低温发酵中葡萄汁有孢汉逊酵母对猕猴桃苹果复合果酒风味物质的调控作用

田园，吴林，周鑫柔，刘洪，许青莲，邢亚阁*，李鹤

（西华大学食品与生物工程学院，四川成都 611743）

摘要：为了探究不同接种方式对低温发酵猕猴桃苹果复合果酒风味物质的影响，采用 SPME-GC-MS 分析安琪酵母 SY 与葡萄汁有孢汉逊酵母（*Hanseniaspora uvarum* CICC 193162）以 5 种不同接种方式（单独接种、同时混合接种、顺序混合接种）发酵所得复合果酒。共检出 74 种香气成分，包括醇类 15 种，酯类 35 种，酸类 6 种，萜烯及酚类 10 种，酮醛类 8 种。先接种葡萄汁有孢汉逊酵母后接种安琪酵母 SY（JGHUSY4）酒中酸类物质及醇类物质含量最低。混菌发酵所得果酒酯类物质种类及含量均高于单独接入安琪酵母 SY，JGHUSY4 酒中酯类物质含量最高，且 JGHUSY4 酒挥发性风味物质种类数量及质量浓度均最高（45.986 mg·mL^{-1}）。采用高效液相色谱检测不同发酵方式下 5 种果酒的 8 种有机酸，结果表明混菌发酵时乙酸含量减少，乳酸和奎宁酸含量增加，说明混菌发酵对果酒有积极的影响，且 JGHUSY4 酒的品质最佳。因此，混菌发酵所得果酒优于单独接种安琪酵母 SY 或单独接种 *H. uvarum* CICC 193162 所得果酒，且将 *H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入随后接入安琪酵母 SY 所得果酒效果最优。本研究为猕猴桃苹果复合果酒的低温发酵工艺优化及风味调控提供了理论基础。

关键词：猕猴桃苹果复合果酒；低温发酵；葡萄汁有孢汉逊酵母；混菌发酵；风味物质

文章编号：1673-9078(2026)10-299-310 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.0602

Regulation of Flavor Compounds in Kiwifruit-apple Compound Fruit Wine by *Hanseniaspora uvarum* during Low-temperature Fermentation

TIAN Yuan, WU Lin, ZHOU Xinrou, LIU Hong, XU Qinglian, XING Yage*, LI He

(College of Food and Biological Engineering, Xihua University, Chengdu 611743, China)

Abstract: To explore the effects of different inoculation methods on the flavor compounds of kiwifruit-apple compound fruit wine fermented at low temperature, solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) was used to analyze the mixed fruit wine fermented by Angel yeast SY and *Hanseniaspora uvarum* CICC 193162 with five different inoculation methods (single inoculation, simultaneous mixed inoculation, and sequential mixed inoculation). A total of 74 aroma components were detected, comprising 15 alcohols, 35 esters, 6 acids, 10 terpenes and phenols, and 8 ketones and aldehydes. The acid and alcohol contents were lowest in wine inoculated with *H. uvarum*, followed by wine inoculated with Angel yeast SY (JGHUSY4). The types and contents of esters in fruit wine fermented by mixed inoculation were higher than those by Angel yeast SY alone. The JGHUSY4 wine has the highest ester content, as well as the types, quantity, and mass concentration (45.986 mg·mL^{-1}) of volatile flavor compounds were also highest. Eight types of organic acids were detected using high-performance liquid chromatography in the five types of fruit wines produced by different fermentation methods. The results showed that the acetic acid content decreased, whereas lactic acid and quinic acid contents increased during mixed fermentation, indicating that mixed fermentation had a positive

收稿日期：2025-04-29；修回日期：2025-11-10；接受日期：2025-11-19

基金项目：四川省大学生创新创业训练计划项目（S202110650048）；四川省科技成果转化项目（2024ZHCG0081）；四川省科技创新苗子工程（2019103）

作者简介：田园（2002-），女，硕士研究生，研究方向：农产品贮藏与加工，E-mail：tianyuan828828@163.com

通讯作者：邢亚阁（1980-），男，博士，教授，研究方向：农产品贮藏与加工，E-mail：xingyage1@163.com

effect on fruit wine, and the quality of JGHUSY4 wine was the best. Therefore, the fruit wine obtained by mixed fermentation was superior to that obtained by inoculation with Angel yeast SY or *H. uvarum* CICC 193162 alone, with the best results achieved when *H. uvarum* CICC 193162 was inoculated 72 h before Angel yeast SY. This study provides a theoretical foundation for optimizing the low-temperature fermentation process and regulating the flavor of kiwifruit-apple compound wine.

Key words: kiwifruit-apple compound fruit wine; low-temperature fermentation; *Hanseniaspora uvarum*; mixed fermentation; flavor compounds

引文格式：

田园,吴林,周鑫柔,等.低温发酵中葡萄汁有孢汉逊酵母对猕猴桃苹果复合果酒风味物质的调控作用[J].现代食品科技,2026,42(10):299-310.

TIAN Yuan, WU Lin, ZHOU Xinrou, et al. Regulation of flavor compounds in kiwifruit-apple compound fruit wine by *Hanseniaspora uvarum* during low-temperature fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 299-310.

复合果酒指的是将两种及以上的水果混合酿制而成的果酒，具有两种或多种水果的风味及功效[1]。目前市场销售的果酒多为单一原料酿制而成，如苹果酒、草莓酒、桑葚酒等。单一水果原料酿制的果酒在风味、品质及营养价值方面存在较大欠缺，而复合果酒则能较好地弥补这一缺点。依据不同水果营养成分的差异及不同水果自带特殊风味的优势，将它们混合发酵，则可以达到取长补短、功能加强等效果，从而酿制出营养完善丰富，感官品质优良的成品果酒。果酒的风味与品质受多重因素共同作用，其中包括发酵工艺和原料选择等。除此之外，发酵过程中酵母菌种类的挑选，也直接对果酒的风味特性产生深远影响[2]。在早期的相关研究中，非酿酒酵母通常被视为不良影响[3]，随着科研的深入，研究人员发现非酿酒酵母在发酵过程中能生成多样的代谢物，对果酒的风味及感官品质具有正面效应。在果酒发酵过程中接种非酿酒酵母时，由于发酵液环境在不同阶段存在差异，酿酒酵母与非酿酒酵母展现出了对环境液不同的适应能力[4]。在发酵的初期，非酿酒酵母能够迅速生长并繁殖，然而，它们对环境胁迫的耐受能力相对较弱[5]，发酵开始后的 2~3 天内，非酿酒酵母因环境胁迫而开始死亡，后期的发酵主要由酿酒酵母完成。不同的接种方式会导致酿酒酵母与非酿酒酵母间的相互作用各异，进而提升果酒的香气。Hong 等[6]通过研究发现单独接种 *H. uvarum* CICC 193162 发酵所得果酒与单独接种酿酒酵母发酵所得果酒相比，其会产生较低的挥发酸，产生更高的有机酸、甘油、醛、和次级醇类物质，且感官评分更高。

因此，此次研究聚焦于探索能在低温环境下适应的非酿酒酵母——葡萄汁有孢汉逊酵母 *Hanseniaspora uvarum* CICC 193162（以下简称 *H. uvarum* CICC 193162）在发酵中的表现，研究了 *H. uvarum* CICC 193162 单独发酵、安琪酵母 SY 单独发酵、*H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 同时发酵、以及两者间隔发酵等不同的发酵方式，对猕猴桃苹果复合果酒风味的影响，以期为提升复合果酒的风味和整体酒质提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猕猴桃，徐香猕猴桃（陕西省眉县）；苹果，昭通苹果（云南省昭通市）；葡萄酒、果酒专用酵母 SY、绵白糖，安琪酵母股份有限公司；果胶酶（10 万 $U \cdot g^{-1}$）、偏重亚硫酸钾（食品级），Solarbio 公司；DNS 试剂、福林酚，上海源叶生物科技有限公司；葡萄汁有孢汉逊酵母 *Hanseniaspora uvarum* CICC 193162，中国工业微生物菌种保藏管理中心；YEPD 培养基、WL 营养琼脂，青岛高科技工业园海博生物技术有限公司；甲醇，赛默飞世尔科技有限公司；磷酸，天津科密欧化学试剂有限公司；乙酸乙酯，津东天正精细化学试剂厂；有机酸及酚类物质标品，上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

E2695 高效液相色谱仪，美国 Water 公司；DHP-9082 电热恒温培养箱，上海一恒科学仪器有限公司；GI54DWS 高压灭菌锅，致微厦门仪器有限公司；DZKW-S-4 水浴锅，苏州江东精密仪器有限公司；1384 生物安全柜，中国赛默飞世尔有限公司；JA2003 电子天平，上海舜宇恒平科学仪器有限公司；2020NX 岛津气相质谱联用仪，日本岛津公司；57330-U 固相微萃取手柄，美国 Supelco 公司；5731875μmCAR/PDMS 固相微萃取头，美国 Supelco 公司；PEN3 便携式电子鼻传感器，德国 Airsense 公司。

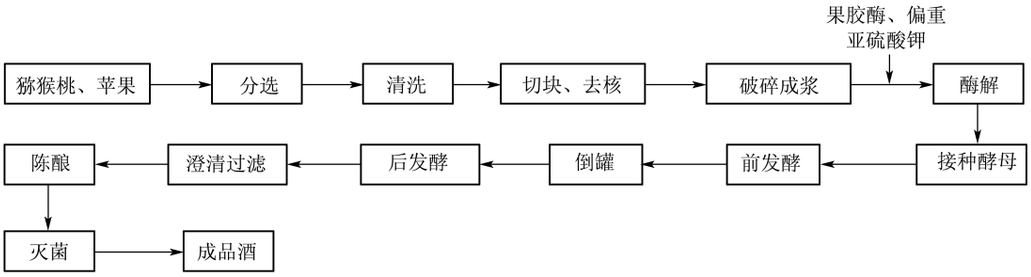


图 1 果酒发酵的工艺流程

Fig.1 Process flow of fruit wine fermentation

1.3 实验方法

1.3.1 猕猴桃苹果复合果酒低温发酵工艺流程

猕猴桃苹果复合果酒发酵工艺流程见图 1。

1.3.2 *H. uvarum* CICC 193162的活化

移除装有 *H. uvarum* CICC 193162 菌的冻干管上的标签后，使用 75%（φ）的酒精对管壁进行消毒擦拭，随后在安全柜内进行相关操作。准备一支含有 5~10 mL 液体培养基的试管和 2 个平板，将冻干管顶部置于火焰灼烧，后迅速滴加无菌水使得管壁破裂，用镊子敲去破玻璃，向冻干管内注入 0.5 mL 液体培养基，充分溶解成菌悬液。吸取该菌悬液，分别接种到两个平板上，进行均匀涂布，重复两次获得两个平板。将液体试管和平板全部置于 28 ℃恒温培养箱下培养 24~48 h 后使用。

1.3.3 *H. uvarum* CICC 193162与安琪酵母SY的接种方式

以非酿酒酵母葡萄汁有孢汉逊酵母 *H. uvarum* CICC 193162 和酿酒酵母安琪酵母 SY 作为猕猴桃苹果复合果酒的发酵菌株。其中 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 的接种量为 2 g·L^{-1}，接种比例为 2:1，接种方式分为：单独接种 *H. uvarum* CICC 193162、单独接种安琪酵母 SY、同时接种 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY、间隔接种两种酵母（提前接种 *H. uvarum* CICC 193162 再接种安琪酵母 SY）、间隔接种两种酵母（提前接种安琪酵母 SY 再接种 *H. uvarum* CICC 193162）共 5 种不同接种方式。对其编号分别为 DDHU1、DDSY2、TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5。

1.3.4 *H. uvarum* CICC 193162与安琪酵母SY的接种比例及接种时间间隔的确定

1.3.4.1 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 接种比例的确定

H. uvarum CICC 193162 与安琪酵母 SY 接种比例分别为 3:1、2:1、1:1、1:2 确定最佳接种比例；其中 *H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入果汁中，按照初始糖度为 22.2 °Bx，发酵温度为 15 ℃，酵母添加量为 2 g·L^{-1} 的发酵条件进行发酵，发酵结束后测定果酒的总酸、Vc、酒精度、还原糖、总酚并进行感官评价。总酸、Vc、酒精度参照 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》中的方法；还原糖采用 DNS 方法测定[7]；总酚：福林酚法[8]。

1.3.4.2 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 接种时间间隔的确定

H. uvarum CICC 193162 分别提前 24、48、72、96 h 接入果汁中确定最佳接种时间间隔；按照初始糖度为 22.2 °Bx，发酵温度为 15 ℃，酵母添加总量为 2 g·L^{-1} 的发酵条件进行发酵，其中 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 接种比例为 2:1，测定指标同上。

1.3.5 不同接种方式酵母细胞数量动态变化

每隔两天测定 5 种不同发酵所得复合果酒中的酵母细胞数，安琪酵母 SY 采用 YEPD 固体培养基计数，*H.uvarum* CICC 193162 用 WL 培养基计数。

1.3.6 挥发性风味物质的测定

1.3.6.1 SPME 条件

参照赵宁等[9]方法稍作修改，量取 15 mL 酒样装入 40 mL 的顶空萃取瓶中，加入 4.5 g NaCl，同时加入 20 μL 2- 辛醇（质量浓度为 0.4 mg·mL^{-1}）作为内标物，加盖密封，将顶空萃取瓶放置于 60 ℃恒温水浴锅中平衡 30 min，然后将老化的萃取头插入顶空萃取瓶，顶空萃取 30 min，萃取结束后，取出萃取头插入进样口解吸 5 min，然后启动气相色谱－质谱联用仪（GC-MS）进行检测。

1.3.6.2 GC 条件

色谱柱：DB-5MS（32 m×2.5 mm×0.25 μm）；升温程序：40 ℃保持 5 min，以 5 ℃·min^{-1} 升至 200 ℃，保持 10 min；载气（He）流量 1 mL·min^{-1}；进样口温度 230 ℃；不分流进样。

1.3.6.3 MS 条件

电子轰击离子源（EI）；电子能量 70 eV；连接杆温度 200 ℃；离子源温度 250 ℃；质谱扫描范围 *m/z* 50~350。

1.3.6.4 定性定量分析

采用保留指数（RI）和谱库检索比对进行定性，谱库比对时要求与系统自带的标准质谱库（NIST-11、Wiley 及香精香料库），选取相似度大于 85 的物质进行分析定性；采取半定量法，选取 2- 辛醇为内标物，采用内标法对复合果酒香气成分进行定量分析，计算公式为：

$$X=\frac{A_i}{A_z}\times\frac{m_z}{V_i}\times f_z \quad (1)$$

式中：

X——香气物质的质量浓度，μg·L^{-1}；

f_z——内标物的校正因子，f_z=1；

A_z——测得内标物的峰面积；

A_i——测得香气物质的峰面积；

m_z——内标物的质量，μg；

V_i——样品量，L。

1.3.7 有机酸及单体酚含量的测定

1.3.7.1 有机酸的测定

测定有机酸采用 Inertsil ODS-3 C18 色谱柱，流动相为 0.01 mol·L^{-1} $(NH_4)_3PO_4$，流动相流量为 1 mL·min^{-1}，使用磷酸调节 pH 值至 2.7，柱温 30 ℃，样品进样量为 10 μL，检测波长 210 nm。

表 1 猕猴桃苹果复合果酒感官评价指标

Table 1 Sensory evaluation index of kiwi fruit and apple compound fruit wine

等级	得分/分	色泽（20%）	香气（30%）	滋味（40%）	典型性（10%）
优	90~100	澄清透明、有光泽、无明显悬浮物	果香、酒香浓馥幽雅，协调悦人	酒体协调，香甜醇厚，口感细腻圆润，酸甜爽口	风格独特、典型完美
良	75~90	澄清、无明显夹杂物、色泽较好	果香、酒香良好，尚悦怡	酒体平衡，特征味不明显，口感略粗糙	风格良好、典型明确
中	60~75	浑浊、有沉淀、失光无色泽	果香、酒香较少，但无异香	无特征味，口感较粗糙，略苦涩	有典型性、不够怡雅
差	0~60	极不均匀、自然，昏暗	无香味，有异味	酒味、果味平淡，略苦涩，过酸甜	失去本品典型性

1.3.7.2 酚类物质的测定

根据 Li 等[10]的方法并作些许修改测定 5 种样品酒中酚类物质的含量。具体如下：

对样品进行预处理：20 mL 样品用 2 mol·L^{-1} NaOH 调至 pH 值 7.0，然后用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次，得到中性酚。剩余水相用 2 mol·L^{-1} HCl 调至 pH 值 2.0，每个样品用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次，得到酸性苯酚。有机阶段结合和蒸发到干燥 35 ℃。用 10 mL 甲醇重新溶解残渣，用 0.22 μm 滤膜过滤。流动相：KH_2PO_4（0.01 mol·L^{-1}，pH 值 2.62），甲醇 =97:3，流动相 A 为 0.01 mol·L^{-1} KH_2PO_4，并用 H_3PO_4 调节 pH 值为 2.8，流动相 B 为 3%（φ）甲醇；梯度洗脱程序：流动相 B 体积分数由 10%（φ）增加到 55%（φ）（50 min 内），再增加到 100%（φ）（10 min 内），再降低到 10%（φ）（5 min 内）。检测波长：280 nm~360 nm；流量为 0.8 mL·min^{-1}，等容洗脱；进样量：10 μL；柱温：30 ℃。

分别取发酵后的 5 种果酒 2 mL，经 0.22 μm 滤膜过滤后上机检测。

1.3.8 感官评价

感官评定由 10 名经过培训的本专业同学来完成的，其中 5 名男性，5 名女性，评定标准如下表所示。分别从色泽、香味、滋味和典型性四方面对猕猴桃苹果复合果酒进行评分，分设优、良、中、差四个等级，指标集 U=（色泽、香味、滋味、典型性），评价集 X=（优、良、中、差）。根据各指标在复合果酒评价中的作用，本次评价中果酒的色泽、香气、滋味、典型性四个因素各占的权重为 0.2、0.3、0.4、0.1，即权重集 A=（0.2，0.3，0.4，0.1）。

1.3.9 数据处理

采用 SPSS 26 软件对实验数据进行显著性分析；采用 Origin 2021 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 葡萄汁有孢汉逊酵母*H.uvarum* CICC 193162与酿酒酵母SY的接种比例及间隔接种时间的确定

2.1.1 接种比例的确定

不同接种比例发酵所得果酒理化指标数值如表 2，单独接种酿酒酵母安琪 SY 时，酒精度与总酯随酵母添加量的变化关系如图 2，当非酿酒酵母 *H. uvarum* CICC 193162 被接入果酒发酵过程中，与单独接种酿酒酵母安琪 SY 所得的果酒相比，其酒精度呈现出较低的水平。这是由于 *H. uvarum* CICC 193162 的提前介入，消耗了发酵罐内的一部分营养物质[11]。因此，当安琪酵母 SY 随后加入时，可供其利用的物质减少，导致酒精的转化效率降低。随着 *H. uvarum* CICC 193162 接种比例的增加，发酵所得果酒的酒精度呈现下降趋势。证明了非酿酒酵母与酿酒酵母混合发酵能够在一定程度上降低果酒的酒精度。还原糖的含量与酒精度之间呈现出负相关关系，表明糖分的高低会直

接影响果酒的最终口感，过高或过低的糖分都可能破坏果酒的整体风味。经实验发现，当 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 的接种比例设定为 2:1 时，所制得的果酒口感较好，且 Vc、总酚含量以及感官评价均达到较高的水平。由此，*H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 的接种比例调整为 2:1 时，更为适宜。

表 2 不同接种比例理化指标的数值

Table 2 Values of physical and chemical indicators for different inoculation ratios

理化指标	接种比例（SY:*H.uvarum* CICC 193162）			
	1:1	1:2	1:3	2:1
总酸/(g·L^{-1})	7.84 ± 0.23^{a}	7.30 ± 0.17^{c}	7.11 ± 0.30^{d}	7.78 ± 0.38^{b}
总酚/(mg·mL^{-1})	5.03 ± 0.19^{b}	5.36 ± 0.35^{a}	5.10 ± 0.27^{b}	4.81 ± 0.16^{c}
Vc/(g·L^{-1})	1.37 ± 0.09^{b}	1.53 ± 0.17^{a}	1.09 ± 0.21^{c}	1.44 ± 0.13^{ab}
还原糖/(g·L^{-1})	6.21 ± 0.22^{b}	6.57 ± 0.19^{a}	6.65 ± 0.14^{a}	6.07 ± 0.28^{b}
酒精度/(%vol)	8.0 ± 0.4^{ab}	7.4 ± 0.3^{c}	7.1 ± 0.5^{c}	8.6 ± 0.8^{a}
感官评分/ 分	88.0 ± 1.0^{b}	92.3 ± 2.6^{a}	84.1 ± 2.5^{c}	87.6 ± 2.0^{b}

注：同一行字母表示差异性显著，$P < 0.05$（下表同）。

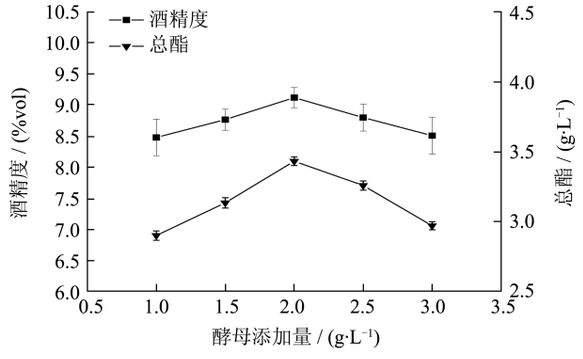


图 2 酒精度与总酯随酵母添加量的变化关系

Fig.2 Relationship between alcoholic strength and total esters with yeast addition

2.1.2 间隔接种时间的确定

随着 *H. uvarum* CICC 193162 提前接入时间的增长，果酒酒精度下降，还原糖含量上升。在低温发酵中，*H. uvarum* CICC 193162 虽具低温适应性但生长放缓。短间隔接种限制 *H. uvarum* CICC 193162 作用，长间隔则致其过度消耗营养，影响安琪酵母 SY 发酵，降低酒精度，影响口感。总酸与酒精度趋势一致，总酚与 VC 含量先增后稳，*H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入时达峰值。此时，果酒感官评分最高，口感醇厚，余味花果香浓。因此，从风味与品质考量，*H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入为最优发酵条件，既能保持果酒风味，又确保良好的饮用体验。

表 3 不同间隔时间接种理化指标的数值

Table 3 Values of physicochemical indicators for different intervals of inoculation

理化指标	间隔接种时间/h			
	24	48	72	96
总酸/(g·L^{-1})	7.73 ± 0.08^{a}	7.60 ± 0.15^{b}	7.31 ± 0.30^{c}	7.26 ± 0.22^{c}
总酚/(mg·mL^{-1})	4.99 ± 0.27^{c}	5.15 ± 0.34^{b}	5.28 ± 0.27^{a}	5.07 ± 0.40^{bc}
Vc/(g·L^{-1})	1.30 ± 0.13^{c}	1.39 ± 0.05^{b}	1.48 ± 0.25^{a}	1.40 ± 0.35^{b}
还原糖/(g·L^{-1})	6.31 ± 0.16^{b}	6.64 ± 0.08^{ab}	6.92 ± 0.51^{a}	6.99 ± 0.40^{a}
酒精度/(%vol)	8.2 ± 0.4^{a}	7.1 ± 0.1^{b}	6.7 ± 0.1^{bc}	6.4 ± 0.3^{c}
感官评分/ 分	86.6 ± 2.0^{bc}	88.1 ± 0.5^{b}	91.5 ± 1.5^{a}	87.4 ± 1.0^{bc}

2.2 不同接种方式下活菌数量变化

酵母发酵过程中的持久生长力及其活菌细胞计数，对果酒最终香气品质的形成有影响[12]。5 种不同发酵方式所得复合果酒中酵母菌群的动态变化如图 2，不同接种方式下酵母的生长趋势及数量有明显差异。5 种接种方式发酵复合果酒在发酵初期，*H. uvarum* CICC 193162 和安琪酵母 SY 均能适应低温发酵环境并快速生长[13]。单独菌种发酵，图 3a、3b，发酵第 8 天 *H. uvarum* CICC 193162 活细胞数数量达到最大（2×10^{8} CFU/mL），发酵第 6 天安琪酵母 SY 活细胞数数量达到最大（1×10^{8} CFU/mL），在低温发酵条件下，*H. uvarum* CICC 193162 最大活细胞数量大于安琪酵母 SY，说明 *H. uvarum* CICC 193162 具有低温适应性且低温有利于 *H. uvarum* CICC 193162 的活性，这与 Albertin 等[14]研究相一致。两种酵母均在达到最大数量后连续几天保持稳定的活力，随着发酵的进行，酵母逐渐将发酵罐内的营养成分转化为酒精，由于酒精积累和营养物质的消耗两种酵母逐渐开始死亡，至发酵结束。这与 Chua 等[15]研究结果一致。但是由于安琪酵母对高浓度酒精具有一定的耐受性，因此在发酵结束时，安琪酵母 SY 活菌数量大于 *H. uvarum* CICC 193162。图 4c两种酵母同时接入，*H. uvarum* CICC 193162 在发酵的第 6 天达到活细胞数数量最大值（3×10^{7} CFU/mL），随后开始减少，由于 *H. uvarum* CICC 193162 和安琪酵母 SY 同时接入，安琪酵母 SY 发酵力更强，能够将糖类物质转化为酒精，使酒体处于高酒精状态，导致 *H. uvarum* CICC 193162 无法适应发酵环境，进而导致 *H. uvarum* CICC 193162 生长受阻。安琪酵母 SY 也在第 6 天达到最大值（9×10^{7} CFU/mL），并持续维持一段时间，随后在第 12 天数量逐渐降低。图 4d *H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入，在发酵第 6 天达到最大值（4×10^{7} CFU/mL），在发酵第 8 天开始降低，由于 *H. uvarum* CICC 193162 的提前接入，一定

程度上消耗了发酵罐内的营养物质，导致安琪酵母 SY 的生长受到了抑制，其在发酵第 8 天活细胞数达到最大值（6×10^7 CFU/mL）。图 4e 安琪酵母提前 72 h 接入，在发酵第 8 天细胞活菌数达到最大值（1×10^8 CFU/mL），由于安琪酵母的提前接入，产生了一定的酒精，导致 *H. uvarum* CICC 193162 生长环境受限，随着发酵的进行，*H. uvarum* CICC 193162 发酵动力变弱，在第 8 天细胞活菌数达到最大值（1×10^7 CFU/mL），随后在第 10 天开始急速减少。结果表明，*H. uvarum* CICC 193162 和安琪酵母 SY 均能在发酵前期低温发酵条件下产生适应性，并体现出较大的发酵动力。后期两种酵母数量减少，生长受到抑制，原因可能是两种酵母对于发酵罐内营养物质的竞争，且随着发酵的进行发酵罐内营养物质不足或无法适应发酵环境所导致的。混菌发酵体系中，同时接种两种酵母，先接种 *H. uvarum* CICC 193162 后接种安琪酵母 SY 都可以让 *H. uvarum* CICC 193162 在发酵期间发挥一定的作用，但先接种安琪酵母 SY 后接种 *H. uvarum* CICC 193162，则可能导致 *H. uvarum* CICC 193162 在发酵期间发挥作用一定程度上减少。

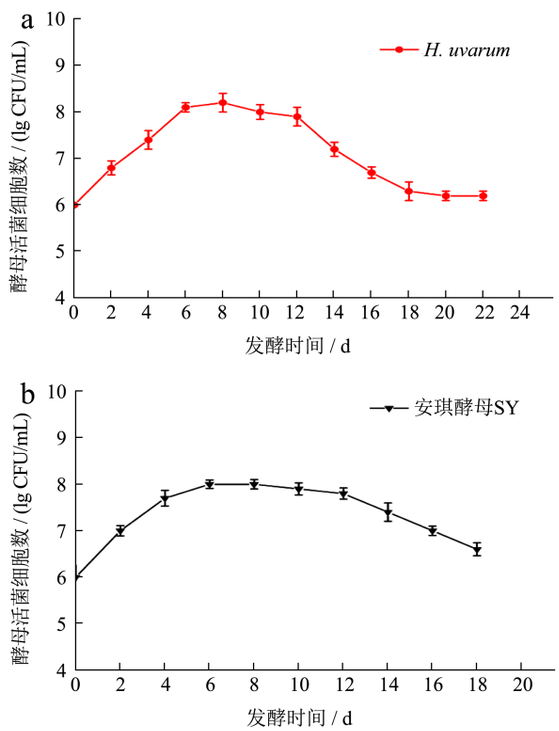


图 3 单独接种酵母的活菌数量动态变化

Fig.3 Dynamic changes in the number of viable bacteria in yeast inoculated alone

注：（a）单独接种 *H. uvarum* CICC 193162；（b）单独接种安琪酵母 SY。

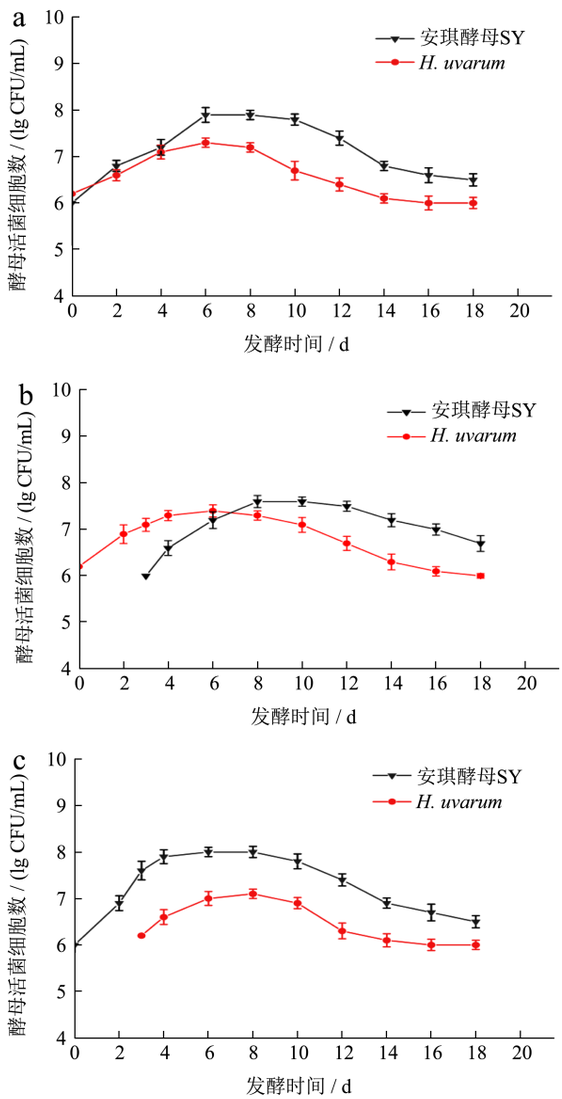


图 4 混合接种酵母活菌数量动态变化

Fig.4 Dynamic changes in the number of live yeast in a mixed inoculation

注：（a）两种酵母同时接入；（b）*H. uvarum* 提前 72 h 接入；（c）安琪酵母提前 72 h 接入。

2.3 不同接种方式下猕猴桃苹果复合果酒感官评分

对于 5 种不同接种方式发酵复合果酒进行感官评价，各项指标得分情况如表 4 所示。由表 4 可知，单独接种菌种发酵果酒和混菌发酵发酵果酒在色泽、香气、滋味及典型性上均存在差异。在各项评分上，DDHU1 酒中由于只接种了 *H. uvarum* CICC 193162，非酿酒酵母整体发酵动力较低，而完整的发酵需要酿酒酵母的接入才能完成发酵。因此 DDHU1酒的各项评分均显著小于接入有安琪酵母 SY 发酵的果酒。在

混菌发酵果酒中，各项评分均高于单独接种安琪酵母SY发酵酒，其中JGHUSY4酒在香气和滋味评分上显著高于其他复合果酒，非酿酒酵母*H. uvarum* CICC 193162的提前接入使其充分发挥了自身作用即增加果酒香气的复杂性，同时也一定程度的为果酒品质的提升起到积极作用。TSHUSY3酒和JGSYHU5酒由于安琪酵母SY与*H. uvarum* CICC 193162同时竞争发酵罐内的营养物质，导致*H. uvarum* CICC 193162的作用发挥受到限制，因此提前接入*H. uvarum* CICC 193162后接入安琪酵母的接种方式发酵果酒（JGHUSY4）整体感官评分较高。

表4 不同品种复合果酒感官评价结果

Table 4 Sensory evaluation results of different varieties of compound fruit wines

样品编号	色泽	香气	滋味	典型性	总分
DDHU1	15.4 ± 0.6^{b}	25.4 ± 1.8^{c}	30.5 ± 0.7^{d}	8.0 ± 0.9^{b}	79.3 ± 2.3^{d}
DDSY2	16.5 ± 0.9^{a}	26.0 ± 1.6^{c}	33.2 ± 1.3^{bc}	8.5 ± 0.7^{ab}	84.2 ± 0.9^{c}
TSHUSY3	16.6 ± 1.0^{a}	27.7 ± 0.9^{b}	34.7 ± 1.0^{b}	9.0 ± 0.7^{a}	88.0 ± 1.1^{ab}
JGHUSY4	16.8 ± 0.8^{a}	28.6 ± 0.4^{a}	37.3 ± 1.5^{a}	9.0 ± 0.3^{a}	91.7 ± 1.3^{a}
JGSYHU5	16.5 ± 1.4^{a}	27.5 ± 1.2^{b}	34.1 ± 2.5^{b}	8.5 ± 0.5^{ab}	86.6 ± 1.0^{b}

2.4 *H. uvarum* CICC 193162对猕猴桃苹果复合果酒风味物质的影响

将非酿酒酵母应用于果酒的发酵中，可以一定程度上增加果酒的香气成分，但酿酒酵母与非酿酒酵母接种方式不同，则两种酵母相互作用不同，从而以不同的方式提高果酒的香气复杂程度[16]。不同接种方式发酵猕猴桃苹果复合果酒的风味物质检测结果如表5，经过SPME-GC-MS分析，DDHU1、DDSY2、TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5，5种果酒分别检出59种、55种、74种、74种、74种风味物质。DDHU1、DDSY2酒检出总质量浓度分别为23.872、38.269 mg·mL^{-1}；接种非酿酒酵母的混合发酵酒样中TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5三种果酒虽检出风味物质的种类相同，但其含量却相差较大，三种果酒含量分别为41.875、45.986、41.363 mg·mL^{-1}。相比于单一接种*H. uvarum* CICC 193162发酵及安琪酵母SY发酵，两种酵母混合发酵均提高了果酒中风味物质的种类及质量浓度。

2.4.1 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒醇类化合物分析

5种不同接种方式发酵的果酒共检出14种醇类化合物，其中DDSY2酒中醇类物质检出含量最高为3.241 mg·mL^{-1}。DDHU1酒检出含量最少为1.247 mg·mL^{-1}，由于*H. uvarum* CICC 193162属于非酿酒酵母，随着发酵的进行，*H. uvarum* CICC 193162不再适应罐内的发酵环境，开始逐渐发生衰亡，无法有效的将发酵罐内的养分转化为酒精，因此其醇类物质含量较低。*H. uvarum* CICC 193162与安琪酵母SY同时发酵时，由于在低温的作用下，改变了*H. uvarum* CICC 193162与安琪酵母SY之间的竞争关系，且导致发酵罐中安琪酵母SY的一些必要营养物质不足，因此醇类物质含量较单独接种安琪酵母SY发酵果酒低。JGHUSY4酒中一些高级醇的含量有所降低，由于*H. uvarum* CICC 193162的作用将部分高级醇转化为酯类物质，且*H. uvarum* CICC 193162的提前加入一定程度会消耗罐内的营养物质，因此JGHUSY4酒中醇类物质含量较低[17]。

2.4.2 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒酯类化合物分析

酯类化合物通常呈现出花果香气，是构成果酒风味的关键成分。DDHU1、DDSY2酒中分别检出31种、24种酯类物质。TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5检出酯类种类均为35种，但含量却各不相同，其中JGHUSY4检出含量最高为40.598 mg·L^{-1}，可能是由于*H. uvarum* CICC 193162与安琪酵母的接种方式不同，导致两种酵母之间的相互作用不同，因此对酯类化合物的影响也不同。

乙酸酯类是由高级醇和乙酰辅酶A缩合而成，当非酿酒酵母接种入果酒中，会将大部分乙酰辅酶A用于乙酸酯类的合成[18]。不同接种方式接入*H. uvarum* CICC 193162混菌发酵对果酒中乙酸酯的生成影响均不相同，其中JGHUSY4酒中乙酸酯质量浓度最高10.708 mg·mL^{-1}，乙酸异戊酯、乙酸己酯、乙酸乙酯、乙酸苯乙酯的含量均高于单独接种安琪酵母SY发酵的果酒，说明混菌发酵对乙酸酯的生成有促进作用，且提前接入*H. uvarum* CICC 193162后接入安琪酵母SY的接种方式发酵出的果酒效果最优。

乙基酯可以为果酒带来理想的水果香和花香，它们是醇和酰基辅酶A缩合产生是由酰基转移酶催化的反应[16]。5种果酒中辛酸乙酯、己酸乙酯、癸酸乙酯的含量较高，为果酒提供了浓郁的水果香、花香、及苹果香，为提高果酒的香气复杂性有一定的贡献[19]。非酿酒酵母*H. uvarum* CICC 193162在发酵过程中可以产生更多的酯类相关酶，将醇类物质通过酯酶合成途径转化为酯类物质。因此在混菌发酵的果酒中，乙基酯含量均高于单独接种安琪酵母SY发酵酒，且*H. uvarum* CICC 193162提前接入，延长了其存活时间，更有利于生成更多的酯类物质[20]。

表 5 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒风味物质SPME-GC-MS鉴定结果

Table 5 Results of SPME-GC-MS identification of flavor substances of kiwi-apple complex fruit wine by different inoculation methods

	序号	风味物质	CAS 号	不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒风味物质成分含量/(mg·L^{-1})				
				DDHU1	DDSY2	TSHUSY3	JGHUSY4	JGSYHU5
醇类	1	正己醇	111-27-3	0.063 ± 0.010^{c}	0.254 ± 0.018^{a}	0.127 ± 0.036^{b}	0.096 ± 0.011^{b}	0.241 ± 0.040^{a}
	2	异戊醇	123-51-3	0.633 ± 0.076^{c}	1.268 ± 0.086^{a}	0.831 ± 0.041^{b}	0.768 ± 0.017^{b}	1.036 ± 0.057^{a}
	3	正辛醇	111-87-5	0.046 ± 0.009c	0.116 ± 0.088^{ab}	0.087 ± 0.010b	0.099 ± 0.017^{b}	0.142 ± 0.027^{a}
	4	苯乙醇	60-12-8	0.488 ± 0.015^{b}	0.830 ± 0.054^{a}	0.625 ± 0.028^{b}	0.583 ± 0.016^{b}	0.802 ± 0.074^{a}
	5	正庚醇	111-70-6	ND	ND	0.029 ± 0.003^{b}	0.011 ± 0.001^{c}	0.056 ± 0.008^{a}
	6	异丁醇	78-83-1	0.009 ± 0^{c}	0.028 ± 0.008^{a}	0.022 ± 0.001^{ab}	0.017 ± 0^{a}	0.020 ± 0.001^{a}
	7	正戊醇	71-41-0	0.001 ± 0^{c}	0.009 ± 0.003^{a}	0.005 ± 0^{ab}	0.004 ± 0.001^{a}	0.008 ± 0.002^{a}
	8	苯甲醇	100-51-6	0.002 ± 0^{b}	0.006 ± 0.001^{ab}	0.010 ± 0^{a}	0.009 ± 0.002^{a}	0.009 ± 0^{a}
	9	3-辛醇	111-87-5	ND	ND	0.027 ± 0.004^{a}	0.030 ± 0.001^{a}	0.038 ± 0.003^{a}
	10	3-甲硫基丙醇	505-10-2	0.014 ± 0.002^{c}	0.645 ± 0.082^{a}	0.371 ± 0.032^{b}	0.368 ± 0.026^{b}	0.632 ± 0.029^{a}
	11	3-甲基-1-戊醇	589-35-5	0.001 ± 0^{a}	ND	0.008 ± 0.001^{a}	0.006 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0ab^{a}
	12	2-乙基己醇	104-76-7	ND	ND	0.010 ± 0.002^{a}	0.002 ± 0^{b}	0.006 ± 0^{ab}
	13	2-丙基-1-庚醇	10042-59-8	ND	ND	0.008 ± 0.001^{a}	0.006 ± 0^{a}	0.001 ± 0^{b}
	14	反式-3-己烯-1-醇	928-97-2	ND	0.085 ± 0.020^{a}	0.048 ± 0.004^{b}	0.042 ± 0.007^{b}	0.059 ± 0.009^{ab}
酯类	1	乙酸异戊酯	505-10-2	1.614 ± 0.071^{c}	2.982 ± 0.184^{b}	3.121 ± 0.253^{a}	3.376 ± 0.327^{a}	3.096 ± 0.152^{ab}
	2	乙酸己酯	142-92-7	0.657 ± 0.040^{c}	0.745 ± 0.016^{bc}	1.209 ± 0.054^{b}	1.697 ± 0.019^{a}	1.177 ± 0.086^{b}
	3	乙酸乙酯	141-78-6	0.933 ± 0.059^{b}	1.013 ± 0.032^{b}	1.151 ± 0.085^{ab}	1.264 ± 0.089^{a}	1.037 ± 0.049^{b}
	4	乙酸苯乙酯	103-45-7	3.237 ± 0.181^{bc}	3.149 ± 0.271^{c}	3.624 ± 0.108^{b}	4.371 ± 0.247^{a}	3.375 ± 0.114^{b}
	5	己酸乙酯	123-66-0	1.213 ± 0.032^{c}	4.406 ± 0.390^{a}	4.956 ± 0.392^{a}	5.478 ± 0.569^{a}	4.831 ± 0.295^{ab}
	6	庚酸乙酯	106-30-9	0.004 ± 0^{b}	ND	0.014 ± 0.003^{a}	0.019 ± 0.001^{a}	0.008 ± 0.002^{b}
	7	丁酸乙酯	105-54-4	1.008 ± 0.045^{b}	0.476 ± 0.083^{c}	1.382 ± 0.068^{a}	1.564 ± 0.129^{a}	1.022 ± 0.073^{b}
	8	月桂酸乙酯	106-33-2	0.165 ± 0.029^{bc}	0.096 ± 0.006^{c}	0.387 ± 0.063^{ab}	0.493 ± 0.012^{a}	0.206 ± 0.018^{b}
	9	辛酸乙酯	106-32-1	6.661 ± 0.398^{c}	8.316 ± 0.776^{b}	9.372 ± 0.939^{a}	10.624 ± 0.801^{a}	8.883 ± 0.447^{b}
	10	癸酸乙酯	110-38-3	2.837 ± 0.131^{c}	5.196 ± 0.557^{b}	5.734 ± 0.654^{a}	6.062 ± 0.535^{a}	5.350 ± 0.715^{ab}
	11	壬酸乙酯	123-29-5	0.019 ± 0.005^{c}	0.018 ± 0.004^{c}	0.032 ± 0.012^{ab}	0.047 ± 0.004^{a}	0.023 ± 0.003^{b}
	12	油酸乙酯	111-62-6	0.012 ± 0.002^{b}	ND	0.090 ± 0.015^{a}	0.014 ± 0.002^{b}	0.007 ± 0^{b}
	13	亚油酸乙酯	544-35-4	0.017 ± 0.001^{b}	ND	0.039 ± 0.007^{a}	0.048 ± 0.012^{a}	0.022 ± 0.005^{b}
	14	反油酸乙酯	6114-18-7	0.011 ± 0.001^{b}	ND	0.037 ± 0.004^{a}	0.048 ± 0.011^{a}	0.020 ± 0.001^{b}
	15	苯甲酸乙酯	93-89-0	0.096 ± 0.058^{b}	0.131 ± 0.022^{b}	0.158 ± 0.012^{b}	0.203 ± 0.043^{a}	0.147 ± 0.020^{b}
	16	丁二酸二乙酯	123-25-1	0.022 ± 0.004^{c}	ND	0.086 ± 0.009^{a}	0.092 ± 0.007^{a}	0.063 ± 0.006^{b}
	17	十四酸乙酯	124-06-1	0.033 ± 0.002^{a}	ND	0.025 ± 0.001^{b}	0.037 ± 0.004^{a}	0.012 ± 0.001^{c}
	18	苯乙酸乙酯	101-97-3	0.067 ± 0.010^{c}	0.053 ± 0.013^{c}	0.125 ± 0.021^{b}	0.157 ± 0.018^{b}	0.863 ± 0.098^{a}
	19	丙酸乙酯	105-37-3	0.004 ± 0^{b}	ND	0.008 ± 0.002^{ab}	0.014 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0^{b}
	20	棕榈酸乙酯	628-97-7	0.084 ± 0.011^{ab}	0.080 ± 0.004^{b}	0.093 ± 0.017^{a}	0.114 ± 0.013^{a}	0.085 ± 0.004^{ab}
	21	2-甲基丁酸乙酯	7452-79-1	0.084 ± 0.012^{ab}	0.074 ± 0.018^{b}	0.094 ± 0.007^{a}	0.099 ± 0.014^{a}	0.081 ± 0.010^{ab}
	22	9-癸烯酸乙酯	67233-91-4	0.252 ± 0.048^{b}	0.127 ± 0.031^{c}	0.221 ± 0.051^{b}	0.356 ± 0.064^{a}	0.142 ± 0.013^{c}
	23	己酸异丁酯	105-79-3	0.008 ± 0.001^{b}	0.015 ± 0.003^{ab}	0.021 ± 0.005^{a}	0.029 ± 0.007^{a}	0.020 ± 0.002^{a}
	24	己酸异戊酯	2198-61-0	0.224 ± 0041^{b}	0.037 ± 0.014^{c}	0.259 ± 0.023^{ab}	0.309 ± 0.019^{a}	0.168 ± 0.017^{b}
	25	丁酸甲酯	623-42-7	1.717 ± 0.497^{b}	2.746 ± 0.492^{ab}	3.015 ± 0.654^{a}	3.092 ± 0.952^{a}	2.982 ± 0.209^{a}
	26	辛酸异丁酯	5461-06-3	0.001 ± 0^{b}	ND	0.018 ± 0.004^{a}	0.021 ± 0.003^{a}	0.004 ± 0^{b}

续表5

	序号	风味物质	CAS 号	不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒风味物质成分含量/(mg·L^{-1})				
				DDHU1	DDSY2	TSHUSY3	JGHUSY4	JGSYHU5
酯类	27	辛酸异戊酯	2035-99-6	0.039 ± 0.004^{b}	0.044 ± 0.013^{ab}	0.053 ± 0.008^{a}	0.058 ± 0.007^{a}	0.050 ± 0.015^{a}
	28	辛酸异辛酯	63321-70-0	0.024 ± 0.001^{b}	ND	0.031 ± 0.003^{b}	0.055 ± 0.016^{a}	0.049 ± 0.004^{a}
	29	癸酸甲酯	110-42-9	0.011 ± 0.002^{b}	0.014 ± 0.002^{b}	0.029 ± 0.006^{a}	0.031 ± 0.004^{a}	0.017 ± 0.001^{b}
	30	辛酸甲酯	111-12-6	0.065 ± 0.007^{b}	0.097 ± 0.011^{b}	0.134 ± 0.011^{a}	0.129 ± 0.031^{a}	0.108 ± 0.028^{ab}
	31	棕榈酸甲酯	112-39-0	ND	0.287 ± 0.054^{a}	0.176 ± 0.036^{ab}	0.152 ± 0.042^{b}	0.242 ± 0.017^{a}
	32	邻苯二甲酸二异丁酯	84-69-5	ND	0.018 ± 0.006^{a}	0.012 ± 0.001^{ab}	0.007 ± 0^{b}	0.023 ± 0.005^{a}
	33	苯甲酸甲酯	93-58-3	ND	0.629 ± 0.099^{a}	0.542 ± 0.026^{b}	0.483 ± 0.071^{c}	0.607 ± 0.038^{a}
	34	癸酸异丁酯	30673-38-2	ND	ND	0.003 ± 0^{b}	0.010 ± 0^{a}	0.001 ± 0^{b}
	35	己酸甲酯	106-70-7	0.022 ± 0.001^{a}	ND	0.027 ± 0.04^{a}	0.021 ± 0.002^{a}	0.016 ± 0.003^{b}
	36	甲酸己酯	629-33-4	0.034 ± 0.008^{a}	0.012 ± 0.003^{b}	0.017 ± 0.001^{b}	0.024 ± 0.006^{ab}	0.015 ± 0.003^{b}
醛酮类	1	乙醛	75-07-0	0.002 ± 0^{b}	0.002 ± 0^{b}	0.008 ± 0.001^{a}	0.010 ± 0.002^{a}	0.003 ± 0^{b}
	2	异戊醛	590-86-3	0.003 ± 0^{b}	0.001 ± 0^{b}	0.006 ± 0.001^{a}	0.007 ± 0.002^{a}	0.003 ± 0.001^{ab}
	3	壬醛	124-19-6	0.037 ± 0.007^{ab}	0.020 ± 0.004^{c}	0.042 ± 0.007^{a}	0.043 ± 0.012^{a}	0.032 ± 0.012^{b}
	4	2-庚烯醛	18829-55-5	ND	0.033 ± 0.013^{a}	0.034 ± 0.007^{a}	0.021 ± 0.002^{b}	0.012 ± 0.001^{c}
	5	月桂醛	112-54-9	0.027 ± 0.002^{b}	0.045 ± 0.020^{a}	0.038 ± 0.006^{ab}	0.047 ± 0.006^{a}	0.045 ± 0.012^{a}
	6	苯甲醛	100-52-7	0.059 ± 0.012^{ab}	0.051 ± 0.026^{b}	0.071 ± 0.015^{a}	0.073 ± 0.019^{a}	0.070 ± 0.024^{a}
	7	2-辛酮	111-13-7	—	0.032 ± 0.012^{a}	0.017 ± 0.002^{b}	0.010 ± 0.001^{c}	0.033 ± 0.012^{a}
	8	*β*-大马酮	23726-93-4	0.003 ± 0^{b}	0.001 ± 0^{c}	0.008 ± 0.001^{ab}	0.012 ± 0.002^{a}	0.004 ± 0^{b}
酸类	1	2-甲基丁酸	116-53-0	0.083 ± 0.017^{c}	0.204 ± 0.032^{a}	0.142 ± 0.021^{b}	0.137 ± 0.023^{b}	0.187 ± 0.034^{ab}
	2	己酸	142-62-1	0.170 ± 0.005^{b}	0.326 ± 0.067^{a}	0.164 ± 0.013^{b}	0.156 ± 0.038^{b}	0.295 ± 0.068^{a}
	3	辛酸	124-07-2	ND	1.742 ± 0.285^{a}	1.034 ± 0.089^{b}	1.062 ± 0.054^{b}	1.057 ± 0.083^{b}
	4	癸酸	334-48-5	ND	1.039 ± 0.127^{a}	0.804 ± 0.091^{b}	0.773 ± 0.056^{c}	0.970 ± 0.062^{ab}
	5	乙酸	64-19-7	0.008 ± 0.001^{b}	0.021 ± 0.009^{a}	0.005 ± 0^{bc}	0.002 ± 0^{c}	0.010 ± 0.001^{b}
	6	9-癸烯酸	14436-32-9	ND	0.022 ± 0.006^{a}	0.018 ± 0.002^{ab}	0.015 ± 0.002^{b}	0.020 ± 0.006^{a}
萜烯，其他类	1	异丁香酚	97-54-1	ND	0.010 ± 0.004^{b}	0.014 ± 0.004^{b}	0.023 ± 0.008^{a}	0.017 ± 0.004^{ab}
	2	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	0.013 ± 0^{d}	0.041 ± 0.015^{bc}	0.048 ± 0.015^{b}	0.069 ± 0.015^{a}	0.039 ± 0.003^{c}
	3	对乙烯基愈创木酚	7786-61-0	0.183 ± 0.022^{c}	0.314 ± 0.059^{b}	0.424 ± 0.061^{a}	0.430 ± 0.047^{a}	0.383 ± 0.084^{ab}
	4	桉叶油醇	470-82-6	0.036 ± 0.002^{d}	0.040 ± 0.012^{c}	0.065 ± 0.016^{a}	0.069 ± 0.021^{a}	0.052 ± 0.018^{b}
	5	4-萜烯醇	562-74-3	0.039 ± 0.010^{ab}	ND	0.045 ± 0.007^{a}	0.049 ± 0.012^{a}	0.031 ± 0.004^{b}
	6	环辛四烯	629-20-9	ND	0.235 ± 0.004^{a}	0.182 ± 0.029^{ab}	0.104 ± 0.018^{c}	0.137 ± 0.023^{b}
	7	DL-薄荷醇	15356-70-4	0.022 ± 0.006^{d}	0.025 ± 0.004^{d}	0.044 ± 0.009^{b}	0.053 ± 0.008^{a}	0.031 ± 0.012^{cd}
	8	*α*-法呢烯	502-61-4	0.072 ± 0.013^{a}	0.063 ± 0.010^{ab}	0.066 ± 0.010^{a}	0.071 ± 0.007^{a}	0.055 ± 0.016^{b}
	9	4-萜品醇	20126-76-5	0.029 ± 0.003^{c}	ND	0.086 ± 0.004^{a}	0.101 ± 0.015^{a}	0.061 ± 0.002^{b}
	10	*α*-柏木烯	469-61-4	0.007 ± 0.001^{a}	ND	0.007 ± 0^{a}	0.010 ± 0.003^{a}	0.008 ± 0^{a}

注：同一行字母表示差异显著，$P<0.05$；“ND”表示未检出该物质。

表 6 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒有机酸含量

Table 6 Values of physicochemical indicators for different intervals of inoculation

有机酸种类	有机酸含量/(mg·mL^{-1})				
	DDHU1	DDSY2	TSHUSY3	JGHUSY4	JGSYHU5
草酸	0.15 ± 0.004^{b}	0.15 ± 0.001^{b}	0.24 ± 0.004^{a}	0.24 ± 0.005^{a}	0.25 ± 0.003^{a}
酒石酸	0.17 ± 0.008^{b}	0.17 ± 0.003^{b}	0.18 ± 0.202^{a}	0.18 ± 0.176^{ab}	0.18 ± 0.043^{b}
莽草酸	0.21 ± 0.003^{a}	0.21 ± 0.000^{a}	0.20 ± 0.002^{a}	0.19 ± 0.004^{a}	0.21 ± 0.003^{a}
奎宁酸	3.68 ± 0.19^{c}	9.56 ± 0.43^{b}	11.33 ± 0.48^{a}	12.06 ± 0.34^{a}	8.72 ± 0.19^{b}
乙酸	1.62 ± 0.51^{c}	1.83 ± 0.36^{a}	1.71 ± 0.63^{b}	1.69 ± 0.12^{b}	1.77 ± 0.34^{ab}
乳酸	1.96 ± 0.40^{d}	5.11 ± 0.29^{c}	7.63 ± 0.67^{b}	8.55 ± 0.39^{a}	5.83 ± 0.37^{c}
柠檬酸	7.00 ± 0.08^{a}	5.99 ± 0.21^{b}	4.96 ± 0.08^{c}	4.92 ± 0.27^{c}	5.09 ± 0.22^{c}
丁二酸	2.63 ± 0.04^{a}	1.34 ± 0.07^{c}	1.26 ± 0.54^{b}	1.21 ± 0.21^{b}	1.19 ± 0.12^{c}

表 7 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒酚类物质含量

Tab 7 Values of physicochemical indicators for different intervals of inoculation

酚类种类	酚类含量/(μg·mL^{-1})				
	DDHU1	DDSY2	TSHUSY3	JGHUSY4	JGSYHU5
原儿茶酸	1.69 ± 0.08^{c}	2.11 ± 0.09^{b}	3.08 ± 0.16^{a}	3.39 ± 0.25^{a}	2.46 ± 0.06^{b}
儿茶素	0.66 ± 0.5^{0}d	1.48 ± 0.31^{c}	5.65 ± 0.60^{a}	3.77 ± 0.29^{b}	1.84 ± 0.43^{c}
表儿茶素	1.39 ± 0.01^{c}	4.56 ± 0.22^{b}	5.27 ± 0.06^{b}	8.83 ± 0.33^{a}	5.61 ± 0.52^{b}
原花青素 B_2	3.96 ± 0.01^{a}	3.14 ± 0.03^{a}	3.53 ± 0.02^{a}	3.32 ± 0.03^{a}	3.71 ± 0.02^{a}
香草酸	0.55 ± 0.08^{c}	0.64 ± 0.25^{bc}	1.03 ± 0.06^{b}	1.88 ± 0.04^{a}	0.99 ± 0.19^{b}
鞣花酸	0.40 ± 0.03^{a}	0.45 ± 0.08^{a}	0.2 ± 0.04^{b}	0.51 ± 0.09^{a}	0.46 ± 0.08^{a}
槲皮素	16.67 ± 2.42^{b}	20.54 ± 1.44^{b}	25.97 ± 0.2^{6}a	22.36 ± 1.49^{ab}	24.06 ± 1.37^{a}
根皮素	0.49 ± 0.28^{a}	0.27 ± 0.10^{b}	0.46 ± 0.04^{a}	0.47 ± 0.14^{a}	0.54 ± 0.25^{a}
咖啡酸	1.84 ± 0.01^{b}	12.43 ± 0.19^{a}	12.59 ± 0.1^{6}a	12.61 ± 0.21^{a}	12.34 ± 0.09^{a}
对香豆酸	0.21 ± 0.04^{b}	0.24 ± 0.02^{b}	0.32 ± 0.07^{a}	0.35 ± 0.06^{a}	0.28 ± 0.01^{ab}

2.4.3 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒酸类化合物分析

混菌发酵的果酒产生的酸类物质种类与单独接种安琪酵母 SY 发酵果酒相同，但 DDSY2 酒中检出的酸类物质含量最高为 3.354 mg·mL^{-1}，由于脂肪酸的合成需要乙酰辅酶 A 缩合而成，但当接入 *H. uvarum* CICC 193162 时，会将大部分乙酰辅酶 A 用于乙酸酯类的合成，导致合成脂肪酸的乙酰辅酶 A 不足，进而导致脂肪酸物质含量降低[21]。5 种果酒中存在的主要的酸类物质为辛酸、己酸和乙酸，这些脂肪酸浓度较低时可以为果酒带来奶酪香、水果香及脂肪香，且可与醇类物质反应生成酯类，使酒体的香气更为协调[22]。但是脂肪酸含量过高，如辛酸浓度较高时呈现油性霉味和腐臭味，会对果酒的香气和品质带来负面的影响[23]。

2.4.4 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒萜烯类及酮醛类化合物分析

对于萜烯类化合物，5 种果酒共检出 10 种萜烯类及酚类化合物，DDHU1、DDSY2、TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5 含量分别为 0.401、0.728、0.981、0.979、0.814 mg·mL^{-1}，其中对乙烯基愈创木酚在 5 种发酵酒中检出的含量均为最高，为果酒赋予了丁香及发酵似香气。混菌发酵能够提高挥发酚及萜烯类物质的含量，这与 Hu 等[24]研究结果一致。这可能是因为混菌发酵及其分泌的糖苷酶活性有关[25]。

对于酮醛类化合物，DDHU1 酒中检出 6 种酮醛类物质，DDSY2、TSHUSY3、JGHUSY4、JGSYHU5 均检出 8 种，单接种 *H. uvarum* CICC 193162 发酵酒中检出的酮醛类化合物含量高于单接种安琪酵母 SY 发酵酒，同时混菌发酵酒一定程度上提高了复合果酒中酮醛物质的含量。

2.5 *H. uvarum* CICC 193162对猕猴桃苹果复合果酒有机酸及酚类物质的影响

2.5.1 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒有机酸含量分析

有机酸含量对于果酒的风味、色泽、稳定性、营养品质有着重要的影响[26]。不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒有机酸含量检测结果如表 6，由表可看

出猕猴桃苹果复合果酒中有机酸含量最高的是奎宁酸、乳酸、柠檬酸。JGHUSY4 果酒乳酸和奎宁酸含量最高分别为 8.551、12.059 mg·mL^{-1}，在 DDHU1 果酒中检出乳酸含量较低，这是由于发酵过程中会产生乳酸，*H. uvarum* CICC 193162 属于非酿酒酵母，自身发酵动力较弱，因此产出乳酸较低[27]。高浓度乳酸对于果酒的味觉感知有积极的影响[28]。奎宁酸是一种芳香族氨基酸生物合成的前体物质。不同发酵方式对于酒石酸、莽草酸及草酸的含量没有显著的影响或影响较小，草酸是一种常用的螯合剂，人体中钙离子的存在可能导致草酸钙的沉淀及肾结石的产生[29]。五种不同发酵方式所得果酒检测出草酸含量均较低。Wei 等[30]报道了丁二酸具有苦味和咸味，发酵后丁二酸含量的降低可能对果酒的口感有积极的影响。

2.5.2 不同接种方式猕猴桃苹果复合果酒酚类物质含量分析

果酒中的酚类物质对果酒的色、味、口感等质量指标有一定的影响[31]。因此，酚类化合物被用来评价果酒的品质和真实性。表 9 显示，在 5 种复合果酒中，黄烷-3-醇含量最高的是儿茶素和表儿茶素，且在 TSHUSY3、JGHUSY4 酒中含量最高分别为 5.646、8.832 μg·mL^{-1}，两种酚类均在 DDHU1 酒中含量最少，分别为 0.661、1.386 μg·mL^{-1}，果酒中的黄烷-3-醇能防止氧化应激并影响抗氧化酶的活性[32]。5 种果酒中含量最多的黄酮醇是鞣花酸和槲皮素，槲皮素通过与花青素的协同作用在葡萄酒的颜色稳定性中发挥重要作用[33]。TSHUSY3 酒中槲皮素含量最高为 25.972 μg·mL^{-1}；原儿茶酸是 5 种酒中含量最多的羟基肉桂酸，JGHUSY4 酒中原儿茶酸和鞣花酸含量最高，分别为 3.389 μg·mL^{-1} 和 0.508 μg·mL^{-1}。TSHUSY3、JGHUSY4 酒中原儿茶酸含量的增加可能是儿茶素向原儿茶酸代谢的结果[34]。JGSYHU5 酒中儿茶素含量的降低可能是氧化和多重聚合的结果[35]。JGHUSY4 酒中香草酸含量的增加可能是由于阿魏酸（几种芳基化合物的前体）转化为香草酸的缘故[36]。咖啡酸作为一种游离的肉桂酸，有助于维持果酒的稳定状态。TSHUSY3、JGHUSY4 酒中咖啡酸含量最高，分别为 12.591、12.614 μg·mL^{-1}。

3 结论

通过深入研究低温发酵条件下，葡萄汁有孢汉逊酵母与安琪酵母以不同接种方式发酵对复合果酒品质的影响，得出 *H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 接种比例为 2:1 及提前 72 h 接入 *H. uvarum* CICC 193162 随后接入安琪酵母 SY 发酵所得果酒品质最佳。为改善单一发酵猕猴桃酒风味物质单一及提升酒体品质提供理论依据。本研究重点探讨了葡萄汁有孢汉逊酵母与安琪酵母 SY 的混合发酵对猕猴桃苹果复合果酒风味物质的影响。未来研究可进一步考察其他酿酒酵母及适宜低温发酵的非酿酒酵母对该类果酒风味的影响。

实验结果表明，*H. uvarum* CICC 193162 与安琪酵母 SY 以 2:1 比例接种，且 *H. uvarum* CICC 193162 提前 72 h 接入后再接安琪酵母 SY（JGHUSY4 组）的时序发酵工艺，所得果酒品质最优。SPME-GC-MS 检测显示，5 种接种方式发酵的复合果酒共鉴定出 74 种香气成分。JGHUSY4 组酸类（6.32±0.18 mg·mL^{-1}）与醇类（8.15±0.22 mg·mL^{-1}）物质含量最低，醇含量较对照组降低 23.6%，酯类物质总量（29.74±0.45 mg·mL^{-1}）较单菌发酵组提高 37.2%，风味物质总质量浓度（45.986 mg·mL^{-1}）与种类数（58 种）均居各组之首。高效液相色谱定量分析显示，JGHUSY4 组乙酸质量浓度最低（1.685±0.12 μg·mL^{-1}），乳酸和奎宁酸含量分别提高 42.3% 和 27.8%。酚类物质分析表明，JGHUSY4 组酚类组成最丰富，多种酚类物质含量均显著高于其他处理组。综合来看，JGHUSY4 时序接种工艺在复合果酒酿造中适配性最优。

参考文献

[1] 范雨航.树莓甘蔗复合果酒酿造工艺研究[J].中国酒,2024,7:38-40.

[2] 马雪蕾,罗春凤,王舒伟,等.我国复合果酒研究现状及展望[J].酿酒科技,2018,10:81-84.

[3] 战吉成,曹梦竹,游义琳,等.非酿酒酵母在葡萄酒酿造中的应用[J].中国农业科学,2020,53(19):4057-4069.

[4] PATRICIA T, PHONG Q L, ANNE J, et al. Interactions between Torulaspora delbrueckii and *Saccharomyces cerevisiae* in wine fermentation: influence of inoculation and nitrogen content [J].World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2014, 30(7): 1959-1967.

[5] LI R Y, XIONG G T, YUAN S K, et al. Investigating the underlying mechanism of *Saccharomyces cerevisiae* in response to ethanol stress employing RNA-seq analysis [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2017, 33(11): 206.

[6] HONG Y, PARK H. Role of non- *Saccharomyces* yeasts in Korean wines produced from Campbell Early grapes: Potential use of *Hanseniaspora uvarum* as a starter culture [J]. Food Microbiology, 2013, 34(1): 207-214.

[7] 周春丽,钟贤武,范鸿冰,等.果蔬及其制品中可溶性总糖和还原糖的测定方法评价[J].食品工业,2012,33(5):89-92.

[8] 郑万明.蓝莓果酒制备工艺优化研究[D].哈尔滨:黑龙江大学,2018.

[9] 赵宁,魏新元,樊明涛,等.SPME-GC-MS结合电子鼻技术分析不

同品种猕猴桃酒香气物质[J].食品科学,2019,40(22):249-255.

[10] LI S Q, BI P F, SUN N, et al. Characterization of different non-*Saccharomyces* yeasts via mono-fermentation to produce polyphenol-enriched and fragrant kiwi wine [J]. Food Microbiology, 2021, 103(prepublish): 103867.

[11] JEMEC P K, RASPOR P. Initial *Saccharomyces cerevisiae* concentration in single or composite cultures dictates bioprocess kinetics [J]. Food Microbiology, 2004, 22(4): 293-300.

[12] 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, 2020, 306: 125623.

[13] DOMIZIO P, LENCIONI L, CIANI M, et al. Spontaneous and inoculated yeast populations dynamics and their effect on organoleptic characters of Vinsanto wine under different process conditions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 281-289.

[14] ALBERTIN W, MIOT-SERTIER C, BELY M, et al. Oenological prefermentation practices strongly impact yeast population dynamics and alcoholic fermentation kinetics in Chardonnay grape must [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 178: 87-97.

[15] CHUA J Y, LU Y Y, LIU S Q. Evaluation of five commercial non-*Saccharomyces* yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage[J]. Food Microbiology, 2018, 76: 533-542.

[16] 谭凤玲,王宝石,胡培霞,等.非酿酒酵母在葡萄酒混菌发酵中的应用及其挑战[J].食品与发酵工业,2020,46(22):282-286.

[17] 李希,肖露露,马永昆,等.低产乙醇酵母的筛选及其在桑椹酒中的应用[J].江苏农业科学,2018,46(16):154-158.

[18] 郑淑丹.脐橙全果酒的混合发酵及风味物质的研究[D].南昌:南昌大学,2019.

[19] 游源源.山茱萸功能因子的提取富集及其对果酒品质和活性功能的影响[D].咸阳:西北农林科技大学,2025.

[20] RENAULT P, COULON J, DE REVE G, et al. Increase of fruity aroma during mixed *T-delbrueckii/S-cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 207: 40-48.

[21] LEE P, CHONG S I, YU B, et al. Effects of sequentially inoculated Williopsis saturnus and *Saccharomyces cerevisiae* on volatile profiles of papaya wine [J]. Food Research International, 2012, 45(1): 177-183.

[22] 王铁儒,郭丽,马曼,等.SPME-GC-MS与电子鼻结合分析不同酵母混菌发酵猕猴桃酒的挥发性香气物质[J].食品工业科技,2021,42(16):119-128.

[23] 卢柯,乔慧,薛楚然,等.基于SBSE-GC/MS的荔枝白兰地香气成分分析[J].中国酿造,2014,33(3):137-140.

[24] HU K, JIN G J, MEI W C, et al. Increase of medium-chain fatty acid ethyl ester content in mixed *H. uvarum*/*S. cerevisiae* fermentation leads to wine fruity aroma enhancement [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 495-501.

[25] LI Y Q, HU K, XU Y H, et al. Biomass suppression of *Hanseniaspora uvarum* by killer *Saccharomyces cerevisiae* highly increased fruity esters in mixed culture fermentation [J]. LWT, 2020, 132: 109839.

[26] HUANG J T, LI H C, WANG Y Q, et al. Evaluation of the quality of fermented kiwi wines made from different kiwifruit cultivars [J]. Food Bioscience, 2021, 42: 101051.

[27] 吕英池,许玉然,窦佳博,等.软枣猕猴桃酒生物降酸研究[J].农产品加工,2023,18:16-19.

[28] WEI J P, ZHANG Y X, WANG Y W, 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: 108471.

[29] JALE A P O N A. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and organic acid compositions of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2011, 35(3): 313-319.

[30] WEI J P, ZHANG Y X, YUAN Y H, et al. Characteristic fruit wine production via reciprocal selection of juice and non-*Saccharomyces* species [J]. Food Microbiology, 2019, 79: 66-74.

[31] VAKARĖ M, EDOARDO L, GIULIA W, et al. Phenolic compounds as markers of wine quality and authenticity [J]. Foods (Basel, Switzerland), 2020, 9(12): 1785.

[32] ČAKAR U, ČOLOVIĆ M, MILENKOVIĆ D, et al. Protective effects of fruit wines against hydrogen peroxide induced oxidative stress in rat synaptosomes [J]. Agronomy, 2021, 11(7): 1414.

[33] MYLENE R A, SZE Y L, MARTIN H, et al. Evolution of volatile and phenolic compounds during bottle storage of merlot wines vinified using pulsed electric fields treated grapes [J]. Foods, 2020, 9(4): 443.

[34] 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.

[35] 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, 2022, 156: 113049.

[36] 黄锦涛.接种方式对低醇猕猴桃酒品质的影响及正渗透脱醇技术研究[D].咸阳:西北农林科技大学,2022.