酵母菌株对猕猴桃果酒香气成分的影响

周元，贲浩，傅虹飞

（西北农林科技大学食品科学与工程学院，陕西杨凌 712100）

摘要：猕猴桃果酒香气与发酵用酵母菌株关系十分密切，本研究从猕猴桃果实的果皮上分离酵母菌株，经过纯化、筛选、鉴定得到适于猕猴桃果酒酿制的酵母菌株，并采用 GC-MS 分析其对猕猴桃果酒香气组成和含量的影响。结果表明：筛选得到的 2 株酵母菌 1-21 和 1-31 经 26SrDNA 鉴定分别为酿酒酵母和东方伊萨酵母，与商业酿酒酵母相比，1-21 具有发酵力强、耐酸性强和果酒中抗坏血酸含量高等特性，1-31 具有耐高浓度 SO_2 特性和果酒香气独特的特性。通过比较，不同酵母菌株所酿制猕猴桃果酒的香气成分在组成和含量上存在特异性差异，49 种检出组份中有 13 种是相同的香气成分，8 种为 1-21 菌株所酿猕猴桃果酒所独有，7 种为 1-31 菌株所酿猕猴桃果酒所独有。此外，筛选菌株酿制的猕猴桃果酒香气组份含量明显高于商业菌株，因此认为筛选菌株能更好的表达猕猴桃果酒的特征香气。

关键词：酿酒酵母；猕猴桃果酒；固相微萃取；香气成分

文章篇号：1673-9078(2014)12-263-270 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.044

Effect of Yeast Strains on the Aromatic Composition of Kiwifruit Wine

ZHOU Yuan, BEN Hao, FU Hong-fei

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

Abstract: The aroma of kiwifruit wine is closely dependent on the yeast strains used for fermentation. In this study, yeast strains were isolated from kiwifruit peel, and strains suitable for kiwifruit wine fermentation were obtained after purification, screening, and identification. The effects of the screened strains on the aromatic composition and content of kiwifruit wines were determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The results showed that two screened yeast strains (1-21 and 1-31) were identified as *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) and *Issatchenkia orientalis*, respectively, by using 26S rDNA sequencing. Compared with the commercially available yeast strain, the screened yeast strain 1-21 showed a stronger fermentation capacity, stronger acid resistance, and produced higher ascorbic acid content in wine. In contrast, strain 1-31 was more resistant to high sulfur dioxide concentration and produced a unique aroma in wine. By comparison, characteristic differences in the aromatic composition and content were found in the kiwifruit wines fermented using different yeast strains. Among the 49 identified aromatic compounds, 13 were common aromatic components, eight were only found in the kiwifruit wine fermented using strain 1-21, and seven were only found in the kiwifruit wine fermented using strain 1-31. In addition, the aromatic compound content in kiwifruit wines fermented using the screened strains was significantly higher than that in kiwifruit wine fermented using a commercially available yeast strain. Therefore, the screened yeast strains 1-21 and 1-31 were considered more suitable for producing the characteristic aroma of kiwifruit wine.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; kiwifruit wine; solid phase microextraction; aromatic composition

中国是猕猴桃原产地，目前我国猕猴桃的种植面积位居世界第一。猕猴桃口感独特，营养丰富，维生素 C 含量高居水果之首，广受消费者的喜爱并被誉为“水果之后”。然而猕猴桃收获期短，上市期集中，明显落后于市场需求的贮藏保鲜技术在很大程度上制约了猕猴桃产量的进一步提高。在此现状下，开发和推广猕猴桃果酒发酵技术成为拓宽猕猴桃产销市场的有效推动力。近年来，水果发酵酒成为国家重点发展的酒种之一，全国酿酒工业协会也将“重点发展水果发酵酒和水果蒸馏酒，利用水果蒸馏酒逐步取代一部分粮食白酒”写入行业的“十五”计划和“2015”规划。

目前国内对猕猴桃发酵果酒的研究多集中于借鉴其它果酒酿造工艺改进猕猴桃果酒发酵工艺方面[1]。王励志等人比较了不同的果酒酵母发酵性能，并初步优化猕猴桃果酒的发酵工艺参数以及降酸和澄清方法

收稿日期：2014-06-25

基金项目：陕西省科学技术研究发展计划项目（2012k01-26）；西北农林科技大学博士科研启动基金（2010BSJJ052）

作者简介：周元（1979-），女，博士，实验师，研究方向：果蔬加工与发酵工程

通讯作者：傅虹飞（1983-），女，博士，讲师，研究方向：食品天然产物提取与分离

[2]。徐清萍和李加兴等优化了发酵料液的糖度、pH、发酵温度、SO_2添加量和酵母接种量等参数[3~4]。但国内外对猕猴桃果酒香气组分进行比较研究的相关报道相对较少，目前研究多集中于猕猴桃果酒香气物质测定方法的建立，包括固相微萃取和气质谱联用技术的研究[5~7]，其中刘树文等报道了陈酿过程中猕猴桃果酒香气成分的变化[6]。国外对猕猴桃发酵果酒的品质亦有探讨[8]，但香气组成研究尚待深入。此外，研究中采用的酵母多为葡萄酒酵母等，专用酵母研究较少。

香气是构成果酒品质的重要因素之一[9]，果酒的香气成分极其丰富，生香机理也非常复杂。发酵原料、酵母菌株以及发酵工艺操作和发酵条件等各项因素均会影响成品果酒的香气成分组成。目前，有关酵母菌株对猕猴桃果酒香气成分变化的影响研究尚待开展。为此，本研究从猕猴桃果实的表皮中分离并筛选出适宜猕猴桃果酒发酵的酵母菌株，探讨其酿造特性以及对猕猴桃果酒香气等品质的影响，旨在为优化猕猴桃酿酒酵母种质资源，进一步深入研究猕猴桃果酒酿造工艺提供参考。

1 材料与方法

1.1 原料

酿酒酵母分离自陕西周至县猕猴桃果园生产的华优、秦美、亚特三个品种的猕猴桃果实表皮附着菌群。对照菌株为安琪葡萄酒果酒专用酵母，简称为SY（安琪酵母股份有限公司）。酿酒原料选用果汁色泽为黄色的华优猕猴桃果实，其成熟果实的可溶性固形物为13°Brix，总酸为1.35%，pH值为3.2，出汁率为68.9%。

1.2 仪器设备

ISQ 气相色谱/质谱联用仪，美国 Thermo Fisher Scientific 公司。HP-INNOWAX 弹性石英毛细管柱（60m×0.25mm，0.25μm）；SPME 手动进样手柄，美国 Supelco 公司；100 μm 聚二甲基硅氧烷(PDMS)萃取头，美国 Supelco 公司。高效液相色谱仪 LC-20A，日本岛津（苏州）。超纯纯水机，成都超纯优普仪器设备公司。数显恒温水浴锅，北京长风仪器公司；生化培养箱，宁波江南仪器厂；电热恒温鼓风干燥箱，中外合资重庆四达仪器。

1.3 试剂

PDA 培养基和麦芽汁培养基，北京陆桥技术有限公司；琼脂粉，北京 Solarbio 科技工程有限公司分装；色谱甲醇，美国 TEDIA。亚硫酸、氢氧化钠、硫酸、盐酸等试剂均为分析纯。

1.4 方法

1.4.1 酵母菌的分离纯化

取成熟猕猴桃果皮放入猕猴桃果汁的无菌试管中，加塞 25~28 ℃培养 5~7 d。取起酵试管中的发酵料液以划线法涂抹于猕猴桃果汁琼脂培养基（猕猴桃果汁+2.6%琼脂粉）的平板上，25~28 ℃倒置培养 24 h[10]。挑选典型的酵母单菌落平板划线继代 2 次以纯化菌种，通过镜检区分其细胞形态特征不同的菌株，接入 PDA 斜面培养基，冷藏保存。

1.4.2 酵母菌株的筛选

分离纯化获得的菌种经过斜面活化后，接入 20°Brix，自然 pH 值的灭菌猕猴桃果汁中，胶塞封口并称重，25 ℃恒温培养 10 d，每 12 h 称重一次，计算发酵料液的 CO_2 失重量[11~12]。综合评价酵母菌株的起酵速度和发酵力，筛选发酵能力较强的酵母菌株。待果酒二次发酵完成后，对发酵产物进行感官评定，筛选果酒香气较为浓郁的酵母菌株。

1.4.3 野生酵母菌株的鉴定

筛选获得菌株，经纯化后送上海生工生物工程有限公司完成 26S rDNA 基因克隆测序，结果与 NCBI 基因序列库中已知序列进行同源性比较。

1.4.4 酵母菌耐性试验

将筛选菌株分别接种于不同果汁环境中并记录起酵时间，以考察不同菌株对低 pH 值（pH 值 1.0~3.0）、高糖（葡萄糖 30%~50%）、高 SO_2 含量（SO_2 含量 80~160 mg/L）、高酒精含量（乙醇含量 10%~18%）各种逆境环境的耐性[13]。

1.4.5 猕猴桃果酒酿造工艺[2,14]

酵母保藏菌株→斜面活化→平板扩大→接入无菌果汁→酵母种子液

↓

新鲜猕猴桃果实→分选→去皮→榨汁→过滤→原果汁→调整糖度→接种发酵→主发酵→分离→后发酵→陈酿→澄清→无菌过滤→猕猴桃果酒

猕猴桃果实榨汁，加入果胶酶 5 g/L，过夜后虹吸得清液，调糖度为 20°Brix，添加 6%亚硫酸溶液使果汁中 SO_2 含量达到 60 mg/L，分装入 1 L 的玻璃发酵罐。按体积分数 10%接种量接入酵母菌种子液，24~26 ℃主发酵，24 h 排气一次，至无气泡产生主发酵结束，转罐进行后发酵 15~20 d。倒桶，20~22 ℃

陈酿。

1.4.6 酵母菌株发酵酒理化指标的测定

按照猕猴桃果酒酿造工艺 1.4.5，使用筛选菌株分别发酵猕猴桃果酒，测定发酵产物的残糖、酒精度、总酸、挥发酸含量等指标（测定方法依据 GB/T 15038-2005《果酒、葡萄酒通用分析方法》），有机酸组成和含量的测定采用高效液相色谱法[15]，并使用气质联用仪测定各菌株发酵产物的香气特征。

1.4.7 GC-MS 分析条件

1.4.7.1 果酒中香气物质的提取

取果酒 10 mL 移入 20 mL 钳口样品瓶中，加入 2.5g NaCl，促进挥发性成分的挥发，加入 150 μL 环己酮作为内标物（1.425 mg/L H_2O），用聚四氟乙烯隔垫密封，于磁力搅拌器上在 40 ℃加热平衡 10 min 后，通过隔垫插入已活化好的萃取头，推出纤维头，顶空吸附 30 min 后，插入 GC 进样口 230 ℃解析 3 min，不分流进样。

1.4.7.2 香气成分的 GC-MS 分析

色谱条件：HP-INNOWAX 毛细管柱(60 m×0.25 mm，0.25 μm)；进样口温度为 250 ℃；程序升温：40 ℃保持 2.5 min，以 6 ℃/min 升温至 230 ℃，保持 5 min；载气（高纯氦气）流速 1.0 mL/min。质谱条件：电子轰击 EI 源，电离电压 70 eV，离子源温度 230 ℃。传输线温度 230 ℃。扫描质量范围为 m/z 35~400amu；结果与 NIST 2011 谱库进行比对分析，并综合参考资料和相关背景信息，对物质进行定性。定量采用内标法进行定量，以环己酮作为内标物[16]。计算公式为：

$$\text{各香气成分的含量}/(mg/L)\frac{\text{各组分的峰面积}\times\text{内标物质量/mg}}{\text{内标物峰面积}\times\text{样品量/L}}$$

2 结果与分析

2.1 野生酵母菌株的分离与筛选结果

从猕猴桃果皮中分离出 14 株酵母菌株，其菌落表面光滑，颜色均一，多为乳白色，个别菌株菌落为淡红色；菌体为球形、卵圆形或梭形，出芽生殖。其菌落和菌株形态符合酵母菌特征，初步认定为酵母菌。

表 1 不同酵母菌株产气性测定

Table 1 Measurement of gas-producing capacity of different yeast strains

发酵时间	酵母菌株													
/d	1-10	1-11	1-12	1-21	1-22	1-30	1-31	1-32	1-33	2-3	2-4	2-5	3-2	3-3
1	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	++	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	++	++	++	++	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+

注：-发酵液无起酵现象；+ 起酵，有少量气泡；++ 发酵旺盛期，有大量气泡。

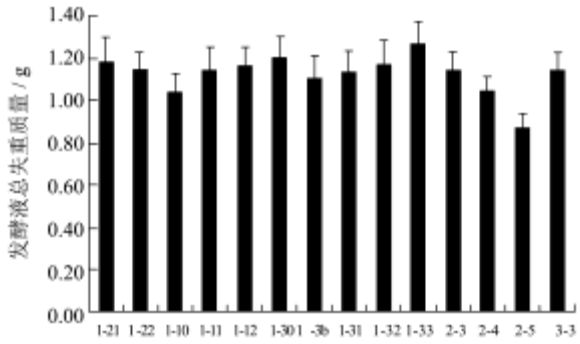


图 1 不同菌株发酵力比较

Fig.1 Comparison of fermentation capacities of different strains

对筛选所获酵母菌株进行产气性测定和发酵力实验，结果分别见表 1 和图 1。结合起酵时间、发酵速度和感官评定，筛选出发酵力较强的菌株 1-21 和产香较为浓郁的 1-31 作为猕猴桃果酒发酵的优选菌株。

2.2 野生酵母菌株鉴定

将野生菌株 1-21、1-31 与商业酵母菌株 SY 做涂片，经路哥氏染色，观察显微镜下菌体形态如图 2，菌株 1-21 和 SY 菌体均为球形，与菌株 1-31 的卵圆形菌体有明显差异，部分菌株可观察到出芽现象。



图 2 不同菌株菌体形态（16×100）

Fig.2 Cell morphology of different yeast strains (16 × 100)

筛选获得的野生酵母菌株经 26SrDNA 克隆测序并与 NCBI 基因序列库比较，结果见图 3，鉴定菌株 1-21 为酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*（baker's yeast））， 菌株 1-31 为东方伊萨酵母（*Pichia kudriavzevii*）。

2.3 不同菌株耐受性比较

由表 2 可以看出，在低 pH 值时，菌株 1-21 起酵

时间较早，其耐低 pH 值环境能力较强。菌株 1-31 在 SO_2 含量达到 160mg/L 时仍能在 24h 内起酵，表明其对 SO_2 的耐受能力极强。在菌株对果汁中高糖和高醇环境的耐受性方面，3 个菌株之间无差异。

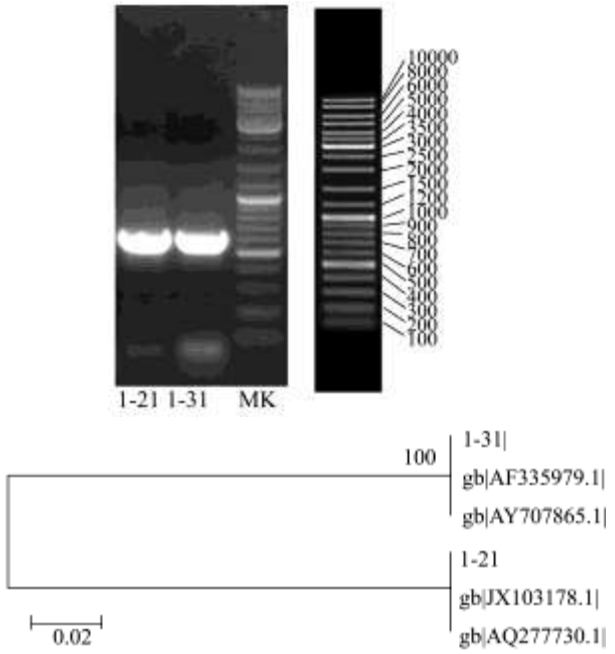


图 3 酵母菌株 1-21、1-31 26S rDNAD1/D2 PCR 扩增电泳图及进化树

Fig.3 Electrophoresis images & phylogenetic tree of 26S rDNA D1/D2 of yeast strains 1-21 and 1-31

表 2 不同酵母菌耐受性测定

Table 2 Resistance profiles of different yeast strains

起酵时	pH 值					葡萄糖含量/%				
间/h	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	30	35	40	45	50
SY	216	90	18	18	18	18	18	18	18	18
1-21	162	36	18	18	18	18	18	18	18	18
1-31	216	66	18	18	18	18	18	18	18	18
起酵时	SO_2 含量/mg/L					乙醇含量/%				
间/h	80	100	120	140	160	16	18	20	22	24
SY	24	24	36	36	36	18	18	18	18	18
1-21	36	36	36	48	48	18	18	18	18	18
1-31	24	24	24	24	24	18	18	18	18	18

2.4 不同菌株酿制的果酒理化指标比较

采用筛选菌株 1-21 和 1-31 分别进行猕猴桃果酒发酵，测定发酵产物的残糖、酒精度、总酸和挥发酸含量均符合 GB15037-2005 标准，结果见表 3。

采用高效液相色谱分析果酒有机酸组成和含量，结果见表 4，其中菌株 1-21 酿制的果酒中抗坏血酸的含量远高于 1-31 和商业酵母。马荣山等人报道，经过发酵工艺优化，猕猴桃果酒中抗坏血酸的含量可达到 0.71 g/L [17]，其发酵周期为 6d，未经过后发酵和澄清处理。此外，感官品评时发现未经处理的猕猴桃果酒酸味强烈，可考虑在果酒陈酿后进行适当的降酸处理。

表 3 猕猴桃果汁和不同菌株发酵果酒理化指标测定

Table 3 Physicochemical indices of kiwifruit juice and kiwifruit wines fermented using different yeast strains

项目		酒精度/% (V/V，20℃)	总糖/(g/L) (以葡萄糖计)	还原糖/(g/L) (以葡萄糖计)	总酸/(g/L) (以柠檬酸计)	挥发酸/(g/L) (以醋酸计)	游离 SO_2/(mg/L)
果酒	1-21	12.16±0.45	1.28±0.34	1.09±0.61	14.10±0.21	0.38±0.04	26.56±1.36
	1-31	11.06±0.40	3.42±0.11	2.56±0.08	15.76±0.13	0.29±0.07	44.01±1.81
	SY	13.30±0.56	1.14±0.28	0.93±0.15	12.16±0.44	1.22±0.11	17.28±0.91
果汁		-	13.64±0.02	4.68±0.01	13.50±0.01	0.37±0.00	-

表 4 猕猴桃果汁和不同菌株发酵果酒有机酸含量测定

Table 4 Organic acid content of kiwifruit juice and kiwifruit wines fermented using different yeast strains

酵母	有机酸含量/(g/L)				
	草酸	酒石酸	奎宁酸	苹果酸	抗坏血酸
菌株 1-21	0.80±0.14	5.81±0.22	17.18±0.71	1.93±0.07	0.54±0.04
菌株 1-31	-	4.64±0.14	21.08±0.64	1.99±0.11	0.29±0.02
菌株 SY	2.13±0.11	1.91±0.06	15.22±0.22	3.07±0.06	0.07±0.00
果汁	0.33±0.02	-	17.29±0.07	0.93±0.02	1.31±0.03
	乳酸	乙酸	柠檬酸	富马酸	琥珀酸
菌株 1-21	-	-	9.99±0.28	0.18±0.01	18.62±1.03
菌株 1-31	5.10±0.32	-	4.57±0.17	0.18±0.02	23.38±2.10
菌株 SY	15.51±0.76	0.06±0.04	8.93±0.27	0.06±0.00	1.44±0.44
果汁	5.83±0.11	-	5.93±0.07	0.03±0.00	-

注：-未检出。

2.5 不同菌株酿制的果酒香气组分分析

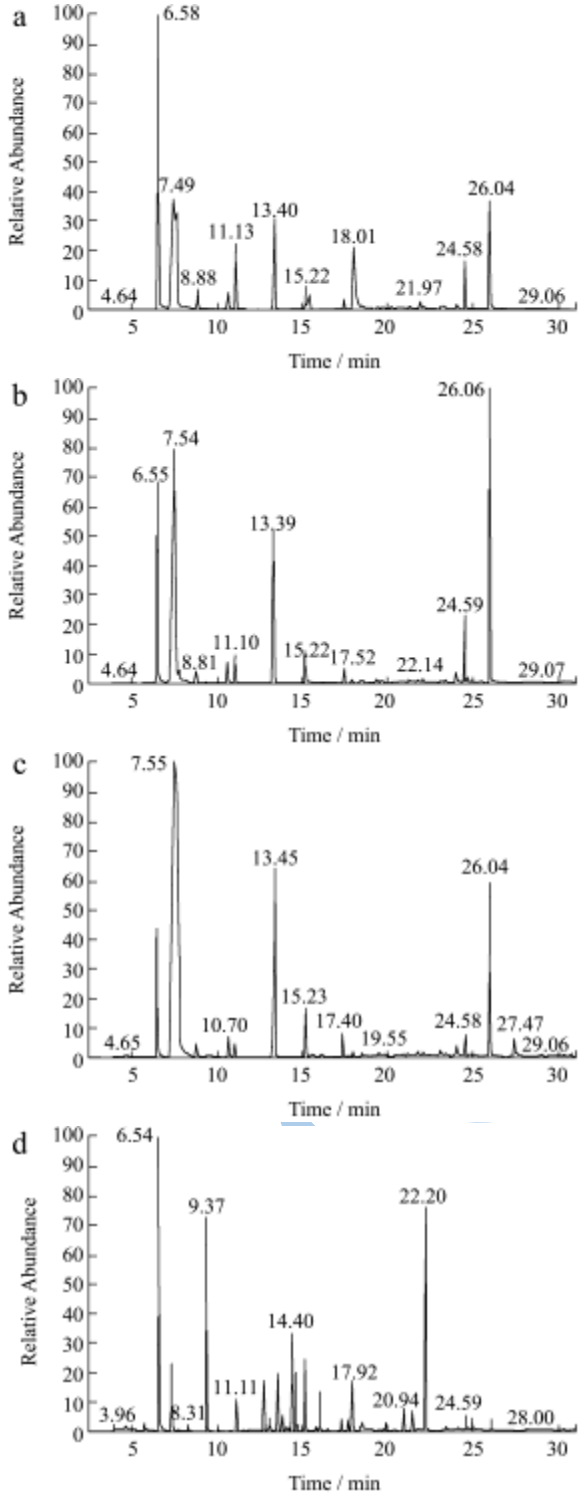


图 4 猕猴桃果汁和不同酵母菌酿制猕猴桃酒的香气组分离子流典型图谱

Fig.4 GC-MS total ion current chromatograms of the aromatic compounds in kiwifruit juice and kiwifruit wines fermented using different yeast strains

注：a：1-21；b：1-31；c：SY；d：果汁。

猕猴桃果汁和不同酵母菌酿制猕猴桃酒的香气组分离子流典型图谱见图 4，表 5 为其香气组成和含量的 GC-MS 分析结果。猕猴桃果汁中香气组分总含量为 18.58±0.21 mg/L，香气成分以乙酸乙酯，乙酸异戊酯，苯甲酸乙酯，己酸乙酯，辛酸乙酯和乙酸苯乙酯等酯类为主，并含量少量醇类，以乙醇为主，含量为 1.35±0.01 mg/L，因此成熟的华优猕猴桃呈现果香和醇香。不同菌株酿制果酒的香气含量总量分别为 53.37±2.44 mg/L，56.56±1.58 mg/L 和 33.15±0.91 mg/L，筛选获得的菌株远高于菌株 SY。3 种酵母菌酿制的猕猴桃果酒香气组分共测得 49 种，其中有酯类物质 23 种，醇类物质 12 种，羧酸类物质 4 种，醛酮类物质 4 种，萜烯类物质 2 种，此外还有杂环类物质等共 4 种。通过分析比较，3 种菌株酿制的猕猴桃果酒中共有的含量较高的香气成分有 3-甲基丁醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯等物质，它们被认为是猕猴桃酒特征香气成分[5-7]，但文献报道仅对香气组成通过归一法对其所占比例进行分析。3-甲基丁醇和苯乙醇在菌株 1-31 酿制的猕猴桃果酒香气中含量最高，分别达到 10.63±1.03mg/L 和 13.09±0.62mg/L，其中 3-甲基丁醇的含量可达菌株 1-21 和商业菌株的 2.15 倍和 2.16 倍，苯乙醇含量达到菌株 1-21 和商业菌株的 1.93 倍和 2.41 倍。文献显示[18]，3-甲基丁醇呈现苹果杏仁香等感官特征，苯乙醇呈特有的玫瑰香气和先味苦后甜的桃味，因此赋予果酒浓郁的果香和丰富的香味层次，可以推测菌株筛选过程中发现的菌株 1-31 酿制的猕猴桃果酒产香特殊与此有一定关系。

酯类是猕猴桃果酒的重要呈香物质，研究中检测到的酯类感官特征大部分表现为水果香和花香等，其中乙酸乙酯和乙酸异戊酯的感官特征分别为呈现菠萝果香和强烈的水果香气[18]。在菌株 1-21 酿制的猕猴桃果酒中，乙酸乙酯和乙酸异戊酯含量明显高于其它两个菌株，分别达到 18.31±1.34 mg/L 和 4.02±0.57 mg/L，可以推测菌株 1-21 酿制的猕猴桃果酒香气主要以这两种酯类为主。此外，乙酸苯乙酯也是主要呈香酯类之一，感官特征表现为水果香和杏仁香味[18]，在菌株 1-31 和菌株 1-21 酿制的猕猴桃果酒中分别达到 3.17±0.25 mg/L 和 3.61±0.63 mg/L，均显著高于菌株 SY 酿制果酒中的含量 0.70±0.08 mg/L。

研究分析比较 3 种菌株酿制的猕猴桃果酒中香气组成的差异发现，部分含量较少的香气物质特异性存在于不同菌株酿制的猕猴桃果酒中，其中，丙酸乙酯、正己醇、丙酸异戊酯、2-丙基-1-戊醇、4-乙烯基-2-甲氧基苯酚、丙酸-2-苯乙酯和月桂酸乙酯只在菌株 1-31

酿制的猕猴桃果酒中存在。乙酸甲酯、乙酸异丁酯、乙酸丁酯、异戊酸乙酯、2-甲基丙酸、3-甲基丁酸、香茅醇和二甲基-5,9-十一双烯-2-酮只在菌株 1-21 酿制的猕猴桃果酒中存在。3-乙氧基丙醇、乳酸乙酯、2-乙酰基呋喃、3-羟基丁酸乙酯、2-羟基-4-甲基戊酸乙酯、2-糠酸乙酯、辛醇、癸酸乙酯和 9-十六碳烯酸乙酯只存在于菌株 SY 酿制的猕猴桃果酒中。

表 5 猕猴桃果汁和不同菌株发酵果酒香气组分测定

Table 5 Determination of aroma-producing components of kiwifruit juice and kiwifruit wines fermented using different yeast strains

编号	保留指数	化合物	分子式	感官特征[18]	含量/(mg/L)			
					1-31	1-21	SY	果汁
1	408	乙醛	C_2H_4O	辛辣	-	0.04±0.01	0.05±0.02	-
2	463	乙醇	C_2H_6O	具酒精特有的清香，味辣	10.81±0.98	12.19±1.12	12.56±0.96	1.35±0.01
3	517	乙酸甲酯	$C_3H_6O_2$	愉快的水果香气，微具苦味	-	0.03±0.01	-	0.15±0.00
4	586	乙酸乙酯	$C_4H_8O_2$	菠萝果香，具苦甜的辣味	8.95±0.86	18.31±1.34	3.58±0.33	5.76±0.03
5	597	异丁醇	$C_4H_{10}O$	酒精味，青草味	0.97±0.10	1.03±0.12	1.02±0.10	0.02±0.00
6	717	乙偶姻	$C_4H_8O_2$	奶香，扁桃香气	-	0.72±0.09	0.07±0.03	0.11±0.02
7	721	乙酸异丁酯	$C_6H_{12}O_2$	具果香（红醋栗或梨），花香（玫瑰），似醚的微苦味	-	1.07±0.06	-	0.02±0.00
8	786	乙酸丁酯	$C_6H_{12}O_2$	强烈的水果香气，具先辣后甜似菠萝味道	-	0.02±0.01	-	0.05±0.00
9	787	异戊酸乙酯	$C_7H_{14}O_2$	苹果样的水果香气及相应的甜味	-	0.04±0.02	-	-
10	787	2-甲基丙酸	$C_4H_8O_2$	刺激性	-	0.17±0.03	-	-
11	794	丙酸乙酯	$C_5H_{10}O_2$	似菠萝的香气	0.42±0.05	-	-	0.04±0.00
12	820	乙酸异戊酯	$C_7H_{14}O_2$	强烈的水果香气，带梨的甜酸味	1.23±0.32	4.02±0.57	0.42±0.06	0.66±0.02
13	837	3-乙氧基丙醇	$C_5H_{12}O_2$		-	-	0.04±0.01	-
14	838	乳酸乙酯	$C_5H_{10}O_3$	优雅的气味	-	-	0.01±0.01	-
15	852	3-甲基丁醇	$C_5H_{12}O$	苹果杏仁香	10.63±1.03	4.94±0.56	4.91±0.23	-
16	860	正己醇	$C_6H_{14}O$	具水果香气及芳香	0.03±0.02	-		0.02±0.00
17	878	2-乙酰基呋喃	$C_6H_6O_2$		-	-	0.05±0.00	-
18	885	糠醇	$C_5H_6O_2$		0.17±0.03	-	0.17±0.06	0.01±0.00
19	891	环己酮 *	$C_6H_{10}O$		1.43±0.10	1.43±0.09	1.43±0.05	1.43±0.04
20	920	丙酸异戊酯	$C_8H_{16}O_2$	有杏仁、菠萝的苦甜味	0.03±0.02	-	-	0.02±0.00
21	938	3-羟基丁酸乙酯	$C_6H_{12}O_3$		-	-	0.10±0.02	0.03±0.00
22	955	2-丙基-1-戊醇	$C_8H_{18}O$		0.02±0.01	-	-	0.02±0.00
23	969	1-辛烯-3-醇	$C_8H_{16}O$	蘑菇、薰衣草、玫瑰和干草香气	0.06±0.02	0.03±0.01	0.05±0.01	-
24	984	己酸乙酯	$C_8H_{16}O_2$	强烈的菠萝、香蕉的香气	0.07±0.02	-	0.27±0.06	1.14±0.00
25	988	2-羟基-4-甲基戊酸乙酯	$C_8H_{16}O_3$		-	-	0.09±0.03	-
26	999	2-糠酸乙酯	$C_7H_8O_3$		-	-	0.12±0.03	0.05±0.00
27	1009	3-甲基丁酸	$C_5H_{10}O_2$		-	0.46±0.06	-	-
28	1059	辛醇	$C_8H_{18}O$	具新鲜柑桔及玫瑰气味，微有油质感的、甜的草药味	-	-	0.09±0.02	0.17±0.01

转下页

接上页

29	1131	甲基-4-甲基乙烯基苯	$C_{10}H_{12}$		0.07±0.02	0.07±0.03	0.07±0.04	0.96±0.02
30	1136	苯乙醇	$C_8H_{10}O$	特有的玫瑰香气，先味苦后甜的桃味	13.09±0.62	6.79±0.31	5.44±0.25	0.23±0.01
31	1142	邻甲基苯乙酮	$C_9H_{10}O$		0.43±0.05	0.30±0.06	0.25±0.08	-
32	1151	琥珀酸二乙酯	$C_8H_{14}O_4$		-	0.02±0.01	0.08±0.01	-
33	1160	苯甲酸乙酯	$C_9H_{10}O_2$		0.20±0.04	0.13±0.01	0.16±0.04	4.51±0.02
34	1179	香茅醇	$C_{10}H_{20}O$	甜玫瑰香	-	0.10±0.03	-	-
35	1179	3,7-二甲基-6-辛烯醇	$C_{10}H_{20}O$		0.12±0.02	-	0.11±0.03	-
36	1183	辛酸乙酯	$C_{10}H_{20}O_2$	令人愉快的花果香气（杏子香气）	0.70±0.09	0.63±0.08	0.75±0.14	0.23±0.01
37	1200	松油醇	$C_{10}H_{18}O$	紫丁香气味	0.07±0.02	-	0.07±0.02	0.02±0.00
38	1259	苯乙酸乙酯	$C_{10}H_{12}O_2$	有浓烈而甜的蜂蜜香气	-	0.17±0.04	0.11±0.03	-
39	1259	乙酸苯乙酯	$C_{10}H_{12}O_2$	果香，杏仁香	3.17±0.25	3.61±0.63	0.70±0.08	0.30±0.01
40	1262	丙酰胺酸	$C_3H_5NO_3$		0.03±0.01	0.02±0.01	-	0.08±0.00
41	1269	α,α,4-三甲基苯甲醇	$C_{10}H_{14}O$		0.11±0.03	0.10±0.02	-	0.23±0.01
42	1293	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	$C_9H_{10}O_2$		0.04±0.01	-	-	-
43	1361	丙酸-2-苯乙酯	$C_{11}H_{14}O_2$		0.09±0.02	-	-	-
44	1381	癸酸乙酯	$C_{12}H_{24}O_2$	油脂味，果香，花香	-	-	0.13±0.01	0.02±0.00
45	1420	6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮	$C_{13}H_{22}O$		-	0.07±0.01	-	0.04±0.00
46	1555	2,4-二叔丁基苯酚	$C_{14}H_{22}O$		0.03±0.01	-	0.03±0.01	-
47	1580	月桂酸乙酯	$C_{14}H_{28}O_2$	花果香气，肥皂风味	0.25±0.04	-	-	0.06±0.00
48	1760	丙氨酰甘氨酸	$C_5H_{10}N_2O_3$		0.04±0.01	-	0.022±0.00	0.11±0.00
49	1968	十六酸乙酯	$C_{18}H_{36}O_2$	油脂味，果香，花香	0.11±0.03	0.05±0.02	0.10±0.02	0.02±0.00
50	1986	9-十六碳烯酸乙酯	$C_{18}H_{34}O_2$		-	-	0.10±0.03	-
		香气组分总含量/(mg/L)			53.37±2.44	56.56±1.58	33.15±0.91	18.58±0.21

注：*：内标物；-：未检出；定量采用内标法；定性采用GC-MS法。

研究表明经过发酵酿造，3 种酵母菌株酿造的猕猴桃果酒都拥有猕猴桃果酒主体的主要香气组分（13 种物质共有），但也有各自独有的香气组分，存在特异性差异。各种香气成分的阈值不同，对酒体香气的贡献率也不一样，筛选菌株 1-31 在感官品评中所表现出来的愉悦香气究竟为哪一种或者哪几种物质所决定的，有待于进一步研究证明。通过 GC-MS 结合 GCO 进行嗅辨分析评价各香气组分的差异对主体香气的影响，将有望解答该疑题[16]。

3 结论

本研究从猕猴桃表皮酵母菌群里筛选得到 2 株适于酿造猕猴桃果酒的酵母菌株 1-21 和菌株 1-31，通过对其酿制特性的研究，发现与菌株 SY 相比，菌株 1-21 具有发酵力强、耐酸性强，果酒中抗坏血酸含量较高的特性，菌株 1-31 具有耐 SO_2 且果酒香气独特的特性。经鉴定 1-21 和 1-31 分别为酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*（baker's yeast））和东方伊萨酵母（*Pichia kudriavzevii*）。通过 GC-MS 分析，筛选酵母菌株和商业酿酒菌株酿造的果酒共获得 49 种香气成分，其中筛选菌株酿制的果酒检出香气总量远高于菌株 SY。比较不同酵母酿造果酒的香气组成，发现 3-甲基丁醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯和乙酸苯乙酯等 13 种物质为共有香气物质，此外，8 种香气物质为菌株 1-21 独有，7 种香气物质为菌株 1-31 独有。综合上述结果，本研究筛选获得的菌株 1-21 和菌株 1-31 更适

于猕猴桃果酒的发酵，且能提升猕猴桃果酒产品的品质。在后续研究中，可考虑使用菌株 1-21 和菌株 1-31 作为复合菌种，并优化猕猴桃果酒的发酵工艺，以获得发酵力强且香气浓郁的猕猴桃果酒产品。

参考文献

[1] PENG Bang-zhu, YUE Tian-li, YUAN Ya-hong. Quality evaluation of kiwi wine [J]. International Journal of Food Engineering, 2006, 2(4): 1-10

[2] 王励治,蒋和体.野生猕猴桃干酒酿造工艺[J].食品科学,2010,31(24):484-487
WANG Li-zhi, JIANG He-ti. Brewing processing of kiwifruit dry wine [J]. Food Science, 2010, 31(24): 484-487

[3] 徐清萍,朱广存.野生猕猴桃酒发酵工艺研究[J].酿酒科技,2010,10(196):78-81
XU Qing-ping, ZHU Guang-cun. Fermentation technology of kiwi fruit wine [J]. Liquor-making Science &Technology, 2010, 10(196): 78-81

[4] 李加兴,陈双平,梁先长,等.猕猴桃干型果酒发酵工艺优化[J].食品科学, 2010, 31(22): 504-507
LI Jia-xing, CHEN Shuang-ping, LIANG Xian-chang, et al. Optimization of fermentation conditions for kiwi wine [J]. Food Science, 2010, 31(22): 504-507

[5] 刘拉平,史亚歌,岳田利,等.猕猴桃果酒香气成分的固相微萃取GC/MS分析[J].酿酒科技,2007,5(155):105-107
LIU La-ping, SHI Ya-ge, YUE Tian-li, et al. Analysis of flavoring compositions in kiwi fruit wine by SPME/GC/MS [J]. Liquor-making Science &Technology, 2007, 5(155): 105-107

[6] 刘树文,涂正顺,李华,等.猕猴桃果酒陈酿期间香气成分的变化[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005, 11(33): 34-38
LIU Shu-wen, Tu Zheng-shun, LI Hua, et al. Changing of aroma components of kiwi wine [J]. Journal of Northwest A & F University (Nat. Sci. Ed.), 2007, 6(35): 89-93

[7] 郭静,岳田利,袁亚宏,等.基于SPME-GC/MS的猕猴桃酒香气成分研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2007, 6(35):89-93
GUO Jing, YUE Tian-li, YUAN Ya-hong, et al. Analysis of aromatic components in kiwifruit wine by gas chromatography-mass spectrometry with solid phase microextraction [J]. Journal of Northwest A & F University (Nat. Sci. Ed.), 2007, 6(35): 89-93

[8] TOWANTAKAVANIT Korsak, PARK Yong Seo, GORINSTEIN Shela. Quality properties of wine from Korean kiwifruit new cultivars [J]. Food Research International, 2011, 44: 1364–1372

[9] 彭帮柱,岳田利,袁亚宏,等.猕猴桃酒酿造工艺参数优化及其香气成分分析[J].农业工程学报,2007,2(23):229-232
Peng Bang-zhu,Yue Tian-li,Yuan Ya-hong, et al. Optimization of technology for kiwi wine making and analysis of aroma components [J]. Transactions of the CSAE, 2007, 2(23): 229-232

[10] 罗安伟,刘兴华,寇莉苹,等.猕猴桃酒用酵母的选育研究[J].中国食品学报,2005,5(3):57-60
LUO An-wei, LIU Xing-hua, KOU Li-ping, et al. Study on selection of yeast for kiwi-fruit wine [J]. Joural of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2005, 5(3): 57-60

[11] 周一琴,罗安伟,刘兴华,等.猕猴桃酒天然优良酵母的筛选[J].中国酿造,2008,1(178):63-65
ZHOU Yi-qin, LUO An-wei, LIU Xing-hua, et al. Selection of excellent natural yeast for kiwi wine [J]. China Brewing, 2008, 1(178): 63-65

[12] 徐清萍,朱广存.野生猕猴桃果酒酵母的筛选鉴定及耐受性的研究[J].中国酿造,2011,7(232):120-123
XU Qing-ping, ZHU Guang-cun. Screening, identification and tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* for wild kiwifruit wine fermentation [J]. China Brewing, 2011, 7(232): 120-123

[13] 陈文学,胡月英,刘四新.腰果梨果酒酵母的分离和筛选[J].食品科学,2010,31(5):147-149
CHEN Wen-xue, HU Yue-ying, LIU Si-xin,et al. Isolation and screening of yeast for cashew apple wine [J]. Food Science, 2010, 31(5): 147-149

[14] 李加兴,陈双平,梁先长,等.猕猴桃干型果酒发酵工艺优化[J].食品科学,2010,31(22):504-507
LI Jia-xing, CHEN Shuang-ping, LIANG Xian-chang,et al. Optimization of fermentation conditions for kiwi wine[J]. Food Science, 2010, 31(22): 504-507

[15] 周元,傅虹飞.猕猴桃中的有机酸高效液相色谱法分析[J].食品研究与开发,2013,34(19):85-87
ZHOU Yuan, FU Hong-fei. Determination of organic acids in kiwifruit by reversed phase HPLC method [J]. Food Research And Development, 2013, 34(19): 85-87

[16] 李锐,冯奎,吴婧,等.不同来源酿酒酵母对柑橘果酒香气成分的影响[J].食品科学,2010,31(17):206-216
LI Rui，FENG Kui，WU Jing, et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different sources on the aromatic composition of orange wine [J]. Food Science, 2010, 31(17): 206-216

[17] 马荣山,王舒.猕猴桃酒酿造过程中VC含量变化的研究[J].

中国酿造,2008,20(197):44-46
MA Rong-shan, Wang shu. The changes of V_C in the process of Kiwi wine brewing [J]. China Brewing, 2008, 20 (197): 44-46

[18] R.J.克拉克和J.巴克著,徐岩主译. 葡萄酒风味化学[M].北京:中国轻工业出版社,2013:121-129.CLARKE R J, BAKKER J. Translated by XU Yan. Wine flavor chemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2013: 121-129

现代食品科技