

在红枣汁中乳酸菌、酵母菌单一及偶联发酵特征物质差异分析

张江宁*, 叶峥, 杨春

(山西农业大学山西功能食品研究院, 山西太原 030031)

摘要: 该试验以红枣为原料, 研究乳酸菌、酵母菌单一及偶联发酵对枣汁总糖、总酸、总酚、黄酮和酒精含量的影响, 使用液相色谱-质谱联用 (Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer, LC-MS) 技术进行游离型酚酸差异分析, 气相色谱-离子迁移谱联用 (Gas Chromatography-Ion Migration Spectrum, GC-IMS) 技术进行挥发性有机物差异分析。结果表明, 原枣汁无论是单一菌种发酵还是混合菌种发酵, 总糖、黄酮含量降低, 总酸、总酚含量、酒精度均增加, 反式阿魏酸、4-羟基苯甲酸、氢化肉桂酸、香草酸、苯甲酸、丁香酸增加; 酵母菌发酵枣汁总酚、黄酮、酒精度、苯丙氨酸、儿茶素、表儿茶素、丁香酸、芥子酸含量均高于乳酸菌发酵枣汁, 总酸含量低于乳酸菌发酵枣汁; 经混菌偶联发酵, 糖类物质降解效率、产酸效率、总酚生成率、黄酮留存率以及产酒精效率更高; 游离型酚酸反式阿魏酸、反式肉桂酸、香草酸、没食子酸、对香豆酸、苯甲酸、原儿茶酸、咖啡酸、丁香酸较单菌发酵样品高; 挥发性成分 53 种, 包括 11 种醇类化合物、9 种酯类化合物、8 种酮类化合物、8 种醛类化合物、2 种酸类化合物、2 种吡嗪吡啶类化合物, 混菌发酵样品中风味物质酯类、醇类、醛类分别占 17.2%、58.2%、和 1.3%, 酯类和醛类显著高于乳酸菌发酵样品、酵母菌发酵样品及原枣汁, 香味浓烈, 因此采用酵母菌、乳酸菌混合发酵, 可以有效地增强发酵枣汁的品质, 丰富口感, 该研究为推动混菌发酵在红枣酵素发酵生产行业的应用, 提供相应的理论基础和科学实践依据。

关键词: 红枣; 混菌发酵; 游离型酚酸; 风味物质

文章编号: 1673-9078(2024)05-64-72

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.5.1593

Analysis of Differential Substances in Pure and Mixed Culture Fermentation of Jujube Juice by Lactic Acid Bacteria and Yeast in Jujube Juice

ZHANG Jiangning*, YE Zheng, YANG Chun

(Shanxi Institute of Functional Food, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Here, the effects of pure and mixed culture fermentation by lactic acid bacteria and yeast on the total sugar, total acid, total phenol, flavonoid, and alcohol contents of jujube juice were examined. The analysis of the difference in free phenolic acids was performed with the help of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS). The differences in volatile organic compounds were analyzed using Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry (GC-IMS). The results showed that, regardless of pure and mixed culture fermentation, the total sugar and flavonoid contents decrease, while the

引文格式:

张江宁,叶峥,杨春.在红枣汁中乳酸菌、酵母菌单一及偶联发酵特征物质差异分析[J].现代食品科技,2024,40(5):64-72.

ZHANG Jiangning, YE Zheng, YANG Chun. Analysis of differential substances in pure and mixed culture fermentation of jujube juice by lactic acid bacteria and yeast in jujube juice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(5): 64-72.

收稿日期: 2022-12-18

基金项目: 山西省基础研究计划自然科学研究面上项目 (202303021211106); 山西省科技成果转化引导专项 (202104021301051)

作者简介: 张江宁 (1981-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 功能食品, E-mail: 17400495@qq.com

total acid, total phenol, and alcohol contents increase. Furthermore, the contents of trans-ferulic acid, 4-hydroxybenzoic acid, hydrocinnamic acid, vanillic acid, benzoic acid, and syringic acid increase. Contrarily, yeast fermentation results in higher contents of total phenols, flavonoids, alcohol, phenylalanine, catechin, epicatechin, syringic acid, and sinapic acid in jujube juice but a low total acid content compared to lactic acid bacteria fermentation. The carbohydrate degradation efficiency, acid production efficiency, total phenol production rate, flavonoid retention rate, and alcohol production efficiency were higher after mixed culture fermentation. Similarly, mixed culture fermentation produces higher contents of free phenolic acids, including trans-ferulic acid, trans-cinnamic acid, vanillic acid, gallic acid, p-coumaric acid, benzoic acid, protocatechuic acid, caffeic acid, and syringic acid than does pure culture fermentation. A total of 53 volatile components were identified, including 11 alcohols, 9 esters, 8 ketones, 8 aldehydes, 2 acids, and 2 pyrazines. In mixed culture fermentation samples, flavor esters, alcohols, and aldehydes account for 17.2%, 58.2%, and 1.3%, respectively. The contents of esters and aldehydes in mixed culture fermentation samples are significantly higher than those in pure culture fermentation samples and original jujube juice samples, resulting in a strong flavor. Therefore, mixed culture fermentation using yeast and lactic acid bacteria can effectively enhance the quality and enrich the taste of fermented jujube juice. This study provides a theoretical, scientific, and practical basis for promoting the application of mixed culture fermentation in the jujube fermentation and production industry.

Key words: jujube; mixed culture fermentation; free phenolic acids; flavor substances

我国的红枣栽培历史悠久,年产量占世界总产量的90%以上^[1,2]。红枣含有糖类、酸类、多酚、黄酮、三萜等营养物质^[3-5],大量的糖类物质,可为益生菌发酵提供良好的生长环境^[6-8],目前研究红枣发酵侧重于选用酿酒酵母^[9,10]或乳酸菌^[11,12]单独发酵,乳酸菌发酵酸味较高,影响果汁适口性,酿酒酵母发酵制成枣酒,风味单一。近年来研究表明混菌发酵较单菌发酵更有优势,可以改善果蔬产品的香气和风味特征,提高营养成分^[13]。许强等^[14]以桑葚汁为原料,采用异常威克汉逊酵母与酿酒酵母 *BO213* 混菌发酵,成品检出更多的主要挥发性成分,一定程度上改善了桑葚酒的品质。刘秀娟等^[15]以洛川苹果为原料,优化混菌发酵苹果酵素的工艺条件,利用酵母菌与植物乳杆菌之间的互利共生关系,使发酵体系得到充分发酵,成品清澈透亮、酸甜适宜。Kong等^[16]在红葡萄酒酿造过程,使用皮契亚发酵菌和酿酒酵母的混合发酵,显著增强了葡萄酒的果味和花香性。Chen等^[17]在研究酒曲、酿酒酵母 EC1118 混菌发酵对猕猴桃酒品质影响的过程中,发现混合发酵猕猴桃酒具有独特香型,总可滴定酸度、甲醇和有机酸也较单独发酵组显著降低。目前混菌发酵与单菌发酵对枣汁影响的差异仍知之甚少,本研究通过分析乳酸菌和酵母菌单一和偶联发酵红枣汁营养成分、风味差异,揭示生物转化差异,旨在为开发营养健康、香气典型的红枣发酵产品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红枣,阿拉尔市好家乡果业有限公司; α -二苯基- β -苦苯肼、吩嗪硫酸甲酯、硝基四氮咪唑蓝等,美国 Sigma 公司;植物乳杆菌,嗜热链球菌:购于中国普通微生物菌种保藏管理中心;安琪果酒酵母:安琪酵母股份有限公司。

1.2 仪器与设备

BSC-150 型恒温培养箱,上海博讯有限公司;FlavourSpec® 风味分析仪,德国 G.A.S. 公司;Vanquish 型液相色谱仪、Q Exactive Focus 型质谱仪,美国 Thermo 公司;101-OA 型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;H1850-R 型冷冻离心机,湖南湘仪实验仪器开发有限公司;Nikon Eclips E100 型生物显微镜,日本尼康株式会社。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种的活化复壮

酵母菌的活化复壮:对营养肉汤培养液进行灭菌,冷却至室温后,接入酵母菌,使用摇床在 28 °C 条件下培养 24 h;乳酸菌的活化复壮:对 MRS 肉汤培养液进行灭菌,冷却至室温后,接入乳酸菌,在 28 °C 条件下静置培养 24 h。

1.3.2 红枣汁制备

称取一定量的烘干后的红枣,清洗去核,按照料液比 1:20 加入定量去离子水,煮沸后维持 30 min,提取 2 次,过滤合并滤液得红枣汁,浓缩至 20°,冷却至 40 °C 后,备用。

1.3.3 乳酸菌、酵母菌单一及偶联发酵

单一发酵,定量红枣汁中,分别接种活化后的乳酸菌(接种量 0.5%)和酵母菌(接种量 0.5%),其中,接种乳酸菌的样品置于 35 °C 发酵罐中培养时间 100 h,接种酵母菌的样品置于 28 °C 培养箱中培养时间 24 h。

偶联发酵:定量红枣汁中,接种乳酸菌和酵母菌(接种量均为 0.5%),置于 30 °C 发酵罐中,发酵时间 100 h,取一定量样品在 3 000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液。

红枣汁经乳酸菌、酵母菌单一及偶联发酵后均呈红褐色,组织状态均匀,具有红枣香味,乳酸菌发酵红枣汁还有乳酸发酵风味,酵母菌发酵红枣汁还有酒香,混合菌种偶联发酵枣汁乳酸风味和酒香协调,香气浓郁、纯正。

1.3.4 基础指标测定

总糖含量测定,参照《食品中总糖的测定》(GB/T 10782-2006)中方法进行测定;总酸含量测定,参照《食品中总酸的测定》(GB/T 12456-2008)中方法进行测定,结果以乳酸质量浓度(g/100 mL)计;总酚含量测定,参照蒋增良等^[18]的方法,采用福林酚法进行测定;黄酮含量测定,《山楂汁及其饮料中果汁含量》(GB/T 19416-2003)中方法进行测定;酒精含量测定,参考《酒中乙醇浓度的测定》(GB5009.225-2016)中方法进行测定。

1.3.5 菌种镜检

用接种环挑取 1 环样品发酵液,用 16×40 高倍显微镜观察发酵液中菌群的生长情况。

1.3.6 游离型酚酸测定

仪器采用超高效液相色谱和高分辨质谱,取适量样品 12 000 r/min,离心 10 min,取上清稀释 2.5 倍,进样量 2 μL,上机,整个分析过程中样品置于 4 °C 自动进样器中^[19-21]。

液相色谱条件:色谱柱, Waters HSS T3 (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm);柱温 40 °C;流动相, A 相为超纯水, B 相为乙腈;流速 0.3 mL/min;洗脱梯度, 0.0 min 水/乙腈(90:10, V/V), 2.0 min

水/乙腈(90:10, V/V), 6.0 min 水/乙腈(40:60, V/V), 8.0 min 水/乙腈(40:60, V/V), 8.1 min 水/乙腈(90:10, V/V), 12.0 min 水/乙腈(90:10, V/V)。

质谱条件:离子喷雾电压 -2 800 V;温度 350 °C;离子传输管温度 320 °C;电喷雾离子源鞘气 40 arb, 辅助气 10 arb;扫描模式为单离子检测模式(负离子);扫描范围:100~900。

1.3.7 GC-IMS技术测定

仪器采用风味分析仪,取 1 mL 样品,置于顶空瓶中,在 60 °C 条件下孵育 15 min,孵化转速为 500 r/min,进样体积为 100 μL,进样针温度为 85 °C,每个样品取 3 次作为平行样^[22-25]。分析时间, 20 min;色谱柱类型, MXT-5 (15 m, 0.53 mm, 1 μm);柱温为 60 °C;载气/漂移气为高纯 N₂;IMS 温度 45 °C。

1.3.8 数据分析

基础指标测定结果使用 Origin 8.0 软件绘图;GC-IMS 技术测定结果谱图和数据使用 VOCal 软件分析,其中物质定性分析使用 NIST 数据库和 IMS 数据库,谱图差异使用 Reporter 插件,指纹图谱差异使用 Gallery Plot 插件,确定未知样品的种类使用 Dynamic PCA 插件。

2 结果与分析

2.1 样品基础指标差异分析

2.1.1 样品总糖含量

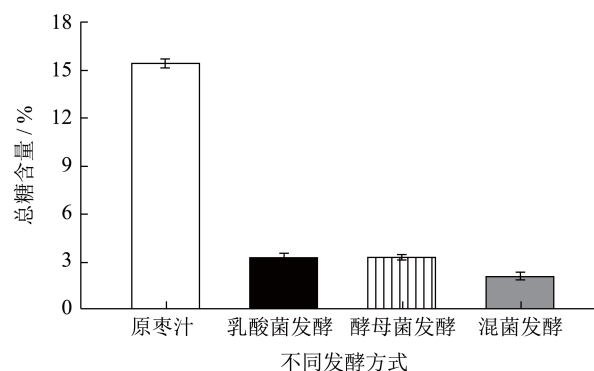


图 1 样品总糖含量

Fig.1 Total sugar content of the sample

糖类物质作为微生物发酵的主要碳源,可通过总糖含量变化反映发酵过程中生长和代谢状况。如图 1 所示,原枣汁中糖含量为 15.35%,经酵母菌、乳酸菌单独发酵后,脱糖率分别为 78.8% 和 78.5%。由酵母菌与乳酸菌偶联发酵的样品同未发酵的样品相比,脱糖率为 86.9%,降糖效果较各菌种单独发

酵效果更好,总糖含量降低更明显。因此乳酸菌和酵母菌偶联发酵较单独发酵效果更好,糖类物质降解效率更高。

2.1.2 样品总酸含量

微生物发酵过程中会产生酸类物质,可通过总酸含量变化反映发酵过程中代谢状况,也可反映异常状况,有助于了解发酵状态。如图2所示,乳酸菌单独发酵时酸度较高,是由于乳酸菌发酵产生乳酸;酵母菌单独发酵时总酸含量最低,是由于酵母菌发酵主要产生酒精,酸度略有增加;混菌偶联发酵总酸含量较原枣汁明显升高,略高于乳酸菌发酵样品,由于混合菌种的作用下产物为乳酸与酒精,此时产品感官较好,优于菌种单独发酵。

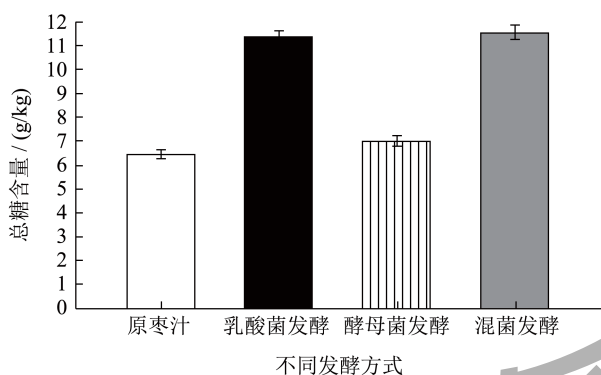


图2 样品总酸含量

Fig.2 Total acid content of the sample

2.1.3 样品总酚含量

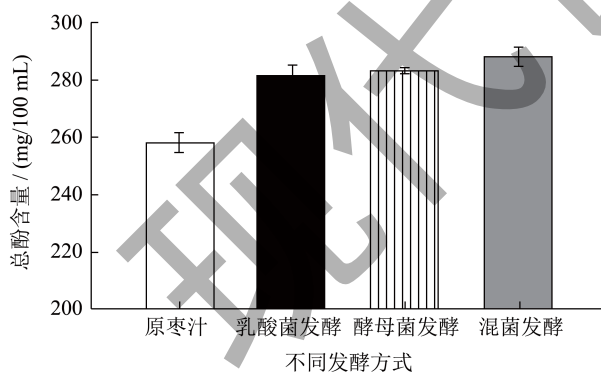


图3 样品总酚含量

Fig.3 Total phenolic content of the sample

如图3所示,发酵后的样品较原枣汁,总酚含量均增加,这可能一方面是由于原汁经热煮,促使多酚类物质游离进入液相,另一方面微生物的生长代谢消耗原料中的某些成分合成多酚类化合物,或微生物相互转化酚类物质所致。酵母单独发酵样品较乳酸菌发酵总酚浓度更高,可能是由于发酵液中逐渐升高的酒精含量和大量产生的二氧化碳利于多

酚被浸入液体。混菌偶联发酵较单独发酵多酚含量略有升高,这可能一方面是微生物的生长代谢的结果,另一方面混合发酵后酒精含量增加抑制了繁殖损耗游离多酚以及通过减少溶解氧而降低了此过程中多酚的氧化降解速度。

2.1.4 样品黄酮含量

如图4所示,发酵后的样品较原枣汁,黄酮含量均降低,主要是发酵过程中黄酮类物质转化成其他物质导致的,混菌偶联发酵黄酮含量明显高于乳酸菌发酵,这可能是由于发酵过程中乳杆菌虽然发酵利用黄酮,但是同时发酵过程中释放很多游离态黄酮,考虑到混合菌种发酵黄酮含量较单独菌种发酵黄酮含量高,因此乳酸菌和酵母菌偶联发酵优于单独发酵。

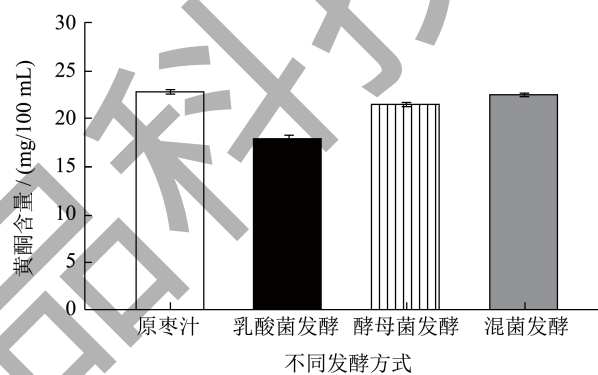


图4 样品总黄酮含量

Fig.4 Total flavone content of the sample

2.1.5 样品中酒精度测定

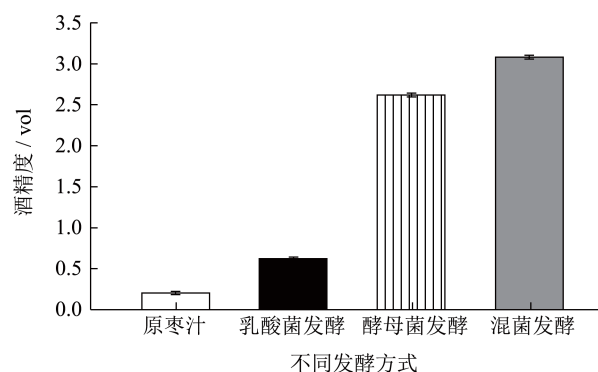


图5 样品酒精度

Fig.5 Total Alcohol content of the sample

由图5可知,原枣汁中酒精度最低,这主要是原料中自有的乙醇含量决定的,乳酸菌发酵酒精度较原果汁略有增加,乙醇是异型发酵菌的关键代谢物之一。Annalisa等^[26]、Chen等^[27]的研究表明植物乳杆菌发酵可分别提高接骨木果中乙醇含量以及苹果汁中己醇、乙醇等含量;酵母单独发酵样品较乳酸发酵酒精度显著增加,主要是酵母生长代谢旺盛,

混菌偶联发酵酒精度高于酵母单独发酵,这可能是与酵母菌和乳酸菌的协同作用有关。该结论与闫彬等^[28]利用酵母菌和乳酸菌进行混菌发酵得出的菌种协同生长机理一致。混菌发酵酒精度最高,有一定优势。为避免发酵后制成的枣汁中酒精度含量过高,酒精度控制至关重要,混菌发酵酒精度为3.07%vol,符合相关食品标准。

2.1.6 单菌发酵与混菌发酵镜检效果比较

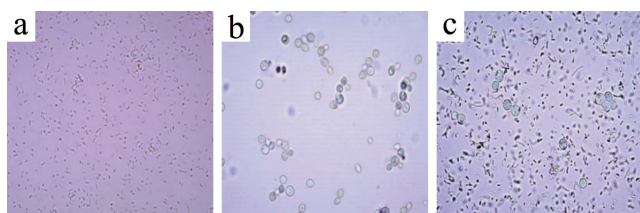


图6 单菌种发酵与混菌发酵镜检效果

Fig.6 Effect of single-strain fermentation and mixed-strain fermentation on microscopic examination

注: (a) 乳酸菌; (b) 酵母菌; (c) 混菌。

乳酸菌在 MRS 平板培养基上呈现的菌落形态为圆形,细胞较小,灰白色、表面光滑、不透明,挑取单菌落进行革兰氏染色,革兰氏阳性呈紫色,其在显微镜下观察如图 6a 所示,呈短杆状,单独分布;酵母菌经过培养后在 YPD 培养基呈现的菌落形态为单菌落较大,表面光滑并隆起,边缘整齐无褶皱,有光泽,其在显微镜下观察如图 6b 所示,呈椭圆形;混菌在显微镜下观察如图 6c 所示,且菌种数量较多。

2.2 游离型酚酸差异分析

由表 1 可知,无论单菌种还是混合菌种发酵样品中反式阿魏酸、4-羟基苯甲酸、氢化肉桂酸、香草酸、苯甲酸、丁香酸、芥子酸和水杨酸较原枣汁增加,说明发酵促进游离型酚酸物质形成;酵母菌发酵枣汁苯丙氨酸、儿茶素、表儿茶素、丁香酸、芥子酸含量均高于乳酸菌发酵枣汁;混菌发酵样品中反式阿魏酸、反式肉桂酸、香草酸、没食子酸、对香豆酸、苯甲酸、原儿茶酸、咖啡酸、丁香酸较酵母发酵样品中高,其中苯甲酸、原儿茶酸分别高 5.88%、5.46%;混菌发酵样品中除氢化肉桂酸、苯甲酸、原儿茶酸、丁香酸、芥子酸低于乳酸菌发酵样品外,其余酚酸物质含量较高,其中香草酸、苯丙氨酸、原儿茶酸分别高 1.12%、5.05%、4.98%,研究表明酚酸类物质可提高产品抗氧化能力,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤等作用^[28],因此从游离型酚酸角度考虑,混菌发酵更具优势。

表 1 游离型酚酸分析

Table 1 Free phenolic acid analysis

No.	化合物	CAS#	分子式	相对含量/%			
				1	2	3	4
1	反式阿魏酸	537-98-4	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0.57	1.19	1.11	1.23
2	4-羟基苯甲酸	99-96-7	C ₇ H ₆ O ₃	1.64	2.09	2.55	2.30
3	氢化肉桂酸	501-52-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	9.41	12.80	12.43	11.66
4	反式肉桂酸	140-10-3	C ₉ H ₈ O ₂	1.15	0.01	0.02	0.04
5	香草酸	121-34-6	C ₈ H ₈ O ₄	1.30	2.94	3.27	4.06
6	香草醛	121-33-5	C ₈ H ₈ O ₃	0.12	0.00	0.02	0.01
7	没食子酸	149-91-7	C ₇ H ₆ O ₅	0.23	0.20	0.19	0.33
8	苯丙氨酸	63-91-2	C ₉ H ₁₁ NO ₂	22.23	3.04	19.27	8.09
9	儿茶素	7295-85-4	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	2.74	1.26	2.33	1.79
10	表儿茶素	35323-91-2	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	1.35	0.51	1.00	0.78
11	对香豆酸	501-98-4	C ₉ H ₈ O ₃	0.72	0.11	0.09	0.80
12	苯甲酸	65-85-0	C ₇ H ₆ O ₂	41.49	58.24	43.97	49.85
13	原儿茶醛	139-85-5	C ₇ H ₆ O ₃	2.78	2.01	0.37	0.20
14	原儿茶酸	99-50-3	C ₇ H ₆ O ₄	4.45	1.98	1.50	6.96
15	咖啡酸	331-39-5	C ₉ H ₈ O ₄	0.32	0.12	0.08	0.56
16	丁香酸	530-57-4	C ₉ H ₁₀ O ₅	0.24	0.35	0.47	0.53
17	丁香醛	134-96-3	C ₉ H ₁₀ O ₄	0.18	0.03	0.05	0.02
18	芥子酸	530-59-6	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	0.65	1.10	1.21	0.80
19	水杨酸	69-72-7	C ₇ H ₆ O ₃	8.42	12.00	10.08	10.00

注: 1 为原枣汁, 2 为乳酸菌发酵, 3 为酵母菌发酵, 4 为混菌发酵。

2.3 样品挥发性有机物差异分析

2.3.1 挥发性有机物定性分析

如图 7 所示, 4 种样品气相离子迁移谱分析共鉴别得到挥发性成分 53 种, 具体成分鉴别结果见表 2 (序号与图 7 相对应)。由于辛酸乙酯的二聚体质量较高, 出现了 2 个峰, 分别对应于单体和二聚体^[29]。主要挥发性成分包括, 11 种醇类化合物、9 种酯类化合物、8 种酮类化合物、8 种醛类化合物、2 种酸类化合物、2 种吡嗪吡啶类化合物。混菌发酵样品中风味物质酯类、醇类、醛类分别占 17.2%、58.2%、和 1.3%, 乳酸菌发酵样品中酯类、醇类、醛类占 2.49%、72.7%、0.4%, 酵母发酵样品中酯类、醇类、醛类占 1.72%、75.3%、0.2%, 原枣汁中酯类、醇类、醛类占 5.3%、58.2%、0.3%, 可见混菌发酵样品中酯类和醛类显著高于乳酸菌发酵样品、酵母菌发酵样品及原枣汁, 酯类物质增加赋予产品更多的果香、青香和花香, 因此混菌发酵样品风味更强烈。

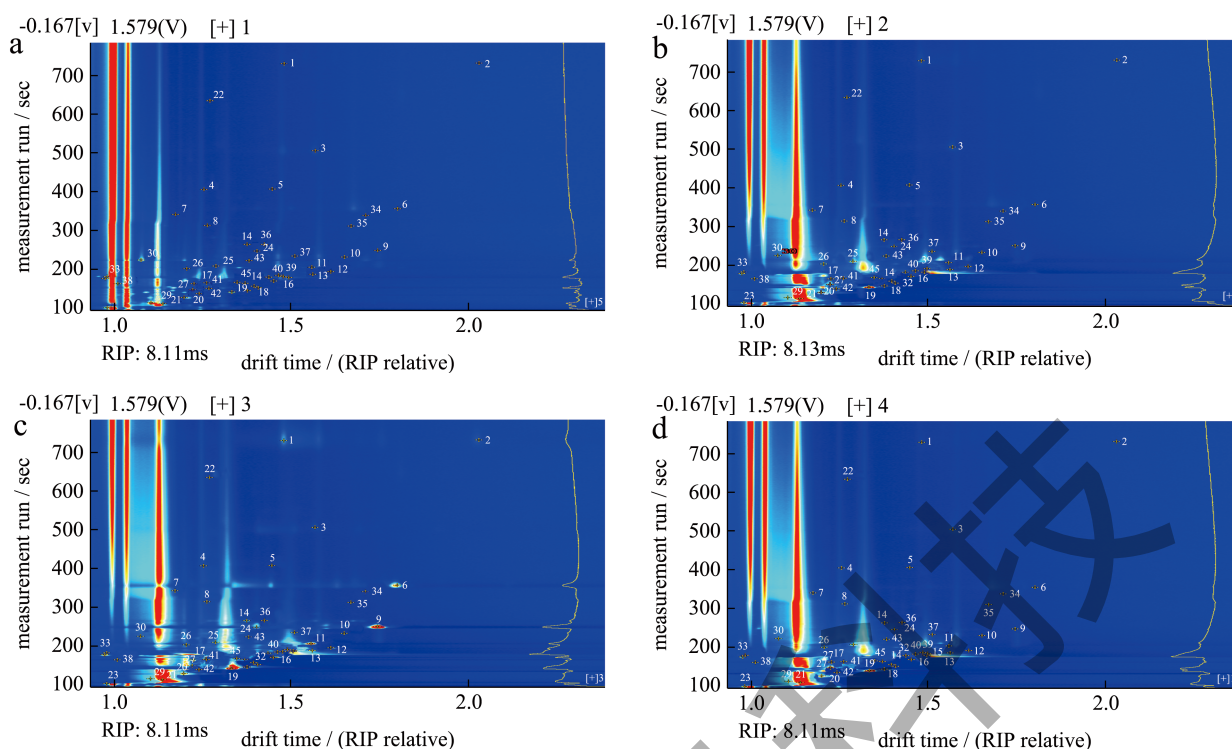


图 7 Library Search 定性分析

Fig.7 Library Search qualitative analysis

注: (a) 原枣汁; (b) 乳酸菌发酵; (c) 酵母菌发酵; (d) 混菌发酵。

表 2 挥发性物质定性分析

Table 2 Qualitative analysis of volatile substances

No.	化合物	保留指数	保留时间/s	漂移时间/ms	1	2	3	4
1	辛酸乙酯 (单体)	1 267.3	730.089	1.485 75	197.906 62	671.035 80	404.630 65	2 802.734 40
2	辛酸乙酯 (二聚体)	1 268.7	732.085	2.033 79	107.662 82	261.739 35	276.244 63	798.034 80
3	2- 甲酰基 -5- 甲基噻吩	1 111.2	505.585	1.572 05	259.542 94	429.787 93	366.012 33	377.600 68
4	苯乙醛	1 041.5	405.317	1.259 49	103.333 46	111.877 92	150.518 46	140.999 57
5	2- 辛醇	1 042.3	406.555	1.451 43	14.429 10	35.384 00	38.875 42	56.024 66
6	己酸乙酯	1 006.8	355.451	1.803 93	37.348 72	106.558 26	125.694 44	2 343.424 80
7	6- 甲基 -5- 庚烯 -2- 酮	996.8	341.055	1.179 02	11.061 47	114.477 45	116.426 29	124.047 12
8	1- 辛烯 -3- 醇	963.0	312.848	1.268 29	18.310 93	40.176 77	92.751 27	47.800 77
9	乙酸异戊酯	878.9	247.514	1.748 00	48.676 80	93.268 63	123.653 54	6 088.313 50
10	Z-3- 己烯 -1- 醇	845.9	230.953	1.654 46	15.435 27	31.051 46	21.878 53	53.520 36
11	己醛	792.1	203.992	1.562 26	144.652 88	103.346 15	117.076 97	2 002.918 80
12	乙酸异丁酯	764.5	192.438	1.615 71	8.919 00	20.919 98	31.178 42	673.959 10
13	异丁酸乙酯	747.4	185.890	1.564 93	9.179 27	133.505 70	178.135 62	479.302 70
14	2- 庚醇	903.2	263.278	1.379 95	9.969 60	20.539 10	25.087 47	166.486 97
15	异戊醇	730.9	179.562	1.489 93	1 621.550 70	9 691.567 00	9 885.434 00	12 611.005 00
16	丙酸乙酯	701.9	168.408	1.454 88	14.248 18	52.047 61	51.308 06	1414.791 60
17	2,3- 戊二酮	679.7	161.286	1.230 87	10.236 22	111.617 65	44.893 36	269.642 67
18	异丁醇	603.3	144.023	1.381 62	51.99048	162.716 23	423.925 54	1 093.593 40

续表2

No.	化合物	保留指数	保留时间/s	漂移时间/ms	1	2	3	4
19	乙酸乙酯	586.0	140.125	1.338 05	314.574 13	2 976.083 50	3 539.802 50	7 728.051 30
20	甲酸乙酯	523.7	126.064	1.203 78	432.812 80	1 342.773 10	1 367.432 10	1 516.023 90
21	乙醇	452.3	109.915	1.143 72	7 787.491 00	8 349.378 10	29 300.560 00	29 114.105 00
22	2,3- 二甲基 -5- 甲基吡嗪	1 201.1	634.957	1.276 10	56.281 75	142.786 54	160.976 87	201.194 90
23	甲醇	407.0	99.691	0.986 72	443.401 34	552.698 80	653.791 40	225.234 94
24	环己烯 -2- 酮	875.7	245.890	1.408 91	45.997 93	197.325 76	156.342 79	753.128 70
25	2- 甲基 -1- 戊醇	798.0	206.941	1.292 38	50.403 47	441.316 00	398.149 30	208.165 05
26	3- 甲基丁酸	785.9	200.894	1.210 97	44.445 83	212.253 19	155.298 54	148.144 30
27	羟基丙酮	613.0	146.208	1.227 98	252.061 77	4 125.362 00	3 876.067 90	661.640 75
28	乙缩醛	720.3	175.462	0.981 32	153.076 72	89.656 59	106.729 66	278.285 55
29	丙酮	463.5	112.451	1.109 52	1 664.041 30	134.365 86	147.522 19	159.510 47
30	糠醛	829.0	222.469	1.081 45	672.178 47	136.759 08	134.311 90	101.705 19
31	3- 甲基丁醛	636.0	151.413	1.410 07	338.147 58	12.746 87	19.878 90	23.760 73
32	2- 甲基丁醛	649.5	154.456	1.399 80	97.442 47	10.690 11	14.378 32	12.413 60
33	二甲基二硫醚	732.0	179.953	0.986 46	64.080 33	3.028 02	4.091 31	5.173 66
34	3- 辛酮	994.1	338.677	1.714 97	13.156 32	32.330 59	19.231 40	26.011 11
35	E-2- 庚烯醛	960.3	310.626	1.672 94	13.673 69	21.964 23	23.402 06	19.739 24
36	苯乙烯	903.7	263.721	1.428 52	40.725 88	44.629 92	28.004 40	45.512 30
37	E-2- 己烯醛	850.4	233.208	1.514 94	12.004 15	103.517 55	97.179 02	217.420 50
38	苯	682.3	161.873	1.017 45	19.228 22	5.116 52	7.408 17	10.521 88
39	2- 甲基 -1- 丁醇	739.3	182.767	1.467 74	47.845 20	97.797 96	148.169 70	173.990 36
40	丁酸甲酯	730.3	179.311	1.439 91	34.381 00	24.360 62	33.282 79	21.719 83
41	丙酸	683.9	162.242	1.264 72	14.505 28	38.196 18	76.109 87	69.863 40
42	1- 丙醇	565.6	135.514	1.246 31	43.804 68	23.535 37	31.295 86	20.215 35
43	甲基吡嗪	826.0	220.964	1.386 15	7.147 90	30.883 23	24.595 50	22.138 80
44	2- 戊酮	686.5	162.829	1.376 04	5.437 10	22.583 17	12.600 87	224.908 02
45	3- 戊酮	693.2	165.051	1.351 86	6.329 00	14.816 33	20.174 08	193.237 63
46	1	574.9	137.619	1.209 67	128.887 51	555.787 10	504.631 38	311.457 24
47	2	810.6	213.250	1.536 62	20.466 09	727.346 10	257.273 50	192.663 13
48	3	705.0	169.607	1.210 97	308.299 10	697.713 50	548.820 10	473.091 13
49	4	635.0	151.195	1.275 01	333.462 74	25.274 74	45.772 57	159.564 42
50	5	735.2	181.175	0.959 68	62.982 12	11.699 45	12.108 89	12.073 98
51	6	1 018.1	371.786	1.897 11	24.589 15	56.151 62	66.143 44	65.600 69
52	7	652.2	155.068	1.268 06	245.681 99	93.332 12	98.489 90	121.660 26
53	8	885.5	250.808	1.023 77	36.177 50	25.195 39	86.082 65	20.615 27

注: 1 为原枣汁, 2 为乳酸菌发酵样品, 3 为酵母菌发酵样品, 4 为混菌发酵样品。

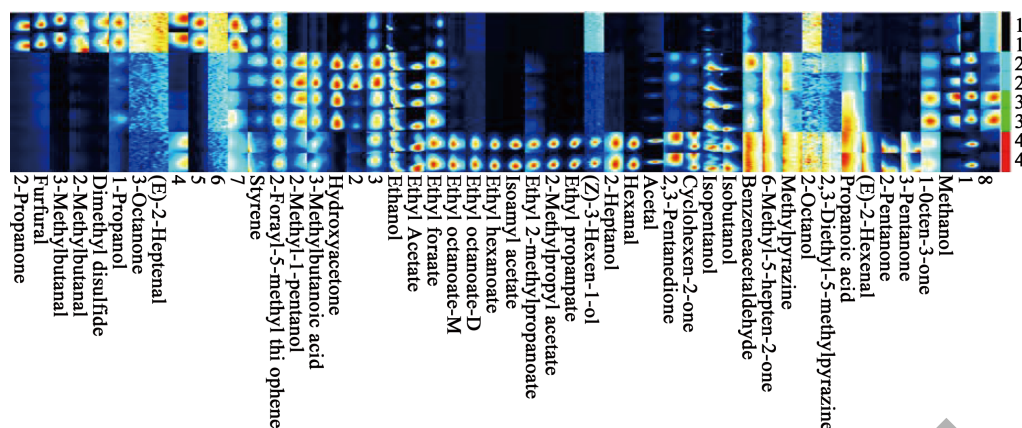


图8 样品中挥发物指纹图谱

Fig.8 Fingerprint of volatiles in the sample

注: 1 为原枣汁, 2 为乳酸菌发酵, 3 为酵母菌发酵, 4 为混菌发酵。

2.3.2 挥发性有机物指纹图谱分析

挥发性有机物指纹图谱每一列代表一种挥发性风味有机物在不同样品中的信号强度(亮度强弱与物质含量呈正相关)。结果如图8所示,原枣汁中糠醛、3-甲基丁醛、丙酮等物质的含量较高,乙醇含量远低于其他样品;乳酸菌发酵样品中2-甲酰基-5-甲基噻吩、2-甲基-1-戊醇、3-甲基丁酸、羟基丙酮等物质的含量较高,酵母菌样品中苯乙醛、甲醇、2-甲基-1-戊醇、2-甲基-1-丁醇、丁酸甲酯含量较高,混合发酵样品中辛酸乙酯、己酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸异丁酯、异丁酸乙酯、丙酸乙酯、乙酸乙酯、甲酸乙酯含量显著高于其余三种样品,酯类物质具有的果香和花香,对产品的风味影响很大^[30]。此外还有2,3-戊二酮、2-庚醇、环己烯-2-酮、乙缩醛等物质,酮类物质由于涉及脂类和氨基酸的降解^[31],也是主要呈味物质,因此混菌发酵风味物质种类及含量高于纯种培养。在其他混菌发酵研究中亦出现了相似的情况,白梦洋^[32]研究表明三种酵母混合培养制作的果酒酯类含量显著增加,高于纯种培养或两菌混合培养的,大大增强了果酒的特殊风味,易鑫等^[33]利用植物乳杆菌与酿酒酵母联合发酵柚子果酒挥发性物质比单一发酵多7种,改善了酒体香气复杂性和层次感。可见混菌发酵枣汁风味物质含量高于纯种培养,大大增强发酵的特殊风味。

3 结论

原枣汁无论是单一菌种发酵还是混合菌种发酵,总糖、黄酮含量降低,总酸、总酚含量、酒精度均增加,反式阿魏酸、4-羟基苯甲酸、氯化肉桂酸、

香草酸、苯甲酸、丁香酸增加;酵母菌发酵枣汁总酚、黄酮、酒精度、苯丙氨酸、儿茶素、表儿茶素、丁香酸、芥子酸含量均高于乳酸菌发酵枣汁,总酸含量低于乳酸菌发酵枣汁;枣汁经混菌偶联发酵,糖类物质降解效率、产酸效率、总酚生成率、黄酮留存率以及产酒精效率更高,菌种生长良好,说明混合菌种在枣汁中可以有效地利用碳源,并且具有良好的乳酸转化能力;混菌发酵样品中反式阿魏酸、反式肉桂酸、香草酸、没食子酸、对香豆酸、苯甲酸、原儿茶酸、咖啡酸、丁香酸较单菌发酵样品高,其中较酵母菌发酵样品中苯甲酸、原儿茶酸分别高5.88%、5.46%,较乳酸菌发酵样品中香草酸、苯丙氨酸、原儿茶酸分别高1.12%、5.05%、4.98%,酚酸类物质可提高产品抗氧化能力,赋予产品更多功能性。同时混菌发酵可显著增加发酵枣汁中挥发性化合物的含量,主要风味物质包括11种醇类化合物、9种酯类化合物、8种酮类化合物、8种醛类化合物、2种酸类化合物,混菌发酵样品中风味物质酯类、醇类、醛类分别占17.2%、58.2%、和1.3%,酯类和醛类显著高于乳酸菌发酵样品、酵母菌发酵样品,酯类赋予产品更多的果香、青香和花香。因此采用酵母菌、乳酸菌混合发酵,可以有效地增强发酵枣汁的品质,提高或保留功能成分,丰富口感,从而增加产品附加值。

参考文献

- [1] 高飞,钟欢.“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”陕西榆林红枣资源优异[J].植物遗传资源学报,2022,23(4):925.
- [2] 解惠,张海霞.乡村振兴背景下吕梁市红枣产业转型发展研究[J].吕梁学院学报,2022,12(3):63-66.

- [3] 余游江,喻彩丽,尚远航,等.基于Stacking模型的红枣品种分类识别[J].北方园艺,2022,8:139-148.
- [4] 史高昆,李景彬,丁龙朋,等.惯性气流式红枣清选系统设计与试验[J].农业机械学报,2022,53(6):167-176.
- [5] 徐怀德,雷宏杰,李梅,等.我国红枣产业发展现状[J].中国农村科技,2022,4:49-52.
- [6] 张砚垒.不同品种红枣营养成分分析及抗氧化活性研究[D].泰安:山东农业大学,2021.
- [7] 李雁琴,宋丽军,张丽,等.不同品种红枣冻干片的理化品质及抗氧化性比较[J].食品研究与开发,2020,41(11):28-33,65.
- [8] QI Z X, WU X H, YANG Y J, et al. Discrimination of the red jujube varieties using a portable NIR spectrometer and fuzzy improved linear discriminant analysis[J]. Foods, 2022, 11(5): 763.
- [9] CHEN K, FAND Y, FUB, et al. Comparison of physical and chemical composition of three Chinese jujube (*Zizyphus jujube* Mill.) cultivars cultivated in four districts of Xinjiang region in China [J]. Food Science and Technology, 2019, 39(4): 912-921.
- [10] GAO Q H, WU C S, WANG M. The jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) Fruit: a review of current knowledge of fruit composition and health benefits [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(14): 3351-3363.
- [11] LIN X M, JI X L, WANG M, et al. An alkali-extracted polysaccharide from *Zizyphus jujube* cv. Muzao: Structural characterizations and antioxidant activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 607-615.
- [12] LIU G P, LIU X Q, ZHANG Y C, et al. Hepatoprotective effects of polysaccharides extracted from *Zizyphus jujube* cv. Huanghetanzao [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 76: 169-175.
- [13] ZHAN R, XIA L, SHAO J H, et al. Polysaccharide isolated from Chinese jujube fruit (*Zizyphus jujuba* cv. Junzao) exerts anti-inflammatory effects through MAPK signaling [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 40: 461-470.
- [14] 许强,杨素红,谭溪莉,等.混菌发酵桑葚酒工艺优化及挥发性成分分析[J].中国酿造,2022,41(5):60-66.
- [15] 刘秀娟,李庆鹏,崔龙,等.混菌发酵苹果酵素工艺研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(1):190-198.
- [16] KONG C L, LIA H, SU J, et al. Flavor modification of dry red wine from Chinese spine grape by mixed fermentation with *Pichia fermentans* and *S. cerevisiae* [J]. LWT, 2019, 109: 83-92.
- [17] CHEN A J, FU Y Y, JIANG C, et al. Effect of mixed fermentation (*Jiuqu* and *Saccharomyces cerevisiae* EC1118) on the quality improvement of kiwi wine [J]. CyTA-Journal of Food, 2019, 17(1): 967-975.
- [18] 蒋增良,毛建卫,黄俊,等.葡萄酵素在天然发酵过程中体外抗氧化性能的变化[J].中国食品学报,2014,14(10):29-34.
- [19] ZHANG L Q, LI Y, LIANGY, et al. Determination of phenolic acid profiles by HPLC-MS in vegetables commonly consumed in China [J]. Food Chemistry, 2019, 276(MAR.15): 538-546.
- [20] ZHUANGJ H, DAIX L, ZHUM Q, et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols [J]. Food Chemistry, 2020, 305(Feb.1): 125507.1-125507.8.
- [21] GLAUSER G, GRUND B, GASSNER A L, et al. Validation of the mass-extraction-window for quantitative methods using liquid chromatography high resolution mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(6):3264-3271
- [22] 王梦云,杜婕好,桑尚源,等.5种还原糖与南极磷虾酶解液美拉德反应产物挥发性成分的差异分析[J].宁波大学学报(理工版),2022,35(4):15-28.
- [23] 孙海燕,郝丹青,李新生,等.不同品种及产地鲜天麻挥发性物质差异性分析[J].食品与机械,2022,38(4):58-64.
- [24] 敬思群,吴飞虎,程金生,等.GC-IMS技术与HS-SPME/GC-MS技术分析3种茶叶风味成分[J].食品研究与开发,2022,43(8):167-176.
- [25] YE Z, SHANG Z X, LI M Q, et al. Evaluation of the physiochemical and aromatic qualities of pickled Chinese pepper (Paojiao) and their influence on consumer acceptability by using targeted and untargeted multivariate approaches [J]. Food Research International, 2020, 137: 109535.
- [26] RICCIA, CIRLINI M, LEVANTE A, et al. Volatile profile of elderberry juice: effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains [J]. Food Research Interational, 2018, 105: 412-422.
- [27] CHEN C, LU Y Q, YU H Y, et al. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice [J]. Food Bioscience, 2019, 27: 30-36.
- [28] GAO H, WEN J J, HU J L, et al. Momordica charantia juice with *Lactobacillus plantarum* fermentation: Chemical composition, an-tioxidant properties and aroma profile [J]. Food Bioscience, 2019, 29: 62-72.
- [29] 闫彬,贺银凤.酸马奶中乳酸菌与酵母菌的共生发酵特性[J].食品科学,2012,33(7):131-137.
- [30] BOUZAS-CID Y, TRIGO-CORDOBA E, FALQUE E, et al. Influence of supplementary irrigation on the amino acid and volatile composition of Godello wines from the ribeiro designation of origin [J]. Food Res Int, 2018, 111: 715-723.
- [31] YAN S, TONG Q, GUANG J. Yeast dynamics and changes in volatile compounds during the fermentation of the traditional Chinese strong-flavor Daqu [J]. Lwt, 2019, 106: 57-63.
- [32] 白梦洋,吴祖芳,李若云,等.果酒酵母菌多菌种混合培养的生长规律及挥发性风味物质的差异性分析[J].中国食品学报,2019,19(5):214-221.
- [33] 易鑫,谈安群,欧阳祝,等.植物乳杆菌混菌发酵对梁平柚果酒理化性质及风味影响[J].食品与发酵工业,2021, 47(11):180-187.