

## 不同碳源、氮源对菠萝果醋品质及风味的影响研究

王晓芳<sup>1</sup>, 何家媛<sup>2</sup>, 龚 霄<sup>1</sup>, 袁 源<sup>1</sup>, 陈吴海<sup>2</sup>, 刘 飞<sup>1</sup>, 张 利<sup>1</sup>, 周 伟<sup>1\*</sup>

1. 中国热带农业科学院农产品加工研究所, 广东湛江 524001; 2. 农业农村部农产品加工质量安全风险评估实验室(湛江), 广东湛江 524001

**摘 要:** 针对菠萝果醋在液态发酵过程中底物利用率低, 易失去典型风味, 且滋味寡淡等不足之处, 本研究拟探究添加不同碳源(蔗糖、菊粉)、氮源(富铬酵母、大豆蛋白)对菠萝果醋发酵过程中理化指标(总酸、还原糖、总多酚、总黄酮)、抗氧化性(DPPH 自由基清除率及 ABTS<sup>+</sup>清除率)以及挥发性成分的影响, 以期提高菠萝果醋发酵过程底物利用率和最终果醋品质。结果表明: 不同碳源、氮源均可显著提高醋酸菌的产酸量, 并且添加氮源促进醋酸菌利用还原糖、产酸的能力优于碳源。氮源对菠萝果醋总多酚、总黄酮含量以及清除 DPPH、ABTS 自由基的能力均高于碳源。4 组处理的菠萝果醋中共检出 37 种挥发性成分, 主要为酯类、醇类、酸类、酚类、酮类等。添加氮源组的菠萝果醋挥发性成分总浓度高于碳源组, 其中, 添加富铬酵母的果醋中酯类、酸类化合物的质量浓度最高, 分别为 3712.37、972.97  $\mu\text{g/L}$ , 分别是蔗糖组的 6.39 倍、8.76 倍; 与蔗糖处理相比, 其他处理组的菠萝果醋中各类挥发性成分总浓度增加了 3.78~5.19 倍。蔗糖处理组的关键挥发性化合物有 2 种(癸酸乙酯、苯乙醇), 菊粉处理组关键挥发性化合物有 4 种(己酸乙酯、乙酸异戊酯、癸酸乙酯、苯乙醇), 氮源处理组关键挥发性化合物有 5 种(乙酸异戊酯、己酸乙酯、癸酸乙酯、芳樟醇、苯乙醇)。适量添加有机氮源可促进醋酸发酵过程, 最大限度发挥醋酸杆菌的发酵潜力, 增强菠萝果醋的抗氧化性, 提升总酚、总黄酮含量和菠萝果醋风味。

**关键词:** 菠萝果醋; 碳氮源; 发酵; 理化指标; 风味物质

中图分类号: TS275.4

文献标志码: A

## Effects of Different Carbon and Nitrogen Sources on Physicochemical Properties and Volatile Components of Pineapple Vinegar

WANG Xiaofang<sup>1</sup>, HE Jiayuan<sup>2</sup>, GONG Xiao<sup>1</sup>, YUAN Yuan<sup>1</sup>, CHEN Wuhai<sup>2</sup>, LIU Fei<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, ZHOU Wei<sup>1\*</sup>

1. Agricultural Products Processing Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524001, China; 2. Laboratory of Agricultural Products Processing Quality and Safety Risk Evaluation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhanjiang, Guangdong 524001, China

**Abstract:** Considering the deficiencies such as low substrate utilization rate, prone to lose typical flavor, and weak taste in liquid fermentation process of pineapple vinegar, the paper intended to explore the effects of different carbon sources (sucrose, inulin) and nitrogen sources (chromium-rich yeast, soybean protein) on the physicochemical indexes (total acid, reducing sugar, total polyphenols and total acid), antioxidant activity (DPPH free radical and ABTS<sup>+</sup> clearance rate) and volatile components in the fermentation process of pineapple vinegar, which was aimed to improve substrate utilization and vinegar quality. The results showed that not only different carbon sources and but also nitrogen sources could significantly increase the acid production of acetic acid bacteria, and the abilities of nitrogen sources to promote the utilization of reducing sugar and acid production of acetic acid bacteria were better than that of carbon sources. The

收稿日期 2024-12-13; 接受日期 2025-02-20

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 323MS092); 海南省科技专项 (No. ZDYF2023XDNY031); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630012025202)。

作者简介 王晓芳 (1982—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 果蔬发酵。\*通信作者 (Corresponding author): 周 伟 (ZHOU Wei), E-mail: weizhou111@foxmail.com。

nitrogen source had higher effects on the contents of total polyphenols, total flavonoids and the ability of scavenging DPPH and ABTS free radicals than carbon source. Besides, a total of 37 volatile components were detected in pineapple vinegar under four treatments, mainly included esters, alcohols, acids, phenols, ketones and so on. The total concentration of volatile components of pineapple vinegar in nitrogen source treatments was higher than that in carbon source treatments. The concentrations of esters and acids were the highest with value of 3712.37  $\mu\text{g/L}$  and 972.97  $\mu\text{g/L}$ , and were 6.39 times and 8.76 times of those in the sucrose treatment, respectively. Compared with sucrose treatment, the total concentration of volatile components in other treatments increased by 3.78–5.19 times. There were two key volatile compounds in the sucrose treatment (ethyl decanoate and phenylethanol), ethyl caproate, isoamyl acetate, ethyl decanoate and phenyl ethyl) were key volatile compounds in the inulin treatment, and five key volatile compounds in the nitrogen source group were isoamyl acetate, ethyl caproate, ethyl decanoate, linalool and phenylethanol. Appropriate addition of organic nitrogen source could promote acetic acid fermentation process, maximize the fermentation potential of acetobacter, enhance antioxidant activity of pineapple vinegar, to improve the content of total phenol and total flavone, and pineapple vinegar flavor.

**Keywords:** pineapple vinegar; carbon and nitrogen sources; ferment; physicochemical indicators; flavor substance

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.06.017

菠萝是我国重要的热带经济作物, 口感酸甜适宜, 含有丰富的维生素和可以分解蛋白质的“菠萝朊酶”, 具有促进消化等作用, 深受消费者喜爱<sup>[1]</sup>。但成熟的菠萝果实不耐贮存, 目前我国菠萝加工产品主要是果汁、果干、果酱及罐头等, 附加值较低, 且加工率低, 不足总产量的 10%, 产业发展不均衡<sup>[2]</sup>。用新鲜菠萝经微生物发酵制备果醋, 是其产业化发展的可行之路。

关于果醋生产工艺与技术的研究是当前的研究热点。果醋的加工工艺主要有发酵法、蒸馏法和萃取法等, 其中, 发酵法因其能够较好地保留水果的风味和营养成分, 被广泛应用于果醋生产<sup>[3]</sup>。果醋发酵是以果品为原料酿制果醋, 发酵过程需经过 2 个阶段, 即酒精发酵和醋酸发酵<sup>[4]</sup>。目前普遍采用液态两段发酵法, 但尚无针对果醋的专门酵母菌。其中, 酒精发酵多选用葡萄酒酵母, 而醋酸发酵大多采用醋酸菌。氮源、糖度、温度、接种量、初始 pH 及发酵时间等是影响酒精发酵的主要因素, 而影响醋酸发酵的主控因子有温度、接种量、初始酒精度、装液量、通风量、初始 pH 等<sup>[5]</sup>。若以果酒为原料, 则只需进行醋酸发酵。醋酸菌的生长代谢需要特定的环境, 包含氮源、碳源、水、生长因子等底物成分。醋酸菌在不同生长时期, 对底物成分的要求也有差异<sup>[6]</sup>。已有研究表明, 醋酸发酵过程中, 碳源的含量和种类与醋酸菌的生长、繁殖能力有极大关系, 有机氮源是醋酸发酵的限制因素<sup>[7-8]</sup>。发酵液中添加不同碳源、氮源, 可以直接影响发酵菌群动态, 从而影响发酵产品品质<sup>[9]</sup>。

果醋风味是衡量果醋品质的重要指标, 其主

要包含酯类、醇类、醛类、酚类、有机酸等, 其中有机酸是主要呈酸物质; 酸类、酯类和芳香醇类是果醋的主要风味物质<sup>[10]</sup>。如何提高或保持果醋品质及风味是当前果醋加工的研究热点, 发酵工艺技术或措施的优化是提高或保持果醋品质及风味的有效途径。目前, 研究果醋发酵工艺优化主要选取 2~3 个变量, 主要是酒精发酵阶段的接种量、糖度、温度和时间, 以及醋酸发酵阶段的接种量、酒精度、温度和时间<sup>[11]</sup>。而关于发酵过程中营养源对果醋品质及风味影响的研究相对匮乏。菠萝因自身香气特点, 导致菠萝果醋发酵过程中的底物利用率低, 且易失去典型香气和风味<sup>[12]</sup>。ANTIKA 等<sup>[13]</sup>尝试将菠萝果肉、果皮和火龙果汁混合进行表面培养发酵, 以期提高菠萝果醋品质, 发现菠萝果肉、果皮和火龙果汁混合发酵果醋的抗氧化活性最高, 但其特征性香气成分乙酸异丁酯和 2,3-丁二醇含量不理想, 且整个发酵周期长达 20 d, 不利于工业化生产<sup>[14]</sup>。鉴于此, 本研究拟通过向菠萝果醋发酵液中添加不同碳源 (蔗糖、菊粉)、氮源 (富铬酵母、大豆蛋白), 探究发酵过程中菠萝果醋还原糖、总酸、总多酚、总黄酮和抗氧化性等的变化规律, 及最终发酵液的风味物质成分含量特征, 阐明不同碳源、氮源对菠萝果醋最终品质及风味的影响, 以期提高底物利用率, 确定菠萝果醋发酵的最佳工艺流程, 进一步提高菠萝果醋的品质和风味, 为菠萝果醋产业化发展提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试菌种 巴氏醋酸菌 (*Acetobacter pas-*

*teurianus*)购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.1.2 菠萝果酒及碳氮源 菠萝果酒由中国热带农业科学院农产品加工研究所提供,酒精度为10%。富铬酵母抽提物、菊粉、大豆蛋白均购自江苏佰业生物科技有限公司;50%高粱酒购自云南易门大龙口酒业有限公司。

1.1.3 主要试剂 乳酸、酒石酸、抗坏血酸、苹果酸、富马酸、马来酸、柠檬酸、琥珀酸均为色谱纯,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氢氧化钠标准液、过硫酸钾均为分析纯,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; $\alpha$ -淀粉酶(食品级)购自上海源叶生物科技有限公司;2-辛醇(色谱纯)购自美国Sigma公司;儿茶素、没食子酸、福林酚、2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)、DPPH等购自上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.1.4 仪器与设备 ZQTY-50ES 全温震荡培养箱(上海知楚生物科技有限公司);DNM-9606 酶标仪(北京普朗新技术有限公司);M8型紫外分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);气相色谱-质谱联用仪(GC-MS-QP 2010 plus, AOC-5000 顶空、固相微萃取头,日本岛津公司);超高分辨四级杆组合静电场轨道阱液质联用仪(QTOF-LC-MS, Q Exactive Focus, 赛默飞世尔科技有限公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 醋酸发酵 (1)发酵液制备。蔗糖发酵液:用蔗糖调节菠萝果酒的含糖量为8%,用50%高粱酒调节酒精度为10%,备用。

菊粉发酵液:菊粉加热糊化后添加 $\alpha$ -淀粉酶酶解,添加至菠萝果酒中,调节可溶性固形物含量为8%,酒精度为10%,备用。

富铬酵母发酵液:在蔗糖发酵液中添加2%体积分数富铬酵母粉,备用。

大豆蛋白发酵液:在蔗糖发酵液中添加2%体积分数大豆蛋白,备用。

(2)接种及发酵。将活化后的醋酸菌种按2%体积分数接种至发酵液中,置于三角瓶中,于32℃,200 r/min 振荡培养7 d,每隔24 h于超净台中取样,置于-20℃保存,备用。

1.2.2 理化指标测定 总酸:采用GB 12456—2021中的酸碱指示剂滴定法测定总酸,以乙酸计。

酒精度:采用GB 5009.225—2023中的蒸馏比重法测酒精度。

还原糖:采用费林试剂法测定还原糖含量。

总酚:参照王华<sup>[14]</sup>的Folin-Ciocalteu法测定

总酚含量。拟合没食子酸标准品含量( $x$ , mg)与765 nm波长处吸光度( $y$ )的曲线为: $y=0.0124x$  ( $R^2=0.9992$ )。

总黄酮:参照杭书扬等<sup>[15]</sup>的方法,采用比色法测定总黄酮含量。儿茶素标准品含量( $x$ , mg)与510 nm波长处吸光度( $y$ )的曲线为: $y=3.4367x+0.0315$  ( $R^2=0.9974$ )。

1.2.3 挥发性物质测定 参照CHEN等<sup>[16]</sup>的方法,略作修改,采用HS-SPME-GC-MS及2-辛醇内标法测定挥发性物质含量。样品前处理:取8.00 mL样品置于15 mL顶空瓶中,加入10.00  $\mu$ L浓度为0.16 g/L的2-辛醇溶液,置于进样器中检测。注意内标随加随测,避免时间太久,内标物和样品反应。每组重复3次。顶空固相微萃取:于250℃老化60 min,采用CAR/PDMS萃取纤维头,于50℃顶空吸附25 min,于250℃解析3 min。GC-MS条件:柱箱温度为45.0℃,进样温度为250.00℃,进样时间为1.00 min,柱流量为1.08 mL/min,为不分流进样模式,离子源温度为230.00℃,色谱柱为AgilentHP-5MS。应用GC-MS内置的NIST11s.lib谱库对检测到的挥发性成分进行定性分析,选取匹配度 $\geq 80\%$ 的数据,以2-辛醇(色谱纯)为内标,采用内标峰面积归一法计算各挥发性成分的相对含量。

1.2.4 有机酸测定 样品前处理:参照郑海宏等<sup>[17]</sup>的方法,吸取1.00 mL发酵液,稀释100倍,用0.45  $\mu$ m水系针头过滤器过滤后待检测。

高效液质联用仪:色谱柱为ZORBAX Eclipse Plus C18 (150 mm $\times$ 3.0 mm, 2.6  $\mu$ m),流动相A为0.1%甲酸水,B为乙腈,流速为0.40 mL/min,柱温为35℃,进样量为5.00  $\mu$ L,分析时间为15 min。梯度洗脱程序:0~2 min, 2%~5% B; 2~5 min, 5%~20% B; 5~8 min, 20%~80% B; 8~9 min, 80%~100% B; 9~13 min, 100% B; 13~14 min, 100%~2% B; 14~15 min, 2% B。

在HESI源、负离子模式下分别进行检测。质谱条件:离子源温度为320℃,传输金属毛细管温度为400℃,S-lens RF水平为50,喷雾电压为3200 V,扫描范围为50~400 ( $m/z$ ),一级质谱全扫描分辨率为70 000, C-trap最大注入时间为200 ms。二级子离子全扫描( $ddms^2$ )分辨率为17 500,碰撞能( $stepped$  NCE)为80 V, C-trap最大容量(AGCtarget)为 $2\times 10^5$ , C-trap最大注入时间为60 ms,动态排除时间为8 s。

1.2.5 抗氧化活性测定 DPPH 自由基 (DPPH·) 清除能力测定。参考王彦兵等<sup>[18]</sup>的方法测定 DPPH·清除能力, 略作改动。2.00 mL 不同浓度的样品溶液与 2.00 mL DPPH 乙醇溶液 (0.10 mmol/L) 混合, 室温避光反应 30 min, 在 517 nm 处测定样品的吸光值 ( $A$ ); 空白组反应体系为 2.00 mL 超纯水与 2.00 mL DPPH 溶液混合, 室温避光反应 30 min, 测得其吸光值 ( $A_0$ )。按以下公式计算 DPPH·清除能力:  $\text{DPPH}\cdot\text{清除率} = (A_0 - A)/A_0 \times 100\%$ 。

ABTS<sup>+</sup>清除能力测定。将 1.92 g ABTS 和 0.33 g 过硫酸钾溶于水中, 定容至 500 mL, 于黑暗中放置 12~16 h, 使二者充分反应得到 ABTS<sup>+</sup>母液 (4 °C 下可长期保存)。使用前将 ABTS<sup>+</sup>母液稀释至使其 734 nm 处的吸光值为  $0.70 \pm 0.05$ 。测定时, 将 0.60 mL 样品与 3.40 mL ABTS<sup>+</sup>溶液混合, 于 25 °C 条件下反应 6 min, 在 734 nm 处测定其吸光值 ( $A_1$ ), 空白组反应体系为 0.60 mL 超纯水与 3.40 mL ABTS<sup>+</sup>溶液混合, 相同条件下反应后, 测定其吸光值 ( $A_2$ )。按以下公式计算 ABTS<sup>+</sup>的清除能力:  $\text{ABTS}^+\text{清除率} = (A_2 - A_1)/A_2 \times 100\%$ 。

### 1.3 数据处理

利用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据统计, 通过 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行显著性分析 ( $P < 0.05$ )。利用 Origin 2022 软件绘制柱状图和折线图。试验设置 3 次重复, 结果用平均值  $\pm$  标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳源、氮源对菠萝果醋总酸、还原糖含量的影响

不同碳源 (蔗糖、菊粉)、氮源 (富铬酵母、大豆蛋白) 对菠萝果醋总酸含量的影响如图 1 所示。由图 1A、图 1B 可知, 随着发酵时间的延长, 菠萝果醋的总酸含量逐渐增加。第 7 天发酵结束时, 各处理组菠萝果醋的总酸含量增加了 23.4~35.5 倍, 表明在菠萝发酵果醋过程中, 添加不同碳源、氮源可显著提高醋酸菌的产酸量。进一步利用线性方程对菠萝果醋总酸含量与发酵时间的关系进行拟合, 结果表明, 添加蔗糖、菊粉、富铬酵母、大豆蛋白后菠萝果醋的总酸含量与发酵时间呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )。由图 1A、图 1B 中拟合的线性方程斜率可以看出, 不同碳源、氮源促进醋酸菌产酸的顺序为大豆蛋白 (1.01) >

富铬酵母 (0.87) > 蔗糖 (0.83) > 菊粉 (0.67), 表明在菠萝果醋发酵过程中添加氮源促进醋酸菌产酸的能力优于碳源。这与前人的研究结果<sup>[11]</sup>一致。添加大豆蛋白的总酸含量高于富铬酵母, 这可能是由于大豆蛋白含有的氨基酸种类更丰富, 更能满足醋酸菌生长的需求, 在发酵过程中促进醋酸菌代谢效果更加明显。

在发酵过程中, 还原糖是微生物可利用的底物, 测定发酵过程中的还原糖含量, 即可表征发酵过程中菌群对底物的利用情况。如图 1、图 2 所示, 随着发酵时间的延长, 菠萝果醋中的还原糖含量逐渐降低; 至发酵结束, 菠萝果醋中的还原糖的含量为发酵初期的 24.7%~38.9%, 表明添加不同碳源、氮源可促进醋酸菌对底物的利用。其中, 添加不同碳源、氮源后, 菠萝发酵果醋中的还原糖含量存在显著差异, 即添加富铬酵母和菊粉后菠萝果醋中的还原糖含量显著高于添加蔗糖和大豆蛋白。同时, 利用线性方程拟合菠萝果醋中的还原糖含量与发酵时间的关系, 结果表明, 添加蔗糖、菊粉、富铬酵母、大豆蛋白后菠萝果醋中的还原糖含量与发酵时间呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ )。由图 1C、图 1D 线性方程斜率可以看出, 不同碳源、氮源促进醋酸菌利用还原糖的顺序为菊粉 (-0.74) > 蔗糖 (-0.82) > 富铬酵母 (-0.85) > 大豆蛋白 (-0.85), 表明在菠萝发酵果醋过程中添加氮源后促进醋酸菌利用还原糖的能力优于碳源, 这与前人的研究结果<sup>[19]</sup>一致。进一步分析发现, 在菠萝果醋发酵过程中, 总酸与还原糖含量呈极显著负相关关系 ( $P < 0.01$ )。

综上, 菠萝果醋发酵过程中添加碳源、氮源可以促进醋酸菌对底物的利用进而提高产酸量, 并且氮源对醋酸菌的促进作用优于碳源, 其中大豆蛋白对底物的利用率最高, 产酸量最大, 菊粉对底物的利用率最低, 产酸量最小。

### 2.2 不同碳源、氮源对菠萝果醋抗氧化活性的影响

不同碳源、氮源对菠萝果醋的生物活性也会产生一定影响 (图 3)。结果表明, 随着发酵时间的延长, 添加菊粉、大豆蛋白后菠萝果醋 DPPH 自由基清除率呈逐渐上升的趋势, 并且大豆蛋白处理对 DPPH 自由基的清除率极显著高于菊粉 ( $P < 0.01$ ); 添加蔗糖、富铬酵母后菠萝果醋 DPPH 自由基清除率呈先升后降的趋势, 发酵至第 6 天时蔗糖处理对 DPPH 自由基的清除率显著低于发

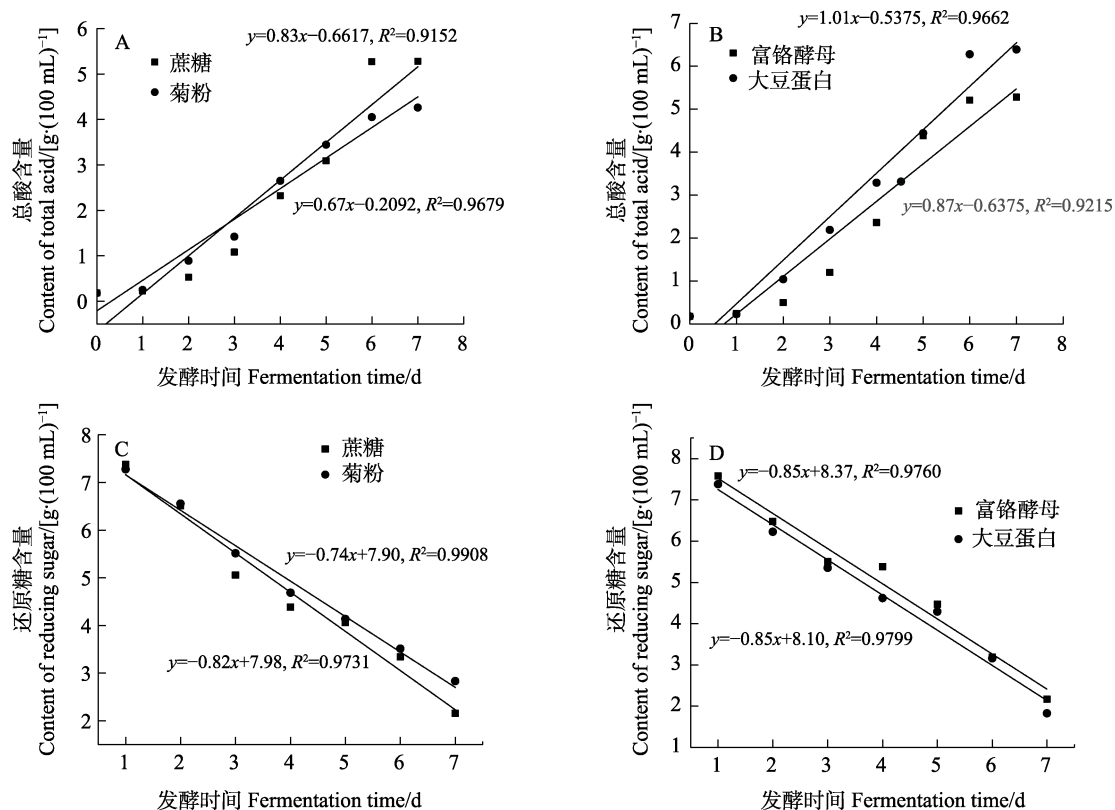
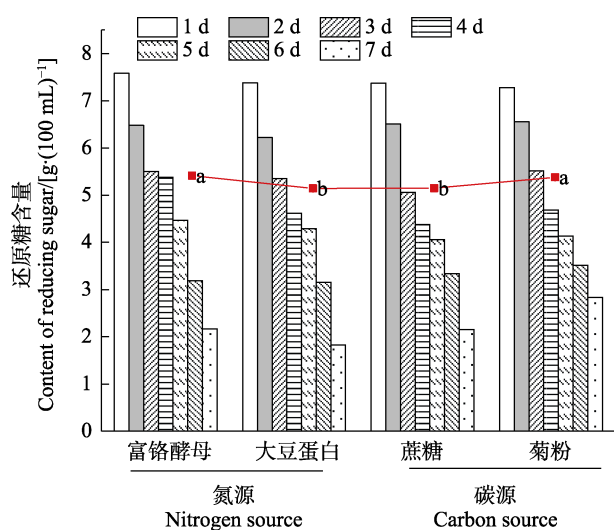


图 1 不同碳源、氮源对菠萝果醋总酸、还原糖含量的影响

Fig. 1 Effects of different carbon and nitrogen sources on content of total acid and reducing sugar in pineapple vinegar



折线为菠萝果醋还原糖的平均含量; 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

The line is the average content of reducing sugar in pineapple vinegar; Different lowercase letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

图 2 添加不同碳源、氮源后菠萝果醋还原糖含量的变化

Fig. 2 Reducing sugar content in pineapple vinegar during fermentation after adding different carbon and nitrogen sources

酵第 1 天的 ( $P < 0.05$ )。与蔗糖处理相比, 菊粉、大豆蛋白、富铬酵母处理的菠萝果醋 DPPH 自由基清除率提高了 15.3%~41.6%。由此可知, 不同

碳源、氮源对菠萝果醋清除 DPPH 自由基能力顺序为: 大豆蛋白>富铬酵母>菊粉>蔗糖 ( $P < 0.01$ ), 同时也表明氮源对菠萝果醋清除 DPPH 自由基的能力优于碳源, 其中添加大豆蛋白对菠萝果醋 DPPH 自由基清除率最高。随着发酵时间的延长, 添加大豆蛋白后菠萝果醋 ABTS<sup>+</sup>清除率呈先升后降的趋势, 至发酵结束时大豆蛋白对 ABTS<sup>+</sup>清除率在 4 个处理组中仍为最高; 添加菊粉、富铬酵母后菠萝果醋 ABTS<sup>+</sup>清除率呈持续上升的趋势, 并且富铬酵母处理的 ABTS<sup>+</sup>清除率高于菊粉; 添加蔗糖后菠萝果醋 ABTS<sup>+</sup>清除率则呈持续下降的趋势。至发酵结束时, 蔗糖处理的 ABTS<sup>+</sup>清除率降低了 42.9%, 而大豆蛋白、富铬酵母、菊粉处理的 ABTS<sup>+</sup>清除率提高了 8.74%~39.8%。据此可知, 不同碳源、氮源对菠萝果醋清除 ABTS 自由基能力顺序为: 大豆蛋白>富铬酵母>菊粉>蔗糖 ( $P < 0.01$ ), 这与不同处理后菠萝果醋 DPPH 自由基清除率结果一致。与碳源 (尤其是蔗糖) 相比, 添加氮源可持续稳定地提高菠萝果醋清除 ABTS 自由基的能力, 工业生产菠萝果醋时可将其作为优质的辅料添加到发酵液中以提高菠萝果醋的品质。

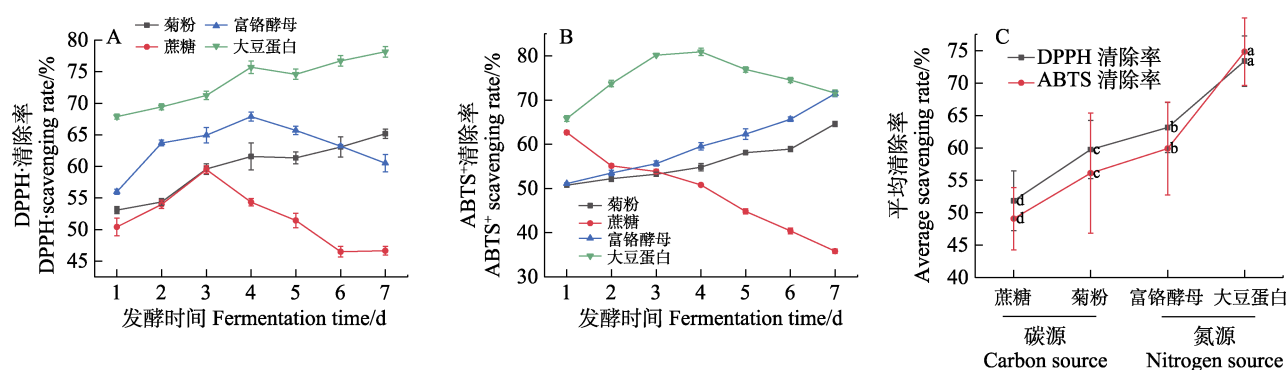


图 3 不同碳源、氮源对菠萝果醋抗氧化活性的影响

Fig. 3 Effects of different carbon and nitrogen sources on antioxidant activity in pineapple vinegar

### 2.3 不同碳源、氮源对菠萝果醋发酵过程中总酚、总黄酮的影响

由图 4A 可知, 添加碳源后, 随着发酵时间的延长, 菠萝果醋的总酚含量呈先增后降的趋势, 发酵至第 3、4 天时其含量达最大值, 其中, 添加菊粉的总酚含量为 179.65 mg/L, 添加蔗糖的总酚含量为 160.66 mg/L; 而添加氮源富铬酵母和大豆蛋白后, 菠萝果醋的总酚含量呈持续增加的趋势, 至发酵结束时其含量达最大值, 添加富铬酵母的总酚含量为 203.68 mg/L, 添加大豆蛋白的总酚含量为 236 mg/L。就总黄酮含量而言 (图 4B), 随

着发酵时间的延长, 添加不同碳源、氮源后其浓度变化波动较大, 除蔗糖处理组以外, 其他处理的总黄酮含量总体均呈逐渐增加趋势。至发酵结束时, 蔗糖、菊粉、富铬酵母、大豆蛋白处理的菠萝果醋总黄酮含量分别增加了-8.78%、2.93%、32.5%、21.3%。添加不同碳源、氮源的菠萝果醋最终发酵液中总酚、总黄酮含量顺序为: 大豆蛋白>富铬酵母>菊粉>蔗糖。由此表明, 菠萝果醋的总酚、总黄酮含量与 DPPH 自由基、ABTS<sup>+</sup>清除率均存在极显著正相关关系 ( $P<0.01$ ), 这与 WANG 等<sup>[20]</sup>的研究结果一致。

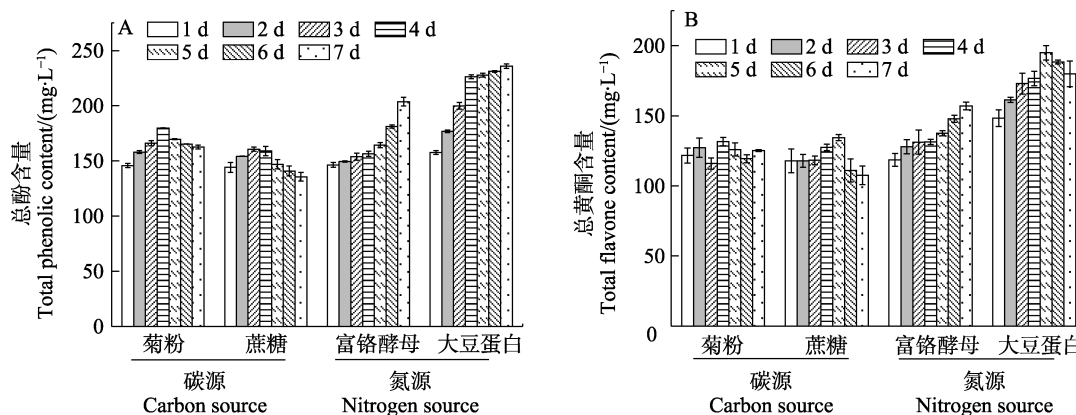


图 4 不同碳源、氮源对菠萝果醋总酚、总黄酮含量的影响

Fig. 4 Effects of different carbon and nitrogen sources on the contents of total phenol and total flavone in pineapple vinegar

### 2.4 不同碳源、氮源对菠萝果醋挥发性物质的影响

采用固相微萃取技术提取进样后, 经过气相色谱-质谱 (SPME-GC-MS/MS) 分析, 对添加不同碳源、氮源处理的 4 种菠萝果醋的挥发性物质与 NIST14s.lib 谱库进行比较, 相似度高于 80%予以保留, 鉴定出的挥发性物质种类的数量、质量浓度以及相关阈值结果见表 1。表中相关化合物

阈值参考《化合物香味阈值汇编》<sup>[21]</sup>。

由表 1、图 5 可知, 在 4 种处理的菠萝果醋最终发酵液中共检测出 37 种挥发性化合物, 在蔗糖、菊粉、富铬酵母、大豆蛋白处理的菠萝果醋中分别检出 33、29、30、30 种挥发性成分, 主要是醇类、酯类、酸类、酚类、酮类。其中酯类的数量极显著高于其他挥发性组分 ( $P<0.01$ ), 是重要的挥发性物质。碳源处理的菠萝果醋中酯类的

表 1 不同处理菠萝果醋的挥发性物质及其含量  
Tab. 1 Volatile compounds and contents of pineapple vinegar under different treatments

| 序号<br>No. | 英文名称<br>English name                          | 中文名称<br>Chinese name | CAS No.    | 阈值<br>Threshold<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) | 含量 Content/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) |               |                                |                            |
|-----------|-----------------------------------------------|----------------------|------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------|--------------------------------|----------------------------|
|           |                                               |                      |            |                                                         | 蔗糖<br>Sucrose                                  | 菊粉<br>Inulin  | 富铬酵母<br>Chromium<br>rich yeast | 大豆蛋白<br>Soybean<br>protein |
| 1         | isoamyl acetate                               | 乙酸异戊酯                | 123-92-2   | 1000                                                    | 91.99±3.85                                     | 1395.82±38.42 | 1256.83±35.14                  | 1583.9±32.67               |
| 2         | amyl acetate                                  | 乙酸戊酯                 | 628-63-7   | 1600                                                    | 41.30±2.73                                     | ND            | 55.88±2.52                     | ND                         |
| 3         | ethyl hexanoate                               | 己酸乙酯                 | 123-66-0   | 150                                                     | 22.32±1.62                                     | 221.76±10.03  | 352.99±9.68                    | 340.41±19.80               |
| 4         | ethyl heptanoate                              | 庚酸乙酯                 | 106-30-9   | 400                                                     | 0.95±0.10                                      | ND            | ND                             | ND                         |
| 5         | ethyl lactate                                 | 乳酸乙酯                 | 97-64-3    | 10 000                                                  | 4.63±0.72                                      | 76.16±3.74    | 14.88±2.03                     | 13.92±1.84                 |
| 6         | ethyl caprylate                               | 辛酸乙酯                 | 106-32-1   | 1300                                                    | 156.01±8.33                                    | 811.60±263.72 | 1489.31±50.92                  | 1234.88±30.26              |
| 7         | ethyl 3-methylthiopropionate                  | 3-(甲硫基)丙酸乙酯          | 13327-56-5 | 300                                                     | 21.37±0.89                                     | 22.45±1.50    | 39.57±4.46                     | 64.46±4.44                 |
| 8         | ethyl caprate                                 | 癸酸乙酯                 | 110-38-3   | 20                                                      | 26.88±1.97                                     | 35.66±1.81    | 41.78±2.46                     | 47.97±2.21                 |
| 9         | isopentyl octanoate                           | 辛酸异戊酯                | 2035-99-6  | 2000                                                    | 1.76±0.02                                      | 9.52±1.47     | 1.13±0.05                      | 3.46±0.05                  |
| 10        | ethyl 3-hydroxyhexanoate                      | 3-羟基己酸乙酯             | 2305-25-1  | 63                                                      | 5.24±0.19                                      | ND            | ND                             | ND                         |
| 11        | ethyl isopentyl succinate                     | 乙基异戊基琥珀酸酯            | 28024-16-0 | —                                                       | 8.67±1.86                                      | 2.19±0.22     | ND                             | ND                         |
| 12        | ethyl trans-4-octenoate                       | 反式-4-辛烯酸乙酯           | 78989-37-4 | —                                                       | 5.01±0.18                                      | 3.25±0.06     | 8.26±0.05                      | 10.47±1.77                 |
| 13        | diethyl succinate                             | 丁二酸二乙酯               | 123-25-1   | 1 045 000                                               | 15.88±1.95                                     | 1.72±0.03     | 33.22±2.02                     | 2.50±0.00                  |
| 14        | ethyl nonanoate                               | 壬酸乙酯                 | 123-29-5   | 12 000                                                  | ND                                             | 2.53±0.01     | 7.61±0.23                      | 5.64±0.19                  |
| 15        | 9-decenoic acid, ethyl ester                  | 9-癸烯酸乙酯              | 67233-91-4 | —                                                       | 31.51±1.41                                     | 1.64±0.01     | 219.91±6.01                    | 6.33±0.01                  |
| 16        | 4-hexanolide                                  | $\gamma$ -己内酯        | 695-06-7   | 8000                                                    | 4.42±0.02                                      | 3.57±0.05     | 2.98±0.04                      | 2.49±0.02                  |
| 17        | ethyl phenylacetate                           | 苯乙酸乙酯                | 101-97-3   | 1000                                                    | 1.59±0.01                                      | 0.65±0.00     | ND                             | ND                         |
| 18        | phenethyl acetate                             | 乙酸苯乙酯                | 103-45-7   | 20                                                      | 122.63±13.32                                   | 123.55±9.69   | 135.04±9.72                    | 152.35±15.40               |
| 19        | ethyl laurate                                 | 月桂酸乙酯                | 106-33-2   | 330                                                     | ND                                             | ND            | 17.15±1.62                     | 22.83±1.43                 |
| 20        | ethyl-(E)-cinnamate,<br>ethyl-trans-cinnamate | 肉桂酸乙酯                | 4192-77-2  | 38                                                      | 2.09±0.08                                      | 0.66±0.01     | 1.33±0.01                      | 1.17±0.01                  |
| 22        | palmitic acid ethyl ester                     | 棕榈酸乙酯                | 628-97-7   | 1500                                                    | 10.86±0.44                                     | 1.94±0.01     | 5.86±0.04                      | 4.76±0.06                  |
| 23        | diethyl phthalate                             | 邻苯二甲酸二乙酯             | 84-66-2    | —                                                       | 5.58±0.16                                      | 4.64±0.17     | 28.64±1.43                     | 4.04±1.74                  |
| 合计 酯类     |                                               |                      |            |                                                         | 580.69±39.85                                   | 2719.31±93.50 | 3712.37±128.43                 | 3501.58±111.90             |
| 24        | 2-nonanol                                     | 2-壬基醇                | 628-99-9   | 280                                                     | 6.52±0.37                                      | ND            | ND                             | ND                         |
| 25        | linalool                                      | 芳樟醇                  | 78-70-6    | 27                                                      | 16.63±1.14                                     | 23.63±2.21    | 79.40±4.57                     | 53.49±2.75                 |
| 26        | alpha-terpineol                               | $\alpha$ -松油醇        | 98-55-5    | 2000                                                    | ND                                             | ND            | 2.51±0.01                      | 2.33±0.02                  |
| 27        | 1-octanol                                     | 辛醇                   | 111-87-5   | 900                                                     | 5.13±0.05                                      | 4.87±0.11     | 9.01±0.03                      | 12.59±1.27                 |
| 28        | phenethyl alcohol                             | 苯乙醇                  | 60-12-8    | 45                                                      | 105.84±4.52                                    | 123.70±6.45   | 160.89±6.23                    | 155.03±6.88                |
| 29        | citronellol                                   | 香茅醇                  | 106-22-9   | 100                                                     | 42.65±2.43                                     | 46.28±2.59    | 68.11±2.97                     | 52.08±2.63                 |
| 30        | nerol                                         | 橙花醇                  | 106-25-2   | 500                                                     | 1.39±0.02                                      | 0.93±0.05     | 9.94±0.11                      | 12.73±0.06                 |
| 合计 醇类     |                                               |                      |            |                                                         | 178.16±8.53                                    | 199.41±11.41  | 329.86±13.91                   | 288.25±13.59               |
| 31        | isovaleric acid                               | 异戊酸                  | 503-74-2   | 1500                                                    | 16.58±0.92                                     | 105.52±2.54   | 117.96±2.73                    | 115.11±2.95                |
| 32        | octanoic acid                                 | 辛酸                   | 124-07-2   | 4000                                                    | 43.77±2.66                                     | 731.45±41.92  | 855.01±43.84                   | 706.95±45.16               |
| 33        | hexanoic acid                                 | 己酸                   | 142-62-1   | 80 000                                                  | 50.67±2.45                                     | ND            | ND                             | 26.33±1.69                 |
| 合计 酸类     |                                               |                      |            |                                                         | 111.02±6.03                                    | 836.97±44.46  | 972.97±46.57                   | 848.39±49.80               |
| 34        | eugenol                                       | 丁香酚                  | 97-53-0    | 100                                                     | 7.77±1.24                                      | 6.45±0.89     | 36.51±2.27                     | 25.60±1.82                 |
| 35        | 4-vinylguaicol                                | 4-乙烯基愈创木酚            | 7786-61-0  | 440                                                     | 2.08±0.04                                      | 5.48±0.08     | 53.99±1.94                     | 27.40±0.25                 |
| 36        | 4-allylphenol                                 | 对烯丙基苯酚               | 501-92-8   | —                                                       | 85.71±3.01                                     | 61.05±3.64    | 270.07±18.27                   | 63.78±1.28                 |
| 合计 酚类     |                                               |                      |            |                                                         | 95.56±4.29                                     | 72.98±4.61    | 360.57±22.48                   | 116.78±3.35                |
| 37        | acetoin                                       | 3-羟基-2-丁酮            | 513-86-0   | 17 000                                                  | 73.24±2.35                                     | 95.34±4.75    | 16.52±2.59                     | 18.13±2.21                 |
| 合计 酮类     |                                               |                      |            |                                                         | 73.24±2.35                                     | 95.34±4.75    | 16.52±2.59                     | 18.13±2.21                 |

注：ND 表示未检出；—表示未查询到相关信息。  
Note: ND indicates no detected; — indicates no related information is found.

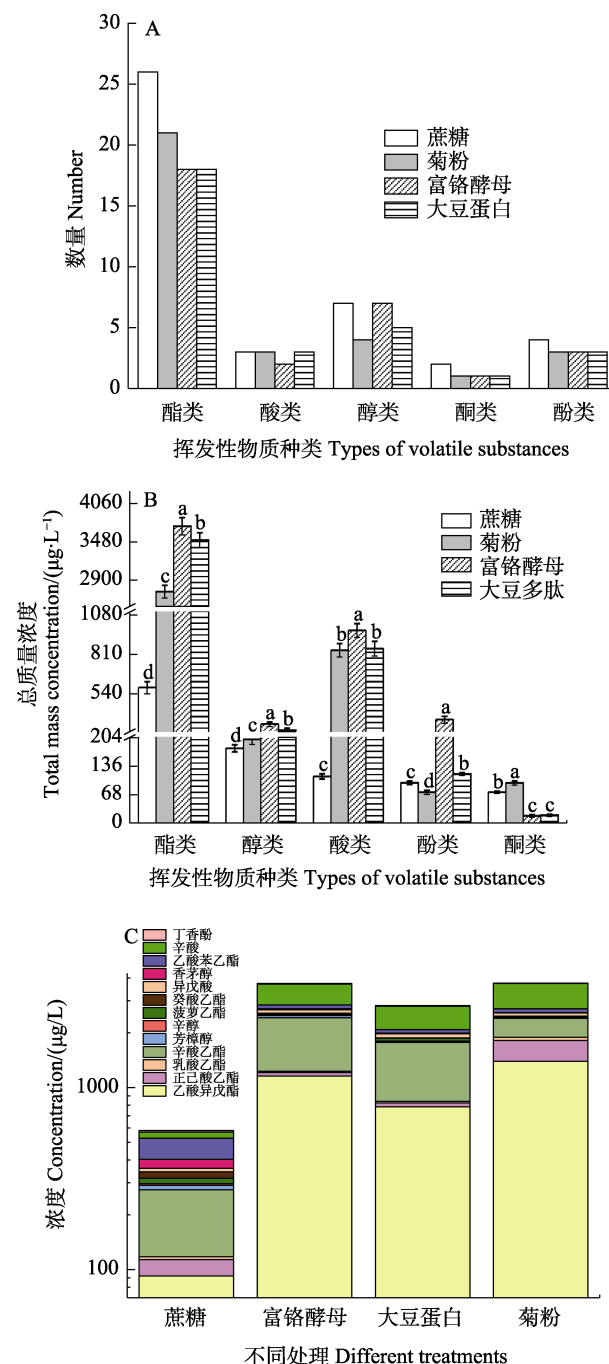
数量高于氮源处理,但是碳源处理的酯类成分总浓度低于氮源组。OAV 值为感官阈值与挥发性组分浓度的比值。由于化合物含量的多少并不能代表其整体香气贡献,通过 OAV 值能更准确地判断物质的贡献大小,一般认为  $OAV \geq 1$  的化合物对整体风味具有贡献,定为关键化合物;  $0.1 \leq OAV < 1$ ,说明该物质对总体风味有修饰作用<sup>[22]</sup>。蔗糖处理中  $OAV > 1$  的关键化合物有 2 种,为癸酸乙酯和苯乙醇;菊粉处理的的关键化合物有 4 种,为己酸乙酯、乙酸异戊酯、癸酸乙酯、苯乙醇;氮源处理的关键化合物有 5 种,为己酸乙酯、乙酸异戊酯、癸酸乙酯、芳樟醇、苯乙醇。

由图 5 可知,添加富铬酵母的发酵液酯类、酸类化合物的质量浓度最高,分别为  $(3712.37 \pm 128.43)$ 、 $(972.97 \pm 46.57) \mu\text{g/L}$ ,分别是添加蔗糖发酵液的 6.39 倍、8.76 倍。与蔗糖处理相比,其他处理的菠萝果醋中各类挥发性成分总浓度增加了 3.78~5.19 倍。

成熟的菠萝果实中主要特征挥发性化合物为己酸甲酯、己酸乙酯、3-甲基硫丙酸乙酯和 1-(E,Z)-3,5-十一丁烯<sup>[23]</sup>。在本研究的 4 种处理菠萝果醋中未检测出己酸甲酯和 1-(E,Z)-3,5-十一丁烯,3-甲基硫丙酸乙酯在碳源处理中  $OAV < 0.1$ ,氮源处理中  $OAV > 0.1$ ,远低于鲜果中的含量。推测可能是由于己酸甲酯、1-(E,Z)-3,5-十一丁烯类化合物较活泼,在发酵过程中易散失,从而使菠萝果醋易失去典型风味。

由表 1、图 5 可知,4 种处理的菠萝果醋主要挥发性物质为酯类、高级醇类。氮源处理的乙酸酯类和乙酯类成分含量较高,是重要的呈味挥发性物质。乙酸异戊酯和己酸乙酯呈现典型的香蕉、梨风味,癸酸乙酯具有花香、水果香<sup>[24]</sup>,这些物质共同赋予菠萝果醋柔和的花、果香。研究认为乙酯类物质和脂肪酸(异戊酸、己酸、辛酸)是由发酵过程中酶促产生的<sup>[25]</sup>,但是 4 种处理的菠萝果醋中脂肪酸含量远低于其气味阈值,因此不同处理可能对感官特征无影响。苯乙醇由发酵过程中产生的支醇和芳香化合物反应生成,具有花香和甜香的味道,对菠萝果醋风味具有积极贡献<sup>[26]</sup>。已有研究表明,成熟的菠萝鲜果中含有少量芳樟醇<sup>[27]</sup>,但是酿酒酵母等微生物也可以代谢生成芳樟醇<sup>[28]</sup>。菠萝果醋中的芳樟醇是来源于果实、酿酒酵母还是巴氏醋酸菌?还需进一步从起始的菠萝果酒发酵过程中跟踪观测。

结合 2.1 中的总酸含量结果,可以确定菠萝果醋中的主要挥发性风味物质为乙酸、乙酸异戊酯、己酸乙酯、癸酸乙酯、芳樟醇、苯乙醇。也表明在菠萝发酵果醋过程中适量添加富铬酵母、大豆蛋白等有机氮源,可以增加发酵液中的酯类物质含量。



不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

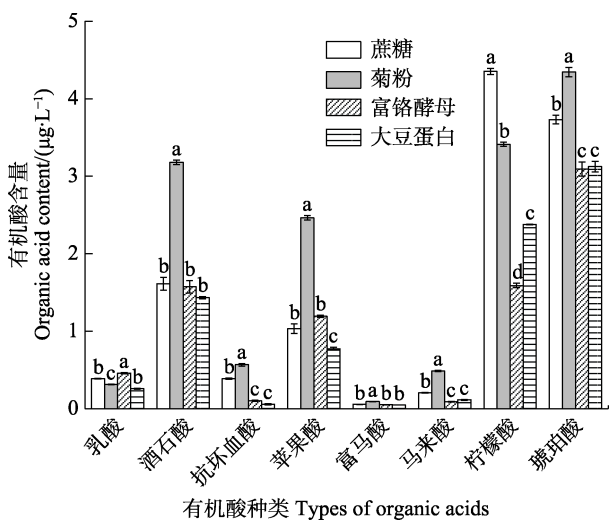
图 5 不同处理菠萝果醋中挥发性物质种类和浓度

Fig. 5 Types and concentrations of volatile substances of pineapple vinegar under different treatments

综上，就菠萝果醋中酯类的数量而言，碳源处理显著高于氮源处理；但就果醋中酯类、酸类的含量而言，其他处理高于蔗糖处理。从 OAV 值分析来看，适当添加其他碳源或者有机氮源，可有效增加菠萝果醋挥发性风味物质含量。

2.5 不同碳源、氮源对菠萝果醋有机酸含量的影响

有机酸类是评价发酵果醋品质的重要指标。4 种处理菠萝果醋中，琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸是有机酸的主要成分（占比为 90.2%~94.2%），含量最高可达 4.35 g/L；并且碳源处理菠萝果醋中的有机酸总含量（11.8~14.9 g/L）高于氮源处理（8.15~8.19 g/L，图 6）。单因素方差分析结果表明，添加蔗糖、菊粉、大豆蛋白、富铬酵母后菠萝果醋中的 8 种有机酸含量均存在极显著差异（ $P<0.01$ ）。不同处理菠萝果醋的乳酸含量顺序为富铬酵母>蔗糖>菊粉>大豆蛋白，而其他 7 种有机酸含量在菠萝果醋中均表现为碳源>氮源。这与总酸含量的变化趋势相反，其原因可能是添加氮源后提高了菠萝果醋的酸类含量，并进一步促进有机酸与醇类反应进而增加酯类的含量，其他处理的菠萝果醋中酯类和酸类含量高于蔗糖处理，而醇类含量低于蔗糖处理佐证了上述推论。为进一步证实上述差异的原因，后期应动态监测菠萝果醋发酵过程中的有机酸的变化特征。



不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。  
Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ).  
图 6 不同处理菠萝果醋的有机酸含量  
Fig. 6 Organic acid content of pineapple vinegar under different treatments

3 讨论

果醋因其具有抗氧化、抗疲劳、提高免疫力、促进消化等功能，越来越受到人们的关注<sup>[29]</sup>，菠萝在加工、发酵过程中会损失部分风味物质，导致菠萝果醋滋味寡淡<sup>[30]</sup>。风味成分是评价菠萝果醋品质的重要指标之一，也是当前的研究热点<sup>[31]</sup>。为了提升菠萝果醋的风味，颜韶波等<sup>[32]</sup>采用菠萝和菠萝蜜复合发酵。为了提高醋酸菌的发酵效率，张晓辉等<sup>[33]</sup>在发酵过程中添加营养盐，但是添加营养盐不仅成本高，而且不能满足市场需求。本研究通过改变发酵液的营养源种类，添加不同的且易于获得的有机碳源、氮源以促进醋酸菌生长代谢，提升底物利用率，从而提升菠萝果醋的品质与风味。结果表明，在菠萝果醋发酵过程中，随着发酵时间的延长（0~7 d），添加不同碳源（蔗糖、菊粉）、氮源（富铬酵母、大豆蛋白）后菠萝果醋的总酸含量逐渐上升，而还原糖含量则逐渐降低。HU 等<sup>[34]</sup>研究表明，菠萝果醋发酵过程中，总酸含量在发酵初期（0~4 d）快速增加，之后增加速度逐渐减缓。还原糖含量降低的原因可能是还原糖是发酵的主要底物，随着发酵的进行，醋酸菌将大部分还原糖转化为酒精，因此还原糖的含量会逐渐减少<sup>[4]</sup>。

就菠萝果醋抗氧化活性而言，添加菊粉、大豆蛋白后菠萝果醋的 DPPH 自由基清除率呈上升趋势，而添加蔗糖、富铬酵母后菠萝果醋的 DPPH 自由基清除率则呈先升后降的趋势；添加菊粉、富铬酵母后菠萝果醋 ABTS<sup>+</sup>清除率呈持续上升的趋势，而添加蔗糖后菠萝果醋 ABTS<sup>+</sup>清除率则持续下降。进一步研究发现，添加碳源后，菠萝果醋的总酚含量呈先增加后降低的趋势，发酵 3~4 d 时其含量到达最高；添加氮源后，菠萝果醋的总酚含量呈持续增加的趋势。添加不同碳源、氮源后总黄酮含量的变化波动较大，除蔗糖处理外，其他处理的总黄酮含量总体均呈增加的趋势；碳源处理后菠萝果醋的有机酸总含量高于氮源处理。HU 等<sup>[34]</sup>研究表明，在菠萝果醋发酵的初期（0~4 d），抗氧化活性显著增强；并且在发酵后期，菠萝果醋的抗氧化活性继续缓慢上升。这主要归功于总酚、总黄酮含量的上升，这些物质具有较强的抗氧化能力，能够有效清除 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup><sup>[35]</sup>。并且总酚含量与果醋的抗氧化能力呈正相关关系。在菠萝果醋的发酵过程中，总

酚含量的变化直接影响果醋的抗氧化活性<sup>[36]</sup>。其次,有机酸(特别是乙酸)也能显著影响果醋的抗氧化活性,在菠萝果醋发酵过程中,乙酸含量的上升有助于提高果醋的抗氧化能力<sup>[34]</sup>。此外,乙基-2-甲基丁酸酯的 OAV 值显著增加,为菠萝果醋带来甜味同时也增强其抗氧化活性。

进一步研究发现,不同碳源、氮源均可显著提高醋酸菌的产酸量,降低还原糖含量。不同碳源、氮源促进醋酸菌产酸的顺序为大豆蛋白>富铬酵母>蔗糖>菊粉,表明菠萝果醋中添加氮源能促进醋酸菌利用还原糖,其产酸能力优于碳源;添加有机氮源可以提高醋酸菌底物利用率,促进总酸生成。菠萝果醋发酵过程中总酚和总黄酮含量变化与 DPPH、ABTS 自由基清除率的变化趋势一致,碳源处理的总酚、总黄酮含量、DPPH、ABTS 自由基清除率在发酵第 4 天均达到最大值,之后逐渐降低。氮源处理的总酚、总黄酮含量、DPPH、ABTS 自由基清除率持续升高。氮源处理的总酚、总黄酮含量以及对菠萝果醋清除 DPPH、ABTS 自由基的能力优于碳源组,其中添加大豆蛋白的菠萝果醋生物活性最优。而菠萝果醋中有机酸含量与总酸含量的变化趋势相反,琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸是果醋中有机酸的主要成分。碳源处理的菠萝果醋有机酸含量总体高于氮源处理,但富铬酵母处理的菠萝果醋苹果酸和乳酸含量高于蔗糖处理,苹果酸和乳酸使果醋口感更加柔和,有利于减少乙酸刺激性,说明添加富铬酵母氮源后,有助于提升菠萝果醋口感。与发酵初始阶段相比,菠萝果醋酸味明显,同时伴有咸味和鲜味,且后味、苦味和涩味较弱。在发酵过程中,菠萝果醋的苦味降低,而酸度和收敛性增加<sup>[34]</sup>。

果醋含有丰富的有机酸、醋酸、糖、各类氨基酸、维生素、矿物质等人体必需的营养物质等<sup>[3]</sup>。在 4 种不同处理菠萝果醋最终发酵液中共检测出 37 种挥发性化合物,主要是醇类、酯类、酸类、酚类、酮类。碳源处理的菠萝果醋中挥发性成分数量高于氮源处理,但其浓度低于氮源处理。前人研究表明,在发酵的前 4 d,菠萝果醋的挥发性化合物特征发生了明显变化,而后趋于稳定<sup>[34]</sup>。蔗糖处理的关键挥发性化合物有 2 种(癸酸乙酯,苯乙醇),菊粉处理的关键挥发性化合物有 4 种(己酸乙酯、乙酸异戊酯、癸酸乙酯、苯乙醇),氮源处理的关键挥发性化合物有 5 种(乙酸异戊酯、己酸乙酯、癸酸乙酯、芳樟醇、苯乙醇)。由

此可知菠萝果醋中对风味有影响的挥发性物质为乙酸异戊酯、己酸乙酯、癸酸乙酯、芳樟醇、苯乙醇。在添加菊粉等碳源,或者在蔗糖碳源基础上适量添加有机氮源,有利于菠萝果醋中酸类、醇类浓度的增加,从而有利于醋酸菌酶促反应,提升酯类物质的积累。而前人研究进一步揭示了菠萝果醋发酵过程中风味的变化特征<sup>[34]</sup>。就香气而言,在发酵初期(0~4 d),菠萝果醋的风味变化显著。作为发酵原材料的菠萝果酒花香逐渐消失,被乙酸和乙基-2-甲基丁酸酯的丰富脂肪和水果香气所取代。随着发酵时间的增加,酒精的相对含量逐渐降低,而萜烯类、芳香类化合物的相对含量显著增加,这表明在发酵过程中,酒精被消耗的同时产生了各种风味物质。在醋酸发酵过程中,菠萝果醋中的酯类化合物含量显著降低,大部分酯类化合物的 OAV 值呈下降趋势,而有机酸的 OAV 值则显著增加。如乙基-2-甲基丁酸酯的 OAV 值显著增加,给菠萝果醋带来了甜味,醇类化合物如乙醇、丙醇等的 OAV 值较高,对菠萝果醋的香气有重要贡献。

综上所述,适量添加菊粉、富铬酵母、大豆蛋白等有机碳源、氮源,可以促进菠萝果醋的发酵进程,增加总酚、总黄酮类物质含量,提升抗氧化活性以及挥发性成分含量,而且添加有机氮源对整体提升菠萝果醋品质的效果优于添加碳源。本研究结果阐明了菠萝果醋发酵液的风味物质成分含量特征,揭示了不同碳源、氮源对菠萝果醋品质及风味的影响,对进一步提高菠萝果醋的品质和风味,为菠萝果醋工业化生产提供数据支持。

## 参考文献

- [1] 吴茂玉,马超,乔旭光,宋烨,赵岩. 菠萝蛋白酶的研究及应用进展[J]. 食品科技, 2008(8): 17-20.  
WU M Y, MA C, QIAO X G, SONG Y, ZHAO Y. Application and research progress of bromelain[J]. Food Science and Technology, 2008(8): 17-20. (in Chinese)
- [2] 刘青,周思理,邓干然,李强有,黄秋燕,李国杰. 我国菠萝主产区产业发展现状及对策[J]. 现代农业装备, 2024, 45(3): 11-15, 20.  
LIU Q, ZHOU S L, DENG G R, LI Q Y, HUANG Q Y, LI G J. The current situation and countermeasures of industrial development in the main pineapple producing areas of China[J]. Modern Agricultural Equipment, 2024, 45(3): 1-15, 20. (in Chinese)

- [3] 卞富永. 我国果醋的研究现状及发展趋势[J]. 中外食品工业(下半月), 2015(4): 2-3.  
BIAN F Y. Research status and development trend of fruit vinegar in China[J]. China and Foreign Food Industry (Second Half of the Month), 2015(4): 2-3. (in Chinese)
- [4] 张宝善. 食醋酿造学[M]. 北京: 科学出版社, 2014.  
ZHANG B S. Vinegar brewing science[M]. Beijing: Science Press, 2014. (in Chinese)
- [5] 于群, 牛翠翠, 张存智. 浅谈果醋饮料生产工艺及发展前景[J]. 现代食品, 2019(22): 60-62.  
YU Q, NIU C C, ZHANG C Z. A brief discussion on the production technology and development prospect of fruit vinegar drinks[J]. Modern Food, 2019(22): 60-62. (in Chinese)
- [6] 董爱静. 巴氏醋杆菌 AC2005 果醋发酵营养盐的研发[D]. 天津: 天津科技大学, 2015.  
DONG A J. Development of nutrient for cider vinegar fermentation with *Acetobacter pasteurianus* AC2005[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015. (in Chinese)
- [7] 闫小燕, 杨平平, 郭玉蓉, 王燕. 苹果醋饮生产工艺的研究[J]. 中国调味品, 2009, 34(12): 78-80.  
YAN X Y, YANG P P, GUO Y R, WANG Y. Study on the processing techniques of apple vinegar drink[J]. China Condiment, 2009, 34(12): 78-80. (in Chinese)
- [8] 杨海麟, 亓正良, 张玲, 王武, 冷云伟, 权武. 酒精醋发酵培养基的优化[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(8): 89-92.  
YANG H L, QI Z L, ZHANG L, WANG W, LENG Y W, QUAN W. Optimization of fermentation medium for alcohol vinegar[J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(8): 89-92. (in Chinese)
- [9] 唐倩, 刘斌杰. 碳、氮营养对 2 株茶菌核心菌株生长和产酸的影响[J]. 现代食品, 2023, 29(21): 218-224.  
TANG Q, LIU B J. Effects of carbon and nitrogen nutrition on the growth and acid production of two core strains of tea fungus[J]. Modern Food, 2023, 29(21): 218-224. (in Chinese)
- [10] 莫梅清, 曾健, 李洁雯, 魏悦佳, 江梓仪, 包爱民, 秦伟军, 高向阳. 刺梨果醋发酵过程中理化特性和风味特征的变化[J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 238-249.  
MO M Q, ZENG J, LI J W, WEI Y J, JIANG Z Y, BAO A M, QIN W J, GAO X Y. Changes in physicochemical properties and flavor characteristics of *Rosa roxburghii* Tratt. fruit vinegar during fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 238-249. (in Chinese)
- [11] 王程惠, 石庆叠, 卢红梅, 陈莉, 颜建虹. 刺梨果渣醋固态发酵工艺研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(8): 135-142.  
WANG C H, SHI Q D, LU H M, CHEN L, YAN J H. Research on solid state fermentation process of prickly pear residue vinegar[J]. China Condiment, 2023, 48(8): 135-142. (in Chinese)
- [12] 蔡坤, 周媚, 林雪. 菠萝酒酿造工艺与香气成分研究进展[J]. 热带作物学报, 2018, 39(6): 1252-1258.  
CAI K, ZHOU M, LIN X. Research progress on fermentation technology and aroma components of pineapple wine[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(6): 1252-1258. (in Chinese)
- [13] ANTIKA B, SUMAPORN K, KRAIREU N, PILANEE V, WARAPORN A, CHAMPORN T, PHORNPIMON J, SUNEE J, NANTHAVUT N. Comparison of the chemical properties of pineapple vinegar and mixed pineapple and dragon fruit vinegar[J]. Fermentation, 2022, 8(11): 597-597.
- [14] 王华. 葡萄酒分析检验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.  
WANG H. Wine analysis and inspection[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011. (in Chinese)
- [15] 杭书扬, 杨林霄, 郭建行, 钱格格, 刘延奇. 山药皮中黄酮、多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(20): 122-127.  
HANG S Y, YANG L X, GUO J X, QIAN G G, LIU Y Q. Optimization of extraction technology and antioxidant activity of flavonoids and polyphenols from yam skin[J]. Food Research and Development, 2023, 44(20): 122-127. (in Chinese)
- [16] CHEN D, CHIA Y J, LIU S Q. Impact of addition of aromatic amino acids on non-volatile and volatile compounds in lychee wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* MERIT. ferm[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 170: 12-20.
- [17] 郑海宏, 罗华, 侯红萍. 葡萄醋发酵工艺研究及其有机酸组分分析[J]. 中国酿造, 2019, 38(2): 139-143.  
ZHENG H H, LUO H, HOU H P. Fermentation technology of grape vinegar and analysis of its organic acid components[J]. China Brewing, 2019, 38(2): 139-143. (in Chinese)
- [18] 王彦兵, 黄家卫, 李国明, 刘小琼, 胡永亮, 王晓媛, 白燕冰. 响应面优化鼓槌石斛花总黄酮提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 福建农业学报, 2019, 34(6): 730-738.  
WANG Y B, HUANG J W, LI G M, LIU X Q, HU Y L, WANG X Y, BAI Y B. Response surface optimization of flavonoid extraction and *in vitro* antioxidant activity of extract from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. flowers[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2019, 34(6): 730-738. (in Chinese)
- [19] TOALDO M I, CRUZ A F, ALVES L D T, GOIS D S J, BORGES G L D, CUNHA P H, SILVA D L E, BORDIGNON-LUIZ T M. Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the southern region of Brazil: phenolic and elemental composition and effect on lipid per-

- oxidation in healthy subjects[J]. Food Chemistry, 2015(15): 527-535.
- [20] WANG S, MATEOS R, GOYA L, AMIGO-BENAVENT M, SARRIA B, BRAVO L. A phenolic extract from grape by-products and its main hydroxybenzoic acids protect Caco-2 cells against pro-oxidant induced toxicity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 88: 65-74.
- [21] 里奥·范·海默特. 化合物香味阈值汇编[M]. 刘强, 冒德寿, 汤峨, 译. 北京: 科学出版社, 2015.
- L J. VAN GEMERT WRITE. Compilations of flavour threshold values in water and other media[M]. LIU Q, MAO D S, TANG E, Trans. Beijing: Science Press, 2015. (in Chinese)
- [22] 王蒙. 红曲黄酒的风味特征和关键香气物质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
- WANG M. Research on flavor characteristics and the key aroma compounds of Hong Qu Huangjiu[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023. (in Chinese)
- [23] ZHENG L Y, SUN G M, LIU Y G, LV L L, YANG W X, ZHAO W F, WEI C B. Aroma volatile compounds from two fresh pineapple varieties in China[J]. IJMS, 2012, 13(6): 7383-7392.
- [24] DELLACASSA E, TRENCHS O, FARINA L, DEBERNARDIS F, PEREZ G, BOIDO E, CARRAU F. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) wine production in Angola: characterisation of volatile aroma compounds and yeast native flora[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 161-167.
- [25] 杨威, 成果, 张劲, 谢林君, 尹慧芝, 梁翡翠, 庞丽婷, 丰景. 广西原生葡萄酒凌丰和野酿 2 号典型香气特征分析[J]. 南方农业学报, 2024, 55(8): 2320-2331.
- YANG W, CHENG G, ZHANG J, XIE L J, YIN H Z, LIANG F C, PANG L T, FENG J. Typical aroma characteristics of Guangxi native wines Lingfeng and Yenang No. 2[J]. Journal of Southern Agriculture, 2024, 55(8): 2320-2331. (in Chinese)
- [26] 何琼. 无花果酒陈酿过程的品质变化及微波催陈研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
- HE Q. Quality change of fig wine aging process and microwave aging research[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [27] CHARLES S. Are pineapples really delicious? The history of the pineapple's taste/flavour and the role of varietal and terroir[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2023, 31: 100682.
- [28] 陶康. 产芳樟醇重组酿酒酵母发酵工艺优化及中试放大研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2024.
- TAO K. Optimization and pilot scale study on the fermentation process of recombinant brewing yeast for producing linalool[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2024. (in Chinese)
- [29] HO W C, LAZIM M A, FAZRY S, ZAKI H H K U, LIM J S. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: a review[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 1621-1630.
- [30] 符桢华, 陈华勇, 王永华. 菠萝果醋风味成分的 GC-MS 分析[J]. 中国酿造, 2009(12): 118-121.
- FU Z H, CHEN H Y, WANG Y H. Analysis of flavor components of pineapple fruit vinegar by gas chromatography-mass spectrometry[J]. China Brewing, 2009(12): 118-121. (in Chinese)
- [31] YANG S, LI K, LU J, WU D. Optimization of fermentation conditions and analysis of the changes in flavor compounds for lemon vinegar[J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105128. (in Chinese).
- [32] 颜韶波, 黄和, 陈菊. 菠萝和菠萝蜜复合果醋发酵工艺及挥发性物质分析[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(11): 143-151.
- YAN S B, HUANG H, CHEN J. Fermentation technology and volatile substances of compound vinegar of pineapple and jackfruit[J]. Food Research and Development, 2024, 45(11): 143-151. (in Chinese)
- [33] 张晓辉, 吴广泉, 王静, 董蓉蓉. Frings 醋酸发酵营养盐替代试验研究[J]. 安徽农学通报, 2014, 20(增刊 2): 136-138.
- ZHANG X H, WU G Q, WANG J, DONG R R. Experimental study on substitution of nutrient salt for acetic acid fermentation in Frings actator[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2014, 20(Suppl. 2): 136-138. (in Chinese)
- [34] HU Y H, PENG S D, HUANG H, WANG X F, ZOU Y, ZHANG L, CHEN T H, GONG X, LIAO L K, LI J H, ZHOU W. Effects of acetic acid fermentation on the phytochemicals content, taste and aroma of pineapple vinegar[J]. LWT, 2024, 210: 116861.
- [35] 孙璐宏, 鲁周民, 包蓉, 赵楠, 白卫东. 柿果醋酿造过程中抗氧化性能的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 37-41.
- SUN L H, LU Z M, BAO R, ZHAO N, BAI W D. Change of antioxidant activity in persimmon vinegar during brewing process [J]. Food Science, 2011, 32(19): 37-41. (in Chinese)
- [36] 田迪英, 杨荣华. 果蔬抗氧化活性与总酚含量相关性研究[J]. 化学世界, 2004, 45(2): 5.
- TIAN D Y, YANG R H. Studies on the relation of total phenols content to the antioxidant activity of fruits and vegetables[J]. Chemical World, 2004, 45(2): 5. (in Chinese)