

同时蒸馏萃取法和顶空固相微萃取法 提取茯砖茶挥发性成分的比较分析

李永迪^{1,2}, 黄 燕³, 刘杏益³, 张贻杨^{1,2}, 刘仲华^{1,2,4}, 黄建安^{1,4}, 李 勤^{1,2,4,5,*}

(1.湖南农业大学教育部茶学重点实验室,湖南长沙 410128;

2.国家植物功能成分利用工程技术研究中心,湖南长沙 410128;

3.益阳茶厂有限公司,湖南益阳 413046;

4.湖南省植物功能成分利用协同创新中心,湖南长沙 410128;

5.湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室,湖南长沙 410128)

摘 要:为了比较不同萃取方法对茯砖茶挥发性成分的萃取效果,找到更适合茯砖茶挥发性成分分析的萃取方法,采用气相色谱-三重四极杆串联质谱(Gas Chromatography-triple Quadrupole Series Mass Spectrometry, GC-QQQ-MS)比较分析了同时蒸馏萃取法(Simultaneous Distillation Extraction, SDE)和顶空固相微萃取法(Head Space Solid-phase Micro-extraction, HS-SPME)提取茯砖茶挥发性成分的效果。结果表明:两种方法提取到的茯砖茶挥发性成分差异明显,两种方法共提取出 90 种挥发性成分,共有成分 40 种。其中 SDE 法提取到 79 种,以碳氢化合物、杂氧化合物、酮类和酚类为主;主要化合物有植酮、雪松醇、棕榈酸、2,6-二叔丁基对甲酚、二苯并呋喃、菲、香叶基丙酮、邻苯二甲醚、邻甲酚、联苯等。HS-SPME 法提取到 50 种,以碳氢化合物、杂氧化合物、酮类和酚类为主;主要化合物有咖啡因、邻苯二甲酸二乙酯、二苯并呋喃、二氢猕猴桃内酯、联苯、香叶基丙酮、植酮、雪松醇、菲、1,2,3-三甲氧基苯等。两种方法各有优劣,相互补充,结合分析可为茯砖茶挥发性成分鉴定提供更全面、更完整、更准确的信息。

关键词:茯砖茶,同时蒸馏萃取法,顶空固相微萃取法,气相色谱-三重四极杆串联质谱仪,挥发性成分

Comparative Analysis of Volatile Components in Fu brick Tea by Simultaneous Distillation and Headspace Solid-phase Micro-extraction

LI Yong-di^{1,2}, HUANG Yan³, LIU Xing-yi³, ZHANG Yi-yang^{1,2},

LIU Zhong-hua^{1,2,4}, HUANG Jian-an^{1,4}, LI Qin^{1,2,4,5,*}

(1.Tea Key Lab of the Ministry of National Teaching of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2.National Research Center of Engineering Technology for Utilization of
Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China;

3.Hunan Yiyang Tea Processing Factory Co., Ltd., Yiyang 413046, China;

4.Hunan Co-Innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China;

5.Hunan Provincial Key Laboratory for Gerplasm Innovation and Utilization of Crop, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to compare the extraction efficiencies of volatile compounds by different methods from Fu brick Tea, find an extraction method which was more suitable for the analysis of volatile components in Fu brick Tea. Gas chromatography-triple quadrupole series mass spectrometry (GC-QQQ-MS) was used to analysis of volatile components from Fu brick Tea. Compared with the effects of simultaneous distillation extraction (SDE) and head space solid-phase micro-extraction (HS-SPME) on the aroma components of Fu brick tea and the conditions of head space solid-phase micro-extractions were optimized. The results showed that the volatile components of Fu brick Tea from different extract method showed large differences. There were 90 kinds of volatile components combined extraction by the two methods, with 40 kinds of common components. Among them, 79 kinds of compounds were extracted by SDE, mainly consisting of hydrocarbons, oxygen heterocyclic compounds, ketones and alcohols. The main compounds were phytone, cedrol, palmitic acid, butylated hydroxytoluene, dibenzofuran, phenanthrene, 6, 10 - dimethyl-5, 9 - undecadien - 2 - one, 1, 2 - dimethoxy - benzene, 2 - methyl - phenol, biphenyl. 50 kinds of compounds were

收稿日期:2018-03-13

作者简介:李永迪(1992-),男,硕士研究生,研究方向:茶叶加工及功能成分化学,E-mail:jesse_lee12@163.com。

*通讯作者:李勤(1983-),男,博士,讲师,主要从事茶叶生物化学方面的研究,E-mail:liqinvip@126.com。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31471706,31871764);国家重点研发计划(2017YFD0400803);湖南省自然科学基金(13JJ4067,2018JJ2181);长沙市科技计划(kq1703003);湖南农业大学人才引进项目(13YJ13);湖南农业大学“1515 人才”计划;作物种质创新与资源利用重点实验室开放研究项目(16KFXM11)。

extracted by HS-SPME, mainly consisting of hydrocarbons, oxygen heterocyclic compounds, ketones and alcohols. The main compounds were caffeine, diethyl phthalate, dibenzofuran, dihydroactinidiolide, biphenyl, 6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one, phytone, cedrol, phenanthrene, 1,2,3-Trimethoxybenzene. The two methods had the advantages and disadvantages, complement each other, and combined analysis could obtain the more comprehensive, more complete and more accurate information of the volatile components in Fu brick Tea.

Key words: Fu brick tea; simultaneous distillation extraction; head space solid-phase micro-extraction; gas chromatography-triple quadrupole series mass spectrometry; volatile components

中图分类号: TS272

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)24-0246-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.24.042

引文格式: 李永迪, 黄燕, 刘杏益, 等. 同时蒸馏萃取法和顶空固相微萃取法提取茯砖茶挥发性成分的比较分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 246-252.

茯砖茶属于黑茶类, 主产于湖南省, 是湖南省茶产业的关键组成部分^[1]。茶叶色、香、味等品质特征不同源于其内含成分的组成及比例的差异, 茯砖茶加工过程中其内含成分在微生物参与和湿热作用下发生了复杂的变化, 形成了其特有的品质风格^[2-3]。香气物质是决定茶叶品质的重要因素之一^[4]。茶叶的香气成分主要是挥发性与半挥发性化合物, 含量低, 且复杂不稳定, 提取过程中还容易受外界条件影响, 发生氧化缩合、聚合、基因转移等复杂的化学反应, 所以其分析结果的准确性很大程度上取决于香气物质的提取方式^[5]。

茶叶中常见的香气提取方法有: 减压蒸馏萃取法(vacuum distillation extraction, VDE)^[6]、顶空分析法(headspace analysis, HAS)^[7]、吹扫捕集热脱附解吸法(purge and trap thermal desorption, P&T-TD)^[8]、超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)^[9]、同时蒸馏萃取法(SDE)^[10]、固相微萃取法(solid-phase micro-extraction SPME)^[11]等。各种提取方法各有优劣性, 在茶叶挥发性成分的提取中均存在着一定的不足, 结合不同的提取方法, 做到优势互补, 减少不足才能推进香气研究的进展^[8]。有研究表明: VDE法对水溶性香气成分的提取效率较高, 几乎不能提取到脂溶性香气成分^[12]; HAS捕集到的香气物质绝对量少, 灵敏度低^[7]; P&T-TD法能吸附较易挥发和中等挥发性物质, 得到的茶叶香气成分较能真实地反应茶汤冲泡的特点, 但目前研究较少^[8,13]; SFE法萃取效率高, 选择性好, 但成本过高, 普遍适用性差^[14]; SDE法是当前香气提取采用较多的一种较成熟的技术, 具有重复性好, 效率高等优点^[15]; 但SDE法得到的成分以高沸点化合物为主, 且部分成分可能是通过化学反应转变而来的挥发性物质^[16]。SPME法是一种灵敏, 无溶剂且经济的样品制备方法, 该法可缩短分析时间, 已经在不同类型茶叶挥发性组分的提取中被广泛应用^[17-19]。

本文以茯砖茶为研究对象, 研究了同时蒸馏萃取法(SDE)和顶空固相微萃取法(HS-SPME)并使用气相色谱-三重四极杆串联质谱仪(GC-QQQ-MS)检测茯砖茶挥发性成分, 旨在比较两种方法提取到茯砖茶挥发性成分的差异, 找到更适合茯砖茶挥发性成分的提取方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

茯砖茶样品 湖南三十九铺茶叶有限公司生产手筑茯砖; C₈-C₄₀偶数正构烷烃标准品 美国 o2si 公司; 乙醚、无水硫酸钠 均为国产分析纯。

7890B 气相色谱 7000C 质谱联用仪 美国 Agilent 公司; 手动 SPME 进样器、65 μm PDME/DVB 固相微萃取头、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 固相微萃取头 美国 Supelco 公司; AE240 型电子天平 瑞士 Mettler 公司; DK-S28 型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司; LDP-350 型高速多功能粉碎机 浙江永康市红太阳机电有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 用锤子将茯砖茶分成 4 份, 再在每份不同位置随机取样, 用锤子击碎合并, 用粉碎机磨碎后作为待测试样。

1.2.2 HS-SPME 条件 将固相微萃取头在气相色谱仪的进样口经 250 °C 老化 1 h 备用; 称取 1.2.1 中的磨碎茶样 2 g, 放入 20 mL 顶空瓶中, 加入沸水 10 mL, 密封瓶口; 将其置于 80 °C 的恒温水浴锅内平衡 5 min; 然后将老化好的萃取头插入样品瓶顶空部分, 推出萃取头离液面 1 cm 处, 吸附 60 min 后取出, 随即插入仪器的进样口, 于 250 °C 解吸 3.5 min, 进行数据采集分析。所有样品重复 3 次。

1.2.3 SDE 条件 称取茯砖茶磨碎样 50 g 置于同时蒸馏萃取装置的 2000 mL 圆底烧瓶中, 加入 1000 mL 沸腾去离子水, 用电热套加热。另一侧圆底烧瓶中加入蒸馏纯化的乙醚 50 mL, 用 50 °C 水浴加热。样品微沸且冷凝管有回流液出现时开始计时, 保持沸腾 45 min。停止加热后, 加入少许无水硫酸钠并置于冰箱中冷冻过夜脱水, 氮气浓缩除去大部分乙醚溶剂至 1 mL, 供 GC-MS 分析。所有样品重复 3 次。

1.2.4 GC-MS 分析条件 GC 条件: 色谱柱 DB-35MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 载气为氦气(纯度>99.999%), 进样口温度 250 °C, 柱流速 1 mL/min, 分流比 5:1; 升温程序: 50 °C 保持 4 min, 以 5 °C/min 升到 180 °C, 保持 5 min, 按 8 °C/min 升到 280 °C, 保持 10 min。MS 条件: 离子源 EI; 离子源温度 230 °C, 接口温度 230 °C, EI 源能量: 70 eV, 电子倍增器电压: 2409 V, 质量扫描范围 50~550 u。

1.2.5 HS-SPME 提取条件优化 采用单因素逐步

优化的方法,以挥发性组分数量和总峰面积为指标,固定固液比(1:4)、萃取温度(80℃)以及萃取时间(60 min),分析比较 65 μm DVB/PDMS 和 50/30 μm CAR-DVB-PDMS 两种萃取头对茯砖茶挥发性成分的萃取效果;以最优萃取头比较不同固液比(1:3、1:4、1:5和1:6)的萃取效果;以最优萃取头和固液比比较不同萃取温度(60、70、80、90℃)的萃取效果;以最优萃取头、最优固液比和萃取温度比较不同萃取时间(40、50、60、70 min)对茯砖茶挥发性成分的萃取效果,确定最佳的萃取参数。单因素优化参数见表1。

表1 HS-SPME 提取单因素优化实验设计
Table 1 HS-SPME extraction parameters used
in single factor design optimization

试验因子	试验参数			
萃取头类型	PDME/DVB (65 μm)		DVB/CAR/PDMS (30/50 μm)	
固液比	1:3	1:4	1:5	1:6
提取温度(℃)	60	70	80	90
提取时间(min)	40	50	60	70

1.3 数据处理

保留指数测定:由 GC-QQQ-MS 得出 $C_8 \sim C_{40}$ 偶数位正构烷烃标样、茯砖茶样品各个色谱峰的保留时间(RI),计算各挥发性成分保留指数,公式如下:

$$RI = 100n + 200 \times [RT_x - RT_n] / (RT_{n+2} - RT_n)$$

式中:RI 为挥发性化合物的保留指数,n 为该化合物前一碳标的原子数, RT_x 为该化合物的保留时间, RT_n 为该化合物前一碳标的保留时间, RT_{n+2} 为该化合物后一碳标的保留时间。

根据得到的总离子流图中各色谱峰的质谱信息,经 NIST17 标准质谱库进行检索,然后将计算出

来的 RI 值与文献中进行比对定性,最佳鉴定结果以质谱相似度和 RI 值接近度最高的化学结构为准,无法得到保留指数的仍以质谱匹配度最高为准。同时,以峰面积归一化法(组分峰面积占总峰面积的百分比)定量。数据采用 Excel 2016 进行分析,图片采用 Origin 8.5 绘制。

2 结果与分析

2.1 HS-SPME 提取条件优化

2 种不同类型萃取头提取效果比对结果如图 1A,可知 PDME/DVB(65 μm) 提取到挥发性成分数量和峰面积均大于 DVB/CAR/PDMS(30/50 μm),65、30/50 μm 两种萃取头提取到挥发性成分分别为 50 和 47 种。因此选定 PDME/DVB(65 μm) 萃取头。固液比对提取效果影响结果如图 1B,随着固液比的增大,提取到的挥发性组分数量峰总峰面积均增大,当固液比为 1:5 时提取到的挥发性成分数量和峰面积达最大,因此提取固液比选为 1:5。温度对提取效果影响结果如图 1C,当温度为 70 和 80℃ 时提取到的挥发性成分数量最多,而且 80℃ 时峰面积较大,因此提取温度选为 80℃。时间对提取效果影响结果如图 1D,随着提取时间的增加,提取到的挥发性成分数量和总峰面积呈增加趋势,当提取时间在 60 min 时挥发性成分数量和总峰面积达到最大,因此提取时间选为 60 min。

2.2 SDE 与 HS-SPME 提取茯砖茶挥发性成分数量比较

利用优化的 HS-SPME 条件和 SDE 法提取茯砖茶挥发性成分,经 GC-QQQ-MS 分析。得到的总离子流图如图 2 所示,挥发性组分结果如表 2 所示。结果表明:两种方法共检测到 90 种挥发性成分,其中

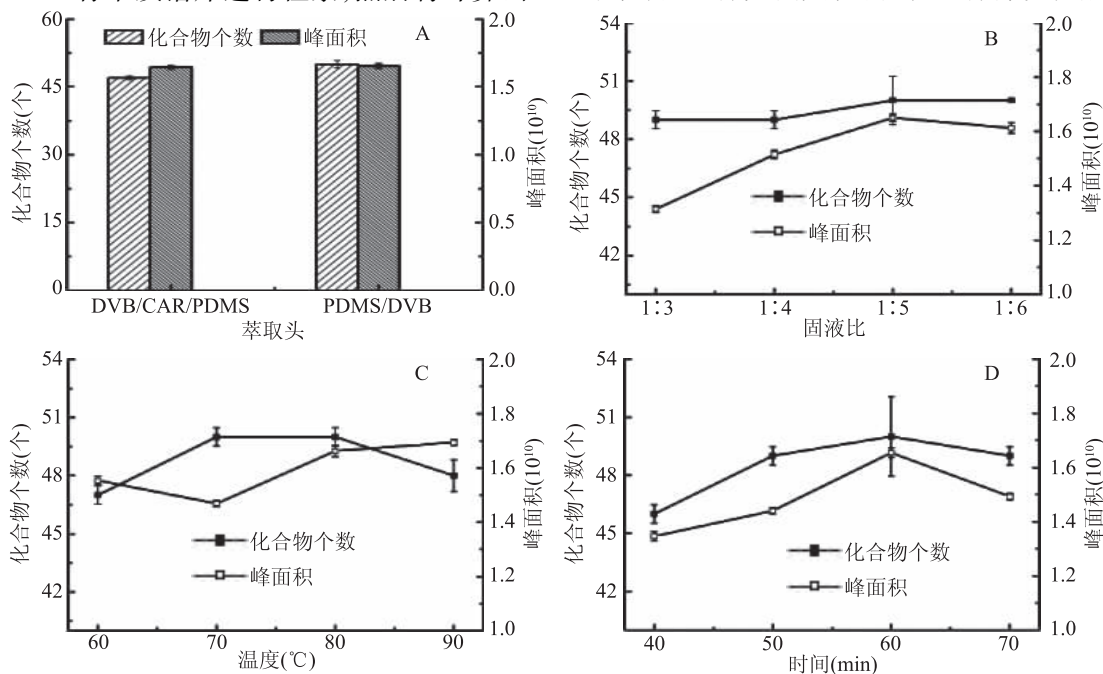


图1 提取条件对茯砖茶挥发性成分提取效果的影响(n=3)

Fig.1 Effect of extraction conditions on extraction of volatile components from Fu brick tea

注:A:萃取头类型,B:提取固液比,C:提取温度,D:提取时间。

SDE 法检测出 79 种,HS-SPME 法检测出 50 种,共有成分 40 种。共有成分分别占提取出总成分含量的 72.20% ± 1.96% (SDE) 和 68.24% ± 4.79% (HS-SPME)。与 HS-SPME 法相比,SDE 法可提取到较多数量的茯砖茶挥发性成分,但两种方法均不能完全提取出茯砖茶挥发性成分。

2.3 SDE 与 HS-SPME 提取茯砖茶主要挥发性成分比较

比较两种提取方法提取的挥发性成分(表 2)可知:由 SDE 法提取到的的主要成分有植酮 3.56% ± 0.20%、雪松醇 3.36% ± 0.11%、棕榈酸 2.95% ± 1.13%、2,6-二叔丁基对甲酚 2.89% ± 0.23%、二苯并呋喃 2.76% ± 0.11%、菲 2.40% ± 0.26%、香叶基丙酮 1.79% ± 0.10%、邻苯二甲醚 1.73% ± 0.09%、邻甲酚 1.49% ± 0.07%、联苯 1.39% ± 0.11% 等。由 HS-SPME 提取的主要挥发性成分有咖啡因 6.69% ± 3.10%、邻苯二甲酸二乙酯 5.22% ± 0.78%、二苯并呋喃 4.10% ± 0.15%、二氢猕猴桃内酯 4.04% ± 0.27%、联苯 3.85% ± 0.21%、香叶基丙酮 2.88% ± 0.26%、植酮 2.42% ± 0.13%、雪松醇 2.30% ± 0.01%、菲 2.01% ± 1.32%、1,2,3-三甲氧基苯 2.01% ± 0.18% 等。在主要挥发性成分中,棕榈酸和 2,6-二叔丁基对甲基苯酚仅 SDE 法提取出,咖啡因和邻苯二甲酸二乙酯

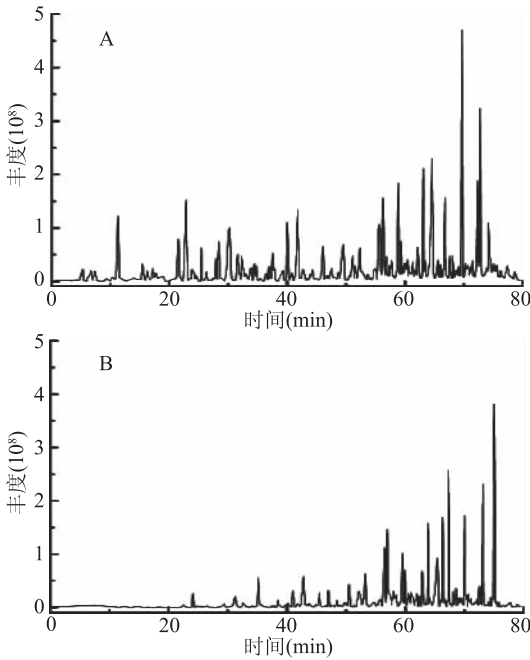


图 2 SDE(A) 与 HS-SPME(B) 提取茯砖茶挥发性成分总离子流图
Fig.2 The total ion chromatogram of volatile components from Fu brick Tea by SDE and HS-SPME

表 2 SDE 与 HS-SPME 提取茯砖茶挥发性成分比较(n=3)
Table 2 Comparison between SDE and HS-SPME extraction of volatile components of Fu brick Tea(n=3)

类别	序号	RI 值	定性方法	化合物	化学式	相对含量(%)	
						SDE	HS-SPME
醇类	1	<800	MS	1-Penten-3-ol 1-戊烯-3-醇	C ₅ H ₁₀ O	0.16 ± 0.01	-
	28	943	MS, RI	Benzyl alcohol 苯甲醇	C ₇ H ₈ O	0.08 ± 0.03	-
	38	1009	MS	Linalool oxide I 芳樟醇氧化物 I	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.25 ± 0.04	0.17 ± 0.03
	39	1011	MS	Linalool oxide II 芳樟醇氧化物 II	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.32 ± 0.02	0.13 ± 0.01
	41	1033	MS, RI	L-α-Terpineol 松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.30 ± 0.02	0.09 ± 0.02
	77	1496	MS, RI	Cedrol 雪松醇	C ₁₅ H ₂₆ O	3.36 ± 0.11	2.30 ± 0.01
	89	1924	MS, RI	Phytol 植物醇	C ₂₀ H ₄₀ O	1.00 ± 0.26	-
总量						5.48 ± 0.34	2.69 ± 0.03
酚类	13	843	MS	3,5-Dimethyl-Phenol 3,5-二甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	0.16 ± 0.06	-
	27	941	MS, RI	2-Methyl-Phenol 邻甲酚	C ₇ H ₈ O	1.49 ± 0.07	0.62 ± 0.04
	29	955	MS, RI	p-Cresol 4-甲基苯酚	C ₇ H ₈ O	0.43 ± 0.03	0.17 ± 0.02
	33	977	MS, RI	2-Methoxy-Phenol 愈创木酚	C ₇ H ₈ O ₂	0.48 ± 0.02	0.16 ± 0.02
	35	981	MS	2,4-Dimethyl-Phenol 2,4-二甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	0.19 ± 0.01	0.07 ± 0.01
	36	994	MS, RI	2-Ethyl-Phenol 2-乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	0.26 ± 0.08	0.11 ± 0.01
	37	1007	MS, RI	3,5-Dimethyl-Phenol 3,5-二甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	0.83 ± 0.04	0.47 ± 0.04
	40	1031	MS, RI	3,4-Dimethyl-Phenol 3,4-二甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	0.28 ± 0.02	0.21 ± 0.03
	45	1074	MS	2,3,5-Trimethyl-Phenol 2,3,5-三甲基苯酚	C ₉ H ₁₂ O	0.04 ± 0.01	-
	49	1145	MS, RI	2-Ethyl-4-Methyl-Phenol 4-甲基-2-乙基苯酚	C ₉ H ₁₂ O	0.15 ± 0.00	0.07 ± 0.01
	51	1157	MS, RI	4-(1-Methylpropyl)-Phenol 对仲丁基苯酚	C ₁₀ H ₁₄ O	0.13 ± 0.01	-
	54	1159	MS, RI	2,3,5-Trimethyl-Phenol 2,3,5-三甲基苯酚	C ₉ H ₁₂ O	-	0.10 ± 0.01
	73	1361	MS	Butylated Hydroxytoluene 2,6-二叔丁基对甲基苯酚	C ₁₅ H ₂₄ O	2.89 ± 0.23	-
	86	1725	MS, RI	4-(2-Phenylethenyl)-Phenol 4-(2-苯基乙烯基)-苯酚	C ₁₄ H ₁₂ O	0.09 ± 0.00	-
总量						7.41 ± 0.44	1.98 ± 0.12
醛类	10	820	MS, RI	Furfural 糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	0.31 ± 0.09	-
	20	899	MS, RI	Benzaldehyde 苯甲醛	C ₇ H ₆ O	0.99 ± 0.07	0.12 ± 0.01
	24	920	MS, RI	(E,E)-2,4-Heptadienal (E,E)-2,4-庚二烯醛	C ₇ H ₁₀ O	0.59 ± 0.05	0.03 ± 0.02
	26	936	MS, RI	(E)-2-Octenal 反-2-辛烯醛	C ₈ H ₁₄ O	0.33 ± 0.03	-

续表

类别	序号	RI 值	定性方法	化合物	化学式	相对含量(%)	
						SDE	HS-SPME
总量 碳氢化合物	31	958	MS	Benzeneacetaldehyde 苯乙醛	C ₈ H ₈ O	0.68 ± 0.05	—
	46	1084	MS, RI	β-Cyclocitral β-环柠檬醛	C ₁₀ H ₁₆ O	0.28 ± 0.02	0.15 ± 0.01
	52	1107	MS, RI	Safranal 藏红花醛	C ₁₀ H ₁₄ O	0.34 ± 0.01	0.15 ± 0.04
	56	1187	MS, RI	4-(1-Methylethyl)-Benzaldehyde 对异丙基苯甲醛	C ₁₀ H ₁₂ O	—	0.29 ± 0.02
						3.51 ± 0.25	0.74 ± 0.06
	4	<800	MS	Toluene 甲苯	C ₇ H ₈	0.11 ± 0.01	—
	5	<800	MS	5,5-Dimethyl-1-Ethyl-1,3-Cyclopentadiene 5,5-二甲基-1-乙基-1,3-环戊二烯	C ₉ H ₁₄	0.38 ± 0.05	—
	7	<800	MS	5,6-Dimethyl-1,3-Cyclohexadiene 5,6-二甲基-1,3-环己二烯	C ₈ H ₁₂	0.08 ± 0.04	—
	8	800	MS, RI	1,2-Dimethyl-1,4-Cyclohexadiene 1,2-二甲基-1,4-环己二烯	C ₈ H ₁₂	0.09 ± 0.02	—
	9	801	MS, RI	p-Xylene 对二甲苯	C ₈ H ₁₀	0.05 ± 0.01	—
	11	826	MS, RI	Styrene 苯乙烯	C ₈ H ₈	0.08 ± 0.02	—
	15	867	MS, RI	3,5-Dimethyl-3-Heptene 3,5-二甲基-3-庚烯	C ₉ H ₁₈	0.11 ± 0.01	—
	17	883	MS	D-Limonene D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	0.03 ± 0.01	—
	19	894	MS	p-Cymene 4-异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.01
	21	904	MS, RI	1-Ethyl-4-Methyl-Benzene 对乙基甲苯	C ₉ H ₁₂	0.05 ± 0.03	—
	22	906	MS, RI	1-Ethyl-Cyclohexene 1-乙基环己烯	C ₈ H ₁₄	0.34 ± 0.03	—
	25	929	MS, RI	1,1-Dimethyl-4-Methylenecyclohexane 1,1-二甲基-4-亚甲基环己烷	C ₉ H ₁₆	0.06 ± 0.01	—
	57	1184	MS, RI	1-Methyl-Naphthalene 1-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	1.01 ± 0.09	1.17 ± 0.06
	59	1209	MS, RI	2-Methyl-Naphthalene 2-甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	0.70 ± 0.05	1.09 ± 0.13
	60	1215	MS	Longifolene 长叶烯	C ₁₅ H ₂₄	0.05 ± 0.00	—
	62	1221	MS	α-Cedrene α-柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	0.22 ± 0.02	0.26 ± 0.01
	64	1242	MS, RI	β-Cedrene β-柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	0.05 ± 0.00	—
	67	1299	MS, RI	Biphenyl 联苯	C ₁₂ H ₁₀	1.39 ± 0.11	3.85 ± 0.21
	70	1336	MS, RI	1,4-Dimethyl-Naphthalene 1,4-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂	0.32 ± 0.02	0.39 ± 0.04
	71	1339	MS, RI	1,3-Dimethyl-Naphthalene 1,3-二甲基萘	C ₁₂ H ₁₂	0.47 ± 0.03	0.63 ± 0.03
	76	1506	MS, RI	1,4,5-Trimethyl-Naphthalene 1,4,5-三甲基萘	C ₁₃ H ₁₄	—	0.72 ± 0.09
	79	1526	MS, RI	β-Guaiene 愈创木烯	C ₁₅ H ₂₄	0.03 ± 0.01	—
	80	1532	MS, RI	2,3,6-Trimethyl-Naphthalene 2,3,6-三甲基萘	C ₁₃ H ₁₄	0.42 ± 0.04	—
总量 酮类	82	1566	MS, RI	Fluorene 芴	C ₁₃ H ₁₀	—	0.35 ± 0.49
	84	1665	MS, RI	3,4-diethyl-1,1'-Biphenyl 3,4'-二乙基-1,1'-联苯	C ₁₆ H ₁₈	—	0.22 ± 0.09
	87	1766	MS, RI	Phenanthrene 菲	C ₁₆ H ₁₈	2.40 ± 0.26	2.01 ± 1.32
						8.51 ± 0.11	10.70 ± 1.25
	3	<800	MS	1-Penten-3-one 1-戊烯-3-酮	C ₅ H ₈ O	0.12 ± 0.09	—
	18	885	MS, RI	6-Methyl-5-Hepten-2-one 甲基庚烯酮	C ₈ H ₁₄ O	0.35 ± 0.03	—
	23	918	MS, RI	2,3-Dimethyl-2-Cyclopenten-1-one 2,3-二甲基-2-环戊烯酮	C ₇ H ₁₀ O	0.05 ± 0.00	—
	32	972	MS, RI	Acetophenone 苯乙酮	C ₈ H ₈ O	0.35 ± 0.01	0.03 ± 0.04
	34	980	MS, RI	3,4,4-Trimethyl-2-Cyclopenten-1-one 3,4,4-三甲基-2-环戊烯-1-酮,	C ₈ H ₁₂ O	0.42 ± 0.02	0.12 ± 0.01
	43	1054	MS, RI	1-Phenyl-1-Propanone 苯丙酮	C ₉ H ₁₀ O	0.13 ± 0.04	—
	47	1100	MS	Ionone 紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	0.19 ± 0.01	0.17 ± 0.01
	65	1280	MS, RI	Dihydro-β-Ionone 二氢-β-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₂ O	0.27 ± 0.07	0.48 ± 0.04
	66	1295	MS, RI	α-Ionone α-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	1.25 ± 0.06	1.20 ± 0.08
	68	1310	MS, RI	6,10-Dimethyl-5,9-Undecadien-2-one 香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	1.79 ± 0.10	2.88 ± 0.26
	72	1374	MS, RI	β-Ionone β-紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	—	1.97 ± 0.12
总量 杂氧化合物	78	1522	MS, RI	Dihydro-Actinidiolide 二氢猕猴桃内酯	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	0.48 ± 0.06	4.04 ± 0.27
	85	1651	MS, RI	6,10,14-Trimethyl-2-Pentadecanone 植酮	C ₁₈ H ₃₆ O	3.56 ± 0.20	2.42 ± 0.13
						8.96 ± 0.13	13.29 ± 0.36
	2	<800	MS	2-Ethyl-Furan 2-乙基呋喃	C ₆ H ₈ O	0.48 ± 0.04	—
	14	866	MS	2-Pentyl-Furan 2-正戊基呋喃	C ₉ H ₁₄ O	1.14 ± 0.11	0.16 ± 0.03
	16	879	MS	cis-2-(2-Pentenyl) furan 顺式-2-(2-戊烯基)呋喃	C ₉ H ₁₂ O	0.21 ± 0.03	—
	42	1043	MS, RI	1,2-Dimethoxy-Benzene 邻苯二甲醚	C ₈ H ₁₀ O ₂	1.73 ± 0.09	1.07 ± 0.06

续表

类别	序号	RI 值	定性方法	化合物	化学式	相对含量 (%)	
						SDE	HS-SPME
	44	1055	MS, RI	1,3-Dimethoxy-Benzene 间苯二甲醚	C ₈ H ₁₀ O ₂	0.19 ± 0.06	0.23 ± 0.07
	48	1103	MS, RI	1-Ethyl-4-Methoxy-Benzene 4-乙基苯甲醚	C ₉ H ₁₂ O	0.14 ± 0.02	-
	50	1154	MS, RI	2,6-Dimethoxytoluene 2,6-二甲氧基甲苯	C ₉ H ₁₂ O ₂	0.36 ± 0.01	-
	53	1133	MS, RI	3,4-Dimethoxytoluene 3,4-二甲氧基甲苯	C ₉ H ₁₂ O ₂	0.95 ± 0.06	0.88 ± 0.07
	55	1168	MS, RI	3,5-Dimethoxytoluene 3,5-二甲氧基甲苯	C ₉ H ₁₂ O ₂	-	0.32 ± 0.01
	61	1218	MS, RI	4-Ethyl-1,2-Dimethoxy-Benzene 1,2-二甲氧基-4-乙基苯	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	0.36 ± 0.01	0.65 ± 0.05
	63	1233	MS, RI	1,2,3-Trimethoxybenzene 1,2,3-三甲氧基苯	C ₉ H ₁₂ O ₃	0.88 ± 0.06	2.01 ± 0.18
	69	1343	MS, RI	1,2,3-Trimethoxy-5-Methyl-Benzene 3,4,5-三甲氧基甲苯	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	-	0.77 ± 0.07
	74	1381	MS, RI	5-Methoxy-6,7-Dimethyl-Benzofuran 5-甲氧基-6,7-二甲苯并呋喃	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	0.24 ± 0.02	-
	75	1457	MS, RI	Dibenzofuran 二苯并呋喃	C ₁₂ H ₈ O	2.76 ± 0.11	4.10 ± 0.15
	83	1572	MS, RI	4-Methyl-Dibenzofuran 4-甲基二苯并呋喃	C ₁₃ H ₁₀ O	0.42 ± 0.04	0.64 ± 0.06
总量						9.87 ± 0.39	10.83 ± 0.34
含氮化合物	6	<800	MS	2-Ethyl-1H-Pyrrole 2-乙基吡咯	C ₆ H ₉ N	0.03 ± 0.00	-
	12	841	MS, RI	2-Ethyl-Pyridine 2-乙基吡啶	C ₇ H ₉ N	0.09 ± 0.04	-
	30	957	MS	3-Ethyl-2,4-Dimethyl-1H-Pyrrole 2,4-二甲基-3-乙基吡咯	C ₈ H ₁₃ N	0.04 ± 0.01	-
	90	1983	MS, RI	Caffeine 咖啡因	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	-	6.69 ± 3.10
总量						0.16 ± 0.05	6.69 ± 3.10
酯类	58	1210	MS, RI	Methyl-4-Ethylbenzoate 4-乙基苯甲酸甲酯	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	-	0.04 ± 0.00
	81	1565	MS, RI	Diethyl Phthalate 邻苯二甲酸二乙酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	-	5.22 ± 0.78
总量						-	5.26 ± 0.78
酸类	88	1787	MS, RI	Palmitic acid 棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.95 ± 1.13	-
总量						2.95 ± 1.13	-

注:“-”表示未检测到。

仅 HS-SPME 法提取出。两种方法提取到的茯砖茶主要挥发性成分差异明显且互有交叉。

2.4 SDE 与 HS-SPM 提取茯砖茶挥发性成分种类比较

比较两种方法各挥发性成分种类可知(图3): SDE 法检测到碳氢化合物 23 种、醇类 7 种、杂氧化合物 13 种、醛类 7 种、酚类 13 种、酮类 12 种、酸类 1 种,含氮化合物 3 种,其中相对含量较高的是杂氧化合物 9.87% ± 0.39%、酮类 8.96% ± 0.13%、碳氢化合物 8.51% ± 0.11% 和酚类 7.41% ± 0.44%。HS-SPME 法检测到碳氢化合物 10 种、醇类 4 种、杂氧化合物 10 种、醛类 5 种、酯类 2 种、酚类 9 种、酮类 9 种和含氮化合物 1 种,其中相对含量较高的是酮类 13.29% ± 0.36%、杂氧化合物 10.83% ± 0.34%、碳氢化合物 10.70% ± 1.25% 和含氮化合物 6.69% ± 3.10%。对于醇类、醛类和酚类化合物,在化合物种类和化合物相对含量两方面 SDE 的萃取效果均优于 HS-SPME;而对于碳氢化合物、杂氧化合物和酮类,在化合物种类方面,SDE 法萃取效果优于 HS-SPME,在化合物相对含量方面结果正好相反。这可能是由于不同类型化合物挥发能力和水溶性的差异造成的。

3 讨论与结论

本实验对 HS-SPME 的影响因素:萃取头类型、萃取固液比、萃取温度和时间等进行优化,研究发现,当固液比 1:6 时,挥发性成分峰面积反而减少,这

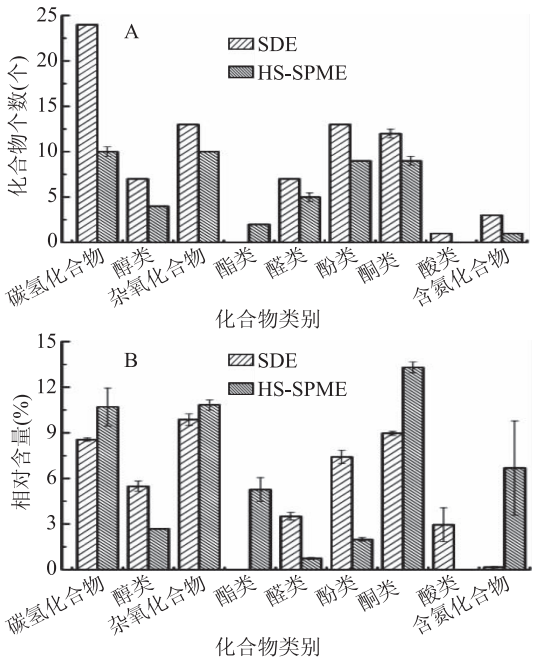


图3 SDE 与 HS-SPME 提取茯砖茶挥发性组分对比图(n=3)

Fig.3 The comparison chart of volatile components from Fu brick Tea by SDE and HS-SPME

注:A:各类成分数量,B:各类成分相对含量。

可能是由于冲泡用水量太多,不利于分析物质挥发到液面上部空间,同时冲泡茶水太多导致液面上方

的顶空体积减小,不利于萃取头达到吸附平衡^[20-21];当温度超过 80 ℃ 挥发性组分数反而减少,这可能是由于吸附是一个放热过程,高温会降低萃取头的吸附能力^[22];当提取时间超过 60 min 时挥发性成分数量和总峰面积反而减少,这可能是由于挥发性成分从纤维到样品的反向扩散试图维持分区平衡^[22-23]。

比较两种提取方法发现提取到的茯砖茶挥发性成分差异较大,SDE 法提取到的挥发性成分数量明显多于 HS-SPME 法,这与 Sheibani^[24],王道平^[25],王峰^[26]等得出的结论一致。通过两种方法提取到的茯砖茶挥发性成分以碳氢化合物、杂氧化合物、酮类和酚类为主,与文献报道结论一致^[27-29]。另外,咖啡碱仅 HS-SPME 法提取到,可能是由于咖啡碱在乙醚中溶解度小,很难被乙醚提取出来,所以 SDE 法提取的化合物检测不到咖啡碱。棕榈酸仅 SDE 法提取到的,这可能是棕榈酸在持续加热过程中由其他含氧化合物转化而来^[30]。

研究发现 SDE 和 HS-SPME 法各有优劣,提取的成分互补,两种方法的结合分析避免了单一方法的局限性,能更加科学、客观、完整地对待砖茶的挥发性成分进行鉴定分析。

参考文献

- [1] Liu Z, Lin Y, Zhang S, et al. Comparative proteomic analysis using 2DE-LC-MS/MS reveals the mechanism of Fuzhuan brick tea extract against hepatic fat accumulation in rats with nonalcoholic fatty liver disease [J]. Electrophoresis, 2015, 36 (17): 2002.
- [2] 李永迪,刘仲华,黄建安,等.基于主成分和聚类分析研究茯砖茶加工过程品质变化[J].食品工业科技,2017,38(17): 1-4,9.
- [3] 傅冬和,刘仲华,黄建安,等.茯砖茶加工过程中主要化学成分的变化[J].食品科学,2008,29(2):64-67.
- [4] 吕连梅,董尚胜.茶叶香气的研究进展[J].茶叶,2002,28 (4):181-184,190.
- [5] 丁芳林,董益生,彭书练.SDE-GC-MS 法测定茶叶中的挥发成分[J].中国酿造,2009(4):147-150.
- [6] 朱旗,施兆鹏,任春梅.绿茶香气不同提取方法的研究[J].茶叶科学,2001,21(1):38-43.
- [7] 谭和平,李斌,张云端,等.静态顶空-气质联用法测定茶叶香气[J].中国测试,2009,35(4):62-64.
- [8] 周春娟,郭守军,庄东红,等.SDE-GC-MS 与 P&T-TD-GC-MS 提取分析不同香型凤凰单丛茶香气比较[J].食品科学,2015,36(18):137-142.
- [9] 杨靖.超临界流体萃取茶叶香气成分的研究[J].食品科技,2008(6):83-85.
- [10] 李拥军,施兆鹏.柱吸附法和 SDE 法提取茶叶香气的研究[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2001,27(4): 295-299.
- [11] 周珊,赵立文,马腾蛟,等.固相微萃取 (SPME) 技术与质谱技术联用研究进展[J].现代科学仪器,2006(3):14-20.
- [12] 谢吉林,肖海军,鲍治帆,等.HS-SPME 和 VDE 两种方法对普洱茶香气成分分析的比较研究[J].云南农业大学学报, 2014,29(6):873-879.

- [13] 赵玥,肖成杰,蔡宝国,等.气相色谱-质谱法中 4 种不同捕集方式对茶叶香气成分测定的影响[J].食品科学,2011,32 (16):283-289.
- [14] 沈力飞,刘更生,张聪,等.茶叶香气的形成及检测研究进展[J].农产品加工(学刊),2014(11):58-61.
- [15] Du Liping, Li Jianxun, Li Wei, et al. Characterization of volatile compounds of pu-erh tea using solid-phase microextraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Research International, 2014, 57(1):61-70.
- [16] 廖素兰,翁器林,唐云云,等.不同萃取方式分析武夷水仙茶挥发性成分[J].食品工业科技,2017,38(12):7-16.
- [17] 吕世懂,姜东华,杨凡,等.顶空固相微萃取/GC-MS 分析普洱熟茶与安化黑茶香气成分[J].热带作物学报,2013,34 (8):1583-1591.
- [18] 刘晓慧,张丽霞,王日为,等.顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析黄茶香气成分[J].食品科学,2010,31 (16):239-243.
- [19] Ye Nengsheng, Gu Xuexin. Discrimination of green teas from different geographical origins by using HS-SPME/GC-MS and pattern recognition methods [J]. Food Analytical Methods, 2012, 5 (4):856-860.
- [20] 李建勋.普洱茶香气成分提取及木香物质定量分析[D].天津:天津科技大学,2014.
- [21] 李云飞.基于 SPME-GC-MS 的云南红茶香气成分分析[D].天津:天津科技大学,2015.
- [22] Xu Yong-Quan, Wang Chao, Li Chang-Wen, et al. Characterization of aroma-active compounds of Pu-erh tea by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation-extraction (SDE) coupled with GC-olfactometry and GC-MS [J]. Food Analytical Methods, 2015, 9 (5):1188-1198.
- [23] He Chaojun, Guo Xiangmeng, Yang Yumin, et al. Characterization of the aromatic profile in "zijuan" and "pu-erh" green teas by headspace solid-phase microextraction coupled with GC-O and GC-MS [J]. Analytical Methods, 2016, 8 (23): 4727-4735.
- [24] Sheibani Ershad, Duncan Susan E, Kuhn David D, et al. SDE and SPME analysis of flavor compounds in Jin Xuan Oolong Tea [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(2):C348.
- [25] 王道平,甘秀海,梁志远,等.固相微萃取法与同时蒸馏萃取法提取茶叶香气成分[J].西南农业学报,2013,26(1): 131-135.
- [26] 王峰,曹福亮,张洪娟.SPME 法与 SDE 法测定雨花茶香气成分比较[J].林业科技开发,2010,24(3):123-125.
- [27] 袁思恩,柏珍,黄亚辉,等.3 种黑茶的香气分析[J].食品科学,2014,35(2):252-256.
- [28] 颜鸿飞,王美玲,白秀芝,等.湖南茯砖茶香气成分的 SPME-GC-TOF-MS 分析[J].食品科学,2014,35(22): 176-180.
- [29] 黄亚辉,王娟,曾贞,等.不同年代茯砖茶香气物质测定与分析[J].食品科学,2011,32(24):261-266.
- [30] 彭忠瑾.茶叶籽油的提取及制备生物柴油研究[D].吉首:吉首大学,2012.