

# HS-SPME-GC-MS 分析香荚兰豆中挥发性成分

卢金清, 李雨玲\*, 张锐, 杨小金, 郭彧, 江汉美, 李肖爽  
(湖北中医药大学/湖北省药用植物研发中心, 武汉 430065)

**[摘要]** **目的:** 研究香荚兰豆中挥发性成分的化学组成。**方法:** 采用顶空固相微萃取 (HS-SPME) 技术对香荚兰豆挥发性成分进行萃取、富集, 气相色谱-质谱 (GC-MS) 法进行分离分析, 并筛选了固相微萃取纤维头, 优化了 SPME 的操作条件。**结果:** 共分离并鉴定出 28 种化学成分, 占挥发性成分总量的 98.17%。香荚兰豆挥发性成分中含量最高的是香兰素 (48.28%), 其次为愈创木酚 (15.54%)。**结论:** 采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术分析香荚兰豆挥发性成分, 为香荚兰豆进一步研究及综合开发利用提供科学依据。

**[关键词]** 香荚兰豆; 固相微萃取; 气相色谱-质谱; 挥发性成分

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)03-0079-04

**[doi]** 10.11653/syfy2014030079

## Analysis of Volatile Chemical Constituents in *Vanilla planifoli* by HS-SPME-GC-MS

LU Jin-qing, LI Yu-ling\*, ZHANG Rui, YANG Xiao-jin, GUO Yu, JIANG Han-mei, LI Xiao-shuang  
(Hubei University of Traditional Chinese Medicine/Research and Development Center  
of Medicinal Plants in Hubei Province, Wuhan 430065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the volatile components from fruit of *Vanilla planifoli*. **Method:** The volatile chemical constituents were extracted and enriched by headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME). The chemical components were analyzed by GC-MS. Selected the solid phase micro-extraction fiber head, while optimized the HS-SPME operating conditions. **Result:** A total of 28 components were separated and identified, accounted for 98.17% of total volatile components. The main component is vanillin (48.28%) and 2-methoxyphenol (15.54%). **Conclusion:** This is the first time to adopt HS-SPME combined with GC-MS to analyze the volatile chemical components from fruit of *V. planifoli* and this study can provide scientific basis for further research and development of volatile chemical constituents of *V. planifoli*.

**[Key words]** *Vanilla planifoli* Andrews; HS-SPME; GC-MS; volatile chemical constituents

香荚兰豆为兰科香荚兰属植物香荚兰的成熟果实, 主产于马达加斯加、墨西哥、印尼、科摩罗等国, 在我国海南、云南等地也有引种栽培<sup>[1]</sup>。香荚兰豆经发酵、陈化等生香工艺后具有浓郁、优雅的芳香气

味, 是名贵的天然香原料<sup>[2]</sup>, 享有“香料之王”的美誉, 因能大大提高加香产品的品质, 因而在食品、保健品、化妆品等行业获得广泛应用, 具有较高的经济价值<sup>[3]</sup>。香荚兰豆不仅是优质的香原料, 还具有补肾、健脾、消胀等功效, Barham 研究证实香荚兰豆具有强心、健脾、利尿等药理作用, 其药理作用在欧洲某些国家已有记载<sup>[4]</sup>。

香荚兰豆挥发性成分构成了其独特的香型, 因此对其挥发性成分的研究是评价香荚兰豆质量的核心部分, 但目前研究均侧重于对香荚兰豆中香兰素的含量进行分析, 未见对其挥发性成分进行系统研

**[收稿日期]** 20130524(010)

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金项目(2004AB242)

**[第一作者]** 卢金清, 教授, 从事中药及其制剂物质基础研究, Tel:027-68890101, E-mail:ljq59169@sohu.com

**[通讯作者]** \*李雨玲, 硕士, 从事中药及其制剂物质基础研究, Tel:15827548304, E-mail:lyl2754@163.com

究<sup>[5-7]</sup>。挥发性成分一般包含数十种至数百种成分,故对香荚兰豆的挥发性成分进行详细分析,全面认识和评价其产品质量,对于香荚兰豆走向国际消费市场有指导性意义。顶空固相微萃取法(HS-SPME)萃取速度快、操作简便、富集效率高,特别适合于低含量挥发性成分的测定<sup>[8]</sup>。本实验采用顶空固相微萃取技术,结合气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对其挥发性成分进行分析。通过 6 个不同萃取条件的优化,确定固相微萃取香荚兰豆挥发性成分的最优条件,使 GC-MS 分析检测获得更为全面的信息,为香荚兰豆的质量控制提供依据。

### 1 材料

6890/5973 型气相-质谱-计算机联用仪(美国安捷伦公司),NIST 系列标准谱库,手动固相微萃取(SPME)进样器装置(德国 IKA 公司),65  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷-二乙烯基苯(PDMS-DVB)萃取纤维头及 100  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷(PDMS)萃取纤维头(美国 Supelco 公司),15 mL 顶空瓶,CP225D 型电子分析天平(Sartorius),UP5200H 型超声波清洗器(熊猫集团)。香荚兰豆 2011 年 9 月购自马达加斯加阿诺那香荚兰公司,经湖北中医药大学卢金清教授鉴定为兰科香荚兰属植物香荚兰 *Vanilla planifolia* Andrews 的成熟果实。

### 2 方法与结果

**2.1 GC-MS 色谱条件与质谱条件** HP-5MS 石英毛细管色谱柱(0.2 mm  $\times$  50 m  $\times$  0.33  $\mu\text{m}$ ),程序升温,初始温度 30  $^{\circ}\text{C}$ ,以 2  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升温至 80  $^{\circ}\text{C}$ ,保留 2 min,再以 10  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升温至 250  $^{\circ}\text{C}$ ,保留 5 min;进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,载气 99.999% 氦气,载气流速 1.0 mL  $\cdot \text{min}^{-1}$ 。离子源 EI 源,离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ,四级杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ,电子能量 70 eV,倍增管电压 1.2 kV,接口温度 280  $^{\circ}\text{C}$ ,质量扫描范围  $m/z$  35 ~ 550。

#### 2.2 顶空固相微萃取条件的优化

**2.2.1 萃取纤维头的选择** 萃取头的类型对于固相微萃取的分析至关重要,萃取头是 SPME 萃取装置的核心,它直接影响方法的灵敏度、选择性和分析时间。本实验采用 2 种萃取头即 65  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷-二乙烯基苯(PDMS-DVB)萃取头、100  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷(PDMS)萃取头分别对香荚兰豆原料样品进行萃取,按 2.1 项下色谱条件进样测定,经比较得知,65  $\mu\text{m}$  PDMS-DVB 萃取头表现出较好的选择性,故选用 65  $\mu\text{m}$  PDMS-DVB 萃取头。

**2.2.2 样品取样量的优化** 将香荚兰豆药材粉碎,

过 10 目筛,精密称取粉末 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 g,按 2.1 项下条件进样,得出样品取样量与萃取吸附量之间的关系见图 1。由图 1 可知,当样品量为 2.0 g 时萃取吸附量最高,故选择 2.0 g 为最佳样品取样量。

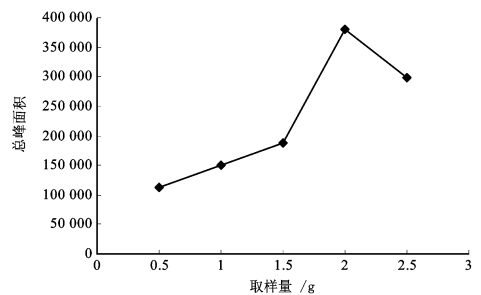


图 1 取样量-总峰面积关系

**2.2.3 萃取温度的优化** 分别在 70,80,90,100,110  $^{\circ}\text{C}$  对香荚兰豆药材进行萃取,考察萃取温度与萃取吸附量之间的关系,见图 2。由于萃取温度对 SPME 萃取过程会产生 2 种相反的效果:升高温度可提高样品的扩散速率,但是吸附过程是放热过程,升高温度会降低样品的分配系数。香荚兰豆原料中挥发性成分的吸附量在 90  $^{\circ}\text{C}$  后随着温度的升高而下降。综合考虑,温度为 90  $^{\circ}\text{C}$  时,萃取效果最好。

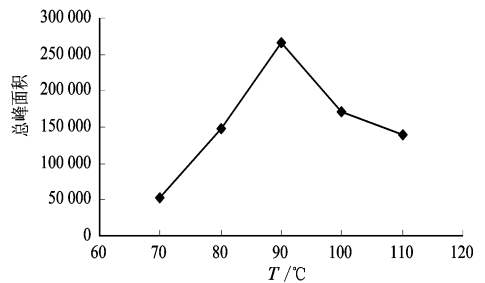


图 2 萃取温度-总峰面积关系

**2.2.4 萃取时间的优化** 取 2.0 g 香荚兰豆粉末于 90  $^{\circ}\text{C}$  下加热平衡 30 min,缓缓伸出萃取头,继续顶空萃取,分别萃取 10,15,20,25,30 min,250  $^{\circ}\text{C}$  下解吸 5 min。考察萃取时间与萃取吸附量之间的关系,见图 3。SPME 萃取过程是一个逐渐达到平衡的过程,萃取时间超过 20 min 时吸附量趋于平衡,故确定最佳萃取时间为 20 min。

**2.2.5 解吸时间的优化** 取香荚兰豆粉末 2.0 g 置样品瓶中,90  $^{\circ}\text{C}$  下保温平衡 30 min,缓缓伸出萃取头,继续萃取 20 min,取出,立即插入色谱仪进样口,考察解吸时间为 2,2.5,3,3.5,4,4.5,5,5.5,6 min 时的解吸情况,见图 4。结果显示,当解吸时间为 3 min 时,萃取吸附物已经解吸完全,总峰面积趋于最大,故确定最佳脱附时间为 3 min。

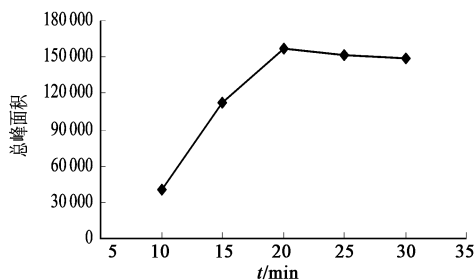


图3 萃取时间-总峰面积关系

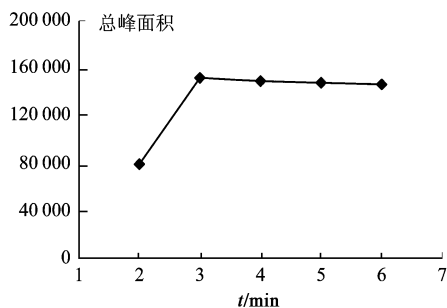


图4 解吸时间-总峰面积关系

**2.2.6 顶空固相微萃取条件** 取香荚兰豆粉末 2.0 g, 剪碎, 置于固相微萃取仪顶空瓶中, 用带有 65 μm PDMS/DVB 萃取纤维头的手动进样器插入

瓶内, 90 °C 平衡 30 min, 再顶空萃取 20 min, 取出, 立即插入色谱仪进样口 (温度 250 °C), 解吸 3 min, 进样模式, 不分流进样。

**2.3 结果** 按照 2.2.6 中的顶空 SPME 条件和 2.2 中的 GC-MS 条件分析香荚兰豆药材中的挥发性化学成分, 经化学工作站数据处理及用面积归一化法从各总离子流图 (图 5) 中计算各组分相对百分含量, 按各峰的质谱图经 NIST 谱库检索, 并按各峰的质谱裂片图与文献资料核对, 确定各个组分, 结果见表 1。

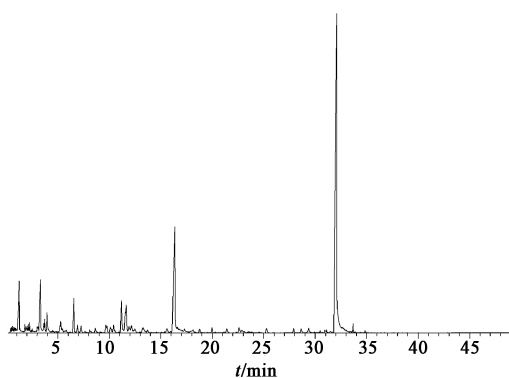


图5 香荚兰豆总离子图谱

表1 香荚兰豆中挥发性化学成分

No.	$t_R$ /min	化合物	化合物英文名	分子式	相对含量/%
1	0.51	2-羟基丙酰胺	propanamide, 2-hydroxy-	$C_3H_7NO_2$	0.8
2	1.23	乙酸	acetic acid	$C_2H_5O_2$	4.21
3	1.8	(3-甲基-环氧-2-丙基)-甲醇	(3-methyl-oxiran-2-yl)-methanol	$C_4H_8O_2$	0.38
4	1.94	异戊醇	1-butanol, 3-methyl-	$C_5H_{12}O$	0.53
5	2.16	2,4,5-三甲基-1,3-二噁戊环	1,3-dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	$C_6H_{12}O_2$	0.52
6	3.31	2,3-丁二醇	2,3-butanediol	$C_4H_{10}O_2$	5.61
7	3.95	糠醛	furfural	$C_5H_4O_2$	1.45
8	5.28	3-巯基-1,2,4-三氮唑	3h-1,2,4-triazole-3-thione, 1,2-dihydro-	$C_2H_3N_3S$	1.21
9	6.55	4-乙基-4-庚醇	4-ethyl-4-heptanol	$C_9H_{20}O$	2.54
10	7.26	$\alpha$ -蒎烯	$\alpha$ -pinene	$C_{10}H_{16}$	0.68
11	8.63	苯甲醛	benzaldehyde	$C_7H_6O$	0.48
12	9.67	4,5-二甲基-2-环己基-1,3-环氧戊烷	1,3-dioxolane, 2-cyclohexyl-4,5-dimethyl-	$C_{11}H_{20}O_2$	1.23
13	10.1	1-辛烯-3-醇	1-octen-3-ol	$C_8H_{16}O$	0.74
14	10.42	2-戊基呋喃	furan, 2-pentyl-	$C_9H_{14}O$	0.85
15	11.17	2-十五烷基-1,3-二氧戊烷	1,3-dioxepane, 2-pentadecyl-	$C_{20}H_{40}O_2$	7.37
16	11.92	四氢吡咯-2-硫酮	2-pyrrolidinethione	$C_4H_7NS$	0.52
17	12.15	乙酰氧乙酸-2-十一炔酯	acetoxycetic acid, tridec-2-ynyl ester	$C_{17}H_{28}O_4$	0.5
18	13.28	苯甲醇	benzyl alcohol	$C_7H_8O$	0.85
19	15.59	正辛醇	1-octanol	$C_8H_{18}O$	0.68
20	16.36	愈创木酚	phenol, 2-methoxy-	$C_7H_8O_2$	15.54

续表 1

No.	$t_R$ /min	化合物中文名	化合物英文名	分子式	相对含量/%
21	19.98	丁二酸单乙酯	ethyl hydrogen succinate	$C_6H_{10}O_4$	0.52
22	22.6	水杨酸甲酯	benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	$C_8H_8O_3$	0.5
23	25.27	壬酸甲酯	nonanoic acid, methyl ester	$C_{10}H_{20}O_2$	0.5
24	27.91	1-(4-甲氧基苯基)-1,3-丁二酮	1,3-butanedione, 1-(4-methoxyphenyl)-	$C_{11}H_{12}O_3$	0.38
25	28.63	茴香脑	benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-	$C_{10}H_{12}O$	0.41
26	29.37	壬酸	nonanoic acid	$C_9H_{18}O_2$	0.56
27	32.07	香兰素	vanillin	$C_8H_8O_3$	48.28
28	33.67	2,6-二叔丁基对甲基苯酚	butylated hydroxytoluene	$C_{15}H_{24}O$	0.33

采用 HS-SPME-GC-MS 共分离鉴定出 32 个峰, 经化学工作站数据处理系统及用面积归一化法从其总离子流图中计算了各组分的相对百分含量, 按各峰的质谱图经计算机质谱数据库检索, 并按各峰的质谱裂片图与文献资料核对, 确定了其中 28 个组分, 占总挥发性成分的 98.17%。实验结果表明, 香荚兰豆挥发性成分中主要为醛类, 还含有酚类、醇类、酸类、酯类、酮类、烯炔类等。其中含量最高的为香兰素(48.28%), 其次为愈创木酚(15.54%)。上述 2 种化合物的含量占挥发油总量的 63.82%。

### 3 讨论

顶空固相微萃取提取香荚兰豆中的挥发性成分, 受样品的取样量、萃取温度、萃取时间等因素的影响<sup>[9]</sup>, 在与气相色谱--质谱技术联用时, GC 进样口的热解析时间、分流和不分流的模式对分析结果也有影响, 本实验通过单因素试验, 阶段性优化 HS-SPME-GC-MS 的实验条件, 得到分析检测香荚兰豆中挥发性成分的最佳条件, 为香荚兰豆资源的综合利用提供了科学依据。

与文献报道<sup>[9]</sup>相比较, 鉴定出的化学成分及相对百分含量均不相同, 其中香兰素的相对含量差异较大, 原因在于香荚兰豆的产地、加工方法及样品前处理方法不同, 导致香荚兰豆挥发性成分在组成和含量上的差异。相比较而言, HS-SPME 能全面快速的获得样品中挥发性物质的组成信息, 且方法简便、易操作, 节约了大量的样品前处理时间, 可作为香荚

兰豆挥发性成分萃取的首选方法。

### [参考文献]

[1] 王佩珍. 试论我国热带地区栽培香兰草的可行性[J]. 热带作物研究, 1986(4):53.

[2] 陈德新. 香荚兰豆专题系列之四——香荚兰豆初级与深度加工及其应用[J]. 香料香精化妆品, 2006, 12(6):33.

[3] 林进能. 天然食用香料生产与应用[M]. 北京: 北京轻工业出版社, 1991:436.

[4] 陈德新. 香荚兰豆专题系列之三——中国香荚兰产业状况的调查报告[J]. 香料香精化妆品, 2005(5):33.

[5] 周斌, 张承明, 任洪涛, 等. 香荚兰果荚中香兰素的 GC-MS 分析[J]. 香料香精化妆品, 2007(4):1.

[6] 任洪涛, 周斌. 云南香荚兰挥发性成分研究[J]. 热带农业科技, 2007, 30(1):25.

[7] 何秀芬, 王明月. 气相色谱——质谱联用对香荚兰豆中香兰素的分析[J]. 华南热带农业大学学报, 2002, 8(4):21.

[8] 张伟, 卢引, 顾雪竹, 等. 地锦草挥发性成分的 HS-SPME-GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21):66.

[9] 张岚, 李连元, 李淑敏, 等. 固相微萃取检验技术应用及影响因素分析[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(6):746.

[责任编辑 顾雪竹]