

# 不同酶处理对桂花浸膏及精油成分的影响

张雪松<sup>1,2</sup>, 裴建军<sup>1</sup>, 赵林果<sup>1</sup>, 汤峰<sup>3</sup>, 房仙颖<sup>1</sup>, 解静聪<sup>1</sup>

(1. 南京林业大学化学工程学院, 江苏南京 210037) (2. 江苏农林职业技术学院生物医学工程系, 江苏句容 212400) (3. 国际竹藤中心, 北京 100714)

**摘要:** 为提高桂花浸膏及精油的品质, 改进浸膏及精油制备工艺提供依据, 试验采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶、鼠李糖苷酶、 $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和 3 对桂花进行处理。经石油醚提取和水蒸气蒸馏制备桂花浸膏及精油。通过 GC-MS 分析, 复配酶效果优于单酶。与对照相比, 浸膏中二氢芳樟醇、 $\gamma$ -癸内酯、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、香叶醇和柠檬烯等主要香气物质的含量分别提高了 27.27%、116.36%、247.06%、100.00%、72.84% 以及 14.29%, 并检测出  $\beta$ -紫罗兰醇和橙花叔醇, 邻苯二甲酸酯类含量下降 56.84%。精油中芳樟醇、 $\beta$ -紫罗兰酮、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇、紫苏醇和橙花醇含量提高 156.33%、104.38%、121.54%、269.07%、156.52%、330.92%、257.47% 和 254.41%, 邻苯二甲酸酯类下降 40.08%。酶法处理可以增加桂花浸膏及精油中呈香化合物的数量, 提高主要香气物质的含量, 降低有害物质的含量, 从而提高桂花浸膏及精油的品质。

**关键词:** 桂花浸膏; 桂花精油; 糖苷酶; 风味酶

文章编号: 1673-9078(2017)4-254-263

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.039

## Effect of Different Enzymatic Treatments on *Osmanthus* Absolute Extract and the Components of *Osmanthus* Essential Oil

ZHANG Xue-song<sup>1,2</sup>, PEI Jian-jun<sup>1</sup>, ZHAO Lin-guo<sup>1</sup>, TANG Feng<sup>3</sup>, FANG Xian-ying<sup>1</sup>, XIE Jing-cong<sup>1</sup>

(1. College of Chemical Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China) (2. Department of Biomedical Engineering, Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, China) (3. International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing 100714, China)

**Abstract:** To improve the qualities of *Osmanthus* absolute extract and essential oil, and provide a basis for optimizing the process of their preparation, *Osmanthus* samples were treated with  $\beta$ -glucosidase-pectinase, rhamnosidase,  $\beta$ -glucosidase 1, and  $\beta$ -glucosidase 3. *Osmanthus* absolute extract and essential oil were obtained by petroleum ether extraction and water vapor distillation, respectively. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis showed that the performance of enzyme complexes was better than that of individual enzymes. Compared with the control, the content of dihydrolinalool,  $\gamma$ -decalactone, dihydro- $\beta$ -ionone,  $\beta$ -ionone, geraniol, and limonene was increased by 27.27%, 116.36%, 247.06%, 100.00%, 72.84%, and 14.29%, respectively. Nerolidol and  $\beta$ -ionol were also detected, and the content of phthalate esters was reduced by 56.84% in the *Osmanthus* absolute. Additionally, the content of linalool,  $\beta$ -ionone, dihydro- $\beta$ -ionone,  $\beta$ -ionol,  $\gamma$ -decalactone, geraniol, perillyl alcohol, and nerol in the essential oil was increased by 156.33%, 104.38%, 121.54%, 269.07%, 156.52%, 330.92%, 257.47%, and 254.41%, respectively, and the content of phthalate esters was reduced by 40.08%. Enzymatic treatment could increase the types of aroma compounds and the content of the main aroma components, and reduce the content of harmful substances in *Osmanthus* absolute and essential oil, thus improving their quality.

**Key words:** *Osmanthus* absolute; *Osmanthus* essential oil; glycosidase; flavor enzyme

桂花浸膏由于具有极为优雅的香味, 被广泛运用

收稿日期: 2016-03-10

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研基金专项 (201404601); 江苏省生物质绿色燃料与化学品重点实验室开放基金项目 (JSBGFC14014)

作者简介: 张雪松 (1979-), 男, 博士在读, 讲师, 研究方向: 林产化学加工工程

通讯作者: 赵林果 (1964-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 林产化学加工工程

于化妆品、香皂香精生产中, 更被全世界视为中国特产, 远销海外, 受到全世界人民的青睐。桂花精油芳香四溢, 是一种高级天然香料同时也具有多种保健功能而深受人们的喜爱, 广泛应用在食品、烟酒工业和化妆品等领域<sup>[1]</sup>。国内外关于桂花浸膏精油提取以及化学成分分析已有报道<sup>[2-4]</sup>。近年来, 随着我国经济的不断发展, 生产技术的不断提高, 桂花正走向国门, 在国际市场中日渐占有一席之地。关于桂花香气开发

及利用方面的研究也日益成为一大热点。现代生物技术的发展促进了外源生物酶在植物提取加工技术中的应用。天然植物性香料中部分发香物质的发香基团往往容易与植物细胞中小分子的脂类、蛋白质和糖类等以化学键形式结合,从而抑制了香味的散发并难以被提取。这些“风味前驱体”本身并无香味且不挥发,但若选择合适的酶进行水解,可释放出香味成分,从而提高产品的得率和品质<sup>[5]</sup>。李平等<sup>[6]</sup>研究发现用黑曲霉 $\beta$ 葡萄糖苷酶酶解后的柠檬汁中,原有的香气物质不同程度的增加,并有新风味物质芳樟醇、香叶醇和2-羟基-5-甲基苯乙酮产生。 $\alpha$ -L-鼠李糖苷酶可以作用于萜烯基糖苷,在改善葡萄汁和饮料的香气成分方面也有很重要的应用<sup>[7]</sup>。此外,利用果胶酶、纤维素酶、蛋白酶等水解酶降解植物组织,破坏植物细胞结构,有利于植物中有效成分特别是香气物质的扩散与浸出,提高植物浸出物的品质。Lavecchia等<sup>[8]</sup>应用果胶酶、纤维素酶和半纤维素酶等对番茄进行处理,番茄

红素的提取率达到77%~98%,而对照只有3%~30%。

本试验在前期筛选并优化酶法高效提取桂花浸膏与精油的基础之上,利用 $\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及不同来源的 $\beta$ 葡萄糖苷酶1和 $\beta$ 葡萄糖苷酶3对桂花进行处理,考察桂花浸膏及精油有关成分特别是主要香气物质的变化,为从根本上提高桂花浸膏与精油品质,改进制备工艺提供一定的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

市售金桂,产地为浙江;乙醚、无水硫酸钠、柠檬酸、柠檬酸氢二钠和石油醚(馏程为30~60℃)试剂均为分析纯,正己烷为色谱纯,国药集团化学试剂有限公司。不同酶制剂来源见表1。

表1 不同酶制剂的来源

Table 1 Sources of the different enzymes

名称	来源	酶活
果胶酶	南京奥多福尼生物科技有限公司	200000 IU/g
$\beta$ 葡萄糖苷酶	南京奥多福尼生物科技有限公司	100 IU/g
鼠李糖苷酶	实验室制备,来源于土曲霉 <i>Aspergillus terreus</i>	120 IU/mL
$\beta$ 葡萄糖苷酶1	实验室制备,来源于嗜热袍菌 <i>Thermotoga petrophila</i> GH1	110 IU/mL
$\beta$ 葡萄糖苷酶3	实验室制备,来源于嗜热袍菌 <i>Thermotoga petrophila</i> GH3	90 IU/mL

### 1.2 仪器与设备

Trace DSQ 气相色谱质谱联用仪(美国 Thermo Electro-Finnigan); DZF-6021 真空干燥箱(上海精密仪器仪表公司); RE-5220 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HS-25 酸度计(上海雷磁仪器厂)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 酶处理

桂花分别用 $\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及 $\beta$ 葡萄糖苷酶1和 $\beta$ 葡萄糖苷酶3在最适条件下处理2h。酶解液减压过滤,将处理后的桂花置于真空干燥器内,40℃真空干燥两小时备用。其中 $\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶最佳处理条件由本实验室优化完成,料液比为1:20(m/V),酶解温度46℃,pH 4.7,加酶量为54.4 IU/g 原料, $\beta$ 葡萄糖苷酶与果胶酶酶活之比为1:1.08。鼠李糖苷酶处理条件为液料比为1:15(m/V),酶解温度35℃,pH 5,加酶量为50 IU/g 原料。 $\beta$ 葡萄糖苷酶1和 $\beta$ 葡萄糖苷酶3处理条件均为液料比为1:15(m/V),酶解温度80℃,pH 5,加酶

量为50 IU/g 原料。

#### 1.3.2 桂花浸膏制备

称取15g酶处理后的干桂花(对照试验直接称取15g干桂花),用石油醚按料液比1:15(m/V)、40℃回流提取1h。过滤,滤液经旋转蒸发器浓缩后,40℃真空干燥得黄色浸膏,经正己烷溶解后用GC-MS检测。

#### 1.3.3 桂花精油制备

称取15g酶处理后的干桂花(对照试验直接称取15g干桂花),按中国药典2010版挥发油测定,进行常规水蒸气蒸馏3h,蒸馏液用100mL乙醚萃取3次,萃取液用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤,水浴蒸去乙醚,采用GC-MS对所得精油进行成分分析。

#### 1.3.4 GC-MS检测<sup>[9]</sup>

##### 1.3.4.1 色谱条件

色谱柱: TR-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25  $\mu\text{m}$ ); 载气: 高纯氦气; 流量: 1 mL/min; 分流比: 10:1; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ ; 程序升温: 起始温度为40℃,保持2min,以2℃/min升至60℃,以5℃/min升至100℃,以10℃/min升至250℃,保

持 5 min; 汽化室温度: 250 °C; 溶剂延迟 4 min; FID 检测器: 250 °C。

1.3.4.2 质谱条件

接口温度 250 °C, 电离方式 EI, 离子电离能量 70 eV, 质量扫描范围 ( $m/z$ ) 50~450。

通过 NIST 98 谱图库自动检索获得初步鉴定结果。根据所得质谱图, 结合相关文献进行人工谱图解析, 确认化学成分。通过 G170BA 化学工作站数据处理系统, 按照峰面积归一法进行定量分析, 得到各化学成分的相对含量。所有数值均为 3 次平行试验结果

的平均值, 采用 SPASS 19.0 进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 不同酶处理对桂花浸膏成分的影响

2.1.1 不同酶处理对桂花浸膏化合物种类的影响

分别采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花进行处理, 所得桂花浸膏成分分析结果见表 2。

表 2 不同酶处理桂花的浸膏香气成分及其相对含量

Table 2 Aroma components and contents of *Osmanthus absolute* after different enzymatic treatments

保留时间 /min	化合物名称	相对含量/%				
		对照	$\beta$ 葡萄糖苷酶- 果胶酶	鼠李糖 苷酶	$\beta$ 葡萄糖 苷酶 1	$\beta$ 葡萄糖 苷酶 3
6.30	2,2,4,6,6-五甲基-庚烷	0.34	0.60	0.46	-	-
6.97	柠檬烯	0.28	0.32	0.24	-	-
7.79	顺-氧化芳樟醇	0.81	0.56	0.31	2.83	0.89
8.03	反-氧化芳樟醇	0.42	0.31	-	3.38	-
8.30	乙酸芳樟酯	-	-	-	-	0.88
8.31	二氢芳樟醇	0.55	0.70	0.40	-	-
9.43	2,2,6-三甲基-6-乙烷基四氢-2H-呋喃-3-醇	0.43	0.14	0.11	4.57	0.69
9.78	丁酸叶醇酯	0.66	-	-	-	-
10.62	香叶醇	0.81	1.40	2.12	2.50	3.29
10.69	$\alpha$ -紫罗兰酮	0.34	-	-	-	-
12.07	6,2-亚丁烯-1,5,5-三甲基-1-环乙烯	0.56	0.50	0.45	-	-
12.20	紫苏醇	1.46	-	-	-	-
12.29	甲氧基苯乙醇	-	0.35	0.85	2.36	-
12.14	香叶酸	-	0.49	0.47	-	1.01
12.87	$\beta$ -紫罗兰醇	-	0.87	0.41	-	1.29
13.12	$\beta$ -二氢紫罗兰酮	0.34	1.18	0.68	-	1.01
13.19	四氢紫罗兰酮	0.32	-	-	0.67	-
13.25	2,6,6-三甲基-1-环乙烯-1-丁酸	-	0.75	0.67	-	3.60
13.28	对羟基苯乙醇	0.27	-	-	3.39	-
13.47	$\gamma$ -癸内酯	0.55	1.19	0.93	1.47	1.87
13.69	$\beta$ -紫罗兰酮	0.48	0.96	0.62	-	-
14.67	橙花叔醇	-	0.22	0.09	-	0.94
14.74	N-(4-羟基苯乙基)乙酰胺	0.94	0.57	0.09	6.86	-
15.14	柏木醇	0.35	0.53	0.54	-	0.52
15.48	1,4,4-三甲基-乙烷基-二环[3,1,0]乙烷-6-甲醇	0.18	0.24	0.08	-	-
15.67	(6R,7E,9R)-9-羟基-4,7-巨豆二烯-3-酮	0.11	-	-	2.04	-
16.48	二氢-3-氧- $\beta$ -紫罗兰酮	0.27	0.64	0.41	5.84	0.95
16.10	4-羟基紫罗兰酮	-	0.16	-	-	-
16.17	7,8-环氧紫罗兰酮	-	0.25	-	-	-

转下页

接上页

16.98	肉豆蔻酸	0.90	1.02	0.69	-	-
17.69	6,10,14-三甲基-乙-十五烷酮	0.49	0.43	0.27	-	-
17.96	邻苯二甲酸二异丁酯	0.24	0.41	0.62	-	-
18.44	邻苯二甲酸二丁酯	1.04	0.90	1.99	-	1.44
19.00	邻苯二甲酸亚丁异辛酯	5.68	1.08	2.38	7.51	4.47
19.20	棕榈酸	5.07	2.24	9.12	4.87	6.45
20.18	亚油酸	0.33	0.43	0.12	-	-
20.46	亚麻酸	0.36	0.63	-	-	-
20.64	亚麻酸甲酯	-	0.82	0.59	1.01	-
20.83	亚麻醇	11.15	0.89	2.02	-	18.65
20.94	硬脂酸	1.15	-	-	0.66	-
20.97	十五碳二烯-1-醇	-	0.8	0.62	-	-
20.89	11,14,17-顺-二十碳三烯酸甲酯	-	0.89	-	-	-
21.36	7,10,13-十六烯-1-醛	-	9.99	-	-	-
21.92	十八烷	1.13	-	-	-	0.64
21.93	10,11,14-二十烷三烯酸甲酯	-	-	11.88	-	-
22.01	十九烷	-	1.02	-	-	-
22.28	十七醇	0.30	0.32	0.58	-	-
22.45	9,12,15-十八碳三烯酸,2,3-二羟基丙基酯	-	0.68	-	0.17	-
22.51	花生酸	0.56	0.31	-	-	-
22.74	二十烷	0.35	-	-	-	-
22.94	三十醇	0.35	0.23	0.61	1.99	-
23.58	二十一烷	3.06	3.42	4.58	-	2.39
23.70	棕榈酸甘油酯	1.52	-	-	-	1.02
23.75	异岩藻酯醇	-	1.72	-	1.27	-
24.05	邻苯二甲酸二异辛酯	0.94	1.02	1.14	-	0.89
24.35	二十四烷	1.41	1.70	1.77	6.64	0.93
24.72	十八烯醇	0.49	-	-	-	-
24.92	10-21 烯	5.22	3.49	4.27	-	9.06
25.18	二十七烷	12.48	14.33	11.53	7.41	2.80
25.46	橙花醇乙酸酯	0.30	0.38	0.55	-	-
25.63	10-21 烯	1.02	0.91	0.87	-	-
25.80	二十八烷	3.61	3.90	4.27	2.28	2.35
26.03	反式角鲨烯	2.52	2.04	2.18	1.26	1.26
26.38	二十二烯	1.59	1.54	0.81	-	0.71
26.58	三十一烷	9.26	10.31	10.54	8.58	9.61
26.83	香叶基丙酮	0.93	0.71	0.59	2.06	0.49
27.15	1-甲基-3-(2,6,6-甲基-1-环乙烯-1-基)-乙酸丙酯	2.51	2.85	2.7	-	1.38
27.85	柏木烯醇	0.34	-	-	-	-
28.02	3,4-二氢-2,7,8-三甲基-2-(4,8,12-三甲基十三烷)-2H-1-苯并吡喃-6-醇	0.40	0.81	0.54	-	0.92
28.20	4-(2,2,6-三甲基-双环[4,1,0]庚-1)-丁-2-酮	0.29	0.41	0.58	-	-
28.48	四十四烷	4.13	5.56	4.34	2.41	3.46

转下页

接上页						
28.97	维生素E	3.16	3.35	3.10	1.30	1.83
29.37	1-三十烷醇	1.47	1.69	1.30	4.35	1.09
30.73	豆甾醇	2.06	1.02	0.37	3.56	5.98
总计/%		98.28	97.18	97.45	93.25	94.76

注:表中相对含量表示各组分峰面积占总面积的比值;“-”表示未检测出。

采用四种不同的酶对桂花进行处理, 所得桂花浸膏分别鉴定出有效成分 60、51、27 和 34 种。而未经酶处理直接采用石油醚提取所得桂花浸膏鉴定出有效成分 58 种。鉴定出的化合物主要为脂肪酸及其酯类、醇类、烯炔类、烷烃类以及醛酮类。其中, 采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理共鉴定出 17 种脂肪酸及其酯类物质, 含量较高的有 1-甲基-3-(2,6,6-甲基-1-环乙炔-1-基)-乙酸丙酯 (2.85%)、棕榈酸 (2.24%); 18 种醇类物质, 含量较高的有 1-三十烷醇 (1.69%)、香叶醇 (1.40%); 6 种烯炔类物质, 含量较高的有 10-21 烯 (3.49%)、反式角鲨烯 (2.04%); 9 种醛酮类物质, 含量较高的有 7,10,13-十六烯-1-醛 (9.99%)、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮 (1.18%); 8 种烷烃类物质, 含量较高的有二十七烷 (14.33%)、三十一烷 (10.31%)。采用鼠李糖苷酶处理所得桂花浸膏鉴定出的 51 种化合物中, 脂肪酸及其酯类、醇类、烯炔类、烷烃类以及醛酮类化合物的数目分别为 14 种、16 种、6 种、7 种以及 6 种。其中含量较高的有 10,11,14-二十烷三烯酸甲酯 (11.88%)、二十七烷 (11.53%)、三十一烷 (10.54%)、棕榈酸 (9.12%); 其次为 10-21 烯 (4.27%)、反式角鲨烯 (2.18%)、香叶醇 (2.12%)、亚麻醇 (2.02%)、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮 (0.68%)、 $\beta$ -紫罗兰酮 (0.62%) 等。 $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花进行处理所得桂花浸膏鉴定的化合物中, 分别包括 6 种和 10 种脂肪酸及其酯类物质, 含量较高的有棕榈酸 (4.87%)、 $\gamma$ -癸内酯 (1.47%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 1) 以及棕榈酸 (6.45%)、2,6,6-三甲基-1-环乙炔-1-丁酸 (4.47%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 3); 均包含 10 种醇类物质, 含量较高的有 2, 2, 6-三甲基-6-乙炔基四氢-2H-咪喃-3-醇 (4.57%)、1-三十烷醇 (4.35%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 1) 以及亚麻醇 (18.65%)、豆甾醇 (5.98%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 3); 包括 1 种和 3 种烯炔类物质, 含量较高的有反式角鲨烯 (1.26%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 1) 以及 10-21 烯 (9.06%)、反式角鲨烯 (1.26%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 3); 分别包括 4 种和 3 种醛酮类物质, 含量较高的有二氢-3-氧- $\beta$ -紫罗兰酮 (5.84%)、香叶基丙酮 (2.06%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 1) 以及  $\beta$ -二氢紫罗兰酮 (1.01%)、二氢-3-氧- $\beta$ -紫罗兰酮 (0.95%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 3); 5 种和 7 种烷烃类物质, 含量较高的有三十一烷 (8.58%)、二十七烷 (7.41%)

( $\beta$  葡萄糖苷酶 1), 三十一烷 (9.61%)、二十七烷 (2.80%) ( $\beta$  葡萄糖苷酶 3) 等。

桂花经不同酶处理后, 浸膏中的组分发生明显的变化。与对照相比,  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 处理所得浸膏中的化合物数量大大减少, 这可能是由于本试验使用的两种  $\beta$  葡萄糖苷酶属于耐高温酶, 为保证酶解效果, 酶解温度控制在 80 °C。较高的温度可能造成了化合物的损失。鼠李糖苷酶处理所得浸膏中化合物的数量与未经处理相比变化不大, 烷烃类与醛酮类化合物数量相对减少, 而采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理桂花, 所得浸膏中脂肪酸及其酯类以及醇类化合物的数量均有所增加。陶清等<sup>[10]</sup>认为醇类、脂肪酸及其酯类是决定桂花香气品质的主要成分。采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理桂花提高了浸膏中醇类以及脂肪酸及其酯类物质数量, 可以提升浸膏的品质。

### 2.1.2 不同酶处理对桂花浸膏主要香气物质含量的影响

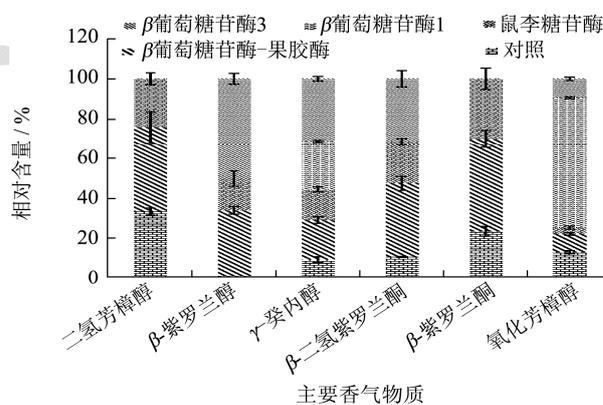


图1 不同酶处理对桂花浸膏主要香气物质含量的影响

Fig.1 Content of the main aroma components in *Osmanthus* absolute extract after different enzymatic treatments

$\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花分别进行处理, 考察不同酶处理所得浸膏中主要香气物质含量的变化, 试验结果见图 1。

由图 1 可知, 不同酶处理对桂花浸膏中主要香气物质含量影响较大。 $\beta$  葡萄糖苷酶 1 可以极大提高桂花浸膏中氧化芳樟醇含量, 与对照相比, 氧化芳樟醇含量由 1.23% 提高到了 6.21%, 提高了 5 倍, 而其他

三种酶处理所得浸膏中氧化芳樟醇含量均低于对照。其中鼠李糖苷酶处理后的氧化芳樟醇含量降低显著 ( $p < 0.05$ ), 由 1.23% 降到 0.31%, 降低了 75%; 本试验中未检测出芳樟醇, 采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理, 浸膏中二氢芳樟醇含量由 0.55% 提高到 0.70%, 提高了 27.27%。 $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 处理所得浸膏中未检测出二氢芳樟醇。 $\beta$ -紫罗兰醇未在对照试验及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 处理的浸膏中未检测出, 但在  $\beta$  葡萄糖苷酶 3、 $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶以及鼠李糖苷酶处理所得浸膏中含量分别为 1.29%、0.87% 和 0.41%。 $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶以及鼠李糖苷酶处理桂花, 提高了桂花浸膏中  $\beta$ -二氢紫罗兰酮和  $\beta$ -紫罗兰酮的含量。与对照相比, 复配酶处理分别可以提高 347.06% 和 200%。而四种酶处理均能提高浸膏中  $\gamma$ -癸内酯的含量,  $\beta$  葡萄糖苷酶 3、 $\beta$  葡萄糖苷酶 1、复配酶以及鼠李糖苷酶对  $\gamma$ -癸内酯含量的提高分别达到了 340.00%、267.27%、216.36% 以及 169.09%。

二氢芳樟醇、 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮和  $\beta$ -紫罗兰酮等都属于萜烯类化合物, 具有浓郁的香气, 它们以游离态或无味的糖苷形式存在于植物组织中<sup>[11]</sup>。 $\beta$  葡萄糖苷酶以及鼠李糖苷酶等糖苷酶可以将这些结合态的糖苷前体物质释放为游离的芳香物质, 从而增加浸膏中这几种主要香气物质的含量。而果胶质是构成植物细胞壁胞间层的主要成分, 也是构成次生壁与初生壁的重要成分之一。用  $\beta$  葡萄糖苷酶与果胶酶的复配使用, 在水解释放香气物质前体的同时, 果胶酶可以作用于果胶质中 D-半乳糖醛酸残基之

间的糖苷键, 使高分子的聚半乳糖醛酸降为小分子物质, 细胞壁的通透性有所增加, 可以使更多的香气物质的浸出。

此外, 香叶醇、紫苏醇、橙花叔醇以及柠檬烯等也是桂花浸膏的重要香气物质。复配酶、鼠李糖苷酶、 $\beta$  葡萄糖苷酶 1 以及  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 四种酶处理均能显著提高浸膏中香叶醇的含量 ( $p < 0.05$ ), 与对照相比, 分别提高了 72.84%、161.73%、208.64% 以及 306.17%; 对照组未检出橙花叔醇, 而采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 处理橙花叔醇含量最高, 为 0.94%, 其次是复配酶处理 (0.22%); 采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶则将柠檬烯含量从 0.28% 到 0.32% (增加 14.29%)。但四种酶处理后所得浸膏中均未检测出紫苏醇。

### 2.1.3 不同酶处理对桂花浸膏中邻苯二甲酸酯类化合物含量的影响

邻苯二甲酸酯类化合物属于“环境激素类污染物”, 是一种干扰内分泌的物质, 并具有生殖毒性, 甚至具有致突变和致癌作用<sup>[12]</sup>。所以将桂花提取物当作化妆品和食用香精时需要确保其安全性。不同酶处理对桂花浸膏中邻苯二甲酸酯类化合物含量的影响见表 3。从表 3 可以看出, 本试验中均检出了邻苯二甲酸酯类化合物。与对照相比, 采用四种水解酶技术处理桂花, 浸膏中邻苯二甲酸酯类化合物相对含量均有减少。其中采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理后, 邻苯二甲酸酯类化合物相对含量显著减少 ( $p < 0.05$ ), 由未经处理时的 7.90% 减少到 3.41%, 减少了 56.84%, 而采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 减少则不显著 ( $p > 0.05$ )。

表 3 邻苯二甲酸酯类化合物相对含量

Table 3 Content of phthalic acid ester compounds

保留时间 /min	化合物名称	相对含量/%				
		对照试验	$\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶	鼠李糖苷酶	$\beta$ 葡萄糖苷酶 1	$\beta$ 葡萄糖苷酶 3
17.96	邻苯二甲酸二异丁酯	0.24	0.41	0.62	-	-
18.44	邻苯二甲酸二丁酯	1.04	0.90	1.99	-	1.44
19.00	邻苯二甲酸亚丁异辛酯	5.68	1.08	2.38	7.51	4.47
24.05	邻苯二甲酸二异辛酯	0.94	1.02	1.14	-	0.89
总计/%		7.90	3.41	6.14	7.51	6.80

## 2.2 不同酶处理对桂花精油成分的影响

### 2.2.1 不同酶处理对桂花精油化合物种类的影响

分别采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花进行处理, 所得桂花精油成分分析结果见表 4。

利用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以

及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花进行处理, 所得桂花精油分别鉴定出有效成分 44 种、43 种、39 种和 38 种, 均多于未经酶处理直接采用水蒸气蒸馏所得桂花精油鉴定出的 35 种有效成分。与石油醚提取物相比, 水蒸气蒸馏产物的种类较少, 这可能是由于水蒸气蒸馏提取过程时间长、温度高、热不稳定及易氧化成分的有所破坏及挥发损失<sup>[13]</sup>。精油中鉴定出的化合物主要为脂肪酸及其酯类、醇类以及醛酮类物质。四种酶处理所得桂花精油中脂肪酸及其酯类物质数量

分别为9种、9种、7种和7种。其中含量较高的均为香叶酸和 $\gamma$ -癸内酯,香叶酸含量分别为1.82%、1.57%和1.06%( $\beta$ 葡萄糖苷酶1未检测出); $\gamma$ -癸内酯含量分别为6.12%、6.39%、7.73%和6.42%;醇类物质分别为21种、19种、18种和18种,均高于对照试验的14种,其中含量较多的均为香叶醇(8.24%、4.93%、9.35%和7.80)、顺式氧化芳樟醇(7.99%、6.87%, $\beta$

葡萄糖苷酶1和 $\beta$ 葡萄糖苷酶3均未检出)和反式氧化芳樟醇(4.94%、5.43%、4.34%和8.91%);均鉴定出11种醛酮类物质,多于对照试验的9种。其中含量较高的为四氢紫罗兰酮,含量分别为2.56%、2.19%、2.59%和3.33%,以及邻甲基苯甲醛,含量分别为1.29%、3.13%、1.40%和1.82%。

表4 不同酶处理桂花的精油香气成分及其相对含量

Table 4 Content of aroma components in *Osmanthus* oil after different enzymatic treatments

保留时间 /min	化合物名称	相对含量/%				
		对照	$\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶	鼠李糖苷酶	$\beta$ 葡萄糖苷酶1	$\beta$ 葡萄糖苷酶3
3.40	1,2-丙二醇	-	0.81	1.96	3.09	3.55
4.16	2-乙氧基丙醇	-	1.53	3.01	-	-
4.88	2-甲氧基-1,3-二氧戊环	11.73	6.04	6.62	12.71	6.18
5.73	4-乙基苯甲酸-乙-丁基酯	-	0.71	0.53	3.69	-
5.83	甘露糖醇	-	0.38	0.69	2.11	-
7.48	赤-1-苯基-1,2-丙二醇	-	0.47	-	0.86	0.22
7.72	3-甲基-5-乙烯基四氢吡喃-2-甲醇	-	3.06	1.87	6.23	8.07
7.91	顺-氧化芳樟醇	8.65	7.99	6.87	-	-
8.16	反-氧化芳樟醇	7.98	4.94	5.43	4.34	8.91
8.32	芳樟醇	2.29	3.58	2.27	2.55	2.05
8.38	二氢芳樟醇	0.56	-	-	-	-
8.64	苯乙醇	0.55	1.85	0.65	0.40	0.40
8.35	3,7-二甲基辛-1,5,7-三烯-3-醇	-	-	0.73	0.89	0.80
8.88	2-壬炔	0.58	-	-	-	-
8.92	1,5-二甲基双环[2,1,0]戊-5-甲基酮	-	0.78	0.88	0.98	0.63
9.22	顺- $\alpha$ 顺- $\alpha$ , $\alpha$ -5-三甲基-5-乙烯基四氢-2-吡喃甲醇	-	1.04	-	0.21	1.28
9.44	2,2,6-三甲基-6-乙烯基四氢-2H-吡喃-3-醇	3.24	3.49	3.94	4.40	6.71
9.46	反- $\alpha$ 反- $\alpha$ , $\alpha$ -5-三甲基-5-乙烯基四氢-2-吡喃甲醇	-	2.43	3.08	7.12	4.05
9.74	松油醇	2.49	1.26	1.33	1.35	0.80
9.83	3-乙烯醇丁酸酯	-	0.45	0.54	0.69	0.29
10.31	邻甲基苯甲醛	0.71	1.29	3.13	1.40	1.82
10.69	香叶醇	2.49	8.24	4.93	9.35	7.80
11.18	紫苏醇	0.87	2.24	1.19	1.21	1.39
11.43	对乙烯基愈创木酚	0.57	-	-	-	-
11.45	反式罗勒烯	-	0.36	-	-	-
11.50	2-羟基-5-甲基苯乙酮	-	0.56	0.85	0.79	0.61
12.27	4-甲氧基苯乙醇	0.82	3.78	0.94	2.73	0.76
12.07	丁香酚	-	-	0.56	-	-
12.36	香叶酸	1.69	1.82	1.57	-	1.06
12.63	茉莉酮	0.49	0.33	0.83	0.65	0.35
12.87	$\beta$ -紫罗兰醇	0.97	2.61	4.25	2.55	3.00
13.12	$\beta$ -二氢紫罗兰酮	0.65	0.79	0.63	0.16	0.82

转下页

接上页						
13.18	四氢紫罗兰酮	1.94	2.56	2.19	2.59	3.33
13.56	$\gamma$ -癸内酯	3.91	6.12	6.39	7.73	6.42
13.73	$\beta$ -紫罗兰酮	1.37	1.43	0.93	0.45	0.63
13.87	$\Delta$ -癸内酯	0.46	0.46	0.41	0.31	0.38
14.41	薄荷酮	0.40	0.35	0.44	0.39	0.40
14.64	橙花醇	0.68	1.73	0.32	-	0.30
14.77	N-(4-羟基苯乙基) 乙酰胺	3.60	1.79	1.68	1.26	1.23
15.17	柏木醇	0.76	0.54	0.63	0.22	0.48
15.31	$\beta$ -环氧石竹烷	-	0.36	0.24	0.33	-
15.53	1,4,4-二甲基-乙羟基-二环[3,1,0]乙烷-6-甲醇	1.18	2.19	2.72	2.35	1.45
15.91	4-1,3,3-三甲基-7-二环[4,1,0]庚-2-3-丁烯-2-酮	0.54	0.44	0.30	0.31	0.30
16.04	2,4,4-三甲基-3-(3-氧代丁基)-2-环乙烯-1-酮	0.68	0.41	0.30	0.25	0.25
16.49	二氢-3-氧- $\beta$ -紫罗兰酮	-	0.47	0.32	0.56	0.43
17.67	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	0.54	-	-	-	-
17.99	邻苯二甲酸二异丁酯	0.89	0.46	0.60	0.18	0.53
18.47	邻苯二甲酸二丁酯	3.67	2.12	2.69	0.82	2.00
19.02	邻苯二甲酸亚丁异辛酯	23.76	14.39	17.96	8.02	16.39
19.44	二甲醇双十二酯	0.88	0.27	0.29	-	-
20.64	亚麻酸	2.97	-	-	-	-
总计/%		95.56	98.91	92.72	93.14	92.52

注：表中相对含量表示各组分峰面积占总面积的比值；“-”表示未检测出。

### 2.2.2 不同酶处理对桂花精油主要香气物质含量的影响

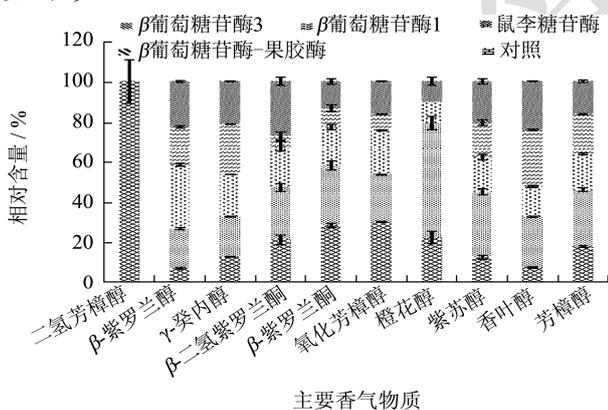


图2 不同酶处理对桂花精油主要香气物质含量的影响

Fig.2 Effect of different enzymatic treatments on the content of the main aroma compounds in *Osmanthus* essential oil

四种不同酶处理对桂花精油主要香气物质含量的影响见图2。由图2可以看出，采用复配酶、鼠李糖苷酶以及 $\beta$ 葡萄糖苷酶1和 $\beta$ 葡萄糖苷酶3处理后精油中 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇以及紫苏醇的含量与对照相比均有显著提高( $p < 0.05$ )。其中 $\beta$ -紫罗兰醇含量分别提高了269.07%、438.14%、262.89%和

309.28%； $\gamma$ -癸内酯含量分别提高了156.52%、163.43%、197.70%和164.19%；香叶醇含量分别提高了330.92%、197.99%、375.50%和313.25%；紫苏醇的含量分别提高了257.47%、136.78%、139.08%和159.77%。四种酶处理所得精油中未检测出二氢芳樟醇，芳樟醇氧化物的含量均有所减少， $\beta$ 葡萄糖苷酶1处理芳樟醇氧化物含量减少最为显著( $p < 0.05$ )，由16.63%降低为4.34%。此外，精油中芳樟醇、 $\beta$ -紫罗兰酮、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮以及橙花醇的含量也有不同程度的变化，其中复配酶处理所得精油中这四种主要香气物质的含量均显著提高( $p < 0.05$ )，与对照相比，分别提高了56.33%、4.38%、21.54%和154.41%。

### 2.2.3 不同酶处理对桂花精油中邻苯二甲酸酯类化合物含量的影响

水蒸汽蒸馏提取的桂花精油中同样会检测出邻苯二甲酸酯类化合物<sup>[14]</sup>。四种酶处理对桂花精油中邻苯二甲酸酯类化合物含量的影响见表5。

从表5可以看出，四种酶处理均能有效降低此类物质的含量，其中，采用 $\beta$ 葡萄糖苷酶1处理检测出的三种邻苯二甲酸酯类物质含量最少，其含量分别减少了79.78%、77.66%和66.25%。

表5 邻苯二甲酸酯类化合物相对含量

Table 5 Relative content of phthalic acid ester compounds

保留时间 /min	化合物名称	相对含量/%				
		对照试验	$\beta$ 葡萄糖苷酶-果胶酶	鼠李糖苷酶	$\beta$ 葡萄糖苷酶 1	$\beta$ 葡萄糖苷酶 3
17.99	邻苯二甲酸二异丁酯	0.89	0.46	0.60	0.18	0.53
18.47	邻苯二甲酸二丁酯	3.67	2.12	2.69	0.82	2.00
19.02	邻苯二甲酸亚丁异辛酯	23.76	14.39	17.9	8.02	16.39
总计/%		28.32	16.97	21.19	9.02	18.92

### 3 结论

本文通过采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶、鼠李糖苷酶以及  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 和  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 对桂花进行处理, 通过气质联用检测分析了所得桂花浸膏与精油中化合物数量、主要香气物质以及邻苯二甲酸酯类物质含量的变化, 试验结果表明:

3.1 四种酶处理均能改变桂花浸膏中主要化合物的数量、主要香气物质以及邻苯二甲酸酯类化合物的含量。采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理桂花, 可以提高浸膏中脂肪酸及酯类、醇类化合物的数量。与对照相比, 浸膏中二氢芳樟醇、 $\gamma$ -癸内酯、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、香叶醇和柠檬烯等主要香气物质的含量分别提高 27.27%、116.36%、247.06%、100.00%、72.84% 以及 14.29%, 并且检测出了  $\beta$ -紫罗兰醇 (0.87%) 和橙花叔醇 (0.22%); 采用鼠李糖苷酶处理桂花, 浸膏中化合物数量较之未经酶处理变化不大,  $\gamma$ -癸内酯、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、香叶醇等主要香气物质分别提高了 69.09%、100.00%、29.17% 以及 161.73%,  $\beta$  紫罗兰醇含量为 0.41%。采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 处理桂花, 浸膏中化合物数量有所减少, 但浸膏中  $\gamma$ -癸内酯、氧化芳樟醇、香叶醇等香气物质提高了 267.27%、504.88% 和 308.64%; 采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 处理桂花, 浸膏中化合物数量同样有所减少,  $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、香叶醇和橙花叔醇等主要香气物质分别由 0%、0.55%、0.34%、0.81% 和 0% 提高到了 1.29%、1.87%、1.01%、3.29% 和 0.94%。四种酶处理浸膏中邻苯二甲酯类化合物的含量分别下降 56.84%、22.28%、4.94% 以及 13.92%

3.2 四种酶处理对桂花精油的品质也有较大影响。四种酶处理均能增加桂花精油中化合物的数量。采用  $\beta$  葡萄糖苷酶-果胶酶复配酶处理桂花, 精油中芳樟醇、 $\beta$ -紫罗兰酮、 $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇、紫苏醇和橙花醇分别提高了 156.33%、104.38%、121.54%、269.07%、156.52%、330.92%、257.47% 和 254.41%; 采用鼠李糖苷酶处理,  $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇、紫苏醇分别提高了 438.14%、

163.42%、197.99% 和 136.78%; 采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 1 处理精油中的芳樟醇、 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇和紫苏醇分别提高了 111.35%、262.88%、197.70%、375.50% 和 139.08%。而采用  $\beta$  葡萄糖苷酶 3 处理, 精油中的  $\beta$ -二氢紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰醇、 $\gamma$ -癸内酯、香叶醇和紫苏醇分别提高了 126.15%、309.28%、164.19%、313.25 和 159.77%。四种酶处理精油中邻苯二甲酸酯类化合物的含量分别下降 40.08%、25.18%、68.15% 以及 33.19%。

### 参考文献

- [1] 杨秀莲, 赵飞, 王良桂. 25 个桂花品种花瓣营养成分分析[J]. 福建林学院学报, 2014, 34(1): 5-10  
YANG Xiu-lian, ZHAO Fei, WANG Liang-gui. Analysis of nutrients in the petals of 25 cultivars of *Osmanthus fragrans* [J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2014, 34(1): 5-10
- [2] Chun-di Hu, Yi-zeng Liang, Xiao-ru Li, et al. Essential oil composition of *Osmanthus fragrans* varieties by GC-MS and heuristic evolving latent projections [J]. Chromatographia, 2009, 70(7): 163-1169
- [3] Do-Gyeong Lee, Jin-Sung Choi, Seung-Woo Yeon, et al. Secoiridoid glycoside from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* kino inhibited the activity of  $\beta$ -secretase [J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2010, 53(3): 371-374
- [4] Hsin-Hsueh Lee, Chi-Ting Lin, Ling-Ling Yang. Neuroprotection and free radical scavenging effects of *Osmanthus fragrans* [J]. Journal of Biomedical Science, 2007, 14(6): 819-827
- [5] 汪海波, 靳熙茜.  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解制备桂花浸膏的新工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 324-327  
WANG Hai-bo, JIN Xi-qian. Study on Preparation technology of *Osmanthus fragrans* extract with  $\beta$ -glucosidase hydrolysis method [J]. Food Science, 2008, 29(11): 324-327
- [6] 李平. 黑曲霉  $\beta$  葡萄糖苷酶的食品增香应用[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(2): 5-6  
LI Ping. Enhancing the aroma of foods by using

- $\beta$ -glucosidase [J]. Food and Fermentation Industries, 2000, 26(2): 5-6
- [7] 王艳君,刘同军,曹涛,等. $\alpha$ -L-鼠李糖苷酶的研究进展[J].中国酿造,2010,3(10):11-15  
WANG Yan-jun, LIU Tong-jun, CAO Tao, et al. Research progress of  $\alpha$ -L-rhamnosidase [J]. China Brewing, 2010, 3(10): 11-15
- [8] Lavecchia R, Zuorro A. Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes [J]. Eur. Food Res. Technol., 2008, 228(1): 153-158
- [9] 施婷婷,杨秀莲,赵林果,等.保存方法对桂花精油提取及香气成分的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2014, 38(S1):105-110  
SHI Ting-ting, YANG Xiu-lian, ZHAO Lin-guo, et al. Influence of storage method on the fragrant components essential oils of *Osmanthus fragrans* [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Nature Science), 2014, 38(S1): 105-110
- [10] 陶清,徐德虚,吕鉴泉.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取桂花油的工艺研究[J].食品研究与开发,2007,28(7):57-60  
TAO Qing, XU De-xu, LV Jian-quan. Study on the supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction of *Osmanthus fragrans* [J]. Food Research and Development, 2007, 28(7): 57-60
- [11] Cabrita M J, Freitas A M C, Laureano O, et al. Glycosidic aroma compounds of some Portuguese grape cultivars [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(6): 922-931
- [12] 李满秀,王华燕.荧光法测定环境样品中邻苯二甲酸酯[J].分析化学,2005,33(9):13-15  
LI Man-xiu, WANG Hua-yan. Determination of phthalate esters in environmental samples by fluorimetry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2005, 33(9): 13-15
- [13] Li Fa-fang, Huang Qi-zhi. Analysis of fragrance composition in three cultivars of *Osmanthus fragrans* albus group flower by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Wuhan University Journal of Natural Science, 2011, 16(4): 342-348
- [14] Machida K, Sakamoto S, Kikuchi M. Structure elucidation and NMR spectral assignments of four neolignan glycoside with enantiometric aglycones from *Osmanthus ilicifolius* [J]. Magn. Reson. Chem., 2008, 46(10): 990-994