

6个甜橙品种果汁的后苦味分析*

丁帆¹ 刘宝贞¹ 邓秀新¹ 王壮¹ 谢宗周¹ 方贻文² 徐娟^{1*}

1. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室/园艺植物生物学教育部

重点实验室/华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070;

2. 江西省赣州市柑橘科学研究所, 赣州 341400

摘要 选取了6个甜橙 (*Citrus sinensis* Osbeck) 品种, 利用高效液相色谱法检测其果实榨汁后放置过程中柠檬苦素的含量变化, 评价后苦味的差异; 并分析了鹿寨蜜橙果汁中电子舌检测的苦味值与柠檬苦素含量的相关性。结果表明: 在榨汁后的0~32 h内, 兴国甜橙3-5中柠檬苦素含量变化最不稳定, 经4次显著增加后达到(9.03±0.21) mg/L的较高水平, 最终含量与塔罗科血橙的差异不显著, 后苦味增加明显; 纽荷尔脐橙的后苦味现象最明显, 其柠檬苦素含量在28~30 h时出现最大的增长, 达(11.12±1.94) mg/L, 不利于果汁加工; 佛罗斯特夏橙、红夏橙和鹿寨蜜橙在30 h内只增加2.37~2.79 mg/L, 达到3.55~4.18 mg/L的较低水平, 低于6 mg/L的阈值, 有利于果汁加工。因此, 兴国甜橙3-5和塔罗科血橙若用于橙汁加工均须经过脱苦过程。柠檬苦素含量的动态变化表明, 若尽早室温放置24 h前抑制柠檬苦素-D-环内酯水解酶的活性, 可能会减轻甜橙汁的后苦味。鹿寨蜜橙果汁中, 电子舌检测的苦味值与柠檬苦素含量线性相关($r=0.85$)。此外, 对电子舌预测后苦味方面的应用进行了讨论。

关键词 甜橙; 后苦味; 柠檬苦素; 电子舌

中图分类号 S 666.409⁺.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)04-0497-05

柑橘成熟果实的果肉中含有非苦味的柠檬苦酸A-环内酯(limonate A-ring lactone, LARL), 榨汁后, 在pH<6.5、加热、冰冻或机械损伤等逆境条件下, LARL在柠檬苦素D-环内酯水解酶(limonin D-ring lactone hydrolase, LDRLase)的催化下迅速转化为具有强烈苦味的柠檬苦素, 即由A环单内酯前体转变成二内酯的形式, 产生后苦味(delayed bitterness)或延迟苦味的现象^[1]。除了前述原因外, Hasegawa等^[2]认为后苦味还与柠檬苦素UDP-葡萄糖苷转移酶(limonoid UDP-glycosyltransferases, LGTase)的作用有关, 后者可将LARL转化成不具苦味的柠檬苦素的配糖体(limonoid glucosides, LG), 达到自然脱苦(natural debittering)的目的^[3](图1)。

此外, 柑橘种子中含有大量的类柠檬苦素配基和配糖体, 加工时种子结构的破坏也会对果汁的后苦味有一定的影响^[1]。

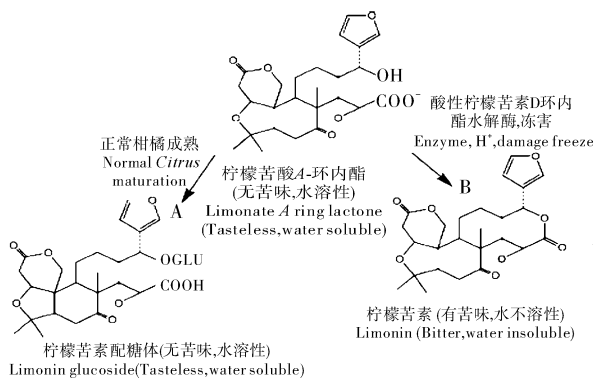


图1 柑橘中柠檬苦酸A-环内酯分别转化为柠檬苦素及其配糖体形成自然脱苦(A)和后苦味(B)的过程^[3]

Fig. 1 Natural debittering (A) and delayed bitterness (B) of limonoids in *Citrus*^[3]

柑橘果汁是世界上消费量最多的果汁之一, 由于消费者本能的拒食心理, 后苦味对柑橘汁的生产

收稿日期:2009-09-16; 修回日期:2009-11-03

* 湖北省杰出青年人才项目(2009CDA126)、农业部公益性行业科技专项(3-7)、NSFC创新团队项目(30921002)资助

** 通讯作者, E-mail: xujuan@mail.hzau.edu.cn

丁帆, 男, 1982年生, 硕士研究生, 研究方向: 果实品质形成机理, E-mail: dingfan_wh@sina.com

和销售带来不利影响。柑橘果汁产生后苦味的程度因品种而异,除在加工过程中采用各种技术脱苦外,选用合适的果汁加工品种是最根本的措施。本研究选用 6 个甜橙品种(*Citrus sinensis* Osbeck):鹿寨蜜橙(Luzhai sweet orange)、兴国甜橙 3-5(Xingguo sweet orange)、纽荷尔脐橙(Newhall navel orange)、塔罗科血橙(Tarocco blood orange)、佛罗斯特夏橙(Frost Valencia orange)和红夏橙(Rohde Red Valencia orange)(表 1)为试材,其中,鹿寨蜜橙和兴国甜橙 3-5 分别为广西桂林和江西赣州新选育

的甜橙品种,具备加工果汁的潜力^[4-5],通过检测榨汁后柠檬苦素含量的变化,评价其后苦味的差异及用于果汁加工的潜力,以期为我国果汁加工用候选品种的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 6 个甜橙品种的成熟果实作试材,如表 1 所示。室温下榨汁后分别在 0、1、4、16、24、26、28、30 和 32 h 取样检测其柠檬苦素含量。

表 1 用于后苦味分析的 6 个甜橙(*Citrus sinensis* Osbeck)品种¹⁾

Table 1 Six cultivars of *Citrus sinensis* Osbeck subjected for delayed bitterness analysis

甜橙品种 Cultivars of <i>Citrus sinensis</i>	产地 Producing area	单果种子数 Average seeds	采样日期 Sampling date
鹿寨蜜橙 Luzhai sweet orange	广西桂林 Guilin, Guangxi	1.7	2008-11-13
兴国甜橙 3-5 Xingguo sweet orange 3-5	江西赣州 Ganzhou, Jiangxi	2.8	2009-01-06
纽荷尔脐橙 Newhall navel orange	湖北秭归 Zigui, Hubei	0	2009-03-12
塔罗科血橙 Tarocco blood orange	四川江津 Jiangjin, Sichuan	0	2009-02-12
佛罗斯特夏橙 Frost Valencia orange	湖北宜昌 Yichang, Hubei	0	2009-04-20
红夏橙 Rohde Red Valencia orange	湖北宜昌 Yichang, Hubei	1.8	2009-04-20

1)后 4 个甜橙品种的单果种子数为 8 个果实的平均值。Average seeds per fruit of Newhall navel orange, Tarocco blood orange, Frost and Rohde red Valencia orange were calculated with 8 fruits respectively.

1.2 样品制备方法

1)标准溶液的配制。称取适量标准品,用乙腈溶解后定容为 1 g/L 母液。加入适量乙腈,稀释为 256、128、64、32、16、8、4、2 和 1 mg/L 的系列标准溶液。

2)柑橘果汁中柠檬苦素提取。将果实榨汁,取 100 mL 果汁,以双蒸水定容至 300 mL,过滤去除杂质。分别在室温下放置 0、1、4、16、24、26、28、30 和 32 h 后取 5 mL 滤液加入到 50 mL 离心管中,向离心管中加入 10 mL 二氯甲烷,剧烈振荡 20 min,超声萃取 30 min,吸取上层液至另一个 50 mL 离心管中,再加入 10 mL 二氯甲烷重复上述步骤 1 次,弃上层液,合并下层液,真空浓缩至干,用乙腈定容至 1 mL,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后待高效液相色谱检测。试验设置 3 个重复,每重复 3~5 个果实。

3)鹿寨蜜橙后苦味的电子舌分析样品制备。室温下将 6 个鹿寨蜜橙混合榨汁后稀释 10 倍,取 80 mL 于 100 mL 烧杯中,每隔 1 h 进行电子舌检测,共检测 5 次。苦味强度值获取时间为 120 s。

1.3 样品检测方法

柠檬苦素的检测采用高效液相色谱法。使用 Waters1525 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器

(PDA), C₁₈ 色谱柱(规格为 4.6 mm × 150 mm, 5 μm 粒度)(美国 Agilent Technologies)。选用鹿寨蜜橙果汁进行电子舌分析,使用 Astree 电子舌(法国 Alpha M. O. S)系统,含 LS16 型自动进样器(法国 Alpha M. O. S)、第 5 套(5[#])5 味传感器:酸味、甜味、苦味、咸味和鲜味。其苦味值 0~12 表示苦味强度的逐渐加大。柠檬苦素的提取和浓缩使用 FS60 型超声波清洗仪(美国 Fisher Scientific)和 5301 型真空浓缩仪(德国 Eppendorf Co.)。

柠檬苦素的 HPLC 检测采用的条件为,流动相采用 V_{乙腈}:V_水 = 50.5:49.5 等度洗脱;流速为 1 mL/min;检测波长为 210 nm;进样量 20 μL;柱温为室温。

色谱纯乙腈和甲醇购自美国 Fisher 公司,二氯甲烷为分析纯,柠檬苦素标准品(HPLC 纯)购自美国 Sigma 公司,实验用水为超纯水。

通过标准品在 HPLC 上的保留时间和特征吸收光谱进行双重定性,外标法定量。采用 Waters 高效液相色谱仪 Empower 2 软件(美国 Waters)控制及数据处理系统对色谱结果进行处理。应用 Excel 数据处理软件(美国 Microsoft)进行数据处理和标准曲线的绘制,应用 SAS 软件(美国 SAS Institute INC)做差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 6个甜橙品种榨汁后柠檬苦素的含量变化

本试验测得柠檬苦素的标准曲线为: $Y = 4\ 650X - 1\ 430$, 保留时间为 7.8 min 左右, 相关系数为 0.999 6, 达极显著水平 ($P < 0.01$), 平均回收率达 93% 以上。

6种甜橙的果汁中均未检测到诺米林。

6个甜橙品种榨汁后柠檬苦素含量随放置时间的变化(表2)均呈逐渐增加的趋势。从表2中可以看出, 刚榨出的果汁中, 以红夏橙的柠檬苦素含量最低, 兴国甜橙 3-5 的最高, 分别达 (0.76 ± 0.06)

mg/L 和 (2.79 ± 0.73) mg/L, 另外 4 种甜橙相差不大。到 32 h 时检测, 兴国甜橙 3-5 中柠檬苦素含量仅次于纽荷尔脐橙, 分别为 (9.03 ± 0.21) mg/L 和 (12.56 ± 1.88) mg/L, 高于塔罗科血橙的 (7.21 ± 2.09) mg/L 和鹿寨蜜橙的 (4.11 ± 0.09) mg/L。值得注意的是, 在 30~32 h 之间, 后苦味在除夏橙外 4 个品种的果汁中均未发生显著性变化。差异显著性分析表明, 在各自的检测最终点(夏橙在 30 h, 其它品种在 32 h), 纽荷尔脐橙的后苦味显著高于塔罗科血橙和兴国甜橙 3-5, 后两者则显著高于夏橙和鹿寨蜜橙; 其中, 塔罗科血橙和兴国甜橙 3-5 之间差异不显著, 而夏橙和鹿寨蜜橙之间差异不显著。

表2 6个甜橙(*C. sinensis* Osbeck)品种果汁放置后柠檬苦素的含量变化¹⁾

Table 2 Limonin contents in juice of 6 sweet oranges(*C. sinensis* Osbeck) standing for different time lengths mg/L

放置时间 Standing time/h	佛罗斯特夏橙 Frost Valencia orange	红夏橙 Rohde Red Valencia orange	鹿寨蜜橙 Luzhai sweet orange	塔罗科血橙 Tarocco blood orange	兴国甜橙 3-5 Xingguo sweet orange	纽荷尔脐橙 Newhall navel orange
0	1.19±0.04 c	0.76±0.06 d	1.41±0.20 e	1.85±1.01b	2.79±0.73 f	1.57±0.36 d
1	1.27±0.05 c	0.86±0.02 d	1.56±0.01 e	2.55±0.58 b	2.89±0.24 f	3.01±0.72 cd
4	1.35±0.13 c	1.11±0.07 cd	1.66±0.23 e	1.83±0.27 b	4.52±0.94 e	2.25±0.24 d
16	未检测到 Not detected	未检测到 Not detected	2.18±0.39 cd	2.04±0.19 b	5.68±0.43 d	2.53±0.14 cd
24	2.05±0.09 b	1.73±0.21 bc	1.74±0.10 de	1.96±0.33 b	7.93±0.39 bc	2.27±0.23 d
26	3.24±0.55 a	2.40±0.41 b	2.45±0.17 c	3.08±0.21 b	7.59±1.22 c	4.49±0.21 c
28	3.27±0.42 a	3.33±0.70 a	3.65±0.58 b	3.47±0.21 b	8.89±0.09 ab	6.94±1.69 b
30	3.56±0.23 a	3.55±0.66 a	4.18±0.15 a	5.82±1.20 a	9.23±0.20 a	11.12±1.94 a
32	未检测到 Not detected	未检测到 Not detected	4.11±0.09 ab	7.21±2.09 a	9.03±0.21 a	12.56±1.88 a

1)表中同列内的不同小写英文字母表示含量之间的差异显著性($P < 0.05$)。Different letters in the same column indicate significant difference between limonin concentrations ($P < 0.05$).

在榨汁后的放置过程中, 随放置时间的延长, 以兴国甜橙 3-5 果汁中柠檬苦素的含量动态变化最为剧烈, 而以塔罗科血橙的变化最为稳定。塔罗科血橙仅在 28~30 h 时经历 1 次显著上升的过程, 而兴国甜橙 3-5 则分别于放置 4、16、24 和 28 h 时出现 4 次显著增加, 然后于 28~32 h 期间保持相对稳定。稳定性仅次于塔罗科血橙的是佛罗斯特夏橙, 仅在 24 和 30 h 出现 2 次显著上升。而且, 除塔罗科血橙外, 其他甜橙均在 24~26 h 时出现柠檬苦素含量的显著增加。虽然刚榨汁时纽荷尔脐橙果汁中柠檬苦素的含量不高, 为 (1.57 ± 0.36) mg/L, 却于 28~30 h 时出现最大的增长幅度, 从 (6.94 ± 1.69) mg/L 增加到 (11.12 ± 1.94) mg/L, 使得其在最终检测点(32 h)的含量最高。

2.2 鹿寨蜜橙后苦味现象的电子舌分析

随榨汁后放置时间的不同, 鹿寨蜜橙中苦味强

度在电子舌上的响应值如表 3 所示, 从中可见其苦味值随时间变化呈上升趋势。通过计算可得: 电子舌检测的鹿寨蜜橙果汁苦味值与柠檬苦素含量的变化呈直线相关($r = 0.85$)。

表3 鹿寨蜜橙后苦味现象的电子舌分析

Table 3 Relative bitterness value of Luzhai sweet orange(*C. sinensis*)

放置时间 Standing time/h	苦味值 Relative bitterness	柠檬苦素含量 Limonin content/(mg/L)
0	5.26±1.23	1.41±0.20
1	5.44±1.22	1.56±0.01
2	5.60±0.84	未检测到 Not detected
3	6.69±0.96	未检测到 Not detected
4	7.00±0.91	1.66±0.23

3 讨论

柑橘果实的苦味品质因品种而异, 即使在采后的贮藏期间, 国庆 1 号和 3 号果实中主要苦味物质的含量变化都有显著的不同^[6]。据报道, 就制汁品

种而言,如果柠檬苦素和诺米林在柑橘果汁中的含量超过 6 mg/L,就不适用于果汁加工^[7]。柠檬苦素含量在 2~7 mg/L 时就感觉到苦味,其浓度达 15 mg/L 以上就会变得非常之苦^[8]。本研究结果表明:兴国甜橙 3-5 榨汁后柠檬苦素含量经历 4 次显著增加的过程,最终达到(9.03±0.21) mg/L,后苦味增加明显;纽荷尔脐橙虽然在刚榨汁时柠檬苦素含量不高,却于 28~30 h 时出现了最大的增长幅度,从(6.94±1.69) mg/L 剧增到(11.12±1.94) mg/L,不利于果汁加工;在含量动态变化上最稳定的是塔罗科血橙,只在 28~30 h 时有显著增加,最终与兴国甜橙 3-5 中的含量差异不显著;佛罗斯特夏橙、红夏橙和鹿寨蜜橙虽然都经历多于 2 次的显著上升过程,但在 30 h 内含量只增加 2.37~2.79 mg/L,达到 3.55~4.18 mg/L 的最终水平,这一特性有利于果汁加工。因此,兴国甜橙 3-5、鹿寨蜜橙和塔罗科血橙 3 个品种相比,鹿寨蜜橙最可能直接用于果汁加工,兴国甜橙 3-5 和塔罗科血橙果汁的柠檬苦素含量在放置 28 h 后均接近或超过 6 mg/L,至少要经过脱苦后才能用于果汁加工^[9]。

本试验所检测的 6 个甜橙品种果汁后苦味的共性是:除塔罗科血橙外,均会在 24~26 h 时出现柠檬苦素的显著增加。如果能尽早在 24 h 前(对于塔罗科血橙是在 28 h 前)对室温下放置的这 6 种甜橙果汁采取相应措施,阻滞 LDRase 的酶促作用,可能会大大降低后苦味的产生。但是,在大批量榨汁时这个时间可能会有变动,有待进一步摸索。

关于后苦味的品种差异,除受种子等因素的影响外,Manners^[3]认为,与脐橙相比,伏令夏橙可更有效地将 LARL 转变为 LG,因此,脐橙果汁的后苦味更明显。Zaare-Nahandi 等^[10]则认为,盛花期后 LGTase 在果实白皮层内开始表达的时期与果汁的后苦味有一定的相关性,无明显后苦味的 Owari 温州蜜柑于盛花后 60 d 开始表达,Thompson 脐橙和酸橙,Marsh seedless 葡萄柚和甜莱檬分别于花后 120 d 和 210 d 后开始表达,因而甜莱檬果汁具有最强的后苦味。目前,LGTase 酶在 Frost 脐橙和柚的白皮层中得到提纯^[11-12],编码该酶的基因得到克隆^[11]。有趣的是,Kita 等^[13]通过该基因的结构分析表明:脐橙与温州蜜柑中 LGTase 催化能力的差异在于编码该酶的基因为等位基因,脐橙基因组中以 *CitLGT-1* 的纯合体形式存在,缺少 *CitLGT-2*,而后一种等位基因的表达是早、中期果实发育中柠

檬苦素、诺米林等类柠檬苦素配基转化为配糖体的必要条件。本研究选用的均是甜橙类的品种,亲缘关系较近,其后苦味差异的原因是否与 LGTase 的表达时间有关,尚待进一步研究证实。

Astree 电子舌是一种电化学传感器组成的检测器,该传感器由包裹有机层的二氧化硅晶体管组成,可模拟人的味觉感应能力,在以往的研究中能很好地预测苦味的咖啡碱和奎宁、甜味的蔗糖和葡萄糖等^[14-15],对柠檬苦素含量的预测尚未见报道。本研究虽在电子舌苦味强度值与鹿寨蜜橙的柠檬苦素含量之间初步找到线性相关性,尚需多点试验分析来证实。在 2 种甜橙的柠檬苦素含量和电子舌苦味强度之间没有找到显著的线性相关性,其可能的原因在于:纽荷尔脐橙和鹿寨蜜橙除在柠檬苦素含量上有差异外,还在可溶性糖、有机酸及游离氨基酸(如 L-精氨酸)上有较大差异,而上述物质均可能对苦味有掩味作用(taste masking)^[14-15];其他致苦物质如柚皮苷、新橙皮苷及多酚类物质(具苦涩味)的含量差异也可能对苦味强度值有不同程度的贡献;另外,传感器的重现性(RSD 值)对分析也有明显影响,如纽荷尔脐橙的苦味 RSD 值高达 2.76,尚需对电子舌进行培训和对传感器进行优化选择。因此,在保证传感器有良好重现性的前提下,对电子舌酸、甜、苦等强度值的综合解读可能在未来对橙汁后苦味的预测方面更具说服力。

致谢 感谢法国阿尔法莫斯仪器公司(上海)免费提供电子舌检测。

参 考 文 献

- [1] 唐传核. 植物功能性食品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 201-205.
- [2] HASEGAWA S, BENNETT R D, HERMAN Z, et al. Limonoid glucosides in citrus[J]. *Phytochemistry*, 1989, 28: 1717-1720.
- [3] MANNERS G D. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 8285-8294.
- [4] 谢宗周. '鹿寨蜜橙'及一组柑橘嫁接嵌合体的遗传鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学园艺林学学院, 2008.
- [5] 周超华, 肖剑雄, 黄冬华, 等. 加工鲜食优型品种兴国甜橙 3-5 及其栽培技术[J]. *现代园艺*, 2008(8): 12-13.
- [6] 丁帆, 刘宝贞, 王壮, 等. 贮藏温度对柑橘果肉中柠檬苦素和柚皮苷含量变化的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2010, 29(2): 221-225.

- [7] GUADAGNI D G, MAIER V P, TURNBAUGH J G. Effects of some citrus constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1973, 24: 1277-1288.
- [8] 张开诚. 苦味机理与苦味抑制技术研究概况[J]. *中国调味品*, 2004(11): 39-42.
- [9] 孙志高, 黄学根, 焦必宁. 柑橘果实主要苦味成分的分别及橙汁脱苦技术研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(6): 146-148.
- [10] ZAARE-NAHANDI F, HOSSEINKHANI S, ZAMANI Z, et al. Delay expression of limonoid UDP-glucosyltransferase makes delayed bitterness in citrus[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 371: 59-62.
- [11] HASEGAWA S, SUHAYDA C G, HSU W, et al. Purification of limonoid glucosyltransferase from navel orange albedo tissues[J]. *Phytochemistry*, 1997, 46: 33-37.
- [12] KARIM M R, HASHINAGA F. Isolation and characterization of limonoid glucosyltransferase from pummelo albedo tissue[J]. *Food Chemistry*, 2002, 76: 431-436.
- [13] KITA M, ENDO T, SHIMADA T, et al. Allelic structures of UDP-glucose:limonoid glucosyltransferase affect limonoid bitterness in *Citrus unshiu* and *C. sinensis*[J]. *Euphytica*, 2003, 132: 87-94.
- [14] 王俊, 胡桂仙, 于勇, 等. 电子鼻与电子舌在食品检测中的应用研究进展[J]. *农业工程学报*, 2004, 20(2): 292-295.
- [15] 唐慧敏, 任麒, 沈慧凤. 苦味评价方法的国内外研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2009, 18(2): 127-131.

Delayed Bitterness of Six Sweet Oranges (*Citrus sinensis* Osbeck)

DING Fan¹ LIU Bao-zhen¹ DENG Xiu-xin¹ WANG Zhuang¹
XIE Zong-zhou¹ FANG Yi-wen² XU Juan¹

1. *National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/Key Laboratory of Horticultural Plant Biology (Ministry of Education)/College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;*
2. *Citrus Research Institute of Ganzhou City, Jiangxi Province, Ganzhou 341400, China*

Abstract After juice squeezing as standing time prolonged, limonin content changes were determined with HPLC to evaluate delayed bitterness of six sweet oranges (*Citrus sinensis* Osbeck). The correlation between limonin content in Luzhai sweet orange and the bitterness intensity measured by electronic tongue were analyzed as well. Results showed that during the period of 0-32 h after squeezing, limonin content of juice from Xingguo sweet orange 3-5 underwent significant increase four times to reach a relative high level of (9.03 ± 0.21) mg/L, the same level as that of juice from Tarocco blood orange at 32 h, which then developed a distinctive delayed bitterness in both cultivars. As a bad trait in juice processing, the most serious delayed bitterness was attributed to juice from Newhall navel orange, of which limonin content underwent a significant and the largest increase during 28-30 h and climbed up to (11.12 ± 1.94) mg/L. However, the contents of Frost Valencia orange, Rohde Red Valencia orange and Luzhai sweet orange increased 2.37-2.79 mg/L only at 30 h after squeezing, maintained at the lowest level of 3.55-4.18 mg/L, lower than the threshold of limonin content in juice processing. Thus, debittering will be needed when using Xingguo sweet orange 3-5 and Tarocco blood orange as juice processing cultivars. The results also showed that if measures were taken to inhibit the enzyme activity of limonin D-ring lactone hydrolase before 24 h after juice squeezing, delayed bitterness would be decreased. The application of electronic tongue in delayed bitterness prediction was discussed.

Key words sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck); delayed bitterness; limonin; electronic tongue