

月桂叶油树脂的提取及呈香物质分析

钱 源, 姚轶俊, 殷 实, 袁 强, 鞠兴荣, 王立峰*
(南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心,
江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室, 江苏 南京 210023)

摘 要: 采用正交试验法优化月桂叶油树脂超临界CO₂萃取工艺条件, 用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用技术和电子鼻技术分析鉴定超临界萃取、水蒸气蒸馏以及乙醇萃取所得油树脂差异。结果表明: 超临界CO₂萃取的最佳条件为萃取压力22 MPa、萃取温度50 °C、萃取时间2 h, 此条件下月桂叶油树脂得率平均为2.12%。经GC-MS分析, 超临界CO₂萃取所得油树脂鉴定出致香成分66种, 主要成分为乙酸松油脂 (20.38%)、1,8-桉油醇 (19.88%)、木香烃内酯 (5.61%)、丁香酚甲醚 (3.41%)、芳樟醇 (2.57%) 等; 水蒸气蒸馏所得油树脂鉴定出的致香成分为42种, 其中主要成分为1,8-桉油醇 (20.99%)、乙酸松油脂 (19.34%)、丁香酚甲醚 (2.56%)、去氢凤毛菊内酯 (2.36%)、 α -松油醇 (2.17%) 等; 乙醇萃取所得油树脂鉴定出的致香成分为24种, 主要成分为1,8-桉油醇 (15.33%)、4-萜烯 (10.75%)、乙酸松油脂 (10.22%)、去氢凤毛菊内酯 (10.09%)、木香烃内酯 (2.62%) 等。由电子鼻主成分分析与雷达图谱可以看出, 不同的提取工艺所得到的月桂叶油树脂致香成分差异较大。

关键词: 水蒸气蒸馏; 超临界CO₂萃取; 有机溶剂萃取; 气相色谱-质谱法; 电子鼻

Extraction and Aroma Composition of Laurel Leaf Oleoresin

QIAN Yuan, YAO Yijun, YIN Shi, YUAN Qiang, JU Xingrong, WANG Lifeng*

(Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China)

Abstract: An orthogonal array design was used to optimize the process conditions for supercritical CO₂ extraction of laurel leaf oleoresin. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and electronic nose (E-nose) were used to identify the differences in aroma composition among laurel leaf oleoresins extracted with supercritical CO₂, steam distillation and ethanol. The optimal conditions for supercritical CO₂ extraction were determined as follows: extraction pressure, 22 MPa; temperature, 50 °C, and time, 2 h. Under these conditions, the average yield of laurel leaf oleoresin was 2.12%. GC-MS analysis revealed that a total of 66 aroma compounds were identified from supercritical CO₂-extracted laurel leaf oleoresin, mainly including terpinyl acetate (20.38%), 1,8-cineole (19.88%), costunolide (5.61%), methyleugenol (3.41%), and linalool (2.57%), 42 volatile aroma compounds were identified from laurel leaf oleoresin extracted by steam distillation, consisting mainly of 1,8-cineole (20.99%), terpinyl acetate (19.34%), methyleugenol (2.56%), dehydrosaussurealactone (2.36%), and α -terpineol (2.17%), and ethanol-laurel leaf oleoresin were found to contain 24 aroma components, mainly 1,8-cineole (15.33%), 4-carene (10.75%), terpinyl acetate (10.22%), dehydrosaussurealactone (10.09%), and costunolide (2.62%). The principal component analysis (PCA) and radar plots of E-nose data revealed that laurel leaf oleoresins extracted by demonstrated considerable differences in aroma composition.

Key words: steam distillation; supercritical CO₂ extraction; organic solvent extraction; gas chromatography-mass spectrometry; electronic nose

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201622017

中图分类号: TS224.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2016) 22-0119-07

收稿日期: 2016-05-23

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0400201; 2016YFD0401401); 国家自然科学基金面上项目 (31571766); 江苏省自然科学基金项目 (BK20141485); 江苏省高校自然科学重大项目 (15KJA550002)

作者简介: 钱源 (1991—), 男, 硕士研究生, 主要从事食品加工研究。E-mail: 443165901@qq.com

*通信作者: 王立峰 (1977—), 男, 教授, 博士, 主要从事食品加工、活性蛋白肽及植物多酚研究。E-mail: wanglifeng_8@163.com

引文格式:

钱源, 姚铁俊, 殷实, 等. 月桂叶油树脂的提取及呈香物质分析[J]. 食品科学, 2016, 37(22): 119-125. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201622017. <http://www.spkx.net.cn>

QIAN Yuan, YAO Yijun, YIN Shi, et al. Extraction and aroma composition of laurel leaf oleoresin[J]. Food Science, 2016, 37(22): 119-125. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201622017. <http://www.spkx.net.cn>

月桂叶樟科常绿树甜月桂 (*Laurus nobilis*) 的叶, 别名香叶、香桂叶、桂叶、天竺桂等, 味芬芳, 有肉桂的甜味, 油含量约2%, 是全球香料工业中最重要的精油之一^[1]。研究显示, 月桂叶提取物对产酸克雷伯菌、肠炎沙门氏菌、痢疾志贺氏菌、大肠杆菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌等有不同程度的抑制作用^[2-4]。除此之外在抗氧化作用、清除游离基、食品添加剂等方面也显示了较好的应用前景^[5-6]。月桂的干叶及挥发油是重要的调味香辛料, 主要用于食品调味品、肉制品、汤羹和鱼类的调味, 且具有抗菌和杀虫活性, 能够用作食品防腐剂, 在化妆品行业月桂挥发油常用于制作面霜、香水和肥皂, 应用研究受到广泛关注^[7-9]。目前, 国内对月桂叶的研究主要集中在水蒸气蒸馏法提取后采用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 法分析其致香成分, 而以调味油开发为目的, 利用超临界CO₂萃取并结合电子鼻进行辨别分析的研究鲜有报道^[10-12]。相比大蒜油、花椒油相对成熟的工业化生产工艺, 月桂叶调味油的开发还停留在初始阶段。

本实验采用正交试验法优化了月桂叶油树脂超临界萃取工艺条件, 用GC-MS联用技术和电子鼻技术分析鉴定了超临界萃取、水蒸气蒸馏以及乙醇萃取所得油树脂差异, 为月桂叶调味油的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

月桂叶 市售; 二氯甲烷 (分析纯) 上海润捷化学试剂有限公司; 无水乙醇、无水硫酸钠 (均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

101-3AS型电热鼓风干燥箱 上海苏进仪器设备有限公司; DFT-50A型粉碎机 温岭市林大机械有限公司; CP213型OHAUS电子天平 奥豪斯公司; KW-1000DC型数显恒温水浴锅 国华电器有限公司; SHZ-D型循环水式真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司; OSB-2100型旋转蒸发仪 上海爱朗仪器有限公司; WH-2微型旋涡混合仪 上海沪西分析仪器厂有限公司; DZTW型电子调温电热套 北京市永光明医疗仪器有限公司; 6890N-5975 GC-MS联用仪 安捷伦科技有限公司; Spe-ed SFE-4型超临界萃取仪 美国应用分离公司;

α -FOX3000型电子鼻传感器 法国Alpha MOS仪器贸易有限公司。

1.3 方法

1.3.1 水蒸气蒸馏法萃取

采用水中蒸馏, 取月桂叶粉末300 g放入2 L蒸馏烧瓶, 以料液比1:4 (g/mL) 加入蒸馏水1.2 L, 为了促使油水混合物 (乳浊液中油和水) 的分离在水中加入适量NaCl, 将电热套温度调至110 °C, 蒸馏时间2 h收集蒸馏液。将蒸馏液倒入分液漏斗, 静置分离, 取上层精油加入无水硫酸钠, 24 h后过滤, 得到干燥油树脂。

1.3.2 乙醇萃取

取月桂叶粉末, 按料液比1:5 (g/mL) 加入乙醇溶液。常温浸提20 h, 真空抽滤, 在40 °C的条件下旋转蒸发回收溶剂得到月桂叶油树脂。

1.3.3 超临界CO₂萃取月桂叶精油的单因素考察

将月桂叶放入鼓风干燥箱 (40 °C) 烘干, 粉碎机粉碎, 过20 目筛得月桂叶粉末。萃取过程中, 压力、温度、时间、原料粒径和CO₂流量等参数对产品得率均有影响; 而超临界CO₂萃取技术相关研究表明, 萃取压力、萃取温度及萃取时间是3个主要影响因素^[10-11], 故分别对这3个工艺参数进行考察。参考史国安^[12]、樊红秀^[13]等的实验方法, 将CO₂流速设定为20 L/h, 限流阀 (微量调节阀) 温度设定为70 °C。

1.3.4 超临界CO₂萃取及正交试验设计

称取80 g月桂叶, 放入萃取釜并通入冷却后的CO₂气体, 设定萃取温度、萃取压力和萃取时间。为优化萃取条件以提高油树脂得率, 设计正交试验L₉ (3⁴), 见表1, 每次试验重复3次。

表1 超临界CO₂萃取L₉ (3⁴) 正交试验因素水平
Table 1 Factor and levels used in L₉ (3⁴) orthogonal array design for supercritical CO₂ extraction

水平	A萃取压力/MPa	B萃取温度/°C	C萃取时间/h
1	18	40	1
2	22	50	2
3	26	60	3

按下式计算得率:

$$Y\% = \frac{m}{M} \times 100$$

式中: m 为精油质量/g; M 为原料质量/g; Y 为得率/%。

1.3.5 GC-MS分析致香成分

从3种不同制备方法得到的月桂叶油树脂中各取0.200 g, 用二氯甲烷溶液溶解并定容至25 mL过滤, 进行GC-MS分析。

GC条件: HP-5毛细管色谱柱(50 m×0.25 mm, 0.50 μm); 载气: 氦气; 流量1 mL/min; 进样量1 μL; 进样口温度280 °C; 分流比20:1; 溶剂延迟时间5 min; 升温程序: 起始温度50 °C, 保持5 min, 以3 °C/min速率升温至170 °C保持20 min, 再以5 °C/min速率升温至260 °C保持10 min; 质量扫描范围33~550 u。

MS条件: 电子电离源; 离子源温度250 °C; 电子能量70 eV。

各组分质谱经谱库(NIST 8.0)检索和资料分析鉴定, 当匹配度超过90, 则可以定性并采用峰面积归一化法对各种呈香物质定量^[14]。

1.3.6 电子鼻辨别分析

电子鼻作为一项无损仿生嗅觉检测技术, 它模仿人类的鼻子, 对气味有较高的敏感性和客观性^[15]。如表2所示, 本实验采用3组金属氧化物传感阵列, 共12个传感器, 检测对应不同敏感物质, 以反映样品的整体风味信息^[16]。

表2 α-FOX3000电子鼻的12根MOS传感器
Table 2 Twelve MOS sensors used in α-FOX3000 electronic nose

序号	传感器型号	检测范围 ^[16-20]
1	T70/2	芳香族化合物
2	T30/1	极性化合物
3	P10/1	短链烷烃
4	P10/2	甲烷
5	P40/1	卤素、氟
6	PA/2	有毒气体、胺类化合物
7	LY2/gCT	丙烷、丁烷、易燃类短链烷烃
8	LY2/gCTL	硫化氢/无机硫化物
9	LY2/GH	有机胺类
10	LY2/G	有机胺类、羰基化合物、一氧化碳
11	LY2/LG	氧化气体
12	LY2/AA	有机化合物、乙醇、丙酮、氨

1.3.6.1 样品制备

量取每个月桂叶油树脂样2 000 μL装入3支10 mL顶空瓶, 加盖密封, 放入电子鼻自动进样器用于顶空分析。

1.3.6.2 顶空样品分析条件

空气流速150 mL/min, 顶空产生温度40 °C, 产生时间120 s, 搅拌速率500 r/min, 注射速率0.5 mL/s, 顶空注射体积0.5 mL, 收集时间360 s, 延滞时间120 s。经软件分析得到传感器信号强度图并对获得的数据信息进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和雷达图谱分析。

2 结果与分析

2.1 超临界CO₂萃取月桂叶油树脂的单因素试验结果

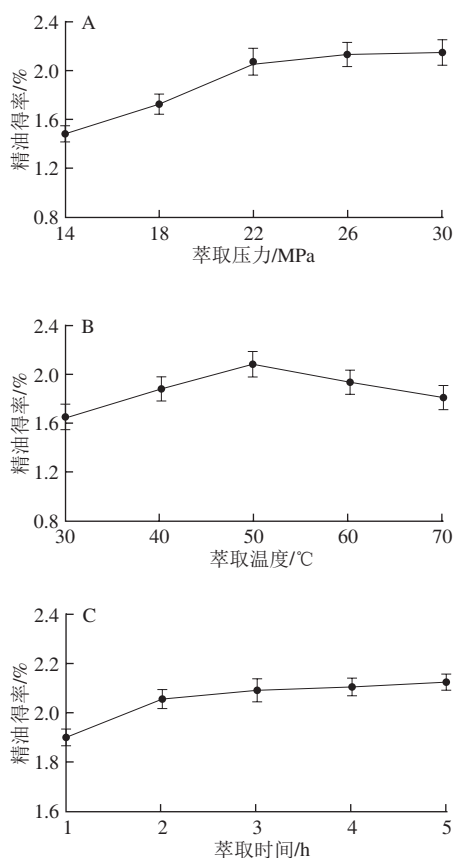


图1 单因素试验结果图

Fig. 1 Results of one-factor-at-a-time experiments

由图1A可知, 当萃取温度为50 °C, 萃取时间为2 h时, 得率会随压力的增大而增大且当压力到达22 MPa后, 得率增加十分缓慢。因为随着压力升高超临界CO₂流体的溶解能力增强, 可最大限度地溶解成分, 但高压条件下超临界相密度随压力变化愈加缓慢导致当压力增加到一定程度后, 溶解增加缓慢。由图1B可知, 当萃取压力为22 MPa, 萃取时间为2 h时, 月桂叶油树脂得率会随温度的升高先上升后下降。在一定压力条件下, 升高温度被萃取物的挥发性增强, 分子的热运动加快, 分子间缔和的机会增加, 从而使溶解能力增大, 得率会升高。另一方面, 在一定压力条件下, 由于升高温度作为萃取剂CO₂的分子间距增大, 分子间作用力减小, 密度降低, 溶解能力相应下降得率会降低。如图1B所示, 50 °C之前升高温度使得被萃取物挥发性增强导致得率升高的因素占主导; 50 °C之后升高温度使得CO₂溶解能力降低导致得率降低的因素占主导。由图1C可知, 当萃取温度为50 °C, 萃取压力为22 MPa时, 得率随萃取时间延长而升高, 但2 h后得率增长缓慢。

2.2 超临界萃取正交试验结果及方差分析

表3 超临界CO₂萃取L₉ (3⁴) 正交试验结果

Table 3 L ₉ (3 ⁴) orthogonal array design with experimental results for supercritical CO ₂ extraction					
因素	A萃取压力	B萃取温度	C萃取时间	空列	精油得率/%
1	1	1	1	1	1.45
2	1	2	2	2	1.71
3	1	3	3	3	1.65
4	2	1	2	3	1.88
5	2	2	3	1	2.10
6	2	3	1	2	1.92
7	3	1	3	2	2.05
8	3	2	1	3	2.11
9	3	3	2	1	2.07
k ₁	1.603	1.793	1.827	1.873	
k ₂	1.967	1.973	1.887	1.893	
k ₃	2.077	1.880	1.933	1.880	
极差	0.474	0.180	0.106	0.020	
因素影响顺序			A>B>C		
最优组合			A ₃ B ₂ C ₃		

表4 超临界CO₂萃取L₉ (3⁴) 正交试验方差分析

Table 4 Analysis of variance of L ₉ (3 ⁴) orthogonal array design				
因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A萃取压力	0.368	2	368.000	***
B萃取温度	0.049	2	49.000	**
C萃取时间	0.017	2	17.000	*
误差	0.00	2		

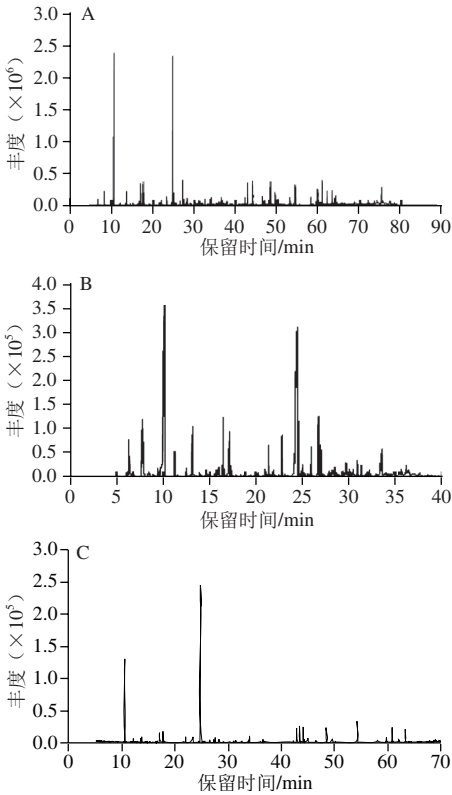
注: $F_{0.01(2,2)}=99$, $F_{0.05(2,2)}=19$, $F_{0.1(2,2)}=9$; ***,影响极为显著; **,影响显著; *,有一定影响。

以空列为误差项对上述试验结果进行方差分析,如表3、4所示。由A因素 $F=368.000>F_{0.01(2,2)}$ 可知,试验有99%的把握说明因素A(萃取压力)的水平改变对得率的影响极为显著;由 $F_{0.01(2,2)}>B$ 因素 $F=49.000>F_{0.05(2,2)}$ 可知,有95%的把握说明因素B(萃取温度)的水平改变对得率有显著的影响;由C因素 $F=17.000>F_{0.1(2,2)}$ 可知,有90%的把握说明因素C(萃取时间)的水平改变对得率有一定影响。通过比较各因素极差或显著性可以得出因素影响顺序为 $A>B>C$ 。由正交试验表得出的最优组合为 $A_3B_2C_3$ 。但由单因素试验可以看出,当萃取压力到达22 MPa,萃取时间超过2 h后,油树脂的得率增加十分缓慢,结合能耗考虑,最优组合选为 $A_2B_2C_2$,即萃取压力22 MPa、萃取温度50℃、萃取时间2 h。用3次重复实验验证最优条件,月桂叶油树脂得率分别为2.11%、2.13%、2.12%,取平均值为2.12%。

2.3 3种提取方法比较

水蒸气蒸馏法月桂叶油树脂得率为1.29%;乙醇萃取得率为0.95%;在最优萃取条件下,超临界CO₂萃取月桂叶油树脂的得率为2.12%,与杨靖等^[4]2.16%的最优得率吻合,且相对其30 MPa的最优萃取压力,在22 MPa的萃取压力下所得油树脂颜色更透明,流动性也更好,对后续月桂叶调味油的开发更有利。

2.4 GC-MS分析



A.超临界CO₂萃取; B.水蒸气蒸馏; C.乙醇萃取。

图2 不同提取方式所得月桂叶精油香气成分总离子流图

Fig. 2 Total ion aroma components of laurel leaf oils extracted with different extraction methods

如图2所示,超临界CO₂萃取所得油树脂样出峰数为174;水蒸气蒸馏所得油树脂样出峰数为125;乙醇萃取所得油树脂样出峰数为45。故从3个总离子流图的出峰数量和出峰丰度能看出超临界CO₂萃取所得油树脂样致香成分种类及相对含量均高于其他2种方法。

表5 3种月桂叶油树脂GC-MS致香成分分析

峰号	化合物	水蒸气蒸馏			超临界CO ₂ 萃取			乙醇萃取		
		保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度
1	3-侧柏烯 3-thujene				6.116	0.24	91			
2	α-蒎烯 α-pinene	6.740	1.36	97	6.316	2.63	96	6.432	0.11	96
3	蒎烯 camphene	7.245	0.24	92	6.793	0.42	95			
4	β-侧柏烯 β-thujene	8.216	1.34	91	7.769	2.19	90			
5	β-蒎烯 β-pinene	8.292	1.94	97	7.816	2.68	91	8.021	0.21	94
6	α-水芹烯 phellandrene				8.934	0.18	91			
7	对异丙基甲苯 dolicymene	10.292	0.33	97	9.140	0.06	95			
8	松油烯 terpinene				9.440	0.59	97	9.312	0.12	93
9	β-罗勒烯 β-ocimene				9.787	0.70	97	9.543	0.01	96
10	1,8-桉油醇 cineole	10.534	20.99	97	10.181	19.88	97	10.534	15.33	96
11	萜品烯 terpinene	11.792	0.56	90	11.251	1.11	96	11.453	0.92	97
12	β-松油醇 β-terpineol	12.128	0.38	95	11.569	0.08	96			

续表5

峰号	化合物	水蒸气蒸馏			超临界CO ₂ 萃取			乙醇萃取		
		保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度
13	4-萜烯 4-carene				12.516	0.43	97			
14	芳樟醇 linalool	13.704	1.02	91	13.186	2.57	97	13.332	2.30	93
15	龙脑烯醛 camphoenaldehyde				14.175	0.06	91			
16	4-乙酰基-1-甲基环己烯 4-acetyl-1-methylcyclohexene	14.404	0.73	98				14.293	0.53	99
17	松香芹酮 pinocarpone	15.648	0.12	96	15.733	0.32	95	15.689	0.11	92
18	冰片 borneol				15.886	0.26	97			
19	2-萜烯 L-borneol	16.510	0.14	90						
20	4-萜品醇 4-terpinenol	17.062	1.94	96	16.510	3.10	97	17.069	2.05	93
21	对甲基苯异丙醇 trimethylbenzyl	17.498	0.11	91						
22	α -松油醇 α -terpineol	17.704	2.17	91	17.145	2.40	90	17.710	2.87	90
23	辣薄荷酮 piperitol				17.868	0.08	96			
24	顺式香芹醇 cis-carveol	18.380	0.11	98						
25	橙花醇 cis-geraniol				18.880	0.22	96			
26	3-萜烯 3-carene	19.045	0.59	91						
27	乙酸芳樟酯 linalyl acetate				19.233	0.06	94	19.432	0.02	95
28	香叶醇 geraniol				20.115	0.05	93			
29	水茴香醛 phellandral	20.932	0.02	92	20.751	0.07	90	20.853	0.02	93
30	左旋乙酸冰片酯 L-borneol acetate				21.374	1.32	99			
31	萘醇 bezenemethanol	21.645	0.22	98						
32	2-十一酮 2-undecanone				21.868	0.33	95			
33	乙酸冰片酯 bornyl acetate	21.980	0.44	99				21.980	1.07	91
34	香芹酮 isothymol				22.462	0.09	90			
35	4-萜烯 4-carene							24.774	10.75	93
36	乙酸松油酯 α -terpinyl acetate	24.797	19.34	91	24.444	20.38	91	24.932	10.22	92
37	丁香酚 eugenol	25.109	1.38	98	24.633	2.44	98			
38	依兰烯 ylangene				25.039	0.80	99			
39	胡椒烯 copaene	25.215	0.65	99						
40	β -榄香烯 β -elemen				25.633	0.33	93			
41	丁香酚甲醚 methyleugenol	27.215	2.56	98	26.733	3.41	97	26.935	2.24	97
42	1-石竹烯 1-caryophyllene	27.544	1.46	99	26.968	1.43	99			
43	α -愈创烯 α -guaiene				27.838	0.30	99			
44	9-马兜铃烯 aristolene				28.021	0.25	91			
45	β -石竹烯 β -caryophyllene	28.926	0.19	96	28.344	0.28	97			
46	α -榄香烯 α -elemen				28.491	0.41	93	28.632	0.12	93
47	香树烯 aromadendrene				28.632	0.19	99			
48	倍半水芹烯 bicyclosiquiphellandrene	29.256	0.12	95	28.756	0.13	95			
49	2-十三酮 2-tridecanone				28.909	0.09	94			
50	大根香叶烯 germacrene	30.079	0.18	97	29.509	0.16	98			
51	桉叶烯 eudesmene	30.262	0.32	99	29.691	0.73	99	30.012	0.31	98
52	γ -芹子烯 γ -selinene	30.632	0.25	95	30.068	0.67	96			
53	异丁香酚甲醚 iso-methylegnol	30.782	0.42	93	30.444	0.52	92			
54	D-愈创烯 D-guaiene				30.573	0.13	96			
55	萘 naphthalene	30.423	0.72	98	30.897	0.94	97	30.942	0.52	96
56	γ -杜松烯 γ -cadinene	31.856	0.29	96	31.326	0.66	95			
57	榄香烯 elemen	33.320	0.12	96	32.938	0.16	94			
58	匙桉醇 espatulenol	33.832	0.56	93	33.373	0.93	94			
59	氧化石竹烯 caryophyllene	34.003	0.85	91	33.538	0.72	95			
60	B-桉叶烯 B-eudesmene				33.761	0.10	90			
61	G-芸苔烯 G-gurjunene	33.861	0.79	97						
62	喇叭茶醇 ledol				34.303	0.18	96			
63	绿叶烯 patchoulene				34.738	0.10	91			
64	香树烯 aromadendrene	35.797	0.76	95						
65	巴伦西亚橘烯 valencen				35.403	0.57	92			
66	β -桉叶醇 β -eudesmol	36.532	0.81	99	36.155	0.77	99			

续表5

峰号	化合物	水蒸气蒸馏			超临界CO ₂ 萃取			乙醇萃取		
		保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度	保留时间/min	相对含量/%	相似度
67	α -桉叶醇 α -eudesmol	36.655	0.53	99	36.285	0.33	98			
68	绿花烯 viridiflorene	36.802	0.63	94	36.432	0.51	95	36.942	0.31	96
69	去氢凤毛菊内酯 dehydrosaurealactone	42.890	2.36	90	43.061	0.11	90	54.225	10.09	91
70	巴西菊内酯 eremanthin				50.207	1.01	95			
71	木香烃内酯 costunolide				54.401	5.61	96	54.623	2.62	95
72	叶绿醇 phytol				58.142	0.28	91			
73	二十四烷醇 tetracosanol				66.571	0.04	92			
74	二十五烷 pentacosane				68.641	0.22	97	69.021	0.12	94
75	二十七烷醇 1-heptacosanol				71.912	0.27	93			
76	二十烷 cicosane				72.000	0.31	98			
77	γ -谷甾醇 sitosterol				75.623	0.82	96			
总计		70.04			89.49			60.97		

如表5所示, 经过质谱经谱库 (NIST 8.0) 检索和资料分析鉴定, 按匹配度不低于90进行筛选。水蒸气蒸馏所得油树脂样鉴定出物质42种, 占挥发性物质总量的70.04%; 超临界CO₂萃取所得油树脂样鉴定出物66种, 占挥发性物质总量的89.49%; 乙醇萃取所得油树脂样鉴定出物质24种, 占挥发性物质总量的60.97%。

表6 3种月桂叶油树脂致香成分相对含量
Table 6 Quantitative analysis of aroma components in laurel leaf oleoresins

致香成分	相对含量/%		
	超临界CO ₂ 萃取	水蒸气蒸馏	乙醇萃取
酯类	28.49	22.14	24.02
醇类	32.18	28.98	22.55
烯炔类	19.88	13.37	11.39
醚类	3.93	2.98	2.24
酚类	2.53	1.38	0
酮类	0.82	0.12	0
醛类	0.13	0.02	0
烷烃类	0.53	0	0
芳香烃类	1.00	1.05	0.52

由表6可以看出, 相比水蒸气蒸馏和乙醇萃取, 超临界CO₂萃取能够保留更多种月桂叶中的致香成分。油树脂鉴定出的致香成分主要有醇类、酯类、烯炔类、酚类、醚类、酮类、烷烃类、醛类、芳香烃类等^[17]。醇类、酯类物质相对含量较高, 约占致香成分总量的50%~60%, 是油树脂的基本香气物质。酯类对风味影响较大, 其中乙酸松油酯相对含量最高, 具有清香带甜, 似香柠檬、薰衣草气息, 留香时间较长, 广泛用于薰衣草、辛香、柑橘香型等日用香精, 也用于白柠檬、樱桃、辛香、肉香等食用香精, 在调味油中起增强辛香的作用, 对油树脂致香效果贡献较大。醇类通常具有芳香或酸败气味, 植物挥发油中一般都含有多种萜醇和芳香醇。所提油树脂中相对含量最高的醇类为1,8-桉油醇, 有樟脑气息和清凉的草药味道, 用于止咳糖、人造薄荷中。两者对月桂叶油树脂气味的形起关键作用。其次, 酮类和醛类属于挥发性羰基化合物, 也会产生浓郁的香味。

2.5 电子鼻辨别分析

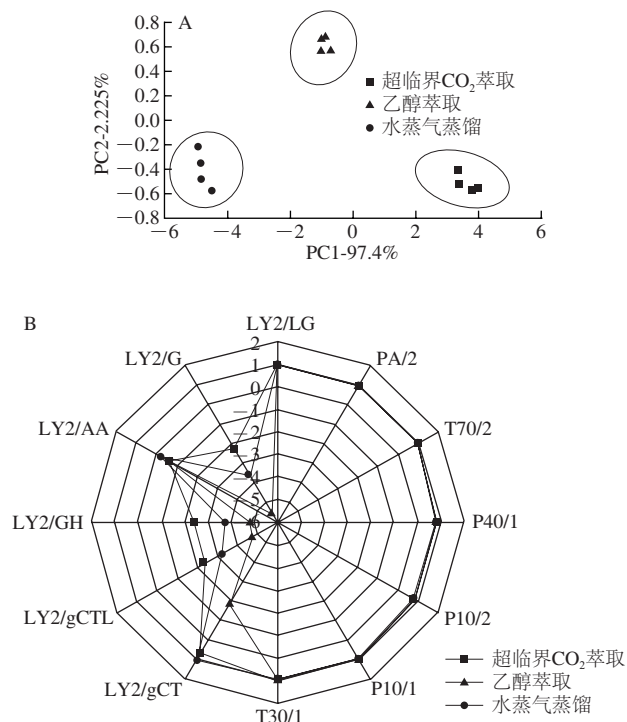


图3 不同月桂叶油树脂的PCA图(A)和雷达图谱(B)

Fig. 3 PCA and radar plots for laurel leaf oleoresins extracted by different extraction methods

PCA是一个包含PC1和PC2的二维平面图谱^[18]。由图3A可知, PC1和PC2的贡献率分别为97.4%和2.225%, 二者累积方差贡献率为99.625%, 大于85%的标准。说明PCA可以将样本传感器响应信号的大部分原始数据以PC1和PC2得分矩阵的形式表示出来, 包含了样品很大的信息量, 能反映月桂叶油树脂的整体信息^[19]。3种油树脂沿x轴方向的分离趋势明显, 其中超临界CO₂萃取和水蒸气蒸馏所得油树脂沿y轴方向的分离效果较差。从整体分离效果来看, 3种油树脂均能完全区分开, 说明各自气味特征明显, 不同的提取方法对挥发性气味影响较显著。由图3B可以看出, 电子鼻传感器对3个不同样品挥发性气味产生的信号在LY2/G、LY2/GH、LY2/gCTL、LY2/gCT四根传感器上均显示出显著的差异性, 也说明3种样品的香气特征存在显著差异。

由图3B可知, LY2/G、LY2/GH、LY2/gCTL、LY2/gCT四根传感器对乙醇萃取所得油树脂挥发气体中的有机胺类、硫化物、烷烃、羰基化合物的响应值很低, 较好的匹配了GC-MS分析结果中烷烃、醛类、酮类相对含量很低分别为0.12%、0.02%、0.11%的结果。GC-MS可对油树脂中挥发性物质的具体种类和相对含量进行检测, 但不能分析这些物质作为一个整体时对样品风味特征的贡献。电子鼻与之相反, 得到的不是被测样品中各挥发性

物质的定性或定量结果, 而是样品的整体风味信息。2种技术配合使用有利于同时从宏观和微观上研究样品风味, GC-MS的分析结果有利于对电子鼻分析结果进行解释^[21-23]。

3 结论

通过正交试验可知, 超临界CO₂萃取的最佳条件为萃取压力22 MPa、萃取温度50℃、萃取时间2 h, 此条件下月桂叶油树脂得率平均为2.12%。

由GC-MS分析可知, 月桂叶油树脂中相对含量最多的为酯类和醇类, 乙酸松油酯、1,8-桉油醇、木香烯内酯、丁香酚甲醚、芳樟醇等为主要致香成分。超临界CO₂萃取所得油树脂检测出66种挥发性成分, 而其他2种提取方法所得油树脂分别鉴定出42种和24种挥发性成分。从得率和致香成分来看, 超临界CO₂萃取技术具有优越性。

由图3可以看出, 不同的提取工艺所得到的月桂叶油树脂致香成分差异较大。电子鼻技术检测不同油样整体香气物质的区分趋势和GC-MS分析的具体香气物质结果有较好的匹配度, 采用电子鼻分析方法可以较好地区分不同方法提取出的月桂叶油树脂。

参考文献:

- [1] 宋东光, 江明, 等. 香叶油的研究进展[J]. 香料香精化妆品, 2008(3): 40-44. DOI:10.3969/j.issn.1000-4475.2008.03.010.
- [2] BOUZOUITA N, KACHOURI F, HAMDI M, et al. Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants[J]. Flavour Fragr, 2003, 18(5): 380-383.
- [3] LOIZZO M R, SAAB A M, TUNDIS R, et al. Phytochemical analysis and *in vitro* antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species[J]. Chemistry and Biodiversity, 2008, 5(3): 461-470.
- [4] MARZOUKI H, KHALDI A, CHAMLI R, et al. Biological activity evaluation of the oils from *Laurus nobilis* of Tunisia and Algeria extracted by supercritical carbon dioxide[J]. Natural Product Research, 2009, 23(3): 230-237.
- [5] 李荣, 姜子涛, 马丽, 等. 月桂精油抗氧化性能及清除自由基能力的研究[J]. 中国调味品, 2009, 34(11): 58-62. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2009.11.011.
- [6] POLITEO O, JUKIC M, MILOS M. Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from Laurel (*Laurus nobilis* L.) compared to its essential oil[J]. Croatica Chemica Acta, 2007, 80(1): 121-126.
- [7] 任飞, 韩发, 石丽娜, 等. 超临界CO₂萃取技术在植物油提取中的应用[J]. 中国油脂, 2010, 35(5): 14-18.
- [8] 杨靖, 周长春, 毛多斌, 等. 超临界萃取技术在烟草成分分离中的应用[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2005, 20(2): 11-13. DOI:10.3969/j.issn.1004-1478.2005.02.004.
- [9] 刘波, 鲍峰伟, 潘文亮, 等. 水蒸气蒸馏和超临界CO₂萃取橘皮精油及应用[J]. 烟草科技, 2014, 31(9): 52-56. DOI:10.3969/j.issn.1002-0861.2014.09.012.

- [10] 刘同举, 闵江, 李淑芬. 超临界CO₂萃取党参中脂溶性成分的工艺研究[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 145-147.
- [11] 苗红林, 翁新楚. 月桂叶香气成分的初步分析[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2009, 15(3): 326-330.
- [12] 史国安, 郭香凤, 金宝磊, 等. 牡丹籽油超临界CO₂萃取工艺优化及抗氧化活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(4): 47-50.
- [13] 樊红秀, 刘婷婷, 刘鸿铖, 等. 超临界萃取人参皂苷及HPLC分析[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 121-126. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201320024.
- [14] 杨婧, 万强, 陈勇健, 等. 月桂叶精油的三种制备方法比较及应用[J]. 烟草科技, 2015, 48(7): 29-35.
- [15] ESCUDER-GILABERT L, PERIS M. Review: highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 665(1): 15-25.
- [16] 何余勤, 胡荣锁, 张海德, 等. 基于电子鼻技术检测不同焙烤程度咖啡的特征性香气[J]. 农业工程学报, 2015, 31(18): 247-255. DOI:10.11975/j.issn.1002-6819.2015.18.034.
- [17] 周春丽, 刘伟, 陈冬, 等. 基于电子鼻与SPME-GC-MS法分析不同南瓜品种中的挥发性风味物质[J]. 现代食品科技, 2015, 31(7): 293-301.
- [18] 刘明, 潘磊庆, 屠康, 等. 电子鼻检测鸡蛋货架期新鲜度变化[J]. 农业工程学报, 2010, 26(4): 317-321.
- [19] 郑福平, 宁洪良, 郑景洲, 等. 电子鼻对花椒精油的辨别研究[J]. 食品科学技术学报, 2010, 28(4): 9-15. DOI:10.3969/j.issn.2095-6002.2010.04.002.
- [20] 邹慧琴, 刘勇, 陶欧, 等. 电子鼻MOS传感器阵列优化及其在中药材快速鉴别中的应用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 161-166.
- [21] QIN Z H, PANG X L, CHEN D, et al. Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: correlation with sensory properties and classification according to grade level[J]. Food Research International, 2013, 53(2): 864-874.
- [22] TIKK K, HAUGEN J, ANDERSEN H, et al. Monitoring of warmed over flavour in pork using the electronic nose-correlation to sensory attributes and secondary lipid oxidation products[J]. Meat Science, 2008, 80(4): 1254-1263.
- [23] HANSEN T, PETERSEN M, BYRNE D. Sensory based quality control utilising an electronic nose and GC-MS analyses to predict end-product quality from raw materials[J]. Meat Science, 2005, 69(4): 621-634.