

编者按:没有食品添加剂就没有现代食品工业,食品添加剂的使用应严格遵循《食品安全法》. 食品添加剂与配料分为天然和合成两大类,为了保证食品安全,食品添加剂与配料的天然制备及绿色合成是势所必然,也是发展趋势. 本栏目特选取了3篇相关文章,供读者参考.

(栏目主持人:宋焕禄教授)

文章编号:1671-1513(2011)03-0008-05

采用3种萃取纤维头的顶空固相微萃取法 萃取荜茇果穗挥发性成分

陆占国, 李秀慧, 李伟

(哈尔滨商业大学 食品工程学院, 黑龙江省高校食品科学与工程重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:采用顶空固相微萃取法萃取荜茇果穗挥发性成分,并用GC-MS进行分析. 3种萃取纤维头共萃取出49个成分,鉴定出42个成分. 使用DVB/CAR/PDMS萃取纤维头时共检测出36种成分,解析鉴定出占总成分99.834%的35种成分,主要成分为 β -石竹烯(17.933%)、 β -毕澄茄油烯(15.892%)、十五烷(8.285%)、 β -芹子烯(6.673%)和 β -反式罗勒烯(6.166%)等;使用CW/DVB萃取纤维头时共检出40种成分,解析鉴定出占总成分99.622%的36种成分,主要成分为 β -毕澄茄油烯(26.241%)、 β -石竹烯(19.650%)、十五烷(8.523%)、 β -芹子烯(6.572%)和十三烷(5.037%)等;使用CAR/PPMS萃取纤维头时检出38种成分,解析出占总成分99.515%的35种成分,主要成分为 β -石竹烯(17.858%)、 β -毕澄茄油烯(17.804%)、十五烷(8.409%)、 β -芹子烯(6.485%)和十三烷(5.940%)等.

关键词:荜茇;顶空固相微萃取;气相色谱-质谱法

中图分类号:TS202.3

文献标志码:A

荜茇为胡椒科胡椒属植物,学名 *Piper longum* L., 英文名 Long pepper 或者 Biba pepper^[1]. 荜茇果穗呈略弯曲圆柱形,由多数小浆果密集而成,长2.0~4.5 cm,直径5~8 mm,褐色或者黑褐色,具有胡椒样香气,味辛辣,药食两用. 作为食用香辛料可进行调味增香;药用可治疗呕吐、腹泻,各种疼痛之症. 荜茇多产于印度、印尼、尼泊尔、越南及斯里兰卡等地区,我国分布于海南、云南、广东、福建和广西省等地^[2-3].

关于荜茇挥发性成分的研究国内外都曾报道. Supinya^[4]、Shankaracharya^[5]等分别用水蒸气蒸馏法萃取印度尼西亚产、印度产荜茇挥发性成分获得了精油,并用GC-MS进行了分析. 李熙灿等^[6]用药典方法提取海南产荜茇获得精油并测定了精油消

除DPPH自由基活性. 李辛^[7]研究了用水蒸气蒸馏法和微波辅助-乙醚萃取海南产荜茇挥发性成分的工艺并进行了比较. Liu等^[8]采用微波辅助-水蒸气蒸馏法对上海市场销售的荜茇挥发成分进行了萃取和分析.

植物香气成分可以通过各种萃取方法获得精油使用,而香气成分也可以直接吸入人体内,影响人体的生理机能^[9],因此,研究植物挥发性成分对正确利用植物香气治疗疾病和健康保健都非常重要. 本研究采用3种不同极性萃取纤维头的静态顶空固相微萃取技术(head space-solid phase-microextraction, HS-SPME),对粉碎的干燥荜茇释放出来的香气进行萃取,并用GC-MS联机进行分析,力图真实、全面地阐明荜茇的挥发性香气成分,为荜茇的有效利用

提供重要的参考依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

茛菪为哈尔滨市售,产地云南。手动 SPME 进样器,3种萃取纤维头: CAR/PDMS (Carboxen/Polydimethylsiloxane) (1 cm, 75 μm), DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane) (2 cm, 50/30 μm), CW/DVB (Carbowax/Divinylbenzen) (1 cm, 65 μm), 美国 Supelco 公司; HP6890GC/5973MS 型气质联用仪器、色谱柱为 HP-5ms (60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm), 美国 Agilent 公司; DFY-500 型摇摆式中药粉碎机, 温岭市林大机械有限公司。

对萃取出来的挥发性成分用标准质谱数据库 NIST98 进行匹配对照解析, 选取 85% 以上匹配度结果, 采用峰面积归一化法计算相对百分含量。

1.2 实验方法

1.2.1 HS-SPME 操作

将干燥茛菪果穗用植物粉碎机粉碎后马上装入密闭容器中防止香气损失。同时, 将 DVB/CAR/PDMS 萃取头在 GC 进样口, 250 $^{\circ}\text{C}$ 下活化 30 min 后, 插入装有 20 g 粉碎的茛菪果穗样品的密封萃取瓶中在室温下萃取 30 min。然后, 在 GC-MS 进样口解吸 3 min 进行 GC-MS 分析, 进样分流比为 300:1。

依次用 CAR/PDMS、CW/DVB 替换 DVB/CAR/PDMS 萃取头进行同样操作, 活化温度、时间和萃取、分析操作方法同上。

1.2.2 GC-MS 分析条件

GC 条件: 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 柱温初始 60 $^{\circ}\text{C}$, 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 240 $^{\circ}\text{C}$, 保留 12 min, 载气氦气流速 1 mL/min。

MS 条件: EI 离子源; 电离能源 70 eV; 扫描范围 45 ~ 550 amu; 四极杆 (MS Quard) 温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 离子源温度 (MS Source) 230 $^{\circ}\text{C}$ 。

用标准质谱数据库 NIST98 进行匹配对照解析, 选用匹配度 85% 以上结果; 采用峰面积归一化法计算相对百分含量。

2 结果与讨论

SPME 利用吸附作用将挥发性成分吸附到微型萃取纤维头上, 然后加热解吸导入 GC-MS 中分析。

由于天然物香气成分种类繁多, 结构多样, 分子极性差异大, 一种萃取纤维头不可能将挥发性成分全部吸附, 而是根据萃取纤维头特性选择性地吸附, 所以, 使用一种萃取纤维头不可能全面了解植物挥发性成分, 为此, 本研究使用 DVB/CAR/PDMS、CW/DVB、CAR/PPMS 三种不同极性萃取纤维头进行研究。

干燥成熟茛菪果穗粉碎后散发强烈的香辛气息。3种萃取纤维头萃取后的 GC-MS 总离子流谱图见图 1 至图 3。

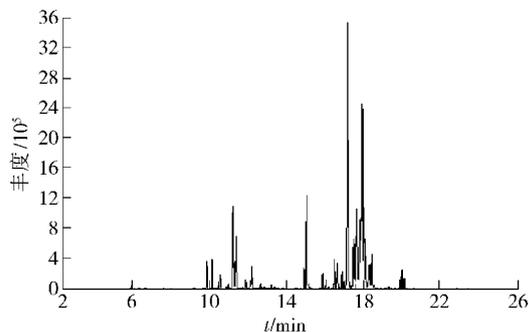


图1 茛菪挥发性成分 GC-MS 总离子流色谱图 (DVB/CAR/PDMS)

Fig. 1 Total ion current chromatogram of volatile components from long pepper by GC-MS (DVB/CAR/PDMS)

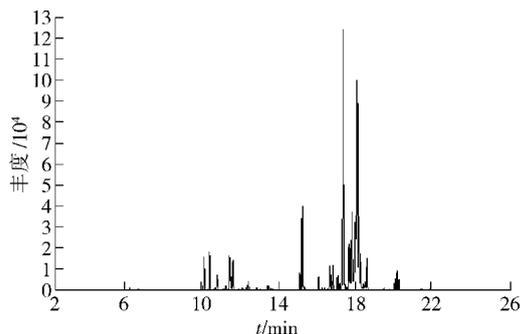


图2 茛菪挥发性成分 GC-MS 总离子流色谱图 (CW/DVB)

Fig. 2 Total ion current chromatogram of volatile components from long pepper by GC-MS (CW/DVB)

由图 1 至图 3 看出, 3 种萃取纤维头萃取挥发性成分的 GC-MS 总离子流谱图具有相似的规律。3 种萃取纤维头共萃取出 49 个成分, 解析鉴定出 42 个成分。但是, 3 种萃取纤维头检测出的成分数并不同 (参见表 1)。其中采用 CW/DVB 萃取纤维头时共检测出成分最多为 40 个, 其次是 CAR/PPMS (38 个), 然后是 DVB/CAR/PDMS (36 个)。验证了即使同一香气, 使用的萃取纤维头不同, 得到的挥发性成分数和含量不同。用标准质谱数据库 NIST98

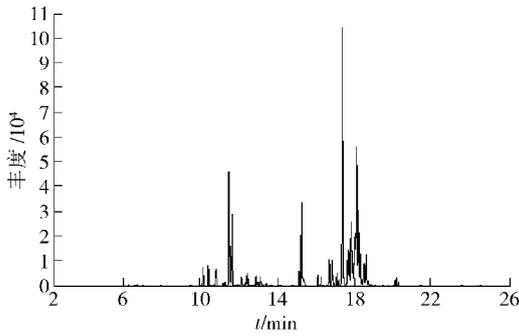


图3 萆苳挥发性成分 GC-MS 总离子流色谱图 (CAR/PDMS)

Fig.3 Total ion current chromatogram of volatile components from long pepper by GC-MS (CAR/PDMS)

进行匹配对照解析,采用峰面积归一化法计算相对百分含量,解析结果见表1.

由表1可知,用DVB/CAR/PDMS萃取纤维头时鉴定出的35个成分中,萆类26个(相对含量77.896%,以下同),其中萆烯23个(75.514%),包括倍半萆15个(60.735%);萆醇和萆酮各有1个成分,分别为 β -芳樟醇1.757%,樟脑0.226%.

用CW/DVB萃取纤维头时鉴定出的36个成分中,共检出萆类成分26种,占总成分的76.967%,其中萆烯类化合物21种(73.817%),其中含倍半萆烯13种,含量为63.580%.萆醇和萆酮也是各有1种,分别为 β -芳樟醇(0.553%)和樟脑(0.239%).

用CAR/PPMS萃取纤维头时检出萆类成分25种,占总成分的76.965%,其中萆烯类化合物23种,占75.988%,包括倍半萆烯13种,含量为56.213%,萆醇和萆酮也为各1个,分别为 β -芳樟

表1 萆苳 HS-SPME 成分的 GC-MS 分析结果

Tab.1 Analysis results of long pepper by HS-SPME-GC-MS

| 保留时间 t/min | | | 化合物 | 相对含量/% (匹配度/%) | | |
|---------------------|--------|----------|--|----------------|------------|------------|
| DVB/CAR/PDMS | CW/DVB | CAR/PDMS | | DVB/CAR/PDMS | CW/DVB | CAR/PDMS |
| 9.864 | 9.859 | 9.859 | α -Pinene α -蒎烯* | 1.575 (96) | 2.364 (97) | 1.205 (96) |
| 10.141 | 10.136 | 10.130 | Camphene 茨烯* | 1.716 (96) | 2.728 (96) | 1.289 (97) |
| — | 10.418 | — | β -Thujene β -侧柏烯* | — | 0.127 (86) | — |
| 10.430 | — | 10.424 | Sabinene 桉烯* | 0.160 (90) | — | 0.133 (90) |
| 10.551 | 10.551 | 10.522 | β -Pinene β -蒎烯* | 1.229 (97) | 1.255 (93) | 1.542 (87) |
| 10.891 | 10.886 | 10.886 | α -Phellandrene α -水芹烯* | 0.121 (91) | 0.061 (86) | 0.149 (91) |
| 10.995 | 10.989 | 10.989 | 3-Carene 3-萆烯* | 0.296 (94) | 0.243 (95) | 0.294 (91) |
| 11.203 | 11.197 | 11.197 | β -trans-Ocimene β -trans-罗勒烯* | 6.166 (95) | 3.118 (95) | 9.538 (95) |
| — | 11.370 | — | Eucalyptol 桉树脑* | — | 2.385 (85) | — |
| 11.382 | — | 11.382 | α -Ocimene α -罗勒烯* | 3.264 (96) | — | 4.639 (95) |
| — | — | 11.676 | Unknown 未知 | — | — | 0.149 |
| 11.878 | 11.866 | 11.872 | Acetophenone 乙酰苯 | 0.674 (91) | 0.142 (89) | 0.846 (87) |
| — | 12.114 | 12.120 | Undecane 十一烷 | — | 0.274 (94) | 0.550 (86) |
| 12.189 | 12.184 | 12.184 | Linalool 芳樟醇* | 1.757 (97) | 0.553 (90) | 0.808 (86) |
| 12.628 | 12.628 | 12.628 | Allo-ociene 别罗勒烯* | 0.252 (96) | 0.102 (90) | 0.673 (96) |
| — | — | 12.720 | Cosmene 波斯菊萆* | — | — | 0.313 (96) |
| — | — | 12.859 | 2,4,6-Octatriene,3,4-dimethyl- 3,4-二甲基-2,4,6-辛三烯* | — | — | 0.911 (96) |
| 13.205 | 13.205 | 13.205 | Camphor 樟脑* | 0.226 (96) | 0.239 (97) | 0.169 (86) |
| — | 13.366 | — | Unknown 未知 | — | 0.078 | — |

续表1

| 保留时间 <i>t</i> /min | | | 化合物 | 相对含量/% (匹配度/%) | | |
|--------------------|--------|----------|--|----------------|-------------|-------------|
| DVB/CAR/PDMS | CW/DVB | CAR/PDMS | | DVB/CAR/PDMS | CW/DVB | CAR/PDMS |
| 14.895 | 14.895 | 14.895 | 6-Tridecene, (E)- 6-十三烯 | 1.005 (95) | 0.989 (94) | 0.804 (90) |
| 15.022 | 15.016 | 15.016 | Tridecane 十三烷 | 4.881 (97) | 5.037 (97) | 5.940 (97) |
| 15.120 | 15.120 | — | Bornyl acetate 乙酸龙脑酯* | 0.399 (98) | 0.212 (94) | — |
| 15.864 | 15.864 | 15.864 | δ -Elemene δ -榄香烯* | 0.917 (97) | 0.871 (95) | 0.712 (98) |
| 16.037 | 16.037 | 16.037 | α -Cubebene α - β -蒎烯油烯* | 0.450 (98) | 0.114 (94) | 0.486 (95) |
| — | 16.181 | — | Unknown 未知 | — | 0.069 | — |
| 16.476 | 16.476 | 16.476 | Copaene 古巴烯* | 1.916 (96) | 1.688 (99) | 1.797 (99) |
| 16.620 | 16.620 | 16.620 | β -Gurjunene β -古芸烯* | 1.717 (96) | 1.769 (90) | 1.824 (94) |
| 16.868 | 16.868 | 16.868 | α -Bergamotene 香柠檬烯* | 0.871 (98) | 0.814 (98) | 0.749 (97) |
| 16.972 | 16.972 | 16.972 | α -Santalene α -檀香烯* | 0.453 (98) | 0.367 (98) | 0.440 (95) |
| 17.162 | 17.156 | 17.156 | Caryophyllene 石竹烯* | 17.933 (99) | 19.650 (99) | 17.858 (99) |
| 17.341 | 17.341 | 17.341 | Unknown 未知 | 0.164 | 0.160 | 0.119 |
| 17.451 | 17.451 | 17.451 | E-2-Hexadecacen-1-ol 顺-2-烯十六醇 | 2.682 (87) | 2.768 (90) | 2.349 (88) |
| 17.520 | 17.514 | 17.514 | 1-Pentadecene 1-十五烯 | 2.351 (89) | 2.460 (91) | 1.987 (86) |
| 17.635 | 17.629 | 17.929 | Pentadecane 十五烷 | 8.285 (97) | 8.523 (98) | 8.409 (97) |
| 17.820 | — | — | Cedrene 雪松烯* | 6.336 (89) | — | — |
| 17.912 | 17.906 | 17.906 | β -Cubebene β - β -蒎烯油烯* | 15.892 (98) | 26.241 (98) | 17.804 (98) |
| 18.004 | 17.999 | 18.004 | β -Eudesmene β -芹子烯* | 6.673 (98) | 6.572 (96) | 6.485 (99) |
| 18.097 | 18.097 | 18.091 | α -Eudesmene α -芹子烯* | 2.181 (98) | 1.895 (93) | 2.367 (90) |
| — | 18.212 | — | β -Sesquiphellandrene β -倍半水芹烯* | — | 0.481 (97) | — |
| 18.293 | — | 18.293 | Cadinene 杜松烯* | 2.445 (89) | — | 2.699 (93) |
| — | 18.310 | — | α -Patchoulene α -绿叶烯* | — | 0.534 (85) | — |
| 18.408 | 18.408 | 18.408 | (-)- α -Panasinene α -人参烯* | 2.719 (94) | 2.584 (97) | 2.686 (94) |
| 18.524 | — | 18.529 | α -Muulolene α -依兰烯* | 0.232 (98) | — | 0.306 (94) |
| — | 19.302 | — | Unknown 未知 | — | 0.075 | — |
| 19.891 | 19.897 | 19.897 | 8-Heptadecene 8-十七碳烯 | 0.618 (91) | 0.686 (97) | 0.281 (85) |
| 19.983 | 19.989 | 19.989 | 3-Heptadecene, (Z)-3-十七碳烯 | 0.945 (91) | 1.109 (90) | 0.473 (93) |
| 20.093 | 20.098 | — | Heptadecane 十七烷 | 0.497 (97) | 0.589 (97) | — |
| — | — | 20.009 | Unknown 未知 | — | — | 0.217 |
| — | 21.270 | — | Unknown 未知 | — | 0.075 | — |

注:“*”为萜类化合物;“—”为无此成分;“未知”为匹配度低于85%成分。

醇0.808%,樟脑0.169%。

对于单一共有成分,3种萃取纤维头吸附能力即含量也显示了不同规律。例如,对 β -石竹烯,DVB/CAR/PDMS(相对含量17.933%,以下同)和

CAR/PDMS(17.858%)吸附能力相近,而CW/DVB(19.650%)吸附能力较大。对 β - β -蒎烯油烯,三者吸附能力相差较大,CW/DVB的吸附能力是其他二者约2倍。对十五烷和 β -芹子烯分子吸附能力几乎

相等. 其他成分也有相似结果. 这和萃取纤维极性、分子极性、挥发性等因素有关.

Supinya^[4]报道的印度尼西亚产荜茇精油含有10.2%石竹烯. Shankaracharya^[5]报道的印度产荜茇精油含有17.0%石竹烯. 在Liu等^[8]报道的精油中石竹烯含量33.44%. 而李熙灿等^[6]的报道的海南产荜茇精油中含量仅为8.25%. 李辛^[7]报道海南产荜茇精油中石竹烯含量为15.97%. 证明SPME获得的第一大成分和精油第一大成分相同.

第二大成分 β -荜澄茄油烯. 3种萃取纤维头的相对含量分别为15.582% (DVB/CAR/PDMS)、26.241% (CW/DVB)和17.804% (CAR/PPMS), 差异较大. 而文献报道中的精油只有Liu等^[8]检测出了该成分, 含量较低(1.78%), 本研究则以大于90%以上的匹配度检测出该化合物, 这与萃取分析方法、原料、化合物的挥发性, 含量等的差异有关.

第三主要成分十五烷, 3种萃取纤维头的相对含量分别为8.285% (DVB/CAR/PDMS)、8.523% (CW/DVB)、8.409% (CAR/PPMS), 三者含量相近, 说明该化合物在3种不同极性萃取纤维头上的吸附能力相近. Shankaracharya^[5]的研究报道中的含量为17.778%; Supinya^[4]报道的印度尼西亚产荜茇精油含有6.6%. 李辛^[7]报道中海南产荜茇精油中含量为1.74%, 差异较大.

第四主要成分 β -芹子烯的含量 (DVB/CAR/PDMS: 6.673%、CW/DVB: 6.572%、CAR/PDMS: 6.485%). 而文献没有此成分报道.

第五主要成分十三烷 (DVB/CAR/PDMS: 4.881%, CW/DVB: 5.037%, CAR/PDMS: 5.940%)的含量比Shankaracharya^[5]报道的精油6.78%稍低, 而李辛^[7]报道的海南产荜茇该成分的含量仅为0.861%. 其他成分也有类似规律.

根据上述成分分析结果得知, 对荜茇果穗的香气气息贡献较大的成分应该是萜类化合物, 其中石竹烯、荜澄茄油烯、 β -芹子烯以及非萜化合物的十五烷和十三烷等对香气贡献最大. 另外, 包括未知成分, 还有20个非共有成分. 例如, β -侧柏烯、桉烯、桉树脑、 α -罗勒烯、波斯菊萜、十一烷、3,4-二甲基-2,4,6-辛三烯、乙酸龙脑酯、雪松烯、 β -倍半水芹烯、杜松烯、 α -依兰烯、 α -绿叶烯和十七烷, 这是不可忽视的差异, 也证明了使用一种萃取纤维头是不能够全面了解和掌握植物挥发性成分的, 为了解植物挥

发性成分最好采用两种或者两种以上萃取纤维头进行萃取.

3 结 论

本研究使用3种不同极性萃取纤维头, 采用HS-SPME法萃取粉碎荜茇果穗挥发性成分, 并用GC-MS进行分析, 共萃取出49个成分, 鉴定出42个成分. 主要成分为 β -石竹烯(17%~20%)、 β -荜澄茄油烯(15%~27%)、十五烷(约8%)、 β -芹子烯(约6%)和十三烷(4%~6%)等. 比较了3种萃取纤维头的差异发现: 不同萃取纤维头吸附挥发性物质的种类和含量有所不同, 对同一共有成分, 其萃取能力不同, 特别是包括未知成分, 3种萃取纤维头有20个非共有成分, 说明仅用一种萃取纤维头不能全面了解植物的挥发性成分, 应该使用不同极性萃取纤维头进行萃取, 才更能反映出真实香气成分, 达到正确和有效利用荜茇的目的.

参考文献:

- [1] 朱家梅. 拉汉英种子植物名称[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 580.
- [2] 徐昭玺. 百种调料香料类药用植物栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 250-251.
- [3] 肖培根, 杨世林. 实用中草药原色图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 246.
- [4] Supinya T, Koji H, Dhigetoshi K, et al. Fruit oil composition of piper chaba hunt *p. longum* L. and *p. nigrum* L. [J]. Journal of Essential Oil Research, 2000, 12: 603-608.
- [5] Shankaracharya N D, Jaganmohan R L, Pura J N, et al. Characterisation of chemical constituents of indian long pepper [J]. Journal of Food Science and Technology, 1997, 34(1): 73-75.
- [6] 李熙灿, 赵小军, 谢学明, 等. 荜茇挥发油清除自由及作用及其分子结构的关系[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(3): 218-221.
- [7] 李辛. 荜茇挥发油的提取及化学成分分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009: 18-53.
- [8] Liu L, Song G. GC-MS Analysis of the essential oils of piper nigrum L. and piper longum L. [J]. Chromatographia, 2007, 66(9/10): 785-790.
- [9] 陆占国, 徐涵. 人·香气·环境[M]. 哈尔滨: 黑龙江教育出版社, 2007: 63-66.

ultrafiltration, respectively. The effect of each fraction on the proliferation of murine splenocytes was detected by WST-8. The non-protein components were preliminary identified by high resolution mass spectrometry. The results suggested that the stimulated effect of AEVA-S on the proliferation of resting murine splenocytes was more effective than its fractions. Fr. III and IV inhibited ConA-stimulated splenocyte proliferation significantly, and they were preliminary identified as a mixture of bases and nucleotides. Peptide fractions of MW > 10 kDa stimulated the proliferation of resting murine splenocytes and inhibited ConA-stimulated splenocyte proliferation. MW of peptides showed a greater impact on its immunomodulating activity, but did not show a direct correlation. Amino acid composition, sequence and structure of peptides were also important factors affecting its activity.

Key words: aqueous extract of velvet antler; non-protein components; crude protein; enzymatic hydrolysates; murine splenocyte

(责任编辑:叶红波)

(上接第12页)

Extraction of Volatile Compositions From Long Pepper by HS-SPME With Three Kinds of Fiber

LU Zhan-guo, LI Xiu-hui, LI Wei

(School of Food Engineering, Key Laboratory of Food Science and Engineering,
Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Three kinds of HS-SPME fiber were used to extract the volatile compositions of long pepper in this paper, which were analyzed by GC-MS. Forty-nine constituents were extracted by the three kinds of fiber in total, and 42 compounds were identified. Thirty-six compounds were separated by using DVB/CAR/PDMS fiber, and 35 constituents (99.834% of the total) were identified. The major compositions were β -Caryophyllene (17.933%), β -Cubebene (15.892%), Pentadecane (8.285%), β -Eudesmene (6.673%) and β -trans-Ocimene (6.166%). Fourty compounds were separated by using CW/DVB fiber, and 36 constituents (99.622% of the total) were identified. The major compositions were β -Cubebene (26.241%), β -Caryophyllene (19.650%), Pentadecane (8.523%), β -Eudesmene (6.572%) and Tridecane (5.037%). Thirty-eight compounds were separated by using CAR/PDMS fiber, and 35 constituents (99.515% of the total) were identified. The major compositions were β -Caryophyllene (17.858%), β -Cubebene (17.804%), Pentadecane (8.409%), β -Eudesmene (6.485%) and Tridecane (5.940%).

Key words: long pepper; HS-SPME; GC-MS

(责任编辑:叶红波)