



田数,柴颖,田大勇,等.冬虫夏草提取液有效成分分析及其在卷烟中的应用研究[J].轻工学报,2022,37(3):74-81.

TIAN S, CHAI Y, TIAN D Y, et al. Analysis of the effective components of Cordyceps sinensis extract and its application in cigarettes[J]. Journal of Light Industry, 2022, 37(3): 74-81.

DOI:10.12187/2022.03.010

冬虫夏草提取液有效成分分析及其在卷烟中的应用研究

田数¹,柴颖²,田大勇³,董露²,王非易³,高铎³,李力群²,张峻松¹

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 内蒙古昆明卷烟有限责任公司,内蒙古 呼和浩特 010020;

3. 内蒙古烟草质量监督检测站,内蒙古 呼和浩特 010010

摘要:采用 GC-MS 对冬虫夏草提取液中的香味成分进行分析,利用热裂解-气相色谱-质谱联用仪(Py-GC-MS)对冬虫夏草特征成分(虫草酸和虫草多糖)裂解产物进行定性、定量分析,将冬虫夏草提取液添加至卷烟中,按照中式卷烟风格评价方法明确其香气风格及对卷烟感官品质的影响。结果表明:1)冬虫夏草提取液主要包括丁二酮、乳酸乙酯、 γ -丁内酯、丁酰乳酸丁酯、椰子醛等具有奶甜香韵的香味成分。2)虫草酸和虫草多糖在热裂解过程中能够释放出影响卷烟风味特征的小分子脱水单糖和小分子醛、酮类等香味物质;裂解温度较高时,脱水葡萄糖、甘露醇和 D-阿洛糖出现比例均较高。3)冬虫夏草提取液对卷烟香气风格的影响主要表现为可明显提升奶香香韵、甜香香韵,增补烤烟烟香、清香、果香;在口味风格方面可为提升卷烟甜感;在舒适感特征方面可降低口腔刺激/舌部灼烧,减少口腔残留,增加烟气收敛感,降低喉部干燥和鼻腔刺激;在烟气特征方面可提升香气、增加香气丰富性、柔和烟气使烟气更细腻圆润、掩盖杂气。

关键词:冬虫夏草提取液;香味成分;虫草酸;虫草多糖;热裂解

中图分类号:TS49 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2022)03-0074-08

0 引言

冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)为麦角菌科虫草属真菌,是由冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上形成的复合体,冬虫指蝙蝠蛾科幼虫尸体,夏草指冬虫夏草菌形成的子座。我国优质天然冬虫夏草多产于海拔 3000~5100 m 的高原高山草甸区^[1-5],青海、西藏、四川、云南等地为其主要产地。冬虫夏草

为传统名贵药材,药用历史悠久,传统中医学认为其具有止血、益肺、补气血等功效,现代药理学还证明其具有抗癌抗肿瘤、护肝、增强人体免疫系统活性、抗炎、抗氧化、调节心脑血管机能等功效^[6-9]。具体来说,冬虫夏草中的多糖类和糖醇类物质(如虫草多糖、虫草酸等)具有抗肝纤维化、降血糖、清除自由基和抗肿瘤作用^[10-12]。热裂解-气相色谱质谱联用技术可通过对卷烟燃烧过程的模拟,实现对裂解

收稿日期:2021-06-09

基金项目:河南省科技攻关项目(182102310647)

作者简介:田数(1992—),男,河南省商丘市人,郑州轻工业大学硕士研究生,主要研究方向为香精香料、烟草化学。E-mail:535183785@qq.com

通信作者:张峻松(1971—),男,河南省项城市人,郑州轻工业大学教授,主要研究方向为烟草化学与烟用香精香料。E-mail:13283712413@163.com

产物的在线分析,在烟草研究领域得到了广泛的应用^[13-16]。目前研究者多关注冬虫夏草的有效成分在药理学方面的功效^[17-20],而鲜见有关冬虫夏草提取液中的香味成分分析及其特征成分在卷烟中的热裂解行为的研究。

基于此,本文拟采用气相色谱-质谱联用法对冬虫夏草提取液香味成分组成进行分析,应用热裂解-气相色谱-质谱联用仪(Py-GC-MS)对特征成分虫草酸和虫草多糖裂解产物进行定性、定量分析,并按照中式卷烟的风格评价方法明确香味成分特征及其对卷烟感官品质的贡献,以期为进一步研究冬虫夏草特征成分在卷烟中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

主要材料:冬虫夏草粉、空白卷烟叶组,内蒙古昆明卷烟有限责任公司提供。

主要试剂:乙酸苯乙酯(纯度>98%),购于北京百灵威科技有限公司;乙醚、丙酮、无水乙醇、二氯甲烷,均为分析纯,购于北京化工厂。

主要仪器:8890B/5977B型气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),美国安捷伦科技有限公司产;Frontier-EGAPY 3030 D型多功能高温热裂解仪(Py),日本 Frontier LAB 公司产;BSA323 S型电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 冬虫夏草提取液香味成分分离与分析

1) 冬虫夏草提取液制备

精确称取 2.000 0 g 冬虫夏草粉末加入 10 mL 75%(体积分数,下同)的乙醇溶液,在 120 ℃ 条件下回流提取 3 h,离心过滤,提取 2 次,合并滤液,用 75%的乙醇溶液定容至 50 mL,得到冬虫夏草提取液。

2) 香味成分分离

称取 5 g 冬虫夏草提取液于 1000 mL 三口圆底烧瓶中,加入 350 mL 蒸馏水和 30 g 氯化钠,圆底烧瓶一端连接自行设计的同时蒸馏萃取装置。同时蒸馏萃取装置的另一端连接浓缩瓶,浓缩瓶

中加入 60 mL 二氯甲烷,在 60 ℃ 的水浴中同时蒸馏萃取 2.5 h,结束后,在浓缩瓶中加入 1 mL 内标乙酸苯乙酯(0.275 mg/mL)溶液。将萃取液转移至旋转蒸发仪,浓缩至 1.0 mL,移至色谱瓶中进行进样分析。

3) 香味成分分析

色谱条件:色谱柱 HP-5 MS(60 m×0.25 mm×0.25 μm),进样口温度 280 ℃,进样量 1 μL,分流比 5:1,载气 He(1.0 mL/min),升温程序为 50 ℃ 保持 2 min,然后以 3 ℃/min 的速率升温至 280 ℃,保持 20 min。

质谱条件:传输线温度 280 ℃,四极杆温度 150 ℃,离子源温度 230 ℃,EI 源电子能量 70 eV,质量扫描范围 30~550 amu。

1.2.2 冬虫夏草特征成分的分离纯化

1) 虫草酸的分离纯化

精确称取 2.000 0 g 冬虫夏草粉末,在粉末中加入 20 mL 95%的乙醇溶液,90 ℃ 水浴回流提取 1 h,过滤提取 2 次,合并滤液,得冬虫夏草乙醇提取液(保留该过程产生的冬虫夏草乙醇提取滤渣,用于虫草多糖提取);将冬虫夏草乙醇提取液减压浓缩至原体积的 1/5,然后将浓缩液静置至室温,冷却,沉淀析出,离心,沉淀物真空干燥,得到虫草酸粗品。

精确称取一定量的虫草酸粗品,加入 10 倍质量的蒸馏水,磁力搅拌至其完全溶解,2000 r/min 转速离心 10 min,取上清液,将上清液与有机溶剂(V(氯仿):V(正丁醇)=4:1)按 3:1 的体积比混合,装入分液漏斗中,剧烈振荡 20 min,静置,取上清液。上清液按 Sevag 法重复脱蛋白,直至水相和氯仿相之间无明显的蛋白沉淀为止。水相加入 5 倍体积的无水乙醇,放入冰箱中,静置过夜,有白色晶体析出;过滤,沉淀用无水乙醇洗涤 3 次,干燥即得除蛋白虫草酸。

精确称取一定量的除蛋白虫草酸样品,加入 10 倍质量的 50%乙醇溶液,加热并磁力搅拌,使其全部溶解,然后冷却至室温,静置 2 h 以上,过滤,用无水乙醇洗涤沉淀 3 次,干燥即得虫草酸纯品,气相色谱检测其纯度为 98.52%。

2) 虫草多糖的分离纯化

在冬虫夏草乙醇提取滤渣中加入一定量的水,在 80 ℃ 水浴条件下浸提 3 h,过滤,浸提 2 次,合并滤液并浓缩,然后向浓缩液中加入 4 倍体积的无水乙醇以沉淀多糖,静置 2 h 以上。过滤,沉淀依次以乙醚、丙酮、无水乙醇洗涤,脱水干燥即得虫草多糖粗品。

将所得虫草多糖粗品用 20 倍质量的蒸馏水溶解,所得溶液与有机溶剂($V(\text{氯仿}):V(\text{正丁醇})=4:1$)按 3:1 体积混合,装入分液漏斗中,剧烈振荡 20 min,静置取上清液。上清液按 Sevag 法重复脱蛋白,直至水相和氯仿相之间无明显的蛋白沉淀为止。水相加入 4 倍体积的无水乙醇以沉淀多糖,静置 2 h 以上,过滤,沉淀用无水乙醇洗涤 3 次,干燥即得虫草多糖纯品,利用硫酸-苯酚法测定其纯度为 95.39%。

1.2.3 冬虫夏草特征成分的热裂解分析

1) 虫草酸和虫草多糖的热裂解条件

卷烟热解蒸馏区的温度约为 200~900 ℃,大部分烟气成分产生于该温度区间,因此借鉴以往经验分别选择 300 ℃、600 ℃、900 ℃ 对冬虫夏草的特征成分进行热裂解分析。称取一定量的虫草酸纯品和虫草多糖纯品,放置于多功能高温热裂解仪样品杯中,按照设定的热裂解条件进行热裂解。热裂解条件为:裂解温度 300 ℃、600 ℃、900 ℃,持续时间 10 s,初始温度 30 ℃,升温速率 20.00 ℃/ms,载气为氮气。

2) 热裂解产物分析条件

将多功能高温热裂解仪与 GC-MS 串联,构成热裂解-气相色谱-质谱分析系统,对虫草酸和虫草多糖的裂解产物进行分析。

气相色谱条件:进样口温度为 280 ℃,进样量为 1 μL ,分流比为 10:1,载气为氦气,气相色谱柱选用型号为 DB-5 MS 的弹性石英毛细管色谱柱(60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm),气相色谱升温程序为 50 ℃,保持 2 min,以 4 ℃/min 的速率升温至 280 ℃,保持 10 min。

质谱检测条件:传输线温度为 280 ℃,离子源温度为 230 ℃,四极杆温度为 150 ℃,EI 源电子能量

为 70 eV,电子倍增器电压为 1600 V,质量扫描范围为 30~550 amu。

用 WILEY 和 NIST 标准质谱库对热裂解产物挥发性成分进行定性分析,并采用面积归一化法测定其含量。

1.2.4 感官评价方法 将冬虫夏草提取液用 20% 乙醇溶液稀释成 1% (体积分数) 的稀释液。取空白卷烟叶组 100 g,按照卷烟工艺要求用量,定量移取冬虫夏草稀释液,采用医用喷雾器,将冬虫夏草稀释液均匀喷洒在叶组中,作为实验组。对照组的卷烟叶组样品采用相同体积的乙醇溶液(体积分数为 20%) 进行处理。将处理后的烟组样品密闭贮存约 4 h,采用低温处理将烟叶烘干后,手工制成卷烟。将卷制好的样品卷烟按照《卷烟 第 4 部分:感官技术要求》(GB 5606.4—2005)^[21] 的规定,单层放置在(22 $\pm$ 2) ℃、相对湿度(60 $\pm$ 2)% 的恒温恒湿箱内 48 h,将水分含量平衡至(12 $\pm$ 1)%。

由 7 名内蒙古昆明卷烟有限责任公司评吸委员会评委对平衡好的卷烟进行感官评价,按照中式卷烟的风格评价方法^[22] 进行评价。

2 结果与讨论

2.1 冬虫夏草提取液香味成分分析

对冬虫夏草提取液香味成分进行分析,结果如表 1 所示。由表 1 可知,冬虫夏草提取液中的香味成分种类较多,主要有丁二酮、乳酸乙酯、 γ -丁内酯、丁酰乳酸丁酯、椰子醛等成分,这些香味成分可明显提升和丰富卷烟的奶甜香韵。此外,提取液中的苯乙醇具有新鲜面包香、清甜的玫瑰样花香,可增加卷烟烟气的回甜感;辛酸乙酯具有白兰地酒和菠萝样香气,具有柔和烟气、增补烤烟特征香的作用;壬酸乙酯具有油脂、水果和白兰地酒样香气,可使烟气柔和细腻。嗅觉评价结果表明,冬虫夏草提取液香韵丰富,主要以奶甜香为主,辅以甜香、果香、酒香等香韵。

2.2 虫草酸的热裂解产物分析

虫草酸热裂解产物分析结果如表 2 所示。由表 2 可以看出,虫草酸在热裂解过程中生成了酯类、醛酮类、醇类、酸类、杂环类等物质,这些物质呈现出花

表 1 冬虫夏草提取液香味成分分析结果
Table 1 The analysis results of the aroma components in the extract of Cordyceps sinensis extract

序号	保留时间/min	香味成分	相似度/%	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	序号	保留时间/min	香味成分	相似度/%	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	6.20	3-戊烯-2-醇	78	0.767	31	32.82	2-葵烯-5-内酯	82	0.350
2	6.64	丁二酮	93	0.774	32	33.70	1-甲基-4-(1-亚甲基-5-甲基-4-己烯基)环己烯	78	0.039
3	8.77	己醛	81	0.128	33	34.20	β -倍半水芹烯	82	0.020
4	9.18	乳酸乙酯	72	0.618	34	34.26	δ -杜松烯	83	0.030
5	9.82	糠醛	92	0.491	35	34.94	1,6-二氧杂环十二烷-7,12-二酮	84	0.037
6	10.13	巴豆酸乙酯	75	0.080	36	36.01	月桂酸乙酯	79	0.037
7	10.48	糠醇	82	0.635	37	36.27	(-)-蓝桉醇	92	0.086
8	12.06	乙酸-3-甲基环戊酯	84	0.117	38	36.86	(1R,4R)-1-甲基-4-(6-甲基庚-5-烯-2-基)环己-2-烯醇	85	0.044
9	12.27	3-甲硫基丙醛	73	0.179	39	37.54	3-十四烷醇	87	0.043
10	12.52	γ -丁内酯	72	0.546	40	37.66	9,10-脱氢异长叶烯	76	0.039
11	13.26	丁酰乳酸丁酯	76	0.185	41	38.21	9-脱氢大环长叶烯	95	0.204
12	13.96	5-甲基呋喃醛	84	0.131	42	41.25	5-乙酰氨基-6-甲氧基喹	92	0.032
13	14.40	苯甲醛	88	0.057	43	41.32	2,6,7,7a四氢-1,5-二甲基-1H-茚-3-甲醛	91	0.061
14	15.05	2-环己烯酮	91	0.126	44	41.51	肉豆蔻酸乙酯	78	0.177
15	15.42	2-戊基呋喃	93	0.148	45	41.66	十八烷	76	0.052
16	17.22	2-甲烯基丁内酯	94	1.019	46	43.61	丁基异丁基邻苯二甲酸酯	77	0.125
17	17.51	苯乙醛	73	0.316	47	44.07	十五酸乙酯	84	0.460
18	18.21	2-乙酰基吡咯	76	0.065	48	44.21	十九烷	82	0.072
19	20.24	苯乙醇	78	0.389	49	44.87	棕榈酸甲酯	75	0.367
20	21.05	反式 3-壬烯-2-酮	87	0.031	50	45.94	邻苯二甲酸二丁酯	82	0.543
21	21.47	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇	79	0.056	51	46.05	棕榈酸	94	6.185
22	23.08	辛酸乙酯	72	0.138	52	46.63	棕榈酸乙酯	93	20.991
23	24.87	反式-2-辛烯酸乙酯	94	0.014	53	47.74	(+)-镰叶芹醇	76	20.786
24	26.57	壬酸乙酯	85	0.282	54	48.87	十七酸乙酯	78	0.786
25	27.43	对乙烯基愈疮木酚	73	0.209	55	48.96	亚油酸甲酯	81	0.661
26	28.37	2-己基环戊酮	92	0.119	56	50.58	亚油酸乙酯	79	27.111
27	29.05	椰子醛	75	0.152	57	50.63	油酸乙酯	76	4.020
28	29.47	1-乙基-3-哌啶酮	84	0.046	58	50.69	亚麻酸乙酯	82	2.931
29	30.67	2-羟基-4-甲基-戊酸乙酯	79	0.083	59	55.32	乙酸-9,12-十四二烯 1-酯	90	0.938
30	31.95	(E)- β -金合欢烯	91	0.106					

香、酒香、青香、烤香、果香、甜香等多种香韵,对于塑造卷烟风味、提升卷烟品质具有重要作用。裂解产物的种类随着裂解温度的升高而增加,裂解温度为 300 ℃ 时共检出化合物 23 种, 占总峰面积的 81.95%, 含量最高的物质为棕榈酸(16.82%), 其次是棕榈酸-s-丁酯(13.76%)和月桂酸(7.92%);当裂解温度为 600 ℃ 时共检出化合物 16 种, 占总峰面积的 42.70%, 检测到含量最高的是 β -D-呋喃半乳糖酯(18.18%), 其次是 5-甲基噻唑(3.42%)、山梨

醇(3.23%)和月桂酸(3.23%);当裂解温度为 900 ℃ 时, 共检出化合物 18 种, 占总峰面积的 98.05%, 主要组分为碳水化合物, 其中裂解产物含量最高的仍为 β -D-呋喃半乳糖酯(23.85%), 其次是 1,4-酞-D-葡萄糖醇(14.40%)和月桂酸(12.01%)。

2.3 虫草多糖的热裂解产物分析

虫草多糖的热裂解产物分析结果如表 3 所示。由表 3 可知, 虫草多糖在热裂解过程中可以释放出小分子的脱水单糖和小分子的醛、酮类物质, 其中

表 2 虫草酸热裂解产物分析结果
Table 2 The analysis results of the pyrolysis products of cordyceptic acid

序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%			序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
			300 ℃	600 ℃	900 ℃				300 ℃	600 ℃	900 ℃
1	7.125	2-苯基-1-丙烯	1.62	—	—	21	26.450	肉豆蔻酸	1.27	0.48	0.62
2	10.612	壬醛	0.65	—	—	22	28.677	异戊酸酐	—	2.39	1.69
3	13.523	癸醛	1.10	—	0.41	23	28.684	戊酸-2-丙烯酯	5.52	—	—
4	13.891	1,4-脱水-甘露醇	2.77	0.12	3.54	24	29.340	十五烷酸	4.36	0.32	0.35
5	14.114	异山梨醇	—	—	0.42	25	30.197	Z-11-十六碳烯酸	1.44	—	—
6	16.384	四氧糠醇乙酸酯	0.23	—	—	26	30.637	棕榈酸	16.82	1.75	—
7	18.834	1,4-D-葡萄糖苷	—	—	2.84	27	30.867	2,3-二甲基-1-己烯	0.24	—	—
8	18.884	α-D-吡喃葡萄糖	—	1.01	—	28	30.968	11-十六烯酸	7.44	—	—
9	20.599	2(1H)-对苯二酮胺	—	0.72	—	29	31.249	邻苯二甲酸正丁异辛酯	—	—	0.32
10	21.363	2-氨基甲酰-3-甲基丁酸	—	2.46	—	30	31.256	邻苯二甲酸二丁酯	0.74	—	—
11	21.471	山梨醇	—	3.23	—	31	31.573	5-甲基噻唑	—	3.42	—
12	21.939	1,5-酐-d-甘露醇	2.63	—	—	32	31.581	棕榈酸-s-丁酯	13.76	—	—
13	22.213	1,4-酐-D-甘露醇	—	—	6.95	33	32.316	2,5-二甲氧基-2,5-二氢呋喃	—	2.03	4.14
14	22.336	1,5-酐-D-甘露醇	—	—	11.56	34	32.539	己酸-4-辛酯	1.32	0.41	—
15	22.343	1,4-酐-D-葡萄糖醇	—	—	14.40	35	32.549	2-甲基丁基己酸酯	—	—	0.97
16	22.797	月桂酸	7.92	3.23	12.01	36	32.878	1-十三醇	0.80	—	—
17	24.029	1,4-酐-D-半乳糖醇	—	0.90	1.98	37	33.296	十七烷酸	0.55	—	—
18	24.360	β-D-呋喃半乳糖酯	—	18.18	23.85	38	34.730	十八烷酸	4.14	—	—
19	24.807	安息香醇	—	—	8.75	39	35.256	硬脂酸	1.33	—	—
20	25.701	8-甲氧基香豆素	4.63	2.05	3.25	40	35.587	十六碳酰胺	0.67	—	—

注:—表示未检出,下同。

表 3 虫草多糖热裂解产物分析结果
Table 3 The analysis results of the pyrolysis products of cordyceps polysaccharide

序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%			序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
			300 ℃	600 ℃	900 ℃				300 ℃	600 ℃	900 ℃
1	6.21	3-甲基-2,5-呋喃二酮	0.19	—	—	20	13.40	2-甲基-1H-茚	—	—	0.71
2	6.69	5-甲基呋喃醛	0.23	0.68	0.52	21	13.58	苯甲酸	0.09	—	0.01
3	8.34	甲基环戊烯醇酮	—	—	0.55	22	14.12	戊二酰亚胺	—	—	2.01
4	8.53	5,6-二氢-2H-吡喃-2-酮	0.08	0.33	0.13	23	14.27	1,4;3,6-二脱水-α-葡萄糖	—	0.40	0.37
5	9.60	2-吡咯烷酮	0.18	0.16	0.08	24	14.72	3-氨基哌啶-2-酮	0.61	1.41	1.80
6	9.72	1,4-二甲基哌嗪	—	0.21	0.08	25	14.90	1-甲基-苯乙基乙胺	—	0.30	0.52
7	9.94	3-甲基-2,5-呋喃二酮	0.21	1.58	1.77	26	15.11	2,3-甘露聚糖	—	—	0.95
8	10.24	1-氨基环丙烷羧酸	—	—	0.52	27	15.49	3-甲基吡啶	—	0.18	0.25
9	10.42	5-氨基-1-乙基吡啶	—	0.13	0.12	28	16.79	2-吡啶甲酰胺	—	—	0.25
10	10.75	糠醇	4.21	3.76	1.15	29	16.96	2-(1-哌嗪基)乙醇	—	—	0.24
11	10.86	2,3-环戊烯并吡啶	—	—	0.24	30	16.94	8-吡咯并吡啶	0.76	—	0.41
12	11.29	4-甲基吡嗪-3,6-二醇	—	0.15	0.27	31	17.90	壬酸	0.21	0.42	0.31
13	12.01	2,6-哌啶二酮	1.63	1.94	0.61	32	18.16	1-甲基吡咯-2-羧酸	0.17	0.26	0.45
14	12.61	1,3-二甲基-2-乙烯基苯	—	—	0.13	33	18.26	4-甲基脯氨酸甲酯	—	0.31	0.28
15	12.69	2-甲基-1-丙烯基苯	—	—	0.11	34	18.42	5-甲基吡啶	—	0.23	0.26
16	12.89	1-甲基茚满	—	0.31	—	35	18.74	5-甲基-3-三氟甲基吡啶	0.16	0.34	0.55
17	13.19	1-甲基-1H-茚	—	0.86	1.02	36	18.89	1,4;3,6-脱水 D-甘露糖	0.21	0.41	0.16
18	13.32	1,2,3,4-四甲基苯	—	0.21	0.62	37	19.82	1-(2-吡嗪基)丁酮	—	0.11	0.38
19	13.33	间异丙基甲苯	—	—	0.24	38	19.95	2,5,8-三甲基-1,4-二氢化萘	—	2.10	1.80

表 3(续)

序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%			序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
			300 ℃	600 ℃	900 ℃				300 ℃	600 ℃	900 ℃
39	20.08	2-异丙基萘	—	—	1.17	49	20.66	1,6-脱水-β-D-葡萄糖	—	0.28	1.72
40	20.28	二苯并呋喃	0.12	—	—	50	21.76	D-阿洛糖	26.61	35.28	16.84
41	20.33	3,5,8-三甲基-1,2-二氢化萘	—	1.97	1.84	51	22.94	1,6-脱水-β-D-葡萄糖	10.31	1.21	0.85
42	20.50	1,4,6-三甲基-1,2-二氢化萘	—	0.46	0.72	52	23.14	1,4-脱水-甘露醇	5.31	10.52	6.24
43	20.56	2,4-二羟基苯乙酮	0.57	1.07	0.75	53	24.02	1,5-脱水-D-半乳糖醇	—	0.35	8.15
44	20.78	2,3,6-三甲基萘	—	0.86	1.28	54	24.08	安息香醇	—	0.64	—
45	21.04	1,6,7-三甲基萘	—	3.42	5.13	55	25.14	1,5-脱水-D-甘露醇	—	1.09	—
46	21.43	5-乙酰基-6-甲基-苯并咪唑酮	—	3.21	1.98	56	26.70	8-甲氧基香豆素	1.22	0.95	1.38
47	21.75	1,2,3,4-四甲基萘	—	0.41	—	57	28.52	六羟基吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮	0.76	0.47	—
48	22.71	3,3'-二甲基联苯	—	—	0.47	58	31.70	葫芦巴内酯	0.23	0.11	—

D-阿洛糖出现比例均较高,D-阿洛糖是葡萄糖的C3差相异构体,说明在卷烟燃吸时D-阿洛糖有可能会转移至主流烟气中,为改善卷烟的甜味提供一定的帮助。在300 ℃条件下进行热裂解,共检测出化合物22种(匹配度大于80%),含量最高的为D-阿洛糖,其次为1,6-脱水-β-D-葡萄糖;在600 ℃裂解温度下,共检出化合物41种(匹配度大于80%),含量最高的也为D-阿洛糖,其次为1,4-脱水-甘露醇;在900 ℃裂解温度下,共检出化合物50种,含量最高的仍为D-阿洛糖,其次为1,5-脱

水-D-半乳糖醇。从裂解产物中亦可以推断出虫草多糖的结构中有较多的葡萄糖、甘露糖、半乳糖醇单元。

2.4 冬虫夏草提取液对卷烟风格的影响

冬虫夏草提取液制备的卷烟样品感官评价结果如表4所示,其中香气风格各项指标通过嗅香和评吸确定得分,分值分别为0~3分、0~10分;口味风格、舒适感特征、烟气特征各项指标仅通过评吸确定得分,分值分别为0~5分、0~10分、0~10分。由表4的结果可知,冬虫夏草提取液对卷烟香气风格的

表 4 冬虫夏草提取液制备的卷烟样品感官评价结果

Table 4 The sensory evaluation results of cigarette samples prepared by Cordyceps sinensis extract						分			
指标		对照组		实验组		指标	对照组 评吸	实验组 评吸	
		嗅香	评吸	嗅香	评吸				
香气风格	烤烟烟香	1.56	6.11	1.44	6.67	口味风格	甜味	2.50	3.00
	晾晒烟烟香	0	0	0	0		酸味	0.50	0.50
	清香	1.00	3.44	1.44	3.67		苦味	0.50	0.50
	果香	0	0.44	0.44	0.56		凉味	0	0
	辛香	0	0.33	0.22	0.22		舒适感 特征	口腔刺激/舌部灼烧	8.50
	木香	0	0	0	0	口腔残留/干燥感		8.00	8.50
	青滋香	0.22	0.22	0.22	0.22	收敛		8.00	8.75
	花香	0	0	0	0	喉部刺激		9.00	9.00
	药草香	0.11	0.11	0.56	1.33	喉部干燥		8.00	8.75
	豆香	0	0	0	0	鼻腔刺激		8.50	9.00
	可可香	0	0	0	0.11	烟气特征	香气	7.50	8.50
	奶香	0.11	0	0.78	2.56		丰富性	7.00	8.50
	膏香	0	0	0	0		细腻/柔和/圆润	7.50	8.25
	烘焙香	1.11	3.11	1.22	3.00		杂气	8.00	8.75
	甜香	0.33	2.56	0.67	3.33		烟气浓度	7.50	7.75
							劲头	4.50	4.50

影响主要表现为:可使奶香香韵、甜香香韵明显提升,烤烟烟香、清香、果香有所增加;对口味风格的影响主要表现为可改善卷烟甜感;对舒适感特征的影响则主要表现为可降低口腔刺激/舌部灼烧,减少口腔残留,增加烟气收敛感,降低喉部干燥和鼻腔刺激;对烟气特征的影响主要表现为提升香气、增加香气丰富性、柔和烟气,使烟气更细腻圆润、掩盖杂气。

3 结论

本文通过对冬虫夏草提取液进行香味成分分析,共检出香味成分 59 种,其中主要包括丁二酮、乳酸乙酯、 γ -丁内酯、丁酰乳酸丁酯、椰子醛等具有奶甜香韵的香味成分。进一步针对冬虫夏草虫草酸和虫草多糖,采用 Py-GC-MS 在 300 ℃、600 ℃、900 ℃ 下进行裂解产物分析,确定了虫草酸和虫草多糖在热裂解过程中可以释放出小分子的脱水单糖和小分子的醛、酮类等物质,这些物质呈现出多种香韵风格,对于塑造卷烟特色风格、提升品质具有重要作用。将冬虫夏草提取液添加至卷烟中,通过感官评吸发现冬虫夏草提取液对卷烟香气风格的影响主要表现为可明显提升奶香香韵、甜香香韵,增补烤烟烟香、清香、果香;在口味风格方面为可提升卷烟甜感;在舒适感特征方面可降低口腔刺激/舌部灼烧,减少口腔残留,增加烟气收敛感,降低喉部干燥和鼻腔刺激;在烟气特征方面可提升香气、增加香气丰富性、柔和烟气使烟气更细腻圆润、掩盖杂气。冬虫夏草提取液中含有能呈现多种香韵的化合物,这些物质是赋予卷烟特色风格的关键物质,而具体每种香味物质对卷烟感官作用的影响过程及机理则是下一步的研究方向。

参考文献:

- [1] LI X, LIU Q, LI W J, et al. A breakthrough in the artificial cultivation of Chinese cordyceps on a large-scale and its impact on science, the economy, and industry [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2019, 39(2): 181-191.
- [2] 靳朝霞, 杨少辉. 冬虫夏草的研究进展与发展趋势 [J]. *天津医科大学学报*, 2005, 11(1): 137-140.
- [3] 金田, 石俊英. 近五年北虫草药理作用研究进展 [J]. *食品与药品*, 2011, 13(9): 358-361.
- [4] YUAN Q H, XIE F, TAN J, et al. Extraction, structure and pharmacological effects of the polysaccharides from *Cordyceps sinensis*: A review [J]. *Journal of Functional Foods*, 2022, 89: 104909.
- [5] ZHAO Y N, ZHANG J H, MENG Q, et al. Transcriptomic analysis of the orchestrated molecular mechanisms underlying fruiting body initiation in Chinese cordyceps [J]. *Gene*, 2020, 763: 145061.
- [6] LI J, CAI H W, SUN H H, et al. Extracts of *Cordyceps sinensis* inhibit breast cancer growth through promoting M1 macrophage polarization via NF-kappa B pathway activation [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 260: 112969.
- [7] 陈晓燕. 冬虫夏草的药理与临床研究进展 [J]. *中医药导报*, 2009, 15(2): 91-93.
- [8] WANG J C, PENG J, WANG Y M, et al. Bioinformatics study on the effect of cordyceps sinensis combined with pluripotent stem cell for pulmonary fibrosis [J]. *Journal of Medical Imaging and Health Informatics*, 2018, 8(6): 1126-1130.
- [9] CHAN R C H, LAM S S W, FONG F L Y, et al. Optimization of protein extraction and two-dimensional gel electrophoresis profiles for the identification of *Cordyceps sinensis* and other similar species [J]. *PLOS ONE*, 2018, 13(8): e0202779.
- [10] HADI N S H S, JAMALUDIN A A, KALAIYARASAN T, et al. Multifunctional dynamic toolbox: Cordycepin plays a therapeutic role in various disorders [J]. *Reviews in Medical Microbiology*, 2022, 33(1): e23-e32.
- [11] YING W, YIN H P, LYU X B. Protection of chronic renal failure by a polysaccharide from *Cordyceps sinensis* [J]. *Fitoterapia*, 2010(81): 397-402.

- [12] XIA M C,ZHAN Q,CAI L S,et al. Investigation into the content change and distribution of active components in *Cordyceps sinensis* with growth cycle by direct TOF-SIMS detection[J]. *Microchemical Journal*,2021,164:106026.
- [13] 杨皓,刘文静. 热裂解气质技术在卷烟工业中的应用[J]. *安徽农业科学*,2016,44(24):91-94.
- [14] MITSUI K,DAVID F,DUMONT E,et al. LC fractionation followed by pyrolysis GC-MS for the in-depth study of aroma compounds formed during tobacco combustion[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*,2015,116:68-74.
- [15] 蔡波,周博,冯斌,等. 猕猴桃提取物的制备、表征及其在卷烟加香中的应用[J]. *食品工业*,2016,37(1):153-157.
- [16] 侯亚龙,钱蕾,毛璐伊,等. 龙爪果提取物的热裂解产物分析及其应用[J]. *上海理工大学学报*,2019,41(6):533-539.
- [17] 陈丽云,祁真. 冬虫夏草氨基酸成分的药理作用分析[J]. *中国卫生工程学*,2018,17(5):675-677.
- [18] 田野,李文佳,钱正明,等. 冬虫夏草抗肿瘤活性药理实验和临床研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*,2017,34(10):943-950.
- [19] 王玉贤,王艺璇,陈蓉,等. 冬虫夏草蛋白提取物抗 A549 肺癌细胞及免疫活性分析[J]. *中国实验方剂学杂志*,2018,24(1):79-84.
- [20] 胡贤达,周菲,黄雪,等. 冬虫夏草中虫草多糖的药理研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*,2016,22(6):224-229.
- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 卷烟 第4部分:感官技术要求:GB 5606.4—2005[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [22] 国家烟草专卖局. 卷烟 中式卷烟风格感官评价方法:YC/T 497—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014.

Analysis of the effective components of *Cordyceps sinensis* extract and its application in cigarettes

TIAN Shu¹, CHAI Ying², TIAN Dayong³, DONG Lu², WANG Feiyi³, GAO Duo³, LI Liquan², ZHANG Junsong¹

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Inner Mongolia Kunming Cigarettes Co., Ltd., Hohhot 010020, China;

3. Inner Mongolia Tobacco Quality Supervision and Inspection Institution, Hohhot 010010, China

Abstract: The flavor component in the *Cordyceps sinensis* extract were analyzed by GC-MS, the pyrolysis products of the *Cordyceps sinensis* characteristic components including cordycepin acid and cordyceps polysaccharide were qualitatively and quantitatively analyzed by pyrolysis coupled with gas chromatography and mass spectrometry (Py-GC-MS). Aroma style and influence on the sensory quality of cigarette after adding *Cordyceps sinensis* extract were evaluated according to the sensory evaluation methods for Chinese-stylistic features. The results showed that *Cordyceps sinensis* extract mainly included butanedione, ethyl lactate, γ -Butyrolactone, butyl butyryl lactate, coconut aldehyde and other aroma components with creamy sweet flavor. Cordycepic acid and cordyceps polysaccharide could release small molecular dehydrated monosaccharides, small molecular aldehydes, ketones and other flavor substances which influenced the flavor characteristics on cigarette during pyrolysis; the proportion of dehydrated glucose, mannitol and d-alose was high accordingly with high pyrolysis temperature. The effect of *Cordyceps sinensis* extract on cigarette aroma style was mainly manifested that it could significantly improve creamy aroma and sweet aroma and add flue-cured tobacco aroma, freshness and fruity aroma. In terms of taste style, it could enhance the sweetness of cigarette; In terms of comfort characteristics, it could reduce oral irritation/tongue burning and oral residue, and increase smoking convergence, and reduce laryngeal dryness and nasal irritation; In terms of smoking characteristics, it could enhance the aroma, increase aroma richness, soften smoking, make the smoking more delicate and mellow, and cover up offensive taste.

Key words: *Cordyceps sinensis* extract; aroma component; cordycepic acid; cordyceps polysaccharide; pyrolysis

(责任编辑:吴晓亭)