

柠檬果肉真空冻结过程中挥发性风味成分变化

Changes of volatile flavor compounds in lemon pulp during vacuum freezing

王海鸥^{1,2}段肖杰^{1,3}吴雨龙^{1,2}WANG Hai-ou^{1,2}DUAN Xiao-jie^{1,3}WU Yu-long^{1,2}贲爱玲^{1,2}张伟^{1,2}华春^{1,2}BEN Ai-ling^{1,2}ZHANG Wei^{1,2}HUA Chun^{1,2}

(1. 南京晓庄学院食品科学学院, 江苏 南京 211171; 2. 江苏省高校“特殊生物质废弃物资源化利用”

重点建设实验室, 江苏 南京 211171; 3. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110161)

(1. School of Food Science, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171, China; 2. Jiangsu Provincial Key Construction Laboratory of Special Biomass Waste Resource Utilization, Nanjing, Jiangsu 211171, China; 3. Food College, Shenyang Agriculture University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

摘要:目的:探索柠檬果肉真空冻结过程中挥发性风味成分的变化规律。方法:利用电子鼻(E-nose)和气质联用(GC-MS)技术分别对新鲜、真空冻结 10, 20, 30 min 的柠檬果肉样品的挥发性风味物质进行分析。结果:E-nose 可以从整体上分析柠檬果肉中不同类别的挥发性风味成分,主成分分析和线性判别分析可区分新鲜和不同冻结时间的样品;GC-MS 分析发现真空冻结过程中柠檬果肉挥发性风味物质的种类和含量均显著下降($P < 0.05$);柠檬果肉中的主要挥发性风味物质主要是烯烃类、醇类、醛类化合物,其在真空冻结过程中的损失均呈先快后慢的趋势,通过热图和聚类分析可将真空冻结过程中所出现的挥发性风味成分划分为四大类;真空冻结 10 min 后, D-柠檬烯损失率最高;真空冻结 20 min 后,烯烃类、醇类和醛类化合物含量下降较为显著,酮类化合物含量变化不明显;真空冻结 30 min 后,出现了 2,4-二甲基苯甲醛和 2,4-二叔丁基苯酚新生挥发性风味成分。结论:柠檬果肉中绝大多数挥发性风味成分在真空冻结过程中呈明显下降趋势,并有部分新物质生成。

关键词:柠檬;挥发性风味成分;真空冻结;电子鼻;气质联用

Abstract: Objective: The variation characteristics of volatile

flavor compounds in lemon pulp during vacuum freezing were investigated in this study, aiming to provide theoretical guidance for the regulation of the volatile flavor quality of the vacuum frozen lemon pulp. **Methods:** The analysis technologies of the electronic nose (E-nose) and gas-mass spectrometry (GC-MS) were employed to measure the volatile flavor compounds in fresh samples and frozen samples after 10, 20, and 30 minutes of vacuum-freezing, respectively. **Results:** The results showed that E-nose could be used to analyze different types of volatile flavor compounds in lemon pulp. The samples with different freezing time could be distinguished by principal component analysis and linear discriminant analysis. It was found by GC-MS analysis that the categories and the contents of volatile flavor compounds in lemon pulp decreased significantly during the vacuum freezing process ($P < 0.05$). The main volatile flavor compounds in lemon pulp are olefins, alcohols, and aldehydes, presenting a decreasing trend of fast first and slow later during vacuum freezing. Based on the heatmap and clustering analysis, the volatile flavor compounds appeared during the vacuum freezing process could be divided into 4 categories. After 10 minutes of vacuum freezing, the loss rate of D-limonene was the highest among the three different treatments. After 20 minutes of vacuum freezing, the loss of volatile flavor compounds was mainly due to the decrease in the content of olefins, alcohols and aldehydes, while the variation in the content of ketones was not obvious. After 30 minutes of vacuum freezing, new volatile flavor compounds such as 2,4-dimethylbenzaldehyde and 2,4-di-tert-butylphenol were generated. **Conclusion:** Most of the volatile flavor compounds in lemon pulp showed a significant decreasing trend during the vacuum freezing process, and some new compounds were generated.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:31872901, 31301592);江苏省自然科学基金重大项目(编号:18KJA180007);江苏省高校重点建设实验室项目(编号:苏教科[2016]8);常州市农业科技支撑计划(编号:CE20202030)

作者简介:王海鸥(1978—),男,南京晓庄学院教授,博士。

E-mail: who1978@163.com

收稿日期:2021-08-17

Keywords: lemon; volatile flavor compounds; vacuum freezing; electronic nose; gas chromatography-mass spectrometry

柠檬(*Citrus limon*)是世界上继柑、橙之后的第三大柑橘类水果,已成为当前最受欢迎的水果之一^[1-2]。其果实含有丰富的营养物质,如挥发性风味成分、维生素、氨基酸和酚类物质等^[3-5]。新鲜柠檬不易贮藏,通常将其干燥加工制成柠檬片、柠檬粉,其中冻干柠檬制品深受消费者喜爱。新鲜柠檬中的挥发性风味成分主要为单萜、倍半萜、醛、单萜醇和单萜酯等化合物^[6-7],具有浓郁而独特的天然清香风味,同时可以改善人体循环系统,增强免疫力,预防抑郁症、焦虑症、神经障碍等疾病^[8-9]。但这些挥发性风味成分在柠檬加工过程中容易发生损失和转化,最终影响加工制品的风味品质^[10]。

真空冻结是一种新型快速冷冻技术。Pisano 等^[11]研究了一种动力学模型用来预测真空冻结冻干甘露醇和蔗糖的产品形态。王海鸥等^[12]将该技术应用于果蔬冻干的冻结前处理,证实它能够简化冻干工艺过程,减少冻干时间。与传统速冻方式相比,真空冻结技术冻结速度快,冻结时间短,降温效果均匀,清洁干净无污染^[13]。但真空冻结冻干一体化干燥过程中柠檬片的挥发性风味成分在真空状态下会从细胞组织中逸出,造成芳香成分的损失^[14]。目前有关柠檬果实中挥发性风味成分研究主要集中于果皮组织,但果肉是柠檬果实的最主要可食组织和加工利用部位,占柠檬质量的 60% 以上,其挥发性风味成分在真空冻结过程中的变化规律还有待深入研究。试验拟以柠檬果肉为研究对象,采用电子鼻(E-nose)结合气质联用(GC-MS)技术分析真空冻结过程中柠檬果肉挥发性风味物质的迁移及变化规律,旨在为真空冻结技术在果蔬加工业中的实际应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

新鲜尤力克柠檬:产地四川安岳,市售;
环己酮标准品:纯度>99.5%,美国 Sigma 公司;
便携式电子鼻传感器:PEN3 型,德国 Airsense 公司;
真空冷冻干燥机:SCIENTZ-50F 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;
GC-MS 联用仪:GCMS-QP 2010 型,日本岛津公司;
毛细管色谱柱:HP-5ms 型,美国 Agilent 公司;
磁力加热搅拌器:PC-620D,美国 Corning 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 柠檬果肉制备 将新鲜柠檬清洗干净,沿轴向切成厚度为 3 mm 的圆片,去除柠檬片中的皮、籽及囊衣,获得完整的柠檬果肉备用。

1.2.2 真空冻结 提前开启真空冷冻干燥机的制冷装置

使冷阱温度降到-40℃以下,将柠檬果肉样品铺放于冻干仓料盘上,设置真空冻结时间分别为 10, 20, 30 min。前期^[14]研究表明,柠檬果肉真空冻结 30 min 后其冷冻温度接近-30℃,达到速冻制品温度要求。

1.3 指标测定

1.3.1 失水率 随机选取质量约为 2 g 的柠檬果肉 5 块,分别记录物料真空冻结前后的质量,按式(1)计算真空冻结失水率。

$$M_L = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

M_L ——真空冻结失水率,%;

m_0 ——柠檬果肉块真空冻结前质量,g;

m_1 ——柠檬果肉块真空冻结后质量,g。

1.3.2 含水率 参照 GB 5009.3—2016 的直接干燥法。

1.3.3 E-nose 检测挥发性风味成分 准确称取测试样品 2 g,打碎,蒸馏水稀释 10 倍,取 5 mL 样液于 15 mL 顶空瓶中,加入转子,用聚四氟乙烯隔垫密封,400 r/min 下、50℃水浴 30 min。将电子鼻采样抽气管插入样品顶空瓶顶部,测定挥发性成分,每个处理样品重复 3 次。E-nose 测试程序参数设置:样品准备时间 5 s,测定时间 400 s,传感器清洗时间 200 s,载气流速 300 mL/min,进样流量 300 mL/min。PEN3 型电子鼻主要是模拟人体嗅觉系统,包含 10 个金属氧化物传感器,各传感器具体名称及性能描述如表 1 所示。

1.3.4 GC-MS 测定挥发性风味成分 准确称取测试样品 2 g,打碎,蒸馏水稀释 10 倍,取 5 mL 样液于 15 mL 顶空瓶中,准确移入 2 μ L 环己酮作为内标物,加入转子,用隔垫密封,将 CAR/PDMS/DVB 固相微萃取针插入样品瓶顶空部位,样品瓶于 50℃水浴 30 min,拔出萃取针插入 GC-MS 进样器中,250℃解吸 5 min,同时启动仪器采

表 1 电子鼻传感器名称及性能

Table 1 Names of electronic nose sensors and their performance descriptions

传感器名称	性能描述
W1C	对芳香成分灵敏,苯类
W5S	灵敏度大,对氮氧化物很灵敏
W3C	对芳香成分灵敏,氢类
W6S	主要对氢化物有选择性
W5C	对短链烷烃芳香成分灵敏
W1S	对甲基类灵敏
W1W	对硫化物灵敏
W2S	对醇类、醛酮类灵敏
W2W	对芳香成分灵敏
W3S	对长链烷烃灵敏

集数据。每个处理样品重复 3 次。

(1) 色谱条件: 色谱柱为 HP-5 ms (30 m × ID 0.25 mm × 0.25 μm) 分析柱; 初始温度 50 ℃, 保持 2 min, 以 3 ℃/min 升温至 230 ℃, 保持 3 min; 载气为高纯 He, 流速 1 mL/min; 进样口温度 250 ℃; 手动进样。

(2) 质谱条件: 电离化方式 EI; 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 ℃; MS 四极杆温度 150 ℃; 质量扫描范围 (m/z) 30~450; 扫描速率 5.27 次/s。

(3) 定性方法: 利用 GC-MS 自带的 NIST 图谱库对检测到的挥发性风味物质进行分析, 取相似性 > 70 的鉴定结果。相同程序下, 用 C₅~C₂₀ 正构烷烃作为标准, 计算样品中挥发性风味物质的保留指数 (RI)^[15], 并结合文献[16~18]进行定性, 确定相应的挥发性风味物质的化学成分。按式(2)计算保留指数。

$$R_i = 100 \times 100n(t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n), \quad (2)$$

式中:

R_i ——保留指数;

t_x, t_n, t_{n+1} ——被分析成分和碳原子数处于 n 和 $n+1$ 之间的正构烷烃混标标准品 ($t_n < t_x < t_{n+1}$) 流出峰的保留时间, min。

(4) 定量方法: 以被测样品中加入内标物环己酮的质量和离子流图上的峰面积作为参照, 对各挥发性风味成分进行半定量分析, 按式(3)计算各成分含量。

$$C_i = (S_i \times M_0) / (S_0 \times M_d), \quad (3)$$

式中:

C_i ——某种成分含量, mg/g;

S_i ——某种成分峰面积;

S_0 ——内标物峰面积;

M_0 ——加入的内标物质量, mg;

M_d ——加入的测试样品质量(由于冻结过程中物料因水分蒸发导致其质量发生变化, 而干基质量不变, 为了便于比较挥发性成分含量, 因此 M_d 为物料干基质量), g。

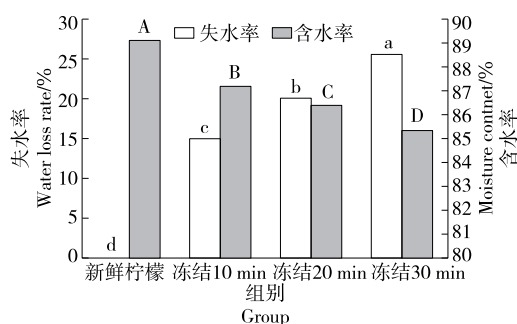
1.4 数据处理

利用电子鼻系统自带的 Winmuster 软件对电子鼻数据进行主成分分析 (PCA) 和线性判别分析 (LDA)。GC-MS 数据用 SPSS 19.0 软件和 Origin 8.6 软件进行统计分析和作图, 采用 Duncan's 法进行多重比较, 显著性水平 $P < 0.05$; 运用 Permut Matrix 1.9.3 进行分层聚类 and 热图分析。

2 结果与分析

2.1 真空冻结过程中柠檬果肉失水率和含水率变化

由图 1 可知, 真空冻结过程中, 柠檬果肉样品失水率逐渐增加, 4 个阶段样品失水率差异显著 ($P < 0.05$), 冻结 30 min 后失水率达 $(25.62 \pm 0.51)\%$ 。新鲜柠檬果肉的初始含水率为 $(89.12 \pm 0.43)\%$, 真空冻结过程中含水率逐



小写字母不同表示失水率差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母不同表示含水率差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 真空冻结过程中柠檬果肉失水率和含水率变化

Figure 1 Changes in water loss and moisture content of lemon pulp during vacuum freezing

渐减少, 4 个阶段样品含水率差异显著 ($P < 0.05$), 冻结 30 min 后柠檬果肉含水率为 $(85.37 \pm 0.42)\%$ 。

2.2 E-nose 分析

2.2.1 柠檬果肉挥发性风味雷达图 由图 2 可知, 随着真空冻结进程的推进, 柠檬果肉组织的挥发性风味成分整体存在显著差异, 说明真空冻结促使了柠檬果肉挥发性成分的变化及迁移。新鲜柠檬中 W2W、W1C、W5S、W1S 和 W2S 传感器的响应值较大, 表明新鲜柠檬中主要含有芳香族化合物、氮氧化物、醇类和醛酮类等挥发性成分。真空冻结 10 min 时, 柠檬果肉的 W2W、W1C、W5S 和 W2S 传感器响应值基本无变化, 真空冻结 20, 30 min 时, 柠檬果肉的 W2W、W1C、W1S 和 W5S 传感器响应值显著下降, 真空冻结 30 min 时分别下降了 68.73%, 39.70%, 35.37%, 33.55%, 说明真空冻结对柠檬果肉中芳香族化合物、甲基类化合物及氮氧化合物的影响较大, 真空冻结后这几类挥发性成分下降明显。

2.2.2 柠檬果肉挥发性风味成分的 PCA 和 LDA 分析

由图 3(a)可知, PC1 贡献率为 91.68%, PC2 贡献率

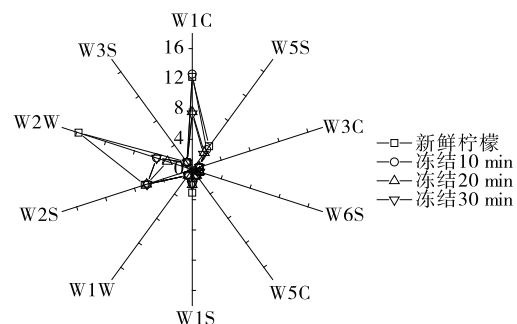


图 2 真空冻结过程柠檬果肉挥发性风味成分响应值雷达图

Figure 2 Radar chart of the response value of volatile flavor compounds of lemon pulp during vacuum freezing

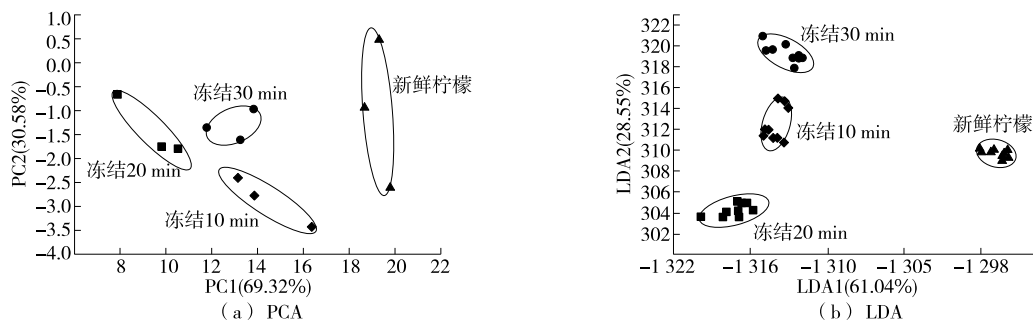


图3 真空冻结过程中柠檬果肉挥发性风味成分的PCA和LDA分析

Figure 3 PCA and LDA of volatile flavor compounds of lemon pulp during vacuum freezing

为7.01%，累积贡献率为98.69%，表明能较好地反映真空冻结过程中样品挥发性成分的变化。PC1中，新鲜果肉样品与冻结样品相距较远，表明冻结过程中样品挥发性成分相对于新鲜样品发生了较大变化。冻结10, 20, 30 min样品在PC1中距离较小，表明其挥发性成分比较接近。由图3(b)可知，LDA1贡献率为61.04%，LDA2贡献率为28.55%，总贡献率为89.59%，各冻结时间段样品的分布存在明显差异。LDA1中，新鲜果肉样品与其他冻结时间样品距离较远，说明其挥发性成分与其他样品的差别较大。冻结10, 20, 30 min样品在LDA1上的距离较接近，说明其挥发性成分较接近，但在LDA2上可完全分开。

综上，新鲜柠檬、冻结10, 20, 30 min 4个阶段果肉样品中的挥发性风味整体性特征呈明显差异，结合图1可以判断柠檬果肉中的整体挥发性成分在冻结过程中呈下降趋势。

2.3 GC-MS 分析

2.3.1 柠檬果肉挥发性风味成分种类及含量变化 由表2可知，新鲜柠檬果肉和不同冻结阶段柠檬果肉样品中共检出32种挥发性风味物质，主要由烯烃类(12种)、醇类(7种)、醛类(7种)、酯类(2种)、酮类(2种)、其他(2种)组成，新鲜柠檬果肉、冻结10, 20, 30 min样品中分别检出30, 28, 25, 22种风味化合物。新鲜柠檬果肉的挥发性风味成分总含量最高为26.86 mg/g，随着真空冻结进程的推进，挥发性风味成分总含量逐渐降低，真空冻结30 min时，挥发性风味成分含量降至10.45 mg/g。

柠檬果肉中挥发性成分主要以烯烃类物质为主，随着真空冻结的进行烯烃类化合物种类和含量逐渐减少，冻结30 min时烯烃化合物含量减少了65.48%。其中 α -水芹烯、 α -蒎烯、 α -松油烯、邻伞花烃在真空冻结过程的前期变化不显著($P>0.05$)，冻结30 min时呈显著变化($P<0.05$)；真空冻结对柠檬果肉中的D-柠檬烯、 γ -松油烯、异松油烯、 β -石竹烯、香橙烯影响非常大，冻结10 min时其分别降低35.62%，28.49%，31.58%，60.00%，

28.57%，冻结30 min时 β -石竹烯和香橙烯未检测到，D-柠檬烯、 γ -松油烯、异松油烯分别降低了63.52%，66.48%，73.68%。醇类是柠檬果味香气的重要成分之一，果实中的酯酶对其形成有重要影响，而且醇类物质在其他挥发性风味成分合成时起着溶剂或载体的作用^[19]。醇类化合物在真空冻结过程中变化非常明显，含量减少了56.72%；冻结30 min时(S)-顺式-马鞭草烯醇未检测到，芳樟醇和香茅醇损失最大，含量分别降低了75.41%，80.43%，香叶醇损失最小，仅降低了37.27%。醛类化合物在柠檬果肉挥发性成分中含量虽较低，但其是柠檬果肉风味的重要贡献物质，决定着柠檬果肉香气的质量^[20]，其种类和含量在真空冻结过程中也呈逐渐减少趋势，冻结30 min时减少了62.99%，冻结10 min时癸醛和拂地醛已完全损失，冻结20, 30 min时辛醛和紫苏醛未检测到，损失完全，但在冻结30 min时有2,4-二甲苯甲醛新物质生成。酮类化合物含量在真空冻结前20 min变化不显著，冻结30 min时有明显增加($P<0.05$)，主要是由2-甲基环戊酮引起的，随着冻结时间的延长，2-甲基环戊酮含量逐渐增加，冻结30 min时增加了65.79%。真空冻结过程中醛类化合物和酮类化合物有新物质的生成，可能是由于果肉组织结构遭到破坏，脂肪氧合酶与所含有亚油酸、亚麻酸等脂肪酸物质发生催化反应而生成新的物质^[21]。酯类物质是水果芬芳香味的主要来源物质，柠檬果肉中的酯类化合物由乙酸橙花酯和乙酸香叶酯组成，二者使得柠檬果肉具有果香味和玫瑰香味。

由图4可知，根据垂直树状图，柠檬果肉真空冻结过程中所检测的32种挥发性成分可划分为4类，其中2,4-二甲苯甲醛、2,4-二叔丁基苯酚为新生成物质，2-甲基环戊酮为含量增加的物质，此3种挥发性风味成分为一类。根据水平树状图，将新鲜柠檬果肉划分为独立的主类，将冻结10, 20 min柠檬果肉划分为一类，冻结30 min柠檬果肉划分为一类。从柠檬果肉4个时段样本在热图中色泽变化来看，绝大多数的挥发性风味成分在真空冻结过程中呈明显下降趋势。

表 2 真空冻结过程中柠檬果肉挥发性风味成分的半定量结果[†]

Table 2 Semi-quantitative analysis of volatile flavor compounds of lemon pulp during vacuum freezing

种类	化合物	保留时间/min	保留指数	相似度/ %	挥发性风味成分含量/(mg·g ⁻¹)			
					新鲜柠檬	冻结 10 min	冻结 20 min	冻结 30 min
烯烴类	α -水芹烯	9.148	828	95	0.08±0.04 ^a	0.06±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	ND
	α -蒎烯	9.460	913	95	0.48±0.09 ^a	0.39±0.11 ^a	0.28±0.18 ^a	0.13±0.02 ^b
	β -月桂烯	12.283	934	96	0.36±0.19 ^a	0.25±0.15 ^a	0.17±0.07 ^a	0.12±0.11 ^a
	α -松油烯	13.596	972	92	0.08±0.03 ^a	0.07±0.05 ^{ab}	0.05±0.03 ^{ab}	0.03±0.00 ^b
	邻伞花烴	14.046	983	96	0.19±0.03 ^a	0.15±0.04 ^{ab}	0.12±0.07 ^{ab}	0.08±0.04 ^b
	D-柠檬烯	14.444	990	94	12.83±0.11 ^a	8.26±0.27 ^b	5.43±0.01 ^c	4.68±0.02 ^d
	γ -松油烯	15.796	1 027	96	1.79±0.11 ^a	1.28±0.29 ^b	0.85±0.00 ^c	0.60±0.00 ^d
	异松油烯	17.008	1 059	95	0.19±0.02 ^a	0.13±0.03 ^b	0.09±0.00 ^c	0.05±0.02 ^d
	β -石竹烯	32.686	1 413	96	0.10±0.01 ^a	0.04±0.03 ^b	ND	ND
	香橙烯	33.392	1 432	90	0.07±0.01 ^a	0.05±0.00 ^b	ND	ND
	巴伦西亚橘烯	35.737	1 487	94	0.06±0.02 ^a	0.04±0.01 ^a	0.04±0.02 ^a	0.03±0.01 ^a
	(S)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)环己烯	34.889	1 451	90	0.34±0.09 ^a	0.14±0.03 ^b	0.11±0.02 ^b	ND
	小计				16.57±0.24 ^a	10.86±0.31 ^b	7.19±0.14 ^c	5.72±0.15 ^d
醇类	芳樟醇	17.809	1 078	98	0.61±0.01 ^a	0.32±0.03 ^b	0.18±0.02 ^c	0.15±0.02 ^c
	(S)-顺式-马鞭草烯醇	20.862	1 147	89	0.09±0.02 ^a	0.08±0.05 ^a	0.07±0.03 ^a	ND
	4-松油醇	21.716	1 166	94	0.83±0.01 ^a	0.56±0.04 ^b	0.44±0.00 ^c	0.34±0.00 ^d
	α -松油醇	22.457	1 184	95	2.06±0.09 ^a	1.57±0.04 ^b	1.05±0.06 ^c	0.94±0.01 ^d
	橙花醇	23.946	1 217	93	1.32±0.05 ^a	0.89±0.03 ^b	0.63±0.01 ^c	0.59±0.01 ^d
	香茅醇	24.138	1 221	96	0.46±0.13 ^a	0.23±0.05 ^b	0.13±0.07 ^b	0.09±0.03 ^c
	香叶醇	25.218	1 245	95	1.10±0.06 ^a	0.85±0.02 ^b	0.74±0.06 ^c	0.69±0.18 ^c
	小计				6.47±0.18 ^a	4.50±0.06 ^b	3.24±0.10 ^c	2.80±0.20 ^d
醛类	辛醛	12.969	954	92	0.12±0.07 ^a	0.06±0.01 ^a	ND	ND
	壬醛	18.040	1 086	97	0.18±0.02 ^a	0.09±0.02 ^b	0.07±0.01 ^b	0.05±0.00 ^c
	癸醛	23.130	1 196	96	0.06±0.01 ^a	ND	ND	ND
	2,4-二甲基苯甲醛	23.419	1 204	95	ND	ND	ND	0.08±0.03 ^a
	柠檬醛	25.028	1 231	97	2.16±0.09 ^a	1.72±0.04 ^b	1.08±0.12 ^c	0.91±0.12 ^c
	紫苏醛	26.267	1 266	92	0.12±0.03 ^a	0.05±0.02 ^b	0.04±0.03 ^b	ND
	拂地醛	13.430	967	79	0.17±0.11 ^a	ND	ND	ND
	小计				2.81±0.14 ^a	1.92±0.05 ^b	1.19±0.13 ^c	1.04±0.14 ^c
	乙酸橙花酯	30.123	1 356	97	0.46±0.04 ^a	0.25±0.03 ^b	0.17±0.01 ^c	0.11±0.03 ^d
酯类	乙酸香叶酯	30.975	1 374	97	0.21±0.03 ^a	0.17±0.03 ^{ab}	0.12±0.02 ^b	0.08±0.01 ^c
	小计				0.67±0.05 ^a	0.42±0.04 ^b	0.29±0.03 ^c	0.19±0.03 ^d
酮类	香芹酮	24.781	1 234	92	0.13±0.04 ^a	0.08±0.05 ^{abc}	0.04±0.00 ^b	0.03±0.00 ^c
	2-甲基环戊酮	39.970	1 595	86	0.13±0.02 ^b	0.18±0.11 ^{ab}	0.24±0.06 ^a	0.38±0.14 ^a
	小计				0.26±0.04 ^b	0.26±0.12 ^b	0.28±0.06 ^b	0.41±0.14 ^a
	2,4-二叔丁基苯酚	35.839	1 489	94	ND	ND	ND	0.29±0.00 ^a
其他	丁酸酐	39.528	1 584	85	0.08±0.05 ^a	ND	ND	ND
	小计				0.08±0.05 ^b	ND	ND	0.29±0.00 ^a
总计					26.86±0.43 ^a	17.96±0.52 ^b	12.19±0.33 ^c	10.45±0.27 ^d

[†] “ND”表示未检出或低于检测限;字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

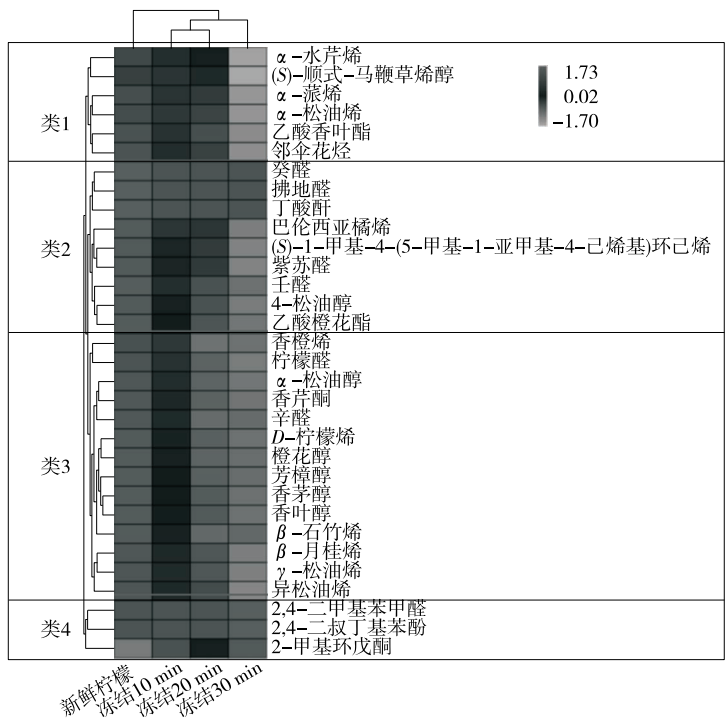


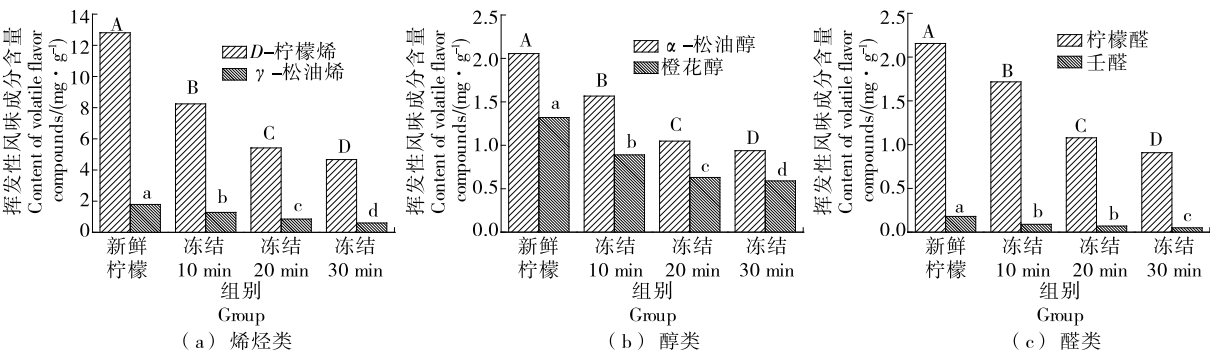
图4 柠檬果肉真空冻结过程中主要挥发性风味成分热图和分层聚类分析

Figure 4 Heat map and hierarchical clustering analysis of the main volatile compounds in lemon pulp during vacuum freezing

2.3.2 柠檬果肉主要挥发性风味成分损失规律分析 由图5可知,柠檬果肉中含量较高的挥发性风味成分主要为D-柠檬烯、 γ -松油烯、 α -松油醇、橙花醇、柠檬醛、壬醛,均呈逐渐降低趋势。真空冻结过程中真空度的快速下降促使柠檬果肉中的水分急速变成水蒸气,柠檬果肉表面呈沸腾状态,挥发性风味成分随着水蒸气的散逸,随之从果肉表面逸去,造成挥发性风味成分的大量损失,与谢焕雄等^[22]的结果一致。

D-柠檬烯在柠檬果肉挥发性风味成分中含量最高,新鲜柠檬中为12.83 mg/g,具有愉快的甜香、柑橘香和柠檬香,阈值为34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[23-24],研究^[25-27]指出D-柠檬烯为

柑橘类的主要特征香气。真空冻结过程中D-柠檬烯的损失非常大,冻结10 min时的损失速率最大,为0.46 $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$,冻结20,30 min时损失速率分别为0.28,0.08 $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 。 γ -松油烯在挥发性风味中含量位居第二,具有芳香的松木气味^[28],真空冻结期间也呈逐渐损失趋势,损失速率分别为0.05,0.04,0.02 $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 。这种现象可能是由于真空冻结初期柠檬果肉的水处于游离状态,很容易随着水蒸气的逃逸而损失,随着真空冻结进程的进行柠檬果肉中的水分逐渐被冻结,逃逸难度增加,挥发性风味成分损失速率也随之减小。柠檬果肉醇类化合物中 α -松油醇和橙花醇含量较高,在真空冻结过



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图5 柠檬果肉中主要烯烃类、醇类和醛类在真空冻结过程中的变化

Figure 5 Changes in the content of main olefins, alcohols and aldehydes in lemon pulp during vacuum freezing

程中损失呈先快后慢的趋势。 α -松油醇为柠檬烯的降解产物,呈腐败味,是柠檬果实的主要醇类风味物质,与涂勋良等^[29]、何朝飞等^[30]的结果一致。橙花醇在柠檬果肉醇类化合物含量中排第二,与香叶醛均是柠檬醛的同分异构体,三者共同作用形成了典型的柠檬香气^[30]。柠檬醛在柠檬果肉醇类物质中含量最高,具有愉悦的香气,是一种不饱和醛,也是柠檬油特征香气的主要成分^[26]。壬醛在醛类中含量第二,主要来自不饱和脂肪酸的氧化,具有强烈的玫瑰花香和甜橙气息^[31],其阈值较低,为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ^[32]。柠檬醛和壬醛含量在 30 min 的真空冻结过程中平均损失速率分别为 $0.040, 0.005 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 。

3 结论

试验表明,电子鼻联合气质联用检测技术发现真空冻结过程中柠檬果肉挥发性风味成分均呈逐渐损失的趋势。PCA 和 LDA 分析表明新鲜果肉以及不同真空冻结时间的样品整体挥发性风味成分具有明显差异,说明挥发性风味成分在真空冻结过程中不断发生变化。气质联用技术分析发现新鲜柠檬果肉和不同冻结时间样品的挥发性风味成分共 32 种,主要为烯烃类、醇类、醛类、酯类、酮类等化合物,聚类分析可将真空冻结过程中所出现的挥发性风味成分划分为四大类。真空冻结使得柠檬果肉的风味物质种类和含量均下降,真空冻结 20 min 后,果肉挥发性风味成分含量的损失主要以烯烃类、醇类和醛类为主,酮类化合物含量变化不明显。真空冻结 30 min 后,有新的挥发性化合物生成,包括 2,4-二甲基苯甲醛和 2,4-二叔丁基苯酚;整个真空冻结过程中只有 2-甲基环戊酮含量逐渐增加。

柠檬果肉挥发性风味成分在真空冻结过程发生变化的原因非常复杂,有可能是原有挥发性风味成分在真空条件下的物理挥发损失所致,也有可能是果肉组织中相关前体物质参与各种化学转化所致,其变化作用机理还有待深入研究。

参考文献

[1] 辜雪冬, 肖娟, 周康, 等. 纤维素酶辅助水蒸气蒸馏提取柠檬果皮精油工艺优化[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 151-158.
GU Xue-dong, XIAO Juan, ZHOU Kang, et al. Optimization on essential oil extraction of lemon peel by cellulase-assisted hydrodistillation[J]. Food & Machinery, 2018, 34(8): 151-158.
[2] ZHANG Pei-yu, ZHOU Zhi-qin. Postharvest ethephon degreening improves fruit color, flavor quality and increases antioxidant capacity in 'Eureka' lemon (*Citrus limon* (L.) burm. f.) [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 248: 70-80.
[3] GONZÁLEZ-MOLINA E, DOMÍNGUEZ-PERLES R, MORENO D A, et al. Natural bioactive compounds of citrus limon for food and health[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010,

51(2): 327-345.
[4] GARCÍA-SALAS P, GÓMEZ-CARAVACA A M, ARRÁEZ-ROMÁN D, et al. Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 869-878.
[5] HSIEH C Y, HSIEH S L, CIOU J Y, et al. Lemon juice bioactivity in vitro increased with lactic acid fermentation[J]. International Journal of Food Properties, 2021, 24(1): 28-40.
[6] MEHL F, MARTI G, BOCCARD J, et al. Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: a metabolomic approach [J]. Food Chemistry, 2014, 143: 325-335.
[7] PAW M, BEGUM T, GOGOI R, et al. Chemical composition of citrus limon L. burmf peel essential oil from north east india [J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2020, 23(2): 337-344.
[8] FUKUMOTO S, MORISHITA A, FURUTACHI K, et al. Effect of flavor components in lemon essential oil on physical or psychological stress[J]. Stress and Health, 2008, 24(1): 3-12.
[9] 章斌, 侯小桢, 秦轶, 等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 138-142.
ZHANG Bin, HOU Xiao-zhen, QIN Yi, et al. Research on antimicrobial and antioxidant activities of major components of lemon peel essential oil[J]. Food & Machinery, 2017, 33(12): 138-142.
[10] DÍAZ-MAROTO M, PÉREZ-COELLO M, CABEZUDO M. Effect of different drying methods on the volatile components of parsley (*Petroselinum crispum* L.) [J]. European Food Research and Technology, 2002, 215(3): 227-230.
[11] PISANO R, CAPOZZI L C. Prediction of product morphology of lyophilized drugs in the case of vacuum induced surface freezing[J]. Chemical Engineering Research & Design, 2017, 125: 119-129.
[12] 王海鸥, 胡志超, 屠康, 等. 真空冷却预处理在微波冻干胡萝卜片中的应用[J]. 农业工程学报, 2011, 27(7): 358-363.
WANG Hai-ou, HU Zhi-chao, TU Kang, et al. Application of vacuum-cooling pretreatment to microwave freeze drying of carrot slices[J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(7): 358-363.
[13] DRUMMOND L, MEINERT L, KOCH A G, et al. Safety and quality evaluation of large meat joints cooled by a precommercial immersion vacuum cooling prototype [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 50(9): 2 066-2 073.
[14] 王海鸥, 谢焕雄, 陈守江, 等. 不同干燥方式对柠檬片干燥特性及品质的影响[J]. 农业工程学报, 2017, 33(14): 292-299.
WANG Hai-ou, XIE Huan-xiong, CHEN Shou-jiang, et al. Effect of different drying methods on drying characteristics and qualities of lemon slices [J]. Transactions of the CSAE, 2017, 33(14): 292-299.
[15] 杨忠全, 阚建全, 陈光静, 等. 新鲜薏仁米与异味薏仁米挥发性成分对比分析[J]. 食品与机械, 2017, 33(7): 35-39.
YANG Zhong-quan, KAN Jian-quan, CHEN Guang-jing, et al. Contrastive analysis of volatile compounds from fresh adlay seeds

- and those with off-flavor[J]. Food & Machinery, 2017, 33(7): 35-39.
- [16] ALLEGRONE G, BELLARDO F, CABELLA P. Comparison of volatile concentrations in hand-squeezed juices of four different lemon varieties [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, 54(5): 1 844-1 848.
- [17] 乔宇, 范刚, 谢笔钧, 等. 固相微萃取—气质联用分析锦橙果皮香气成分[J]. 精细化工, 2007, 24(8): 800-804.
- QIAO Yu, FAN Gang, XIE Bi-jun, et al. Analysis of aroma components from peel of jincheng orange by solid phase microextraction coupled with GC-MS[J]. Fine Chemicals, 2007, 24(8): 800-804.
- [18] SMADJA J, RONDEAU P, SING A S C. Volatile constituents of five Citrus Petitgrain essential oils from Reunion[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2005, 20(4): 399-402.
- [19] REGA B, FOURNIER N, GUICHARD E. Solid phase microextraction (SPME) of orange juice flavor: odor representativeness by direct gas chromatography olfactometry (D-GC-O) [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2003, 51(24): 7 092-7 099.
- [20] 宋焕禄. 食品风味化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 97-110.
- SONG Huan-lu. Food flavor chemistry[M]. Beijing: Chemical Industrial Press, 2007: 97-110.
- [21] 牛丽影, 马玉玲, 吴建平, 等. 鲜食玉米中脂氧合酶活力、脂肪酸与挥发性成分的相关性研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(5): 59-64.
- NIU Li-ying, MA Yu-ling, WU Jian-ping, et al. Correlation analysis of lipoxygenase (LOX) activity and fatty acids with volatile components in fresh corn[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(5): 59-64.
- [22] 谢焕雄, 胡志超, 王海鸥, 等. 真空冷冻干燥对柠檬挥发性风味化合物保留的影响[J]. 农业工程学报, 2018, 34(22): 282-290.
- XIE Huan-xiong, HU Zhi-chao, WANG Hai-ou, et al. Effect of vacuum freeze-drying methods on retention of volatile flavor compounds of lemon[J]. Transactions of the CSAE, 2018, 34(22): 282-290.
- [23] VILLATORO L M L, FUENTES T C. Volatile compounds, quality parameters and consumer acceptance of 'Pink Lady' apples stored in different conditions[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 43: 55-66.
- [24] 孙培培, 黄明泉, 孙宝国, 等. 茴香豆挥发性成分分析[J]. 食品科学, 2011, 32(20): 208-213.
- SUN Pei-pei, HUANG Ming-quan, SUN Bao-guo, et al. Analysis of volatile components from fennel bean[J]. Food Science, 2011, 32(20): 208-213.
- [25] 朱春华, 高俊燕, 李进学, 等. 柠檬和莱檬果皮精油挥发性成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(11): 1 565-1 570.
- ZHU Chun-hua, GAO Jun-yan, LI Jin-xue, et al. Volatile components analysis of the peel of lemon and lime species[J]. Natural Product Research Development, 2012, 24(11): 1 565-1 570.
- [26] 朱春华, 李进学, 高俊燕, 等. GC-MS 分析柠檬不同品种果皮精油成分[J]. 现代食品科技, 2012, 28(9): 1 223-1 227.
- ZHU Chun-hua, GAO Jun-yan, LI Jin-xue, et al. Analysis of volatile components of the peel of different lemon cultivars[J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(9): 1 223-1 227.
- [27] 陈静慧, 石浩, 张强, 等. 基于电子鼻和顶空固相微萃取—气相质谱联用技术分析柠檬草中的挥发性成分[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(3): 231-236.
- CHEN Jing-hui, SHI Hao, ZHANG Qiang, et al. Analysis of volatile components in lemongrass by electronic nose and headspace solid phase microextraction coupled with gas phase mass spectrometry[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(3): 231-236.
- [28] 郝菊芳, 徐玉娟, 李春美, 等. 不同品种荔枝香气成分的 SPME/GC-MS 分析[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 389-393.
- HAO Ju-fang, XU Yu-juan, LI Chun-mei, et al. Analysis of aromatic compositions in different breeds of litchi by SPME/GC-MS methods[J]. Food Science, 2007, 28(12): 389-393.
- [29] 涂勋良, 阳姝婷, 李亚波, 等. 8 个不同柠檬品种果皮香气成分的 GC-MS 分析[J]. 植物科学学报, 2016, 34(4): 630-636.
- TU Xun-liang, YANG Shu-ting, LI Ya-bo, et al. Analysis of aromatic components from the peels of eight lemon varieties by GC-MS[J]. Plant Science Journal, 2016, 34(4): 630-636.
- [30] 何朝飞, 冉玥, 曾林芳, 等. 柠檬果皮香气成分的 GC-MS 分析[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 175-179.
- HE Chao-fei, RAN Yue, ZENG Lin-fang, et al. Analysis of aroma components from peels of different lemon varieties by GC-MS[J]. Food Science, 2013, 34(6): 175-179.
- [31] 方燕, 过世东, 王利平. 中华鳖肌肉和裙边挥发性风味成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(6): 111-115.
- FANG Yan, GUO Shi-dong, WANG Li-ping. Analysis of volatile flavor components in muscle and skirt of trionyx sinensis[J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(6): 111-115.
- [32] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 20-28.
- SUN Bao-guo. Eat flavoring technique[M]. Beijing: Chemical Industrial Press, 2010: 20-28.