

## 研究报告

## 贺兰山东麓优良本土酿酒酵母筛选及发酵特性分析

巩丽莉<sup>1</sup>, 周迪<sup>1</sup>, 卢玲<sup>1</sup>, 张众<sup>2</sup>, 张军翔<sup>\*3,4</sup>, 王岚<sup>\*3,4</sup>

1 宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏 银川 750021

2 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021

3 宁夏大学葡萄酒与园艺学院, 宁夏 银川 750021

4 葡萄与葡萄酒教育部工程研究中心, 宁夏 银川 750021

巩丽莉, 周迪, 卢玲, 张众, 张军翔, 王岚. 贺兰山东麓优良本土酿酒酵母筛选及发酵特性分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 4021-4044.

GONG Lili, ZHOU Di, LU Ling, ZHANG Zhong, ZHANG Junxiang, WANG Lan. Screening and fermentation of excellent indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains from eastern foothills of Helan Mountains[J]. Microbiology China, 2023, 50(9): 4021-4044.

**摘要:**【背景】商业酵母的使用造成葡萄酒同质化问题严重, 发掘优良本土酿酒酵母具有十分重要的意义。【目的】从 168 株宁夏本土酿酒酵母菌株中筛选出性能优良、具有出色葡萄酒发酵能力的菌株。【方法】基于杜氏管发酵试验和乙醇、高糖等耐受性试验分析产 H<sub>2</sub>S 能力及生长曲线测定的方法, 筛选出发酵力好、耐受性强、低产 H<sub>2</sub>S 的本土酿酒酵母进行赤霞珠葡萄酒发酵试验, 测定葡萄酒样基础理化指标、酚类物质和挥发性成分, 探究筛选出的酿酒酵母发酵特性。【结果】初步筛选出发酵快速, 能适应 13%乙醇、350 g/L 葡萄糖、250 mg/L SO<sub>2</sub>、pH 1.0 的生存环境且低产 H<sub>2</sub>S 的 4 株本土酿酒酵母 YC-E8、QTX-D17、QTX-D7、YQY-E18。菌株 YC-E8 产甘油能力强, 所发酵酒样香气与商业酵母 XR、F33 最为接近, 适用于赤霞珠葡萄酒的发酵。菌株 QTX-D17 发酵酒样中酒精、单宁、总酚和花色苷含量最高, 表现出本土酿酒酵母优良的发酵特性。菌株 QTX-D7 所发酵酒样香气中乙酸乙酯、辛酸乙酯、1-壬醇等物质含量较高, 赋予了葡萄酒香蕉味、苹果味、菠萝味、椰子味等愉悦花果香。【结论】最终筛选出 3 株优良本土酿酒酵母 QTX-D17、YC-E8 和 QTX-D7, 其酿酒特性风格不一, 有潜力酿造产区特色葡萄酒, 为宁夏贺兰山东麓产区的酿酒微生物资源开发提供参考价值。

**关键词:** 本土酿酒酵母; 筛选; 耐受性; 发酵特性; 香气化合物

资助项目: 国家自然科学基金(32160552); 宁夏回族自治区重点研发计划(2020BCF01003)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32160552) and the Key Research and Development Project of Ningxia Hui Autonomous Region (2020BCF01003).

\*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Junxiang, zhangjunxiang@126.com; WANG Lan, wanglan@nxu.edu.cn

Received: 2023-03-02; Accepted: 2023-05-04; Published online: 2023-06-12

# Screening and fermentation of excellent indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains from eastern foothills of Helan Mountains

GONG Lili<sup>1</sup>, ZHOU Di<sup>1</sup>, LU Ling<sup>1</sup>, ZHANG Zhong<sup>2</sup>, ZHANG Junxiang<sup>\*3,4</sup>, WANG Lan<sup>\*3,4</sup>

1 School of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

2 School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

3 College of Enology & Horticulture, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China

4 Engineering Research Center of Grape and Wine, Ministry of Education, Yinchuan 750021, Ningxia, China

**Abstract:** [Background] The application of commercial yeasts has caused a serious problem of wine homogenization. It is significant to explore excellent indigenous strains of *Saccharomyces cerevisiae*. [Objective] To screen out the *S. cerevisiae* strains with excellent wine fermentation performance from 168 yeast strains isolated from the eastern foothills of Helan Mountains. [Methods] Duchenne tube fermentation, tolerance tests, and H<sub>2</sub>S production experiments and growth curve establishment were employed to screen out the indigenous *S. cerevisiae* strains with excellent fermentation ability, strong stress tolerance, and low H<sub>2</sub>S production for Cabernet Sauvignon wine production. We determined the basic physicochemical indexes and the content of phenols and volatile compounds in wine samples to explore the fermentation characteristics of the candidate yeast strains. [Results] Four indigenous *S. cerevisiae* strains, YC-E8, QTX-D17, QTX-D7, and YQY-E18 with rapid fermentation, low H<sub>2</sub>S production, and tolerance to 13% ethanol, 350 g/L glucose, 250 mg/L SO<sub>2</sub>, and pH 1.0 were preliminarily screened out. The strain YC-E8 showed high glycerol production and produced the wine sample with similar aroma to those prepared with commercial yeasts XR and F33, being suitable for brewing Cabernet Sauvignon wine. The wine sample fermented with strain QTX-D17 had the highest content of alcohol, tannin, total phenols, and anthocyanins, which indicated the excellent fermentation characteristics of QTX-D17. In the wine sample fermented with strain QTX-D7, the content of ethyl acetate, ethyl caprylate, and 1-nonanol endowing the wine with pleasant floral and fruity aromas such as banana, apple, pineapple, and coconut aromas were higher. [Conclusion] Finally, three indigenous *S. cerevisiae* strains QTX-D17, YC-E8, and QTX-D7 were screened out. The three strains exhibit diverse fermentation characteristics in the winemaking process and provide novel yeast strains for exploiting the microorganism resources in the wine-producing region at the eastern foothills of Helan Mountains in Ningxia.

**Keywords:** indigenous strains of *Saccharomyces cerevisiae*; screening; stress tolerance; fermentation characteristics; aroma compounds

商业酵母菌的使用虽保证了葡萄酒酿造的可预测性和可重复性,却导致了葡萄酒口感、香气方面无突出特色,同质化现象严重。为了改善葡萄酒的同质化现象,打破过度依赖商业酵母的现

状,酿造出体现“风土”的特色葡萄酒,国内外研究者致力于选育优良本土酿酒酵母<sup>[1]</sup>。每个葡萄酒产区都拥有独特的本土酵母物种群落,这些酵母物种可能会进入发酵过程,通过产生与“风土”或

特定葡萄酒类型相关的典型性、显著性香气来改善葡萄酒的感官特性, 有助于葡萄酒的最终风味特征形成<sup>[2]</sup>。Christofi 等<sup>[3]</sup>利用圣托里尼岛筛选出的本土酿酒酵母(Sa 和 Sb)生产白葡萄酒, 结果显示, Sa 菌株酿造的葡萄酒脂肪酸含量较高, 与对照商业菌株相比, 两种本土菌株酿造的葡萄酒在香气、酒体品质和酸度方面都具有优势。另有研究者从当地格里洛葡萄浆果表面分离到酿酒酵母, 可以酿造出酸度高、pH 值低的优质起泡酒<sup>[4]</sup>。Gao 等<sup>[5]</sup>发现, 与商业菌相比, 本土酿酒酵母 L59 能快速适应特定理化条件和微生物环境, 增强葡萄酒的玫瑰色等甜香特征的风味物质。周扬应用本土不同酵母酿造刺葡萄酒, 发现了特有香气物质, 酒体品质优于商业酵母<sup>[6]</sup>。因此用本土酵母作为发酵剂已然成为特色葡萄酒的产业发展方向<sup>[7]</sup>。

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)在葡萄酒酿造过程中起主导作用, 因易于培养、生长旺盛和可靠的生物安全性等优点, 在食品、医药和能源等领域被广泛应用<sup>[8]</sup>。优良酿酒酵母具有较强的综合耐受性, 主要表现为耐酒精、耐高糖、耐高 SO<sub>2</sub>、耐高酸等, 且发酵速度较快; 而优良的本土酿酒酵母不仅更适应产区当地的微环境和酒精发酵的特定条件, 且发酵的葡萄酒酒体协调、口感丰富, 对产区典型发酵酒类的品质有较大提升<sup>[9-10]</sup>。尽管我国有已被商业化的 CECA、CEC01 等酿造特性优良的本土酿酒酵母, 但本土酿酒微生物菌种的选育还处于起步阶段, 我国自行筛选和选育

的酵母菌株在葡萄酒生产中严重缺乏, 因而本土酵母资源的开发利用有待突破<sup>[11-12]</sup>。

贺兰山东麓葡萄酒产区拥有大量微生物资源, Zhang 等<sup>[13]</sup>研究了该产区的细菌群落和对葡萄酒香气形成的影响, 找到了发酵中的核心细菌属; 周桂珍<sup>[14]</sup>对该产区永宁、红寺堡等地的酵母菌进行了筛选研究, 发现 2 株优良酿酒酵母。因此, 本研究以宁夏贺兰山东麓银川、玉泉营、青铜峡 3 个子产区中分离得到的 168 株酿酒酵母为研究对象, 通过杜氏管试验进行初筛, 乙醇、高糖等耐受性的复筛, 再对所筛菌株进行产 H<sub>2</sub>S 能力分析, 筛选获得数株具有良好发酵特性且耐受不同胁迫环境、低产 H<sub>2</sub>S 的本土酿酒酵母。在此基础上, 利用这些优良酿酒酵母发酵赤霞珠葡萄醪, 对酿造的葡萄酒进行基础理化指标和挥发性成分测定, 以期得到能够酿造出具有产区特色风味葡萄酒的本土酿酒酵母菌株。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

菌株为本实验室保藏的 168 株本土酿酒酵母菌(表 1), 分离自宁夏贺兰山东麓银川、玉泉营和青铜峡 3 个子产区自然发酵条件下的赤霞珠葡萄酒。

商业酿酒酵母: 菌株 XR, 诺盟公司; 菌株 F33, LAFFORT 公司; 菌株 CECA, 安琪酵母股份有限公司。

表 1 菌株来源及编号

Table 1 Resources and number of strains

编号 No.	示例 Example	菌株来源 The resource of the strains	菌株数量 The number of strains
QTX	C6-C9, C12-C14, C16-C18, D1-D4, D7-D10, QTX-C6 D12-D14, D16-D20, E1-E20, F1-F20	青铜峡(西鸽酒庄) Qingtongxia (Xige estate)	66
YC	D2, D5, D7-D9, D11, D12, D15, D18, E1-E20, F1-F20	银川(志辉源石酒庄) Yinchuan (Yuanshi vineyard)	49
YQY	D1-D2, D5-D8, D10-D12, D15, D17, D19-D20, E1-E20, F1-F20	玉泉营(宁夏农垦酒业有限公司) Yuquanying (Ningxia state farm)	53

葡萄原料: 赤霞珠葡萄果实于 2022 年 10 月 8 日取自宁夏回族自治区青铜峡西鸽酒庄, 还原糖 227.2 g/L, 可滴定酸(以酒石酸计) 5.8 g/L, pH 3.72, 卫生状况良好。

### 1.1.2 培养基

YPD 液体培养基 (yeast extract peptone dextrose) (g/L): 蛋白胨 20.0, 酵母浸粉 10.0, 葡萄糖 20.0。固体培养基中添加琼脂 13.0 g/L。

BIGGY 培养基 (bismuth sulfite glucose glycine yeast): 培养基粉 45.0 g/L, 加蒸馏水煮沸不超过 1 min, 冷却至 45–50 °C, 倒入培养皿, 无须高压灭菌。

蛋白胨、酵母浸粉、BIGGY 培养基粉均购自青岛海博生物技术有限公司。

### 1.1.3 主要试剂和仪器

0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液: 称取 29.0 g 柠檬酸钠, 用蒸馏水定容至 1 L。

柠檬酸钠、氯化钠、无水乙醇、葡萄糖、没食子酸和浓盐酸等均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

生化培养箱, 常州诺基仪器有限公司; 紫外可见分光光度计, 北京普析公司; 酶标仪, 赛默飞世尔仪器有限公司; 全自动葡萄酒分析仪, Biosystems 公司; 质谱仪和气相色谱仪, 安捷伦科技有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 酿酒酵母种子液的制备

将保存于 -80 °C 的酿酒酵母菌株划线至 YPD 固体培养基上, 28 °C 培养 3 d, 挑单菌落于 YPD 液体培养基中, 在 28 °C、180 r/min 恒温振荡培养 12 h 后所得菌液为种子液。

### 1.2.2 本土酿酒酵母起酵特性筛选

于玻璃试管中加入 6 mL YPD 液体培养基并倒置放入杜氏小管(确保杜氏管内充满液体), 121 °C 灭菌 15 min 后冷却。用 YPD 液体培养基调种子液  $OD_{600}$  值为 0.15 的菌液, 向玻璃试管中

接入 200  $\mu$ L 菌液, 振荡摇匀并排除气泡, 在 28 °C 恒温静置培养, 从 6 h 开始, 每隔 1 h 观察一次杜氏管内气体充盈情况, 并作记录, 初步筛选出发酵活力较强的本土酿酒酵母菌株, 进行下一级筛选。

### 1.2.3 本土酿酒酵母耐受性筛选

以 YPD 液体培养基为基础培养基, 添加不同体积分数(10%、13%、16%、19%和 22%)的无水乙醇, 配制乙醇筛选培养基; 使用浓盐酸调节 YPD 液体培养基的 pH, 配制不同 pH 值(1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0)的筛选培养基。用 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液调种子液  $OD_{600}$  值为 0.5, 取 300  $\mu$ L 菌液加入到含有 10 mL 上述不同培养基的离心管中, 于 28 °C、180 r/min 条件下振荡培养 24 h。将菌液用缓冲液稀释, 5 个稀释梯度为  $10^0$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  和  $10^{-4}$ , 混匀后取 2  $\mu$ L 菌液点板于 YPD 固体平板上, 28 °C 培养 24 h 后观察菌斑生长情况。

以 YPD 固体培养基为基础培养基, 分别添加不同质量浓度(250、300、350、400 和 450 g/L)的葡萄糖和不同质量浓度(50、100、150、200 和 250 mg/L)的  $SO_2$  (以偏重亚硫酸钾添加), 配制高糖和  $SO_2$  固体筛选培养基。用 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液调种子液  $OD_{600}$  值为 0.5, 再用缓冲液梯度稀释, 8 个稀释梯度为  $10^0$ 、 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  和  $10^{-7}$ , 混匀后取 2  $\mu$ L 菌液点板于不同固体平板上, 28 °C 培养 24 h 后观察菌斑生长情况。

### 1.2.4 本土酿酒酵母产 $H_2S$ 特性及生长曲线测定

用 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液调种子液  $OD_{600}$  值为 0.5, 取 2  $\mu$ L 菌液点样于 BIGGY 平板上, 于 28 °C 培养 4 d 后观察菌落颜色。

取种子液 1 mL 加入 100 mL YPD 液体培养基中, 于 28 °C、180 r/min 振荡培养, 每隔 2 h 取样 3 mL, 用紫外分光光度计测其  $OD_{600}$  吸光值, 以培养时间为横坐标,  $OD_{600}$  为纵坐标, 绘制生长曲线。

### 1.2.5 葡萄醪发酵试验

将保藏的酿酒酵母菌株解冻后划线于 YPD 固体培养基上, 28 °C 条件下培养 3 d 进行活化。挑单菌落于 YPD 液体培养基中, 于 28 °C、180 r/min 条件下培养 12 h, 在 25 °C、8 000 r/min 条件下离心 5 min 收集菌体, 用无菌水洗涤 2 次后, 血细胞计数板计数, 最后将酵母以接种量  $1 \times 10^6$  cells/mL 接入发酵罐<sup>[15]</sup>。

挑选果粒饱满、无病害的赤霞珠葡萄果实, 除梗破碎后, 按装液量 90% 分装于 5 L 玻璃发酵罐, 加入 60 mg/L 偏重亚硫酸钾, 搅拌后加入 30 mg/L 的果胶酶, 常温浸渍 24 h, 接入相应酵母启动酒精发酵(发酵过程中检测比重和温度), 待发酵液比重在 0.992–0.996 时视酒精发酵结束, 皮渣分离后加入 60 mg/L 偏重亚硫酸钾, 静置澄清 1 个月后分离沉淀并装瓶, 同时取样进行理化指标等测定。

### 1.2.6 基础理化指标测定

参考 GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》<sup>[16]</sup>测定酒精度; 使用全自动葡萄酒分析仪测定总糖、挥发酸、总 SO<sub>2</sub>、游离 SO<sub>2</sub> 和甘油等理化指标。

### 1.2.7 酚类物质及颜色测定

参考夏鸿川的方法测定总酚、单宁和花色苷含量<sup>[17]</sup>; 参考刘晓燕<sup>[18]</sup>的方法测定色度、色调。

### 1.2.8 挥发性成分测定

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术(head space solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometer, HS-SPME-GC-MS)进行葡萄酒香气成分测定, 方法参照李伟等<sup>[19]</sup>的研究。将 5 mL 葡萄酒样品、1.5 g NaCl 和 10 μL 内标 4-甲基-2-戊醇(1 g/L)依次加入顶空瓶, 后放置于自动进样器上启动检测。

香气物质定性定量分析: 通过获得的质谱和保留指数(retention index, RI)与美国国家标准与技术研究院数据库(National Institute of Standards and Technology, NIST)比对结果对葡

萄酒中的香气物质进行定性分析, 通过内标法对香气成分浓度进行定量分析。

香气物质活度值的计算: 香气活度值(odour activity value, OAV)评价香气物质对葡萄酒整体香气贡献程度的指标, 是物质的浓度与其相应嗅觉阈值的比值。

### 1.2.9 数据分析

使用 Microsoft Office 2019 软件进行数据统计, SPSS 26 软件对数据进行显著性分析, Origin 2021 软件进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 起酵特性筛选

酵母菌发酵过程中会产生 CO<sub>2</sub> 气体, 气体充满杜氏小管的时间可直接反映菌株的起发酵能力<sup>[20]</sup>。如表 2 杜氏管试验结果显示: 最快 6 h 内气体充满杜氏小管的菌株有 1 株, 最慢 12 h 内气体充满杜氏小管的菌株有 2 株, 而在 7、8、9、10 和 11 h 内气体充满杜氏小管的菌株分别有 4、20、82、42 和 20 株。大部分菌株气体充满杜氏管时间集中在 9 h 之内, 优良的酵母菌株应有发酵能力优良、起酵速度快等基本性能, 因此, 选 6–9 h 内气体充满杜氏小管的 107 株菌与商业菌株进行下一步耐受性试验。部分菌株 9 h 时杜氏管产气情况如图 1 所示。

### 2.2 耐受性筛选

乙醇耐受性结果表明, 所有酿酒酵母在乙醇浓度为 10% 时菌落明显, 生长旺盛, 而在乙醇浓度为 13% 时只有 76 株酿酒酵母有菌落生长, 其余 34 株无菌落存活。所有菌株在乙醇浓度为 16%、19% 和 22% 均未存活, 因此本土酿酒酵母菌株的最大乙醇耐受性为 13%, 与商业菌株 XR、F33、CECA 的乙醇耐受性一样(表 3), 部分菌株乙醇耐受性结果如图 2 所示。选择乙醇耐受性好的酿酒酵母有利于葡萄酒酿造过程中酒精发酵彻底<sup>[21]</sup>。因而选择乙醇耐受性为 13% 的 76 株酿酒酵母进行下一步筛选。

表 2 不同酵母菌株产气结果

Table 2 Gas production of different yeast strains

气体充满杜氏 管时间 The gas fills the Duchenne tube for a time (h)	数量 Quantities	菌株编号 Strains No.
6	1	QTX-D2
7	4	QTX-C7, QTX-C14, QTX-C18, QTX-C16
8	20	QTX-D1, QTX-D10, QTX-C6, QTX-D4, QTX-D8, QTX-D16, YC-D15, YQY-E1, YQY-E11, YQY-E18, QTX-C8, QTX-D13, QTX-D12, YQY-D7, QTX-E5, QTX-E19, YQY-E4, QTX-C17, QTX-D17, YQY-D20
9	82	QTX-D7, QTX-D3, QTX-D14, YC-D2, YQY-D5, YQY-D2, YQY-D6, YC-D5, QTX-E8, QTX-E10, YQY-E14, YC-E1, YC-E5, YC-E6, YC-E7, YC-E8, QTX-C12, QTX-D20, YQY-D15, YQY-D1, YQY-D19, YQY-D11, QTX-E12, QTX-E14, QTX-E1, QTX-E7, YQY-E6, YQY-E12, YQY-E16, YQY-E19, YQY-E20, YC-E2, YC-E20, QTX-F3, QTX-F6, QTX-F8, QTX-F13, QTX-F17, QTX-F19, YC-F9, YC-F12, YQY-F1, YQY-F6, YQY-F10, YC-D7, QTX-E20, QTX-E9, YQY-E3, YQY-E5, YC-E3, YC-E9, YC-E12, QTX-F2, QTX-F4, YC-F13, YC-F18, YQY-F4, YQY-F17, YC-D8, YQY-D10, YQY-D17, YC-D18, QTX-E4, QTX-E15, QTX-E17, YQY-E13, YC-E4, YC-E11, QTX-F5, QTX-F7, QTX-F12, QTX-F14, QTX-F20, YC-F3, YC-F6, YC-F8, YC-F14, YC-F17, YC-F19, YQY-F11, YQY-F16, YQY-F19
10	42	YC-D12, YQY-D12, YQY-D8, QTX-D19, YC-D11, QTX-E3, QTX-E11, QTX-E18, YQY-E2, YQY-E8, YQY-E17, YC-E14, YC-E15, YC-E19, QTX-F10, QTX-F16, YC-F10, YC-F11, YC-F16, YQY-F3, YQY-F5, YQY-F7, YQY-F14, YQY-E7, YQY-E9, YQY-E10, QTX-F9, QTX-F11, YC-F2, YC-F4, YC-F5, YQY-F2, YQY-F9, QTX-E13, QTX-F15, YC-F7, YC-F15, YQY-F12, YQY-F13, YQY-F15, YQY-F20, YC-E17
11	20	QTX-D18, YC-D9, QTX-E2, QTX-E6, QTX-E16, YQY-E15, YC-E10, YC-E13, QTX-C9, QTX-D9, QTX-F18, YC-F20, YQY-F8, QTX-C13, YC-E16, QTX-F1, YC-F1, XR, F33, CECA
12	2	YC-E18, YQY-F18

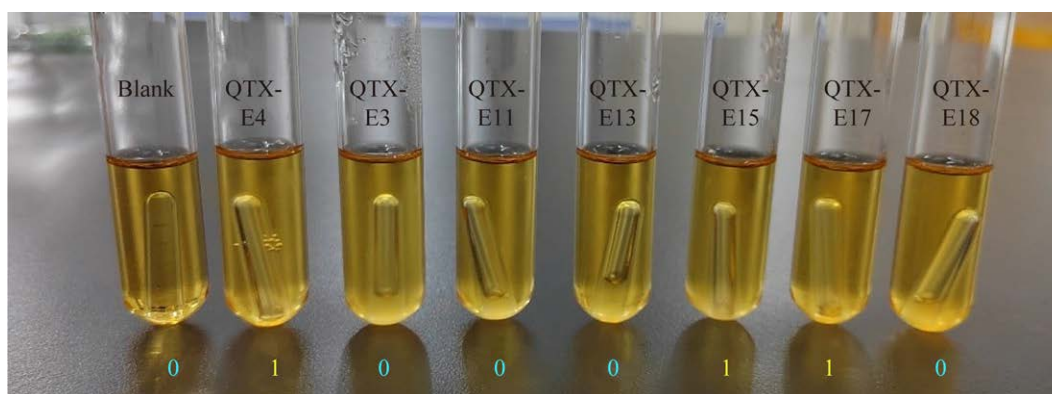


图 1 部分菌株 9 h 时杜氏管产气情况 0: 气体没有充满杜氏管; 1: 气体充满杜氏管. 从左往右依次是: 空白、QTX-E4、QTX-E3、QTX-E11、QTX-E13、QTX-E15、QTX-E17、QTX-E18

Figure 1 Gas production of Duchenne tube at 9 h of partial yeast strains. 0: The gas is not filling the Duchenne tube; 1: The gas is filling the Duchenne tube. From left to right: Blank, QTX-E4, QTX-E3, QTX-E11, QTX-E13, QTX-E15, QTX-E17, QTX-E18.

表 3 不同酵母菌株乙醇耐受性结果  
Table 3 Ethanol tolerance of different yeast strains

菌株编号 Strains No.	数量 Quantities	乙醇浓度 Ethanol concentration (%)				
		10	13	16	19	22
QTX-D2, QTX-C7, QTX-C14, QTX-D1, QTX-E19, QTX-C17, QTX-D14, YQY-D2, QTX-E8, YC-E5, YC-E6, YC-E7, YQY-D15, YQY-D1, YQY-D11, QTX-E12, QTX-E14, QTX-E1, YQY-E12, YQY-E16, YQY-E19, YQY-E20, QTX-F3, YC-F12, YQY-F6, YQY-F10, QTX-E20, YC-E3, YC-F13, YC-F18, YQY-D17, YC-D18, YC-F6, YC-F17	34	+	-	-	-	-
QTX-C18, QTX-C16, QTX-C6, QTX-D4, QTX-D8, QTX-D16, YC-D15, YQY-E1, YQY-E11, YQY-E18, QTX-C8, QTX-D13, QTX-D12, YQY-D7, QTX-E5, YQY-E4, QTX-D17, YQY-D20, QTX-D7, QTX-D3, YC-D2, YQY-D5, YQY-D6, YC-D5, QTX-E10, YQY-E14, YC-E1, YC-E8, QTX-C12, QTX-D20, YQY-D19, QTX-E7, YQY-E6, YC-E2, QTX-F6, QTX-F8, QTX-F13, QTX-F17, QTX-F19, YC-F9, YQY-F1, QTX-E9, YQY-E3, YQY-E5, YC-E20, YC-E9, YC-E12, QTX-F2, QTX-F4, YQY-F4, YQY-F17, YC-D8, YQY-D10, QTX-E4, QTX-E15, QTX-E17, YQY-E13, YC-E4, YC-E11, QTX-F5, QTX-F7, QTX-F12, QTX-F14, YC-F3, YC-F8, YC-F14, YC-F19, YQY-F11, YQY-F19, YC-D7, QTX-F20, QTX-D10, XR, F33, CECA	76	+	+	-	-	-

+: 有菌株存活生长; -: 无菌株存活生长. 下同  
+: The strain is growing alive; -: The strain isn't growing alive. The same below.

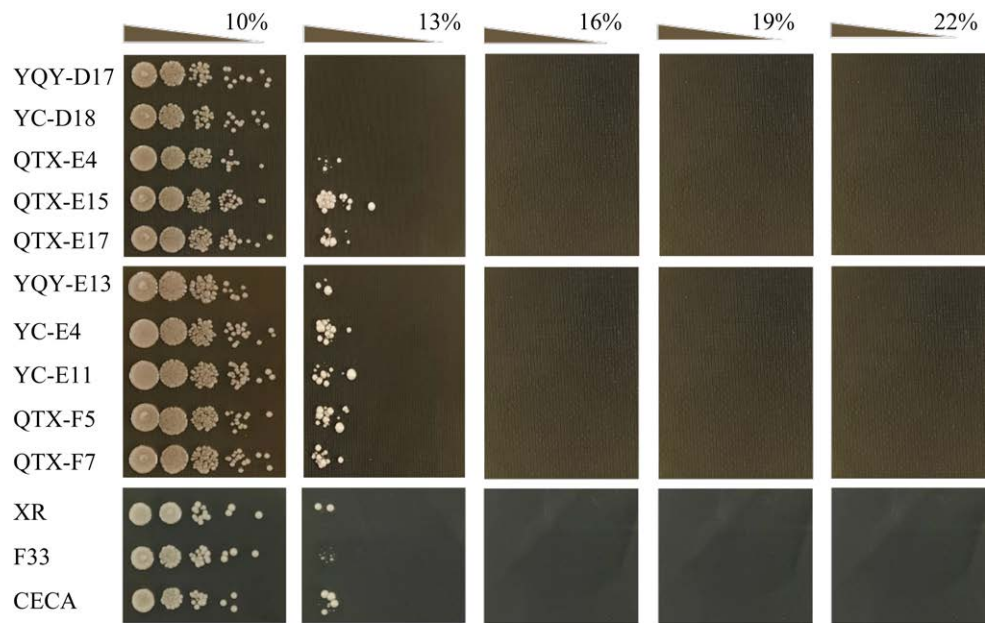


图 2 部分菌株乙醇耐受性结果  
Figure 2 Ethanol tolerance of partial yeast strains.

高糖耐受性结果表明，76 株酿酒酵母在 250 g/L 的高糖浓度下菌斑呈乳白色，湿润凸起且生长旺盛。当高糖浓度达到 300 g/L 时，菌斑生长开始受到抑制，有 9 株菌未存活；在 350 g/L 的高糖浓度下有 35 株菌未存活；在 350 g/L 的高糖浓度下，有 32 株菌生长只受到抑制却依旧存活，这与商业菌株 XR、F33 和 CECA 具有同

等高糖耐受性；所有菌株在 400 g/L 和 450 g/L 的浓度下无存活生长迹象(表 4)，部分菌株高糖耐受性结果如图 3 所示。面对全球气候变暖导致产区酿酒葡萄含糖量呈现增加的趋势，酵母菌也要能适应葡萄原料的高糖特点<sup>[22]</sup>。因此选择耐受高糖最大浓度为 350 g/L 的 32 株酿酒酵母进行下一步筛选。

表 4 不同酵母菌株高糖耐受性结果

Table 4 High glucose tolerance of different yeast strains

菌株编号 Strains No.	数量 Quantities	葡萄糖浓度 Glucose concentration (g/L)				
		250	300	350	400	450
QTX-F8, QTX-F13, QTX-F17, QTX-F19, YC-F9, YC-F8, YC-F14, 9 YC-F19, YQY-F11		+	—	—	—	—
YQY-D19, QTX-E7, YQY-E6, YC-E2, QTX-F6, YQY-F1, YC-D7, 35 QTX-E9, YQY-E3, YQY-E5, YC-E20, YC-E9, YC-E12, QTX-F2, QTX-F4, YQY-F4, YQY-F17, YC-D8, YQY-D10, QTX-E4, QTX-E15, QTX-E17, YQY-E13, YC-E4, YC-E11, QTX-F5, QTX-F7, QTX-F12, QTX-F14, QTX-F20, YC-F3, YQY-F19, QTX-C18, QTX-C16, QTX-D10		+	+	—	—	—
QTX-C6, QTX-D4, QTX-D8, QTX-D16, YC-D15, YQY-E1, 32 YQY-E11, YQY-E18, QTX-C8, QTX-D13, QTX-D12, YQY-D7, QTX-E5, YQY-E4 , QTX-D17, YQY-D20, QTX-D7, QTX-D3, YC-D2, YQY-D5, YQY-D6, YC-D5, QTX-E10, YQY-E14, YC-E1, YC-E8, QTX-C12, QTX-D20, YQY-F16, XR, F33, CECA		+	+	+	—	—

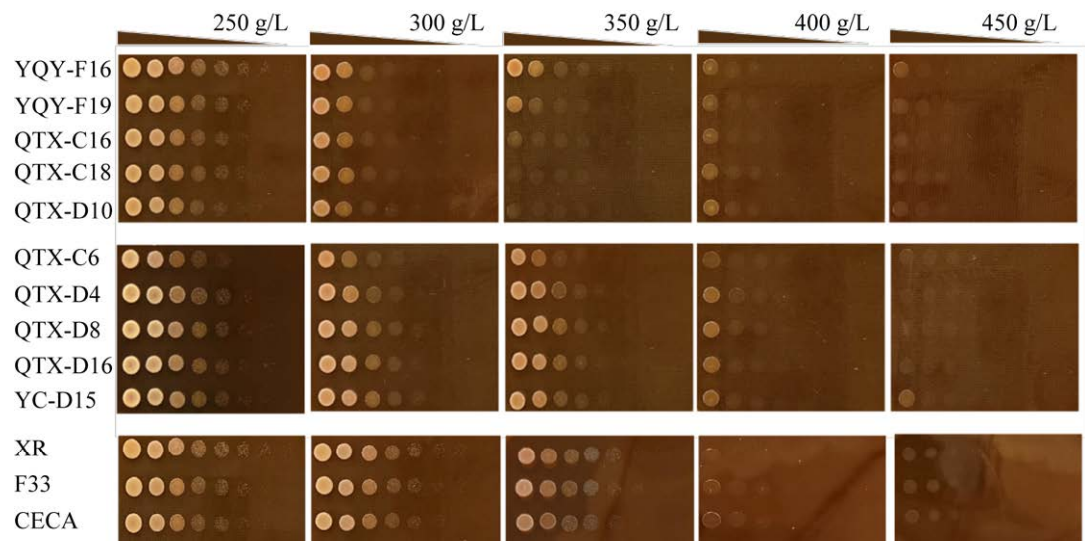


图 3 部分菌株高糖耐受性结果

Figure 3 High glucose tolerance of partial yeast strains.

低 pH 耐受性结果表明, 32 株酿酒酵母在 pH 2.0–3.0 时, 菌落生长旺盛并清晰可见, 几乎未受到抑制; 当 pH 值到达 1.5 时, 菌株生长受到明显抑制, 但所有菌株依旧存活; 在 pH 值下降至 1.0 时, 商业菌株 XR、F33 和 CECA 并未存活, 仅有 QTX-C8、YQY-D7 和 QTX-D17 等 12 株菌微量生长, 表明其耐酸性更强, 更易适应葡萄酒的高酸环境(表 5), 部分菌株 pH 耐受性结果如图 4 所示。因此选择耐受最低 pH 1.0 的 12 株酿酒酵母进行下一步筛选。

SO<sub>2</sub> 耐受性结果表明, 12 株本土酿酒酵母与

3 株商业酵母均能在 50–250 mg/L 的 SO<sub>2</sub> 胁迫环境中存活生长, 且未受到明显抑制。考虑到偏重亚硫酸钾经常用于酿酒中, 以控制腐败酵母和细菌的生长, 因此能适应该环境的酿酒酵母尤为重要<sup>[23]</sup>, 所以将 12 株菌全部保留做下一步的筛选。

2.3 产 H<sub>2</sub>S 能力筛选

H<sub>2</sub>S 能够与铋结合生成黑色硫化铋沉淀, 以铋为指示剂根据选择性培养基 BIGGY 上菌落颜色而判断菌株产 H<sub>2</sub>S 能力, 菌落颜色由浅到深顺序为: 白色、浅棕色、深棕色和黑色, 代表产 H<sub>2</sub>S 能力为不产、低产、中产和高产<sup>[24]</sup>。如图 5 所

表 5 不同酵母菌株低 pH 耐受性结果  
Table 5 Low pH tolerance of different yeast strains

菌株编号 Strains No.	数量 Quantities	pH				
		3.0	2.5	2.0	1.5	1.0
QTX-C6, QTX-D8, YC-D15, YQY-E1, YQY-E11, QTX-D13, 20 QTX-D12, YQY-E4, YQY-D20, QTX-D3, YQY-D5, YQY-D6, YC-D5, YQY-E14, YC-E1, QTX-C12, YQY-F16, XR, F33, CECA		+	+	+	+	–
QTX-C8, YQY-D7, QTX-E5, QTX-D17, QTX-D7, YC-D2, 12 QTX-E10, YC-E8, QTX-D20, QTX-D4, QTX-D16, YQY-E18		+	+	+	+	+

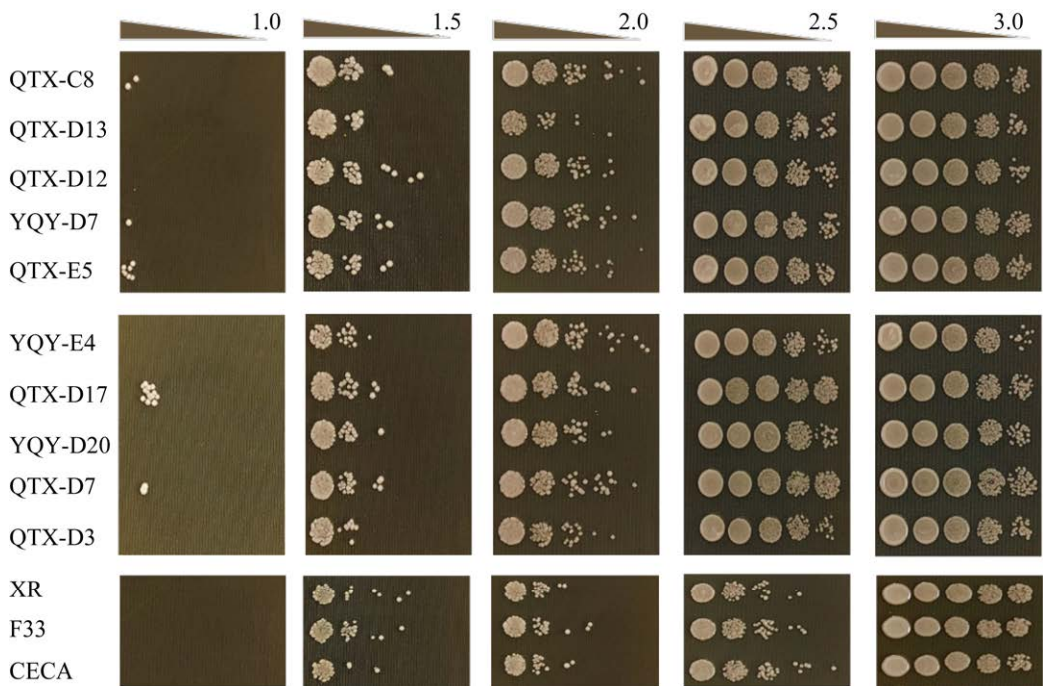


图 4 部分菌株低 pH 耐受性结果  
Figure 4 Low pH tolerance of partial yeast strains.

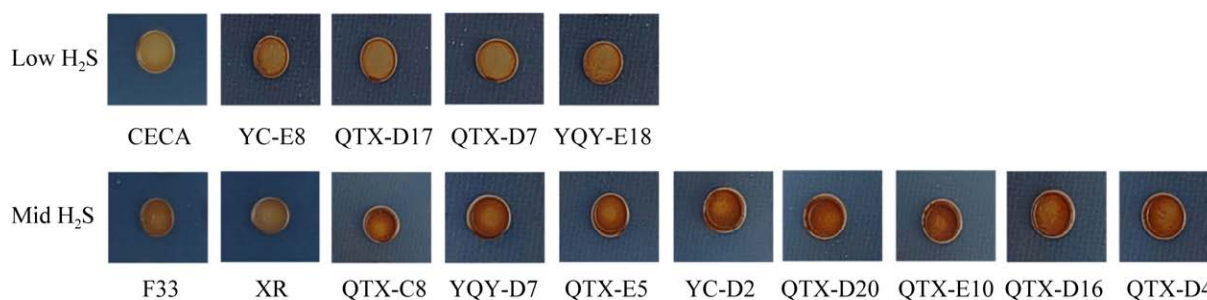


图5 不同酵母菌株产  $H_2S$  能力

Figure 5 Evaluation of  $H_2S$  production of different yeast strains.

示, YC-E8 等 4 株本土酵母与商业酵母菌 CECA 颜色呈浅棕色, 属于低产  $H_2S$  类菌株。商业酵母菌 XR、F33 与 QTX-C8 等 8 株本土酵母显色为深棕色, 属于中产硫化氢类菌株。酿酒酵母通过硫代谢过程产生微量的  $H_2S$ , 具有臭鸡蛋、大蒜或洋葱味, 不利于葡萄酒风味<sup>[25]</sup>, 因此保留 YC-E8、QTX-D17、QTX-D7 和 YQY-E18 进行后续试验。

## 2.4 菌株生长曲线

微生物的生长曲线是掌握酵母菌生长繁殖规律的有效方法。不同酿酒酵母的生长曲线如图 6 所示, 7 株酿酒酵母在 2 h 时逐渐进入指数生长期, 说明菌株适应环境较快; 在 4–8 h 完全进入指数生长期, 表明该阶段菌株生长旺盛, 繁殖速度较快;

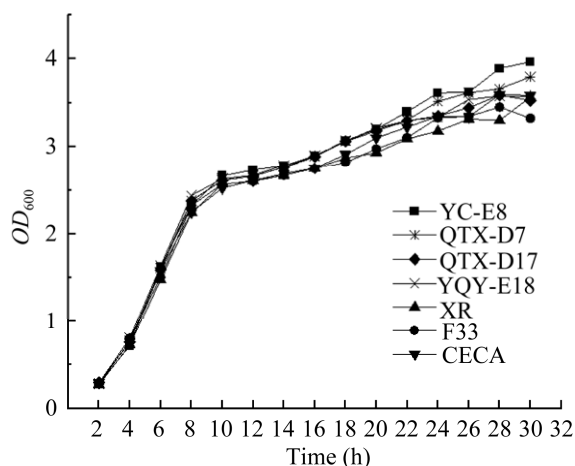


图6 不同酵母菌株的生长曲线

Figure 6 Growth curve of different yeast strains.

4 株本土酿酒酵母与 3 株商业酵母的  $OD_{600}$  值相差甚微。菌株从 10 h 开始进入生长稳定期, 其中 YC-E8、QTX-D7 和 QTX-D17 在稳定期的  $OD_{600}$  值高于 YQY-E18、XR、F33 和 CECA。

## 2.5 葡萄酒基础理化指标分析

酒样理化指标如表 6 所示, 残糖含量均  $\leq 4$  g/L, 表明由不同菌株所发酵的酒样均完成酒精发酵, 且理化指标均符合国家葡萄酒标准。酒精度在 13%–15% 范围内, QTX-D17 菌株发酵的酒样酒精度最高, 为 14.69%。总酸、挥发酸含量分别在 4–6 g/L 和 0.2–0.5 g/L 范围内, 对比商业菌株和 4 株本土酿酒酵母的发酵酒样, 总酸含量差异不显著。挥发酸为葡萄酒提供了一定的香气, 但挥发酸含量过高会破坏葡萄酒整体香气, 出现醋味、酸味等, 葡萄酒中挥发酸含量应不超过 1.2 g/L<sup>[26]</sup>。试验中发现 4 株本土酿酒酵母发酵酒样的挥发酸含量显著高于商业酵母 XR、F33, 可能影响酒体香气, 但含量均在国标规定范围内。总  $SO_2$  含量在 31–42 mg/L 范围内, QTX-D7 菌株发酵酒样的总  $SO_2$  含量最高, 为 41.67 mg/L, YQY-E18 菌株最低为 33.67 mg/L, 并且游离  $SO_2$  含量也低, 对比商业酵母并无显著差异。甘油含量在 7–8 g/L 范围内, YC-E8 菌株所产甘油含量最多为 7.24 g/L, 说明产甘油能力好, 而甘油会使葡萄酒口感圆润, 能够增加葡萄酒风味的复杂度<sup>[27]</sup>。本土酿酒酵母和商业酵母发酵酒样的 pH 值范围在 3.86–3.92 之间, 差异不显著。

表 6 不同酵母菌株发酵赤霞珠葡萄酒样的基础理化指标

Table 6 Basic physicochemical indexes of Cabernet Sauvignon wine samples fermented by different yeast strains

菌株编号 Strains No.	酒精度 Alcoholic strength (%)	残糖 Residual sugar (g/L)	总酸 Total acid (g/L)	挥发酸 Volatile acid (g/L)	总 SO <sub>2</sub> Total SO <sub>2</sub> (mg/L)	游离 SO <sub>2</sub> Free SO <sub>2</sub> (mg/L)	甘油 Glycerol (g/L)	pH
QTX-D17	14.69±0.20a	0.56±0.10a	5.12±0.35ab	0.49±0.05a	34.33±0.58d	10.11±0.77a	7.03±0.05b	3.87±0.00ab
YQY-E18	13.87±0.54ab	0.50±0.07abc	5.24±0.11a	0.39±0.02bc	33.67±0.58d	9.67±0.58ab	7.15±0.07b	3.86±0.01b
QTX-D7	13.12±0.87a	0.42±0.02abc	5.23±0.06a	0.44±0.03ab	41.67±0.58a	10.67±0.58a	7.15±0.07b	3.86±0.02b
YC-E8	13.57±0.46ab	0.42±0.01abc	4.97±0.06ab	0.39±0.05bc	40.33±0.58b	10.67±0.78a	7.24±0.13ab	3.87±0.02b
CECA	13.49±0.33ab	0.53±0.03ab	4.86±0.28bc	0.49±0.03a	39.33±0.58b	10.67±0.58a	7.08±0.19b	3.90±0.06ab
XR	14.13±0.50ab	0.35±0.03c	4.87±0.12bc	0.32±0.02cd	37.67±0.58c	9.67±0.58ab	7.13±0.06b	3.89±0.04ab
F33	13.18±0.39ab	0.40±0.15bc	5.30±0.09a	0.28±0.01d	34.67±0.58d	9.67±0.58ab	7.15±0.20b	3.87±0.01b

不同小写字母代表不同显著差异( $P<0.05$ ). 下同

The different lowercase letters represent significant differences ( $P<0.05$ ). The same below.

## 2.6 葡萄酒酚类物质测定及颜色分析

葡萄酒成分复杂多样,其中酚类物质是对葡萄酒感官、抗氧化等特性起主要作用的活性成分,主要包括酚酸、单宁和花色苷等。特定的酵母菌株可以调节葡萄酒的酚类成分、色度特性和抗氧化能力<sup>[28]</sup>。研究表明,酿酒酵母的细胞壁可以吸附葡萄酒化合物,如单宁、多酚<sup>[29-30]</sup>。不同酿酒酵母酿造的葡萄酒中单宁、总酚含量如图 7 所示,本土酿酒酵母 QTX-D17、YQY-E18 和 QTX-D7 发酵酒样中单宁含量均显著高于商业酵母 CECA、XR 和 F33,其中本土酿酒酵母 QTX-D17 发酵酒样中单宁含量最高为 1 980 mg/L,其次是本土酵母 YQY-E18 发酵的酒样,商业酵母 XR 发酵酒样单宁含量最低为 1 040 mg/L。对于总酚含量来说,本土酿酒酵母 QTX-D17 发酵的酒样显著高于其他菌株发酵酒样,为 1 798 mg/L,而 YQY-E18、QTX-D7 和 YC-E8 与 3 株商业酵母发酵酒样的总酚含量相差甚微。综合单宁含量考虑,本土酿酒酵母 QTX-D17 的葡萄酒酿造性能更为突出,有待进一步挖掘开发其他潜在优势。

葡萄酒的色泽是衡量其品质的重要指标,而

花色苷则是影响色泽的主要物质之一。不同酿酒酵母酿造的葡萄酒中花色苷含量如图 8 所示,本土酿酒酵母 QTX-D17 发酵的酒样中花色苷含量显著高于其他菌株,含量达 580.71 mg/L,说明该酵母在酒精发酵期间对花色苷含量贡献突出,可能与自身产生的某种物质如酶类<sup>[31]</sup>有关联。本土酿酒酵母 YQY-E18、QTX-D7 和 YC-E8 与商业酵母 CECA、F33 和 XR 发酵的酒样中花色苷含量相当,其商业酵母 XR 发酵酒样的花色苷含量最低为 496.71 mg/L。

葡萄酒色度差异主要与葡萄酒中类黄酮酚、酚酸和花色苷等物质的含量有关。色度表示的是颜色的呈色强度,色度越大表明酒体颜色越深,更具有结构感强、醇厚、丰满和味涩的口感特征<sup>[32]</sup>。色调表明酒体颜色的红黄偏向程度,色调越大表明酒体颜色整体偏黄色调。不同酿酒酵母酿造的葡萄酒色度、色调如图 9 所示,不同菌株发酵酒样的色调值差异甚微。本土酿酒酵母 QTX-D17 发酵的酒样色度值最高,而 YQY-E18、QTX-D7 和 YC-E8 发酵酒样的色度也高于 3 株商业酵母。对比色度值与其单宁、花色苷含量结果分析,充分说明试验结果的可靠性。

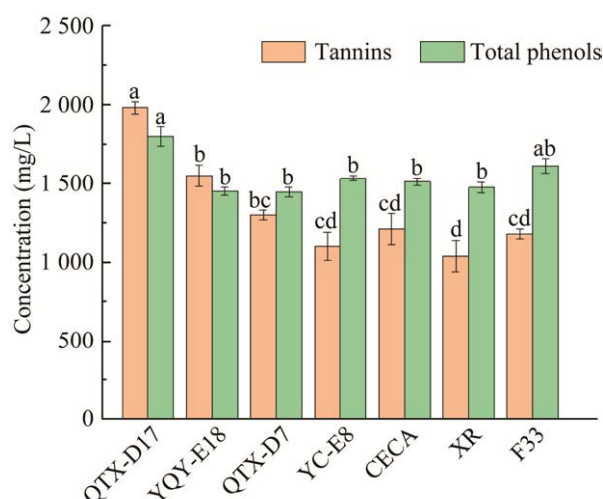


图 7 不同酵母菌株发酵赤霞珠葡萄酒中单宁、总酚含量

Figure 7 Content of tannins and total phenols in Cabernet Sauvignon wine fermented by different yeast strains.

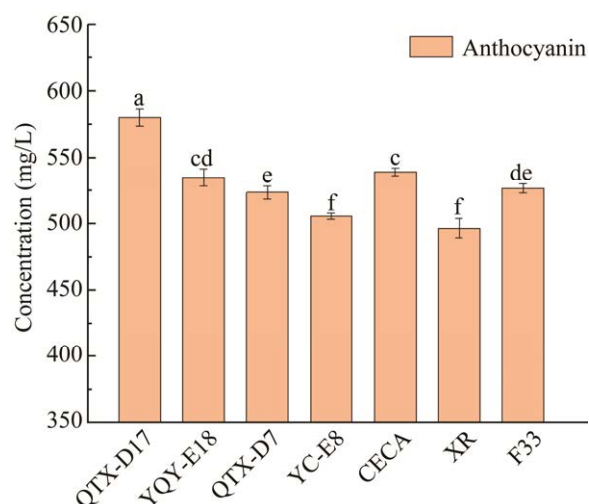


图 8 不同酵母菌株发酵赤霞珠葡萄酒中花色苷含量

Figure 8 Anthocyanin content in Cabernet Sauvignon wine fermented by different yeast strains.

## 2.7 葡萄酒挥发性成分分析

测定筛选出的 4 株本土酿酒酵母和 3 株商业酵母所发酵的葡萄酒样品挥发性物质含量。在所有葡萄酒样品中共检测出 53 种香气物质(表 7),

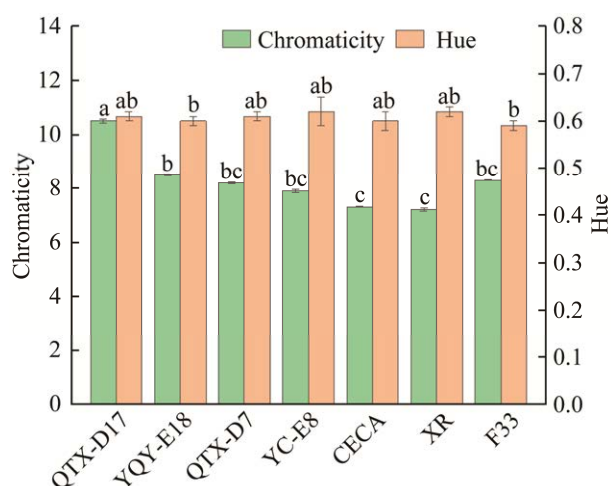


图 9 不同酵母菌株发酵赤霞珠葡萄酒的色度、色调结果

Figure 9 Chromaticity and hue of Cabernet Sauvignon wine fermented by different yeast strains.

其中酯类物质 28 种、醇类物质 12 种、酸类物质 6 种以及其他类化合物 7 种。

在发酵过程中,酯类物质主要是在酵母菌等微生物的酶催化作用下合成,是葡萄酒花果香气的主要贡献者。不同酿酒酵母菌株发酵的赤霞珠葡萄酒酯类物质总含量在 213 606.55–291 493.81  $\mu\text{g/L}$  之间,大多数酯的浓度高于气味阈值,例如具有甜果香的乙酸乙酯、具有香蕉味的丁酸乙酯和乙酸异戊酯、具有玫瑰香的辛酸乙酯等。商业酵母 CECA 发酵酒样的酯类物质含量最高,其次为本土酿酒酵母 QTX-D7、QTX-D17、YQY-E18 和 YC-E8,含量最低为 F33 和 XR,说明筛选出的 4 株本土酿酒酵母对葡萄酒香气贡献作用不亚于商业酵母。醇类物质在挥发性成分中的占比仅次于酯类物质,所有菌株发酵酒样中醇类物质总含量在 191 847.80–1 265 280.03  $\mu\text{g/L}$  之间,菌株 QTX-D7、QTX-D17 和 YQY-E18 发酵酒样的醇类总含量高于 3 株商业酵母。醇类物质中异戊醇含量最高,在所有本土酿酒酵母的酒样中都检出该物质,赋予了葡萄酒威士忌、香蕉

表 7 不同酿酒酵母发酵赤霞珠葡萄酒样品中挥发性成分分析

Table 7 Analysis of volatile components in Cabernet Sauvignon wine samples fermented by different <i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains									
物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (μg/L)		阈值 Threshold (μg/L)				OAV 香气特征 <sup>[15,19,34]</sup> Aroma characteristics <sup>[15,19,34]</sup>		
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8	CECA	XR	F33		
酯类									
Esters									
A1 乙酸乙酯	166 463.33±	161 943.49±	175 242.29±	145 789.38±	169 552.39±	125 183.05±	125 767.30±	7 500	>1 水果味、甜香
Ethyl acetate	15 525.78	15 200.99	10 529.61	7 613.00	23 572.50	10 600.60	8 932.450		Fruity, sweet
A2 丁酸乙酯	791.39±	910.61±64.80	1 081.53±	901.16±52.50	762.89±339.48	540.8±87.89	479.81±51.95	20	>1 香蕉、草莓
Ethyl butyrate	268.77		110.92						Banana, strawberry
A3 异戊酸乙酯	–	5.03±0.35	–	2.94±0.73	3.11±1.34	3.62±0.45	4.02±1.12	3	>1 甜香、香蕉
Ethyl isovalerate									Sweet, banana
A4 乙酸异戊酯	60 626.86±	58 500.18±	65 743.24±	66 437.74±	84 711.48±	53 733.07±	66 965.81±	30	>1 甜香、香蕉
Isoamyl, acetate	1 949.85	5 971.56	4 696.93	2 396.64	6 363.16	8 709.24	13 883.75		Sweet, banana
A5 丙酸戊酯	–	248.34±43.52	–	–	–	–	–	–	–
Amyl propionate									
A6 己酸乙酯	4 230.26±	4 026.31±	4 720.96±	3 235.21±	4 304.11±	3 103.04±	3 018.14±	14	>1 香蕉、草莓
Ethyl hexanoate	706.96	766.92	575.14	256.02	353.45	192.80	300.21		Banana, strawberry
A7 乙酸己酯	44.19±5.13	45.61±11.22	53.02±4.87	52.39±3.45	56.9±6.48	39.37±7.73	55.56±15.00	1 500	<0.1 水果香、梨
Ethyl acetate									Fruity, pear
A8 2-己烯酸乙酯	509.63±2.22	–	–	–	–	–	–	0.02	>1 辛香料
2-ethyl hexanoate									Spices
A9 3-己烯酸乙酯	–	28.09±17.70	–	22.64±4.98	13.32±6.24	8.57±3.99	17.86±3.39	–	–
3-ethyl hexanoate									
A10 庚酸乙酯	1 394.31±	1 496.08±	1 725.11±	1 055.6±72.58	1 201.59±	1 384.32±134.76	1 323.8±	220	>1 果香、草莓
Ethyl heptanoate	412.29	223.45	341.46		309.32		156.21		Fruity, strawberry
									(待续)

(待续)

(续表 7)

物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (μg/L)				CECA	XR	F33	阈值 Threshold (μg/L)	OAV	香气特征 <sup>[15,19,34]</sup> Aroma characteristics
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8						
A11 己酸异丁酯 isobutyl caproate	—	87.43±20.32	106.85±13.22	71.26±14.13	129.50±27.09	78.07±12.11	82.61±20.09	—	—	—
A12 乙酸庚酯 heptyl acetate	—	265.18±80.54	351.62±35.09	292.16±16.24	351.31±58.04	365.21±51.74	360.37± 106.16	—	—	—
A13 辛酸甲酯 Methyl octanoate	—	9.74±1.83	12.41±1.85	8.70±0.90	11.21±1.03	8.43±0.81	8.29±0.65	200	<0.1	柑橘香 Citrus aroma
A14 辛酸乙酯 Ethyl octanoate	10 560.12± 2 176.94	11 350.12± 1 861.96	15 387.2± 2 456.11	9 934.16±627.72	12 891.43± 274.98	9 740.82±688.76	8 649.05± 1 060.12	—	>1	玫瑰香、水果香 Rose, fruity
A15 己酸异戊酯 Isopentyl caproate	—	20.93±4.04	25.66±3.22	18.79±1.77	24.45±1.73	18.25±0.76	19.1±2.21	900	<0.1	苹果、菠萝 Apple, pineapple
A16 壬酸乙酯 Ethyl pelargonate	—	169.05±54.44	—	79.24±3.05	96.92±12.44	60.53±6.97	48.97±2.72	1 300	<0.1	热带水果 Tropical fruits
A17 癸酸乙酯 Ethyl caprate	5 095.12± 981.45	5 464.71± 1 449.01	7 504.4± 1 325.84	5 238.26±513.15	6 398.56± 123.52	5 039.23±540.14	4 659.95± 737.14	200	>1	椰子果香 Coconut fruity aroma
A18 辛酸 3-甲基 丁酯 Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1 231.53± 184.92	1 322.97± 444.19	1 936.71± 390.85	1 120.54±173.98	1 471.5±29.31	1 256.44±149.93	1 260.55± 223.68	—	—	—
A19 丁二酸二乙酯 Diethyl succinate	1 244.22± 395.98	1 429.24± 203.51	1 863.28± 247.14	1 237.2±163.59	928.91±428.46	1 105.51±176.82	1 022.85± 74.93	15	>1	水果清香 Fruity aroma
A20 9-癸烯酸乙酯 9-ethyl decanoate	5 866.55± 1 894.13	8 047.44± 2 948.88	9 930.61± 1 744.68	7 224.95±908.13	6 959.81± 1 396.26	10 225.11± 1 447.30	8 041.88± 1 383.99	—	—	果香、皮革香 Fruity, eather

(待续)

(续表 7)

物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (μg/L)				阈值 Threshold (μg/L)		OAV	香气特征 <sup>[15,19,34]</sup> Aroma characteristics <sup>[15,19,34]</sup>
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8	CECA	XR	F33	
A21 十一酸乙酯 Ethyl undecylate	146.51±89.22	138.53±42.02	215.45±92.85	102.96±32.61	131.35±28.48	184.9±76.12	148.43±25.34	100 >1 椰子 Coconut
A22 月桂酸乙酯 Phenylethyl acetate	1 237.08± 27.42	199.07±23.62	231.02±24.17	203.18±3.45	192.38±12.28	185.75±10.61	252.67±24.04	250 >0.1 愉悦花香 Pleasant floral scent
A23 乙桂酸乙酯 Ethyl laurate	438.48±51.23	513.65±153.09	696.49±204.15	92.41±3.55	95.5±3.10	101.32±8.28	97.36±2.76	1 500 <0.1 花果香、奶香 Floral and fruity, milky
A24 癸酸 3-甲基 丁酯 Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	260.83±33.51	348.56±126.47	485.05±151.12	321.41±66.72	362.38±53.72	342.57±75.36	273.34±54.56	— —
A25 琥珀酸异 戊酯 Isoamyl succinate	—	130.32±36.11	196.32±43.09	109.66±21.88	67.38±32.26	111.66±28.47	97.42±7.28	— —
A26 十四酸乙酯 Ethyl myristate	—	—	642.37±295.28	342.27±136.27	630.77±110.45	615.03±179.75	745.93± 295.46	— —
A27 棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	78.41±15.97	92.09±40.58	119.3±22.56	77.88±9.32	75.21±7.84	77.10±12.60	82.16±19.66	1 500 <0.1 苹果、菠萝味、 蜡香 Apple, pineapple flavor, waxy aroma
A28 9-十六碳烯 酸乙酯 9-ethyl hexadecenoate	115.28±11.55	—	148.88±34.62	98.08±40.71	69.45±33.17	94.75±40.39	55.88±23.12	— —

(待续)

(续表 7)

物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (μg/L)				阈值 Threshold (μg/L)		OAV	香气特征 <sup>[15,19,34]</sup> Aroma characteristics <sup>[15,19,34]</sup>
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8	CECA	XR	F33	
总计	260 353.86± 24 735.51	256 792.78± 29 791.12	288 419.76± 23 344.75	244 070.19± 13 137.08	291 493.81± 33 586.11	213 606.55± 23 264.38	223 539.12± 27 407.99	
醇类								
Alcohols								
B1 异丁醇	75 103.44±	79 509.37±	81 314.47±	71 791.04±	85 376.37±	71 998.5±	66 449.39±	淡甜味、醇香
Isobutanol	17 064.21	38 994.30	3 819.97	2 048.59	9 181.22	3 447.74	1 398.55	Light sweetness and mellowness
B2 异戊醇	826 337.88±	828 842.87±	955 980.72±	784 964.14±	815 529.25±	—	—	威士忌、香蕉
Isoamy alcohol	50 625.63	77 945.45	84 582.42	21 685.00	47 969.12	—	—	Whiskey, bananas
B3 4-甲基-1-戊醇	—	—	—	127.01±11.02	—	103.57±21.27	126.36±11.31	杏仁、烘烤味
4-methyl-1-pentanol	—	—	—	—	—	—	—	Almond, toasted flavor
B4 3-甲基-1-戊醇	359.64±20.01	—	436.01±31.43	327.52±4.41	—	269.18±76.20	463.74±44.39	土壤、蘑菇
3-methyl-1-pentanol	—	—	—	—	—	—	—	Soil, mushrooms
B5 正己醇	3 275.51±	3 229.71±	3 904.29±	3 046.84±305.75	—	3 200.66±273.21	2 996.64±	草本香
N-hexanol	503.84	550.39	633.16	—	—	—	387.52	Herbaceous
B6 正庚醇	216.55±46.22	259.43±57.23	299.7±46.27	255.34±28.81	237.21±49.19	406.25±55.33	204.21±30.46	柠檬、橘子
N-heptanol	—	—	—	—	—	—	—	Lemons, oranges
B7 1-辛醇	—	—	—	66.34±6.74	84.96±10.60	68.29±8.97	65.47±11.46	茉莉、柠檬香
1-octanol	—	—	—	—	—	—	—	Jasmine, lemon scent
B8 1-壬醇	278.44±61.78	309.52±58.14	405.96±41	269.98±39.97	291.31±50.08	317.51±69.51	270.67±33.06	水果香、蔷薇香
1-nonanol	—	—	—	—	—	—	—	Fruity, ros-scented
B9 3-甲硫基丙醇	302.43±24.11	287.5±94.03	466.68±130.26	336.26±51.49	201.58±46.02	284.19±32.16	514.7±27.78	马铃薯
3-methylthio propanol	—	—	—	—	—	—	—	Potato
B10 1-癸醇	—	—	—	127.59±21.93	146.27±8.06	189.89±45.98	178.45±16.61	玫瑰、橙花
1-decanol	—	—	—	—	—	—	—	Roses, orange blossoms

(待续)

(续表 7)

物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (μg/L)				OAV 香气特征 <sup>[15,19,34]</sup> Aroma characteristics <sup>[15,19,34]</sup>					
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8	CECA	XR	F33	Threshold (μg/L)		
B11 苯甲醇 Benzyl alcohol	379.43±53.61	407.84±127.96	652.74±96.61	370.21±66.29	299.54±32.56	354.47±118.47	345.28±64.91	200 000	<0.1	果香、烘烤、甜味
B12 苯乙醇 Phenylethyl alcohol	125 438.1± 25 630.87	144 529.36± 46 920.23	221 819.47±47 117 381.78± 077.66	9 724.98	92 671.57± 17 866.12	114 655.28± 26 144.93	169 652.09± 27 917.93	14 000	>1	Fruity, toasted, Sweet 玫瑰、花香 Roses, flowers
总计	1 031 691.42± 94 030.29	1 057 375.61± 164 747.73	1 265 280.03± 136 458.77	979 064.03± 33 994.96	994 838.07±75 191 212.98	847.80±30 241 267.01± 293.77	29 943.98			
酸类 Acids										
C1 乙酸 Acetic acid	237 723.62± 38 053.44	182 615.72± 33 772.09	278 823.48± 39 489.13	163 113.82± 7 237.31	—	118 741.83± 16 534.08	91 331.31± 6 453.64	200 000	>0.1	醋酸味 Acetate sourness
C2 异戊酸 Isovaleric acid	2 290.72± 254.19	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C3 2-甲基己酸 2-methyl hexanoic acid	—	639.74±61.46	834.08±29.59	582.04±53.29	—	483.43±40.41	773.12±118.85	—	—	乳制品、脂肪 Dairy products, fats
C4 己酸 Hexanoic acid	1 697.61± 197.89	1 960.53± 541.59	2 689.63±169.42 082.21±287.76	1 955.39± 164.79	1 752.45±273.23	1 767.23± 157.22	420	>1	奶酪、腐臭 Cheese, rancid	
C5 辛酸 Octanoic acid	1 133.94± 101.14	1 485.97± 369.35	2 462.58± 359.31	1 780.78±285.01 117.22	1 601.09± 168.74	1 372.17±215.07	1 333.24± 168.74	3 000	>0.1	奶酪、脂肪、腐臭 Cheese, fat, rancid
C6 正癸酸 N-decanoic acid	563.24±57.6	692.2±164.45	1 240.3±236.62 927.45±234.68	—	809.65±146.33	689.89± 155.54	1 000	>0.1	脂肪酸、不愉快味 Fatty acids, unpleasant taste	
(待续)										

(待续)

(续表 7)

物质名称 Compound name	质量浓度 Mass concentration (µg/L)		阈值 Threshold (µg/L)				OAV	香气特征 Aroma characteristics
	QTX-D17	YQY-E18	QTX-D7	YC-E8	CECA	XR		
总计	243 409.14±	187 394.16±	286 050.06±	168 486.3±	3 556.49±	123 159.54±	95 894.80±	
其他	38 664.26	34 908.93	40 284.05	8 098.05	282.00	17 209.12	7 053.99	
Others								
D1 三甲苯 Trimethyl benzene	—	—	1 608.92± 350.02	908.58±267.04	1 485.74± 141.11	1 169.25±53.84	1 262.29± 158.49	—
D2 香茅醇 Citronellol	—	—	—	10.91±1.37	8.09±1.69	10.29±1.68	11.83±0.43	>0.1 青草、柠檬、 蔷薇 Grass, lemon, Rose
D3 紫杉醇 Taxol	89.53±14.16	—	—	—	—	—	—	—
D4 苯乙烯 Styrene	—	—	783.4±0.00	327.26±24.49	531.28±58.61	414.07±46.68	356.8±26.07	>1 汽油、矿物质 Gasoline, minerals
D5 大马士酮 Damascenone	4.18±0.03	—	—	4.41±0.01	—	4.29±0.09	4.42±0.02	>1 甜苹果、李子、 桃子罐头 Canned sweet, apples, plums, peaches
D6 2,4-二叔丁基苯酚 2,4-di-tert-butylphenol	229.54±88.32	—	—	105.75±5.65	—	214.99±154.79	58.4±4.73	>0.1 石碳酸味、花香 Carbohydrate, floral
D7 2,6,8-三甲基-4-壬酮 2,6,8-trimethyl-4-nonanone,	1 278.49± 393.05	—	—	—	—	—	—	—
总计	1 601.74±		2 392.32±	1 356.91±298.56	2 025.1±201.41	1 812.9±257.09	1 693.73±	
Total	495.57		350.02				189.74	

—: 未检测到该物质或未查到相关资料

—: Indicates that the substance was not detected or no relevant information was found.

的气味。酸类物质和其他类物质的存在会影响葡萄酒复杂的风味和香气。本土酿酒酵母发酵的酒样中,带有奶酪、腐臭、脂肪酸味的酸类物质含量均高于商业酵母的含量,由于该类物质的阈值较高,而且  $1 > \text{OAV} > 0.1$ , 所以属于潜在香气的贡献者,对葡萄酒整体风味的影响较弱。

挥发性化合物的气味活性值(OAV)用于测量它们对葡萄酒香气的贡献。OAV>0.1 的香气化合物可以用作葡萄酒的潜在香气影响化合物,因此选择 OAV>0.1 的 30 种主要香气物质进行挥发性香气成分的聚类分析<sup>[33]</sup>,分析本土酿酒酵

母和商业酵母所发酵葡萄酒香气的差异性,如图 10 所示,聚类分析将 7 种不同酿酒酵母发酵酒样的香气聚为 4 类:第 1 类包括 QTX-D17、YQY-E18;第 2 类包括 YC-E8、XR 和 F33;第 3 类包括 CECA;第 4 类包括 QTX-D7, QTX-D7 发酵酒样中的香气物质含量较高,主要是丁二酸二乙酯、癸酸乙酯和辛酸乙酯等酯类物质,是葡萄酒果香、花香的主要贡献物质。YC-E8 与商业酵母 XR 和 F33 同处一个分支,说明它们酒样的香气特征相似,对葡萄酒挥发性化合物的影响差异较小。

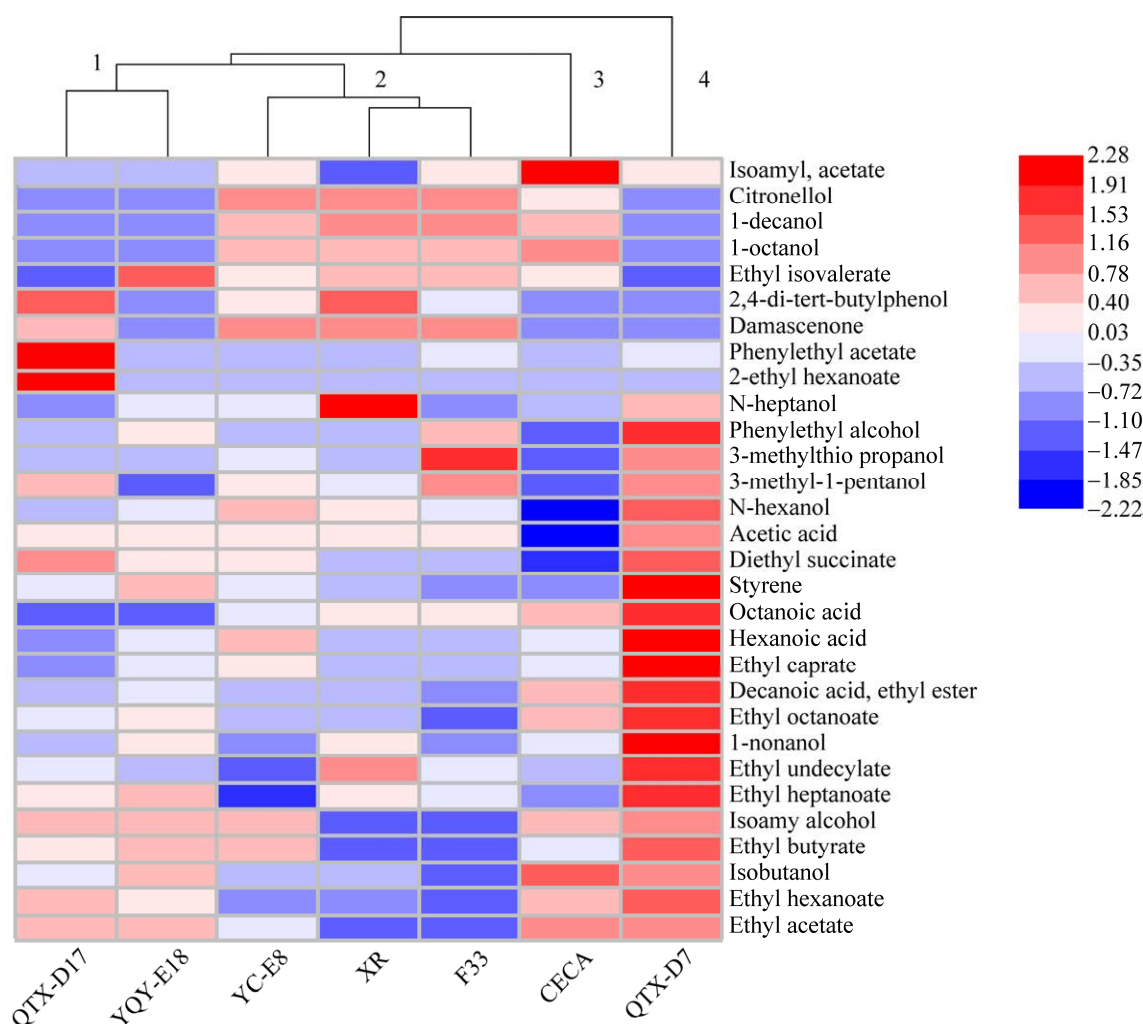


图 10 不同酿酒酵母发酵赤霞珠葡萄酒挥发性成分聚类分析

Figure 10 Cluster analysis of volatile components in Cabernet Sauvignon wine fermented by different *Saccharomyces cerevisiae* strains.

### 3 讨论与结论

葡萄汁发酵成葡萄酒是一个复杂的过程,其中酿酒葡萄原料、微生物、陈酿与储藏等因素都会影响葡萄酒最终品质。尤其是酵母菌起着至关重要的作用,发酵中存在的酿酒酵母菌株的多样性有助于丰富葡萄酒的化学成分和感官品质,但酿酒酵母的生理特性和代谢特性也会影响自身在葡萄酒发酵环境中的生长状况<sup>[35]</sup>。因此,为了保证所选酿酒酵母有理想特性,能更好地适应葡萄酒发酵的环境,需要酵母菌满足某些条件。例如,发酵活力旺盛、糖消耗率高、耐受乙醇和SO<sub>2</sub>、低产H<sub>2</sub>S和乙酸等。本试验通过杜氏管发酵试验,从168株本土酿酒酵母中初步筛选出发酵快、活力好的107株菌,又经耐受性试验筛选出能耐受13%乙醇浓度、350 g/L高糖浓度、pH 1.0和250 mg/L SO<sub>2</sub>的12株酿酒酵母,通过产H<sub>2</sub>S能力试验,最终筛选出低产H<sub>2</sub>S的4株酿酒酵母菌:YC-E8、QTX-D17、QTX-D7和YQY-E18。周桂珍等<sup>[14]</sup>从106株酵母菌中筛选出可在15%酒精浓度、500 g/L葡萄糖浓度、350 mg/L SO<sub>2</sub>和pH 3.0环境下生长的10株酿酒酵母。吴启凤等<sup>[36]</sup>的研究也得到类似结果,从水晶葡萄中分离筛选出发酵启动早、产气快的2株优良酿酒酵母,均能适应50%糖度、12%乙醇、200 mg/L SO<sub>2</sub>和pH 2.0的培养环境。Garofalo等<sup>[37]</sup>的研究结果中筛到的16株酿酒酵母低产H<sub>2</sub>S,能在12%乙醇浓度、200 mg/L SO<sub>2</sub>环境下存活生长。耿海波<sup>[38]</sup>筛选出一株酿酒酵母菌株SC-62具有优良性能,可耐受14%乙醇浓度、500 g/L葡萄糖浓度和pH 4.0的胁迫环境。程仕伟等<sup>[39]</sup>通过对10株本土酿酒酵母与商业酵母发酵力及耐受能力的比较,选出可耐受16%乙醇、300 g/L高糖和200 mg/L SO<sub>2</sub>等综合性能好的3株酿酒酵母菌株。对比以上研究发现,大部

分酿酒酵母耐乙醇浓度和高糖浓度分别在12%–16%和300–500 g/L范围,耐SO<sub>2</sub>浓度在200–350 mg/L,而本试验所筛菌株最大耐受13%乙醇和350 g/L高糖,SO<sub>2</sub>耐受性为250 mg/L,说明该4株菌的乙醇、高糖和SO<sub>2</sub>耐受性能适中,但仍具有一定的耐受性。另外,周桂珍等<sup>[14]</sup>、吴启凤等<sup>[36]</sup>、Garofalo等<sup>[37]</sup>筛选出的菌株可耐受pH值在2.0–4.0之间的酸性环境,但本试验筛选出的4株酿酒酵母在低pH值(1.0)的环境下仍能存活生长,说明菌株耐酸性能更强,对酸性环境的适应性有绝对优势,可用于酿造酸度较高的葡萄酒。对于4株酿酒酵母呈现出的乙醇和高糖耐受性不足的问题,可以在未来的研究中利用基因和代谢工程对菌株进行乙醇、高糖耐性的定向驯化,以获得综合性能优良的目标菌株。已有研究者通过酿酒酵母海藻糖代谢工程与基因工程技术相结合的方式,获得了较高耐性和优良乙醇发酵性能的酿酒酵母菌株<sup>[40]</sup>。此外,自然驯化也是酵母菌筛选的方式之一。Mavrommati等<sup>[41]</sup>的研究中,将酿酒酵母的亲本菌株在无乙醇环境下培养繁殖,待生长旺盛转至有一定浓度乙醇的环境中培养,之后将该环境下存活的菌株又转移至无乙醇环境下进行生长繁殖,待提高乙醇浓度后再次重复上一步骤,最终对比亲本菌株,发现进化菌株的乙醇耐受性显著提高,发酵力增强。

酿酒葡萄‘赤霞珠’在贺兰山东麓产区被普遍种植而具有代表性,因此用作葡萄原料对筛选出的4株本土酿酒酵母进行葡萄酒酿造试验。结果表明:3株酿酒酵母具有更优的葡萄酒酿造特性,菌株QTX-D17酿造的葡萄酒乙醇、单宁、总酚和花色苷含量高,其葡萄酒理化特性突出。此结果与Zhang等<sup>[42]</sup>发现的宁夏葡萄酒乙醇含量高、酸度低、花青素含量高的研究结果具有相似性。对葡萄酒挥发性化合物进行分析,发现本土酿酒酵母QTX-D7所发酵酒样具有浓郁复杂

的香蕉、苹果、菠萝、椰子和玫瑰花香等愉悦花果香,包括丁二酸二乙酯、乙酸乙酯、癸酸乙酯、辛酸乙酯和己酸乙酯等酯类物质对葡萄酒香气具有重要贡献。这与闫兴敏等<sup>[25]</sup>的报道一致,挥发性酯类物质对葡萄酒的香气影响更大,而与果香、花香有关的乙基酯是由醇类和酸类组成,包括乙酸乙酯(水果香)、辛酸乙酯(橙子味)丁酸乙酯(水果香)等。李婷<sup>[43]</sup>的研究发现,对照商业酵母,本土酿酒酵母 WJ1 和 Q12 发酵赤霞珠葡萄酒的乙酸乙酯、癸酸乙酯和辛酸乙酯等酯类物质含量较高,赋予了葡萄酒水果甜香味和花香特性,此结果与本研究具有相似性。此外, QTX-D7 发酵酒样中苯乙醇、1-壬醇等醇类物质含量也较高,赋予了葡萄酒玫瑰花香和植物香;辛酸、己酸等酸类物质的存在也增强了酒样香气的复杂度。QTX-D17 发酵酒样中的主要香气物质包括乙酸苯乙酯和 2-己烯酸乙酯,赋予葡萄酒愉悦花香和辛香类香气,其中乙酸苯乙酯的物质含量是其他菌株发酵酒样含量的 5 倍以上,并且 2-己烯酸乙酯在其他菌株发酵酒样中均未检测到,为该菌株特异性香气化合物。这与李金鹏<sup>[44]</sup>的研究结果相似,通过分析 5 株野生酿酒酵母和商业酵母发酵酒样的挥发性物质,在野生酿酒酵母发酵产物中检测出了商业酵母缺乏的庚醛、壬酮和 3-甲基丁酯等物质,认为菌株具有地域性特征潜质。聚类分析结果显示,本土酿酒酵母 YC-E8 酒样香气与商业酵母 XR、F33 最为接近,同样适用于赤霞珠葡萄酒的发酵。刘沛通等<sup>[45]</sup>的研究表明,葡萄酒产区不同的微气候塑造了不同特点的本土酵母,表现出各异的区域特征,从而影响葡萄酒最终口感香气特性。综上所述,本研究筛选出的 3 株优良本土酿酒酵母 QTX-D17、QTX-D7 和 YC-E8,有潜力酿造宁夏产区特色葡萄酒,丰富贺兰山东麓葡萄酒产区酿酒微生物资源,为提升葡萄酒品质提供理论基础。

## REFERENCES

- [1] CAPECE A, PIETRAFESA R, SIESTO G, ROMANIELLO R, CONDELLI N, ROMANO P. Selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains as profitable strategy to preserve typical traits of Primitivo wine[J]. *Fermentation*, 2019, 5(4): 87.
- [2] LYONS SM, MORGAN SC, MCCANN S, SANDERSON S, NEWMAN BL, WATSON TL, JIRANEK V, DURALL DM, ZANDBERG WF. Unique volatile chemical profiles produced by indigenous and commercial strains of *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* during laboratory-scale Chardonnay fermentations[J]. *OENO One*, 2021, 55(3): 101-122.
- [3] CHRISTOFI S, PAPANIKOLAOU S, DIMOPOULOU M, TERPOU A, CIOROIU IB, COTEA V, KALLITHRAKA S. Effect of yeast assimilable nitrogen content on fermentation kinetics, wine chemical composition and sensory character in the production of assyrtiko wines[J]. *Applied Sciences*, 2022, 12(3): 1405.
- [4] ALFONZO A, FRANCESCA N, MATRAXIA M, CRAPARO V, NASELLI V, MERCURIO V, MOSCHETTI G. Diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated to racemes of Grillo grape variety[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2020, 367(12): fnaa079.
- [5] GAO J, WANG MF, HUANG WD, YOU YL, ZHAN JC. Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* could better adapt to the physicochemical conditions and natural microbial ecology of prince grape must compared with commercial *Saccharomyces cerevisiae* FX10[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2022, 27(20): 6892.
- [6] 周扬. 不同酵母对刺葡萄酒香气质量的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2021.  
ZHOU Y. Different yeast strains affected aroma composition in spine grape wines[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [7] 阎贺静, 时月, 刘畅, 赵琳琳. 玫瑰香干红葡萄酒自然发酵过程中优势酵母分离鉴定及其应用潜力分析[J]. *食品科学*, 2017, 38(22): 117-124.  
YAN HJ, SHI Y, LIU C, ZHAO LL. Screening, identification and potential use of indigenous yeasts from Muscat wine spontaneous fermentation[J]. *Food Science*, 2017, 38(22): 117-124 (in Chinese).
- [8] 付肖蒙, 王鹏飞, 郝爱丽, 洪坤强, 肖冬光. 高耐性酿酒酵母的筛选及其耐受性研究[J]. *中国酿造*, 2017, 36(10): 23-26.  
FU XM, WANG PF, HAO AL, HONG KQ, XIAO DG.

- Screening of high tolerance *Saccharomyces cerevisiae* and its tolerance[J]. China Brewing, 2017, 36(10): 23-26 (in Chinese).
- [9] 李婧. 冰葡萄酒发酵过程中酵母菌群落演替规律及优良菌株的筛选[D]. 大连: 大连理工大学博士学位论文, 2020.
- LI J. The dynamic changes of yeast populations during icewine fermentation and screening of the yeast strains[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2020 (in Chinese).
- [10] CHEN Y, JIANG J, SONG YY, ZANG XM, WANG GP, PEI YF, SONG YY, QIN Y, LIU YL. Yeast diversity during spontaneous fermentations and oenological characterization of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* for potential as wine starter cultures[J]. Microorganisms, 2022, 10(7): 1455.
- [11] 叶冬青, 孙悦, 李莹, 杜青, 刘延琳. 本土酿酒酵母与商业酵母混菌发酵特性研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(4): 90-98.
- YE DQ, SUN Y, LI Y, DU Q, LIU YL. Studies on the characteristics of mixed fermentation with indigenous and commercial *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(4): 90-98 (in Chinese).
- [12] 刘宁. 本土酿酒酵母对葡萄酒质量的影响及优良菌株的筛选[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2015.
- LIU N. Effect of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains on wine quality and strain selection[D]. Yangling: Doctoral Dissertation for doctor degree Northwest A&F University, 2015 (in Chinese).
- [13] ZHANG Z, ZHANG QC, YANG H, SUN LJ, XIA HC, SUN WJ, WANG Z, ZHANG JX. Bacterial communities related to aroma formation during spontaneous fermentation of 'cabernet sauvignon' wine in Ningxia, China[J]. Foods, 2022, 11(18): 2775.
- [14] 周桂珍, 杨伟明, 杨建兴, 徐佳敏, 周婷, 申鹏森, 田晓菊. 宁夏贺兰山东麓葡萄酒酵母菌的筛选及应用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 553-572.
- ZHOU GZ, YANG WM, YANG JX, XU JM, ZHOU T, SHEN PS, TIAN XJ. Screening and application of wine yeasts at the eastern foot of Helan Mountain in Ningxia Hui Autonomous Region[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 553-572 (in Chinese).
- [15] 夏鸿川, 张众, 孙丽君, 李伟, 张军翔. 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 HC, ZHANG Z, SUN LJ, LI W, ZHANG JX. Effect of mixed culture fermentations on the aroma compounds of 'cabernet sauvignon' dry red wine produced in the eastern foothill of Helan Mountain[J]. Food Science, 2022, 43(14): 165-175 (in Chinese).
- [16] 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, 2006.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. General analysis method for wine and fruit wine: GB/T 15038-2006[S]. Beijing Standards Press of China, 2006 (in Chinese).
- [17] 夏鸿川. 宁夏贺兰山东麓产区葡萄酒的混菌发酵研究[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2022.
- XIA HC. Study on mixed fermentation of wine from eastern foothill of Helan Mountain in Ningxia[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2022 (in Chinese).
- [18] 刘晓燕. 混菌发酵、酒泥陈酿对赤霞珠干红葡萄酒品质的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学硕士学位论文, 2022.
- LIU XY. Effects of mixed fermentation, lees aging on the quality of cabernet sauvignon dry red wine[D]. Urumqi: Master's Thesis of Inner Xinjiang Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [19] 李伟, 张众, 王礼, 孙丽君, 郑永丽, 夏鸿川, 张军翔. 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, SUN LJ, ZHENG YL, XIA HC, ZHANG JX. Quality characteristics of natural 'merlot' dry red wine from eastern foothill of Helan Mountain[J]. Food Science, 2022, 43(8): 204-212 (in Chinese).
- [20] 乔喜玲. 干红葡萄酒酿酒酵母的优选及其酿酒特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2020.
- QIAO XL. Selection of dry red wine *Saccharomyces cerevisiae* its brewing characteristics[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [21] HENDERSON CM, BLOCK DE. Examining the role of membrane lipid composition in determining the ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(10): 2966-2972.
- [22] LAURA SÁNCHEZ M, CHIMENO SV, MERCADO LA, CIKLIC IF. Hybridization and spore dissection of native wine yeasts for improvement of ethanol resistance

- and osmotolerance[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2022, 38(12): 1-12.
- [23] MORERA G, OVALLE S, GONZÁLEZ-POMBO P. Prospection of indigenous yeasts from Uruguayan Tannat vineyards for oenological applications[J]. *International Microbiology*, 2022, 25(4): 733-744.
- [24] PORTER TJ, DIVOL B, SETATI ME. Investigating the biochemical and fermentation attributes of *Lachancea* species and strains: Deciphering the potential contribution to wine chemical composition[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 290: 273-287.
- [25] 闫兴敏, 姜娇, 高辉, 白稳红, 王平来, 刘延琳. 优良本土酿酒酵母的酿酒特性及产香能力初析[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(4): 62-68.
- YAN XM, JIANG J, GAO H, BAI WH, WANG PL, LIU YL. Oenological properties of superior indigenous *Saccharomyces cerevisiae* and their production of volatile compounds[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(4): 62-68 (in Chinese).
- [26] 姚圣圣. 果香型酿酒酵母在不同产区红葡萄酒中的应用研究[D]. 烟台: 烟台大学硕士学位论文, 2022.
- YAO SS. Application of fruity *Saccharomyces cerevisiae* in red wines of different regions[D]. Yantai: Master's Thesis of Yantai University, 2022 (in Chinese).
- [27] 梁丽红, 高娉娉, 张馨文, 康文军, 李敏, 王婧. 优选本土非酿酒酵母混合发酵在干红葡萄酒中的应用潜力分析[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(14): 118-124, 10001.
- LIANG LH, GAO PP, ZHANG XW, KANG WJ, LI M, WANG J. Potential application of mixed fermentation of superior indigenous non-*Saccharomyces cerevisiae* on dry red wine[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(14): 118-124, 10001 (in Chinese).
- [28] TUFARIELLO M, PALOMBI L, RIZZUTI A, MUSIO B, CAPOZZI V, GALLO V, MASTRORILLI P, GRIECO F. Volatile and chemical profiles of Bombino sparkling wines produced with autochthonous yeast strains[J]. *Food Control*, 2023, 145: 109462.
- [29] MEKOUÉ NGUELA J, TEUF O, ASSUNCAO BICCA S, VERNHET A. Impact of mannoprotein N-glycosyl phosphorylation and branching on the sorption of wine polyphenols by yeasts and yeast cell walls[J]. *Food Chemistry*, 2023, 403: 134326.
- [30] MEKOUÉ NGUELA J, VERNHET A, SIECZKOWSKI N, BRILLOUET JM. Interactions of condensed tannins with *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells and cell walls: tannin location by microscopy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(34): 7539-7545.
- [31] 谢亮华. 花色苷调节糖脂代谢的构效关系及其生物合成的分子机理研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2021.
- XIE LH. Structure and activity relationships of anthocyanins in regulating glucolipid metabolism and molecular mechanism of anthocyanin biosynthesis[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2021 (in Chinese).
- [32] 李泽涵. 金属离子对陈酿期干红葡萄酒颜色变化影响的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学硕士学位论文, 2022.
- LI ZH. Effect of metal ions on color change of dry wine during aging[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [33] LIANG LH, MA YW, JIANG ZZ, SAM FE, PENG S. Dynamic analysis of microbial communities and flavor properties in Merlot wines produced from inoculation and spontaneous fermentation[J]. *Food Research International*, 2023, 164: 112379.
- [34] 陈学莲, 藏伟, 刘宇, 姜站站, 彭帅, 王婧. 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: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20221230.1058.025.html>.
- CHEN XL, ZANG W, LIU Y, JIANG ZZ, PENG S, WANG J. Effects of biodynamic vineyard managements on yeast community and aroma components in ‘Cabernet Sauvignon’ wine[J]. *Food Science*, 2023: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20221230.1058.025.html> (in Chinese).
- [35] SURANSKÁ H, VRÁNOVÁ D, OMELKOVÁ J. Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47(1): 181-190.
- [36] 吴启凤, 李红梅, 杨胜涵, 曹海鹏. 水晶葡萄酿酒酵母菌的分离筛选及酿酒性能研究[J]. *中国酿造*, 2019, 38(7): 65-69.
- WU QF, LI HM, YANG SH, CAO HP. Isolation and screening of *Saccharomyces cerevisiae* from Shuijing grapes and its enological characteristics[J]. *China Brewing*, 2019, 38(7): 65-69 (in Chinese).
- [37] GAROFALO C, BERBEGAL C, GRIECO F, TUFARIELLO M, SPANO G, CAPOZZI V. Selection of indigenous yeast strains for the production of sparkling wines from native Apulian grape varieties[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 285: 7-17.
- [38] 耿海波. 优良耐酸酿酒酵母的筛选及发酵特性研究[J].

- 中国酿造, 2021, 40(10): 152-156.
- GENG HB. Screening and fermentation characteristics of superior acid-tolerant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. China Brewing, 2021, 40(10): 152-156 (in Chinese).
- [39] 程仕伟, 屈慧鸽, 栾丽英, 姜文广, 李记明. 新疆霞多丽自然发酵醪中本土酿酒酵母的选育与发酵特性[J]. 中国食品学报, 2017, 17(8): 119-125.
- CHENG SW, QU HG, LUAN LY, JIANG WG, LI JM. Screening and fermentation characteristics of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* from spontaneous fermentation of chardonnay grapes[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(8): 119-125 (in Chinese).
- [40] 张晓阳, 杜风光, 池小琴, 王品美, 郑道琼, 吴雪昌. 代谢工程与全基因组重组构建酿酒酵母抗逆高产乙醇菌株[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(7): 91-97.
- ZHANG XY, DU FG, CHI XQ, WANG PM, ZHENG DQ, WU XC. Construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains improved stress tolerance and ethanol fermentation performance through metabolic engineering and genome recombination[J]. China Biotechnology, 2011, 31(7): 91-97 (in Chinese).
- [41] MAVROMMATI M, PAPANIKOLAOU S, AGGELIS G. Improving ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* through adaptive laboratory evolution using high ethanol concentrations as a selective pressure[J]. Process Biochemistry, 2023, 124: 280-289.
- [42] ZHANG X, WANG KQ, GU XB, SUN XH, JIN G, ZHANG JX, MA W. Flavor chemical profiles of cabernet sauvignon wines: six vintages from 2013 to 2018 from the eastern foothills of the Ningxia Helan Mountains in China[J]. Foods, 2021, 11(1): 22.
- [43] 李婷. 本土酿酒酵母的优选及其干红葡萄酒品质分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2019.
- LI T. Optimization of native *Saccharomyces cerevisiae* and analysis of its dry red wine quality[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [44] 李金鹏. 宁夏贺兰山东麓酿酒酵母的分离鉴定与发酵特性研究[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2017.
- LI JP. Isolation, and identification of *Saccharomyces cerevisiae* from east foot of Helan Mountains of Ningxia and fermentation[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2017 (in Chinese).
- [45] 刘沛通, 丁子元, 于庆泉, 范佳硕, 乔岩, 王海绮, 郑晓卫. 优良本土酿酒酵母的酿造特性研究[J]. 中国食品学报, 2023, 23(1): 204-215.
- LIU PT, DING ZY, YU QQ, FAN JS, QIAO Y, WANG HQ, ZHENG XW. Studies on oenological characteristics of high-quality Chinese indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(1): 204-215 (in Chinese).