

文章编号: 1673 1689(2010)04 0500-08

HS-SPME-GC/MS 分析花生油挥发性成分技术的优化

刘晓君^{1,2}, 金青哲^{1,2}, 王珊珊³, 刘元法^{1,2}, 王兴国^{* 1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 山东鲁花集团有限公司, 山东 莱阳 265200)

摘 要: 采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱技术, 建立了花生油挥发性成分分析方法。通过单因素分析得出最佳萃取条件为: PDMS-DVB 萃取头, 搅拌状态, 萃取温度 50 °C, 萃取时间 40min, 解吸时间 5min。GC/MS 初步分析鉴定出花生油挥发性成分 53 种。

关键词: 花生油; 挥发性成分; 固相微萃取

中图分类号: TS 227

文献标识码: A

Optimization of Solid Phase Microextraction Conditions Combined with GC-MS for Analysis of Volatiles in Peanut Oil

LIU Xiaojun^{1,2}, JIN Qingzhe^{1,2}, WANG Shanshan³,
LIU Yuanfa^{1,2}, WANG Xingguo^{* 1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Shandong Luhua Group Co., Ltd, Laiyang 265200, China)

Abstract: The aim of this study was to establish an analysis method of aroma volatiles in peanut oil using headspace solid phase microextraction combined with GC-MS. The optimum SPME conditions were determined and listed as follows: a PDMS-DVB fiber, magnetic stirring, the extraction temperature of 50 °C, the extraction time of 40 min and the desorption time of 5 min. 53 volatile compounds were then identified using the optimized HS-SPME condition combined with GC-MS.

Key words: peanut oil, volatile compounds, solid phase microextraction

花生油的最佳生产工艺采用纯物理压榨制油, 通过选料、焙炒、物理压榨、最后经天然植物纤维过

收稿日期: 2009-09-12

基金项目: 食用油质量安全控制技术与产业化示范项目(2009BADB9B08)。

作者简介: 刘晓君(1984-), 女, 江苏靖江人, 油脂及植物蛋白工程博士研究生, 主要从事油脂风味研究。Email: fairy3710@163.com

* 通信作者: 王兴国(1962-), 男, 浙江台州人, 工学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事油脂研究。Email: wxg1002@hotmail.com

滤技术生产而成。“花生油纯物理压榨工艺”最大的优势就是全过程无需任何化学添加剂,保证产品安全、无污染,且只榨取第一道花生原汁,不但可以剔除花生油中悬浮物有害物质,而且更能全面保留花生的天然营养和原汁原味。花生油的香气是其感官品质的重要指标^[1],因此研究和分析花生油的挥发性成分,对进一步研究花生油的风味及改进花生油加工工艺,都具有十分重要的意义,但目前国内外对花生油的挥发性成分及风味研究甚少。

固相微萃取技术(Solid phase microextraction, SPME)是加拿大 Waterloo 大学 Pawliszyn 研究小组于 1990 年提出的一种新型无溶剂样品预处理技术^[2],它通过采用装在注射器内的石英纤维表面上的特殊固相涂层,对样品组分进行萃取和富集,具有操作简单,成本低,效率高及选择性强等特点。此外,固相微萃取技术还可方便地与气相色谱、液相色谱等分析仪器联用,将样品萃取、富集和进样检测合为一体,可大大提高分析速度和分析方法的灵敏度。近年来,SPME 被广泛地应用于植物油气味的研究^[3]。国外多位学者利用 SPME 萃取技术对 virgin olive oil 的风味进行了一系列的研究,包括对其特征香气的分析^[4-7],储藏期间油脂风味的变化^[8],以及加工过程对香气形成的作用^[9]等。奚星林,蓝芳等人^[10-11]将 SPME 技术应用于食用油残渣检测。

作者选用鲁花集团提供的浓香压榨一级花生油为原料,采用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用(GC/MS)技术建立了花生油挥发性成分的分析方法,筛选了固相微萃取纤维头,优化了固相微萃取的操作条件,并采用 HS-SPME-GC/MS 对所得挥发性成分进行了初步分析。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

压榨一级花生油,山东鲁花集团有限公司提供。

1.2 实验仪器与设备

GC-14A 气相色谱仪,日本岛津公司产品;TRACE MS 气相色谱质谱联用仪,美国 Finnigan 质谱公司产品;PDMS、CAR-PDMS、PDMS-DVB 固相微萃取头,美国 Supelco 公司产品;EL204 电子天平,上海 Mettler Toledo 公司产品;85-2 恒温磁力搅拌器,金坛市新航仪器厂产品。

1.3 萃取步骤及条件优化

首先将固相微萃取装置的萃取头进行老化,老化温度 250 °C,载气流量 2 mL/min,老化时间 20

min。称取 3.00 g 花生油于 15 mL 顶空瓶中,加盖密封,置于 50 °C 恒温水浴搅拌平衡 20 min。固相微萃取萃取头顶空吸附 40 min 后,于色谱进样口 250 °C 解吸 5 min,同时启动仪器采集数据。

根据相关文献报道^[2,12],作者选择了对分析影响较大的几个因素进行单因素优化。筛选了 SPME 萃取头(PDMS、CAR-PDMS、PDMS-DVB),比较了搅拌与否对萃取效果的影响,并分别优化了萃取温度(40、50、60、70、80 °C)、萃取时间(20、30、40、50、60 min)和解吸时间(2、3、4、5、6 min)。

1.4 GC/MS 分析

GC 条件:DB-wax 色谱柱(30 m × 0.25 μm i.d. × 0.25 μm df),氦气为载气,流量 0.9 mL/min。进样口温度 250 °C,进样方式为不分流进样。程序升温条件如下:60 °C(保留 2 min)开始以 5 °C/min 升到 100 °C,保留 0.1 min,再 3 °C/min 升到 180 °C,保留 0.1 min,再 10 °C/min 升到 220 °C,保留 10 min。

MS 条件:电离方式 EI,离子源温度 200 °C,电子能量 70 eV,灯丝发射电流 200 μA,接口温度 250 °C,扫描质量范围为 32~402。

GC-MS 分析结果由计算机谱库 NIST 和 WILLY 检索定性分析,同时利用面积归一法计算定性的挥发性成分的相对含量。

2 结果与分析

2.1 萃取方式的选择

固相微萃取可采取直接固相微萃取法或顶空固相微萃取法,萃取方式的选择取决于被萃取物质的状态、性质及挥发性。油脂中挥发性成分的测定多采用顶空固相微萃取法,即可避免油脂样品基质中大分子和非挥发性物质对 SPME 的损坏,减少干扰,延长萃取头寿命,又可对挥发性成分进行有效的分析。

2.2 萃取头的选择

马传国等人^[13]认为吡嗪类物质是花生油烘烤和浓香花生风味的主要来源。因此,选择花生油挥发性成分的总峰面积和总峰个数、及花生油风味主要来源的吡嗪类物质峰面积作为分析依据。

作者对常用的 3 种商业 SPME 萃取头 PDMS、PDMS-DVB 和 CAR-PDMS 涂层进行了优化选择。萃取头的选择依据相似相溶原理,PDMS 适合分析非极性挥发性物质,PDMS-DVB 适合分析极性挥发性物质,CAR-PDMS 适合分析气体硫化物、挥发性有机物^[14]。

由图1可以看出,相比其他两种涂层,PDMS-DVB吸附的挥发性成分较多,富集效果较好,因此选择PDMS-DVB为实验用萃取头。

2.3 搅拌的影响

搅拌可促进萃取并相应地减少萃取时间,使分析物快速达到萃取平衡。磁力搅拌形式广泛应用

于SPME。本实验比较了磁力搅拌与否对花生油挥发性成分萃取的影响。

从图2可以看出,搅拌状态下的总峰面积和主峰面积变化不大,而总峰个数由原来的28增加至41,效果非常明显。因此,选择磁力搅拌状态。

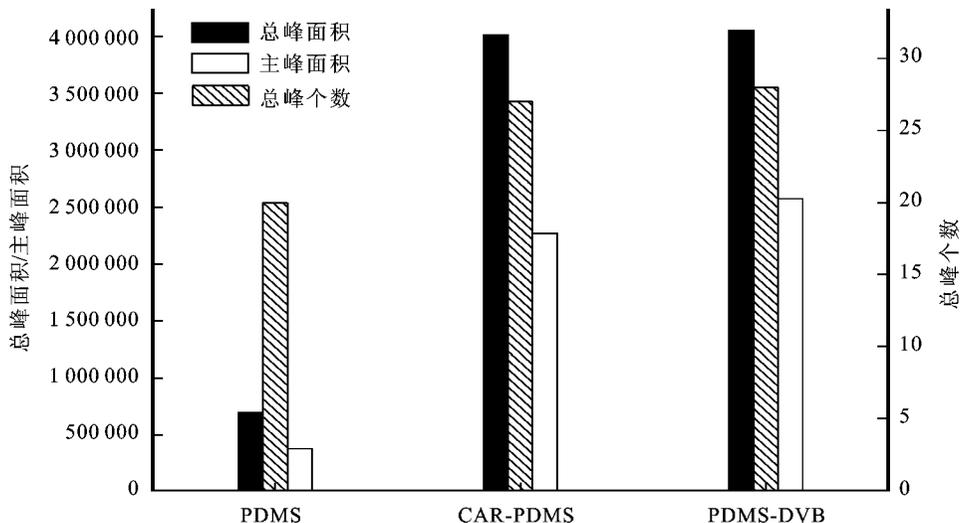


图1 不同萃取头对萃取效果的影响

Fig. 1 Comparison of different SPME fibers on extraction of volatiles in peanut oil

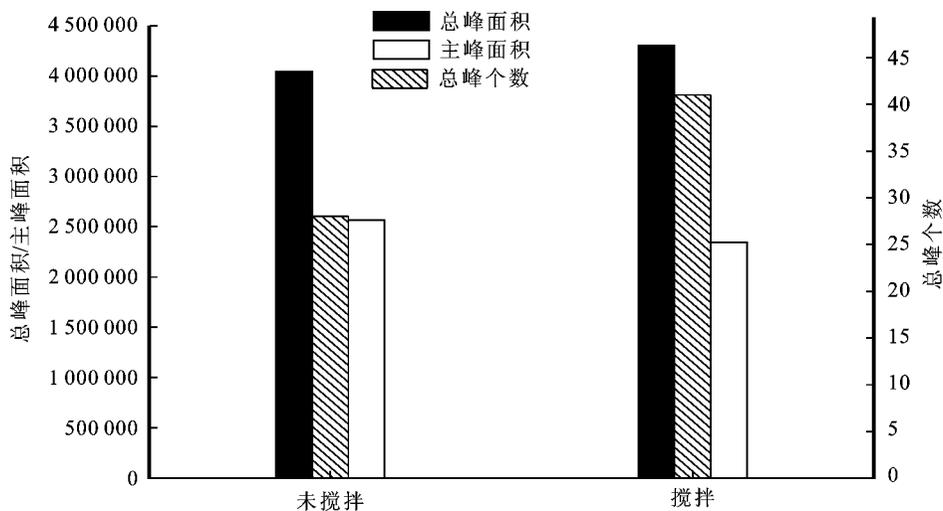


图2 搅拌对萃取效果的影响

Fig. 2 Effect of stirring on extraction of volatiles in peanut oil

2.4 萃取温度的选择

萃取温度对SPME法的影响具有双重效应:通常升高温度时,液体内分子热运动加快,有利于提高分析物在顶空的分配,缩短平衡时间、加快分析速度;但升高温度会使分析物在涂层与基质中的分配系数降低,涂层对分析物的吸附量减小,影响SPME法的灵敏度。所以在使用SPME时应选择最佳工作温度。

图3明显地反映了萃取温度对富集风味成分的影响具有两面性:随着萃取温度的升高,虽然总峰个数不断上升,但主峰面积在50℃达到最高点后开始下降,而总峰面积在60℃后也开始下降。也可能是加热过程中脂肪酸分解产生了低分子的醛酮酸类物质,使得总峰个数和面积略有上升,而与风味物质分子竞争吸附,导致主峰面积下降。综合考虑,50℃时检出的主峰效果最好,且萃取的样

品量足用于 GC-MS 分析, 因此选用 50℃ 作为花生油挥发性成分的萃取温度。

2.5 萃取时间的选择

萃取时间即萃取达到平衡所需的时间, 由待分析物的分配系数、物质的扩散速率、样品基质、样品体积、不同萃取头膜厚和吸附能力以及涂层的物理化学性质等因素决定^[2]。一般萃取过程均在刚开始时吸附量迅速增加, 出现一转折点后上升就很缓慢。在分析挥发性有机物时, 一般平衡时间较短,

10 min 之内即可达到最高吸附量; 而分析复杂基质及半挥发性有机物时, 平衡所需时间至少为 30~ 60 min。因此, 可根据实际操作目的及对灵敏度的需求不同, 适当缩短萃取时间。

从图 4 来看, 在 20~ 40 min 范围内, 随着萃取时间延长, 总峰面积、主峰面积和总峰个数增加, 40 min 时达到最大。此后, 继续延长萃取时间, 吸附量变化不大。由此可见, 40 min 时动态平衡达到最佳状态, 因此选择最佳萃取时间为 40 min。

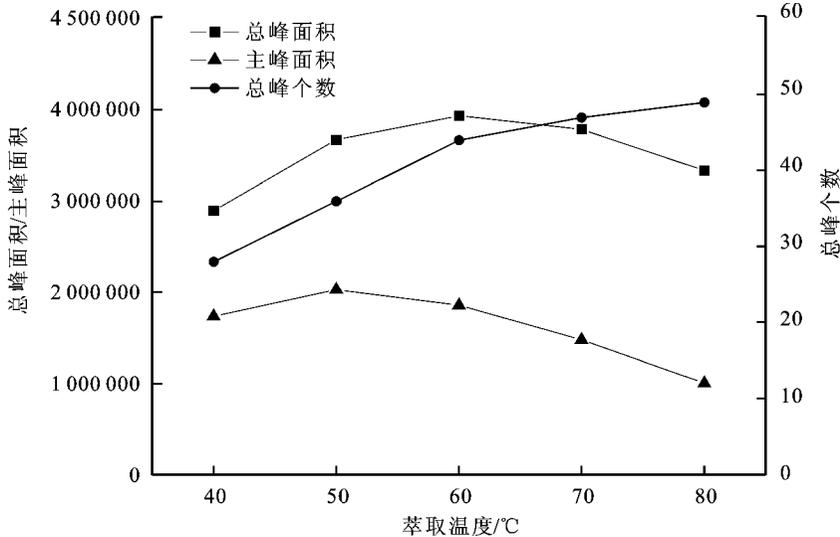


图 3 萃取温度对萃取效果的影响

Fig. 3 Effect of temperature on extraction of volatiles in peanut oil

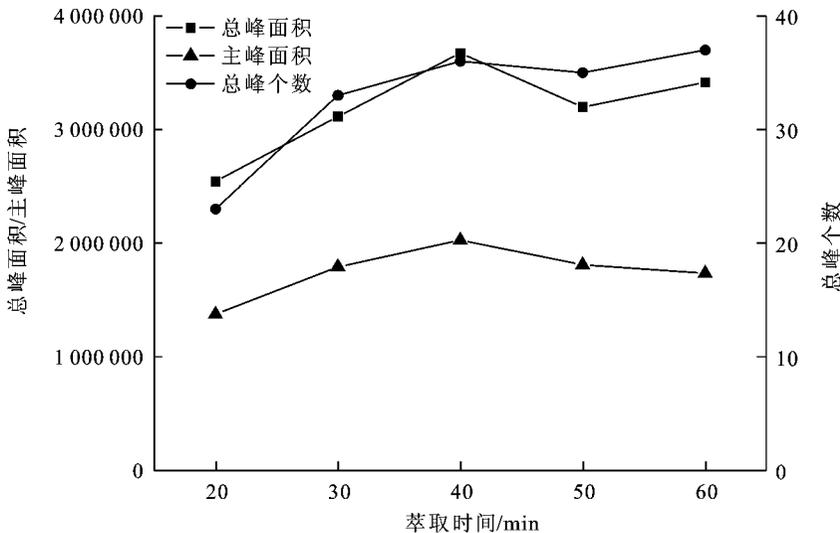


图 4 萃取时间对萃取效果的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on extraction of volatiles in peanut oil

2.6 解吸时间的选择

在同一解吸温度下, 待测组分解吸完全程度与解吸时间直接相关。解吸不完全不仅会影响方法

的灵敏度, 而且会污染后续样品, 但长时间高温解吸会缩短萃取纤维的寿命。

由图 5 可以看出, 总峰面积、主峰面积和总峰

个数均 5 min 时达到最大, 5 min 后几乎没有增长。在一定的时间内, 温度升高可使解吸加快, 但会缩短 SPME 萃取纤维的使用寿命, 因此选取 5 min 作为解吸时间。

2.7 花生油挥发性成分分析

按照优化的 HS-SPME 萃取条件对花生油进行分析, 将花生油挥发性成分进行吸附后在进样口解吸, 经 GC-MS 分离鉴定, 得到花生油挥发性成分的总离子流图(见图 6)。图 6 经由 NIST 和 WILLY 软件进行质谱检索, 鉴定结果列于表 1。

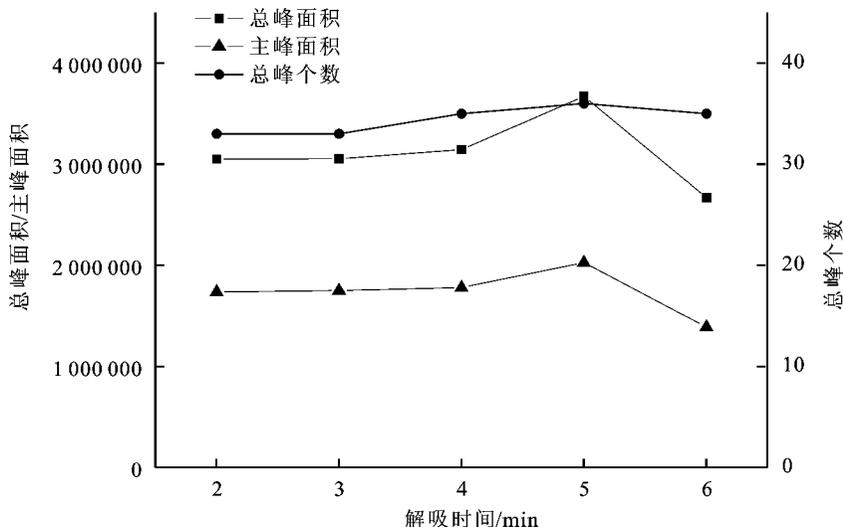


图 5 解吸时间对萃取效果的影响

Fig. 5 Effect of desorption time on extraction of volatiles in peanut oil

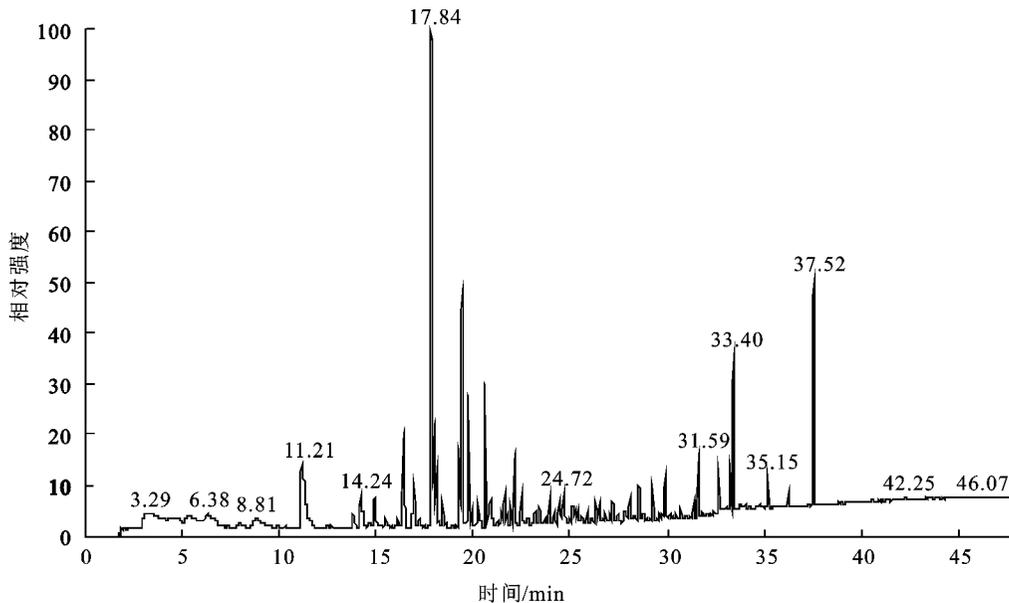


图 6 花生油挥发性物质总离子流图

Fig. 6 GC-MS chromatogram of volatiles extracted from peanut oil by HS-SPME

表 1 花生油挥发性风味物质 GC-MS 分析结果

Tab. 1 Major volatile compounds extracted from peanut oil by HS-SPME GC/MS

序号	保留时间/ min	化合物	相对质量分数/%
1	6.38	6,7-二甲氧基-2-甲基-3,4-二氢异喹啉	1.03
2	8.81	1-氨基-邻位氯苯基-2-(2-噻啉基)-乙烯	0.69
3	8.96	2-甲氧基-1-苯并噻吩-2,3-噻啉-6(5H)-酮	0.65

续表1

序号	保留时间/ min	化合物	相对质量分数/%
4	11.21	己醛	7.56
5	14.24	庚醛	2.30
6	14.95	3-甲基-1-丁醇(异戊醇)	1.53
7	15.48	3,10-二氧[4.3.1.0(2,4)]环辛烯	0.29
8	16.09	4-辛烯-3-酮	0.53
9	16.43	甲基吡嗪	3.90
10	16.88	2-辛酮	0.31
11	16.96	辛醛	1.79
12	17.25	1,1-二十二烷氧基十六烷	0.33
13	17.84	2,5-二甲基吡嗪	17.12
14	17.99	2,6-二甲基吡嗪	3.63
15	18.10	2-D-6-乙基吡啶	1.99
16	18.40	2,3-二甲基吡嗪	0.68
17	18.52	2-十四炔酸泛酰巯基乙胺	0.29
18	19.43	4-N,N-二甲基吡啶	10.96
19	19.73	2,3,5-三甲基吡嗪	3.80
20	19.95	5-乙基环戊烯醛	0.55
21	20.20	2-辛烯醛	0.62
22	20.27	辛酸乙酯	0.28
23	20.36	4-(1-金刚烷基羰氨基)-2-乙基-6-甲基-3-(1-金刚烷基羰氧基)吡啶	0.40
24	20.59	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	3.30
25	20.74	1,1-庚二酸二乙酯	0.80
26	20.85	6-乙酰基甘露糖	0.61
27	20.89	3,6-二甲基-吡咯[1,2-E]咪唑	0.32
28	20.95	(3R,5S,6R)-3-异丙基-6-甲基-6-苯基-5-(1-甲苯胺基)-1,2,4-三环氧乙烷	0.78
29	21.49	1-苯基丙烯	0.40
30	21.74	2-乙酰基咪喃	0.27
31	21.93	2-乙基-6-(3,5-二甲基-2-噁啶)苯并噻唑	0.40
32	22.14	苯甲醛	1.68
33	22.49	5,6,7,8-四氢喹啉	0.87
34	23.19	2-辛基环丙烷十四酸甲酯	0.63
35	23.41	3-甲氧基吡啶	0.60
36	23.98	4-甲基-2(3H)-咪喃酮	0.63
37	24.23	羟基丁酸	0.58
38	24.49	2-反-苯基-1,3-二氧戊环-4-甲基-3,12,15-十八三烯酸甲酯	0.63
39	24.72	2-咪喃甲醇	1.14

续表 1

序号	保留时间/ min	化合物	相对质量分数/ %
40	25.42	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	0.46
41	26.30	甲氧基苯基胺	0.52
42	26.51	2-氨基-5-[(2-羧基)乙烯基]咪唑	0.50
43	27.19	反-2-反-4-癸二烯醛	0.47
44	28.06	N-CBZ-L-酪胺酰-L-缬氨酸	0.57
45	28.52	苯乙醇	0.76
46	29.24	2-乙酰基吡咯	0.69
47	29.85	2-醛基吡咯	0.66
48	29.92	3-羟基-4,4-二甲基- γ -丁内酯	0.97
49	31.34	间乙基苯酚	0.29
50	31.59	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚	1.11
51	32.63	对羟基苯基乙二醛	0.83
52	32.70	维生素 B1	0.37
53	33.40	2,3-二氢苯并呋喃	3.16

除去少量分析时萃取头带来的硅氧烷类杂质峰及增塑剂污染杂质峰^[15,16],通过 GC-MS 鉴定出的花生油挥发性物质有 53 种,占总检出化合物的 86.23%,主要为吡嗪、吡啶、呋喃、吡咯等含 N、O 杂环化合物,及少量醛、酮、醇、酸、酯及烃类化合物。其中烷基吡嗪类物质含量最高,有 7 种,占总挥发性成分的 32.89%,分别为甲基吡嗪(3.90%)、2,5-二甲基吡嗪(17.12%)、2,6-二甲基吡嗪(3.63%)、2,3-二甲基吡嗪(0.68%)、2,3,5-三甲基吡嗪(3.80%)、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪(3.30%)、2-乙酰基-3-甲基吡嗪(0.46%)。吡嗪类化合物是美拉德反应的中间产物,具有强烈的烤香和坚果味香气^[17],是花生油坚果香气和烘焙风味的主要呈味物质。吡啶类化合物体现青香和坚果香味。呋喃类化合物带来多种果香味,如乙酰基呋喃具有葡萄酒酿香,呋喃酮类具有草莓、苹果等香味。众多化合物体现出不同的特征香味。因此,花生油的香味并

不是由一种或几种化合物来体现,而是由多种成分协同作用而来。

3 结 语

作者优化了花生油挥发性成分分析的 HS-SPME 的萃取条件:样品量不是显著影响因素,可称取 3.00 g 花生油进行分析,采用 PDMS-DVB 萃取头,在磁力搅拌条件下,萃取温度 50 ℃,萃取时间 40 min,解吸时间 5 min。同时建立了 HS-SPME-GC/MS 测定花生油挥发性成分的分析方法,并对花生油挥发性成分进行了初步分析。

实验表明 HS-SPME-GC/MS 分析技术在油脂分析领域是一项快速、稳定、高效的新型检测技术,除了用于挥发性成分分析,对于油脂其他分析,如残溶检测、通过挥发物测定判断油脂氧化程度等都很有借鉴意义。

参考文献(References):

- [1] Hiroyuki Kataoka, Heather L, Janusz Pawliszyn. Applications of solid phase microextraction in food analysis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2000, 880: 35- 62.
- [2] 黄永辉, 钟海雁, 李忠海. 固相微萃取及其在食用植物油香气研究中的应用[J]. **食品研究与开发**, 2006, 27(8): 192- 196.
HUANG Yong hui, ZHONG Hai Yan, LI Zhong hai. Solid phase microextraction and its application in research of aroma in edible vegetable oils[J]. **Food research and development**, 2006, 27(8): 192- 196.
- [3] Stefania Vichi, Ana Isabel Castellote, Lorena Pizzale, et al. Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid phase microextraction coupled to gas-chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection[J].

- Journal of chromatography A**, 2003,983:19- 33.
- [4] Jim nez A, Beltr n G, Aguilera M P. Application of solid phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils[J]. **Journal of Chromatography A**, 2004,1028: 321- 324.
- [5] Stefania Vichi, Lorena Pizzale, Lanfranco S, et al. Simultaneous determination of volatile and semi volatile aromatic hydrocarbons in virgin olive oil by headspace solid phase microextraction coupled to gas chromatography/ mass spectrometry[J]. **Journal of Chromatography A**, 2005,1090:146- 154.
- [6] Marina Contini, Marco Esti. Effect of the matrix volatile composition in the headspace solid phase microextraction analysis of extra virgin olive oil[J]. **Food chemistry**,2006, 94:143- 150.
- [7] Bechir Baccouri, Sonia Ben Temime, Elisabetta Campeol, et al. Application of solid phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars[J]. **Food chemistry**, 2007, 102: 850- 856.
- [8] Antonio Jim nez, Maria P Aguilera, Gabriel Beltr, et al. Application of solid phase microextraction to virgin olive oil quality control[J]. **Journal of chromatography A**, 2006,1121:140- 144.
- [9] Fruzsina Doleschall, Zsolt Kem, Katalin Recseg, et al. A new analytical method to monitor lipid peroxidation during bleaching[J]. **Eur J Lipid Sci Technol**, 2002,104:14- 18.
- [10] 奚星林,陈捷,黄华军.顶空固相微萃取-气相色谱法检测食用油中的正己烷[J]. **食品科学**.2003,24(12):97- 98.
XI Xing lin, CHEN Jie, HUANG Hui jun. Determination of hexane in edible oils by head space solid phase microextraction and gas chromatography[J]. **Food Science**, 2003,24(12):97- 98.
- [11] 蓝芳,谢丽琪,杨左军,等.顶空固相微萃取-气相色谱法测定油脂中浸出油溶剂残留的方法研究[J]. **分析实验室**,2004,23(4):70- 72.
LAN Fang, XIE Li qi, YANG Zu jun, et al. Determination of residual solvents content(hexane residue) in plant oil by headspace solid phase microextraction[J]. **Chinese Journal of Analysis Laboratory**, 2004,23(4):70- 72.
- [12] 傅彦斌.固相微萃取分析条件的优化[J]. **干旱环境监测**,2006,20(1):49- 51.
FU Yan bin. Optimizing analytical condition of SPME[J]. **Arid Environmental Monitoring**, 2006,20(1):49- 51.
- [13] 马传国,梁少华,王建国,田华达等.浓香花生油特殊脱胶工艺的研究[J]. **中国油脂**.2000,25(5):5- 6.
MA Chuanguo, LIANG Shaohua, WANG Jianguo, et al. Study on special degumming of strong fragrant peanut oil[J]. **China oils and fats**, 2000,25(5):5- 6.
- [14] 谢建春,孙宝国,刘玉平等.固相微萃取在食品香味分析中的应用[J]. **食品科学**,2003,24(8):229- 233.
XIE Jiachun, SUN Baoguo, LIU Yuping, et al. Application of solid phase microextraction in analysis of aroma in food[J]. **Food Science**, 2003,24(8):229- 233.
- [15] 田怀香,王璋,许时婴.顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分离鉴定金华火腿的挥发性风味物质[J]. **色谱**,2006,24(2):177- 180.
TIAN Huai xiang, WANG Zhang, XU Shiyong. Separation and identification of volatile flavors of jinhua ham by gas chromatography-mass spectrometry coupled with head space solid phase microextraction[J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2006,24(2):177- 180.
- [16] 杨科峰,厉曙光,蔡智鸣.食用油及其加热产物中酞酸酯类增塑剂的分析[J]. **环境与职业医学**,2002,19(1):37- 39.
YANG Ke feng, LI Shuguang, CAI Zhiming. Determination of phthalic acid ester in edible oil and the condensate of its fumef[J]. **Chin J Environ Occup Med**, 2002,19(1):37- 39.
- [17] 卫舒平,张华,徐晓彬,等.吡嗪衍生物的天然存在及其在食用香精中的应用[J]. **香料香精化妆品**,2000,(2):25- 31.
WEI Shuping, ZHANG Hua, XU Xiaobin, et al. Natural existed pyrazine derivants and their application to flavors[J]. **Flavour fragrance cosmetics**, 2000,(2):25- 31. (in Chinese)

(责任编辑:朱明)