

# 不同酵母菌种对发酵海红果酒品质的影响研究

郑娇<sup>1</sup>, 俞月丽<sup>1</sup>, 彭强<sup>1</sup>, 段旭昌<sup>1</sup>, 王敏<sup>1</sup>, 王勇<sup>2</sup>

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

(2. 榆林市西府海棠产业开发研究有限公司, 陕西府谷 719400)

**摘要:** 本文研究了三种酵母菌(BV818、ICV254和CY3079)制备的海红果酒在发酵过程中发酵液的基本理化性质、多酚和黄酮的含量及抗氧化能力的动态变化,且对三种发酵酒的香气成分进行了定性分析。在三种酵母发酵海红果酒的过程中各指标总体变化趋势没有表现出酵母间差异,但各指标的变化水平存在一定的差异,三种酵母发酵酒中总酚含量为 $915.86 \pm 5.13 \sim 1066.85 \pm 6.44$  mg/L,黄酮含量为 $31.60 \pm 1.32 \sim 42.64 \pm 0.45$  mg/L,显著高于发酵原液( $p < 0.05$ ),表现出很高的清除DPPH能力和还原能力;三种酵母发酵酒中共检出24种香气成分,主要包括醇类、酯类和酸类等,三种酵母发酵酒的特征香气均为3-甲基丁醇。在三种酵母中,酵母ICV254的降糖速率最快,发酵时间仅为8d左右,所得发酵酒的酒精度高、残糖量低、酸度低、感官评分好,同时总酚和黄酮含量高、抗氧化能力最强,且香气成分多,所以选择酵母ICV254为海红果酒的最佳发酵菌种。

**关键词:** 海红果; 酒精发酵; 抗氧化活性; 香气成分分析

文章篇号: 1673-9078(2017)1-228-236

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.035

## Effect of Different Yeast on Qualities of Haihong Wine

ZHENG Jiao<sup>1</sup>, YU Yue-li<sup>1</sup>, PENG Qiang<sup>1</sup>, DUAN Xu-chang<sup>1</sup>, WANG Min<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>

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

(2.Company, Yulin Xifuhaitang Industrial Development Co. Ltd., Fugu 719400, China)

**Abstract:** The influence of different yeasts (BV818,ICV254, and CY3079) on the physical and chemical characteristics, phenolic and flavonoid compound content, dynamic changes in antioxidant activities, and aroma components of three types of fermented Haihong fruit (*Malus micromalus* Makino) wines were investigated. There was no obvious difference in the total variation trend during the fermentation process of Haihongwine, using three yeasts, but there were some differences in changes in the level of each index. The total phenolic and flavonoid content ( $915.86 \pm 5.13 \sim 1066.85 \pm 6.44$  mg/L and  $31.60 \pm 1.32 \sim 42.64 \pm 0.45$  mg/L, respectively) of Haihong wines fermented by three yeasts were significantly higher than those of the unfermented liquid, and those wines exhibited high DPPH• scavenging and reducing abilities. Moreover, a total of 24 aroma components were detected from the fermented Haihong wines, which primarily included alcohols, esters, and carboxylic acids; the characteristic aroma component was 3-methylbutanol for all three yeasts. Among the three yeasts, ICV254 had the highest glucose consumption rate, with the fermentation time of eight days, and the fermented wine obtained had high alcohol content, low residual sugar, low acidity, and good sensory evaluation results, while at the same time having high total phenolic and flavonoid compound content, strong antioxidant capacity, and many aroma components. Therefore, ICV254 was selected as the fermentation agent best suited for fermenting Haihong wines.

**Key words:** *Malus micromalus* Makino; alcoholic fermentation; antioxidant activity; aroma composition analysis

海红(*Malus Micromalus Makino*)学名西府海棠,又名子母海棠和小果海棠,属于蔷薇科(*Rosaceae*)梨

收稿日期: 2015-11-03

基金项目: 中央高校基本科研业务专项资金项目(2452013py012); 西府海棠食品化学分析与加工技术研究(k403021303); 国家自然科学基金(NNSFC31401650); 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2013KTZB02-03-04)

作者简介: 郑娇(1991-),女,硕士,研究方向:食品工程;俞月丽(1991-),女,硕士,研究方向:食品化学与营养(共同第一作者)

通讯作者: 王敏(1967-),女,教授,博士生导师,研究方向:食品化学分析和西部特色药食兼用资源加工利用

亚科(*Pomoideae*)苹果属(*Malus* Mill.)落叶小乔木<sup>[1]</sup>,主要分布在我国晋、陕和蒙三省交界的黄土丘陵沟壑地区。该地区气候干旱,风沙大,水土流失严重,生态环境恶劣,海红果树因其具有极强的耐寒、抗旱和抗病虫害等能力,对当地的水土保持和环境改善有很大的意义。海红果实酸甜适口,含有丰富的维生素、矿物质、氨基酸以及酚类物质等多种营养功能性成分。王猛<sup>[2]</sup>测定了海棠果实不同部位的抗氧化物质,并测定其总酚和总黄酮含量及其抗氧化活性,发现去核海红果总酚含量和总黄酮含量分别达 $(160 \pm 5.03) \times 10^{-2}$

mg galic acid eq./g FW 和 $(54.45 \pm 1.52) \times 10^{-2}$  mg rutin eq./g FW, 显著高于海红果皮和果肉, 且黄酮类物质对海红果抗氧化活性贡献较大。海红果酚类物质以羟基苯甲酸类(香草酸和没食子酸等)为主, 海红果皮中黄酮醇类含量最高, 黄烷-3-醇类的儿茶素和表儿茶素只在海红果肉中检出。海红果皮内芦丁含量最高为 $(819.88 \pm 0.17) \times 10^{-2}$   $\mu\text{g/g}$ , 此外绿原酸等是海红果中重要的酚类组成物质。

目前, 我国海红果资源丰富, 产量可观, 但缺乏储藏技术, 易腐烂, 同时海红果产区企业的加工消化能力严重不足, 严重影响了海红果产业的健康发展。海红果的可溶性固形物高达 12%, 可发酵糖丰富, 且富含酚类等抗氧化物质<sup>[2,3]</sup>, 通过酵母菌发酵所得的海红果酒中含有海红果本身以及酵母菌发酵产生的双重营养价值, 不但符合近年来人们对保健功能性饮料的追求, 更是实现海红果精深加工的重要举措。李莉莉<sup>[4]</sup>利用海红果干果和鲜果为原料, 对海红果汁浸提工艺、海红果酒发酵工艺以及澄清技术进行了探索, 发现干果发酵的果酒色泽诱人且品质较好。但缺乏发酵海红果酒专用酿酒酵母是制约高品质海红果酒生产的重要因素, 本研究利用三种不同酵母菌种来发酵海红果酒, 研究了酵母菌种对海红果酒发酵的影响, 通过追踪发酵过程中发酵液的多酚和黄酮的含量及抗氧化能力的动态变化, 以及分析比较了三种发酵酒的香气成分, 得到发酵速率快, 所得发酵酒中酚类物质含量高且抗氧化能力更强的酵母菌种, 也为研究海红果酒的功能性提供了一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

海红果干果于 2012 年 11 月购自陕西府谷县, 0 °C 冷库中储藏备用。干果样品水分为 27.96%, 总糖为 44.09%, 总酸为 2.38%。

酵母 BV818 (安琪酵母股份有限公司); 酵母 ICV254 和 CY3079 (法国 LALVIN 公司); 娃哈哈水和白砂糖均为市售。

福林酚试剂、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、没食子酸、芦丁(Sigma 公司); 其他分析纯试剂无水乙醇、甲醇、盐酸、蒽酮和酚酞等购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

HH-4 水浴锅(国华电器有限公司); WYT 型手持糖度计(成都星辰光学仪器有限公司); JD 400-3

电子分析天平(沈阳龙腾电子有限公司); KDC-40 低速离心机(科大创新股份有限公司); UV-1700 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); 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(60 m×0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ), SPME 手动进样手柄, 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS 固相微萃取纤维萃取头(美国 Supelco 公司)。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 海红果酒生产工艺

海红果干果→挑选、清洗→烘干→复水→成分调整→接种酵母菌→主发酵→皮渣分离→后发酵→发酵原酒→陈酿→澄清→无菌过滤→海红果酒。

海红果干果经挑选去除霉变果后用清水洗去表面沙土, 在 65 °C 下烘干表面水分, 按重量比 1:4 复水, 补白砂糖至发酵液中总糖含量为 180 g/L (初总糖约为 110 g/L), 巴氏杀菌(加热至 90 °C, 保持 15 s)后接种酵母菌发酵。三种酵母菌的添加量均为 0.4 g/L, 在 20~25 °C 下进行浸渍发酵, 当发酵液中总糖含量不再变化时皮渣分离, 在 10~15 °C 下进行后发酵, 得到发酵原酒。所得发酵原酒在 0 °C 冷库中陈酿半年。

### 1.3.2 酒精度的测定

参照 GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用实验方法<sup>[5]</sup>中的密度瓶法。量取 50 mL 酒样(温度为 20 °C)与 25 mL 蒸馏水倒入蒸馏瓶中, 连接冷凝器, 开始缓慢加热蒸馏。将馏出液于 20 °C 水浴中保温 30 min, 补加水至 50 mL, 混匀。用密度瓶装满馏出液, 浸入 20 °C 恒温水浴中, 待内容物温度达到 20 °C 并保持 10 min 不变后, 用滤纸吸去侧管溢出的液体, 使侧管中的液面与侧管管口齐平, 立即盖好侧孔罩, 称重。对照组以蒸馏水代替酒样馏出液。酒样在 20 °C 时的密度( $\rho_{20}^0$ , g/L)按以下公式计算:

$$\rho_{20}^0 = \frac{m_2 - m + A}{m_1 - m + A} \times \rho_0$$

$$A = \rho_u \times \frac{m_1 - m}{\rho_0 - \rho_u}$$

式中,  $m$ 、 $m_1$  和  $m_2$  分别为 20 °C 时密度瓶的质量(g)、20 °C 时密度瓶与蒸馏水的质量(g)以及 20 °C 时密度瓶与酒样馏出液的质量(g);  $\rho_0$  为 20 °C 时蒸馏水的密度(998.20g/L);  $A$  为空气浮力校正值;  $\rho_u$  为干燥空气在 20 °C、1013.25 hPa 时的密度值( $\approx 1.2\text{g/L}$ )。

根据试样的密度 $\rho_{20}^0$ , 查酒精水溶液密度与酒精度(乙醇含量)对照表(20 °C), 求得酒精度。

### 1.3.3 滴定酸的测定

参照 GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用实验方

法中指示剂法,以酒石酸计。取 2 mL 酒样,置于 250 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 水,同时加入 2 滴酚酞指示液,摇匀后,立即用氢氧化钠标准滴定溶液滴定至终点,并保持 30 s 内不变色。样品中滴定酸的含量按以下公式进行计算:

$$\text{滴定酸(g/L)} = \frac{c \times (V_1 - V_0) \times 75}{V_2}$$

式中:  $c$  为氢氧化钠标准滴定液的浓度 (mol/L);  $V_0$ 、 $V_1$  和  $V_2$  分别为空白试验消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 (mL)、样品滴定时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 (mL) 和吸取样品的体积 (mL)。

### 1.3.4 色度的测定

参照梁冬梅等<sup>[6]</sup>的方法,海红果酒样经过 0.4  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,测其 pH 值,用相同 pH 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液稀释 10 倍,用紫外分光光度计在 420 nm、520 nm 和 620 nm 下测定吸光值,三者之和即为该酒样的色度。

### 1.3.5 总糖的测定

总糖的测定采用蒽酮比色法<sup>[7]</sup>。取酒样稀释液 1 mL,加入 4 mL 的蒽酮试剂 (0.2 g 蒽酮溶于 100 mL 的浓硫酸中),在冰水中迅速冷却。加完试剂后在沸水浴中煮沸 10 min,用冰水冷却至室温,于 620 nm 波长下测定其吸光度。样品中的总糖含量以每升海红酒样中所含葡萄糖的克数 (g GLC/L) 表示。

### 1.3.6 总酚的测定

总酚的测定采用福林酚法<sup>[8]</sup>。在 125  $\mu\text{L}$  酒样稀释液中加入 125  $\mu\text{L}$  福林酚试剂,反应 6 min 后加入 1.25 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液终止反应。再加 1 mL 蒸馏水静置 90 min,于 760 nm 波长下测定其吸光值。样品中的总酚含量以每升海红酒样中所含没食子酸的毫克数 (mg GAE/L) 表示。

### 1.3.7 总黄酮的测定

采用硝酸铝显色法<sup>[9]</sup>。在 125  $\mu\text{L}$  酒样稀释液中加入 200  $\mu\text{L}$ 、5%  $\text{NaNO}_2$  溶液,摇匀后反应 6 min,再加入 200  $\mu\text{L}$ 、10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液,摇匀反应 6 min 后加入 2 mL、4%  $\text{NaOH}$  溶液,最后用蒸馏水补齐至 5 mL。置于暗处反应 15 min 后,在 510 nm 波长处测定其吸光值。样品中的总酚含量以每升海红酒样中所含芦丁

的毫克数 (mg Rutin/L) 表示。

### 1.3.8 DPPH 清除能力的测定

参照 Barbara 等<sup>[10]</sup>方法,取 1 mL 酒样稀释液与 1 mL DPPH 甲醇溶液混合摇匀,室温下避光反应 30 min 后在 517 nm 下测定吸光值。以 Trolox 为标准品,酒样的 DPPH 清除能力以每升酒样中 Trolox 的当量微摩尔数表示 ( $\mu\text{mol Trolox eq./L}$ )。

### 1.3.9 还原力的测定

参照 Que 等<sup>[11]</sup>方法进行测定,取 1 mL 酒样稀释液,加入 2 mL、0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH=6.6) 和 2 mL、1% 铁氰化钾溶液,混合均匀后于 50  $^\circ\text{C}$  水浴中反应 20 min 后快速冷却,再加入 2 mL、10% 三氯乙酸终止反应,振荡混匀。取 2 mL 上述的反应液,加入 0.4 mL、0.1%  $\text{FeCl}_3$ , 2 mL 蒸馏水,于暗处反应 30 min 后在 700 nm 下测定吸光值。以维生素 C (Vc) 为标准品,酒样的还原力以每升酒样中 Vc 的当量毫克数表示 (mg Vc eq./L)。

### 1.3.10 香气成分测定方法

样品处理:取 15 mL 海红果酒装入 40 mL 的顶空瓶中,加入 5 g  $\text{NaCl}$ ,加盖密封。50  $^\circ\text{C}$  恒温加热平衡 10 min,搅拌速率 500 r/min,用纤维萃取头在瓶中上方顶空萃取 40 min 后取出,在 GC-MS 进样口 230  $^\circ\text{C}$  解析 3 min,不分流进样。

GC-MS 条件参照杨春<sup>[12]</sup>的方法略有改进:升温程序:50  $^\circ\text{C}$  保持 2.5 min,以 6  $^\circ\text{C}/\text{min}$  升至 230  $^\circ\text{C}$ ,保持 3 min,进样口温度为 230  $^\circ\text{C}$ ;载气 (He):流量 1.00 mL/min;传输线温度 240  $^\circ\text{C}$ ;离子源温度为 240  $^\circ\text{C}$ ;质量扫描范围 40~450 u。

香气成分分析:运用计算机谱库 (NIST2014) 进行初步检索及分析,再结合文献进行人工谱图解析,按照气相色谱峰面积归一法计算各香气成分的相对含量。

### 1.3.11 感观评价方法

参照 GB/T 15038-2006 制定海红果酒的感观评价标准见表 1,满分 100 分。由 10 名经过相关培训的人员组成评价小组对 3 种酵母酿造的海红果酒进行感观评价,最终感官评分取其平均值。

表 1 海红果酒感观评价标准

Table 1 Sensory evaluation standards of Haihong wines

项目	评分标准	评分
外观与色泽 (20 分)	澄清、透明,具有海红果酒应有的橙红色泽,悦目平衡	18~20
	澄清、透明,具有海红果酒应有的橙红色泽	15~17
	澄清、无夹杂物,与海红果酒的光泽不符	12~14

转下页

接上页

	微混, 失光	12 分以下
香气 (30 分)	果香酒香协调柔和、浓郁幽雅, 平衡乐人	28~30
	果香、酒香良好	25~27
	果香、酒香较少, 但无异香	22~24
	果香不足, 或使人不悦, 或有异香	18~21
	香气不良, 使人厌恶	18 分以下
滋味 (50 分)	酒体丰满、醇和清香、余味充足、酸甜适口	45~50
	柔和轻快, 回味绵延, 酒质柔顺	40~44
	酒体平衡、纯正无杂	35~39
	略酸、欠浓郁	30~34
	酸涩、苦、平淡、有异味	30 分以下

### 1.3.12 数据统计分析

数据统计分析采用 SPSS 22.0.0 数据处理系统, 所有样品进行 3 次重复, 结果以平均值±标准差(x±s)表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酵母菌种对海红果酒发酵过程中总糖、可

滴定酸含量及产酒精能力的影响

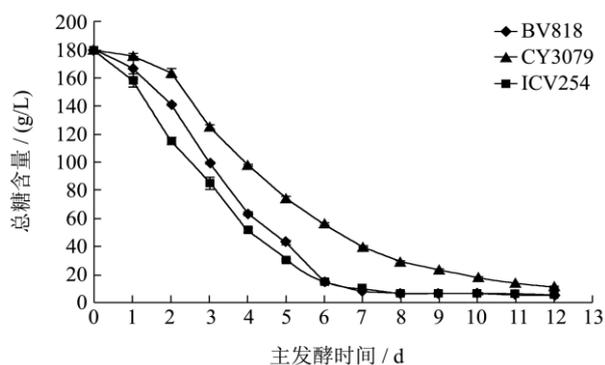


图 1 主发酵过程中总糖含量的变化

Fig.1 Changes in total sugar content during the primary fermentation

酵母菌利用发酵液中的糖分产生酒精和二氧化碳, 因此发酵液中的总糖含量变化可以反映出酵母菌的发酵速率和发酵周期, 是衡量酵母菌发酵能力的重要指标。图 1 中三种酵母发酵液在主发酵过程中总糖含量变化都呈现逐渐下降趋势, 但发酵速率和发酵周期(解释: 发酵周期指海棠果汁经过酵母菌发酵, 产生醇、酸及其酯等多种微量成分所需要的时间)并不相同。酵母 ICV254 发酵速率最快, 酵母 BV818 次之, 酵母 CY3079 发酵速率最慢。酵母 BV818 和酵母 ICV254 发酵周期相近, 在第 8 d 时酵母 BV818 的残

糖量为  $6.80 \pm 0.08$  g/L, 酵母 ICV254 的残糖量为  $6.01 \pm 0.07$  g/L, 之后总糖变化趋于平缓, 表明主发酵结束。在后发酵期间, 酵母 BV818 和酵母 ICV254 总糖变化不明显, 酵母 CY3079 先下降最后趋于平衡, 表明酵母 BV818 和酵母 ICV254 糖分利用率高, 发酵更彻底, 发酵能力优于酵母 CY3079。(解释: 前发酵是酵母将糖转化为酒精的过程, 前发酵结束后, 发酵液中仍含有少量的可发酵性糖类, 加上酵母的再次悬浮, 在贮酒罐内回再次出现一个较为旺盛的发酵过程, 这个过程即称为“后发酵”。依靠这个后发酵过程, 可以完成驱除生酒味、溶解与饱和  $\text{CO}_2$  的作用, 同时可以形成适量的酯, 并有益于酵母、蛋白质凝固物的沉降。后发酵也是由酵母完成的。其时间为主发酵结束后的 30 d)

果酒中适量的有机酸能够柔和其苦涩味, 同时高酸产生的低 pH 环境能够防止杂菌污染。在发酵的前 3 d, 三种酵母发酵液中的滴定酸含量急剧升高, 且酵母 BV818 和酵母 ICV254 较于酵母 CY3079 产酸快, 其原因可能是发酵初期酵母菌繁殖产生大量二氧化碳, 同时酵母菌代谢旺盛产生大量有机酸, 使发酵液中滴定酸含量急剧升高, 与此同时在本实验中采用浸渍发酵, 海棠果中的酸类物质随着发酵的进行不断溶出也使得发酵液的滴定酸含量升高。从第 3 d 开始发酵液中的总酸含量略微下降并趋于平缓, 原因是有机酸被酵母菌代谢吸收, 与酵母自身的降酸能力有关。而在后发酵期间滴定酸含量的变化并不显著, 在发酵结束时酵母 ICV254 的滴定酸含量最低, 且发酵原酒中滴定酸含量均高于发酵原液。

三种酵母菌在发酵海棠果酒中酒精体积分数的变化如图 2 所示。结果表明三种酵母菌的产酒精能力差异不大, 酵母 ICV254 稍高于其他两种酵母菌, 酒精度达到  $8.33 \pm 0.11\%$ 。

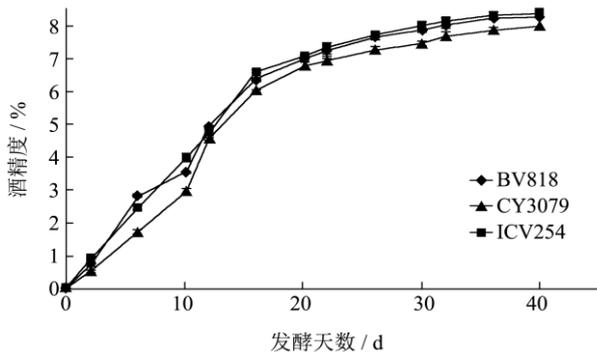


图2 发酵过程中产酒精能力趋势

Fig.2 Changes in alcohol concentration during the fermentation

2.2 酵母菌种对海红果酒发酵过程中总酚及

总黄酮含量的影响

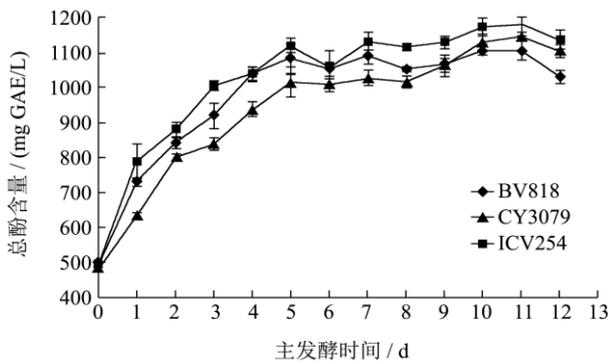


图3 主发酵过程中总酚含量的变化

Fig.3 Changes in total phenolic content during the primary fermentation

在果酒酿造过程中酚类物质是其重要的功能性成分，对果酒的口感和收敛性有决定性作用，同时影响着果酒的色泽、香气以及抗氧化性<sup>[13]</sup>，因此研究总酚的变化及含量能够很好的评价果酒的品质。三种不同酵母菌种对海红果酒主发酵过程中总酚含量的影响见图3。由图3可以看出利用三种酵母菌发酵的酒样在主发酵过程中总酚含量逐渐升高最后趋于平缓，且主发酵结束时总酚含量由初始的488.65±1.39 mg GAE/L上升到1100 mg GAE/L左右，这主要是由于发酵方式为浸渍发酵，海红果中的酚类物质随着发酵的进行会逐渐溶出。发酵前5 d，总酚含量升高趋势较大，且利用酵母BV818和酵母ICV254发酵的酒样中的总酚含量明显高于利用酵母CY3079发酵的酒样中的含量，这可能和微生物的发酵速率有关。5 d后酚类物质含量的升高趋于平缓，发酵后期酚类物质含量略微下降，这可能是酚类物质氧化所造成的。在后发酵期间三种酵母菌发酵液中总酚含量呈缓慢下降趋势，且在利用酵母BV818发酵的酒样中的下降趋势最明显，但三种

酵母发酵原酒中总酚含量均高于发酵原液。

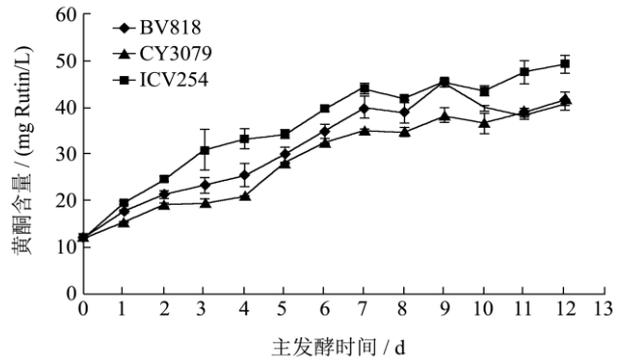


图4 主发酵过程中总黄酮含量的变化

Fig.4 Changes in total flavonoid content during the primary fermentation

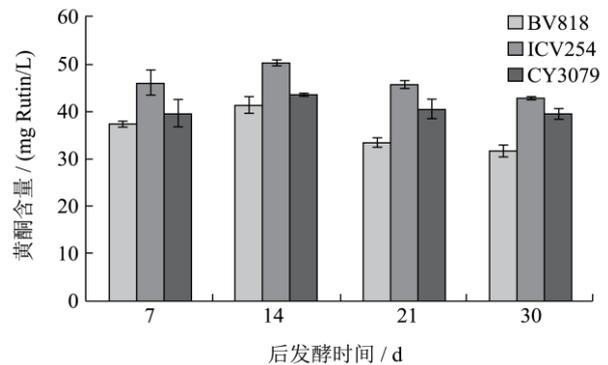


图5 后发酵过程中总黄酮含量的变化

Fig.5 Changes in total flavonoid content during the post-fermentation

三种不同酵母菌种对海红果酒主发酵和后发酵过程中总黄酮含量的影响分别见图4和图5。由图4可以看出三种不同酵母菌发酵的海红果酒在主发酵过程中黄酮含量呈逐渐升高趋势，这主要是由于黄酮不溶于水，易溶于酒精，随着酒精发酵的进行黄酮逐渐溶出使得发酵液中的黄酮含量升高。发酵开始前发酵原液中的黄酮含量为11.74±0.18 mg Rutin/L，主发酵结束时，酵母ICV254的发酵液中黄酮含量最高为49.22±1.99 mg Rutin/L，酵母BV81998和酵母CY3079的发酵液中黄酮含量相近，分别为40.79±0.33 mg Rutin/L和41.31±1.98 mg Rutin/L。由图5可以看出在后发酵过程中，发酵液中黄酮含量呈缓慢降低趋势，酵母BV818降低趋势明显，到发酵结束时黄酮含量为31.60±1.32 mg Rutin/L，酵母ICV254中含量最高为42.64±0.45 mg Rutin/L，酵母CY3079中为39.54±1.28 mg Rutin/L，均高于初始含量。

2.3 酵母菌种对海红果酒发酵过程中抗氧化能力的影响

DPPH 是一种较稳定的深紫色自由基, 在 517 nm 下有最大的吸光值, 但当抗氧化剂存在时能够给 DPPH 提供电子使紫色变浅, 因而其在 517 nm 处的吸光值变小, 从而可以较迅速地了解物质的抗氧化能力。三种不同酵母菌在海红果酒主发酵过程中 DPPH 的清除能力的趋势相同, 在 0~7 d 时发酵液的 DPPH 清除能力逐渐升高, 8 d 开始趋于平缓且略有下降。主发酵结束时, 三种酵母发酵液的 DPPH 的清除能力由初始的  $4168.29 \pm \mu\text{mol Trolox eq./L}$  升高到  $5300.00 \mu\text{mol Trolox eq./L}$  左右, 酵母 ICV254 发酵液的清除能力最高为  $5207.67 \pm 7.22 \mu\text{mol Trolox eq./L}$ , 酵母 BV818 发酵液的清除能力次之为  $5144.50 \pm 5.33 \mu\text{mol Trolox eq./L}$ , 酵母 CY3079 发酵液的清除能力最低为  $4909.03 \pm 6.66 \mu\text{mol Trolox eq./L}$ 。而在后发酵期间, 三种酵母发酵液的 DPPH 清除能力先下降, 最后趋于平缓。且酵母 BV818 发酵液的下降程度最高, 在发酵结束时仅为  $4717.72 \pm 9.33 \mu\text{mol Trolox eq./L}$ , 其余两种酵母发酵液均为  $5100.00 \mu\text{mol Trolox eq./L}$  左右, 显著高于初始发酵液。

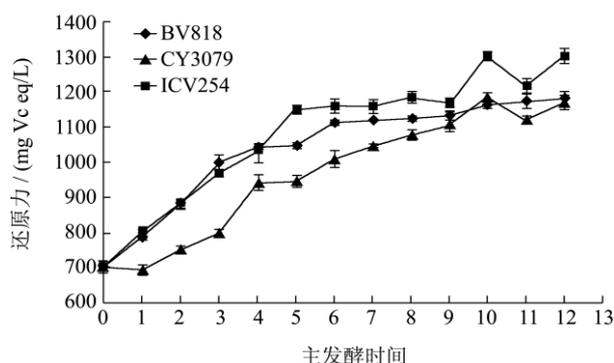


图 6 主发酵过程中还原能力的变化

Fig.6 Changes in reducing capacity during the primary fermentation

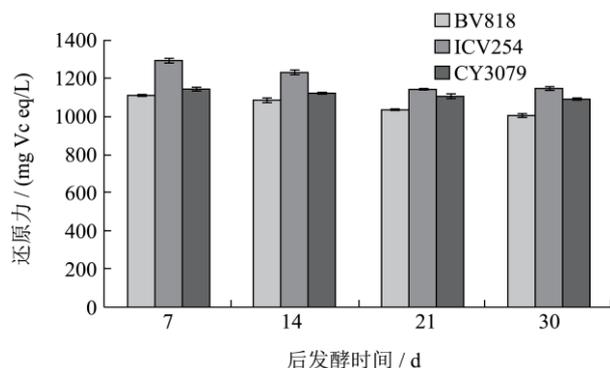


图 7 后发酵过程中还原能力的变化

Fig.7 Changes in reducing capacity during the post-fermentation

三种不同酵母菌种对海红果酒主发酵和后发酵过程中还原能力的影响分别见图 6 和图 7。由图 6 可以

看出三种酵母菌在海红果酒主发酵过程中还原力都为逐渐升高的趋势, 而由图 7 可以看出在后发酵过程中还原力都有略微下降的趋势, 在趋势上并没有表现出酵母间的差异性, 但还原能力的大小却并不相同。这可能是在主发酵过程中随着发酵的进行, 酚类等抗氧化成分逐渐溶解在发酵液中致使发酵液的还原力逐渐上升, 但酵母菌的发酵能力不同, 所以使发酵液中抗氧化成分溶出程度不同进而导致还原能力大小并不相同。在 0~8 d 时酵母 CY3079 发酵液的还原能力明显低于其余两种酵母发酵液, 与三种酵母发酵液中总糖的变化趋势刚好相反, 这说明还原能力可能与微生物的发酵能力相关。在发酵后期, 发酵液中的抗氧化物质被氧化使还原力有所下降。由图 7 可以看出后发酵结束时酵母 ICV254 发酵液的还原能力明显强于酵母 BV818 发酵液和酵母 CY3079 发酵液, 且三者都显著高于初始发酵液。

#### 2.4 三种酵母菌发酵海红果酒的综合评价

三种酵母菌发酵的海红果酒基本理化指标比较见表 2, 各指标的相关性分析见表 3。

从表 2 中可以看出, 三种酵母发酵酒的残糖量在  $5.13 \pm 0.08 \sim 6.85 \pm 0.07 \text{ g/L}$  之间, 达到半干酒的标准, 说明三种酵母菌糖利用率高发酵彻底。但 CY3079 的残糖量显著高于另外两种酵母, 同时由表 3 可以看出残糖量和酒精度呈显著的负相关 ( $p < 0.01$ ), 这是由于酵母菌发酵糖分生成酒精, 相应的 ICV254 发酵酒的残糖量最低酒精度最高, BV818 发酵酒次之, CY3079 发酵酒的酒精度最低。三种酵母发酵酒的总酸含量在  $5.68 \pm 0.05 \sim 5.91 \pm 0.02 \text{ g/L}$  之间, ICV254 发酵酒的总酸含量最低且与另外两种酵母发酵酒的差异显著, 说明酵母 ICV254 的降酸能力较强。酒的颜色是评价酒外观色泽的重要的指标, 酒的颜色越深, 色度值越大, 由表 2 可以看出三种酵母发酵酒的色度值差异显著, CY3079 发酵酒的色度最高, ICV254 发酵酒的次之, BV818 发酵酒的色度最低。海红果酒的感官评价结果表明酵母 ICV254 发酵酒色泽橙红, 澄清透明, 感官评分最高达 81.7 分, CY3079 发酵酒次之, BV818 发酵酒的感官评分最低。

三种酵母菌发酵的海红果酒中总酚、总黄酮含量以及抗氧化能力比较见表 4。海红果酒中的多酚和黄酮是其重要的抗氧化活性物质, 研究酒中总酚、总黄酮含量以及抗氧化能力是评价海红果酒功能性的重要指标。由表 3 可以看出, 总酚和总黄酮含量与 DPPH 清除力和还原力间呈现显著正相关 ( $p < 0.05$ )。由表 4 可以看出 ICV254 发酵酒的总酚含量最高, BV818 发酵

酒的含量显著低于其他两种酵母。三种酵母发酵酒的总黄酮含量差异显著,且含量从高到低依次为 ICV254、CY3079 和 BV818。三种酵母发酵酒的清除 DPPH 能力在 4717.72±9.33~5143.8911.43 μmol Trolox eq./L 之间。发酵酒的还原能力也都很高,且差异显著。

综合分析发现 BV818 发酵酒的 DPPH 清除力以及还原力均显著低于其他两种酵母。ICV254 发酵酒的 DPPH 清除力和 CY3079 发酵酒的差异不显著,但 ICV254 发酵酒的还原力显著高于 CY3079 发酵酒。

表 2 海红果酒的基本理化指标比较

Table 2 Comparison of basic physical and chemical characteristics of Haihong wines

酵母菌	酒精度/%	残糖/(g/L)	总酸/(g/L)	色度	感官评价/分
BV818	8.26±0.04 <sup>ab</sup>	5.24±0.12 <sup>a</sup>	5.82±0.05 <sup>a</sup>	1.422±0.002 <sup>c</sup>	76.9
ICV254	8.33±0.11 <sup>a</sup>	5.13±0.08 <sup>a</sup>	5.68±0.05 <sup>b</sup>	1.500±0.005 <sup>b</sup>	81.7
CY3079	7.99±0.06 <sup>b</sup>	6.85±0.07 <sup>b</sup>	5.91±0.02 <sup>a</sup>	1.764±0.007 <sup>a</sup>	79

注: 同列字母不同表示差异显著(p<0.05)。

表 3 海红果酒各指标相关性分析

Table 3 Correlation analysis of Haihong wines

相关系数	酒精度	残糖量	总酸	色度	总酚	总黄酮	DPPH 清除力	还原力
酒精度	1							
残糖量	-0.99**	1						
总酸	-0.9	0.83	1					
色度	-0.91	0.96*	0.65	1				
总酚	-0.16	0.29	-0.29	0.54	1			
总黄酮	-0.05	0.19	-0.39	0.45	0.99**	1		
DPPH 清除力	-0.3	0.43	-0.15	0.66	0.99*	0.97*	1	
还原力	0.1	0.04	-0.53	0.31	0.97*	0.99*	0.92	1

注: \*p<0.05; \*\*p<0.01。

表 4 海红果酒的总酚、黄酮含量以及抗氧化能力比较

Table 4 Comparison of total phenolic and flavonoid compound content and antioxidant activity of Haihong wines

酵母菌	总酚 /(mg GAE/L)	总黄酮 /(mg Rutin/L)	抗氧化能力	
			DPPH 清除力/(μmol Trolox eq./L)	还原力/(mg Vc eq./L)
BV818	915.86±5.13 <sup>b</sup>	31.60±1.32 <sup>c</sup>	4717.72±9.33 <sup>b</sup>	1002.95±11.96 <sup>c</sup>
ICV254	1066.85±16.91 <sup>a</sup>	42.64±0.45 <sup>a</sup>	5143.89±11.43 <sup>a</sup>	1146.63±2.66 <sup>a</sup>
CY3079	1039.47±16.44 <sup>a</sup>	39.54±1.28 <sup>b</sup>	5132.24±15.12 <sup>a</sup>	1086.63±8.70 <sup>b</sup>

注: 同列字母不同表示差异显著(p<0.05)。

## 2.5 三种酵母菌发酵海红果酒香气成分的比较

三种酵母发酵酒中共检测出 24 种香气成分,其中共有香气成分有 12 种。这些香气成分主要包括醇类 11 种、酸类 3 种、酯类 9 种和醛类 1 种。酵母 BV818 发酵酒中共检测出 15 种香气成分,酵母 ICV254 发酵酒中共检测出 19 种香气成分,酵母 CY3079 中共检测出 18 种香气成分,酵母 ICV254 发酵酒香气成分的 GC-MC 总离子色谱图见图 8。

在醇类方面,三种酵母发酵酒共有的香气成分有 5 种。除乙醇外,三种发酵酒中 3-甲基丁醇含量都最

高,3-甲基丁醇具有奶酪味这构成了海红果酒的特征香气。三种发酵酒中都含有的丙醇香气清新,2-甲基丙醇具有苦杏仁味,苯乙醇具有玫瑰花香和蔷薇香气。同时三种酵母中各自检测出的醇类也构成其特有的香气,如 CY3079 中检测出的丁醇香气醉人。

在酯类方面,三种酵母发酵酒共有的香气成分有 5 种。BV818 和 ICV254 的发酵酒中,酯类相对含量最高的是乙酸乙酯。而 CY3079 中相对含量最高的是辛酸乙酯,其具有白兰地酒的香气,其次才为乙酸乙酯。酯类香气主要是酵母菌活动以及在漫长的陈酿过程中产生的,大多数都具有明显的花果香,如癸酸乙酯具有葡萄酒的香气,是海红果酒中重要的香气成分。

其他的酸类和醛类在三种海红果发酵酒中很少,

检出酸类 3 种, 辛酸为三者共有酸类且相对含量最高, 己酸和癸酸在 BV818 和 ICV254 中检出而 CY3079 中未检出, 且三种酒中都仅检出乙醛一种醛类。

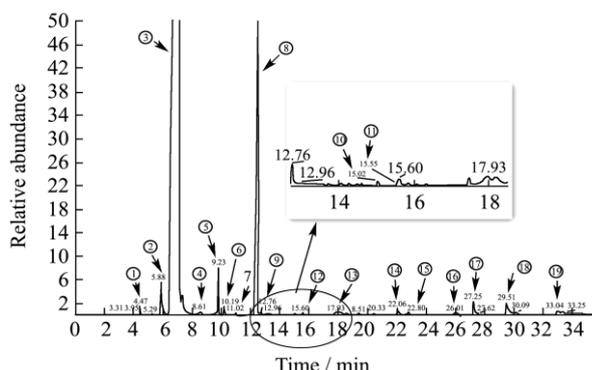


图 8 ICV254 发酵的海红果酒 SPME-GC-MS 总离子图

Fig.8 SPME-GC-MS total ion chromatogram of aroma components of ICV254-fermented wine

注: ①乙醛, ②乙酸乙酯, ③乙醇, ④丙醇, ⑤2-甲基丙醇, ⑥3-甲基乙酸丁酯; ⑦甲酸丁酯, ⑧3-甲基丁醇, ⑨己酸乙酯, ⑩3,4-2 甲基戊醇, ⑪2,3-丁二醇, ⑫乙醇, ⑬辛酸乙酯, ⑭癸酸乙酯, ⑮丁二酸二乙酯, ⑯己酸, ⑰苯乙醇, ⑱辛酸, ⑲癸酸。

### 3 讨论

本研究选取三种不同酵母菌种发酵海红果酒, 监测了主发酵 (12 d) 和后发酵 (1 个月) 期间发酵液中基本的糖酸变化、总酚和总黄酮含量的变化、抗氧化能力的变化以及三种酵母发酵酒中香气组分的差异, 发现在发酵过程中各指标的变化趋势并没有表现出显著的酵母间差异, 但是各指标的数值大小高低间存在很大的不同, 同时三种酵母发酵所得酒在基本理化指标、总酚和总黄酮含量、抗氧化能力上存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。李国薇<sup>[14]</sup>的研究表明酵母菌种对苹果酒发酵过程中基本理化指标、总酚含量及其各抗氧化能力的总体变化趋势大体相同, 但对各指标变化的水平有显著影响。其中我们可以通过观测酵母菌发酵过程中总糖的利用速率来比较酵母菌的发酵速率和发酵周期, 比较总酚和总黄酮含量以及抗氧化能力的变化来分析不同酵母菌种对海红果酒功能性的影响, 进而判断适宜海红果酒发酵的酵母菌。

Li N 等<sup>[15]</sup>研究发现, 10 种苹果属海棠乙醇提取物中多酚含量为  $(302.83 \sim 1265.94) \times 10^{-2}$  mg GAE/g, 黄酮含量为  $(352.45 \sim 2351.74) \times 10^{-2}$  mg RE/g, 比报道的苹果中含量高很多, 且具有很高的抗氧化活性。在本研究中海红果酒中保留了多酚和黄酮等抗氧化活性成分, 且在酵母菌间存在显著差异 ( $p < 0.05$ ), 可作为评价酵母菌的重要指标。庄慧婷等人<sup>[16]</sup>测定了发酵石榴酒中

的多酚含量, 在 497.7~841.3 mg GAE/L 之间, 远小于海红果酒中的多酚含量 ( $915.86 \pm 5.13 \sim 1066.85 \pm 16.91$  mg GAE/L), 说明在抗氧化活性物质方面, 海红果酒要优于石榴酒。同时在本文中多酚和黄酮含量与 DPPH 清除能力、还原力间存在极显著的正相关 ( $p < 0.05$ ), 这与 He G 等<sup>[17]</sup>研究山楂酒中多酚含量和 DPPH 清除能力和 FRAP 值之间存在显著正相关类似。从表 3 可以看出, 三种酵母发酵的海红果酒的 DPPH 清除力为  $4717.72 \pm 9.33 \sim 5143.89 \pm 11.43$   $\mu\text{mol Trolox eq./L}$  (总酒样 2 L, 用干果 500 g, 换算得 DPPH 清除力为  $(1.89 \sim 2.06) \times 10^{-2}$  mmol Trolox eq./g DW), 总还原力大小为  $1002.95 \pm 1.96 \sim 1146.63 \pm 12.66$  mg Vc eq./L。而枣 DPPH 清除力为  $(1.35 \sim 3.81) \times 10^{-2}$  mmol Trolox eq./g FW, 石榴的总抗氧化性为  $4.06 \times 10^{-2}$  mmol Trolox eq./g FW, 番茄汁的为  $2.36 \times 10^{-2}$  mmol Trolox eq./g FW<sup>[18]</sup>, 从比较结果可以看出海棠果酒具有相当强的抗氧化活性。但具体的海红果酒中酚类物质组成和含量及其与抗氧化能力间的关系仍待进一步的研究。

同时, 酵母菌种对果酒香气的组成有很大的影响。周元等<sup>[19]</sup>通过比较三种酵母发酵的猕猴桃酒中香气成分发现, 除了共有组分外, 各猕猴桃酒中还含有各自特有的香气组分。本研究通过 SPME-GC-MS 方法定性测定了三种酵母发酵酒的香气成分, 比较发现也有上述类似的结论, 同时还发现 3-甲基丁醇为三者的主要特征香气, 但本研究中仅检测出 24 种香气成分, 这可能与发酵采用的原料工艺以及测定时 GC-MS 条件有关, 需要进一步的研究。

### 4 结论

本试验对三种酵母菌发酵的海红果酒进行了各理化指标、总酚、总黄酮、抗氧化能力以及香气成分的研究, 结果显示酵母 ICV254 的发酵能力最优, 所得发酵酒的酒精度高、残糖量及酸度低、感官评分好, 同时总酚和总黄酮含量高、抗氧化能力最强, 且香气成分为 19 种, 是三种酵母菌中测得香气最多的菌种, 说明酵母 ICV254 具有良好的发酵、产酒和产香能力, 是研究的三种酵母菌中的最优菌种, 也是发酵海红果酒的理想发酵菌种。

### 参考文献

[1] 赵亮, 李青山. 海红果[J]. 食品与药品, 2007, 9(7A): 71-72  
ZHAO Liang, LI Qing-shan. Fruit of *micromalus Makino* [J]. Food and Drug, 2007, 9(7A): 71-72

- [2] 王猛,王敏,李环宇,等.海红果酚类物质种类及其抗氧化能力的研究[J].现代食品科技,2013,29(11):2633-2637  
WANG Meng, WANG Min, LI Huan-yu, et al. Malus micromalus makino polyphenols and its antioxidant activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2633-2637
- [3] 梁杰,赵福诗,遇艳萍,等.速冻与缓冻贮藏对不同成熟度海红果主要化学成分的影响[J].内蒙古农业科技,2012,1:44-46  
LIANG Jie, ZHAO Fu-shi, YU Yan-ping, et al. Effect of quick-frozen and slow freezing storage on main chemical constituents of different maturity malus prunifolia [J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2012, 1: 44-46
- [4] 李莉莉.海红果酒的制备与分析[D].太原:山西大学,2008  
LI Li-li. Preparation and analysis of haihong fruit wine [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2008
- [5] GB/T 15038-2006,葡萄酒、果酒通用分析方法[S]  
GB/T 15038-2006, Analytical methods of wine and fruit wine [S]
- [6] 梁冬梅,李记明,林玉华.分光光度法测葡萄酒的色度[J].中外葡萄与葡萄酒,2002,3:9-10,13  
LIANG Dong-mei, LI Ji-ming, LIN Yu-hua. Measuring the color of red wine by a spectrophotometer [J]. Sino-overseas Grapevine & Wine, 2002, 3: 9-10,13
- [7] 武平,赵文婧,徐晓娇,等.测定葡萄酒中总糖方法的探讨[J].中国酿造,2011,1:163-165  
WU Ping, ZHAO Wen-Jing, XU Xiao-Jiao, et al. Methods for determination of total sugar content in wine [J]. China Brewing, 2011, 1: 163-165
- [8] Gao Q H, Wu P T, Liu J R, et al. Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba Mill.*) cultivars grown in loess plateau of China [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(1): 67-72
- [9] Wolfe K, Wu X, Liu R H. Antioxidant activity of apple peels [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(3): 609-614
- [10] Barbara K, Anna P, Barbara M, et al. Phenolic composition and antioxidant properties of Polish blue-berried honeysuckle genotypes by HPLC-DAD-MS, HPLC postcolumn derivatization with ABTS or FC, and TLC with DPPH visualization [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(7): 1755-1763
- [11] Que F, Mao L, Pan X. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds [J]. Food Research International, 2006, 39(5): 581-587
- [12] 杨春,李莉莉,林勤保,等.海红果香气成分的气相色谱-质谱分析[J].食品科学,2009,30(20):285-287  
YANG Chun, LI Li-li, LIN Qin-bao, et al. GC-MS Analysis of volatile components in fruits of *Malus micromalus* Makino [J]. Food Science, 2009, 30(20): 285-287
- [13] Marquez A, Serratos M P, Lopez-Toledano A, et al. Colour and phenolic compounds in sweet red wines from Merlot and Tempranillo grapes chamber-dried under controlled conditions [J]. Food Chemistry, 2012, 130(1): 111-120
- [14] 李国薇.苹果品种及酵母菌种对苹果酒品质特性影响的研究[D].陕西:西北农林科技大学,2013  
LI Guo-wei. Effect of apple variety and yeast on quality characteristic of apple wines [D]. Shanxi: Northwest A & F University, 2013
- [15] Li N, Shi J, Wang K. Profile and antioxidant activity of phenolic extracts from 10 crabapples (*malus wild species*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(3): 574-581
- [16] 庄慧婷.发酵石榴酒及其抗氧化性研究[D].泰安:山东农业大学,2011  
ZHUANG Hui-ting. Study on pomegranate wines and its antioxidant capacity [D]. Taian: Shangong Agricultural University, 2011
- [17] He G, Sui J, Du J, et al. Characteristics and antioxidant capacities of five hawthorn wines fermented by different wine yeasts [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2013, 119(4): 321-327
- [18] Fu L, Xu B T, Xu X R, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits [J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 345-350
- [19] 周元,贲浩,傅虹飞.酵母菌株对猕猴桃果酒香气成分的影响[J].现代食品科技,2014,30(12):263-270  
ZHOU Yuan, BEN Hao, FU Hong-fei. Effect of yeast strains on the aromatic composition of Kiwifruit wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(12): 263-270