

基于E-Nose和HS-SPME-GC-MS探究混菌发酵对蜂蜜茶酒品质的影响

李颖, 张辉, 邱鹤翔, 刘兰花, 孙智伟, 穆冬冬, 汪友胜, 李兴江, 吴学凤

Investigation of the Effect of Mixed Bacteria Fermentation on the Quality of Honey Tea Wine Based on E-Nose and HS-SPME-GC-MS

LI Ying, ZHANG Hui, QIU Hexiang, LIU Lanhua, SUN Zhiwei, MU Dongdong, WANG Yousheng, LI Xingjiang, and WU Xuefeng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024100333>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

发酵型猕猴桃红茶酒品质及风味感官分析

Quality and Flavor Sensory Analysis of Fermented Kiwi Black Tea Wine

食品工业科技. 2024, 45(12): 265-274 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080255>

SPME-GC-MS与电子鼻结合分析不同酵母混菌发酵猕猴桃酒的挥发性香气物质

Analysis of Volatile Aroma Compounds in Kiwi Wine Co-Fermentation with Different Yeasts by SPME-GC-MS Combined with Electronic Nose

食品工业科技. 2021, 42(16): 119-128 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010133>

基于HS-SPME-GC-MS和GC-IMS结合电子鼻分析真空冷却对酱牛肉风味的影响

Analysis of the Effect of Vacuum Cooling on the Flavor of Sauce Beef Based on HS-SPME-GC-MS and GC-IMS Combined with Electronic Nose

食品工业科技. 2022, 43(9): 341-348 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080267>

基于E-nose、HS-SPME-GC-MS和GC-IMS检测三种草莓鲜榨汁的香气

Aroma Determination of Three Freshly Squeezed Strawberry Juice Based on E-nose, HS-SPME-GC-MS and GC-IMS

食品工业科技. 2023, 44(3): 286-296 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022040207>

基于电子鼻和HS-SPME-GC-MS技术分析9种新疆石榴果实挥发性成分

Analysis of Volatile Components of Nine *Punica granatum* L. Cultivars Grown in Xinjiang Based on Electronic Nose and HS-SPME-GC-MS

食品工业科技. 2023, 44(6): 325-334 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022060146>

不同发酵剂发酵酸奶的风味及理化特性的研究

Research on the Flavor and Physicochemical Characteristics of Yogurt Fermented by Different Starter Cultures

食品工业科技. 2025, 46(8): 263-271 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024040391>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李颖, 张辉, 邱鹤翔, 等. 基于 E-Nose 和 HS-SPME-GC-MS 探究混菌发酵对蜂蜜茶酒品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(19): 297–307. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100333

LI Ying, ZHANG Hui, QIU Hexiang, et al. Investigation of the Effect of Mixed Bacteria Fermentation on the Quality of Honey Tea Wine Based on E-Nose and HS-SPME-GC-MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(19): 297–307. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100333

· 分析检测 ·

基于 E-Nose 和 HS-SPME-GC-MS 探究混菌发酵对蜂蜜茶酒品质的影响

李颖¹, 张辉², 邱鹤翔¹, 刘兰花¹, 孙智伟¹, 穆冬冬¹, 汪友胜³, 李兴江¹, 吴学风^{1,*}

(1.合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽省发酵食品工程研究中心, 安徽合肥 230601;

2.中国农村技术开发中心, 北京 100045;

3.安徽蜂猷蜂业有限公司, 安徽桐城 231400)

摘要:为开发新型高品质的蜂蜜茶酒, 利用酿酒酵母和非酿酒酵母混菌发酵制备蜂蜜茶酒, 采用电子鼻技术结合顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (Headspace Solid-Phase Micro Extraction and Gas Chromatography Mass Spectrometry, HS-SPME-GC-MS), 并对发酵蜂蜜茶酒的基本理化、有机酸和多酚含量进行检测, 以酿酒酵母单菌发酵 (SF) 和非酿酒酵母单菌发酵 (HF) 产品作为对比分析, 综合评价混菌发酵 (MF) 对蜂蜜茶酒品质和风味的影响。结果表明: 相较于 SF 和 HF, MF 提高了蜂蜜茶酒总酚和总黄酮含量。发酵后样品的有机酸含量上升, 多酚含量下降。HF 电子鼻传感器响应值低, 且 MF 大部分传感器响应值大于 SF。HS-SPME-GC-MS 共鉴定出 75 种香气成分, 混菌发酵使蜂蜜茶酒中的挥发性化合物种类和含量显著增加 ($P<0.05$)。PLS-DA 分析共筛选出 10 种差异化化合物 (VIP>1), 其中有 6 种为酯类风味物质。OAV>1 的关键香气成分共有 12 种, 相较于 HF 和 SF, 对 MF 香气贡献率较高的为具有花香的苯乙醇、蜂蜜甜香的乙酸苯乙酯、水果香气的甲酸戊酯和醋酸正丙酯等。综上, 混菌发酵蜂蜜茶酒相较于单菌发酵更具优势, 总体风味更丰富浓郁。本文为非酿酒酵母在酒类中的应用及茶叶副产物深加工利用提供了理论依据。

关键词:蜂蜜茶酒, 混菌发酵, 风味, 电子鼻, 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱技术联用

中图分类号: TS262.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)19-0297-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024100333



本文网刊:

Investigation of the Effect of Mixed Bacteria Fermentation on the Quality of Honey Tea Wine Based on E-Nose and HS-SPME-GC-MS

LI Ying¹, ZHANG Hui², QIU Hexiang¹, LIU Lanhua¹, SUN Zhiwei¹, MU Dongdong¹, WANG Yousheng³, LI Xingjiang¹, WU Xuefeng^{1,*}

(1. Anhui Fermented Food Engineering Research Center, School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China;

2. China Rural Technology Development Center, Beijing 100045, China;

3. Anhui Fengxian Bee Industry Co., Ltd., Tongcheng 231400, China)

Abstract: In order to develop a new type of high-quality honey tea wine, a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces cerevisiae* was employed for the fermentation of honey tea wine. The electronic nose technique in combination with headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (headspace solid-phase micro extraction and gas chromatography mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS) was adopted, and the basic physicochemical properties, organic acid, and polyphenol contents of the fermented honey tea wine were detected. The

收稿日期: 2024-10-28

基金项目: 桐城市揭榜挂帅项目 (JZ2023YDZJ0311)。

作者简介: 李颖 (2001-), 女, 硕士, 研究方向: 发酵食品, E-mail: liying070430@163.com。

* 通信作者: 吴学风 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品发酵工程及农产品副产物综合利用, E-mail: wuxuefeng@hfut.edu.cn。

single-strain fermentation products of *Saccharomyces cerevisiae* (SF) and non-*Saccharomyces cerevisiae* (HF) were used as control groups for comparative analysis to comprehensively evaluate the effects of mixed-strain fermentation (MF) on the quality and flavor of honey tea wine. The results indicated that compared with SF and HF, MF increased the total phenol and total flavonoid contents of honey tea wine. The organic acid content in the post-fermentation samples increased, while the polyphenol content decreased. The response value of the electronic nose sensor for HF was low, and the majority of the sensor response values of MF were greater than those of SF. A total of 75 aroma components were identified by HS-SPME-GC-MS, and mixed-strain fermentation significantly increased the types and contents of volatile compounds in honey tea wine ($P<0.05$). A total of 10 differential compounds (VIP>1) were screened out by PLS-DA analysis, among which 6 were ester flavor substances. There were 12 key aroma components with OAV>1, and compared with HF and SF, those with higher contribution rates to the aroma of MF were phenylethanol with floral aroma, phenyl ethyl acetate with honey sweet aroma, pentyl formate and n-propyl acetate with fruit aroma. In conclusion, compared with single-strain fermentation, mixed-strain fermentation of honey tea wine has more advantages, with a richer and more intense overall flavor. This paper provides a theoretical basis for the application of non-*Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic beverages and the deep processing and utilization of tea by-products.

Key words: honey tea wine; mixed bacteria fermentation; flavor; electronic nose; headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

茶酒是一种将茶的清香与酒的醇厚巧妙融合的特色饮品。通常是以茶类产品为主要原料,其他制酒原料为辅料,经过发酵或者配制而成各种饮用酒^[1-2]。茶碎是茶叶加工过程中产生的副产物,利用率较低^[3]。蜂蜜是一种富含酚类物质且可以用于酒精饮料生产的原料,其添加可以为酒精饮料带来顺滑醇厚的口感以及甜美悦人的香气^[4]。因此,以桐城小花茶碎为原料,蜂蜜作为辅料融入茶酒的发酵过程,不仅有望改善茶酒的苦涩口感,还能为其赋予更多保健功能。

传统酒精类饮品发酵依赖于酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*, SC)单一发酵,以确保一致的香气特征和相对较高的乙醇含量^[5]。随着消费者对酒类品质要求的提高,非酿酒酵母(non-*Saccharomyces* yeasts, NS)的需求和应用也在不断增加以避免酒类的同质化。但大多数的 NS 发酵性能较差,产酒精能力低,因此只能与 SC 进行混合发酵,以获得口感和香气更丰富稳定的酒精饮料^[6]。例如仙人掌有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora opuntiae*)和 SC 混合发酵提升了柑橘酒中醇类和酯类化合物含量,并提高了柑桔酒的感官品质^[7]。在季也蒙有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora guilliermondii*)与 SC 混菌发酵啤酒时,乙酸苯乙酯含量提高了 8.2 倍,增加了玫瑰和蜂蜜的香气^[8]。葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)与 SC 以 1:1 的比例共接种可以降低其中的乙酸含量,并提高了乙酯含量以增强葡萄酒的热带水果风味^[9]。异常汉逊酵母(*Hansenula anomala*)是一类与酒精发酵相关的天然非酿酒酵母,其代谢能力差,不能独自完成酒精发酵,但它可以通过自身代谢活动产生乙酯类、高级醇和芳香酮等一系列香气物质,以增加酒类香气的复杂度和浓郁度^[10]。目前混菌发酵多应用于果酒中,对于茶酒的相关研究鲜有报道。因此,有必要进行产品创新,开展蜂蜜茶酒的研发以解决茶和蜂蜜及其农副产品品种少,周边产品附加值低

等问题,对产业发展具有推动作用。

因此,本研究利用异常汉逊酵母与 SC 混合发酵酿造蜂蜜茶酒,并以单菌发酵产品作为对照组,以基本理化、有机酸、多酚以及挥发性成分等指标来分析其品质。研究将为提升蜂蜜茶酒的品质提供理论参考,提高对茶叶副产物的利用率,并为茶酒的品种创新提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

桐城小花茶碎 安徽省桐城市茶厂;洋槐蜜 安徽蜂献蜂业有限公司;酿酒酵母 SY 安琪酵母有限公司;YM 培养基、异常汉逊酵母 *Hansenula anomala*(BNCC336003) 北纳创联生物科技有限公司;草酸、酒石酸等有机酸标准品,熊果苷、儿茶素等酚类化合物标准品,甲醇、甲酸、乙腈、乙醇、2-辛醇标准品(均为色谱醇) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氯化钠、碳酸钠、柠檬酸、葡萄糖(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司。

LDZX-50KBS 高压灭菌锅 上海申安公司; iNose 型电子鼻 上海昂申智能科技有限公司; T6 紫外分光光度计 北京普析通用有限公司; Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱、RRHD Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱、DB-5MS 色谱柱、LC-MS 联用仪、8890-7000D 型气相色谱质谱仪 美国安捷伦科技公司; ZHJH-C1112B 超净工作台 上海智城分析有限公司; LT2002E 电子天平 常熟天量仪器有限责任公司; HWS-24 电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司; HYL-C2 组合式摇床 太仓市强文实验设备有限公司; F2 型 pH 计 梅特勒-托利多仪器有限公司; BM-03 手持糖度计 天津瞭望光电科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵型蜂蜜茶酒酿造 菌种活化:酿酒酵母 SY 与 30 ℃ 温水以 1:20(g:mL)的比例混匀后活化

20 min, 异常汉逊酵母 *Hansenula anomala* 在 YM 培养基中活化 1~2 代后使用。茶水浸提: 茶碎与水按照质量比 1:50 混合, 在 70 ℃ 下浸提 1 h, 过滤后得茶水。发酵液的调制: 将蜂蜜添加到茶水中调节初始糖度为 24%, 柠檬酸、碳酸钠调整混合液的 pH 为 4.0。在 90 ℃ 条件下保持 30 min 杀菌, 冷却至室温后使用。接种: 单一接种发酵的接种量为 2×10^6 CFU/mL, 分别为编号 SF: 只接种酿酒酵母 SY; 编号 HF: 只接种 *Hansenula anomala*; 编号 MF 为混合接种发酵: 先以 1×10^6 CFU/mL 的接种量加入 *Hansenula anomala*, 25 ℃ 发酵 24 h 后再以 1×10^6 CFU/mL 的接种量接种酿酒酵母 SY。以未接种的发酵液作为空白对照组 CK, CK 组过滤后直接收集保存在 -20 ℃ 冰箱。三组发酵组在 25 ℃ 培养箱中发酵 18 d 后取出, 65 ℃ 下灭菌 30 min。过滤后得酒样, 收集并在 -20 ℃ 冰箱保存以用于后续分析和检测。

1.2.2 理化指标检测 酒精含量测定参考《酒和食用酒精中乙醇浓度的测定》(GB 5009.225-2023), 使用 pH 计和手持糖度计直接测定酒样的 pH 和可溶性固形物含量, 总酸含量测定参考《食品中总酸的测定》(GB 12456-2021), 总酚和总黄酮含量的测定分别采用没食子酸比色法和三氯化铝比色法^[11], 总糖含量测定采用 DNS 法^[12]。

1.2.3 有机酸含量测定 参照 Jiang 等^[13]的方法, 并适当修改。样品处理: 样品过 0.22 μm 尼龙滤膜待用。高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 条件: Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相 A 为甲酸水溶液 (0.1% 甲酸), 流动相 B 为甲醇溶液, V(甲酸水):V(甲醇)=97:3, 流速 0.8 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样量 5 μL。流动相的洗脱梯度为: 0 min, 3% B; 0~10 min, 95% B; 10~20 min, 5% B。使用电喷雾离子源 (ESI) 在负离子模式下进行质谱检测, 设置包括 3200 V 的喷雾电压、400 ℃ 的蒸发温度、500 ℃ 的离子转移温度、50 arb 的鞘气、20 arb 的辅助气体和 50~750 m/z 的扫描范围。标准溶液: 将草酸、奎宁酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸、没食子酸配制成不同梯度标准品溶液, 溶液过 0.22 μm 的尼龙滤膜待用, 采用外标法进行定量。

1.2.4 多酚含量测定 参照 Li 等^[14]的方法并加以修改。样品处理: 样品过 0.22 μm 尼龙滤膜待用。高效液相色谱条件: RRHD Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流速为 0.2 mL/min, 柱温 40 ℃。流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B), 进样量 1 μL。流动相的洗脱梯度为: 0 min, 5% B; 0~15 min, 30% B; 15~27 min, 90% B; 27~28 min, 5% B; 电喷雾离子源 (ESI) 在 3200 V 的喷雾电压下工作。蒸发温度为 400 ℃, 离子转移温度为 500 ℃。鞘气为 50 arb, 辅助气为 20 arb。采用负离子扫描方

式, 扫描范围 50~750 m/z。标准溶液: 将熊果酸、原儿茶酸、表没食子儿茶素 (epigallocatechin, EGC)、绿原酸、表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素 (epicatechin, EC)、对香豆素、芦丁、表儿茶素没食子酸酯 (epicatechin gallate, ECG)、紫云英苷、杨梅素、鞣花酸、槲皮素、柚皮素、山奈酚配制成不同梯度标准品溶液, 溶液过 0.22 μm 的尼龙滤膜待用, 采用外标法进行定量。

1.2.5 电子鼻检测 参照 Liu 等^[15]的方法并适当修改。在 15 mL 顶空瓶中收集 5 mL 样品, 用保鲜膜密封并用橡皮筋扎紧。样品在 55 ℃ 水浴中富集 15 min, 然后冷却到常温进行顶空取样。测试条件为: 采样时间设置为 1 s/组, 传感器自清洁时间为 300 s, 传感器归零时间为 5 s, 样品制备时间为 10 s, 样品流速为 500 mL/min, 分析采样时间为 180 s。对每个样品进行 3 次平行实验。电子鼻各传感器性能描述如表 1 所示。

表 1 电子鼻各传感器性能描述
Table 1 Performance description of each sensor of the electronic nose

序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	对芳香成分, 苯类灵敏
2	W5S	对氮氧化合物灵敏
3	W3C	对芳香成分和氨类灵敏
4	W6S	对氢化物灵敏
5	W5C	对短链烷烃芳香成分灵敏
6	W1S	对甲基类灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对醇类、醛酮类灵敏
9	W2W	对有机硫化物灵敏
10	W3S	对长链烷烃灵敏

1.2.6 HS-SPME-GC-MS 测定香气成分 参照 Xia 等^[16]的方法并适当修改。在 20 mL 的 SPME 样品瓶中倒入 5.0 mL 蜂蜜茶酒, 再加入 1.0 g NaCl 以避免基质效应, 提高灵敏度, 然后加入 2-辛醇内标 5 μL 至终浓度为 0.822 μg/L。密封好后插入经老化的萃取针, 置于 50 ℃ 水浴中, 平衡 30 min 后推出萃取针头, 顶空萃取 35 min 后将萃取头插入 GC-MS 进样口, 250 ℃ 解析 4 min。

色谱条件: 色谱柱为 DB-5MS (30 mm×0.25 mm, 0.25 μm); 柱箱温度: 40 ℃, 进样口温度: 250 ℃; 升温程序: 40 ℃ 保持 3 min, 以 4 ℃/min 升至 120 ℃, 保持 4 min, 再以 6 ℃/min 升至 210 ℃, 保持 9 min, 最后以 25 ℃ 升至 240 ℃, 保持 3 min; 载气 (He): 流速 1.0 mL/min, 压力 49.5 kPa。

质谱条件: 离子源温度 230 ℃, 接口温度 230 ℃; 电离方式 EI; 质量扫描范围 m/z 35~500; 扫描速度 1000 u/s。

定性方法: 样品中未知化合物经 GC/MS 软件鉴定, 并与 NIST20 质谱库匹配, 只报道相似度大于

85% 的物质。并将未知化合物的保留时间和质谱信息与标准品进行比较。

定量方法: 以 2-辛醇为内标进行半定量测定。未知挥发物浓度计算是用未知挥发物峰面积与内标峰面积之比乘以 2-辛醇浓度计算所得。

1.3 数据处理

采用 Excel 进行数据归纳整理, 所得结果均以三次重复的“平均值±标准差”表示; 采用 IBM SPSS Statistics 24.0.1 软件进行单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)和邓肯多重比较(Duncan multiple comparisons)以检验样品组间显著性($P<0.05$); 采用 Origin 2021、OmicShare Tools 等软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 蜂蜜茶酒的理化指标分析

蜂蜜茶酒的基本理化指标见表 2。MF 和 SF 中乙醇含量显著高于 HF($P<0.05$)。这是由于非酿酒酵母缺乏良好的发酵特性, 不能作为酒精发酵的主要菌株, 酿酒酵母才是发酵过程中的主要酒精生产者^[17]。不同发酵策略酒样的 pH 均在 3.4 左右, MF 和 SF 的总酸浓度要高于 HF。其中 SF 的总酸含量最高, 这可能是由于在酒精发酵阶段酿酒酵母能通过三羧酸循环、乙醛酸循环等多种途径生成乙酸, 而非酿酒酵母能够同时利用葡萄糖和乙酸以降低酒样中乙酸的含量^[18]。不同发酵方式下蜂蜜茶酒的总糖有显著差异($P<0.05$), SF、MF、HF 的总糖量依次增加, 表明不同酵母对还原糖的利用率具有一定的差异。酚类和黄酮类化合物是蜂蜜和茶叶中的重要营养物质, 在未发酵样品中有着很高的浓度, 而在发酵后都显著降低($P<0.05$)。多酚作为酶催化氧化的还原剂, 易被氧化, 发酵过程中微生物产生了大量氧化酶, 从而导致多酚类物质发生了氧化^[19], 因此总酚和总黄酮在发酵后含量下降。但 MF 样品中的总酚和总黄酮含量略高于 SF 和 HF, 说明混菌发酵可以一定程度上减少对多酚类物质的破坏, 从而保留其营养特性。

表 2 不同蜂蜜茶酒理化参数
Table 2 Physicochemical parameters of different honey tea wine

指标	HF	SF	MF	CK
酒精度(%vol)	1.05±0.09 ^b	10.40±0.06 ^a	10.36±0.22 ^a	—
pH	3.47±0.01 ^b	3.38±0.02 ^c	3.40±0.06 ^c	4.19±0.01 ^a
总糖(g/L)	160.25±12.26 ^b	50.78±4.97 ^d	81.42±4.59 ^c	202.73±12.13 ^a
总酸(g/L)	3.80±0.25 ^b	5.48±0.35 ^a	5.32±0.25 ^a	1.76±0.18 ^c
总酚(g/L)	1.64±0.09 ^c	1.81±0.06 ^b	1.82±0.06 ^b	2.38±0.10 ^a
总黄酮(g/L)	0.80±0.01 ^{bc}	0.77±0.02 ^c	0.82±0.01 ^b	1.20±0.02 ^a

注: 同行不同字母表示差异显著($P<0.05$), “—”为未检出, 表3、表4同。

2.2 蜂蜜茶酒中的有机酸和多酚含量

2.2.1 有机酸含量分析 有机酸是酒精饮料的基本成分, 对感官品质有较大影响, 非挥发性酸赋予

这些饮料特有的酸味或口感^[12]。采用高效液相色谱法测定了蜂蜜茶酒中有机酸的含量, 共鉴定出草酸、奎宁酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸和没食子酸 7 种有机酸(图 1)。其中琥珀酸在不同样品间差异显著($P<0.05$), 在 CK 中含量最低, 为 7.40 $\mu\text{g/mL}$, 经过发酵后显著上升($P<0.05$), 其含量顺序为 SF(562.48 $\mu\text{g/mL}$)>MF(492.02 $\mu\text{g/mL}$)>HF(175.20 $\mu\text{g/mL}$)。琥珀酸是酿酒酵母代谢产生的一种有机酸。它主要在有氧呼吸的三羧酸循环过程中产生, 也是厌氧呼吸的最终产物之一。此外, 酿酒酵母的乙醛酸循环和氨基酸代谢也能产生琥珀酸^[20]。因此 SF 样品中琥珀酸含量最高。草酸和奎宁酸的含量在 HF 组最高, 其次是 CK 组, 这两种有机酸在 SF 组和 MF 组含量相对较低, 但有助于稳定酒样品质, 构成蜂蜜茶酒独特的口感^[2]。柠檬酸、乳酸和苹果酸在发酵后含量均有所上升, 而没食子酸在发酵后的三组样品中含量下降。食物中的苹果酸在口中有一种辛辣的酸味, 而乳酸则更柔软, 柠檬酸也对酒的口感有一定的改善作用^[21]。在 MF 样品中, 苹果酸和乳酸含量分别为 111.02 $\mu\text{g/mL}$ 和 18.72 $\mu\text{g/mL}$, 因此对酿酒酵母单独发酵酸度过高有一定的改善作用, 口感更适中柔和。没食子酸既是有机酸, 也是一种多酚类有机化合物, CK 中含量最高, 为 30.49 $\mu\text{g/mL}$, 在发酵过程中, 微生物分泌多种酶(鞣酶、酯酶、酚酸脱羧酶和糖苷酶等)水解没食子酸等转化成更小的酚类化合物^[13]。

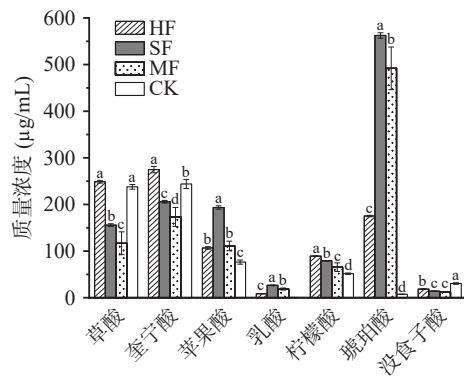


图 1 不同蜂蜜茶酒有机酸浓度
Fig.1 Concentration of organic acids in different honey tea wine

注: 不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2.2 多酚含量分析 多酚类化合物是植物界最丰富的植物化学物质之一, 具有抗菌、抗氧化、抗炎等多种生物活性^[22]。采用高效液相色谱法测定了蜂蜜茶酒中酚类化合物的种类和含量。如表 3 所示, 在 CK、HF、MF 和 SF 中共鉴定出 14 种酚类化合物。结果表明, 接种不同菌种发酵对蜂蜜茶酒酚类物质含量有影响。与 CK 组相比, 接种了异常汉逊酵母的 HF 组样品中酚类化合物的减少最少, 说明异常汉逊酵母对酚类物质降解具有一定的保护作用。熊果酸仅在 HF 和 MF 中检测出来, 说明接种异

表 3 不同蜂蜜茶酒多酚含量
Table 3 Polyphenol content of different honey tea wine

序号	多酚	含量(μg/mL)			
		HF	SF	MF	CK
1	熊果酸	0.45±0.01 ^a	—	0.11±0.01 ^b	—
2	原儿茶酸	0.09±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.07±0.02 ^b
3	EGC	961.35±24.65 ^a	928.79±10.31 ^a	921.47±3.49 ^a	1019.51±94.54 ^a
4	绿原酸	1.56±0.09 ^d	1.81±0.08 ^c	4.13±0.19 ^b	4.90±0.08 ^a
5	EGCG	851.31±21.83 ^b	856.96±36.11 ^b	858.65±15.85 ^b	1065.26±8.82 ^a
6	EC	102.38±2.84 ^b	100.36±5.96 ^b	100.35±4.35 ^b	121.66±6.35 ^a
7	对香豆素	0.06±0.01 ^c	0.15±0.01 ^b	0.14±0.02 ^b	0.35±0.01 ^a
8	芦丁	2.30±0.08 ^b	2.30±0.11 ^b	2.37±0.10 ^b	3.06±0.04 ^a
9	ECG	164.08±3.62 ^b	165.23±5.22 ^b	167.20±6.45 ^b	200.77±8.35 ^a
10	紫云英苷	7.77±0.08 ^{ab}	7.00±0.97 ^b	7.43±0.10 ^b	8.56±0.19 ^a
11	杨梅素	9.42±0.92 ^b	7.84±1.53 ^b	7.81±1.49 ^b	23.29±1.75 ^a
12	槲皮素	0.38±0.08 ^b	0.30±0.08 ^b	0.29±0.09 ^b	0.78±0.13 ^a
13	柚皮素	0.07±0.02 ^a	0.04±0.01 ^b	0.05±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^{ab}
14	山奈酚	0.92±0.12 ^b	0.85±0.10 ^b	0.86±0.13 ^b	1.76±0.19 ^a

常汉逊酵母可以促进熊果酸的合成。EGC、EGCG、EC 和 ECG 都属于儿茶素类化合物,是茶叶中的主要功能成分,具有抗炎症、抗菌、抗病毒及抗氧化等效用^[23]。这四种儿茶素在发酵后含量均有所减少,可能是由于酵母的水解和催化作用,儿茶素转化为酚类氧化代谢物和儿茶素裂变代谢物^[23]。这一现象与现有研究的结果是一致的^[14]。抗氧化活性最强的 EGC 和 EGCG 含量仍然很高,并在三个发酵组中差异不大,分别为 921.47~961.35 μg/mL 和 851.31~858.65 μg/mL。Xu 等^[23]的研究发现紫嫣茶酒在发酵 14 d 后的 EGC 和 EGCG 含量分别下降到 96.53 μg/mL 和 307.10 μg/mL。Bayram 等^[24]考察了不同茶浓度和提取时间对茶酒中儿茶素的影响,测得的 EGC 含量均低于 250.00 mg/L。与其他茶酒相比,蜂蜜茶酒的儿茶素含量相对较高,因此可能对其功能性的提升具有一定作用。

2.3 电子鼻分析

电子鼻对样品的气味很敏感,挥发性化合物组成的微小变化可能导致不同的传感器响应^[25]。传感器响应的香气物质含量越高,相对电导率值越偏离 1。当浓度低于检测限或无响应诱导气体时,对应传感器的 G/G₀ 或 G₀/G 值接近甚至等于 1^[15]。

PEN3 电子鼻由 10 个传感器组成,根据三种蜂蜜茶酒在 10 个传感器上的响应值绘制了雷达图。如图 2 所示, MF 样品和 SF 样品的两个图的形状相似,但部分响应值不同,说明两者的挥发性化合物种类大体相似,但含量不同。除了传感器 W1C,其余传感器的响应值均是 MF>SF,说明 MF 中的绝大多数风味的浓度更高。其中 MF 样品的 W1S、W2S 和 W3S 传感器响应值显著高于 SF($P<0.05$),即烷烃以及醇类、醛类和酮类的响应值更高,说明这些传感器对应的物质对整体风味的形成有重要影响。此外, HF 样品雷达图与 MF 和 SF 完全不同,每一个传感

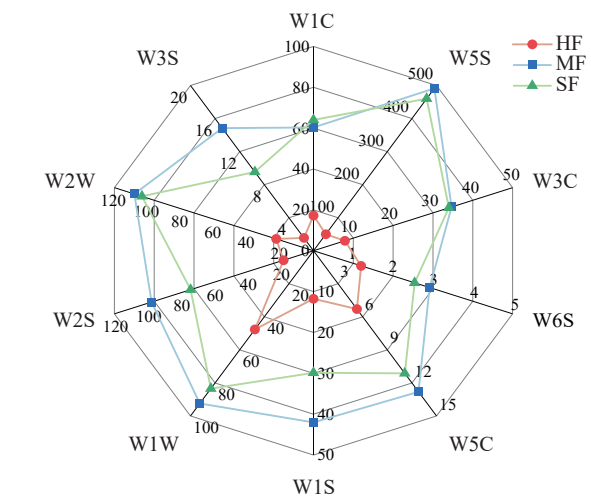


图 2 不同蜂蜜茶酒电子鼻响应值雷达图
Fig.2 Radar chart of electronic nose response values for different honey tea wine

器的响应值都更低,说明非酿酒酵母单独发酵产生的风味不足。

偏最小二乘判别分析采用经典偏最小二乘回归模型,其响应变量为一组响应统计单元之间的类别关系的分类信息集合。这是一种监督判别分析方法,可以有效区分组间的观察结果,找到导致组间差异的影响变量^[26]。为了识别蜂蜜茶酒样品之间具体的传感器响应差异,采用监督 PLS-DA 方法对传感器响应值进行分析。如图 3A 所示, PC1 和 PC2 的方差贡献率分别为 98.1% 和 1.5%,占 PLS-DA 评分图总方差的 99.6%,表明两个主要成分可以反映不同传感器对样本响应的总体信息。PLS-DA 图上 MF 和 SF 样品的部分重叠意味着它们的风味特征有相似之处。

传感器响应值的 VIP 评分如图 3B 所示。W3C、W2S、W2W、W3S 和 W5S 传感器的 VIP 评分均大于 1,说明这 5 种传感器可以作为区别不同蜂蜜茶酒差异的潜在指标^[27]。值得注意的是,这五个传感器都

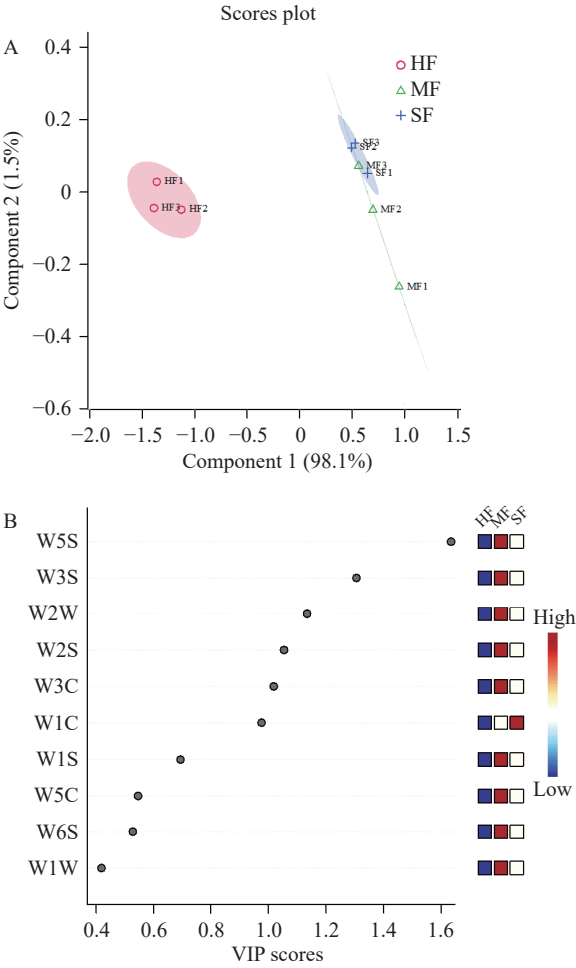


图3 蜂蜜茶酒电子鼻 PLS-DA 评分图、电子鼻传感器 VIP 得分图

Fig.3 Electronic nose PLS-DA scoring chart and electronic nose sensor VIP score chart of honey tea wine
注: A.PLS-DA 评分图; B.VIP 得分图。

在 MF 样品中的响应值更高,说明混菌发酵可以提升蜂蜜茶酒的风味特征,非酿酒酵母对酒精饮料发酵具有一定的香气增强作用。

虽然电子鼻能熟练地捕捉到样品的整体香味特征,但它在确定单个化学物质的具体变化方面却存在不足。为了解决这个问题,有必要使用 GC-MS 进行进一步的分析,以便更详细地了解风味化合物。

2.4 基于 GC-MS 分析三种蜂蜜茶酒的风味物质

2.4.1 挥发性物质含量分析 HS-SPME-GC-MS 分析结果进一步阐明了不同发酵策略对蜂蜜茶酒风味的影响。如表 4 所示,共鉴定出 75 种挥发性化合物,根据化学结构分为醇类、酸类、醛类、烃类、酯类、酮类和其他类等 7 类化合物。其中 HF42 种、SF31 种、MF53 种,3 个酒样共有挥发性化合物 22 种,HF 特有挥发性化合物 16 种,SF 特有挥发性化合物 6 种,MF 特有挥发性化合物 24 种,表明混菌发酵能够增加蜂蜜茶酒挥发性化合物的种类。如图 4A 所示,在 MF 样品中,主要挥发性化合物为高级醇类、烃类、酯类和其他类挥发性化合物。而在 SF 中主要为醇类和酯类,HF 中绝大多数为酯类,占总含量的 83%。MF 样品中酯类的总含量为 3219.81 $\mu\text{g/L}$,SF 中为 3002.03 $\mu\text{g/L}$,且 MF 中的酯类种类比 SF 多 10 种,故香气更复杂丰富。以上结果表明,非酿酒酵母在发酵过程中对酯类生成有巨大贡献。在许多关于混菌发酵酒精饮料的研究中也报道了类似的结果^[28-30]。

从热图中可以看出不同发酵策略生产的蜂蜜茶酒的挥发性化合物分布差异显著,一些具有强烈风味的物质仅在 MF 样品中检测到,如具有花香味的苏

表 4 蜂蜜茶酒挥发性化合物含量
Table 4 Volatile compound content of honey tea wine

序号	挥发性物质	保留时间 (min)	CAS号	含量(μg/L)			香气描述 ^[31-35]
				HF	SF	MF	
醇类(13)							
1	芳樟醇	13.04	78-70-6	23.28±2.91 ^b	35.62±3 ^a	35.34±1.95 ^a	花香, 柑橘, 铃兰花
2	苯乙醇	17.78	60-12-8	163.09±7.03 ^c	1077.15±248.16 ^b	1923.22±198.72 ^a	花香, 玫瑰花
3	α-松油醇	20.53	10482-56-1	4.60±1.85 ^c	39.50±42.10 ^a	9.44±1.15 ^b	花香, 丁香
4	香茅醇	21.90	106-22-9	3.40±1.06 ^b	7.71±1.62 ^a	4.10±0.70 ^b	蔷薇、柑橘、花香、玫瑰
5	1,2-丙二醇	1.93	4254-15-3	362.31±76.69 ^c	4873.41±112.54 ^a	1447.52±87.29 ^b	—
6	橙花叔醇	34.24	142-50-7	4.79±0.24 ^a	2.40±0.91 ^b	3.82±0.49 ^a	橙花、铃兰花的气息
7	2,3-丁二醇	5.89	513-85-9	—	—	161.92±216.72	—
8	1,2-戊二醇	8.71	5343-92-0	—	—	29.03±4.64	—
9	苏合香醇	18.08	98-85-1	—	—	11.43±0.82	花香味
10	香叶醇	22.81	106-24-1	13.92±5.71	—	—	玫瑰花、柠檬、天竺葵
11	2-乙基己醇	14.51	104-76-7	1.48±0.20	—	—	—
12	正丁醇	14.51	71-36-3	0.46±0.08	—	—	饮料、花果香
13	苯甲醇	15.06	100-51-6	0.30±0.03	—	—	花香, 果香
酸类(5)							
14	辛酸	20.44	124-07-2	3.64±0.43 ^b	—	35.52±11.09 ^a	奶酪、脂肪、腐败味
15	乙酸	3.15	64-19-7	—	108.59±8.74 ^a	47.21±16.88 ^b	刺激性酸臭
16	正癸酸	27.89	334-48-5	—	38.72±25.78 ^a	13.43±6.99 ^{ab}	具有不愉快气味

续表 4

序号	挥发性物质	保留时间 (min)	CAS号	含量(μg/L)			香气描述 ^[31-35]
				HF	SF	MF	
17	正己酸	32.09	142-62-1	—	18.78±1.23	—	椰肉油气味和辛辣味
18	异丁酸	5.41	79-31-2	4.32±0.09	—	—	刺激性气味
醛类(4)							
19	丙醛	16.94	123-38-6	0.48±0.03 ^b	9.18±6.36 ^a	1.88±0.62 ^{ab}	刺激性臭味
20	4-苄氧基苯甲醛	19.53	4397-53-9	—	—	3.96±3.77	—
21	2-甲基戊醛	16.93	123-15-9	—	—	2.17±0.66	—
22	2-苯基乙醛	15.17	122-78-1	2.15±0.30 ^a	—	0.16±0.02 ^b	类似风信子的香气
烷烃类(6)							
23	苯乙烯	9.13	100-42-5	4.17±3.94 ^a	10.36±0.87 ^a	11.48±9.67 ^a	—
24	柠檬烯	16.94	5989-27-5	0.52±0.04 ^b	0.53±0.08 ^b	1.97±1.05 ^a	令人愉快的柑橘香气
25	环戊烷	4.44	287-92-3	—	—	904.82±86.82	苯样的气味
26	苯	9.11	71-43-2	—	—	1.34±0.14	强烈芳香味
27	二十一烷	32.32	629-94-7	0.39±0.15	—	—	—
28	丙二烯	2.54	463-49-0	0.17±0.02	—	—	略带甜味
酯类(37)							
29	乙酸乙酯	2.71	141-78-6	2812.82±129.66 ^a	524.15±76.87 ^c	870.60±134.120 ^b	果香、指甲油、菠萝
30	辛酸乙酯	20.79	106-32-1	13.30±4.25 ^b	421.92±130.64 ^a	270.05±66.61 ^a	果香、花生、杏仁露
31	反-4-癸烯酸乙酯	28.52	76649-16-6	0.86±0.08 ^c	9.64±0.99 ^a	7.02±0.33 ^b	—
32	癸酸乙酯	28.84	110-38-3	19.29±5.14 ^b	167.27±1.11 ^a	120.13±62.59 ^a	酿酒香味
33	邻苯二甲酸二正丁酯	42.34	84-74-2	1.05±0.85 ^a	2.66±1.40 ^a	3.36±2.13 ^a	微具芳香气味
34	醋酸正丙酯	4.01	109-60-4	55.02±19.82 ^b	0.55±0.04 ^b	432.56±232.08 ^a	芹菜、覆盆子和梨的水果味
35	乙酸苯乙酯	22.88	103-45-7	95.00±47.33 ^b	76.47±13.99 ^b	187.38±28.53 ^a	花果香、甜香
36	乙酸异戊酯	8.67	123-92-2	34.74±5.47 ^a	47.37±14.44 ^a	36.32±11.77 ^a	香蕉
37	月桂酸乙酯	35.02	106-33-2	0.86±0.23 ^c	3.84±0.82 ^b	7.40±0.67 ^a	甜味、奶油味
38	甲酸甲酯	20.59	107-31-3	58.07±0.97 ^a	31.32±1.49 ^a	60.13±53.06 ^a	有芳香气味
39	邻苯二甲酸二异丁酯	40.70	84-69-5	—	—	8.70±1.25	—
40	棕榈酸乙酯	42.83	628-97-7	—	—	0.95±0.09	呈微弱蜡香、脂肪和水果
41	三甲氧基酯	2.22	503-30-0	1.24±0.94 ^a	—	0.22±0.1 ^{ab}	有香味
42	丁位己内酯	4.47	823-22-3	81.37±94.02 ^c	1517.27±108.94 ^a	588.9±34.21 ^b	乳脂似香气、焦香和果香
43	苯乙酸乙酯	22.50	101-97-3	—	4.67±1.12 ^a	4.97±0.26 ^a	花香、蜂蜜香
44	二甲氧基乙酸甲酯	6.00	89-91-8	—	—	0.34±0.26	—
45	乙酸松油酯	20.53	80-26-2	—	—	2.52±0.58	柠檬和薰衣草香气
46	对羟基苯乙酸甲酯	22.28	14199-15-6	—	—	0.09±0.01	—
47	丁二酸二丙酯	28.84	925-15-5	—	—	15.19±1.47	—
48	丙烯酸乙酯	2.92	2177-18-6	—	—	0.76±0.12	—
49	乙酸-2-戊酯	8.66	626-38-0	—	—	43.65±3.28	—
50	甲酸叶醇酯	18.99	33467-73-1	—	—	1.21±0.15	绿色蔬菜的气味
51	丙酸叶醇酯	17.36	33467-74-2	—	—	1.90±0.41	蔬菜的芳香
52	甲酸戊酯	4.56	638-49-3	—	—	553.39±104.38	有水果香味
53	己酸香叶酯	19.88	10032-02-7	—	—	1.61±0.17	玫瑰、香叶和香蕉似香气
54	苯乙酸苯乙酯	20.09	102-20-5	—	—	0.46±0.05	—
55	苯甲酸3-羟基苯酯	4.51	136-36-7	—	90.49±8.82	—	—
56	丁酸芳樟酯	19.87	78-36-4	—	1.33±0.64	—	—
57	己酸乙酯	27.14	123-66-0	—	93.34±9.71	—	果香气息、醇香
58	丁酸香茅酯	36.72	141-16-2	—	9.74±0.86	—	强烈玫瑰香气, 苹果香味
59	丙酸-2-丙烯酯	4.46	2408-20-0	36.87±2.05	—	—	—
60	乙酸异丁酯	8.74	110-19-0	13.96±4.17	—	—	有水果香味
61	异丁酸叶醇酯	17.35	41519-23-7	2.34±0.92	—	—	水果和坚果的芳香
62	乳酸乙酯	2.73	97-64-3	509.56±20.94	—	—	优雅的果香
63	乳酸丁酯	5.35	138-22-7	0.12±0.03	—	—	—
64	水杨酸甲酯	20.68	119-36-8	2.44±0.21	—	—	清香, 薄荷, 香草味
酮类(6)							
65	大马士酮	28.34	23726-93-4	1.85±0.41 ^b	5.04±0.89 ^a	3.73±1.90 ^{ab}	花香, 玫瑰, 蜂蜜

续表 4

序号	挥发性物质	保留时间 (min)	CAS号	含量(μg/L)			香气描述 ^[31-35]
				HF	SF	MF	
66	邻甲基苯丙酮	4.87	2040-14-4	—	—	1.27±0.22	—
67	环丁酮	5.87	1191-95-3	—	—	1.33±0.35	舒适的气味
68	3,4-己二酮	8.75	4437-51-8	—	—	27.24±4.79	奶油似香气
69	3-羟基-2-丁酮	2.29	513-86-0	127.73±10.56	—	—	令人愉快的奶油香味
70	2-辛酮	13.07	111-13-7	1.91±0.25	—	—	花香和草香
其他(7)							
71	丁基羟基甲苯	31.59	128-37-0	7.93±1.24 ^c	55.76±4.79 ^a	29.09±5.60 ^b	—
72	乙二醇甲醚	1.95	109-86-4	—	—	3321.30±1624.95	略有醚的气味
73	丙酸酐	20.35	123-62-6	27.03±5.63 ^b	—	165.48±13.41 ^a	带有辛辣气味
74	苯基丁基醚	25.67	588-67-0	—	0.72±0.16	—	玫瑰和老鹳草似的花香气
75	2,4-二叔丁基酚	32.84	96-76-4	5.34±0.24	—	—	—

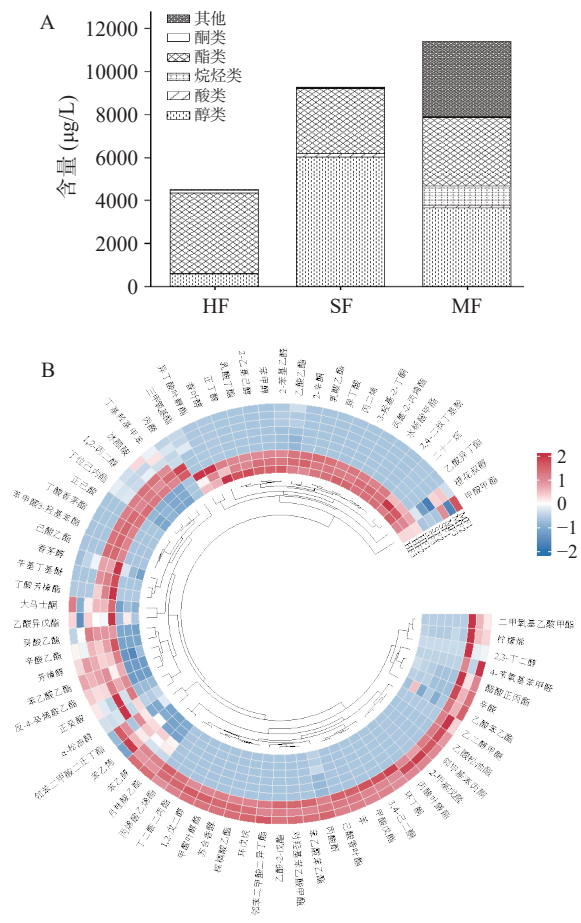


图4 蜂蜜茶酒挥发性化合物含量及风味热图
Fig.4 Content of volatile compounds and flavor heat map in honey tea wine
注: A.挥发性化合物含量图; B.风味热图。

合香醇、具有蜂蜜香气的苯乙酸乙酯、具有柠檬清香的乙酸松油酯、具有水果香味的甲酸戊酯等。因此,在香气物质的数量上,非酿酒酵母的加入有利于酒体更多挥发性化合物的生成;在香气物质的含量上,混菌发酵对部分种类挥发性成分有增强作用。

2.4.2 PLS-DA 分析 利用 PLS-DA 测定不同发酵策略的蜂蜜茶酒的挥发性特征是否存在显著差异。结果如图 5A 所示,三组样品分离清晰,不同样品间距离较远,表明差异明显。本次分析得到的 PLS-

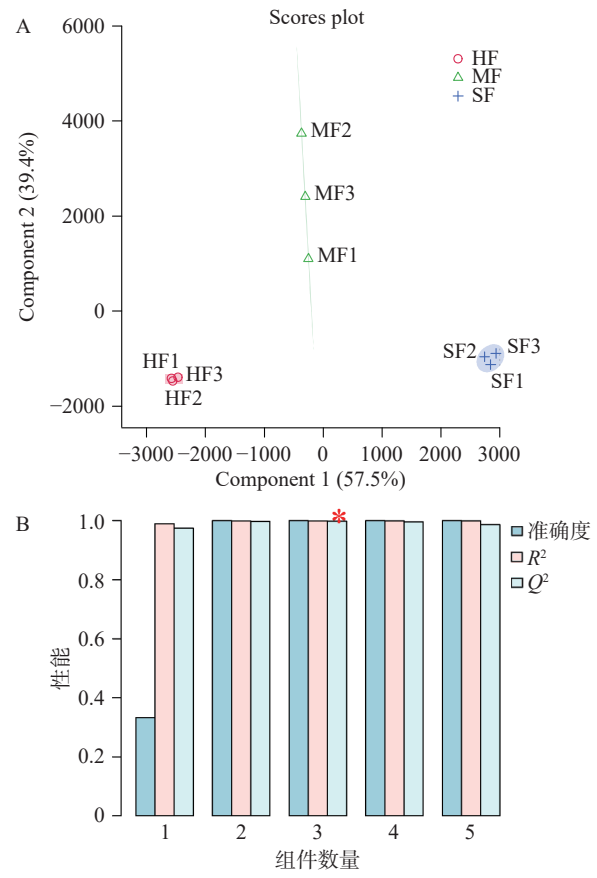


图5 蜂蜜茶酒挥发性物质的 PLS-DA 得分图、交叉验证图和置换检验图
Fig.5 PLS-DA score plots, cross-validation plots and substitution test plots for volatiles in honey tea wine
注: A.PLS-DA 得分图; B.交叉验证图; C.置换检验图。

DA 模型拟合良好(图 5B), 拟合指数 $R^2=0.99$, 预测精度 $Q^2=0.97$, 表明可以有效地将蜂蜜茶酒分为三种不同的类别。此外, 经过 100 次置换检验(图 5C), 证实了 PLS-DA 模型不存在过拟合, 模型验证有效。因此认为该结果可用于蜂蜜茶酒香气的鉴别分析, 且不同发酵方式香气成分有明显区别。

2.4.3 差异化合物分析 每个化合物都被分配了一个 VIP 分数, 量化了它对群体分离的贡献。VIP 分数越高, 意味着在区分群体方面的作用越显著^[36]。如图 6 所示, 1,2-丙二醇、乙二醇甲醚、乙酸乙酯、苯乙醇、丁位己内酯、环戊烷、甲酸戊酯、乳酸乙酯、醋酸正丙酯和辛酸乙酯 10 种挥发性化合物的 VIP 评分均大于 1。这些化合物被认为是三个样品组之间的主要区分因素。其中乙二醇甲醚、苯乙醇、环戊烷、甲酸戊酯和醋酸正丙酯在 MF 样品中含量较高。SF 中 1,2-丙二醇、丁位己内酯和辛酸乙酯的含量相对其他样品较高。在 HF 中, 异常汉逊酵母可以通过自身代谢产生乙酯类香气物质^[10], 因此其乙酸乙酯和乳酸乙酯含量最高。乙酯类是重要的酯类香气化合物, 可以给酒体带来怡人的花香和果香^[37]。其中乙酸乙酯是果酒中最重要的乙酯类化合物, 在较低浓度水平下具有令人愉悦的果香^[38]。由于非酿酒酵母的添加, MF 中乙酸乙酯含量显著高于 SF ($P<0.05$)。

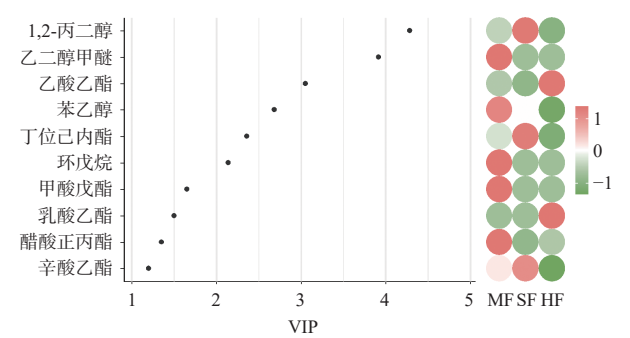


图 6 不同蜂蜜茶酒差异化合物 VIP 图
Fig.6 Differential compound VIP plots for different honey tea wine

然而食品风味不仅与其香气物质含量有关, 还与其 OAV 和贡献率有关。OAV 大于 1 时认为该香气组分对蜂蜜茶酒风味的影响更为关键, 且 OAV 值越大表明该物质对整体风味贡献更大^[28]。如表 5 所示, 通过查找阈值计算, 发现 $OAV>1$ 的物质共有 12 种, 分别为芳樟醇、苯乙醇、乙酸苯乙酯、乙酸异戊酯、甲酸戊酯、己酸乙酯、大马士酮、辛酸乙酯、醋酸正丙酯、乙酸-2-戊酯、2-苯基乙醛、3-羟基-2-丁酮。相较于 HF 和 SF, 混菌发酵蜂蜜茶酒的特征风味物质为苯乙醇、乙酸苯乙酯、甲酸戊酯、醋酸正丙酯和乙酸-2-戊酯。苯乙醇具有花香和甜味, 可以由 L-苯丙氨酸在发酵过程中通过脱氨酶、脱羧酶和还原酶的作用产生, 在发酵和成熟过程中可以与酸发生酯化, 从而使蜂蜜茶酒香气更加协调和平衡^[37]。乙酸苯乙酯是酒中最重要的风味活性酯之一, 能赋予酒样蜂

表 5 不同蜂蜜茶酒特征香气成分 OAV 分析

Table 5 OAV analysis of aroma characteristics of different honey tea wines

香气物质	阈值 ^[38-41] (μg/L)	OAV		
		HF	SF	MF
芳樟醇	15	1.56	2.37	2.36
苯乙醇	1000	0.16	1.08	1.92
乙酸苯乙酯	88	1.08	0.87	2.13
乙酸异戊酯	30	1.16	1.58	1.21
甲酸戊酯	360	—	—	1.54
己酸乙酯	14	—	6.67	—
大马士酮	0.12	15.42	42	31.08
辛酸乙酯	194	0.07	2.17	1.39
醋酸正丙酯	200	0.28	—	2.16
乙酸-2-戊酯	2	—	—	21.82
2-苯基乙醛	2	1.07	—	0.08
3-羟基-2-丁酮	55	2.32	—	—

蜜甜香、玫瑰花香和苹果果香^[38]。甲酸戊酯与醋酸正丙酯的风味特征分别为梨似香气和具有芹菜、覆盆子、梨的水果味^[39], 因此为 MF 样品增添了水果香气。由此可见, 混菌发酵蜂蜜茶酒风味不仅具有酿酒酵母纯种发酵甜香浓郁、酯香突出的特征, 还具有轻微的水果香气和花香, 总体风味特征丰富于 SF。

3 结论

本试验通过基本理化性质、有机酸含量、多酚含量、挥发性物质等指标综合分析了混菌发酵型蜂蜜茶酒的风味与品质, 并与单菌发酵进行了对比。结果表明: 与 SF 组相比, 混菌发酵降低了有机酸含量和总酸水平, 提高了总酚和总黄酮含量。不同菌种发酵制得酒样的儿茶素含量均处于较高水平。电子鼻结果表明, MF 和 SF 在挥发性物质上与 HF 差异比较大, 且传感器的响应值均为 MF>SF(W1C 除外)。GC-MS 共检测到 75 种挥发物, 混菌发酵使蜂蜜茶酒中挥发性化合物的含量增加, MF 的酯类种类多于 SF 和 HF。PLS-DA 结果表明, 三种蜂蜜茶酒的挥发性成分分离较好, 并筛选出 10 种 $VIP>1$ 的挥发性化合物。OAV 分析计算出 12 种 $OAV>1$ 的关键风味物质, 相较于 HF 和 SF, MF 中苯乙醇、甲酸戊酯、醋酸正丙酯等物质对其香气形成影响较大。综上所述, 混菌发酵蜂蜜茶酒比单菌发酵更具优势, 非酿酒酵母的加入为其增添了具有花香和果香的香气成分, 总体风味特征更加丰富。本文为混菌发酵新型酒精饮料提供了参考, 为茶叶副产物及蜂产品深加工开发奠定了理论基础。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] 胡燕. 茶酒褐变原因及解决方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(10): 373–378. [HU Y. Research progress in the rea-

- sons and solutions of tea liquor browning[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(10): 373–378.]
- [2] 马懿, 禹潇, 魏鑫, 等. 发酵型猕猴桃红茶酒品质及风味感官分析[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(12): 265–274. [MA Y, YU X, WEI X, et al. Quality and flavor sensory analysis of fermented kiwi black tea wine[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(12): 265–274.]
- [3] 孙礼雪, 关丽杰. 茶叶副产物的活性成分及其在动物生产中的应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2024, 47(2): 166–171. [SUN L X, GUAN L J. Research progress on active components of tea by-products and its application in animal production[J]. *Feed Research*, 2024, 47(2): 166–171.]
- [4] MAIGORZATA S, MICHAEL G. Trends in food science & technology an overview of mead production and the physicochemical, toxicological, and sensory characteristics of mead with a special emphasis on flavor[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 106: 402–416.
- [5] ALEXANDRACOSTINA A, RODICA C P, ELENA M, et al. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts on the volatile and phenolic profiles of rosehip mead[J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2023, 12(7): 1457–1465.
- [6] 邵建波, 李印所, 薛永春, 等. 非酿酒酵母在葡萄酒中的作用研究进展[J]. *现代食品*, 2024, 30(15): 82–87. [SHAO J B, LI Y S, XUE Y C, et al. Research progress on the role of non-*Saccharomyces cerevisiae* in wine[J]. *Modern Food*, 2024, 30(15): 82–87.]
- [7] HU L L, LIU R, WANG X H, et al. The sensory quality improvement of citrus wine through co-fermentations with selected non-*Saccharomyces* yeast strains and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(3): 323–331.
- [8] NUNO M B, MARGARIDA P, PINTO M R, et al. Use of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora opuntiae* to enhance the aromatic profile of beer in mixed-culture fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Food Microbiology*, 2020, 95: 103678.
- [9] ZHANG Z, WANG H Q, XIA H C, et al. Wine aroma modification by *Hanseniaspora uvarum*: A multiple-step strategy for screening potential mixed starters[J]. *Food Chemistry: X*, 2023, 20: 100930–100942.
- [10] 郑超群, 陈晨, 蒋予箭, 等. 酿酒酵母和异常汉逊酵母混合发酵黄酒工艺研究[J]. *中国食品学报*, 2024, 24(1): 146–159. [ZHENG C Q, CHEN C, JIANG Y J, et al. Study on the process of fermentation of yellow wine by a mixture of *Saccharomyces cerevisiae* and *H. anomala*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2024, 24(1): 146–159.]
- [11] 陈明鑫. 红曲梨醋研制及其饮料调配研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021. [CHEN M X. Study on the preparation of *Mona-scus* pear vinegar and its beverage blending[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.]
- [12] 何瑞. 蜂蜜酒的酿造工艺、风味成分及其抗氧化活性的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017. [HE R. Studies on brewing technology, flavor components and antioxidant activity of mead[D]. Chongqing: Southwest University, 2017.]
- [13] JIANG J Q, YIN R N, XIE Y, et al. Effects of cofermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and different lactic acid bacteria on the organic acid content, soluble sugar content, biogenic amines, phenol content, antioxidant activity and aroma of prune wine[J]. *Food Chemistry: X*, 2024, 22: 101502–101511.
- [14] LI Y J, ZHANG S, SUN Y M. Measurement of catechin and gallic acid in tea wine with HPLC[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(1): 214–221.
- [15] LIU J J, WAN Y, CHEN Y R, et al. Evaluation of the effect of *Torulaspora delbrueckii* on important volatile compounds in navel orange original brandy using E-nose combined with HS-SPME-GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2024, 453: 139625–139633.
- [16] XIA Y N, ZHA M S, LIU H, et al. Novel Insight into the formation of odour—active compounds in sea buckthorn wine and distilled liquor based on GC-MS and E-nose analysis[J]. *Foods*, 2022, 11(20): 3273.
- [17] 李海峰, 李砢, 牟志勇, 等. 非酿酒酵母在酒类酿造过程中的微生物相互作用及功能特性研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(7): 313–323. [LI H F, LI S, MOU Z Y, et al. Research progress on microbial interaction and functional characteristics of non-*Saccharomyces* yeasts in wine brewing process[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(7): 313–323.]
- [18] GUO C C, DENG H X, LI E H, et al. Removal of acetic acid in mulberry wine by co-inoculating *Saccharomyces cerevisiae* with indigenous non-*Saccharomyces* yeast[J]. *Food Bioscience*, 2024, 58: 103658–103667.
- [19] LUO Q Q, ZHANG D, ZHOU J T, et al. Oxidation of tea polyphenols promotes chlorophyll degradation during black tea fermentation[J]. *Food Research International*, 2024, 196: 115016–115028.
- [20] YAN Y, ZOU M X, TANG C, et al. The insights into sour flavor and organic acids in alcoholic beverages[J]. *Food Chemistry*, 2024, 460(P3): 140676.
- [21] ŠVECOVÁ B, BORDOVSKÁ M, KALVACHOVÁ D, et al. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 38: 80–88.
- [22] BRANDAO A S, CALEJA C, DIAS M I, et al. Valorization of pomace from craft cider: Nutritional value, chemical composition, and phenolic and mineral profiles[J]. *eFood*, 2023, 4(3): e85.
- [23] XU W, WANG X X, JIA W B, et al. Dynamic changes in the major chemical and volatile components during the ‘Ziyan’ tea wine processing[J]. *LWT*, 2023, 186: 115273–115282.
- [24] BAYRAM M, KAYA C. Effects of different tea concentrations and extraction durations on caffeine and phenolics of tea liqueurs[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, 12(1): 285–291.
- [25] CHENG J, LIN B, ZHENG F J, et al. Characterization of the pure black tea wine fermentation process by electronic nose and tongue-based techniques with nutritional characteristics[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(13): 12538–12547.
- [26] XU N, LAI Y H, SHAO X F, et al. Different analysis of flavors among soft-boiled chicken: Based on GC-IMS and PLS-DA[J]. *Food Bioscience*, 2023, 56: 103243–103256.
- [27] 常旭龙, 周青霞, 马文聪, 等. 不同发酵剂发酵酸奶的风味及理化特性的研究[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(8): 263–271. [CHANG X L, ZHOU Q X, MA W C, et al. Research on the flavor and physicochemical characteristics of yogurt fermented by different starter cultures[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(8): 263–271.]
- [28] HU K, JIN G J, XU Y H, et al. Wine aroma response to different participation of selected *Hanseniaspora uvarum* in mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Food Research International*, 2018, 108: 119–127.
- [29] 王香君, 蒲军, 夏文银, 等. 桑果中非酿酒酵母的分离鉴定及混菌发酵果酒研究[J]. *中国酿造*, 2024, 43(1): 91–98. [WANG

- X J, PU J, XIA W Y, et al. Isolation, identification and mixed fermentation of non-*Saccharomyces* from mulberry fruit[J]. *China Brewing*, 2024, 43(1): 91–98.]
- [30] ZHANG B Q, LUAN Y, DUAN C Q, et al. Use of *Torulaspora delbrueckii* co-fermentation with two *Saccharomyces cerevisiae* strains with different aromatic characteristic to improve the diversity of red wine aroma profile[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 606–614.]
- [31] 任玲, 田迪, 杨雪怡, 等. 发酵前后添加百香果果汁对工夫红茶品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(11): 60–68. [REN L, TIAN D, YANG X Y, et al. The Effect of adding passion fruit juice before and after fermentation on the quality of Congou black tea[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2025, 46(11): 60–68.]
- [32] 黄翠, 王凤丽, 陈耀林, 等. 基于 GC-MS 和 GC-O 的茶本酒中特征风味物质研究[J]. *茶叶科学*, 2023, 43(5): 703–717. [HUANG C, WANG F L, CHEN Y L, et al. Study on characteristic flavor substances in tea aroma type distilled spirit based on GC-MS and GC-O[J]. *Journal of Tea Science*, 2023, 43(5): 703–717.]
- [33] 史玉, 黄一承, 马艳丽, 等. 玫瑰、丁香和百合露酒风味物质分析[J]. *中国酿造*, 2022, 41(1): 221–225. [SHI Y, HUANG Y C, MA Y L, et al. Analysis of flavor compounds of rose, clove and lily Lujiao[J]. *China Brewing*, 2022, 41(1): 221–225.]
- [34] 易子程, 常腾文, 司慧宁, 等. 本土非酿酒酵母对混合发酵威代尔冰酒风味及品质影响的比较分析[J]. *食品与发酵工业*, 2025, 51(12): 215–225. [[YI Z C, CHANG T W, SI H N, et al. Comparative analysis of impact of local non-*Saccharomyces* yeasts on flavor and quality of mixed-fermented vidal ice wine[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2025, 51(12): 215–225.]
- [35] 李嘉欣, 徐彬艳, 俞柏含, 等. 果汁复配比例和混菌发酵对富士-美乐复合果酒品质的影响[J]. *食品科学*, 2025, 46(4): 81–90. [LI J X, XU B Y, YU B H, et al. Effectsof fruit juice ratio and mixed culture fermentation on the quality of Fuji-Merlot wine[J]. *Food Science*, 2025, 46(4): 81–90.]
- [36] ZHANG M Z, GOU D F, WANG H Q, et al. Comparative profiling of microbial communities and volatile organic compounds in fermented wrapper, binder, and fillercigar tobaccos[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2024, 11(1): 68–76.]
- [37] 黄娜, 罗玲, 罗惠波, 等. 热带假丝酵母对苹果酒风味物质合成的影响[J]. *食品工业*, 2023, 44(6): 143–148. [HUANG N, LUO L, LUO H B, et al. Effect of *Candida tropicalis* on the synthesis of flavor substances in cider[J]. *The Food Industry*, 2023, 44(6): 143–148.]
- [38] 李甜, 雷雨, 李东, 等. 不同非酿酒酵母与酿酒酵母顺序发酵对茵红李果酒风味的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(24): 179–187. [LI T, LEI Y, LI D, et al. Impact of sequential fermentation with different non-*Saccharomyces* yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* on the aroma of Yin hong plum wine[J]. *Food Science*, 2023, 44(24): 179–187.]
- [39] YU X C, ZHANG W J, XIN L Y, et al. Evaluation of flavor substances of ricebran kvass based on electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Chemistry: X*, 2024, 21: 101161–101174.]
- [40] 王智莹. 葡萄有孢汉逊酵母的筛选及葡萄酒特性研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2022. [WANG Z Y. Screening of *Hanseniaspora uvarum* and study on the characteristics of wine[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2022.]
- [41] PEI G, ZHANG Z Q, JIANG Q X, et al. Metabolomics ravel s flavor compound formation and metabolite transformation in rapid fermentation of salt-free fish sauce from catfish frames induced by mixed microbial cultures[J]. *Food Chemistry*, 2025, 463(P2): 141246–141246.]