



引用格式:金晓帆,商玉荟,朱萍,等. 无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分的影响[J]. 轻工学报,2018,33(5):20-29.

中图分类号:TS261.4 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.003

文章编号:2096-1553(2018)05-0020-10

无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分的影响

Effect of inorganic nitrogen sources supplementation on (non) volatile constituents in lychee wine

金晓帆¹,商玉荟¹,朱萍²,钟秋平¹

JIN Xiaofan¹, SHANG Yuhui¹, ZHU Ping², ZHONG Qiuping¹

1. 海南大学 食品学院,海南 海口 570228;

2. 海南大学 热带农林学院,海南 海口 570228

1. College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China

关键词:

无机氮源;荔枝酒;酿酒酵母;(非)挥发性成分

Key words:

inorganic nitrogen source; lychee wine; *Saccharomyces cerevisiae*; (non) volatile constituent

摘要:分别添加质量浓度范围为 60 ~ 360 mg/L 的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 于无核荔枝汁中,研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响,结果表明:1)添加不同质量浓度的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 可以不同程度地加快酿酒酵母对糖的消耗速率,缩短发酵时间,保持 pH 值在 3.55 ~ 3.67 范围内,提高乙醇和酯类物质的总量,降低甘油、琥珀酸和乙醛的产生量;2)首次检出 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮(DDMP)这一具有多种生理活性的功能性成分,明确了是无机氮源的添加促进了该物质的生成。

收稿日期:2018-07-23

基金项目:海南省自然科学基金资助项目(317013)

作者简介:金晓帆(1994—),女,山东省枣庄市人,海南大学硕士研究生,主要研究方向为食品发酵。

通信作者:钟秋平(1966—),男,福建省武平县人,海南大学教授,博士,主要研究方向为食品发酵。

Abstract: Supplementation of lychee juice was made with concentration in the range 60 ~ 360 mg/L of ammonium chloride, diammonium phosphate, respectively, the effects on the fermentation dynamics of *saccharomyces cerevisiae* and (non) volatile constituents produced during the fermentation of lychee wine were investigated. The results showed that addition of different concentrations of ammonium chloride and diammonium phosphate increased the rate of consumption sugar at different degrees, and shortened the yeast fermentation time. The alcohol content and total esters were increased significantly, whereas the glycerol, acetaldehyde and succinic acid was decreased obviously. A product of the Maillard reaction, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one (DDMP), which has various physiological functions, was detected for the first time in lychee wine. It proved that the supplementation of inorganic nitrogen source promoted the generation of the product.

0 引言

无核荔枝,系授粉受精后的幼果因对温度敏感,发生早期败育和种核退化而形成的完全无核的荔枝,近几年在海南发展迅速.无核荔枝采收期短,果皮易龟裂、褐变而导致腐烂损失^[1].无核荔枝肉厚、汁多,含糖量和可食率高,适合加工成果汁、罐头和果酒^[2].与果汁、水果罐头相比,果酒的增值效益更为显著^[3].利用无核荔枝酿制的果酒称为无核荔枝酒.因无核荔枝的氮源相对不足,利用其酿制的无核荔枝酒残糖含量高,风味欠佳^[4].

氮源是酿酒酵母生长和发酵过程中重要的营养物质,影响果酒的成分和感官品质.在酿酒过程中,当可同化氮源含量不足时,酿酒酵母发酵力弱,发酵过程缓慢, H_2S 和高级醇类物质生成量大,果酒的品质低;当可同化氮含量过高时,酿酒酵母发酵速率快,对人体有致癌作用的氨基甲酸乙酯、生物胺等有害物质与引起酒体口感尖酸苦涩的醋酸含量增加,使得成品果酒生物稳定性较差^[5].可同化氮源包括有机氮源和无机氮源,与有机氮源相比,无机氮源价廉易得.在众多的无机氮源中,以 NH_4^+ 形式存在的无机氮源能被酵母菌利用,而 NO_3^- 则需在还原成 NH_4^+ 后才能被酵母菌利用^[6].铵盐是一种富裕氮源,可以增加果酒中总可同化氮源的含量,调节可同化氮源中无机氮源和有机氮源的比例,促进酿酒酵母对氮源的合理利用.张

丹等^[7]研究发现,在果酒酿造过程中添加适量的铵盐可以增加挥发性香气物质的含量,降低具有中毒和麻醉作用的异戊醇的含量.曾朝珍等^[8]研究发现,在苹果酒白兰地酿造过程中添加无机氮源,可增强酵母菌的发酵动力,提高产品总酸和酒精度.因此,在无核荔枝酒发酵中添加适宜的无机氮源,将有助于酿酒酵母的生长,提高无核荔枝酒的产量和品质,并降低成本,提高经济效益.

鉴于此,本文拟在无核荔枝的酿酒过程中分别添加不同质量浓度的无机氮源 NH_4Cl 和 $(NH_4)_2HPO_3$,研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响,旨在进一步提高无核荔枝酒的品质,为果酒的产业化发展提供新的理论依据和参考.

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

实验材料:金澄无核荔枝,海南陆桥农业发展有限公司提供;酿酒酵母 DV10 (*Saccharomyces cerevisiae* DV10),果胶酶,上海杰兔工贸有限公司产.

实验试剂: NH_4Cl , $(NH_4)_2HPO_3$,均为分析纯,阿拉丁试剂有限公司产;甲醇(色谱纯),瑞典欧森巴克化学公司产;焦磷酸钠, NaH_2PO_3 等,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司产;酒精、乙酸和甘油测定试剂盒:R-biopharm AG, D-64297 Darmstadt, Germany,丙酮酸试剂

盒,南京建成生物工程研究所产。

1.2 仪器与设备

DS-200型组织捣碎机,上海垒固仪器有限公司产;HH4型数显恒温水浴锅,常州澳华仪器有限公司产;ILRH-250A型生化培养箱,韶关泰宏医疗器械有限公司产;AR124CN型电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司产;Sorvall Stratos型高速冷冻离心机,美国 Thermo 公司产;TG16-WS型高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产;PAL-1型手持糖度计,日本 ATAGO 公司产;FE20型实验室 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产;T6型新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司产;1260型液相色谱仪,6890-5975C型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司产。

1.3 实验方法

1.3.1 无核荔枝汁的制备 将去皮后的新鲜无核荔枝的果肉打浆,添加质量分数为 0.02% 的果胶酶,于 50 °C 条件下酶解 2 h,经纱布过滤除去果渣,添加蔗糖与苹果酸调整荔枝汁的糖度(°Brix)与 pH 值分别为 23.0% 和 3.50。根据所得的果汁体积添加适量皂土,静置 24 h,取上清液进行硅藻土抽滤,得澄清荔枝汁,接种前添加质量浓度为 200 mg/L 的偏重硫酸钠。

1.3.2 无核荔枝汁的发酵 将质量浓度为 60 mg/L, 120 mg/L, 240 mg/L, 360 mg/L 的 NH_4Cl (分别以 A-60, A-120, A-240, A-360 表示) 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ (分别以 B-60, B-120, B-240, B-360 表示) 分别添加至无核荔枝汁(已于 100 °C 条件下灭菌 15 min) 中,冷却后接入质量浓度为 0.2 g/L 活化好的酿酒酵母 DV10,于 20 °C 恒温条件下发酵,以不添加无机氮源的无核荔枝汁发酵液作为空白组(CK)。

1.3.3 酿酒酵母生长曲线与糖耗曲线的绘制

取 1 mL 无核荔枝汁发酵液,于 3 000 r/min 条件下离心 15 min 后得酿酒酵母沉淀物,添加

蒸馏水洗涤,以同样条件离心两次得最终酿酒酵母沉淀物,于 80 °C 条件下烘干至恒重,以酿酒酵母质量为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制酿酒酵母生长曲线。

用手持糖度计每 d 测定无核荔枝汁发酵液可溶性固形物的含量,以可溶性固形物含量为纵坐标,培养时间为横坐标,绘制可溶性固形物的变化趋势——酿酒酵母糖耗曲线。

1.3.4 发酵代谢产物质量浓度的测定 分别取各处理样品 1 mL,于 6000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液,稀释适当的倍数后,按照检测试剂盒说明书测定丙酮酸、乙酸、甘油、乙醇的质量浓度。

采用高效液相色谱法测定苹果酸、柠檬酸、琥珀酸的质量浓度。色谱柱为 Zorbax SB-aq (250 mm × 4.6 mm × 5 μm),流动相为 0.01 mol/L ($\text{V}(\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_3(\text{pH}=2.62))$): $\text{V}(\text{甲醇})=97:3$,柱温 30 °C,流速 0.8 mL/min,进样量 15 μL,检测波长 215 nm。

1.3.5 挥发性物质的测定 采用气质联用仪器进行测定,选用 AB-INowax (30.0 m × 250 μm × 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱。柱温 45 °C (保留 2 min),以 4 °C/min 升温至 230 °C,保持 20 min;汽化室温度 250 °C;载气为高纯 He (99.999%);柱前压 5.08 psi,载气流量 1.0 mL/min;进样量 1 μL;溶剂延迟时间 1.5 min。离子源为 EI 源;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;电子能量 70 eV;发射电流 34.6 μA;倍增电压 1618 V;接口温度 280 °C;扫描质量范围 20~450 amu。

对总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对 Nist2008 和 Wiley275 标准质谱图,确定挥发性化学成分,用峰面积归一化法测定各化学成分的相对质量分数。

1.4 数据分析

所有分析数据为各组处理三次重复的平均

值,利用 SPSS 18.0 进行方差分析(ANOVA),各平均值利用 Duncan 多重比较检验进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P > 0.05$ 为差异不显著。

2 结果与分析

2.1 无机氮源对酿酒酵母生长与糖耗的影响

酿酒酵母生长曲线见图 1。由图 1 可知,经 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理后的酿酒酵母在发酵前期呈现出快速生长的状态,当二者质量浓度为 240 ~ 360 mg/L 时,酿酒酵母的生长尤为迅速。经 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理后的酿酒酵母,其最大生长量分别为 6.7 ~ 6.9 mg/mL 和 7.1 ~ 7.4 mg/mL, NH_4Cl 处理组与 CK 空白组 (6.7 mg/L) 差异不明显 ($P > 0.05$),而 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理组较 CK 空白组增加了 5.9% ~ 10.4%。经无机氮源处理后的酿酒酵母,其最大生长量出现的时间较 CK 空白组提早了 1 d。由此可见,无机氮源的添加可加快酿酒酵母的发酵进程,这与韩东等^[9]研究发现的添加无机氮源可加快酿酒酵母发酵速度的结果一致。酿酒酵母发酵速度加快的原因可能与适宜

浓度的氮为酿酒酵母提供了充足的氮源有关。

可溶性固形物含量随发酵时间变化情况见图 2。由图 2 可知,所有无机氮源处理组的可溶性固形物消耗速率均快于 CK 空白组。随着 NH_4Cl 质量浓度的增加,可溶性固形物消耗速率呈现先加快后减慢的趋势,并且在 NH_4Cl 质量浓度为 240 mg/L 时消耗速率最快; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理组的可溶性固形物消耗速率逐渐加快,当 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 质量浓度高于 240 mg/L 时,其可溶性固形物减少趋势变缓。这表明:氮浓度过低会降低糖消耗速率,提高无核荔枝酒发酵过程中无机氮源的浓度,促进糖代谢进程。

2.2 无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度和甘油质量浓度的影响

无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度的影响见图 3 a)。由图 3 a) 可知,添加无机氮源后,无核荔枝酒的酒精度均有不同程度的提高。与 CK 空白组相比, NH_4Cl 质量浓度为 120 mg/L 的处理组的酒精度(酒精的质量分数)最高(13.4%),其余处理组的酒精度在 12.5% ~ 12.9% 之间。 NH_4^+ 是酿酒酵母较好的氮源,有

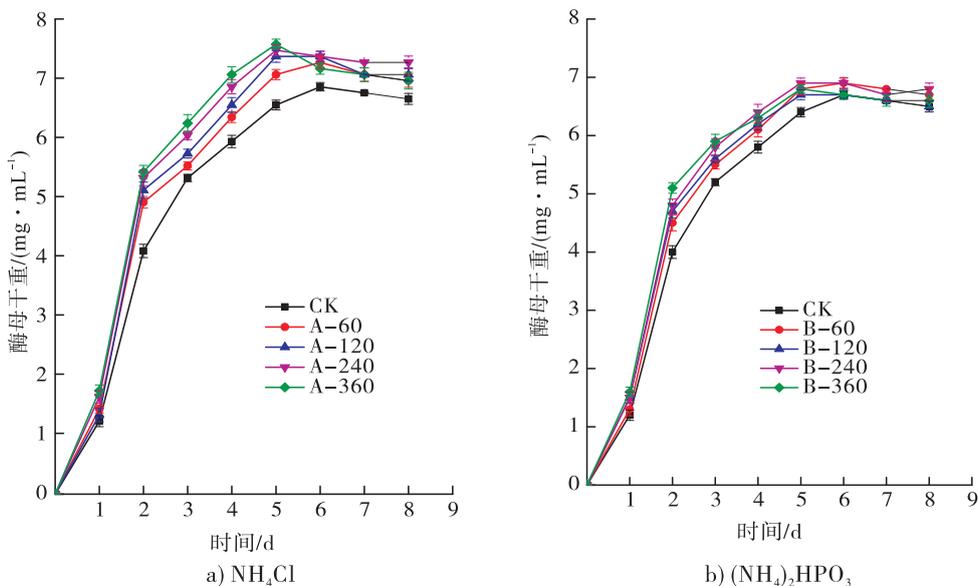


图 1 酿酒酵母 DV10 生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *Saccharomyces cerevisiae* DV10

利于酿酒酵母对有机氮源的吸收,能促进酿酒酵母的生长与乙醇的生成^[10]. 在相同发酵条件下, NH_4Cl 处理组的酒精度上升程度更为明显, 表明酿酒酵母对 NH_4Cl 的利用率更高.

添加无机氮源对无核荔枝酒甘油质量浓度的影响见图 3 b), 由图 3 b) 可知, 与 CK 空白组相比, 无机氮源处理组的甘油质量浓度显著降低 ($P < 0.05$), 其变化范围在 6.15 ~

6.58 mg/mL 之间, 当无机氮源质量浓度超过 240 mg/L 后, 甘油的质量浓度不再发生改变. 在酒精发酵中, 甘油是由二羟丙酮磷酸 (DHAP) 经过两个步骤产生, 它的存在可维持酵母细胞细胞质的氧化还原平衡^[11]. 加入的无机氮源可以作为渗透压保护剂, 降低酿酒酵母对甘油生成的需要, 从而导致甘油质量浓度的降低.

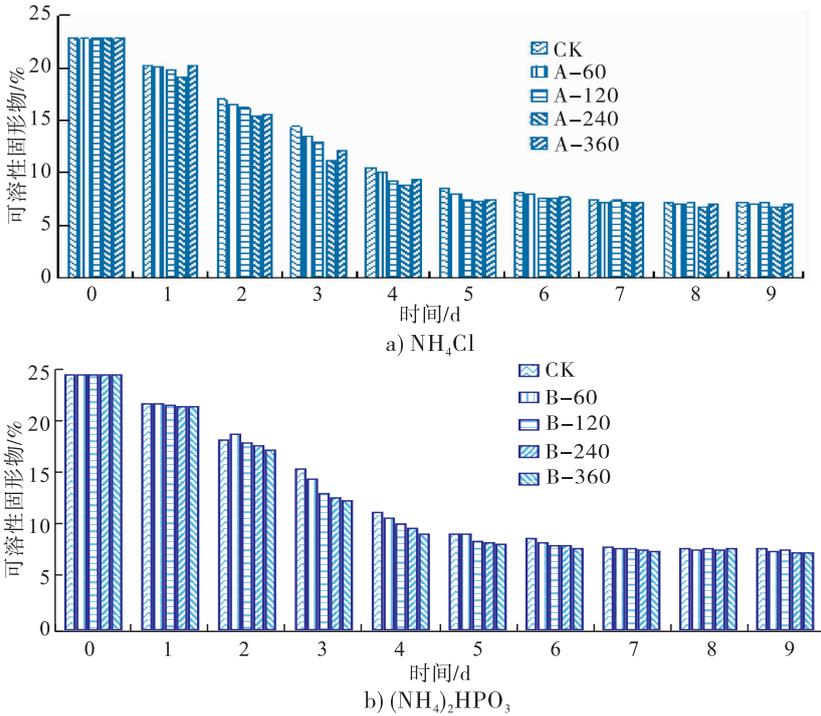


图 2 可溶性固形物含量随发酵时间变化图

Fig. 2 Changes of consumption of soluble solid content during fermentation

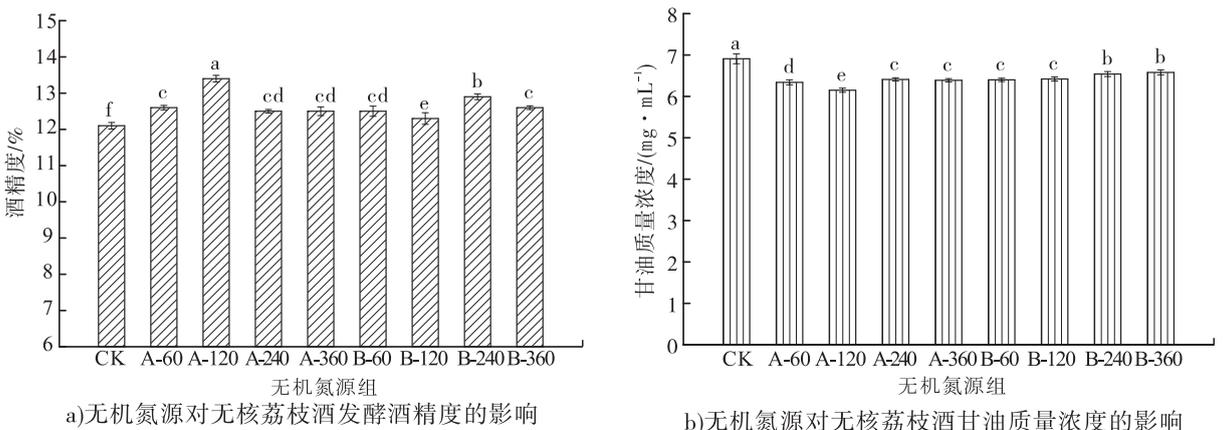


图 3 无机氮源对无核荔枝酒发酵酒精度和甘油质量浓度的影响

Fig. 3 Effect of inorganic nitrogen sources on alcohol degree and glycerol mass concentration during the fermentation of lychee wine

2.3 无机氮源对无核荔枝酒 pH 值与主要有机酸的影响

无核荔枝酒中的 pH 值与有机酸质量浓度见表 1,表中同列数据间不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),相同小写字母表示差异不显著($P > 0.05$).由表 1 可知,发酵结束后荔枝酒的 pH 值在 3.61 ~ 3.67 范围内,与 CK 空白组相比,除添加质量浓度为 60 mg/L 的 NH_4Cl 样品组的 pH 值显著降低以外,其余无机氮源处理组的 pH 值均显著增加($P < 0.05$).

无核荔枝酒中含有较高的苹果酸和琥珀酸(见表 1).苹果酸酸味爽口,呈味较强且时间长.添加 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 对无核荔枝酒中的苹果酸含量影响相差较大,苹果酸质量浓度最大值与最小值之间相差约 1 g/L.琥珀酸味道复杂,既苦又咸,富有味觉特征,适量的琥珀酸赋予酒体醇厚感,但过量对酒体的品质有负面影响.与 CK 空白组相比,发酵结束后,两种无机氮处理组的琥珀酸含量均显著降低($P < 0.05$),表明添加适量的无机氮源可以降低无核荔枝酒的咸苦味.酒石酸在影响果酒的稳定性方面具有重要作用,随着无机氮浓度的增加,酒石酸含量呈现先增加后减少的趋势,其质量浓度变化范围为 0.35 ~ 0.44 g/L.除添加质量浓度为 60 mg/L 的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理组的酒石酸含量与 CK 空白组相比显著增加外,

其余无机氮源处理组的酒石酸含量均显著降低($P < 0.05$).而对于非主体酸柠檬酸和丙酮酸而言,添加无机氮源对它们的影响相对较小.

2.4 无机氮源对无核荔枝酒挥发性成分的影响

2.4.1 酯类化合物

酯类化合物是构成果酒香气的重要物质,对酒体产生积极的作用^[12].酯类物质在酿酒酵母代谢中,主要由乙酰辅酶 A 酵解和氨基酸的碳骨架生成^[4].无核荔枝酒中挥发性成分的相对百分含量见表 2.由表 2 可知,一共检出 28 种酯类物质.与 CK 空白组相比,无机氮源处理组的挥发性酯类化合物总的相对百分含量有不同程度的提高.无机氮源处理组中具有不同果香味和甜蜜香味的乙酸异戊酯、乙酸乙酯、辛酸乙酯的相对百分含量都有不同程度的提高,2-苯乙醇乙酸酯、丁酸-3-羟基-乙基酯、七叶内酯、氰酸乙酯、壬酸乙酯和棕榈酸甲酯只在 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 处理组中存在,而已酸乙酯、乙酸苯乙酯为 NH_4Cl 处理组特有的脂类物质.由此可见,添加无机氮源对无核荔枝酒的酯类成分有一定的调节作用,在酿造过程中可以根据需要进行选择.

2.4.2 醇类化合物

高级醇是果酒香气的重要组成部分,在酿酒酵母发酵过程中由氨基酸和糖代谢产生.酒体中高级醇含量过高会对人

表 1 无核荔枝酒中的 pH 值与有机酸质量浓度

Table 1 The pH value and organic acids mass concentration of lychee wine

样品	pH 值	苹果酸质量 浓度/(g · L ⁻¹)	琥珀酸质量 浓度/(g · L ⁻¹)	酒石酸质量 浓度/(g · L ⁻¹)	柠檬酸质量 浓度/(g · L ⁻¹)	丙酮酸质量 浓度/(g · L ⁻¹)
CK	3.59 ± 0.01 ^e	4.80 ± 0.19 ^{bc}	1.28 ± 0.10 ^a	0.38 ± 0.01 ^c	0.19 ± 0.06 ^c	0.17 ± 0.00 ^b
A-60	3.55 ± 0.01 ^f	4.94 ± 0.07 ^c	1.15 ± 0.03 ^c	0.43 ± 0.01 ^a	0.19 ± 0.00 ^c	0.17 ± 0.00 ^b
A-120	3.61 ± 0.01 ^d	4.39 ± 0.02 ^f	1.02 ± 0.01 ^e	0.38 ± 0.01 ^c	0.20 ± 0.00 ^c	0.17 ± 0.00 ^b
A-240	3.63 ± 0.00 ^{bc}	4.52 ± 0.08 ^{ef}	0.99 ± 0.01 ^f	0.37 ± 0.00 ^c	0.21 ± 0.01 ^c	0.17 ± 0.00 ^b
A-360	3.61 ± 0.01 ^d	4.83 ± 0.04 ^{bc}	1.09 ± 0.02 ^d	0.35 ± 0.00 ^d	0.24 ± 0.00 ^a	0.16 ± 0.01 ^b
B-60	3.67 ± 0.01 ^a	5.24 ± 0.02 ^b	1.20 ± 0.02 ^b	0.44 ± 0.01 ^a	0.24 ± 0.00 ^a	0.21 ± 0.01 ^a
B-120	3.67 ± 0.01 ^a	5.41 ± 0.02 ^a	1.14 ± 0.01 ^c	0.40 ± 0.00 ^b	0.22 ± 0.00 ^b	0.16 ± 0.01 ^b
B-240	3.65 ± 0.01 ^b	5.16 ± 0.02 ^b	0.95 ± 0.02 ^e	0.37 ± 0.00 ^c	0.17 ± 0.00 ^d	0.17 ± 0.00 ^b
B-360	3.62 ± 0.01 ^{cd}	4.68 ± 0.08 ^e	0.86 ± 0.01 ^b	0.35 ± 0.00 ^d	0.17 ± 0.01 ^d	0.15 ± 0.00 ^c

表2 无核荔枝酒中挥发性成分的相对百分含量

Table 2 Relative constituents of volatile components in lychee wine

%

化合物种类	挥发性成分	CK A-240 B-240			化合物种类	挥发性成分	CK A-240 B-240		
		CK	A-240	B-240			CK	A-240	B-240
酯类化合物	棕榈酸乙酯	0.04	0.04	0.05	醇类化合物	乙醇	54.33	56.8	58.12
	棕榈酸甲酯	—	—	0.02		仲辛醇	3.02	2.31	2.75
	乙酸异戊酯	0.04	0.09	0.07		正己醇	0.01	—	0.02
	乙酸乙酯	0.10	0.15	0.26		正辛醇	0.04	0.03	0.02
	乙酸苯乙酯	—	0.09	—		正庚醇	0.03	0.01	0.04
	乙基-9-癸烯酸酯	0.08	0.05	0.04		正丁醇	0.01	0.01	0.02
	辛酸乙酯	0.08	0.22	0.07		正戊醇	0.01	—	—
	辛酸甲酯	0.02	0.01	0.02		异丁醇	0.69	0.36	0.32
	壬酸乙酯	—	—	0.02		乙酰甲基原醇	—	—	0.04
	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇双异丁酸酯	0.02	0.05	—		三甲基硅醇	0.10	0.14	0.11
	十三酸甲酯	0.01	0.01	—		芳樟醇	0.01	0.01	0.01
	氰酸乙酯	—	—	0.05		丙醇	0.05	0.12	0.18
	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇苯甲酸酯	0.03	0.04	—		DL-3,4-二羟基苯基二醇	—	0.01	0.02
	1,2-苯二甲酸二(2-甲基-丙基)酯	0.02	0.03	—		6,10-二甲基-4-十一烷醇	—	0.01	0.25
	七叶内酯	—	—	0.02		3-乙氧基-1-丙醇	—	0.03	0.05
	磷酸三丁酯	0.13	0.15	0.02		3-甲基丁醇	1.91	2.34	2.11
	癸酸乙酯	0.07	0.07	0.07		3-甲基-1-戊醇	0.01	—	0.02
	硅酸乙酯二(三甲基硅基)酯	—	—	0.04		2-乙基-1-己醇	0.04	0.01	0.02
	二甲基硅烷二醇二乙酸酯	0.35	0.45	0.40		(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇	—	0.04	—
	丁酸乙酯	0.01	0.01	0.02		2-壬醇	—	—	0.02
	丁酸-3-羟基-乙基酯	—	—	0.02		2-甲基-1-丁醇	—	1.46	0.77
	2-氧代丙酸乙酯	—	0.01	0.02		2-壬醇	—	0.01	—
	2-苯乙醇乙酸酯	—	—	0.07		十一醇	—	0.01	—
	1,3-丙二醇双乙酸酯	0.01	0.01	0.02		苯乙醇	0.88	0.67	1.05
	3-羟基丁酸乙酯	0.04	0.08	—		1-辛烯-3-醇	0.09	0.15	0.14
	己酸乙酯	—	0.12	—		月桂醇	0.02	—	0.02
	羟基乙酸乙酯	0.02	—	—		3-甲基-2-庚醇	0.01	—	—
	癸酸甲酯	0.01	—	—		3-甲基-1-十二炔-3-醇	0.01	—	—
硫化物	二甲基硫醚	0.26	0.36	0.01	2-亚甲基环丙基乙醇	0.03	—	—	
	3-甲硫基丙醇	0.01	0.01	—	1-己烯-3-醇	0.11	—	—	
烷类化合物	十三烷	0.01	0.03	0.02	(R)-3,7-二甲基-6-辛烯醇	—	—	0.05	
	十六烷	0.02	0.14	0.02	酸类化合物	乙酸	1.87	0.81	0.95
	十甲基环五硅氧烷	0.10	0.20	0.11		辛酸	0.20	0.30	0.25
	十二甲基环六硅氧烷	0.05	0.09	0.07		己酸	0.01	0.01	—
	六甲基环三硅氧烷	0.11	0.27	0.11		乙醛	0.40	0.37	0.33
	八甲基环四硅氧烷	0.21	0.19	0.14		香草醛	0.02	—	0.02
	4,5-二甲基-1,3-二噁烷	—	0	0.02		天竺葵醛	0.01	0.01	0.02
	1-乙氧基-1-甲氧基乙烷	—	0	0.04		苯甲醛	0.01	0.01	0.02
	二甲基二甲氧基硅烷	0.01	0.01	—		2,5-二羟基苯甲醛	0.04	0.04	0.02
	2,3-二甲基壬烷	0.01	0.01	—		乙缩醛	0.02	0.01	0.02
	1-乙氧基-1-甲氧基乙烷	0.01	0.01	—		正辛醛	—	0.03	—
	1,1-二乙氧基乙烷	0.02	0.05	0.09		糠醛	0.03	—	—
	1,1-二甲基环戊烷	—	0	0.02		苯乙醛	0.01	—	—
	十四甲基六硅氧烷	0.03	—	—		2-辛酮	0.02	0.01	0.02
十四甲基环五硅氧烷	0.05	—	—	其他		2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮	0.03	0.05	0.06
					2,4-二叔丁基苯酚	0.09	0.16	0.11	

注：“—”表示未检出

体造成危害,但含量过少则会导致风味单薄^[13].由表2可知,在无核荔枝酒检出的醇类物质中,除乙醇外,主要醇类物质有仲辛醇、异丁醇、苯乙醇和3-甲基丁醇等.苯乙醇含量较高且具有玫瑰花香,仲辛醇有甜味和淡淡的花香,适量的仲辛醇存在于果酒中可使果酒具有一定的回甜感,而3-甲基丁醇和异丁醇则有让人不愉快的气味.

2.4.3 酸类化合物 由表2可知,无核荔枝酒中的挥发性酸类物质有乙酸、己酸和辛酸3种,果酒中的乙酸主要来源于醋酸菌的氧化、酿酒酵母的代谢和异型乳酸发酵.根据QB/T 4262的规定,荔枝酒挥发酸的质量浓度应低于1.2 g/L.对于果酒而言,当挥发酸质量浓度高于0.8 g/L时,可明显感到不怡人的风味.与CK空白组相比,添加质量浓度为240 mg/L的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 显著降低了无核荔枝酒中乙酸的相对百分含量.其原因可能是添加适量的无机氮源抑制了酿酒酵母中乙醛脱氢酶的作用,导致酒体中醋酸含量降低.己酸属低级脂肪酸,对无核荔枝酒的风味有一定贡献作用,添加 NH_4Cl 的无核荔枝酒中己酸含量与CK空白组差别不显著,而添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的无核荔枝酒中未检出己酸.辛酸具有令人不愉快的气味,但它可以与醇类结合生成酯类,是提高果酒品质的重要保障^[6],添加 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的无核荔枝酒中辛酸的含量明显高于CK空白组.

2.4.4 羰基化合物 乙醛是无核荔枝酒中主要的羰基化合物.适量的乙醛有助于果酒风味的形成,但过量乙醛会给果酒带来不成熟的口感甚至是辛辣感.由表2可知,添加 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 降低了乙醛的相对百分含量;具有玫瑰和橙皮香气的正辛醛仅在 NH_4Cl 处理组中被检出,而糠醛和苯乙醛仅在CK空白组中检出;其他羰基化合物相对百分含量变化不大.

2.4.5 硫化物 无核荔枝酒中仅检出二甲基

硫醚和3-甲硫基丙醇两种硫化物.添加 NH_4Cl 明显提高了二甲基硫醚的相对百分含量,而 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 则显著降低了二甲基硫醚的相对百分含量;3-甲硫基丙醇未在添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的处理组中检出.

2.4.6 烷类化合物 无核荔枝酒中共检出15种烷类化合物(见表2).主要的烷类化合物为八甲基环四氧硅烷、六甲基环三硅氧烷和十甲基环五硅氧烷.添加 NH_4Cl 增加了六甲基环三硅氧烷和十甲基环五硅氧烷的相对百分含量,降低了八甲基环四氧硅烷的相对百分含量.而添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 仅降低了八甲基环四氧硅烷的相对百分含量,对其他两种主要烷类化合物几乎没有影响.

2.4.7 其他化合物 令人感兴趣的是,在无核荔枝酒中首次检出了2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-(吡喃)-4-酮(DDMP)这一具有极强的抗氧化、抑菌、抑酶等多种生理活性的功能性成分^[14,15], NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的添加均促进了该物质的生成,这可能与无机氮源的添加节约了形成DDMP的前体物质氨基酸等有机氮有关.但该物质的含量偏低,如何进一步提高无核荔枝酒中DDMP的含量,改善荔枝酒的功能品质,是值得继续研究的课题.

2.5 无核荔枝酒主成分分析结果

主成分分析法主要用于分析添加无机氮源与主要挥发性物质之间的相关性.主成分分析法是将检出的众多挥发性物质进行降维处理,找出若干个综合因子来代表原来众多的变量,使得这些综合因子尽可能多地反映原来变量的信息(而彼此之间互不相干).之后,对降维处理的特征向量进行线性分类,最后在PCA分析的散点图上显示主要的二维散点图,以达到简化的目的^[16].第1主成分(PC1)和第2主成分(PC2)包含了在转换中得到的第1主成分和第2主成分的贡献率,贡献率越大,表明降维后的

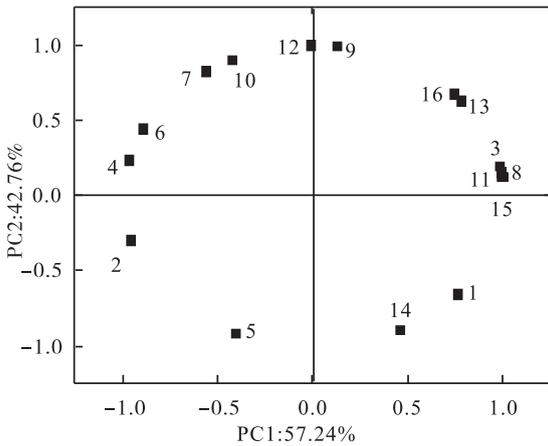
综合指标能更多地反映原来多指标的信息. CK 空白组与添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图见图 4, 其中, 1 代表乙醇; 2 代表仲辛醇; 3 代表 3 - 甲基丁醇; 4 代表乙酸; 5 代表苯乙醇; 6 代表异丁醇; 7 代表乙醛; 8 代表二甲基硅烷二醇二乙酸酯; 9 代表二甲基硫醚; 10 代表八甲基环四氧硅烷; 11 代表辛酸; 12 代表磷酸三丁酯; 13 代表六甲基环三硅氧烷; 14 代表乙酸乙酯; 15 代表 2 - 甲基 - 1 - 丁醇; 16 代表辛酸乙酯. 由图 4 可知, PC1 解释了酒样之间 57.24% 的差异, PC2 解释了酒样之间

42.76% 的差异. 不补充无机氮源的对照 CK 空白组与乙酸、异丁醇、乙醛、八甲基环四氧硅烷、磷酸三丁酯分布在 PC2 的左上半部分; 添加质量浓度为 240 mg/L 的 NH_4Cl 的处理组与 3 - 甲基丁醇、二甲基硅烷二醇二乙酸酯、二甲基硫醚、辛酸、辛酸乙酯则分布在 PC1 的右上半部分; 添加质量浓度为 240 mg/L 的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的处理组与乙醇、乙酸乙酯则分布在 PC1 的右下半部分. 由此可见, 主成分分析可以将不补充无机氮源的对照 CK 空白组与添加了质量浓度为 240 mg/L 的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 的处理组区分开来.

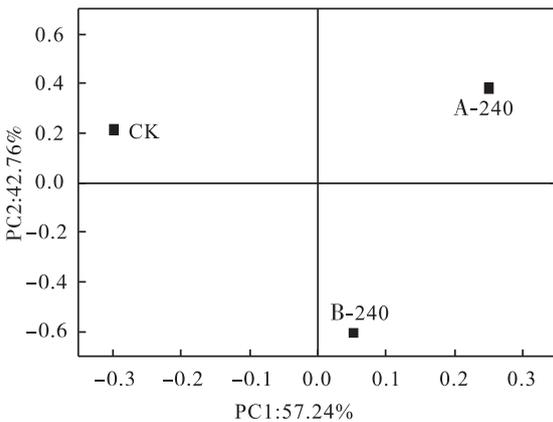
3 结论

本文以无核荔枝为原料, 在所制备的无核荔枝酒发酵过程中分别添加质量浓度范围为 60 ~ 360 mg/L 的无机氮源 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$, 研究其对酿酒酵母发酵动力和成品荔枝酒中(非)挥发性成分的影响. 结果表明: 添加不同质量浓度的 NH_4Cl 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_3$ 可以不同程度地加快酿酒酵母对糖的消耗速率, 缩短发酵时间, 保持 pH 值在 3.55 ~ 3.67 范围内, 提高乙醇和酯类物质的总量, 降低甘油、琥珀酸和乙醛的产生量. 同时, 本研究首次检出 2,3 - 二氢 - 3,5 - 二羟基 - 6 - 甲基 - 4H - (吡喃) - 4 - 酮(DDMP)这一具有多种生理活性的功能性成分, 而无机氮源的添加促进了该物质的生成. 因此, 在无核荔枝酒的酿造过程中, 添加适宜浓度的无机氮源对无核荔枝酒的安全生产和品质提升均有一定的正向调节作用.

本研究有望填补无机氮源对无核荔枝酒(非)挥发性成分影响已有研究的不足, 为果酒的研究和产业化发展提供新的理论依据和参考, 丰富果酒产品的多样性, 推进新型果酒产业化生产的进程.



a) 无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图



b) 添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图

图 4 无核荔枝酒与添加无机氮源的无核荔枝酒中主要挥发性物质的双标图

Fig. 4 Bi-plot of principal component analysis of the main volatile compounds in lychee wine and lychee wine supplemented with inorganic nitrogen

参考文献:

- [1] SHANG Y H, ZHU P, ZHONG Q P, et al. Acetate metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* at different temperatures during lychee wine fermentation[J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2016, 30(3):512.
- [2] 商玉荟. 可同化氮对无核荔枝酒发酵品质的影响研究[D]. 海口:海南大学, 2017.
- [3] 钟秋平, 方佳. 低温发酵荔枝澄清汁酿制优质荔枝酒[J]. *热带作物学报*, 2005, 26(3):74.
- [4] 张斌, 曾新安, 陈勇. 氨基酸对荔枝酒风味的影响[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(9):216.
- [5] SMIT I, PFLIEHINGER M, BINNER A, et al. Nitrogen fertilisation increases biogenic amines and amino acid concentrations in *Vitis vinifera* var Riesling musts and wines[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2014, 94(10):2064.
- [6] 于占学. 营养盐添加对酵母的发酵影响初探[D]. 长春:吉林大学, 2012.
- [7] 张丹, 锁然, 范力欣, 等. 可同化氮素对固态发酵枣酒高级醇的影响[J]. *酿酒科技*, 2013(11):15.
- [8] 曾朝珍, 张永茂, 康三江, 等. 不同氮源及浓度对苹果白兰地酒发酵的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(8):205.
- [9] 韩东, 李红, 景建洲. 不同氮源与浓度对苹果啤酒发酵及风味的影响[J]. *酿酒科技*, 2015(10):5.
- [10] 周光荣, 杨雪峰, 段雪荣, 等. 葡萄酒发酵过程中氮源的控制与管理[J]. *科技创新与应用*, 2014, 24:287.
- [11] PAMPULHA M E, LOUREIRO-DIAS M C. Energetics of the effect of acetic acid on growth of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Fems Microbiology Letters*, 2000, 184(1):69.
- [12] MATO I, SUÁREZ-LUQUE S, HUIDOBRO J F. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines[J]. *Food Research International*, 2005, 38(10):1175.
- [13] 程军, 秦伟帅, 赵新节. 葡萄酒酿造中高级醇的形成机制与调节[J]. *中国酿造*, 2011, 30(12):9.
- [14] HIRAMOTO K, NASUHARA A, MICHIKOSHI K, et al. DNA strand-breaking activity and mutagenicity of 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (DDMP), a Maillard reaction product of glucose and glycine[J]. *Mutation Research*, 1997, 395:47.
- [15] TAKARA K, OTSUKA K, WADA K, et al. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory effects of constituents of sugarcane molasses[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2007, 71:183.
- [16] 唐会周. 电子鼻在水果品质评价体系中的应用研究进展[J]. *食品与包装机械*, 2011, 29(1):51.