

耐低温桑葚果酒酵母的选育及发酵特性

丁波^{1,2}, 林颖¹, 熊灵¹, 赵书田¹, 张文学^{1,3*}

(1. 四川大学轻工科学与工程学院, 四川成都 610065) (2. 西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730000)

(3. 四川大学锦江学院白酒学院, 四川眉山 620860)

摘要: 为筛选适合桑葚低温酿造果酒的新型菌株, 该研究从桑葚自然发酵液中分离、纯化菌种, 以耐低温、产酒精能力为条件分级筛选性能优良的发酵菌株; 并对所得菌株进行耐受性分析、以及果酒发酵性能和香气特征分析。研究获得产香性能优良的克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*) 2 株 (PK-1 与 PK-2), 发酵性能优良的酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 1 株 (SC-1)。研究结果表明, 3 株菌种在 16 °C 下生长状况良好, 乙醇、高糖及 SO₂ 耐受性分别达到 15% (V/V)、400 g·L⁻¹ 及 300 mg·L⁻¹, 并且能够适应 pH 值低至 3 的果酒生产环境。发酵试验表明, SC-1 组酒精度达到 13.26% vol; 挥发性香气成分共检测出 53 种, 其中 SC-1 组发现 24 种、PK-1 组 32 种、PK-2 组 31 种; SC-1 组异戊醇及苯乙醇 (m/V) 分别达到 43.09 μg·mL⁻¹ 和 143.66 μg·mL⁻¹; PK-1 与 PK-2 组乙酸苯乙酯 (m/V) 分别达到 402.96 μg·mL⁻¹ 和 421.51 μg·mL⁻¹, 特征香气成分差异显著。SC-1 菌株低温条件下发酵性能优良, 香气物质异戊醇含量突出, 达到 143.66 μg·mL⁻¹; 两 PK 菌株产酯性能优良, 可为混菌发酵果酒构建全新的花果香型主体; 所获菌株可为改进果酒香型提供一定的理论依据。

关键词: 桑葚酒; 酿酒酵母; 非酿酒酵母; 克鲁维毕赤酵母; 低温发酵

文章编号: 1673-9078(2026)03-83-92

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.1768

Isolation and Fermentation Properties of Yeast Strains for Low-temperature Resistant Mulberry Wines

DING Bo^{1,2}, LIN Ying¹, XIONG Ling¹, ZHAO Shutian¹, ZHANG Wenxue^{1,3*}

(1.College of Biomass Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

(2.School of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730000, China)

(3.School of Liquor-Brewing Engineering, Sichuan University of Jinjiang College, Meishan 620860, China)

Abstract: To screen novel yeast strains suitable for the low-temperature fermentation of mulberry fruit wine, this study isolated and purified strains from naturally fermented mulberry broth. Yeast strains with excellent low-temperature tolerance and alcohol-producing capacity were then hierarchically screened. The selected yeast strains were further analyzed for tolerance, and their fruit wine fermentation performance and aroma characteristics evaluated. Two *Pichia kluyveri* strains (PK-1 and PK-2) with excellent aroma producing ability and one *Saccharomyces cerevisiae* strain (SC-1) with superior fermentation performance were identified. Results showed that the three strains grew well at 16 °C, exhibiting an ethanol tolerance and high sugar and sulfur dioxide production of 15% (V/V), 400 g·L⁻¹, and 300 mg·L⁻¹, respectively. All strains could also tolerate fruit wine production conditions at pH 3. Fermentation tests showed that the SC-1 group reached an alcohol content of 13.26% vol. A total of 53 volatile

引文格式:

丁波,林颖,熊灵,等.耐低温桑葚果酒酵母的选育及发酵特性[J].现代食品科技,2026,42(3):83-92.

DING Bo, LIN Ying, XIONG Ling, et al. Isolation and fermentation properties of yeast strains for low-temperature resistant mulberry wines [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 83-92.

收稿日期: 2024-11-26; 修回日期: 2025-03-25; 接受日期: 2025-03-26

基金项目: 四川省科技计划项目 (2021YFN0012)

作者简介: 丁波 (1984-), 男, 博士研究生, 实验师, 研究方向: 食品发酵, E-mail: kelpbo@163.com

通讯作者: 张文学 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品发酵, E-mail: foodecoengineering@163.com

aroma compounds were identified, of which 24 were found in the SC-1 group, 32 in the PK-1 group, and 31 in the PK-2 group. Isoamyl alcohol and phenylethanol concentrations (m/V) in the SC-1 group reached $43.09 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $143.66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. Phenethyl acetate concentrations (m/V) in the PK-1 and PK-2 groups reached $402.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $421.51 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, showing significant differences in key aroma components. The SC-1 strains exhibited excellent fermentation performance under low-temperature conditions, with a notably high isoamyl alcohol content ($143.66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). The two PK strains showed excellent ester-producing ability, which could contribute to the development a novel floral-fruity aroma profile for co-fermented fruit wines. Overall, the results of this study provide a theoretical basis for improving the aroma profile of fruit wine.

Key words: mulberry wine; *Saccharomyces cerevisiae*; non-*Saccharomyces*; *Pichia kluyveri*; low-temperature fermentation

桑葚 (*Morus alba* L.) 亦称文武实、桑枣等, 为荨麻目、桑科、桑属植物的果实^[1]。因其种植适应性强, 广泛分布于世界多地; 我国除青藏高原外, 各地均有不同规模的栽培^[2]。桑葚果实单果为大量小核果聚集形成的长、圆簇状聚花果, 果实储运性能不佳、货架期短^[3], 故多以鲜食为主。目前市场出现的桑葚果干、果汁及果酱等产品虽能够解决这一问题, 但产品附加值提升不高。近年来, 随着消费者对健康意识的日渐提升, 低酒度发酵型果酒受到各年龄层次消费者的追捧。除传统的葡萄酒、苹果酒外, 各种新型果酒也不断出现。桑葚果实富含脂肪酸、氨基酸、维生素及矿物质等生物活性物质^[4], 能够起到调节人体免疫及保护肝脏的功效^[5]; 此外桑葚果实易于破碎、加工, 是一种理想的果酒生产原料。

果酒工业生产中, 多使用酿酒酵母进行纯种发酵以便进行良好的生产管理及品质控制^[6]。目前果酒生产多使用商业酿酒酵母开展生产, 酵母多针对葡萄或苹果等普遍性较高的原料, 一般在生产温度为 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时生产效果良好^[7]。尽管这类酵母生产性能稳定, 但可能导致产品缺乏风味独特性, 较难使酿酒原料的风味特点得以体现^[8]。近年来, 使用自然发酵过程中或果品表面筛选出的本土酵母来生产品质独特的果酒逐渐受到行业关注^[9]。水果自然发酵过程中, 本土酵母在复杂的环境中与其他微生物竞争并适应特定的生长环境, 通过自然发酵筛选出的酵母菌株通常对特定发酵环境具有良好的耐受性; 此外该类本土酵母可能具有独特的代谢特征, 使其在酿酒过程中能够更高效地产生丰富的风味物质 (如酯类、醇类等)^[6], 从而提升酒品的风味复杂性。另有研究表明低温酿造有利于果酒香气物质的保持, 降低发酵温度也是保持产品香气的有效手段^[10]。低温酿造有助于减缓酵母的代谢速率、延长发酵时间, 从而有利于复杂风味物质的合成与积累; 此外低温酿造能够有效抑制醋酸菌等有害菌株的生长, 降低果酒发酵过程中微生物污染的风险。目前适用桑葚果酒工业的本土低温生产酵母种类仍显不足, 菌种资源扩充能够有效解决果酒类产品同质化严重的

问题。

四川省攀枝花市“盐边桑葚”于 2013 年获得农产品地理标志登记保护, 盐边地区属南亚热带立体气候, 具有气温年温差小、日温差大等特点, 是我国重要的桑葚产区^[11]。研究选取盐边地区主栽品种“云桑 2 号”为原料, 从桑葚自然发酵过程中分离、筛选出适于桑葚果酒低温酿造的发酵菌株, 并对菌种的耐受性、发酵后挥发性风味物质等加以评价。以期在拓展桑葚果酒品类的同时为新香型果酒的开发提供一定的理论研究依据及技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

果实采自四川省攀枝花市四喜农业发展有限责任公司桑葚种植园, 选取新鲜、无病害、成熟度相对均一的八成熟 ($12\sim 14\text{ }^{\circ}\text{Brix}$) “云桑 2 号”桑葚果实。

1.2 试剂

酵母浸出粉胨葡萄糖 (Yeast Extract Peptone Dextrose, YPD) 液体培养基、酵母浸出粉胨葡萄糖固体培养基, 青岛海博生物技术有限公司; WL 营养琼脂 (Wallerstein Laboratory Nutrient Agar, WL) 培养基, 青岛海博生物技术有限公司。

2,3,5-氯化苯基四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium Chloride, TTC) 筛选双层培养基, 青岛海博生物技术有限公司。上层培养基 (m/V): 葡萄糖 5 g、琼脂粉 15 g、TTC 试剂 0.5 g, 1 000 mL 蒸馏水, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min; 下层培养基 (m/V): 葡萄糖 10 g、蛋白胨 2 g、酵母膏 1.5 g、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4 g、 K_2HPO_4 1 g、琼脂粉 20 g, 1 000 mL 蒸馏水, 调节 pH 值至 5.6~5.8, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min。其它检测用化学试剂均使用分析纯 (AR), 挥发性成分测定需用色谱纯试剂 (GR)。

1.3 主要仪器设备

FA2004 型电子天平, 上海良平仪器仪表有限公司; HH-150 型数显恒温水浴锅, 江苏国胜仪器厂; SPX-

150B 型低温培养箱, 上海川宏实验仪器有限公司; AR200 型数显折光仪, 北京迪索仪器有限公司; TU-1080 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; 挥发性风味物质萃取纤维 (50/30 μm DVB/CAR/PDMS), Sigma-Aldrich-supelco; 气相色谱-质谱联用仪 (Trace 1310-TSQ 9000), Thermo Fisher Scientific。

1.4 方法

1.4.1 酵母菌的分离和纯化

挑选健康、新鲜的带梗桑葚果实 100 g, 于 20 $^{\circ}\text{C}$ 的常温、洁净环境中进行粗破碎; 果实破碎后立即将所得果浆及果渣置于经灭菌、降温至常温的 500 mL 三角瓶中, 同时加入 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (m/V) 的偏重亚硫酸钾, 混合均匀后于 (16 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 环境下进行自然发酵; 发酵液自然发酵 21 d。自 0 d 开始每 3 d 取发酵液一次。

取自然发酵过程中 8 个时期 (0、3、6、9、12、15、18 及 21 d) 的桑葚发酵液样品 1 mL 梯度稀释至 10^{-4} 、 10^{-5} 和 10^{-6} ; 吸取 100 μL 稀释液, 并均匀涂布于 WL 培养基表面后于 28 $^{\circ}\text{C}$ 环境中恒温培养 48 h。待形成菌落后, 据菌落形态特征^[12,13]挑取潜在酵母菌单菌落划线于 YPD 平板培养基上进行纯化; 所得纯化菌株保藏于 4 $^{\circ}\text{C}$ 待用。

1.4.2 酵母菌的筛选

酵母菌筛选中, 为获得生长速率较高、代谢活性较强及酒精产能较强的潜在酵母菌株, 筛选过程设定如下三级筛选机制。

酵母菌的一级筛选: 将分离纯化得到的酵母菌株于 16 $^{\circ}\text{C}$, 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下活化 48 h; 活化完成后进行梯度稀释, 并涂布于 YPD 平板培养基上, 于 16 $^{\circ}\text{C}$ 环境下培养 60~72 h, 以菌落直径为指标选择长势较好、菌落形态类似酵母的菌株, 进入二级筛选。

酵母菌的二级筛选: 经一级筛选后的菌株于 YPD 液体培养基中, 在 16 $^{\circ}\text{C}$ 、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 环境中培养 48 h, 后均匀吸取 50 μL 菌液接入放有倒置杜氏管的 YPD 液体培养基中, 在 16 $^{\circ}\text{C}$ 的环境中恒温静置培养 72 h; 菌株生长过程中, 每隔 6 h 观察杜氏管内产气情况, 并记录管内气体体积。筛选出发酵速度快、产气量大的菌株进入三级筛选。

酵母菌的三级筛选: 挑选通过二级筛选所得的菌株, 进一步筛选。将菌株均匀涂布于 TTC 下层培养基平板上培养 48 h; 后将 10 mL TTC 上层培养基缓慢注入培养皿, 均匀覆盖下层培养基, 并于 16 $^{\circ}\text{C}$ 环境下避光、静置培养 24 h。产酒精能力强的酵母, 菌落呈深红色, 其次呈粉红色、微红色至不显色, 筛选出酒精产能较强的菌株。

1.4.3 菌株鉴定

菌株委托北京擎科生物科技有限公司成都分公司鉴定。测序结果进行 NCBI (National Center for Biotechnology Information)-BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 比对。

1.4.4 菌株耐受性测定

糖耐受性测定 (m/V): 使用葡萄糖调整 YPD 液体培养基中糖质量浓度分别达到 150、200、250、300、350 和 400 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 分别接入待测菌株, 于 16 $^{\circ}\text{C}$ 、180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 环境中连续培养 24 h; 后于 600 nm 处测定培养液吸光值, 以未接菌株 YPD 液体培养基为对照。每处理重复测定 3 次。

乙醇耐受性实验 (V/V): 使用无水乙醇调整 YPD 液体培养基中乙醇的体积分数分别达到 0、3%、6%、9%、12% 和 15%; 培养及测定方式同糖耐受性测定。每处理重复测定 3 次。

硫耐受性实验 (m/V): 使用偏重亚硫酸钾 ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 调整 YPD 液体培养基中 SO_2 的质量浓度分别达到 60、120、180、240 和 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 培养及测定方式同糖耐受性测定。每处理重复测定 3 次。

低 pH 值耐受性实验: 使用 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液调整 YPD 液体培养基的 pH 值分别为 4、3 和 2; 培养及测定方式同糖耐受性测定。每处理重复测定 3 次。

1.4.5 菌株在桑葚汁中特征香气分析

(1) 桑葚果酒发酵: 挑选果实表面无机械伤、无病害、成熟度相对均一的八成熟 (12~14 $^{\circ}\text{Brix}$) 新鲜桑葚果实 1 000 g; 果实破碎后加入 0.15% (m/V) 的果胶酶混匀, 静置酶解 12 h; 酶解后的果浆以葡萄糖调整含糖量至可溶性固形物含量 (Soluble Solid Content, SSC) 为 25 $^{\circ}\text{Brix}$, 果浆经巴氏杀菌后加入 0.8% (m/V) 的偏重亚硫酸钾待用。筛选出的菌株以 10^6 CFU/mL 加入上述果浆中, 在 16 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ 环境中纯菌发酵 18 d (酿酒酵母发酵组酒精度 $\geq 13\%$ vol 时所有实验组均停止发酵)。各发酵组分别以菌株鉴定后保藏编号指代; 以上述经处理的果汁作为对照, CK。

(2) 桑葚发酵液理化指标: 依据 GB/T 15038-2006 《葡萄酒、果酒通用分析方法》进行可滴定酸、残糖及酒精体积分数等理化指标的测定^[14]。每样品重复测定 3 次。

(3) 发酵液挥发性香气成分分析: 参考 Wei 等^[15]的方法并修改, 采用固相微萃取 (Solid-Phase Micro Extraction, SPME) 结合气相色谱-质谱联用 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) 设备分析。精确吸取 4 mL 发酵液置于洁净、干燥的

20 mL 萃取瓶中, 后加入 0.4 g 氯化钠 (NaCl) 及 10 μ L 4-甲基-2-戊醇 (质量浓度为 81.1 μ g·mL⁻¹, 溶剂为水) 为内标物。将混合后的样品体系于 60 $^{\circ}$ C 下恒温水浴平衡 10 min, 后使用 SPME (50/30 μ m DVB/CAR/PDMS, Supelco, Bellefonte, PA) 萃取装置插入样品瓶中进行萃取, 萃取温度 60 $^{\circ}$ C、顶空萃取 40 min。

GC 条件设定: VF-WAXms 毛细管色谱柱 (30 m $\times$ 250 μ m, 0.25 μ m, Agilent Technologies); 进样口温度 240 $^{\circ}$ C, 载气 (He) 流速 1.6 mL·min⁻¹, 不分流。采用程序升温, 起始柱温 40 $^{\circ}$ C, 保持 2 min; 以 4 $^{\circ}$ C·min⁻¹ 升至 50 $^{\circ}$ C, 保持 3 min; 再以 5 $^{\circ}$ C·min⁻¹ 升至 200 $^{\circ}$ C, 保持 5 min 后结束测定。

MS 条件设定: 测定调用标准调谐文件; 电子电离源, 电子能量设定 70 eV; 离子源温度 220 $^{\circ}$ C; 质量扫描范围 30~400 m/z , 全扫描; 溶剂延迟时间 1 min。

定性定量方法: 参考谢恬等^[16]的方法并修改, 以 NIST 14 L 谱库检索, 保留指数 (Retention Index, RI) 定性对检测结果进行分析, 结合相关文献进行人工谱图解析。后利用内标法进行定量分析, 依据内标物 (4-甲基-2-戊醇) 的相对质量浓度, 计算各挥发组分的相对质量浓度。RI 使用 C6~C30 正构烷烃为内标物。

所有样品挥发性成分测定均使用美国 Thermo Scientific 公司 GC-MS (Trace 1310, GC; TSQ 9000, MS) 联用仪分析测定; 每样品重复测定 3 次。

1.5 数据分析

研究数据记录、计算采用 Microsoft Excel (Microsoft); 显著性差异分析采用 SPSS 20.0 (IBM SPSS); 系统发育树采用 MEGA 11 (Mega Software) 构建; 挥发性风味物质总离子流图采用 Origin 2025 (OriginLab) 绘制。

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离、筛选

综合三级筛选, 从“云桑 2 号”桑葚果浆自然发

酵过程中 8 个时期共筛选出 3 株耐低温性能较好的菌株, 依据其发现顺序分别暂编号为 M1、M2 及 M3, 菌株分级筛选结果如表 1 所示。结果表明 M2 菌株具备较好的产酒精能力, 可以作为潜在的发酵菌株进一步研究。

表 1 菌株分级筛选结果
Table 1 Results of strain classification screening

菌株	16 $^{\circ}$ C 培养 (一级筛选)	产气实验 (二级筛选)	TTC 实验 (三级筛选)
M1	++	+++	微红色
M2	+++	+++	深红色
M3	+++	++	微红色

注: “+” 分别表示低温培养性能及杜氏小管中产气性能; “+” 越多表示培养良好及产气越多, 评价由 “+” 至 “+++” 分级; TTC 显色实验结果越红表示产酒精能力越强。

同时对所获得菌株进行菌落形态鉴定, 结果如表 2 所示。依据 WL 培养基比对说明及杨莹等^[13]的研究, 初步判断 M2 菌株具备酿酒酵母特征, M1 及 M3 菌株具备 *Pichia* 属或 *Wickerhamomyces* 属酵母特征。在菌落形态观察过程中注意到菌株 M1 及 M3 菌株在培养过程中呈现优异香气特征, 其中菌株 M1 呈现突出的玫瑰香及果香味, 菌株 M3 则呈现出浓郁的酯香味; 王飞等^[17]的研究表明, 特定酵母菌的产酯特征对果酒酿造增香极具应用潜力, M1 及 M3 需要进一步研究确认。

2.2 菌株鉴定

选取菌株 M1、M2 及 M3 进行 ITS 序列鉴定, 经 NCBI-BLAST 比对, 利用 MEGA 6.06 构建系统发育树 (图 1)。确认菌株 M1 为克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*), 编号 PK-1 入库保存; 菌株 M2 为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 编号 SC-1 入库保存; 菌株 M3 为克鲁维毕赤酵母 (*Pichia kluyveri*), 编号 PK-2 入库保存 (图 2)。

表 2 菌株及菌落形态特征
Table 2 Colonial morphology and cell morphology of strains

菌株	菌落颜色	菌落形态	细胞形态	液体培养特征
M1	乳白偏浅绿	表面褶皱、质地粗糙, 扁平状凸面	椭圆	上层有少量膜状菌璞, 中层呈浊液状, 底部有乳白色沉淀
M2	乳白、乳白偏浅绿	表面光滑的球形突起、质地近稀奶油状	卵圆	上层培养液澄清, 底部有乳白色沉淀
M3	乳白偏浅绿	表面褶皱、质地粗糙, 扁放射状凸面	椭圆	上层有少量膜状菌璞, 中层呈浊液状, 底部有乳白色沉淀

注: “菌落形态” 使用 WL 培养基; “液体培养特征” 使用 YPD 液体培养基。

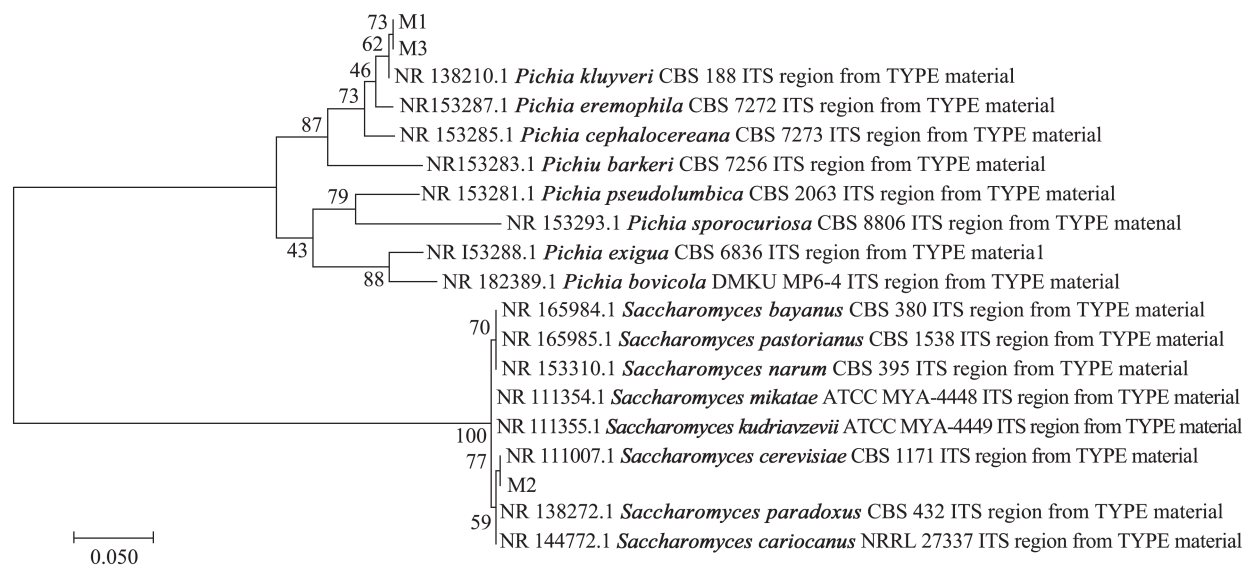


图 1 系统进化树的同源性比较

Fig.1 Homology comparison with phylogenetic tree

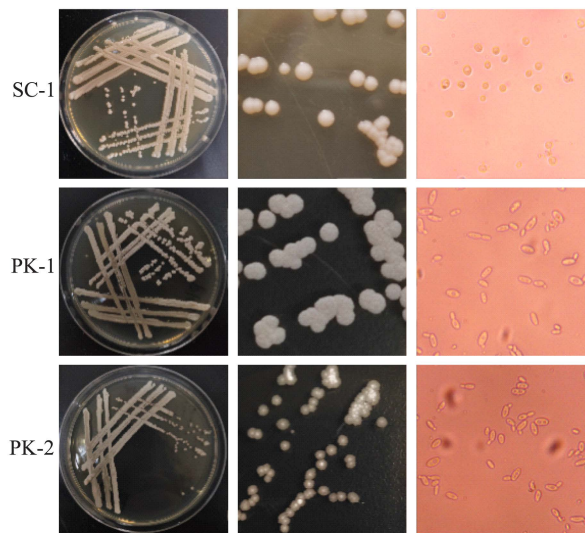


图 2 酵母菌株菌落形态及细胞形态（放大倍数 10×40）

Fig.2 Colonial morphology and cell morphology of yeasts

2.3 菌株耐受性测定

对筛选所得酵母菌株进行乙醇、耐高渗、低 pH 值及 SO₂ 耐受性能测试，结果见图 3。

如图 3a 所示，乙醇含量（V/V）较大的影响了菌株的生长，菌株在乙醇体积分数低于 6% 时整体生长状况良好，而当乙醇体积分数达到 9% 以上时各菌株生长均受到不同程度影响，其中两株毕赤酵母 PK-1 与 PK-2 生长受乙醇影响更加剧烈，二者之间无明显差异；酿酒酵母 SC-1 在乙醇体积分数较高时，生长受到抑制，但仍能够表现出较好的耐受性。

图 3b 中，随含糖量的升高三株菌种生长逐渐受到抑制，整体呈现出一定规律的变化趋势。酿酒酵母 SC-1 在葡萄糖质量浓度达到 400 g·L⁻¹ 时，仍能表现

出良好的生长特性，这表明 SC-1 菌株耐高渗性能优良，具备良好的果酒酿造应用潜力。而两株筛选过程中感官呈香显著的 PK 菌株也表现出较好的耐高渗性能，需要注意的是 PK-1 菌株在葡萄糖质量浓度达到 400 g·L⁻¹ 时较其它菌株耐受性更弱，而 PK-1 菌株 TTC 实验结果表明其糖类代谢活性较低（表 1），酒精预期产能较低，不适合单独发酵果酒。混菌发酵体系中存在两种以上的发酵剂，故发酵过程需要更多的糖用以生长代谢，PK 菌株本身产酒精能力较弱，但在菌株筛选过程中呈现出产香特征，加之良好的耐高渗特征使得 PK 菌株具备以产香为目的与酿酒酵母混菌发酵酿酒的可能。

pH 值对菌株生长的影响如图 3c 所示，三株菌种在不同 pH 环境下的生长状况及变化趋势相对一致，菌株间无显著差异，pH 值在 3~6 区间内耐受性能较好，能够适应大多水果原料生产要求。硫耐受性方面如图 3d 所示，三株菌种在 SO₂ 质量浓度为 60~300 mg·L⁻¹ 的培养液中均能生长，且耐受性能优良，其中酿酒酵母 SC-1 略优于两株产香毕赤酵母。

综合菌种耐受性能评估，三株菌株均能较好地适应桑葚果酒酿制需求，其中毕赤酵母 PK-1、PK-2 糖类代谢活性较低，预期产酒精性能较弱（表 1），但 Rocio 等^[18]证实毕赤酵母在产芳香酯类物质方面表现优良，Ding 等^[3]的研究亦证实克鲁维毕赤酵母可以通过混菌的形式与酿酒酵母共同进行果酒酿造。此外，Wei 等^[15]的研究发现多数产香型非酿酒酵母仅存在于发酵早期，随着酒精的积累而逐渐趋于消亡；而 PK-1 与 PK-2 相较之前的研究^[15,17]，虽然在酒精耐受性方面的性能表现较好，但 PK 菌株能否在共发酵过程中表现更

优异的存活特性，进而积累更多风味物质，则需要进一步对其在共发酵过程中的代谢特征加以研究。酿酒酵母 SC-1 耐受性能综合表现良好，具备桑葚果酒生产潜力。

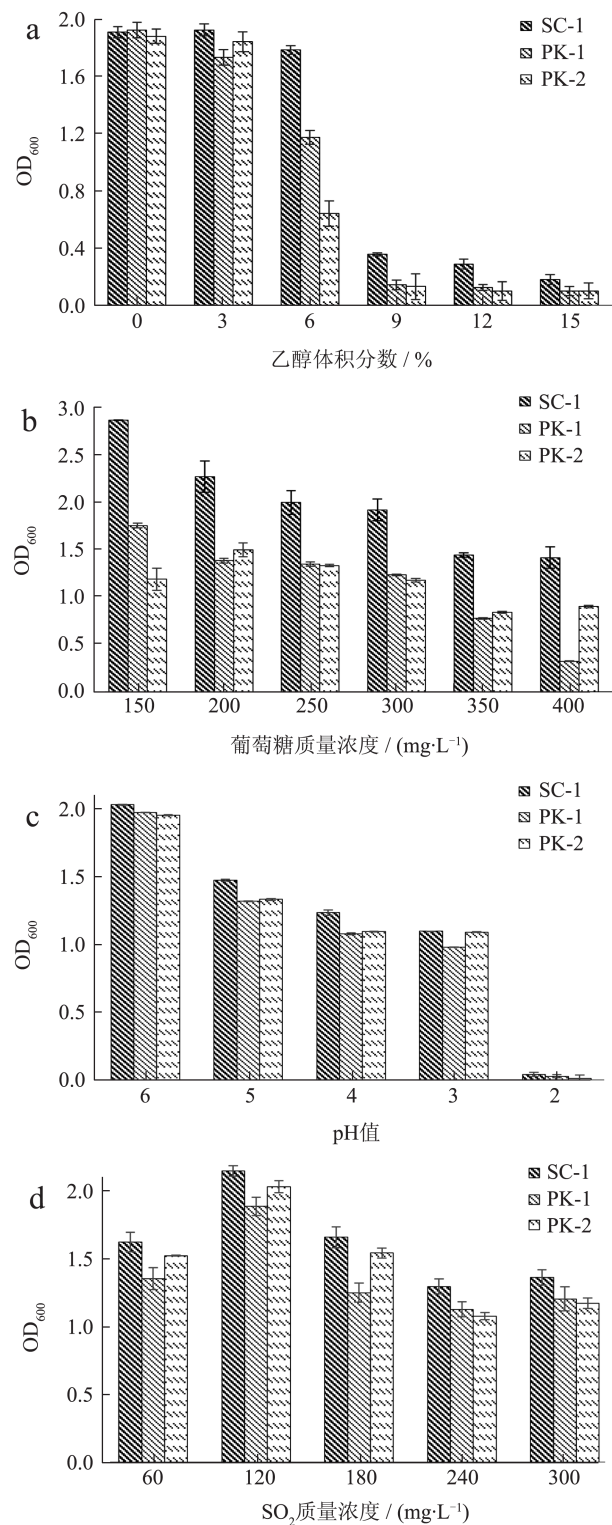


图3 菌株耐受性测试结果

Fig.3 Testing of the strain tolerance

注：a 菌株乙醇耐受性；b 菌株高糖耐受性；c 菌株低 pH 值耐受性；d 菌株 SO₂ 耐受性。

2.4 不同菌株发酵桑葚汁香气成分及理化分析

表 3 不同菌株发酵桑葚汁理化指标

Table 3 Physicochemical parameters of fermentation broth by different strains				
	SC-1	PK-1	PK-2	CK
pH 值	3.88 ± 0.06	3.93 ± 0.07	4.01 ± 0.06	3.67 ± 0.00
SSC /°Brix	9.00 ± 0.10	18.77 ± 0.12	19.07 ± 0.06	24.67 ± 0.21
酒精度 /% vol	13.26 ± 0.11	2.11 ± 0.09	1.91 ± 0.08	ND
残糖 /(g·L ⁻¹)	21.08 ± 2.58	90.59 ± 6.44	101.14 ± 7.91	175.39 ± 5.51
可滴定酸 /(g·L ⁻¹)	2.6 ± 0.14	2.70 ± 0.08	3.2 ± 0.13	1.70 ± 0.11

注：“可滴定酸”质量浓度以苹果酸计；“ND”表示未测出。

不同菌株发酵桑葚汁理化分析结果如表 3 所示。其中 SC 菌株发酵 18 d 后，基本理化参数符合果酒常规要求；特别是 SC 菌株在 16 ℃ 发酵结束后酒精度达到 13.26% vol，产酒精性能较佳。而两 PK 菌株在产酒精性能方面不佳，这一结果与菌株产气实验和 TTC 实验结果一致，证实两 PK 菌株不适宜作为主要发酵菌株进行果酒酿造^[19]。

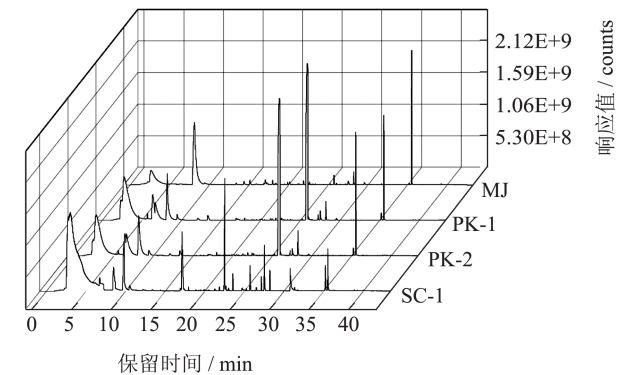


图 4 不同桑葚果酒的挥发性香气成分总离子流图

Fig.4 Total Ion Chromatogram (TIC) of volatile flavor compositions in different mulberry wines

不同菌株发酵桑葚果酒的挥发性香气成分总离子流图如图 4 所示，图中 1~6 min 检测出物质为乙醇不计入挥发性香气成分。不同 PK 菌株呈现出较类似的图谱特征，部分特征物质离子强度突出；而 PK-1 与 PK-2 菌株的部分物质仍存在强度差异，直观展示了该物质的相对质量浓度差异，这可能导致不同的 PK 菌株最终呈现不同的风味特征。SC-1 菌株发酵桑葚酒图谱则呈现出一定的物质多样性。为进一步明确菌株间发酵特性的差异，需要对不同菌株发酵桑葚果酒的挥发性成分相对质量浓度进一步分析。

表 4 不同菌株发酵桑葚果酒的挥发性香气成分

Table 4 Volatile flavor compositions of mulberry wines fermented with different yeasts

序号	化合物名称	RT/ min	RI	CAS	相对质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				香气描述
					SC-1	PK-1	PK-2	CK	
1	乙酸乙酯	2.39	745	141-78-6	2.80 ± 0.51^a	49.29 ± 2.92^c	19.02 ± 8.60^b	2.19 ± 0.17^c	果香、醚
2	乙酸异戊酯	6.36	1 086	123-92-2	ND	138.92 ± 15.88^a	137.06 ± 27.17^a	ND	香蕉、苹果香 ^[20]
3	己酸乙酯	10.52	1 193	123-66-0	10.10 ± 1.64^a	ND	ND	0.28 ± 0.11^a	青苹果、茴香 ^[20]
4	乙酸己酯	11.97	1 233	142-92-7	ND	4.13 ± 1.25^a	3.84 ± 0.80^a	ND	樱桃、梨 ^[21]
5	乙酸叶醇酯	13.32	1 270	3681-71-8	ND	8.69 ± 2.28^a	9.45 ± 1.50^b	ND	青草香气
6	庚酸乙酯	13.92	1 285	106-30-9	0.27 ± 0.01	ND	ND	ND	菠萝香 ^[20]
7	乙酸庚酯	15.34	1 330	112-06-1	ND	0.34 ± 0.09^a	0.32 ± 0.06^b	ND	玫瑰香
8	辛酸甲酯	15.61	1 339	111-11-5	0.42 ± 0.08	ND	ND	ND	果香 ^[20]
9	辛酸乙酯	17.08	1 388	106-32-1	121.48 ± 4.79^b	0.76 ± 0.14^a	0.85 ± 0.15^a	ND	果香、茴香 ^[20]
10	乙酸糠酯	19.14	1 463	623-17-6	ND	0.56 ± 0.08^b	0.44 ± 0.05^a	ND	焦香味
11	壬酸乙酯	19.86	1 488	123-29-5	1.71 ± 0.09	ND	ND	ND	玫瑰、果香 ^[20]
12	2-糠酸乙酯	21.24	1 545	614-99-3	2.07 ± 0.19	ND	ND	ND	苹果香
13	苯甲酸甲酯	21.28	1 547	93-58-3	ND	1.32 ± 0.28^b	1.24 ± 0.21^b	0.47 ± 0.10^a	冬青油香 ^[22]
酯类	3-甲硫基丙醇乙酸酯	21.51	1 557	16630-55-0	ND	0.71 ± 0.21^a	0.55 ± 0.09^a	ND	硫醇香气
	苯甲酸乙酯	22.44	1 595	93-89-0	ND	1.80 ± 0.17^b	1.90 ± 0.39^b	0.55 ± 0.23^a	果香 ^[20]
	癸酸乙酯	22.51	1 598	110-38-3	133.15 ± 4.40	ND	ND	ND	果香、脂肪味 ^[20]
	正辛酸异戊酯	23.00	1 620	2035-99-6	3.05 ± 0.08	ND	ND	ND	果香
	乙酸苄酯	23.75	1 652	140-11-4	ND	0.75 ± 0.23	0.62 ± 0.12	ND	茉莉花香
	乙酸苯乙酯	25.72	1 736	103-45-7	25.86 ± 8.79^a	402.96 ± 41.15^b	421.51 ± 78.04^b	2.51 ± 0.60^a	果香、花香 ^[20]
	月桂酸乙酯	27.15	1 798	106-33-2	13.55 ± 0.07^b	0.34 ± 0.03^a	0.27 ± 0.05^a	ND	花香、果香 ^[20]
	2-甲基丁酸-2-苯乙酯	27.25	1 802	24817-51-4	ND	3.43 ± 0.90	ND	ND	花香
	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	27.61	1 820	6846-50-0	ND	0.79 ± 0.06^b	1.02 ± 0.33^b	0.34 ± 0.06^a	—
	γ -十二内酯	30.12	1 942	2305-05-7	ND	0.37 ± 0.05	ND	ND	香甜香 ^[21]
24	乙酸橙花叔醇酯	30.78	1 975	2306-78-7	ND	ND	0.20 ± 0.07	ND	花香
25	十四酸乙酯	31.35	2 003	124-06-1	3.90 ± 0.91	ND	ND	ND	紫罗兰、鸢尾香 ^[21]
26	棕榈酸乙酯	35.22	2 211	628-97-7	25.81 ± 2.94^c	4.9 ± 1.57^b	5.64 ± 1.40^b	0.48 ± 0.17^a	奶油香 ^[20]
醇类	异丁醇	6.68	1 096	78-83-1	0.90 ± 0.07^a	3.58 ± 1.96^b	3.04 ± 0.83^b	ND	酒精、青草味 ^[21]
	2-己醇	8.15	1 138	626-93-7	ND	32.67 ± 10.35^a	24.10 ± 13.25^b	30.18 ± 9.54^b	青草味
	S-(-)-2-甲基-1-丁醇	9.78	1 170	1565-80-6	ND	10.29 ± 2.17^b	9.33 ± 0.82^b	ND	—
	异戊醇	9.82	1 178	123-51-3	143.66 ± 16.29	ND	ND	ND	苹果白兰地 ^[21]
	正己醇	14.44	1 298	111-27-3	0.96 ± 0.22	ND	ND	ND	草药, 青香 ^[16]
	叶醇	15.18	1 324	928-96-1	0.71 ± 0.04	ND	ND	ND	有青草香 ^[22]
	2-乙基己醇	18.39	1 436	104-76-7	ND	ND	0.47 ± 0.08	ND	油脂香
	(S,S)-(+)-2,3-丁二醇	19.20	1 465	19132-06-0	2.08 ± 0.34	ND	ND	ND	—
	芳樟醇	19.88	1 489	78-70-6	ND	0.84 ± 0.23^b	0.78 ± 0.12^b	0.72 ± 0.23^b	铃兰香气
	2,6,8-三甲基-4-壬醇	20.73	1 523	123-17-1	ND	0.78 ± 0.25^a	0.50 ± 0.17^a	ND	—
	4-萜烯醇	21.15	1 541	562-74-3	ND	ND	0.35 ± 0.05^a	0.28 ± 0.09^a	胡椒, 泥土香
	十一醇	22.65	1 604	112-42-5	ND	1.28 ± 0.09^b	ND	0.60 ± 0.15^a	玫瑰香
	1-壬醇	22.66	1 605	143-08-8	4.80 ± 0.70^b	ND	1.60 ± 0.23^a	ND	玫瑰花、果香
	(+)- α -松油醇	23.36	1 635	7785-53-7	ND	0.39 ± 0.15	0.34 ± 0.07^a	ND	清甜香、木香
	苯乙醇	27.51	1 815	60-12-8	43.09 ± 6.16^c	6.27 ± 0.76^b	5.28 ± 2.19^{ab}	0.98 ± 0.12^a	玫瑰花香

续表4

序号	化合物名称	RT/ min	RI	CAS	相对质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				香气描述
					SC-1	PK-1	PK-2	CK	
酸类	1 正己酸	26.41	1 766	142-62-1	4.23 ± 0.15	ND	ND	ND	辛辣味 ^[21]
	2 辛酸	30.78	1 975	124-07-2	44.88 ± 5.94	ND	ND	ND	酸味 ^[21]
	3 正癸酸	34.79	2 188	334-48-5	6.84 ± 0.56	ND	ND	ND	油脂味 ^[21]
酚类	1 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	28.22	1 489	128-37-0	17.53 ± 0.62^c	11.89 ± 1.33^b	15.94 ± 3.73^b	2.09 ± 0.44^a	—
	2 2,4-二叔丁基苯酚	35.52	2 228	96-76-4	ND	66.79 ± 12.23^b	ND	23.82 ± 6.47^a	—
	3 2,4-二叔戊基苯酚	38.26	2 307	120-95-6	ND	0.08 ± 0.01	ND	ND	石碳酸、花香 ^[22]
	4 对叔戊基苯酚	36.91	2 307	80-46-6	ND	0.16 ± 0.03^b	0.14 ± 0.04^b	0.08 ± 0.01^a	—
醛类	1 正壬醛	15.89	1 349	124-19-6	ND	ND	ND	0.81 ± 0.35	油脂味 ^[16]
	2 3-糠醛	17.07	1 388	124-19-6	ND	1.35 ± 0.10^a	1.16 ± 0.29^a	2.95 ± 0.28^b	桂皮香
	3 苯甲醛	18.73	1 448	100-52-7	ND	ND	ND	0.40 ± 0.10	杏仁 ^[16]
	4 视黄醛	30.38	1 949	116-31-4	ND	0.082 ± 0.02^a	0.09 ± 0.02^a	ND	—
酮类	1 大马酮	26.06	1 751	23696-85-7	ND	0.56 ± 0.14^a	0.51 ± 0.10^b	0.46 ± 0.04^b	玫瑰香 ^[22]

注：结果以平均值“±”标准差表示（ $n=3$ ），不同字母（a~c）表示差异显著性（ $P<0.05$ ）；“RT”表示保留时间（Retention Time, RT）；“RI”表示保留指数（Retention Index, RI）；“—”表示未查询到该物质香气描述；“D”表示未检测到该化合物；表中无文献注释的风味描述均检索自 www.flavornet.org。

不同果酒挥发性风味物质分析结果如表 4 所示。四组发酵液中，共检测到挥发性风味物质 53 种，包括酯类物质 26 种、醇类物质 15 种、酚类等其它物质共计发现 12 种。结果显示，SC-1 组相较 PK-1、PK-2 组，挥发性风物物质种类构成差异显著，共有物质仅 8 种；8 种共有物质其生成量差异较大，如乙酸苯乙酯得相对质量浓度在 SC-1 组中仅检测到 $25.86 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，分别低于 PK-1 组 93.58%、低于 PK-2 组 93.86%；苯乙醇相对质量浓度在 SC-1 组中检测到 $43.09 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，则分别较 PK-1、PK-2 组高出 85.44% 及 87.73%；辛酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯在 PK-1、PK-2 组中检出量极小，SC-1 组中质量浓度远高于两 PK 组。结果表明，酿酒酵母 SC-1 菌株生产性能稳定、在低温环境下发酵表现良好；相较以往的研究，SC-1 菌株在低温下仍能够达到一般商用及本土常温（20 ℃）生产用酵母生产水平^[18,22]，并具备显著的苹果白兰地香气特征（表 4）。有研究表明产香性能较好的非酿酒酵母在共发酵过程中对果酒风味的影响十分显著^[23,24]；克鲁维毕赤酵母形成的风味物质在种类方面与酿酒酵母较大的差异^[25]，使得毕赤酵母在与酿酒酵母混菌发酵果酒时可能为果酒赋予全新的风味^[26,27]，同时可能为混菌发酵果酒构建全新的香气风格^[3]。

毕赤酵母在改变果酒风味的过程中，不同的毕赤酵母间同样存在差异（见表 4）。结果显示，发现 PK-1 组中挥发性风味物质为 32 种、PK-2 组中发现 31

种，PK-1 与 PK-2 组风味物质种类差异达 9 种。两毕赤酵母发酵液共有物质中，PK-2 组的乙酸乙酯生成量仅为 PK-1 组的 38.59%、2-己醇生成量为 PK-1 组的 73.76%，其余共有物质在不同毕赤酵母发酵组间亦存在不同程度差异。而 9 种非共有物质中，PK-1 组中发现非共有物质 2-甲基丁酸-2-苯乙酯、 γ -十二内酯、十一醇、2,4-二叔丁基苯酚、2,4-二叔戊基苯酚共 5 种，特别是 2,4-二叔丁基苯酚在 PK-1 组中达到 $66.785 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，相对质量浓度较高；PK-2 组中发现非共有物质乙酸橙花叔醇酯、2-乙基己醇、4-萜烯醇、正己醇共 4 种。值得注意的是，PK（PK-1 和 PK-2）菌株的乙酸苯乙酯产量较高，相对质量浓度分别达到 $402.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $421.51 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与以往研究中克鲁维毕赤酵母的主要增香物质不同^[28]，乙酸苯乙酯的高合成能力是 PK-1 和 PK-2 菌株发酵后具备“花、果”特征香气的主要原因。

果酒中酯类物质普遍具有花、果香味^[29]，醇类物质则有助于平衡酒体的复杂香气结构^[30]。三株菌株发酵桑葚酒中酯类物质、醇类物质均在种类及产量方面存在差异。检出醇类物质主要以花香特征为主体，这可能使得醇类物质在构建香气层次的同时进一步突出桑葚酒浓郁的花、果香型^[31]。而 SC-1 组异戊醇相对质量浓度达到 $143.66 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，产量远高于同类生产用酵母^[15]，酒体呈现突出的苹果白兰地香气特征^[32]。此外检测出的醛类、酸类物质也表现出一定的差异性，这

些挥发性风味物质的差异最终构建出不同的果酒风味体系。

3 结论

研究从耐低温、适应桑葚果酒生产的角度出发,在攀枝花地区的桑葚资源中筛选获得具备果酒生产潜力的酿酒酵母(*S. cerevisiae*) 1株(SC-1)、产香能力好的克鲁维毕赤酵母(*P. kluyveri*) 2株(PK-1, PK-2)。所有酵母菌株耐低温性能较佳,在16℃环境中生长良好;菌株耐受性能符合果酒生产需求。其中,酿酒酵母SC-1菌株在15%(V/V)的高乙醇及400 g·L⁻¹(m/V)的高糖质量浓度环境中耐受性能优良;SC-1菌株发酵酒精度达到13.26% vol,发酵后形成的苯乙醇及异戊醇相对质量浓度分别达到43.09 μg·mL⁻¹及143.66 μg·mL⁻¹,产酒精性能较佳、“苹果白兰地”特征风味突出,适合作为低温发酵桑葚果酒的主要发酵菌种。克鲁维毕赤酵母PK-1及PK-2发酵后产酯种类丰富、花果香型酯类物质产量较高,主体呈现浓郁花果香,特征风味物质乙酸苯乙酯相对质量浓度分别达到402.96 μg·mL⁻¹和421.51 μg·mL⁻¹,能够赋予果酒更为复杂的香气,适于与酿酒酵母共发酵时作为增香菌剂使用。PK-1与PK-2组风味物质种类差异达9种,酵母个体代谢差异显著,产香菌株具备构建特异主体香型果酒的复配应用潜力。

参考文献

- [1] 俞德浚.中国果树分类学[M].北京:中国农业出版社,1979.
- [2] 陈娟.发酵型蜂蜜桑葚酒的酿造技术及品质特征研究[D].重庆:西南大学,2009.
- [3] DING B, ZHAO S T, ZHANG W X, et al. The effect of co-culture with different *Pichia kluyveri* and *Saccharomyces cerevisiae* on volatile compound and characteristic fingerprints of mulberry wine [J]. Foods, 2024, 13(3): 422.
- [4] YUAN Q X, ZHAO L Y. The mulberry (*Morus alba* L.) fruit-A review of characteristic components and health benefits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(48): 10383-10394.
- [5] MANACH C, MAZUR A, SCALBERT A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases [J]. Current Opinion in Lipidology, 2005, 16(1): 77-84.
- [6] LORENZINI M, SIMONATO B, SLAGHENAUFI D, et al. Assessment of yeasts for apple juice fermentation and production of cider volatile compounds [J]. Food Science and Technology, 2018, 99: 224-230.
- [7] PENG B Z, LI F L, CUI L, et al. Effects of fermentation temperature on key aroma compounds and sensory properties of apple wine [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(12): S2937-S2943.
- [8] YIN X F, LIU B Z, MAIMAITIYIMING R, et al. The effect of non-*Saccharomyces cerevisiae* *Torulaspora delbrueckii* on the aroma composition of *Munage* grape base-wine and the mechanism of the effect [J]. Fermentation, 2024, 10(5): 266.
- [9] SHEN J Y, ZHANG B Q, DUAN C Q, et al. Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains from spontaneous fermentation of vidal icewine in huanren region and evaluation of their oenological properties [J]. Food Science, 2020, 41(2):148-157.
- [10] MASSERA A, ASSOFF M, SARI S, et al. Effect of low temperature fermentation on the yeast-derived volatile aroma composition and sensory profile in Merlot wines [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 142: 111069.
- [11] 李靖,李晓凤,刘乙甫,等.四川不同品种桑葚品质比较[J].食品工业科技,2022,43(10):56-63.
- [12] 刘帅,王志磊,周世斌,等.适合鲜食葡萄酿酒的酵母筛选及其发酵特性研究[J].食品与发酵工业,2023,49(22):110-118.
- [13] 杨莹,徐艳文,薛军侠,等.WL营养琼脂对葡萄酒相关酵母的鉴定效果验证[J].微生物学杂志,2007,5:75-78.
- [14] GB/T15038-2006葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
- [15] WEI J P, ZHANG Y X, QIU Y, et al. Chemical composition, sensorial properties, and aroma-active compounds of ciders fermented with *Hanseniaspora osmophila* and *Torulaspora quercuum* in co- and sequential fermentations [J]. Food Chemistry, 2019, 306: 125623.
- [16] 谢恬,王丹,马明娟,等.OAV和GC-O-MS法分析五香驴肉风味活性物质[J].食品科学,2018,39(8):123-128.
- [17] 王飞,王晓宇,赵擎豪,等.果酒增香酿造技术研究进展[J].食品科学,2023,44(13):244-252.
- [18] ROCIO E V, LUCIA G A, JAVIER P, et al. Wine aroma evolution throughout alcoholic fermentation sequentially inoculated with non- *Saccharomyces/Saccharomyces* yeasts [J]. Food Research International, 2018, 112: 17-24.
- [19] 周枫,曹蒙,范玉飞,等.酿酒酵母与毕赤酵母协同作用对山楂酒发酵的影响[J].食品科技,2023,48(8):1-6.
- [20] LI M, ZHAN P, WANG P, et al. Characterization of aroma-active compounds changes of Xiegun Huangjiu with different aging years based on odor activity values and multivariate analysis [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134809.
- [21] JU Y L, XU X L, YU Y K, et al. Effects of winemaking techniques on the phenolics, organic acids, and volatile compounds of Muscat wines [J]. Food Bioscience, 2023, 54: 102937.
- [22] 彭璐,明红梅,陶敏,等.樱桃酒酿造用产香酵母的筛选及其特征香气成分分析[J].中国酿造,2020,39(11):36-42.
- [23] 周洪江,姜文广,阮仕立,等.三种非酿酒酵母对贵人香白葡萄酒发酵进程及挥发性组分的影响[J].食品工业科技,2022,43(20):163-172.
- [24] 李海峰,李坤,牟志勇,等.非酿酒酵母在酒类酿造过程中的微生物相互作用及功能特性研究进展[J].食品与发酵工业,2024, 50(7):313-323.
- [25] KONG C L, ZHU D Y, ZHAO Y, et al. Spent yeast polysaccharides in mixed alcoholic fermentation between *Pichia kluyveri*, *Pichia fermentans* and *Saccharomyces cerevisiae* retarded wine fruity ester hydrolysis [J]. Journal of Food Composition and Analysis,

- 2022, 105: 104200.
- [26] GSCHAEDLER A. Contribution of non-conventional yeasts in alcoholic beverages [J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 13: 73-77.
- [27] CHEN K, ESCOTT C, LOIRA I, et al. Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: Influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines [J]. Food Microbiology, 2018, 69: 51-63.
- [28] 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.
- [29] JOLLY N P, VARELA C, PRETORIUS I S. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered [J]. FEMS Yeast Research, 2014, 14(2): 215-237.
- [30] ANANTHAKUMAR A, VARIYAR P S, SHARMA A. Estimation of aroma glycosides of nutmeg and their changes during radiation processing [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1108(2): 252-257.
- [31] GAO M M, HU J N, WANG X J, et al. Effects of *Pichia kluyveri* on the flavor characteristics of wine by co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. European Food Research and Technology, 2023, 249(6): 1449-1460.
- [32] 高伟,尹怀宁,王爱元,等.不同催陈处理对菊花米酒功能成分及风味物质的影响[J].食品工业科技,2025,46(4):194-204.