

## 益生菌脐橙全果汁工艺优化及香气成分分析

黄帆<sup>1,2,3,4</sup>, 林军<sup>1,2,3,4</sup>, 袁洪燕<sup>1,3,4</sup>, 周丽玲<sup>1,2,3,4</sup>, 罗佳倩<sup>1,2,3,4</sup>, 李高阳<sup>1,2,3,4,5\*</sup>

<sup>1</sup>湖南省农业科学院农产品加工研究所 长沙 410125

<sup>2</sup>湖南大学研究生院隆平分院 长沙 410125

<sup>3</sup>果蔬贮藏加工与质量安全湖南省重点实验室 长沙 410125

<sup>4</sup>湖南省果蔬加工与质量安全国际科技创新合作基地 长沙 410125

<sup>5</sup>湖南省洞庭实验室 长沙 410125)

**摘要** 为利用植物乳杆菌和干酪乳杆菌的复合益生菌株制备脐橙全果发酵饮品,采用 Box-Behnken 响应面对饮品的发酵温度、时间和接种量进行考察,通过指标(活菌数和感官评分)优化饮品发酵条件,并采用 HSPME-GC-MS 分析比较发酵前、后脐橙全果汁香气成分。结果表明,脐橙全果发酵饮品的最优工艺为发酵温度 34 ℃、时间 23 h 和接种量 3%,测得活菌数(8.91±0.11)lg(CFU/mL),感官评分 84.8 分,在此条件下,饮品发酵后的香气含量更丰富,相对含量增加的成分有醇类 8 种,脂类 2 种,酮类 5 种,烯类 6 种,醛类 2 种以及其它类 4 种,醇类和烯类相对含量增加的种类最多,主要赋予了发酵后果汁更多的花果香。因此,发酵有利于脐橙全果汁的风味改善,赋予全果汁典型风味。

**关键词** 益生菌; 脐橙全果汁; 工艺优化; 香气成分

**文章编号** 1009-7848(2023)01-0228-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.01.022

近年来,随着人们对食品营养与健康的关注,含有益生菌的果蔬汁逐渐赢得大众青睐。利用果蔬汁制作益生菌产品,不仅可以提供菌体生长繁殖需要的基本物质,还适用于乳糖不耐症或乳糖酶缺乏人群食用<sup>[1-2]</sup>。发酵果蔬汁饮品富含大量的有益代谢产物,促使有益活性因子被人体肠道充分吸收,增强人体内的益生菌效应,维持肠道微生物群的生态平衡<sup>[3-4]</sup>。此外,乳酸菌在果蔬汁中繁殖至 10<sup>6</sup> CFU/mL 以上,就能达到延长饮品货架期的作用<sup>[5]</sup>。

脐橙是我国的大众水果,富含大量对人体有益的成分,色泽诱人,酸甜适口,是最受欢迎的水果之一<sup>[6]</sup>。目前脐橙加工以制汁为主,产生大量的果渣副产物,占脐橙鲜果总质量 50%左右<sup>[7]</sup>。果渣中含有大量功能性成分,如果胶、膳食纤维、类黄酮、多酚等,对人体具有疏肝理气、止咳润肺和预防心血管疾病等作用<sup>[8-9]</sup>。开发脐橙全果产品不仅可以实现资源的全利用,而且可以保留果渣中的

功能活性成分,从而提高橙汁营养价值,实现“变废为宝”。

目前国内外学者对益生菌发酵脐橙汁的研究主要为压榨取汁后进行轻度发酵,而对脐橙全果制汁研究较少,果渣部分的营养素及活性组分未得到利用<sup>[10-11]</sup>。在开发功能性益生菌脐橙全果饮品时,其工艺条件不仅对益生菌的生长和生理功效起关键作用,还会影响产品的营养价值和典型风味。本研究以脐橙全果汁为原料,复合乳酸菌发酵,以活菌数和风味为指标优化,分析最佳工艺条件下的风味物质变化规律,以期开发一款具有益生活性的脐橙全果汁饮品。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

崑山脐橙,购于邵阳市新宁县,无损伤和腐烂。

菌种:植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*),实验室分离保存。

MRS 培养基,广东环凯生物科技有限公司。

#### 1.2 设备与仪器

九阳高速破壁調理机 JYL-Y99,九阳股份有

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2021NK2014);湖南省现代农业产业技术体系(湘农发[2019]105号)

第一作者: 黄帆,女,硕士生

通信作者: 李高阳 E-mail: lgy7102@163.com

限公司;立式高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;高压均质机 SRH,上海申鹿均质机有限公司;SPX-150 培养箱,中仪国科科技有限公司;50/30  $\mu\text{m}$  固相萃取仪,德国 CNW 公司;GC-MS 联用仪(7890A-5975C 型),美国 Agilent 公司。

### 1.3 方法

1.3.1 脐橙全果汁制备工艺流程<sup>[12]</sup> 脐橙→洗净→打浆→配比→过滤→高压均质→调配→巴氏杀菌→冷却→发酵→益生菌脐橙全果汁。

操作要点<sup>[13-14]</sup>:脐橙经自来水清洗、沥水后打浆,剥皮后打汁;经预试验得到脐橙全果汁的质量比为全果浆:果汁:水=2:8:5。用 120 目尼龙纱布

过滤得到脐橙全果汁,高压均质 25~30 MPa,6 min,用  $\text{NaHCO}_3$  调节  $\text{pH}=4.5$ ,加果葡糖浆 8%进行调配,于 80 °C 巴氏杀菌 10 min。

1.3.2 脐橙全果汁的发酵<sup>[15]</sup> 将实验室保存的植物乳杆菌和干酪乳杆菌分别置于 MRS 肉汤中,36 °C 培养 48 h,按照一定菌种比例,将活菌数约  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的菌液接种于 100 mL 脐橙全果汁中。

1.3.3 脐橙全果汁的活菌计数和感官评分 活菌数参照 GB 4789.35-2016《乳酸菌检验》计数。建立感官评定小组(10 人),从饮品的颜色、组织、风味和口感进行评分<sup>[16]</sup>。评分细则见表 1。

表 1 全果汁感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria of whole juice

因素	标准	评分
颜色(满分 20 分)	色彩鲜艳,呈亮黄色,光泽好	16~20
	微褐变,呈黄色,光泽度一般	10~15
	严重褐变,呈浅褐色,光泽差	0~9
组织(满分 20 分)	混合均匀,无分层	16~20
	混合较均匀,微有分层	10~15
	混合不均匀,上、下分层	0~9
风味(满分 20 分)	果香浓郁纯正,特有发酵香,无不良气味	16~20
	果香、发酵香较清淡	10~15
	无果香、发酵香,有不良风味	0~9
口感(满分 40 分)	细腻柔顺,酸甜可口,果味纯正	26~40
	略带酸味或清淡,无不良口感	16~25
	口感酸涩,粗糙,有异味	0~15

### 1.3.4 单因素优化实验

1.3.4.1 菌种比例的确定 根据工艺流程调配每份 100 mL 脐橙全果汁,对菌种比例进行单因素优化。将植物乳杆菌和干酪乳杆菌的比例设定为 0:1,1:2,1:1,2:1,1:0,接种量 3%,35 °C 下静置 24 h,对脐橙全果汁进行活菌计数和感官评分。

1.3.4.2 发酵温度的确定 根据工艺流程调配每份 100 mL 脐橙全果汁,对温度进行单因素优化。按照菌种比例 1:1,接种量 3%,将温度设定为 29,32,35,38,41 °C,静置发酵 24 h,对脐橙全果汁进行活菌计数和感官评分。

1.3.4.3 发酵时间的确定 根据工艺流程调配每份 100 mL 脐橙全果汁,对时间进行单因素优化。按照菌种比例 1:1,接种量 3%,温度 35 °C,将静置

时间设定为 6,12,24,36,48 h,对脐橙全果汁进行活菌计数和感官评分。

1.3.4.4 接种量的确定 根据工艺流程调配每份 100 mL 脐橙全果汁,对接种量进行单因素优化。按照菌种比例 1:1,将接种量设定为 1%,2%,3%,4%,5%,35 °C 下静置 24 h,对脐橙全果汁进行活菌计数和感官评分。

1.3.5 Box-Behnken 优化设计试验 基于单因素实验,通过响应面法获得最优发酵温度、时间和接种量,以活菌数( $Y_1$ )和感官评分( $Y_2$ )为模型响应值<sup>[17-18]</sup>。赋予权重各 50%<sup>[19-20]</sup>。试验设计见表 2。

1.3.6 GC-MS 取 10 mL 样品于进样瓶中,加入 20  $\mu\text{L}$  环己酮(0.1894 mg/mL)和 4 g 氯化钠,在 50 °C 水浴中平衡 15 min,顶空吸附 40 min,插入 GC

表2 响应面发酵工艺水平

水平	因素		
	A (温度/°C)	B (时间/h)	C (接种量/%)
-1	32	18	2
0	35	24	3
1	38	30	4

解吸 5 min<sup>[21-22]</sup>。

色谱条件<sup>[23-24]</sup>: 色谱柱 DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 进样口温度 250 °C, 升温程序为初始温度 40 °C, 以 4 °C/min 升至 200 °C (2 min), 最终以 10 °C/min 升至 250 °C (10 min); He 流速 1.0 mL/min; 不分流进样。

质谱条件: EI 电离源, 离子源温度 230 °C; 电子能量 70 eV, 接口温度 250 °C, 扫描范围 35~500 amu。

1.3.7 香气成分分析<sup>[25]</sup> 定性分析: 将数据与 NIST 2011 质谱库比对分析。

定量分析: 采用内标法, 按照如下公式计算:

各挥发性香气成分的含量=

$$\frac{\text{各组分的峰面积} \times \text{内标物浓度}}{\text{内标物峰面积}} \quad (1)$$

## 1.4 数据处理方法

试验重复 3 次, 用 SPASS 22.0 软件进行方差

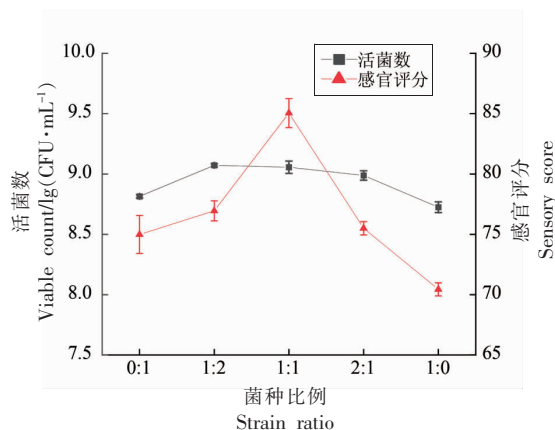


图1 菌种比例与活菌数和感官评分的关系

Fig.1 Relationship between bacteria proportion and viable count and sensory score

显著性分析, OriginPro 2021b 软件作图, Design-Expert 8.0.6 软件分析 Box-Behnken。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

2.1.1 菌种比例的影响 如图 1 所示, 混合菌株能更好地适应脐橙全果汁, 比单一菌株发酵活菌数高, 且混合菌株发酵饮品的喜爱度高。饮品中以 1:2 添加植物乳杆菌和干酪乳杆菌时, 发酵后的活菌数增至最高值, 然而, 过多的乳酸菌会加快产品的发酵进程, 导致脐橙全果汁 pH 值急速下降, 酸甜比例失衡; 当配比为 1:1 时, 酸甜适中, 风味浓郁, 此条件下的饮品获得最高评分 (85.05 分)。全果汁中添加的菌种比例最优为 1:1。

2.1.2 发酵温度的影响 温度升高, 乳酸菌活力充分发挥作用, 达到最大活菌数而后下降, 然而, 过高的温度会导致脐橙全果汁发酵味浓郁, 遮盖了本身的果香味。图 2 所示, 当温度为 35 °C 时, 果汁发酵适中, 具有脐橙自身的风味和典型的发酵味, 两种风味相互融合, 饮品达到最优值为 88.24 分; 温度升至 38 °C 时, 乳酸菌繁殖速率最大, 活菌数为  $1.15 \times 10^9$  CFU/mL, 而温度在 38~41 °C 时饮品中活菌逐渐下降。全果汁发酵的最优温度为 35 °C。

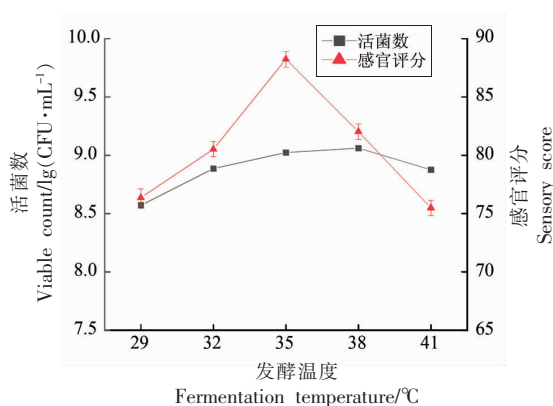


图2 发酵温度与活菌数和感官评分的关系

Fig.2 Relationship between fermentation temperature and viable count and sensory score

2.1.3 发酵时间的影响 随着发酵时间的延长, 逐步抵达发酵终点, 活菌数明显增大, 随后趋于平

缓; 然而, 脐橙全果汁的发酵时间过长, 导致果汁颜色褐变, 酸甜比例失衡, 口感粗糙, 饮品风味差。

图 3 所示,当全果汁发酵 24 h 时,乳酸菌增长至  $7.9 \times 10^8$  CFU/mL,之后逐渐进入稳定期,饮品的感官特性为最优值 88.35 分;到发酵后期,果汁中的糖大量消耗,发酵过度,饮品的感官和风味急剧下降。全果汁发酵的最优时间为 24 h。

2.1.4 接种量的影响 接种量过大,使饮品中的乳酸菌超过可容纳最适值,加速乳酸菌死亡,导致

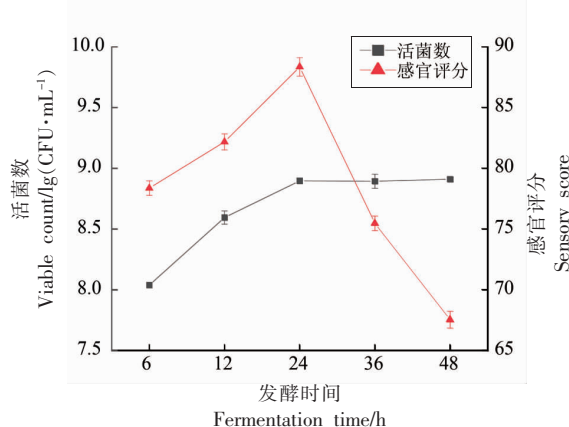


图 3 发酵时间与活菌数和感官评分的关系

Fig.3 Relationship between fermentation time and viable count and sensory score

感官特性下降。图 4 所示,1%~3%接种量增加导致活菌数增加,果汁发酵未完全,使果香和发酵味较为寡淡;接种量 3%~5%时,果汁中活菌数增加量趋于平缓,此时脐橙全果汁口感过酸,发酵风味过重,导致感官接受度差。全果汁的最优接种量为 3%。

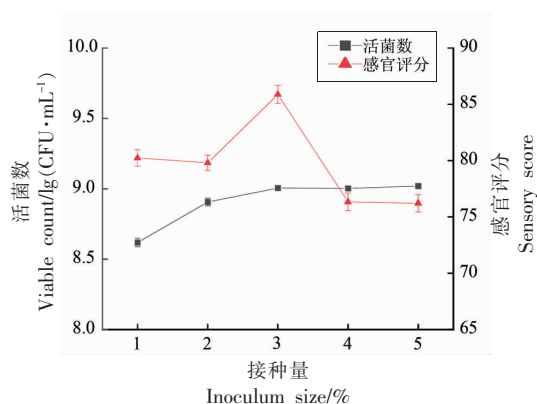


图 4 接种量与活菌数和感官评分的关系

Fig.4 Relationship between inoculation amount and viable count and sensory score

## 2.2 Box-Behnken 响应面优化

2.2.1 Box-Behnken 结果分析 应用 Box-Behnken 设计 17 组试验 (表 3), 分析不同温度 (A)、时间 (B)、接种量 (C) 条件下的活菌数 ( $Y_1$ ) 和感官评分 ( $Y_2$ ), 根据模型可得响应面的回归方程为:

$$Y_1 = 9.01 - 0.068A + 0.11B + 0.019C + 0.12AB - 0.043AC + 0.005BC - 0.071A^2 - 0.043B^2 - 0.089C^2$$

$$Y_2 = 85.03 - 4.52A - 3.48B + 1.11C + 1.35AB + 1.79AC + 2.84BC - 8.52A^2 - 6.62B^2 - 3.69C^2$$

根据表 4 和表 5 可知,活菌数和感官评分模型均有差异极显著 ( $P < 0.0001$ ),失拟项分别为

$0.2827 > 0.05$  和  $0.2887 > 0.05$  均差异不显著,且两个模型的  $R_1^2 = 98.70\%$ ,  $R_2^2 = 98.84\%$ ,说明模型用于此饮品发酵工艺参数的优化可信度高,拟合较好。由饮品中活菌数的方差分析可知,模型的 A、B、AB、AC 及  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  均存在极显著差异 ( $P < 0.01$ ),一次项 C 差异显著,而交互项 BC 不显著。对饮品中感官评分进行方差分析,模型 A、B、BC 及  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  均存在极显著差异 ( $P < 0.01$ ),一次项 C、交互项 AC 差异显著,而交互项 AB 不显著。对模型中的 F 值进行判断,对饮品中活菌数的影响排序为 B(时间) > A(温度) > C(接种量),对感官特征影响排序为 A(温度) > B(时间) > C(接种量)。

表 3 Box-Behnken 设计及结果

Table 3 Box-behnken design and results

编号	A (温度)	B (时间)	C (接种量)	活菌数/ lg(CFU· mL <sup>-1</sup> )	感官 评分	编号	A (温度)	B (时间)	C (接种量)	活菌数/ lg(CFU· mL <sup>-1</sup> )	感官 评分
1	-1	0	1	8.98	76.02	10	-1	1	0	8.93	69.00
2	1	-1	0	8.62	68.09	11	0	1	1	9.03	76.44
3	1	0	-1	8.81	66.06	12	1	1	0	9.05	62.70

(续表 3)

编号	A (温度)	B (时间)	C (接种量)	活菌数/ lg(CFU· mL <sup>-1</sup> )	感官 评分	编号	A (温度)	B (时间)	C (接种量)	活菌数/ lg(CFU· mL <sup>-1</sup> )	感官 评分
4	0	0	0	9.00	83.28	13	0	0	0	9.04	85.36
5	0	-1	-1	8.74	78.70	14	-1	-1	0	8.99	79.80
6	0	-1	1	8.78	76.58	15	0	0	0	9.02	85.72
7	1	0	1	8.75	70.50	16	0	0	0	9.01	84.80
8	0	0	0	8.99	86.00	17	-1	0	-1	8.87	78.73
9	0	1	-1	8.97	67.20						

表 4 活菌数方差分析

Table 4 Analysis of variance of viable count

名称	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.27	9	0.03	58.96	<0.0001**
A(温度)	0.04	1	0.04	72.80	<0.0001**
B(时间)	0.09	1	0.09	180.37	<0.0001**
C(接种量)	2.81×10 <sup>-3</sup>	1	2.81×10 <sup>-3</sup>	5.62	0.0496*
AB	0.06	1	0.06	119.88	<0.0001**
AC	7.23×10 <sup>-3</sup>	1	7.23×10 <sup>-3</sup>	14.43	0.0067**
BC	1.00×10 <sup>-4</sup>	1	1.00×10 <sup>-4</sup>	0.20	0.6685
A <sup>2</sup>	0.02	1	0.02	42.39	0.0003**
B <sup>2</sup>	7.97×10 <sup>-3</sup>	1	7.97×10 <sup>-3</sup>	15.91	0.0053**
C <sup>2</sup>	0.03	1	0.03	65.86	<0.0001**
残差	3.51×10 <sup>-3</sup>	7	5.01×10 <sup>-4</sup>		
失拟项	2.03×10 <sup>-3</sup>	3	6.75×10 <sup>-4</sup>	1.82	0.2827
误差项	1.48×10 <sup>-3</sup>	4	3.70×10 <sup>-4</sup>		
总和	0.27	16			

注:\*\*. 差异极显著(P&lt;0.01);\*. 差异显著(P&lt;0.05)。表 5 同。

表 5 感官评分方差分析

Table 5 Sensory score analysis of variance

名称	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	925.80	9	102.87	66.28	<0.0001**
A(温度)	163.80	1	163.80	105.54	<0.0001**
B(时间)	96.81	1	96.81	62.38	<0.0001**
C(接种量)	9.79	1	9.79	6.31	0.0403*
AB	7.32	1	7.32	4.71	0.0665
AC	12.78	1	12.78	8.23	0.0240*
BC	32.26	1	32.26	20.79	0.0026**
A <sup>2</sup>	305.54	1	305.54	196.85	<0.0001**
B <sup>2</sup>	184.30	1	184.30	118.74	<0.0001**
C <sup>2</sup>	57.21	1	57.21	36.86	0.0005**
残差	10.86	7	1.55		
失拟项	6.22	3	2.07	1.79	0.2887
误差项	4.64	4	1.16		
总和	936.67	16			



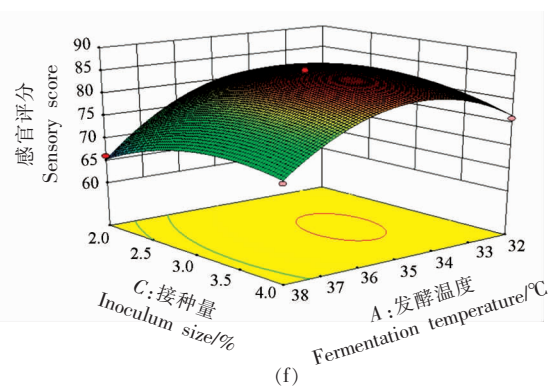
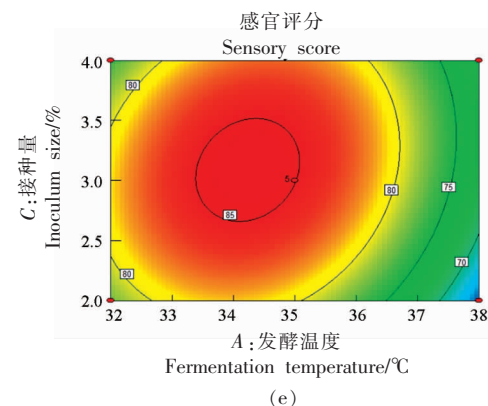
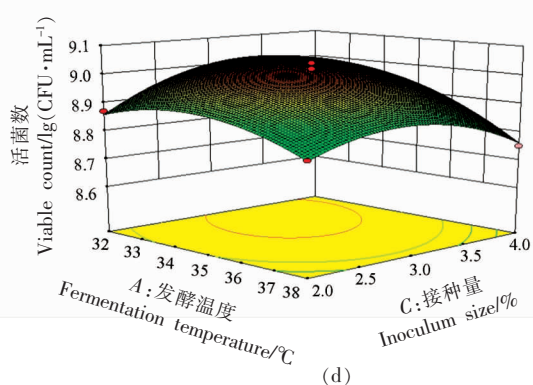
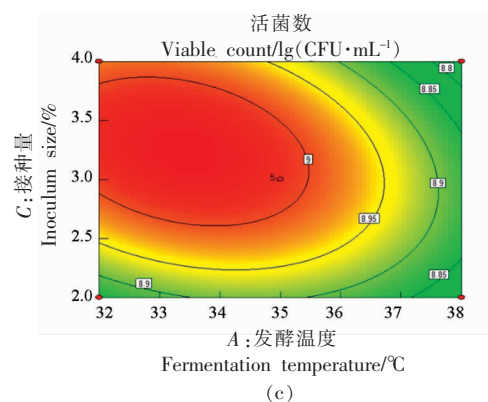
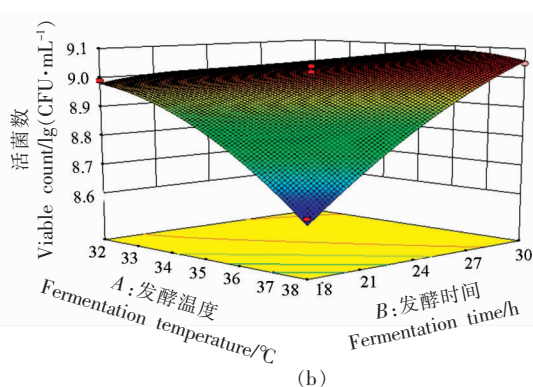
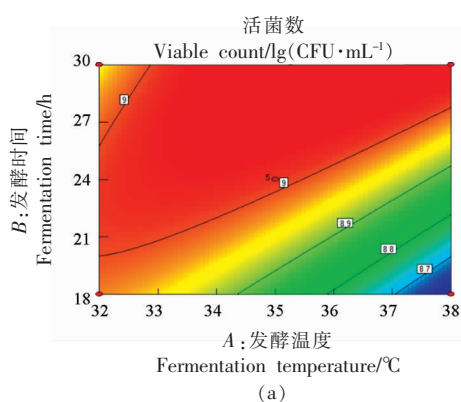
2.2.2 因素间交互作用分析 图 5 显示不同因素间强、弱的等高线图和三维曲面图,响应面的陡峭程度决定该因素的影响程度。图 5a、5c、5e、5g 等高线横向跨度较大,且非圆形,表明因素间具有交互影响。图 5b、5h 相对 5d、5f 较为陡峭,分析图形可知接种量对响应值均存在较小影响;且随着各因素的增加,响应值增加到极值,然后随着各因素的增加而降低。这与上述 Box-Behnken 模型分析具有一致性。

2.2.3 模型验证试验结果 在响应面试验设计的基础上,分析模型预测的最优发酵条件:温度

34.06 °C、时间 22.73 h、接种量 3.03%,预测的响应值为活菌数 9.01 lg(CFU/mL),感官评分 86.14 分。为了更好地控制生产条件,取整后得到:温度 34 °C、时间 23 h、接种量 3%。验证模型预测结果,测得饮品中实际活菌数为  $(8.91 \pm 0.11) \lg(\text{CFU/mL})$ ,感官评分为 84.8 分。模型的验证试验重复性好,表明优化后的工艺参数对益生菌脐橙全果汁生产具有参考意义。

### 2.3 最佳发酵条件下脐橙全果汁的风味测定

益生菌脐橙全果汁中的挥发性成分变化主要是乳酸菌利用原料进行代谢,使原有香味物质增



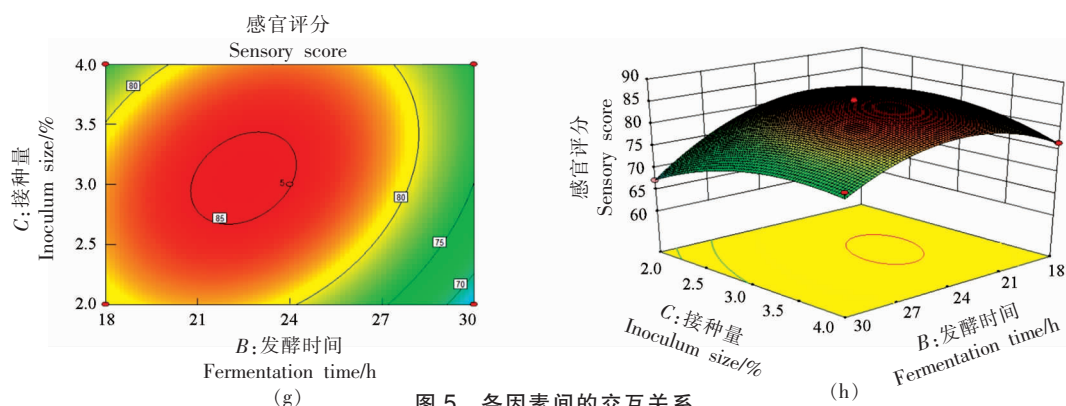


图5 各因素间的交互关系

Fig.5 The interaction between the factors

加或减少,并产生新的香味物质,如苯乙醇、香叶醇、3-羟基己酸乙酯等。采用GC-MS技术,对发酵前、后的饮品进行风味分析,共鉴定出48种香气物质。由表6可知,脐橙全果汁发酵后,醇类化合物的相对含量大量增加,部分物质是未发酵组的2倍及以上,特别是 $\alpha$ -松油醇相对含量提高至1.590%。经益生菌作用后,酯类化合物种类减少,而总相对含量上升至2.050%,主要为3-羟基己酸乙酯;同时检测到新的醛类、酚类化合物,3,4-二甲基苯甲醛(0.232%)、5-羟甲基糠醛(0.240%)、4-乙基苯酚(0.071%)等均只在发酵果汁中出现。烯炔能被氧化为醇、醛酮等物质,与未发酵果汁相比,发酵果汁中酮类挥发性物质总相对含量增加了0.629%,而烯类化合物的总相对含量大幅降低了15.811%。巴西伦亚橘烯相对含量降至15.980%,而(*d*)-柠檬烯相对含量大幅增至23.346%,且出现新的 $\alpha$ -愈创木烯(0.455%)、 $\alpha$ -律草烯(0.079%)。原汁相对含量最高的双戊烯,呈现松节油香,在发酵汁中并未被检测到。

OAV值不仅与嗅觉阈值有关,还受物质质量浓度的影响。由表7可知,醇类物质发酵后OAV

值普遍增加,而呈现铃兰香、木香的芳樟醇含量下降,这是由于在发酵过程中,芳樟醇主要降解为 $\alpha$ -松油醇,并有部分降解为香叶醇、橙花醇,使发酵后的饮品花香更浓郁;酯类物质阈值较低,发酵后3-羟基己酸乙酯含量上升,对脐橙全果汁风味影响较为明显,呈现水果香、菠萝香。其次,脐橙全果汁中的醛类物质不稳定,在发酵过程中将其还原为醇或氧化为酸,导致发酵后脐橙全果汁醛类物质种类减少。左旋香芹酮是(*d*)-柠檬烯氧化产生的异位酮,而脐橙全果汁发酵后的(*d*)-柠檬烯含量大于未发酵的,因此赋予发酵果汁更多留兰香风味。脐橙中含有大量的烯类化合物,如(*d*)-柠檬烯、月桂烯、(+)- $\alpha$ -蒎烯等。(*d*)-柠檬烯广泛存在于脐橙果渣中,且发酵后全果汁的(*d*)-柠檬烯相对含量激增,呈现鲜橙子香、柠檬香。发酵后月桂烯稍有减少,但仍是发酵果汁中的主要风味特征,赋予果汁草香及橙花油的风味,而(+)- $\alpha$ -蒎烯对发酵后橙汁的香气有积极贡献,呈现一定的松木、树脂的风味。这些来自脐橙汁本身的挥发性成分经乳酸菌的代谢,使呈香物质发生改变,赋予益生菌脐橙全果汁典型的风味。

表6 发酵前、后脐橙全果汁香气物质

Table 6 Aroma of navel orange before and after fermentation

物质名称	脐橙全果汁		益生菌脐橙全果汁	
	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	相对含量/%	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	相对含量/%
醇类				
正辛醇	4.143 ± 0.188	0.351	4.177 ± 0.242	0.361
芳樟醇	6.009 ± 0.089	0.514	5.295 ± 0.011	0.458
(-)-4-萜品醇	3.055 ± 0.055	0.261	5.514 ± 0.257	0.477
$\alpha$ -松油醇	2.847 ± 0.081	0.243	18.380 ± 0.687	1.590
顺-香芹醇	1.722 ± 0.665	0.157	2.991 ± 0.283	0.259

(续表6)

物质名称	脐橙全果汁		益生菌脐橙全果汁	
	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	相对含量/%	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	相对含量/%
橙花醇	1.144 ± 0.092	0.099	5.491 ± 0.672	0.468
香茅醇	2.526 ± 0.030	0.217	3.421 ± 0.390	0.296
香叶醇	1.835 ± 0.060	0.158	4.775 ± 0.114	0.413
反式-对薄荷-2,8-二烯醇	0.274 ± 0.015	0.023	-	-
正壬醇	0.450 ± 0.040	0.039	-	-
苯乙醇	-	-	4.765 ± 0.582	0.412
酯类				
3-羟基己酸乙酯	8.928 ± 0.181	0.762	23.127 ± 1.682	2.001
乙酸香茅酯	0.342 ± 0.028	0.030	-	-
橙花醇乙酸酯	0.319 ± 0.055	0.028	0.315 ± 0.001	0.027
3-脱氧-d-甘露酸内酯	-	-	0.255 ± 0.138	0.022
酮类				
2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	0.173 ± 0.013	0.015	4.167 ± 0.878	0.361
左旋香芹酮	0.832 ± 0.077	0.070	3.711 ± 0.156	0.321
2-(1-羟基环己基)环己-1-酮	0.501 ± 0.046	0.044	0.556 ± 0.082	0.047
(+)-香柏酮	1.641 ± 0.117	0.139	1.883 ± 0.238	0.163
(4-二甲氨基甲基-5-羟基苯并呋喃-3-基)(4-甲氧基苯基)甲酮	-	-	0.053 ± 0.002	0.005
烯类				
(+)-α-蒎烯	2.292 ± 0.327	0.192	1.282 ± 0.222	0.111
月桂烯	16.582 ± 0.595	1.412	13.877 ± 0.059	1.200
(d)-柠檬烯	50.569 ± 1.307	4.351	269.96 ± 13.535	23.346
双戊烯	342.85 ± 16.897	29.612	-	-
γ-松油烯	0.560 ± 0.009	0.048	-	-
萜品油烯	1.396 ± 0.153	0.122	-	-
(-)-Alpha-萜荜澄茄油烯	0.717 ± 0.003	0.061	-	-
β-榄香烯	5.121 ± 0.141	0.437	4.282 ± 0.078	0.370
β-石竹烯	2.930 ± 0.072	0.252	2.276 ± 0.098	0.197
巴伦西亚橘烯	255.73 ± 44.399	22.544	184.738 ± 2.253	15.980
α-蒎烯	14.883 ± 0.898	1.262	14.174 ± 0.741	1.220
石竹烯-(II)	-	-	5.425 ± 0.209	0.469
α-芹子烯	-	-	14.956 ± 0.821	1.301
2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环[4.4.0]-1-癸烯	-	-	0.159 ± 0.007	0.014
α-人参烯	15.827 ± 0.972	1.342	14.729 ± 0.302	1.274
α-愈创木烯	-	-	5.209 ± 0.217	0.455
α-律草烯	-	-	0.914 ± 0.085	0.079
石竹素	0.764 ± 0.022	0.066	-	-
3.7(11)-蒎二烯	7.995 ± 0.468	0.678	6.366 ± 1.344	0.550
醛类				
叶醛	3.476 ± 0.220	0.295	-	-
正癸醛	0.915 ± 0.030	0.079	-	-
柠檬醛	0.296 ± 0.077	0.027	-	-
3,4-二甲基苯甲醛	-	-	2.382 ± 1.946	0.232
5-羟甲基糠醛	-	-	2.773 ± 0.462	0.240



(续表 6)

物质名称	脐橙全果汁		益生菌脐橙全果汁	
	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	相对含量/%	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	相对含量/%
其它类				
2-甲氧基-4-乙烯苯酚	-	-	0.611 ± 0.008	0.053
4-乙基苯酚	-	-	0.824 ± 0.010	0.071
2-甲氧基-3-烯丙基苯酚	-	-	3.428 ± 0.148	0.299
邻乙苯酚	-	-	1.486 ± 0.051	0.12745

表 7 益生菌脐橙全果汁风味物质 OAV 分析

Table 7 OAV analysis of probiotic navel orange whole juice flavor compounds

物质名称	嗅觉阈值/ mg·L <sup>-1</sup>	脐橙全果汁		益生菌脐橙全果汁		香气描述
		OAV	ROC/%	OAV	ROC/%	
醇类						
正辛醇	0.45	9.206	0.118	9.282	0.069	橘香、花香
芳樟醇	0.006	1 001.549	12.828	882.557	6.548	铃兰香、木香
(-)-4-萜品醇	3	1.018	0.013	1.838	0.014	百合花香、清香
α-松油醇	1.2	2.372	0.030	15.316	0.114	松木香、丁香
顺-香芹醇	0.250	6.890	0.088	11.963	0.089	留兰香
橙花醇	1.1	1.040	0.013	4.992	0.037	橙花香、草莓香
香茅醇	0.011	238.299	3.052	322.705	2.394	香叶香、玫瑰香
香叶醇	0.03	61.169	0.783	159.161	1.181	玫瑰香
苯乙醇	7.23	-	-	0.659	0.005	玫瑰香、花香
酯类						
3-羟基己酸乙酯	0.045	198.405	2.541	513.940	3.813	水果香、菠萝香、葡萄柚香
酮类						
左旋香芹酮	0.027	30.828	0.395	137.458	1.020	留兰香
(+)-香柏酮	0.280	5.861	0.075	6.726	0.050	橘香
烯类						
(+)-α-蒎烯	0.002	1 041.807	13.344	582.950	4.325	松木、针叶香、树脂香
月桂烯	0.0049	3 384.055	43.345	2 832.121	21.012	花香、草香并伴有橙花油气息
(d)-柠檬烯	0.034	1 487.338	19.051	7 940.044	58.909	鲜橙子香、柠檬香
γ-松油烯	1	0.560	0.007	-	-	柠檬香、甜花香
β-石竹烯	12	0.244	0.003	0.190	0.001	丁香
α-律草烯	0.16	-	-	5.714	0.042	啤酒花香气
醛类						
叶醛	0.11	31.602	0.405	-	-	绿叶清香、水果香
正癸醛	0.003	305.066	3.907	-	-	甜橙香、橘香、略带油脂气息
酚类						
2-甲氧基-4-乙烯苯酚	0.01202	-	-	50.815	0.377	苹果香、辛香味

注:ROC 为各香气活性物质的香气贡献度。

### 3 结论

利用复合乳酸菌,建立崑山脐橙全果汁饮品的最优发酵工艺。根据 Box-behnken 试验结果,获

得最优工艺条件为温度 34 ℃,时间 23 h,接种量 3%,此时饮品中活菌数(8.91±0.11)lg(CFU/mL),感官评分 84.8 分,生产的益生菌脐橙全果汁风味

优良,浓郁饱满,回味悠长。

益生菌脐橙全果汁的挥发性风味成分主要来自本身的香气成分以及利用乳酸菌代谢,各类香气成分相互协调,形成饮品的最佳风味。采用HSPME-GC-MS检测发酵前、后的风味物质,共检出48种风味成分。发酵果汁中(*d*)-柠檬烯为主香气成分,占23.346%,呈现鲜橙子香、柠檬香;其次,乳酸菌利用基质中的各类成分,在发酵时不断发生酯化反应、醇化反应等,使发酵后香气种类成分更复杂,含量更丰富,如苯乙醇、香叶醇、3-羟基己酸乙酯等。结合感官评价可知,发酵后的脐橙全果汁口感更柔顺,花果香更浓郁,并伴随有发酵产品的典型风味。

### 参 考 文 献

- [1] KUMAR B V, VIJAYENDRA S V N, REDDY O V S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products—a review[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(10): 6112–6124.
- [2] FIJAN S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2014, 11(5): 4745–4767.
- [3] DE GODOY ALVES FILHO E, RODRIGUES T H S, FERNANDES F A N, et al. Chemometric evaluation of the volatile profile of probiotic melon and probiotic cashew juice[J]. *Food Research International*, 2017, 99(pt.1): 461–468.
- [4] KOK C R, HUTKINS R. Yogurt and other fermented foods as sources of health-promoting bacteria[J]. *Nutrition Reviews*, 2018, 76(Supplement\_1): 4–15.
- [5] ALVES N N, MESSAOUD G B, DESOBRY S, et al. Effect of drying technique and feed flow rate on bacterial survival and physicochemical properties of a non-dairy fermented probiotic juice powder[J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 189 (22): 45–54.
- [6] 杨颖, 单杨, 丁胜华, 等. 高能球磨处理对赣南脐橙全果原浆粒径和流变特性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 109–115.  
YANG Y, SHAN Y, DING S H, et al. Effects of high energy ball milling on particle size and rheological properties of whole fruit pulp of gannan navel orange[J]. *Food Science*, 2019, 40(11): 109–115.
- [7] 单杨. 柑橘全果制汁及果粒饮料的产业化开发[J]. *中国食品学报*, 2012, 12(10): 1–9.  
SHAN Y. Development of citrus fruit juice and fruit beverage[J]. *Chinese Journal of Food Science and Technology*, 2012, 12(10): 1–9.
- [8] 杨立启, 季坚, 黄海婵, 等. 植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* 15 对不同品种柑橘全果汁的发酵及其挥发性物质分析[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(8): 203–209.  
YANG L Q, JI J, HUANG H C, et al. Analysis of *Lactobacillus plantarum* 15 on fermentation of citrus whole juice and its volatile substances[J]. *Food and fermentation Industries*, 2019, 45(8): 203–209.
- [9] CHHIKARA N, KOUR R, JAGLAN S, et al. Citrus medica: Nutritional, phytochemical composition and health benefits—a review[J]. *Food & function*, 2018, 9(4): 1978–1992.
- [10] 沈兆敏. 橙汁加工业的差距、发展难点和对策[J]. *果农之友*, 2014(4): 3–4, 15.  
SHEN Z M. The gap, difficulties and countermeasures of orange juice processing industry[J]. *Friends of Fruit Farmers*, 2014(4): 3–4, 15.
- [11] 卢嘉懿, 李汴生, 李印, 等. 植物乳杆菌发酵不同果蔬汁的品质分析[J]. *食品工业*, 2018, 39(12): 142–147.  
LU J Y, LI B S, LI Y, et al. Quality analysis of different fruit and vegetable juice fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. *Food Industry*, 2018, 39 (12): 142–147.
- [12] 蒋继丰, 方伟, 张海龙, 等. 椴柑果酒酿造工艺参数的优化[J]. *中国酿造*, 2017, 36(1): 186–190.  
JIANG J F, FANG W, ZHANG H L, et al. Optimization of brewing process parameters of ponkan fruit wine[J]. *China brewing*, 2017, 36(1): 186–190.
- [13] 夏其乐, 曹艳, 李英迪, 等. 温州蜜柑复合柑橘汁开发及品质研究[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(6): 182–194.
- [14] 赖婷, 张名位, 刘磊, 等. 龙眼果浆复合乳酸菌发酵工艺优化[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(S2):

- 390-397.
- LAI T, ZHANG M W, LIU L, et al. Optimization of fermentation process of longan fruit pulp by compound lactic acid bacteria[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(S2): 390-397.
- [15] MANINI F, CASIRAGHI M C, POUTANEN K, et al. Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66(3): 275-283.
- [16] LI X, LIU G, LI J, et al. Optimization of fermentation process of carrot juice by probiotics and analysis of aroma components[J]. Asian Agricultural Research, 2019, 11(1): 83-88.
- [17] 付春艳, 吴殿辉, 谢广发, 等. 新型清爽型干黄酒的酿造工艺[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(11): 165-170.
- FU C Y, WU D H, XIE G F, et al. Brewing technology of new type of fresh dry rice wine[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(11): 165-170.
- [18] 于素素, 杨佳杰, 马向阳, 等. 含发酵乳杆菌 HY01 牦牛酸奶工艺优化及主体风味成分动态解析[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 105-113.
- YU S S, YANG J J, MA X Y, et al. Technology optimization and dynamic analysis of main flavor components of Yak yogurt containing *Lactobacillus fermentation* HY01[J]. Food Science, 2021, 42(2): 105-113.
- [19] 曹桢, 陈善敏, 黄小雨, 等. 紫薯醋发酵工艺优化及品质分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 195-201.
- CAO Z, CHEN S M, HUANG X Y, et al. Optimization of fermentation process and quality analysis of purple sweet potato vinegar[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 195-201.
- [20] 罗心欣, 成雨阳, 王周利, 等. 益生菌发酵猕猴桃汁工艺优化及香气成分动态解析[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 168-175.
- LUO X X, CHENG Y Y, WANG Z L, et al. Optimization of fermentation process and dynamic analysis of aroma components of Kiwi juice by probiotics[J]. Journal of Food Science, 2019, 40(12): 168-175.
- [21] 何嘉敏, 于兰, 于新, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法分析益生菌发酵复合果蔬汁挥发性成分[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(16): 275-280.
- HE J M, YU L, YU X, et al. Analysis of volatile components of fruit and vegetable juice by headspace solid phase microextraction combined with GMS[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(16): 275-280.
- [22] CHEN C, LU Y, YU H, et al. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice[J]. Food Bioscience, 2019, 27(1): 30-36.
- [23] 束文秀, 吴祖芳, 刘连亮, 等. 胡柚汁益生菌发酵挥发性风味特征[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 59-65.
- SHU W X, WU Z F, LIU L L, et al. Volatile flavor characteristics of grapefruit juice fermented by probiotics[J]. Food Science, 2018, 39(4): 59-65.
- [24] 杨召侠, 刘洒洒, 高宁, 等. 臭鳊鱼发酵工艺优化及挥发性风味物质分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(5): 253-262.
- YANG Z X, LIU S S, GAO N, et al. Optimization of fermentation process and analysis of volatile flavor compounds of mandarin fish[J]. Chinese Journal of Food Science and Technology, 2019, 19(5): 253-262.
- [25] 韩之皓, 郭帅, 黄天, 等. 复合益生菌发酵不同基料乳酸菌饮料中挥发性代谢物差异分析[J]. 中国食品学报, 2021, 21(3): 300-314.
- HAN Z H, GUO S, HUANG T, et al. Analysis of volatile metabolites in lactic acid bacteria drinks fermented by compound probiotics[J]. Chinese Journal of Food Science, 2021, 21(3): 300-314.

### Process Optimization and Aroma Component Analysis of Probiotic Navel Orange Whole Juice

Huang Fan<sup>1,2,3,4</sup>, Lin Jun<sup>1,2,3,4</sup>, Yuan Hongyan<sup>1,3,4</sup>, Zhou Liling<sup>1,2,3,4</sup>, Luo Jiaqian<sup>1,2,3,4</sup>, Li Gaoyang<sup>1,2,3,4,5\*</sup>  
<sup>1</sup>Hunan Agricultural Products Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125  
<sup>2</sup>Longping Branch Graduate School, Hunan University, Changsha 410125  
<sup>3</sup>Hunan Province Key Lab of Fruits & Vegetables Storage, Processing, Quality and Safety, Changsha 410125

<sup>4</sup>Hunan Province International Joint Lab on Fruits & Vegetables Processing, Quality and Safety, Changsha 410125

<sup>5</sup>Dongting Laboratory in Hunan Province, Changsha 410125)

**Abstract** In order to prepare navel orange whole fruit fermented beverage using the complex probiotic strains of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*, the Box-Behnken response was used to investigate the fermentation temperature, time and inoculation amount of the beverage, and the fermentation conditions of the beverage were optimized by indexes (viable bacteria count and sensory score). The aroma components of navel orange juice before and after fermentation were analyzed by HSPME-GC-MS. The results showed that the optimal fermentation process of navel orange whole fruit fermented drink was fermentation temperature 34 °C, time 23 h, inoculation amount 3%, viable bacteria count (8.91±0.11) lg(CFU/mL), sensory score 84.8 points. Under these conditions, the aroma content of the drink after fermentation was richer. There were 8 kinds of alcohols, 2 kinds of lipids, 5 kinds of ketones, 6 kinds of alkenes, 2 kinds of aldehydes and 4 kinds of other kinds of components with the increase of relative content. The increase of relative content of alcohols and aldehydes was the most, which mainly gave the fermented juice more fruity flavor. Therefore, fermentation is beneficial to improve the flavor of navel orange juice and give it typical flavor.

**Keywords** probiotics; navel orange whole juice; process optimization; the aroma components