

绿豆格瓦斯的研制及成分分析

温慧, 刘婷, 张智威, 陈忠军, 满都拉, 孙子羽

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘要: 以大麦芽、绿豆为原料, 研制绿豆格瓦斯饮料, 采用单因素及正交试验对格瓦斯发酵工艺进行优化, 并采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(SPME-GC-MS)分析绿豆格瓦斯挥发性风味成分, 利用反相高效液相色谱仪对其有机酸进行分析。结果表明: 绿豆格瓦斯采用 Lager 酵母不带渣发酵风味更佳, 最佳原料配比和发酵工艺是绿豆: 大麦芽 1:9、接种量 3%(V/V)、接种比(酵母菌:乳酸菌) 2:1、发酵温度 29 ℃、发酵时间 18 h。绿豆格瓦斯中主要挥发物质为醇类化合物(含量 71.05%), 酯类化合物(含量 13.45%), 有机酸中乳酸含量最高, 为 7.22 mg/mL, 苹果酸次之, 为 2.12 mg/mL, 不含草酸。本试验优化了绿豆格瓦斯的工艺, 并对其挥发性成分及有机酸进行了初步分析, 为格瓦斯中香味物质及有机酸的认识和绿豆相关产品的开发提供了理论依据。

关键词: 绿豆; 格瓦斯; 挥发性成分; 固相微萃取; 气相色谱-质谱联用; 高效液相色谱仪; 有机酸

文章编号: 1673-9078(2019)03-169-176

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.026

Preparation of *Mung-bean Kvass* and Analysis of Its Components

WEN Hui, LIU Ting, ZHANG Zhi-wei, CHEN Zhong-jun, MAN Du-la, SUN Zi-yu

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: With barley malt and *mung-bean* as the raw material to produce kvass drinks and the optimum production process conditions were determined by single factor experiment and orthogonal experiment. The volatile compounds in *mung-bean* kvass were analyzed by using solid phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS). The organic acid was analyzed by reversed-phase high performance liquid chromatography. The results showed that *mung-bean* kvass had a better flavor without slag fermentation, and the *mung-bean* kvass flavor was better when it was fermented with Lager yeast. The optimum conditions for *mung-bean* kvass were: the ratio (1:9) of *mung-bean* to barley malt, optimum strain inoculation amount 3% (V/V), yeast to lactobacillus 2:1, fermentation temperature 29 ℃, time 18 h. A total of 47 volatile compounds were detected in *mung-bean* kvass, including alcohols (71.05%), esters (13.45%). The highest organic acid content in mung bean kvass was lactic acid (7.22 mg/mL), and the second was malic acid (2.12 mg/mL), the oxalic acid was not detected in *mung-bean* kvass. This experiment optimized the process of *mung-bean* kvass, and carried out preliminary analysis of its volatile components and organic acids, which provides a theoretical basis for the understanding of aroma compounds and organic acids in kvass. In addition, it provides theoretical guidance for the development of *mung-bean* related products.

Key words: *mung-bean*; kvass; volatile flavor compounds; solid-phase micro extraction (SPME); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); HPLC; organic acid

格瓦斯是一种传统发酵饮料, 最早起源于俄国, 具有悠久的历史^[1,2], 其富含人体所需氨基酸、维生素等多种营养成分, 具有消暑解渴、消除疲劳、改善胃肠功能的功效, 是一种营养丰富的饮料^[3]。随着这些年消费者对于健康的不断重视, 碳酸饮料的市场份额逐年降低, 同时不断有具保健营养养生的新型饮料出

收稿日期: 2018-10-24

基金项目: 内蒙古科技计划项目(201702166); 草原英才“内蒙古自治区农业生物发酵产业创新人才团队”支持基金项目; 内蒙古自然科学基金项目(2016BS0307)

作者简介: 温慧(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 孙子羽(1985-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品生物技术和食源性致病菌

现在市场上。格瓦斯饮料的诸多优点满足了消费者对于健康的需求, 在饮料行业不断引起重视, 具有良好的发展前景。

绿豆, 又名植豆、青小豆, 属豆科中蝶形花亚科中的豇豆属^[4]。绿豆原产于我国且具有悠久的种植历史, 其产量和出口量均居世界首位^[5]。绿豆富含多种维生素及矿物质^[6], 具有提高免疫力、降血脂、抗肿瘤、清热解毒等功效^[7]。目前, 我国对绿豆的加工利用基本停留在粗加工阶段, 对绿豆食品的开发应用主要有绿豆粉丝、绿豆皮、绿豆凉粉、绿豆饮料等^[8]。而现有的深加工、精加工水平不高, 加工技术、装备比较落后, 造成了产品档次和附加值低的现状^[9]。

以大麦芽和绿豆为原料, 通过益生菌发酵制备的

格瓦斯饮料有着长远的发展前景,可以提高绿豆附加值及提升绿豆产品档次并丰富格瓦斯种类。味道和香气是评价产品的最重要的指标,世界各地的许多研究者都研究过食物香气,因为食物气味无疑是影响消费者接受度的最重要参数^[10],有机酸也是食品的重要组成部分,可以影响其风味及稳定性^[11]。然而目前国内对格瓦斯香气化合物及有机酸的研究较少,因此本研究利用 SPME-GC-MS 鉴定格瓦斯挥发性风味成分,并利用高效液相色谱仪进行有机酸定量分析,以期对格瓦斯中香味物质及有机酸的认识和绿豆相关产品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

啤酒酵母,安琪酵母股份有限公司;Lager 酵母,烟台帝伯仕啤酒技术有限公司;乳酸菌,本实验室分离筛选保存的嗜热链球菌 ST; α -淀粉酶(40000 U/g),安琪酵母股份有限公司;糖化酶(50000 U/g),山东朴正生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

PB-10 精密电子 pH 计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;PAL-1 糖度仪,日本 ATAGO(爱拓)公司;HWS-12 电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;SPME 装置,上海安谱实验科技股份有限公司;Trace 1300-ISQ 型 GC-MS 联用仪、赛默飞 U3000 高效液相色谱仪,美国赛默飞世尔科技公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株的活化

乳酸菌:试验所用乳酸菌为本实验室筛选出的嗜热链球菌 ST。将嗜热链球菌 ST 接种到 MRS 培养基中,37℃培养 24 h,按 2%接种量活化三代至活菌浓度为 3×10^7 cfu/mL,试验所用菌液均为三代菌液^[12]。

酵母菌:本试验使用的两种酵母菌均为活性干酵母粉,分别为:啤酒酵母(安琪酵母股份有限公司),Lager 酵母(烟台帝伯仕啤酒技术有限公司)。活性干酵母按料水比为 1:10,加入 2% (g/mL) 蔗糖,置于 35℃水浴锅中活化 30 min 至大量起泡即酵母活化完。

试验时将活化后的酵母菌与乳酸菌按一定体积比接种发酵。

1.3.2 绿豆格瓦斯工艺流程

大麦芽、绿豆粉碎→液化→糖化→过滤→麦芽汁调配→灭菌→接种→发酵→过滤→巴氏杀菌→成品

1.3.3 绿豆格瓦斯发酵优化试验

1.3.3.1 确定是否带渣发酵

在绿豆:大麦芽 1:9、料水比 1:4、接种量 3%、接种比例 1:1、发酵温度 25℃、发酵时间 20 h 情况下,麦芽汁调配时一组不过滤进行发酵,一组过滤进行发酵。以感官评定为标准探究本实验是否带渣发酵。

1.3.3.2 发酵菌株的确定

在上一组试验的基础上,以绿豆:大麦芽 1:9、料水比 1:4、接种量 3%、接种比例 1:1、发酵温度 25℃、发酵时间 20 h 进行发酵。接种时一组试验接种安琪啤酒酵母,一组试验接种 Lager 酵母。以感官评定为标准探究本实验是否带渣发酵。

1.3.3.3 原料配比的确定

在以上试验确定的条件下,在料水比 1:4、接种量 3%、接种比例 1:1、发酵温度 25℃、发酵时间 20 h 情况下。分别以绿豆:大麦芽 1:9、3:7、5:5、7:3、9:1 设计试验组,通过测量酸度、糖度以及感官评定对每组产品进行评分,探究不同原料比对绿豆格瓦斯的影响。

1.3.3.4 接种量的确定

在以上试验确定的条件下,在料水比 1:4、接种比例 1:1、发酵温度 25℃、发酵时间 20 h 情况下。分别以接种量 1%、3%、5%、7%、9%设计试验组,通过测量酸度、糖度以及感官评定对每组产品进行评分,探究不同接种量对绿豆格瓦斯的影响。

1.3.3.5 接种比的确定

在以上试验确定的条件下,在料水比 1:4、发酵温度 25℃、发酵时间 20 h 情况下。分别以接种比(酵母菌:乳酸菌) 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3 设计试验组,通过测量酸度、糖度以及感官评定对每组产品进行评分,探究不同接种比对绿豆格瓦斯的影响。

1.3.3.6 发酵温度的确定

在以上试验确定的条件下,在料水比 1:4、发酵时间 20 h 情况下。分别以发酵温度 21、25、29、33、37℃设计试验组,通过测量酸度、糖度以及感官评定对每组产品进行评分,探究不同发酵温度对绿豆格瓦斯的影响。

1.3.3.7 发酵时间的确定

在以上试验确定的条件下,分别以发酵时间 14、16、18、20、22 h 设计试验组,通过测量酸度、糖度以及感官评定对每组产品进行评分,探究不同发酵时间对绿豆格瓦斯的影响。

1.3.4 指标测定

pH: pH 计测定;糖度:手持糖度计。测定理化指标重复测定 3 次。

表 1 感官评分标准

Table 1 Standards of sensory evaluation

项目	标准	感官得分
色泽	色泽均匀, 完全无不良颜色	15~20
	色泽不均匀, 不良颜色很少	10~14
	色泽深绿色, 无光泽且有杂色	<10
风味	有绿豆的清香和大麦香, 具格瓦斯独特香味, 无邪杂味	25~30
	有大麦香和绿豆香味, 发酵香味淡, 无异味	20~24
	有绿豆豆腥味或者其他异味	<20
口感	酸甜适口, 温和爽口, 无涩味	25~30
	酸甜适口, 无涩味	20~24
	偏酸或偏甜, 有涩味	<20
组织状态	清亮通透, 无杂质, 很少悬浮物, 摇动有大量气泡	15~20
	澄清通透, 无杂质, 有悬浮物, 晃动有少量气泡	10~14
	分层明显, 有悬浮物, 无气泡	<10

感官评价: 实验主要围绕色泽、风味、口感、组织状态对绿豆格瓦斯进行感官评定, 评定标准见表 1。20 位品评人员对绿豆格瓦斯进行感官评定, 评定一个样品以清水漱口, 间隔 10 min 进行下一个样品的测定, 认真填写评分表并签名。

1.3.5 SPME-GC-MS 分析绿豆格瓦斯中挥发性风味物质

1.3.5.1 挥发性成分的顶空-SPME

精密量取 8.0 mL 绿豆格瓦斯放入 20 mL SPME 样品瓶中, 将老化后的萃取头插入样品瓶顶空部分进行萃取, 60 °C 水浴下平衡 10 min, 萃取头顶空吸附 30 min 后, 在 GC 进样口释放 1 min。

1.3.5.2 气相色谱-质谱联用分析条件

挥发性风味成分的气相色谱-质谱条件: DB-5 毛细色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 载气 He; 载气流速 1.0 mL/min; 离子源温度 230 °C; 进样口温度 250 °C; 升温程序: 初始温度为 50 °C, 保持 1 min, 以 2 °C/min 升温到 100 °C, 保持 3 min, 再以 4 °C/min 升温至 220 °C, 保持 10 min, 不分流进样; 质量扫描范围 m/z 50~550; 溶剂延迟 1 min。

1.3.6 反式高效液相色谱分析绿豆格瓦斯中有机酸

1.3.6.1 有机酸标准样的配制

分别配制系列梯度的草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸有机酸标准溶液, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤备用。

1.3.6.2 样品前处理

将绿豆格瓦斯用 0.22 μm 滤膜过滤至样品瓶备用。

1.3.6.3 有机酸分析条件

25005-154630 Hypersil GOLD HPLC 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 0.08 mol/L KH_2PO_4 溶液 (pH 2.90) 作为流动相, 流速 0.8 mL/min、检测波长 210 nm、柱温 30 °C、进样量 10 μL^[13]。

1.4 数据分析

利用 Microsoft Excel 2016 进行统计作图处理。采用面积归一化法对绿豆格瓦斯挥发性成分进行定量分析。采用外标法对绿豆格瓦斯有机酸进行定量分析。

2 结果与分析

2.1 绿豆格瓦斯发酵优化试验结果

2.1.1 确定是否带渣发酵

不带渣发酵的绿豆格瓦斯感官评分明显高于带渣发酵的绿豆格瓦斯。不带渣发酵的格瓦斯更清澈且没有杂质, 带有绿豆的清香又少有豆腥味。而带渣发酵的格瓦斯发酵产物粘稠且带有豆腥味。故选择不带渣发酵进行后期试验。

2.1.2 发酵菌株的确定

相比于啤酒酵母, 采用 Lager 酵母发酵的绿豆格瓦斯感官分值更高, 色泽清澈且香气及口感更佳。故选择 Lager 酵母发酵来进行后续试验。

2.1.3 原料配比的确定

由图 1 可知, 绿豆:大麦芽为 1:9 时糖度及酸度都最高, 并且随着大麦芽比例下降, 糖度、酸度都下降。绿豆:大麦芽为 1:9 时格瓦斯感官评分最高, 在此配比下的绿豆格瓦斯具有独特风味, 酸甜适口, 在保留了绿豆独特风味的同时又没有豆腥味, 获得的格瓦斯较清澈且不粘稠。而随着绿豆比例升高, 格瓦斯的感官

评分较大幅度下降。绿豆:大麦芽为 9:1 时格瓦斯感官评分最低,此时的格瓦斯粘稠且有强烈豆腥味,色泽深绿且不清澈。综合残留糖度、酸度和感官评分三个指标,最适合的绿豆:大麦芽比例为 1:9。

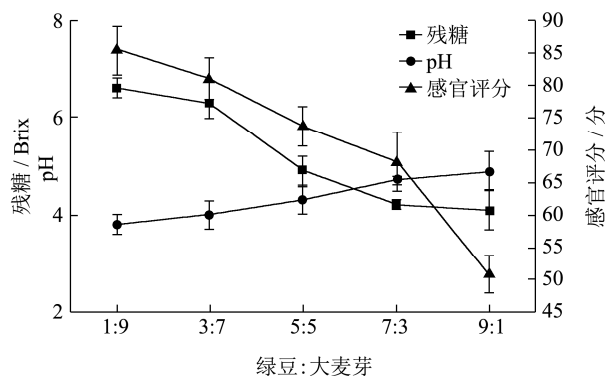


图1 原料配比对比格瓦斯品质及感官评分的影响

Fig.1 Effect of Raw material ratio on the fermentation quality and sensory evaluation of kvass

2.1.4 接种量的确定

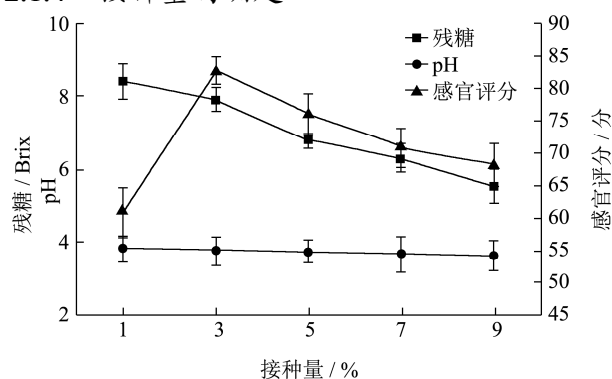


图2 接种量对格瓦斯品质及感官评分的影响

Fig.2 Effect of inoculation quantity on the fermentation quality and sensory evaluation of kvass

由图 2 可知,接种量为 1%时糖度最高,随着接种量增加,糖度下降。接种量为 1%时酸度最低,随着接种量的上升,酸度升高。由图 4 可知 3%的接种量的感官得分最高,在此条件下的格瓦斯糖酸比例合适,口味柔和;接种量小于 3%时发酵液发涩,缺少格瓦斯的独特风味;接种量大于 3%时酸度过高而糖度过低、风味滋味不好。综合残留糖度、酸度和感官评分这三个指标,最合适接种量为 3%。

2.1.5 接种比的确定

由图 3 可知,在酵母菌:乳酸菌为 2:1 时的感官评分较高,酸度及糖度适中,而乳酸菌比例过高时,会出现糖度过高发酵液较为黏稠的情况。综合残留糖度、酸度和感官评分这三个指标,最适接种比为酵母菌:乳酸菌 2:1。

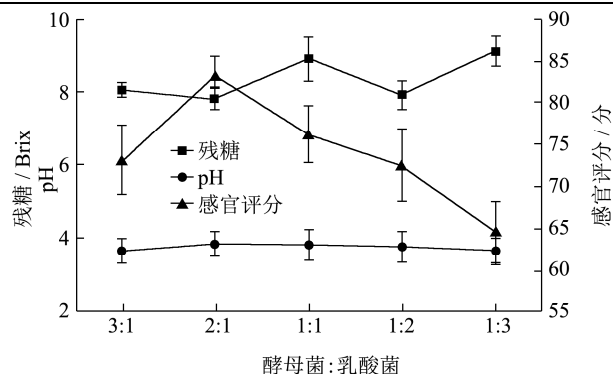


图3 接种比对比格瓦斯品质及感官评分的影响

Fig.3 Effect of inoculation ratio on the fermentation quality and sensory evaluation of kvass

2.1.6 发酵温度的确定

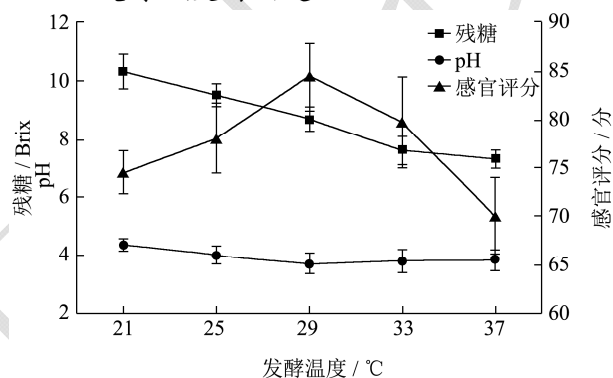


图4 发酵温度对格瓦斯品质的影响

Fig.4 Effect of temperature on the fermentation quality and sensory evaluation of kvass

由图 4 可知,29 °C 时感官评分最高,糖酸比例适中,此温度下发酵的格瓦斯具有独特风味,色泽清澈。综合发酵后糖度、酸度和感官评分这三个指标,最适合发酵温度为 29 °C。

2.1.7 发酵时间的确定

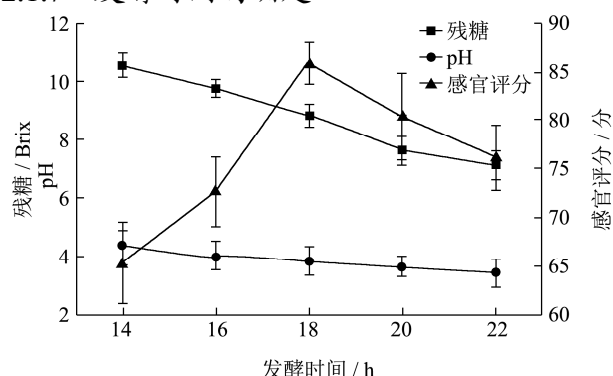


图5 发酵时间对格瓦斯品质及感官评分的影响

Fig.5 Effect of time on the fermentation quality and sensory evaluation of kvass

由图 5 可知,随着发酵时间增加,残糖量在降低,

酸度在增加。发酵 18 h 感官评分最高,具有格瓦斯独特的口味;发酵 14 h 时,糖度最高,酸度最高。发酵 22 h 糖度最低,酸度最高。综合残留糖度、酸度和感官评分这三个指标,最适合的发酵时间为 18 h。

2.2 正交试验

表 2 正交试验因素与水平

Table 2 Factors and coded levels used in orthogonal array design

水平	design		
	A 接种量/%	B 绿豆:大麦芽	C 发酵时间/h
1	1	1:9	14
2	2	3:7	16
3	3	5:5	18

表 3 正交试验设计及结果

Table 3 Results of orthogonal array experiments

实验号	A	B	C	感官评分
1	1	1	1	86.7
2	1	2	3	85.4
3	1	3	2	77.3
4	2	1	3	89.2
5	2	2	2	84.5
6	2	3	1	75.4
7	3	1	2	88.9
8	3	2	1	83.9
9	3	3	3	84.3
k1	83.1	88.3	82.0	
k2	83.0	84.6	83.5	
k3	85.7	79.0	86.3	
R	2.7	9.3	4.3	

绿豆与大麦芽的比例、接种量、发酵时间对绿豆格瓦斯的品质影响较大,在单因素试验基础上,设计 3 因素 3 水平正交试验(见表 2),考察绿豆与大麦芽的比例、接种量、发酵时间对格瓦斯的感官品质的影响(见表 3)。测定酸度,糖度,并进行感官评定,确定最佳发酵组合。

由表 3 可知,绿豆格瓦斯的最佳发酵组合为 A₃B₁C₃,即接种量 3%,绿豆:大麦芽 1:9,发酵时间为

18 h。由 R 值的大小可看出主次顺序为 B>C>A,即绿豆与大麦芽比对绿豆格瓦斯风味的影响最大,其次是发酵时间,影响最小的是接种量。由方差分析可知,绿豆与大麦芽比对绿豆格瓦斯影响是显著的($p<0.05$),与极差分析是一致的。

表 4 正交试验方差分析表

Table 4 The variance analysis of orthogonal test ($\alpha=0.05$)

方差来源	自由度	偏差平方和	均方	F 值	P 值
A	2	13.71	6.85	2.05	0.328
B	2	130.68	65.34	19.56	0.049
C	2	28.42	14.21	4.25	0.190
误差	2	6.68	3.34		
总变异	8	179.48			

2.3 绿豆格瓦斯的挥发性风味物质分析

采用顶空 SPME 结合 GC-MS 萃取分离鉴定绿豆格瓦斯中的挥发性成分,总离子流图见图 6,通过 NIST 数据库检索,各类挥发性风味物质组成见表 5。

表 5 可知,绿豆格瓦斯共鉴定出 46 种挥发性风味物质,主要由醇类、酯类和酸类化合物组成。其中醇类化合物 11 种,占总的挥发性成分的 71.05%,包括苯乙醇、异戊醇和庚醇等,酯类化合物 14 种,是种类最多的挥发性物质,己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯是含量大于 1%的酯类物质,醛类化合物 9 种,酸类化合物 6 种,酮类化合物 2 种,其他类化合物 4 种。

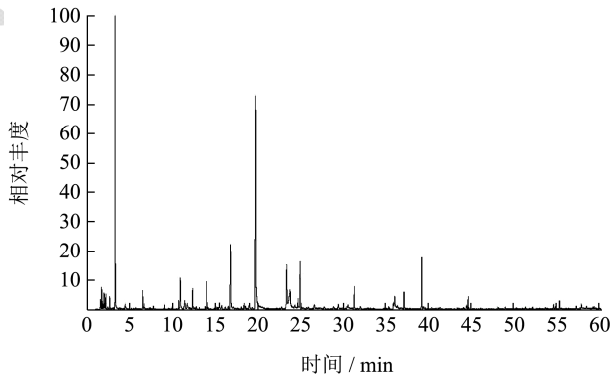


图 6 绿豆格瓦斯挥发性化合物总离子流图

Fig.6 The total ion chromatogram (TIC) of volatile compounds of the mung-bean kvass

表 5 绿豆格瓦斯中挥发性成分的 GC-MS 联用分析结果

Table 5 GC-MS analytical results of the volatile composition of mung-bean kvass

序号	中文名称	英文名称	保留时间/min	风味特征	相对含量/%
1	乙酸乙酯	Ethyl Acetate	2.1	/	0.28
2	正戊醛	Pentanal	2.41	/	0.17

转下页

接上页					
3	苯酚	Phenol	2.66	/	0.79
4	异戊醇	3-Methyl-1-butanol	3.26	苹果白兰地香气和辛辣味	28.94
5	3-甲基-2-丁醇	3-Methyl-2-Butanol	3.42	/	0.08
6	己醛	Hexanal	4.54	呈生的油脂和青草气	0.22
7	乙酸异戊酯	Isoamyl acetate	6.69	有愉快的香蕉香味	0.53
8	庚醛	Heptanal	7.79	/	0.27
9	环庚酮	Cycloheptanone	10.73	具有胡椒薄荷气味	0.81
10	庚醇	1-Heptanol	10.93	/	3.17
11	壬酸	Nonanoic acid	11.43	/	1.05
12	己酸乙酯	Ethyl Hexanoate	12.4	曲香、菠萝香型的香气	2.03
13	辛醛	Octanal	12.81	具有强的水果香味	0.28
14	乙酸己酯	Ethyl Hexanoate	13.19	/	0.16
15	双戊烯	Limonene	14.02	具有好闻的柠檬香味	2.91
16	2-乙基己醇	2-Ethylhexanol	14.16	/	0.15
17	2-壬酮	2-Nonanone	15.22	具水果、花、油脂香气	0.21
18	3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-醇	3,5,5-Trimethyl-2-Cyclohexen-1-ol	15.34	/	0.16
19	苯乙醛	Benzeneacetaldehyde	15.51	具有类似风信子的香气	0.76
20	辛醇	1-Octanol	16.83	/	7.52
21	庚酸	Heptanoic acid	17.13	具有脂肪样气味	0.25
22	2-甲基十一醛	2-Methylundecanal	18.09	有特殊的脂蜡香	0.27
23	庚酸乙酯	Ethyl heptanoate	18.43	有菠萝香气味	0.57
24	芳樟醇	Linalool	18.58	具有铃兰香气	0.32
25	壬醛	Nonanal	19.05	有蜜蜡花香气味	0.77
26	乙酸庚酯	Heptyl Acetate	19.39	/	0.24
27	苯乙醇	Phenylethyl Alcohol	19.73	具清甜的玫瑰样花香	25.34
28	壬醇	1-Nonanol	23.43	有玫瑰和橙的愉快香气	4.91
29	辛酸	Octanoic acid	23.79	具有不愉快的气味	2.08
30	2-甲氧基-4-甲基苯酚	Creosol	24.73	/	1.23
31	辛酸乙酯	Ethyl caprylate	24.99	具有白兰地酒香味	5.72
32	2-癸烯-1-醇	2-Decen-1-ol	25.77	/	0.08
33	醋酸辛酯	Acetic acid octyl ester	25.96	有水果香味	0.18
34	2,5-二甲基苯甲醛	2,5-Dimethylbenzaldehyde	26.68	/	0.55
35	乙酸苯乙酯	Phenethyl acetate	29.46	具有甜蜜香味	0.60
36	油酸	Oleic Acid	30.51	/	0.13
37	壬酸乙酯	Ethyl nonanoate	32.04	具有似丁香的气味	0.35
38	异丁香酚	Isoeugenol	35.36	具有难闻的气味	0.29
39	椰子醛	1,4-Nonalolide	35.94	具有令人愉快的玫瑰和橙花香气	0.52
40	癸酸	n-Decanoic acid	36.08	具有椰子香味、杏仁味或桃花香	1.78
41	橙花醇	Nerol	36.43	有葡萄酒香气	0.38
42	癸酸乙酯	Ethyl caprate	37.18	/	1.65
43	月桂酸乙酯	Ethyl laurate	44.51	/	0.33
44	五甲基呋喃溴酸酯	Methyl tetradecanoate	53.78	/	0.12
45	亚油酸	Linoleic acid	54.91	/	0.16
46	十六酸乙酯	Palmitic acid ethyl ester	55.43	/	0.69

醇类物质是绿豆格瓦斯挥发性物质中相对含量最高的一类，对格瓦斯的风味有重要影响，高级醇是酵母酒精发酵过程的代谢副产物^[14]。异戊醇是含量最高的挥发性成分，占总量的 28.94%，其具有苹果白兰地香气和辛辣味，其次为苯乙醇，占总量的 25.34%，苯乙醇具有苹果白兰地香气和辛辣味，壬醇有玫瑰和橙的愉快香气。酯类物质是绿豆格瓦斯中种类最多的一类物质，主要是乙酸酯和乙基酯，乙酸酯主要由乙酸及乙醇和氨基酸与糖代谢产生的高级醇形成，而乙基酯则主要由于乙醇及碳、氮的生物代谢产生的酸或者脂肪酸合成^[15]。乙酸苯乙酯和乙酸异戊酯是格瓦斯中含量较高的乙酸酯，可赋予格瓦斯甜蜜香味和香蕉香味。辛酸乙酯是格瓦斯中含量最高的乙基酯，其可赋予格瓦成果香兼酒香，己酸乙酯和癸酸乙酯是含量较高的乙基酯，可赋予格瓦斯菠萝香气及葡萄酒香气。醛类化合物在格瓦斯中检测到 9 种，苯乙醛是醛类物质中含量最多的物质，其具有类似风信子的香味，壬醛具有蜜蜡花香气味，酸类物质在格瓦斯中检测到 6 种，适量的酸可对格瓦斯起缓冲作用，可消除口味不协调等现象。

2.4 绿豆格瓦斯有机酸分析

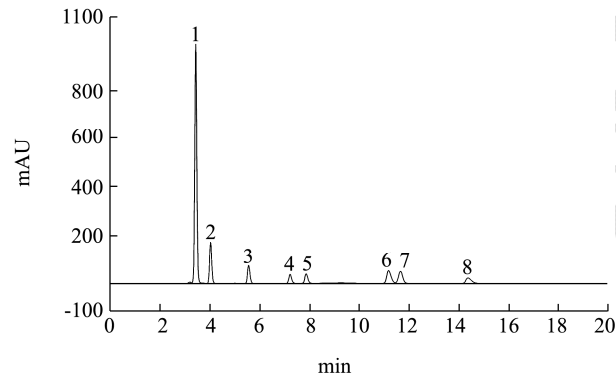


图 7 7 种有机酸标样色谱图

Fig.7 Chromatogram of a standard mixture containing 7 organic acids

注：1、草酸；2、酒石酸；3、7、苹果酸；4、乳酸；5、乙酸；6、柠檬酸；8、琥珀酸。

由图 7 可知，7 种有机酸的出峰先后顺序为草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸。由于苹果酸是外消旋体，由 L-苹果酸和 D-苹果酸组成，所以图中可见苹果酸有两个峰。

绿豆格瓦斯中含有乳酸（含量 7.22 mg/mL）、DL-苹果酸（含量 2.12 mg/mL）、乙酸（含量 1.08 mg/mL）、琥珀酸（含量 0.82 mg/mL）、柠檬酸（含量 0.34 mg/mL）、酒石酸（含量 0.33 mg/mL），在绿豆格瓦斯中未检测到草酸。在分析的 7 种有机酸中，绿豆格瓦

斯中的主体酸是乳酸，其含量达到 7.22 mg/mL，乳酸是组成格瓦斯的主要成份之一，它直接影响格瓦斯的风味和质量，乳酸有微弱的酸味，口味比较柔和，香味绵软，具有很愉快的风味。苹果酸是仅次于乳酸的有机酸，含量为 2.12 mg/mL，苹果酸的酸度较大，味道柔和，有特殊香味，稍带苦涩味，呈味时间较长^[16]。乙酸在绿豆格瓦斯中含量为 1.08 mg/mL，其是酵母菌发酵的常规代谢产物，主要在发酵初期产生，具有很强烈的酸味^[17]。琥珀酸主要由酵母菌发酵过程中三羧酸循环的代谢、苹果酸-乳酸发酵过程中苹果酸的转化以及谷氨酸的转化而产生^[18]，琥珀酸口味复杂，既具酸味又有苦味，柠檬酸口感温和，具有清爽的酸味，后味延续时间短，这些酸都影响格瓦斯风味的形成。

表 6 各种有机酸的定量参数

Table 6 Quantitative parameters of various organic acids

有机酸	线性方程	相关系数 (R ²)
草酸	Y = 108.11X + 8.3304	0.9988
酒石酸	Y = 21.453X + 0.0363	0.9999
DL-苹果酸	Y = 10.76X - 0.0167	0.9999
	Y = 12.462X - 0.0929	0.9999
乳酸	Y = 6.1362X - 0.0201	0.9999
乙酸	Y = 6.8623X - 0.0056	0.9998
柠檬酸	Y = 13.339X + 0.0081	0.9999
琥珀酸	Y = 7.0153X - 0.0183	1

3 结论

3.1 采用单因素及正交试验对以大麦芽、绿豆为原料的格瓦斯发酵工艺进行优化，结果表明：绿豆格瓦斯采用 Lager 酵母不带渣发酵风味更佳，最佳原料配比和发酵工艺是绿豆:大麦芽 1:9、接种量 3%、接种比(酵母菌:乳酸菌) 2:1、发酵温度 29 ℃、发酵时间 18 h。

3.2 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS) 分析绿豆格瓦斯挥发性风味成分。绿豆格瓦斯共鉴定出 46 种挥发性风味物质，其中包括醇类化合物 11 种（含量 71.05%），酯类化合物 14 种（含量 13.45%），酸类化合物 6 种（含量 5.44%），醛类化合物 9 种（含量 3.82%），酮类化合物 2 种（含量 1.02%），其他类化合物 4 种（含量 5.22%）。

3.3 利用 C18 色谱柱分析 7 种有机酸，选择 0.08 mol/L KH₂PO₄ (pH 值 2.90) 做流动相，流动相流速为 0.80 mL/min，柱温为 30 ℃，紫外检测波长为 210 nm 时，可将常见的 7 种有机酸较好地分离，绿豆格瓦斯中含有酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸，其中乳酸含量最高，为 7.22 mg/mL，苹果酸次之，为 2.12 mg/mL，草酸未在绿豆格瓦斯中检出。

参考文献

- [1] 邵虎,顾瑞霞.麦芽糖化汁用于格瓦斯枣杞酸奶的研究[J].中国乳品工业,2016,44(1):57-61
SHAO Hu, GU Rui-xia. Processing technology of Kvass yoghurt added jujube and Chinese wolfberry [J]. China Dairy Industry, 2016, 44(1): 57-61
- [2] Dlusskaya E, Jansch A, Schwab C, et al. Microbial and chemical analysis of a kvass fermentation [J]. European Food Research & Technology, 2008, 227(1): 261-266
- [3] 李玉斌,吴华昌,肖猛,等.一种青稞格瓦斯的制备及挥发性风味成分分析[J].食品与发酵工业,2017,43(1):96-103
LI Yu-bin, WU Hua-chang, XIAO Meng, et al. Preparation of a Highland barely kvass and volatile flavor components analysis [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(1): 96-103
- [4] 赵雅楠,王颖,张东杰.吉林省绿豆种质资源遗传多样性 SSR 分析及指纹图谱构建[J].中国粮油学报,2018,32(2):18-24
ZHAO Ya-nan, WANG Ying, ZHANG Dong-jie. Germplasm genetic diversity analysis and DNA fingerprints construction based on fluorescent labeled SSR markers for mung bean varieties (*Vigna radiata* L.) from Jilin province [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 32(2): 18-24
- [5] 曾志红,王强,林伟静,等.绿豆的品质特性及加工利用研究概况[J].作物杂志,2011,4:16-19
ZENG Zhi-hong, WANG Qiang, LIN Wei-jing, et al. Quality characteristics and utilization of mung bean [J]. Crops, 2011, 4: 16-19
- [6] 王大为,赵鑫,董欣,等.发芽对绿豆皮膳食纤维结构及性质的影响[J].食品科学,2016,37(23):111-117
WANG Da-wei, ZHAO Xin, DONG Xin, et al. Effect of germination on the structure and properties of dietary fiber in mung bean skin [J]. Food Science, 2016, 37(23): 111-117
- [7] Chandrasiri S D, Liyanage R, Vidanarachchi J K, et al. Does processing have a considerable effect on the nutritional and functional properties of mung BEAN (*Vigna radiata*)? [J]. 2016, 6: 352-355
- [8] 张令文,计红芳,白师师,等.不同品种绿豆淀粉的功能特性比较研究[J].现代食品科技,2015,6:84-90
ZHANG Ling-wen, JI Hong-fang, BAI Shi-shi, et al. Functional properties of starch from nine mung bean cultivars [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 6: 84-90
- [9] 滕聪,么杨,任贵兴.绿豆功能活性及应用研究进展[J].食品安全质量检测学报,2018,13,3286-3291
TENG Cong, YAO Yang, REN Gui-Xing. Research progress on functional activity and application of mung bean [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 13: 3286-3291
- [10] Lidums I, Karklina D, Sabovics M, et al. Evaluation of Aroma Volatiles in Naturally Fermented Kvass and Kvass Extract [C]// International Scientific Conference "Research for Rural Development. 2015
- [11] PICHA D H. Organic acid determination in sweet potatoes by HPLC [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1985, 33(4): 743-745
- [12] 陈忠军,杨小冲,赵洁,等.具高乙醇耐受力酵母菌的选育及其在猕猴桃果酒中的应用[J].食品工业科技,2018,2:141-145
CHEN Zhong-jun, YANG Xiao-chong, ZHAO Jie, et al. Breeding of *Saccharomyces cerevisiae* with high ethanol tolerance and its application in kiwi wine [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 2: 141-145
- [13] 冯德明,张洋,赵惠明,等.反相高效液相色谱法测定黄酒中的有机酸[J].中国酿造,2009,28(3):157-161
FENG De-ming, ZHANG Yang, ZHAO Hui-ming, et al. Determination of organic acids in rice wine by reverse phase high performance liquid chromatography [J]. China Brewing, 2009, 28(3): 157-161
- [14] Eden A, Nederveldr L V, Drukker M, et al. Involvement of branched-chain amino acid aminotransferases in the production of fusel alcohols during fermentation in yeast [J]. Appl Microbiol Biot, 2001, 55(3): 296-300
- [15] 郝瑞颖,王肇悦,张博润,等.葡萄酒中酿酒酵母产生的重要香气化合物及其代谢调控[J].中国食品学报,2012,12(11):121-127
HAO Rui-ying, WANG Zhao-yue, ZHANG Bo-run, et al. The metabolism regulation of important aromatic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* in wine [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(11): 121-127
- [16] 刘晓艳,白卫东,蒋爱民,等.荔枝果酒加工过程中有机酸的变化研究[J].中国酿造,2011,30(11):65-69
LIU Xiao-yan, BAI Wei-dong, JIANG Ai-min, et al. Changes of organic acids content during the production of litchi wine [J]. China Brewing, 2011, 30(11): 65-69
- [17] 丁仁君,夏延斌.葡萄酒中的有机酸及检测方法研究进展[J].食品与机械,2014,1:243-247
DING Ren-jun, XIA Yan-bin. Research progress on detection of organic acids in grape wines [J]. Food & Machinery, 2014, 1: 243-247

(下转第 20 页)

现代食品科技