

固相微萃取 GC - MS 法测定苹果不同品种中 主要芳香成分的研究

吴继红¹, 张美莉², 陈芳¹, 廖小军¹, 胡小松¹

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083;
2. 内蒙古农业大学 食品学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 利用固相微萃取 (solid phase microextraction, SPME) 和气质联用技术对目前果汁生产企业主要用于制汁的金帅、澳洲青苹、国光、新红星、富士及秦冠等品种的主要芳香成分进行定性和定量分析, 比较不同品种之间芳香成分在种类和含量上的差异。在香气成分的定量分析中, 以脱香果汁为基体加入混合标样, 采用内标标准曲线法制作标准曲线, 消除由 SPME 带来的系统误差, 提高了实验结果的准确性和精确性。

关键词: 固相微萃取; 气相色谱 - 质谱; 苹果; 芳香物质

中图分类号: O657.71; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2005)04 - 0101 - 04

Determination of Representative Aromatic Components in Different Breeds of Apple by GC - MS with Solid Phase Microextraction

WU Ji-hong¹, ZHANG Mei-li², CHEN Fang¹, LIAO Xiao-jun¹, HU Xiao-song¹

(1. College of Food Science and Nutritional of China Agricultural University, Beijing 100083, China;
2. College of Food Science of Inner Mongolia Agricultural University, Huhahaote 010018, China)

Abstract: Qualitative and quantitative analyses of representative aromatic components in different breeds of apple such as Golden delicious, Granny Smith, Ralls, Starkrimson, Fuji and Qinguan by solid phase microextraction (SPME) with gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS) were developed. They are the main cultivars for the production of apple juices in the juice-manufactured enterprises. The differences of aromatic components in different cultivars and contents were analyzed. The off-odor juice served as the matrix was put in to the mixed standard sample. The criterion curve was made by inner standard method to eliminate the system error from SPME and the accuracy and precision of results obtained were improved.

Key words: SPME; GC - MS; Apple; Aromatic component

苹果中的芳香成分是苹果汁重要的质量指标^[1,2]。苹果的产地、品种和成熟度是影响其芳香成分的种类和含量的主要因素。研究苹果不同品种特征芳香成分的组成和含量, 对果汁加工专用苹果品种基地建设 and 果汁加工质量控制及果汁加工过程中利用芳香成分的回收, 生产优质天然苹果香精提供理论依据^[3]。顶空固相微萃取 SPME 技术以其方便、快捷、高效和无有机溶剂污染而受到国内外研究者的青睐^[4,5], 但由于果汁是一个复杂的体系, 其中的糖、酸、果胶等物质对芳香成分具有一定的束缚作用, 同时, 芳香组分之间还存在着相互协同作用, 因此采用有机溶剂如甲醇等配制标样溶液, 采用直接进样法制作标准曲线, 不能消除介质对芳香成分的影响。因此本研究首次尝试采用果汁脱香处理方法, 建立模拟苹果汁体系, 将标准样品加入到脱香果汁体系中, 利用固相微萃取和气相色谱技术, 采用内标标准曲线法对不同苹果品种中的特征芳香成分进行准确的定量分析, 通过线性范围和相对回收率的验证, 认为该方法快速、简单, 结果准确、可靠。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

手动 SPME 进样器、100 μ m 聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 萃取头, 美国 Supelco 公司制造; 气相色谱 - HP5973 质谱联用仪, 美国 Agilent 公司制造; SP-3400 气相色谱, 北京分析仪器厂制造; 榨汁机, 上海灿

收稿日期: 2004 - 03 - 16; 修回日期: 2005 - 01 - 23

基金项目: 国家科技部“十五”科技攻关课题 (2001BA501A07)

作者简介: 吴继红 (1964 -), 女, 北京人, 副教授, 博士, Tel: 010 - 62737434, E-mail: applecau@sohu.com

坤电器公司。

标准样品: 己醛、2-己醛、乙酸戊酯、乙酸异戊酯、乙酸己酯、2-甲基丁酸己酯(Sigma 公司和法国曼氏香精公司); 内标 2-辛醇为色谱纯(德国 MERCK- Schuchardt 产品); 氯化钠(分析纯)。

1.2 实验材料

富士、国光(辽宁省熊岳); 澳洲青苹、金帅(山东烟台); 秦冠(甘肃); 新红星(辽宁葫芦岛)。以上原料均为成熟度适宜、无病虫害且具有该品种典型特征的果实, 产品贮存于 0℃ 冷库中, 实验前取出在 25℃ 环境下放置 24 h 后进行芳香成分的检测。

1.3 色谱与质谱条件

气相色谱条件: HP-5MS(30 m × 0.1 mm × 0.33 μm) 毛细管柱; 程序升温: 起始温度 40℃, 停留 2.5 min, 以 5℃/min 升至 200℃, 停留 6 min; 检测器(FID)温度 250℃, 进样口温度 230℃, 载气为氮气。

质谱条件: 质谱接口温度为 260℃, 质谱条件: 离子源温度 200℃, 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 扫描质量范围为 33~450 u。

1.4 样品预处理

首先将固相微萃取装置的萃取头在气相色谱的进样口老化, 老化温度为 250℃, 载气体积流量为 1 mL/min, 老化时间 2 h。取 300 g 苹果, 去除果核, 将苹果切分成适度大小榨汁。取 8 mL 果汁, 置于 15 mL 样品瓶中, 同时加入 2.5 g 氯化钠, 放入转子在 50℃ 下恒温, 将固相微萃取器的萃取头通过聚四氟乙烯隔垫插入到样品瓶中, 推出纤维头, 注意不要使萃取头碰到果汁, 打开磁力搅拌使转子在果汁中迅速转动, 吸附 20 min^[6], 随后缩回纤维头, 从样品瓶中拔出萃取头, 再将萃取头直接插入气相色谱仪, 推出纤维头, 于 250℃ 解析 5 min, 同时启动仪器采集数据。

1.5 果汁的脱香处理

取 2 000 g 苹果, 清洗后进行切分、去核、榨汁、过滤。取 500 mL 苹果汁在 70℃ 下用旋转蒸发进行浓缩, 去除其中大部分芳香成分。当果汁浓缩至 70 Brix(白利糖度)后, 将果汁冷却, 放入分液漏斗中用正己烷进行萃取以除去其余的芳香成分, 最后将果汁还原至浓缩前的糖度, 通过装有硅胶的柱子, 进一步去除残留芳香组分。取 8 mL 脱香果汁, 固相微萃取后用气相色谱检查果汁中的香气是否脱除干净。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的确定

用甲醇配制标样混合液, 其中含有外标己醛、2-己醛、乙酸戊酯、乙酸异戊酯、乙酸己酯、2-甲基丁酸己酯和内标 2-辛醇。外标浓度根据样品含量多少而定, 分别稀释到 1、4、8、16 倍, 内标质量浓度为 0.5 μg/mL。分别加入到 8 mL 脱香果汁中, 按 1.4 果汁中芳香成分萃取方法萃取后, 进行气相色谱分析。苹果芳香成分标准样品的气相色谱图和富士苹果芳香成分的气相色谱图见图 1 和图 2。

2.2 定性分析

用 SPME 与 GC-MS 联用对不同品种苹果中的香气成分进行了分析, 通过计算机检索与 NIST98 质谱库提供的标准质谱图对照, 鉴定化合物确定各不同品种苹果中的香气组分。6 种苹果的特征芳香成分见表 1。

2.3 定量分析

将标样配制成已知含量的甲醇标准溶液后, 稀释并分别取 5 个浓度梯度的己醛、2-己醛、乙酸戊酯、乙酸异戊酯、乙酸己酯、2-甲基丁酸己酯标准物质混合

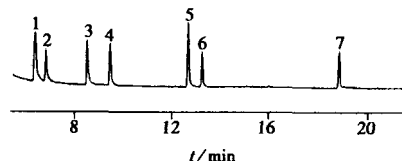


图 1 标准样品气相色谱图

Fig. 1 GC chromatogram of standard sample

1. 己醛(hexanol); 2. 2-己醛(2-hexanal); 3. 乙酸戊酯(pentyl acetate); 4. 乙酸异戊酯(isopentyl acetate);
5. 乙酸己酯(hexyl acetate); 6. 2-辛醇(2-octanol); 7. 2-甲基丁酸己酯(hexyl 2-methyl butyrate)

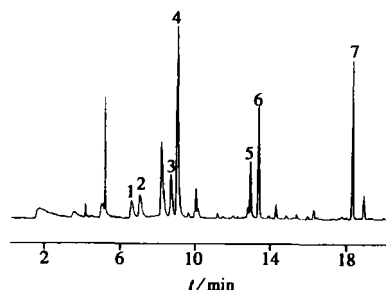


图 2 富士苹果芳香成分的气相色谱图

Fig. 2 GC chromatogram of Fuji apple
the sequence number are the same as that in Fig. 1

液, 其中均含有 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标 2-辛醇, 分别加入到脱香苹果汁中。在相同的 SPME 和色谱条件下进行萃取分析。由此方法得到 6 条标准曲线, 根据标准曲线进行定量, 对于苹果中的其他芳香组分采取就近原则, 即以离组分最近的标样进行定量^[8]。该 6 条标准曲线可以消除由果汁体系和 SPME 萃取头等因素带来的系统误差。苹果不同品种主要芳香成分的种类和含量见表 1 和表 2。

表 1 不同品种的苹果中主要香气成分的组成

Table 1 Fragrance compounds and the content of different apple cultivars

t/min	Compound	Relative content / %					
		Ralls (国光)	Qinguan (秦冠)	Starkrimson (新红星)	Fuji (富士)	Ganny Smith (澳洲青苹)	Golden delicious (金帅)
2.67	1-Butanol (1-丁醇)	0.97	1.05	0.96	0.99		0.05
3.92	Ethyl propionate (丙酸乙酯)	1.83		0.16		1.46	
4.15	Methyl butyrate (丁酸甲酯)	29.15		15.75			
4.51	1-Butanol, 2-methyl (2-甲基-1-丁醇)	9.28	1.65	1.06	8.95	11.30	0.14
6.83	Hexanal (己醛)	0.35		1.72			4.17
6.85	2-Hexanal (2-己醛)	0.33		0.26	0.35	0.14	4.88
7.24	Butyl acetate (乙酸丁酯)		0.07		0.08		0.05
9.00	1-Hexanol (1-己醇)	0.12	0.06		23.26	7.39	4.53
9.11	Butyl 2-methyl butyrate (2-甲基丁酸丁酯)	0.27	0.04	3.67	0.19		
9.40	Isopentyl acetate (乙酸异戊酯)		0.04		0.19		
11.67	5-Hepten-2-one, 6-methyl (6-甲基-5-庚烯-2-酮)	18.96		1.41	7.32		0.06
12.05	Propyl butyrate (丁酸丙酯)		0.13		1.74		
12.14	Ethyl caproate (己酸乙酯)	5.04	0.44			0.47	0.28
12.21	5-Methyl-2-heptanol (5-甲基-2-庚醇)	0.17		0.54	0.22		
12.56	Hexyl acetate (乙酸己酯)		0.33		0.08	0.47	0.25
14.40	1-Octanol (1-辛醇)	1.75					0.30
18.85	Hexyl 2-methyl butyrate (2-甲基丁酸己酯)	3.46	0.86	0.57			
19.00	Ethyl caprylate (辛酸乙酯)	0.10		0.09			
19.35	Hexyl butyrate (丁酸己酯)	0.06	1.14	0.26	0.15		7.81
24.44	Hexyl caproate (己酸己酯)	0.45	3.39	0.63	0.33		0.38
26.46	Farnesene (-法呢烯)	11.18	10.26	17.34	16.42	15.43	12.76

表 2 不同品种的苹果中主要香气成分的含量 ($\mu\text{g}/\text{L}$)Table 2 Most fragrance compounds of different apple cultivars ($\mu\text{g}/\text{L}$)

Compounds	Ralls (国光)	Qinguan (秦冠)	Starkrimson (新红星)	Ganny Smith (澳洲青苹)	Fuji (富士)	Golden delicious (金帅)
Hexanal (己醛)	5 013	3 015	2 447	6 705	2 091	3 605
2-Hexanal (2-己醛)	3 849	2 190	876.9	4 376	475.2	2 088
1-Butanol (1-丁醇)	2 087	1 789	713.3	1 753	2 428	314.3
1-Hexanol (1-己醇)	73.01	47.71	45.03	63.4	37.76	112.3
Hexyl butyrate (丁酸己酯)	272.5	312.8	489.6	145.3	22.01	347.4
Pentyl butyrate (丁酸戊酯)	144.7	122.9	1 157	84.20	236.7	1 895
Hexyl hexanoate (己酸己酯)	2 169	3 011	2 891	71.72	1 869	3068

2.4 线性范围和检出限

以标样各组分峰面积与内标峰面积之比为纵坐标 (Y), 标样组分浓度与内标浓度之比为横坐标 (X), 作直线回归。根据表 3 苹果不同品种芳香成分 r 范围为 0.996 2 ~ 0.999 7; 表 4 加标相对回收率为 76% ~ 100%, 其中 2-辛醇和乙酸异戊酯的相对回收率较低, 但高于 Mangas J. J. (1996 年)^[15] 方法中微量组分的最低相对回收率 (67%), 所以综合表 3, 4, 该方法能够准确测定苹果芳香成分。

表 3 标样的线性范围

Table 3 Linear range of standard compounds

Standard	Linear range ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Regression equation	Correlation coefficient r
Hexanal (己醛)	77.9 ~ 8 671	$= - 0.764 + 4.98 \times 10^{-2} A$	0.998 7
2-Hexanal (2-己醛)	84.0 ~ 9 367	$= - 11.124 + 0.237 A$	0.999 7
Pentyl acetate (乙酸戊酯)	42.8 ~ 6 184	$= - 1.743 + 2.40 \times 10^{-2} A$	0.999 2
2-Octanol (2-辛醇)	52.1 ~ 4 728	$= - 3.844 + 2.73 \times 10^{-2} A$	0.999 4
Isopentyl acetate (乙酸异戊酯)	197.6 ~ 413.8	$= - 11.543 + 9.73 \times 10^{-2} A$	0.999 5
Hexyl acetate (乙酸己酯)	201.4 ~ 3 638	$= - 0.986 + 8.97 \times 10^{-4} A$	0.999 6
Hexyl 2-methyl butyrate (二甲基丁酸己酯)	193 ~ 3 894	$= - 1.494 + 3.77 \times 10^{-4} A$	0.996 2

表 4 标样的相对回收率

Table 4 The recovery of standard samples

	Hexanal	2- Hexanal	Pentyl acetate	Isopentyl acetate	Hexyl butyrate	2- Octanol	Hexyl 2- methyl butyrate
Content / (mg · L ⁻¹)	7.13	7.12	7.15	7.12	7.15	7.12	7.15
Found / (mg · L ⁻¹)	7.10	6.42	6.25	5.43	7.12	5.53	7.13
Recovery R/ %	100	90	88	76	100	78	100

2.5 讨论

通过对金帅、澳洲青苹、国光、新红星、富士及秦冠 6 种苹果品种的芳香物质定性和定量的研究, 得出苹果品种中主要的芳香组分为: 1-丁醇、丙酸乙酯、2-甲基-1-丁醇、己醛、2-己醛、1-己醇、6-甲基-5庚烯二酮、丁酸己酯、己酸己酯等。不同苹果品种在醇、醛和酯类上存在着一定的差异(见表 1)。总的来看, 香气浓郁的甜香型苹果如元帅、新红星、金帅不仅芳香成分的种类丰富而且以各种酯类芳香组分居多含量高, 而香气清淡的青苹果如澳洲青苹芳香组分种类少且含量低。

本实验若采用直接进标样的方法制作标准曲线, 由 SPME 装置所带来的系统误差使实验结果的准确性降低。这主要是因为不同的芳香组分不仅受 SPME 萃取头吸附能力的影响, 而且达到吸附平衡所需要的时间不同, 同时果汁中的成分对芳香成分也有一定的束缚作用, 各芳香组分之间还存在着竞争效应。因此采用脱香处理后的苹果汁为基体制作标准曲线, 最大程度地接近苹果汁营养组分体系, 由此可以消除由果汁和 SPME 装置带来的系统误差, 从而增加实验结果的准确性。

通过对不同品种的苹果中芳香成分的分析鉴定, 作者认为在苹果汁加工专用品种基地建设, 在考虑品种酸度的同时也不能忽视品种的香气特征这个重要的质量指标。实验发现, 国光品种不仅具有酸度高, 同时还拥有芳香成分特征好的特点, 金帅也具有良好的特征香气且榨汁后褐变程度轻, 均属比较理想的制汁品种。对于只具备酸度高(如澳洲青苹)或香气特征好(如: 新红星等)品种, 建议榨汁时可按一定比例做适度的搭配以弥补不足。

参考文献:

- [1] ALEXANDRA S, JNUSEZ P. [J]. *Agric Food Chem*, 1996, 44: 2187 - 2193.
- [2] RBERT D, POLLIEN P, MILO C. [J]. *Agric Food Chem*, 2000, 48: 2430 - 2437.
- [3] STEFFEN A, PAWLISZYN J. [J]. *Agric Food Chem*, 1996, 44: 2187 - 2193.
- [4] KATJA S, SEVEN A, MARTIN H, *et al.* [J]. *Agric Food Chem*, 1998, 46: 4496 - 4500.
- [5] MANGAS J J, GONZALEZ M P, RODRIGUEZ R, *et al.* [J]. *Chromatographia*, 1996, 42(1/2): 101 - 105.
- [6] WU Jihong, HU Xiaosong, ZHOU Shan, *et al.* [J]. *Chinese Journal of Foodstuff*(吴继红, 胡小松, 周 珊, 等. [J]. *中国食品学报*), 2003, 增刊. 63 - 66.
- [7] WANG Liping, XU Yan, ZHAO Guangao, *et al.* [J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*(汪立平, 徐 岩, 赵光鳌, 等. [J]. *无锡轻工大学学报*), 2003, (1): 2 - 6.
- [8] WU Liejun. *Analysis Method of Gas Chromatography*[M]. Beijing: Chemical Industry Press(吴烈钧. *气相色谱分析法*[M]. 北京: 化学工业出版社), 2002.

(上接第 100 页)

参考文献:

- [1] LIAO Zji. *Environmental Chemistry and Biological Effect of Trace Element*[M]. Beijing: China Environmental Science Press(廖自基. *钼的环境化学及生物效应. 微量元素的环境化学及生物效应*[M]. 北京: 中国环境科学出版社), 1992. 61 - 80.
- [2] LI Kunwei, KONG Xiaoduo, LIU Qi. [J]. *Journal of Instrumental Analysis*(李坤威, 孔晓朵, 刘 奇. [J]. *分析测试学报*), 2003, 22(1): 81 - 83.
- [3] DENG Hanqin, ZHONG Xinwen, YU Xuelin. [J]. *Metallurgical Analysis*(邓汉芹, 钟新文, 喻雪琳. [J]. *冶金分析*), 2003, 23(2): 48 - 49.
- [4] ZHENG Xingwang, ZHANG Zhujun, WANG qi, *et al.* [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*(郑行望, 章竹君, 王 琦, 等. [J]. *分析化学*), 2003, 31(9): 1076 - 1078.
- [5] MA Yanfang, CHI Quan, HAN Hongyin, *et al.* [J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*(马艳芳, 池 泉, 韩红印, 等. [J]. *光谱实验室*), 2001, 18(5): 633 - 636.
- [6] LI Yuanqian, YANG Jinguo, ZHENG Xin, *et al.* [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*(黎源倩, 杨经国, 郑 欣, 等. [J]. *分析化学*), 1998, 26(7): 843 - 846.