

分类号：
学号：20222011007

密级：请注明密级及保密期限
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



黑桑果醋发酵过程中风味和代谢物变化的研究

学位申请人	邵立恒
指导教师	单春会教授
申请学位门类级别	工学硕士
学科、专业名称	食品科学与工程
研究方向	果蔬加工
所在学院	食品学院

中国·新疆·石河子
2025年5月

分类号：
学号：20222011007

密级：请注明密级及保密期限
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



黑桑果醋发酵过程中风味和代谢物变化的研究

学位申请人	邵立恒
指导教师	单春会教授
申请学位门类级别	工学硕士
学科、专业名称	食品科学与工程
研究方向	果蔬加工
所在学院	食品学院

中国·新疆·石河子
2025年5月

**Research on flavor and metabolite changes during fermentation of
black mulberry vinegar**

A Dissertation Submitted to
Shihezi University
In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Engineering

By

Shao Liheng
(Food Science and Engineering)

Dissertation Supervisor: Prof. Shan Chun-hui(指导教师)

May, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名： 鄯立恒 时间： 2025 年 5 月 24 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名： 鄯立恒 时间： 2025 年 5 月 24 日

导师签名： 李春会 时间： 2025 年 5 月 24 日

摘要

新疆黑桑葚富含糖类、有机酸和多酚化合物，深受欢迎消费者欢迎。新疆是黑桑葚的重要产区，产出的黑桑葚品质高、产量大。然而，目前新疆黑桑葚以鲜食为主，精深加工产品较少、资源利用不充分。因此，需要充分利用黑桑葚资源，提高产品附加值。本文以新疆黑桑葚为原料发酵黑桑果醋，首先筛选出最适合新疆黑桑葚发酵的发酵方式，在此基础上优化发酵工艺，然后对黑桑果醋的发酵过程中品质成分、挥发性有机化合物和非挥发代谢物的变化规律进行研究，从而得到一款果香浓郁、酸甜适口的黑桑果醋。本文主要结果如下：

(1) 通过单菌发酵和混菌发酵黑桑果醋的 VOCs 构成差异选择最佳接种方式。结果表明，相较于单菌发酵黑桑果醋，混菌发酵黑桑果醋的 VOCs 含量 (17390.63 $\mu\text{g/L}$) 显著提升、VOCs 种类 (34 种) 最多，因此选择混菌发酵作为黑桑果醋的接种方式。在此基础上，通过总酸含量确定黑桑果醋发酵的最佳工艺为发酵温度 30.7 $^{\circ}\text{C}$ 、初始酒精度 8 vol%、添加 0.27%柠檬酸、接种 14%混合种子液发酵 12 d，得到的黑桑果醋总酸含量达 66.51 g/L。

(2) 通过高效液相色谱法测定黑桑果醋发酵过程中有机酸和多酚化合物变化。结果表明，黑桑果醋发酵后的有机酸含量 (52455.02 mg/L) 提高 4.09 倍，以醋酸 (45551.76 mg/L) 为主，其次是乳酸和柠檬酸等；共检测到 14 种多酚化合物，黑桑果醋的绿原酸 (17.13 mg/L)、没食子酸 (1.76 mg/L)、咖啡酸 (1.38 mg/L) 和山奈酚 (6.16 mg/L) 等多酚化合物的含量较黑桑果汁显著提高，多酚化合物含量 (270.00 mg/L) 较黑桑果汁提高了 1.3 倍。通过比色法测定黑桑果醋发酵过程中自由基清除能力变化。结果表明，黑桑果醋发酵后羟自由基清除率 (86.85%) 显著提高；在醋酸发酵阶段 ABTS 自由基清除能力和 DPPH 自由基清除能力呈现上升趋势。

(3) 通过气相色谱质谱法测定黑桑果醋发酵过程中的 VOCs 变化。结果表明，共检测到 61 种 VOCs，包括 14 种醇类 VOCs、10 种羰基类 VOCs、14 种酸类 VOCs、21 种酯类 VOCs 和 2 种其它 VOCs，其中 20 种 VOCs 源于黑桑果汁，其余 41 种 VOCs 在发酵过程中产生。黑桑果醋发酵后的醇类 VOCs 含量和酯类 VOCs 含量分别下降了 75.04%和 78.95%，羰基 VOCs 含量提升 36.10%，酸类 VOCs 含量提升 13.46 倍，总 VOCs 的含量提升了 29.75%；PCA 模型显示黑桑果汁、黑桑果酒和黑桑果醋的样本点独立分布在不同区间，表明三者的 VOCs 存在显著差异。OAV 分析发现，黑桑果汁的风味由花果香型的芳樟醇、苯乙醇和 1-辛烯-3-醇等 10 种特征香气构成，黑桑果醋发酵后不仅保留了芳樟醇、苯乙醇，还产生了新的特征香气乙偶姻 (2288.65 $\mu\text{g/L}$) 和癸酸乙酯 (560.58 $\mu\text{g/L}$)。

(4) 通过非靶向代谢组学技术对黑桑果汁、黑桑果酒和黑桑果醋中的非挥发性代谢物进行鉴定。将样本检出的 3222 种代谢物进行差异代谢物分析，结果表明：酒精发酵过程中的差异代谢物 (151 种) 和醋酸发酵过程中的差异代谢物 (119 种) 主要是氨基酸和类黄酮。将差异代谢物进行 KEGG 富集分析以挖掘黑桑果醋发酵过程中的重要代谢通路，结果表明：L-天冬氨酸通过烟酸和烟酰胺代谢途径，产生烟酸、烟酰胺和 γ -氨基丁酸，提高黑桑果醋的维生素和非蛋白氨基酸含量；L-苯丙氨酸通过苯丙氨酸代谢途径为类黄酮的生物合成提供原料，产生柚皮素、飞燕草素等类黄酮，提高黑桑

果醋的生物活性物质含量；丙酮酸通过糖酵解途径生成黑桑果醋的特征香气乙偶姻，并产生副产物 2, 3-丁二醇、乙酸等 VOCs；支链氨基酸通过氨基酸降解途径生成对应的高级醇，包括缬氨酸降解生成异丁醇、亮氨酸降解生成异戊醇和苯丙氨酸降解生成苯乙醇等，改善黑桑果醋的风味特征。

关键词：桑葚；果醋；挥发性有机化合物；风味；代谢组学

Abstract

Xinjiang black mulberry, rich in sugars, organic acids, and polyphenols, faces underutilization despite being a major high-yield, high-quality producer. This study develops black mulberry fruit vinegar through optimized fermentation to enhance resource value. By first identifying the optimal fermentation method and optimizing parameters, we then analyzed dynamics of key components (quality indicators, volatile organic compounds, and non-volatile metabolites) during fermentation. The resulting product achieved balanced sweet-sour flavor with enhanced fruity characteristics. Key findings are presented as follows:

(1) The optimal inoculation method was selected by the difference in the composition of VOCs between single- and mixed-bacteria fermented black mulberry fruit vinegar. Comparative VOC analysis between single- and mixed-bacteria fermentation identified co-culture as superior, yielding higher VOC content (17,390.63 $\mu\text{g/L}$) and diversity (34 species). Process optimization based on total acidity established optimal parameters: 30.5 °C, 8% vol initial alcohol, 0.27% citric acid, 14% inoculum dose, and 12-day fermentation, achieving 66.51 g/L total acidity.

(2) HPLC analysis revealed 4.09-fold organic acid accumulation (52,455.02 mg/L) dominated by acetic acid (45,551.76 mg/L), alongside 1.3-fold polyphenol enrichment (270.00 mg/L) featuring chlorogenic(17.13 mg/L), gallic(1.76 mg/L), and caffeic acids(1.38 mg/L) with kaempferol(6.16 mg/L). Colorimetric assays demonstrated enhanced radical scavenging: hydroxyl radical inhibition reached 86.85%, while ABTS and DPPH capacities increased during acetic acid fermentation.

(3) GC-MS analysis tracked VOC dynamics during black mulberry vinegar fermentation, detecting 61 VOCs (14 alcohols, 10 carbonyls, 14 acids, 21 esters, 2 others) with 41 newly formed during fermentation. Post-fermentation, alcohols and esters decreased by 75.04% and 78.95%, respectively, while carbonyls increased 36.10%, acids surged 13.46-fold, and total VOCs rose 29.75%. PCA model revealed distinct clustering of juice, wine, and vinegar samples, confirming VOC profile divergence. OAV identified 10 floral-fruity aroma markers (e.g., linalool, phenylethanol) in juice. Vinegar retained key markers while generating new signatures: ethyl diphthong (2,288.65 $\mu\text{g/L}$) and ethyl caprylate (560.58 $\mu\text{g/L}$).

(4) Untargeted metabolomics identified 3,222 non-volatile metabolites across black mulberry fermentation stages. Differential analysis revealed alcoholic fermentation upregulated 137 and downregulated 14 metabolites, while acetic acid fermentation upregulated 79 and downregulated 40. KEGG enrichment highlighted the TCA cycle as central, supplying intermediates for amino acid metabolism and bioactive synthesis (VOCs, polyphenols). Key mechanisms: L-aspartic acid enhanced vitamin content via nicotinate/nicotinamide metabolism; L-phenylalanine boosted flavonoids

(naringenin, felicinin) through phenylpropanoid pathways; pyruvate generated characteristic aromas via glycolysis (2,3-butanediol, acetic acid); branched-chain amino acids (valine to isobutanol, leucine to isoamyl alcohol, phenylalanine to phenylethanol) enriched flavor profiles.

Key words: black mulberry; fruit vinegar; volatile organic compounds; metabolomics

目录

第 1 章 绪论	1
1.1 黑桑葚及其研究进展	1
1.1.1 黑桑葚简介	1
1.1.2 黑桑葚的营养成分和功能特性	1
1.1.3 黑桑葚加工现状	1
1.2 果醋及其研究进展	2
1.2.1 醋酸菌简介	2
1.2.2 果醋的加工和功能特性	3
1.2.3 果醋的研究进展	4
1.3 果醋风味及其研究进展	5
1.3.1 果醋风味的检测	5
1.3.2 果醋风味的构成	6
1.3.3 非挥发代谢物对果醋风味的影响	6
1.4 研究目的及意义	7
1.5 研究内容及技术路线	7
1.5.1 研究内容	7
1.5.2 技术路线	8
第 2 章 黑桑果醋工艺的研究	9
2.1 试验材料	9
2.1.1 实验原料与菌株	9
2.1.2 实验试剂与仪器	9
2.2 试验方法	10
2.2.1 工艺流程及操作要点	10
2.2.2 单因素实验	11
2.2.3 响应面优化实验	12
2.2.4 总酸测定方法	13
2.2.5 挥发性有机化合物测定方法	13
2.2.6 数据处理	13
2.3 结果与分析	13

2.3.1 单因素试验结果与分析	13
2.3.2 响应面试验结果与分析	18
2.4 本章小结	22
第 3 章 黑桑果醋发酵过程中理化指标、活性成分和抗氧化能力变化	23
3.1 试验材料	23
3.1.1 试验原料	23
3.1.2 试验试剂与仪器	23
3.2 试验方法	25
3.2.1 理化指标测定方法	25
3.2.2 活性成分测定方法	26
3.2.3 抗氧化能力测定方法	27
3.2.4 相关性分析	28
3.2.5 数据处理	29
3.3 结果与分析	29
3.3.1 理化指标结果与分析	29
3.3.2 活性成分结果与分析	33
3.3.3 抗氧化能力结果与分析	36
3.3.4 相关性分析	36
3.4 本章小结	37
第 4 章 黑桑果醋发酵过程中挥发性有机化合物的变化	39
4.1 试验材料	39
4.1.1 试验原料	39
4.1.2 试验试剂与仪器	39
4.2 试验方法	40
4.2.1 挥发性有机化合物的测定	40
4.3 数据处理	40
4.4 结果与讨论	41
4.4.1 挥发性有机化合物的变化	41
4.4.2 关键挥发性有机化合物分析	44
4.5 本章小结	46
第 5 章 黑桑果醋发酵过程中非挥发代谢物的变化	47
5.1 试验材料	47

5.1.1 试验原料	47
5.1.2 试验试剂与仪器	47
5.2 试验方法	48
5.2.1 样品处理	48
5.2.2 检测条件和参数	48
5.2.3 质控	错误!未定义书签。
5.3 数据处理	50
5.4 结果与讨论	50
5.4.1 多元统计分析	50
5.4.2 黑桑果醋代谢物分析	51
5.4.3 差异代谢物分析	53
5.4.4 黑桑果醋不同发酵阶段关键代谢物的动态变化	55
5.4.5 差异代谢物 KEGG 注释	59
5.4.6 KEGG 富集分析	59
5.4.7 黑桑果醋不同发酵阶段的关键代谢途径分析	60
5.5 本章小结	63
第 6 章 结论和展望	64
6.1 结论	64
6.2 特色	65
6.3 展望	65
参考文献	66
附录	74
致谢	90
作者简介	91

第1章 绪论

1.1 黑桑葚及其研究进展

1.1.1 黑桑葚简介

黑桑葚是桑科桑属乔木黑桑 (*Morus nigra* L.) 的聚花果, 在国内被视为传统药食同源食物。黑桑葚起源于西亚高加索地区, 约 16 世纪被引进到新疆地区^[1]。新疆是国内桑资源最丰富的地区和桑葚的重要产地^[2]。经过长期自然演变和桑蚕产业的人工选择, 新疆地区逐渐形成以天山为界的五大桑树自然区。全疆现查明的桑树种质资源包括黑桑葚 (*Morus nigra* L.)、白桑 (*Morus alba* L.) 和鞑靼桑 (*M.alba* L.var.*Tatarica.*)^[3]。新疆地区光照时间长和昼夜温差大的自然条件有利于桑葚的次生代谢产物 (如多酚化合物) 转化和积累, 造就了新疆黑桑葚的独特品质^[4]。同时, 品种差异导致黑桑葚的 TPC、TFC 和氨基酸等的含量比其它品质桑葚更高^[5]。以上特性是黑桑葚被纳入食药同源范畴的根本原因。

1.1.2 黑桑葚的营养成分和功能特性

黑桑葚的含水量一般大于 80%, 总糖含量大于 15%, 总酸含量约 0.7%^[6]。其营养价值丰富, 脂肪含量约 0.28%, 蛋白含量约 1.05%, 含有草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸等多种有机酸, 以及绿原酸、槲皮素、山奈酚等多种多酚化合物^[7]。黑桑葚中的多酚化合物是其药用价值的来源。相关研究证明, 多酚化合物可以有效的抑制 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶的活性, 并且赋予桑葚抗氧化能力, 从而改善氧化应激损伤和预防慢性病^[8-10]。桑葚中的生物活性成分赋予桑葚多种药理作用, 如促进身体机能、预防心血管疾病和减少炎症等, 在新疆当地, 黑桑葚被当作药物用于预防和治疗高血压、扁桃体炎、咽喉痛、贫血和缺铁^[11, 12]。

1.1.3 黑桑葚加工现状

黑桑葚加工产品种类繁多, 包括焙丝提 (Pestil)、酷买 (köme)、佩克梅兹 (pekmez)、酸奶、果酱、果冻、葡萄酒、醋、面包、饼干、蔬菜饼 (parathas) 等。但在国内, 黑桑葚加工却以干制为主。干制品加工虽然成本低、产量大, 但国内常用的热风干燥无法避

免美拉德反应和高温环境破坏黑桑葚的热敏成分，导致黑桑葚营养流失^[13]。从绿色加工的角度出发，长期采用这种加工方法并不可取。

黑桑葚含水量和含糖量高，属于呼吸跃变型果实；通常在6月人工采收，当地贮运条件差，以上原因导致大量未加工桑葚腐败霉造成浪费^[14-16]。因此，针对新疆黑桑葚营养成分和功能特性的、以减少浪费为目的的深加工必不可少。为防止浪费和黑桑葚的天然植物成分损失，黑桑葚需要绿色经济的深加工方式。发酵是一种全世界普遍使用的改善水果营养、风味和保质期的技术，是更具有经济效益并且节能环保的加工方式^[17]。通过不同的微生物发酵，可以得到风味和功能不同的黑桑葚发酵产品。

例如，乳酸菌发酵的优势在于可以通过苹果酸-乳酸转化以减少有机酸的刺激感。桑葚经过植物乳杆菌发酵36 h后乳酸含量（19.7 mg/mL）增加约10倍^[18]。此外，多菌种发酵和自然发酵往往造成大分子物质（蛋白质、多酚化合物和多糖）被分解，丰富了酵素的风味层次，并使营养更容易被吸收^[19]。桑葚酵素发酵结束后，乳酸和醋酸含量显著增加，并产生新的有机酸（正丁酸、异戊酸等）^[20]；电子鼻电子舌反映出桑葚酵素的酸味、鲜味和浓郁程度反应强，表明桑葚酵素酸甜适口、芳香浓郁^[21]。同时，桑葚含糖量高，是酵母发酵的优质基质。但是桑葚没有专用酿酒酵母，可能产生过量高级醇导致饮后头晕的问题，这与桑葚的含糖量、氨基酸含量相关^[22]。通过调控发酵参数，如pH<4、发酵温度≤20℃等可以减少约一半的高级醇的产生^[23]。此外，通过原料的复配可以有效提升产品的感官属性^[24]。在黑桑果酒的基础上发酵形成的黑桑果醋兼具营养容易吸收、风味层次复杂的优点，黑桑果醋因其独特的风味和丰富的植物化学成分（包括酚类化合物和花青素）备受关注，被定义为功能性食品^[25]。

1.2 果醋及其研究进展

1.2.1 醋酸菌简介

醋酸菌（acetic acid bacteria, AAB）是一类氧化糖类和醇类生成相应的氧化产物的革兰氏阴性细菌的总称。AAB生境广泛，不同生活环境的AAB差异极大，甚至存在不产醋酸的AAB，以及具有产纤维素、色素、吡啶乙酸抗坏血酸和固氮功能的AAB^[26]。已报道的AA共16个属，84个种^[27]。在工业上，果醋酿造的过程中一般使用醋杆菌属（*Acetobacter*）。

国内外对AAB研究相当深入，发酵机理已经明确，即乙醇脱氢酶（ADH）和乙醛脱氢酶（ALDH）催化乙醇转化为乙酸。但乙醇或乙酸积累不利于AAB的生长代谢，导致糖类或乙醇部分利用、乙酸产量低。例如，乙酸浓度达7-8%时会损害醋杆菌属菌株^[28]；乙醇浓度高会抑制醋酸菌的生长繁殖。醋酸发酵不彻底会提高生产成本、造成风味

劣变。此外，同一菌种未必适合所有基质，国内固态发酵工艺与国外液态发酵工艺差异巨大。因此，国内果醋行业的发展仍需夯实基础，要找到本土果蔬发酵的优质菌株并在此基础上优化生产工艺。目前，液态发酵果醋普遍使用醋酸杆菌，如 AS 1.41。这些商业菌种虽然可以保证产品的品质稳定，但其产酸能力、耐酒精能力和风味层次仍有进步空间^[29]。

1.2.2 果醋的加工和功能特性

一般来讲，果醋是以水果为原料，以液态发酵方式，经过酒精发酵和醋酸发酵制得的饮品，是世界上应用最广泛的调味品和功能性食品^[30]。果醋在发酵过程中产生大量有机酸构建出低 pH 环境，可以抑制腐败变质的发生，使果醋易于储存和运输。欧洲国家已经商业化生产出以葡萄、苹果等水果为原料的摩纳德香醋、雪利醋和苹果醋等液态发酵果醋。此外，中国也有以谷物为原料固态发酵的谷物醋。得益于果蔬原料的天然风味，果醋往往比谷物醋更好喝，消费者往往更关注醋的风味而忽略了醋的功能性。醋的发酵过程不仅是风味改变的过程，也是功能性成分的产生过程。因此，国内外学者对各种醋的风味形成、生物活性成分及功能等方面都做出大量工作，阐明了果醋的加工特性和益处。总而言之，醋保留了果蔬原料的营养和风味，在发酵过程中产生更多的生物活性物质和风味成分，这是果醋风味和健康益处的来源。越来越多的研究证明了果醋的健康益处，比如预防肥胖、肝损伤和代谢紊乱等^[31-34]。

1.2.2.1 果醋的加工工艺

乙醇胁迫和乙酸胁迫不利于果醋生产，发酵中途停止会造成风味劣变的问题。工艺优化可以一定程度地提高醋酸产量、减少发酵时间。此外，通过非热灭菌、超声处理等方式，可以保留更多果醋的营养和功能成分。王储炎等在醋醅中分离出巴氏醋杆菌发酵桑葚果醋，在最优发酵条件下（温度 32.5℃、乙醇含量 7.5%、接种量 10%、转速 160 r/min），酸度可达到 5.85 g/100 mL^[35]。果醋在发酵结束后通常会直接灭菌或进行陈酿。高温、短时的灭菌方式对果醋的颜色和风味影响小于常规低温、长时间的灭菌方式^[36]。陈酿主要是为了提高果醋的品质，通过超声处理可以得到类似地效果。例如，经过振幅 62.2%、7.4 分钟和 26 kHz 的超声处理后，苹果醋的总黄酮含量(46.95 mg CE/L)和总酚含量(124.25 mg GAE/L)更高^[37]。

1.2.2.2 果醋的生理功能

果醋在维持人体健康、调节人体代谢方面具有积极作用。首先，醋是一种酸度调节剂，摄入醋后会显著增加饱腹感以控制进食量^[38]。其次，果醋可以通过显著降低食用者