

橘汁发酵过程中柑橘香气及其贡献化合物的分析

陈小华¹, 黄微², 党亚锋², 朱瑜², 耿敬章¹, 金文刚¹

(¹ 陕西理工大学生物科学与工程学院 陕西省资源生物重点实验室 陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心
秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室(培育) 陕西汉中 723001

² 汉中市食品药品监督检验检测中心 陕西汉中 723000)

摘要 柑橘香气是柑橘果酒重要香气属性之一。为研究柑橘果酒加工过程中柑橘香气形成及影响机制,采用固相萃取法和正向硅胶色谱法结合气相色谱嗅闻仪、气相色谱质谱仪和感官评价对柑橘香气及其贡献化合物和异味物质在橘汁发酵中的变化趋势进行分析。结果表明,从橘汁中共鉴定出 29 种关键香气物质,主要为果香气、柑橘香气、花香气、清香气和乳脂香气化合物,其中月桂烯、庚醛、柠檬烯、 γ -松油烯、癸醇、辛醛、辛醇、香茅醇和橙花醇被鉴定为柑橘香气重要贡献化合物。在橘汁发酵前 4 d,柑橘香气强度呈显著增加的趋势,随后显著减弱。Pearson 相关性分析显示,柑橘香气强度的变化与柠檬烯、 γ -松油烯、辛醇和橙花醇含量增减密切相关($P<0.05$)。伴随着柑橘香气化合物含量降低,异丁酸、丁酸、2-甲基丁酸、戊酸、己酸、庚酸和辛酸等酸败刺激性气味物质含量显著增加,这些异味物质对柑橘香气的形成具有显著的遮盖作用。研究结果可为今后柑橘果酒工艺改进及香气品质提升提供一定的理论依据。

关键词 柑橘汁; 发酵; 关键香气物质; 异味物质; 变化趋势

文章编号 1009-7848(2024)01-0328-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.01.032

柑橘是世界第一大类水果,我国是全球最大的柑橘主产国,柑橘产量占全球总产量的 27%,年产量超过 3 000 万 t,占全国水果产量的 21%^[1-3]。柑橘产业作为我国长江中、上游地区农业支柱产业和绿色经济的重要组成部分,在改善生态环境,提高橘农收入及出口创汇中均扮演着重要角色。近年来,随着我国柑橘产量的不断提高,柑橘初加工市场日渐饱和,产值日益下降,以柑橘果酒为代表的柑橘深加工产业受到越来越多的关注,并在发酵工艺^[4-7]、酵母筛选^[8-9]、脱苦^[10-11]、澄清和陈酿技术^[12-14]等方面取得了较大的研究进展。柑橘香气是柑橘果酒区别于其它种类果酒的重要香气属性之一,是决定柑橘果酒品质、市场价值和消费者接受度的重要因素^[15-16]。然而,迄今为止对于柑橘香气在柑橘果酒酿造过程中的形成及影响机制少有报道。基于此,本研究以柑橘汁为试验材料,以柑橘香气及其贡献化合物以及异味物质为研究对象,通过研究橘汁发酵过程中柑橘香气及其贡献化合物和异味物质的变化,探讨柑橘酒酿造过程

中柑橘香气形成过程及可能的影响因素,为今后该果酒香气品质提升提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 柑橘样品

城固蜜橘,采自陕西省城固县橘园,采收时间为 2021 年 11 月 5 日。果汁可溶性固形物含量 12.5%,总酸含量 0.58 g/100 mL,固酸比 16.4,还原糖 2.76 g/100 mL,出汁率 36.4%。

1.2 材料及试剂

发酵袋、纯净水,市售;果酒酵母,安琪股份有限公司;聚酰胺树脂、苯乙烯/二乙烯苯树脂、果胶酶、表 1 中序号为 1~10 和 18~25 的化合物、表 4 中的异丁酸、丁酸、2-甲基丁酸、戊酸、己酸、庚酸、辛酸,上海安谱实验科技股份有限公司;表 1 中序号为 11~17 和 26~29 的化合物,北京百灵威科技有限公司;二氯甲烷、乙醚、正戊烷、皂土、硫酸、饱和食盐水、氢氧化钠、无水硫酸钠、蔗糖、偏重亚硫酸钾和柠檬酸,国药集团化学试剂有限公司。

1.3 仪器与设备

榨汁机,广东志高空调有限公司;LYT-330 型手持糖度计,昆山宏达光学仪器厂;固相萃取装置,青岛聚创环保集团有限公司;PHS-3C 型 pH

收稿日期: 2023-01-28

基金项目: 陕西省科技厅项目(2021NY-044,2020ZDLNY05)

第一作者: 陈小华,男,博士,讲师

E-mail: chenxiaohua@snut.edu.cn

计,上海雷磁仪厂,CJJ78-1型磁力搅拌器,常州市中贝仪器有限公司;TDL-5C型台式离心机,上海安亭科学仪器厂;SHA-2A型恒温水浴锅,常州市万合仪器制造有限公司;正向硅胶色谱小柱,上海安谱实验科技股份有限公司;2010plus-TQ8040气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)、2010plus-OPV277气相色谱-人工嗅辨仪(GC-O),日本岛津。

1.4 试验方法

1.4.1 柑橘汁发酵 选取新鲜柑橘果实,清洗去皮后榨汁,向果汁中加入0.05%质量分数的果胶酶,40℃酶解60min,加入蔗糖,调节糖度至25 Brix,加入偏重亚硫酸钾调整SO₂质量浓度至50 mg/L,加入柠檬酸,调节pH值至4.0,接入活化酵母(10倍质量分数2%蔗糖水中加入0.3%酵母,40℃温育30min),将果汁置于发酵袋中,于28℃连续发酵7d。每天取样1次,共7份样品,保存于-20℃冰箱中,备用。

1.4.2 香气物质提取 向100 mL 0.2%皂土溶液中加入10 g柑橘汁样品,搅拌均匀后室温(25℃)静置6h,上清液加入聚酰胺树脂,室温搅拌过夜后,收集上清液并加入苯乙烯/二乙烯苯树脂,室温搅拌过夜后,收集树脂并加入二氯甲烷,搅拌均匀1h后收集二氯甲烷,获得橘汁香气粗提物。香气粗提物参考Joshi等^[17]报道的方法进行纯化,最终获得橘汁香气基性组分、酸性组分、水溶性组分和中性组分。

1.4.3 香气物质定性、定量分析 采用Chen等^[18]报道的方法,分析条件如下:色谱柱型号Inert-Cap-purWax(30 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm film thickness),离子源温度250℃,传输线温度230℃,进样口温度200℃,质谱扫描范围 m/z 40~400,扫描速率1 scan/s,载气:氮气(流量1 mL/min)。分离程序:起始温度60℃,保持3 min,以3℃/min速度升温至220℃,保持10 min,进样量1 μL,进样方式不分流进样。每个样品分析3次以上,取平均值。香气物质定量分析采用内标法进行相对定量,内标物为癸酸乙酯(0.243 mg/kg),定性分析采用Nist2021质谱库检索、标准品质谱比对结合保留指数法综合分析,保留指数使用正构烷烃混标(C9~C27),采用公式(1)计算。

$$RI = 100n + 100 \times [RT(x) - RT(n)] / [RT(n+1) - RT(n)] \quad (1)$$

式中,RI——保留指数;RT(x)——待测化合物的保留时间(min);n和n+1——待测化合物流出前、后正构烷烃的碳原子数;RT(n)和RT(n+1)——待测化合物流出前、后正构烷烃的保留时间(min)。

1.4.4 柑橘汁关键呈香物质鉴定 采用Chen等^[18]报道的气味活性值(OAV)和GC-O方法。分析条件如下:色谱柱型号InertCap-Wax(30 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm film thickness),进样口温度与分离程序如上所述,载气:氮气(流量1 mL/min),进样量2 μL,进样方法:不分流进样,样品在气相色谱端和嗅闻端的分离比为1:1,嗅闻口的温度170℃,湿热空气流量为100 mL/min。嗅闻方法简述如下:7名来自陕西理工大学生物科学与工程学院食品质量与安全专业的本科生(年龄20~22岁,3名男性,4名女性)组成感官评价小组成员,在GC-O分析的整个运行时间内,每名成员对嗅闻口端的流出物进行嗅闻并记录每个感知到的气味物质的气味特征和强度(强度范围:1~5,其中“1”为弱,“5”为强),每个小组成员进行3次嗅闻试验,测得的香气属性的强度值为3次嗅闻试验的平均值并取整数。

1.4.5 感官分析 参考牛云蔚等^[19]的方法,略有修改。20 mL不同发酵阶段橘汁样品装入棕色玻璃瓶中,上述7名感官评价小组成员对样品中的柑橘香气强度进行描述和评分(强度范围:0~5,其中“0”为无,“5”为强)。

1.4.6 数据处理 采用WPS Excel 2019软件对香气物质相对含量进行统计分析,差异显著性和相关性分析采用SPSS22.0软件。

2 结果与分析

2.1 柑橘香气贡献化合物鉴定

GC-MS结合气味活性值(OAV)和GC-O分析结果显示(表1),从鲜橘汁中共鉴定出29种呈香物质,主要由果香气(OAV_{平均值} = 206;气味强度平均值=2.8)、柑橘香气(OAV_{平均值} = 87;气味强度平均值=2.9)、花香气(OAV_{平均值} = 1 092;气味强度平均值=2.5)、清香气(OAV_{平均值} = 39;气味强度平均值=3)和乳脂香气(OAV_{平均值} = 2.5;气味强度

平均值= 2)化合物构成。OAV 分析结果显示,2-甲基丁酸乙酯(果香气)和芳樟醇展示了较高的OAV值,分别为1 000和4 932,其次为柠檬烯(柑橘气味)、己酸乙酯(菠萝气味)、辛醛(柑橘气味)、 α -松油醇(丁香气味)、香茅醇(柑橘气味)和丁香酚(丁香气味),其OAV值范围在110~261之间,其余呈香物质的OAV值则较低。GC-O分析结果显示,2-甲基丁酸乙酯、辛醛和芳樟醇的气味强度最高(5.0;强),其次为己醛、柠檬烯、香茅醇和丁香酚,其气味强度值为4.0(较强)。此外,月桂烯、反式-2-己烯醛、己酸乙酯、癸醇、叶醇和 α -松油醇也展示了中等的气味强度(3.0)。相似的结果在前人的研究中也有报道,如 Buettner 等^[20]、Arena 等^[21]、Kumazawa 等^[22]和 Mastello 等^[23]从鲜榨柑橘汁中鉴定出己醛、月桂烯、柠檬烯、辛醛、壬醛、香兰素等多种高OAV气味物质。

如图1所示,柑橘香气是柑橘汁香气结构中的重要香气属性之一,柑橘汁中类似柑橘气味特征的香气物质在柑橘香气属性形成中扮演重要角色^[16,20]。在本研究中,柑橘汁香气提取物经GC-O和OAV分析共鉴定出月桂烯、庚醛、柠檬烯、 γ -松油烯、癸醇、辛醛、辛醇、香茅醇和橙花醇等9种柑橘香气贡献化合物。

固相微萃取提取技术(SPME)因其操作简便及萃取浓缩一步到位的优点,成为目前柑橘香气物质提取最常使用的方法^[4-9],然而该方法由于受

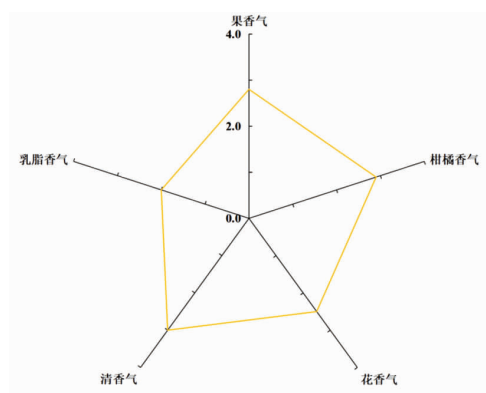


图1 基于GC-O和香气强度分析的柑橘汁香气轮廓
Fig.1 Aroma profile of orange juice based on GC-O and aroma intensity analysis

到萃取头容量限制及纤维素膜选择性吸附的影响,对香气物质的吸附效率比较有限^[15]。因而,本研究使用固相萃取技术^[18]结合 Joshi 等^[17]的正向硅胶色谱分离方法对柑橘汁中的香气物质进行高效萃取,将香气物质分离为基性组分(I)、酸性组分(II)、水溶性组分(III)和中性组分(IV)。相较于传统SPME方法,该方法可大大降低香气物质色谱分离过程中的峰重叠的出现,提高了定性准确性^[24]。使用该方法,本研究从鲜橘汁中还鉴定出2-甲基丁酸乙酯、乙酸丁酯、异戊醇、乙酸芳樟酯、香茅醇和橙花醇等新的气味物质,这些气味物质在其它文献中少有报道。

表1 鲜橘汁呈香物质鉴定结果

Table 1 Identification of aroma compounds in fresh orange juice

序号	RI ^a	RI ^b	呈香物质	气味阈值/ mg·kg ⁻¹	OAV 值	气味强度	组分类别	气味特征	定性方法
1	1 030	1 029	2-甲基丁酸乙酯	0.00001	1 000	5.0	III	类似苹果气味	R, S, M, O
2	1 042	1 043	乙酸丁酯	0.2	9	1.0	I, II, III, IV	类似香蕉气味	R, S, M, O
3	1 052	1 054	己醛	0.02	71	4.0	I, II, III, IV	类似青草气味	R, S, M, O
4	1 141	1 139	月桂烯	0.042	17	3.0	I, II, III, IV	类似甜橙气味	R, S, M, O
5	1 147	1 148	庚醛	0.01	8	2.0	IV	类似柑橘气味	R, S, M, O
6	1 166	1 166	柠檬烯	0.2	189	4.0	I, II, III, IV	类似柑橘气味	R, S, M, O
7	1 182	1 180	异戊醇	0.1	31	2.0	IV	类似香蕉气味	R, S, M, O
8	1 185	1 183	反式-2-己烯醛	0.04	12	3.0	III	类似青草气味	R, S, M, O
9	1 202	1 204	己酸乙酯	0.008	115	3.0	IV	类似菠萝气味	R, S, M, O
10	1 210	1 214	γ -松油烯	2.14	1	2.0	I, II, III, IV	类似柠檬气味	R, S, M, O
11	1 223	1 223	癸醇	0.02	14	3.0	I	类似甜橙气味	R, S, M, O
12	1 260	1 259	辛醛	0.001	180	5.0	III	类似柑橘气味	R, S, M, O

(续表 1)

序号	RI ^a	RI ^b	呈香物质	气味阈值/ mg·kg ⁻¹	OAV 值	气味强度	组分类别	气味特征	定性方法
13	1 328	1 328	乙醇	2.5	2	1.0	III, IV	类似酒精气味	R, S, M, O
14	1 357	1 356	叶醇	0.2	66	3.0	II, III, IV	类似清香气味	R, S, M, O
15	1 363	1 362	壬醛	0.04	4	1.0	II	类似玫瑰气味	R, S, M, O
16	1 408	1 407	辛酸乙酯	0.02	14	2.0	IV	类似菠萝气味	R, S, M, O
17	1 480	1 479	苯甲醛	0.2	5	1.0	I, II, III, IV	杏仁气味	R, S, M, O
18	1 524	1 524	芳樟醇	0.01	4332	5.0	I, II, III, IV	花木香气	R, S, M, O
19	1 527	1 529	乙酸芳樟酯	0.1	12	2.0	IV	似薰衣草气味	R, S, M, O
20	1 536	1 534	辛醇	0.1	30	2.0	III, IV	类似橘蜡脂气	R, S, M, O
21	1 667	1 666	α-松油醇	0.3	123	3.0	I, II, III, IV	似丁香香气	R, S, M, O
22	1 743	1 740	香茅醇	0.01	261	4.0	IV	类似柑橘气味	R, S, M, O
23	1 775	1 774	橙花醇	0.3	<1	1.0	IV	类似柑橘气味	R, S, M, O
24	1 825	1 823	香叶醇	0.04	11	2.0	IV	类似玫瑰气味	R, S, M, O
25	1 875	1 873	苯乙醇	0.24	23	2.0	I, II, III, IV	类似玫瑰香气	R, S, M, O
26	1 972	1 972	苯酚	5.5	<1	1.0	I, II, III	酚酸气味	R, S, M, O
27	2 135	2 134	丁香酚	0.007	110	4.0	IV	类似丁香气味	R, S, M, O
28	2 146	2 146	壬酸	1.5	1	2.0	I, II, III	类似奶酪气味	R, S, M, O
29	2 513	2 515	香兰素	0.2	4	2.0	II, III	似香草气味	R, S, M, O

注：“RI^a”为 InertCap-purWax 色谱柱得出的保留指数；“RI^b”为 InertCap-Wax 色谱柱得出的保留指数；气味阈值来源于里奥·范海默特^[25]；化合物的气味特征为 The good scents company information system 和 Chemical book 网站给出的参考描述语句与相应标准品，经 GC-O 嗅闻后进行综合比对的结果；组分类别中，“I”为基性组分，“II”为酸性组分，“III”为水溶性组分，“IV”为中性组分；化合物定性方法中，“R”表示保留指数定性，“S”表示标准品定性，“M”表示质谱法定性，“O”表示气味特征定性。

2.2 柑橘香气及其贡献化合物在橘汁发酵过程中的变化

对柑橘香气在橘汁发酵过程中的感官分析显示，鲜橘汁在发酵 1~4 d 的过程中，柑橘香气强度呈逐渐增强的趋势，随后则逐渐减弱并呈现出浓烈的酸败和刺激性气味(表 2)。相似的，伴随柑橘香气的增强，其贡献化合物含量亦呈现显著增加的趋势，在发酵第 4 天，含量平均增加了约 2~15 倍(表 3)，随后则显著下降。Pearson 相关性分析结果显示，柑橘香气强度的变化与柠檬烯、γ-松油烯、辛醇和橙花醇含量增减有显著相关性 ($P < 0.05$)。该结果表明，上述香气物质在柑橘香气形成中扮演了重要角色，是柑橘香气的关键贡献化合物。相似的变化趋势在康明丽等^[4]的研究中也有报道，该研究结果显示，柑橘汁在发酵 7~35 d 的过程中，包括柠檬烯在内的多种香气物质的含量也呈现先增加后减少的趋势。游离态和糖苷键合态是柑橘汁中香气物质存在的两种主要状态，游离态香气物质可被直接感知，而糖苷键合态香气

物质则无气味^[26-27]。柑橘汁在发酵初期香气物质含量显著增加，可能与柑橘汁发酵过程中，糖苷键合态香气物质在酸或糖苷酶的水解作用下，形成游离态芳香化合物，从而使发酵橘汁中的香气物质含量不断增加有关^[28]。

表 2 柑橘香气在橘汁发酵过程中的变化

Table 2 Changes of orange characteristic aroma during orange juice fermentation

发酵时间/d	香气描述	柑橘香气强度
0	柑橘香气适中	3.0
1	柑橘香气适中	3.0
2	柑橘香气明显	3.0
3	柑橘香气较浓郁	4.0
4	柑橘香气浓郁	5.0
5	柑橘香气弱，酸败刺激性气味适中	2.0
6	柑橘香气极弱，有强烈的酸败刺激性气味	1.0
7	无柑橘香气，有强烈的酸败刺激性气味	0.0

注：柑橘香气强度值为 3 次感官分析的平均值，并取整数。

表3 柑橘香气贡献化合物在橘汁发酵过程中的变化

Table 3 Change of orange-like aroma compounds during orange juice fermentation

香气物质	相对含量/mg·kg ⁻¹							
	鲜橘汁	发酵第1天	发酵第2天	发酵第3天	发酵第4天	发酵第5天	发酵第6天	发酵第7天
月桂烯	0.70 ± 0.12 ^f	1.44 ± 0.03 ^e	5.34 ± 1.21 ^b	2.74 ± 1.10 ^c	10.47 ± 2.14 ^a	2.25 ± 1.00 ^{cd}	1.87 ± 0.64 ^e	1.87 ± 0.23 ^e
庚醛	0.08 ± 0.02 ^f	0.38 ± 0.11 ^e	0.9 ± 0.22 ^{dk}	0.76 ± 0.14 ^e	3.68 ± 0.21 ^a	1.31 ± 0.66 ^b	1.14 ± 0.00 ^b	0.77 ± 0.09 ^e
柠檬烯	37.80 ± 2.51 ^f	51.81 ± 3.58 ^e	199.03 ± 5.64 ^c	251.54 ± 4.35 ^b	302.91 ± 3.45 ^a	67.2 ± 3.17 ^d	52.61 ± 1.75 ^{de}	69.01 ± 4.25 ^d
γ-松油烯	3.14 ± 0.87 ^e	5.32 ± 0.00 ^c	12.05 ± 1.32 ^b	17.23 ± 1.56 ^b	24.9 ± 0.65 ^a	17.33 ± 1.69 ^b	5.75 ± 0.68 ^e	6.58 ± 1.35 ^e
癸醇	0.28 ± 0.09 ^d	0.28 ± 0.04 ^d	0.31 ± 0.05 ^{cd}	0.8 ± 0.04 ^b	3.20 ± 0.08 ^a	0.81 ± 0.33 ^b	0.48 ± 0.25 ^e	0.46 ± 0.14 ^e
辛醛	0.18 ± 0.06 ^a	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
辛醇	2.96 ± 0.12 ^d	5.16 ± 1.23 ^c	13.63 ± 0.07 ^b	17.06 ± 2.70 ^a	17.59 ± 0.67 ^a	5.43 ± 1.22 ^c	4.70 ± 1.09 ^e	6.43 ± 1.69 ^e
香茅醇	2.61 ± 0.89 ^d	1.97 ± 0.06 ^d	7.49 ± 1.25 ^{bc}	12.14 ± 1.69 ^a	10.11 ± 1.23 ^a	5.95 ± 1.05 ^c	8.18 ± 1.36 ^b	9.54 ± 0.45 ^{ab}
橙花醇	0.13 ± 0.05 ^d	0.35 ± 0.11 ^{cd}	1.23 ± 0.34 ^b	2.26 ± 0.85 ^a	3.25 ± 0.48 ^a	2.58 ± 0.78 ^a	1.69 ± 0.35 ^b	0.63 ± 0.28 ^{bc}

注:不同肩标小写字母表示具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.3 橘汁发酵过程中异味物质的产生和变化

感官分析显示,橘汁发酵4 d后,伴随柑橘香气减弱,酸败和刺激性气味呈现逐渐增强的趋势(表2),这与橘汁发酵后期异味化合物大量产生有关。成分分析结果显示,在橘汁发酵后期,一些异味化合物,如异丁酸(刺激性难闻气味)、丁酸

(刺激性难闻气味)、2-甲基丁酸(刺激性气味)、戊酸(汗臭和腐臭味)、己酸(汗液酸臭味)、庚酸(脂肪酸败味)和辛酸(酸败和汗臭气味)的含量呈显著增加的趋势(表4),这些异味物质对果酒中柑橘香气具有显著的遮盖作用^[29-31]。

表4 橘汁发酵过程中异味化合物的变化

Table 4 Change of off-odorants during orange juice fermentation

异味物质	相对含量/mg·kg ⁻¹							
	鲜橘汁	发酵第1天	发酵第2天	发酵第3天	发酵第4天	发酵第5天	发酵第6天	发酵第7天
异丁酸	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	8.42 ± 2.37 ^a
丁酸	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.01 ^b	1.02 ± 0.13 ^a	0.68 ± 0.18 ^a
2-甲基丁酸	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.00 ^c	0.68 ± 0.22 ^{ab}	1.02 ± 0.25 ^a
戊酸	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.06 ± 0.02 ^b	0.24 ± 0.08 ^a	0.78 ± 0.21 ^a
己酸	0.00 ± 0.00	0.08 ± 0.02 ^e	0.43 ± 0.15 ^d	0.59 ± 0.13 ^d	3.20 ± 0.08 ^c	3.45 ± 0.45 ^c	16.85 ± 2.47 ^b	32.40 ± 3.28 ^a
庚酸	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.03 ^a
辛酸	0.15 ± 0.06 ^d	10.72 ± 2.15 ^e	16.77 ± 3.05 ^e	26.95 ± 4.36 ^b	28.57 ± 2.18 ^b	29.84 ± 1.68 ^b	36.15 ± 1.66 ^a	37.94 ± 3.23 ^a

注:不同肩标小写字母表示具有显著性差异($P < 0.05$);各化合物的气味特征均为其标准品感官嗅闻的结果。

3 结论

采用GC-MS结合气味活性值(OAV)和GC-O方法从鲜橘汁中鉴定出29种香气物质,主要由果香气、柑橘香气、花香气、清香气和乳脂香气化合物构成,其中月桂烯、庚醛、柠檬烯、γ-松油烯、癸醇、辛醛、辛醇、香茅醇和橙花醇等化合物被鉴定为柑橘香气贡献化合物。在柑橘汁发酵过程中,柑橘香气强度及其贡献化合物含量均呈先增加后降低的趋势,二者呈正相关,糖苷键合香气化合物

在橘汁发酵过程中,水解为自由态香气化合物可能是柑橘香气贡献化合物显著增加的重要原因。伴随柑橘香气强度及其贡献化合物含量的降低,异味化合物含量则呈显著增加的趋势,其对柑橘香气具有显著的遮盖作用。

参 考 文 献

[1] 李建婷, 张晓丹, 秦丹. 我国柑橘类果酒的研究现状

- [J]. 农产品加工, 2016(11): 62-65.
- LI J T, ZHANG X D, QIN D. Research status of citrus wine in China[J]. Farm Products Processing, 2016(11): 62-65.
- [2] 莫星煜, 毛玲莉, 王梓, 等. 国内外柑橘产业发展现状综述[J]. 农村实用技术, 2021(2): 9-10.
- MO X Y, MAO L L, WANG Z, et al. Summary of the development of citrus industry at home and abroad[J]. Rural Practical Technology, 2021(2): 9-10.
- [3] 祁春节, 邓秀新. 当前我国柑桔产业发展面临的重大问题和对策措施[J]. 中国果业信息, 2016, 33(12): 9-11.
- QI C J, DENG X X. Major problems and countermeasures faced by the development of citrus industry in China at present[J]. China Fruit News, 2016, 33(12): 9-11.
- [4] 康明丽, 潘思轶, 范刚, 等. 柑橘果酒酿造过程中挥发性风味化合物的变化[J]. 食品科学, 2015, 36(18): 155-161.
- KANG M L, PAN S Y, FAN G, et al. Changes in volatile compounds in satsuma mandarin wine with different fermentation periods[J]. Food Science, 2015, 36(18): 155-161.
- [5] 朱霞建. 甜橙果肉渣发酵酒的研制及其活性物质变化的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- ZHU X J. Study on The fermented wine with sweet orange pulp residue and the change of active substances[D]. Chongqing: Southwest University, 2020.
- [6] 王玉霞, 李兵, 朱谦丽, 等. 添加不同水果的柑橘果酒酿造与品质分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(2): 124-130.
- WANG Y X, LI B, ZHU Q L, et al. brewing and quality analysis of citrus wines with different fruits[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(2): 124-130.
- [7] 黄六斌, 穆洪霞, 丁雪梅, 等. 柑橘酒酿造过程香气成分变化的研究[J]. 酿酒科技, 2015(3): 47-50.
- HUANG L B, MU H L, DING X M, et al. The change of flavoring components during the fermenting process of citrus fruit wine[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2015(3): 47-50.
- [8] 陈清婵, 简清梅, 李蓉, 等. 不同酵母菌株酿造橘子酒香气比较[J]. 酿酒科技, 2018, 2(284): 25-29.
- CHEN Q C, JIAN Q M, LI R, et al. Comparison of the flavoring components of orange wine produced by different yeast strains[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2018, 2(284): 25-29.
- [9] 李锐, 冯奎, 吴婧, 等. 不同来源酿酒酵母对柑橘果酒香气成分的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 206-213.
- LI R, FENG K, WU J, et al. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different sources on the aromatic composition of orange wine[J]. Food Science, 2010, 31(17): 206-213.
- [10] 毕静莹. 柑橘酒苦味物质及其控制技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- BI J Y. Study on the bitter substances and its control technology of citrus wine[D]. Yangling: Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2019.
- [11] 胡小琴, 刘伟, 许弯, 等. 柑橘果酒中的类柠檬苦素及其脱除方法综述[J]. 湖南农业科学, 2019(8): 128-132.
- HU X Q, LIU W, XU W, et al. A review of limonoids in citrus wine and debittering methods[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2019(8): 128-132.
- [12] 简清梅, 陈清婵, 王劲松. 橘子酒澄清剂优化配方[J]. 中国酿造, 2015, 34(5): 138-141.
- JIAN Q M, CHEN Q C, WANG J S. Optimization of the clarification formula of orange wine[J]. Chinese Brewing, 2015, 34(5): 138-141.
- [13] 夏兵兵, 张学峰, 刘玉达, 等. 橘子果酒的澄清及稳定性研究[J]. 中国酿造, 2009, 28(1): 118-121.
- XIA B B, ZHANG X F, LIU Y D, et al. Research on clarification and stability of orange wine[J]. Chinese Brewing, 2009, 28(1): 118-121.
- [14] 张超, 王玉霞, 尹旭敏, 等. 柑橘果酒澄清工艺及稳定性研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(24): 29-33.
- ZHANG C, WANG Y X, YIN X M, et al. Effects of different methods on clarification and stability of jincheng orange wine[J]. Food Research and Development, 2014, 35(24): 29-33.
- [15] YANG Y, BALDERMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea[J]. Food Res Int, 2013, 53(2): 585-599.
- [16] SELLI S, CANBAS A, VARLET V, et al. Characterization of the most odor-active volatiles of orange wine made from a Turkish cv. Kozan (*Citrus sinensis* L. Osbeck)[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(1): 227-234.

- [17] JOSHI R, GULATI A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in kangra orthodox black tea[J]. *Food Chem*, 2015, 167: 290–298.
- [18] CHEN X H, CHEN D J, JIANG H, et al. Aroma characterization of hanzhong black tea (*Camellia sinensis*) using solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry and sensory analysis [J]. *Food Chem*, 2019, 274: 130–136.
- [19] 牛云蔚, 朱全, 肖作兵. 茅台酒香气组成及关键香气成分间的协同作用[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(10): 215–226.
- NIU Y W, ZHU Q, XIAO Z B. The aroma composition and synergistic effect among key aroma compounds in Moutai Baijiu[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(10): 215–226.
- [20] BUETTNER A, SCHIEBERLE P. Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from valencia late and navel oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(5): 2387–2394.
- [21] ARENA E, GUARRERA N, CAMPISI S, et al. Comparison of odour active compounds detected by gas - chromatography - olfactometry between hand - squeezed juices from different orange varieties[J]. *Food Chem*, 2005, 98: 59–63.
- [22] KUMAZAWA K, WADA Y, MASUDA H. Characterization of potent odorants in hand-squeezed and heat processed citrus juices[J]. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 2001, 54(6): 266–273.
- [23] MASTELLO R B, CAPOBIANGO M, CHIN S T, et al. Identification of odour-active compounds of pasteurised orange juice using multidimensional gas chromatography techniques?[J]. *Food Res Int*, 2015, 75: 281–288.
- [24] 李跑, 蔡文生, 邵学广. 基于高通量解析算法的复杂样品重叠气相色谱-质谱信号的快速分析[J]. *色谱*, 2017, 35(1): 8–13.
- LI P, CAI W S, SHAO X G. Rapid analysis of complex samples using overlapping gas chromatography - mass spectrometry signals based on high-throughput approach [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2017, 35(1): 8–13.
- [25] 里奥·范海默特. 空气、水和其他介质中气味和味觉阈值汇编[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 1–200.
- GEMERT L J. Compilations of odour threshold values in air, water & other media and compilations of flavour threshold values in water & other media[M]. Beijing: Science Press, 2015: 1–200.
- [26] 王哲, 吴韶辉, 刘福, 等. β -葡萄糖苷酶对柑橘汁酶解增香调控及香气成分的影响[J]. *现代农业科技*, 2021, 20: 61–76.
- WANG Z, WU S H, LIU F, et al. Effect of β -glucosidase on flavoring regulation and aroma components of citrus juice [J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2021, 20: 61–76.
- [27] 张晨, 周佳, 马亚琴, 等. 柑橘汁中游离态和键合态挥发性成分的分析[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(17): 1–19.
- ZHANG C, ZHOU J, MA Y Q, et al. Analysis of free and bound volatile components in citrus juice[J]. *Journal of Food and fermentation industry*, 2022, 48(17): 1–19.
- [28] 陈亦欣, 陈虹吉, 叶兴乾, 等. 酶解和酸解处理对杨梅汁键合态香气释放的影响[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(2): 299–307.
- CHEN Y X, CHEN H J, YE X Q, et al. Effect of enzymolysis and acidolysis on aroma release of *Myrica rubra* juice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(2): 299–307.
- [29] 杨平, 蔡小波, 黄孟阳, 等. 基酒中异味物质及其控制措施研究[J]. *酿酒科技*, 2020(10): 38–44.
- YANG P, CAI X B, HUANG M Y, et al. Study on off-odor compounds in base liquor and control methods[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2020(10): 38–44.
- [30] ZHU J C, CHEN F, WANG L Y, et al. Evaluation of the synergism among volatile compounds in oolong tea infusion by odour threshold with sensory analysis and E-nose[J]. *Food Chem*, 2017, 221: 1484–1490.
- [31] CALKIN R R, JELLINEK J S. The student perfumer today[M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 1994: 1–15.

Analysis of Orange Characteristic Aroma and Its Potent Odorants during Orange Juice Fermentation

Chen Xiaohua¹, Huang Wei², Dang Yafeng², Zhu Yu², Geng Jingzhang¹, Jin Wengang¹

(¹School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Shaanxi Province Key Laboratory of Bio-resources, QinLing-Bashan Mountains, Bioresources Comprehensive Development C. I. C.,

Qinba State Key Laboratory of Biological Resources and Ecological Environment, Hanzhong 723001, Shaanxi

²Inspection and Testing Center of Food and Drug of Hanzhong, Hanzhong 723000, Shaanxi)

Abstract Orange characteristic aroma is one of the important aroma properties of orange wine. In order to study the formation and influence mechanism of orange characteristic aroma during the production of orange wine, the changing trend of orange characteristic aroma, its potent odorants and off-odorants during orange juice fermentation were analyzed using solid phase extraction (SPE) and forward silica gel chromatography combined with gas chromatography-olfactometry (GC-O) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that a total of 29 compounds were identified as the key aroma compounds in orange juice, which were mainly composed of fruity, orange-like, floral, green/grassy, and creamy aroma compounds. Among them, myrcene, heptanal, limonene γ -terpinene, decanol, octanal, octanol, citronellol and nerol were identified as the important contributor for orange characteristic aroma attribute. The orange-like aroma intensity increased significantly during fermentation for 1–4 days, and then decreased significantly, which were closely related to the contents of limonene γ -terpinene, octanol and nerol ($P < 0.05$). In addition, with the decrease of the content of orange characteristic aroma compounds, the content of isobutyric acid, butyric acid, 2-methyl butyric acid, valeric acid, caproic acid, heptanoic acid and caprylic acid with rancidity irritant odor increased significantly, which can significantly cover the orange characteristic aroma. The results would provide a theoretical basis for the improvement of citrus wine technology and aroma quality in the future.

Keywords orange juice; fermentation; key aroma compounds; off-odorants; change trend