

陈小爱,蔡惠钿,刘静宜,等. 基于电子鼻、GC-MS 和 GC-IMS 技术分析老香黄发酵期间的挥发性成分变化 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 70-80. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100170

CHEN Xiaoi, CAI Huitian, LIU Jingyi, et al. Analysis of Volatile Components in Laoxianghuang During Fermentation by Electronic Nose, GC-MS and GC-IMS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 70-80. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100170

· 研究与探讨 ·

基于电子鼻、GC-MS 和 GC-IMS 技术分析 老香黄发酵期间的挥发性成分变化

陈小爱^{1,2},蔡惠钿^{1,2},刘静宜²,汤 酿²,陈树喜³,周爱梅^{1,2,3,*}

(1.华农(潮州)食品研究院有限公司,广东潮州 521021;

2.华南农业大学食品学院,广东省功能食品活性物重点实验室,广东广州 510642;

3.广东展翠食品股份有限公司,广东潮州 515634)

摘要:利用电子鼻、气相色谱-质谱联用(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)和气相离子迁移谱(Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry, GC-IMS)技术分析老香黄发酵期间的挥发性成分变化,并结合相对风味活度值(Relative odor activity value, ROAV)对老香黄挥发性组分的气味贡献程度进行评价。结果表明,电子鼻 PCA 有效区分了不同发酵时间的样品,老香黄发酵 6 个月后挥发性组分开始发生较大变化。GC-MS 共鉴定出 46 种挥发性物质,包括萜烯类、醇类、醛类、酚类、酯类、醚类、杂环化合物和其它共 8 个种类。 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、萜品油烯、柠檬烯、异松油烯、1-石竹烯、巴伦西亚橘烯、芳樟醇、 α -松油醇、糠醛、麦芽酚、茴香脑、2,4-二甲基苯乙烯是发酵期间含量较高且相对稳定的 14 个共有成分。GC-IMS 定性检出 38 种已知挥发性成分,包括萜烯类、醇类、醛类、酯类、酮类、酚类、酸类、杂环类和其它共 9 个类别。ROAV 表明老香黄的主体香气为柑橘香、木青气息、药草香和焦甜香,对老香黄风味贡献程度最大的 5 个物质分别是香茅醛、壬醛、异松油烯、反式- β -罗勒烯和柠檬烯。发酵丰富了老香黄的挥发性成分种类,其中反式-橙花叔醇、庚醛、糠醛、己醛、异戊醛、3-羟基-2-丁酮、2-乙基呋喃、呋喃甲醇、2-乙酰基呋喃等挥发性成分是发酵过程中产生的。

关键词:老香黄,电子鼻,气相色谱-质谱联用,气相离子迁移谱,挥发性成分,相对风味活度值

中图分类号:TS201.2; TS255.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2021)12-0070-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020100170

Analysis of Volatile Components in Laoxianghuang During Fermentation by Electronic Nose, GC-MS and GC-IMS

CHEN Xiaoi^{1,2}, CAI Huitian^{1,2}, LIU Jingyi², TANG Niang², CHEN Shuxi³, ZHOU Aimei^{1,2,3,*}

(1.Huanong (Chaozhou) Food Research Institute Co., Ltd., Chaozhou 521021, China;

2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3.Guangdong Zhancui Food Co., Ltd., Chaozhou 515634, China)

Abstract: The changes of volatile components in Laoxianghuang during fermentation were analyzed by electronic nose, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS), and their contribution to odor was evaluated by relative odor activity value (ROAV). The results showed that, E-nose PCA could effectively distinguish the samples at different fermentation time, and the volatile components began to change significantly after 6 months of fermentation. GC-MS identified 46 volatile compounds, including terpenes, alcohols, aldehydes, phenols, esters, ethers, heterocyclic compounds and others. α -pinene, β -pinene, myrcene, terpinene, limonene, isoterpinene, 1-

收稿日期: 2020-10-21

基金项目: 广东省“扬帆计划”引进创新创业团队项目(2016YT03S056);华农(潮州)食品研究院项目(H2019395);潮州市科技项目(2020ZX03)。

作者简介: 陈小爱(1995-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学与工程,E-mail:949161112@qq.com。

*通信作者: 周爱梅(1971-),女,博士,教授,研究方向:食品化学与营养及水产品加工,E-mail:zhouam@scau.edu.cn。

caryophyllene, valencia limonene, linalool, α -terpinene, furfural, maltol, anethol and 2, 4-dimethylstyrene were 14 common components at high and relatively stable contents during fermentation. 38 known volatile components were detected by GC-IMS, including terpenes, alcohols, aldehydes, esters, ketones, phenol, acids, heterocycles and other volatile components. The results of ROAV showed that the main aroma of Laoxianghuang were citrus, woody, herbal and burnt sweet, and citronellal, nonanal, isoterpinene, trans- β -ocimene and limonene contributed the most to the flavor of Laoxianghuang. Fermentation could enrich the volatile components of Laoxianghuang and the volatile components such as trans nerolidol, heptanal, furfural, hexanal, isovaleraldehyde, 3-hydroxy-2-butanone, 2-ethyl furan, furan methanol and 2-acetylfuran were produced during fermentation.

Key words: Laoxianghuang; electronic nose; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS); volatile components; relative odor activity value (ROAV)

发酵食品是微生物酶作用于加工原料使其发生一系列的生物化学和物理变化后制成的食品,因风味独特而受到广大消费者欢迎^[1]。老香黄由芸香科植物佛手 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) 腌制后经封坛发酵而成。新鲜佛手由于口感苦涩辛辣,难以直接食用。为了保留佛手的药用价值、改善其口感和延长贮藏时间,自明代以来,岭南地区的潮州乡民以佛手为原料,制作老香黄,其中加配多种中药材,经过盐腌、晒干、炊熟、浸糖液、浸中药粉液、晒干等步骤后再封坛发酵,制成色黑如漆、绵软的老香黄^[2]。老香黄具有消积祛风、开胃理气、化痰生津等功效,而且久藏不坏。此外,老香黄的发酵时间越长,药效越佳,价值也就越高^[3]。因此,老香黄是岭南地区潮汕家庭必备的药用凉果,具有良好的产业化开发潜力。

虽然老香黄在岭南地区已有悠久加工和食用的历史,但其深加工水平较低,市售的老香黄加工品仅有蜜饯和茶袋,产品形式单一。且目前关于老香黄的国内外研究报道不多,主要集中在相关工艺、成分及质量安全等方面的研究,如刘小青等^[4]研究老香黄中矿物质含量;王强等^[5-6]对比了老香黄真空冷冻、微波干燥和恒温热风干燥工艺,且进一步研究老香黄袋泡茶制备工艺;郭守军等^[7]研究了老香黄老药桔混合冲剂的制备工艺;赖宣等^[8]研究了市售 23 个样品的老香黄亚硝酸盐和微生物菌落数含量;刘志聪等^[9]建立了老香黄 HPLC 指纹图谱,并测定了橙皮苷和 5,7-二甲氧基香豆素的含量;谢璧珠等^[10]研究分析了 2016 年市售老香黄凉果微生物与食品添加剂的检测结果等;戈子龙等^[11]采用高通量测序技术分析老香黄加工前后样品中细菌菌群的组成,进而挖掘其加工前后微生物组成与老香黄品质之间的联系。老香黄在加工发酵过程中风味发生显著变化,主要体现在其发酵后产生了令人愉悦且持久的香气。但在发酵过程中,老香黄的挥发性成分究竟发生了怎样的变化,目前鲜见相关研究报道。而研究老香黄在发酵过程中挥发性成分的变化,可为老香黄的合理开发利用及其产品控制提供科学依据。

基于此,本研究以不同发酵月份的老香黄为研究对象,结合电子鼻、GC-MS 和 GC-IMS 这三种技

术在便捷性、质谱定性以及灵敏度等方面的互补优势,分析发酵期间老香黄挥发性成分的变化规律,旨在建立一套监测老香黄挥发性风味成分动态变化的方法,为老香黄在发酵期间挥发性风味物质的变化研究提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

老香黄 为同一批生产工艺下常温密封依次发酵 0、2、4、6、8、12 个月的样品,将其分别命名为 0M、2M、4M、6M、8M、12M,广东展翠食品股份有限公司提供。

PEN3 便携式电子鼻,德国 Airsense 公司; HP6890-5973 气相色谱-质谱联用仪,美国 Aglient 公司; Flavour Spec 1H1-00053 型气相离子迁移谱联用仪 配有分析软件包括 LAV(Laboratory Analytical Viewer)、Reporter 插件、Gallery Plot 插件、GC \times IMS Library Search) 德国 G.A.S 公司;固相微萃取手动 SPME 进样手柄 美国 SUPELCO 公司; 75 μ m CAR/PDMS 固相微萃取纤维 美国 SUPELCO 公司;四氟乙烯橡胶盖顶空瓶 广州市丛源仪器有限公司; AL104 万分之一电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集及处理 在发酵期间,老香黄的采样方式为每次从罐中随机选取大小相近的果 15~20 个,取回的样品立即密封置于-20 $^{\circ}$ C 环境中保藏。测试前,每个实验随机抽取 5 个果,切碎并混合,再称取一定的样品量进行充分研磨,立即装入样品瓶中待分析。

1.2.2 电子鼻分析 PEN3 型电子鼻由 10 种金属氧化物气体传感器阵列组成,性能描述如表 1 所示。分析方法参照陈慧等^[12]的方法,并稍作修改。精确称取 3.0 g 老香黄于 50 mL 橡皮胶垫密封进样瓶中,并在室温下平衡 30 min。随后插入电子鼻探头吸取顶端气体,测定香气物质。电子鼻参数:采样时间间隔 1 s,传感器清洗时间为 120 s,归零时间是 10 s,样品准备时间为 5 s,传感器和样品流量均为 400 mL/min,分析采样时间为 120 s,载气为空气,清洗传感器后进样。检测时传感器于 110 s 后趋于稳定,选取 111 s

表1 PEN3 传感器性能描述

Table 1 PEN3 sensor performance description

阵列序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	芳香成分, 苯类
2	W5S	灵敏度大, 对氮氧化合物很灵敏
3	W3C	芳香成分灵敏, 氨类
4	W6S	主要对氢化物有选择性
5	W5C	短链烷烃芳香成分
6	W1S	对甲基类灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对醇类、醛酮类灵敏
9	W2W	芳香成分, 对有机硫化物灵敏
10	W3S	对长链烷烃灵敏

为信采集时间, 每种样品均平行测定 3 次。

1.2.3 GC-MS 分析

1.2.3.1 顶空固相微萃取方法 在顶空固相微萃取 (Headspace solid phase microextraction, HS-SPME) 之前, 先将固相微萃取纤维安装于手动 SPME 进样手柄上, 于气相色谱进样口 260 °C 老化 20 min。通过单因素实验, 对 HS-SPME 的纤维材料、提取温度、样品量和萃取时间等参数进行优化, 确定其最佳提取工艺。然后将老香黄用研磨仪研碎后密封, 精确称取 6.0 g 样品于 30 mL 萃取瓶中, 盖上带有四氟乙烯胶垫的瓶盖, 固定于 70 °C 的恒温磁力搅拌器上, 待样品平衡 15 min, 将已活化后的固相微萃取针管穿过胶垫, 伸出吸附纤维, 萃取 30 min, 随后将萃取针插入 GC 进样口, 加热解析吸附物 3 min。

1.2.3.2 GC-MS 分析条件 GC 条件: 色谱柱为 DB-WAX 毛细管色谱柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm); 升温程序: 初始温度为 70 °C, 保持 2 min, 然后以 3 °C/min 的速率升高到 120 °C, 最后以 4 °C/min 的速率升高到 230 °C, 保持 5 min; 载气(He)流速 1 mL/min, 进样口温度为 260 °C, 不分流进样。

MS 条件: 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 280 °C; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C; 扫描模式为全扫描; 质量扫描范围 m/z 35~600。

1.2.4 GC-IMS 分析 顶空进样条件: 将 2 g 细磨样品移入 20 mL 顶空玻璃取样瓶中; 顶空孵化温度 60 °C, 孵化时间 15 min, 孵化转速 500 r/min, 进样体积 500 μL, 进样针温度: 65 °C。

GC 条件: 色谱柱(FS-SE-54-CB-1 15 m×0.53 mm, 1 μm), 色谱柱温 60 °C, 运行时间 30 min, 载气为高纯 N₂(纯度 ≥ 99.999%); 载气流速: 起始 2.00 mL/min 保持 2 min, 在 2~20 min 线性增至 100.00 mL/min, 后保持 10 min。

IMS 条件: 离子源为氙源(6.5 KeV), 正离子模式, 漂移管长度 9.8 cm, 管内线性电压 500 V/cm, 漂移气流速 150 mL/min(高纯氮气, 纯度 ≥ 99.999%), 漂移管温度 45 °C。以 n-酮 C₄~C₉ 为外标, 计算各

化合物的保留指数(RI)。

1.3 ROAV 计算

根据刘登勇等^[13]报道, 气味活度值的计算可以引进一个参数 ROAV, 该参数设定对样品风味贡献最大成分: ROAV_{stan}=100, 其他成分的气味活度值(A):

$$ROAV \approx \frac{C\%A}{C\%stan} \times \frac{Tstan}{TA} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: C%A、TA 为各风味组分的相对百分含量和对应的感觉阈值; C%stan、Tstan 分别为对样品风味贡献最大组分的相对百分含量和感觉阈值。当物质的 ROAV>1 时, 该物质对于挥发性风味的贡献大, 为主要香气成分, ROAV 越大, 对风味的贡献就越大; 当 0.1<ROAV<1 时, 该成分作为修饰成分。

1.4 数据处理

应用 GC-MS 内置的 NIST08.L 化学工作站标准谱库对检测到的挥发性成分进行鉴定, 用峰面积归一化法确定各种成分的相对含量。采用 GC-IMS 设备自带仪器分析软件, 包括 LAV 和插件(Reporter、Gallery plot)对样品的挥发性成分进行采集和分析, 通过保留指数(RI)和漂移时间与 GC-IMS 文库以及峰面积归一化处理进行化合物定性定量分析。使用 TB tools 软件绘制聚类热图。使用 SPSS 23.0 软件进行主成分分析(PCA), 统计学处理采用 t 检验进行组间差异显著性分析, P<0.05 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 基于电子鼻分析不同发酵时间老香黄的挥发性组分

PEN3 电子鼻系统对测量范围内的样品气味和挥发性化合物非常敏感, 微小的变化会导致传感器响应值的差异^[14]。由图 1 香气分布雷达图可以看出, 对不同发酵月份老香黄样品响应强度均较大的传感器有 W2W、W2S、W1W、W1S, 它们分别对芳香成分、醇类、醛酮类、甲基类化合物和有机硫化物灵敏。不同发酵月份样品差异较明显的体现在 W2W、

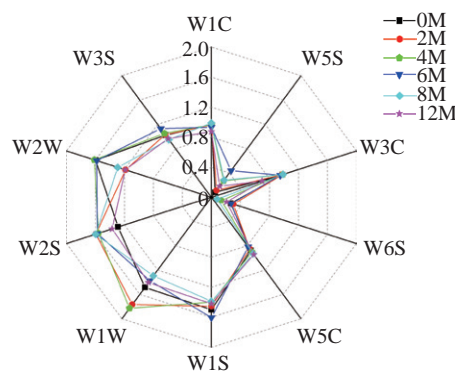


图1 不同发酵月份的老香黄挥发性成分的电子鼻传感器响应强度雷达图

Fig.1 Radar map of aroma components distribution of Laoxianghuang in different fermentation months

W2S、W1W 上,说明发酵对老香黄中的芳香成分、醇类和醛酮类有较大影响。

在荷载分析图中,各传感器的坐标可以精准地反映其对样品挥发性气味贡献率的大小;离原点越远,传感器对主成分的贡献越大,反之则越小^[15]。由图 2 可知,W2W、W2S、W1S 和 W1W(分别对芳香成分、醇类、醛酮类、甲基类化合物和有机硫化物灵敏)离中心原点较远,W1C、W3C、W3S 和 W5C(分别对苯类、氨类、长链烷烃、短链烷烃灵敏)次之,距离最近的是 W6S 和 W5S(分别对氢化物和氮氧化物灵敏)。结合香气分布雷达图说明,芳香成分、醇类、醛酮类、甲基类化合物和有机硫化物对老香黄样品香气贡献率最大,而苯类、氨类、长链烷烃、短链烷烃次之,贡献率最小的是氢化物和氮氧化物。

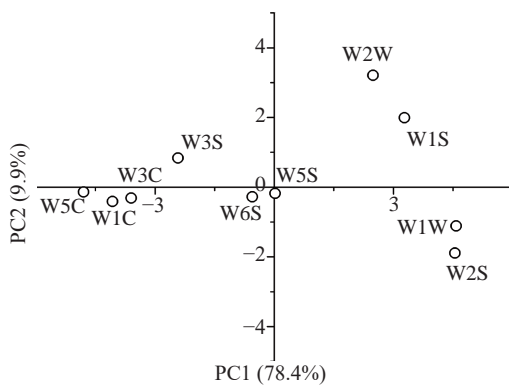


图 2 不同发酵月份的老香黄 PEN3 传感器载荷图
Fig.2 PEN3 load diagram of sensor of Laoxianghuang in different fermentation months

由 PCA 图(图 3)可知,总贡献率为 88.4%(PC1 和 PC2 分别为 46.8% 和 41.6%),说明不同发酵月份的老香黄样品间风味相互独立,整体区分度较好,PCA 方法适用于老香黄发酵期间的挥发性成分分析。发酵 0、2、4 个月样品在主成分 2 上较为接近,但它们与发酵 6、8、12 个月样品差异较大,且发酵 6、8、12 个月的样品在主成分 1 上均有较明显的差异,说明总体上发酵 0~4 个月的老香黄挥发性组分差异小,而发酵 6~12 个月样品的挥发性组分差异

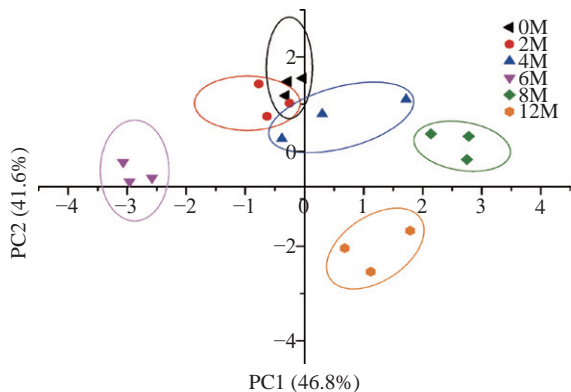


图 3 不同发酵月份的老香黄 PCA 图

Fig.3 PCA diagram of Laoxianghuang in different fermentation months

大。由此可见,发酵 6 个月后老香黄的挥发性组分开始发生较大的变化。

2.2 基于 GC-MS 分析不同发酵时间的老香黄挥发性成分

2.2.1 发酵期间老香黄挥发性香气成分的鉴定 不同发酵时间的老香黄挥发性成分的总离子流图(TIC)如图 4 所示,老香黄在不同发酵阶段共鉴定出 46 种挥发性物质,包括萜烯类、醇类、醛类、酚类、酯类、醚类、杂环化合物和其它共 8 个种类,具体挥发性成分种类和相对含量见图 5 和表 2。其中, α -蒎烯(3.87%)、 β -蒎烯(2.89%)、月桂烯(3.73%)、蒎品油烯(3.75%)、柠檬烯(28.87%)、异松油烯(16.21%)、1-石竹烯(1.66%)、巴伦西亚橘烯(1.11%)、芳樟醇(7.65%)、 α -松油醇(1.83%)、糠醛(1.92%)、麦芽酚(7.22%)、茴香脑(1.90%)和 2,4-二甲基苯乙烯(1.25%)是不同发酵时间的样品中平均含量较高且相对稳定的 14 个共有成分。基于此,这些成分可以作为老香黄发酵期间的目标参考化合物。

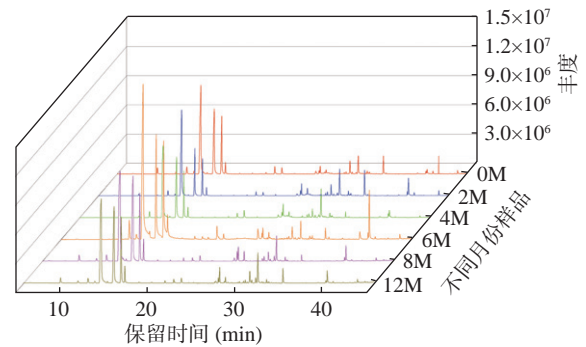


图 4 不同发酵月份的老香黄 TIC 图
Fig.4 TIC diagram of Laoxianghuang in different fermentation months

由图 5 和表 2 可知,萜烯类物质是老香黄挥发性成分中含量最丰富的,六个发酵阶段样品的萜烯类物质的含量分别为 68.44%、70.58%、69.92%、67.26%、60.07% 和 59.8%,且多为单萜烯类化合物;萜烯类化合物具有柠檬香气、柑橘香、药草香、木香、青香、花香、甜香等香气^[16,17]。醇类化合物在不

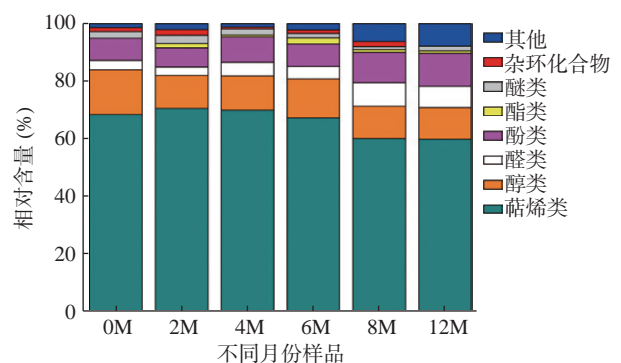


图 5 不同发酵月份的老香黄挥发性成分种类含量图

Fig.5 Proportion of volatile components in Laoxianghuang in different fermentation months

表2 GC-MS 鉴定不同发酵时间老香黄的挥发性成分
Table 2 Identification of volatile compounds in Laoxianghuang by GC-MS

化合物名称	保留时间 (min)	相对含量(%)						气味特征 ^[16-24]
		0M	2M	4M	6M	8M	12M	
萜烯类								
α -蒎烯	9.589	4.42±1.03 ^a	4.32±0.59 ^a	3.82±1.02 ^c	4.04±1.24 ^b	3.53±0.99 ^d	3.09±1.42 ^e	新鲜樟脑、木香
β -蒎烯	11.699	2.62±1.43 ^d	2.41±0.83 ^e	2.37±0.93 ^e	3.32±1.40 ^b	2.98±2.80 ^c	3.64±1.04 ^a	干木、树脂样气息
月桂烯	12.925	4.68±0.80 ^a	3.85±1.24 ^b	3.19±1.30 ^d	3.56±1.36 ^c	3.13±0.50 ^d	3.96±1.78 ^b	胡椒香、辛香
萜品油烯	13.733	4.65±0.13 ^a	3.9±0.01 ^c	2.79±0.81 ^f	3.17±0.72 ^c	3.62±0.25 ^d	4.39±0.34 ^b	松木香
α -萜品烯	13.739	ND	ND	0.51±1.35 ^c	0.68±0.15 ^b	0.99±0.70 ^a	0.48±0.20 ^c	DNC
柠檬烯	14.554	30.03±0.66 ^c	34.72±0.94 ^a	33.64±1.55 ^b	28.13±1.90 ^d	24.55±0.22 ^c	22.16±0.43 ^f	柑橘香、药草香
异松油烯	16.068	14.54±0.22 ^c	17.73±0.03 ^b	18.56±0.32 ^a	17.82±2.00 ^b	14.03±0.64 ^d	14.55±0.04 ^c	木香、柠檬香气
1-石竹烯	28.802	0.45±0.50 ^f	1.7±0.30 ^c	0.99±0.33 ^c	1.94±1.54 ^b	1.12±1.39 ^d	3.75±1.11 ^a	木香、丁香
金合欢烯	30.355	2.11±1.60 ^b	1.23±1.80 ^c	1.39±2.20 ^c	1.19±2.01 ^c	2.87±1.01 ^a	ND	青香、花香、甜香
茨烯	30.374	ND	ND	0.3±0.04 ^c	0.81±1.42 ^b	0.3±0.01 ^c	1.18±1.55 ^a	樟脑、薰衣草香
巴伦西亚橘烯	31.798	2.27±0.08 ^a	0.46±0.60 ^d	0.36±1.09 ^d	1.8±0.01 ^b	0.29±0.31 ^d	1.48±0.10 ^c	柑橘香
3-萜烯	32.324	ND	0.11±1.00 ^c	0.23±3.74 ^c	0.8±0.36 ^b	1.2±0.26 ^a	1.12±0.10 ^a	松木香
杜松烯	32.664	1.45±1.60 ^b	ND	1.77±0.35 ^a	ND	1.46±0.45 ^b	ND	DNC
1-卡拉烯	35.667	1.22±1.03 ^a	0.15±0.04 ^b	ND	ND	ND	ND	DNC
总数		68.44	70.58	69.92	67.26	60.07	59.8	
醇类								
3-己烯-1-醇	20.437	0.23±1.04 ^a	0.11±1.00 ^b	0.09±0.23 ^b	ND	ND	ND	DNC
芳樟醇	26.134	8.16±0.09 ^a	7.23±1.38 ^c	8.19±0.07 ^a	7.12±0.06 ^d	8.09±0.50 ^b	7.1±0.74 ^d	木青气息、花香
(-)-4-萜品醇	28.36	0.22±0.12 ^c	0.15±1.45 ^d	ND	1.85±1.20 ^b	1.88±0.25 ^b	1.93±2.52 ^a	霉味
1-壬醇	29.874	ND	ND	ND	ND	ND	0.25±0.22	脂肪、柑橘香气
α -松油醇	31.503	1.24±0.02 ^d	1.11±0.09 ^e	2.35±1.51 ^b	3.2±0.09 ^a	1.27±0.04 ^d	1.78±0.02 ^c	茴芹、薄荷气味
γ -松油醇	31.516	2.86±1.00 ^a	1.61±1.48 ^b	0.03±1.22 ^c	ND	ND	ND	紫丁花香、木香
香茅醇	33.011	1.87±0.77 ^a	0.84±1.74 ^b	0.86±1.36 ^b	0.46±0.66 ^c	ND	ND	柚香气味
橙花醇	34.063	0.99±0.68 ^a	0.12±0.45 ^c	0.29±1.78 ^c	0.58±0.80 ^b	ND	ND	柑橘、木兰香气
香叶醇	35.295	ND	0.28±1.42 ^a	0.15±1.00 ^b	0.34±0.02 ^a	ND	ND	玫瑰花香、果香
总数		15.57	11.45	11.96	13.55	11.24	11.06	
醛类								
糠醛	23.76	1.33±1.33 ^d	1.65±0.30 ^c	1.94±0.14 ^b	2.83±1.35 ^a	2.87±1.11 ^a	0.9±0.49 ^c	焦甜香
3-糠醛	23.76	ND	0.8±0.32 ^b	0.96±1.44 ^a	ND	ND	ND	DNC
5-甲基呋喃醛	27.622	0.83±1.29 ^c	ND	1.01±0.01 ^b	0.51±0.33 ^d	0.76±0.39 ^c	1.49±0.22 ^a	焦甜气味
5-羟甲基糠醛	29.046	0.68±0.09 ^c	ND	0.5±0.25 ^d	0.56±0.63 ^d	1.24±1.92 ^b	1.64±1.25 ^a	焦糖、清新气味
顺式肉桂醛	40.985	0.45±0.50 ^b	ND	0.32±1.03 ^c	0.22±1.06 ^c	1.15±1.04 ^a	1.21±0.90 ^a	桂皮、肉桂油气味
反式肉桂醛	40.985	ND	0.46±0.30 ^b	ND	0.21±1.41 ^b	2.2±1.30 ^a	2.15±1.50 ^a	肉桂芳香
总数		3.29	2.91	4.73	4.33	8.22	7.39	
酚类								
麦芽酚	40.324	6.91±1.35 ^c	6.68±1.27 ^d	8.32±1.06 ^a	6.55±3.40 ^a	7.97±0.35 ^b	6.88±1.01 ^c	焦甜香
3-烯丙基愈创木酚	43.769	ND	ND	0.53±2.00 ^a	ND	0.28±1.74 ^b	ND	辛香
丁香酚	43.801	0.8±0.03 ^c	ND	ND	0.42±1.36 ^d	1.14±1.93 ^b	2.44±1.30 ^a	丁香、辛香
香芹酚	43.904	ND	ND	ND	0.87±1.70 ^c	1.13±1.06 ^b	2.22±1.02 ^a	麝香气味
总数		7.71	6.68	8.85	7.84	10.52	11.54	
酯类								
2-糠酸甲酯	40.164	ND	ND	0.01±1.44 ^b	0.85±0.55 ^a	0.05±0.67 ^b	ND	DNC
3-呋喃甲酸甲酯	40.196	ND	1.53±1.66 ^a	0.32±0.63 ^c	0.8±1.66 ^b	0.81±0.15 ^b	0.8±0.15 ^b	DNC
肉豆蔻酸异丙酯	40.453	ND	ND	0.34±0.43 ^b	0.52±0.26 ^a	0.13±0.20 ^c	ND	焦糖气味
总数		0	1.53	0.67	2.17	0.99	0.8	
醚类								
茴香脑	35.327	2.24±1.06 ^b	2.82±3.21 ^a	2.11±3.14 ^c	1.55±1.03 ^d	1.05±0.99 ^c	1.65±1.06 ^d	甘草、茴香气味
总数		2.24	2.82	2.11	1.55	1.05	1.65	
杂环化合物								
2,5-二甲酰基呋喃	39.195	ND	1.88±0.45 ^a	0.63±0.03 ^c	0.96±0.60 ^b	0.82±0.43 ^b	ND	坚果香、甜香
2-(羧基乙酰基)呋喃	39.432	ND	ND	ND	0.17±0.73 ^b	0.93±0.28 ^a	ND	可可、巧克力香

续表 2

化合物名称	保留时间 (min)	相对含量(%)						气味特征 ^[16-24]
		0M	2M	4M	6M	8M	12M	
4-氨基吡嗪	40.196	1.45±2.67 ^a	0.2±2.01 ^b	ND	ND	ND	ND	DNC
总数		1.45	2.08	0.63	1.13	1.75	0	
其它								
1,5-二甲基-1,5-环辛二烯	14.201	ND	0.05±0.19 ^c	0.01±0.10 ^c	ND	1.64±1.63 ^b	1.98±0.16 ^a	DNC
(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯	14.535	ND	ND	ND	ND	1.38±0.52 ^a	1.31±0.20 ^a	DNC
桉叶油醇	14.855	ND	ND	ND	0.64±0.01 ^c	1.38±0.17 ^b	2.08±0.60 ^a	薄荷糖气味
2-氯樟脑	21.944	ND	ND	ND	0.21±0.03 ^b	0.82±1.25 ^a	ND	DNC
2,4-二甲基苯乙烯	22.952	1.3±1.32 ^c	1.9±0.11 ^a	1.12±1.22 ^d	1.32±0.60 ^c	0.36±0.01 ^c	1.5±1.01 ^b	DNC
异丙基萘	30.265	ND	ND	ND	ND	0.58±2.37 ^b	0.89±0.16 ^a	DNC
总数		1.3	1.95	1.13	2.17	6.16	7.76	

注: 数据表示为平均值±标准差, 不同的字母表示差异显著($P<0.05$); ND表示未检测出; DNC表示未确定。

同发酵阶段老香黄样品中的百分含量为 15.57%、11.45%、11.96%、13.55%、11.24%、11.06%, 醇类物质具有木青气息、花香、薄荷香气柑橘香、柚香等气味, (-)-4-萜品醇是在老香黄发酵期间含量较低但具有不良气味的物质^[18,19]。醛类化合物在不同发酵阶段的老香黄样品中分别占 3.29%、2.91%、4.73%、4.33%、8.22%、7.39, 具有焦甜和清新气味, 其中糠醛为主要成分, 具有焦香气味。除此之外, 醛类物质还具有桂皮、桂肉等芳香^[20]。酚类化合物在不同发酵阶段的老香黄样品中分别占 7.71%、6.68%、8.85%、7.84%、10.52%、11.54%, 其中麦芽酚为主要成分, 具有焦甜香。除此之外, 酚类物质还具有丁香、辛香和麝香气味^[21,22]。六个不同发酵阶段老香黄样品中的酯类物质百分含量为 0、1.53%、0.67%、2.17%、0.99%、0.8%。该类物质有 2-糠酸甲酯、3-呋喃甲酸甲酯、肉豆蔻酸异丙酯三种, 其中 3-呋喃甲酸甲酯具有焦糖香。醚类物质是化合物数量最少的一类, 只有茴香脑一种, 在发酵期间的百分含量依次为 2.24%、2.82%、2.11%、1.55%、1.05%、1.65%, 具有甘草、茴香气味^[23]。六个发酵阶段老香黄样品中的杂环化合物的百分含量分别为 1.45%、2.08%、0.63%、1.13%、1.75%、0%, 其中 2,5-二甲酰基呋喃具有坚果香、甜香气味, 2-(羟基乙酰基)呋喃具有可可、巧克力香。其它类化合物的百分含量在发酵期间的含量分别为 1.3%、1.95%、1.13%、2.17%、6.16%、7.76%, 其中桉叶油醇具有薄荷香^[24]。综上所述, 萜烯类、醇类、醛类和酚类是老香黄中含量比较丰富的物质, 其中含量变化最为显著的是萜烯类、醛类、酚类($P<0.05$)。

2.2.2 不同发酵时间老香黄挥发性组分变化分析

为了更直观地对比不同发酵时间老香黄挥发性成分的差异, 采用 TB tool 软件进行热图聚类分析。如图 6 所示, 随着欧氏距离的平方的增加, 六个发酵时间段的样品可分为 3 类: 0M 和 2M、4M 和 6M、8M 和 12M。结合图 6 和表 2 来看, 发酵 0M、2M、4M、6M、8M、12M 六个样品的挥发性成分数量分别为

27、29、34、37、38、30, 呈先上升后下降的趋势, 其中以发酵 6 个月和 8 个月时最为丰富。从挥发性成分的含量来看, 随着发酵过程的进行, 醛类和酚类物质总体增加, 萜烯类和醇类物质逐渐减少, 而酯类物质从无到有, 与黄六斌等^[25]研究柑橘酒发酵过程中挥发性成分的变化趋势相似。

分别对不同发酵时间老香黄中的共有化合物进行分析。由图 6 和表 2 可知, α -蒎烯含量变化呈升降-降趋势, 未发酵的样品中含量最高(4.42%), 发酵 12 个月降至最低值(3.09%), 据 Vespermann^[26]等研究报告, α -蒎烯在微生物酶的作用下可转化为(-)-4-萜品醇, 由此可推测发酵期间(-)-4-萜品醇含量的上升可能原因是 α -蒎烯的生物转化。 β -蒎烯变化呈先下降后上升趋势, 在发酵 12 个月时达到最大值, 为 3.64%。月桂烯含量波动不大, 变化没有呈现出规律性。萜品油烯变化呈先下降后上升的趋势, 其在未发酵样品中的含量最高, 在发酵 4 个月时含量达到最低值(2.79%)。柠檬烯为老香黄中含量最高的成分, 其在发酵过程的变化最为显著($P<0.01$), 发酵 2 个月时柠檬烯含量为 34.72%, 过了 2 个月后, 柠檬烯开始呈下降趋势, 发酵 12 个月样品中呈现最低值, 为 22.16%, 柠檬烯的微生物转化产物主要有 1、2、3、6、8 位环氧化产物, 其中 6 位环氧化产物香芹酚在发酵 6 个月时含量从无至有, 而 8 位环氧化产物 α -松油醇含量在发酵前 6 个月呈上升趋势, 由此推测柠檬烯在发酵期间可能在微生物的作用下发生了氧化反应^[27,28]。异松油烯是老香黄挥发性成分中含量第二高的成分, 其变化规律呈先上升后下降的趋势, 在发酵 4 个月时含量最高, 为 18.56%, 8 个月时含量最低(14.03%)。1-石竹烯在未发酵的样品中含量很低, 但在发酵 2 个月后含量突然上升, 为 1.25%, 发酵 12 个月时则达到最高值 3.75%。巴伦西亚橘烯含量变化没有呈现出规律性, 其在未发酵样品中的含量最高(2.27%)。芳樟醇的含量较为稳定, 但未呈现出规律性。糠醛为多糖的次级代谢产物^[29], 佛手中富含多糖类物质^[30], 在发酵 8 个月之前, 糠醛含量随着

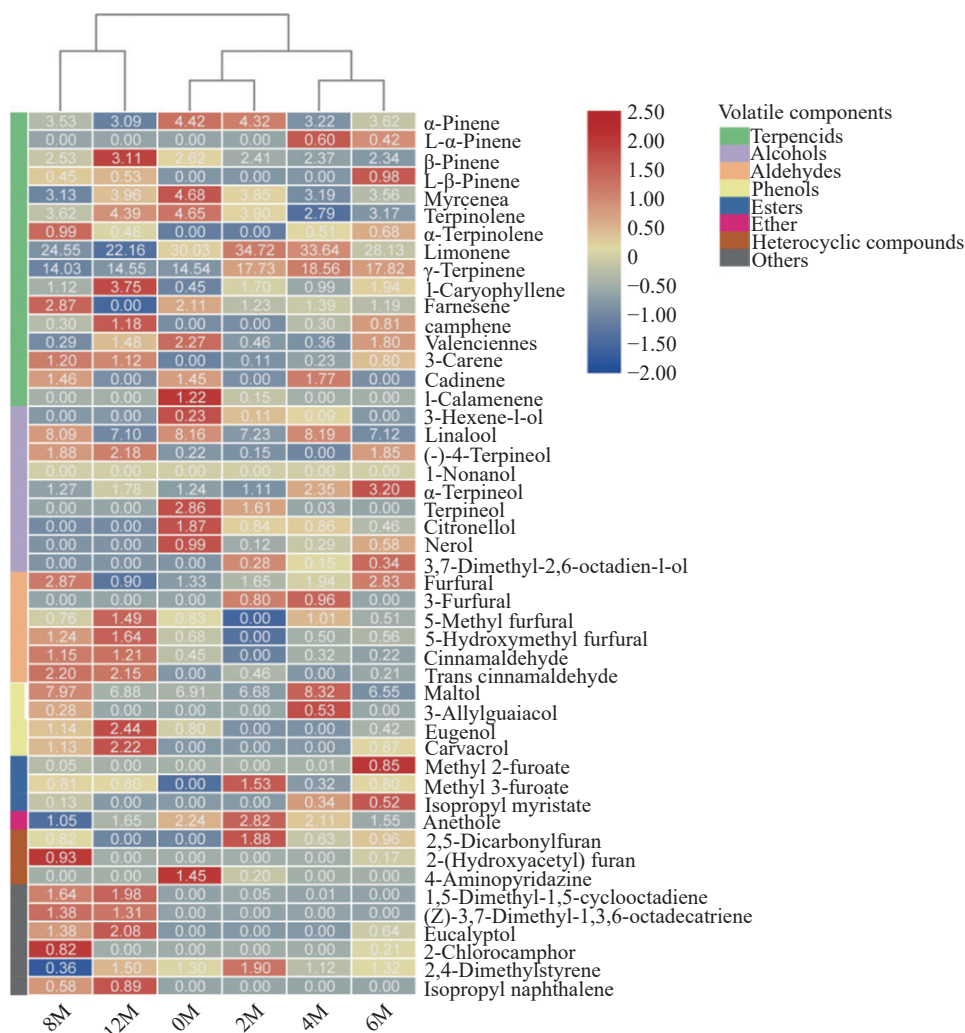


图 6 不同发酵月份的老香黄挥发性组分聚类分析热图

Fig.6 Cluster analysis heat map of volatile components in Laoxianghuang in different fermentation months

发酵时间的增加而增加,在发酵 8 个月时达到了峰值(2.87%),8 个月其含量开始下降,发酵 12 个月时含量低至 0.9%。麦芽酚在发酵 4 个月时含量最高,为 8.32%。茴香脑呈升-降-升趋势,发酵 2 个月时含量最高(2.82%)。2,4-二甲基苯乙烯含量变化没有呈现规律,但在发酵 2 个月时含量为最高,为 1.9%。总体而言,α-蒎烯、月桂烯、萜品油烯和巴伦西亚橘烯在老香黄原料中含量最高;β-蒎烯和 1-石竹烯在发酵 12 个月样品中含量最高;柠檬烯、茴香脑和 2,4-二甲基苯乙烯在老香黄发酵 2 个月时含量达到最高;异松油烯、麦芽酚和芳樟醇在样品发酵 4 个月时含量最高;α-松油醇和糠醛分别在发酵 6 个月和 8 个月时含量为最高。

2.3 基于 GC-IMS 分析不同发酵时间老香黄的挥发性成分

2.3.1 发酵期间老香黄的 GC-IMS 二维谱图分析
采用 GC-IMS 技术分析发酵期间的老香黄挥发性成分,图 7 为不同发酵月份样品 GC-IMS 二维谱图,纵坐标表示 GC 保留时间,横坐标代表反应离子峰迁移时间,横坐标 1.0 处竖线为 RIP 峰(反应离子峰,经归

一化处理)。RIP 峰右侧每一个亮点代表一种挥发性物质,由于单体离子和中性分子可能在漂移区形成附属物,因此一种化合物可能会产生多个信号或点(单体和二聚体,在文中分别以 M 和 D 表示)^[31]。颜色代表物质的浓度,颜色越深表示浓度越大。从图 7 可以看出,不同发酵时间的老香黄挥发性成分可通过 GC-IMS 很好地分离出来,红框区域的挥发性成分在发酵 0 个月的样品中含量最低,随着发酵时间的延长,其含量逐渐增加。从黄框区域的挥发性成分来看,2M、4M 两个样品最相似,6M、8M、12M 样品存在一定差异。

根据保留指数(RI)和漂移时间与 GC-IMS 文库以及峰面积归一化处理进行化合物定性定量分析(表 3),定性出 38 种已知挥发性组分,包括萜烯类 8 种、醇类 5 种、醛类 9 种、酯类 4 种、酮类 4 种、酚类 1 种、酸类 2 种、杂环类 4 种、其它 1 种。定性检测出的 38 种已知挥发性组分,大部分是佛手中常见的香味成分,其中,反式-橙花叔醇、庚醛、糠醛、己醛、异戊醛、3-羟基-2-丁酮、2-乙基呋喃、呋喃甲醇、2-乙酰基呋喃等挥发性成分,目前在佛手的挥发性组分

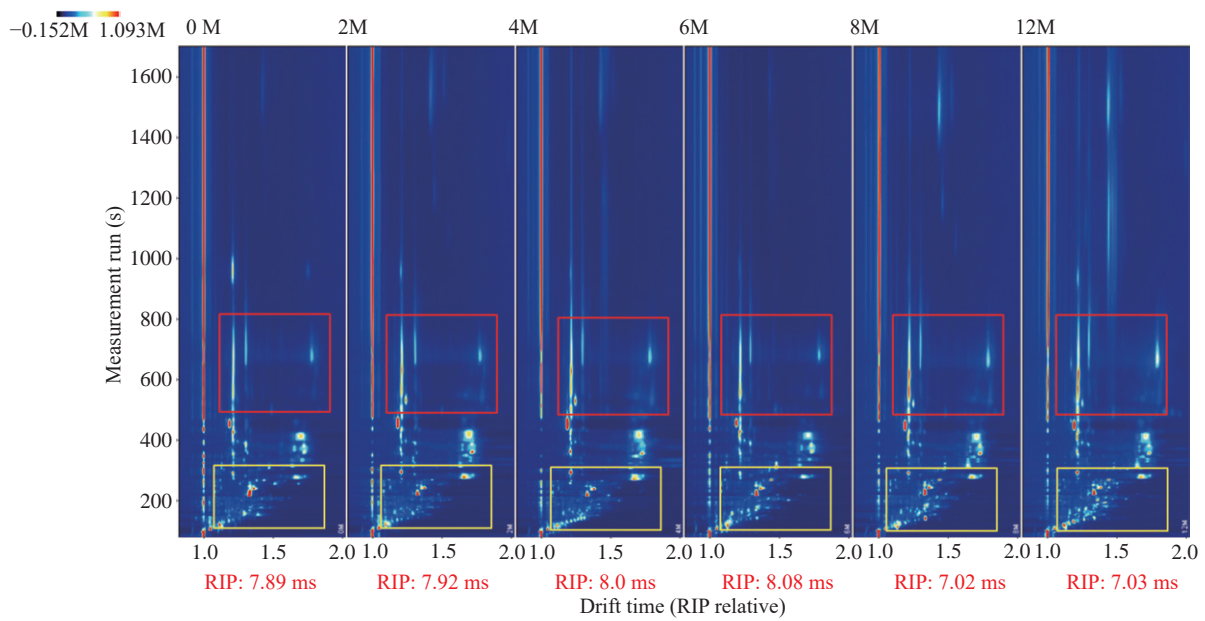


图 7 不同发酵月份的老香黄挥发性组分 GC-IMS 二维谱图

Fig.7 GC-IMS two-dimensional spectra of volatile components in Laoxianghuang in different fermentation months

表 3 GC-IMS 鉴定不同发酵时间老香黄的挥发性成分

Table 3 Identification of volatile compounds in Laoxianghuang by GC-IMS

化合物名称	迁移时间 (min)	保留指数	保留时间 (s)	相对含量 (%)						气味特征 ^[16-24]
				0 M	2 M	4M	6M	8M	12M	
萜烯类										
α -蒎烯	1.68	927.9	277.29	4.68	8.41	9.04	5.44	5.32	4.92	新鲜樟脑、木香
蒎烯	1.21	948.5	293.47	1.73	2.8	3.4	2.66	1.69	2.42	樟脑、薰衣草香
β -蒎烯	1.68	972.9	315.32	3.09	3.78	2.71	3.11	3.8	3.84	干木、树脂样气息
月桂烯	2.14	990.9	333.84	1.82	1.84	0.84	1	1.26	1.28	胡椒香、辛香
3-蒎烯	1.73	1010.4	356.46	1.93	2.9	2.8	2.22	2.57	2.12	松木香
柠檬烯	1.22	1033.2	385.91	23.9	24.73	25.89	24.82	22.66	20.71	柑橘香、药草香
反式- β -罗勒烯	1.7	1052.3	412.43	9.33	7.55	5.66	5.94	6.26	5.9	青草香
蒎品油烯	1.22	1149	557.12	2.36	3.1	3.56	3.64	2.77	3.1	松木香
总数				48.84	55.12	53.91	48.83	46.33	44.28	
醇类										
乙醇	1.05	475.6	106.86	4.68	3.23	3.5	2.29	1.98	2.72	药香、酒精气味
异戊醇	1.49	733.6	175.69	0.09	ND	ND	0.11	ND	ND	麦芽香
芳樟醇	1.22	1089.3	467.22	3.14	3.36	3.4	3.24	3.68	3.41	木青气息、花香
α -松油醇	1.79	1227.6	675.48	7.54	6.7	7.36	6.24	7.23	9.02	茴芹、薄荷气味
反式-橙花叔醇	1.44	1764.1	1483.56	3.54	8.45	8.97	4.74	13.63	13.25	柑橘、木兰香气
总数				18.98	21.74	23.23	16.62	26.51	28.41	
醛类										
正丁醛	1.29	625.7	142.16	ND	0.16	0.71	0.25	ND	ND	DNC
异戊醛	1.41	663.9	152.1	1.52	ND	ND	ND	0.15	0.18	水果香
戊醛	1.16	688.8	159.51	ND	ND	ND	1.42	0.56	1.51	杏仁、麦芽、辛辣
己醛-D	1.56	796.1	202.8	0.18	0.19	0.3	0.67	0.14	0.23	青草、脂肪气味
己醛-M	1.27	797.4	203.39	0.53	0.23	0.21	0.25	0.18	0.15	青草、脂肪气味
糠醛	1.33	842	225.03	8.77	5.65	4.08	6.42	4.95	4.87	焦甜香
庚醛	1.33	905.5	261.69	ND	ND	ND	ND	0.6	0.27	脂肪、柑橘气味
壬醛	1.49	1107.6	494.72	0.87	0.73	0.89	1	1.46	1.68	脂肪、柑橘香气
香茅醛	1.22	1149	557.12	7.14	6.86	6.02	8.33	7.95	7.84	柚子香
总数				19.02	13.81	12.22	18.34	15.98	16.74	
酯类										
乙酸乙酯	1.34	630.5	143.33	ND	0.99	0.87	1.46	2.03	2.15	菠萝香、水果香
乙酸丁酯	1.62	807.4	208.06	0.81	ND	ND	ND	ND	ND	果香、清香

续表 3

化合物名称	迁移时间 (min)	保留指数	保留时间 (s)	相对含量(%)						气味特征 ^[16-24]
				0 M	2 M	4M	6M	8M	12M	
戊酸乙酯-D	1.69	896.7	256.04	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	果香
戊酸乙酯-M	1.26	897.3	256.43	0.85	ND	ND	ND	ND	ND	果香
总数				2.16	0.99	0.87	1.46	2.03	2.15	
酮类										
丙酮	1.12	528	119.15	ND	1.35	1.46	2.05	0.99	1.93	刺激醚、芳香气味
2,3-丁二酮	1.19	582.1	131.82	1.13	0.78	1.79	ND	ND	1.42	DNC
2-丁酮	1.24	615.2	139.62	1.84	0.11	0.37	0.62	ND	ND	陈腐、不新鲜气味
3-羟基-2-丁酮	1.33	725.7	172.58	0.33	0.21	0.27	0.82	0.47	0.19	黄油气味、奶油香
总数				3.29	2.46	3.88	3.49	1.46	3.54	
酚类										
4-甲基愈创木酚	1.19	1192.1	622.05	0.23	0.26	0.27	0.8	0.17	0.39	辛香气味
总数				0.23	0.26	0.27	0.8	0.17	0.39	
酸类										
丙酸	1.28	726.7	172.97	0.25	0.29	0.67	0.83	ND	ND	果香
异戊酸	1.49	835.1	221.52	ND	ND	0.56	0.91	0.44	0.2	奶酪、腐败气味
总数				0.25	0.29	1.23	1.74	0.44	0.2	
杂环化合物										
2-乙基呋喃	1.34	755.8	184.86	1.39	0.4	0.25	0.96	1.11	1.32	坚果、脂香气味
呋喃甲醇	1.36	878	244.72	2.57	2.31	2.33	2.1	2	1.33	焦糖香
2-乙酰基呋喃	1.44	915.1	268.13	1.06	1.45	0.36	1.88	1.32	1.36	脂香气味
2-乙酰基噻唑	1.48	981.6	324.09	0.82	ND	ND	1.42	0.54	0.27	DNC
总数				5.85	4.16	2.94	6.35	4.97	4.28	
其它										
桉叶油醇	1.74	1033.1	385.71	1.38	1.19	1.44	2.36	2.11	ND	薄荷糖气味
总数				1.38	1.19	1.44	2.36	2.11	0	

注: ND表示未检测出; DNC表示未确定。

研究中鲜有报道,这可能是发酵过程中产生的。根据文献报道,这些物质一般都具有特殊的香味,比如反式-橙花叔醇具有柑橘、木兰香气的气味;庚醛具有脂肪、柑橘香;糠醛呈焦甜香气;异戊醛伴有果香;己醛具有类似青草、脂肪气味;3-羟基-2-丁酮具有黄油、奶油香;2-乙基呋喃伴有坚果、脂香等。因此,这些成分构成了老香黄特有的气味(详情见表3)。

2.3.2 不同发酵时间老香黄挥发性成分离子迁移指纹图谱分析 为进一步比较不同发酵时间老香黄挥发性成分的差异,采用 GC-IMS 仪器自带软件生成离子迁移指纹图谱(图8)。横轴为样品中检测出的所有挥发性成分,纵轴为不同发酵月份的老香黄样品。将指纹谱图分为 A、B、C、D、E 共 5 个特征峰区域和 F、G 共同区域。A 区为发酵 0 个月样品的特征峰区域,包括的挥发性组分为戊酸乙酯、乙酸丁酯、异戊醛、糠醛。B 区为发酵 4 个月样品的特征峰区域,包括的挥发性组分为苜烯、2-丁酮、正丁醛、异戊酸。C 区为发酵 6 个月样品的特征峰区域,包括的挥发性组分为己醛、3-羟基-2-丁酮、戊醛、异戊醇、2-乙基呋喃、2-乙酰基呋喃。D 区是发酵 8 个月样品的特征峰区域,主要包括反式-橙花叔醇、桉叶油醇、庚醛、乙酸乙酯、2-乙基呋喃、柠檬烯、 α -松油醇共 8 种挥发性组分。E 区为发酵 12 个月样品的特征峰

区域,包括的挥发性组分为 β -蒎烯、2,3-丁二酮、4-甲基愈创木酚、壬醛、丙酸。G 区为发酵 0 个月和 2 个月的共同区域,已知的挥发性组分包括呋喃甲醇、乙醇、反式- β -罗勒烯; F 区为发酵 8 个月和 12 个月的共同区域,包括乙醇、反式- β -罗勒烯、3-萜烯、 α -蒎烯、月桂烯、萜品油烯共 6 种挥发性组分。结合表 3 可知,发酵前期,呋喃甲醇、乙醇、反式- β -罗勒烯均为最高值;随着发酵时间的延长,三者含量均呈稳定的下降趋势;而 3-萜烯、 α -蒎烯、月桂烯、萜品油烯含量在发酵前期显著增加,之后下降,并在发酵 8 个月后再次升高。2-乙基呋喃、2-乙酰基呋喃、反式-橙花叔醇随着发酵时间的延长含量逐渐增多。这些挥发性成分的生成可能是由于美拉德反应和氨基酸与脂质的相互作用有关^[32]。

2.4 老香黄挥发性成分的主要香味贡献成分

综合定性结果,对每个阶段均检测出的化合物香味阈值进行查询并计算。本研究中检测到芳樟醇物质,虽然含量较低,但根据佛手挥发性风味的相关文献 [16] 报道,柠檬烯、异松油烯等萜烯化合物和芳樟醇是佛手的重要香气物质。这类物质的风味阈值低,清香味强烈。故定义芳樟醇的 ROAV 为 100,其他风味成分的 ROAV 由式(1)计算得出。选择其中 ROAV>0.1 的成分列出,如表 4 所示。

由表 4 可知,ROAV>0.1 有 19 种挥发性成分,

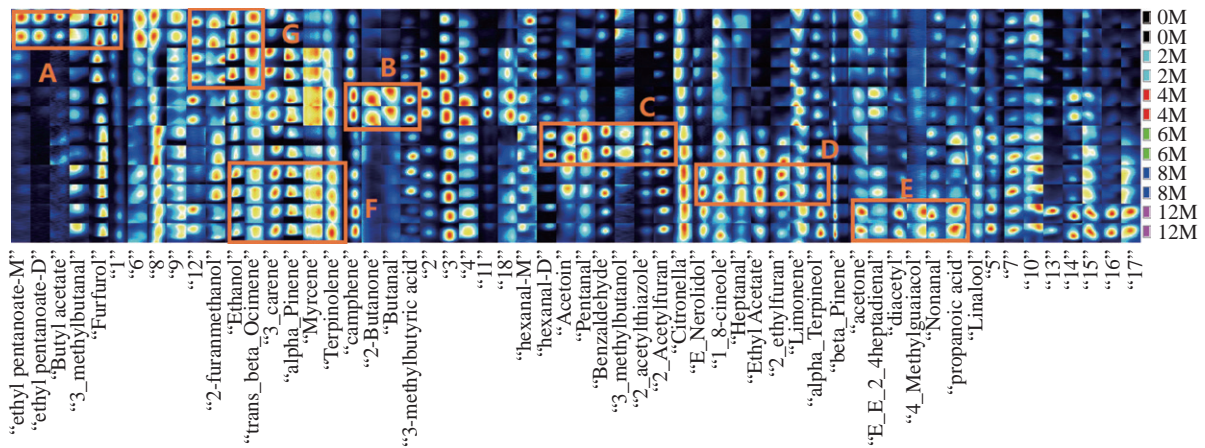


图 8 不同发酵月份的老香黄挥发性组分 GC-IMS 指纹图谱

Fig.8 GC-IMS fingerprint of volatile components in Laoxianghuang in different fermentation months

表 4 老香黄挥发性风味成分的相对风味活度值

Table 4 Relative flavor activity values of volatile flavor components in Laoxianghuang

成分	阈值 (mg/kg) ^[16-24]	相对风味活度值 ROAV					
		0M	2M	4M	6M	8M	12M
异松油烯	0.041	11.29	12.87	13.31	13.41	9.30	10.41
萘品油烯	0.302	0.25	0.31	0.35	0.37	0.25	0.30
反式-β-罗勒烯	0.043	6.91	5.23	3.87	4.26	3.96	4.02
柠檬烯	0.2	4.78	5.17	4.95	4.34	3.34	3.25
月桂烯	0.1	0.58	0.55	0.25	0.31	0.34	0.38
β-蒎烯	1.5	1.07	1.08	1.05	1.06	1.07	1.08
α-蒎烯	0.19	1.78	2.32	2.40	2.18	1.76	1.76
反式-橙花叔醇	0.68	0.17	0.37	0.39	0.22	0.54	0.57
α-松油醇	0.3	0.80	0.66	0.72	0.64	0.65	0.88
麦芽酚	1.29	0.17	0.15	0.19	0.16	0.17	0.16
茴香脑	0.015	4.76	5.60	4.14	3.19	1.90	3.23
香茅醛	0.006	27.90	24.03	19.51	22.85	26.01	28.32
壬醛	0.0011	15.19	15.69	18.98	18.06	29.77	29.59
己醛-M	0.005	3.38	1.37	1.24	1.54	0.98	0.88
己醛-D	0.005	1.15	1.13	1.76	4.14	0.76	1.35
3-羟基-2-丁酮	0.007	1.50	0.89	1.13	3.62	1.82	0.80
4-甲基愈创木酚	0.01	0.73	0.77	0.79	2.47	0.46	1.14
呋喃甲醇	0.026	3.15	2.64	2.64	2.49	2.09	1.50
芳樟醇	0.001	100	100	100	100	100	100

对老香黄的香味有贡献作用。有 12 种物质 ROAV 大于 1, 这些物质分别是芳樟醇、异松油烯、反式-β-罗勒烯、柠檬烯、β-蒎烯、α-蒎烯、茴香脑、香茅醛、壬醛、己醛-M、己醛-D、3-羟基-2-丁酮、呋喃甲醇, 被认为是老香黄香气的关键组分。其中对老香黄风味贡献程度最大的 5 个物质分别是香茅醛、壬醛、异松油烯、反式-β-罗勒烯和柠檬烯。关键组分的香气特征可分为 3 大类, 第一类是以异松油烯、柠檬烯、茴香脑、香茅醛为代表的, 具有明显柠檬特征的果香和青香; 第二类是以壬醛、己醛-M、己醛-D、3-羟基-2-丁酮、呋喃甲醇为代表的, 为美拉德反应产物特有的脂香和焦甜香; 第三类是以芳樟醇、反式-β-罗勒烯、β-蒎烯、α-蒎烯为代表的, 具有强烈萜类物质特征的木青气息、花香和药草香气。综上可知, 老香黄

的主体香气为柑橘香、木青气息、药草香和焦甜香。

3 讨论与结论

本文采用电子鼻、GC-MS 和 GC-IMS 三种技术对老香黄发酵过程中的挥发性成分变化进行了分析, 并结合相对风味活度值 ROAV 评价老香黄挥发性成分对气味的贡献率。电子鼻分析结果表明, PCA 可有效区分不同发酵时间的老香黄, 发酵 0~4 个月的老香黄挥发性组分差异小, 而发酵 6~12 个月的挥发性组分差异大, 说明在发酵 6 个月后老香黄挥发性组分开始发生较大的变化。GC-MS 共鉴定出 46 种挥发性物质, 包括萜烯类 14 种、醇类 9 种、醛类 6 种、酚类 4 种、酯类 3 种、醚类 1 种、杂环化合物 3 种、其它 6 种。α-蒎烯、β-蒎烯、月桂烯、萘品油烯、柠檬烯、异松油烯、1-石竹烯、巴伦西亚橘烯、芳

樟醇、 α -松油醇、糠醛、麦芽酚、茴香脑、2,4-二甲苯乙基是发酵期间含量较高且相对稳定的14个共有成分,这些成分可以作为老香黄发酵期间的目标参考化合物。GC-IMS定性检出38种已知挥发性组分,包括萜烯类8种、醇类5种、醛类9种、酯类4种、酮类4种、酚类1种、酸类2种、杂环类4种、其它1种。聚类分析和离子迁移指纹图谱直观显示了老香黄的挥发性成分在发酵期间发生了变化,伴有部分物质的消失和新物质的形成。相对风味活度评价结果表明,老香黄的主体香气为柑橘香、木青气息、药草香和焦甜香,对老香黄风味贡献程度最大的5个物质分别是香茅醛、壬醛、异松油烯、反式- β -罗勒烯和柠檬烯。研究发现,反式-橙花叔醇、庚醛、糠醛、己醛、异戊醛、3-羟基-2-丁酮、2-乙基呋喃、呋喃甲醇、2-乙酰基呋喃等挥发性组分是发酵过程中产生的挥发性物质。这些物质成分构成了老香黄特有的气味。

参考文献

- [1] 元振华. 发酵食品对人类的益处[J]. 农家科技, 2017(10): 256.
- [2] 郑玉忠, 郭守军, 杨永利, 等. 药食凉果老香黄制作工艺的研究[J]. 农产品加工(学刊), 2014(1): 44-45, 48.
- [3] 张振霞, 赖宣, 杨启财, 等. 广佛手与金华佛手理化性质的比较[J]. 轻工科技, 2017, 33(8): 22-23.
- [4] 刘小青, 谢丽玉, 黄俊生, 等. 潮州老香黄、老药桔中矿物质元素的测定[J]. 广东微量元素科学, 2007(5): 38-41.
- [5] 王强, 傅力. 潮州老香黄干燥工艺的研究[J]. 中国调味品, 2013, 38(5): 85-89.
- [6] 王强. 老香黄袋泡茶和老药桔袋泡茶制备工艺的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2013.
- [7] 郭守军, 杨永利, 陈焕纯, 等. 老香黄老药桔混合冲剂的研制[J]. 保鲜与加工, 2016, 16(2): 59-65.
- [8] 赖宣, 杨启财, 张振霞. 潮汕老香黄亚硝酸盐含量的调查分析[J]. 轻工科技, 2016, 32(5): 4-5.
- [9] 刘志聪, 张振霞, 赖宣, 等. 潮州老香黄的HPLC指纹图谱研究及指标成分测定[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19(8): 1370-1374.
- [10] 谢壁珠, 杜光文, 吴洪声, 等. 2016年市售“潮州三宝”凉果微生物与食品添加剂监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(14): 2086-2088, 2094.
- [11] 戈子龙, 张泽金, 周爱梅, 等. 基于高通量测序与培养方法分析新鲜佛手与老香黄中的细菌多样性[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(3): 250-256.
- [12] 陈慧敏, 李晓晗, 王漪, 等. 基于电子鼻分析提香工艺对红茶香气特征的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 234-237, 242.
- [13] 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲, 等. 确定食品关键风味化合物的

一种新方法:“ROAV”法[J]. 食品科学, 2008(7): 370-374.

[14] Wilson A D, Baietto M. Applications and advances in electronic-nose technologies[J]. Sensors, 2009, 9(7): 5099-5148.

[15] 潘冰燕, 鲁晓翔, 张鹏, 等. GC-MS结合电子鼻分析1-MCP处理对线椒低温贮藏期挥发性物质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 238-43.

[16] 宋诗清, 童彦尊, 冯涛, 等. 金佛手香气物质的多维分析及其特征香气物质的确定[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 94-100.

[17] 茅中一, 洪祖灿, 刘加增, 等. 基于香气活性值的福建尤溪烟叶提取物香气特征成分分析[J]. 烟草科技, 2020, 53(10): 56-65.

[18] 郭建军, 周艺, 王小英, 等. 贵州不同产区代表绿茶的品质特征及香气组分分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(5): 78-84, 92.

[19] 程宏楨, 蔡志鹏, 王静, 等. 基于GC-MS、GC-O和电子鼻技术评价百香果酒香气特征[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 256-264.

[20] 陈佳莹. 两种天然产物(小茴香精油和橙子)的风味分析[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2018.

[21] 吴林, 张强, 臧慧明, 等. 气味活度值法评价蓝莓果皮、果肉、果汁挥发性香气成分[J]. 食品工业科技, 2020, 41(1): 195-200.

[22] 王轩, 周健, 明红梅, 等. 樱桃果酒酿酒酵母的筛选及香气成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(3): 124-130.

[23] 李娟, 韩东, 米思, 等. 北京地区酱卤牛肉中挥发性风味物质剖面分析[J]. 核农学报, 2020, 34(1): 94-103.

[24] 李素, 周慧敏, 赵冰, 等. 卤汤牛肉贮藏过程中挥发性风味物质分析[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 203-209.

[25] 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.

[26] Vespermann K A C, Paulino B N, Barcelos M C S, et al. Biotransformation of α - and β -pinene into flavor compounds[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2017, 101(5): 1805-1817.

[27] 台亚楠, 董曼, 任婧楠, 等. 柠檬烯微生物转化的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(17): 272-277.

[28] Molina G, Marrotica M R, Pastore G M. Pseudomonas: A promising biocatalyst for the bioconversion of terpenes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97: 1851-1864.

[29] 赵芷言, 丁佳晶, 夏斐斐, 等. 生物质制备糠醛及其研究进展[J]. 广州化工, 2020, 48(22): 1-3, 35.

[30] 王淑惠, 杨玉洁, 周爱梅, 等. 两种方法提取佛手渣多糖及其对巨噬细胞RAW264.7免疫调节活性的研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(15): 179-187.

[31] Hu X, Wang R, Guo J, et al. Changes in the volatile components of candied Kumquats in different processing methodologies with headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Molecules, 2019, 24(17).

[32] Deng Y, Luo Y, Wang Y, et al. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets[J]. Food Chemistry, 2015: 168-176.