

添加磷酸氢二铵对百香果酒发酵和风味的影响

谭智通, 刘静, 朱亚东, 王慧林, 朱长兴, 赵宏飞*, 张柏林*

北京林业大学 生物科学与生物技术学院 林业食品加工与安全北京市重点实验室, 北京 100083

谭智通, 刘静, 朱亚东, 王慧林, 朱长兴, 赵宏飞, 张柏林. 添加磷酸氢二铵对百香果酒发酵和风味的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(12): 5193-5213.

TAN Zhitong, LIU Jing, ZHU Yadong, WANG Huilin, ZHU Changxing, ZHAO Hongfei, ZHANG Bolin. Effects of adding dibasic ammonium phosphate (DAP) on the fermentation performance and flavor of passion fruit wine[J]. Microbiology China, 2024, 51(12): 5193-5213.

摘要:【背景】缺乏氮源常会影响果酒发酵性能, 导致果酒整体感官品质不佳。然而, 补充氮源是否影响百香果酒发酵与风味特性鲜有报道。【目的】通过添加磷酸氢二铵(dibasic ammonium phosphate, DAP)作为一种氮源补充方式, 探究其对百香果酒的发酵性能和挥发性成分的影响, 旨在为改善百香果酒品质提供理论依据和数据支持。【方法】采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、气相色谱-三重四极杆质谱(gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC-TQMS)和电子鼻(electronic nose, E-Nose)技术, 测定了有机酸、氨基酸和挥发性化合物等指标, 综合分析了添加 DAP 对百香果酒香气风味特征的影响。【结果】在发酵方面, 与未添加 DAP 的对照组相比, 添加 400 mg/L DAP 可以使百香果酒发酵时间缩短 5 d, 发酵终点时总糖含量(3.35±0.57) g/L, 酒精含量(10.73±0.06)% vol。添加 DAP 的百香果酒中总酚[(68.62±2.81) mg/L]和总黄酮[(23.41±0.65) mg/L]的含量升高。在氨基酸含量和种类方面, 添加 DAP 与未添加 DAP 的百香果酒中均检测到 20 种游离氨基酸, 总氨基酸含量分别为(669.40±56.27) mg/L 和(1 017.58±80.53) mg/L, 两者存在明显差异; 其中, 添加 DAP 后, 谷氨酸、天冬氨酸和脯氨酸等种类消耗量最多, 对百香果酒乙醇发酵有重要贡献。在香气风味方面, 百香果酒中共检测到 59 种挥发性化合物, 与未添加 DAP 组相比, 添加 DAP 的百香果酒多产生 20 种挥发性物质, 其中 19 种挥发性化合物为主要呈香物质(odor activity value, OAV>1), 包括异戊醇、丁酸乙酯、己酸乙酯、乙酸异戊酯和反式-β-紫罗兰酮等; 高级醇和乙酸随 DAP 的添加而减少, 萜烯类、醛类和酮类的含量随 DAP 的添加而显著升高。【结论】添加 DAP (400 mg/L) 不仅改善了百香果酒的发酵性能, 而且提高了它的风味组分的种类及含量, 从而整体上提高了百香果酒的品质。

关键词: 百香果酒; 磷酸氢二铵; 发酵; 氨基酸; 风味

资助项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(2015ZCQ-SW-05)

This work was supported by the Fundamental Research Fund for the Central Universities (2015ZCQ-SW-05).

*Corresponding authors. E-mail: ZHAO Hongfei, zhaohf518@163.com; ZHANG Bolin, zhangbolin888@bjfu.edu.cn

Received: 2024-07-06; Accepted: 2024-09-30; Published online: 2024-10-24

Effects of adding dibasic ammonium phosphate (DAP) on the fermentation performance and flavor of passion fruit wine

TAN Zhitong, LIU Jing, ZHU Yadong, WANG Huilin, ZHU Changxing, ZHAO Hongfei*, ZHANG Bolin*

Beijing Key Laboratory of Forest Food Processing and Safety, College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: [Background] Lack of nitrogen sources always affects the fermentation performance of fruit wine, resulting in poor sensory quality of fruit wine. However, few researchers have reported the effects of supplementing nitrogen sources on the fermentation performance and flavor of passion fruit wine. [Objective] To explore the effects of dibasic ammonium phosphate (DAP) as an adjunct nitrogen source on the fermentation performance and volatile components of passion fruit wine, providing a theoretical basis and data support for the quality improvement of the fruit wine. [Methods] We employed HPLC, GC-MS, gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, and electronic nose to determine the content of organic acids, amino acids, and volatile compounds, thereby comprehensively analyzing the effects of DAP on the flavor characteristics of passion fruit wine. [Results] Compared with the control (DAP-free), the addition of 400 mg/L DAP to passion fruit juice shortened the fermentation time of the wine by 5 days, and the total sugar content and ethanol content reached (3.35 ± 0.57) g/L and $(10.73\pm 0.06)\%$ vol, respectively, at the end of fermentation. In addition, the involvement of DAP increased the content of total phenols $((68.62\pm 2.81)$ mg/L) and total flavonoids $((23.41\pm 0.65)$ mg/L) in passion fruit wine. The passion fruit wine produced with or without DAP contained 20 free amino acids. The content of total amino acids was (669.40 ± 56.27) mg/L in the passion fruit wine produced with DAP and $(1\ 017.58\pm 80.53)$ mg/L in the passion fruit wine produced without DAP, which showed an obvious difference. Specifically, glutamic acid, aspartic acid, and proline were consumed the most after the addition of DAP, which indicated their contributions to the fermentation performance of passion fruit wine. Moreover, 59 volatile compounds were detected in the passion fruit wine by GC-MS. More volatile compounds (about 20) were formed in the DAP-supplemented passion fruit wine than the DAP-free wine, and 19 volatile compounds were observed to be the main aroma substances (odor activity value, OAV>1), including isoamyl alcohol, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, isoamyl acetate, and *trans*- β -ionone. Interestingly, the levels of higher alcohols and acetic acid decreased while the content of terpenes, aldehydes, and ketones increased in passion fruit wine due to the presence of DAP. [Conclusion] The addition of DAP (400 mg/L) not only improved the fermentation performance but also increased the types and content of flavor components, finally improving the comprehensive quality of passion fruit wine.

Keywords: passion fruit wine; dibasic ammonium phosphate; fermentation; amino acids; flavor

百香果,学名西番莲(*Passiflora coerulea* L.),西番莲科西番莲属的植物果实,在我国广西、福建、贵州和云南等地均有栽培^[1]。百香果富含营养成分及多种生物活性物质,如有机酸、氨基酸、维生素、多酚和黄酮等^[2],具备抗炎、抗氧化和镇静止痛等功效^[3-5]。作为独特的热带水果,百香果多以鲜食或果汁饮料为主,其果汁色泽金黄,口味酸甜可口,果香风味浓郁,广受消费者喜爱。然而,随着种植面积增大以及快速的产量提升,如何将采后的百香果转化为新的深加工产品成为提升其资源附加值的重要选择。发酵型果酒是一种既能保留果实本身营养价值,又能赋予产品新的类别和风味的加工手段。近年来,基于百香果为原料的发酵酒工艺和功能性开发越来越受到关注。例如,Santos 等^[6]将不同成熟期的卡廷加西番莲制备为发酵型果酒,证实应用百香果制备发酵酒是可行的。程宏桢等^[7]以紫皮百香果为原料建立了百香果全果发酵酒适宜发酵工艺。然而,他们的研究结果指出,百香果因本身较高的酸度影响了酵母菌株的生长代谢,导致酒精发酵周期较长,果酒香气风味不足等问题^[8]。通常,氮元素是酵母生长和启动发酵的必要营养成分,果汁中可利用氮水平不仅会影响酵母酒精发酵速率,而且对果酒香气的合成至关重要^[9]。例如,果酒中重要挥发性化合物如高级醇、乙酸酯、脂肪酸乙酯和中链脂肪酸等会随着氮源的种类和浓度的变化而变化^[10];同样苹果酸、乳酸、甘油、 α -酮戊二酸和琥珀酸等非挥发性化合物也会受氮源浓度影响^[11-12]。

通常,商业化生产实践中往往是通过添加磷酸氢二铵(dibasic ammonium phosphate, DAP)等作为一种补充氮源的方式来解决发酵缓慢或迟滞问题,这种外源补充 DAP 的方式不仅有利于促进酵母生长和代谢,而且对果酒香气风味

的形成和积累有着积极的影响^[10,13]。本团队先前对葡萄酒、枸杞酒和蓝莓酒等已进行了一系列研究,在果酒酿造及风味等方面积累了一定的研究和产业化基础^[14-15]。截至目前,外源补充 DAP 影响百香果酒发酵及香气成分的研究鲜有报道,并且补充 DAP 是否有助于改善百香果酒的风味品质一直缺乏相关研究。因此,本研究拟以紫皮百香果为原料,考察添加 DAP 对百香果酒发酵进程及理化性质的影响,探究补充 DAP 与果酒风味化合物形成的相关性,并基于理化和风味指标综合评价百香果酒品质,旨在为百香果酒的品质监控和风味改善提供依据,促进百香果深加工产业发展。

1 材料与amp;方法

1.1 样品

紫皮百香果(*Passiflora edulis*)于 2023 年采自我国广西壮族自治区北流市成熟果园,鲜果实验前于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保藏。

商业酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) ES488, Enartis 公司。

1.2 主要试剂和仪器

DAP、果胶酶、焦亚硫酸钾, Enartis 公司; 福林酚试剂, 北京索莱宝科技有限公司; 氢氧化钠、碳酸氢钠、硝酸铝、氯化铝、乙酸铵和磷酸等常规化学试剂均为分析纯, 天津永大化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈(均为色谱纯), 美国赛默飞世尔科技公司; 5 种有机酸(酒石酸、柠檬酸、苹果酸、乙酸、乳酸)、抗坏血酸、没食子酸、芦丁均为标准品且纯度在 99%以上, 上海源叶生物科技有限公司; 4-甲基-2-戊醇、21 种氨基酸标准品, Sigma 公司。

电热恒温培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器

有限责任公司；色差计，柯尼克美能达公司；高效液相色谱仪，岛津公司；气相色谱仪和质谱仪，Thermo Scientific 公司；三重四极杆液质联用仪，SCIEX 公司；便携式电鼻传感器，Airsense 公司。

1.3 百香果酒发酵工艺

将冷藏的紫皮百香果取出并解冻后，筛选表皮完整、新鲜成熟且无病害的果实，洗净晾干后破壳去皮取出果肉、果汁和果籽(三者混合物即为果浆)共计 30 L。果浆倒入 80 L 不锈钢罐后添加 100 mg/L 焦亚硫酸钾和 40 mg/L 果胶酶，20 °C 酶解 12 h 后加入 30 L 纯净水充分搅拌后得到果浆溶液。分别取 1.0 L 果浆溶液倒入两组 1.5 L 锥形瓶中，一组不添加氮源，为 P0 组，另一组以每升百香果果浆发酵液中添加 400 mg 的 DAP 作为补充氮源，为 P1 组。使用碳酸氢钠调节 pH 值至 3.4，补充蔗糖至初始糖含量为 200 g/L，接种 0.4 g/L 活化后的酵母 ES488，(20±1) °C 发酵 14 d。发酵期间，每天监测百香果发酵酒中糖含量和相对密度的变化，当相对密度连续 3 d 未发生改变时可视为主发酵结束，随后再次添加 50 mg/L 焦亚硫酸钾终止发酵。

每组样品均做 3 次平行(图 1)。

1.4 理化指标的检测

1.4.1 基础指标的测定

每组样品取样 5.0 mL 进行下列基础理化指标测定：酒精度、pH、总糖和总酸的测定参考王孝荣等^[16]的方法；可溶性固形物使用手持折光仪测定；透光率：取适量精滤后酒液于石英比色皿中，放入紫外分光光度计中在 700 nm 处测定吸光度值 A ，每组均平行测定 3 次，透光率 T 的计算见公式(1)。

$$T(\%)=10^{-A}\times 100\% \quad (1)$$

1.4.2 抗坏血酸的测定

每组取 1 mL 样品，抗坏血酸测定参照王孝荣等^[16]的方法。

1.4.3 总酚的测定

总酚的测定采用福林肖卡(Folin-Ciocalteu)比色法^[17]。取 100 μ L 样品，分别加入 100 μ L 没食子酸标准溶液、400 μ L 蒸馏水和 100 μ L 福林酚试剂，混匀反应 10 min，最后加入 1.0 mL 10% Na_2CO_3 溶液和 0.8 mL 蒸馏水，摇匀排除气泡后于室温下暗反应 2 h，在波长 760 nm 处测定吸光度。以蒸馏水作为空白对照，按没食子酸标准曲线计算总酚含量。

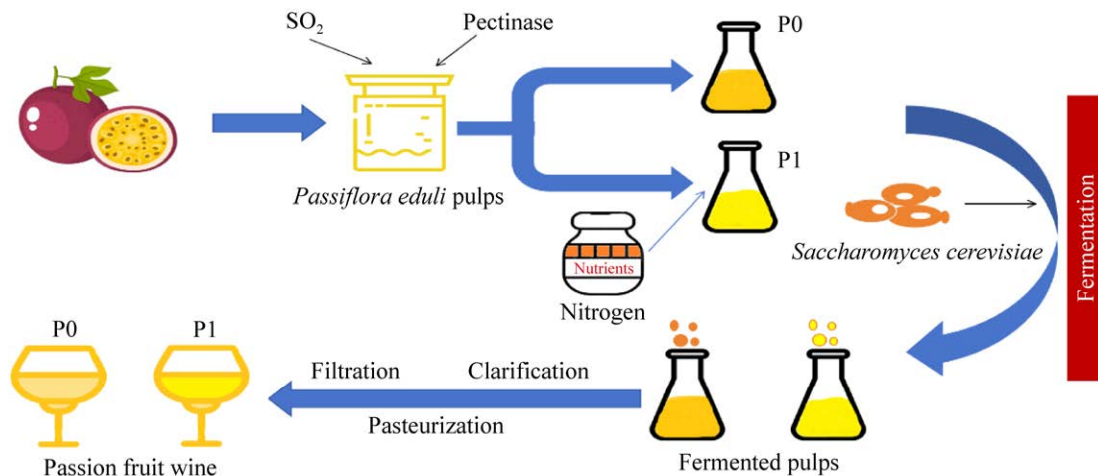


图 1 百香果酒发酵工艺流程图

Figure 1 Flowchart of fermentation process of passion fruit wine.

1.4.4 总黄酮的测定

总黄酮的测定参考 Choi 等^[17]的方法并稍加修改。取 0.5 mL 样品, 分别加入 2.0 mL 蒸馏水和 0.2 mL 5% NaNO₂, 摇匀后反应 6 min, 然后加入 0.2 mL 10% AlCl₃·6H₂O 继续反应 6 min, 最后加入 1.0 mL 1 mol/L NaOH 避光反应 15 min, 在 510 nm 处测定吸光度, 按芦丁标准曲线计算总黄酮含量。

1.5 百香果酒色泽的测定

参考 Guler^[18]的方法并采用色差仪对百香果酒的比色参数进行测定。以透射模式测定样品, 得到颜色参数 L*、a*、b*、h 和 C*。其中, L* 表示亮暗, L* > 0 表示偏亮, L* < 0 表示偏暗; a* 表示红绿, a* > 0 表示偏红, a* < 0 表示偏绿; b* 表示黄蓝, b* > 0 表示偏黄, b* < 0 表示偏蓝。h 值表示色调角, 代表不同的颜色。C* 值表示饱和度, 即百香果酒样品中颜色的饱和程度。

1.6 有机酸的测定

有机酸测定参考王琴飞等^[19]的方法稍作修改。色谱条件: Waters Atlantis C18 色谱柱 (150.0 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 3% 甲醇和 97% 0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液(用磷酸溶液调节 pH=2.8), 流速为 0.6 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量 10 μL, 检测波长为 210 nm。

1.7 游离氨基酸的测定

游离氨基酸的测定参考张季等^[20]方法并稍作修改。样品前处理: 样品经 0.22 μm 滤膜过滤后准确吸取 20 μL 置于 250 mL 容量瓶中, 加纯净水稀释 100 倍待测。色谱条件: 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm×50.0 mm, 1.7 μm), 柱温: 35 °C, 进样体积: 5 μL, 流速: 0.6 mL/min。质谱条件: 离子源: 可加热电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI); 扫描模式: 正离子模式; 喷雾电压(ion source, IS): 5.5 kV; 气帘气(curtain air, CUR): 20 psi; 离子

化温度: 550 °C。

1.8 香气组分的电子鼻测定

香气组分的电子鼻测定参考程宏桢等^[21]方法并略微修改。吸取 5.0 mL 百香果酒样品于 20.0 mL 样品瓶, 立即用保鲜膜密封, 室温静置待测, 随后直接插入电子鼻传感器于密封样品瓶测定香气成分。电子鼻参数: 采样间隔 5 s, 冲洗时间 300 s, 调零时间 10 s, 预采样时间 5 s, 检测时间 180 s, 载气流速 300 mL/min, 进样流速 300 mL/min。传感器在 90 s 后趋于稳定, 选取 110 s 为传感器信号分析时间点。每个样品重复测定 5 次。

电子鼻传感器阵列性能为: (1) W1C, 对芳香化合物灵敏; (2) W5S, 对氮氧类成分灵敏; (3) W3C, 对氨类和芳香成分灵敏; (4) W6S, 对氢类化合物灵敏; (5) W5C, 对短链烷烃等灵敏; (6) W1S, 对甲基类化合物灵敏; (7) W1W, 对无机硫化物和萜烯类成分灵敏; (8) W2S, 对醇类、醛类和酮类化合物灵敏; (9) W2W, 对有机硫化物和芳香族化合物灵敏; (10) W3S, 对长链烷烃和脂肪族灵敏。

1.9 挥发性化合物的测定

参照谷佩珊等^[22]的方法, 吸取 5.0 mL 百香果酒及果汁样品于 15.0 mL 顶空萃取瓶中, 加入 1.0 g NaCl 溶于样品振荡摇匀, 随后加入 10 μL 的 0.2 g/L 4-甲基-2-戊醇溶液(内标), 将老化后的萃取头(DVB/CAR/PDMS, 2 cm 50/30 μm)插入萃取瓶中, 于 40 °C 吸附挥发性物质 30 min。再将萃取头迅速取出并插入 GC 进样口, 在 250 °C 解吸 5 min 后测定样品。GC 条件: 采用 HP-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 采用不分流模式, 进样口温度 250 °C, 载气为高纯氦气(>99.999%), 载气流速 1.5 mL/min; 升温程序: 初始温度 40 °C, 保持时间 5 min 后, 以 4 °C/min 升温到 120 °C, 再以 10 °C/min 升

温至 240 °C 保留 15 min。MS 条件：采用全扫描模式，电离模式 EI，发射电流 10 μ A，电子能 70 eV，接口温度 280 °C，离子源温度 230 °C，质量扫描范围：35–550 m/z 。定性方法：通过机器和人工检索处理，将 GC-MS 鉴定到的挥发性化合物根据其保留指数(retention index, RI)、香气描述与 NIST 20 标准谱库匹配并查阅相关文献后确定^[21-22]。定量方法：使用 4-甲基-2-戊醇作为内标物进行相对定量，香气浓度 C_i 按公式(2)计算。

$$C_i = \frac{A_i}{A_0} C_0 \quad (2)$$

式(2)中： C_0 为内标物浓度， μ g/L； A_i 为香气成分面积； A_0 为内标物面积。

1.10 气味活性值(odor activity value, OAV)的测定

参考 Liu 等^[23]的方法计算 OAV。通过查阅文献和数据库比对挥发性成分在水中的阈值^[14,21]，挥发性化合物含量与阈值的比值即为 OAV 值，以此评价各类香气物质对样品整体呈香贡献程度。当 OAV>1 时，表明挥发性化合物对样品香气风味特征具有主要贡献，而 OAV<1 则认为挥发性化合物贡献较小。

1.11 数据处理

所有试验均重复 3 次，采集的数据取平均值 \pm 标准差表示。采用 Excel 2019 整理实验数据，使用 SPSS 20.0 软件进行差异显著分析，显著性 $P<0.05$ 。采用 Origin 2022 软件作图。基于电子鼻传感器采集信息，采用主成分分析(principal component analysis, PCA)对不同样品的百香果酒进行区分，分析风味贡献程度。

2 结果与分析

2.1 添加 DAP 对百香果酒发酵进程的影响

图 2 反映了添加 DAP (400 mg/L) 后百香果

酒发酵中的残糖量和酒精度的变化，可以看出发酵至第 2 天时，P0 组(图 2A)中的糖含量几乎没有变化，发酵出现迟滞，第 3 天开始果浆中的糖被消耗，第 4 天乙醇含量开始增加，第 10 天起糖的消耗速率减缓，至第 14 天酒精发酵结束。与之相反，补充 DAP 的 P1 组(图 2B)自发酵第 1 天起，百香果果浆中的糖快速消耗，乙醇含量快速增加，至第 9 天酒精发酵结束。与未补充 DAP 组相比，补充 DAP 后百香果酒发酵时间缩短了 5 d，表明补充一定量的 DAP 会弥补氮源不足，可以作为解决百香果酒发酵缓慢问题的手段之一。本研究表明添加 400 mg/L DAP 促进了百香果酒发酵进程，类似的研究也证实当 *S. cerevisiae* EC1118 以铵盐为初始氮源时，将氮含量提高到 200 mg/L 后葡萄酒发酵速率加快^[24]。Barbosa 等^[24]的研究结果表明，添加 DAP 影响百香果酒发酵过程中的微生物生长可以通过总糖的消耗量、乙醇出率和氨基酸含量变化等指标来反映，与本文的研究结果一致。

2.2 添加 DAP 对百香果酒理化特性的影响

百香果酒理化指标如表 1 所示，就透光率而言，P1 组的透光率高于 P0 组，但 P0 组的可溶性固形物含量略高于 P1 组，这或许与补充 DAP 促进了酿酒酵母的生长代谢有关。就酸度而言，可以看出 P0 组的 pH 略高于 P1 组，而 P1 组总酸含量略高于 P0 组，显然添加 DAP 后的果酒能保持百香果原有的酸度，维持果酒的酸甜平衡。就残糖和酒精含量而言，P0 组中残糖含量 $[(6.27\pm 1.15) \text{ g/L}]$ 高于 P1 组 $[(3.35\pm 0.57) \text{ g/L}]$ ，P1 组酒精含量略高于 P0 组，与图 1 反映的两组样品中酒精含量与糖消耗量成正相关的结果一致。显然，补充 DAP 促进了百香果酒的发酵进程，提高了果酒的透明度，并且 pH 和总酸的变化显著。本研究结果与 Wang 等^[25]对越橘酒的研究结论相似。就百香果酒 VC、总酚和总

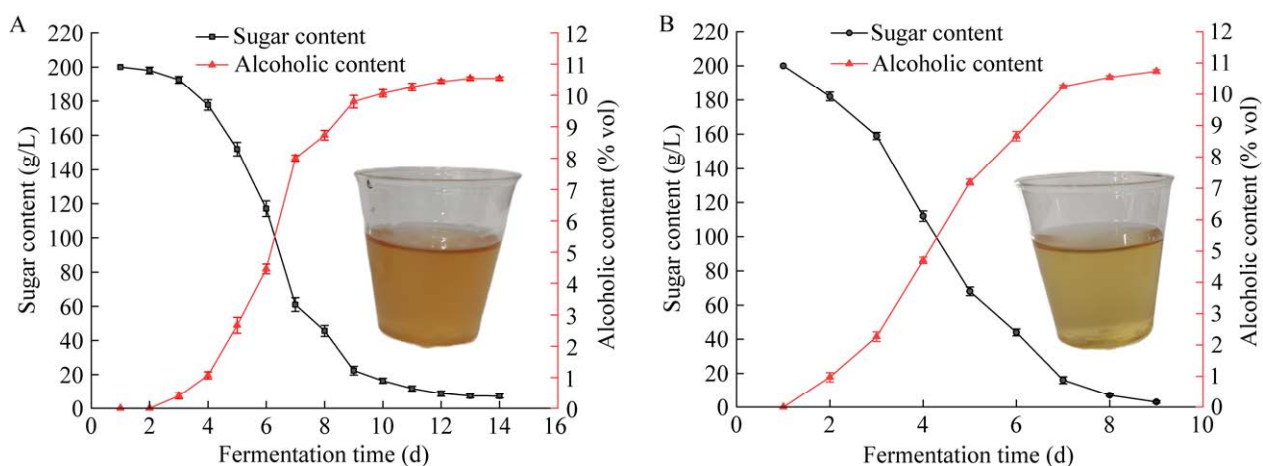


图 2 P0 组(A)和 P1 组(B)发酵过程中糖和酒精含量的变化 P0: 未添加氮源组; P1: 添加 400 mg/L 磷酸氢二铵

Figure 2 Changes of sugar and alcohol contents during fermentation between groups P0 (A) and P1 (B). P0: No nitrogen source group added; P1: Add 400 mg/L dibasic ammonium phosphate (DAP).

表 1 P0 组和 P1 组百香果酒理化指标

Table 1 Physical and chemical parameters of passion fruit wine between groups P0 and P1

Parameter	P0	P1
Transmittance (%)	84.65±0.05a	86.70±0.02b
Alcohol content (% vol)	10.43±0.05b	10.73±0.06a
Residual sugar (g/L)	6.27±1.15b	3.35±0.57a
Total acid (g/L)	12.74±1.81a	15.60±1.07b
pH	3.67±0.03b	3.50±0.04a
Soluble solid (%)	6.50±0.47b	5.50±0.24a
Ascorbic acid (mg/L)	115.53±0.16a	189.26±0.58b
Total phenol (mg/L)	62.43±0.33a	68.62±2.81b
Total flavonoids (mg/L)	18.37±0.58a	23.41±0.65b

数据为 3 次重复测定的平均值±标准差; 每行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$)

Data are mean±SD of triplicate assays; Different lowercase letters in each line indicate the significant difference between groups ($P<0.05$).

黄酮而言,相较于 P1 组,P0 组的 VC 含量较低,表明 P1 组部分保留了原百香果中的 VC 成分。通常,VC 具有较强的还原性极易被氧化,其含量变化与发酵工艺有关^[26]。此外,pH 值影响果酒中 VC 稳定性,P0 组的 pH 升高伴随着 VC 含量降低^[27],表明添加 DAP 后不仅促进了果酒

发酵进程,而且可以保持 VC 的稳定性。百香果富含多种酚类物质,主要由多酚类和黄酮类组成^[28]。随着 DAP 的添加,P1 组中总酚和总黄酮的含量均高于 P0 组,表明外源氮的添加不仅可以促使百香果酒发酵周期缩短,而且一定程度上防止了 VC、总酚和总黄酮的氧化和降解^[29]。

2.3 添加 DAP 对百香果酒色泽的影响

百香果酒色泽测定结果见表 2。由表 2 可知,P0 组中 a*值和 C*值与 P1 相似,表明补充 DAP 对百香果酒酒体的红绿程度和饱和度并无显著影响。然而,P1 组中 b*值和 h 值均低于 P0 组,P1 组中 L*值则略高于 P0 组,证明补充 DAP 对百香果酒的 L*值、b*值和 h 值产生显著影响。通常,尽管果酒色泽与果实成熟度和果浆稀释程度有关,但同样与酚类物质等抗氧化活性成分有很强的相关性^[30]。据报道,酵母代谢物乙醛和丙酮酸等与花青素反应,并在葡萄酒中生成稳定性较强的色素,导致 a*值和 b*值升高^[31],与本研究结果并不一致。我们的工作表明,补充 DAP 会导致百香果酒色泽变浅,保留了原有果实典型的金黄色,酒体呈现清澈透明的状态。

表 2 P0 组和 P1 组中百香果酒色泽的变化
Table 2 Changes of passion fruit wine color between groups P0 and P1

Color attribute	Group P0	Group P1
L*	52.48±1.91a	55.84±1.87b
a*	9.90±0.02a	9.77±0.01a
b*	8.26±0.05b	7.22±0.02a
h	39.61±0.46b	36.48±1.04a
C*	12.91±0.13a	12.15±0.08a

数据为 3 次重复测定的平均值±标准差；每行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$)

Data are mean±SD of triplicate assays; Different lowercase letters in each line indicate the significant difference between groups ($P<0.05$).

2.4 添加 DAP 对百香果酒中氨基酸含量的影响

图 3 反映了百香果果浆、P0 组和 P1 组的游离氨基酸种类和含量。可以看出,百香果果浆、P0 组和 P1 组的总游离氨基酸(total free amino acid, TFAA)含量分别为(5 695.65±196.41) mg/L、(1 017.58±80.53) mg/L 和(669.40±56.27) mg/L; 8 种必需氨基酸(essential amino acid, EAA)总量分别为(310.93±22.06) mg/L、(187.53±16.35) mg/L 和(95.95±17.60) mg/L, 三者之间游离氨基酸含量差异显著。(1) 原果浆中检测到 21 种游离氨基酸,P0 组和 P1 组均检测出 20 种游离氨基酸。其中, P0 组和 P1 组中含量较高的游离氨基酸均为谷氨酸、天冬氨酸和脯氨酸(Glu、Asp、Pro), 其含量分别为(235.03±12.74) mg/L、(206.72±10.80) mg/L、(181.14±13.62) mg/L 和(170.08±12.34) mg/L、(153.58±10.56) mg/L、(121.05±9.83) mg/L, 其余各类游离氨基酸含量几乎都低于 30 mg/L。(2) 谷氨酸、天冬氨酸和脯氨酸在 P0 组和 P1 组均被酵母菌大量消耗, 证明这 3 种氨基酸可被视为百香果酒乙醇发酵中的主要氮源^[32]。(3) P1 组相较于 P0 组而言, 各类游离氨基酸消耗量和消耗比例均有着不同程度的上升, 其中涨幅较大的有亮氨酸(Leu)和

赖氨酸(Lys), 分别从 15.66%和 46.37%提高到了 65.41%和 76.91%, 说明补充 DAP 后能提高酿酒酵母对原果浆中氨基酸的利用率。(4) 色氨酸(Trp)在 P0 组和 P1 组中均未检出, 我们判断其作为芳香族氨基酸已被酵母完全消耗。(5) 相较于其他氨基酸, P0 组和 P1 组中甘氨酸和胱氨酸的含量提高可能是在发酵过程中部分丝氨酸转化为甘氨酸, 另外, 胱氨酸含量变化可能与果肉中氨基酸的浸出或酵母代谢过程有关^[33]。总之, 补充 DAP 促进了酵母对百香果果浆中氨基酸的进一步利用, 提高了百香果酒的发酵性能。

从游离氨基酸呈味特征分类大致可以分为以下几类: 鲜味氨基酸(Glu、Asp)、甜味氨基酸(Thr、Gly、Ala、Pro、Ser、Asn、Gln、Hyp)、苦味氨基酸(His、Met、Arg、Val、Leu、Ile、Tyr、Phe、Trp)和无味氨基酸(Lys、Cys)^[34]。由表 3 可知, P0 组和 P1 组中总呈味氨基酸含量分别为(1 017.57±69.52) mg/L 和(669.40±50.83) mg/L。P1 组中鲜味氨基酸和甜味氨基酸在总呈味氨基

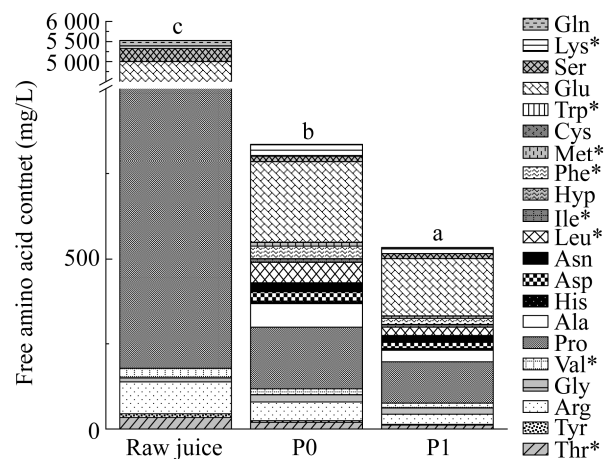


图 3 百香果果浆、P0 组和 P1 组中各游离氨基酸种类及含量 *：必需氨基酸

Figure 3 Species and contents of free amino acids among passion fruit pulp, groups P0 and P1. *: The essential amino acid.

表3 添加DAP对百香果酒呈味氨基酸含量的影响
Table 3 Effects of DAP addition on the taste amino acid content of passion fruit wine

Flavor amino acids	Group P0 (mg/L)	Group P1 (mg/L)
Umami amino acids	441.72±27.58b	323.58±22.75a
Sweet amino acids	340.46±40.16b	224.23±26.03a
Bitter amino acids	200.96±15.52b	106.62±12.85a
Tasteless amino acids	34.43±6.13b	14.97±2.08a
Total flavor amino acids	1 017.57±69.52b	669.40±50.83a

数据为3次重复测定的平均值±标准差；每行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$)

Data are mean±SD of triplicate assays; Different lowercase letters in each line indicate the significant difference between groups ($P<0.05$).

酸的占比为48.34%和33.50%，相较于P0组有所提高。苦味氨基酸在P0组中占其总呈味氨基酸的19.75%，而在P1组中占比为15.93%，相较于P0组下降3.82%。Glu和Asp作为主要鲜味氨基酸并不影响其他味觉成分，还能增添鲜味特征，补充DAP后对于百香果酒的增鲜效果显著，进一步突出了各风味特征^[35]；甜味氨基酸作为原果浆中呈味氨基酸的重要组成，在百香果酒中保留了百香果原有的甜味，在补充DAP后果酒中的甜味特征略微提升^[36]。P0组中苦味氨基酸含量为(200.96±15.52) mg/L，而P1组的苦味氨基酸含量[(106.62±12.85) mg/L]几乎减半，说明补充DAP可减少百香果酒中苦味氨基酸，减轻负面风味的影响以改善果酒口感。总体而言，P1组呈香氨基酸占比更好，整体呈味效果比P0组更好，表明补充DAP对果酒的呈味具有积极作用。

2.5 添加DAP对百香果酒中有机酸含量的影响

百香果酒中有机酸含量见图4所示。本研究共检测到了5种有机酸，包括酒石酸(tartaric acid)、苹果酸(malic acid)、乳酸(lactic acid)、乙酸(acetic acid)和柠檬酸(citric acid)。结果表

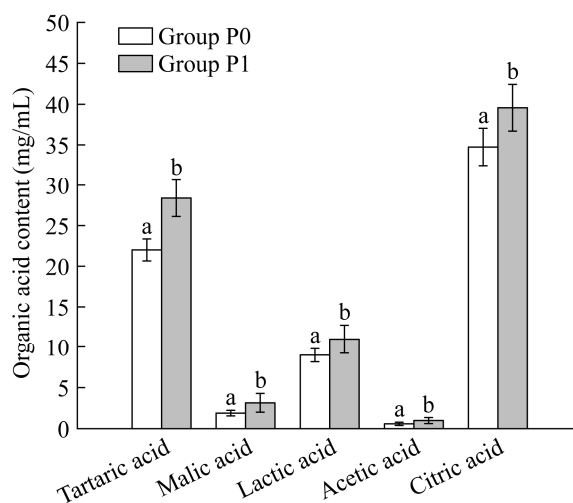


图4 P0组和P1组中有机酸含量变化

Figure 4 Changes of organic acids content between groups P0 and P1.

明，添加DAP后P1组中5种有机酸含量均显著高于P0组($P<0.05$)。P0组和P1组中含量最高的有机酸均为柠檬酸[(34.75±1.29) mg/mL和(39.56±2.73) mg/mL]。柠檬酸是百香果中含量最高的有机酸，酒精发酵过程中柠檬酸的生成很大程度上与三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)有关^[37]。研究表明，添加铵盐和氨基酸会增加柠檬酸的含量并降低硫味，添加量与柠檬酸含量成正比^[38]。尽管苹果酸在酒精发酵过程中易被微生物降解，但有报道称在葡萄酒中添加80–200 mg/L氮源后，葡萄酒中丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺和亮氨酸的浓度增加将有助于提高苹果酸的浓度^[39]，这与本研究结果一致。酒石酸相对稳定不容易被微生物代谢，P1组中酒石酸含量升高主要与补充氮源后促进百香果酒酒精发酵有关^[39]。乳酸有助于改善果酒的口感，果酒中乳酸主要源于苹果酸-乳酸发酵(malolactic fermentation, MLF)，氨基酸的添加可能诱导了MLF过程加速进行从而导致P1组中乳酸含量升高^[40]。乙酸作为果酒中主要挥发酸，若含量

过高会给果酒带来尖酸刺鼻的味道。铵盐和氨基酸的添加使乙醛脱氢酶活性增加并催化乙醛生成乙酸^[41]。显然,补充 DAP 能调节百香果酒中有机酸浓度,使百香果酒的风味和稳定性得到改善。

2.6 添加 DAP 对百香果酒中挥发性成分的影响

表 4 反映了百香果酒中挥发性化合物种类及含量。由表 4 可知, P0 组和 P1 组共检测到 59 种挥发性化合物,包括了 8 种高级醇类、12 种酯类、3 种酮类、7 种醛类、7 种酸类、16 种萜烯类及其衍生物和 6 种其他类化合物。这些挥发性化合物源于酵母代谢和百香果风味成分的释放,赋予了目前发酵的百香果酒柑橘、玫瑰、菠萝、草本、木质和紫罗兰等香气^[42-43]。

2.6.1 高级醇

高级醇主要是酵母在酒精发酵过程中通过支链氨基酸(Ehrlich 途径)和单糖(Harris 途径)的合成而来,其中大约 75%通过 Harris 途径产生^[44]。如表 4 所示, P0 组和 P1 组中高级醇类化合物包括了异丁醇、异戊醇、2,3-丁二醇、2-庚醇和苯乙醇等。首先,相较于 P0 组, P1 组中异丁醇、异戊醇和 2,3-丁二醇的含量均减少。Godillot 等^[45]在研究氮添加和温度对葡萄酒中挥发性化合物的动力学关系时发现,异戊醇含量随着初始氮源含量增加而减小,这与本研究结果一致。其次,相较于 P0 组, P1 组中 2-庚醇和苯乙醇的含量随 DAP 的添加量增大而显著提高, P1 组中 2-庚醇和苯乙醇的含量分别是 P0 组的 24.2 倍和 3.01 倍,这与 Barbosa 等^[24]的研究结果一致。最后, P1 组的高级醇总量略低于 P0 组,表明补充 DAP 后充足的氮源能促进酿酒酵母生长代谢,而氮源缺乏则会促进氨基酸和相应的高级醇的合成^[46]。初始氮源的浓度与种类会直接影响高级醇的含量,例如中等程度的氨基酸或

铵盐(300–400 mg/L)能降低果酒中高级醇的含量,与本研究结果一致^[47]。同时,我们发现 P1 组中异戊醇、2-庚醇、正辛醇和苯乙醇的 OAV 大于 1,这些化合物赋予了百香果酒柠檬香、玫瑰香和果香,对果酒香气具有重要贡献。

2.6.2 酸类

脂肪酸在果酒发酵过程中会被降解并生成乙酸和其他挥发酸,若挥发酸浓度过高会导致尖酸腐败和不愉快气味的产生,损害果酒的风味口感^[48]。P0 组检测到乙酸和 2-羟基-4-甲基戊酸共 2 种挥发酸类化合物,而 P1 组中则检测到 6 种挥发酸包括乙酸、己酸、辛酸、十五烷酸、肉豆蔻酸和棕榈酸,说明 DAP 的添加使得百香果酒中酸类挥发性化合物的种类增多。另外,乙酸含量增高通常会给果酒带来腐败酸臭的负面风味,相较于 P0 组[(418.40±37.92) μg/L]而言, P1 组中乙酸含量[(210.04±24.58) μg/L]大大降低。研究表明,当初始氮源浓度从低氮浓度(60 mg/L)升至中氮浓度(400 mg/L)时,葡萄酒中乙酸的含量随氮源的增大而降低^[49-50],这与本研究结果一致。此外,初始氮源浓度从 62 mg/L 升至 200 mg/L,果酒中支链高级酸随氮源浓度增加而降低,己酸、辛酸、癸酸等中链脂肪酸的含量与氮源的添加量呈正相关^[51-52]。通常情况下,十五烷酸为奇数碳链必需饱和脂肪酸,具有降低胆固醇、减少脂肪积累的功效^[53];肉豆蔻酸作为饱和脂肪酸,具有抗炎、抗菌和镇痛的作用^[54];棕榈酸为常见的长链脂肪酸。鉴于紫皮百香果和黄皮百香果的果籽中均有少量棕榈酸^[55], P1 组中十五烷酸、肉豆蔻酸和棕榈酸这 3 种酸类物质的出现,可能与百香果果籽冷浸渍析出和酿酒酵母自身合成有关^[56-57]。总体而言,补充 DAP 不仅大大降低了百香果酒中乙酸含量,促使百香果酒中生成更多饱和脂肪酸,而且为百香果酒提供了更多营养价值。

表 4 P0 组和 P1 组两种百香果酒中挥发性化合物含量、阈值、气味活性值和香气描述

Table 4 Volatile compound content, threshold, odor activity value and aromatic description of passion fruit wines from group P0 and group P1

挥发性化合物 Volatile compound	挥发性化合物浓度 Concentration of volatile ($\mu\text{g/L}$)		气味阈值 Odor threshold ($\mu\text{g/L}$)	气味活性值 Odor activity value (OAV)		香气描述 Aromatic descriptor
	P0	P1		P0	P1	
	高级醇 Higher alcohols					
异丁醇 Isobutyl alcohol	15 939.20 \pm 82.58 ^b	7 786.30 \pm 65.74 ^a	75 000 ^[22]	0.21	0.10	酒精味、刺鼻难 ^[22] Alcoholic, pungent ^[22]
异戊醇 Isopentyl alcohol	62 911.86 \pm 48.92 ^b	60 648.08 \pm 36.22 ^a	4 100 ^[22]	15.34	13.28	甜味、辛辣味 ^[21] Sweet, spicy ^[21]
2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	142.06 \pm 1.46 ^b	117.44 \pm 3.66 ^a	110 000 ^[21]	<0.01	<0.01	果香、奶油味 ^[21] Fruity, creamy ^[21]
正己醇 N-hexanol	58.72 \pm 0.83 ^a	57.20 \pm 0.76 ^a	25 000 ^[22]	<0.01	<0.01	草本、木本 ^[22] Herbaceous, woody ^[22]
顺式-3-己烯醇 Cis-3-hexenol	—	25.09 \pm 1.83 ^a	1 630 ^[22]		0.01	青草味 ^[22] Grass ^[22]
2-庚醇 2-Heptanol	15.20 \pm 0.68 ^a	368.32 \pm 43.73 ^b	81 ^[23]	0.19	4.55	草本、柠檬 ^[23] Herbal, lemon ^[23]
正辛醇 N-octanol	—	51.14 \pm 0.86 ^a	9 ^[21]		5.68	蘑菇香、柑橘味、果香 ^[23] Mushroom, citrus, fruity ^[23]
苯乙醇 Phenylethyl alcohol	1 898.24 \pm 81.25 ^a	5 716.70 \pm 125.36 ^b	3 500 ^[22]	0.54	1.51	玫瑰香、甜味 ^[22] Rose, sweet ^[22]
高级醇总含量 Total Higher alcohols	80 965.28 \pm 215.72 ^b	74 770.27 \pm 278.16 ^a				
酯类 Esters						
乙酸乙酯 Ethyl Acetate	1 551.20 \pm 76.83 ^a	5 210.03 \pm 141.85 ^b	5 000 ^[21]	0.31	1.04	菠萝、甜味、果香 ^[21] Pineapple, sweet, fruity ^[21]
丁酸乙酯 Ethyl butyrate	—	307.12 \pm 12.92 ^a	20 ^[22]		15.36	草莓、苹果、香蕉 ^[22] Strawberry, apples, banana ^[22]
乙酸异戊酯 Isoamyl acetate	435.20 \pm 72.65 ^a	583.20 \pm 63.57 ^b	43 ^[23]	10.12	13.56	香蕉、果香 ^[22] Banana, fruity ^[22]
(3E)-3-乙酸己烯酯 Hexenyl (3E)-3-acetate	—	19.22 \pm 0.75 ^a	870 ^[22]		0.02	香蕉、梨香 ^[21] Banana, pear ^[21]
己酸乙酯 Ethyl caproate	247.33 \pm 32.53 ^a	3 755.90 \pm 113.74 ^b	5 ^[22]	49.47	751.18	青苹果、蜂蜜、甜味 ^[22] Green apple, honey, sweet ^[22]
琥珀酸乙酯 Ethyl succinate	119.74 \pm 31.87 ^b	102.98 \pm 22.95 ^a	790 ^[25]	0.15	0.13	酸味、热带水果 ^[25] Sour, tropical fruit ^[25]
辛酸乙酯 Ethyl caprylate	27.75 \pm 8.65 ^a	107.80 \pm 23.31 ^b	92 ^[22]	0.30	1.18	果香、甜味 ^[23] Fruity, sweet ^[23]
乙酸苯乙酯 Phenyl ethyl acetate	741.92 \pm 54.26 ^a	2 667.48 \pm 98.45 ^b	5 000 ^[23]	0.15	0.53	玫瑰花香、果香、甜味 ^[22] Rosy, fruity, sweet ^[22]
乙酸松油脂 Terpineyl acetate	—	11.04 \pm 0.06 ^a	2 500 ^[21]		<0.01	薰衣草、木质香、花香 ^[21] Lavender, woody, flowery ^[21]

(待续)

(续表 4)

挥发性化合物 Volatile compound	挥发性化合物浓度 Concentration of volatile ($\mu\text{g/L}$)		气味阈值 Odor threshold ($\mu\text{g/L}$)	气味活性值 Odor activity value (OAV)		香气描述 Aromatic descriptor
	P0	P1		P0	P1	
	癸酸乙酯 Ethyl decanoate	14.64 \pm 0.08 ^a		53.33 \pm 7.35 ^b	1 122 ^[42]	
月桂酸乙酯 Ethyl laurate	12.24 \pm 1.83 ^a	16.61 \pm 2.18 ^a	5 900 ^[25]	<0.01	<0.01	花香、果香 ^[25] Flowery, fruity ^[25]
棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	56.19 \pm 8.55 ^b	1.83 \pm 0.02 ^a	2 000 ^[23]	0.03	<0.01	乳香、奶油味 ^[23] Frankincense, creamy ^[23]
酯类总含量 Total esters	3 206.21 \pm 287.25 ^a	12 836.54 \pm 488.15 ^b				
萜烯类及衍生物 Terpene derivatives						
芳樟醇 Linalool	219.11 \pm 32.33 ^a	739.20 \pm 63.50 ^b	16 ^[25]	13.69	46.20	花香、麝香、柑橘 ^[25] Flowery, muscat, citrus ^[25]
4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	4.13 \pm 1.47 ^a	22.73 \pm 1.72 ^b	5 000 ^[23]	<0.01	<0.01	胡椒、木质、辛辣味 ^[23] Pepper, woody, spicy ^[23]
α -松油醇 α -terpineol	390.60 \pm 33.62 ^a	489.30 \pm 51.75 ^b	350 ^[22]	1.12	1.40	丁香花、甜味 ^[23] Lilac, sweet ^[23]
香茅醇 Citronellol	38.86 \pm 8.74 ^a	69.72 \pm 6.83 ^b	2 200 ^[25]	0.02	0.03	玫瑰香、桃子味 ^[25] Rose, peach ^[25]
香叶醇 Geraniol	24.91 \pm 3.43 ^a	41.28 \pm 5.73 ^b	75 ^[25]	0.33	0.55	玫瑰花香、甜味 ^[23] Rose, sweet ^[23]
β -紫罗兰醇 β -violanol	241.55 \pm 31.65 ^b	133.30 \pm 12.98 ^a	20 000 ^[21]	0.01	<0.01	覆盆子、紫罗兰 ^[21] Raspberry, violet ^[21]
橙花醇 Nerolidol	—	22.31 \pm 3.06 ^a	2 200 ^[25]		0.01	玫瑰花、柑橘皮、果香 ^[23] Rose, citrus peel, fruity ^[23]
β -月桂烯 β -Myrcene	60.04 \pm 7.80 ^a	331.16 \pm 43.46 ^b	773 ^[25]	0.07	0.43	柑橘、甜味 ^[25] Citrus, sweet ^[25]
柠檬烯 Limonene	47.07 \pm 4.78 ^a	100.54 \pm 11.30 ^b	200 ^[22]	0.24	0.50	果香、花香、甜味 ^[22] Fruity, flowery, sweet ^[22]
α -蒎烯 α -pinene	24.88 \pm 5.47 ^a	—				草本、木质、辛辣味 ^[25] Herbal, woody, spicy ^[25]
反式- β -罗勒烯 Trans- β -baslene	10.14 \pm 0.76 ^a	66.80 \pm 7.28 ^b	34 ^[21]	0.30	1.96	青草香 ^[21] Grass ^[21]
顺式- β -罗勒烯 Cis- β -baslene	—	171.91 \pm 21.75 ^a	34 ^[21]		5.05	木质味、辛辣味 ^[21] Woody, spicy ^[21]
α -罗勒烯 α -baslene	—	55.03 \pm 4.31 ^a				果香 ^[22] Fruity ^[22]
萜品油烯 Terpene oleoene	—	37.20 \pm 4.47 ^a	200 ^[23]		0.19	木质香、果香、酸橘味 ^[23] Woody, fruity, cranberry ^[23]
3-萜烯 3-carene	—	11.92 \pm 0.06 ^a	2 030 ^[21]		<0.01	柑橘、杜松子、胡椒味 ^[23] Citrus, juniper, pepper ^[23]
β -松油醇 β -Terpineol	—	245.77 \pm 33.84 ^a				木质、辛辣味 ^[21] Woody, spicy ^[21]
萜烯类总含量 Total terpene derivatives	1 061.29 \pm 130.05 ^a	2 538.17 \pm 272.04 ^b				

(待续)

(续表 4)

挥发性化合物 Volatile compound	挥发性化合物浓度 Concentration of volatile ($\mu\text{g/L}$)		气味阈值 Odor threshold ($\mu\text{g/L}$)	气味活性值 Odor activity value (OAV)		香气描述 Aromatic descriptor
	P0	P1		P0	P1	
	酮类 Ketones					
二氢- β -紫罗兰酮 Dihydro- β -Ionone	28.70 \pm 0.85 ^a	35.35 \pm 2.73 ^b	1.70 ^[21]	16.88	20.79	木质、辛辣味 ^[21] Woody, spicy ^[21]
反式- β -紫罗兰酮 Trans- β -Ionone	238.66 \pm 32.87 ^a	707.43 \pm 46.15 ^b	0.01 ^[21]	23 866.00	70 743.00	木质、花香、浆果味 ^[21] Woody, flowery, berry ^[21]
脱氢- β -紫罗兰酮 Dehydro- β -Ionone	5.55 \pm 0.03 ^a	19.96 \pm 4.58 ^b	5 ^[21]	0.79	2.85	紫罗兰、木质 ^[21] Violet, woody ^[21]
酮类总含量 Total ketones	272.91 \pm 33.75 ^a	762.74 \pm 53.46 ^b				
醛类 Aldehydes						
乙醛 Acetaldehyde	342.29 \pm 46.41 ^a	596.14 \pm 85.72 ^b	1 400 ^[22]	0.24	0.43	坚果香、泥土味、 蔬菜味 ^[22] Nutty, earthy, vegetable ^[22]
苯甲醛 Benzaldehyde	43.16 \pm 7.52 ^a	58.96 \pm 12.46 ^b	4 600 ^[25]	<0.01	0.01	苦杏仁 ^[22] Bitter almond ^[22]
(E)-2-辛烯醛 (E)-2-octenal	—	23.68 \pm 2.07 ^a	3 ^[25]		7.89	黄瓜味、柑橘皮、甜味 ^[25] Cucumber, citrus peel, sweet ^[25]
壬醛 Nonaldehyde	—	78.24 \pm 15.35 ^a	9 ^[22]		8.69	柑橘香、玫瑰香 ^[22] Citrus, Rose ^[22]
2,5-二甲苯甲醛 2,5-dimethyl- benzaldehyde	—	39.86 \pm 5.33 ^a				
正癸醛 N-decanal	2.13 \pm 0.02 ^a	21.31 \pm 3.26 ^b	6 ^[23]	0.36	3.55	青草、柑橘皮 ^[23] Grass, citrus peel ^[23]
(Z)-2-癸烯醛 (Z)-2-decenal	—	158.14 \pm 20.79 ^a	5.20 ^[23]		30.41	蜡质、泥土、香菜味 ^[23] Waxy, mud, coriander ^[23]
醛类总含量 Total aldehydes	387.58 \pm 53.95 ^a	976.33 \pm 144.98 ^b				
酸类 Acids						
乙酸 Acetic acid	418.40 \pm 37.92 ^b	210.04 \pm 24.58 ^a	160 000 ^[22]	<0.01	<0.01	醋味 ^[22] Vinegar ^[22]
己酸 Caproic acid	—	180.58 \pm 12.35 ^a	8 500 ^[22]		0.02	奶酪 ^[22] Cheese ^[22]
2-羟基-4-甲基戊酸 2-hydroxy-4- methylvaleric acid	17.25 \pm 2.05 ^a	—				
辛酸 Octanoic acid	—	111.47 \pm 15.66 ^a	500 ^[23]		0.22	蜡质、奶酪、腐臭 ^[23] Wax, cheese, rancid ^[23]
十五烷酸 Pentadecanoic acid	—	190.88 \pm 43.92 ^a				
肉豆蔻酸 Myristic acid	—	594.43 \pm 79.43 ^a	10 000 ^[43]		0.06	蜡质、奶油味 ^[43] Wax, creamy ^[43]

(待续)

(续表 4)

挥发性化合物 Volatile compound	挥发性化合物浓度 Concentration of volatile ($\mu\text{g/L}$)		气味阈值 Odor threshold ($\mu\text{g/L}$)	气味活性值 Odor activity value (OAV)		香气描述 Aromatic descriptor
	P0	P1		P0	P1	
	棕榈酸 Palmitic acid	—		208.06 \pm 31.71 ^a	50 000 ^[25]	
酸类总含量 Total acids	435.65 \pm 39.90 ^a	1 495.46 \pm 207.65 ^b				
其他类 Others						
4-烯丙基苯酚 4-allylphenol	—	10.99 \pm 0.26 ^a				
甲氧基苯基肟 Methoxy phenyl oxime	750.98 \pm 35.63 ^b	413.25 \pm 23.47 ^a				
反式-3,5,6,8a-四氢- 2,5,5,8a-四甲基- 2H-1-苯并吡喃 Trans-3,5,6,8a- tetrahydro-2,5,5,8a- tetramethyl-2H-1- benzopyran	15.60 \pm 0.98 ^a	—				
4-氯-3-正己基四氢 吡喃 4-chloro-3-n-hexyl tetrahydropyran	—	30.29 \pm 1.26 ^a				
2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol	15.45 \pm 0.02 ^a	29.21 \pm 2.09 ^b				
3,6,7-三甲氧基异苯 并呋喃 3,6,7-trimethoxy isobenzofuran	—	39.53 \pm 1.47 ^a				
其他类总含量 Total others	782.03 \pm 36.62 ^b	523.27 \pm 65.16 ^a				

—: 该化合物未检出; 数据是 3 次重复测定的平均值 \pm 标准差; 每行不同小写字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$)

—: The compound is not detected; Data are means \pm SD of triplicate assays; Different lowercase letters in each line represents the significant difference between groups ($P<0.05$).

2.6.3 酯类

酯类化合物是果酒中重要的挥发性成分, 主要由乙酸酯和脂肪酸乙酯组成, 通常赋予果酒浓郁的花香和果香^[42]。由表 4 可知, 百香果酒中主要酯类化合物包括乙酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯和辛酸乙酯等。P0 组和 P1 组中乙酸乙酯含量最高, 而 P1 组中乙酸乙酯的含量高于 P0 组, 是 P0 组的 3.36 倍。此外, 相较于 P0 组, P1 组中乙酸异戊酯、己酸

乙酯、辛酸乙酯、乙酸苯乙酯、癸酸乙酯和月桂酸乙酯的含量均升高且差异显著, 说明添加 DAP 可以明显提高百香果酒中酯类化合物的含量。Torrea 等^[58]在霞多丽葡萄酒中添加氮源后, 发现乙酸乙酯含量大大增加, 辛酸乙酯和癸酸乙酯的含量增加 3–5 倍, 补充氮源后的葡萄酒中总乙酸酯浓度增加; Wang 等^[25]对缺氮越橘酒添加 DAP 后发现, 补充 DAP 的越橘酒中乙酸酯含量最高, 乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯

乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯的含量随 DAP 的增加而显著增加,均与本研究结果一致。此外,乙酸乙酯、辛酸乙酯、己酸乙酯和乙酸异戊酯的含量均高于其香气阈值,这些酯类化合物的存在可以为百香果酒提供浓郁的菠萝、香蕉、果香和甜味,对果酒香气贡献较大(OAV>1)。综上所述,补充 DAP 显著提高了百香果酒中酯类化合物的含量,赋予了百香果酒更多的香气。

2.6.4 醛类

醛类来源于不饱和脂肪酸的氧化和脂肪酰合酶的催化,进一步与酒精反应生成醛类^[59]。由表 4 可知,相较于 P0 组, P1 组中增加了 4 种醛类化合物且醛类成分总含量高于 P0 组。乙醛在 P0 组和 P1 组中含量均最高, P1 组中乙醛含量高于 P0 组,这可能与丙氨酸的代谢产物在 Ehrlich 途径中脱羧为乙醛有关^[60]。P1 组中(E)-2-辛烯醛、壬醛、正癸醛和(Z)-2-癸烯醛的含量均高于 P0 组,可能是支链氨基酸的添加促进了它们的生成^[61]。同时,这些醛类化合物的 OAV 值均大于 1,可为果酒带来柑橘香、青草和蔬菜味,对果酒的香气有着重大贡献。显然,随着 DAP 的添加百香果酒中醛类物质种类与含量增多,这对丰富百香果酒香气具有积极影响。

2.6.5 酮类

酮类化合物可在酒精发酵过程中由脂肪酸缩合而成^[62]。P1 组酮类化合物总量是 P0 组的 2.79 倍($P<0.05$), P0 组和 P1 组中酮类化合物主要由 β -紫罗兰酮组成,且 β -紫罗兰酮浓度与氮源添加量呈正相关,这与 Wang 等^[25]研究结果一致。 β -紫罗兰酮天然存在于水果中,由类胡萝卜素降解而来,也可由蒎烯合成^[63-64]。我们的结果表明, P1 组中 β -紫罗兰酮的 OAV 值均大于 1,这赋予了百香果酒浓郁的玫瑰花香、果香和木质香。

2.6.6 萜烯类及其衍生物

萜烯类化合物作为风味化合物以游离态和结合态天然存在于水果中^[65]。由表 4 可知, P1 组中萜烯类化合物总含量高于 P0 组,是 P0 组的 2.39 倍。P0 组和 P1 组中分别检测出 10 种和 15 种萜烯类化合物,两组之间的共有成分包括芳樟醇、4-萜烯醇、 α -松油醇、香茅醇、香叶醇、 β -紫罗兰醇、 β -月桂烯和柠檬烯等,其中芳樟醇、 α -松油醇和 β -月桂烯含量较高,是百香果酒中的主要萜烯类成分。相较于 P0 组, P1 组中芳樟醇、4-萜烯醇、 α -松油醇、香茅醇、香叶醇、 β -月桂烯、柠檬烯和反式- β -罗勒烯的含量显著提高,这可能是 DAP 的添加提高了 β -葡萄糖苷酶的活性,促进了结合态的萜烯化合物的水解^[66]。Carrau 等^[67]研究氮源添加对酿酒酵母生产萜烯类化合物影响时发现,补充 DAP 对芳樟醇和香茅醇的合成有积极显著的影响,与本研究结果一致。此外, P0 组并未检测到橙花醇,而 P1 组中橙花醇含量为(22.31±0.06) $\mu\text{g/L}$,说明添加 DAP 结合厌氧发酵有助于橙花醇的含量累积^[68]。

2.6.7 其他类挥发性化合物

P0 和 P1 两组样品中检测到的其他挥发性成分包括吡喃类、呋喃酮和苯酚类等。以往的研究结果表明,添加氮源可能会导致这些其他类化合物含量增加^[49],然而因这些其他类挥发性化合物的 OAV 值较低,所以对果酒香气风味的贡献可以忽略不计。

2.7 添加 DAP 对百香果酒香气组分的差异性影响

采用电子鼻技术采集了 P0 组和 P1 组的香气成分,并采用主成分分析法分析了二者间的差异。由图 5 可以看出,主成分 PC1 的贡献率为 74.4%, PC2 的贡献率为 13.2%,总贡献率达到 87.6%,说明 P0 组和 P1 组之间风味独立且整体

区分度较好。从得分图(图 5A)可以看出, 一是两组数据均呈椭圆形, 说明电子鼻分析稳定性和重复性较高; 二是 P0 组和 P1 组之间分隔明显并无交互且分处于不同象限, 说明 P0 组和 P1 组之间风味具有显著差异。由载荷图(图 5B)可得, 传感器 W6S、W5S 和 W5C 对 PC1 贡献较大, 而传感器头 W3C 和 W1C 对 PC2 贡献较大。W5C 对烷烃、芳香族化合物敏感, W3C 对氨基类和芳香族化合物敏感, W1C 对芳香型化合物灵敏, 这 3 个传感器所采集的成分基本为酯类和萜烯类及其衍生物, P1 组中芳香类化合物响应度更高, 与上述 GC-MS 测得 P1 组中酯类和萜烯类含量增多的结果一致。

结合二者可知, P0 组和 P1 组的香气成分差异主要体现在芳香类成分以及醇类和醛酮类等物质上, 这与 Liu 等^[69]对于百香果酒香气特征分析结果一致。电子鼻分析结果表明, 添加 DAP 与未添加 DAP 的百香果酒在香气组分上存在明显的差异性, 添加 DAP 后的百香果酒具有更浓郁的花香、果香和柑橘香, 整体香气更加丰富。

3 讨论

作为一种典型的热带水果, 百香果一直以来深受广大消费者喜爱, 导致百香果各类别的加工产品和研究也不断增多, 包括百香果酒产品。已有的研究发现, 百香果酒发酵初期时常出现发酵迟滞缓慢这一现象。果酒生产实践中常常通过向发酵基质中补充 DAP 来解决发酵缓慢或迟滞问题, 据报道这种外源补充 DAP 的方式不仅有助于酵母的生长和代谢, 而且有助于改善果酒香气风味的形成^[10,13]。因此, 我们也选择添加 DAP 到百香果果浆中, 观察其对改善百香果酒发酵过程的影响, 结果表明, 相较于对照组, 补充 400 mg/L DAP 后不仅缩短了百香果酒发酵周期, 导致总糖含量下降, 而且增加了果酒中的乙醇产量。Roca-mesa 等^[9]和 Barbosa 等^[24]在研究其他果酒发酵时也获得了同样的结果。显然, 我们认为补充 DAP 可以作为解决百香果酒发酵迟缓的有效方法之一。进一步地, 补充 DAP 后百香果酒发酵基质中的各类游离

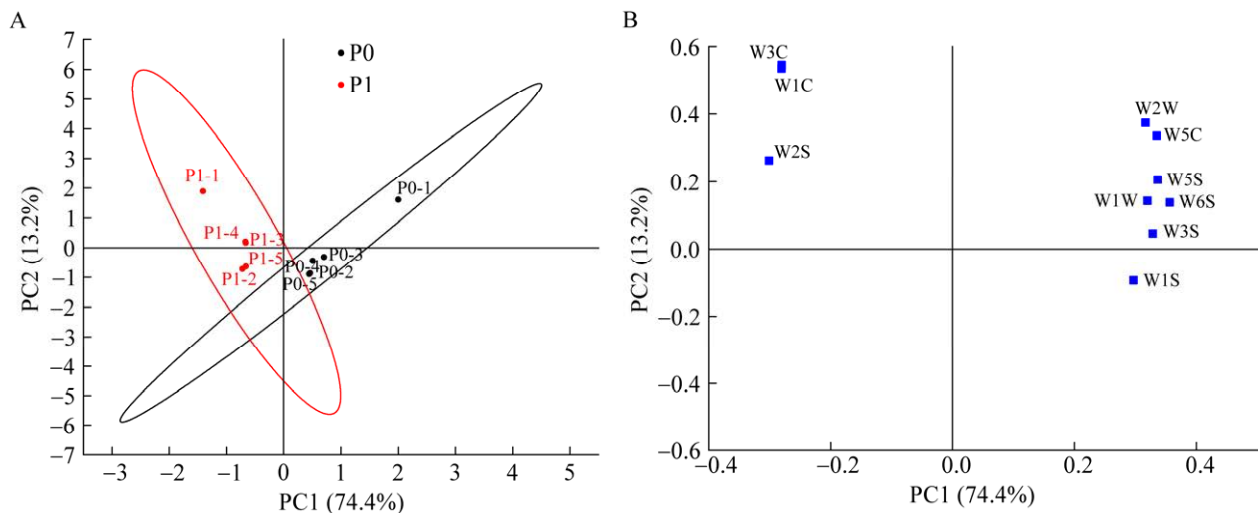


图 5 两组样品电子鼻主成分分析结果 A: 得分图. B: 载荷分析图

Figure 5 The Principal component analysis results of the electronic nose of the two groups of samples. A: Score plots. B: Loading analysis plots.

氨基酸消耗量和消耗比例均较对照组有着不同程度的上升(图 3), 其中谷氨酸、天冬氨酸和脯氨酸被酵母菌大量消耗, 这表明补充 DAP 促进了酵母对百香果果浆中氨基酸的进一步利用, 可能部分弥补了发酵基质中氮源成分或含量的不足, 从而提高了百香果酒的发酵性能, Su 等^[41]的工作也证实类似的结果。

Wang 等^[25]研究发现添加 DAP 提高了越橘酒中芳香化合物浓度, 本研究也发现添加 DAP 会对百香果酒风味产生积极的影响。采用 GC-MS 检测结合电子鼻数据表明(表 4 和图 5), 相较于未添加 DAP 的对照组, 补充 400 mg/L DAP 后的百香果酒高级醇和乙酸含量降低, 乙酸乙酯等酯类化合物、芳樟醇等萜烯类化合物的含量显著提升, 醛酮类化合物种类及含量均得到提高, 并且果酒中的花香和果香更浓郁, 整体香气属性更饱满, 这些与 Godillot 等^[45]和 Torrea 等^[58]的研究结果一致。因此, 我们认为在发酵基质中添加 DAP 可以改善百香果酒的风味, 提高其果酒的整体风味品质。

4 结论

(1) 补充 400 mg/L 的 DAP 可以缩短百香果酒发酵周期, 解决初期发酵迟滞缓慢的问题。

(2) 补充 DAP 后的百香果酒色泽变浅且澄清透明, 高级醇和乙酸含量降低, 降低了负面风味的影响。同时, 酯类、酮类和萜烯类成分整体含量增加, 赋予了百香果酒浓郁的花香、果香和柑橘香, 改善了果酒整体的风味和香气属性。因此, 补充 DAP 是改善百香果酒整体品质的有效手段之一。未来可以基于有机氮源、无机氮源和混合氮源等多种形式开展工作, 探讨不同类型的氮源补充方式对改善或提升百香果酒发酵性能及香气风味的效果。

REFERENCES

- [1] 潘葳, 刘文静, 韦航, 罗钦, 韦晓霞. 不同品种百香果果汁营养与香气成分的比较[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 277-286.
PAN W, LIU WJ, WEI H, LUO Q, WEI XX. Comparison of nutrition and aroma components of different varieties of passion fruit juice[J]. Food Science, 2019, 40(22): 277-286 (in Chinese).
- [2] ZHANG J, TAO SY, HOU GG, ZHAO FL, MENG QG, TAN SP. Phytochemistry, nutritional composition, health benefits and future prospects of *Passiflora*: a review[J]. Food Chemistry, 2023, 428: 136825.
- [3] TENG H, HE ZG, LI XY, SHEN WD, WANG JH, ZHAO D, SUN H, XU XL, LI CL, ZHA XQ. Chemical structure, antioxidant and anti-inflammatory activities of two novel pectin polysaccharides from purple passion fruit (*Passiflora edulia* Sims) peel[J]. Journal of Molecular Structure, 2022, 1264: 133309.
- [4] FONSECA AMA, GERALDI MV, JUNIOR MRM, SILVESTRE AJD, ROCHA SM. Purple passion fruit (*Passiflora edulis* f. *edulis*): a comprehensive review on the nutritional value, phytochemical profile and associated health effects[J]. Food Research International, 2022, 160: 111665.
- [5] FARID R, REZAIEYAZDI Z, MIRFEIZI Z, HATEF MR, MIRHEIDARI M, MANSOURI H, ESMAELLI H, BENTLEY G, LU YR, FOO Y, WATSON RR. Oral intake of purple passion fruit peel extract reduces pain and stiffness and improves physical function in adult patients with knee osteoarthritis[J]. Nutrition Research, 2010, 30(9): 601-606.
- [6] SANTOS RTS, BIASOTO ACT, RYBKA ACP, CASTRO CDPC, AIDAR ST, BORGES GSC, SILVA FLH. Physicochemical characterization, bioactive compounds, *in vitro* antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.)[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021(148): 111714.
- [7] 程宏楨, 蔡志鹏, 王静, 沈勇根, 卢剑青, 李晓明, 刘馥源, 徐弦, 安兆祥. 百香果全果酒发酵工艺优化及体外抗氧化性比较分析[J]. 中国酿造, 2020, 39(4): 91-97.
CHENG HZ, CAI ZP, WANG J, SHEN YG, LU JQ, LI XM, LIU FY, XU X, AN ZX. Optimization of fermentation process for whole passion fruit wine and comparative analysis of antioxidant activity *in vitro*[J].

- China Brewing, 2020, 39(4): 91-97 (in Chinese).
- [8] YE XF, ZHANG XY, HAO LF, LIN Q, BAO YY. Effects of different fermentation methods on the quality and microbial diversity of passion fruit wine[J]. Fermentation, 2023, 9(5): 439.
- [9] ROCA-MESA H, DELGADO-YUSTE E, MAS A, TORIJA MJ, BELTRAN G. Importance of micronutrients and organic nitrogen in fermentations with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 381: 109915.
- [10] BELL SJ, HENSCHKE PA. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(3): 242-295.
- [11] CHEN Y, ZENG WZ, MA WJ, MA W, ZHOU JW. Chromatin regulators Ahc1p and Eaf3p positively influence nitrogen metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 883934.
- [12] PÉREZ D, JAEHDE I, GUILLAMÓN JM, HERAS JM, QUEROL A. Screening of *Saccharomyces* strains for the capacity to produce desirable fermentative compounds under the influence of different nitrogen sources in synthetic wine fermentations[J]. Food Microbiology, 2021, 97: 103763.
- [13] JIMÉNEZ-MARTÍ E, ARANDA A, MENDES-FERREIRA A, MENDES-FAIA A, del OLMO ML. The nature of the nitrogen source added to nitrogen depleted vinifications conducted by a *Saccharomyces cerevisiae* strain in synthetic must affects gene expression and the levels of several volatile compounds[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2007, 92(1): 61-75.
- [14] REN J, WANG SY, NING Y, WANG MZ, WANG LY, ZHANG BL, ZHU BQ. The impact of over-maturation on the sensory and nutritional quality of Gouqi (Chinese wolfberry) wine. Journal of the Institute of Brewing, 2017, 124(1): 57-67.
- [15] ZHU WQ, ZHU BQ, LI Y, ZHANG YY, ZHANG BL, FAN JF. Acidic electrolyzed water efficiently improves the flavour of persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan) wine[J]. Food Chemistry, 2016, 197: 141-149.
- [16] 王孝荣, 罗佳丽, 潘年龙, 蒋和体. 草莓果酒酿造工艺的优化及其香气成分分析[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 196-201.
WANG XR, LUO JL, PAN NL, JIANG HT. Optimization of fermentation process for strawberry wine and analysis of aroma components[J]. Food Science, 2014, 35(7): 196-201 (in Chinese).
- [17] CHOI J, NOH E, LEE D, LEE Y, LEE KG. Effect of roasting after sugar-soaking on the level of volatile compounds, total polyphenol, total flavonoid, and isoflavones in black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 185: 115166.
- [18] GULER A. Effects of different maceration techniques on the colour, polyphenols and antioxidant capacity of grape juice[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134603.
- [19] 王琴飞, 李莉萍, 高玲, 王明, 应东山, 张如莲. 反相高效液相色谱法测定西番莲中的有机酸[J]. 热带作物学报, 2015, 36(8): 1511-1517.
WANG QF, LI LP, GAO L, WANG M, YING DS, ZHANG RL. Analysis of organic acids in passion fruit by reverse phase high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(8): 1511-1517 (in Chinese).
- [20] 张季, 杨沙, 罗玉航, 侯睿, 马新雨, 朱小兰. UPLC-MS/MS 法同时测定白酒中 21 种氨基酸的含量[J]. 中国酿造, 2024, 43(1): 250-254.
ZHANG J, YANG S, LUO YH, HOU R, MA XY, ZHU XL. Simultaneous determination of 21 amino acids in Baijiu by UPLC-MS/MS method[J]. China Brewing, 2024, 43(1): 250-254 (in Chinese).
- [21] 程宏楨, 蔡志鹏, 王静, 沈勇根, 卢剑青, 李晓明, 刘馥源, 徐弦, 安兆祥. 基于 GC-MS、GC-O 和电子鼻技术评价百香果酒香气特征[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 256-264.
CHENG HZ, CAI ZP, WANG J, SHEN YG, LU JQ, LI XM, LIU FY, XU X, AN ZX. Combined use of GC-MS, GC-O and electronic nose technology to evaluate the aroma characteristics of passion fruit wine[J]. Food Science, 2021, 42(6): 256-264 (in Chinese).
- [22] 谷佩珊, 陈亦新, 王春光, 朱雨莹, 常晓敏, 王思思, 朱保庆, 汪厚银. 发酵型和配制型山楂酒中主要呈香物质组成分析[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 326-335.
GU PS, CHEN YX, WANG CG, ZHU YX, CHANG XM, WANG SS, ZHU BQ, WANG HY. Analysis of major aroma compounds in fermented and prepared hawthorn wine[J]. Food Science, 2023, 44(14): 326-335 (in Chinese).
- [23] LIU SX, LAAKSONEN O, YANG BR. Volatile composition of bilberry wines fermented with non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces yeasts* in pure, sequential and simultaneous inoculations[J]. Food Microbiology, 2019, 80: 25-39.

- [24] BARBOSA C, FALCO V, MENDES-FAIA A, MENDES-FERREIRA A. Nitrogen addition influences formation of aroma compounds, volatile acidity and ethanol in nitrogen deficient media fermented by *Saccharomyces cerevisiae* wine strains[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108(2): 99-104.
- [25] WANG SY, LI YQ, LI T, YANG HY, REN J, ZHANG BL, ZHU BQ. Dibasic ammonium phosphate application enhances aromatic compound concentration in bog bilberry syrup wine[J]. Molecules, 2016, 22(1): 52.
- [26] PERLI T, WRONSKA AK, ORTIZ-MERINO RA, PRONK JT, DARAN JM. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Yeast, 2020, 37(4): 283-304.
- [27] REHMAN AU, KHAN AU, SOHAIB M, REHMAN H. Comparative analysis of nutritional properties, phytochemical profile, and antioxidant activities between red and green water chestnut (*Trapa natans*) fruits[J]. Foods, 2024, 13(12): 1883.
- [28] CORRÊA RCG, PERALTA RM, HAMINIUK CWI, MACIEL GM, BRACHT A, FERREIRA ICFR. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit)[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 58: 79-95.
- [29] ROY A, BHARADVAJA N. Effect of various culture conditions on shoot multiplication and GC-MS analysis of *Plumbago zeylanica* accessions for plumbagin production[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2018, 40(11): 190.
- [30] ZIELINSKI AAF, ÁVILA S, ITO V, NOGUEIRA A, WOSIACKI G, HAMINIUK CWI. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and *in vitro* antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics[J]. Journal of Food Science, 2014, 79(4): C510-C516.
- [31] SHERIDAN MK, ELIAS RJ. Exogenous acetaldehyde as a tool for modulating wine color and astringency during fermentation[J]. Food Chemistry, 2015, 177: 17-22.
- [32] ROJO MC, TALIA PM, LERENA MC, PONSONE ML, GONZALEZ ML, BECERRA LM, MERCADO LA, MARTIN-ARRANZ V, RODRIGUEZ-GOMEZ F, ARROYO-LOPEZ FN, COMBINA M. Evaluation of different nitrogen sources on growth and fermentation performance for enhancing ethanol production by wine yeasts[J]. Heliyon, 2023, 9(12): e22608.
- [33] YIN MQ, XU K, LUAN T, KANG XL, YANG XY, LI HX, HOU YH, ZHAO JZ, BAO XM. Metabolic engineering for compartmentalized biosynthesis of the valuable compounds in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbiological Research, 2024, 286: 127815.
- [34] YE YL, GONG YY, HUANG P, LUO F, GAN RY, FANG CY. Dynamic changes in the non-volatile and flavour compounds in withered tea leaves of three different colour cultivars based on multi-omics[J]. Food Chemistry, 2024, 449: 139281.
- [35] WANG WL, ZHOU XR, LIU Y. Characterization and evaluation of umami taste: a review[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 127: 115876.
- [36] BACHMANOV AA, BOSAK NP, GLENDINNING JI, INOUE M, LI X, MANITA S, McCAUGHEY SA, MURATA Y, REED DR, TORDOFF MG, BEAUCHAMP GK. Genetics of amino acid taste and appetite[J]. Advances in Nutrition, 2016, 7(4): 806S-822S.
- [37] CAVALLO E, CHARREAU H, CERRUTTI P, FORESTI ML. *Yarrowia lipolytica*: a model yeast for citric acid production[J]. FEMS Yeast Research, 2017, 17(8): fox084.
- [38] HERNÁNDEZ-ORTE P, IBARZ MJ, CACHO J, FERREIRA V. Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine[J]. Food Chemistry, 2005, 89(2): 163-174.
- [39] 侯阳阳, 杨哲皓, 张梦瑶, 刘洒洒, 江晓楠, 史荣超, 杨晓兵. 不同氨基酸对模拟葡萄汁发酵的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(10): 95-101.
- HOU YY, YANG ZH, ZHANG MY, LIU SS, JIANG XN, SHI RC, YANG XB. Effects of different amino acids on simulated grape juice fermentation[J]. Brewing in China, 2021, 40(10): 95-101 (in Chinese).
- [40] HU MY, WANG DY, TANG X, ZHANG QX, ZHAO JX, MAO BY, ZHANG H, CUI SM. Improving the utilization efficiency of nitrogen source through co-culture of *Lactobacillus* strains with different nitrogen source metabolisms[J]. LWT-Food Science and Technology, 2024, 191: 115701.
- [41] SU Y, HERAS JM, GAMERO A, QUEROL A, GUILLAMÓN JM. Impact of nitrogen addition on wine fermentation by *S. cerevisiae* strains with different nitrogen requirements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(21): 6022-6031.
- [42] CARRAU FM, MEDINA K, FARINA L, BOIDO E, HENSCHKE PA, DELLACASSA E. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces*

- cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains[J]. FEMS Yeast Research, 2008, 8(7): 1196-1207.
- [43] FAIRBAIRN S, McKINNON A, MUSARURWA HT, FERREIRA AC, BAUER FF. The impact of single amino acids on growth and volatile aroma production by *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2554.
- [44] EL-DALATONY MM, SAHA S, GOVINDWAR SP, ABOU-SHANAB RAI, JEON BH. Biological conversion of amino acids to higher alcohols[J]. Trends in Biotechnology, 2019, 37(8): 855-869.
- [45] GODILLOT J, BACONIN C, SANCHEZ I, BARAGATTI M, PEREZ M, SIRE Y, AGUERA E, SABLAYROLLES JM, FARINES V, MOURET JR. Analysis of volatile compounds production kinetics: a study of the impact of nitrogen addition and temperature during alcoholic fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1124970.
- [46] LIU SP, MA DL, LI ZH, SUN HL, MAO JQ, SHI Y, HAN X, ZHOU ZL, MAO J. Assimilable nitrogen reduces the higher alcohols content of Huangjiu[J]. Food Control, 2021, 121: 107660.
- [47] HUANG D, ZHONG Y, LIU YL, SONG YY, ZHAO XX, QIN Y. Reducing higher alcohols by integrating indigenous *Saccharomyces cerevisiae*, nitrogen compensation, and chaptalization methods during fermentation of kiwifruit wine[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 184: 115059.
- [48] 耿红玲. 葡萄酒、果酒中挥发酸分析方法的研究[J]. 酿酒科技, 2017(8): 61-64.
- GENG HL. Study on the analytic methods of volatile acids in grape wine/fruit wine[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2017(8): 61-64 (in Chinese).
- [49] HERNANDEZ-ORTE P, BELY M, CACHO J, FERREIRA V. Impact of ammonium additions on volatile acidity, ethanol, and aromatic compound production by different *Saccharomyces cerevisiae* strains during fermentation in controlled synthetic media[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2006, 12(2): 150-160.
- [50] MENDES-FERREIRA A, BARBOSA C, FALCO V, LEÃO C, MENDES-FAIA A. The production of hydrogen sulphide and other aroma compounds by wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* in synthetic media with different nitrogen concentrations[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2009, 36(4): 571-583.
- [51] EVERS MS, ROULLIER-GALL C, MORGE C, SPARROW C, GOBERT A, VICHI S, ALEXANDRE H. Thiamine and biotin: relevance in the production of volatile and non-volatile compounds during *Saccharomyces cerevisiae* alcoholic fermentation in synthetic grape must[J]. Foods, 2023, 12(5): 972.
- [52] UGLIANO M, SIEBERT T, MERCURIO M, CAPONE D, HENSCHKE PA. Volatile and color composition of young and model-aged Shiraz wines as affected by diammonium phosphate supplementation before alcoholic fermentation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(19): 9175-9182.
- [53] JENKINS B, WEST JA, KOULMAN A. A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic acid (c15:0) and heptadecanoic Acid (c17:0) in health and disease[J]. Molecules, 2015, 20(2): 2425-2444.
- [54] CHEN XR, ZHAO XC, DENG YH, BU XJ, YE HQ, GUO N. Antimicrobial potential of myristic acid against *Listeria monocytogenes* in milk[J]. The Journal of Antibiotics, 2019, 72(5): 298-305.
- [55] ALVES E, SIMOES A, DOMINGUES MR. Fruit seeds and their oils as promising sources of value-added lipids from agro-industrial byproducts: oil content, lipid composition, lipid analysis, biological activity and potential biotechnological applications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021, 61(8): 1305-1339.
- [56] ULLAH N, SHAHZAD K, WANG MZ. The role of metabolic engineering technologies for the production of fatty acids in yeast[J]. Biology, 2021, 10(7): 632.
- [57] 刘沛通, 郑晓卫, 段长青, 陈博, 燕国梁. 不饱和脂肪酸对酿酒酵母生长及产香特性影响的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(15): 314-322.
- LIU PT, ZHENG XW, DUAN CQ, CHEN B, YAN GL. Research progress on the influence of unsaturated fatty acids on the growth and aroma production characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Science, 2020, 41(15): 314-322 (in Chinese).
- [58] TORREA D, VARELA C, UGLIANO M, ANCIN-AZPILICUETA C, LEIGH FRANCIS I, HENSCHKE PA. Comparison of inorganic and organic nitrogen supplementation of grape juice: effect on volatile composition and aroma profile of a Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* yeast[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1072-1083.
- [59] CULLERÉ L, CACHO J, FERREIRA V. An assessment of the role played by some oxidation-related

- aldehydes in wine aroma[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(3): 876-881.
- [60] GUO DY, ZHANG LH, PAN H, LI X. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of 2-phenylethylacetate from L-phenylalanine[J]. *Microbiology Open*, 2017, 6(4): e00486.
- [61] CHEN D, VONG WC, LIU SQ. Effects of branched-chain amino acid addition on chemical constituents in lychee wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2015, 50(12): 2519-2528.
- [62] SCHREIER P. Flavor composition of wines: a review[J]. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1979, 12(1): 59-111.
- [63] 张明霞, 吴玉文, 段长青. 葡萄与葡萄酒香气物质研究进展[J]. *中国农业科学*, 2008(7): 2098-2104.
ZHANG MX, WU YW, DUAN CQ. Advances in research on aroma substances in grapes and wines[J]. *Chinese Agricultural Sciences*, 2008(7): 2098-2104 (in Chinese).
- [64] MENDES-PINTO MM. Carotenoid breakdown products the-norisoprenoids-in wine aroma[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2009, 483(2): 236-245.
- [65] FENG S, GMITTER JR FG, GROSSER JW, WANG Y. Identification of key flavor compounds in *Citrus fruits*: a flavoromics approach[J]. *ACS Food Science & Technology*, 2021, 1(11): 2076-2085.
- [66] UGLIANO M, BARTOWSKY EJ, McCARTHY J, MOIO L, HENSCHKE PA. Hydrolysis and transformation of grape glycosidically bound volatile compounds during fermentation with three *Saccharomyces* yeast strains[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(17): 6322-6331.
- [67] CARRAU FM, MEDINA K, BOIDO E, FARINA L, GAGGERO C, DELLACASSA E, VERSINI G, HENSCHKE PA. *De novo synthesis of monoterpenes by Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 243(1): 107-115.
- [68] QU ZZ, ZHANG LL, ZHU SM, YUAN W, HANG JW, YIN D, TANG XC, ZHENG JY, WANG Z, SUN J. Overexpression of the transcription factor HAC1 improves nerolidol production in engineered yeast[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2020, 134: 109485.
- [69] LIU RJ, LIU YR, ZHU YX, KORTESNIEMI M, ZHU BQ, LI HH. Aromatic characteristics of passion fruit wines measured by E-nose, GC-quadrupole MS, GC-orbitrap-MS and sensory evaluation[J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3789.