

# 山竹酒发酵过程中活性成分变化及成品香气分析

于立梅<sup>1</sup>, 刘俊梅<sup>2</sup>, 冯卫华<sup>1</sup>, 白卫东<sup>1</sup>

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225)

(2. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

**摘要:** 为了探讨山竹果酒发酵过程中活性物质变化和成品香气贡献, 以山竹全果为原料发酵酿制山竹果酒, 考察果酒(果肉和果壳)发酵过程中活性成分含量和多酚组成变化, 并对成品果酒挥发性香气成分进行了分析。结果表明: 黄酮和多酚含量在主发酵期都呈上升趋势, 主发酵和后发酵 7~9 d 交替时含量下降, 在发酵后期果肉果酒中的黄酮含量稳定在 3.6~4.0  $\mu\text{g/mL}$  之间, 多酚含量稳定在 30.03  $\mu\text{g/mL}$  左右。总糖含量在整个发酵过程中呈现下降趋势。液相色谱表明两种果酒在发酵末期多酚物质组成有差异。香气成分表明果壳果肉果酒中酯类物质/醇类物质/羧酸类物质相对含量分别为 42.32%、57.32%、0.37%, 果肉果酒中酯类物质/醇类物质/羧酸类物质/相对含量分别为 30.13%、69.63%、0.17%, 两种果酒有不同的香气贡献物质。

**关键词:** 山竹果酒; 活性成分; 香气分析

文章编号: 1673-9078(2014)5-287-291

## Changes of the Active Ingredients of Mangostana Wine during Fermentation and Aroma Components of Finished Wine

YU Li-mei<sup>1</sup>, LIU Jun-mei<sup>2</sup>, FENG Wei-hua<sup>1</sup>, BAI Wei-dong<sup>1</sup>

(1. College of Light Industry and Food Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China) (2. College of food science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** In order to discuss the active ingredients of mangosteen wine during fermentation process and aroma contribution in the final product, *Garcinia Mangostana* was used as raw material to produce fruit wine. The changes of active ingredients such as flavonoids, polyphenols and polysaccharides were studied during the fermentation process, and aroma volatile components of two kinds of finished wine (fruit wine with shell and flesh only) were also analyzed. The results showed that the content of flavonoid and polyphenol increased in the main fermentation stage and then slowed down and remained steady in later fermentation, while the total sugar content decreased during the whole fermentation process. The flavonoid content of the flesh wine was attained stable between 3.6 and 4.0  $\mu\text{g/mL}$ , and polyphenol content was about 30.03  $\mu\text{g/mL}$  in the end fermentation. Liquid chromatography showed that polyphenols of two kinds of wine had significant difference in the fermentation stage. The aroma composition analysis showed the relative content of esters, alcohols and carboxylic acids were 42.32%, 57.32% and 0.37%, respectively, in fruit wine with shell, and 30.13%, 69.63% and 0.17% in flesh wine, respectively. Different aroma substances contributed to the aroma of the two kinds of fruit wine.

**Key words:** mangostana fruit wine; active ingredients; volatile aroma analysis

山竹 (*Garcinia mangostana* L), 又称倒捻子、凤果或莽吉柿, 为藤黄科藤黄属的一种间杂交的异源多倍体果树<sup>[1]</sup>, 原产于印度尼西亚和马来西亚, 是一种典型的热带水果, 主要分布于泰国、越南、马来西亚、印度尼西亚、菲律宾等东南亚国家<sup>[1-2]</sup>。我国台湾、福建、海南、广东和云南都有种植。果肉白色透明, 果

收稿日期: 2013-11-13

基金项目: 广东省产学研项目: 南方特色果酒技术创新 (2011B090400065)

作者简介: 于立梅 (1973-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏

通信作者: 白卫东 (1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品添加剂

实可食部分占29%~45%, 其味偏酸, 嫩滑清甜, 果肉可溶性固形物含量为16.8%。果实中碳水化台物的含量约为14.3%~15.6%, 柠檬酸含量为0.63%, 还含维生素B、多种氨基酸、蛋白质、脂肪和丰富的矿物质, 具有较高的食用价值, 其磷、镁、硫元素含量特别高, 钙、锌、铜、锌、铁和锰等有益元素含量也很高, 是名副其实的绿色水果。果肉其香幽气爽, 滑润而不腻滞, 可以克制榴莲、荔枝等热气, 与榴莲齐名, 号称“果中皇后”<sup>[3]</sup>, 且果皮是目前富含最强的天然抗氧化剂-氧杂蒽酮最多的水果, 具有多种生理活性<sup>[4-5]</sup>。

果酒是利用新鲜水果为原料, 在保存水果原有营

养成分的情况下,利用自然发酵或人工添加酵母菌来分解糖分而制造出的具有保健、营养型酒。果酒以其独特的风味及色泽,成为新的消费时尚。目前国内对于山竹的研究主要集中在果壳活性物质提取和抗氧化,对山竹整果发酵酿酒的研究还未见报道。近年来规划出台了关于重点发展水果发酵酒和水果蒸馏酒取代一部分粮食白酒的指导思想为热带水果果酒的开发创造了契机,因为山竹的季节性比较强,果皮经常废弃掉,如果在它当季的时候将其做成果酒,入口时酒的涩味夹带着淡淡的水果酸味,不仅可以实现山竹果大规模综合加工利用,而且可以使山竹果中本身含有黄酮类化合物和有机酸等有效药理成分和果酒自身的营养保健价值实现有机结合,对丰富果酒种类和捍卫人类健康,预防疾病具有十分重要现实意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

山竹果:采自海南山竹种植园,选取无机械损伤、无病虫害等个体,选择大小、果色均匀、成熟度基本一致的山竹果实作为试验材料;酿酒活性干酵母:安琪葡萄酒专用酵母;果胶酶(食品级)、白砂糖(食品级)、偏重亚硫酸钾、柠檬酸、酚酞、乙醇、浓硫酸、氢氧化钠、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)等。

### 1.2 仪器

DU-730型紫外可见分光光度计,日本岛津分析仪器厂;恒温水浴锅,广东环凯微生物科技有限公司;电热恒温培养箱,上海索谱仪器有限公司;HY-Z型调速振荡器,常州国华电器有限公司;Agilent1100 Series型的高效液相色谱,美国Agilent公司;HP6890/5975气相色谱-质谱仪,美国Agilent公司;检测器:UV254 nm×0.1 AUFS;标样均为Sigma公司色谱纯。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 工艺流程

果壳果肉果酒:山竹→浸泡清洗、去壳→去核→榨汁→果汁澄清→果汁过滤备用→粉碎果壳→加入果壳→成分调整→主发酵→分离酒脚→后发酵→分离酒脚→陈酿→成品酒

果肉果酒:山竹→浸泡清洗、去壳→去核→榨汁→果汁澄清→果汁过滤→成分调整→主发酵→分离酒脚→后发酵→分离酒脚→陈酿→成品酒

#### 1.3.2 黄酮的含量测定

采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法<sup>[6]</sup>。

#### 1.3.3 总糖的测定

采用苯酚-硫酸法<sup>[7]</sup>。

#### 1.3.4 总酚的测定

采用福林-肖卡法<sup>[8]</sup>。

#### 1.3.5 多酚 HPLC 分析条件

色谱柱:C18反相色谱柱(150 mm×4.6 mm, Φ5 μm);流动相:A泵为1%(体积分数)的乙酸水溶液,B泵为1%(体积分数)的乙酸乙腈溶液;柱温:30℃;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL;检测器:紫外检测器波长:280 nm。B泵洗脱梯度为:起始浓度为10%;15 min时增加到18%;35 min时增加到25%;45 min时增加到35%;再次浓度平衡15 min;60 min时增加到50%;65 min时增加到65%;75 min时增加到95%;随后流速回落到初始浓度,并且在此浓度平衡分离柱10 min后进样,外标法定量,酚含量用10<sup>-2</sup> mg/g FW表示。

#### 1.3.6 香气成分的测定<sup>[9-10]</sup>

顶空固相微萃取提取条件:将100 μm PDMS萃取头插入GC/MS进样口,于280℃老化1 h,在萃取前取果酒6 mL放于15 mL密封顶空样品瓶中,将萃取头通过瓶盖的橡胶垫插入到顶空瓶中,推出纤维头,于50℃下顶空萃取30 min,随后抽回纤维头,从顶空瓶上拔出萃取头,再将萃取头迅速插入GC-M汽化室,于280℃解析3 min,同时启动仪器采集数据。

GC-MS测定条件:HP-5MS色谱柱(19091S-413, 30 m×0.25 mm, 0.25 μm)。色谱条件:柱流量0.8 mL/min,进样口温度250℃,分流比20:1,柱温35℃保持5 min,再以3℃/min升至100℃,再以4℃/min升至230℃,保留5 min。质谱条件:接口温度250℃,全扫描,扫描区域14~500 u;电离方式EI,电离电压70 eV,温度230℃;质量分析器:四极杆,温度150℃。

#### 1.3.7 数据统计与分析

每个试验均重复三次,结果表示为平均值±标准偏差,通过MSD ChemStation D.03.00.611化学工作站数据处理系统,检索Nist2005谱图库,对匹配度大于80%的予以确认,按面积归一化法进行定量分析,计算出各成分的相对百分含量。

## 2 结果分析

### 2.1 两种果酒发酵过程中黄酮含量的变化

果酒发酵过程中黄酮含量的变化如图1所示,由图1可知,在主发酵阶段(1~7 d)黄酮含量增加较快,果肉果酒黄酮含量从5.96 μg/mL增长至7.83 μg/mL,果壳果肉果酒黄酮含量从5.75 μg/mL增长至9.19

μg/mL, 发酵 7 d 后, 进入后发酵阶段, 果壳果肉果酒黄酮含量稍有下降, 果肉果酒下降趋势明显, 9 d 后下降平缓, 因为随着发酵的进行, 发酵液中酒精含量不断增加, 黄酮的溶解量增加。带壳果酒与果肉果酒黄酮含量不同, 是因为山竹果壳中含有大量的黄酮化合物, 当酒精含量增加时, 黄酮的提取量变大, 以致带壳果酒中的黄酮含量较果肉果酒的多。而且果壳中还含有抑菌性物质, 在一定程度上抑制了酵母菌的活性, 使得带壳果酒发酵比较缓慢, 也就是说酒精度上升得比较慢, 以致果壳果肉果酒中的黄酮含量变化持续上升。其次根据黄酮物质化学特性, 易溶于有机醇溶剂, 随着有机醇浓度的提高, 黄酮从果酒发酵液中溶出率越高。

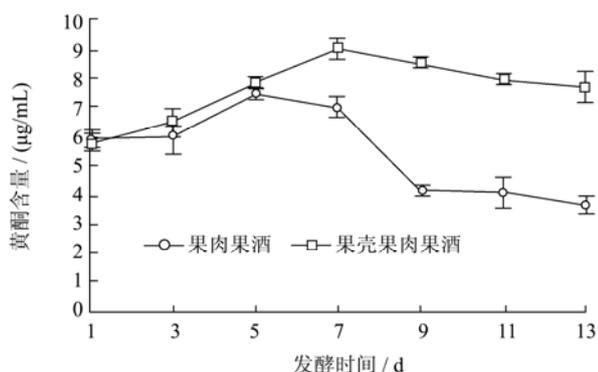


图1 两种果酒发酵过程中黄酮含量的变化

Fig.1 The changes of the flavonoids content of the two kinds of fruit wine during the fermentation process

### 2.2 果酒发酵过程中多酚含量的动态变化

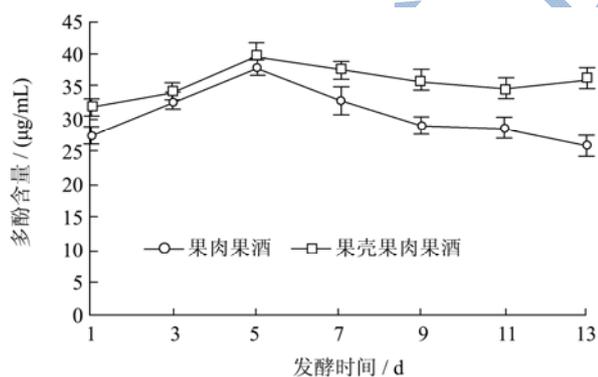


图2 两种果酒发酵过程中多酚含量的动态变化

Fig.2 The changes of the phenolic content of the two kinds of fruit wine during the fermentation process

果酒发酵过程中多酚含量的动态变化如图 2 所示, 如图 2 可知, 在发酵 1~5 d 期间, 果肉果酒中多酚含量从 27.53 μg/mL 增长至 39.30 μg/mL, 果壳果肉果酒多酚含量 31.67 μg/mL 增长至 39.59 μg/mL, 在主发酵末期 (7 d) 果肉果酒的多酚含量降为 30.03 μg/mL, 比 5 d 发酵结束的时候降低了 0.24%, 果壳果

肉果酒的多酚含量变为 35.32 μg/mL, 比前 5 d 的时候降低了 0.11%, 发酵初始多酚含量的变化趋势是增加速度加快, 之后速度变慢且略微下降, 这是因为随着酒脚被过滤除去, 酒液中充入一部分氧气, 果酒利用多酚物质发生褐变, 使多酚含量降低。果壳果肉果酒中的多酚含量比果肉果酒中的多, 因为在山竹果壳中含有一部分多酚物质以及某些抑菌活性物质, 随着发酵的进行, 酒精含量在缓慢增加时, 多酚的提取量变大, 但是果壳果肉果酒中由于酵母菌被抑制生长, 酒精的增长率比在果肉果酒中的慢, 多酚物质也可以持续增长得多一些。

### 2.3 两种果酒主发酵末期多酚组成的变化

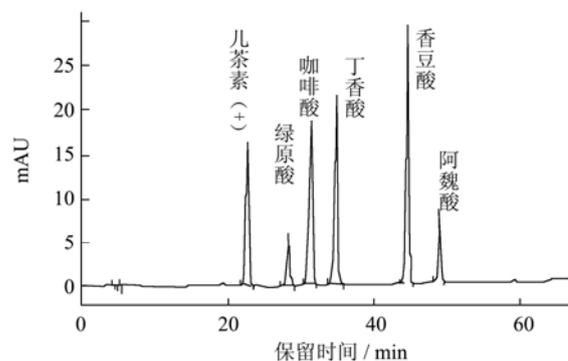


图3 混合多酚标准色谱图

Fig.3 The HPLC map of standard phenolic compounds

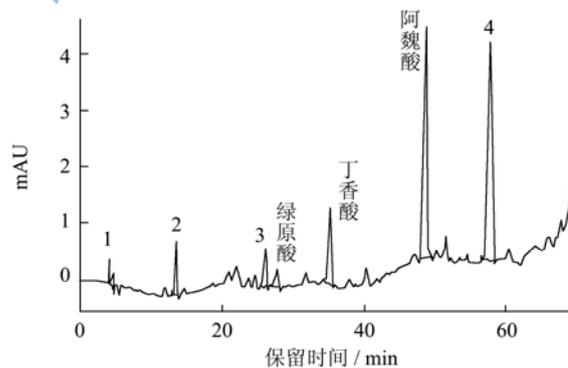


图4 果肉果酒发酵末期多酚色谱图

Fig.4 The HPLC of phenolic compounds of the fruit wine after main fermentation

酚类物质是果实生长代谢过程中的次生产物, 它对植物的生长发育和调节、果蔬产品的褐变有一定的影响。多酚类物质主要以酯化态、游离态和结合态的形式存在于植物体内, 酚类物质直接参与果酒的褐变过程, 随着贮藏期的延长, 酚类物质的存在形态和种类也发生了变化。两种果酒主发酵末期多酚组成的变化如图 4~5 所示, 由图 4~5 可知, 两种发酵果酒有一些相同的多酚, 阿魏酸、绿原酸和丁香酸, 在纯果肉果酒中阿魏酸含量最高为 0.18 mg/g、丁香酸为

9.24×10<sup>-2</sup> mg/g, 还有 4 个未知多酚物质。果壳果肉果酒中多酚组成发生了较大变化, 除了果肉中原有的阿魏酸和丁香酸, 又多出了香豆酸、咖啡酸、儿茶素和其它 5 种未知多酚物质, 果壳果肉果酒中儿茶素、香豆酸、咖啡酸和阿魏酸的含量分别为 0.17 mg/g、5.12×10<sup>-2</sup> mg/g FW、8.70×10<sup>-2</sup> mg/g FW 和 8.90×10<sup>-2</sup> mg/g。表明山竹果壳中富含多酚类物质, 两种果酒发酵过程中多酚组成的变化可能是由于山竹果壳富含多酚化合物, 果壳果酒在发酵过程中由于多酚氧化酶作用多酚组成发生变化。

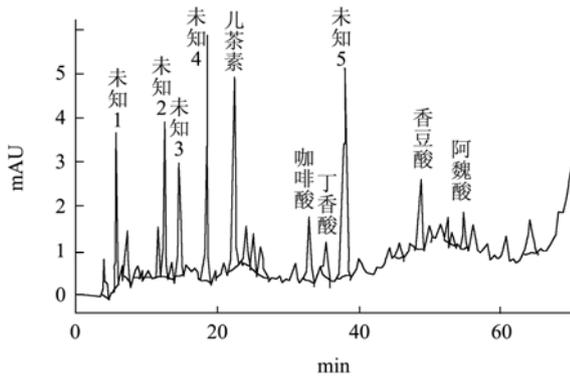


图5 附加果壳果肉果酒发酵末期多酚色谱图

Fig.5 The HPLC of phenolic compounds of the flesh and shell wine after main fermentation

#### 2.4 两种果酒发酵过程中糖含量的动态变化

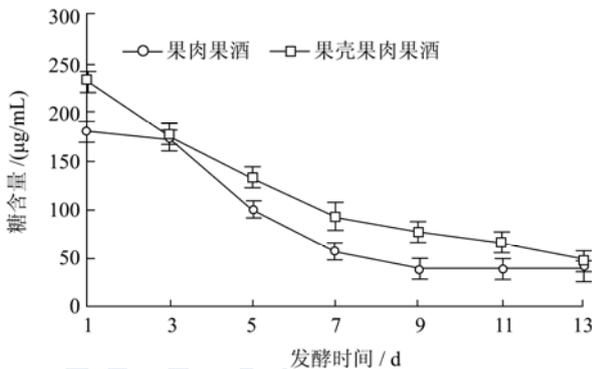


图6 两种果酒前发酵过程中糖含量的动态变化

Fig.6 The dynamic changes of the polysaccharides content of the two kinds of wine during the fermentation

两种果酒发酵过程中多糖含量的动态变化如图 6 所示, 由图 6 可知, 在发酵过程中, 多糖含量则呈现下降趋势, 最终趋于不变的规律。这可能是随着发酵的进行, 酵母的繁殖量增大, 呼吸旺盛, 处于生长的对数期, 糖是微生物生长代谢的营养物质, 大量的还原糖通过酵母菌的代谢作用生成酒精, 使总糖含量下降。发酵结束时, 果肉果酒的多糖含量降为 37.43 μg/mL, 而果壳果肉果酒中多糖含量降为 47.65 μg/mL。果壳果肉果酒跟果肉果酒的多糖含量的变化

趋势大体一样, 因为在果壳中多糖含量不多, 对发酵酒的多糖含量变化影响不大。

#### 2.5 两种山竹果酒发酵末期香气成分的分析

果酒香气有来自浆果的果香、发酵过程中由酵母、乳酸菌等微生物产生的发酵香和陈酿香, 陈酿香气主要由果酒中的酸、醇等物质产生复合或氧化还原作用而产生, 果酒中的香气成分是构成果酒质量的主要因素之一, 图 7~8 为不同处理方式的果酒 GC-MS 总离子图。

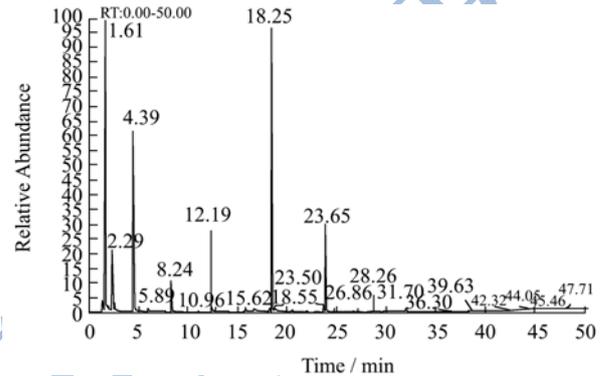


图7 果壳果肉果酒的香气成分GC/MS 总离子图

Fig.7 GC/MS total ion current chromatogram of aroma component of the flesh and shell wine

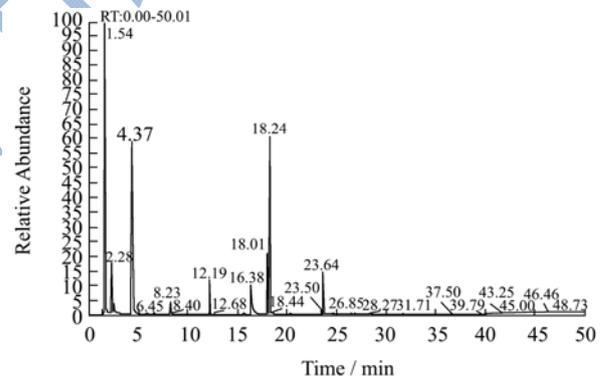


图8 果肉果酒的香气成分GC/MS 总离子图

Fig.8 GC-MS total ion current chromatogram of aroma components of the flesh wine

影响果酒口感的主要是多元醇和酯类成分, 果酒中的醇类主要是乙醇、甲醇、高级醇及多元醇。果酒香气的主要组成成分为高级醇和乙酸乙酯。从表 1 可以看出: 果壳果肉果酒中经鉴定测得 19 种挥发性香气成分, 其中酯类物质 10 种, 醇类物质 8 种, 羧酸类物质 1 种, 相对含量分别为 42.32%、57.32%、0.37%, 果肉果酒中经鉴定测得 21 种挥发性香气成分, 其中酯类物质 15 种, 醇类物质 5 种, 羧酸类物质 1 种, 相对含量分别为 30.13%、69.63%、0.17%。发酵果酒在发酵过程中, 酵母菌不但将碳水化合物分解生成两种主要的最终产物乙醇和二氧化碳, 还可生成一定数量的

其他香气物质。

两种果酒中醇类物质乙醇变化差异显著,可能是山竹果壳中有些酚类物质起到了抑菌作用,延缓了乙醇的生成。有些酯类物质含量升高,丁酸乙酯、乙酸异戊酯和癸酸乙酯升高了一倍左右,辛酸乙酯从12.66升高到19.40%,因为辛酸乙酯具有令人愉快的花果香气(酒-杏子香型),香气稳定,能持久的保持其香气味道。是山竹果壳果肉果酒特有的。果肉果酒中一些芳香醇对山竹酒香气的形成也有很大作用,其中苯乙醇含量相对较高,且其香味独特,是构成山竹酒基本香气的主要组分之一。这些醇酯类物质为在山竹果酒中香气的形成提供很大的贡献。

## 2.6 两种山竹果酒香气成分的变化

表1 山竹果酒香气成分的GC-MS分析结果

| 序号 | 保留时间/min | 香气化合物名称              | 果肉果酒/% | 果壳果肉果酒/% |
|----|----------|----------------------|--------|----------|
| 1  | 1.54     | 乙醇                   | 50.55  | 37.99    |
| 2  | 1.96     | 丙醇                   | -      | 0.30     |
| 3  | 2.29     | 乙酸乙酯                 | 5.15   | 5.86     |
| 4  | 2.51     | 异丁醇                  | 0.96   | 0.76     |
| 5  | 4.39     | 3-甲基-1-丁醇            | 14.61  | 15.25    |
| 6  | 4.45     | 2-甲基-1-丁醇            | -      | 2.40     |
| 7  | 5.89     | 丁酸乙酯                 | 0.16   | 0.32     |
| 8  | 6.45     | 乳酸乙酯                 | 0.25   | -        |
| 9  | 7.3      | 2-甲基丁酸乙酯             | 0.05   | -        |
| 10 | 7.48     | 异戊酸乙酯                | 0.09   | -        |
| 11 | 8.24     | 乙酸异戊酯                | 1.03   | 2.40     |
| 12 | 12.19    | 正己酸乙酯                | 2.60   | 3.77     |
| 13 | 12.68    | 乙酸己酯                 | 0.15   | -        |
| 14 | 15.54    | 芳樟醇                  | -      | 0.06     |
| 15 | 16.5     | 苯乙醇                  | 3.39   | 3.39     |
| 16 | 18.04    | 丁二酸二乙酯               | 4.54   | 0.41     |
| 17 | 18.25    | 辛酸乙酯                 | 12.66  | 19.40    |
| 18 | 18.55    | 辛酸                   | 0.17   | 0.37     |
| 19 | 18.61    | 2-(4-甲基-3-环己烯基)-2-丙醇 | 0.07   | -        |
| 20 | 18.62    | 松油醇                  | -      | 0.19     |
| 21 | 19.95    | 苯乙酸苯乙酯               | 0.05   | -        |
| 22 | 20.32    | 乙酸苯乙酯                | 0.19   | 0.22     |
| 23 | 23.65    | 癸酸乙酯                 | 3.12   | 6.42     |
| 24 | 28.5     | 月桂酸乙酯                | -      | 0.05     |
| 25 | 31.7     | 丁位十二内酯               | 0.08   | 0.44     |

## 3 结论

果酒的发酵是一个复杂的过程,发酵过程中两种果酒活性成分变化趋势相似,但含量变化有显著差异。随着发酵时间的增加,果肉果酒黄酮含量从5.96  $\mu\text{g/mL}$  增长至7.83  $\mu\text{g/mL}$ ,果壳果肉果酒黄酮含量从5.75  $\mu\text{g/mL}$  增长至9.19  $\mu\text{g/mL}$ ,发酵7 d后,果壳果肉果酒黄酮含量稍有下降,果肉果酒下降趋势明显,9 d后下降平缓。在发酵1~5 d期间,果肉果酒中多酚含量从27.53  $\mu\text{g/mL}$  增长至39.30  $\mu\text{g/mL}$ ,果壳果肉果酒多酚含量31.67  $\mu\text{g/mL}$  增长至39.59  $\mu\text{g/mL}$ ,在主发酵末期(7 d)果肉果酒的多酚含量降为30.03  $\mu\text{g/mL}$ ,比5 d发酵结束的时候降低了0.24%,果壳果肉果酒的多酚含量变为35.32  $\mu\text{g/mL}$ ,比前5 d的时候降低了0.11%。香气成分分析表明,果壳果肉果酒中19种挥发性香气成分,其中酯类物质10种,醇类物质8种,羧酸类物质1种,相对含量分别为42.32%,57.32%,0.37%,果肉果酒中经鉴定测得21种挥发性香气成分,其中酯类物质15种,醇类物质5种,羧酸类物质1种,相对含量分别为30.13%、69.63%、0.17%。果肉果酒和果壳果肉果酒香气成分有些差异,果肉果酒比果壳果肉果酒多了乳酸乙酯,2-甲基丁酸乙酯,异戊酸乙酯,苯乙酸苯乙酯等酯类物质。

## 参考文献

- [1] 杨连珍.山竹子[J].热带农业科学,2002,8(4):60-66
- [2] YANG Lian-zhen. *Garcinia mangostana* L [J]. Tropical Agricultural Science, 2002, 8(4): 60-66
- [3] Kanchanapom K, Kanchanapom M. Tropical and subtropical Fruits [M], USA: Ag Science Inc, 1998
- [4] Rukayah A, Zabedah M. Studies on early growth of mangosteen (*Garcinia mangostana* L) [J]. Acta Horticulturiae, 1992, 292: 93-100
- [5] Nakatani K, Atsumi M, Arakawa T, et al. Inhibitions of histamine release and prostaglandin E2 synthesis by mangosteen, a Thai medicinal plant [J]. Biol. Pharm. Bull., 2002, 25(9): 1137-1141
- [6] Lih Geeng Chen, Ling Ling Yang, Ching Chiung Wang. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana* [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(2): 688-693
- [7] Moreno M I N, Isla M I, Sampietro A R, et al. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina [J]. J. Ethnopharmacol., 2000, 71: 109-114
- [8] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J].

- Anal. Chem., 1956, 28: 350-356
- [8] Singleton V L, Rossi J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, 16: 144-158
- [9] 刘学军,殷涌光,范松梅,等.高压脉冲电场催陈葡萄酒香气成分变化的GC-MS分析[J].食品科学,2006,27(12):654-657  
LIU Xue-jun, YIN Yong-guang, FAN Song-mei, et al. GC-MS analysis of aroma components of aging wine by high voltage pulse, electricfield [J]. Food Science, 2006, 27(12): 654-657
- [10] M Pilar, Mart, Olga Busto, Josep Guasch. Application of headspace mass spectrometry system to the differentiation and classification of wines according to their origin, variety and ageing [J]. Journal of Chromatography, 2004, 10(57): 211-217

现代食品科技