

顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定 香紫苏香气成分

付 铭, 曹 续, 孙宝阳, 王爱霞*

(新疆维吾尔自治区分析测试研究院, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 建立一种利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法快速测定香紫苏香气成分的方法。**方法** 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术, 对新疆香紫苏香气成分进行测定分析, 并采用面积归一化法计算各成分的相对含量。**结果** 共鉴定出 18 种化学成分, 主要成分为乙酸芳樟酯(79.58%)及芳樟醇(8.32%)。**结论** 顶空固相微萃取与气相色谱-质谱联用技术具有样品用量少、前处理过程简单等优点, 适用于测定香紫苏香气成分。

关键词: 香紫苏; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱联用法; 香气成分

Determination of aromatic ingredients of *Salvia sclarea* by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

FU Ming, CAO Xu, SUN Bao-Yang, WANG Ai-Xia*

(Xinjiang Institute of Analysis and Testing, Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumchi 830011, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid determination of volatile aroma components in *Salvia sclarea* by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). **Methods** The volatile aroma components of Xinjiang *Salvia sclarea* were analyzed by means of headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, and the relative content of each component was calculated by area normalization method. **Results** A total of 18 chemical components were identified, and the main ingredients were linalyl acetate (79.58%) and linalool (8.32%). **Conclusion** Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry has the advantages of less sample consumption and simple pretreatment process, which is suitable for the determination of volatile aroma components in *Salvia sclarea*.

KEY WORDS: *Salvia sclarea*; headspace solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; aroma ingredients

0 引 言

香紫苏(*Salvia sclarea* L)别名南欧丹参, 莲座鼠尾草,

是唇形科鼠尾草属著名香料^[1], 香紫苏油具有清甜柔和的香草香, 并兼有龙涎香的琥珀气息, 具有龙涎香、麝香、熏衣草香、柠檬香、橙花香等香气, 是被广泛应用于香水、葡萄

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2018D01A58)

Fund: Supported by the Xinjiang Uygur Autonomous Region Natural Fund Project (2018D01A58)

*通信作者: 王爱霞, 高级实验师, 主要研究方向为天然产物的研究与开发。E-mail: xiaoai5215@126.com

*Corresponding author: WANG Ai-Xia, Senior Engineer, Xinjiang Institute of Analysis and Testing, Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumchi 830011, China. E-mail: 348200512@126.com

酒、烟草等的香原料^[2]。马松涛等^[3]、采继宝等^[4]、KARIM等^[5]采用水蒸气蒸馏法提取香紫苏油,利用气相色谱-质谱技术对香紫苏挥发油成分进行了研究,鉴定出40种以上挥发性成分,该法需要首先提取挥发油,然后利用气相色谱质谱仪进行挥发油的分析,操作复杂且耗时较长。利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定香紫苏香气成分未见报道,常温固相微萃取技术^[6],是一种集采样、萃取、富集、脱附、进样于一体的样品预处理技术,其装置小巧便于携带,简单便捷且精确分析样品挥发性成分,在环境、医学、中药学、化学等领域都得到广泛的运用^[7-15]。本研究用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS),在不同GC-MS程序升温条件下反复对比选取最佳条件,测定香紫苏中挥发性成分,逐步明确香紫苏香气成分,以期对我国香味香料研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 原材料

本研究香紫苏来自新疆伊犁昭苏县香紫苏原料,市售。

1.2 主要仪器

配有萃取头(MW 40-275 50/30 μm DVB/CAR/PDMS、MW 60-275 100 μm DVB/CAR/PDMS)的固相微萃取装置(美国SUPELCO公司);GC-MS-QP2010Plus气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验条件

(1)材料处理

取成熟香紫苏样品,将其自然晾干,整株粉碎过60目筛后供试。

初步选定条件测定样品:取约1g试样于聚四氟乙烯压盖顶空瓶中,迅速用压盖器将顶空瓶压紧,于30℃条件下,吸附60min,解吸附20min,脱附温度250℃;脱附时间5min。

(2)气相色谱条件

载气:氦气;进样方式:分流;分流比:50:1;DB-5MS毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm);程序升温:起始

温度40℃,保留1min后以5℃/min升至100℃,保留1min后以15℃/min升至260℃;进样口温度:250℃。

(3)质谱条件

离子源:EI源;离子源温度:230℃;离子化能量:70 eV;接口温度:260℃;全扫描范围(m/z):50~450 nm;结束采集时间:30 min。

1.3.2 固相微萃取条件优化

取约1g试样于聚四氟乙烯压盖顶空瓶中,通过萃取头的选择、萃取温度的选择及固相微萃取吸附解吸附时间的优化,寻找最佳固相微萃取条件。

(1)萃取头的选择

实验室现有萃取头:用于挥发性物质(MW 60-275)100 μm DVB/CAR/PDMS的萃取头和用于香味物质、挥发性和半挥发性物质(MW 40-275)50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头,通过初步选定条件测定,决定选用其中一种萃取头。

(2)萃取温度的选择

用选定的萃取头以25、35、45℃分别吸附样品30min,通过初步选定条件测定,确定最佳萃取温度。

(3)萃取时间的优化

取约1g试样于聚四氟乙烯压盖顶空瓶中,以选定萃取头,在优化后的萃取温度下萃取样品,通过改变固相微萃取吸附解吸附时间,寻找最佳样品预处理条件。

1.3.3 选定参数下样品含量测定

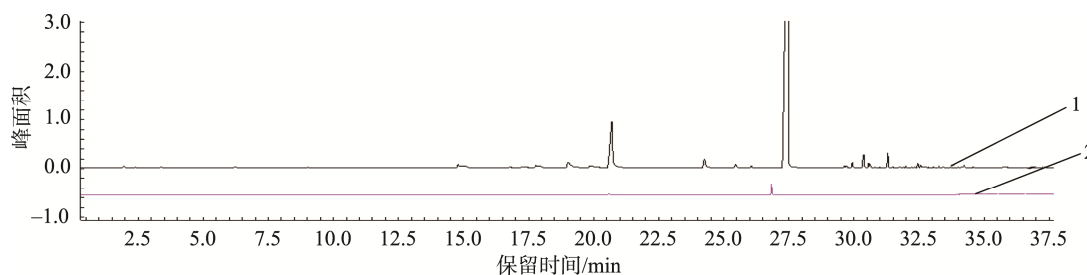
通过优化后选定的萃取头、萃取温度进行样品萃取,以优化的吸附解析时间进行预处理,通过合适的程序升温条件进行样品的分离,最终以质谱检测器检测,以峰面积归一化法对香紫苏中各香气成分进行定量。

2 结果与分析

2.1 固相微萃取条件优化

2.1.1 萃取头的选择

2种萃取头萃取效果色谱图如图1所示,根据色谱图判断型号为MW 40-275萃取头萃取效果优于型号为MW 60-275萃取头,因此选用型号为MW 40-275萃取头萃取样品中香气成分。



注:1:型号为MW 40-275萃取头萃取效果图;2:型号为MW 60-275萃取头萃取效果图。

图1 不同萃取头萃取效果色谱图

Fig.1 Chromatogram of extraction effect of different extraction heads

2.1.2 萃取温度的选择

不同萃取温度下各组分色谱图如图2所示,根据色谱图判断不同萃取温度下,各组分结果相差不大,因此选择25℃以上的温度进行样品中香气成分的萃取,免去了调解萃取温度的程序。

2.1.3 萃取时间的优化

通过吸附10 min解吸附5 min;吸附30 min解吸附10 min;吸附60 min解吸附20 min 3个预处理条件得到香气成分局部放大图,见图3。

通过图3可知,预处理时,随着吸附、解吸附时间的增加,样品含量增大,最后趋于稳定。吸附60 min解吸附

20 min时,各组分含量最大,但是相对于吸附30 min解吸附10 min的时间成本较大,且吸附30 min解吸附10 min条件下香紫苏香气成分均得到挥发,满足峰面积归一化法的定量需求。因此本研究采用吸附30 min解吸附10 min的固相微萃取条件进行样品的预处理。

2.2 选定参数下样品含量测定

在优化的选定参数下通过气相色谱-质谱联用技术采集30 min内香紫苏香气成分所得到的总离子流图(total ions chromatograph, TIC),见图4。图5为香紫苏在14~35 min内局部放大色谱图。

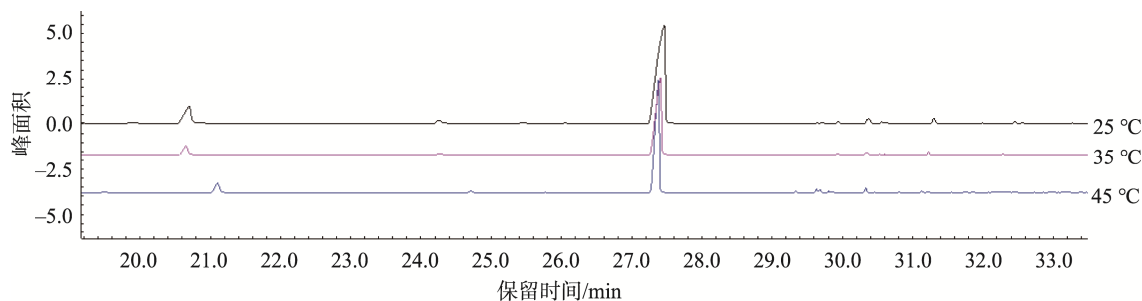


图2 不同萃取温度下各组分色谱图

Fig.2 Chromatogram of each component under different extraction temperatures

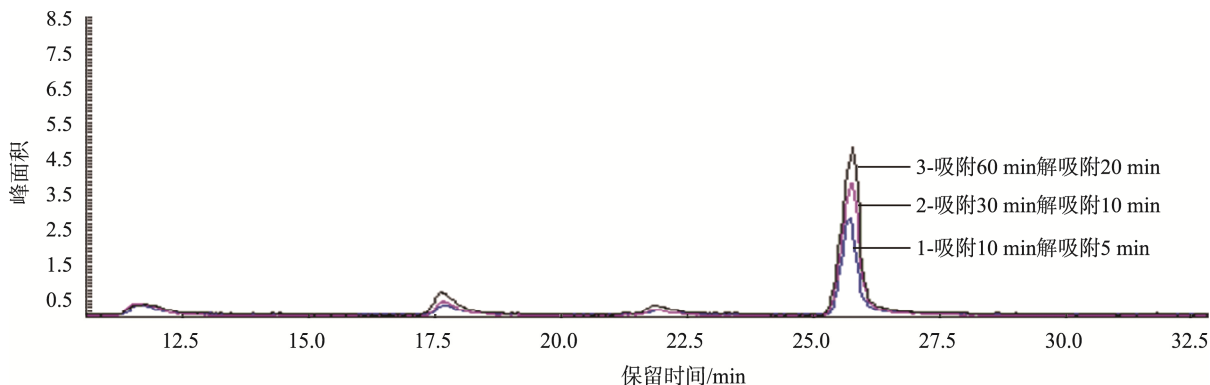


图3 固相微萃取条件优化图

Fig.3 Optimization diagram of solid phase microextraction conditions

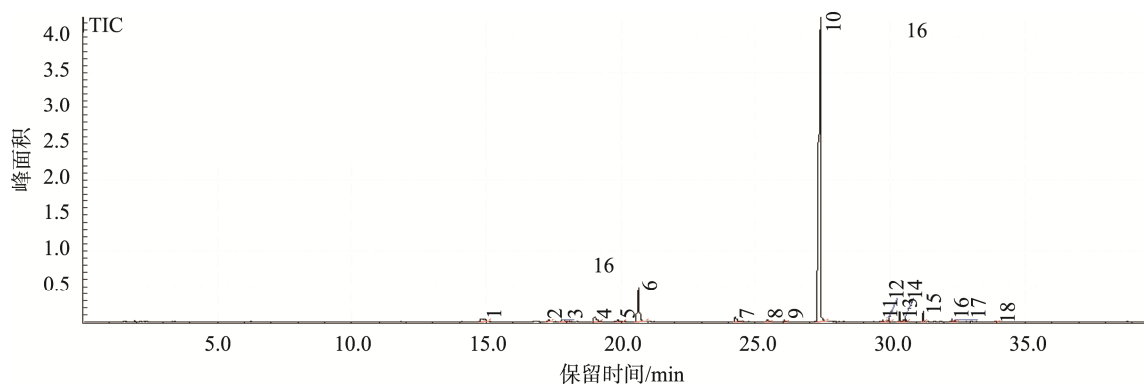


图4 固相微萃取-气相色谱-质谱联用所得香紫苏香气总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram of *Salvia sclarea* aroma obtained by solid-phase microextraction at room temperature coupled with gas chromatography-mass spectrometry

2.3 香紫苏香气成分表

通过气相色谱-质谱联用采集时间 30 min, 各色谱峰对应质谱图经人工解析, 通过 NIST14 图库分析, 以匹配度在 90% 以上的组分结合香紫苏样品的特性确定定性离子, 采用峰面积归一化法定量, 确定香紫苏香气成分, 见表 1。

由表 1 可知, 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分离, NIST14 图库共鉴定出 18 种化学成分, 其中乙酸芳樟酯 (79.58%) 和芳樟醇 (8.32%) 为主要化学成分, 与文献^[3-5]报道香紫苏油中分离出 40 种以上挥发性成分存在不同, 且乙酸

芳樟酯含量为 40%~50%、芳樟醇含量为 20%~30%。采用水蒸气蒸馏法提取香紫苏挥发油然后进行挥发油的气相色谱-质谱分析与直接采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法进行挥发性成分分析在种类及含量上差别极大, 分析是否与香紫苏品种有关或者香紫苏挥发性成分进样方式有关, 水蒸气蒸馏法是否能够使挥发性组分充分挥发而得到检测。另外, 文献报道^[3-5]使用的色谱柱为非极性和强极性色谱柱, 本研究使用弱极性色谱柱进行分离, 色谱柱的极性是否对分离效果有影响, 有关以上内容有待于进一步研究。

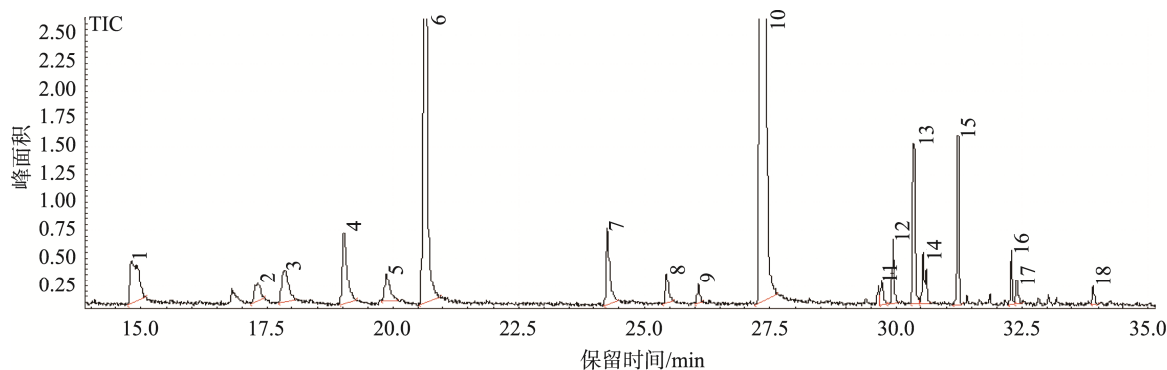


图 5 香紫苏总离子流图局部放大图

Fig.5 Partial enlargement of the total ion flow diagram of *Salvia sclarea*

表 1 香紫苏香气成分 SPME-GC-MS 分析结果

Table 1 SPME-GC-MS analysis results of aroma components in *Salvia sclarea*

| 序号 | 保留时间/min | 化合物名称 | CAS 号 | 分子式 | 峰面积/% |
|----|----------|--|-------------|--|-------|
| 1 | 14.81 | β -月桂烯 | 123-35-3 | C ₁₀ H ₁₆ | 1.45 |
| 2 | 17.316 | α -蒎烯 | 80-56-8 | C ₁₀ H ₁₆ | 0.45 |
| 3 | 17.852 | β -罗勒烯 | 13877-91-3 | C ₁₀ H ₁₆ | 0.93 |
| 4 | 19.029 | (Z)-3, 7-二甲基-1, 3, 6-十八烷三烯 | 3338-55-4 | C ₁₀ H ₁₆ | 1.45 |
| 5 | 19.867 | 反式芳樟醇氧化物(呋喃) | 34995-77-2 | C ₁₀ H ₁₈ O ₂ | 0.59 |
| 6 | 20.655 | 芳樟醇 | 78-70-6 | C ₁₀ H ₁₈ O | 8.32 |
| 7 | 24.26 | 环氧玫瑰呋喃 | 92356-06-4 | C ₁₀ H ₁₄ O ₂ | 1.22 |
| 8 | 25.436 | α -松油醇 | 10482-56-1 | C ₁₀ H ₁₈ O | 0.42 |
| 9 | 26.069 | 橙花醇 | 106-25-2 | C ₁₀ H ₁₈ O | 0.20 |
| 10 | 27.411 | 乙酸芳樟酯 | 115-95-7 | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 79.58 |
| 11 | 29.708 | (+)-二氢香芹醇 | 20549-47-7 | C ₁₀ H ₁₈ O | 0.26 |
| 12 | 29.937 | 乙酸橙花酯 | 141-12-8 | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 0.50 |
| 13 | 30.354 | alpha-copaene(/) | 138874-68-7 | C ₁₅ H ₂₄ | 1.83 |
| 14 | 30.534 | β -波旁烯 | 5208-59-3 | C ₁₅ H ₂₄ | 0.71 |
| 15 | 31.23 | 石竹烯 | 13877-93-5 | C ₁₅ H ₂₄ | 1.28 |
| 16 | 32.29 | 右旋大根香叶烯 | 37839-63-7 | C ₁₅ H ₂₄ | 0.40 |
| 17 | 32.395 | naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.alpha.)]- (瓦伦西亚桔烯) | 4630-7-3 | C ₁₅ H ₂₄ | 0.23 |
| 18 | 33.916 | 氧化石竹烯 | 214-519-7 | C ₁₅ H ₂₄ O | 0.18 |

注: 本研究中含量小于 0.1% 的组分没有参与定量计算。

3 结论与讨论

植物种类、生长状态、植物的部位的不同, 所测定挥发性物质也有所不同。香紫苏中共鉴定出18种化合物, 其中主要成分乙酸芳樟酯、芳樟醇共占香紫苏香气的87.90%, 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术能有效地鉴别出香紫苏中香气成分, 样品用量少, 仅10 g左右即可测定; 易操作, 样品顶空后, 使用固相微萃取装置吸附挥发性成分即可; 灵敏度高, 优选较好的采集条件测定香紫苏香气成分, 为研究香紫苏各化学成分奠定了基础, 通过挥发性成分快速的辨别香紫苏品种, 进一步探索我国香精香料提供了良好的技术支持。

参考文献

- [1] 翟周平. 香紫苏[J]. 植物杂志, 2000, (2): 14.
ZHAI ZP. *Salvia sclarea* [J]. Plants, 2000, (2): 14.
- [2] 张悠金, 金闻博. 烟用香料香精[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1996.
ZHANG YJ, JIN WB. The flavor and fragrance of tobacco [M]. Hefei: Press of University of Science and Technology of China, 1996.
- [3] 马松涛, 赵继彪, 党俊伟. 用GC/MS联用技术分析香紫苏挥发油成分[J]. 河南科学, 2003, 21(6): 726-727.
MA ST, ZHAO JB, DANG JW, *et al.* Study on the chemical components of sage clary volatile oil by GC/MS [J]. Henan Sci, 2003, 21(6): 726-727.
- [4] 采继宝, 林平, 桑文强, 等. 精油中挥发性成分GC/FTIR与GC/MS联合分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(10): 1601-1602.
CAI JB, LIN P, SANG WQ, *et al.* Analysis of essential oil components by GC/FTIR and GC/MS [J]. Spectroscop Spect Anal, 2005, 25(10): 1601-1602.
- [5] KARIM R, JEAN H. Phytochemical compositions and antidiabetic potentials of *Salvia sclarea* L [J]. Essent Oils, 2018, (67): 1015-1025.
- [6] 张静斐, 吴惠勤, 黄晓兰, 等. 固相微萃取/气相色谱-质谱研究沉香的特征成分[J]. 分析测试学报, 2017, 36(7): 841-848.
ZHANG JF, WU HQ, HUANG XL, *et al.* Investigation on characteristic constituents of agarwood by SPME/GC-MS [J]. J Instrum Anal, 2017, 36(7): 841-848.
- [7] 周珊, 赵立文, 马腾蛟, 等. 固相微萃取(SPME)技术基本理论及应用进展[J]. 现代科学仪器, 2006, (2): 86-103.
ZHOU S, ZHAO LW, MA TJ, *et al.* Fundamental theory of SPME technology and its application progress [J]. Mod Sci Instrum, 2006, (2): 86-103.
- [8] 龙群, 石勇, 王夏潮, 等. 昆仑雪菊及其胎菊中挥发油成分比较[J]. 中药材, 2020, 48(8): 1916-1919.
LONG Q, SHI Y, WANG XC, *et al.* Comparison of the essential oil components in *Saussurea Kuntun* and its fetus [J]. J Chin Med Mater, 2020, 48(8): 1916-1919.
- [9] 康明星, 宋爱英, 苏文渊. 固相微萃取技术在滥用药物分析中的应用进展[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(8): 1313-1320.
KANG MX, SONG AY, SU WY. Application of solid phase microextraction in analysis of abused drugs [J]. Chem Res Appl, 2020, 32(8): 1313-1320.
- [10] 念琪循, 赵腾雯, 张子扬, 等. 氮化碳及其复合材料在样品前处理领域的应用[J]. 分析测试学报, 2020, 39(7): 929-934.
NIAN QX, ZHAO TW, ZHANG ZY, *et al.* Applications of graphitic carbon nitride and its composites in sample pretreatment [J]. J Instrum Anal, 2020, 39(7): 929-934.
- [11] MIRZAJANI R, RAMEZANI Z, KARDANI F. Selective determination of thidiazuron herbicide in fruit and vegetable samples using molecularly imprinted polymer fiber solid phase microextraction with ion mobility spectrometry detection (MIPF-SPME-IMS) [J]. Microchem J, 2017, (130): 93-101.
- [12] 叶琳洋, 康琴, 李刚, 等. 气液微萃取和GC-MS对臭豆腐中挥发性成分提取与分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 48-54.
YE LY, KANG Q, LI G, *et al.* Extraction and analysis of volatile aroma components in stinky tofu by gas-liquid microextraction and GC-MS [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(12): 48-54.
- [13] LI J, WANG Y, YAN S, *et al.* Molecularly imprinted calixarene fiber for solid-phase microextraction of four organophosphorous pesticides in fruits [J]. Food Chem, 2016, (192): 260-267.
- [14] WANG D, GAO D, HUANG Y, *et al.* Preparation of restricted access molecularly imprinted polymers based fiber for selective solid-phase microextraction of hesperetin and its metabolites *in vivo* [J]. Talanta, 2019, (202): 392-401.
- [15] ANSARI S, KARIMI M. Recent progress, challenges and trends in trace determination of drug analysis using molecularly imprinted solid-phase microextraction technology [J]. Talanta, 2017, (164): 612-625.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



付 铭, 实验师, 主要研究方向为天然产物的研究与开发。
E-mail: 1290369393@qq.com



王爱霞, 高级实验师, 主要研究方向为天然产物的研究与开发。
E-mail: xiaoai5215@126.com