

网络出版时间:2020-09-25 14:28 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2021.03.012
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200924.1326.012.html

基于电子鼻和 GC-MS 的酶解猕猴桃汁 香气成分动态解析

周元,傅虹飞,胡亚云

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】研究 β -葡萄糖苷酶对猕猴桃汁挥发性物质释放的作用和影响,为猕猴桃汁酶解增香技术的应用提供参考。【方法】猕猴桃汁在 β -葡萄糖苷酶加酶量为 8 U/g,酶解温度为 35 °C,酶解时间为 0~8 h 的条件下进行酶解处理,采用电子鼻技术(E-nose)和固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术(SPME-GC-MS)分析其香气成分的动态变化。【结果】电子鼻的萜烯类、醇类、氮氧化物、烷烃类和芳香类物质等传感器对酶解猕猴桃汁香气物质表现敏感,表明其可以用于监测酶解过程中猕猴桃汁的香气变化。猕猴桃汁经电子鼻传感器检测的强度值随酶解时间增加,于酶解 6 h 达到最高后略有下降。SPME-GC-MS 检测结果表明,在酶解猕猴桃汁样品中共鉴定到 47 种挥发性物质,以顺-3-己烯-1-醇、反-2-己烯-1-醇、1,8-桉叶素、戊醛、己醛、反-2-己烯醛、庚醛、顺-2-庚烯醛、辛醛、壬醛、癸醛、2-庚酮和甲基庚烯酮为主。与未酶解处理相比,酶解处理 4 h 猕猴桃汁的挥发性物质总量增加 20.53%。此外,双向偏最小二乘分析表明,挥发性物质的动态变化与电子鼻响应值的变化之间存在较好的对应关系。【结论】供试糖苷酶处理条件对提高猕猴桃汁中典型香气物质作用显著,电子鼻检测技术可为猕猴桃汁的酶解增香加工提供技术支持。

[关键词] 猕猴桃汁; β -葡萄糖苷酶; 酶解增香技术; 电子鼻; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] TS255.44; S663.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2021)03-0101-09

Evolution analysis of enzymatically released volatiles from kiwifruit juices using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry analysis

ZHOU Yuan, FU Hongfei, HU Yayun

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study investigated the effects of β -glucosidase on volatiles release from kiwifruit juice to provide basis for application of enzyme released volatiles technology. 【Method】 The electronic nose (E-nose) technique combined with solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry (SPME-GC-MS) were applied to analyze the volatiles releases from kiwifruit juice treated with β -glucosidase at 35 °C for 0–8 h, with an enzyme amount of 8 U/g juice. 【Result】 Kiwifruit juice aromas were detectable to E-nose sensors with characteristics representing terpenes, alcohols, nitrogen oxides, alkanes and aromatics, implying that E-nose was applicable for monitoring the evolution of kiwifruit juice aromas during enzyme processing. Values of E-nose sensors of enzyme processed kiwifruit juices increased with time and achieved the highest level at 6 h, followed by slightly decrease. SPME-GC-MS obtained a total of 47 volatiles, including (Z)-3-hexen-1-ol, (E)-2-hexen-1-ol, 1,8-cineol, pentanal, hexanal, (E)-2-hex-

[收稿日期] 2020-02-26

[基金项目] 陕西省农业科技创新与攻关项目“猕猴桃果酒增香酿酒酵母菌株的重组与构建”(2015NY071)

[作者简介] 周元(1979-),女,新疆哈密人,高级实验师,主要从事发酵食品加工工艺研究。E-mail: yuan0114@163.com

[通信作者] 傅虹飞(1983-),女,湖南醴陵人,副教授,硕士生导师,主要从事食品加工工艺研究。E-mail: fuhongfei@nwsuaf.edu.cn

nal, heptanal, (Z)-2-heptenal, octanal, nonanal, decanal, 2-heptanone and 6-methyl-5-hepten-2-one. The total content of aromas detected for 4 h enzyme processed kiwifruit juice was increased by 20.53% in comparison with untreated samples. Bidirectional orthogonal partial least squares (O2PLS) modeling was also performed to unveil the fine correlation between volatile compounds changes and E-nose sensors values variations. 【Conclusion】 Enzyme hydrolysis showed effective influences on improving typical aromas of kiwifruit juice and E-nose analysis technique provided fundamental technique supports for kiwifruit juice enzymatically released volatiles processing.

Key words: kiwifruit juice; β -glucosidase; enzymatically released volatiles technology; electronic nose; gas chromatography-mass spectrometry

香气是水果果实及其相关制品品质的重要感官指标^[1]。猕猴桃属(*Actinidia*)果实香气品质研究始于1982年^[2],目前已从美味(*A. deliciosa*)、中华(*A. chinensis*)、软枣(*A. arguta*)、毛花(*A. eriantha*)等不同品种猕猴桃果实中鉴别出醇类、酯类、酸类、酮类、萜烯类等香气物质,其中以来源于脂肪酸途径的醛类、酸类和醇类等物质含量较高^[3]。毛花猕猴桃香味比较清淡,挥发性物质组成与其他猕猴桃果实存在较大差异,推测其主要以结合态香气前体物质形式存在^[4]。而目前的相关研究多关注的是猕猴桃果实成熟过程及采后储藏期游离态挥发性物质的变化^[5-6],对于结合态香气前体物质的调控释放报道较少。

果实中结合态香气前体物质作为潜在的香气物质来源,其含量被认为是自由态的10倍^[7]。结合态香气前体物质本身无香气且不挥发或难挥发,为使这些潜在香气前体分子发挥功能,就需要解开结合态糖苷键,从而释放出具有挥发性的糖苷配基。糖苷配基主要包括萜烯类化合物、脂肪醇类、芳香烃类衍生物等,可在果实成熟、加工和储藏过程中释放出来,或者经过酶解、酸解和热处理释放出来^[8]。 β -葡萄糖苷酶则是这些香气分子释放过程酶系中最重要酶之一^[9],是水解芳香物质前体、释放结合态糖苷配基的关键酶^[10]。国内外对 β -葡萄糖苷酶用于葡萄和葡萄酒芳香物质酶解调控研究较多^[11]。郭慧女等^[12]比较了黑曲霉、海藻曲霉和鲁氏毛霉来源的 β -葡萄糖苷酶对玫瑰香葡萄结合态香气提取物质的酶解作用效果,认为以黑曲霉来源的 β -葡萄糖苷酶的酶解效果最佳。桑苇等^[13]采用黑曲霉 β -葡萄糖苷酶对赤霞珠葡萄新酒进行增香调控,酶解处理后香气物质相对总量与对照相比增加24.59%,其中以4-萜品醇、 α -松油醇和香叶醇等为代表的萜烯及 C_{13} -降异戊二烯类物质增加最为显著。

我国猕猴桃种植面积和产量均居世界第一^[14],

猕猴桃深加工技术的发展有益于其产业的进一步提升。 β -葡萄糖苷酶是风味修饰中的关键酶,对果蔬制品品质提升具有十分重要的作用,但其对猕猴桃香气的酶解释放作用尚未见深入探讨。本研究利用电子鼻(E-nose)检测 β -葡萄糖苷酶对猕猴桃汁香气物质的释放作用,并采用固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术(SPME-GC-MS)分析酶解处理对猕猴桃汁香气物质组成和含量的影响,旨在为猕猴桃汁酶解增香技术的研究及应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

猕猴桃:2019年购于当地超市,品种为徐香。

化学试剂: β -葡萄糖苷酶(微生物来源),实验室自制;对硝基苯酚、对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷、柠檬酸、磷酸氢二钠、碳酸钠、无水NaCl,均为分析纯,上海国药集团;环己酮(标品级),上海阿拉丁公司。

1.2 仪器与设备

榨汁机(MJ-WJS1221F),美的集团股份有限公司;手持数显水果硬度计(GY-4),艾普公司;电子鼻(PEN3),德国AIRSENSE公司;气相色谱质谱联用仪GCMS-QP2010,日本岛津公司;DB-1MS色谱柱(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),美国安捷伦公司;SPME萃取头(30/50 μ m DVB/CAR/PDMS),美国Supelco公司。

1.3 试验方法

1.3.1 β -葡萄糖苷酶酶活的确定 参考文献[9]的方法但略有修改。将100 mg酶与5 mL的40 mmol/L对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷溶液和4 mL的1 mol/L柠檬酸-磷酸盐缓冲液(pH 4.0)混合,在40 $^{\circ}$ C下孵育30 min,添加2 mL的3 mol/L碳酸钠溶液以终止反应,在405 nm下比色读数,酶活用U/mg表示。

1.3.2 β -葡萄糖苷酶酶解猕猴桃汁的制备 选取无机械损伤且品相良好的猕猴桃果实,测定硬度值。选择硬度为10.0~12.0 N的果实^[5],削皮、榨汁、去渣后备用。预试验考察了酶解温度(25, 35, 45 °C)、酶解时间(4, 8, 12 h)及加酶量(4, 8, 12 U/g)3个因素,采用电子鼻测定酶解前后猕猴桃汁样品的香气成分,通过分析电子鼻传感器响应值的变化,确定后续酶解试验参数为:酶解温度35 °C,酶解时间0~8 h,加酶量为8 U/g,进一步考察酶解猕猴桃汁香气物质的动态变化。

表1 电子鼻传感器阵列的特征

Table 1 Characteristics of E-nose sensors

传感器序号 Number	传感器名称 Name	特征 Characteristics	传感器序号 Number	传感器名称 Name	特征 Characteristics
S1	W1C	芳香类物质 Phenyl substances	S6	W1S	对甲烷敏感,与S8号传感器类似 Sensitive to methane, similar to sensor S8
S2	W5S	灵敏度高,对氮氧化物敏感 High sensitivity, sensitive to nitrogen oxides	S7	W1W	对萜烯类敏感 Sensitive to terpenes
S3	W3C	氨、芳香类化合物 Ammonia, phenyl substances	S8	W2S	醇类,部分芳香化合物 Alcohols, and some phenyl substances
S4	W6S	主要对氢气敏感 Mainly sensitive to hydrogen	S9	W2W	芳香类化合物,有机硫化物 Phenyl substances, organic sulfide
S5	W5C	对烷烃类、芳香类化合物敏感 Sensitive to alkanes and phenyl substances	S10	W3S	对烷烃类敏感 Sensitive to alkanes

1.3.4 香气物质的SPME-GC-MS分析 (1)SPME-GC-MS条件。参考文献^[4]方法但略有修改。顶空固相萃取条件:取5.0 g样品放入固相萃取瓶中,加入2.5 mL饱和氯化钠溶液,10 μ L环己酮内标(0.5 mg/mL),45 °C预热2.5 min,萃取吸附45 min,GC解析5 min,用于GC-MS分析。GC条件:进样口温度250 °C;色谱柱初始温度40 °C保持2 min后,以6 °C/min升至120 °C并保持5 min,再以8 °C/min升至200 °C并保持2 min,再以10 °C/min升至250 °C并保持8 min;载气为高纯氮气,柱流量1.5 mL/min。MS条件:EI电离源,电子能量70 eV,离子源温度230 °C,扫描范围30.00~500.00 m/z。

(2)香气物质定性方法与半定量方法。香气活性成分的定性通过与NIST质谱库中的标准谱图进行检索比对,并根据各物质保留指数(RI)进行确认^[16]。半定量分析时,将待测物质峰面积与环己酮内标峰面积进行计算,计算公式为:

$$X_i = (A_i/A_s) \times C_s$$

式中: X_i 为待测物质浓度; A_i 为待测物质峰面积; A_s 为内标物质峰面积; C_s 为内标物质浓度。

1.4 数据分析

采用Origin 8.0软件和Excel软件绘图,采用Minitab 15.0软件进行多重比较分析($P < 0.05$)。

1.3.3 电子鼻分析条件 参考文献^[15]方法但略有修改。本研究采用的电子鼻传感器阵列(含10个传感器)的特征见表1。取酶解后的猕猴桃汁样品1 g,用双蒸水稀释5倍,每组6个平行。设置电子鼻进气流速为300 mL/min,每秒采集1个数据,分别记录电子鼻10个传感器的响应值,即 G/G_0 值(其中 G 为最终电阻, G_0 为初始电阻),当 $G/G_0 > 2.0$,可认为该传感器对待测样品敏感。每个样品的电子鼻采集时间为60 s,清洗时间为300 s。

采用SIMCA 14.1软件进行双向偏最小二乘(bidirectional orthogonal partial least squares, O2PLS)分析^[17-19],得到O2PLS模型中的投影用于预测变量影响(variable influence on projection for prediction, VIP_{pred})值,其中 VIP_{pred} 值 > 1.0 的变量被认为是重要的变量。

2 结果与分析

2.1 酶解猕猴桃汁香气物质的电子鼻分析

2.1.1 电子鼻传感器响应值变化 电子鼻模拟人的嗅闻方式获得样品整体信息,从而避免感官评价的主观误差,具有检测结果重复性好等特点^[15]。电子鼻常用于识别、表征和分级水果香气在不同种类和品种之间的差异,能够快速、一致地评估复杂的挥发性气体混合物^[20]。

电子鼻传感器阵列的10个传感器对酶解过程中猕猴桃汁香气物质的响应值见图1。由图1可知,当猕猴桃汁酶解0~8 h,电子鼻传感器阵列中S1、S3、S4、S5和S9 5个传感器对猕猴桃汁香气物质变化的响应值(G/G_0)为1.0~2.0,可知其对猕猴桃汁香气物质的变化不敏感,而传感器S2、S6、S7、S8和S10对猕猴桃汁香气成分的响应值(G/G_0) > 2.0 ,表现为对猕猴桃汁香气成分的变化敏感。除S10外,其他传感器的敏感性与文献^[21]一致;与文

献[21]相比,S9 传感器(对芳香类化合物、有机硫化物敏感)在此次分析中对猕猴桃汁香气成分的变化不敏感,这可能与试验原料成熟度相关,提示猕猴桃汁内无挥发性硫化物或未达到检出限。S2、S6、S7、S8 和 S10 的响应值随着酶解时间的增加不断变化,在 0~8 h 酶解过程中,响应值在酶解 6 h 达到最高,

随后略有下降,提示猕猴桃汁在酶解过程中表现出风味强度的变化,存在萜烯类、烷烃类、氮氧化物、芳香化合物和醇类等传感器敏感类物质含量的变化,而这些物质含量的动态变化会影响猕猴桃汁整体风味。

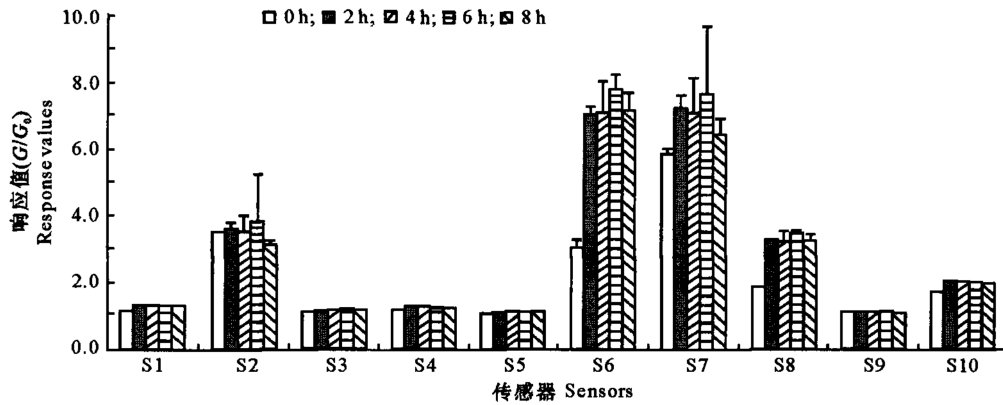
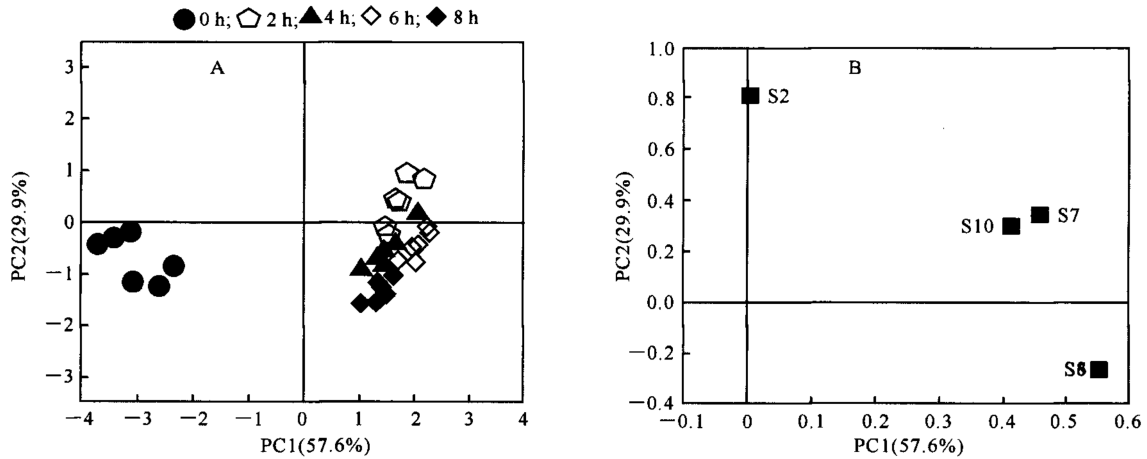


图 1 电子鼻传感器对不同酶解时间猕猴桃汁香气物质的响应值

Fig. 1 Response values of E-nose sensors to kiwifruit juice volatiles at different enzymatic release periods

2.1.2 电子鼻传感器响应值变化的主成分分析
主成分分析(principal component analysis,PCA)是一种无监督的数据分析方法,常用于电子鼻检测结果分析,用以说明传感器识别效应和样品间的区分

度等[16]。本研究将 5 个传感器(S7,S6,S2,S8 和 S10)对酶解 0~8 h 的猕猴桃汁香气成分的响应值进行 PCA 分析,其得分图和载荷图如图 2 所示。



A. 得分图;B. 载荷图

A. Score plot;B. Loading plot

图 2 不同酶解时间猕猴桃汁香气成分电子鼻响应值的 PCA 分析

Fig. 2 PCA analysis of E-nose sensor response values to kiwifruit juices volatiles at different enzymatic released periods

图 2-A 表明,PC1 贡献率为 57.6%,PC2 贡献率为 29.9%,总贡献率为 87.5%,因此这 2 个主成分可代表样品的主要特征。另外,电子鼻可以很好区分酶解前(0 h)和酶解后(2~8 h)样品,从 PC1 角度看,酶解后组样本位于正向端,而酶解前组样本位于负向端,表明酶解产生的部分风味物质引起了猕猴桃汁整体风味的变化。对于酶解后组猕猴桃汁来

说,酶解 2,4,6 h 组样本空间距离不大,表明经过酶解,猕猴桃汁风味成分存在一定变化,具体组成还需要进一步检测。图 2-B 显示,传感器 S6 和 S8 发生重合,与其传感器特征值一致,在第 1 主成分贡献率中占主要部分,S7、S10 的贡献率较小。传感器 S6 和 S8 在识别和检测酶解猕猴桃汁样品中起着重要作用,说明酶解过程中萜烯类和烷类物质的动态变

化对整体风味的变化有重要影响。此外,传感器 S2 在第 2 主成分中贡献率最大。上述结果表明,在本研究中电子鼻对猕猴桃汁的挥发性风味物质感应灵敏,能够检测其挥发性风味物质的变化,通过电子鼻的快速检测可以监测猕猴桃汁的酶解进程,控制酶

解果汁的品质。

2.2 酶解猕猴桃汁中香气物质的 GC-MS 分析

依据酶解组样品的电子鼻检测分析结果,本研究采用 SPME-GC-MS 技术对猕猴桃汁酶解过程中的香气成分的动态变化做进一步分析,结果见表 2。

表 2 GC-MS 解析酶解猕猴桃汁中香气物质的动态变化

Table 2 Dynamic changes of enzymatically released volatile compounds in kiwifruit juice quantified by GC-MS

类别 Category	编号 Numbers	香气物质名称 Compound name	香气物质含量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Concentration of compound				
			0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
醇类 Alcohols	C6	1-戊烯-3-醇 1-penten-3-ol	21.69±3.33 b	27.11±2.38 a	23.56±2.14 ab	26.25±2.00 a	24.72±1.48 ab
	C15	顺-3-己烯-1-醇 (Z)-3-hexen-1-ol	331.22±40.12 a	356.89±51.54 a	346.61±19.44 a	340.53±39.92 a	311.19±21.65 a
	C16	反-2-己烯-1-醇 (E)-2-hexen-1-ol	2 447.02±116.65 a	2 677.23±280.40 a	2 683.85±236.37 a	2 500.31±122.55 a	2 385.46±144.95 a
	C17	己醇 Hexanal	743.84±47.33 a	802.28±87.18 a	785.80±59.30 a	794.11±99.40 a	740.84±81.24 a
	C21	1-庚醇 1-heptanol	6.98±0.58 a	6.66±0.43 ab	5.82±0.98 bc	5.61±0.63 bc	4.83±0.59 c
	C33	2-丙基庚醇 2-propylheptanol	0 c	8.86±0.58 b	12.82±0.88 a	8.09±0.89 b	6.51±1.90 b
	C35	苯乙醇 Phenyl ethanol	0 d	19.41±1.66 c	34.12±2.90 a	26.12±3.23 b	19.89±0.96 c
	C47	3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烯-1-醇 3,7,11-trimethyl-2,6,10-dodecen-1-ol	9.08±0.71 c	26.14±2.97 b	35.42±4.02 a	34.89±2.34 a	23.76±2.64 b
醛类 Aldehydes	C1	乙醛 Acetaldehyde	7.28±0.21 a	8.56±0.56 a	7.96±1.21 a	7.85±0.97 a	7.31±0.56 a
	C3	3-甲基丁醛 3-methyl butyraldehyde	14.14±2.97 a	13.13±0.88 ab	12.86±2.37 abc	10.25±1.07 bc	9.71±1.22 c
	C7	戊醛 Pentanal	129.78±6.63 ab	144.81±14.97a	129.42±8.09 ab	130.55±17.03 ab	118.06±7.72b
	C12	己醛 Hexanal	761.49±46.57 a	825.08±81.98 a	785.62±86.95 a	783.46±81.77 a	710.33±50.99 a
	C14	反-2-己烯醛 (E)-2-hexenal	2 443.58±289.56 a	2 610.47±260.45 a	2 651.16±298.84 a	2 263.48±125.24 ab	2 023.38±92.36 b
	C19	庚醛 Heptaldehyde	153.75±23.80 bc	210.08±31.78 a	182.30±25.21 ab	159.32±30.07 bc	128.21±15.02 c
	C20	顺-2-庚烯醛 (Z)-2-heptenal	84.82±9.74 c	140.13±16.12 a	139.85±11.83 a	106.48±14.64 b	85.45±7.43 c
	C26	辛醛 Octanal	216.76±17.39 bc	349.54±48.44 a	379.54±36.64 a	233.17±10.49 b	174.78±36.01 c
	C34	壬醛 Nonanal	163.13±11.72 bc	199.65±21.2 b	289.58±24.70 a	181.15±27.32 b	142.36±23.66 c
C37	反-2-壬烯醛 (E)-2-nonenal	22.65±0.75 d	29.55±2.37 c	66.20±2.55 a	37.83±1.94 b	13.20±1.93 e	
C41	癸醛 Decanoaldehyde	12.44±1.88 c	27.36±2.52 a	25.41±1.47 a	18.28±1.76 b	12.98±2.35 c	
酸类 Acids	C2	乙酸 Acetic acid	24.10±2.08 c	47.85±5.13 b	76.61±5.04 a	54.33±4.05 b	48.60±3.60 b
	C36	2-乙基己酸 2-ethylhexanoic acid	0 d	19.48±2.68 c	40.79±2.37 a	30.52±2.84 b	20.75±2.42 c
	C38	苯甲酸 benzoic acid	0 d	371.81±17.85 b	419.60±23.17 a	212.26±28.70 c	30.74±2.32 d
	C39	辛酸 Octanoic acid	13.05±1.90d	72.54±12.71 b	94.74±13.68 a	92.55±9.23 a	40.62±3.90 c
萜烯类 Terpenes	C25	β -蒎烯 β -Pinene	0 c	15.64±2.90 a	13.90±0.71 ab	13.23±1.75 ab	11.76±2.37 b
	C40	α -松油醇 α -Terpineol	16.70±2.78 d	36.51±4.24 b	50.25±3.09 a	21.79±2.24 c	19.50±2.16 cd
	C29	伞花烃 α -Cymene	11.98±0.59 c	25.47±2.90 b	70.68±11.47 a	11.43±1.72 c	9.12±1.91 c
	C30	1,8-桉叶素 1,8-cineol	1 132.70±76.20 a	1 293.70±236.54 a	1 392.86±214.40 a	1 349.22±78.80 a	1 254.16±80.42 a
	C32	γ -松油烯 γ -Terpinene	13.36±0.67 d	47.85±5.44 a	38.21±3.53 b	27.65±4.26 c	12.72±2.22 d
	C44	α -毕澄茄油烯 α -Cubebene	55.89±4.20 c	71.60±4.13 b	151.82±10.13 a	43.09±4.50 d	28.76±3.43 e
酮类 Ketones	C4	3-甲基-3-丁烯-2-酮 3-methyl-3-buten-2-one	18.66±2.13 bc	29.42±3.40 a	19.75±1.48 b	18.26±2.28 bc	15.90±1.50 c
	C5	1-戊烯-3-酮 1-penten-3-one	26.09±2.03 d	43.99±2.33 a	36.94±2.08 b	30.19±2.31 c	21.45±0.69 e
	C9	1-己烯-3-酮 1-hexene-3-one	6.43±0.69 b	8.23±0.46 a	6.22±0.75 b	6.08±0.65 b	4.86±0.63 c
	C18	2-庚酮 2-heptanone	0 b	0 b	8.38±1.18 a	9.09±0.58 a	8.28±0.87 a
	C22	1-辛-3-酮 1-oct-3-one	42.29±6.63 c	95.48±11.58 a	101.06±11.83 a	70.73±10.41 b	43.63±4.87 c
	C23	2-甲基-3-辛酮 2-methyl-3-octanone	98.36±7.94 a	93.35±15.96 a	97.39±8.34 a	84.13±5.80 a	82.47±7.23 a
	C24	甲基庚烯酮 6-methyl-5-hepten-2-one	445.47±44.72 b	686.72±45.76 a	739.24±63.56 a	439.83±43.36 b	385.05±27.20 b
C45	香叶基丙酮 5,9-Undecadien-2-one	44.96±4.46 d	119.75±9.19 b	150.85±6.60 a	116.70±4.56 b	66.98±3.05 c	

表 2(续) Continued table 2

类别 Category	编号 Numbers	香气物质名称 Compound name	香气物质含量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Concentration of compound				
			0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
呋喃类 Furans	C8	2-乙基呋喃 2-ethylfuran	5.12±0.75 b	13.02±2.28 a	14.53±2.30 a	15.14±1.58 a	12.61±1.80 a
	C27	反-2-(2-戊烯基)呋喃 Trans-2-(2-pentenyl) furan	0 c	9.58±1.45 b	13.20±0.82 a	12.61±2.31 a	10.30±1.02 b
烷烃类 Alkenes	C10	反-2-戊烯 Trans-2-pentene	17.95±1.34 bc	20.81±1.95 a	19.17±2.00 b	15.45±1.43 c	11.54±1.45 d
	C11	3-甲基-2-己烯 3-methyl-2-hexene	106.58±14.37 b	146.78±14.64 a	97.15±12.05 bc	102.04±9.57 bc	83.83±5.43 c
	C13	辛烷 Octane	8.74±1.13 bc	10.13±2.12 bc	16.96±1.92 a	11.02±1.45 b	7.52±0.73 c
	C31	2,5,5-三甲基-1,6-七烯 2,5,5-trimethyl-1,6-hep- tene	255.68±17.22 b	407.69±32.92 a	286.44±33.80 b	196.01±8.02 c	118.11±12.85 d
	C42	1,7,7-三甲基双环[2.2.1] 庚-2-烯 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-ene	21.04±2.0 b	23.28±2.40 ab	26.10±2.34 a	24.40±2.84 ab	20.97±2.35 b
	C43	反-2-癸烯 Trans-2-decene	38.73±2.90 c	126.09±10.14 a	92.16±17.03 b	97.72±8.34 b	42.48±4.09 c
	C46	十四烷 Tetradecane	7.48±1.11 c	13.84±0.80 a	12.89±2.14 ab	10.87±0.85 b	12.89±1.36 ab
酯类 Esters	C28	反-2-己烯醇乙酸酯 (E)-2-hexenol acetate	2.53±0.52 d	25.06±3.18 a	24.76±2.28 a	19.72±2.72 b	15.75±0.83 c

由表 2 可知,酶解增香后,徐香猕猴桃香气成分组成和含量十分丰富,从酶解的猕猴桃汁样品中共分析获得 47 种物质,包括醇类 8 种,醛类 11 种,酸类 4 种,萜烯类 6 种,酯类 1 种,酮类 8 种,呋喃类 2 种,烷烃类 7 种,主要包括顺-3-己烯-1-醇、反-2-己烯-1-醇、己醇、反-2-己烯醛、乙醛、1,8-桉叶素(又名桉叶油醇)和甲基庚烯酮等,上述挥发性化合物因其通常具有较低的感官阈值,可以认为是猕猴桃汁主要香气物质来源^[22-23]。进一步分析显示:徐香猕猴桃汁中醛类物质总量为(3 978.23±438.04) $\mu\text{g}/\text{kg}$,醇类为(3 561.47±219.48) $\mu\text{g}/\text{kg}$,萜烯类为(1 326.56±92.75) $\mu\text{g}/\text{kg}$ (其中 1,8-桉叶素(1 132.7±76.4) $\mu\text{g}/\text{kg}$)。据文献[3]报道 1,8-桉叶素在海沃德猕猴桃果实中未测得,黄金果猕猴桃果实中为 30.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。此外,赵宁等^[16]研究表明,徐香猕猴桃酒中 1,8-桉叶素含量为(122.67±3.76) $\mu\text{g}/\text{L}$,显著高于黄金果猕猴桃酒((67.26±2.77) $\mu\text{g}/\text{L}$)和海沃德猕猴桃酒((2.40±0.39) $\mu\text{g}/\text{L}$)。与 0 h 相比,酶解处理 4 h 后,猕猴桃汁香气物质总量增加 20.53%,其中酸类化合物含量增加 1 523.10%,呋喃类化合物含量增加 441.60%,酮类化合物含量增加 23.84%,萜烯类化合物含量增加 22.26%,烷烃类化合物增加 20.75%,醇类化合物含量增加 10.28%,醛类化合物含量增加 6.71%。

Garcia 等^[24]采用柱层析纯化软枣猕猴桃糖苷键合态前体物质,用 rapidase 酶水解的方式进行结合态物质释放,认为糖苷键结合态前体物质经酶解后释放了呋喃醇(2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮)、反-2-己烯醛、己醛、1-辛烯-3-醇和苯甲酸等挥

发性物质。随后采用相同方法对海沃德猕猴桃和黄金果猕猴桃进行了分析,结果表明,海沃德猕猴桃中的主要结合态挥发性化合物为苯甲醛、反-2-己烯醛、己醛、3-辛醇和 2-甲基丁醛等,黄金果猕猴桃中则以呋喃醇(2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮)、苯乙醇、3-羟基- β -大马酮、己醛和顺-3-己烯-1-醇等为主^[25]。与上述报道的其他品种猕猴桃经酶解释放的挥发性物质相比,本研究中徐香猕猴桃的挥发性化合物以反-2-己烯醛、己醛、顺-3-己烯-1-醇、反-2-己烯-1-醇、己醇等含量较高,与酶解前(0 h)相比较,酶解 4 h 上述物质分别增加了 6.83%,3.17%,4.64%,10.71%和 5.64%。此外,与酶解前(0 h)相比,经过 4 h 酶解后,猕猴桃汁挥发性物质中有 30 种物质含量显著增加($P<0.05$),主要包括 2-丙基庚醇、苯乙醇、2-乙基己酸、苯甲酸、 β -蒎烯、2-庚酮、反-2-(2-戊烯基)呋喃等。在本研究中,仅得到一种酯类物质,即反-2-己烯醇乙酸酯,可能与此次研究中选用猕猴桃硬果作为原料有关,其含量在酶解后显著增加,推测与反-2-己烯醇及乙酸在酶解过程中含量增加有关。

萜烯类化合物呈现特殊的香气,是水果特征香气的主要贡献物质之一。萜烯类化合物多以无味的糖苷态形式存在,外源添加糖苷酶则是释放游离态萜烯化合物的有效方法^[13]。由表 2 可知,徐香猕猴桃汁经过酶解后,相对含量增加最多的萜烯类化合物是 β -蒎烯,在酶解过程从无到有;其次是伞花烃,其相对含量增加 489.98%;另外, α -松油醇、 γ -松油烯、 α -毕澄茄油烯和 1,8-桉叶素的相对含量也分别增加了 200.89%,186.00%,171.64%和 22.97%,其

中 1,8-桉叶素能够释放浓郁的薄荷香气。由以上结果可知,β-葡萄糖苷酶可以有效地酶解结合态前体物质,促使挥发性小分子释放,对提高猕猴桃汁中典型性香气具有积极影响。

与 GC-MS 分析方法相比,电子鼻技术具有分析速度快、灵敏度高和检测费用低等优点^[18],但其无法对具体物质组成变化做出预测,GC-MS 可以对物质组成进行分析,但耗时较长,对仪器要求高。将 GC-MS 测得的香气物质(X)与电子鼻传感器响应值(Y)进行 O2PLS 建模(2+1+1),结果如表 3 所示。由表 3 可知,模型中的累计 R²X 和累计 Q² 分别为 0.995(≈1.0)和 0.762(> 0.5),表明 O2PLS 拟合效果较好^[17],这说明猕猴桃汁中挥发性物质的动态变化与电子鼻响应值的变化之间存在较好的对应关系。

图 3 表明,由 O2PLS 模型得到的 47 种挥发性物质的 VIP_{pred} 值为 0.34~1.44,其中有 25 种物质的 VIP_{pred}>1.0,表明这些香气物质的变化对电子鼻传感器响应值的变化贡献较大,具体分别为 β-蒎烯(C25)、反-2-己烯醇乙酯(C28)、反-2-(2-戊烯基)咪喃(C27)、反-2-癸烯(C43)、2-乙基咪喃(C8)、3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烯-1-醇(C47)、γ-松油烯(C32)、辛酸(C39)、2-丙基庚醇(C33)、苯乙醇(C35)、癸醛(C41)、香叶基丙酮(C45)、1-戊烯-3-酮(C5)、苯甲酸(C38)、十四烷(C46)、2-乙基己酸(C36)、3-甲基-3-丁烯-2-酮(C4)、1-辛-3-酮(C22)、2-庚酮(C18)、2,5,5-三甲基-1,6-七烯(C31)、乙酸(C2)、1-己烯-3-酮(C9)、3-甲基-2-己烯(C11)、顺-2-庚醛(C20)和 1-戊烯-3-醇(C6)。

表 3 GC-MS 测定的香气物质(X)与电子鼻传感器响应值(Y)的 O2PLS 模型

Table 3 O2PLS model summary of volatile compounds (X) detected by GS-MS and E-nose sensor response values (Y)

成分 Component	R ² X	累计 R ² X Cumulative R ² X	R ²	累计 R ² Cumulative R ²	Q ²	累计 Q ² Cumulative Q ²	R ² Y	累计 R ² Y Cumulative R ² Y	模型显著性 Model significance
模型 Model		0.749		0.846		0.762		0.995	
预测 Prediction		0.531		0.845		0.762		0.884	
P1	0.321		0.722		0.620		0.737		显著 Significant
P2	0.210		0.123		0.143		0.147		显著 Significant
正交 X Orthogonal in X	0.218	0.218	0.000 734	0.000 734					显著 Significant
正交 Y Orthogonal in Y							0.111	0.111	显著 Significant

注:R²X 表示该成分解释的 X 变量的比例;R² 表示使用该成分解释的 X 解释 Y 变量的比例;Q² 表示该成分整体交叉验证 R²;R²Y 表示该成分解释的 Y 变量的比例;P1 表示用于预测的成分 1;P2 表示用于预测的成分 2。

Note:R²X. Fraction of X variation modeled in the component;R². Fraction of Y variation modeled by X in the component;Q². Overall cross-validated R² for the component;R²Y. Fraction of Y variation modeled by Y in the component;P1. Component 1 for O2PLS;P2. Component 2 for O2PLS.

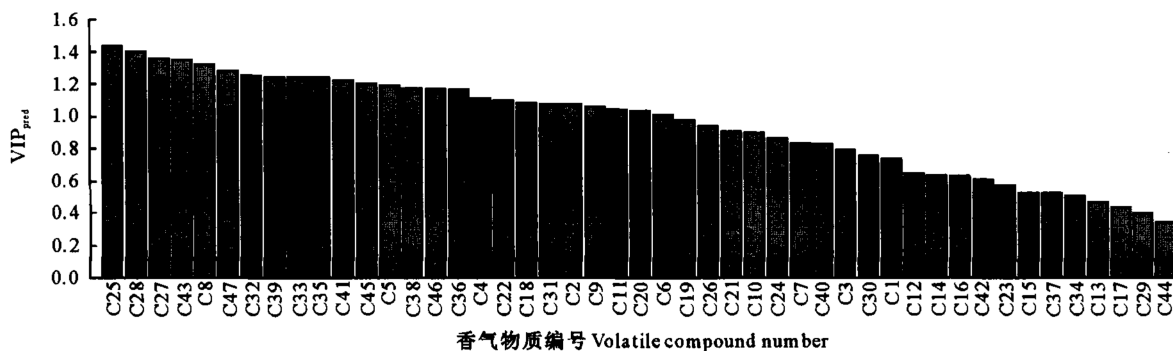


图 3 GC-MS 测定的香气物质(X)与电子鼻传感器响应值(Y)的 O2PLS 模型的 VIP_{pred} 值
Fig. 3 VIP_{pred} values of O2PLS model for volatile compounds (X) detected by GS-MS and E-nose sensor response values (Y)

3 结 论

猕猴桃汁酶解过程中香气的动态变化可以采用电子鼻进行监测,其香气成分的电子鼻响应值变化主要体现在 S2、S6、S7、S8 和 S10 这 5 个传感器上。猕猴桃汁香气成分经电子鼻传感器检测的强度值随酶解时间增加,酶解 6 h 达到最高后略有下降。SPME-GC-MS 分析结果表明,经酶解处理后,猕猴桃汁香气成分中有 30 种发生了显著性增加($P < 0.05$),其中顺-3-己烯-1-醇、反-2-己烯-1-醇、1,8-桉叶素、戊醛、己醛、反-2-己烯醛、庚醛、顺-2-庚烯醛、辛醛、壬醛、癸醛、2-庚酮和甲基庚烯酮是主要的香气物质。与未酶解猕猴桃汁相比,酶解处理 4 h 猕猴桃汁的挥发性物质总量增加 20.53%。因此,酶解处理能作用于猕猴桃汁香气前体物质,释放挥发性香气物质,提高猕猴桃汁香气物质总量,该结果可为酶解猕猴桃汁香气品质控制提供理论依据。

[参考文献]

- [1] Baietto M, Wilson A D. Electronic-nose applications for fruit identification, ripeness and quality grading [J]. *Sensors*, 2015, 15(1):899-931.
- [2] Shiota H. Kiwifruit [J]. *Koryo*, 1982, 137:59-64.
- [3] Garcia C V, Quek S Y, Stevenson R J, et al. Kiwifruit flavour: a review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2012, 24(2):82-91.
- [4] Garcia C V, Quek S-Y, Stevenson R J, et al. Characterisation of bound volatile compounds of a low flavour kiwifruit species: *Actinidia eriantha* [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2):655-661.
- [5] Wang M Y, MacRae E, Wohlers M, et al. Changes in volatile production and sensory quality of kiwifruit during fruit maturation in *Actinidia deliciosa* 'Hayward' and *A. chinensis* 'Hort16A' [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 59(1):16-24.
- [6] 张巧丽. 利用电子鼻和 GC-MS 研究采后猕猴桃果实挥发性物质变化规律与调控 [D]. 杭州:浙江大学, 2015.
Zhang Q L. Study of changes and regulation of volatile compounds in postharvest kiwifruit using electronic nose and GC-MS [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [7] Reineccius G. Flavor chemistry and technology [M]. 2nd ed. Boca Raton: Taylor and Francis, 2006.
- [8] Sarry J E, Gunata Z. Plant and microbial glycoside hydrolases: volatile release from glycosidic aroma precursors [J]. *Food Chemistry*, 2004, 87(4):509-521.
- [9] Orruño E, Apenten R O, Zabetakis I. The role of β -glucosidase in the biosynthesis of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone in strawberry (*Fragaria* \times *ananassa* cv. *Elsanta*) [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2001, 16(2):81-84.
- [10] 潘利华, 罗建平. β -葡萄糖苷酶的研究及应用进展 [J]. *食品科学*, 2007, 27(12):803-807.
Pan L H, Luo J P. Advance in research and application of β -D-glucosidase [J]. *Food Science*, 2007, 27(12):803-807.
- [11] Baffi M A, Martin N, Tobal T M, et al. Purification and characterization of an ethanol-tolerant β -glucosidase from *Sporidiobolus pararoseus* and its potential for hydrolysis of wine aroma precursors [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171(7):1681-1691.
- [12] 郭慧文, 康文怀, 徐岩, 等. 微生物 β -D-葡萄糖苷酶对玫瑰香(Muscat)葡萄结合态香气物质的影响 [J]. *食品工业科技*, 2011, 32(1):81-84, 88.
Guo H N, Kang W H, Xu Y, et al. Effect of β -D-glucosidase from microorganism on the bound aroma compounds in Muscat grape [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 32(1):81-84, 88.
- [13] 桑苇, 唐柯, 徐岩, 等. 黑曲霉 β -葡萄糖苷酶对葡萄酒酶解增香调控及香气物质的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(5):8-13.
Sang W, Tang K, Xu Y, et al. Effects of β -glucosidase from *Aspergillus niger* on flavoring regulation and aroma compounds of wine [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(5):8-13.
- [14] 蒋建科. 中国猕猴桃产量居世界第一 [EB/OL]. (2018-11-12). [2020-02-06]. http://www.xinhuanet.com/food/2018-11/12/c_1123697732.htm
- [15] 蒋建科. 中国猕猴桃产量居世界第一 [EB/OL]. (2018-11-12). http://www.xinhuanet.com/food/2018-11/12/c_1123697732.htm
- [16] 罗心欣, 任亚梅, 张艳宜, 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, Ren Y M, Zhang Y Y, et al. Process optimization the development of fermented kiwifruit juice with probiotics and dynamic analysis of aroma composition [J]. *Food Science*, 2019, 40(12):168-175.
- [17] 赵宁, 魏新元, 樊明涛, 等. SPME-GC-MS 结合电子鼻技术分析不同品种猕猴桃酒香气物质 [J]. *食品科学*, 2019, 40(22):249-255.
Zhao N, Wei X Y, Fan M T, et al. Analysis of volatile components of kiwifruit wines made from different cultivars using solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry combined with electronic nose [J]. *Food Science*, 2019, 40(22):249-255.
- [18] Xiao Y, Xiong T, Peng Z, et al. Correlation between microbiota and flavours in fermentation of Chinese Sichuan Paocai [J]. *Food Research International*, 2018, 114:123-132.
- [19] Trygg J. O2PLS for qualitative and quantitative analysis in multivariate calibration [J]. *Journal of Chemometrics*, 2002, 16(6):283-293.
- [20] Galindo-Prieto B, Trygg J, Geladi P. A new approach for variable influence on projection (VIP) in O2PLS models [J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2017, 160:

- 110-124.
- [20] Wilson A D, Baietto M. Applications and advances in electronic-nose technologies [J]. *Sensors*, 2009, 9(7): 5099-5148.
- [21] 马婷, 任亚梅, 张艳宜, 等. 1-MCP 处理对‘亚特’猕猴桃果实香气的影响 [J]. *食品科学*, 2016, 37(2): 276-281.
Ma T, Ren Y M, Zhang Y Y, et al. Effect of 1-MCP treatment on the aroma of ‘Yate’ kiwifruit [J]. *Food Science*, 2016, 37(2): 276-281.
- [22] Nieuwenhuizen N J, Allan A C, Atkinson R G. The genetics of kiwifruit flavor and fragrance [C]// Testolin R, Huang H W, Ferguson A R. *The kiwifruit genome*. Switzerland: Springer International Publishing, 2016: 135-147.
- [23] Zhang C Y, Zhang Q, Zhong C H, et al. Volatile fingerprints and biomarkers of three representative kiwifruit cultivars obtained by headspace solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry and chemometrics [J]. *Food Chemistry*, 2019, 271: 211-215.
- [24] Garcia C V, Quek S Y, Stevenson R J, et al. Characterization of the bound volatile extract from baby kiwi (*Actinidia arguta*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(15): 8358-8365.
- [25] Garcia C V, Stevenson R J, Atkinson R G, et al. Changes in the bound aroma profiles of ‘Hayward’ and ‘Hort16A’ kiwifruit (*Actinidia* spp.) during ripening and GC-olfactometry analysis [J]. *Food Chemistry*, 2013, 137(1): 45-54.

(上接第 100 页)

- [20] 魏文俊, 尤文忠, 赵刚, 等. 退化柞蚕林封育对枯落物和表层土壤持水效能的影响 [J]. *生态学报*, 2016, 36(3): 721-728.
Wei W J, You W Z, Zhao G, et al. Effects of enclosure and recovery for degraded Tussah-feeding oak forests on litter and surface soil water holding capacity characteristic [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(3): 721-728.
- [21] 潘颜霞, 王新平. 荒漠人工植被区浅层土壤水分空间变化特征分析 [J]. *中国沙漠*, 2007, 27(2): 250-256.
Pan Y X, Wang X P. Spatial variation of soil moisture in revegetated desert area [J]. *Journal of Desert Research*, 2007, 27(2): 250-256.
- [22] 侯笑云, 宋博, 赵爽, 等. 农业景观动态对林地地表节肢动物多样性的影响 [J]. *生态学报*, 2015, 35(23): 7659-7668.
Hou X Y, Song B, Zhao S, et al. Effects of agricultural landscape dynamics on the species diversity of ground arthropods in woodlands [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(23): 7659-7668.
- [23] 石培礼, 于贵瑞. 拉萨河下游河谷不同土地利用方式下土壤有机碳储量格局 [J]. *资源科学*, 2003, 25(5): 96-102.
Shi P L, Yu G R. Soil carbon stock patterns of different land use types in the lower Lhasa River valley, Tibet Plateau [J]. *Resources Science*, 2003, 25(5): 96-102.
- [24] 林英华, 张夫道, 杨学云, 等. 农田土壤动物与土壤理化性质关系的研究 [J]. *中国农业科学*, 2004, 37(6): 871-887.
Lin Y H, Zhang F D, Yang X Y, et al. Study on the relationship between farmland soil animals and soil physical and chemical properties [J]. *China Agricultural Science*, 2004, 37(6): 871-887.
- [25] 赵哈林, 刘任涛, 周瑞莲. 科尔沁沙地土地利用变化对大型土壤节肢动物群落影响 [J]. *土壤学报*, 2013, 50(2): 200-205.
Zhao H L, Liu R T, Zhou R L. Impact of land use change on large soil arthropod communities in Horqin Sandy Land [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50(2): 200-205.
- [26] 孟令军, 张利敏, 张丽梅, 等. 五大连池药泉山大型土壤动物对旅游踩踏的响应 [J]. *生态学报*, 2016, 36(20): 6607-6617.
Meng L J, Zhang L M, Zhang L M, et al. Response of large soil animals to tourism stamping in Yaoquan Mountain of Wudalianchi [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(20): 6607-6617.