

地霉属菌株发酵梨渣产香气成分的 GC/MS 分析

朱 静, 师俊玲, 刘拉平

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研究微生物发酵法生产梨渣饲料的风味和香气成分,为梨渣发酵优良菌株的选育提供依据。【方法】利用地霉属菌株 TF 和 TM 对新鲜梨渣进行固态发酵,并用 GC/MS 方法分析鉴定发酵过程中所产挥发性物质的种类和相对含量。【结果】在发酵和未发酵梨渣中共检出化合物 81 种,鉴定出化合物 77 种,其中未发酵梨渣中鉴定出 31 种,TF 和 TM 发酵梨渣中分别鉴定出 38 和 37 种;除反式-4-癸烯酸乙酯为发酵和未发酵梨渣共有物质以外,其他物质均不相同。未发酵梨渣中挥发性成分主要是酚、烷类及其他物质(18 种,相对含量为 49.35%),醛、酸类(7 种,相对含量为 36.70%)和酯类(11 种,相对含量为 14.45%);经 TF 和 TM 发酵后的梨渣中,主要挥发性物质为酯类(TF 29 种,相对含量为 74.83%;TM 31 种,相对含量为 88.86%)、醇类(TF 4 种,相对含量为 22.17%;TM 4 种,相对含量为 10.15%)和少量醛、酸类(TF 2 种,相对含量为 1.53%;TM 1 种,相对含量为 0.52%)。酯类是地霉属菌株 TF 和 TM 发酵梨渣中的主要化合物。【结论】发酵能够有效地提高梨渣中酯类和醇类的种类和含量,减少醛、酸、酚、烷类及其他物质的种类和含量,并能有效提高梨渣的风味。

【关键词】 地霉属;梨渣;挥发性成分;GC/MS

【中图分类号】 TS264.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)02-0171-08

GC/MS analysis of the aroma compounds produced in pear pomace by *Geotrichum fungi*

ZHU Jing, SHI Jun-ling, LIU La-ping

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

Abstract: 【Objective】 Pear pomace flavor and production of aroma compounds were studied by fermentation in order to provide theoretical basis as well as screening good strains in this field. 【Method】 The paper studied the kinds and relative concentration of the volatile compounds produced by two *Geotrichum fungi* TF and TM during the solid state fermentation in fresh pear pomace. GC/MS was used in the research. 【Result】 Eighty one compounds were found in the fermented pear pomace (the sample) and the unfermented pear pomace (the control) in total. Among them, 77 compounds were identified including 31 in the unfermented pear pomace, 38 and 37 components fermented in pear pomace by the strains TF and TM, respectively. Ethyl trans-4-decenoate was the only one appeared in both samples and the control. Volatile compounds in the unfermented pear pomace were mainly phenol, alkyl and other compounds (18 kinds, taking up relative content of 49.35%), aldehyde and acid (7 kinds, taking up relative content 36.70%), and esters (11 kinds, taking up relative content 14.45%). The volatile compounds in the fermented pear pomace by the strains TF and TM were mainly esters of 29 kinds, 74.83% and 31 kinds, 88.86%, substances with alcohols of 4 kinds, 22.17% and 4 kinds, 10.15%, and small amount of aldehyde and acid of 2 kinds,

* [收稿日期] 2009-08-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(20862014);国家葡萄产业技术体系专项(nycytx-30-ch-03);西北农林科技大学农业科技创新专项(CX200905)

[作者简介] 朱 静(1983—),女,陕西西安人,在读硕士,主要从事食品生物技术研究。E-mail: zhujingcy@yahoo.com.cn.

[通信作者] 师俊玲(1972—),女,陕西渭南人,教授,博士,博士生导师,主要从事食品生物技术研究。

E-mail: sjlshi2004@yahoo.com.cn.

1.53% and 1 kind, 0.52% for the strains TF and TM respectively. Esters is the main compounds fermented by the *Geotrichum fungi* TF and TM. 【Conclusion】 In conclusion, fermentation with the two strains of *Geotrichum fungi* could effectively enhance the varieties and contents of the ester and substances with alcohols in pear pomace and reduce that of other compounds including aldehyde acid, phenol, and alkyl substances, and thus improve the flavor of the pear pomace.

Key words: *Geotrichum fungi*; pear pomace; volatile component; GC/MS

梨渣是以梨为原料,经榨汁工艺提取果汁后留下的废弃物,主要是胞壁组织和一定数量的果核及果柄。梨渣约占原果总质量的 40%~50%。据美国联邦农业服务社(FAS)2007~2008 年全球梨市场与贸易报告可知,阿根廷和中国是世界上最大的梨果出口国。中国每年榨汁梨产量为 1 289.5 万 t,浓缩梨汁产量为 6 万 t,同时产出梨渣 4~5 万 t。随着梨汁消费范围和人群的增大,梨渣的后续处理和再次加工利用问题将日益突出。有效的梨渣处理技术,将对我国梨产业的发展起到重要的推动作用。梨渣中含有丰富的膳食纤维^[1],现多被用于提取酚类物质^[2]和水溶性膳食纤维^[3]。微生物发酵也是提高梨渣附加值的一种有效措施,如可用于发酵生产乙醇。梨渣中含有的纤维素也可以作为工业原料。此外,由于梨渣中还含有少量的蛋白质和维生素,可以用作饲料。发酵梨渣产香不仅可以提高梨深加工产品的附加值,延长产业链,而且还可以变废为宝,解决环境污染问题。

白地霉是食品加工中常用的微生物,其安全性高,而且能增加饲料中总蛋白质含量。王庆国等^[4]从土壤中分离得到了 2 株产酯能力较强的白地霉 XJB45 和 XJA58,并通过研究发现,培养基种类对 2 菌株的产酯能力有明显影响。本实验室的前期研究也发现,地霉属菌株 TF 和 TM 在土豆汁葡萄糖培养液中能够产生浓郁的果香味,将其用于梨渣发酵,有望提高梨渣的风味,甚至可用于发酵法生产香气成分。根据已有研究,微生物菌种和培养基的种类对发酵所产香气种类有重要影响。朱红惠等^[5]在育苗盘中对番茄接种 5 种丛枝根根真菌,结果发现不同菌种对移栽后番茄的营养生长和生殖生长有一定影响。张彦茹等^[6]通过对 4 个菌种在豆酱生产中的分解能力及其对豆酱色泽、红色指数以及最终产品的香气和体态影响的研究发现,有些菌种能够有效改善豆酱香气、色泽、体态,有些菌种则不能。

固相微萃取方法(SPME)是 20 世纪 90 年代后发展起来的样品处理方法,已广泛地应用于多种样品中挥发性和半挥发性有机物的分析,这种方法集

采样、萃取、浓缩、进样于一体,无需有机溶剂,操作简单,有着十分广泛的应用前景^[7-9]。为了考察地霉属菌株 TF 和 TM 发酵梨渣所产香气成分的种类和相对含量,本研究用其对梨渣进行固态发酵,以 SPME 法提取、富集其香气成分,并用 GC/MS 法分析鉴定发酵过程中所产挥发性物质的种类和相对含量,以期在 TF 和 TM 在梨渣发酵中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 培养基与微生物

梨渣培养基的制备:选取市售健康的梨(-4℃冷藏),用自来水冲洗 2~3 次,再用蒸馏水冲洗 2 次,榨汁后的果渣(含水量为 72.2%)备用。称取上述果渣 30 g,装入 250 mL 三角瓶中,震荡使其平铺于瓶底,厚度约为 2 cm,在 121℃下灭菌 20 min,自然 pH(约 5.4)。

地霉属菌株 TF 和 TM,由西北农林科技大学食品科学与工程学院食品生物工程实验室保存,分离自苹果园土壤。经分类鉴定,确定菌株 TF 为白地霉,而菌株 TM 则未能鉴定至种。

1.2 主要仪器与设备

TRACE DSQ GC-MS 联用仪,美国 Finnigan 公司产品;配有 DB-WAX(3 m×0.25 mm×0.25 μm)的弹性石英毛细管柱,美国 Agilent 公司产品;手动 SPME 进样器和 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,均为美国 Supelco 公司产品;ES-315 全自动高压灭菌锅,广州东南科仪有限公司产品;SPX-300B 生化培养箱,上海跃进医疗器械厂生产;AIR TECH 超净工作台,苏净集团安泰公司产品;HWS-380 智能恒温恒湿箱,宁波海曙塞福实验仪器厂生产;气相色谱/质谱联用仪,美国 Finnigan 公司产品;榨汁机,联创 DF-9588。

1.3 试验方法

1.3.1 TF 和 TM 孢子悬浮液的制备 将 TF 和 TM 接入马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基,30℃下静置培养 7 d,用无菌水冲洗收集 TF 和 TM 孢子,

制备孢子悬浮液,用血球计数板测定其孢子浓度,用无菌水调整孢子浓度为 $2.6\times 10^7\text{ mL}^{-1}$,备用。

1.3.2 样品的制备 向 1.1 准备好的梨渣培养基中,接入制备好的 TF 和 TM 孢子悬浮液 1 mL,搅拌均匀后,在生化培养箱中于 30 ℃(该菌的最适生长温度)下静置培养 7 d。培养的前 2 d 用硅胶塞封口,之后用封口膜封口。对照为经同样处理,但不接种菌种的未发酵梨渣培养基。

1.3.3 样品的处理与检测 将 1.3.2 培养 7 d 的对照和发酵样品放入 30 ℃水浴中平衡 10 min。将固相微萃取的萃取头在气相色谱仪的进样口于 250 ℃老化 1 h,然后插在样品瓶上,吸附 40 min 后拔出,插入气相色谱仪进样口,于 250 ℃解析 5 min,进行 GC/MC 测定。

1.3.4 GC/MS 检测条件 检测条件为:程序升温 40 ℃,保持 2.5 min,以 5 ℃/min 升至 200 ℃,再以 10 ℃/min 升至 240 ℃,保持 5 min;进样口 250 ℃;传输线 230 ℃;载气为氦气,流速 1.0 mL/min;不分流进样。电离方式 EI,70 eV;离子源温度 250 ℃,质量扫描范围 35~400 amu;发射电流 100 μA ,检测电压 1.4 kV。

1.3.5 数据处理 利用随机 Xcalibur 工作站 NIST2002 标准谱库自动检索各组分质谱数据,参考文献[10-11]及标准谱图^[12],对机检结果进行核对和确认,按面积归一化法计算各组分的相对含量。

2 结果与分析

在对照和发酵样品中共检出 81 种化合物,根据 NIST2002 标准谱库^[12]和文献[10-11]定性出的化

合物有 77 种(表 1)。定性组分的峰面积占对照及 TF 和 TM 发酵梨渣检出物总峰面积的比例(相对含量)分别为 70.59%,99.60%和 99.83%。

2.1 梨渣香气成分分析

2.1.1 发酵前后梨渣中香气成分的总体分析 由表 1 可见,未接种的梨渣中共检出化合物 31 种,TF 和 TM 发酵样品中分别检出化合物 38 和 37 种。除反式-4-癸烯酸乙酯是未发酵梨渣和发酵梨渣中共有的物质以外,其他物质均不相同。经菌株 TF 和 TM 发酵后的梨渣中检出的化合物大多相同,只是相对含量有所差异。未发酵梨渣及菌株 TF 和 TM 发酵梨渣中反式-4-癸烯酸乙酯的相对含量分别为 0.79%,0.94%和 0.40%。

在对照和发酵样品中,香气化合物主要有酯类、醇类、醛酸类、酚烷类及其他物质。酯类是发酵后梨渣的主要香气物质,而发酵前梨渣中香气物质主要是醛酸类、酚烷类。总体而言,梨渣经地霉属菌株 TF 和 TM 发酵后,其中的酯类(发酵前为 11 种,相对含量 14.45%;经 TF 和 TM 发酵后分别为 29 和 31 种,相对含量分别为 74.83%和 88.86%)和醇类(发酵前 2 种,相对含量 6.76%;经 TF 和 TM 发酵后均为 4 种,相对含量分别为 22.17%和 10.15%)增加;醛、酸类物质(发酵前 7 种,相对含量为 36.70%;经 TF 和 TM 发酵后分别为 2 和 1 种,相对含量分别为 1.53%和 0.52%)和酚烷类其他物质(发酵前 11 种,相对含量 12.65%;经 TF 和 TM 发酵后分别为 3 和 1 种,相对含量分别为 1.07%和 0.30%)减少。

表 1 发酵梨渣和未发酵梨渣主要挥发性物质的比较

Table 1 Volatile compounds in the fermented and unfermented pear pomace

类别 Category	保留 时间/min RT	序号 Number	化合物名称 Compounds name	分子量 Molecular weight	分子式 Molecular formula	相对含量/% Relative content		
						TF	TM	CK
酯类 Esters	3.16	1	乙酸乙酯 Ethyl Acetate	88	C ₄ H ₈ O ₂	8.64	9.68	—
	4.25	2	丙酸乙酯 Propanoic acid,ethyl ester	102	C ₅ H ₁₀ O ₂	3.73	6.41	—
	4.40	3	2-甲基丙酸乙酯 Propanoic acid,2-methyl-,ethyl ester	116	C ₆ H ₁₂ O ₂	13.06	16.0	—
	5.33	4	乙酸异丁酯 Acetic acid,2-methylpropyl ester	116	C ₆ H ₁₂ O ₂	1.55	1.56	—
	5.85	5	丁酸乙酯 Butanoic acid,ethyl ester	116	C ₆ H ₁₂ O ₂	3.27	4.89	—
	6.14	6	2-甲基-2 丙烯酸乙酯 2-Propenoic acid,2-methyl-,ethyl ester	114	C ₆ H ₁₀ O ₂	—	0.22	—
	6.22	7	2-甲基-丁酸乙酯 Butanoic acid,2-methyl-,ethyl ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂	8.23	9.51	—
	6.58	8	3-甲基-丁酸乙酯 Butanoic acid,3-methyl-,ethyl ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂	4.59	—	—
	6.87	9	丙酸异丁酯 Propanoic acid,2-methylpropyl ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂	0.60	1.03	—

续表 1 Continued table 1

类别 Category	保留 时间/min RT	序号 Number	化合物名称 Compounds name	分子量 Molecular weight	分子式 Molecular formula	相对含量/% Relative content		
						TF	TM	CK
酯类 Esters	7.05	10	丙酸-2-甲基丙酯 Propanoic acid,2-methyl-,2-methylpro- pyl ester	144	C ₈ H ₁₆ O ₂	1.35	—	—
	7.86	11	3-甲基-1-丁醇乙酸酯 1-Butanol,3-methyl-,acetate	130	C ₇ H ₁₄ O ₂	7.95	4.55	—
	8.10	12	戊酸乙酯 Pentanoic acid,ethyl ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂	0.46	8.17	—
	8.65	13	丁酸-2-甲基丙酯 Butanoic acid,2-methylpropyl ester	144	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.39	2.46	—
	9.06	14	2-丁烯酸乙(醇)酯 2-Butenoic acid,ethyl ester	114	C ₆ H ₁₀ O ₂	—	0.24	—
	9.06	15	2-甲基丁酸丁酯 Butyl 2-methylbutanoate	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	0.73	—	—
	9.26	16	2-甲基丙基-2-甲基丁酸酯 Butanoic acid,2-methyl-,2-methylprop- yl ester	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	—	0.98	—
	9.52	17	3-甲基-1-丁醇丙酸酯 1-Butanol,3-methyl-,propanoate	144	C ₈ H ₁₆ O ₂	2.41	3.63	—
	9.61	18	2-甲基丙酸-3-甲基丁酯 Propanoic acid,2-methyl-,3-methylbu- tyl ester	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	6.46	6.16	—
	10.64	19	3-甲基-2-丁烯酸乙酯 2-Butenoic acid,3-methyl-,ethyl ester	128	C ₇ H ₁₂ O ₂	0.28	0.49	—
	10.77	20	癸酸乙酯 Hexanoic acid,ethyl ester	144	C ₈ H ₁₆ O ₂	1.43	1.89	—
	10.94	21	巴豆酸乙酯 Ethyl tiglate	128	C ₇ H ₁₂ O ₂	1.00	1.34	—
	11.63	22	丁酸 3-甲基丁基酯 Butanoic acid,3-methylbutyl ester	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	1.25	1.59	—
	11.93	23	2-甲基丁酸-3-甲基丁酯 Butanoic acid,2-methyl-,3-methylbutyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2.34	2.06	—
	12.00	24	己基乙酸酯 Acetic acid,hexyl ester	144	C ₈ H ₁₆ O ₂	—	—	1.29
	12.15	25	2-甲基丁酸-2-甲基丁酯 Butanoic acid,2-methyl-,2-methylbutyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.54	0.56	—
	12.59	26	3-甲基丁酸 3-甲基丁酯 Butanoic acid,3-methyl-,3-methylbutyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1.14	2.50	—
	13.91	27	2-己烯酸乙酯 2-Hexenoic acid,ethyl ester	142	C ₈ H ₁₄ O ₂	0.68	—	—
	14.00	28	E-2-己烯酸乙酯 Ethyl 2-hexenoate	142	C ₈ H ₁₄ O ₂	—	1.01	—
	14.15	29	己酸-2-甲基丙酯 Hexanoic acid,2-methylpropyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	—	0.18	—
	14.38	30	3-甲基丁基戊酸酯 Pentanoic acid,3-methylbutyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	—	0.21	—
	15.82	31	丁酸己基酯 Butanoic acid,hexyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	—	—	1.03
	16.10	32	丁酸 2-甲基己基酯 Butanoic acid,2-methyl-,hexyl ester	186	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	—	—	1.53
	16.32	33	辛酸乙酯 Octanoic acid,ethyl ester	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	—	0.28	—
	16.92	34	己酸异戊酯 Isopentyl hexanoate	186	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.51	0.29	—
	17.33	35	4-辛烯酸乙酯 4-Octenoic acid,ethyl ether	170	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	—	0.15	—
	18.27	36	Glycine, N-[4-(trimethylsilyl) oxy] benzoyl]-, methyl ester	281	C ₁₃ H ₁₉ NO ₄ Si	—	—	1.97
	18.70	37	di-TMS -4-羟基扁桃酸乙酯 4-Hydroxymandelic acid,ethyl ester,di- TMS	340	C ₁₆ H ₂₈ O ₄ Si ₂	—	—	2.46
	19.32	38	2-辛烯酸乙酯 2-Octenoic acid,ethyl ester	170	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	—	0.26	—
	19.90	39	环戊甲酸 3-甲基丁基酯 Cyclopentanecarboxylic acid,3-methyl- butyl ester	184	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	0.31	—	—
	19.95	40	环戊甲酸戊酯 Cyclopentanecarboxylic acid,pentyl es- ter	184	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	—	0.16	—

续表 1 Continued table 1								
类别 Category	保留 时间/min RT	序号 Number	化合物名称 Compounds name	分子量 Molecular weight	分子式 Molecular formula	相对含量/% Relative content		
						TF	TM	CK
酯类 Esters	21.94	41	反式-4-癸烯酸乙酯 Ethyl trans-4-decenoate	198	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.94	0.40	0.79
	26.13	42	十三酸乙酯 Ethyl tridecanoate	242	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.28	—	—
	26.80	43	苯乙基丁酸酯 á-Phenylethyl butyrateá-	192	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	—	—	1.14
	28.51	44	2-甲基丙酸-2-苯乙酯 Propanoic acid, 2-methyl-, 2-phenyleth- yl ester	192	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	—	—	0.98
	28.66	45	3-甲基苯乙醇乙酸酯 Butanoic acid, 3-methyl-, 2-phenylethyl ester	206	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	—	—	0.76
	29.45	46	4-Hydroxy-non-2-ynoic acid, ethyl ester	198	C ₁₁ H ₁₈ O ₃	0.41	—	—
	38.04	47	1,2-苯二甲酸丁基辛酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, butyl oc- tyl ester	334	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	0.30	—	—
	38.07	48	邻苯二甲酸二异丁酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2- methylpropyl) ester	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	—	—	0.92
	39.86	49	1,2-苯二甲酸丁基 2-乙己基酯 1, 2-Benzenedicarboxylic acid, butyl- ethylhexyl ester	334	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	—	—	1.58
醇类 Alcohols	3.92	50	乙醇 Ethanol	46	C ₂ H ₆ O	14.66	5.19	—
	7.46	51	2-甲基-1-丙醇 1-Propanol, 2-methyl-	74	C ₄ H ₁₀ O	1.38	0.75	—
	10.50	52	3-甲基-1-丁醇 1-Butanol, 3-methyl-	88	C ₅ H ₁₂ O	4.47	3.17	—
	14.23	53	正己醇 1-Hexanol	102	C ₆ H ₁₄ O	—	—	5.90
	15.08	54	(Z)-3-己烯-1-醇 3-Hexen-1-ol, (Z)-	100	C ₆ H ₁₂ O	—	—	0.86
	27.46	55	苯乙醇 Phenylethyl Alcohol	122	C ₈ H ₁₀ O	1.66	1.04	—
醛、酸类 Aldehyd-es, Acids	6.89	56	正己醛 Hexanal	100	C ₆ H ₁₂ O	—	—	1.48
	15.27	57	壬醛 Nonanal	142	C ₉ H ₁₈ O	—	—	24.86
	17.28	58	糠醛 Furfural	96	C ₅ H ₄ O ₂	—	—	3.35
	25.28	59	2,4-癸二烯醛 2,4-Decadienal	152	C ₁₀ H ₁₆ O	—	—	1.53
	1.53	60	丙炔酸 Propiolic acid	70	C ₃ H ₂ O ₂	0.96	0.52	—
	17.11	61	草酸 Oxalic acid	90	C ₂ H ₂ O ₄	—	—	2.33
	17.11	62	乙酸 Acetic acid	60	C ₂ H ₄ O ₂	—	—	2.33
	32.55	63	壬酸 Nonanoic acid	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	—	—	0.82
	39.81	64	棕榈酸 Palustric acid	302	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	0.57	—	—
酚、烷类和其他物质 Phenols, alkanes and others	29.47	65	苯酚 Phenol	94	C ₆ H ₆ O	—	—	0.78
	9.63	66	正十二烷 Dodecane	170	C ₁₂ H ₂₆	—	—	1.85
	13.26	67	(Z)-4-己烯-1-醇乙酸盐 4-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	142	C ₈ H ₁₄ O ₂	—	—	0.77
	15.15	68	十四烷 Tetradecane	198	C ₁₄ H ₃₀	0.38	0.30	—
	16.47	69	十六烯 1-Hexadecenel-	224	C ₁₆ H ₃₂	—	—	0.85
	16.76	70	2-甲基-十四烷 Tetradecane, 2-methyl-	212	C ₁₅ H ₃₂	—	—	0.80
	17.87	71	十五烷 Pentadecane	212	C ₁₅ H ₃₂	—	—	1.18
	19.43	72	戊基环丙烷 Cyclopropane, pentyl-	112	C ₈ H ₁₆	—	—	0.92
	19.53	73	1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8- trimethyl-9-methylene-, [1S-(1á, 3aá, 4á,8aá)]-	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.90
	21.46	74	(Z)-3-十六烯 3-Hexadecene, (Z)-	224	C ₁₆ H ₃₂	—	—	0.83
	23.88	75	à-金合欢烯 à-Farnesene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.80
	24.23	76	苯基甲氧基脞 Oxime-, methoxy-phenyl-	151	C ₈ H ₉ NO ₂	0.28	—	2.97
	40.28	77	菲 Phenanthrene	178	C ₁₄ H ₁₀	0.41	—	—

注：—,表示未检测出。

Notes: —, Compound wasn't detected.

2.1.2 TF 和 TM 发酵梨渣所产香气成分的总体分析 经 TF 和 TM 发酵后的梨渣中分别鉴定出酯类 29 和 31 种, 相对含量分别为 74.83% 和 88.86%, 其中 21 种相同(经 TF 和 TM 发酵产生的相同酯类的含量分别占总香气物质的 66.18% 和 85.17%, 占鉴定出酯类的 88.44% 和 95.85%); 醇

类 4 种,全部相同,总相对含量分别为 22.17% 和 10.15%;酸类分别为 2 和 1 种,总相对含量分别为 1.53% 和 0.52%,其中 1 种相同(丙烯酸,相对含量分别为 0.96% 和 0.52%),TF 比 TM 多产生了少量的棕榈酸(相对含量为 0.57%);酚、烷类及其他物质分别为 3 和 1 种,总相对含量分别为 1.07% 和 0.30%,其中 1 种相同(十四烷,相对含量分别为 0.38% 和 0.30%),TF 比 TM 多产了苯基甲氧基肼(相对含量为 0.28%)和非(相对含量为 0.41%)。TM 产生的酯类较多,而 TF 产生的醇类和酸类较多,鉴于酯类是主要的呈香成分,故 TM 菌更适合发酵法生产香气物质。

2.1.3 酯类物质 酯类在对照和发酵样品中的香气成分中均占有主导地位。除反式-4-癸烯酸乙酯外,发酵样品产生的酯类均不同于对照样品。未发酵梨渣中的酯类主要是 di-TMS -4-羟基扁桃酸乙酯,相对含量为 2.46%;TF 发酵梨渣中的酯类主要是 2-甲基丙酸乙酯、乙酸乙酯、2-甲基-丁酸乙酯、3-甲基-1-丁醇乙酸酯和 2-甲基丙酸-3-甲基丁酯,相对含量分别为 13.06%,8.64%,8.23%,7.95% 和 6.46%;TM 发酵梨渣中的酯类主要是 2-甲基丙酸乙酯、乙酸乙酯、2-甲基-丁酸乙酯、戊酸乙酯、丙酸乙酯和 2-甲基丙酸-3-甲基丁酯,相对含量分别为 16.00%,9.68%,9.51%,8.17%,6.41% 和 6.16%。这说明,白地霉的发酵过程能够有效促进梨渣中酯类物质的产生,且不同菌种产生的酯类化合物的种类和含量存在较大差异,不同酯类的呈香特性不同,因此在实际生产中,可根据所需主要香型的不同选用适宜的菌种。

2.1.4 醇类物质 未发酵梨渣中检出的醇类只有 2 种,即正己醇和(Z)-3-己烯-1-醇,相对含量分别为 5.90% 和 0.86%;发酵梨渣中不含正己醇,但含 4 种其他醇类。TF 和 TM 发酵梨渣中的醇类均以乙醇为主,其相对含量分别为 14.66% 和 5.19%。正己醇是一种高级醇类,含量过高具有一定的毒性。TF 和 TM 发酵可以除去梨渣中正己醇,同时提高产品中的乙醇含量,而且新生成的苯乙醇是芳香化合物中较为重要和应用广泛的一种食用香料。可见,用 TF 和 TM 发酵梨渣可以提高梨渣的食用安全性和风味。

2.1.5 醛、酸类物质 发酵梨渣中含有丙炔酸和棕榈酸 2 种酸类,仅占香气成分总量的 1.53%,未发酵梨渣中含有的大量的醛、酸类(相对含量为 35.70%)在发酵后均未检出。这说明在 TF 和 TM

发酵梨渣的过程中,这些醛、酸类物质都被转化成其他物质,特别是原有的乙酸、草酸、正己醛等都被完全转化成了其他香气成分,从而有效地提高了梨渣的风味质量。

2.1.6 酚、烷类及其他物质 未发酵的梨渣中酚、烷类及其他物质种类繁多,而且含有较多的 $C_{12} \sim C_{16}$ 的烷烃类化合物(相对含量为 12.65%);在发酵后的梨渣中酚、烷类及其他物质相对含量仅为 1.07%。这说明,TF 和 TM 在发酵过程中利用了这些物质或将其转化成了其他香气物质。

2.2 特色呈香物质分析

由分析鉴定出的各种物质的呈香特性可知,在未发酵梨渣中没有发现特征的呈香物质,而在 TF 和 TM 发酵后的梨渣中检出多种特色呈香物质。在具呈香特性的酯类中,2-甲基丙酸乙酯(TF 相对含量为 13.06%,TM 相对含量为 16.0%)有水果香味;乙酸乙酯(TF 相对含量为 8.64%,TM 相对含量为 9.68%)是一种重要的呈香物质,可作为香料原料,是菠萝、香蕉、草莓等水果及香精和威士忌、奶油等香料的主要原料;2-甲基-丁酸乙酯(TF 相对含量为 8.23%,TM 相对含量为 9.51%)天然存在于草莓、苹果、橙子、园柚、菠萝蜜、甜瓜、葡萄酒和白兰地中,其感官特征具有果香,酯香中含有青香,有甜的新鲜苹果、菠萝蜜、覆盆子以及浆果样的味道,可用于调配苹果、浆果、生梨等食用香精;丙酸乙酯(TF 相对含量为 3.73%,TM 相对含量为 6.41%)是许多发酵酒中普遍存在的香气成分,主要在发酵过程中产生,具有清灵带果香的老姆酒样酒香^[13],带苹果、香蕉香气;癸酸乙酯(TF 相对含量为 1.43%,TM 相对含量为 1.89%)有葡萄酒香气,可配制果香、坚果、干酪、白兰地酒型香精,用于食品、香皂及花香型香精的调香。

在发酵梨渣具有呈香特性的醇类中,乙醇(TF 相对含量为 14.66%,TM 相对含量为 5.19%)具有令人愉快的香味,并略带刺激性,可用来制造醋酸、饮料、香精、染料;苯乙醇(TF 相对含量为 1.66%,TM 相对含量为 1.04%)具有新鲜面包香和清甜的玫瑰样花香,天然存在于苹果、杏仁、香蕉、桃子、梨子、草莓、可可、蜂蜜、玫瑰油、依兰油、香叶油、橙花油、风信子油、水仙浸膏、茶叶、烟草之中,可用于日化 and 食用香精,广泛用于调配皂用和化妆品香精。

综合分析可知,发酵前后梨渣中挥发性气体的呈香特性明显不同。发酵后梨渣中能够产生大量具有果香味的化合物,说明地霉属菌种发酵过程可以

有效地提高和丰富梨渣的香气浓度和香味种类,极大地提高特征性香气成分的含量,从而有望作为天然香精的基料。同时,研究还发现,不同菌种发酵的梨渣,其产生的物质种类和相对含量也有所不同。

3 讨论

本研究采用梨渣培养基进行产香研究,不仅适应当前国内外绿色农业及农业可持续发展趋势的要求,而且为梨渣的利用提供了一种新的思路。研究发现,发酵后梨渣中的主要香气成分是酯类,但利用地霉属菌株TF和TM发酵梨渣产香,所产香气化合物的种类和相对含量存在差异,这与已有研究结果^[14]相一致。这种差异给微生物发酵产香气化合物的应用带来了一定困难,同时也给研究应用提供了多样化的选择。

梨渣中香气成分的种类在发酵前后完全不同。经TF和TM发酵后的梨渣中,香气物质的种类和相对含量均高于未发酵的梨渣,说明地霉属菌株发酵梨渣可以有效提高香气物质的种类和含量。此外,王庆国等^[4]发现了2株能够产生果香物质的白地霉XJB45和XJA58,其在土豆汁葡萄糖培养基中产生的香气成分主要是丁酸乙酯、异戊酸乙酯、丙酸丙酯、2-甲基-2-丁烯酸乙酯和惕各酸乙酯。而本研究地霉属在梨渣中所得香气成分则主要是2-甲基丙酸乙酯、乙酸乙酯和3-甲基-1-丁醇乙酸酯,造成这种差异的主要原因是研究用的菌种、培养基和样品处理方法(王国庆等^[4]在分析前用溶剂萃取法研究培养基中的香气成分,而本研究则是对所产生的气体成分进行直接检测)不同。发酵梨渣产生的香气物质组成复杂,且大多数组分含量很低,常规分析方法中应用的溶剂萃取浓缩等技术手段会导致挥发性组分的损失,因而挥发性物质的检测方法制约着香气物质的研究。本研究采用固相微萃取技术,减少了样品处理环节,且大量富集待测香气组分,极大地提高了分析的灵敏度与准确性^[15]。研究结果提示,地霉属的产香特性与培养基和菌种的种类都有关系。

随着社会的发展和生活质量的提高,人们对天然香料和香精的偏爱程度越来越高。香料和香精的生产方法主要有化学合成法、动植物提取法和微生物发酵法。利用微生物发酵来模拟植物次级代谢过程可生产出香料化合物,这些香料化合物已被欧洲和美国食品法规界定为“天然的”^[16]。而且与动植物提取法相比,微生物发酵法具有不受季节影响、操

作简便、周期短等优势,因而具有广阔的发展前景^[17]。本研究为应用地霉属进行香精或香料的生物合成奠定了基础。

4 结论

本研究分析了地霉属菌株TF和TM发酵梨渣所产香气成分及其对梨渣风味的影响,试验共检出化合物81种,鉴定出化合物77种,其中未发酵梨渣中鉴定出31种,TF和TM发酵梨渣中分别鉴定出38和37种;发酵前后除反式-4-癸烯酸乙酯为共有物质外,其他物质均不相同。未发酵梨渣中挥发性成分主要是酚、烷类及其他物质(18种,相对含量为49.35%),醛酸类(7种,相对含量为36.70%)和酯类(11种,相对含量为14.45%);经TF和TM发酵后的梨渣中,主要挥发性物质为酯类(TF 29种,相对含量为74.83%;TM 31种,相对含量为88.86%)、醇类(TF 4种,相对含量为22.17%;TM 4种,相对含量为10.15%)和少量醛、酸类(TF 2种,相对含量为1.53%;TM 1种,相对含量为0.52%)。TF和TM发酵梨渣中的主要化合物是酯类,TF发酵梨渣中的主要酯类是2-甲基丙酸乙酯、乙酸乙酯、2-甲基-丁酸乙酯、3-甲基-1-丁醇乙酸酯和2-甲基丙酸-3-甲基丁酯,相对含量分别为13.06%,8.64%,8.23%,7.95%和6.46%;TM发酵梨渣中的主要酯类是2-甲基丙酸、乙酯乙酸、2-甲基-丁酸乙酯、戊酸乙酯和丙酸乙酯,相对含量分别为16.00%,9.68%,9.51%,8.17%和6.41%。TF和TM发酵梨渣中的主要醇类为乙醇,相对含量分别为14.66%和5.19%。由以上研究结果可知,TF和TM菌种发酵能够有效地提高梨渣中酯类和醇类的种类和含量,减少醛、酸、酚、烷类及其他物质的种类和含量,并能有效地提高梨渣的风味。不同菌种发酵梨渣的产香特征不同。

[参考文献]

- [1] 曾青梅,杨毅,殷允旭,等.梨渣水不溶性膳食纤维的提取工艺研究[J].食品科学,2008,29(8):275-278.
Zeng Q M, Yang Y, Yin Y X, et al. Study on extraction effects process of water insoluble dietary fiber from pear pomace [J]. Food Science, 2008, 29(8): 275-278. (in Chinese)
- [2] 李娜,赵光远,纵伟.从梨渣中提取酚类物质工艺的研究[J].农产品加工学刊,2007,97(4):67-69.
Li N, Zhao G Y, Zong W. Study on extraction processing for polyphenols from pear residue academic [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2007, 97(4): 67-69. (in Chinese)

[3] 李 红,张连富. 梨渣中膳食纤维的提取 [J]. 食品工业,2000 (3):3-4.
Li H, Zhang L F. Extraction effects process of dietary fiber from pear pomace [J]. Food Industry, 2000 (3): 3-4. (in Chinese)

[4] 王庆国,刘天明,韩小龙. 两株产果香菌株的初步鉴定及香味成分分析 [J]. 食品研究与开发,2007,128(6):16-19.
Wang Q G, Liu T M, Han X L. Preliminary identification and aroma components analysis of two fruity aroma-producing strains [J]. Food Research and Development, 2007, 128(6): 16-19. (in Chinese)

[5] 朱红惠,姚 青,羊宋贞. 不同 AM 真菌菌种对番茄生长发育的影响 [J]. 中国蔬菜,2005(2):9-11.
Zhu H H, Yao Q, Yang S Z. The influence of different AM fungi inoculation on the vegetative growth and reproduction of tomato [J]. China Vegetables, 2005(2): 9-11. (in Chinese)

[6] 张彦茹,肖 霄,吴瑞华,等. 不同菌种对豆酱品质的影响 [J]. 中国调味品,2008,348(2):81-83.
Zhang Y R, Xiao X, WU R H, et al. The different germ grows to the influence of the soybean paste quality [J]. China Condi- ment, 2008, 348(2): 81-83. (in Chinese)

[7] 周 珊,赵立文,马腾蛟,等. 固相微萃取 (SPME) 技术基本理论及应用进展 [J]. 现代科学仪器,2006(2):86-90.
Zhou S, Zhao L W, Ma T W, et al. Fundamental theory of SPME technology and its application progress [J]. Morden Sci- entific Instruments, 2006(2): 86-90. (in Chinese)

[8] 王丽霞,钟海雁,袁列江. 固相微萃取法提取果汁香气的影响因素及萃取条件的优化 [J]. 安徽农业科学,2006,34(15):3787-3788.
Wang L X, Zhong H Y, Yuan L J. Research on the factor of ex- traction technique affecting fruit aroma and its optimal extrac- tion condition [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2006, 34(15): 3787-3788. (in Chinese)

[9] 陈计峦,江 英,吴继红,等. 固相微萃取 GC-MS 技术在梨香气成分分析中的应用研究 [J]. 食品发酵与工业,2007,33(3): 107-120.
Chen J L, Jiang Y, Wu J H, et al. Research on the aromatic compounds of pear fruit by GC-MS with solid phase microex- traction [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(3): 107-120. (in Chinese)

[10] 刘邻渭. 食品化学 [M]. 北京:中国农业出版社,2003.
Liu L W. Food Chemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003. (in Chinese)

[11] 何 坚,孙宝国. 香料化学与工艺学 [M]. 北京:化学工业出版社,1995.
He J, Sun B G. Perfume chemistry and technology [M]. Bei- jing: Chemical Industry Press, 1995. (in Chinese)

[12] 中国质谱学会有机专业委员会. 香料质谱图集 [M]. 北京:科 学出版社,1992.
China Mass Spectrometry Society Organic Professional Com- mittee. The MS atlas of spices [M]. Beijing: Science Press, 1992. (in Chinese)

[13] 张莲珍. 朗姆酒的芳香成分及其形成 [J]. 酿酒,1998,98(5): 14-17.
Zhang L Z. Composition and formation of Rum [J]. Liquor- making, 1998, 98(5): 14-17. (in Chinese)

[14] 孙丙升,郑莉莉,刘天明,等. 白地霉的应用研究进展 [J]. 食 品研究与开发,2008,29(9):163-166.
Sun B S, Zheng L L, Liu T M, et al. Applied reasearch pro- gress in *Geotrichum candidum* [J]. Food Research and Devel- opment, 2008, 29(9): 163-166. (in Chinese)

[15] 刘拉平,史亚歌,岳田利,等. 猕猴桃果酒香气成分的固相微萃 取 GC/MS 分析 [J]. 酿酒科技,2007,155(5):105-107.
Liu L P, Shi Y G, Yue T L, et al. Analysis of flavoring compo- sitions in Kiwi fruit wine by SPME/GC/MS [J]. Liquor-mak- ing Science & Technology, 2007, 155(5): 105-107. (in Chinese)

[16] 朱林瑶,涂茂兵,姚家顺. 生物技术在香精香料生产中的应用 [J]. 香料香精化妆品,2002,6(3):52-72.
Zhu L Y, Tu M B, Yao J S. Biotechnological application in production of flavors and fragrances [J]. Flavor Fragrance Cosmetics, 2002, 6(3): 52-72. (in Chinese)

[17] Nicholas-M E. Not a good mix feeding apple pomace and anonprotein nitrogen source to pregnant cattle and sheep, in- adequate diets for livestock [J]. U S Agricultural Research Service Agricultural-Research, 1977, 25(12):7.