

# 克鲁维毕赤酵母与酿酒酵母顺序接种 对茵红李果酒风味的影响

李甜, 邓孟胜, 雷雨, 陶迎梅, 李宇豪, 李东\*

(四川轻化工大学生物工程学院, 四川宜宾 644000)

**摘要:** 为提高茵红李果酒的风味品质, 选用克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*) 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 进行顺序接种, 接种时间间隔分为 24 h 和 48 h, 接种比例为 1:3、3:1 和 1:1。通过测定酵母生物量变化、理化指标、挥发性风味成分和感官分析, 探究不同接种策略对茵红李果酒风味的影响。结果显示, 在混菌发酵中, 两种酵母相互制约, 6~7 d 后未检测到 *P. kluyveri* 的活菌存在。此外, 与间隔 24 h 相比, 间隔 48 h 接种发酵的茵红李果酒中乙醇含量较低, 而还原糖含量较高。与对照纯酿酒酵母相比, 混合发酵使茵红李果酒中酯类化合物浓度增加了 33.37%~56.96%, 高级醇类减少了 47.23%~60.69%。其中 T481:3 和 T243:1 接种方式的酯类化合物含量增加最为显著。主成分分析揭示 T243:1 与苯甲酸乙酯、乙酸苯乙酯、乙酸异丁酯、乙酸顺式-3-己烯酯和葵酸乙酯密切相关。感官评价显示, T243:1 发酵的茵红李果酒在花果香和整体可接受性方面的评分最高。综上所述, T243:1 接种方式有助于提升茵红李果酒的风味品质, 为茵红李果酒生产工艺的优化提供了理论参考。

**关键词:** 克鲁维毕赤酵母; 顺序发酵; 酵母生物量变化; 茵红李果酒; 风味成分

文章编号: 1673-9078(2024)08-283-293

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0941

## Effect of Sequential Fermentation of *Pichia kluyveri* and *Saccharomyces cerevisiae* on Flavor Quality of Yinhong Plum Wine

LI Tian, DENG Mengsheng, LEI Yu, TAO Yingmei, LI Yuhao, LI Dong\*

(School of Biotechnology, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, China)

**Abstract:** To enhance the flavor quality of Yinhong plum wine, the sequential inoculation of *Pichia kluyveri* and *Saccharomyces cerevisiae* was performed. To this end, the inoculation intervals were set at 24 hours and 48 hours, with ratios of 1:3, 3:1, and 1:1. By measuring yeast biomass variation, physicochemical parameters, volatile flavor compounds, and sensory analysis, the influence of different inoculation strategies on the flavor of Yinhong plum wine was determined. The results revealed that in a mixed fermentation, the two yeast strains mutually restrained each other, and no viable *P. kluyveri* cells were detected after 6~7 days. Moreover, compared to the 24-hour interval, Yinhong plum wine fermented with a 48-hour interval exhibited a lower ethanol content and higher levels of reducing sugars. Compared to the control with a single

引文格式:

李甜, 邓孟胜, 雷雨, 等. 克鲁维毕赤酵母与酿酒酵母顺序接种对茵红李果酒风味的影响 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(8):283-293.

LI Tian, DENG Mengsheng, LEI Yu, et al. Effect of sequential fermentation of *Pichia kluyveri* and *Saccharomyces cerevisiae* on flavor quality of yinhong plum wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 283-293.

收稿日期: 2023-08-05

基金项目: 四川省科技计划项目 (2021YFN0099)

作者简介: 李甜 (1997-), 女, 硕士生, 研究方向: 农畜产品精深加工, E-mail: 1716627074@qq.com

通讯作者: 李东 (1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农畜产品精深加工, E-mail: 4469344@qq.com

*Saccharomyces cerevisiae* yeast strain, co-fermentation led to a significant increase in ester compound concentration, from 33.37% to 56.96%, whereas higher alcohols decreased from 47.23% to 60.69%. Notably, the most substantial increase in ester compounds was observed in the T481:3 and T243:1 inoculation conditions. Principal component analysis revealed a strong correlation between T243:1 inoculation and specific volatile compounds, including ethyl benzoate, ethyl phenylacetate, ethyl isobutyrate, ethyl cis-3-hexenoate, and ethyl caprate. Sensory evaluation highlighted that Yinhong plum wine fermented with the T243:1 strategy received the highest ratings for floral and fruity aromas and overall acceptability. In conclusion, the T243:1 inoculation strategy effectively enhances the flavor quality of Yinhong plum wine and provides a theoretical foundation for optimizing its production process.

**Key words:** *Pichia kluyveri*; sequential fermentation; yeast biomass change; yinhong plum wine; flavor compounds

茵红李 (*Prunus salicina* Lindl.) 属蔷薇科李属类核果类水果, 是中国宜宾农业局经过选育而得到的优良品种。该品种被广泛种植于中国的宜宾和卧龙等地区<sup>[1,2]</sup>。随着茵红李种植面积和产量的增加, 导致新鲜茵红李供应过剩。因此将其生产为李子酒不仅能保留其丰富的活性物质, 还能延长产品的保质期以提高经济价值<sup>[3]</sup>。然而, 目前市面上的李子酒风味单一, 且香气不足, 从而缺乏竞争力<sup>[4]</sup>。

酵母菌株作为果酒发酵过程中的重要微生物, 在果酒的风味形成方面发挥着显著作用<sup>[5]</sup>。酿酒酵母是广泛应用于果酒生产的一类菌株, 其具有强大的发酵能力和对恶劣环境的高适应性, 主要将糖类物质转化为酒精和 CO<sub>2</sub>, 同时也会产生少量的风味物质<sup>[6]</sup>。除酿酒酵母外, 其他非酿酒酵母也受到广泛关注和研究<sup>[7]</sup>。其中, 克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*) 作为一种非酿酒酵母, 其具有较高的酯酶和糖苷酶活性, 与酿酒酵母混合接种后, 有助于减少乙醇生成, 并促进异戊丁酸乙酯、乙酸异戊酯等香气物质的合成<sup>[8]</sup>, 使果酒的果香和花香更加浓郁。酵母的接种时间<sup>[9]</sup>和接种比例<sup>[10]</sup>对果酒的风味品质也具有重要的影响。研究表明, *P. kluyveri* 通过顺序接种发酵的方式对葡萄酒的香气和品质的提升效果尤为明显<sup>[11]</sup>。特别是, *P. kluyveri* 的顺序接种时间越长, 果酒中甘油、挥发性风味物质的含量增加越显著<sup>[12,13]</sup>。此外, *P. kluyveri* 在顺序发酵下总高级醇的含量降低约 15%, 可减少酵母发酵的香气掩盖品种香气<sup>[12]</sup>。然而, 值得注意的是, 接种比例不合适可能导致异味产生和发酵速率减慢等不利影响<sup>[10]</sup>。综上, *P. kluyveri* 在提升果酒风味和降低酒精含量方面具有积极作用, 但大部分研究都集中在改善葡萄酒风味方面。目前, 利用 *P. kluyveri* 与酿酒酵母混合发酵对茵红李果酒风味提升方面的研究较少。

本试验使用本实验室筛选具有良好发酵性能的克鲁维毕赤酵母与商业酿酒酵母, 以不同顺序接种

时间 (24 h 和 48 h) 和不同接种比例 (1:3、3:1 和 1:1) 发酵茵红李果酒。对发酵过程中酵母菌株的生物量和还原糖含量进行比较分析。同时, 对发酵所得的茵红李果酒的理化指标、有机酸、挥发性风味成分和感官品评进行对比分析, 进而筛选出克鲁维毕赤酵母与商业酿酒酵母最佳顺序接种策略, 有助于提高茵红李果酒的风味品质, 实验结果为茵红李果酒工业化生产中的工艺优化提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与试剂

茵红李: 购于中国四川宜宾, 挑选新鲜无虫害、无腐败的茵红李 (可溶性固形物为 11.6%、总酸为 5.01 g/L、pH 值为 3.42、挥发酸为 0.12 g/L) 为原料。

酵母菌株: 本试验使用本土克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*) 和商业酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) FX10 两种菌株。克鲁维毕赤酵母具有明显的增香特性, 分离于中国宜宾茵红李自然发酵汁, 并保藏于四川轻化工生物工程学院实验室。酿酒酵母 FX10 是用于果酒的一种商业酿酒酵母, 购自法国 LAFFORT 公司。

试剂: 仲辛醇、苹果酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸、酒石酸 (均为色谱纯), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 氢氧化钠、氯化钠、无水葡萄糖 (均为分析纯), 成都科隆化学品有限公司; YPD 培养基 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; WL 营养琼脂培养基, 北京陆桥技术股份有限公司; 果胶酶 EX-V, 上海福玛试验设备有限公司。

### 1.2 仪器与设备

LB80T 手持糖度计, 广东省速为电子科技有限公司; HT512ATC 高精度酒精计, 深圳市巴里世纪

贸易有限公司; 1260infinity I 高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; 7890A-5975B 气相色谱质谱联用仪, 美国安捷伦公司; PHS-3E 实验室 pH 计, 上海佑科仪器仪表有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 酵母菌株的活化与接种

将保藏菌株接种于 YPD 固体培养基 26 °C 下静置培养 24 h。将单一菌落接种于 200 mL YPD 液体培养基中, 在 28 °C、200 r/min 的条件下振荡培养 24 h。将培养液在 5 000 r/min 离心 5 min, 收集酵母细胞。用无菌生理盐水以相同的离心条件洗涤干净。最后, 将酵母菌悬液浓度调整为  $1 \times 10^8$  CFU/mL (显微镜观察) 用于后续发酵。

#### 1.3.2 茵红李果酒发酵

茵红李经清洗、去核和打浆后, 添加 0.1 g/L 的焦亚硫酸钾, 再用 0.03 g/L 果胶酶酶解 2 h。用白砂糖将糖度调整至 23 °Brix, 75 °C 下巴氏杀菌 30 min。活化后的酵母菌以 1% 总接种量接种到 1 L 的发酵罐, 在 28 °C 下静置发酵。分别对发酵的第 0~10 天, 每天进行样品收集。主发酵结束后, 将发酵液过滤并置于 10 °C 恒温箱中进行 7 d 后发酵。最后, 以 10 000 r/min 离心 10 min, 去除酵母细胞, 将上清液储存在 4 °C 冰箱中, 用于后续分析<sup>[14]</sup>。

不同接种处理如下: (1) 酿酒酵母单独接种发酵 (FX10); (2) 混菌顺序接种发酵: 接种克鲁维毕赤酵母 24 h 后, 分别以体积比为 1:3、3:1、1:1 的接种比例接种酿酒酵母, 分别简称为 T241:3、T243:1、T242:2; 接种克鲁维毕赤酵母 48 h 后, 以体积比 1:3、3:1、1:1 的接种比例接种酿酒酵母, 分别简称为 T481:3、T483:1、T482:2。

#### 1.3.3 理化指标和活菌数量的测定

pH 值、挥发酸、酒精度、总酸和还原糖的测定参考相关文献方法<sup>[14]</sup>。酵母活菌计数通过观察非酿酒酵母与酿酒酵母在 WL 培养基上菌落形态和颜色的不同, 进行平板计数<sup>[15]</sup>。

#### 1.3.4 有机酸的测定

参考段云飞等<sup>[16]</sup>的研究, 选用高效液相色谱 (HPLC) 对茵红李果汁和果酒样品中有机酸含量进行测定。使用安捷伦 ZORBAX SB-Aq (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 使用 0.05 mol/L 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 值为 2.4) 作为流动相。流量设置为

0.5 mL/min, 采用等度洗脱方法, 进样体积为 15 μL, 柱温设置为 25 °C, 紫外检测波长设置为 210 nm。在进行进样分析前, 将各酒样通过 0.45 μm 滤膜进行过滤。苹果酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸和酒石酸的含量是使用检测不同浓度的外标制作标准曲线进行测定的。

#### 1.3.5 风味成分的测定

参考 Liu 等<sup>[17]</sup>的研究, 选用顶空固相微萃取 (HS-SPME) 结合气相色谱-质谱 (GC-MS) 方法对茵红李果酒样品中的挥发性成分进行测定。首先, 取 5 mL 茵红李果酒样品放入萃取瓶中, 加入 1.4 g 氯化钠和 20 μL 经无水乙醇稀释的 1 mL/L 仲辛醇, 将其混匀, 置于 45 °C 下静止平衡 15 min, 再萃取 30 min。

色谱条件: 使用 DB-WAX (60 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 色谱柱。载气使用高纯氦气, 流速设置为 1 mL/min, 进样口温度设置为 250 °C, 不分流进样模式。柱温箱采用程序升温, 起始温度为 40 °C, 保持 2 min, 以 5 °C/min 的升温速率升至 120 °C, 保持 2 min, 再以 7 °C/min 升温速率升至 220 °C, 保持 5 min, 总运行时间为 39 min。

质谱条件: 电子轰击能量为 70 eV; 接口温度 220 °C, 离子源温度 250 °C, 四极杆温度 150 °C, 扫描质量范围 35~500 *m/z*, 扫描频率 3.6 scans/s。

定性定量分析: 通过将 GC-MS 质谱图与标准信息库 NIST 进行比对, 根据出峰时间、匹配度和保留指数对样本中的化合物进行定性分析<sup>[18]</sup>。采用内标法对化合物进行定量分析, 其中: 挥发性化合物含量 = (挥发性化合物峰 × 内标物含量) / 内标物峰面积。

气味活性值 (Odor Activity Value, OAV) 是指某种化合物在样品中的浓度与其感知阈值的比值。

#### 1.3.6 感官评价

参考张文文等<sup>[19]</sup>研究略作修改, 一个由 8 名成员 (4 名女性和 4 名男性, 年龄在 20 至 36 岁之间) 组成的小组对茵红李果酒进行定量描述性分析 (QDA)。所有样品均随机呈现给评估员。使用六种感官属性 (花果香, 苦味、酸味、酒精味和整体可接受性) 对茵红李果酒进行感官评价。样品以 6 个等级进行打分, 评分从 0~5 分别表示由弱到极强。

### 1.4 数据处理

采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析和邓肯多

重比较分析,  $P < 0.05$  代表差异显著, 数据以平均值  $\pm$  标准差形式呈现。采用 Origin 2021 进行主成分分析、折线图和感官指标图的制作。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酵母生物量变化与还原糖代谢情况

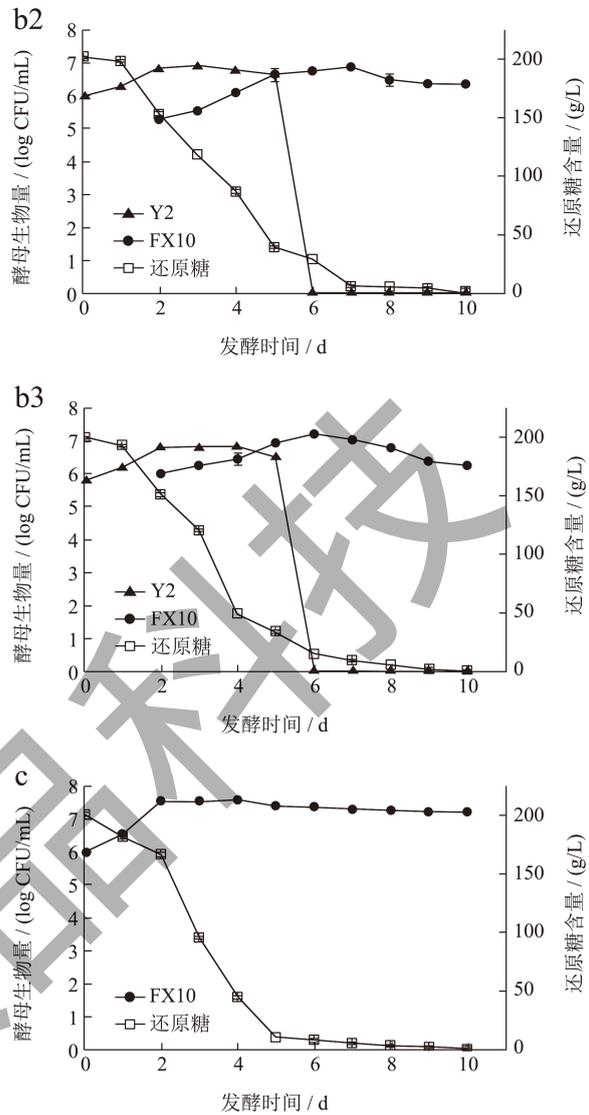
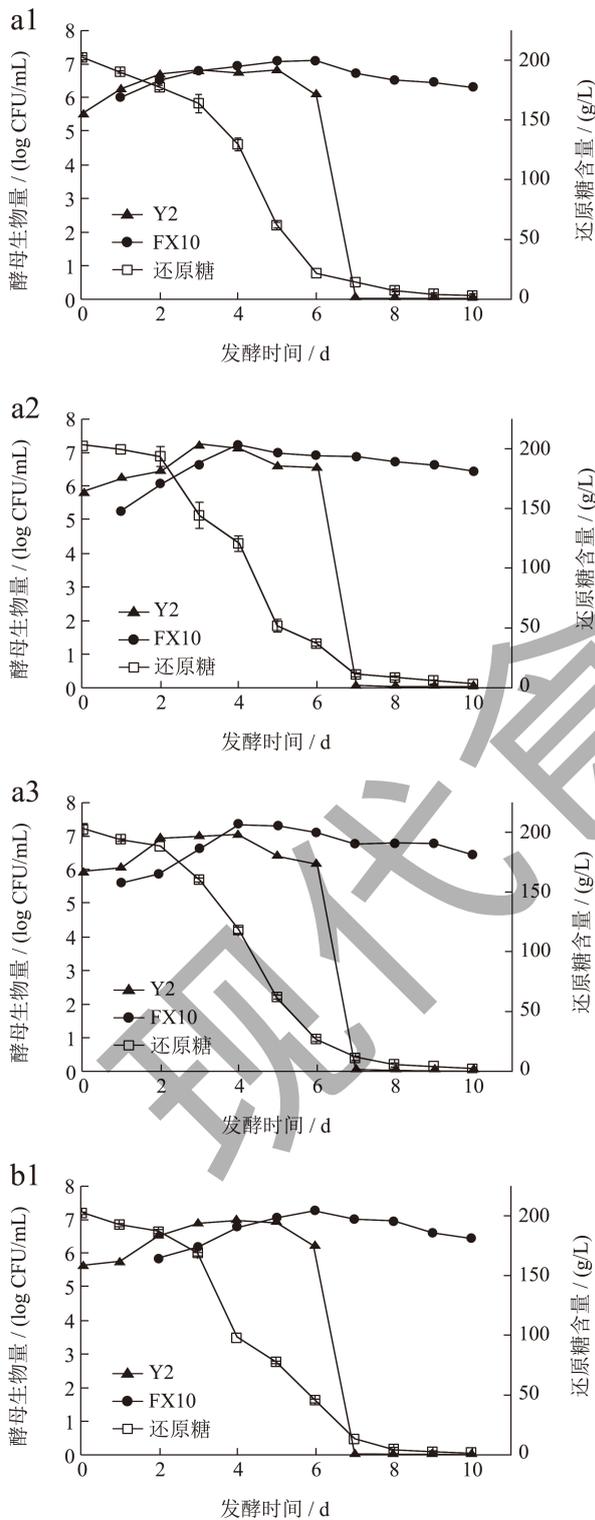


图1 不同接种方式酵母生长情况和还原糖消耗情况  
Fig.1 Yeast growth and reducing sugar consumption with different inoculation methods

注: a1~a3 代表间隔 24 h 顺序接种, 接种比例分别为 1:3、3:1 和 1:1; b1~b3 代表间隔 48 h 顺序接种, 接种比例分别为 1:3、3:1 和 1:1; c 代表只接种单一酿酒酵母。

在果酒发酵过程中, 酵母的数量和种群动态变化与果酒的风味形成和变化具有密切的关联<sup>[20]</sup>。不同接种策略酵母的生长情况和还原糖消耗情况如图 1 所示。混菌发酵在 7~8 d 完成主发酵过程, 而单菌发酵只需要 6 d, 表明混菌发酵将会延长果酒的发酵周期<sup>[17]</sup>。在酿酒酵母单独发酵中, 菌落的最大生物量为 7.5 lg CFU/mL, 后期保持在 7 lg CFU/mL 左右, 直到发酵结束。而在混菌发酵中, 酿酒酵母的最大生物量约为 7 lg CFU/mL, 说明混菌发酵会降低酿酒酵母的最大生物量<sup>[21]</sup>, 可能是由于非酿

酒酵母对营养物质的竞争导致的。当顺序接种间隔 24 h, 前 3 d 非酿酒酵母占据优势, 而间隔 48 h 时, 则前 4 d 非酿酒酵母占据优势, 表明延长接种时间间隔可以延长非酿酒酵母的作用时间。无论采用哪种接种时间和接种比例, 随着发酵的进行, 酿酒酵母的生物量在后期均能超过非酿酒酵母, 说明了在果酒发酵后期主要是酿酒酵母起作用<sup>[22]</sup>。此外, 在混菌发酵过程中, 非酿酒酵母在第 6~7 天便未检测到其活菌的存在。这可能是由于酿酒酵母具有代谢糖类物质能力强, 且产高浓度的乙醇对非酿酒酵母产生了抑制作用<sup>[23]</sup>。

## 2.2 理化性质

### 2.2.1 酒精度、pH值、总酸、挥发酸和残糖量

不同接种策略发酵的果酒的基础理化指标如表 1 所示。混菌发酵的茵红李果酒中的酒精含量范围为 10.23~12.13 %vol, 总酸含量范围为 6.8~7.14 g/L, 与对照 FX10 相比均有降低。这表明混菌发酵能够降低果酒中乙醇和总酸的含量<sup>[24]</sup>。果汁经过发酵成果酒后, 总酸和挥发酸的含量均增加, 这种变化可能与有机酸的变化有关<sup>[25]</sup>。另外, 间隔 48 h 的顺序接种相较于间隔 24 h 的顺序接种, 其酒精含量降低, 而还原糖含量增加, 可能是间隔 48 h 顺序接种, 酿酒酵母的作用时间减少, 进而使酒精含量降低, 还原糖含量升高。

### 2.2.2 有机酸

在发酵和储存过程中, 有机酸可与醇发生酯化反应, 生成酯类化合物, 这些酯类化合物可赋予果酒特有的果香和花香<sup>[26]</sup>。有机酸不仅对果酒的香气有着显著影响, 而且对果酒的色泽有着显著影响<sup>[27]</sup>。茵红李汁和不同接种策略发酵的茵红李果酒中有机酸含量如表 2 所示。苹果酸是茵红李果酒中含量最高的有机酸<sup>[3]</sup>。其中, 果汁中苹果酸的含量 6.5 g/L, 显著高于其他发酵果酒 (4.82~5.28 g/L),

表明茵红李果酒中的大多数苹果酸来自茵红李原料。乳酸的浓度在一定水平上能够使果酒更加柔和<sup>[28]</sup>。发酵后的果酒中乳酸的含量在 2.68~3.89 g/L 之间。而果汁中仅检测到 0.03 g/L 的乳酸, 因此乳酸是在发酵过程中产生的<sup>[29]</sup>。与果汁相比, 发酵后果酒中柠檬酸和琥珀酸的含量则有所下降。柠檬酸是克雷布斯循环的中间产物, 其降低可能是由于酵母细胞的分解代谢作用<sup>[30]</sup>。琥珀酸具有苦咸味, 在发酵后琥珀酸含量降低可能是琥珀酸是代谢的中间体, 在发酵过程中被酵母利用<sup>[31]</sup>。此外, 酵母在不良环境条件下会产生乙酸。乙酸被认为是果味乙酸酯的前体, 可以改善葡萄酒的风味特征。然而, 过量的乙酸会产生醋味和腐败味, 对果酒产生负面影响。因此, 果酒中允许的乙酸浓度不得超过 0.70 g/L<sup>[32]</sup>, 本试验果酒中乙酸含量在 0.20~0.24 g/L, 在可接受的范围内。

## 2.3 挥发性风味成分

通过采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术, 对茵红李果酒进行挥发性成分检测, 结果如表 3 所示。在茵红李果酒中共检测到 32 种挥发性风味成分, 包括酯类 14 种, 高级醇 7 种, 脂肪酸类 4 种, 其他类 7 种。茵红李果酒中挥发性风味成分以酯类和高级醇为主。与纯酿酒酵母相比, 混菌发酵的茵红李果酒中酯类化合物的含量显著提高, 其中 T481:3 发酵酒中酯类化合物含量最高 (9.39 mg/L), 其次是 T243:1 (8.48 mg/L)。而在纯酿酒酵母发酵果酒中, 高级醇类化合物含量最高 (6.87 mg/L)。与单菌发酵相比, 混菌发酵酒中高级醇类化合物含量显著降低, 其含量范围为 (2.70~3.62 mg/L), 具体结果见图 2。这些结果表明, 通过采用克鲁维毕赤酵母与酿酒酵母的混合发酵, 可显著提高茵红李果酒中酯类化合物的含量, 同时降低高级醇类化合物的含量, 进而增强茵红李果酒的花果香味<sup>[12]</sup>。

表 1 不同处理茵红李果酒的基础理化分析

Table 1 Basic physicochemical analysis of YinHong plum under different treatments

指标	T241:3	T243:1	T242:2	T481:3	T483:1	T482:2	FX10
酒精度/(%vol)	11.77 ± 0.25 <sup>b</sup>	11.1 ± 0.1 <sup>c</sup>	12.13 ± 0.06 <sup>a</sup>	11.7 ± 0.17 <sup>b</sup>	10.53 ± 0.06 <sup>d</sup>	10.23 ± 0.06 <sup>c</sup>	12.2 ± 0.1 <sup>a</sup>
pH 值	3.39 ± 0.01 <sup>de</sup>	3.4 ± 0 <sup>cd</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>bc</sup>	3.43 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.39 ± 0.01 <sup>c</sup>	3.4 ± 0 <sup>cd</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>
总酸/(g/L)	6.89 ± 0.2 <sup>c</sup>	6.8 ± 0.15 <sup>c</sup>	6.89 ± 0.15 <sup>c</sup>	6.84 ± 0.13 <sup>c</sup>	6.93 ± 0.08 <sup>bc</sup>	7.14 ± 0.09 <sup>ab</sup>	7.24 ± 0 <sup>a</sup>
挥发酸/(g/L)	0.64 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.71 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.67 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.01 <sup>c</sup>
还原糖/(g/L)	1.56 ± 0 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.9 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.9 <sup>a</sup>	2.61 ± 0.91 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.91 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.91 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.9 <sup>a</sup>

注: 表内数据平均值 ± 标准差 (n=3) 表示, 同一行中不同字母代表显著差异 (邓肯检验, P<0.05), 下同。

表 2 不同处理茵红李果酒和果汁中有机酸含量表

Table 2 Content of organic acids in Yinhong plum wine and juice

有机酸 (g/L)	发酵果酒							果汁
	T241:3	T243:1	T242:2	T481:3	T483:1	T482:2	FX10	
酒石酸	0.9±0.01 <sup>a</sup>	0.91±0.02 <sup>a</sup>	0.91±0 <sup>a</sup>	0.92±0.01 <sup>a</sup>	0.76±0.02 <sup>c</sup>	0.7±0.01 <sup>d</sup>	0.8±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.01 <sup>e</sup>
丙酮酸	0.19±0 <sup>b</sup>	0.22±0 <sup>a</sup>	0.21±0 <sup>a</sup>	0.22±0 <sup>a</sup>	0.16±0 <sup>c</sup>	0.16±0 <sup>c</sup>	0.1±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>
L-苹果酸	5.18±0.06 <sup>bcd</sup>	5.11±0.03 <sup>cd</sup>	5.28±0.02 <sup>b</sup>	4.82±0.07 <sup>f</sup>	5.19±0.07 <sup>bc</sup>	5.02±0.01 <sup>c</sup>	5.08±0.03 <sup>de</sup>	6.5±0.07 <sup>a</sup>
L-乳酸	3.43±0.03 <sup>c</sup>	2.87±0.05 <sup>d</sup>	3.38±0.03 <sup>c</sup>	2.68±0.07 <sup>e</sup>	3.6±0.07 <sup>b</sup>	3.89±0.01 <sup>a</sup>	3.81±0.03 <sup>a</sup>	0.03±0 <sup>f</sup>
乙酸	0.23±0 <sup>b</sup>	0.24±0 <sup>a</sup>	0.23±0 <sup>ab</sup>	0.23±0 <sup>ab</sup>	0.22±0.01 <sup>cd</sup>	0.2±0 <sup>e</sup>	0.21±0 <sup>de</sup>	0.17±0 <sup>f</sup>
柠檬酸	0.03±0 <sup>b</sup>	0.04±0 <sup>bc</sup>	0.04±0 <sup>bc</sup>	0.03±0 <sup>bc</sup>	0.04±0 <sup>bc</sup>	0.03±0 <sup>c</sup>	0.05±0 <sup>b</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>
琥珀酸	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.39±0.01 <sup>ab</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.4±0.04 <sup>a</sup>	0.32±0.02 <sup>c</sup>	0.31±0.05 <sup>c</sup>	0.39±0.02 <sup>b</sup>	0.43±0.02 <sup>a</sup>

酯类化合物是果酒中主要提供花果香的化合物,包括乙酯类和乙酸酯类两大类<sup>[33]</sup>。在混菌发酵中,总酯类含量范围为 6.06~9.39 mg/L,比纯酿酒酵母发酵的茵红李果酒中酯类化合物总量(4.04 mg/L)高 33.37%~56.96%。其中,乙酸苯乙酯、乙酸己酯、乙酸异戊酯、正己酸乙酯、辛酸甲酯和辛酸乙酯是在 7 种发酵酒中均存在的酯类化合物,且其香气活性值(OAV)均大于 1,说明该类化合物为茵红李果酒关键香气物质。此外,辛酸乙酯的 OAV 值最高,范围为 93.45~170.53,可赋予茵红李果酒白兰地酒香。不同接种方式会使果酒中酯类化合物总量存在差异,其中 T481:3 酯类化合物含量增加了 56.96%,乙酸乙酯和乙酸异戊酯的含量增加最为显著。此外,乙酸己酯和乙酸乙酯的含量随着非酿酒酵母占比的增加呈现下降趋势。而随着顺序接种时间的延长,乙酸甲酯和乙酸异丁酯的含量呈增长趋势。乙酸乙酯由乙醇和乙酸脱水而成的,是果酒中最重要的酯类化合物。在较低浓度水平(<50 mg/L)下,它具有果香和令人愉悦的香气<sup>[34]</sup>。在混菌发酵中,乙酸乙酯的含量范围为 1.32~2.11 mg/L,均高于对照商业酿酒酵母发酵的果酒(0.70 mg/L),这对茵红李果酒的风味具有积极作用。T243:1 发酵酒中乙酸苯乙酯、苯甲酸乙酯、壬酸乙酯、十二酸乙酯的含量最多,其中乙酸苯乙酯(玫瑰花香、苹果果香)和苯甲酸乙酯(冬青油、依兰油香)的气味活性值 OAV>1,能对茵红李果酒的香气贡献较大。而 T481:3 的发酵酒中乙酸己酯、乙酸乙酯和乙酸异戊酯的含量最高。乙酸异戊酯是在发酵过程中产生,可使果酒具有甜美和香蕉果味<sup>[34]</sup>。

高级醇是由酵母通过 Ehrlich 途径将氨基酸转化而来的<sup>[35]</sup>。当高级醇浓度低于 300 mg/L 时,对果酒的风味物质具有积极作用,但当浓度超过 400 mg/L 时,会对果酒产生负面影响<sup>[36]</sup>。本试验测得混菌发酵的总高级醇含量范围为 2.70~3.62 mg/L,比纯酿酒酵母发酵酒中的高级醇含量 6.87 mg/L 低 47.23%~60.69%。

在高级醇中,苯乙醇、异丁醇和异戊醇的含量相比于对照显著降低。顺序接种时间越长,异丁醇和异戊醇的含量越高。此外,异戊醇的含量占比最高,为总高级醇含量的 46.42%~68.25%,其可赋予果酒水果和白兰地的香气<sup>[37]</sup>。苯乙醇的含量范围为 0.72~1.36 mg/L,其具有玫瑰花香和蜂蜜的香味特征<sup>[25]</sup>。随着非酿酒酵母的占比增加和顺序接种时间的增加,苯甲醇的含量呈增加趋势。此外,在相同接种比例时,间隔 24 h 接种的高级醇含量低于间隔 48 h 接种的总高级醇含量,表明接种间隔时间对高级醇含量的生成具有一定的影响作用。

挥发性脂肪酸是果酒香气复杂性和香气平衡性的重要挥发性化合物<sup>[38]</sup>。当挥发性脂肪酸的总质量浓度超过 20 mg/L 时,会给果酒带来脂肪和腐臭的气味<sup>[33]</sup>。而当质量浓度低于 20 mg/L 时,挥发性脂肪酸可增加果酒中的奶酪和黄油香味<sup>[39]</sup>。本研究中,混菌发酵产生的挥发性脂肪酸主要包括乙酸、异丁酸、异戊酸和辛酸,其总含量范围为 0.13~0.17 mg/L,高于纯酿酒酵母发酵酒中的挥发性脂肪酸的含量 0.12 mg/L。乙酸是通过磷酸葡萄糖途径中柠檬酸在醋酸激酶的作用下代谢产生的,其具有尖锐、刺鼻和醋味<sup>[34]</sup>。在混菌发酵的果酒中,T482:2 发酵的果酒挥发性脂肪酸含量(125.49 μg/L)最低,其次是 T483:1。这表明通过合理选择发酵时间和接种比例,可以降低果酒中一些不需要的挥发性酸类物质。

除了酯类、高级醇类和挥发性脂肪酸类化合物外,挥发性醛、酮、酚以及萜烯类化合物也对果酒的香气具有较大的影响。随着非酿酒酵母占比的增加和顺序接种时间的增加,月桂烯的含量呈上升趋势。在混菌发酵酒中,苯乙醛的含量均高于纯酿酒酵母发酵的含量。苯乙醛带有风信子味和有刺激性气味,且其 OAV>1,可能会给果酒带来不愉悦的味道。T482:2 的发酵汁中,苯甲醛的含量最高,可为果酒带有苦杏仁味<sup>[40]</sup>。

表 3 不同处理茵红李果酒中挥发性化合物含量表  
Table 3 Content table of volatile compounds in different treatment of Yin hong plum wine

名称	CAS	RI	感官评价	化合物质量浓度/( $\mu\text{g/L}$ )									
				T241:3	T243:1	T242:2	T481:3	T483:1	T482:2	FX10			
乙酸苯乙酯	103-45-7	2 069	玫瑰花香、蜂蜜、苹果香、威士忌香	1 759.02 $\pm$ 1.2 <sup>d</sup>	2 817.63 $\pm$ 36.73 <sup>a</sup>	1 934.73 $\pm$ 43.78 <sup>e</sup>	2 469.7 $\pm$ 4.53 <sup>b</sup>	1 268.28 $\pm$ 9.43 <sup>f</sup>	1 551.62 $\pm$ 11.26 <sup>e</sup>	648.21 $\pm$ 2.36 <sup>e</sup>			
乙酸己酯	142-92-7	1 467	苹果、梨等水果味	59.75 $\pm$ 2.96 <sup>a</sup>	45.54 $\pm$ 3.1 <sup>cd</sup>	50.51 $\pm$ 1.9 <sup>bc</sup>	60.3 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	42.19 $\pm$ 1.48 <sup>d</sup>	51.83 $\pm$ 1.79 <sup>b</sup>	32.2 $\pm$ 5.32 <sup>e</sup>			
乙酸甲酯	79-20-9	1 065	果香	20.19 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>	17.78 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	21.65 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	20.52 $\pm$ 1.36 <sup>ab</sup>	22.1 $\pm$ 2.51 <sup>a</sup>	22.42 $\pm$ 2.76 <sup>a</sup>	8.89 $\pm$ 0.56 <sup>e</sup>			
乙酸顺式-3-己烯酯	3681-71-8	1 512	水果青香, 梨	6.86 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup>	4.46 $\pm$ 0.38 <sup>e</sup>	5.57 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>	5.84 $\pm$ 0.44 <sup>ab</sup>	3.12 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>	5.88 $\pm$ 0.81 <sup>ab</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>e</sup>			
乙酸乙酯	141-78-6	1 104	果香	1 777.5 $\pm$ 41.19 <sup>b</sup>	1 506.19 $\pm$ 17.55 <sup>d</sup>	1 645.26 $\pm$ 15.98 <sup>c</sup>	2 107.36 $\pm$ 20.21 <sup>a</sup>	1 321.42 $\pm$ 24.18 <sup>e</sup>	1 493.78 $\pm$ 18.92 <sup>d</sup>	703.59 $\pm$ 10.7 <sup>f</sup>			
乙酸异丁酯	110-19-0	1 205	果香	21.09 $\pm$ 1.03 <sup>c</sup>	17.7 $\pm$ 1.9 <sup>e</sup>	28.25 $\pm$ 6.97 <sup>b</sup>	21.32 $\pm$ 1.0 <sup>2c</sup>	39.97 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	35.86 $\pm$ 0.98 <sup>a</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>d</sup>			
乙酸异戊酯	123-92-2	1 311	果香、梨的甜酸味	2 840.92 $\pm$ 5.46 <sup>e</sup>	2 866.68 $\pm$ 5.78 <sup>e</sup>	3 003.33 $\pm$ 48.61 <sup>b</sup>	3 770.2 $\pm$ 16.94 <sup>a</sup>	2 321.64 $\pm$ 33.97 <sup>e</sup>	2 473.9 $\pm$ 32.84 <sup>d</sup>	1 176.56 $\pm$ 39.02 <sup>f</sup>			
苯甲酸乙酯	93-89-0	1 901	依兰油香	137.46 $\pm$ 1.72 <sup>d</sup>	180.34 $\pm$ 3.68 <sup>a</sup>	136.67 $\pm$ 2.46 <sup>d</sup>	142.29 $\pm$ 0.57 <sup>e</sup>	132.12 $\pm$ 4.81 <sup>e</sup>	153.73 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	120.61 $\pm$ 0.59 <sup>f</sup>			
正己酸乙酯	123-66-0	1 426	酒香、果香	131.21 $\pm$ 1.21 <sup>d</sup>	127.43 $\pm$ 0.27 <sup>ab</sup>	128.44 $\pm$ 1.64 <sup>d</sup>	124.05 $\pm$ 2.86 <sup>e</sup>	165.84 $\pm$ 2.82 <sup>c</sup>	187.83 $\pm$ 0.76 <sup>b</sup>	251.36 $\pm$ 4.19 <sup>a</sup>			
癸酸乙酯	110-38-3	1 863	椰子香	278.68 $\pm$ 4.01 <sup>c</sup>	301.05 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	157.68 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	161.73 $\pm$ 1.26 <sup>e</sup>	157.88 $\pm$ 0.85 <sup>e</sup>	326.87 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>	206.3 $\pm$ 3.83 <sup>d</sup>			
壬酸乙酯	123-29-5	1 750	果香、花香	17.87 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>	22.38 $\pm$ 0.66 <sup>d</sup>	12.98 $\pm$ 0.26 <sup>d</sup>	17.66 $\pm$ 0.93 <sup>b</sup>	10.01 $\pm$ 0.47 <sup>e</sup>	14.86 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	10.42 $\pm$ 0.24 <sup>e</sup>			
十二酸乙酯	106-33-2	2 093	花生香	27.21 $\pm$ 4.69 <sup>c</sup>	44.53 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	13.72 $\pm$ 1.9 <sup>d</sup>	14.01 $\pm$ 0.55 <sup>d</sup>	16.47 $\pm$ 0.67 <sup>d</sup>	33.97 $\pm$ 0.65 <sup>b</sup>	16.34 $\pm$ 0.57 <sup>d</sup>			
辛酸甲酯	111-11-5	1 589	柑桔香	7.96 $\pm$ 0.72 <sup>d</sup>	6.35 $\pm$ 0.69 <sup>ef</sup>	6.99 $\pm$ 0.53 <sup>ab</sup>	5.08 $\pm$ 1.08 <sup>f</sup>	9.43 $\pm$ 0.86 <sup>c</sup>	11.76 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	13.53 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>			
辛酸乙酯	106-32-1	1 640	白兰地酒香	563.51 $\pm$ 3.69 <sup>e</sup>	519.86 $\pm$ 1.08 <sup>e</sup>	490.31 $\pm$ 2.46 <sup>f</sup>	467.26 $\pm$ 1.57 <sup>e</sup>	553.43 $\pm$ 2.65 <sup>d</sup>	805.07 $\pm$ 3.65 <sup>b</sup>	852.64 $\pm$ 1.91 <sup>a</sup>			
酯类化合物总计				7 649.23 $\pm$ 69.68	8 477.92 $\pm$ 73.64	7 636.09 $\pm$ 127.51	9 387.32 $\pm$ 54.24	6 063.9 $\pm$ 86.11	7 169.38 $\pm$ 76.97	4 040.65 $\pm$ 69.87			
苯甲醇	100-51-6	2 136	苦杏仁味	54.24 $\pm$ 1.94 <sup>d</sup>	66.6 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	57.8 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	54.49 $\pm$ 1.59 <sup>d</sup>	64.04 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>	63.29 $\pm$ 1.11 <sup>b</sup>	62.09 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>			
苯乙醇	60-12-8	2 181	玫瑰花香	718.73 $\pm$ 2.11 <sup>f</sup>	1 123.59 $\pm$ 6.67 <sup>b</sup>	768.42 $\pm$ 20.02 <sup>e</sup>	887.83 $\pm$ 5.18 <sup>c</sup>	895.49 $\pm$ 5.48 <sup>c</sup>	817.05 $\pm$ 12.67 <sup>d</sup>	1 355.77 $\pm$ 13.25 <sup>a</sup>			
丙醇	71-23-8	1 231	酒精味	33.64 $\pm$ 3.23 <sup>bc</sup>	23.99 $\pm$ 7.09 <sup>e</sup>	25.57 $\pm$ 7.28 <sup>c</sup>	31.04 $\pm$ 2.72 <sup>bc</sup>	49.61 $\pm$ 9.28 <sup>a</sup>	47.67 $\pm$ 7.79 <sup>a</sup>	40.97 $\pm$ 0.58 <sup>ab</sup>			
正壬醇	143-8-8	1 884	玫瑰、橙子香, 油脂味	50.22 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>	62.7 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>	52.76 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	52.02 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	57.9 $\pm$ 6.32 <sup>b</sup>	69.16 $\pm$ 1.58 <sup>a</sup>	57.82 $\pm$ 2.38 <sup>b</sup>			
异丁醇	78-83-1	1 279	酒精味, 青草香	397.7 $\pm$ 11.18 <sup>e</sup>	401.83 $\pm$ 59.9 <sup>e</sup>	418.82 $\pm$ 1.36 <sup>e</sup>	425.04 $\pm$ 10.33 <sup>c</sup>	637.83 $\pm$ 12.16 <sup>e</sup>	589.76 $\pm$ 2.61 <sup>b</sup>	657.61 $\pm$ 4.63 <sup>a</sup>			
异戊醇	123-51-3	1 397	果香、白兰地	1 444.18 $\pm$ 3.53 <sup>f</sup>	1 454.33 $\pm$ 17.85 <sup>f</sup>	1 503.21 $\pm$ 11.83 <sup>e</sup>	1 630.74 $\pm$ 3.47 <sup>d</sup>	1 912.09 $\pm$ 18.11 <sup>b</sup>	1 744.72 $\pm$ 8.38 <sup>e</sup>	4 683.18 $\pm$ 12.18 <sup>a</sup>			

续表 3

名称	CAS	RI	感官评价	阈值 ( $\mu\text{g/L}$ ) (25,37/41-43)	化合物质量浓度/ $(\mu\text{g/L})$							
					T241:3	T243:1	T242:2	T481:3	T483:1	T482:2	FX10	
3-巯基-1-丙醇	19721-22-3	1 954	洋葱、大蒜、草药和水果香	50	0 ± 0 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.55 <sup>a</sup>						
高级醇类化合物总计				2 698.71 ± 22.74	3 133.04 ± 94.4	2 826.58 ± 40.99	3 081.16 ± 24.07	3 616.96 ± 52.52	3 331.65 ± 34.14	6 862.01 ± 33.4		
乙酸	64-19-7	1 651	醋味、腐败味	200 000	124.23 ± 3.16 <sup>b</sup>	128.53 ± 1.23 <sup>b</sup>	115.75 ± 4.2 <sup>c</sup>	144 ± 2.62 <sup>a</sup>	95.1 ± 4.23 <sup>d</sup>	83.25 ± 0.43 <sup>e</sup>	83.25 ± 0.43 <sup>e</sup>	75.63 ± 2.15 <sup>f</sup>
异丁酸	79-31-2	1 778	刺激性气味	2 300	6.8 ± 1.07 <sup>bc</sup>	6.31 ± 0.74 <sup>c</sup>	8.04 ± 0.94 <sup>ab</sup>	7.15 ± 0.72 <sup>bc</sup>	7.81 ± 0.11 <sup>ab</sup>	7.8 ± 0.21a <sup>b</sup>	7.8 ± 0.21a <sup>b</sup>	8.85 ± 0.69 <sup>a</sup>
异戊酸	503-74-2	2 088	不愉快气味	34 400	5.88 ± 0.38 <sup>a</sup>	3.77 ± 0.57 <sup>bc</sup>	4.47 ± 2.01 <sup>abc</sup>	3.25 ± 0.72 <sup>c</sup>	5.12 ± 0.75 <sup>ab</sup>	3.97 ± 0.62 <sup>bc</sup>	3.97 ± 0.62 <sup>bc</sup>	5.01 ± 0.32a <sup>bc</sup>
辛酸	124-7-2	2 323	哈喇、脂肪、奶酪味	10 000	21.61 ± 1.37 <sup>c</sup>	29.98 ± 1.45 <sup>a</sup>	12.38 ± 1.16 <sup>c</sup>	18.54 ± 0.28 <sup>d</sup>	24.54 ± 0.88 <sup>b</sup>	30.47 ± 0.15 <sup>a</sup>	30.47 ± 0.15 <sup>a</sup>	29.42 ± 0.74 <sup>a</sup>
挥发性脂肪酸类化合物总计				158.52 ± 5.98	168.59 ± 3.99	140.64 ± 8.31	172.94 ± 4.34	132.57 ± 5.97	125.49 ± 1.41	118.91 ± 3.9		
苯甲醛	100-52-7	1 741	苦杏仁味	750	168.95 ± 0.35 <sup>b</sup>	194.83 ± 1.12 <sup>b</sup>	172.91 ± 0.51 <sup>f</sup>	175.99 ± 0.76 <sup>e</sup>	188.04 ± 0.86 <sup>c</sup>	197.65 ± 0.07 <sup>a</sup>	197.65 ± 0.07 <sup>a</sup>	178.87 ± 3.46 <sup>d</sup>
月桂烯	123-35-3	1 757	辛辣、苦味、柠檬、橙皮和草本香	41	10.41 ± 0.36 <sup>d</sup>	11.26 ± 0.72 <sup>cd</sup>	10.91 ± 0.81 <sup>cd</sup>	11.91 ± 0.78 <sup>bc</sup>	13.72 ± 0.31 <sup>a</sup>	12.72 ± 0.18 <sup>b</sup>	12.72 ± 0.18 <sup>b</sup>	12.34 ± 0.27 <sup>b</sup>
仲辛酮	111-13-7	1 482	花香和草香	780	16 ± 0.86 <sup>b</sup>	16.85 ± 1.98 <sup>a</sup>	17.41 ± 2.19 <sup>a</sup>	15.23 ± 1.44 <sup>a</sup>	16.5 ± 1.2 <sup>a</sup>	15.86 ± 0.41 <sup>a</sup>	15.86 ± 0.41 <sup>a</sup>	17.62 ± 0.73 <sup>a</sup>
苯乙醛	122-78-1	2 033	风信子香，刺激性苦味	4	9.57 ± 0.07 <sup>c</sup>	12.84 ± 0.71 <sup>a</sup>	8.67 ± 0.14 <sup>d</sup>	8.8 ± 0.08 <sup>d</sup>	9.99 ± 0.41 <sup>bc</sup>	10.3 ± 0.35 <sup>b</sup>	10.3 ± 0.35 <sup>b</sup>	7.91 ± 0.28 <sup>c</sup>
苯乙烯	100-42-5	1 451	芳香气味	150	11.61 ± 0.69 <sup>a</sup>	9.72 ± 0.2 <sup>b</sup>	6.08 ± 1.08 <sup>cd</sup>	5.71 ± 0.93 <sup>cd</sup>	6.65 ± 0.31 <sup>c</sup>	8.92 ± 0.39 <sup>b</sup>	8.92 ± 0.39 <sup>b</sup>	5.29 ± 0.1 <sup>c</sup>
丙酮	67-64-1	1 058	芳香味，略有刺激性甜味	—	5.65 ± 0.16 <sup>c</sup>	9.07 ± 0.23 <sup>a</sup>	8.59 ± 0.85 <sup>a</sup>	6.77 ± 0.91 <sup>b</sup>	6.95 ± 0.64 <sup>b</sup>	0 ± 0 <sup>e</sup>	0 ± 0 <sup>e</sup>	4.35 ± 0.43 <sup>d</sup>
2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	2 570	柠檬香	0.5	39.42 ± 1.5 <sup>c</sup>	56.48 ± 0.77 <sup>a</sup>	27.9 ± 0.4 <sup>c</sup>	40.84 ± 1.22 <sup>c</sup>	42.55 ± 1.73 <sup>bc</sup>	45.48 ± 3.91 <sup>b</sup>	45.48 ± 3.91 <sup>b</sup>	31.22 ± 1.42 <sup>d</sup>
其他类化合物总计				261.61 ± 3.99	311.05 ± 5.73	252.47 ± 5.98	265.25 ± 6.12	284.4 ± 5.46	290.93 ± 5.31	290.93 ± 5.31	290.93 ± 5.31	257.6 ± 6.69

注：“—”表示未检测到。

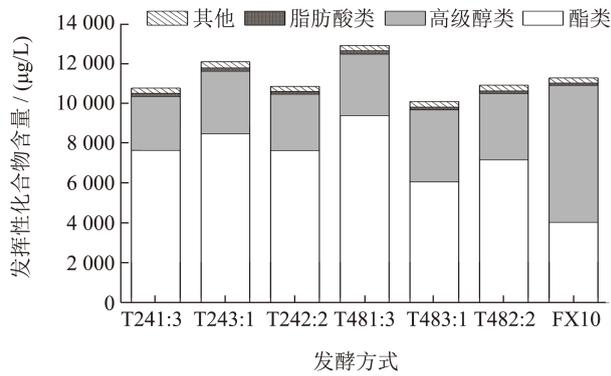


图 2 不同处理茵红李果酒挥发性化合物总含量图

Fig.2 Total content of volatile compounds in different treatments of Yin hong plum wine

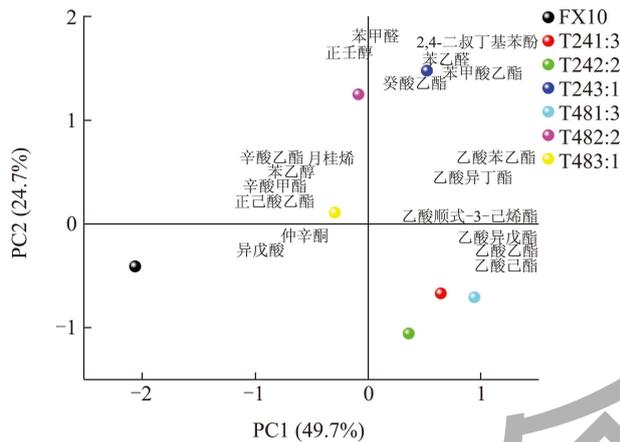


图 3 茵红李酒中气味活性化合物 (OAV > 0.1) 的主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of odorant active compounds (OAV > 0.1) in Yin hong plum wine

### 2.4 主成分分析 (PCA)

气味活性值 (OAV) 是衡量化合物对果酒香气影响程度的重要指标, 一般认为气味活性值  $OAV \geq 1$  的化合物对果酒的香气具有较大的影响作用, 而 OAV 值在 0.1~1 的化合物则可能存在相互协同作用, 会影响果酒的香气<sup>[41]</sup>。因此, 本研究将 19 种气味活性化合物 ( $OAV > 0.1$ ) 进行 PCA 分析, 揭示不同接种方式与 19 种气味活性化合物之间的相关性, 结果如图 3 所示。这 19 种不同的香气化合物解释了果酒样品中 74.4% 的差异, 其中主成分 1 (PC1) 和主成分 2 (PC2) 分别占总差异的 49.7% 和 24.7%。在 PCA 图中, 纯酿酒酵母与混菌发酵样品得到了较好的区分, 纯酿酒酵母样品位于第三象限, 并与仲辛酮和异戊醇呈正相关。而 T482:2 和 T483:1 样品位于第二象限, 并与苯甲醛、正壬醇、月桂烯、辛酸乙酯、苯乙醇、辛酸甲酯和正己酸乙酯呈正相关。另外 T241:3、T481:3 和 T242:2 位于

第四象限, 这三者表现出相似的香气特征, 并与乙酸乙酯、乙酸异戊酯和乙酸己酯呈正相关。最后, T243:1 位于第一象限, 并与苯甲酸乙酯、乙酸苯乙酯、乙酸异丁酯、乙酸顺式-3-己烯酯和葵酸乙酯共 5 种水果香酯类化合物呈正相关, 这可极大的丰富茵红李果酒的香气。这些结果表明, 不同接种方式对茵红李果酒的香气化合物和不同的风味特征产生不同的影响<sup>[21,33]</sup>。

### 2.5 感官评分

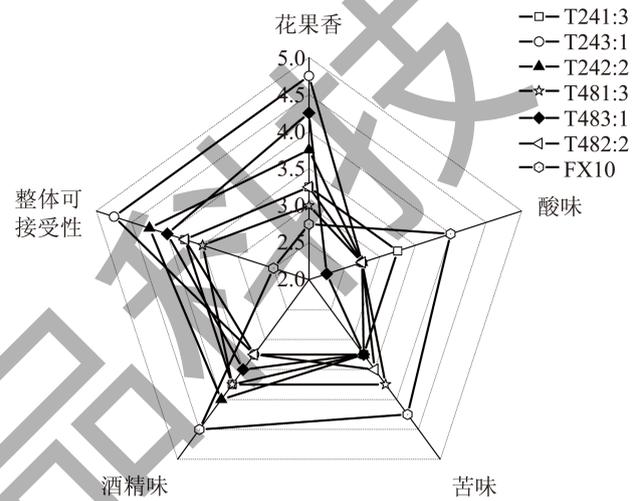


图 4 茵红李果酒的感官评分雷达图

Fig.4 Radar map of sensory rating of Yin hong plum fruit wine

不同接种策略发酵茵红李果酒的感官评分结果如图 4 所示。与纯酿酒酵母发酵相比, 所有混菌发酵的果酒中花果香味评分较高, 与其产生较多的气味活性化合物相关。混菌发酵的整体可接受性风味方面也具有较高的评分。特别是采用 T243:1 的发酵方式, 其果酒的花果香明显, 整体可接受性得分最高。此外, 混菌发酵的果酒中酒精味、酸味和苦味评分较低。酒精味的减弱可能是由于混菌发酵降低了酒精含量, 而酸味和苦味的降低则可能是因为混合菌发酵果酒中残糖量较高掩盖了这些味道<sup>[44]</sup>。总之, 顺序接种比例和接种时间是影响果酒的香气和品质的重要因素<sup>[12,45]</sup>。

### 3 结论

本研究探讨了不同接种时间和接种比例对克鲁维毕赤酵母与酿酒酵母顺序发酵茵红李果酒品质的影响。研究表明, 混菌发酵相较于纯酿酒酵母发酵延长了发酵周期, 且混菌发酵的 6~7 d 后未检测到克鲁维毕赤酵母的活菌存在。不同的接种时间

和接种比例也对茵红李果酒的理化指标产生影响。与间隔 48 h 顺序接种发酵的果酒相比, 间隔 24 h 接种发酵的果酒具有较低的还原糖含量和较高的酒精度。在挥发性化合物方面, 共鉴定出 32 种化合物。与纯酿酒酵母相比, 混合发酵显著增加了酯类化合物含量, 同时减少了高级醇类化合物的含量, 尤其是 T481:3 和 T243:1 接种方式酯类化合物增加最为显著。主成分分析显示, T243:1 位于第一象限, 与苯甲酸乙酯、乙酸苯乙酯、乙酸异丁酯、乙酸顺式-3-己烯酯和葵酸乙酯这 5 种具有花果香酯类化合物密切相关。感官分析结果表明, T243:1 发酵的茵红李果酒中花果香和整体香气评分最高。因此, T243:1 被确定为茵红李混菌发酵的最佳接种方式。未来应进一步研究克鲁维毕赤酵母与酿酒酵母混菌发酵产生更多挥发性风味物质的机制, 并深入研究发酵产物与菌株之间的相关性。

## 参考文献

- [1] 吴世磊,王进,文智猷,等.高原藏区汶川县茵红李裂果防治试验[J].现代园艺,2019,24:10-12.
- [2] 黄艳,梁东,夏惠,等.屏山县茵红李高效栽培技术[J].现代农业科技,2022,8:68-70.
- [3] 李东,李静雅,雷雨,等.李子的品质特性及其精深加工产品研究进展[J].北方园艺,2022,19:128-35.
- [4] 李江兵,杨林,田忠.李子深加工研究进展[J].食品安全导刊,2022,15:117-20.
- [5] LIU J J, WAN Y, CHEN Y R, et al. Effects of *Torulasporea delbrueckii* on physicochemical properties and volatile flavor compounds of navel orange wine [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 121: 105328.
- [6] LIAN J, MISHRA S, ZHAO H. Recent advances in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: New tools and their applications [J]. Metabolic Engineering, 2018, 50: 85-180.
- [7] TUFARIELLO M, FRAGASSO M, PICO J, et al. Influence of non-*Saccharomyces* on wine chemistry: A focus on aroma-related compounds [J]. Molecules, 2021, 26(3): 644.
- [8] 张文静,杨诗妮,杜爽,等.本土毕赤克鲁维酵母与酿酒酵母混合发酵葡萄酒的增香潜力分析[J].食品科学,2020, 41(12):84-90.
- [9] LIN X, HU X, WANG Q, et al. Improved flavor profiles of red pitaya (*Hylocereus lemairei*) wine by controlling the inoculations of *Saccharomyces bayanus* and *Metschnikowia agaves* and the fermentation temperature [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57(12): 4469-4480.
- [10] LIU P T, LU L, DUAN C Q, et al. The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of *Cabernet Sauvignon* wines by spontaneous fermentation [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 71: 356-363.
- [11] VICENTE J, CALDERON F, SANTOS A, et al. High potential of *Pichia kluyveri* and other *Pichia* species in wine technology [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(3): 1196.
- [12] BENITO S, HOFMANN T, LAIER M, et al. Effect on quality and composition of Riesling wines fermented by sequential inoculation with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. European Food Research and Technology, 2015, 241(5): 707-717.
- [13] DUTRAIVE O, BENITO S, FRITSCH S, et al. Effect of sequential inoculation with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts on riesling wine chemical composition [J]. Fermentation, 2019, 5(3): 79.
- [14] 李甜,雷雨,李东,等.不同非酿酒酵母与酿酒酵母顺序发酵对茵红李果酒风味的影响[J].食品科学,2023,44(24): 179-187.
- [15] 张文文,白梦洋,吴祖芳,等.果酒酵母菌混合发酵的研究进展[J].食品科学,2018,39(19):252-259.
- [16] 段云飞,吴光斌,叶洪,等.HPLC法同时测定采后莲雾果实 7 种有机酸的含量[J].食品科学,2021,42(4):175-80.
- [17] LIU C, LI M, REN T, et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* strains on alcoholic fermentation behavior and aroma profile of yellow-fleshed peach wine [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 155(1): 112993.
- [18] 李小惠,陈燕,韦广鑫,等.蓝莓果酒陈酿期间香气成分变化研究[J].酿酒科技,2016,9:65-70.
- [19] 张文文,翁佩芳,吴祖芳.东方伊萨酵母和酿酒酵母混合发酵杨梅酒的发酵效率及风味特征分析[J].食品科学, 2019,40(18):144-151.
- [20] XU W, LIU B, WANG C, et al. Organic cultivation of grape affects yeast succession and wine sensory quality during spontaneous fermentation [J]. LWT- Food Science and Technology, 2020, 120(C): 108894.
- [21] AHUI X, YIWEN X, ZHENYONG H, et al. Use of non-*Saccharomyces* yeast co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* to improve the polyphenol and volatile aroma compound contents in Nanfeng tangerine wines [J]. Journal of Fungi, 2022, 8(2): 128.
- [22] 李明瑕.黄桃果酒酿酒酵母的筛选及其工艺研究[D].无锡:江南大学,2021.
- [23] ZHU X L, MARÍAJESÚS T, ALBERT M, et al. Effect of a multistarter yeast inoculum on ethanol reduction and population dynamics in wine fermentation [J]. Foods, 2021, 10(3): 623.

- [24] ZHANG M, ZHONG T, HEYGI F, et al. Effects of inoculation protocols on aroma profiles and quality of plum wine in mixed culture fermentation of *Metschnikowia pulcherrima* with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 161: 113338.
- [25] WEI J, ZHANG Y, WANG Y, et al. Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non- *Saccharomyces* yeasts in pure and mixed fermentations [J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 318(C): 108471.
- [26] CAO Y X, WU Z F, WENG P F. Comparison of bayberry fermented wine aroma from different cultivars by GC-MS combined with electronic nose analysis [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(2): 830-40.
- [27] ROBLES A, FABJANOWICZ M, CHMIEL T, et al. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2019, 120(C): 115630.
- [28] LU Y, VOON M K W, CHUA J Y, et al. The effects of co- and sequential inoculation of *Torulaspora delbrueckii* and *Pichia kluyveri* on chemical compositions of durian wine [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2017, 101(21): 7853-63.
- [29] HUANG J T, WANG Y Q, REN Y C, et al. Effect of inoculation method on the quality and nutritional characteristics of low-alcohol kiwi wine [J]. LWT- Food Science and Technology, 2022, 156(15): 113049.
- [30] YE M Q, YUE T L, YUAN Y H. Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(14): 2951-2957.
- [31] HAN Y Y, SU Z H, DU J H. Effects of apple storage period on the organic acids and volatiles in apple wine [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 173(1): 114389.
- [32] ANETA W, JUSTYNA S, JOANNA C. The influence of different strains of *Oenococcus oeni* malolactic bacteria on profile of organic acids and phenolic compounds of red wine cultivars Rondo and Regent growing in a cold region [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 85(4): 1070-1081.
- [33] HU L, LIU R, WANG X, et al. The sensory quality improvement of Citrus wine through co-fermentations with selected non-*Saccharomyces* yeast strains and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Microorganisms, 2020, 8(3): 323.
- [34] PENG W, MENG D, YUE T, et al. Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus fermentum* [J]. Food Chemistry, 2021, 340: 127922.
- [35] HONG M, LI J, CHEN Y, et al. Impact of mixed non-*Saccharomyces* yeast during fermentation on volatile aroma compounds of Vidal blanc icewine [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 145: 111342.
- [36] SWIEGERS J H, PRETORIUS I S. Yeast modulation of wine flavor [J]. Advances in Applied Microbiology, 2005, 57: 131-75.
- [37] 严红光, 罗配琴, 林莉, 等. 三种蓝莓酿造果酒风味物质成分GC-MS和GC-IMS分析[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(17):283-290.
- [38] QIN Z, PETERSEN M A, BREDIE W L P. Flavor profiling of apple ciders from the UK and Scandinavian region [J]. Food Research International, 2018, 105: 713-723.
- [39] FELIPE S J, VICENTE F, JUAN C, et al. Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of Spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(14): 7916-7924.
- [40] 雷丹, 吴敏, 胡琼, 等. 川西高原野樱桃果酒发酵条件优化及其风味成分分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24):13-21,30.
- [41] 张曼. 美极梅奇酵母与酿酒酵母混合发酵对李子酒品质提升研究[D]. 无锡: 西南大学, 2022.
- [42] LI S, BI P, SUN N, et al. Effect of sequential fermentation with four non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* on nutritional characteristics and flavor profiles of kiwi wines [J]. Food Composition and Analysis, 2022, 109(prepublish): 104480.
- [43] (荷)里奥·范海默特著;李智宇等译. 化合物嗅觉阈值汇编原书第2版[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [44] STYGER G, PRIOR B, BAUER F F. Wine flavor and aroma [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2011, 38(9): 1145-59.
- [45] NFANG N, BRAJKOVICH M, GODDARD M R. Co-fermentation with *Pichia kluyveri* increases varietal thiol concentrations in Sauvignon Blanc [J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2009, 15(1): 1-8.