

单混菌发酵桑葚醋有机酸及挥发性风味物质对比分析

钟诗睿¹, 宋雪苗¹, 黄丹^{1,2}, 夏珣^{1,2}, 罗惠波^{1,2*}

(1. 四川轻化工大学生物工程学院, 四川自贡 643000)

(2. 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川自贡 643000)

摘要: 为提高桑葚醋风味品质, 采用单菌发酵(醋酸菌沪酿 1.01)和混菌发酵(醋酸菌沪酿 1.01 和戴尔有孢圆酵母 NJSYGA 2021)分别酿制桑葚果醋, 测定单菌发酵桑葚醋(Single-strain Fermented Mulberry Vinegar, SS)和混菌发酵桑葚醋(Mixed-strain Fermented Mulberry Vinegar, MS)的主要理化指标、有机酸以及挥发性风味物质并进行对比分析。结果表明, MS 的总酸含量在发酵过程中均高于 SS, 还原糖含量下降更快。MS 的 L-苹果酸、L-乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸含量较 SS 分别提高了 9.73%、11.80%、22.58%、8.70% 和 31.18%。SS 和 MS 共检测到 87 种挥发性风味物质, MS 中的物质种类及相对含量更高, 尤其是醇类和酯类。苯乙醇、异丁醇、癸酸乙酯和月桂酸乙酯等 15 种化合物是差异挥发性风味物质。伴生网络结果显示, MS 的挥发性风味物质之间关联性更强, 苯乙醇、2-壬醇、异丁醇和 3-呋喃甲醇等有较强的伴生关系。差异挥发性风味物质富集到乙醛酸和二羧酸代谢、丙酸酯代谢、丙酮酸代谢、糖酵解/糖异生和苯丙氨酸代谢通路。综上所述, 混菌发酵更有利于桑葚醋的风味品质, 为桑葚醋工艺的进一步优化提供了依据。

关键词: 单混菌发酵; 桑葚醋; 有机酸; 风味物质; 通路富集

文章编号: 1673-9078(2026)7-245-255

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.7.0475

Comparison of Organic Acid Profiles and Volatile Flavor Compounds in Mulberry Vinegar Produced by Single-strain and Mixed-strain Fermentation

ZHONG Shirui¹, SONG Xuemiao¹, HUANG Dan^{1,2}, XIA Yu^{1,2}, LUO Huibo^{1,2*}

(1.College of Bioengineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, China)

(2.Key Laboratory of Brewing Biotechnology and Application, Zigong 643000, China)

Abstract: To improve mulberry vinegar flavor, single-strain (SS) fermentation using *Acetobacter pasteurianus* HN 1.01 was combined with mixed-strain (MS) fermentation using *Acetobacter pasteurianus* HN 1.01 and *Torulaspora delbrueckii* NJSYGA 2021. The physicochemical properties, organic acid composition, and volatile flavor compounds of SS and MS fermented mulberry vinegar were systematically analyzed. The results showed that MS exhibited a higher total acid content and a more rapid reduction in residual sugars than SS. Compared with SS, MS exhibited significantly increased concentrations of L-malic (9.73%), L-lactic (11.80%), acetic (22.58%), citric (8.70%), and succinic (31.18%) acids. In total, 87 volatile flavor compounds were detected across

引文格式:

钟诗睿,宋雪苗,黄丹,等.单混菌发酵桑葚醋有机酸及挥发性风味物质对比分析[J].现代食品科技,2026,42(7):245-255.

ZHONG Shirui, SONG Xuemiao, HUANG Dan, et al. Comparison of organic acid profiles and volatile flavor compounds in mulberry vinegar produced by single-strain and mixed-strain fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(7): 245-255.

收稿日期: 2025-04-06; 修回日期: 2025-05-19; 接受日期: 2025-05-19

基金项目: 四川轻化工大学研究生创新基金(Y2023220)

作者简介: 钟诗睿(2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 酿酒工程, E-mail: 1587492389@qq.com

通讯作者: 罗惠波(1969-), 男, 教授, 研究方向: 酿酒生物技术及应用, E-mail: sgxlhb@suse.edu.cn

samples, with MS exhibiting superior diversity and relative abundances, particularly of alcohols and esters. A total of 15 differential volatile flavor compounds were identified, including phenylethyl alcohol, isobutanol, ethyl caprate, and ethyl laurate. Co-occurrence network analysis revealed that correlations among volatile compounds were stronger in MS than in SS, especially among phenylethyl alcohol, 2-nonanol, isobutanol, and 3-furfuryl alcohol. Differential metabolites were enriched in the glyoxylate and dicarboxylate metabolism, propionate metabolism, pyruvate metabolism, glycolysis/gluconeogenesis, and phenylalanine metabolism pathways. Overall, MS fermentation significantly improved mulberry vinegar flavor, providing a basis for further optimization of mulberry vinegar production.

Key words: single-strain and mixed-strain fermentation; mulberry vinegar; organic acids; flavor compounds; pathway enrichment

桑葚醋是一种以桑葚为主要原料,经发酵酿制而成的特色醋类产品,在养生保健型醋饮领域逐渐崭露头角。桑葚富含多种维生素、花青素、白藜芦醇等营养成分^[1],这些成分在桑葚醋发酵过程中部分保留,使得桑葚醋不仅具有醋的基本功效,还具备抗炎、抗氧化、调节血脂等潜在健康益处^[2-4]。其口感酸甜适中,融合了桑葚的果香与醋的醇厚,因风味独特,越来越受到注重健康与风味的消费者喜爱。桑葚醋里的风味成分主要包含醇类、酯类、酸类和醛类等化合物。发酵期间,微生物种类对桑葚醋风味物质的生成至关重要。传统的桑葚醋酿造,多采用单一菌种进行醋酸发酵,这种方式能保证产品质量的相对稳定,但也存在风味单一、层次感不足等问题,难以满足消费者日益多样化的口味需求。近年来,混菌发酵技术在食醋酿造中的应用研究逐渐兴起。蒋忠等^[5]以黄河大米为原料,在液醋酒精发酵阶段同时接种乳酸菌和酵母菌进行共生发酵,再进行醋酸发酵,其不挥发酸和酯类含量分别增长10倍和1.6倍以上,感官品质也得到改善。目前关于桑葚醋的研究多集中于发酵条件的优化^[6,7],混菌发酵的研究尚不多见,尤其是在醋酸发酵阶段进行混菌发酵的研究。汪晓琳^[8]以桑葚为原料,在醋酸发酵环节选用AS1.41与沪酿1.01醋酸菌开展混合发酵,不但提升了桑葚醋的醋酸含量,还使果醋香气馥郁、口感醇正。这些研究均证实了混菌发酵在提升食醋品质方面的潜力。

戴尔有孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii*)作为一种常见的非酿酒酵母,在酿造领域应用广泛,其具有高效的发酵性能和良好的环境适应性^[9]。然而,关于戴尔有孢圆酵母混合发酵对桑葚醋风味及品质影响的研究尚显不足。因此,该研究旨在利用戴尔有孢圆酵母开展桑葚醋混菌发酵实验,测定并比较单菌和混菌发酵过程的主要理化、有机酸和挥发性风味物质,以期提高桑葚醋风味品质,为混菌酿造桑葚醋的发酵优化提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 主要材料试剂

桑葚,市售;戴尔有孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii* NJSYGA 2021),现保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏编号CCTCC M 2022046;葡萄酒高活性干酵母BV818(*Saccharomyces cerevisiae*),湖北安琪酵母股份有限公司;醋酸菌沪酿1.01,久微食品科技(上海)有限公司;果胶酶(酶活力 $\geq 1\ 000\ \text{U}\cdot\text{g}^{-1}$),山东科隆特酶制剂有限公司;焦亚硫酸钾(食品级),默克生命科学技术有限公司;氯化钠、磷酸二氢钾(均为分析纯),成都市科隆化学品有限公司;无水葡萄糖(分析纯),上海麦克林生化科技股份有限公司;甲醇(色谱纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;2-辛醇、草酸、酒石酸、L-苹果酸、L-乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸(均为色谱纯),阿达玛斯试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

SW-CJ-1D超净工作台,浙江苏净净化设备有限公司;ZWYR-D2403恒温培养振荡器,上海智城分析仪器制造有限公司;5430离心机,德国Eppendorf股份公司;PR224ZH电子天平,惠州市英衡电子科技有限公司;GI54DS立式压力蒸汽灭菌锅,北京市光明医疗仪器有限公司;DZKW-4电热恒温水浴锅,北京中兴伟业试剂仪器有限公司;50/30 μm DVB/CAR/PDMS纤维萃取头,美国Supelco公司;7890B-7000D气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司;LC-2030C 3D Plus高效液相色谱仪,岛津企业管理(中国)有限公司;57330-U固相微萃取装置,美国Supelco公司。

1.3 试验方法

1.3.1 桑葚醋发酵实验

桑葚醋发酵方法基于已有报道^[4,10]进行适当修改。称取所需桑葚并将其制成果浆,加入1:1的水混匀。

添加质量分数 0.15% 的果胶酶, 置于 45 °C 恒温水浴锅酶解 2 h, 再加入 60 mg·L⁻¹ 焦亚硫酸钾, 搅拌均匀。加入白砂糖使果浆总可溶性固形物达 25 °Brix, 用柠檬酸调发酵液 pH 值至 3.5, 在 70 °C 恒温水浴锅静置 30 min。取 2 g 葡萄糖溶入 100 mL 蒸馏水, 装入 250 mL 三角瓶, 于 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min。称 2 g 干酵母加入到灭菌冷却后的葡萄糖溶液中, 在 40 °C 水浴锅水浴 15 min 进行活化。按体积分数 6% 将活化后的酿酒酵母接种到 MS 和 SS 的桑葚果浆中。发酵温度为 30 °C, 当酒精发酵进行至酒精含量为 6% vol 时, 即结束酒精发酵阶段。将发酵结束的桑葚果酒在 70 °C 恒温水浴锅中水浴 30 min, 使其中的酿酒酵母失活。以 0.5 g/100 mL 的接种量接种醋酸菌至 MS 和 SS 中, MS 继续接种体积分数 6% 的戴尔有孢圆酵母。将发酵瓶瓶口覆以 8 层纱布进行密封, 发酵温度为 33 °C, 发酵 8 d, 恒温振荡培养箱转速为 180 r·min⁻¹。两组分别含有 24 瓶发酵样品, 醋酸发酵启动后每隔 24 h 取样一次, 共 8 次, 每组每次取出 3 瓶样品进行测定, 以保证足够的生物学平行。

1.3.2 理化指标测定

总酸含量的测定: 参考 GB 12456-2021 中电位滴定法^[11]; 酒精含量的测定: 参考 GB/T 15038-2006 中酒精计法^[12]; 还原糖含量的测定: 参考 GB 5009.7-2016 直接滴定法^[13]。

1.3.3 桑葚醋有机酸测定

参考宋雪苗等^[14]的方法采用高效液相色谱 (HPLC) 法测定主要有机酸。有机酸标准溶液配制: L-苹果酸、L-乳酸、乙酸、柠檬酸、酒石酸、草酸标准溶液各自分别为 5、10、20、50、100、200 mg·L⁻¹ 六个不同的质量浓度; 琥珀酸溶液质量浓度梯度为 25、50、100、200、300 mg·L⁻¹。取 5 mL 桑葚醋于 6 000 r·min⁻¹ 离心 2 min, 再用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 样品通过 250 mm×4.6 mm, 粒径 5 μm 的分析柱 (柱型号 ZORBAX SB-C18) 进行分析。进样体积设定为 15 μL, 流动相采用甲醇与 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾 (pH 值 2.5), 按体积比 5:95 混合而成, 流速控制在 0.4 mL·min⁻¹, 柱温保持 25 °C, 检测波长设为 210 nm。

1.3.4 桑葚醋挥发性风味物质测定

运用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用 (HS-SPME-GC-MS) 技术对挥发性风味物质进行检测, 参考黄娜等^[15]的方法并进行调整。称取 3 g 氯化钠, 加入到 15 mL 顶空瓶中, 放入磁力搅拌子, 再加入 5 mL 桑葚醋样品, 最后添加 5 μL 的 2-辛醇内标, 迅速密封好。将处理后的样品置于 45 °C 下平衡 10 min, 接着

插入萃取头进行顶空吸附, 时长 50 min, 随后把萃取头插入气相色谱 (GC) 进样口解析 5 min, 进而开展分析。

色谱条件: 色谱柱: 选用 Agilent 122-7062 DB-WAX (60 m×250 μm, 0.25 μm); 分离: 初始温度 45 °C, 维持 1 min, 之后以 5 °C·min⁻¹ 的速率升温至 190 °C, 保持 25 min, 整个运行时长 55 min; 进样模式: 采用不分流进样; 载气: 氦气 (He), 流量 1 mL·min⁻¹。质谱条件: 离子源温度设定为 230 °C, 四极杆温度为 150 °C, 离子化方式采用电子电离源, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围为 45~500 u。定性: 通过检测获取香气成分的保留时间和质谱数据, 把这些数据与相关文献及 NIST 05 质谱库进行比对以完成定性, 仅报告匹配度 (Qual) ≥ 85 的鉴定结果。定量: 采用内标法进行定量, 选用 2-辛醇作为内标物。

1.4 数据处理

借助 Origin 2022 软件, 绘制理化指标折线图并展开分析。利用 R 语言 (v 4.4.1) 绘制有机酸热图和箱线图, 以及挥发性风味物质 Venn 图和聚类热图。运用 R 语言 (v 4.4.1) 里的 psych 包, 对挥发性风味物质伴生网络的数据开展预处理, 再借助 Gephi (v 0.9.2) 绘制挥发性风味物质伴生网络图。挥发性风味物质的正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 模型通过 SIMCA 14.1 进行建立, 同时计算其重要性值, 即 VIP 值, 当挥发性风味物质的 VIP 值 > 1 时, 可认定该物质存在显著差异。通过 MetaboAnalyst 进行挥发性风味物质的代谢通路富集分析。

2 结果与讨论

2.1 桑葚醋发酵过程中理化指标的变化

MS 和 SS 醋酸发酵过程中总酸和还原糖含量的变化如图 1 所示。随着发酵的进行, 两组总酸含量呈现出阶段性变化, 即总酸含量先快速增长, 后续增长速率放缓, 总酸含量逐渐趋于平稳。MS 和 SS 最大值分别为 16.70 和 13.98 g·L⁻¹, MS 总酸含量增长速率优于 SS。宋雪苗等^[14]使用戴尔有孢圆酵母参与苹果醋发酵, 其总酸含量先迅速上升后稳定, 且混菌发酵的总酸含量高于单菌发酵。醋酸菌能够高效地催化醇类物质逐步转变为酸类物质, 直接推动了总酸含量前期的快速上升, 而当总酸含量达到一定数值并趋于稳定后, 醋酸发酵阶段完成。混菌发酵体系中更高的总酸含量可能是由于醋酸菌和戴尔有孢圆酵母共同存在, 对总酸的生成起到了促进作用。两组还原糖含量总体变化趋

势相近，均先增长后逐渐降低，最后有所回升，这可能是因为醋酸发酵启动阶段对还原糖的利用较少，随着戴尔有孢圆酵母和醋酸菌对发酵环境的适应，其对还原糖的转化作用不断加强。不同的是，MS 对还原糖的利用更加迅速且充分。

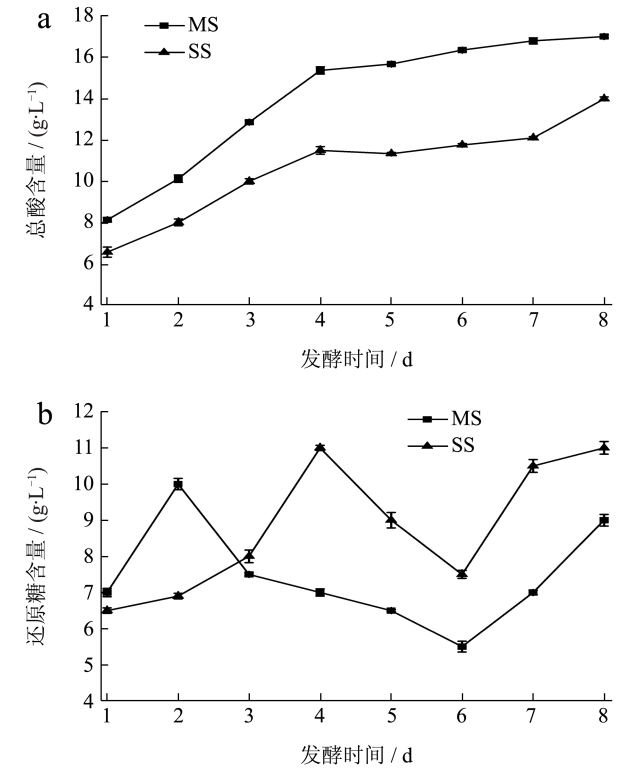


图1 桑葚醋醋酸发酵阶段总酸和还原糖含量变化情况

Fig.1 Changes in the contents of total acid and reducing sugar during the acetic acid fermentation stage of mulberry vinegar

注：a：总酸含量；b：还原糖含量。MS：混菌发酵桑葚醋；SS：单菌发酵桑葚醋。

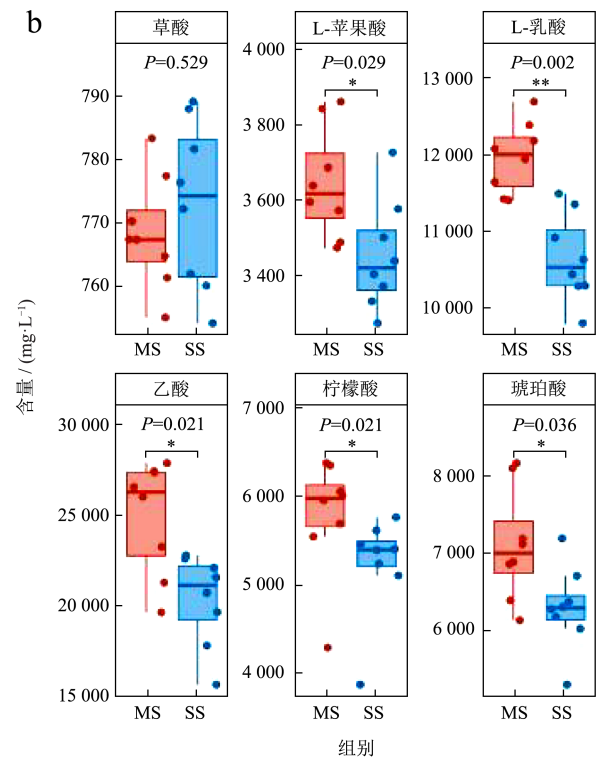
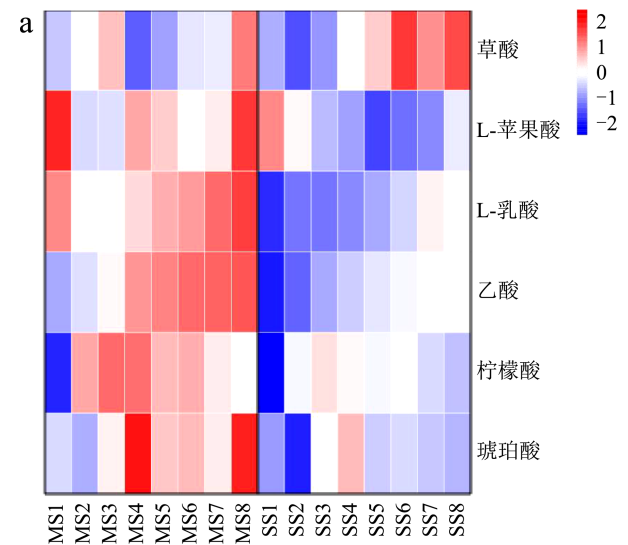


图2 桑葚醋醋酸发酵阶段有机酸合成情况

Fig.2 Synthesis of organic acids during the acetic acid fermentation stage of mulberry vinegar

注：a：有机酸含量变化热图；b：有机酸含量对比箱线图。MS：混菌发酵桑葚醋；SS：单菌发酵桑葚醋。1~8：发酵天数。
*表示 $P < 0.05$ ，**表示 $P < 0.01$ 。

2.2 桑葚醋有机酸检测结果与分析

采用液相色谱法测定了7种有机酸，两组桑葚醋共检测出6种有机酸，如图2所示。总体而言，与发酵起始相比，多种有机酸含量在发酵结束时不同程度的上升。在整个发酵过程中，MS和SS的草酸含量均呈现波动状态。在发酵前期，MS的草酸含量明显高于SS，然而，在发酵中后期，SS的草酸含量超过MS。两组中L-苹果酸的含量均随着发酵的进行先减少后增加。L-苹果酸能够有效缓冲乙酸所带来的尖锐酸味以及强烈的刺激性，提高桑葚醋酸味的柔和性^[16]。MS的L-乳酸含量在起始阶段呈现下降趋势，后转为持续上升；SS逐渐上升，发酵结束时有所下降。乙酸作为醋酸风味的核心贡献物质，在两组中的含量不断上升。MS和SS的柠檬酸均在发酵起始阶段上升，然后逐渐降低。琥珀酸的含量在整个发酵期间变化波动大。琥珀酸由丙酮酸经苹果酸、富马酸及部分氨基酸分解形成，易与其他分子反应生成酯^[17]，所以其含量

波动较大。在发酵结束时，除草酸外，其他有机酸的含量在 MS 中明显更高，且在发酵过程中它们的含量同样显著高于 SS ($P<0.05$)。具体而言，L-苹果酸、L-乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸分别提高了 9.73%、11.80%、22.58%、8.70% 和 31.18%。可见，戴尔有孢圆酵母在发酵时，与醋酸菌相互作用，使得发酵体系产酸能力得到增强。孙芳丹^[18]通过控制初始酒精度、醋酸菌种类和发酵温度得到优化后的桑葚醋，其草酸、苹果酸、乳酸、乙酸和柠檬酸含量分别为 0.27、0.15、1.78、11.28 和 1.26 g·L⁻¹，而该试验的 MS 中相应有机酸含量分别为 783.32、3 842.37、12 686.58、27 861.43、5 540.40 mg·L⁻¹，与之相比含量更高。

2.3 桑葚醋挥发性风味物质检测结果与分析

利用 HS-SPME-GC-MS 法检测 MS 与 SS 在醋酸发酵期间的挥发性风味物质，结果见图 3 和表 1。两组分别检出 77 种和 70 种主要挥发性风味物质，MS 中有 18 种醇、21 种酯、3 种酸、4 种醛、5 种酮、12 种芳香族化合物及 14 种其他物质，相对含量分别为 84.92、23.42、7.08、2.86、16.73、25.85 和 42.82 μg·mL⁻¹；SS 包括 15 种醇、18 种酯、2 种酸、3 种醛、5 种酮、12

种芳香族化合物和 15 种其他物质，相对含量分别为 75.85、9.41、5.21、1.91、13.45、24.26 和 26.44 μg·mL⁻¹，MS 中各类物质含量均有所提升，尤其是醇类和酯类物质。桑葚醋发酵过程中挥发性风味物质的变化通过 heatmap 图进行表征，且分别对两组挥发性风味物质进行聚类。整个发酵期间，MS 的挥发性风味物质不论种类还是含量，总体上都高于 SS，包括苯乙醇、癸酸乙酯、乙酸、苯甲醛、仲辛酮和苯乙烯等，其中以苯乙醇最为突出，高出 SS 9.96 μg·mL⁻¹。苯乙醇具有浓郁的玫瑰花香^[19]；癸酸乙酯具有类似玫瑰和菠萝的花果香^[20]；乙酸是食醋主要的酸性呈味物质^[21]；苯甲醛具有苦杏仁味^[22]；仲辛酮具有草本风味；苯乙烯则呈甜香^[23]。MS 和 SS 均可分为两个阶段，两者有一定的阶段性差异。MS 醇类物质的合成无明显阶段性，而 SS 的醇类物质主要集中于发酵中后期。MS 酮类物质的合成集中于发酵中期，而 SS 则在发酵前期。MS 芳香族化合物主要合成于发酵前中期，SS 主要在前期。说明混菌发酵对桑葚醋挥发性风味物质合成的阶段性有一定影响。此外，MS 含有 17 种独有挥发性风味物质，主要有醇类、酯类以及乙缩醛，这些物质共同贡献了两组桑葚醋挥发性风味物质的差异。

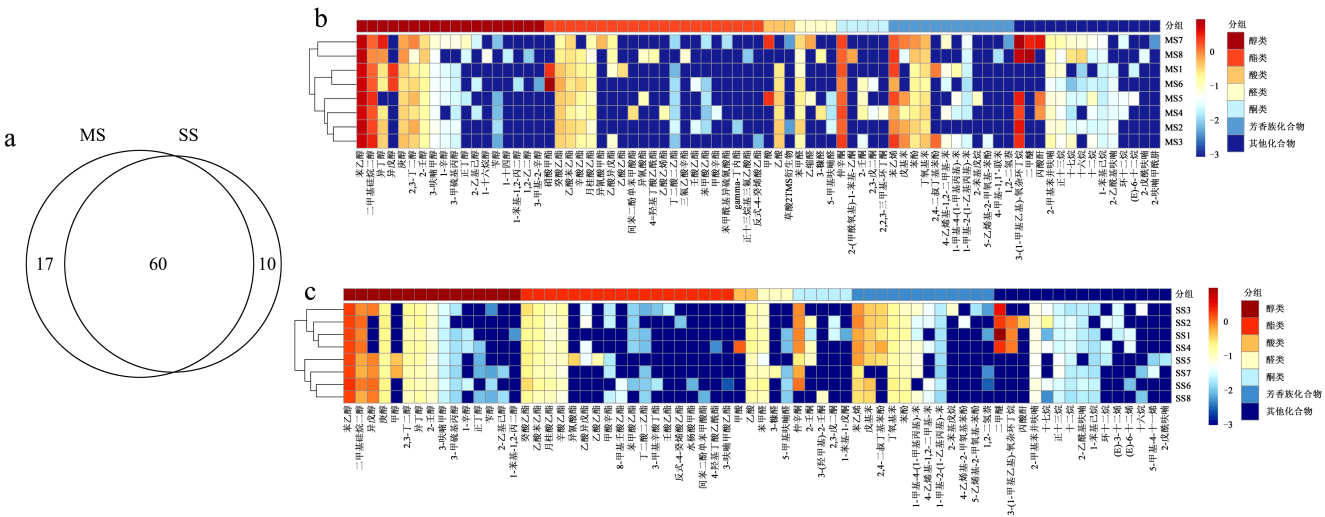


图 3 桑葚醋醋酸发酵阶段挥发性风味物质合成情况

Fig.3 Synthesis of volatile flavor compounds during the acetic acid fermentation stage of mulberry vinegar

注：a：挥发性风味物质种类差异 Venn 图；b：MS 挥发性风味物质聚类热图；c：SS 挥发性风味物质聚类热图。MS：混菌发酵桑葚醋；SS：单菌发酵桑葚醋。1-8：发酵天数。

表 1 挥发性风味物质含量表
Table 1 Content table of volatile flavor compounds

序号	分类	保留时间/min	物质名称	CAS 号	分子式	含量/(μg·mL ⁻¹)	
						MS	SS
1	醇类	39.06	苯乙醇	1960-12-8	C ₈ H ₁₀ O	48.10	38.14
2		32.97	二甲基硅烷二醇	1066-42-8	C ₂ H ₈ O ₂ Si	16.31	13.90
3		11.27	异丁醇	78-83-1	C ₄ H ₁₀ O	5.38	2.18
4		15.14	异戊醇	123-51-3	C ₅ H ₁₂ O	4.51	11.90
5		25.63	庚醇	111-70-6	C ₇ H ₁₆ O	3.51	3.24
6		28.93	2,3-丁二醇	123513-85-9	C ₄ H ₁₀ O ₂	3.28	2.22
7		28.02	2-壬醇	628-99-9	C ₉ H ₂₀ O	2.63	1.20
8		33.56	3-呋喃甲醇	4412-91-3	C ₅ H ₆ O ₂	0.40	0.33
9		29.57	1-辛醇	111-87-5	C ₈ H ₁₈ O	0.23	0.10
10		35.47	3-甲硫基丙醇	505-10-2	C ₄ H ₁₀ OS	0.21	0.16
11		12.87	正丁醇	71-36-3	C ₄ H ₁₀ O	0.15	0.05
12		26.96	2-乙基己醇	104-76-7	C ₈ H ₁₈ O	0.07	0.04
13		36.61	1-十六烷醇	36653-82-4	C ₁₆ H ₃₄ O	0.06	—
14		38.53	苜醇	100-51-6	C ₇ H ₈ O	0.04	0.04
15		32.39	1-十四醇	112-72-1	C ₁₄ H ₃₀ O	0.02	—
16		38.02	1-苯基-1,2-丙二醇	1855-09-0	C ₉ H ₁₂ O ₂	0.01	0.01
17		31.31	1,2-乙二醇	107-21-1	C ₂ H ₆ O ₂	0.01	—
18		26.29	3-甲基-2-辛醇	27644-49-1	C ₉ H ₂₀ O	0.01	—
19		7.19	甲醇	67-56-1	CH ₄ O	—	2.35
总和						84.93	75.86
1	酯类	7.01	硝酸甲酯	598-58-3	CH ₃ NO ₃	10.90	—
2		32.70	癸酸乙酯	110-38-3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	4.82	2.90
3		37.56	乙酸苯乙酯	103-45-7	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2.36	2.26
4		25.08	辛酸乙酯	106-32-1	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1.44	1.41
5		37.91	月桂酸乙酯	106-33-2	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.47	1.02
6		25.13	异氰酸甲酯	624-83-9	C ₂ H ₃ NO	0.51	—
7		11.79	乙酸异戊酯	123-92-2	C ₇ H ₁₄ O ₂	0.48	0.30
8		6.34	乙酸乙酯	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	0.29	0.25
9		17.74	间苯二酚单苯甲酸酯	136-36-7	C ₁₃ H ₁₀ O ₃	0.29	0.01
10		7.02	异氰酸酯	75-13-8	CHNO	0.22	0.74
11		30.77	4-羟基丁酸乙酯	591-81-1	C ₄ H ₈ O ₃	0.14	0.01
12		7.82	乙酸乙烯酯	108-05-4	C ₄ H ₆ O ₂	0.12	—
13		34.14	丁二酸二乙酯	123-25-1	C ₈ H ₁₄ O ₄	0.09	0.08
14		29.65	三氟乙酸辛酯	2561-21-9	C ₁₀ H ₁₇ F ₃ O ₂	0.08	—
15		28.68	壬酸乙酯	123-29-5	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.06	0.04
16		33.96	苯甲酸乙酯	93-89-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.08	0.06
17		29.59	甲酸辛酯	112-32-3	C ₉ H ₁₈ O ₂	0.03	0.16

续表1

序号	分类	保留时间/min	物质名称	CAS 号	分子式	含量/(μg·mL ⁻¹)	
						MS	SS
18	酯类	33.40	532-55-8	C ₈ H ₅ NOS	苯甲酰基异硫氰酸酯	0.01	—
19		32.59	96-48-0	C ₄ H ₆ O ₂	gamma-丁内酯	0.01	—
20		32.07	53800-02-5	C ₁₅ H ₂₇ F ₃ O ₂	三氟乙酸正十三烷基酯	0.01	—
21		33.78	76649-16-6	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	反式-4-癸烯酸乙酯	0.01	0.01
22		40.65	1000452-00-8	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	8-甲基壬酸乙酯	—	0.12
23		33.50	2035-99-6	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	3-甲基辛酸丁酯	—	0.04
24		36.87	119-36-8	C ₈ H ₈ O ₃	水杨酸甲酯	—	0.01
25		32.14	614-98-2	C ₇ H ₈ O ₃	3-呋喃甲酸乙酯	—	0.01
总和						23.42	9.41
1	酸类	6.99	64-18-6	CH ₂ O ₂	甲酸	4.69	3.29
2		25.46	64-19-7	C ₂ H ₄ O ₂	乙酸	2.38	1.92
3		33.09	18294-04-7	C ₈ H ₁₈ O ₄ Si ₂	草酸 2TMS 衍生物	0.01	—
总和						7.08	5.21
1	醛类	28.34	100-52-7	C ₇ H ₆ O	苯甲醛	1.67	1.58
2		6.46	105-57-7	C ₆ H ₁₄ O ₂	乙缩醛	0.73	—
3		25.74	498-60-2	C ₅ H ₄ O ₂	3-糠醛	0.41	0.26
4		30.25	620-02-0	C ₆ H ₆ O ₂	5-甲基呋喃醛	0.06	0.07
总和						2.86	1.91
1	酮类	18.34	111-13-7	C ₈ H ₁₆ O	仲辛酮	15.29	12.79
2		17.71	55153-12-3	C ₉ H ₈ O ₃	2-(甲酰氧基)-1-苯基-乙酮	0.66	—
3		22.53	821-55-6	C ₉ H ₁₈ O	2-壬酮	0.61	0.39
4		9.75	600-14-6	C ₅ H ₈ O ₂	2,3-戊二酮	0.09	0.08
5		6.23	1449-49-6	C ₇ H ₁₂ O	2,2,3-三甲基-环丁酮	0.07	—
6		22.72	67801-33-6	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	3-(羟甲基)-2-壬酮	—	0.18
7		33.39	1009-14-9	C ₁₁ H ₁₄ O	1-苯基-1-戊酮	—	0.01
总和						16.73	13.45
1	芳香族类	17.02	100-42-5	C ₈ H ₈	苯乙烯	11.50	10.61
2		23.73	538-68-1	C ₁₁ H ₁₆	戊基苯	5.88	3.43
3		40.19	108-95-2	C ₆ H ₆ O	苯酚	2.58	2.00
4		29.76	1126-79-0	C ₁₀ H ₁₄ O	丁氧基苯	2.71	2.49
5		43.96	96-76-4	C ₁₄ H ₂₂ O	2,4- 二叔丁基苯酚	2.23	4.12
6		27.62	27831-13-6	C ₁₀ H ₁₂	4-乙烯基-1,2-二甲基-苯	0.35	0.29
7		23.21	1595-16-0	C ₁₁ H ₁₆	1-甲基-4(1-甲基丙基)-苯	0.28	0.84
8		26.15	54410-74-1	C ₁₂ H ₁₈	1-甲基-2(1-乙基丙基)-苯	0.17	0.19
9		25.20	2719-52-0	C ₁₁ H ₁₆	2-苯基戊烷	0.10	0.17
10		42.20	621-58-9	C ₉ H ₁₀ O ₂	5-乙烯基-2-甲氧基-苯酚	0.03	0.02
11		42.72	7786-61-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	—	0.07
12		39.15	644-08-6	C ₁₃ H ₁₂	4-甲基-1,1'-联苯	0.01	—
13		30.75	447-53-0	C ₁₀ H ₁₀	1,2-二氢萘	0.01	0.02
总和						25.85	24.26

续表1

序号	分类	保留时间/min	物质名称	CAS 号	分子式	含量/(μg·mL ⁻¹)	
						MS	SS
1	其他类	15.10	10317-17-6	C ₆ H ₁₂ O	3-(1- 甲基乙基)-氧杂环丁烷	23.70	7.28
2		6.96	115-10-6	C ₂ H ₆ O	二甲醚	10.45	15.19
3		15.17	123-62-6	C ₆ H ₁₀ O ₃	丙酸酐	5.15	0.94
4		31.20	4265-25-2	C ₉ H ₈ O	2-甲基苯并呋喃	0.89	0.78
5		19.23	629-50-5	C ₁₃ H ₂₈	正十三烷	0.52	0.45
6		31.00	629-78-7	C ₁₇ H ₃₆	十七烷	0.60	0.52
7		31.64	544-76-3	C ₁₆ H ₃₄	十六烷	0.47	0.11
8		14.15	112-40-3	C ₁₂ H ₂₆	十二烷	0.33	0.31
9		28.12	1077-16-3	C ₁₂ H ₁₈	1-苯基己烷	0.22	0.18
10		27.53	1192-62-7	C ₆ H ₆ O ₂	2-乙酰基呋喃	0.23	0.21
11		17.12	294-62-2	C ₁₂ H ₂₄	环十二烷	0.14	0.11
12		16.67	7206-17-9	C ₁₂ H ₂₄	(E)-6-十二烯	0.07	0.13
13		27.53	3194-17-0	C ₉ H ₁₂ O ₂	2-戊酰呋喃	0.03	0.03
14		40.42	3326-71-4	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	2-呋喃甲酰肼	0.01	—
15		16.55	7206-14-6	C ₁₂ H ₂₄	(E)-3-十二烯	—	0.14
16		15.46	20634-43-9	C ₁₂ H ₂₄	5-甲基 v-4-十一烯	—	0.07
总和						42.82	26.44

注：“—”表示未检出。

2.4 差异挥发性风味物质的筛选与分析

戴尔有孢圆酵母对桑葚醋中挥发性风味物质组成差异的影响见图 4。MS 和 SS 在各时间点的样品完全分开，说明两组桑葚醋在醋酸发酵过程中的挥发性风味物质组成具有明显差异。随着发酵的进行，MS 样品分布逐渐分散，而 SS 样品愈发集中，且 MS 在整个发酵过程中的样品分布较 SS 呈现出更为分散的状态，这表明在戴尔有孢圆酵母参与下发酵的桑葚醋具有更为丰富的挥发性风味物质组成变化。通过置换检验，进一步证实了 OPLS-DA 模型的准确性，即 R^2 和 Q^2 拟合回归线的斜率均大于 0； R^2 和 Q^2 原始值均高于左侧所有点； Q^2 回归线的截距小于 0。通过 OPLS-DA 模型得到了挥发性风味物质 VIP 值，其中两组桑葚醋筛选到了 15 种差异挥发性风味物质（VIP>1），分别是苯乙醇、二甲基硅烷二醇、3-(1- 甲基乙基)-氧杂环丁烷、月桂酸乙酯、戊基苯、1- 甲基 -4-(1-甲基丙基)-苯、(E)-3-十二烯、甲酸辛酯、癸酸乙酯、2-壬醇、异丁醇、1,2- 二氢萘、1-辛醇、3-呋喃甲醇和 2,3-丁二醇。苯乙醇是两组桑葚醋挥发性风味物质差异的最大贡献者，

它是通过酵母在厌氧条件下的代谢反应由 L-苯丙氨酸衍生生成，对醋味的形成具有积极作用^[24]；异丁醇具有果香味；2,3-丁二醇赋予桑葚醋柔和甜感；2-壬醇带有类似柑橘类的果香和铃兰的花香；1-辛醇具有柑橘、玫瑰和薰衣草等复杂且有层次感的花果香。月桂酸乙酯带有油脂复合的香气^[25]；甲酸辛酯常被用于调配具有清新香调的产品；1,2-二氢萘具有类似樟脑丸的气味。可见，MS 中醇类物质尤为突出，已有研究表明接种非酿酒酵母 *Torulaspora delbrueckii* 可以提高发酵体系中醇类物质的含量^[26]。综上，混菌发酵对于桑葚醋的果香、花香气味以及柔和、绵甜感有重要影响。

2.5 桑葚醋挥发性风味物质伴生网络结构分析

挥发性风味物质的伴生网络能够展示不同挥发性风味物质之间的关联，通过分析网络结构，可以了解哪些风味物质倾向于同时出现，哪些物质之间存在相互促进或抑制的关系。因此，分别构建了醋酸发酵过程两组挥发性风味物质的伴生网络，从而明确戴尔有孢圆酵母对桑葚醋挥发性风味物质合成的影响。如图 5 所示，MS 挥发性风味物质伴生网络中的所有

节点被聚集成 9 个模块, 5 个大模块 ($>10\%$) 占比分别为 28.95%、23.68%、11.84%、10.53%、10.53%, 其他模块占比 14.47%。伴生网络由 76 个节点和 236 条边组成, 模块化指数为 0.90, 平均度为 6.21, 节点平均聚类系数为 0.61, 平均路径长度为 3.22。二甲醚、1-甲基-2-(1-乙基丙基)-苯、庚醇、癸酸乙酯、乙酸异戊酯、苯酚、甲酸和乙缩醛具有较高的度, 说明这些挥发性风味物质与其他物质的关联性较强。SS 的伴生网络由 67 个节点和 190 条边组成, 模块化指数为 0.98, 平均度为 5.67, 节点平均聚类系数为 0.63, 平均路径长度为 2.78。网络由 14 个模块组成, 包括 4 个大模块 (20.90%、19.40%、13.43%、10.45%) 和其他模块 (35.82%)。苯乙烯、2-乙酰基呋喃、2-甲基苯并呋喃、乙酸苯乙酯、3-甲基辛酸丁酯、2-乙基己醇、

1-甲基-2-(1-乙基丙基)-苯、3-呋喃甲醇和苯甲酸乙酯与其他风味物质的关联性较强。模块化衡量了网络图结构的模块化程度；平均度指一个节点直接相连的边的数量；通过结合平均聚类系数和平均路径长度，可以揭示“小世界”效应，表现为节点倾向于聚类和形成紧密群体的整体趋势。综合伴生网络各指标，可见，MS 挥发性风味物质伴生网络具有更高的复杂性，物质之间的相互作用传递性更强。在两组伴生网络中，差异挥发性风味物质苯乙醇、2-壬醇、异丁醇和3-呋喃甲醇均属于同一个模块，且这些物质无论是在MS 还是SS 中的变化趋势都一致，可见，这些物质可能具有相似的合成规律。结果表明，混菌发酵对挥发性风味物质的相互作用具有较大的影响，有利于增加桑葚醋香气成分的复杂性。

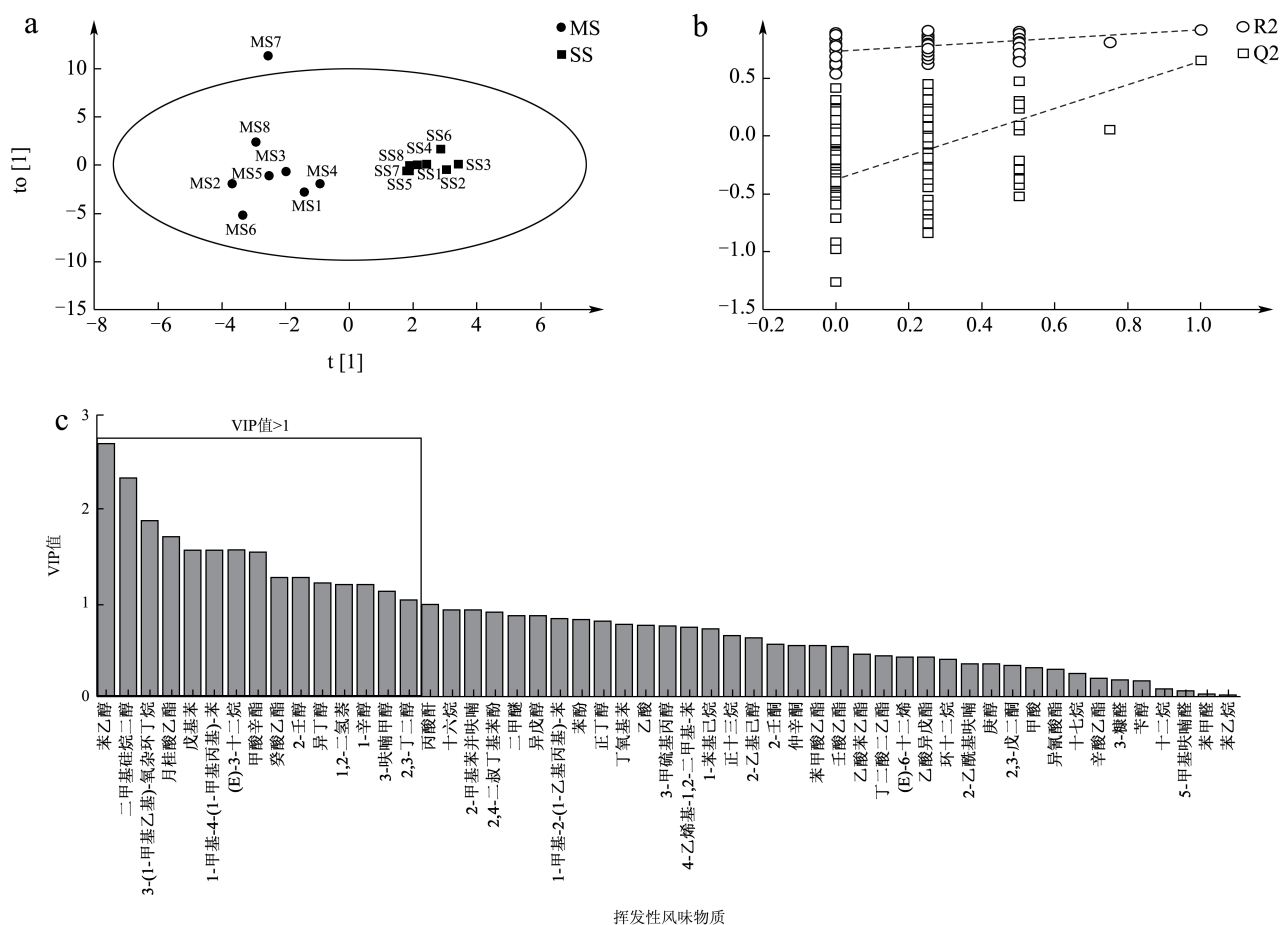


图 4 桑葚醋醋酸发酵过程挥发性风味物质差异情况

Fig.4 Variations in volatile flavor compounds during acetic acid fermentation of mulberry vinegar

注: a: 挥发性风味物质 OPLS-DA 模型; b: OPLS-DA 模型置换检验; c: 挥发性风味物质 VIP 值。

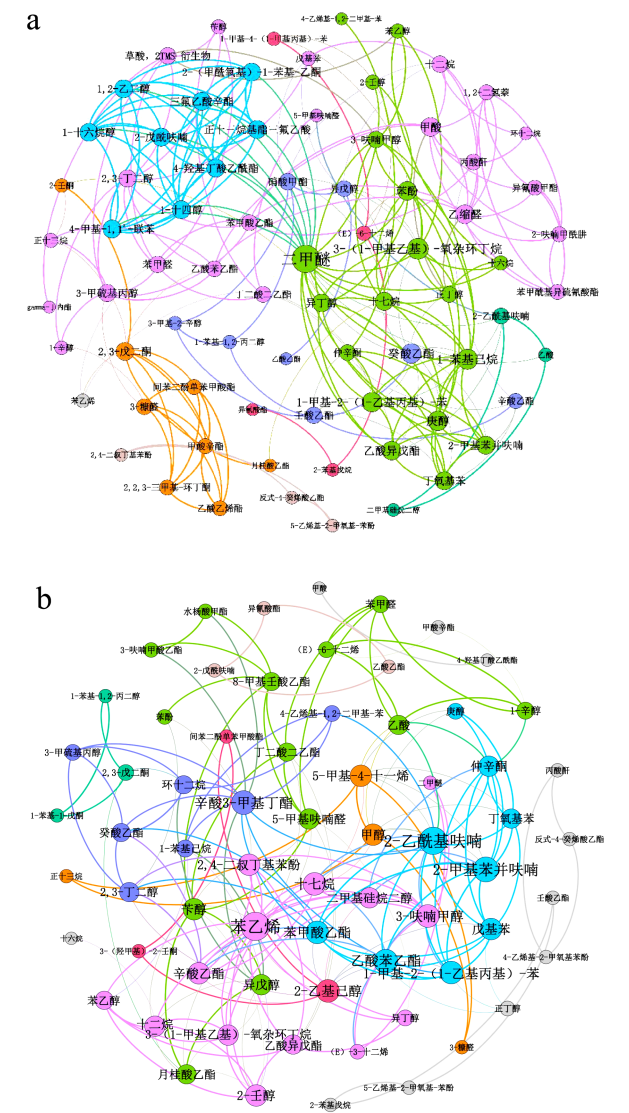


图5 桑葚醋醋酸发酵阶段挥发性风味物质共现网络分析

Fig.5 Co-occurrence network analysis of volatile flavor compounds during the acetic acid fermentation stage of mulberry vinegar

注：a：MS 挥发性风味物质伴生网络；b：SS 挥发性风味物质伴生网络。

2.6 桑葚醋醋酸发酵代谢功能富集分析

为了进一步探索 MS 和 SS 桑葚醋差异风味物质在醋酸发酵过程中的差异表达，对其进行基于 KEGG 数据库的代谢通路富集分析。富集分析显示 5 条通路被显著富集（图 6），它们是乙醛酸和二羧酸代谢、丙酸酯代谢、丙酮酸代谢、糖酵解 / 糖异生和苯丙氨酸代谢（ $P < 0.05$ ）。乙醛酸和二羧酸代谢以及丙酸酯代谢是高度富集的通路，其 P 值分别为 0.000 2 和 0.000 5，它们涉及丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸等多种氨基酸以及其他前体物质的合成与转换，对多种挥发性风味物质的

生成具有重要作用。丙酮酸代谢、糖酵解 / 糖异生和苯丙氨酸代谢途径直接参与了苯乙醇、乙酸和乙醇等物质的产生^[27]。这可能是两组桑葚醋中苯乙醇和乙酸等具有显著差异的原因。已有研究证明，戴尔有孢圆酵母参与的混菌发酵可以促进苯乙醇、乙酸苯乙酯和苯甲醛等风味物质的合成^[28,29]。此外，MS 还原糖利用程度明显高于 SS，这可以通过糖酵解 / 糖异生过程进行解释，因为还原糖的消耗主要发生于该过程中。综上，戴尔有孢圆酵母参与的混菌发酵更有利于前体物质的积累和风味物质的形成。

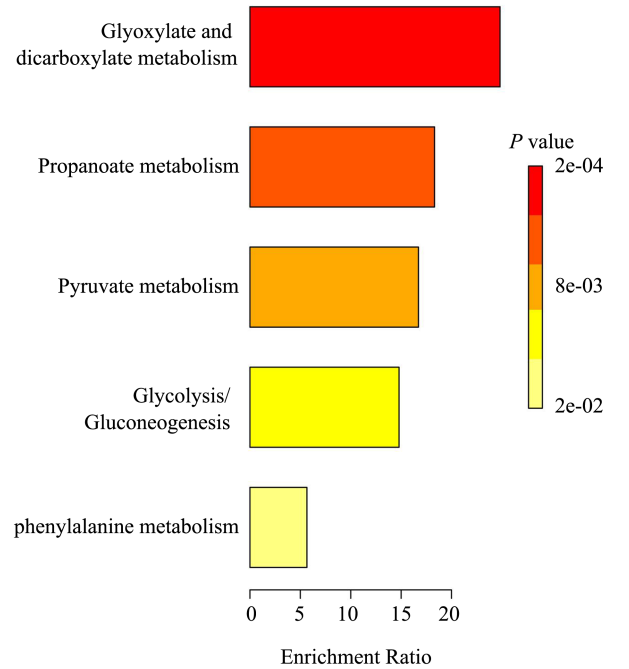


图6 桑葚醋差异挥发性风味物质代谢通路富集分析

Fig.6 Enrichment analysis of metabolic pathways of differential volatile flavor compounds in mulberry vinegar

3 结论

通过加入戴尔有孢圆酵母进行混菌发酵，测定桑葚醋醋酸发酵阶段理化指标、有机酸及挥发性风味物质。结果表明，MS 总酸生成速率和还原糖利用程度高于 SS。MS 的 L- 苹果酸、L- 乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸含量均显著高于 SS（ $P < 0.05$ ），分别提升了 9.73%、11.80%、22.58%、8.70% 和 31.18%。挥发性风味物质的种类和含量均在 MS 中更高，特别是醇类和酯类物质，且 MS 有更多的独有挥发性风味物质，两组挥发性风味物质合成的阶段性也不相同。苯乙醇、异丁醇、2,3- 丁二醇、2- 壬醇、3- 呋喃甲醇、1- 辛醇、癸酸乙酯、月桂酸乙酯和戊基苯等 15 种差异挥发性风味物质凸显了 MS 的花果香和蜜甜香。伴生网络的构建结果表明，混菌发酵增强了挥发性风味物质之间的

关联性以及伴生网络的复杂性, 差异挥发性风味物质苯乙醇、2-壬醇、异丁醇和3-呋喃甲醇等具有潜在的关联。差异风味物质富集得到5条显著的代谢通路, 发现混菌发酵更有利于多种氨基酸等前体物质的转换以及风味物质的合成。总体而言, 戴尔有孢圆酵母参与的混菌发酵促进了桑葚醋发酵过程中还原糖的利用和总酸的生成, 有助于提升有机酸含量, 丰富桑葚醋挥发性风味物质的组成, 为混菌酿造桑葚醋的进一步发酵优化提供了理论依据, 同时也可作为混菌酿造浆果类果醋的发酵研究提供参考和借鉴。

参考文献

- [1] 石晨晖,沈晓溪,张一鸣,等.葡萄桑葚复合果醋工艺优化和不同发酵时期的风味成分检测[J].食品工业科技,2021,42(20):164-172.
- [2] XIONG Y, YANG M, MA S, et al. Effects of thermal and non-thermal sterilization methods on the phytochemicals, flavor profile, and antioxidant properties of high acidity mulberry vinegar [J]. Fermentation, 2025, 11(2): 65.
- [3] IN S B, YOUNG H K, TACK W S, et al. Mulberry vinegar attenuates lipopolysaccharide and interferon gamma-induced inflammatory responses in C6 glial cells [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(8): e14197.
- [4] AYEAYIRE R S, YUE M, MENG X, et al. Fast monitoring total acids and total polyphenol contents in fermentation broth of mulberry vinegar using MEMS and optical fiber near-infrared spectrometers.[J]. Spectrochimica acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 260: 119938.
- [5] 蒋忠,冯文利,王伟,等.乳酸菌和酵母菌共酵改善食醋品质的研究[J].中国酿造,2015,34(9):104-108.
- [6] 杨星莹,杨叶眉,王艺瑾,等.基于模糊数学和响应面法优化桑葚醋饮料生产工艺[J].食品工业,2025,46(2):53-60.
- [7] 赵鑫,任朝琴,戴先芝.桑葚醋发酵优化及提取物抗氧化能力分析[J].广州化学,2022,47(1):57-63,70.
- [8] 汪晓琳.双菌株混合发酵生产桑葚果醋工艺的研究[J].中国调味品,2017,42(7):100-105.
- [9] NIKULIN J, AISALA H, GIBSON B. Production of non-alcoholic beer via cold contact fermentation with *Torulaspora delbrueckii* [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2022, 128(1): 28-35.
- [10] YIM E J, JO S W, KANG H J, et al. Protection against osteoporosis by fermented mulberry vinegar supplementation via inhibiting osteoclastic activity in ovariectomized rats and osteoclastic cells [J]. Fermentation, 2022, 8(5): 211.
- [11] GB 12456-2021,食品中总酸的测定[S].
- [12] GB/T 15038-2006,葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
- [13] GB 5009.7-2016,食品中还原糖的测定[S].
- [14] 宋雪苗,马世源,李子健,等.苹果内生菌*Torulaspora delbrueckii* 强化对苹果醋风味物质合成的影响[J].食品科学,2023,44(20): 330-342.
- [15] 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.
- [16] OUSAAID D, MECHCHATE H, LAAROUSSI H, et al. Fruits vinegar: Quality characteristics, phytochemistry, and functionality [J]. Molecules, 2021, 27(1): 222.
- [17] DU J, LI Y, XU J, et al. Characterization of key odorants in Langyatai Baijiu with Jian flavour by sensory-directed analysis [J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129363.
- [18] 孙方丹.桑葚果醋的发酵工艺条件及生理活性研究[D].延边:延边大学,2020.
- [19] SHI W K, WANG J, CHEN F S, et al. Effect of *Issatchenkia terricola* and *Pichia kudriavzevii* on wine flavor and quality through simultaneous and sequential co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. LWT, 2019, 116: 108477.
- [20] TIAN H, XIONG J, SUN J, et al. Dynamic transformation in flavor during hawthorn wine fermentation: Sensory properties and profiles of nonvolatile and volatile aroma compounds coupled with multivariate analysis [J]. Food Chemistry, 2024, 456: 139982.
- [21] HAO Y, KANG J, GUO Y, et al. Bacterial interactions mediated by acetic acid and their impact on flavor profile during acetic acid fermentation stage of Shanxi aged vinegar [J]. Food Bioscience, 2025, 64: 105996.
- [22] 刘佳明,吴国锋,卿纯,等.百合酒酿造适宜发酵剂筛选[J/OL].食品与发酵工业,1-10[2025-05-28].
- [23] TEŠEVIĆ V, NIKIĆEVIĆ N, MILOSAVLJEVIĆ S M, et al. Characterization of volatile compounds of “Drenja”, an alcoholic beverage obtained from the fruits of cornelian cherry [J]. Journal of the Serbian Chemical Society, 2009, 74(2): 117-128.
- [24] WANG Z M, LU Z M, YU Y J, et al. Batch-to-batch uniformity of bacterial community succession and flavor formation in the fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar [J]. Food Microbiology, 2015, 50: 64-69.
- [25] YIN H, WEI Y, WU Y, et al. Characterization of the differences in lipid profiles and volatile compounds of adipose stem cells adipogenic differentiation and adipocytic transdifferentiation of muscle stem cells from large yellow croakers based on UPLC-MS/MS and GC-IMS [J]. Food Chemistry, 2025, 470: 142658.
- [26] LIU S, CHEN Q, ZOU H, et al. A metagenomic analysis of the relationship between microorganisms and flavor development in Shaoxing mechanized Huangjiu fermentation mashes [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 303: 9-18.
- [27] JIN Y, LI D, AI M, et al. Correlation between volatile profiles and microbial communities: a metabonomic approach to study Jiang-flavor liquor Daqu [J]. Food Research International, 2019, 121: 422-432.
- [28] CHENG Y, GENG S, ZHANG J, et al. A comprehensive study on fermentation and aroma contributions of *Torulaspora delbrueckii* in diverse wine varieties: Insights from pure and co-fermentation studies [J]. Food Research International, 2025, 199: 115340.
- [29] 尹雪林,龚丽娟,钟武,等.戴尔有孢圆酵母与酿酒酵母混合发酵对猕猴桃酒香气的影响[J].食品科学,2021,42(22):216-223.