

外源多酚对赤霞珠干红葡萄酒发酵挥发性物质稳定与呈香的基质效应

李慧颖¹, 郑福静¹, 张煜¹, 陶永胜^{1,2}, 李运奎^{1,2*}

(¹西北农林科技大学葡萄酒学院 陕西杨凌 712100

²西北农林科技大学宁夏贺兰山东麓葡萄酒试验示范站 宁夏永宁 750104)

摘要 探讨外源添加 4 种代表性多酚对赤霞珠干红葡萄酒发酵挥发性物质稳定与呈香的基质效应。以赤霞珠为原料酿造干红葡萄酒,在酒精发酵前添加单一外源的绿原酸、原儿茶酸、槲皮素和芦丁,酒精发酵结束后采用 HS-SPME-GC-MS 对发酵挥发性物质进行定性、定量分析,并对香气特征进行感官评价。结果表明:从酒样中共检出 27 种发酵挥发性成分,其中有 12 种成分的气味活性值(OAV)大于 1.0。从总酯、乙酯、短链脂肪酸乙酯含量来看,绿原酸、原儿茶酸和槲皮素处理组均表现出较好的稳定作用;从乙酸酯含量来看,处理组均呈现较好的稳定作用;从中链脂肪酸乙酯含量来看,仅有原儿茶酸处理组呈现较好的稳定作用。与对照组相比,各处理组的果香特征均表现出一定程度的增强,尤其是绿原酸处理组。OAV 分析发现,与对照组相比,绿原酸处理可显著提高葡萄酒的酸果味、草莓味、乳香味;原儿茶酸处理可显著提高葡萄酒的香蕉味、草莓味、青苹果味和甜果味。可见,在酒精发酵前添加一定浓度的绿原酸、原儿茶酸等多酚,可有效保留葡萄酒中的发酵香气物质,显著增强葡萄酒的果香特征。本研究明确了葡萄酒呈香的多酚基质效应,为葡萄酒增香工艺的优化提供参考。

关键词 红葡萄酒;多酚;香气;气相色谱-质谱法;果香酯类物质

文章编号 1009-7848(2024)04-0370-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.035

香气是葡萄酒感官品质的重要组成部分,是评价葡萄酒风格与典型性的关键指标,是葡萄品种、风土、酿造工艺、酒龄和陈酿方式等因素的综合体现^[1]。葡萄酒中的香气(物质)主要包括来自葡萄原料的品种香气(物质),来自发酵过程的发酵香气(物质)和来自陈酿过程的陈酿香气(物质)^[2]。研究发现,发酵香气物质是葡萄酒中含量最高的香气化合物,对葡萄酒香气复杂性和浓郁度有重要贡献。发酵香气物质主要包括醇类、有机酸类、酯类、醛类和酮类等挥发性物质,其中,醇类和有机酸类物质可通过生物或化学途径与酯类物质间保持转化和动态平衡,对“年轻”葡萄酒香气的形成产生重要作用。

葡萄酒是组分复杂的溶液体系,包含 1 000 余种挥发性成分,各香气物质之间通过累加作用、协同作用、抑制作用等相互作用,使葡萄酒香气丰富、千变万化。酯类物质是葡萄酒中重要的发酵香气,约占挥发性成分总量的 30%^[3],主要贡献花香、

果香等香气特征,也称为果香酯类物质^[4]。有研究表明,通过调整果香酯类物质的组成与含量来调整葡萄酒的香气特征^[1]。对我国赤霞珠红葡萄酒香气特征的研究发现,果香酯类物质是典型的风味成分^[5]。Hu 等^[6]探索了葡萄酒中果香酯类物质的形成机制,初步实现在酿造中有效增加果香酯类物质含量。然而,由于酯类物质较易分解和挥发、逸失,因此严重影响其对葡萄酒香气的贡献,尤其对陈酿型葡萄酒^[4]。

既往研究发现,多酚基质会对葡萄酒的呈色产生一定影响,有助于提升红葡萄酒色泽品质和稳定性,即多酚的辅色效应^[7-9]。近年来,多酚等基质对挥发性物质的稳定及其呈香的影响逐渐引起研究人员的关注。Jung 等^[10]研究表明,没食子酸等酚酸可能会降低某些香气的挥发性。Wang 等^[11]研究发现,与对照组相比,酚酸有利于葡萄酒发酵过程中萜烯类香气成分的稳定,增加酒液中萜烯类香气物质的保留量。杨超等^[12]研究了绿原酸胁迫对苹果酒发酵过程中关键香气物质生成的影响,结果发现酒中各关键香气物质质量浓度随发酵时间的延长逐渐升高,在发酵中期达到最大值,后逐渐降低趋于稳定。孟令君等^[13]研究发现,乳酸、苹

收稿日期: 2023-06-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001829)

第一作者: 李慧颖,女,硕士生

通信作者: 李运奎 E-mail: ykli@nwsuaf.edu.cn

果酸等有机酸可以有效保留赤霞珠干红葡萄酒中的酯类香气物质,从而有效增强葡萄酒的花果香特征。甚至金属元素也可能显著影响葡萄酒的香气特征^[14]。目前,在真实葡萄酒基质体系中多酚物质对香气物质的稳定及其特征的研究报道仍较少,尤其是多酚对葡萄酒发酵过程中香气物质的形成与保留影响的报道很少。基于此,本研究根据葡萄酒辅色效应中的多酚体系,选择代表性的绿原酸(羟基肉桂酸类酚酸)、原儿茶酸(羟基苯甲酸类酚酸)、槲皮素(黄酮醇类)和芦丁(黄酮苷类)4种多酚物质,在酒精发酵前进行单一外源添加,发酵结束后分析处理组与对照组酒样的发酵香气成分和特征,评估多酚对赤霞珠干红葡萄酒发酵香气物质稳定与香气特征的影响,以期对葡萄酒呈香基质效应研究和增香工艺设计提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试验酿造干红葡萄酒所用葡萄原料为赤霞珠,采自宁夏产区。

试验所用到的分析纯试剂:氢氧化钠、邻苯二甲酸氢钾、碘、碘化钾、盐酸、硫酸,广东光华科技股份有限公司;绿原酸、原儿茶酸、槲皮素、芦丁,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

气相色谱质谱联用仪(型号QP2020),日本岛津公司;DB-WAXETR气相色谱柱(型号60 m×0.25 mm×0.25 μm),Agilent J&W公司(USA);50 μm/30 μm CAR/DVB/PDMS萃取头,Supelco公司(USA)。

1.2 试验方法

1.2.1 干红葡萄酒的酿制 采摘正常成熟的赤霞珠葡萄,人工分选及除梗破碎后,添加60 mg/L SO₂、20 mg/L果胶酶,葡萄醪迅速入罐,按照质量分数0.2‰接种酿酒酵母启动发酵。酒精发酵温度控制在20~25℃,每天监测葡萄汁比重和温度。待发酵液比重下降至1.020时,分离葡萄皮渣,发酵液转入干净罐中继续发酵,温度控制在18~20℃。当相对密度低于0.996时,测定还原糖含量,添加60 mg/L SO₂,10℃条件下装瓶陈酿。

1.2.2 添加物处理方法 待原料入罐后,分别单一添加708.62 mg/L的绿原酸、308.24 mg/L的原

儿茶酸、676.54 mg/L的槲皮素、1 221.04 mg/L的芦丁添加物,以不添加为对照组(CK),接入酵母进行酒精发酵^[11]。待发酵终止后,装瓶陈酿,取样进行香气成分的仪器分析。每种添加物处理设3个重复。

1.2.3 基本理化性质分析 酒样总酸、挥发酸、游离SO₂、pH值、酒精度、还原糖、总浸出物基本理化指标测定具体操作方法参照国家标准GB/T 15038-2006^[15]进行测定。酒样pH值用pH计进行测定。以上指标测定重复3次。

1.2.4 香气物质组成与含量分析 采用顶空固相微萃取(Headspace solid phase microextraction, HS-SPME)结合气相色谱-质谱(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用技术进行香气成分的测定。

香气成分的萃取:称量2.0 g氯化钠加入20 mL顶空瓶,加入2 mL待测酒样后再加入6 mL娃哈哈纯净水将酒样稀释4倍,盖好瓶盖后进样,加入40 μg/L内标物2-辛醇。

GC-MS条件:色谱柱为DB-WAX型毛细管柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm)。不分流进样,载气为高纯氮气,流速1.5 mL/min。柱升温程序:初始温度40℃,以3℃/min升高至130℃,再以4℃/min上升至250℃,并保持8 min,共运行60 min。进样口温度230℃,传输线温度220℃,离子源温度200℃。质谱检测器为EI源,电子源电压70 eV,全扫描质谱范围 m/z 35~350 u,扫描频率0.2 s/次^[14]。

定性方法:查询NIST 2.0和Wiley谱库,并将化合物的保留时间和质谱与标准品比较进行定性分析,对于没有标准品的化合物采用质谱查询定性分析。

定量方法:采用内标-标准曲线法定量,内标物为2-辛醇,用5点法绘制标准曲线。对于没有标准品的化合物采用化学结构相似的标准曲线进行计算。

气味活性值(Odor activity value, OAV)分析方法:将化合物浓度除以嗅觉阈值得到OAV值。一般认为,OAV>1的化合物为样品的主体呈香物质,0.1<OAV<1的化合物为潜在的呈香物质。

1.2.5 酒样的香气感官分析 香气特征的感官分

析参考赵宇等^[16]的方法。品评小组由经过系统闻香培训的葡萄酒专业品评员组成。感官分析试验中,每个酒样重复2次,在标准葡萄酒杯中倒入30 mL酒样,供试酒样进行随机编号和排序。每位成员在提供的葡萄酒标准香气特征表中选择3~5个特征词汇描述酒样香气,用“5点标度法”(1~5表示香气特征强度)对香气特征进行评分,计算方法见式(1)。

$$MF = \sqrt{FI} \quad (1)$$

式中, MF——某一香气特征的最终量化强度值, %; F——品评小组对香气特征词汇的使用频率, %; I——强度平均值, %。

1.3 数据处理

结果以“平均值±标准差”的形式表示,采用

IBM SPSS Statistics 22 进行数据统计分析。采用单因素方差分析(ANOVA)进行试验数据的差异显著性分析。数据处理使用 SPSS 20.0 软件进行,运用 Microsoft Excel 绘制数据的图表。

2 结果与分析

2.1 多酚添加处理对干红葡萄酒基本理化指标的影响

对 CK 组与绿原酸、原儿茶酸、槲皮素、芦丁处理组酒样均进行了基本理化指标的测定,测定结果如表 1 所示。pH 值、总酸、挥发酸、还原糖、酒精度、游离 SO₂、总浸出物的含量均符合 GB/T 15037-2006 对干红葡萄酒的质量要求。

表 1 各处理组酒样基本理化指标

Table 1 Basic physicochemical indicators in each wine sample

参数	CK 组	绿原酸组	原儿茶酸组	槲皮素组	芦丁组
pH 值	3.51 ± 0.01 ^b	3.56 ± 0.01 ^a	3.46 ± 0.01 ^c	3.51 ± 0.01 ^b	3.46 ± 0.01 ^c
总酸质量浓度/g·L ⁻¹	6.67 ± 0.08 ^a	6.30 ± 0.01 ^b	6.38 ± 0.02 ^b	6.33 ± 0.06 ^b	6.59 ± 0.08 ^a
挥发酸质量浓度/g·L ⁻¹	0.33 ± 0.02 ^b	0.36 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.02 ^c	0.26 ± 0.00 ^c	0.28 ± 0.01 ^c
还原糖质量浓度/g·L ⁻¹	4.11 ± 0.08 ^b	5.21 ± 0.01 ^a	3.48 ± 0.02 ^c	3.87 ± 0.17 ^c	3.51 ± 0.06 ^c
酒精度/% vol	15.55 ± 0.02 ^b	15.64 ± 0.05 ^c	15.32 ± 0.02 ^a	15.45 ± 0.04 ^c	15.51 ± 0.00 ^{ab}
游离 SO ₂ 质量浓度/mg·L ⁻¹	15.38 ± 0.48 ^b	10.25 ± 1.29 ^a	19.71 ± 0.16 ^c	7.63 ± 0.48 ^b	17.43 ± 0.71 ^b
总浸出物质量浓度/g·L ⁻¹	38.00 ± 0.01 ^b	39.9 ± 0.14 ^a	37.05 ± 0.07 ^c	38.00 ± 0.00 ^b	36.45 ± 0.07 ^d

注:表中数值为“ $\bar{x} \pm s$ ”,同行数字后的不同字母代表不同处理组间数据有显著性差异($P < 0.05$),下同。

2.2 多酚添加处理对干红葡萄酒感官品质的影响

研究发现,多酚物质会改变香气化合物的挥发性及分配系数,并伴随着感官知觉的变化^[17-18]。因此,本试验对 CK 组与各处理组酒样进行香气特征的感官量化品评,结果见表 2。整体来看,相

比于 CK 组,绿原酸处理会增加酒样的温带水果、小浆果、酸果以及甜香香气的 MF 值,降低植物类香气的 MF 值,可见,绿原酸处理对本试验酒样香气特征提升具有一定积极影响。对于原儿茶酸组,与 CK 组相比,花香、小浆果、酸果香分别增加了 2.94%, 17.65% 和 16.67%,在一定程度上也提

表 2 各处理组酒样感官分析 MF 统计值

Table 2 The MF values from sensory evaluation of wine samples

香气特征	CK 组	绿原酸组	原儿茶酸组	槲皮素组	芦丁组
花香类	0.34 ± 0.04 ^a	0.34 ± 0.09 ^a	0.35 ± 0.01 ^a	0.31 ± 0.05 ^a	0.36 ± 0.09 ^a
温带水果	0.56 ± 0.01 ^{ab}	0.69 ± 0.11 ^a	0.52 ± 0.01 ^b	0.63 ± 0.06 ^{ab}	0.59 ± 0.09 ^{ab}
植物香	0.25 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.06 ^a	0.20 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.08 ^a	0.31 ± 0.09 ^a
小浆果	0.51 ± 0.06 ^a	0.57 ± 0.02 ^a	0.60 ± 0.02 ^a	0.55 ± 0.06 ^a	0.49 ± 0.10 ^a
酸果香	0.30 ± 0.08 ^b	0.46 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.03 ^{ab}	0.41 ± 0.09 ^{ab}	0.34 ± 0.04 ^{ab}
甜香类	0.38 ± 0.02 ^{ab}	0.43 ± 0.09 ^a	0.37 ± 0.02 ^{ab}	0.35 ± 0.03 ^{bc}	0.27 ± 0.05 ^c

高了酒体的花香和果香。各处理组中槲皮素处理的温带水果香气特征和芦丁处理的花香类香气特征的 MF 值最高,然而这两组处理其余各类花果香气增加幅度较小,且甜香类香气特征的 MF 值有所降低,因此,槲皮素及芦丁处理对酒样的花香带来的影响不大。总体上,本研究外源添加绿原酸和原儿茶酸与杨博等^[19]外源添加咖啡酸结果一致,均有利于保持酒样的花香,提升酒体的果香类香气特征,而外源添加槲皮素和芦丁与其迷迭香酸添加结果一致,会使酒样的花香果香变弱。

2.3 多酚添加处理对干红葡萄酒发酵香气物质的影响

本试验各处理组与 CK 组酒样发酵香气物质组成与含量如表 3 及图 1 所示,共检出 27 种香气物质,包含酯类(14 种)、醇类(9 种)、酸类(4 种)3 种类型。

葡萄酒中的酯类物质是酒体中最重要的一类挥发性化合物,约占所有挥发性化合物总量的 30% 以上^[20]。目前,在葡萄酒中可以检测到 150 多种酯类物质,一般呈果香味,因其含量较高,阈值较低,对葡萄酒体的呈香效果影响较大^[21]。从表 3 数据和图 1a、图 1b 可以看出,与 CK 组相比,除芦丁处理组外,其余处理组均增加了酒样中总体酯类物质、乙酯类物质含量,显著增强了该香气成分的稳定性。其中,绿原酸处理作用最为显著,总体酯类和乙酯类物质含量相比于 CK 组分别增加了 19.2% 和 19.4%,一定程度上增加了酒体的果香和甜香气味。这与文献[22]的研究结果类似,发酵前添加一定量的咖啡酸和迷迭香酸,均使得葡萄酒中酯类化合物的含量有所提升。而原儿茶酸与槲皮素处理组的总体酯类和乙酯类物质含量增幅较小,总体影响不大。芦丁处理组与 CK 组相比,总体酯类和乙酯类物质含量分别降低了 8.83% 和 10.34%,对酒体的整体香气特征具有负面作用。

葡萄酒中的乙酸酯类物质阈值较低,挥发性较高,能够对酒体的果香和甜香风味产生强烈的影响。本试验中,由图 1c 可知,与 CK 组相比,各处理组均提高了酒样中乙酸酯(乙酸乙酯、乙酸异丁酯、乙酸异戊酯、乙酸己酯、乙酸苯乙酯)的总含量,与孔彩琳等^[23]添加多糖的结果一致,均减缓了酒样中乙酸酯的水解,显著增强了酒体中乙酸酯

的稳定性。其中,槲皮素处理作用最为显著,其含量比 CK 组提高了 16.29%。由此分析可得,一定程度上,槲皮素处理会给葡萄酒的果香风味带来积极的贡献,而其余各处理组的增加幅度不大。此外,与 CK 组相比,绿原酸处理组的短链脂肪酸乙酯^[24](丁酸乙酯、异戊酸乙酯、乳酸乙酯)的总含量显著提高,比 CK 组提高了 24.13%,主要提高丁酸乙酯和乳酸乙酯的含量,分别相比 CK 组提高了 7.67% 和 24.72%,乳酸乙酯含量的增加效果极显著,可增加酒体的乳香和水果香。原儿茶酸和槲皮素处理组的短链脂肪酸乙酯总含量与 CK 组差异不显著,而芦丁处理后其含量比 CK 组显著降低了 15.84%。各组酒样的中链脂肪酸乙酯含量较低,且各处理组中链脂肪酸乙酯^[24](己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯)的总含量与 CK 组差异不显著,处理组与 CK 组中己酸乙酯和辛酸乙酯的气味活性值均大于 1,可为酒体贡献一定的菠萝味、青苹果味和花香风味,癸酸乙酯和月桂酸乙酯的 OAV 较低,对酒体香气质量的影响微不可察。

葡萄酒中的醇类化合物含量约占葡萄酒的 10%~20%,常见的具有重要呈香作用的醇类化合物包括丙醇、异丁醇、异戊醇和苯乙醇等微量成分,也统称为高级醇。已有研究表明,当酒体中高级醇总质量浓度低于 300 mg/L 时,可增加果香和花香,对酒体的芳香特性产生积极影响;当质量浓度高于 400 mg/L 时,会呈现辛辣味等令人不愉快的气味^[25]。从表 3 和图 1f 可以看出,各组酒样醇类物质的含量均低于 300 mg/L,且无显著差异。且各处理组醇类含量比 CK 组分别降低了 2.93%, 1.24%, 4.37%, 3.98%,有 3 种高级醇的 OAV 值大于 1,分别是异丁醇、异戊醇和苯乙醇。此外,各处理组的 1-丁醇、异戊醇和正己醇的含量与对照组相比有一定下降,与杨博等^[19]外源添加咖啡酸的结果表现一致,均对醇类物质表现出显著的抑制效果,在一定程度上减少了酒体的药味、刺激味和苦味,为酒体的香气贡献起到积极作用。

葡萄酒中的酸类物质其中 90% 以上是乙酸,它是酒精发酵过程中酵母的正常代谢产物,也是维持酯类水解平衡的重要物质,当其含量高于 11 mg/L 时,会给酒体带来酸臭味,这会在一定程度

表3 不同处理酒样中香气成分的SPME-GC-MS定量分析结果(mg/L)
Table 3 SPME-GC-MS quantification of aroma compounds in wines made using different strategies (mg/L)

保留时间/min	香气物质	CK组	绿原酸组	原儿茶酸组	鞣皮素组	芦丁组	阈值/mg·L ⁻¹	OAV范围	气味描述
7.83	乙酸乙酯	80.22 ± 1.72	84.85 ± 0.89	83.29 ± 1.69	93.59 ± 1.26	88.40 ± 1.95	7.50 ^[27]	>1	甜香、果香 ^[27]
11.30	乙酸异丁酯	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.01	1.60 ^[27]	<0.1	草莓味、果香 ^[27]
12.48	丁酸乙酯	12.51 ± 0.41	13.47 ± 0.42	12.48 ± 0.41	12.32 ± 0.93	10.72 ± 0.16	0.02 ^[27]	>1	酸果味、草莓味 ^[27]
13.54	异戊酸乙酯	0.19 ± 0.00	0.19 ± 0.03	0.31 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.41 ± 0.00	0.003 ^[27]	>1	香蕉味、甜果味 ^[27]
15.18	乙酸异戊酯	1.24 ± 0.01	0.86 ± 0.01	1.12 ± 0.02	1.05 ± 0.04	0.67 ± 0.06	0.03 ^[27]	>1	香蕉味、甜果味 ^[27]
19.45	己酸乙酯	0.51 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.59 ± 0.04	0.43 ± 0.02	0.45 ± 0.04	0.01 ^[27]	>1	青苹果味、草莓味 ^[27]
20.93	乙酸己酯	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.67 ^[27]	<0.1	梨味、酸甜味 ^[27]
23.57	乳酸乙酯	223.24 ± 2.00	278.43 ± 8.97	234.01 ± 6.48	249.43 ± 2.02	187.45 ± 5.04	150.00 ^[27]	>1	乳香、悬钩子味 ^[27]
26.93	辛酸乙酯	0.32 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.3 ± 0.00	0.25 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.005 ^[27]	>1	菠萝味、梨味 ^[27]
33.74	癸酸乙酯	0.12 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.20 ^[27]	0.1~1	舒服的脂肪味 ^[27]
34.91	琥珀酸二乙酯	1.27 ± 0.10	2.37 ± 0.34	2.73 ± 0.14	1.52 ± 0.05	2.48 ± 0.10	200.00 ^[27]	<0.1	生青味、水果味 ^[27]
38.05	苯乙酸乙酯	0.11 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.07 ^[27]	>1	玫瑰味、花香 ^[27]
39.14	乙酸苯乙酯	0.39 ± 0.00	0.76 ± 0.02	0.99 ± 0.11	0.56 ± 0.01	0.67 ± 0.05	0.25 ^[27]	>1	蜂蜜味、苹果味 ^[27]
39.59	月桂酸乙酯	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	1.50 ^[27]	<0.1	甜香、乳脂味 ^[27]
	酯类	320.21 ± 4.27 ^c	381.84 ± 10.72 ^a	336.16 ± 8.96 ^b	359.70 ± 4.37 ^{ab}	291.93 ± 7.43 ^d			
	百分比/%	51.71	56.84	53.25	55.72	50.45			
14.18	异丁醇	149.49 ± 3.89	150.27 ± 6.26	163.65 ± 6.20	142.22 ± 2.01	137.79 ± 4.56	40.00 ^[27]	>1	杂醇香 ^[27]
16.63	1-丁醇	16.78 ± 1.25	15.71 ± 0.92	15.49 ± 1.65	15.72 ± 0.49	14.79 ± 1.56	150.00 ^[27]	0.1~1	药味、醇香 ^[27]
18.46	异戊醇	112.81 ± 5.18	105.13 ± 6.95	98.13 ± 7.26	110.72 ± 4.51	114.79 ± 1.56	30.00 ^[27]	>1	刺激味、苦味 ^[27]
24.49	正己醇	0.65 ± 0.08	0.42 ± 0.05	0.53 ± 0.03	0.58 ± 0.05	0.62 ± 0.03	8.00 ^[29]	<0.1	生青味 ^[27]
31.61	1-辛醇	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.04 ^[27]	0.1~1	玫瑰味、柑橘味 ^[27]
32.08	2,3-丁二醇	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	150.00 ^[30]	<0.1	黄油味、奶酪味 ^[27]
34.90	1-壬醇	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.40 ^[27]	<0.1	玫瑰味、果香味 ^[27]
40.41	苯甲醇	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	100.00 ^[27]	<0.1	杏仁味 ^[29]
41.35	苯乙醇	17.23 ± 0.20	16.26 ± 0.79	15.47 ± 1.02	14.73 ± 0.51	17.12 ± 0.47	10.00 ^[27]	>1	花香、花粉味 ^[27]
	醇类	296.98 ± 10.60 ^a	287.83 ± 14.97 ^a	293.30 ± 16.16 ^a	283.99 ± 7.57 ^a	285.15 ± 8.18 ^a			
	百分比/%	48.01	42.85	46.44	43.99	49.28			
32.43	异丁酸	0.07 ± 0.00	0.13 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.09 ± 0.00	2.30 ^[27]	<0.1	化学味、脂肪味 ^[27]
39.79	己酸	0.29 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.29 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.09 ± 0.00	0.42 ^[27]	<0.1	奶酪味、酸腐味 ^[27]
43.99	辛酸	0.37 ± 0.00	0.31 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.42 ± 0.03	0.44 ± 0.05	0.50 ^[27]	0.1~1	腐败味 ^[27]
49.54	癸酸	1.03 ± 0.06	1.67 ± 0.15	1.24 ± 0.33	1.17 ± 0.28	0.94 ± 0.05	10.00 ^[27]	0.1~1	脂肪味 ^[27]
	酸类	1.76 ± 0.08 ^a	2.11 ± 0.17 ^a	2.11 ± 0.36 ^a	1.88 ± 0.35 ^a	1.56 ± 0.10 ^a			
	百分比/%	0.28	0.31	0.31	0.29	0.27			
	总计	618.95 ± 14.95 ^{ab}	671.78 ± 25.86 ^{ab}	631.57 ± 25.48 ^a	645.57 ± 12.29 ^a	578.64 ± 15.71 ^b			

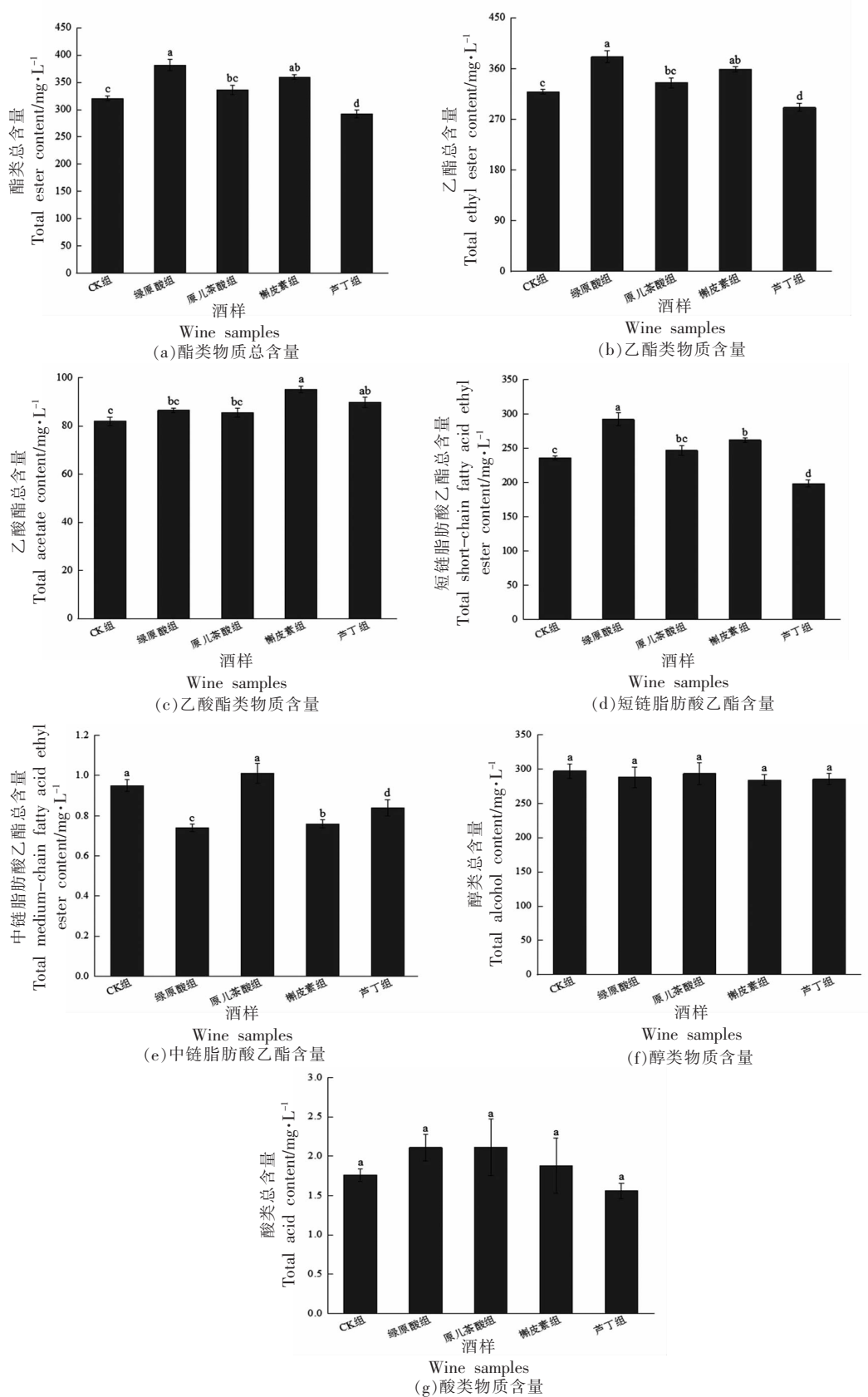


图 1 酒样中各类香气物质含量

Fig.1 The concentration of various aroma substances of wine samples

上影响葡萄酒的感官香气品质^[26]。从表3和图1g可以看出,本试验中的酸类物质含量均低于3 mg/L,除芦丁外,其余处理均增加了酒中的酸类含量,相比CK组酸类含量分别提高了19.89%,19.89%,6.82%。与杨博等^[19]研究结果一致,多酚处理主要是通过提高癸酸的含量,提高酸类的总含量。

为进一步揭示不同多酚处理对酒样香气物质含量的整体影响,采用主成分分析(Principal component analysis, PCA)对不同多酚处理酒样中的主要香气物质含量数据进行统计分析,结果见图2。由图2可知,PC1和PC2分别占数据总体方差的52.55%和37.96%。香气物质主要分布于PC1正向端,槲皮素和芦丁处理组位于PC1的负向端,远离主要香气物质的区域,说明其对酒样香气物质的整体影响是负面的,不利于香气物质的稳定。绿原酸处理组靠近短链脂肪酸乙酯、酸类香气物质区域;原儿茶酸处理组靠近醇类、中链脂肪酸乙酯香气物质区域,说明绿原酸与原儿茶酸通过提高不同的香气物质进而提高酒体的香气特征。然而原儿茶酸处理组靠近CK组,且位于PC1的正向端,因此其香气提升效果强于绿原酸处理组。总体来看,绿原酸处理组和原儿茶酸处理组更有利于酒体中香气物质的稳定,具有更好的提升酒体花香和果香的作用,而原儿茶酸处理组的增香效果强于绿原酸处理组。

2.4 多酚添加处理对干红葡萄酒香气物质气味活性值的影响

关键香气成分的OAV可以作为衡量酒样香气质量的参数,为香气成分含量与阈值的比值^[31]。将各试验组酒样中不同香气物质的OAV对比,结果如图3所示。在检测出的4种乙酸酯类物质中,乙酸乙酯和乙酸异戊酯2种香气物质的OAV>1。由图3a、3b分析可得,与CK组相比,不同处理均提高了乙酸乙酯的OAV值;降低了乙酸异戊酯OAV值,芦丁和绿原酸处理组显著降低。结果表明,这几种处理均有利于乙酸乙酯的稳定,而不利于乙酸异戊酯的稳定。对检测出的短链脂肪酸乙酯分析发现,丁酸乙酯、异戊酸乙酯和乳酸乙酯3种香气物质的OAV>1。由图3c分析可得,绿原酸处理对丁酸乙酯作用最为显著,与CK组相比OAV值增加了7.67%,有利于丁酸乙酯的稳定,可

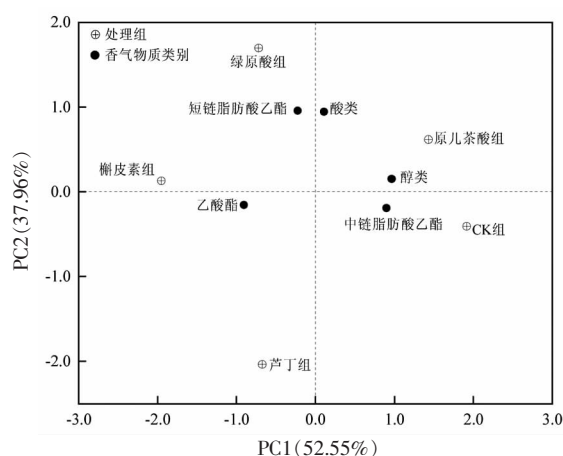


图2 酒样中主要香气物质在前2个主成分上的载荷及不同添加剂处理酒样的分布

Fig.2 Loadings of wine major aroma substances in first two PCs and wine distributions of different additives

增加酒体的酸果香、草莓味、果香,而其余处理效果不显著。由图3d分析可得,与CK组对比,原儿茶酸、芦丁处理均显著提高异戊酸乙酯的OAV,有利于异戊酸乙酯的稳定,可大幅增加酒体的香蕉味、甜果香。由图3e分析可知,除芦丁处理外,其余多酚处理均显著提高了乳酸乙酯的OAV值,增加了酒体的乳香及悬钩子味。对于检测出的中链脂肪酸乙酯分析发现,其中己酸乙酯和辛酸乙酯2种香气物质的OAV>1。由图3f分析可得,原儿茶酸处理组的己酸乙酯的OAV值显著提高,且增加了15.69%,可增加酒体的青苹果味、果香和草莓味。由图3g分析可得,各处理组辛酸乙酯的OAV值与CK组差异不大,对酒体的影响较小。由图3h分析可知,槲皮素和芦丁处理会显著提高苯乙酸乙酯的OAV值,加强酒体的玫瑰味、花香。

综上所述,与CK组相比,绿原酸及原儿茶酸处理组表现出良好的增香效果。通过稳定酒体中香气成分的含量,提升了酒体中乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯的气味活性值,提高了酒体草莓味、乳香、悬钩子味和甜果香气。对于处理组酒体中酯类的增加,推测可能是由于多酚改变了胞内酶的活性,进而提高酿酒酵母的抗逆能力^[12];对于多酚处理使得酒体中某些酯类物质含量下降,推测可能是由于这些酯类物质主要通过微生物代谢产生,而多酚可能会减缓相关微生物的代谢效率^[28]。

也有研究发现酚酸有利于萜烯类香气成分保留在酒液中,其机制可能是酚酸通过非共价相互作用与萜烯分子间发生较强互作,从而抑制了萜烯分子的挥发释放^[1]。目前,多酚对葡萄酒基质体系中

酯类等发酵香气物质的挥发释放影响机制还鲜有报道。

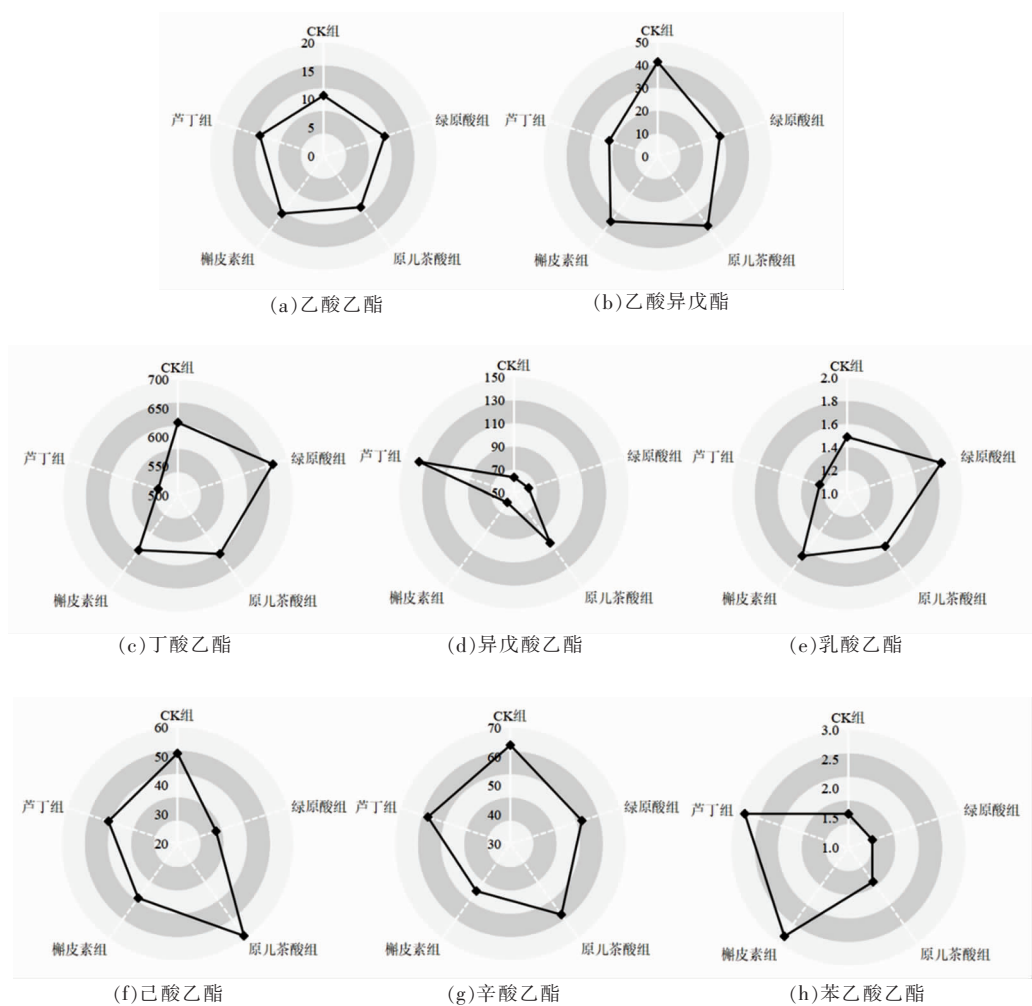


图 3 酒样中果香酯类物质的气味活性值

Fig.3 Odour activity values of fruit esters in wine samples

3 结语

本文探究了 4 种多酚物质:绿原酸(羟基肉桂酸类酚酸)、原儿茶酸(羟基苯甲酸类酚酸)、槲皮素(黄酮醇类多酚)和芦丁(黄酮苷类多酚)对赤霞珠干红葡萄酒发酵挥发性物质的稳定与呈香的基质效应。与 CK 组相比,各处理组均表现出一定果香特征的增强,尤其绿原酸处理组。外源添加绿原酸等多酚对赤霞珠干红葡萄酒发酵香气物质具有一定的稳定作用,可显著提升葡萄酒的甜香、草莓味、果香和乳香香气特征,表现出较好的护香效

应。多酚物质对赤霞珠干红葡萄酒香气物质的稳定作用和护香效应机制尚待探析和阐明。本研究可丰富葡萄酒呈香基质效应的试验依据,亦可为我国葡萄酒香气质量的提升、护香酿造技术开发和酒体风格特色塑造提供实践经验和重要依据。

参 考 文 献

- [1] BAKKER J, CLARKE R J. Wine: Flavour chemistry, 2nd edition[M]. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012: 259-261.

- [2] RUIZ J, KIENE F, BELDA I, et al. Effects on varietal aromas during wine making: A review of the impact of varietal aromas on the flavor of wine[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(18): 7425–7450.
- [3] 席艳茹, 唐柯, 徐岩, 等. 应用定量描述分析和气相色谱-闻香/质谱法研究黄土高原赤霞珠干红葡萄酒香气特征[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(5): 192–197.
- XI Y R, TANG K, XU Y, et al. Aroma characterization of Cabernet Sauvignon wine from Loess Plateau with quantitative description analysis and GC-O/MS[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2016, 42(5): 192–197.
- [4] 李运奎, 汪兴杰, 靳国杰, 等. 爱格丽干白葡萄酒发酵过程中典型乙酸酯的生成动力学[J]. *农业机械学报*, 2018, 49(8): 360–367.
- LI Y K, WANG X J, JIN G J, et al. Kinetic feature for acetate esters production during Ecolly dry white wine fermentation[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49(8): 360–367.
- [5] 李媛媛, 李德美, 张亚东, 等. 赤霞珠干红葡萄酒在不同子产区香气特征的差异[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(6): 256–262, 268.
- LI Y Y, LI D M, ZHANG Y D, et al. Comparative study of aroma characteristics of Cabernet Sauvignon dry red wine in different sub-regions[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(6): 256–262, 268.
- [6] HU K, JIN G J, MEI W C, et al. Increase of medium-chain fatty acid ethyl ester content in mixed *H. uvarum/S. cerevisiae* fermentation leads to wine fruity aroma enhancement[J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 495–501.
- [7] LI Y K, PREJANÒ M, TOSCANO M, et al. Oenin and syringic acid copigmentation: Insights from a theoretical study[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2019, 7: 579.
- [8] 吴璐璐, 范舒悦, 张煜, 等. 不同产区陈酿干红葡萄酒花色苷与颜色相关性分析[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2022(2): 1–7.
- WU L L, FAN S Y, ZHANG Y, et al. Correlation between anthocyanins and color of aging red wines from different regions of China[J]. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, 2022(2): 1–7.
- [9] 李运奎, 张煜, 范舒悦, 等. 外源多酚添加条件下干红葡萄酒颜色和花色苷特性研究[J]. *农业机械学报*, 2023, 54(4): 399–406.
- LI Y K, ZHANG Y, FAN S Y, et al. Effects of exogenous polyphenols addition on color and anthocyanins of dry red wine[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2023, 54(4): 399–406.
- [10] JUNG D M, EBELER S E. Headspace solid-phase microextraction method for the study of the volatility of selected flavor compounds[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003, 51(1): 200–205.
- [11] WANG X J, LI Y K, SONG H C, et al. Phenolic matrix effect on aroma formation of terpenes during simulated wine fermentation-Part I: Phenolic acids[J]. *Food Chemistry*, 2021, 341: 128288.
- [12] 杨超, 肖媚, 张菡, 等. 苹果酒发酵过程中绿原酸胁迫对酿酒酵母生理特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(1): 116–124.
- YANG C, XIAO M, ZHANG H, et al. Effects of chlorogenic acid stress on the physiological characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* during the fermentation of cider[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(1): 116–124.
- [13] 孟令君, 张煜, 吴璐璐, 等. 有机酸对赤霞珠干红葡萄酒的提酯增香效应研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(1): 155–162.
- MENG L J, ZHANG Y, WU L L, et al. Effects of organic acids on the ester-improving and aroma-enhancing of Cabernet Sauvignon red wine[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(1): 155–162.
- [14] 黄雨珊, 范舒悦, 勾叙衡, 等. 金属元素在葡萄酒中的作用[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(11): 446–456.
- HUANG Y S, FAN S Y, GOU X H, et al. The role of metal elements in wine quality[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(11): 446–456.
- [15] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 葡萄酒、果酒通用分析方法: GB/T 15038–2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 2–11.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Analytical methods of wine and fruit wine: GB/T

- 15038–2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 2–11.
- [16] 赵宇, 沙青, 孔彩琳, 等. 西北地区干红葡萄酒质量相关理化指标的判别功能解析[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(3): 129–139.
- ZHAO Y, SHA Q, KONG C L, et al. Discriminant analysis of physicochemical indexes related to quality of dry red wines from northwest China[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(3): 129–139.
- [17] GUO J, YUE T, YUAN Y. Impact of polyphenols on the headspace concentration of aroma compounds in apple cider[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(4): 1635–1642.
- [18] VILLAMOR R R, ROSS C F. Wine matrix compounds affect perception of wine aromas[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2013, 4: 1–20.
- [19] 杨博, 张波, 王学庆, 等. 酚类物质添加对‘黑比诺’干红葡萄酒发酵阶段主要香气成分的影响[J]. 西北农业学报, 2021, 30(10): 1514–1525.
- YANG B, ZHANG B, WANG X Q, et al. Effect of phenolics addition on main aroma components of ‘Pinot Noir’ dry red wine during fermentation[J]. Acta Agriculturae Boreali–Occidentalis Sinica, 2021, 30(10): 1514–1525.
- [20] PIRES E J, TEIXEIRA J A, BRANYIK T, et al. Yeast: The soul of beer’s aroma –a review of flavour–active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(5): 1937–1949.
- [21] MAYR C M, GEUE J P, HOLT H E, et al. Characterization of the key aroma compounds in Shiraz wine by quantitation, aroma reconstitution, and omission studies[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2014, 62(20): 4528–4536.
- [22] 李宁宁, 张波, 牛见明, 等. 发酵前咖啡酸和迷迭香酸添加对干红葡萄酒颜色与香气的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 132–140.
- LI N N, ZHANG B, NIU J M, et al. The influence of pre-fermentative addition of caffeic acid and rosmarinic acid on the color and aroma compounds of dry red wines[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(10): 132–140.
- [23] 孔彩琳, 许引虎, 黄杰, 等. 酿酒酵母多糖对葡萄酒果香酯类物质水解呈香的表现基质效应[J]. 中国农业科学, 2023, 56(6): 1168–1176.
- KONG C L, XU Y H, HUANG J, et al. Apparent matrix effect of yeast polysaccharides from *S. cerevisiae* on the hydrolysis of wine fruity esters[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2023, 56(6): 1168–1176.
- [24] 张建国. 脂肪酸、类异戊二烯及奇数碳链脂质 LC–MS 新型分析方法的开发及应用[D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2022.
- ZHANG J G. Development and application of new LC–MS analysis methods for fatty acids, isoprenoids and odd carbon chain lipidomics [D]. Chongqing: Chinese People’s Liberation Army Army Military Medical University, 2022.
- [25] SWIEGERS J H, PRETORIUS I S. Yeast modulation of wine flavor[J]. Advances in Applied Microbiology, 2005, 57: 131–175.
- [26] SAERENS S M, DELVAUX F, VERSTREPEN K J, et al. Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(2): 454–461.
- [27] 李爱华, 王凌云, 粟俊, 等. 混合酵母发酵对刺葡萄酒香气成分气味活性的调整作用[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 72–78.
- LI A H, WANG L Y, SU J, et al. Odor activity modulation of aroma compounds in spine grape wine by mixed fermentation of *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Food Science, 2020, 41(6): 72–78.
- [28] 蔡建. 发酵前处理工艺对天山北麓‘赤霞珠’葡萄酒香气改良研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- CAI J. Study on aroma quality improvement for Cabernet Sauvignon wines based on pre-fermentation technology from North Slope of Tianshan Mountains [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [29] 李文艳, 徐雅强, 王凌云, 等. 户太8号桃红葡萄酒贮藏期香气物质损失及添加剂护香效果分析[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(1): 135–142.
- LI W Y, XU Y Q, WANG L Y, et al. Aroma substances decline of Hutai-8 rose wine during storage and analysis of aroma protection effects of additives treatments [J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(1): 135–142.
- [30] 陶永胜, 彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分关联分析[J]. 农业机械学报, 2012, 43(3):

130-139.

TAO Y S, PENG C T. Correlation analysis of aroma characters and volatiles in Chardonnay dry white wines from five districts in China[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(3): 130-139.

[31] 马娜, 王星晨, 孔彩琳, 等. 胶红酵母与酿酒酵母

共发酵对干红葡萄酒香气与色泽的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 97-104.

MA N, WANG X C, KONG C L, et al. Effect of mixed culture fermentation with *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma and color of red wine[J]. Food Science, 2021, 42(2): 97-104.

Matrix Effect of Exogenous Polyphenols on the Stability and Aroma Formation of Volatile Substances in Cabernet Sauvignon Dry Red Wine Fermentation

Li Huiying¹, Zheng Fujing¹, Zhang Yu¹, Tao Yongsheng^{1,2}, Li Yunkui^{1,2*}

(¹College of Enology, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi

²Ningxia Vitis-viniculture Station of Northwest A&F University, Yongning 750104, Ningxia)

Abstract In this study, the matrix effects of exogenous addition of four representative polyphenolic substances on the stabilisation and aroma presentation of fermentation volatiles in Cabernet Sauvignon dry red wines were investigated. Cabernet Sauvignon wine grapes were used as test material for winemaking, and exogenous chlorogenic acid, protocatechuic acid, quercetin and rutin were added singly prior to alcoholic fermentation. The fermentation aroma compositions and aroma profiles of wine samples from the treatment and control groups were analysed and evaluated at the end of alcoholic fermentation. Aroma components were analysed qualitatively and quantitatively by HS-SPME-GC-MS, and aroma profiles were quantitatively assessed by a sensory-trained tasting panel. The results showed that: a total of 27 fermentation aroma components were detected in the wine samples, among which 12 components had an odour activity value (OAV) greater than 1.0; from the contents of total esters, ethyl esters and ethyl esters of short-chain fatty acids, the chlorogenic acid, protocatechuic acid and quercetin treatment groups all showed better stabilising effects; from the contents of acetate esters, the treatment groups all presented better substance contents; from the content of medium chain fatty acid ethyl ester, all treatment groups except protocatechuic acid were significantly lower than the control group. Compared with the control group, all treatment groups showed some enhancement of fruity aroma characteristics, especially the chlorogenic acid treatment group. Further analysis of the OAV of each aroma substance revealed that the chlorogenic acid treatment significantly enhanced the sour fruit, strawberry, and lactic flavours of the wines, while the protocatechuic acid treatment significantly enhanced the banana, strawberry, green apple, and sweet fruit flavours of the wines, compared with the control group. It can be seen that the addition of certain concentration of polyphenols such as chlorogenic acid and protocatechuic acid before alcoholic fermentation can effectively retain the fermentation aroma substances in wine and significantly enhance the fruity character of wine. This study clarified the polyphenol matrix effect of wine aroma, providing reference for the optimization practice of wine aroma enhancement.

Keywords red wine; polyphenol; aroma; GC-MS; fruity esters