

## 低醇桑葚酒酵母的筛选及果酒发酵工艺优化

韩保林, 张淑凡, 邹玉锋, 许强, 张琴, 边名鸿\*

(四川轻化工大学 生物工程学院, 四川 宜宾 644000)

**摘要:**为解决低醇桑葚酒香气较弱、口感淡薄等问题,采用粮果混酿的方式以桑葚和麦芽为主要原料制备果酒,以果酒的感官评分和理化指标为评价指标,筛选适合于酿造低醇桑葚酒发酵的酵母菌,通过单因素与正交试验优化果酒发酵工艺条件,并通过气相色谱-质谱(GC-MS)分析检测果酒中的挥发性风味物质。结果表明,扣囊覆膜酵母(*Saccharomycopsis fibuligera*)N4最适合于发酵低醇桑葚酒,其发酵的果酒在香味和口感上更具典型性;最佳发酵工艺条件为:发酵温度26℃,接种量3.0%,初始糖度16°Bx,桑葚浆与麦芽汁体积比4:1。在此条件下酿造的低醇桑葚酒感官评分为89.82分,酒精度为5.6%vol,可溶性固形物含量为6°Bx,还原糖含量为2.21g/L,酒体呈红紫色,具有典型桑葚果酒香气,略带麦芽香味,口感丰富、协调舒适。GC-MS分析结果表明,共检测出37种挥发性风味物质,包括类似玫瑰香气的苯乙醇、香蕉香气的乙酸戊酯、带有菠萝香气的菠萝酮等香味物质。该研究对于提高低醇桑葚果酒品质有一定的参考价值。

**关键词:**低醇桑葚酒;酵母菌;发酵工艺优化;挥发性风味成分

中图分类号:TS262.7

文章编号:0254-5071(2024)09-0170-07

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2024.09.027

引文格式:韩保林,张淑凡,邹玉锋,等.低醇桑葚酒酵母的筛选及果酒发酵工艺优化[J].中国酿造,2024,43(9):170-176.

## Screening of low-alcohol mulberry wine yeast and optimization of fruit wine fermentation process

HAN Baolin, ZHANG Shufan, ZOU Yufeng, XU Qiang, ZHANG Qin, BIAN Minghong\*

(College of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, China)

**Abstract:** In order to solve the problems of weak aroma and thin taste of low-alcohol mulberry wine, fruit wine was prepared by grain-fruit blending method using mulberry and malt as main raw materials. Using sensory score and physicochemical indexes of the fruit wine as the evaluation indexes, the yeasts suitable for fermentation of low-alcohol mulberry wine was screened. The fermentation process of the fruit wine was optimized by single factor and orthogonal tests, and the flavor substances in the fruit wine were detected by GC-MS. The results showed that *Saccharomycopsis fibuligera* N4 was the most suitable strain for the fermentation of low-alcohol mulberry wine, and the fermented wine was more typical in terms of aroma and taste. The optimal fermentation conditions were as follows: fermentation temperature 26 °C, inoculum 3.0%, initial sugar content 16 °Bx, and the volume ratio of mulberry pulp to wort 4:1. Under these conditions, the sensory score of the low-alcohol mulberry wine was 89.82, the alcohol content was 5.6%vol, the soluble solids was 6 °Bx, and the reducing sugar content was 2.21 g/L. The body was reddish purple, with the typical aroma of mulberry fruit wine, slightly malt aroma, and rich, coordinated and comfortable mouthfeel. The results of the GC-MS analysis showed that a total of 37 kinds of volatile flavor substances were detected, including phenylethanol with rose-like aroma, amyl acetate with banana aroma, and pineapple ketone with pineapple aroma, and other flavor substances. The study had a certain reference value for improving the quality of low-alcohol mulberry fruit wine.

**Key words:** low-alcohol mulberry wine; yeast; fermentation process optimization; volatile flavor components

桑葚(*Morus nigra*)又称桑果、桑枣、文武实等,为多年生桑科落叶乔木桑树的聚花果<sup>[1]</sup>。桑葚富含氨基酸、花青素、白藜芦醇等营养成分<sup>[2]</sup>,具有护肝、抗肿瘤、抗炎症、降血糖等营养价值与药用价值<sup>[3-4]</sup>,已被国家列为药食同源植物<sup>[5]</sup>。由于新鲜桑葚果皮薄汁水多,在运输过程中极易破损发霉,因此桑葚多元产品的开发对桑葚产业的发展至关重要<sup>[6]</sup>。随着人们对健康和营养的追求,低醇(酒精度1%vol~7%vol)果酒逐渐受到人们的关注。低醇桑葚酒是由桑葚鲜果经压榨、发酵、陈酿后得到的新兴产品,不仅营养丰富,而且酒精度低,符合消费者对健康、低度饮料酒类产品的需求<sup>[7]</sup>。然而桑果自身香气弱,加之酒精度下降之后,低醇

桑葚酒极易出现香气淡、口感单薄的现象,这也是目前发酵型低醇果酒产品普遍存在的技术问题。因此,解决低醇桑葚酒醇低而香不低的问题,将有利于桑葚鲜果深加工产业的发展,丰富果酒市场。

果酒香味来源主要是原料、发酵及陈酿环节,其中酵母是直接影响果酒风味与品质的主要原因之一<sup>[8-11]</sup>。酵母不仅能通过无氧代谢产生酒精,还可以利用果汁中的氨基酸等物质生成甘油、高级醇等挥发性化合物,大多数非酿酒酵母还能产生多种胞外酶,进而增强果酒的香气和口感<sup>[12-15]</sup>。桂雪梅等<sup>[16]</sup>采用果酒酵母SY、RW混合发酵低醇菠萝果酒,并优化果胶酶水解工艺与低醇菠萝酒发酵工艺,最后得到

收稿日期:2023-12-22

修回日期:2024-04-24

基金项目:四川轻化工大学校级大学生创新创业训练项目(B50105604)

作者简介:韩保林(1986-),男,讲师,博士,研究方向为食品饮料研发。

\*通讯作者:边名鸿(1979-),女,副教授,硕士,研究方向为生物化工、农产品加工与贮藏及应用微生物。

一款高品质的低醇菠萝酒。温锦丽等<sup>[17]</sup>筛选出酵母BV818发酵的软枣猕猴桃果酒色泽最优,并且能更好地保留软枣猕猴桃果酒的抗氧化性能。除酵母筛选外,还可通过复合调配来丰富低醇果酒香气,麦芽香气独特,具有丰富的营养价值且廉价易得,李希等<sup>[18]</sup>研究发现,用麦芽发酵液调配后的低醇桑葚酒香气成分较调配前种类更加丰富,不仅保留了调配前低醇桑葚酒的主体香气,还增加了蜂蜜甜香、醇香及清爽果香等香气,从而改善低醇桑葚酒的风味。刘丛竹等<sup>[19]</sup>将葡萄汁、麦芽汁、红肉火龙果汁和菠萝汁按照7:7:4:2的比例复合,发酵果酒感官评分达85分,口感愉悦,果香浓郁。目前,筛选适用于发酵低醇桑葚酒的酵母以及应用麦芽汁来调配低醇桑葚酒的研究还不足,因此,筛选适合于低醇桑葚酒发酵的酵母菌株及优化发酵工艺对桑葚酒产业的发展具有重要意义<sup>[20]</sup>。

试验以5株产香酵母M3、N4、L2、6#及D1为发酵菌株筛选最适用于发酵低醇桑葚酒的酵母,并采用粮果混酿的方式,以桑葚和麦芽为主要原料,制备果酒,通过单因素与正交试验优化其发酵工艺条件,并通过气相色谱-质谱联用gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术检测果酒中挥发性风味物质,以期增强低醇桑葚酒的香气与口感,为生产高品质的低醇桑葚酒提供基础数据支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

桑葚(无核大十品种)、麦芽:市售;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) M3、扣囊覆膜酵母(*Saccharomycopsis fibuligera*) N4、异常威克汉逊酵母(*Wickerhamomyces anomalus*) L2、毕赤酵母(*Pichia pastoris*) 6#、东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis*) D1:来自前期实验室筛选及保藏的产香酵母。

葡萄糖、氢氧化钠(均为分析纯):成都市科龙化工试剂厂;硫酸铜、亚铁氰化钾、酚酞、酒石酸钾钠、次甲基蓝、邻苯二甲酸氢钾、硫酸(均为分析纯):重庆川东化工试剂厂;酵母浸出膏、蛋白胨(均为生化试剂):成都市科隆化学制品有限公司。

### 1.2 仪器与设备

WZ101手持糖度计:海南博汉森科技开发有限公司;酒精计:河北省武强县同辉仪表厂;LRH-250生化培养箱:韶关市广智科技设备有限公司;890N-5975B型气相色谱-质谱联用仪:美国Agilent科技有限公司;PHJ-02型pH计:上海精密科学仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 低醇桑葚酒的加工工艺流程及操作要点<sup>[21-22]</sup>

麦芽→麦芽汁

↓

桑葚→打浆→混合→添加SO<sub>2</sub>→调整成分→酵母接种→前发酵→过滤→后发酵→灭菌→陈酿→过滤→澄清→低醇桑葚酒

操作要点:

桑葚打浆:将干桑葚按照料水比1:6(g:mL)浸泡12 h左右后打成浆,添加蔗糖将固形物含量调节至13 °Bx备用。

麦芽汁的制备<sup>[21]</sup>:先将麦芽打湿,然后将其打碎,做到皮碎肉不碎,按照料水比1:4(g:mL)加入35 °C左右的温水,泡发0.5 h;然后升高温度至50 °C,让蛋白质分解30 min;再慢慢升高温度至60 °C,糖化30 min,使 $\alpha$ -淀粉酶开始作用;最后加入糖化酶并保持温度为60 °C,糖化6 h,直到糖化完成。糖化后的醪液用6~8层纱布过滤,滤渣加水洗涤2次并过滤。将滤液煮沸,采用6~8层纱布趁热过滤至三角瓶中,封口,冷却后备用。

桑葚浆与麦芽汁混合:将制备好的桑葚浆与麦芽汁按照体积比7:3混合。

添加SO<sub>2</sub>:添加偏重亚硫酸氢钾,使混合液中SO<sub>2</sub>达到60 mg/L。

调整成分:用蔗糖将糖度调整为14 °Bx,用柠檬酸调节pH至3.5~4.5。

酵母活化:将酵母与等量糖混合,溶于其10倍质量、35~40 °C的温水中搅拌均匀,静置20 min,随后加入2~3倍体积的桑葚浆与麦芽汁混合液进行稀释,即活化完毕。

酵母接种:按照2%(V/V)接种已活化酵母,充分混匀。

前发酵:在24 °C条件下发酵9 d。

后发酵:过滤后在12 °C条件下发酵7 d。

灭菌:对发酵液进行过滤,然后分别分装到250 mL锥形瓶放入水温为65~85 °C恒温水浴锅灭菌30 min。

陈酿、过滤:在4 °C下陈酿30 d,期间每隔7 d倒罐一次。陈酿结束后用8层纱布进行粗滤。

澄清处理:将果酒倒入封闭容器里,于4 °C下冷藏,待桑葚果酒中的悬浮物慢慢沉降下来,将上清液转移到新的容器,得到清澈的果酒。

#### 1.3.2 菌种的选择

选取M3、N4、L2、6#及D1五株酵母作为考察菌种,按照1.3.1方法制备低醇桑葚酒,综合理化指标(可溶性固形物、总酸、还原糖、总酯含量及酒精度)及感官评分,筛选出适于发酵低醇桑葚酒的酵母菌。

#### 1.3.3 发酵工艺优化单因素试验

设置基础条件为桑葚浆与麦芽汁体积比7:3、发酵初始糖度14 °Bx、前发酵温度24 °C、酵母接种量2%。通过改变单一条件,依次考察桑葚浆与麦芽汁体积比(6:4、7:3、8:2、9:1和全桑葚浆)、发酵初始糖度(12 °Bx、14 °Bx、16 °Bx、18 °Bx、20 °Bx)、前发酵温度(20 °C、22 °C、24 °C、26 °C、28 °C)、酵母接种量(1%、2%、3%、4%、5%)对桑葚酒酒精度及感官品质的影响。

#### 1.3.4 发酵工艺优化正交试验

根据单因素试验结果设计正交试验,确定低醇桑葚酒的最佳工艺条件。以发酵温度(A)、初始糖度(B)、桑葚浆

与麦芽汁体积比(C)、酵母接种量(D)为考察因素,以感官评分为评价指标,进行4因素3水平正交试验,试验因素与水平见表1。

表1 低醇桑葚酒发酵工艺优化正交试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments for fermentation process optimization of low-alcohol mulberry wine

序号	A 发酵温度/ ℃	B 初始糖度/ °Bx	C 桑葚浆与麦芽汁 体积比	D 酵母接种量/ %
1	22	12	7:3	2
2	24	14	4:1	3
3	26	16	9:1	4

### 1.3.5 检测方法

#### (1) 理化指标测定

可溶性固形物、还原糖、总酯、总酸含量测定方法参照GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》<sup>[24]</sup>,酒精度测定方法参照GB 5009.225—2023《食品安全国家标准 酒和食用酒精中乙醇浓度的测定》<sup>[25]</sup>。

#### (2) 挥发性风味物质测定

参照方裕理等<sup>[26]</sup>的方法并加以调整。

预处理:取低醇桑葚酒样品各5 mL于15 mL顶空萃取瓶中,添加1.0 g NaCl,放入搅拌子,在40 °C条件下加热平衡15 min,然后将萃取针头插入顶空瓶中,萃取30 min后抽出萃取头,插入气相色谱仪进样口进行解吸。

气相色谱条件:载气为高纯氦气(He),流速1.00 mL/min;进样方式为无分流手动进样;进样口温度250 °C;升温程序为初始温度40 °C保持3 min,再以5 °C/min升温至230 °C,保持10 min。

质谱条件:电子电离(electronic ionization, EI)源;电子能量70 eV;传输线温度250 °C;离子源温度230 °C;四级杆温度150 °C;扫描范围20~550 amu。

定性定量方法:根据全扫图中母离子信息,利用美国国家标准与技术研究院(national institute of standards and technology, NIST)MS Search2.3数据库进行物质鉴定,对检测出的各组分定性分析,并用41.1 mg/L 2-辛醇作为内标,依据标准物浓度和峰面积计算各挥发性风味成分含量。

#### (3) 感官品评

选择10名(5男5女,年龄在23~45岁之间)经过果酒品评培训的人员组成感官品评小组,从色泽、香气、滋味、典型性四个方面对桑葚酒进行感官评价<sup>[22,26]</sup>,感官评分标准见表2。

表2 桑葚酒感官评价标准

Table 2 Sensory evaluation standards for mulberry wine

项目	感官描述	评分/分
色泽 (20分)	黄褐色,有悬浮物,无光泽	0~5
	浅红,澄清,不透明,无夹杂物,光泽暗淡	6~10
	深玫瑰红,澄清,透明,光泽较暗	11~15
	宝石红,深红色,澄清,透明,悦目协调,有光泽	16~20

续表

项目	感官描述	评分/分
香气 (30分)	气味不良,使人厌恶	0~7
	果香、酒香较淡,无不良气味	8~15
	果香、酒香较浓郁和谐	16~22
	果香、酒香浓郁纯正,香气协调	23~30
滋味 (30分)	酸涩,苦,平淡,有异味	0~7
	酸度适中,酒体较丰满,甜度自然,回味单一	8~15
	爽口,舒适,酒质较柔顺,回味较好	16~22
	酒体丰满,醇厚协调,柔细轻快,回味绵长	23~30
典型性 (20分)	基本无典型性	0~5
	略带桑葚酒特有风味,典型性不明显	6~10
	有桑葚酒特有风味,典型明确,风格和谐良好	11~15
	独具桑葚酒风味,典型性完美,优雅无缺	16~20

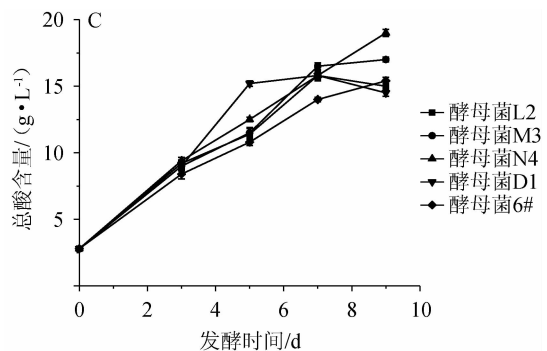
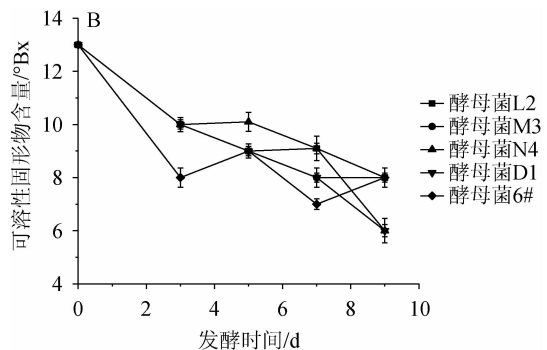
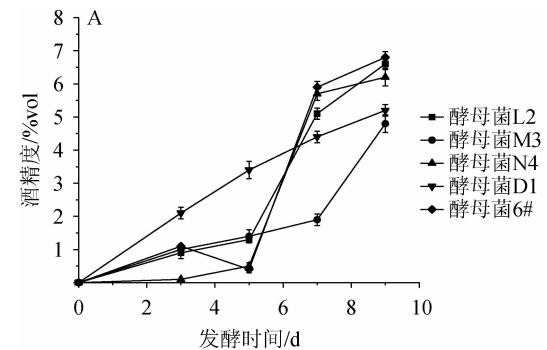
### 1.3.6 数据分析

采用IBM SPSS Statistics 27对单因素试验数据以及正交试验数据进行统计与分析;采用Origin2022绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种的筛选

#### 2.1.1 不同菌株发酵低醇桑葚酒理化性质的测定



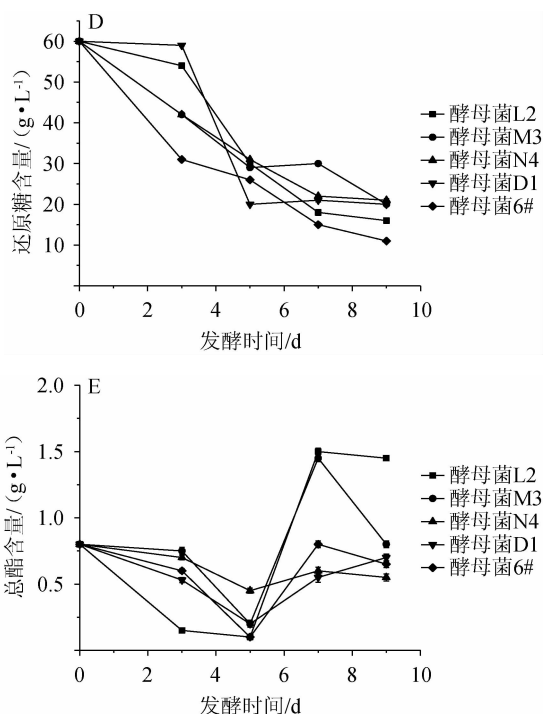


图1 不同酵母发酵过程中酒精度(A)、可溶性固形物含量(B)、总酸含量(C)、还原糖含量(D)及总酯含量(E)变化

Fig. 1 Changes of alcohol content (A), soluble solids contents (B), total acid contents (C), reducing sugar contents (D) and total ester contents (E) during different yeast fermentation processes

不同果酒酵母生产出来的果酒在香气、风味、口感等方面差异较大,这直接决定了果酒的质量,不同酵母生产果酒的理化指标测定结果见图1。

由图1A可知,发酵第9天时5株酵母菌发酵的桑葚酒酒精度在4%vol~7%vol之间,符合低醇果酒酒精度要求,其中产酒最多的是菌株6#,其次是菌株N4;并且随发酵时间的增加,酒精度呈现出先快速增长后平稳的趋势。由图1B可知,五株酵母发酵液中可溶性固形物含量的变化趋势基本一致,发酵初期可溶性固形物含量下降迅速,中后期降糖速率减缓,说明其对果酒发酵液的适应性较强,发酵迅速,其中菌株L2、M3对糖的利用率较好。由图1C可知,五株酵母发酵液总酸含量变化趋势基本一致,其中菌株N4总酸含量变化最大,菌株D1则呈现出先上升后略下降的趋势。由图1D可知,菌株D1发酵液的还原糖含量下降最迅速,后期各菌发酵液还原糖含量变化差异较小,其中菌株6#的发酵液还原糖含量最低。由图1E可知,各发酵液总酯含量变化趋势均呈现出先降低后逐渐升高最后再降低的趋势,其菌株M3变化趋势最不稳定,菌株N4变化较为平缓,在第7天时,菌株L2总酯含量达到最大。综上,菌株N4、6#和L2酵母发酵后果酒的各项指标较好,适于发酵低醇桑葚酒。

2.1.2 不同菌株发酵低醇桑葚酒的感官评价

感官品评小组对5款桑葚酒从色泽、香气、滋味、典型性

四个方面进行评价,结果见表3。由表3可知,菌株N4发酵的桑葚酒感官评分最高,其香气、滋味、典型性分数均高于其他酵母发酵的果酒。菌株N4和6#发酵的果酒有较浓郁的果香与酒香,但菌株6#酯味过于突出不协调同时酒体浑浊不易澄清,菌株L2、M3和D1发酵的果酒花香和果香不明显;在口感上菌株N4和L2花香、果香舒适,酸度适中,菌株6#和M3发酵的果酒略粗糙,菌株D1发酵的果酒略显酸涩。

表3 不同酵母发酵果酒的感官评分

Table 3 Sensory score of wines with different yeast fermentation

种类	色泽/分	香气/分	滋味/分	典型性/分	总分
L2	14.88±0.23	19.98±0.25	24.12±0.23	17.08±0.21	76.07±0.42
M3	14.02±0.25	23.10±0.15	21.12±0.38	16.03±0.24	74.27±0.25
N4	15.97±0.26	25.07±0.24	25.03±0.25	18.13±0.20	84.20±0.77
6#	15.15±0.77	24.85±0.20	22.92±0.20	17.67±0.37	80.58±0.10
D1	14.02±0.24	20.18±0.35	19.45±0.46	16.53±0.55	70.18±0.70

综合图1与表3,以桑葚酒理化指标与感官评分为评价指标,最终选择酵母N4为发酵菌种制备桑葚酒。

2.2 发酵条件优化单因素试验结果

2.2.1 桑葚浆与麦芽汁体积比对低醇桑葚酒的影响

不同的原料配比影响果酒的风味物质或风味前体物质以及酵母营养物质的种类及含量,因此,考察不同原料配比对桑葚酒酒精度及感官评分的影响,结果见图2。由图2可知,桑葚浆与麦芽汁体积比为8:2时,评分相对较高,果香风味较好。体积比为6:4时,麦芽汁比例过大,不具有桑葚果酒典型性;体积比为9:1时,桑葚酒酒精度最高,为6.2%vol,但由于麦芽汁比例偏小,导致果酒酒体的香味较为淡薄,感官评分较8:2低。综合考虑,确定桑葚浆-麦芽汁的体积比为8:2。

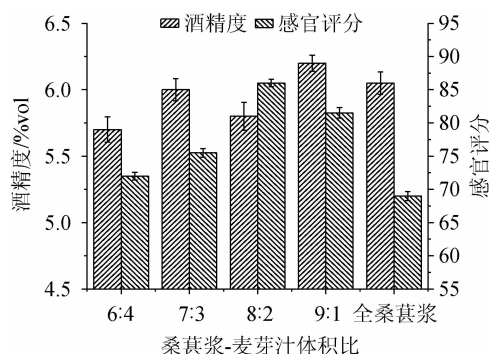


图2 不同桑葚浆和麦芽汁体积比发酵对果酒酒精度和感官评分的影响  
Fig. 2 Effect of fermentation with different mulberry pulp and wort volume ratio on the alcohol content and sensory score of fruit wine

2.2.2 初始糖度对低醇桑葚酒的影响

不同初始糖度对果酒酒精度和感官评分的影响结果见图3。由图3可知,酒精度随初始糖度的升高而升高,初始

糖度为20 °Bx时,发酵果酒酒精度达到8.7%vol,不符合低醇要求。在初始糖度为14 °Bx时,低醇桑葚酒感官评分最高,且符合低醇要求。在一定范围内,随着初始糖度的增大,酵母菌可利用的碳源增加,酒精度也随之升高,但如果初始糖度过高,高渗透压会影响酵母菌的生长代谢<sup>[7]</sup>,这不但影响低醇桑葚酒的口感和风味,还会导致其因残糖较高而不易贮藏。综合考虑,确定初始糖度为14 °Bx。

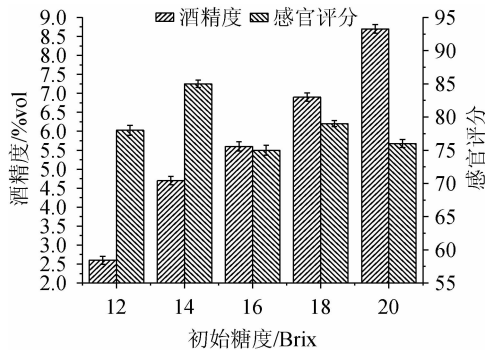


图3 不同初始糖度对果酒酒精度和感官评分的影响

Fig. 3 Effect of different initial sugar contents on alcohol content and sensory score of fruit wine

### 2.2.3 发酵温度对低醇桑葚酒的影响

不同发酵温度对果酒酒精度和感官评分的影响见图4。由图4可知,在发酵温度20~26 °C时,糖转化率和酒精度随着发酵温度的升高而升高,当温度达到28 °C时,酒精度反而略有下降,可能是由于温度过高使得发酵副产物的增加以及酵母的早衰<sup>[28-30]</sup>。发酵温度过高,酵母迅速繁殖,发酵周期短,同时加速了高级醇的生成,果酒的香气受到损害,并且高温还会导致细菌提前老化;温度低,酵母繁殖速度慢,细菌易在早期受到感染。在温度为24 °C时,酒精度适宜,且感官评分最高。综合考虑,确定发酵温度为24 °C。

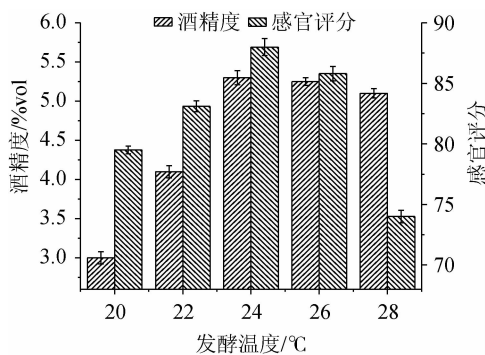


图4 不同发酵温度对果酒酒精度和感官评分的影响

Fig. 4 Effect of different fermentation temperature on alcohol content and sensory score of fruit wine

### 2.2.4 酵母接种量对低醇桑葚酒的影响

不同酵母接种量发酵对果酒酒精度和感官评分的影

响见图5。由图5可知,接种量为1%~4%时,酒精度随接种量增加而升高,接种量为5%时,酒精度有所下降。接种量为3%时,酒精度适宜,且感官评分最高。酵母接种量低,酵母菌无法充分利用发酵液中的糖分,从而造成酒精度低、香气较弱;若接种量过高,酵母菌大量繁殖,消耗了过多的糖,导致产生酒精较少,此时发酵液中有明显的酵母味,影响了低醇桑葚酒的风味<sup>[2]</sup>。综合考虑,确定酵母接种量为3%。

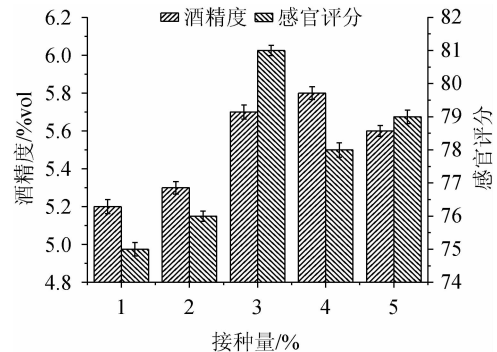


图5 不同酵母接种量对果酒酒精度和感官评分的影响

Fig. 5 Effect of different yeast inoculum on alcohol content and sensory score of fruit wine

### 2.3 发酵条件优化正交试验

在单因素试验的基础上,通过正交试验确定低醇桑葚酒最佳发酵工艺。由于单因素试验发酵的果酒酒精度均符合低醇要求,则选择以感官评分为指标,确定低醇桑葚酒的最佳发酵条件。低醇桑葚酒发酵条件的正交试验设计及结果见表4,方差分析结果见表5。

表4 低醇桑葚酒发酵工艺优化正交试验结果与分析

Table 4 Results and analysis of orthogonal experiments for fermentation process optimization of low-alcohol mulberry wine

试验号	A	B	C	D	感官评分/分
1	1	1	1	1	82.28
2	1	2	2	2	87.95
3	1	3	3	3	74.39
4	1	4	4	4	83.28
5	2	1	2	3	81.05
6	2	2	1	4	78.98
7	2	3	4	1	86.45
8	2	4	3	2	82.31
9	3	1	3	4	80.21
10	3	2	4	3	79.79
11	3	3	1	2	85.39
12	3	4	2	1	88.38
13	4	1	4	2	81.22
14	4	2	3	1	70.27
15	4	3	2	4	82.37
16	4	4	1	3	73.64

续表

试验号	A	B	C	D	感官评分/分
$k_1$	81.98	81.19	80.07	81.85	
$k_2$	82.20	79.25	84.94	84.22	
$k_3$	83.44	82.15	76.80	77.22	
$k_4$	76.88	81.90	82.69	81.21	
R	6.57	2.90	8.14	7.00	

表5 正交试验结果方差分析

Table 5 Variance analysis of orthogonal experiments results

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
A	101.22	3	33.74	9.69	0.047 2	*
B	20.74	3	6.91	1.98	0.293 9	
C	147.30	3	49.10	14.09	0.028 4	*
D	101.43	3	33.81	9.71	0.047 1	*
E(误差)	10.45	3	3.48			

注：“\*”代表对结果影响显著( $P<0.05$ )。

由表4可知,根据极差R值判断影响低醇桑葚酒发酵的四个因素中最主要的因素为体积比(C),其次是接种量(D)、发酵温度(A)和初始糖度(B)。最佳组合为 $A_3B_3C_2D_2$ ,即发酵温度 $26\text{ }^\circ\text{C}$ ,初始糖度 $16\text{ }^\circ\text{Bx}$ ,桑葚浆-麦芽汁体积比4:1,接种量3%。由表5可知,发酵温度、体积比、接种量对感官评分具有显著影响( $P<0.05$ ),初始糖度对结果影响不显著( $P>0.05$ )。

验证试验结果表明,在此条件下酿造的桑葚酒感官评分为89.82分(高于试验组12),酒精度为5.6%vol,可溶性固形物为 $6\text{ }^\circ\text{Bx}$ ,还原糖含量 $2.21\text{ g/L}$ ,复合低醇果酒要求。酒体呈红紫色,有桑葚和麦芽的香味,具有本产品的典型风格。

#### 2.4 低醇桑葚酒挥发性风味物质分析

对最佳发酵工艺条件下获得的低醇桑葚酒进行气相色谱质谱联用分析,测定其挥发性风味物质,主要挥发性成分测定结果见表6。

由表6可知,共检测出37种香气成分,包括9种酯类、9种醇类、6种酮类、6种酸类、2种醛类及5种其他香气成分。酯类是果酒中重要的香气成分,其中乙酸乙酯、乙酸戊酯、葵酸乙酯、己酸乙酯含量较高,赋予了酒体馥郁的香蕉香、苹果香、梨香、椰子香,菠萝香,给人柔和愉悦的感觉<sup>[31]</sup>。醇类物质常来源于脱羧反应<sup>[30]</sup>,苯乙醇、异戊醇等是果酒中主要的醇类物质,丰富了桑葚酒的感官并且使得桑葚酒的口感更加醇甜爽净<sup>[32]</sup>。异戊醇含量最高,为 $18.73\text{ mg/L}$ ,苯乙醇具有一定的杀菌作用,有独特的玫瑰香、紫罗兰香、茴香、丁香<sup>[33]</sup>。酮类物质中,带有甜味的1,3-二羟基丙酮含量最高,为 $48.65\text{ mg/L}$ ;呋喃酮类具有浓郁的水果香味及果酱味,单一水果发酵果酒中这类物质不常见,粮果发酵带来更多香气物质,丰富桑葚果酒香气。适量的酸能够丰富果酒的口感和色泽,检测到的乙酸、甲酸、辛酸等可赋予

酒体奶酪味及水果香气<sup>[34]</sup>。此外,醛类中的5-羟甲基糠醛具有焦糖味、烘烤味<sup>[35]</sup>。这些香气成分均丰富了低醇桑葚酒的风味。

表6 低醇桑葚酒主要挥发性风味物质测定结果

Table 6 Determination results of main volatile flavor substances in low-alcohol mulberry wine

序号	化合物	含量/ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	风味描述
1	3-呋喃甲酸甲酯	0.07	酸味
2	乙酸戊酯	10.00	香蕉香,梨香
3	乙酸乙酯	1.00	苹果香、香蕉香
4	硝酸异山梨酯	0.08	微苦
5	葵酸乙酯	1.70	椰子香
6	丁二酸单乙酯	0.61	
7	己酸乙酯	2.48	菠萝香
8	乙酸苯乙酯	0.86	
9	十二酸乙酯	0.32	油脂味、花果香
10	苯乙醇	2.75	玫瑰香
11	麦芽醇	0.06	焦糖香、草莓香
12	异戊醇	18.73	醇香、醚香、香蕉香
13	糠醇	12.25	芳香气味
14	呋喃甲醇	0.60	苦辣气味
15	正丙醇	0.68	
16	异丁醇	3.28	微弱油臭
17	丙三醇	101.44	甜味
18	1-戊醇	0.21	苹果香、辛辣味
19	1,3-二羟基丙酮	48.65	带有甜味
20	2-羟基-丁酸酮	3.35	
21	1-羟基-2-丁酮	0.31	
22	(S)-5-羟甲基二氢呋喃-2-酮	3.10	
23	羟基丙酮	8.56	甜味
24	呋喃酮	3.00	焦糖香、果酱味
25	乙酸	18.27	醋味、酸味
26	甲酸	10.70	酸味
27	(±)-3-羟基月桂酸	1.08	
28	乳酸	2.96	微酸
29	糠酸	1.15	
30	3-羟基丙酸	2.88	
31	5-羟甲基糠醛	13.54	焦糖香
32	羟乙醛	2.24	
33	二氧化丁二烯	15.56	刺激性气味
34	甘露糖	0.14	有甜味
35	D-(+)-松三糖	0.54	有甜味
36	乙基丙酮醚	1.25	
37	蜜二糖	0.14	有甜味

### 3 结论

试验以桑葚和麦芽为主要原料酿造果酒,以果酒感官

品评及理化指标为评价指标,从5株酵母中优选一株非酿酒酵母N4(扣囊覆膜酵母)作为低醇桑葚果酒发酵菌株,通过单因素及正交试验,以感官评分为指标,得到低醇桑葚酒的最佳发酵工艺条件为:发酵温度26℃,接种量3%,初始糖度16°Bx,桑葚浆与麦芽汁体积比4:1。在此条件下所酿造的低醇桑葚酒感官评分为89.82分,酒精度为5.6%vol,可溶性固形物含量为6°Bx,还原糖含量2.21 g/L,酒体呈红紫色,有桑葚和麦芽的香味,具有本产品典型的风格。对最佳发酵工艺获得的低醇桑葚酒进行GC-MS分析,共检测出37种挥发性风味物质。本研究利用非酿酒酵母、麦芽添加来丰富低醇桑葚果酒的风味,对于提高低醇桑葚果酒品质有一定的参考价值,同时对粮果混酿工艺在发酵过程及对发酵产品品质的影响还需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 刘宜春,魏雯丽,苏瑶,等. 桑葚酒用产香酵母的选育及特性分析[J]. 食品科技, 2022, 47(12): 1-7.
- [2] 张勤. 低醇桑葚酒发酵工艺及其香气成分探讨[J]. 食品安全导刊, 2018(24): 132.
- [3] 韩晓云,陶雨婷,战佳莹,等. 桑葚发酵前后酚类组成变化及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 280-288.
- [4] 崔琛,张宸瑞,李莎,等. 桑葚活性物质及其加工利用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(3): 208-213.
- [5] 栾琳琳,卢红梅,陈莉. 桑葚花青素提取纯化研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(3): 156-160, 164.
- [6] 刘宜春,魏雯丽,苏瑶,等. 混菌发酵桑葚果酒工艺优化及其特性分析[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(13): 113-119.
- [7] 顾晓慧. 响应面法优化牡蛎多糖低醇无花果酒发酵工艺[J]. 中国酿造, 2022, 41(11): 204-209.
- [8] 祝霞,王媛,刘琦,等. 混菌发酵对贵人香低醇甜白葡萄酒的香气影响[J]. 食品与发酵工业, 2019(4): 95-102.
- [9] 孔燕,秦凡平,覃俊,等. 不同酵母对桑葚酒品质的影响及菌株筛选[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(22): 64-70.
- [10] LIU S X, LAAKSONEN O, YANG B R. Volatile composition of bilberry wines fermented with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts in pure, sequential and simultaneous inoculations[J]. *Food Microbiol*, 2019, 80: 25-39.
- [11] IRIS L, ANTONIO M, PIERGIORGIO C, et al. Use of *Schizosaccharomyces pombe* and *Torulaspora delbrueckii* strains in mixed and sequential fermentations to improve red wine sensory quality[J]. *Food Res Int*, 2015, 76: 325-333.
- [12] CRISTINA L, LAURA G, RICARDO J P, et al. Aromatic characterization of pot distilled kiwi spirits[J]. *J Agr Food Chem*, 2012, 60(9): 2242-2247.
- [13] LI X, XING Y, CAO L, et al. Effects of six commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains on phenolic attributes, antioxidant activity, and aroma of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv.) wine[J]. *Bio Med Res Int*, 2017: 2934743.
- [14] LIU D, QI Y, ZHAO N, et al. Multivariate analysis reveals effect of glutathione-enriched inactive dry yeast on amino acids and volatile components of kiwi wine[J]. *Food Chem*, 2020, 329: 127086.
- [15] KANG Y R, LEE Y K, KIM Y J, et al. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin[J]. *Food Chem*, 2019, 272: 337-346.
- [16] 桂雪梅,张乐,焦士蓉. 混菌发酵低醇菠萝果酒的研究[J]. 食品科技, 2023, 48(8): 65-73.
- [17] 温锦丽,曹炜玉,何艳丽,等. 不同酿酒酵母对软枣猕猴桃果酒理化特性及抗氧化特性的影响[J]. 食品科技, 2023, 48(8): 7-14.
- [18] 李希. 低醇桑葚酒发酵工艺及其香气成分研究[D]. 镇江:江苏大学, 2018.
- [19] 刘丛竹. 混菌酿造复合果酒的工艺优化及其主要成分变化规律的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2020.
- [20] 张小勤,潘晓姗,李东,等. 贵州产地刺梨果酒产酒精酵母的筛选及其发酵性能研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(12): 97-102.
- [21] 边名鸿,许强,周阳子,等. 桑葚酒用非酿酒酵母的筛选及特性研究[J]. 中国酿造, 2021, 40(5): 70-75.
- [22] 方裕理,张雨,李彦中,等. 桑葚酒发酵工艺条件优化及其品质分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 137-142.
- [23] 芦淋,初鸿,刘丽,等. 大米奶啤饮料的研制[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(3): 61-64.
- [24] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京:中国标准出版社, 2006.
- [25] 中华人民共和国国家卫生和健康发展委员会,国家市场监督管理总局. GB 5009.225—2023 食品安全国家标准 酒和食用酒精中乙醇浓度的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2023.
- [26] 郭明逸,范例红,熊森业,等. 青梅桂花果酒发酵工艺优化及风味成分分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(4): 203-209.
- [27] 程宏楨,蔡志鹏,王静,等. 百香果全果酒发酵工艺优化及体外抗氧化性比较分析[J]. 中国酿造, 2020, 39(4): 91-97.
- [28] 张龙,邓娜娜,周存山. 桑葚酒质量安全控制技术研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 8-12.
- [29] 何静静,杨晓宽. 板栗果酒发酵工艺优化及香气成分分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(5): 212-219.
- [30] MOTTALEB M A, ABEDIN M Z, ISLAM M S, et al. Determination of volatile organic compounds in river water by solid phase extraction and gas chromatography[J]. *J Environ Sci*, 2003, 16(3): 497-501.
- [31] 许强,蒋晓,谭溪莉,等. 苹果枸杞酒的研制及挥发性成分分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(10): 151-159.
- [32] 许强,杨素红,谭溪莉,等. 混菌发酵桑葚酒工艺优化及挥发性成分分析[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 60-66.
- [33] 谢欣雨,胡新,石潇瀑,等. 果酒香气形成影响因素研究进展[J]. 阜阳师范大学学报(自然科学版), 2022, 39(2): 39-47.
- [34] 郭晨晨,王鑫涛,劳凤仙,等. 不同酿酒酵母对桃李果酒发酵及挥发性香气成分的影响[J]. 中国酿造, 2023, 42(10): 114-121.
- [35] 王远利,王菲,张权,等. 海棠果果酱的研制及其品质分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 175-186.