

# 甜橙果酒酵母筛选及发酵性能

罗佳丽, 王雪莹, 王孝荣, 蒋和体\*

(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

**摘 要:** 以甜橙果皮和甜橙果园土壤为分离源, 共分离到138株酵母菌, 经过三级筛选, 获得两株适合酿造甜橙果酒的酵母菌S017和F076, 经鉴定均为葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*), 并对其发酵性能进行测试。结果表明: S017、F076的最适发酵温度及pH值分别为24、30℃及5.0、5.5; S017产酒精能力和降糖速率大于F076; 与果酒干酵母发酵的酒样相比, 两株菌株所发酵的酒样香气浓郁、口感醇厚, 具有典型的甜橙果酒风味; S017发酵酒样香气种类多于其余酒样, 且特征香气物质己酸乙酯、辛酸乙酯、苯乙醇含量明显高于其余酒样。综合各种性能表明, 筛选的菌株S017更适合甜橙果酒的酿造。

**关键词:** 甜橙果酒; 酵母菌; 分离筛选; 鉴定; 发酵性能

## Screening and Fermentation Properties of Yeast for Sweet Orange Wine

LUO Jia-li, WANG Xue-ying, WANG Xiao-rong, JIANG He-ti\*

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** A total of 138 yeast strains were isolated from sweet orange peel and orchard soil, after 3 screening cycles, 2 strains numbered as S017 and F076 were obtained and identified as *Hanseniaspora uvarum*, which were suitable for the production of sweet orange wine. In addition, the fermentation properties of strains S017 and F076 were also studied. The results showed that the optimal fermentation temperatures for S017 and F076 were 24 °C and 30 °C, and the optimal fermentation pH were 5.0 and 5.5, respectively. The alcohol-producing capacity and hypoglycemic speed of S017 were better than those of F076. The aroma, taste and typicality of the wines fermented by S017 and F076 were superior to those of the wine fermented by dry yeast. More aromatic components and high levels of ethyl hexanoate, ethyl octanoate and 2-phenylethanol were found in the wine fermented by S017 compared to those produced by other strains. Accordingly, strain S017 was more suitable for brewing sweet orange wine because of its favorable properties.

**Key words:** sweet orange wine; yeast; separation and screening; identification; fermentation properties

中图分类号: TS261.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)11-0222-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201311048

甜橙(*Citrus sinensis* (L.) Osb.)是芸香科柑橘属植物, 含有多种维生素、有机酸、矿物质等多种生物活性物质<sup>[1]</sup>, 甜橙果酒以甜橙为原料经发酵而得的低度饮料酒, 风味独特<sup>[2]</sup>, 酒中含有较多的浸出物, 所含的VC、酚类等<sup>[3]</sup>化合物有助于预防心血管疾病和冠心病的发生, 具有较高的营养保健功能。

酵母是酿造果酒的关键因素之一<sup>[4-5]</sup>, 直接影响到所酿果酒的口感和风味<sup>[6-7]</sup>, 决定果酒品质的优劣。目前甜橙果酒的酵母多为延用葡萄酒酵母或果酒干酵母, 缺乏专用的酵母菌株, 使得甜橙果酒风味不突出。李锐等<sup>[8]</sup>以锦橙表皮和柑橘园土壤筛选出适于锦橙果酒酿造的酵母菌株, 陈茂彬等<sup>[9]</sup>从柑橘自然发酵液中分离得到适合柑橘果酒发酵的酵母GJ-17, 但关于筛选适合甜橙果酒的酵母

菌株的研究鲜有报道。本实验从中国柑橘研究所和三峡建设集团柑橘品种园中甜橙果皮及果园土壤中分离筛选适合酿造甜橙果酒的优良酵母菌株, 对菌株进行鉴定, 研究其发酵性能, 并比较筛选酵母菌株与果酒干酵母酿造的甜橙酒酒精度、残糖、风味物质等品质的差异, 以期对菌株的进一步研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

甜橙及土壤采自重庆北碚区歇马镇及重庆忠县新立镇的柑橘果园。

引物NL1/NL4 北京华大生物有限公司; 10×PCR

收稿日期: 2012-09-30

作者简介: 罗佳丽(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: cynthia2110@163.com

\*通信作者: 蒋和体(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品工程。E-mail: jheti@126.com

Buffer、*Taq*DNA聚合酶、dNTPs、DNA Marker 宝生物工程(大连)有限公司; 质粒提取试剂盒 美国Sigma公司; 氨苄青霉素(Amp)、卡那霉素(Kan) 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司。

## 1.2 菌株与培养基

酵母菌F076: 自重庆忠县甜橙果皮中分离; 酵母菌S017: 自重庆歇马镇甜橙果园土壤中分离; 对照菌株(CK): (SY)果酒干酵母, 购自安琪酵母股份有限公司。

富集培养基: 含抗菌素(青霉素1000mg/L)的YPD液体培养基; 分离培养基: PDA培养基; 斜面保藏培养基: YPD培养基(固体); 橙汁培养基: 甜橙榨汁后添加0.05g/100mL果胶酶, 42℃酶解2h, 尼龙滤布过滤, 3000r/min离心3min, 取上清液。

酵母种子液: 参考蒋和体等<sup>[10]</sup>的方法配制。

## 1.3 仪器与设备

Master Cycler Gradient梯度PCR仪、Gel2 2000凝胶成像系统 美国Bio-Rad公司; DYYIII型电泳仪、琼脂糖水平电泳槽 北京市六一仪器厂; DHP-300电热恒温培养箱 重庆永恒试验仪器厂; DSX-280A1不锈钢手提式灭菌器 上海申安医疗器械厂; HWT-10C恒温振荡水浴 天津市恒奥科技发展有限公司; B203生物显微镜 重庆奥特光学仪器有限公司; QP2010气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司; Supleco固相微萃取装置、50/30μm DVB/CAR/ PDMS(二乙烯基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷)萃取头 美国Supelco公司。

## 1.4 方法

### 1.4.1 酵母菌的分离

采集柑橘果园中不同品种新鲜、无损伤的甜橙果皮以及果园内土壤作为酵母菌的分离样品, 取适量样品加入到选择性富集培养基中, 30℃、200r/min摇床培养48h<sup>[11]</sup>, 梯度稀释后在PDA平板上涂布, 30℃培养1~2d。挑取典型的酵母菌菌落, 划线分离传代培养2~3次获得纯培养<sup>[12]</sup>, 镜检为纯种后接入YPD斜面。果实中筛选的酵母从F001开始编号, 土壤中筛选的酵母从S001开始编号, 经编号菌株于4℃保藏。

### 1.4.2 甜橙果酒酵母筛选

初筛: 将分离得到的菌株按8%的接种量接种到15°Brix橙汁培养基中, 采用杜氏小管发酵法<sup>[13]</sup>观察各菌株的产气速率及产气量, 初步比较起酵速率、发酵力, 获得产气能力较强菌株。

复筛: 将初筛得到的菌株按8%的接种量接种到15°Brix橙汁培养基中, 28~30℃静置发酵7d, 用酒精计法测定发酵液的酒精度, 进一步筛选产酒能力强的菌株, 并对产物进行感官评定。

三级筛选: 耐酒精、SO<sub>2</sub>筛选。将复筛得到的菌株接入含9%、12%、15%、18%乙醇的橙汁培养基中, 于

28~30℃培养, 分别在发酵开始后的12、24、36、48h观察杜氏小管的产气情况, 筛选出对酒精的耐受性强的菌株。将复筛得到的菌株接入到含50、75、100、125、150、175、200mg/L SO<sub>2</sub>的橙汁培养基, 于28~30℃培养, 分别在发酵开始后的10、24、48h观察杜氏小管的产气情况, 进一步筛选出耐SO<sub>2</sub>的菌株。

### 1.4.3 筛选菌株鉴定

#### 1.4.3.1 筛选菌株形态学观察

菌落形态: 无菌环境条件下用接种环挑取活化后的酵母菌适量, 在YPD平板上划线, 28~30℃培养24~48h后, 直接观察菌落特征。

个体形态: 生理盐水浸片法<sup>[14]</sup>。

#### 1.4.3.2 分子生物学鉴定

DNA提取采用珠磨法<sup>[15-16]</sup>, 以提取的基因组DNA为模板, 以NL1(5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAA AAG-3')和NL4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3')为引物扩增26S rDNA D1/D2区域<sup>[17]</sup>, 产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测<sup>[18]</sup>。PCR扩增产物由北京三博远志生物技术公司进行测序。将测序得到的序列在国际核酸数据库(NCBI)中BLAST程序进行序列同源性比对, 用MEGA4软件绘制系统发育树图谱, 并结合菌株的形态学特征鉴定目的菌株。

### 1.4.4 发酵性能测试

#### 1.4.4.1 筛选酵母最适温度的测定

将酵母种子液接入15°Brix橙汁培养基中, 在不同温度条件下恒温培养72h, 用酒精计法测定酒精度, 依据酒精度的大小确定最适发酵温度。

#### 1.4.4.2 筛选酵母最适pH值的测定

将酵母种子液接入不同pH值的橙汁培养基(15°Brix)中, 于最适发酵温度条件下恒温培养72h, 用酒精计法测定酒精度, 依据酒精度的大小确定最适发酵pH值。

#### 1.4.4.3 筛选酵母产酒力与降糖速率测定

将酵母种子液接入到23°Brix橙汁培养基中, 在最适温度条件下发酵96h, 每隔12h测定酒精度、总糖含量。

### 1.4.5 菌株对发酵甜橙果酒品质的影响

将酵母种子液与活性干酵母(对照)接入到23°Brix橙汁中, 于室温条件下发酵, 发酵结束后测定酒样的总糖、酒精度、总酸、香气成分等理化指标, 并从色泽、透明度、香气、口感、典型性对酒样进行感官评定, 综合评定筛选出优良甜橙酒酵母。

### 1.4.6 甜橙酒理化指标测定

总糖、总酸、酒精度参照GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》测定。

### 1.4.7 甜橙酒香气成分测定

#### 1.4.7.1 甜橙酒香气成分提取<sup>[8]</sup>

取甜橙酒6mL于20mL样品瓶中, 40℃水浴平衡

15min, 插入经老化的萃取头(250℃老化40min), 顶空萃取35min后, 将萃取头插入GC进样口, 解析5min。

1.4.7.2 GC-MS条件

色谱条件: 色谱柱DB-5MS(30m×0.25mm, 0.25μm), 进样口温度250℃; 升温程序: 35℃保持4min, 以10℃/min升至110℃, 保持6min, 以5℃升至150℃, 保持2min, 以7℃/min升至230℃, 保持4min; 载气: 高纯He, 载气流量1.0mL/min。电离方式EI; 电子能量70eV; 离子源温度230℃; 质量扫描范围 $m/z$  35~500u。

分析结果运用计算机谱库(NIST/WILEY)进行初步检索及资料分析, 再结合文献[7-8]进行人工谱图解析。

2 结果与分析

2.1 分离结果

对采集的果实、土壤样品进行分离、纯化后共得到酵母菌138株。其中, 甜橙果皮样品中共分离得到酵母菌112株, 两个果园土壤样品中分离得到酵母菌26株。

2.2 筛选结果

2.2.1 初筛结果

表1 酵母初步筛选结果

Table 1 Results of preliminary screening

发酵时间/h	产气量	菌株数
10	+	4
	++	2
	+++	2
24	+	4
	++	6
	+++	7
48	+	8
	++	6
	+++	10

注: +, 产气量约等于杜氏小管体积的 1/3; ++, 产气量约等于杜氏小管体积的 1/2; +++, 产气几乎满管。

由表1可知, 发酵10h产气满管的菌株有2株, 发酵24h产气满管的菌株有7株, 发酵48h产气满管的菌株有10株, 摇动这19支试管可闻到淡淡的酒香。这19株菌株具有较强的产气能力和发酵力, 保留这19株菌株进行下一级筛选。

2.2.2 复筛结果

复筛在初筛的基础上, 以酒精度为指标, 进一步比较各株酵母的发酵能力并对产物进行感官评定。19株酵母中产酒力大于7%的酵母菌3株, 酒精度为5%~6%、6%~7%的分别有5、4株, 剩余7株产酒力低于5%。产酒力高于5%的12株酵母发酵得到的果酒酒香浓郁, 略有橙子的酸涩味, 风味典型, 可以满足甜橙果酒的生产要求, 进入第3次筛选。剩余的7株酵母产酒力较低, 风味略差, 故不予考虑。

2.2.3 三级筛选结果

表2 耐酒精力菌株的筛选结果

Table 2 Screening of alcohol tolerant strains

时间/h	酒精度/%			
	9	12	15	18
12	12	8	3	2
24	—	2	2	2
36	—	1	1	—
48	—	—	—	—

注: —, 未检测出。下同。

表3 耐二氧化硫菌株的筛选结果

Table 3 Screening of SO<sub>2</sub> tolerant strains

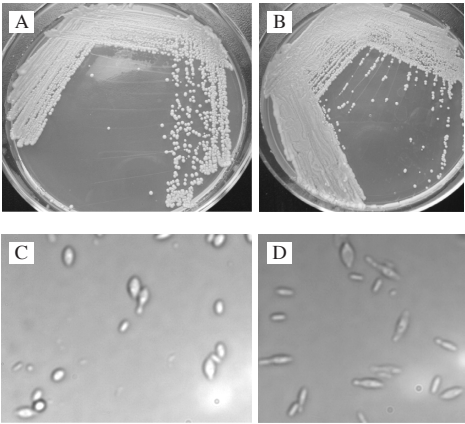
时间/h	SO <sub>2</sub> 添加量/(mg/L)						
	50	75	100	125	150	175	200
10	12	9	7	6	5	3	2
24	—	2	2	2	2	2	1
48	—	1	2	1	—	—	—

由表2可知, 复筛得到的12株酵母酒精耐受能力均在9%以上。其中, 11株耐受12%酒精度, 6株耐受15%酒精度, 4株耐受18%酒精度。果酒生产中, SO<sub>2</sub>添加量一般为50~100mg/L<sup>[11]</sup>, 由表3可知, 受试的12株菌株大部分满足生成要求。

综合三级筛选和感官评定, 得到两株符合优良果酒酵母的标准的菌株, 编号为F076和S017, 这两株菌种在发酵开始后24h内产气, 并在发酵开始后48h内产气量达到杜氏小管满管, 产酒力分别为6.8%、7.5%, 均能耐受15%以上的酒精, SO<sub>2</sub>耐受性分别为150、175mg/L。经感官评定, 两者典型性最好, 香气最为浓郁, 因而将菌株F076和S017保留, 进行下一步鉴定。

2.3 鉴定结果

2.3.1 酵母菌的形态观察



A. F076菌落形态; B. S017菌落形态; C. F076个体形态; D. S017个体形态。

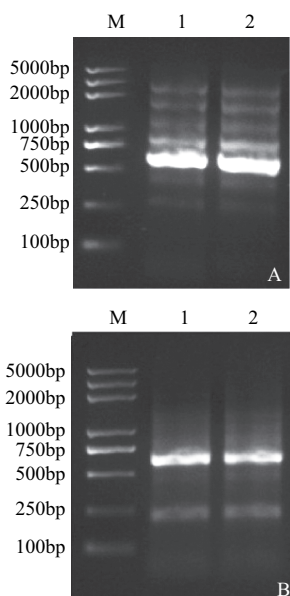
图1 酵母菌株F076和S017的菌落和个体形态

Fig.1 Colony and microscopic characteristics of yeast F076 and S017



菌株F076、S017的菌落形态及个体形态如图1所示,二者的菌落形态为圆形、乳白色,表面光滑、有凸起,质地松软、易挑,有悦人的酒香味,是典型的酵母菌菌落<sup>[14]</sup>。F076的菌落直径为 $(1.72 \pm 0.32)$ mm, S017为 $(1.23 \pm 0.47)$ mm。菌株F076与S017个体形态均为卵圆形,出芽生殖方式均为一端出芽。

### 2.3.2 分子生物学鉴定



A. 菌株S017 26S rDNA D1/D2 PCR扩增电泳图; B. 菌株F076 26S rDNA D1/D2 PCR扩增电泳图; M. Trans 2K plus DNA Marker; 1、2. 26S rDNA D1/D2 PCR扩增产物。

图2 酵母菌株S017、F076 26S rDNA D1/D2 PCR扩增电泳图

Fig.2 Electrophoresis of amplification products of 26S rDNA D1/D2 from yeast S017 and F076

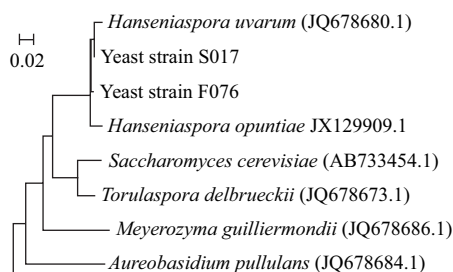


图3 酵母菌株S017、F076进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of yeast S017 and F076

以玻璃珠破壁法提取酵母的基因组DNA,以NL1/NL4为引物扩增酵母26S rDNA的D1/D2区域,扩增出的片段长度大约为600bp。将PCR扩增产物送北京三博远志生物技术公司测序,将测序得到的序列在NCBI数据库中进行同源序列搜索,得到与其亲缘关系相近的已知酵母菌的相关信息,并采用MEGA软件构建进化树,结果如图3所示, S017、F076与葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)

相似度非常高,结合形态学的特征,可得知这两株菌株为的葡萄汁有孢汉逊酵母不同菌株。

### 2.4 筛选酵母发酵特性研究

#### 2.4.1 筛选酵母最适发酵温度

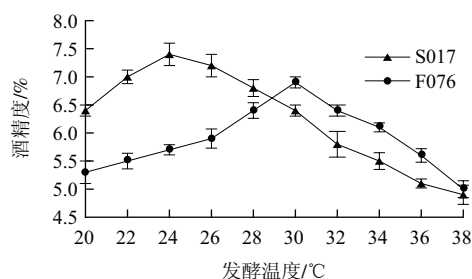


图4 酵母菌株S017、F076最适温度

Fig.4 Optimal fermentation temperature for yeast S017 and F076

发酵温度变化对这两株菌株发酵有较大的影响,在一定温度范围内随着温度的升高酒精含量增加,超过一定温度酒精含量随着温度的升高迅速降低。由图4可知, S017的最适发酵温度为24°C, F076的最适发酵温度为30°C。优良的酿酒酵母应具有低温发酵能力,一般果酒的适宜发酵温度在16~23°C之间<sup>[19]</sup>, S017在此温度内产酒力明显高于F076。

#### 2.4.2 筛选酵母的最适pH值

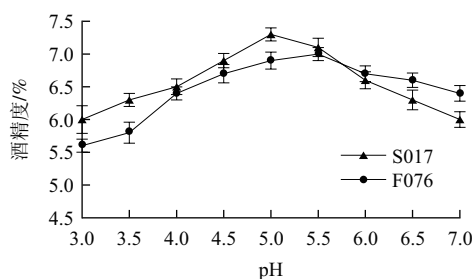


图5 酵母菌株S017、F076的最适pH值

Fig.5 Optimal fermentation pH for yeast S017 and F076

图5为S017、F076在不同pH值橙汁条件下发酵72h后酒精度, pH值的变化对这两株菌株发酵均有不同程度的影响,从整体的发酵趋势看, pH值的升高或降低对S017发酵力的影响较大,在pH值为5.0时酒精度达到最大, pH值高于或低于5.0时S017酒精含量明显下降。F076在pH值为5.5时酒精含量最大,在pH4.5~5.5之间酒精含量差异不大。

#### 2.4.3 发酵过程中残糖、酒精度的变化

由图6可知,菌株S017和F076发酵甜橙果酒的酒精度和残余总糖含量变化趋势相同。在发酵前期两株菌株发酵果酒酒精度增长速率相近,后期S017的酒精度高于F076,说明两者起酵速率相近,但F076的产酒精能力不

及S017。发酵结束时F076的总糖含量高于S017，糖的利用率不及S017。

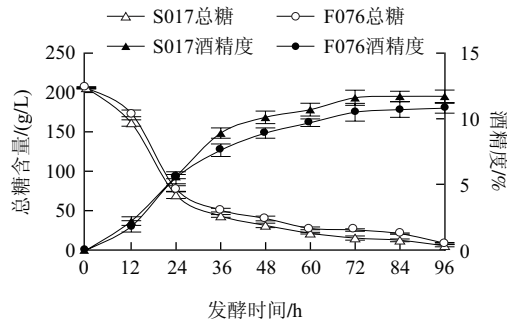


图6 发酵过程中总糖和酒精度的变化

Fig.6 Changes in alcohol content and total sugar during fermentation

2.5 不同酵母对发酵甜橙果酒品质的影响

2.5.1 不同酵母发酵甜橙酒理化指标

表4 不同酵母发酵甜橙酒理化指标

Table 4 Physico-chemical indexes of sweet orange wine fermented by different yeast strains

菌株	残余总糖含量/(g/L)	酒精度/%	总酸含量/(g/L)	pH
F076	8.75±0.81	11.22±0.49	7.88±0.53	3.54±0.33
S017	4.28±0.75	12.30±0.31	7.39±0.36	3.70±0.41
对照	5.73±0.67	12.02±0.46	7.51±0.69	3.62±0.36

由表4可知，S017所发酵的甜橙果酒理化指标与对照果酒干酵母发酵的甜橙果酒差异不大。F076发酵的果酒中残余总糖含量高于其他酒样，糖的利用率不及其他菌株，酒精度略低于其他酒样，总酸和pH值与其他酒样差异不大。

2.5.2 不同酵母发酵甜橙酒的感官指标

表5 甜橙酒感官评定结果

Table 5 Sensory evaluation of sweet orange wine

菌株	色泽	透明度	香气	口感	典型性
F076	橙黄	澄清透明	酒香较淡，果香浓郁	酒味醇厚	典型
S017	橙黄	澄清透亮	浓郁的酒香和果香	酒味醇厚	典型
对照	橙黄	澄清	酒香浓郁，果香较淡	酒味烈，有涩味	一般

由表5可知，筛选酵母发酵的甜橙果酒在色泽和透明度方面与对照发酵甜橙酒差异不大，但在香气、口感及典型性方面明显优于对照。3个酒样中以S017所发酵果酒香味最为浓郁，综合风味最佳。

2.5.3 不同酵母发酵甜橙酒香气成分

果酒的香味取决于含有香味的化合物的种类及含量，由表6可知，3个酒样共检出香气组分73种，其中酯类49种、醇类9种、酸类2种、萜类7种、醛类4种、其他2种，菌株F076、S017及果酒干酵母发酵的酒样的香气物质种类依次为38、42、31种。不同酵母发酵果酒香气物质组成差异较大，其中共有的物质有8种，分别为己酸乙

酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯、苯乙醇、 $\alpha$ -松油醇、2,6-二叔丁基对甲酚，但这些共有的香气物质在3个酒样中的相对含量差别大。酯类是果酒中含量最多、最主要的风味组分，F076、S017所发酵的果酒酯类物质种类和含量均比干酵母所发酵的甜橙果酒高，筛选酵母产酯能力强于果酒干酵母。Selli等<sup>[20]</sup>曾指出己酸乙酯、辛酸乙酯、芳樟醇、香茅醇、苯乙醇和丁香酚是橙酒香气贡献最大的几种物质，酒样F076和干酵母酒样中未检测到香茅醇和丁香酚，酒样S017中未检测到芳樟醇和丁香酚，己酸乙酯、辛酸乙酯、苯乙醇在3个酒样中均被检出，但含量差异较大，其中酒样S017中含量最高。

表6 不同酵母发酵甜橙酒香气组分

Table 6 Aroma compositions of sweet orange wine fermented by different yeast strains

名称	分子式	相对含量/%		
		F076	S017	CK
酯类				
乙酸异戊酯	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	2.38	5.46	
乙酸己酯	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	1.07	0.91	
乙酸苯乙酯	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	1.02	1.83	
乙酸香茅酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.77	0.62	
乙酸橙花酯	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0.31		
乙酸十二烯基酯	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	0.16		
乙酸庚酯	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		0.10	
己酸乙酯	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	6.44	9.89	1.91
己酸异丁酯	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>		0.06	
己酸异戊酯	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>		0.14	
3-羟基己酸乙酯	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.35	0.14	
琥珀酸二乙酯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>			1.11
己酸-2-苯乙酯	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>		0.54	
庚酸乙酯	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		0.10	
辛酸甲酯	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		0.44	
辛酸乙酯	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	18.68	21.63	13.06
辛酸-2-苯乙酯	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	0.25	0.10	
辛酸异丁酯	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>		0.13	
辛酸3-甲基丁酯	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>		0.54	0.19
肉桂酸乙酯	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>			0.28
癸酸甲酯	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>		0.10	
癸酸乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	26.59	24.91	11.84
癸酸正丙酯	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>		0.07	
癸酸异丁酯	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>		0.20	0.20
癸酸3-甲基丁酯	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0.57	0.87	
反式-4-癸烯酸乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>		0.29	0.89
3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇乙酸酯	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	1.29	0.81	
4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-甲醇乙酸酯	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	0.28		
苯甲酸乙酯	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>		0.07	12.27
苯甲酸异丁酯	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>			0.19
苯甲酸异戊酯	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>			2.04
苯乙酸苯乙酯	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	0.55		
邻苯二甲酸二异丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	1.15		
邻苯二甲酸二丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	0.25		
癸酸乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.19		
十一烯酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>		0.15	
月桂酸乙酯	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	19.65	15.14	3.62

续表6

名称	分子式	相对含量/%		
		F076	S017	CK
肉豆蔻酸乙酯	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	0.59	0.56	0.88
肉豆蔻酸异丙酯	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	0.16		
十五酸乙酯	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>			0.43
棕榈酸甲酯	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	0.80	0.06	
棕榈酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	0.20	0.56	5.81
十七酸甲酯	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	1.69	0.12	
9-十六烯酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>		0.21	0.35
9-十八烯酸甲酯	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	0.89		
亚油酸乙酯	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>			2.44
油酸乙酯	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>			2.36
硬脂酸甲酯	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	0.41		
硬脂酸乙酯	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>			0.49
<b>醛类</b>				
壬醛	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	0.60		0.14
癸醛	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	0.55		
十一醛	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O			0.05
十五醛	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O	0.31		
<b>醇类</b>				
丙三醇	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>			0.64
正戊醇	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O		6.70	11.89
正己醇	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O		0.19	
苯乙醇	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	2.40	3.82	1.81
十一醇	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	1.10		
十二烷基乙二醇	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0.15		
(E)-香芹醇	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O		0.28	
7-十六-1-醇	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O			1.19
亚麻醇	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O			0.10
<b>酸类</b>				
癸酸	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0.34		
正辛酸	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	0.30		
<b>萜类</b>				
柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>		0.70	
1-石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		0.15	
4-萜烯醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O		0.08	0.27
α-松油醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.43	0.28	0.32
芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.50		0.35
香茅醇	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O		0.19	
橙花叔醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	2.86		0.09
<b>其他</b>				
2,6-二叔丁基对甲酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	2.73	0.46	22.78
5-癸酮	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O		0.18	

### 3 结 论

本研究通过对甜橙果皮和果园土壤中酵母菌株的筛选,得到两株优良甜橙果酒酵母S017和F076,经鉴定S017和F076为葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)的不同菌株。两株菌株耐酒精大于15%,能耐受150mg/L SO<sub>2</sub>,均能满足生产需要。S017的最适发酵温度24℃,最适发酵pH值为5.0, F076的最适发酵温度30℃,最适pH值为5.5, S017较F076具有更好的低温发酵能力和耐低pH值的能力。S017产酒力和糖的转化率大于F076。

筛选的菌株所发酵的果酒在口感、香气和典型性方面均优于活性干酵母所发酵的果酒,在香气成分方面, S017所发酵果酒的香气成分种类多于其他酒样,且橙酒特征香气物质己酸乙酯、辛酸乙酯和苯乙醇相对含量远高于其他酒样。综合各项性能表明,菌株S017较菌株F076和果酒干酵母更适合甜橙果酒的酿造。

### 参考文献:

- [1] MOUFIDA S, MARZOUK B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange[J]. Phytochemistry, 2003, 62(8): 1283-1289.
- [2] 罗安伟, 刘兴华, 石慧, 等. 甜橙干酒澄清技术研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(10): 178-182.
- [3] KELEBEK H, SELLI S, CANBAS A, et al. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan[J]. Microchemical Journal, 2009, 91(2): 187-192.
- [4] 魏彦锋, 蒋锡龙, 孙玉霞, 等. 果酒酵母分离选育的研究进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2008(6): 66-69.
- [5] OKUNO W O, OLUWANISOLA W, OSUNTOK I, et al. Quantitation of alcohols in orange wine fermented by four strains of yeast[J]. African Journal of Biochemistry Research, 2007, 1(6): 95-100.
- [6] 刘姝, 房耀维, 焦豫良, 等. 优良山楂酒酿造酵母菌株的筛选与鉴定[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(6): 113-116.
- [7] ROMANO P, FIORE C, PARAGGIO M, et al. Function of yeast species and strains in wine flavour[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 86(1/2): 169-180.
- [8] 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): 206-213.
- [9] 陈茂彬, 何平, 曾莹. 柑橘酒酿造酵母的筛选及特性研究[J]. 酿酒科技, 2007(1): 20-27.
- [10] 蒋和体, 杨阳. 锦橙果醋酿造工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 235-238.
- [11] 龙超安. 酵母菌的分离、筛选以及对柑橘保鲜的机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [12] 陈文学, 胡月英, 刘四新, 等. 腰果梨果酒酵母的分离和筛选[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 147-149.
- [13] 刘贞, 刘小翠, 赵思明, 等. 发酵米浆中高发酵性能酵母菌和乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 232-235.
- [14] 李平兰, 贺雅非. 食品微生物学实验原理与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 27-30.
- [15] 赵宏宇, 李珺, 赵玥, 等. 4种酵母基因组提取方法的比较[J]. 食品科学, 2011, 32(9): 170-173.
- [16] CHUMILLAS M R, CORTINES M E, GOMEZ A L, et al. Evaluation of a rapid DNA extraction method to detect yeast cells by PCR in orange juice[J]. Food Control, 2007, 18(1): 33-39.
- [17] 陈金丽, 郭阳, 薛洁, 等. 优良野生葡萄酒酵母的筛选及性能评价[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(5): 106-116.
- [18] 赵静静, 李艳. 沙城产区酿酒酵母多样性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(5): 224-228.
- [19] 杨幼慧, 张莉萍, 郑素霞. 影响果酒发酵质量的因素及其控制方法[J]. 中国酿造, 2002(1): 28-30.
- [20] SELLI S, CABAROGLU T, CANBAS A. Flavour components of orange wine made from a Turkish cv. Kozan[J]. International Journal Food Science & Technology, 2003, 38(5): 587-593.