

基于顶空气相-离子迁移谱技术对不同酵母发酵的百香果果啤香气比较

范威威, 林 熙, 龚 霄, 周 伟, 李积华, 孔智文, 苏 波, 李扬宇

Aroma Comparison of Passion Beer Fermented by Different Yeasts Based on Headspace Phase-ion Mobility Spectroscopy Technology

FAN Weiwei, LIN Xi, GONG Xiao, ZHOU Wei, LI Jihua, KONG Zhiwen, SU Bo, and LI Yangyu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080033>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于静态顶空气相离子迁移谱技术的果啤种类判别

Identification of Fruit Beers Based on Static Headspace-Gas Chromatography-Ion Mobility Spectroscopy (SH-GC-IMS)

食品工业科技. 2021, 42(7): 296-301

基于顶空气相-离子迁移色谱的不同品种番荔枝挥发性成分比较

Comparison of Volatile Components of Different Annona Varieties Based on Headspace Phase-Ion Mobility Chromatography

食品工业科技. 2021, 42(16): 249-254

HS-SPME-GC-MS测定三种类型百香果果实挥发性风味成分

Study on Volatile Flavor Compounds from Three Types of Passion Fruit Using Headspace Solid Phase Micro-extraction Gas Chromatography Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(11): 255-262

喷雾干燥和真空冷冻干燥对百香果挥发性成分的影响

Influence of Spray-drying and Freeze-drying Process on the Volatiles of Passion Fruit

食品工业科技. 2019, 40(17): 202-205,183

不同发酵工艺糙米酵素中游离氨基酸、 γ -氨基丁酸及挥发性香气成分分析

Component Analysis of Free Amino Acids, GABA and Volatile Aroma in Brown Rice Enzymes with Different Fermentation Processes

食品工业科技. 2019, 40(23): 36-41

基于电子鼻、GC-MS和GC-IMS技术分析老香黄发酵期间的挥发性成分变化

Analysis of Volatile Components in Laoxianghuang During Fermentation by Electronic Nose, GC-MS and GC-IMS

食品工业科技. 2021, 42(12): 70-80



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

范威威, 林熙, 龚霄, 等. 基于顶空气相-离子迁移谱技术对不同酵母发酵的百香果果啤香气比较 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 325-332. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080033

FAN Weiwei, LIN Xi, GONG Xiao, et al. Aroma Comparison of Passion Beer Fermented by Different Yeasts Based on Headspace Phase-ion Mobility Spectroscopy Technology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 325-332. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080033

· 分析检测 ·

基于顶空气相-离子迁移谱技术对不同酵母发酵的百香果果啤香气比较

范威威^{1,2}, 林熙^{3,*}, 龚霄^{2,*}, 周伟², 李积华², 孔智文³, 苏波⁴, 李扬宇⁴

(1. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430072;

2. 中国热带农业科学院农产品加工研究所, 农业农村部热带作物产品加工重点实验室, 广东湛江 524001;

3. 湛江珠江啤酒股份有限公司, 广东湛江 524039;

4. 云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665000)

摘要: 酵母菌种对啤酒的风味与品质有着重大的影响。本文以皮尔森麦汁、啤酒花、啤酒酵母、百香果原浆和水等为主要原料酿造百香果果啤, 采用气相-离子迁移谱 (Gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 技术测定不同啤酒酵母 (S-04、US-05、S-33、CS31 和 CN36) 酿造的百香果果啤中挥发性香气化合物。采用主成分 (Principal component analysis, PCA) 与正交偏最小二乘判别分析 (Orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA), 区分不同品种酵母酿造的百香果果啤。结果表明: 采用 GC-IMS 共检测出 37 种挥发性香气成分, 其中酯类 16 种、醇类 8 种、醛类 6 种、酮类 4 种、酸 2 种、烯烃类 1 种; PCA 分析结果离散型较好, 前两个主成分的累计贡献率为 60.6%; OPLS-DA 前两种成分总方差之和为 68.1%, 乙酸、辛酸乙酯、3-羟基-2-丁酮、己酸乙酯等 17 种风味化合物贡献率较大 (VIP>1)。S-04 发酵果啤特征性风味物质为乙酸和 2-戊酮, US-05 为丁酸甲酯, S-33 为 3-羟基-2-丁酮, CS31 为辛酸乙酯、己酸乙酯、异戊醇和正丁醇, CN36 为乙酸异丁酯、乙酸丙酯和丙酸乙酯。研究结果可为筛选适合生产百香果果啤专用酵母提供科学依据。

关键词: 百香果果啤, 气相-离子迁移谱 (GC-IMS), 啤酒酵母, 挥发性香气成分

中图分类号: TS255.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)07-0325-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080033



本文网刊:

Aroma Comparison of Passion Beer Fermented by Different Yeasts Based on Headspace Phase-ion Mobility Spectroscopy Technology

FAN Weiwei^{1,2}, LIN Xi^{3,*}, GONG Xiao^{2,*}, ZHOU Wei², LI Jihua², KONG Zhiwen³, SU Bo⁴, LI Yangyu⁴

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430072, China;

2. Key Laboratory of Tropical Crop Products Processing of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Agricultural Products Processing Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524001, China;

3. Zhanjiang Zhujiang Brewery Co., Ltd., Zhanjiang 524039, China;

4. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Puer 665000, China)

Abstract: Yeast strains have a significant impact on the flavor and quality of beer. In this paper, passion beer was brewed with pearson wort, hops, yeast, passion juice and brewing water as raw materials. The volatile aroma components of passion

收稿日期: 2021-08-04

基金项目: 广东省珍稀水果现代农业产业技术体系创新团队项目 (2020KJ116); 热带食品精深加工创新团队-特色热带果蔬精深加工项目 (1630122017013)。

作者简介: 范威威 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 发酵工程, E-mail: 2990767913@qq.com。

* 通信作者: 林熙 (1982-), 男, 本科, 高级工程师, 研究方向: 啤酒酿造, E-mail: xi.china@139.com。

龚霄 (1984-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品代谢组学, E-mail: gongxiaocau@126.com。

beer brewed with different yeasts (S-04, US-05, S-33, CS31 and CN36) were analyzed by gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) technology. Principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least-squares discrimination analysis (OPLS-DA) were used to distinguish passion beer brewed by different yeasts. The results showed that 37 volatile aroma compounds were detected by GC-IMS, including esters (16), alcohols (8), aldehydes (6), ketones (4), acids (2) and olefins (1). PCA showed the cumulative contribution rate of the PC1 and PC2 components was 60.6%. OPLS-DA results showed 68.1% of the total difference, and 17 flavor compounds contributed significantly (VIP>1), including acetic acid, ethyl octanoate, acetoin, ethyl hexanoate and so on. The characteristic flavor substances for S-04 fermented fruit beer was acetic acid and 2-pentanone, characteristic flavor substance for US-05 was methyl butyrate, characteristic flavor substance for S-33 was acetoin, characteristic flavor substances for CS31 were ethyl octanoate, ethyl hexanoate, 3-methyl-1-butanol and 1-butanol, and the characteristic flavor substances for CN36 were isobutyl acetate, propyl acetate and ethyl propanoate. The research results can provide a scientific basis for the selection of yeast suitable for the production of passion beer.

Key words: passion beer; GC-IMS; beer yeast; volatile aroma components

果啤是以水、麦芽、啤酒花、酵母等为原料,经糖化、发酵,在酿造过程中加入果汁酿制而成,是近年来较受欢迎的工坊啤酒^[1]。市售的果啤种类有樱桃、葡萄、橙子、苹果、梨子、桃子等^[2],但多以调制为主,在风味与种类上难以满足众多消费者的需求,真正由发酵而制成的果酿果啤较少^[3]。因此,新型果啤的研发已成为啤酒行业不断奋斗的目标。

百香果(*Passiflora edulia* Sims),又名西番莲、蛋黄果,是多年生藤本植物所结的果实,为西番莲科西番莲属,主要集中在广西、广东、海南、云南、福建和贵州等省种植^[4]。百香果果汁色、香、味俱佳,含有人体所需的糖、氨基酸、维生素、蛋白质等多种营养成分,其含有的活性物质如黄酮、多酚、多糖等,具有镇痛、镇静、促进消化、治疗痢疾等功效^[5]。百香果具有多种水果的复合香气,且酯类、醇类化合物的含量较为丰富^[5],在酿造果啤上具有开发的潜力。果啤在酿造过程中需要加入果汁,而果汁、啤酒花和酵母等都会对啤酒的风味产生一定影响^[6],因此,果汁、啤酒花和酵母等成为了考察风味变化的主要研究对象^[7]。百香果果啤的制作选择皮尔森麦汁、啤酒花、不同的啤酒酵母和水等为主要酿酒材料,在发酵中期(第3 d)加入百香果原浆,经发酵成熟、冷储后取成品样进行香气的测定。目前绝大多数用于风味测定的技术预处理较为繁琐,很难达到快速测定的目的^[8]。离子迁移谱(Ion mobility spectrometry, IMS)是一种基于常压电场作用下电离分子气相分离的痕量气体和特征性化学离子物质的快速分析技术。它具有分析速度快、操作简便、耗时少、成本相对较低等诸多优点,特别是无需样品前处理步骤^[9]。气相色谱-离子迁移谱(Gas chromatography-ion mobility

spectrometry, GC-IMS)结合了GC和IMS的特性,逐渐成为了一种新兴的检测技术,在中药、临床、食品、环境等多个领域均有广泛的应用^[9-10]。目前,GC-IMS在白酒、葡萄酒^[11]、啤酒等酒类产品中的应用分析不断深入,如龚霄等^[12]采用GC-IMS区分不同品种的果啤,Yang等^[13]则是对果啤中挥发性化合物进行了分析。

本文选择上面酵母S-04、US-05、S-33、CS31和CN36进行百香果果啤发酵实验探究,采用GC-IMS技术对不同酵母发酵产品挥发性香气物质进行比较,以期百香果果啤专用酿酒发酵菌种的筛选提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

市售冷冻百香果原浆(糖度14.3°Brix, pH 2.93) 广西果朝食品有限公司;皮尔森麦汁(13°P 初沸) 湛江珠江啤酒有限公司提供;啤酒花 山东博朗生物科技有限公司;酿酒酵母(S-04、US-05和S-33) 济南鲁丰啤酒原料有限公司;酿酒酵母(CS31和CN36) 安琪酵母股份有限公司;水 酿造用水;6 L 不锈钢发酵罐 宁波翔盛金属厂;4-甲基-2-戊醇(纯度98.5%) 德国Dr. Ehrenstorfer公司;N-ketones C₄~C₉ 国药集团化学试剂有限公司。

Flavour Spec®食品风味分析仪 德国G.A.S公司。

1.2 实验方法

1.2.1 百香果果啤制作工艺 工艺流程如图1所示,操作要点:

a. 麦芽粉碎:选择浸出程度较高的麦芽,粉碎时

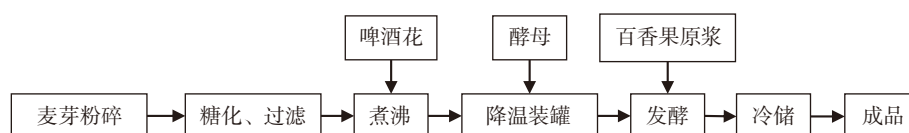


图1 百香果果啤制作工艺流程图

Fig.1 Production process flow chart of passion fruit beer

使麦麸尽量完整,内部破碎。

b. 糖化: 采用浸出糖化法 66 ℃ 1 h, 随后升温至 75 ℃ 10 min, 进行碘检。

c. 洗糟: 根据煮沸蒸发量与原麦汁浓度控制洗糟用水量, 洗糟水温 70 ℃ 左右, 缓慢下淋。

d. 麦汁煮沸: 煮沸时间 60 min, 在第 30 min 时加入青岛大花, 0.3 g/L, 煮沸结束加入西楚酒花, 0.2 g/L。

e. 冷却: 冷却至 20 ℃ 左右, 温度不能过高, 接种时会影响酵母活性, pH 在 5.3~5.4 之间。

f. 杀菌: 发酵罐在使用前必须清洗干净, 采用 100 ℃ 沸水浸泡式杀菌, 麦汁装量不能超过 80%。

j. 酵母接种: 在 250 mL 锥形瓶中加入 10 倍干酵母重量的重蒸水, 按 0.8 g/L 的比例添加干酵母, 将酵母液摇匀后静置 10 min, 待麦汁充分冷却后进行接种。

h. 发酵: 前期发酵温度 18 ℃, 3 d 后温度升至 20 ℃ 进入主发酵, 此时加入 10% 的百香果原浆, 发酵第 8 d 糖度降至 6.5 °Brix 左右, 双乙酰含量下降至 0.05 mg/L 以下时, 降温至 0 ℃ 冷储 7 d。

1.2.2 香气测定

1.2.2.1 气相离子迁移谱(Gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)分析 参考龚霄等^[12]对果啤的测定方法对百香果果啤进行测定, 具体测定条件如下: 将存放于 4 ℃ 条件下的啤酒样品轻轻打开, 在酒体中部快速吸取 2 mL 并转移至 20 mL 的顶空进样瓶中, 半密封状态于 4 ℃ 超声水浴 28 kHz 下脱气 30 s, 1 g 样品中加入内标 4-甲基-2-戊醇 20 ppm 10 μL, 内标用于对检测出的挥发性化合物进行定量。Flavour Spec[®]风味分析仪顶空进样体积 100 μL; 孵育时间 10 min; 孵育温度 60 ℃; 进样针温度 65 ℃; 孵化转速 500 r/min; 高纯度氮气(≥99.999%)为载气; 清洗时间 0.5 min。

1.2.2.2 GC 条件 WAX 30 m ID: 0.53 mm 石英毛细管柱, 柱温 60 ℃; 载气: 高纯度氮气(≥99.999%); 载气流速程序: 初始 2.0 mL/min, 保持 2 min; 8 min 内, 线性增至 100 mL/min; 10 min 内, 线性增至 150 mL/min, 运行时间 20 min。

1.2.2.3 IMS 条件 漂移管长度 98 mm; 管内线性电压 500 V/cm; 漂移管温度 45 ℃; 漂移气为高纯度氮气(≥99.999%); 漂移气流速 150 mL/min; 放射源为 β 射线(氚, ³H); 模式: 正离子。

1.2.2.4 定性定量分析 由 C₄~C₉ 混合标准样品测定的保留时间, 计算测定样品中挥发性香气物质的保留指数 RI。

$$RI = \frac{100(t_x - t_z)}{t_{z+1} - t_z} + 100Z$$

式中, RI: 保留指数; t_x: 被测物保留时间; t_z: 碳原子数为 z 的正构烷烃的保留时间; t_{z+1}: 碳原子数为

z+1 的正构烷烃的保留时间; Z: 碳原子个数。

将挥发性化合物的质谱图与 NIST 及 IMS 数据库标准谱图进行对比、结合保留指数定性, 由定性挥发性风味物质的出峰面积与内标峰面积的比值来计算挥发性风味物质的含量, 计算公式如下:

$$C_i = \frac{A_i \times C_{std} \times V_{std} \times \rho}{A_{std} \times m}$$

式中: C_i: 挥发性成分的含量 μg/kg; A_i: 各物质峰面积; A_{std}: 内标物的峰面积; C_{std}: 内标物的浓度 ppm; V_{std}: 内标物体积 mL; ρ: 内标物密度 g/mL; m: 加入样品质量 g。

1.3 数据处理

仪器配套的分析软件: LAV(Laboratory Analytical Viewer)和三款插件以及 GC×IMS Library Search。LAV 软件: 用于气相离子迁移谱图数据分析与信息提取, 可在建立标准曲线后可进行定量分析。Reporter 插件: 对比样品之间的谱图差异(二维俯视图和三维谱图)。Gallery Plot 插件: 指纹图谱对比, 直观且定量地比较不同样品之间的挥发性香气成分差异。GC × IMS Library Search: 通过软件内置的 NIST 数据库和 IMS 数据库对化合物进行定性分析, 每个样品平均测定三次。SPSS 16.0: 显著性差异分析(显著性水平 0.05), 结果以平均值±标准偏差表示; SIMCA 14.1: 香气成分进行主成分与正交偏最小二乘分析。

2 结果与分析

2.1 不同啤酒酵母酿造百香果果啤 GC-IMS 图谱分析

采用 GC-IMS 对不同酵母酿造百香果果啤进行挥发性香气化合物进行测定, 百香果果啤的三维谱图(保留时间、迁移时间和峰强度)如图 2A 所示, 从图中可以直观看出不同酵母酿造果啤的挥发性有机物存在差异。为了更直观地反映每个样品的风味物质的差异, 选择俯视图 2B 进行比较, 这是通过对离子迁移时间和反应离子峰(RIP)的归一化而获得的。横坐标 1.0 处的红色垂直线是反应离子峰(RIP), 并且每个 RIP 代表一种风味化合物。颜色表示每个化合物的信号强度。红色表示高浓度, 白色表示低浓度, 颜色越深浓度就越高。根据挥发性香气化合物气相色谱保留时间和离子迁移时间对果啤挥发性香气化合物进行分析, 共计定性出 37 种挥发性化合物(表 1), 其中酯类 16 种、醇类 8 种、醛类 6 种、酮类 4 种、酸 2 种、烯烃类 1 种, 同一种化合物的单体和二聚体视为一种化合物, 这与张俊杰等^[14]关于啤酒挥发性化合物图谱分析报告基本一致(表中未知化合物不进行分析讨论)。啤酒中最丰富的化合物酯类, 它能够使啤酒的风味达到平衡^[15], 乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯和乙酸乙酯是与果味和花香相关的主要酯类化合物^[16]。醇类是糖的代谢或氨基酸的脱氢、脱羧产生的, 实验结果表明: 乙醇(21338.26~24716.46 μg/kg)、异戊醇(9246.04~

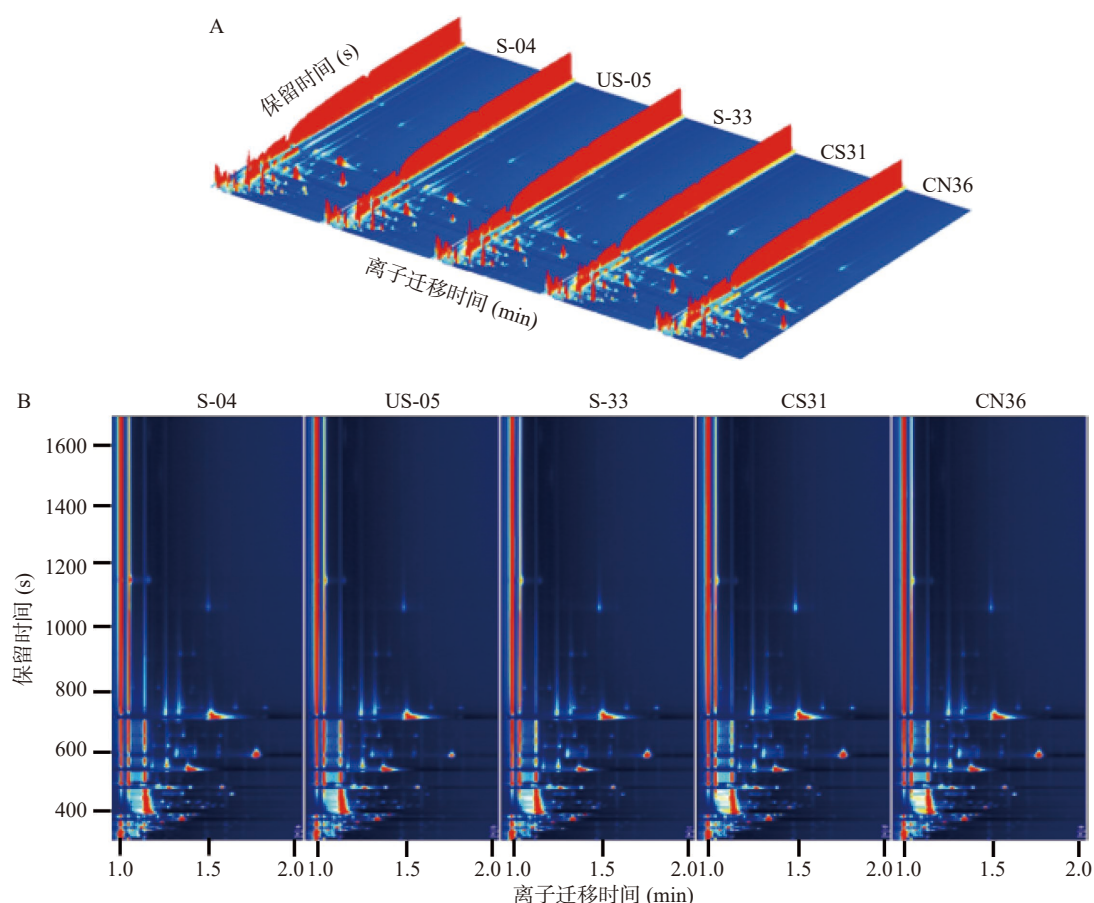


图 2 不同酵母酿造百香果果啤中挥发性化合物的 GC-IMS 图谱

Fig.2 GC-IMS patterns of volatile compounds in passion beer brewed by different yeasts

表 1 GC-IMS 鉴别不同酵母酿造百香果果啤挥发性化合物

Table 1 Identification of volatile compounds in passion beer brewed by different yeasts by GC-IMS

序号	英文名称	中文名称	RI	Rt(s)	相对含量(μg/kg)				
					S-04	US-05	S-33	CS31	CN36
酯类									
1	Ethyl octanoate-M	辛酸乙酯	1457.70	1086.14	753.28±33.28 ^c	813.21±5.07 ^d	964.40±40.71 ^b	1329.29±19.58 ^a	876.58±31.65 ^c
2	Ethyl octanoate-D	辛酸乙酯	1455.50	1082.11	80.88±4.77 ^c	91.43±10.17 ^b	97.99±7.35 ^b	182.30±5.02 ^a	94.84±1.83 ^b
3	Ethyl hexanoate	己酸乙酯	1240.10	712.16	234.14±9.32 ^c	162.99±10.03 ^d	349.04±31.20 ^b	402.15±14.05 ^a	237.42±14.83 ^c
4	Isoamyl acetate	乙酸异戊酯	1128.00	534.92	5163.44±262.66 ^a	1759.04±122.57 ^d	4186.62±157.41 ^c	5445.26±149.78 ^a	4734.52±88.14 ^b
5	Ethyl butanoate	丁酸乙酯	1039.60	416.01	852.73±72.49 ^a	747.9±55.01 ^b	838.26±45.63 ^{ab}	811.23±33.63 ^{ab}	897.34±21.09 ^a
6	Isobutyl acetate	乙酸异丁酯	1017.20	390.28	467.80±42.01 ^a	70.46±6.97 ^d	181.67±11.57 ^c	156.70±7.79 ^c	395.41±15.21 ^b
7	Propyl acetate	乙酸丙酯	981.10	355.89	73.03±4.74 ^{bc}	24.59±0.50 ^d	76.76±4.03 ^b	89.02±3.27 ^a	66.82±1.93 ^c
8	Ethyl isobutyrate	异丁酸乙酯	968.80	347.53	67.78±5.76 ^a	38.33±2.20 ^b	16.94±1.75 ^d	30.70±0.86 ^c	31.91±1.27 ^c
9	Ethyl propanoate	丙酸乙酯	961.60	342.62	411.23±25.96 ^c	213.45±15.16 ^c	337.41±11.15 ^d	524.54±17.75 ^b	591.15±11.49 ^a
10	Ethyl Acetate	乙酸乙酯	893.60	296.43	4610.27±63.96 ^b	3836.32±57.80 ^c	4312.85±42.85 ^d	4913.04±28.59 ^a	4508.77±24.35 ^c
11	Ethyl formate	甲酸乙酯	880.20	287.30	637.56±12.98 ^b	662.00±12.96 ^a	617.71±10.64 ^{bc}	598.10±8.14 ^c	577.46±3.02 ^d
12	Methyl acetate	乙酸甲酯	846.50	264.42	211.31±8.20 ^c	255.14±7.11 ^a	232.37±11.86 ^b	211.25±8.66 ^c	187.10±3.67 ^d
13	Methyl butanoate	丁酸甲酯	989.60	361.66	67.35±1.23 ^b	75.44±3.23 ^a	54.11±1.79 ^c	45.94±1.21 ^d	28.44±1.14 ^c
14	Butyl acetate	乙酸丁酯	1075.40	457.11	21.71±0.48 ^b	17.52±1.45 ^c	27.78±1.92 ^a	27.68±2.20 ^a	22.23±3.33 ^b
15	3-methylbutanoate 3-methylbutanoate	3-甲基丁酸乙酯	1063.30	443.17	16.68±2.16 ^b	12.14±1.43 ^c	25.06±2.69 ^a	21.51±2.87 ^a	14.28±0.78 ^{bc}
16	Ethyl pentanoate	戊酸乙酯	1138.40	552.76	73.96±4.01 ^b	26.96±1.32 ^d	64.55±2.47 ^c	86.82±5.28 ^a	70.54±5.08 ^{bc}
17	Hexyl acetate	乙酸己酯	1278.50	765.88	61.74±3.41 ^b	55.32±5.54 ^b	76.55±4.11 ^a	53.11±4.78 ^b	60.77±4.04 ^b
醇类									
18	Linalool	芳樟醇	1712.50	1551.27	136.27±10.30 ^a	112.27±2.57 ^b	135.60±17.59 ^a	106.10±1.91 ^b	116.89±7.43 ^{ab}
19	1-Hexanol	正己醇	1360.70	908.95	266.25±11.28 ^c	248.94±12.79 ^{bc}	284.72±11.83 ^b	247.34±10.92 ^a	237.36±8.93 ^b
20	3-Methyl-1-butanol	异戊醇	1216.30	678.68	9729.67±100.34 ^b	9246.04±29.67 ^c	9721.91±45.34 ^b	11068.25±50.32 ^a	9781.02±12.56 ^b

续表 1

序号	英文名称	中文名称	RI	Rt(s)	相对含量(μg/kg)				
					S-04	US-05	S-33	CS31	CN36
21	1-Butanol-M	正丁醇	1148.10	569.38	222.95±9.69 ^e	172.00±8.27 ^d	292.76±17.25 ^b	378.00±3.50 ^a	239.15±3.26 ^c
22	1-Butanol-D	正丁醇	1147.50	568.40	146.78±7.24 ^c	77.95±7.17 ^e	177.15±4.00 ^b	277.33±3.70 ^a	124.22±4.54 ^d
23	2-Methyl-1-propanol	异丁醇	1094.40	478.79	6712.88±32.10 ^a	6184.84±26.96 ^c	5450.48±37.32 ^c	5723.61±18.32 ^d	6570.46±39.39 ^b
24	1-Propanol	丙醇	1039.60	416.01	1804.84±54.07 ^{ab}	1790.85±40.21 ^b	1795.18±1.50 ^b	1861.75±18.04 ^a	1630.42±2.96 ^c
25	Ethanol	乙醇	934.10	323.95	23925.31±114.53 ^b	24716.46±32.21 ^a	22447.37±581.48 ^c	21650.22±95.40 ^d	21338.26±66.74 ^d
26	2-Ethyl-1-hexanol	2-乙基己醇	1552.60	1259.39	77.01±2.16 ^a	79.08±8.34 ^a	84.79±7.96 ^a	87.58±3.79 ^a	87.50±4.86 ^a
醛类									
27	Octanal	正辛醛	1292.50	785.59	94.83±5.19 ^b	74.23±9.68 ^c	123.08±8.87 ^a	95.68±4.43 ^b	74.26±4.35 ^c
28	3-Methylbutanal	异戊醛	920.40	314.61	490.70±16.43 ^b	678.98±3.33 ^a	695.52±9.47 ^a	300.68±6.32 ^d	435.26±17.74 ^c
29	2-Methyl propanal	2-甲基丙醛	846.00	264.06	203.22±22.01 ^c	309.08±15.19 ^a	243.66±23.98 ^b	208.32±15.32 ^{bc}	159.75±9.85 ^d
30	Propanal-M	丙醛	834.40	256.20	244.19±33.89 ^c	302.42±4.18 ^b	374.96±14.14 ^a	358.86±11.39 ^a	308.13±3.39 ^b
31	Propanal-D	丙醛	835.50	256.91	184.69±13.40 ^b	186.32±4.12 ^b	233.67±2.04 ^a	194.45±2.03 ^b	134.73±14.67 ^c
32	Acetaldehyde	乙醛	806.00	236.89	3241.54±191.33 ^{ab}	3330.85±92.88 ^a	3231.91±202.59 ^{ab}	2999.86±58.01 ^b	3014.84±66.26 ^b
33	Butanal	丁醛	908.10	306.25	101.31±1.99 ^a	93.98±3.87 ^b	97.39±3.75 ^{ab}	79.55±2.57 ^c	99.00±1.16 ^{ab}
酸类									
34	Butanoic acid	丁酸	1799.70	1710.34	139.99±20.59 ^a	146.65±11.66 ^a	103.05±9.82 ^b	107.84±4.96 ^b	110.05±2.41 ^b
35	Acetic acid-M	乙酸	1509.60	1180.78	2457.57±189.63 ^a	2180.72±13.33 ^b	2043.42±74.19 ^b	2165.97±72.51 ^b	2018.87±37.91 ^b
36	Acetic acid-D	乙酸	1511.80	1184.80	337.07±91.73 ^a	217.54±4.22 ^b	165.53±22.97 ^b	178.71±12.76 ^b	139.11±16.29 ^b
酮类									
37	Acetoin	3-羟基-2-丁酮	1291.50	784.14	128.73±11.77 ^b	116.78±6.69 ^{bc}	246.15±19.99 ^a	134.27±13.99 ^b	102.42±9.54 ^c
38	2-Pentanone	2-戊酮	989.10	361.29	353.05±11.25 ^a	162.21±12.11 ^c	212.05±7.38 ^b	173.35±11.42 ^c	139.29±6.81 ^d
39	Acetone	丙酮	849.20	266.21	1162.51±27.02 ^{ab}	1085.08±65.59 ^b	1244.31±95.75 ^a	1200.64±84.56 ^{ab}	1199.87±42.07 ^{ab}
40	2-Butanone-M	丁酮	854.20	269.64	98.76±1.32 ^b	101.30±2.59 ^b	106.19±6.46 ^{ab}	113.66±4.57 ^a	114.49±4.43 ^a
41	2-Butanone-D	丁酮	853.60	269.19	24.94±1.22 ^b	31.75±1.11 ^a	24.77±3.24 ^b	22.18±1.56 ^{bc}	20.59±0.80 ^c
烯类									
42	Limonene	柠檬烯	1191.20	643.24	84.55±1.66 ^c	63.40±2.95 ^e	69.21±4.13 ^d	114.73±2.59 ^b	142.03±2.38 ^a
未知物									
	Unknown 1	未知物1	1039.60	416.01	534.46±14.89 ^a	473.12±11.38 ^b	447.47±23.43 ^{bc}	422.94±7.30 ^{cd}	404.35±9.58 ^{cd}
	Unknown 2	未知物2	1018.70	392.07	380.35±22.35 ^a	150.11±8.57 ^d	191.30±16.16 ^c	162.98±3.96 ^d	240.66±9.58 ^b
	Unknown 3	未知物3	991.20	362.74	474.97±12.23 ^a	313.66±8.12 ^c	334.64±15.62 ^b	303.79±6.39 ^c	282.10±5.11 ^d
	Unknown 4	未知物4	1146.80	567.18	529.38±22.44 ^b	410.44±9.95 ^c	504.99±10.76 ^c	601.45±3.77 ^a	439.46±8.79 ^d
	Unknown 5	未知物5	982.60	356.87	121.29±5.08 ^a	56.68±3.19 ^c	87.79±9.60 ^b	90.51±2.43 ^b	87.65±3.24 ^b
	Unknown 6	未知物6	960.90	342.13	336.77±11.79 ^a	235.61±9.30 ^{cd}	227.54±17.28 ^d	253.27±2.60 ^c	274.04±8.40 ^b
	Unknown 7	未知物7	966.70	346.06	70.35±6.15 ^a	36.88±2.33 ^c	24.48±2.01 ^d	51.84±5.36 ^b	51.80±2.45 ^b
	Unknown 8	未知物8	801.80	234.03	213.12±1.46 ^b	228.34±1.68 ^a	223.14±10.38 ^a	210.92±0.86 ^b	175.99±2.65 ^c

注: RI为保留指数, Rt为保留时间; 同一行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

11068.25 μg/kg)、异丁醇(5450.48~6712.88 μg/kg)是所有醇类中浓度最高的,赋予啤酒以水果香气和指甲油味^[17]。酯和醇都被认为是啤酒最重要的香气化合物,它们之间的浓度平衡会影响总体香气分布^[18]。乙酸、辛酸在不同程度上会产生酸味和奶酪味^[19]。

2.2 不同啤酒酵母酿造百香果果啤挥发性化合物指纹图谱比较

百香果果啤的挥发性化合物的指纹图谱如图 3 所示,指纹图谱能够快速对比出不同样品风味物质之间的差异,图中每一行代表一个酵母果啤风味物质的全部信号峰,每一列反应同一挥发性有机物在不同样品中的信号峰强度。从图中可以看出每种样品的完整挥发性有机物信息以及样品之间挥发性有机物的差异,样品大量共有化合物有异戊醇、异丁醇、乙醇、异戊醛、丙酮、丁醛、乙酸甲酯、乙酸乙酯

等,其中异戊醇、乙醇、酯类化合物对啤酒风味影响较为突出^[20]。S-04 酵母酿造的果啤乙酸异丁酯(水果、苹果、香蕉)、异丁酸乙酯(甜味、橡胶味)等物质的含量较高,其中乙酸异丁酯(467.80 μg/kg)约是 US-05 酵母的 6 倍, S-33 和 CS31 酵母的 2 倍,异丁酸乙酯(67.78 μg/kg)约是其它样品的 2 倍; US-05 酵母酿造的果啤中丁酸(油脂臭味、奶酪味)、丁酸甲酯(酯味、水果、甜味)、甲酸乙酯(辛辣味)等物质的含量较其它样品较高; S-33 酵母酿造的果啤中异戊醛(苹果、桃子香气)、丙醛(辛辣味)、正辛醛(柠檬、生青味)、乙酸己酯(水果味、香草味)、3-甲基丁酸乙酯(水果)、乙酸丁酯(梨子味)等物质的含量较高,其中异戊醛(695.52 μg/kg)的含量约是 S-04 样品的 1.5 倍,是 CS31 样品的 2 倍; CS31 酵母酿造的果啤中乙酸异戊酯(水果味、香蕉味)、辛酸乙酯(水果味、

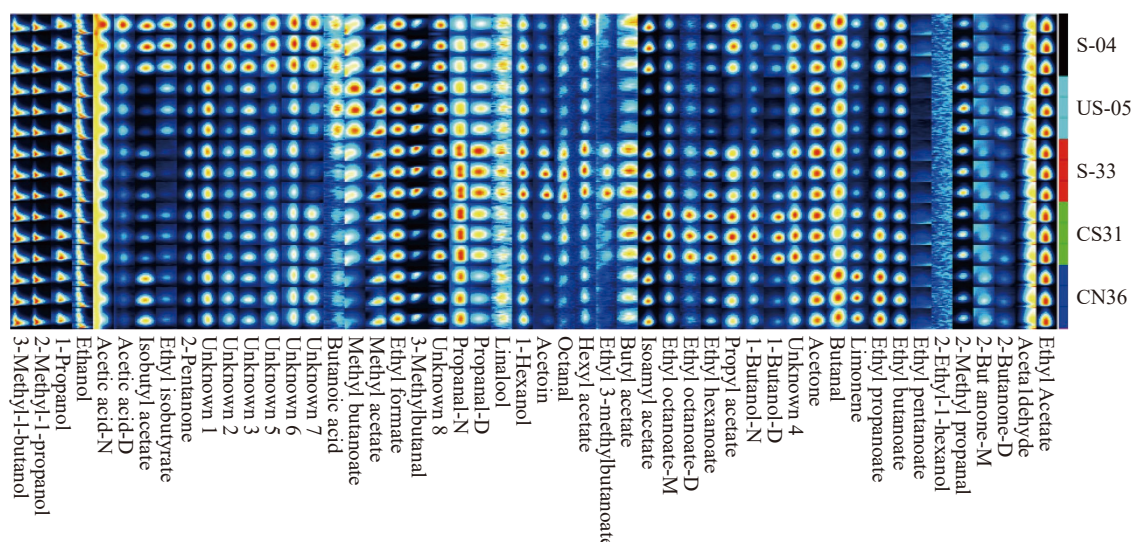


图3 不同酵母酿造百香果果啤挥发性化合物的指纹图谱

Fig.3 Fingerprint of volatile compounds in passion beer brewed by different yeasts

脂肪味)、己酸乙酯(苹果皮、水果味)、乙酸丙酯(水果味)等物质的含量较高,其中乙酸异戊酯(5445.26 $\mu\text{g/kg}$)含量约是 US-05 样品的 3 倍,辛酸乙酯(1329.29 $\mu\text{g/kg}$)约是 S-04 和 US-05 样品的 1.5 倍,乙酸丙酯(89.02 $\mu\text{g/kg}$)是 US-05 样品的 3 倍;CN35 酵母酿造的果啤柠檬烯(柠檬、橘子味)、丙酸乙酯(梨子、草莓香味)等物质的含量较高,且柠檬烯(142.03 $\mu\text{g/kg}$)与丙酸乙酯(591.15 $\mu\text{g/kg}$)含量约是 US-05、S-33 样品的 2 倍。但化合物的含量越高,并不代表香气越浓郁,同一物质在不同浓度下散发出的香气会有所不同^[21-22],香气的协调性才是啤酒酿造的关键。

2.3 主成分与正交偏最小二乘判别分析

采用 PCA 对不同酿酒酵母酿造百香果果啤进行分析,得分图如图 4A 所示,PC1 和 PC2 分别解释了总方差的 36.7% 和 23.9%,两者贡献率之和可达 60.6%,表明它们能够很好的代表大部分数据。从 PC1 角度分析,S-04、US-05 和 S-33、CS31、CN35 可有效地分离开来(S-04、US-05 在 PC1 的正半轴,S-33、CS31、CN35 在负半轴)。从 PC2 角度分析,US-05、S-33、CS31 与 S-04、CN35 可有效地分离开来(US-05、S-33、CS31 在 PC2 的正半轴,S-04、CN35 在 PC2 的负半轴)。综合来看,S-33、CS-31 样品在 PC1 与 PC2 上并不能完全分离开来,表明了这两种啤酒样品的香气成分差异性不显著。载荷图如图 4B 所示,展示了每种风味化合物的相对重要性以及风味化合物与各样品之间的关系(风味化合物序号与表 1 一致)。得分图与载荷图表明,S-04 样品与其它样品分离主要与丁酸和乙醇有关,US-05 样品的分离主要与甲酸乙酯、乙酸甲酯、丁酸甲酯、丁酮有关,S-33、CS31 样品的分离主要与己酸乙酯、异戊醇、正丁醇有关,CN35 样品的分离主要与乙酸异戊酯、乙酸丙酯、丙酸乙酯相关。

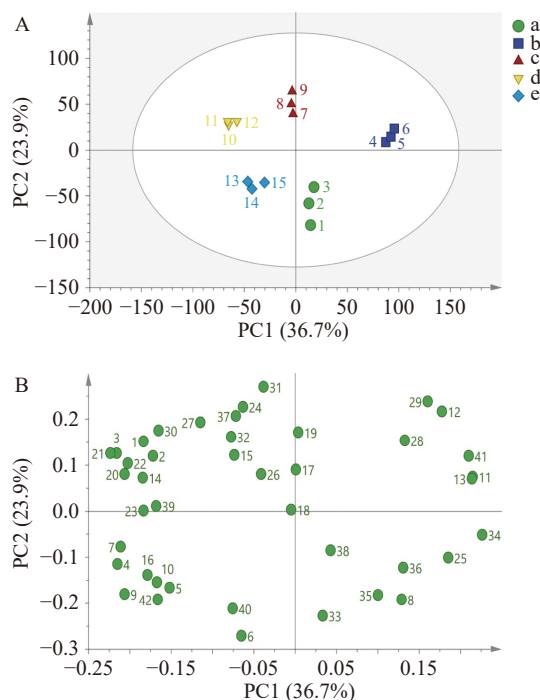


图4 不同酵母酿造百香果果啤主成分分析图

Fig.4 Principal component analysis of passion beer brewed by different yeasts

注: a: S-04、b: US-05、c: S-33、d: CS31、e: CN35。

为确定每个样品的特征性香气成分贡献并建立分类模型。使用 OPLS-DA 对不同样品中特定挥发性化合物进行建模,如图 5,前两个成分总差异之和是 68.1%, $R^2X = 41.3\%$, $R^2Y = 26.8\%$ 。在图中六边形代表不同的样品,三个相近六边形为同一酒样的平行处理,圆点代表挥发性化合物(与表 1 序号一致)。S-04 样品的风味与乙酸、2-戊酮相关性较强,US-05 样品的风味与丁酸甲酯具有较强的相关性,S-33 样品的风味与 3-羟基-2-丁酮具有较强的相关性,CS31 样品与辛酸乙酯、己酸乙酯、异戊醇、正丁醇

具有较强的相关性,其中辛酸乙酯与己酸乙酯都有近似苹果的香味,由脂肪酸与乙醇产生^[23],CN35 样品的风味与乙酸异丁酯、乙酸丙酯、丙酸乙酯相关性较强,这些酯类分别具有苹果、香蕉、梨子等水果的香气^[24]。

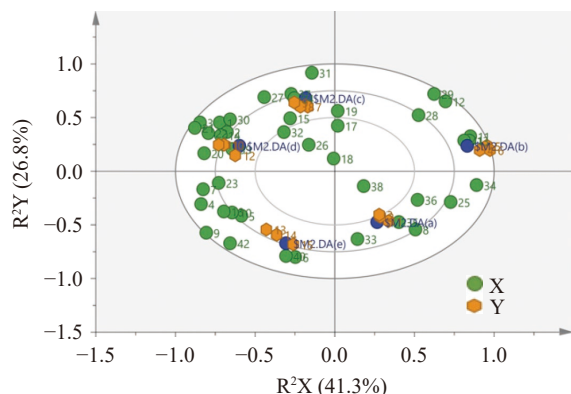


图 5 不同百香果果啤的 OPLS-DA 示意图
Fig.5 OPLS-DA diagram of different passion beers

为了验证模型的有效性,用 OPLS-DA 模型相同的主成分的数据经过模型置换交叉检验(200 次交叉验证),验证结果如图 6 所示。 R^2 绿色与真实模型

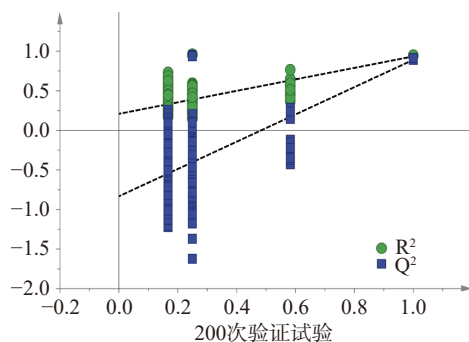


图 6 200 个样本随机排列的置换测试

Fig.6 Permutation test with random arrangement of 200 samples

的 R^2Y 值的一条回归线截距为 0.185, Q^2 蓝色与真实模型 Q^2Y 的一条回归线截距为 -0.883 (<0.05), 结果显示模型未出现过拟合现象, 该模型具有显著的统计学意义。VIP 通常用于评估代谢组学中 X 变量对 OPLS-DA 模型的贡献率, 一般将 VIP 值 >1 表示为关键变量, 结果如图 7 所示。在 OPLS-DA 的模型中共有 17 种化合物的 VIP 值 >1 , 它们依次为乙酸、辛酸乙酯、3-羟基-2-丁酮、己酸乙酯、异戊醇、柠檬烯、正丁醇、乙酸异戊酯、乙酸异丁酯、2-戊酮、乙酸丙酯、2-甲基丙酸乙酯、丙酸乙酯、异戊醛、2-甲基丙醛、乙酸甲酯、丁酸甲酯, 而己酸乙酯、辛酸乙酯、乙酸甲酯和乙酸辛酯等化合物与消费者的消费欲望有一定关联^[25], 是促进消费者购买的重要化合物。

3 结论

本文选用皮尔森麦汁、啤酒花、不同啤酒酵母等主要原料进行百香果果啤的酿造,成品酒挥发性化合物采用 GC-IMS 进行分析,获得了样品挥发性化合物的指纹谱图,由指纹图谱筛选出辛酸乙酯、己酸乙酯、异戊醇、柠檬烯、正丁醇、乙酸异戊酯、乙酸异丁酯、2-戊酮、乙酸丙酯、丙酸乙酯等 37 种挥发性化合物,PCA 图中不同酵母酿造果啤能够很好的分离,两个主成分累积贡献率达到 60.6%,能够在较大程度上反映出果啤之间的差异,结合 OPLS-DA 分析可分析出不同百香果果啤主要差异香气物质,其中 S-04 样品的特征性风味物质为乙酸、2-戊酮,US-05 样品为丁酸甲酯,S-33 样品为 3-羟基-2-丁酮,CS31 样品为辛酸乙酯、己酸乙酯、异戊醇、正丁醇,CN35 样品为乙酸异丁酯、乙酸丙酯、丙酸乙酯。

啤酒品质不仅受酵母等酿造原料的影响,也受到发酵工艺的影响,本实验选取五种酵母进行挥发性香气化合物进行评估,以期为百香果果啤酒种筛选提供数据支持。但由于此次试验样本量有限,且对酵母的考察角度过于单一,不能全面展现酵

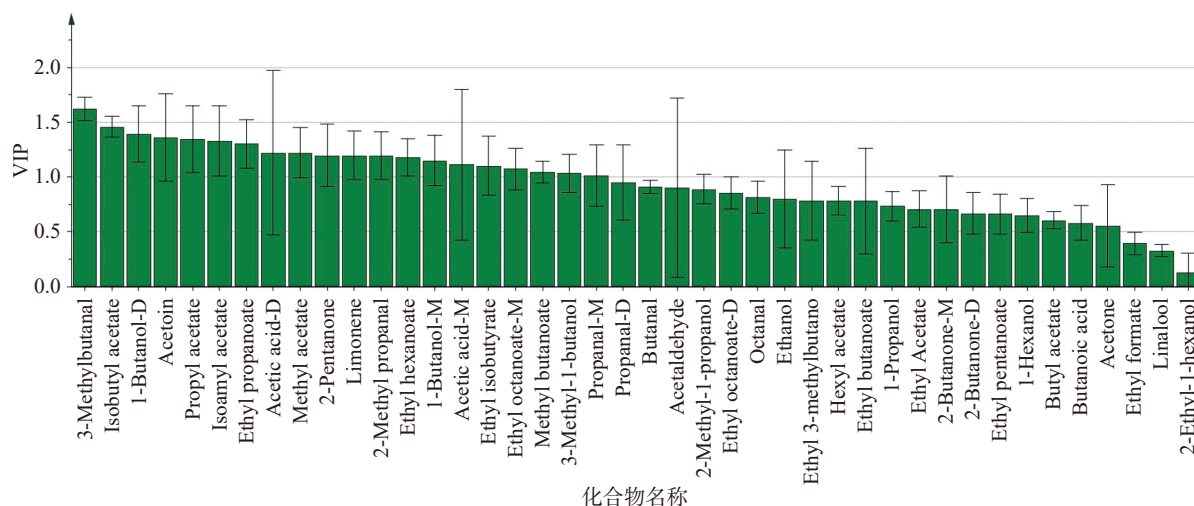


图 7 VIP 结果
Fig.7 VIP results

母与果啤品质的关系。后期应将感官品评、理化指标、香气等指标结合,全面考察酵母对果啤酿造的影响,以期为果啤产业菌株提供一种新的比较途径。

参考文献

- [1] 中国酒业协会. T/CBJ 3201-2019 工坊啤酒及其生产规范[S]. 北京: 中国酒业协会, 2019. [China alcoholic drinks association. T/CBJ 3201-2019 Craft beer and its production specification[S]. Beijing: China Alcoholic Drinks Association, 2019.]
- [2] 苗方, 康健, 王德良. 果啤的研究进展[J]. 酿酒, 2010, 37(3): 75-77. [MIAO Fang, KANG Jian, WANG Delaing. Research progress of fruit beer[J]. *Liquor Making*, 2010, 37(3): 75-77.]
- [3] 汪中世. 蓝莓果啤研制及其稳定性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015. [WANG Zhongshi. Study on the development and stability of blueberry fruit beer[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2015.]
- [4] 余东, 熊丙全, 袁军, 等. 西番莲种质资源概况及其应用研究现状[J]. 中国南方果树, 2005(1): 36-41. [YU Dong, XIONG Bingquan, YUAN Jun, et al. Overview of *Passiflora germplasm* resources and its application research status[J]. *South China Fruits*, 2005(1): 36-41.]
- [5] 李荣章, 向文能. 探析百香果功能研究及其开发进展[J]. 农民致富之友, 2018(23): 62-69. [LI Rongzhang, XIANG Wenneng. Study on the function and development progress of passion fruit[J]. *The Friends of Peasants Getting Rich*, 2018(23): 62-69.]
- [6] 张必周. 不同啤酒酵母对燕麦啤酒发酵过程及品质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013. [ZHANG Bizhou. Effects of different *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation process and quality of oat beer[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2013.]
- [7] 吴艾玲. 啤酒酵母特性对啤酒品质的影响及其选育方法[J]. 酿酒科技, 2020(10): 45-51. [WU Ailing. Effect of characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* on beer quality and its breeding method[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2020(10): 45-51.]
- [8] HERNANDEZ-MESA M, ROPARTZ D, GARCIA-CAMPANA A M, et al. Ion mobility spectrometry in food analysis: Principles, current applications and future trends[J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2706.
- [9] SHEIBANI A, HAGHPAZIR N. Application of ion mobility spectrometry for the determination of tramadol in biological samples[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2014, 22(4): 500-504.
- [10] HERNANDEZ-MESA M, ESCOURROU A, MONTEAU F, et al. Current applications and perspectives of ion mobility spectrometry to answer chemical food safety issues[J]. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 94: 39-53.
- [11] GARRIDO-DELGADO R, ARCE L, GUAMAN A V, et al. Direct coupling of a gas-liquid separator to an ion mobility spectrometer for the classification of different white wines using chemometrics tools[J]. *Talanta*, 2011, 84(2): 471-479.
- [12] 龚霄, 周伟, 李积华, 等. 基于静态顶空气相离子迁移谱技术的果啤种类判别[J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 296-301. [GONG Xiao, ZHOU Wei, LI Jihua, et al. Identification of fruit beers based on static headspace-gas chromatography-ion mobility spectroscopy[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(7): 296-301.]
- [13] YANG Q, TU J X, CHEN M, et al. Discrimination of fruit beer based on fingerprint by static headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2021, 42(7): 296-301.
- [14] 张俊杰, 尚益民, 彭姗姗, 等. 产香酵母的筛选及其苹果酒发酵特性[J]. 中国酿造, 2019, 38(8): 31-35. [ZHANG Junjie, SHANG Yimin, PENG Shanshan, et al. Screening of aroma-producing yeast and its fermentation characteristics of cider[J]. *China Brewing*, 2019, 38(8): 31-35.]
- [15] RODRIGUES F, CALDEIRA M, CAMARA J S. Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC-qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages[J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 609(1): 82-104.
- [16] YU H, XIE J, XIE T, et al. Perceived aroma characteristic of Tsingtao beer in relation to wort gravity[J]. *European Food Research and Technology*, 2021, 247(2): 427-437.
- [17] SIEBERT T E, SMYTH H E, CAPONE D L, et al. Stable isotope dilution analysis of wine fermentation products by HS-SPME-GC-MS[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2005, 381(4): 937-947.
- [18] GUERRINI L, ANGELONI G, MASELLA P, et al. A technological solution to modulate the aroma profile during beer fermentation[J]. *Food Bioprocess Technol*, 2018, 11: 1259-1266.
- [19] LI H, LIU F. Changes in organic acids during beer fermentation[J]. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2015, 73(3): 275-279.
- [20] COELHO E, MAGALHAES J, PEREIRA F B, et al. Volatile fingerprinting differentiates diverse-aged craft beers[J]. *LWT*, 2019(108): 129-136.
- [21] XU Y, WANG D, LI H, et al. Flavor contribution of esters in lager beers and an analysis of their flavor thresholds[J]. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2017, 75(3): 201-206.
- [22] ALVES V, GONALVES J, FIGUEIRA J A, et al. Beer volatile fingerprinting at different brewing steps[J]. *Food Chemistry*, 2020, 326: 126856.
- [23] BRANYIK T, VICENTE A A, DOSTALE K, et al. A review of flavour formation in continuous beer fermentations[J]. *Journal of Institute of Brewing*, 2008, 114(1): 3-13.
- [24] HUMIA B V, SANTOS K S, BARBOSA M, et al. Beer molecules and its sensory and biological properties: A review[J]. *Molecules*, 2019, 24(8): 1568.
- [25] VIEJO C G, FUENTES S, TORRICO D D, et al. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking[J]. *Food Chemistry*, 2019, 293(30): 479-485.