

冷磨橙皮油生产工艺中离心废水与精油的挥发性物质差异分析

张群琳¹, 李贵节^{1,2}, 程玉娇¹, 何雅静¹, ROUSEFF R L¹, 谷利伟^{1,3*}, 吴厚玖¹, 孙志高^{1*}

1(西南大学 柑桔研究所, 国家柑桔工程技术研究中心, 重庆, 400712)

2(重庆市功能性食品协同创新中心, 重庆, 400067) 3(佛罗里达大学 食品科学与人类营养系, 美国, 32611-0720)

摘要 通过对冷磨法生产甜橙皮精油关键步骤——油水分离的实验模拟, 分析2次离心废水和冷磨油的挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs)差异, 探讨废水VOCs的回收利用价值。采用顶空固相微萃取-气质联用技术结合保留指数和内标法进行定性和定量分析, 从废水I、II和油中分别鉴定出75、72和63个VOCs, 其中乙醇、(Z)-2-戊烯-1-醇、乙酸乙酯、2,3-丁二酮及(E)-2-戊烯醛等11个水易溶成分仅在废水中检出; 共有成分的浓度均在冷磨油中更高, 但以总体积计则废水中VOCs总含量更高; 各VOCs所属香气类别在3类样品中的占比存在显著差异($P < 0.01$), 废水I中花香和脂香(4.88%、3.37%)等类物质的比例高于废水II(2.34%、2.42%)和冷磨油(0.81%、1.08%)。离心废水保留了皮油的水溶性VOCs, 从而更具花香、脂香和青香等特征, 对其回收利用进行预期, 可拓宽天然柑橘香料的产品线, 并获取可观的经济效益。

关键词 冷磨橙皮精油; 离心废水; 挥发性有机物; 香气类型; 顶空固相微萃取

甜橙(*Citrus sinensis*)属芸香科植物, 其植株的果实、花及叶中都含有香气物质^[1]。甜橙外果皮中分布有扁圆形的油胞, 直径一般可达0.4~0.6 mm^[2], 内含丰富的香精油, 具有令人愉悦的独特芳香风味, 是一种广受消费者欢迎的天然香料。食品、饮料及其他轻工业中大量使用甜橙精油来赋予产品天然橙香^[3]。此外, 甜橙精油还具有抑菌^[4]、抗氧化、消炎^[5]、抗病毒^[6]和降血压^[7]等作用, 因此也被广泛应用于化妆品和医药行业。近年来, 国内外市场对甜橙精油的需求呈持续增长的态势。

甜橙精油的工业提取方法主要有冷磨法、水蒸汽蒸馏法和超临界萃取法等^[8]。其中冷磨法为常温下机械力加工, 未经热处理, 所得精油成分最接近天然组成, 其香气品质更接近于新鲜果香, 因此冷磨法成为生产高品质甜橙精油的主要方法。典型的冷磨设备主要由螺旋轴和齿辊组成, 果实被螺旋推进并由齿辊带动翻滚, 该过程中外果皮被刺伤, 油胞破裂, 皮油被大量喷淋水冲刷收集, 形成皮油乳液^[9]。乳液粗滤后, 经第1次离心分离得到浓缩乳液、少量废渣和

一级离心废水, 浓缩乳液再经第2次离心分离得到冷磨油和二级离心废水。冷磨油最后经低温贮藏去除其中残留的水分和蜡质, 得到冷磨橙皮精油^[10]。

甜橙精油的香气源于其中所含的挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs), 主要由萜烯类、醇类、醛酮类和酯类组成。生产过程中不可避免地会有部分挥发性成分随过滤皮渣、离心沉淀物以及离心废水(aqueous effluent, AE)而损失。BRAT等^[11]对挥发性物质在离心后皮渣和上清液中的分布情况展开研究, 结果表明, 乙醇、乙酸乙酯等醇、酯类高极性物质在水相中的溶解度更大。有文献表明^[9], 离心废水中残留总挥发性物质的量将在很大程度上影响精油的产量和品质, MOSHONAS等^[12-13]对商业上生产橙皮油获得的离心废水进行了简单定性分析, 发现其中含有甜橙的大多数特征香气成分; 还对浓缩橙汁时的蒸馏回收物“水溶性精油(aqueous essence)”和精油间的香气及挥发性成分进行比较, 发现水溶性精油和精油具有不同的芳香特征, 可能是由于挥发性物质的种类和含量上的差异造成的。这些研究表明与皮油直接接触的水相中残留有挥发性成分, 可能成为回收香气物质的重要来源, 而目前针对冷磨甜橙精油离心废水中挥发性物质的准确定性、定量分析研究尚无报道。

本研究以全球广泛种植的伏令夏橙(*Valencia orange*)为原料, 通过实验室模拟工业冷磨法生产精油的过程, 利用顶空固相微萃取-气质联用技术(head-

第一作者: 张群琳硕士研究生和李贵节副教授为共同第一作者(孙志高副研究员和谷利伟副教授为共同通讯作者, E-mail: cpro@cric.cn; liweiguo@cox.net)。

基金项目: 国家柑桔工程技术研究中心开放课题(NCERC 2019004); “千人计划”高层次外国专家项目(WQ20135000161); 新型果蔬汁加工关键技术及装备研发(2017YFD0400701-3)

收稿日期: 2019-06-28, 改回日期: 2019-08-12

space solid-phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS) 对 2 次离心废水及精油中的挥发性物质进行定量与定性分析,为全面了解离心废水中的挥发性物质种类和其香气品质提供基础数据,同时为进一步提高冷磨精油(cold-pressed oil, CPO)过程中总挥发性物质的回收利用率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟伏令夏橙果实,中国农业科学院柑桔研究所资源圃;环己酮(>99.5%),aladdin 公司; C_5 - C_{25} 正构烷烃(色谱级),Honeywell 公司。

1.2 仪器与设备

9N50 型碟片式分离机,青海农牧机械制造有限公司;Sorvall ST 16R 高速冷冻离心机,美国 Thermo 公司;Agilent 7890 GC-5977 MSD 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司;85 μ m, CAR/PDMS 固相微萃取装置,美国 Supelco 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 冷磨橙皮精油的制备及水、油取样

冷磨橙皮油的制备参考 MATTHEWS 等^[14]的方法并稍作修改,流程如图 1 所示,具体步骤为:称取 3.3 kg 伏令夏橙,量取 1.4 L 自来水于容器中,在水中用不锈钢锉板对果实表皮进行适度锉磨,使油胞破裂释放其中的皮精油。为减少皮油成分的挥发损失,容器全程置于冰水浴中。所得皮油乳液经 200 目纱布过滤去除大部分不溶性皮渣后,采用碟片式分离机进行第一级离心,循环多次获得浓缩皮油乳液,同时收集第一级离心废水(aqueous effluent I, AE I)。测定 AE I 的体积和可溶性固形物含量(total soluble solids, TSS),置于 -18 $^{\circ}$ C 氮气中密闭保存待用。浓缩皮油乳液于 4 $^{\circ}$ C 高速冷冻离心机中以 7 026 $\times g$ 进行二级离心,收集上层澄清精油和下层废液(aqueous effluent II, AE II),分别测定其体积和 AE II 的 TSS,而后置于 -18 $^{\circ}$ C 氮气中密闭冻藏备用。

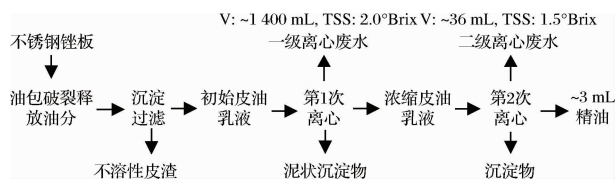


图 1 冷磨精油生产工艺流程图

Fig. 1 The flow chart of essential oil by cold pressing methods

1.3.2 顶空固相微萃取

取 50 μ L 精制冷磨油于 18 mL 顶空瓶中, AE I、AE II 解冻后各取 2 mL 于 20 mL 顶空瓶中,以使 3 个样品的顶空体积基本相同。分别加入环己酮内标,充入氮气后密闭。样品于 40 $^{\circ}$ C 水浴中平衡 30 min,静态顶空 SPME 吸附 15 s,立刻进行 GC-MS 检测。

1.3.3 GC-MS 检测条件

气相条件:DB-5 MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),进样口温度 230 $^{\circ}$ C,不分流;升温程序:35 $^{\circ}$ C 保持 3 min,以 6 $^{\circ}$ C/min 升温至 203 $^{\circ}$ C,以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 243 $^{\circ}$ C,保持 3 min。气体流速:1.2 mL/min。

质谱条件:电子轰击离子源,70 eV;离子源温度 230 $^{\circ}$ C;质量扫描范围 m/z :40 ~ 350。

1.4 数据分析与统计

定性分析:以 W10N14 谱库检索结合 DB-5 色谱柱的保留指数进行定性。

保留指数(retention index, RI)将 C_5 - C_{25} 正构烷烃混合标准品按 1.3.3 条件进样,确定各物质保留时间,根据公式(1)进行计算:

$$RI = 100 \times \left[z + \frac{t_i - t_z}{t_{(z+1)} - t_z} \right] \quad (1)$$

式中: t_i 、 t_z 、 $t_{(z+1)}$ 分别代表待测组分及碳数为 z 、 $z+1$ 正构烷烃的保留时间,min。

半定量分析:利用内标法定量,以环己酮为内标物质。

待测组分在精油和 2 次离心废水中的质量浓度 X (μ g/mL)分别根据公式(2)、(3)计算:

$$X_{icpo} = \frac{A_i \times m_s}{A_s \times V} \quad (2)$$

$$X_{iae} = \frac{A_i \times m_s}{A_s \times V \times f} \quad (3)$$

式中: A_i ,待测组分峰面积; m_s ,内标物质量, μ g; A_s ,内标物的峰面积; V ,进样瓶中样品体积,mL; f ,相对挥发度,即内标物“环己酮”在水相和油相中标准曲线的斜率比,经过换算得 $f_{水/油} = 5.62$ 。

所有实验均测定 3 组平行样品,实验结果用平均值 \pm 标准偏差表示,显著性分析使用 SPSS 22.0 软件。

2 结果与分析

2.1 不同样品中挥发性物质的定性和定量分析

一级离心废水、二级离心废水和冷磨精油中挥发性物质的总离子流图如图 2 所示。

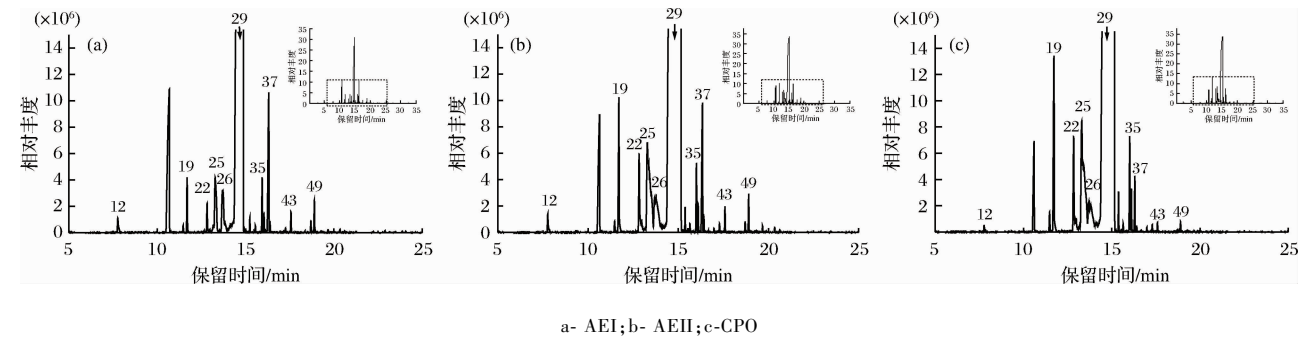


图2 两级离心废水及冷磨精油的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram of volatile compounds in AE I,AE II and CPO

注:对高响应值物质色谱峰进行标注,编号见表1;右上角小图为完整总离子流图,其中虚线区域内为放大部分。

通过谱库检索及与对比保留指数数据库^[15-16],从3个样品中共检测鉴定出77种挥发性物质,各物质名称及其在3个样品中的浓度信息如表1所示。其中,AE I、AE II和CPO中分别鉴定出75、72和63种挥发性物质。

2.2 不同样品中挥发性物质的分类分析及比较

如表2所示,AE I、AE II及CPO中挥发性物质总质量浓度分别为962.39、1 602.22及52 081.27 μg/mL,CPO浓度远高于废水的浓度;但将各个样品

中VOCs总浓度与样品的总体积相乘(分别为1 400、36和3 mL)后,发现AE I中VOCs的含量占3个样品VOCs总量的86.30%,远大于AE II和CPO的含量(3.69%和10.00%)。该结果说明一级离心废水带走了原本属于精油中的大量挥发性物质。与VOCs总量类似,除有机酸类化合物外,其他各类物质在CPO中的浓度均为最高,但以总量计则仍为AE I中含量最多。其中,醛酮类、醇类物质在AE I中的含量占3个样品总含量的96.39%和94.94%。

表1 一级离心废水、二级离心废水和精油中的挥发性物质

Table 1 Volatile compounds contained in AE I,AE II and CPO

序号	RI ¹	RI ²	化合物名称	化合物浓度/(μg·mL ⁻¹)			定性方法	气味描述词 ^[15-16]
				AE I	AE II	CPO		
1	535	537	乙醇 Ethyl alcohol	0.04±0.00	0.02±0.01	—	MS、RI	NA
2	594		2,3-丁二酮 2,3-Butanedione	—	0.05±0.04	—	MS	[D] cream
3	599		3-甲基-丁醇 1-Butanol,3-methyl	0.01±0.00	—	—	MS	[B] apple (brandy, spicy)
4	614	600	乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.04±0.00	0.01±0.01	—	MS、RI	[B] fruity, pineapple (ethereal)
5	609	600	乙酸 Acetic acid	tr	0.05±0.05	—	MS、RI	NA
6	700		3-羟基-丁醛 Butanal,3-hydroxy-	0.03±0.00	—	—	MS	NA
7	701	754	(E)-2-戊烯醛 2-Pentenal, (E)-	0.02±0.00	tr	—	MS、RI	[B] strawberry, fruity, tomato
8	701	759	正戊醇 1-Pentanol	—	0.03±0.00	—	MS、RI	[C] green, grassy, powerful
9	765	767	(Z)-2-戊烯-1-醇 2-Penten-1-ol, (Z)-	0.05±0.00	0.03±0.00	—	MS、RI	[C] green (plastic, rubber)
10	770		3-甲基-2-丁烯醛 2-Butenal,3-methyl-	0.01±0.00	—	—	MS	[C] green (fruity)
11	785		2-己烯酸 2-Hexenoic acid	tr	0.02±0.01	—	MS	[D] fatty
12	801	796	己醛 Hexanal	5.07±0.15	5.16±0.8	61.58±4.68	MS、RI	[C] green, grassy, powerful
13	854	850	(E)-2-己烯醛 2-Hexenal, (E)-	0.55±0.02	0.7±0.34	12.54±1.15	MS、RI	[C] green, leaf
14	872	865	正己醇 Hexanol-1	0.1±0.02	0.08±0.02	—	MS、RI	[D] fatty (fruity)
15	902	899	庚醛 Heptanal	0.29±0.01	0.14±0.03	2.19±0.03	MS、RI	[D] fatty, powerful
16	910		2,6-二甲基-4-辛烯 4-Octene,2,6-dimethyl	0.1±0.00	0.02±0.01	3.13±0.00	MS	NA
17	918		2,6-二甲基-3-辛烯 3-Octene,2,6-dimethyl	0.04±0.00	0.02±0.01	1.48±0.04	MS	NA
18	927	938	α-侧柏烯 α-Thujene	1.34±0.03	3.27±2.27	159.77±6.57	MS、RI	[E] wood (green, herb)
19	936	936	α-蒎烯 α-Pinene	10.71±0.43	32.68±19.32	1 653.39±65.43	MS、RI	[F] pine, turpentine
20	944	950	(-)-β-香茅烯 (-)-β-Citronellene	0.12±0.02	0.09±0.31	2.02±0.03	MS、RI	[G] rose, fresh
21	952	953	莰烯 Camphene	0.1±0.00	0.16±0.1	9.31±0.62	MS、RI	[H] camphor

续表 1

序号	R1 ¹	R1 ²	化合物名称	化合物浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)			定性 方法	气味描述词 ^[15-16]
				AE I	AE II	CPO		
22	975	976	桉烯 Sabinene	6.18 ± 0.04	19.82 ± 12.49	847.35 ± 32.38	MS、RI	[F] turpentine (pepper,)
23	980	980	β-蒎烯 β-Pinene	0.58 ± 0.04	2.5 ± 0.59	74.59 ± 1.75	MS、RI	[F] pine, resin, turpentine
24	986	983	顺式-蒎烷 cis-Pinane	2.25 ± 0.18	1.25 ± 4.63	43.62 ± 0.73	MS、RI	NA
25	993	991	β-月桂烯 β-Myrcene	32.39 ± 1.71	89.18 ± 34	3 360.2 ± 106.39	MS、RI	[H] musty (balsamic, spice)
26	1 005	1 002	辛醛 Octanal	26.61 ± 1.98	32.26 ± 17.01	502.98 ± 23.52	MS、RI	[D] fatty ^[27] (soap, green)
27	1 009	1 011	3-蒎烯 3-Carene	0.44 ± 0.1	—	—	MS、RI	[I] lemon (resin)
28	1 020	1 018	α-蒎品烯 α-terpinene	1.00 ± 0.13	0.23 ± 0.12	244.79 ± 22.2	MS、RI	[I] lemony, citrusy
29	1 030	1 031	D-柠檬烯 D-Limonene	795.59 ± 6.52	1 336.65 ± 347.82	43 594.3 ± 27.12	MS、RI	[I] citrusy-like, fresh
30	1 055	1 038	(E)-b-罗勒烯 Ocimene, (E)-b	0.33 ± 0.02	tr	4.13 ± 0.31	MS、RI	[A] herbaceous, tropical, sweet,
31	1 069	1 060	γ-蒎品烯 γ-Terpinene	2.37 ± 0.02	3.95 ± 2.14	187.08 ± 4.8	MS、RI	[F] turpentine
32	1 072	1 068	辛醇 1-Octanol	0.15 ± 0.03	0.34 ± 0.29	10.86 ± 0.61	MS、RI	[H] nut, mushroom
33	1 078	1 073	p-薄荷-3,8-二烯 p-Mentha-3,8-diene	1.14 ± 0.05	1.26 ± 0.02	44.13 ± 0.87	MS、RI	NA
34	1 085	1 088	异蒎品油烯 Isoterpinolene	0.11 ± 0.02	0.57 ± 0.39	3.59 ± 0.00	MS、RI	[F] pine ^[29] (citrusy flavors)
35	1 092	1 091	α-蒎品油烯 α-Terpinolene	11.23 ± 0.61	14.4 ± 4.35	647.33 ± 14.43	MS、RI	[I] citrusy (pine)
36	1 096	1 091	对伞花烃 p-Cymenene	3.72 ± 0.38	4.58 ± 2.96	234.94 ± 9.37	MS、RI	[I] citrusy
37	1 103	1 100	芳樟醇 Linalool	40.51 ± 1.03	30.94 ± 16.96	330.85 ± 9.96	MS、RI	[G] flower, lavender
38	1 108	1 103	壬醛 Nonanal	1.58 ± 0.00	2.09 ± 1.22	29.83 ± 1.24	MS、RI	[F] piney (floral, citrusy)
39	1 118	1 115	1,3,8-p-薄荷三烯 1,3,8-p-Menthatriene	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.19	8.95 ± 0.53	MS、RI	[F] turpentine
40	1 129		(E,Z)-2,4,6-八碳三烯-2,6-二甲基-2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	0.05 ± 0.00	0.66 ± 0.21	25.36 ± 0.00	MS	NA
41	1 142	1 132	顺式-氧化柠檬烯 cis-Limonene oxide	0.17 ± 0.00	0.16 ± 0.05	7.28 ± 0.29	MS、RI	[B] fruity
42	1 143	1 134	别罗勒烯 Nealloocimene	0.81 ± 0.06	1.74 ± 2.27	42.88 ± 2.47	MS、RI	[C] grassy (floral)
43	1 155	1 159	香茅醛 Citronellal	3.54 ± 0.12	4.04 ± 2.39	57.71 ± 1.54	MS、RI	[G] powerful, floral(lemon)
44	1 156	1 150	异胡薄荷醇 Neoisopulegol	0.16 ± 0.01	—	0.75 ± 0.00	MS、RI	[A] mint
45	1 185	1 182	松油烯-4-醇 Terpinen-4-ol	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.09	2.73 ± 0.02	MS、RI	[E] woody, earthy
46	1 197	1 198	辛酸乙酯 Ethyl Octanoate	0.02 ± 0.00	0.07 ± 0.08	2.07 ± 0.00	MS、RI	[B] fruity (floral)
47	1 199	1 193	α-松油醇 α-Terpineol	2.12 ± 0.06	1.72 ± 0.80	13.2 ± 0.46	MS、RI	[G] Cloves, flowers
48	1 203	1 200	顺式-二氢香芹酮 cis-Dihydrocarvone	0.13 ± 0.03	0.1 ± 0.02	4.06 ± 0.39	MS、RI	[A] warm, herb
49	1 207	1 203	癸醛 Decanal	5.19 ± 0.63	5.76 ± 3.81	54.76 ± 1	MS、RI	[D] fatty
50	1 227	1 224	香茅醇 Citronellol	0.23 ± 0.00	0.24 ± 0.12	4.24 ± 0.02	MS、RI	[G] rose
51	1 227	1 229	顺式-香芹醇 cis-Carveol	0.07 ± 0.00	0.04 ± 0.02	2.37 ± 0.02	MS、RI	[A] mint ^[29]
52	1 240	1 241	橙花醛 Neral	0.52 ± 0.01	0.89 ± 0.91	6.77 ± 0.22	MS、RI	[I] lemony, citrusy
53	1 246	1 247	香芹鞣酮 Carvotanacetone	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	1.17 ± 0.00	MS、RI	[A] herbaceous, spicy
54	1 247	1 249	香芹酮 (—)-Carvone	0.14 ± 0.00	0.25 ± 0.21	9.58 ± 0.50	MS、RI	[A] mint
55	1 252	1 253	香叶醇 Geraniol	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.71 ± 0.00	MS、RI	[G] rose, flower
56	1 253	1 253	胡椒酮 Piperitone	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.81 ± 0.00	MS、RI	[A] mint, fresh
57	1 257	1 258	香芹烯酮 Carvenone	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	2.13 ± 0.00	MS、RI	NA
58	1 267	1 270	香叶醛 Geranial	0.55 ± 0.00	0.75 ± 0.69	5.28 ± 0.23	MS、RI	[I] citrusy-like ^[28] (flowery, fruity)
59	1 280	1 279	紫苏醛 Perillaldehyde	0.23 ± 0.02	0.39 ± 0.30	4.12 ± 0.01	MS、RI	[D] oily, fatty (green, cherry)
60	1 294	1 294	p-薄荷-p-1(7), 8(10)-二烯-9-醇 p-Mentha-1(7), 8(10)-dien-9-ol	0.08 ± 0.00	0.1 ± 0.08	2.06 ± 0.04	MS、RI	[G] rose, flower
61	1 298	1 290	m-百里酚 m-Thymol	0.07 ± 0.00	0.05 ± 0.03	2.24 ± 0.12	MS、RI	[H] medicinal, powerful
62	1 307	1 306	十一醛 Undecanal	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.07	1.71 ± 0.20	MS、RI	[G] floral (pleasant waxy)
63	1 348	1 354	丁酸香茅酯 Citronellyl butyrate	0.01 ± 0.00	tr	2.07 ± 0.00	MS、RI	[B] fruity (sweet, rose)
64	1 352	1 351	α-毕澄茄烯 α-Cubebene	0.11 ± 0.01	0.06 ± 0.03	1.03 ± 0.08	MS、RI	[A] herb ^[29] , wax
65	1 377	1 410	α-古芸烯 α-Gurjunene	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	—	MS、RI	[E] wood, balsamic
66	1 382	1 376	α-古巴烯 α-Copaene	0.28 ± 0.04	0.11 ± 0.07	2.13 ± 0.00	MS、RI	[E] wood
67	1 394	1 391	β-榄香烯 β-Elemene	0.14 ± 0.02	0.07 ± 0.13	1.33 ± 0.11	MS、RI	[A] herb (wax, fresh)
68	1 410	1 407	十二醛 Dodecanal	0.08 ± 0.02	0.11 ± 0.13	1.62 ± 0.18	MS、RI	[D] fatty ^[28] (waxy, herbaceous)
69	1 429	1 432	反式-石竹烯 Caryophyllene, b-trans	0.23 ± 0.03	0.08 ± 0.14	1.28 ± 0.08	MS、RI	[E] woody, spicy
70	1 438	1 440	蛇麻烯 Humulene-b	0.18 ± 0.01	0.06 ± 0.08	1.23 ± 0.01	MS、RI	NA
71	1 484	1 481	α-姜黄烯 α-Curcumene	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.03	1.31 ± 0.11	MS、RI	[A] herb
72	1 492	1 490	β-蛇床烯 β-Selinene	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.04	2.54 ± 0.02	MS、RI	[A] herb
73	1 500	1 506	瓦伦西亚橘烯 Valencene	0.9 ± 0.16	0.63 ± 0.64	18.72 ± 1.01	MS、RI	[I] citrusy ^[28-29] (woody, green)
74	1 504	1 508	α-金合欢烯 α-Farnesene	0.13 ± 0.03	0.11 ± 0.21	2.94 ± 0.13	MS、RI	[G] floral ^[28] (green and balsam)

续表 1

序号	RI ¹	RI ²	化合物名称	化合物浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)			定性方法	气味描述词 ^[15-16]
				AE I	AE II	CPO		
75	1 523	1 524	杜松萜烯 Cadinene, d	0.11 \pm 0.01	0.07 \pm 0.14	1.75 \pm 0.15	MS, RI	[E] woody, dry, mild
76	1 528	1 521	顺式-去氢白菖烯 cis-Calamenene	0.12 \pm 0.03	0.19 \pm 0.25	5.65 \pm 0.22	MS, RI	[A] herb, spice
77	1 681	1 677	卡达烯 Cadalene	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.51 \pm 0.05	MS, RI	NA

注:RI¹表示 DB-5 色谱柱的保留指数,RI²文献中参考保留指数;“—”表示未检出;“tr”表示检测到但没有定量;NA 表示未查到描述词;[A~I]分别代表药草香、果香、青香、油脂香、木香、松香、花香、不愉悦、橘香等香气属性。

表 2 三个样品中挥发性物质分类汇总表

单位: $\mu\text{g}/\text{mL}$

Table 2 Structural categorization of volatile components in three samples			
	AE I	AE II	CPO
单萜烃类化合物	869.07(22 ^a)	1 512.33(20)	50 856.99(21)
倍半萜烃类化合物	2.36(13)	1.51(13)	40.46(12)
醛酮类化合物	44.69(20)	52.86(19)	770.98(17)
醇类化合物	43.72(13)	33.91(13)	356.69(9)
酸类化合物	tr(2)	0.06(2)	0
酯类化合物	0.08(3)	0.08(3)	4.15(2)
其他 ^b	2.49(2)	1.46(2)	52.00(2)
总浓度	962.39	1 602.22	52 081.27

注:a-各类化合物所含成分的个数;b-其他包含单萜氧化物和蒾烯等。

2.2.1 单萜烃类化合物

有研究表明^[17],在甜橙精油中,单萜烃类化合物中的 *D*-柠檬烯、桉烯、 β -月桂烯、蒾烯等是最主要的气味贡献成分。从表 1、2 可知,单萜碳氢化合物在 AE I、AE II 和 CPO 中的含量分布情况相似,都是相对含量最高的物质。*D*-柠檬烯是 3 个样品中含量最丰富的共有成分;在离心废水中含量较高的其他主要单萜类成分有 β -月桂烯、 α -蒾品油烯、 α -蒾烯和桉烯,前两者分别具有浓郁的香料味和柑橘味,后两者则被描述为松脂味^[15]。3-蒾烯仅在 AE I 被检测到;(E)-b-罗勒烯仅在 AE I 和 CPO 中检测到,且其在 AE I 中的浓度远高于 CPO。2,6-二甲基-3-辛烯和(−)- β -香茅烯含量极低(<0.005%, *w/w*),属于痕量成分。

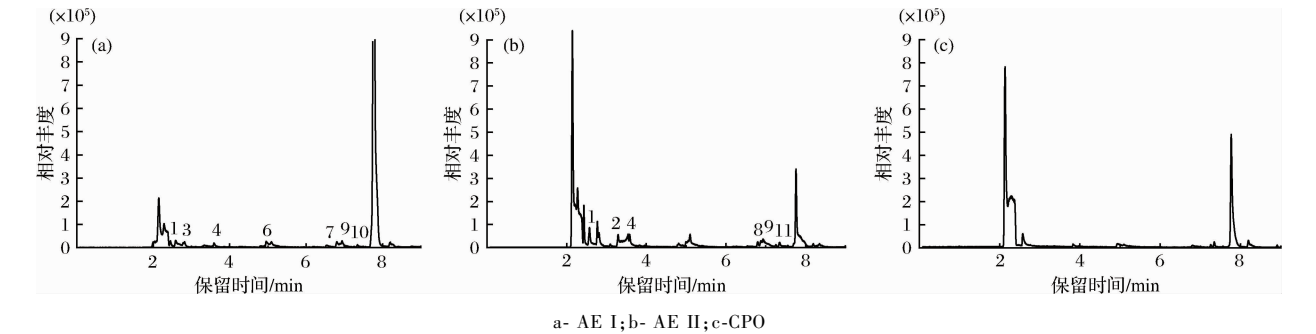


图 3 3 个样品的总离子流图前端色谱图

Fig. 3 Early eluting part of the total ion chromatograms of the volatile compounds in three samples

注:图(a)、(b)中物质的色谱峰对应编号见表 1。

2.2.2 倍半萜烃类化合物

在 3 个样品中,瓦伦西亚橘烯都是含量最高的倍半萜类物质,为柑橘类果实常见的香气成分,通常被描述为木头味和柑橘味^[16]。含量次之的此类物质,在 AE I 中分别为 α -古巴烯、 β -反式石竹烯、 β -蛇麻烯,而在 AE II 和 CPO 中为顺式-去氢白菖烯、 α -金合欢烯。有文献^[18]称在肯尼亚伏令夏橙皮油中 α -金合欢烯为含量最高的倍半萜类物质,且未检测到瓦伦西亚橘烯,2 种物质在含量上的差异显示果实产地可能对挥发性成分的组成有重要影响。

2.2.3 醛酮类化合物

相关文献表明,醛酮类中多数物质香味阈值很低,低浓度时也可表现出很强的气味^[19],如辛醛、癸醛、壬醛和香茅醛等^[20]。在 AE I、AE II 及 CPO 中,醛酮类化合物是除单萜烃类化合物之外含量最高的化合物种类,其中辛醛和癸醛是 3 个样品中含量最高的醛类物质,两者含量之和分别占 AE I 及 AE II 中醛酮类物质总量的 71.39%、72.12% (*w/w*)。香叶醛、橙花醛、紫苏醛和香茅醛是 3 个样品中主要的单萜醛类物质,其中香茅醛含量最高,与其他甜橙皮油的研究结果一致^[18]。正己醛在 AE I 中的浓度极大地高于其在 CPO 中的浓度,与 RADFORD 等^[21]构建的含柑桔果渣和水的模拟体系中醛类的分布相类似,即极性更高的醛类主要存在于水相中。在 AE I、AE II 色谱图的前 10 min 发现存在 3-羟基-正丁醛、

(*E*)-2-戊烯醛和 3-甲基-2-丁烯醛(图 3),这些醛类物质在 CPO 中并没有检测到。(Z)-香芹酮是 3 个样品中最主要的酮类物质,其浓度是其他同类物质浓度的 5~7 倍;2,3-丁二酮是 AE II 中检测到的唯一酮类物质。

2.2.4 醇类物质

芳樟醇不仅是 CPO,也是 AE I、AE II 中含量最高的醇类物质,分别占 3 个样品中总醇类物质质量的 92.53%、91.11% 和 89.44% (*w/w*)。其他含量较高的醇类物质为 α -松油醇、4-松油醇和香茅醇等,有文献表明柠檬烯经水合作用可以转化为 α -松油醇^[22],这可能是 AE I、AE II 中含较高浓度 α -松油醇的原因之一。此外,CPO 中缺失了几种醇类物质,它们仅在 AE I、AE II 的色谱图中检测到,分别为 3-甲基-1-丁醇、1-戊醇、(*Z*)-2-戊烯-1-醇,这些醇类在其他甜橙精油中也并未见报道。

2.2.5 其他物质

研究发现酯类物质含量极低。其中在 CPO 中鉴定出辛酸乙酯和丁酸香茅酯,这 2 种酯类物质被多次报道存在于甜橙果汁中^[21,23],但尚未在冷磨橙皮油中检出。顺式-氧化柠檬烯是 3 个样品中唯一被鉴定出的环氧化物,其他文献报道的环氧月桂烯、(*E*)-芳樟醇氧化物、环氧石竹烯^[18,24]等物质均未被检测到。这些氧化物可能是甜橙油中的天然成分,也可能是在样品制备、储存或分析过程中,在热或酸的影响下经氧化而形成^[18]。本研究前处理在低温和氮气保护环境下进行,可能在一定程度上避免了氧化反应的发生。

由上述分析可知,离心废水与精油中的挥发性成分种类接近,均检测出烯烃、醛酮、醇、酯等化合物。两类样品间的差异主要体现在 VOCs 的浓度和含量上,还体现在极性较强的小分子醇、醛和酯类物质的分布上。后者的分布趋势与 MOSHONAS 等^[13]的报道相符。

2.3 不同样品间各香气属性物质的组成差异

挥发性香气物质的浓度是影响样品香气品质的重要原因之一^[25]。通过比对数据库^[15-16]以及查阅文献资料^[26-29],完成对所有挥发性物质所对应香气描述词的查找和匹配,最终将 3 个样品中的挥发性物质归为果香型(7 个)、青香型(6 个)、花香型(9 个)、脂香型(8 个)、木香型(6 个)、松香型(7 个)、橘香型(8 个)、药草香型(12 个)及不愉悦气味(4 个)9 类香型。分别计算 3 个样品($j=1,2,3$)中每种香型($i=$

1,2,⋯,9)物质浓度占该样品总 VOCs 浓度的比例 $Z_{(j,i)}$ ($c/c, \%$),以 $Z_{(j,i)}$ 最大值为单位“1”作图,比较香型分布的样品差异,结果如图 4 所示。

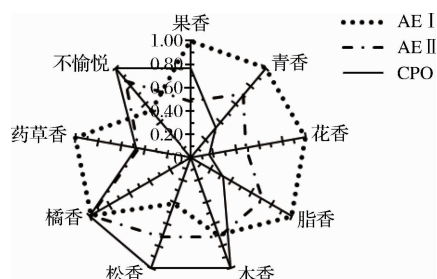


图 4 不同香气类型的挥发性物质在 3 个样品中的分布差异

Fig. 4 Distribution variance of volatile compounds that attribute to different aroma type in three samples

由图 4 可知,就同类香型物质而言,其在 AE I、AE II 及 CPO 中的分配比例具有极显著差异($P < 0.01$)。果香、青香、花香、脂香、药草香等香型成分在 AE I 中所占比例明显高于 AE II 及 CPO,其中 AE I 中花香型物质所占比例为 4.88% (c/c),是 CPO 中(0.81%)的 6 倍;木香、松香等香型物质在 CPO 中更为丰富,如松香成分在 CPO 和 AE I 中所占比例($c/c, \%$)分别为 5.39% 和 2.26%,前者约是后者的 2.4 倍。

3 结论

通过 HS-SPME-GC-MS 对离心废水和冷磨皮精油中挥发性物质的定性、定量分析,检测鉴定出 77 种挥发性物质,在 2 次离心废水中发现的挥发性物质种类与皮精油中挥发性物质种类基本重叠,其区别集中体现在一些易溶于水的小分子脂肪族醇、醛及酯类物质上。通过定量分析,虽然各物质在精油中的浓度显著高于其在 AE I、AE II 中的浓度,但 AE I 中的挥发性物质的总量却是精油中总量的 8.6 倍,占 3 个样品挥发性物质总和的 86.30%。2 次离心废水与精油中不同香型物质的浓度在各样品 VOCs 总量中的分配比例存在显著差异($P < 0.01$),离心废水中青香、果香、花香、药草香等香型物质比例高于精油中的比例。综合可知,冷磨橙皮油生产过程中产生的离心废水中含有种类丰富的大量挥发性物质,具有很大的回收利用价值。

参 考 文 献

[1] SARROU E, CHATZOPOULOU P, DIMASSI-THERIOU

- K, et al. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece [J]. *Molecules*, 2013, 18 (9): 10 639 – 10 647.
- [2] MANFREDI K P. Review of citrus oils: composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity[J]. *Journal of Natural Products*, 2017, 80 (4): 1 229 – 1 229.
- [3] 于童童, 范刚, 任婧楠, 等. 分子蒸馏分离浓缩甜橙精油及对赋香性能的影响[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2013, 30(6): 802 – 808.
- [4] MANCUSO M, CATALFAMO M, LAGANÀ P, et al. Screening of antimicrobial activity of citrus essential oils against pathogenic bacteria and *Candida* strains[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2019, 34(3): 187 – 200.
- [5] PLASTINA P, et al. *In vitro* anti-inflammatory and radical scavenging properties of Chinotto (*Citrus myrtifolia* Raf.) essential oils[J]. *Nutrients*, 2018, 10(6): 783.
- [6] WILLIMANN J A. Antimicrobial & antiviral composition: US 10307452[P]. 2019 – 06 – 04.
- [7] LI G, WANG J, CHENG Y, et al. Prophylactic effects of polymethoxyflavone-rich orange peel oil on N_ω-nitro-L-arginine-induced hypertensive rats [J]. *Applied Sciences*, 2018, 8(5): 752.
- [8] 赵文红, 白卫东, 白思韵, 等. 柑橘类精油提取技术的研究进展[J]. *农产品加工(学刊)*, 2009(5): 18 – 21; 46.
- [9] ASHURST P R. Handbook of citrus by-products and processing technology[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2001, 36(4): 450.
- [10] 白雨佳, 张丽荣, 黄佳琪, 等. 压榨法制甜橙油的研究[J]. *食品工业*, 2015, 36(7): 87 – 90.
- [11] BRAT P, REGA B, ALTER P, et al. Distribution of volatile compounds in the pulp, cloud, and serum of freshly squeezed orange juice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(11): 3 442 – 3 447.
- [12] MOSHONAS M G, LUND E D, BERRY R E, et al. Distribution of aqueous aroma components in the orange[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1972, 20 (3): 688 – 690.
- [13] MOSHONAS M G, SHAW P E. Flavor and compositional comparison of orange essences and essence oils produced in the United States and in Brazil[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38(3): 799 – 801.
- [14] MATTHEWS, RFBRAIDOCK, RJTI. Recovery and applications of essential oil from orange[J]. *Food Technology*, 1987, 41(1): 57 – 61.
- [15] Flavor database [DB/OL]. Florida State, USA: Citrus Research and Education Center, University of Florida, 2002[2012-12-7]. http://www.crec.ifas.ufl.edu/crec_websites/Rouseff/Website2002/Subpages/data-base_f_Frameset.html
- [16] Flavournet and human odor space [DB/OL]. Geneva, NewYork, USA: Cornell University, 2004 [2012-12-07]. <http://www.flavournet.org/flavournet.html>
- [17] 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): 2 617 – 2 628.
- [18] NJOROGE S M, KOAZE H, KARANJA P N, et al. Essential oil constituents of three varieties of Kenyan sweet oranges (*Citrus sinensis*) [J]. *Flavour & Fragrance Journal*, 2010, 20(1): 80 – 85.
- [19] BUETTNER A, SCHIEBERLE P. Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from Valencia Late and Navel Oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49 (5): 2 387 – 2 394.
- [20] 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.
- [21] RADFORD T, KAWASHIMA K, FRIEDEL P K, et al. Distribution of volatile compounds between the pulp and serum of some fruit juices[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1974, 22(6): 1 066 – 1 070.
- [22] 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.
- [23] 牛丽影, 吴继红, 廖小军, 等. 不同类型橙汁挥发性风味成分的测定与比较[J]. *中国食品学报*, 2008, 1: 119 – 124.
- [24] 吴均, 杨德莹, 李抒桐, 等. 甜橙精油的化学成分、抑菌和抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(14): 148 – 153.
- [25] SEO W H, BAEK H H. Identification of characteristic aroma-active compounds from water dropwort (*Oenanthe javanica* DC.) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(17): 6 766 – 6 770.
- [26] CICCHETTI, ESMÉRALDA, DUROURE L, et al. Characterization of odour-active compounds in Timur (*Zanthoxylum armatum* DC.) fruits from Nepal [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2017, 32: 317 – 329.
- [27] 肖作兵, 马胜涛, 牛云蔚, 等. 气相色谱嗅闻技术结合主成分分析鉴定甜橙油特征香气成分[J]. *中国食品*

学报, 2017, 17(1):253-257.

[29] 乔宇. 柑橘汁香气活性化合物的鉴定及其在加工和储藏中的变化[D]. 武汉:华中农业大学, 2008.

[28] 吴曲阳. 不同品种宽皮柑橘果汁特征香气成分研究[D]. 上海:上海应用技术大学, 2017.

Analysis of volatiles differences among aqueous effluents and essential oil from cold-pressing process of orange peel oil

ZHANG Qunlin¹, LI Guijie^{1,2}, CHENG Yujiao¹, HE Yajing¹,
ROUSEFF R L¹, GU Liwei^{1,3*}, WU Houjiu¹, SUN Zhigao^{1*}

1(Citrus Research Institute, Southwest University; National Citrus Engineering Research Center, Chongqing 400712, China)

2(Chongqing Collaborative Innovation Center for Functional Food, Chongqing 400067, China)

3(Department of Food Science and Human Nutrition, University of Florid, the United States, 32611-0720)

ABSTRACT By laboratory simulating oil-water separation, the key step of producing citrus peel essential oil by cold-pressing methods, the differences of volatile organic compounds (VOCs) in two consecutive aqueous effluents (AEs) and cold-pressed oil (CPO) were analyzed, and the recycling value of aqueous effluents VOCs was discussed. Techniques of headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) combined with retention index and internal standard method were used for qualitative and quantitative analysis. A total of 75, 72 and 63 VOCs were identified respectively in aqueous effluent I & II and the oil. Eleven components with high water solubility, including ethanol, (Z)-2-penten-1-ol, ethyl acetate, 2, 3-butanedione, (E)-2-pentenal and etc. were only found in the aqueous effluents. Concentration of common VOCs is higher in CPO; however, the total amount of VOCs in aqueous effluents was higher than that in CPO, considering the large volume of AEs. Significant differences ($P < 0.01$) were found for the proportion of each aroma type of the VOCs among the three samples; percentage of VOCs that contributed mainly for floral and fat notes was higher in AE I (4.88%, 3.37%) than in AE II (2.34%, 2.42%) and CPO (0.81%, 1.08%). The more water-soluble VOCs from orange peel oil retained in aqueous effluents and characterized the AEs of more floral, fat and green notes. Recycling and reuse of these aqueous VOCs may broaden the products line of natural citrus essence and thus obtain substantial economic benefits.

Key words cold-pressed orange peel essential oil; aqueous effluent from centrifugation; volatile organic compounds; aroma type; headspace solid-phase micro-extraction