

文章编号 :1009-038X(2003)01-0001-06

顶空固相微萃取法快速测定苹果酒中的香味物质

汪立平¹, 徐岩^{1*}, 赵光鳌¹, 陈坚¹, 王利平¹, 刘杨岷¹, 李记明²

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036; 2. 张裕葡萄酒股份有限公司, 山东 烟台 264000)

摘 要:以顶空固相微萃取法(Head Space Solid-Phase Micro-Extractions, HS-SPME)和气相色谱质谱(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)联用, 2-辛醇为内标, 研究了萃取头、萃取时间、加盐质量浓度、萃取温度对苹果酒中香气物质萃取的影响, 优化了分析条件, 建立了快速测定苹果酒中香气物质的方法. 该方法在苹果酒中常见香气物质的质量浓度范围内有良好的线性关系, 对常见香气物质的定量比较准确.

关键词:固相微萃取; 苹果酒; 香气

中图分类号: TS 260

文献标识码: A

Rapid Determination of Aroma Components in Apple Wine by Head Space Solid-Phase Microextraction(HS-SPME)

WANG Li-ping¹, XU Yan¹, ZHAO Guang-ao¹, CHEN Jian¹,
WANG Li-ping¹, LIU Yang-min¹, LI Ji-ming²

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Changyu Pioneer Wine Company Limited, Yantai 264000, China)

Abstract: A rapid and simple method was developed for determination of aroma components of apple wine by head space solid-phase microextraction(HS-SPME) coupled to capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Four parameters, including fiber coatings, extraction time, concentration of salt, and extraction temperature, were optimized. 2-Octanol was used as an internal standard for accuracy improvement. The method was characterized by the good linearity within the concentration range of common aroma components presented in apple wines with satisfactory recoveries.

Key words: solid-phase microextractions(SPME); flavor analysis; apple wine; aroma components; aroma notes

为了控制饮料酒的质量, 需要对其中的香味物质进行定性定量分析. 分析饮料酒中的香味物质, 通常要对香气成分进行浓缩预处理. 传统的浓缩预处理的方法有液液萃取法(Liquid-Liquid Extrac-

tion)^[1~3], 顶空法(Head Space Sampling)^[4], 吹扫捕集法(Purge and Trap)^[5], 同时蒸馏萃取法(Simultaneous Distillation/Extraction)^[6]和固相萃取法(Solid Phase Extraction)^[7]. 这些方法都不同程度地

收稿日期: 2002-08-23; 修回日期: 2002-10-16.

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(No. 2001BA501AOF)资助课题.

作者简介: 徐岩(1968-), 女, 湖南衡山人, 发酵工程博士研究生, 工程师. * 通讯联系人.

存在某些缺点,或费用太高,或样品量过多、耗时过多,或使用的是对人体有害的昂贵的有机溶剂,对操作者造成潜在的危害,还可能在浓缩过程中丢失香气物质。

固相微萃取(Solid Phase Microextraction,简称 SPME)是 20 世纪 90 年代以来出现的样品处理方法,它克服了前述传统预处理方法的几乎所有缺点,无需有机溶剂、分析样品量少、操作简单、快速、费用低,集采样、萃取、浓缩、进样于一体,能够尽可能减少被分析的香气物质的损失,并能与气相色谱、液相色谱联用。

SPME 装置的关键部件是一根熔融石英纤维丝或涂有一层具有选择性固相或液相聚合薄膜的石英纤维丝,该纤维丝称为纤维头。萃取样品时,首先用纤维头从待分析基质中萃取被分析物,然后将固相微萃取针管插入气相色谱仪的进样器内,热解吸后分析检测。也可以将固相微萃取针插入与液相色谱相连的 SPME/HPLC 的接口解吸池,开启流动相洗脱样品进样分析。根据 SPME 纤维头上的薄膜极性分类,可分为两大类,即极性的聚丙烯酸酯(Polyacrylate,简称 PA)或聚乙二醇(Polyethylene glycol,简称 PEG)和非极性的聚二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane,简称 PDMS)。固相微萃取可用来检测气相或液相样品甚至固态样品。酒类的香气物质检测多采用顶空固相微萃取法(Head Space Solid Phase Microextraction,简称 HS-SPME)^[8~10]。利用该法分析苹果酒中的香气物质尚未见报道。

作者优化了 HS-SPME 萃取参数,探讨了 HS-SPME 用于分离苹果酒中香气物质的可行性,建立了该样品处理法与 GC-MS 联用快速测定苹果酒中香气物质的分析方法,并用 HS-SPME—GC-MS 方法对苹果酒的香气物质进行定性定量测定。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 苹果 红富士苹果(Fuji):市购陕西红富士。

1.1.2 菌种 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)^[11],由作者所在实验室提供。

1.1.3 主要试剂 果胶酶(Pectinex 5XL):Novo Nordisk 公司产品;2-辛醇(2-Octanol):Sigma 公司产品;其他试剂均为国产色谱纯或分析纯。

1.1.4 主要仪器 HS-SPME 取样装置如图 1 所示。

SPME 手动进样手柄及 100 μm PA、85 μm

PDMS 萃取头(纤维头)购于上海安谱科学仪器有限公司(美国 Supelco Co 制造)。

气相色谱质谱联用仪:Trace MS 美国 Finigon 质谱公司制造。

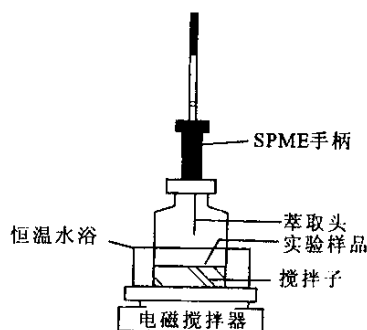


图 1 HS-SPME 固相微萃取装置示意图

Fig.1 Commerical HS-SPME device made by supelco

1.2 实验方法

1.2.1 苹果酒的酿造 按徐岩等(2002 年)专利工艺酿造全汁干型苹果酒,乙醇体积分数为 12%^[11]。

1.2.2 香气物质的测定

1) SPME 萃取 作者比较 PA 和 PDMS 两种纤维头萃取的苹果酒中香气物质组分个数,以出峰多的 PA 萃取头测定苹果酒中的挥发性物质。PA 纤维头的萃取方法为优化 PA 纤维头萃取参数后的萃取方法。

萃取头的老化:PA 萃取头和 PDMS 萃取头第一次使用时分别在气相色谱进样口于 275 $^{\circ}\text{C}$ 老化 5 h,250 $^{\circ}\text{C}$ 老化 3 h。第二次以后使用在上述温度下分别老化 1 h 和 30 min。

PA 萃取头萃取:在 15 mL 装有磁力搅拌器的顶空瓶中加入 2.5 g NaCl,10 mL 苹果酒,0.1 mL 内标(2-辛醇,约 0.5 mg/mL),50 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 10 min,插入 PA 纤维头,50 $^{\circ}\text{C}$ 吸附 40 min,GC 解吸 2 min,用于 GC-MS 分析。

PDMS 萃取头萃取:在 15 mL 装有磁力搅拌器的顶空瓶中加入 2.5 g NaCl,10 mL 苹果酒,0.1 mL 内标(2-辛醇,约 0.5 mg/mL),30 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 10 min,插入 PDMS 纤维头,30 $^{\circ}\text{C}$ 吸附 15 min,GC 解吸 2 min,用于 GC-MS 分析。

2) 气相色谱(GC)质谱(MS)条件 气相色谱(GC)条件:进样量为 1 μL ,分流方式为分流,色谱柱为 OV170I(30 m),程序升温为 45 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速度升至 190 $^{\circ}\text{C}$,保持 25 min。载气为 He,体积流量为 1 mL/min。检测器温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,入口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱(MS)条件:EI 电离源,电子能量为 70 eV,灯丝电流为 0.25 mA,电子倍增器电压为 1 500 V。

扫描范围为 33 ~ 450 AMU.离子源温度为 200 ℃.

3)定性定量方法 数据处理采用 Xcalibur 软件.

定性 未知化合物经计算机检索同时与 NIST library(107 k compounds)和 Wiley library (320 k compounds ,version 6.0)相匹配.仅报道匹配度和纯度大于 80%(最大值 1000)的鉴定结果.

定量 选择 2-辛醇为内标 ,它在苹果酒中的最终质量浓度约为 4.94 mg/L ,以苹果酒中常见的几种代表性酸类、醇类和酯类物质测定它们对 2-辛醇的相对响应因子.苹果酒中鉴定的酸类、醇类和酯类物质的质量浓度以相应的真实物质或结构相近的物质的相对响应因子计算.缩醛类、萜烯类物质以与 2-辛醇质量浓度之比计算.

2 实验结果

2.1 萃取头的选择

萃取头对香气物质的吸附性能根据“相似相溶”原则决定,即极性的 PA 萃取头对极性的香气物质有较强的吸附力,非极性的 PDMS 萃取头对非极性的香气物质吸附力较强.由于苹果酒的香气物质种类多^[12],极性不同,有必要比较 PA、PDMS 两种萃取头对苹果酒香气物质萃取的影响.为此,以红富士苹果酒为样品,以 PA(25 g/dL NaCl ,吸附时间 30 min ,40 ℃)和 PDMS(25 g/dL NaCl ,吸附时间 15 min ,40 ℃)纤维头,按气相色谱、质谱条件初步定性了苹果酒中的挥发性物质,结果见表 1.

表 1 PA 和 PDMS 纤维头萃取的挥发性物质种类比较
Tab.1 Comparison of aroma components extracted by PA- and PDMS-coated fibers

化合物	PA	PDMS	化合物	PA	PDMS
酯类			醇类和酚类		
乙酸乙酯	✓	✓	2,3-丁二醇	✓	✓
丁酸乙酯	✓	✓	正己醇	✓	✓
乙酸异戊酯	✓	✓	2-辛醇	✓	✓
乙酸-2-甲基丁酯	✓	✓	苯乙醇	✓	✓
己酸乙酯	✓	✓	2-甲氧基-4-乙烯基酚	✓	✓
乙酸己酯	✓	✓	酸类	✓	✓
辛酸乙酯	✓	✓	乙酸	✓	未检出
乙酸苯乙酯	✓	✓	2-甲基丁酸	✓	✓
癸酸乙酯	✓	✓	己酸	✓	✓
月桂酸乙酯	✓	✓	辛酸	✓	✓
肉豆蔻酸乙酯	✓	✓	癸酸	✓	✓
棕榈酸乙酯	✓	✓	缩醛类		
十八酸乙酯	✓	✓	1,1-二乙氧基乙烷	✓	✓
醇类和酚类			羰基化合物		
正丙醇	✓	✓	二氢基-2-甲基-3(2H)-硫代苯酮	✓	未检出
异丁醇	✓	✓	6-甲基-5-庚烯-2-酮	✓	未检出
正丁醇	✓	✓	萜烯类化合物		
2-甲基-1-丁醇	✓	✓	2,3-二氢基苯并呋喃	✓	未检出
庚醇	✓	✓	香茅醇环氧化物	✓	✓

注 :✓表示检出.

从表 1 可以看出,PA 和 PDMS 纤维头共检测出 32 种香气物质,其中,PDMS 能检测出来的物质,PA 纤维头均能检测出,而且 PA 纤维头比 PDMS

纤维头多萃取 4 种香气物质:乙酸,二氢基-2-甲基-3(2H)-硫代苯酮,6-甲基-5-庚烯-2-酮,2,3-二氢基苯并呋喃.因此选取 PA 纤维头优化萃取条件,并用

它对苹果酒的香气成分进行萃取测定.

另外,在气相色谱和质谱条件方面,根据香气物质的总离子色谱图(未列出),除正丙醇和乙酸乙酯色谱峰略有重叠外,各种香气物质的峰形尖而且窄,相邻峰被完全分离.这说明实验用气相色谱和质谱条件能满足苹果酒中香气物质的分离要求.

2.2 吸附时间的确定

顶空固相微萃取法是一种在平衡状态测定被分析物的方法,分析物的平衡状态由分析物在系统三相中的物质分配决定.这三相包括聚合物薄膜、顶空和水溶液.一旦被分析物在三相中达到平衡,它们在每一相中的质量浓度为一常数.所以,要准确测定分析物在聚合物薄膜中的质量浓度,首先要使系统达到平衡状态.该状态可通过被分析物的萃取时间与响应值(峰面积)测定.峰面积为常数时的时间为平衡时间.图 2 是在 25 g/dL NaCl 吸附温度 40 ℃ 条件下,苹果酒中部分挥发物的吸附时间与峰面积图.

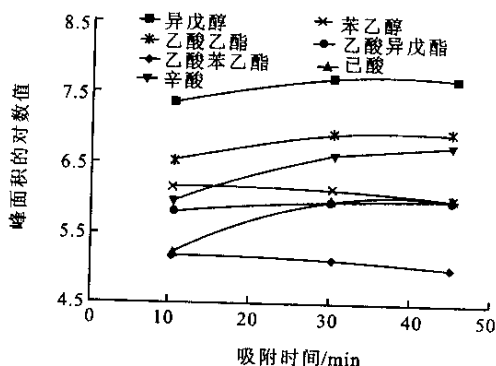


图 2 苹果酒中部分香味物质的 HS-SPME 吸附时间

Fig.2 HS-SPME adsorption time profile for some aroma components in Fuji apple wine

从图 2 可以看出,用 PA 头萃取的大部分化合物的峰面积在 45 min 时基本上是一常数.该结果与 Henryk H. Jelen 等(1998)^[8]、Alexandra Steffen 等(1996)^[9]报道相似.在接近平衡态的亚平衡态时,如果样品在相同的条件下萃取,也可以对被分析物进行较准确的测定.所以,为缩短分析时间,以 40 min 作为吸附时间.

2.3 NaCl 对萃取效率的影响

减少被分析物(有机物)在水溶液中的可溶性,能使更多的挥发性物质挥发至溶液的顶空,吸附到纤维头上,从而降低该方法的检测限,提高香气物质的响应值.在溶液相中加入盐(如 NaCl)可达到该目的.作者在吸附温度为 40 ℃、吸附时间为 40 min 的条件下,检测了 NaCl 对萃取效率的影响(加入 NaCl 的质量浓度分别为 0, 25, 30 g/dL).结果见图 3.

从图 3 可以看出,NaCl 质量浓度对辛酸和癸酸的萃取效率影响不明显,对醇类、酯类和其它酸类则影响较大.NaCl 质量浓度为 25 g/dL 时,萃取效率最高,为 30 g/dL 时萃取效率反而降低,所以选择 25 g/dL 为萃取盐的质量浓度.

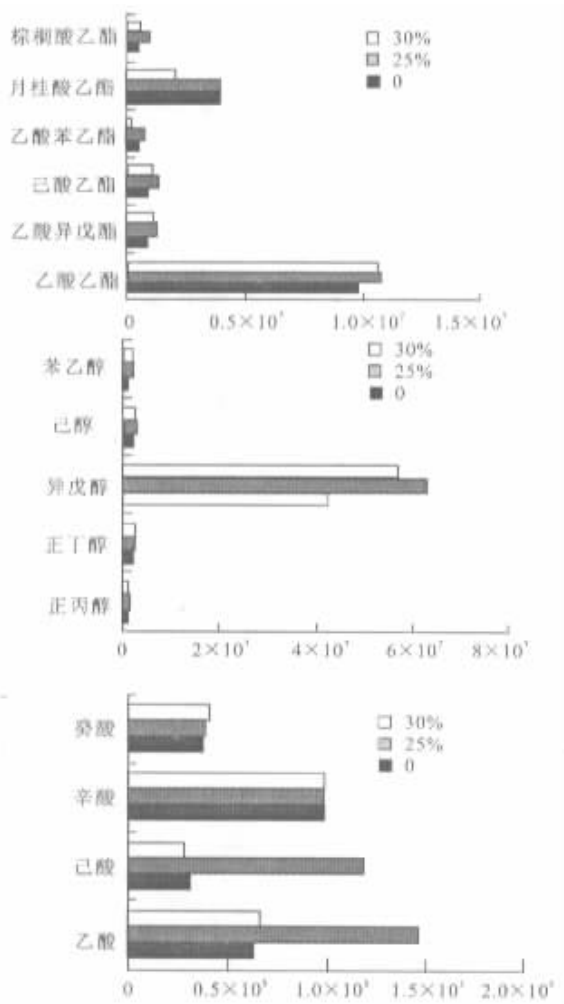


图 3 不同 NaCl 质量浓度下苹果酒中部分香味物质的萃取效率

Fig.3 Relative amount of aroma components in Fuji apple wine extracted under various salt concentrations using a PA fiber coating

2.4 萃取温度的确定

温度对萃取效率也有影响.作者比较了 40 ℃ 和 50 ℃ 两种温度对萃取效率的影响.总的说来,提高温度可以增加香气物质的萃取效率,50 ℃ 时醇类、酸类、酯类的萃取效率分别是 40 ℃ 的 1~3 倍.再提高温度可能会提高萃取效率,但考虑到高温可能会引起苹果酒中香气物质发生化学变化,所以将 50 ℃ 作为萃取温度.

2.5 萃取方法的有效性验证

一旦确定了 PA 萃取参数和仪器条件,作者考

察了在该条件下的测定方法分析苹果酒中香气物质的可行性,包括测定该方法的线性范围和回收率.线性范围的测定是以苹果酒中几种代表性香气物质配成稍宽于苹果酒中的常见质量浓度范围内的 5 个梯度,测定它们在模拟苹果酒中性情况.模拟苹果酒是乙醇体积分数为 12% 的高纯水溶液.回收率的测定是在苹果酒中加入这几种香气物质,对加入和不加入香气物质的红富士苹果酒进行测定,按照加标回收率的方法计算,结果见表 2、3.

根据表 2、3,苹果酒中几种香气物质的相关系数 R^2 范围为 0.9121 ~ 0.9935;回收率为 77.58% ~ 119.87%,其中正丙醇和辛酸的回收率(77.58%, 78.91%)较低,但高于 Mangas JJ (1996)^[7]方法中微量成分的最低有效回收率(67%).所以,综合表 2、3,该法可以较准确地测定苹果酒中常见的香气物质.

表 2 苹果酒中部分香气物质的线性范围
Tab.2 Linear range used for apple wine aroma components determination using PA-coated fiber

化合物	范围(mg/L)	R^2	回归方程
正丙醇	0.0209 ~ 4.184	0.9121	$y = 101.68x - 0.1379^a$
异丁醇	0.2510 ~ 50.192	0.9593	$y = 45.368x + 1.6552$
正丁醇	0.0477 ~ 9.528	0.9621	$y = 63.44x + 0.4672$
异戊醇	0.8968 ~ 179.368	0.9676	$y = 29.512x - 1.8824$
正己醇	0.0476 ~ 9.512	0.9935	$y = 14.307x + 0.0011$
2-苯乙醇	0.3132 ~ 62.752	0.9923	$y = 75.611x + 1.6055$
乙酸乙酯	0.1910 ~ 38.012	0.9259	$y = 46.348x + 0.3019$
己酸乙酯	0.0151 ~ 3.032	0.9573	$y = 9.8116x + 0.0774$
丁二酸二乙酯	0.0194 ~ 3.872	0.9866	$y = 68.499x + 0.1136$
己酸	0.01616 ~ 3.232	0.9468	$y = 25.302x - 0.0562$
辛酸	0.0282 ~ 5.640	0.9718	$y = 21.518x + 0.3325$

注:样品和混合标样中加入等量的内标 2-辛醇, x 为样品中香气物质与内标 2-辛醇峰面积之比; y 为待测香气物质质量浓度(mg/L).

表 3 红富士苹果酒中部分香气物质的回收率
Tab.3 Recovery of some aroma components added to Fuji apple wine using PA-coated fiber

化合物	加入物质量浓度/ (mg/L)	检测物质量浓度/ (mg/L)	回收率/ %
正丙醇	3.14	2.43	77.58
异丁醇	37.61	43.26	115.04
正丁醇	7.15	8.18	114.47
异戊醇	134.52	154.50	114.85
正己醇	7.13	6.77	94.90
2-苯乙醇	47.06	47.71	101.38
乙酸乙酯	10.66	12.77	119.87
己酸乙酯	2.27	2.53	111.47
己酸	2.42	2.57	105.84
辛酸	4.23	3.34	78.91

2.6 苹果酒中香气成分的分析

采用固相微萃取条件和色谱、质谱条件测定了红富士苹果酿造的苹果酒中的香气成分.苹果酒中的香气物质的总离子流色谱图见图 4,色谱图上的色谱峰以保留时间标记,保留时间对应的香气物质名称见表 4.表 4 还列出了苹果酒中所鉴定的香气物质的质量浓度.

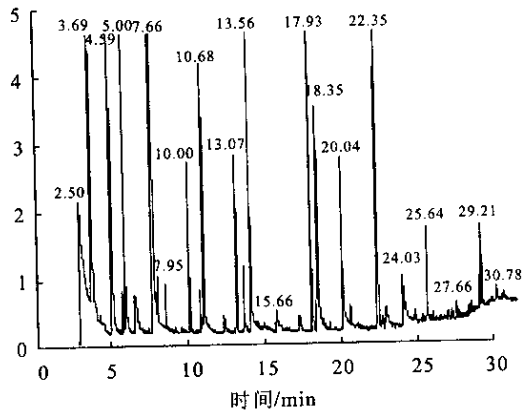


图 4 红富士苹果酒中的香气物质的总离子流色谱图
Fig.4 Total ion current chromatogram of aroma Components in Fuji apple wine

根据表 4,红富士苹果酒中共鉴定出 32 种香气成分.这些成分分属于低级脂肪酸类、醇类、酯类、缩醛类、羰基化合物类、萜烯类和酚类等 7 类物质.该结果与 Williams 等(1974)^[12]报道相符合,说明采用 SPME 法能较完全萃取苹果酒中的香气物质.

在鉴定的物质中醇类和酯类的种类最多,醇类的种数略少于酯类.醇类和酯类种数分别为 8、13,

占香气物质种类总数的 28.1%和 40.6% ;质量浓度较高的成分是醇类、酯类和低级脂肪酸类物质 ,这 3 类物质在苹果酒中的质量浓度分别是 219.0 42.9 , 6.5 mg/L ,分别占总香气成分总量的 81. 6% , 16.0% 2.4% .苹果酒中含量排在前 10 位的香气成分依次是 2-甲基-1-丁醇、2-甲基-1-丙醇、乙酸乙

酯、苯乙醇、正丁醇、正丙醇、辛酸、月桂酸乙酯、辛酸乙酯和正己醇 ,这 10 种香气成分在苹果酒中所占比例为 95.66% ,构成了苹果酒的主要香气成分 .含量最高的物质 2-甲基-1-丁醇 ,占红富士酒香气总量的53.6% ,表明该物质是苹果酒中的最主要的香气成分 .

表 4 富士苹果酒中鉴定的挥发性物质及质量浓度

Tab.4 Content of aroma components of Fuji apple wine identified by HS-SPME					
化合物名称	保留时间/ min	质量浓度/ (mg/L)	化合物名称	保留时间/ min	质量浓度/ (mg/L)
正丙醇	3.61	7.28	2-辛醇(内标)	14.02	4.94
乙酸乙酯	3.69	31.76	二氢基-2-甲基-3(2H)硫代苯酮	14.40	0.01
2-甲基-1-丙醇	5.00	39.73	己酸	15.66	0.51
1 ,1-二乙氧基乙烷	5.72	0.02	香茅醇环氧化物	17.15	0.02
正丁醇	5.89	11.09	辛酸乙酯	17.93	2.15
乙酸	6.54	1.28	苯乙醇	18.35	14.54
2-甲基-1-丁醇	7.66	144.33	辛酸	20.04	3.41
丁酸乙酯	7.97	0.23	乙酸-2-苯乙酯	20.62	1.99
正庚醇	8.44	T	癸酸乙酯	22.35	0.93
乙酸异戊酯	10.00	0.61	2-甲氧基-4-乙烯基酚	22.88	0.01
乙酸-2-甲丁酯	10.08	T	2 ,3-二羟基苯并呋喃	22.97	0.02
2 ,3-丁二醇	10.68	0.48	癸酸	24.03	0.91
正己醇	10.97	2.11	月桂酸乙酯	25.64	2.28
2-甲丁酸	12.28	0.42	肉豆蔻酸乙酯	27.66	0.34
己酸乙酯	13.07	0.69	棕榈酸乙酯	29.21	1.62
乙酸己酯	13.56	0.33	十八酸乙酯	30.78	T
6-甲基-5-庚烯-2-酮	13.64	0.01	质量浓度总计		269.11

注 :T 指痕量 .

3 结 论

本研究建立了一种快速、简单、样品量少的测定苹果酒中挥发性成分的分析方法 ,即顶空固相微萃取法与气相质谱联用法 .该法能萃取苹果酒中的醇类、酯类、低级脂肪酸类、缩醛类、羰基化合物、萜烯类化合物、酚类等 7 类物质 ,表明该分析方法可较完全地萃取苹果酒中的香气物质 .在苹果酒中的

低级脂肪酸类、醇类和酯类等常见香气物质的质量浓度范围内 ,该分析方法呈线性关系 , R^2 为 0.9121 ~ 0.9935 ,回收率为 77.58% ~ 119.87% ,其中正丙醇、酸类的回收率较低 ,为 77 % 左右 ,酯类和大部分醇类的回收率较高 ,达 94% ~ 115% ,说明该法可较准确地用于苹果酒中的香气物质的定量分析 .优化后的固相微萃取主要条件是 :PA 纤维头 ,吸附时间为 40 min ,吸附温度为 50 ℃ ,加盐量为 25 g/dL ,解吸时间为 2 min .

参考文献 :

[1] Ferreora V ,Rapp A ,Cacho J F ,et al. Fast and quantitative determination of wine flavor compouds using microextraction with freon 113 [J] . J Agric Food Chem , 1993 41(9) :1413 - 1420 .
万方数据 (下转第 20 页)

3 结 论

通过⁶⁰Co 诱变,筛选得到一株产色素能力缺失菌,摇瓶和 15 L 发酵罐发酵实验多糖产量为 15

g/L 左右,发酵液颜色为淡绿色.该菌株简化了多糖纯化步骤,有利于保持多糖的生物活性和提取过程中多糖的损失.对该菌株的多糖产物进行红外和核磁共振光谱分析,其结构与短梗霉多糖标样一致.

参考文献：

[1] S Yuen. Pullulan and its applications[J]. **Process Biochemistry** , 1974 (11) : 7 - 9 .
[2] Thomas J Pollock , Linda Thorne , Richard W Armentrout . Isolation of new *Aureobasidium* strains that produce high-molecular-weight pullulan with reduced pigmentation[J]. **Applied and Environmental Microbiology** , 1992 (3) : 877 - 883 .
[3] F Youssef , T Roukas , C G Biliaderis . Pullulan production by a non-pigmented strain of *Aureobasidium pullulans* using batch and fed-batch culture[J]. **Process Biochemistry** , 1999 , 34 : 355 - 366 .
[4] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1994 .
[5] 詹晓北,郑志永,贾薇,等.大肠杆菌⁶⁰Co 诱变育种及其发酵生产聚唾液酸条件[J].无锡轻工大学学报,2000 ,19(4) : 21 - 25 .
[6] Gorin QAJ. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of polysaccharides[J]. **Adv Carbohydr Chem Biochem** , 1981 , 38 : 13 - 104 .
[7] Brian J Catley , Alison Ramsay , Catherine Servis . Observations on the structure of the fungal extracellular polysaccharide , pullulan[J]. **Carbohydrate Research** , 1986 , 153 : 79 - 86 .

(责任编辑:李春丽)

(上接第 6 页)

[2] Gil J V ,Mateo J J ,Jimenez M , *et al.* . Aroma compounds in wine as influenced by apiculate yeast[J]. **J Food Sci** ,1996 ,61(6) : 1247 - 1249 ,1266 .
[3] Scherier P ,Drawert F ,Schmid M . Changes in the composition of neutral volatile components during the production of apple brandy[J].**J Sci Fd Agric** ,1978 ,29(8) : 728 - 736 .
[4] Noble A C . In Analysis of Foods and Beverages ,Headspace Techniques[M]. New York : Academic Press , 1978 . 203 - 208 .
[5] Stashenko H ,Macku C ,Shibamoto T . Monitoring volatile chemicals formed from must during yeast fermentation[J].**J Agric Food Chem** ,1992 ,40(11) : 2257 - 2259 .
[6] Soles K M ,Ough C S ,Kunkee R E . Ester concentration differences in wines fermented by various species and strains of yeasts [J].**Am J Enol Vitic** ,1982 ,33(1) : 94 - 98 .
[7] Mangas J J ,Gonzalez M P ,Rodriguez R , *et al.* . Solid-phase extraction and determination of trace aroma and flavour components in cider by GC-MS[J].**Chromatographia** ,1996 ,42(1/2) : 101 - 105 .
[8] Henryk H J ,Krystian W ,Erwin W , *et al.* . Solid-phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer : comparison with static headspace method[J]. **J Agric Food Chem** ,1998 ,46(4) : 1469 - 1473 .
[9] Alexandra S ,Janusz P . Analysis of flavor volatiles using headspace solid-phase microextraction[J]. **J Agric Food Chem** ,1996 ,44(8) : 2187 - 2193 .
[10] Elizabeth V ,Susan E E . Monitoring ester formation in grape juice fermentations using solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. **J Agric Food Chem** ,2001 ,49(2) : 589 - 595 .
[11] 徐岩.一种苹果酒酵母和用该酵母发酵酿制苹果酒的方法[P].中国专利 :1335392A ,2002-02-13 .
[12] Williams A A . Flavour research and the cider industry[J].**J Inst Brew** , 1974 ,80(5) : 455 - 470 .

(责任编辑:李春丽)