

浙江玫瑰醋不同发酵阶段特征性香气成分的确定

方冠宇, 蒋予箭*, 穆晓静, 施思

(浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310018)

摘要: 利用响应面试验对浙江玫瑰醋中挥发性成分固相微萃取条件进行优化, 确定最佳条件为NaCl添加量2.4 g、萃取温度49.6 °C、萃取时间44.4 min。利用优化条件对浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分进行测定, 并结合主成分分析、系统聚类分析和偏最小二乘-判别分析对挥发性成分进行分析。主成分分析和系统聚类分析将浙江玫瑰醋样品分发展酵前期、发酵中期和发酵后期三大类, 并将样品按前、中、后3个时期进行归类后, 进行偏最小二乘-判别分析发现3个发酵阶段的样品基于挥发性成分可以实现良好分离, 其中 R_y^2 为0.994、 Q^2 为0.933说明该模型具有良好的稳定性和极高的预测能力。偏最小二乘-判别分析得到挥发性成分的变量投影重要性值, 并结合偏最小二乘-判别分析因子荷载图, 得出浙江玫瑰醋发酵前期的特征性香气成分为乙醇、十二酸乙酯、2-苯乙醇乙酸酯; 发酵中期为丙酸-2-苯乙基酯、环己基丙酸乙酯、正丙醇、乙酸正丙酯、乙酸异戊酯、癸酸、乙酸乙酯、苯乙酸乙酯、月桂酸、2-乙基丁酸-3-甲基苯酯、油酸乙酯; 发酵后期为(E)-9-十八碳烯酸乙酯、十八酸乙酯、苯甲醛、4-乙基苯酚、丁二酸二乙酯、十六酸乙酯、糠醛、乙酸-2-乙基己基酯、苯乙醇、2-甲基丙酸、3-羟基-2-丁酮。

关键词: 浙江玫瑰醋; 固相微萃取技术; 主成分分析; 系统聚类分析; 偏最小二乘-判别分析

Determination of the Characteristic Aroma Components at Different Fermentation Stages of Zhejiang Rosy Vinegar

FANG Guanyu, JIANG Yujian*, MU Xiaojing, SHI Si

(School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: In this study, response surface methodology was used to optimize the solid-phase micro-extraction conditions of volatile components from Zhejiang rosie vinegar. The optimal conditions were determined as follows: NaCl amount 2.4 g, extraction temperature 49.6 °C, and extraction time 44.4 min. The volatile components during the fermentation process of Zhejiang rosie vinegar were determined under the optimized extraction conditions. The obtained data were analyzed by principal component analysis (PCA), systematic clustering analysis (SCA) and partial least square discriminant analysis (PLS-DA). PCA and SCA divided Zhejiang rosie vinegar samples into three categories: early, middle and late fermentation. PLS-DA analysis showed that the samples at the three fermentation stages could be well separated from each other based on the volatile components with $R_y^2 = 0.994$, and $Q^2 = 0.933$, indicating that the developed model has good stability and extremely strong prediction ability. By PLS-DA analysis, the volatile components with variable importance in the projection (VIP) values larger than 1 were obtained. According to the PLS-DA factor loading plot, the characteristic aroma components at the early stage were ethanol, ethyl dodecanoate and 2-phenylethanacetate; the characteristic aroma components at the middle stage were propionic acid-2-phenyl ethyl, cyclohexyl propionate, *n*-propanol, *n*-propyl acetate, isoamyl acetate, decanoic acid, ethyl acetate, ethyl phenylacetate, lauric acid, 2-ethylbutyrate, 3-methyl phenyl ester and ethyl oleate; and the characteristic aroma components at the late stage of fermentation were (*E*)-9-octadecanoic acid ethyl ester, ethyl octadecanoate, benzaldehyde, 4-ethyl phenol, diethyl succinate, ethyl hexadecate, furfural, acetate-2-ethylhexyl ester, phenyl ethanol, 2-methylpropionic acid, and 3-hydroxy-2-butanone.

Keywords: Zhejiang rosie vinegar; solid phase microextraction; principal component analysis; hierarchical cluster analysis; partial least squares-discriminant analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190411-158

中图分类号: TS264.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 08-0234-09

收稿日期: 2019-04-11

基金项目: 浙江省公益技术应用研究计划项目(LGG19C200001); 浙江工商大学研究生科研创新基金项目(16020000359)

第一作者简介: 方冠宇(1993—)(ORCID: 0000-0002-8822-2059), 男, 硕士, 研究方向为现代食品制造。

E-mail: fanggy_4216@163.com

*通信作者简介: 蒋予箭(1963—)(ORCID: 0000-0003-3683-1415), 男, 教授, 学士, 研究方向为现代食品制造。

E-mail: 13357180599@189.cn

引文格式：

方冠宇,蒋予箭,穆晓静,等.浙江玫瑰醋不同发酵阶段特征性香气成分的确定[J].食品科学,2020,41(8):234-242.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190411-158. http://www.spkx.net.cn

FANG Guanyu, JIANG Yujian, MU Xiaojing, et al. Determination of the characteristic aroma components at different fermentation stages of Zhejiang rosy vinegar[J]. Food Science, 2020, 41(8): 234-242. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190411-158. http://www.spkx.net.cn

传统食醋中的风味物质主要分为挥发性和非挥发性两大类。食醋中的挥发性风味成分主要包括醇类、酸类、酯类、醛类、酚类、酮类等，主要通过人的嗅觉进行感知。食醋中的非挥发性风味成分主要包括非挥发性有机酸、氨基酸、多肽、还原糖、核苷酸等，主要通过人的味觉进行感知。食醋风味就是由人的味觉和嗅觉感官的整体效果^[1-2]。

挥发性成分是食醋中重要的风味成分。对食醋中挥发性成分的研究也随着食品风味分析技术的不断发展不断向前推进。从最初的直接进样测定挥发性成分^[3]，到溶剂萃取法、树脂分离法和蒸馏萃取法^[4-6]，再到固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)技术^[7-9]和搅拌棒吸附萃取技术^[10-13]，食醋的挥发性成分测定技术向检测限更低、回收率更高、重复性更好、线性范围更广的方向发展。气相色谱-闻香(gas chromatography-olfactometry, GC-O)是分析食醋复杂风味成分的技术^[14]。近年来，电子鼻在食醋挥发性成分测定上的应用越来越多，其不需要样品制备、无试剂残留、快速无损，在通过分析挥发性成分区分食醋方面更有优势，工业化潜力巨大^[15]，重复性好，但对湿度变化敏感且易被酸腐蚀^[16]。Anklam等^[17]利用电子鼻技术区分出了不同年份的意大利香醋。国内对食醋中挥发性成分分析的研究较多，Wang Aili等^[18]利用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用仪和GC-O定性山西老陈醋的21种挥发性成分。孙宗保等^[19]利用SPME和GC-MS结合GC-O确定了苯乙醇、乙酸苯乙酯、3-甲基丁酸、2,3-丁二酮等16种化合物为镇江香醋的特征性风味物质。Chen Tao等^[20]利用顶空-SPME制样，用GC-MS分析山西老陈醋陈酿阶段风味物质的变化。

浙江玫瑰醋是江浙一带的传统调味品，有着悠久的生产历史。其颜色为鲜亮的玫瑰红色，因此称为玫瑰醋，具有独特的风味^[21-22]。由于浙江玫瑰醋的地域局限性，一般浙江玫瑰醋只在浙江地区生产，因此研究较少。本研究对利用SPME-GC-MS对浙江玫瑰醋挥发性成分测定的条件进行优化，并对浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分进行测定，找出浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分变化规律，以期为浙江玫瑰醋中挥发性成分的检测和提高浙江玫瑰醋质量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

安徽滁州产中晚籼米；β-苯乙醇、乙酸乙酯、苯甲醛、2-乙基丁酸、乙酸，均为国产色谱纯；NaCl、无水乙醇，均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

AR2140电子分析天平 奥豪斯国际贸易有限公司；7890A-5975C GC-MS联用仪 美国Agilent公司；50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头 美国Supelco公司；HH-6数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 浙江玫瑰醋酿造工艺

传统浙江玫瑰醋生产工艺：以籼米为原料，常温浸米7 d（隔天换水），常压蒸饭（控制出饭率220%）；每缸投入饭220 kg，搭窝，常温（5月）发花16 d；发花结束时，按米、水质量比1:3冲缸放水，进行为期4个月左右的发酵，当酸度不再上升时，添加3%食盐，进行后熟。

1.3.2 取样

每次取样前先对玫瑰醋发酵液进行充分混匀，并在液面以下取样。取样后，按照0~90 d进行编号，每10 d取1次样，每次取3个平行样。

1.3.3 SPME条件优化

对浙江玫瑰醋挥发性成分检测过程中SPME条件：萃取温度、萃取时间、NaCl添加量进行优化，并设计3因素3水平响应面试验。

1.3.4 香气物质测定

GC条件：DB-WAX色谱柱（60 m×0.25 mm, 0.5 μm）；进样口温度240 °C，不分流进样，载气为氮气，恒流模式；柱流速1 mL/min；程序升温：柱温30 °C保持6 min，以2 °C/min升到140 °C，然后以4 °C/min升到220 °C，保持10 min。

MS条件：电子电离源；离子源温度230 °C；四极杆温度150 °C；质量扫描范围33~500 u。

1.3.5 玫瑰醋中香气成分的定量分析

以2-乙基丁酸为内标物，计算各香气组分的相对校正因子，得出各组分的保留时间和峰面积^[23]。相对校正因子(f_i)按式^[24](1)计算：

$$f_i = \frac{A_s \times \Delta W_i}{\Delta A_i \times W_s} \quad (1)$$

式中: ΔW_i 和 ΔA_i 分别为组分标准品 i 的增加质量浓度/($\mu\text{g}/\text{L}$) 和对应增加峰面积; W_s 和 A_s 为内标物 s 的质量浓度/($\mu\text{g}/\text{L}$) 与峰面积。

待测风味物质的含量按式(2)计算:

$$W_i = \frac{f_i \times A_i \times W_s}{\Delta A_s} \quad (2)$$

式中: W_i 和 A_i 分别为被测组分的质量浓度/($\mu\text{g}/\text{L}$) 与峰面积; W_s 和 A_s 分别为内标物的质量浓度/($\mu\text{g}/\text{L}$) 与峰面积。

1.4 数据处理

采用Origin 8.5和Excel对实验数据进行处理、分析。采用SIMCA-P进行聚类分析、主成分分析、偏最小二乘判别分析(partial least squares-discrimination analysis, PLS-DA), 及相关图形绘制。

2 结果与分析

2.1 SPME条件单因素试验结果

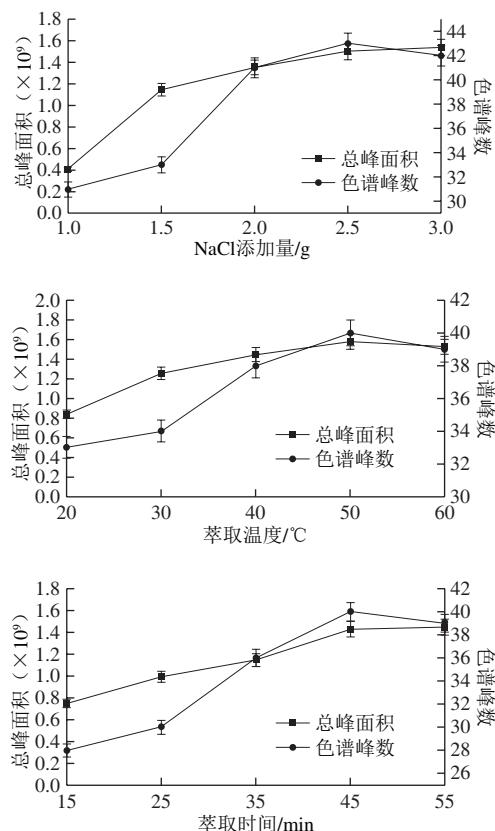


图1 NaCl添加量、萃取温度、萃取时间对总峰面积和色谱峰数的影响

Fig. 1 Effect of NaCl amount, extraction temperature and extraction time on total peak area and peak number

如图1所示, NaCl添加量2~3 g、萃取温度40~60 °C、萃取时间35~55 min条件下色谱峰数和总峰面积都达到峰值。选取NaCl添加量分别为2、2.5、3 g, 萃取温度分别为40、50、60 °C, 萃取时间分别为35、45、55 min, 进行3因素3水平响应面试验。

2.2 响应面法对SPME条件优化结果

利用Design Expert 8.05软件, 以总峰面积为响应值, 以NaCl添加量、萃取温度、萃取时间为自变量, 设计3因素3水平试验, 结果见表1、2和图2。

表1 萃取效果回归方程的方差分析

Table 1 Analysis of variance of quadratic polynomial regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	8.19×10^{16}	9	9.09×10^{15}	56.41	<0.000 1**
A萃取时间	8.61×10^{14}	1	8.61×10^{14}	5.34	0.054 1
B萃取温度	1.13×10^{14}	1	1.13×10^{14}	0.7	0.431 1
C NaCl添加量	9.90×10^{14}	1	9.90×10^{14}	6.14	0.042 3*
AB	2.25×10^{14}	1	2.25×10^{14}	1.4	0.276 0
AC	6.50×10^{14}	1	6.50×10^{14}	4.03	0.084 6
BC	1.30×10^{15}	1	1.30×10^{15}	8.04	0.025 2*
A^2	2.83×10^{16}	1	2.83×10^{16}	175.71	<0.000 1**
B^2	1.82×10^{16}	1	1.82×10^{16}	112.99	<0.000 1**
C^2	2.31×10^{16}	1	2.31×10^{16}	143.11	<0.000 1**
残差	1.13×10^{15}	7	1.61×10^{14}		
失拟项	7.40×10^{14}	3	2.47×10^{14}	2.54	0.195 1
净误差	3.89×10^{14}	4	9.72×10^{13}		
总误差	8.30×10^{16}	16			

注: **. $P < 0.01$, 极显著水平; *. $P < 0.05$, 显著水平。

表2 模型可信度分析

Table 2 Analysis of reliability of model

指标	结果	指标	结果
平均值	1.270×10^7	决定系数	0.986 4
标准差	1.310×10^9	校正拟合度	0.968 9
变异系数/%	0.97	预测拟合度	0.85
预测残差平方和	1.244×10^{16}	信噪比	19.541

由表1可知, 该方程模型的F值为56.41, 达到极显著水平, 这说明回归方程在其试验点上而且与试验结果拟合较好, 该方程失拟项的F值为2.54, P 值为0.195 1, 则失拟检验不显著, 这表明整个拟合区域的拟合情况良好, 证明了该模型的合理性。

将17个试验点的数据用Design Expert 8.05软件进行回归分析, 以总峰面积为响应值, 经多元回归拟合后, 各试验因素对总峰面积的影响可以通过二次回归方程表示: 总峰面积= $1.416 \times 10^9 - 1.038 \times 10^7 A - 3.750 \times 10^6 B - 1.113 \times 10^7 C - 7.500 \times 10^6 AB - 1.275 \times 10^7 AC + 1.800 \times 10^7 BC - 8.202 \times 10^7 A^2 - 6.578 \times 10^7 B^2 - 7.403 \times 10^7 C^2$ 。

由表2可知, 变异系数为0.97%, 在可接受范围内, 说明试验操作可行; 决定系数为0.986 4, 表明该模型理

论上可以反映响应值的98.64%，其与校正拟合度两者接近并且都接近1，表示回归方程效果好；信噪比值大于4是可行的，响应面试验信噪比为19.541，说明此模型可对试验结果进行准确预测。

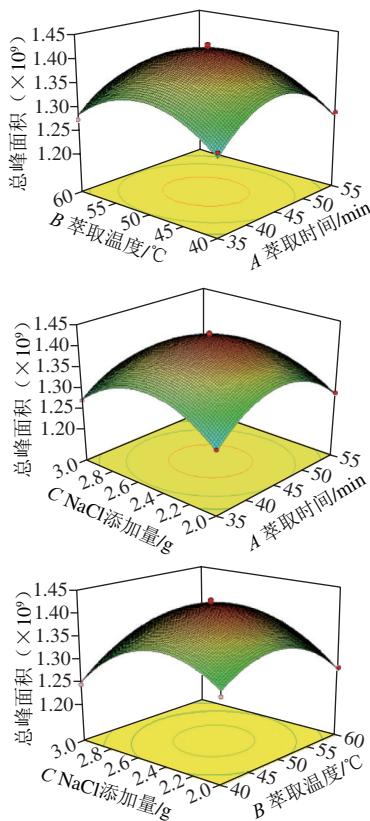


图2 各因素交互作用响应面图

Fig. 2 Response surface plots showing the interactive effects of various factors on total peak area

由Design Expert 8.05软件对SPME条件进行响应面试验优化，得到最佳SPME条件为NaCl添加量2.4 g、萃取温度49.6 °C、萃取时间44.4 min，为确保优化后条件

的可靠性，利用上述优化后的条件进行重复实验结果总峰面积为 1.423×10^9 、 1.422×10^9 、 1.424×10^9 ，预测值(1.422×10^9)与实际值无显著差异。因此上述优化后得到的SPME条件参数准确，对实际浙江玫瑰醋中挥发性成分的萃取有指导意义。

2.3 浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分变化分析

2.3.1 挥发性成分含量变化分析

浙江玫瑰醋的风味物质产生分为2个时间段。第1个时间段为玫瑰醋的“发花”过程，在这个阶段，主要是空气中的霉菌、酵母菌等微生物在蒸熟的米饭表面生长、繁殖，使淀粉糖化，这个过程会有大量的风味物质产生。第2个阶段为玫瑰醋在“冲缸放水”后的液态发酵过程，这个阶段为三边发酵过程，同时进行由淀粉转化为糖、糖转化为乙醇、乙醇转化为醋酸，这个过程时间很长(3~4个月)，由于微生物的代谢，可以积累大量风味物质。利用上述优化后的SPME条件，采用SPME-GC-MS对玫瑰醋中的挥发性成分进行测定，并对其进行定量计算，其结果见表3。

在浙江玫瑰醋发酵过程的10个样品中，共检出69种挥发性成分。其中醇类11种，酸类9种，酯类36种，醛类8种，酚类3种，酮类2种。玫瑰醋中主要的醇类物质为乙醇、苯乙醇、3-甲基正丁醇。这些醇是醋中风味的重要贡献者^[24]。苯乙醇是苯丙氨酸在酵母作用下经Strecker降解产生醛后进一步还原生成^[25]，这种化合物目前被鉴定为酒中主要的芳香族化合物^[26]。乙醇的含量呈现先上升后降低的趋势。这与玫瑰醋“三边发酵”的情况相符。含量较高的酸类物质为3-甲基丁酸、辛酸、癸酸。由于乙酸的含量较高，因此在此不进行讨论。酸类物质的总含量基本呈现先下降后上升的趋势。3-甲基丁酸是以支链氨基酸L-亮氨酸为前体经微生物降解生成，被认为是酵母蛋白质代谢的副产物，具有牛奶香气、酸味香气、水果香气和脂肪香气的组合风味，可以赋予玫

表3 浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分含量变化

Table 3 Changes of volatile components in Zhejiang rosy vinegar during fermentation

化合物	质量浓度/(μg/L)									
	0 d	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d	80 d	90 d
2-甲基丙醇	12.48±0.62	9.31±0.46	17.77±0.88	10.21±0.51	19.35±0.96	14.09±0.70	26.06±1.30	1.49±0.07	15.09±0.75	9.14±0.45
2-乙基己醇	334.31±16.71	271.88±13.59	—	440.02±22.00	37.05±1.85	—	28.54±1.42	15.83±0.79	—	90.1±4.50
2-乙基正己硫醇	—	—	2.36±0.11	—	4.92±0.24	—	—	—	—	—
3-甲基正丁醇	—	79.83±3.99	152±7.60	127.76±6.38	—	110.27±5.51	—	76.91±3.84	134.89±6.74	67.07±3.35
3-甲硫基-1-丙醇	1.7±0.08	0.85±0.04	1.41±0.07	1.27±0.06	1.42±0.07	1.88±0.09	—	—	—	1.58±0.07
3-辛醇	—	—	10.19±0.50	—	—	—	—	—	—	—
苯甲醇	—	—	—	3.47±0.17	—	—	—	—	—	—
苯乙醇	137.34±6.86	126.47±6.32	249.08±12.49	215.74±10.78	303.54±15.17	300.2±15.01	308.97±15.44	310±15.54	447.88±22.39	417.64±20.8
丙醇	1.85±0.09	—	—	—	—	—	—	—	—	—
乙醇	443.66±22.18	496.25±24.81	840.51±42.02	871.44±43.57	902±45.10	805±40.25	610±30.50	575.66±28.78	252.99±12.64	113.33±5.66
正丙醇	—	—	4.6±0.23	6.07±0.30	9.02±0.45	3.93±0.19	8.03±0.40	4.31±0.21	—	—
2-甲基丙酸	—	1.17±0.05	1.89±0.09	2.47±0.12	5.19±0.25	—	8.03±0.40	6.39±0.31	12.42±0.62	10±0.53
2-乙基己酸	—	—	—	—	—	—	—	—	4.4±0.22	—

续表3

化合物	质量浓度/(μg/L)									
	0 d	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d	80 d	90 d
癸酸	8.78±0.43	11.94±0.59	19.24±0.96	22.02±1.10	30±1.50	35±1.75	40±2.01	45.8±2.29	45±2.25	45±2.25
己酸	8.53±0.42	4.67±0.23	9.04±0.45	6.97±0.34	2.56±0.12	2.66±0.13	14.79±0.73	5.25±0.26	10.04±0.50	5.97±0.29
壬酸	2.02±0.10	0.88±0.04	1.51±0.075	2.03±0.10	1.93±0.09	—	6.92±0.34	—	—	1.84±0.09
十二烷酸	13.66±0.68	—	—	—	—	—	—	—	—	4.81±0.24
辛酸	222.11±11.10	197.03±9.85	259.34±12.96	136.57±6.82	13.49±0.67	11.02±0.55	244.76±12.26	240±12	230±11.53	222.91±11.14
月桂酸	10±0.50	15.77±0.78	49.2±2.46	60±3.09	65.02±3.25	80.2±4.01	85±4.25	84.6±4.23	85±4.25	80.09±4.00
3-甲基丁酸	—	—	4.46±0.22	2.46±0.12	9.49±0.21	15.57±0.27	24.16±0.12	35.86±0.45	40.32±0.67	58.57±2.92
(E)-9-十八碳烯酸乙酯	16.48±0.82	17.95±0.89	17.23±0.86	17.15±0.85	—	4.52±0.22	—	—	36.66±1.83	40±2.12
2-苯乙醇乙酸酯	18.5±0.92	—	53.47±2.67	52.82±2.64	—	—	—	—	—	—
2-甲基丙酸乙酯	—	—	31.1±1.55	30.09±1.50	—	—	13.4±0.67	—	—	—
2-甲基丁酸异丁酯	—	—	—	—	—	—	2.08±0.10	—	—	—
2-羟基丙酸乙酯	41.33±2.06	78.55±3.92	119.91±5.99	76.72±3.83	88.66±4.43	54.56±2.72	—	16.76±0.83	27.41±1.37	20±1.12
2-乙基丁酸-2-乙基己酯	—	—	—	—	22.29±1.11	0±0	14.01±0.70	—	—	—
2-乙基丁酸-3-甲基苯酯	3.24±0.16	4.19±0.20	8.55±0.42	8.86±0.44	17.18±0.85	7.83±0.39	18.37±0.91	8.15±0.40	8.77±0.43	7.53±0.37
2-乙基丁酸丁酯	3.2±0.16	4.03±0.20	8.13±0.40	7.96±0.39	13.93±0.69	—	15.26±0.76	7.78±0.38	9.6±0.48	10±0.52
2-乙基丁酸乙酯	17.16±0.85	15.15±0.75	33.42±1.67	—	45.63±2.28	—	57.85±2.89	31.67±1.58	44.77±2.23	27.51±1.37
9-十六碳烯酸乙酯	1.35±0.06	1.52±0.07	2.23±0.11	1.1±0.05	—	—	—	1.54±0.07	2.13±0.10	—
N-辛酸异丁酯	2.51±0.12	2.08±0.10	—	—	—	—	—	—	—	—
苯乙酸乙酯	6.55±0.32	6.33±0.31	11.17±0.55	10.16±0.50	36.89±1.84	26.18±1.30	34.45±1.72	11.46±0.57	31.89±1.59	30.95±1.54
丙酸-2-苯乙基酯	—	—	—	—	94.15±4.70	112.91±5.64	140.01±7.00	180.02±9.00	—	—
丁二酸乙二酯	2.71±0.13	2.56±0.12	6.12±0.30	7.02±0.35	23.69±1.18	10.18±0.50	30.87±1.54	19.28±0.96	47.01±2.35	50±2.51
二乙基丙二酸乙二酯	55.79±2.78	57.08±2.85	108.49±5.42	98.95±4.94	149.76±7.48	80±4.02	80±2.10	89.15±4.45	90±4.56	62.55±3.12
癸酸乙酯	118.45±5.92	123.37±6.16	56.45±2.82	52.42±2.62	8.19±0.40	4.78±0.23	80.77±4.03	25.19±1.25	35.72±1.78	8.54±0.42
环己基丙酸乙酯	—	—	—	—	41.1±2.05	42±2.17	51.79±2.58	18.65±0.93	—	—
己酸乙酯	28.09±1.40	11.25±0.56	7.91±0.39	5.43±0.27	9.46±0.47	5.34±0.26	11.1±0.55	2.54±0.12	3.1±0.15	5.5±0.27
壬酸乙酯	7.86±0.39	4.95±0.24	1.79±0.08	1.73±0.08	2.32±0.11	—	3.23±0.16	—	2.78±0.13	—
十八羧酸乙酯	2.5±0.12	2.81±0.14	3.41±0.17	3.87±0.19	—	—	2.97±0.14	—	6.43±0.32	16.87±0.84
十二羧酸乙酯	156.24±7.81	153.62±7.68	250.76±12.53	100±5	1.81±0.09	3.57±0.17	5±0.25	5.21±0.26	13.79±0.68	6±0.32
十六羧酸乙酯	2.22±0.11	148.3±7.41	112.92±5.64	115.7±5.78	23.54±1.17	100±5.05	89.03±4.45	120±6	234.87±11.74	200±1.23
十四羧酸乙酯	22.57±1.12	23.88±1.19	18.46±0.92	21.33±1.06	4.67±0.23	6.65±0.33	19±0.95	3.87±0.19	31.04±1.55	2.35±0.11
十五烷酸-3-甲基丁酯	2.97±0.14	1.66±0.08	—	—	—	—	—	—	—	—
十五烷酸乙酯	0.77±0.03	0.87±0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
辛酸-3-甲基丁酯	9.95±0.49	7.2±0.36	0.84±0.04	—	—	—	—	—	—	—
辛酸乙酯	600±30.01	544.01±27.20	182.07±9.10	96.61±4.83	27.22±1.36	14.55±0.72	10±0.57	8±0.42	6±0.34	4±0.22
亚油酸乙酯	21.84±1.09	22.43±1.12	17.03±0.85	14.44±0.72	—	5.67±0.28	21.48±1.07	4.03±0.201	—	—
乙酸-2-乙基己基酯	51.39±2.56	63.63±3.15	101±5.05	110.03±5.50	130±6.58	150.02±7.50	160.05±8.00	230.3±11.51	270.2±13.51	280.06±14.00
乙酸二乙酯	551.4±27.57	—	—	—	—	—	—	—	—	—
乙酸乙酯	312.11±15.60	414.12±20.70	618.14±30.90	900±45	1 009.11±50.45	1 202.24±60.11	1 003.12±50.16	1 211.56±60.57	1 121.68±56.08	1 104.24±55.21
乙酸异丁酯	6.23±0.31	10.59±0.52	17.8±0.89	15.61±0.78	31.25±1.56	27.72±1.38	65.26±3.26	53.42±2.67	24.25±1.21	58.42±2.92
乙酸异戊酯	52.72±2.63	65.28±3.26	137.54±6.87	145.09±7.25	230.23±11.51	221.01±11.05	223.01±11.15	231.01±11.75	235.02±11.75	231.01±11.55
乙酸正丙酯	11.93±0.59	16.83±0.84	34.78±1.73	42.89±2.14	76.94±3.84	79.92±3.99	75.01±3.75	80.1±4.05	81±4.05	75.1±3.75
油酸乙酯	—	—	—	—	5.72±0.28	—	17.4±0.87	4.18±0.20	—	—
正丁酸-2-乙基己基酯	—	1.58±0.07	5.11±0.25	6.6±0.33	13.29±0.66	—	—	—	6.53±0.32	—
2,4-二甲基苯甲醛	8.06±0.40	—	—	1.59±0.07	—	—	—	—	—	—
2-乙基己醛	—	—	—	1.65±0.082	—	—	—	1.92±0.09	—	—
3-糠醛	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
苯甲醛	19.46±0.97	14.63±0.73	26.49±1.32	17.28±0.86	11.88±0.59	9.15±0.45	26.55±1.32	42.26±2.16	79.24±3.96	82.48±4.12
糠醛	1.47±0.07	—	—	—	1.76±0.08	1.97±0.09	3.33±0.16	—	4.37±0.21	5±0.25
壬醛	—	—	—	—	—	—	7.36±0.36	—	—	—
十二(烷)醛	1.58±0.07	1.41±0.07	—	—	—	—	—	—	—	—
十四烷醛	—	—	—	2.64±0.13	—	—	—	—	—	—
2,4-二叔丁基苯酚	—	10.83±0.54	36.92±1.84	41.01±2.05	18.64±0.93	12.16±0.60	13.84±0.69	—	—	—
2,5-二(1,1-乙烷基)-苯酚	—	—	—	—	—	—	—	34.04±1.70	6.94±0.34	—
4-乙基苯酚	—	—	—	—	—	1±0.05	—	—	2.14±0.10	1.49±0.074
3-羟基-2-丁酮	13.12±0.65	43.21±2.16	122.7±6.13	126.2±6.31	204.47±10.22	304.01±15.20	350±17.52	354.13±17.70	311.07±15.55	550.02±27.50
苯乙酮	—	—	—	3.24±0.16	—	—	—	—	—	—

瑰醋良好风味^[27]。3-甲基丁酸质量浓度在发酵过程中呈现持续上升趋势，在发酵结束时，达到58.57 μg/L。主要的酯类物质为乙酸乙酯、2-苯乙酸乙酯、乙酸异戊酯。酯类化合物的形成途径主要有两条：一是在酯酶的催化下由酸类化合物和相应的醇类化合物缩合而成；二是乙酰辅酶A在醇酰基转移酶的作用下和相应的醇类化合物缩合形成。酯类物质大多具有花香和果香味，可以赋予玫瑰醋良好的香味^[28-29]。发酵过程中酯类物质含量呈现持续上升状态，到发酵结束时最高，可以赋予玫瑰醋良好风味。玫瑰醋中检测出的醛类、酚类和酮类物质的种类很少。除了苯甲醛外，其他的醛类物质都很低，苯甲醛在发酵前期呈现缓慢下降状态，发酵后期快速上升。3-羟基-2-丁酮含量在玫瑰醋中较高。随着发酵进行3-羟基-2-丁酮质量浓度呈现不断增加的趋势，由“冲缸放水”后（0 d）的13.12 μg/L增加到550.02 μg/L。3-羟基-2-丁酮含量在刚“冲缸放水”后很低，说明3-羟基-2-丁酮主要由玫瑰醋“冲缸放水”后的发酵中产生。酚类物质含量是所有香气成分中最低的，但由于气味阈值低，其味道是食醋特有的香气^[30-32]。

2.3.2 浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分聚类分析和主成分分析

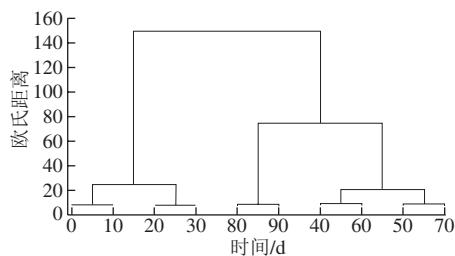


图3 浙江玫瑰醋样品聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of Zhejiang rosy vinegar samples

由图3可以看出，聚类分析将浙江玫瑰醋发酵过程中的样品根据时间顺序分为3类。第1类为0、10、20 d和30 d；第2类为80 d和90 d；第3类为40、50、60 d和70 d。

对发酵过程中浙江玫瑰醋样品中挥发性成分进行主成分分析^[33-36]，共提取了4个主成分，累计贡献率为82.10%，可以较好地反映浙江玫瑰醋中的挥发性成分。主成分分析也可以基本将发酵过程中的浙江玫瑰醋样品按时间顺序分为3大类，结果见图4A。3个不同发酵时期的浙江玫瑰醋样品具有明显的区域分布特征。由于主成分分析是无监督分析模型，因此各个发酵时期的玫瑰醋样品区分不明显。图4B显示，所有玫瑰醋样品都在95% Hotelling's T^2 置信区间内，一般认为在99% Hotelling's T^2 置信区间内是可以接受的，而在95% Hotelling's T^2 置信区间内是极好的。因此所有样品都在95% Hotelling's T^2 置信区间内说明没有“离散样本”，表现出显著的聚类趋势。

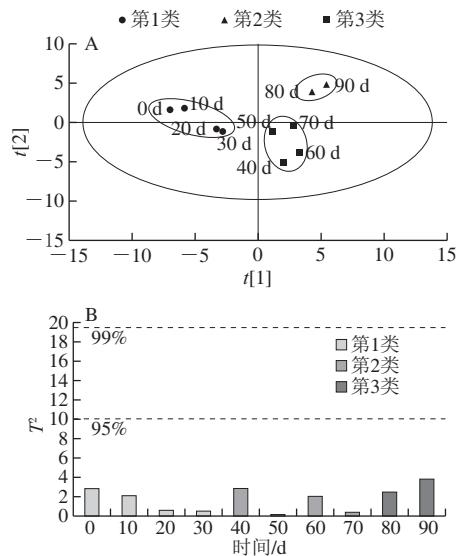


图4 主成分得分图(A) 和Hotelling's T^2 分布图(B)

Fig. 4 PCA score plot (A) and Hotelling's T^2 value range plot (B)

2.3.3 浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分PLS-DA结果

对浙江玫瑰醋发酵过程中的挥发性成分进行主成分分析和聚类分析，可以将浙江玫瑰醋样品分为3个阶段：前期、中期、后期。因此将发酵过程中的样品进行归类，利用PLS-DA进行分析，可以得出浙江玫瑰醋发酵各阶段的主要呈味香气成分。由表4、图5可以看出，此模型共提取4个预测成分，这4个预测成分的累计统计量 R_x^2 为0.752，说明该模型对挥发性成分矩阵的解释能力为0.752； R_y^2 为0.994，说明该模型对浙江玫瑰醋发酵过程中样品矩阵的解释能力为0.994； Q^2 为0.933， Q^2 表示模型的预测能力。通常 R^2 和 Q^2 高于0.50拟合准确性较好，高于0.4即可接受，预测该模型在本实验中的拟合准确性极高。

表4 PLS-DA模型分析

Table 4 Evaluation of the PLS-DA model

类型	预测成分	N	R_x^2	R_y^2	Q^2
PLS-DA	4	10	0.752	0.994	0.933

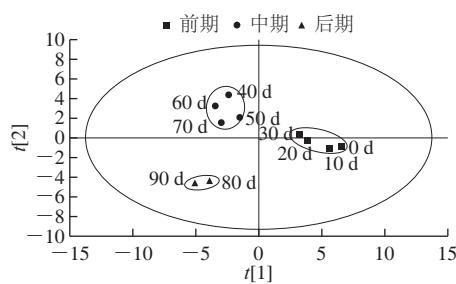


图5 PLS-DA得分图

Fig. 5 Score plot of PLS-DA

将模型建立时定义的分类Y矩阵的变量随机排列200次，对PLS-DA模型进行检验，结果见图6。左侧的

所有 Q^2 值都低于右侧的原始点， Q^2 的回归线与垂直轴相交，并且相交点的值小于0，说明PLS-DA模型拟合较好，没有出现过拟合。

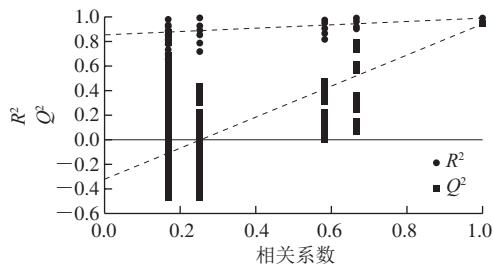


图6 置换检验图

Fig. 6 Plot of permutation test

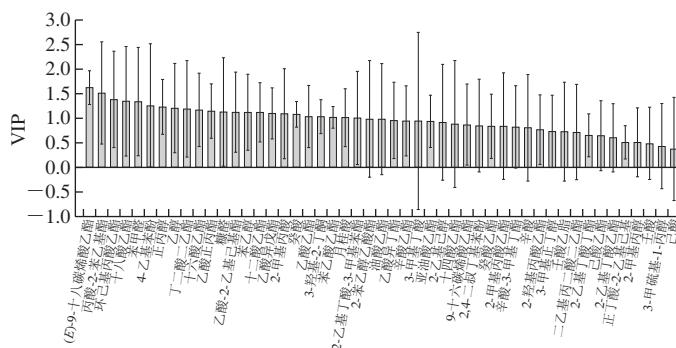


图7 挥发性成分VIP得分图

Fig. 7 VIP values of volatile components

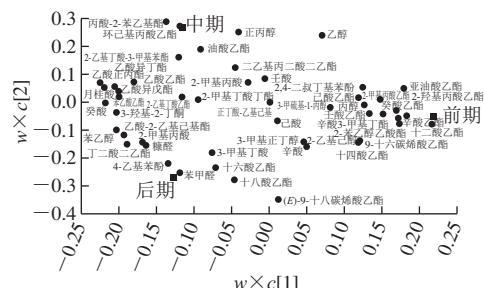


图8 PLS-DA因子荷载图

Fig. 8 Loading plot of PLS-DA

尹洪旭等^[37]利用PLS-DA，并通过变量投影重要性(variable importance for the projection, VIP)值确定出了不同栗香特征绿茶的特征性香气成分；吕旭聪等^[38]利用PLS-DA并结合VIP值，确定了不同传统红曲酿造黄酒的特征性香气成分。本研究通过计算VIP值衡量各挥发性成分对浙江玫瑰醋发酵过程中的各组样本分类判别影响强度和解释能力，从而辅助标志挥发性成分的筛选（通常以VIP值大于1.0作为筛选标准）。VIP值越大的挥发性成分，其在浙江玫瑰醋发酵过程中不同阶段含量差异越显著。从图7可以看出，VIP值大于1的挥发性成分

共有25种，因此这25种挥发性成分可以作为浙江玫瑰醋发酵过程中不同发酵阶段的标志物。其中(E)-9-十八碳烯酸乙酯、丙酸-2-苯乙基酯、环己基丙酸乙酯、十八酸乙酯、苯甲醛、4-乙基苯酚、正丙醇、乙醇等挥发性成分VIP值较高，因此这些挥发性成分在区分浙江玫瑰醋不同发酵阶段尤为重要。

因子荷载图可以反映每个变量在得分图上的贡献。从VIP值(VIP>1)可以得到浙江玫瑰醋发酵过程中的标志挥发性成分。因此由因子和载图结合VIP值可以得到浙江玫瑰醋发酵过程中各发酵阶段的特征挥发性成分。从图8可以看出，VIP值大于1的挥发性成分中乙醇、十二酸乙酯、2-苯乙醇乙酸酯与发酵前期样品比较靠近，可作为发酵前期的特征性香气成分；VIP值大于1的挥发性成分中丙酸-2-苯乙基酯、环己基丙酸乙酯、正丙醇、乙酸正丙酯、乙酸异戊酯、癸酸、乙酸乙酯、苯乙酸乙酯、月桂酸、2-乙基丁酸-3-甲基苯酯、油酸乙酯与发酵中期样品比较靠近，可作为发酵中期的特征性香气成分；(E)-9-十八碳烯酸乙酯、十八酸乙酯、苯甲醛、4-乙基苯酚、丁二酸二乙酯、十六酸乙酯、糠醛、乙酸-2-乙基己基酯、苯乙醇、2-甲基丙酸、3-羟基-2-丁酮与发酵后期样品比较靠近，可作为发酵后期的特征性香气成分。

3 讨论

本研究利用响应面试验，对浙江玫瑰醋中挥发性成分SPME条件进行优化，利用优化后的条件对浙江玫瑰醋发酵过程中挥发性成分进行测定，并结合多元统计分析主成分分析、系统聚类分析和PLS-DA对挥发性成分进行分析。主成分分析和系统聚类分析把浙江玫瑰醋样品分成了发酵前期、发酵中期和发酵后期3大类，并将样品按前、中、后3个时期进行归类后，进行PLS-DA发现3个发酵阶段的样品基于挥发性成分可以实现良好分离，其中 R^2 为0.994， Q^2 为0.933说明该模型具有良好的稳定性和极高的预测能力。PLS-DA得到VIP值，并结合PLS-DA因子荷载图，得出了浙江玫瑰醋发酵过程中特征性香气成分。

乙醇、十二酸乙酯、2-苯乙醇乙酸酯可以作为浙江玫瑰醋发酵前期的特征性香气成分。浙江玫瑰醋在发酵前期主要进行乙醇发酵，而中后期主要进行醋酸发酵，消耗乙醇^[39]，因此在发酵前期乙醇含量较为丰富。十二酸乙酯、2-苯乙醇乙酸酯在发酵前期含量较高，说明这两种物质主要由“发花”阶段产生，有研究表明，浙江玫瑰醋“发花”过程中具有丰富的微生物，可以产生大量的风味物质^[40]。

丙酸-2-苯乙基酯、环己基丙酸乙酯、正丙醇、乙酸正丙酯、乙酸异戊酯、癸酸、乙酸乙酯、苯乙酸乙酯、

月桂酸、2-乙基丁酸-3-甲基苯酯、油酸乙酯可以作为浙江玫瑰醋发酵中期的特征性香气成分。发酵中期的特征性香气成分主要是酸类和酯类物质，这是由于浙江玫瑰醋在发酵中期进行醋酸发酵，积累了大量的有机酸^[41]，并通过酯化反应和微生物的代谢产生酯类物质。酯类物质大多具有花香和果香味，可以赋予玫瑰醋良好的香味^[28-29]。

(E)-9-十八碳烯酸乙酯、十八酸乙酯、苯甲醛、4-乙基苯酚、丁二酸二乙酯、十六酸乙酯、糠醛、乙酸-2-乙基己基酯、苯乙醇、2-甲基丙酸、3-羟基-2-丁酮可以作为浙江玫瑰醋发酵后期特征性香气成分。发酵后期的浙江玫瑰醋样品中的主要呈味香气成分为酯类、醛类、酚类和酮类。苯甲醛具有甜味、果味、坚果和焦糖气味，可以赋予醋样品良好的香气。酚类物质含量虽然较低，但由于气味阈值低，其味道是食醋特有的香气^[30-32]。

浙江玫瑰醋是江浙地区传统的发酵食醋，较好地保留了传统发酵工艺，具有独特的良好风味。由于其独特的酿造工艺，导致了浙江玫瑰醋发酵周期长、劳动强度很高、很难形成规模效益，并且很难控制玫瑰醋的品质^[42]。目前很多企业利用机械化生产工艺进行玫瑰醋的生产，但改变生产工艺会引起浙江玫瑰醋的色泽、风味的变化。阮富升等^[43]利用自吸式发酵罐进行浙江玫瑰醋的生产实验，结果表明自吸式发酵罐生产的玫瑰醋色泽、风味均显著差于传统玫瑰醋；方冠宇等^[44]利用气动搅拌发酵罐对浙江玫瑰醋进行生产实验，结果表明气动搅拌发酵罐搅拌频率分别为3 d/次和7 d/次生产的玫瑰醋挥发性成分含量显著低于传统玫瑰醋。本研究利用响应面试验，优化浙江玫瑰醋挥发性成分SPME条件，确定最佳条件为NaCl添加量2.4 g、萃取温度49.6 °C、萃取时间44.4 min。利用PLS-DA对浙江玫瑰醋发酵过程中各发酵阶段特征性香气成分确定可以发现，发酵前期浙江玫瑰醋中的特征性香气成分种类较少，只有3种。发酵中期和发酵后期的特征性香气成分较为丰富，发酵中期11种、发酵后期11种。这是由于浙江玫瑰醋发酵初期挥发性成分含量较少，而发酵中后期积累了较多的挥发性成分，因此香气成分较为丰富，这对浙江玫瑰醋生产和工艺改进中品质的监控及传统玫瑰醋的判别具有现实意义。

参考文献：

- [1] SMALL D M, PRESCOTT J. Odor/taste integration and the perception of flavor[J]. *Experimental Brain Research* 2005, 166(3/4): 345-357. DOI:10.1007/s00221-005-2376-9.
- [2] LAING D G, JINKS A. Flavour perception mechanisms[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1996, 7(12): 387-389. DOI:10.1016/S0924-2244(96)10049-2.
- [3] JONES D, GREENSHIELDS R. Volatile constituents of vinegar. I. A survey of some commercially available malt vinegars[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 1969, 75(5): 457-463. DOI:10.1002/j.2050-0416.1969.tb06382.x.
- [4] KAHN J H, NICKOL G B, CONNER H A. Identification of volatile components in vinegar by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1972, 20(2): 214-218. DOI:10.1080/00021369.1976.10862082.
- [5] BLANCH G P, TABERA J, SANZ J, et al. Volatile composition of vinegars. Simultaneous distillation-extraction and gas chromatographic-mass spectrometric analysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(6): 1046-1049. DOI:10.1021/jf00018a027.
- [6] GERBI V, ZEPPA G, CARNACINI A. Rapid extraction of volatile compounds in wine and vinegar using extrelut resin[J]. *Italian Journal of Food Science*, 1992(4): 259-267.
- [7] ARTHUR C L, PAWLISZYN J. Solid phase micro extraction with thermal desorption using fused silica optical fibers[J]. *Analytical Chemistry*, 1990, 62(19): 2145-2148. DOI:10.1021/ac00218a019.
- [8] CARASEK E, CUDJOE E, PAWLISZYN J. Fast and sensitive method to determine chloroanisoles in cork using an internally cooled solid-phase microextraction fiber[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1138(1): 10-17. DOI:10.1016/j.chroma.2006.10.092.
- [9] REILLY J O, WANG Q, SETKOVA L, et al. Automation of solid-phase microextraction[J]. *Journal of Separation Science*, 2005, 28(15): 2010-2022. DOI:10.1002/jssc.200500244.
- [10] BALTUSSEN E, SANDRA P, DAVID F, et al. Stirbarsorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles[J]. *Journal of Microcolumn Separation*, 1999, 11(10): 737-747. DOI:10.1002/(sici)1520-667x(1999)11:10<737::aid-mcs7>3.0.co;2-4
- [11] LEON V, AIVAREZ B, COBOLLO M, et al. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: I. method optimization[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 999(1): 91-101. DOI:10.1016/j.aca.2003.10.080.
- [12] WELDEGERGIS B T, TREDOUX A G, CROUCH A M. Application of a headspace sorptive extraction method for the analysis of volatile components in South African wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(21): 8696-8702. DOI:10.1021/jf071554p.
- [13] GUERRERO E D, MARIN R, MEJIAS R C, et al. Stirbarsorptive extraction of volatile compounds in vinegar: validation study and comparison with solid phase microextraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1167(1): 18-26. DOI:10.1016/j.chroma.2007.08.039.
- [14] ACENNA L, VERA L, GUASCH J, et al. Chemical characterization of commercial sherry vinegar aroma by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography olfactometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(8): 4062-4070. DOI:10.1021/jf104763u.
- [15] ZOU X, SHI J, HAO L, et al. Distinguishing four traditional vinegars by sensory analysis and colorimetric sensors[J]. *Journal of Texture Studies*, 2012, 43(5): 413-419. DOI:10.1111/j.1745-4603.2012.00351.x.
- [16] SOHN J H, ATZENI M, ZELLER L, et al. Characterisation of humidity dependence of a metal oxide semiconductor sensor array using partial least squares[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 131(1): 230-235. DOI:10.1016/j.snb.2007.11.009.
- [17] ANKLAM E, LIPP M, RADOVIC B, et al. Characterisation of Italian vinegar by pyrolysis-mass spectrometry and a sensor device (electronic nose)[J]. *Food Chemistry*, 1998, 61(1): 243-248. DOI:10.1016/S0308-8146(97)00104-0.

- [18] WANG A L, SONG H L, REN C Z, et al. Key aroma compounds in Shanxi aged tartary buckwheat vinegar and changes during its thermal processing[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2012, 27(1): 47-53. DOI:10.1002/ff.2079.
- [19] 孙宗保, 赵杰文, 邹小波, 等. HS-SPME/GC-MS/GC-O对镇江香醋特征香气成分的确定[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2010(2): 139-144. DOI:10.3969/j.issn.1671-7775.2010.02.004.
- [20] CHEN T, GUI Q, SHI J J, et al. Analysis of variation of main components during aging process of Shanxi Aged Vinegar[J]. Acetic Acid Bacteria, 2013, 2(1): 21-26. DOI:10.1111/1750-3841.13914.
- [21] JIANG Y J, LIN S, ZHANG L, et al. Upgrading the fermentation process of Zhejiang rosy vinegar by purebred microorganisms[J]. Advances in Microbiology, 2013, 3: 297-301.
- [22] JIANG Y J, GUO J N, LI Y D, et al. Optimisation of lactic acid fermentation for improved vinegar flavour during rosy vinegar brewing[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 90(8): 1334-1339. DOI:10.1002/jsfa.3986.
- [23] 阎玉林. 酱油和醋香气成分的测定及生产工艺鉴定研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008: 65-72.
- [24] DEL S A. Chemometric analysis and volatile compounds of traditional balsamic vinegars from Modena[J]. Journal of Food Engineering, 2001, 50(2): 77-90. DOI:10.1016/S0260-8774(00)00195-3.
- [25] CAMARA J S, ALVES M A, MARQUES J C. Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing[J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 48: 70-77. DOI:10.1016/j.aca.2005.10.031.
- [26] CHARLES M, MARTIN B, GINIES C, et al. Potent aroma compounds of two red wine vinegars[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2016, 48: 70-77. DOI:10.1021/jf9905424.
- [27] UYSAL R S, SOYKUT E A, BOYACI I H, et al. Monitoring multiple components in vinegar fermentation using Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 4333-4343. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.06.122.
- [28] MA Y, TANG K, XU Y, et al. Characterization of the key aroma compounds in Chinese vidal icewine by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission tests[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(2): 394-401. DOI:10.1021/acs.jafc.6b04509.
- [29] DUMITRIU G D, LOPEZ DE L N, ZAMFIR C I, et al. Volatile and phenolic composition of red wines subjected to aging in oak cask of different toast degree during two periods of time[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 86: 643-651. DOI:10.1016/j.lwt.2017.08.057.
- [30] ACENA L, VERA L, GUASCH J, et al. Chemical characterization of commercial sherry vinegar aroma by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-olfactometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8): 4062-4070. DOI:10.1021/jf104763u.
- [31] XIONG Y, HE Z F, LI H J, et al. Determination of volatile compounds in Sichuan bran vinegars using head space-solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2011, 32(2): 252-255. DOI:10.1097/RLU.0b013e3181f49ac7.
- [32] CHEN S, XU Y, QIANIAN M C. Aroma characterization of chinese rice wine by gas chromatography-olfactometry, chemical quantitative analysis, and aroma reconstitution[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(47): 11295-11302. DOI:10.1021/jf4030536.
- [33] LIANG H Y, CHEN J Y, HAN B Z, et al. Aromatic and sensorial profiles of young Cabernet Sauvignon wines fermented by different Chinese autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. Food Research International, 2013, 51(2): 855-865. DOI:10.1016/j.foodres.2013.01.056.
- [34] ZHENG J, LIANG R, WU C. Discrimination of different kinds of Luzhou-flavor raw liquors based on their volatile features[J]. Food Research International, 2014, 56: 77-84.
- [35] RODRIGUEZ-CAMPOS J, ESCALONA-BUENDIA H B, IOROZCO-AVILA, et al. Dynamics of volatile and nonvolatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 250-258. DOI:10.1016/j.foodres.2010.10.028.
- [36] KALLITHRAKA S, ARVANITOYANNIS I S, KEFALAS P, et al. Instrumental and sensory analysis of Greek wines; implementation of principal component analysis (PCA) for classification according to geographical origin[J]. Food Chemistry, 2001, 73(4): 501-514. DOI:10.1016/s0308-8146(00)00327-7.
- [37] 尹洪旭, 杨艳萍, 姚月凤, 等. 基于气相色谱-质谱技术与多元统计分析对不同栗香特征绿茶判别分析[J]. 食品科学, 2019, 40(4): 192-198. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180120-276.
- [38] 吕旭聪, 蒋雅君, 胡荣康, 等. 红曲黄酒传统酿造用曲的特征挥发性风味成分分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(5): 222-233. DOI:10.16429/j.1009-7848.2019.05.028.
- [39] 蒋予箭, 裴纪莹, 林森, 等. 玫瑰醋草缸盖晾晒前后和醋醅“发花”过程微生物消长规律的研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(2): 42-46. DOI:10.16429/j.1009-7848.2008.02.020.
- [40] 方冠宇, 黄炳文, 蒋予箭. 基于高通量测序的浙江玫瑰醋发酵过程中细菌菌群结构及其动态演替[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 125-133. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190119-234.
- [41] 方冠宇, 穆晓静, 蒋予箭. 浙江玫瑰醋发酵过程中细菌菌群结构变化与有机酸形成相关性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 177-184. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181012-098.
- [42] 虞淼, 励建荣, 裴纪莹, 等. 浙江玫瑰醋的工艺改进[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 266-268. DOI:10.3969/j.issn.1673-9078.2006.03.094.
- [43] 阮富升, 章海峰. 机械化浙江玫瑰米醋生产线的建立和评价[J]. 中国调味品, 2007(10): 62-64. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2007.10.012.
- [44] 方冠宇, 吴光忠, 蒋予箭. 气动搅拌法生产浙江玫瑰醋及其对产品风味的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(18): 161-172. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181013-106.