

佛手挥发性物质在腌制过程中的变化

严赞开¹, 严奉伟^{2,*}

(1. 韩山师范学院化学系, 广东 潮州 521041; 2. 长江大学生命科学学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 以佛手鲜果及其腌制品为原料, 通过超声波辅助水蒸气蒸馏技术, 提取鲜佛手及其腌制品的挥发性物质, 运用气相色谱-质谱联用技术对挥发性物质进行分析。结果表明: 两种佛手挥发性物质提取率分别为 0.76% 和 0.32%; 新鲜佛手挥发性物质鉴定出 31 种化合物, 其中以(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇、D-柠檬烯、松油烯、 α -松油醇、橙花醇、反式香叶醇等为主; 在腌制过程中, 不饱和烯烃类化合物损失较大, 含量明显下降, 其中有 6 种未检出; 但糖类发酵导致(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇的含量明显增加, 这是佛手腌制后具有浓郁香甜风味的原因。

关键词: 佛手; 挥发性物质; 气相色谱-质谱分析

Variations in Volatile Compounds in Bergamot during Curing

YAN Zan-kan¹, YAN Feng-wei^{2,*}

(1. Department of Chemistry, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China;

2. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: The volatile compositions of fresh and cured bergamot were analyzed by ultrasonic-assisted steam distillation coupled with GC-MS. The extraction rates of essential oil from fresh and cured bergamot were 0.76% and 0.32%, respectively. A total of 31 compounds were identified from fresh bergamot and (Z)-2,3-butanediol, (E)-2,3-butanediol, D-limonene, terpinene, α -terpineol, neroli and trans-geraniol were predominant among them. During the process of curing, the loss of unsaturated alkenes was remarkable, and 6 unsaturated alkenes showed undetectable levels. However, the contents of (Z)-2,3-butanediol and (E)-2,3-butanediol showed a notable increase as a result of carbohydrate fermentation, which was responsible for the strong sweet flavor of cured bergamot.

Key words: bergamot; volatile fragrant compound; GC-MS

中图分类号: S375

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)02-0181-04

佛手(bergamot), 又名佛手柑、五指柑、佛手桔, 为芸香料柑橘属植物佛手的果实, 具有止咳、化痰和理气的功效^[1]。在佛手的开发应用中, 佛手精油是佛手中应用范围最广的成分, 由于其独特的香气和重要的生理功能, 在食品、化妆品和药品中有广泛的应用价值^[2]。佛手精油主要是以鲜果为原料, 运用水蒸气蒸馏法、有机溶剂提取法、冷榨法及超临界 CO₂ 萃取法等方法进行提取。

由于佛手不能鲜食, 潮汕乡民以其为原料来制作老香黄, 并逐步形成了一整套腌制的工艺流程: 切块(以棱为块)→腌盐(用盐腌之入里)→晒干(去掉水分)→炊熟(除菌变软)→浸糖、中药(腌之透里, 吸收糖分和中

药液)→再晒干(多次反复)。此腌制过程, 进一步开发、提升佛手的药用价值, 使之具有增进食欲、理气化痰功效, 因此老香黄成为潮汕人家庭必备的药用凉果, 且久藏不坏, 愈久药效愈佳, 是潮汕凉果三宝之一。但在佛手加工的炊熟过程, 大量的佛手精油随水蒸气挥发掉, 既污染了环境, 又浪费了资源。收集和利用佛手加工中挥发的精油, 具有良好的经济及社会价值。本实验以佛手鲜果、腌制品为原料, 运用水蒸气蒸馏的方法, 提取其精油, 采用气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)探讨腌制工艺对佛手精油化学成分的影响, 为开发利用佛手精油积累科学资料。

收稿日期: 2011-02-18

作者简介: 严赞开(1963—), 男, 教授, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: yanxiao4300@163.com

* 通信作者: 严奉伟(1966—), 男, 教授, 博士, 主要从事功能食品及营养研究。E-mail: yanfw1994@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

佛手鲜果：采摘于广东济公保健食品有限公司种植基地，切成 $4\text{mm} \times 4\text{mm} \times 4\text{mm}$ 小块备用；佛手腌制品：佛手腌制、晒干品，切成 $4\text{mm} \times 4\text{mm} \times 4\text{mm}$ 小块备用，由广东济公保健食品有限公司提供。所用化学试剂均为分析纯。

KDM 型调温电热套 山东省鄄城永兴仪器厂；101A-1 型数显电热鼓风干燥箱 上海浦东荣丰科学仪器有限公司；TU-1900 双光束紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司；FA2104 电子天平 上海精密仪器有限公司；GCMS-QP5050A 气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

称取佛手鲜品和其腌制品各 60g，腌制品用水浸 24h，在水蒸气流量 $1.30\text{mL}/\text{min}$ 、超声波功率 180W 、辅助工作时间 30min 、水蒸气蒸馏时间 75min 条件下，用二氯甲烷萃取两次($5\text{mL} \times 2$)，合并萃取液；蒸馏回收二氯甲烷， 40°C 条件下烘干，称量。将制备的挥发油置于棕色密封瓶中，于 4°C 保存备用。

1.2.2 佛手挥发油的成分分析

色谱条件：HP-5MS 毛细管柱($0.25\text{mm} \times 30\text{m}$, $0.25\mu\text{m}$)，分流比 50:1，进样量 $0.2\mu\text{L}$ ，进样温度 250°C ，四极杆温度 150°C ，载气 He，流量 $1.2\text{mL}/\text{min}$ 。程序升温： $60^\circ\text{C}(3\text{min}) \rightarrow 250^\circ\text{C}(0.5\text{min}) \rightarrow 280^\circ\text{C}(3\text{min})$ 。

质谱条件：电子轰击(electron impact, EI)离子源，离子源温度 250°C ，电子能量 70eV ，质量范围 $34 \sim 500\text{u}$ ，用 NIST 147 谱库检索加以确认，采用面积归一化法定量。

2 结果与分析

2.1 佛手鲜果与腌制品精油含量比较

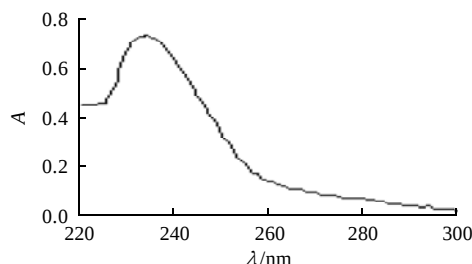


图1 佛手果精油光谱图

Fig.1 UV absorption spectra of bergamot volatile oil

运用超声波辅助水蒸气蒸馏，分别得到佛手鲜果及腌制品的精油，两种精油用紫外分光光度计在 $200 \sim 600\text{nm}$ 范围内扫描，所得的谱图一致，均在 235nm 处有最大吸收单峰(图1)。鲜果和腌制品中挥发油的含量分别为 0.76% 、 0.32% 。鲜果中含有的挥发油明显高于腌制品，说明腌制过程挥发油损失比较严重。

2.2 挥发油成分分析

2.2.1 鲜佛手及其腌制品挥发成分比较

从新鲜成熟佛手及其腌制品所得挥发物质中分离出的化合物经质谱分析并与标准图谱对照，结果鲜佛手鉴定出 31 种化合物，而其腌制品只鉴定出 25 种化合物(表1)，其中以(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇、D-柠檬烯、松油烯、 α -松油醇、橙花醇、反式香叶醇等成分为主。

表1 佛手挥发油化学成分

Table 1 Chemical components in volatile oil from bergamot

序号	保留时间/min	化学式	相对分子质量	化合物名称	相对含量/%	
					鲜佛手	佛手腌制品
1	2.568	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$	88	3-羟基-2-丁酮	0.18	0.14
2	3.301	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$	90	(Z)-2,3-丁二醇	8.49	12.38
3	3.438	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$	90	(E)-2,3-丁二醇	12.63	18.93
4	3.868	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	102	2-乙氧基丁烷	1.65	2.22
5	5.900	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	α -蒎烯	0.14	—
6	6.754	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	β -蒎烯	0.21	—
7	6.972	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	β -月桂烯	0.22	—
8	7.693	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$	134	异丙基邻甲苯	2.59	1.12
9	7.783	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	D-柠檬烯	9.79	3.07
10	7.917	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	(E)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯	0.27	—
11	8.135	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯	0.22	—
12	8.392	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	松油烯	4.15	1.33
13	9.008	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	异松油烯	0.29	0.12
14	9.191	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	芳樟烯	2.27	1.35
15	9.277	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	142	壬醛	0.36	0.22
16	10.282	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	香茅醛	0.29	0.13
17	10.845	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	4-萜烯醇	2.75	2.25
18	10.969	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	150	2-(4-甲基苯基)-2-丙醇	0.91	0.85
19	11.103	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	α -松油醇	7.55	5.97
20	11.297	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	反式香芹醇	0.40	0.67
21	11.784	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	橙花醇	12.24	8.58
22	12.263	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	154	反式香叶醇	11.36	7.25
23	12.603	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152	柠檬醛	2.10	0.91
24	13.005	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}$	170	2-十一酮	0.41	0.60
25	14.647	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$	196	乙酸橙花酯	0.14	0.13
26	15.522	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	反式石竹烯	0.23	0.50
27	16.580	$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}$	192	β -紫罗酮	0.47	0.45
28	16.926	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204	罗勒烯	1.04	1.26
29	17.811	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222	反式橙花叔醇	0.23	—
30	18.350	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	220	石竹素	0.26	0.37
31	22.532	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$	206	5,7-二甲氧基香豆素	0.38	0.81

注：“—”表示未检出。

新鲜佛手挥发物质中有 12 种烯烃、9 种有机醇、3 种有机酮、3 种有机醛，烷烃和芳烃各 1 种、有机酸

表2 佛手挥发油的主要化学成分

Table 2 Major components in volatile oils extracted from different parts of bergamot by different methods

文献序号	佛手产地	部位	提取方法	主要成分及其相对含量
[5]	浙江金华市	果皮	水蒸气蒸馏	柠檬烯 45%~67%、 γ -松油烯 18%~35%
[6]	浙江金华市	全果	水蒸气蒸馏	柠檬烯 48.4%、邻伞花烃(异丙基邻甲苯)30.8%
[7]	浙江金华市	全果	同步水蒸气蒸馏-乙醚萃取	柠檬烯 40.0%、2-萜烯 21.4%
[4]	浙江金华市	全果	石油醚萃取	柠檬烯 55.0%、 γ -松油烯 27.5%
[4]	四川	全果	石油醚萃取	柠檬烯 21.9%、 γ -松油烯 8.4%、5,7-二甲氧基香豆素 37.5%
[4]	广东	全果	石油醚萃取	柠檬烯 46.7%、 γ -松油烯 13.9%、5,7-二甲氧基香豆素 11.3%
[4]	福建	全果	石油醚萃取	柠檬烯 39.6%、 γ -松油烯 24.0%、5,7-二甲氧基香豆素 14.1%

酯2种。而腌制品中未检出 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -月桂烯、(E)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯、(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯、反式橙花叔醇。

从各成分相对含量随腌制过程变化情况来看,不饱和和有机化合物D-柠檬烯、松油烯、 α -松油醇、橙花醇、反式香叶醇相对含量明显降低,说明佛手在腌制过程中,不饱和和有机化合物的稳定性低,腌制过程中存在光照热解、氧化、酶降解等作用。而饱和类化合物(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇则含量则明显增加。

2,3-丁二醇的增加的原因是佛手果肉中糖类化合物,经糖酵解(Embden-Meyerhof-Parnas, EMP)途径转化成丙酮酸。丙酮酸经 α -乙酰乳酸合成酶作用得 α -乙酰乳酸, α -乙酰乳酸经 α -乙酰乳酸脱羧酶催化得3-羟基丁酮,3-羟基丁酮在2,3-丁二醇脱氢酶的作用下,代谢产生了2,3-丁二醇^[3]。2,3-丁二醇是一种优良的酒类香料物质。

由于佛手在腌制过程中,柠檬烯、松油烯等挥发性强的成分含量逐渐减小,其清香的柠檬味不断降低;而沸点较高的橙花醇、反式香叶醇散发出温和、甜美的玫瑰香味,与不断富集的2,3-丁二醇,形成了以醇为主要成分,芳香浓郁、绵甜纯厚、回味悠长的老香黄独特的陈香味。

2.2.2 鲜佛手与文献鲜佛手挥发成分比较

本实验提取的鲜佛手精油,将其挥发油主要成分与文献值对照,两者间存在较大差异,佛手挥发油主要成分与佛手种植地、品种、采摘成熟度、提取部位及提取方法等诸多因素有关。本实验选取几个有代表性的研究成果,简要对比结果见表2。

金晓玲等^[4]运用石油醚萃取法,对不同生产地的佛手挥发油成分分析,结果表明浙江金华佛手油主要成分为柠檬烯和 γ -松油烯;而广东、四川、福建佛手油主要成分除柠檬烯和 γ -松油烯外,还存在5,7-二甲氧基香豆素,且主要成分含量存在一定差异。赵磊等^[5]采用水蒸气提取法,对浙江金华十二种佛手品种挥发油成分

分析,品种间的主要成分相同,均为柠檬烯和 γ -松油烯,只是成分含量存在差异。将金晓玲等^[6]采用的水蒸气蒸馏法、石油醚萃取法^[4],与施长春等^[7]采用的水蒸气蒸馏-萃取法进行对比,处理样均为金华佛手全果,但主要成分存在明显差异,说明提取方法对主要成分影响较大。

尽管影响佛手挥发成分的因素诸多,且较为复杂,但综合起来应为两大因素:一是佛手生长过程中,次生代谢过程决定了其挥发成分的组成,这与影响次生代谢的诸多因素有关,如佛手的品种、种植地区、采摘成熟度、温度、光照等因素;二是提取方法(冷榨、水蒸气蒸馏、有机溶剂萃取等)决定了各成分的提取效率及损耗,提取方法的选择差异,会改变测得挥发油的组成。从这一角度看,第1个因素对佛手挥发油的成分起主导作用,而第2个因素只是一种获取挥发油成分的技术手段。

依据植物的次生代谢规律,佛手主要通过甲羟戊酸(WAV)途径和脱氧木酮糖-5-磷酸途径(DXP)途径,经异戊二烯焦磷酸(IPP),在异戊烯转移酶的催化下,IPP和其异构体DMAPP以“头对尾”或“头对头”相接的方式缩合成香叶基焦磷酸(GPP),在单萜合酶催化下,产生柠檬烯、松油烯、蒎烯、月桂烯、3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯等单萜类衍生物^[8]。再经热分解、后修饰酶(如氧化、加氢)催化,以及水合作用,转化为橙花醇、反式香叶醇、 α -松油醇、反式香芹醇、柠檬醛等单萜类含氧化合物^[9-10]。由此可见,佛手鲜果成熟早期,挥发油含萜烯的比例较高,随着熟度的增加,醇、醛、酮类单萜的含量逐渐增大,其香气由起初的柠檬味,逐渐变得温和、甜的、醇厚陈香味,提神、令人愉快。故佛手的熟度对挥发成分影响较大,即次生代谢深度决定了佛手挥发油的化学成分及相对含量。

3 结 论

本实验以佛手鲜果、腌制品为原料,通过超声波

辅助水蒸气蒸馏的技术,提取鲜佛手及其腌制品的挥发性物质,提取率分别为0.76%和0.32%。以二氯甲烷为萃取剂,以避免在制样过程中挥发成分的损失对测定结果的影响。运用GC-MS技术对挥发性物质样品分析,结果表明:佛手精油以(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇、D-柠檬烯、松油烯、 α -松油醇、橙花醇、反式香叶醇等为主要成分。在腌制过程中,不饱和烯烃类损失较大,相对含量明显下降,其中有6种未检出;但糖类发酵导致(Z)-2,3-丁二醇、(E)-2,3-丁二醇的相对含量明显增加,这是佛手腌制后具有浓郁香甜、醇厚陈香风味的原因。

参考文献:

- [1] 陈明之. 佛手的研究现状及其开发应用[J]. 杭州科技, 2004(5): 59-60.
- [2] 金晓玲. 佛手挥发油的研究进展[J]. 香料香精化妆品, 2002(2): 19-23.
- [3] CELINSKA E, GRAJEK W. Biotechnological production of 2,3-butanediol-current state and prospects[J]. Biotechnol Adv, 2009, 27(6): 715-725.
- [4] 金晓玲, 徐丽珊, 施潇, 等. 4种佛手挥发油化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(10): 737-739.
- [5] 赵磊, 籍保平, 周峰, 等. 十二种金华佛手挥发油成分的比较研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 179-184.
- [6] 金晓玲, 徐丽珊, 郑孝华. 佛手挥发油的化学成分[J]. 分析测试学报, 2000, 19(4): 71-73.
- [7] 施长春, 王建英, 朱婉萍, 等. 金佛手挥发油化学成分的GC-MS分析[J]. 药学实践杂志, 2004, 22(4): 209-210.
- [8] 徐应文, 吕季娟, 吴卫, 等. 植物单萜合酶研究进展[J]. 生态学报, 2009, 29(6): 3188-3196.
- [9] 李军玲, 罗晓东, 赵沛基, 等. 植物萜类生物合成中的后修饰酶[J]. 云南植物研究, 2009, 31(5): 461-468.
- [10] 于荣敏. 天然药物活性成分的生物合成与生物转化[J]. 中草药, 2006, 37(9): 1281-1287.