

杭白菊浸膏中香气活性成分分析

张璟琳^{1,2,3}, 李娟^{1,2,3}, 王娟^{1,2,3}, 孙宝国^{1,2,3},
刘玉平^{1,2,3}, 黄明泉^{1,2,3*}

(1. 北京工商大学北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048; 2. 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100048; 3. 食品质量与安全北京实验室, 北京 100048)

摘要:香气是评价浸膏质量的重要标准之一, 该文为构建浸膏质量标准提供基础数据。采用固相微萃取法 (SPME) 和溶剂辅助风味蒸发 (SAFE) 两种前处理方法, 结合气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 对杭白菊浸膏的挥发性成分进行了分析, 同时采用气相色谱-嗅觉检测技术 (GC-O) 和香气提取物稀释分析 (AEDA) 对浸膏中的香味活性成分进行了测定。结果表明: 两种前处理方法 (SPME 和 SAFE) 结合气质联用仪共检测出 119 种化合物, 醇类 30 种, 酸类 6 种, 酯类 28 种, 醛类 4 种, 酮类 12 种, 烃类 36 种, 其他 3 种, 其中, 萜烯类及其含氧衍生物为主要化合物, 同时 SAFE 较 SPME 法检测到的化合物数量更多; GC-O 结合 AEDA 分析共筛选出 35 种香气活性成分, 风味稀释因子 (FD 因子) 较高的活性成分有芳樟醇 (2187)、 α -石竹烯 (729)、苯乙酸乙酯 (729)、己酸乙酯 (729)、异戊酸乙酯 (729)、 α -蒎烯 (243)、 α -松油醇 (243)、异戊酸 (243)。

关键词:杭白菊浸膏; 固相微萃取; 溶剂辅助风味蒸发; 气-质联用; 气相色谱-嗅觉检测技术; 香味活性成分
中图分类号: TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2018)11-1905-09

Identification of Aroma-active Compounds from Hangzhou *Chrysanthemum Moriflimum* Ramat Extract

ZHANG Jing-lin^{1,2,3}, LI Juan^{1,2,3}, WANG Juan^{1,2,3}, SUN Bao-guo^{1,2,3},
LIU Yu-ping^{1,2,3}, HUANG Ming-quan^{1,2,3*}

(1. Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing 100048, China; 2. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing 100048, China; 3. Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Aroma is one of the important standards to evaluate extracts. This study aims at providing basic data for constructing quality standard of extracts. The volatile components of Hangzhou *Chrysanthemum moriflimum* Ramat extract were analyzed by solid-phase microextraction (SPME) and solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The aroma active compounds in the extract were further analyzed by gas chromatography-olfactometry (GC-O) and aroma extract dilution analysis (AEDA). The results showed that a total of 119 compounds were detected in these two pretreatment methods (SPME and SAFE) combined with GC-MS, including 30 alcohols, 6 acids, 28 esters, 4 aldehydes, 12 ketones, 36 hydrocarbons, and 3 others. Among these detected compounds, monoterpenes, sesquiterpenes and their oxygen-containing derivatives are the main compounds. The number of compounds extracted using SAFE method were more than that extracted using SPME method. A total of 35 aroma active ingredients were identified by GC-O coupled with AEDA. The aroma active compounds with higher flavor dilution factor (FD factor) were linalool (2187), α -caryophyllene (729), ethyl phenylacetate (729), ethyl caproate (729), ethyl isovalerate (729), α -pinene (243), α -terpineol (243) and isovaleric acid (243).

收稿日期: 2018-04-18; 定用日期: 2018-06-11; DOI: 10.13550/j.jxhg.20180279

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31471665); 国家重点研发计划 (2016YFD0400500); 北京工商大学青年教师科研启动基金资助项目 (QNJJ2016-27)

作者简介: 张璟琳 (1990—), 女, 实验师。联系人: 黄明泉 (1977—), 教授, 博士, E-mail: hmqsir@163.com。

Key words: Hangzhou *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract; solid-phase microextraction; solvent-assisted flavor evaporation; gas chromatography-mass spectrometry; gas chromatography-olfaction; aroma active compounds

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31471665); National Key Research & Development Program of China (2016YFD0400500); Research Foundation for Youth Scholars of Beijing Technology and Business University (QNJJ2016-27)

杭白菊为多年生菊科植物, 别称纽扣菊、小汤黄, 主要产自浙江桐乡, 与安徽滁菊、亳菊以及河南邓菊, 都是中国有名的茶用菊。浙江桐乡的杭白菊因优异的品质被用于食品或药品, 经加工后的杭白菊(如浸膏、挥发油等)也用于工业产品中。杭白菊浸膏是以杭白菊花穗为原料, 经溶剂浸提得到的一种膏状体, 具有菊花特有的香气。

目前, 已有很多研究者对菊花的香气进行研究。鹿洪亮^[1]等对杭白菊挥发油进行了分析, 发现石竹烯、薄荷醇、糠醛和 6-甲基-5-庚烯-2-酮等是杭白菊挥发油的重要的香味成分。陈玉^[2]等利用气相色谱-飞行时间质谱分析杭白菊浸剂挥发性化学成分的方法, 鉴定出 33 种化合物, 主要是酯类、萜烯类、醛类和高级脂肪酸。Hu^[3]等利用波谱技术对杭白菊中的 3 种倍半萜烯化合物进行了分析。Choi^[4]等对新鲜和干制的野菊花分别进行了分析, 结果表明主要成分为酮类, 樟脑和龙脑在两类样品中含量差异较大, 樟脑在新鲜样品中含量高, 而龙脑则相反。但是, 检测出的挥发性物质只有一小部分对风味具有贡献, 即香气活性物质。利用气相色谱-嗅觉检测技术(GC-O)对食品中活性物质进行分析已见报道^[5-6], 而采用此法对杭白菊的香气活性物质研究鲜见报道。

本实验采用两种萃取方式(SPME 和 SAFE)分别对杭白菊浸膏中的挥发性成分进行萃取, 再用气相色谱-质谱(GC-MS)进行检测分析, 通过谱库检索结合保留指数对挥发性成分进行定性; 采用气相-嗅觉仪对香气活性成分进行分析, 并通过香气提取物稀释分析(AEDA)确定了香气活性成分, 然后通过内标法对活性成分进行定量分析, 以期杭白菊浸膏的应用和质量控制提供参考依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

杭白菊浸膏(批号 7#), 桂林拓普香料有限公司。二氯甲烷(使用前重蒸)、无水硫酸钠、无水乙醇, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 2-辛醇(内标)、壬酸乙酯(内标)、1,3-二氯苯(内标)、正构烷烃(C₆~C₃₀)、芳樟醇、苯乙酸乙酯、己酸乙酯、异戊酸乙酯、 α -松油醇、戊酸乙酯、桉树脑、冰片、甲基庚烯酮、苯甲醇、丁二酸二乙酯、 β -石

竹烯、异戊酸叶醇酯、2-甲基丁酸、乙醇、叶醇、苯乙醇、4-萜烯醇、丙二醇、3-己醇、乙酸、乙酸冰片酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯、苯甲醛、樟脑、萜品烯等标品(均为色谱纯, 质量分数>95%), 百灵威科技有限公司。

T-403 型电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; EF9697 型 Pipetman M 精密移液器, 法国 Gilson 公司; TRACE ULTRA-DSQII 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Thermo Fisher 公司; Gestel ODP3 嗅觉检测仪, 德国 Gerstel 公司; SPME 进样手柄, 75 μ m CAR/PDMS SPME 萃取头, 65 μ m PDMS/DVB SPME 萃取头, 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS SPME 萃取头, 美国 Supelco 公司; BF-2000 氮气吹干仪, 北京八方世纪科技有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

1.2.1.1 固相微萃取(SPME)

称取 1.000 g 样品置于样品瓶中, 萃取头在 50 $^{\circ}$ C 水浴锅中平衡 30 min, 然后插入活化好的萃取头顶空萃取 40 min, 拔出萃取头插入进样口, 250 $^{\circ}$ C 下解析 1.0 min。

在上述条件下, 考察 3 种不同萃取头(75 μ m CAR/PDMS、65 μ m PDMS/DVB 和 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS)的萃取效果, 选择最优萃取效果, 再分别进行萃取温度(30、40、50、60、70 $^{\circ}$ C)和萃取时间(20、30、40、50、60 min)的优化, 得到最优萃取条件, 然后每种浸膏在相同条件下做 3 次重复实验。

1.2.1.2 溶剂辅助蒸发萃取(SAFE)

用二氯甲烷配制内标溶液, 使得内标物 2-辛醇和壬酸乙酯的最终质量浓度分别为 31.9 和 34.2 g/L。称取 2.000 g 杭白菊浸膏置于锥形瓶中, 加入 2-辛醇溶液 100 μ L、壬酸乙酯溶液 50 μ L, 然后加入 200 mL 二氯甲烷, 超声 30 min, 抽滤, 除去不溶物, 得到萃取液。

将该萃取液置于 SAFE 装置的滴液漏斗中, 并在冷阱中加入液氮, 将循环水和水浴的水温设为 40 $^{\circ}$ C, 当系统真空度达到 1×10^{-6} MPa 时, 缓慢打开滴液漏斗旋塞, 在萃取过程中保持样品匀速滴下。

萃取后向萃取液中加入无水硫酸钠, 置于 4 °C 冰箱中过夜, 然后过滤旋蒸至 5 mL, 氮吹至 0.5 mL, 待进样分析。在相同条件下进行 3 次平行实验。

1.2.2 仪器分析条件

1.2.2.1 气相色谱条件

TRACE1310-ISQ LT; HP-5MS 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 初温 40 °C, 以 3 °C/min 升至 100 °C, 保持 5 min; 再以 6 °C/min 升至 200 °C, 保持 5 min; 最后以 20 °C/min 升至 300 °C, 保持 10 min; 载气 He, 纯度 99.999%, 流速 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C; 固相微萃取进样时, 分流比 20 : 1, 无溶剂延迟; 溶剂辅助蒸发萃取样品进样时, 分流比 100 : 1, 进样量 1.0 μL, 溶剂延迟 3 min。

TRACE ULTRA-DSQII; TG-WAX MS 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 初温 40 °C, 以 3 °C/min 升至 100 °C, 保持 5 min; 再以 4 °C/min 升至 130 °C, 保持 10 min; 再以 20 °C/min 升至 230 °C, 保持 20 min。其他条件同上。

1.2.2.2 质谱条件

EI 源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 250 °C, 传输线温度 280 °C, 质量扫描范围 m/z : 35~450, 全扫描。

1.2.3 定性方法

采用 NIST14 谱库检索、标准品比对、双柱保留指数进行定性。

保留指数 (retention index, RI) 定性: 在相同色谱条件下, 分别将样品与正构烷烃 (C_6 ~ C_{30}) 前后进样进行分析, 通过公式 (1) 计算出保留指数, 并与文献数据对比, 将绝对值相差 10 以内的确定为同一化合物。

$$RI = 100n + 100 \times \frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n} \quad (1)$$

式中: n 和 $n+1$ 分别为未知化物流出前后正构烷烃碳原子数, t 为未知化合物保留时间, t_n 和 t_{n+1} 为相应正构烷烃的保留时间 ($t_n < t < t_{n+1}$)。

1.2.4 香气活性成分分析

采用嗅闻仪 (GC-O) 和香气提取物稀释分析 (AEDA) 对杭白菊浸膏中的活性成分进行分析, 具体分析条件和操作过程如下。

色谱条件: 色谱柱及升温条件同 1.2.2.1 中 HP-5MS 毛细管柱的升温程序, 不分流进样, 载气 (N_2) 流速 1.0 mL/min, 进样量 1.0 μL。样品经进样口解析后, 经 GC 色谱柱分离, 分别进入 FID 检测器和嗅闻检测器, 分流比为 1 : 2。

嗅闻仪条件: 接口温度 200 °C, 加热线温度 250 °C, 氮气输出流量 15 mL/min。3 个评价员在嗅闻口记录所闻到的香味特征和保留时间。

AEDA 分析: 样品浓缩液通过二氯甲烷以 3 的倍数进行稀释, 稀释后的浓缩液进 GC-O 分析, 直到嗅闻人员嗅闻不到任何化合物的气味为止, FD 因子为每个化合物的最高稀释倍数。

1.2.5 定量分析

采用 SAFE 浓缩液进行定量, 最后定容至 2.0 mL, 进样量 1.0 μL。FD 因子较高的化合物采用内标法进行定量, 以待定量化合物与对应内标化合物 (2-辛醇和壬酸乙酯) 的质量浓度之比为横坐标, 以待定量化合物与内标化合物峰面积之比为纵坐标, 建立内标标准曲线, 然后通过标准曲线计算浸膏中香味活性成分的含量。

其余香气活性化合物采用半定量分析, 以 2-辛醇和壬酸乙酯为内标, 根据内标物的质量浓度, 内标物的峰面积与目标物的峰面积计算出目标物质的相对含量, 计算方法如公式 (2):

$$\rho_x = \rho_{is} \frac{A_x}{A_{is}} \quad (2)$$

式中: ρ_x 为目标物质的相对含量, 单位 μg/g; ρ_{is} 为内标物的相对含量, 单位 μg/g; A_x 为目标物质的峰面积, A_{is} 为内标的峰面积。

2 结果与讨论

2.1 固相微萃取条件优化

为了确定最佳的固相微萃取条件, 考察了不同萃取头、萃取时间、萃取温度等条件对萃取效果的影响。以杭白菊浸膏中萃取得到的挥发性化合物的峰面积和峰数量作为对比参数, 在相同条件下 (平衡时间 30 min, 萃取时间 40 min, 萃取温度 50 °C), 考察 3 个萃取头 (75 μm CAR/PDMS、65 μm PDMS/DVB 和 50/30 μm DVB/CAR/PDMS) 的萃取效果, 结果见图 1。

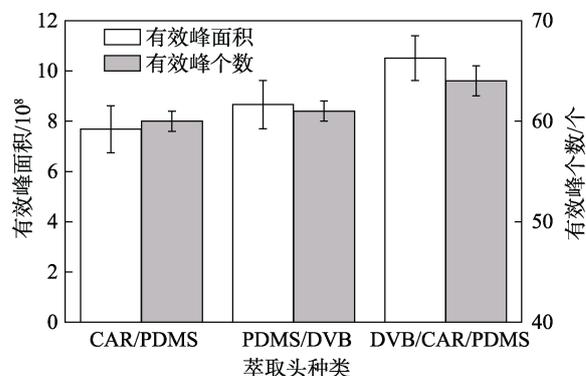


图 1 不同萃取头对 SPME 萃取杭白菊浸膏中挥发性成分的影响

Fig.1 Extraction efficiencies of different SPME fibers in *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract

由图 1 可以看出, 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS 萃取得到的挥发性化合物的峰面积和峰数量最多, 有利于杭白菊浸膏中挥发性化合物的萃取。因此, 选其作为后续实验的萃取头。

在相同条件下 (萃取头 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS, 平衡时间 30 min, 萃取时间 30 min), 对萃取温度 (30、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$) 进行优化分析, 结果见图 2。

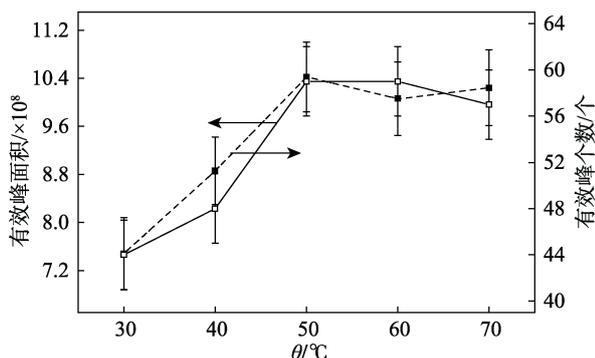


图 2 不同萃取温度对 SPME 萃取杭白菊浸膏中挥发性成分的影响
Fig. 2 Extration efficiencies of different extraction temperature in *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract

如图 2 所示, 萃取温度在 30~50 $^{\circ}\text{C}$ 时, 所得峰面积和峰个数在不断增加, 萃取温度 50~70 $^{\circ}\text{C}$, 峰面积和峰个数有缓慢下降的趋势, 因此, 选择萃取温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 萃取效果较优。

在相同条件下 (萃取头 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS, 平衡时间 30 min, 萃取温度 50 $^{\circ}\text{C}$), 对萃取时间 (20、30、40、50、60 min) 进行优化分析, 结果如图 3 所示。

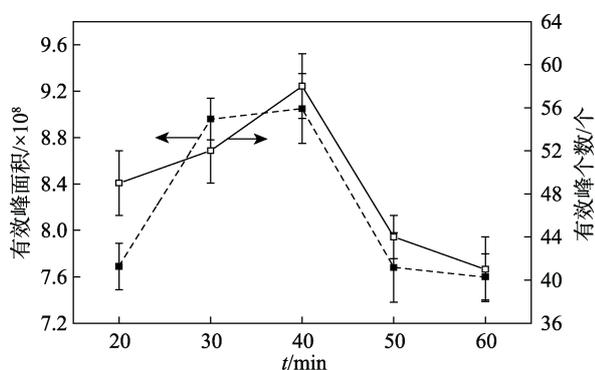


图 3 不同萃取时间对 SPME 萃取杭白菊浸膏中挥发性成分的影响
Fig. 3 Extration efficiencies of different extraction times in *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract

由图 3 可知, 随着萃取时间的增加, 所得峰面积和峰个数先上升后下降, 当萃取时间为 40 min 时

峰面积和峰个数达到峰值, 萃取效果较优。因此, 用固相微萃取法萃取杭白菊浸膏中挥发性成分的最优条件为: 萃取头 50/30 μm DVB/CAR/PDMS, 萃取温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 萃取时间 40 min。此最优 SPME 条件用于下一步的杭白菊浸膏挥发性成分分析。

2.2 杭白菊浸膏 GC-MS 分析结果

样品经 SPME 或 SAFE 处理, 分别经过两种不同极性的毛细管柱进行分离, 进入质谱进行分析, 通过计算机结合 NIST 谱库比对, 保留指数比对及标准品比对进行定性分析, 所得杭白菊浸膏中的挥发性成分结果如表 1 所示。

由表 1 可以看出, 经过不同极性毛细柱所分离出的化合物种类有所差别, 只在 TG-WAX MS 色谱柱检出的化合物为醇类 5 种, 酯类 9 种, 烃类 6 种, 酮类和其他类各 1 种; 只在 HP-5MS 色谱柱检出的化合物为醇类 13 种, 酸类 5 种, 酯类 6 种, 醛类 3 种, 酮类 6 种, 烃类 14 种, 其他类 1 种。由此可见 TG-WAX MS 色谱柱检出更多的酯类和烷烃类 (烃类), 而 HP-5MS 色谱柱检出更多的醇类、酸类、酮类、醛类和萜烯类 (烃类) 化合物。所以, 用两种不同极性的色谱柱进行分析可使定性结果更为全面。

两种前处理方法共检测出 119 种化合物, 醇类 30 种, 酸类 6 种, 酯类 28 种, 醛 4 种, 酮 12 种, 烃类 36 种, 其他 3 种; SPME 检出 79 种, SAFE 检出 89 种, 其中共有化合物 48 种。SAFE 分析出较多的醇类和酯类, 而 SPME 则分析出更多的烃类。两种方法萃取化合物的种类有所区别, 这主要与两个因素有关, 一方面 SPME 的纤维涂层的吸附量较小并且对不同挥发性成分的吸附能力大小不同; 另一方面, SAFE 所用溶剂对挥发性成分的提取能力不同且挥发性成分在抽真空时也可能造成损失^[7]。总体而言, SAFE 较 SPME 法分析得到的化合物更多, 因此 SAFE 也作为探讨香气活性成分的前处理方法。

醇类是检测到种类最多的一类化合物, 两种方法均检出 10 种化合物, 其中峰面积百分比比较高的化合物为冰片、芳樟醇、(S)-氧化芳樟醇、4-萜烯醇、桉树脑。这些醇类都属于单萜烯或倍半萜烯类的含氧衍生物, 一般具有较强的生物活性和芳香气味^[8]。冰片也称为龙脑或 2-茨醇, 具有樟脑和松木香气。芳樟醇具有铃兰香气, 桉树脑常见于天然精油中, 因其具有草本和药用香气, 在多种日化产品有广泛应用。芳樟醇和桉树脑来源可能是一些化合物, 比如香叶醇、橙花醇, 经过结构重排构成的。牻牛儿焦磷酸 (GPP) 是芳樟醇和桉树脑的前体物质, 经芳樟醇合成酶和桉树脑合成酶作用, 牻牛儿焦磷酸 (GPP) 可分别产生芳樟醇和桉树脑^[9]。

表 1 杭白菊浸膏的 GC-MS 分析结果

Table 1 Analytical results for GC-MS identification of volatile compounds in *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract

序号	化合物名称	保留指数		SPME 相对含量/%		SAFE 相对含量/%		定性方法 ^③
		HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	
醇类 (30 种)								
1	乙醇	448/448 ^①	927/934 ^②	1.7	3.32	—	—	MS/RI/S
2	叶醇	850/851	1382/1383	0.08	—	0.84	0.3	MS/RI/S
3	正己醇	864/865	1352/1352	0.09	—	0.63	0.13	MS/RI
4	桉树脑	1028/1028	1198/1198	0.2	0.24	1.08	0.77	MS/RI
5	苯甲醇	1030/1031	1859/1860	0.12	0.11	0.79	0.13	MS/RI/S
6	二氢芳樟醇	—	1609	—	—	—	0.2	MS/RI
7	(S)-氧化芳樟醇	1070/1071	1433/1432	0.16	0.2	1.19	0.56	MS/RI
8	苯乙醇	1110/1110	1894/1896	—	—	—	0.15	MS/RI/S
9	芳樟醇	1098/1099	1542/1540	0.19	0.12	1.34	0.66	MS/RI/S
10	(-)-反式-松香芹醇	1134/1134	1644/1642	0.13	0.21	—	0.51	MS/RI
11	顺式马鞭烯醇	1159/1152	—	0.49	—	—	—	MS/RI
12	冰片	1161/1162	1689/1690	2.31	—	5.6	7.99	MS/RI/S
13	4-萜烯醇	1173/1173	1591/1590	0.24	0.25	1.41	0.88	MS/RI/S
14	α -松油醇	1186/1186	—	0.24	—	0.96	—	MS/RI/S
15	甲基-2-亚甲基-环庚醇	1304	—	0.48	—	—	—	MS/RI
16	桉油烯醇	1615/1619	2108/2109	0.23	0.18	—	—	MS/RI
17	喇叭茶醇	—	2144	—	0.21	—	—	MS/RI
18	1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-3-环己烯-1-醇	1673/1674	—	0.16	—	—	—	MS/RI
19	乙缩醛二乙醇	812/725	—	—	—	0.68	—	MS/RI
20	丙二醇	732	—	—	—	0.29	—	MS/RI/S
21	丁二醇	775	1573/1581	—	—	0.28	—	MS/RI
22	2,3-丁二醇	787/782	1533/1542	—	—	0.28	—	MS/RI
23	3-己醇	794/797	—	—	—	0.28	—	MS/RI/S
24	2-己醇	800/800	—	—	—	0.28	—	MS/RI
25	反- α 反- α , α -5-三甲基-5-乙烯基四氢化-2-呋喃甲醇	—	1434/1430	—	—	—	0.87	MS/RI
26	菊烯醇	1134/1121	—	—	—	3.25	—	MS/RI
27	2-甲基-5-(1-甲基乙炔基)-2-环己烯-1-醇	1215/1215	—	—	—	0.33	—	MS/RI
28	萜澄茄油烯醇	—	2046/2043	—	—	—	0.11	MS/RI
29	反式-橙花叔醇	1559/1561	—	—	—	0.3	—	MS/RI
30	异龙脑	—	1688/1672	—	2.57	—	—	MS/RI
酸类 (6 种)								
1	乙酸	625/625	1479/1479	0.33	—	—	0.13	MS/RI/S
2	异戊酸	834/834	—	—	—	0.25	—	MS/RI/S
3	2-甲基丁酸	842/841	—	0.08	—	0.27	—	MS/RI/S
4	反式-2,3-二甲基丙烯酸	888	—	0.08	—	—	—	MS/RI
5	(+)-反式-菊酸	1349/1343	—	0.13	—	—	—	MS/RI
6	当归酸	915	—	—	—	0.38	—	MS/RI
酯类 (28 种)								
1	乙酸乙酯	628/628	884/885	0.37	1.2	—	—	MS/RI
2	巴豆酸乙酯	—	1159/1158	—	0.08	—	—	MS/RI

续表 1

序号	化合物名称	保留指数		SPME 相对含量/%		SAFE 相对含量/%		定性方法 ^③
		HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	
3	顺-2-丁烯酸乙酯	839/830	—	0.08	—	0.25	—	MS/RI
4	2-甲基丁酸乙酯	844/846	1048/1048	0.08	—	—	0.11	MS/RI
5	异戊酸乙酯	848/847	1063/1064	0.17	0.08	0.38	0.77	MS/RI
6	戊酸乙酯	900/900	1138/1137	0.17	—	0.2	0.77	MS/RI/S
7	正己酸乙酯	998/998	1230/1232	0.35	0.41	1.48	1.03	MS/RI
8	(E) 4-甲基-2-戊烯酸乙酯	1007	1293	—	—	—	0.11	MS/RI
9	丙二酸二乙酯	1072/1067	—	0.59	—	—	—	MS/RI
10	苯乙酸乙酯	1240/1243	1771/1771	0.41	0.44	0.56	0.35	MS/RI/S
11	乙酸冰片酯	1284/1285	1563/1563	3.34	2.64	5.27	5.34	MS/RI/S
12	2-甲基丁酸苯甲酯	1388/1392	1847	—	0.33	0.47	0.2	MS/RI
13	3, 3, 6-三甲基-4, 6-庚二烯酸乙酯	1346	1673/1673	28.58	41.09	—	—	MS/RI
14	(E) -3, 7-二甲基-2, 6-辛二烯酸乙酯	1357	1734	0.16	0.37	—	0.24	MS/RI
15	异戊酸苯甲酯	1387/1385	—	0.45	—	—	—	MS/RI
16	癸酸乙酯	1396/1396	1637/1637	4.43	3.44	4.18	2.72	MS/RI/S
17	丁二酸二乙酯	1180/1180	1674/1675	—	—	0.2	—	MS/RI/S
18	月桂酸乙酯	1594/1495	—	0.18	—	—	—	MS/RI/S
19	邻氨基苯甲酸甲酯	—	2234/2236	—	0.76	—	—	MS/RI
20	2, 6, 6-三甲基-1, 3-环己二烯-1-羧酸乙酯	—	1541	—	—	—	0.13	MS/RI
21	4, 6-庚二烯酸-3, 3, 6-三甲基-乙酯	—	1677	—	—	22.92	37.96	MS/RI
22	2-丁烯酸乙醇酯	—	1166/1161	—	—	—	0.75	MS/RI
23	庚酸乙酯	—	1333/1331	—	—	—	0.15	MS/RI
24	乳酸乙酯	—	1343/1340	—	—	—	0.15	MS/RI
25	乙酸苄酯	—	1716/1727	—	—	—	0.15	MS/RI
26	异戊酸叶醇酯	1233/1235	1484	—	—	0.33	0.19	MS/RI
27	3-甲基-2-丁烯酸-2, 7-二甲基辛-7-烯-5-炔-4-基酯	—	1829	—	—	—	0.38	MS/RI
28	亚油酸乙酯	2166/2162	2524/2532	—	—	0.23	—	MS/RI
醛类 (4 种)								
1	苯甲醛	955/955	—	0.08	—	—	—	MS/RI/S
2	2, 4, 6-三甲基-双环[4.1.0]-3-庚烯基甲醛	1112	1465	0.47	—	—	—	MS/RI
3	(+, -)-1, 3, 3-三甲基环己-1-烯-4-甲醛	1133/1138	1464	0.35	—	—	—	MS/RI
4	2, 3-二氢-2, 2, 6-三甲基苯甲醛	1163/1164	1576	—	—	0.2	0.16	MS/RI
酮类 (12 种)								
1	甲基庚烯酮	985/985	1333/1333	0.61	0.62	2.22	1.45	MS/RI/S
2	3-甲基-2-环己烯-1-酮	1050	1573/1579	—	—	0.22	—	MS/RI
3	异佛尔酮	1117/1118	—	0.14	—	0.41	—	MS/RI
4	菊油环酮	1156/1158	1491	0.29	0.18	1.81	—	MS/RI
5	(E) -6-甲基-3, 5-庚二烯-2-酮	1102	1581/1587	0.39	0.17	—	—	MS/RI
6	4, 6, 6-三甲基二环[3.1.1]庚-3-烯-2-酮	1205/1204	—	0.13	—	—	—	MS/RI
7	3-甲基-6-(1-甲基亚乙基)-2-环己烯-1-酮	1341/1340	—	0.21	—	0.3	—	MS/RI
8	环丙基乙基甲酮	1443	—	0.15	—	0.22	—	MS/RI
9	5-乙基-5-甲基四氢呋喃-2-酮	1036/1041	—	—	—	0.32	—	MS/RI
10	蒎烯-3-酮	—	1547	—	—	—	0.44	MS/RI
11	马苳烯酮	1205/1205	1681/1695	—	—	0.33	0.12	MS/RI
12	樟脑	1140	1496	0.84	0.82	2.11	2.9	MS/RI/S

续表 1

序号	化合物名称	保留指数		SPME 相对含量/%		SAFE 相对含量/%		定性方法 ^③
		HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	HP-5MS	TG-WAX MS	
烃类 (36 种)								
1	邻异丙基甲苯	1022/1022	1263/1266	—	0.14	0.54	0.42	MS/RI
2	4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)双环[3.1.0]2-己烯	950/951	1125	0.17	—	0.2	0.12	MS/RI
3	均三甲苯	990/992	1274/1287	0.17	0.2	0.5	—	MS/RI
4	1, 2, 4-三甲苯	1018/1020	1328	0.16	0.09	—	0.31	MS/RI
5	间异丙基甲苯	1021/1022	—	0.09	—	—	—	MS/RI
6	萘品烯	1056/1056	1238/1235	0.14	0.2	1.13	0.75	MS/RI/S
7	β -倍半水芹烯	1523/1523	1752/1746	—	2.01	3.15	1.17	MS/RI
8	1, 6-二甲基庚-1, 3, 5-三烯	1317	—	0.62	—	—	—	MS/RI
9	2, 5, 5-三甲基-1-己烯-3-炔	1317	1978	—	0.77	0.86	0.82	MS/RI
10	甲苯	762/762	1034/1036	—	0.11	—	0.12	MS/RI
11	(-)- α -萜澄茄油烯	1353/1353	1447/1449	0.15	0.09	—	0.35	MS/RI
12	α -蒎烯	1377/1377	1477/1477	0.3	0.3	0.63	0.8	MS/RI
13	β -榄香烯	1392/1392	—	0.34	—	0.56	—	MS/RI
14	β -石竹烯	1419/1420	1576/1575	3.15	2.85	4.45	6.48	MS/RI/S
15	萜澄茄油烯	1430/1434	—	0.1	—	—	—	MS/RI
16	2, 6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-双环[3.1.1]庚-2-烯	1437/1436	—	0.28	—	—	—	MS/RI
17	α -石竹烯	1455/1456	1650/1649	0.2	0.14	0.27	0.15	MS/RI
18	(E)- β -金合欢烯	1459/1458	1665/1665	2.63	1.89	—	1.93	MS/RI
19	ζ -木罗烯	1478/1478	—	0.4	—	0.41	—	MS/RI
20	α -姜黄烯	1484/1484	1760/1770	17.06	17.19	13.06	12.72	MS/RI
21	5-(1, 5-二甲基-4-己烯基)-2-甲基-1, 3-环己二烯	1496/1496	1709	14.54	9.14	—	—	MS/RI
22	α -衣兰油烯	1501/1501	—	0.24	—	—	—	MS/RI
23	红没药烯	1509/1510	1714/1724	2.48	1.21	2.25	1.21	MS/RI
24	(Z, E)-金合欢烯	—	1720/1720	—	0.94	—	0.79	MS/RI
25	γ -杜松烯	1516/1517	—	0.79	—	—	—	MS/RI
26	δ -杜松烯	1525/1526	1737/1737	4.24	1.62	—	—	MS/RI
27	3, 7, 11-三甲基-1, 3, 6, 10-十二碳-四烯	—	1740/1743	—	0.18	—	—	MS/RI
28	α -衣兰烯	1540	—	0.07	—	—	—	MS/RI
29	乙苯	857/857	1129/1123	—	—	—	0.75	MS/RI
30	双戊烯	—	1199/1198	—	—	—	0.15	MS/RI
31	苯乙烯	887/889	1257/1260	—	—	0.38	—	MS/RI
32	α -松油烯	1014/1014	—	—	—	0.3	—	MS/RI
33	柠檬烯	1026	—	—	—	0.26	—	MS/RI
34	β -瑟林烯	—	1698/1698	—	—	—	0.3	MS/RI
35	2, 6-二甲基-1, 3, 6-庚三烯	1305	—	—	—	0.87	—	MS/RI
36	(E)- β -金合欢烯	1459/1459	—	—	—	3.23	—	MS/RI
其他 (3 种)								
1	茴香脑	—	1811/1815	—	0.69	—	0.26	MS/RI
2	氧化石竹烯	1598/1599	1966/1974	0.49	0.21	0.26	0.17	MS/RI
3	油酸酰胺	2376/2375	—	—	—	0.37	—	MS/RI

注: ①②表示保留指数的计算值/文献值 (数据来源于 <http://webbook.nist.gov/chemistry/cas-ser.htm>); ③ RI 表示保留指数定性; MS 表示质谱定性 (正反匹配度大于 750); S 表示标准品定性; — 表示没有该项数据。

酯类化合物大多具有花香、果香、酒香或蜜香香气,广泛存在于自然界中,是鲜花、水果香成分的重要组成部分^[10]。在杭白菊浸膏中检测到很多乙酯类化合物,如异戊酸乙酯、正己酸乙酯、壬酸乙酯、3,3,6-三甲基-4,6-庚二烯酸乙酯、癸酸乙酯,而在其他杭白菊挥发油中并未发现,这是因为在浸膏的加工过程中使用乙醇作为溶剂进而发生酯化反应所致。同时,在 SPME 分析中乙醇也被检测出,说明乙醇应该为加工中未被除去的残留溶剂。

两种方法检测烃类化合物的差异不大,SPME 法为 28 种,SAFE 法为 26 种。大多属于单萜烯或倍半萜烯类,而阈值较高对香味贡献较少的烷烃类化合物较少检出。两种方法均检出的萜类化合物为:萜品烯、 β -倍半水芹烯、 α -葎澄茄油烯、 α -蒎烯、 β -榄香烯、 β -石竹烯、 α -石竹烯、(E)- β -金合欢烯、 ζ -木罗烯、 α -姜黄烯、红没药烯,其中, α -姜黄烯在两种方法的不同极性柱子上都有检测到,相对峰面积 12.72%~17.19%,含量较高。官艳丽^[11]等检测杭白菊挥发油中主要为萜类及其氧化物,主要为樟脑、

龙脑、石竹烯、 β -金合欢烯、姜黄烯、石竹烯氧化物等,也有研究者^[12]在杭白菊中检测出 β -倍半水芹烯,这与本研究结果一致。

酮类、酸类、醛类和其他类相对峰面积都较低,酸类和醛类每种化合物的相对峰面积都低于 0.5%。酮类中峰面积最高的为樟脑 2.11%,通常添加在薰衣草类的香精中,也可作为薄荷风味的调味剂^[3],属于萜烯类的含氧衍生物。除此之外还有蒎烯-3-酮、氧化石竹烯。其他类中最高的为茴香脑 0.69%。孟小环^[13]利用 SDE 的方法检测杭白菊挥发油中挥发性成分,结果发现马兜铃烯、异柠檬醛、依兰油烯、喇叭烷、雪松醇、6-甲基-5-庚烯-2-酮是杭白菊挥发油的重要挥发性成分,但是本文中并未检测到这些成分,这可能与样品的制法有关^[14],或与不同的采摘时间有关^[15]。

2.3 杭白菊浸膏中香气活性物质的鉴定及定量分析

将 SAFE 处理得到的样品进行 GC-O 分析,通过 AEDA 的分析方法筛选重要的香气活性物质,并进行定量分析,结果如表 2 所示。

表 2 杭白菊浸膏的香气活性物质及其定量分析结果

Table 2 Identification and quantification of aroma-active compounds of *Chrysanthemum morifolium* Ramat extract

序号	化合物	气味	FD 因子	相对含量/ ($\mu\text{g/g}$)	序号	化合物	气味	FD 因子	相对含量/ ($\mu\text{g/g}$)
1	芳樟醇 ^①	玫瑰	2187	43.71 \pm 2.93	19	丁二酸二乙酯 ^①	水果香	27	3484.08 \pm 159.30
2	α -石竹烯	木香、辛香	729	17.39 \pm 1.46	20	反式-橙花叔醇	木香、花香	27	17.41 \pm 0.54
3	苯乙酸乙酯 ^①	玫瑰、果香	729	25.86 \pm 2.01	21	β -石竹烯 ^①	淡丁香味	27	6284.45 \pm 624.89
4	己酸乙酯 ^①	曲香、果香	729	57.56 \pm 0.75	22	戊酸乙酯 ^①	果香	27	2.76 \pm 0.27
5	异戊酸乙酯 ^①	酒香、果香	729	16.09 \pm 1.50	23	乙酸冰片酯	草药、松叶	27	286.86 \pm 24.77
6	α -蒎烯	松节油味	243	42.65 \pm 0.10	24	异戊酸叶醇酯 ^①	花香、果香	27	10.77 \pm 1.03
7	α -松油醇 ^①	丁香味	243	7.47 \pm 0.58	25	2-甲基丁酸 ^①	刺鼻、辛辣	9	6.32 \pm 0.21
8	异戊酸	酸臭味	243	13.77 \pm 0.58	26	α -松油烯	柑橘	9	7.47 \pm 0.58
9	(E)- β -金合欢烯	青香、花香	81	148.02 \pm 8.85	27	癸酸乙酯	果香、酒香	9	198.69 \pm 16.10
10	(S)-氧化芳樟醇	柑橘、白柠檬	81	28.87 \pm 2.16	28	马苧烯醇	樟脑、芹菜香气	9	16.42 \pm 1.49
11	α -姜黄烯	辛辣	81	569.83 \pm 18.84	29	乳酸乙酯	略有气味	9	7.93 \pm 0.58
12	β -榄香烯	茴香味	81	31.08 \pm 4.65	30	顺-3-己烯-1-醇	青草味	9	23.11 \pm 2.02
13	桉树脑 ^①	樟脑、草药味	81	34.95 \pm 1.46	31	萜品烯	柑橘、柠檬	9	30.99 \pm 2.78
14	冰片 ^①	樟脑	81	501.23 \pm 8.39	32	氧化石竹烯	绿茶味、怪味	9	13.14 \pm 1.20
15	丙二酸二乙酯	甜味	81	89.79 \pm 0.46	33	臧花醛	番红花香	9	11.29 \pm 1.29
16	甲基庚烯酮 ^①	青香、柑橘	81	87.64 \pm 8.04	34	正己醇	嫩叶、果香和脂肪气息	9	7.28 \pm 0.58
17	4-萜烯醇 ^①	胡椒香、泥土香	27	37.54 \pm 1.75	35	樟脑	樟脑	9	142.96 \pm 24.77
18	苯甲醇 ^①	芳香味	27	16.40 \pm 0.04					

注:①为内标法定量化合物,标曲线性系数 >0.98 ,相对标准偏差 0.24%~9.94%。

本研究共鉴定出 35 种香气活性成分,FD 因子较高的活性成分有芳樟醇(FD=2187)、异戊酸乙酯(FD=729)、苯乙酸乙酯(FD=729)、己酸乙酯(FD=729)、 α -石竹烯(FD=729)、异戊酸(FD=243)、

α -松油醇(FD=243)、 α -蒎烯(FD=243)。其中芳樟醇、 α -石竹烯、 α -松油醇和 α -蒎烯是单萜烯、倍半萜烯类或他们的含氧衍生物,这些是杭白菊的常见挥发性成分,并且在香料领域有广泛应用。而含量

最高的为 β -石竹烯 (6284.45±624.89 $\mu\text{g/g}$), 其次是丁二酸二乙酯 (3484.08±159.30 $\mu\text{g/g}$), α -姜黄烯 (569.83±18.84 $\mu\text{g/g}$), 冰片 (501.23±8.39 $\mu\text{g/g}$), 乙酸冰片酯 (286.86±24.77 $\mu\text{g/g}$), 癸酸乙酯 (198.69±16.10 $\mu\text{g/g}$), (*E*)- β -金合欢烯 (148.02±8.85 $\mu\text{g/g}$), 樟脑 (142.96±24.77 $\mu\text{g/g}$)。其中 FD 因子高的化合物与含量高的化合物并不完全一致, 这主要是因为挥发性物质对风味的贡献不仅与含量有关, 也与化合物的阈值有关。芳樟醇具有具有铃兰香气, 在多种植物中检测到, 但其含量不高仅为 43.71 $\mu\text{g/g}$, 这可能是因其阈值较低 (0.0015 $\mu\text{g/g}$)。同样, 异戊酸乙酯和己酸乙酯香气活性化合物的阈值也很低, 分别为 0.0002 和 0.0005 $\mu\text{g/g}$ 。苯乙酸乙酯有浓烈而甜的蜂蜜香气, 这种天然香气也在葡萄酒^[16], 白酒^[18]中被认为具有重要风味贡献。异戊酸在低浓度具有酒味、水果和乳酪样甜味的香气。 α -松油醇被认为在水果中是具有怡人的香气, 它不仅天然存在于水果中, 也是柠檬烯催化反应的副产物^[18]。樟脑被认为是新鲜菊花中含量最多的化合物^[3], 但是其对香味的贡献并不突出, FD 因子为 9, 这主要是因为樟脑的阈值较高 (380 $\mu\text{g/g}$)。此外, 其他一些重要风味物质也对杭白菊浸膏的香气具有贡献, 如 β -石竹烯具有丁香、木香、辛香、柑橘和草药的风味; 丁二酸二乙酯具有苹果、依兰香气; 冰片和樟脑具有樟脑味、木香; 乙酸冰片酯具有木香和草药香; 癸酸乙酯具有果香、酒香; (*E*)- β -金合欢烯具有药草和青草香气。

3 结论

本文主要采用 SPME 和 SAFE 两种前处理方法, 结合气质联机 GC-MS 对拓普杭白菊浸膏的挥发性成分进行了分析, 同时采用嗅闻仪 GC-O 和香气提取物稀释分析对浸膏中的香味活性成分进行了分析研究。结果表明, 两种前处理方法共检测出 119 种化合物, 醇类 30 种, 酸类 6 种, 酯类 28 种, 醛 4 种, 酮 12 种, 烃类 36 种, 其他 3 种。单萜烯、倍半萜烯类或他们的含氧衍生物为主要化合物, 同时 SAFE 较 SPME 法分析得到的化合物更多, 更有优势。本实验共鉴定出 35 种香气活性成分, FD 因子较高的活性成分有芳樟醇 (FD=2187)、异戊酸乙酯 (FD=729)、苯乙酸乙酯 (FD=729)、己酸乙酯 (FD=729)、 α -石竹烯 (FD=729)、异戊酸 (FD=243)、 α -松油醇 (FD=243)、 α -蒎烯 (FD=243)。

参考文献:

[1] Lu Hongliang (鹿洪亮), Yu Jing (于静), Yang Bin(杨斌), *et al.*

- Analysis of essential oils extracted from hangzhou white chrysanthemum by GC × GC/TOFMS [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi* (江西农业学报), 2010, (1): 106-108.
- [2] Chen Yu (陈玉), Lu Sheming (陆舍铭), Zhu Li (朱丽), *et al.* Analysis of volatile compositions of hangzhou white Chrysanthemum extract by GC-TOFMS[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25(4): 489-493.
- [3] Hu L, Chen Z. Sesquiterpenoid alcohols from *Chrysanthemum morifolium*[J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(7): 1287-1290.
- [4] Choi H S, Kim G H. Volatile flavor composition of gamguk, (*Chrysanthemum indicum*) flower essential oils[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2011, 20(2): 319-325.
- [5] Erten E S, Cadwallader K R. Identification of predominant aroma components of raw, dry roasted and oil roasted almonds[J]. *Food Chemistry*, 2017, 217: 244-253.
- [6] Baba R, Amano Y, Wada Y, *et al.* Characterization of the potent odorants contributing to the characteristic aroma of matcha by Gas Chromatography-Olfactometry techniques[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2017, 65: 2984-2989.
- [7] He Concong (何聪聪), Liu Mengya (刘梦雅), Liu Jianbin (刘建彬), *et al.* Analysis of volatile aroma component of fresh watermelon juice by SPME and SAFE with GC-O-MS [J]. *Science and Technology of Food Industry* (食品工业科技), 2014, 35(2): 49-53.
- [8] Xie Zhanfang (谢占芳). Chemical components and antibacterial activity of essential oils from eight kinds of *Chrysanthemum*[D]. Henan University(河南大学), 2016.
- [9] Gang D R, Wang J, Dudareva N, *et al.* An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil[J]. *Plant Physiol*. 2001, 125(2): 539-555.
- [10] Sun Baoguo (孙宝国), He Jian (何坚). Flavor chemistry and technology[M]. Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2004: 249.
- [11] Guan Yanli (官艳丽), Wang Yanjun (王燕军), Shi Lin (石琳), *et al.* GC-MS analysis of the essential oil from Hangbaiju and Hanghuangju[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* (分析试验室), 2007, 26(6): 77-80.
- [12] Sun Yan (孙彦). Study on the aroma of hang white *Chrysanthemum* and longjing tea [D]. Hangzhou: Zhejiang University (浙江大学), 2012.
- [13] MengXiaohuan (孟小环). Study on the aroma of tea and chrysanthemum [D]. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), 2007.
- [14] Liu Qiang (刘强), Mao Deshou (冒德寿), Hou Chun (侯春), *et al.* Analysis of treemoss concrete and absolute oil and its application in tobacco flavoring [J]. *Tobacco Science & Technology/Tobacco Chemistry*(烟草科技), 2005, (3): 18-21.
- [15] Li Fugao (李福高), Shao Qing (邵青), Li Fan (李凡), *et al.* Study on volatile compounds of chrysanthemum, other chrysanthemums and wildchrysanthemum in different phenological periods [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药), 2008, 39(6): 831-833.
- [16] Zhang Yu (张昱). Study on the changes of aroma substances in musalaisi wine by E-nose and GC-MS [D]. Tarim University(塔里木大学), 2017.
- [17] Sun Jinyuan (孙金沅), Gong Lili (宫俐莉), Liu Guoying (刘国英), *et al.* Analysis of volatile compounds in fermented grains of Chinese Gujinggong liquor by solvent-assisted flavor evaporation combined with GC-MS and GC-O [J]. *Food Science* (食品科学), 2016, 37(24): 87-93.
- [18] Clark B C, Chamblee T S. Acid-catalyzed reactions of citrus oils and other terpene-containing flavors[J]. *Developments in Food Science*, 1992, 28: 229-285.