农药学学报 2021, 23(4): 724-731
Chinese Journal of Pesticide Science http://www.nyxxb.cn

·研究论文·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0079

戊唑醇对不同酿酒酵母模拟发酵过程中葡萄酒风味品质的影响

赵珊珊[1]， 李敏敏[3]， 李瑞瑆[3]， 全 蕊[3]， 陈捷胤[2]，
戴小枫[2]， 孔志强[*,2]， 田 健[*,1,4]

(1. 河北农业大学 食品科技学院，河北 保定 071001；2. 中国农业科学院 植物保护研究所，北京 100193；
3. 中国农业科学院 农产品加工研究所，北京 100193；4. 中国农业科学院 生物技术研究所，北京 100081)

摘 要：为探究葡萄酒中不同酿酒酵母作用下戊唑醇降解状况以及戊唑醇残留对不同酿酒酵母发酵过程风味品质的影响，在模拟葡萄汁培养基中添加戊唑醇标准溶液至 2 mg/L，采用生产上常用的 12 种葡萄酒酿制酵母进行模拟酒精发酵处理，运用 QuEChERS 分析方法测定葡萄酒中的戊唑醇残留量，并利用电子鼻、电子舌及固相微萃取气相色谱-质谱技术 (SPME-GC-MS) 分析戊唑醇残留对葡萄酒风味品质的影响。结果表明：葡萄酒酿造中的酵母菌酒精发酵过程可促进戊唑醇的降解，但不同酿酒酵母对戊唑醇的降解效果不同，其中 D254、RC212、BO213 和 AC 菌株的降解作用较好，降解率在 21%~23% 之间；戊唑醇可显著改变酒精发酵过程产生的香气成分，严重抑制苯甲醇 (苦杏仁味) 的生成，从而破坏葡萄酒风味结构。在所测定 12 种酵母菌中，AC 菌株在酒精发酵过程中风味物质的形成受戊唑醇影响最小。综上，建议葡萄酒酿造中可考虑选择酵母菌 AC 进行发酵。

关键词: 戊唑醇；模拟葡萄汁培养基；酒精发酵；葡萄酒；风味物质；酵母

中图分类号：TS207.7；O657.7 **文献标志码：**A **文章编号：**1008-7303(2021)04-0724-08

Effect of residual tebuconazole on the flavor quality of different *Saccharomyces cerevisiae* simulated fermentation process

ZHAO Shanshan[1], LI Minmin[3], LI Ruixing[3], QUAN Rui[3], CHEN Jieyin[2],
DAI Xiaofeng[2], KONG Zhiqiang[*,2], TIAN Jian[*,1,4]

(1. *College of Food Science and Technology*, *Hebei Agricultural University*, *Baoding* 071001, *Hebei Province*, *China*; 2. *Institute of Plant Protection*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*; 3. *Institute of Food Science and Technology*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*; 4. *Biotechnology Research Institute*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100081, *China*)

Abstract: In order to explore the degradation of tebuconazole under the action of different *Saccharomyces cerevisiae* in wine and the influence of tebuconazole residue on the flavor quality of different *Saccharomyces cerevisiae* fermentation process, this study added standard solution of tebuconazole to

收稿日期：2020-11-18；**录用日期：**2021-02-06.
基金项目：国家自然科学基金 (31671942)；北京市科技新星计划项目 (Z191100001119121).
作者简介：赵珊珊，女，硕士研究生，**E-mail：**zhaoss543@163.com；*孔志强，共同通信作者 (Co-author for correspondence)，男，副研究员，研究方向为农药残留与环境毒理，**E-mail：**kongzhiqiang@caas.cn；*田健，通信作者 (Author for correspondence)，男，研究员，研究方向为蛋白质分子设计与改良、微生物重要基因资源挖掘，**E-mail：**tianjian@caas.cn

the simulated grape juice medium to 2 mg/L. Then use 12 kinds of wine-making yeast commonly used in production to simulate alcoholic fermentation treatment. Determination of tebuconazole residues in wine by QuEChERS analysis methods. Meanwhile, the electronic nose, electronic tongue and solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) were used to analyze the effect of tebuconazole residue on wine flavor quality. The results show that the fermentation process dominated by yeasts in winemaking can promote the residual degradation of tebuconazole. Different yeasts have different degradation effects on tebuconazole. Among the 12 yeasts, the strains D254, RC212, BO213 and AC have better degradation effects of tebuconazole, with a degradation rate of 21%-23%. Tebuconazole significantly changed the aroma components produced during alcohol fermentation, severely inhibits the formation of benzyl alcohol (bitter almond flavor) and destroys the wine flavor structure. Among the 12 kinds of yeast tested, the formation of flavor substances during the fermentation of AC strains is the least affected by tebuconazole. In summary, it is recommended that yeast AC be selected for fermentation in winemaking.

Keywords: tebuconazole; MSM medium base; alcoholic fermentation; benzyl alcohol; flavor substances; yeast

葡萄是酿造葡萄酒的主要原料，但因葡萄种植过程中霜霉病、炭疽病、白腐病、灰霉病和白粉病等病害多发，在生产种植过程中需大量使用杀菌剂[1]。研究人员对葡萄及葡萄酒样品抽检发现，葡萄酒中三唑类杀菌剂检出率较高，其中戊唑醇被广泛检出，其含量在 0.002~0.298 mg/kg 之间[2-3]。戊唑醇因具有杀菌谱广、活性强和持效期长等优点而在葡萄种植过程中大量使用，但由于其持效期长频频引发葡萄及葡萄酒中农药残留事件[3-4]。农药残留不仅带来食品安全问题，同时还会造成葡萄酒品质降低、风味物质改变[5-6]。研究发现，酿酒酵母等微生物在发酵过程中对残留农药造成化学和生物性降解，酵母细胞壁中的多糖、蛋白质等可提供多种功能基团，例如羧基、羟基、巯基、磷酰基和氨基等，可参与结合农药等有害物质[7]，使发酵后葡萄酒中大部分农药残留水平改变[8-10]，甚至产生比母体毒性更大的物质，例如酵母可将残留的三唑酮代谢生成比母体毒性更大的三唑醇[11]。另一方面，农药残留在影响葡萄酒安全性的同时，也会使葡萄酒发酵过程延缓，并且对酵母细胞造成不同程度的损伤[8, 12]，从而造成葡萄酒风味品质的改变。Cabras 等[13] 指出，灭菌丹可以完全抑制酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 和 *Kloeckera apiculata* 的发酵作用，González-Álvarez 等[14] 研究发现，氰霜唑、噁唑菌酮和双炔酰菌胺可对白葡萄酒中 6 种芳香类物质的含量造成一定的影响。

目前，葡萄酒酿制过程中农药残留研究主要集中在残留分析方法开发及葡萄酒加工过程中单一酿酒酵母对农药残留的影响和风味干扰[15-17]，缺乏系统研究不同酿酒酵母对葡萄酒酿酒过程中农药残留的影响，尚未见关于戊唑醇残留干扰葡萄酒发酵过程后风味物质研究报道。为此，本研究通过利用不同酿酒酵母模拟葡萄酒酒精发酵过程，系统评价其对戊唑醇残留的影响，同时利用电子感官评价系统明确戊唑醇残留是否造成风味品质差异，进而通过 SPME-GC-MS 明确戊唑醇残留对酒精发酵后葡萄酒挥发性风味物质造成的影响。旨在明确对戊唑醇降解作用效果明显且能够稳定保持葡萄酒风味品质的酿酒酵母，为葡萄酒酿造菌株的选择提供参考，同时为葡萄酒生产过程中安全评价提供科学数据支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

戊唑醇 (tebuconazole) 标准品 (德国 Dr. E 公司，纯度>99%)；分析纯氯化钠和无水硫酸镁 (国药集团化学试剂有限公司)；色谱纯二甲基亚砜 (DMSO)、乙腈 (美国 Thermo Fisher Science 公司，纯度>99.5%)；分散净化剂 *N*-丙基乙二胺 (PSA，博纳艾杰尔科技有限公司)；葡萄酒果酒酿酒酵母 (文中简称帝伯仕，烟台帝伯仕酵母有限公司)；酿酒酵母：71B、2323、AC、BO213、RC212、D254、EC1118、F15、F33、KD 和 X16 (法国 LAFFORT

公司)；模拟葡萄汁培养基 (MSM medium base，招远拓普生物工程有限公司)。

1.2 仪器与设备

Agilent 1290 超高效液相色谱仪和 Agilent 6470 三重四极杆质谱检测器 (美国 Agilent 公司)；Eclipse PlusC18 RRHD 色谱柱 (2.1 × 50 mm，1.8 μm，美国 Agilent 公司)；PEN3.5 型电子鼻 (德国 Airsense 公司)，是由 W1C、W5S、W3C、W6S、W5C、W1S、W1W、W2S、W2W 和 W3S 等 10 个金属氧化物气敏传感器组成的阵列传感器；AsrreeⅡ/LS16 型电子舌 (法国 Alpha MOS 公司)，由 7 个化学选择性区域效应的味觉传感器和 1 个 Ag/AgCl 参比电极组成，对酸、咸和鲜 3 种基本味觉呈味物质都有响应；GC-MS QP2010 plus 气相色谱-质谱联用仪 (日本岛津国际贸易有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 模拟葡萄酒酒精发酵 模拟葡萄汁培养基可以模拟葡萄汁成分，适于研究葡萄酒酵母的发酵特性，并且在本研究中可以克服真实葡萄原料本身含有的外源性农药以及其他葡萄酒加工工艺带来的影响，使试验具有更佳的重现性[18-20]。

模拟葡萄汁培养基：称取 MSM 培养基 207.0 g 于 1 L 超纯水中，混匀，用 5.0 mol/L 的氢氧化钠调节 pH 值至 3.3，在超净台中用 0.22 μm 一次性水系针头式过滤器除菌，现配现用。

1.3.1.1 酵母活化 将 12 种活性干酵母分别溶于 50 倍体积的 2% 蔗糖水中，在 32 ℃ 水浴中复水活化 20 min，酵母接种量为 10 g/50 L。

1.3.1.2 模拟葡萄酒发酵处理 共设 A、B、C 3 组试验：戊唑醇对照 (A 组)，仅添加戊唑醇标准溶液至 2 mg/L，共 1 个处理。酵母对照 (B 组)，分别添加 12 种酵母活化液，不添加戊唑醇标准溶液，共 12 个处理。试验组 (C 组) 根据 GB 2763—2019 中戊唑醇在葡萄中的最大残留限量，在模拟葡萄汁中添加戊唑醇标准溶液的质量浓度为 2 mg/L[21]，添加后静置 30 min，再添加酿酒酵母活化液，共 12 个处理。3 组试验中每个处理重复 3 次。处理后的模拟葡萄汁经酒精发酵 (25 ℃ ± 1 ℃，7 d) 后采集发酵液进行分析[22-24]。

1.3.2 模拟葡萄酒发酵液中农药残留测定

1.3.2.1 样品前处理 取 5.0 mL 发酵液至 15 mL 离心管中，加入 5.0 mL 乙腈，涡旋振荡 2 min；加入 4.0 g 氯化钠和 1.0 g 无水硫酸镁，涡旋振荡 1 min 后于 5 000 r/min 下离心 5 min；取上清液 1.0 mL，转移至含有 50 mg PSA 和 150 mg 无水硫酸镁的 2 mL 离心管中，涡旋振荡 1 min 后于 6 000 r/min 下离心 1 min；取上清液，过 0.22 μm 有机相滤膜，待测。

1.3.2.2 仪器检测条件

色谱条件：流动相 A 为体积分数为 0.05% 的甲酸水溶液；B 相为乙腈，流速 0.4 mL/min，进样量 2 μL。梯度洗脱程序：0~1 min，90% A；>1~4 min，15%~90% A；>4~5 min，1%~15% A；>5~6 min，1% A；>6~6.20 min，1%~90% A；>6.20~7 min，90% A；分析时间 7 min。

质谱条件：采用电喷雾离子源正离子模式，干燥气温度为 300 ℃，干燥气流量为 5 L/min；雾化气压力为 3.1×10^5 Pa；鞘气温度为 250 ℃，鞘气流量为 11 L/min；毛细管电压为 (正) 4 000 V、(负) 3 500 V；喷嘴电压为 (负) 1 500 V；母离子选择 308.2 *m*/*z*，子离子选择 123、70.1 *m*/*z*，破裂电压为 112 V，对应的碰撞能量为 37 和 21 eV。

1.3.3 模拟葡萄酒发酵液电子鼻风味分析 准确量取 3.0 mL 发酵液于进样小瓶中，在 25 ℃ ± 1 ℃ 下静置 10 min，使样品挥发性气体充满气质瓶顶空空间，每个样品重复 3 次。电子鼻开机后进 3 针空气样品，待仪器稳定后开始检测样品，检测过程中，传感器自动清洗时间为 180 s，样品测试分析时间为 60 s。采用电子鼻 WinMuster 系统进行载荷分析 (Loading analysis)[25-26]，数据采用区间选择较为稳定的 35~39 s。

1.3.4 模拟葡萄酒发酵液电子舌滋味分析 准确量取 20.0 mL 发酵液，用超纯水稀释至 150.0 mL，封口膜密封后超声处理 20 min，过 0.22 μm 水相滤膜；取 100.0 mL 至进样烧杯中进行检测，电子舌开机后活化传感器，建立样品分析表，样品烧杯与超纯水烧杯依次间隔摆放在样品盘上，在样品盘上添加完样品后开始进行电子舌扫描检测，每采样 1 次，传感器进入超纯水清洗 1 次。为了避免初始检测响应信号不稳定，每个样品重复扫描检测 7 次，在获得分析数据后，摒除前 3 次数据，只采用后 4 次稳定的电子舌响应数据。运用电子舌自带分析软件进行味觉差异分析。

1.3.5 主要风味物质 SPME-GC-MS 定性分析 准确量取 3.0 mL 发酵液于 20 mL 顶空瓶内，采用固相微萃取方法提取易挥发性化合物，再通过气相

色谱-质谱联用仪对这些化合物进行分离并分析。运用 NIST11 数据库对未知挥发性化合物谱图进行比对定性[27]。

1.3.5.1　固相微萃取条件　将样品置于 50 ℃ 下平衡 20 min，用 65 μm PDMS/DVB 萃取头插入顶空瓶中萃取 40 min 后拔出并置于 200 ℃ 的进样口中解吸 2 min。

1.3.5.2　色谱-质谱条件　DB-WAX 色谱柱 (30 m × 0.25 mm，0.25 μm)，柱温箱初始温度 40 ℃，进样口温度 200 ℃，不分流进样，载气流速 1 mL/min，柱温箱升温程序为 40 ℃ 保持 3 min，5 ℃/min 升至 120 ℃，10 ℃/min 升至 200 ℃，保持 5 min。离子源温度为 200 ℃，传输线温度为 250 ℃，采用全扫描 (Scan) 模式采集信号，扫描范围 *m*/*z* 35~500。

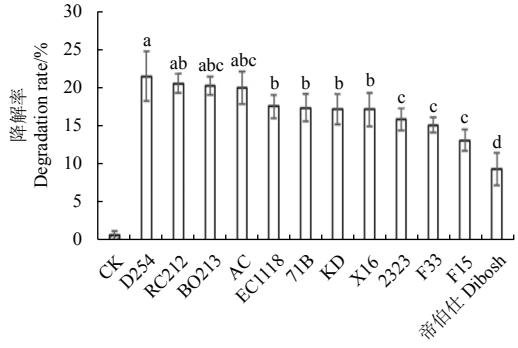
2　结果与分析

2.1　不同酵母对农药残留降解影响

2.1.1　标准溶液配制及标准曲线建立　准确称取一定量戊唑醇标准品，用 DMSO 溶解，配制成 1 000 mg/L 的戊唑醇标准储备液。按 1.3.2.1 节中样品前处理的方法，用空白模拟葡萄汁发酵液基质溶液稀释戊唑醇标准储备液，配制成 0.05、0.1、0.5、1 和 2 mg/L 的系列戊唑醇基质匹配标准溶液。以峰面积为纵坐标，以相应的戊唑醇浓度为横坐标绘制标准曲线，得到的标准曲线线性方程为：$y = 101\,x + 1\,033.1$，$R^2 = 0.999\,4$，表明戊唑醇在 0.05~2 mg/L 范围内线性关系良好。

2.1.2　残留分析方法验证　向空白模拟葡萄汁发酵液中分别添加 0.05、0.1 和 0.5 mg/L 3 个水平的戊唑醇标准溶液，涡旋 2 min，静置 2 h，每个水平重复 5 次。按 1.3.2.1 节样品前处理方法进行处理，回收率在 102%~105%，相对标准偏差 (RSD) 为 0.80%~4.5%，方法检出限 (LOD) 为 0.015 mg/L，定量限 (LOQ) 为 0.05 mg/L，表明该方法的准确度和精密度满足农药残留分析的要求[28]。

2.1.3　不同酿酒酵母对戊唑醇残留降解效果　由图 1 可知：模拟葡萄汁经不同酿酒酵母发酵后，葡萄酒中戊唑醇含量均有不同程度的降低，降解率在 10%~23% 之间，而未添加酵母菌的模拟葡萄汁 (CK) 戊唑醇含量没有发生显著变化，说明酿酒酵母对戊唑醇有一定的降解作用。D254、RC212、BO213 和 AC 对戊唑醇降解效果相对优于其他酿酒酵母菌株 ($P < 0.05$)，降解率超过 20%，分别为 22.9%、21.9%、21.6% 和 21.3%。帝伯仕酿酒酵母对戊唑醇降解率显著低于其他 11 种酵母菌 ($P < 0.05$)，仅有 10.1%；2 323、F33 和 F15 也表现出较低水平的降解作用，且显著区别于 D254 和 RC211。



柱上不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
The data with the different letter indicates significantly different at 0.05 level.

图 1　12 种酵母菌对戊唑醇残留降解率的影响

Fig. 1　The effect of 12 different yeasts on degradation rate of tebuconazole residue

2.2　电子鼻载荷分析

PEN3.5 电子鼻共有 10 个金属氧化物气敏传感器 (W1C 对苯类芳香成分敏感；W5S 对氮氧化合物敏感；W3C 对芳香胺类成分敏感；W6S 对氢气、氢化合物敏感；W5C 对烷烃芳香成分敏感；W1S 对甲基类敏感；W1W 对硫类化合物敏感；W2S 对醇类及芳香族化合物敏感；W2W 对芳香成分和有机硫化物敏感；W3S 对烷烃类敏感)。对 B、C 两组样品进行载荷分析，从而判断各传感器在两组样品挥发性风味物质差异分析中的贡献率。结果如图 2 所示，第 1 主成分的贡献率为 94.01%，第 2 主成分的贡献率为 4.59%。载荷的绝对值越大，对主成分影响越大[29]。从中可看出，在本次模拟葡萄酒发酵液的气味识别中，W1W 传感器对 PC1 和 PC2 的贡献率最大，其次是 W1S 传感器，另外 W2W 传感器在 PC1 的区分发挥较大作用，说明第一主成分主要反映的是硫类、甲基类和芳香类化合物。W1C、W3C 和 W2S 所测数据点位置较为聚集，因此发挥作用较为相似，反映芳香类化合物对主成分的贡献。W5C、W6S 和 W3S 测得数据点较接近且在主成分 1、2 中的载荷值均靠近 0，故对样品间的区别贡献不大，即本次模拟发酵产生的香气物质中烷烃类并未表现出明显差异。因此可初步判定，葡萄酒发酵受戊唑醇影响后，可能在芳香类化合物、含硫化合物和甲基类化合物等风味物质类群产生较大变化。

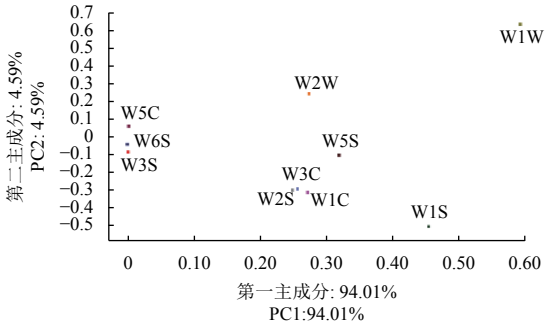


图 2 模拟葡萄酒发酵液电子鼻载荷分析

Fig. 2 Electronic nose loading analysis of simulated wine samples

2.3 电子舌滋味分析

滋味是评价葡萄酒品质的重要指标，电子舌分析系统中，AHS 为酸味传感器，SCS 为苦味传感器，ANS 为甜度传感器，NMS 为鲜味传感器，CTS 为咸味传感器，CPS 与 PKS 为通用传感器。通过电子舌系统对 B、C 两组样品的呈味成分进行检测分析，将组间与组内的检测结果分别进行比对。表 1 为同种酵母在 B、C 两组不同处理下表现出的 7 个传感器综合分析下的味觉风味差异。12 种酵母菌中有 8 种使其 B、C 两组样品的味觉风味在 7 个传感器综合评价下差异值达到 90 以上，另外 4 种酵母 (AC、F15、EC1118、RC212) 差异值均在 80 以下，受戊唑醇影响最小的是 AC，为 22.1。图 3 为酵母 AC 发酵液的味觉分析对比图，从中也可以看出其传感器响应值的相似度极高。

2.4 SPME-GC-MS 分析

分别对 B、C 两组发酵液样品进行 SPME-GC-MS 检测分析，检出物质的匹配度大于或等于 80 的具有参考意义，共检出 63 种挥发性成分。其中，醇类 18 种，酯类 22 种，酸类 7 种，烷类 6 种，其他 10 种。首先，乙醇、异戊醇、(2*R*,3*R*)-(－)-2,3-丁二醇、正己酸乙酯、辛酸乙酯和正癸酸乙酯在所有样品中均被检出。苯甲醇只在所有酵母对照 (B 组) 样品中检出，而 B 组样品是没有经过戊唑醇处理的模拟葡萄酒发酵液，说明戊唑醇残留对发酵葡萄酒中苯甲醇产生一定抑制作用，而苯甲醇在葡萄酒中呈苦杏仁味、脂肪味，是一种重要的芳香醇类物质。其次，戊唑醇使 2323、RC212、71B、D254、BO213、AC 和 KD 发酵下的 7 种发酵液生成呈菠萝香气的庚酸乙酯，抑制酵母菌 F33、X16、RC212、71B、AC、帝伯仕酿酒酵母产生呈水果香气的辛酸异戊酯，抑制酵母菌 F33、X16、2323、RC212、71B、D254、AC、KD、帝伯仕酿酒酵母生成苯甲醇 (苦杏仁味、脂肪味)、苯乙醇 (清甜玫瑰香)、癸酸 3-甲基丁酯、9-十六碳烯酸乙酯。另外异戊酸 (甜润果香味、笃斯越橘味)、正己酸 (干奶酪气味、汗臭味) 等物质的生成也受到一定影响。Noguerol-Pato 等[30] 发现，戊唑醇可能会刺激葡萄酒发酵过程使之产生葡萄品种香、醇香、花香气味，减少梨香、热带水果和蔬菜系列气味。本研究结果与之基本一致。

进一步研究发现，12 种酿酒酵母中，AC 菌株发酵的 B、C 组两样品间相同物质的数目最多，其峰重合度最高 (图 4)，表 2 中为 SPME-GC-MS 检测 AC 菌株模拟发酵下葡萄汁发酵液的主要

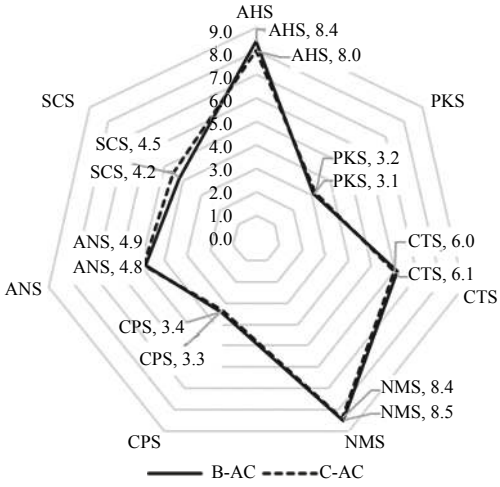


图 3 AC 菌株模拟葡萄汁发酵液味觉分析图

Fig. 3 AC strain simulation of grape juice fermentation broth

表 1 各模拟发酵液味觉差异表

Table 1 Differences in taste of each simulated fermentation broth

样品 Sample	参照样品 Reference samples	差异值 Distances	*P*值 (<0.01) *P* value (<0.01)
B-AC	C-AC	22.1	0.00
B-F15	C-F15	50.3	0.00
B-EC1118	C-EC1118	75.3	0.00
B-RC212	C-RC212	76.2	0.00
B-X16	C-X16	90.4	0.00
B-BO213	C-BO213	91.8	0.00
B-D254	C-D254	97.5	0.00
B-F33	C-F33	114.3	0.00
B-71B	C-71B	144.0	0.00
B-2323	C-2323	147.7	0.00
B-KD	C-KD	169.8	0.00
B-帝伯仕 B-Dibosh	C-帝伯仕 C-Dibosh	235.9	0.00

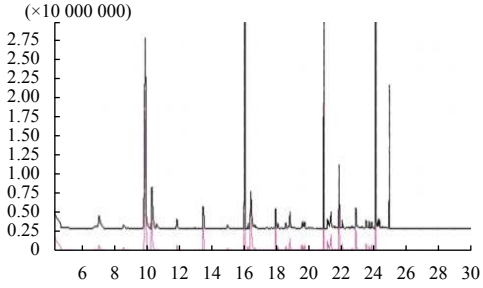


图 4　AC 菌株处理下的 B (黑色)、C(红) 离子流色谱图

Fig. 4　Chromatographic comparison of group B (black) and C (red) of AC yeast strain

表 2　酵母菌 AC 模拟葡萄汁发酵液发酵产生主挥发性成分

Table 2　AC simulates the main volatile components produced by fermentation of grape juice fermentation broth

类别 Category	化合物 Compound	样品 Sample		保留指数 Retention index
		B-AC	C-AC	
醇类 Alcohols	乙醇 Ethanol	+	+	463
	异丁醇 2-Methyl-1-propanol	+	−	597
	异戊醇 3-Methyl-1-butanol	+	+	697
	3-甲氧基-1,2-丙二醇 3-Methoxy-1,2-propanediol	+	+	900
	(2*R*,3*R*)-(−)-2,3-丁二醇 (*R*,*R*)-2,3-Butanediol	+	+	743
	苯甲醇 Benzyl alcohol	+	−	1 036
	苯乙醇 Phenethyl alcohol	+	−	1 136
酯类 Esters	乙酸异戊酯 Isoamyl acetate	+	+	820
	正己酸乙酯 Ethyl caproate	+	+	984
	庚酸乙酯 Ethyl heptanoate	−	+	1 083
	辛酸乙酯 Ethyl caprylate	+	+	1 183
	正癸酸乙酯 Ethyl caprate	+	+	1 381
	辛酸 3-甲基丁酯 3-Methylbutyl ester	+	−	1 417
	乙基 9-癸烯酸酯 Ethyl 9-decenoate	+	+	1 371
	乙酸苯乙酯 Phenethyl acetate	+	+	1 259
	月桂酸乙酯 Ethyl laurate	+	+	1 580
	癸酸 3-甲基丁酯 3-Methylbutyl ester	+	−	1 615
	9-十六碳烯酸乙酯 9-Hexadecenoic acid	+	−	1 986
酸类 Acids	乙酸 Acetic acid glacial	+	+	576
	异戊酸 Isovaleric acid	+	−	811
	2-甲基丁酸 DL-2-Methylbutyric acid	−	+	811

注：+ 表示此样品在 SPME-GC-MS 分析中该物质被检出；− 表示未被检出。

Note：+ Means that this sample was detected in SPME-GC-MS analysis. − means that it has not been detected.

挥发性成分表，酵母对照 B 组 (B-AC) 检出 22 种物质，戊唑醇处理的 C 组 (C-AC) 检出 15 种物质，共有 14 种相同成分，说明在模拟发酵过程中，AC 菌株发酵产生的挥发性物质受戊唑醇影响最小，此结果与电子舌分析结果一致。

3　结论与讨论

残留在葡萄中的杀菌剂会随加工过程转移到葡萄酒中[10, 31]。葡萄酒不同加工过程会影响农药残留的水平和分布[32]。本研究采用模拟葡萄汁培养基模拟葡萄酒酒精发酵过程，系统研究不同酵母菌发酵对戊唑醇降解的影响。结果发现，所选酵母菌对戊唑醇的降解率在 10%~23% 之间，其中 D254、RC212、BO213 和 AC 对戊唑醇降解效果优于其他酿酒酵母菌株 ($P < 0.05$)，而帝伯仕酿酒酵母则对戊唑醇降解效果不明显，降解率低于 15%。该结果与前人研究结果相似[9, 33]。戊唑醇降解率的大小差异可能是由于酿造条件的不同造成。

残留在葡萄酒中的农药会影响酵母菌的正常生长代谢从而造成葡萄酒风味品质的变化。前人研究发现，嘧霉胺、季铵盐类杀菌剂、50% 烯酰吗啉水分散剂[34] 和百菌清[35]会影响酵母的发酵速率、延长发酵时间，影响 CO_2 和酒精等生成量；氧乐果、杀螟硫磷和三唑酮对葡萄酒发酵过程影响并不大，只是在一定程度上缩短了发酵时间[15]。即不同农药类型会选择性影响酵母菌群。而葡萄酒香气大部分来自发酵阶段产生的香味物质，杀菌剂可以通过抑制微生物发酵活性干扰葡萄酒酿制，从而造成发酵过程中微量成分代谢及含量差异，导致对葡萄酒感官质量的不良影响，进而降低葡萄酒香气的纯正度和口感的协调性[36-38]。本研究中，利用电子舌和电子鼻系统，对添加戊唑醇后不同酵母菌在模拟葡萄汁培养基中发酵产生的风味品质进行区分。结果显示，戊唑醇会影响酵母菌发酵过程，从而带来香气产物的差异，12 种酵母菌产生的香气物质均受到不同程度的影响。

基于 SPME-GC-MS 分析发现，与酵母对照 B 组样品相比，戊唑醇处理的 C 组样品均未检测出苯甲醇，造成风味缺失，12 种酵母菌中，AC 菌株表现出较为稳定的产香性能，且成品酒可较好保持葡萄品种香，具有起酵快、发酵温度范围大的特点，是酿酒常选菌种。另外，12 种酵母菌发酵产生的香气物质受到戊唑醇残留的影响不同，这可能是由于酵母菌本身对戊唑醇的敏感性不同。Mulero 等[5] 研究发现，喹氧灵处理过的葡萄

发酵后酚类化合物显著高于对照组，肟菌酯处理的葡萄酒总酚含量 (包括二苯代乙烯类) 明显低于对照组，经甲基醚菌酯、噁唑菌酮和氟喹唑处理过的葡萄酒发酵后总酚含量微有下降。Noguerol-Pato 等[39] 用抗真菌剂处理格拉西亚诺，成品酒中挥发性化合物 (单萜和 C13-降异戊二烯衍生物) 和醛类物质含量显著增加，醋酸盐和芳香醇的浓度降低，这些结果同样验证了杀菌剂与酵母菌发生作用时的相互选择性。葡萄酒酿造中微生物发酵是一个极其复杂的过程，生产中葡萄酒中的农药残留种类不单一且受野生菌株影响，因此未来应继续对杀菌剂与酵母之间的相互选择带来的影响进行深入探究，并且应考虑加工工艺条件差异对葡萄酒风味品质产生的影响。

参考文献 (References):

[1] 罗江钊. 葡萄酒加工中发酵对残留杀菌剂的降解研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2015: 1-6.
LUO J Z. Persistence and degradation of fungicide during the winemaking process in relation to alcohol fermentation[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015: 1-6.

[2] JARDIM A N O, CALDAS E D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food-Results from 2001 to 2010[J]. Food Control, 2012, 25(2): 607-616.

[3] 薛洁, 张敬, 梁萌萌, 等. 葡萄酒中农药残留的调查研究[J]. 酿酒科技, 2014(7): 4-8.
XUE J, ZHANG J, LIANG M M, et al. Research on residual pesticide in grape wine[J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2014(7): 4-8.

[4] 韩舜愈, 李敏. 葡萄酒质量安全风险及其控制[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(2): 12-17.
HAN S Y, LI M. Safety risk and its control of wine[J]. J Food Sci Technol, 2016, 34(2): 12-17.

[5] MULERO J, MARTÍNEZ G, OLIVA J, et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides[J]. Food Chem, 2015, 180: 25-31.

[6] NOGUEROL-PATO R, SIEIRO-SAMPEDRO T, GONZÁLEZ-BARREIRO C, et al. Evaluation of the effect of fenhexamid and mepanipyrim in the volatile composition of Tempranillo and Graciano wines[J]. Food Res Int, 2015, 71: 108-117.

[7] ZHANG M M, WEN Y L, LUO X L, et al. Characterization, mechanism of cypermethrin biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* strains YS81 and HP and removal of cypermethrin from apple and cucumber juices by inactive cells[J]. J Hazard Mater, 2021, 407: 124350.

[8] ČUŠ F, ČESNIK H B, BOLTA Š V, et al. Pesticide residues in grapes and during vinification process[J]. Food Control, 2010, 21(11): 1512-1518.

[9] CABRAS P, ANGIONI A. Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(4): 967-973.

[10] GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ R M, CANCHO-GRANDE B, SIMAL-GÁNDARA J. Decay of fungicide residues during vinification of white grapes harvested after the application of some new active substances against downy mildew[J]. Food Chem, 2011, 125(2): 549-560.

[11] KONG Z Q, LI M M, CHEN J Y, et al. Behavior of field-applied triadimefon, malathion, dichlorvos, and their main metabolites during barley storage and beer processing[J]. Food Chem, 2016, 211: 679-686.

[12] RUEDIGER G A, PARDON K H, SAS A N, et al. Fate of pesticides during the winemaking process in relation to malolactic fermentation[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(8): 3023-3026.

[13] CABRAS P, ANGIONI A, GARAU V L, et al. Pesticides in fermentative processes of wine[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(9): 3854-3857.

[14] GONZÁLEZ-ÁLVAREZ M, GONZÁLEZ-BARREIRO C, CANCHO-GRANDE B, et al. Impact of phytosanitary treatments with fungicides (cyazofamid, famoxadone, mandipropamid and valifenalate) on aroma compounds of Godello white wines[J]. Food Chem, 2012, 131(3): 826-836.

[15] 李记明, 司合芸, 于英, 等. 葡萄农药残留及其对葡萄酒酿造的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(4): 743-751.
LI J M, SI H Y, YU Y, et al. Effects of the residues of agricultural chemicals in grapes on winemaking[J]. Sci Agric Sin, 2012, 45(4): 743-751.

[16] 王琼, 徐宝才, 于海, 等. 电子鼻和电子舌结合模糊数学感官评价优化培根烟熏工艺[J]. 中国农业科学, 2017, 50(1): 161-170.
WANG Q, XU B C, YU H, et al. Electronic nose and electronic tongue combined with fuzzy mathematics sensory evaluation to optimize bacon smoking procedure[J]. Sci Agric Sin, 2017, 50(1): 161-170.

[17] GARCIA-HERNANDEZ C, SALVO-COMINO C, MARTIN-PEDROSA F, et al. Analysis of red wines using an electronic tongue and infrared spectroscopy. Correlations with phenolic content and color parameters[J]. LWT, 2020, 118: 108785.

[18] 贾博, 刘灵伶, 刘兴艳, 等. Cu^{2+}对酿酒酵母酒精发酵特性的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(1): 32-36.
JIA B, LIU L L, LIU X Y, et al. Effect of Cu^{2+} on fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Mod Food Sci Technol, 2015, 31(1): 32-36.

[19] 吴启凤, 李红梅, 杨胜涵, 等. 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 Q F, LI H M, YANG S H, et al. Isolation and screening of *Saccharomyces cerevisiae* from Shuijing grapes and its enological characteristics[J]. China Brew, 2019, 38(7): 65-69.

[20] 祝霞, 刘琦, 赵丹丹, 等. 酿造条件对酿酒酵母发酵香气的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(16): 115-123.
ZHU X, LIU Q, ZHAO D D, et al. Effect of different winemaking conditions on fermentation aroma production by *saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Sci, 2019, 40(16): 115-123.

[21] 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2019[M]. 北京: 中国标准出版社, 2019: 244.
National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food: GB 2763—2019[M]. Beijing: Standards Press of China, 2019: 244.

[22] 姜越, 潘婷, 惠竹梅. 模拟葡萄汁中可同化氮和还原糖对酵母发酵特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 131-137.
JIANG Y, PAN T, XI Z M. Effect of assimilable nitrogen and

reducing sugar concentrations of synthetic grape must on the fermentation characteristics of saccharomyces cerevisiae[J]. Food Sci, 2018, 39(2): 131-137.

[23] 原苗苗, 赵新节, 姜凯凯, 等. 3 株非酿酒酵母在模拟葡萄汁中的生长特性与发酵香气[J]. 食品工业科技, 2018, 39(9): 111-118.
YUAN M M, ZHAO X J, JIANG K K, et al. Growth characteristics and fermentation aroma compounds of three non-*Saccharomyces* in model synthetic medium[J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(9): 111-118.

[24] 李婷, 陈景桦, 马得草, 等. 优选非酿酒酵母与酿酒酵母在模拟葡萄汁发酵中生长动力学及酯酶活性分析[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 60-66.
LI T, CHEN J H, MA D C, et al. Growth kinetics and esterase activities of selected non-saccharomyces yeast and *Saccharomyces cerevisiae* in the fermentation of model grape juice[J]. Food Sci, 2017, 38(22): 60-66.

[25] 曹俊, 刘欣, 陈文若, 等. 基于 E-NOSE 与 SPME-GC/MS 技术分析温湿度动态变化过程中稻谷的挥发性成分[J]. 中国农业科学, 2017, 50(1): 142-160.
CAO J, LIU X, CHEN W R, et al. The volatile compositions from rice stored with dynamic temperature and humidity based on SPME-GC/MS and electronic nose (e-nose) technics[J]. Sci Agric Sin, 2017, 50(1): 142-160.

[26] LU Q, LIU F F, BAO J Q. Volatile components of American silver carp analyzed by electronic nose and MMSE-GC-MS-O[J]. J Food Biochem, 2019, 43(11): 13006-13020.

[27] RAZZAGHI N, ZIARATI P, RASTEGAR H, et al. The concentration and probabilistic health risk assessment of pesticide residues in commercially available olive oils in Iran[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 120: 32-40.

[28] CCPR. Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed: CAC/GL 90-2017[S]. 2017: 1-12.

[29] 公丽艳, 孟宪军, 刘乃侨, 等. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J]. 农业工程学报, 2014, 30(13): 276-285.
GONG L Y, MENG X J, LIU N Q, et al. Evaluation of apple quality based on principal component and hierarchical cluster analysis[J]. Transactions of the CSAE, 2014, 30(13): 276-285.

[30] NOGUEROL-PATO R, GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ R M, GONZÁLEZ-BARREIRO C, et al. Influence of tebuconazole residues on the aroma composition of Mencía red wines[J]. Food Chem, 2011, 124(4): 1525-1532.

[31] ANGIONI A, DEDOLA F, GARAU V L, et al. Fate of iprovalicarb, indoxacarb, and boscalid residues in grapes and wine by GC-ITMS analysis[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(12): 6806-6812.

[32] DOULIA D S, ANAGNOS E K, LIAPIS K S, et al. Effect of clarification process on the removal of pesticide residues in white wine[J]. Food Control, 2017, 72: 134-144.

[33] 王玉路, 王宗义, 贾昌喜, 等. 葡萄酒酿造过程中 12 种残留杀菌剂的归趋追踪[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 114-118.
WANG Y L, WANG Z Y, JIA C X, et al. Fate tracing for 12 residual fungicides in grapes during vinification process[J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(3): 114-118.

[34] 李海兰, 叶慧琼, 王忠跃, 等. 3 种杀真菌剂对葡萄酒酿酒酵母生长及发酵性能的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2009(7): 5-9.
LI H L, YE H Q, WANG Z Y, et al. Influence of three fungicides on growth and fermentability of wine yeast[J]. Sino-Overseas Grapevine Wine, 2009(7): 5-9.

[35] CALHELHA R C, ANDRADE J V, FERREIRA I C, et al. Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process[J]. Food Microbiol, 2006, 23(4): 393-398.

[36] 赵玉娟. 葡萄酒香气物质及其影响因素研究[J]. 酿酒科技, 2015(4): 58-60, 64.
ZHAO Y J. The aromatic components of grape wine and their influencing factors[J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2015(4): 58-60, 64.

[37] FERNÁNDEZ M J, OLIVA J, BARBA A, et al. Effects of clarification and filtration processes on the removal of fungicide residues in red wines (var. *Monastrell*)[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(15): 6156-6161.

[38] BRIZ-CID N, CASTRO-SOBRINO L, RIAL-OTERO R, et al. Fungicide residues affect the sensory properties and flavonoid composition of red wine[J]. J Food Compos Anal, 2018, 66: 185-192.

[39] NOGUEROL-PATO R, SIEIRO-SAMPEDRO T, GONZÁLEZ-BARREIRO C, et al. Effect on the aroma profile of Graciano and Tempranillo red wines of the application of two antifungal treatments onto vines[J]. Molecules, 2014, 19(8): 12173-12193.

(责任编辑: 曲来娥)