

# 添加营养素提高苹果酒总酯含量优化试验\*

叶萌祺 岳田利 袁亚宏

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 对添加营养素提高苹果酒中的酯类物质含量进行了初步研究。通过 Plackett-Burman 试验从氨基酸类、生长因子类和维生素类营养素中筛选出对苹果酒总酯质量浓度影响显著的因素为亮氨酸、谷氨酰胺、吡哆醇和氯化锌。利用最陡爬坡试验得到4个因素的中心点分别为:亮氨酸 35 mg/L、谷氨酰胺 90 mg/L、吡哆醇 0.3 mg/L 和氯化锌 1.25 mg/L。利用二次旋转中心组合试验对4个因素进行了优化,得到最佳营养素组合为:亮氨酸 34.8 mg/L、谷氨酰胺 84 mg/L、吡哆醇 0.24 mg/L 和氯化锌 1.30 mg/L,在此最优条件下苹果酒的总酯质量浓度可达到 5.29 mg/L。

**关键词:** 苹果酒 总酯含量 营养素 优化

**中图分类号:** TS261.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)02-0228-05

## 引言

苹果酒是苹果精深加工产品之一,是世界上仅次于葡萄酒的第二大果酒,其具有较高的营养价值和保健价值,流行于欧美国家<sup>[1-3]</sup>。我国是世界上最大的苹果生产国之一,苹果品种多、产量大、资源丰富,发展苹果酒产业具有广阔的市场前景和积极可观的经济与社会效益<sup>[4-6]</sup>。苹果酒产业在国内起步较晚,尚处于发展阶段,一些基础理论研究和生产工艺尚不完善<sup>[7-8]</sup>。现代的苹果酒酿造技术与传统的酿造技术相比,虽然周期缩短、容易控制,但形成的挥发性物质少、酯类物质的含量低,明显缺少酯香,是影响苹果酒质量的限制因素。

营养素是酵母发酵形成各种代谢产物的前体物质,不同种类和不同含量的营养素组成会影响代谢产物的生成。适当添加营养素可以调控酯类物质的生成,增加苹果酒的酯香,是提高苹果酒质量的一条重要途径<sup>[9-12]</sup>。

本文旨在研究一种通过调控营养素的种类和含量来提高苹果酒中酯类物质含量的方法,解决苹果酒中酯香不足的问题。选取氨基酸类、生长因子类、微量元素类等多种营养素,以 Plackett-Burman 试验设计筛选影响显著的营养素,选取影响显著的因素进行最陡爬坡试验,得到最优条件可能所在的区域,以该条件为中心组合试验的中心点,通过二次旋转中心组合试验,确定本研究条件下适宜于苹果酒发

酵酯类提升的最优营养素配比。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌种和培养基

菌种:苹果酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* WLS21,西北农林科技大学发酵动力学实验室保存。

YPD 培养基:酵母浸粉 10 g/L,蛋白胨 20 g/L,葡萄糖 20 g/L(固体培养基加入琼脂粉 15~20 g/L)。

苹果酒发酵培养基:浓缩苹果汁稀释至 22 °Brix,100 °C 灭菌 15 min。

### 1.2 试验材料和主要试剂

浓缩苹果汁:陕西海升果业发展股份有限公司提供,苹果原料的品种为红富士。

氨基酸类:天冬氨酸、天冬酰胺、苏氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸和半胱氨酸,均为日本进口分装。

生长因子类:肌醇、硫胺素、烟酰胺、吡哆醇、生物素、泛酸、核黄素、麦角固醇、钴胺素、叶酸和对氨基苯甲酸,购自北京索来宝科技有限公司。

微量元素类:硫酸铜、硫酸镁、氯化锌、氯化钴、硫酸锰、硫酸亚铁、氯化镍、氯化钙、碘化钾和钼酸钠,购自西安化学试剂厂。

### 1.3 主要仪器与设备

HH-6 型恒温水浴锅(上海福玛实验设备有限公司),HWS-80 型智能恒温恒湿箱(宁波海曙赛福

收稿日期:2013-09-16 修回日期:2013-10-09

\*“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2012BAD31B01)、国家自然科学基金资助项目(31071550)和农业部“948”资助项目(2011-G8-3)

作者简介:叶萌祺,博士生,主要从事食品发酵工程研究,E-mail:yemengqi@nwsuaf.edu.cn

通讯作者:岳田利,教授,博士生导师,主要从事食品生物技术及食品安全控制研究,E-mail:yueti@nwsuaf.edu.cn

实验仪器厂),HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司),移液器(德国 Eppendorf 公司)。

## 1.4 营养素优化

### 1.4.1 营养素优选试验

以苹果酒的总酯含量为响应指标,对不同种类的营养素进行 Plackett-Burman 试验设计,Plackett-Burman 设计是部分析因法,可在一次试验中设计多个独立可调变量,通过统计分析从众多因素中筛选出对试验结果有显著影响的因素。本试验选用  $n = 19$  的 Plackett-Burman 设计,对 15 种氨基酸类营养素进行研究,另外 4 个因素( $x_5, x_{10}, x_{15}, x_{19}$ )作为虚拟变量来估计误差;选用  $n = 26$  的 Plackett-Burman 设计,对 11 种生长因子类和 10 种微量元素类营养素进行研究,另外 5 个因素( $z_5, z_{10}, z_{15}, z_{20}, z_{26}$ )作为虚拟变量来估计误差。

### 1.4.2 最陡爬坡试验设计

根据 Plackett-Burman 试验的筛选结果设计主要因素的最陡爬坡路径,以苹果酒的总酯含量为响应值,得到最优条件可能所在的区域中心点。

### 1.4.3 二次旋转中心组合试验设计

根据 Plackett-Burman 试验筛选出的显著因素,结合最陡爬坡试验得到的中心点,设计二次旋转中心组合试验,以苹果酒的总酯含量为响应值。

### 1.4.4 数据处理

应用 SAS V9.0 软件对得到的试验结果进行多元二次模型方程的建立及方差分析,利用 SAS 岭脊分析,求响应值最大时各营养素的最优水平。

## 1.5 苹果酒酿造

将苹果酒酵母 WLS21 接种到发酵培养基,按不同的试验设计添加相应的营养素,置于  $18^{\circ}\text{C}$  的培养箱中静置发酵,至发酵液的糖度恒定时发酵结束。测定苹果酒的总酯含量以及总酸含量、pH 值、酒精度和可溶性固形物等基本理化指标<sup>[13-14]</sup>。以未添加营养素发酵得到的苹果酒作为对照。

## 1.6 苹果酒的感官评定

采用百分制法,由 15 名具有相关经验并经过培训的专家组成感官评定小组,从外观(20 分)、香气(30 分)、滋味(40 分)和典型性(10 分)4 个方面分别对各个酒样进行感官评定,酒样的得分为 4 项得分之和<sup>[14-15]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 Plackett-Burman 法筛选影响酯类物质含量的主要因素

选用试验次数为 20 次的 Plackett-Burman 设计,

对天冬氨酸、天冬酰胺、苏氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸和半胱氨酸共 15 个因素进行考察,每个因素分别取低(-1)和高(1)两个水平,响应值为苹果酒中的总酯质量浓度( $Y$ )。平行试验 3 次,因素水平与效应值如表 1 所示。

表 1 氨基酸 Plackett-Burman 试验因素水平和效应值  
Tab.1 Factors, levels and effect results of Plackett-Burman design for selecting amino acids

变量	低水平 $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	高水平 $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$F$	$p$
天冬氨酸 $x_1$	15	40	0.933 1	0.388 8
天冬酰胺 $x_2$	15	40	0.375 4	0.573 2
苏氨酸 $x_3$	20	50	2.641 5	0.179 4
苯丙氨酸 $x_4$	15	30	0.565 3	0.494 0
丙氨酸 $x_6$	50	100	2.629 7	0.180 2
缬氨酸 $x_7$	15	30	0.003 9	0.953 3
亮氨酸 $x_8$	10	30	8.680 7	0.042 1
异亮氨酸 $x_9$	10	30	0.505 1	0.516 5
精氨酸 $x_{11}$	40	100	2.303 1	0.203 7
谷氨酰胺 $x_{12}$	40	100	8.680 7	0.042 1
组氨酸 $x_{13}$	15	35	0.368 1	0.576 8
赖氨酸 $x_{14}$	5	12	0.547 2	0.500 5
甲硫氨酸 $x_{16}$	10	30	3.641 8	0.129 0
丝氨酸 $x_{17}$	20	60	0.000 5	0.983 2
半胱氨酸 $x_{18}$	5	10	0.440 3	0.543 3

选用试验次数为 28 次的 Plackett-Burman 试验设计,对肌醇、硫胺素、烟酰胺、吡哆醇、生物素、泛酸、核黄素、麦角固醇、钴胺素、叶酸、对氨基苯甲酸、硫酸铜、硫酸镁、氯化锌、氯化钴、硫酸锰、硫酸亚铁、氯化镍、氯化钙、碘化钾和钼酸钠共 21 种营养素进行优化,每个因素分别取低(-1)和高(1)两个水平,响应值为苹果酒中的总酯质量浓度( $Y$ )。平行试验 3 次,因素水平与效应值如表 2 所示。

从表 1 和表 2 的结果可以得出,亮氨酸( $p = 0.042 1$ )、谷氨酰胺( $p = 0.042 1$ )、吡哆醇( $p = 0.024 1$ )和氯化锌( $p = 0.030 2$ )对苹果酒中的总酯质量浓度影响显著,对这 4 种营养素进行进一步的优化试验。

### 2.2 最陡爬坡试验

根据 Plackett-Burman 试验的结果选取亮氨酸、谷氨酰胺、吡哆醇和氯化锌 4 个对苹果酒的总酯质量浓度影响显著的因素进行最陡爬坡试验,最陡爬坡试验设计及结果如表 3 所示。

根据最陡爬坡试验的结果,试验序号 7 得到的苹果酒总酯质量浓度最高,所以选择 4 个因素的中心点分别为:亮氨酸 35 mg/L、谷氨酰胺 90 mg/L、吡哆醇 0.3 mg/L 和氯化锌 1.25 mg/L。

表2 微量元素和生长因子 Plackett-Burman 试验因素水平与效应值

Tab.2 Factors, levels and effect results of Plackett-Burman design for selecting trace elements and growth factors

变量	低水平 $/(mg \cdot L^{-1})$	低水平 $/(mg \cdot L^{-1})$	$F$	$p$
肌醇 $z_1$	20	40	4.670 8	0.074 0
硫胺素 $z_2$	0.3	0.9	0.655 5	0.449 1
烟酰胺 $z_3$	1	5	1.345 8	0.290 1
吡哆醇 $z_4$	0.3	0.9	8.979 4	0.024 1
生物素 $z_6$	0.2	0.6	2.298 9	0.180 3
泛酸 $z_7$	1	3	0.999 9	0.355 9
核黄素 $z_8$	0.2	0.6	1.658 3	0.245 3
麦角固醇 $z_9$	10	40	0.020 2	0.891 6
钴胺素 $z_{11}$	0.3	0.9	0.705 3	0.433 2
硫酸铜 $z_{12}$	1	3	0.499 2	0.506 3
硫酸镁 $z_{13}$	100	300	3.513 9	0.110 0
氯化锌 $z_{14}$	0.9	1.5	7.969 3	0.030 2
氯化钴 $z_{16}$	0.2	0.6	5.577 3	0.056 2
硫酸锰 $z_{17}$	0.2	0.6	2.574 9	0.159 7
硫酸亚铁 $z_{18}$	7	14	0.600 5	0.467 8
氯化镍 $z_{19}$	0.2	0.6	0.133 3	0.727 6
氯化钙 $z_{21}$	40	80	0.757 0	0.417 7
碘化钾 $z_{22}$	0.64	1.92	1.408 9	0.280 1
叶酸 $z_{23}$	0.2	0.6	2.184 8	0.189 9
对氨基苯甲酸 $z_{24}$	0.2	0.6	0.628 6	0.458 1
钼酸钠 $z_{25}$	0.2	0.6	0.084 8	0.780 7

表3 最陡爬坡试验设计及结果

Tab.3 Design and response of steepest accent experiment

试验 序号	亮氨酸 质量浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	谷氨酰胺 质量浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	吡哆醇 质量浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	氯化锌 质量浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	总酯质量 浓度 $/(g \cdot L^{-1})$
1	5	30	0.9	2.4	4.14
2	10	40	0.8	2.2	4.16
3	15	50	0.7	2.0	4.32
4	20	60	0.6	1.8	4.35
5	25	70	0.5	1.6	4.37
6	30	80	0.4	1.4	4.37
7	35	90	0.3	1.2	4.55
8	40	100	0.2	1.0	4.43
9	45	110	0.1	0.8	4.34

### 2.3 二次旋转中心组合试验

根据 Plackett-Burman 试验筛选出的显著因素,结合最陡爬坡试验得到的最优区域中心点,设计中心组合试验,以苹果酒的总酯质量浓度为响应值,得到最优的营养素配比。二次旋转中心组合试验设计因素水平如表4所示,试验设计编码及结果如表5所示。

表4 二次旋转中心组合设计因素水平

Tab.4 Factors and levels of quadratic rotating combined design experiment

变量	编码				
	-2	-1	0	1	2
亮氨酸 $x_8$	25	30	35	40	45
谷氨酰胺 $x_{12}$	70	80	90	100	110
吡哆醇 $z_4$	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
氯化锌 $z_{14}$	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6

表5 二次旋转中心组合试验结果

Tab.5 Results of quadratic rotating combined design experiment

试验 序号	$X_8$	$X_{12}$	$Z_4$	$Z_{14}$	总酯质量浓度 $/(g \cdot L^{-1})$
1	-1	-1	-1	-1	5.09
2	-1	-1	-1	1	5.29
3	-1	-1	1	-1	4.80
4	-1	-1	1	1	4.65
5	-1	1	-1	-1	4.25
6	-1	1	-1	1	4.31
7	-1	1	1	-1	4.79
8	-1	1	1	1	4.39
9	1	-1	-1	-1	4.82
10	1	-1	-1	1	5.06
11	1	-1	1	-1	4.25
12	1	-1	1	1	4.54
13	1	1	-1	-1	4.53
14	1	1	-1	1	5.07
15	1	1	1	-1	4.98
16	1	1	1	1	5.06
17	-2	0	0	0	4.23
18	2	0	0	0	4.57
19	0	-2	0	0	4.68
20	0	2	0	0	4.50
21	0	0	-2	0	4.78
22	0	0	2	0	4.43
23	0	0	0	-2	4.77
24	0	0	0	2	4.99
25	0	0	0	0	5.00
26	0	0	0	0	5.00
27	0	0	0	0	4.99
28	0	0	0	0	5.04
29	0	0	0	0	4.79
30	0	0	0	0	4.99

对二次旋转中心组合试验的结果进行方差分析和显著性检验,结果如表6和表7所示。从表中可以看出,回归方程的失拟项不显著,可见所选用的二次回归模型是适当的,回归方程的显著性检验表明所得的模型极显著( $p < 0.01$ ),说明模型的预测值与实际值非常吻合,模型成立( $R^2 = 0.94$ );也表明试验设计中选取的影响因素对试验结果影响显著,

表 6 回归模型的方差分析

Tab. 6 Analysis of variance of regression model

方差来源	自由度	平方和	均方	F	p
模型	14	2.445 134	0.174 652	17.773 33	0.000 1
线性	4	0.435 554	0.108 888	11.080 92	0.000 219
平方	4	0.568 895	0.142 224	14.473 26	0.000 1
交互作用	6	1.440 685	0.240 114	24.434 97	0.000 1
残差	15	0.147 400	0.009 827		
失拟项	10	0.106 695	0.010 669	1.310 591	0.403 476
纯误差	5	0.040 705	0.008 141		
总离差	29	2.592 534			

表 7 回归模型系数显著性检验(t 检验)

Tab. 7 Test of significance of regression coefficients

参数	自由度	预测值	标准差	t	$p_r >  t $	显著性
截距	1	11.844 19				
$X_8$	1	-0.136 413	0.020 235	3.099 645	0.007 323	**
$X_{12}$	1	-0.059 885	0.020 235	-3.699 85	0.002 14	**
$Z_4$	1	-8.478 119	0.020 235	-3.605 8	0.002 595	**
$Z_{14}$	1	-0.773 787	0.020 235	2.832 877	0.012 595	*
$X_8^2$	1	-0.004 604	0.018 928	-6.080 95	0.000 1	**
$X_8 X_{12}$	1	0.004 221	0.024 782	8.516 827	0.000 1	**
$X_8 Z_4$	1	-0.029 451	0.024 782	-0.594 19	0.561 242	
$X_8 Z_{14}$	1	0.083 457	0.024 782	3.367 614	0.004 23	**
$X_{12}^2$	1	-0.000 8	0.018 928	-4.227 97	0.000 73	**
$X_{12} Z_4$	1	0.186 776	0.024 782	7.536 659	0.000 1	**
$X_{12} Z_{14}$	1	-0.006 111	0.024 782	-0.493 21	0.629 005	
$Z_4^2$	1	-7.660 121	0.018 928	-4.047 01	0.001 054	**
$Z_4 Z_{14}$	1	-2.862 104	0.024 782	-2.309 79	0.035 545	*
$Z_{14}^2$	1	-0.188 311	0.018 928	-0.397 96	0.696 269	

表 8 苹果酒的理化指标测定结果

Tab. 8 Physicochemical results of cider

类别	理化指标				
	pH 值	可溶性固形物含量/Brix	总酸质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	总酯质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	酒精度/%
未添加	3.95 ± 0.04 <sup>a</sup>	7.10 ± 0.20 <sup>a</sup>	4.91 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.21 ± 0.09 <sup>a</sup>	11.05 ± 0.11 <sup>a</sup>
添加	4.02 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.75 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.85 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.34 ± 0.08 <sup>b</sup>	11.21 ± 0.12 <sup>a</sup>

注:同列中上标字母不相同代表差异显著(Duncan 新复极差法,  $p=0.05$ ),下同。

表 9 苹果酒的感官评判结果

Tab. 9 Sensory evaluation results of cider

类别	感官评判				
	外观	香气	滋味	典型性	总分
未添加	18.5 ± 0.95 <sup>a</sup>	19.5 ± 1.04 <sup>a</sup>	34.5 ± 2.76 <sup>a</sup>	7.0 ± 1.04 <sup>a</sup>	79.5 ± 4.54 <sup>a</sup>
添加	18.0 ± 0.56 <sup>a</sup>	26.5 ± 1.75 <sup>b</sup>	36.5 ± 2.36 <sup>b</sup>	8.0 ± 0.74 <sup>b</sup>	89.0 ± 4.12 <sup>b</sup>

从表 8 可以看出,添加营养素发酵的苹果酒,总酯质量浓度显著提高,但 pH 值、可溶性固形物、总酸、酒精度与未添加营养素的苹果酒相比,没有显著性差异,说明添加营养素不会影响苹果酒的理化性质;其中可溶性固形物含量稍低,说明添加营养素后,酵母对苹果汁中的糖分利用的更加彻底,使酒精

本试验中得出的因子变化与试验结果之间的影响关系真实可靠。经回归拟合后,试验因子对响应值的影响可用回归方程表示

$$Y = 11.844 19 - 0.136 413x_8 - 0.059 885x_{12} - 8.478 119z_4 - 0.773 787z_{14} - 0.004 604x_8^2 + 0.004 221x_8x_{12} - 0.029 451x_8z_4 + 0.083 457x_8z_{14} - 0.000 8x_{12}^2 + 0.186 776x_{12}z_4 - 0.006 111x_{12}z_{14} - 7.660 121z_4^2 - 2.862 104z_4z_{14} - 0.188 311z_{14}^2$$

对回归方程进行 SAS 岭脊分析,得出最佳条件和总酯质量浓度的预测值。本次试验得到的最佳营养素组合为:亮氨酸 34.8 mg/L、谷氨酰胺 84 mg/L、吡哆醇 0.24 mg/L 和氯化锌 1.30 mg/L,在此最优条件下苹果酒的总酯质量浓度可达到 5.29 mg/L。

## 2.4 验证试验

按最优组合方案中的添加条件进行验证试验,重复试验 6 次,得到苹果酒的总酯质量浓度平均值为 5.34 g/L,与模型的预测值 5.29 mg/L 较为接近,是未添加营养素发酵所得苹果酒的总酯质量浓度的 1.66 倍。

## 2.5 苹果酒的理化分析和感官评判

按照营养素优化方案,添加相应的营养素进行苹果酒的发酵,对发酵得到的苹果酒进行理化分析和感官评判,以未添加营养素发酵得到的苹果酒为对照,并进行差异显著性分析,结果如表 8 和表 9 所示。

度也有所提高。根据表 9 感官评判的结果可知,添加营养素发酵的苹果酒,由于总酯质量浓度提高,苹果酒的香气得分也显著提高,滋味和典型性也得到提升,苹果酒的香气质量得到明显的改善,总体的感官质量也显著优于未添加营养素的苹果酒。因此,用添加营养素的方法来改善苹果酒质量是非常简单

有效的。

### 3 结论

(1) 通过 Plackett-Burman 试验设计筛选出了对苹果酒总酯质量浓度影响显著的因素,分别是亮氨酸、谷氨酰胺、吡哆醇和氯化锌;通过最陡爬坡试验确定了最优条件可能所在的区域的中心点。

(2) 以亮氨酸、谷氨酰胺、吡哆醇和氯化锌 4 个因素作为试验考察因素,苹果酒的总酯质量浓度为

响应值,通过二次旋转中心组合设计,得到苹果酒的总酯质量浓度与 4 个因素真实值间的回归模型。

(3) 二次旋转中心组合试验的结果表明使苹果酒的总酯质量浓度最高的最优水平组合为:亮氨酸 34.8 mg/L、谷氨酰胺 84 mg/L、吡哆醇 0.24 mg/L 和氯化锌 1.30 mg/L,在此条件下发酵得到的苹果酒的总酯质量浓度可达到 5.34 g/L。

(4) 添加营养素可以显著提高苹果酒的感官质量,不会影响苹果酒的基本理化指标。

### 参 考 文 献

- 1 阮仕立,李华. 苹果酒——极具潜力的酒中新贵[J]. 中国酒,2000(4): 54-55.
- 2 Madrera R R, Hevia A G, Garcia N P, et al. Evolution of aroma compounds in sparkling ciders [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(10): 2064-2069.
- 3 Morrissey W F, Davenport B, Querol A, et al. The role of indigenous yeasts in traditional Irish cider fermentations [J]. Journal of Applied Microbiology, 2004, 97(3): 647-655.
- 4 张振华,胡小松,葛毅强,等. 我国苹果加工业的发展思路[J]. 中国果树,2004(2): 51-54.
- 5 王娟,徐桂花. 苹果酒的营养价值分析及发展现状[J]. 中国食物与营养,2006(8): 35-37.
- 6 林巧,杨永美,孙小波,等. 苹果酒发酵条件的控制与研究[J]. 中国酿造,2008(10): 60-63.
- 7 吴荣荣. 我国苹果酒的发展现状及面临的问题[J]. 现代农村科技,2010(15): 71-72.
- 8 李军,张振华,葛毅强,等. 我国苹果加工业现状分析[J]. 食品科学,2004,25(9): 198-204.  
Li Jun, Zhang Zhenhua, Ge Yiqiang, et al. Analysis of the production status of Chinese apple processing industry [J]. Food Science, 2004, 25(9): 198-204. (in Chinese)
- 9 Kelkar S, Dolan K. Modeling the effects of initial nitrogen content and temperature on fermentation kinetics of hard cider [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 109(3): 588-596.
- 10 Jiménez-Martí E, Del Olmo M. Addition of ammonia or amino acids to a nitrogen-depleted medium affects gene expression patterns in yeast cells during alcoholic fermentation [J]. FEMS Yeast Research, 2008, 8(2): 245-256.
- 11 Schmidt S A, Dillon S, Kolouchova R, et al. Impacts of variations in elemental nutrient concentration of Chardonnay musts on *Saccharomyces cerevisiae* fermentation kinetics and wine composition [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 91(2): 365-375.
- 12 Hernández-Orte P, Ibarz M J, Cacho J, et al. Addition of amino acids to grape juice of the Merlot variety: effect on amino acid uptake and aroma generation during alcoholic fermentation [J]. Food Chemistry, 2006, 98(2): 300-310.
- 13 黄晓东,程巢宣. 白酒中总酸、总酯、总醛含量的常规连续测定[J]. 食品科技,2004(5): 70-72.
- 14 GB/T 5038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 2006.
- 15 宋柬,李德美,邓小明,等. 京白梨酒发酵与香气分析[J]. 农业机械学报,2012,43(6): 133-138.  
Song Jian, Li Demei, Deng Xiaoming, et al. Fermentation and aroma analysis of Jingbai pear wine [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(6): 133-138. (in Chinese)

## Optimization of Nutrients and Improvement of Esters Content in Cider

Ye Mengqi Yue Tianli Yuan Yahong

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The improvement of esters content in cider by adding the nutrients into the apple juice during fermentation was investigated. By conducting the Plackett-Burman experiment design, the factors affected the production of esters significantly, were selected, i. e. leucine, glutamine, pyridoxine and zincchloride. Subsequently, the steepest accent design was conducted to determine the central points of the four selected factors. The central points were 35 mg/L for leucine, 90 mg/L for glutamine, 0.3 mg/L for pyridoxine and 1.25 mg/L for zincchloride. The factors were optimized further by conducting the quadratic rotating combined design experiment. The optimizing condition was that adding 34.8 mg/L of leucine, 84 mg/L of glutamine, 0.24 mg/L of pyridoxine and 1.30 mg/L zincchloride to the fermentation liquor. Under this optimizing condition, the content of esters in the final cider achieved 5.29 mg/L.

**Key words:** Cider Content of esters Nutrients Optimizing