

不同提取方法与 GC-MS 进样方式对柚皮精油挥发性成分分析结果的影响

张浩^{1,2}, 安可婧¹, 傅曼琴¹, 余元善¹, 吴继军¹, 徐玉娟^{1,2}

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东省农产品加工公共实验室, 广东广州 510610)

(2. 江西农业大学食品科技与工程学院, 江西南昌 330045)

摘要: 采用冷压榨、水蒸汽蒸馏及机械磨皮三种方法制备柚皮精油, 比较直接进样和固相微萃取两种进样方式对柚皮精油挥发性成分种类和数量的影响, 并利用主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA) 对三种方法提取的精油挥发性成分进行统计分析并找出特征挥发性成分。结果表明: 直接进样法结合 GC-MS 从柚皮精油中共分离鉴定出 69 种物质, SPME 结合 GC-MS 共鉴定出 51 种物质, 直接进样比 SPME 进样更全面地反映出精油挥发性成分的组成。PCA 分析能对直接进样法检测的三种柚皮精油进行很好的区分, 其中冷榨油与磨皮油挥发性成分更为接近。PLS-DA 分析发现能够将三种精油区分开的特征挥发性成分有: 冷榨油中的桉烯、D-柠檬烯、 α -松油醇、 β -月桂烯、 α -蒎烯以及 4-萜品醇; 水提油中芳樟醇、(R)-氧化柠檬烯、8,9-二氢新异长叶烯; 磨皮油中的圆柚酮, n-棕榈酸以及 (Z,Z)-9,12-十八二烯酸。其中水提油中特征挥发性物质氧化柠檬烯 (5.19%) 具有不良气味, 磨皮油中保留指数大于 2000 的挥发性成分相对含量 (4.61%) 较高, 影响澄清度和稳定性。综合以上成分分析得出, 冷压榨法制备的柚皮精油的品质相对较好。

关键词: 冷压榨; 水蒸汽蒸馏; 机械磨皮; 柚皮精油; PCA; PLS-DA

文章编号: 1673-9078(2019)01-264-273

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.038

Effects of Different Extraction and GC-MS Injection Methods on the Volatile Composition of Pomelo Peel Essential Oil

ZHANG Hao^{1,2}, AN Ke-jing¹, FU Man-qing¹, YU Yuan-shan¹, WU Ji-jun¹, XU Yu-juan^{1,2}

(1. Sericulture & Farm Produce Processing Research Institute of Guangdong Academy of Agriculture Sciences, Guangdong Access Laboratory of Agriculture Produce Processing, Guangzhou 510610, China)

(2. College of Food Science and Engineering of Jiangxi Provincial Department of Education, Nanchang 330045, China)

Abstract: In this study, pomelo peel essential oil was prepared by cold pressing, steam distillation and mechanical dermabrasion. The effects of direct injection and solid phase microextraction (SPME) on the type and amount of volatile components of pomelo peel essential oil were compared. Principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were applied to analyze the volatile components in essential oils extracted from the three methods and identify the characteristic volatile compounds. The results showed that totally 69 compounds were identified by the approach involving direct injection combined with GC-MS, and 51 compounds by SPME combined with GC-MS, with the direct injection approach showing the volatile profile of essential oil more comprehensively than SPME. For the volatile profiles obtained by the direct injection method, PCA analysis can distinguish the three kinds of pomelo peel essential oils with those derived from cold pressing and mechanical dermabrasion being more similar. PLS-DA analysis revealed that the characteristic volatile components in the three essential oils can be distinguished: Sabinene, D-limonene, α -terpineol, β -myrcene, α -pinene, and 4-terpineol in cold pressed oil; Linalool, (R)-limonene oxide and 8,9-dihydroisoxylene in steam distillation oil; Nootkatone, n-palmitic acid, and (Z,Z)-9,12-octadienoic acid in dermabrasion oil. Among them, the characteristic volatile compound limonene oxide (5.19%) in steam distillation oil exhibited an irritating odor. The volatile components with a retention index greater than 2000 was higher (4.61%) in dermabrasion oil, which

收稿日期: 2018-07-18

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0400900; 2017YFD0400904); 广东省自然科学基金项目 (2015A030312001); 国家自然科学基金项目 (31501500)

作者简介: 张浩 (1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 徐玉娟 (1974-), 女, 研究员, 研究方向: 农产品深加工

affected the clarity and stability of essential oils. Based on the above analyses, the quality of the pomelo peel oil prepared by cold pressing was better.

Key words: cold pressing; steam distillation; mechanical dermabrasion; pomelo peel essential oil; principal component analysis (PCA); partial least squares discriminant analysis (PLS-DA)

柚子 (*Citrus maxima*) 属于亚热带常绿乔木果树, 为柑橘四大类 (甜橙类、宽皮柑桔类、柠檬类、葡萄柚和柚类) 之一, 广泛种植于我国广东、广西、福建等地^[1,2]。在柚子加工过程中, 会形成大量的副产物, 包括柚子皮、囊衣、柚子籽等, 其中占鲜果重量的 40% 的柚皮是主要的副产物。因此, 柚皮的综合利用已成为国内外研究的热点^[3,4]。

柚皮精油是柚子外果皮油胞层中含有的一类令人喜爱的芳香气味化合物, 可以作为食品和日用品的增香剂, 具有广泛的应用空间^[5,6]。目前柚皮精油常见的制备方法主要有: 水蒸气蒸馏、冷压榨、机械磨皮、微波辅助萃取、超声波辅助萃取以及超临界 CO₂ 流体萃取等方法^[7,8]。Asli G 等^[9]人采用冷压榨、超临界萃取和超声波萃取法提取柠檬精油, 发现萜烯类物质含量最高, 占 80%~85%。樊荣^[10]等采用水蒸气蒸馏、超临界萃取和有机溶剂萃取等方法提取沙田柚皮精油, 发现超临界萃取与有机溶剂萃取的精油得率高于水蒸气蒸馏, 但超临界提取会产生很多残渣, 水蒸气蒸馏提取工艺简单, 感官综合评价较高。施迎春^[11]等采用冷压榨、有机溶剂萃取以及微波辅助萃取方法从葡萄柚皮中提取精油, 并通过 GC-MS 和感官分析发现冷压榨法所得精油的气味和色泽更接近天然葡萄柚。因此, 不同提取方法对柚子皮精油的成分影响较大。目前国内对柚皮精油提取的研究主要集中现代提取工艺 (如超临界萃取等) 和传统提取工艺 (如冷压榨等) 的比较, 鲜有将这三种传统工业化提取工艺进行综合性比较的研究。

精油中挥发性成分的定性与定量分析主要通过气相色谱-质谱联用仪器 (GC-MS) 来进行, 常用的进样方式有固相微萃取技术 (SPME) 和直接进样法^[12,13]。但两种进样方式的对比研究目前比较少。主成分分析 (principle component analysis, PCA) 是非监督类模式识别中的一种重要分类方法, 它是通过降维技术, 使复杂的问题简化, 揭示问题的本质^[14]。偏最小二乘回归判别分析法 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 是基于寻求一系列最佳潜变量对定义类别进行区分的一种有监督模式的化学计量识别方法, 能够对未知样本以及差异性组分进行分类^[15]。

本研究以沙田柚为研究对象, 采用冷压榨、水蒸气蒸馏及机械磨皮三种方法制备柚皮精油, 结合

GC-MS 技术与直接进样和 SPME 对柚皮精油挥发性成分进行测定。在优化测定方法的基础上, 运用主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA) 对提取方法对柚皮精油挥发性成分的影响进行分析, 为后续精油工业化生产和分析鉴定提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

沙田柚, 由广东梅州嘉丰果园提供, 放置 4 °C 备用。挑选成熟度一致 (强烈的柚皮甜香气味, 表皮成黄色或橙黄色), 大小均一, 表皮无损伤的果实用于精油挥发性成分的提取。

C5~C20 正构烷烃, 美国 Accustandard 公司; 无水氯化钠 (分析纯)、无水乙醇 (分析纯)、无水硫酸钠 (分析纯), 天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

SSYZ12/12 螺旋冷榨机, 武汉梁龙机械制造有限公司; RY-TQ-10L 蒸馏罐, 上海锐元机械设备有限公司; 柚子磨皮机, 新乡领先轻工机械有限公司; GC-MS 6980N/5975B 气质联用仪, 美国 Agilent 公司; ME204 分析天平, 瑞士 METTLER 公司; YH 系列电热器, 江苏近湖镇教学仪器厂; 手动 SPME 进样器、萃取纤维头 50/30 μm DVB/CAR/PDMS, 美国 Supelco 公司。

1.3 柚皮精油样品的制备方法

选取成熟度一致的新鲜沙田柚, 清洗干净, 过蒸馏水, 室温下晾干, 切取柚皮, 保留黄色外皮部分作为提取柚皮精油的材料。

水蒸气蒸馏 (水提油) 制备方法: 将柚皮适当剪碎, 放入蒸馏罐中, 加热至沸腾, 从沸腾起计时 2 h (直到无精油流出) 后, 待冷却后收集精油, 无水硫酸钠脱水后得水提油, 4 °C 备用。

冷压榨 (冷榨油) 制备方法: 将柚皮在 -15 °C 条件下冷冻 15 min 后, 取出放入螺旋压榨机中压榨, 用分液漏斗收集流出的初油。初油静置 30 min, 取上层油放入冷冻离心机中, 4 °C、4000 r/min 条件下离心 15 min。所得冷榨油 4 °C 保存备用。

机械磨皮 (磨皮油) 制备方法: 将柚皮放入机械

磨皮机中,同时喷淋高压水,得到油、水及颗粒状碎屑的混合物,静置去除碎屑,所得油水混合物以 12000 r/min 离心,取上层油层于-18℃静置,待蜡质沉淀后过滤,滤液即为磨皮油,4℃备用。

本实验所用水提油、冷榨油以及磨皮油均为广东安田天然精油科技有限公司提供。

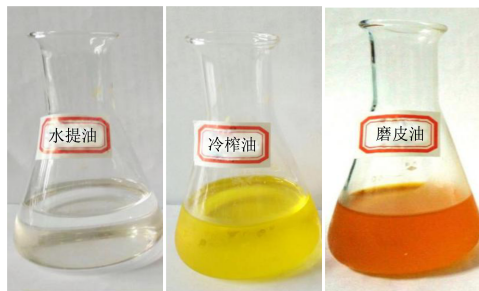


图1 三种方法制备的柚皮精油实物图

Fig.1 The real picture of pomelo peel essential oil prepared by three methods

1.4 柚皮精油挥发性成分的 GC-MS 分析^[17,18]

1.4.1 直接液体进样法

样品稀释:采用无水乙醇对待测柚皮精油按 1:400 进行稀释。

1.4.2 SPME 法

萃取头活化:将 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头置于气相色谱-质谱联用仪进样口,250℃条件下活化 30 min 直至色谱检测无干扰峰出现。

SPME:取 4 mL 待测精油,置于 15 mL 样品瓶中,在电热恒温加热搅拌器中 40℃水浴平衡 10 min,再插入活化好的 SPME 针头萃取 30 min,最后将吸附好分析组分的萃取头插入 GC-MS 进样器中解吸。

1.4.3 GC 条件

GC 条件:DB-5 MS 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);进样口温度 250℃;升温程序:起始温度为 40℃,3℃/min 升温到 250℃,保持 5 min;载气:He,流速 1.0 mL/min;分流比:4:1;进样量:1 μL。MS 条件:电子电离源;离子源温度 200℃;电子能量 70 eV;溶剂延迟 3 min;质量扫描范围 40~550 u;全扫描。

1.5 柚皮精油得提取率计算以及精油组分定性定量分析

提取率=精油质量/柚皮质量×100%

利用质谱信息与标准信息库 NIST14.0 进行相似度检索和特征峰分析对比,定性;另外,使用 C5~C20 的系列正构烷烃进行同样条件下进样分析,正构烷烃进样量为 1 μL,利用其保留时间计算各挥发性组分的

保留指数,再与文献中相同的保留指数进行对比,进行综合定性。定量分析:采用峰面积归一化法计算各种成分的相对含量。

1.6 数据统计

采用 Excel、Origin 软件对 GC-MS 数据进行统计分析和绘图;SIMCA-P 13.0 软件(瑞典 Umetrics 公司)对直接进样法的 GC-MS 数据进行主成分(PCA)分析和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA),所有实验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 三种方法的柚皮精油提取率

表1 三种方法的柚皮精油提取率结果

Table 1 The result of extraction rates of production of essential oil from the three extraction methods

提取方法	提取率/%
冷压榨法(冷榨油)	0.82±0.09
水蒸气蒸馏法(水提油)	1.68±0.07
机械磨皮法(磨皮油)	0.61±0.12

由表1可以看出,三种提取的柚皮精油得率为 0.6%~1.70%,其中水蒸气蒸馏法的精油提取率最高,达到1.68%,机械磨皮法提取率最低,为0.61%。

2.2 直接进样法与 SPME 法对柚皮精油挥发性成分的影响

如图2所示,直接进样法从三种精油中共分离鉴定出 69 种挥发性成分,其中冷榨油 41 种、水提油 42 种及磨皮油 60 种。鉴定出的挥发性成分中萜烯类 23 种,醇类 13 种,醛类 5 种,酮类 8 种,酯类 4 种,酸类 5 种,其它类 11 种。SPME 从三种精油中共分离鉴定出 51 种挥发性成分,其中冷榨油 30 种,水提油 34 种,磨皮油 39 种。鉴定出的挥发性成分中萜烯类 20 种,醇类 5 种,醛类 8 种,酮类 3 种,酯类 4 种,酸类 1 种,其它类 4 种。此外,除萜烯类外,直接进样法所得醇类、醛类、酯类、酮类、酸类以及其他类的挥发性成分相对含量高于 SPME 法(表2)。萜烯类化合物是柚皮精油中最主要的挥发性成分,其中 D-柠檬烯、桉烯、β-月桂烯、α-蒎烯、大根香叶烯、乙酸香叶酯和原柚酮等被认为是最主要的气味贡献成分^[19,20],而采用 SPME 方法得到的精油挥发性成分中仅 D-柠檬烯相对含量较高,桉烯、β-月桂烯、沉香醇、α-蒎烯,大根香叶烯、乙酸香叶酯和原柚酮相对含量低

于均直接进样法(表3),可见从鉴定出的精油香气贡献成分的种类和数量上看,直接进样法优于SPME法。综合以上分析,直接进样法更全面细致地表达了柚皮精油的挥发性成分。本实验将采用直接进样法对三种不同工艺制备的柚皮精油中的挥发性成分进行探究。

2.3 直接进样法对三种不同提取方法的柚皮精油挥发性成分的影响

由表2可知,萜烯类化合物在冷榨油、水提油以及磨皮油中的相对含量分别为93.41%、95.71%、90.04%,其中D-柠檬烯相对含量最高,分别占81.07%、80.31%、80.02%; β -月桂烯次之,分别占7.80%、5.21%、5.04%。三种提取方法得到的精油中相同的萜烯类物质共17种,共有成分中D-柠檬烯、桉烯、 β -月桂烯、 α -蒎烯,大根香叶烯为气味贡献成分^[19,20]。冷榨油中上述5种气味贡献成分的相对含量均高于其他两种油。醇类物质相对含量仅次于萜烯类物质,在冷榨油、水提油以及磨皮油中的相对含量分别为1.64%、1.76%、1.28%,其中相同成分有芳樟醇和 α -松油醇,具有花香、松油等香韵^[19,21]。醛类物质在冷榨油中的相对含量为1.28%,高于水提油(0.63%)和磨皮油(0.33%),有香茅醛、癸醛、(Z)-柠檬醛、(E)-柠檬醛、紫苏醛、(E)-2-十三烯醛等6种共有物质,具有甜味、柚皮味等愉悦香气^[19,22],是柚皮精油特征香气的主要成分。酮类物质在冷榨油、水提油以及磨皮油中的相对含量分别2.15%、1.02%、3.80%,有圆柚酮、3,4-环戊氧基苯基-5-吡唑啉酮等2种共有物质,其中磨皮油中圆柚酮相对含量最高(3.21%),冷榨油次之(1.87%),具有强烈的柚子、橙子果香味^[21,23];酯类虽然相对含量较低,但对柚皮精油香气也有一定的贡献,冷榨油中(Z)-橙花乙酸酯、乙酸香叶酯相对含量高于其他两种油,具有特殊的水果香气^[19,24];三种油

中均检测到n-棕榈酸,其中在磨皮油相对含量最高(1.10%),冷榨油次之。综上以上分析:冷油榨法提取的冷榨油对柚皮精油的呈香成分保留率更高。

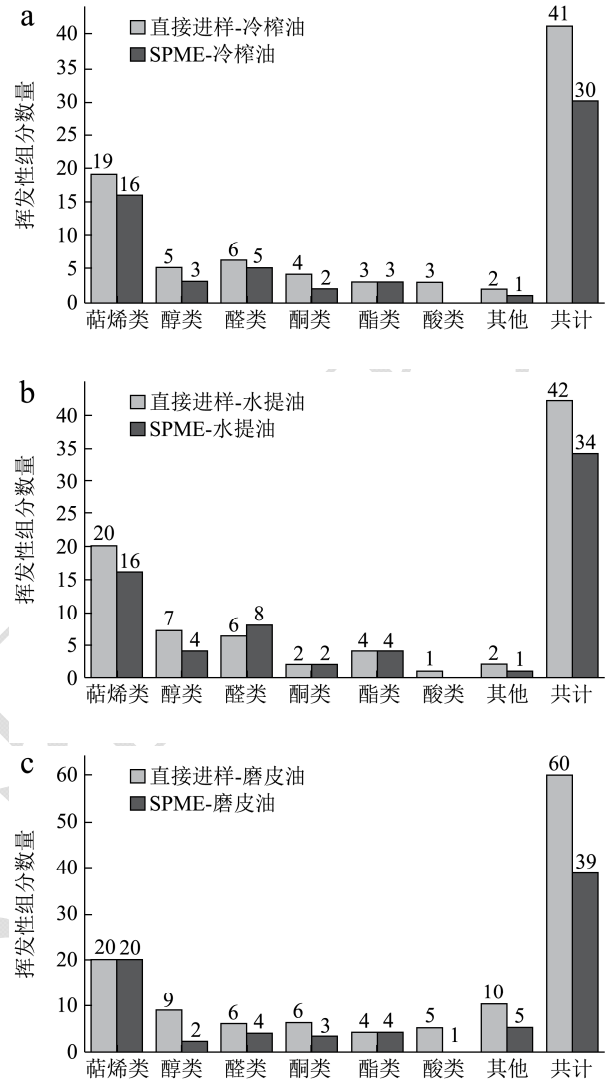


图2 直接进样与SPME进样法对精油挥发性物质的种类的影响

Fig.2 The effects of direct injection and SPME injection on volatile substances of essential oils

表2 直接进样法与SPME法鉴定柚皮精油的挥发性成分相对含量

Table 2 Direct injection method and SPME method were used to identify the volatile components of pomelo peel oil

化合物分类	冷榨油/%		水提油/%		磨皮油/%	
	直接进样法	SPME 法	直接进样法	SPME 法	直接进样法	SPME 法
萜烯类	93.41	97.50	95.71	97.00	90.04	96.76
醇类	1.64	0.95	1.76	0.72	1.28	0.61
醛类	1.28	0.57	0.63	1.33	0.33	0.39
酮类	2.15	0.45	1.02	0.26	3.80	0.49
酯类	0.63	0.49	0.62	0.60	0.66	0.55
酸类	0.48	0.00	0.07	0.00	2.25	0.59
其他	0.41	0.04	0.18	0.09	1.65	0.61
共计	100.00	100.00	99.99	100.00	100.00	100.00

表 3 直接进样法与 SPME 法鉴定柚皮精油的挥发性成分种类及相对含量

Table 3 Direct injection method and SPME method were used to identify the volatile constituents and relative contents of pomelo peel oil

序号	挥发性成分鉴定结果		保留时间	保留指数	直接进样法/%			SPME 法/%		
					冷榨油	水提油	磨皮油	冷榨油	水提油	磨皮油
1	Furfural	糠醛	6.57	800	/	/	/	/	0.11±0.01	/
2	2-Hexenal, (E)-	(E)-2-己烯醛	7.47	823	/	/	/	/	/	0.04±0.01
3	1S-.alpha.-Pinene	(1S)- α -蒎烯	13.28	931	2.05±0.08	1.35±0.037	1.65±0.19	1.21±0.12	2.15±0.21	1.12±0.13
4	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	桉烯	15.65	973	0.73±0.01	0.63±0.07	0.3±0.00	0.63±0.02	0.73±0.09	0.3±0.01
5	.beta.-Pinene	β -蒎烯	16.42	982	0.33±0.01	0.01±0.01	0.28±0.08	/	/	/
6	.beta.-Myrcene	β -月桂烯	17.15	994	7.8±0.21	5.21±0.18	5.04±0.19	6.68±0.74	7.8±0.98	5.16±0.45
7	.alpha.-Phellandrene	α -水芹烯	18.22	1009	0.06±0.01	0.09±0.00	0.06±0.01	/	/	/
8	D-Limonene	D-柠檬烯	19.72	1045	81.07±2.06	80.31±1.94	80.02±3.08	87.69±2.87	85.32±1.45	88.54±3.87
9	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	罗勒烯	20.73	1056	0.38±0.02	0.31±0.01	0.33±0.05	0.49±0.01	/	0.44±0.03
10	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	异松油烯	20.63	1066	0.11±0.01	0.02±0.01	/	0.02±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01
11	2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro-.alpha.,.alpha.,5-trimethyl-, trans-	呋喃甲醇	21.43	1081	/	0.01±0.01	/	/	0.03±0.01	/
12	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	萜品油烯	22.4	1089	0.01±0.01	0.02±0.01	0.21±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.33±0.02
13	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	芳樟醇	23.88	1118	0.65±0.06	1.24±0.01	0.26±0.03	0.25±0.01	0.42±0.03	/
14	Limonene oxide, trans-	(R)-氧化柠檬烯	24.64	1142	0.01±0.01	5.19±0.37	/	0.02±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01
15	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-	苯甲酸芳樟酯	24.491	1141	/	/	/	0.05±0.01	0.12±0.01	0.07±0.01
16	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	别罗勒烯	24.825	1148	/	/	/	0.01±0.01	/	0.07±0.01
17	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	反式-薄荷基-2,8-二烯-1-醇	25.31	1155	/	0.02±0.01	/	/	/	0.02±0.01
18	6-Octenal, 3,7-dimethyl-	(-)-香茅醛	25.49	1158	0.3±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	/
19	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	4-萜品醇	27.27	1194	0.35±0.01	0.02±0.01	/	0.01±0.01	0.06±0.01	/
20	Decanal	癸醛	28.212	1213	0.56±0.02	0.28±0.02	0.1±0.01	0.07±0.00	0.03±0.01	0.14±0.01
21	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl-	α -松油醇	28.62	1215	0.62±0.06	0.43±0.08	0.04±0.01	0.69±0.13	0.21±0.07	0.06±0.01
22	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, cis-	顺式-香芹酚	29.63	1243	0.13±0.01	0.1±0.01	/	0.04±0.01	0.09±0.01	/
23	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	(Z)-柠檬醛	30.3	1246	0.18±0.02	0.02±0.01	0.04±0.01	0.16±0.01	0.39±0.03	0.08±0.01
24	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-	左旋香芹酮	30.2	1254	/	0.18±0.02	/	0.05±0.00	0.13±0.00	0.03±0.01
25	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	(E)-柠檬醛	31.47	1277	0.12±0.03	0.06±0.01	0.05±0.00	0.26±0.03	0.55±0.07	0.12±0.01
26	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl)-	紫苏醛	31.7	1286	0.1±0.01	0.23±0.01	0.1±0.01	0.04±0.00	0.06±0.010	0.02±0.01
27	Naphthalene, 1-methyl-	1-甲基萘	33.61	1311	/	/	0.12±0.01	/	/	0.29±0.01
28	Naphthalene, 2-methyl-	2-甲基萘	33.71	1327	/	/	0.05±0.01	/	/	0.27±0.01

转下页

接上页

29	Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-, (3R-trans)-	δ -榄香烯	34.22	1335	0.16±0.01	0.03±0.01	0.19±0.03	0.14±0.01	0.17±0.01	0.12±0.01
30	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	(Z)-橙花乙酸酯	35.47	1362	0.15±0.02	0.02±0.01	0.12±0.01	0.2±0.02	0.13±0.01	0.25±0.03
31	Geranyl acetate	乙酸香叶酯	36.15	1382	0.55±0.04	0.36±0.01	0.44±0.03	0.48±0.04	0.36±0.02	0.43±0.07
32	Hexanoic acid, hexyl ester	己酸己酯	36.43	1387	/	0.24±0.01	0.01±0.01	/	0.02±0.01	0.01±0.01
33	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	β -榄香烯	36.91	1393	0.04±0.01	0.01±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
34	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4Z,9S*)]-	(-)-异丁香烯	37.6	1416	0.03±0.01	/	/	/	/	0.04±0.01
35	Caryophyllene	γ -石竹烯	37.94	1421	0.01±0.01	0.04±0.01	0.31±0.01	0.34±0.03	0.4±0.07	0.29±0.01
36	.gamma.-Elemene	γ -榄香烯	38.32	1431	0.01±0.01	0.29±0.04	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.04±0.01
37	Naphthalene, 1,6-dimethyl-	1,6-二甲基-萘	39.24	1441	/	/	0.02±0.01	/	/	0.05±0.01
38	.alpha.-Caryophyllene	α -石竹烯	39.65	1458	0.04±0.01	0.04±0.01	0.01±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01
39	2-Tridecenal, (E)-	(E)-2-十三烯醛	40.27	1476	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01	/	0.02±0.01	/
40	Germacrene D	大根香叶烯	40.65	1484	0.15±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01	0.09±0.01	0.1±0.01	0.05±0.01
41	Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.alpha.)]-	巴伦西亚橘烯	42.29	1495	/	0.04±0.01	0.07±0.01	/	0.06±0.01	0.02±0.01
42	(-)-.alpha.-Panasinene	α -人参烯	42.09	1523	/	0.02±0.01	/	/	0.03±0.01	0.02±0.01
43	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	大牻牛儿烯	43.8	1561	0.05±0.01	0.04±0.01	0.07±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01
44	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, [S-(Z)]-	S-(Z)-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇	45.6	1573	/	/	0.23±0.01	/	/	/
45	Dodecanoic acid	月桂酸	48.21	1610	/	/	0.05±0.01	/	/	/
46	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	愈创木烯	48.26	1680	/	0.15±0.01	/	/	/	0.04±0.01
47	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	法尼醇	50.36	1728	/	0.02±0.01	0.2±0.01	/	/	/
48	2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-	金合欢醇	50.86	1743	0.02±	/	0.07±0.01	/	/	/
49	2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)-	(E,E)-金合欢醇	50.71	1746	/	0.02±0.01	/	/	/	/
50	Sesquirosefuran	倍半玫瑰呋喃	52.81	1776	/	/	0.03±0.01	/	/	/
51	Solavetivone	螺岩兰草酮	53.49	1814	/	/	0.05±0.01	/	/	/
52	2(3H)-Naphthalenone, 4,4a,5,6,7,8-hexahydro-4,4a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-, [4R-(4.alpha.,4a.alpha.,6.beta.)]-	圆柚酮	53.54	1822	1.87±0.12	0.77±0.07	3.21±0.09	0.08±0.01	0.1±0.01	0.18±0.01

转下页

接上页

53	2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-(1-oxopropyl)phenol	2,6-二叔丁基对羟基苯丙酮	57.6	1906	0.07±0.01	/	0.19±0.01	/	/	0.02±0.01
54	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	邻苯二甲酸正丁辛酯	58.47	1962	/	/	0.02±0.01	/	/	/
55	2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-	7-羟基香豆素	58.92	1969	/	/	0.07±0.01	/	/	/
56	5-Hydroxy-1-tetralone	5-羟基-1-四氢萘酮	59.63	1982	/	/	0.03±0.01	/	/	/
57	n-Hexadecanoic acid	n-棕榈酸	60.68	2005	0.11±0.01	0.07±0.00	1.1±0.05	/	/	0.25±0.03
58	Hexadecane	十六烷	63.570	2099	/	/	0.21±0.01	/	/	/
59	Osthole	甲氧基欧芹酚	64.14	2146	0.29±0.01	0.08±0.01	0.27±0.03	/	/	/
60	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	(Z,Z)-9,12-十八二烯酸	64.93	2170	0.05±0.01	/	0.6±0.03	/	/	/
61	cis-Vaccenic acid	顺式-十八碳烯酸	65.99	2197	0.32±0.01	/	0.27±0.01	/	/	/
62	Octadecanoic acid	硬脂酸	66.23	2200	/	/	0.23±0.01	/	/	/
63	Neoisolongifolene, 8,9-dehydro-	8,9-二氢新异长叶烯	67.59	2252	0.05±0.01	1.8±0.03	0.81±0.01	/	/	/
64	Pyrazol-5(4H)-one, 3-(4-methoxyphenyl)-	3-4-环戊氧基苯基-5-吡唑啉酮	68.59	2293	0.21±0.02	0.07±0.01	0.32±0.01	/	/	/
65	Tricosane	正二十三烷	69.02	2299	/	/	0.21±0.01	/	/	/
66	Oxirane, hexadecyl-	十六烷基环氧乙烷	71.61	2398	/	/	0.03±0.01	/	/	/
67	1,19-Eicosadiene	1 19-二十碳二烯	72.4	2404	/	/	0.51±0.01	/	/	/
68	1-Benzylphthalazine	1-苄基酞嗪	73.42	2465	/	/	0.14±0.01	/	/	/
69	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	顺,顺-2-甲基-3,13-十八二烯醇	74.18	2477	/	/	0.24±0.01	/	/	/
70	Eicosane	二十烷	74.77	2499	/	/	0.36±0.01	/	/	/
71	12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	12-甲基-E,E-2,13-十八碳二烯-1-醇	75.12	2528	/	/	0.22±0.01	/	/	/
72	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	2-甲基-Z,Z-3,13-十八碳二烯醇	75.98	2538	/	/	0.22±0.01	/	/	/

注: “/” 表示未检出。

表 4 冷榨油、水提油及磨皮油 PCA 的特征值、贡献率及预测能力

Table 4 Eigenvalues, cumulative contribution and predication performance (PCA) of different varieties of oils

主成分	特征值	贡献率	累计方差贡献率 R ² Y	累计预测能力 Q ²
1	5.58	0.620	0.620	0.500
2	2.48	0.276	0.896	0.817

表 5 冷榨油、水提油及磨皮油 PLS-DA 的特征值、贡献率及预测能力

Table 5 Eigenvalues, cumulative contribution and predication performance (PLS-DA) of different varieties of oils

主成分	特征值	贡献率	累计方差贡献率 R ² Y	累计预测能力 Q ²
1	6.31	0.493	0.493	0.402
2	2.69	0.492	0.954	0.972

2.4 直接进样法测定三种提取精油挥发性成分的 PCA 分析以及 PLS-DA 分析

为进一步揭示提取方法对柚皮精油挥发性成分的影响,对它们的挥发性成分进行 PCA 以及 PLS-DA 分析,由表 4、5 可知,PCA 模型有 2 个主成分,拟合参数为 R²X=0.896、Q²=0.817; PLS-DA 模型包含 2 个主成分,拟合参数为 R²X=0.954、Q²=0.972。R²X 越接近 1 表明模型越稳定, Q²>0.8 表明预测率较高,由此说明以上 2 个模型都能够充分的反映三种方法制备精油的整体信息。

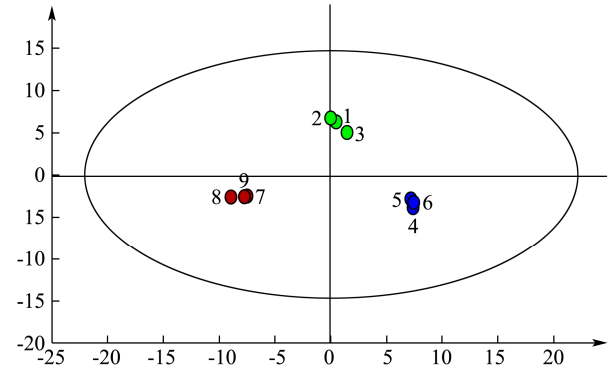


图 3 直接进样法精油 PCA 得分图

Fig.3 PCA score plot of volatile components of different varieties of oil

注: 1、2、3: 冷榨油; 4、5、6: 水提油; 7、8、9: 磨皮油。

得分图(图 3)显示三种方法制备的柚皮精油均处于相对独立的空间。磨皮油在得分图左侧,冷榨油于得分图的中上部,水提油位于得分图右侧。由此可见,主成分分析方法对三种方法制备的柚皮精油有较好的区分效果。

载荷图(图 4)中挥发性成分的分布情况与得分图中样本点的分布位置相对应。载荷图中 PLS-DA 变量重要性因子(VIP 值)可以量化每个挥发性成分对分类的贡献性, VIP 值越大(一般 VIP 值>1),挥发性

成分对柚皮精油的差异贡献越大^[25,26]。结合 PCA 得分图和 PLS-DA 载荷图中的 VIP 值(红色标记)可知,将三种方法制备的柚皮精油区分开的特征挥发性成分包括:冷榨油中的桉烯(0.73%)、D-柠檬烯(81.07%)、 α -松油醇(0.62%)、 β -月桂烯(7.80%)、 α -蒎烯(2.05%)和 4-萜品醇(0.35%);水提油中的芳樟醇(1.24%)、(R)-氧化柠檬烯(5.19%)、8,9-二氢新异长叶烯(1.80%);以及磨皮油中的圆柚酮(3.21%), n-棕榈酸(1.10%)和(Z,Z)-9,12-十八二烯酸(0.60%)等 3 种特征挥发性成分。

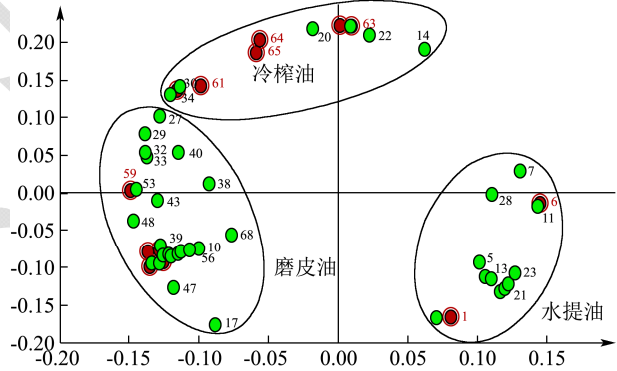


图 4 直接进样法精油 PCA 相关载荷图

Fig.4 PCA loading plots of volatile components of different varieties of oils

注: 红色标记表示 VIP 值>1 的特征挥发物质。

据文献报道^[19,27],冷榨油中有 6 种特征挥发性物质为柚皮精油的特征香气成分,其相对含量高于水蒸馏油和磨皮油。水提油中的(R)-氧化柠檬烯具有刺激性不良气味^[28],可能是由于水蒸汽蒸馏过程使烯烃类物质(柠檬烯)发生氧化反应,产生了含量较高的烯烃氧化物(氧化柠檬烯)。由表 3 可知,磨皮精油中保留指数大于 2000 的物质含量较高(>4.50%),远高于冷榨油(1.03%)和水提油(2.02%),据孙浩等^[29]报道,在弱极性色谱柱条件下,保留指数大于 2000 的成分在常温下难以挥发,对香味几乎没有影响,但对精油的透明度和澄清度有负面影响。这可能是由于磨皮工艺过程中一些果胶和蜡质类成分混入于精油中导致

其澄清度较差(图1中可见)。因此,综上所述,相比水提油,冷榨油与磨皮油具有更接近的挥发性成分组成,且无异味物质生成,冷榨油比磨皮精油具有更好澄清度和稳定性。因此,冷榨油品质相对较好。

表6 精油挥发性成分中潜在标志物(VIP>1)

Table 6 Potential markers of volatile components of different varieties of oils

编号	VIP 值	成分
14	3.56	(R)-氧化柠檬烯
6	3.01	β -月桂烯
52	2.26	圆柚酮
63	2.08	8,9-二氢新异长叶烯
8	1.79	D-柠檬烯
57	1.68	n-棕榈酸
13	1.41	芳樟醇
3	1.36	α -蒎烯
21	1.27	α -松油醇
60	1.25	(Z,Z)-9,12-十八二烯酸
67	1.20	1,19-二十碳二烯
20	1.17	癸醛
4	1.09	桉烯
19	1.07	4-萜品醇

3 结论

3.1 采用 SPME 和直接进样法结合气相色谱(GC-MS)对冷榨油、水提油以及磨皮油中的挥发性成分进行分析鉴定,结果显示:直接进样法所鉴定出挥发性组分的种类及含量优于 SPME 法,更准确细致地反映了柚皮精油的挥发性组分。

3.2 采用直接进样法检测冷压榨法、水蒸气蒸馏法和机械磨皮法制备的柚皮精油中挥发性成分,分别检测出 41 种,42 种以及 60 种挥发性成分,其中冷榨油的萜烯类、醛类、酯类组分的相对含量高于水提油和磨皮油,冷压油对柚皮精油的呈香成分保留率更高。通过 PCA 分析以及 PLS-DA 分析能够将三种方法提取的柚皮精油进行很好的区分,冷榨油与磨皮油挥发性成分更相近。冷榨油中特征挥发性成分的特征香气明显,水提油的特征挥发性成分氧化柠檬烯有不良气味,磨皮油中保留指数大于 2000 的挥发性成分相对含量较高,影响澄清度和稳定性。综合以上成分分析得出,冷压榨法制备的冷榨油品质相对较好。

参考文献

[1] 宋平,吴厚玖,沈海亮.柚皮精油提取工艺与应用概况[J].饮料工业,2012,4(2):10-13

SONG Ping, WU Hou-jiu, SHEN Hai-liang. Processes for extracting essential oil from pomelo peel and profiles of its us [J]. The Beverage Industry, 2012, 4(2):10-13

[2] 徐慧,吕金顺,沈茜茜,等.柚子皮精油提取分离方法及其成分分析[J].淮阴师范学院学报(自然科学版),2015,14(1):43-46

XU Hui, LYU Jin-shun, SHEN Xi-xi, et al. The extraction and separation methods of the essential oil of *Citrus maxima* peel and its chemical composition [J]. Journal of Huaiyin Normal University (Natural Science Edition), 2015, 14(1): 43-46

[3] 谢婧,宋新辉,许少丹.柚子活性成分的研究进展[J].广州化工,2013,41(7):14-16

XIE Jing, SONG Xin-hui, XU Shao-dan. Research progress of grapefruit active ingredients [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2013, 41(7): 14-16

[4] 杨宁.柚子全果综合利用及生物活性研究进展[J].广州化工, 2015,43(5):9-11

YANG Ning. Research progress of comprehensive utilization and biological activity of grapefruit fruit [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2015, 3(5): 9-11

[5] 臧燕燕,张明霞,刘国杰,等.不同品种中国柚果皮中挥发性物质的组成及质量分数比较[J].中国农业大学学报,2011, 16(6):52-57

ZANG Yan-yan, ZHANG Ming-xia, LIU Guo-jie, et al. Comparison of volatile compounds in flavedos of Chinese pummeios [J]. Journal of China Agricultural University, 2011, 16(6): 52-57

[6] 杨愈丰,柳敦耀,向红英,等.柚子皮精油提取及其驱蚊效果研究[J].天然产物研究与开发,2017,27:867-872

YANG Yu-feng, LIU Dun-yao, XIANG Hong-ying, et al. Extraction and mosquito repellent activity of essential oil from *Citrus maxima* (Burm) Merr. Cv. Shatian Yu peels [J]. Natural Product Research and Development, 2017, 27: 867-872

[7] 张帅,张少平,郑云云,等.柚皮有效成分提取及综合利用研究进展[J].中国农学学报,2017,10:158-164

ZHANG Shuai, ZHANG Shao-ping, ZHENG Yun-yun, et al. Extraction techniques and comprehensive utilization of pomelo peel [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 10: 158-164

[8] 邓桂兰,魏强华,刘冬梅.柚子皮的综合利用研究[J].食品工业,2013,34(9):180-184

DENG Gui-lan, WEI Qiang-hua, LIU Dong-mei. Research on the comprehensive utilization of pomelo peel [J]. Food

- Industry, 2013, 34 (9): 180-184
- [9] Asli G, Ismai K, Gülay K. Comparison of lemon oil composition after using different extraction methods [J]. Journal of Essential Oil Research, 2015, 27(1): 17-22
- [10] 樊荣,曾新安,关昕.不同方法提取的柚皮精油质量评价[J].食品工业科技,2012,7:202-205
FANG Rong, ZENG Xin-an, GUAN Xin. Quality assessment of essential oils of *Citrus grandis* peel obtained by different extraction methods [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 7: 202-205
- [11] 施迎春,杨颖,周锦云,等.提取方法对葡萄柚精油性质与组成的影响[J].浙江农业学报,2012,24(2):305-309
SHI Ying-chun, YANG Ying, ZHOU Jin-yun, et al. Effects of extraction methods on the properties and composition of grapefruits essential oil [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2012, 24(2): 305-309
- [12] Andrzej L, Dawidowicz N, Joanna S, et al. Modified application of HS-SPME for quality evaluation of essential oil plant materials [J]. Talanta, 2016, 146(1): 195-202
- [13] 苗延林.气相色谱分析啤酒中风味成分最简单的方法-直接进样法[J].中国酿造,2004,134(5):35-37
Miao Yan-lin. Direct-injection technique in gas chromatograph-the easiest method of analyzing flavor components in beer [J]. China Brewing, 2004, 134(5): 35-37
- [14] Marta F, Gabriel M, José C. Evaluation of diagnosis methods in PCA-based multivariate statistical process control [J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2018, 175(15), 194-210
- [15] Pizarro C, Rodríguez-Tecedor S, Pérez-del-Notario N, et al. Classification of Spanish extra virgin olive oils by data fusion of visible spectroscopic fingerprints and chemical descriptors [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2-3): 915-922
- [16] 古彦.梅县沙田柚营销策略优化研究[D].仲恺农业工程学院,2015
GU Yan. Mei xian District of Shatian pomelo marketing strategy optimization research [D]. Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2015
- [17] 陈晓水,候宏卫,边照阳,等.气相色谱-串联质谱(GC-MS)的应用研究进展[J].质谱学报,2013,34(5):308-318
CHEN Xiao-shui, HOU Hong-wei, BIAN Zhao-yang, et al. Research progress on application of GC-MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2013, 34(5): 308-318
- [18] Wenjing L, Bo H, Zuoqing L, et al. GC-MS method for determination and pharmacokinetic study of seven volatile constituents in rat plasma after oral administration of the essential oil of *Rhizoma curcumae* [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 149(5): 577-585
- [19] Cheong M, Chong Z, Liu S, et al. Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). part I: volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel [J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 686-695
- [20] Dharmawan J, Kasapis S, Curran P, et al. Characterization of volatile compounds in selected citrus fruits from asia. part I: freshly-squeezed juice [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2007, 22 (3): 228-232
- [21] LIU C, CHENG Y, ZHANG H, et al. Volatile constituents of wild citrus mangshanyegan (*Citrus nobilis* Lauriro) peel oil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(10): 2617-2628
- [22] Espina L, Somolinos M, Lorán S, et al. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes [J]. Food Control, 2011, 22(6): 896-902
- [23] 洪鹏,陈峰,杨远帆,等.三种柚子精油的香味特征及挥发性成分[J].现代食品科技,2014,30(10):274-281
HONG Peng, CHEN Feng, YANG Yuan-fan, et al. Sensory characteristics and volatile components of three pummelo (*Citrus maxima*) essential oils [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(10): 274-281
- [24] 傅曼琴,肖更生,陈于陇,等.改进型 Clevenger 装置提取柠檬果皮精油及成分分析[J].食品科学,2016,38(2):170-175
FU Man-qin, XIAO Geng-sheng, CHEN Yu-long, et al. Volatile components of lemon peel essential oils extracted by an improved clevenger apparatus [J]. Food Science, 2016, 38(2): 170-175
- [25] 刘晔,葛丽琴,王远兴.三个产地不同等级庐山云雾茶挥发性成分主成分分析[J].食品科学,2017,24(9):1-16
LIU Ye, GE Li-qin, WANG Yuan-xing. Study of principal components analysis of volatile compounds in different grades Lu mountain clouds-mist tea from three regions [J]. Food Science, 2017, 24(9): 1-16
- [26] 唐军,廖享,童红,等.基于气质与 PLS-DA 对新疆薰衣草精油判别分析[J].计算机与应用化学,2014,31(6):701-704
TANG Jun, LIAO Xiang, TONG Hong, et al. GC-MS combined with PLS-DA to discriminate the varieties of Xinjiang Lavender essential oil [J]. Computers and Applied Chemistry, 2014, 31(6): 701-704

(下转第 238 页)