

酶/酸水解毛叶木姜子中键合态香味成分的比较

梁淼¹, 杨艳¹, 石嘉悦¹, 汪兴平², 郑福平³, 余爱农^{1,3*}

(1. 湖北民族大学 化学与环境工程学院, 湖北 恩施 445000; 2. 湖北民族大学 生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000; 3. 北京工商大学 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100048)

摘要: 采用 Amberlite XAD-2 树脂吸附洗脱分离毛叶木姜子中的键合态香气物质前体, 将分离得到的键合态香气物质前体在 AR2000 酶、果胶酶和酸 3 种条件下分别进行水解释放, 采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 对水解后的键合态香气物质进行分离分析。结果表明: 3 种水解条件得到的键合态香气物质共有 90 种, 主要为萜烯类和含氧萜类物质。其中, 香叶醇在 2 种酶水解条件下均含量高, 果胶酶水解条件下含量最高达 21798.79 $\mu\text{g/L}$; 共 34 种香气物质具有明显香气特征, 2 种酶水解下最显著的香气特征为花香和甜香; 酸水解条件下最显著的香气特征为花香。酶水解与酸水解条件下得到的键合态香气物质存在明显差异, 果胶酶水解条件下所检出的香气物质种类多且含量较高。因此, 果胶酶处理更有利于毛叶木姜子键合态香气成分的释放。

关键词: 毛叶木姜子; 键合态香气物质; 酶水解; 酸水解; 香料与香精

中图分类号: O657.63; TS264.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2020)05-0989-08

Comparison of enzymatic and acid hydrolysis of bound aroma compounds in *Litsea mollis* Hemsl.

LIANG Miao¹, YANG Yan¹, SHI Jiayue¹, WANG Xingping², ZHENG Fuping³, YU Ainong^{1,3*}

(1. School of Chemistry & Environmental Engineering, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, Hubei, China; 2. College of Biological Science and Technology, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, Hubei, China; 3. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Bound aroma precursors from *Litsea mollis* Hemsl. were separated by Amberlite XAD-2 column chromatography and then hydrolyzed under AR2000 enzyme, pectinase and acid three different conditions to release bound aroma compounds, respectively. The obtained bound aroma compounds were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The result showed that 90 bound aroma compounds were identified under three hydrolysis conditions, mainly including terpenes and oxygenated monoterpenes. Among them, geraniol was more abundant compound under two enzymatic hydrolysis conditions, its highest content of 21798.79 $\mu\text{g/L}$ was obtained under the pectinase hydrolysis condition. A total of 34 aroma substances exhibited obvious aroma characteristics. And the most significant aroma characteristic was floral and sweet under two enzymatic hydrolysis conditions, and that was floral under the acid hydrolysis. There were obvious differences in the composition of bound aroma compounds under the enzymatic hydrolysis conditions and acid hydrolysis condition. The more kinds and high content of aroma compounds were detected under the pectinase hydrolysis condition. Therefore, pectinase hydrolysis is more conducive to release the bond aroma components of *Litsea mollis* Hemsl..

Key words: *Litsea mollis* Hemsl.; bound aroma compounds; enzymatic hydrolysis; acid hydrolysis; perfumes and essences

香味化合物不仅以游离态形式存在, 还以键合态形式存在。糖苷键合态香气物质是一类可以与糖类物

收稿日期: 2019-11-20; 定用日期: 2020-01-19; DOI: 10.13550/j.jxhg.20191094

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2018YFD0400104); 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心开放基金 (20171010)

作者简介: 梁淼 (1996—), 女, 硕士生。联系人: 余爱农 (1963—), 男, 教授, E-mail: a.n.yu@163.com.

质通过糖苷键结合,以糖苷形式存在的不具挥发性的香气前体物质^[1]。近年来对于食品中键合态香气物质的研究愈来愈多。据文献报道,已在许多天然产物中分离出糖苷键合的挥发性化合物,例如酒类^[2-3]、水果^[4-6]、茶叶^[7-8]等,但鲜见对毛叶木姜子中的键合态香气成分的报道。

毛叶木姜子(*Litsea mollis* Hemsl.)又称山胡椒、木姜子、大木姜,为樟科(*Lauraceae*)木姜子属,是中国特有的香料植物资源之一^[9],在西南部被广泛用作香料,并可用酱油、醋、胡椒、大蒜和姜腌制受欢迎开胃凉菜^[10]。毛叶木姜子中的键合态挥发性化合物可通过酶水解和酸水解释放出来,从而增强果实的香气特征^[11-12]。酶可以解离糖苷键,释放出键合态的芳香物质,起到自然增香的作用。在成熟、储存、工业预处理或加工过程中,可以通过酶促或化学反应从这些非挥发性前体(包括醇、萜类、类异戊二烯、挥发性有机酸和莽草酸衍生物等)中释放出香气化合物^[13-14]。酸水解发生得很慢,可通过加热来加速其发生^[15]。孙爱东等^[16]在 2 种水解方法下通过对橙汁(皮)的研究得出,酶水解反应条件温和,得到的风味产物香气更能接近样品真实风味。任婧楠等^[17]通过对树莓果汁键合态香气物质进行不同条件的酸水解发现,随着水解 pH 的降低,水解得到的键合态香气物质会逐渐增多。由此可见,通过酸、酶处理使键合态芳香物质从前体中释放出来增强或改变食品的风味是食品增香的一条重要途径。

对食品中风味成分的提取是分析其风味化合物种类的重要步骤。蒸馏法(SDE)的萃取效率较高,可高温浓缩挥发性化合物且起到分离作用,但其高温、高湿的提取条件可能令香气组分发生变化^[18]。超临界流体萃取法(SFE)作为一种新型萃取技术具有高效、污染小、产率高、质量好等特点,但因超临界流体的溶液密度、溶解度、黏度等随压力和温度变化幅度较大,所以具有很强的选择性^[19]。减压蒸馏萃取法(VDE)与溶剂辅助风味蒸发法(SAFE)适用于较低温度下的萃取,可有效避免热分解,SAFE 尤其适用于挥发性化合物从难挥发组分中分离,但这 2 种方法对样品需求量较大且耗时长^[20-21]。顶空固相微萃取(HS-SPME)是从样品中吸附气液平衡态挥发性成分到检测端解析的一种技术,不同纤维层的萃取头可以吸附不同极性的挥发性化合物。该技术操作简便、重现性好、灵敏度高、对样品需求量低,具有广泛的适用性。更重要的是,SPME 避免了风味成分在高温、高湿条件下的热分解和水解,能够保持毛叶木姜子较原始的风味特征^[22]。目前此项技术被普遍应用到食品^[23]、化工^[24]、医药^[25]

等行业。

本文考察了果胶酶^[26]、AR2000(RAPIDASE[®] SENSATION)酶^[27]和酸性缓冲液^[28]对毛叶木姜子果实键合态芳香物质水解效果的影响,用 HS-SPME 方法提取风味成分并经过 GC-MS 分析来比较水解方式在实际果蔬加工中的增香作用。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

毛叶木姜子样品,2019年5月从云南省保山市龙陵县新寨采摘(海拔1668m,经纬度:N98°39'25",E024°35'35"),采摘后-78℃超低温冰箱储存。

乙醚(AR),上海马陆制药厂;正戊烷(AR)、乙酸乙酯(AR)、氯化钠(AR)、柠檬酸(AR)、磷酸氢二钠(AR)、二氯甲烷(AR)、甲醇(HPLC),国药集团化学试剂有限公司;AR2000酶,帝斯曼(中国)有限公司;果胶酶、正壬醇(质量分数≥98%),Amberlite XAD-2树脂(20~60目),美国 Supelco 公司;C7~C30正构烷烃(GR),美国 Sigma-Aldrich 公司。

JYZ-E16榨汁机,九阳股份有限公司;RE-52AA型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;6890N/5975MSD气质联用仪、20mL带隔垫(1.5mm)顶空螺纹口样品瓶和A型磁力搅拌子,美国 Agilent 公司;固相微萃取头(50/30μm DVB/CAR/PDMS),美国 Supelco 公司;SHZ-III循环水式多用真空泵,临海谭式真空泵设备有限公司;Avanti J-30I冷冻高速离心机、密封瓶(250mL PET),美国 BECKMAN COULTER 公司;CONCEPT 多功能样品前处理系统,德国 PAS 公司。

1.2 实验过程

1.2.1 果汁的制备

取毛叶木姜子果实样品解冻至室温后立即榨汁离心(6000 r/min, 20 min, 4℃)后取400mL上清液待用。

1.2.2 键合态挥发性物质的水解释放

提取方法如文献[1],果汁流经 Amberlite XAD-2 大孔吸附型树脂后分别用蒸馏水、乙醚和正戊烷混合溶液(体积比1:1)洗去糖、酸及游离态成分,用甲醇洗脱已吸附的键合态物质并旋转蒸发至干,将其溶于缓冲溶液(酶水解的缓冲液为pH 5.5的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液;酸水解的缓冲液为pH 2.5的柠檬酸缓冲液)中待水解。水解方法如下:称取800mg^[29]AR2000酶于顶空瓶内振荡摇匀,使其充分溶解于获得的水相中,37℃下酶解48h,进行AR2000酶水解;称取600mg果胶酶,条件同上,

进行果胶酶水解; 将获得的水相于 100 °C 下加热 1 h^[28], 进行酸水解。酶/酸水解液等分 4 份, 分别加入 20 μL 正壬醇 (1.0108 g/L) 作内标, 同时将 2.00 g NaCl 和 A 型磁力搅拌子放入 20 mL 顶空螺纹口样品瓶。拧紧瓶盖做后续键合态风味成分分析。

1.2.3 GC-MS 分析

采用 CONCEPT 多功能前处理系统和气质联用仪 (GC-MS) 对毛叶木姜子风味成分进行分析。

HS-SPME: 装样的样品瓶在 50 °C 下平衡 20 min, 插入萃取头 (50/30 μm DVB/CAR/PDMS) 至隔垫下方 5 mm 处, 50 °C 下萃取 36 min, GC 进样口解析 2 min。

GC: J&W DB-5MS 毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度 250 °C; 升温程序: 起始柱温 40 °C, 保持 4 min; 5 °C/min 升温至 260 °C; 15 °C/min 升温至 280 °C, 保持 1 min; 载气 (He) 流速 1 mL/min; 不分流进样。

MS: 离子源温度 250 °C; 电子轰击 (EI) 模式; 电子能量 70 eV; 质量扫描范围 45~550 u; 扫描方式为全扫描; 调谐文件为标准调谐。

1.2.4 定性分析

参照 NIST08 数据库对谱图进行初步检索及质谱分析, 将测定的保留指数 (RI) 与文献报道的保留指数进行比对, 辅助定性。保留指数计算公式根据 C7~C30 正构烷烃的保留时间得出, 将 C7~C30 正构烷烃单独进样, 前处理及 GC-MS 分析方法与样品处理一致。

1.2.5 定量分析

采用内标法对毛叶木姜子键合态挥发性成分进行定量, 内标物为正壬醇的乙醇溶液 (1.0108 g/L)。根据正壬醇的质量浓度和各样品中正壬醇峰面积的比值进行比较。根据式 (1) 计算挥发性成分的量。

$$x_i = f_i \frac{A_i}{A_s} m_s \quad (1)$$

式中: x_i 为组分含量, μg/L; m_s 为内标化合物质量浓度, μg/L; A_i 为化合物的峰面积; A_s 为内标物峰面积; f_i 为待测组分 (i) 对内标物 (S) 的质量校正因子, 令其为 1。

1.2.6 香气活度 OAV 的计算

根据毛叶木姜子香气成分的含量, 以及各化合物在水中的气味阈值来计算 OAV 值。

$$\text{OAV} = \frac{\rho}{\text{OT}} \quad (2)$$

式中: ρ 为该化合物的质量浓度, μg/L; OT 为该化合物在水中的气味阈值, μg/L。

2 结果与讨论

2.1 键合态挥发性成分分析

经 Amberlite XAD-2 大孔吸附树脂吸附, 并分别通过 AR2000 酶/果胶酶/酸水解释放糖苷键合态挥发性组分, 采用 HS-SPME 方法萃取吸附毛叶木姜子果汁的挥发性组分, 结合 GC-MS 系统进行分析, 经 MS/RI 定性, 内标法定量, 所检出键合态挥发性成分见表 1。

表 1 毛叶木姜子中键合态挥发性化合物
Table 1 Bond volatile compounds in *Litsea mollis* Hemsl

序号	RI	CAS	化合物	AR2000 酶水解质量浓度 / (μg/L)	果胶酶水解质量浓度 / (μg/L)	酸水解质量浓度 / (μg/L)
1	867	544-12-7	3-己烯-1-醇	-	19.74±1.63	-
合计			醇类(1)	0	19.74	0
2	957	471-84-1	葑烯	24.73±4.63	-	-
3	963	13466-78-9	3-萹烯	-	-	122.68±1.03
4	978	1686-30-2	α-月桂烯	-	26.22±2.44	-
5	991	127-91-3	β-蒎烯	-	3725.02±303.37	-
6	991	18172-67-3	L-β-蒎烯	1297.05±65.22	-	-
7	1002	99-83-2	α-水芹烯	122.62±7.16	112.49±6.27	-
8	1016	99-86-5	α-松油烯	-	-	2466.66±41.24
9	1030	1461-27-4	枞油烯	1197.27±60.20	2868.26±233.59	-
10	1035	3779-61-1	(E)-罗勒烯	339.99±20.08	838.52±71.99	725.64±12.13
11	1045	3338-55-4	(Z)-罗勒烯	486.63±29.55	1221.71±140.83	-
12	1056	99-85-4	γ-松油烯	207.53±10.43	1341.58±81.64	1293.53±21.63
13	1084	586-62-9	萹品油烯	370.58±18.63	1310.14±79.73	6198.17±103.64
14	1093	1195-32-0	p-异戊烯	-	-	6010.35±100.50
15	1128	7216-56-0	别罗勒烯	148.23±7.45	428.10±34.86	-
16	1141	460-01-5	波斯菊萹	-	-	1239.63±20.73

续表 1

序号	RI	CAS	化合物	AR2000 酶水解质量浓度 / (μg/L)	果胶酶水解质量浓度 / (μg/L)	酸水解质量浓度 /(μg/L)
17	1090	1195-32-0	脱氢对伞花烃	115.29±5.80	—	—
18	1339	20307-84-0	(+/-)- δ -榄香烯	—	60.71±6.54	—
19	1383	13744-15-5	毕澄茄烯	—	35.27±6.47	—
20	1390	515-13-9	β -榄香烯	—	72.80±5.93	—
21	1421	87-44-5	β -石竹烯	72.39±3.64	754.81±61.47	—
22	1429	3242-08-8	甘香烯	—	114.73±9.34	—
23	1434	22567-17-5	γ -古芸烯	—	48.02±6.27	—
24	1453	28973-97-9	(<i>E</i>)- β -金合欢烯	66.45±6.48	551.59±44.92	350.01±5.85
25	1475	30021-74-0	γ -衣兰油烯	—	45.53±3.71	—
26	1488	489-29-2	β -马榄烯	—	311.77±25.39	—
27	1501	502-61-4	金合欢烯	—	377.40±30.74	—
28	1507	495-61-4	β -甜没药烯	35.78±1.80	170.73±13.90	—
29	1518	39029-41-9	γ -杜松烯	—	28.01±2.28	—
30	1523	20307-83-9	β -倍半水芹烯	49.15±8.41	114.73±9.34	—
31	1561	489-84-9	愈创兰油烃	—	—	287.45±4.81
32	1646	156747-45-4	4,5,9,10-脱氢-异长烯炔	—	—	215.59±3.60
合计			萜烯类(31)	4553.69	14558.14	18909.71
33	1352	97-53-0	丁香酚	230.59±11.59	551.59±44.92	—
34	1446	5932-68-3	顺式-异丁香酚	62.26±3.13	42.29±7.44	—
合计			酚类(2)	292.85	593.88	0
35	1297	10067-29-5	反式柳叶刀醇	—	—	437.52±7.32
36	1378	13832-89-8	4-异丙基-1, 3-环己二烯 甲醇	—	—	171.97±2.88
37	1407	13832-89-8	球姜酮	—	—	146.92±2.46
38	1586	6754-66-1	吉莉酮	—	—	598.01±10.00
39	1052	22460-59-9	2,6-二甲基-1,7-辛二烯 -3-醇	—	—	1278.94±45.28
40	1074	5989-33-3	氧化芳樟醇	107.34±5.4	—	4958.54±82.91
41	1107	78-70-6	芳樟醇	3112.91±156.5	3065.72±186.56	2975.12±49.75
42	1122	99-48-9	香芹醇	—	181.29±5.14	—
43	1128	543-39-5	月桂烯醇	—	—	1608.17±26.89
44	1134	22771-44-4	顺式- <i>p</i> -薄荷-2,8-二烯 -1-醇	140.75±11.45	—	—
45	1138	547-61-5	L-松香芹醇	183.11±9.21	—	—
46	1172	124-76-5	异龙脑	208.1±23.38	—	—
47	1178	562-74-3	4-萜烯醇	282.99±14.23	843.61±68.70	—
48	1198	98-55-5	α -松油醇	3144.35±158.1	717.07±58.40	19834.14±331.8
49	1212	586-81-2	γ -萜品醇	—	—	743.78±12.44
50	1216	138-87-4	β -萜品醇	444.70±22.36	—	—
51	1223	29548-16-1	对-薄荷-1(7)-烯-9-醇	—	—	2587.06±43.26
52	1223	106-25-2	橙花醇	5188.18±260.9	14341.31±1167.9	—
53	1236	1197-07-5	反式-香芹醇	100.42±5.05	—	258.71±4.33
54	1241	5944-20-7	异香叶醇	27.75±1.12	102.44±8.34	58.91±0.99
55	1255	35907-10-9	异香芹醇	—	—	1322.28±22.11
56	1261	106-24-1	香叶醇	6485.23±326.1	21798.79±1775.3	—
57	1279	18479-68-0	(+)- <i>p</i> -薄荷-1-烯-9-醇	—	—	5409.31±90.45
58	1289	536-59-4	紫苏醇	143.60±7.22	894.49±68.58	1700.07±28.43
59	1297	29548-13-8	<i>p</i> -薄荷-1(7), 8(10)-二烯 -9-醇	511.99±25.74	—	540.93±9.05
60	1318	80-53-5	萜品醇	—	—	50.96±4.69
61	1321	22451-48-5	反式-8-对-薄荷-7-醇	—	—	297.51±4.97

续表 1

序号	RI	CAS	化合物	AR2000 酶水解质量浓度 / ($\mu\text{g/L}$)	果胶酶水解质量浓度 / ($\mu\text{g/L}$)	酸水解质量浓度 / ($\mu\text{g/L}$)
62	1330	22539-72-6	1,4-对甲基-7-醇	34.59±1.74	37.94±3.09	991.71±16.58
63	1359	64142-78-5	8-羟基香茅醇	42.64±2.14	34.39±5.75	—
64	1098	1195-92-2	(R)-氧化柠檬烯	—	—	875.04±14.63
65	1218	29548-14-9	薄荷烯	—	—	1983.41±33.17
66	1161	30460-92-5	松香芹酮	67.67±3.40	597.55±48.66	—
67	1205	18309-32-5	马鞭草烯酮	—	96.15±11.84	—
68	1125	16409-43-1	玫瑰醚	55.53±0.35	486.37±35.37	6636.90±127.19
69	1161	1786-08-9	橙花醚	194.56±9.78	—	1101.90±18.43
70	1184	106-23-0	香茅醛	—	—	5950.25±99.50
71	1206	18031-40-8	紫苏醛	185.15±3.72	—	—
72	1218	29548-14-9	<i>p</i> -薄荷-1-烯-9-醛	—	186.25±15.17	—
73	1240	106-26-3	β -柠檬醛	222.35±11.18	478.04±38.93	—
74	1267	141-27-5	α -柠檬醛	409.59±20.60	796.74±64.89	—
75	1272	5392-40-5	柠檬醛	—	—	299.12±15.80
76	1030	10198-23-9	乙酸- β -萜品酯	—	—	5891.33±98.51
77	1242	80-26-2	乙酸萜酯	—	—	451.71±7.65
78	1321	2349-14-6	香叶酸甲酯	21.14±0.59	89.63±7.30	—
79	972	7392-19-0	芳樟醇-3,7-氧化物	—	—	8880.96±148.50
80	991	1686-14-2	α -蒎烯环氧化物	—	—	4577.11±76.53
81	1006	6909-20-2	4,5-环氧乙烷	—	—	3305.69±55.28
82	1049	7416-35-5	2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃	—	—	3699.64±159.81
83	1345	72845-33-1	芳樟醇乙醚	—	—	172.47±2.88
84	1068	38049-26-2	二氢香芹醇	—	148.37±24.52	2621.25±43.83
合计			含氧萜类(50)	21314.64	44896.15	92417.34
85	986	110-93-0	甲基庚烯酮	23.14±2.13	83.85±7.61	—
86	1381	23696-85-7	大马酮	—	—	319.91±5.35
87	1437	56298-98-7	3,3,4,5-四甲基-2H-茛-1-酮	—	—	160.82±2.69
88	1193	119-36-8	柳酸甲酯	1831.12±92.07	3573.33±144.69	991.71±16.58
89	1397	103-26-4	肉桂酸甲酯	9.79±0.49	—	—
90	1143	55955-46-9	羟紫罗兰酮	—	—	140.01±2.34
			其他类(6)	1864.05	3657.18	2329.35

注：“—”表示未检出。

由表 1 可知, 经过 GC-MS 分析, 共检出毛叶木姜子键合态挥发性成分 90 种, 包括醇类 (1 种), 萜烯类 (31 种), 酚类 (2 种), 含氧萜类 (50 种), 其他类 (6 种)。

AR2000 酶水解条件下, 共含 42 种香气成分, 含量较高的是香叶醇 (6485.23 $\mu\text{g/L}$)、橙花醇 (5188.18 $\mu\text{g/L}$)、 α -松油醇 (3144.35 $\mu\text{g/L}$)、芳樟醇 (3112.91 $\mu\text{g/L}$), 含萜烯类 14 种, 酚类 2 种, 含氧萜类 23 种和其他类 3 种; 在果胶酶水解条件下, 共包含 45 种香气成分, 含量较高的是香叶醇 (21798.79 $\mu\text{g/L}$)、橙花醇 (14341.31 $\mu\text{g/L}$)、 β -蒎烯 (3725.02 $\mu\text{g/L}$)、芳

樟醇 (3065.72 $\mu\text{g/L}$), 含括醇类 1 种, 萜烯类 22 种, 酚类 2 种, 含氧萜类 18 种和其他类 2 种; 酸水解条件下, 共确定了 48 种香气成分, 含量较高的是 α -松油醇 (19834.14 $\mu\text{g/L}$)、萜品油烯 (6198.17 $\mu\text{g/L}$)、芳樟醇-3,7-氧化物 (8880.96 $\mu\text{g/L}$)、*p*-异戊烯 (6010.35 $\mu\text{g/L}$), 共包括萜烯类 10 种, 含氧萜类 34 种和其他类 4 种。酶水解和酸水解各类香气成分总浓度自然对数值见图 1。

如图 1 所示, 果胶酶水解条件下毛叶木姜子香气成分不仅种类多且含量较高; 酸水解条件下香气成分的含量虽然最高但未检测到醇类与酚类物质。

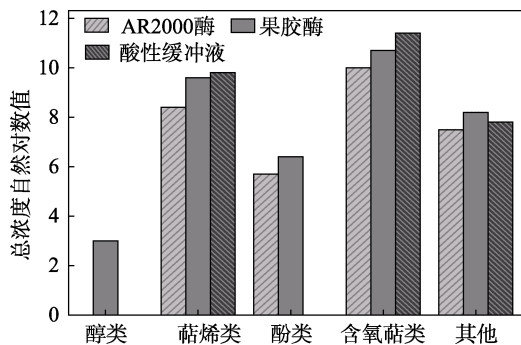


图 1 酶水解和酸水解各类香气成分总浓度自然对数值
Fig. 1 Total concentration Natural logarithm map of aroma components by enzymatic hydrolysis and acid hydrolysis

萜类成分普遍存在于植物果实和花香中，对毛叶木姜子果实香气也有很大的贡献^[30]。其中，浓度

最高的香叶醇广泛应用于药物、烟草、食品配料等领域^[31]。香叶醇与橙花醇互为顺反异构，其在 80 °C 以上水解 1 h 的主要酸水解产物为芳樟醇。芳樟醇是形成 α -松油醇的中间产物，在 pH 为 2.4 的柠檬酸、香叶醇和橙花醇的作用下，形成了 α -松油醇、芳樟醇。酸水解条件下香气成分种类表明萜类化合物在酸性环境中不稳定，特别是在高温下分子易发生重排，形成其他的萜类化合物^[32]；2 种酶水解下共有香气成分 29 种，酶水解条件温和，香气成分不易转化。

2.2 键合态挥发性成分香气活度分析

化合物的香气活度值由其质量浓度和气味阈值决定。所检出的键合态挥发性成分香气活度值及香气特征见表 2。

表 2 键合态挥发性成分香气特征及香气活度值
Table 2 Aroma characteristics and odor activity values of bonded volatile components

名称	香气特征	OT 值	AR2000 酶 OAV	果胶酶 OAV	酸水解 OAV
2,6-二甲基-1,7-辛二烯-3-醇	-	770	-	-	2
氧化芳樟醇	木香、花香	1100	<1	-	5
芳樟醇	铃兰香、木香、果香	6	519	511	496
苯乙醇	玫瑰花香	564.23	1	-	-
异龙脑	樟脑味	16	13	-	-
4-萜烯醇	胡椒味、木香、霉味、甜香	130	2	6	-
α -松油醇	松节油香、木香、果香、花香	330	10	2	60
橙花醇	花香、果香	2200	2	7	-
反式-香芹醇	辛辣	250	<1	-	1
香叶醇	花香、甜香	30	216	727	-
桃金娘烯醇	花香，薄荷香	7	-	12	-
紫苏醇	脂香、青草、辛辣	1100	<1	1	2
β -蒎烯	木香、树脂味	140	-	27	-
α -水芹烯	甜香、玫瑰香	40	3	3	-
(E)-罗勒烯	甜香	34	10	25	21
(Z)-罗勒烯	果香	55	9	22	-
γ -松油烯	松节油香、柠檬香、草香	1000	<1	1	1
萜品油烯	木香、果香	200	2	7	31
p-异戊烯	辛辣、脂香、霉味和丁香花香	85	-	-	71
(R)-氧化柠檬烯	柑橘香、薄荷香	100	-	-	9
薄荷烯	辛辣、药草香	250	-	-	8
β -石竹烯	木香、香料味	64	1	12	-
甲基庚烯酮	霉味、柠檬香、苹果香	68	<1	1	-
(-)-玫瑰醚	花香	500	<1	1	13
橙花醚	花香、蜡味、药草香	80	2	-	14
香茅醛	玫瑰香、柑橘柠檬香	100	-	-	60
紫苏醛	辛香	30	6	-	-
β -柠檬醛	柠檬香	53	4	9	-
α -柠檬醛	柠檬香	37	11	22	-
柠檬醛	柠檬香	53	-	-	6
柳酸甲酯	冬青叶香	40	46	89	25
乙酸萜酯	木香、柑橘、辛辣、花香	250	-	-	2
丁香酚	花香	2.5	92	221	-
2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃	柑橘、薄荷香、石灰味	30	-	-	120

由表2可知,毛叶木姜子果实中共检出90种键合态挥发性化合物,其中,34种具有明确香气特征,包括12种萜醇类,10种萜烯类,1种酮类,2种醚类,5种醛类,2种酯类,1种酚类和1种呋喃类,但并不是所有香气成分都对毛叶木姜子的整体香气有等同的影响。为了评估各种挥发物对毛叶木姜子果实的香气贡献,用化合物浓度的平均值和水中的气味阈值来计算OAV值^[33]。当OAV值大于1时,挥发性组分才被认为对香气有贡献。

在AR2000酶水解条件下,有18种组分OAV \geq 1,其中OAV>100的有芳樟醇(OAV:519)、香叶醇(OAV:216);在果胶酶水解条件下有20种组分OAV \geq 1,其中OAV>100的有芳樟醇(OAV:511)、香叶醇(OAV:727)、丁香酚(OAV:221);在酸水解条件下有19种组分OAV \geq 1,其中OAV>100的有芳樟醇(OAV:496)、2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃(OAV:120)。由此可见,萜醇类物质对毛叶木姜子键合态香气起到主要贡献,果胶酶水解条件下的香叶醇香气活度值最高,赋予毛叶木姜子花香和甜香^[34]。其次为芳樟醇,使酶解后的毛叶木姜子呈现出铃兰香、木香和果香^[35]。丁香酚使果胶酶水解后的毛叶木姜子具有丁香花的气味^[36]。

化合物的气味描述取决于气味浓度,气味也通常由不同的特征方向来描述^[37-38]。将化合物分为甜香、花香、木香、果香和化学味,得到3种水解方法下毛叶木姜子键合态芳香化合物的香气特征,如图2所示。图2中坐标值由OAV值取对数计算得到。

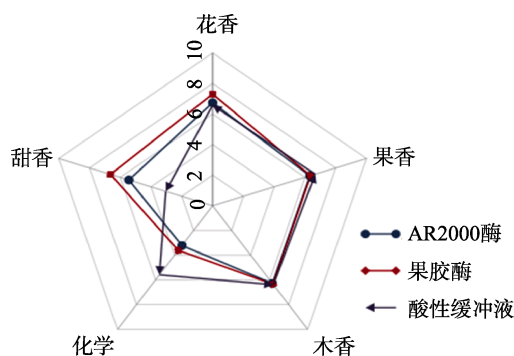


图2 3种水解条件下香气特征雷达图

Fig. 2 Aroma characteristics under three hydrolysis condition

由图2可见,两种酶水解香气特征较一致,酶水解条件下毛叶木姜子香气特征主要表现为花香和甜香,来自于香叶醇、(E)-罗勒烯、芳樟醇、丁香酚等物质的贡献;其次为木香和果香,主要来自于芳樟醇、(Z)-罗勒烯、萜品油烯、 β -石竹烯以及 β -柠檬醛和 α -柠檬醛的贡献,果胶酶水解下的香气特征更明显;酸水解条件下最显著的香气特征为花香,但此条件下产生的化学味(令人不愉快的气味)也较

显著,包括 α -松油醇呈现的松节油气味,*p*-异戊烯产生的霉味,橙花醚中的蜡味以及2,2-二甲基-5-(1-甲基-1-丙烯基)四氢呋喃所包含的石灰味。酸水解后毛叶木姜子表现出的甜香香气特征值最低。

3 结论

通过顶空固相微萃取和GC-MS分析技术,将毛叶木姜子键合态香气成分在3种水解条件下由RI/MS定性共得到90种香气成分,包括醇类1种、萜烯类31种、酚类2种、含氧萜类50种、其他类6种;AR2000酶水解条件下有42种,果胶酶水解条件下有45种,酸水解条件下有48种,2种酶水解下共有香气成分29种,酶水解下的香气成分较一致。

通过内标法定量可知,毛叶木姜子键合态挥发性成分含量最高的为香叶醇,果胶酶水解条件下最高质量浓度达21798.79 $\mu\text{g/L}$;共有34种键合态挥发性成分具有明确香气特征,在2种酶水解下最显著香气特征为花香和甜香,来自于香叶醇、(E)-罗勒烯、芳樟醇、丁香酚等物质的贡献;酸水解条件下最显著香气特征为花香。

酸水解发生的较缓慢,需要高温催化,香气成分在酸性及高温条件下易发生转变,因此酶水解更适用于释放毛叶木姜子键合态香气成分。通过对2种酶水解下香气成分的种类和浓度的比较可知,果胶酶水解更有利于毛叶木姜子键合态香气成分的释放。

参考文献:

- [1] YANG Yini (杨旖旎). Study on free and bound aroma components of five natural products in wuling area[D]. Enshi: Hubei Minzu University (湖北民族大学), 2019.
- [2] KANG Mingli (康明丽), PAN Siyi (潘思轶), GUO Xiaolei (郭小磊). Analysis of free and bound flavor compounds in fruit wines produced from Satsuma Mandarin juice with different treatments[J]. Food Science (食品科学), 2016, 37(2): 153-159.
- [3] DONG Man (董曼), REN Jingnan (任婧楠), YANG Ziyu (杨子玉), et al. Identification of free and bound aroma compounds in raspberry wine by gas chromatography-olfactometry[J]. Modern Food Science and Technology (现代食品科技), 2015, 31(12): 345-354, 213.
- [4] ZHOU Zhi (周志), WANG Xingping (汪兴平), LUO Zuyou (罗祖友), et al. Identification and analysis of free and O-glycoside-bound volatile components in wild rosa roxburghii juice[J]. Food Science (食品科学), 2012, 33(14): 192-197.
- [5] WEN Y Q, HE F, ZHU B Q, et al. Free and glycosidically bound aroma compounds in cherry (*Prunus avium* L.)[J]. Food Chemistry, 2014, 152(6): 29-36.
- [6] CHASSAGNE D, CROUZET J, BAYONOVE C L, et al. Glycosidically bound eugenol and methyl salicylate in the fruit of edible passiflora species[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(7): 2685-2689.
- [7] YANG Yini (杨旖旎), YANG Guiqiu (杨桂秋), YANG Xiaohong (杨小洪), et al. Analysis of free and bond volatile components in Hawk tea[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2019, 45(3): 254-260.

- [8] LONG Dan (龙丹), LIU Xiaohui (刘晓辉), WU Hanyin (吴函殷), *et al.* Utilization of bond aroma precursors in tea[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2016, 42(12): 120-124.
- [9] CAO Guangqiu (曹光球), LIN Sizhu (林思祖). Preliminary exploration on *Litsea cubeba* L. bioenergy resource and its comprehensive utilization in Fujian Province[J]. Biomass Chemical Engineering (生物质化学工程), 2006, 40(S1): 221-223.
- [10] ZHANG Xiaomei (张晓梅). Spices and food culture in native minorities of Dehong[J]. Agricultural Science & Technology (农业科学与技术), 2015, 16(2): 380-383.
- [11] FAN Gang (范刚), WANG Kexing (王可兴), PAN Siyi (潘思轶). Advances in research of glycosidically bound aroma compounds in fruits[J]. Scientia Agricultura Sinica (中国农业科学), 2010, 43(24): 5100-5111.
- [12] SÁNCHEZ-PALOMO E, ALONSO-VILLEGAS R, GONZÁLEZ VIÑAS M A. Characterisation of free and glycosidically bound aroma compounds of La Mancha Verdejo white wines[J]. Food Chemistry, 2015, 173(15): 1195-1202.
- [13] SARRY J E, GÜNATA Z. Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors[J]. Food Chemistry, 2004, 87(4): 509-521.
- [14] GAO J, WU B P, GAO L X, *et al.* Glycosidically bound volatiles as affected by ripening stages of satsuma mandarin fruit[J]. Food Chemistry, 2017, 240: 1097-1105.
- [15] SKOUROUMOUNIS G K, SEFTON M A. Acid-catalyzed hydrolysis of alcohols and their beta-D-glucopyranosides[J]. Agricultural Food Chemistry, 2000, 48(6): 2033-2039.
- [16] SUN Aidong (孙爱东), GE Yiqiang (葛毅强), NI Yuanying (倪元颖), *et al.* Analysis on the effect of enzymatic hydrolysis of the main aromatic substances in orange juice (peel) by different aroma enhancers[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2001, 27(11): 1-4.
- [17] REN Jingnan (任婧楠), RONG Mao (荣茂), PENG Xun (彭勋), *et al.* Acidic hydrolysis of bound aroma compounds in Raspberry juice[J]. Food Science (食品科学), 2013, 34(13): 101-104.
- [18] YANG Z Y, BALDERMANN S, WATANABE N. Recent studies of the volatile compounds in tea[J]. Food Research International, 2013, 2(53): 585-599.
- [19] ZHAO Dan (赵丹), YIN Jie (尹洁). Supercritical fluid extraction technology and its application[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences (安徽农业科学), 2014, 42(15): 4772-4780.
- [20] ZHU Qi (朱旗), SHI Zhaopeng (施兆鹏), REN Chunmei (任春梅). Changes of aroma of instant green tea during the process by vacuum distillation extract[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences) (湖南农业大学学报: 自然科学版), 2001, 27(3): 218-220.
- [21] YANG Mengyun (杨梦云), ZHENG Fuping (郑福平), DUAN Yan (段艳), *et al.* Analysis of volatiles in wild Chinese chive flowers by solvent extraction/solvent-assisted flavor evaporation coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science (食品科学), 2011, 32(20): 211-216.
- [22] XIONG Maofu (熊茂富), REN Min (任敏), DU Yi (杜伊), *et al.* Simultaneous determination of 12 chloroanisoles in lake reservoir waters by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Rock and Mineral Analysis (岩矿测试), 2019, 38(6): 724-733.
- [23] WANG Xuemei (王雪梅), SUN Wenjia (孙文佳), LI Yalong (李亚隆), *et al.* Quality analysis of different Pixian broad-bean paste from different fresh pepper-producing areas [J/OL]. Food Science (食品科学), 2019, 1-16 [2020-02-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20190917.1756.131.html>.
- [24] YIN Qi (尹起), LIU Xiaoteng (刘晓滕), LI Hui (李辉). Preparation of the graphene layer by layer bonded solid phase microextraction fibers and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory (分析实验室), 2019, 39(3): 298-302.
- [25] WANG Shengxin (王圣鑫), YU Aiming (余爱明), YAN Xiangli (闫向丽), *et al.* Analysis of volatilis components' variation before and after combination in angelica and ligusticum by headspace solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry[J/OL]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine (中华中医药学刊), 2019, 1-14 [2020-02-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20191112.0959.002.html>.
- [26] YANG Y N, ZHENG F P, YU A N, *et al.* Changes of the free and bound volatile compounds in *rubus corchorifolius* L. f. fruit during ripening[J]. Food Chemistry, 2019, 287: 232-240.
- [27] SCHNEIDER R, RAZUNGLES A, AUGIER C, *et al.* Monoterpenic and norisoprenoid glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. as precursors of odorants in muscadet wines[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 936(1): 145-157.
- [28] JESÚS I M, FERREIRA V, HERNÁNDEZORTE P, *et al.* Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1116(1): 217-229.
- [29] LIU Y R, WANG S Y, REN J, *et al.* Data on free and bound volatile compounds in six *ribes nigrum* L. blackcurrant cultivars[J]. Data in Brief, 2018, 17: 926-937.
- [30] ChERRI-MARTIN M, JULLIEN F, HEIZMANN P, *et al.* Fragrance heritability in Hybrid Tea roses[J]. Scientia Horticulturae, 2007, 113(2): 177-181.
- [31] SUN Lihong (孙立宏), SUN Liming (孙立明). Research progress of geraniol[J]. Northwest Pharmaceutical Journal (西北药学杂志), 2009, 24(5): 428-430.
- [32] DZIADS M, JEL Eń, HENRYK H. Comparison of enzymatic and acid hydrolysis of bound flavor compounds in model system and grapes[J]. Food Chemistry, 2016, 190(1): 412-418.
- [33] WANG D, DUAN C Q, SHI Y, *et al.* Free and glycosidically bound volatile compounds in sun-dried raisins made from different fragrance intensities grape varieties using a validated HS-SPME with GC-MS method[J]. Food Chemistry, 2017, 228(1): 125-135.
- [34] WANG Houyin (汪厚银), LI Zhi (李志), ZHANG Jian (张剑), *et al.* Determination of characteristic aromatic components in Xihu Longjing tea by GC-MS and GC-Olfactometry[J]. Food Science (食品科学), 2012, 33(8): 248-251.
- [35] LIU Ye (刘晔), GE Liqin (葛丽琴), WANG Yuanxing (王远兴). Principal component analysis of volatile compounds in different grades of Lu Mountain Clouds-Mist tea from three regions[J]. Food Science(食品科学), 2018, 39(10): 206-214.
- [36] YANG Caijing (杨彩静), CAO Renli (曹人郦), ZHAO Ying (赵颖), *et al.* Simultaneous determination of the contents of 6 volatile components in Zhachong Shisan by GC[J]. China Pharmacy (中国药房), 2019, 30(12): 1650-1654.
- [37] BONNEAU A, BOULANGER R, LEBRUN M, *et al.* Aroma compounds in fresh and dried mango fruit (*Mangifera indica* L. cv. Kent): impact of drying on volatile composition[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(3): 789-800.
- [38] ING H, MAKRA S. Characterization of the key aroma compounds in pink guava (*Psidium guajava* L.) by means of aroma re-engineering experiments and omission tests[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(7): 2882-2888.