

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.07.041

# 冰酒发酵迟滞原因的研究进展及解决对策

## Progress and strategy on the reason of slow and stuck fermentation of icewine

马欣娟 孙玉梅 谢诗怡

MA Xin-juan SUN Yu-mei XIE Shi-yi

(大连工业大学生物工程学院, 辽宁 大连 116034)

(School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034, China)

**摘要:**冰酒发酵会比普通葡萄酒面临更多发酵迟缓或发酵停滞的危险,进而影响冰酒发酵的正常进行和冰酒质量。文章综述了冰酒发酵迟滞的原因和引起冰酒主要成分变化的因素,指出冰葡萄汁成分和发酵工艺不当是造成冰酒发酵迟滞的主要原因,并提出了相应的解决对策。

**关键词:**冰酒;发酵迟缓;发酵停滞

**Abstract:** Icewine fermentation would face with many challenges of slow and stuck fermentation, which would cause some problems in the processing and its quality. The reasons causing slow and stuck fermentation and the relative changes of main icewine composition were reviewed. The main reasons for the slow and stuck fermentation of ice wine was found to be the unsuitable composition and the improper fermentation process, and the corresponding strategies for solving the problems were also proposed.

**Keywords:** icewine; slow fermentation; stuck fermentation

冰酒也称冰葡萄酒,是一种利用自然冰冻的葡萄酿造的甜葡萄酒<sup>[1]</sup>。各国的冰酒标准有所不同,加拿大酒商联盟(Vintners Quality Alliance, VQA)标准规定,必须使用在-8℃以下挂在葡萄枝上经过自然冰冻的葡萄,压榨出的冰葡萄汁的糖度应在320 g/L<sup>[1]</sup>以上,且酒中残糖不低于125 g/L,酒精度为7.0%~14.9%,总酸不低于6.5 g/L<sup>[2]</sup>,这样的葡萄酒才能称为冰酒。

冰酒生产工艺使冰酒发酵处于高糖和低温状态,酵母在高糖低温条件下生长和代谢困难,使冰酒发酵可能面临更多迟缓或停滞的问题。引起发酵迟缓和停滞的原因主要是冰葡萄汁成分和发酵工艺。初糖浓度过高、氮

缺乏、发酵温度过高或过低、SO<sub>2</sub>过量添加、溶氧量不足及其他因素(阳离子缺乏、乙醇毒性、有机酸和脂肪酸毒性、农药和杀虫剂残留、微生物竞争和不良的酿酒环境)共同作用,使冰酒需发酵数月才能完成<sup>[3]</sup>。

而发酵迟缓涉及延迟启酵和降低发酵速度,会影响冰酒品质;发酵停滞则是在达到所需酒精度前酵母停止酒精发酵,从而导致发酵不完全,降低冰酒品质<sup>[4]</sup>。为了保证冰酒的正常发酵和品质,研究和了解冰酒发酵迟滞的原因至关重要。

## 1 导致冰酒发酵迟滞的因素

### 1.1 冰葡萄汁成分

1.1.1 还原糖 还原糖作为冰酒发酵的能量和碳源,其含量对冰酒发酵进程有很大影响。通常每生成体积分数1%的酒精需要消耗17~18 g/L糖,葡萄汁中初糖浓度高于180 g/L时,才能获得酒精度为10%的葡萄酒<sup>[5]58-60</sup>。原料初糖浓度的增加会明显延长发酵周期<sup>[3]</sup>,由于发酵冰酒所用的葡萄是经过冰冻浓缩的,因此其中的还原糖浓度通常>360 g/L。当初糖浓度>400 g/L时,会提高发酵环境的渗透压,导致部分酵母菌失水萎缩,影响酵母菌的生长和代谢,造成发酵迟滞;当初糖浓度>520 g/L时,过高的渗透压会使大部分酵母细胞失水死亡,导致冰酒发酵迟滞<sup>[6-7]</sup>。在冰酒发酵过程中,糖分子移动到酵母细胞中需要首先结合转运蛋白<sup>[8]</sup>。转运蛋白(高亲和力转运蛋白)是具有多个底物识别或结合位点的开放结构,在初糖浓度低时这些转运蛋白能够从多个位置识别和结合糖;在初糖浓度高的情况下,当多个糖分子试图同时结合具有多个底物识别位点的转运蛋白时,就会堵塞转运蛋白,因此糖分子无法转移到细胞中,糖的总摄取速率降低,从而导致发酵迟滞<sup>[8]</sup>。

与葡萄糖相比,高浓度的果糖对酵母的生长具有抑制作用,且果糖的利用率相对较低,原因可能与己糖激

**基金项目:**国家自然科学基金(编号:31771907)

**作者简介:**马欣娟,女,大连工业大学在读硕士研究生。

**通信作者:**孙玉梅(1962—),女,大连工业大学教授,博士。

E-mail: sunyumei62@163.com

**收稿日期:**2019-04-01

酶 I 活性水平的缺乏有关<sup>[9]</sup>。已有研究<sup>[10]</sup>表明,添加果糖使葡萄糖果糖比(Glucose to Fructose Ratio, GFR)增大会抑制正在进行的发酵,而添加葡萄糖使 GFR > 1 可以促进正在进行的发酵。

因此,对糖浓度过大的浓缩葡萄汁,需要先稀释葡萄汁再进行冰酒发酵,避免发酵迟滞。

1.1.2 可同化氮 冰葡萄汁中有有机氮和无机氮两类氮源,其中能被酵母利用的氮源统称为酵母可同化氮(Yeast Assimilable Nitrogen, YAN)<sup>[11]</sup>。冰葡萄汁的可同化氮含量过低时,酵母菌无法正常繁殖代谢,易造成发酵迟滞;氮含量过高时,会使发酵液中有害微生物繁殖,影响发酵进程并生成对冰酒产生不利影响的代谢产物,影响冰酒品质。通常认为,酵母发酵达到酒精度 7% 至少需要 150 mg/L · YAN, 适宜发酵的可同化氮含量为 200~500 mg/L · YAN, 超过 500 mg/L · YAN 则被视为过量<sup>[12]</sup>。

由于冰酒葡萄汁中糖浓度过高, YAN 往往无法满足酵母菌正常发酵,会使发酵停滞。初糖浓度为 320~370 g/L 的长相思和赛美容冰葡萄汁,在可同化氮含量为 50~300 mg/L 发酵时,商业酿酒酵母 ST 的最大菌浓与可同化氮含量呈正比,且发酵时间随可同化氮含量提高而大幅缩短<sup>[13]</sup>。原料葡萄汁的可同化氮含量与葡萄品种也有关,酿造冰酒的葡萄品种主要有雷司令、威代尔、霞多丽、贵人香、米勒、琼瑶浆、白品诺、灰品诺、美乐、长相思等<sup>[14]</sup>,其中,霞多丽进行冰酒发酵迟滞的原因与糖浓度无关,而是其可同化氮含量较低(140 mg/L)所致<sup>[15]</sup>。

糖转运蛋白在细胞稳定期保持高效转运<sup>[16]</sup>,必须提供可同化氮以持续再合成糖转运蛋白。由于高浓度乙醇会抑制氨基酸和其他氮的运输,所以在发酵前期必须提供氮源并贮藏在液泡中以备后续使用。不同菌株在发酵稳定期的氮需求差异显著,其差异远大于生长的氮需求差异。在酿酒条件下葡萄汁中的高浓度铵可能会抑制葡萄酒菌株对氮的高效利用和生物量的生成<sup>[17]</sup>。在发酵稳定期添加特定氨基酸可以延长最大发酵活性周期,而铵无此作用,添加氨基酸(尤其是甘氨酸)可以增强糖转运蛋白等被降解蛋白的快速合成能力<sup>[18]</sup>。可见,适宜的氮营养对完成酿酒条件下的发酵非常重要,必须保持含氮化合物对最佳利用和生长的平衡。

基于上述分析,为避免冰酒发酵迟滞,必须保证葡萄汁在发酵前期含氮充足,在发酵过程中添加甘氨酸等氨基酸并控制铵含量不能过高。

1.1.3 其他成分 葡萄种植过程中,葡萄藤可以通过其根系或通过含有金属离子(铜、铁)的杀真菌剂直接接触来吸收少量重金属并传递到葡萄中,会抑制酵母细胞生长,进而影响冰酒发酵<sup>[19]</sup>。

海藻糖可以保护酵母细胞免受渗透压胁迫和乙醇毒

性,提高酵母细胞活力<sup>[20]</sup>。葡萄汁中海藻糖含量丰富<sup>[21]</sup>。因此,防止冰葡萄汁中海藻糖流失可以提高细胞活力和发酵速率。

## 1.2 发酵工艺

1.2.1 温度 冰酒发酵过程的温度控制与冰酒的品质有着极其密切的关系。不同酵母菌株所需的发酵温度不同。采用商业酵母菌株 K1-V1116 对威代尔冰葡萄汁发酵时,在温度低于 5 °C 时会抑制酵母菌活性,造成发酵迟缓,而温度高于 10 °C 时,乙醇的生成量随温度升高明显增加<sup>[3]</sup>。酿酒酵母 Y-1 # 在 10~20 °C 发酵威代尔冰葡萄汁时,随发酵温度的升高,发酵周期明显缩短,乙醇、乙酸和耗糖量均增加<sup>[22]</sup>。葡萄酒酵母 CICC 31604 在 20, 25, 30 °C 发酵北冰红冰葡萄汁,发现 20 °C 和 30 °C 均会抑制酵母生长,使发酵迟缓、耗糖和乙醇产量较低,冰酒感官评定较差<sup>[23]</sup>。

在冰酒发酵过程中,较低温度会降低细胞膜的流动性并限制转运蛋白的构象变化,而高温会增加细胞膜的流动性并在构象变化过程中导致转运蛋白结构的过度解离,进而影响发酵速率<sup>[8]</sup>。发酵罐中葡萄汁的温度可能不均匀,靠近罐壁的温度较低,而靠近罐中心的温度较高。应避免发酵温度高于 30 °C,以防由于菌株的发酵速率和系统的传热能力使发酵温度快速升高到抑制发酵的程度,引起发酵停滞<sup>[8]</sup>。在发酵后期温度会下降,过度冷却也会导致发酵停滞,应避免在剧烈发酵结束后罐体持续冷却而发生的剧烈降温(使温度波动不宜超过 5 °C)。不同酵母菌株的发酵温度应保持在 22~25 °C。

1.2.2 酵母菌种及其使用方法 冰酒的自然发酵周期较长,为保证发酵的顺利进行和冰酒品质的稳定,工业生产中通常采取接种商业酵母的方法发酵冰酒。Daniel 等<sup>[24]</sup>采用 7 种商业酵母进行冰酒发酵,发现不同酵母菌种发酵速率不同,快者 17 d 而慢者长达数月才能完成发酵。Bely 等<sup>[25]</sup>分别使用非酿酒酵母 *Torulopsis delbrueckii* (27828 和 31703) 和酿酒酵母 ST 发酵初糖浓度为 360 g/L 的葡萄浆,发现 *T. delbrueckii* 菌株的发酵周期较长(20 d 和 26 d),且具有较低的乙醇和乙酸产量,而酿酒酵母 ST 仅 11 d 就完成发酵。

现代葡萄酒生产通常采用活性干酵母,活性干酵母在使用前需适当的复水驯化以提高酵母活力,进而缩短发酵周期。复水温度直接影响了酵母的活力,40 °C 复水,酵母细胞内的海藻糖会提高酵母细胞活力。但无论酵母细胞内的海藻糖水平如何,低于 40 °C 复水会导致细胞质内容物进入复水介质,使酵母细胞死亡率升高,造成发酵迟滞。60 °C 复水,会造成细胞膜的脂质双分子层从干凝胶到液晶相的相变,导致细胞质内容物损失,细胞活力降低<sup>[26-27]</sup>。对商业酵母菌株 K1-V1116 直接接种和逐步复水驯化后接种,发酵结果表明直接接种的酵母生长较慢、

耗糖和乙醇产量较少,发酵迟缓;复水驯化后接种的酵母生长较快、耗糖和乙醇产量较多,发酵进程加快<sup>[3]</sup>。

酵母菌种的接种量也与发酵迟滞有关。采用酿酒酵母 Y-1#、Y-2# 和 Y-3# 发酵初糖 350 g/L 的威代尔冰葡萄汁,接种量为 0.3 g/L 的发酵周期较长,而接种量为 0.5 g/L 的发酵周期较短<sup>[22]</sup>。

冰酒发酵的糖度较高且温度较低,需要选择耐高糖、耐低温、生长繁殖速度快、启酵早、挥发酸和有机酸生成量低的酵母以提高细胞活力,减少葡萄酒中有害代谢产物的积累,缩短发酵周期<sup>[28]405-408[29-31]</sup>。除选取适合冰酒发酵的酵母外,发酵前通常要对酵母菌进行梯度驯化或复水,且酵母的复水温度保持在 40 °C 为宜。当糖度高于 5 °Brix 时,应将标准接种量 0.25 g/L 提高至 0.35 g/L 以上,以达到快速启酵的目的并保证发酵完全<sup>[6]</sup>。

**1.2.3 二氧化硫添加量** 冰酒发酵过程中添加 SO<sub>2</sub> 可以起到抗氧化、降酸、护色、澄清和抑制微生物生长等重要作用,影响葡萄酒的感官品质<sup>[32]</sup>。SO<sub>2</sub> 在葡萄酒酿造过程中最大使用量为 250 mg/L,适量 SO<sub>2</sub> 可以与乙醛及其他相似物结合,降低酒中乙醛含量及过氧化味,产生令人愉悦的香气,从而改善冰酒风味<sup>[33]</sup>。过量使用 SO<sub>2</sub> 会产生刺激性的 H<sub>2</sub>S 气体,抑制酵母的生长繁殖,导致发酵迟滞,还会影响人体健康<sup>[5]131-137</sup>。SO<sub>2</sub> 可以抑制苹果酸—乳酸发酵,从而降低冰酒发酵时挥发酸的生成量,当冰葡萄汁的初始糖度为 350~400 g/L 时,随 SO<sub>2</sub> 添加量(30~150 mg/L)升高,发酵周期明显延长<sup>[34]</sup>。当发酵到冰酒所需酒精度时,可以通过添加 150~200 mg/L 的 SO<sub>2</sub> 终止发酵。

**1.2.4 溶氧量** 酵母菌生长繁殖需要氧气。发酵液初始溶氧量影响酵母菌的繁殖,从而影响发酵周期。在冰酒发酵的高糖低温环境中,可以通过搅拌提高溶解氧至 7~8 mg/L,有助于酵母菌快速的生长繁殖<sup>[28]362-365[35]</sup>。酵母厌氧发酵产乙醇,发酵液中溶氧量过高会使酵母菌不停繁殖,而延迟启动酒精发酵,推迟发酵进程;此外,溶氧过量还会影响冰酒质量,特别是对风味物质(如花香和果香)造成不可逆的损失<sup>[14]</sup>。Fornairon 等<sup>[36]</sup> 研究表明,溶氧量过少时,霞多丽葡萄汁的发酵迟缓。

## 2 发酵迟滞引起的冰酒成分变化

### 2.1 甘油

甘油具有甜味和黏性,高于 5.2 g/L 时可以产生甘甜味,还可以中和葡萄酒中的辣感和苦味,影响酒体厚度,从而改善冰酒感官质量。因其无挥发性、无气味,所以不会对葡萄酒的香气造成影响。冰酒发酵的高渗透压会刺激酵母产生较多甘油来保护自身。酵母甘油代谢主要由甘油三磷酸脱氢酶催化,高渗透压会正向调节编码甘油三磷酸脱氢酶的基因 ALD3 的表达,致使甘油生成量增加<sup>[6]</sup>。当初始糖含量由 230 g/L 增加到 450 g/L 时,甘油

由 8.1 g/L 增加到 11 g/L,发酵周期由 7 d 延长到 50 d,说明初始糖度越高,发酵周期越长,生成的甘油越多<sup>[22]</sup>。

### 2.2 乙醇

乙醇产量是判断冰酒发酵程度的重要指标。发酵的乙醇产量随初始糖含量和酵母接种量的增加而增加。当初始糖含量由 230 g/L 增加到 450 g/L 时,发酵周期由 7 d 延长到 50 d,乙醇量由 13.9% 降到 9.0%<sup>[22]</sup>。用初始糖含量为 400~460 g/L 的葡萄汁酿造冰酒,发现乙醇从 11.9% 降低到 6.3%<sup>[37]</sup>。可见,较高的初糖含量会引起发酵迟缓,影响酵母的糖代谢能力,导致乙醇产量不足,影响冰酒品质。采用直接和逐步驯化的商业酵母菌株 K1-V1116 接种发酵,接种量为 0.2 g/L 和 0.5 g/L,在达到所需乙醇水平(11%)之前,低接种量的发酵停滞,乙醇产量较低(7.8% 和 8.1%),而高接种量的发酵正常,且乙醇产量较高(10.5% 和 12.0%)<sup>[6]</sup>。研究<sup>[24]</sup> 发现非酿酒酵母 *T. delbrueckii* 的发酵周期较长,且仅产生 7.4% 乙醇,而酿酒酵母 ST 的乙醇产量达 15.1%。

可见,较高的初糖含量、较低的酵母接种量和非酿酒酵母菌种会引起发酵迟缓,影响酵母的糖代谢能力,导致乙醇产量不足,影响冰酒品质。

### 2.3 乙酸

酒精发酵的副产物以乙酸为主,乙酸含量过高会严重危害葡萄酒质量,故其含量通常较低(0.25~0.50 g/L)。初糖浓度较高的葡萄浆发酵生成的乙酸含量较高,超过 EEC(欧洲经济共同体)法定的 1.5 g/L<sup>[13]</sup>。冰酒发酵产乙酸的量受温度、菌种、接种量、可同化氮含量和初糖浓度影响。

将贵腐葡萄的初糖浓度从 189 g/L 增加到 391 g/L,会使其所酿葡萄酒的乙酸浓度从 0.56 g/L 升高到 1.46 g/L。可见,葡萄浆的高糖浓度会抑制酵母生长,生成大量乙酸<sup>[13]</sup>。

在低氮情况下,补加铵盐能显著降低乙酸生成;初始氮高于 200 mg/L 会增加乙酸的生成,建议葡萄浆的适宜氮浓度是 190 mg/L。在接种前补加氮会使乙酸生成量降低 18%~27%,在耗糖低于 50 g/L 时补加氮会使乙酸终浓度增加,超过发酵控制的水平<sup>[38]</sup>。

在酵母生长平衡期补加氮会激活己糖转运系统,提高发酵速率和乙酸生成速率,此过程没有因生成生物量而获得多余的 NADH 补偿<sup>[39]</sup>;补加氮量超过 190 mg/L 也有相似的机制,氮过量增加了发酵速率,却没有相同程度地促进生物量生成,而是直接增加了乙酸生成量<sup>[40]</sup>。

### 2.4 高级醇和酯类

高级醇是冰酒的主要呈味物质,主要包括正丙醇、异丁醇、异戊醇等。适量的高级醇可以赋予葡萄酒特殊的风味和香气<sup>[12]</sup>,过多的高级醇则会给葡萄酒带来异味,并易使人头疼和醉酒。Chizuru 等<sup>[41]</sup> 发现用酿酒酵母

*Kyokai no. 701* 发酵明显迟缓,且异戊醇含量明显升高,影响了冰酒的香气。用初糖含量为 24.5 °Brix 和 46 °Brix 的葡萄汁发酵,生成的异丁醇、苯甲醇、2-苯乙醇、2-己烯醛和 5-甲基糠醛随初糖含量升高而明显升高<sup>[42]</sup>。可见,葡萄汁初糖含量与高级醇的生成量密切相关。随着葡萄汁初糖含量增加,葡萄酒中的  $\gamma$ -己内酯和  $\gamma$ -丁内酯量以及大部分酯类和酚酸类香味物质含量增加,葡萄酒的品质提高<sup>[43-44]</sup>。由于初始糖浓度决定发酵状态,可以推测,发酵迟滞也将影响高级醇和各类酯类物质的生成量,从而影响冰酒的品质。

### 2.5 糖

冰酒酿造的初糖含量直接影响发酵终点冰酒的残糖量。酵母在不良环境条件下通常耗糖缓慢,并且在高残糖浓度下停滞发酵<sup>[8]</sup>。在高糖和低温条件下发酵得到的冰葡萄酒中潜在残糖量较高。VQA(加拿大酒商质量联盟)规定冰酒中残糖 $\geq 125$  g/L,酒精度为 7.0%~14.9%,酸度 $\geq 6.5$  g/L。中国规定冰酒残糖 $\geq 120$  g/L,酒精度 7.0%~14%,酸度 $\geq 6.5$  g/L,此标准保证了冰酒中糖、酒精度、酸的平衡性<sup>[45]</sup>。

## 3 结论和展望

迄今为止的研究表明,造成冰酒发酵迟滞的原因主要为冰葡萄汁成分和发酵工艺不当。为保证冰酒发酵顺利,避免迟滞,应适当控制冰葡萄汁中主要成分含量和酿造工艺。控制冰葡萄汁中初糖浓度 $\leq 40$  °Brix,果糖浓度过高时可添加葡萄糖促进发酵;保证葡萄汁足够的含氮量,一般在 200~500 mg/L,但铵含量不能过高,可以通过在发酵稳定期添加甘氨酸促进发酵,在耗糖高于 50 g/L 时补充氮降低乙酸产量。此外,冰酒发酵需要选育耐高糖、耐低温、生长繁殖速度快、启酵早、乙酸生成量低的酵母;对于采用活性干酵母的冰酒发酵,接种前应在 40 °C 复水驯化活性干酵母,并适当提高接种量。冰酒发酵的 SO<sub>2</sub> 添加量不宜超过 250 mg/L,且应维持 7~8 mg/L 的溶氧量。发酵温度应保持在 22~25 °C,且避免发酵后期较大的温度波动。

目前对于冰酒发酵迟滞的研究主要集中在原料成分、发酵工艺等原因的分析和对冰酒成分的影响,至于其他如非增殖性营养、植物酚类化合物和植物抗毒素对酵母生长和发酵速率的影响及其分子作用机理也值得研究。酵母基因组测序以及用于全基因组和蛋白质组分析表达图谱技术的出现,可以促进了解冰酒发酵迟滞的酵母生物学<sup>[46]</sup>,从而为改善冰酒发酵迟滞问题提供更好的诊断工具。

### 参考文献

[1] 李景明,马丽艳,杨丽丽. 冰葡萄酒及生产工艺[J]. 中外食

品, 2005(11): 39-41.

- [2] NURGEL C, PICKERING G, INGLIS D L. Sensory and chemical characteristics of Canadian icewines[J]. *J Sci Food Agric*, 2004, 84(13): 1 675-1 684.
- [3] 钟宝. 北冰红山葡萄酒酿造工艺响应面优化[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(1): 87-90.
- [4] 谢诗怡. 解决冰酒发酵迟滞问题的实验研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2018: 2-6.
- [5] 李华, 王华, 袁春龙, 等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [6] NAVARRO-AVINO J P, PRASAD R, MIRALLES V J, et al. A proposal for nomenclature of aldehyde dehydrogenases in *Saccharomyces cerevisiae* and characterization of stress-inducible ALD2 and ALD3 genes[J]. *Yeast*, 1999, 15(1): 842-929.
- [7] 杜文华. 发酵条件对冰葡萄酒酵母生长及冰酒品质的影响[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2013: 18-22.
- [8] HOWELL G. Overcoming stuck ferments and other wine-making dilemmas [J]. *Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*, 2015, 698(1): 68-69.
- [9] KENNETH M, MCMAHON V, JESSE D, et al. Trained and consumer panel evaluation of sparkling wines sweetened to brut or demi sec residual sugar levels with three different sugars[J]. *Food Research International*, 2017, 99(Part 1): 173-189.
- [10] ZINNAI A, VENTURI F, SANMARTIN C, et al. A mathematical model to evaluate the kinetics of *D*-glucose and *D*-fructose fermentations by *saccharomyces bayanus* at increasing ethanol concentrations[J]. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2014, 35(1): 114-124.
- [11] BOUDREAU I V, THOMAS F, SEAN F, et al. Free amino nitrogen concentration correlates to total yeast assimilable nitrogen concentration in apple juice[J]. *Food Science & Nutrition*, 2018, 6(1): 119-123.
- [12] 郭在力, 栾静, 孙玉梅. 可同化氮对葡萄酒发酵影响的研究进展[J]. *中国酿造*, 2016, 35(4): 19-23.
- [13] BELY M, RINALDL A, DUBOURDIEU D. Influence of assimilable nitrogen on volatile acidity production by *Saccharomyces cerevisiae*, during high sugar fermentation[J]. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 2003, 96(6): 507-512.
- [14] 王凤梅. 我国冰葡萄酒的现状及其发展[J]. *现代农业*, 2016(11): 107.
- [15] SOMMER S, WEGMANN-HERR P, WACKER M, et al. Rationale for a stronger disposition of chardonnay wines for stuck and sluggish fermentation[J]. *S Afr J Enol Vitic*, 2015, 36(1): 180-190.
- [16] 蔡艳青, 齐显尼, 齐奇, 等. 敲除 MIG1 和 SNF1 基因对酿酒酵母共利用葡萄糖和木糖的影响[J]. *生物工程学报*, 2018, 34(1): 54-67.

- [17] CRÉPIN L, TRUONG N, BLOEM A, et al. Management of multiple nitrogen sources during wine fermentation by *saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(5): 3 831-3 837.
- [18] PAULINE S, STÉPHANIE R, ISABELLE S, et al. Impact of the timing and the nature of nitrogen additions on the production kinetics of fermentative aromas by *Saccharomyces cerevisiae* during winemaking fermentation in synthetic media [J]. *Food Microbiology*, 2018, 76 (1): 29-36.
- [19] PASQUALE R, CARMEN B, CRISTINA D C, et al. Pesticide residues and stuck fermentation in wine; New evidences indicate the urgent need of tailored regulations[J]. *Fermentation*, 2019, 5(1): 23-29.
- [20] 孙悦. 不同氮素水平对酿酒酵母混合发酵特征的影响及其代谢物研究[D]. 陕西: 西北农林科技大学, 2016: 32-38.
- [21] PULIGUNDLA P, SMOGROVICOVA D, OBULAM V, et al. Very high gravity (VHG) ethanolic brewing and fermentation: a research update[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2011, 38(1): 1 133-1 144.
- [22] 裴广仁, 李记明, 于英, 等. 冰葡萄酒中高含量挥发酸的影响因素分析[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(3): 58-62.
- [23] 刘文玉. 北冰红冰葡萄酒优化发酵工艺的研究[J]. *酿酒*, 2018, 45(4): 115-116.
- [24] DANIEL J, MARGARET C, HENNIE J, et al. Impact of yeast strain on the production of acetic acid, glycerol, and the sensory attributes of ice wine[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2004, 55(4): 371-378.
- [25] BELY M, STOECKLE P, MASNEUF-POMARÈDE I, et al. Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 122 (1): 312-320.
- [26] 李忠岷. 浅谈高温对细胞膜的影响[J]. *文理导航: 教育研究与实践*, 2018(1): 114.
- [27] WANG Bin, LIU Gao-li, BALAMURUGAN V, et al. Aptatite nanoparticles mediate intracellular delivery of trehalose and increase survival of cryopreserved cells [J]. *Cryobiology*, 2019, 86(1): 103-110.
- [28] 顾国贤. 酿造酒工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996.
- [29] 赵光鳌, 王金山, 顾国贤. 果酒酿制[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1987: 8-17.
- [30] 刘学强, 钱泓, 周正, 等. 低产高级醇葡萄酒酵母菌株的筛选[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(3): 73-78.
- [31] 唐柯, 王蓓, 马玥, 等. 不同酵母与温度发酵的威代尔冰葡萄酒有机酸分析[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(8): 153-158.
- [32] 逢晓薇, 孙辉, 武锋, 等. 两种葡萄酒中二氧化硫检测方法研究[J]. *酿酒科技*, 2018(6): 91-94.
- [33] 苏昊, 何志刚, 李维新, 等. 游离二氧化硫与葡萄酒氧化褐变及氧化还原电位的相关性分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(3): 12-17.
- [34] 杨华峰, 杜文华, 刘忠义. 初始含糖量和二氧化硫对冰红酒挥发酸的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(3): 177-179.
- [35] 高年发. 葡萄酒生产技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 99-100.
- [36] OCHANDO T, MOURET J R, HUMBERT-GOFFARD A, et al. Impact of initial lipid content and oxygen supply on alcoholic fermentation in champagne-like musts [J]. *Food Research International*, 2017, 98(1): 87-94.
- [37] PIGEAI G M, BOZZA E, KAISER K, et al. Concentration effect of riesling icewine juice on yeast performance and wine acidity [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(5): 1 691-1 698.
- [38] ROLLERO S, BLOEM A, ORTIZ-JULIEN A, et al. Fermentation performances and aroma production of non-conventional wine yeasts are influenced by nitrogen preferences [J]. *FEMS Yeast Res*, 2018, 1(1): 1-29.
- [39] TESNIERE C, BRICE C, BLONDIN B. Responses of *Saccharomyces cerevisiae* to nitrogen starvation in wine alcoholic fermentation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(17): 7 025-7 034.
- [40] CHILDS B C, BOHLSCHIED J C, EDWARDS C G. Impact of available nitrogen and sugar concentration in musts on alcoholic fermentation and subsequent wine spoilage by *brettanomyces bruxellensis* [J]. *Food Microbiology*, 2015, 46: 604-609.
- [41] YAMAOKA C, KURITA O, KUBO T. Improved ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* in mixed cultures with *Kluyveromyces lactis* on high-sugar fermentation [J]. *Microbiological Research*, 2014, 7(3): 1-8.
- [42] OSTAPENKO V, TKACHENKO O, IUKURIDZE E, et al. Sensory and chemical attributes of dessert wines made by different freezing methods of Marselan grapes [J]. *Ukrainian Food Journal*, 2017, 2(6): 278-290.
- [43] 刘峻溪, 王俊芳, 韩爱芹, 等. 葡萄酒中酯类物质的生物合成及其影响因素[J]. *酿酒科技*, 2016(9): 43-47.
- [44] 黄玲. 产区威代尔冰葡萄酒风味特征及非挥发性组分对香气影响的研究[D]. 江苏: 江南大学, 2018: 27-29.
- [45] 李记明. 中国冰葡萄酒标准制定中的若干问题探讨[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2007(4): 52-55.
- [46] LINDA F, CHRISTIAN E. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations [J]. *Am J Enol Vitic*, 2000, 51(2): 168-177.