

顶空固相微萃取-气质联用法结合自动解卷积技术分析葛根中的挥发性成分

张鹏云^{1,2}, 李 蓉^{1,*}, 陈丽斯¹, 林淑绵¹, 杨 芳¹, 张 峰³

(1. 中山出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 广东 中山 528400; 2. 广东药科大学公共卫生学院, 广东 中山 528458;

3. 中国检验检疫科学研究院食品安全研究所, 北京 100176)

摘 要: 建立顶空固相微萃取-气相色谱-质谱结合自动解卷积技术分析葛根中挥发性物质的分析方法, 以总峰面积和峰数目为考察指标, 通过单因素试验和正交试验对不同萃取条件进行优化。结果表明, 萃取温度对峰数目和总峰面积的影响较大, 较佳萃取条件为样品量3.0 g、50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头、萃取温度90 $^{\circ}\text{C}$ 、平衡时间13 min、萃取时间50 min、解吸时间5 min; 在此条件下, 鉴定出葛根挥发性成分67种, 分别为酯类11种、醛类22种、醇类9种、酮类5种、萜烯类8种和12种其他类物质。

关键词: 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱联用; 葛根; 挥发性成分; 正交试验

Analysis of Volatile Compounds in *Pueraria Radix* Using Headspace Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (HS-SPME-GC-MS) Combined with Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (AMDIS)

ZHANG Pengyun^{1,2}, LI Rong^{1,*}, CHEN Lisi¹, LIN Shumian¹, YANG Fang¹, ZHANG Feng³

(1. Inspection and Quarantine Technology Center, Zhongshan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhongshan 528400, China;

2. School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458, China;

3. Institute of Food Safety, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China)

Abstract: A method for the determination of volatile compounds in *Pueraria Radix* by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with the automatic deconvolution software automated mass spectral deconvolution and identification system (AMDIS) was established. Total peak area and number of peaks were used as response variables to optimize the extraction conditions of HS-SPME by one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods. The results showed that the extraction conditions were optimized as follows: 3.0 g of sample, equilibration time 13 min, extraction for 50 min at 90 $^{\circ}\text{C}$ using 50/30 μm DVB/CAR/PDMS fiber and then desorption for 5 min. Under these conditions, 67 volatile components were identified, including 11 esters, 22 aldehydes, 9 alcohols, 5 ketones, 8 terpenes, and 12 others.

Keywords: headspace solid-phase microextraction (HS-SPME); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); *Pueraria Radix*; volatile compounds; orthogonal array design

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180522-325

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2019) 12-0220-06

引文格式:

张鹏云, 李蓉, 陈丽斯, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法结合自动解卷积技术分析葛根中的挥发性成分[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 220-225. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180522-325. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Pengyun, LI Rong, CHEN Lisi, et al. analysis of volatile compounds in *Pueraria Radix* using headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) combined with automated mass spectral deconvolution and identification system (AMDIS)[J]. Food Science, 2019, 40(12): 220-225. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180522-325. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2018-05-22

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项 (2017YFF0211000)

第一作者简介: 张鹏云 (1993—) (ORCID: 0000-0002-3895-1368), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全。

E-mail: zhangpyun728@163.com

*通信作者简介: 李蓉 (1969—) (ORCID: 0000-0002-3728-409X), 女, 研究员, 学士, 研究方向为食品安全检测技术。

E-mail: lirong828@126.com

葛根 (*Pueraria Radix*) 是豆科植物野葛 (*P. lobata* Willd. Ohwi) 的干燥根, 主要种植于我国河南、河北、湖南、辽宁、广东、浙江等地^[1]。葛根含有丰富的淀粉、膳食纤维、糖类物质, 还含有多种黄酮类化合物, 如大豆素、葛根素、黄豆苷、葛根素木糖苷等^[2-3]。《神农本草经》记载其味甘、辛, 凉。归脾、胃、肺经。有解肌退热, 生津止渴, 透疹, 升阳止泻, 通经活络, 解酒毒等功效^[4]。现代药理学研究表明, 葛根具有改善心脑血管疾病、降血糖、降血脂、抗肿瘤、解酒等作用, 在临床上可用于治疗高血压、心绞痛、冠心病、偏头疼、糖尿病、肠道病变等疾病^[5-6]。

目前国内外对葛根的研究与开发主要集中在葛根多糖^[7]、葛根素^[8]、异黄酮类化合物提取^[9]等方面, 而对其挥发性化学成分的研究鲜有报道。为更好开发利用葛根, 本研究采用顶空固相微萃取的方式, 直接萃取葛根样品中的挥发性成分, 然后利用气相色谱-三重四极杆串联质谱仪进行检测分析。与传统的水蒸气蒸馏法相比, 顶空固相微萃取技术具有简单便捷、灵敏度高、节约成本、无需溶剂等优点^[10], 能够更加真实地反映出样品中的挥发性成分, 在挥发性物质分析中具有显著优势。由于色谱的分离能力有限, 一些结构、极性相似的组分色谱峰会发生部分或完全重叠, 此时按照常用的NIST谱库检索方法无法得到准确的匹配结果^[11]。而自动质谱退卷积定性系统 (automated mass spectral deconvolution and identification system, AMDIS) 能够对挥发性物质的总离子流图进行自动解卷积处理, 可以提取未知组分更“纯净”的质谱图, 此时再通过谱库检索结合保留指数来匹配化合物^[12-13], 使定性结果更加准确。

本研究以葛根为研究对象, 采用顶空固相微萃取技术结合气相色谱-三重四极杆串联质谱对其挥发性成分进行检测, 并对其萃取条件进行优化, 并利用AMDIS和保留指数对各组分进行定性分析。该方法自动化程度高、操作简单、快速、结果准确可靠, 可为葛根的进一步研究与开发提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

葛根干药材 (产自广西) 中山市中智大药房连锁有限公司; 正构烷烃混合标准品 ($C_7 \sim C_{40}$) 美国O2si公司。

1.2 仪器与设备

TSQ 8000气相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪 (配电子电离源及Xcalibur数据处理系统)、TRIPLUS RSH自动进样器、20 mL顶空样品瓶、固相微萃取自动进样手柄美国Thermo公司; 50/30 μm 二乙基苯/碳分子筛/聚二甲基

硅氧烷 (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, DVB/CAR/PDMS) 固相微萃取头 美国Supelco公司。

1.3 方法

1.3.1 顶空固相微萃取

准确称取葛根碎块3.0 g置于20 mL顶空瓶中 (配有聚四氟乙烯垫的螺纹密封盖), 自动进样器将顶空瓶放在具有一定温度的孵化炉中平衡数分钟后, 将已老化的50/30 μm DVB/CAR/PDMS固相微萃取头迅速插入样品瓶顶空部分进行热吸附, 然后将吸附后的萃取头插入气相色谱进样口, 在250 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行解吸, 进入气相色谱-质谱系统进行分离检测。

1.3.2 气相色谱-质谱检测条件

色谱条件: TR-PESTICIDE弹性石英毛细柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 初始温度40 $^{\circ}\text{C}$, 保持1.0 min, 然后以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至200 $^{\circ}\text{C}$, 保持2 min, 再以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至250 $^{\circ}\text{C}$ 并保持2.0 min; 分流比10:1; 进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$; 载气为99.999%高纯度氦气; 流速1.2 mL/min。

质谱条件: 电子电离源; 离子源温度280 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度280 $^{\circ}\text{C}$; 电子能量70 eV; 扫描方式为全扫描; 质量扫描范围 m/z 35~400。

1.3.3 挥发性成分计算

在单因素试验和正交试验中, 扣除总离子流图中的杂质和柱流失的峰后, 对挥发性物质的峰进行积分, 再利用软件导出到Excel表格中, 得到各条件下的葛根挥发性物质的总峰面积和峰数目。

应用AMDIS对葛根中挥发性物质总离子流图自动进行反卷积处理, 所分辨的质谱在NIST 2.2标准谱库中检索, 根据匹配度、保留指数和文献已报道物质进行核对, 只选择正匹配和反匹配均大于800的物质, 并用峰面积归一化法计算葛根各挥发性物质的相对含量。

保留指数是 $C_7 \sim C_{40}$ 正构烷烃混标在和葛根样品相同的分析条件下进样后, AMDIS根据正构烷烃的保留时间, 自动计算出各挥发性组分的保留指数。

1.3.4 单因素试验

顶空固相微萃取法的萃取效果受萃取时间、萃取温度、平衡时间、解吸时间、样品体积等条件的影响^[14], 本研究在预实验基础上, 选取挥发性物质的总峰面积和峰数目为考察指标, 比较不同萃取温度、平衡时间、萃取时间、解吸时间对葛根挥发性物质萃取效果的影响, 并确定优化参数。

在预实验的基础上, 称取葛根碎块3.0 g, 放入20 mL顶空瓶中, 并使用50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头在萃取时间30 min、平衡时间10 min、解吸时间5 min的条件下, 考察不同萃取温度 (50、60、70、80、90 $^{\circ}\text{C}$) 的

萃取效果, 每个样品重复3次; 在确定萃取温度的基础上, 研究不同平衡时间(4、7、10、13、16 min)的萃取效果, 其余条件不变, 每个样品重复3次; 在确定萃取温度、平衡时间的基础上, 研究不同萃取时间(30、40、50、60 min)的萃取效果, 其余条件不变, 每个样品重复3次; 在最佳条件下, 研究不同解吸时间(3、5、7、9 min)的萃取效果, 其余条件不变, 每个样品重复测定3次。

1.3.5 正交试验设计

在单因素试验结果基础上, 平衡时间固定为13 min, 选择萃取温度、萃取时间和解吸时间3个影响因素, 利用SPSS 19.0设计3因素3水平正交试验, 优化试验参数, $L_9(3^4)$ 正交试验设计如表1所示。

表1 正交试验因素与水平

Table 1 Factors and coded levels used in orthogonal array design

水平	因素		
	A萃取温度/℃	B萃取时间/min	C解吸时间/min
1	70	40	3
2	80	50	5
3	90	60	7

1.4 数据处理

数据统计和图像处理采用Microsoft Excel软件完成。根据1.3.3节得到各条件下葛根挥发性组分的总峰面积和峰数目, 计算各条件下3次平行实验结果的总峰面积, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 萃取温度对萃取效果的影响

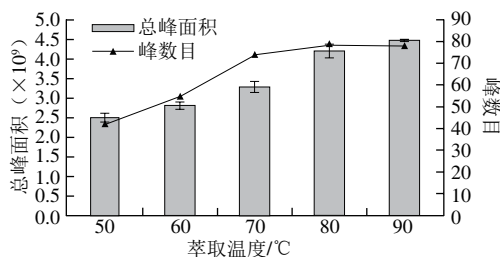


图1 萃取温度对葛根挥发性成分萃取效果的影响

Fig. 1 Effect of extraction temperature on the recovery of volatile compounds from *Pueraria Radix*

如图1所示, 随着萃取温度的升高, 葛根挥发性物质的总峰面积和峰数目都不断增加。当温度超过70 °C时, 总峰面积先急剧升高后缓慢增加; 而峰数目在50~70 °C时上升趋势显著, 超过70 °C时, 变化不大。这说明, 当萃取温度到达80 °C时, 葛根中的绝大部分挥发性物质已

经挥发出来, 并被萃取头吸附。这是因为挥发性物质在低温条件下挥发速度慢, 达到动态平衡所需时间长; 而当温度升高时加快了挥发性组分的运动速率, 促进了萃取头对目标物的富集吸附^[15-16]。但是高温下低沸点组分在与高沸点化合物的竞争吸附中处于劣势地位, 使得部分低沸点化合物流失^[17]。另外, 高温还可能使部分挥发性化合物发生变性或裂解^[16]。综合考虑, 本研究选择萃取温度为80 °C。

2.1.2 平衡时间对萃取效果的影响

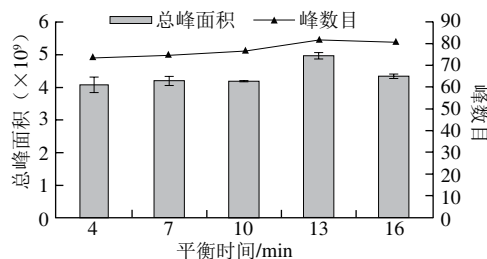


图2 平衡时间对葛根挥发性成分萃取效果的影响

Fig. 2 Effect of equilibration time on the extraction of volatile compounds from *Pueraria Radix*

葛根中的挥发性物质在气相中达到平衡所需要的时间即为平衡时间^[18]。如图2所示, 随着平衡时间的延长, 挥发性成分的总峰面积先不断增大后减小, 在13 min时达到了最大值。当延长平衡时间时, 挥发性组分的数目先缓慢增加后略有减少, 在13 min时达到最高值, 总体差异不明显。由此表明, 当平衡时间为13 min时, 挥发性物质在气相中达到了较平衡的状态, 萃取效果稳定, 有利于萃取头吸附。所以本研究将平衡时间设定为13 min。

2.1.3 萃取时间对萃取效果的影响

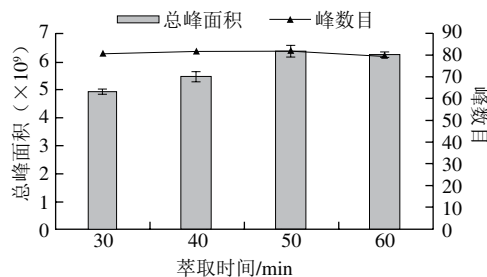


图3 萃取时间对葛根挥发性成分萃取效果的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on the recovery of volatile compounds from *Pueraria Radix*

顶空固相微萃取是一个动态平衡过程, 当分析物在萃取头、顶空和样品3相中达到平衡时的萃取效果最好, 所需时间即为萃取时间^[19]。由图3可知, 随着萃取时间的延长, 总峰面积呈先增加后降低的趋势, 而峰数目变化不大。当萃取时间达到50 min时, 总峰面积和峰数目均达到最大值, 说明此时挥发性物质达到较平衡状态, 萃

取头处于饱和吸附状态;当萃取时间超过50 min时,总峰面积和峰数目均有减小的趋势,萃取效果降低。这是由于随着萃取时间的延长,挥发性物质逐渐在3相中达到平衡状态,然后被萃取头吸附。萃取时间过短时,挥发性化合物被吸附不充分;萃取时间过长时,已经被萃取头吸附的组分可能逸出,出现解吸附现象,大大降低了萃取效果^[20]。综合考虑,本研究选择萃取时间为50 min。

2.1.4 解吸时间对萃取效果的影响

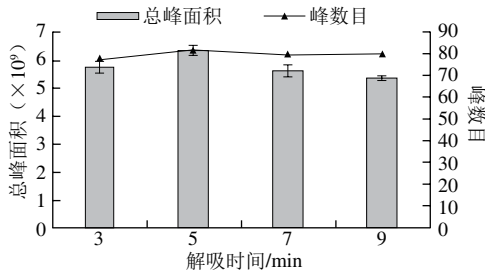


图4 解吸时间对葛根挥发性成分萃取效果的影响

Fig. 4 Effect of desorption time on the recovery of volatile compounds from *Pueraria Radix*

在同一解吸温度下,解吸时间的长短与挥发性物质从萃取头固定相中的解吸程度直接相关。当解吸时间短,挥发性组分解吸不完全时,不但影响方法的灵敏度,还会使后续样品分析受到污染^[21];反之,当解吸时间过长时,虽然待测组分能够完全解吸,但是会导致峰形变宽,高温下部分组分发生氧化,并且影响萃取头的使用寿命^[15-16,22]。从图4可以看出,随着解吸时间的延长,挥发性组分的总峰面积和峰数目均呈先增加后减小的趋势,且在5 min时均达到最大值。说明此时,挥发性组分已解吸完全,再延长时间反而会因为损害萃取头、峰形宽等原因降低萃取效率。因此,本研究选择解吸时间为5 min。

2.2 正交试验结果

表2 正交试验设计及结果

Table 2 Results and analysis of orthogonal array experiments

试验号	A萃取温度	B萃取时间	C解吸时间	i总峰面积 ($\times 10^9$)	j峰数目
1	3	3	1	7.961	87
2	1	2	3	5.392	79
3	1	1	1	4.261	77
4	3	2	2	9.837	91
5	3	1	3	6.407	84
6	2	1	2	6.500	86
7	1	3	2	5.573	80
8	2	3	3	7.585	87
9	2	2	1	7.598	88
K_{11} ($\times 10^{10}$)	1.523	1.717	1.982		
K_{12} ($\times 10^{10}$)	2.168	2.283	2.191		
K_{13} ($\times 10^{10}$)	2.420	2.112	1.938		
R_i ($\times 10^9$)	8.979	5.659	2.526		
K_{j1}	236	247	252		
K_{j2}	261	258	257		
K_{j3}	262	254	250		
R_j	26	11	7		

如表2所示,由直接观察分析可知最佳组合参数为4号方案即 $A_3B_2C_2$,而从极差结果来看,当以总峰面积作为萃取效果的考察指标时,3个因素对萃取效果的影响程度为 $A>B>C$,即萃取温度影响最大,萃取时间和解吸时间影响次之,较优组合为 $A_3B_2C_2$;当以峰数目为指标时,较优组合同样为 $A_3B_2C_2$,因素主次为 $A>B>C$ 。因此,在本研究中,对于不同的考察指标,3个因素对萃取效果的影响大小顺序相同,均为 $A>B>C$,且直接分析与极差分析结果一致。因此,最终确定顶空固相微萃取法萃取葛根挥发性成分的较优条件为:萃取温度90℃、平衡时间13 min、萃取时间50 min、解吸时间5 min。

2.3 较优条件下葛根挥发性成分分析

根据正交试验优化后的顶空固相微萃取条件,对葛根挥发性成分进行萃取并检测分析,其挥发性物质成分的总离子流图见图5,挥发性组分及相对含量如表3所示。

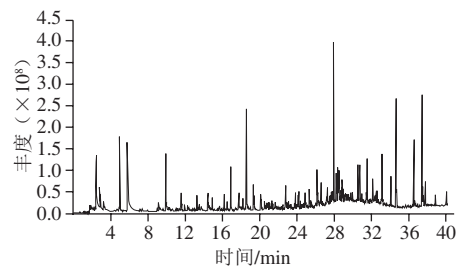


图5 葛根挥发性物质的总离子流图

Fig. 5 Total ion chromatogram of volatile compounds in *Pueraria Radix*

表3 葛根的挥发性成分

Table 3 Volatile components identification from *Pueraria Radix*

序号	化合物名称		CAS号	匹配度		保留指数		相对含量/%
	中文	英文		正匹配	反匹配	计算值	参考值	
1	醋酸	acetic acid	64-19-7	949	950	613	610	4.28
2	3-甲基丁醛	3-methyl-butanal	590-86-3	941	941	652	652	0.57
3	2-甲基丁醛	2-methyl-butanal	96-17-3	911	910	662	662	0.20
4	戊醛	valeraldehyde	110-62-3	909	925	700	699	0.30
5	2-乙基呋喃	2-ethylfuran	3208-16-0	920	920	703	703	0.11
6	2,3-丁二醇	2,3-butanediol	513-85-9	939	943	787	788	0.12
7	(S,S)(+)-2,3-丁二醇	(S,S)-2,3-butanediol	19132-06-0	935	940	798		0.19
8	己醛	hexanal	66-25-1	959	965	802	800	3.60
9	糠醛	furfural	98-01-1	949	950	836	833	5.93
10	2-庚酮	2-heptanone	110-43-0	908	908	892	891	0.13
11	庚醛	heptanal	111-71-7	880	880	903	901	0.16
12	(Z)-2-庚烯醛	(Z)-2-heptenal	57266-86-1	901	901	959	958	0.22
13	苯甲醛	benzaldehyde	100-52-7	957	957	965	962	0.82
14	1-辛烯-3-醇	1-octen-3-ol	3391-86-4	908	914	982	980	0.15
15	2-正戊基呋喃	2-pentylfuran	3777-69-3	937	937	992	993	3.58
16	反-2-(2-戊烯基)呋喃	trans-2-(2-pentenyl)furan	70424-14-5	858	858	1003	1002	0.06
17	辛醛	octanal	124-13-0	944	944	1005	1003	0.17
18	柠檬烯	D-limonene	5989-27-5	923	923	1030	1031	0.16
19	2-乙基己醇	2-ethylhexanol	104-76-7	920	920	1032	1030	0.07
20	5-乙基-1-甲酰基环戊烯	5-ethyl-1-formylcyclopentene	36431-60-4	827	828	1035	1040	0.16

续表3

序号	化合物名称		CAS号	匹配度		保留指数		相对含量/%
	中文	英文		正匹配	反匹配	计算值	参考值	
21	3-辛烯-2-酮	3-octen-2-one	1669-44-9	868	868	1 042	1 040	0.13
22	苯乙醛	benzeneacetaldehyde	122-78-1	955	963	1 049	1 045	1.19
23	反-2-辛烯醛	(E)-2-octenal	2548-87-0	924	924	1 061	1 060	0.41
24	3,5-辛二烯-2-酮	3,5-octadien-2-one	38284-27-4	883	883	1 098	1 091	0.20
25	壬醛	nonanal	124-19-6	949	949	1 106	1 104	0.85
26	苯乙醇	phenylethyl alcohol	60-12-8	916	927	1 121	1 116	0.37
27	反-2-壬醛	(E)-2-nonenal	18829-56-6	945	945	1 162	1 162	0.83
28	萘	naphthalene	91-20-3	966	966	1 190	1 182	0.39
29	α -松油醇	α -terpineol	98-55-5	809	820	1 196	1 189	0.09
30	癸醛	decanal	112-31-2	954	954	1 207	1 206	0.92
31	(E,E)-2,4-壬二烯醛	(E,E)-2,4-nonadienal	5910-87-2	938	938	1 218	1 216	0.66
32	反-2-癸烯醛	(E)-2-decenal	3913-81-3	839	867	1 264	1 263	1.97
33	大茴香脑	anethole	104-46-1	958	958	1 292	1 286	6.61
34	2-甲基萘	2-methylnaphthalene	91-57-6	927	927	1 301	1 298	0.16
35	正十一醛	undecanal	112-44-7	907	907	1 309	1 307	0.19
36	2-十一烯醛	2-undecenal	2463-77-6	899	899	1 367	1 367	0.48
37	2-丁基-2-辛烯醛	2-butyl-2-octenal	13019-16-4	900	903	1 377	1 378	0.38
38	β -广藿香烯	β -patchoulene	514-51-2	875	875	1 388	1 381	0.40
39	月桂醛	dodecanal	112-54-9	841	935	1 410	1 409	0.35
40	α -柏木烯	α -cedrene	469-61-4	857	874	1 420	1 411	0.12
41	1,4-二甲苯萘	1,4-dimethylnaphthalene	571-58-4	876	911	1 428	1 436	0.19
42	α -愈创木烯	α -guaiene	3691-12-1	940	940	1 444	1 439	0.27
43	塞瑟尔烯	seychellene	20085-93-2	885	885	1 452	1 459	0.18
44	香叶基丙酮	dihydropseudoionone	689-67-8	899	899	1 456	1 456	2.14
45	α -广藿香烯	α -patchoulene	560-32-7	822	840	1 465	1 457	0.40
46	反-2-十二烯醛	(E)-2-dodecenal	20407-84-5	828	828	1 469	1 468	0.62
47	佛术烯	eremophilene	10219-75-7	843	843	1 503	1 499	0.24
48	9-氧代壬酸乙酯	9-oxononanoic acid ethyl ester	3433-16-7	832	866	1 510	1 505	0.46
49	δ -愈创木烯	δ -guaiene	3691-11-0	937	937	1 513	1 505	1.13
50	2,4-二叔丁基苯酚	2,4-di-tert-butylphenol	96-76-4	906	906	1 521	1 519	0.56
51	3-甲基十五烷	3-methylpentadecane	2882-96-4	873	873	1 569	1 570	0.41
52	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯	2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	6846-50-0	888	888	1 599	1 588	0.78
53	酞酸二乙酯	diethyl phthalate	84-66-2	905	922	1 603	1 594	0.44
54	表雪松醇	epicedrol		856	856	1 615	1 612	2.62
55	刺蕊草醇	pogostol	21698-41-9	865	880	1 666	1 655	0.53
56	广藿香醇	patchouli alcohol	5986-55-0	951	951	1 675	1 660	9.72
57	十五醛	1-pentadecanal	2765-11-9	926	926	1 716	1 715	1.34
58	2,6,10,14-四甲十六烷	2,6,10,14-tetramethylhexadecane	638-36-8	886	887	1 805	1 792	2.81
59	植酮	hexahydrofarnesyl acetone	502-69-2	926	928	1 846	1 844	2.99
60	邻苯二甲酸二异丁酯	phthalic acid, diisobutyl ester	84-69-5	935	935	1 875	1 870	1.45
61	十六酸甲酯	hexadecanoic acid, methyl ester	112-39-0	936	936	1 924	1 926	3.64
62	邻苯二甲酸二丁酯	dibutyl phthalate	84-74-2	946	946	1 967	1 965	2.22
63	十六酸乙酯	hexadecanoic acid, ethyl ester	628-97-7	913	913	1 993	1 993	7.63
64	7,10-十八碳二烯酸甲酯	7,10-octadecadienoic acid, methyl ester	56554-24-6	800	804	2 097	2 097	3.70
65	十八酸甲酯	methyl stearate	112-61-8	859	859	2 130	2 128	0.17
66	亚油酸乙酯	linoleic acid ethyl ester	544-35-4	937	944	2 166	2 162	4.80
67	己二酸双(2-乙基己基酯)	hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	103-23-1	922	922	2 402	2 398	0.76

由表3可知,在较佳条件下葛根挥发性成分总离子流图共分离得到91种组分,并鉴定出其中67种成分,占挥发性物质总量的88.91%,包括烯炔类、醛类、酯类、醇类、酮类及其他类化合物。其中,相对含量最高的为酯类,有11种,占挥发性物质总量的26.05%;其次为醛类22种(22.16%),醇类9种(13.85%),酮类5种(5.59%),萜烯类8种(2.88%)。另外相对含量从高到底排名前10的依次为广藿香醇(9.72%)、十六酸乙酯(7.63%)、大茴香脑(6.61%)、糠醛(5.93%)、亚油酸乙酯(4.80%)、醋酸(4.28%)、7,10-十八碳二烯酸甲酯(3.70%)、十六酸甲酯(3.64%)、己醛(3.60%)和2-正戊基呋喃(3.58%),占挥发性成分总量的53.49%。

从表3可以看出,酯类化合物是葛根的主要香气成分,其中十六酸乙酯的相对含量最高(7.63%),呈微弱蜡香、果爵和奶油香气;其次为亚油酸乙酯(4.80%),具有腊肠风味。

醛类化合物一般具有良好的风味,也是本研究中葛根样品的主要呈香物质。其中,壬醛、己醛、苯甲醛、癸醛、庚醛等化合物具有青草香、花香和水果的甜味^[23];反-2-辛烯醛、正辛醛等呈黄瓜和柑橘样香气^[24];而2-甲基丁醛具有独特的可可和咖啡香气^[24]。这些酮类物质可能来源于氨基酸与葡萄糖发生降解反应所产生。

葛根中的醇类呈香物质主要为广藿香醇(9.72%),具有较淡的广藿香香气;而苯乙醇具有柔和、愉快而持久的玫瑰香气^[16],相对含量为0.37%;1-辛烯-3-醇和 α -松油醇分别呈现出蘑菇香味和樟脑气味^[21],相对含量分别为0.15%和0.09%。

酮类物质具有令人愉快的柠檬草香、奶香、果香等气味,少数具有油脂气息^[23]。而相对含量较高的醚类化合物大茴香脑(6.61%)具有茴香的特殊气味,味甜。这些具有风味的化合物构成了葛根的主要挥发性成分,对这些芳香物质进行检测能够反映葛根产品的品质,并为葛根产品的鉴定和评价提供参考。

另外本研究检测到的柠檬烯具有抗肿瘤、抗氧化应激、抗炎等生理活性,临床上可以用于溶解胆结石、缓解胃灼热等治疗^[25];大茴香脑具有暖胃、健胃、驱寒、消炎、止痛等作用,还可当作增香剂用于糖果、牙膏、饮料等产品中^[26];据陈晓盈^[27]研究报道 β -广藿香烯具有抗炎、抗急性肺损伤的作用;广藿香醇具有抗炎、抑制多种真菌无性繁殖的作用^[28]; α -松油醇对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌等常见病原菌具有一定的杀灭作用^[29],还具有抗痉挛^[30]、抗炎^[31]等作用。

本研究鉴定出葛根挥发性组分与其他文献报道有一定差异。李耀华等^[32]采用水蒸气蒸馏法提取四川、湖南、广西3个产地葛根中挥发油,并用气相色谱-质谱联

用仪检测各产地葛根挥发油组分,结果显示3个产地葛根挥发油分别鉴定出20、24、21种组分且含量最高的均为亚油酸。经比较发现,本研究鉴定出的葛根挥发性成分远多于上述文献报道,说明该检测方法和定性分析手段具有显著的优越性。

3 结 论

本研究通过单因素试验和正交试验确定顶空固相微萃取法提取葛根挥发性成分的较佳参数为:称取葛根碎块3.0 g,放入20 mL顶空瓶中,并使用50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头在90 $^{\circ}\text{C}$ 条件下平衡13 min,萃取50 min,最后在进样口解吸5 min。

采用气相色谱-质谱联用仪对较佳条件下萃取的葛根挥发性物质进行检测,并利用AMDIS和保留指数对其组分进行定性分析,最终鉴定出67种化合物。其中,相对含量最高的为酯类(26.05%),其次为醛类(22.16%)、醇类(13.85%)、酮类(5.59%)、萜烯类(2.88%)等,对这些挥发性化合物进行检测能够反映葛根产品的品质。该方法自动化程度高、操作简单、定性更加准确、结果更加可靠,为葛根品质的鉴定和评价提供了有力支持,也为葛根产业的发展提供了理论基础。该方法也可以应用到其他药食同源植物挥发性成分检测分析中,为控制药食同源产品质量,促进药食同源产业发展提供了科学支持。

参考文献:

- [1] 蔡琳. 葛根的化学成分、药理及临床作用的研究进展[J]. 山东化工, 2014, 43(8): 40-41. DOI:10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2014.08.018.
- [2] 魏述永. 葛根及葛根素脑保护作用的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 259-263. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201517048.
- [3] SONG W, LI Y J, QIAO X, et al. Chemistry of the Chinese herbal medicine *Puerariae Radix* (Ge-Gen): a review[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2014, 23(6): 347-360. DOI:10.5246/jcps.2014.06.048.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 333.
- [5] 张晓娟, 周海纯. 葛根化学成分, 现代药理及临床应用研究进展[J]. 中医药信息, 2017, 34(1): 124-126. DOI:10.3969/j.issn.1002-2406.2017.01.039.
- [6] 刘婷. 葛根的药理及中医临床作用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(11): 5-6. DOI:10.3969/j.issn.1007-8517.2009.11.004.
- [7] 裴莉昕, 纪宝玉, 陈随清, 等. 葛根多糖提取工艺的优化[J]. 中国现代中药, 2017, 19(4): 553-556; 567. DOI:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.4.017.
- [8] 邱远, 芮昕, 谢翌冬, 等. 响应面法优化超声提取葛根素工艺[J]. 食品科学, 2014, 35(6): 1-5. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201406001.
- [9] 罗秋水, 杜华英, 熊建华, 等. 葛根异黄酮类化合物提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 104-110. DOI:10.16429/j.1009-7848.2015.02.016.
- [10] XIAO L, LEE J, ZHANG G, et al. HS-SPME GC/MS characterization of volatiles in raw and dry-roasted almonds (*Prunus dulcis*)[J]. Food Chemistry, 2014, 151: 31-39. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.11.052.
- [11] 任恒鑫, 张舒婷, 吴宏斌, 等. GC-MS-AMDIS结合保留指数分析藿香挥发油[J]. 食品科学, 2013, 34(24): 230-232. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201324048.
- [12] 何志海, 侯功坦, 梁虹瑜, 等. 气相色谱质谱联用法分析藿香正气口服液中的挥发性成分[J]. 分析实验室, 2014, 33(2): 229-235. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2014.0052.
- [13] YAN J, LIU X B, ZHU W W, et al. Retention Indices for identification of aroma compounds by GC: development and application of a retention index database[J]. Chromatographia, 2015, 78(1): 1-20. DOI:10.1007/s10337-014-2801-y.
- [14] 张小俊, 赵志鸿, 张壮丽, 等. HS-SPME-GC-MS测定艾叶挥发性成分方法优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 66-71. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2014210066.
- [15] 白俊英, 黄仁华, 陆云梅, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析费约果叶片挥发性香气成分条件优化[J]. 色谱, 2016, 34(8): 778-782. DOI:10.3724/SP.J.1123.2016.04006.
- [16] 薛妍君, 张丽, 冯莉, 等. 芹菜芳香成分的固相微萃取条件优化与分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(1): 328-333. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.01.061.
- [17] 唐进根, 凌娜, 杨晓军. 固相微萃取-气相色谱/质谱测定杨树叶片的挥发性物质[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2010, 39(2): 150-153. DOI:10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).2010.02.014.
- [18] 张彦军, 徐飞, 谭乐和, 等. HS-SPME-GC/MS分析海南产糯米香叶的挥发性成分[J]. 热带作物学报, 2015, 36(3): 603-610. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2015.03.027.
- [19] 韩素芳, 丁明, 刘亚群, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱测定百香果香气条件的优化[J]. 中国食品学报, 2010, 10(4): 278-284. DOI:10.3969/j.issn.1009-7848.2010.04.042.
- [20] 初众, 王海茹, 张彦军, 等. HS-SPME-GC-MS技术分析香草兰果皮的挥发性成分[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 126-131. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201606022.
- [21] TAT L, COMUZZO P, STOLFO I, et al. Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas[J]. Food Chemistry, 2005, 93(2): 361-369. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.11.025.
- [22] 艾对, 张富新, 于玲玲, 等. 羊奶中挥发性成分顶空固相微萃取条件的优化[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(1): 40-46.
- [23] 王进, 朱建才. 应用GC-MS/GC-O法鉴定阿胶关键香气化合物[J]. 食品工业, 2016, 37(7): 265-269.
- [24] 吴琼, 刘奕, 吴庆园, 等. 不同干燥方式对葛根全粉抗氧化性能和香气成分的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 202-208. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201706032.
- [25] 陈晨, 盛云华, 唐黎明, 等. 右旋柠檬烯的药理毒理及临床应用研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(12): 1698-1703. DOI:10.16522/j.cnki.cjph.2017.12.004.
- [26] 李超群, 蒋天成. 高纯度天然大茴香脑生产技术研究[J]. 香料香精化妆品, 2013(2): 17-19. DOI:10.3969/j.issn.1000-4475.2013.02.004.
- [27] 陈晓盈. β -广藿香烯抗炎作用及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016: 39.
- [28] 黎玉翠. 广藿香酮及广藿香醇的抗炎、抗真菌活性及药物代谢研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2013: 123-125.
- [29] 韩杰, 苏裕心, 陈金龙, 等. α -松油醇杀菌效果的试验观察[J]. 中国消毒学杂志, 2014, 31(4): 333-335.
- [30] DAMIÃO P D S, LUCINDO G, REINALDO N D A. Evolution of the anticonvulsant activity of α -terpineol[J]. Pharmaceutical Biology, 2007, 45(1): 69-70. DOI:10.1080/13880200601028388.
- [31] HELD S, SCHIEBERLE P, SOMOZA V. Characterization of α -terpineol as an anti-inflammatory component of orange juice by *in vitro* studies using oral buccal cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(20): 8040-8046. DOI:10.1021/jf071691m.
- [32] 李耀华, 卢澄生, 曾颖虹, 等. 不同产地葛根挥发油成分的比较分析[J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(11): 24-25.