

## 专论与综述

## 葡萄酒相关酵母的香气形成及香气特征\*

杨莹 徐艳文 薛军侠 刘延琳\*\*

(西北农林科技大学葡萄酒学院 杨凌 712100)

**摘要** :一系列相关微生物的代谢及相互作用贯穿在葡萄酒的酿造过程中,其中各种酵母菌的代谢产物是影响葡萄酒感官特征的关键,不同菌种代谢产生不同的挥发性物质,造成对葡萄酒香气的最直接影响。介绍了酿酒酵母以及非酿酒酵母的代谢特征与差别,由此所引起的葡萄酒气味的不同表现,以及发酵过程中不同菌种的相互作用,总结了近些年来对非酿酒酵母酿酒特性的研究与利用。目前已证实非酿酒酵母的一些代谢特征对葡萄酒香气和香气结构具有一些积极的作用,并且酿酒酵母和有些非酿酒酵母的结合使用对改善葡萄酒感官也具有良好的作用与发展前景。

**关键词** 酿酒酵母,非酿酒酵母,香气

**中图分类号** :TS261.1 **文献标识码** :A **文章编号** :0253-2654(2007)04-0753-04

## Formation and Characteristics of Wine Bouquet Produced by Wine Yeasts\*

YANG Ying XU Yan-Wen XUE Jun-Xia LIU Yan-Lin\*\*

(College of Enology, Northwest A &amp; F University, Yangling 712100)

**Abstract** :In the process of vinification, the metabolic products of various yeasts are key to the sensory characteristics. Different species produce different volatile composition, which results in direct influences on wine's bouquet mostly. Metabolic characteristics of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* and the different influences on odour by them as well as interactions among various species were described in this paper. Research progress on non-*Saccharomyces* was summarized. Studies confirmed that some characteristics of non-*Saccharomyces* play a positive role in the structure of bouquet of wine. Combined use of *Saccharomyces* and some of non-*Saccharomyces* will be beneficial to sensory characteristics of wine.

**Key words** :*Saccharomyces cerevisiae*, Non-*Saccharomyces*, Bouquet

葡萄酒的感官特征是以葡萄酒的化学组成为基础,并由其它许多因素决定。其中,微生物对葡萄酒的化学组成具有重要作用,尤其是酵母菌。酵母菌对葡萄酒香气的影响可以通过以下途径:影响葡萄品质;转变为活性香气;通过自溶影响葡萄酒香气和其他特性;吸附葡萄汁组分;影响乳酸菌及其它破坏性细菌的生长等<sup>[1]</sup>。因此,了解和熟悉酵母菌群及不同酵母菌种的代谢特征在葡萄酒酿造过程中具有十分重要的意义。

目前,葡萄酒中已有超过 1000 种挥发性成分被

鉴定出,而超过 400 种的成分是由酵母发酵产生的。其中包括许多重要的香气组分如挥发酸、脂类、高级醇等。这些产物的含量与酵母菌种具有很高的相关性。并且有研究报导葡萄酒发酵过程中产生了一些葡萄浆果中原本不存在的香气物质<sup>[2]</sup>。

## 1 酵母产香机制

醇类主要是乙醇,还有多种高级醇。目前,已从葡萄酒中检测到 100 余种高级醇类物质。比较重要的有正丙醇、异丁醇(2-甲基丙醇)、异戊醇(3-甲

\* 西北农林科技大学青年骨干支持计划

\*\* 通讯作者 Tel:029-87091364, E-mail: jylsun@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-11-07,修回日期:2006-12-10



基丁醇)和活性戊醇(1-戊醇、2-甲基丁醇)等。其中,异戊醇又是高级醇中最重要的挥发性物质,能占高级醇总量的50%以上。现认为2-苯乙醇(主要由苯丙氨酸代谢产生)也属于高级醇类,它在很低的浓度下能产生很高的玫瑰香味,是葡萄酒重要的呈香物质之一<sup>[3]</sup>。

醇类生成主要经过以下3种途径<sup>[4]</sup>。1是酵母利用氨基酸,通过脱氨、脱羧、还原生成少一个碳原子的高级醇,如下式所示:



2是高级醇可通过与生成类似结构氨基酸相同的途径(除最后几步外)以糖为原料合成。在糖合成氨基酸的过程中,通过中间产物酮酸,分枝生成高级醇。

3是通过醋酸的缩合生成异戊醇和异丙醇。

酯类:在酵母代谢过程中,酯类可以有不同的来源<sup>[4]</sup>。酯类可由乙酰辅酶A化合物的醇解生成,这种醇解出现在细胞中脂肪酸生物合成或降解代谢被中断并需要再生游离辅酶A的情况下。涉及辅酶A的氧化脱羧反应也能导致酯类的产生。酯类也能由氨基酸的碳源骨架产生。短链酰基酯类具有典型的果香和植物香气,而长链酰基酯类具有甜味或皂味。若酯类的总碳数大于12,则挥发性就很弱,对气味也就无大影响。

有机酸:酵母生成的有机酸都是C<sub>2</sub>~C<sub>10</sub>的偶数直链脂肪酸,C<sub>2</sub>的醋酸气味酸臭,C<sub>4</sub>~C<sub>6</sub>的酸有酸败味,C<sub>8</sub>~C<sub>10</sub>酸有脂肪酸和蜡样的气味。这些酸同酒精结合生成酯后可转变成良好的气味。脂肪酸是由脂肪酸合成酶将乙酰辅酶A附加于丙二酰辅酶A,同时以C<sub>2</sub>为一个单位将碳链延长而成。在此过程中,游离出C<sub>4</sub>~C<sub>10</sub>酰辅酶A,由此酶进行分解进而生成了各种酸<sup>[5]</sup>。

硫化物:代表性成分是硫化氢,释放出臭鸡蛋味,在极低的阈值下就能闻到这种气味。在温度、糖浓度和酸度高的情况下酵母能产生硫化氢。

## 2 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)产香特征

葡萄园中的酿酒酵母很少,可能是酿酒酵母无法忍受紫外线并且与其它果表酵母相比处于竞争劣势。但却是酒厂中的主要酵母种群。酿酒酵母可产生较高含量的异丁醇,而丙醇、2-甲基丁醇、异

戊醇的含量与其它非酿酒酵母(*non-saccharomyces*)相当。葡萄酒中,高级醇在数量上控制并影响葡萄酒的感官特性和质量。低于300mg/L高级醇对葡萄酒品质具有积极作用,而过高的含量(超过400mg/L)将会降低质量<sup>[6]</sup>。

2000年,Sangeeta P和Takayuki S对20株不同酿酒酵母的挥发性产物进行了分析并描述了不同成分的香气表现。其中所有菌株产量最高的是异戊醇,它具有特别的白兰地香型。其次是2-苯乙醇,2,3-丁二醇含量次之<sup>[6]</sup>。

2-苯乙醇具有淡雅细腻的玫瑰气味,天然形成的2-苯乙醇是非常昂贵的。但多种酵母菌都具有从头合成2-苯乙醇的能力,如马克斯克鲁维酵母(*Kluyveromyces marxianus*)、毕赤发酵酵母(*Pichia fermentans*)。此外,还有酸酒酵母(*Saccharomyces vini*)、产朊球拟酵母(*Torulopsis utilis*)、乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)、酿酒酵母、异常汉逊酵母(*Hansenula anomala*)等<sup>[7]</sup>。

乙酸乙酯、丁二酸二乙酯是主要的酯类。乙酸乙酯是乳酸的乙酯,具有柔和的果香和奶油味(含水培养基中),并已用作于仿造奶油、奶油糖果、葡萄和草莓的香气物质。丁二酸二乙酯是琥珀酸的乙酯,琥珀酸(丁二酸)是葡萄酒中主要的酸类之一<sup>[8]</sup>,可产生令人愉快的复杂酸味。葡萄酒中还有许多琥珀酸酯,这些酯可存在于不同的物质,如仿奶油、朗姆酒、白兰地、葡萄和悬钩子。另外,脂肪族乙酯,主要是丁酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、乙基辛酸和乙基癸酸可赋予葡萄酒水果香气。丙酸、芳樟酯具有花果香与甜蜜的果味。

## 3 非酿酒酵母属(*non-Saccharomyces*)产香特征

葡萄汁的发酵前期存在大量非酿酒酵母属的酵母,其中柠檬形酵母(*Hansenula uvarum* & *Kloeckera apiculata*)是主要菌种,细胞浓度可达10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>个细胞/mL。而在发酵末期,酒香酵母(*Brettanomyces*)、克鲁维酵母(*Kluyveromyces*)、裂殖酵母(*Schizosaccharomyces*)、有孢圆酵母(*Torulaspora*)、接合酵母(*Zygosaccharomyces*)及酿酒酵母(*Saccharomyces*)等属的酵母也可检测到。这些菌的活动对葡萄酒的化学成分和最终感官具有重要影响<sup>[9]</sup>。



早期研究认为非酿酒酵母属酵母耐酒精能力弱,发酵力低,仅能产生 3%~5%(V/V)的乙醇,存活时间短,同时产生大量的醋酸,因此一直被列入葡萄酒酿造的有害菌种。但是,近期的大量研究发现非酿酒酵母在葡萄酒发酵过程中具有比原来认为的更有意义的作用<sup>[9][10]</sup>。

非酿酒酵母与酿酒酵母相比,产生和分泌多种胞外酶。胶质酶可增加葡萄汁的提取,促进酒的澄清; $\beta$ -糖苷酶是水解的非挥发性的糖苷香气物质前体,蛋白酶能增加澄清,酯酶是重要的发酵香气成分,脂肪酶能分解葡萄或酵母自溶的脂肪。这些酶与葡萄汁相互作用,展现并产生不同的品种和发酵香气<sup>[9][11]</sup>。其中 $\beta$ -糖苷酶在葡萄酒酿造中具有重要的作用,它能够水解葡萄酒中以糖苷键结合的非挥发性风味前提物,释放出风味活性物质。与浆果本身的葡萄糖苷酶相比,酵母的糖苷酶不受葡萄糖的抑制。

目前,星形假丝酵母(*Candida stellata*)和戴尔有孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii*)已是公认的对葡萄酒感官特征具有积极影响的菌种。1998年,Ciani等人在对五种非酿酒酵母的酿酒特性的研究中指出*C. stellata*具有持续高产甘油的特性,其平均甘油产量可达 11.76g/L。同时,*T. delbrueckii*也是经常存在于酒厂环境中的酵母,早在 1954年,Castelli就指明该菌具有极高的发酵纯度,因此曾作为发酵的启动菌。此外,该菌的其它酒精发酵特性也对葡萄酒的感官具有积极的作用<sup>[12]</sup>。

柠檬型的 *kloeckera apiculata*(*H. uvarum*)由于产生过多的醋酸和乙酸乙酯,以及低的酒精产量,一般认为是对葡萄酒质量不利的菌种<sup>[10]</sup>。然而,Romar(2003)发现有很大数量的 *H. uvarum* 酵母的产醋酸能力低于 1 g/L,可以用于与酿酒酵母混合发酵。Cian(1998)也曾自然葡萄汁中发现低产醋酸的 *K. apiculata* 的菌株。此外,*K. apiculata* 菌的醋酸和乙酸乙酯的产量均与其乙醇产量反相关。因此对于葡萄酒感官结构具有很好的平衡作用。

由于非酿酒酵母具有很多对葡萄酒感官有利的影响,同时也存在一些消极作用。因此,采用混合发酵,使不同的菌种“取长补短”也是当前的一个研究热点。

Nathalie moreria 等(2005)对 *H. uvarum*, *H. guilliermondii* 和 *S. cerevisiae* 的纯种发酵及混合发酵

进行了研究。他们发现其中 *H. guilliermondii* 具有最高的生长力,同时也是最佳的 2-乙酸苯乙酯和 2-苯基乙醇的产生者,并且不受其他菌的影响。

用酿酒酵母和 *H. guilliermondii* 混合发酵最显著的特征是 2-苯乙醇和 2-乙酸苯乙酯的明显增加,其中 2-苯乙醇可达 6.3mg/L,而在单纯的酿酒酵母发酵中产生的 2-苯乙醇不超过 1.12mg/L。2-乙酸苯乙酯只存在于 *H. guilliermondii* 的发酵基质中,可达 11.1mg/L,一般酿酒酵母仅可产生 0.22~0.25mg/L。这些物质可赋予葡萄酒果香与花香。还有研究指出 *H. guilliermondii* 可以促进不同醇类,如乙醇,香叶醇,异戊醇 2-苯基乙醇的酯化作用<sup>[13]</sup>。

此外,*Schizosaccharomyces pombe*, *Zygosaccharomyces bailii* 和 *Zygosaccharomyces fermentati* 以耐酒精能力(>10%)而著称并经常存在于酒厂环境中<sup>[1][14]</sup>。这 3 种菌都可以利用苹果酸,因此也可作为生物降酸菌种加以开发。

在研究和试验的基础上,研究者们已经开始在葡萄酒酿造中利用非酿酒酵母菌种的一些优良特性,来提高葡萄酒感观品质。例如,使用混合菌株(*C. cantarellii*/*S. cerevisiae*)启动或进行连续发酵来增加甘油含量,减少醋酸的产生<sup>[12]</sup>。在发酵中接入 *Kluyveromyces thermotolerans* 菌作为启动菌种,可以使葡萄酒中获得高的可滴定酸和 L(+ )乳酸含量。J Mora, J I Barbas 和 A Mulet 提出在气候炎热的低酸葡萄产区,除了混合不同品种的葡萄汁来调节酸外,还可以通过加入该菌以辅助获得酸度平衡的葡萄酒产品<sup>[15]</sup>。

## 4 展望

我国是自然资源极为丰富的国家。微生物是一类开发潜力无穷的可再生资源。自然界中的真菌大概有 150 多万种,而我们所知的仅占 5%<sup>[16]</sup>。2003 年《微生物学通报》上提出“我国作为微生物资源大国,有计划的开展系统、深入的微生物资源调查和利用评价研究制定我国微生物资源保护和持续利用对策,是一项加快国民经济建设刻不容缓的重大基础项目。”<sup>[16]</sup>

同时,近年来,国外对葡萄酒的研究已经越来越多的涉及到酵母菌特别是非酿酒酵母和野生酵母对葡萄酒的作用,成为新的热点与研究趋势。

2000 年在 ASEP50 周年年会中,Denis D 等就以



Sauvignon blanc( 缩味浓 )为例 ,论述了酵母菌对 Sauvignon blanc 葡萄发酵中的香气的加强作用。然而我国在此方面的研究基本处于真空状态。国内的葡萄酒生产中广泛使用活性干酵母进行发酵 ,这不仅使产品的同质化加剧 ,也会抑制自然界中酿酒酵母及其它野生酵母的进化发展 ,同时又浪费了大自然给予我们的宝贵财富。因此 ,加强葡萄酒相关酵母的研究及野生葡萄酒酵母的利用对我国葡萄酒的良性发展具有十分重要的意义。

### 参考文献

- [ 1 ] Graham H F. *International Journal of Food Microbiology* 2003 **86** :11 ~ 22.
- [ 2 ] Steger C , Lambrechts M G. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 2000 **24** :431 ~ 440.
- [ 3 ] 张春晖 ,李 华. 葡萄酒微生物学. 西安 :陕西人民出版社 , 2000. pp.77.
- [ 4 ] 【美】Roger B B 等著 ,赵光鳌等译. 葡萄酒酿造学原理及应用. 北京 :中国轻工业出版社 2001 .pp. 141 ~ 147.

- [ 5 ] 宋 钢. 中国酿造 2006 **2** (155) :64 ~ 68.
- [ 6 ] Sangeeta P ,Takayuki S. *Journal of Food Composition and Analysis* , 2003 **16** :469 ~ 476.
- [ 7 ] 梅建凤 陈 虹. 微生物学通报 2005 **32** (2) :114 ~ 117.
- [ 8 ] Aragon P , Atienza J , Climent M , *et al.* *American Journal of Enology and Viticulture* .1998 **49** :211 ~ 216.
- [ 9 ] Romano P ,Fiore C ,Paraggio M ,*et al.* *International Journal of Food Microbiology* 2003 **86** :169 ~ 180.
- [ 10 ] Ciani M , Maccarelli F. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* ,1998 , **14** :199 ~ 203.
- [ 11 ] Dorit S ,Margarida C. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005 **68** :292 ~ 304.
- [ 12 ] Ciani M ,Ferraro L. *Appl Bacteriol* ,1998 **85** :247 ~ 254.
- [ 13 ] Rojas V ,Gil J , Pinaga F , *et al.* *International Journal of Food Microbiology* 2001 **70** :283 ~ 289.
- [ 14 ] Romano P ,Suzzi G ,Domizio P *et al.* *Antonie van Leeuwenhoek* ,1997 , **71** :239 ~ 242.
- [ 15 ] More J ,Barbas J I ,Mulet A. *American Journal of Enology and Viticulture* ,1990 **41** :156 ~ 159.
- [ 16 ] 徐丽华 ,李文均 ,崔晓龙 ,等. 微生物学通报 2003 **30** (1) :106 ~ 108.