

茉莉花酶促释香研究*

黄新安^{1,2}, 宛晓春², 夏涛², 蔡小玲³

- (1. 广州中医药大学热带医学研究所, 广东 广州 510405;
2. 安徽农业大学农业部茶叶生物化学与生物技术重点开放实验室, 安徽 合肥 230036;
3. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 用黑曲霉中提取的酶液水解茉莉花中香气前体, 通过乙醚萃取酶解产物。GC-MS 结果显示酶解产物中苯甲醇、苯乙醇、芳樟醇、羟基芳樟醇、乙酰基芳樟醇含量增高, 其中羟基芳樟醇和乙酰基芳樟醇含量增加显著, 说明茉莉花中除存在芳樟醇、苯甲醇和苯乙醇的糖苷类香气前体外, 还存在较高含量的羟基芳樟醇和乙酰基芳樟醇的糖苷类前体。

关键词: 茉莉花; 酶解; 香气产物; 香气前体

中图分类号: S431.192; Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2009)02-0144-03

Investigation on the Released Aromatic Constituents from *Jasminum sambac* (L.) Ation by Enzymatic Reaction

HUANG Xin'an^{1,2}, WAN Xiaochun², XIA Tao², CAI Xialing³

- (1. Tropical Medicine Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
2. Key Laboratory of Tea Biochemistry and Biotechnology, Ministry of Agriculture,
Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;
3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The crude aromatic precursors isolated from *Jasminum sambac* (L.) Ation were hydrolyzed by the crude enzymes from black mold, and the released aromatic constituents were extracted with diethyl ether. The GC-MS analysis showed that the products including benzyl alcohol, phenethyl alcohol, linalool, hydroxylinalool and acetylinalool increased after enzymatic reaction, of which hydroxylinalool and acetylinalool increased significantly. It indicated there were high contents of glycosidic hydroxylinalool and acetylinalool in *Jasminum sambac* (L.) Ation.

Key words: *Jasminum sambac* (L.) Ation; enzymatic action; aromatic constituents; precursors

具有清、甜香味的茉莉花 *Jasminum sambac* (L.) Ation 顶空香气中有高含量的芳樟醇, 其次是乙酸苜酯、法尼烯、苯甲酸甲酯、苯甲醇等挥发性成分^[1]。部分挥发性成分在植物体内可通过与单糖或双糖键合, 形成 β -D 糖苷形式存在, 在开花过程中糖苷被生物酶水解从而释放出挥发性成分, 目前已从茉莉花中分离到芳樟醇、苯甲醇和苯乙醇

的 β -D 糖苷类前体化合物^[2-5]和相关的酶^[6-7]。黑曲霉粗酶液中含有 β -D 葡萄糖苷酶, 可水解生物体内的 β -D 糖苷^[8]。为进一步探索茉莉花的香气来源, 探讨香气成分在植物体内的存在形式及可能的生物转化途径, 本文选用黑曲霉粗酶液水解茉莉花 $\varphi=95\%$ 乙醇提取物, 通过 GC-MS 分析酶水解产生的香气产物, 用来追踪茉莉花中香气前体。

* 收稿日期: 2008-09-11

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(5300528); 中山大学青年教师基金资助项目(2005310001131133)

作者简介: 黄新安(1975年生), 男, 副研究员; 通讯作者: 蔡小玲; E-mail: cesxcl@mail.sysu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料、仪器及试剂 茉莉花采自安徽农业大学茶业系花房;电子天平 (Mettler Toledo 公司);乙醚 (AR, 重蒸), 其它试剂均为分析纯级。

1.2 香气前体的制备及酶解 称取已开放约 20 h 的新鲜茉莉花 20.0 g, 用 100 mL $\varphi = 95\%$ 乙醇提取 24 h, 过滤, 于 50 °C 水浴中减压浓缩滤液以除去乙醇, 得干提取物, 向干提取物中加入 10.0 mL 浓度为 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液 (pH 6.0), 得悬浮液, 用乙醚萃取悬浮液 3 次, 以除去游离态香气, 得粗香气前体。

双相酶解: 黑曲霉粗酶液是黑曲霉酶液经 $w = 30\% \sim 80\%$ 饱和硫酸铵分级沉淀所获得的部分^[9]。将 3.0 mL 粗酶液加入前体中, 同时加入柠檬酸缓冲液, 使总反应体积为 25.0 mL (对照体系以缓冲液代替酶液), 反应体系上覆盖 20.0 mL 含有 5.0 mL 浓度为 20.0 mg/L 的癸酸乙酯 (内标) 乙醚液, 37 °C 反应 4 h, 反应结束后, 取上层乙醚液, 然后用乙醚萃取反应液 2 次, 合并乙醚液, 用 N_2 吹扫浓缩至约 200 μ L 后进行 GC-MS 分析。

1.3 香气成分定性定量方法 气相色谱分析条件: 6890A 型气相色谱仪 (配备 PEG-20 M 50 m \times 0.2 mm 毛细管柱, 液膜厚为 0.1 μ m, 安捷伦公司), 升温程序, 初温 50 °C, 保持 5 min, 以 3 °C/min 升温至 200 °C, 保持 10 min。进样口、检测器温度均为 250 °C。

质谱仪分析条件 (EI-MS): 质谱仪 (Perkin Elmer 公司), 电子能量 70 eV, 离子源温度 170 °C, 扫描范围 30 ~ 350 amu; 进样口温度 250 °C, 传输线温度 200 °C, 扫描速度 2 次/s; 检索: Nist 和 Wiley 数据库串联检索, 或参考标准化化合物保留时间来定性。

香气成分定量计算: 将 GC 测得的香气成分峰面积除以内标峰面积, 所得数值即为相应成分的相对含量。

2 结果与分析

空白对照实验中, 反应液中含有少量的芳樟醇、乙酰基芳樟醇和羟基芳樟醇, 这些香气成分可能来自未除净的游离态香气, 也有可能是水浴时水解产生。加入酶液后, 反应体系中的芳樟醇、苯甲醇、苯乙醇、乙酰基芳樟醇、羟基芳樟醇的峰面积增大 (图 1)。对各香气成分的相对含量进行计算 (表 1), 结果表明: 在香气前体中加入黑曲霉粗酶液进行酶解后, 芳樟醇、苯甲醇、苯乙醇、乙酰基

芳樟醇、羟基芳樟醇的含量增加, 其中乙酰基芳樟醇和羟基芳樟醇的增加幅度最大, 说明茉莉花中存在大量的芳樟醇衍生物 (乙酰基芳樟醇和羟基芳樟醇) 的糖苷类前体。

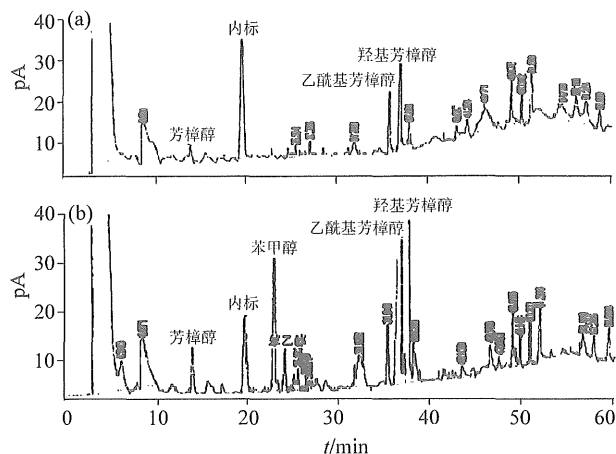


图 1 GC-MS 分析茉莉花提取物酶促反应产物

Fig. 1 The GC analysis of released chemicals from *Jasminum sambac*

(a) 对照体系; (b) 酶解产物

表 1 茉莉花提取物酶解后香气成分的相对含量变化¹⁾

Table 1 The relative content of aroma constituents from the extract of *Jasminum sambac* after enzymatic reaction

香气成分	芳樟醇	苯甲醇	苯乙醇	乙酰基芳樟醇	羟基芳樟醇
空白	0.130	0.059	0.043	1.120	2.324
酶解产物	0.531	1.174	0.430	6.832	7.528
增加量	0.401	1.115	0.387	5.712	5.208

1) 相对含量指峰面积除以内标峰面积所取得的值

3 讨论

文献报道的香气前体均为 β -D-葡萄糖苷, 黑曲霉粗酶液是一混合酶系, 具有水解 β -D-葡萄糖苷活性, 因此能水解茉莉花提取物, 产生芳樟醇、苯甲醇和苯乙醇。本实验过程中, 反应液未与乙酸乙酯、乙酸和乙酸酐等具有乙酰基的化学试剂接触, 因此, 产物中的乙酰基芳樟醇应来源于茉莉花中相应的香气前体。本实验显示了从茉莉花中分离到芳樟醇衍生物糖苷类前体的可能性, 为研究茉莉花香气中芳樟醇及其衍生物的形成机理研究提供借鉴。

(下转第 148 页)

表1 黄芪药材及黄芪药渣中 w (黄芪甲苷) 测定结果
Table 1 Determination of Astragaloside IV in *Radix astragali* and its dreg

批号	药材		药渣	
	ρ (黄芪)/(mg. mL ⁻¹)	w (黄芪甲苷)/%	ρ (黄芪)/(mg. mL ⁻¹)	w (黄芪甲苷)/%
样品1	0.269	0.0487	0.146	0.0366
样品2	0.354	0.0641	0.198	0.0497
样品3	0.298	0.0539	0.186	0.0467
样品4	0.336	0.0608	0.138	0.0346
样品5	0.323	0.0589	0.155	0.0389
平均	0.316	0.0573	0.165	0.0413

参考文献:

- [1] 王宝, 苏键, 鲁静. 黄芪甲苷的检测在中药质控中的应用[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 161.
WNAG Bao, SU Jian, LIU Jing. Application of astragaloside's detection in quality control of traditional Chinese medicine[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 1996, 21(3): 161.
- [2] 刘元元, 戴稼禾, 陈良钜. 黄芪苷IV对损伤的人血白细胞变形能力的影响[J]. 上海医科大学学报, 1998, 25(5): 361.

- LIU Yan Yan, DAI Jia He, CHEN Liang Ju. Effects of astragaloside IV on deformability of damage leukocytes in blood[J]. Journal of Shanghai Medical University, 1998, 25(5): 361.
- [3] 江清林, 李延君, 辛华, 等. 黄芪甲苷对胰岛素 C 肽分泌作用研究[J]. 黑龙江医药科学, 1999, 22(3): 14.
JIANG Qing Lin, LI Yan Jun, XIN Hua, et al. Effects of Asl on insulin and C-peptide[J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 1999, 22(3): 14.
- [4] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 213.

(上接 145 页)

参考文献:

- [1] 黄新安, 宛晓春, 夏涛. 小花茉莉清香气品质研究[J]. 茶业通报, 2007, 29(2): 73-74.
HUANG Xin'an, WAN Xiaochun, XIA Tao. The study on the faint scent quality of *Jasminum sambac* [J]. J Tea Business, 2007, 29(2): 73-74.
- [2] WATANABE N, MOON J H, SAKATA K, et al. Formation of flower fragrance compounds by enzymatic action during flower opening//BASER K H C. Flavours, Fragrances and Essential Oils [C]. Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils. Istanbul, 1995, 3: 216-235.
- [3] WATANABE N, WATANABE S, NAKAJIMA R, et al. Formation of flower fragrance compounds by enzymatic action during flower opening [J]. Biosci Biotech and Bioch, 1993, 57(7): 1101-1106.
- [4] MOON JH, WATANABE N, SAKATA K, et al. Linalyl β -D-glucopyranoside and its 6'-O-malonate as aroma precursors from *Jasminum sambac* [J]. Phytochemistry, 1994, 36(6): 1435-1437.
- [5] INAGAKI J, WATANABE N, MOON JH, et al. Glycosidic aroma precursors of 2-phenylethyl and benzyl alcohols from *Jasminum sambac* flowers [J]. Biosci Biotech Bioch, 1995, 59(4): 738-739.

- [6] 董尚胜, 大石久泰, 坂田完三, 等. 茉莉花中芳樟醇生成相关酶的精制[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 1999, 25(4): 421-424.
DONG Shangsheng, OHISHI H, SAKATA K, et al. Purification of the enzyme concerned in linalool production from *Jasminum sambac* Ait [J]. J Zhejiang University: Agric & Life Sci, 1999, 25(4): 421-424.
- [7] 屠幼英, 童启庆, 赵芹, 等. 茉莉花芳樟醇 β -D 吡喃葡萄糖苷酶的分离与纯化[J]. 茶叶科学, 2001, 21(2): 144-147.
TU Youying, TONG Qiqin, ZHAO Qin, et al. The isolation and purification of LGA from *Jasminum sambac* Ait [J]. J Tea Sci, 2001, 21(2): 144-147.
- [8] 宛晓春, 汤坚. 黑曲霉 β -葡萄糖苷酶的提纯与性质[J]. 菌物系统, 1998, 17(2): 154-159.
WAN Xiaochun, TANG Jian. Purification and properties of a β -D-glucosidase of *Aspergillus niger* with the view of its utilization in fruit aroma liberation [J]. Mycosystema, 1998, 17(2): 154-159.
- [9] 李平, 宛晓春, 陶文沂, 等. 丝素蛋白膜固定 β -葡萄糖苷酶及其改良食品风味的研究[J]. 菌物系统, 2004, 23(1): 73-78.
LI Ping, WAN Xiaochun, TAO Wenyi, et al. Immobilization of β -D-glucosidase from *Aspergillus niger* on silk fibroin membrane and its use in enhancement of food aroma [J]. Mycosystema, 2004, 23(1): 73-78.