sup>a</sup>	27.67 <sup>b</sup>	11.80 <sup>c</sup>	7.02 <sup>d</sup>	21.91 <sup>b</sup>	33.13 <sup>a</sup>	40.96 <sup>c</sup>	38.66 <sup>d</sup>	65.28 <sup>a</sup>	36.22 <sup>c</sup>	51.85 <sup>b</sup>			
异丁醇	40 000	136.99 ±	265.67 ±	143.98 ±	143.36 ±	105.04 ±	161.07 ±	446.19 ±	142.43 ±	119.51 ±	147.12 ±	140.95 ±	123.34 ±	<0.1	溶剂味、生青味 <sup>[31]</sup>
丁醇	150 000	10.71 ±	22.36 ±	16.34 ±	15.47 ±	9.38 ±	8.79 ±	50.15 ±	17.60 ±	ND	6.97 ±	3.27 ±	4.62 ±	<0.1	草药、醇味 <sup>[32]</sup>
异戊醇	40 000	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2 156.39 ±	1 447.35 ±	ND	ND	ND	ND	<0.1	溶剂味、酒精味 <sup>[35]</sup>
戊醇	64 000	4 340.45 ±	9 454.53 ±	6 432.23 ±	5 771.91 ±	5 245.17 ±	10 639.54 ±	14 677.06 ±	15 644.69 ±	8 025.38 ±	11 144.97 ±	10 058.34 ±	9 361.26 ±	>0.1	酒香、果香 <sup>[32]</sup>
4-甲基-1-戊醇	0.54 ±	6.69 ±	2.44 ±	3.25 ±	4.41 ±	ND	22.48 ±	16.40 ±	33.31 <sup>a</sup>	55.29 <sup>d</sup>	4.56 <sup>a</sup>	24.13 <sup>b</sup>	32.54 <sup>c</sup>		
3-甲基-1-戊醇	0.13 <sup>d</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.38 <sup>c</sup>	0.38 <sup>b</sup>	0.39 <sup>c</sup>	0.39 <sup>c</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.34 <sup>b</sup>	<0.1	杏仁味、烘烤味 <sup>[35]</sup>
戊醇	0.10 <sup>a</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.23 <sup>b</sup>	0.13 <sup>d</sup>	0.43 <sup>d</sup>	0.14 <sup>c</sup>	29.41 ±	30.84 ±	32.39 ±	35.45 ±	2.48 ±	3.06 ±	7.96 ±	6.05 ±	<0.1 辛辣味、生青味 <sup>[34]</sup>
己醇	1 100	648.72 ±	806.05 ±	684.38 ±	667.12 ±	459.08 ±	528.43 ±	534.71 ±	774.57 ±	477.42 ±	573.32 ±	667.88 ±	1 006.01 ±	>0.1	青草味 <sup>[32]</sup>

(续表 2)

香气化合物	阈值 <sup>[31-32]</sup> / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	黑比诺含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$						美乐含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$						赤霞珠含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			OAV	香气描述
		H-未 MIF	H-C30	H-OMEGA	H-VP41	M-未 MIF	M-C30	M-OMEGA	M-VP41	C-未 MIF	C-C30	C-OMEGA	C-VP41					
庚醇	200	32.76 <sup>a</sup>	85.56 <sup>a</sup>	70.60 <sup>a</sup>	68.09 <sup>a</sup>	68.78 <sup>a</sup>	47.00 <sup>a</sup>	67.55 <sup>a</sup>	57.67 <sup>a</sup>	53.82 <sup>a</sup>	66.74 <sup>a</sup>	65.23 <sup>a</sup>	63.95 <sup>a</sup>	>0.1	油脂味 <sup>[32]</sup>			
2-乙基己醇	8 000	0.79 <sup>d</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.33 <sup>c</sup>	1.20 <sup>a</sup>	4.27 <sup>c</sup>	0.83 <sup>a</sup>	0.42 <sup>b</sup>	4.59 <sup>b</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>	0.41 <sup>a</sup>					
2-壬醇	58	ND	6.17 <sup>a</sup>	8.60 <sup>a</sup>	7.21 <sup>a</sup>	2.85 <sup>a</sup>	1.35 <sup>a</sup>	3.55 <sup>a</sup>	ND	0.94 <sup>a</sup>	1.21 <sup>a</sup>	0.87 <sup>a</sup>	2.82 <sup>a</sup>	>0.1	果香、玫瑰花香 <sup>[33]</sup>			
辛醇	120	72.36 <sup>a</sup>	90.55 <sup>a</sup>	94.35 <sup>a</sup>	106.29 <sup>a</sup>	20.37 <sup>a</sup>	30.33 <sup>a</sup>	30.32 <sup>a</sup>	29.94 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	<0.1	果香、奶油味 <sup>[34]</sup>			
2,3-丁二醇	120 000	6.38 <sup>a</sup>	10.38 <sup>a</sup>	9.88 <sup>a</sup>	14.52 <sup>a</sup>	12.68 <sup>a</sup>	9.53 <sup>a</sup>	10.38 <sup>a</sup>	11.41 <sup>a</sup>	ND	9.83 <sup>a</sup>	11.13 <sup>a</sup>	4.27 <sup>a</sup>	<0.1	黄油、乳酪味 <sup>[35]</sup>			
壬醇	600	50.43 <sup>a</sup>	65.37 <sup>a</sup>	67.61 <sup>a</sup>	63.05 <sup>a</sup>	86.49 <sup>a</sup>	87.41 <sup>a</sup>	103.74 <sup>a</sup>	87.51 <sup>a</sup>	111.04 <sup>a</sup>	76.18 <sup>a</sup>	0.39 <sup>b</sup>	0.32 <sup>a</sup>	0.32 <sup>a</sup>	香 <sup>[31]</sup>			
癸醇	400	21.58 <sup>a</sup>	35.45 <sup>a</sup>	33.50 <sup>a</sup>	33.23 <sup>a</sup>	18.97 <sup>a</sup>	21.57 <sup>a</sup>	23.53 <sup>a</sup>	23.17 <sup>a</sup>	0.32 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.83 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>	68.32 <sup>a</sup>	水蜜桃、青蔬 <sup>[32]</sup>			
苯甲醇	20 000	70.84 <sup>a</sup>	127.29 <sup>a</sup>	94.42 <sup>a</sup>	101.70 <sup>a</sup>	31.38 <sup>a</sup>	51.12 <sup>a</sup>	103.04 <sup>a</sup>	61.92 <sup>a</sup>	105.08 <sup>a</sup>	21.69 <sup>a</sup>	21.88 <sup>a</sup>	1.16 <sup>c</sup>	5.84 <sup>a</sup>	23.17 <sup>a</sup>	茉莉香、甜香 <sup>[33]</sup>		
苯乙醇	10 000	1 843.96 <sup>a</sup>	2 141.27 <sup>a</sup>	1 840.07 <sup>a</sup>	1 872.31 <sup>a</sup>	5 857.19 <sup>a</sup>	8 150.54 <sup>a</sup>	9 251.41 <sup>a</sup>	8 367.27 <sup>a</sup>	3 383.39 <sup>a</sup>	5 406.83 <sup>a</sup>	4 686.15 <sup>a</sup>	4 829.90 <sup>a</sup>	>0.1	玫瑰香、果香 <sup>[32]</sup>			
月桂醇	1 000	26.58 <sup>a</sup>	29.87 <sup>a</sup>	29.23 <sup>a</sup>	35.33 <sup>a</sup>	45.65 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	花香 <sup>[32]</sup>			
总量		43.02 <sup>d</sup>	78.63 <sup>a</sup>	74.84 <sup>b</sup>	64.88 <sup>c</sup>	424.85 <sup>d</sup>	62.49 <sup>c</sup>	47.00 <sup>a</sup>	57.19 <sup>b</sup>	543.76 <sup>c</sup>	16.17 <sup>a</sup>	28.68 <sup>b</sup>	195.44 <sup>b</sup>					
酸类																		
异丁酸	2 300	24.99 <sup>a</sup>	22.74 <sup>a</sup>	28.41 <sup>a</sup>	28.08 <sup>a</sup>	17.58 <sup>a</sup>	27.39 <sup>a</sup>	24.59 <sup>a</sup>	36.55 <sup>a</sup>	21.94 <sup>a</sup>	32.56 <sup>a</sup>	31.36 <sup>a</sup>	32.39 <sup>a</sup>	<0.1	酸腐味、奶酪味 <sup>[33]</sup>			
2-甲基丁酸	3 000	107.65 <sup>a</sup>	136.15 <sup>a</sup>	114.89 <sup>a</sup>	136.67 <sup>a</sup>	151.27 <sup>a</sup>	185.18 <sup>a</sup>	242.60 <sup>a</sup>	233.99 <sup>a</sup>	153.97 <sup>a</sup>	210.35 <sup>a</sup>	214.67 <sup>a</sup>	217.68 <sup>a</sup>	<0.1	果香、干酪味 <sup>[33]</sup>			
己酸	420	316.02 <sup>a</sup>	373.16 <sup>a</sup>	319.42 <sup>a</sup>	412.45 <sup>a</sup>	180.95 <sup>a</sup>	405.45 <sup>a</sup>	473.14 <sup>a</sup>	600.71 <sup>a</sup>	593.28 <sup>a</sup>	14.14 <sup>a</sup>	19.38 <sup>a</sup>	33.44 <sup>a</sup>	50.59 <sup>a</sup>	>0.1	酒精味 <sup>[34]</sup>		
辛酸	500	918.39 <sup>a</sup>	926.00 <sup>a</sup>	1 005.41 <sup>a</sup>	1 042.38 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>	8.59 <sup>b</sup>	3.14 <sup>a</sup>	1.65 <sup>a</sup>	7.05 <sup>a</sup>	4.43 <sup>a</sup>	3.82 <sup>a</sup>	1.36 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>	2.80 <sup>a</sup>	酸腐味、酸酯味 <sup>[32]</sup>		
癸酸	1 000	240.92 <sup>a</sup>	221.58 <sup>a</sup>	235.66 <sup>a</sup>	237.68 <sup>a</sup>	93.70 <sup>a</sup>	42.18 <sup>a</sup>	45.69 <sup>a</sup>	74.02 <sup>a</sup>	87.80 <sup>a</sup>	111.81 <sup>a</sup>	117.44 <sup>a</sup>	128.10 <sup>a</sup>	>0.1	脂肪味、酸腐味 <sup>[32]</sup>			
		1.07 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>	3.74 <sup>b</sup>	1.38 <sup>b</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.37 <sup>c</sup>	0.49 <sup>b</sup>	1.17 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>	0.94 <sup>b</sup>	0.82 <sup>a</sup>					

(续表 2)

香气化合物	阈值 <sup>[1-3]</sup> / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	黑比诺含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				美乐含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				赤霞珠含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				OAV	香气描述
		H-未 MLF	H-C30	H-OMEGA	H-VP41	M-未 MLF	M-C30	M-OMEGA	M-VP41	C-未 MLF	C-C30	C-OMEGA	C-VP41		
总量	1 607.98 ± 1 679.61 ± 1 703.79 ± 1 857.26 ± 848.95 ± 940.96 ± 1 237.54 ± 1 231.65 ± 807.82 ± 1 020.51 ± 1 167.84 ± 1 151.57 ± 26.50 <sup>a</sup>	8.15 <sup>b</sup>	6.07 <sup>b</sup>	3.61 <sup>a</sup>	4.29 <sup>c</sup>	5.95 <sup>b</sup>	2.60 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>	4.14 <sup>d</sup>	3.06 <sup>c</sup>	5.95 <sup>a</sup>	2.60 <sup>b</sup>	2.60 <sup>b</sup>		
醛类															
壬醛	15	28.69 ± 0.17 <sup>a</sup>	15.47 ± 0.82 <sup>d</sup>	17.30 ± 0.21 <sup>c</sup>	20.00 ± 0.15 <sup>b</sup>	14.5 ± 0.42 <sup>c</sup>	16.68 ± 0.28 <sup>a</sup>	ND	15.50 ± 0.29 <sup>b</sup>	11.86 ± 0.13 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	>1	生青味 <sup>[32]</sup>
癸醛	10	45.65 ± 0.22 <sup>d</sup>	56.27 ± 0.12 <sup>a</sup>	52.40 ± 0.55 <sup>b</sup>	46.38 ± 0.36 <sup>c</sup>	44.57 ± 0.44 <sup>a</sup>	ND	34.23 ± 1.16 <sup>b</sup>	21.94 ± 0.19 <sup>b</sup>	41.45 ± 0.06 <sup>a</sup>	ND	ND	>1	肥皂味、橘皮香 <sup>[35]</sup>	
肉豆蔻醛	67	6.18 ± 0.35 <sup>a</sup>	ND	ND	2.75 ± 0.31 <sup>b</sup>	17.53 ± 0.38 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>0.1	肥皂味、果香 <sup>[35]</sup>	
总量	80.52 ± 0.41 <sup>a</sup>	71.74 ± 0.41 <sup>b</sup>	69.70 ± 0.17 <sup>c</sup>	69.13 ± 1.27 <sup>c</sup>	76.59 ± 0.87 <sup>a</sup>	16.68 ± 0.28 <sup>c</sup>	34.23 ± 1.16 <sup>b</sup>	15.50 ± 0.29 <sup>c</sup>	33.80 ± 0.19 <sup>b</sup>	41.45 ± 0.07 <sup>a</sup>	ND	ND			
萜烯类															
$\alpha$ -松油醇	330	ND	54.14 ± 0.28 <sup>a</sup>	31.68 ± 0.12 <sup>b</sup>	24.68 ± 0.32 <sup>c</sup>	ND	14.57 ± 0.16 <sup>b</sup>	15.11 ± 0.26 <sup>a</sup>	14.44 ± 0.16 <sup>b</sup>	ND	0.08 ± 0.02 <sup>a</sup>	ND	ND	>0.1	清香、木香 <sup>[32]</sup>
香茅醇	40	84.35 ± 1.13 <sup>d</sup>	176.92 ± 0.49 <sup>b</sup>	157.71 ± 0.13 <sup>c</sup>	181.16 ± 0.27 <sup>a</sup>	78.26 ± 2.13 <sup>d</sup>	94.41 ± 1.09 <sup>c</sup>	111.78 ± 0.35 <sup>b</sup>	115.84 ± 0.16 <sup>a</sup>	107.16 ± 0.54 <sup>d</sup>	205.00 ± 0.74 <sup>a</sup>	196.50 ± 0.50 <sup>b</sup>	183.70 ± 0.17 <sup>c</sup>	>1	柠檬、柑橘香 <sup>[31]</sup>
橙花醇	300	10.52 ± 0.20 <sup>c</sup>	27.39 ± 0.43 <sup>a</sup>	20.49 ± 0.37 <sup>c</sup>	20.63 ± 0.30 <sup>b</sup>	16.48 ± 0.24 <sup>b</sup>	19.25 ± 0.11 <sup>b</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	玫瑰香、橙花香 <sup>[33]</sup>	
金合欢醇	20	10.64 ± 0.41 <sup>d</sup>	21.47 ± 0.37 <sup>c</sup>	23.39 ± 0.30 <sup>b</sup>	27.46 ± 0.22 <sup>a</sup>	10.55 ± 0.24 <sup>b</sup>	11.32 ± 0.02 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	20.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	20.07 ± 0.03 <sup>a</sup>	ND	>1	铃兰、草木香 <sup>[32]</sup>
大马士酮	0.05	22.50 ± 0.33 <sup>d</sup>	51.34 ± 0.22 <sup>b</sup>	48.34 ± 0.29 <sup>c</sup>	55.44 ± 0.11 <sup>a</sup>	ND	33.96 ± 0.49 <sup>c</sup>	55.59 ± 0.25 <sup>a</sup>	42.66 ± 0.89 <sup>b</sup>	24.00 ± 0.56 <sup>c</sup>	43.62 ± 0.39 <sup>b</sup>	32.31 ± 0.40 <sup>b</sup>	28.61 ± 0.20 <sup>b</sup>	>1	蜂蜜、玫瑰香 <sup>[34]</sup>
香叶基丙酮	60	134.71 ± 0.15 <sup>d</sup>	146.79 ± 6.15 ±	161.65 ± 11.47 ±	143.40 ± 7.83 ±	104.82 ± 7.32 ±	113.51 ± 0.26 <sup>c</sup>	125.29 ± 0.18 <sup>e</sup>	126.45 ± 0.30 <sup>b</sup>	110.90 ± 0.11 <sup>a</sup>	132.73 ± 0.56 <sup>c</sup>	121.77 ± 0.31 <sup>b</sup>	118.71 ± 0.19 <sup>b</sup>	>1	清甜香、玫瑰香 <sup>[32]</sup>
$\beta$ -紫罗酮	4.5	ND	1.06 <sup>b</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.26 <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	花香、紫罗兰香 <sup>[32]</sup>
月桂烯	532	ND	12.60 ± 0.28 <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
总量	268.88 ± 1.45 <sup>d</sup>	502.13 ± 0.78 <sup>a</sup>	451.09 ± 0.34 <sup>c</sup>	460.09 ± 1.27 <sup>b</sup>	210.11 ± 2.52 <sup>d</sup>	287.02 ± 0.91 <sup>e</sup>	307.77 ± 0.23 <sup>a</sup>	299.38 ± 1.33 <sup>b</sup>	242.43 ± 0.23 <sup>a</sup>	401.69 ± 5.53 <sup>d</sup>	371.39 ± 4.76 <sup>a</sup>	331.41 ± 4.83 <sup>b</sup>	0.68 <sup>c</sup>		

注: 数值为“平均值±标准差”; 表中同行不同字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ ); ND 表示该物质未检测到。

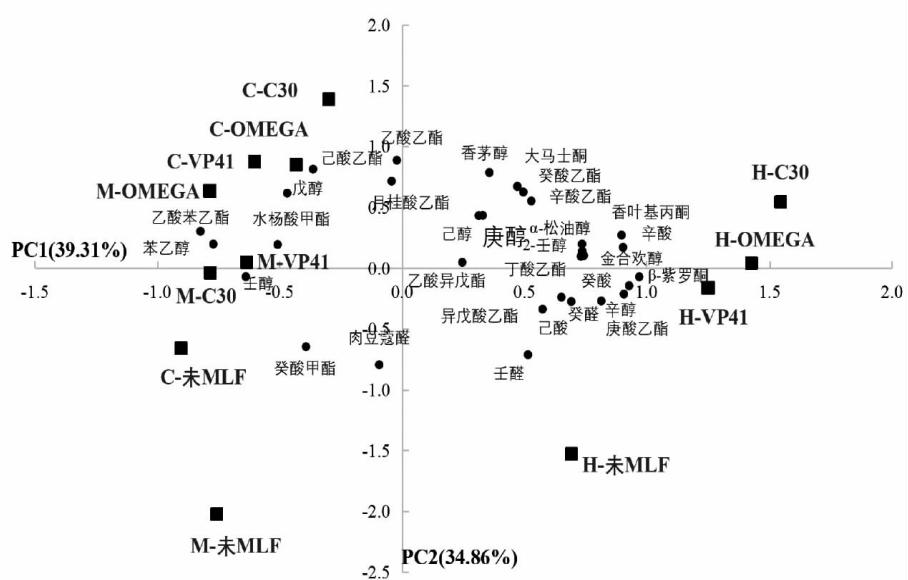


图 3 挥发性化合物主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of volatile compounds

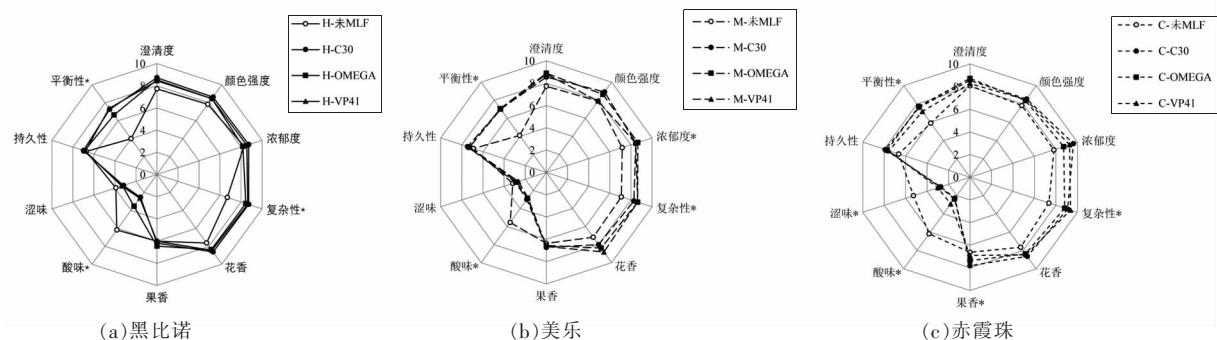


图 4 MLF 前、后酒样感官分析

Fig.4 Sensory analysis of different wines before and after MLF

片球菌 C30 发酵酒样的香气物质总含量均高于原始酒样，主要是己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、戊醇、苯乙醇、香茅醇、金合欢醇、大马士酮、香叶基丙酮和  $\beta$ -紫罗兰酮等香气物质，可赋予葡萄酒更多草莓、菠萝、柑橘等果香和玫瑰花、百合花、紫罗兰花等香气特征。在 3 个主栽葡萄品种中，小片球菌 C30 的最适作用品种是赤霞珠。综上所述，小片球菌 C30 具有较好的 L-苹果酸代谢能力并能提升葡萄酒香气品质，上述研究对我国本土优良乳酸菌应用以及产区特色葡萄酒酿造具有重要意义。

3 结论

小片球菌 C30 具有优良的 *L*-苹果酸代谢能

力，可用于本土产区主栽品种葡萄酒的苹乳发酵中。C30 菌株苹乳发酵所得不同品种葡萄酒的基本理化指标符合国家标准，并对葡萄酒香气物质（辛酸乙酯、苯乙醇、香茅醇、大马士酮等）的产生具有积极影响，所得葡萄酒口感柔和、香气浓郁、复杂，在赤霞珠葡萄酒苹乳发酵中的作用效果最佳。

## 参 考 文 献

- [1] VIRDIS C, SUMBY K, BARTOWSKY E, et al. Lactic acid bacteria in wine: Technological advances and evaluation of their functional role[J]. Frontiers in

- Microbiology, 2021, 11: 612118.
- [2] TOFALO R, BATTISTELLI N, PERPETUINI G, et al. *Oenococcus oeni* lifestyle modulates wine volatilome and malolactic fermentation outcome [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 736789.
- [3] 浩楠, 马腾臻, 负建民, 等. 甘肃河西走廊产区野生乳酸菌筛选及酿酒特性研究[J]. 食品发酵与工业, 2019, 45(10): 142–148.
- HAO N, MA T Z, YUN J M, et al. Isolation and brewing characteristics of wild-type lactic acid bacteria from Gansu Hexi Corridor[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(10): 142–148.
- [4] BRIZUELA N S, BRAVO-FERRADA B M, POZO-BAYON M A, et al. Changes in the volatile profile of Pinot noir wines caused by Patagonian *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains [J]. Food Research International, 2018, 106: 22–28.
- [5] 潘超, 高庆超, 梁颖, 等. 葡萄酒酿造乳酸菌的分离鉴定及糖苷酶活分析[J]. 中国食品学报, 2023, 23(4): 345–353.
- PAN C, GAO Q C, LIANG Y, et al. Isolation, identification and analysis of glycosidase activity of lactic acid bacteria from wine[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23 (4): 345–353.
- [6] BAUER R, DICKS L M T. Control of malolactic fermentation in wine. A review [J]. South African Journal of Enology and Viticulture, 2017, 25 (2): 74–88.
- [7] CAPPELLO M S, ZAPPAROLI G, LOGRIECO A, et al. Linking wine lactic acid bacteria diversity with wine aroma and flavour[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 243: 16–27.
- [8] JUEGA M, COSTANTINI A, BONELLO F, et al. Effect of malolactic fermentation by *Pediococcus damnosus* on the composition and sensory profile of Albariño and Caiño white wines[J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 116(3): 586–595.
- [9] 浩楠, 马腾臻, 杨学山, 等. 不同接种方式下小片球菌C30对‘赤霞珠’葡萄酒品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(1): 71–78.
- HAO N, MA T Z, YANG X S, et al. Effects of different inoculation methods of *Pediococcus parvulus* C30 on quality of Cabernet Sauvignon wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(1): 71–78.
- [10] 李华, 王华, 袁春龙, 等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 296–303.
- LI H, WANG H, YUAN C L, et al. Wine technology[M]. Beijing: The Science Publishing Company, 2007: 296–303.
- [11] BORDAS M, ARAQUE I, ALEGRET J O, et al. Isolation, selection, and characterization of highly ethanol-tolerant strains of *Oenococcus oeni* from south Catalonia[J]. International Microbiology the Official Journal of the Spanish Society for Microbiology, 2013, 16(2): 113–123.
- [12] BURNS T R, OSBORNE J P. Loss of Pinot Noir wine color and polymeric pigment after malolactic fermentation and potential causes[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2015, 66(2): 130–137.
- [13] 翦祎, 韩舜愈, 张波, 等. 单一pH法、pH示差法和差减法快速测定干红葡萄酒中总花色苷含量的比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 323–325, 423.
- JIAN Y, HAN S Y, ZHANG B, et al. Comparison of single pH method, pH-differential method and subtraction method for determining content of anthocyanins from red wine[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(23): 323–325, 423.
- [14] 崔日宝. 河西走廊不同产地原料及浸渍工艺对赤霞珠干红葡萄酒挥发性成分的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2013.
- CUI R B. The effect of Cabernet Sauvignon from different production areas of Hexi Corridor and maceration process on volatile compounds in dry wines [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2013.
- [15] 张佳涛, 漆叶琼, 潘向辉, 等. 肠膜明串珠菌肠膜亚种Z<sub>25</sub>在苹果酒中发酵特性的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 201–204, 440.
- ZHANG J T, QI Y Q, PAN X H, et al. Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* Z<sub>25</sub> to start malolactic fermentation in cider-making [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(11): 201–204, 440.
- [16] 鲁榕榕, 马腾臻, 张波, 等. 大豆蛋白澄清剂对‘赤霞珠’干红葡萄酒品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(3): 135–145.
- LU R R, MA T Z, ZHANG B, et al. Effect of soy protein as a fining agent on quality of ‘Cabernet Sauvignon’ dry red wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(3): 135–145.
- [17] RIBEIRO T, FERNANDES C, NUNES F M, et al.

- Influence of the structural features of commercial mannoproteins in white wine protein stabilization and chemical and sensory properties[J]. *Food Chemistry*, 2014, 159(11): 47–54.
- [18] CAPOZZI V, TUFARIELLO M, SIMONE N D, et al. Biodiversity of oenological lactic acid bacteria: Species- and strain-dependent plus/minus effects on wine quality and safety[J]. *Fermentation*–Basel, 2021, 7(1): 18–24.
- [19] CRUZPIO L E, POVEDA M, ALBERTO M R, et al. Exploring the biodiversity of two groups of *Oenococcus oeni* isolated from grape musts and wines: Are they equally diverse?[J]. *Systematic & Applied Microbiology*, 2017, 40(1): 1–10.
- [20] ROMERO J, ILABACA C, RUIZ M, et al. *Oenococcus oeni* in Chilean red wines: Technological and genomic characterization[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1–12.
- [21] CHEN Q L, HAO N, ZHAO L L, et al. Comparative functional analysis of malate metabolism genes in *Oenococcus oeni* and *Lactiplantibacillus plantarum* at low pH and their roles in acid stress response[J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111235.
- [22] CHEN Q L, YANG X K, MENG Q, et al. Integrative multiomics analysis of the acid stress response of *Oenococcus oeni* mutants at different growth stages[J]. *Food Microbiology*, 2022, 102: 103905.
- [23] JIN G, WANG H, ZHANG C H, et al. Characterization and amino acid metabolism performances of indigenous *Oenococcus oeni* isolated from Chinese wines[J]. *European Food Research and Technology*, 2014, 238(4): 597–605.
- [24] MATTHEWS A, GRIMALDI A, WALKER M, et al. Lactic acid bacteria as a potential source of enzymes for use in vinification[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 5715–5731.
- [25] BRIZUELA N S, BRAVO-FERRADA B M, LA-HENS D V, 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.
- [26] LISOV N, PETROVIC A, CAKAR U, et al. Extraction kinetic of some phenolic compounds during Cabernet Sauvignon alcoholic fermentation and antioxidant properties of derived wines[J]. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 2020, 39(2): 185–196.
- [27] BARTOWSKY E, COSTELLO P, FRANCIS IL, et al. *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum*: Effects of MLF on red wine aroma and chemical properties[J]. *Practical Winery & Vineyard Journal*, 2012, 33: 57–59.
- [28] 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): 1–16.
- [29] CAI J, ZHU B Q, WANG Y H, et al. Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines fermented in different industrial scale fermenters [J]. *Food Chemistry*, 2014, 154: 217–229.
- [30] CAPONE S, TUFARIELLO M, SICILIANO P. Analytical characterisation of Negroamaro red wines by 'Aroma Wheels'[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(3): 2906–2915.
- [31] WANG X C, LI A H, DIZY M, et al. Evaluation of aroma enhancement for "Ecolly" dry white wines by mixed inoculation of selected *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Food Chemistry*, 2017, 228: 550–559.
- [32] GUTH H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(8): 3027–3032.
- [33] TAO Y S, LI H. Active volatiles of Cabernet Sauvignon wine from Changli County [J]. *Health*, 2009, 1(3): 176–182.
- [34] FERREIRA V, LOPEZ R, CACHO J F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(11): 1659–1667.
- [35] BOUTOU S, CHATONNET P. Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1141(1): 1–9.
- [36] COULON J, HOULES A, DIMOPOULOU M, et al. Lysozyme resistance of the ropy strain *Pediococcus parvulus* IOEB 8801 is correlated with beta-glucan

accumulation around the cell[J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 159(2012): 25–29.  
[37] STRICKLAND M T, SCHOPP L M, EDWARDS C G, et al. Impact of *Pediococcus* spp. on

Pinot noir wine quality and growth of *Brettanomyces* [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2016, 67(2): 188–198.

## Effect of Malolactic Fermentation by *Pediococcus parvulus* on the Aroma of Different Wine Varieties

Hao Nan, Ma Tengzhen\*, Qiang Wenle

(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Gansu Key Laboratory of Viticulture and Enology, Research and Development Center of Wine Industry in Gansu Province, Lanzhou 730070)

**Abstract** Malolactic fermentation is one of the most important processes which influence biological stability and flavor quality of red wine. Recently, the selection and application of indigenous lactic acid bacteria gained more and more attention by researchers and wine makers. In this study, a selected *Pediococcus parvulus* C30 from Gansu Hexi Corridor was used, effects of malolactic fermentation on fermentation kinetics, chemical composition and sensory properties of Pinot Noir wine, Merlot wine and Cabernet Sauvignon wine were analyzed. The results showed that both the *Pediococcus parvulus* C30 and commercial lactic acid bacteria could complete malolactic fermentation in 12–36 days. Physical-chemical index, including reducing sugar, alcohol content, total acidity and volatile acidity of fermented wine meet the national standard in China. Compared with control wine, Pinot Noir and Cabernet Sauvignon wines fermented by C30 strain showed significantly higher in volatile esters and alcohols, which might contribute stronger fruity and floral notes in wine. Sensory evaluation indicated Cabernet Sauvignon wine elaborated by C30 strain showed the most intense and elegant aroma, with well-balanced wine body. This study provided a possible use of selected lactic acid bacteria as starter cultures in domestic dry red wine production.

**Keywords** wine; malolactic fermentation; fermentation kinetics; volatile compounds; sensory properties