

固相微萃取/动态顶空-气相色谱-质谱联用法对蜂胶与杨树胶挥发性成分的分析

程 焕, 秦子涵, 胡小松, 吴继红*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 国家果蔬加工工程技术研究中心,
果蔬加工农业部重点实验室, 北京 100083)

摘 要: 目的 分析、鉴定蜂胶和杨树树胶的挥发性成分。方法 分别采用固相微萃取法(SPME)、动态顶空(DHS)对蜂胶和杨树树胶挥发性成分进行提取, 经气相色谱-质谱联用(GC-MS)法结合计算机检索对其挥发性成分进行分析和鉴定。结果 采用 SPME 法鉴定出 37 种挥发性化合物, 占整个峰面积的 97.71%; DHS 法鉴定出 52 种化合物, 占整个峰面积的 92.46%。蜂胶中的酯类物质(乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯-1-醇甲酸酯、乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯酸-2-苯乙酯、壬酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯)、醇类物质(3-戊烯-2-醇、3-甲基-2-丁烯-1-醇、 α -桉叶醇)、萜烯类物质(β -葎草烯、雪松烯)烯炔类物质八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘在杨树胶中未检测到。而杨树胶中醇类物质(+/-)- α -红没药醇、烯炔类物质 α -姜黄烯 2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯也未在蜂胶中检测到。结论 通过 GC-MS 方法对蜂胶和杨树胶的挥发性成分进行分析比较, 鉴定出蜂胶与杨树胶各自特有的成分, 获得蜂胶与杨树胶的异同, 从而为真假蜂胶的鉴别提供理论依据并可将其应用到蜂胶的标准制定及真假鉴别中去。

关键词: 蜂胶; 杨树胶; 固相微萃取; 动态顶空; 挥发性成分; 气相色谱 质谱联用
中图分类号: 0000 文献标识码: A

Analysis of volatile compounds of propolis and poplar tree gum by SPME/DHS-GC-MS

CHENG Huan, QIN Zi-Han, HU Xiao-Song, WU Ji-Hong*

(National Engineering Research Center for Fruit and Vegetable Processing, College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: Objective To analyze and identify the volatile components of propolis and poplar tree gum. **Methods** The major volatile compounds of propolis and poplar tree gum were extracted by solid phase micro-extraction (SPME), dynamic headspace (DHS). And then the volatile components were analyzed and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with computer. **Results** Totally 37 compounds were identified using SPME method, accounting for 97.71% of the total peak area. Totally 52 compounds were identified by DHS method, accounting for 92.46% peak area for propolis. And several compounds were identified using SPME or DHS method in propolis but not in poplar tree gum, such as 3-Methyl-3-buten-1-ol, acetate; 2-Buten-1-ol, 3-methyl-, formate; 3-Methyl-3-buten-1-ol, acetate; 2-Buten-1-ol, 3-methyl-, acetate; 2-Butenoic acid, 3-methyl-, 2-phenylethyl ester; Nonanoic acid, ethyl ester; Dodecanoic

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划), 食品表征属性与品质识别新技术及设备研究(2011AA100047)

*通讯作者: 吴继红, 女, 副教授, 博士生导师, 食品风味研究, 13581761613; Email: wjhcau@yahoo.com.cn

acid, ethyl ester; Hexadecanoic acid, ethyl ester; 3-Penten-2-ol; 2-Buten-1-ol, 3-methyl-; Naphthalene, 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octa hydro4a, 8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2.alpha., 4a.alpha., 8a.beta.)]-; 10s, 11s-Himachala-3(12), 4diene and β -Humulene. Meanwhile, some other compounds were identified using SPME or DHS method in poplar tree gum but not in propolis, such as Tricyclo[5.4.0.0(2, 8)]undec-9-ene, 2, 6, 6, 9-tetramethyl-; α -Bisabolol and α -Curcumene. **Conclusion** The aim of this work was to develop a reliable and sensitive GC-MS method for determining volatile components in propolis and poplar buds with a simple sample pretreatment method. Subsequently, the method was applied to distinguish poplar tree gum from propolis.

KEY WORDS: propolis; poplar tree gum; solid phase micro-extraction; dynamic headspace sampling; volatile components; gas chromatography-mass spectrometry

1 引言

蜂胶(propolis)是蜜蜂从植物的嫩芽、花蕾、树皮等部位采集的树脂,混入蜂蜡和其上鄂腺的分泌物,经蜜蜂反复加工转化而成的一种具有芳香气味的固体胶状物质,蜂胶的基本成分为50%的树脂及胶状物质,30%左右的蜂蜡,10%左右的挥发油,5%花粉,5%其它成分(包括有机酸、脂肪酸、氨基酸、矿物质、维生素和酶等)^[1,2]。其化学成分主要有有机酸、类黄酮、烷、烯、酯、醇、醛、萜类化合物以及30多种微量元素和矿物质等等。其中类黄酮、酚类和萜烯类化合物是蜂胶的主要活性成份^[3,4]。

杨树胶是人工采集的杨树芽经过高温蒸煮熬出芽苞的胶状物质经过乙醇浸泡提取浓缩出来的黑色胶状物质。与蜂胶相比,杨树胶价格低廉,生理活性不能保证,在市场上往往有不法商家在蜂胶及其制品中掺入杨树胶充当蜂胶出售^[5-7]。

近年来,随着蜂胶市场的拓展,造假、掺假现象大量出现。有人将杨树胶、杨树叶、芽等粉末或人工提取物掺入蜂胶中,得到的劣质蜂胶在颜色、气味、形状上都与真蜂胶十分相似,给蜂胶的鉴别工作带来了困难。因此,如何高效、准确地鉴定蜂胶的质量和真伪显得十分重要和迫切。由于地域性差异以及植被的不同,不同地区蜂胶的胶源植物也有所不同^[8,9]。

蜂胶成分比较复杂,但同时具有较高的生物学活性,蜂胶的挥发性成分作为蜂胶生物学活性的重要贡献组分近年来引起了科研人员的广泛关注^[10-12]。本研究采用固相微萃取(SPME)及动态顶空萃取法(DHS)吸附富集蜂胶的挥发性成分^[13-15],通过SPME-GC/MS法和DHS-GC/MS法检测,鉴定出蜂胶和杨树的挥发性成分的组成特征,并用峰面积归一化法

确定各组分的相对含量,为全面了解蜂胶、杨树胶的挥发性成分及蜂胶产品的开发应用和质量监控提供参考^[16-17]。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

原料:蜂胶原料购买于北京蜂农,杨树胶购买于河南长葛地区,由杨树芽、叶熬煮提纯制得。

试剂:高纯氦气、高纯氮气、高纯液氮。

2.2 仪器与设备

手动 SPME 进样器(美国 Supelco 公司); Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); DB-5 毛细管色谱柱(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m; 美国 Agilent 公司); EY-300A 分析天平(日本松下电器公司); 中草药粉碎机(天津泰斯特仪器公司); 动态顶空萃取(德国 GERSTEL 公司)。

2.3 方法

2.3.1 原料前处理

样品制备:蜂胶样品与杨树胶置于-20 $^{\circ}$ C的冰箱内冷冻过夜,将冷冻后的蜂胶样品用高速粉碎机粉碎过20目筛网,称取粉碎过后的蜂胶样品1g于样品瓶中待测。

2.3.2 仪器操作条件

色谱条件:毛细管柱为DB-5柱(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m; Agilent),以高纯氦气为载气,恒定流速为1.0 mL/min。柱箱采用程序升温,起始40 $^{\circ}$ C,保持2 min,以速度5 $^{\circ}$ C/min升到150 $^{\circ}$ C,保持2 min,再以4 $^{\circ}$ C/min升到250 $^{\circ}$ C,保持5 min。进样口温度260 $^{\circ}$ C;1:50分流进样。

质谱条件:电离方式EI;电子能力70 eV;接口

温度为 280 °C, 离子源温度为 230 °C, 扫描范围 40.00–510.00 amu, 扫描时间 45.00 min。检索谱库名称: NIST。

2.3.3 样品采样提取

SPME 进样处理: 1 g 蜂胶粉碎样迅速放入样品瓶中, 将经老化的 SPME 头插入封口顶空采样, 推出纤维头, 注意不要使萃取头接触到蜂胶样, 50 °C 吸附 30 min。抽回纤维头, 从样品瓶中拔出萃取头, 再将萃取头插入气相色谱仪推出纤维头, 在进样口初始温度 250 °C 下解吸 2 min。同时启动仪器采集数据。

DHS 自动进样处理: 0.5 g 蜂胶粉碎样迅速放入样品瓶中。吹扫捕集温度为 50 °C; 吹扫时间 10 min; 载气(氮气)压力: 20 kPa; 进样口温度: 250 °C; 冷阱温度为: -120 °C; 热脱附温度: 250 °C, 保持 10 min; 进样时冷阱温度-260 °C, 保持 1 min。

2.3.4 样品的定性与定量

定性: 化合物经计算机检索同时与 NIST library 和 Wiley library 相匹配。选择较高匹配度的检索结果, 并结合文献报道的已知化合物确认检测物成分。

定量: 相对百分含量按峰面积归一化法计算, 求得各个挥发性化学成分的相对百分含量。

3 结果与分析

3.1 蜂胶和杨树胶的GC-MS分析

在相同检测条件下, 易挥发组分通常相对于难挥发组分先出峰(保留时间短), 而根据其在谱图中主要特征离子碎片的质荷比, 结合保留时间数据并参照标准谱库, 可依次确定主要峰对应的化合物。蜂胶与杨树胶挥发性成分的检测结果列于表 1。由表 1 对不同蜂胶和杨树胶的挥发性成分进行研究, 结果表明, SPME/DHS-GC-MS 测得的挥发性物质, 主要包括醇、酯、芳香烃、酸以及萜烯类化合物等。

表 1 SPME/DHS-GC-MS 测得蜂胶与杨树胶的挥发性物质
Table 1 Volatile compounds of propolis and poplar tree gum by SPME/DHS-GC-MS

保留时间/min	化合物中英文名称	分子式	蜂胶		杨树胶	
			相对含量 ¹ /%			
			SPME	DHS	SPME	DHS
酸类物质						
6.54	Acetic acid 乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	1.43	26.71	0.19	5.84
8.18	Propanoic acid 丙酸	C ₃ H ₆ O ₂	–	2.00	–	0.82
12.04	Butanoic acid, 2-methyl-2-甲基丁酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	0.21	1.58	–	0.55
13.98	2-Butenoic acid, 2-methyl-2-甲基-2-丁烯酸	C ₉ H ₁₀ O ₅	–	0.41	–	–
	酸类(相对含量/%)		1.64	30.70	0.19	7.21
	酸类物质数量/个		2	4	1	3
酯类物质						
11.77	3-Methyl-3-buten-1-ol, acetate 乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯	C ₇ H ₁₂ O ₂	–	0.44	–	–
11.02	2-Buten-1-ol, 3-methyl-, formate 3-甲基-2-丁烯-1-醇甲酸酯	C ₆ H ₁₂ O ₉	–	0.29	–	–
12.45	3-Methyl-3-buten-1-ol, acetate 乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯	C ₇ H ₁₂ O ₂	–	0.44	–	–
13.54	2-Buten-1-ol, 3-methyl-, acetate 乙酸-3-甲基-2-丁烯-1-醇酯	C ₇ H ₁₂ O ₂	–	0.49	–	0.52
15.18	4-Penten-1-ol, propanoate 4-戊烯-1-醇-丙酸酯	C ₈ H ₁₅ O ₂	–	–	–	0.17
15.79	Hexanoic acid, ethyl ester 己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	–	–	–	0.11
18.25	Formic acid, phenylmethyl ester 甲酸苄酯	C ₈ H ₈ O ₂	0.26	0.53	–	0.09
20.71	Acetic acid, phenylmethyl ester 乙酸苄酯	C ₉ H ₁₀ O ₂	1.16	0.88	0.19	0.18
20.93	Benzoic acid, ethyl ester 苯甲酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₂	2.43	1.09	0.84	1.14
21.09	2-Butenoic acid, 3-methyl-, 2-phenylethyl ester 3-甲基-2-丁烯酸-2-苯乙酯	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	–	0.58	–	–
23.02	Acetic acid, 2-phenylethyl ester 乙酸-2-苯基乙酯	C ₁₀ H ₁₂ O ₁₈₂	1.72	–	0.66	0.66
23.94	Nonanoic acid, ethyl ester 壬酸乙酯	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0.20	–	–	–
25.73	Benzenepropanoic acid, ethyl ester 苯丙酸乙酯	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.93	0.26	0.53	0.29

续表 1

保留时间/min	化合物中英文名称	分子式	蜂胶		杨树胶	
			相对含量 ¹ /%			
			SPME	DHS	SPME	DHS
31.87	Dodecanoic acid, ethyl ester 月桂酸乙酯	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.30	0.07	—	—
40.37	Hexadecanoic acid, ethyl ester 棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	—	0.03	—	—
	酯类(相对含量/%)		7.00	3.44	2.22	2.36
	酯类物质数量/个		7	11	4	8
醇类物质						
7.71	3-Penten-2-ol 3-戊烯-2-醇	C ₅ H ₁₀ O	—	0.30	—	—
8.49	2-Buten-1-ol, 3-methyl-3-甲基-2-丁烯-1-醇	C ₅ H ₁₀ O	0.13	—	—	—
8.62	3-Buten-1-ol, 3-methyl-3-甲基-3-丁烯-1-醇	C ₅ H ₁₀ O	0.18	7.3	0.72	19.09
9.57	2-Buten-1-ol, 2-methyl-2-甲基-2-丁烯-1-醇	C ₅ H ₁₀ O	—	4.55	—	1.92
17.02	Benzyl Alcohol 苯甲醇	C ₇ H ₈ O	7.61	7.79	0.27	0.78
19.36	Phenylethyl Alcohol 苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	7.36	4.78	0.78	1.67
24.56	2-Propen-1-ol, 3-phenyl- 肉桂醇	C ₉ H ₁₀ O	0.42	—	0.16	—
32.22	Guaiol 愈创木醇	C ₁₅ H ₂₆ O	—	—	0.34	—
33.69	2-Naphthalenemethanol 2-萘甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	—	—	0.50	—
33.75	α -Eudesmol α -桉叶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.69	—	—	—
34.32	α -Bisabolol (+/-)- α -红没药醇	C ₁₅ H ₂₆ O	—	—	0.3	—
	醇类(相对含量/%)		16.39	24.42	3.07	23.46
	醇类物质数量/个		6	5	7	4
萜烯类物质						
15.58	β -myrcene β -月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	—	0.12	—	—
16.44	α -Terpinene α -萜品烯	C ₁₀ H ₁₆	—	0.08	—	—
16.79	D-Limonene D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	0.14	0.42	—	0.22
17.68	(+)-4-Carene (+)-4-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	—	0.12	—	—
18.21	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- 萜品油烯	C ₁₀ H ₁₆	0.06	—	—	—
26.06	Isolongifolene, 9,10-dehydro-9,10-脱氢异长叶烯	C ₁₅ H ₂₂	—	—	0.37	0.17
26.36	Longicyclene 环长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.20	—
26.58	1,2,4-Methanoazulene,decahydro-1,5,5, 8a-tetramethyl-十氢四甲基-1,2,4-亚甲基萹	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.21
26.84	4,7-Methanoazulene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4, 9,9-tetramethyl-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- 八氢四甲基-4,7-亚甲基萹	C ₁₅ H ₂₄	1.43	0.72	0.43	1.49
27.38	1H-3a,7-Methanoazulene,2,3,4,7,8,8a-hexahydro- 3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,3a.beta., 7.beta.,8a.alpha.)]-柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	1.00	0.67	—	0.57
27.39	Epizonarene 表圆线藻烯	C ₁₅ H ₂₄	0.88	—	0.39	—
27.57	Di-epi-.alpha.-cedrene (+)- α -柏木萜烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.81	16.69	4.94
27.76	trans-.alpha.-Bergamotene 反式- α -佛手柑油烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.76	—
27.86	Thujopsene 罗汉柏烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.07	4.39	—
28.04	trans-.alpha.-Bergamotene 反- α -香柑油烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.59
28.19	Az- ulene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1- methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- 八氢化-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙炔基)奥	C ₁₅ H ₂₄	3.60	1.67	—	—
28.31	Seychellene 塞瑟尔烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.13	—	—
28.33	Isoledene 异喇叭烯	C ₁₅ H ₂₄	0.52	—	—	—
28.47	Aromadendrene, dehydro- 脱氢香木兰烯	C ₁₅ H ₂₂	—	—	—	0.32
28.63	Longifolene-(V4) 长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.19	—	—
28.82	1H-Cycloprop[e]azulene,1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahyd 八氢化-1,1,4,7-四甲基-1H-环丙烯并[E]奥	C ₁₅ H ₂₄	—	3.12	—	—

续表 1

保留时间/min	化合物中英文名称	分子式	蜂胶		杨树胶	
			相对含量 ¹ /%			
			SPME	DHS	SPME	DHS
29.21	γ -Selinene γ -芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	0.36	9.28	0.64	—
29.25	α -Curcumene α -姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂	—	—	—	13.98
29.4	10s,11s-Himachala-3(12),4-diene 雪松烯	C ₁₅ H ₂₄	8.24	—	—	—
29.43	1H-Cycloprop[e]azulene,decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-,[1aR-(1a.alpha.,4a.beta.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]- 十氢三甲基-4-亚甲基-1H-环丙基[E]萹	C ₁₅ H ₂₄	—	—	5.44	—
29.58	α -Gurjunene α -古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	7.52	3.60	—	0.68
29.84	.beta.-Humulene β -葎草烯	C ₁₅ H ₂₄	7.00	—	—	—
29.89	β -Bisabolene (-)- β -红没药烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	2.56
29.98	β -Selinene β -芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	0.10	1.59	—	3.59
30.24	δ -Cadinene δ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	4.51	—	—	—
30.34	Calamenene 去氢白菖烯	C ₁₅ H ₂₂	—	—	—	2.17
30.51	1H-3a,7-Methanoazulene,2,3,6,7,8,8a-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl- 六氢四甲基-1H-3a,7-亚甲基萹	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.45
30.52	Isocaryophyllene 异丁子香烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.29	—	—
30.73	cis-.alpha.-Bisabolene 顺- α -甜没药烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	1.24
30.83	α -Calacorene α -甜旗烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	1.13	—
30.85	Eudesma-3,7(11)-diene 桉叶烯	C ₁₅ H ₂₄	2.44	—	—	—
31.13	Cadina-1(10),6,8-triene 杜松油烯	C ₁₅ H ₂₄	0.29	0.05	0.41	—
31.53	Isolongifolene, 4,5,9,10-dehydro- 4,5,9,10-脱氢异长叶烯	C ₁₅ H ₂₀	—	0.04	0.27	0.11
32.08	Azulene,1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)- 1,4-二甲基-7-异丙基萹	C ₁₅ H ₁₈	0.10	—	—	—
32.18	Azulene,1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙基)萹	C ₁₅ H ₁₇	—	—	—	0.05
32.23	(-)-Aristolene (-)-马兜铃烯	C ₁₅ H ₂₄	0.23	—	—	1.44
32.33	α -Guaiene α -愈创木烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.13
33.16	.delta.-Selinene δ -芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	0.70	—	0.76	—
33.84	.beta.-Panasinsene β -人参萹烯	C ₁₅ H ₂₄	—	0.14	—	0.51
34.13	β -Guaiene β -愈创木烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.14
	萹烯类(相对含量/%)		39.12	22.91	31.88	35.56
	萹烯类物质数量/个		18	19	13	20
烯烃类物质						
4.11	1,3-Pentadiene 间戊二烯	C ₅ H ₈	—	—	0.04	—
5.69	1,3-Butadiene, 2-methyl-2-甲基-1,3-丁二烯	C ₅ H ₈	—	0.80	—	2.79
8.88	3-Hexene, (Z)-顺-3-己烯	C ₆ H ₁₂	—	0.16	—	—
12.74	Styrene 苯乙烯	C ₈ H ₈	—	0.13	—	0.09
18.56	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene,3,7,7-trimethyl- 3,7,7-三甲基二环[4.1.0]庚-2-烯	C ₁₀ H ₁₆	—	0.45	—	—
29.17	Tricyclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-ene,2,6,6,9-tetramethyl-2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	10.24	10.07
29.77	Cyclohexene,1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)环己烯	C ₁₅ H ₂₄	—	—	4.05	—
	烯烃类(相对含量/%)		0.00	1.54	14.33	12.95
	烯烃类物质数量/个		0	4	3	3
芳香烃类物质						
16.36	Benzene, 2-propenyl- 2-丙烯苯	C ₉ H ₁₀ O	—	—	0.07	—

续表 1

保留时间/min	化合物中英文名称	分子式	蜂胶		杨树胶	
			相对含量 ¹ /%			
			SPME	DHS	SPME	DHS
16.68	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- 1-甲基-4-(1-甲基乙基)苯	C ₁₀ H ₁₄	—	0.06	—	—
23.79	Benzene, 1,2,4-triethyl- 1,2,4-三乙苯	C ₁₂ H ₁₈	—	—	0.32	0.38
25.26	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,8-dimethyl-1,2,3,4-四氢-1,8-二甲萘	C ₁₂ H ₁₆	0.16	0.09	—	0.34
26.01	Naphthalene, 1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl- 1,2-二氢-1,1,6-三甲基萘	C ₁₃ H ₁₆	—	—	—	0.11
26.53	Benzene, 1,4-bis(1-methylethenyl)-1,4-二异丙烯基苯	C ₁₂ H ₁₄	—	—	0.68	—
26.71	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-甲基苯	C ₁₅ H ₂₂	24.18	—	18.70	—
27.67	Naphthalene, 1,6-dimethyl-1,6-二甲萘	C ₁₂ H ₁₂	—	—	0.55	—
29.63	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)]-八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	8.98	3.79	—	—
30.97	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethylidene)-八氢-4a,8-二甲基-2-(1-甲基亚乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.61
32.07	Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₁₈	—	—	0.17	—
33.25	Naphthalene, 2,3,4,4a,5,6-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)- 六氢-1,4a-二甲基-7-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.30
34.04	Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.alpha.)]-八氢-1,8a-二甲基-7(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.24	—
34.24	Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)萘	C ₁₅ H ₁₈	—	—	0.05	—
	芳香烃类(相对含量/%)		33.32	3.94	20.78	1.74
	芳香烃类物质数量/个		3	3	8	5
其它类						
7.42	1-Hydroxy-2-propanone 羟基丙酮	C ₃ H ₆ O ₂	—	1.30	—	—
10.37	3(2H)-Furanone, dihydro-2-methyl- 2-甲基四氢呋喃-3-酮	C ₅ H ₈ O ₂	—	0.34	—	—
14.85	Benzaldehyde 苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₁	—	0.12	—	—
15.34	Phenol 苯酚	C ₆ H ₆ O ₁	—	0.29	—	—
17.99	Acetophenone 苯乙酮	C ₈ H ₈ O	0.24	0.57	—	0.02
22.41	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl- 2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-羧醛	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.04	—	—
23.28	Acetamide, N-(2-phenylethyl)- N-(2-苯乙基)乙酰胺	C ₁₀ H ₁₃ O	—	0.69	—	—
25.78	Eugenol 丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	—	—	0.31	—
26.74	1H-Indene, 1,1,3-trimethyl- 1,1,3-三甲基-3-苯基-1H-茚	C ₁₂ H ₁₄	—	—	—	0.49
28.4	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,7-dimethyl-7-(4-methyl-3-pentenyl)- 1,7-二甲基-7-(4-甲基-3-戊烯基)三环庚烷	C ₁₅ H ₂₄	—	—	—	0.21
30.61	Bicyclo[2.2.1]heptane, 7,7-dimethyl-2-methylene- 7,7-二甲基-2-亚甲基二环己烷	C ₁₅ H ₂₄	—	—	3.72	—
	其他类(相对含量/%)		0.24	3.35	4.03	0.72
	其他类物质数量/个		1	7	2	3
	相对含量/%总数		97.71	90.30	76.50	84.00

注: 1. 表示三次平行进样所得相对含量(采用面积归一化法计算)的平均值

3.1.1 蜂胶挥发性物质 SPME 与 DHS 分析比较

蜂胶中测得 69 种挥发性物质, 其中, 采用 SPME 法在蜂胶的提取物中鉴定出了 37 种化合物, 占整个峰面积的 97.71%, 采用 DHS 法在提取物中共鉴定出了 52 种化合物, 占整个峰面积的 90.30%, 如表 1 所示。

蜂胶挥发性物质鉴定的两种方法中, SPME 鉴定出的酸类物质含量占 1.64%, DHS 法鉴定出的酸类物质达到 30.70%, 以乙酸和丙酸为主。

对于酯类物质, SPME 与 DHS 方法鉴定出的挥发性物质含量分别是 7%、3.44%, 相对含量虽然不高, 但是酯类也是挥发性成分的重要贡献成分, 且两种方法鉴定出的酯类物质种类是有差异的, 其中 SPME 鉴定的酯类中以苯甲酸乙酯、乙酸-2-苯基乙酯含量最高, DHS 鉴定的酯类中以苯甲酸乙酯、乙酸苄酯的相对含量最高。

醇类物质是蜂胶挥发性物质的主要贡献成分, SPME 鉴定出的醇类相对含量为 16.39%, DHS 鉴定出的醇类物质占 24.42%, 两种方法检测到的醇类物质都是以苯甲醇、苯乙醇、3-甲基-3-丁烯-1-醇为主, 但是 DHS 中的 2-甲基-2-丁烯-1-醇(4.55%)未在 SPME 中检测到, 同样, 3-甲基-2-丁烯-1-醇(0.13%)、 α -桉叶醇(0.69%)也未在 DHS 中出现。

萜烯类物质在蜂胶挥发性物质中所占比例最高, SPME 与 DHS 鉴定出的萜烯类物质相对含量分别为 39.12%和 22.91%, 是蜂胶挥发性物质中比例较大的成分。两种方法鉴定出的种类和含量各不相同。SPME 鉴定出含量较高的雪松烯(8.24%)和 β -葎草烯(7.00%)在 DHS 中未出现, 而 DHS 鉴定出的 γ -葎子烯(9.28%)含量最高。

烯烃类物质, DHS 鉴定出的物质数明显多于 SPME 鉴定出的烯烃物质。

蜂胶中芳香烃类物质以 1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-甲基苯(SPME, 24.18%)其次以八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘含量为较高(SPME 为 8.98%、DHS 为 3.79%)。

3.1.2 杨树胶挥发性物质 SPME 与 DHS 分析比较

杨树胶提取物中鉴定出了 71 种挥发性物质, 其中采用 SPME 法在提取物中鉴定出了 38 种化合物, 占整个峰面积的 76.50%; 采用 DHS 法在提取物中共鉴定出了 46 种化合物, 占整个峰面积的 84.00%, 如

表 1 所示。

杨树胶挥发性提取物鉴定的两种方法, SPME 鉴定出的酸类物质含量占 0.19%, DHS 可以鉴定出的酸类物质达到 7.21%, 以乙酸为主, 与蜂胶鉴定结果相同, 这可能与杨树是蜂胶的植物来源之一有关。

对于酯类物质, 两种方法鉴定出的种类和含量都很少, SPME 鉴定出 4 种, DHS 鉴定出 8 种, 苯甲酸乙酯、乙酸-2-苯基乙酯的相对含量较高。

两种方法测得杨树胶中的醇类物质所占比例差异较大, SPME 中仅占 3.07%, 而 DHS 中占了 23.46%, 主要以 3-甲基-3-丁烯-1-醇(19.09%)为主。

杨树胶中萜烯类物质相对含量最高, 两种方法鉴定的物质质量占比分别是 31.88%、35.56%, 其中以 (+)- α -柏木萜烯含量最高, 两种方法鉴定的物质质量占比分别为 16.69%、4.94%, 另外 DHS 测得的 α -姜黄烯比例为 13.98%, 含量也较高。

烯烃类物质, SPME 鉴定出的烯烃物质四甲基三环十一-9-烯(10.24%)在 DHS 中未检测出, DHS 鉴定出的物质 2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯(10.07%)在 SPME 中也未出现。

杨树胶中芳香烃物质以 1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-甲基苯(18.70%)为主。

3.1.3 SPME 与 DHS 方法的结合

固相微萃取装置简单, 对高挥发性化合物分析很有效, 但对低挥发性化合物的分析灵敏度较低, 样品的蒸汽体积过大会影响色谱柱的分离效能和色谱柱的寿命。动态顶空法具有取样量少、富集效率高(检出限比静态顶空低 10~100 倍)、受基体干扰小及容易实现在线检测等优点。动态顶空不仅适用于复杂机制中挥发性较高的组分, 对较难挥发及浓度较低的组分也同样有效, 一般用于测定沸点低于 200 °C, 溶解度小于 2% 的挥发性或半挥发性的有机物。与固相微萃取相比, 动态顶空的灵敏度更高一些。

图 1、图 2 由表 1 中挥发性物质分类汇总得到, 从图 1、图 2 可见, 两种方法测得蜂胶和杨树胶挥发性物质类别的相对含量及组成有所差别, SPME 和 DHS 都能够鉴定出较高相对含量的萜烯类物质, SPME 法能够富集到更多的烯烃类和芳香烃类化合物, 而 DHS 法可以检测到较高的酸类及醇类物质, 将两种方法结合可以使检测结果更全面、可靠。

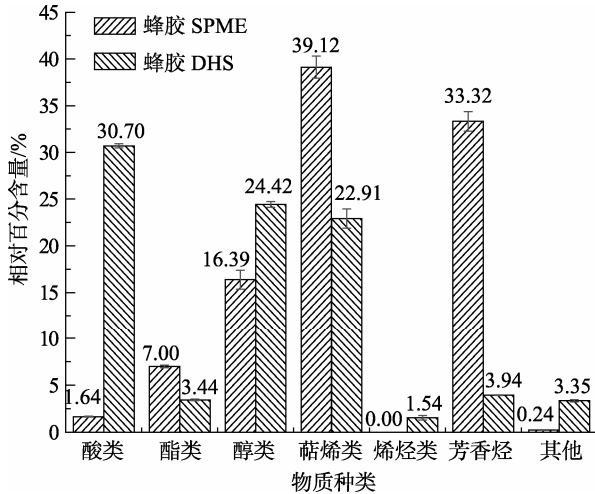


图1 SPME/DHS-GC-MS 测得蜂胶中挥发性组分的相对百分含量比较

Fig. 1 Comparison of the volatile components of propolis identified by SPME/DHS-GC-MS

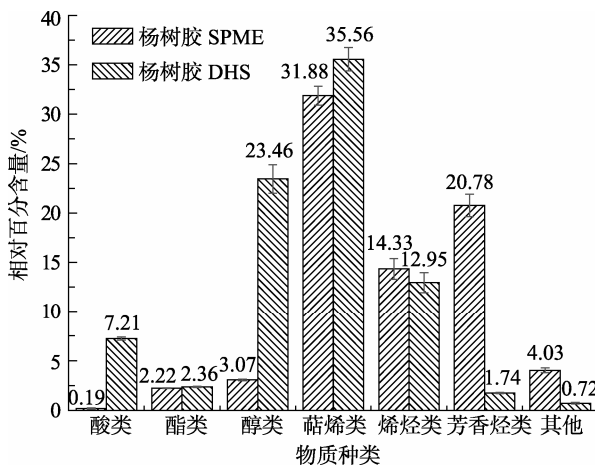


图2 SPME/DHS-GC-MS 测得杨树胶中挥发性组分的相对百分含量比较

Fig. 2 Comparison of the volatile components of poplar tree gum identified by SPME/DHS-GC-MS

3.2 蜂胶和杨树胶挥发性物质的比较

对比分析,蜂胶共鉴定出 69 种挥发性物质,杨树胶共鉴定出 71 种挥发性物质。DHS 方法鉴定蜂胶中酸类物质的含量(30.70%)高于杨树胶中鉴定出的酸类物质含量(3.44%),其中乙酸的相对含量差异比较明显。

蜂胶和杨树胶的酯类物质含量都较低,但是物质种类差异较大,蜂胶中的乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯-1-醇甲酸酯、乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯酸-2-苯乙酯、壬酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯在杨树胶中两种方法都未鉴定出。

蜂胶醇类物质中的 3-戊烯-2-醇、3-甲基-2-丁烯-1-醇、 α -桉叶醇在杨树胶中未出现,杨树胶中的鉴定出的(+/-)- α -红没药醇也未在蜂胶中鉴定出。

杨树胶萜烯类物质中 α -姜黄烯(13.98%)在蜂胶中未检测到;同样,蜂胶中的雪松烯(8.24%)、 β -葎草烯(7.00%)在杨树胶中也未检测到。

蜂胶中烯炔类物质中八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘在杨树胶中未检测到,而杨树胶中出现的 2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯(10.07%)、四甲基三环十一-9-烯(10.24%)在蜂胶中也未检测到。

蜂胶和杨树胶中芳香烃物质主要是 1-(1,5-二甲基-4-己烯)-4-甲基苯。

4 结论

研究表明,对蜂胶采用 SPME 法的提取物中鉴定出了 37 种化合物,占整个峰面积的 97.71%;采用 DHS 法的提取物中共鉴定出了 52 种化合物,占整个峰面积的 92.46%;蜂胶中含量较高的包括乙酸(26.71%)、1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基苯(24.18%)、 γ -芹子烯(9.28%)、八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘(8.98%)等。对杨树胶,采用 SPME 法的提取物中鉴定出了 38 种化合物,占整个峰面积的 76.50%;采用 DHS 法的提取物中共鉴定出了 46 种化合物,占整个峰面积的 84.59%;含量较高的包括 3-甲基-3-丁烯-1-醇(19.09%)、(+)- α -柏木萜烯(16.69%)、1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基苯(18.70%)、四甲基三环十一-9-烯(10.24%)等。

蜂胶中的酯类物质(乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯-1-醇甲酸酯、乙酸-3-甲基-3-丁烯-1-醇酯、3-甲基-2-丁烯酸-2-苯乙酯、壬酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯)、醇类物质(3-戊烯-2-醇、3-甲基-2-丁烯-1-醇、 α -桉叶醇)、萜烯类物质(β -葎草烯、雪松烯)烯炔类物质八氢二甲基-2-(1-亚异丙基)萘在杨树胶中未检测到。而杨树胶中醇类物质(+/-)- α -红没药醇、烯炔类物质 α -姜黄烯 2,6,6,9-四甲基-三环[5.4.0.0(2,8)]-9-十一烯在蜂胶中也未检测到。

本研究通过建立一种气质联用的方法,来对蜂胶和杨树胶的挥发性成分进行分析比较,鉴定出蜂胶与杨树胶各自特有的成分,获得蜂胶与杨树胶的异同,从而为真假蜂胶的鉴别提供理论依据并可将其应用到蜂胶的标准制定及真假鉴别中去。

本研究利用的是混合蜂胶,而蜂胶因地区、树

种、生态环境的不同存在一定的差异, 所以有必要搜集更多的原料对其进行深入研究。蜂胶挥发性成分中具有生物活性物质的鉴定、分离以及蜂胶挥发性成分在蜂胶质量控制中的作用都有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 李雅晶, 胡福良, 陆旋, 等. 蜂胶中挥发性成分的微波辅助提取工艺研究及中国蜂胶、巴西蜂胶挥发性成分比较[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 93-99.
- [2] Sahinler N, Kaftanoglu O. Natural product propolis: chemical composition[J]. Nat Prod Res, 2005, 19(2): 183-186.
- [3] Ahn MR, Kumazawa S, Usui Y. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China [J]. Food Chem, 2007, 101: 1383-1392.
- [4] Atungulu G, Miura M, Atungulu E, *et al.* Activity of gaseous phase steam distilled propolis extracts on peroxidation and hydrolysis of rice lipids [J]. J Food Eng, 2007, 80: 850-858 .
- [5] 曹炜, 符军放, 索志荣, 等. 蜂胶与杨树芽提取物成分的比较研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(07):162-166.
- [6] 周萍, 陈建清, 胡福良, 等. 不同产地蜂胶HPLC指纹图谱测定及真伪判定[J]. 中国蜂业, 2009, 60(10): 5-8.
- [7] Vardar-Unlu G, Silici S, Mehmet-nl. Composition and in vitro antimicrobial activity of Populus buds and poplar-type propolis [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2008, 24: 1011-1017 .
- [8] 胡福良, 玄红专. 蜂胶的化学成分和植物来源的研究进展[J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(6): 469-471.
- [9] Roumen C, Boryana T, Milena P. Chemical composition of propolis from Canada, its antiradical activity and plant origin[J]. Nat Prod Res, PartA: Struct Synth, 2006, 20(6): 531-536.
- [10] Ahn M, Kumazawa S, Uusi Y, *et al.* Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China [J].

Food Chem, 2007, 101(4): 1383-1392.

- [11] Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 100(1/2): 114-117.
- [12] Elena N, Elena G G, Laura V A, *et al.* Volatile composition of functional a la Piedra turrón with propolis[J]. Int J Food Sci Technol, 2010, 45: 569-577.
- [13] Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis [J]. Phytother Res, 2001, 15: 561-571.
- [14] 王小平, 林励, 白吉庆, 等. 蜂胶挥发油化学成分分析[J]. 中国药业, 2009, 18(22): 19-21.
- [15] 李雅晶, 黄美珍, 胡福良. 蜂胶的挥发性成分及其生物学活性研究进展[J]. 蜜蜂杂志, 2011, 1: 1-5.
- [16] 李雅萍, 贺丽苹, 陈玉芬, 等. SPME-GC/MS 联用技术分析蜂胶中挥发性成分的研究[J]. 现代食品科技, 2007, 23(7): 78-80.
- [17] 徐响, 董捷, 李洁. 固相微萃取与 GC-MS 法分析蜂胶中挥发性成分[J]. 食品工业科技. 2008, 29(5): 57-60.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



程焕, 硕士, 主要从事食品风味研究。
E-mail: pengchenghuanlan@163.com



吴继红, 副教授, 博士生导师, 主要从事食品风味研究。
E-mail: wjhcau@yahoo.com.cn