

酿造条件对苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量的影响

曾朝珍, 康三江, 张霁红, 张芳, 张海燕, 袁晶

(甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃兰州 730070)

摘要: 采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用(HS-SPME-GC-MS)分析了酿酒酵母菌种、发酵温度、酵母接种浓度、可同化氮和碳源对苹果白兰地酿造过程中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量的影响。结果表明, 采用酿酒酵母(CICC 32130)、发酵温度20℃, 酵母接种浓度 1×10^4 cfu/mL的发酵条件苹果白兰地酒中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量相对较低; 可同化氮与苹果白兰地酿造中高级醇的形成密切相关, 在发酵液中添加适宜的铵态氮有利于降低异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量, 但是不宜大量添加一种氨基酸, 以防相应的高级醇大量产生; 而为提高酒精度在苹果白兰地酿造中过多添加碳源不仅会阻碍酵母的正常代谢, 还会因其它营养物质的相对缺乏导致酵母异常发酵, 进一步导致苹果白兰地酒中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量的增加。

关键词: 苹果白兰地; 异丁醇; 异戊醇; 苯乙醇; 影响条件

文章编号: 1673-9078(2018)12-167-174

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.12.025

Effects of Fermentation Conditions on Content of Isobutanol, Isoamyl Alcohol and Phenylethyl Alcohol in Apple Brandy

ZENG Chao-zhen, KANG San-jiang, ZHANG Ji-hong, ZHANG Fang, ZHANG Hai-yan, YUAN Jing

(Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The effects of yeast species, fermentation temperature, inoculation concentration, assimilable nitrogen and carbon source on content of isobutanol, isoamyl alcohol and phenylethyl alcohol were analyzed by headspace solid-phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The results showed that the contents of isobutanol, isoamyl alcohol and phenylethyl alcohol in apple brandy were relatively low with *Saccharomyces cerevisiae* (CICC 32130), fermentation temperature at 20 °C, inoculation concentration of 1×10^4 cfu/mL in apple brandy brewing process. Assimilable nitrogen is closely related to the formation of higher-alcohols, which could help reduce the contents of isobutanol, isoamyl alcohol and phenylethyl alcohol in the suitable concentration. Otherwise, the corresponding higher alcohols are produced when adding large amount of one amino acid. However, in order to improve the alcoholicity of apple brandy, excessive sugar is added that it is not only hinder the normal metabolism of yeast, but also lead to abnormal fermentation of yeast due to the relative lack of other nutrients, which can further lead to the increase of isobutanol, isoamyl alcohol and phenylethanol in apple brandy.

Key words: apple brandy; isobutanol; isoamyl alcohol; phenylethyl alcohol; influencing factors

苹果产业是甘肃省的特色优势产业, 也是主产区农民增收的支柱产业。近年来, 随着我国人口不断增多, 耕地面积减少, 面临粮食短缺的危机, 需要大量

收稿日期: 2018-08-15

基金项目: 甘肃省农业科学院农业科技创新专项项目(2017GAAS87); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(GARS-27); 甘肃省林业科技计划项目(2017kj053); 甘肃省农业生物技术研究与应用开发项目(GNSW-2016-20); 国家自然科学基金项目(31460449)

作者简介: 曾朝珍(1981-), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 康三江(1977-), 男, 研究员, 研究方向: 果蔬贮藏加工技术

进口。若能以水果代替部分粮食酿酒, 不仅能够消化利用苹果资源, 缓解供需矛盾, 稳定苹果产业, 同时也能满足国人擅饮高度酒的嗜好, 又符合我国酒业发展战略。苹果白兰地是苹果经破碎榨汁、酒精发酵、蒸馏、橡木桶陈酿而成的新型水果类白酒^[1]。高级醇是指在酿酒过程中由酵母分解蛋白质、氨基酸及糖类而产生的及具有强烈气味的含有六个碳原子以上一元醇的高沸点混合物^[2]。发酵酒的香气特征和口感与高级醇的种类和含量有关, 发酵酒中的高级醇主要有正丙醇、异丁醇、正丁醇、正戊醇、异戊醇、 β -苯乙醇

等^[3,4],但过高含量的高级醇会使人产生头疼、恶心等症状,对人体健康造成危害^[5]。苹果白兰地酿造过程中酵母酒精发酵会产生高级醇,发酵因素影响高级醇的含量,发酵工艺决定着高级醇含量的高低^[6],酵母的代谢途径和次级代谢产物的生成量都会随着发酵因素的改变而发生变化^[7]。高级醇是苹果白兰地中重要的风味物质,其含量的高低对酒体的风味及品质有很大的影响,有必要研究不同发酵因素下高级醇含量的产生机制及变化规律,以期能够有效控制苹果白兰地中高级醇的含量。目前,关于苹果白兰地酿造过程中发酵因素对高级醇影响的研究鲜有报道。前期的实验研究发现异丁醇、异戊醇及苯乙醇是苹果白兰地中主要的高级醇,因此,本文以甘肃庆阳富士苹果为原料,主要研究了苹果白兰地酿造过程中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量的变化,评价不同发酵因素对苹果白兰地酒中主要高级醇含量的影响,以期对苹果白兰地生产中高级醇的生成控制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌株:酿酒酵母(CICC 31084、CICC 31085、CICC 32178、CICC 32130、CICC 32168),均由中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC)提供。

材料:富士苹果(*Malus pumila* Mill):采自甘肃庆阳市。

试剂:3-辛醇:色谱纯,美国Sigma公司。

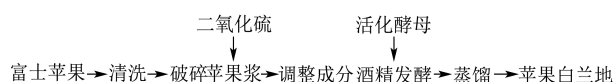
培养基:PDA培养基:马铃薯200g、葡萄糖20g、琼脂20g、马铃薯去皮,切成块煮沸30min,然后纱布过滤,再加糖及琼脂,融化后补足水至1000mL,121℃灭菌30min,液体培养基不加琼脂。

1.2 仪器与设备

三重四级杆气质联用仪(GC型号:TRACE 1310,MS型号:ISQ-LT),美国赛默飞世尔科技公司;LRH-70型恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;YXQ-LS-75G型立式压力蒸汽灭菌锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Breville-BJE500F型榨汁机,澳大利亚铂富公司。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺流程



1.3.2 菌种制备

将酿酒酵母保藏菌种转接于PDA试管斜面培养基上,28℃培养48h。从保存的斜面培养基中用接种环挑去2~3环菌苔接种于装有100mL液体PDA培养基的250mL三角瓶中,28℃培养48h,培养结束后用血球计数板计数确定不同酿酒酵母浓度,4℃冰箱保存备用。

1.3.3 发酵条件对苹果白兰地主要高级醇形成的影响研究

1.3.3.1 酿酒酵母对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

将破碎榨汁后的苹果汁分装到500mL的三角瓶中,装液量为400mL,在苹果汁中分别接种酿酒酵母(CICC 31084、CICC 31085、CICC 32178、CICC 32130、CICC 32168),接种量为6%,接种浓度为 1×10^4 cfu/mL,在20℃进行恒温发酵,发酵过程中当二氧化碳失重量不再变化时则发酵结束。发酵结束后蒸馏取样,测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.3.2 发酵温度对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

相同工艺流程下在苹果汁中接种酿酒酵母(CICC 32130),分别以20、25、30、35℃进行恒温发酵,发酵结束后蒸馏取样,测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.3.3 酵母接种浓度对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

相同工艺流程下在接种浓度分别为 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 和 1×10^7 cfu/mL条件下20℃进行恒温发酵,发酵结束后蒸馏取样,测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.4 可同化氮对苹果白兰地主要高级醇形成的影响研究

1.3.4.1 氨基酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

将破碎榨汁后的苹果汁分装到500mL的三角瓶中,装液量为400mL,在苹果汁中分别接种酿酒酵母(CICC 32130),接种量为6%,接种浓度为 1×10^4 cfu/mL,称取不同质量的缬氨酸、亮氨酸及苯丙氨酸添加到苹果汁发酵液中,使得苹果汁发酵液中氨基氮的添加达到0、50、100、150、200mg N/L的浓度,在20℃进行恒温发酵,发酵过程中当二氧化碳失重量不再变化时则发酵结束。发酵结束后蒸馏取样,测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.4.2 铵态氮添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

相同发酵工艺条件下称取不同质量的氯化铵、磷酸氢二铵添加到苹果汁发酵液中,使得苹果汁发酵液中铵态氮的添加达到0、100、200、300、400 mg N/L的浓度,20℃进行恒温发酵,结束后蒸馏取样测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.5 碳源对苹果白兰地主要高级醇形成的影响研究

相同发酵工艺条件下称取不同质量的蔗糖和葡萄糖添加到苹果汁发酵液中,添加量分别为0%、2%、4%、8%、16%,20℃进行恒温发酵,结束后蒸馏取样测定苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量。

1.3.6 分析方法

1.3.6.1 样品预处理方法

将苹果白兰地酒样稀释5倍,分别取5 mL稀释后样品加入50 μL 3-辛醇内标,漩涡混匀,装入15 mL顶空瓶中,样品由TriPlus RSH Autosampler-SPME系统自动处理进样,萃取头:50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头。萃取条件:60℃吸附40 min,保温5 min。

1.3.6.2 样品分析方法

GC条件:进样口温度25℃,载气He,流速1.2 mL/min。进样量1 μL,分流进样,分流比40:1。色谱柱为DB-WAX(30 m×0.25 mm×0.25 μm),升温程序40℃恒温2 min,以5℃/min的升温速度升至180℃,然后以15℃/min的升温速度升至230℃,保持5 min。MS条件:EI离子源,电子能量70 eV,离子源温度200℃,接口温度250℃。扫描范围33.00~350.00 u。

1.3.6.3 二氧化碳失重量测定

采用失重法,二氧化碳失重量=发酵前称重-发酵后称重。

1.4 数据处理

本研究通过Excel 2003进行试验数据汇总处理,采用DPS 7.05进行显著性差异分析($p < 0.05$)及origin 8.0软件对实验数据进行作图分析。

2 结果与分析

2.1 发酵条件对苹果白兰地主要高级醇形成的影响研究

2.1.1 酵母种类对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

不同酿酒酵母对苹果白兰地发酵中主要高级醇形成的影响结果如图1所示。

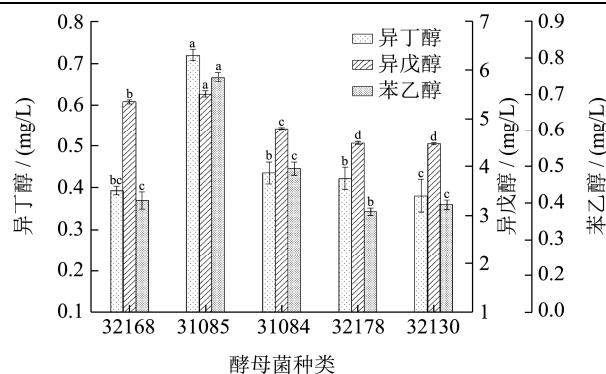


图1 酵母种类对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.1 Effect of yeast species on the content of higher alcohols in apple brandy

注:不同小写字母代表差异显著($p < 0.05$),图2~10同。

图1方差分析结果表明,酿酒酵母(CICC 31084、CICC 31085、CICC 32178、CICC 32130、CICC 32168)发酵产生的主要高级醇含量差异显著($p < 0.05$),其中酿酒酵母(CICC 31085)发酵产生的异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量最高且与其它酿酒酵母相比差异显著($p < 0.05$),分别达到了0.71 mg/L、5.56 mg/L和0.74 mg/L,而酿酒酵母(CICC 32130)发酵产生的异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量最低分别为0.35 mg/L、4.46 mg/L和0.39 mg/L,比酿酒酵母(CICC 31085)发酵的含量低50.7%、19.8%和47.3%;另外,不同酵母菌发酵产生异丁醇、异戊醇及苯乙醇的能力不同,其中异戊醇的含量最高,与异丁醇和苯乙醇存在显著差异性($p < 0.05$)。试验结果表明,不同发酵菌种对异丁醇、异戊醇及苯乙醇形成的影响是显著的,不同酵母菌产生主要高级醇的能力有显著差异性。其它一些研究也证实,发酵菌种对高级醇成分的影响较大^[8-9],高级醇中异戊醇的产量较高^[10]。因此可以通过选择适宜的酵母菌种来调控苹果白兰地中主要高级醇的含量^[11]。

2.1.2 发酵温度对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

不同发酵温度对苹果白兰地发酵中主要高级醇形成的影响结果如图2所示。

由图2结果可以看出,除了发酵温度25℃以外,其它发酵温度产生的异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量差异不显著($p > 0.05$)。随着发酵温度的升高,异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量也在增加,当发酵温度为25℃时,酵母发酵产生的异丁醇、异戊醇及苯乙醇含量最高,分别达到了0.37 mg/L、4.79 mg/L和0.41 mg/L,与发酵温度为20℃时的含量相比分别提高了32.1%、47.8%和95.2%;但是随着发酵温度的进一步升高,异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量并未随温度的升高而增加,相反其含量降低。经分析认为酵母的高级醇脱氢

酶活力与其产高级醇的能力有关且呈正相关, 酵母代谢过程中脱氢酶的活性因发酵温度的影响而引起了高级醇总量显著性变化。因此, 降低发酵温度可以减少高级醇的生成量^[12], 而于涛等^[13]的研究认为发酵温度对高级醇生成的影响主要是通过抑制酵母的生长繁殖来实现。

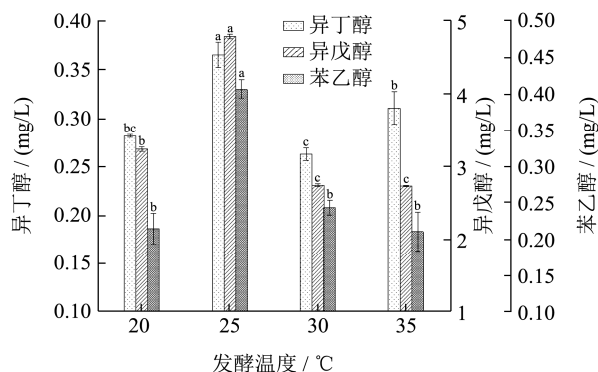


图2 发酵温度对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.2 Effect of fermentation temperature on the content of higher alcohols in apple brandy

2.1.3 酵母接种浓度对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

酿酒酵母接种浓度对苹果白兰地发酵中主要高级醇形成的影响结果如图3所示。

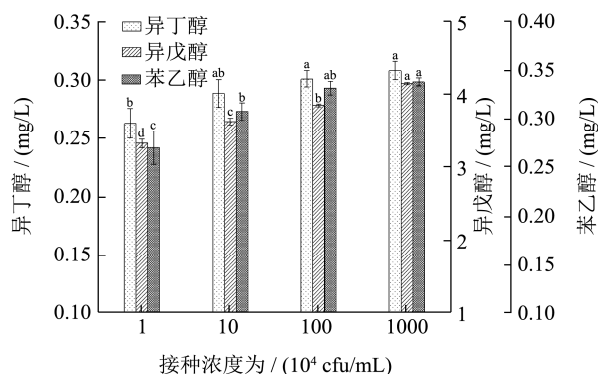


图3 酵母接种浓度对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.3 Effect of inoculum size on the content of higher alcohols in apple brandy

酵母接种浓度对苹果白兰地主要高级醇形成的影响如图3所示, 苹果白兰地中异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量都随着酵母接种浓度的增大而增大且不同接种浓度处理差异显著 ($p < 0.05$); 在接种浓度为 1×10^7 cfu/mL 时含量最大分别为 0.31 mg/L、4.16 mg/L 和 0.34 mg/L, 比接种浓度为 1×10^4 cfu/mL 时的含量分别增加了 19.2%、24.9% 和 25.9%。以上结果表明, 酵母的接种浓度大使酵母繁殖量增大, 发酵速度快, 代谢生成的高级醇的含量增大。MATEO JJ 等^[14]的研究也认为发酵中高级醇的含量会随着酵母接种量的提高而增多, 而甄会英等^[15]的研究表明高级醇的生成量都会因

酵母浓度过高或过低而增大。酵母菌添加量的变化对高级醇生成有抑制作用, 异丁醇随酵母添加量增大而不断增加且增加幅度较大, 而正丁醇和异戊醇的含量与酵母添加量呈负相关^[16], 另外, 也有研究认为大部分高级醇是在主发酵期间随酵母繁殖而形成, 主发酵结束后高级醇的含量几乎不再发生变化^[17-19]。因此, 选择适宜的酵母接种浓度是控制高级醇生成的有效方式。

2.2 氨基酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

2.2.1 缬氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

缬氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响结果如图4所示。

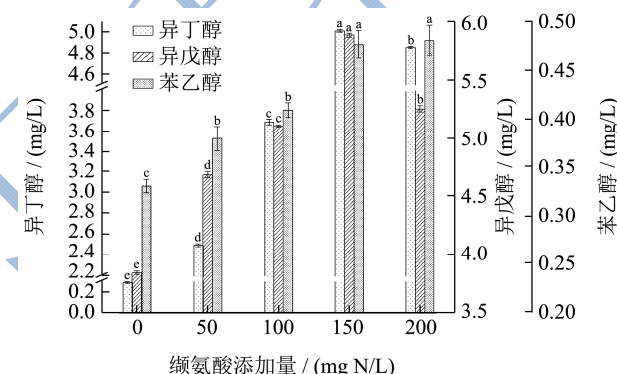


图4 缬氨酸对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.4 Effect of valine on the content of higher alcohols in apple brandy

由图4可知, 缬氨酸添加后异丁醇、异戊醇和苯乙醇含量均显著高于对照 ($p < 0.05$), 其中缬氨酸添加后, 异丁醇的含量显著增加且与各浓度处理相比差异显著 ($p < 0.05$), 当缬氨酸添加量为 150 mg N/L 时, 异丁醇含量最高为 5.02 mg/L, 与未添加缬氨酸相比含量增加 1573.3%, 再随着浓度升高至 200 mg N/L 时, 异丁醇含量降低至 4.86 mg/L 且与 150 mg N/L 浓度处理相比差异显著 ($p < 0.05$); 异戊醇的含量变化趋势与异丁醇相似, 在添加量为 150 mg N/L 时, 异戊醇含量最高为 5.90 mg/L, 但与异丁醇含量变化相比上升幅度较小, 比未添加缬氨酸发酵的含量增加 53.2%, 再随着浓度升高其含量降低至 5.27 mg/L 且与 150 mg N/L 浓度处理相比差异显著 ($p < 0.05$); 苯乙醇的含量也随缬氨酸添加量的增加而增加, 在添加量为 200 mg N/L 时含量最高为 0.48 mg/L, 比未添加缬氨酸发酵的含量增加 45.5%, 但与添加量为 150 mg N/L 时的含量相比, 苯乙醇的含量维持在一个相对稳定的水平且差异不显

著 ($p>0.05$)。图 5 结果表明, 缬氨酸的添加对异丁醇含量影响最为显著, 使异丁醇的含量显著增加, 异丁醇的形成与缬氨酸具有很强的相关性。有研究表明, 缬氨酸的添加可导致异丁醇产量显著增加^[20], 同时高级醇的代谢途径也表明缬氨酸的添加促进了异丁醇的分解代谢途径, 导致缬氨酸分解产生异丁醇而使其含量增大。

2.2.2 亮氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

亮氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响结果如图 5 所示。

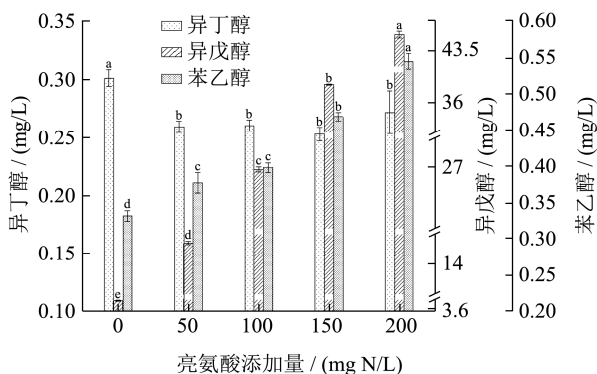


图 5 亮氨酸对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.5 Effect of leucine on the content of higher alcohols in apple brandy

图 5 结果表明, 亮氨酸添加后异丁醇、异戊醇和苯乙醇含量均与对照差异显著 ($p<0.05$), 其中, 亮氨酸添加后异丁醇含量降低, 与对照相比分别降低了 13.7%、13%、15.7%和 9.3%, 但各浓度之间含量差异不显著 ($p>0.05$); 在亮氨酸添加范围内, 异戊醇的含量随着亮氨酸添加量的增加而显著增加且各浓度处理差异显著 ($p<0.05$), 当亮氨酸的添加量为 200 mg N/L 时, 异戊醇含量显著增加达到 44.04 mg/L, 且与未添加亮氨酸相比含量增加 1043.9%; 苯乙醇的含量也随着亮氨酸添加后发生变化, 与对照相比分别增加了 14.5%、20.6%、42.1%和 65.2%, 且添加不同浓度亮氨酸后苯乙醇的含量与未添亮氨酸相比差异显著 ($p<0.05$); 各添加浓度之间除了 50 mg N/L 与 100 mg N/L 之间苯乙醇含量差异不显著外 ($p>0.05$), 其它添加浓度之间苯乙醇含量差异显著 ($p<0.05$)。由图 5 结果可以看出, 添加亮氨酸使异戊醇的含量逐渐增加, 随着添加量的继续增加异戊醇含量变化显著。有研究表明, 异戊醇含量的增加是因亮氨酸添加而导致的^[21], 因此, 添加氮源时不宜大量添加一种氨基酸, 以防相应的高级醇大量产生, 同时此试验结果也验证了分解代谢途径中特定氨基酸生成特定高级醇的理论。

2.2.3 苯丙氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇

形成的影响

苯丙氨酸添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响结果如图 6 所示。

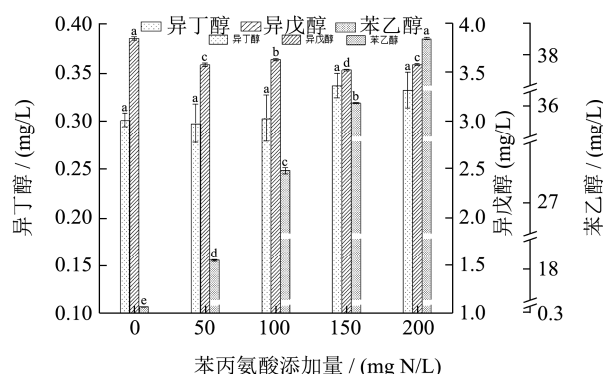


图 6 苯丙氨酸对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.6 Effect of phenylalanine on the content of higher alcohols in apple brandy

由图 6 可知, 苯丙氨酸添加后使得苯乙醇的含量在各浓度及对照之间差异显著 ($p<0.05$), 苯乙醇的含量随苯丙氨酸添加量的增加呈显著性增长, 当苯丙氨酸的添加量为 200 mg N/L 时, 苯乙醇含量达到了 38.53 mg/L, 且与对照相比显著增加了 11575.8%; 异丁醇的含量除了苯丙氨酸添加量为 50 mg N/L 时比对照降低了 0.7%以外, 其它各添加浓度下异丁醇含量均比对照增加 1%、12.3%和 10.7%, 但各浓度之间其含量与对照相比均无显著差异性 ($p>0.05$); 异戊醇的含量与对照相比含量降低且差异显著 ($p<0.05$)。单独添加苯乙醇合成的前体氨基酸苯丙氨酸时, 仍能显著提高酒中苯乙醇的含量, 说明苯乙醇的含量与苯丙氨酸的添加量呈正相关^[22]。同时由高级醇的代谢途径可知, 随着苯丙氨酸的加入, 苯丙氨酸促进了苯乙醇的分解代谢途径, 促进了苯乙醇的生成。

2.3 铵态氮添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

氯化铵、磷酸氢二铵添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响结果如图 7~8 所示。

从图 7~8 可以看出, 随着铵态氮添加量逐渐增加, 几种铵态氮对主要高级醇含量的影响变化趋势几乎一致, 异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量随着铵态氮含量的增加而降低且各浓度及对照之间差异显著 ($p<0.05$)。异丁醇与异戊醇在氯化铵添加浓度为 300 mg N/L 时降低比例最大, 分别为 39.3%和 30.6%, 但都与氯化铵添加浓度为 200 mg N/L 时的含量相比均无显著差异性 ($p>0.05$); 而苯乙醇在氯化铵添加浓度为 400 mg N/L 时降低比例最大为 19.4%, 但与氯化铵

添加浓度为 200、300 mg N/L 时的含量相比均无显著差异性 ($p>0.05$)；磷酸氢二铵的添加浓度最大时异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量降低比例最大，分别与对照相比降低 42.7%、44.7%和 28.2%，与其它各添加浓度下异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量相比，除了异戊醇在磷酸氢二铵添加浓度为 400 mg N/L 时的含量与其它浓度下其含量相比差异显著 ($p<0.05$) 以外，异丁醇与苯乙醇在此添加浓度下的含量与其它浓度下其含量相比均无显著差异性 ($p>0.05$)。本研究结果表明，向苹果汁中添加适量铵态氮可有效减少高级醇的生成，究其原因这是由于苹果汁中酵母可同化氮源不足，游离氨基酸缺乏，酵母在生长繁殖过程中不能把 α -酮酸全部氨化生成氨基酸从而导致酮酸积累^[21]，剩余的酮酸在酶作用下经脱羧-还原等一系列生化作用生成高级醇^[23]，最终导致苹果白兰地酿造中高级醇合成途径明显多于降解代谢途径。因此，添加适量铵态氮可有效地减少高级醇的生成并促进酵母发酵，避免发酵停滞现象的发生。

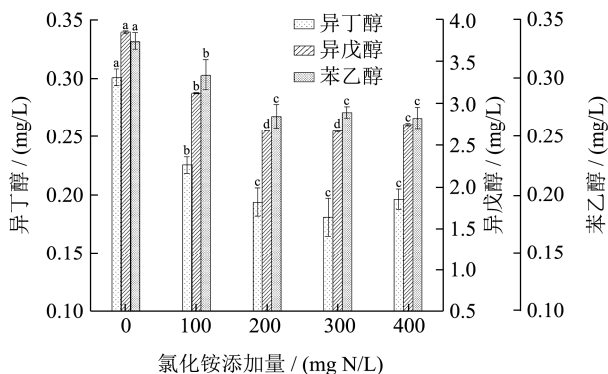


图 7 氯化铵对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.7 Effect of ammonium chloride on the content of higher alcohols in apple brandy

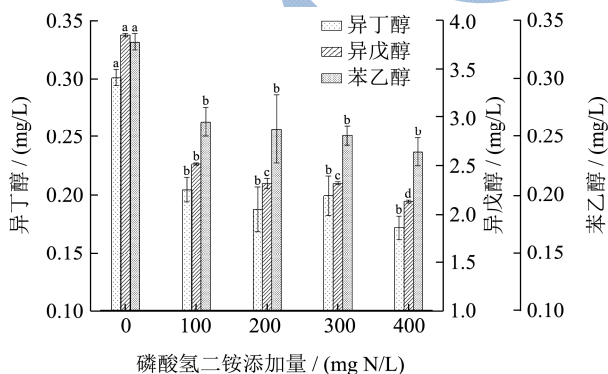


图 8 磷酸氢二铵对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.8 Effect of ammonium dihydrogen phosphate on the content of higher alcohols in apple brandy

2.4 碳源添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响

蔗糖和葡萄糖添加对苹果白兰地主要高级醇形成的影响结果如图 9~10 所示。

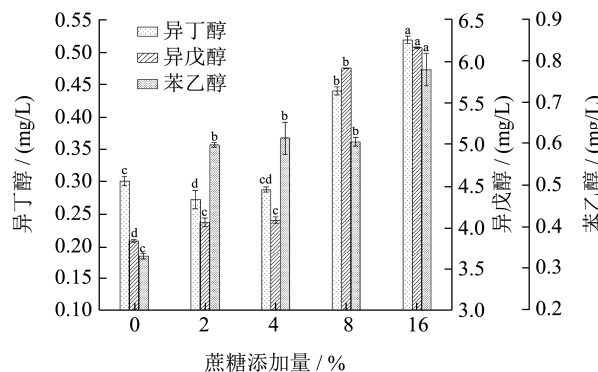


图 9 蔗糖对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.9 Effect of sucrose on the content of higher alcohols in apple brandy

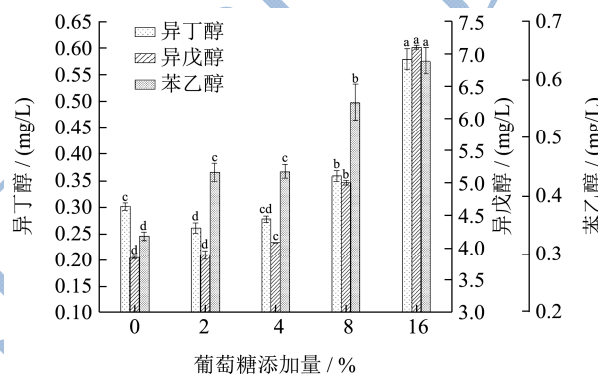


图 10 葡萄糖对苹果白兰地主要高级醇含量的影响

Fig.10 Effect of glucose on the content of higher alcohols in apple brandy

图 9~10 结果表明，随着糖含量的增大，异丁醇、异戊醇及苯乙醇的生成量整体呈增大的趋势。碳源的添加浓度最大时异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量增加的比例最大，添加 16% 的蔗糖使异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量增加了 73%、60.2%和 136.7%，而添加 16% 的葡萄糖使异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量增加了 93%、84.5%和 91.8%。在苹果白兰地发酵过程中，为提高发酵酒精度而向苹果汁中添加碳源。然而，单纯提高苹果汁的糖度不仅会对酵母的正常代谢产生影响，还会因其它营养物质的相对缺乏导致酵母异常发酵。通过对本研究结果分析认为可能是因为单方面增加糖度导致其它营养物，如氮源相对不足，从而阻碍了生成氨基酸等正常代谢途径的完成，进一步刺激了高级醇的合成代谢^[6]，最终导致苹果白兰地酒中高级醇含量的增加。

3 结论

3.1 苹果白兰地酿造工艺条件影响高级醇的含量并决定着高级醇含量的高低。采用适宜的酿酒酵母菌种、

控制酵母接种浓度及降低发酵温度都可以有效控制苹果白兰地发酵中异丁醇、异戊醇及苯乙醇的产生。

3.2 苹果白兰地发酵中添加适宜的铵态氮有利于降低异丁醇、异戊醇及苯乙醇的含量,但是对于可同化有机氮则不宜大量添加一种氨基酸,以防相应的高级醇大量产生。

3.3 苹果白兰地发酵中为提高酒精度而过多添加碳源不仅会阻碍酵母的正常代谢,而且也会导致苹果白兰地酒中高级醇含量的增加。

参考文献

- [1] 曾朝珍,张永茂,康三江,等.不同氮源及浓度对苹果白兰地酒发酵的影响[J].食品工业科技,2013,34(8):205-209
ZENG Chao-zhen, ZHANG Yong-mao, KANG San-jiang, et al. Effect of different nitrogen source and concentration on the apple brandy fermentation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(8): 205-209
- [2] 程军,秦伟帅,赵新节.葡萄酒酿造中高级醇的形成机制与调节[J].中国酿造,2011,30(12):9-11
CHENG Jun, QIN Wei-shuai, ZHAO Xin-jie. Formation and regulation of higher alcohols in wine fermentation [J]. China Brewing, 2011, 30(12): 9-11
- [3] 游玲,任羽,王涛,等.酵母对浓香型白酒糟醅中高级醇生成的影响[J].食品与发酵工业,2016,42(2):23-28
YOU Ling, REN Yu, WANG Tao, et al. Effects of yeasts on higher alcohols forming in Chinese strong-flavored liquor producing [J]. Food Fermentation and Industries, 2016, 42(2): 23-28
- [4] ZHANG Cui Ying, QI Ya Nan, MA Hong Xia, et al. Decreased production of higher alcohols by *Saccharomyces cerevisiae* for Chinese rice wine fermentation by deletion of bat aminotransferases [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2015, 42(4): 617-625
- [5] 闫春明.降低新酿黄酒中高级醇含量研究[D].合肥:合肥工业大学,2017
YAN Chun-ming. Study on reducing the content of higher alcohols in semi-dry yellow wine [D]. HeFei: HeFei University of Technology, 2017
- [6] 曾朝珍,张永茂,康三江,等.发酵酒中高级醇的研究进展[J].中国酿造,2015,34(5):11-15
ZENG Chao-zhen, ZHANG Yong-mao, KANG San-jiang, et al. Research progress of high alcohols in fermented Wine [J]. China Brewing, 2015, 34(5): 11-15
- [7] Mendes-Ferreira A, Barbosa C, Falco V, et al. The production of hydrogen sulphide and other aroma compounds by wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* in synthetic media with different nitrogen concentrations [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2009, 36(4): 571-583
- [8] Aragon P, Atienza J, Climent M D. Influence of clarification, yeast type, and fermentation temperature on the organic acid and higher alcohols of malvasia and muscatel wines [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1998, 49(2): 211-219
- [9] Pinal L, Cedeño M, Gutierrez H, et al. Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process [J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(1): 45-47
- [10] 程显好,王晓红,屈慧鸽,等.不同酵母菌对白兰地挥发性成分的影响[J].中国酿造,2009,28(10):35-38
CHENG Xian-hao, WANG Xiao-hong, QU Hui-ge, et al. Influence of 3 different yeast strains on the production of volatile components in Brandy [J]. China Brewing, 2009, 28(10): 35-38
- [11] Staver M, Herjavec S, Orlic S, et al. Influence of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains on higher alcohol content in malvazija istarska wines [J]. Agriculturae Conspectus Scientificus, 2005, 70(2): 55-58
- [12] 刘明,王颀,牟建楼.不同发酵条件对金丝小枣酒酿造过程中高级醇生成的影响[J].食品科技,2009,34(4):52-56
LIU Ming, WANG Jie, MU Jian-lou. Effect of different formation conditions on higher alcohols during jujube wine formation [J]. Food Science and Technology, 2009, 34(4): 52-56
- [13] 于涛,杨婷婷,杨林,等.苹果酒高级醇生成控制的研究[J].中国酿造,2012,31(3):58-62
YU Tao, YANG Ting-ting, YANG Lin, et al. Control of higher alcohol formation during cider fermentation [J]. China Brewing, 2012, 31(3): 58-62
- [14] Mateo J J, Jiménez M, Pastor A, et al. Yeast starter cultures affecting wine fermentation and volatiles [J]. Food Research International, 2001, 34(4): 307-314
- [15] 甄会英,王颀,李长文,等.巨峰葡萄酒酿造过程中高级醇生成的研究[J].酿酒科技,2005,10:65-67
ZHEN Hui-ying, WANG Jie, LI Chang-wen, et al. Research on the formation of higher alcohols in the production of Jufeng grape wine [J]. Liquor-Making Science Technology, 2005, 10: 65-67
- [16] 孙金旭,朱会霞,杨晓红,等.酵母添加量对酱香型白酒中杂油醇影响[J].食品研究与开发,2010,31(12):67-70
SUN Jin-xu, ZHU Hui-xia, YANG Xiao-hong, et al. The increase the volume of different yeast inoculum concentration

- influence study on the maotai-alcohol liquor in oil [J]. Food Research and Development, 2010, 31(12): 67-70
- [17] 张丹. 红枣白兰地中杂醇油形成的影响因素研究[D]. 河北: 河北农业大学, 2014
- ZHANG Dan. Analysis on factors of fusel oil' formation during the process of jujube brandy brewing [D]. HeBei: Agricultural University of HeBei, 2014
- [18] 纪铁鹏, 吴梦曦, 肖冬光. 乳清酒中杂醇油含量影响因素研究[J]. 酿酒科技, 2014, 3: 37-40
- JI Tie-peng, WU Meng-xi, XIAO Dong-guang. Investigation on the factors influencing fusel oil content in whey wine [J]. Liquor-Making Science Technology, 2014, 3: 37-40
- [19] 张丽芝. 发酵枣酒中的甲醇和杂醇油控制[J]. 酿酒科技, 2014, 8: 36-39
- ZHANG Li-zhi. Control of methanol and fusel oil content in the fermenting process of Jujube wine [J]. Liquor-Making Science Technology, 2014, 8: 36-39
- [20] Liliy M, Florian F B, Styger G, et al. The effect of increased branched-chain amino acid transaminase activity in yeast on the production of higher alcohols and on the favour profiles of wine and distillates [J]. FEMS Yeast Research, 2006, 6(5): 726-743
- [21] Sally-jean B, Henschke P A. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine [J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(3): 242-295
- [22] 王亚钦, 刘沛通, 吴广枫, 等. 可同化氮对葡萄酒发酵香气物质积累及代谢调控的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(12): 164-171
- WANG Ya-qin, LIU Pei-tong, WU Guang-feng, et al. Effect of the assimilable nitrogen on the aroma compounds production and the regulation of their biosynthesis during alcoholic fermentation [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(12): 164-171
- [23] Gutierrez A, Chiva R, Jose M G. Arginine addition in the stationary phase influences the fermentation rate and synthesis of aroma compounds in a synthetic must fermented by three commercial wine strains [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1009-1016