

苹果酸-乳酸发酵(MLF)对葡萄酒中 主要挥发性成分的影响

张军翔^{1,2},冯长根¹,李 华³

(1北京理工大学机电工程学院,北京 100081;2.宁夏大学农学院,宁夏 银川 750001;

3.西北农林科技大学葡萄酒学院,陕西 杨陵 712100)

摘要: 研究MLF对赤霞珠葡萄酒中主要挥发性成分的含量和比例的影响。采用液-液萃取方法,利用GC-MS对葡萄酒中挥发性成分进行了分离、鉴定和计算。结果表明,MLF葡萄酒较未经MLF的葡萄酒中挥发性成分的总量有所提高;异戊醇、2-羟基丙酸乙酯、琥珀酸乙酯和醋酸在两工艺的葡萄酒中的含量和比例存在明显差异;乳酸、乳酸乙酯和两种未能准确鉴定的物质只在MLF葡萄酒中作为主要成分被分离检测到。MLF增加了挥发性成分的总含量,同时改变了部分挥发性成分的含量和比例,产生了新的挥发性成分,从而影响和改变了葡萄酒的香气。

关键词: MLF; 葡萄酒; 挥发性成分

中图分类号:TS262.6;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2006)01-0050-03

Effects of Malic Acid-Lactic Acid Fermentation (MLF) on Main Volatile Components of Grape Wine

ZHANG Jun-xiang^{1,2}, FENG Chang-geng¹ and LI Hua³

(1. Lectromechanical Engineering College of Beijing Technical Institute, Beijing 100081; 2. Agricultural College of Ningxia

University, Yinchuan, Ningxia 750001; 3. Enology College of Northwest Agricultural & Forestry Science &

Technology University, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: The effects of malic acid-lactic acid fermentation (MLF) on the contents and the proportion of main volatile components in grape wine were studied. The main volatile components in grape wine were separated, identified and calculated by liquid-liquid extraction and GC-MS. The results indicated that the total quantity of volatile components in grape wine after MLF had increased and there were evident difference in the contents and proportion of isoamyl alcohol, 2-ethylhydracrylic acid, ethylsuccinate, and acetic acid in the two kinds of grape wine treated or not treated by MLF. Besides, lactic acid and ethyl lactate, which could not be accurately identified in grape wine not treated by MLF, could be easily separated and identified in grape wine treated by MLF like other main components. In a word, MLF could increase the total quantity of volatile components and change the contents and proportion of volatile components and produce new volatile components which could further influence and perfect grape wine aroma. (Trans. by YUE Yang)

Key words: malic acid-lactic acid fermentation (MLF); grape wine; volatile components

MLF作为葡萄酒尤其是红葡萄酒生产中广泛应用的工艺,主要具有生物降酸、增加葡萄酒中微生物稳定性和改善葡萄酒香气(增加葡萄酒香气的复杂性)的作用。Henick-Kling, T.认为MLF可以改变葡萄酒中的水果香气,并可能产生新的活性香气成分,从而影响了原有的香气平衡,改变了香气^[1]。多数研究主要是从感官上对MLF香气进行评价,但对于决定葡萄酒香气的挥发

性成分含量和比例的研究甚少。

本研究选用了我国优良的乳酸菌株对赤霞珠葡萄酒进行了MLF。对样品进行液-液萃取,利用GC-MS分析了MLF和未进行MLF的葡萄酒中主要挥发性成分,对比研究了主要挥发性成分的含量和比例的差异,进而探讨了MLF工艺对葡萄酒香气影响的机理。

收稿日期:2005-10-08

1 材料与方法

1.1 材料

酿酒葡萄为宁夏银川地区成熟度良好的赤霞珠葡萄,按常规干红工艺进行酒精发酵^[2]。乳酸菌株为酒明串珠菌(*Oenococcus oeni*)31DH 活性干细菌,由中国食品发酵工业研究所提供。

1.2 MLF

菌种的活化参照文献^[3]进行,在酒精发酵结束后马上接种,接种量约为 1×10^5 cfu / mL。发酵温度控制在 18~20 之间,以纸层析方法检测 MLF^[4]。MLF 后对葡萄酒下胶,硅藻土过滤,并在 15~20 储藏。未经 MLF 发酵的相同的葡萄酒为对照(CK)。

1.3 GC-MS 分析

1.3.1 样品处理

取酒样(MLF 和对照干红葡萄酒)350 mL,分别用 100 mL,80 mL,60 mL 重蒸 2 遍的二氯甲烷萃取 3 次,合并为有机相,浓缩至 5 mL,无水硫酸钠脱水后,供 GC-MS 分析。

1.3.2 GC-MS 分析

仪器:岛津 GC-2010MS-2010 气相/质谱联用仪。色谱柱:DB-WAX30 m \times 0.25 μ m \times 0.32 mm。色谱条件:进样口温度 250 ,程序升温,60 保留 5 min,以 5 min 升至 240 ,保留 30 min,恒流 5.6 mL/min,分流比 50:1。质谱条件:连接杆温度 280 ,电离方式 EI 源,电子能量 70 eV。取经过上述已处理的样品 1 μ L,用气相色谱-质谱联用仪分析鉴定。通过岛津公司自带化学工作站检索标准图谱库并结合相关文献^[1,6-11]进行分析,确定成分。由岛津自带工作站数据处理系统,计算出各化学成分在样品中的色谱峰面积。其中主要成分的相对面积由 SPSS 统计软件计算。

2 结果与分析

2.1 主要挥发性物质的面积

按上述实验步骤进行试验,得到 MLF 和对照葡萄酒的 GC-MS 总离子流图(略)。在上述试验条件下,检测出了近百种挥发性成分,选择了相对面积 0.1% 的主要挥发性成分进行鉴定和对比研究。鉴定了主要挥发性物质名称、峰面积和相对面积,结果见表 1,图 1。

在相同试验条件下,峰面积与挥发性成分的含量呈正相关。由表 1 可得,MLF 的葡萄酒主要挥发性成分总面积大于对照葡萄酒(14.7%),这表明 MLF 葡萄酒中挥发性成分含量较高。

2.1.1 高级醇

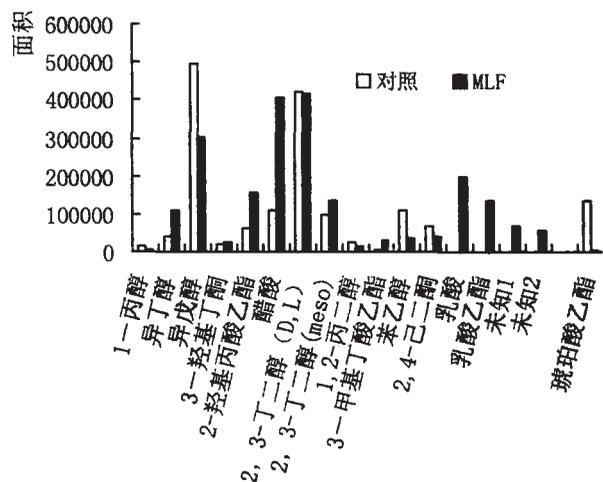


图 1 样品中的主要挥发性物质的面积 (未包括甘油)

高级醇主要是由氨基酸或己糖通过丙酮酸途径生成的,对葡萄酒的风味有一定的影响。在葡萄酒中高级醇的含量一般为 0.14~0.42 g/L^[1]。本研究主要检测到的高级醇包括:丙醇、异丁醇、异戊醇和苯乙醇等。MLF 葡萄酒中的异戊醇、丙醇和苯乙醇的含量减少,特别是异戊醇含量有明显的减少,但异丁醇含量在 MLF 葡萄酒中有所增加,见表 1,图 1。

2.1.2 酯

酯类物质是葡萄酒的重要香气成分,它们有较低的感官阈值,对葡萄酒的香气有重要的影响。在葡萄酒样品中检测到 4 种主要酯类成分:2-羟基丙酸乙酯、3-甲基丁酸乙酯、乳酸乙酯和琥珀酸乙酯。3-甲基丁酸乙酯的含量在 MLF 的葡萄酒中的含量明显增加,但琥珀酸乙酯的含量出现了明显下降,见表 1,图 1。

表 1 葡萄酒样品中的主要挥发性成分的 GC-MS 分析结果 (%)

峰号	成分	对照		MLF	
		面积	相对面积	面积	相对面积
1	1-丙醇	17350	0.29	5633	0.08
2	异丁醇	40665	0.69	108524	1.60
3	异戊醇	498090	8.43	304608	4.49
4	3-羟基-2-丁酮	22632	0.38	24599	0.36
5	2-羟基丙酸乙酯	62470	1.06	153924	2.27
6	醋酸	107918	1.83	407245	6.01
7	2, 3-丁二醇(D,L)	422822	7.15	416411	6.14
8	2, 3-丁二醇(meso)	99741	1.69	135651	2.00
9	1,2-丙二醇	23992	0.41	17311	0.26
10	3-甲基丁酸乙酯	3910	0.07	31871	0.47
11	苯乙醇	108034	1.83	36324	0.54
12	2,4-己二酮	69863	1.18	41393	0.61
13	乳酸	—	—	198210	2.92
14	乳酸乙酯	—	—	136918	2.02
15	未知 1	—	—	65311	0.96
16	未知 2	—	—	57353	0.85
17	甘油	4300442	72.75	4632340	68.32
18	琥珀酸乙酯	133597	2.26	6871	0.1
总和		5911526		6780497	

注:“—”:表示未检测到该物质或相对含量小于 0.1%。

作为葡萄酒中重要的酯类成分,乙酸乙酯在研究中未能检测到,这与一些研究有所不同^[5,6],但与另一些研究结果一致^[7,8],M. Ortega-Heras等研究了不同样品处理方法对挥发性成分的影响,认为液-液萃取虽然能提取出丰富含量的挥发性成分,但由于萃取液的挥发,可能导致部分物质的丢失。

2.1.3 有机酸

样品中检测到的主要有机酸是乙酸和乳酸,乳酸在MLF的葡萄酒中作为主要挥发性成分检测到,并具有较高的含量。乙酸作为酒精发酵和MLF的副产物,含量在MLF后出现了显著的增加,见图1,表1。其他挥发性有机酸在葡萄酒中的相对含量很小,未进行鉴定。

2.1.4 酮

Teresa Garde Cerdán等认为葡萄酒中酮的含量与葡萄酒的陈酿有关^[9]。研究中检测到了2种酮类物质,分别是3-羟基丁酮和2,4-己二酮。MLF葡萄酒中的2,4-己二酮的含量较对照葡萄酒降低,见表1,图1。

2.1.5 其他成分

主要包括:2,3-丁二醇(D,L)、2,3-丁二醇(meso)、1,2-丙二醇、甘油等。两种2,3-丁二醇的总体面积变化不大,表明MLF对这两种挥发性物质的含量没有显著影响。1,2-丙二醇的含量在MLF的葡萄酒中较低,见表1,图1。

甘油在我们的研究中被检测出来,而且是葡萄酒最主要的挥发性成分,这与许多研究结果相同^[10,11]。甘油在葡萄酒中的含量可以达到4g/L,可以增进葡萄酒的“圆润”口感,但对葡萄酒的香气没有直接影响。经MLF发酵的葡萄酒中的甘油含量和比例略有减少和下降。

另外两种被检测到的主要成分——未知1(m/z 44.15)和未知2(m/z 45.10)未能得到准确的鉴定,但可以看出它们在MLF葡萄酒中被作为主要成分检测到,说明它们与MLF有直接的关系,或是属于MLF的直接产物。

2.2 不同类挥发性成分的比例

相对面积可以粗略地代表成分在总挥发性成分中占的比例。由表1和图2可知,MLF的葡萄酒高级醇、其他挥发性物质和酮类比例较对照葡萄酒有显著降低,而有机酸、酯类的比例较对照葡萄酒有明显的升高。同时两种未能准确鉴定的主要挥发性物质的相对峰面积在MLF的葡萄酒中的主要成分中占到了1.81%。同时,可以得到,与对照葡萄酒相比,MLF葡萄酒中的主要挥发性成分的比例产生了变化,从而改变葡萄酒的香气。

3 结论

3.1 MLF增加了葡萄酒中的主要挥发性成分的含量。

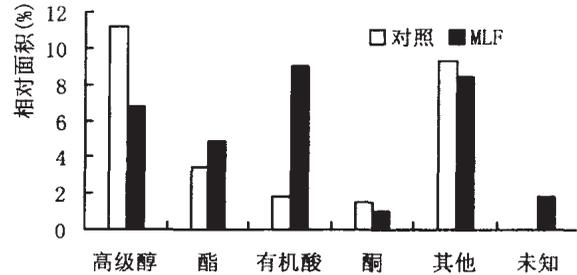


图2 样品中不同种类的挥发性物质的相对面积 (未包括甘油)

3.2 MLF产生了新的挥发性成分,如乳酸、乳酸乙酯和两种未能准确鉴定的成分。

3.3 MLF改变了葡萄酒中其他主要挥发性成分的含量和比例,其中含量和比例变化较为明显的是异戊醇、2-羟基丙酸乙酯、琥珀酸乙酯和醋酸等。这些成分的含量和比例的变化和新成分的产生影响了葡萄酒中的高级醇、酯、挥发性有机酸类等物质的含量和比例,也使葡萄酒的香气产生了改变。

参考文献:

- [1] Henick-Kling, T. Control of malolactic fermentation in wine: energetics, flavor modification and methods of starter culture preparation [J]. *Journal of Applied Bacteriology Supplement*, 1995, (79): 29S-37S.
- [2] 李华. 现代葡萄酒工艺学 [M]. 西安: 陕西人民出版社, 2000.
- [3] 张军翔, 张春晖. 苹果酸-乳酸发酵接种研究 [J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2003, (6): 9-11.
- [4] 王华. 葡萄与葡萄酒试验技术操作规范 [M]. 西安: 西安地图出版社, 1999.
- [5] 李华, 胡博然, 杨新元, 等. 蛇龙珠干红葡萄酒香气成分的GC-MS分析 [J]. *分析测试学报*, 2004, (23): 85-87.
- [6] 李记明, 贺普超, 刘玲. 优良品种葡萄酒的香气成分研究 [J]. *西北农业大学学报*, 1998, (26): 6-9.
- [7] M. Ortega-Heras, M. L. González-SanJosé and S. Beltrán. Aromacomposition of wine studied by different extraction methods [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, (458): 85-93.
- [8] 邹建凯. 气相色谱质谱研究中国干红葡萄酒香味成分 [J]. *分析化学*, 2001, (29): 493.
- [9] Teresa Garde Cerdán, Diego Torrea Góti and Carmen Ancín Azpilicueta. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition [J]. *Journal of Food Engineering*, 2004, (65): 349-356.
- [10] Rafael A. Peinado, Jose A. Moreno, David Muñoz, etc. Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, (52): 6389-6393.
- [11] Eduardo Boido, Adriana Lobret and Karina Medina, etc. Aromacomposition of vitis vinifera Cv. tannat: the typical red wine from Uruguay [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, (51): 5408-5413.