

香料挥发性成分的研究与应用 ——肉豆蔻风味与口腔清洁剂

汤 坚 袁身淑 刘扬岷 王林祥

(无锡轻工大学测试中心, 无锡 214036)

O. S. Kwasi

(加纳 标准局)

摘要 应用质谱分析鉴定了肉豆蔻中含有的丰富的萜类化合物。它们构成了肉豆蔻的主体香味。由于萜类化合物有抑菌作用,用肉豆蔻蒸馏液配制的口腔清洁剂可有效地抑制有害细菌。

关键词 肉豆蔻; 萜类化合物; 质谱; 口腔清洁剂; 白色念珠菌

中图分类号 TS 264.3

0 前 言

肉豆蔻(学名 *Myristica Frangrans* Houtt, 俗名 nutmeg)主产地是印度尼西亚马鲁古(Moluccas)群岛、西印度群岛的格林纳达(Grenada)、马来西亚等地区,现已渐渐扩展到其它热带地区。我国的广东、广西也有少量引种^[1]。肉豆蔻果仁是一种广泛使用的著名食用香料。其粉末用于焙烤食品,如蛋糕、水果馅饼,有时亦加入软饮料、口香糖和肉制品如香肠、红烧肉,使这些食品具有饱满的香味。肉豆蔻油亦用于化妆品。肉豆蔻性温辛,略带甜味,有温中行气、收敛固涩作用,作为药用已有上千年的历史,主治脾肾虚寒、腹泻、头痛、发烧、积食不化等症,还可作兴奋剂、矫臭剂。

1 材料与方法

1.1 材料

市售肉豆蔻果仁,粗碎之后供风味研究用。所用有机溶剂均为分析纯并重蒸。

1.2 肉豆蔻香气的提取方法

方法1 同时蒸馏与萃取法(Simultaneous Distillation-extractor, SDE). 10 g 肉豆蔻碎果仁中添加 100 g/L 硬脂酸甲酯乙醚溶液为内标,以乙醚为溶剂,提取 2 h。

方法2 吸附与热解吸法(Thermo-desorption). 等量的肉豆蔻果仁,以氮气为载气, Tenax GC 为吸附剂,常温吸附 2 h,再置于热解吸装置中。氢气为载气,220 °C 解吸 20 min。挥发性组分进入气相色谱后被冷凝在用液氮冷却的冷阱中。冷阱与毛细管色谱柱连接。

1.3 挥发性组分的分离鉴定

1.3.1 色谱条件 50mHP-1毛细管色谱柱。内径0.25mm,高纯氢气为载气,流速为

1 ml/min. 色谱程序为: 起始温度 40 保持 5 min, 以 4 /min 升到 120 , 再以 10 /min 升到 220 并保持 10 min, 气化室温度 230 , 分流比为 1 50.

1.3.2 质谱条件 Finnigan MAT 4610 色谱质谱联用仪. 电子轰击离子化, 电子能量 70 eV, 灯丝发射电流 0.25 mA, 电子倍增器电压 1050 V, 接口温度 220 , 离子源温度 190 , 质量扫描速率为 33 ~ 500 AMU/s.

1.4 肉豆蔻脂肪酸组成的分析

置肉豆蔻碎果仁于索氏提取器内, 重蒸乙醚为溶剂, 加热提取完成后, 挥发干乙醚得到淡黄色脂肪. 取适量脂肪以 KOH 乙醇溶液充分皂化后, 滴加 HCl 溶液调至 pH= 2, 置于室温下, 白色脂肪酸析出后, 取游离脂肪酸约 50 mg, 以 2-氨基-2-甲基丙醇(2-Amino-2-methyl propanol, AMP) 为衍生化试剂^[2], 在 170 油浴上反应 2 h, 冷至室温, 供色谱质谱分析.

1.4.1 色谱条件 50 m HP-1 毛细管色谱柱. 程序升温, 起始温度为 80 , 保持 2min. 以 5 /min 升温至 250 , 保持 30 min.

1.4.2 质谱条件 除接口温度 260 外, 余同 1.3.2

2 结果与讨论

2.1 肉豆蔻风味

2.1.1 萜类化合物为主体构成了肉豆蔻的香味 经SDE 法和 Tenax G C 吸附后热解吸法

处理得到的肉豆蔻的样品都具有强烈的肉豆蔻香气, 并且在气相色谱上都得到了较好的分离. 图 1 是采集得到的各种组分的质谱图与 NB 标准质谱图, EPA/NIH 标准质谱^[3] 以及单萜标准图谱^[4] 对照, 共鉴定了 30 种化合物(见表 1). 其中有 20 多种萜类化合物, 按其结构可分为单萜烯(11 种), 萜烯醇(5 种), 萜烯醇醋酸酯(4 种) 及倍半萜(2 种). 相对含量最多的 β -蒎烯(β -Pinene) 具有松木香味^[7], 含量较多的 苧烯

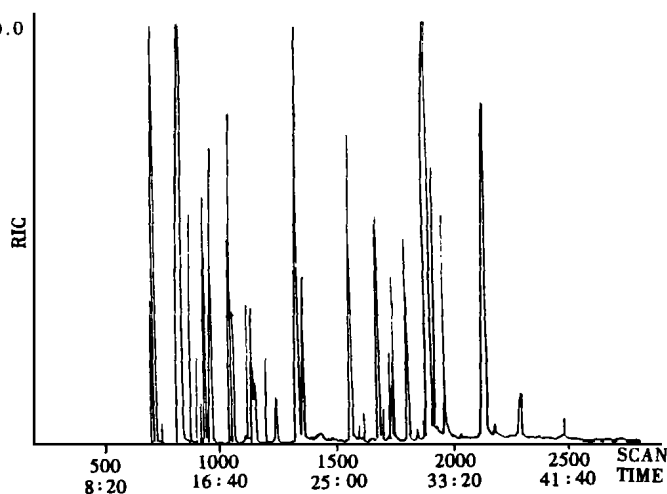


图 1 肉豆蔻香气色谱质谱重构总离子流图

(limonene) 具有令人愉快的柠檬样香味, α -松油烯(α -Terpinene) 在高浓度时会有苦味. 含量一般的月桂烯(Myrcene) 和 α -水芹烯(α -Phellandrene) 则会给人愉快的新鲜柑桔香和一丝淡淡的薄荷味. 含量很少的, 如 P-伞花烯(P-Cymene) 和桉烯(Shinenene), 有点胡萝卜味和轻微松柏香. 以上单萜化合物都广泛存在于香料植物中或中草药中. 5 种萜烯醇的含量都较丰富, 其中芳樟醇(Linalool) 具有特征的诱人的花香, α -松油醇(α -Terpineol) 具有丁香香气和略带甜味的桃子香气, 1,8-桉叶素(1,8-Cineole) 含有樟脑样的清凉带辣的气味. 相比之下萜烯醇醋酸酯的品种和含量都最少, 乙酸香叶酯(Geranyl acetate) 有令人愉快的玫瑰香; 乙

酸香茅酯(Citranellyl acetate)和乙酸龙脑酯(Bornyl acetate),前者带有水果香和近似玫瑰香,有从辣转甜的杏子样味道;后者有清凉的松香气味和微辣的味道。这几种萜烯醇和萜烯醇醋酸酯对于肉豆蔻的风味都起着非常重要的作用,可使得肉豆蔻香味饱满,圆润,有花的香韵,缓和并减少由萜烯构成的药味。在口感上产生薄荷样的清凉,又具有水果似的甜香味。

表 1 肉豆蔻的主要挥发性组分

挥 发 性 化 合 物			相 对 含 量	
			Thermodesorption	SDE
1 萜与萜醇类				
α -萜烯	α -Thujene	C ₁₀ H ₁₆	6.85	
4-萜烯	4-Carene	C ₁₀ H ₁₆	25.21	42.22
蒎烯	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	0.55	
β -蒎烯	β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	91.56	100
月桂烯	Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	6.46	痕量
水芹烯	α -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	1.83	痕量
3-萜烯	3-Carene	C ₁₀ H ₁₆	0.83	2.84
α -松油烯	α -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	11.28	痕量
p-伞花烯	p-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	痕量	痕量
桉烯	Shinene	C ₁₀ H ₁₆	痕量	
桉烯	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	17.68	48.11
二甲基苯乙炔	Dimethylstyrene	C ₁₀ H ₁₂	痕量	
芳樟醇	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	13.51	6.29
4-松油醇	4-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	5.04	8.57
1,8-桉叶素	1,8-Cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	3.69	6.50
二氢香芹烯醇	Dihydrocarveol	C ₁₀ H ₁₈ O	9.54	4.26
萜烷醇	5-Caranol	C ₁₀ H ₁₈ O	2.74	
	Trans-sabinool	C ₁₀ H ₁₈ O	45.0	
α -松油醇	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	6.15	81.75
2 萜醇醋酸酯				
乙酸龙脑酯	Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	痕量	痕量
乙酸松油酯	Terpinyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.375	1.06
乙酸香茅酯	Citronellyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.53	
乙酸香叶酯	Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	5.85	
3 倍半萜类				
衣兰烯	Ylangene	C ₁₅ H ₂₄	1.76	
蒎烯	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	0.50	6.73
4 肉豆蔻醚				
	Myristicin	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	100	96.12
5 丙烯基,甲氧基取代苯或酚				
丁香酚 异丁香酚	Eugenol Ioeugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	7.50	10.31
黄樟油素	Safrole	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	0.86	
Benzene, 1, 2, 3-trimethoxy-4-(2-Propenyl)-			7.89	8.68
Phenol, 2, 6-dimethoxy-4-(2-Propenyl)-			7.95	1.32

2.1.2 肉豆蔻醚(Myristicin)^[6] 在肉豆蔻果仁中相对含量最多的应数肉豆蔻醚。在肉豆蔻精油中其含量可达4%左右^[1]。肉豆蔻醚有强烈的香气,但亦有毒^[1,7],食用过多会引起细胞中脂肪变质、精神麻痹、嗜睡。因而肉豆蔻的使用限量($\mu\text{g/g}$),在焙烤食品中为3000,软饮料700,冰淇淋550,肉制品670。肉豆蔻精油的使用量($\mu\text{g/g}$)则更少,焙烤食品375,软饮料14,冰淇淋13,肉制品150,口香糖12,糕点2~3。黄樟油素(Safrole, 5-(2-Propenyl)-1,3-benzodioxole)^[7]具有黄樟的特征香味,其结构与肉豆蔻醚十分相似,亦具有毒性^[6],只是相对含量很低。此外还发现连接着1个或2个甲氧基的苯丙烯化合物。异丁香酚

(Isoeugenol) 有近似康乃馨花的香气, 丁香酚(Eugenol) 有强烈的丁香香气(辛香辛辣味), 由于二者结构相似, 在色谱上未分开。丁香酚存在于肉豆蔻中已被确认^[1,7], 其余两种类似结构化合物的特征香气及存在情况未见报道。尚需以标准化合物做进一步的验证。

2.2 肉豆蔻果仁的脂肪酸组成

肉豆蔻仁含有较多的脂肪, 可达 25%^[1], 主要由 4 种脂肪酸组成(见表 2), 主要为饱和脂肪酸。在常温下肉豆蔻脂是白色固体。本文中采用脂肪酸的 AMP 衍生化, 经色谱分离, 质谱鉴定。其优点在于羧基与 AMP 生成的吡咯琳环有效地

表 2 肉豆蔻脂肪酸组成

脂肪酸		速记表示	含量比例
月桂酸	Lauric acid	C12 0	4
豆蔻酸	Myristic acid	C14 0	25
棕榈酸	Palm itic acid	C16 0	1.4
油 酸	Oleic acid	C18 1 ^[7]	1

阻断了不饱和脂肪酸中碳碳双键上的 π 电子迁移, 根据质谱图可更准确地判定双键的位置。如: 分子离子 m/z 335, 证明是带一个双键的十八酸; 碎片离子簇中的 m/z 208 与 m/z 196 相差 12 个道尔顿, 可判定双键在脂肪酸的第九与第十碳之间, 则为油酸。

3 肉豆蔻口腔清洁剂的制备

肉豆蔻香气袭人, 其中为数众多的萜类化合物具有抑菌作用, 尤其是样品中检出的异丁香酚和丁香酚具有较强的抑菌作用, 是制备口腔清洁剂的良好原料。

3.1 浊度测定法

白陶土沉降比色法^[8]。

3.2 肉豆蔻蒸馏液的制备

25 g 肉豆蔻粗碎果仁, 按 500 ml 体积收集蒸馏液 10 份。合并所有蒸馏液, 静置过夜后有白色脂肪漂浮在液面, 过滤除去, 蒸馏液仍显微混浊, 需进一步除去细小的脂肪颗粒。蒸馏液经- 10~- 20 深度冷冻一定时间后快速过滤, 使滤液清澈, 测定其浊度。见表 3。

表 3 冷冻时间与滤液浊度

冷冻时间/ min	0	10	20	30	40	50
浊度	7.1676	2.9033	1.1327	0.1059	0.0961	0.0873

3.3 口腔清洁剂的配制

以甜味用量和肉豆蔻除油蒸馏液的用量进行二因素三水平正交试验, 以 10 人感观评分为响应值, 应用极差分析, 初步选定较好的配方为 20 ml 肉豆蔻除油蒸馏液, 40 mg 甜味剂, 食用色素适量, 加水稀释至 100 ml。产品得到较多的品尝者的肯定。但更为重要的是口腔清洁剂的抑菌效果。

3.4 口腔清洁剂的抑菌试验

- 3.4.1 试验菌种 大肠杆菌 *E. Coli*, 白色念株菌 *Monilia Sp*, 乳酸菌 *Streptococcus lactis*.
- 3.4.2 培养基 A(g/L): 牛肉浸膏 3, 蛋白胨 10, 氯化钠 5; B: 琼脂 1.8 g 加 A 培养基 100 ml; 灭菌, 供大肠杆菌试验。C(g/L): 鲜牛奶或奶粉(奶粉需加 7 份水调配), 酵母膏 0.1, 以溴甲酚紫为指示剂, 供乳酸菌试验。D: 20 g 去皮马铃薯加 80 ml 蒸馏水, 煮沸 3 min, 过滤液中加 2 g 琼脂; 灭菌, 供白色念株菌试验。

3.4.3 测试方法 培养基 B, C, D 各取 20 ml, 分别加入 1 ml 试验菌种与水的混合液。每只培养皿中等间距放置 4 只, 直径 1 cm 的已灭菌的不锈钢环, 每只环中分别滴加适量的口腔

清洁剂,其浓度分别为 $1, 1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-2}, 1 \times 10^{-3}$. 在 37℃ 培养 24~48 h, 检查不锈钢环四周抑菌圈, 结果见表 4.

表 4 抑菌试验

清洁剂浓度	菌 种		
	白色念株菌 (<i>Monilia SP</i>)	大肠杆菌(<i>E. Coli</i>)	乳酸菌(<i>Streptococcus Lactis</i>)
1	抑菌圈明显	抑菌圈明显	不锈钢环四周培养基淡紫色
1×10^{-1}	抑菌圈较淡	抑菌圈模糊	不锈钢环四周培养基淡紫色
1×10^{-2}	抑菌圈模糊	抑菌圈不存在	不锈钢环四周培养基淡紫色
1×10^{-3}	抑菌圈不存在	抑菌圈不存在	不锈钢环四周培养基淡紫色
结 果	原浓度的抑菌作用最强, 随浓度降低抑菌作用减弱	有一定的抑菌作用, 但抑菌作用迅速降低并消失	抑菌作用不明显

4 结论与展望

本研究较成功地鉴定出肉豆蔻香气成分主要由萜类化合物构成。配制的口腔清洁剂对白色念株菌等菌种有较好的抑制, 并有矫臭作用。肉豆蔻醚及黄樟油素化合物有一定的毒性, 故只宜嗽口不宜服用。对于口腔中其它有害细菌的抑制作用, 有待进一步证实。

致 谢

抑菌试验得到本校食品学院张灏副教授和厉凡老师的大力帮助。本文还得到舒宏福先生指正。在此谨表谢意。

参 考 文 献

1 林进能等. 天然食用香料生产与应用. 北京: 中国轻工业出版社, 1991. 134
2 Zheng J Y et al. J. of Biomedical and Enviromental Spectrometry 1988, 15: 33 ~ 44
3 Hellar S R, G. W. A. Milne EPA/NIH Mass Spectral Data Base U. S. Government Printing Office Washington. 1978
4 Smigar A A et al. Monoterpenes Aldrich Co. 1981
5 Thomas E, Furic et. al. Fenarolis Handbook of Flavor Ingredients Vol. I 2nd Edition C R C Press 1975
6 Susan Budavari et al. The Merck Index 11th Edition Merck Co Inc 1989. 999
7 张承曾. 天然香料手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1989. 252
8 罗 平. 饮料分析与检验. 北京: 中国轻工业出版社, 1992. 43

Study on Flavor of Spice and It's Application-Flavor of Nutmey and Mouth Wash

Tang Jian Yuan Shensu Liu Yangming Wang Linxiang
(Central Research and Design Institute, Waxi Uminersity of Light Lndnstry , Wuxi, 214036)
O. S. Kwasi (Ghana Standard Board)

Abstract Over 20 kinds of terpenic compounds in nutmeg were identified by using GC/MS. They made up main components of nutmeg flavor. When used as an essencial ingredient of mouth wash, the defat nutmeg distillat can inhibit monilia sp and E. Coli effectively, due to a lot of terpenes exiting in nutmeg.

Key-words nutmeg; MS; mouth wash; terpene; *monilia sp*