

# 椪柑酒精發酵之研究

許美芳

## 摘 要

近年來國內椪柑面臨產銷失衡的問題，為擴大其利用本研究乃進行椪柑釀造酒之試製。椪柑原料利用桶籃式壓榨機壓榨後，汁液再經 Amberlite XAD-16 樹脂吸附處理，可有效去除檸檬苦素 (limonin) 與諾米林 (nomilin) 分別約為 53% 及 63%。椪柑汁液接種商用酵母菌後於 20–25°C 進行發酵，約九天可得到新鮮的明亮淡黃色椪柑酒。統計分析顯示榨汁方式或樹脂處理或發酵菌種以及其不同組合均對酒液酒精度之高低有極顯著的影響 ( $p < 0.01$ )，而嗜好性品評結果顯示 *Saccharomyces cerevisiae* V-1116 為最佳發酵菌株。發酵完成之酒液，以混合明膠與矽膠作為澄清劑，可形成較緊密沉澱物而較易過濾，建議仍需經濾酒機過濾，可提升酒液明亮度，減少微生物污染並預防裝瓶後發生沈澱現象。貯存一個月及三個月的成品酒，其品評結果之統計分析顯示所有品評樣品的香氣、顏色、風味以及整體接受性均無顯著的差異。

關鍵詞：椪柑、酒精發酵。

## 前 言

椪柑 (*Citrus reticulata* Blanco var. Ponkan) 別名壺柑、蘆柑，原產於印度，為國內栽培面積最廣、產量最高的柑橘類果樹，近年來，發生果實乾米，無商品價值柑桔類果實大為增加，加上產銷不順等壓力，農民期盼有其他副產品得以開發，使產品能結合產業文化，增加其經濟價值。本研究即以椪柑果實為原料，開發酒精發酵技術。柑桔果汁中的苦味常限制該類水果之相關產品的開發，其苦味物質主要分為二大類，一類是由黃烷酮配糖體所造成，另一類是檸檬苦素類化合物；椪柑係屬於寬皮柑類，大都不含或僅含少量的黃烷酮配糖體<sup>(9)</sup>，其苦味主要是由檸檬苦素類化合物之檸檬苦素與諾米林所造成<sup>(1)</sup>；藉由榨汁方式的選擇可減少果汁中的苦味物質含量，而利用吸附原理來去除柑桔汁中所含的苦味物質，是目前最受重視的一種方法，其中 Amberlite XAD-16 樹脂已被證明能有效去除椪柑果汁中的

檸檬苦素等苦味物質<sup>(17)</sup>，且目前已經美國食品藥物管理局（FDA）准許在食品上使用<sup>(18)</sup>。水果酒發酵結束後，果渣一部分酵母會沈澱在底部，因此會進行轉桶及過濾動作使酒液澄清，但酒中常含一些蛋白質、單寧物質、果膠、色素、金屬離子等不穩定性物質，不易以一般方法去除，往往造成裝瓶貯存後出現雲霧狀或混濁現象，此可利用添加某些淨化劑加以去除<sup>(6)</sup>。本試驗以酵母菌發酵方式製造椪柑釀造酒，研究製備方法、發酵條件、Amberlite XAD-16 對椪柑汁苦味物質之吸附效能及澄清劑對酒液澄清化等影響，期提高椪柑利用率，增加果汁之多樣性。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

本研究之椪柑原料，購自新竹縣新埔鎮。發酵菌種，購自恒洲公司商用菌種 *Saccharomyces cerevisiae* uvaferm CM、*S. diastaticus* DANSTIL C 及 *S. cerevisiae* V-1116。樹脂 Amberlite XAD-16 及硫酸、氘甲烷等有機溶劑，購自六合公司。檸檬苦素、諾米林等苦味物質標準品及檸檬酸（citric acid）、蘋果酸（malic acid）、酒石酸（tartaric acid）及草酸（oxalic acid）等有機酸標準品，購自 Sigma 與 Merck 公司。膨潤土（bentonite）、矽膠（kieselsool）與明膠（gelatin）等澄清劑，購自恒州公司。

### 二、釀造步驟

椪柑果實原料先予以選別、剝皮、分瓣後榨汁，進行調糖（調整果汁液糖度為 25 °Brix），調酸（一般水果酒之總酸最適含量以酒石酸計為 0.50%）及添加偏亞硫酸鉀（使二氧化硫（SO<sub>2</sub>）濃度在 100 ppm）等調配步驟後，接種商用酵母菌菌種（添加量為 0.025%活化酵母菌液），於 23–25°C 培養進行發酵，發酵終止時（約 9 天），幾乎無氣泡產生，進行轉桶動作，以去除菌體殘渣，並添加 30 ppm 二氧化硫，以迷你噴射濾酒機進行酒液過濾後，貯於 20°C 進行熟成，所得成品再進行成分分析與品評試驗。釀造流程如圖 1 所示。

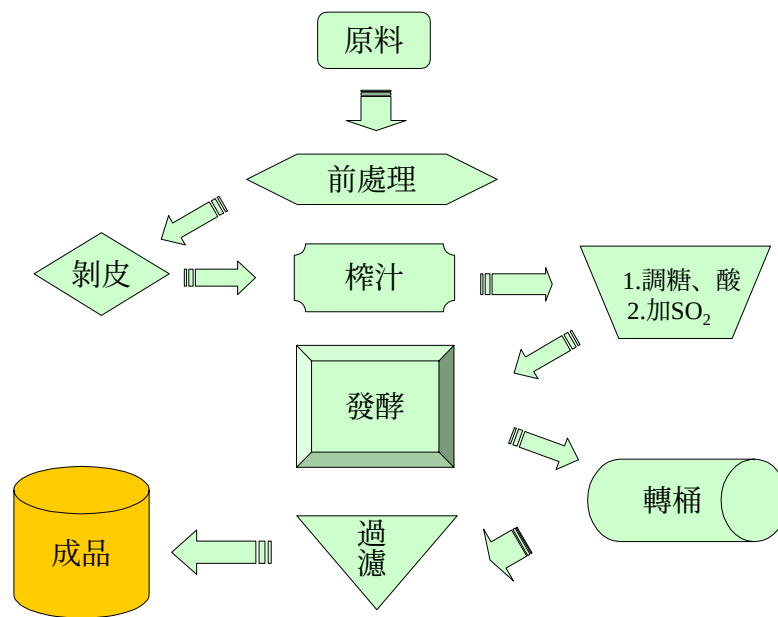


圖 1. 椪柑釀造酒製作流程

Fig. 1. Flow chart for the processing of ponkan wine.

### 三、成分分析方法

(一) 可溶性固形物：樣品以校正過糖度計測定，單位以°Brix 表示。

(二) pH 值：室溫下，取適量樣品以 pH meter 測定。

(三) 色澤：以色差儀測定樣品顏色的變化，以 L、a、b 值表示。

(四) 可滴定酸度<sup>(10)</sup>：取樣品 10 ml，加入蒸餾水至 100 ml，取 25 ml 試樣溶液滴入指示劑，以 0.1N NaOH 標準溶液滴定至變紅色。（以酒石酸為計算標準。）

(五) 還原糖含量<sup>(11)</sup>：取試樣 2 ml，加 1 ml dinitrosalicylic acid ( DNS ) 試劑混勻，100°C 加熱 10 分鐘，快速冷卻至室溫，測波長 570 nm 的吸光值。配製 0–0.3% 葡萄糖標準溶液製作出標準曲線，再由標準曲線算出還原糖濃度。

(六) 酒精度分析 ( Transgenomic 提供 )：將樣品以 0.45 μm 過濾器過濾後，進行液相層析分析。

操作條件：分離管柱為 ORH-801，檢出器為 RI detector，移動相為 0.0025N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，流速為 0.6 ml/min。

標準品配製：配製一系列適當濃度的標準品進行 HPLC 分析，製作出標準曲線，求出各個樣品之酒精濃度。

(七) 有機酸分析 ( Transgenomic 提供 )：將樣品以 0.45 μm 過濾器過濾後，進行液相層析分析。

操作條件：分離管柱為 ORH-801，檢出器為 RI detector，移動相為 0.01N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，流速為 0.8 ml/min。

標準品配製：有機酸標準品有草酸、檸檬酸、酒石酸及蘋果酸，分別取適當量配製成標準溶液，將混合液進行 HPLC 分析，製作出標準曲線，求出各個樣品之有機酸含量。

(八) 苦味物質分析<sup>(4,5,13,15)</sup>：樣品先經固相萃取管萃取出苦味物質，再以 0.45 μm 過濾器過濾後，進行液相層析分析。

操作條件：分離管柱為 Lichrosob RP-18，檢出器為 UV detector，214 nm，移動相為氰甲烷與去離子水以 45：55 之比例配製，流速為 1.0 ml/min。

標準品配製：苦味物質標準品有檸檬苦素與諾米林，分別取適當量配製成標準溶液，將混合液進行 HPLC 分析，製作出標準曲線，求出各個樣品之苦味物質含量。

(九) SO<sub>2</sub> 含量測定<sup>(2)</sup>：依據衛生署食字第 436953 號食品中漂白劑之暫行檢驗法測定。

### 四、試驗項目

#### (一) 椪柑釀造酒製備條件試驗

採用 CRD 複因子設計，變因為三種榨汁方式、是否經樹脂吸附處理以及三株發酵菌株，每個

處理皆為二重複。

1. 榨汁方式 ( squeezed method , SM ) :

- (1) 桶籃直壓 ( 桶壓 , BBP ) : 以桶籃式壓榨機直接壓榨。
- (2) 去膜後再桶壓 ( 去膜 , A-BBP ) : 利用酸鹼去膜後再桶籃壓汁。
- (3) 破碎後再桶壓 ( 破碎 , M-BBP ) : 破碎機破碎果實後再桶籃壓汁。

2. 樹脂處理 ( XAD-16 ) : 每種榨汁方式再分成二組 , 一組以 2% Amberlite XAD-16 處理 1 小時 , 再以濾網過濾汁液 ( 桶壓-XAD-16 , 去膜-XAD-16 , 破碎-XAD-16 ) ; 另一組不以樹脂處理 ( 桶壓 , 去膜 , 破碎 ) 。

3. 發酵菌種 ( Strain ) : 選擇三株商用酵母菌種 , 分別為 *S. cerevisiae* uvaferm CM、*S. diastaticus* DANSTIL C 及 *S. cerevisiae* V-1116 , 其添加量為 0.025%活化酵母菌液。

4. 椪柑釀造酒大量製備 : 從上述十八組條件經由品評試驗篩選三組最佳條件進行大量製備。發酵期間測定酒液品質變化 , 分析項目包括比重、糖度、酒精度、色澤、可滴定酸、有機酸、餘糖與 pH 值、有機酸與苦味物質等。

(二) 澄清劑淨化酒液試驗

以直接利用桶籃式壓榨機壓榨 , 經樹脂吸附 , 並以 V-1116 菌株發酵之酒液進行淨化試驗。本試驗共有三組澄清劑 : 一組為單獨添加膨潤土 , 一組為添加膨潤土與矽膠 , 另一組為添加明膠與矽膠 , 將預先處理好的澄清劑取適量分別加入轉桶後之酒液 , 攪拌均勻 , 分別靜置於 4°C 與 22°C , 七天後進行過濾 , 濾液分析 L 值並進行嗜好性品評試驗。

(三) 嗜好性品評試驗<sup>(8,16)</sup>

本試驗有三組 , 一組為對上述十八組條件進行品評試驗 , 一組為對桶籃直壓經樹脂處理、破碎後再桶壓經樹脂處理以及去膜後再桶壓 , 發酵菌種均為 *S. cerevisiae* V-1116 該三組條件所釀造之酒液進行一個月及三個月之品評試驗。另一組為對澄清劑淨化酒液試驗之酒液進行品評。

酒的調配 : 調整椪柑釀造酒之糖度為 15 °Brix。

評分標準 : 以九分法作為評分標準。9 分表示非常喜歡 , 7 分表示喜歡 , 5 分表示不喜歡也不討厭 , 3 分表示不喜歡 , 1 分表示非常不喜歡 ; 評定項目有香味 ( flavor ) , 顏色 ( color ) , 風味 ( taste ) 及總評 ( overall acceptance ) ; 品評人員有 12 人 ; 品評結果以 SAS 軟體進行分析 , 並以 LSD 鑑定樣品間差異是否具有顯著性。

## 結果與討論

### 一、椪柑釀造酒製備條件試驗

本試驗採用新竹縣新埔鎮所生產之椪柑，經桶籃式壓榨機壓榨所得到的椪柑汁液，其一般化學組成與物理性質如表 1 所示：糖度 10.9 °Brix，一般水果酒之酒精含量大約為 12% 左右，對六碳糖而言，理論上乙醇收率約 51%<sup>(12)</sup>，因此原料果汁之糖含量需達 24 °Brix 以上，以 15 kg 的原料來計算，若要達 25 °Brix 之糖度，約需補糖 2.8 kg；總糖 10.34 g / 100 g；pH 3.87；L 值 59.83，a 值 3.60，b 值 14.40；可滴定酸 0.49% (以酒石酸計)，椪柑是屬於鮮食的柑桔品種，酸度在 0.5–0.6% 之間<sup>(4)</sup>；有機酸以 HPLC 分析，在椪柑汁液中以檸檬酸及蘋果酸之含量較高，分別為 0.425% 及 0.192%，另外含有 0.024% 酒石酸及 0.013% 草酸。良好的酸平衡對釀造酒而言是相當重要的，酸度太高的水果會延緩酵母菌發酵，且過酸的酒嚐起來令人難以接受，反之，酸度太低的酒平淡無味，較易氧化而有不良的顏色變化，發酵時較易受醋酸菌或其他腐敗菌之污染，因此平衡酒中酸度是必要的。一般水果酒的總酸最適合量以酒石酸計為 0.50%，因此本批原料不需另外再調酸。本椪柑汁液之苦味物質經 HPLC 分析，其含量分別為檸檬苦素 21.33 ppm，諾米林 11.32 ppm。

為減少椪柑汁之苦味物質，本試驗選擇三種榨汁方式，其榨汁率分別為桶籃式壓榨機直接壓榨者為 49.3%，酸鹼去膜後再桶籃壓汁者為 45.5% 以及破碎機破碎後再桶籃壓汁者為 62.0%，其中第三種榨汁方式可能因利用破碎機先予以破碎，破壞果實組織後再經桶籃壓汁，可獲得較高的榨汁率。

Amberlite XAD-16 樹脂為以苯乙烯 (styrene divinylbenzene) 為單元體的聚合樹脂，對果汁成分與品質的影響中，除維生素 C、總酚、糖類含量會降低以及會吸附一些色素成分外，其餘幾無改變，較其它樹脂種類影響為小<sup>(4)</sup>。本試驗將 XAD-16 以批式處理上述三種榨汁方式之椪柑果汁，其對苦味物質之吸附能力如圖 2 所示，不同榨汁方式，果汁中原苦味物質含量有所不同，三組中無論是檸檬苦素或是諾米林皆以去膜後再桶壓者之含量最低，而破碎後再桶壓者最高，推測因椪柑種子遭受破壞程度較另二組為高，而檸檬苦素主要存在柑桔種子內，少量存在果瓣膜與汁胞壁中，其大多含有檸檬苦素前趨物 (limonate A-ring lactone)，當果實以破碎機破碎後，其果瓣膜與汁胞壁會與果汁接觸，limonate A-ring lactone 會產生內酯化，而轉變成具苦味之檸檬苦素<sup>(14)</sup>。Amberlite XAD-16 對檸檬苦素之吸附力約在 53–55% 左右，而對諾米林則有約 63–65% 之吸附效果 (表 2)，此結果低於徐<sup>(4)</sup>的報告 (檸檬苦素 86.6%，諾米林高達 100%)，推測為本試驗之果汁處理量較大，且攪拌程度不夠所致。

在酒類發酵工程中，酵母菌是影響酒類品質的重要因素之一，一般釀酒酵母多為 *Saccharomyces*

屬，而使用不同的酵母菌往往產生不同的酒類成品。在本試驗中，分別使用三株商用 *Saccharomyces* 屬酵母菌：uvaferm CM，DANSTIL C 及 V-1116，具備生長溫度範圍廣（15–35°C），能耐高酸度（pH = 3）及 SO<sub>2</sub>，增殖能力強，酒精產率佳（10–14%），在一般水果酒發酵中不須另外添加營養成分等特性（恒洲公司提供）。以該十八組條件發酵之椪柑酒液，其發酵後之酒液酒精度約在 10–12 vol% 之間，酒液產量百分比在 60–66% 之間，其統計分析結果如表 3 及表 4 所示，在酒精度部分，不管是榨汁方式或樹脂吸附處理或發酵菌株種類，其發酵後酒精濃度之間有極顯著的差異（ $p < 0.01$ ），而不同的榨汁方式與汁液是否經樹脂處理之間以及樹脂處理汁液與不同菌種之間以及榨汁方式與樹脂處理與菌種之間皆出現極顯著交感現象（ $p < 0.01$ ），顯示除了不同榨汁方式與菌種之間不會互相干擾酒液之酒精濃度外，其餘不同變因組合之間皆會互相影響酒精度之高低；而酒液產量方面，僅不同菌種所發酵之酒液產量之間有極顯著的差異（ $p < 0.01$ ）。品評結果之統計分析顯示各組條件之間並無顯著差異（ $p > 0.05$ ，數據未示），但就分數之平均值來看，我們發現以桶籃直壓經樹脂處理，接種 V-1116 該組條件之香味（6.5）、風味（7.0）及總評（7.1）其評分最高，另外，去膜後再桶壓以及破碎後再桶壓並經樹脂處理，均接種 V-1116 之該二組條件，品評得分也相當不錯，稍略低於上組條件（總評 7.0），因此選擇該三組條件進行椪柑釀造酒放大製作。

為了解椪柑酒在發酵期間其一般成分之變化情形，在進行上述三組條件之椪柑釀造酒放大製作時，同時分析其糖度、餘糖、pH 值、可滴定酸、顏色（L、a、b）、酒精度、有機酸含量等項目。糖度變化之結果如圖 4 所示，發酵初期糖的消耗很快，在第七天時即降至約 8 °Brix，之後並無顯著降低之趨勢。餘糖之變化如圖 5 所示，與糖度變化相似，於第七天時即消耗殆盡（約 0.5%），到第九天剩約 0.2%，顯示發酵終了。在椪柑酒的發酵過程中，pH 值於第二天有略降之外，大都維持 pH 約 3.9（圖 6）。總酸度（以酒石酸計）的變化如圖 7 所示，發酵前約 0.4% 左右，發酵終了至成品約 0.6–0.7%，而人類對於酸度的接受度，最適合的嘗味感覺範圍在 0.6–0.7% 之間<sup>(7)</sup>。在顏色方面，我們利用色差儀分析其 L、a、b 值，L 值隨發酵的進行而下降，有明顯的暗化現象，但經濾酒機過濾後，L 值則上升至近 100（圖 8），亮度大為提升；椪柑顏色來源為類胡蘿蔔素與含有黃酮及其衍生物的黃色素，其 a 值與 b 值於發酵第二天時顯著降低（圖 9、10），此可能由於發生氧化褐變所致。酒精度變化如圖 11 所示，在椪柑酒釀製初期，酒精的產生隨糖的消耗而增加，達約 11% 即停止上升；糖的消耗與酒精生成呈正比的關係，對六碳糖而言，理論上乙醇收率約 51%<sup>(12)</sup>。酒類在釀造過程中，其大部分有機酸由發酵中之酵母所生成，少部分來自原料，此為構成酒類特殊風味的主要成分之一，當酒中有機酸的組成比例改變時，對酒的風味影響頗大，因此有機酸能影響香味的安定以及保持酒品質及色澤。本試驗

所釀製的椪柑酒有機酸含量經 HPLC 分析含有草酸、檸檬酸、酒石酸及蘋果酸，其中以檸檬酸及蘋果酸之含量較高，在發酵初期，草酸、檸檬酸及蘋果酸有略為增加之現象（數據未示），此為糖類分解代謝中 TCA cycle 所產生的非揮發性含氧酸<sup>(3)</sup>，以及酵母將長鏈的脂肪酸進行 $\beta$ 氧化作用而來，皆是代謝的中間產物。

表 1. 椪柑汁一般成分分析

Table 1. Composition of ponkan juice.

| 分析項目<br>Item                        |                               | 椪柑汁<br>Ponkan juice |
|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| 糖<br>Sugar                          | 糖度                            | 10.90               |
|                                     | Soluble solids (°Brix)        |                     |
|                                     | 總糖<br>Total sugar (g/100g)    | 10.34               |
| 色澤<br>Color                         | L                             | 59.83               |
|                                     | a                             | 3.60                |
|                                     | b                             | 14.40               |
| 酸度與有機酸<br>Acidity and Organic acids | PH                            | 3.87                |
|                                     | 可滴定酸                          | 0.49                |
|                                     | Titrateable acidity (g/100mℓ) |                     |
|                                     | 草酸                            | 0.013               |
|                                     | Oxalic acid (g/100mℓ)         |                     |
|                                     | 檸檬酸                           | 0.425               |
|                                     | Citric acid (g/100mℓ)         |                     |
|                                     | 酒石酸                           | 0.024               |
|                                     | Tartaric acid (g/100mℓ)       |                     |
| 苦味物質<br>Bitter compounds            | 蘋果酸                           | 0.192               |
|                                     | Malic acid (g/100mℓ)          |                     |
|                                     | 檸檬苦素                          | 21.332              |
|                                     | Limonin (ppm)                 |                     |
|                                     | 諾米林                           | 11.324              |
|                                     | Nomilin (ppm)                 |                     |



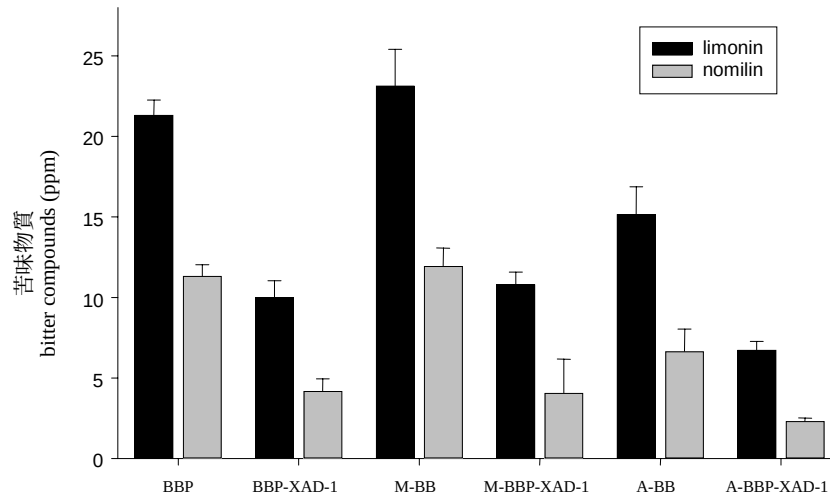


圖 2. 椪柑汁經樹脂吸附前後苦味物質含量變化

Fig. 2. Effect of resin on bitter compounds content of ponkan juice.

表 2. Amberlite XAD-16 對椪柑汁中苦味物質之吸附能力(%)

Table 2. The debittering capacity of Amberlite XAD-16 on bitter compounds content of ponkan juice.

|                     | 桶壓<br>(BBP) | 破碎<br>(M-BBP) | 去膜<br>(A-BBP) |
|---------------------|-------------|---------------|---------------|
| 檸檬苦素<br>Limonin (%) | 53.2        | 53.3          | 55.5          |
| 諾米林<br>Nomilin (%)  | 62.9        | 65.9          | 65.1          |

表 3. 榨汁方式、樹脂處理及發酵菌株種類對椪柑酒的酒精度及產量變方分析

Table 3. Analysis of variance for effects of squeezed method (SM), resin (XAD-16), and strain on alcohol content and production of ponkan wine.

| Source of variance | df | Alcohol content<br>(vol%) | Production<br>(l) |
|--------------------|----|---------------------------|-------------------|
|                    |    | MS                        | MS                |
| SM                 | 2  | 0.354178 * *              | 0.001244          |
| XAD-16             | 1  | 3.434844 * *              | 0.001736          |

|                  |    |              |              |
|------------------|----|--------------|--------------|
| STRAIN           | 2  | 5.124811 * * | 0.057419 * * |
| SM*XAD-16        | 2  | 0.773644 * * | 0.000411     |
| SM*STRAIN        | 4  | 0.032261     | 0.001240     |
| XAD-16*STRAIN    | 2  | 0.417344 * * | 0.002269     |
| SM*XAD-16*STRAIN | 4  | 0.429994 * * | 0.000107     |
| error            | 18 | 0.019556     | 0.005053     |

\*, \* \* Significant at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

表 4. 榨汁方式、樹脂處理及發酵菌株種類對椪柑酒精度及產量之效應

Table 4. Effects of squeezed method (SM), resin (XAD-16), and strain on alcohol content and production of ponkan wine.

|        | Treatment | Alcohol content<br>(vol%) | Production<br>(ℓ) |
|--------|-----------|---------------------------|-------------------|
| SM     | BBP       | 11.33 <sup>a</sup>        | 1.57 <sup>a</sup> |
|        | A-BBP     | 11.15 <sup>b</sup>        | 1.59 <sup>a</sup> |
|        | M-BBP     | 10.99 <sup>c</sup>        | 1.58 <sup>a</sup> |
| XAD-16 | NO        | 11.47 <sup>a</sup>        | 1.59 <sup>a</sup> |
|        | YES       | 10.85 <sup>b</sup>        | 1.57 <sup>a</sup> |
| STRAIN | CM        | 10.40 <sup>a</sup>        | 1.65 <sup>a</sup> |
|        | DAN-C     | 11.52 <sup>b</sup>        | 1.58 <sup>b</sup> |
|        | V-1116    | 11.55 <sup>b</sup>        | 1.51 <sup>c</sup> |

同行英文字母相同者表示 LSD 在 5%水準差異不顯著。

Means values within column followed the same letter are not significant by LSD test at 5% probability level.

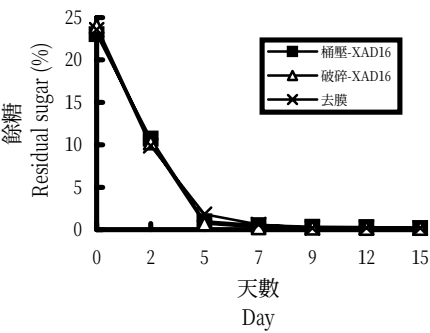


圖 3. 椪柑釀造酒發酵過程中糖度變化

Fig. 3. Changes in total soluble solids during the fermentation of ponkan wine.

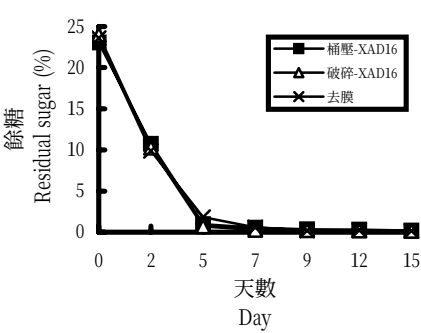


圖 4. 椪柑釀造酒發酵過程中餘糖變化

Fig. 4. Changes in reducing sugar during the fermentation of ponkan wine.

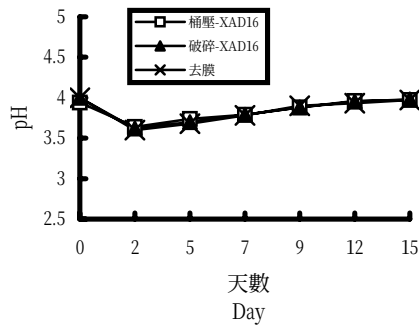


圖 5. 椪柑釀造酒發酵過程中 pH 變化

Fig. 5. Changes in pH during the fermentation of ponkan wine.

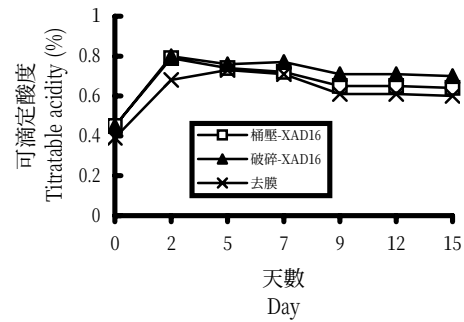


圖 6. 椪柑釀造酒發酵過程中可滴定酸變化

Fig. 6. Changes in titratable acidity during the fermentation of ponkan wine.

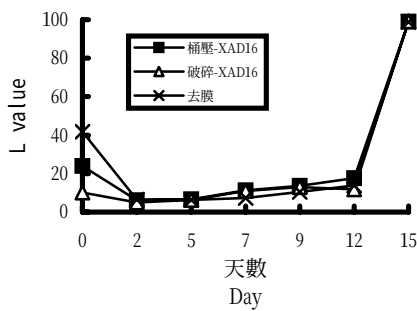


圖 7. 椪柑釀造酒發酵過程中 L 值變化

Fig. 7. Changes in L value during the fermentation of ponkan wine.

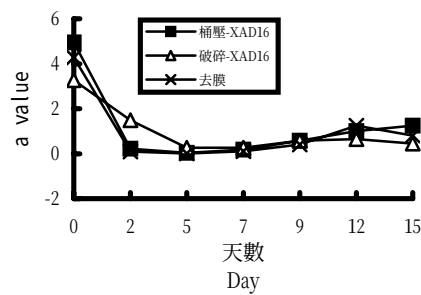


圖 8. 椪柑釀造酒發酵過程中 a 值變化

Fig. 8. Changes in a value during the fermentation of ponkan wine.

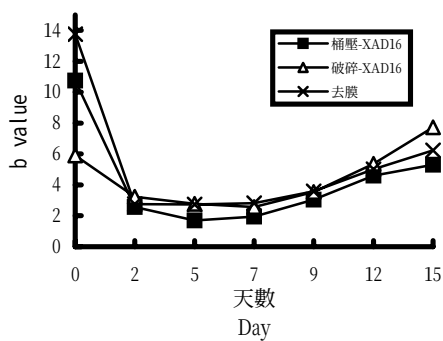


圖 9. 椪柑釀造酒發酵過程中 b 值變化

Fig. 9. Changes in b value during the fermentation of ponkan wine.

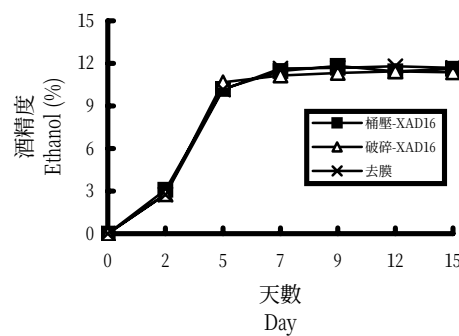


圖 10. 椪柑釀造酒發酵過程中酒精度變化

Fig. 10. Changes in alcohol content during the fermentation of ponkan wine.

## 二、澄清劑對檳柑釀造酒澄清化之效應

一般水果酒的品質除了合乎衛生安全及相關化學成分外，最重要的就是官能品質，而外觀顏色及澄清度是一般人對酒的第一印象，亦即顏色應儘量保持水果的原有色澤，且要澄清明亮不混濁，更不能有沈澱的情形發生。本試驗選擇較常使用且價格便宜的膨潤土，其本身帶負電，可以吸附酒中帶正電的物質，如蛋白質、酵素等，明膠為水溶性蛋白質，在酒中帶正電，可以吸附帶負電的混濁物，特別是對單寧或多酚類物質具有強的結合力，以及矽膠，一般多配合膨潤土或明膠使用，可形成較緊密的沈澱物。結果如圖 11 所示，各組發酵後之酒液 L 值約為 14–16，而經澄清劑淨化後之酒液 L 值約為 60–68，其中澄清化溫度於 4°C 者其 L 值略高，但在統計分析上無顯著差異 ( $p > 0.05$ ，數據未示)；而添加明膠與矽膠該組所形成沉澱物組織較緊密而較易過濾；建議仍需經濾酒機過濾 ( $0.2\text{--}0.45\text{ }\mu\text{m}$ )，可提高 L 值至約 100，提升酒液明亮度，減少微生物污染，預防裝瓶後發生沈澱現象。本檳柑釀造酒經轉桶後可直接以濾酒機過濾，酒液呈現明亮透明的淡黃色，但使用較多的濾膜，成本較先經淨化劑處理者為高。

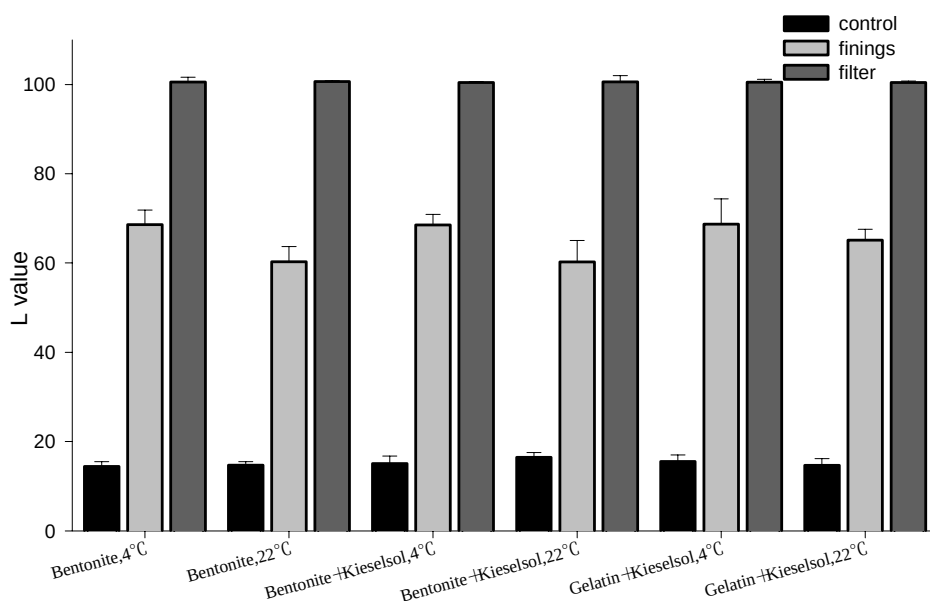


圖 11. 不同澄清化條件對酒液 L 值影響

Fig. 11. Effect of finings on L value of ponkan wine.

## 三、檳柑釀造酒嗜好性品評試驗

本試驗所製備新鮮檳柑釀造酒成分分析如表 5 所示，三組條件之分析結果相似，惟破碎後再桶壓

者其 b 值略高；三組之酒精度約 11.4–11.7 vol%；有機酸含量相近，皆以檸檬酸及蘋果酸之含量較高；苦味物質以去膜後再桶壓者較高，推測為該組椪柑果汁未經樹脂吸附處理所致；SO<sub>2</sub> 含量約 35–45 ppm，二氧化硫在釀酒工業上的使用由來已久，其主要的功能是作為抗菌劑及抗褐變劑，可防止酒類變質。

本研究為製造新鮮甜酒，所以調整糖度達 15 °Brix 進行消費者感官品評，採用九分法，評定項目為香氣、顏色、風味及總接受度。將貯存一個月及三個月的成品酒進行品評。品評結果的統計分析顯示所有品評樣品的香氣、顏色、風味以及整體接受性均無顯著的差異 ( $p > 0.05$ ) (表 6)，但貯存一個月者其評分大都高於貯存三個月，以整體接受性來看，貯存一個月者為 6.0–6.7 分，而貯存三個月者為 5.5–6.2 分，顯示本椪柑釀造酒較適合鮮飲。

大部分的澄清劑都會降低酒的色澤及風味，因此用量要適當切勿過量。將本試驗經過澄清劑處理之椪柑釀造酒與控制組進行嗜好性品評，品評結果如表 7 所示，統計分析顯示各組條件之間並無顯著差異 ( $p > 0.05$ )，分數大約皆維持在 6 分以上，顯示接受性良好。

綜合上述之試驗結果，以本省椪柑來進行酒精發酵，製備椪柑釀造酒，可利用桶籃式壓榨機直接壓榨椪柑果實，椪柑汁液再經樹脂吸附處理，可有效去除苦味大約 53–63%；在補糖部分，因椪柑汁之原糖度只有約 11 °Brix，仍需補糖至 25 °Brix；而其酸度適中，並不需要另外調酸；菌種方面的選擇，就本研究之試驗結果，以 *S. cerevisiae* V-1116 為最佳菌株，以上述條件所釀造之椪柑酒，在貯存一個月及三個月之品評試驗結果，較其它試驗條件有較佳之接受性。發酵完成之酒液，以混合明膠與矽膠作為澄清劑，可形成較緊密沉澱物而較易過濾，建議仍需經濾酒機過濾，可提升酒液明亮度，減少微生物污染，預防裝瓶後發生沈澱現象。

表 5. 椪柑釀造酒一般成分分析

Table 5. Composition of ponkan wine

| 分析項目<br>Item |                               | 椪柑酒<br>Ponkan wine |
|--------------|-------------------------------|--------------------|
| 糖<br>Sugar   | 糖度                            | 8.2–8.3            |
|              | Soluble solids (°Brix)        |                    |
|              | 餘糖<br>Reducing sugar (g/100g) | 0.17–0.20          |
| 色澤           | L                             | 98.76–99.18        |
|              | a                             | 1.0–1.25           |

|                           |                              |              |
|---------------------------|------------------------------|--------------|
| Color                     | b                            | 5.30–7.73    |
| 酒精度                       |                              | 11.4–11.7    |
| Alcohol content (vol%)    |                              |              |
| 酸度與有機酸                    | pH                           | 3.97–3.98    |
| Acidity and organic acids | 可滴定酸                         | 0.6–0.7      |
|                           | Titratable acidity (g/100mℓ) |              |
|                           | 草酸                           | 0.009–0.010  |
|                           | Oxalic acid (g/100mℓ)        |              |
|                           | 檸檬酸                          | 0.403–0.418  |
|                           | Citric acid (g/100mℓ)        |              |
|                           | 酒石酸                          | 0.010–0.013  |
|                           | Tartaric acid (g/100mℓ)      |              |
|                           | 蘋果酸                          | 0.190–0.212  |
|                           | Malic acid (g/100mℓ)         |              |
| 苦味物質                      | 檸檬苦素                         | 5.465–10.071 |
| Bitter compounds          | Limonin (ppm)                |              |
|                           | 諾米林                          | 2.872–3.927  |
|                           | Nomilin (ppm)                |              |
| SO <sub>2</sub> (ppm)     |                              | 35.6–46.7    |

---

表 6. 不同原料前處理方式所試製椪柑釀造酒經 1 個月及 3 個月貯存之官能品評

Table 6. Sensory evaluation after different storage period of ponkan wine produced from different squeezed method and resin adsorption.

| 處理<br>Treatment | 貯存時間<br>Storage period | 香氣<br>Flavor          | 顏色<br>Color           | 風味<br>Taste           | 總評<br>Overall         |
|-----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>桶籃直壓</b>     |                        |                       |                       |                       |                       |
| 並樹脂吸附           | 1 month                | 5.9±2.77 <sup>a</sup> | 6.1±1.10 <sup>a</sup> | 5.8±2.04 <sup>a</sup> | 6.7±1.58 <sup>a</sup> |
| (BBP-XAD 16)    | 3 months               | 5.6±2.12 <sup>a</sup> | 6.2±1.14 <sup>a</sup> | 5.7±1.64 <sup>a</sup> | 6.2±1.48 <sup>a</sup> |
| <b>破碎後桶壓</b>    |                        |                       |                       |                       |                       |
| 並樹脂吸附           | 1 month                | 5.9±1.79 <sup>a</sup> | 6.5±1.08 <sup>a</sup> | 6.2±1.40 <sup>a</sup> | 6.7±1.42 <sup>a</sup> |
| (M-BBP-XAD 16)  | 3 months               | 4.6±2.12 <sup>a</sup> | 6.7±0.82 <sup>a</sup> | 5.4±1.58 <sup>a</sup> | 5.5±1.27 <sup>a</sup> |
| <b>去膜後桶壓</b>    |                        |                       |                       |                       |                       |
| (A-MMP)         | 1 month                | 5.9±0.88 <sup>a</sup> | 6.5±1.18 <sup>a</sup> | 6.4±1.07 <sup>a</sup> | 6.0±0.94 <sup>a</sup> |
|                 | 3 months               | 5.3±1.16 <sup>a</sup> | 6.7±0.82 <sup>a</sup> | 5.8±1.32 <sup>a</sup> | 5.6±1.26 <sup>a</sup> |

同行英文字母相同者表示 LSD 在 5%水準差異不顯著。

Means values within column followed the same letter are not significant by LSD test at 5% probability level.

表 7. 椪柑釀造酒經不同澄清劑處理後之官能品評

Table 7. Sensory evaluation of ponkan wine after treatment with different finings.

| 澄清劑<br>Finning               | 香氣<br>Flavor          | 顏色<br>Color           | 風味<br>Taste           | 總評<br>Overall         |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 膨潤土 Bentonite (4°C)          | 5.8±1.81 <sup>a</sup> | 6.6±0.84 <sup>a</sup> | 6.5±1.58 <sup>a</sup> | 6.6±1.26 <sup>a</sup> |
| 膨潤土 Bentonite (22°C)         | 5.3±1.64 <sup>a</sup> | 6.4±1.26 <sup>a</sup> | 6.3±1.57 <sup>a</sup> | 6.4±1.35 <sup>a</sup> |
| <b>膨潤土與矽膠</b>                |                       |                       |                       |                       |
| Bentoniteandkieselsol (4°C)  | 6.6±1.96 <sup>a</sup> | 6.8±1.14 <sup>a</sup> | 5.8±1.93 <sup>a</sup> | 6.5±1.18 <sup>a</sup> |
| <b>膨潤土與矽膠</b>                |                       |                       |                       |                       |
| Bentoniteandkieselsol (22°C) | 5.8±1.40 <sup>a</sup> | 6.5±1.18 <sup>a</sup> | 6.5±1.18 <sup>a</sup> | 6.1±0.88 <sup>a</sup> |
| <b>明膠與矽膠</b>                 |                       |                       |                       |                       |
| Gelatinandkieselsol (4°C)    | 6.1±1.20 <sup>a</sup> | 6.6±1.07 <sup>a</sup> | 6.5±1.08 <sup>a</sup> | 6.5±0.71 <sup>a</sup> |
| <b>明膠與矽膠</b>                 |                       |                       |                       |                       |
| Gelatinandkieselsol (22°C)   | 6.0±1.41 <sup>a</sup> | 6.8±1.32 <sup>a</sup> | 6.7±1.64 <sup>a</sup> | 6.8±1.32 <sup>a</sup> |

|             |                       |                       |                       |                       |
|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 控制組 Control | 5.8±1.62 <sup>a</sup> | 6.8±1.14 <sup>a</sup> | 6.5±1.08 <sup>a</sup> | 6.9±0.74 <sup>a</sup> |
|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|

---

同行英文字母相同者表示 LSD 在 5%水準差異不顯著。

Means values within column followed the same letter are not significant by LSD test at 5% probability level.



## 參考文獻

1. 方義民。1991。椪柑與柳橙果實檸檬苦素類成分之分佈與降低椪柑果汁苦味之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
2. 行政院衛生署。1983。食品中漂白劑之暫行檢驗法。衛生署食字第 436953 號。p.176。
3. 倪德全。1982。酵母菌的有機酸組成及利用。製酒科技專論彙編。4: 78。
4. 徐雋華。1993。利用超過濾與吸附性樹脂處理降低椪柑果汁苦味之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。p.110。
5. 張呈為、顏國欽。1996。椪柑及柳橙果皮萃取液物之去苦味及其應用於果汁作為混濁劑之研究。中國農業化學會誌。34: 27–40。
6. 陳雪娥。2001。水果酒釀造技術及實作研習班課程講義。p.20–33。
7. 黃村能。1998。紅葡萄酒的調和。製酒專論彙編。20: 51–57。
8. 蔡珮新。2001。黑后葡萄酒製備之研究。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。p.96。
9. Albach, R. F. and G. H. Redman. 1969. Composition and inheritance of flavanone in citrus fruit. *Phytochem.* 8: 127–135.
10. AOAC. 1984. Official methods of analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., USA.
11. Bernfeld, P. 1995. In: Method in Enzymology. Coowick, S. P. and Kaplan, N. O., Academic Press New York, 1: 149.
12. Boulton, R. B., V. L. Singleton., L. F. Bisson. and R. E. Kundee. 1996. Principles and practices of winemaking. Chapman & Hall. New York.
13. Fong, C. H., S. Hasegawa., M. Miyake., Y. Ozaki., C. W. Jr. Coggins. and D. R. Atakin, 1993. Limonoids and their glucosides in Valencia orange seeds during growth and development. *J. Agric. Food Chem.* 41: 112–115.
14. Hasegawa, S. 1976. Metabolism of limonoids. Limonin D-ring lactone hydrolase activity in *Pseudomonas*. *J. Agric. Food Chem.* 24: 24–26.
15. Herman, Z., C. H. Fong., P. Ou. and S. Hasegawa. 1990. Limonoid glucosides in orange juices by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1860–1861.
16. Larmond, E. 1982. Laboratory methods for sensory evaluation of food. Research branch Canada department of agriculture publication. 1637.
17. Matthews, R. F., R. L. Rouseff., M. Manlan. and S. I. Norman. 1990. Removal of limonin and naringin from juice by styrene-divinyl benzene resins. *Food Technol.* 44: 130–132.
18. U. S. Food and Drug Administration. 1989. “Title 21 Code of Federal Regulations.” U. S. Government Printing Office, Washington D. C., Parts 173.65.

## Studies on Alcohol Fermentation of Ponkan

Mei-Fang Hsu

### Summary

In recent years, locally produced ponkan is overproduction. Wine-making is one of the most important ways as the governmental monopoly of tobacco and wine in Taiwan is terminated. The purpose of this research is using ponkan to produce alcoholic fermented beverage. The purchased ponkans were squeezed by bladder basket press (BBP) directly and then addition of 2% Amberlite XAD-16 to the ponkan juice, limonin and nomilin reduction were 53% and 63%, respectively. The fresh ponkan wine was produced after fermentation at 23–25°C for about 9 days. Analysis of variance shows the effects on alcohol content of ponkan wine by factors (squeezed method, treatment with or without XAD-16 or stain) or interactions were highly significantly different ( $p < 0.01$ ). The results by using sensory evaluation indicated that ponkan wine produced by inoculation with activated *S. cerevisiae* V-1116 culture broth was the best. The mixture of gelatin and Kieselsol as finings was easy to filtrate for forming more condensed precipitation. For brightness elaboration and microorganism contamination prevention, wine filter is necessary after the fining step. The sweet wine was prepared by adjusting with sucrose to 15 °Brix and subjected to sensory evaluation. The results indicated that the sweet wine thus prepared was accepted well.

Key words: ponkan, alcohol fermentation.