

# 柑橘屬果皮揮發性香氣化合物分析之研究

詹于誼

南臺科技大學 生物與食品科技系

yuyichan@stust.edu.tw

## 摘要

柑橘屬植物為一被廣泛應用於天然芳香與藥用保健植物，本研究以溶劑萃取方法結合氣相層析質譜儀 (gas chromatograph – mass spectrometer, GC/MS)分析紅柚、白柚及文旦果皮中揮發性成分之組成，由實驗結果顯示紅柚、白柚及文旦果皮中揮發性成分皆含有高含量之 limonene，其中又以紅柚果皮中含量最高。而 limonene 除了具有殺菌作用，對許多類型的癌症則具有良好的預防活性，更對病媒蚊具有抑制作用，因此，柚類果皮的揮發性物質之應用是值得我們去探討，以提高柚類的附加價值。

**關鍵詞：**芸香科、柚、揮發性化合物、氣相層析質譜

## Analyses of Flavor Volatile Compounds from the Peel of *Citrus* Genus

Yu–Yi Chan

Department of Biotechnology and Food Technology, Southern Taiwan University of Science and Technology

### Abstract

*Citrus* is a health plant widely used in natural aromas and medicinal applications. In this study, solvent extraction method is used along with gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS) to analyze the composition of volatile components in the peels of *Citrus* genus (Red Pomelo, White Pomelo and Wendan Pomelo). The experimental results show that the volatile components in Red Pomelo, White Pomelo and Wendan Pomelo peel contain high content of limonene. Among them, the limonene content of Red Pomelo peel is the highest. In addition to its bactericidal action, limonene shows well–established preventive activities against many types of cancers. It also has an inhibitory effect on vector mosquitoes. The application of volatile substances in pomelo peels is worth investigating as it can increase the added value of pomelo.

**Keywords:** Rutaceae, *Citrus Grandis*, Volatile Compounds, Gas Chromatograph–Mass Spectrometer

## 壹、前言

人類從何時開始利用植物的香氣化合物已無資料可查，但從中國的本草綱目、印度梵文藥典、舊約聖經及古埃及文獻中都可見其被廣泛應用於醫療及美容的記載，證明人類使用香氣化合物至少有數千年的歷史[1]。而本世紀又見人們重新燃起對自然療法的興趣，毫無疑問是起因於長期服用藥物後，開始顯現出來的不良副作用，讓人們重新思考老祖宗們的自然療法。因此，許多學者開始針對自然療法的醫療特性進行研究，其中芳香療法更是近幾年來，在國內外相當被推廣的一種自然療法，植物的香氣化合物被大量應用於芳香療法中，其功效及用途不斷的被研究及創新，更是大大提高其利用價值。

柑橘屬植物自古即與人類的生活有著密切的關係，除其果實可食用外，果皮、葉及根也可當香料或藥用。對於柑橘屬植物成分之研究，自 1907 年開始，即有相當多的報告 [2–16]。柑橘屬植物的揮發性化合物在芳香療法的應用上是相當的廣泛，如甜橙、桔、葡萄柚、萊姆及檸檬，是一般人接受度最高的芳香植物，常用於健胃、驅風、祛痰、鎮咳、消化不良及便秘等之治療。而柑橘屬植物的精油 (essential oil) 之成分一般由萜類 (terpenoids) 組成，其中以單萜 (monoterpene, 由 10 個碳組成) 和倍半萜 (sesquiterpene, 由 15 個碳組成) 為主，如檸檬烯(limonene, 如圖 1)及 sabinene 等 [17, 18]。

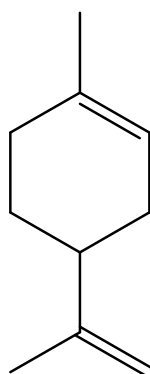


圖 1 Limonene 之化學結構式

柚(*Citrus grandis* [L.] Osbeck)為芸香科柑橘屬作物，原產馬來亞及東印度群島等地，早期並由此擴展至中國南方和印度，而成為亞洲東部熱帶及亞熱帶各地之特產；柚子主要產區在中國、泰國、越南、馬來西亞、印尼、台灣及日本等地，歐美則栽培較少。臺灣柚子的栽培甚早且品種頗多，其主要是由中國華南、東南亞及其他地區引入，另有一些是台灣自生栽培的品種 [19]。由於臺灣柚子的栽培甚早且品種頗多，其果皮具有油囊，油囊內則含有特殊的香味物質，因此可以將其萃取出來作為精油之用，一方面可以消化品質不佳的柚類，另一方面還能達到垃圾減量資源回收再利用之目的，以提高柚類之附加價值，而且柚子的香氣化合物及其加工產品極具商業潛力，因此非常值得進一步探討其香氣化合物的成分。而以往文獻顯示，不同的柚類品種、不同的萃取方式及不同的產區，都會影響柚類香氣物質的萃取率，亦會令其組成含量皆有差異 [20–23]。

本論文則是以麻豆地區栽種之紅柚、白柚及文旦作為研究材料，以相同的萃取方式，探討其香氣物質的萃取率，並進一步進行果皮香氣化合物之成分分析，了解其香氣化合物的成分差異。期望能提供在地農業廢棄物開發利用的參考。

## 貳、材料與方法

### 一、樣品製備

購買產地來自台南麻豆的紅柚、白柚及文旦，挖除果肉將果皮洗滌乾淨後，自然風乾一天(去除果皮表面水分)，將果皮截切成適當大小後，分別各取 200g 加入適量的去離子水以果汁機攪碎後，加入 1L 正己烷靜置一天後過濾，重複以正己烷進行 3 次萃取，合併萃取液並經減壓濃縮後，分別取得紅柚、白柚

及文旦的香氣萃取物 2.03 g、2.15 g 及 1.79 g，萃取率分別為 1.02%、1.08% 及 0.90%，取得之樣品則進一步進行氣相層析質譜分析儀，加以鑑定其所含之成分。

## 二、揮發性成分之分析與鑑定

使用 SHIMADZU 公司之 QP2010 氣相層析-質譜儀，分離管柱為 DB-5(長度 30 m，膜厚為 0.25  $\mu\text{m}$ ，內徑長為 0.25 mm)，注射方式為 split，升溫條件為初溫 45 $^{\circ}\text{C}$ ，以每分鐘 5 $^{\circ}\text{C}$  升溫至 270 $^{\circ}\text{C}$ ，維持 15 分鐘。注入口及離子源的溫度皆為 250 $^{\circ}\text{C}$ ，離子化電壓為 70 eV。使用氦氣作為遞送氣體，流速為每分鐘 0.82 ml。化學成分的鑑定則是利用所得之質譜數據，參考由氣相層析-質譜儀系統提供的 FFNSC1.2、NIST05 和 NIST05s 之質譜資料庫，加以比對判定。

## 參、結果與討論

本研究紅柚果皮萃取物經由 GC-MS 分離出 40 種化合物(圖 2)，總共鑑定、比對出 22 種化合物(表一)，其中以萜類碳氫化合物的 limonene 所佔之比例最高，含量為 58.07% (果皮中的含量比 0.592%)，其次是萜類碳氫化合物 myrcene(6.62%)和單萜類含氧化合物 nerol(5.36%)；至於白柚果皮萃取物經 GC-MS 分析鑑定後僅有 25 種化合物被分離出來(圖 3)，其中 20 種化合物經鑑定、比對後確定之(表 1)，其中同樣以萜類碳氫化合物的 limonene 所佔之比例最高，但含量較紅柚少，僅為 27.91% (果皮中的含量比 0.301%)，其次是單萜類含氧化合物 geraniol 及 nerol，其含量分別為 15.36% 及 13.73%；而文旦果皮萃取物經由 GC-MS 分離出 42 種化合物(圖 4)，其中 25 種化合物經與質譜儀資料庫鑑定、比對後整理於表 1，其中同樣以萜類碳氫化合物的 limonene 所佔之比例最高，其含量僅為 23.56% (果皮中的含量比 0.212%)，是三種柚類萃取物中含量最少的，其次是香豆素 osthole(5.50%)及萜類碳氫化合物 myrcene(5.27%)。而其他成分經比對後，因匹配度(library match)過低，因此未列入表 1 中。

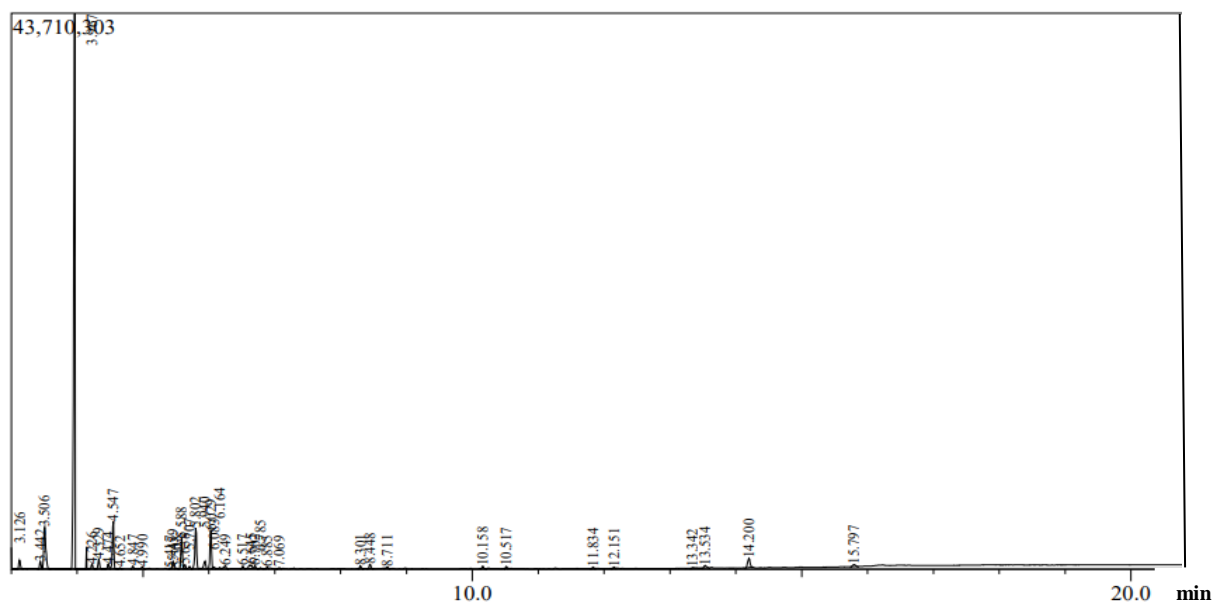


圖 2 紅柚果皮精油之氣相層析質譜分析圖

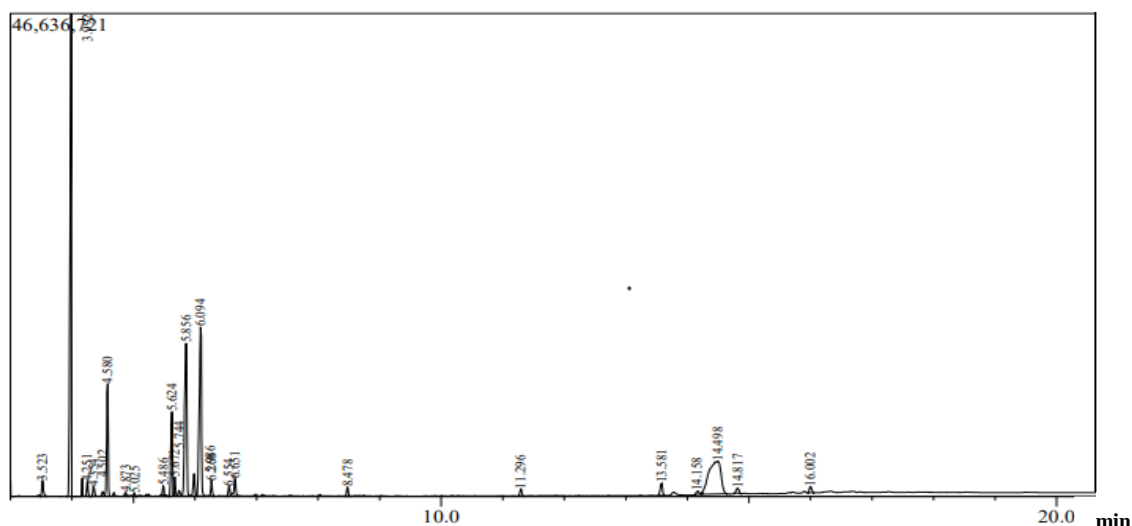


圖 3 白柚果皮精油之氣相層析質譜分析圖

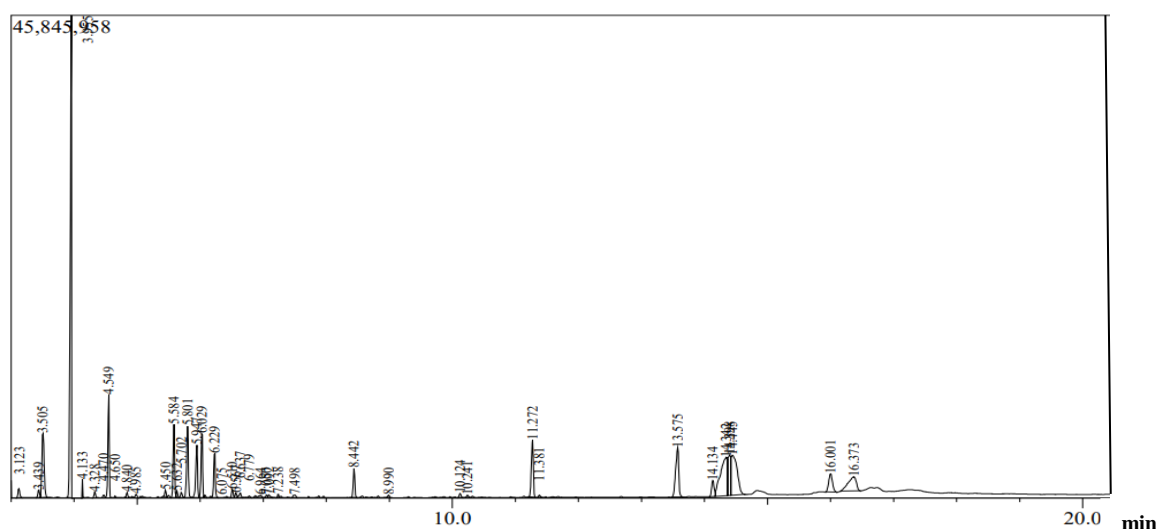


圖 4 文旦果皮精油之氣相層析質譜分析圖

綜觀紅柚、白柚及文旦的揮發性化合物成分分析結果顯示，三者都以 *limonene* 為主要組成，而以紅柚中的含量最高，白柚次之，而在文旦果皮中則含量最少。*Limonene* 是一種單環單萜烯，具有類似檸檬的氣味，是柑橘屬植物的主要芳香性成分，廣泛用於香料和香料添加劑，在聯邦法規彙編(Code of Federal Regulations)中，通常認為是一種安全的調味品[24]。而臨床試驗中發現 *limonene* 具有溶解含膽固醇的膽結石(cholesterol-containing gallstones)，對許多類型的癌症則具有良好的化學預防活性[25]。另外，亦有文獻證實 *limonene* 具有殺菌的能力，在發酵液中其濃度超過 1% 以上就具有抑制微生物生長的作用[26]。而 *limonene* 也具有抑制病媒蚊的作用，文獻證實 *limonene* 對埃及斑蚊及白線斑蚊具有抑制作用，其  $LC_{50}$  分別為 18.1  $\mu\text{g/mL}$  及 32.7  $\mu\text{g/mL}$ [27]。

由此次分析結果與已發表之文獻進行比較，不同的柚類品種、不同的萃取方式及不同的產區會有不同的萃取率，且由 GC/MS 所分析出的組成含量也會有所差異，造成這樣的差異，原因其實相當複雜，而所有文獻都有一個相同的結論是其主成分皆為 *limonene*，但其含量差異大，其原因除了和產地及品種有關之外，處理的程序也是一個重要因素。曾有文獻指出柑橘皮自體酵素會將 *limonene* 轉換成含氧之萜烯類成分(例如:  $\alpha$ -Terpineol, Linalool, Linalool oxide 等)，以降低精油中碳氫萜烯類含量，相對提高含氧萜烯類之含量，而此轉換會在將柑橘皮打碎後，放置於室溫萃取時繼續進行[28]。這也可以說明本次實驗 *limonene* 含量較其他文獻低，但含氧萜烯類之成分較高的原因。然而，含氧萜烯類之成分為柚類的主要香氣成分，所以若是要開發香氣產品，此轉換則會提高其產品香氣成分的含量。

表 1 紅柚、白柚及文旦果皮之精油成分

可能的化合物	紅柚		白柚		文旦	
	Relative area(%)	果皮中的含量(%)	Relative area(%)	果皮中的含量(%)	Relative area(%)	果皮中的含量(%)
$\alpha$ -Pinene (1)	1.02	0.010	-	-	0.57	0.005
Sabinene (2)	0.91	0.009	-	-	0.50	0.005
Myrcene (3)	6.62	0.068	1.01	0.011	5.27	0.047
Limonene (4)	58.07	0.592	27.91	0.301	23.56	0.212
1-Octanol (5)	0.57	0.006	0.83	0.009	-	-
Linalool oxide (6)	1.15	0.012	0.67	0.007	0.32	0.003
Linalool (7)	5.29	0.054	6.92	0.075	5.09	0.046
<i>trans-p</i> -Mentha-2,8-dienol (8)	0.34	0.003	0.18	0.002	0.26	0.002
<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dienol (9)	0.38	0.004	0.24	0.003	0.20	0.002
(-)-Terpinen-4-ol (10)	0.88	0.009	0.54	0.006	0.31	0.003
$\alpha$ -Terpineol (11)	3.72	0.038	5.62	0.061	3.99	0.036
7-Methyl-3-methylene-6-octen-1-ol (12)	0.35	0.004	0.44	0.005	0.31	0.003
Nerol (13)	5.36	0.055	13.73	0.148	4.33	0.039
<i>trans</i> -Carveol (14)	1.29	0.013	1.54	0.017	-	-
Geraniol (15)	4.67	0.048	15.36	0.166	3.68	0.033
(-)-( <i>R</i> )-Carvone (16)	0.26	0.003	-	-	0.13	0.001
2,6,11-Trimethyldodecane (17)	0.56	0.006	-	-	-	-
Perillol (18)	0.32	0.003	1.30	0.014	-	-
3-Methylene- <i>p</i> -Menth-8-ene (19)	0.93	0.009	-	-	-	-
Germacrene D (20)	0.58	0.006	0.57	0.006	1.62	0.015
Osthole (21)	0.50	0.005	1.17	0.013	5.50	0.050
Isogeijerin (22)	1.72	0.018	-	-	3.87	0.035
Geranial (23)	-	-	0.88	0.010	2.57	0.023
<i>p</i> -Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol (24)	-	-	0.66	0.007	0.48	0.004
Nootkatone (25)	-	-	0.53	0.006	4.06	0.037
6-Methoxy-3-methyl-2-benzofurancarbaldehyde (26)	-	-	0.58	0.006	-	-
Neral (27)	-	-	-	-	3.42	0.031
$\delta$ -Elemene (28)	-	-	-	-	0.30	0.003
Geranyl butyrate (29)	-	-	-	-	0.14	0.001
3-Allyl-2-methoxyphenol (30)	-	-	-	-	0.16	0.001
Geranyl acetate (31)	-	-	-	-	0.14	0.001
unidentified compounds	4.51	0.046	19.32	0.209	29.22	0.263

## 肆、結論

柑橘屬含有豐富的 limonene，以往文獻亦顯示其具有相當多的功效，而其香氛成分亦是許多產品喜歡添加的香氣物質，因此是值得開發其相關產品的材料。而本論文是針對同一產區，不同品種，相同的實驗處理流程，以控制單一變因的實驗設計，探討麻豆地區柚類果皮香氣化合物的成分差異。進而提供在地農業對品質不佳的紅柚、白柚、文旦及其果皮等農業廢棄物，進一步開發其相關產品，以提高其利用價值的參考依據。

## 參考文獻

- [1] 陳吉村 (2002)。文旦精油之萃取與利用。 *花蓮區農業專訊*, **40**, 22–25。
- [2] A. I. Gray and P. G. Waterman. (1978). Coumarins in the rutaceae. *Phytochemistry*, *17*(5), 845–864.
- [3] T. Horie, M. Tsukayama and M. Nakayama. (1982). The structure and synthesis of sudachiin A, a new flavone glucoside from *Citrus sudachi*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, *55*(9), 2928–2932.
- [4] R. D. Bennett and S. Hasegawa. (1982).  $7\alpha$ -Oxygenated limonoids from the rutaceae. *Phytochemistry*, *21*(9), 2349–2354.
- [5] M. G. Moshonas and P. E. Shaw. (1983). Composition of aqueous essence and essence oil from *Citrus temple*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *31*(2), 334–336.
- [6] T. S. Wu, H. Furukawa, and C. S. Kuoh. (1982). Constituents of *Citrus depressa* (rutaceae). Characterizations of five new acridone alkaloids, *Heterocycles*, *19*(2), 273–277.
- [7] R. S. Low and N. Auersperg. (1981). Effects of acronycine and of cytochalasin B on the division of rat leukemia cells. *Experimental Cell Research*, *131*(1), 15–24.
- [8] A. T. McPhail, M. Ju-Ichi, Y. Fujitani, M. Inoue, T. S. Wu and H. Furukawa. (1985). Isolation and structures of citropone–A and –B from *Citrus* plants, first examples of naturally–occurring homoacridone alkaloids containing a tropone ring system. *Tetrahedron Letters*, *26*(27), 3271–3272.
- [9] C. Ito, S. Tanahashi, K. Fujiwara, M. Nakagawa, M. Ju-Ichi, Y. Fujitani, M. Inoue, A. T. McPhail, T. S. Wu, I. Kajiura, M. Omura and H. Furukawa. (1990). Isolation and structures of citropone–A, –B, and –C from *Citrus* plants, the first examples of naturally occurring homoacridone alkaloids containing a seven–membered ring system. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *38*(7), 1881–1885.
- [10] M. Ju-Ichi, M. Inoue, I. Kajiura, M. Omura, C. Ito and H. Furukawa. (1988). The structure of acrimarines, the first naturally occurring acridone–coumarin dimers. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *36*(8), 3202–3025.
- [11] C. Ito, M. Ju-Ichi, M. Inoue, M. Muraguch, T. Mizuno, S. Tanahashi, M. Omura, D. R. McPhail, A. T. McPhail and H. Furukawa. (1989). Structure of bisosthenon, a novel dimeric coumarin from *Citrus* plants. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *37*(7), 1957–1959.
- [12] H. Furukawa, C. Ito, T. Mizuno, M. Ju-Ichi, M. Inoue, I. Kajiura and M. Omura. (1990). Spectrometric elucidation of acrimarines, the first naturally occurring acridone–coumarin dimers. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*(6), 1593–1599.
- [13] C. Ito, S. Tanahashi, Y. Tani, M. Ju-Ichi, M. Omura and H. Furukawa. (1990). Isolation of new constituents from *Citrus* plants. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *38*(9), 2586–2588.
- [14] C. Ito, M. Matsuoka, T. Oka, M. Ju-Ichi, M. Niwa, M. Omura and H. Furukawa. (1990). New Binary Coumarins from *Citrus* Plants. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *38*(5), 1230–1232.
- [15] S. C. Huang, M. T. Chen and T. S. Wu. (1989). Alkaloids and coumarins from stem Bark of *Citrus grandis*. *Phytochemistry*, *28*(12), 3574–3576.
- [16] P. D. Lee Chao, S. L. Hsiu and Y. C. Hou. (2002). Flavonoids in herbs: biological fates and potential interactions with xenobiotics. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(4), 219–228.
- [17] A. B. Hsouna, N. B. Halima, S. Smaoui, and N. Hamdi. (2017). *Citrus lemon* essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against listeria

- monocytogenes inoculated in minced beef meat. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 146. DOI: 10.1186/s12944-017-0487-5.
- [18] M. L. Tsai, C. D. Lin, K. A. Khoo, M. Y. Wang, T. K. Kuan, W. C. Lin, Y. N. Zhang and Y. Y. Wang. (2017). Composition and bioactivity of essential oil from *Citrus grandis* (L.) Osbeck 'Mato Peiyu' leaf. *Molecules*, 22(12), 2154. <https://doi.org/10.3390/molecules22122154>.
- [19] 陳溪潭 (2000)。台灣柚類品種果實特性介紹。台南區農業專訊，33，8-12。
- [20] 蘇靜雁 (2006)。台灣柚子皮精油之抗氧化、抗菌及降血脂作用(碩士論文)。大葉大學，彰化。
- [21] 李金燕(2009)。白柚果皮精油抗菌作用及水萃取物抗氧化性之研究(碩士論文)。中華醫事科技大學，台南。
- [22] 林雨欣(2005)。文旦皮精油之成分組成及其乳化物對 *S. aureus* 及 *E. coli* 的抗菌活性之探討(碩士論文)。國立臺灣海洋大學，基隆。
- [23] 胡維宏 (2010)。不同柚子果皮香氣萃取與柚子果汁、果肉釀酒之研究(碩士論文)。大葉大學，彰化。
- [24] The United States Code of the Federal Regulations, Title 21, Part 182.60. §21CFR182.60 (2011).
- [25] J. Sun. (2007). D-Limonene: Safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review*, 12(3), 259-264.
- [26] D. E. Jr. Chadstain, W. E. Sander and C. C. Sander. (1992). U. S. Patent No. 5,110,832. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [27] 張上鎮與鄭森松 (2008)。桉樹葉子精油之分析與應用。行政院農業委員會林務局委託研究計畫報告(編號 97-00-5-20)。臺北市：行政院農業委員會林務局。
- [28] 柳煌 (1997)。橘皮精油之區分及 Limonene 之轉化(博士論文)。國立臺灣大學，台北。