

HS-SPME-GC/MS 联用检测 红毛菜中的挥发性成分

伊纪峰¹, 朱建一², 韩晓磊², 许璞², 余多慰¹

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046)

(2. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500)

[摘要] 选用 PDM S/DVB SPME 萃取头, 与气相色谱-质谱联用, 对萃取温度、萃取时间等参数进行优化, 分析了红毛菜的挥发性成分. 共分离检测出 36 种挥发性成分, 占总峰面积的 97.70%, 其中 8-十七碳烯 (30.76%) 与十七碳烷 (20.20%) 是相对含量最高的成份; 其他含量较高的成分分别是醇类 (11.12%)、醛类 (9.90%)、酯类 (6.91%). 结果表明: 8-十七碳烯与十七碳烷是红毛菜属藻类特征性挥发成分.

[关键词] 红毛菜, 挥发性成分, HS-SPME-GC/MS

[中图分类号] Q914.82 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)02-0103-05

Analysis of Volatile Organic Compounds From *Bangia* by HS-SPME-GC/MS

Yi Jifeng¹, Zhu Jianyi², Han Xiaolei², Xu Pu², Yu Duowei¹

(1. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

(2. School of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China)

Abstract Head space solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC/MS) was used to analyse the volatile organic compounds (VOCs) from *Bangia*. Thirty-six volatile compounds were identified. These constituents represented 97.70% of the total peak areas. 8-Heptadecene (30.76%) and heptadecane (20.20%) were the major components which probably were the characteristic VOCs. Other richer compounds were alcohol (11.12%), aldehyde (9.90%) and ester (6.91%).

Key words *Bangia*, volatile organic compounds, HS-SPME-GC/MS

红毛菜属于红藻门 (Rhodophyta)、红藻纲 (Rhodophyceae)、红毛菜亚纲 (Bangiophycidae)、红毛菜目 (Bangiales)、红毛菜科 (Bangiaceae)、红毛菜属 (*Bangia*)^[1], 分布范围较广, 几乎遍布亚寒带至亚热带地区^[2-5]. 在我国南北方沿海都有分布, 而以东南沿海为多^[6]. 红毛菜营养丰富, 人工栽培的红毛菜中, 总氨基酸与必需氨基酸含量分别达到 40.37% 和 20.30%, 干品中游离氨基酸含量为 4 992.68 mg/100 g, 其中呈味氨基酸占 59.97%. 红毛菜中的脂肪酸以不饱和脂肪酸为主, 其中 EPA 含量高达 51.74%^[7], 是一种经济价值很高的可栽培海藻. 目前红毛菜的成分研究多集中在营养及具药理活性成分方面, 而关于挥发性成分的研究鲜有报道.

挥发性物质的研究进展得益于分离与分析技术的进步. 目前重要的分离方法有同时蒸馏萃取法 (Simultaneous Distillation Extraction, SDE)、分子蒸馏法 (Molecular Distillation, MD)、固相微萃取法 (Solid Phase Microextraction, SPME) 和顶空分析法 (Head Space, HS) 等. SPME 是一种集萃取、浓缩、解吸于一体的样品前处理技术, 具有方便、快捷, 样品用量少, 不使用有机溶剂等特点^[8], 同时避免了样品中不稳定成分的氧化、分解等问题. 本文采用 PDM S/DVB 萃取头, HS-SPME-GC/MS 联用分析技术对红毛菜挥发性成分进行测定, 分析这些物质的组成特点, 为红毛菜化学成分的生物合成途径研究及其开发利用提供参考.

收稿日期: 2008-12-17

基金项目: 国家自然科学基金 (30740042) 资助项目.

通讯联系人: 余多慰, 博士, 教授, 研究方向: 结构分子生物学. E-mail: yuduowe@njjnu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料取自江苏南通海区栽培红毛菜, 海水洗净, 晾干, -20°C 保存。

1.2 仪器与试剂

SHIMADZU QP2010 气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用仪 (日本岛津公司)、SPME 萃取装置、 $60\ \mu\text{m}$ PDMS / DVB 萃取头 (SUPELCO)、恒温水浴锅、高纯氦气 (99.999%)。

1.3 条件与方法

顶空固相微萃取 (HS-SPME): 称取样品 $0.3\ \text{g}$ 粉碎, 置于 $15\ \text{mL}$ SPME 顶空瓶中, 60°C 水浴 $10\ \text{min}$ 将经老化处理过的 PDMS / DVB 萃取头插入顶空瓶中萃取 $30\ \text{min}$ 室温下静置平衡 $10\ \text{min}$ 迅速将萃取头置于进样口解吸 $2\ \text{min}$ GC-MS 分析。

色谱条件: Rxi-5 ms 弹性石英毛细管柱 ($30\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm} \times 0.25\ \mu\text{m}$), 恒流模式氦气流量为 $1\ \text{mL/min}$, 升温程序为 50°C (保持 $3\ \text{min}$), 10°C/min 至 90°C (保持 $5\ \text{min}$), 10°C/min 至 230°C (保持 $10\ \text{min}$), 不分流进样, 进样口温度为 250°C 。

质谱条件: 离子源温度 200°C , 电离方式 EI 电子能量 $70\ \text{eV}$, 接口温度 250°C , 扫描范围为 $45-500\ \text{amu}$ 。

分离与鉴定: 化合物经 NIST 05 与 WILEY 7 谱库检索及人工解析确定其化学结构, 用峰面积归一化法确定其相对含量。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件的优化

2.1.1 最佳样品量的筛选

红毛菜含有高挥发性组分, 采用 HS-SPME 既可满足分析要求, 同时又能尽可能的消除背景吸引和基质影响, 延长萃取头与色谱柱使用寿命。实验分别称取 $0.3\ 0.5\ 0.8\ 1\ \text{g}$ 的材料加入 $15\ \text{mL}$ 顶空萃取瓶中, 60°C 萃取 $30\ \text{min}$ 分析表明, 由于红毛菜中挥发性成分含量较高, $0.3\ \text{g}$ 样品即可满足成分鉴定的实验需求。

2.1.2 萃取温度的选择

HS-SPME 的原理是基于分析物在气相和萃取涂层之间的分配来进行分析的, 萃取温度对于萃取效果有显著影响^[9], 实验中发现较低温度有利于低沸点组分的萃取, 较高温度有利于高沸点组分的萃取。如图 1、图 2 所示, 比较 60°C 与 80°C 下 4 种成分与 8-十七碳烯含量的质量分数, 实验发现 80°C 下萃取效果较好, 但低沸点组分损失较严重, 而 40°C 时需要较长的萃取时间才能使分析物在气相与萃取涂层之间达到平衡。因此选择在 60°C 下萃取 $30\ \text{min}$ 该条件下高低沸点组分含量较合适, 便于分析。

2.2 红毛菜挥发性成分分析

如图 1、图 3 表 1 所示, 在本次实验条件下共检测到了 36 种有效成份, 占总峰面积的 97.70% , 以烷烃 (13 种, 占 34.30%)、烯烃 (3 种, 占 32.28%)、醇类 (9 种, 占 11.12%)、醛类 (4 种, 占 9.90%) 和酯类 (3 种, 占 6.91%) 化合物为主, 其余还有萘、甲基萘、二甘醇丁基醚和二叔丁基对甲基酚 4 类成分。烷烃与烯烃是红毛菜挥发性物质中最主要的成分, 其相对含量占挥发性物质的 66.58% , 其中相对含量最高的是 8-十七碳烯 (30.69%) 与十七碳烷 (20.16%)。与同属红毛菜科的条斑紫菜和坛紫菜中 8-十七碳烯与一些长链饱和烷烃含量也较高, 是其挥发性物质的重要组成部分^[10], 因此可推测“8-十七烯为主要成分, 富含烷烃与烯烃”的组成特点是这一类原始红藻挥发性成分的主要组成特点。红毛菜中的支链烷烃 2,6,10-四甲基十五烷、2,6,10-四甲基十七烷、2,6,10-三甲基十二烷、3-甲基-5-丙基壬烷等的阈值较低, 是影响红毛菜风味的因素之一^[11]。对于大羽藻 (*Bryopsis maxima*) 中挥发性成分的研究认为 8-十七碳烯是酶促反应生成的一类化学感应物质, 作为生物信息素在愈伤中起到一定的作用^[12], 而红毛菜中高含量的 8-十七碳烯的作用及产生机制还有待于进一步的研究。

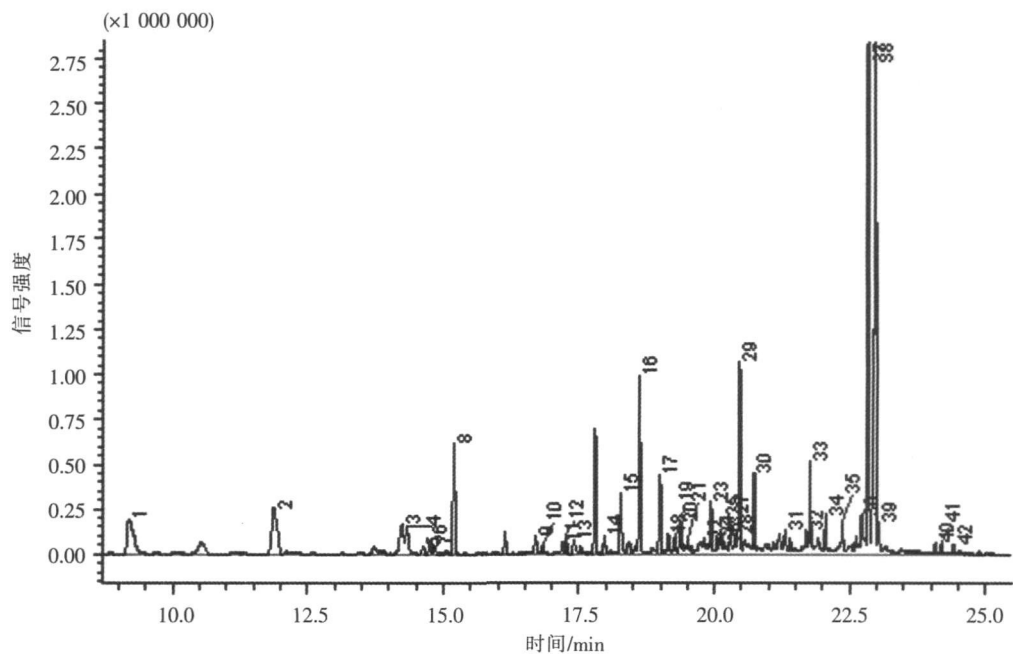


图1 红毛菜挥发性成分总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of aromatic compounds released from *Bangia* by HS-SPME

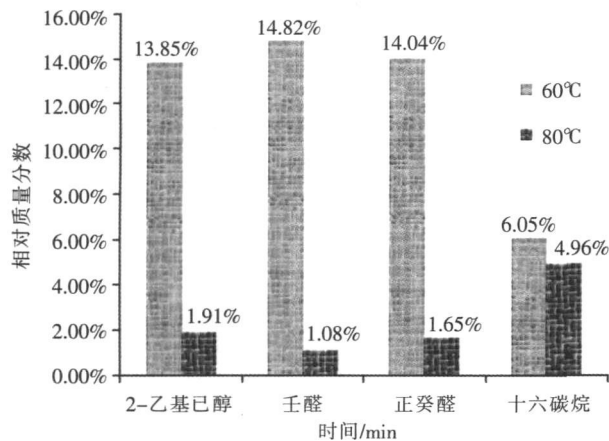


图2 60℃和80℃时的萃取效果比较

Fig.2 Compare the different result between 60℃ and 80℃

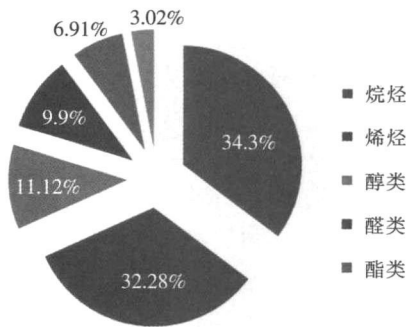


图3 红毛菜挥发性成分组成

Fig.3 The percentage of volatiles compounds from *Bangia*

表 1 红毛菜挥发性成分分析结果

Table 1 Analysis result of VOCs released from *Bangia* by HS-SPME-GC/MS

序号	化合物	分子式	相对含量%
1	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	4.26
2	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	4.56
3	壬醇	C ₉ H ₂₀ O	1.76
4	薄荷醇	C ₁₀ H ₂₀ O	1.29
5	萘	C ₁₀ H ₈	0.34
6	二甘醇丁基醚	C ₈ H ₁₈ O ₃	0.53
7	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.38
8	正癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	4.32
9	十一醇	C ₁₁ H ₂₄ O	0.68
10	十三碳醛	C ₁₃ H ₂₆ O	0.27
11	甲基萘	C ₁₁ H ₁₀	0.34
12	十三碳烷	C ₁₃ H ₂₈	0.50
13	肉豆蔻醛	C ₁₄ H ₂₈ O	0.57
14	2-甲基-2-乙基-3-羟基丙酸己酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	0.64

续表 1

序号	化合物	分子式	相对含量%
15	2-甲基-, 2, 2-二甲基-1-[2-羟基-1-甲基乙基]丙酸丙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	1. 57
16	2-甲基-3-羟基-2, 4, 4-3-甲基丙酸戊酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	4. 7
17	十四碳烷	C ₁₄ H ₃₀	1. 96
18	未鉴定		0. 62
19	刺柏烯	C ₁₅ H ₂₄	0. 48
20	衣兰烯	C ₁₅ H ₂₄	1. 05
21	未鉴定		0. 35
22	未鉴定		0. 40
23	3-甲基-5-丙基壬烷	C ₁₃ H ₂₈	1. 53
24	3-甲基-十四烷	C ₁₅ H ₃₂	0. 28
25	未鉴定		0. 61
26	月桂醇	C ₁₅ H ₃₂ O	0. 25
27	2-己基-1-癸醇	C ₁₆ H ₃₄ O	0. 70
28	未鉴定		0. 33
29	十五碳烷	C ₁₅ H ₃₂	5. 04
30	二叔丁基对甲基酚	C ₁₈ H ₂₄ O	1. 81
31	2-甲基-6-丙基十二烷	C ₁₆ H ₃₄	0. 33
32	2, 6, 10-三甲基十二烷	C ₁₅ H ₃₂	0. 47
33	十六碳烷	C ₁₆ H ₃₄	1. 86
34	雪松醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 86
35	2, 6, 10-三甲基十五烷	C ₁₈ H ₃₈	0. 78
36	11-十六烯醇	C ₁₆ H ₃₂ O	0. 93
37	8-十七碳烯	C ₁₇ H ₃₄	30. 76
38	十七碳烷	C ₁₇ H ₃₆	20. 20
49	2, 6, 10, 14-四甲基十五烷	C ₁₉ H ₄₀	0. 80
40	2, 6, 10, 15-四甲基十七烷	C ₂₁ H ₄₄	0. 25
41	十九碳烷	C ₁₉ H ₄₀	0. 30
42	未鉴定		0. 34

红毛菜挥发性成分中检出壬醛 (4. 56 %)、正癸醛 (4. 32 %)、十三碳醛 (0. 57 %)、肉桂醛 (0. 27 %) 4种醛类。在高等植物中 C18不饱和脂肪酸经脂氧合酶 (Lipxygenase LOX)与脂氢过氧化物裂解酶 (Hydroperoxide lyase HPL)催化生成的醛类物质与植物抗病虫、抗伤害反应有关^[13],同时也是植物芬芳气味的主要物质^[14]。有报道认为红藻中也存在与高等植物相近的以 C18与 C20不饱和脂肪酸为底物的酶反应,生成不同碳链长度的醛类物质^[15-17],通常认为这些醛类物质是红藻特征性风味的主要贡献物质^[10, 12],红毛菜中的醛类成分的含量组成在一定程度上影响了红毛菜的风味,但其在红藻中的生成机制与作用还没有完全阐述清楚。

[参考文献]

[1] 施之新, 谢树莲, 华栋. 中国淡水藻志: 红藻门·褐藻门 (第十三卷) [M]. 北京: 科学出版社, 2006 1-30

[2] Muller K M, Cole K M, Sheath R G. Systematics of *Bangia* (Bangiales, Rhodophyta) in North America II. Biogeographic trends in karyology, chromosome numbers and linkage with gene sequence phylogenetic trees [J]. *Bangia Phycologia* 2003 42(3): 209-219.

[3] 曾呈奎. 曾呈奎文选 (上) [M]. 北京: 海洋出版社, 1994 108-116

[4] Woolcott G W, King R J. *Porphyra and Bangia* (bangiaceae, Rhodophyta) in warm temperate water of eastern Australia: morphological and molecular analyses [J]. *Phycological Research*, 1998, 46(2): 111-123.

[5] Broom J E S, Farr T J, Nelson W A. Phylogeny of the *Bangia* flora of New Zealand suggests a southern origin for *Porphyra* and *Bangia* (bangiaceae, Rhodophyta) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31(3): 1197-1207.

[6] 孙爱淑, 曾呈奎. 中国红毛菜繁殖方式和染色体研究 [J]. *海洋与湖沼*, 1998, 29(3): 269-273

[7] 马家海, 李水军, 纪焕红, 等. 红毛菜氨基酸和脂肪酸分析 [J]. *中国海洋药物*, 2002, 89(5): 40-42

[8] 刘源, 周光宏, 徐幸莲. 固相微萃取及其在食品分析中的应用 [J]. *食品与发酵工业*, 2003, 29(7): 83-87

[9] 赵钰玲, 李菊白, 戚欢阳, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用快速分析八角茴香中风味物质 [J]. *分析实验室*, 2006, 25(9): 22-26

- [10] Kajiwara T, Kodama K, Matsui K, et al. Volatile compounds from Japanese marine brown algae [C] // Teranishi R, Buttery G, Sugisawa H. Bioactive volatile compounds from plants. Washington DC: American Chemistry Society, 1993, 525-103-120.
- [11] 陈婉珠, 芮汉明, 张玲. 海带腥味物质的 HS-SPME-GC-MS 分析 [J]. 食品工业科技, 2006, 27(12): 71-73.
- [12] Akakabe Y, Iwanoto S, Miyamura S, et al. Induction of (Z)-8-heptadecene in marine green alga *Bryopsis maxima* by mechanical wounding [J]. Fisheries Science, 2007, 73(5): 1057-1060.
- [13] Noordemeer M A, Dijken A JHV, Smeekens SCM, et al. Characterization of three cloned and expressed 13-hydroperoxidase isoenzymes from alfalfa with unusual N-terminal sequences and different enzyme kinetics [J]. FEBS Lett, 2000, 267(9): 2473-2482.
- [14] 赵凌, 沈文飏, 翟虎渠, 等. 植物的脂氢过氧化物酶 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(2): 135-140.
- [15] Kajiwara T, Matsui K, Hatanka A, et al. Distribution of an enzyme system producing seaweed flavor: conversion of fatty acids to long-chain aldehydes in seaweeds [J]. Journal of Applied Phycology, 1993, 5(2): 225-230.
- [16] Boonprab K, Matsui K, Akakabe Y, et al. Formation of aldehyde flavor (*n*-hexanal, 3Z-nonenal and 2E-nonenal) in the brown alga *Laminaria angustata* [J]. Journal of Applied Phycology, 2006, 18(3): 409-412.
- [17] Kangsadan B, Kenji M, Yoshihiko A, et al. Hydroperoxy-arachidonic acid mediated *n*-hexanal and (Z)-3- and (E)-2-nonenal formation in *Laminaria angustata* [J]. Phytochemistry, 2003, 63(6): 669-678.

[责任编辑: 孙德泉]