

# 广陈皮精油的特异性分析

何静, 陈谷, 何倩娴, 应帆

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510641)

**摘要:** 本研究采用水蒸气蒸馏法, 提取广陈皮和来自广西、浙江、四川地区陈皮的精油, 同等质量广陈皮的精油含量高于其他地区陈皮 ( $p < 0.05$ )。采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 从精油中共鉴定出 111 种组分, 其中 48 种组分是第一次在广陈皮中被分析鉴定到。利用主成分分析 (PCA) 和热图 (heatmap) 对广陈皮与其他地区陈皮精油组分及含量进行统计学分析, 发现存在明显差异: 不仅表现在相对含量较高的 D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、2-(甲氨基) 苯甲酸甲酯, 还表现在一些相对含量较少的  $\alpha$ -合欢烯、松油醇和石竹烯等成分上。偏最小乘法判别分析 (PLS-DA) 陈化一年和两年的广陈皮精油组分和含量, 首次揭示对广陈皮与其他地区陈皮的差异来源贡献较大的化合物还有香芹酮 (0.03%~0.23%)、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛 (0.03%~0.80%)、紫苏醛 (0.04%~0.34%)、4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯 (0.51%~0.84%) 和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷 (1.42%~2.28%); 其中香芹酮、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛和紫苏醛仅在广陈皮中检测到, 而 4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷在广陈皮中的含量显著高于其它地区陈皮。另外, 陈化一到五年的优质广陈皮精油 PLS-DA 分析结果显示, 陈化一年的广陈皮与陈化两到五年的广陈皮精油差异较大, 提示陈化的最初两年是广陈皮陈化特定风味物质形成的关键点, 是研究陈化机理的重要时期。

**关键词:** 广陈皮; 精油; GC-MS; 香芹酮; (E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛; 紫苏醛

文章编号: 1673-9078(2020)02-224-231

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.2.032

## Specificity Analysis of Essential Oil from *Pericarpium Citri Reticulatae* 'Chachiensis'

HE Jing, CHEN Gu, HE Qian-xian, YING Fan

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**Abstract:** In this study, the essential oil of *Pericarpium Citri Reticulatae* (PCR) from Guangdong (*Pericarpium Citri Reticulatae* 'Chachiensis', PCR-C) and from Si Chuan (C), Zhe Jiang (Z) and Guang Xi (G), were extracted by steam distillation. The content of essential oil extracted from PCR-C was much higher than those of the other PCRs ( $p < 0.05$ ). A total of 111 components were identified in essential oils through GC-MS analysis, of which 48 components were identified for the first time from PCR-C. The compositions of essential oil were statistically analyzed using Principal Component Analysis (PCA) and heatmap, and significant differences were found not only in the components with relatively high contents such as D-limonene,  $\gamma$ -terpinene and 2-(methylamino)-methyl ester, but also in the minor components with relatively low contents such as  $\alpha$ -farnesene, terpinol and caryophyllene. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) of essential oil in PCR aged for one and two years revealed for the first time that the major contributors to the difference between PCR-C and PCR also included (-)-carvone (0.03%~0.23%), (E, E, E)-2,6,10-trimethyl-2,6,9,11-dodecanetetraen-1-al (0.03%~0.80%), 4-(1-methylethenyl)-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde, (0.04%~0.34%), 4-methyl-1-(1-methylethyl)-bicyclo-hexanene (0.51%~0.84%) and 6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclic heptane (1.42%~2.28%). Among which, carvone, (E, E, E)-2,6,10-trimethyl-2,6,9,11-dodecanetetraen-1-al and perillaldehyde were only detected in the PCR-C, while the contents of 4-methyl-1-methylethyl- bicyclo-hexanene and 6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclic heptane were significantly higher in PCR-C than that in PCRs. In addition, the PLS-DA analysis of the high-quality PCR-C aged for 1-5 years revealed a large difference in the essential oils between the PCR-C aged for 1 year and PCR-C aged for 2-5 years. These results suggested that the first two years of aging were the key period for the formation of specific flavor substances of PCR-C.

收稿日期: 2019-04-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31871766); 广东省公益研究与能力建设专项资金项目 (2015A020209029)

作者简介: 何静 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 陈皮的功能基因组与营养组学

通讯作者: 陈谷 (1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 功能基因组与营养组学

and for studying the mechanism underlying PCR-C aging.

**Key words:** *Pericarpium Citri Reticulatae* ‘Chachiensis’; essential oil; GC-MS; (-)-carvone; (E, E, E)-2,6,10-trimethyl-2,6,9,11-dodecanetetraen-1-ol; 4-(1-methylethenyl)-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde

陈皮是芸香科植物橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 栽培变种主要有茶枝柑 (*Citrus reticulata* Blanco ‘Chachi’)、温州蜜柑 (*Citrus reticulata* Blanco ‘Unshiu’)、大红袍 (*Citrus reticulata* Blanco ‘Dahongpao’) 和福橘 (*Citrus reticulata* Blanco ‘Tangerina’) 等。陈皮不仅作为一种中草药在包括中国在内的东南亚地区被广泛使用, 而且在日常生活中作为药食同源的功能性食品已被使用了数百年。陈皮不仅具有特殊的风味和口感, 还具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、抗惊厥、抗诱变、抗病毒以及神经保护作用等多种生物活性<sup>[1-10]</sup>。药典<sup>[11]</sup>中记载, 药材分为“陈皮”和“广陈皮”, 地道药材广陈皮源自新会茶枝柑的干燥成熟果皮, 常 3 瓣相连, 形状整齐、厚度均匀, 约 1 mm。茶枝柑果实点状油室较大, 对光照视透明清晰, 质地柔软。

过去的十几年间, 不少研究集中于探索广陈皮有异于其它地区陈皮的化学特性, 及其陈化过程的化合物变化规律, 例如我们的前期研究<sup>[12,13]</sup>, 针对游离态和结合态多酚黄酮, 揭示了广陈皮陈化过程中, 结合态多酚黄酮类化合物含量显著升高, 同时抗氧化活性增强的特性<sup>[12]</sup>。丰富的精油是广陈皮的另一个特征, 前人分析了精油相对含量较高的组分, 如 D-柠檬烯 (D-Limonene)、 $\gamma$ -松油烯 ( $\gamma$ -Terpinene), 在不同的地区的陈皮精油组分和含量的区别, 找到了一些对陈皮风味特征相关的精油组分<sup>[14-19]</sup>。但迄今为止, 仍未对广陈皮区别于其他地区陈皮的精油特征有明确清晰的结论, 也没有对不同陈化年份间特定精油组分的变化规律做出清晰的阐释, 而且对相对含量较少的精油组分关注度不高。

因此选择了来自广东新会地区三个不同产区的广陈皮与其它地区陈皮进行精油提取和气相色谱-质谱 (GC-MS) 鉴定分析, 对检测到的精油组分和含量进行统计学分析, 探究广陈皮与其它地区陈皮在精油组分上的异同点, 同时探究不同产区 and 不同陈化年份对广陈皮精油的影响, 为探究广陈皮陈化机理和广陈皮产业良性发展奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料及设备

广陈皮采自新会地区, 种植区按当地种植经验依

据距离凌云塔远近被划分成三个区域 (图 1), L 组、Y 组和 X 组广陈皮样品来源于一区天马村, 但分别属于林氏、祥益、新宝堂三个不同的厂家, 即分属于不同的果园, S 组样品来源于二区双水镇同一果园, N 组样品来源于三区崖南镇同一果园, G 组样品来源于广西, C 组样品来源于四川雅安, Z 组样品来源于浙江 (表 1)。

表 1 陈皮样品来源信息

Table 1 Source information of *pericarpium citri reticulatae*

样品名	采收时间	陈化年限/年	产地
L1	2017	1	江门市新会区天马村
L2	2016	2	江门市新会区天马村
L3	2015	3	江门市新会区天马村
L4	2014	4	江门市新会区天马村
L5	2013	5	江门市新会区天马村
Y1	2017	1	江门市新会区天马村
Y2	2016	2	江门市新会区天马村
Y3	2015	3	江门市新会区天马村
Y4	2014	4	江门市新会区天马村
Y5	2013	5	江门市新会区天马村
X1	2017	1	江门市新会区天马村
X2	2016	2	江门市新会区天马村
X3	2015	3	江门市新会区天马村
X4	2014	4	江门市新会区天马村
X5	2013	5	江门市新会区天马村
S1	2017	1	江门市新会区双水镇
S2	2016	2	江门市新会区双水镇
S3	2015	3	江门市新会区双水镇
S4	2014	4	江门市新会区双水镇
S5	2013	5	江门市新会区双水镇
N1	2017	1	江门市新会区崖南镇
N2	2016	2	江门市新会区崖南镇
N3	2015	3	江门市新会区崖南镇
N4	2014	4	江门市新会区崖南镇
N5	2013	5	江门市新会区崖南镇
G1	2017	1	广西
C1	2017	1	四川雅安
Z1	2017	1	浙江

主要试剂: 无水硫酸钠、甲醇; 主要仪器: 电热套、GC-MS、超纯水系统、梅特勒-托利多天平、超低温冰箱。

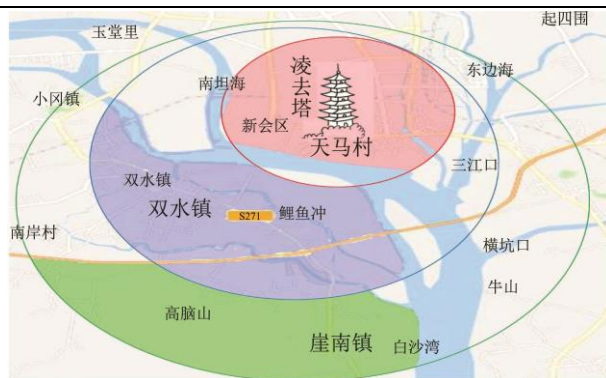


图1 新会地区广陈皮种植分区图

Fig.1 Map of Xinhui district

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 样品制备与精油提取

将陈皮样品剪成长条状(约 0.5 cm×4 cm)。称取剪碎的陈皮 30 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 600 mL 蒸馏水, 放入加热套中, 按水蒸气蒸馏法安装蒸馏装置提取精油, 在爆沸后持续微沸 3 h, 至精油量不再增加, 收集精油, 加入无水硫酸钠, 4 °C 冷冻过夜干燥, 隔天收集精油, 过筛置于 -80 °C 保存待测。

### 1.2.2 精油 GC-MS 分析

所有精油样品在安捷伦 6890 GC-Pegasus III TOF MS (LC 科学, 休斯顿, 美国德克萨斯州) 上分析。采用高纯氮气作为载体气体。选用 Hp-5 气相毛细管柱 (30 m×0.32 mm×0.5 μm)。注射体积 0.5 μL, 流速 1.0 mL/min, 分流比 1:20。入口温度保持在 250 °C。起始炉温 50 °C, 先以 1 °C/min 上升至 70 °C, 接着 5 °C/min 上升至 190 °C, 最后 10 °C/min 上升至 250 °C, 出口温度为 320 °C。质谱分析扫描范围为 30~550 u, 质谱源温度 250 °C, EI 电离源, 电离能为 70 eV。采用色度 ToF 和 NIST 05 光谱库, 借助 BinBase 数据库对精油成分进行定性分析。

### 1.2.3 数据统计分析

本文采用 Origin 2018, Excle 等软件对 GC-MS 数据进行处理, 采用 SIMCA 14.1 对数据进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA), 实验重复数均为 3 次, n=3, p≥1, 无明显差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 精油含量与成分鉴定

本研究选择了来自新会一区不同厂家即不同果园的 L 组 Y 组 X 组、新会二区的 S 组和新会三区的 N

组陈化一到五年的 25 种广陈皮与来自广西 G、浙江 Z、四川 C 的 3 种其他地区陈皮进行精油提取和气相色谱-质谱 (GC-MS) 鉴定分析。从 28 个样品中提取精油, 30g 广陈皮样 (L,Y,X,S,N) 可以提取到 0.20 mL±0.05 mL 的精油, 30 g 广西陈皮 (G) 可以提取到 0.12 mL 精油, 40 g 川陈皮 (C) 可以提取到约 0.20 mL 的精油, 但是浙陈皮 (Z) 提取的精油量极少, 无法达到足够收集的程度。故而, 相对于本研究所用的其他地区陈皮, 广陈皮在精油总含量上占优势 ( $p<0.05$ )。将提取的精油用甲醇稀释后进行 GC-MS 鉴定分析。预实验发现, 增加稀释倍数可以测得丰度最大组分的含量, 同时牺牲部分丰度较低的组分, 为了保证峰面积的可信度和测得尽可能丰富的精油种类, 选用精油稀释 5 倍进行分析鉴定。GC-MS 结果进一步通过 BinBase 数据库鉴定出 111 种精油结构, 其中广陈皮 102 种, 广西陈皮 G 样品 35 种, 四川陈皮 C 样品 20 种, 参照已有关于陈皮精油的文章数据<sup>[14,15,18,19]</sup>, 揭示其中有 48 种组分是第一次在广陈皮中被分析鉴定到, 比如 3-甲基-4-异丙苯酚 (3-Methyl-4-isopropylphenol)、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛 (2,6,9,11-Dodecatetraenal, 2,6,10-trimethyl-, (E,E,E)-), 相比而言, 广陈皮样品的精油组分种类远比其他地区陈皮丰富。相比于易伦朝等从大红袍中鉴定出的 82 种精油成分<sup>[17]</sup>, 本文中鉴定出的广陈皮精油成分种类更多。综上所述, 相对于其他地区陈皮, 广陈皮的精油含量更高, 组分种类更丰富。

## 2.2 广陈皮和其他地区陈皮的精油组分异同点

### 2.2.1 广陈皮与其他地区陈皮精油组分差异分析

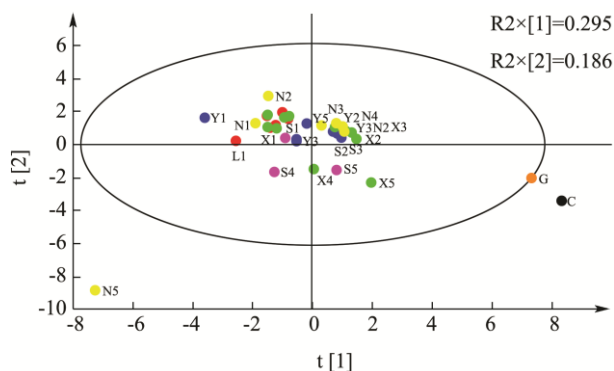


图2 陈皮精油 PCA 得分图

Fig.2 PCA score plots of essential oil components of PCR

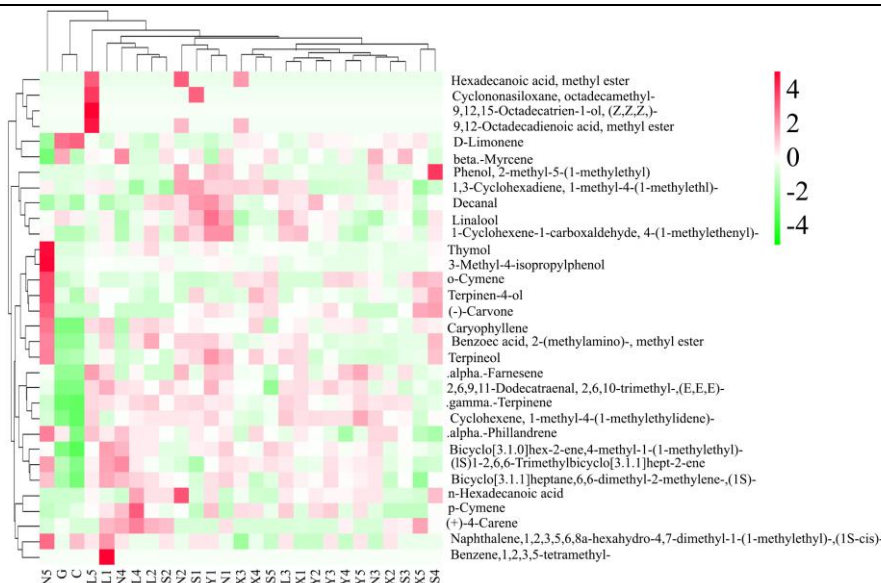


图3 不同产地陈皮的精油成分比较

Fig.3 Comparisons of the essential oil from PCR of the different origins

为了直观反映广陈皮和其他地区陈皮之间的异同，利用主成分分析（PCA）对所有样品精油化合物的相对含量进行分析，为图片易于分辨，重复样品以平均值代表。如图 2 所示，绝大部分广陈皮样品聚类在一起，而样品 G 和样品 C 明显被排除在外，充分显示了广陈皮和其他地区陈皮在精油组分上的明显差异。25 个广陈皮样品中唯一例外的是三区广陈皮 N5，新会地区茶枝柑种植区按当地种植经验依据距离凌云塔远近被划分成三个区域，传统上距离凌云塔较远的区域品质逊于距离较近的区域，N5 样品游离于广陈皮样品聚类之外，同时区别于样品 G 和 C，可能与此相关，有待进一步验证。

对于广陈皮和其他地区陈皮在精油成分上具体的组分差异，热图（heatmap）给了一个更直观的展示（图 3）。对精油组分相对含量占比超过 97% 的 32 种化合物进行热图分析，D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、2-（甲氨基）苯甲酸甲酯、 $\alpha$ -合金欢烯、松油醇和石竹烯在广陈皮和其他地区陈皮之间存在明显差异，广陈皮的 D-柠檬烯表观相对含量比其他地区陈皮低， $\gamma$ -松油烯和松油醇表观相对含量比其他地区陈皮高，2-（甲氨基）苯甲酸甲酯、 $\alpha$ -合金欢烯和石竹烯只存在广陈皮中。此外，样品 G 和样品 C 聚成一类，广陈皮聚成一个大类，而三区广陈皮 N5 自成一类。进一步展示了广陈皮和其他地区陈皮在精油成分相对含量上存在差异。

### 2.2.2 精油主要成分分析

分析广陈皮精油组分发现，丰度排名前六的化合物分别是：D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、2-（甲氨基）苯甲酸甲酯、2,6,6-三甲基双环庚 2 烯、6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷和  $\beta$ -月桂烯，它们总占比达到 90% 以上

（表 2）。丰度排名前六的化合物中，D-柠檬烯在广陈皮和其他地区陈皮精油中相对含量均是最高的，广陈皮中相对含量为 58.81%~73.42%，而其他地区陈皮样品 G 和样品 C 的 D-柠檬烯相对含量分别高达 87.56% 和 89.54%。但是，计算单位质量样品的精油含量，广陈皮所含 D-柠檬烯含量为  $3.92 \times 10^{-3}$  mL/g~  $4.89 \times 10^{-3}$  mL/g，样本 G 所含 D-柠檬烯含量为  $3.50 \times 10^{-3}$  mL/g，样本 C 所含 D-柠檬烯含量为  $4.48 \times 10^{-3}$  mL/g，相同质量的广陈皮所含 D-柠檬烯含量高于样品 G，而与样品 C 相当。此外，所有广陈皮样品中均检测到较高丰度的 2-（甲氨基）苯甲酸甲酯（1.8%~8.36%），而在 G、C 两个样品中均未检测到。这与欧小群等<sup>[20]</sup>报道 2-（甲氨基）苯甲酸甲酯仅出现在广陈皮中一致，而且还发现了该篇报道中未检测到的 2,6,6-三甲基双环庚 2 烯（0.76%~2.66%）、6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷（0.70%~2.27%）等化合物。

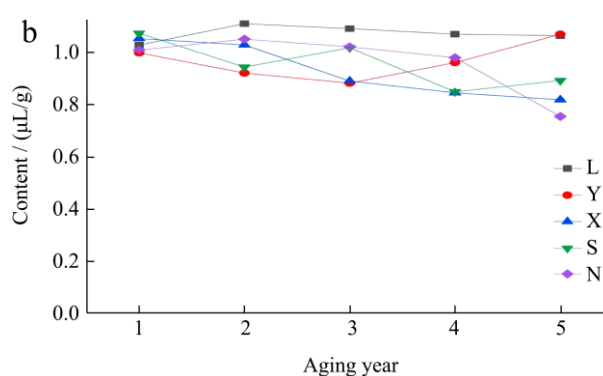
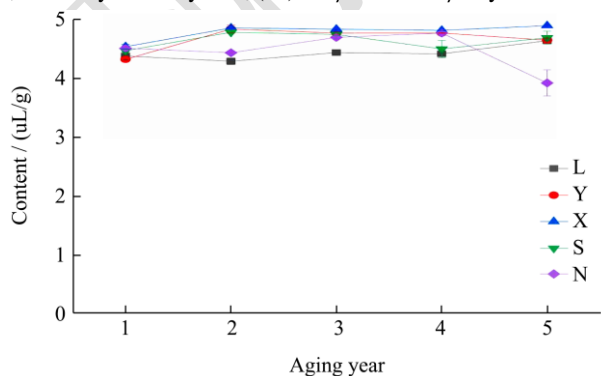
分析丰度排名前六的化合物在不同产区不同陈化年份的广陈皮中的含量变化，结果如图 4 所示。D-柠檬烯是各种柑橘类精油化合物含量最高的化合物<sup>[21]</sup>，在广陈皮陈化 5 年过程中其含量变化不大（图 4a）。 $\gamma$ -松油烯在广陈皮 L 组和 Y 组样品中，含量随着陈化年份增加总体含量增加，但是在 X 组、S 组和 N 组样品中，总体含量降低（图 4b），但占比相差不大。广陈皮特有成分 2-（甲氨基）苯甲酸甲酯在陈化的第一年相对含量较高，但在之后的二到五年陈化期间含量逐渐降低（图 4c）。2,6,6-三甲基双环庚 2 烯、6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷和  $\beta$ -月桂烯在测定的五个陈化年份里含量基本稳定，没有明显的变化规律（图 4def）。

表 2 精油主要成分种类及其相对含量 (%)

Table 2 Main components and relative contents of essential oil (%)

成分	D-柠檬烯	$\gamma$ -松油烯	2-(甲氨基)苯甲酸甲酯	2,6,6-三甲基双环庚2烯	6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷	$\beta$ -月桂烯
L1	65.69±1.01	15.44±0.02	5.52±0.02	2.62±0.01	2.27±0.00	1.52±0.01
L2	64.34±0.87	16.66±0.03	7.08±0.01	1.75±0.00	1.76±0.00	1.44±0.00
L3	66.55±0.31	16.37±0.06	4.44±0.03	1.98±0.00	1.82±0.00	1.49±0.00
L4	66.24±0.03	16.06±0.03	4.68±0.02	2.00±0.00	1.90±0.00	1.45±0.01
L5	69.59±0.12	15.97±0.1	3.12±0.02	1.94±0.00	1.63±0.00	1.54±0.00
Y1	64.83±0.3	14.99±0.03	5.67±0.04	1.83±0.01	1.73±0.00	1.36±0.01
Y2	72.53±1.02	13.83±0.04	3.66±0.03	1.67±0.00	1.52±0.00	1.52±0.01
Y3	71.52±0.29	13.25±0.02	2.74±0.01	2.11±0.01	1.80±0.01	1.46±0.01
Y4	71.53±0.07	14.42±0.06	2.98±0.02	1.92±0.01	1.53±0.01	1.55±0.01
Y5	69.71±0.45	16.05±0.08	2.82±0.03	2.00±0.01	1.62±0.01	1.46±0.00
X1	68.06±0.56	15.81±0.01	5.10±0.04	1.64±0.00	1.60±0.01	1.45±0.01
X2	72.83±0.12	15.44±0.02	2.70±0.02	1.57±0.01	1.44±0.01	1.54±0.01
X3	72.51±0.29	13.37±0.00	2.57±0.01	2.04±0.00	1.61±0.00	1.50±0.06
X4	72.23±0.15	12.69±0.01	3.15±0.01	1.94±0.01	1.43±0.01	1.53±0.01
X5	73.42±0.15	12.29±0.06	2.96±0.03	2.11±0.01	1.53±0.00	1.51±0.06
S1	67.04±0.36	16.11±0.10	5.54±0.05	1.67±0.01	1.66±0.01	1.57±0.01
S2	71.7±0.05	14.17±0.03	3.71±0.02	1.61±0.01	1.55±0.00	1.59±0.00
S3	71.19±0.28	15.27±0.04	3.03±0.06	1.75±0.00	1.47±0.01	1.68±0.01
S4	67.48±2.17	12.74±0.06	6.46±0.01	1.47±0.01	1.45±0.00	1.43±0.01
S5	70.36±1.66	13.39±0.01	4.11±0.03	2.07±0.02	1.79±0.01	1.6±0.01
N1	67.65±0.37	15.15±0.01	4.42±0.03	2.11±0.02	1.88±0.02	1.61±0.02
N2	66.51±0.32	15.77±0.03	5.52±0.03	1.51±0.00	1.44±0.00	1.51±0.00
N3	70.45±0.14	15.33±0.06	3.09±0.01	2.06±0.01	1.70±0.01	1.69±0.00
N4	71.54±0.25	14.71±0.01	1.80±0.04	2.84±0.00	2.09±0.02	1.78±0.01
N5	58.81±3.34	11.33±0.00	8.36±0.04	2.66±0.01	2.03±0.02	1.21±0.01
G1	87.56±0.18	6.16±0.03	0.00±0.00	1.21±0.01	0.70±0.01	1.71±0.01
C1	89.54±0.02	5.58±0.02	0.00±0.00	0.76±0.01	0.18±0.32	1.37±0.02

注: D-柠檬烯 (D-Limonene);  $\gamma$ -松油烯 ( $\gamma$ -Terpinene); 2-(甲氨基)苯甲酸甲酯 (Benzoic acid, 2-(methylamino)-,methyl ester); 2,6,6-三甲基双环庚2烯 ((1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene); 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷 (Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-);  $\beta$ -月桂烯 ( $\beta$ -Myrcene)。





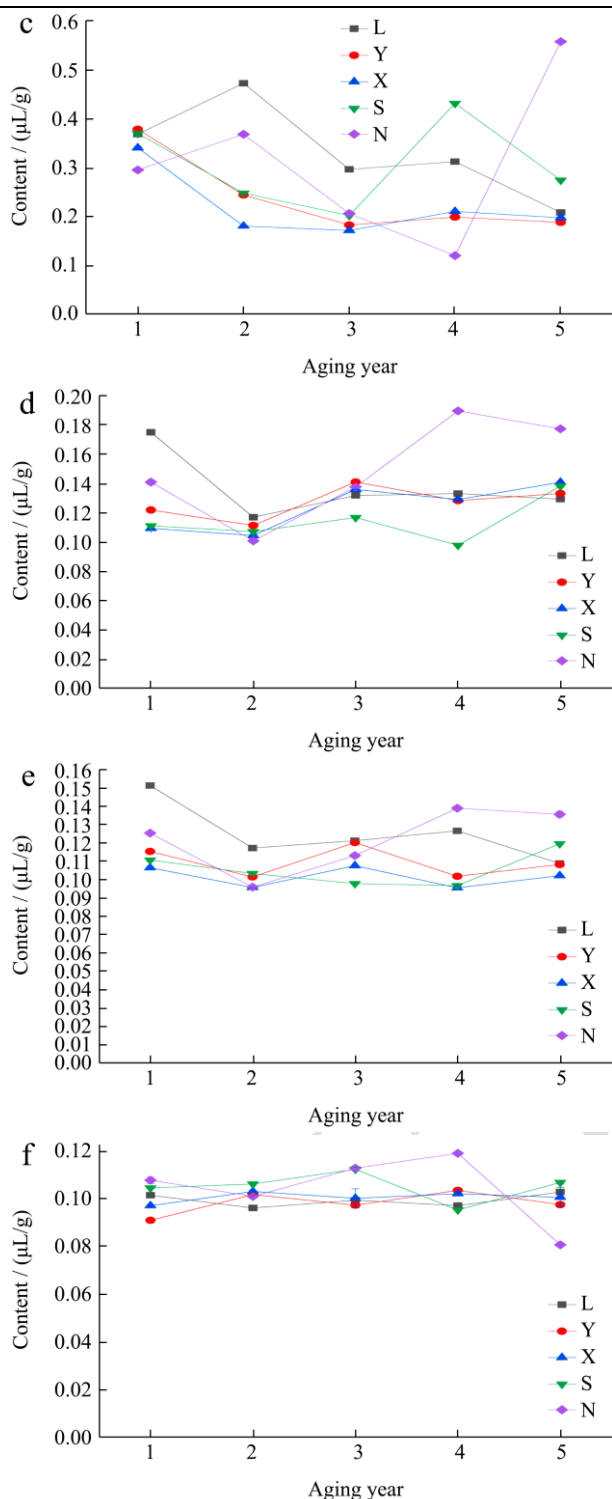


图4 广陈皮陈化近五年的精油主要成分含量变化规律

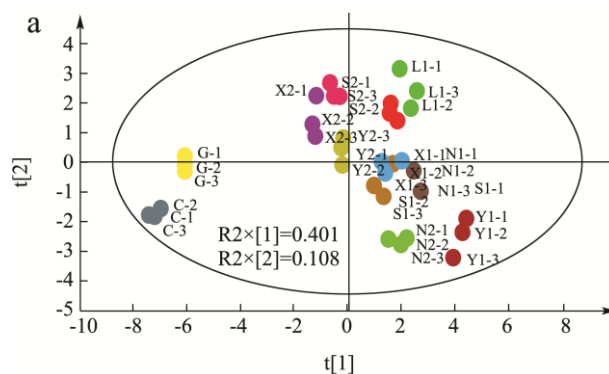
Fig.4 Changes in the essential oil e contents of main components from PCR-C in five aging years

注: a: D-柠檬烯; b:  $\gamma$ -松油烯; c: 2-(甲氨基)苯甲酸甲酯; d: 2,6,6-三甲基双环庚-2-烯; e: 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷; f:  $\beta$ -月桂烯。

### 2.3 其他地区陈皮与广陈皮陈化两年精油组分

由于 G、C 两个其他地区陈皮样品陈化年份为一

年左右,为增强可比性,将 G、C 两样品和广陈皮在陈化一年和两年的基础上进行对比。偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)结果表明,G、C 两个样品和广陈皮样品明显分开(图 5a),G 和 C 两个样品之间也有差异,很好的展现了地域差异。图 5b 呈现了各精油组分对广陈皮和其他地区陈皮差异的变量重要性值(Variable Importance for the Projection/VIP)。在 PLS-DA 分析中 VIP 值越大,其对表现差异的贡献越大。采用 VIP>1 作为筛选标志物的参数,除了之前热图中表征差异的化合物外,还发现香芹酮((-) -Carvone 0.03%~0.23%)、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛(2,6,9,11-Dodecatetraenal,2,6,10-trimethyl-,(E,E,E)-, 0.03%~0.80%)、紫苏醛(1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde,4-(1-methylethenyl)-, 0.04%~0.34%)、4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯(Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene,4-methyl-1-(1-methylethyl)-, 0.51%~0.84%)和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷(Bicyclo[3.1.1]heptane,6,6-dimethyl-2-methylene-,(1S)-, 1.42%~2.28%)在陈化一年和两年广陈皮和其他地区陈皮精油的差异上也发挥着重要作用。样品 G 和样品 C 不含有香芹酮、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛和紫苏醛,而且 4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷相对含量较低,样品 G 的 4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷相对含量分别为 0.26%和 0.70%,样品 C 的 4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷相对含量分别为 0.15%和 0.55%,它们在前人的研究上未被发现对广陈皮与其他地区陈皮的差异有贡献。目前已有的广陈皮精油研究报道由于提取方法所限或所用 GC-MS 分辨率较低等原因,大都集中在研究分析含量丰度较高的精油组分,但是,我们的研究发现了众多的广陈皮精油特有低丰度组分,它们在广陈皮生物活性上的贡献值得进一步深入挖掘。



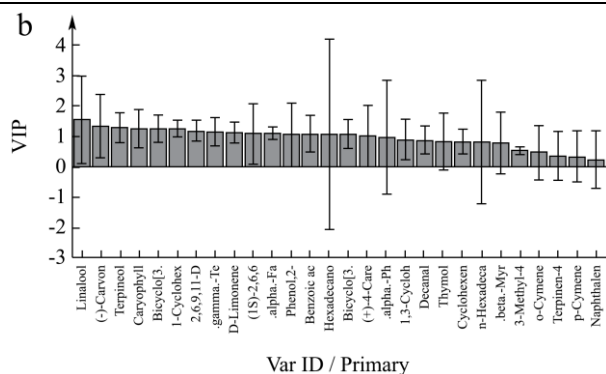


图5 利用 PLS-DA 筛选不同地区陈化一年和两年的陈皮精油标志差异成分

Fig.5 PLS-DA was used to screen the constituents of essential oil from first and two aging years PCR in different regions

注：a 为陈化一年和两年的陈皮样品得分图，表明样品间的差异情况；b 为陈化一年和陈化两年的陈皮样品 VIP 图，反应精油成分对不同地区陈皮差异的贡献值。

### 2.4 广陈皮陈化年份与精油组分关系分析

广陈皮素有“陈久者良”的说法，故而我们进一步对产自新会一区的广陈皮样品分别进行偏最小二乘法分析。结果发现来自不同的一区厂家，在地理位置上略有差异的三组样品，均呈现类似的特征：绝大多数陈化二到五年的样品趋于同一个聚类，而区别于陈化一年的样品（图 6），各组广陈皮样品精油组分对陈化一年和二到五年的之间差异贡献较大的物质有香芹酮（VIP>1）和紫苏醛（VIP>0.85），随着陈化年份的增加，香芹酮和紫苏醛含量不断减少，由此推测陈化的第一年到第二年间对广陈皮的特殊风味物质的形成影响很大，提示这段时间是后续研究陈化机理的关键时期。

### 3 结论

本文提取了广陈皮和不同地区陈皮的精油，同等质量广陈皮提取的精油含量高于其它地区陈皮 ( $p < 0.05$ )，并从精油中共鉴定出 111 种成分，其中 D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、2-(甲氨基)苯甲酸甲酯、2,6,6-三甲基双环庚 2 烯、6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷和  $\beta$ -月桂烯是广陈皮的主要成分，总占比达到 90% 以上。首先比较了广陈皮和其他地区陈皮在精油组分上的不同，发现在陈化的一到五年里，广陈皮与其它地区陈皮组分存在明显差异，主要表现在 D-柠檬烯、 $\gamma$ -松油烯、2-(甲氨基)苯甲酸甲酯、 $\alpha$ -合欢烯、松油醇和石竹烯等成分上；接着比较了陈化两年的广陈皮和其他地区陈皮在精油组分上的差异，进一步发现对广陈皮与其它地区陈皮的差异来源贡献较大的化合物还

有香芹酮、(E,E,E)-2,6,10-三甲基-2,6,9,11-十二烷四烯-1-醛、紫苏醛、4-甲基-1-甲基乙基-双环-己 2 烯和 6,6-二甲基-2-亚甲基-双环庚烷；最后对陈化一到五年的优质广陈皮精油进行分析，结果显示陈化一年的广陈皮与陈化两到五年的广陈皮精油组分存在明显不同，提示陈化的最初两年是研究陈皮陈化机理的重要时期。

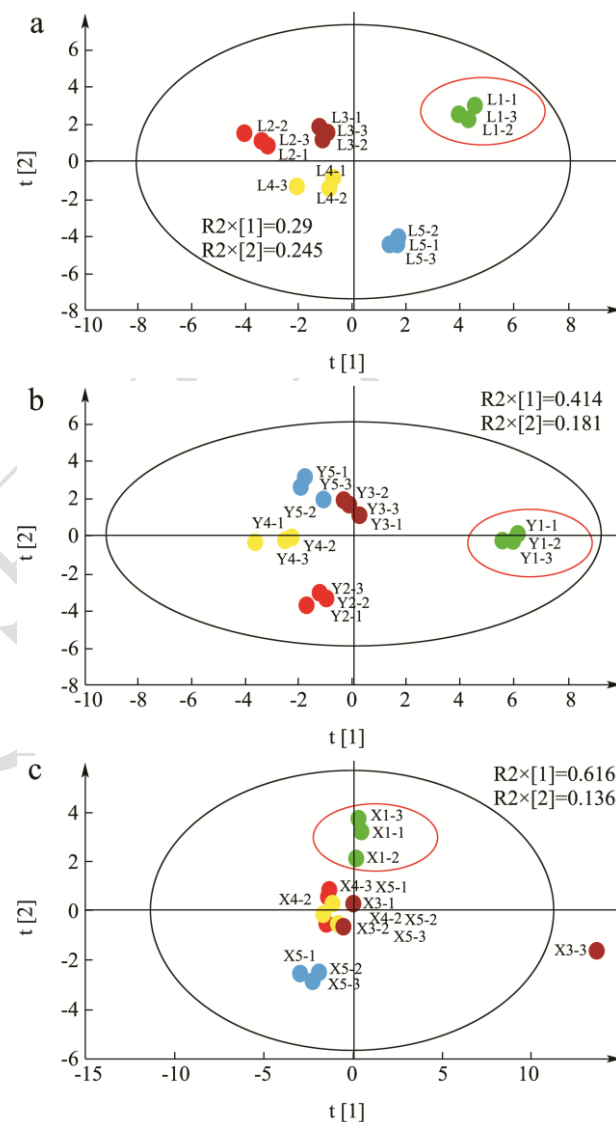


图6 不同陈化年份、不同厂家新会一区广陈皮样品得分图

Fig.6 Score plots of high-quality PCR-C from different aging years and different factories

注：以上一区广陈皮分属于三个厂家 L (a)、Y (b)、X (c)。

### 参考文献

[1] Gao B, Chen Y, Zhang M, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of pericarpium citri reticulatae essential oil [J]. Molecules, 2011, 16(5): 4082-4096

- [2] Ho S, Lin C. Investigation of heat treating conditions for enhancing the anti-inflammatory activity of citrus fruit (Citrus reticulata) peels [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(17): 7976-7982
- [3] Lin N, Sato T, Takayama Y, et al. Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages [J]. Biochemical Pharmacology, 2003, 65(12): 2065-2071
- [4] Li S, Sang S, Pan M, et al. Anti-inflammatory property of the urinary metabolites of nobiletin in mouse [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17(18): 5177-5181
- [5] Walle T. Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass [J]. Seminars in Cancer Biology, 2007, 17(5): 354-362
- [6] Dimpfel W. Different anticonvulsive effects of hesperidin and its aglycone hesperetin on electrical activity in the rat hippocampus *in-vitro* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 58(3): 375-379
- [7] Mitsuo Miyazawa, Y O. Antimutagenic activity of polymethoxy flavonoids from citrus aurantium [J]. J Agric Food Chem, 1999,47: 5239-5244
- [8] Ho S, Kuo C. Hesperidin, nobiletin, and tangeretin are collectively responsible for the anti-neuroinflammatory capacity of tangerine peel (Citri reticulatae pericarpium) [J]. Food and Chemical Toxicology, 2014, 71: 176-182
- [9] Xu J, Wu X, Li M, et al. Antiviral activity of polymethoxylated flavones from "Guangchenpi", the edible and medicinal pericarps of citrus reticulata 'Chachii' [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(10): 2182-2189
- [10] Tripoli E, La Guardia M, Giammanco S, et al. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review [J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 466-479
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-第一部[M]. 2015, 中国医药科技出版社  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Volume I [M]. 2015, China Medical Science Press
- [12] Wang H, Chen G, Fu X, et al. Effects of aging on the phytochemical profile and antioxidative activity of Pericarpium Citri Reticulatae 'Chachiensis' [J]. RSC Advances, 2016, 6(107): 105272-105281
- [13] Wang H, Chen G, Guo X, et al. Influence of the stage of ripeness on the phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities in different parts of Citrus reticulata Blanco cv. Chachiensis [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 69: 67-75
- [14] Zheng Y, Zeng X, Peng W, et al. Study on the discrimination between citri reticulatae pericarpium varieties based on HS-SPME-GC-MS combined with multivariate statistical analyses [J]. Molecules, 2018, 23: 12355
- [15] Luo M, Luo H, Hu P, et al. Evaluation of chemical components in Citri Reticulatae Pericarpium of different cultivars collected from different regions by GC-MS and HPLC [J]. Food Science & Nutrition, 2018, 6(2): 400-416
- [16] Duan L, Guo L, Dou L, et al. Discrimination of Citrus reticulata Blanco and Citrus reticulata 'Chachi' by gas chromatograph-mass spectrometry based metabolomics approach [J]. Food Chemistry, 2016, 212: 123-127
- [17] Yi L, Dong N, Liu S, et al. Chemical features of pericarpium citri reticulatae and pericarpium citri reticulatae viride revealed by GC-MS metabolomics analysis [J]. Food Chemistry, 2015, 186: 192-199
- [18] 陈彤,曹庸,刘飞,等.GC-MS 指纹图谱结合主成分分析法评价不同产地陈皮挥发油的质量[J]. 现代食品科技, 2017,33(2):217-222  
CHEN Tong, CAO Yong, LIU Fei, et al. Quality evaluation of tangerine peel volatile oils from different origins by GC-MS fingerprint and PCA [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(2): 217-222
- [19] 丘芷柔,陈彤,贺丽苹,等.固相微萃取优化/GC-MS 法分析不同年份陈皮的挥发性成分[J]. 现代食品科技, 2017,33. (7):238-244  
QIU Zhi-rou, CHEN Tong, HE Li-ping, et al. Analysis of the volatile compounds in dried tangerine peel of different years by optimized solid phase micro-extraction/gas chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(7): 238-244
- [20] 欧小群,王瑾,李鹏.广陈皮及其近缘品种挥发油成分的比较[J]. 中成药, 2015,37(2):364-370  
OU Xiao-qun, WANG Jin, LI Peng. Comparison among volatile oil compositions from tangerine peels and their kindreds [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2015, 37(2): 364-370
- [21] 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