

气相色谱-质谱法分析乳酸菌发酵苹果汁香气成分

李维妮, 郭春锋, 张宇翔, 魏建平, 岳田利*

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要: 以乳酸菌单一菌种和多菌组合分别发酵苹果汁, 采用紫外-可见分光光度计测定发酵过程中苹果汁光密度 (optical density, OD) 的变化, 采用顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术检测9组发酵苹果汁的香气成分, 结合不同香气物质的阈值与香气值分析特征香气成分, 并对各组苹果汁进行感官评价。结果表明: 在发酵过程中苹果汁的OD值呈对数上升趋势。各组苹果汁中共鉴定出48种香气成分, 主要包含醇类、酯类、醛类、酮类和酚类, 其中酯类是各发酵组中种类最多且含量最大的香气类别, 其次是醇类。9组苹果汁的主要香气成分和香气值较大并有突出贡献的特征香气成分均为丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、2-甲基丁基乙酸酯和乙酸己酯等。多菌发酵和单菌发酵苹果汁的香气成分含量及香气值差异显著 ($P < 0.05$), 说明多菌发酵中醇类、酯类和其他类香气物质的总含量明显高于单菌发酵, 且赋予苹果汁更强烈的果香、青香和花香。多菌发酵组的总体感官评分高于单菌发酵组, 当副干酪乳杆菌20241、动物双歧杆菌6165、嗜热链球菌6063、嗜酸乳杆菌6005活菌数比为1:1:1:1时, 感官评分最优。研究结果为今后乳酸菌在发酵果蔬汁方面的研究和应用提供理论依据。

关键词: 苹果汁; 乳酸菌; 多菌发酵; 香气成分; 顶空固相微萃取法; 气相色谱-质谱法

GC-MS Analysis of Aroma Components of Apple Juice Fermented with Lactic Acid Bacteria

LI Weini, GUO Chunfeng, ZHANG Yuxiang, WEI Jianping, YUE Tianli*

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: In this study, changes in optical density (OD) during the fermentation of apple juice with pure and mixed cultures of lactic acid bacteria were monitored by a UV-Vis spectrophotometer. The aroma components of nine fermented apple juices were identified by head-space solid phase micro-extraction (HS-SPME) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the characteristic aroma components were evaluated by odor activity value (OAV) and odor threshold value (OTV). Sensory evaluation was also carried out on the samples. The results showed that the OD value of apple juice increased logarithmically with time. Forty eight aroma components were identified from nine fermented apple juices, mainly including alcohols, esters, aldehydes, ketones and phenols. Esters were the most abundant components with the highest species diversity, followed by alcohols. In addition, according to their aroma values, butyric acid ethyl ester, ethyl-2-methylbutyrate, 2-methylbutyl acetate and hexyl acetate were the main aroma components in all the fermented samples. The contents of aroma components and aroma values from single and mixed culture fermentation of apple juice were significantly different ($P < 0.05$). It was shown that the total contents of alcohols, esters and other aroma components with mixed culture fermentation were significantly higher than those of single culture fermentation and apple juice fermented with single cultures had a stronger fruity, green and flowery aroma. The overall sensory score of apple juice fermented with mixed cultures was higher than that of single culture fermentation. A mixed culture of *Lactobacillus paracasei* 20241, *Bifidobacterium animalis* 6165, *Streptococcus thermophilus* 6063 and *Lactobacillus acidophilus* 6005 at a ratio of 1:1:1:1 was the optimal combination in sensory acceptance. These results can provide a theoretical basis for the research and application of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juice.

Key words: apple juice; lactic acid bacteria; mixed-strain fermentation; aroma components; head-space solid phase micro-extraction (HS-SPME); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201704024

中图分类号: TS255.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 04-0146-09

收稿日期: 2016-07-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371814)

作者简介: 李维妮 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: 18700942939@163.com

*通信作者: 岳田利 (1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术及食品安全控制。E-mail: yuetl@nwfau.edu.cn

引文格式:

李维妮, 郭春锋, 张宇翔, 等. 气相色谱-质谱法分析乳酸菌发酵苹果汁香气成分[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 146-154.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201704024. <http://www.spkx.net.cn>

LI Weini, GUO Chunfeng, ZHANG Yuxiang, et al. GC-MS analysis of aroma components of apple juice fermented with lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2017, 38(4): 146-154. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201704024. <http://www.spkx.net.cn>

乳酸菌是一类能够利用可发酵碳水化合物产生乳酸的细菌统称, 属于益生菌的重要组成部分。有研究表明, 在食品中加入益生菌对人体健康十分有益, 能够提高免疫力, 维持肠道微生态平衡和降低患癌风险^[1]。苹果汁富含糖类、有机酸、多酚、维生素等营养成分, 是世界上最受人们欢迎的果汁之一。苹果汁具有独特的风味, 其中香气成分是影响其品质的重要因素。乳酸菌发酵果蔬汁既具有乳酸发酵的风味, 又不失果蔬原料的自然风味, 从而构成了发酵果蔬汁的独特风味, 而挥发性风味物质是评价果蔬汁品质的重要指标。苹果汁中的香气成分很复杂, 且多数含量很低, 目前采用的富集和分析方法主要是顶空固相微萃取法与气相色谱-质谱等设备联用, 检测挥发性香气成分具有快捷、经济安全、选择性好且灵敏度高等优点^[2]。果蔬汁的香气特征不仅与构成香气的物质及含量有关, 其形成的感官风味特征还取决于各香气物质的风味阈值, 所以需根据香气阈值和香气值共同衡量香气强度。

近年来, 关于乳酸菌发酵果蔬汁的研究较多, 主要集中在理化指标的分析以及工艺条件优化上, 郑欣等^[3]研究得出在保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌和肠膜状明串珠菌混合发酵荔枝汁过程中, 苹果酸被消耗完全, 乳酸则大量生成, 而总酚、酒石酸、乙酸和柠檬酸没有显著变化 ($P>0.05$)。王德纯等^[4]采用开菲尔菌种 (乳酸链球菌、乳酸杆菌、醋酸菌和酵母等) 对苹果汁进行发酵, 通过正交试验得到最优发酵条件为 pH 4.0、15 °Bx 且发酵温度 37 °C, 所得果汁含有较多的苹果酸-乳酸发酵后的产物。Elena 等^[5]将植物乳杆菌接种入添加有乳清增长剂的苹果汁中进行发酵, 研制出具有良好货架期稳定性和感官可接受性的苹果汁。目前, 对于乳酸菌发酵果蔬汁香气成分的报道较少。林晓姿等^[6]研究植物乳杆菌和副干酪乳杆菌复配发酵葡萄汁后的香气成分, 两者是友好共生型, 能够改变葡萄汁的风味物质组成。叶淑红等^[7]利用乳酸菌发酵胡萝卜汁, 发酵后的产品比原汁增加一些独特的风味。周春丽等^[8]将乳酸菌、酵母菌和二者混合后发酵南瓜汁, 混合发酵后的南瓜汁增加了不同菌种发酵所特有的风味物质。熊涛等^[9]分析了植物乳杆菌发酵胡萝卜汁浆风味物质的变化, 结果表明其中的烯萜类物质明显减少, 醇酯类物质明显增加。Ellendersen 等^[10]利用干酪乳杆菌发酵苹果汁, 所得果汁具有焦糖色并带苹果特有香气

和苹果酸味。目前, 乳酸菌在发酵果蔬汁的应用上多为单菌发酵和双菌发酵, 菌种选择较单一, 且国内外鲜见有不同乳酸菌发酵组合对苹果汁香气成分影响的研究报道。本研究采用顶空固相微萃取法和气相色谱-质谱技术联用对乳酸菌单一菌种和多菌组合发酵苹果汁的香气物质进行萃取和检测分析, 采用紫外-可见分光光度计测定苹果汁光密度 (optical density, OD) 值, 并根据不同香气化合物的阈值及香气值比较各香气成分对发酵苹果汁整体香气和感官品质的影响及发酵过程中苹果汁 OD 值的变化, 为乳酸菌在发酵果蔬汁方面的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红富士 (*Malus pumila* Mill.) 苹果, 购于陕西杨陵, 9 月中下旬采摘, 大小均一, 无机械损伤, 无病害或腐烂。

乳酸菌菌种: 副干酪乳杆菌 20241 (*Lactobacillus paracasei*)、动物双歧杆菌 6165 (*Bifidobacterium animalis*)、嗜热链球菌 6063 (*Streptococcus thermophilus*)、嗜酸乳杆菌 6005 (*Lactobacillus acidophilus*), 保存于西北农林科技大学食品科学与工程学院食品发酵工程与食品安全实验室。

MRS 肉汤培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司;
3-辛醇 (标准品, 纯度 > 98%) 日本东京化成工业株式会社; 氯化钠 (分析纯) 四川西陇化工有限公司。

1.2 仪器与设备

2000JP-1 型离心果汁机 南通金橙机械有限公司;
YXQ-LS-70A 型立式压力蒸汽灭菌器 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; PHS-3C 型 pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司; HC-3018R 型高速冷冻离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司; YT-CJ-2ND 型超净工作台 北京亚泰科隆仪器技术有限公司; HWS-80 型智能恒温恒湿箱 宁波海曙赛福实验仪器厂; 120150-T230L 气相色谱-质谱联用仪、UV-1700 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司; 50/30 μm 聚二甲基硅氧烷/二乙基苯 (polydimethylsiloxane/divinylbenzene, PDMS/DVB) 萃取头 美国 Supelco 公司。

1.3 方法

1.3.1 苹果汁的制备

挑选→清洗→去核→切块→榨汁→护色→酶解→抽滤→调酸→冷冻待用(−20℃保存)。

1.3.2 苹果汁的发酵

将保存于甘油管的四株乳酸菌分别置于MRS液体培养基中进行活化,于37℃无菌环境中静置培养24 h。再分别接种于100 mL苹果汁种子液中,于37℃条件下静置培养18 h,活菌数约达 1×10^7 CFU/mL,之后副干酪乳杆菌20241、动物双歧杆菌6165、嗜热链球菌6063和嗜酸乳杆菌6005四株菌按照单一菌种和多菌组合的配比方式,分别以体积分数2%接种量接种于500 mL苹果汁中,于37℃条件下静置发酵24 h,期间定时取样测定OD值,发酵结束后置于−20℃条件下保存待用。编号为:S1(副干酪乳杆菌20241)、S2(动物双歧杆菌6165)、S3(嗜热链球菌6063)、S4(嗜酸乳杆菌6005)、M5(副干酪乳杆菌-动物双歧杆菌-嗜热链球菌-嗜酸乳杆菌1:2:1:2,活菌数比,下同)、M6(1:1:1:1)、M7(1:2:2:1)、M8(2:1:2:1)、M9(2:2:1:1)。

1.3.3 苹果汁OD值的测定

根据吕加平等^[11]对乳酸菌生长动力学的研究可知,由于菌液的OD值和其显微镜计数之间存在相关关系,因此可通过测定OD值的方法来评定发酵液中的活菌数。OD值直接用分光光度计进行测定,重复3次,取平均值,测定波长为600 nm。

1.3.4 香气成分富集

根据叶萌祺^[12]测定方法进行改进,采用顶空固相微萃取法进行香气成分的富集。用移液管移取5 mL苹果汁样品于20 mL进样瓶中,分别加入2 g氯化钠和一定量的内标溶液(3-辛醇),上机测定。进样瓶先在45℃环境中平衡30 min,再用老化处理过的萃取头插入进样瓶中,顶空吸附30 min,然后进行解吸。

1.3.5 色谱条件

色谱柱:DB-17MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:起始温度40℃,保持3 min后以4℃/min的速度率升温至120℃,再以6℃/min的速度率升温至240℃,保持9 min;自动进样;进样口温度250℃;载气为He;流速为1.93 mL/min;不分流进样。

1.3.6 质谱条件

电子电离源;电子能量70 eV;离子源温度230℃;接口温度230℃;质量扫描范围 m/z 35~500。

1.3.7 定性与定量

定性主要是由气相色谱-质谱中NIST 14质谱数据库、匹配度和保留时间对各个物质进行检索。选择匹配度大于85的物质作为有效的香气成分。每次检测均加入相同

质量浓度的3-辛醇作为内标物进行定量,按式(1)计算各发酵苹果汁中香气物质的含量,按式(2)计算香气值,取3次检测结果的平均值为最终结果。

$$\text{香气物质含量}/(\text{mg/L}) = \frac{\text{各物质的峰面积}}{\text{内标物的峰面积}} \times \text{内标物质量浓度}/(\text{mg/L}) \quad (1)$$

$$\text{香气值} = \frac{\text{香气物质含量}/(\text{mg/L})}{\text{香气阈值}/(\mu\text{g/L})} \times 1000 \quad (2)$$

1.3.8 单菌发酵组与多菌发酵组香气成分差异性分析

利用SPSS软件采用 t 检验法对乳酸菌单菌发酵和多菌发酵苹果汁的香气成分含量及香气值的差异显著性进行分析。

1.3.9 感官评价

为了对单一菌种和多菌组合发酵对苹果汁感官品质的影响进行评价,采用9点快感标度法^[12],由20位受过感官品尝训练的老师 and 同学组成评定小组,从颜色、酸甜度、香气、味道、体态、风味和整体接受性等方面分别对各个苹果汁样品进行感官评价,每一项性质都有9种不同的等级评分,以表示评定人员对它的喜好程度,1:极度不喜欢;2:极不喜欢;3:中等不喜欢;4:轻度不喜欢;5:无所谓;6:轻度喜欢;7:中等喜欢;8:很喜欢;9:极度喜欢。

2 结果与分析

2.1 苹果汁理化指标测定结果

所得苹果汁固形物含量为 $(14.03 \pm 0.20)^\circ\text{Brix}$, pH值为 5.85 ± 0.02 ,总酸含量为 (7.10 ± 0.20) g/L,总糖含量为 (0.29 ± 0.00) g/100 g,总酚含量为 (53.21 ± 0.50) μg/100 μL。

2.2 苹果汁发酵过程中OD值的变化

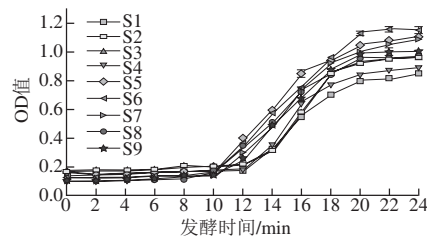


图1 苹果汁发酵过程中OD值的变化

Fig. 1 Changes in OD value during fermentation of apple juice

发酵过程中每隔2 h取样,测定各菌种组合OD值的变化,如图1所示。随着发酵时间的延长,苹果汁的OD值呈对数上升趋势,这与李冬华^[13]所研究的植物乳杆菌在圣女果汁中的生长趋势相符。发酵前10 h,各发酵组的OD值没有明显变化,这是由于乳酸菌在苹果汁环境中代谢系统需要适应新的环境,并且合成多种产物,此时苹果汁中的细胞数目没有增加。发酵10 h后开始进入对数

期,乳酸菌大量繁殖,代谢旺盛,苹果汁的OD值呈对数增加。发酵进行到20 h时,总细菌数基本达到最高水平,细胞代谢产物的积累达到最高峰,之后活菌数保持相对稳定,苹果汁的OD值不再有明显变化。发酵达到终点时,各发酵组的OD值存在一定的差异,其中M6号发酵组的OD值最高,S1号发酵组最低,OD值前四名均为多菌发酵组,分别为M6、M5、M7和M9。后两名均为单菌发酵组,分别为S1和S4。可见乳酸菌多菌种发酵相较单菌发酵而言在一定程度上提高了苹果汁中的活菌数,使得菌液的OD值有所升高。

2.3 苹果汁的香气成分分析

2.3.1 苹果汁的香气成分及香气值

如表1所示,香气成分主要有醇类15种,酯类24种,以及其他种类的香气物质9种,共48种。由此看出,醇类和酯类物质在整体香气物质中占了较大的比重。

利用已有香气阈值的相关报道^[14-15]来计算香气物质的香气值,并据此确定特征香气成分。香气值是某种化合物的含量与该化合物香气阈值的比值。香气值大于1的是对苹果汁香味起主要作用的芳香成分,被称为该苹果汁的特征香气成分。其香气值越大则对香气的贡献越大。如表2所示,9个苹果汁发酵组中香气值均存在一定的差异,香气值大于1的香气物质共有17种,其中2-甲基丁酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸己酯、2-甲基丙酸乙酯、2-甲基丁基乙酸酯和2-甲基丁酸甲酯具有较高的香气值,并对9组苹果汁的总体香气有重要影响。

2.3.2 苹果汁中的醇类香气物质

醇类物质是乳酸菌发酵苹果汁过程中一类重要的挥发性香气成分。高级醇是指含有3个碳原子以上的一元醇类的总称,少量的高级醇能够赋予苹果汁淡雅的香气,并且可以作为其他香气物质的良好溶剂,对整体香气的形成带来较大的贡献。如表1所示,在9个发酵组中均检测出相同的15种醇类物质,各组醇类物质含量依次为(4.706±0.28)、(4.657±0.25)、(4.818±0.24)、(4.769±0.20)、(4.857±0.27)、(5.018±0.38)、(4.729±0.31)、(4.965±0.33)、(4.864±0.20) mg/L,分别占总香气的37.725%、40.421%、41.632%、41.749%、42.867%、42.694%、45.482%、46.298%和45.541%。由此可见,多菌发酵中除M7号样品外醇类物质含量均高于单菌发酵,并在一定程度上提高了醇类物质在总香气的占比。这与周春丽等^[8]研究乳酸菌发酵南瓜汁的结果相似,与单菌发酵对比,混菌发酵南瓜汁后醇类物质所占比重有所增加。在各组苹果汁中含量最高的5种物质均依次为6-甲基-5-庚烯-2-醇、2-甲基-1-丁醇、乙醇、正丁醇和正己醇。醇类物质在整体香气物质中的比例虽较大,但其香气值并不高,由表3可知,单菌发酵和多菌发酵中的M5号和M7号发酵组

均仅有2种特征香气成分,即芳樟醇和2-甲基-1-丁醇,多菌发酵中M6、M8号和M9号则有3种,除此2种外,香茅醇也是其特征香气成分。

研究表明,6-甲基-5-庚烯-2-醇具有明显的焦甜香^[16],香气阈值高,香气值较低。2-甲基-1-丁醇是苹果常见的风味特征物之一,在所分析的醇类物质中其含量和香气值均较高,赋予苹果汁青香。乙醇可以通过苹果汁中的葡萄糖和果糖在乳酸菌发酵过程中经糖酵解途径和乙醛途径代谢而生成^[17],香气柔和甜润,香气阈值很高,香气值非常低,对整体香气贡献很少。正丁醇带有辛辣气息。正己醇是高级脂肪醇,带有水果芬芳的诱人香气^[18]。除了这些含量比较丰富的物质外,苹果汁中还存在一些含量较低但对整体香气有贡献的醇类,例如芳樟醇、香茅醇、正辛醇和1,3-辛二醇等。芳樟醇属于链状萜烯醇类,广泛存在于植物中,香气阈值很低,香气值高,赋予苹果汁浓青带甜的木青气息,是贡献最大的醇类。熊涛等^[9]利用植物乳杆菌发酵胡萝卜浆后生成芳樟醇等物质,且是主要的香气成分,赋予胡萝卜浆青香,这与本研究相似。香茅醇是另一种萜烯醇类化合物,带有玫瑰和柑橘类花香^[12]。多菌发酵中这2种香气成分的平均含量和平均香气值均高于单菌发酵。在各发酵组中,正辛醇含量最高的是M8号,1,3-辛二醇含量最高的是M7号,2组均为多菌发酵。所检测到的醇类物质中含量最低的是3-环己烯-1-甲醇,含量为(0.024±0.00)~(0.028±0.00) mg/L。

2.3.3 苹果汁中的酯类香气物质

酯类物质是苹果汁中一类含量多且种类丰富的香气成分,具有花香和果香,对苹果汁香气的形成有重要贡献。赵峰等^[19]从红富士苹果中检测出55种香气成分,其中酯类物质的种类和含量均为最高,研究者将红富士苹果归为“酯类型”品种。本研究中共检测出的酯类物质种类和含量均是最多的,各发酵组中酯类物质的含量分别为(7.651±0.64)、(7.210±0.55)、(7.383±0.55)、(7.413±0.53)、(7.535±0.35)、(8.225±0.63)、(7.480±0.63)、(7.696±0.41)、(8.070±0.34) mg/L,占总香气含量依次为61.269%、59.484%、59.195%、59.23%、58.749%、60.147%、58.514%、58.863%和60.626%,均约占总香气的3/5,且多菌发酵的平均含量高于单菌发酵。其中丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、2-甲基丁基乙酸酯、乙酸丁酯和乙酸己酯是苹果汁中检测到的主要酯类物质,香气值高,赋予苹果汁强烈的果香,是9个发酵组中共有的特征香气成分。

在所有分析的香气物质中,丁酸乙酯和2-甲基丁酸乙酯的含量和香气值在9个发酵组里均是最高,平均含量均超过(1.590±0.04) mg/L,两者之和占总香气含量均超过24%,对苹果汁整体香气贡献最大,而李俊

表 1 不同苹果汁发酵组的香气成分和含量
Table 1 Aroma compounds and their contents in different fermented apple juices

编号	香气成分	含量/(mg/L)								
		S1	S2	S3	S4	M5	M6	M7	M8	M9
醇类										
1	乙醇 ethanol	0.975±0.02	0.893±0.01	0.934±0.02	0.893±0.03	0.937±0.02	0.972±0.03	0.890±0.04	0.908±0.01	0.903±0.02
2	异丙醇 isopropyl alcohol	0.188±0.00	0.185±0.00	0.186±0.01	0.179±0.01	0.191±0.01	0.190±0.02	0.182±0.01	0.183±0.02	0.184±0.02
3	正丁醇 1-butanol	0.424±0.03	0.389±0.03	0.419±0.01	0.415±0.01	0.416±0.01	0.437±0.06	0.392±0.01	0.411±0.02	0.396±0.03
4	2-甲基-1-丁醇 2-methyl-1-butanol	1.021±0.01	0.989±0.04	1.035±0.01	1.039±0.01	1.041±0.02	1.087±0.03	0.992±0.04	1.072±0.06	1.045±0.03
5	正戊醇 1-pentanol	0.056±0.01	0.057±0.02	0.059±0.02	0.059±0.02	0.059±0.03	0.062±0.03	0.056±0.01	0.061±0.03	0.058±0.01
6	正己醇 1-hexanol	0.230±0.05	0.251±0.01	0.258±0.03	0.263±0.03	0.261±0.02	0.262±0.02	0.247±0.02	0.275±0.05	0.260±0.01
7	6-甲基-5-庚烯-2-醇 6-methyl-5-hepten-2-ol	1.285±0.12	1.325±0.09	1.433±0.07	1.357±0.03	1.380±0.06	1.463±0.15	1.345±0.05	1.405±0.03	1.387±0.01
8	正辛醇 1-octanol	0.061±0.00	0.070±0.01	0.074±0.01	0.074±0.01	0.074±0.00	0.072±0.00	0.073±0.01	0.081±0.02	0.073±0.01
9	5-乙烯基四氢化-2-呋喃甲醇 5-ethenyltetrahydro-2-furanmethanol	0.162±0.01	0.175±0.01	0.170±0.00	0.173±0.01	0.179±0.01	0.177±0.01	0.176±0.01	0.199±0.01	0.189±0.00
10	顺-5-辛烯-1-醇 (Z)-5-octen-1-ol	0.023±0.01	0.029±0.00	0.028±0.00	0.026±0.01	0.029±0.00	0.030±0.00	0.029±0.00	0.032±0.00	0.030±0.00
11	芳樟醇 linalool	0.028±0.01	0.033±0.01	0.035±0.01	0.031±0.02	0.032±0.02	0.032±0.00	0.033±0.01	0.038±0.01	0.035±0.00
12	反式芳樟醇氧化物(呋喃型) trans-linalool oxide, furanoid	0.049±0.00	0.050±0.00	0.053±0.01	0.052±0.00	0.051±0.02	0.055±0.00	0.051±0.03	0.062±0.03	0.059±0.03
13	3-环己烯-1-甲醇 3-cyclohexene-1-methanol	0.024±0.00	0.026±0.00	0.024±0.00	0.027±0.00	0.025±0.01	0.025±0.00	0.026±0.01	0.027±0.01	0.028±0.00
14	香茅醇 citronellol	0.027±0.00	0.034±0.01	0.032±0.01	0.038±0.00	0.034±0.02	0.041±0.02	0.037±0.00	0.041±0.02	0.054±0.02
15	1,3-辛二醇 1,3-octanediol	0.153±0.01	0.151±0.01	0.078±0.03	0.143±0.01	0.148±0.02	0.113±0.01	0.200±0.06	0.170±0.01	0.163±0.01
酯类										
16	乙酸乙酯 ethyl acetate	0.591±0.02	0.543±0.02	0.541±0.01	0.574±0.01	0.572±0.00	0.615±0.03	0.539±0.01	0.590±0.02	0.594±0.02
17	丙酸乙酯 ethyl propionate	0.300±0.11	0.285±0.15	0.291±0.16	0.300±0.19	0.297±0.08	0.317±0.14	0.283±0.13	0.317±0.10	0.313±0.02
18	2-甲基丙酸乙酯 ethyl isobutyrate	0.020±0.01	0.020±0.01	0.020±0.00	0.021±0.00	0.020±0.00	0.022±0.01	0.019±0.00	0.023±0.01	0.021±0.01
19	2-甲基丁酸甲酯 methyl 2-methylbutyrate	0.025±0.00	0.025±0.00	0.026±0.01	0.026±0.01	0.026±0.01	0.028±0.01	0.024±0.01	0.029±0.01	0.028±0.01
20	丁酸乙酯 butyric acid ethyl ester	1.600±0.06	1.524±0.08	1.555±0.05	1.616±0.06	1.610±0.07	1.716±0.06	1.516±0.06	1.523±0.07	1.694±0.03
21	丙酸丙酯 propyl propanoate	0.036±0.02	0.033±0.02	0.032±0.02	0.038±0.02	0.035±0.02	0.036±0.02	0.033±0.02	0.035±0.02	0.038±0.02
22	乙酸丁酯 n-butyl acetate	0.695±0.17	0.494±0.11	0.510±0.08	0.542±0.03	0.525±0.01	0.723±0.11	0.710±0.10	0.558±0.04	0.586±0.01
23	2-甲基丁酸乙酯 ethyl-2-methylbutyrate	1.554±0.02	1.539±0.01	1.557±0.01	1.540±0.06	1.587±0.01	1.710±0.11	1.587±0.08	1.595±0.01	1.708±0.09
24	2-甲基丁基乙酸酯 2-methylbutyl acetate	1.300±0.08	1.233±0.01	1.268±0.03	1.302±0.02	1.293±0.01	1.403±0.02	1.239±0.05	1.379±0.02	1.400±0.01
25	丁酸丙酯 n-propyl butyrate	0.060±0.03	0.048±0.03	0.049±0.02	0.059±0.01	0.051±0.03	0.062±0.01	0.049±0.01	0.057±0.01	0.060±0.02
26	戊酸乙酯 ethyl n-valerate	0.023±0.01	0.023±0.00	0.023±0.01	0.023±0.01	0.024±0.01	0.025±0.00	0.023±0.01	0.026±0.01	0.026±0.01
27	丙酸丁酯 butyl propionate	0.011±0.00	0.011±0.00	0.012±0.00	0.011±0.00	0.012±0.00	0.012±0.00	0.012±0.00	0.013±0.00	0.013±0.00
28	乙酸戊酯 amyl acetate	0.067±0.01	0.065±0.03	0.068±0.03	0.068±0.03	0.068±0.02	0.073±0.03	0.069±0.03	0.075±0.01	0.075±0.02
29	己酸甲酯 methyl caproate	0.016±0.00	0.014±0.01	0.015±0.00	0.014±0.00	0.014±0.00	0.018±0.00	0.014±0.00	0.017±0.00	0.018±0.01
30	2-甲基丁酸丙酯 propyl 2-methylbutanoate	0.056±0.01	0.061±0.00	0.061±0.01	0.062±0.02	0.061±0.00	0.064±0.01	0.061±0.01	0.070±0.01	0.067±0.01
31	惕各酸乙酯 ethyl tiglate	0.038±0.01	0.043±0.00	0.044±0.01	0.040±0.01	0.044±0.00	0.043±0.00	0.044±0.01	0.048±0.00	0.048±0.00
32	丁酸丁酯 n-butyl butyrate	0.027±0.01	0.032±0.01	0.032±0.02	0.021±0.01	0.032±0.00	0.030±0.01	0.032±0.02	0.036±0.01	0.042±0.01
33	乙酸己酯 hexyl acetate	0.669±0.02	0.673±0.01	0.688±0.03	0.682±0.00	0.699±0.05	0.757±0.04	0.702±0.02	0.762±0.01	0.801±0.03
34	2-甲基丁酸丁酯 butyl 2-methylbutyrate	0.033±0.01	0.035±0.01	0.036±0.00	0.032±0.01	0.036±0.00	0.040±0.00	0.037±0.00	0.040±0.00	0.042±0.00
35	3-羟基丁酸乙酯 ethyl 3-hydroxybutyrate	0.016±0.00	0.018±0.00	0.019±0.00	0.016±0.00	0.018±0.00	0.018±0.00	0.019±0.00	0.020±0.00	0.019±0.00
36	山梨酸乙酯 ethyl sorbate	0.039±0.00	0.045±0.01	0.053±0.01	0.051±0.02	0.045±0.00	0.046±0.00	0.050±0.02	0.055±0.01	0.048±0.01
37	碳酸乙基酯 carbonic acid, ethyl hexyl ester	0.021±0.01	0.023±0.01	0.024±0.01	—	0.023±0.01	0.026±0.01	0.024±0.01	0.026±0.00	0.015±0.00
38	2-甲基丁酸己酯 hexyl-2-methylbutyrate	0.007±0.00	0.014±0.00	0.015±0.00	—	—	0.016±0.00	—	0.009±0.01	0.014±0.00
39	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	0.447±0.03	0.409±0.02	0.444±0.03	0.375±0.01	0.443±0.02	0.425±0.01	0.394±0.03	0.393±0.03	0.400±0.00
其他										
40	乙醛 acetaldehyde	0.026±0.00	0.025±0.00	0.039±0.02	0.027±0.01	0.043±0.00	0.041±0.00	0.025±0.01	0.032±0.00	0.026±0.00
41	反-2-己烯醛 trans-2-hexenal	0.019±0.00	0.015±0.00	0.041±0.02	—	0.067±0.02	0.069±0.03	0.017±0.00	0.025±0.00	0.018±0.00
42	甲基庚烯酮 6-methyl-5-hepten-2-one	0.076±0.03	0.084±0.03	0.081±0.03	0.082±0.02	0.082±0.01	0.077±0.01	0.080±0.01	0.083±0.03	0.079±0.01
43	4-羟基-2-甲基苯乙酮 4-hydroxy-2-methylacetophenone	—	—	—	0.123±0.02	0.121±0.03	0.115±0.02	0.125±0.03	0.117±0.03	0.125±0.01
44	大马酮 2-buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (2E)-	0.029±0.01	0.033±0.01	0.034±0.00	0.037±0.02	0.033±0.00	0.032±0.00	0.034±0.00	0.036±0.01	0.033±0.01
45	香叶基丙酮 geranyl acetone	0.017±0.00	—	—	0.016±0.00	—	—	—	—	—
46	乙偶姻 acetoin	—	—	—	0.023±0.01	0.014±0.00	0.013±0.00	0.013±0.00	—	—
47	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 butylated hydroxytoluene	0.008±0.00	0.019±0.00	0.015±0.00	0.009±0.00	0.016±0.00	0.013±0.00	0.013±0.00	0.010±0.00	0.009±0.00
48	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-di-tert-butylphenol	0.082±0.02	0.078±0.01	0.061±0.01	0.065±0.00	0.058±0.00	0.072±0.00	0.062±0.01	0.065±0.01	0.087±0.00

注：—,未检出，下表同。

表2 不同苹果汁发酵组香气成分的香气值
Table 2 OAV of aroma compounds in different fermented apple juices

编号	香气成分	香气阈值/ (μg/L)	香气值								
			S1	S2	S3	S4	M5	M6	M7	M8	M9
醇类											
1	乙醇 ethanol	100 000	0.010	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010	0.009	0.009	0.009
2	异丙醇 isopropyl alcohol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
3	正丁醇 1-butanol	500	0.848	0.778	0.838	0.830	0.832	0.874	0.784	0.822	0.792
4	2-甲基-1-丁醇 2-methyl-1-butanol	500	2.042	1.978	2.070	2.078	2.082	2.174	1.984	2.144	2.090
5	正戊醇 1-pentanol	4 000	0.014	0.014	0.015	0.015	0.015	0.016	0.014	0.015	0.015
6	正己醇 1-hexanol	2 500	0.092	0.100	0.103	0.105	0.104	0.105	0.099	0.110	0.104
7	6-甲基-5-庚烯-2-醇 6-methyl-5-hepten-2-ol	2 000	0.643	0.663	0.717	0.679	0.690	0.732	0.673	0.703	0.694
8	正辛醇 1-octanol	120	0.508	0.583	0.617	0.617	0.617	0.600	0.608	0.675	0.608
9	5-乙烯基四氢化-2-呋喃甲醇 5-ethenyltetrahydro-2-furanmethanol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
10	顺-5-辛烯-1-醇 (Z)-5-octen-1-ol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
11	芳樟醇 linalool	6	4.667	5.500	5.833	5.167	5.333	5.333	5.500	6.333	5.833
12	反式芳樟醇氧化物(呋喃型) trans-linalool oxide, furanoid	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
13	3-环己烯-1-甲醇 3-cyclohexene-1-methanol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
14	香茅醇 citronellol	40	0.675	0.850	0.800	0.950	0.850	1.025	0.925	1.025	1.350
15	1,3-辛二醇 1,3-octanediol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
酯类											
16	乙酸乙酯 ethyl acetate	3 000	0.197	0.181	0.180	0.191	0.191	0.205	0.180	0.197	0.198
17	丙酸乙酯 ethyl propionate	10	30.000	28.500	29.100	30.000	29.700	31.700	28.300	31.700	31.300
18	2-甲基丙酸乙酯 ethyl isobutyrate	0.1	200.000	200.000	200.000	210.000	200.000	220.000	190.000	230.000	210.000
19	2-甲基丁酸甲酯 methyl 2-methylbutyrate	0.25	100.000	100.000	104.000	104.000	104.000	112.000	96.000	116.000	112.000
20	丁酸乙酯 butyric acid ethyl ester	1	1 600.00	1 524.00	1 555.00	1 616.00	1 610.00	1 716.00	1 516.00	1 523.00	1 694.00
21	丙酸丙酯 propyl propanoate	57	0.632	0.579	0.561	0.667	0.614	0.632	0.579	0.614	0.667
22	乙酸丁酯 n-butyl acetate	66	10.530	7.485	7.727	8.212	7.955	10.955	10.758	8.455	8.879
23	2-甲基丁酸乙酯 ethyl-2-methylbutyrate	0.2	7 770.000	7 695.000	7 785.000	7 700.000	7 935.000	8 550.000	7 935.000	7 975.000	8 540.000
24	2-甲基丁基乙酸酯 2-methylbutyl acetate	11	118.182	112.091	115.273	118.364	117.545	127.545	112.636	125.364	127.273
25	丁酸丙酯 n-propyl butyrate	25	2.400	1.920	1.960	2.360	2.040	2.480	1.960	2.280	2.400
26	戊酸乙酯 ethyl n-valerate	3	7.667	7.667	7.667	7.667	8.000	8.333	7.667	8.667	8.667
27	丙酸丁酯 butyl propionate	100	0.110	0.110	0.120	0.110	0.120	0.120	0.120	0.130	0.130
28	乙酸戊酯 amyl acetate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
29	己酸甲酯 methyl caproate	75	0.213	0.187	0.200	0.187	0.187	0.240	0.187	0.227	0.240
30	2-甲基丁酸丙酯 propyl 2-methylbutanoate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
31	惕各酸乙酯 ethyl tiglate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
32	丁酸丁酯 n-butyl butyrate	100	0.270	0.320	0.320	0.210	0.320	0.300	0.320	0.360	0.420
33	乙酸己酯 hexyl acetate	2	334.500	336.500	344.000	341.000	349.500	378.500	351.000	381.000	400.500
34	2-甲基丁酸丁酯 butyl 2-methylbutyrate	17	1.941	2.059	2.118	1.882	2.118	2.353	2.176	2.353	2.471
35	3-羟基丁酸乙酯 ethyl 3-hydroxybutyrate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
36	山梨酸乙酯 ethyl sorbate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
37	碳酸乙基酯 carbonic acid, ethyl hexyl ester	NF	NF	NF	NF	—	NF	NF	NF	NF	NF
38	2-甲基丁酸己酯 hexyl-2-methylbutyrate	22	0.318	0.636	0.682	—	—	0.727	—	0.409	0.636
39	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
其他											
40	乙醛 acetaldhyde	20	1.300	1.250	1.950	1.350	2.150	2.050	1.250	1.600	1.300
41	反-2-己烯醛 trans-2-hexenal	17	1.118	0.882	2.412	—	3.941	4.059	1.000	1.471	1.059
42	甲基庚烯酮 6-methyl-5-hepten-2-one	50	1.520	1.680	1.620	1.640	1.640	1.540	1.600	1.660	1.580
43	4-羟基-2-甲基苯乙酮 4-hydroxy-2-methylacetophenone	NF	—	—	—	NF	NF	NF	NF	NF	NF
44	大马酮 2-buten-1-one,1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (2E)-	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
45	香叶基丙酮 geranyl acetone	60	0.283	—	—	0.267	—	—	—	—	—
46	乙偶姻 acetoin	800	—	—	—	0.029	0.018	0.016	0.016	—	—
47	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚 butylated hydroxytoluene	1 850	0.004	0.010	0.008	0.005	0.009	0.007	0.007	0.005	0.005
48	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-di-tert-butylphenol	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF

注: NF.无法查到该物质的香气阈值而未作分析。

芳^[20]利用乳酸菌发酵桑椹汁后得到的这2种物质含量极低,且酯类物质的总含量均较低,可见发酵苹果汁较桑椹汁具有更典型的酯香和果香。有研究表明,乙酸乙酯含量若过高,会带来不愉快的溶剂气味,过低则对样品的香气没有影响^[21]。在各发酵组中乙酸乙酯的含量在 $(0.539 \pm 0.01) \sim (0.615 \pm 0.03)$ mg/L之间波动,香气值较低,对整体香气没有不良影响。除了上述含量较高的酯类香气物质外,苹果汁中还检测到了一些含量较低如山梨酸乙酯、惕各酸乙酯和3-羟基丁酸乙酯等支链酯类。苹果香气成分中的支链酯类主要来自氨基酸代谢,氨基酸经转氨作用形成支链酮酸,再经脱羧或脱氢反应,形成支链醇和酰基-CoA,最后通过相关酶的催化而形成支链酯类物质^[22]。山梨酸乙酯是多个品种葡萄酒中的特征香气物质^[23],具有独特香气,可作为香料、防腐防霉剂。各发酵组中其检出含量均较低,在 $(0.039 \pm 0.00) \sim (0.055 \pm 0.01)$ mg/L之间。惕各酸乙酯具有优雅的花香气味,在各发酵组中的含量与山梨酸乙酯相近,且多菌发酵中这2种物质的平均含量均高于单菌发酵。2-甲基丁酸己酯也是常见的苹果香气成分之一,带有似未成熟草莓香味,但在本研究中检出量很低,其中S4、M5号和M7号样品中均未检测出。苹果汁中还检测出了一些含量非常低,但香气值高,对整体香气有影响的特征香气成分,如丙酸乙酯、2-甲基丙酸乙酯、2-甲基丁酸甲酯和戊酸乙酯,且多菌发酵中这4种成分的平均含量和平均香气值均高于单菌发酵。在所检出的香气物质中含量最低的是丙酸丁酯,在各发酵组中的含量均在 (0.012 ± 0.00) mg/L上下波动。

2.3.4 苹果汁的其他类香气物质

除了醇类、酯类等主要的香气物质,苹果汁发酵过程中还会产生其他种类的一些挥发性香气成分,如醛类、酮类和酚类等,它们的含量虽然较低,但却对苹果汁的香气也有贡献,是使苹果汁具有特征风味的重要物质^[12]。本研究中共检测出其他类化合物共9种,其中醛类2种、酮类5种、酚类2种,分别为乙醛、反-2-己烯醛、甲基庚烯酮、4-羟基-2-甲基苯乙酮、大马酮、香叶基丙酮、乙偶姻、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚和2,4-二叔丁基苯酚,其中,乙醛和甲基庚烯酮在各发酵组中的香气值均大于1,是苹果汁的特征香气成分。这9种物质的含量分别为 (0.257 ± 0.06) 、 (0.254 ± 0.05) 、 (0.271 ± 0.08) 、 (0.382 ± 0.08) 、 (0.434 ± 0.06) 、 (0.432 ± 0.06) 、 (0.369 ± 0.06) 、 (0.368 ± 0.08) 、 (0.377 ± 0.03) mg/L,占总香气含量依次为2.005%、2.096%、2.173%、3.024%、3.382%、3.16%、3.003%、2.838%和2.832%。由此可知,除S4号样品外,多菌发酵中其他类香气物质的含量均高于其他3组单菌发酵。

乙醛是乳酸菌进行糖代谢的中间产物,在各发酵组

中均有检测到且含量较低,与刘磊等^[24]所研究的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵龙眼果浆后所得乙醛的含量相差约50倍,这与所用菌株有关^[25]。反-2-己烯醛具有令人愉快的绿叶清香和消费者习惯的水果香气,在各发酵苹果汁中的含量差异较大,其中S4样品中没有检测出该物质,且除S2号和S4号外,7个发酵组中该物质的香气值均大于1,是其特征香气成分。甲基庚烯酮是合成芳樟醇的中间体,具有柠檬草般的香气,在各组中的含量在 (0.080 ± 0.02) mg/L上下波动。4-羟基-2-甲基苯乙酮属于芳香酮类化合物,是合成多种医药和香料的中间体。单菌发酵中仅有S4号样品检出该物质,而所有多菌发酵组中均有该物质检出。大马酮带有与玫瑰相似的强烈味道^[26],该物质在所有苹果汁中都有检出。此外,苹果汁中还检测出了香叶基丙酮,但9个发酵组中仅在S1号和S4号2个单菌发酵组里有检出,且含量极低,分别为 (0.017 ± 0.00) mg/L和 (0.016 ± 0.00) mg/L。王阳等^[27]研究的苹果渣发酵后同样也检测出该物质,此物质曾在芒果酒和葡萄酒中有过报道,是一种带有甜味、青草味和水果香味的挥发性香气成分^[28-30]。乙偶姻具有令人愉快的奶香气,广泛应用于食品行业,在苹果酸-乳酸发酵过程中乳酸菌可将柠檬酸分解成丙酮酸,其代谢中间产物还能产生乙偶姻等风味化合物^[17]。多菌发酵中的M5、M6号和M7号里检测到乙偶姻,单菌发酵中仅S4号样品有检出,含量极低,但香气值较高,对整体香气贡献较少。

2.3.5 香气成分含量及香气值*t*检验分析

为进一步分析与比较单菌发酵和多菌发酵苹果汁整体香气成分的差异性,根据香气成分含量及香气值进行*t*检验。利用SPSS软件得到*P*值。如表3所示,单菌发酵组与多菌发酵组苹果汁香气成分含量及香气值的*P*值均小于0.05,证明2种发酵方式所得的苹果汁芳香成分差异显著,说明多菌发酵中醇类、酯类和其他类香气的总含量明显高于单菌发酵,多菌发酵赋予苹果汁更强烈的果香、花香和青香。

表3 香气成分含量及香气值*t*检验结果

Table 3 <i>t</i> Test results of aroma contents and aroma value			
检验变量	<i>t</i> 值	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
香气成分含量	-2.703	1.831	0.030
香气值	-2.382	35.631	0.049

2.4 苹果汁的感官评价

由表4可知,颜色方面,各发酵苹果汁的颜色主要呈橘黄色,平均得分比较接近,均在6.00分以上;酸甜度方面,由于大众喜好酸甜度适中的苹果汁,所以偏酸或偏甜都会导致得分较低,可看出多菌发酵组的得分均高于单菌发酵,其中得分最高的是M9号;香气方面,

多菌发酵的得分均高于单菌发酵, M6号得分最高, 香味柔和, 具有典型苹果酯香; 味道方面, 相较单菌发酵而言, 多菌发酵组给人更清爽的感觉, 没有苦涩等不佳的口感, 得分更高; 体态方面, 得分最高的是M8号, 得分较低者主要是因为苹果汁中有残留的菌体沉淀物, 果汁较浑浊; 风味方面, 各多菌发酵组得分差异不大, 平均高于单菌发酵, 口感和气味结合得更令人愉快; 整体接受性是对苹果汁的总体印象和可接受程度, 可看出多菌发酵的平均得分高于单菌发酵, 更易让人接受, 此项得分最高的是M6号和M7号并列。M6号所得的苹果汁, 颜色(7.73 ± 0.90)分, 酸甜度(6.91 ± 0.94)分, 香气(7.35 ± 1.04)分, 味道(7.25 ± 1.19)分, 体态(6.18 ± 0.82)分, 风味(6.84 ± 1.08)分, 整体接受性(7.18 ± 0.98)分, 是所有苹果汁中得分情况最优的, 其次是M8号。总体来说, 多菌发酵的苹果汁比单一菌种发酵的苹果汁得分更高。相较单菌发酵而言, 多菌发酵在一定程度上改善了苹果汁的感官品质, 使得苹果汁口感更佳, 更受人们欢迎。

表4 不同发酵苹果汁的感官评价结果

Table 4 Sensory evaluation results of different fermented apple juices

样品	颜色	酸甜度	香气	味道	体态	风味	整体接受性
S1	7.91 ± 1.04	5.64 ± 0.81	5.45 ± 1.04	4.73 ± 1.19	6.64 ± 0.95	5.91 ± 0.70	6.36 ± 0.92
S2	6.64 ± 0.92	3.27 ± 1.01	4.00 ± 0.77	3.27 ± 0.90	4.09 ± 0.67	4.18 ± 0.75	5.00 ± 1.00
S3	7.18 ± 1.08	4.64 ± 0.81	6.00 ± 1.18	4.64 ± 1.12	6.36 ± 0.70	6.09 ± 0.94	5.91 ± 0.83
S4	6.09 ± 1.22	5.27 ± 0.79	5.91 ± 1.14	5.27 ± 1.01	3.64 ± 0.84	6.55 ± 0.82	5.64 ± 1.12
M5	7.82 ± 0.98	6.36 ± 1.12	6.91 ± 1.38	6.45 ± 1.21	5.91 ± 0.67	6.91 ± 0.94	6.36 ± 0.67
M6	7.73 ± 0.90	6.91 ± 0.94	7.35 ± 1.04	7.25 ± 1.19	6.18 ± 0.82	6.84 ± 1.08	7.18 ± 0.98
M7	7.36 ± 0.81	5.91 ± 1.04	6.91 ± 1.38	6.36 ± 0.92	6.64 ± 1.07	6.73 ± 1.01	7.18 ± 1.17
M8	7.36 ± 1.12	7.00 ± 0.63	6.82 ± 1.17	6.82 ± 1.25	7.91 ± 0.67	6.64 ± 0.92	6.91 ± 1.22
M9	7.27 ± 0.90	7.09 ± 1.04	6.36 ± 0.92	6.45 ± 1.04	6.45 ± 0.70	6.45 ± 1.04	6.18 ± 0.87

3 结论

在乳酸菌发酵苹果汁过程中, 苹果汁的OD值呈对数上升趋势, 且多菌发酵较单菌发酵而言在一定程度上提高了苹果汁的OD值。

采用固相微萃取法, 通过气相色谱-质谱分析发酵后苹果汁的香气成分, 共检测出48种香气物质, 各发酵组中含量最高的均为丁酸乙酯, 在多菌发酵中醇类、酯类和其他类香气物质的平均含量均高于单菌发酵。通过对香气化合物阈值与香气值分析, 各发酵苹果汁中的特征香气成分主要有2-甲基丁酸乙酯、丁酸乙酯和乙酸己酯等, 较单菌发酵而言, 多菌发酵苹果汁中香气化合物赋予更强烈的果香、花香和青香。

采用9点快感标度法对9组苹果汁进行感官评价, 多菌发酵组的得分高于单菌发酵组, 其中M6号样品, 即当副干酪乳杆菌、动物双歧杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌活菌数比1:1:1:1时, 是得分情况最优的。

总体来看, 各发酵组香气成分的含量、种类和特征香气以及苹果汁的感官特性均有一定的差异。通过t检验可知, 单菌发酵和多菌发酵苹果汁香气成分含量及香气值均差异显著($P < 0.05$), 多菌发酵在一定程度上改善了苹果汁的感官品质。本研究为后续研究乳酸菌发酵果蔬汁的香气成分提供了一定的实践经验, 对于其中具体香气成分形成和转化的机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] KYUNG Y Y, EDWARD E W, YONG D H. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria[J]. Bioresource Technology, 2006, 97: 1427-1430. DOI:10.1016/j.biortech.2005.06.018.
- [2] 林晓姿, 魏巍, 何志刚, 等. 植物乳杆菌R23发酵枇杷果汁的挥发性风味物质解析[J]. 核农学报, 2015, 29(7): 1329-1336. DOI:10.11869/j.issn.1008-8551.2015.07.1329.
- [3] 郑欣, 余元善, 吴继军, 等. 荔枝汁经乳酸菌发酵后营养品质的变化及贮藏稳定性研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(12): 2909-2914.
- [4] 王德纯, 张国亮, 金萍, 等. 开菲尔菌种发酵苹果汁的应用[J]. 广州食品工业科技, 2009, 25(4): 423-424. DOI:10.3969/j.issn.1673-9078.2009.04.023.
- [5] ELENA V, TOMAZ L, ELEONORA W. Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain[J]. Annals of Microbiology, 2015, 65(4): 2161-2170. DOI:10.1007/s13213-015-1056-7.
- [6] 林晓姿, 梁璋成, 魏巍, 等. 葡萄全汁乳酸发酵菌株筛选及其风味分析[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(3): 34-38. DOI:10.3969/j.issn.2095-6002.2013.03.008.
- [7] 叶淑红, 何连芳, 张戎, 等. 乳酸菌的发酵条件及其对发酵胡萝卜汁风味的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 2005, 26(5): 127-130. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2005.05.025.
- [8] 周春丽, 刘伟, 李慧, 等. 混合菌株发酵南瓜汁及其香气成分[J]. 现代食品科技, 2014, 30(5): 301-310.
- [9] 熊涛, 马晓娟. 植物乳杆菌NCU166发酵胡萝卜汁浆风味物质的分析[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 152-154.
- [10] ELLENDERSEN L D S N, DANIEL G, KARLA B G, et al. Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*[J]. Engineering in Life Science, 2012, 12(4): 475-485. DOI:10.1002/elsc.201100136.
- [11] 吕加平, 董晓波, 肖锐. 发酵乳品中乳酸菌生物量测定方法的研究[J]. 肉品卫生, 1997(2): 3-7.
- [12] 叶萌祺. 苹果酒酿造过程香气物质调控及FT-NIRS分析方法研究[D]. 杨陵: 西北农林科技大学, 2015: 81-92.
- [13] 李冬华. 直接式植物乳杆菌发酵剂生产工艺及应用的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010: 50-58.
- [14] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 28-39.
- [15] MARTIN P N, DANIEL M. Development of a headspace trap HRGC/MS method for the assessment of the relevance of certain aroma compounds on the sensorial characteristics of commercial apple juice[J]. Food Chemistry, 2011, 126: 1926-1933. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.12.021.
- [16] 王鹏泽, 苗苗, 陶陶, 等. 不同香型烤烟主要香味物质成分与香韵指标的关系研究[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(3): 126-135.
- [17] 李华. 葡萄酒化学[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 115-135.
- [18] 张华. 发酵型黑枣酒加工工艺的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013: 26-35.

- [19] 赵峰, 王少敏, 高华君, 等. 顶空固相微萃取-气质联用分析红富士苹果中的芳香物质[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2006, 37(2): 181-184. DOI:10.3969/j.issn.1000-2324.2006.02.006.
- [20] 李俊芳. 桑椹发酵饮料发酵工艺及超高压处理对其品质影响的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2016: 44-56.
- [21] ZOHRE D E, ERTEN H. The influence of *Kloeckera apiculata* and *Candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation[J]. Process Biochemistry, 2002, 38(3): 319-324. DOI:10.1016/s0032-9592(02)00086-9.
- [22] WYLLIE S G, LEACH D N, WANG Y. Development of flavor attributes in the fruit of *C. melo* during ripening and storage[J]. American Chemical Society, 1996: 228-239. DOI:10.1021/bk-1996-0637.ch022.
- [23] 郑青. 不同陈酿年份、葡萄品种及葡萄产地葡萄酒香气成分的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015: 44-62.
- [24] 刘磊, 汪浩, 张名位, 等. 龙眼乳酸菌发酵工艺条件优化及其挥发性风味物质变化[J]. 中国农业科学, 2015, 48(20): 4147-4158. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2015.20.014.
- [25] 其木格苏都, 郭壮, 王记成, 等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 对凝固型发酵乳质构和挥发性风味物质的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 575-585. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2013.03.016.
- [26] LEE P R, ONG Y L, YU B, et al. Profile of volatile compounds during papaya juice fermentation by a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus*[J]. Food Microbiology, 2010, 27(7): 853-861. DOI:10.1016/j.fm.2010.05.010.
- [27] 王阳, 王颖, 刘亚琼, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定苹果渣发酵蒸馏酒的香气成分[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 205-209.
- [28] LEE P R, SAPUTRA A, YU B, et al. Effects of pure and mixed-cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus* on the volatile profiles of grape wine[J]. Food Biotechnology, 2012, 26(4): 307-325. DOI:10.1080/08905436.2012.723606.
- [29] LEE P R, CHONG I S, YU B, et al. Effects of sequentially inoculated *Williopsis saturnus* and *Saccharomyces cerevisiae* on volatile profiles of papaya a wine[J]. Food Research International, 2012, 45(1): 177-183. DOI:10.1016/j.foodres.2011.10.011.
- [30] LI X, CHAN L J, YU B, et al. Fermentation of three varieties of mango juices with a mixture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus* var. *mrakii*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 158: 28-35. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.015.