

气相色谱质谱法分析大叶和小叶迷迭香香气成分

魏泉增*, 王莹, 郭嘉琦, 王步云, 张成丽

(许昌学院河南省食品安全生物标识快检技术重点实验室, 许昌 461000)

摘要: **目的** 分析大叶和小叶迷迭香的香气成分差异。**方法** 应用混合水平均匀试验优化顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)条件, 采用二次多项式逐步回归分析, 确定最优固相微萃取条件。气相色谱质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析大叶迷迭香和小叶迷迭香香气成分, 采用偏最小二乘判别式法(partial least squares-discriminate analysis, PLS-DA)分析不同迷迭香的香气成分。**结果** HS-SPME最佳条件为饱和度10.0%的氯化钠溶液、平衡时间为13.0 min、萃取时间为42.0 min、装液量为3.2 mL、萃取温度为80.0°C。通过GC-MS分析共检测到123种挥发性物质, 其中11种酯类、22种烯类、8种烷类、3种酸类、20种醛酮类、39种醇类、2种醚类、5种酚类、9种芳香烃、4种其他物质。大叶迷迭香中检测出91种物质, 小叶迷迭香中检测出86种物质。基于迷迭香香气成分的相对含量建立PLS-DA模型, 可区分大叶和小叶迷迭香。**结论** 本研究成功建立了鉴别大叶和小叶迷迭香的方法, 分析了大叶和小叶迷迭香的香气成分差异, 为迷迭香品质评价提供一定的理论依据。

关键词: 迷迭香; 均匀试验设计; 偏最小二乘判别式法; 顶空固相微萃取; 气相色谱质谱法

Analysis of aroma compounds in large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis* by gas chromatography-mass spectrometry

WEI Quan-Zeng*, WANG Ying, GUO Jia-Qi, WANG Bu-Yun, ZHANG Cheng-Li

(Key Laboratory of Biomarker Based Rapid-detection Technology for Food Safety on Henan Province, Xuchang University, Xuchang 461000, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the difference of aroma components between large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis*, and establish a method for discriminating them. **Methods** The headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) conditions were optimized by mixed level uniform experiment. The optimal conditions of HS-SPME were determined by quadratic polynomial stepwise regression analysis. The aroma compounds of large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The aroma components of different *Rosmarinus officinalis* were analyzed by partial least squares-discriminate analysis (PLS-DA). **Results** The optimum conditions of HS-SPME were sodium chloride solution with 10.0% saturation, equilibration time of 13.0 min, extraction time of 42.0 min, liquid loading of 3.2 mL and extraction temperature of

基金项目: 河南省高校重点科研项目(23A550016)、国家级大学生创新训练计划项目(202210480004)

Fund: Supported by the Key Projects of Colleges and Universities in Henan Provincial (23A550016), and the National Innovation Training Program for College Students in Henan Province (202210480004)

*通信作者: 魏泉增, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品分析。E-mail: weiquanzeng@163.com

*Corresponding author: WEI Quan-Zeng, Ph.D, Lecturer, Key Laboratory of Biomarker Based Rapid-detection Technology for Food Safety on Henan Province, Xuchang University, No.88, Bayi Road, Weidu District, Xuchang 461000, China. E-mail: weiquanzeng@163.com

80.0°C. One hundred and twenty-three kinds of volatile compounds were detected by GC-MS, including 11 kinds of esters, 22 kinds of alkenes, 8 kinds of alkanes, 3 kinds of acids, 20 kinds of aldehydes and ketones, 39 kinds of alcohols, 2 kinds of ethers, 5 kinds of phenols, 9 kinds of aromatic hydrocarbons and 4 kinds of other substances. Ninety-one kinds of substances were detected in large leaf *Rosmarinus officinalis* and 86 kinds of substances were detected in small leaf *Rosmarinus officinalis*. PLS-DA model was established based on the relative content of *Rosmarinus officinalis* aroma components, which could distinguish large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis*.

Conclusion The identification method of large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis* is successfully established, and the difference of aroma components between large leaf and small leaf *Rosmarinus officinalis* is analyzed, which provides a certain theoretical basis for the quality evaluation of *Rosmarinus officinalis*.

KEY WORDS: *Rosmarinus officinalis*; uniform experiment; partial least squares-discriminate analysis; headspace solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

0 引言

迷迭香(*Rosmarinus officinalis*), 双子叶植物纲, 是一种天然香料植物, 气味清香怡人, 具有清心提神、镇静安神、醒脑及抗氧化的作用, 因此被广泛用于食品领域, 尤其是被广泛用于油炸食品和富含油脂食品中^[1]。目前, 大叶迷迭香和小叶迷迭香是市场上常见的迷迭香。但是, 二者所含有的成分是有差别的, 不同的迷迭香在食品领域的应用效果不同(例如, 抗菌性和抗氧化性), 虽然国内外对迷迭香的抗氧化性、抗菌性有深入的研究^[2-5], 但并未指明是大叶迷迭香还是小叶迷迭香, 这不利于对迷迭香开发利用。因此, 判别大叶和小叶迷迭香具有现实意义。

气相色谱质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)具有高效的分离能力及鉴别能力, 已广泛应用于食用香料、食品、日用化工和医药产品等领域, 李利红等^[6]、许鹏翔等^[7]和 HOSSEINI 等^[8]都利用 GC-MS 分析了不同产区迷迭香精油中的主要成分。但精油提取费时、费力, 在鉴别不同迷迭香时并不适用。顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)是一种集采样、萃取、浓缩、进样于一体的无溶剂样品预处理技术, 具有处理时间短、不使用有机溶剂、真实反映样品中挥发性成分及组成等优点^[9-10], 同时操作简单, 所需样品量少, 处理时间短且高效^[11-12], 因此, HS-SPME 结合 GC-MS 技术已经广泛用于食品、药品、生物材料中挥发性、半挥发性有机物的分析^[13]。TIGRINE-KORDJANI 等^[14]采用 HS-SPME 和微波辅助蒸馏分析了不同产地迷迭香的香气成分。MENA 等^[15]采用 HS-SPME 分析迷迭香的香气成分, 并鉴定出了 63 种挥发性成分。但是, 现有文献对迷迭香香气成分进行 HS-SPME 萃取时, 常常缺少必要的 HS-SPME 条件优化, 所采用的萃取条件差别较大, 结果缺乏可比性。为达到最佳的萃取效果, 必须对 HS-SPME 的关键萃取条件进行优化。均匀设计试验适用于多因素多水平的试验设计, 不但能系统地考察试验因素对试验结果的影

响, 还能按照各试验因素的重要性进行排序^[16], 而且相比于正交试验法、旋转正交试验法、响应面分析法, 均匀设计试验可以在试验次数更少的条件下保证设计表中各试验点的高度代表性^[17], 显著降低试验成本, 并能得到较优的 HS-SPME 萃取条件。因此, 本研究采用均匀设计试验方法优化 HS-SPME 的萃取条件, 并对均匀设计试验数据进行二次多项式逐步回归分析, 采用优化后的 HS-SPME 条件萃取, GC-MS 检测大叶和小叶迷迭香中香气成分, 利用偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discriminate analysis, PLS-DA)分析大叶迷迭香和小叶迷迭香香气数据, 为迷迭香利用提供更多理论和可行性操作方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小叶迷迭香、大叶迷迭香(禹州市合同泰药业有限公司); 无水乙醇(分析纯, 天津市凯通化学试剂有限公司); C6-C10 及 C8-C40 正构烷烃(色谱纯, 百灵威科技有限公司); 氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

7890B-7000C 气相色谱-质谱联用仪、HP-5MS 石英毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国安捷伦公司); 聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(polydimethylsiloxane/divinylbenzene, PDMS/DVB)涂料萃取头(65 μm, 美国色谱科公司); BSA124S 电子天平(精度 0.1 mg, 德国赛多利斯公司); Min-Q 超纯水机(德国默克公司); DFT-200C 高速万能粉碎机(上海舍岩仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理

称取 0.2 g 迷迭香样品装于 15 mL 顶空进样瓶中, 加入饱和度为 40%的氯化钠溶液^[18]。平衡时间 40 min、吸附时间 24 min、装量 4.1 mL, 吸附温度 250°C下解吸附 3 min, 进 GC-MS 分析。

1.3.2 均匀试验优化 HS-SPME 条件

在常温下以氯化钠饱和度^[19] X_1 (10%~100%)、平衡时间 X_2 (13~40 min)、吸附时间^[20] X_3 (15~42min)、装液量 X_4 (2.3~5.0 mL)和吸附温度 X_5 ^[21-22] (40~80°C), 作为考察因素, 以峰面积(Y)为考察指标设计均匀试验。利用 DSP 9.1 统计软件设计 U^{10} ($10^4 \times 5^1$)均匀试验优化 HS-SPME 条件。均匀设计因素水平表见表 1。

表 1 均匀试验优化提取迷迭香气提取条件

Table 1 Optimize the extraction condition of aroma compounds from *Rosmarinus officinalis* by the uniform experiment

试验组	各参试因子用量				
	X_1 /%	X_2 /min	X_3 /min	X_4 /mL	X_5 /°C
1	40	40	24	4.1	40
2	90	28	36	5.0	50
3	60	37	39	2.6	70
4	10	31	30	4.4	80
5	80	34	15	3.5	60
6	50	16	18	4.7	70
7	100	22	27	2.9	80
8	30	19	42	3.8	60
9	70	13	33	3.2	40
10	20	25	21	2.3	50

1.3.3 GC-MS 条件

GC-MS 条件: 载气: 高纯氦气, 流速: 1 mL/min; 进口温度: 250°C; 升温程序: 温度 42°C、保持 4 min, 以 4°C/min 升至 120°C, 以 3°C/min 升至 250°C, 保持 7 min。

质谱条件: 离子源类型: 电子轰击源(electron impaction source, EI); 离子源温度: 230°C; 电子能量: 70 eV; 四级杆温度: 150°C; 质量扫描范围: 50~700 amu/s^[23]。

1.3.4 挥发性化合物定性和定量

利用 GC-MS 的 NIST14 谱库对所得质谱图进行检索和分析, 取相似度大于 70%的化合物, 计算各化合物的保留指数^[24](retention index, RI)并与文献中的 RI 相互比较, 最后采用气相色谱峰面积归一法进行定量。RI 按公式(1)计算:

$$RI = \left(\frac{R_{t(x)} - R_{t(n)}}{R_{t(n+1)} - R_{t(n)}} + n \right) \times 100 \quad (1)$$

式中, $R_{t(x)}$ 是被分析物质的保留时间(min); $R_{t(n)}$ 与被分析物具有相同碳原子数的正构烷烃的保留时间(min); $R_{t(n+1)}$ 是与具有被分析物多 1 个碳原子数正构烷烃保留时间(min)。

1.4 数据处理

使用 Origin 2021 制作热图及聚类图, 大叶和小叶迷迭香样品重复检测 5 次。使用 DSP 9.1 统计软件进行逐步二项式回归分析^[25]; 使用 SIMCA-P14.1 软件对不同迷迭香 GC-MS 数据进行 PLS-DA 分析^[26]。

2 结果与分析

2.1 均匀设计试验结果分析

采用 DPS 9.1 数据处理软件生成混合水平均匀设计表 U^{10} ($10^4 \times 5^1$)进行均匀试验设计, 中心化偏差为 0.1787, 表明了生成的混合水平均匀设计表的稳健性强, 基于此表进行试验得到的数据更可靠。均匀设计试验结果如表 2 所示。以测得的迷迭香活性成分峰面积(Y)为目标函数, 根据所得的混水平均匀设计试验数据, 用 DPS 数据处理系统对其进行二次多项式逐步回归分析, 得到的回归方程为:

$$Y = -1856717636.07652864 - 8784174.3023953X_1 + 37219821.30275247X_2 + 8413323.4071353X_3 + 98808517.46411064X_4 - 390646.547005X_2X_2 - 508900.408242X_5X_5 - 372002.939494X_2X_5$$

检验该回归方程, 复相关系数 $r=0.9999$, 显著性检验值 $F=2137.47$, 显著水平 $P=0.0005$, 剩余标准差 $S=12729118.65$, 调整后的相关系数 $r=0.9997$, 决定系数 $r^2=0.99987$, 由上述这些系数可知, 迷迭香挥发性成分的峰面积与试验因素密切相关, 其中显著水平 P 远小于 0.01, 说明回归方程显著性很强, 可信度高。

回归方程在计算过程中得到各个试验因子的回归项系数值和 t 检验值, 结果见表 3。

表 2 均匀试验结果

Table 2 Uniform experimental results

试验组	X_1 /%	X_2 /min	X_3 /min	X_4 /mL	X_5 /°C	峰面积 (mAus)
N1	40	40	24	4.1	40	1399797643
N2	90	28	36	5.0	50	1536166418
N3	60	37	39	2.6	70	2254734112
N4	10	31	30	4.4	80	2804872138
N5	80	34	15	3.5	60	1710744603
N6	50	16	18	4.7	70	2358223048
N7	100	22	27	2.9	80	2118702913
N8	30	19	42	3.8	60	2466523555
N9	70	13	33	3.2	40	1167617185
N10	20	25	21	2.3	50	2043873764

表 3 各回归项的回归系数检验

Table 3 Regression coefficient test of each regression item

回归项	偏相关	t	P
$r(Y, X_1)$	-0.9997	62.3739	0.0001
$r(Y, X_2)$	0.9861	8.4011	0.0035
$r(Y, X_3)$	0.9963	16.4697	0.0005
$r(Y, X_4)$	0.9989	29.7902	0.0001
$r(Y, X_2X_2)$	-0.9651	5.2089	0.0138
$r(Y, X_5X_5)$	-0.9974	19.6363	0.0003
$r(Y, X_2X_5)$	-0.9914	10.7099	0.0017

根据表 3 可知, 回归方程中 X_2 与 X_3 这一组的交互作用 $P < 0.01$, 说明平衡时间和萃取温度的交互作用对迷迭香活性物质提取率有很大的影响, 达到显著水平。

样本的观测值、拟合值、拟合误差如表 4 所示, 根据表中数据可以看出观测值接近拟合值, 最大拟合误差绝对值是 10082475.6510, 与观测值、拟合值相比, 占比不到 1%, 这更进一步说明回归方程的拟合性很好^[27]。

表 4 试验组的观测值、拟合值和拟合误差
Table 4 Observed value, fitted value and fitted error of the samples

样本	观测值	拟合值	拟合误差
1	1399797643.0000	1400488872.6878	-691229.6878
2	1536166418.0000	1538845160.2988	-2678742.2988
3	2254734112.0000	2246186392.8224	8547719.1777
4	2804872138.0000	2811394946.2617	-6522808.2617
5	1710744603.0000	1718218368.4023	-7473765.4023
6	2358223048.0000	2357366024.8111	857023.1889
7	2118702913.0000	2114781416.4568	3921496.5432
8	2466523555.0000	2471656146.3868	-5132591.3868
9	1167617185.0000	1168526762.5234	-909577.5234
10	2043873764.0000	2033791288.3490	10082475.6510

2.2 最佳萃取条件的预测和验证

通过 DPS 软件数据处理系统对试验数据进行回归分析, 得到 HS-SPME 提取迷迭香活性成分的最佳萃取条件, 即最大峰面积, 最佳条件为: 饱和度为 10.0% 的氯化钠溶液、平衡时间为 13.0 min、萃取时间为 42.0 min、氯化钠溶液装液量为 3.2 mL、萃取温度为 80.0°C。

试验证明, 优化后方案得到的峰面积结果与预测值接近, 因此, 采用优化 HS-SPME 萃取条件进行大叶迷迭香和小叶迷迭香的区分。

2.3 大叶和小叶迷迭香气成分分析

通过 GC-MS 分析得到的部分结果见表 5, 大叶迷迭香和小叶迷迭香样品中共检测出 123 种香气成分, 包括 11 种酯类化合物、22 种烯类化合物、8 种烷烃化合物、3 种酸类化合物、20 种醛酮类化合物、39 种醇类化合物、2 种醚类化合物、5 种酚类化合物、9 种芳香烃化合物、4 种其他化合物。大叶迷迭香中检测出 91 种物质, 小叶迷迭香中检测出 86 种物质; 大叶迷迭香和小叶迷迭香烯类和醛酮类的相对含量差异明显。大叶迷迭香中主要有 4-萜烯、 α -水芹烯、 γ -松油烯、3-萜烯、丁子香酚、香茅醇、香叶醇、桉油精、 α -松油醇、芳樟醇、蒈品烯-4-醇; 小叶迷迭香中主要有 3-萜烯、邻伞花烃、丁香油酚甲醚、百里酚、桃金娘萜醇、香茅醇、桉油精、香叶醇、 α -松油醇、芳樟醇、蒈品烯-4-醇、3-烯丙基-6-甲氧基苯等物质。如图 1 所示, 大叶迷迭香的烯

类、酸类相对含量高于小叶迷迭香; 醇类、酯类、醚类含量低于小叶迷迭香差距较小, 但烷类、醛酮类含量低于小叶迷迭香差距较大; 酚类、芳香烃类含量与小叶迷迭香相近。

表 5 迷迭香中部分香气成分 GC-MS 分析结果
Table 5 Analysis results of some aroma components in *Rosmarinus officinalis* by GC-MS

编号	物质	RI	大叶	小叶
酯类				
2	3,7-二甲基-2,6-二烯基碳酸乙酯	1554	-	13.96±0.69
8	茉莉酸甲酯	1613	2.33±0.15	5.36±0.40
1,7,7-三溴联苯醋酸二				
11	甲醚-双环[2.2.1]庚烷-2-醇	1275	35.96±1.50	25.08±1.12
烯类				
12	4-萜烯	999	16.33±0.55	3.47±0.19
15	α -水芹烯	996	15.06±0.49	3.58±0.20
17	γ -松油烯	1052	7.05±0.31	2.71±0.11
19	1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十二烷三烯	1498	72.21±1.68	14.32±0.56
20	1s,4R,7R,11R-8-羟基-1,3,4,7-四甲基三环[5.3.1.0(4,11)]十一烷基-2-烯	1605	2.43±0.09	6.24±0.24
21	2-甲基双环[4.3.0]非-1(6)-烯	1084	46.23±1.21	8.56±0.54
23	3-萜烯	1008	99.65±2.31	37.15±4.67
25	4-亚甲基-1-甲基乙基双环[3.1.0]己烯	967	2.51±0.10	6.39±0.29
29	1-亚甲基-4-(1-甲基乙基)环己烷	979	5.78±0.44	1.36±0.09
30	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯	1081	10.64±0.46	6.09±0.20
31	二十二碳烯-1-氧化物	1283	11.09±0.23	4.75±2.37
32	异戊二烯-9(11),15-二烯	1908	12.47±0.77	2.47±0.14
烷烃				
40	2-亚甲基-4,8,8-三甲基-4-乙基双环[5.2.0]壬烷	1410	2.78±0.19	10.75±19.61
41	邻伞花烃	1025	-	11.06±0.91
醛酮类				
47	2,6,6-三甲基双环[3.2.0]庚基-2-烯-7-酮	1109	5.17±0.28	3.3±0.38
50	3-甲基-6-(1-甲基亚乙基)-2-环己烯-1-酮	1318	7.34±0.30	11.45±0.32
58	4,6,6-三甲基庚基-3-烯-2-酮	1186	58.53±1.27	164.96±26.19
59	2,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚烷-3-酮	1143	0.90±0.05	5.22±0.49
醚类				
70	丁香油酚甲醚	1373	2.74±0.21	23.71±0.54
酚类				

表 5(续)

编号	物质	RI	大叶	小叶
71	3-甲基-4-异丙基苯酚	1263	5.20±0.11	4.83±0.55
72	丁子香酚	1336	5.78±0.16	-
74	2-甲基-5-(1-甲基乙基)苯酚	1280	-	7.65±0.56
75	百里酚	1271	2.13±0.19	6.62±0.48
76	醇类 桃金娘萜醇	1182	4.4±0.09	12.23±1.08
78	7-异丙基-4,10-二亚甲基环十二烷-5-烯醇	1701	-	26.72±1.58
83	11,11-二甲基-4,8-二亚甲基双环[7.2.0]十一烷-3-醇	1652	-	9.54±0.12
93	2,2,4-三甲基-3-环戊烯-1-乙醇	1211	-	22.13±0.78
96	1,7,7-三溴联苯二甲醚-双环[2.2.1]庚烷-2-醇	1153	61.37±0.69	83.89±2.55
98	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己-3-醇	1081	-	6.59±2.53
101	香茅醇	1213	6.76±0.19	9.07±0.79
104	2-甲基-5-(1-甲基乙基)环己醇	1198	-	10.2±0.42
105	桉油精	1023	220.05±3.32	100.66±4.93
108	香叶醇	1239	4.84±0.16	74.08±3.16
110	α -松油醇	1174	50.46±1.11	56.38±2.27
111	芳樟醇	1089	12.27±0.45	29.78±0.53
112	萜品烯-4-醇	1161	23.61±0.09	21.93±0.72
114	1,7,7-三甲基庚烷-2-酮	1152	81.82±1.07	40.04±1.24
116	芳香烃 3-烯丙基-6-甲氧基苯	1351	-	13.39±1.52

注: -表示未检出; 大叶迷迭香和小叶迷迭香中相对含量都在 5% 以下的物质未列出。

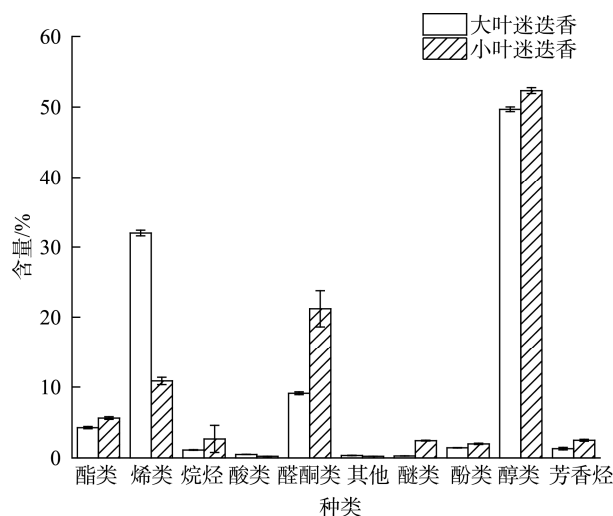


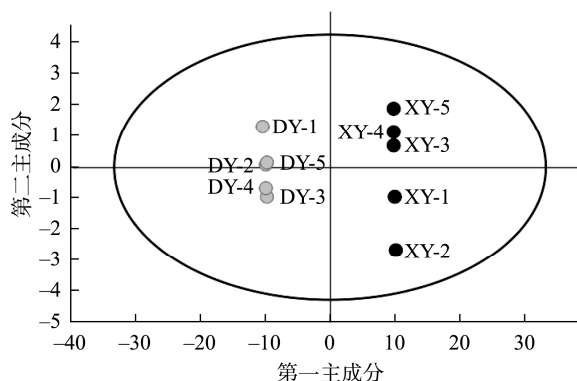
图 1 不同迷迭香挥发性成分

Fig.1 Volatile compounds of the different *Rosmarinus officinalis*

2.4 大叶迷迭香和小叶迷迭香成分的偏最小二乘法判别分析

为了更好地识别大叶迷迭香和小叶迷迭香, 以迷迭香挥发性化合物的相对含量为 X_p 变量, 品种为 Y_p 变量(分类变量), 建立 PLS-DA 模型, 所建立的 PLS-DA 模型前 2 个主成分可以解释 91.7% 的原始变量, 说明该模型能够反映样品的整体信息(图 2)。以第一主成分和第二主成分为横纵坐标建立样品和挥发性化合物的得分图(图 3), 10 个迷迭香样品的相似度在 95% 的置信区间内, 不同品种的迷迭香表现出明显的聚类趋势, 未发现离群样本点, 说明建立的 PLS-DA 模型可对大叶迷迭香和小叶迷迭香进行分类。由图 3 可以看出, 大叶迷迭香和小叶迷迭香可以在主成分 1 上明显区分。

PLS-DA 构建模型拟合参数 $R^2Y = 1$, $Q^2 = 0.99$ 。排列检验 400 次得到交叉验证模型(图 3), R^2 和 Q^2 与 Y 轴的截距均较小($R^2 = 0.687$, $Q^2 = 0.109$), 表明该 PLS-DA 判别模型不存在过度拟合现象^[28-29]。结果显示, PLS-DA 模型可以有效区分大叶迷迭香和小叶迷迭香, 可用于后续的特征挥发性物质的确定。



注: DY 为大叶迷迭香; XY 为小叶迷迭香。

图 2 PLS-DA 模型样品得分图

Fig.2 PLS-DA model samples score plot

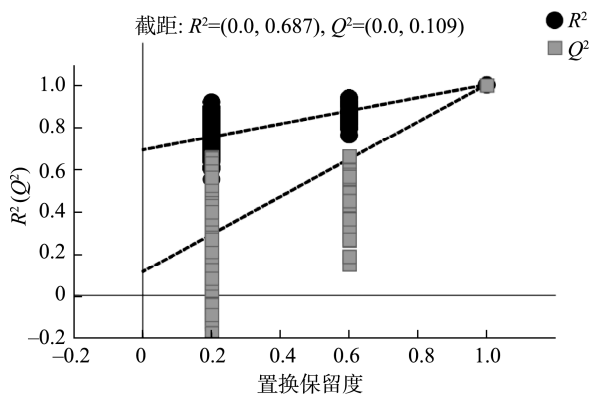


图 3 迷迭香挥发物 PLS-DA 交叉验证结果

Fig.3 PLS-DA cross-validation results of volatile components in *Rosmarinus officinalis*

PLS-DA 变量重要性因子(variable importance in projection, VIP)值可以量化每个变量对样品分类的贡献, VIP 值越大, 变量在判别过程中贡献越大, 通常认为 VIP>1 的变量是模型的重要代谢标志物^[30]。试验结果得出, 有 94 个香气组分 VIP>1, 桉油精、香叶醇、3-萜烯、香叶醇等可作为区分大叶迷迭香和小叶迷迭香的潜在代谢标志物。

2.5 不同迷迭香挥发性成分聚类分析

为了直观地展示挥发性成分在不同迷迭香的分布规律, 对检测到 123 种挥发性成分进行聚类分析(图 4)。结果显示, 大叶迷迭香中桉油精、3-萜烯、1,7,7-三甲基庚烷-2-酮、1,5,9,9-四甲基-1,4,7,7-环十二烷三烯、1,7,7-三溴联苯二甲醚-双环[2.2.1]庚烷-2-醇、4,6,6-三甲基庚基-3-烯-2-酮、 α -松油醇、2-甲基双环[4.3.0]非-1(6)-烯、萜品烯-4-醇、4-萜烯、 α -水芹烯、异戊二烯-9(11),15-二烯、芳樟醇含量较高; 小叶迷迭香中 4,6,6-三甲基庚基-3-烯-2-酮、桉油精、1,7,7-三溴联苯二甲醚-双环[2.2.1]庚烷-2-醇、香叶醇、 α -松油醇、1,7,7-三甲基庚烷-2-酮、3-萜烯、芳樟醇、7-异丙基-4、10-二亚甲基环十二烷-5-烯醇、1,7,7-三溴联苯二甲基醚-双环[2.2.1]庚烷-2-醇、丁香油酚甲醚、2,2,4-三甲基-3-环戊

烯-1-乙醇、萜品烯-4-醇含量较高。这些挥发物是区分不同迷迭香的重要物质, 表明不同迷迭香的挥发物具有显著的差异特征。如图 4 表示聚类分析大叶迷迭香和小叶迷迭香差异明显; 105 号(桉油精)和 108 号(香叶醇)在大叶迷迭香和小叶迷迭香中的相对含量差异明显, 可以作为区分大叶迷迭香和小叶迷迭香潜在的标记物。

3 结论

本研究采用均匀设计试验优化了 HS-SPME 萃取条件, 最佳萃取条件为: NaCl 饱和度为 10.0%、平衡时间为 13.0 min、萃取时间为 42.0 min、装液量为 3.2 mL、萃取温度为 80.0°C。分析了大叶迷迭香和小叶迷迭香挥发性成分, 结果表明大叶迷迭香的烯类、酸类相对含量高于小叶迷迭香; 醇类、酯类、醚类含量低于小叶迷迭香差距较小, 但烷类、醛酮类含量低于小叶迷迭香差距较大; 酚类、芳香烃类含量与小叶迷迭香相近。通过 PLS-DA 可以区分大叶迷迭香和小叶迷迭香, 桉油精, 香叶醇可以作为区分大叶迷迭香和小叶迷迭香潜在的标记物。虽然挥发性成分确定迷迭香的应用, 但是大叶迷迭香和小叶迷迭香的应用效果差异, 还需进一步研究。

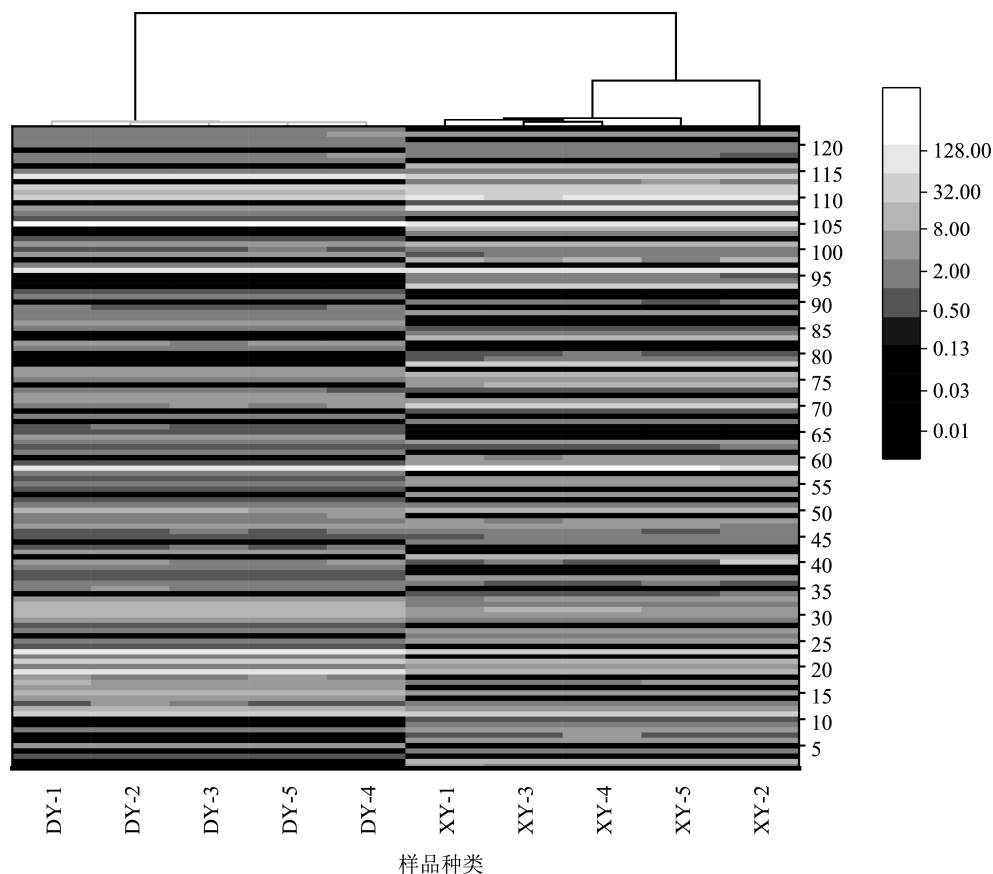


图 4 不同迷迭香挥发物的热图及聚类图(纵坐标的值与检出的 123 种挥发性物质编号对应)

Fig.4 Heatmap and cluster of volatile components in the different *Rosmarinus officinalis* (values in ordinate correspond to number of the detected 123 volatile substances)

参考文献

- [1] 王莹, 曾祥辉, 邓慧, 等. 迷迭香脂溶性抗氧化剂活性及抑制食用植物油氧化作用研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(8): 80–84.
WANG Y, ZENG XH, DENG H, *et al.* Study on the activity of rosemary fat-soluble antioxidants and the inhibition of edible vegetable oil oxidation [J]. *China Cond*, 2022, 47(8): 80–84.
- [2] TESHALE F, NARENDIRAN K, BEYAN SM, *et al.* Extraction of essential oil from rosemary leaves: Optimization by response surface methodology and mathematical modeling [J]. *Appl Food Res*, 2022, 2(2): 100–133.
- [3] PASCUAL-MATHEY LI, BRIONES-CONCHAJ A, JIMÉNEZ M, *et al.* Elaboration of essential oil nanoemulsions of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its effect on liver injury prevention [J]. *Food Bioprod Process*, 2022, 134: 46–55.
- [4] 郭冬云, 万娜, 吴意, 等. 江西迷迭香精油的成分分析及抗氧化、抑菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(2): 263–271.
GUO DY, WAN N, WU Y, *et al.* Study on chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. in Jiangxi [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2022, 34(2): 263–271.
- [5] 邓慧, 王莹, 曾祥辉, 等. 超声辅助提取迷迭香抗氧化剂工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(7): 199–204.
DENG H, WANG Y, ZENG XH, *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* and their antioxidant activity [J]. *China Cond*, 2022, 47(7): 199–204.
- [6] 李利红, 李先芳, 解克伟. 河南禹州产迷迭香精油成分的 GC-MS 分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(9): 227–230, 234.
LI LH, LI XF, XIE KW. Analysis of the chemical compositions of the volatile oil from *Rosmarinus officinalis* L. planted in Yuzhou, Henan by GC-MS [J]. *J Northwest Agric Forest Univ (Nat Sci Ed)*, 2012, 40(9): 227–230, 234.
- [7] 许鹏翔, 贾卫民, 毕良武, 等. 不同产地的迷迭香精油成分分析及品质研究[J]. 分析科学学报, 2003, 4: 361–363.
XU PX, JIA WM, BI LW, *et al.* Studies on chemical constituents of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from different regions [J]. *J Anal Sci*, 2003, 4: 361–363.
- [8] HOSSEINI F, MIRI MA, NAJAFI M, *et al.* Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique [J]. *J Food Sci*, 2021, 86(9): 4070–4086.
- [9] BOJKE A, TKACZUK C, BAUER M, *et al.* Application of HS-SPME-GC-MS for the analysis of aldehydes produced by different insect species and their antifungal activity [J]. *J Microbiol Meth*, 2020, 169: 105835.
- [10] LO MM, BENFODDA Z, BÉNIMÉLIS D, *et al.* Development of a HS-SPME/GC-MS method for the extraction and identification of the volatile compounds emitted by flowers of *Tillandsia xiphioides* [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(19): 12691–12698.
- [11] 尹文婷, 师瑞, 马宇翔, 等. 浓香葵花籽油香气活性物质 HS-SPME 萃取条件优化及 GC-O-MS 分析[J/OL]. 中国油脂: 1–11. [2022-10-19]. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210779
YIN WT, SHI R, MA YX, *et al.* Optimization of HS-SPME and identification of aroma-active compounds in roasted sunflower seed oil by GC-O-MS [J/OL]. *China Oils Fats*: 1–11. [2022-10-19]. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210779
- [12] ROBERTO G, ALBERTO L, JESSICA F. Evaluation of roasting effect on selected green tea volatile flavor compound and pyrazine content by HS-SPME GC-MS [J]. *Appl Sci*, 2021, 11(17): 253–262.
- [13] RAJH II, BACCOURI B, RAJHI F, *et al.* HS-SPME-GC-MS characterization of volatile chemicals released from microwaving and conventional processing methods of fenugreek seeds and flours [J]. *Ind Crop Prod*, 2022, 182: 114824.
- [14] TIGRINE-KORDJANI N, CHEMAT F, MEKLATI BY, *et al.* Relative characterization of rosemary samples according to their geographical origins using microwave-accelerated distillation, solid-phase microextraction and kohonen self-organizing maps [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389(2): 631–641.
- [15] MENA P, CIRLINI M, TASSOTTI M, *et al.* Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acids, terpenoids, and volatile fraction of a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract [J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1576–1589.
- [16] 王小明, 陈碧, 钟翠娟, 等. 均匀设计法优化甜茶叶中总黄酮提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(24): 55–62.
WANG XM, CHEN B, ZHONG CJ, *et al.* Optimization of extraction technology for total flavonoids from sweet tea by uniform design [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(24): 55–62.
- [17] 李北兴, 王伟昌, 张大侠, 等. 正交设计和均匀设计在优化噻虫胺悬浮剂物理稳定性上的应用[J]. 中国农业科学, 2015, 48(2): 280–292.
LI BX, WANG WC, ZHANG DX, *et al.* Application of orthogonal design and uniform design in physical stability promotion of clothianidin suspension concentrate [J]. *Sci Agric Sin*, 2015, 48(2): 280–292.
- [18] 吴娟娟, 曹凯航, 钱建瑞, 等. 不同产地迷迭香化学成分的差异研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(3): 1–8.
WU JJ, CAO KH, QIAN JR, *et al.* Study on the differences of chemical components of rosemary from different origins [J]. *China Food Addit*, 2022, 33(3): 1–8
- [19] 任红波. 白酒中香味物质的顶空-气相色谱/质谱联用分析[J]. 酿酒, 2008, 5: 50–51.
REN HB. Analysis of aroma components in alcohol by headspace gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Liquor Mak*, 2008, 5: 50–51.
- [20] 陈臣, 李艳, 牟德华. 优化 GC 检测欧李酒香气成分的萃取条件[J]. 食品工业科技, 2014, 35(6): 81–86.
CHEN C, LI Y, MOU DH. Optimization extraction conditions for GC analysis of aromatic constituents in prunus humilis bunge wine [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(6): 81–86.
- [21] 王明林, 乔鲁芹, 张莉, 等. 固相微萃取-气相色谱/质谱测定植物叶片中的挥发性物质[J]. 色谱, 2006, 4: 343–346.

- WANG ML, QIAO LQ, ZHANG L, *et al.* Analysis of volatile constituents from leaves of plants by gas chromatography/mass spectrometry with solid-phase microextraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2006, 4: 343–346.
- [22] 张影陆, 范文来, 姜文广, 等. 顶空固相微萃取法测定果酒中的挥发性成分[J]. *食品与生物技术学报*, 2008, 27(6): 115–120.
- ZHANG YL, FAN WL, JIANG WG, *et al.* Determination of volatile compounds in fruit wine by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2008, 27(6): 115–120.
- [23] STAROWICZ M, LELUJKA E, CISKA E, *et al.* The application of *Lamiaceae lind* L. promotes aroma compounds formation, sensory properties, and antioxidant activity of oat and buckwheat-based cookies [J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5626–5639.
- [24] AITH B, PRIMIERI NJK, SOUZA-SILVAEA, *et al.* Volatile profile and aroma potential of tropical Syrah wines elaborated in different maturation and maceration times using comprehensive two-dimensional gas chromatography and olfactometry [J]. *Food Chem*, 2020, 308: 125552.
- [25] 雷娟娟, 梁玲, 林伟铃. 均匀设计法优化枝顶孢属真菌 ZYF003 发酵培养基[J]. *基层医学论坛*, 2022, 26(16): 11–14.
- LEI JJ, LIANG L, LIN WL. Optimization of fermentation medium for *Acremonium* sp. ZYF003 by uniform design test [J]. *Med Forum*, 2022, 26(16): 11–14.
- [26] 潘婉舒, 胡先强, 张正义, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 PLS-DA 分析不同季节早白尖红茶挥发性风味物质[J/OL]. *食品工业科技*: 1-10. [2022-10-19]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022020206
- PAN WS, HU XQ, ZHANG ZY, *et al.* Identification of volatile flavor compounds of zaobaijian black tea harvested in different seasons based on HSSPME-GC-MS and PLS-DA [J/OL]. *Sci Technol Food Ind*: 1-10. [2022-10-19]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022020206
- [27] 袁征超, 薛玲娜, 苏楚亮, 等. 利用均匀设计法优化鸡(土从)母种培养基[J]. *中国食用菌*, 2019, 38(1): 21–26.
- YUAN ZC, XUE LN, SU CL, *et al.* Optimum of stock culture medium of *Termitomyces* spp. by orthogonal design [J]. *Edible Fungi China*, 2019, 38(1): 21–26.
- [28] WANG YS, FANG MZ, ZHENG SD, *et al.* Identification of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) marker metabolites using GC/MS and UPLC-QTOF/MS [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2021, 30(10): 1293–1301.
- [29] ZHANG H, LI Y, M IJ, *et al.* GC-MS profiling of volatile components in different fermentation products of *cordyceps sinensis* mycelia [J]. *Molecules*, 2017, 22(10): 1800–1814.
- [30] SHI T, WUG, JIN Q, *et al.* Detection of *Camellia* oil adulteration using chemometrics based on fatty acids GC fingerprints and phytosterols GC-MS fingerprints [J]. *Food Chem*, 2021, 352: 129422.

(责任编辑: 黄周梅 张晓寒)

作者简介



魏泉增, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品分析。
E-mail: weiquanzeng@163.com