钟轲, 李蕊蕊, 杨东岳, 等. 氮源调控与接种策略对杆状小星裂酵母与酿酒酵母混合发酵葡萄酒风味品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(18): 35−43. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110250

ZHONG Ke, LI Ruirui, YANG Dongyue, et al. Effect of Nitrogen Source Regulation and Inoculation Strategy on the Flavor Quality of *Starmerella bacillaris* Mixed Fermented Wine[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(18): 35−43. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110250

·特邀主编专栏—食品风味感知前沿与应用（客座主编：刘源、孙金沅、寇兴然、程焕；产业顾问：陈丽）·

氮源调控与接种策略对杆状小星裂酵母与酿酒酵母混合发酵葡萄酒风味品质的影响

钟　轲，李蕊蕊，杨东岳，汤晓宏，李志宇，丁　燕，韩晓梅，孙玉霞*

（山东省葡萄研究院山东省酿酒葡萄与葡萄酒技术创新中心，山东济南 250100）

摘　要：为明确氮源管理和接种策略对杆状小星裂酵母（*Starmerella bacillaris*）与酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）混合发酵葡萄酒风味品质的改善潜力，本研究评估了在两种可同化氮水平（160 和 300 mg/L）和三种接种方式（单独接种、与酿酒酵母同时接种和顺序接种）对葡萄酒发酵动力学、理化指标、香气成分及感官特性的影响。结果表明，氮源补充能促进酵母的糖代谢与发酵进程，并将挥发性组分总量提升 3.23%~35.98%，其中高级醇与乙酸酯的升高较显著（P<0.05）。不同接种方式影响了葡萄酒的甘油含量、香气化合物的构成和感官表达。*S. bacillaris* 的参与显著提高了甘油含量，可达 11.47~18.63 g/L（P<0.05），提升了葡萄酒的甜润感与饱满度。主成分分析显示，*S. cerevisiae* 单独发酵或与 *S. bacillaris* 同时接种时，葡萄酒以乙酸异戊酯、癸酸乙酯等多种酯类为主，果香特征明显；*S. bacillaris* 单独发酵或与 *S. cerevisiae* 顺序接种时，葡萄酒中苯乙醇、乙酸乙酯、异丁醇等含量较高，带来花香与醇香。此外，补充氮源与顺序接种策略之间存在协同增效作用，在氮源充足的条件下进行顺序发酵，苯乙醇含量提升了 29.73%，使酒体具有鲜明的玫瑰花香，同时在香气协调性与酒体结构完整性方面表现最优。感官评价证实，补氮结合顺序发酵能最大程度地优化愉悦香气并改善口感，整体品质最为突出。

关键词：杆状小星裂酵母，顺序接种，同时接种，可同化氮，挥发性香气化合物

中图分类号：TS262.7　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1002−0306(2026)18−0035−09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025110250　　本文网刊：

Effect of Nitrogen Source Regulation and Inoculation Strategy on the Flavor Quality of *Starmerella bacillaris* Mixed Fermented Wine

ZHONG Ke，LI Ruirui，YANG Dongyue，TANG Xiaohong，LI Zhiyu，DING Yan，HAN Xiaomei，SUN Yuxia*

（Shandong Academy of Grape Shandong Technology Innovation Center of Wine Grape and Wine, Jinan 250100, China）

Abstract: To clarify the potential of nitrogen source management and inoculation strategies for improving the flavor quality of wine fermented by a mixture of *Starmerella bacillaris* (*S. bacillaris*) and *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), this study evaluated the effects of two levels of assimilable nitrogen (160 and 300 mg/L) and three inoculation methods (pure, simultaneous, and sequential inoculations of *S. bacillaris* and *S. cerevisiae*on) on wine fermentation kinetics, physicochemical parameters, volatile composition, and sensory characteristics. Results showed that nitrogen source supplementation can significantly promote the sugar metabolism and fermentation process of yeast, and increase the total amount of volatile compounds by 3.23% to 35.98% (P<0.05), with notable increases in higher alcohols and acetates. Different inoculation

收稿日期：2025−11−24

基金项目：山东省农业科学院农业科技创新工程项目（CXGC2026B31，CXGC2025C15，CXGC2026D19）；国家自然科学基金资助项目（32502155）；山东省自然科学基金资助项目（ZR2025QC351）；山东省重点研发计划（重大科技创新工程）项目（2022CXGC010605）；山东省现代农业产业技术体系项目（SDAIT-06-14）；重庆市技术创新与应用发展专项（CSTB2024TIAD-LDX0008）。

作者简介：钟轲（1996−），女，硕士，助理工程师，研究方向：葡萄酒酿造及酿酒微生物，E-mail：zk17854117992@163.com。

*** 通信作者：**孙玉霞（1973−），女，硕士，研究员，研究方向：葡萄酒果酒风味物质研究，E-mail：sunyuxia1230@163.com。

methods affect the glycerol content, composition of aroma compounds, and sensory expression of wine. *S. bacillaris* significantly increased the glycerol content, reaching 11.47~18.63 g/L (P<0.05), enhancing the sweetness and fullness of the wine. Principal component analysis revealed that different inoculation strategies exhibit distinct aroma characteristics. Both *S. cerevisiae* pure culture and simultaneous inoculations were dominated by isoamyl acetate and ethyl decanoate, enhancing the fruity aroma of wine. Both *S. bacillaris* pure culture and sequential inoculations were dominated by phenylethyl alcohol, ethyl acetate and isobutanol, imparting floral and mellow aromas to wine. There was a significant synergistic effect between the supplementation of nitrogen sources and the sequential inoculation strategy. The sequential fermentation of the nitrogen-supplemented group was particularly outstanding in terms of aroma harmony and structural integrity, with a 29.73% increase in phenylethyl alcohol content, imparting a rose-like fragrance to the wine. Sensory evaluation indicated that nitrogen supplementation combined with sequential inoculation can significantly enhance the aroma and taste of wine, resulting in the best overall quality.

Key words: *Starmerella bacillaris*; sequential inoculation; simultaneous inoculation; assimilatable nitrogen; volatile aroma compounds

酿酒酵母作为葡萄酒发酵的核心微生物，能够将葡萄汁中的糖类转化为乙醇、二氧化碳及其他次生代谢产物[1−2]。为应对当前单一酵母发酵导致的葡萄酒同质化问题，采用非酿酒酵母与酿酒酵母的混合发酵策略已成为行业重要发展方向，非酿酒酵母在调控和增强葡萄酒香气结构与复杂性方面展现出独特潜力[3]。例如，有孢汉逊酵母（*Hanseniaspora* spp.）和梅奇酵母（*Metschnikowia* spp.）能够合成酯类与高级醇[4]；顺序接种戴尔有孢圆酵母（*Torulaspora delbrueckii*）与酿酒酵母，可提升葡萄酒的果香与复杂度，而异常毕赤酵母（*Pichia anomala*）与酿酒酵母混合发酵，则能增加 3-甲基乙酸丁酯与乙基酯的含量[5]。目前，戴尔有孢圆酵母、美极梅奇酵母（*Metschnikowia pulcherrima*）和克鲁维毕赤酵母（*Pichia kluyveri*）等部分非酿酒酵母已实现商业化，作为发酵剂应用于酿酒实践[6]。杆状小星裂酵母（*Starmerella bacillaris*）最初于 2003 年从匈牙利托卡伊产区的贵腐葡萄中被分离，该菌株因独特代谢特性备受关注，其特点是能够耐受高糖、高酸，且高产甘油能增加葡萄酒的圆润度，在口感上增强对甜味的感知，同时低产挥发酸，保持葡萄酒的清新感和香气纯净度[7−10]。研究表明，*S. bacillaris* 与酿酒酵母的共培养可带来多方面风味提升包括提升乙酸异丁酯、异丁醇等风味物质含量[9]；提高赤霞珠葡萄酒中己酸乙酯和乙酸己酯的浓度[11]；提高长相思白葡萄酒中酯类和硫醇含量[12]，以及提升巴贝拉葡萄酒中甘油和酯类的含量[13]。在共发酵过程中，接种策略、菌株组合及酵母可同化氮（Yeast Assimilatable Nitrogen, YAN）等因素共同影响发酵动力学与挥发性有机物组成，其中 YAN 对酵母生长与代谢具有关键调控作用。

葡萄汁中的氮浓度对酵母的发酵效率及葡萄酒的香气特征具有关键影响。当可同化氮含量低于 140~150 mg/L 时，葡萄汁通常被视为氮源不足，可能导致酒精发酵迟缓甚至停滞，并促进硫化氢、甲硫醇和乙硫醇等不良还原性化合物的生成[14−17]。为弥补氮的缺乏，酿酒师常在发酵过程中进行氮源补充。许多芳香化合物的合成与酵母的氮代谢密切相关[18]。SU 等[17] 发现，在模拟葡萄汁中添加铵态氮可提高乙酯产量；WANG 等[19] 的研究表明，添加磷酸二铵会加快氮的消耗速率，但在总 YAN 较低而磷酸二铵比例较高时，反而会引起发酵迟缓。ENGLEZOS 等[20] 发现，在葡萄酒发酵中，*S. bacillaris* 对氨基酸的吸收速率较慢，而铵离子则被完全利用。此外，LOLA 的研究显示，在氮添加量为 300 mg/L 的条件下，发酵所得的总萜烯含量是 150 mg/L 条件下的两倍[18]。目前，关于酵母发酵过程中添加不同类型氮源的研究已较为丰富，但在不同接种策略下（如顺序接种、同时接种）如何优化氮源添加的研究仍相对有限。

在葡萄酒生产中，优化酵母接种策略与合理补充氮源是提升风味复杂度与感官品质的关键。本研究旨在探究可同化氮剂量对酿酒酵母与 *S. bacillaris* 混合发酵的影响，系统分析发酵动力学、香气组成及感官特性。结果表明，氮源补充能有效调控混合发酵进程，并塑造葡萄酒的芳香轮廓与感官特征，为优化发酵工艺提供了重要依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

马瑟兰葡萄（糖 240 g/L, YAN 160 mg/L, pH4.1, 总酸 4.26 g/L） 2024 年 9 月采摘于山东烟台中粮长城酒厂的一个商业葡萄园；酵母菌株：商业酿酒酵母 FX10 购自法国 Laffort 公司；杆状小星裂酵母 *S. bacillaris* 酵母（SIVE8902） 由本实验室筛选自山东烟台君顶酒庄蛇龙珠葡萄自然发酵醪中，保藏于国典型培养物保藏中心（CCTCC NO: M20241637）；氯化钠（分析纯）、偏重亚硫酸钾（分析纯） 上海麦克林生化科技有限公司；酵母浸出粉胨葡萄糖液体培养基（yeast extract peptone dextrose, YEPD） 青岛海博生物技术有限公司；二碳酸二甲酯（dimethyl dicarbonate, DMDC） 德国朗盛特殊化学品集团；果胶酶（酶活 100 U/mg）、NUTRISTART™ 购自法国 Laffort 公司；4-甲基-2-戊醇 色谱纯，美国 Sigma 公司；PRIMARY AMINO NITROGEN（PAN）试剂

盒、AMMONIA（Rapid）试剂盒　爱尔兰 Megazyme 公司。

pHSJ-4A 测定仪　上海科学仪器材料有限公司；BX-1 手持折光计　德国 SCHMIDT+HAENSCH 公司；57329-U 萃取头　美国 Supelco 公司；PAL RSI85 自动进样器　瑞士 CTC 公司；Agilent1260 Infinity 液相色谱仪、Agilent GC 7890B/MS 5977A 气相色谱-质谱联用仪（gas chromatography mass spectrometry, GC-MS）、DB-WAX 色谱柱（60 m×0.25 mm, 0.25 μm）　美国 Agilent 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　马瑟兰葡萄酒发酵　将采摘后的马瑟兰葡萄精心挑选，迅速运送到实验室进行酿酒实验。参考段亚茹等[21]、刘红艳[22]研究及欧洲食品安全局对 DMDC 在饮料中应用的安全标准（200~250 mg/L）[23]，在马瑟兰葡萄去梗破碎后，添加 240 mg/L DMDC，室温放置 4 h 以灭活天然酵母。于 4 ℃ 浸渍过夜后过滤，将葡萄汁平均分为两组，参考 LOLA等[18] 关于发酵氮需求的研究，将 160 mg/L 设为对照组（C 组），代表避免发酵风险的最低营养边界；同时设置 300 mg/L 为补氮组（H 组），模拟生产中经氮源补充后的充足状态，构建从临界至充足的清晰营养梯度。

取 300 g 葡萄汁于 500 mL 发酵瓶中开展发酵实验，实验具体流程与设计如下：接种前，将酵母菌株于 30 ℃ 以 200 r/min 条件下振荡培养 24 h 进行活化。培养后的菌液经 6000 r/min 离心 5 min 收集菌体，并使用 0.85% 无菌 NaCl 溶液洗涤两次备用[24]。采用血细胞计数法将菌悬液浓度调整至标准接种密度：*S. bacillaris* 为 1.0×10^7 cells/mL，酿酒酵母 FX10 为 1.0×10^6 cells/mL，两者接种比例为 10∶1。依据不同接种方式设置以下四种处理组合，并在 C、H 两种氮水平下进行：SB：单菌接种杆状小星裂酵母 *S. bacillaris*；SC：单菌接种酿酒酵母 FX10；SE（顺序接种）：先接种杆状小星裂酵母 *S. bacillaris*，48 h 后再接种酿酒酵母 FX10；SI（同时接种）：将两种酵母同时接入发酵基质。各组依“氮组-接种方式”分别标记为 C-SB、C-SC、C-SE、C-SI 及 H-SB、H-SC、H-SE、H-SI。每组实验均设置三个生物学重复。

所有发酵均在 25 ℃ 恒温下进行。通过每 48 h 称量发酵瓶的重量损失（反映 CO_2 释放量）来监测发酵进程。当连续两次称重损失小于 0.1 g 时，判定发酵结束。发酵结束后，样品于 4 ℃、8000×g 离心 10 min，收集上清酒液并添加 40 mg/L SO_2，置于 4 ℃ 冷藏保存，供后续分析测定。

1.2.2　基本理化指标　参照汤晓宏等[25] 的研究方法，通过高效液相色谱法测定甘油。样品在分析前通过 0.22 μm 有机膜过滤，色谱工作条件：300×7.7 mm Hi-Plex H 色谱柱，流动相为 0.05 mol/L 硫酸溶液，流速为 0.6 mL/min。色谱柱温度为 70 ℃，示差检测器检测温度为 30 ℃，进样量为 20 μL。精密称取 0.2089 g 甘油于 10 mL 容量瓶中，超纯水定容，即得 20.89 g/L 的标准溶液，按一定浓度做梯度稀释，制作标准曲线。乙醇、残糖、总酸参考 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》。

1.2.3　可同化氮的测定　使用 PRIMARY AMINO NITROGEN（PAN）试剂盒检测有机氮含量，使用 AMMONIA（Rapid）试剂盒检测无机氮含量。

1.2.4　挥发性组分的测定　根据 LI 等[26] 的方法，通过顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱（HS-SPME-GC-MS）对挥发性组分进行定量分析。色谱分析在配备有 5977A MSD 的 Agilent 7890B 气相色谱仪上进行。挥发性组分用 VF-WAXms（30 m×0.32 mm, 0.25 μm）毛细管气相色谱柱分离。以 4-甲基-2-戊醇为内标（2.00 g/L 样品溶液 20 μL），使用构建的定量校准曲线计算浓度。对于缺乏标准品的挥发性组分，根据具有最相似化学结构或碳原子数的标准化合物的校准曲线估算浓度。具体操作：取 5 mL 葡萄酒样品，加入 2.0 g 氯化钠和 20 μL 2.00 g/L 的 4-甲基-2-戊醇（内标物）置于 15 mL 顶空瓶中，放置于 45 ℃ 的可加热磁力搅拌器上预热 10 min，萃取 50 min，萃取过程中顶空瓶在搅拌器中连续振荡，进样口 250 ℃ 解吸 10 min 进样。结束后，色谱柱初始温度 40 ℃，保持 2 min，然后以 6 ℃/min 的速率升到 230 ℃，保持 15 min。载气为氦气，平均线速率为 25 cm/s。采用不分流进样模式。所有质谱在电子电离源（EI, 70eV），质量扫描范围为 30~400 u，在每秒 3.9 次扫描速率条件下获得。香气活度值（odor activity value, OAV）计算公式如下：

$$OAV=\frac{挥发性香气化合物质量浓度}{挥发性香气化合物香气阈值}$$

1.2.5　感官评定　感官评价参照国家标准 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》并借鉴崔文文等[27] 描述的方法，做了一些修改。感官分析由 10 名专业的评估人员组成的感官小组进行（6 名女性和 4 名男性，年龄在 26~54 岁之间，平均年龄为 35.9 岁）。以随机顺序将 20 mL 葡萄酒样品放入酒杯中呈现给评估人员。葡萄酒感官评价分为 9 个属性，包括花香、果香、甜味、草本、溶剂、强度、平衡、酸度和酒体。小组成员被要求使用 9 分制来衡量葡萄酒参数的强度（1=极低，5=中等强度，9=极高），每个感官属性的最终得分是 10 名评估者的平均值。

1.3　数据处理

所有指标均重复测定三次，采用 SPSS 27.0 软件进行数据统计分析 Duncan's 多重比较检验，并采用 Origin2018 进行折线图、OAV 分析图、PCA 分析图绘制；CNSplot 进行双形态堆积柱状图、雷达图绘制。

2　结果与分析

2.1　不同氮浓度对酵母发酵动力学的影响

在酒精发酵过程中，二氧化碳的释放速率和糖

的消耗速率是评估乙醇生产和发酵动力学的重要指标。图 1 显示了在两种氮浓度下采用不同接种策略的酵母发酵动力学。总体而言，除 *S. bacillaris* 单菌发酵外，其余样品在发酵至 14 d 残糖量均降至 4 g/L 以下，表明发酵基本完全。

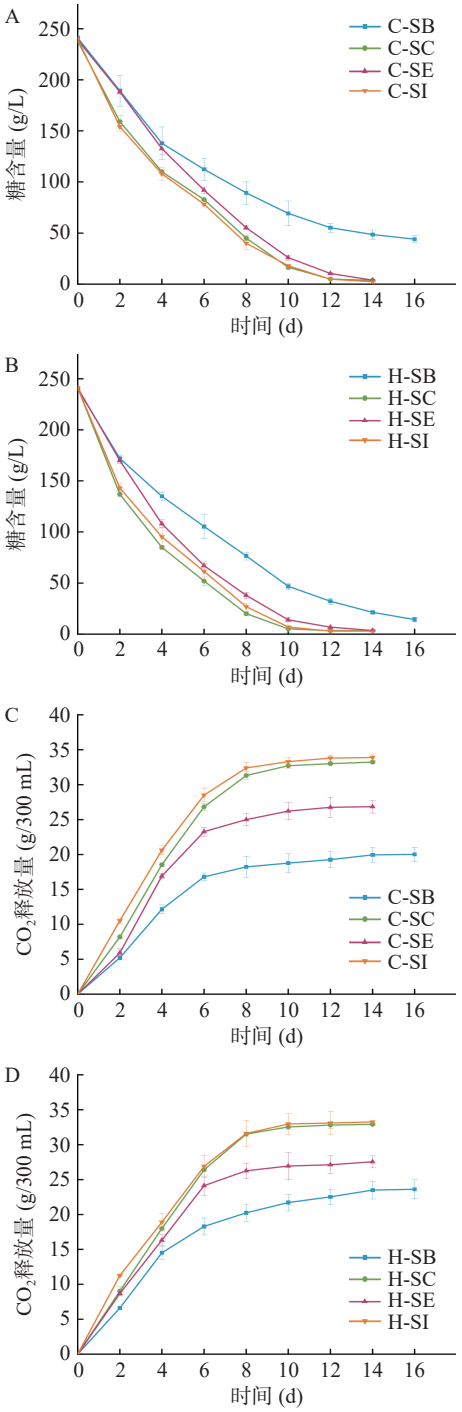


图 1 葡萄酒发酵过程中的糖消耗和二氧化碳释放量

Fig.1 Sugar consumption and carbon dioxide release during wine fermentation process

注：A：对照组发酵过程中糖消耗速率；B：补氮组发酵过程中糖消耗速率；C：对照组发酵过程中 CO_2 释放量；D：补氮组发酵过程中 CO_2 释放量。

在相同接种策略下，补氮组在发酵初期即表现出较快的糖消耗速率，而对照组则相对缓慢。发酵至 2 d，对照组（C）的残糖含量介于 154.00 mg/L（C-SI）至 189.21 mg/L（C-SB）之间，而补氮组（H）的残糖范围为 143 mg/L（H-SI）至 172 mg/L（H-SB），显示出补氮对糖代谢的促进作用。该结果与 LOLA 等[18]的研究一致，其报道指出在低氮条件（150 mg/L）发酵 8 d 后，残糖量比高氮组高出 9.06%。尽管补充氮源可在一定程度上提升酵母发酵性能，*S. bacillaris* 的单菌发酵仍未能实现糖的完全利用。ROCA-MESA 等[16]研究发现，无论在无机氮、有机氮或混合氮源条件下，*S. bacillaris* 均无法独立完成全部发酵过程。

2.2 不同氮浓度下葡萄酒的基本理化指标

在不同接种方式与氮浓度条件下，所得葡萄酒的基本参数见表 1。与酿酒酵母相比，非酿酒酵母的酒精发酵能力相对较差，难以独立完成发酵。在 *S. bacillaris* 单菌发酵中，补氮组（H-SB，10.78%）较对照组（C-SB，8.02%）显著（$P<0.05$）提升了酒精含量，同时降低了残糖含量（$P<0.05$），结果表明，氮源补充能提升 *S. bacillaris* 的发酵动力与糖代谢能力。甘油作为酵母在酒精发酵中的第二大代谢产物，能够增强葡萄酒的甜味感知与口感柔顺度，并有助于提升香气与风味的整体复杂性，从而改善葡萄酒质量[28−29]。本研究中，*S. bacillaris* 表现出较强的甘油合成能力，其纯培养条件下的甘油产量分别达 13.88 g/L（C-SB）和 17.04 g/L（H-SB）。进一步比较接种方式可见，顺序发酵（SE）的甘油产量较同步发酵（SI）显著提高，在对照组和补氮组中分别提升了 46.00% 和 51.00%（$P<0.05$）。这可能是由于在顺序发酵的前 48 h 内，由高产甘油的 *S. bacillaris* 主导代谢，而同步发酵中该菌株难以与发酵力更强的酿酒酵母竞争，导致甘油合成受限。在酸度方面，补氮处理降低了除 H-SE 外所有样品的总酸含量，并相应提高了 pH。

2.3 葡萄酒的挥发性成分

葡萄酒的香气与风味是评价其品质和区分风格的关键。在全部 8 款葡萄酒中共鉴定出 33 种挥发性组分，分别为 9 种高级醇、3 种脂肪酸、4 种乙酸酯、6 种乙基酯、4 种其他酯类、3 种萜烯以及 4 种醛酮类化合物（附表 1，详见本刊官网 http://www.spgykj.com/文章的网络版）。需要指出的是，并非所有检出的挥发性物质都对葡萄酒香气有实质影响。气味活性值（odor activity value，OAV）是评估单一成分在复杂混合物中香气贡献的关键指标[30−31]。如表 2 所示，33 种化合物中有 11 种的 OAV>0.1，这些物质主要为高级醇和酯类。它们能够直接或通过协同作用塑造葡萄酒的整体香气轮廓，因此被认为是构成样品香气特征的主体成分[9,30]。

如图 2 和附表 1（详见本刊官网 http://www.spgykj.com/文章的网络版），在相同接种方式下，补氮组（H 组）挥发性组分总含量较对照组（C 组）提高了 3.23%（H-SE）至 35.98%（H-SB），该增长主要源于高级醇与乙酸酯类含量的提升。高级醇在多数样品

表 1　两种 YAN 浓度下葡萄酒的基本参数

Table 1　Basic parameters of wine at two concentrations of YAN

指标	对照组				补氮组			
	C-SB	C-SC	C-SE	C-SI	H-SB	H-SC	H-SE	H-SI
乙醇（%, v/v）	8.02±0.48^{e}	13.14±0.15^{a}	11.12±0.45^{cd}	12.03±0.17^{ab}	10.78±0.25^{d}	12.75±0.42^{a}	11.08±0.11^{bc}	11.79±0.23^{ab}
残糖（g/L）	43.97±3.52^{a}	3.00±0.32^{e}	2.07±1.41^{e}	2.83±0.30^{e}	10.59±2.15^{b}	3.06±1.36^{e}	2.16±0.29^{e}	1.92±0.04^{e}
甘油（g/L）	13.88±0.53^{c}	9.30±0.21^{f}	18.63±0.32^{a}	12.76±0.06^{d}	17.04±0.89^{b}	9.92±0.41^{f}	17.32±0.08^{b}	11.47±0.39^{e}
总酸（g/L）	5.16±0.11^{bcd}	5.30±0.10^{bc}	5.53±0.12^{ab}	4.72±0.36^{de}	4.93±0.15^{cd}	4.70±0.00^{de}	5.90±0.62^{a}	4.43±0.10^{e}
pH	3.51±0.01^{c}	3.56±0.01^{b}	3.53±0.01^{c}	3.53±0.01^{c}	3.65±0.15^{a}	3.66±0.02^{a}	3.57±0.01^{b}	3.66±0.01^{a}

注：结果代表3个独立试验的“平均值±标准差”；不同小写字母表示每行不同指标的显著性差异（P<0.05）。

表 2　两种 YAN 浓度下葡萄酒 OAV>0.1 的 11 种挥发性组分

Table 2　11 volatile compounds with OAV>0.1 in wine at two YAN concentrations

化合物	香气阈值（mg/L）[32−34]	香气描述[32−34]	对照组				补氮组			
			C-SB	C-SC	C-SE	C-SI	H-SB	H-SC	H-SE	H-SI
异丁醇	40.00	醇味	0.98	0.57	1.41	0.68	1.72	0.81	1.33	0.94
左旋-2,3-丁二醇	150.00	黄油味，奶酪味	0.21	0.19	0.21	0.2	0.16	0.18	0.18	0.16
正己醇	8.00	生青味	1.06	1.55	1.26	1.13	1.08	0.92	1.36	1.35
苯乙醇	10.00	花香，花粉味	1.18	1.34	0.95	0.73	1.61	0.86	1.11	0.71
乙酸乙酯	7.50	甜香，果香	6.05	3.76	5.75	3.29	7.68	6.08	6.19	3.69
乙酸异戊酯	0.20	香蕉香	0	6.76	1.15	0	0	7.02	2.24	0
乙酸苯乙酯	0.25	花香，果香，木香	0	0.24	0.2	0.21	0	0.2	0.2	0.22
丁酸乙酯	0.40	果香	0	0.4	0.11	0.25	0.1	0.32	0.23	0.38
己酸乙酯	0.01	菠萝香	0	11.24	0.16	3.08	0	16.95	0.38	2.93
辛酸乙酯	0.20	甜香，柑橘香	0.41	2.51	0.44	3.38	0.45	2.72	0.34	3.35
癸酸乙酯	0.20	果香，白兰地味	0.54	5.03	0.55	0.86	0.54	2.57	0.67	1.14

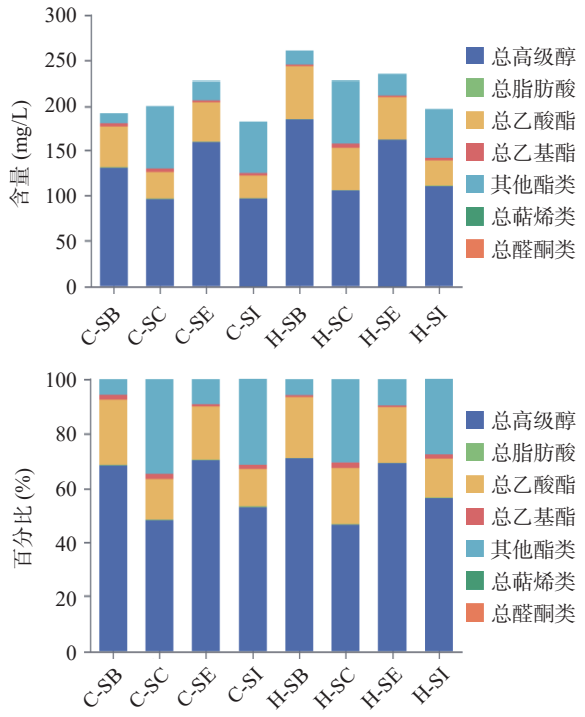


图 2　不同种类香气化合物占总香气化合物的含量和比例

Fig.2　Content and proportion of different types of aroma compounds in total aroma compounds

中占主导地位，作为酵母代谢的关键产物，其总量低于 300 mg/L 时可为葡萄酒带来甜润与果香，而过高则易产生杂醇味[35−36]。本研究样品中高级醇总量均低于该阈值。

在香气贡献方面，共有四种高级醇的气味活性值（OAV）>0.1（表 2 和图 3），分别为异丁醇（醇味）、正己醇（生青味）、左旋-2,3-丁二醇（黄油味，奶酪味）以及苯乙醇（花香，花粉味），它们是葡萄酒中主要呈香的高级醇。如图 4 所示，异丁醇含量最高，占高级醇总量的 44.81%（C-SC）至 69.53%（H-SB）。与对照组相比，补氮使异丁醇含量提高了 3.90%（H-SE）至 74.71%（H-SB）。除异丁醇外，含量最高的三种挥发性物质依次为左旋-2,3-丁二醇、苯乙醇和正丙醇。相较于对照组，补氮组左旋-2,3-丁二醇含量下降 1.47%（H-SC）至 22.48%（H-SB）。而在补氮条件下，H-SB 和 H-SE 的苯乙醇含量分别较 H-SC 显著增

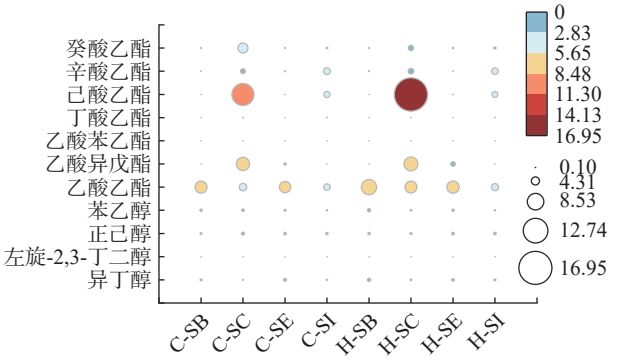


图 3　OAV>0.1 的 11 种挥发性组分的气泡图

Fig.3　Bubble chart of 11 volatile compounds with OAV>0.1

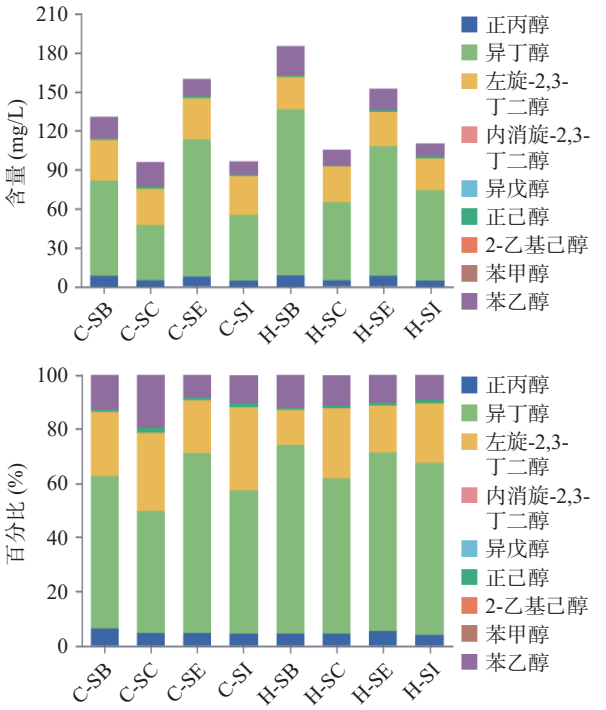


图 4 单个醇类化合物所占醇类总量的含量和比例

Fig.4 Content and proportion of a single alcohol compound in the total alcohols

加 87.61% 与 29.73%(P<0.05)，这说明 *S. bacillaris* 能赋予较高的玫瑰香气。综上，补氮处理提高了葡萄酒高级醇的含量，这可能是因为补充处理后，酵母通过 Ehrlich 途径代谢增强，促使更多氨基酸(如缬氨酸、亮氨酸和苯丙氨酸)经转氨生成 α-酮酸，进一步脱羧、还原，转化为异丁醇、异戊醇和苯乙醇等高级醇[37−38]。

脂肪酸通常与酵母的代谢特征密切相关，在葡萄酒中，低浓度的脂肪酸可赋予酒体脂肪与奶酪般的气息，而含量过高则往往对整体香气产生负面影响[39]。如附表 1(详见本刊官网 http://www.spgykj.com/文章的网络版)所示，本研究共鉴定出三种脂肪酸(异丁酸、辛酸和己酸)，其总含量范围为 345.22 μg/L(H-SC)至 697.58 μg/L(C-SE)。补氮处理中，H-SC 和 H-SE 己酸含量分别降低了 55.23% 和 20.11%。所有样品己酸含量均维持在其感官阈值以下，未产生脂肪或肥皂等不悦气味。

在本研究中共检出 14 种酯类化合物。与对照组相比，补氮处理的总酯含量提高了 0.14%(H-SI)至 21.62%(H-SB)。在乙酸酯方面，共检测到 4 种。补氮组总乙酸酯含量较对照组提升 7.87%(H-SE)至 58.53%(H-SC)。乙酸酯是由相应醇类与乙酰辅酶 A 在醇乙酰转移酶催化下缩合形成，补充氮源后可上调编码乙酸酯合成酶基因 *ATF1/2* 的表达，从而促进乙酸酯的生成[40−41]。具体来看，乙酸乙酯和乙酸异丁酯分别增加 7.58%(H-SE)至 61.93%(H-SC)与 6.40%(H-SE)至 52.20%(H-SB)。如图 3 和表 2 所示，乙酸乙酯的 OAV>1，可直接贡献果香；而 OAV 超过 0.1 的乙酸异戊酯(香蕉香)与乙酸苯乙酯(草莓香)也对葡萄酒香气具有重要作用。乙酸异丁酯、乙酸异戊酯和乙酸苯乙酯及其对应的高级醇前体(异丁醇、异戊醇、苯乙醇)均为 Ehrlich 途径相关氨基酸代谢所产生的主要挥发性物质[37]。

乙基酯虽然在葡萄酒中浓度通常低于乙酸酯，但由于其种类多样且气味阈值较低，在增强香气复杂性方面具有关键作用[24]。如图 5 和附表 1(详见本刊官网 http://www.spgykj.com/文章的网络版)所示，本研究检测到 6 种乙基酯，总含量介于 1613.63 μg/L 至 4741.62 μg/L 之间。乙基酯主要在乙醇乙酰转移酶催化下，由乙醇与酰基辅酶 A 合成，是构成葡萄酒果香酯类的关键成分[42]。补氮对不同接种方式的影响差异较大：H-SB 和 H-SE 中乙基酯总量分别下降 43.36% 和 20.52%，而 H-SC 和 H-SI 则分别上升 17.47% 和 6.33%。这一差异可能与 *S. bacillaris* 合成乙基酯能力较弱有关，其在顺序发酵和纯发酵前期占主导，导致整体乙基酯含量降低。己酸乙酯和辛酸乙酯具有果香与花香，因其阈值低，在微量下即可贡献香气；同时，OAV>0.1 的丁酸乙酯(香蕉与草莓香)和癸酸乙酯(果香与愉悦气息)也对整体香韵具有重要影响。此外，研究还检出其他 4 种酯类，补氮组中该类酯总量及碳酸二甲酯的含量普遍高于对照组(H-SI 除外)。

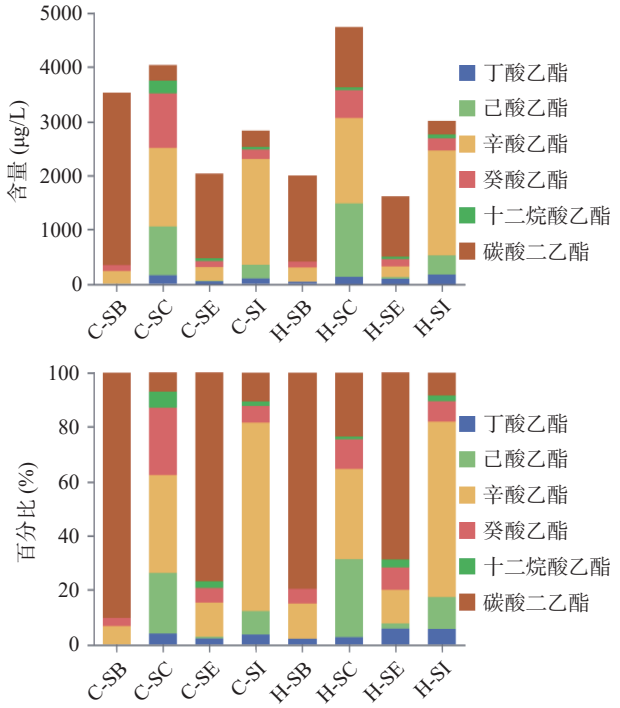


图 5 单个乙基酯化合物所占总乙基酯化合物的含量和比例

Fig.5 Content and proportion of a single ethyl ester compound in the total ethyl esters

本研究共鉴定出三类萜烯类化合物(芳樟醇、香茅醇、D-柠檬烯)以及四类醛酮类化合物(2,6-二甲基-4-庚酮、苯甲醛、乙醛、异戊醛)。萜烯通常可为葡萄酒带来愉悦的花香与果香；而醛酮类物质多呈现

苹果或坚果的香气，有助于丰富香气的层次感[40,43]。在所有样品中，芳樟醇为含量最丰富的萜烯化合物，其存在为葡萄酒增添了令人愉悦的甜香调。

2.4　香气的 PCA 分析

主成分分析（Principal Component Analysis，PCA）被用于可视化 11 种 OAV>0.1 的挥发性有机物，并识别不同处理组间具有区分作用的关键香气成分（图 6）。前两个主成分累计贡献了 73.4%，其中 PC1 占 55.0%，PC2 占 18.4%。PCA 得分图显示，葡萄酒样品依接种方式被明显区分：SC 与 SI 位于 PC1 正半轴，其主要贡献成分为酯类物质，包括乙酸异戊酯、癸酸乙酯、己酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸苯乙酯和辛酸乙酯；而 SB 与 SE 则分布于 PC1 负半轴，其香气特征主要由苯乙醇、乙酸乙酯、异丁醇及左旋-2,3-丁二醇所主导。值得注意的是，在补氮条件下，H-SB 与 H-SE 位于 PC2 正半轴，其香气轮廓主要受异丁醇、乙酸乙酯和苯乙醇的影响。这表明氮源补充能调控 *S. bacillaris* 纯发酵及顺序发酵过程中挥发性物质的组成，有助于增强葡萄酒中愉悦的果香与玫瑰香气。

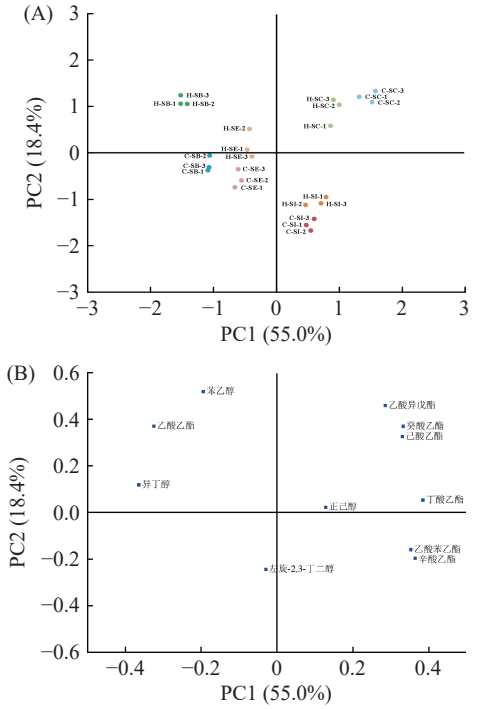


图 6　OAV>0.1 的香气化合物主成分分析图

Fig.6　Principal component analysis of aroma compounds with OAV>0.1

注：(A)不同氮浓度和接种策略主成分分析图；(B)不同香气化合物主成分分析图。

2.5　感官评价

葡萄酒的感官评价由 10 名专业品评员完成。结果如图 7 所示，在两种氮浓度下，同步发酵与顺序发酵样品在愉悦香气和酒体结构方面评分普遍较高。与对照组相比，补氮处理进一步提升了顺序发酵与同步发酵葡萄酒的愉悦香气得分，该结果与样品中苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯及癸酸乙酯含量较高相符。在补氮组中，H-SE 样品展现出浓郁的花香与突出的结构感，能改善葡萄酒的整体口感。得益于 *S. bacillaris* 高产甘油的特性，在相同氮源条件下，其单菌发酵、同步发酵及顺序发酵所产酒样的甜润度与饱满度均优于 FX10 单菌发酵，且酸度感知更低。此外，所有样品的溶剂与草本类香气评分较低，表明不良气味得到有效控制。综上，补充氮源有助于增强葡萄酒的花果香气，特别是在 H-SE 处理中，能够改善愉悦香气的复杂度与酒体结构完整性，从而提升葡萄酒的整体品质。

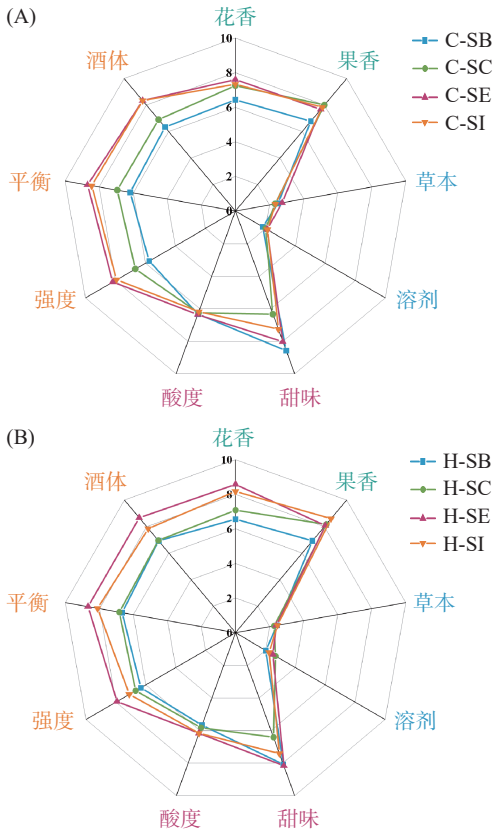


图 7　两种氮浓度葡萄酒的感官评分雷达图

Fig.7　Sensory rating radar chart of two nitrogen concentration wines

注：(A)对照组葡萄酒感官评分图；(B)补氮组葡萄酒感官评分图。

3　结论

本研究系统解析了氮源水平与接种策略对 *S. bacillaris* 参与葡萄酒混合发酵风味形成的协同调控机制与效应。在发酵动力学方面，补充氮源（300 mg/L）显著提高了酵母的糖消耗速率与发酵效率，尤其促进了顺序发酵与同步发酵的顺利进行（P<0.05）。*S. bacillaris* 虽无法独立完成酒精发酵，但其在纯培养及混菌体系中均表现出突出的甘油合成能力（11.47~18.63 g/L），为葡萄酒带来甜润与饱满口感。在香气组成上，补氮处理使挥发性组分总量提升了 3.23%~35.98%，特别是增强了高级醇和乙酸酯类的合成。主成分分析进一步表明，不同接种方式具有鲜明的香气特征：SC 与 SI 以酯类为主导，呈现浓

郁果香; SB 与 SE 则以高级醇为主, 赋予酒样更丰富的花香与醇香。补氮组中的顺序发酵(H-SE)在酯类与高级醇之间达到良好平衡, 香气表现尤为协调。感官评价表明, 补氮处理提升了顺序发酵与同步发酵样品的愉悦香气与结构完整性, 其中 H-SE 在花香强度、口感结构与整体接受度上均表现最优, 表明该组合能有效提升葡萄酒的整体感官品质与风格完整性。综上, 氮源补充与顺序发酵策略的结合, 不仅优化了发酵动力学与香气组成, 更通过协同调控甘油与挥发性代谢物的合成, 有效提升了葡萄酒的感官品质与风格典型性, 为相关酿造工艺的改进提供了理论依据与实践参考。在未来的研究中, 可进一步结合转录组与代谢组学技术, 深入解析 *S. bacillaris* 与酿酒酵母在氮源竞争利用中的分子互作机制, 阐明氮调控下混菌发酵的关键代谢通路网络。同时, 还需在中试及规模化生产上, 系统考察该工艺在不同葡萄品种与酿造风格中的普适性与稳定性, 以推动其在实际生产中的有效应用。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] FLEET G. Yeast interactions and wine flavour[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 86(1-2): 11−22.

[2] XU Xinying, WEI Junbo, HOU Ruoting, et al. Sequential inoculation of non-*Saccharomyces* yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* modulates strawberry wine quality: Physicochemical, volatile and sensory analyses[J]. Applied Food Research, 2025, 5(1): 100890.

[3] BORREN E, TIAN Bin. The important contribution of non-*Saccharomyces* yeasts to the aroma complexity of wine: A review[J]. Foods, 2021, 10(1): 13.

[4] MAICAS S, MATEO J J. The life of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in drinking wine[J]. Microorganisms, 2023, 11(5): 1178.

[5] LI Ruirui, XU Meng, ZHENG Jia, et al. Application potential of Baijiu non-*Saccharomyces* yeast in winemaking through sequential fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 902597.

[6] ROUDIL L, RUSSO P, BERBEGAL C, et al. Non-*Saccharomyces* commercial starter cultures: Scientific trends, recent patents and innovation in the wine sector[J]. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 2020, 11(1): 27−39.

[7] ENGLEZOS V, GIACOSA S, RANTSIOU K, et al. *Starmerella bacillaris* in winemaking: Opportunities and risks[J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 17: 30−35.

[8] RANTSIOU K, ENGLEZOS V, TORCHIO F, et al. Modeling of the fermentation behavior of *Starmerella bacillaris*[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2017, 68(3): 378−385.

[9] LI Ruirui, LIU Yanjun, ZHENG Jia, et al. Oenological characteristics of two indigenous *Starmerella bacillaris* strains isolated from Chinese wine regions[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(11): 3717−3727.

[10] de PAULA DIAS MOREIRA L, PORCELLATO D, MARANGON M, et al. Interactions between *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae* during sequential fermentations influence the release of yeast mannoproteins and impact the protein stability of an unstable wine[J]. Food Chemistry, 2024, 440: 138311.

[11] CHEN Yuting, WANG Chunxiao, ZHANG Zhanyan, et al. Enhancing fruity aroma of Cabernet Sauvignon wine by mixed culture fermentation with *Schizosaccharomyces japonicus, Saccharomyces cerevisiae*, and *Starmerella bacillaris*[J]. Food Microbiology, 2025, 132: 104846.

[12] ENGLEZOS V, RANTSIOU K, CRAVERO F, et al. Volatile profile of white wines fermented with sequential inoculation of *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Chemistry, 2018, 257: 350−360.

[13] ENGLEZOS V, TORCHIO F, CRAVERO F, et al. Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida* zemplinina) and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Lwt, 2016, 73: 567−575.

[14] GUITTIN C, MAÇNA F, BARREAU A, et al. The aromatic profile of wine distillates from *Ugni* Blanc grape musts is influenced by the nitrogen nutrition (organic vs. inorganic) of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Microbiology, 2023, 111: 104193.

[15] HU Kai, JIN Guojie, XU Yinhu, et al. Enhancing wine ester biosynthesis in mixed *Hanseniaspora uvarum*/*Saccharomyces cerevisiae* fermentation by nitrogen nutrient addition[J]. Food Research International, 2019, 123: 559−566.

[16] ROCA-MESA H, SENDRA S, MAS A, et al. Nitrogen preferences during alcoholic fermentation of different non-*Saccharomyces* yeasts of oenological interest[J]. Microorganisms, 2020, 8(2): 157.

[17] SU Ying, HERAS J M, GAMERO A, et al. Impact of nitrogen addition on wine fermentation by *S. cerevisiae* strains with different nitrogen requirements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(21): 6022−6031.

[18] LOLA D, KALLONIATI C, DIMOPOULOU M, et al. Impact of assimilable nitrogen supplementation on *Saccharomyces cerevisiae* metabolic response and aromatic profile of moschofilero wine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(6): 2952−2963.

[19] WANG Yihong, ZHU Hangxin, PAN Siyi, et al. Effect of different nitrogen source and *Saccharomyces cerevisiae* strain on volatile sulfur compounds and their sensory effects in chardonnay wine[J]. Food Chemistry: X, 2024, 24: 101793.

[20] ENGLEZOS V, COCOLIN L, RANTSIOU K, et al. Specific phenotypic traits of *Starmerella bacillaris* related to nitrogen source consumption and central carbon metabolite production during wine fermentation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(16): e00797−e00718.

[21] 段亚茹, 杨晨露, 田一秀, 等. 葡萄酒生产中二氧化硫添加替代品及新型非热杀菌技术的研究进展[J]. 中国酿造, 2025, 44(4): 13−19. [DUAN Yaru, YANG Chenlu, TIAN Yixiu, et al. Research progress of sulfur dioxide addition substitutes and new non-thermal sterilization technologyin wine production[J]. China Brewing, 2025, 44(4): 13−19.]

[22] 刘红艳. DMDC 前处理在巨峰冰葡萄酒酿造中的应用研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2019. [LIU H Y. Research on the application of DMDC pretreatment in the brewing of giant peak ice wine[D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2019.]

[23] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific opinion on the re-evaluation of dimethyl

dicarbonate（DMDC, E 242）as a food additive[J]. EFSA Journal, 2015, 13(12): 4319−4381.
[24] LI Na, WANG Lingyun, YIN Jian, et al. Adjustment of impact odorants in Hutai-8 rose wine by co-fermentation of *Pichia fermentans* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Research International, 2022, 153: 110959.
[25] 汤晓宏, 丁燕, 钟轲, 等. 一株拜耳接合酵母菌的基本性能及发酵香气研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2023(6): 70−77. [TANG Xiaohong, DING Yan, ZHONG Ke, et al. Study on basic properties and fermentation aroma of *Zygosaccharomyces bailii*[J]. Sino-overseas Grapevine & Wine, 2023(6): 70−77.]
[26] LI Ruirui, YANG Dongyue, LI Zhiyu, et al. The effect of stem contact fermentation on the quality of Cabernet Sauvignon and Merlot wines from Yantai, China[J]. Food Bioscience, 2025, 64: 105872.
[27] 崔文文, 程昊天, 潘秋红, 等. 冷稳定时间对西拉干红葡萄酒瓶储过程中有机酸和挥发性香气成分的影响[J]. 中国酿造, 2025, 44(10): 42−49. [CUI Wenwen, CHENG Haotian, PAN Qiuhong, et al. Effect of cold stabilization time on organic acids and volatile flavor components during bottle aging of Syrah dry red wine[J]. China Brewing, 2025, 44(10): 42−49.]
[28] ZHANG Boqin, DUAN Changqing, YAN Guoliang. Effects of mediums on fermentation behaviour and aroma composition in pure and mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* with *Torulaspora delbrueckii*[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2021, 56(10): 5107−5118.
[29] TANG Xiao hong, DING Yan, ZHONG Ke, et al. Screening of high *β*-glucosidase-producing yeast strains from the Penglai wine region（China）and their fermentation performances and aroma compositions in Petit Manseng wine fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1653569.
[30] ROSSETTI A P, PERPETUINI G, TOFALO R. Sniffing the wine differences: The role of *Starmerella bacillaris* biofilm-detached cells[J]. Heliyon, 2024, 10(15): e35692.
[31] CHEN Liang, DARRIET P. Strategies for the identification and sensory evaluation of volatile constituents in wine[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(5): 4549−4583.
[32] 钟轲, 肖建, 汤晓宏, 等. 非酿酒酵母对脐橙果酒品质的影响[J]. 中国酿造, 2025, 44(1): 148−155. [ZHONG Ke, XIAO Jian, TANG Xiaohong, et al. Effect of non-*Saccharomyces cerevisiae* on the quality of navel orange fruit wine[J]. China Brewing, 2025, 44(1): 148−155.]
[33] 朱光华, 赵晓宁, 陈佳威, 等. 河北沙城产区不同葡萄品种干红葡萄酒的香气特征及品质分析[J]. 中国酿造, 2025, 44(12): 176−181. [ZHU Guanghua, ZHAO Xiaoning, CHN Jiawei, et al. Analysis of the aroma characteristics and quality of dry red wines with different grape varieties from Shacheng region of Hebei[J]. China Brewing, 2025, 44(12): 176−181.]
[34] 李金洋, 马晓燕, 杨彭程, 等. 不同酵母菌种对霞多丽葡萄酒中氨基酸和挥发性组分含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2025, 1(10): 2068−2080. [LI Jinyang, MA Xiaoyan, YANG Pengcheng, et al. Effects of different yeast strains on the content of amino acids and volatile compounds in Chardonnay wine[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2025, 1(10): 2068−2080.]
[35] CHEN Tianyan, WANG Hanyu, SU Wei, et al. Analysis of the formation mechanism of volatile and non-volatile flavor substances in corn wine fermentation based on high-throughput sequencing and metabolomics[J]. Food Research International, 2023, 165: 112350.
[36] LI Jun, ZHAO Ning, XU Junnan, et al. Enhancing the fermentation rate and aroma compounds of kiwi wine via the addition of nitrogen during the stationary phase[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 136: 106840.
[37] ZHU Zijian, BAI Xuebing, XIONG Sirui, et al. Predictive modeling of wine fruity ester production based on nitrogen profiles of initial juice[J]. Food Bioscience, 2025, 63: 105658.
[38] SEGUINOT P, BLOEM A, BRIAL P, et al. Analysing the impact of the nature of the nitrogen source on the formation of volatile compounds to unravel the aroma metabolism of two non-*Saccharomyces strains*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 316: 108441.
[39] MA Tengzhen, SAM F E, DIDI D A, et al. Contribution of edible flowers on the aroma profile of dealcoholized pinot noir rose wine[J]. LWT, 2022, 170: 114034.
[40] ZHANG Jie, WANG Tieru, ZHAO Ning, et al. Performance of a novel *β*-glucosidase BGL0224 for aroma enhancement of Cabernet Sauvignon wines[J]. Lwt, 2021, 144: 111244.
[41] GODILLOT J, SANCHEZ I, PEREZ M, et al. The timing of nitrogen addition impacts yeast genes expression and the production of aroma compounds during wine fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 829786.
[42] HE Yang, WANG Xinyuan, LI Penghui, et al. Research progress of wine aroma components: A critical review[J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134491.
[43] TORRES N, YU Runze, MARTINEZ-LUSCHER J, et al. Shifts in the phenolic composition and aromatic profiles of Cabernet Sauvignon（*Vitis vinifera* L.）wines are driven by different irrigation amounts in a hot climate[J]. Food Chemistry, 2022, 371: 131163.