

苹果醋发酵过程中 L-苯丙氨酸促进 乙酸-2-苯乙酯的合成

宋娟, 张霁红, 康三江, 曾朝珍, 张海燕, 袁晶, 张芳, 黄玉龙

(甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃兰州 730070)

摘要: 为了初步研究食品添加剂 L-苯丙氨酸对苹果醋发酵过程中的特征性香气成分乙酸-2-苯乙酯的合成途径及关键酶活的影响, 采用 HS-SPME-GC-MS 和 ELISA, 检测各合成相关基质生成量和关键酶活性的变化。结果表明, 不同添加量的 L-苯丙氨酸有明显促进乙酸-2-苯乙酯及其相关合成基质生成量积累的作用, 并且对 ADH、AAT 的酶活性也有一定的促进作用, 而对 Esterase 酶活性有抑制作用。其中当 L-苯丙氨酸添加量为 8 g/L 时, 乙酸-2-苯乙酯生成量显著提高了 43.76%~86.59%。因此, 本试验初步将 8 g/L 作为 L-苯丙氨酸的最佳添加量, 初步推测 L-苯丙氨酸通过醇酰基转移酶途径促进乙酸-2-苯乙酯的合成及其相关基质和关键酶活的生成量, 赋予苹果醋产品更多独特的香气和风味, 为生产工艺提供一定的参考依据。

关键词: 苹果醋; L-苯丙氨酸; 乙酸-2-苯乙酯; 合成途径

文章编号: 1673-9078(2019)01-58-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.009

L-phenylalanine-induced the Synthetic of Acetic Acid-2-phenyl Ethyl Ester in Apple Vinegar Fermentation

SONG Juan, ZHANG Ji-hong, KANG San-jiang, ZENG Chao-zhen, ZHANG Hai-yan, YUAN Jin, ZHANG Fang,
HUANG Yu-long

(Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou
730070, China)

Abstract: In order to study the effects of L-phenylalanine (a food additive) on the synthetic pathway and key enzyme activity related to acetic acid-2-phenyl ethyl ester in apple vinegar fermentation, HS-SPME-GC-MS and ELISA were employed to detect the changes of the matrix concentration and key enzyme activities in the synthesis of acetic acid-2-phenyl ethyl ester. It was shown that different amounts of L-phenylalanine can significantly promote the production of acetic acid-2-phenyl ethyl ester and the synthesis of the related matrix, and L-phenylalanine can increase the enzymatic activities of ADH and AAT, however, it suppressed the activity of Esterase enzyme. When 8 g/L of L-phenylalanine was added, the concentration of acetic acid-2-phenyl ethyl ester significantly increased from 43.76% to 86.59%; Therefore, the optimum additive amount of L-phenylalanine was 8 g/L, speculating that L-phenylalanine induced the synthesis of acetic acid-2-phenyl ethyl ester and its related matrix, and increased key enzyme activities through alcohol acyltransferase pathway, which increased the unique aroma and flavor of apple vinegar products and provided a reference for the production process.

Key words: apple vinegar; L-phenylalanine; acetic acid-2-phenyl ethyl ester; synthetic pathway

苹果醋, 以苹果鲜榨后的汁/渣作为基础原料, 首先酒精发酵产生的乙醇经乙醇脱氢酶 (ADH) 氧化成

收稿日期: 2018-09-07

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-27); 国家自然科学基金地区基金项目 (31460449); 甘肃省农牧厅科技项目 (GNKJ-2018-10);

甘肃省农业科学院农业科技创新专项中青年创新基金项目 (2016GAAS49)

作者简介: 宋娟 (1988-), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 农产品贮藏与加工

通讯作者: 张霁红 (1977-), 女, 副研究员, 研究方向: 果蔬加工; 康三江 (1977-), 男, 研究员, 研究方向: 果蔬贮藏加工技术

醋酸, 然后醋酸发酵经陈酿即可获得苹果原醋^[1], 最后再加以调制成为独特苹果香气的醋饮料^[2,3]。由于苹果品种的差异、发酵工艺的单一等原因, 导致苹果醋多样化生产的同时, 却引起果醋香气等品质的下降。

L-苯丙氨酸 (L-Phenylalanine, $C_9H_{11}NO_2$, 63-91-2), 是微生物转化法生产的食品添加剂, 符合现代食品工业绿色安全标准^[4,5]。因为酵母细胞自身合成 β -苯乙醇浓度比较低, 可以在转化培养基中加入 L-苯丙氨酸, 其分解代谢主要通过从头合成途径和艾氏途径将 L-苯丙氨酸转化为 β -苯乙醇^[6]。许多发酵产

品,如白酒^[7,8]、葡萄酒^[9,10]、马铃薯醋^[11]、醋醅^[12]等在发酵过程中由酵母菌自然形成具有风味和香气的酯类化合物,大多数酵母菌能产生杂醇油,而 β -苯乙醇(phenylethyl alcohol, $C_8H_{10}O$, 60-12-8)是杂醇油的重要组成部分;乙酸-2-苯乙酯(acetic acid 2-phenylethyl ester, $C_{10}H_{12}O_2$, 103-45-7)是主要的特征性香气成分^[13,14],合成途径^[15-17]有两条:(1)在酯酶(Esterase)的作用下由乙酸和 β -苯乙醇合成,酯酶是可逆酶;(2)在醇酰基转移酶(AAT)的作用下由乙酰辅酶A和 β -苯乙醇形成。所以,L-苯丙氨酸可作为食品添加剂,不仅影响微生物的代谢,还在很大程度上影响乙酸-2-苯乙酯合成途径及其关键酶活性。然而,有关苹果醋发酵过程中食品添加剂L-苯丙氨酸对合成乙酸-2-苯乙酯及其关键酶活的影响还没有相关研究。

本试验在该课题前期研究^[18]的基础上,采用HS-SPME-GC-MS和ELISA,初步分析食品添加剂L-苯丙氨酸对合成乙酸-2-苯乙酯及其相关基质和关键酶活的影响,为苹果醋制品香气成分和风味物质的代谢调控提供一定的参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

苹果,庆阳“长富二号”红富士;CICC1750、CICC20056,中国工业微生物菌种中心。

1.1.2 培养基^[19]

液体培养基(g/L):葡萄糖10.0,酵母粉10.0, pH 4.5。

种子培养基(g/L):葡萄糖20.0,蛋白胨20.0,酵母粉10.0。

转化培养基(g/L):葡萄糖60.0,蛋白胨6.0, $MgSO_4$ 0.5, KH_2PO_4 5.0, L-苯丙氨酸添加量分别为0、6、8、10,自然pH值。

1.1.3 试剂

葡萄糖:上海广诺;蛋白胨、酵母粉:北京奥博星;琼脂:上海致化;氢氧化钠(粒):分析纯,天津大茂;无水乙醇、碳酸钙、 $MgSO_4$ 、 KH_2PO_4 :天津光复;果胶酶(>50000 u/g):上海源聚;乙酸、乙醇、 β -苯乙醇、乙酸-2-苯乙酯:色谱纯,上海阿拉丁;3-辛醇:色谱纯,589-98-0,美国Sigma;L-苯丙氨酸(98.5%):上海生工;植物乙酰辅酶A(A-CoA)ELISA试剂盒、植物乙醇脱氢酶(ADH)ELISA试剂盒、植物醇酰基转移酶(AAT)ELISA试剂盒、植物酯酶(Esterase)

ELISA试剂盒:北京冬歌。

1.2 试验仪器

YXQ-LS立式压力蒸汽灭菌锅,上海博讯;BSA224S-CW电子天平,赛多利斯;ZHJH-C1112B超净工作台,上海智城;LRH-250生化培养箱,上海一恒;PZJ-0.5型榨汁机,江苏科威;三重四级杆气质联用仪,GC(TRACE 1310),MS(ISQ-LT),美国赛默飞世尔;Synergy H1酶标仪, Gene Company Limited。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种活化

购买的菌种进行打管,吸取0.5 mL液体培养基溶解菌粉,菌悬液转移至盛有5 mL液体培养基的试管中,24 $^{\circ}C$ (CICC 1750)/28 $^{\circ}C$ (CICC 20056)恒温培养;划线制备活化的酵母菌,按8%接种于转化培养基,120 r/min、24 $^{\circ}C$ 、48 h,备用。

1.3.2 工艺流程

(1)分选无害无病无腐烂的新鲜富士苹果,用常温流水冲洗去除果皮表面的污垢,采用榨汁机获得新鲜苹果汁,用果胶酶处理苹果汁(降低果汁黏稠度,提高出汁率和澄清度);

(2)接种8% CICC1750酵母菌液,24 $^{\circ}C$,密封,酒精发酵,当酒精体积分数不增加、糖度不降低时结束酒精发酵;

(3)接种10% CICC20056醋酸菌液,28 $^{\circ}C$,醋酸发酵,当醋酸浓度不再升高时结束醋酸发酵;加入食盐后熟,陈酿获得苹果醋;

(4)陈酿的苹果醋按一定比例加入蔗糖、蛋白糖、浓缩苹果汁等配料,经混合、均质、过滤、灭菌、灌装等工序配制苹果醋饮料。

1.3.3 测定方法

1.3.3.1 挥发性物质^[20,21]

(1)顶空固相微萃取法:样品前处理采用SPME法处理,分别取5 mL样品加入50 μ L 3-辛醇内标,漩涡混匀,装入15 mL顶空瓶中,样品由TriPlus RSH Autosampler-SPME系统处理,萃取头:50/30 μ m DVB/CAR/PDMS萃取头。萃取条件:60.0 $^{\circ}C$ 吸附40 min。保温5 min。外标标准品母液1000 mg/L,100 mL纯乙醇+0.1 g外标(乙酸、 β -苯乙醇、乙酸-2-苯乙酯),外标测试样品准备A液10 mL(4%乙醇溶液)+10 μ L待测母液,样品瓶5 mL+50 μ L 3-辛醇内标。

(2)气相色谱GC条件:进样口温度25 $^{\circ}C$,载气He,流速1.2 mL/min。进样量1 μ L,分流进样,分流比40:1。色谱柱为DB-WAX(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m),

升温程序40℃恒温2 min, 以5℃/min升至180℃, 然后从15℃/min升到230℃, 5 min。

(3) 质谱MS条件: EI电子离子源, 电子能量70 eV, 离子源温度200℃, 接口温度250℃。扫描范围33.00~350.00 u。

(4) 酒精度^[22]: 以乙醇计, GB 5009.225-2016, 密度瓶法测定。

1.3.3.2 乙酰辅酶A、ADH、AAT、Esterase酶活性^[23]

采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)。往预先包被相应抗体的包被微孔中, 依次加入10 μL待测样品、50 μL标准品、100 μL HRP标记

的检测抗体, 37℃温育后彻底洗涤。用底物TMB显色, TMB颜色的深浅分别与样品中的植物乙酰辅酶A(A-CoA)、ADH、AAT、Esterase呈正相关。酶标仪测定450 nm波长处各孔的OD值, 计算样品浓度。

1.4 苹果醋感官评价^[24]

以不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋为基础原料, 加入蔗糖、蛋白糖、浓缩苹果汁等, 调配成苹果醋饮料, 组织30名品评人员, 按表1的内容分别从色泽、香气、滋味和组织形态共四个方面进行评定并打分(满分100分)。

表1 苹果醋饮料制品的感官评价表

Table 1 Sensory evaluation of apple vinegar beverages

项目	分数	评分标准
色泽	20	鲜亮, 浅棕色, 无混浊变色
香气	15	苹果芳香气味浓厚, 玫瑰香较纯正, 香气协调有层次
滋味	35	口感清爽, 酸甜适中, 味感纯正, 无异味
组织形态	30	澄清, 无悬浮物、无沉淀物、无肉眼可见外来杂质

1.5 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010、SPSS 19.0 软件进行统计分析、采用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 苹果醋发酵过程中酒精度和醋酸浓度的变化规律

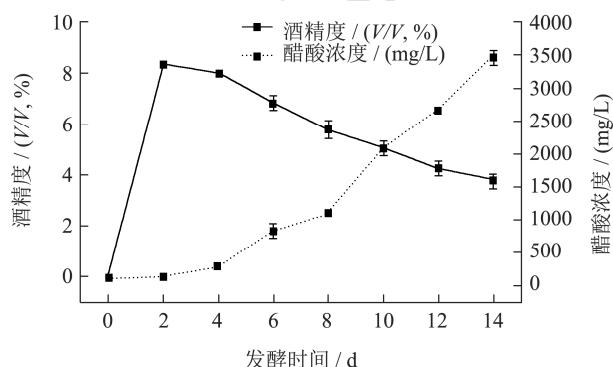


图1 发酵过程中酒精度和醋酸浓度的变化规律

Fig.1 Variation of alcohol and acetic acid concentration during fermentation

从图1可以看出, 在苹果醋发酵的整个动态过程中, 随着发酵时间的延长, 酒精度先升高后降低, 醋酸浓度逐渐升高, 进入醋酸发酵和陈酿阶段。这是因为苹果醋发酵所需的酵母菌在酒精发酵过程中将葡萄糖通过糖酵解、脱羧后被还原为乙醇, 醋酸菌在醋酸

发酵过程中再将乙醇在脱氢酶的催化下生成乙酸, 多种微生物调控着苹果醋发酵过程中发酵产物的新陈代谢。

2.2 不同添加量L-苯丙氨酸处理对乙酸-2-苯乙酯合成途径的影响

2.2.1 不同添加量L-苯丙氨酸处理对合成乙酸-2-苯乙酯相关基质浓度的影响

在苹果醋的整个发酵过程中, 取含有不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋发酵液样品, 检测其对合成乙酸-2-苯乙酯及其相关基质 β -苯乙醇、乙酸和乙酰辅酶A生成量的影响。从图2可以看出, 和对照样(不添加L-苯丙氨酸)相比, 在L-苯丙氨酸不同添加量的处理下, β -苯乙醇、乙酸、乙酰辅酶A和乙酸-2-苯乙酯生成量均比对照样明显升高(图2a、2b、2c、2d, $p < 0.05$), 说明L-苯丙氨酸有明显的促进乙酸-2-苯乙酯合成及其相关基质 β -苯乙醇、乙酸、乙酰辅酶A生成量积累的作用, 有利于增加苹果醋发酵过程中特征性香气成分和风味物质合成, 具有剂量依赖性。

其中, 和对照样相比, 当L-苯丙氨酸添加量为8 g/L时, β -苯乙醇、乙酸、乙酰辅酶A、乙酸-2-苯乙酯的生成量分别提高了31.75%~82.47%、12.65%~65.05%、5.86%~15.25%、43.76%~86.59%。当L-苯丙氨酸添加量小于或大于8 g/L时, β -苯乙醇、乙酸、乙酰辅酶A和乙酸-2-苯乙酯生成量都会出现不同程度下降的现象, 初步将8 g/L作为L-苯丙氨酸的最佳添加

量,从而更有利于增加苹果醋发酵中特征性香气成分乙酸-2-苯乙酯的生物合成,对合成乙酸-2-苯乙酯的醇酰基转移酶途径和酯酶途径均有一定的影响。

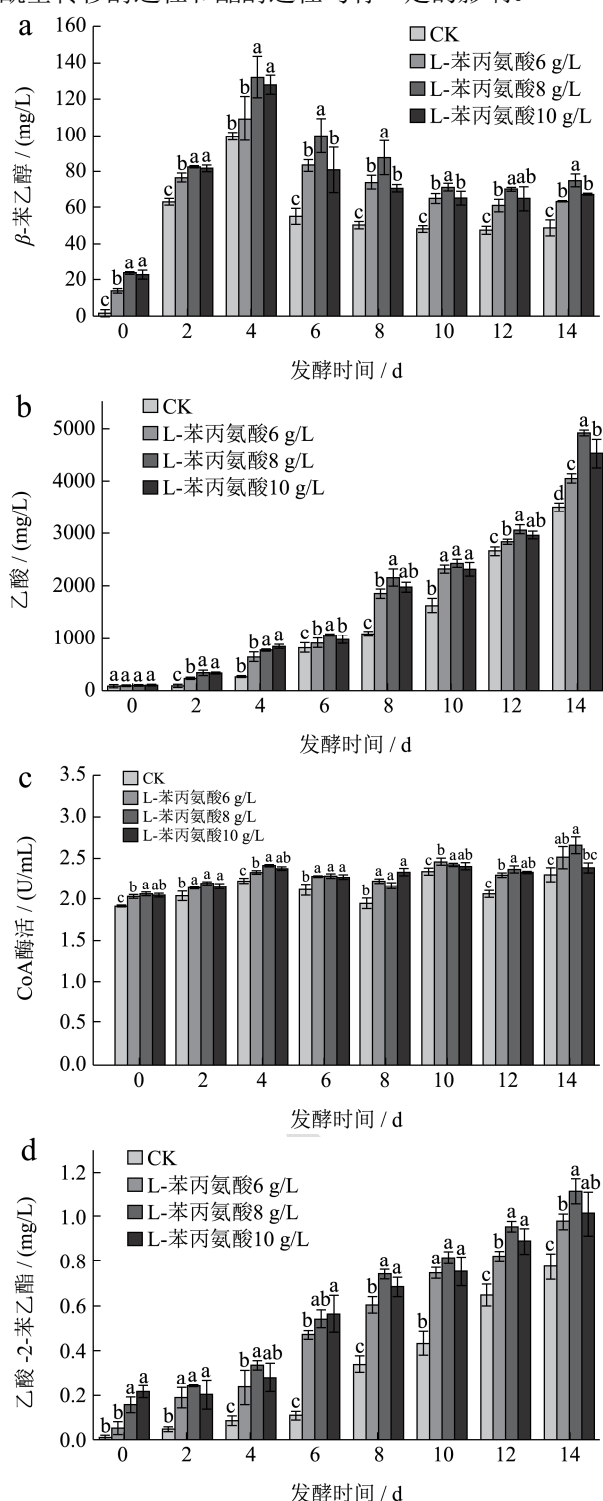


图2 不同添加量L-苯丙氨酸对合成乙酸-2-苯乙酯及其相关基质浓度的影响

Fig.2 Effect of different amounts of L-phenylalanine on the synthesis of acetic acid-2-phenyl ethyl ester and its related matrix concentration

注: a~d 字母相同表示不同处理在发酵过程中差异不显著 ($p>0.05$), 不同则表示差异显著 ($p<0.05$); (a)不同添加量 L-苯丙氨酸对 β -苯乙醇浓度的影响; (b)不同添加量 L-苯丙氨酸对乙酸浓度的影响; (c)不同添加量 L-苯丙氨酸对乙酰辅酶 A 浓度的影响; (d)不同添加量 L-苯丙氨酸对乙酸-2-苯乙酯浓度的影响。

已有研究表明, L-苯丙氨酸浓度在5~10 g/L之间为最佳底物浓度范围^[25-27], 8 g/L L-苯丙氨酸最佳添加浓度对 β -苯乙醇转化量的影响与牛明福^[19]、黄筱萍^[28]等研究结果是一致的, 而其对乙酸、乙酰辅酶A和乙酸-2-苯乙酯生成量的影响还未见相关报道。

2.2.2 不同添加量L-苯丙氨酸处理对合成乙酸-2-苯乙酯关键酶活性的影响

苹果醋发酵是微生物相互作用先将氨基酸、糖类和脂质转化为酸、醛或醇类化合物, 然后再转化为酯类化合物的过程。其中, ADH、AAT和Esterase是以氨基酸为前体物质合成酯类物质的关键酶^[29], 氨基酸通过转氨作用形成支链酮酸, 经脱羧或脱氢, 形成支链醇和酰基CoA^[30], 再经过ADH和AAT的催化进而形成支链酯类物质^[31]; 酸和醇类化合物也可以在Esterase的作用下转化, 而醛类物质在ADH催化下先转化为酸或醇后才能再转化形成醇类物质^[32], 再经AAT催化生成酯类香气物质^[33-35]。AAT和Esterase是酯类合成的关键酶, 分别通过醇酰基转移酶途径和酯酶途径共同作用产生果醋的主要香气成分和风味物质^[36,37]。

从图3可以看出, 苹果醋的整个动态发酵过程中, 和对照样(不添加L-苯丙氨酸)相比, 在不同添加量的L-苯丙氨酸处理下, ADH和AAT酶活性出现不同程度的增加(图3a、3b, $p<0.05$), 然而Esterase酶活性明显降低(图3c, $p<0.05$)。其中, 和对照样相比, 当L-苯丙氨酸添加量为8 g/L时, ADH和AAT酶活分别提高了8.67%~27.76%、0.21%~0.42%, 表明L-苯丙氨酸对ADH酶活有明显的促进作用, 可以促进酒精发酵产生的乙醇转化为醋酸, 也可促进AAT酶活将 β -苯乙醇和乙酰辅酶A通过醇酰基转移酶途径生成乙酸-2-苯乙酯, 初步推测8 g/L是L-苯丙氨酸的最佳添加量, 可以通过醇酰基转移酶途径有效增加合成乙酸-2-苯乙酯关键酶活的生成量; 但是, 不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋发酵液中Esterase酶活均比对照样的低, 表明L-苯丙氨酸对苹果醋发酵液的Esterase酶活有一定的抑制作用, 酯酶是可逆酶, 可能是其代谢途径太长, 支路太多, 关于L-苯丙氨酸对合成乙酸-2-苯乙酯的酯酶途径的影响还有待深入研究。

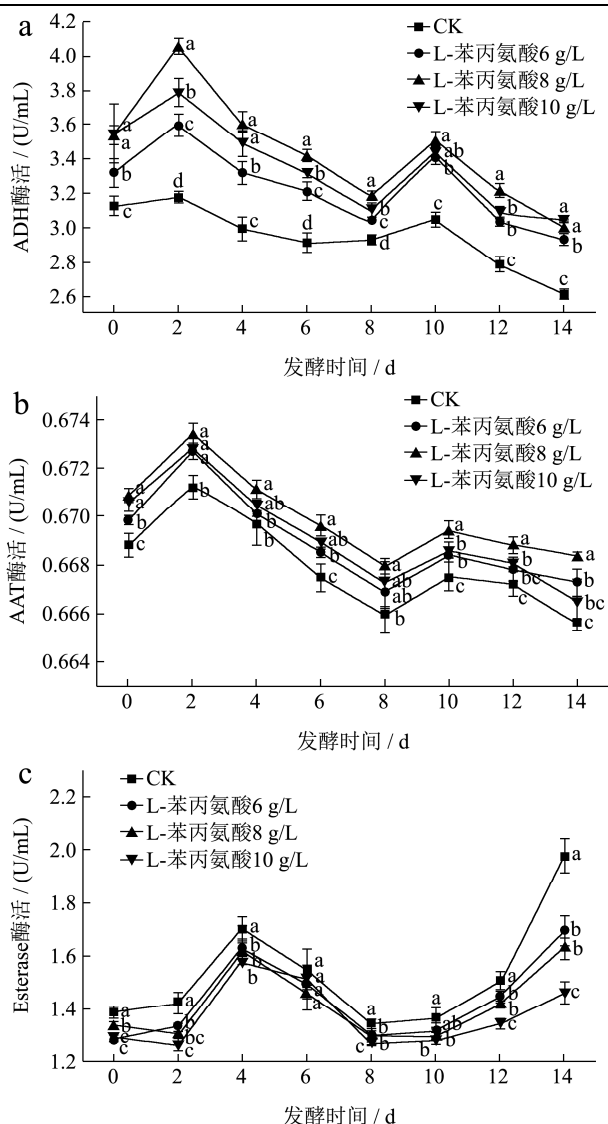


图3 不同添加量L-苯丙氨酸对合成乙酸-2-苯乙酯关键酶活性的影响

Fig.3 Effects of different amounts of L-phenylalanine on the activity of key enzymes in the synthesis of acetic acid-2-phenyl ethyl ester

注: a~d 字母相同表示不同处理在发酵过程中差异不显著 ($p>0.05$), 不同则表示差异显著 ($p<0.05$); (a)不同添加量L-苯丙氨酸对乙醇脱氢酶 (ADH) 的酶活性影响; (b)不同添加量L-苯丙氨酸对醇酰基转移酶 (AAT) 的酶活性影响; (c)不同添加量L-苯丙氨酸对酯酶(Esterase)的酶活性影响。

2.3 不同添加量L-苯丙氨酸处理苹果醋饮料制品的感官评价

以不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋为基础原料, 加入蔗糖、蛋白糖、浓缩苹果汁等, 调配成苹果醋饮料, 组织30名品评人员, 分别从色泽、香气、滋味和组织形态共四个方面进行评定并打分 (满分100

分)。从表2的感官评价结果可以看出, 对不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋饮料制品属于中上等级, 其中8 g/L的L-苯丙氨酸处理的苹果醋饮料感官评价较优, 初步确定8 g/L的L-苯丙氨酸处理的苹果醋发酵饮料制品具有较浓厚的香气和风味, 后续对产品的感官评价会借助HS-SPME-GC-MS分别对其香气成分和有机酸的种类和含量做进一步方差分析。

表2 不同添加量L-苯丙氨酸处理的苹果醋饮料制品的感官评价

Table 2 Sensory evaluation of apple vinegar beverages treated with different amounts of L-phenylalanine

处理	总分	色泽	香气	滋味	组织形态
L- Phe 6 g/L	78	18	10	25	25
L- Phe 8 g/L	89	18	13	30	28
L- Phe 10 g/L	71	18	8	25	20

3 结论

3.1 在苹果醋发酵过程中, 初步发现不同添加量的L-苯丙氨酸对乙酸-2-苯乙酯及其相关合成基质的生成量和ADH、AAT酶活性均有明显的促进作用, 而对Esterase酶活性有抑制作用。其中当L-苯丙氨酸添加量为8 g/L时, β -苯乙醇、乙酸、乙酰辅酶A、乙酸-2-苯乙酯的浓度分别提高了31.75%~82.47%、12.65%~65.05%、5.86%~15.25%、43.76%~86.59%, 有利于苹果醋发酵过程中特征性香气成分和风味物质的合成, 初步将8 g/L作为L-苯丙氨酸的最佳添加量, 主要通过醇酰基转移酶途径赋予苹果醋产品更多独特的香气和风味, 为生产工艺提供一定的参考依据。

3.2 然而, 本试验关于食品添加剂L-苯丙氨酸对苹果醋发酵液中合成乙酸-2-苯乙酯与相关底物(β -苯乙醇、乙酸、乙酰基辅酶A)和关键酶活影响的试验数据不够系统, 将有待从微生物发酵条件、苯丙氨酸的添加时机、酵母菌和醋酸菌中的复杂代谢途径以及酶系差异等方面继续进行深入研究。

参考文献

- [1] Carmen Á, Ines M, Teresa G, et al. Effect of biological ageing of wine on its nitrogen composition for producing high quality vinegar [J]. Food and Bioproducts Processing, 2014, 92(3): 291-297
- [2] Gulla M, Verzeloni E, Canonico M. Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects [J]. Process Biochemistry, 2014, 49(10): 1571-1579
- [3] 薛淑琴, 谢思芸, 肖仔君, 等. 完全发酵与适度发酵苹果醋主

- 要成分的差异性分析[J].食品科学,2017,38(12):137-143
- XUE Shu-qin, XIE Si-yun, XIAO Zi-jun, et al. Analysis of differences in the chemical and aroma profiles of apple vinegar prepared by moderate and entire fermentation methods [J]. Food Science, 2017, 38(12): 137-143
- [4] 黄筱萍,黄国昌,金丹凤,等.酿酒酵母静息细胞转化合成 2-苯乙醇[J].食品与生物技术学报,2017,36(12):1316-1323
- HUANG Xiao-ping, HUANG Guo-chang, JIN Dan-feng, et al. Study on bioconversion of 2-phenylethanol by *Saccharomyces cerevisiae* resting cell [D]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(12): 1316-1323
- [5] 张传志.谷氨酸棒杆菌 L-苯丙氨酸合成途径系统改造及发酵优化[D].江苏:江南大学,2014
- ZHANG Chuan-zhi. Systematic metabolic engineering and fermentation optimization of *Corynebacterium glutamicum* for the production of L-phenylalanine [D]. Jiangsu: Jiangnan University, 2014
- [6] 杜闪,王雪花,杨政茂,等.生物转化合成 β -苯乙醇代谢途径及其调控的研究[J].食品与发酵工业,2014,40(1):168-173
- DU Shan, WANG Xue-hua, YANG Zheng-mao, et al. Study on metabolic pathways of β -phenyl ethanol bioconversion and regulation [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(1): 168-173
- [7] 张琦,沈才洪,孙啸涛,等.浓香型白酒蒸馏过程中挥发性风味物质的变化规律[J].现代食品科技,2018,34(6):244-254
- ZHANG Qi, SHEN Cai-hong, SUN Xiao-tao, et al. Variation regularity of volatile substances in Luzhou flavor liquor during distillation process [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(6): 244-254
- [8] 李维,崔丹瑶,王建辉,等.HS-SPME-GC-MS 分析高产酯低产高级醇酿酒酵母发酵酒的风味物质[J].现代食品科技,2018,34(3):248-254
- LI Wei, CUI Dan-yao, WANG Jian-hui, et al. HS-SPME-GC-MS analysis of flavor compounds in liquor fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* strains with high ester yield and low higher-alcohol yield [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(3): 248-254
- [9] 吴艳艳,王辉,刑凯,等.发酵过程中添加酵母助剂对葡萄酒感官品质的影响[J].中国食品学报,2018,18(5):280-287
- WU Yan-yan, WANG Hui, XING Kai, et al. The influence of fermentation promoter on the sensory quality of wine during fermentation [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(5): 280-287
- [10] 宋建强,程仕伟,姜文广,等.蛇龙珠葡萄园葡萄果实品质的空间变异分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019,47(2):1-7
- SONG Jian-qiang, CHENG Shi-wei, JIANG Wen-guang, et al. Spatial variability in grape quality of cabernet gernischt within vineyard [J]. Journal of Northwest Agricultural and Forestry University (Natural Science Edition), 2019, 47(2): 1-7
- [11] 余兆硕,徐瀚麟,彭彰文,等.马铃薯醋酿造工艺优化及其香气成分分析[J].食品与机械,2017,33(4):171-219
- YU Zhao-shuo, XU Han-lin, PENG Zhang-wen, et al. Optimization of fermentation process for potato wine and analysis of flavor substances [J]. Food and Machinery, 2017, 33(4): 171-219
- [12] 陈梦圆,刘学彬,汪平,等.产酯香功能菌对酱香型酒醅的影响[J].食品科学,2018,39(10):199-205
- CHEN Meng-yuan, LIU Xue-bin, WANG Ping, et al. Effects of an ester aroma-producing bacterial strain on maotai-flavor fermented grains [J]. Food Science, 2018, 39(10): 199-205
- [13] 李树萍,邱诗棋,吴宛芹,等.气相色谱-嗅闻-质谱联用分析红枣白兰地风味成分[J].食品科学,2017,38(4):187-191
- LI Shu-ping, QIU Shi-qi, WU Wang-qin, et al. Analysis of flavor components in jujube brandy by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry [J]. Food Science, 2017, 38(4): 187-191
- [14] 焦娇,李凯,李树萍,等.HS-SPME-GC-O-MS 分析红枣发酵酒中的挥发性成分[J].食品科学,2017,38(4):197-203
- JIAO Jiao, LI Kai, LI Shu-ping, et al. Analysis of volatile compounds in fermented Chinese jujube wine by headspace solid phase micro-extraction and gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry [J]. Food Science, 2017, 38(4): 197-203
- [15] 范丽.苹果酒酵母中合成酯类化合物关键酶的研究[D].江苏:江南大学,2005
- FAN Li. The key enzymes from apple wine yeasts for esters synthesis [D]. Jiangsu: Jiangnan University, 2005
- [16] Ji H L, Chao Z, Ju Y K, et al. Evaluation on anticancer effect against HL-60 cells and toxicity *in vitro* and *in vivo* of the phenethyl acetate isolated from a marine bacterium *Streptomyces griseus* [J]. Fish Aquat Science, 2015, 18(1): 35-44
- [17] Yoshioka K, Hashimoto N. Ester formation by alcohol acetyltransferase from brewers yeast [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1981, 45(10): 2183-2190
- [18] 宋娟,张霁红,康三江,等.乙酸-2-苯乙酯的合成途径与调节研究[J].西南大学学报(自然科学版),2018,40(8):25-31
- SONG Juan, ZHANG Ji-hong, KANG San-jiang, et al. A

- study on the synthetic pathways and regulation of acetic acid-2-phenyl ethyl ester [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2018, 40(8): 25-31
- [19] 牛明福,李亚恒,陈金帅,等. 马克斯克鲁维酵母生物转化 2-苯乙醇工艺优化及耐高温特性分析[J]. 食品与发酵工业, 2018,44(2):15-20
- NIU Ming-fu, LI Ya-heng, CHEN Jin-shuai, et al. Optimization and characterization of 2-phenylethanol bioconversion by thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* [J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44 (2): 15-20
- [20] 周倩,蒋和体. 干型番木瓜果酒酿造工艺研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2016,41(5):122-128
- ZHOU Qian, JIANG He-ti. On brewing technology of *Carica papaya* dry wine [J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2016, 41(5): 122-128
- [21] 李小慧. 金刺梨发酵酒工艺研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017
- LI Xiao-hui. Research on the technology of *Rosa kweichonensis* Var. *Sterilis* fermented wine [D]. Chongqing: Southwest University, 2017
- [22] GB 5009.225-2016, 酒中乙醇浓度的测定[S]
- GB 5009.225-2016, Determination of ethanol concentration in alcohol liquor [S]
- [23] 吴霏霏. 枇杷果实香气检测及 AAT1 基因克隆表达与酶活性分析研究[D]. 江苏: 扬州大学, 2015
- WU Fei-fei. Aroma analysis and AAT1 gene cloning and expression and enzyme activity detection of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruit [D]. Jiangsu: Yangzhou University, 2015
- [24] 魏永义,王富刚,尹军杰. 苹果醋饮料感官品质的模糊综合评判研究[J]. 中国调味品, 2015,40(3):26-27
- WEI Yong-yi, WANG Fu-gang, YIN Jun-jie. Study on sensory quality of apple vinegar beverage by fuzzy comprehensive evaluation [J]. China Condiment, 2015, 40(3): 26-27
- [25] Etschmann M M W, Sell D, Schrader J. Production of 2-phenylethanol and 2-phenylethylacetate from L-phenylalanine by coupling whole-cell biocatalysis with organophilic pervaporation [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2005, 92(5): 624-634
- [26] Fang G, Daugulis A J. Bioproduction of the aroma compound 2-phenylethanol in a solid-liquid two-phase Partit-Ioning bioreactor system by *Kluyveromyces marxianus* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2009, 104(2): 332-339
- [27] Etschmann M M W, Sell D, Schrader J. Screening of yeasts for the production of the aroma compound 2-phenyl ethanol in a molasses-based medium [J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(7): 531-536
- [28] 黄筱萍,黄国昌,刘兰,等. 酿酒酵母 SH003 生物转化 2-苯乙醇条件的优化[J]. 食品研究与开发, 2015,36(22):154-158
- HUANG Xiao-ping, HUANG Guo-chang, LIU Lan, et al. The optimization of bioconversion conditions for the production of 2-phenylethanol with *Saccharomyces cerevisiae* SH003 [J]. Food Research and Development, 2015, 36(22): 154-158
- [29] Paillard N M M. The flavour of apples, pears and quinces [M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Company Inc., 1990
- [30] 魏长宾,刘胜辉,臧小平,等. 果实香气成分及其形成研究进展[J]. 热带农业科学, 2009,29(3):59-64
- WEI Chang-bin, LIU Sheng-hui, ZANG Xiao-ping, et al. Advances on synthesis of fruit aromatic constituents [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2009, 29(3): 59-64
- [31] 齐红岩,关小川,李岩,等. 嫁接对薄皮甜瓜果皮和果肉中主要酯类、游离氨基酸及酯类合成相关酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2010,43(9):1895-1903
- QI Hong-yan, GUAN Xiao-chuan, LI Yan, et al. Effects of grafting on main esters, free amino acids content and related enzyme activities in oriental sweet melon peel and flesh tissues [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(9): 1895-1903
- [32] 许传强,韩玉雪,杨琳. 嫁接对网纹甜瓜果实中四种特征酯类香气物质含量及其合成相关酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2011,16:41-44
- XU Chuan-qiang, HAN Yu-xue, YANG Lin. Effects of grafting on four characteristic ester aromas contents and related enzyme activities in muskmelon fruit [J]. Northern Horticulture, 2011, 16: 41-44
- [33] Manriquez D, Ei S I, Flores F B, et al. Tow highly divergent alcohol dehydrogenases of melon exhibit fruit ripening-specific expression and distinct biochemical characteristics [J]. Plant Molecular Biology, 2006, 61: 675-685

(下转第 108 页)