

桑葚果酒发酵过程中的香气成分变化

孙佳勰, 康文怀, 李慧, 秦玲

(河北科技大学生物科学与工程学院, 河北石家庄 050018)

摘要: 以“大什”桑葚为试材, 采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术 (HS-SPME-GC-MS), 研究了桑葚果酒发酵过程中香气变化规律。结果表明: 在发酵过程中共检测出 67 种香气物质, 酯类 33 种、醇类 4 种、酸类 5 种、醛类 8 种、酚类 2 种、萜烯类 6 种、其他类 9 种, 众多的呈香物质构成了桑葚果酒的主体香气。酯类是构成果酒香气的重要物质, 如十二酸乙酯、十四酸乙酯、十六酸乙酯等, 它们赋予果酒独特的香气; 醇类香气中以苯乙醇为主, 是发酵产生的特征性香气, 也是桑葚果酒的重要香气之一; 酸类香气中, 以辛酸和癸酸为主, 可与发酵产生的乙醇反应, 生成辛酸乙酯和癸酸乙酯; 醛类香气中, 2-壬烯醛、2,4-壬二烯醛仅存在于第 0 d 中, 其他醛类物质在发酵过程中不断减少; 萜烯类也是桑葚发酵过程中一类重要的香气物质, 如长叶烯、松油烯-4-醇、香茅醇等, 但在发酵过程中含量减少, 从发酵 0 d 的 977.23 μg/L, 减少到发酵结束的 553.82 μg/L。主成分分析表明前 2 个主成分的累计贡献率达到 91.10%, 对第一主成分贡献较大的是苯乙醇、十六酸乙酯、辛酸、癸酸乙酯、十二酸乙酯、辛酸乙酯、十四酸乙酯; 对第二主成分贡献较大的是苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯、辛酸乙酯、壬醛。通过对发酵过程的分析, 揭示了具体香气物质在桑葚果酒中的变化规律, 获得了桑葚果酒香气物质的组成。

关键词: GC-MS; 桑葚果酒; 香气物质; 主成分分析

文章篇号: 1673-9078(2020)08-307-316

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.8.0063

Changes of Aroma Composition during Fermentation of Mulberry Wine

SUN Jia-xie, KANG Wen-huai, LI Hui, QIN Ling

(College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: The changing trend of the aroma of mulberry wine during fermentation was analyzed by headspace solid phase micro-extraction combined with gas chromatography mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The results indicated that 67 kinds of aroma substances were detected during fermentation, including 33 esters, 4 alcohols, 5 acids, 8 aldehydes, 2 phenols, 6 terpenes and 9 other species. Many aroma-active substances contributed to the main aroma of mulberry wine. Esters were the important substances that contribute to the aroma of the mulberry wine, such as ethyl dodecanoate, ethyl tetradecanoate and ethyl cetate. In terms of alcohols, phenylethanol was the main component, which was the characteristic aroma during the fermentation of the mulberry wine. Among the acids, octanoic acid and decanoic acid were the main components, which could react with the ethanol generated during fermentation to produce ethyl octanoate and ethyl decanoate. In terms of the aldehydes, 2-nonenaldehyde and 2,4-nondialdehyde only existed on Day 0, and other aldehydes decreased continuously during fermentation. Terpenes were also an important class of aroma substances in mulberry wine, such as longifolene, terpinene-4-ol and citronellol. But the content of terpenes decreased from 977.23 μg/L on Day 0 to 553.82 μg/L at the end of fermentation. The principal component analysis revealed that the cumulative contribution rate of the two principal components reached 91.10%. The first class of principal components that made relatively large contributions were phenylethanol, ethyl hexadecate, octanoic acid, ethyl decanoate, ethyl dodecanoate, ethyl octanoate and ethyl tetradecanoate. The second class of principal components that made relatively large contributions were ethyl benzoate, diethyl succinate,

引文格式:

孙佳勰, 康文怀, 李慧, 等. 桑葚果酒发酵过程中的香气成分变化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 307-316

SUN Jia-xie, KANG Wen-huai, LI Hui, et al. Changes of aroma composition during fermentation of mulberry wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 307-316

投稿日期: 2020-01-16

基金项目: 河北省科技厅重点研发计划项目 (18227128D; 19227125D)

作者简介: 孙佳勰 (1995-), 男, 硕士生, 研究方向: 果酒酿造及检测分析

通讯作者: 秦玲 (1974-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 果品风味化学研究

ethyl octanoate and nonanal. Through the analysis of fermentation process, the changing trend of the specific aroma substances in mulberry wine was revealed, and the composition of aroma substances of the mulberry wine was obtained.

Key words: GC-MS; mulberry wine; aroma; principal component analysis

桑葚 (*Morus alba L.*) 为桑科植物桑树的果实, 颜色呈紫黑色或玉白色, 长椭圆形, 鲜食甜中略酸, 一种极富营养价值和保健功能的果实^[1]。随着桑葚资源开发研究的深入, 大众对桑葚产品的保健功能不断认知和接受, 相关的桑葚产品, 如桑葚果酒、桑葚果酱、桑葚膏、桑葚干等产业规模也得到了扩大, 其中桑葚果酒是最具发展潜力的大众产品。桑葚果肉多汁, 色泽艳丽, 香气幽雅, 色素含量高且稳定, 是酿酒的极佳原料。经过加工的桑葚果酒, 营养成分保留在果酒中, 不仅含有丰富的维生素和人体所需的氨基酸, 还具有许多保健功能, 果酒市场前景十分广阔^[2]。

香气成分是构成和影响桑葚果酒质量、典型性的主要因素。桑葚果酒香气物质种类繁多, 包括醇类、萜烯类、酸类、酯类、含氮化合物等, 主要来源于水果原料和发酵过程, 赋予了桑葚果酒独特的口感和风味^[3]。Feng Yiming 等^[4]对不同果酒进行检测, 其中在桑葚果酒中共检测到 31 种香气物质, 包括醇类 13 种、酯类 12 种、酸类 4 种、醛类 2 种, 相对百分含量分别为 96.34%、2.08%、1.09%、0.48%。Xiaoyu Ouyang 等^[5]采用不同酵母进行桑葚发酵, 共检测到 109 种香气物质, 包括 43 种酯类化合物、23 种醇类化合物、12 种萜烯类、8 种酸类、8 种羰基化合物、6 种降异戊二烯、4 种苯、3 种挥发酚、1 种含硫化合物和 1 种呋喃类化合物, 不同酵母发酵的桑葚果酒的挥发性成分基本相同, 但主要差异表现在香气物质的浓度上。刘玮^[6]等对北京、河北、云南等不同产地桑葚果酒香气进行了分析, 发现不同产地桑葚果酒的醇、酸、酯比例差异较大。目前, 关于桑葚果酒中香气成分的研究报道较多, 但是对于发酵过程中香气成分变化规律的研究, 鲜有报道。

本研究以桑葚为试材, 采用顶空固相微萃取结合气相质谱联用仪 (HS-SPME-GC-MS), 检测了桑葚果酒发酵过程中产生的香气物质, 研究了醇类、酯类、酸类、醛类、酚类等在发酵过程中的变化, 采用内标法对香气物质进行半定量。利用主成分分析探讨了不同发酵时期在整体风味上的异同及主要风味物质的贡献。以期为桑葚果酒的生产和工艺优化提供参考, 进而提高桑葚果酒在市场上潜力和竞争力。

1 材料与方法

1.1 原料

桑葚采自河北石家庄鹿泉桑葚采摘园, 品种为“大什”。采样时间 2019 年 5 月, 随机选择大小均一、无腐败变质的成熟桑葚, 冷藏运输 (4 °C), 并立即进行取汁发酵。

主要辅料包括葡萄酒酵母 (LA-BA 活性干酵母)、果胶酶 (EC)、白砂糖 (市售、食用级)、偏重亚硫酸钾 (K₂S₂O₅, 食用级)。

1.2 仪器设备

Agilent 7890B/5977A 型气质联用仪, 美国 Agilent 公司; 毛细管柱为 HP-INNOWAX 30 m×0.25 mm×0.25 μm, 美国 Agilent 公司; SPEM 萃取头 (50/30 μm DVB/CAR/PDMS), 美国 Supelco 公司; 多功能气相色谱自动进样装置 PAL RSI 85, 瑞士 CTC 公司; FC5718R 高速台式冷冻离心机, 美国 Ohaus 公司; ME104E 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 发酵工艺^[7]

对桑葚进行破碎取汁并依次加 SO₂ (50 mg/L)、果胶酶 (30 mg/L), 静置 24 h 后, 过滤取清汁, 添加白砂糖, 调整糖含量至 200 g/L。添加酵母于发酵罐中进行发酵, 发酵温度 16~18 °C。当糖含量降至 4 g/L 左右时, 进行倒罐, 添加 SO₂, 中止发酵。

1.3.2 样品预处理

取适量发酵液进行离心处理 (10000 r/min, 10 min), 取上清液待测。

1.3.3 HS-SPME 萃取条件^[8,9]

准确量取 8 mL 桑葚发酵液, 称取 2.4 g NaCl, 加入 10 μL 内标 (2-辛醇, 1000 μg/L) 于 15 mL 进样瓶中。迅速用带有聚四氟乙烯隔垫的样品瓶盖拧紧后置于磁力搅拌加热台上, 在 50 °C 下保持 30 min, 然后将已经活化或热解析后的 SPME 萃取头插入样品瓶的顶空部分。吸附饱和后的萃取头插入气相色谱进样口, 于 250 °C 解析 5 min, 进行 GC-MS 检测分析。

1.3.4 GC-MS 条件^[8,9]

载气为高纯氦气, 流速为 1 mL/min; 固相微萃取

自动进样，采用不分流模式；进样口温度为250 °C，热解析5 min；升温程序为50 °C保持5 min，然后以5 °C/min升至220 °C，保持5 min。质谱接口温度为250 °C，离子源温度为230 °C，电离方式为EI，电离能为70 eV，质量扫描范围为30~350 m/z。

1.3.5 定性和定量分析

保留指数(RI)测定：由GC-MS得出C₇~C₃₀正构烷烃标样和桑葚发酵样品中各香气成分色谱峰的保留时间(RT)，经计算机通过NIST14.L标准谱库进行检索匹配，结合数据库中的保留指数和查阅相关文献进行定性^[10~13]，同时采用面积归一化法计算各香气成分的相对百分含量。

保留指数(RI)的计算公式为：

$$RI = 100 \times \left[Z + \frac{RT(x) - RT(z)}{RT(z+1) - RT(z)} \right]$$

式中：RT(x)为待测组分，RT(z)，RT(z+1)代表碳数为z，z+1正构烷的保留时间，且RT(z)<RT(x)<RT(z+1)。

物质的定量采用内标法进行半定量分析(校正因子为1)，计算公式为：

$$Xi = \frac{Ai \times Cs}{As}$$

式中：Xi为待测香气含量；Cs为样品中内标物(2-辛醇)的浓度；As为内标物的峰面积；Ai为待测香气的峰面积。

1.4 数据分析

使用Agilent ChemStation软件对香气物质进行定性和定量，使用Microsoft Excel 2010对香气物质进行统计分类及绘制相关曲线图，使用SPSS 17.0对香气物质进行主成分分析。

2 结果与讨论

2.1 桑葚发酵过程中糖和pH的变化

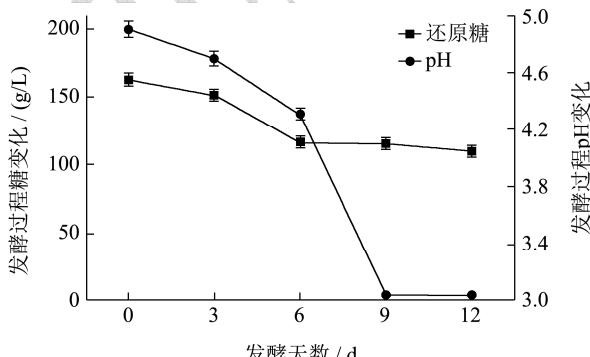


图1 桑葚发酵过程中糖含量(g/L)和pH的变化

Fig.1 The changes of residual sugar and pH in fermentation process of Mulberry wine

图1所示，在发酵前期(0~3 d)，糖含量变化较小，这是因为接种酵母菌后，酵母需要适应新的环境，并逐步繁殖；在3~6 d，糖含量降至137 g/L，说明酵母菌增长逐渐旺盛；在6~9 d，糖含量迅速降至4 g/L以下，表明酵母菌代谢旺盛，将大量的糖转化为酒精；在9~12 d酒精发酵中止，残糖在4 g/L以下。

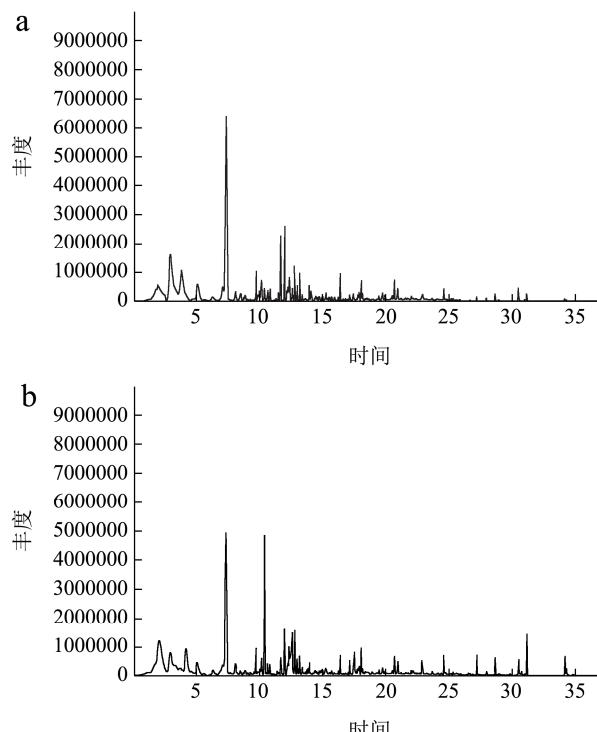
果酒中pH在发酵过程中呈下降趋势，特别在3~6 d时，下降幅度最大。这可能是因为该时期酵母菌增长代谢逐渐旺盛，葡萄糖在酵母中经过EMP途径产生乙醇外，还会通过HMP途径等其他方式产生乳酸、柠檬酸等一些有机酸的缘故^[14]。

发酵过程中的起酵时间、发酵速度、糖和pH的变化，受温度、酵母菌种、桑葚汁糖度、酸度等综合因素影响^[15]，其变化规律仍需进一步深入研究。发酵结束后，桑葚果酒的酒精度为10.8(% Vol)，挥发酸含量为0.618 g/L(以乙酸计)。

2.2 桑葚发酵过程中香气的变化

2.2.1 桑葚发酵过程中香气的总离子流图

发酵第0 d、3 d、6 d、9 d样品中的总离子流图详见图2a、b、c、d。从图中可以看出，桑葚在发酵过程中香气物质变化丰富，各物质峰形、离子丰度和分离度均较好。与发酵第0 d离子流图(图2a)相比，从第6 d、9 d(图2c、d)离子流图可以看出，桑葚果酒香气物质种类、含量丰富，进而对其进行了定性定量分析。



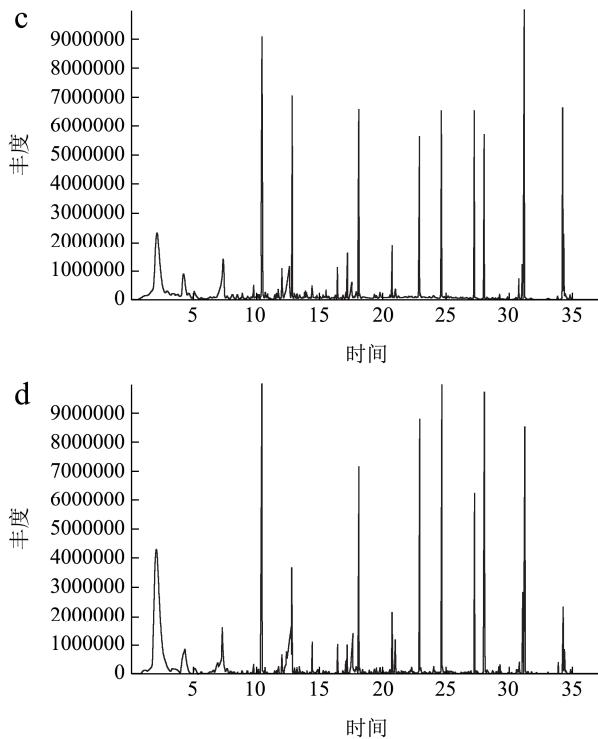


图2 桑葚发酵过程中香气成分 GC-MS 总离子流图
Fig.2 GC-MS total ion current of aroma components in
fermentation process of Mulberry wine

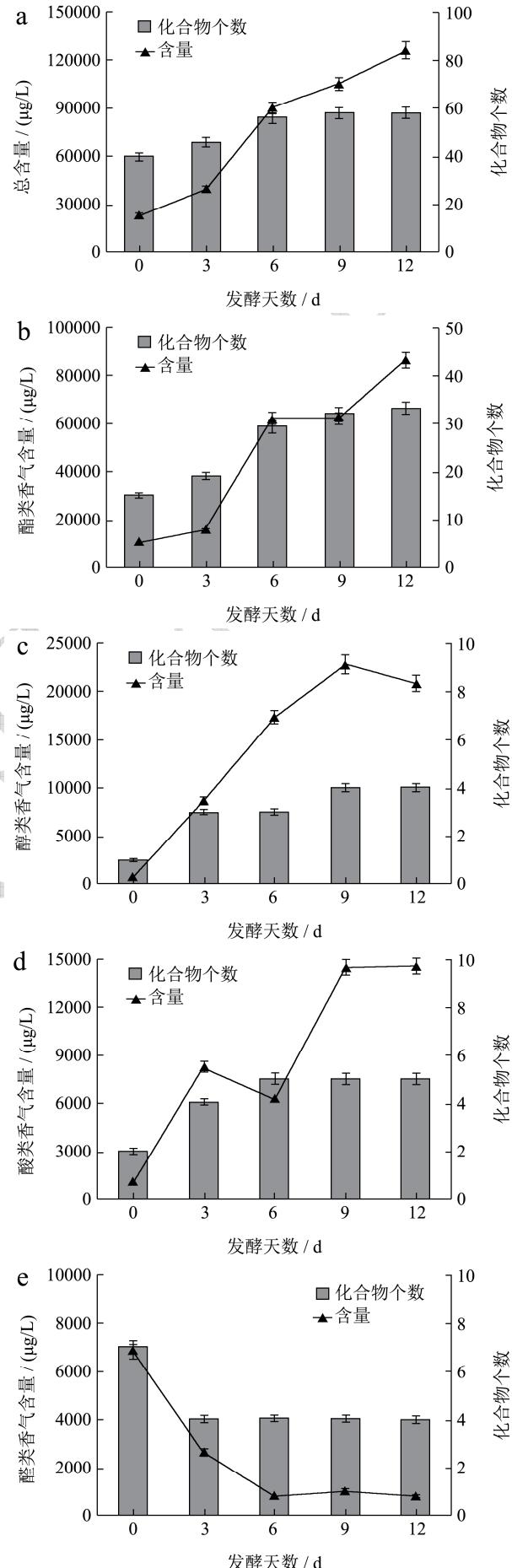
注: a、b、c、d 分别表示发酵第 0、3、6、9 d。

2.2.2 桑葚发酵过程中香气物质及含量

对桑葚发酵过程中香气成进行定性定量分析,共检测出 67 种物质,其中酯类 33 种、醇类 4 种、酸类 5 种、醛类 8 种、酚类 2 种、萜烯类 6 种、其他类 9 种,且匹配率均大于 80%,详见表 1。香气物质在发酵过程中是不断变化的,发酵 0 d 检测出 40 种物质,包括酯类 15 种、醇类 2 种、酸类 1 种、醛类 7 种、酚类 2 种、萜烯类 5 种、其他类 8 种,相对百分含量分别为 45.22%、4.47%、3.12%、29.46%、3.31%、4.21%、10.22%;发酵 12 d 检测出 58 种物质,包括酯类 33 种、醇类 5 种、酸类 4 种、醛类 4 种、酚类 2 种、萜烯类 4 种、其他类 6 种,相对百分含量分别为 68.49%、11.53%、16.47%、0.65%、0.92%、0.44%、1.50%。而曾霞^[16]等对桑葚果酒进行测定,得到酯类 25 种、醇类 12 种、酸类 5 种、醛类 5 种、酮类 7 种、其他物质 16 种,相对百分含量分别为 49.36%、19.03%、2.22%、18.73%、0.24%、1.99%。可见,不同桑葚果酒中香气物质数量、含量存在明显的差异。

2.2.3 桑葚发酵过程中香气种类

在桑葚发酵形成果酒的过程中,果实中丰富的糖苷、氨基酸和脂肪酸等前体物质,在酶的催化下或有氧条件下(如破碎、压榨、发酵等),形成了多种饱和及不饱和的酸、醇、醛以及相应的酯等^[17]。



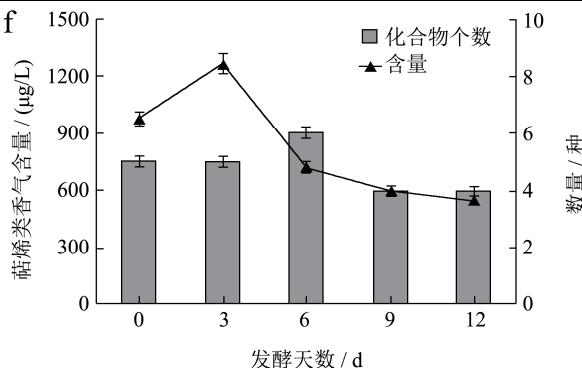


图3 桑葚发酵过程中香气变化

Fig.3 Aroma changes of mulberry wine in fermentation process

在发酵过程中，整体香气物质数量和含量均明显增加(图 3a)。发酵过程中香气物质总含量由发酵 0 d 的 $23195.07 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $127655.86 \mu\text{g}/\text{L}$ (12 d)，增加了约 5.5 倍。香气物质的数量也由发酵 0 d 的 40 种增加至 58 种(12 d)。在发酵过程中产生了大量的香气物质，如辛酸乙酯、癸酸乙酯、十六酸乙酯、亚油酸乙酯、辛酸、癸酸、苯乙醇等，且含量随着发酵而逐渐增加。在发酵过程中，酯类、酸类、醇类香气物质数量和含量增加，而醛类和萜烯类香气数量和含量减少。杨芳等^[18]对发酵型桑葚果酒进行检测，仅检测出 31 种香气物质，其中以醇类和酸类物质为主，而酯类物质含量较少。

酯类物质是构成果实和果酒香气的重要物质，它们赋予桑葚果实和果酒独特的香气，对果酒发酵总体香的形成具有重要作用^[19]。在桑葚发酵过程中，酯类物质数量和含量显著增加($p<0.05$)。在发酵 0 d，酯类香气仅有 15 种，总含量为 $10488.73 \mu\text{g}/\text{L}$ ，而在第 12 d 酯类香气增加至 33 种，总含量为 $86552.3 \mu\text{g}/\text{L}$ (图 3b)。桑葚发酵过程中酯类香气主要以脂肪酸乙酯为主，如癸酸乙酯、十二酸乙酯、十六酸乙酯、十四酸乙酯、辛酸乙酯、己酸乙酯、亚油酸乙酯、丁二酸二乙酯、油酸乙酯等，他们在桑葚果酒中占总酯类含量的 91.29%。大量的脂肪酸乙酯在发酵过程中变化不一。十二酸乙酯含量由 $158.65 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $15677.5 \mu\text{g}/\text{L}$ ，增加了约 100 倍，其具有果香、花香等香味；十六酸乙酯由 $275.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $15353.1 \mu\text{g}/\text{L}$ ，增加了约 60 倍，具有微弱蜡香味、水果味和奶油味^[20]；十四酸乙酯由 $125.24 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $11423.71 \mu\text{g}/\text{L}$ ，增加了约 90 倍，具有鸢尾油香气，并带有油脂气味^[21]。3-羟基己酸乙酯、2-己烯酸乙酯、肉桂酸乙酯、苯甲酸乙酯在发酵过程中含量降低，而不饱和脂肪酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、9-十六烯酸乙酯含量先增大后降低。己酸乙酯、油酸乙酯、9-己癸酸乙酯、9-癸烯酸乙酯、

十五酸乙酯、壬酸乙酯、癸酸乙酯等 18 种香气在发酵第 0 d 未检测到，但在发酵过程中逐渐出现，且浓度增大。辛酸乙酯含量在发酵第 9 d 明显降低，可能是辛酸乙酯发生了水解反应；己酸乙酯在发酵第 0~6 d 未被检测到。在发酵过程中，由于酯类香气稳定性不一，酵母发酵代谢，其他香气的干扰等因素，导致不同发酵阶段酯类香气变化多样，这对香气物质的检测和分析造成了一定的困难^[22]。

酸类香气数量由发酵 0 d 的 2 种增加至 5 种(12 d)，香气含量显著增加($p<0.05$)，主要是由于辛酸和癸酸的大量生成(图 3c)。辛酸由 $495.58 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $8749.60 \mu\text{g}/\text{L}$ ，辛酸具有果味、糖果味、奶酪味等多种风味^[23]。癸酸由 $540.37 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $5284.84 \mu\text{g}/\text{L}$ 。在发酵过程中，辛酸和癸酸含量在第 6 d 减少，导致酸类香气含量也随之下降，原因可能是发酵过程中有乙醇的产生，反应生成了辛酸乙酯、癸酸乙酯。在发酵过程中十二酸含量较少，可能是与乙醇反应产生了大量十二酸乙酯。

在醇类香气中以发酵产生的苯乙醇为主，苯乙醇含量由发酵第 0 d 的 $722.85 \mu\text{g}/\text{L}$ 增加至 $19988.82 \mu\text{g}/\text{L}$ ，增加了约 27 倍，导致醇类香气变化显著($p<0.05$)(图 3d)。苯乙醇香味独特，具有柔和持久的玫瑰香、紫罗兰香、茉莉花香等多样风味，对果酒香气的形成有积极作用^[24]。3-壬烯-1-醇、1-壬醇、正癸醇在发酵第 0 d 中未检测到，且在发酵过程中生成较少。

桑葚发酵过程中的醛类香气主要包括壬醛、癸醛、2-壬烯醛、2,4-壬二烯醛等，具有果香、花香、青草香，但在桑葚果酒中含量较少。醛类香气由发酵第 0 d 的 $6833.14 \mu\text{g}/\text{L}$ 减少至 $817.89 \mu\text{g}/\text{L}$ (图 3e)。壬醛含量由 $1120.84 \mu\text{g}/\text{L}$ 减少至 $201.96 \mu\text{g}/\text{L}$ ；癸醛含量由 $653.47 \mu\text{g}/\text{L}$ 减少至 $345.99 \mu\text{g}/\text{L}$ ，癸醛和壬醛都具有柑橘、柠檬等香气。2-壬烯醛、2,6-壬二烯醛、2,4-壬二烯醛、2,4-癸二烯醛仅在发酵第 0 d 被检测到，且 2-壬烯醛与 2,4-壬二烯醛在发酵第 0 d 中含量较多，分别达到了 $3198.58 \mu\text{g}/\text{L}$ 和 $1243.09 \mu\text{g}/\text{L}$ 。

游离态萜烯类香气在桑葚果酒中含量较低，但也有一定的变化(图 3f)。二氢依兰杜 II、长叶烯、松油烯-4-醇、 β -大马士酮含量在发酵前期(0~3 d)有所增加，而后逐渐减少。香茅醇是一种常见的萜烯类香气，在发酵第 6 d 被检测出。香叶基丙酮在整个发酵过程中均存在。萜烯类香气含量和数量的变化可能是在发酵过程中被代谢成其他物质，这会在一定程度上导致果酒丧失天然香气及酒香^[25]。

表1 桑葚发酵过程中香气物质及其含量(μg/L)

Table 1 Aroma components and its content in fermentation process of Mulberry wine (μg/L)

序号	保留时间	保留指 数 ^[10-13]	匹配项名称	名称	分子式	分子量	发酵天数/d				
							0	3	6	9	12
1	7.29	1235	Ethyl hexanoate	己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.12	-	-	-	7403.37±296.13	3731.67±166.49
2	7.68	1275	Hexyl acetate	乙酸己酯	C ₈ H ₁₆ O ₅	144.12	-	-	265.33±31.16	611.88±47.52	333.42±68.33
3	7.97	1981	2-Hexenoic acid	2-己烯酸	C ₆ H ₁₀ O ₂	114.07	-	-	280.95±21.24	234.79±39.16	98.14±5.69
4	8.51	1346	Ethyl 2-hexenoate	2-己烯酸乙酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	142.1	664.07±56.56	393.25±54.73	336.58±43.46	91.09±13.64	96.38±25.28
5	9.27	1031	Cyclooctane	环辛烷	C ₈ H ₁₆	112.13	85.6±13.42	139.67±18.59	144.37±25.77	212.17±48.68	240.27±31.08
6	9.55	1953	Heptanoic acid	庚酸	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.1	-	178.99±24.16	101.13±14.05	75.79±23.16	81.43±12.57
7	10.16	1391	Nonanal	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	142.14	1120.84±124.83	1010.99±141.44	257.38±35.29	283.34±36.11	201.96±28.04
8	10.40	1909	Phenyl ethanol	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	122.07	722.85±48.91	8322.13±332.89	16942.16±877.68	22202.1±840.56	19988.82±2852.79
9	10.84	1675	Ethyl 3-hydroxyhexanoate	3-羟基己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₃	160.11	548.06±43.92	546.46±75.86	238.39±29.53	85.27±18.34	61.94±24.76
10	11.42	1632	3-Nonen-1-ol	3-壬烯-1-醇	C ₉ H ₁₈ O	142.14	-	123.99±16.96	176.70±27.09	223.35±43.98	321.17±28.14
11	11.51	1587	2,6-Nonadienal	2,6-壬二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	138.1	372.73±44.91	-	-	-	-
12	11.70	1534	(E)-2-Nonenal	(E)-2-壬烯醛	C ₉ H ₁₆ O	140.12	3198.58±127.94	-	-	-	-
13	12.00	1662	Ethyl benzoate	苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₂	150.07	3608.44±184.34	2282.99±191.32	1630.09±125.20	935.04±76.43	1082.68±143.72
14	12.06	1662	1-Nonanol	1-壬醇	C ₉ H ₂₀ O	144.15	-	-	-	184.54±38.16	252.29±41.60
15	12.18	1593	Terpinen-4-ol	松油烯-4-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154.14	467.08±28.68	540.46±121.62	233.53±34.12	-	-
16	12.26	1757	Naphthalene	萘	C ₁₀ H ₈	128.06	807.03±32.28	676.58±94.06	-	-	-
17	12.36	1685	Diethyl succinate	丁二酸二乙酯	C ₈ H ₁₄ O ₄	174.09	1329.64±153.18	1637.48±265.50	1322.66±190.64	2155.83±122.86	2149.02±146.96
18	12.41	2064	Octanoic acid	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.12	495.58±159.82	5803.08±232.12	4387.49±375.49	9059.02±488.32	8749.6±436.89
19	12.79	1436	Ethyl caprylate	辛酸乙酯	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.15	1556.29±162.25	1997.08±279.88	8822.58±503.52	4487.05±282.19	8868.67±354.75
20	12.99	1502	Decanal	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	156.15	653.47±76.14	684.01±47.36	234.94±39.76	306.46±48.52	345.99±29.13
21	13.18	1790	3,4-Dimethylbenzaldehyde	3,4-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	134.07	-	844.5±33.78	210.01±40.48	300.22±28.12	159.91±39.64
22	13.19	1703	2,4-Nonadienal	2,4-壬二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	138.1	1243.09±189.72	-	-	-	-
23	13.64	1769	Citronellol	香茅醇	C ₁₀ H ₂₀ O	156.15	-	-	99.84±13.69	125.01±15.04	150.88±26.03
24	14.22	1452	Isopentyl hexanoate	己酸异戊酯	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.16	-	-	-	-	114.14±26.47
25	14.38	1820	2-Phenylethyl acetate	乙酸-2-苯乙酯	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.08	-	1578.47±137.14	570.7±28.22	1381.48±192.25	853.26±34.06
26	14.83	1762	Decanol	癸醇	C ₁₀ H ₂₂ O	158.17	-	191.24±17.64	-	214.68±38.75	255.98±29.23
27	15.18	1569	Dihydroedulan II	二氢依兰杜II	C ₁₃ H ₂₂ O	194.17	75.82±6.03	191.68±7.66	61.19±12.27	60.99±7.43	59.54±6.61

转下页

28	15.26	1862	2-Methyl-naphthalene	2-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	142.08	349.11±44.96	285.21±21.41	151.69±26.67	146.3±19.52	113.83±22.45
29	15.47	1529	Ethyl nonanoate	壬酸乙酯	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.16	-	81.49±13.26	337.71±43.51	87.53±12.03	243.41±19.65
30	15.55	1300	Tridecane	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	184.22	184.52±17.38	118.08±24.72	-	-	-
31	15.96	1790	2,4-Decadienal	2,4-癸二烯醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152.12	150.56±26.02	-	-	-	-
32	16.81	1895	Ethyl phenylpropionate	苯丙酸乙酯	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.1	85.53±21.42	45.18±7.81	104.96±19.84	117.35±24.69	199.62±18.78
33	17.04	2178	Eugenol	丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.08	46.74±9.87	100.65±14.03	234.18±17.36	472.63±28.90	589.06±42.56
34	17.15	2032	2(3H)-Furanone,dihydro-5-pentyl-	2(3H)-呋喃酮，二氢-5-戊基-	C ₉ H ₁₆ O ₂	156.12	239.95±29.60	560.44±42.76	1785.17±168.40	1147.97±88.95	1015.24±96.06
35	17.44	2284	Decanoic acid	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.15	540.37±71.61	2085.87±183.44	1289.05±165.51	4834.13±265.93	5284.84±171.39
36	17.72	1834	β-Damascenone	β-大马士酮	C ₁₃ H ₁₈ O	190.14	99.57±13.98	196.05±17.84	97.57±28.90	187.78±11.57	175.91±16.40
37	17.81	1609	Hexyl Caproate	己酸己酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.18	246.25±31.85	326.06±45.04	519.51±48.78	475.14±19.56	463.13±22.18
38	17.84	1692	Ethyl 9-deenoate	9-癸烯酸乙酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198.16	-	-	519.71±78.84	463.16±26.18	472.05±18.82
39	18.06	1632	Ethyl caprate	癸酸乙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.18	766.25±103.65	1023.91±140.96	7313.48±492.54	8133.96±358.36	17410.13±696.41
40	18.14	1400	Tetradecane	十四烷	C ₁₄ H ₃₀	198.24	310.46±42.42	261.42±20.46	157.61±30.44	206.76±17.04	179.39±43.56
41	18.22	1579	Longifolene	长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	204.19	141.91±25.68	154.64±16.18	125.93±27.30	-	-
42	18.36	1716	Dodecanal	十二烷醛	C ₁₂ H ₂₄ O	184.18	93.87±21.75	105.12±14.20	105.43±17.21	158.43±23.72	110.04±16.04
43	18.90	1901	Ethyl-3-methyl butyl succinate	丁二酸乙基-3-甲基丁酯	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216.14	78.55±16.14	117.46±19.68	159.67±26.38	180.55±22.72	151.61±14.60
44	19.30	1656	Caprylic-3-methylbutyl ester	辛酸-3-甲基丁酯	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214.19	-	-	172.33±32.89	224.35±27.89	388.83±32.65
45	19.45	1845	Geranylacetone	香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	194.17	192.85±16.71	192.15±29.68	98.68±17.94	227.99±11.96	167.49±16.96
46	19.75	2012	Ethyl cinnamate	肉桂酸乙酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176.08	446.34±51.85	440.01±27.60	315.4±61.12	365.05±46.02	292.66±11.76
47	19.94	1909	Butylated hydroxytoluene	丁化羟基甲苯	C ₁₅ H ₂₄ O	220.18	-	327.56±24.10	65.81±16.63	130.37±21.48	-
48	20.40	1725	propyl decanoate	癸酸丙酯	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214.19	-	-	-	123.9±14.96	99.49±19.83
49	20.60	1500	Pentadecane	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	212.25	203.5±28.14	126.19±15.05	111.13±24.45	146.97±18.78	119.85±24.79
50	20.95	2323	2,4-Di-tert-butylphenol	2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	206.17	720.7±42.83	666.72±36.67	523.6±24.90	595.1±28.04	570.32±18.12
51	21.70	1750	Isobutyl decanoate	癸酸异丁酯	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.21	-	-	98.28±12.93	78.02±12.08	160.28±24.16
52	22.16	2502	Dodecanoic acid	十二酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.18	-	180.56±25.22	117.02±28.68	295.3±11.81	353.81±14.24
53	22.84	1845	Ethyl dodecanoate	十二酸乙酯	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.21	158.65±21.35	563.21±43.53	6278.6±614.41	10541.29±395.42	15677.51±427.10
54	22.94	1600	Hexadecane	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	226.27	189.58±13.58.	159.53±28.38	190.7±38.67	293.33±22.37	228.22±12.88
55	23.96	1867	Pentadecanoic acid-3-methyl-butyl ester	十五酸-3-甲基丁酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.23	-	-	155.65±27.26	325.25±30.11	600.5±42.02
56	24.03	1855	2-Methyl-n-butyl decanoate	癸酸-2-甲基丁酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.23	-	-	149.93±37.95	173.38±35.26	193.71±24.77

57	25.06	1944	Ethyl tridecanoate	十三酸乙酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.23	-	-	88.3±13.53	115.73±22.96	104.96±19.84
58	26.14	1964	Isobutyl laurate	月桂酸异丁酯	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24	-	-	-	69.68±19.32	53.53±12.14
59	27.19	2054	Ethyl tetradecanoate	十四酸乙酯	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24	125.24±17.59	742.11±49.68	7538.33±401.53	7210.32±312.88	11423.71±456.94
60	28.20	2060	Isoamyl laurate	月桂酸异戊酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.26	-	-	32.13±12.52	229.5±29.18	254.11±16.44
61	29.20	2153	Ethyl pentadecanoate	十五酸乙酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.26	-	-	157.39±29.56	333.17±23.32	312.8±12.52
62	30.50	2679	Dibutyl phthalate	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.15	508.61±50.34	693.49±37.74	55.18±10.72	193.48±39.27	310.13±25.40
63	30.63	2289	Ethyl 9-hexadecenoate	9-十六烯酸乙酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.26	-	123.02±24.92	805.66±64.22	525.88±85.21	512.89±120.51
64	31.15	2258	Ethyl palmitate	十六酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.27	274.94±37.99	1652.06±124.08	13066.77±687.22	10680.3±451.42	15353.14±514.13
65	34.18	2526	Ethyl linoleate	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.27	91.87±15.67	746.6±46.86	7877.96±481.15	2826.52±113.06	3110.02±202.18
66	34.28	2478	Ethyl Oleate	油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.29	-	282.68±31.31	2870.91±364.84	1129.81±92.45	1294.02±106.87
67	34.76	2459	Ethyl octadecanoate	十八酸乙酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.3	-	-	176.38±32.50	209.7±28.82	178.82±32.81

注：“-”表示未检测到该香气成分

酚类香气在发酵过程中仅检测到2种，且含量较少。丁香酚具有明显的丁香香味，在发酵过程中含量由 $46.74 \mu\text{g/L}$ 增加至 $589.06 \mu\text{g/L}$ ，可见丁香酚是由酵母发酵产生的。对于2,4-二叔丁基苯酚，其含量在发酵过程中变化较小，可能是存在于果实中，且未参与发酵过程。其他香气物质包括长链烃、苯环物质、呋喃物质等，其数量及含量在发酵过程中变化较小。

2.2.4 桑葚发酵过程中香气物质主成分分析

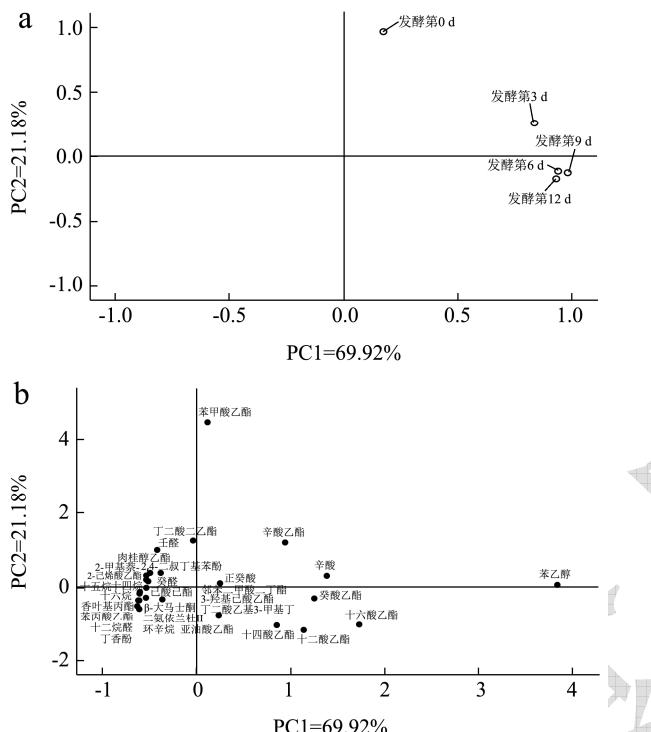


图 4 桑葚发酵过程中香气物质主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of aroma in mulberry fermentation

注：a：载荷图；b：散点图。

桑葚果汁与桑葚发酵过程中香气物质的种类和含量存在较大差异,对桑葚发酵过程中香气物质进行了主成分分析,从而得到主成分及其特征值和贡献率^[26]。以特征值大于1,累计方差贡献率大于85%两个指标确定主成分个数为2,其主成分的贡献率分别为69.92%、21.18%,累计达到91.10%,说明前2个主成分基本包含了全部指标具有的信息,可以用来进行后续分析。随着发酵的进行,发酵第0 d、3 d、6 d明显分离,并在发酵后期(6~12 d)聚集在了一起,说明发酵6 d后,香气物质的变化几乎没有影响桑葚果酒的主体香气(图4a)。

载荷系数反映了发酵过程中各香气物质对主成分的影响，载荷系数绝对值越大，表明该香气物质对主成分的贡献也越大(图 4b)。对第一主成分贡献较大的是苯乙醇、十六酸乙酯、辛酸、癸酸乙酯、十一酸乙酯。

酯、辛酸乙酯、十四酸乙酯；对第二主成分贡献较大的是苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯、辛酸乙酯、壬醛，而十六酸乙酯、十四酸乙酯、十二酸乙酯对第二主成分呈负影响。

3 结论

采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术(HS-SPME-GC-MS)对不同发酵阶段的香气物质进行分析,共检测出67种物质,其中酯类33种、醇类4种、酸类5种、醛类8种、酚类2种、萜烯类6种、其他类9种。在发酵过程中香气物质数量和含量变化显著($p<0.05$),香气物质总含量由发酵0 d的23195.07 $\mu\text{g/L}$ 增加至127655.86 $\mu\text{g/L}$ (12 d),增加了约5.5倍;香气物质的数量也由发酵0 d的40种增加至58种(12 d)。在发酵过程中,醛类和萜烯类香气减少,而醇类、酸类和酯类香气物质增加。对香气物质进行主成分分析,表明前2个主成分的累计贡献率达到91.10%,其中对第一主成分贡献较大的是苯乙醇、十六酸乙酯、辛酸等、癸酸乙酯、十二酸乙酯、辛酸乙酯、十四酸乙酯,对第二主成分贡献较大的是苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯、辛酸乙酯、壬醛。通过检测分析,揭示了具体香气物质对桑葚果酒主体香气的贡献大小,获得桑葚发酵过程中关键性香气物质组成。顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术(HS-SPME-GC-MS)因其具有准确的定性和定量能力,成为桑葚果酒香气成分鉴定最有效的手段,为桑葚果酒的酿造提供一定的理论依据和参考价值。目前,每款桑葚果酒的香气组成存在明显的差异,参与香气组成的酯类、酸类、醇类、醛酮类等含量各不相同。一方面,桑葚原材料、酵母菌种、发酵工艺、陈酿时间等因素的不同均会导致桑葚果酒香气出现差异;另一方面,不同的萃取方法、萃取头、操作参数等检测方法,对香气物质的定性定量也会有所差异。因此,要全面了解桑葚果酒的香气物质,还需要进行深入的研究。

参考文献

- [1] 梁贵秋,吴婧婧,祁广军,等.桑椹酒的营养价值及保健作用[J].现代食品科技,2011,27(4):457-460
LIANG Gui-qiu, WU Jing-jing, QI Guang-jun, et al.
Nutritional value and health care function of mulberry wine
[J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(4):
457-460

[2] Jiang Yan, Nie Wen-Jing. Chemical properties in fruits of
mulberry species from the Xinjiang province of China [J].
Food Chemistry, 2015, 174: 460-466

- [3] 牟灿灿,卢红梅,陈莉.桑葚果酒生产工艺研究进展[J].食品工业,2019,40(8):250-255
MOU Can-can, LU Hong-mei, CHEN Li. Research progress in production technology of mulberry wine [J]. The Food Industry, 2019, 40(8): 250-255
- [4] Feng Y, Liu M, Ouyang Y, et al. Comparative study of aromatic compounds in fruit wines from raspberry, strawberry, and mulberry in central Shaanxi area [J]. Food & Nutrition Research, 2015, 59(1): 29290
- [5] Ouyang X, Zhu B, Liu R, et al. Comparison of volatile composition and color attributes of mulberry wine fermented by different commercial yeasts [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 42(2): e13432
- [6] 刘玮,金田茜,康钰莹,等.不同产地桑葚酿造的果酒香气成分分析[J].食品与发酵科技,2015,51(4):64-68
LIU Wei, JIN Tian-qian, KANG Yu-ying, et al. Analysis of aromatic composition of mulberry wine of different origins [J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2015, 51(4): 64-68
- [7] 李华.现代葡萄酒工艺学 2 版[M].西安:陕西人民出版社,2000
LI Hua. Modern Wine Technology 2nd [M]. Xi'an: Shaanxi People's Publishing House, 2000
- [8] Butkhup Luchai, Jeenphakdee Montri, Jorjong Sujitar, et al. HS-SPME-GC-MS analysis of volatile aromatic compounds in alcohol related beverages made with mulberry fruits [J]. Food Science and Biotechnology, 2011, 20(4): 1021-1032
- [9] 康文怀,崔亥迪,戴柳翔,等.昌黎产区‘胡桑’干白葡萄酒香气成分分析[J].中外葡萄与葡萄酒,2019,3:9-14
KANG Wen-huai, CUI Hai-di, DAI Liu-xiang, et al. Analysis of aroma components of 'Roussanne' dry white wine from Changli county [J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2019, 3: 9-14
- [10] Urcan D E, Giacosa S, Torchio F, et al. 'Fortified' wines volatile composition: Effect of different postharvest dehydration conditions of wine grapes cv. Malvasia moscata (*Vitis vinifera* L.) [J]. Food Chemistry, 2017, 219: 346-356
- [11] Siebert T E, Barter S R, Lopes M A D B, et al. Investigation of 'stone fruit' aroma in Chardonnay, Viognier and Botrytis semillon wines [J]. Food Chemistry, 2018, 256(1): 286-296
- [12] Vilma Kraujalyte, Pelvan E, Alasalvar C. Volatile compounds and sensory characteristics of various instant teas produced from black tea [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 864-872
- [13] Jose Fenoll, Manso A, Pilar Hellin, et al. Changes in the aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape muscat hamburg during ripening [J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 420-428
- [14] 曹培杰,马剑,崔晋,等.桑葚果酒酵母菌的筛选及其发酵性能研究[J].食品研究与开发,2018,39(5):151-155
CAO Pei-jie, MA Jian, CUI Jin, et al. Screening and fermentation performance of mulberry wine yeast [J]. Food Research and Development, 2018, 39 (5): 151-155
- [15] LIU Guo-ming, SUN Jian, HE Xue-me, et al. Fermentation process optimization and chemical constituent analysis on longan (*Dimocarpus longan* Lour.) wine. [J]. Food Chemistry, 2018, 256: 268-279
- [16] 曾霞,陆燕,曹建平,等.桑葚酒发酵工艺优化及其主要香气成分分析[J].酿酒科技,2016,1:120-124
ZENG Xia, LU Yan, CAO Jian-ping, et al. Optimization of the fermentation process of mulberry wine and analysis of its main flavoring compone [J]. Brewing Technology, 2016, 1: 120-124
- [17] 田晓菊,朱红梅.沙枣果酒发酵过程中主要成分变化规律的研究[J].食品科技,2015,40(5):113-118
TIAN Xiao-ju, ZHU Hong-mei. Change rules of major components in *Elaeagnus angustifolia* L. wine fermentation [J]. Food Science and Technology, 2015, 40 (5): 113-118
- [18] 杨芳,刘铁,刘燕,等.发酵型桑葚果酒主要成分动态变化规律及香气成分分析[J].食品与机械,2018,34(6):15-20
YANG Fang, LIU Tie, LIU Yan, et al. Analysis of chemical ingredients changes and aroma compounds in brewing process of mulberry wine [J]. Food and Machinery, 2018, 34 (6): 15-20
- [19] 殷俊伟,龚霄,王晓芳,等.红心火龙果果酒挥发性成分分析[J].中国酿造,2016,35(9):159-162
YIN Jun-wei, GONG Xiao, WANG Xiao-fang, et al. Analysis of volatile components in hongxin huolongguo wine [J]. China Brewing, 2016, 35(9): 159-162
- [20] Wang L, Sun X, Li F, et al. Dynamic changes in phenolic compounds, colour and antioxidant activity of mulberry wine during alcoholic fermentation [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 254-265
- [21] 陈娟,阚建全,杨蓉生.不同品种桑椹香气成分的 GC-MS 分析[J].食品科学,2010,31(18):239-243
CHEN Juan, KAN Jian-quan, YANG Rong-sheng. GC-MS analysis of aroma components of different mulberry varieties [J]. Food Science, 2010, 31(18): 239-243

(下转第 201 页)