

混合菌株发酵南瓜汁及其香气分析

周春丽^{1,2}, 刘伟¹, 李慧¹, 赵婧¹, 袁驰¹, 李全宏¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

(2. 江西科技师范大学生命科学学院, 江西南昌 330013)

摘要: 本文研究了混合菌株发酵南瓜汁的香气物质。采用固相微萃取技术 (SPME) 富集、气相色谱-嗅辨-质谱 (GC-O-MS) 分离检测手段, 结合计算机检索技术对分离化合物进行鉴定, 应用色谱峰面积归一法测定各成分的相对含量。实验结果表明: 新鲜南瓜和南瓜汁中分别鉴定出 58 和 41 个香气化学成分, 南瓜汁和新鲜南瓜共有的挥发性成分有 19 种, 南瓜中含量较高的挥发性物质为己醛、3-甲基丁醛、壬醛、戊醛、庚醛、环丁醇等物质。经过乳酸菌、酵母菌和二者混合发酵南瓜汁后挥发性成分分别鉴定出 51、36 和 45 种。通过乳酸菌和酵母菌混合发酵的南瓜汁的挥发性成分主要是乙醇、异戊醇、辛酸乙酯、1-庚醇、2, 3-丁二酮和异丁醇。与乳酸菌和酵母菌单独发酵的南瓜汁相比, 混合发酵后挥发性成分以醇类居多; 相对含量较高的香气成分种类相似, 而微量特征香气成分差异较为显著。

关键词: 发酵南瓜汁; 乳酸菌; 酵母菌; 香气成分; 固相微萃取

文章编号: 1673-9078(2014)5-301-310

Mixed Culture Fermentation of Pumpkin Juice and Its Aroma Analysis

ZHOU Chun-li^{1,2}, LIU Wei¹, LI Hui¹, ZHAO Jing¹, YUAN Chi¹, LI Quan-hong¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

(2. School of Life Science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

Abstract: The aromatic compounds in the mixed strains fermentation pumpkin juice were discussed in this paper. They were evaluated by solid phase micro-extraction (SPME) combined with gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography olfactometry (GC-O) methods, and the relative contents were determined by area normalization. 58 and 41 compounds were separated from fresh pumpkin and pumpkin juice, respectively, and 19 common volatile components were detected. The aromatic compounds with higher contents included hexanal, 3-methyl-butanol, nonanal, pentanal, heptanal and cyclobutanol in fresh pumpkin. 51, 36 and 45 aromatic compounds were identified from *Lactic acid* fermentation, *yeast* fermentation and mixed fermentation pumpkin juice, respectively. The main aromatic compounds by mixed fermentation pumpkin juice were ethanol, 3-methyl-1-butanol, ethyl caprylate, 1-heptanol, 2,3-butanedione and 2-methyl-1-propanol. Compared with the pumpkin juice fermented by only lactic acid bacteria or yeast, the majority of aromatic compound was ethanol in mixed fermentation pumpkin juice. The three fermentation pumpkin juices had similar major aromatic compounds, but showed significant difference in trace amounts. Therefore, mixed fermentation pumpkin juice was not only similar to those single strain fermentation, also formed unique aroma.

Key words: fermentation pumpkin juice, lactic acid bacteria, yeast, aroma component, solid-phase microextraction

南瓜 (*Cucurbita. Maxima*) 是葫芦科南瓜属植物, 印度南瓜营养丰富全面, 果实内含有糖类 (包括淀粉、葡萄糖、果胶、果糖、戊聚糖、甘露醇、其它膳食纤维等) 维生素、常量元素、微量元素、蛋白质、多种氨基酸、脂肪等多种生理活性物质, 具有降血脂、降血糖、抗肿瘤、清除自由基、抗过敏等功能^[1]。近年

收稿日期: 2014-01-02

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (201303112)

作者简介: 周春丽 (1979-), 女, 博士生, 副教授, 研究方向为食品加工技术

通讯作者: 李全宏 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向为农产品加工与贮藏工程

来人们研究发现南瓜不仅营养丰富, 而且还具有多种食疗保健作用及药用价值^[2-5]。于是, 南瓜的综合加工广泛展开, 市场上涌现的南瓜粉、南瓜脯、南瓜酱、南瓜罐头、南瓜晶、南瓜汁、南瓜蜜饯、南瓜饮料等多种加工产品。以南瓜粉为最多, 需求量最大^[1, 6]。但南瓜饮料被人们认可度不大, 主要因为南瓜的风味不太吸引人, 有研究者通过加入草莓、苹果等具有令人愉快的果汁混合南瓜汁改善南瓜风味^[7], 饮料风味的改善可以通过益生菌发酵改善, 利用乳酸菌发酵南瓜而制成的南瓜乳酸菌饮料, 不仅具有良好的风味和外观, 而且富含多种营养成分, 提高了饮料的生物学价值, 是一种保健功能很高的营养食品, 但利用混合

有益菌发酵南瓜汁的研究尚未见报道。固相微萃取法 (SPME) 是近年来新兴的一种样品分析前处理技术。它是在固相萃取的基础上结合顶空分析技术建立的。该技术是一种环境友好型的样品前处理技术, 通过石英纤维表面的吸附剂对样品进行吸附, 无需有机溶剂, 操作简单, 通过吸附/脱附技术, 富集样品中的挥发性和半挥发性的成分, 灵敏度高, 重现性好, 可以集采样、萃取、浓缩、进样为一体, 目前已广泛用于咖啡、果汁饮料、果蔬中香气成分的分析。本文利用固相微萃取法结合气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术, 对印度南瓜 (西洋南瓜) 汁及其乳酸菌和酵母菌混合发酵汁挥发性物质进行了分析比较并对其中一些物质的形成机理做了初步探索, 以便能够更好地控制其生成量及各物质间的比例关系, 从而为南瓜汁发酵饮料的生产和质量控制提供技术保障。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

印度南瓜 (*Cucurbita. Maxima*), 购于北京美廉美超市, 室温贮藏; 乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* WCFS1, NC004567.2), 从酸奶中分离, 通过北京三博远志生物技术有限公司对筛选的菌株进行 16SrDNA 全序列测定, 并将测定的序列从 GenBank 数据库中进行 Blast 分析; 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 购于安琪酵母股份有限公司。两株菌在发酵南瓜汁前均进行活化和驯化。干酵母的活化: 按 0.6 g/L 称取安琪活性干酿酒酵母, 无菌条件下溶解在 1% 的葡萄糖溶液中, 28 °C 恒温活化 30 min, 加到南瓜汁中进行发酵。

主要试剂: 氯化钠作为电解质添加入蔬菜汁中以增强挥发性组分的逸出; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA); 木糖醇, 海藻酸钠, 羟甲基纤维素钠 (CMC-Na), 黄原胶, 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS), MRS 培养基, 均购置拜尔迪生物公司; 其他试剂均为分析纯。

主要仪器与设备: 手动 SPME 进样器, 萃取纤维头 100 μm DVB/CAR/PDMS, 美国 Supelco 公司; Agilent 7890-5975 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; DB-5 毛细管气相色谱柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , 美国 Agilent 公司; PC-420 型电热磁力搅拌器, 美国 Coming 公司; HR-1843 型飞利浦榨汁机, SRH 型高压均质机, UV-2802 型紫外可见分光光度计, CR21G III 型高速冷冻离心机, 日本日立公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

准确称取 5 g 经过破碎处理的南瓜泥置于 20 mL 顶空样品瓶中, 加入 1.5 g 氯化钠; 准确吸取南瓜汁 8 mL 置于顶空样品瓶中, 并加入 2.4 g 氯化钠 (使挥发性成分充分被萃取) 备用。

1.2.2 乳酸菌发酵南瓜汁

将活化的对数期生长的乳酸菌群以 3% 的接种量接入灭菌南瓜汁 (灭菌温度为 121 °C, 时间 20 min) 中, 通过单因素培养条件筛选确定最优培养条件是 36 °C 发酵 12 h。吸取发酵液 8 mL 与 2.4 g 氯化钠混合, 加入到样品瓶中, 加盖封口。

1.2.3 酵母菌发酵南瓜汁

将活化后的酿酒酵母以 3% 的接种量接入灭菌南瓜汁中, 发酵 12 h。吸取发酵液 8 mL 与 2.4 g 氯化钠混合, 加入到样品瓶中, 加盖封口。

1.2.4 混合菌株发酵南瓜汁

将乳酸菌群和酵母菌以 3:1 的比例和 3% 的接种量接入灭菌南瓜汁, 发酵 12 h。吸取发酵液 8 mL 与 2.4 g 氯化钠混合, 加入到样品瓶中, 加盖封口。

1.2.5 样品吸附

将老化好的萃取头插入样品瓶的顶空部分, 置于磁力搅拌器上, 45 °C 萃取 40 min 后拔出, 插入气相色谱仪进样口, 对吸附的香气成分解析 3 min, 进行香气成分检测分析。

1.2.6 气相色谱条件

参照 A. Verzera 等^[8]的方法, 并略作修改。色谱条件: J&W DB-5 石英毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 起始温度为 50 °C 保留 2 min, 以 5 °C/min 升至 150 °C, 保留 1 min, 再以 10 °C/min 升至 220 °C, 保留 3 min, 进样口温度 250 °C, 分流比为 1:5。发酵南瓜汁升温程序: 起始温度为 45 °C 保留 2 min, 以 4 °C/min 升至 130 °C, 保留 2 min, 再以 10 °C/min 升至 230 °C, 保留 4 min, 进样口温度 250 °C, 分流比为 1:5。载气为氦气, 流速为 1.0 mL/min。

质谱条件: 电子轰击 (EI) 离子源; 电子能量为 70 eV; 传输线温度 280 °C; 离子源温度 230 °C; 电子倍增器电压为 1353 V; 四极杆温度为 150 °C; 质量扫描范围 33~450 u。

数据处理:

定性: 各组分经过计算机 NIST08 库检索, 选择匹配度大于 80% 物质作为有效的香气物质, 结合相关资料进行分析鉴定。嗅辨仪流出的香气组分的鉴定由

4名(2名女性、2名男性)对GC-O有一定实验基础的感官评价人员来完成。嗅闻过程中记录香气物质出现的时间并描述其香气属性,每人对同一样品进行3次评价,最后以每一种物质被这4名人员所嗅闻到的总数即检测频率(DF)来表征每种物质香气贡献大小。在本实验中,将DF大于或等于2且至少被2名评价人员各嗅闻到1次的物质,定义为发酵南瓜汁的特征香气成分^[9]。

定量:相对百分含量按峰面积归一化法计算,求

得各个挥发性化学成分的相对百分含量(每种风味物质组分峰面积占离子色谱图中所有风味物质总峰面积的百分比)。

2 结果与分析

2.1 新鲜南瓜与南瓜汁挥发性成分比较

利用SPME富集和GC/MS分析,新鲜南瓜和南瓜汁的挥发性风味成分的鉴定结果如表1。

表1 SPME-GC/MS鉴定的挥发性成分及其相对含量

Table 1 Volatile components in pumpkin and pumpkin juice identified by SPME-GC/MS

成分	保留时间/min	化合物	相对含量/%	
			新鲜南瓜	南瓜汁
羰基类			54.43%	21.84%
1	6.934	己醛	21.32	13.43
2	8.036	3-甲基丁醛	7.34	2.23
3	14.456	戊醛	4.52	0.23
4	17.590	壬醛	7.70	2.63
5	15.297	辛醛	3.36	1.27
6	32.769	(Z)-6-壬烯醛	2.15	
7	24.836	(E)-2-壬烯醛	1.29	
8	30.954	(E)-2-癸烯醛	1.27	
9	15.150	(E,E)-2,4-二烯醛	0.85	
10	12.940	(E)-2-庚烯醛	0.78	
11		2-乙基-3-甲基丁醛	0.76	
12	18.537	(E)-2-辛烯醛	0.71	
13	10.383	庚醛	0.65	0.90
14	34.424	2-十一烯醛	0.62	
15	27.880	癸醛	0.46	
16	39.122	戊二醛	0.30	
17	28.954	2,6,6-三甲基-1-环己烯基-1-甲醛	0.29	
18	17.572	5-甲基己醛	0.06	0.32
19	16.843	2,6,6-三甲基环己酮		0.32
20	27.437	β -紫罗兰酮		0.28
21	37.361	3,3-二甲基-4-甲氨基-丁烷-2-酮		0.23
醇类			21.79%	16.46%
1	11.149	3-己烯醇	5.27	
2	9.100	1-己醇	3.87	
3	6.182	1-戊醇	2.73	
4	8.543	1-辛醇	2.40	
5	8.675	1-辛烯-3-醇	2.39	
6	4.626	环丁醇	1.74	4.25
7	4.450	2-(甲氨基)-乙醇	1.29	8.38
8	41.837	1-十一醇	0.80	

转下页

接上页				
9	41.987	2, 6-壬二烯醇	0.77	
10	35.575	5-甲基-2-(1-甲基乙基)-1-己醇	0.30	
11	37.024	顺式-2-甲基环戊醇	0.23	
12		异辛醇		0.69
13	31.003	反式 1, 2-环戊二醇	0.73	
14	31.418	α -(1-氨基乙基)苯甲醇	2.41	
酯类			2.83%	5.34%
1	6.602	11, 14-二十碳二烯酸甲酯	1.04	
2	29.637	氨基甲酸甲酯	0.97	3.17
3	34.736	2, 4, 4-三甲基-3-甲氧基异丙基-戊酸异丁酯	0.30	
4	41.811	2-苯二酸-2-甲基丙基酯	0.26	
5	34.155	2-甲氧基乙酸十四酯	0.13	
6	29.308	2-甲基-3-羟基-2, 4, 4-三甲基丙酸戊酯	0.13	0.35
8	19.215	6-乙基-3-辛基邻苯二甲酸丁酯		1.54
10	21.528	2-甲基-2-乙基-1-丙基丙酸戊酯		0.28
烷烃类			7.16%	8.98%
1		1, 1, 3-三甲基环戊烷	1.83	
2	11.657	3-甲基-1-己烯	1.44	
3	13.535	环庚烷	1.40	
4	31.935	1-1'-二环庚烷	1.17	
5	35.926	4-甲基-1, 4-庚二烯	0.32	
6	17.527	3-乙基-1, 4-己二烯	0.25	
7	29.000	3, 7-二甲基癸烷	0.17	
8	24.802	2, 5-二甲基-2, 4-己二烯	0.12	
9	31.755	三十一烷	0.06	0.34
10	30.844	十六烷		0.76
11	31.130	8-甲基十七烷		0.16
12	29.481	1-乙基-1-甲基-2, 4-(1-甲基乙基)环己烷		0.23
13	28.378	1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)-环己烯		1.59
14	28.056	3-(1, 5-二甲基-4-己基-6-亚甲基)-环己烯		4.50
15		2-亚丙烯基-环丁烯		0.92
16	28.710	3, 7-二甲基-1, 3, 6-辛三烯		0.48
其他			10.49%	14.24%
1	27.817	N-甲基-1-辛胺	4.79	2.73
3	10.515	甲氧基-丙基肼	1.43	2.87
4	26.995	二丁基羟基甲苯	0.90	0.72
5	14.721	2-戊基咪喃	0.76	0.29
6	14.536	1-乙酰-4-甲基哌嗪	0.46	0.34
7	27.778	1-(1, 5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基苯	0.15	0.97
8	29.964	2-苯基-1H 吡啶	0.08	0.88
9	4.187	3-氨基-2-甲基丁酸		5.44

由表 1 可见, 新鲜南瓜的挥发性风味成分经气相色谱鉴定出 58 种。根据各成分的积分峰面积在总挥发性物质峰面积中的比例可知, 新鲜南瓜的挥发性成分

以羧基类、醇类、酯类、烷烃类为主, 还含有部分杂环类物质。羰基类物质鉴定出 18 种, 相对峰面积占 54.43%, 醇类物质 11 种, 相对峰面积为 21.79%, 酯

类物质 6 种, 相对峰面积为 2.83%, 烷烃类物质 9 种, 相对峰面积 6.76%。其中最重要的挥发性成分为己醛 (21.32%)、壬醛 (7.7%)、3-甲基丁醛 (7.34%)、3-己烯醇 (5.27%)、戊醛 (4.52%)、1-己醇 (3.87%)。经过热烫等、均质等工艺处理的南瓜汁鉴定出挥发性风味成分 41 种, 根据相对峰面积可知, 挥发性成分有羰基类 (21.84%)、醇类 (16.46%)、烷烃类 (8.98%)、酯类 (5.34%)、其他物质 (14.24%)。挥发性成分种类和含量与新鲜南瓜有差异, 南瓜汁中醛类和醇类物质种类和含量都有所下降, 可能是新鲜南瓜在加工成南瓜汁的过程中, 经过了热烫灭酶、均质、离心等工艺, 热、氧等条件使南瓜的风味发生较大变化^[7]。

表 2 GC-O 鉴定的特征香气成分及其相对含量

Table 2 The aromatic compounds in pumpkin and pumpkin juice identified by GC-O

新鲜南瓜		南瓜汁	
香气物质	相对含量/%	香气物质	相对含量/%
己醛	21.32	己醛	13.43
壬醛	7.7	2-甲氨基乙醇	8.38
3-甲基丁醛	7.34	3-氨基-2-甲基丁酸	5.34
3-己烯醇	5.37	环丁醇	4.25
戊醛	4.52	壬醛	2.63
1-己醇	3.87	3-甲基丁醛	2.23
辛醛	3.32	辛醛	1.27

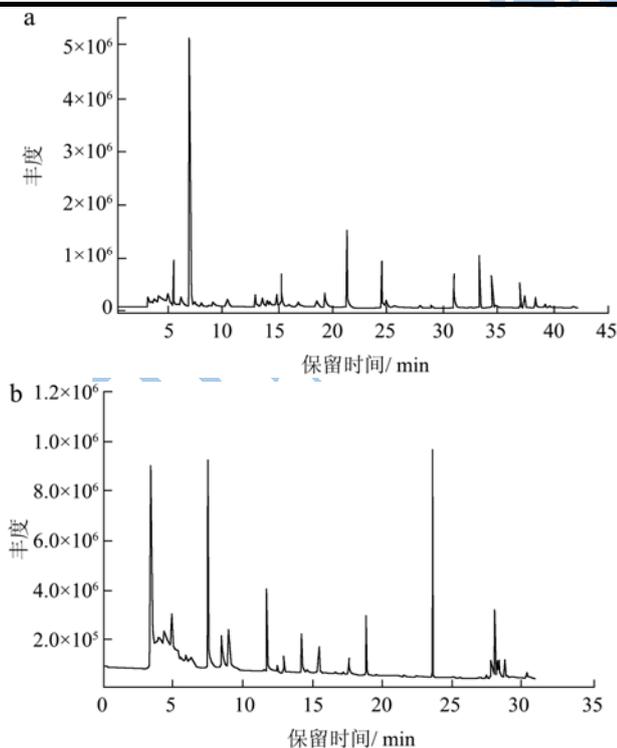


图 1 新鲜南瓜和南瓜汁样品香气成分的总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of gas chromatography mass spectrometry of fresh pumpkin and pumpkin juice

注: a: 新鲜南瓜; b: 南瓜汁。

南瓜汁和新鲜南瓜共有的挥发性成分有 19 种, 表 2 可以看出南瓜中特征香气物质为己醛、3-甲基丁醛、壬醛、戊醛、庚醛、环丁醇等物质。从图 1 也可以看出新鲜南瓜与南瓜汁之间存在谱峰与强度的差异。

2.2 不同菌株发酵南瓜汁挥发性成分比较

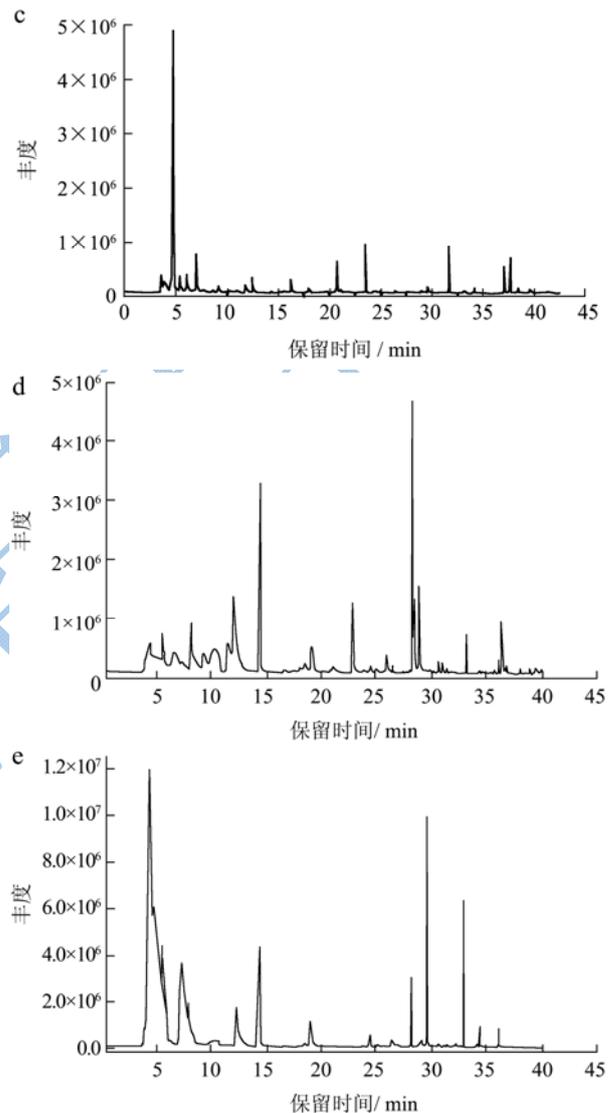


图 2 3 种发酵南瓜汁香气成分的总离子流色谱图

Fig.2 Total ion current chromatogram of gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) of three fermentation pumpkin juices

注: c: 乳酸菌发酵; d: 酵母菌发酵; e: 混合发酵。

由表 3 可见, 不同菌种发酵南瓜汁产生的挥发性成分有显著差异。从图 2 也可以看到, 不同菌种发酵南瓜汁之间存在谱峰和强度的差异。乳酸菌发酵南瓜汁的挥发性成分鉴定出 51 种。根据各成分的相对峰面积可知, 乳酸菌发酵南瓜汁产生的挥发性成分主要是羰基类化合物、醇类、酯类和酸类。羰基类物质鉴定

出14种,含量为37.9%,醇类物质8种,含量为17.14%,酯类物质7种,含量为10.35%,酸类物质7种,含量为10.06%。其中含量较高的挥发性成分是2,3-丁二酮(19.21%)、戊醛(5.41%)、乙酸(4.90%)、丙酮(4.69%)、环丁醇(4.32%)、甲酸戊酯(3.20%)、2-壬酮(2.73%)和2-庚酮(2.68%)。与发酵前相比,增加了多种酮类物质,其中,2,3-丁二酮是乳酸菌发酵所特有的挥发性成分,具有奶香味。酿酒酵母发酵南瓜汁经测定产生了36种挥发性成分,主要成分是醇类、酯类和羰基类化合物。其中,醇类8种,相对含量为62.29%,酯类13种,相对含量为15.75%,羰基类6种,相对含量为4.51%。其主要的挥发性成分为乙醇(46.59%)、异戊醇(13.10%)、辛酸乙酯(7.29%)、乙酸异戊酯(3.45%)、乙酸乙酯(2.78%)。与发酵前南瓜汁比较,羰基类化合物减少,醇类和酯类化合物种类和数量都有所增加,可以看出醇类和酯类是酿酒酵母菌发酵南瓜汁含量较高的挥发性成分。乳酸菌和酵母菌以一定比例共同发酵的南瓜汁经GC/MS测定,检测出挥发性物质45种,羰基类化合物9种,含量为8.38%,醇类化合物9种,含量为55.9%,酯类物质

14种,含量为16.56%,酸类化合物5种,含量为3.65%。其中含量较高的挥发性成分为乙醇(38.21%)、异戊醇(19.21%)、辛酸乙酯(8.32%)、1-庚醇(3.62%)、2,3-丁二酮(6.31%)、异丁醇(1.85%)。与乳酸菌和酵母菌单独发酵的南瓜汁对比,混合发酵后挥发性成分以醇类居多。同时,乳酸菌发酵的挥发性成分2,3-丁二酮含量较高,可见,混合菌株发酵后同时具有单一菌株发酵时的挥发性成分,而且增加了特色香气物质,如1-庚醇,异丁醇等。

发酵南瓜成品饮料通过GC-MS和GC-O进行香气分析(表4),乳酸菌发酵南瓜汁的特征香气物质为以下6种主要成分:2,3-丁二酮、戊醛、乙酸、丙酮、环丁醇和1,3-二氧戊环-4-甲醇。其中酮类物质含量最高,相对含量达到23.90%。酵母菌发酵南瓜汁的特征香气物质同样为6种,但主要香气物质为酯类化合物,辛酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸乙酯,相对含量总和为13.52%,乙醇相对含量最高达46.59%。乳酸菌和酵母菌混合发酵南瓜汁6种特征香气物质中醇类物质种类最多(4种),乙醇相对含量为38.21%、异戊醇(19.21%)、1-庚醇(3.62%)和异丁醇(1.85%)。

表3 发酵南瓜汁挥发性成分分析

Table 3 Volatile components of pumpkin fermentation juice

成分	保留时间/min	化合物	相对含量/%		
			乳酸菌发酵	酵母菌发酵	混合菌株发酵
羰基类			37.9	4.51	8.38
1	4.889	2,3-丁二酮	19.21		6.31
2	6.275	戊醛	5.41	0.56	
3	3.894	丙酮	4.69		
4	24.963	2-壬酮	2.73		0.14
5	12.872	2-庚酮	2.68		
6	40.830	二氢-4-羟基-2(3H)呋喃酮	0.68	0.13	0.23
7	8.602	戊二醛	0.52		
8	6.934	2-甲基-3-苯基丙醛	0.45		
9	28.973	3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯	0.44		
10	16.356	2-十一酮 苯乙酮	0.33		
11	8.930	己醛	0.32		0.12
12	38.439	3,3-二甲基-4-(氨基乙基)-氮杂环丁酮	0.22		
13	29.603	3-甲基丁醛	0.12		
14	35.414	香叶醛	0.10		
15	39.625	苯甲醛		3.26	
16	29.984	3-吡啶甲醛		0.12	
17	7.168	丁醛			0.21
18	7.0018	3-甲基丁醛			0.12
19	24.997	3-甲基-4-壬酮		0.34	0.28

转下页

接上页				
20	32.882	香叶基丙酮		0.18
21	28.700	3-甲基壬酮		0.79
22	19.352	苯乙醛	0.10	
<hr/>				
醇类			17.14	62.29 55.9
1	7.524	3-甲基丁醇	9.12	
2	4.299	环丁醇	4.32	1.23 1.49
3	3.825	乙醇	2.46	46.59 38.21
4	24.411	3-壬炔-1-醇	0.72	
5	5.070	2-甲基丙醇	0.23	
6	5.597	环丙基甲醇	0.12	
7	38.713	2-异丙基-5-甲基-1-庚醇	0.10	
8	7.607	环己醇	0.07	0.04
9	6.870	异戊醇		13.10 9.23
10	26.378	苯乙醇		0.52 0.15
11	26.392	正辛醇		0.43
12	28.768	1,3-二氧戊环-4-甲醇		0.21
13	15.760	2-甲基苯甲醇		0.11
14	11.115	四氢-4H-吡喃-4-醇		0.10
15	6.575	异丁醇		1.85
16	34.365	1-庚炔-3-醇		0.12
17	11.674	2-丁基-1-辛醇		0.32
18	33.431	1-庚醇		3.62
19	36.917	苯甲醇		0.87
<hr/>				
酯类			10.97	13.75 16.56
1	38.059	氨基甲酸甲酯	2.21	3.43
2	22.450	丙酸乙酯	3.2	
3	32.569	二丁基羟基甲苯	1.44	
4	34.136	2-甲基-3-羟基-2,4,4-三甲基丙酸戊酯	0.59	0.17 0.16
5	39.327	2,4,4-三甲基-3-羧基异丙基戊酸异丁酯	0.29	0.16 0.07
6	33.243	2-丁酸-2-十三酯	0.27	
7	26.285	辛酸乙酯	2.35	7.29 8.32
8	25.431	3-乙氧基-3-甲氨基-2-丙酸甲酯		0.44
9	38.917	乙酸异戊酯		3.45 0.23
10	37.942	2-甲基-2,2-二甲基-1-(2-羟基-2-甲氧基)丙酸丙酯		0.10
11	34.443	癸酸乙酯		0.32 0.87
12	4.889	乙酸乙酯		2.78 1.38
13	6.075	2-甲基乙酸丙酯		0.19
14	29.632	己酸乙酯	0.62	0.22 0.87
15	29.603	乙酸辛酯		0.36 0.32
16	34.277	2-甲基-丙酸己酯		0.15
17	32.335	9-癸烯酸乙酯		0.12 0.21
18	37.190	丁酸庚酯		0.15
19	41.362	甲氧基乙酸-2-十四酯		0.16

转下页

接上页					
20	31.457	2-甲基丙基乙酸酯			0.13
21	39.869	壬酸乙酯			0.26
酸类			10.06	1.18	3.65
1	6.065	乙酸	4.90	0.16	0.13
2		苯甲酸	2.27		
3		丁酸	1.23		1.30
4	39.629	环己醇-1, 4, 5-三醇-3-酮-1-羧酸	0.76		
5	11.188	丁二酸	0.22		
6	29.312	4-羟基-3-吡啶羧酸	0.12		
7	29.066	辛酸		0.83	0.87
8	7.348	丙基丙二酸		0.19	
9	6.475	乳酸	0.56		1.08
10	9.876	己酸			0.27
芳香族			0.65	0.31	0.21
1	36.161	1-(1, 5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基苯	0.25	0.19	
2	20.542	1-甲基-4-(1-甲基乙基)苯	0.23	0.12	0.21
3	36.161	1-乙基-2, 4-二甲基苯	0.17		
烷烃类			4.79	0.11	0.25
1	4.743	己烷	1.12		
2	35.927	1, 1-二苯基-1, 3-戊二烯	2.39		
3	30.901	3-氨基吡咯烷	0.31		
4	26.441	2, 3-二甲基-2-戊烯	0.23		
5	39.566	十六烷	0.21		
6	38.512	十七烷	0.15		
7	37.502	2, 6, 10, 14-四甲基十六烷	0.14		
8	11.164	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1, 4-环己二烯	0.14	0.01	
9	30.218	4, 4-二甲基-2-戊烯	0.10		
10	20.054	环辛烷		0.10	
11	14.994	1-乙基-2-甲基环丙烷			0.10
12	25.470	2-甲基辛烷			0.15
其他类			0.00	0.03	1.96
1	7.270	吡嗪			1.43
2	12.496	甲氧基-苯酚			0.12
3	14.340	3, 5-二甲基吡啶			0.04
4	37.093	二丁基羟基甲苯			0.37
5	29.969	吡啶		0.03	

2.3 新鲜南瓜与发酵南瓜汁挥发性成分比较

由图 2 可以看出, 新鲜南瓜的主要挥发性成分为羰基类化合物和醇类物质, 酯类物质相对较少, 经过热烫处理后挥发性风味物质有所损失, 但是挥发性物质组成基本一致。经过乳酸菌和酵母菌发酵后的南瓜汁, 主要挥发性成分为醇类和酯类, 杂环类和烷烃类含量较少。

2.3.1 羰基类化合物

羰基类化合物风味物质主要为醛类和酮类物质, 是重要的风味物质之一。其风味阈值一般很低, 是各种氧化风味的来源。醛类有很强的与其他物质叠加的风味效应同^[8]。新鲜南瓜的挥发性物质主要有羰基类物质占 54.43%, 主要为己醛 (21.32%)、壬醛 (7.70)、3-甲基丁醛 (7.34%); 南瓜汁含羰基类 (21.84%) 主要为己醛、3-甲基丁醛、壬醛、戊醛、

庚醛；己醛具有清香和果香味，具有果实成熟的特征香气^[8, 10]。酵母菌和乳酸菌混合发酵南瓜汁后产生的主要挥发性物质为羰基类化合物占 8.38%，主要为酮类物质如壬酮（0.14%），2,3-丁二酮（6.31%）。壬酮和 2,3-丁二酮是乳酸菌的发酵特有产物，前者表现出新鲜味和土腥味，后者为酸奶味道^[11]。新鲜南瓜和南

瓜汁的主要挥发性物质为羰基类化合物，在所有挥发性物质中含量最高，这一结果和李瑜研究新鲜南瓜和南瓜汁挥发性风味物质的成分比较结果相一致^[7]。而经过酵母菌和乳酸菌混合发酵南瓜汁后，羰基类物质比新鲜南瓜和南瓜汁分别下降 84.60 和 61.60。

表 4 GC-O 鉴定的发酵南瓜汁特征香气成分分析

Table 4 The aromatic compounds in fermented pumpkin juice identified by GC-O

乳酸菌发酵		酵母菌发酵		混合菌种发酵	
香气物质	相对含量/%	香气物质	相对含量/%	香气物质	相对含量/%
2,3-丁二酮	19.21	乙醇	46.59	乙醇	38.21
戊醛	5.41	异戊醇	13.1	异戊醇	19.21
乙酸	4.9	辛酸乙酯	7.29	辛酸乙酯	8.32
丙酮	4.69	乙酸异戊	3.45	1-庚醇	3.62
环丁醇	4.32	乙酸乙酯	2.78	2,3-丁二酮	2.31
1,3-二氧戊环-4-甲醇	4.12	环丁醇	1.23	异丁醇	1.85

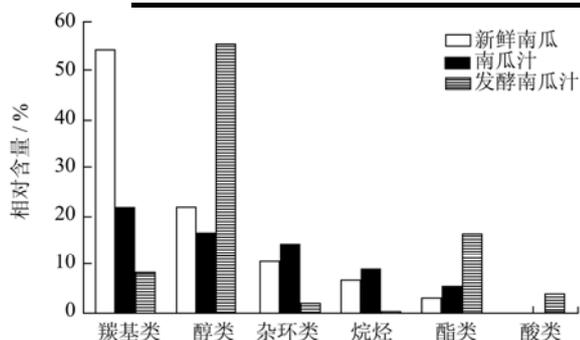


图 3 新鲜南瓜与发酵南瓜汁挥发性成分比较

Fig.3 Comparison of volatile components in raw pumpkin and pumpkin fermentation juice

2.3.2 醇类化合物

醇类通常具有芳香、植物香、酸败味。根据菌种不同质量分数差异很大，这与菌的胞内酶类有关。其由相应的醛通过脱氢酶催化的还原反应形成。此外，乳糖的代谢、甲基酮的还原、氨基酸的代谢都可生成相应的醇。但是随着发酵时间延长。醇类易于和酸类结合成酯。新鲜南瓜、南瓜汁和酵母菌和乳酸菌混合发酵南瓜汁分别含醇类化合物为 21.79%，16.46%和 55.90，南瓜汁经酵母菌和乳酸菌混合发酵后醇类物质增长了 2.4 倍。经微生物发酵后产生风味物质主要为乙醇（38.21%）、异戊醇（19.21%），苯乙醇（0.15%）。异戊醇是酵母发酵的产物，质量浓度高是会有腐臭味，质量浓度低时会给发酵饮料带来愉快的果香和花香^[9, 12]。苯乙醇也为酵母发酵的特有产物，苯乙醇本身具有清香、甜、花香和玫瑰香香气，除了本身愉快的风味外，还可以作为其他易挥发风味物质的溶剂。它对发酵南瓜饮料的风味具有双重影响功能^[8]。

2.3.3 酯类化合物

酯类化合物是一类影响风味物质重要化合物。新鲜南瓜酯类物质 6 种，占 2.83%，南瓜汁酯类 4 种（5.34%），乳酸菌发酵南瓜汁后产生酯类物质 7 种（10.35%），酵母菌发酵南瓜汁后产生酯类 13 种（15.75%）主要为辛酸乙酯（7.29%）、乙酸异戊酯（3.45%）、乙酸乙酯（2.78%），二者混合发酵南瓜汁后产生酯类物质 14 种（16.56%）其中辛酸乙酯（8.32%）。新鲜南瓜随着加工和发酵的进行，酯类物质也随之增加。辛酸乙酯和乙酸异戊酯是重要的芳香酯，赋予发酵南瓜汁香蕉、梨果香^[13]。乙酸乙酯具有特殊的甜香和醚香，对发酵南瓜汁香味的形成起关键作用^[14]。一些酯类物质由微生物代谢产生，尽管有些物质质量分数不高，但对风味影响很大。

2.3.4 其他类化合物

从图 3 可以看出，南瓜汁中杂环类化合物和烷烃类化合物含量比新鲜南瓜和发酵南瓜汁高，而发酵南瓜汁中有机酸含量较高，主要为乙酸、苯甲酸、丁酸、辛酸、乳酸和己酸。乙酸表现醋酸味，丁酸表现多汁味、奶酪味，辛酸表现为多汁味^[11]。这些酸类物质赋予混合发酵南瓜汁丰富的风味。而新鲜南瓜和南瓜汁中几乎不含有任何酸类物质。

因此，南瓜汁发酵前后挥发性成分有了显著变化，南瓜汁经过发酵后挥发性成分变化显著。增加了不同菌种发酵所特有的风味物质。通过乳酸菌和酵母菌混合发酵制得的南瓜汁含有各菌株单独发酵时的挥发性成分，乙醇、异戊醇、辛酸乙酯、1-庚醇、2,3-丁二酮和异丁醇，发酵前含量较高的醛类和酮类物质含量减少。

3 结论

经固相微萃取技术 (SPME) 富集、气相色谱-嗅辨-质谱 (GC-O-MS) 分析, 新鲜南瓜和南瓜汁中分别鉴定出 58 和 41 个香气化学成分。二者共有的挥发性成分有 19 种, 南瓜中主要挥发性物质为己醛、3-甲基丁醛、壬醛、戊醛、庚醛、环丁醇等物质。经过乳酸菌、酵母菌和二者混合发酵南瓜汁后挥发性成分分别鉴定出 51、36 和 45 种。混合发酵南瓜汁的主要挥发性物质为羰基类化合物 9 种 (8.38%), 醇类化合物 9 种 (55.90%), 酯类物质 14 种 (16.56%), 酸类化合物 5 种 (3.65%)。其中含量较高的挥发性成分为乙醇 (38.21%)、异戊醇 (19.21%)、辛酸乙酯 (8.32%)、1-庚醇 (3.62%)、2, 3-丁二酮 (6.31%)、异丁醇 (1.85%)。这为工业发酵南瓜汁风味评价提供理论依据和技术参考。

参考文献

- [1] 黄黎慧, 黄群, 于美娟. 南瓜的营养保健价值及产品开发[J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 176-179
HUANG Li-hui, HUANG Qun, YU Mei-juan. The nutritive-health value and development of pumpkin [J]. Modern Food Science and Technology, 2005, 21(3): 176-179
- [2] Dini I, Tenore G C, Dini A. Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp [J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 53(1), 382-385
- [3] Kim M Y, Kim E J, Kim Y N, et al. Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (Cucurbitaceae) species and parts [J]. Nutrition Research and Practice, 2012, 6(1), 21-27
- [4] Marek G, Radzanowska J, Danilcenko H, et al. Quality of pumpkin cultivars in relation to sensory characteristics [J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2008, 36(1): 73-79
- [5] Adams G G, Imran S, Wang S, et al. The hypoglycaemic effect of pumpkins as anti-diabetic and functional medicines [J]. Food Research International, 2011, 44(4): 862-867
- [6] 李瑜. 新鲜南瓜和南瓜汁挥发性风味物质的成分比较[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 208-210
LI Yu. Solid Phase Microextraction followed by GC-MS analysis of volatile flavor compounds in fresh pumpkin and pumpkin juice [J]. Food Science, 2010, 31(2): 208-210
- [7] Nawirska-Olszańska A, Biesiada A, Sokół-Lętowska A, et al. Content of bioactive compounds and antioxidant capacity of pumpkin puree enriched with japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apples [J]. Acta Scientiarum Polonorum-Technologia Alimentaria, 2011, 10(1): 51-60
- [8] Verzera A, Dima G, Tripodi G, et al. Fast quantitative determination of aroma volatile constituents in melon fruits by Headspace-Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry [J]. Food Analytical Methods, 2011, 4(2): 141-149
- [9] 宋东, 李德美, 邓小明, 等. 京白梨酒发酵与香气分析[J]. 农业机械学报, 2012, 43(6): 133-138
SONG Jian, LI De-mei, DENG Xiao-ming, et al. Fermentation and aroma analysis of Jingbai pear wine [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(6): 133-138
- [10] Nadia Sabatini, Maria Regina Mucciarella, Vincenzo Marsilio. Volatile compounds in uninoculated and inoculated table olives with *Lactobacillus plantarum* (*Olea europaea* L., cv. Moresca and Kalamata) [J]. LWT - Food Science and Technology, 2008, 41(10): 2017-2022
- [11] 葛武鹏, 李元瑞, 陈瑛, 等. 牛奶奶酸奶挥发性风味物质固相微萃取GC/MS分析[J]. 农业机械学报, 2008, 39(11): 64-69
GE Wu-peng, LI Yuan-rui, CHEN Ying, et al. Analysis of volatile aromatic compounds from Cow's milk yonghurt by SPME-GC/MS [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(11): 64-69
- [12] Gonzalez A, Gonzalez B, Gancho G, et al. Relationships between Godello white wine sensory properties and its aromatic fingerprinting obtained by GC-MS [J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 890-898
- [13] 陶永胜, 彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分关联分析[J]. 农业机械学报, 2012, 43(3): 130-139
TAO Yong-sheng, PENG Chuan-tao. Correlation analysis of aroma characters and volatiles in chardonnay dry white wines from five districts in China [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(3): 130-139
- [14] Obando-Ulloa J M, Nicolai B, Lammertyn J, et al. Aroma volatiles associated with the senescence of climacteric or non-climacteric melon fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2009, 52(2): 146-155