

红树莓发酵前后香气成分变化分析

王丽霞, 刘莹, 高涵, 何俊萍*

(河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000)

摘要:以红树莓为原料,采用顶空-固相微萃取和气相色谱质谱联用技术分析红树莓汁及红树莓发酵酒的香气物质成分和含量,对比红树莓汁发酵前后香气成分变化。结果表明:红树莓汁、果胶酶酶解汁及红树莓汁发酵酒中共检测出74种香气成分,分别为21、31、41种。红树莓果汁经果胶酶酶解后,主要香气成分变化不大,均为酮类物质,而经发酵后,酮类物质减少,醇类和酯类物质有明显增加。研究结果发现,酵母菌种发酵改变了红树莓主要香气成分,这对红树莓的开发利用有重要意义。

关键词:红树莓,气相色谱质谱联用,香气成分,顶空固相微萃取技术

Analysis of aroma components in red raspberry before and after fermentation

WANG Li-xia, LIU Ying, GAO Han, HE Jun-ping*

(College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract: The red raspberry as raw materials, the aroma components and contents of raspberry and red raspberry fermented wine were analyzed by headspace solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. The results showed that raspberry juice, pectinase digestion juice and raspberry fermentation wine were detected with 74 fragrances, which were 21, 31 and 41 respectively. After the solution of pectase enzyme, the main aroma components of red raspberry juice were not much changed, and they were all ketones. After fermentation, the ketone substance decreased, and alcohol and ester substances increased significantly. The results showed that the fermentation of yeast changed the main aroma components of red raspberry, which would be important for the development and utilization of red raspberries.

Key words: red raspberry; gas chromatography mass spectrometry; aroma components; head space-solid phase micro-extraction

中图分类号: TS262.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)06-0217-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.06.039

引文格式: 王丽霞, 刘莹, 高涵, 等. 红树莓发酵前后香气成分变化分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(6): 217-222

红树莓是山莓的一种,又叫覆盆子,是一种蔷薇科悬钩子属的木本植物^[1]。果实酸甜,柔嫩多汁,芳香味浓,营养丰富,是一种重要的商业水果作物^[2]。富含维生素、花青素、鞣花酸、维生素、黄酮、超氧化物歧化酶等多种抗癌、抗疲劳等物质,红树莓的摄入也可以降低糖尿病诱导的氧化应激反应^[3-5]。因此,人们对红树莓的需求正在上升^[6],红树莓在食品、药品及营养保健品方面均具有较高的开发价值,是一种天然保健食品,被誉为第三代水果^[7]。而且红树莓果酒具有酒精度低、营养高、益脑健身等优点,能促进新陈代谢、改善心脑血管、抗氧化、抗衰老的功效^[8],红树莓果酒会有很好的市场。目前,对于红树莓的研究,国内外主要集中于鞣花酸、树莓酚^[9],对红树莓香气成分的研究较少,张强等^[10]研究了红树莓果醋的香气成分,发现自然发酵和纯种发酵两种工艺生产的红树莓果醋主要香气成分种类相同,但含

量有差异,纯种发酵的果醋优于自然发酵,更具红树莓果醋典型性风味,王家利等^[11]研究了不同酵母发酵红树莓果酒的香气成分,发现不同酵母发酵生产的红树莓酒香气差别较大。本文对红树莓发酵前后香气成分变化进行分析,以期对红树莓及红树莓果酒香气成分的确定提供数据参考,对红树莓的开发利用有重要实际意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红树莓冻果 张家口市海尔特兹;果胶酶 10万 U/g,法国 DSM 公司;法国 F15 活性干酵母 法国拉曼德公司。

Hw-SY11 型电热恒温水浴锅 北京市长风仪器仪表公司;Agilent 7890A-5975C GC/MS 气相色谱质谱联用仪 美国 Agilent 公司;SPME 手动进样手柄

收稿日期:2017-06-06

作者简介:王丽霞(1992-),女,硕士研究生,研究方向:食品工程,E-mail:525644248@qq.com。

*通讯作者:何俊萍(1964-),女,研究生,教授,研究方向:果品与蔬菜加工,E-mail:hejunping461@sina.com。

基金项目:河北省科技计划项目(16226806D-1)。

及萃取头 美国 Agilent 公司; 色谱柱: HP-INNOWax(60 m×250 μm×0.25 μm) 美国 Agilent 公司; 50/30 μm (DVB/CAR/PDMS) 碳分子筛/聚二乙烯苯/聚二甲硅氧烷微萃取头 美国 Supelco 公司; 15 mL 顶空瓶 上海安谱科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 红树莓发酵酒的制备

红树莓冻果→解冻→破碎取汁→果胶酶处理(51℃, 1 h)→调配→接入酵母菌
↓
红树莓酒←澄清←陈酿←后发酵←分离←28℃发酵

操作要点: 红树莓酒的制备: 将破碎的红树莓用 200 目纱布过滤取汁, 以 5 μm/L 添加果胶酶, 51℃ 恒温发酵 1 h, 添加 20% 的绵白糖, 以 0.1 g/L 添加亚硫酸盐; 取 1 g 干酵母, 置于 10 mL 质量分数 15% 的蔗糖溶液中混匀, 37℃ 恒温静置 30 min 活化备用; 将活化后的酵母按质量分数 5% 接种量接种于红树莓果汁中, 28℃ 恒温发酵 7 d。

1.2.2 香气成分检测

1.2.2.1 红树莓香味物质的萃取 采用 HS/SPME 对红树莓香味物质进行萃取, 将红树莓原汁、果胶酶酶解汁、红树莓发酵酒置于顶空瓶中。分别取 7.5 mL 样品于 15 mL 顶空瓶中, 加 0.3 g NaCl, 密封, 混匀, 将萃取头插入顶空瓶, 在 45℃ 顶空萃取 30 min^[12]。

1.2.2.2 红树莓香味物质的分离鉴定 采用 GC/MS 对红树莓香味物质进行分离鉴定。将萃取头插入气相色谱进样口, 解析 6 min。气相色谱条件: 采用升温程序, 起始温度为 40℃, 保持 2 min, 以 1℃/min 升温速率升至 100℃, 再以 4.5℃/min 升温速率升到 240℃, 保持 4 min, 进样口温度 250℃, 载气为 He, 流速为 1 mL/min, 进样量 1 mL (SPME 进样), 不分流进样^[13]。质谱条件: 电子电离 (electron ionization, EI) 源, 电子能量为 70 eV, 离子源温度 230℃, 四极杆温度 150℃。溶剂延迟 1 min, 质谱质量扫描范围 45~650 m/z。各成分组分通过 NIST05.L 图谱库检索、分析, 用面积归一化法计算各香气成分的相对百分含量, 待测物质的含量 = 待测物质的峰面积/总峰面积。

2 结果与分析

2.1 3 种样品的总离子流色谱图

图 1~图 3 分别是红树莓原汁、果胶酶酶解汁、红树莓发酵酒香气成分的总离子流色谱图。

2.2 香气成分分析

对红树莓原汁、红树莓酶解汁、红树莓发酵酒香气成分进行定性和定量结果见表 1。

在红树莓原汁共鉴定出 21 种香气成分, 其中包括: 醛酮类 5 种, 醇类 3 种, 烷烃、烯烃类 3 种, 苯、酚类 2 种, 酸类 1 种, 其他 7 种, 主要香气成分有 beta-紫罗酮 (24.34%)、甲氧基-苯基-肟 (37.12%)、alpha-紫罗酮 (14.74%)、2-庚醇 (4.48%)、异丙肾上腺素三-TMS 衍生物 (5.58%) 等, 其中 beta-紫罗酮具有柏木、覆盆子等香型香气; 果胶酶酶解树莓汁中鉴定出 31 种成分, 其中包括: 醛酮类 9 种, 醇类 5 种, 烷

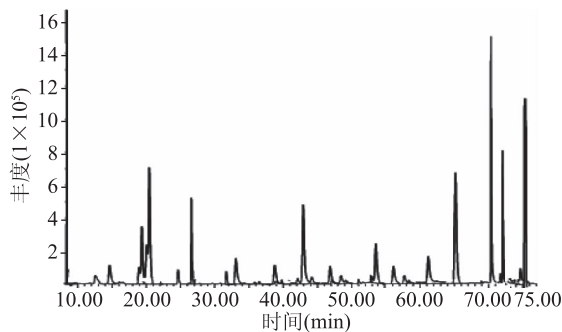


图 1 红树莓原汁香气成分总离子流程图

Fig.1 Aroma components of red raspberry juice total ion flow char

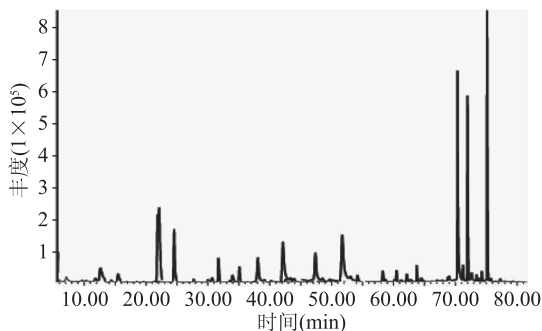


图 2 果胶酶处理果汁香气成分总离子流程图

Fig.2 Pectinase juice aroma components of the total ion flow chart

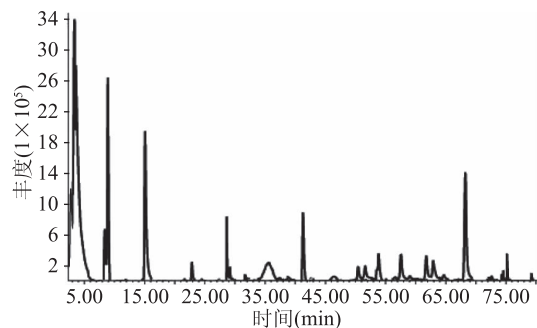


图 3 酵母菌发酵酒香气成分的总离子流色谱图

Fig.3 Chromatogram of aroma components of yeast fermented wine

烃、烯烃类 4 种, 苯、酚类 2 种, 酯类 3 种, 酸类 1 种, 主要香气成分有 6-甲基-5-庚烯-2-醇 (2.54%)、2-庚醇 (9.71%)、甲氧基-苯基-肟 (22.83%)、alpha-紫罗酮 (17.15%)、beta-紫罗兰酮 (24.30%) 等; 在树莓发酵酒中鉴定出 41 种成分, 其中包括: 醛酮类 4 种, 醇类 10 种, 烷烃、烯烃类 5 种, 苯、酚类 3 种, 酯类 11 种, 酸类 2 种, 主要香气成分为乙酸异戊酯 (55.01%)、异戊醇 (11.14%)、甲氧基-苯基-肟 (8.03%)、苯乙醇 (1.22%)、乙酸苯乙酯 (0.58%)、苯甲酸乙酯 (1.80%)、芳樟醇 (1.62%)、辛酸乙酯 (4.80%)、正己酸乙酯 (1.66%) 等, 其中芳樟醇具有铃兰香气, 苯甲酸乙酯具有浓烈的花香, 并带有水果的清香气味, 辛酸乙酯略带有玫瑰、橙子的花果香气, 是白兰地酒特有的香味^[14]。树莓发酵酒中特有的苯乙醇不仅有杀菌作用, 而且有茉莉花香, 给人愉悦的感觉。

表1 红树莓原汁、经果胶酶处理果汁、酵母菌发酵酒的香气成分
Table 1 Red raspberry juice by pectinase juice, aroma yeast fermented wine

编号	香味物质	峰面积相对含量(%)		
		A	B	C
	醇类物质	6.03	14.25	15.39
1	异丁醇(1-Propanol,2-methyl-)	-	-	0.30
2	异戊醇(1-Butanol,3-methyl-)	-	-	11.14
3	2-庚醇(2-Heptanol)	4.48	9.71	0.21
4	2-甲基-6-庚烯-1-醇(6-Hepten-1-ol,2-methyl-)	1.19	-	0.09
5	(6-甲基-5-庚烯-2-醇)dl-6-Methyl-5-hepten-2-ol	-	2.54	-
6	(异辛醇)1-Hexanol,2-ethyl-	-	0.44	-
7	芳樟醇(1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimethyl-)	-	-	1.62
8	alpha-松油醇(3-Cyclohexene-1-methanol,.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-,(S)-)	-	-	0.03
9	3,3,7,11-四甲基三环[5.4.0.0(4,11)]十一烷-1-醇 (3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5.4.0.0(4,11)]undecan-1-ol)	-	-	0.08
10	苄醇(Benzyl Alcohol)	0.36	0.52	0.09
11	紫罗兰醇(3-Buten-2-ol,4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-)	-	1.04	0.81
12	苯乙醇(Phenylethyl Alcohol)	-	-	1.02
	酯类物质	0	2.83	68.65
13	乙酸异戊酯(1-Butanol,3-methyl-,acetate)	-	-	55.01
14	正己酸乙酯(Hexanoic acid,ethyl ester)	-	-	1.66
15	辛酸乙酯(Octanoic acid,ethyl ester)	-	-	4.80
16	二-TMS4-羟基扁桃酸乙酯(4-Hydroxymandelic acid,ethyl ester,di-TMS)	-	1.27	0.47
17	苯甲酸甲酯(Benzoic acid,methyl ester)	-	1.23	-
18	癸酸乙酯(Decanoic acid,ethyl ester)	-	-	1.22
19	苯甲酸乙酯(Benzoic acid,ethyl ester)	-	-	1.80
20	1-苯并吡啶因-1-羧酸-2,2,5a-三甲基-1a-[3-氧代-1-丁烯基]全氢化甲基酯 (1-Benzazirene-1-carboxylic acid,2,2,5a-trimethyl-1a-[3-oxo-1-butenyl]perhydro-,methyl ester)	-	-	0.03
21	乙酸苯乙酯(Acetic acid,2-phenylethyl ester)	-	-	1.84
22	月桂酸乙酯(Dodecanoic acid,ethyl ester)	-	-	0.14
23	4a(2H)-萘羧酸,1,3,4,5,6,7-六氢-1,1-二甲基-2-氧代-乙酯 (4a(2H)-Naphthalenecarboxylic acid,1,3,4,5,6,7-hexahydro-1,1-dimethyl-2-oxo-,ethyl ester)	-	0.33	-
24	壬酸甲酯(Nonanoic acid,methyl ester)	-	-	0.06
25	辛酸甲酯(Octanoic acid,methyl ester)	-	-	0.06
	醛、酮类物质	40.65	47.86	5.70
26	己醛(Hexanal)	0.29	1.00	-
27	苯甲醛(Benzaldehyde)	-	0.77	-
28	2-庚酮(2-Heptanone)	-	0.34	-
29	2,8-二甲基-5-壬酮(5-Nonanone,2,8-dimethyl-)	-	-	0.01
30	3-羟基-1,2,3-苯并三嗪-4(3H)-酮 (3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazine)	-	1.91	-
31	beta-紫罗酮(3-Buten-2-one,4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-,(E)-)	24.34	-	-
32	4-氰基苯并苯基酮(4-Cyanobenzophenone)	-	0.43	-
33	2,3-二氢-N-羟基-4-甲氧基-3,3-二甲基-吡啶-2-酮 (Indole-2-one,2,3-dihydro-N-hydroxy-4-methoxy-3,3-dimethyl-)	0.03	-	-
34	二氢-beta-紫罗兰酮(2-Butanone,4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-)	1.25	1.64	0.17
35	alpha-紫罗酮(3-Buten-2-one,4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-,(E)-)	14.74	17.15	2.15
36	5,6,7,8-四氢-4a,5,5-三甲基-2(4aH)-萘酮 (2(4aH)-naphthalenone,5,6,7,8-tetrahydro-4a,5,5-trimethyl-)	-	0.32	-
37	beta-紫罗兰酮(3-Buten-2-one,4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-)	-	24.30	3.37

续表

编号	香味物质	峰面积相对含量(%)		
		A	B	C
	烷烃、烯烃类	3.20	2.11	0.68
38	1-乙基-2-甲基-顺-环戊烷(Cyclopentane,1-ethyl-2-methyl-,cis-)	-	0.37	-
39	(1-甲基丁基)-环氧乙烷(Oxirane,(1-methylbutyl)-)	-	0.51	-
40	1,5-二甲基-双环[3.1.0]己烷(Bicyclo[3.1.0]hexane,1,5-dimethyl-)	-	-	0.09
41	戊基-环丙烷(Cyclopropane,pentyl-)	-	-	0.15
42	苯乙烯(Styrene)	-	-	0.05
43	环辛四烯(1,3,5,7-Cyclooctatetraene)	-	-	0.05
44	1-庚烯(1-Heptene)	-	0.48	-
45	(E,Z)-2,4-己二烯(2,4-Hexadiene,(E,Z)-)	-	0.75	-
46	甲氧基-2'-甲基-二苯乙烯(2-Methoxy-2'-methyl-stilbene)	1.96	-	-
47	2-苯并[1,3]二氧杂环戊烯-5-基-8-甲氧基-3-硝基-2H-色烯 (2-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-8-methoxy-3-nitro-2H-chromene)	-	-	0.34
48	4-乙酰基-1-甲基-环己烯;4-乙酰基-1-甲基-环己烯 (4-Acetyl-1-methylcyclohexene)	0.77	-	-
49	2,5-二甲氧基-4-丙氧基-β-甲基-β-硝基苯乙烯 (2,5-Dimethoxy-4-propoxy-.beta.-methyl-.beta.-nitrostyrene)	0.47	-	-
	苯、酚类物质	1.24	2.31	0.41
50	4-(九氟-叔丁基)硝基苯(4-(Nonafluoro-tert-butyl)nitrobenzene)	0.37	-	-
51	1,2,3,5-四甲基-4,6-二硝基-苯(Benzene,1,2,3,5-tetramethyl-4,6-dinitro-)	-	-	0.05
52	1-乙基-3,5-二异丙基-苯(Benzene,1-ethyl-3,5-diisopropyl-)	-	0.24	-
53	2-[4-(2-羟乙基氨基)-2-间二氮杂萘基]-苯酚 (Phenol,2-[4-(2-hydroxyethylamino)-2-quinazoliny]-)	-	0.49	-
54	2,5-双(1,1-二甲基乙基)-1,4-苯二酚 (1,4-Benzenediol,2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-)	-	-	0.11
55	3,5-二叔丁基邻苯二酚(1,2-Benzenediol,3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-)	0.87	-	-
56	二叔丁基对甲酚(Butylated Hydroxytoluene)	-	-	0.25
	酸类物质	1.38	1.58	1.15
57	辛酸(Octanoic Acid)	-	-	0.94
58	乙酸(Acetic acid)	1.38	1.58	0.21
	其他	47.50	28.62	9.20
59	异丙肾上腺素三-TMS 衍生物(Isoproterenol-tri-TMS derivative)	5.58	-	0.15
60	苯基丙醇水合物(Phenylglyoxal)	-	-	0.12
61	2-氨基蒽(2-Anthracenamine)	-	-	0.23
62	N-(2-甲氧基-6-甲基苯基)邻苯二甲酰亚胺 (N-(2-Methoxy-6-methylphenyl)phthalimide)	0.46	-	-
63	9,10-二脱氢-6-甲基-(8.β)-麦角灵-8-甲酰胺 (Ergoline-8-carboxamide,9,10-didehydro-6-methyl-,(8.β)-)	-	0.26	-
64	4α,5-二氢-3-甲氧基-12-甲基-7a,9c-(亚氨基四氢)菲并 [4,5-bcd]呋喃(7a,9c-(Iminoethano)phenanthro[4,5-bcd] furan,4a.alpha.,5-dihydro-3-methoxy-12-methyl-)	1.77	1.91	-
65	N-(2-糠基-噻吩-2-甲酰胺)(Thiophene-2-carboxamide,N-(2-furfuryl)-)	-	0.85	-
66	(4-甲氧基-α-甲基苄基胍基)-2-甲基-6-吗啉代嘧啶 (4-(4-Methoxy-α-methylbenzylidenhydrazino)-2-methyl-6-morpholinopyrimidine)	-	-	0.03
67	3-氨基-7-硝基-1,2,4-苯并三嗪 1-氧化物 (3-Amino-7-nitro-1,2,4-benzotriazine 1-oxide)	0.43	-	-
68	1-硝基-9,10-二氧化-9,10-二氢-蒽-2-羧酸二乙基酰胺 1-硝基-9, 10-二氧化-9,10-二氢-蒽-2-羧酸二乙基酰胺 (1-Nitro-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracene-2-carboxylic acid diethylamide)	-	0.82	-
69	甲氧基-苯基-肟(Oxime-,methoxy-phenyl-)	37.12	22.83	8.03

续表

编号	香味物质	峰面积相对含量(%)		
		A	B	C
70	2,4-二甲基-苯并[h]喹啉(Benzo[h] quinoline, 2,4- dimethyl-)	-	0.51	-
71	5-甲基-2-苯基-1H-吲哚(1H-Indole, 5- methyl-2- phenyl-)	-	-	0.64
72	1-甲基-4-[4,5-二羟基苯基]-六氢吡啶 (Hexahydropyridine, (1- methyl-4- [4,5- dihydroxyphenyl]-)	1.81	-	-
73	2-乙基吡啶(2-Ethylacridine)	-	1.44	-
74	2-(1-哌啶子基)-3-硝基吡啶(2-(1-Piperidino)-3- nitropyridine)	0.33	-	-

注:A-红树莓原汁,B-果胶酶酶解汁,C-红树莓发酵酒。

3 组样品中共有成分为 2-庚醇、乙酸、二氢-β-紫罗兰酮、alpha-紫罗酮、苧醇、甲氧基-苯基-𧀂等六种。其中 alpha-紫罗酮具紫罗兰型香气,而二氢-β-紫罗兰酮具有木香、花香、果香香气,是合成茶螺烷、茶螺烷酮及其类似物的重要中间体,也是一种常用的食品添加剂^[15]。

经果胶酶酶解前后树莓汁相同成分有己醛、环戊基乙炔、乙酸、2-庚醇、二氢-β-紫罗兰酮、alpha-紫罗酮、苧醇、甲氧基-苯基-𧀂等 8 种,醛酮类增加 4 种,酯类产生 3 种,微量香气成分增加,但主要香气成分变化不大;树莓发酵酒与原汁共有成分有二-TMS4-羟基扁桃酸乙酯、2-甲基-6-庚烯-1-醇、异丙肾上腺素三-TMS 衍生物、2-庚醇、乙酸、二氢-β-紫罗兰酮、alpha-紫罗酮、苧醇、甲氧基-苯基-𧀂等,其醇类与酯类物质明显增加,酮类物质减少;经果胶酶处理的红树莓酶解汁与发酵酒中共有成分有紫罗兰醇、beta-紫罗兰酮、2-庚醇、乙酸、二氢-β-紫罗兰酮、alpha-紫罗酮、苧醇、甲氧基-苯基-𧀂等,发酵酒中酯类和醇类物质明显增加。果胶酶酶解前后树莓汁的主要香气成分为酮类(分别是 40.65%、47.86%),而发酵酒中主要香气成分为酯类(68.65%)。

3 结论

通过对红树莓原汁、果胶酶酶解汁及红树莓发酵酒中挥发性成分变化的比较分析发现:红树莓原汁中共检测出 21 种挥发性物质,以甲氧基-苯基-𧀂(37.12%)、beta-紫罗酮(24.34%)、alpha-紫罗酮(14.74%)、异丙肾上腺素三-TMS 衍生物(5.58%)、2-庚醇(4.48%)为主要呈香物质,它们的相对含量共占 86.26%,提供了红树莓的果香、植物香。原汁经果胶酶酶解后共检测出 31 种挥发性成分,主要以 beta-紫罗兰酮(24.30%)、甲氧基-苯基-𧀂(22.83%)、alpha-紫罗酮(17.15%)、2-庚醇(9.71%)为主要呈香物质,微量香气成分种类有所增加,但相对含量很少,主要香气成分变化不大。表明本实验所用果胶酶对红树莓的香气成分影响很小。红树莓汁发酵后,产生大量新的香气成分。本研究共检出 41 种挥发性物质,其中 30 种(84.11%)是发酵过程中产生的,主要是醇类和酯类物质;在树莓发酵酒中,含量最高的香气成分是乙酸异戊酯(55.01%)、异戊醇(11.14%)、甲氧基-苯基-𧀂(8.03%)、辛酸乙酯(4.80%),其中乙酸异戊酯具有

多种果香,可调配香蕉、苹果、草莓等多种果香型香精。红树莓发酵酒中特有的苯乙醇,不仅有杀菌作用,而且香味独特,会产生玫瑰和茉莉花香,给人以柔和和愉悦的感觉。本文的实验结果为树莓发酵前后呈香物质变化提供了参考数据,对树莓酒的开发利用及质量评价有最重要的实际意义。

参考文献

[1] 张志敏.不同树莓品系果实特性评价及采后两种处理方法对果实特性的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.

[2] Aadit Shrestha, Manoj Karkee, Qin Zhang. Mechanism for bundling and tying of red raspberry primocanes [J]. IFAC Papersonline, 2016, 49(16): 166.

[3] 吕长鑫,李萌萌,梁洁玉,等.响应面分析法优化红树莓酸性乳饮料复合稳定剂[J].中国食品学报,2014,14(10):149-156.

[4] Giuliana D Noratto, Boon P Chew, Liezl M Atienza. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) intake decreases oxidative stress in obese diabetic (db/db) mice[J]. Food Chemistry, 2017, 227: 305.

[5] Judit R Homoki, Andrea Nemes, Erika Fazekas, et al. Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α-amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.) [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 229.

[6] Marta Kula, Magdalena Majdan, Daniel Głód, et al. Phenolic composition of fruits from different cultivars of red and black raspberries grown in Poland [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2016, 52: 74.

[7] 辛秀兰,张强,杨富民,等.红树莓果醋酿造过程中抗氧化性能的变化[J].食品科学,2016,37(3):6-11.

[8] 陈亮,李健,刘冉,等.果胶酶澄清红树莓果酒的研究[J].食品研究与开发,2013,35(7):59.

[9] 旷慧,迟超,王萍,等.醇法提取红树莓多酚的工艺优化[J].食品科学,2016,37(10):88.

[10] 张强,于雪莲,陈亮,等.红树莓果醋自然发酵和纯种发酵的香气成分分析[J].食品研究与开发,2017,38(21):116-123.

[11] 王家利,辛秀兰,陈亮,等.气相色谱-质谱法分析比较不同酵母发酵红树莓果酒的香气成分[J].食品科学,2014,1(6):107-112.

[12] 盖禹含,辛秀兰,杨国伟.不同酵母发酵的蓝莓酒香气成分 GC-MS 分析[J].食品科学,2010,31(4):172.

[13] 甘秀海,梁志远,王道平,等.3 种山茶属花香气成分的 HS-SPME-GC-MS 分析[J].食品科学,2013,34(6):204-207.

银白色葡萄球菌实时荧光 PCR 快速检测方法的建立

郭正洋¹, 刘钟栋¹, 王远洋¹, 陈晶², 陈国培², 兰全学², 刘小青^{2,*}

(1. 河南工业大学, 河南郑州 450001;

2. 深圳市计量质量检测研究院, 广东深圳 518131)

摘要: 本文旨在建立一种银白色葡萄球菌实时荧光 PCR 检测方法。根据对 NCBI 数据库中银白色葡萄球菌非核糖体多肽合成酶(NRPS)基因序列的比对分析, 设计引物及探针, 并基于所设计的引物及探针建立 Taq-man 实时荧光 PCR 的检测方法。结果表明, 本实验所建立的方法特异性较强, 只能扩增出银白色葡萄球菌, 而其他常见菌株的检测结果呈阴性; 该方法的灵敏度为 10 pg/uL; 在对实验室通过传统方法分离的金黄色葡萄球菌的检测中, 发现有两个分离菌株呈阳性, 其结果与普通 PCR 方法完全一致。

关键词: 银白色葡萄球菌, 非核糖体多肽合成酶, 实时荧光 PCR

Development of real-time PCR for the rapid detection of *Staphylococcus argenteus*

GUO Zheng-yang¹, LIU Zhong-dong¹, WANG Yuan-yang¹,

CHEN Jing², CHEN Guo-pei², LAN Quan-xue², LIU Xiao-qing^{2,*}

(1. Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. Shenzhen Academy of Metrology & Quality Inspection, Shenzhen 518131, China)

Abstract: In this study, a real time polymerase chain reaction assay for detection of newly emerged *staphylococcus argenteus* was established. Based on the result of multialignment analysis on the published *staphylococcus argenteus* NRPS sequences on NCBI database, a pair of primers specific and probe were designed, and then a RT-PCR for detection of *staphylococcus argenteus* was established by utilizing the designed primers and probe. The results showed that detection of common pathogenic bacterias, only *staphylococcus argenteus* was positive, indicating the established RT-PCR assay was highly specific. The detection limit of 10 pg/uL of the assay was determined. In the laboratory separation of *Staphylococcus aureus* detection, two positive isolates were found, the results was in complete accord with ordinary PCR method.

Key words: *Staphylococcus argenteus*; NRPS; real-time PCR

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)06-0222-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.06.040

引文格式: 郭正洋, 刘钟栋, 王远洋, 等. 银白色葡萄球菌实时荧光 PCR 快速检测方法的建立[J]. 食品工业科技, 2018, 39(6): 222-226

银白色葡萄球菌(*Staphylococcus argenteus*)作为一种新型葡萄球菌, 与金黄色葡萄球菌极其相似^[1]。早在 2002 年在澳大利亚就有相关报道^[2], 由于银白色葡萄球菌缺少合成类胡萝卜素的基因, 在培养基上菌落形态呈现银白色, 与部分金黄色葡萄球菌的形态一致^[3], 通过 API 生化鉴定系统和 vitic-2 的鉴

定方法, 也达不到区分金黄色葡萄球菌和银白色葡萄球菌的目的^[4]。目前有关银白色葡萄球菌感染的报道有限, 但针对银白色葡萄球菌的致病性先后在柬埔寨^[5]、尼日利亚^[6]、法国^[7]、斐济^[8]、泰国^[9]和多巴哥共和国^[10]等国都有相关描述, 在我们国家也有发现银白色葡萄球菌的存在^[11]。有研究者认为银白

收稿日期: 2017-08-03

作者简介: 郭正洋(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品检测, E-mail: zy_guo1991@163.com。

* 通讯作者: 刘小青(1983-), 女, 研究生, 工程师, 研究方向: 食品微生物检测, E-mail: liuxiaoqing554@163.com。

基金项目: 深圳市科技计划项目(JSGG20160606144217004); 国家重点研发计划资助项目(2016YFD0400800)。

[14] 曹慧, 李祖光, 沈德隆. 桂花品种香气成分的 GC/MS 指纹图谱研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(3): 391-398.

[15] 刘长辉, 龙立平. 超声辐射选择性还原 β -紫罗兰酮工艺[J]. 中南大学学报, 2011, 42(1): 33.