

不同贮藏温度的鲜核桃仁中挥发性有机物的 GC-IMS 分析

张 权¹, 顾 凡¹, 王远利¹, 代佳和^{1,2,3}, 田 洋^{1,2,3}, 陶 亮^{1,2,3*}

(¹ 云南农业大学食品科学技术学院 昆明 650201

² 食药同源资源开发与利用教育部工程研究中心 昆明 650201

³ 云南省药食同源功能食品工程研究中心 昆明 650201)

摘要 采用气相色谱-离子迁移谱(GC-IMS)技术分析比较不同贮藏温度下的鲜核桃仁的挥发性气味成分,结果表明,从 25,4,-18℃ 3 个温度贮藏的核桃仁中共检出 54 种挥发性风味化合物,包括酯类 16 种,醛类 15 种,醇类 11 种,酮类 7 种,酸类 2 种,吡嗪类 2 种,呋喃类 1 种。核桃仁的挥发性风味物质中醇类、酯类相对含量较高,其次是醛类、酮类、酸类,吡嗪、呋喃类相对含量最少,3 个温度下核桃仁中的挥发性风味物质存在差异,其中 25℃ 的核桃仁的风味变化最剧烈。主成分和欧氏距离分析表明,通过 GC-IMS 技术可以较好地地区分不同贮藏温度的核桃仁的风味。结论:基于 GC-IMS 技术建立了不同贮藏温度下核桃仁挥发性风味物质的指纹图谱,可视化勾勒出不同温度下贮藏的核桃仁挥发性有机物轮廓,为核桃贮藏方式的选择及核桃仁劣变程度评价提供了参考。

关键词 气相色谱-离子迁移谱(GC-IMS); 贮藏; 核桃品质; 挥发性风味物质; 主成分

文章编号 1009-7848(2024)12-0299-14 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.027

核桃是世界四大坚果之一,同时也是中国重要的经济树种。云南作为中国的核桃主产区之一,多年来核桃产量和种植面积都位居全国前列^[1]。核桃富含脂肪、蛋白质等多种营养及活性成分^[2],能够缓解大脑神经衰弱,辅助改善记忆力,并在降低人体胆固醇、预防心脑血管疾病等方面有一定功效^[3-4],具有较高的开发利用价值。鲜核桃因独特的风味而受到众多消费者的青睐,然而,其不易保存,贮藏时间短,在很大程度上限制了鲜核桃的消费市场。

核桃的风味品质是决定消费者选择的重要因素之一,同时也是核桃品质变化的重要指标。有研究者对核桃的风味进行研究,如 Kalogiouri 等^[5]运用 HS-SPME-GC-MS 技术检测核桃油,共鉴定出 41 种挥发性风味物质,并在此基础上建立模型,实现了传统核桃油和有机核桃油的区分。Jing 等^[6]

运用 HS-SPME-GC-MS 技术表征加工核桃中的挥发性风味物质,从生核桃中检测出 14 种挥发物,从热风干核桃中检测到 28 种挥发物。李寅珊等^[7]运用 GC-IMS 技术,对漾濞核桃壳的挥发性风味物质进行检测,其挥发性成分主要为脂肪酸及脂肪烃类。核桃贮藏期间的品质劣变与温度息息相关且随贮藏条件的变化其风味差异较大。目前基于贮藏温度评价鲜核桃风味差异的研究较少。

气相离子迁移谱(GC-IMS)技术是近年来广受关注的食品风味分析技术^[8]。与 GC-MS 技术相比,其具有高灵敏度、快速响应等特点,同时无需复杂的样品前处理,可实现对挥发性风味物质的快速检测^[9-10]。目前,GC-IMS 技术已用于多个领域,包括发酵食品^[11]风味检测,水果^[12]、油脂^[13]等食品挥发性成分分析等,也可用于贮藏、处理条件对风味物质影响的鉴定,从而为贮藏方式的选择及品质评价提供一定的参考。如 Zhou 等^[14]运用 GC-IMS 技术研究烤鸡贮藏过程中的风味变化,发现油炸和炖煮是烤鸡风味形成的关键过程,并明确了烤鸡香味变化过程中的关键性风味物质。Zhao 等^[15]运用 GC-IMS 结合 PCA 评估大黄鱼贮藏过程中的风味变化,结果表明 GC-IMS 和 PCA 的组合可以识别鱼肉风味成分的差异。这些结果表明,GC-IMS 可用于建立核桃仁贮藏过程中风味变化

收稿日期: 2023-12-29

基金项目: 云南省农业联合专项面上项目(202101BD070001-080); 云南省万人计划产业技术领军人才项目(YNWR-CYJS-2020-010); 农业农村部重点实验室开放课题(S2021KFKT-08); 云南省重大科技专项(202102AE090027-2)

第一作者: 张权,男,硕士生

通信作者: 陶亮 E-mail: 875316158@qq.com

轮廓。主成分分析(PCA)是一种基于多变量统计的检测方法,可将多个指标转换为多个综合指标,用于提取特征及揭示变量间的关系,可与GC-IMS技术相结合评价食品风味的差异。

本研究采用GC-IMS结合PCA检测不同温度贮藏的鲜核桃仁的挥发性风味物质,分析其差异,评价贮藏条件对品质劣变的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与预处理

本试验以新鲜核桃仁为试验对象。核桃采于云南省大理市漾濞县,品种“漾濞泡核桃”,同一批次采收后冷链运输到实验室。选择大小均一、无病虫害、无腐烂、无机械损伤的核桃用于试验。

采用传统的去青皮、破壳技术制备得到新鲜核桃仁。将挑选好的核桃仁混匀后装入PE塑封袋,每袋重(200.0±5.0)g,进行真空包装;将包装好后的鲜核桃仁分为3份,分别置于室温(25℃)、冷藏(4℃)、冷冻(-18℃)条件下贮藏。在核桃仁贮藏过程中,分别于贮藏的前(第10天)、中(第30天)、后(第60天)3个阶段对不同贮藏条件下的核桃仁挥发性风味化合物进行检测。冷藏组于贮藏前、中、后期检测,样品检测编号为LC-Q、LC-Z、LC-H;冷冻组于贮藏前、中、后期检测,样品检测编号为LD-Q、LD-Z、LD-H;室温组于贮藏前、中期检测(后期样品已腐败),样品检测编号为CW-Q、CW-Z。

1.2 仪器与设备

FlavourSpec®风味分析仪、气相色谱-离子迁移谱联用仪(GC-IMS),山东海能科学仪器有限公司;色谱柱MXT-5,美国RESTEK公司。

1.3 气相色谱-离子迁移光谱(GC-IMS)条件

气相色谱条件:顶空进样瓶中放入3.5g鲜核桃仁样品,80℃孵育15min后进样,以85℃进样针和N₂载气进样500μL;色谱柱温度:60℃;载气N₂流速:0~2min,2mL/min,2~20min,2~100mL/min。

离子迁移谱条件:漂移气体流速150mL/min,漂移管长度10cm,管内电压为400V/cm。

挥发性风味化合物的定性通过对比GC-IMS库中的保留指数(RI)和漂移指数(Dt)来确定。

1.4 数据分析

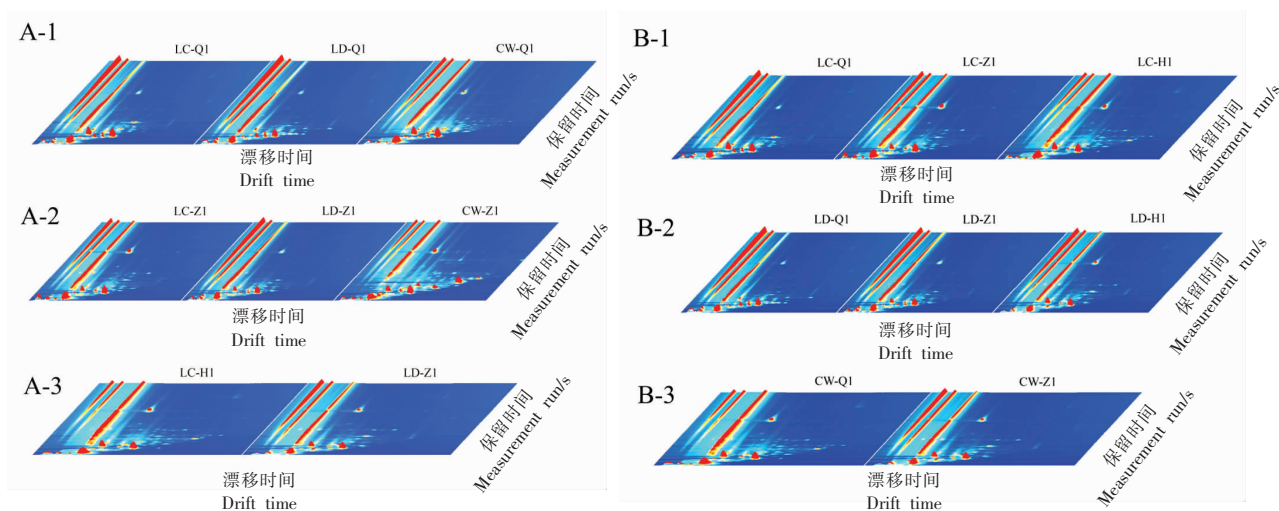
采用GC-IMS仪器配套的VOCal、Reporter、Gallery Plo 3款插件,根据保留指数(RI)和漂移指数(Dt)与应用软件内置的NIST数据库和IMS数据库对物质进行定性分析,并绘制三维谱图、二维俯视图、差异谱图、指纹图谱和最近邻欧式距离图;根据峰面积归一化法获得各挥发性风味物质的相对含量;采用Origin 2018与VOCal定性所得数据进行相对含量、聚类热图绘制;采用SIMCA 14与VOCal定性所得的数据进行相似性分析和差异代谢物筛选。

2 结果与分析

2.1 气相色谱-离子迁移谱(GC-IMS)分析

核桃仁在贮藏过程中风味成分发生着复杂的变化,图1是通过GC-IMS技术对不同温度下贮藏的核桃仁中挥发性风味物质进行检测所得到的三维图谱。图中X轴表示漂移时间,Y轴表示保留时间,Z轴表示峰强度,谱图中的每一个点代表一种化合物,一种化合物有多个斑点的代表其二聚体或多聚体。挥发性风味物质的含量通过颜色的深浅表示,颜色越深表示该物质的含量越高。为了更直观的观察贮藏过程中各组核桃仁风味的变化,将3D图按照贮藏时期和贮藏温度进行比较,由图1可知,不同温度下贮藏的核桃仁挥发性风味物质3D图谱难以通过肉眼区分,需要进一步处理,通过二维图谱进行比较以便观察各组核桃仁间挥发性风味物质的差异。

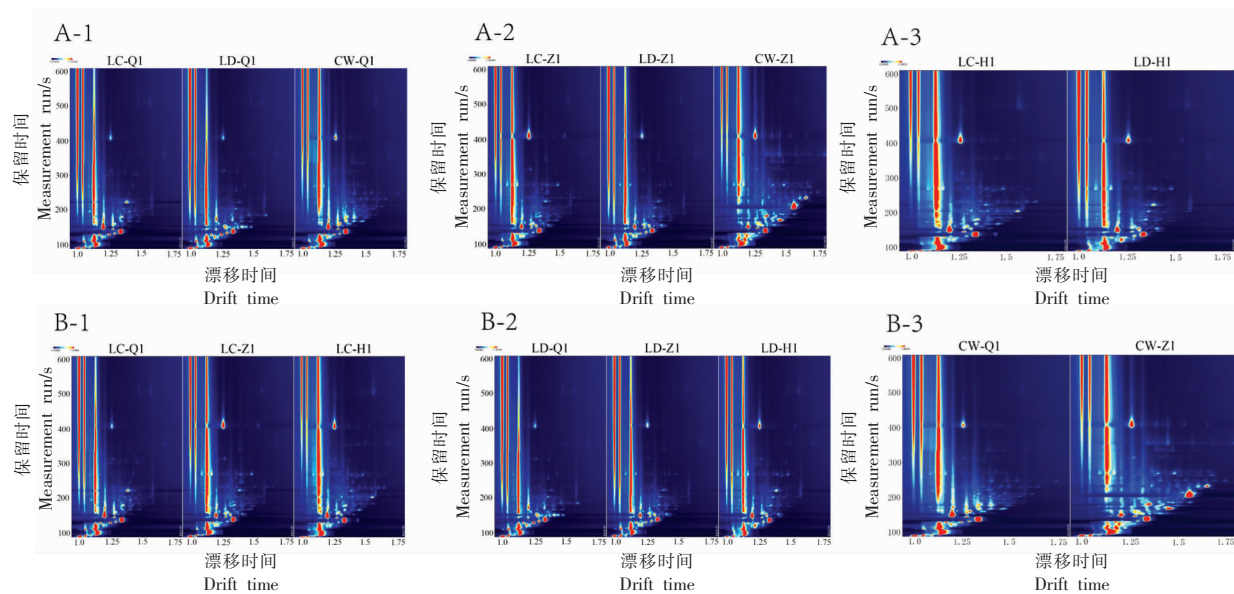
图2为不同温度贮藏的核桃仁3D投影所得的二维图。可以更容易观察不同贮藏条件下的核桃仁挥发性风味物质差异。贮藏时期比较模式以4℃组为对照,对二维图谱进行抠图,得到差异谱图。核桃仁中挥发性物质对比图中,颜色表示物质的信号强度,蓝色表示低浓度(如图3中a区域),红色表示高浓度(如图3中b区域)。颜色越深,说明强度越大。随着贮藏时间的延长,3个贮藏温度下的核桃仁挥发性风味物质存在明显差异。这些差异可能是核桃仁的呼吸作用及脂肪降解等生化反应造成的。为进一步明确不同贮藏温度对核桃仁挥发性风味物质的影响,对检测出的挥发性风味物质进行定性。



注:A-1 贮藏前期、A-2 贮藏中期、A-3 贮藏后期,B-1 贮藏温度 4 °C、B-2 贮藏温度-18 °C、B-3 贮藏温度 25 °C。

图 1 核桃仁中挥发性物质三维图谱

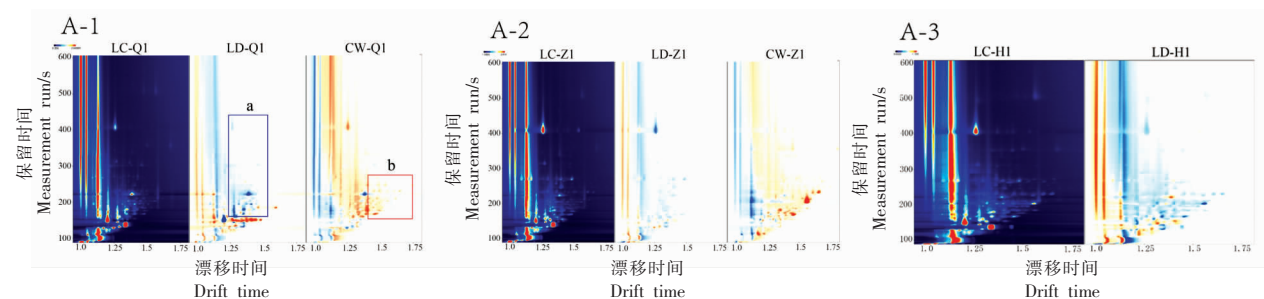
Fig.1 Three-dimensional map of volatile substances in walnut kernels

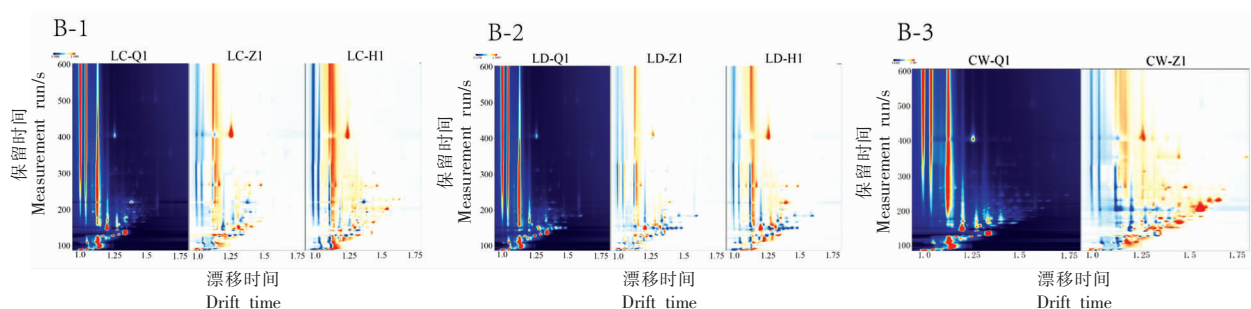


注:A-1 贮藏前期、A-2 贮藏中期、A-3 贮藏后期,B-1 贮藏温度 4 °C、B-2 贮藏温度-18 °C、B-3 贮藏温度 25 °C。

图 2 核桃仁中挥发性物质二维图谱

Fig.2 Two-dimensional map of volatile substances in walnut kernels





注:A-1 贮藏前期、A-2 贮藏中期、A-3 贮藏后期,B-1 贮藏温度 4℃、B-2 贮藏温度-18℃、B-3 贮藏温度 25℃。

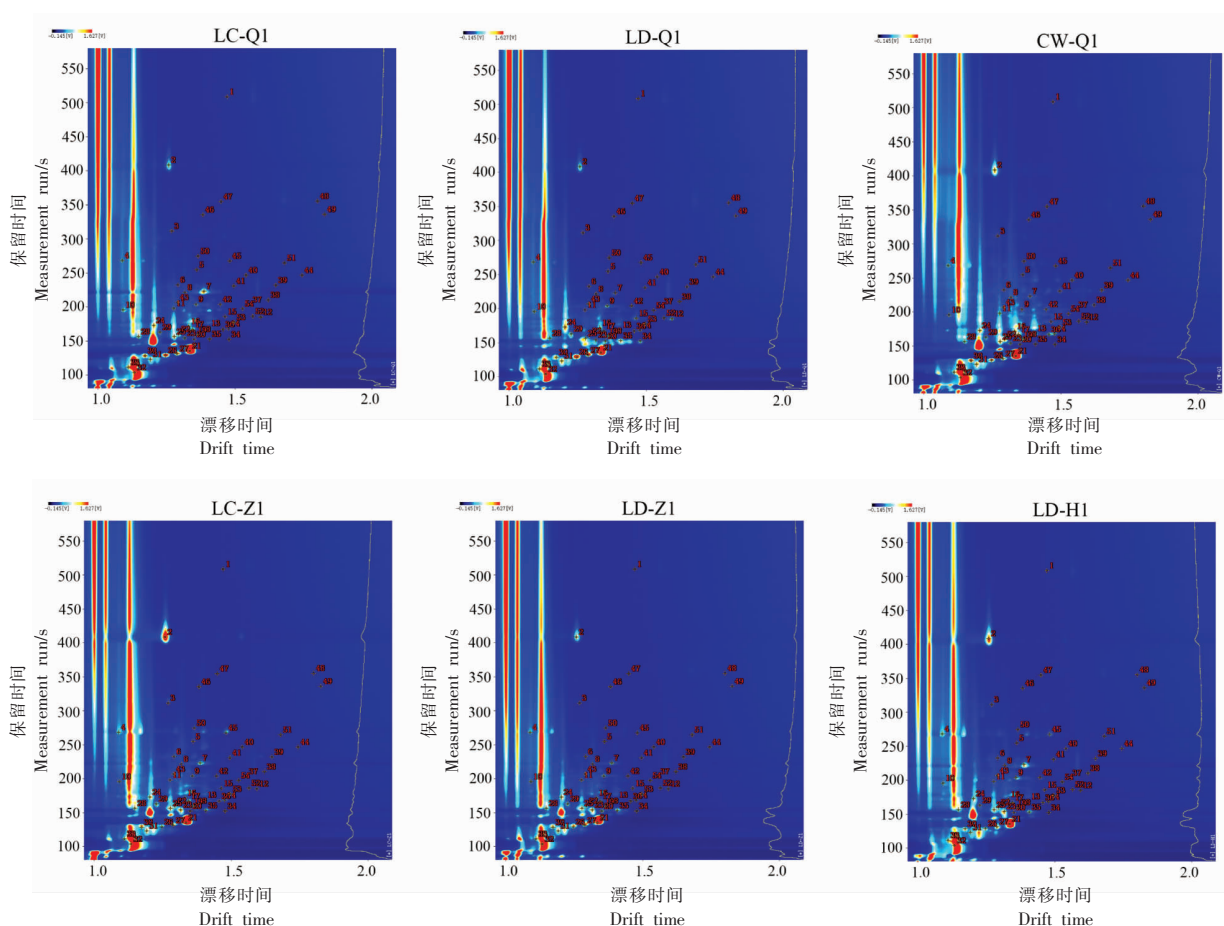
图3 核桃仁中挥发性物质对比

Fig.3 Comparison of volatile substances in walnut kernels

2.2 核桃仁中 GC-IMS 风味成分定性分析

根据挥发性风味物质的迁移时间、保留时间和保留指数,与仪器的数据库对比,实现对挥发性风味物质的定性。如图4所示,每一个数字代表一

种挥发性物质。在不同温度贮藏的核桃仁样品中共鉴定出 54 种挥发性风味物质,其中酯类物质 16 种,醛类物质 15 种,醇类物质 11 种,酮类物质 7 种,酸类物质 2 种,吡嗪 2 种,呋喃 1 种。



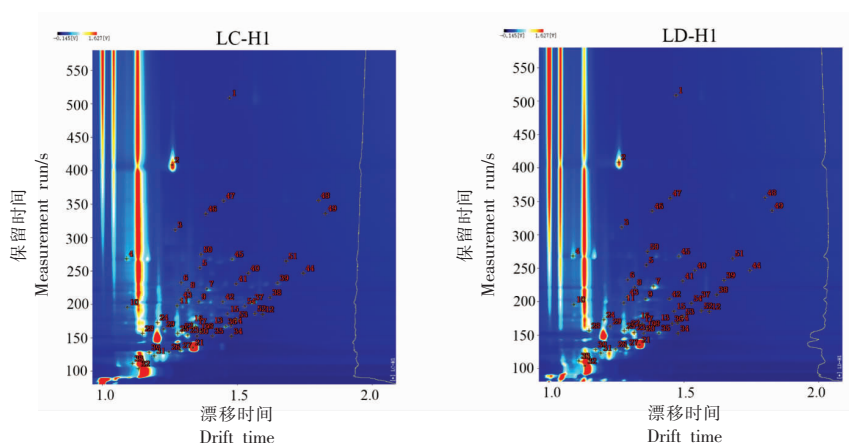


图 4 核桃仁中挥发性风味物质 GC-IMS 谱图

Fig.4 Qualitative characterization of volatile flavor substances in walnut kernel by GC-IMS

表 1 不同贮藏温度下核桃仁的挥发性风味物质

Table 1 Volatile flavor substances of walnut kernel at different storage temperatures

编号	挥发性成分名称	分子式	保留时间/s	漂移时间/ min	气味描述
1	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	508.164	1.47339	脂肪、柑橘味
2	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	408.403	1.26006	山楂、蜂蜜、甜味
3	(E)-2-庚醛	C ₇ H ₁₂ O	311.463	1.27178	皂香、脂肪、杏仁味
4	3-甲基丙醛	C ₄ H ₈ OS	267.806	1.09096	煮熟的土豆
5	庚醛	C ₇ H ₁₄ O	254.86	1.36254	脂肪、柑橘味、酸败气味
6	2-甲基-1-戊醇	C ₆ H ₁₄ O	232.643	1.29371	
7	甲基吡嗪	C ₅ H ₆ N ₂	222.769	1.38918	爆米花味
8	糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	221.005	1.31924	面包、杏仁、甜味
9	3-甲基-2-丁烯醛	C ₅ H ₈ O	203.726	1.35921	甜味、水果
10	(E)-2-戊烯醛	C ₅ H ₈ O	195.262	1.09388	草莓、水果、番茄
11	甲酸异戊酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	198.083	1.27928	苹果、蜡味
12	乙酸异丁酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	184.878	1.59544	水果、苹果、香蕉
13	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	168.398	1.40657	杏仁、麦芽、辛辣味
14	乙酸丙酯	C ₅ H ₁₀ O ₂	168.155	1.47862	甜味、水果味
15	2-甲基-1-丁醇	C ₅ H ₁₂ O	185.688	1.46494	葡萄酒香、洋葱味
16	3-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	171.321	1.33271	黄油、奶油味
17	3-戊酮	C ₅ H ₁₀ O	166.937	1.3473	醚的气味
18	1-丁醇	C ₄ H ₁₀ O	159.632	1.37192	水果味
19	1-戊烯-3-醇	C ₅ H ₁₀ O	158.902	1.35642	黄油、辛辣味
20	异丁醇	C ₄ H ₁₀ O	152.327	1.35277	葡萄酒香、苦味
21	乙酸乙酯	C ₄ H ₈ O ₂	135.525	1.33727	菠萝味
22	2-乙基呋喃	C ₆ H ₈ O	159.632	1.29623	朗姆酒香、可可味
23	1-戊烯-3-酮	C ₅ H ₈ O	154.032	1.31721	辛辣味
24	甲酸丁酯	C ₅ H ₁₀ O ₂	172.782	1.20504	水果味、梅子朗姆酒香、白兰地酒香
25	丙酸	C ₃ H ₆ O ₂	156.223	1.27982	刺鼻、腐臭、大豆味
26	2-丁酮	C ₄ H ₈ O	128.95	1.24881	醚的气味、与樟脑气味有细微差别
27	丁醛	C ₄ H ₈ O	131.385	1.28985	刺鼻气味
28	醋酸	C ₂ H ₄ O ₂	156.467	1.15032	酸味
29	1-羟基-2-丙酮	C ₃ H ₆ O ₂	162.554	1.22875	甜味、焦糖味

(续表 1)

编号	挥发性成分名称	分子式	保留时间/s	漂移时间/ min	气味描述
30	2-丙醇	C ₃ H ₈ O	128.22	1.17403	酒精、霉味、木头气味
31	乙酸甲酯	C ₃ H ₆ O ₂	123.106	1.19318	乙醚的气味、水果味、葡萄酒、朗姆酒香
32	乙醇	C ₂ H ₆ O	103.869	1.13573	酒香
33	2-丙酮	C ₃ H ₆ O	111.174	1.11293	苹果、梨香
34	乙酸异丙酯	C ₅ H ₁₀ O ₂	152.327	1.48044	乙醚的气味、香蕉味
35	3-甲基丁醛	C ₅ H ₁₀ O	152.571	1.4084	麦芽味
36	丙酸乙酯	C ₅ H ₁₀ O ₂	166.694	1.45764	水果味
37	丁酸乙酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	203.22	1.55795	菠萝香味、百香果味、草莓味
38	乙酸丁酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	210.038	1.6227	梨香
39	2-甲基丁酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	231.467	1.65097	苹果香
40	E-3-己烯醇	C ₆ H ₁₂ O	246.321	1.54154	油漆味
41	(E)-2-己烯醛	C ₆ H ₁₀ O	230.736	1.49686	苹果香
42	4-甲基-3-戊烯-2 酮	C ₆ H ₁₀ O	203.707	1.44852	甜味
43	己醛	C ₆ H ₁₂ O	206.386	1.29167	草香、牛脂、脂肪味
44	乙酸异戊酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	246.518	1.74574	香蕉味
45	2,3-二甲基吡嗪	C ₆ H ₈ N ₂	267.159	1.48251	坚果、花生酱、可可香
46	辛醛	C ₈ H ₁₆ O	335.388	1.3838	脂肪、肥皂、柠檬味
47	2-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	354.536	1.45084	蘑菇、脂肪味
48	己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	355.011	1.80321	苹果皮、水果味
49	丁酸丁酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	335.787	1.82915	香蕉、菠萝、热带水果味
50	2-庚醇	C ₇ H ₁₆ O	274.66	1.36738	蘑菇气味
51	丁酸丙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	264.268	1.68266	水果、甜杏、菠萝味、腐臭味
52	2-甲基丙酸乙酯	C ₆ H ₁₂ O ₂	186.19	1.5665	甜味、橡胶气味
53	异戊醇	C ₅ H ₁₂ O	177.224	1.49911	威士忌酒、麦芽香
54	2-甲基戊醛	C ₆ H ₁₂ O	197.183	1.52941	醚的气味、水果味

注:气味描述来自 <http://www.flavornet.org/> 和 <http://www.thegoodscentscompany.com/>。

2.3 核桃仁挥发性成分指纹图谱

为了更加直观区分不同温度下贮藏的核桃仁中挥发性风味物质含量差异,利用 Gallery Plot 插件生成如图 5 所示的指纹图谱,图中每一行代表一个样品中选取的全部信号峰,图中每一列代表同一挥发性有机物在不同样品中的信号峰,部分物质后面有 M、D,是同一个物质的单体(Monomer)与二聚体(Dimer),数字编号的是未鉴定出的峰。

为清晰呈现不同温度下核桃仁挥发性风味物质的差异,将图 5 种对应的挥发性风味物质的峰面积归一,得到各种挥发性风味物质的相对含量。由相对含量可知,醇类在各组核桃仁的挥发性风味物质中浓度较高,乙醇(酒香)等饱和醇一般来自于脂肪氧化分解或羰基化合物的还原^[16],其风味阈值高^[17],被认为对风味贡献很小,但乙醇在众

多挥发性风味物质中含量很高,对核桃仁的风味有一定影响^[18],值得注意的是乙醇在 25℃ 中含量随着贮藏时间由 62.85% 下降至 49.87%,变化幅度远远大于其它两组,且 25℃ 组核桃仁在贮藏过程中有明显异味产生,因此异味来源之一可能是乙醇在贮藏过程中转变成了其它风味物质;不饱和醇阈值相对较低,对核桃的风味贡献较大,1-戊烯-3-醇(辛辣味)在贮藏过程中表现出下降的趋势,25℃ 组相对含量由 0.25% 下降至 0.16%,4℃ 组中含量由 0.10% 下降至 0.09%, -18℃ 组中含量由 0.14% 下降至 0.04%,虽然贮藏过程中均有不同程度的下降,但下降后仍是 25℃ 组含量最高,说明低温可在一定程度上减缓核桃仁不良风味的产生。

酯类物质可以赋予食物果味^[19],乙酸乙酯是本研究中含最高的酯类物质,各组核桃仁中都

4℃、-18℃组,25℃组有较明显变质趋势,因此推测丁酸乙酯与核桃的品质劣变有关,可作为核桃品质劣变评判的关键指标。

挥发性风味物质中的醛类主要来自于脂肪氧化^[22],其阈值较低。在贮藏过程中3个温度下核桃仁的挥发性风味物质中醛类物质含量均有不同程度的增加,这与Liu等^[23]的研究结果类似。核桃仁中富含油酸、亚油酸,这两种物质都是挥发性风味成分的重要前体物质,亚油酸容易氧化生成己醛、戊醛、庚醛和反式-2-庚醛,油酸容易氧化分解成壬醛和辛醛^[24]。这几种醛类在各组中均被发现,且25℃组含量高于其它两组,表明较高的温度下,核桃中核桃氧化较快,这也是25℃组核桃仁风味变化较为剧烈的原因之一。

酮来源于酒精氧化和酯分解的Strecker降解^[25],本研究中,不同温度贮藏的核桃仁酮类含量占总挥发性物质的2.37%~4.22%,贮藏过程中,-18℃组始终保持低于其它两组,这可能低温条件下核桃仁中的脂肪氧化较慢所致。带有辛辣味的1-戊烯-3-酮(辛辣味)在3组核桃仁贮藏过程中均表现出上升的趋势,这可能是核桃仁贮藏过程中不良风味的来源之一。

酸类主要来源于脂肪、氨基酸降解,是醛类、酯类等化合物的重要前体物质。3组贮藏的核桃仁中检测到醋酸、丙酸2种酸类,虽然种类少但相比于其他挥发性风味物质含量较高。各组核桃仁在贮藏过程中乙酸含量均上升,丙酸和乙酸都具有刺激性气味,因此对核桃仁整体风味有不利

影响。

吡嗪和呋喃类物质主要来源于美拉德反应和Strecker降解反应^[26]。其中,吡嗪类具有强烈的烤香和坚果香味^[27],对食品风味的形成有重要贡献,有研究者在核桃油挥发性风味物质中检测到了大量吡嗪类物质^[28],而研究中只检测出了2种吡嗪,这主要是样品的处理方式的差异所导致的(文献中采用高温炒制、微波处理等方法)。本研究中,不同贮藏温度下吡嗪类物质的含量有一定差异,但4℃组的核桃仁中吡嗪含量较为稳定,表明4℃贮藏可以一定程度上保持核桃仁的良好风味。

2.4 贮藏温度对核桃仁挥发性风味物质的影响

对3个贮藏温度下的核桃仁挥发性风味物质进行比较,挥发性成分以醇类、酯类、醛类、酮类、酸类、吡嗪、呋喃为主。为呈现贮藏期间不同温度下核桃仁中各类挥发性风味物质的差异,根据峰面积来确定各类物质的浓度。由峰面积比较可知,-18℃组挥发性风味物质总浓度低于其它两组,表明冷冻贮藏能在一定程度上减少贮藏中核桃仁挥发性风味物质的产生。根据各类物质峰面积大小计算出相对含量(图6),从宏观上看,醇类物质占挥发性风味物质总体含量的50%以上,是含量最高的挥发性风味物质。总体上,3个贮藏温度下含量变化最大的物质为醇类和酯类,在25℃组中变化最明显,这也说明较高的温度对核桃仁的风味影响较大,低温可以在一定程度上保持核桃原有风味。

此外,对比不同贮藏时期核桃仁挥发性风味

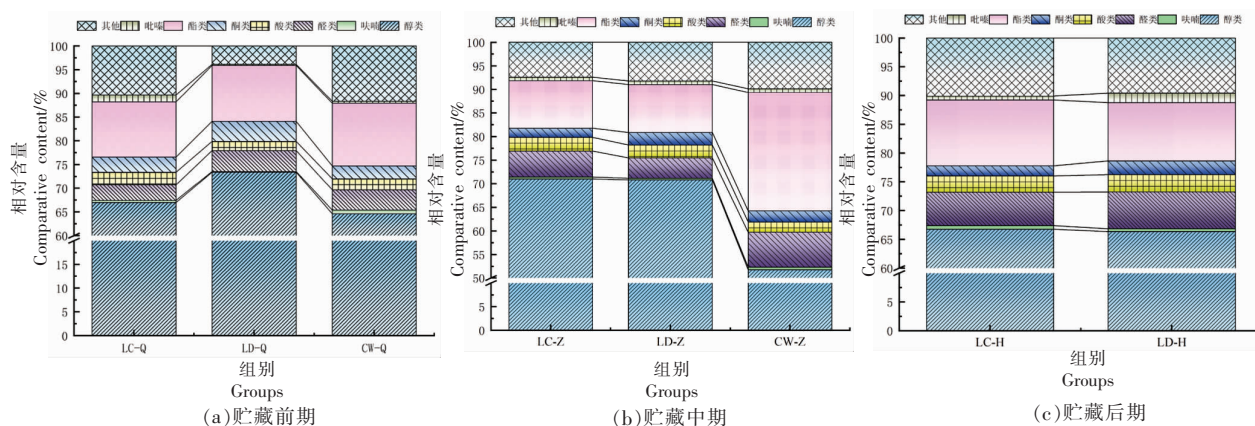


图6 不同贮藏温度下核桃仁挥发性风味物质相对含量

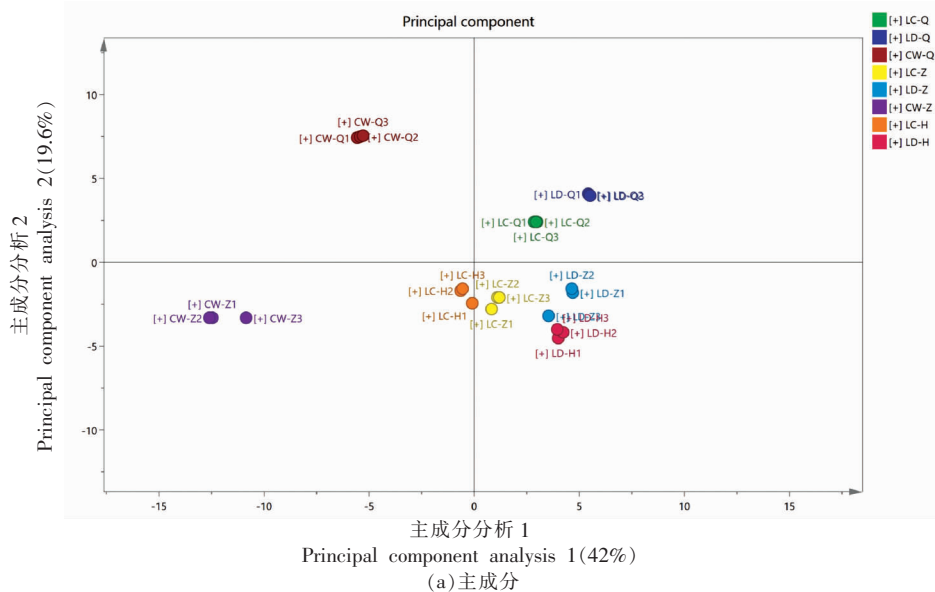
Fig.6 Relative contents of volatile flavor substances in walnut kernel at different storage temperatures

物质差异可以发现,在贮藏前期,不同温度下贮藏的核桃仁中醇类、酯类为主要挥发性风味物质,其中-18℃组核桃仁中醇类明显高于其它两组,而其未定性的挥发性风味物质低于其它两组,推测可能由于冻藏条件下核桃生理代谢慢、酶活性低。在贮藏的中期 25℃组的核桃仁已经腐败(肉眼观察),其中醇类含量明显减少,酯类和醛类含量增加,与其它两组核桃仁中的挥发性风味物质表现出较大的差距。在贮藏后期,4℃组和-18℃组的核桃仁挥发性风味物质含量差异较小,各类化合物所占比例也基本接近,说明较低的温度可有效影响挥发性风味物质的产生。综上所述,较高的贮藏温度下,核桃仁风味变化加剧,产生挥发性风味物质浓度也相对较高,这是由核桃仁腐败变质引

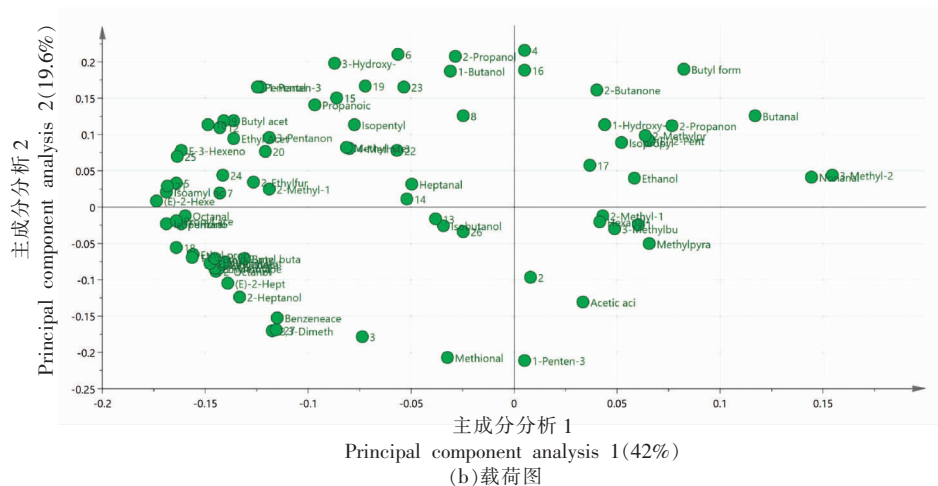
起的变化;较低的温度下,核桃仁的挥发性风味物质浓度相对较低,各类物质相对含量也较为稳定,更有利于核桃仁的贮藏,但温度过低,核桃仁特有的风味会受到一定影响。因此,适当的低温更适合核桃仁短期贮藏且能保持核桃仁较好的风味品质。

2.5 核桃仁挥发性有机物相似度分析

GC-IMS 测试结果谱图结合多元统计模型,已经在多种食品挥发性风味物质区分判别方面被报道^[29-30]。对不同温度下贮藏的核桃仁的 GC-IMS 谱图数据(图 5 中挥发性风味物质峰面积归一化处理)进行主成分分析,以便更好的区分不同温度下不同贮藏期核桃仁挥发性风味物质之间的差异。如图 7a 可知,累计贡献率在 60%以上,



(a)主成分



(b)载荷图

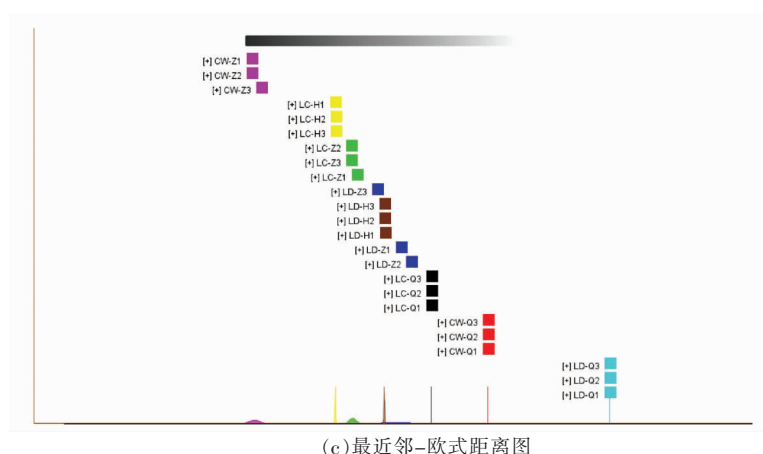


图7 不同贮藏温度核桃仁挥发性有机物相似度分析

Fig.7 Similarity analysis of volatile organic compounds in walnut kernel at different storage temperatures

3个温度下贮藏的核桃仁挥发性风味物质有较好的分离,核桃仁25℃贮藏与4℃、-18℃组贮藏风味特征差异较大,4℃和-18℃组大多数位于一、四象限且距离较近,4℃组后期位于三、四象限交界处,25℃组位于二、三象限;整个贮藏期4℃和-18℃风味虽然较为相似,但对比同一贮藏时期,仍然有较大差异,可以实现较好的区分。这结果与指纹图谱、相对含量分析结果一致。说明GC-IMS技术在不同温度下贮藏的核桃仁风味鉴别上有很好的应用前景。图7b为载荷图,联合主成分得分图可更好反映不同贮藏温度下核桃仁挥发性有机物的差异。

最近邻-欧式距离图(图7c)用于分析核桃仁风味特征的差异。具有较高相似度的风味成分在图中较为接近。由图可知,随着贮藏时间的延长,25℃组与其它两组表现出较大的差异,4℃和-18℃组核桃仁风味较为接近。从贮藏时间来看,随着时间的延长,25℃条件下核桃仁风味变化最大,-18℃条件下核桃仁风味变化次之,4℃条件下核桃仁风味变化最小。因此,从风味角度来说,适当的低温更有利于核桃原有风味的保留,较低或较高的温度反而会影响核桃整体的风味。

2.6 不同核桃仁样品中差异挥发性有机物筛选

通过鉴别几种标志性风味物质实现核桃风味变化快速评价是生产中较为可行的方法,但本研究中不同贮藏温度下的核桃仁检测到大量的挥发性风味物质,难以简便、快速对核桃的风味进行评价。因此,可进一步筛选出3个温度下核桃仁的关

键性差异风味物质。

基于GC-IMS指纹图谱,对3个贮藏温度下核桃仁中检测到的54种挥发性进行可视化后,在可靠的OPLS-DA模型基础上,根据变量重要性(VIP值)将不同风味物质对核桃仁风味影响的贡献大小进行量化。在贮藏后期,25℃组的核桃仁已经腐败变质,因此为了更好地对比3个温度下各挥发性风味物质的差异,选择贮藏中期(贮藏第30天,核桃仁品质差异大)各温度下的核桃仁进行差异挥发性风味物质进行筛选(VIP>1)。共筛选出17种,分别是2-丙酮(1.480)、庚醛(1.477)、己醛(1.439)、乙酸异丁酯(1.378)、2-丁酮(1.357)、1-丁醇(1.350)、羟基丙酮(1.348)、异丁醇(1.320)、乙醇(1.256)、丁醛(1.249)、乙酸(1.223)、2-甲基-1-戊醇(1.208)、乙酸乙酯(1.129)、苯乙醛(1.068)、(E)-2-戊烯醛(1.038)、异丙醇(1.022)、壬醛(1.005)。对17种筛选出的挥发性风味物质进行主成分分析(如图8b),可以看出累计贡献率为86%,可解释大部分样品间的变异。聚类热图也表明,17种标记性挥发性风味物质可以实现对不同温度下贮藏核桃仁风味的明显区分。说明筛选出的17种差异挥发性风味物质将不同组别样品分类较好。基于OPLS-DA结合变量重要投影(VIP>1)方法筛选的标记性挥发性的研究已有报道^[31],本研究筛选到的这些关键性风味物质可以实现对不同贮藏温度核桃仁样品的区分,进一步结合各贮藏时期含量变化,可实现贮藏过程中的核桃风味品质评价及腐败劣变预测。

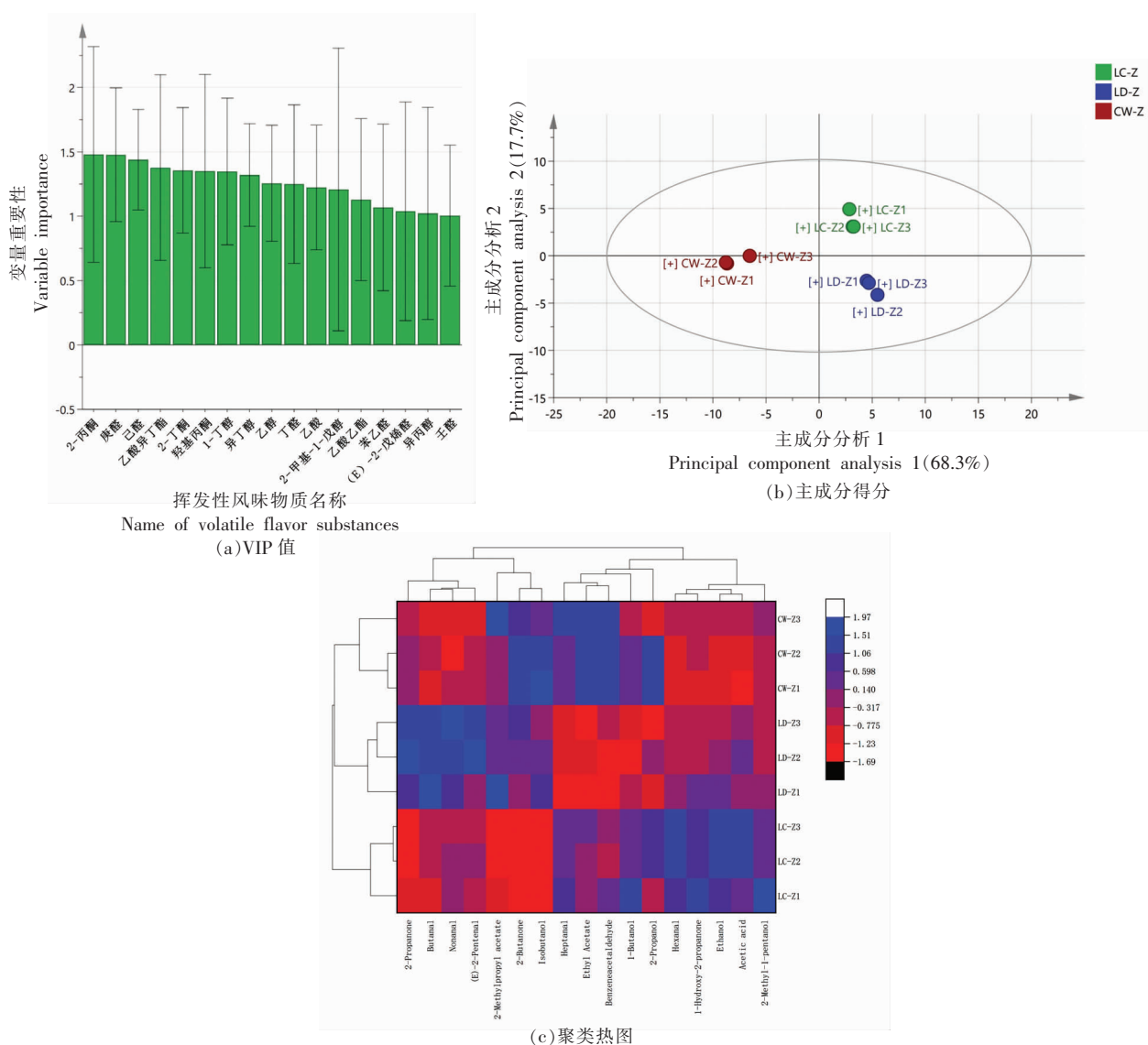


图 8 不同贮藏温度下核桃仁挥发性风味物质筛选

Fig.8 Screening of volatile flavor compounds of walnut kernel at different storage temperatures

3 结论

通过 GC-IMS 技术分析不同贮藏温度下鲜核桃仁的挥发性风味物质差异,共鉴定出 54 种挥发性风味物质,包括酯类物质 16 种,醛类物质 15 种,醇类物质 11 种,酮类物质 7 种,酸类物质 2 种,吡嗪 2 种,呋喃 1 种。整体上,核桃仁中的挥发性风味物质醇类、酯类含量较高,其次是醛类、酮类、酸类,吡嗪、呋喃类含量较少。25 °C 下的核桃仁风味变化最剧烈,4 °C 下的核桃仁风味变化程度最小。主成分欧氏距离分析结果与指纹图谱分析结果一致,同时也证实了,通过 GC-IMS 挥发性风味物质检测可以实现对不同贮藏温度下核桃仁的较

好区分。进一步通过 OPLS-DA 结合变量重要投影 (VIP) 筛选出 17 种关键性挥发性有机物 (VIP>1)。该研究基于 GC-IMS 技术建立了不同贮藏温度下核桃仁挥发性风味物质的指纹图谱,可视化勾勒出不同温度下贮藏的核桃仁挥发性有机物轮廓,为核桃贮藏方式的选择、贮藏品质特征变化规律提供了参考信息。本研究仅选择了 3 个差异较大的温度节点,后期将在 4~18 °C 之间进一步细化筛选新鲜核桃仁短期和长期贮藏的最佳温度,同时进一步研究整个贮藏期间新鲜核桃仁的品质变化和风味变化。

参 考 文 献

- [1] 袁奖娟, 郝佳波, 刘云, 等. 云南3种有色泡核桃仁营养成分及仁衣中多酚类物质分析[J]. 中国油脂, 2023, 48(5): 120-123, 128.
- YUAN J J, HAO J B, LIU Y, et al. Analysis of nutritional components in kernels and polyphenols in coat of three colored *Juglans sigillata* in Yunnan[J]. China Oils and Fats, 2023, 48(5): 120-123, 128.
- [2] ROS E, MARIA L P, PULIDO I, et al. Beneficial effects of walnut consumption on human health: role of micronutrients[J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2018, 21(6): 498-504.
- [3] BASHAN I, BAKMAN M. The effect of daily walnut consumption on dyslipidemia[J]. Journal of Food Quality, 2018, 731826: 6.
- [4] SEGURA R, JAVIERRE C, LIZARRAGA M A, et al. Other relevant components of nuts: Phytosterols, folate and minerals[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96(S2): S36-S44.
- [5] KALOGIOURI N P, MANOUI N, ROSENBERG E, et al. Exploring the volatile metabolome of conventional and organic walnut oils by solid-phase microextraction and analysis by GC-MS combined with chemometrics[J]. Food Chemistry, 2021, 363(30): 130331.
- [6] JING H, XIAO L X, FENG J, et al. HS-SPME GC-MS characterization of volatiles in processed walnuts and their oxidative stability[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57: 2693-2704.
- [7] 李寅珊, 刘光明, 李冬梅. GC-MS法鉴定漾濞泡核桃壳中挥发性化学成分[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(25): 15277-15278.
- LI Y S, LIU G M, LI D M. Identification of volatile components from shells of *Juglans sigillata* D. by GC-MS[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(25): 15277-15278.
- [8] WANG S Q, CHEN H T, SUN B G. Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS)[J]. Food Chemistry, 2020, 315: 126158.
- [9] WANG X R, YANG S P, HE J N, et al. A green triple-locked strategy based on volatile-compound imaging, chemometrics, and markers to discriminate winter honey and sapium honey using headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Research International, 2019, 119: 960-967.
- [10] ZHANG K Y, ZHANG C, ZHUANG H N, et al. Characterization of volatile component changes in peas under different treatments by GC-IMS and GC-MS[J]. Journal of Food Quality, 2021, 6533083: 13.
- [11] LING H Z, SHI H L, CHEN X H, et al. Detection of the microbial diversity and flavour components of northeastern Chinese soybean paste during storage[J]. Food Chemistry, 2021, 374: 131686.
- [12] LENG P, HU H W, CUI A H, et al. HS-GC-IMS with PCA to analyze volatile flavor compounds of honey peach packaged with different preservation methods during storage[J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 149: 111963.
- [13] GENG D C, CHEN X Y, LU D L, et al. Discrimination of different edible vegetable oils based on GC-IMS and SIMCA[J]. CyTA - Journal of Food, 2023, 21: 49-56.
- [14] ZHOU H, CUI W, GAO Y F, et al. Analysis of the volatile compounds in Fuliji roast chicken during processing and storage based on GC-IMS[J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 1484-1493.
- [15] ZHAO T F, BENJAKUL S, SANMARTIN C, et al. Changes of volatile flavor compounds in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) during storage, as evaluated by headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry and principal component analysis[J]. Foods, 2021, 10(12): 2917.
- [16] PONGSETKUL J, BENJAKUL S, VONGKAMJAN K, et al. Changes in volatile compounds, ATP-related compounds and antioxidative properties of Kapi, produced from *Acetes vulgaris*, during processing and fermentation[J]. Food Bioscience, 2017, 19: 49-56.
- [17] LI Y, YUAN L, LIU H J, et al. Analysis of the changes of volatile flavor compounds in a traditional Chinese shrimp paste during fermentation based on electronic nose, SPME-GC-MS and HS-GC-IMS[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(1): 173-182.
- [18] PENG W, OUYANG H, XU F R, et al. Exploring the effects of heat processing methods on the characteristic volatile flavour of walnut kernels based on

- multi-sensory analysis [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2022, 58(2): 543-556.
- [19] KEENAN D F, BRUNTON N P, MITCHELL M, et al. Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis [J]. *Food Research International*, 2012, 45(1): 17-25.
- [20] U Y Q, MINHAZUL K A H M, LI X T. The occurrence, enzymatic production, and application of ethyl butanoate, an important flavor constituent [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2020, 35(6): 601-615.
- [21] 郭燕, 邓杰, 任志强, 等. 响应面优化酿酒酵母与窖泥酯化细菌协同发酵产丁酸乙酯和己酸乙酯 [J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 209-217.
- GUO Y, DENG J, REN Z Q, et al. Optimization of the production of ethyl hexanoate and ethyl butyrate by cofermentation of *saccharomyces cerevisiae* and esterifying bacteria from pit mud of Chinese Baijiu using response surface methodology [J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 209-217.
- [22] GE S, CHEN Y Y, DING S H, et al. Changes in volatile flavor compounds of peppers during hot air drying process based on headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(7): 3087-3098.
- [23] LIU Y Y, FAN L P, LI J W, et al. Flavor and compositional analysis of macadamia nuts during long-term storage [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(5): e16540.
- [24] XU L R, YU X Z, LI M J, et al. Monitoring oxidative stability and changes in key volatile compounds in edible oils during ambient storage through HS-SPME/GC-MS [J]. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(3): S2926-S2938.
- [25] WANG C, ZHANG Z M, ZAHNG X Y, et al. Characterization of volatile compounds by HS-GC-IMS and chemical composition analysis of colored highland barley roasted at different temperatures [J]. *Foods*, 2022, 11(18): 2921.
- [26] PONGSETKUL J, BENJAKUL S, VONGKAMJAN K, et al. Changes in volatile compounds, ATP-related compounds and antioxidative properties of Kapi, produced from *Acetes vulgaris*, during processing and fermentation [J]. *Food Bioscience*, 2017, 19: 49-56.
- [27] LIU X J, JIN Q Z, LIU Y F, et al. Changes in volatile compounds of peanut oil during the roasting process for production of aromatic roasted peanut oil [J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(3): e404-e412.
- [28] ZHOU Y, FAN W, CHU F X, et al. Improvement of the flavor and oxidative stability of walnut oil by microwave pretreatment [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2016, 93(11): 1563-1572.
- [29] XU N, YE J J, LI L Y, et al. Exploration of flavor and taste of soft-boiled chicken at different post-mortem aging time: Based on GC-IMS and multivariate statistical analysis [J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101326.
- [30] LU W H, CHEN J, LI X B, et al. Flavor components detection and discrimination of isomers in Huaguo tea using headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry and multivariate statistical analysis [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2023, 1243: 340842.
- [31] DAI Q Y, JIANG Y, LIU S, et al. The impacts of brewing in glass tumblers and thermos vacuum mugs on the aromas of green tea (*Camellia sinensis*) [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 56: 4632-4647.

GC-IMS Analysis of Volatile Organic Compounds in Fresh Walnut Kernels at Different Storage Temperatures

Zhang Quan¹, Gu Fan¹, Wang Yuanli¹, Dai Jiahe^{1,2,3}, Tian Yang^{1,2,3}, Tao Liang^{1,2,3*}

¹College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201

²Engineering Research Center for the Development and Utilization of Food and Medicine Homologous Resources, Kunming 650201

³Yunnan Engineering Research Center for Drug and Food Homologous Functional Food, Kunming 650201)

Abstract The volatile flavor components of fresh walnut kernels stored at different temperatures were analyzed and compared by gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS). The results showed that 54 volatile flavor compounds were detected from walnut kernels stored at 25, 4 and -18 °C, including 16 esters, 15 aldehydes, 11 alcohols, 7 ketones, 2 acids, 2 pyrazines and 1 furan. The relative contents of alcohols and esters in the volatile flavor substances of walnut kernel were higher, followed by aldehydes, ketones and acids, and the relative contents of pyrazines and furans were the least. There were differences in the volatile flavor substances of walnut kernel at three temperatures, among which the flavor of walnut kernel at 25 °C changed most dramatically. Principal component analysis and Euclidean distance analysis showed that GC-IMS technology could better distinguish the flavor of walnut kernels at different storage temperatures. Conclusion: Based on GC-IMS technology, the fingerprint of volatile flavor substances of walnut kernels at different storage temperatures was established, and the profile of volatile organic compounds of walnut kernels stored at different temperatures was visually outlined, which provided a reference for the selection of walnut storage methods and the evaluation of walnut kernel deterioration degree.

Keywords gas chromatography-ion migration spectrometry (GC-IMS); storage; walnut quality; volatile flavor substances; principal component