

有機肥種類對桑椹生產及桑椹酒品質特性之影響

王仁助* 吳添益 張素貞 吳登楨 行政院農業委員會苗栗區農業改良場

摘 要

本研究比較牛糞堆肥、雞糞堆肥及豆粕堆肥對桑椹品質、產量、果汁特性及桑椹釀造酒品的影響。同時比較桑椹特性，並評估其製成桑椹釀造酒之品質及安全性。結果顯示不同肥料種類對桑椹果實特性(果寬、果長及單果重)、維生素(B₁、B₂)與礦物質(Ca、Mg、Fe)並無顯著差異。單株產量則以施用大豆粕和雞糞堆肥組較高。在安全性方面，胺基甲酸乙酯在所有樣品中均未發現，且桑椹釀造酒之甲醇含量均符合國內水果酒之標準。施用雞糞堆肥組比台肥43號組高出1%之可溶性固形物；台肥43號組釀造後其總花青素含量下降38%，而施用雞糞堆肥組僅下降21%。考量果實產量、桑椹汁可溶性固形物及桑椹釀造酒汁總花青素穩定性，栽種桑椹釀造酒所用之原料，其肥料種類以施用雞糞堆肥較施用化學肥料為佳。

關鍵詞：桑椹酒、肥料、安全性、果實特性

前 言

台灣位居亞熱帶，桑樹生長快速，桑椹產量亦高，每公頃達6,000公斤以上。桑椹和葡萄都屬漿果類，多種特性如水分高、不耐貯存、富含花青素及多種抗氧化物質等均非常相似。桑椹是我國傳統藥食同源的水果之一，其獨特的風味與討喜的紅色足以媲美紅葡萄，近

年 Inoue *et al.* (1999) 更發現桑椹有抑制體內糖類之吸收，具調節血糖的功能。在希臘有一種被稱為摩羅 (*Mouro*) 的蒸餾酒，就是桑椹經發酵及蒸餾後所製成 (Soufleros *et al.*, 2004)，桑椹酒在國內也被認為是有助於人體的養生飲品，頗具發展潛力。

近年來，農民為提高產量常有過量施肥之現象，不僅無法提升產量及品

*論文聯繫人
e-mail: wrj@mdais.gov.tw

質，甚至還會影響釀酒的品質及安全性 (Renquist and Reid, 2000; Keller *et al.*, 1999)。栽培作物如使用過高氮肥，將導致其酒中胺基甲酸乙酯 (ethyl carbamate 或 urethane，簡稱 E. C.) 含量相對提高 (Ough *et al.*, 1989)，而胺基甲酸乙酯為已知的致癌物，如皮膚癌、惡性淋巴腫瘤及肝細胞瘤等，近年來頗受各國重視，已成為酒品是否安全的討論重點，據 Conradie (2001) 指出施用家禽堆肥比無機氮肥對葡萄酒品質較佳。甲醇主要的來源是果膠，果膠受果膠酵素作用行去甲基化後形成甲醇。在榨汁前添加果膠酵素將增加甲醇產出的機率，酵母菌很少會製造天然的果膠酯酶 (esterase) 而造成果膠去甲基化。甲醇對人的口服致死劑量為 340 mg/Kg，甲醇和其他醇類的代謝一樣均由肝臟負責，如果過量將造成視神經受損甚至失明，故胺基甲酸乙酯和甲醇已被視為釀造酒中安全性之重要指標。

國內目前尚無有關施肥種類與桑椹酒品質之關係之研究，本研究探討施肥種類對桑椹產量及品質之影響，及發酵成酒後酒品安全性及對總花青素穩定性之影響。

材料與方法

一、田間肥料處理

供試桑樹品種為「苗栗一號」(*Morus atropurpurea*) 4 年生。田間於 5 月肥料試驗前，將土壤分表土與底土分別採樣分析，作為施肥量之依據。並於 5 月及 12 月間均分別施用牛糞堆肥 10 ton/ha (N : P₂O₅ : K₂O = 1.5 : 1.2 : 2.0)、

雞糞堆肥 5 ton/ha (N : P₂O₅ : K₂O = 3.0 : 3.0 : 1.5) 及豆粕堆肥 2.5 ton/ha (N : P₂O₅ : K₂O = 6.0 : 1.5 : 2.0) 等 3 種有機堆肥，並以台肥 43 號複合肥料 1 ton/ha (N : P₂O₅ : K₂O = 15 : 15 : 15) 作為對照，試區採用逢機完全區集設計，計 4 處理，每處理 3 行，每行 7 株桑樹，行株距 3×2 m，小區面積 126 m²，3 重複。並於次年 3~4 月桑椹採收期進行調查，採收之成熟桑椹立即放入 -20°C 之冷凍庫中貯存備用，供進行各項分析及釀酒之用。

二、桑椹釀造酒之方法

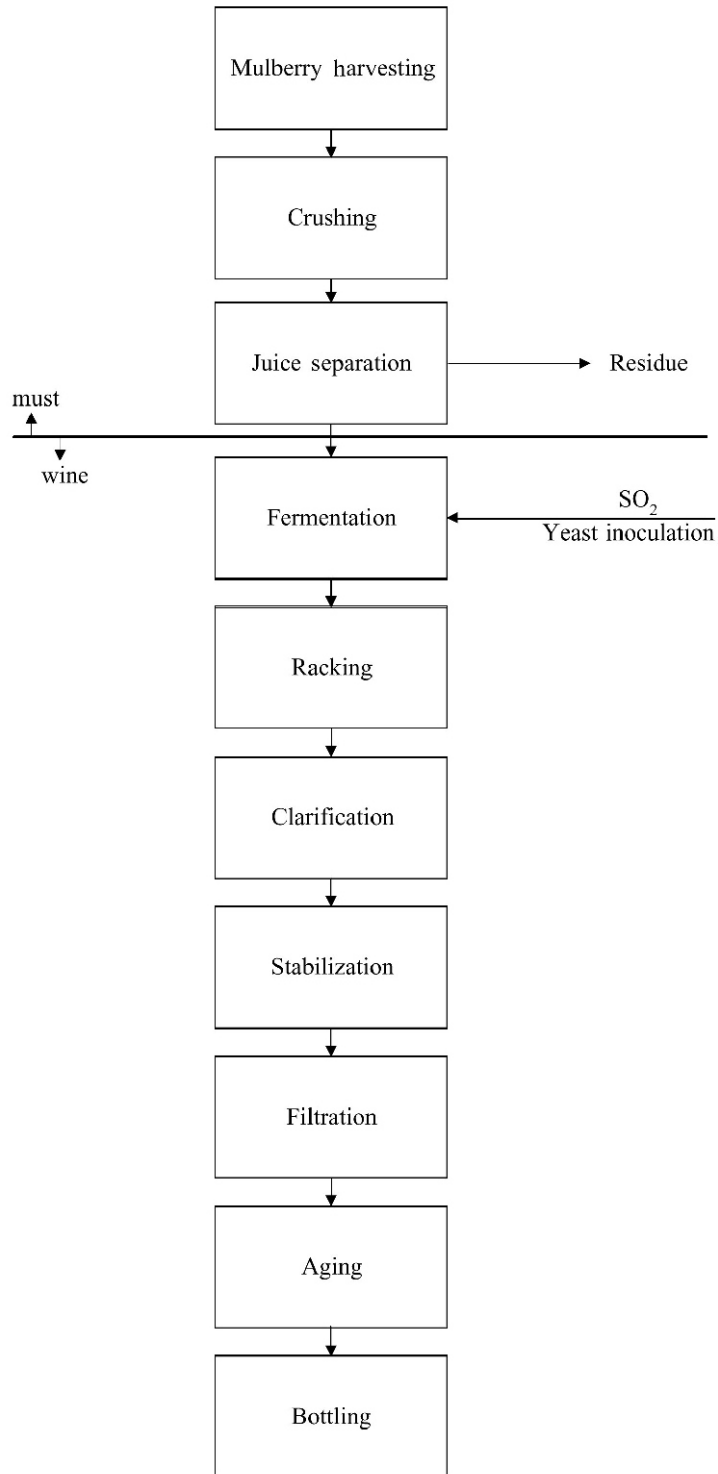
桑椹釀造酒的釀造流程如圖一，桑椹先以榨汁機榨汁後，添加砂糖調整糖度為 24°Brix，加入 K₂S₂O₅ 使每一批之濃度均為 200 mg/l(w/v)，桑椹汁平均 pH 為 3.5，因此可不必再調整酸度，加入 LALVIN RC 212 (*Saccharomyces cerevisiae*) (Lallemand Co., USA)，經 14 天發酵完成，去渣過濾即為桑椹釀造酒，以下簡稱桑椹酒。

三、維生素及礦物質分析

維生素 (B₁、B₂ 和 C) 及礦物質 (Ca、Mg 和 Fe) 之分析均依據 AOAC 標準檢測方法進行 (AOAC, 1990)。

四、可溶性固形物之測定

取經充分壓榨之桑椹汁，用沈降法或離心法先讓桑椹汁澄清，取澄清的汁液放入 100 ml 量筒中，控制溫度在 20 °C，讀取刻度至 0.1 度，查「20°C 比重和糖度對照表」即可得知以 °Brix 為單位



圖一 桑椹酒之製造流程圖

Fig. 1. Flow chart of mulberry winemaking.

之可溶性固形物 (Amerine and Ough, 1980)。

五、總花青素之測定

採 Prior *et al.* (1998) 之 pH 差異法 (pH differential method)，即樣品經離心或過濾後，取澄清液分別以 pH 1.0 之 KCl-HCl 及 pH 4.5 之 CH₃COONa-HCl 緩衝溶液稀釋相同倍數後，以分光光度計分別測定波長 510 nm 和 700 nm 之吸光值，並以下列公式計算 A 值。

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

再將求得的 A 值，套入下列公式計算總花青素之濃度 (mg/l)

$$\text{總花青素 (mg/l)} = (A / \epsilon / l) \times 10^3 \times M_w \times \text{稀釋倍數}$$

由於桑椹之花青素主要是 cyanidin 3-0- β -glucoside，因此， $\epsilon = 29600$ ， $l = 1$ ， $M_w = 445$ (Prior *et al.*, 1998)。

六、甲醇和乙醇之測定

以氣相層析儀分析桑椹酒液中甲醇和乙醇的含量。儀器裝置為：Shimadzu GC-17 (Shimadzu Co., Japan)，分析用管柱為 SolGel WAX capillary column 30 m \times 0.25 mm (i.d.) \times 0.25 μ m (non-polar)，注射口與 FID (flame ionization detector) 的溫度分別為 220 及 250°C。採用升溫梯度程式為初溫 60°C，再以 10°C/min 梯度升溫至 95°C，再以 70°C/min 梯度升溫至 200°C，並維持 1 分鐘。使用的載送氣體為氮氣，流速為 12 ml/min。注射口所用的分餾比 (split ratio) 為 10:1。FID 使用氫氣和空氣的流速分別為 30 及 400 ml/min。

七、胺基甲酸乙酯之測定

取酒液 100 ml，加入 50 ml pH 9.0 磷酸鹽緩衝溶液，再加 5 μ g 胺基甲酸丙酯 (n-propyl carbamate) 當作內標準品，以 50 ml 正戊烷充分震盪混合，丟棄上層液，下層液加入 20 g 氯化鈉，以 50 ml 二氯甲烷萃取下層液。以二氯甲烷再萃取一次，集中下層液，以含 40 g 無水硫酸鈉之 Whatman No. 1 濾紙過濾，加 6 ml 無水酒精，於 28°C 減壓濃縮至約 3 ml，以氮氣在 40°C 下吹至近乾，加無水酒精使最後體積為 0.5~2.0 ml，待注入氣相層析儀中分析。

氣相層析的條件如下：儀器裝置為 Shimadzu GC-17 (Shimadzu Co., Japan)，分析用管柱為 SolGel WAX capillary column 30 m \times 0.25 mm (i. d.) \times 0.25 μ m (non-polar)，注射口與 FID 的溫度分別為 200 及 250°C。採用升溫梯度程式為初溫 50°C 並維持 15 分鐘，再以 8°C/min 梯度升溫至 150°C 並維持 2 分鐘，再以 20°C/min 梯度升溫至 240°C 並維持 20 分鐘。使用的載送氣體為氮氣，流速為 1.3 ml/min。注射口不分餾 (splitless)。FID 使用氫氣和空氣的流速分別為 30 及 40 ml/min (Ma *et al.*, 1995)。

八、統計分析

試驗數據資料以 SAS 軟體進行變異數分析 (ANOVA)，在鄧肯氏檢定下，若 $p < 0.05$ 表兩者之間有顯著性差異。數據則計算各成分含量，3 重複之平均值 (mean) 和標準偏差 (standard deviation) 表示之。

結 果

一、不同肥料種類對桑椹品質及產量之影響

苗栗一號桑椹果徑寬約 2 cm，長約 3 cm，平均單果重約 4 公克，無論是施用台肥 43 號複合肥料或牛糞、大豆粕及雞糞有機肥料，在統計上均未達顯著差異(表一)。單株產量介於 18~24 公斤之間，依序為大豆粕、雞糞、台肥 43 號及牛糞，顯示桑椹單株產量，施用大豆粕及雞糞堆肥略高於台肥 43 號及牛糞堆肥者。

不同肥料對桑椹維生素及礦物質之影響如表二，結果顯示，維生素 B₁ 之含量介於 0.14~0.16 mg/g 之間，不同肥料間差異不大；維生素 B₂ 以施用雞糞肥料之 8.07 mg/g 最高，而台肥 43 號 6.9 mg/g 為最低；維生素 C 含量介於

130~168 mg/g 之間，以台肥 43 號之 168 mg/g 最高，而雞糞肥料之 130 mg/g 最低，不同肥料種類間並存在顯著性差異。礦物質則以鈣的含量最高，其含量約為 2 mg/g，鎂則約為 0.3 mg/g，而鐵含量僅有 0.2 mg/g，各肥料處理間礦物質含量均未達顯著差異。綜合維生素及礦物質，除維生素 C 在化學肥料略有差異外，其他項目不同肥料處理間均無顯著差異。

二、不同肥料對桑果汁特性之影響

由表三可知，桑椹汁水分含量約 90 %。可溶性固形物含量以台肥 43 號最低，約為 7.7°Brix，顯著低於有機肥料之 8.1~8.4°Brix。施用牛糞及雞糞堆肥則會使桑椹汁的可滴定酸度有相當大的差異，施用雞糞之酸度甚至是施用台肥 43 號之兩倍。pH 和果膠含量分別為 4 及 1.2%，則未達顯著差異。

表一 不同肥料種類對桑椹品質及產量之影響

Table 1. The effect of different fertilizers on fruit characteristics and yield of mulberry fruit

Fertilizer	Transversal (cm)	Longitudes (cm)	Weight (g)	Yield (kg/plant)
Chemical fertilizer	1.8 ± 0.1a ¹⁾	3.1 ± 0.1a	4.1 ± 0.3a	22 ± 2.0bc
Dairy manure compost	1.8 ± 0.0a	3.1 ± 0.1a	3.9 ± 0.3a	18 ± 0.4c
Soybean dregs compost	2.0 ± 0.2a	3.0 ± 0.2a	4.1 ± 0.3a	24 ± 3.0ab
Chicken manure compost	1.9 ± 0.2a	3.1 ± 0.1a	4.0 ± 0.2a	24 ± 2.0ab

¹⁾ Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at 5% level.

表二 不同肥料種類對桑椹維生素及礦物質之影響

Table 2. The effect of different fertilizers on vitamins and minerals of mulberry fruit

Fertilizer	Vit. B ₁ (mg/g)	Vit. B ₂ (mg/g)	Vit. C (mg/g)	Ca (mg/g)	Mg (mg/g)	Fe (mg/g)
Chemical fertilizer	0.16 ± 0.01a ¹⁾	6.90 ± 0.56a	168 ± 14a	1.90 ± 0.19a	0.26 ± 0.02a	0.21 ± 0.01a
Dairy manure compost	0.14 ± 0.02a	7.20 ± 0.99a	146 ± 37ab	2.15 ± 0.24a	0.32 ± 0.06a	0.20 ± 0.05a
Soybean dregs compost	0.15 ± 0.01a	7.83 ± 0.61a	140 ± 23b	2.01 ± 0.25a	0.27 ± 0.03a	0.19 ± 0.02a
Chicken manure compost	0.16 ± 0.02a	8.07 ± 0.99a	130 ± 25b	2.43 ± 0.29a	0.31 ± 0.03a	0.23 ± 0.03a

¹⁾ Footnotes are the same as Table 1.

表三 不同肥料種類對桑果汁特性之影響

Table 3. The chemical components of different fertilizers on juice of mulberry fruit

Fertilizer	Moisture content (%)	Soluble solids (°Brix)	Total acidity (g malic acid/100g)	pH	Pectin content (%)
Chemical fertilizer	88 ± 0.6a ¹⁾	7.7 ± 0.2b	0.8 ± 0.2c	3.9 ± 0.2a	1.4 ± 0.3a
Dairy manure compost	89 ± 0.3a	8.4 ± 0.3a	1.2 ± 0.2b	4.3 ± 0.2a	1.3 ± 0.2a
Soybean dregs compost	89 ± 0.4a	8.4 ± 0.3a	1.0 ± 0.3bc	4.1 ± 0.3a	1.2 ± 0.1a
Chicken manure compost	88 ± 0.5a	8.1 ± 0.2a	1.6 ± 0.2a	4.0 ± 0.1a	1.3 ± 0.2a

¹⁾ Footnotes are the same as Table 1.

三、不同肥料種類對桑椹酒品質及安全 性之影響

桑椹汁於發酵前甲醇、乙醇、胺基甲酸乙酯和總花青素，在施用台肥 43 號及雞糞堆肥無顯著差異，經過 14 天之發酵後，發酵醪之的酒精度分別為 13.6% 及 12.6%，接近預估的酒精度，顯示發酵均正常。施用台肥 43 號之甲醇含量相對於純酒精為 1956 mg/l，施用雞糞堆肥

相對於純酒精為 2214 mg/l，兩者並無顯著差異。發酵終止之乙醇含量分別為 13.6 及 12.6%，亦無統計上之差異(表四)。而胺基甲酸乙酯則均未能檢出。比較發酵前後，施用台肥 43 號組其總花青素含量減少 38%，由 260 減至 161 mg/l，而施用雞糞堆肥組僅減少 21%，由 260 減至 206 mg/l，顯示施用雞糞堆肥可減緩桑椹酒總花青素之損失。

表四 不同肥料種類對桑椹酒醪及酒液之影響

Table 4. The effect of different fertilizers in must and wine

Fertilizer	Must				Wine			
	Methanol	Ethanol	EC	Anthocyanin	Methanol	Ethanol	EC	Anthocyanin
	(mg/l)	(%)	(ppm)	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(ppm)	(mg/l)
Chemical fertilizer	239 ± 83a ¹⁾	ND	ND	260 ± 21a	1956 ± 596a	13.6 ± 1.4a	ND	161 ± 48b
Chicken manure compost	293 ± 44a	ND	ND	260 ± 16a	2214 ± 317a	12.6 ± 0.8a	ND	206 ± 45a

¹⁾ Footnotes are the same as Table 1.

討 論

果實長、寬、平均單果重及單株產量等性狀，都是評估不同肥料種類對作物影響之基本指標。桑椹中維生素及礦物質之含量，施用不同肥料種類間亦無顯著差異，本試驗只調查一年間各組之產量，或許經過較長時間會造成差異，有待持續試驗及調查。

施用牛糞、大豆粕及雞糞之有機堆肥後其可溶性固形物的含量，分別為 8.4、8.4、8.1°Brix 明顯高於台肥 43 號之 7.7°Brix。國內一般釀酒用之黑后葡萄平均在 15°Brix 以上，而苗栗一號桑椹之可溶性固形物含量平均約 8°Brix，因此用於釀酒時必需再添加較多糖類才能順利發酵，加糖發酵會降低酒品的風味及氣味，與希臘紅桑 (*M.nigra*) 之 Mavromournia 品系在成熟期可溶性固形物含量在 20°Brix 以上，仍有相當之差距 (Gerasopoulos and Stavroulakis, 1997)，有必要針對品種或栽培管理技術進行改

進，以期能達到更好的釀酒品質。

肥料對於果實總花青素含量之影響相關文獻並不多見，迄今亦未有定論，Raese and Drake (1997) 認為土壤中可利用氮素量增加是造成黑醋栗顏色不良的重要因子，而 Davenport (1996) 於小紅莓肥料試驗中發現，施用之氮肥量與果實總花青素含量無關。在本試驗發現，施用台肥 43 號及雞糞堆肥其發酵前酒醪之總花青素含量，兩者間並無顯著差異。但台肥 43 號之總酸含量卻顯著低於施用有機堆肥者，而花青素通常在酸性條件下較穩定，桑椹發酵後總花青素含量均呈現下降趨勢，但施用雞糞堆肥者總花青素的損失率相對較施用台肥 43 號者少，桑椹汁總酸含量與總花青素之穩定性是否有關，仍有待進一步探討。但雞糞堆肥組無論是對總花青素含量及桑椹酒品質的提升，均較化學肥料高，其原因可能與可利用氮素含量或酒醪總酸含量有關，則有待持續試驗及調查。

國內規定葡萄酒甲醇含量不得超過

2000 mg/l，本試驗桑椹酒甲醇含量台肥 43 號為 1956 mg/l，雞糞堆肥為 2214 mg/l，兩者間並無顯著差異，與國內葡萄酒標準相近。甲醇在未發酵桑椹汁已可被檢出，可能是採後處理及榨汁過程中，將原有果實之果肉被破壞，使桑椹本身之果膠酵素與果膠相互作用而產生，因此桑椹採收後經殺菁處理或使用果膠酵素抑制劑都可有效降低釀造酒中甲醇的產生。

許多研究都指出過量施肥對釀造酒品質會有不良影響，更與酒中胺基甲酸乙酯含量關係密切，然胺基甲酸乙酯並不是發酵的直接產物，人體無危險性每天建議量應低於 0.7 µg/day，在葡萄酒中含量並不高，但在其他水果酒中經常發現有過量現象 (Amerine and Ough, 1980)。本研究以胺基甲酸乙酯和甲醇作為評估桑椹酒之安全性因子，結果顯示，施用台肥 43 號和雞糞堆肥後，在其桑椹汁或桑椹酒中胺基甲酸乙酯均未能檢出。

綜合以上試驗結果，不同肥料種類並不會影響桑椹特性及維生素 B₁、B₂、鈣、鎂及鐵之含量。除大豆粕和雞糞堆肥有相對較高之產量外，施用雞糞堆肥可使桑椹總酸提高而有助於穩定總花青素。發酵後總花青素下降程度較台肥 43 號處理低，且施用有機堆肥之桑椹汁可溶性固形物顯著高於施用台肥 43 號處理，施用雞糞堆肥之桑椹所製造之桑椹酒其品質較台肥 43 號為佳。

引用文獻

- Amerine, M. A., and C. S. Ough.** 1980. Methods for analysis of must and wines. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- AOAC.** 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
- Conradie, W. J.** 2001. Timing of nitrogen fertilisation and the effect of poultry manure on the performance of grape vines on sandy soil. II. Leaf analysis, juice analysis and wine quality. South Afri. Enolo and Vitic. 22: 60-68.
- Davenport, J. R.** 1996. The effect of nitrogen fertilizer rates and timing on cranberry yield and fruit quality. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121: 1089-1094.
- Gerasopoulos, D., and G. Stavroulakis.** 1997. Quality characteristics of four mulberry (*Morus* sp.) cultivars in the area of Chania, Greece. J. Sci. Food Agric. 73: 261-264.
- Inoue, S., M. Yamamoto, and S. Shimura.** 1999. Composition for treating obesity and foods and drinks containing the same. European Patent Application: Patent. EP0930019A2
- Keller, M., R. M. Pool, and T. Henick-Kling.** 1999. Excessive nitrogen supply and shoot trimming can impair colour development in *Pinot Noir* grapes and wine. Aust. J. Grape Wine Res. 5: 45-55.
- Ma, Y. P., F. Q. Deng, D. Z. Chen, and S. W. Sun,** 1995. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages by

- capillary multi-dimensional gas chromatography with thermionic specific detection. *J. Chromatogr.* 695: 259-265.
- Ough, C. S., D. Stevens, and J. Almy.** 1989. Preliminary comments on effects of grape vineyard nitrogen fertilization on the subsequent ethyl carbamate formation in wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 40: 219-220.
- Prior, R. L., G. Cao, A. Martin, E. Sofic, J. McEwen, C. O'Brien, N. Lischner, M. Ehlenfeldt, W. Kalt, G. Krewer, and C. M. Mainland.** 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agri. Food Chem.* 46: 2686-2693.
- Raese, J. T., and S. R. Drake.** 1997. Nitrogen fertilization and elemental composition affects fruit quality of *Fuji* apples. *J. Plant Nutr.* 20: 1797-1809.
- Renquist, R., and J. Reid.** 2000. Quality influences of N and K supply to vines: a nutrient response model. *Aust. N. Z. Grapegrow. Winemak.* 442: 32-36.
- Soufleros, E. H., A. S. Mygdalia, and P. Natskoulis.** 2004. Characterization and safety evaluation of the traditional Greek fruit distillate "*Mouro*" by flavor compounds and mineral analysis. *Food Chem.* 86: 625-636.

收件日期：2007年5月15日

接受日期：2007年8月05日

Quality Characteristics of Mulberry and Fermented Wine as Affected by Different Fertilized Applications

Ran-Juh Wang*, Tien-Yi Wu, Su-jein Chang, and Den-Jen Wu

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Miaoli, Taiwan, R.O.C .

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine characteristics of mulberry juice and evaluate the safety for wine under different fertilizers. The results showed that there is no significant difference in fruit characteristics, *i. e.*, transversal, longitudinal diameter and weight, vitamins, B₁ and B₂, and minerals, Ca, Mg, and Fe, concentrations among different fertilizer treatments. A much higher yield was found in chicken manure compost and soybean dregs compost. One to the safety sake, ethyl carbamate was not detectable in all test samples, and methanol contents of the mulberry wines were lower than that of national fruit wine standard. But the anthocyanin decreased in response to enhancing the application in chemical fertilizer. After fermentation, the total anthocyanin amount of chemical fertilizer treatment decreased by 38% while chicken manure compost decreased by only 21%. The soluble solid amount of chicken manure compost was 1% higher than that of chemical fertilizer treatment. Base on these results, we suggested that chicken manure compost might be more suitable for wine making than other fertilizer treatments.

Key words: mulberry wine, fertilizer, safety evaluation, fruit characteristics.

*Corresponding author. e-mail address: wrj@mdais.gov.tw