

野生胶红酵母糖苷酶水解媚丽新酒中香气糖苷研究*

陶永胜¹ 牟 含¹ 李 国² 马 银¹

(1. 西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100; 2. 宁夏葡萄酒卉产业发展局, 银川 750000)

摘要: 实验分离提取杨凌媚丽葡萄酒中的香气糖苷, 添加优选野生胶红酵母的糖苷酶液, 进行催化水解实验, 萃取水解生成的品种香气成分, 进行 GC-MS 检测分析。以杏仁 β -糖苷酶、黑曲霉果胶酶、La Fort 商业果胶酶作催化比较实验。结果表明, 杏仁 β -糖苷酶标准品催化水解生成的游离香气成分种类和含量最多, 其次是野生胶红酵母酶液和黑曲霉果胶酶。酶促水解生成的游离成分中, 萜烯类和去甲基异戊二烯化合物能够赋予葡萄酒果香和花香, 微量的酚酸酯可增加香气的复杂性, 而含量很高的脂肪族类化合物和挥发性酚类会带给葡萄酒不良气味。因此, 具有中等催化水解香气糖苷能力的野生胶红酵母的糖苷酶具有良好的增香酿造应用潜力。

关键词: 葡萄酒 胶红酵母 糖苷酶 香气糖苷 水解

中图分类号: TS262.6; TS261.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)12-0249-06

引言

现今用于酿酒的绝大多数欧亚种葡萄的成熟果实闻起来没有明显的特征香气, 而所酿酒都有各自典型的香气特征, 原因是葡萄的品种香气成分以香气糖苷的结合态形式存在于葡萄果皮上, 不具有挥发性, 因此不能表现出香气特征。香气糖苷是葡萄酒活性香气成分的预备库, 比它们对应的游离态配基多好几倍, 甚至几十倍。酿酒过程中, 葡萄浆果破碎以后, 细胞内的糖苷酶开始催化水解部分香气糖苷, 葡萄品种香气特征开始表现。随后发酵过程中酵母菌分泌糖苷酶, 进一步催化水解香气糖苷, 表现出葡萄酒的典型香气特征。葡萄果粒和酿酒酵母是葡萄酒酿造中主要的糖苷酶来源, 但是典型的葡萄酒生产条件, 高糖量、高酒精、低 pH 值和高浓度多酚等, 限制了酿酒酵母糖苷酶的活性^[1-2], 所以, 葡萄酒酿造过程中香气糖苷的酶促反应并不充分, 尤其对于不完全成熟的原料, 新发酵生成的葡萄酒中还存在大量的香气糖苷。我国大部分葡萄产区处于季风气候区, 酿酒葡萄在很多地区的很多年份完全成熟困难, 研究外加糖苷酶制剂促进香气糖苷的水解, 是提高我国地理标志葡萄酒香气质量的有效途径。

糖苷酶几乎存在于所有的微生物中, 但是葡萄酒酿造环境限制了很多糖苷酶的应用。尽管如此, 来源于曲霉中的果胶酶制剂也已开发应用于葡萄酒

生产, 主要用于提高出汁率、增加颜色和利于澄清。采用色谱技术进一步提纯的黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 糖苷酶, 如 AR2000 糖苷酶, 也已开发为商业产品。但是由于真菌糖苷酶专一性差, 在催化香气糖苷水解的同时, 会分解色素糖苷, 产生挥发性酚类化合物, 因此在酿造过程中应用会让所酿酒有色素不稳定和产生不良气味的危险^[3]。最近几年, 很多研究证实, 非酿酒酵母属的野生酵母产生的 β -葡萄糖糖苷酶活性更强, 有人研究采用非酿酒酵母和酿酒酵母混合发酵, 提高葡萄酒香气的复杂性和产区地域特征^[4-5]。但是目前有关添加非酿酒酵母糖苷酶增加所酿葡萄酒香气质量的报道并不多, 相关研究主要是非酿酒酵母糖苷酶活性测定, 多菌种混合发酵, 或采用能表达较高含量 β -葡萄糖糖苷酶的酵母菌株发酵^[6]。

本研究前期筛选获得一株高产糖苷酶活性的非酿酒酵母, 本实验扩大培养该株酵母菌, 分离提取糖苷酶, 进行杨凌媚丽葡萄酒中香气糖苷的催化水解实验, 评价其增香应用潜力。

1 材料与方法

1.1 葡萄原料

实验用“媚丽”葡萄原料为本单位选育, 采自杨凌曹新庄酿酒葡萄教学园圃。葡萄手工采摘, 约 200 kg。采摘时间为 2012 年 8 月 10 日。原料成熟指标, 含糖质量浓度 170 g/L、含酸质量浓度 7.0 g/L, 酒

石酸计。

1.2 葡萄酒酿造

酿造实验在西北农林科技大学葡萄酒学院工艺学实验室进行,新鲜型干葡萄酒采用如下酿造方式:正常采摘的媚丽葡萄果实(18.0°Brix)采用小型除梗破碎机除梗破碎后,装入50 L不锈钢桶中,加入SO₂ 50 mg/L,搅拌均匀,10℃下浸渍12 h。次日,添加活性干酵母活化液启动酒精发酵,添加量0.02%(质量分数)。发酵启动后添加白砂糖调整最终酒精度至12% vol,酒精发酵温度控制在25~27℃,整个发酵持续7~8 d。当含糖质量浓度低于2 g/L时,将葡萄酒与皮渣分离,转入玻璃罐中,添加SO₂ 50 mg/L,密封贮藏,随后将葡萄酒进行2~3次自然的转罐澄清。次年3月采集葡萄酒样品,分馏提取香气糖苷物质。

1.3 糖苷酶制剂

杏仁β-糖苷酶(Almond β-Glucosidase, Sigma G4511):购于Sigma-Aldrich北京分公司,干燥粉末,酶活20~40 U/mg。

黑曲霉果胶酶(Pectinase, *Aspergillus niger*):购于Sigma-Aldrich北京分公司,为甘油水溶液,酶活1 000 U/g。

提色果胶酶:采购于法国葡萄酒酿造辅料公司La Fort公司,颗粒状粉末,酶活500 U/g。

野生酵母糖苷酶:本实验室从1株优选的胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*,中国典型培养物保藏中心保藏编号:M2013660)中提取制备,为Mcilvaine缓冲液(磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液,0.1 mol/L,pH值5.0)酶液,糖苷酶酶活330.49 U/mL。该株野生非酿酒酵母菌落和细胞形态如图1、图2所示。

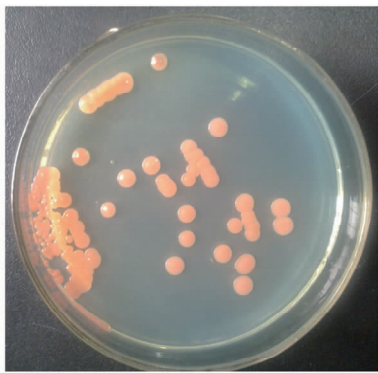


图1 胶红酵母北-29d菌落形态(WL培养基^[6]平板)

Fig.1 Colony morphology of *R. mucilaginosa* Bei-29 strain on WL medium agar plate

糖苷酶提取方法:首先进行保藏菌株的活化,将-20℃保藏的野生胶红酵母菌株,接种于YEPD液体培养基(1%酵母粉、2%蛋白胨、2%葡萄糖)^[7]

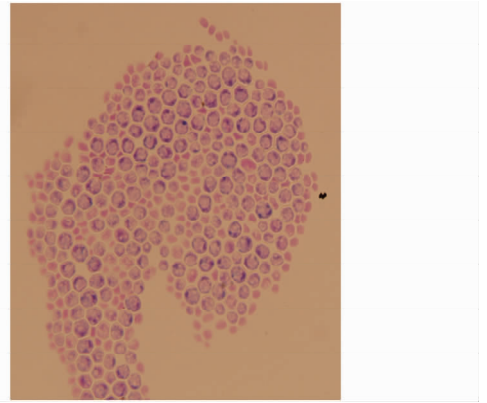


图2 胶红酵母北-29d的细胞显微形态(×100倍)

Fig.2 Cell microscopic morphology of *R. mucilaginosa* Bei-29 strain (×100)

中,在30℃下培养48 h活化。然后进行扩增培养,将活化的菌株按5%的接种量接于装有100 mL YEPD培养基的三角瓶中,于28℃、180 r/min摇床扩增培养72 h。再进行发酵培养,按10%的接种量接入到300 mL YEP培养基的三角瓶,于30℃、150 r/min,振荡培养72 h。最后进行糖苷酶的提取,取出发酵液,在8 000 r/min条件下离心10 min,用Mcilvaine缓冲液清洗两次,取离心物移入离心管中,再添加适量Mcilvaine缓冲液,添加细小玻璃珠,使细胞悬液高度达到离心管的弯液面,高速离心30 s,冰上冷却30 s,破碎细胞,离心和冷却步骤重复8次,细胞碎片在8 000 r/min,4℃下离心20 min。可溶性的细胞浸提液经超滤去除10 kDa大分子物质,制成酶液,4℃下保存。

1.4 化学试剂

蒸馏水由纯水制备仪(美国Milipore公司)制备。

分析纯化学试剂:二氯甲烷、无水硫酸钠、乙醇、酒石酸、NaOH、乙酸乙酯、甲醇、Mcilvaine缓冲液(0.2 mol/L,pH值5.0)、戊烷,购于天津化学试剂有限公司。

色谱纯化学标准品:苯乙醇(99%,5 mL),β-大马酮(99%,1 mL),葡萄螺烷(97%,1 mL),β-紫罗兰酮(99%,1 mL),柠檬烯(97%,1 mL),香叶醇(98%,2 mL),里哪醇(99%,1 mL),橙花醇氧化物(98%,1 mL),松油醇(97%,2 mL),香茅醇(98%,2 mL),橙花叔醇(98%,1 mL),辛酸(99%,10 mL),月桂酸(99%,10 mL),二氢茉莉酮酸甲酯(98%,5 mL),肉桂酸乙酯(98%,5 mL),2-辛醇(99%,25 mL),购于Sigma-Aldrich北京分公司。

1.5 葡萄酒香气糖苷的萃取与水解

香气物质采用聚丙烯-二乙烯苯小柱(Lichrolut EN, Merck, 0.5 g 填料)萃取分析。100 mL葡萄酒

过 Lichrolut EN 萃取柱,流速 1 mL/min,然后固相柱用 50 mL 纯水清洗,以除去多糖以及其他低分子量的极性化合物。游离香气物质馏分采用二氯甲烷洗脱。香气糖苷馏分用 25 mL 乙酸乙酯洗脱,萃取液真空浓缩至干,然后用 1 mL 甲醇溶解。甲醇萃取液在 N_2 下蒸发至干,用 100 μ L 柠檬酸-磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH 值 5.0) 溶解。溶解液用 1.3 节中的糖苷酶 (添加量 20 U/mL) 在 40 $^{\circ}$ C 下处理 18 h,混合液用 2 mL 二氯甲烷-戊烷 (体积比例 1:2) 提取 5 次。添加 2-辛醇作内标 (11 μ g/L),在 N_2 下浓缩至干,用 10 mL 模拟酒溶液溶解,以备香气成分分析。模拟酒溶液酒精度 12% vol,酒石酸 5 g/L, pH 值用 1 mol/L NaOH 溶液调至 3.2。

1.6 香气成分分析

萃取方法参照文献[8]进行,略有改动,具体分析方法如下:

磁力搅拌棒萃取 (Stir bar sorptive extraction, SBSE):搅拌棒长 20 mm,涂层为聚二甲基硅氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS),厚 0.5 mm。磁力搅拌棒先用甲醇/二氯甲烷 (体积比例 1:1) 进行预处理,并在 280 $^{\circ}$ C 条件干燥 30 min。然后取 1.5 节获得的供试香气物质模拟酒样品或标准品溶液,置于 20 mL 顶空瓶中,加入 2% NaCl,放入搅拌棒,于 30 $^{\circ}$ C 下 1 000 r/min 搅拌吸附 3 h。最后取出搅拌棒,用蒸馏水冲洗,并用纸巾将其擦干,将其放在热解析进样口进行 GC-MS 分析。每样重复萃取操作 2 次。

GC-MS 分析:TRACE DSQ GC-MS 仪器 (美国 Thermo-Finnigan 公司),配备热解吸装置 (TDU) 和冷却进样系统;RTX-1 型毛细管柱 (30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m, J&W, Folsom, USA)。TDU 初始温度 25 $^{\circ}$ C,不分流进样,进样后以 100 $^{\circ}$ C/min 增至 250 $^{\circ}$ C,保持 2 min。冷阱进样 (CIS4) 初始温度 -80 $^{\circ}$ C,保持 2 min,再以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 10 min。载气:He,流速为 2.5 mL/min。柱温升温程序:40 $^{\circ}$ C 保持 2 min,然后以 3 $^{\circ}$ C/min 升至 210 $^{\circ}$ C,再以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 270 $^{\circ}$ C,保持 5 min。进样口温度 280 $^{\circ}$ C。离子源温度 230 $^{\circ}$ C,电子源电离轰击,电子源电压 70 eV,质谱扫描范围为 33 ~ 350 amu,扫描频率 5.27 次/s。

定性定量方法:采用标准品保留时间比对、Wiley275. L 谱库查询和文献保留指数比对法进行化合物定性。目标化合物定量采用内标-标准曲线法定量,2-辛醇为内标物,对于没有标准品的目标化合物,采用分子量近似和化学结构近似的原则选择标准品的标准曲线进行定量计算。

1.7 数据处理

数据的常规分析采用 Excel 2010 进行,主成分分析采用 SPSS 19.0 软件进行。

2 结果与讨论

媚丽葡萄酒中的香气糖苷经糖苷酶催化水解之后 GC-MS 分析,游离香气成分 GC-MS 检测的总离子流见图 3 (杏仁糖苷酶标准品的处理结果)。

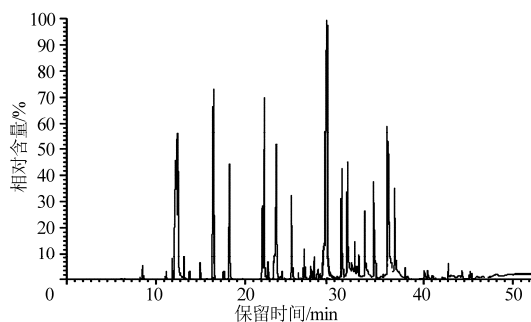


图 3 媚丽新酒香气糖苷提取液的酶解游离成分 GC-MS 总离子流图

Fig. 3 GC-MS TIC of free volatiles from aroma glycosides of Meili new wine

由图 3 可见,媚丽新酒中的葡萄糖苷经糖苷酶催化水解后释放出很多挥发性成分,具有 20 ~ 30 个出峰良好的色谱峰,除了经糖苷酶催化水解所得的品种香气成分外,Wiley 谱库检索得到一些残留的发酵香气成分。图 3 显示,经酶解检测的品种香气成分出峰完整,说明从香气糖苷萃取分馏、糖苷酶解反应到 GC-MS 检测,整个实验方法具有实用性。

糖苷酶催化水解媚丽葡萄酒中香气糖苷的游离成分定量分析结果见表 1。4 种酶处理所得游离品种香气成分均明显多于对照,未经糖苷酶水解的对照仅检测出挥发性酚、1-己醇和有机酸。从挥发性成分总质量浓度上,酶处理水解生成成分 244.9 ~ 783.7 μ g/L,脂肪族类的己醇和有机酸含量最大,其次是挥发性酚类和萜烯类化合物,含量较低的是去甲类异戊二烯化合物和微量的酚酸酯类 (表 1)。

分析媚丽新酒中香气糖苷,大多数是脂肪族类化合物,如 1-己醇、 C_8 - C_{12} 偶数碳脂肪酸,它们占了水解糖苷的 70% 以上,杏仁糖苷酶催化水解的脂肪族化合物高达 559 μ g/L,野生胶红酵母糖苷酶水解的有 202 μ g/L。1-己醇在葡萄酒中的嗅觉阈值 8.0 mg/L,具有青草味,辛酸等的嗅觉阈值 0.5 ~ 1.0 mg/L,脂肪酸在高浓度时会有不愉快的脂肪味,并且它们的气味表现具有叠加作用^[11]。另一类含量较高的香气糖苷是苯基类糖苷,有人研究认为它们的生成与葡萄酒中肉桂酸类化合物的水解转化有关^[12-13]。在本研究中,它们经糖苷酶水解之后生成

表1 媚丽葡萄新酒香气糖苷的酶解游离成分 GC-MS 定量与定性分析结果

Tab.1 GC-MS quantification and identification of free volatiles from aroma glycosides by

enzymatic hydrolysis of Meili new wine								μg/L
实验序号	保留指数	化合物种类	对照	杏仁糖苷酶	黑曲霉果胶酶	提色果胶酶	胶红酵母酶	香气特征 ^[9-10]
1	859	1-己醇	2.0	33.0	19.0	12.0	14.0	青草、吐司
2	1 165	辛酸	21.0	304.0	156.0	103.0	127.0	奶酪,高浓度时腐败味,涩味
3	1 262	壬酸	5.0	48.0	15.0	8.0	7.0	微有腐烂气味
4	1 366	癸酸	7.4	139.0	59.0	37.0	37.0	不愉快的脂肪味
5	1 553	月桂酸	0	35.0	20.0	14.0	17.0	淡淡的石油、肥皂气味
小计			35.4	559.0	269.0	174.0	202.0	
6	1 292	4-乙基苯酚	1.0	35.0	13.0	12.0	5.0	酚味,马厩味
7	1 301	4-乙烯基愈创木酚	1.0	42.0	16.0	13.0	8.0	酚味,马厩味
8	1 415	4-乙基苯酚	2.0	63.0	25.0	24.0	10.0	酚味,马厩味
小计			4.0	140.0	54.0	49.0	23.0	
9	793	橙花醇氧化物	0	14.5	8.4	2.1	6.4	新鲜的甜果,玫瑰,苦味
10	826	α-松油醇	0	7.8	7.4	2.4	3.1	舒适的甜香,蘑菇
11	1 006	金合欢醇	0	11.5	6.5	3.5	3.0	柠檬,花香,蜂蜜香
12	1 029	柠檬烯	0	2.0	0	1.0	1.0	柠檬、玫瑰
13	1 092	里哪醇	0	3.6	4.5	1.8	3.0	棉花糖味,果香,玫瑰
14	1 219	香茅醇	0	2.6	1.0	0	1.1	青草,丁香,蔷薇
15	1 245	香叶醇	0	10.2	4.6	2.3	3.7	柠檬,桃香,玫瑰
16	1 438	香叶基丙酮	0	1.0	0	0	1.0	热带水果香、青草
17	1 558	橙花叔醇	0	10.0	2.1	1.0	4.0	玫瑰、苹果
小计			0	63.2	34.5	14.1	26.3	
18	1 285	葡萄螺烷	0	3.0	2.0	1.1	1.5	树脂
19	1 378	β-大马酮	0	1.0	0.5	0.2	0.8	桃罐头、烤苹果、树脂
20	1 480	β-紫罗兰酮	0	1.0	0	0	1.0	紫罗兰
小计			0	5.0	2.5	1.3	3.3	
21	1 450	肉桂酸乙酯	0	0.5	0.1	0	0.2	草莓,肉桂,奶酪
22	1 568	香草酸乙酯	0	15.5	9.0	6.5	7.0	香草,低浓度时具有橄榄油、覆盆子、荔枝香气
23	1 633	二氢茉莉酮酸甲酯	0	0.5	0	0	0	茉莉、柠檬
小计			0	16.5	9.1	6.5	7.2	
总计			39.4	783.7	369.1	244.9	261.8	

4-乙基苯酚、4-乙烯基苯酚和4-乙烯基愈创木酚。杏仁糖苷酶处理挥发性酚类最多,140 μg/L,野生胶红酵母糖苷酶液水解的有23 μg/L。挥发性酚类化合物在葡萄酒中的阈值400 μg/L^[14],浓度高时表现出酚味,甚至马厩味。

本研究中,媚丽新酒中萜烯类香气糖苷较高,共分析出9种萜烯类化合物,杏仁糖苷酶处理样品中有9种,共63.2 μg/L,野生胶红酵母糖苷酶液的水解也生成9种,共23.6 μg/L,黑曲霉果胶酶处理和Lafford提色果胶酶处理生成7种,总质量浓度分别为34.5 μg/L和14.1 μg/L。有研究提出,萜烯类化合物可被用来进行葡萄品种芳香性划分标准,玫瑰香型葡萄品种所酿酒萜烯醇质量浓度大于6 mg/L,非玫瑰香型品种所酿酒萜烯醇质量浓度1~4 mg/L,中性品种所酿酒的香气不依赖于萜烯醇

含量^[15]。媚丽葡萄新酒中高含量的萜烯类糖苷,说明该品种是Muscat系列的品种。葡萄酒中萜烯醇的嗅觉阈值低,呈香具有叠加效应,里哪醇在葡萄酒中的嗅觉阈值为100 μg/L,萜品醇嗅觉阈值为250 μg/L^[14,16-17],葡萄酒中萜烯醇表现出甜甜的花香。因此该类糖苷的水解有利于提高葡萄酒的香气质量。

C₁₃去甲基异戊二烯化合物也是酶处理样品中检测出的重要香气化合物,共检测出3种:葡萄螺烷、β-大马酮和β-紫罗兰酮。杏仁糖苷酶和野生胶红酵母糖苷酶液的处理中3种均被检出,总质量浓度分别为5.0 μg/L和3.3 μg/L。黑曲霉果胶酶处理和Lafford提色果胶酶处理中检测出2种,共2.5 μg/L和1.3 μg/L。这类香气化合物在葡萄酒中的嗅觉阈值非常低,仅0.05 μg/L^[14,16-17],表现出水

果罐头、紫罗兰等香气特点。因为嗅觉阈值极低,其气味活性很高,是葡萄酒中重要的呈香成分。

本研究酶处理样品中肉桂酸乙酯、香草酸乙酯和二轻茉莉酮酸甲酯,可以归为酚酸酯类。它们均能赋予葡萄酒令人愉悦的香气,因为不同于常规的果香和花香特征,能使葡萄酒的香气更为复杂。杏仁糖苷酶处理样品中检测出 3 种,黑曲霉果胶酶和野生胶红酵母的糖苷酶液处理检测出前 2 种,La Fort 果胶酶处理仅检测出香草酸乙酯。

对不同酶处理样品所得香气成分的数据进行主成分分析,从整体上评价野生酵母糖苷酶液对媚丽新酒中香气糖苷的酶解效果。主成分分析法可以对多变量数据进行降维处理,在二维图中阐明多个变量之间的关联,以及它们对前 2 个主成分的贡献。

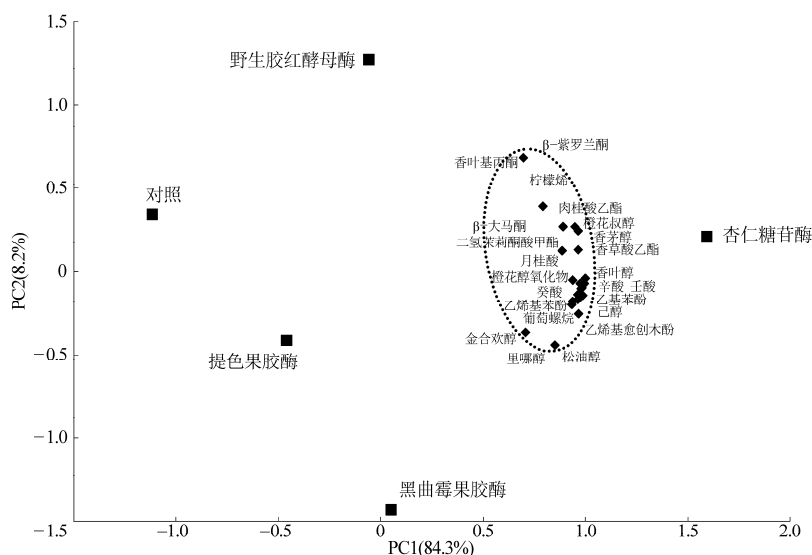


图 4 不同糖苷酶处理媚丽葡萄酒萃取物释放香气成分的主成分分析

Fig. 4 Principle component analysis of free volatiles released by different enzyme treatments of Meili new wine extraction

3 结束语

本文提取分离杨凌媚丽葡萄酒中的香气糖苷,采用优选的野生非酿酒酵母中的胶红酵母糖苷酶催化水解,将其糖苷催化效果与杏仁糖苷酶、黑曲霉果胶酶、以及葡萄酒辅料公司 La Fort 提色果胶酶产品的催化效果作比较。结果表明,媚丽新酒中的香气糖苷能够被外源酶制剂催化水解,脂肪族类化

陶永胜等采用主成分分析揭示赤霞珠干红葡萄酒在瓶贮过程中的香气特征变化规律,Peng 等采用主成分分析筛选感官分析数据中的重要葡萄酒香气特征^[18-19]。本研究中,不同酶处理所得香气成分数据的主成分分析结果见图 4。

由图 4 可见,前 2 个主成分分别占总体方差的 84.3% 和 8.2%,第 1 主成分可以代表香气成分的绝大部分。杏仁糖苷酶是 4 个酶处理中催化香气糖苷水解最有效的处理,其次是黑曲霉果胶酶和野生胶红酵母的糖苷酶液处理。所有游离香气成分聚集在第 1 主成分的正向端,供试酶处理对香气糖苷的催化水解没有区别,即酶处理催化水解萜烯类、去甲基异戊二烯化合物的同时,也在进行脂肪族和挥发性酚类化合物糖苷的水解。

合物是香气糖苷的主体部分,占 70% 以上;其次是苯基类糖苷,产生挥发性酚类;再次是萜烯类、去甲基异戊二烯类和酚酸酯类糖苷。杏仁糖苷酶催化能力最强,水解优质香气糖苷的同时,也将有异味的香气糖苷水解,其次是野生胶红酵母糖苷酶和黑曲霉果胶酶。鉴于香气糖苷水解后的香气质量不同,具有中等催化能力的优选野生胶红酵母糖苷酶具有增香酿造应用的良好潜力。

参 考 文 献

- 1 Sarry J E, Günata Y Z. Plant and microbial glycoside hydrolases: volatiles release from glycosidic aroma precursors[J]. Food Chemistry, 2004, 87(4): 509 - 521.
- 2 Loscos N, Hernandez P, Cacho J, et al. Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursors fractions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(16): 6674 - 6684.
- 3 Palomo E S, Hidalgo M C, González M Á, et al. Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases[J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 627 - 635.
- 4 Jolly N, Augustyn O, Pretorius S. The role and use of non-saccharomyces yeasts in wine production[J]. South African Journal for Enology and Viticulture, 2006, 27(1): 15 - 39.

- 5 González P, Fariña L, Carrau F, et al. A novel extracellular β -glucosidase from *Issatchenkia terricola*: isolation, immobilization and application for aroma enhancement of white Muscat wine[J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(1): 385–389.
- 6 薛军侠,徐艳文,杨莹,等. WL培养基在酿酒葡萄筛选中的应用[J]. *中国酿造*, 2007(9): 36–39.
- 7 Mateo J J, Peris L, Ibañez C, et al. Characterization of glycolytic activities from non-saccharomyces yeasts isolated from Bobal musts[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, 38(2): 347–354.
- 8 Song J Q, Li H, Liang Y Y, et al. Characterisation of volatile components of red and sparkling wines from a new wine grape cultivar ‘Meili’ (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Vitis*, 2013, 52(1): 41–48.
- 9 李华. 葡萄酒品尝学[M]. 北京:科学出版社, 2006: 29–106.
- 10 孙宝国,刘玉平. 食用香料手册[M]. 北京:中国石油出版社, 2004.
- 11 Cullere L, Escudero A, Cacho J, et al. Gas chromatography-olfactory and chemical qualitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(6): 1653–1660.
- 12 Chatonnet P, Dubourdieu D, Boidron J N, et al. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1993, 62(2): 191–202.
- 13 Dugelay I, Günata Z, Sapis J C, et al. Role of cinnamoyl esterase activities from enzyme preparations on formation of volatile phenols during wine making[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 41(11): 2092–2096.
- 14 Tao Y S, Zhang L. Intensity prediction of typical aroma characters of cabernet sauvignon wine in Changli County (China) [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2010, 43(10): 1550–1556.
- 15 Mateo J J, Jimenez M. Monoterpenes in grape juice and wines [J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 881: 557–567.
- 16 Li H, Tao Y S, Wang H, et al. Impact odorants of chardonnay dry white wine from Changli County (China) [J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 227(1): 287–292.
- 17 Tao Y S, Li H, Wang H, et al. Volatile compounds of young Cabernet Sauvignon red wine from Changli County (China) [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, 21(8): 689–694.
- 18 陶永胜,彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分的关联分析[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(3): 156–165.
Tao Yongsheng, Peng Chuantao. 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): 156–165. (in Chinese)
- 19 Peng C T, Wen Y, Tao Y S, et al. Modulating the formation of Meili wine aroma by prefermentative freezing process[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61: 1542–1553.

Catalytic Hydrolysis of Aroma Glycosides in Meili Young Wine Using Glycosidase from Wild *Rhodotorula mucilaginosa*

Tao Yongsheng¹ Mu Han¹ Li Guo² Ma Yin¹

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

2. Ningxia Bureau of Grape & Floriculture Development, Yinchuan 750000, China)

Abstract: In experiment, glycosides in Meili young wine from Yangling were extracted, and then wild yeast glycosidase was added. Varietal aroma compounds were collected and enriched after the catalytic hydrolysis, and detected by GC – MS. The catalytic effects of the almond β -glycosidase reference, *Aspergillus niger* pectinase, and La Fort Pectinase were compared with the wild yeast glycosidase in the experiment. The results showed that free volatiles released by almond β -glycosidase were the most abundant with high concentrations, while the followings were those released by *A. niger* pectinase and wild yeast, *Rhodotorula mucilaginosa* glycosidase. In the released compounds, terpenols and norisoprenoids showed lower concentrations, but they gave the wine with fruity and floral fragrance. Three kinds of trace esters of phenolic acids brought more complex aroma to the wine. However, aliphatic compounds and volatile phenols displayed higher concentrations, which led wine on to off flavor. Therefore, the glycosidase of wild yeast *R. mucilaginosa* with medium catalytic ability has the potentiality to the application for wine aroma enhancement.

Key words: Wine *Rhodotorula mucilaginosa* Glycosidase Aroma glycoside Hydrolysis