

# 酒酒球菌在不同模拟酒培养基中的降酸效果研究

刘晓娇<sup>a</sup>, 樊明涛<sup>a</sup>, 李亚辉<sup>a</sup>, 吕丽娟<sup>a</sup>, 张国强<sup>a</sup>, 何鸿举<sup>a</sup>, 刘延琳<sup>b</sup>

(西北农林科技大学 a 食品科学与工程学院, b 葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】选择一种成分简单、降酸效果好的模拟酒培养基,为后续的苹果酸-乳酸发酵研究奠定基础。【方法】利用高效液相色谱等方法,分别测定不同时段酒酒球菌 31MBR 和 SD-2a 在 A、B、C、D 4 种模拟酒培养基中的 L-苹果酸、L-乳酸质量浓度及 pH 值和 OD 值,研究不同培养基中 L-苹果酸的降解效果。【结果】酒酒球菌 31MBR 在 A、B、D 3 种培养基中的降酸效果基本一致,在第 4 天时 L-苹果酸的降解率分别为 90.75%, 89.47% 和 91.92%,在 C 培养基中降解率稍低,为 79.99%;SD-2a 在 B、D 2 种模拟酒培养基中的降酸效果基本一致,第 4 天时 L-苹果酸降解率分别为 94.32% 和 91.49%,而在 A、C 2 种模拟酒培养基中降酸较慢,第 4 天时的 L-苹果酸降解率分别为 51.24% 和 69.21%。液相色谱分析表明,酒酒球菌 31MBR 和 SD-2a 在 A、B 培养基中培养,均能够获得分离效果较好的色谱图。【结论】A 培养基适于酒酒球菌 31MBR 的苹果酸-乳酸发酵,B 培养基适于酒酒球菌 SD-2a 的苹果酸-乳酸发酵。

【关键词】 苹果酸-乳酸发酵;酒酒球菌;模拟酒培养基;降酸效果

【中图分类号】 TS261.1<sup>+</sup>3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2011)05-0172-07

## Study on deacidification of *Oenococcus oeni* in different simulated wine cultures

LIU Xiao-jiao<sup>a</sup>, FAN Ming-tao<sup>a</sup>, LI Ya-hui<sup>a</sup>, Lü Li-juan<sup>a</sup>,  
ZHANG Guo-qiang<sup>a</sup>, HE Hong-Ju<sup>a</sup>, LIU Yan-Lin<sup>b</sup>

(a College of Food Science and Engineering, b College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】 The present study was aimed to obtain a simple simulated wine culture of large malic acid consumption for scientific research. 【Method】 HPLC and other methods were used to determine L-malic acid and L-lactic acid, pH and OD, in order to know the efficiency of L-malic acid degradation. 【Result】 The results showed that the rates of malic acid degradation were 90.75%, 89.47%, 79.99% and 91.92% respectively in the simulated wine cultures A, B, C and D inoculated with *Oenococcus oeni* 31MBR after four days. *O. oeni* SD-2a was able to degrade 94.32% and 91.49% of the malic acid in the simulated wine cultures B and D after four days, respectively, but 51.24% and 69.21% in the simulated wine cultures A and C, respectively. HPLC analysis showed that *O. oeni* 31MBR and SD-2a respectively in the simulated wine cultures A and B could obtain good chromatogram. 【Conclusion】 Simulated culture A was more suitable for *O. oeni* 31MBR to degrade L-malic acid while simulated culture B was more suitable *O. oeni* SD-2a to decompose L-malic acid.

**Key words:** malolactic fermentation; *Oenococcus oeni*; simulation wine culture; deacidification

\* [收稿日期] 2010-09-29

[基金项目] 国家葡萄产业技术体系专项(nyctx-30-ch-03)

[作者简介] 刘晓娇(1985—),女,新疆阜康人,在读硕士,主要从事食品生物技术研究。E-mail:78xlj@163.com

[通信作者] 樊明涛(1963—),男,陕西富平人,教授,博士生导师,主要从事食品微生物与食品安全研究。

E-mail:fanmt@nwsuaf.edu.cn

苹果酸-乳酸发酵是葡萄酒酿造过程中重要的二次发酵,它可使新(生)葡萄酒的酸涩、粗糙感消失,达到理想的酸度平衡,使果香、醇香加浓,酒体柔软、肥硕,微生物稳定性增强,葡萄酒品质提高<sup>[1]</sup>。国外研究者发现,在苹果酸-乳酸发酵过程中,还伴随着双乙酰和乙醛的代谢<sup>[2-3]</sup>,优质的红葡萄酒和部分白葡萄酒都需要进行苹果酸-乳酸发酵以提高品质<sup>[4-5]</sup>。国内外研究表明,不同种的苹果酸-乳酸菌的酿酒特性不同,能够适应葡萄酒环境,较为专一地进行苹果酸-乳酸发酵并对酒质有增益作用的细菌主要是酒球菌属的细菌<sup>[6]</sup>。例如,酒酒球菌 SD-2a 就是 1 株我国具有自主知识产权的优良菌株,其从山东烟台地区自然苹果酸-乳酸发酵葡萄酒中分离得到;酒酒球菌 31MBR 则是已被开发并商业化的发酵剂,这 2 株菌都具有较好的降酸效果。

葡萄酒中具有较多抑制苹果酸乳酸菌生长的限制因子<sup>[7]</sup>,而模拟酒培养基却具有成分简单、不含抑制物的特点,有利于研究微生物的发酵机理和生长特性,因此很多研究者利用模拟酒培养基研究苹果酸-乳酸发酵,如 MRS broth 培养基<sup>[8]</sup>、MLO 培养基<sup>[9]</sup>、人工模拟果酒培养基<sup>[10]</sup>等。前人研究表明,在部分模拟酒培养基中,苹果酸乳酸菌生长速率低,降酸时间较长,而且降酸效果不佳。赵国群等<sup>[10]</sup>在研究中发现,模拟酒培养基中的酵母浸粉可以促进酒酒球菌苹果酸乳酸发酵;Nicolas 等<sup>[7]</sup>研究了化学合成培养基中不同氨基酸氮源对酒酒球菌生长的影响,发现精氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等氨基酸对酒酒球菌的生长是必需的。筛选合适的模拟酒培养基,不仅可以满足微生物生长的需要,而且更为重要的是,模拟酒培养基中诸如色素等干扰测定的成分较少,有利于获得准确的结果,便于在实际的酿酒体系中给予指导和应用。但目前有关酒酒球菌在不同模拟酒培养基中降酸效果比较方面的研究尚未见报道。为此,本研究在前人研究和前期试验的基础上,筛选获得 A、B、C、D 4 种培养基,其中 A 培养基含有酒酒球菌生长所必需的氨基酸,B 培养基既含有必需氨基酸,又含有一些非必需的氨基酸,而 C、D 培养基则是分别将 A、B 培养基中的所有氨基酸氮源以酵母浸粉代替。为了明确酒酒球菌在 4 种模拟酒培养基中的降酸效果,本研究利用高效液相色谱等方法,测定菌体培养不同时段苹果酸和乳酸的质量浓度,研究适于酒酒球菌生长和降酸的最优培养基,以为后期苹果酸乳酸研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌种 酒酒球菌 (*Oenococcus oeni*) 31MBR 和 SD-2a,由西北农林科技大学葡萄酒学院保存。

1.1.2 试剂 酵母浸粉、蛋白胨、葡萄糖、果糖、L-苹果酸、D-酒石酸、L-乳酸、硫酸镁、硫酸锰、盐酸半胱氨酸、番茄汁、无水乙醇、磷酸、磷酸二氢钾、核糖、腺嘌呤、鸟嘌呤、硫胺素、叶酸、天冬酰胺、天冬氨酸、赖氨酸、丝氨酸、谷氨酸、精氨酸、L-半胱氨酸、L-甘氨酸、L-组氨酸、L-异亮氨酸、L-蛋氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、L-酪氨酸、L-缬氨酸、烟酸、L-亮氨酸等,均为市售。

1.1.3 培养基 ATB 培养基<sup>[11]</sup> 含酵母浸粉 5.0 g/L、蛋白胨 10 g/L、葡萄糖 10 g/L、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2 g/L、MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.05 g/L、盐酸半胱氨酸 0.5 g/L、番茄汁 250 mL/L,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 4.8,121 °C 灭菌 20 min。

参照文献<sup>[7]</sup>并做适当修改,形成 A、B 2 种模拟酒培养基,将 A、B 培养基中的所有氨基酸氮源以酵母浸粉替代,再配成 C、D 2 种模拟酒培养基。各培养基配方如下。

A 模拟酒培养基:添加 L-苹果酸 2.5 g/L、D-酒石酸 3.5 g/L、葡萄糖 1.0 g/L、果糖 1.0 g/L,不添加核糖、腺嘌呤、鸟嘌呤、硫胺素、核黄素、生物素、叶酸、天冬酰胺、天冬氨酸、赖氨酸、丝氨酸、谷氨酸,含乙醇 100 mL/L,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 3.8,以孔径 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。

B 模拟酒培养基:添加 L-苹果酸 4 g/L、D-酒石酸 2.5 g/L、葡萄糖 4.0 g/L、果糖 4.0 g/L,不添加生物素和硫胺素,含乙醇 100 mL/L,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 3.8,以孔径 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。

C 模拟酒培养基<sup>[12]</sup>:添加 L-苹果酸 2.5 g/L、D-酒石酸 3.5 g/L、葡萄糖 1.0 g/L、果糖 1.0 g/L、乙酸钠 2.0 g/L、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2 g/L、MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.05 g/L、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g/L、酵母浸粉 4 g/L(有改动),含乙醇 100 mL/L,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 3.8,121 °C 灭菌 20 min。

D 模拟酒培养基<sup>[13]</sup>:添加 L-苹果酸 4 g/L、D-酒石酸 2.5 g/L、葡萄糖 4.0 g/L、果糖 4.0 g/L、吐温-80 5 mL/L、甘油 5 g/L、MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.02 g/L、柠檬酸 0.2 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.14 g/L、酵母浸粉 4

g/L,含乙醇 100 mL/L,用 1 mol/L NaOH 调 pH 值至 3.8,121 ℃ 灭菌 20 min。

1.1.4 仪器 Waters 600E 高效液相色谱仪、HS-840u 型超净工作台、DH-420 型电热恒温培养箱、UV-3802 型比例双光束紫外可见分光光度计、Sartorius 标准型 PB-10 pH 计、高压灭菌锅、电子天平。

1.2 方 法

1.2.1 菌液制备 将斜面保藏的 31MBR 和 SD-2a 菌种分别接种于 ATB 液体培养基中,在 25 ℃ 条件下,培养至对数生长末期,备用。

1.2.2 试验设计 将培养至对数生长末期的酒酒球菌 31MBR 和 SD-2a,按 5% 的体积比分别接种于 A、B、C、D 4 种模拟酒培养基中,于 20 ℃ 培养,每隔 4 d 取样测定 1 次有机酸质量浓度、OD<sub>660</sub> 值、pH 值,以分析 2 种酒酒球菌在 A、B、C、D 4 种模拟酒培养基中的降酸效果。

1.2.3 L-苹果酸降解率的计算 采用高效液相色谱法<sup>[14]</sup>测定 L-苹果酸及 L-乳酸的质量浓度。色谱条件:Waters 600E 高效液相色谱仪, Symmetry Shield™ RP18 柱(5 μm,4.6 mm×250 mm),Empower 色谱工作站,Waters 2487 双波长紫外检测器。流动相:含体积分数 3% 甲醇的 0.01 mol/L 磷酸氢二钾(pH 2.8);样品流速 0.6 mL/min,检测波长 210 nm。用外标法对 L-苹果酸和 L-乳酸的质量

浓度进行测定,并计算 L-苹果酸降解率:

$$\text{L-苹果酸降解率} = (\text{原有 L-苹果酸质量浓度} - \text{现有 L-苹果酸质量浓度}) / \text{原有 L-苹果酸质量浓度} \times 100\%$$

1.3 数据处理

数据采用 Excel 2003 软件进行统计与分析。

2 结果与分析

2.1 酒酒球菌 31MBR 在 4 种模拟酒培养基中降酸效果的比较

2.1.1 有机酸含量的变化 图 1a 显示,在 A、B、D 3 种模拟酒培养基中,酒酒球菌 31MBR 对 L-苹果酸的降解效果基本一致,发酵 4 d 后 L-苹果酸的降解率基本趋于稳定,此时 L-苹果酸的质量浓度分别为 0.28,0.23 和 0.37 g/L,降解率分别为 90.75%,89.47% 和 91.92%;而相对于 C 培养基,酒酒球菌 31MBR 的 L-苹果酸降解率稍低,发酵 12 d 时,其降解率才达到 88.28%。由图 1b 可知,发酵 4 d 后,这 4 种培养基中的乳酸含量基本不发生变化,与 4 d 后的 L-苹果酸质量浓度变化相一致;并且随着发酵时间的延长,B、D 2 种培养基中的乳酸含量较 A、C 2 种培养基中高,这可能是由于前 2 种培养基中酒酒球菌 31MBR 可利用的碳源较后 2 种培养基中多,所以通过三羧酸循环产生的乳酸含量也较高。

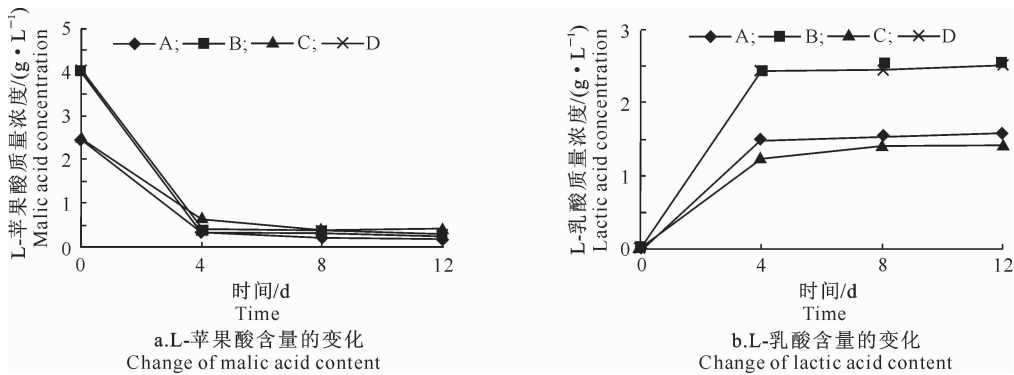


图 1 接种酒酒球菌 31MBR 后 4 种模拟酒培养基中有机酸含量的变化

Fig. 1 Change of organic acid content in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* 31MBR

2.1.2 OD<sub>660</sub> 值的变化 图 2 显示,酒酒球菌 31MBR 在 4 种模拟酒培养基中并未表现出典型的细菌生长特点。在 D 培养基中,31MBR 的生长势最强,细菌生长较快,到第 4 天时,OD<sub>660</sub> 值已达到 0.96,但随之很快下降,最后 OD<sub>660</sub> 值在 0.6 左右维持较长时间,说明 D 培养基最适合菌体的生长与繁殖;在 A、B、C 培养基中,酒酒球菌 31MBR 的生长势均较弱,培养

4 d 时,OD<sub>660</sub> 值均有小幅增加,随后维持稳定状态,C 培养基中 OD<sub>660</sub> 值甚至下降。菌体虽然在 A、B、C 3 种培养基中生长情况相似,但 C 培养基中的 L-苹果酸降解率最低,而 C 培养基与 A、B 培养基的主要区别是添加的氮源不同,所以很有可能是因为 C 培养基缺乏能够促进酒酒球菌 31MBR 降酸的某种氨基酸,从而导致 L-苹果酸的降解率较低<sup>[7]</sup>。

2.1.3 pH 值的变化 由图 3 可以看出,在 A、B、C、D 4 种模拟酒培养基中,酒酒球菌 31MBR 发酵前后的 pH 值变化不很明显,相对而言,A、B 培养基的 pH 值呈增大趋势,而 C、D 2 种培养基的 pH 值有所降低,其中 pH 变化最大的是 A 培养基,pH 值上升

了 0.2 左右。这是由于 4 种培养基均属于缓冲体系,能够抵御外界较弱酸碱的变化而维持比较稳定的 pH 值,并且酒酒球菌 31MBR 将 L-苹果酸转化为 L-乳酸,是二元弱酸转化为一元弱酸的过程,所以对 pH 值的影响并不大。

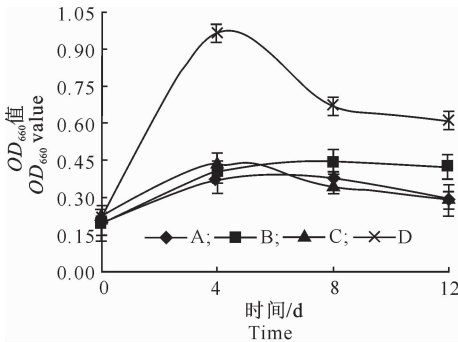


图 2 接种酒酒球菌 31MBR 后 4 种模拟酒培养基中 OD<sub>660</sub> 值的变化

Fig. 2 Change of OD<sub>660</sub> value in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* 31MBR

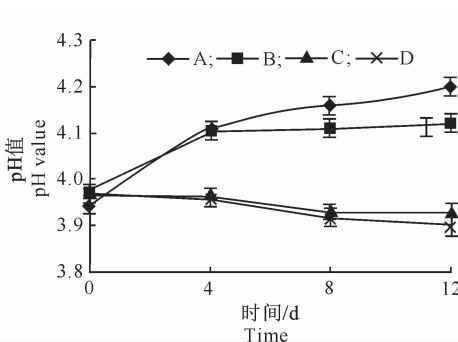


图 3 接种酒酒球菌 31MBR 后 4 种模拟酒培养基中 pH 值的变化

Fig. 3 Change of pH value in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* 31MBR

2.2 酒酒球菌 SD-2a 在 4 种模拟酒培养基中降酸效果的比较

2.2.1 有机酸含量的变化 由图 4a 可以看出,发酵 4 d 时,在 B、D 2 种培养基中,L-苹果酸质量浓度分别为 0.21 和 0.33 g/L,降解率分别为 94.32%和 91.49%,4 d 后,L-苹果酸质量浓度基本趋于稳定;在 A、C 2 种培养基中,发酵 4 d 时,L-苹果酸质量浓度分别为 1.22 和 1.15 g/L,降解率分别为 51.24%和 69.21%,发酵 8 d 时,L-苹果酸降解率才分别达到 91.12%和 84.58%;可见,SD-2a 对 L-苹果酸的

降解比较平缓。由图 4b 可以看出,发酵 4 d 时,B 和 D 2 种培养基中的 L-乳酸含量均达到最高值,此后 L-乳酸质量浓度基本没变化;A 和 C 培养基中的 L-乳酸在发酵 4 d 后有所增加,于 8 d 时趋于稳定。由于酒酒球菌 SD-2a 能够利用碳源产生乳酸,而 B、D 培养基中碳源较 A、C 培养基中多,所以前 2 种培养基中的 L-乳酸含量较后 2 种培养基中高。由于 C 培养基中 L-苹果酸的降解率最低,所以生成的 L-乳酸含量也最低。

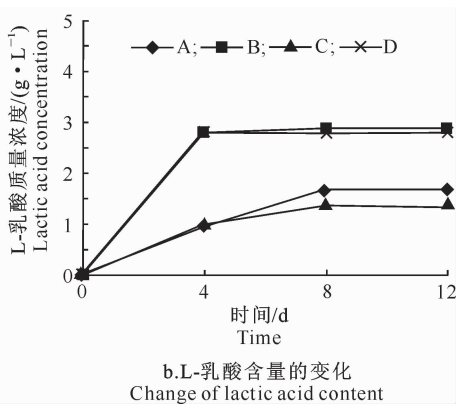
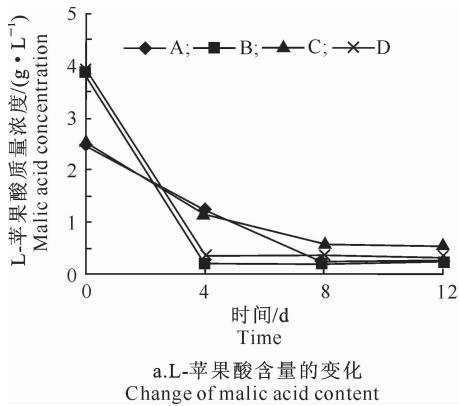


图 4 接种酒酒球菌 SD-2a 后 4 种模拟酒培养基中有机酸含量的变化

Fig. 4 Change of organic acid content in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* SD-2a

2.2.2 OD<sub>660</sub> 值的变化 由图 5 可以看出,酒酒球菌 SD-2a 在 4 种模拟酒培养基中也没有表现出典型的细菌生长特点。发酵 4 d 时,4 种培养基中的 OD<sub>660</sub> 值均有所上升,其中以 D 培养基中的 OD<sub>660</sub> 值

上升最大,之后很快下降,并趋于稳定;A、C 培养基的 OD<sub>660</sub> 值上升不大,但随着培养时间的延长,OD<sub>660</sub> 值基本维持不变。与 A、C 培养基相比,SD-2a 在 B、D 培养基中的生长势均较强,有可能是因为后 2 种

培养基中可利用碳源较多的缘故。由图 4 也可以看出,发酵 4 d 时,B 和 D 培养基中的 L-苹果酸质量浓度低于 A 和 C 培养基,说明前两者降酸较快,这与酒酒球菌 SD-2a  $OD_{660}$  值的变化相一致。在试验过程中,发现酒酒球菌 SD-2a 的  $OD_{660}$  值普遍较 31MBR 低,这可能是因为酒酒球菌 SD-2a 的形态较 31MBR 小所致。

2.2.3 pH 值的变化 由图 6 可以看出,在 A、B、C、D 4 种培养基中,SD-2a 在发酵前后的 pH 变化较 31MBR 要大一些,特别是在 B、D 培养基中,pH 值上升大约 0.3,这与降酸效果表现一致。在培养基 B、D 中,有更多的 L-苹果酸被降解为 L-乳酸。而 L-苹果酸是二元酸,L-乳酸是一元酸,L-苹果酸向 L-乳酸发生转化使酸度上升,导致 pH 值小幅度升高。

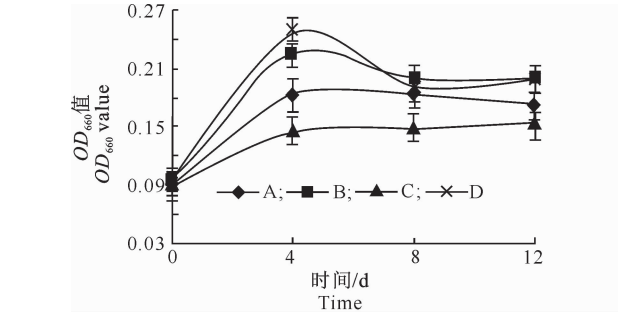


图 5 接种酒酒球菌 SD-2a 后 4 种模拟酒培养基中  $OD_{660}$  值的变化  
Fig. 5 Change of  $OD_{660}$  value in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* SD-2a

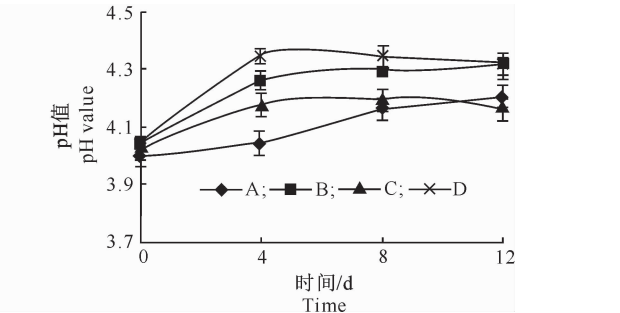


图 6 接种酒酒球菌 SD-2a 后 4 种模拟酒培养基中 pH 值的变化  
Fig. 6 Change of pH value in four simulated wine cultures inoculated with *O. oeni* SD-2a

2.3 有机酸的高效液相色谱法测定

由于篇幅有限,本文只列出混合标样与酒酒球

菌 31MBR 在 A 模拟酒培养基中刚加入及发酵 4 d 时的 L-苹果酸和 L-乳酸图谱,如图 7 所示。

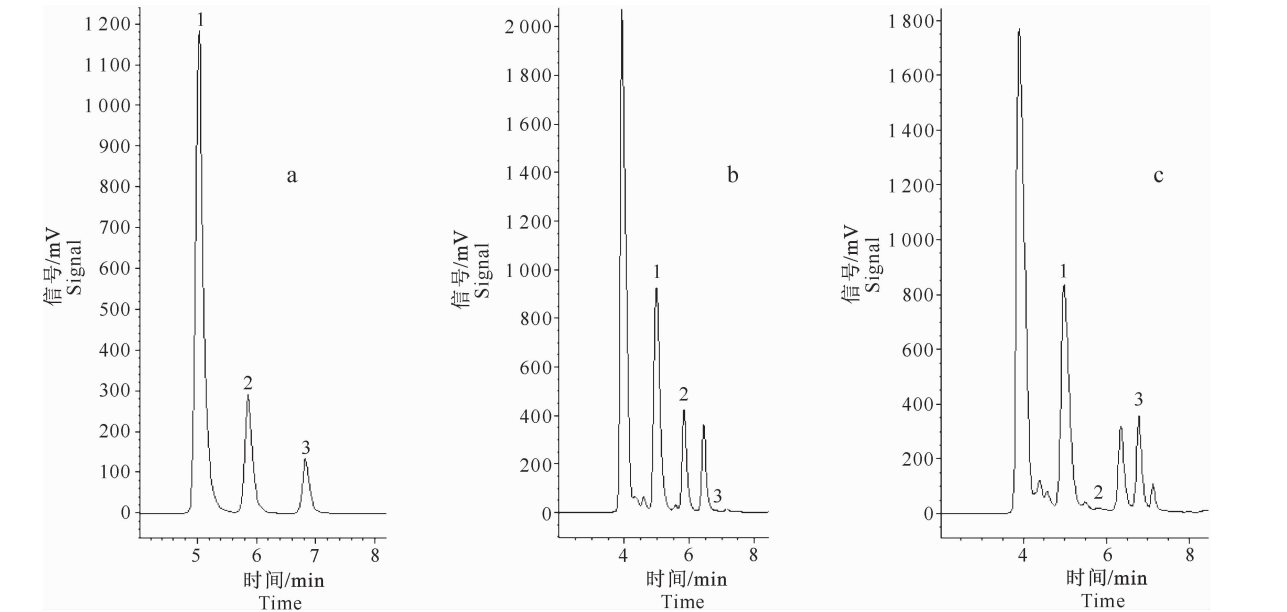


图 7 有机酸色谱图  
1. D-酒石酸;2. L-苹果酸;3. L-乳酸;  
a. 标准有机酸色谱图;b. 在 A 模拟酒培养基中刚接种酒酒球菌 31MBR 时的有机酸色谱图;  
c. 酒酒球菌 31MBR 在 A 模拟酒培养基中发酵 4 d 时的有机酸色谱图

Fig. 7 Chromatogram of organic acid  
1. D-tartaric acid;2. L-malic acid;3. L-lactic acid  
a. Chromatogram of organic acid standards;b. Chromatogram of organic acid in A simulated wine culture immediately inoculated with *O. oeni* 31MBR;c. Chromatogram of organic acid in A simulated wine culture after four days inoculated with *O. oeni* 31MBR

由图7 a、b和c可以看出,在纯水体系和A模拟酒培养基中,高效液相色谱能较好地分离L-苹果酸和L-乳酸,而且在发酵前后,可以明显观察到L-苹果酸峰面积由大变小、L-乳酸的峰面积由无变大的变化过程,直观地表明L-苹果酸向L-乳酸发生了转化。

### 3 讨论与结论

利用模拟酒培养基研究苹果酸-乳酸发酵,可以避免实际酒体系中许多成分的干扰,本试验在参考有关文献的基础上,研究制备了A、B、C、D 4种模拟酒培养基,进行了苹果酸-乳酸发酵研究。其中A和B培养基均属于经过修饰的化学合成培养基,Nicolas等<sup>[7]</sup>采用单一去除法对酒酒球菌生长的必需营养元素进行了研究,基于此,本研究中的A、B培养基均含有酒酒球菌生长所必需的营养元素,但B培养基中的糖含量较A多;C和D培养基是以酵母浸粉的方式添加氮源,这与A、B培养基中的氨基酸氮源不同,并且D培养基较C培养基糖含量高,添加的无机离子也不同。由试验结果可以看出,酒酒球菌31MBR在D培养基中生长势最强,但降酸效果却与A、B培养基一致,从有机酸测定的液相图谱可知,C和D培养基的液相图谱峰较乱,测定一个样品所需时间也较长,所以不选择C、D培养基进行后续降酸效果的研究;由于酒酒球菌31MBR在A、B培养基中的降酸效果基本一致,而B培养基较A培养基复杂,故最终选择A培养基用于酒酒球菌31MBR的苹果酸-乳酸发酵研究。对于酒酒球菌SD-2a,由于其在B培养基中的降酸效果较A培养基好,所以最终选择B培养基进行酒酒球菌SD-2a的苹果酸-乳酸发酵研究。

本试验平行重复3次,本应该做误差线,但是由于很多数值过于集中,导致误差线混为一团,所以在数据处理时,部分图中未标明误差线。在试验过程中,酒酒球菌SD-2a和31MBR虽然均是以 $10^9$  cfu/mL接种到A、B、C、D 4种培养基中,但是在测定 $OD_{660}$ 值时却发现,酒酒球菌SD-2a的 $OD_{660}$ 值普遍较31MBR低,这可能是因为酒酒球菌SD-2a的形态较31MBR小所致。

酒酒球菌对营养条件要求比较苛刻,虽然在葡萄酒中研究苹果酸-乳酸发酵较为实际,但是葡萄酒中含有较多抑制酒酒球菌生长的环境因素,并且葡萄酒成分过于复杂,给苹果酸-乳酸发酵研究带来诸多困难,所以,目前很多学者在模拟酒培养基中进行

苹果酸-乳酸发酵的研究。试验中还对不加酵母浸粉的C培养基进行了降酸效果的研究,发现酒酒球菌31MBR和SD-2a在发酵15 d时,L-苹果酸的降酸率不到20%,说明氮源对酒酒球菌降酸是不可缺少的。Nancy等<sup>[13]</sup>在合成葡萄酒培养基中研究酒酒球菌X的苹果酸-乳酸发酵,发现在发酵500 h时,该菌降解了74%的L-苹果酸;Sanna等<sup>[15]</sup>在经过修饰的MRS培养基中研究*Oenococcus oeni* ATCC 39401的L-苹果酸-乳酸发酵,发现在300 h时,该菌降解了80%的L-苹果酸;而在本研究所选的培养基中,酒酒球菌31MBR和SD-2a在96 h内就能降解90%以上的L-苹果酸,大大缩短了试验时间,给研究带来方便。

### [参考文献]

- [1] 潘海燕,徐 岩,赵光鳌. 苹果酸乳酸发酵的研究进展 [J]. 食品与发酵工业,2004,29(11):75-80.  
Pan H Y,Xu Y,Zhao G A. Progress of malolactic fermentation [J]. Food and Fermentation Industries,2004,29(11):75-80. (in Chinese)
- [2] Jussier D,Dubé M A,Mira de Orduña R. Effect of simultaneous inoculation of yeast and bacteria on fermentation kinetics and key wine parameters during white winemaking [J]. Applied and Environmental Microbiology,2006,72(1):221-227.
- [3] Del P V,Rodriguez H,Carrascosa A V,et al. *In vitro* removal of ochratoxin A by wine lactic acid bacteria [J]. Journal of Food Protection,2007,70(9):2155-2160.
- [4] Shulman E. Correcting acidity [J]. Practical Winery & Vineyard,1990(1):32-33.
- [5] Boulton R B,Singleton V L,Bisson L F,et al. Principles and practices of wine making [M]. New York:Chapman & Hall,1996.
- [6] Jay J M. 现代食品微生物学 [M]. 5版. 徐 岩,译. 北京:中国轻工业出版社,2001.  
Jay J M. Modern food microbiology [M]. 5th ed. Xu Y,translation. Beijing:China Light Industry Press,2001. (in Chinese)
- [7] Nicolas T,Ronan N,Romain C. A new chemically defined medium for wine lactic acid bacteria [J]. Food Research International,2009,42(3):363-367.
- [8] Sanna K V,Simo V L. The use of malolactic *Oenococcus oeni* (ATCC 39401) for deacidification of media containing glucose, malic acid and citric acid [J]. Eur Food Res Technol,2000,211(6):438-442.
- [9] Ignacio V,Angela M,Rosario M. Tannase activity by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine [J]. International Journal of Food Microbiology,2004,96(2):199-204.
- [10] 赵国群,张 桂,张秋生,等. 发酵过程果酒成分对苹果酸乳酸发酵的影响 [J]. 酿酒科技,2006(5):39-42.  
Zhao G Q,Zhang G,Zhang Q S,et al. The effect of ingredients

on malolactic fermentation in wine fermentation [J]. Brewing Technology,2006(5):39-42. (in Chinese)

[11] 赵文英,李 华,王爱莲,等. 不同培养基对酒酒球菌 SD-2a 存活率及膜脂肪酸组分的影响 [J]. 微生物学报,2008,4(10):1319-1323.

Zhao W Y,Li H,Wang A L,et al. The effect of different medium on *Oenococcus oeni* SD-2a survival and membrane fatty acid composition [J]. Journal of Microorganisms, 2008, 4 (10):1319-1323. (in Chinese)

[12] 刘树文,胡 延,常亚维. 酒类酒球菌 SD-2a 营养需求的研究 [J]. 酿酒科技,2007(12):30-32.

Liu S W, Hu Y, Chang Y W. Study on nutritional requirements of *Oenococcus oeni* SD-2a [J]. Brewing Technology, 2007(12):30-32. (in Chinese)

[13] Nancy N,Florence M,Patricia Taillandier. Impact of the co-culture of *Saccharomyces cerevisiae*-*Oenococcus oeni* on malolactic fermentation and partial characterization of a yeast-derived inhibitory peptidic fraction [J]. Food Microbiology, 2010,27(1):150-157.

[14] 张 静,张 方,肖 健,等. 利用 HPLC 检测 SCCO<sub>2</sub> 处理前后哈密瓜汁中单糖及有机酸含量变化的研究 [J]. 石河子大学学报,2009,27(2):235-239.

Zhang J, Zhang F, Xiao J, et al. Using HPLC detection in change of monosaccharide and organic acids of hami melon juice treated SCCO<sub>2</sub> [J]. Journal of Shihezi University,2009, 27(2):235-239. (in Chinese)

[15] Sanna K V,Simo V L. The use of malolactic *Oenococcus oeni* (ATCC 39401) for deacidification of media containing glucose,malic acid and citric acid [J]. Eur Food Res Technol, 2000,211(6):438-442.

(上接第 171 页)

[17] 郝双红,张 涛. 昆虫性信息素“稀释-扩散”释放法 [C]//张兴,第八届全国农药学科教学科研研讨会论文集. 陕西 杨凌, 2004:305-308.

Hao S H,Zhang T. “Dilution- Diffuse” in the use of the sex pheromone of insect. [C]//Zhang X. The 8th national seminar of pesticide thesis albums. Yangling, Shaanxi, 2004:305-308. (in Chinese)

[18] Zhou H C,Du J W. Behavioral effect of various binary and ternary sex pheromone blends on the Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis* (Guenee)) [J]. Insect Science,1999,6(4):336-344.

[19] Peter W. Identification of further sex pheromone synergists in the codling moth [J]. Entomol Exp Appl,2001,101:131-141.

[20] 王香萍,方宇凌,张钟宁. 小菜蛾性信息素研究与应用进展 [J]. 植物保护,2003,29(05):5-9.

Wang X P,Fang Y L,Zhang Z N. Research on diamondback moth sex pheromone and its applications [J]. Plant Protection,2003,29(05):5-9. (in Chinese)