顶空固相微萃取-气质联用分析酵母菌对发酵辣椒汁挥发性成分的影响

唐鑫，夏延斌，吴灿

（湖南农业大学食品科学技术学院，湖南长沙 410128）

摘要：为分析酵母菌对发酵辣椒汁挥发性成分的影响，采用固相微萃取法(SPME)提取发酵辣椒汁中的挥发性成分，并采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析方法，分别对植物乳杆菌发酵与植物乳杆菌和酵母菌混合发酵的挥发性成分进行鉴定。结果表明，植物乳杆菌发酵组中共鉴定出 36 种挥发性有机成分，混合发酵组中共鉴定出 57 种挥发性有机成分。

关键词：发酵辣椒汁；挥发性成分；固相微萃取；气质联用

文章篇号：1673-9078(2013)6-1420-1423

Effect of Yeast Fermentation on Volatile Components in Hot Pepper Sauce by HS-SPME-GC-MS

TANG Xin, XIA Yan-bin, WU Can

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: The volatile components of fermented hot pepper by *lactobacillus* and the mixture of *lactobacillus* and yeasts were analyzed by solid-phase microextration (SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total 36 and 57 volatile components were identified in the fermented hot pepper by *lactobacillus* and the mixture of *lactobacillus* and yeasts, respectively.

Key words: fermented pepper sauce; volatile components; SPME; GC-MS

辣椒（*Capsicum annuum*）属茄科，是一种深受人们喜爱，味辛香，性温热，有刺激性的蔬菜，其含有丰富的维生素 C，在蔬菜中居第一位，另外还含有比较丰富的锌、维生素 A、维生素 B、铁、钙、钾以及 15 种人体所需要的氨基酸[1~2]。辣椒在发酵的过程中，会产生许多的香气成分[3]，而不同菌种配比发酵辣椒使其香味更丰富受人喜爱。一般发酵通常为植物乳杆菌发酵，而酵母菌因为可以产生醇类物质也开始应用于泡菜的发酵。

目前，食品香气成分分析应用最广泛的技术是顶空固相微萃取气质联用法，固相微萃取法过程简单、方便快捷、不需要有机溶剂[4]，并且还是集采样、萃取、浓缩及进样于一体的[5~6]。如今该技术已经被广泛的应用于农药[7]、食品[8~10]和园艺产品[11~12]的香气测定。本实验采用顶空固相微萃取（solid phase miacro-extraction, SPME）的预处理方法，结合气相色谱-质谱联用仪（gas chromatography and mass spectrometry, GC-MS），对辣椒盐坯浸出汁分别接种植物乳杆菌和植物乳杆菌与酵母菌混合发酵，并对之间的香气成分进行比较，以期为酵母菌对发酵辣椒汁挥发性成分的影响提供理论基础。

收稿日期：2013-01-21

作者简介：唐鑫（1989-），女，硕士在读，研究方向食品化学与营养

通讯作者：夏延斌（1952-），男，教授，博士生导师

1 材料与方法

1.1 原料

辣椒盐水取于长沙坛坛乡调料食品有限公司剁辣椒盐坯浸出汁，通过浓缩稀释分别加入 4%植物乳杆菌作为植物乳杆菌发酵组和总接种量 4%，植物乳杆菌：酵母菌=2:1 作为混合发酵组，发酵 5 d 后，进行顶空固相微萃取，分析其挥发性成分。

1.2 仪器与设备

固相微萃取装置 SPME 进样器，上海安谱科学仪器有限公司；GCMS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪，日本岛津公司；GL-3520 磁力搅拌器，海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.3 风味成分的提取及鉴定

1.3.1 萃取头老化

首次使用固相微萃取头时，必须老化至无杂峰。将 100 μm PDMS 萃取头，于气相色谱进样口老化，老化温度 270 ℃，老化时间 30 min。

1.3.2 挥发性风味成分的提取

吸取 5 mL 的发酵辣椒汁于 SPME 样品瓶中，密封好后置于磁力搅拌器上，将萃取头插入样品瓶中，推出纤维头使其与液面保持 1.5 cm，顶空于 70 ℃吸附 45 min，搅拌速度为 900 r/min。然后将萃取头插入气相色谱仪进样口，250 ℃解吸 5 min，在拔出萃取头时抽回纤维头，并启动仪器采集数据。

1.3.3 挥发性风味成分的鉴定方法

1.3.4 仪器分析条件

气相色谱条件：色谱柱为 DB-5MS 弹性石英毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）；载气为高纯（99.999%）氦气，流速 1.0 mL/min；进样口温度 250 ℃；不分流进样；程序升温，柱温 50 ℃，保持 1 min，以 8 ℃/min 升温至 290 ℃，保持 2 min。

质谱条件：离子源温度为 200 ℃，电离方式 EI，电子能量 70 eV，灯丝电流 150 μA，质核比扫描范围：45~500 m/z。

1.3.4.1 定性定量方法

定性分析方法：质谱图采用 NIST08.LIB 数据库进行检索，人工谱图解析，分别对各峰进行确认和分析鉴定。定量分析方法：采用峰面积归一化法进行定量分析，得出各化学成分在发酵辣椒汁挥发性风味成分中的相对含量。

2 结果与分析

2.1 植物乳杆菌发酵辣椒汁的挥发性成分

用顶空固相微萃取气质联用法分析植物乳杆菌发酵辣椒汁挥发性风味化合物成分，得到 GC-MS 总离子流图，如图 1 所示。

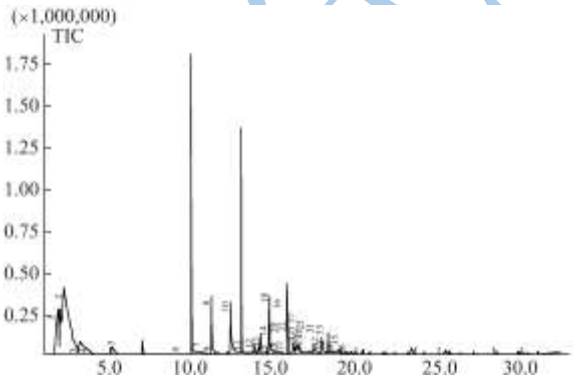


图 1 植物乳杆菌发酵辣椒汁挥发性风味化合物 GC-MS 总离子流图

Fig.1 GC-MS total ion current chromatogram of volatile compounds in pepper juice fermented by lactobacillus

由表 1 可知，植物乳杆菌发酵辣椒汁中所得的挥发性物质中含有有机物总共为 36 种，其中酯类为主要成分，共 10 种，占所有挥发性风味成分的 78.41%，在酯类化合物中，乙酸乙酯的相对含量有 40.12%，是相对含量最多的物质；醇类化合物 7 种，占 13.83%；烷类化合物 8 种，占 3.67%；烯类化合物 8 种，占 2.44%；酮类化合物 2 种，占 1.05%；萘类 1 种，占 0.59%。

表 1 植物乳杆菌发酵辣椒汁挥发性化合物的相对含量

Table 1 Volatile compounds in pepper juice fermented by lactobacillus

序号	保留时间/min	化合物名称	化学式	相对含量/%
1	1.896	乙醇	C_2H_6O	1.00
2	2.208	乙酸乙酯	$C_4H_8O_2$	40.12
3	2.767	核糖醇	$C_5H_{12}O_5$	3.44
4	3.208	异戊醇	$C_5H_{12}O$	8.55
5	5.150	乙酸异戊酯	$C_7H_{14}O_2$	12.23
6	9.192	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯	$C_{10}H_{16}$	0.11
7	9.467	芳樟醇	$C_{10}H_{18}O$	0.16
8	11.200	辛酸乙酯	$C_{10}H_{20}O_2$	13.62
9	11.317	α-松油醇	$C_{10}H_{18}O$	0.40
10	12.342	醋酸苯乙酯	$C_{10}H_{12}O_2$	5.88
11	13.092	十三烷	$C_{13}H_{28}$	0.12
12	13.783	(Z)-4-癸烯酸乙酯	$C_{12}H_{22}O_2$	0.57
13	13.900	2-甲基丙酸辛醇酯	$C_{12}H_{24}O_2$	0.03
14	13.975	甲酸香草酯	$C_{11}H_{20}O_2$	0.17
15	14.108	三癸酸乙酯	$C_{15}H_{30}O_2$	0.30
16	14.183	2-甲基-十三烷	$C_{14}H_{30}$	0.94
17	14.558	β-大马士酮	$C_{13}H_{18}O$	0.21
18	14.700	癸酸乙酯	$C_{12}H_{24}O_2$	4.12
19	15.167	长叶烯 l	$C_{15}H_{24}$	0.02
20	15.283	(-)-香树烯	$C_{15}H_{24}$	0.11
21	15.542	(3E)-2-甲基-3-十一碳烯	$C_{12}H_{24}$	0.99
22	15.725	α-瑟琳烯	$C_{15}H_{24}$	0.06
23	15.967	(+)-γ-古芸烯	$C_{15}H_{24}$	0.16
24	16.125	喇叭茶醇	$C_{15}H_{26}O$	0.20
25	16.217	桉油烯醇	$C_{15}H_{24}O$	0.08
26	16.267	反式石竹烯	$C_{15}H_{24}$	0.93
27	16.325	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-(1α,4a.α,8a.α)萘	$C_{15}H_{24}$	0.59
28	16.383	1,2-二己基环丙烯	$C_{15}H_{28}$	0.06
29	16.425	氯代十八烷	$C_{18}H_{37}Cl$	0.54
30	16.567	(2E,6E)-2,6-双(2-甲基亚丙基)环己酮	$C_{14}H_{22}O$	0.84
31	17.400	2-甲基十五烷	$C_{16}H_{34}$	0.53
32	17.867	月桂酸乙酯	$C_{14}H_{28}O_2$	1.37
33	17.950	正十六烷	$C_{16}H_{34}$	0.92
34	18.608	环戊烷,异戊基	$C_{10}H_{20}$	0.11
35	18.883	2-甲基十六烷	$C_{17}H_{36}$	0.22
36	19.417	正二十一烷	$C_{21}H_{44}$	0.29

2.2 植物乳杆菌和酵母菌混合发酵辣椒汁的挥发性成分

用顶空固相微萃取气质联用法分析植物乳杆菌发酵辣椒汁挥发性风味化合物成分，得到 GC-MS 总离子流图，如图 2 所示。

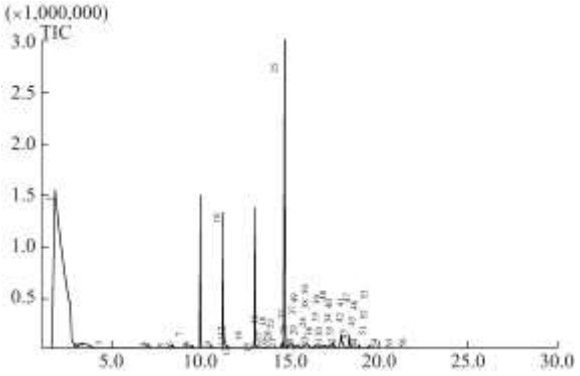


图 2 植物乳杆菌和酵母菌混合发酵辣椒汁挥发性风味化合物 GC-MS 总离子流图

Fig.1 GC-MS total ion current chromatogram of volatile compounds in pepper juice fermented by lactobacillus and yeasts

由表 2 可知，植物乳杆菌和酵母菌混合发酵辣椒汁中挥发性物质中含有有机物共 57 种，其中酯类为主要成分，共 15 种，占所有挥发性风味成分的 74.41%；醇类化合物 8 种，占 21.8%；烷类化合物 9 种，占 1.12%；烯类化合物 13 种，占 1.67%；酮类化合物 5 种，占 0.43%；萘类 2 种，占 0. 31%；酸类化合物 1 种，占 0.01%；醛类化合物 1 种，占 0.13%。

表 2 植物乳杆菌和酵母菌混合发酵辣椒汁挥发性化合物的相对含量

Table 2 Volatile compounds in pepper juice fermented by lactobacillus and yeasts

序号	保留时间/min	化合物名称	化学式	相对含量/%
1	1.792	乙醇	C_2H_6O	19.05
2	3.308	异戊醇	$C_5H_{12}O$	1.67
3	4.508	2,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	0.23
4	6.992	β-松油醇	$C_{10}H_{18}O$	0.27
5	8.083	L-柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	0.19
6	8.392	β-罗勒烯	$C_{10}H_{16}$	0.12
7	9.183	异松油烯	$C_{10}H_{16}$	0.24
8	9.450	芳樟醇	$C_{10}H_{18}O$	0.26
9	10.592	5-甲基-2-异丙基环己酮	$C_{10}H_{18}O$	0.06
10	11.208	辛酸乙酯	$C_{10}H_{20}O_2$	14.19
11	11.325	α-松油醇	$C_{10}H_{18}O$	0.24
12	11.383	2-甲基丁酸己酯	$C_{11}H_{22}O_2$	10.11
13	11.600	紫罗兰酮	$C_{13}H_{20}O$	0.04
14	12.375	壬酸乙酯	$C_{11}H_{22}O_2$	30.18
15	12.875	1,1,4a-三甲基-3,4,4,5,6,7-六氢-2(1H)-萘酮	$C_{13}H_{20}O$	0.03
16	13.092	紫罗烯	$C_{13}H_{18}$	0.07
17	13.775	(Z)-4-癸烯酸乙酯	$C_{12}H_{22}O_2$	0.58
18	13.900	2-甲基丙醇辛酸酯	$C_{12}H_{24}O_2$	0.01
19	13.983	2-(乙酰氧基)-1-[(乙酰氧基)甲基]-9-十八烯酸(Z)-乙基酯	$C_{25}H_{44}O_6$	0.08
20	14.092	癸酸乙酯	$C_{12}H_{24}O_2$	0.15
21	14.117	长叶蒎烯(+)-	$C_{15}H_{24}$	0.04
22	14.183	2-甲基-十三烷	$C_{14}H_{30}$	0.28
23	14.533	β-大马士酮	$C_{13}H_{18}O$	0.26
24	14.575	9-癸烯酸乙酯	$C_{12}H_{22}O_2$	0.06
25	14.717	十一烷酸乙酯	$C_{13}H_{26}O_2$	28.14
26	14.800	正十六烷	$C_{16}H_{34}$	0.24
27	15.200	α-1,4-二甲基-3-环己烯-1-乙醛	$C_{10}H_{16}O$	0.13
28	15.283	1,4a -二甲基-6-亚甲基-5-(3-甲基-2,4-戊二烯基-1-萘甲酸甲基酯	$C_{21}H_{32}O_2$	0.07
29	15.533	异戊基环戊烷	$C_{10}H_{20}$	0.25
30	15.733	(+)-香橙烯	$C_{15}H_{24}$	0.02
31	15.958	1,2,3,4,4a,8a-六氢-α,α,4a,8-四甲基-[2R-(2α,4a.α,α,8a.α)]-2-萘甲醇	$C_{15}H_{24}O$	0.07
32	16.133	β-花柏烯	$C_{15}H_{24}$	0.05
33	16.200	反式-β-紫罗兰酮	$C_{13}H_{20}O$	0.04
34	16.258	石竹烯	$C_{15}H_{24}$	0.40
35	16.325	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-(1α,4a.α,8a.α)-萘	$C_{15}H_{24}$	0.28
36	16.375	十氢-2,2-二甲基-萘	$C_{12}H_{22}$	0.03
37	16.425	雪松烯	$C_{15}H_{24}$	0.15
38	16.525	2,6-二叔丁基对甲苯酚	$C_{15}H_{24}O$	0.05
39	16.583	(R) -2,4a,5,6,7,8-六氢-3,5,5,9-四甲基-1H-苯并环庚烯	$C_{15}H_{24}$	0.30
40	16.967	癸酸辛酯	$C_{18}H_{36}O_2$	0.01
41	16.992	3,4-二氢-1,3,3-三甲基异喹啉	$C_{12}H_{15}N$	0.01
42	17.067	氯甲酸正壬基酯	$C_{10}H_{19}ClO_2$	0.03
43	17.133	正癸酸正癸酯	$C_{20}H_{40}O_2$	0.03
44	17.208	2-甲基-3-戊基-环氧乙烷	$C_8H_{16}O$	0.01
45	17.308	1-(1-四癸基十五烷基)-环己烷	$C_{35}H_{70}$	0.01
46	17.400	2-甲基-十五烷	$C_{16}H_{34}$	0.13
47	17.450	(-)-异丁香烯	$C_{15}H_{24}$	0.03

转下页

接上页

48	17.475	2-氧代-十四烷酸甲基酯	$C_{15}H_{28}O_3$	0.01
49	17.508	3-甲基-十五烷	$C_{16}H_{34}$	0.03
50	17.550	2,2'-亚甲基双-6-叔丁基-4-乙基苯酚	$C_{25}H_{36}O_2$	0.01
51	17.600	反式角鲨烯	$C_{30}H_{50}$	0.01
52	17.692	1-(3-丁氧基苯基)环戊烷羧酸	$C_{16}H_{22}O_3$	0.01
53	17.792	橙花叔醇	$C_{15}H_{26}O$	0.01
54	17.858	月桂酸乙酯	$C_{14}H_{28}O_2$	0.76
55	17.950	正十五烷	$C_{15}H_{32}$	0.12
56	18.600	顺-2-甲基-7-十八烯	$C_{19}H_{38}$	0.05
57	18.883	2-甲基-十六烷	$C_{17}H_{36}$	0.05

2.3 香味成分分析及比较

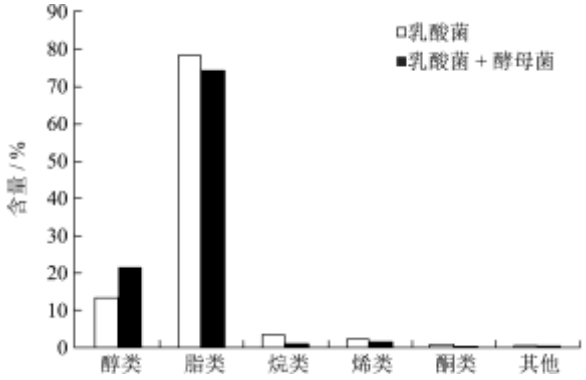


图 3 植物乳杆菌和植物乳杆菌与酵母菌混合发酵辣椒汁挥发性成分含量比较

Fig.3 Comparison of volatile compounds in pepper juice fermented by *lactobacillus* and mixture of *lactobacillus* and yeasts

由表 1 和表 2 可知，植物乳杆菌发酵辣椒汁的挥发性成分为 36 种，植物乳杆菌和酵母菌混合发酵的为 57 种，两组发酵辣椒汁挥发性成分含量比较见图 3。在植物乳杆菌发酵的辣椒汁组中，乙酸乙酯作为主要的香气物质，占总含量的 40.12%。乙酸乙酯具有水果香味，常作为水果香精、威士忌和奶油香精等的主要原料；其次是辛酸乙酯，有白兰地酒香味，主要用于调味品的制作；乙酸异戊酯也常用于调配水果型香精。在植物乳杆菌和酵母菌混合发酵组中，壬酸乙酯为主要的香气物质，占总含量的 30.18%，其香气为果香和带玫瑰香气的酒香；2-甲基丁酸乙酯，天然于苹果、草莓、香蕉、薄荷油、白葡萄酒、南美番荔枝、油桃中，具有强烈的水果青香香气，果香中含有苹果、香蕉及热带水果的香气，底香中含有蜡香、木香和辛香，口味上具有甜的近似于未成熟的草莓、苹果、香蕉的果肉香。这些酯类物质是在后阶段酸与醇发生反应后产生的一些酯香物质，赋予发酵辣椒汁香气。

除酯类化合物外，通过 GC-MS 检测出挥发性物质中含有多种醇类物质，赋予发酵辣椒汁香气作用较大。两组中均含有具有苹果白兰地香气和辛辣味的异戊醇，在植物乳杆菌和植物乳杆菌与酵母菌混合发酵组中分别占 8.55%、1.67%；以及 α-松油醇，其具有辛辣味，可能来源于原料辣椒中。属于链状萜烯醇类的芳樟醇在酵母菌与植物乳杆菌混合发酵辣椒汁的组中相对含量较高，其具有铃兰香气，为最常用和用量最大的香料。在混合发酵组中独有的橙花叔醇有甜清柔美的橙花气息，带有像玫瑰、铃兰和苹果花的气息。

通过 GC-MS 检测出的挥发性成分中含有多种烃类物质，其中萜烯类化合物是一种重要的香料物质，其香气阈值较低，所以赋予的香气作用较大，且香味特殊受人欢迎。在混合发酵组中烃类的种类更丰富一些。比如具有辛香、木香、柑橘香、樟脑香，温和的丁香香气的石竹烯；有类似柠檬的香味的柠檬烯；有草香、花香并伴有橙花油气息的罗勒烯等等。

两组中醛酮类化合物都相对较少，其中大马士酮具有甜的果香、花香和浆果香气。在混合发酵组中还有紫罗兰酮，常用于配制水果香精。其他物质对于香气的影响需要进一步研究。

3 结论

本实验采用顶空固相微萃取与气质联用技术检测了植物乳杆菌发酵以及植物乳杆菌和酵母菌混合发酵辣椒汁对辣椒汁挥发性成的影响。通过比较可以发现，在植物乳杆菌和酵母菌混合发酵组中，挥发性成分有 57 种，远高于植物乳杆菌单独发酵组中的 36 种，且其香味愉悦，说明在发酵辣椒的过程中适当的添加酵母菌有助于香气。这可能与在发酵的过程中酵母菌发酵产生的醇类物质与酸类物质相结合，发生酯化反应，生成多种酯类物质有关。

参考文献

[1] 赖晓英,贺稚非,吴丽红.辣椒的研究及开发现状[J].中国调味品,2006,3:4-9

[2] 高翔.辣椒的保健功能及其产品的开发研究[J].食品研究与开发,2004,25(3):115-116

[3] 刘嘉,陈杰,孙文彬,等.顶空固相微萃取-气质联用技术分析发酵辣椒的挥发性成分[J].食品科学,2011,32(24):256-259

[4] 张祖麟,陈伟琪,洪华生.固相微萃取法的应用及其进展[J].环境科学进展,1999,7(5):52-59

[5] Florez M J C, Fernandez S M L, Sznchez U J I E, et a1. Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in

aqueous samples by gas chromatograph [J]. Analytical Chimica. Acta, 2000, 415(1): 9-20

[6] 谢建春,孙宝国,刘珏,等.固相微革取在食品香味分析应用[J].食品科学,2003,24(8):229-23

[7] 崔丽静,林家永,周显青,等.顶空固相微萃取与气-质联用法分析玉米挥发性成分[J].粮食储藏,2011,40(1):36-40

[8] 李祖光,高云芳,刘文涵.黑胡椒风味成分的研究[J].食品科学,2003,24(10):128-131

[9] 沈海月,范文来,徐岩,等.应用顶空固相微萃取分析四种红葡萄酒挥发性成分[J].酿酒,2008,35(2):71-74

[10] 钟燕青,夏延斌.顶空固相微萃取-气质联用分析不同菌种发酵辣椒汁的香气分析[J].食品科技,2012,37(8):271-275

[11] 杨敏,周围,魏玉梅.桃品种间香气成分的固相微萃取-气质联用分析[J].食品科学,2008,29(5):389-392

[12] 辛广,张博,李铁纯.固相微革取气质联用分析圆黄梨和黄金梨香气成分[J].食品科学,2008,29(10):505-507

现代食品科技