

静态顶空萃取-气相色谱-质谱法分析大豆花中挥发性成分

宋志峰,牛红红,何智勇,孟繁磊,魏春雁

(吉林省农业科学院 农业质量标准与检测技术研究所/农业部农产品质量安全风险评估实验室,吉林 长春 130033)

摘要:利用静态顶空萃取-气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)建立了大豆花挥发性成分分离鉴定方法。大豆花样品中挥发性成分经静态顶空进样器提取,由气相色谱分离、质谱检测,NIST 质谱数据库检索定性鉴定;面积归一化法定量测定。从5种大豆花中共分离鉴定出31种挥发性化合物,这些化合物主要为醇、酮、醛、烃、酯和呋喃类。其中对大豆花气味特征的主要贡献组分为醇和酮类化合物。不同品种大豆花中挥发性成分含量存在较大差异。

关键词:静态顶空;气相色谱-质谱法;大豆花;挥发性成分

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0574

Analysis of Volatile Compounds in Soybean Flowers by Static Headspace-GC-MS

SONG Zhi-feng, NIU Hong-hong, HE Zhi-yong, MENG Fan-lei, WEI Chun-yan

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Risk Assessment Lab of Agri-products Quality and Safety (Changchun), Agriculture Ministry of P. R. C. Changchun 130033, China)

Abstract: In order to study components difference in flowers of 5 soybean cultivars, a method used to isolate and identify the volatile compounds from soybean flowers by static headspace extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was set up. The volatile components were extracted by static headspace, isolated by CC, qualitative identified by NIST spectrum library index combining with literature, and quantitative determined by area normalization method. Thirty-one volatile compounds were isolated and identified from 5 soybean cultivars and they belong to alcohol, ketone, aldehyde, hydrocarbon, ester, and furan-compounds. The main volatile compounds of soybean flower were alcohol and ketone. The content difference of the volatile compounds in flowers of different soybean cultivars was remarkable. These results would provide important reference for the research attraction of natural enemy insects and resource development of pollination insect.

Key words: Static headspace; GC-MS; Soybean flowers; Volatile compounds

植物花朵中的挥发性成分是诱引昆虫进行授粉的重要物质,不同植物花朵中挥发物质成分不尽相同,对昆虫的吸引力也存在差异。大豆花具有典型的虫媒花特征,利用虫媒授粉一直是大豆杂交制种技术中研究的热点^[1]。

挥发性成分的萃取方法一般有蒸馏法、静态顶空和动态顶空等技术,而分离鉴定一般使用气相色谱法(GC)和气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[2-6],分析的样品包括植物性样品、动物性样品及环境样品(土壤和水等)。本研究旨在通过利用静态顶空萃取、气相色谱分离、质谱检测,建立大豆花中挥发性成分的分析方法,为开展大豆挥发性成分对天敌昆虫的引诱作用研究以及开发大豆传粉昆虫资源、提高大豆杂交制种效率提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆花样品于大豆盛花期晴天上午9:00~10:00采自吉育47、吉育89、杂交豆1号、吉农17和

吉农26试验田。分别编为1~5号。

供试主要仪器有PL203电子分析天平(感量:0.001g),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;螺旋口顶空样品瓶(20mL)、G1888自动顶空进样器和7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司。

1.2 方法

1.2.1 静态顶空萃取温度的确定 称取2.000g大豆花样品置于顶空样品瓶中(样品不可超过瓶容积的2/3),旋紧瓶盖,放入顶空进样器中进行挥发性成分的萃取。设定加热时间30min;萃取压力0.069MPa;定量环温度100℃;传输线温度105℃;进样体积1mL。考察80,85,90,95,100,105℃样品瓶加热温度对挥发性化合物检出的影响,确定最佳萃取温度。

1.2.2 气相色谱分流比的确定 为考察不分流进样和分流进样模式对检出效果的影响并确定最佳分流比,设定进样口温度:250℃;色谱柱:HP-5石英毛细管柱,30m×0.25mmID×0.25μm;温度梯度:

收稿日期:2014-03-13

第一作者简介:宋志峰(1975-),男,副研究员,学士,主要从事农产品质量安全检测与风险评估技术研究。E-mail:mhsr@sina.com。

通讯作者:魏春雁(1962-),女,博士,教授,主要从事农产品质量安全检测与风险评估技术研究。E-mail:weichy@yeah.com。

45℃保持 15 min,之后以 5℃·min⁻¹升至 180℃并保持 10 min,以 50℃·min⁻¹升至 230℃并保持 5 min;载气:氦气;流速:1 mL·min⁻¹,恒流模式。

1.2.3 质谱条件的确定 接口温度:250℃;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;电离方式:EI;电子能量:70eV;扫描范围:40~500 amu。

1.3 数据处理

利用 NIST08 质谱数据库进行检索,同时参考文献^[8-9]进行人工谱图解析,对各组分进行定性分析;每个样品平行测定 3 次,采用 G1701EA 化学工作站(版本号:E.02.00)面积归一化法计算各组分相对质量百分含量。

2 结果与分析

2.1 萃取温度的确定

当温度低于 90℃时,大豆花中含量较低的挥发性化合物不能检出,但温度大于 100℃时,检测的组

分又开始较少。实验发现,选择 95℃作为萃取温度较为合适。

2.2 气相色谱-质谱条件选择

为使低沸点组分得到较好的分离,色谱柱起始温度设为 45℃,并保持 15 min。以后逐步升温至 180℃,以分离高沸点组分。最后升温至 230℃并保持 5 min,以老化色谱柱,确保色谱柱内无残留。

对不分流进样和分流进样两种进样模式进行了考察,发现不分流进样时,先流出组分不能完全分离,因此采用分流进样模式。为保证检出灵敏度,选择分流比为 1:1。

2.3 大豆花中挥发性成分鉴定

根据优化确定的萃取和仪器测定条件,对 5 个大豆品种花中挥发性成分进行了分离和鉴定。挥发性化合物的总离子流图(TIC)见图 1。从图 1 中可以看出各组分的色谱分离度较好,能够满足准确定量的要求,各组分的色谱保留时间见表 1。

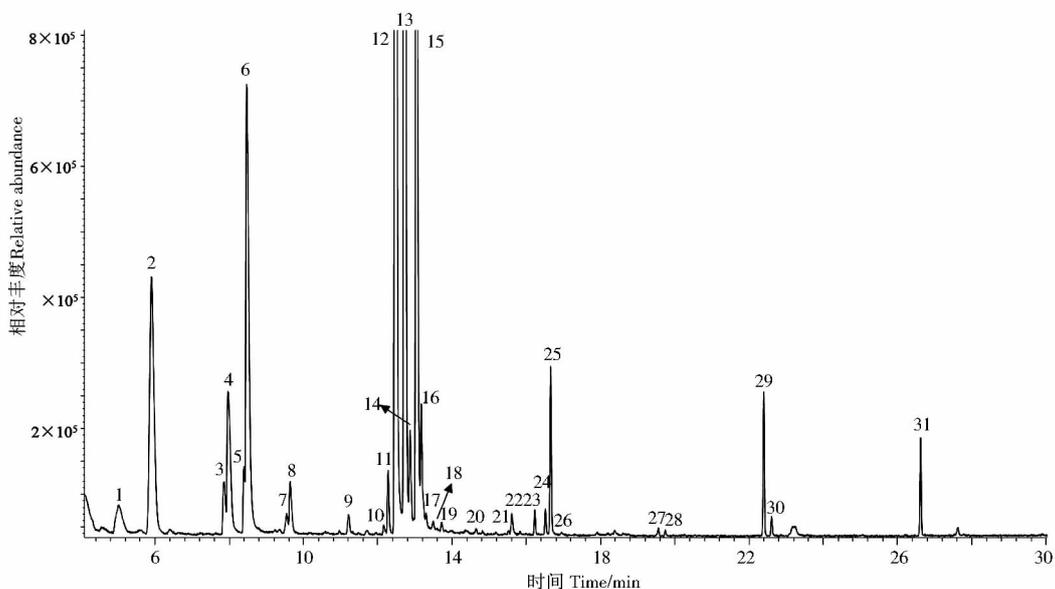


图 1 吉育 89 大豆花样品挥发性成分的总离子流图

Fig. 1 Total ion current (TIC) chromatography of volatile flavor components Jiyu 89 flower

从表 1 可以看出:大豆花中共检出 31 种挥发性化合物,包括醇类(11 种)、酮类(1 种)、醛类(7 种)、烃类(10 种)、酯类(1 种)和呋喃类(1 种)共 6 类挥发性化合物。

醇类化合物共检出 11 种,在大豆花挥发性成分中含量最高,在 5 个样品中的相对百分含量范围为 47.57%~78.87%。醇类化合物的主要成分为 1-辛烯-3-醇和 3-辛醇,其中 1-辛烯-3-醇为萜烯醇,又名蘑菇醇、松茸醇,存在于胡薄荷精油、薰衣草精油和谷类风味物质中,带有强烈、别致的清香,有米糠油

气息和甜的药草样味道^[7],是毛豆仁烫漂后主要挥发性化合物之一^[8]。其在 5 个样品挥发性成分中的相对百分含量依次为 74.20%、37.86%、49.59%、41.48%和 13.75%。3-辛醇为无环醇,呈强烈油脂、果仁和草药香味,稀释后呈蘑菇香气和干酪香味,其在 5 号样品挥发性成分中的相对百分含量达到了 22.76%,1 号样品含量最少,为 2.24%。3-辛醇也是大豆植株挥发物中的主要成分^[9]。由此可见,1-辛烯-3-醇和 3-辛醇应该是大豆花气味的主要贡献化合物。

表1 5种大豆花中挥发性成分分析
Table 1 Analysis of volatile flavor components in 5 soybean flowers

挥发物种类 Volatiles type	序号 No.	化合物名称 Compounds	分子式 Molecular formula	保留时间 Retention time/min	相对含量 Relative content/%				
					样品1 No.1 sample	样品2 No.2 sample	样品3 No.3 sample	样品4 No.4 sample	样品5 No.5 sample
醇 Alcohols	1	顺式-2-戊烯-1-醇	C ₅ H ₁₀ O	5.0	0.15	0.92	0.42	0.93	0.98
	2	3-己烯-1-醇	C ₆ H ₁₂ O	8.0	0.75	2.53	1.53	1.22	2.20
	3	反式-2-己烯-1-醇	C ₆ H ₁₂ O	8.4	—	0.54	0.19	0.51	0.63
	4	1-己醇	C ₆ H ₁₄ O	8.4	0.38	6.86	2.61	5.71	6.12
	5	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	12.5	74.20	37.86	49.59	41.48	13.75
	6	3-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	13.0	2.24	9.46	10.71	5.73	22.76
	7	顺式-5-辛烯-1-醇	C ₈ H ₁₆ O	13.5	0.62	0.18	0.25	0.14	0.08
	8	反式-2-辛烯-1-醇	C ₈ H ₁₆ O	15.5	0.04	0.03	—	0.02	0.04
	9	1-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	15.6	0.30	0.21	0.18	0.14	0.18
	10	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	16.5	0.15	0.21	0.28	0.17	0.68
	11	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	16.9	0.04	0.03	0.05	0.03	0.15
总和 Total					78.87	58.83	65.81	56.08	47.57
醛 Aldehydes	1	反式-2-己烯醛	C ₆ H ₁₀ O	7.9	0.06	0.65	0.25	1.78	1.21
	2	正庚醛	C ₇ H ₁₄ O	9.7	0.76	0.66	0.50	0.40	0.58
	3	正辛醛	C ₈ H ₁₆ O	13.3	0.26	0.29	0.32	0.31	0.33
	4	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	14.6	—	0.08	0.07	0.07	0.08
	5	正壬醛	C ₉ H ₁₈ O	16.7	1.26	1.23	1.78	1.36	1.02
	6	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	19.8	0.04	0.05	0.06	0.05	0.03
	7	正十一醛	C ₁₁ H ₂₂ O	22.6	0.12	0.16	0.19	0.15	0.05
总和 Total					2.50	3.12	3.17	4.12	3.30
酮 Ketones	1	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	12.7	2.04	26.63	15.59	26.45	38.87
酯 Esters	1	乙酸己酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	13.7	0.14	0.14	0.09	0.15	0.05
烃 Alkanes	1	2,4-二甲基己烷	C ₈ H ₁₈	5.9	6.54	5.90	8.60	6.41	4.90
	2	正壬烷	C ₉ H ₂₀	9.6	0.26	0.23	0.28	0.27	0.19
	3	癸烷	C ₁₀ H ₂₂	13.2	1.62	1.40	2.44	1.59	1.18
	4	十二烷	C ₁₂ H ₂₆	19.6	0.10	0.07	0.07	0.09	0.03
	5	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	22.4	0.75	0.95	0.43	1.25	0.14
	6	2,6,10-三甲基-十二烷	C ₁₅ H ₃₂	26.6	5.65	0.66	1.87	1.26	2.06
	7	3-乙基-1,5-辛二烯	C ₁₀ H ₁₈	11.2	—	0.19	0.11	0.51	0.24
	8	2,5,5-三甲基-2-己烯	C ₉ H ₁₈	12.2	0.10	0.08	0.10	0.10	0.09
	9	3,5,5-三甲基-2-己烯	C ₉ H ₁₈	12.3	0.97	0.55	0.70	0.57	0.28
	10	1-十一烯	C ₁₁ H ₂₂	16.2	0.09	0.18	0.20	—	0.02
总和 Total					16.08	10.21	14.8	12.05	9.13
呋喃 Furan	1	2-戊基呋喃	C ₉ H ₁₄ O	12.9	0.35	1.06	0.54	1.16	1.08

酮类化合物仅检出3-辛酮1种,但在2~5号样品挥发性成分中的相对百分含量较高,为15.59%~38.87%,1号样品含量最少,为2.04%。3-辛酮在鱼肉和牡蛎挥发成分中都有检出^[10-11],且是其中主要成分,因此可能会使大豆花具有一定的豆腥味。

醛类化合物检出7种,在5个样品挥发性成分中相对百分含量范围为2.50%~4.12%。醛类化合物是油脂特征气味的主要成分^[12]。其中在4号和5号样品中含量较高的反式-2-己烯醛在高浓度时还具有青草气味,浓度较低时呈现新鲜水果清香,有

报道它对绿盲蝽等寄生害虫有较强的吸引作用^[13]。5个样品中含量均较高的正壬醛与豆油所产生的豆腥味、青草气味有关^[14]。

烃类化合物检出10种(包括6种烷烃和4种烯烃),在5个样品中相对百分含量范围为9.13%~16.08%。烷烃类化合物由于嗅觉阈值较高,对气味贡献很小,但是烯烃类化合物可能对气味特征有贡献^[10]。大豆花挥发性成分中烃类化合物以烷烃为主,烯烃所占比例较小,因此它们对大豆花气味特征贡献可能不大。

酯类和呋喃类化合物均检出1种,分别是乙酸己酯和2-戊基呋喃。乙酸己酯具有苹果和梨的香味,但由于它在5个大豆花样品挥发性成分中相对百分含量仅占0.1%左右,含量较低,因此对大豆花气味贡献应该不大。2-戊基呋喃具有果香及类似蔬菜的气味,在2号、4号和5号样品挥发性成分中相对百分含量都在1%左右。文献报道称当其浓度达1~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,会使豆油产生豆腥味^[14]。

3 结 论

本研究建立的静态顶空-GC-MS联用技术分析大豆花中挥发性成分的方法,具有简便快速、无需复杂样品处理和使用化学试剂的优点,适用于大豆花等样品中挥发性成分的分离与鉴定。

大豆花中包括醇、酮、醛、烃、酯和呋喃6类化合物,这些物质在不同品种大豆花挥发成分中的含量存在较大的差异。醇、酮类化合物在挥发性成分中占有绝对比重,是大豆花气味特征的主要贡献物质;醛类化合物对大豆花气味特征也有一定贡献;烷烃类化合物由于嗅觉阈值较高,虽然占有一定比重,但是对大豆花气味特征贡献不大;烯烃、酯和呋喃类化合物所占比重较小,对大豆花气味特征的贡献也不明显。

参 考 文 献

[1] 赵丽梅,彭宝,张伟龙,等. 杂交大豆制种技术体系的建立[J]. 大豆科学,2010,29(4):707-711. (Zhao L M, Peng B, Zhang W L, et al. Establishment of technology system for hybrid soybean seed production[J]. Soybean Science, 2010, 29(4):707-711.)

[2] 邱丽丽,容蓉,张莹,等. 水蒸气蒸馏与顶空进样 GC-MS 分析白胡椒挥发性成分[J]. 食品科学,2010,31(14):161-164. (Qiu L L, Rong R, Zhang Y, et al. Steam distillation or headspace extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the volatile composition analysis of white pepper[J]. Food Science, 2010, 31(14):161-164.)

[3] Gan J Y, Sharon P, Scott R Y. Static headspace and gas chromatographic analysis of fumigant residues in soil and water[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1988, 46:986-990.

[4] 李英华,吕秀阳,李准,等. 顶空气相色谱法在特产气味成分分析鉴定中的应用研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(增刊):121-125. (Li Y H, Lyu X Y, Li Z, et al. Application of headspace gas chromatography in quality appraisal and scent components of special products[J]. Natural Product Research and Development, 2005, 17(Suppl.):121-125.)

[5] Guevas-Glory L F, Jorge A P, Louis S S, et al. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey[J]. Food Chemistry, 2007, 103:1032-1043.

[6] 邓晓军,杜家纬. 采用多次顶空固相微萃取分析拟南芥绿叶挥发性物质[J]. 生态学杂志,2005,24(8):970-974. (Deng X J, Du J W. Multiple headspace solid phase micro-extraction and analysis of volatiles from *Arabidopsis* green leaf[J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(8):970-974.)

[7] 王建新,朱同胜. 食用香料1-辛烯-3-醇的合成[J]. 无锡轻工大学学报,1998,17(1):89-91. (Wang J X, Zhu T S. The synthesis of edible fragrance 1-octen-3-ol[J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 1998, 17(1):89-91.)

[8] 卓成龙,李大婧,宋江峰,等. 微波烫漂与热水烫漂毛豆仁风味成分比较[J]. 食品科学,2010,31(18):321-324. (Zhuo C L, Li D J, Song J F, et al. Comparison of the flavor of green soybean with microwave and hot water blanching[J]. Food Science, 2010, 31(18):321-324.)

[9] 刘健,马凤鸣,赵奎军. 大豆植株挥发性成份定性分析[J]. 大豆科学,2009,28(4):719-722. (Liu J, Ma F M, Zhao K J. Component analysis of volatile compounds released from soybean[J]. Soybean Science, 2009, 28(4):719-722.)

[10] 王璐. 养殖草鱼肉主体气味及其环境影响因素研究[D]. 上海:上海海洋大学,2009. (Wang L. Effect of environmental impact factors on key odor compounds of cultured grass carp meat [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2009.)

[11] 沈丽,张丽君,许柏球. 不同解冻时间对冰鲜牡蛎挥发性风味物质的影响[J]. 肉类研究,2012,26(3):5-8. (Shen L, Zhang L J, Xu B Q. Change in volatile flavor components of frozen oyster during thawing[J]. Meat Research, 2012, 26(3):5-8.)

[12] 邹建凯. 猪油挥发油成分的气相色谱/质谱法分析[J]. 分析化学,2002,30(4):512. (Zhou J K. Analysis of lard essential oil composition by gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2002, 30(4):512.)

[13] 陈展册,苏丽,戈峰,等. 绿盲蝽对性激素类似物和植物挥发物的触角电位反应[J]. 昆虫学报,2010,53(1):47-54. (Chen Z C, Su L, Ge F, et al. Electroantennogram responses of the green leaf bug, *Lygus lucorum* meyer-Dür (Hemiptera: Miridae), to sex pheromone analogs and plant volatiles [J]. Acta Entomologica Sinica, 2010, 53(1):47-54.)

[14] 黄显慈. 鉴别豆油回味产生强烈气味的化合物[J]. 粮食加工, 1990(2):41-45. (Huang X C. Identification of soybean oil with a strong odor compounds [J]. Grain Processing, 1990(2):41-45.)