

SDE 和 HE-SPME 应用于 GC-MS 分析香榧假种皮中挥发性成分的比较研究

常 慧¹, 许睿洁¹, 杨 松², 陈昭琪¹, 亢金秀¹, 杨文字¹, 罗静璠¹, 丁之恩^{1*}

(1. 安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036; 2. 合肥农产品加工研究院, 合肥 230031)

摘 要: 分别采用同时蒸馏萃取法 (SDE) 和顶空固相微萃取法 (HS-SPME) 提取香榧假种皮的挥发性物质, 并用气相色谱-质谱法 (GC-MS) 结合峰面积进行定量分析, 结合保留指数进行定性分析。结果表明, 2 种萃取方法一共检出匹配度达 90% 以上的挥发性物质成分 96 种, 其中 SDE 法鉴定出 57 种, HS-SPME 法鉴定出了 39 种。被检测出的物质中, 烯烃类最多, 达 60 种, 其次是醇类 12 种、羧酸和酯类 9 种, 醛酮类 3 种, 其他类型化合物 12 种。对 2 种方法各挥发性成分进行分析, 结果显示, 采用 HS-SPME 方法的前处理简单、分析时间短且重复性好, 适于香榧挥发性成分的快速测定。而将这 2 种方法综合使用, 则能更全面地反映香榧假种皮精油挥发性物质的成分。

关键词: 香榧假种皮; 挥发性成分; 顶空固相微萃取; 同时蒸馏萃取; 保留指数

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)05-0761-07

A comparative study of SDE and HS-SPME methods for analyzing volatile components in aril of *Torreya grandis* cv. Merrilli

CHANG Hui¹, XU Ruijie¹, YANG Song², CHEN Zhaoqi¹, KANG Jinxiu¹,
YANG Wenyu¹, LUO Jingfan¹, DING Zhien¹

(1. School of Tea & Food Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Institute of Agricultural Products Processing, Hefei 230031)

Abstract: The volatile substances in *Torreya grandis* aril were extracted using the simultaneous distillation and extraction (SDE) and headspace solid phase microextraction (HS-SPME) method. The quantitative analysis was carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with the peak area, while the qualitative analysis was conducted using GC-MS combined with the retention index. The results showed that 96 volatile substances with a matched-degree up to 90% were detected by the two extraction methods. Of which, 57 substances were detected by SED and 39 were detected by HS-SPME. Among the detected substances, 60 were alkenes and 12, 9, 3 and 12 were alcohols, carboxylic acids and esters, aldehydes and ketones, and other compounds, respectively. The results suggested that HS-SPME had such advantages as simple pretreatment, short time and better repeatability, indicating it is suitable for a rapid determination of volatiles. However, the combination of the two methods could provide an overall picture of volatile substances in aril of *Torreya grandis*.

Key words: *Torreya grandis* aril; volatile components; headspace solid-phase microextraction; simultaneous distillation extraction; retention index

香榧 (*Torreya grandis*), 裸子类植物, 红豆杉科榧属常绿乔木, 是中国珍稀坚果树种之一^[1]。在国内, 主要分布在安徽的黟县、太平、宁国和宣城等地, 浙江诸暨、东阳和嵊州等地; 在国外, 分布在日本

和美国^[2]。香榧具有多种活性物质, 包括多酚类^[3]、二萜类、黄酮类^[4]和木质素类等。香榧子为干果制品, 含油量高, 其中不饱和脂肪酸高达 80% 以上, 可制成高级食用油, 具备抗氧化活性^[5]、降血脂、降血清

收稿日期: 2017-03-02

基金项目: 国家自然科学基金 (30271100) 资助。

作者简介: 常 慧, 硕士研究生。E-mail: 94625858@qq.com

* 通信作者: 丁之恩, 博士, 教授。E-mail: 448316056@qq.com

胆固醇^[6]和预防动脉粥样硬化^[7]等功能。

大量研究表明,香榧中很重要的化学成分为挥发性的香气成分,其中假种皮中就含有很多种芳香成分^[8]。香榧假种皮精油香气的挥发性成分是加工高品质精油的基础,定性和定量分析采用的主要萃取措施有蒸馏萃取法^[9]、液液萃取法^[10]、超临界流体萃取^[11]和固相微萃取法^[12]等,然后结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用进行讨论分析。其中水蒸气蒸馏萃取法(SD)已经较少使用,现在常采取改进后的溶剂萃取法^[13];蒸馏萃取法(SDE)能把脂质或水质中浓度极低的挥发性物质精炼数千倍,对微量成分的提取率高,现应用于挥发性物质的提取^[14];超临界流体萃取(SFE)多应用在自然植物成分提取上^[15];固相微萃取(SPME)是一种样品前处理的富集技术,因为该方法不需要溶剂,并集采样、浓缩、萃取和进样于一体,所以,相比其他方法具有简单、快速、高效、无污染和方便携带等多个优点^[16],目前应用于食品、医药、环境和工业等领域^[17]。Chen等^[18]采用HS-SPME法提取分析了鸭梨中的挥发性物质;马林等^[19]采用超临界流体萃取刺梨精油,经气相色谱鉴定出21种挥发性成分;吕健等^[20]对比分析了SDE法和SPME法对香气成分的提取结果。

香榧假种皮是香榧生产过程中的废弃物,既造成了环境的污染,又浪费了资源,一直没有得到很好的研究与利用。香榧子最外层较厚的肉质化结构,称为假种皮,占榧子总鲜重的50%~60%,芳香物质则是由其脂道周围的多层细胞分泌出的^[21]。有研究报道^[22-23],假种皮挥发油中含有大量的二萜、黄酮类化合物,具有抗肿瘤、抗艾滋病毒的功效。因此,香榧假种皮的挥发油是高级芳香油的原料,具有极高的经济价值和发展前景。本研究采用HS-SPME法和SDE法提取香榧假种皮精油挥发性物质,并对比分析挥发性化合物组成的区别,采用气相色谱-质谱法(GC-MS)结合峰面积进行定量分析,结合保留指数进行定性分析。对香榧假种皮内这种挥发性的香气成分进行全面了解,为香榧假种皮的可持续发展、深加工等综合利用提供参考数据和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

成熟的香榧假种皮,于2015年10月采摘自安徽宁国青龙大壁坑村香榧生产基地,15年树龄嫁接树,细榧品种。

乙醚(天津市福晨化学试剂厂,分析纯);无水

硫酸钠(汕头市西陇化工厂有限公司),C5~C20正构烷烃混合标样(上海安谱科学仪器有限公司,纯度99.9%)。

顶空固相微萃取设备,气相色谱质谱联用仪(美国Agilent公司,7890A-5975C型气质联用仪,配G4513自动进样器、7697A静态顶空进样器、MSD Chemstation工作站);PL403型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);KSW-4.0-11型电阻炉温度控制器(上海跃进医疗器械厂);同时蒸馏萃取装置SDE(中国科技大学定制);W501型升降恒温水浴锅(上海申胜生物技术有限公司);HX-1050型恒温循环器(北京德天佑科技发展有限公司);KDM型调温电热套(山东省菏泽市祥龙电子科技有限公司);DC-12型氮吹仪(上海安谱科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理(制备) 从新鲜的成熟香榧种实中,人工取出假种皮,自然晾干(避光),经研磨制成香榧假种皮粉末,过40目筛,避光密封、4℃低温保存于干燥器中备用。

1.2.2 同时蒸馏萃取法(SDE) 采用SDE法^[24]提取香榧假种皮挥发性香气成分。准确称取香榧假种皮20.0g,按料液比1:20加入蒸馏水混合,装1000mL圆底烧瓶中,并加少量沸石。装置一端置于电热套,保持温度100℃加热;无水乙醚端置于水浴锅中,保持水浴恒温40℃加热。保持两端沸腾状态连续提取3h。分别用装有40mL的重蒸馏乙醚接收香榧假种皮精油。蒸馏结束后,萃取冷却至室温,然后把萃取物加到有10g无水硫酸钠的具塞试管中,静置干燥过夜;氮吹至1.5mL,密封保存于-4℃冰箱中,待测。

1.2.3 顶空固相微萃取法(HS-SPME) 采用HS-SPME法提取香榧假种皮挥发性香气成分^[25]。准确称取20g香榧假种皮样品置于20mL顶空瓶中,加入NaCl的质量浓度为0.20g·mL⁻¹,然后用硅橡胶隔垫的瓶盖密封,置进样器中按顶空条件进样。顶空进样条件:样品环的温度130℃,样品瓶的加热温度120℃,加热30min,传输线的温度140℃;定量环平衡时间0.5min,进样循环时间25min。

1.2.4 GC-MS检测条件 (1)色谱条件。色谱柱为Agilent:HP-5MS毛细管柱(30m×0.25mm×0.25μm);采用程序升温:起始温度60℃,保持2min,以4℃·min⁻¹升温至120℃,保持5min,以3℃·min⁻¹升温至160℃,保持1min,再以2℃·min⁻¹升温至180℃,保持5min,再以10℃·min⁻¹升温到260℃,保持5min;载气为高纯度氦气(He:99.999%);

分流比 50:1; 进样量: 1 μL 。

(2) 质谱条件。电子轰击 (electron impact, EI) 离子源; 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 离子扫描范围: 40~500 $\text{u}\cdot\text{s}^{-1}$; 溶剂延迟时间 3 min; 检索普库 NIST11。

1.2.5 保留指数的测定 在与样品相同的程序升温条件下, 取 1 μg 的正构烷烃混标样 ($\text{C}_5\sim\text{C}_{20}$) 作为标准, 以其保留时间的不同计算样品中检测化合物的 RI^[26-28]。

1.2.6 定性分析 主要依据 NIST11 谱库检索和保留指数, 再结合参考文献。保留指数是将 $\text{C}_6\sim\text{C}_{30}$ 的正构烷烃外标进样后, 根据式 (1) 进行计算^[29]

$$I = 100 \left[n + \frac{\lg t'(i) - \lg t'(n)}{\lg t'(n+1) - \lg t'(n)} \right]$$

式 (1) 中: $t'(i)$ 为待测成分调整保留时间 ($t'(n) < t'(i) < t'(n+1)$); n 和 $n+1$ 分别为未知物流出前和流出后的正构烷烃的碳原子数; $t'(n)$ 和 $t'(n+1)$ 分别为具有 n 和 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃的保留时间。

1.2.7 定量分析 将各色谱峰相对应的质谱图, 经谱库 NIST11 检索 (选取匹配度大于 90 的鉴定结果) 并参照相关文献的人工谱图进行解析, 进而确定挥发性物质的化学组成。后利用峰面积归一化法定量分析, 最终确定各挥发性成分的相对含量^[30-31]。

2 结果与分析

2.1 香榧假种皮精油总离子图

香榧假种皮精油经气相色谱程序升温分离, 四级杆质谱采集样品的总离子流图 (见图 1 和图 2), 显示种提取方法所得离子图种类有较大差别, 总体来说采用 SDE 法提取的香榧假种皮挥发性化合物

种类明显多于 HS-SPME 提取法。

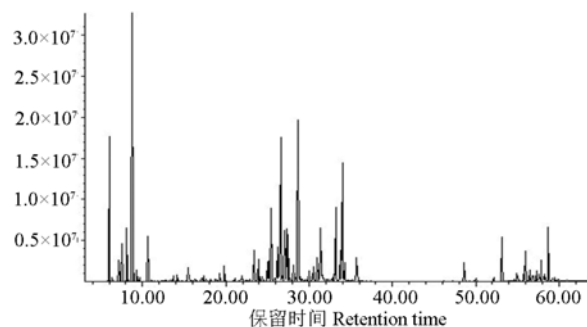


图 1 SDE 法萃取香榧假种皮香气挥发性成分 ac-MS 图谱
Figure 1 ac-MS chromatograms of aril aroma volatile components in extracted by SDE method

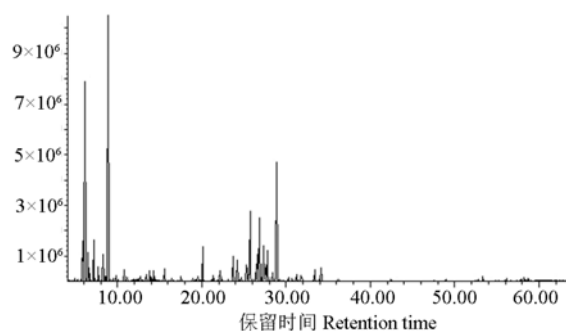


图 2 HS-SPME 法萃取香榧假种皮香气挥发性成分 ac-MS 图谱
Figure 2 ac-MS chromatograms of aril aroma volatile components in extracted by HS-SPME method

2.2 香榧假种皮的精油组成成分分析

香榧假种皮通过 SDE 法和 HS-SPME 法提取后进一步经 GC-MS 解析, 所得挥发油各组分的相对含量以峰面积归一化法定量, 鉴定出的挥发性成分及其相对质量分数结果见表 1。

表 1 香榧假种皮挥发性物质经 SDE 和 HS-SPME 萃取检测结果

Table 1 The detected volatile substances from aril of *Torreya grandis* by SDE and HS-SPME extraction methods

| 序号 No. | 匹配% Matched-degree | 化学式 Chemical formula | 相对分子质量 Relative molecular mass | SDE 法 Simultaneous distillation and solvent extraction | | | | HS-SPME 法 Headspace solid phase microextraction | | | | 定性方法 Qualitative method |
|-----------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------------|---|------|------|------|--|------|------|------|----------------------------|
| | | | | I | II | III | IV | I | II | III | IV | |
| 1 | 91 | C10H16 | 136.13 | 5.79 | 929 | 919 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 2 | 96 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 5.81 | 1010 | 920 | 0.3 | MS, RI |
| 3 | 96 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 21.39 | 1378 | 1368 | 0.53 | MS, RI |
| 4 | 96 | C10H16 | 136.13 | 5.98 | 924 | 926 | 3.72 | 5.93 | 940 | 924 | 2.19 | MS, RI |
| 5 | 96 | C10H16 | 136.13 | 6.37 | 947 | 940 | 0.12 | 6.52 | 952 | 946 | 1.85 | MS, RI |
| 6 | 94 | C10H16 | 136.13 | 7.15 | 975 | 969 | 0.54 | 7.31 | 980 | 974 | 0.67 | MS, RI |
| 7 | 91 | C10H16 | 136.13 | 7.53 | 988 | 982 | 1 | 7.68 | 992 | 988 | 0.79 | MS, RI |
| 8 | 95 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 8.29 | 1010 | 1008 | 1.5 | MS, RI |
| 9 | 95 | C10H16 | 136.13 | 8.13 | 1009 | 1004 | 1.45 | 5.82 | 1010 | 920 | 0.3 | MS, RI |

续表 1 Table 1 continued

| | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----------|---------|-------|------|------|-------|-------|--------|------|-------|--------|
| 10 | 97 | C10H16 | 136.13 | 8.32 | 1014 | 1010 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 11 | 99 | C10H16 | 136.13 | 8.75 | 1029 | 1023 | 14.21 | — | — | — | — | MS, RI |
| 12 | 96 | C10H16 | 136.13 | 8.98 | 1044 | 1030 | 0.22 | — | — | — | — | MS, RI |
| 13 | 97 | C10H16 | 136.13 | 9.31 | 1041 | 1040 | 0.33 | — | — | — | — | MS, RI |
| 14 | 96 | C10H16 | 136.13 | 9.66 | 1056 | 1051 | 0.1 | — | — | — | — | MS, RI |
| 15 | 96 | C10H16 | 136.13 | 10.64 | 1085 | 1081 | 1.35 | 10.81 | 1093 | 1086 | 0.83 | MS, RI |
| 16 | 94 | C10H16 | 154.14 | 11.05 | 1100 | 1093 | — | 11.17 | — | 1097 | — | MS, RI |
| 17 | 98 | C10H16O | 152.12 | 12.53 | 1141 | 1137 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 18 | 91 | C10H18O | 154.14 | 13.34 | 1173 | 1161 | — | 13.43 | 1152 | 1163 | 0.43 | MS, RI |
| 19 | 94 | C10H18O | 154.14 | 13.67 | 1180 | 1170 | 0.2 | 13.81 | 1177 | 1175 | 0.79 | MS, RI |
| 20 | 98 | C10H20O | 156.15 | 15.45 | 1228 | 1222 | 1.25 | 15.55 | 1232 | 1225 | 0.99 | MS, RI |
| 21 | 97 | C10H16O | 152.12 | 16.29 | 1250 | 1246 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 22 | 97 | C11H20O2 | 184.15 | 16.46 | 1261 | 1251 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 23 | 95 | C11H16 | 148.13 | 17.1 | — | 1269 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 24 | 99 | C12H20O2 | 196.15 | 17.32 | 1264 | 1276 | 0.18 | 17.52 | 1287 | 1282 | — | MS, RI |
| 25 | 96 | C11H10 | 142.08 | 17.61 | 1318 | 1284 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 26 | 96 | C11H10 | 142.08 | 18.21 | 1318 | 1301 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 27 | 93 | C11H18O2 | 182.13 | 18.77 | 1297 | 1313 | — | 18.96 | 1326 | 1317 | — | MS, RI |
| 28 | 97 | C15H24 | 204.19 | 19.29 | 1340 | 1324 | 0.36 | — | — | — | — | MS, RI |
| 29 | 96 | C15H24 | 204.19 | 19.83 | 1349 | 1335 | 0.67 | 20.11 | 1343 | 1341 | 3.15 | MS, RI |
| 30 | 99 | C15H24 | 204.19 | 21.08 | 1349 | 1362 | — | — | 1.51 | — | — | MS, RI |
| 31 | 98 | C15H24 | 204.19 | 21.83 | 1390 | 1377 | 0.2 | — | — | — | — | MS, RI |
| 32 | 97 | C12H12 | 156.09 | 22.53 | 1416 | 1392 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 33 | 99 | C15H24 | 204.19 | 22.87 | 1413 | 1399 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 34 | 99 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 25.43 | 1456 | 1450 | 1.34 | MS, RI |
| 35 | 99 | C15H24 | 204.19 | 23.38 | 1419 | 1410 | 0.22 | 23.69 | 1417 | 1416 | 2.72 | MS, RI |
| 36 | 99 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 24.19 | 1390 | 1426 | 2.18 | MS, RI |
| 37 | 98 | C15H24 | 204.19 | 23.89 | 1390 | 1420 | 1.11 | 22.16 | 1390 | 1384 | 0.85 | MS, RI |
| 38 | 96 | C15H24 | 204.19 | 24.14 | 1445 | 1424 | 0.2 | — | — | — | — | MS, RI |
| 39 | 99 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 30.29 | 1484 | 1551 | 0.82 | MS, RI |
| 40 | 99 | C15H24 | 204.19 | 24.38 | 1447 | 1429 | 0.22 | 24.69 | 1440 | 1435 | 1.63 | MS, RI |
| 41 | 97 | C15H24 | 204.19 | 25.13 | 1455 | 1444 | 1.01 | — | — | — | — | MS, RI |
| 42 | 95 | C15H24 | 204.19 | 25.45 | 1429 | 1450 | 3.88 | 25.71 | 1459 | 1455 | 6.91 | MS, RI |
| 43 | 90 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 27.32 | 1498.7 | 1487 | 3.48 | MS, RI |
| 44 | 90 | C15H24 | 204.19 | 25.88 | 1481 | 1459 | 0.24 | 26.46 | 1498.8 | 1470 | 1.84 | MS, RI |
| 45 | 99 | C15H24 | 204.19 | 26.37 | 1474 | 1468 | 1.26 | 26.63 | 1477 | 1473 | 2.98 | MS, RI |
| 46 | 97 | C15H24 | 204.19 | 26.59 | 1480 | 1473 | 8.96 | — | — | — | — | MS, RI |
| 47 | 99 | C15H24 | 204.19 | 26.77 | 1463 | 1476 | 0.18 | — | — | — | — | MS, RI |
| 48 | 94 | C15H24 | 204.19 | 27.05 | 1481 | 1482 | 2.42 | — | — | — | — | MS, RI |
| 49 | 98 | C15H24 | 204.19 | 27.49 | 1479 | 1490 | 2.2 | 27.76 | 1497 | 1496 | 3.01 | MS, RI |
| 50 | 93 | C15H24 | 204.19 | 27.79 | 1486 | 1496 | — | 28.38 | 1496 | 1509 | 0.74 | MS, RI |
| 51 | 98 | C15H24 | 204.19 | 28.11 | 1485 | 1503 | 0.76 | 28.88 | 1511 | 1520 | 12.72 | MS, RI |
| 52 | 95 | C15H24 | 204.19 | 28.65 | 1525 | 1515 | 10.92 | — | — | — | — | MS, RI |
| 53 | 98 | C15H24 | 204.19 | 28.97 | 1524 | 1522 | 0.22 | — | — | — | — | MS, RI |
| 54 | 95 | C15H24 | 204.19 | 29.2 | 1501 | 1527 | — | — | — | — | — | MS, RI |
| 55 | 91 | C15H24 | 204.19 | 30.01 | 1523 | 1545 | 0.5 | — | — | — | — | MS, RI |
| 56 | 95 | C15H24O | 220.189 | 30.98 | 1573 | 1567 | 1.52 | — | — | — | — | MS, RI |
| 57 | 56 | C15H26O | 222.19 | 31.39 | 没查到 | 1576 | 3.35 | — | — | — | — | MS, RI |

续表 1 Table 1 continued

| | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----------|--------|-------|------|------|------|-------|--------|------|-------|--------|
| 58 | 95 | C15H26O | 222.19 | 32.06 | 1580 | 1591 | 0.32 | — | — | — | — | MS, RI |
| 59 | 97 | C15H24 | 204.19 | 33.98 | 1372 | 1636 | 6.59 | 34.17 | 1416.8 | 1641 | 1.66 | MS, RI |
| 60 | 99 | C15H26O | 222.19 | 34.27 | 1653 | 1643 | 0.96 | — | — | — | — | MS, RI |
| 61 | 94 | C20H30 | 270.24 | 52.15 | 2073 | 2043 | 0.26 | — | — | — | — | MS, RI |
| 62 | 99 | C20H28O | 284.21 | 57.31 | 2268 | 2252 | 0.28 | — | — | — | — | MS, RI |
| 63 | 99 | C20H30O | 286.23 | 58.19 | 2325 | 2315 | 0.15 | — | — | — | — | MS, RI |
| 64 | 96 | C21H30O2 | 314.24 | 58.33 | 2335 | 2326 | 0.18 | — | — | — | — | MS, RI |
| 65 | 94 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 7.2 | 1030 | 971 | 2.18 | MS, RI |
| 66 | 95 | C10H14 | 134.11 | — | — | — | — | 8.73 | 1023 | 1022 | 0.58 | MS, RI |
| 67 | 99 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 8.88 | 1030 | 1027 | 16.12 | MS, RI |
| 68 | 96 | C10H16 | 136.13 | — | — | — | — | 9.83 | 1060 | 1056 | 0.31 | MS, RI |
| 69 | 94 | C11H14O2 | 138.07 | — | — | — | — | 12.74 | 没查到 | 1143 | — | MS, RI |
| 70 | 83 | C10H18O | 154.14 | — | — | — | — | 14.28 | 1190 | 1188 | 0.65 | MS, RI |
| 71 | 96 | C10H20O | 152.12 | — | — | — | — | 16.44 | 1251 | 1250 | — | MS, RI |
| 72 | 95 | C16H16 | 136.13 | — | — | — | — | 19.57 | 1021 | 1330 | — | MS, RI |
| 73 | 98 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 26.83 | 1461 | 1477 | 6.51 | MS, RI |
| 74 | 99 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 27.04 | 1464 | 1482 | — | MS, RI |
| 75 | 95 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 27.49 | 1439 | 1490 | — | MS, RI |
| 76 | 91 | C15H24 | 204.19 | — | — | — | — | 27.55 | 1505 | 1492 | 2.38 | MS, RI |
| 77 | 99 | C15H24O | 220.18 | — | — | — | — | 31.21 | 1582 | 1572 | 1.51 | MS, RI |
| 78 | 94 | C22H44O2 | 340.33 | — | — | — | — | 58.24 | 2388 | 2319 | 0.46 | MS, RI |

1. α -侧柏烯 α -thujene; 2, 3, 4.左旋- α -蒎烯 Left-handed - alpha pinene; 5.莰烯 Camphene; 6. β -蒎烯 β -pinene; 7.月桂烯 Myrcene; 8, 9.(1S)-(+)-3-萜烯(1s)-(+)-3-carene; 10.(1S)-(+)-4-萜烯(1s)-(+)-4-carene; 11.柠檬烯 Limonene; 12.1,3,6-Octatriene,3,7- dimethyl-, (3E)-(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯 1,3,6 - Octatriene, 3,7 - dimethyl -, (3 e)-,(Z) -,3,7-dimethyl-1,3,6-octadecane triene; 13.(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯(Z) - 3, 7 - dimethyl - 1,3,6 - octadecane triene; 14.松油烯 The pine oil ene; 15.异松油烯 Different pine oil ene; 16.芳樟醇 Linalool; 17.樟脑 Camphor; 18.2-茨醇 Borneo camphor; 19.4-萜烯醇 4 - terpene alcohols; 20.香茅醇 Geraniol; 21.胡椒酮 Pepper ketone; 22.(s)-(-)-香茅酸甲酯(s) - (-)- citronella acid methyl ester; 23.五甲基苯 5 methyl benzene; 24.乙酸冰片酯 Bornyl acetate; 25, 26.2-甲基萘 2 - methyl naphthalene; 27.香叶酸甲酯 Sweet folic acid methyl ester; 28.烯, 4-乙基-4-甲基-(1-methylethenyl) - (1-甲基乙基) - (3R, 反式) Ene,4-methyl-4-vinyl- (1-methylethenyl)-(1-methyl ethyl)-(3r,trans.); 29, 30. α -荜澄茄油烯 Alpha cubeb oil; 31.(3aS,3bR,4S,7R, 7aR)-7-methyl-3-methylidene-4-(propan-2-yl)octahydro-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropano[1,2]benzene; 32.2,6-二甲基萘 2, 6 - dimethyl naphthalene; 33.古芸香烯 The ancient rue ene; 34,35,36.1-石竹烯 1-caryophyllene ; 37.1H 环戊二烯并 [1,3] 环丙烯 [1,2], 苯, 八氢-7-甲基-3-亚甲基-4-(1-甲基乙基) -[3aS-(3a.alpha.,3b.beta.,4.beta.,7.alpha.,7aS*)]-1-1 - caryophyllene caryophyllene, 1 h cyclopentadiene ring propylene and [1, 3] [1, 2], benzene, eight hydrogen - 7 - methyl - 3 - methylene - 4 - (1 - methyl ethyl) - as [3 - (3 a. alpha., 3 b. beta., 4. beta., 7. alpha., 7 as *)] -; 38. γ -榄香烯 Gamma elemi ene; 39, 40.(+)-香橙烯 (+)-orange ene; 41.丁香烯 Clove ene; 42.金合欢烯 Farnesene; 43, 44.(+)-双环倍半水芹烯(+)- double loop half water dropwort; 45. γ -衣兰油烯 Gamma cananga oil ene; 46.右旋大根香叶烯 Right hand big root myrcene; 47.a- 蛇床烯 A - snake bed ene; 48. (+)-双环倍半水芹烯(+)-bicycloses- quiphell- andrene; 49. α -依兰油烯 Alpha ylang oil ene; 50, 51,52. δ -杜松烯 The delta - cadinene; 54.荜澄茄油烯 Cubeb oil ene; 55. γ -榄香烯 Gamma elemi ene; 56.匙桉醇 Spoonful of eucalyptus alcohol; 57.乙酸异丁酯 Isobutyl acetate; 58.喇叭茶醇 The horn tea alcohol; 59.可巴烯 Can the ene; 60. α -杜松醇 Alpha juniper alcohol; 61.7-异丙基-1,1,4a-三甲基色氨酸-1,2,3,4,4a,9,10,10a-八氢菲 7-isopropyl - 1,1,4,2,3,4,4 a-three methyl tryptophan - 1 a, 9,10,10 a - eight hydrogen; 62.去氢枞 Hydrogen to fir; 63.铁锈醇 Rust alcohol; 64.脱氢松香酸甲酯 Dehydroabietic acid methyl ester; 65. β -水芹烯 Beta - water dropwort ene; 66.苯 Benzene; 67.柑橘柠烯 Citrus; 68. γ -松油烯 Gamma - pine oil ene; 69.甲基异丁香酚 Methyl iso-eugenol; 70. α -松油醇 Alpha terpineol; 71.5-甲基-2-异丙基-3-环己烯-1-酮 5 - methyl - 2 - isopropyl - 3 - cyclohexene - 1 - ketone; 72.2-萜烯 2 - carene; 73.大牛儿烯 Big taureans ene; 74.桉叶烯 Eucalyptus ene; 75.白菖油烯 Calamus elain; 76.双环大牛儿烯 Double loop big cows; 77.桉油烯醇 Eucalyptus oil enol; 78.硬脂酸丁酯 Butyl stearate.

注: 定性方法中, MS.质谱定性, RI.保留指数定性; “—”表示未鉴定出或未使用,相对含量数值均保留到小数点后 2 位, I 代表保留时间; II 代表文献值; III 代表计算值; IV 代表相对含量。

Note: MS. Mass spectrometry qualitative method, RI. Retention index qualitative qualitative method “-” indicated that it is not identified or used, relative content values keep the second place after decimal point. I represents the retention time; II represents the literature value; III represents the calculated value; IV represents the relative content.

表 2 香榧假种皮中挥发性成分的种类和相对质量分数

Table 2 The types and relative contents of volatile components extracted from *Torreya grandis* aril using SDE method and HS-SPME method

| 萃取方法 | 指标 | 烯烃 | 醇类 | 醛酮类 | 羧酸、酯类 | 其他 | 总计 |
|---------------------------------------|----------------------------|-------|---------|-----------------------|------------------------|-------|-------|
| Extraction method | Index | Olefi | Alcohol | Aldehydes and ketones | Carboxylic acid esters | Other | Total |
| 同时蒸馏萃取法 | 数量 Number | 35 | 6 | 2 | 6 | 8 | 57 |
| Simultaneous distillation extraction | 相对含量/% Relative content | 64.9 | 4.4 | 0.16 | 3.97 | 26.57 | 100 |
| 顶空固相微萃取法 | 数量 Number | 25 | 6 | 1 | 3 | 4 | 39 |
| Headspace solid phase microextraction | 相对含量/% Relative content | 93.46 | 4.73 | 0.12 | 0.46 | 1.23 | 100 |

由表 1 可知,按官能团结构对 SDE 法和 HS-SPME 提取的香榧假种皮挥发性物质成分进行划分可以看出,SDE 法得到的香榧假种皮提取物,含量最高的是低沸点的烯烃类化合物(62.90%),其次为醇类(4.40%)和羧酯类(3.97%),醛酮类(0.16%)化合物含量均较少;HS-SPME 提取的香榧假种皮挥发性物质成分含量最高的是沸点较低的烯烃类化合物(93.46%),其次醇类(4.73%),羧酯类(0.46%)和醛酮类(0.12%)化合物含量较少。

采用 SDE 法处理香榧假种皮样品经 GC-MS 结合保留指数检出的挥发性物质(匹配度 90%以上)以柠檬烯相对含量最高,占总含量 14.21%,其次是杜松烯 11.90%,大根香叶烯 8.96%、可巴烯 6.59%、金合欢烯 3.88%和乙酸异丁酯 3.35%等;HS-SPME 法经 GC-MS 检出的挥发性物质中以萜橙烯含量最高,占总含量 16.61%,其次为柑橘烯 16.12%、金合欢烯 6.91%、大牛儿烯 6.51%、1-石竹烯 6.24%和双环倍半水芹烯 5.32%等。这些都是香料重要的成分,可作为天然香料,也可以作为其他各种香料的原料。HS-SPME 法检出的主要挥发性物质含量明显比 SDE 法烃类化合物含量高。

将表 1 结果按相对质量分数归类,比较结果(表 2)显示,采用 SDE 法和 HS-SPME 法等 2 种方法,经 GC-MS 结合保留指数确定,香榧假种皮提取物均以 α -蒎烯和柠檬烯为主。2 种提取方法在挥发性成分有相同部分,但在检测化合物种类和含量上有所差异。SDE 法得到的挥发性物质主要为倍半萜类和单萜类,这些倍半萜类单萜类物质是植物挥发油的主要成分。HS-SPME 法香榧假种皮提取物的主要成分是以低沸点的烯烃类化合物为主。胡刘岩等^[32]采用水蒸气蒸馏法,得到其主要成分是萜烯类物质,如柠檬烯(42.99%)和 α -蒎烯(28.13%)等,这与本研究结果基本一致,但在成分的含量上存在一定差异。此外,在数量上,本次试验鉴定出了 96 种,远远大于其鉴定出的 40 种,与之相比,本研究结果

更全面地反映香榧假种皮精油中的挥发性物质。梁玉清等^[33]采用超临界 CO₂ 萃取法,得到挥发性成分相对含量较多的为香榧酯和 7,15-海松二烯-3-酮,但是本试验却未检测出香榧酯。这可能与季节因素、地理条件、以及植物本身的遗传因素有关^[34]。由此可知,不同挥发性物质的提取方法均有其优缺点,因此不同的研究对象需要选择不同提取方法。

3 讨论与结论

由本试验结果可知,提取方法对提取的挥发性物质成分的组成影响较大。采用气相色谱-质谱法(GC-MS)结合保留指数定性法分析,结果共检出 6 类 96 种挥发性成分,其中 SDE 法检出 57 种,HS-SPME 法检出 39 种,共同检测出 22 种。在 SDE 法提取的香榧假种皮挥发油中,烯烃类成分和醇类成分占了 70%左右,羧酸、酯类化合物较 HS-SPME 法多;在 HS-SPME 提取的挥发性物质中,分析到烃类含量为 93.46%,显著高于 SDE 法所得烯烃类成分的含量,但羧酸和酯类化合物较 SDE 法少。SDE 法能完整反应香榧假种皮精油组分,对高沸点、低挥发性物质检出效果比较好;而 HS-SPME 法则能更快地提取测定香榧假种皮的精油挥发性成分,但对高沸点和低挥发性物质检出效果较差。对 2 种提取方法进行比较,结果显示 SDE 法容易出现氧化、水解等热降解反应,是因为烯烃类化合物一般极性小,沸点比较低,难溶于水或微溶于水,而那些分子较大又易与水形成氢键的化合物不易随水蒸气的蒸发而馏出,所以 SDE 法提取的挥发性物质更全面,更适宜于香榧假种皮挥发性成分的分析;HS-SPME 具有前处理法简单、重复性好、分析时间短,快速方便、不使用溶剂、检测组分丰富、样品检测非破坏性能等,适用于香榧假种皮的挥发性成分测定。综合多方面因素,香榧假种皮的挥发性物质提取,HS-SPME 法要优于 SDE 法。若条件允许,建议两种方法结合起来使用,进一步全面完整地反

映出样品中挥发性成分。

参考文献:

- [1] 王向阳, 修丽丽. 香榧的营养和功能成分综述[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 20-22.
- [2] 黎章矩, 程晓建, 戴文圣, 等. 浙江香榧生产历史, 现状与发展[J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(4): 471-474.
- [3] SAEED M K, DENG Y, PERVEEN Z, et al. Polyphenolic content, flavonoids and optimal recovery of 5, 7, 4'-trihydroxyflavone from *Torreya grandis* Fort. ex. Lindl[J]. Wseas T Biol Biomed, 2006, 3(6): 484-491.
- [4] SAEED M K, DENG Y, PARVEEN Z, et al. Studies on the chemical constituents of *Torreya grandis* Fort. ex Lindl[J]. J Appl Sci, 2007, 7(2): 269-273.
- [5] 于美, 张川, 曾茂茂, 等. 香榧坚果中油脂和蛋白质的研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 252-256.
- [6] 阙斐, 张星海, 赵粼. 香榧籽油的超临界萃取及其脂肪酸组成的比较分析研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(2): 33-36.
- [7] 陈振德, 郑汉臣. 香榧子油对实验性动脉粥样硬化形成的影响[J]. 中药材, 2000, 23(9): 551-553.
- [8] 王向阳, 修丽丽. 香榧的营养和功能成分综述[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 20-22.
- [9] SELLI S, CAYHAN G G. Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation-extraction (SDE) and GC-MS[J]. Microchem J, 2009, 93(2): 232-235.
- [10] 范文来, 徐岩. 应用液液萃取结合正相色谱技术鉴定汾酒与郎酒挥发性成分(下)[J]. 酿酒科技, 2013(3): 17-27.
- [11] 刘英杰, 李雨婷, 苏玲, 等. 树舌灵芝液体深层发酵菌丝体化学成分研究[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(5): 360-362.
- [12] 胡玉霞, 王方, 王昭君, 等. 顶空固相微萃取与气质联用分析山核桃香气成分[J]. 农业机械, 2011(20): 135-138.
- [13] 李丽秋, 黄列, 王春敏, 等. 复方树舌液对肠道微生态失调小鼠的调节作用[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(6): 518-519.
- [14] CHEN X, WU G, HUANG Z. Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*[J]. Int J Biol Macromol, 2013, 58: 18-22.
- [15] 李正鹏, 吴萍, 吴苏青. 树舌胞内多糖抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 6: 108-109.
- [16] 王吉中, 耿卢婧, 许春平. 产云芝胞外多糖发酵工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(7): 752-758.
- [17] 闫景坤, 马海乐, 吴建勇, 等. 冬虫夏草胞外多糖的体外抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(6): 110-113.
- [18] CHEN J L, YAN S, FENG Z, et al. Changes in the volatile compounds and chemical and physical properties of Yali pear (*Pyrus bertschneideri* Rehd) during storage[J]. Food Chem, 2006, 97(2): 248-255.
- [19] 马林, 李光照, 黄鸿勋, 等. 刺梨挥发油香味成份毛细管气相色谱法定量分析[J]. 中国农学通报, 2007, 23(6): 203-206.
- [20] 吕健, 阮晓明, 盛志艺, 等. 固相微萃取与同时蒸馏萃取法分析香精成分比较[J]. 烟草科技, 2003(2): 25-28.
- [21] 冯涛, 吴琰君. 香榧壳香精的提取及其成分鉴定[J]. 食品工业, 2009, 31(3): 65-65.
- [22] 吕阳成, 宋进, 骆广生. 香榧假种皮中紫杉醇的检定[J]. 中药材, 2005, 28(5): 370-372.
- [23] 陈振德, 李澎灏, 谢立, 等. 超临界 CO₂ 流体萃取榧树假种皮挥发油化学成分的研究[J]. 中国药房, 2003, 14(9): 525-527.
- [24] 贺云川, 李敏. 同时蒸馏萃取-气质联机分析坛装风脱水榨菜挥发性成分[J]. 中国调味品, 2010(10): 116-119.
- [25] 郝红梅, 张生万, 郭彩霞, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析山楂果醋易挥发成分[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 138-141.
- [26] ULRICH N, SCHÜRMANN G, BRACK W. Prediction of gas chromatographic retention indices as classifier in non-target analysis of environmental samples[J]. J Chromatogr A, 2013, 1285: 139-147.
- [27] MCLLOYD J W, JONES A D, MCGUFFIN V L. Gas chromatographic retention index as a basis for predicting evaporation rates of complex mixtures[J]. Anal Chim Acta, 2014, 852: 257-266.
- [28] 汪正范. 色谱定性与定量[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2007, 162.
- [29] 谢建春. 现代香味分析技术及应用[M]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 17-18.
- [30] 张丰, 董文江, 王凯丽, 等. 云南不同地区烘焙咖啡豆挥发性成分的 HS-SPME/GC-MS 分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 273-280.
- [31] BUCHBAUER G, JIROVETZ L, WASICKY M, et al. Headspace and essential oil analysis of apple flowers[J]. J Agr Food Chem, 1993, 41(1): 116-118.
- [32] 胡刘岩, 戴妙妙, 张赟彬. 香榧壳挥发油的提取工艺及抗菌性研究[J]. 中国食品添加剂, 2011(3): 127-132.
- [33] 梁玉清, 罗金岳, 王贝贝. 超临界 CO₂ 萃取法和水蒸气蒸馏法提取香榧外种皮化学成分研究[J]. 林业科技开发, 2009, 23(5): 36-39.
- [34] SIVROPOULOU A, NIKOLAOU C, PAPANIKOLAOU E, et al. Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil[J]. J Agr Food Chem, 1997, 45(8): 3197-3201.