

DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2023.04.002

引文格式:王鑫源,李朋亮,赵巍,等.小米不同热处理对小米醋挥发性成分的影响[J].中国调味品,2023,48(4):7-14.

WANG X Y, LI P L, ZHAO W, et al. Effects of different heat treatments of millet on volatile components of millet vinegar[J]. China Condiment, 2023, 48(4): 7-14.

小米不同热处理对小米醋挥发性成分的影响

王鑫源^{1,2}, 李朋亮², 赵巍², 刘松雁³, 刘冰³, 王向红^{1*}, 刘敬科^{2*}

(1. 河北农业大学 食品科技学院, 河北 保定 071001; 2. 河北省农林科学院 生物技术与食品科学研究所, 石家庄 050051; 3. 石家庄市畜产品和兽药饲料质量检测中心, 石家庄 050041)

摘要:为研究小米不同热处理对小米醋挥发性成分的影响,采用电子鼻结合气相色谱-质谱法对小米醋挥发性成分进行分析。电子鼻对整体挥发性成分区分效果明显,以传感器 W1W 和 W5S 为主要区分指标。通过优化顶空固相微萃取条件,确定羧基/聚二甲基硅氧烷 CAR/PDMS(85 μm)萃取头、样品量 8 mL、萃取温度 60 ℃、萃取时间 35 min 条件下小米醋挥发性成分萃取效果最佳。采用气相色谱-质谱法分析小米醋挥发性成分,发现普通小米醋酚类物质含量较高,炒制小米醋醛类物质含量较高,膨化小米醋酯类和醇类物质含量明显提高。酯类、醛类和醇类是小米醋的重要香气物质。小米不同热处理对小米醋挥发性成分有积极作用,可为小米醋挥发性成分的研究提供理论依据和技术参考。

关键词:小米醋;挥发性成分;电子鼻;顶空固相微萃取;气相色谱-质谱法

中图分类号:TS264.22

文献标志码:A

文章编号:1000-9973(2023)04-0007-08

Effects of Different Heat Treatments of Millet on Volatile Components of Millet Vinegar

WANG Xin-yuan^{1,2}, LI Peng-liang², ZHAO Wei², LIU Song-yan³,
LIU Bing³, WANG Xiang-hong^{1*}, LIU Jing-ke^{2*}

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China;

2. Institute of Biotechnology and Food Science, Hebei Academy of Agriculture and Forestry

Sciences, Shijiazhuang 050051, China; 3. Shijiazhuang Animal Products and Veterinary

Drug Feed Quality Testing Center, Shijiazhuang 050041, China)

Abstract: In order to study the effects of different heat treatments of millet on the volatile components of millet vinegar, electronic nose combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is used to analyze the volatile components of millet vinegar. Electronic nose has obvious effect on distinguishing the whole volatile components, and the sensors W1W and W5S are the main distinguishing indexes. By optimizing headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) conditions, it is determined that the extraction effect of volatile components of millet vinegar is the best when the carboxyl/polydimethylsiloxane CAR/PDMS (85 μm) is extraction head, the sample volume is 8 mL, the extraction temperature is 60 ℃, and the extraction time is 35 min. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is used to analyze volatile components of millet vinegar. It is found that the content of phenols in ordinary millet vinegar is higher, the content of aldehydes in fried millet vinegar is higher, and the content of esters and alcohols in extruded millet vinegar significantly increases. Esters, aldehydes and alcohols are important aroma substances in millet vinegar. Different heat treatments of millet have positive effects on the volatile components of millet vinegar, which can provide theoretical basis and technical references for the study on volatile components of millet vinegar.

Key words: millet vinegar; volatile component; electronic nose; headspace solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

收稿日期:2022-10-17

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-06-14.5-A29);石家庄市科技研发项目(201170292A)

作者简介:王鑫源(1996—),男,硕士,研究方向:食品风味。

*通信作者:王向红(1973—),女,教授,博士,研究方向:食品营养与安全;

刘敬科(1979—),男,研究员,博士,研究方向:食品化学及食品风味。

谷子是禾本科植物,脱壳后为小米。小米为我国重要的杂粮作物,具有抗逆性强、耐干旱和耐贫瘠等特点,广泛种植可有效缓解农业用水压力^[1]。目前,小米主要以煮粥方式食用,单一消费方式严格限制着小米产业的发展。因此,拓宽小米产品形式,提高小米需求量有积极意义。食醋作为我国主要酸性调味品之一,市场需求量大。食醋酿造原料主要有大米、高粱和糯米等谷物^[2]。原料经糖化、酒精发酵、醋酸发酵、熏醋和陈酿等工艺,产生独具特色的食醋风味^[3]。小米中富含淀粉、蛋白质及多酚等多种营养成分^[4],可以作为优质原料用于小米醋的发酵。

香气是食醋品质的重要指标之一,挥发性成分决定食醋的香气特征,直接影响消费者的选择。食醋挥发性成分组成丰富且复杂,主要包括酸类、酯类、醇类、醛类、酮类、杂环类化合物等^[5-7]。食醋发酵原料的前处理可能对挥发性成分影响较大。Gong等^[8]研究糯米和粳米为原料的镇江香醋,发酵过程中酯类、醇类和酮类物质变化差异较大,以糯米为原料发酵而成的镇江香醋与以粳米发酵而成的相比,挥发性成分更丰富。Al-Dalali等^[9]分析了镇江香醋、正荣米醋和龙门熏醋挥发性成分,镇江香醋以糯米为原料,正荣米醋和龙门熏醋以大米为原料,原料不同导致挥发性成分差异显著,镇江香醋的醇类和酸类物质含量较高,正荣米醋的酯类和酚类物质含量较高,龙门熏醋的酮类、醛类和吡嗪类物质含量较高。热处理是小米常用的加工方法之一,可以引起小米营养组分、结构性质发生改变,对于提升小米营养品质和改善感官品质具有积极作用^[10-12]。经蒸煮、炒制和膨化等热加工处理后,小米原料具有独特的气味特性,会对小米醋挥发性成分产生影响,然而这种影响尚未见相关报道。

本研究以小米不同热处理后发酵而成的小米醋为研究对象,利用电子鼻(electronic nose,EN)考察不同小米醋整体挥发性成分,优化顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)方法,选择适宜小米醋挥发性成分分析的萃取头及条件,与气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)结合分析鉴定小米醋的挥发性成分,探究小米经蒸煮、炒制和膨化等热加工处理后对小米醋挥发性成分的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小米(黄金苗品种)、谷糠、麸皮:市售;安琪白酒庄;安琪酵母股份有限公司;玉园牌活性醋酸菌;济宁玉园生物科技有限公司;正构烷烃 $C_8 \sim C_{20}$ 标准品(色谱纯);美国Sigma公司;2-辛醇;阿拉丁试剂(上海)有限公司;NaCl(分析纯);国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦仪器有限公司;聚丙烯酸酯 PA(85 μm)、聚二甲基硅氧烷 PDMS(100 μm)、羧基/聚二甲基硅氧烷 CAR/PDMS(85 μm)、二甲基硅氧烷/二乙烯基苯 PDMS/DVB(65 μm)和二乙烯基苯/羧基/聚二甲基硅氧烷 DVB/CAR/PDMS(50/30 μm)萃取头、57330-U Supelco固相微萃取手动进样手柄 美国Supelco公司;20 mL萃取瓶 上海安谱科学仪器有限公司;PEN3型电子鼻 德国Airsense公司;DS-101S集热式恒温加热磁力搅拌器 河南予华仪器有限公司;DGP40-II膨化机 河北邢台市裕工科技开发有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

炒制小米:将小米置于铁锅中,小火炒制至呈现焦黄色为止,冷却。膨化小米:将小米置于膨化机中,膨化均匀、饱满,冷却。

1.3.2 酿造工艺

水、谷糠、麸皮 酒曲 醋酸菌
↓ ↓ ↓
小米→蒸煮→冷却→酒精发酵→醋酸发酵→淋醋→杀菌→澄清→陈酿→成品新醋。

1.3.3 EN条件

参照邝格灵等^[13]的方法并略有改动,将小米醋稀释10倍,取5 mL醋置于20 mL萃取瓶中,50 $^{\circ}\text{C}$ 孵化50 min,通过顶空进样,清洗100 s,准备5 s,空气流速400 mL/s,检测120 s,分析采样90 s。传感器信息见表1。

表1 电子鼻传感器响应特征

编号	型号	传感器	响应特征
1	W1C	Aromatic	对芳香族化合物敏感
2	W5S	Broadrange	对氮氧化物敏感
3	W3C	Aromatic	对氨类、芳香族化合物敏感
4	W6S	Hydrogen	对氢气敏感
5	W5C	Arom-aliph	对烷烃类、芳香族化合物敏感
6	W1S	Broad-methane	对甲烷敏感
7	W1W	Sulphur-organic	对硫化物和萜烯类敏感
8	W2S	Broad-alcohol	对醇类和部分芳香族化合物敏感
9	W2W	Sulph-chlor	对有机硫化物和芳香族化合物敏感
10	W3S	Methane-aliph	对烷烃类敏感

1.3.4 SPME参数优化

将PA、PDMS、CAR/PDMS、PDMS/DVB和DVB/CAR/PDMS萃取头按说明书规定温度、时间老化。取8 mL醋样于20 mL萃取瓶中,加2 g NaCl,加10 μL 2-辛醇(1.6 g/L)。萃取头选择PA、PDMS、CAR/PDMS、PDMS/DVB和DVB/CAR/PDMS顶空萃取;萃取温度设定为40,50,60,70 $^{\circ}\text{C}$;萃取时间设定为25,35,45,55 min;样品量设定为4,6,8,10 mL。比较不同条件下总峰面积和化合物数量。

1.3.5 GC-MS条件

GC条件:HP-5MS毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times

0.25 μm), 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。程序升温: 起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min, 以 2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 65 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 以 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min。载气为氦气(He), 流速 1.0 mL/min, 不分流。

MS 条件: 接口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 电离方式为电子电离(electron ionization, EI), 电子能量 70 eV, 灯丝发射电流为 200 μA , 离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$, 质量扫描范围为 33~450 amu。

1.4 数据分析

定性分析: 在相同 GC 条件下分析 $\text{C}_8\sim\text{C}_{20}$ 混合标准溶液, 计算小米醋挥发性成分保留指数(retention index, RI), 通过美国国家标准与技术研究院(National Institute of Standards and Technology, NIST) 谱库的检索保留匹配度 70% 以上的物质, 对比挥发性成分 RI, 进行定性分析。EN 数据用自带的 WinMuster 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA) 和载荷分析(loading analysis, LOA), 通过 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析, 通过 SPSS 软件采用 T 检验对峰面积进行显著性分析, 运用 Origin 2021 软件对挥发性成分进行 PCA 分析和聚类分析热图绘制。

2 结果与分析

2.1 EN 分析小米醋挥发性成分

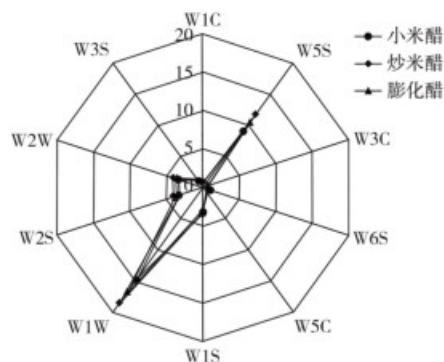


图 1 不同小米醋挥发性成分传感器响应值雷达图

Fig. 1 Radar diagram of sensor response values of volatile components in different kinds of millet vinegar

EN 的工作机理是系统中的传感器对挥发性成分的灵敏度不同, 根据传感器的响应图案将食醋挥发性成分作为一个整体进行识别。由图 1 可知, 10 种传感器对小米醋挥发性成分具有一定响应值, 小米醋传感器响应值低, 膨化醋响应值高于小米醋, 炒米醋响应值最大。其中传感器 W1W(对硫化物和菇烯类敏感) 和 W5S(对氮氧化合物敏感) 响应更灵敏。

不同小米醋 PCA 分析结果见图 2。3 种不同热处理方式的小米醋区分明显。小米醋整体挥发性成分 PC1 贡献率为 96.85%, PC2 贡献率为 2.91%, PC1 和

PC2 累计贡献率高达 99.76%, 小米醋、炒制小米醋和膨化小米醋分布区域相互独立, 数据点无重叠, 可以较好地 进行区分和识别, 分析结果包含了 3 种小米醋的主要信息, 表明小米不同热处理的小米醋挥发性成分存在差异。

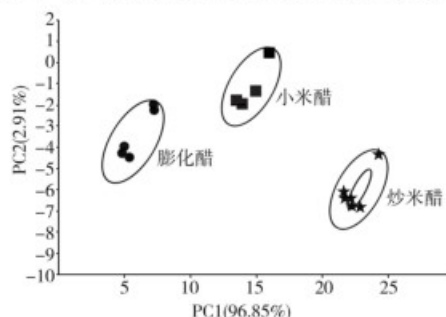


图 2 不同小米醋挥发性成分电子鼻主成分分析

Fig. 2 PCA analysis of volatile components in different kinds of millet vinegar by electronic nose

利用 LOA 对各传感器的区分作用进行分析, 表征出每种传感器的分析能力, 得出 10 个传感器对小米醋样品 PCA 的贡献率, 见图 3。PC1 的贡献率为 96.85%, PC1 值越大, 对小米醋区分越有效, 分布在原点(0,0)附近的传感器对小米醋的区分作用小。

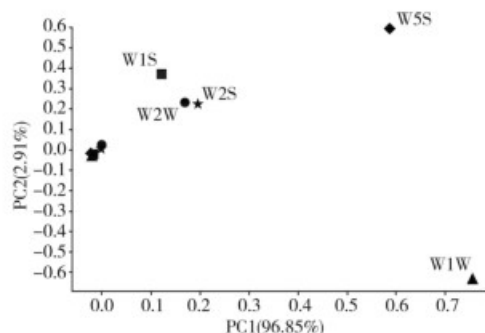


图 3 不同小米醋挥发性成分传感器载荷分析

Fig. 3 Sensor loading analysis of volatile components in different kind of millet vinegar

由图 3 可知, 传感器 W1W、W5S、W1S、W2S、W2W 对小米醋的区分作用明显, 对应小米醋中有机硫化物、菇烯类包含羧酸类和酯类、醇类、氮氧化合物以及芳香族化合物, 相比较而言, 其余 5 种传感器贡献较小。其中传感器 W1W 菇烯类中羧酸类和酯类以及传感器 W5S 氮氧类化合物可以作为小米醋的主要区分指标。

EN 可对小米醋整体挥发性成分进行比较分析, 不能对小米醋中某种挥发性成分进行单独分析, GC-MS 可对小米醋具体差异挥发性成分进行分析, 弥补 EN 的不足。食醋挥发性成分组成复杂, 浓缩与提取常用的方法是 HS-SPME, 该方法无需有机溶剂、操作简单、方便快捷、绿色环保、灵敏度高且重现性好^[14]。不同涂层的萃取头在不同条件下对小米醋挥发性成分吸附有一定影响, 并且萃取过程中易受到温度、萃取时间及样品

量等因素影响^[8]。因此,选择合适的萃取头涂层以及适宜的萃取条件对小米醋挥发性成分分析尤为关键。

2.2 HS-SPME 条件的选择

2.2.1 萃取头涂层的选择

利用 HS-SPME-GC-MS 分析小米醋挥发性成分的差异,选择 PA、CAR/PDMS、DVB/CAR/PDMS、PDMS 和 PDMS/DVB 这 5 种不同涂层的萃取头对小米醋进行顶空萃取。测得的小米醋峰面积以及化合物数量见图 4。

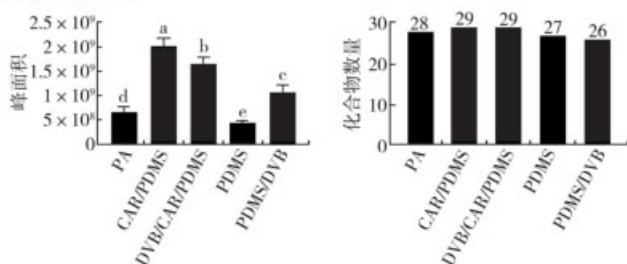


图 4 不同萃取头小米醋峰面积及化合物数量

Fig. 4 Peak area and compound quantity of millet vinegar by different extraction heads

注:不同小写字母表示有显著性差异($P < 0.05$),下图同。

不同类型萃取头测得小米醋挥发性成分的峰面积差异较大,PA 适用于极性半挥发性成分的检测,同时对醇类物质的吸附性较好,PDMS 萃取头适用于非极性半挥发性成分的检测^[15]。小米醋中挥发性成分复杂丰富,所以 PA 萃取头和 PDMS 萃取头检测到化合物峰面积偏低。PDMS/DVB 萃取头适用于醇类、胺类化合物丰富的样品。CAR/PDMS 萃取头和 DVB/CAR/PDMS 萃取头适用于气体和小分子挥发性成分^[16],适合对小米醋挥发性成分进行分析。通过 SPSS 软件采用 T 检验进行显著性分析发现,不同萃取头之间峰面积均具有显著性差异($P < 0.05$)。CAR/PDMS 萃取头峰面积明显优于 DVB/CAR/PDMS 萃取头,且测得的化合物种类数相接近。推测是小米醋中醛类和酯类含量较高,而 CAR/PDMS 对醛类和酯类物质吸附性更好,所以选取 CAR/PDMS 萃取头进行后续实验。

2.2.2 萃取条件的优化

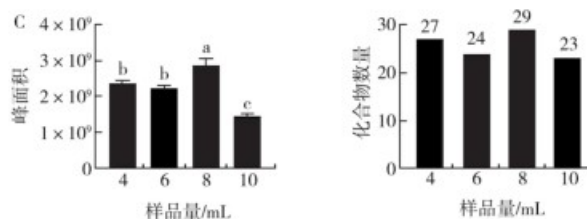
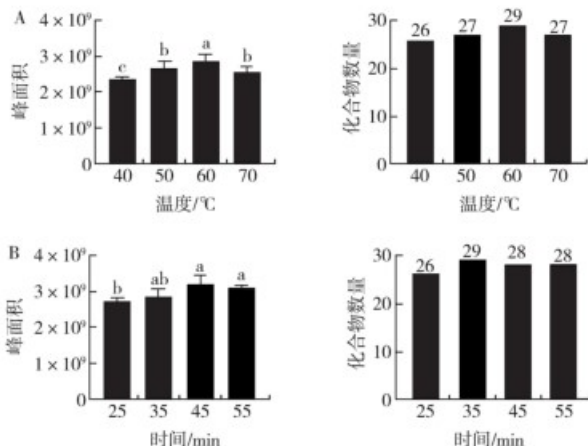


图 5 CAR/PDMS 不同条件下峰面积及化合物数量

Fig. 5 Peak area and compound quantity of CAR/PDMS under different conditions

注:A 为不同萃取温度下小米醋峰面积及化合物数量;B 为不同萃取时间下小米醋峰面积及化合物数量;C 为不同样品量下小米醋峰面积及化合物数量。

不同萃取温度结果见图 5 中 A,结果显示,在 40~60 °C 范围内,随着温度的增加,峰面积增加,测得的化合物数量也增加,温度升高,有利于挥发性成分析出,进而被萃取头吸附。但当温度达到 70 °C 时,峰面积和化合物数量略有下降,可能是因为温度过高,挥发性成分热解吸,影响萃取效果。通过 SPSS 软件采用 T 检验对峰面积进行显著性分析发现,不同萃取温度条件下峰面积具有显著性差异($P < 0.05$),因此选取萃取温度为 60 °C。

不同萃取时间结果见图 5 中 B,在 25~45 min 范围内,随着萃取时间的增加,峰面积逐渐增加,55 min 时峰面积略有降低,测得的化合物总数在 35 min 之后达到平衡,萃取 35,45,55 min 时的峰面积无显著差异($P > 0.05$),与 25 min 相比具有显著差异($P < 0.05$),因此推断当时间达到 35 min 时,达到动态平衡,综合实际操作,因此选择 35 min 作为萃取时间。

不同样品量结果见图 5 中 C,当样品量为 4,6 mL 时,样品量 4 mL 萃取到的化合物数量略多于样品量 6 mL,但通过 SPSS 软件采用 T 检验对峰面积进行显著性分析发现无显著差异($P > 0.05$)。样品量为 8 mL 时,测得的峰面积和化合物数量均最佳,且与其他样品量的峰面积均具有显著差异($P < 0.05$)。当样品量为 10 mL 时,峰面积大幅度降低,鉴定到的化合物种类也减少,可能原因为挥发性物质含量过高,萃取头吸附效果过载,影响效果,因此选择样品量为 8 mL 进行后续实验。

最终确定 CAR/PDMS 萃取头在小米醋样品量为 8 mL、萃取温度为 60 °C、萃取时间为 35 min 的条件下效果最佳,采用此条件进行后续实验。

2.3 不同热处理方式小米醋挥发性物质分析

采用 CAR/PDMS 萃取头在适宜条件下对不同热处理方式的小米醋进行 GC-MS 分析。通过 GC-MS 技术共检测到 29 种主要挥发性成分,其中包括 12 种酯类、6 种醛类、3 种醇类、5 种酚类和酮类、吡嗪类、烷烃类各 1 种。小米醋整体挥发性成分中酯类物质最丰富,乙酸异戊酯和乙酸苯甲酯在小米醋中含量高,苯甲

酸乙酯仅在炒米醋中检出,DL-2-己酸乙酯、 γ -壬内酯含量高于其他小米醋。膨化醋中酯类物质种类最多,含量最高,乙酸苯乙酯在膨化醋中含量是小米醋的 2 倍,炒米醋的 3 倍。酯类物质具有水果甜香或花香气味。一般以乙酸形成的酯类较多,主要来源是在食醋发酵过程和陈酿阶段^[17],该阶段醋酸菌、酵母菌在酯化酶作用下,将食醋中的醇类物质和酸类物质通过酯化反应生成种类多样的酯类物质^[18]。炒米醋中糠醛(1 036.34 $\mu\text{g/L}$)含量远高于其他小米醋,2-苯基巴豆醛仅在炒米醋中检出,苯甲醛、苯乙醛、壬醛含量均为炒米醋中最高。醛类化合物主要由氨基酸分解和微生物代谢产生,食醋中的醛类物质阈值较低,含量差异明显,为食醋提供焙烤香、花香、坚果香和苦杏仁气味^[16]。醛类化合物是合成其他重要挥发性成分的前体物质,具有积极的调节作用。醛类化合物含量较高时具有较强的刺激性,会导致食醋辛辣味加重^[19]。食醋中富含的醇类物质以乙醇类化合物为主,膨化醋中苯乙醇(2 683.05 $\mu\text{g/L}$)和糠醇(62.56 $\mu\text{g/L}$)含量远高于其他小米醋,食醋中的醇类化合物通常有令人愉悦的花香、酒香,多由酵母菌在酒精发酵阶段产生^[20]。醇类化合物通常比较柔和,在食醋香气中有重要作用,推测小米经膨化后,更容易被酵母菌利用,产生较多的醇类物质。酚类物质均在小米醋中含量最高,小米醋中 4-甲基苯酚(157.88 $\mu\text{g/L}$)含量较高,四甲基吡嗪在炒米醋和膨化醋中检测,炒米醋中四甲基吡嗪(63.2 $\mu\text{g/L}$)含量最高,四甲基吡嗪具有降压、活血、清除自由基等保健作用,是山西老陈醋特征指标物质^[16]。食醋中的杂环类化合物主要是吡嗪类化合物和呋喃类化合物等,能够赋予食醋坚果香、烘烤焦香等令人愉悦的气味,主要是在美拉德反应中生成以及微生物代谢产生。3-羟基-2-丁酮和十六烷仅在膨化醋中检出,烷烃类一般香气阈值较高,对食醋香气贡献较小,3-羟基-2-丁酮有牛奶香气,可通过 2,3-丁二醇氧化生成,或经丙酮酸转化或糖醇解生成^[21]。

表 2 小米醋挥发性物质分析

Table 2 Analysis of volatile substances of millet vinegar

编号	名称	CAS号	保留指数		相对含量/($\mu\text{g/L}$)		
			计算	理论	小米醋	炒米醋	膨化醋
酯类							
1	乙酸异戊酯	123-92-2	882	876	270.80 \pm 55.32	-	-
2	乙酸糠酯	623-17-6	1 000	995	-	-	31.39 \pm 3.68
3	DL-2-己酸乙酯	6946-90-3	1 070	1 062	61.89 \pm 6.61	316.67 \pm 16.63	287.94 \pm 30.23
4	乳酸异戊酯	19329-89-6	1 079	1 047	-	-	22.54 \pm 2.06
5	乙酸苯甲酯	140-11-4	1 171	1 164	13.94 \pm 0.68	-	2.67 \pm 2.31

续 表

编号	名称	CAS号	保留指数		相对含量/($\mu\text{g/L}$)		
			计算	理论	小米醋	炒米醋	膨化醋
6	苯甲酸乙酯	93-89-0	1 176	1 171	-	7.07 \pm 1.31	-
7	丁二酸二乙酯	123-25-1	1 188	1 182	9.26 \pm 1.45	71.97 \pm 2.56	141.78 \pm 8.18
8	苯乙酸乙酯	101-97-3	1 251	1 246	42.58 \pm 3.33	80.27 \pm 4.16	75.5 \pm 6.75
9	乙酸苯乙酯	103-45-7	1 265	1 258	1 239.77 \pm 81.80	739.28 \pm 20.27	2 279.51 \pm 196.41
10	γ -壬内酯	104-61-0	1 372	1 363	293.79 \pm 12.83	401.56 \pm 15.91	295.88 \pm 6.12
11	邻苯二甲酸二丁酯	84-74-2	1 972	1 965	4.30 \pm 0.37	3.38 \pm 0.18	4.52 \pm 0.1
12	棕榈酸乙酯	628-97-7	1 995	1 993	6.32 \pm 1.40	6.72 \pm 1.22	9.6 \pm 3.2
醛类							
13	糠醛	98-01-1	837	833	164.40 \pm 39.64	1 036.34 \pm 175.83	300.67 \pm 39.4
14	苯甲醛	100-52-7	962	962	347.10 \pm 38.28	417.19 \pm 5.41	284.18 \pm 24.38
15	苯乙醛	122-78-1	1 054	1 045	66.72 \pm 7.57	86.48 \pm 6.52	111.67 \pm 7.18
16	壬醛	124-19-6	1 107	1 104	10.42 \pm 11.00	16.65 \pm 15.36	-
17	2-苯基巴豆醛	4411-89-6	1 279	1 279	-	71.68 \pm 1.1	-
18	3,5-二叔丁基-4-羧基苯甲醛	1620-98-0	1 778	1 772	1.69 \pm 0.07	1.47 \pm 0.22	1.71 \pm 0.16
醇类							
19	2,3-丁二醇	513-85-9	811	788	228.05 \pm 5.25	336.32 \pm 44.59	310.63 \pm 62.48
20	糠醇	98-00-0	866	859	26.95 \pm 7.79	-	62.56 \pm 5.47
21	苯乙醇	60-12-8	1 122	1 116	950.03 \pm 125.30	1 265.4 \pm 103.68	2 683.05 \pm 87.65
杂环类							
22	4-甲基苯酚	106-44-5	1 091	1 077	157.88 \pm 17.42	-	-
23	2,3,5,6-四甲基吡嗪	1124-11-4	1 092	1 089	-	63.2 \pm 4.99	14.79 \pm 1.51
24	4-甲基愈创木酚	93-51-6	1 198	1 193	1 287.38 \pm 125.15	1 002.4 \pm 86.94	454.13 \pm 82.53
25	4-乙基愈创木酚	2785-89-9	1 286	1 282	621.05 \pm 40.97	351.7 \pm 0.77	212.09 \pm 18.07
26	4-乙基-2-甲氧基苯酚	7786-61-0	1 322	1 317	16.74 \pm 11.55	7.43 \pm 0.14	-
27	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	1 519	1 519	602.35 \pm 34.21	446.2 \pm 97.47	447.03 \pm 105.13
28	3-羟基-2-丁酮	513-86-0	733	713	-	-	108.81 \pm 42.08

续表

编号	名称	CAS号	保留指数		相对含量/($\mu\text{g/L}$)		
			计算	理论	小米醋	炒米醋	膨化醋
其他							
29	十六烷	544-76-3	1600	1600	-	-	11.66±1.03

注：“-”表示未检出。

2.3.1 不同热处理小米醋挥发性物质 PCA 分析

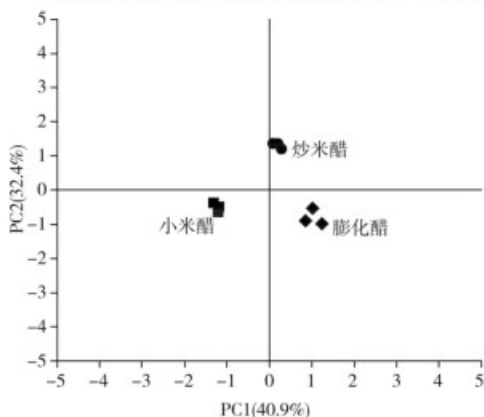


图 6 不同小米醋挥发性成分主成分分析

Fig. 6 PCA of volatile components in different kinds of millet vinegar

PCA 法将小米醋挥发性成分原始信息降维成两个新指标主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)。小米醋挥发性成分 PCA 见图 6。小米醋、炒米醋和膨化醋的第一主成分贡献率为 40.9%，第二主成分贡献率为 32.4%，这两个主成分累计贡献率为 73.3%，代表了原始数据的大部分信息。组内各样品相对距离较近，说明样品的重复性较好，不同热处理方式下的小米醋基本分布在不同区域，表明样品之间的挥发性成分存在差异。不同热处理方式的小米对小米醋的挥发性成分有影响。EN 以小米醋样品整体区分，PCA 结果显示小米醋挥发性成分差异显著。

2.3.2 不同热处理方式小米醋挥发性成分热图分析

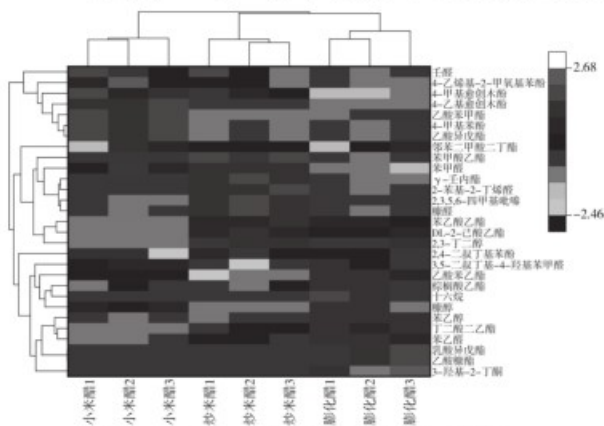


图 7 不同小米醋挥发性成分热图分析

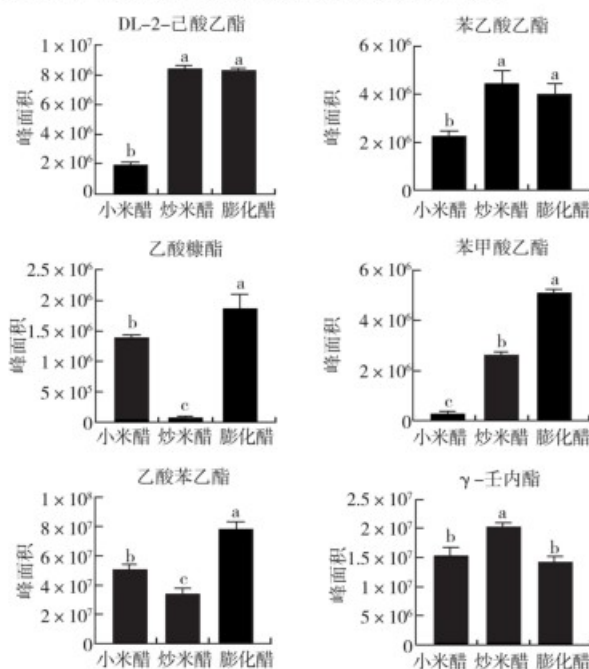
Fig. 7 Heat map analysis of volatile components in different kinds of millet vinegar

不同小米醋挥发性成分差异用热图(见图 7)表示,经聚类分析后发现,3 种小米醋中挥发性成分差异明显,酯类物质种类最多,DL-2-己酸乙酯、苯乙酸乙酯、苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯和棕榈酸乙酯等乙酸形成的酯类挥发性成分较多,可能与小米醋发酵过程中大量乙醇的产生有关。小米经炒制和膨化后酿造的小米醋酯类物质和醛类物质含量明显高于普通小米醋。普通小米醋中酚类物质含量明显高于膨化小米醋。酯类物质是小米醋中主要的挥发性物质,酯类物质种类丰富,是小米醋中主要的香气来源。小米醋中醛类物质阈值较低,对小米醋香气贡献较大。小米不同热处理对小米醋挥发性成分有影响。

2.3.3 特征挥发性成分分析

变量投影重要性(variable importance projection, VIP)可以量化每个变量对小米醋分类的贡献,通常认为 VIP 值 >1 表示在判别过程中具有重要作用。VIP 值越大,变量在不同小米醋中差异越显著。共检测到 19 种挥发性成分的 VIP 值 >1 ,将 19 种挥发性成分选取定量离子后比较挥发性物质的峰面积,19 种挥发性成分差异分析见图 8~图 11。

8 种酯类化合物见图 8,普通小米醋中乙酸异戊酯和乙酸苯甲酯含量较高,苯甲酸乙酯含量较低。膨化小米醋中 DL-2-己酸乙酯、苯乙酸乙酯、乙酸糠酯、苯甲酸乙酯和乙酸苯乙酯含量明显高于普通小米醋($P<0.05$),DL-2-己酸乙酯和苯乙酸乙酯与炒制小米醋差异不显著($P>0.05$)。炒制小米醋中乙酸糠酯含量较低,仅有 γ -壬内酯含量略高于普通小米醋和膨化小米醋。小米醋采用经膨化后的小米发酵可明显增加酯类化合物含量。



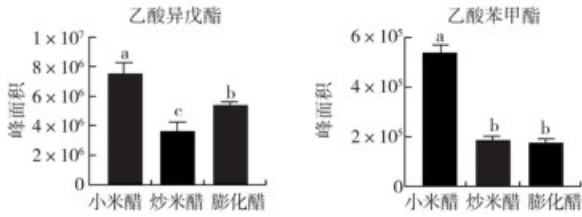


图 8 不同小米醋酯类化合物差异分析

Fig. 8 Difference analysis of ester compounds in different kinds of millet vinegar

糠醇和苯乙醇在膨化小米醋中含量较高,糠醇未在炒制小米醋中检测到,见图 9。苯乙醇具有果香、清香的甜味,是苯丙氨酸经 Strecker 降解产生醛类还原而生成,在食醋香气中有重要作用^[22]。

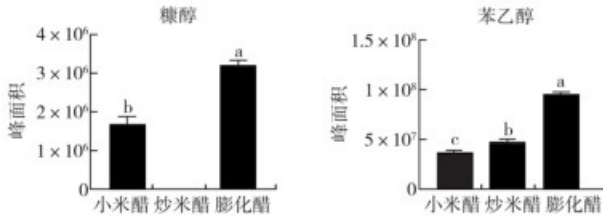


图 9 不同小米醋醇类化合物差异分析

Fig. 9 Difference analysis of alcohol compounds in different kinds of millet vinegar

4 种醛类物质见图 10。炒制小米醋中糠醛、苯甲醛和 2-苯基巴豆醛含量明显高于其他两种小米醋,苯乙醛含量略低于膨化小米醋,但高于普通小米醋。普通小米醋中除苯甲醛含量较高外,其余含量较低。小米经炒制后发酵酿造为小米醋可提高醛类物质含量。

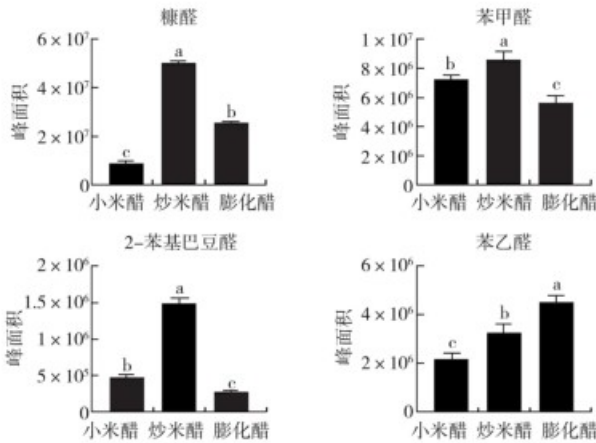


图 10 不同小米醋醛类化合物差异分析

Fig. 10 Difference analysis of aldehyde compounds in different kinds of millet vinegar

5 种杂环类化合物在普通小米醋中含量最高,见图 11。炒制小米醋含量低于普通小米醋,膨化小米醋中除 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚外,和田甲基吡嗪其余含量均为 3 种醋中最低,且 4-甲基苯酚未在膨化小米醋

中检测到。

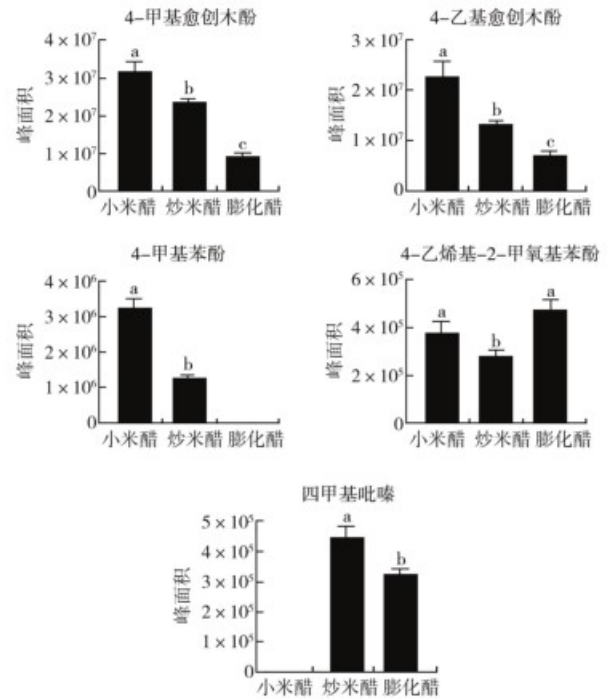


图 11 不同小米醋杂环类化合物差异分析

Fig. 11 Difference analysis of heterocyclic compounds in different kinds of millet vinegar

经过小米醋化合物差异分析,发现普通小米醋酚类物质明显高于其他两种,酚类物质具有较强的抗氧化活性,对预防心血管疾病有一定的积极作用^[23]。炒制小米醋中醛类物质含量较高,以糠醛为主,研究表明糠醛通过戊糖加热生成,镇江香醋原料经不同温度煎煮后,糠醛的含量变化差异明显^[19]。推测小米经炒制后戊糖含量提高。小米经热处理后产生四甲基吡嗪,四甲基吡嗪是一种安全性高,具有降血压、活血化瘀、清除自由基等保健作用的功能因子^[24]。DL-2-己酸乙酯、苯乙酸乙酯与膨化醋无显著差异。膨化小米醋醇类物质含量较高,酯类物质种类更丰富,推测小米膨化后更容易被酵母菌利用,醇类、酯类化合物是重要的香气来源^[25],为小米醋提供令人愉悦的香味。小米不同热处理方式对小米醋挥发性成分影响差异较大,EN 分析结果与 GC-MS 分析挥发性成分结果具有关联性,挥发性成分 PCA 和差异化合物分析与挥发性成分热图具有相关性。

3 结论

通过对小米不同热处理方式的小米醋挥发性成分检测与分析发现,EN 以小米醋整体挥发性成分进行区分,累计贡献率为 99.76%,传感器 W1W 菇烯类中羧酸类

和酯类以及传感器 W5S 氮氧类化合物为主要区分指标。优化确定小米醋 HS-SPME 条件为 CAR/PDMS(85 μm) 萃取头、样品量 8 mL、萃取温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间 35 min 萃取小米醋挥发性成分,经与 GC-MS 联用分析,发现普通小米醋酚类物质含量较高,炒制小米醋醛类物质含量较高,膨化小米醋酯类和醇类物质含量明显提高。可见,小米不同热处理方式对小米醋挥发性成分有积极作用,可为小米醋挥发性成分研究提供理论依据和技术参考。

参考文献:

- [1]高婧,梁志宏.小米功能成分及新产品研发进展[J].中国粮油学报,2021,36(3):169-177.
- [2]王敏,沈广玥,宋佳,等.中国谷物醋风味研究进展[J].食品科学技术学报,2021,39(4):29-36.
- [3]GAO Y, JO Y, CHUNG N, et al. Physicochemical qualities and flavor patterns of traditional Chinese vinegars manufactured by different fermentation methods and aging periods[J]. Preventive Nutrition and Food Science,2017,22(1):30-36.
- [4]刘宇杰,陈银焕,杨修仕,等.小米营养及功能成分研究进展[J].粮食与油脂,2020,33(5):1-3.
- [5]ZHANG X, WANG P, XU D, et al. Aroma patterns of Beijing rice vinegar and their potential biomarker for traditional Chinese cereal vinegars[J]. Food Research International,2019,119:398-410.
- [6]AL-DALALI S, ZHENG F, SUN B, et al. Characterization and comparison of aroma profiles and aroma-active compounds between traditional and modern Sichuan vinegars by molecular sensory science[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry,2020,68(18):5154-5167.
- [7]WANG J, YUAN C, GAO X, et al. Characterization of key aroma compounds in Huangjiu from Northern China by sensory-directed flavor analysis[J]. Food Research International,2020,134:109238.
- [8]GONG M, ZHOU Z, LIU S, et al. Dynamic changes in physico-chemical attributes and volatile compounds during fermentation of Zhenjiang vinegars made with glutinous and non-glutinous japonica rice[J]. Journal of Cereal Science,2021,100:103246.
- [9]AL-DALALI S, ZHENG F, LI H, et al. Characterization of volatile compounds in three commercial Chinese vinegars by SPME-GC-MS and GC-O[J]. LWT-Food Science and Technology,2019,112:108264.
- [10]解菲,赵宁,江帆,等.炒米理化特性研究[J].食品研究与开发,2021,42(23):7-13.
- [11]刘敬科,赵巍,李少辉,等.炒制对小米挥发性成分影响的研究[J].食品科技,2014,39(12):181-185.
- [12]KUMAR S R, SADIQ M B, ANAL A K. Comparative study of physicochemical and functional properties of pan and microwave cooked underutilized millets (proso and little)[J]. LWT-Food Science and Technology,2020,128:109465.
- [13]邝格灵,王新宇,李树,等.基于电子鼻与气相色谱-质谱联用区分不同陈酿期恒顺香醋风味物质[J].食品科学,2020,41(12):228-233.
- [14]AL-DALALI S, ZHENG F, SUN B, et al. Effects of different brewing processes on the volatile flavor profiles of Chinese vinegar determined by HS-SPME-AEDA with GC-MS and GC-O[J]. LWT-Food Science and Technology,2020,133:109969.
- [15]刘敬科,张爱霞,李少辉,等.顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定小米黄酒风味成分[J].色谱,2017,35(11):1184-1191.
- [16]ZHU H, ZHU J, WANG L, et al. Development of a SPME-GC-MS method for the determination of volatile compounds in Shanxi aged vinegar and its analytical characterization by aroma wheel[J]. Journal of Food Science and Technology,2016,53(1):1711-83.
- [17]WU L H, LU Z M, ZHANG X J, et al. Metagenomics reveals flavour metabolic network of cereal vinegar microbiota[J]. Food Microbiology,2017,62:23-31.
- [18]NIE Z, ZHENG Y, WANG M, et al. Exploring microbial succession and diversity during solid-state fermentation of Tianjin duliu mature vinegar[J]. Bioresource Technology,2013,148:325-333.
- [19]巩敏.镇江香醋中糠醛的形成途径及调控研究[D].无锡:江南大学,2021.
- [20]SANKUAN X, CUIMEI Z, BINGQIAN F, et al. Metabolic network of ammonium in cereal vinegar solid-state fermentation and its response to acid stress[J]. Food Microbiology,2021,95:103684.
- [21]XU S, MA Z, CHEN Y, et al. Characterization of the flavor and nutritional value of coconut water vinegar based on metabolomics[J]. Food Chemistry,2022,369:130872.
- [22]孙宗保.镇江香醋挥发性成分分析及醋龄的识别研究[D].镇江:江苏大学,2014.
- [23]DU P, ZHOU J, ZHANG L, et al. GC \times GC-MS analysis and hypolipidemic effects of polyphenol extracts from Shanxi-aged vinegar in rats under a high fat diet[J]. Food Function,2020,11(9):7468-7480.
- [24]XIAO Z, ZHAO L, TIAN L, et al. GC-FID determination of tetramethylpyrazine and acetoin in vinegars and quantifying the dependence of tetramethylpyrazine on acetoin and ammonium[J]. Food Chemistry,2018,239:726-732.
- [25]ZHOU Z, JIAN D, GONG M, et al. Characterization of the key aroma compounds in aged Zhenjiang aromatic vinegar by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, quantitative measurements, aroma recombination and omission experiments[J]. Food Research International,2020,136:109434.