

两种前处理方法分析竹醋液挥发性成分的比较

王进¹, 崔宇², 王志勇², 岳永德^{1,*}, 汤锋¹

(1. 国家林业局竹藤科学与技术重点实验室, 国际竹藤网络中心, 北京 100102;

2. 中国林产品经销公司, 北京 100029)

摘要: 为探明用于熏液的竹醋液挥发性成分, 分别采用吹扫捕集-热脱附法(purge and trap-thermal desorption, P & T-TD)和液液分配萃取(liquid-liquid extraction, LLE)法对竹醋液中挥发性成分进行富集, 以气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行定性检测, 用面积归一化法确定各组分的相对含量。结果表明: 两种方法共鉴定竹醋液挥发性成分——酸类、酚类、酮类、酯类、醛类等化合物共 50 种, 其中 P & T-TD-GC-MS 鉴定出 28 种、LLE-GC-MS 鉴定出 29 种, 相对含量在 2% 以上的主要成分为乙酸甲酯、丙酸甲酯、乙酸、1-羟基-2-丁酮、环戊酮、糠醛、苯酚、甲基环戊烯醇酮和 2,6-二甲氧基苯酚。两种方法获得的竹醋液挥发性成分差异较大, 具有一定的互补性, 相结合应用两种方法能够较全面地检测出竹醋液的挥发性成分。

关键词: 竹醋液; 挥发性成分; 气相色谱-质谱联用法(GC-MS); 吹扫-捕集-热脱附法(P & T-TD); 液液分配萃取(LLE)

Comparison of Two Sample Pretreatment Methods for Volatile Composition Analysis of Bamboo Vinegar

WANG Jin¹, CUI Yu², WANG Zhi-yong², YUE Yong-de^{1,*}, TANG Feng¹

(1. International Centre for Bamboo and Rattan, Key Laboratory of Bamboo and Rattan Science and Technology, State Forestry Administration, Beijing 100102, China; 2. China National Forest Products Trading Corporation, Beijing 100029, China)

Abstract: The volatile composition of bamboo vinegar was qualitatively analyzed by each of the pretreatment methods purge and trap-thermal desorption (P & T-TD) and liquid-liquid extraction (LLE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and quantified by peak area normalization method. A total of 50 compounds including acids, phenols, ketones, esters, aldehydes, etc. were identified in bamboo vinegar based on both pretreatment methods, of which 28 were identified by P & T-TD/GC-MS, and 29 by LLE/GC-MS. The major components with a relative content of more than 2% were acetic acid methyl ester, methyl propionate, acetic acid, 1-hydroxy-2-butanone, cyclopentanone, furfural, phenol, 2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one, and 2,6-dimethoxy-phenol. The volatile composition of bamboo vinegar identified by both methods revealed considerable differences and complementarities. So, the combination of both methods can result in a complete determination of the volatile composition of bamboo vinegar.

Key words: bamboo vinegar; volatile compounds; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); purge and trap-thermal desorption (P & T-TD); liquid-liquid extraction (LLE)

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)18-0198-04

烟熏食品古老而悠久, 用烟熏的方法来烤制鱼肉、畜肉等, 不仅能够提高它们的保存性, 而且使熏制品具有特有的色泽和风味^[1]。竹醋液是竹材在热解或干馏过程中产生的烟气经冷凝收集得到的棕褐色液体, 具有特殊的烟熏味^[2-4]。竹醋液可作为熏液使用, 用其熏制后的火腿和香肠不易生虫, 味道更鲜美, 效果和安全

性优于烟熏^[5-6]。竹醋液的挥发性成分是烟熏气味及其应用的物质基础。在挥发性成分的检测中, 样品的前处理是关键环节, 常规的技术为液液分配萃取(liquid-liquid extraction, LLE), 近年来发展的一些新技术, 如吹扫捕集-热脱附技术(purge and trap-thermal desorption, P & T-TD), 已广泛应用于水果香气^[7-9]、挥发油^[10-11]、

收稿日期: 2011-06-03

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2008BADA9B05); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1632010003)

作者简介: 王进(1977—), 男, 助理研究员, 在职博士研究生, 研究方向为植物化学。E-mail: wangjin@icbr.ac.cn

* 通信作者: 岳永德(1952—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为植物化学、食品安全。E-mail: yueyd@icbr.ac.cn

饮用水^[12]中挥发性有机物和食品储藏^[13-14]过程中的挥发性成分的变化等研究领域。

目前,有关竹醋液挥发性成分的研究报道较少^[15-16],未见用吹扫捕集-热脱附法对竹醋液挥发性物质分析的报道。本研究拟利用吹扫捕集-热脱附技术和液液分配萃取两种前处理技术分别富集竹醋液的挥发性成分,应用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析比较其化学成分,为促进竹醋液应用于熏液方面的开发利用提供实验依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与amp;仪器

竹醋液(用于熏液) 江苏江阴中炬生物科技有限公司。乙醚(分析纯) 北京化工厂。

6890N/5973i气相色谱-质谱联用仪(配7683自动进样器) 美国Agilent公司; TurboMatrix 650 ATD全自动热脱附仪(配Tenax TA吸附管) 美国PE公司; 吹扫捕集瓶 自制。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

吹扫捕集竹醋液挥发性成分分析:取20mL竹醋液于自制的捕集瓶中,在室温条件下,一端以80mL/min的流速通入氮气(99.999%),另一端接上老化后的吸附管,采样时间20min。

液液分配萃取:取100mL竹醋液于250mL分液漏斗中,加入饱和氯化钠溶液和30mL乙醚,液液分配萃取3次,每次30mL,有机相经无水硫酸钠干燥后于100mL容量瓶中,待测。

1.2.2 色谱条件

色谱柱: J&W DB-5 石英毛细柱(30m × 0.25mm, 0.25 μm); 升温程序: 35℃保持3min,以2℃/min升至80℃,以10℃/min升至150℃,再以15℃/min升至210℃; 载气(He)流速1.5mL/min,进样量1 μL; 分流比20:1。

1.2.3 质谱条件

电子轰击(electron impact, EI)离子源; 电子能量70eV; 传输线温度280℃; 离子源温度230℃; 四极杆温度150℃; 质量扫描范围 *m/z* 20~550。

1.2.4 热脱附仪条件

样品管脱附温度(一级热脱附温度)280℃,加热10min; 一级热脱附过程中冷阱温度为-30℃,一级至二级热脱附过程中冷阱以40℃/s升温至300℃; 热脱附方式: 进口分流,干吹1min; 脱附流量: 50mL/min,载气流速1.5mL/min,出口分流流量23mL/min,入口分

流流量40mL/min,传输线温度255℃。

2 结果与分析

采用吹扫捕集-热脱附气质联用法和液液分配萃取后气质联用法分析竹醋液挥发性成分的总离子流图见图1。采用Nist 02标准质谱图库进行数据检索,仅当匹配度大于80%的鉴定结果予以报道,并用峰面积归一化法计算样品中各组分的相对含量,结果见表1。

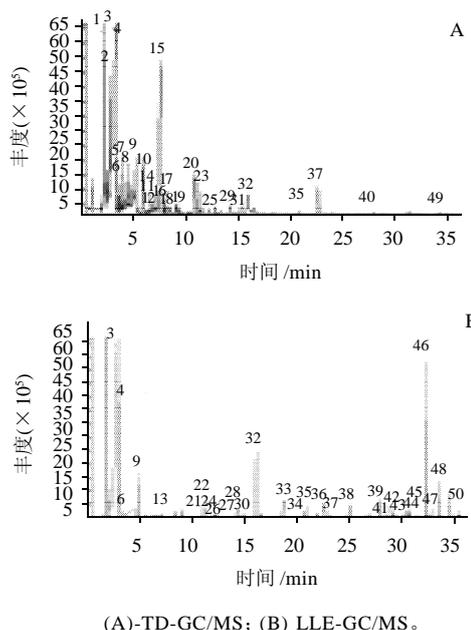


图1 竹醋液挥发性成分总离子流图
Fig.1 Total ion current (TIC) chromatogram of volatile compounds from bamboo vinegar using P & T-TD/GC-MS (A) or LLE/GC-MS (B)

由表1可知,两种方法共鉴定出50种成分,包括酚类、酸类、酮类、醛类、酯类和呋喃类等,其中P & T-TD-GC/MS法鉴定出28种,占总挥发性物质的87.12%,相对含量在2%以上的成分分别为乙酸甲酯(9.61%)、丙酸甲酯(3.72%)、乙酸(36.04%)、1-羟基-2-丁酮(2.94%)、环戊酮(2.10%)糠醛(17.28%)和苯酚(2.02%); LLE-GC/MS法鉴定出29种,占总挥发性物质的82.36%,其中,相对含量在2%以上的成分分别为乙酸(45.23%)、1-羟基-2-丁酮(2.37%)、苯酚(10.20%)、甲基环戊烯醇酮(4.13%)和2,6-二甲氧基苯酚(6.43%)。两种方法共同鉴定出的相对含量较高的成分有乙酸、1-羟基-2-丁酮和苯酚。

在所鉴定的竹醋液50种挥发性成分中,愈创木酚(质谱图见图2A)具有烟熏香,也是传统烟熏香味料的主要成分,苯酚具有酚香,类似烟熏香,苯酚衍生物如邻甲酚、4-乙基苯酚和2-甲氧基-4-甲基苯酚等具有典型的烟熏香气特征,糠醛(质谱图见图2B)和2-乙酰基呋

表1 竹醋液挥发性成分的GC-MS分析结果

Table 1 Volatiles compounds and their relative contents in bamboo vinegar identified by P & T-TD/GC-MS or LLE/GC-MS

序号	保留时间/min	化合物名称	化学式	相对含量/%	
				P & T-TD-GC/MS法	LLE-GC/MS法
1	1.84	乙酸甲酯	C ₃ H ₆ O ₂	9.61	—
2	2.37	丙酸甲酯	C ₄ H ₈ O ₂	3.72	—
3	2.60	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	36.04	45.23
4	2.64	羟基丙酮	C ₃ H ₆ O ₂	1.67	1.91
5	3.11	2-戊酮	C ₅ H ₁₀ O	0.42	—
6	3.40	3-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	0.58	0.40
7	3.71	丁酸甲酯	C ₅ H ₁₀ O ₂	1.15	—
8	4.12	丙酸	C ₃ H ₆ O ₂	0.11	—
9	4.61	1-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	2.94	2.37
10	5.54	环戊酮	C ₅ H ₈ O	2.10	—
11	6.27	4-戊烯酸甲酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	0.15	—
12	6.44	3-糠醛	C ₅ H ₆ O ₂	0.51	—
13	6.79	2-环戊烯酮	C ₅ H ₈ O	—	0.16
14	6.90	2-甲氧甲基呋喃	C ₆ H ₁₀ O ₂	0.95	—
15	7.31	糠醛	C ₅ H ₆ O ₂	17.28	—
16	7.53	2-甲基环戊酮	C ₆ H ₁₀ O	0.41	—
17	7.66	3-戊烯酸甲酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	0.18	—
18	7.87	(R)-(+)-3-甲基环戊酮	C ₆ H ₁₀ O	0.36	—
19	8.68	2-乙基呋喃	C ₆ H ₈ O	0.35	—
20	10.61	2-甲基-2-环戊烯-1-酮	C ₆ H ₈ O	1.74	—
21	10.70	2(5H)-呋喃酮	C ₄ H ₆ O ₂	—	0.52
22	10.82	γ-丁内酯	C ₅ H ₈ O ₂	—	1.04
23	10.93	2-乙酰基呋喃	C ₆ H ₈ O ₂	1.47	—
24	11.72	1,2-环戊二酮	C ₅ H ₈ O ₂	—	0.33
25	12.06	2-环己烯-1-酮	C ₆ H ₈ O	0.24	—
26	12.24	5-甲基-2(5H)-呋喃酮	C ₆ H ₈ O ₂	—	0.17
27	13.24	γ-戊内酯	C ₅ H ₈ O ₂	—	0.06
28	13.94	3-甲基-2-环戊烯-1-酮	C ₆ H ₈ O	—	0.85
29	14.05	5-甲基呋喃醛	C ₆ H ₈ O ₂	0.60	—
30	14.58	3-甲基-2(5H)-呋喃酮	C ₆ H ₈ O ₂	—	0.32
31	15.00	2-糠酸甲酯	C ₆ H ₈ O ₃	0.41	—
32	15.65	苯酚	C ₆ H ₆ O	2.02	10.20
33	18.52	甲基环戊烯醇酮	C ₆ H ₈ O ₂	—	4.13
34	20.36	3,4-二甲基-2-羟基环戊烯酮	C ₇ H ₁₀ O ₂	—	0.72
35	20.60	邻甲酚	C ₇ H ₈ O	0.37	0.19
36	22.24	4-甲基苯酚	C ₇ H ₈ O	—	1.21
37	22.45	愈创木酚	C ₇ H ₈ O ₂	1.59	0.75
38	24.77	乙基环戊烯醇酮	C ₇ H ₁₀ O ₂	—	1.78
39	27.66	4-乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	—	1.25
40	27.92	萘	C ₁₀ H ₈	0.09	—
41	28.27	2-甲氧基-4-甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O ₂	—	0.20
42	28.60	3,4-二甲基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	—	0.15
43	28.80	2-羟基-3-丙基-2-环戊烯酮	C ₈ H ₁₂ O ₂	—	0.37
44	29.00	邻苯二酚	C ₆ H ₆ O ₂	—	0.68
45	30.20	3-甲氧基儿茶酚	C ₇ H ₈ O ₃	—	0.61
46	31.98	2,6-二甲氧基苯酚	C ₈ H ₁₀ O ₃	—	6.43
47	32.42	乙基香兰素	C ₉ H ₁₀ O ₃	—	0.17
48	32.78	4-羟基-2-甲氧基苯甲醚	C ₈ H ₈ O ₃	—	0.10
49	34.18	二丁基羟甲基苯	C ₁₃ H ₂₀ O	0.06	—
50	35.14	4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯酚	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	—	0.06
合计				87.12	82.36

注：“—”未检出。

喃提供了甜香型香气，同时，酮类、酯类等芳香物质，对熏制产品的风味也起到一定的协同作用，使食品具有浓郁、纯正的烟熏香气，有增进食欲的作用^[17-20]。1-羟基-2-丁酮等羰基化合物能够与氨基酸反应形成褐色物质，对食品的烟熏色泽起到重要作用。另外，乙酸、苯酚及其衍生物具有一定的抑菌作用，因此，竹醋液作为熏液使用具有良好的防腐、保鲜作用^[18,21]。

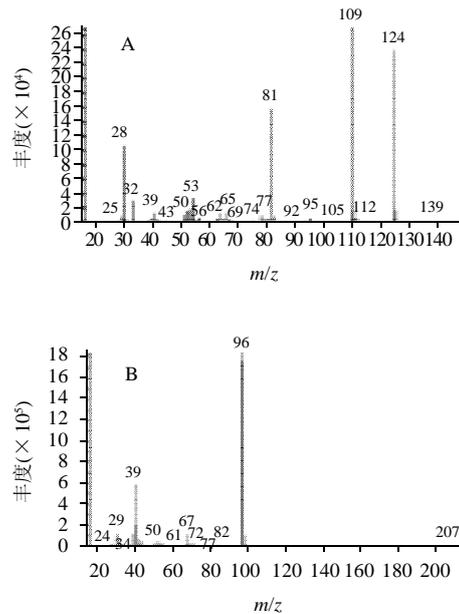


图2 愈创木酚(A)和糠醛(B)的质谱图
Fig.2 Mass spectra of guaiacol (A) and furfural (B)

将两种方法获得的挥发性成分的种类、数量及相对含量进行比较，结果见表2。

表2 P & T-TD-GC/MS法和LLE-GC/MS法分析鉴定出竹醋液挥发性成分的比较

Table 2 Categories and contents of volatiles in bamboo vinegar identified by P & T-TD/GC-MS or LLE/GC-MS

化合物类别	化合物总数	P & T-TD-GC/MS法		LLE-GC/MS法		共同鉴定出的化合物数
		化合物数	相对含量/%	化合物数	相对含量/%	
酚类	11	3	3.98	11	21.75	3
酸类	2	2	36.15	1	45.23	1
酮类	19	9	10.47	13	14.01	3
醛类	4	3	18.39	1	0.10	0
酯类	8	6	15.22	2	1.10	0
其他	6	5	2.91	1	0.17	0
合计	50	28	87.12	29	82.36	7

由表2可知，在两种方法所鉴定的化合物的相对含量中，酸类成分含量较高，其他各类组分不仅在种类上还是在相对含量上均表现出较大差别，共同鉴定出的化合物仅有7种，从一方面说明了两种方法在鉴定结果

上存在较大差别,另一方面,也说明两种方法在鉴定竹醋液挥发性成分上存在一定的互补性。

3 讨论

比较国内外有关学者对竹醋液挥发性成分的研究报道,发现不同文献中所报道的关于竹醋液挥发性成分及其相对含量差异较大,如钱华等^[15]利用固相微萃取吸附研究竹醋原液的结果表明,鉴定的成分有74种化合物,而Akakabe等^[16]利用乙醚液液分配萃取竹醋液的挥发性成分仅鉴定出22种化合物。究其原因,可能是不同生产工艺的竹醋液存在差别,或是竹醋液挥发性成分的鉴定方法存在差异。

本研究利用P & T-TD-GC/MS法鉴定出的竹醋液挥发性成分主要包括酚类(3.98%)、酸类(36.15%)、酮类(10.47%)、醛类(18.39%)和酯类(15.22%),利用LLE-GC/MS法鉴定出的竹醋液挥发性成分主要包括酚类(21.75%)、酸类(45.23%)、酮类(14.01%)、醛类(0.10%)和酯类(1.10%)。两种方法鉴定的挥发性成分存在差异主要与取样的方法有关。LLE是根据“相似相溶”的原理,利用乙醚的弱极性萃取富集竹醋液中弱极性有机化合物。P & T-TD-GC/MS法是吹扫捕集技术和质谱鉴定技术的优化组合,不需要样品提取的过程,Tenax TA吸附管是一种多孔高分子聚合物,对各类痕量有机化合物的吸附能力较强,热解析效率好,易于重复活化使用^[11]。由于在吹扫捕集-热脱附法中未对样品进行溶剂提取,所鉴定出的化合物是竹醋液样品中易于释放出来的挥发性成分,其测定结果更真实地反映了竹醋液的挥发性物质的组成。因此,竹醋液的烟熏气味更可能是酸类、酚类、醛类和酯类化合物混合后挥发出来的气味。通过对两种方法分析结果比较发现,两种方法具有一定的互补性,相结合应用能够较全面地分析出竹醋液的挥发性成分,为用于熏液的竹醋液质量控制以及相关生产工艺的改进提供检测依据。

参考文献:

- [1] 陈胜军,王剑河,李来好,等.液熏技术在水产品加工中的应用[J].食品科学,2007,28(7):569-571.
- [2] 崔宇,吴良如.我国竹醋液发展现状和展望[J].竹子研究汇刊,2010,29(1):11-16.
- [3] 张文标,华毓坤,王伟龙,等.高纯度竹醋液生产和加工工艺的研究[J].林产化学与工业,2003,23(1):46-50.
- [4] MU J, UEHARA T, FURUNO T. Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radicle growth of seed plants. II: Composition of moso bamboo vinegar at different collection temperature and its effects[J]. Journal of Wood Science, 2004, 50(5): 470-476.
- [5] 胡永煌.竹炭、竹醋液生产技术及应用开发研究进展[J].林产化学与工业,2002,22(3):79-83.
- [6] 陈顺伟,邵素芬,庄晓伟,等.精制竹醋液的安全性毒理学评价[J].竹子研究汇刊,2007,26(3):41-44.
- [7] 蔡宝国,崔俊杰,俞燕,等.吹扫捕集-热脱附-气质联用技术研究国产金盏柚香气成分[J].化学世界,2010,51(1):29-32.
- [8] NARAIN N, GALVAO M S, MADRUGA M S. Volatile compounds captured through purge and trap technique in caja-umbu (*Spondias* sp.) fruits during maturation[J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 726-731.
- [9] 张弘,郑华,冯颖,等.金枕榴莲果实挥发性成分的热脱附-气相色谱/质谱分析[J].食品科学,2008,29(10):517-519.
- [10] PAOLINI J, LEANDRI C, DESJOBERT J M, et al. Comparison of liquid-liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1193(1/2): 37-49.
- [11] 张赞彬,缪存锐,崔俊杰.吹扫/捕集-热脱附气质联用法对荷叶挥发油成分的对比如分析[J].化学学报,2009,67(20):2368-2374.
- [12] LARA-GONZALO A, SÁNCHEZ-URÍA J E, SEGOVÍA-GARCÍA E, et al. Critical comparison of automated purge and trap and solid-phase microextraction for routine determination of volatile organic compounds in drinking waters by GC-MS[J]. Talanta, 2008, 74(5): 1455-1462.
- [13] HANEKOM E, SIVAKUMAR D, NAUDÉ Y, et al. Influence of postharvest treatments on visual appearance, sensory analysis and aroma volatile compounds of Mauritius' litchi fruit during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 57(3): 155-161.
- [14] POZO BAYÓN M Á, MARTÍN ÁLVAREZ P J, REINECCIUS G A. Monitoring changes in the volatile profile of cheese crackers during storage using GC-MS and PTR-MS[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2009, 24(3): 133-139.
- [15] 钱华,王衍彬,许炯,等.竹醋液烟熏气化学成分的研究[J].竹子研究汇刊,2007,26(4):50-53.
- [16] AKAKABE Y, TAMURA Y, IWAMOTO S, et al. Volatile organic compounds with characteristic odor in bamboo vinegar[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2006, 70(11): 2797-2799.
- [17] 余爱农,吴绍艳.烟熏腊肉香气成分的研究[J].食品科学,2003,24(10):135-138.
- [18] 余和平.烟熏香味料在豆、肉制品及调味品中的应用[J].精细与专用化学品,2003,11(24):12-13.
- [19] 王宏海,戴志远,杨荣华,等.GC-MS法分析烟熏前后鱿鱼的风味成分[J].食品研究与开发,2010,31(11):149-153.
- [20] 余爱农,宋新建,刘应焯.固相萃取辅助提取-气相色谱-质谱分析烟熏腊肉香气成分[J].食品科学,2004,25(8):134-137.
- [21] 周洪仁,周益群,杜世祥.烟熏液产生烟熏色泽的原理与方法探索[J].肉类工业,2007(3):34-35.