

气相色谱-飞行时间质谱法结合保留指数分析 小豆蔻油挥发性成分

徐杨斌², 曾熠程¹, 朱瑞芝¹, 杨卫军³, 曲荣芬¹, 王凯^{*1}

(1. 云南中烟工业有限责任公司 技术中心, 云南 昆明 650231; 2. 贵州中烟工业有限责任公司 遵义卷烟厂, 贵州 遵义 563000; 3. 陕西省烟草专卖局, 陕西 西安 710061)

摘要:为分析比较不同产地小豆蔻油中挥发性成分,采用气相色谱-飞行时间质谱法进行挥发性成的定性分析,并通过质谱库检索,结合保留指数验证,从越南小豆蔻油和英国小豆蔻油中分别鉴定出68和33个挥发性成分。结果表明,越南产地小豆蔻油的主要成分(质量分数)为 α -松油醇乙酸酯(36.01%)、1,8-桉叶素(28.04%)、乙酸芳樟酯(6.58%)、芳樟醇(5.47%)、柠檬烯(4.16%)、桧烯(2.84%)、4-松油醇(1.89%)、香叶醇(1.61%)、乙酸香叶酯(1.59%)、乙酸辛酯(1.22%)等;英国产地小豆蔻油的主要成分为1,8-桉叶素(44.91%)、 α -松油醇乙酸酯(38.53%)、芳樟醇(3.29%)、柠檬烯(2.46%)、 α -松油醇(1.52%)、橙花醇(1.47%)、4-松油醇(1.11%)等;两个产地的小豆蔻油中挥发性成分的组成存在一定的差异。

关键词:小豆蔻油;保留指数;气相色谱;飞行时间质谱;挥发性成分

中图分类号:TS 225.3 文献标志码:A 文章编号:1673-1689(2018)04—0442—06

Analysis of Volatile Compounds by GC-TOF/MS Combined with Retention Index in Cardamom Oil

XU Yangbin², ZENG Yicheng¹, ZHU Ruizhi¹, YANG Weijun³, QU Rongfen¹, WANG Kai^{*1}

(1. Research and Development Center, China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd, Kunming 650231, China; 2. Zunyi Cigarette Factory, China Tobacco Guizhou Industrial Co., Ltd, Zunyi 563000, China; 3. Shanxi Tobacco Monopoly Bureau, Xian 710061, China)

Abstract: The volatile constituents of cardamom oil from different producing area were analyzed by gas chromatography - time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF/MS). With the MS library search, 68 and 33 volatile constituents were confirmed by using retention index in cardamom oil from Vietnam and United Kingdom origin. According to the result, alpha-terpinyl acetate (36.01%), 1,8-cineole (28.04%), linalyl acetate (6.58%), linalool (5.47%), limonene (4.16%), sabinene (2.84%), terpinen-4-ol (1.89%), geraniol (1.61%), geranyl acetate (1.59%), octyl acetate (1.22%)

收稿日期: 2016-01-27

基金项目: 云南中烟工业有限责任公司资助项目(2013FL10); 云南中烟工业有限责任公司资助项目(S-6013046)。

作者简介: 徐杨斌(1989—),男,福建宁德人,工学硕士,助理工程师,主要从事烟用香精香料研究。E-mail:xyb496413287@163.com

*通信作者: 王凯(1977—),男,陕西西安人,理学博士,高级工程师,主要从事烟用香精香料研究。E-mail:27922573@163.com

引用本文: 徐杨斌,曾熠程,朱瑞芝,等. 气相色谱-飞行时间质谱法结合保留指数分析小豆蔻油挥发性成分[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(04):442-447.

were the main components in cardamon oil from Vietnam origin. 1,8-Cineole (44.91%), alpha-terpinyl acetate(38.53%), linalool(3.29%), limonene(2.46%), alpha-terpineol(1.52%), nerol (1.47%), terpinen-4-ol (1.11%) were the main components in cardamon oil from United Kingdom origin. There were certain differences in the kinds and content of volatile constituents from two origins.

Keywords: cardamom oil, retention index, gas chromatography, time-of-flight mass spectrometry, volatile compounds

小豆蔻属姜科多年生草本植物,其种子具有强烈芳香气息。小豆蔻是世界著名的药用植物与香料,被称为“香料之后”^[1],具有祛风、健胃的功效^[2]。小豆蔻主产于印度、越南、斯里兰卡等地,在中国也有少量种植。由小豆蔻的籽实经水蒸汽蒸馏而得小豆蔻油,为无色至淡黄色液体,有特征辛香,香气暖和,头香似樟脑、桉叶素样气息,体香呈木香、甜香和花辛香气息。目前,国内外对小豆蔻油的研究主要集中在挥发性成分的分析^[3-7]、提取方法^[8-13]、香气特征^[14]、抗氧化性能^[15-17]、医药方面^[18-21]等,而针对不同产地小豆蔻油挥发性成分的对比研究比较缺乏。同时,国内对精油的分析主要采用GC-MS质谱库检索来定性^[22-23],其检测结果相对不够准确,因此,作者采用GC-TOF/MS法建立两个产地小豆蔻油的指纹图谱,通过质谱库检索和匹配度定性,并结合保留指数验证,较为准确地分析了两个产地小豆蔻油中挥发性成分,也比较了两者的组成及含量上的差异,为小豆蔻油的开发和使用提供了参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小豆蔻油,市售;正己烷、甲醇、二氯甲烷,均为色谱纯,购自Sigma-Aldrich公司;正构烷烃C₇-C₃₀:购自Sigma-Aldrich公司。GC-TOF/MS气相色谱/飞行时间质谱联用仪:美国LECO公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 气相色谱条件 色谱柱为RXi-5sil MS色谱柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为高纯度氦气(流量:1.0 mL/min)。直接进样法升温程序:初始温度50 °C,以2 °C/min升至220 °C,停留5 min。进样口温度:250 °C,分流比:10:1,溶剂延迟时间:300 s,进样量:1.0 μL。

1.2.2 质谱条件 电离方式:EI,电离能量:70 eV,离子源温度:200 °C,扫描质量范围(m/z):40~450,检索数据库:Nist08谱库、Wiley9N谱库。

1.2.3 样品前处理 准确称取越南产地小豆蔻油和英国产地小豆蔻油各0.10 g,分别用甲醇与二氯甲烷混合溶液($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:4$)定容至5 mL;用正己烷稀释成质量分数为5%的正构烷烃溶液测定化合物的保留指数;所有样品均用有机滤膜过滤。

1.2.4 定性方法 采用质谱库检索,结合化合物保留指数比对,来分析不同产地小豆蔻油中的挥发性成分,以峰面积归一化法计算各组分相对含量。

2 结果与讨论

2.1 定性结果

经GC-TOF/MS分析得到越南小豆蔻油和英国小豆蔻油中挥发性成分的总离子流谱图如图1所示。采用标准质谱库检索和匹配度定性,并结合保留指数验证,对越南小豆蔻油和英国小豆蔻油进行了挥发性成分的分析,鉴定结果如表1所示。

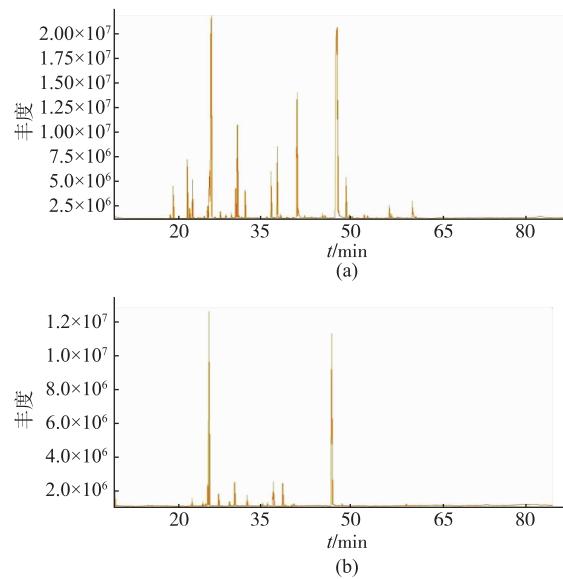


图1 越南小豆蔻油和英国小豆蔻油挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatograms of volatile components in cardamom oil from Vietnam origin and cardamom oil from United Kingdom origin

表 1 不同产地小豆蔻油中挥发性成分

Table 1 Volatile components in cardamom oil from different producing areas

序号	化合物名称	匹配度	保留时间/ min	保留指数		CAS 登记号	峰面积/%	
				观测值	引用值		越南	英国
1	丙酸甲酯	884	7.12	660	634	554-12-1	—	0.010
2	乙酸异丁酯	886	10.44	750	761	110-19-0	0.014	—
3	异戊酸甲酯	864	10.51	770	761#	556-24-1	—	0.003
4	己醛	924	12.01	802	801	66-25-1	0.009	—
5	2-己醇	809	12.57	813	796	626-93-7	0.189	—
6	异戊酸	921	13.59	834	827	503-74-2	0.048	—
7	2-甲基丁酸	875	14.02	844	832	116-53-0	0.021	—
8	2-甲基丁醇乙酸酯	924	15.50	874	875	624-41-9	0.030	—
9	庚醛	811	16.87	903	911	111-71-7	0.033	—
10	己酸甲酯	914	17.05	920	921	106-70-7	—	0.015
11	α -侧柏烯	885	18.40	927	924	3917-48-4	0.533	—
12	α -蒎烯	926	18.93	935	932	80-56-8	0.861	0.063
13	α -小茴香烯	856	19.89	951	945	471-84-1	0.006	—
14	莰烯	899	20.02	953	946	79-92-5	0.036	0.011
15	桧烯	947	21.41	975	969	555-10-2	2.841	—
16	β -蒎烯	899	21.80	981	974	3387-41-5	0.341	—
17	己酸	848	21.86	982	962	142-62-1	0.078	—
18	6-甲基-5-庚烯-2-酮	900	21.97	984	981	110-93-0	0.211	0.019
19	月桂烯	908	22.31	989	988	123-35-3	0.808	0.355
20	2-羟基-3-甲基戊酸甲酯	838	22.49	992	989	41654-19-7	0.019	—
21	辛醛	928	23.28	1 004	998	124-13-0	0.150	—
22	α -水芹烯	881	23.63	1 009	1 002	99-83-2	0.080	0.015
23	乙酸己酯	833	23.74	1 011	1 007	142-92-7	0.067	—
24	α -松油烯	835	24.24	1 017	1 014	99-86-5	—	0.330
25	邻伞花烃	939	24.95	1 028	1 022	527-84-4	0.583	0.536
26	柠檬烯	929	25.32	1 034	1 024	5989-54-8	4.161	2.455
27	1,8-桉叶素	883	25.52	1 036	1 026	470-82-6	28.040	44.908
28	(E)- β -罗勒烯	917	26.22	1 046	1 044	3779-61-1	0.163	0.048
29	γ -松油烯	860	27.19	1 060	1 054	99-85-4	0.645	0.980
30	正辛醇	927	27.81	1 068	1 063	111-87-5	—	0.012
31	苯乙酮	912	27.82	1 069	1 065*	98-86-2	0.061	—
32	(Z)-氧化芳樟醇	847	28.10	1 073	1 067	5989-33-3	0.059	—
33	萜品油烯	905	29.13	1 088	1 086	586-62-9	0.612	0.391
34	对异丙烯基甲苯	881	29.51	1 093	1 089	1195-32-0	0.043	—
35	芳樟醇	951	30.19	1 103	1 095	78-70-6	5.470	3.290
36	(Z)-水合桧烯	864	30.40	1 106	1 100*	15537-55-0	0.113	—
37	萜品烯-1-醇	864	32.07	1 129	1 130*	586-82-3	0.127	—
38	(E)-2-辛烯酸甲酯	821	34.98	1 170	1 163	7367-81-9	0.017	—
39	辛酸	803	35.31	1 175	1 167	124-07-2	0.130	—
40	α -松油醇	802	35.37	1 176	1 192*	10482-56-1	0.335	—
41	龙脑	873	35.83	1 182	1 165	507-70-0	0.027	—
42	4-松油醇	956	36.12	1 186	1 181*	562-74-3	1.887	1.107

续表 1

序号	化合物名称	匹配度	保留时间/ min	保留指数		CAS 登记号	峰面积/%	
				观测值	引用值		越南	英国
43	对甲基苯乙酮	897	36.39	1 190	1 179*	122-00-9	0.031	—
44	对伞花烃-8-醇	837	36.57	1 192	1 179	1197-01-9	0.608	—
45	丁酸叶醇酯	834	36.69	1 194	1 184	16491-36-4	0.013	—
46	(Z)-4-癸烯醛	928	36.78	1 195	1 193	21662-09-9	0.032	—
47	α-松油醇	930	36.96	1 196	1 186	98-55-5	—	1.516
48	癸醛	897	37.62	1 207	1 201	112-31-2	0.017	—
49	乙酸辛酯	914	37.77	1 209	1 211	112-14-1	1.215	0.056
50	(Z)-水合桧烯乙酸酯	891	38.39	1 218	1 219	77318-48-0	0.020	—
51	橙花醇	867	39.22	1 230	1 227	106-25-2	0.054	1.466
52	橙花醛	912	39.94	1 241	1 235	106-26-3	0.107	—
53	乙酸芳樟酯	943	40.65	1 251	1 254	115-95-7	6.581	0.342
54	香叶醇	937	40.81	1 253	1 249	106-24-1	1.606	0.379
55	香叶醛	914	41.97	1 270	1 264	141-27-5	0.512	0.022
56	乙酸龙脑酯	914	43.20	1 288	1 284	76-49-3	0.222	—
57	2-十一酮	920	43.60	1 293	1 293	112-12-9	0.072	—
58	4-癸烯酸甲酯	813	44.56	1 307	1 289*	1191-02-2	0.005	—
59	香叶酸甲酯	898	45.54	1 322	1 322	2349-14-6	0.554	0.029
60	α-松油醇乙酸酯	873	47.51	1 352	1 346	80-26-2	36.013	38.529
61	乙酸橙花酯	838	47.77	1 357	1 359	141-12-8	—	0.024
62	乙酸香叶酯	955	49.24	1 378	1 379	105-87-3	1.585	0.363
63	肉桂酸甲酯	881	49.99	1 389	1 403*	103-26-4	0.018	—
64	乙酸癸酯	861	51.22	1 408	1 407	103-09-3	0.029	—
65	β-石竹烯	933	52.43	1 427	1 417	87-44-5	0.446	—
66	α-松油醇丙酸酯	812	52.66	1 433	1 405#	80-27-3	—	0.020
67	(E)-β-金合欢烯	850	54.08	1 453	1 454	18794-84-8	0.027	—
68	α-丁子香烯	844	54.21	1 455	1 452	4545-68-0	0.025	—
69	α-蛇麻烯	866	54.70	1 463	1 452*	6753-98-6	0.049	—
70	α-芹子烯	962	56.83	1 497	1 498	473-13-2	0.377	0.022
71	大根香叶烯 D	863	58.19	1 519	1 485	23986-74-5	0.081	0.013
72	(E)-橙花叔醇	954	60.87	1 564	1 561	40716-66-3	0.383	0.222
73	石竹烯氧化物	819	62.51	1 591	1 582	1139-30-6	0.016	—
74	乙酸月桂酯	805	63.43	1 607	1 607	112-66-3	0.024	—
75	正十七烷	852	68.69	1 699	1 700	629-78-7	0.010	—
76	棕榈酸甲酯	860	77.72	1 923	1 921	112-39-0	—	0.009
77	十八醛	782	85.23	2 022	2 017*	638-66-4	0.005	—

注:1)保留指数(观测值)是GC-TOF/MS工作站自动计算所得到的保留指数结果;保留指数(引用值)带#的是相似柱(DB1柱)的值,带*的是DB5柱的值。表格中“—”表示未检出该化合物。

从表1可知,越南小豆蔻油中鉴定出68个挥发性成分,占其总峰面积的99.58%,其中,烷烯烃类22个,酯类17个,醇类12个,醛类8个,酸类4个,酮类4个,其它类1个;主要成分(质量分数)为α-松油醇乙酸酯(36.01%)、1,8-桉叶素(28.04%)、乙

酸芳樟酯(6.58%)、芳樟醇(5.47%)、柠檬烯(4.16%)、桧烯(2.84%)、4-松油醇(1.89%)、香叶醇(1.61%)、乙酸香叶酯(1.59%)、乙酸辛酯(1.22%)等。英国小豆蔻油中共检出33个挥发性成分,占其总峰面积的97.56%,其中,烷烯烃类12个,酯类11

个, 醇类8个, 醛类1个, 酮类1个; 主要成分为1,8-桉叶素(44.91%)、 α -松油醇乙酸酯(38.53%)、芳樟醇(3.29%)、柠檬烯(2.46%)、 α -松油醇(1.52%)、橙花醇(1.47%)、4-松油醇(1.11%)等。通过挥发性成分的比较分析, 可知:两个产地小豆蔻油中挥发性成分的组成存在明显的差异;两个产地小豆蔻油中共有成分23个;与英国小豆蔻油相比, 越南小豆蔻油中挥发性成分更多。

2.2 质谱库检索和匹配度定性

Nist08谱库和Wiley9N谱库对未知化合物进行检索时,以匹配度从大到小的顺序排列出可能的化合物,并提供化学结构、名称、质谱图等信息。依据匹配度大小、分子离子准确质量差异、碎片离子准确质量差异等,对未知化合物进行定性是目前较为常用的定性方法。如表1中,49号化合物在质谱库检索后,给出一系列的检索结果,有3种化合物匹配度较高,分别是乙酸庚酯($C_9H_{18}O_2$)、乙酸辛酯($C_{10}H_{20}O_2$)和乙酸己酯($C_8H_{16}O_2$),匹配度依次为916、914和905,经计算乙酸庚酯、乙酸辛酯、乙酸己酯的准确分子量分别为158.24、172.27和144.21,在未知化合物的质谱图中有微弱的172.2的分子离子峰,并结合未知化合物和乙酸辛酯的质

谱图中各种碎片离子分布情况,可以确定该化合物为乙酸辛酯。

2.3 保留指数在定性分析中的应用

天然香料的组成较为复杂,在质谱库检索时往往会出现一个峰与几种物质相匹配的现象,尤其是同分异构体或同系物,而同分异构体的结构较为相似,质谱图中碎片离子峰也差别不大,如果仅仅使用质谱库检索和匹配度定性来确认未知成分,有可能会出现定性错判。因此,作者采用比较稳定的保留指数来确定化合物结构,同时结合质谱库检索和匹配度定性,大大提高了定性结果的准确度。如表2中,需确认的化合物为 α -蒎烯,计算机质谱检索为 α -蒎烯(匹配度为906)和 β -蒎烯(匹配度为899),仅根据质谱库检索结果很难确定该未知化合物,通过比对保留指数,可知 α -蒎烯和 β -蒎烯两种化合物的保留指数文献值分别为932和974,与Pegasus 4D工作站计算的实测保留指数(981)比较,就很容易确定该化合物为 β -蒎烯。利用保留指数定性是一种很有效的定性方法,不仅可以单独用于化合物定性,而且可以结合其它定性方法来鉴别未知化合物,该法在复杂香料挥发性成分的定性中具有良好的应用前景。

表2 保留指数比对应用示例

Table 2 Application examples of retention index

需确认的化合物	质谱库检索	匹配度	CAS号	保留指数		确认结果
				引用值	观测值	
α -蒎烯	α -蒎烯	906	80-56-8	932	981	β -蒎烯
	β -蒎烯	899	3387-41-5	974		

3 结语

利用GC-TOF/MS建立了不同产地小豆蔻油的指纹图谱,通过质谱库结合保留指数定性,分析了两个产地小豆蔻油中挥发性成分,其中,从越南小

豆蔻油中检出68个化合物,英国小豆蔻油中检出33个挥发性成分,两者共有成分23个,且两个产地的小豆蔻油中化合物的组成和含量上存在明显的差异,该研究为小豆蔻油的开发与应用提供了成分依据。

参考文献:

- [1] WU Menghua, ZHANG Wei, DENG Qinghua. Progress in studies on chemical constituents and pharmacological effects of cardamom[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2014, 37(5): 906-908. (in Chinese)
- [2] 赵中振,肖培根. 当代药用植物典[M]. 香港:万里机构出版有限公司,2007.
- [3] BARUAH A K S, BHAGAT S D, SAIKIA B K. Chemical composition of Alleppey cardamom oil by gas chromatography[J]. *Analyst*, 1973, 98(1164): 168-171.
- [4] NARAYANAN C S, MATHEW A G. Chemical investigations on spice oils (allepey grade oils)[J]. *Indian Perf*, 1985, 29(1/2): 15-22.

- [5] GOPALAKRISHNAN N,NARAYANAN C S. Supercritical carbon dioxide extraction of cardamom (6 samples, various conditions & moisture content)[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,1991,39:1976-1978.
- [6] SHABAN M A,KANDEEL K M,YACOUNT G A,et al. The chemical composition of the volatile oil of elettaria cardamomum seeds[J]. **Pharmazie**,1987,42:207-208.
- [7] MARONGIU B,PIRAS A,PORCEDDA S. Comparative analysis ofthe oil and supercritical CO₂ extract of Elettaria cardamomum (L.) Maton[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2004,52(20):6278-6282.
- [8] SERESHTI H,ROHANIFAR A,BAKHTIARI S,et al. Bifunctional ultrasoundassisted extraction and determination of Elettariocardamomum Maton essential oil[J]. **Journal of Chromatography A**,2012,18(1238):46-53.
- [9] MENON A N,SREEKUMAR M M. A study on cardamom oil distillation[J]. **Indian Perfum**,1994, 38(4):153-157.
- [10] OLENIKOV D N,ROKHIN A V. Water-soluble glucans from truecardamom (Elettaria cardamomum White at Maton) seeds[J]. **Prikl Biokhim Mikrobiol**,2013,49(2):197-202.
- [11] HAMDAN S,DAOOD H G,TOTH M M,et al. Extraction of cardamom oil by supercritical carbon dioxide and sub-critical propane[J]. **Journal of Supercritical Fluids**,2008,44(1):25-30.
- [12] EIKANI M H,GOLMOHAMMAD F,AMOLI H S,et al. An experimental design approach for pressurized liquid extraction from cardamom seeds[J]. **Separation Science & Technology**,2013,48(8):1194-1200.
- [13] CHANG Zhanying,LIU Guihua,GAO Xiaoli,et al. Extraction technology of volatile oil from eletteria cardamomum and inclusion technology of β-cyclodextrin[J]. **Journal of China Pharmacy**,2014(7):630-632.(in Chinese)
- [14] GHOSH D,MUKHERJEE S,SARKAR S,et al. Exploratory study on aroma profile of cardamom by GC- MS and Electronic nose [J]. **Smart Sensors Measurement & Instrumentation**,2014,8:399-403.
- [15] GOPALAKRISHNAN N. Studies on the storage quality of CO₂ extracted cardamom and clove bud oils [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,1994,42:796-798.
- [16] AMMA K P P,SASIDHARAN I,SREEKUMAR M M,et al. Total antioxidant capacity and change in phytochemicals of four major varieties of cardamom oils during decortication[J]. **International Journal of Food Properties**,2015,18(6):1317-1325.
- [17] DOLATI M,REZAEI K,VANAK Z P,et al. Study of the effects of essential oils of cumin,savory and cardamom as natural antioxidants on the flavor and oxidative stability of soybean oil during the storage [J]. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants JEOP**,2016,19(1):176-184.
- [18] SENGUPTA A,GHOSH S,BHATTACHARJEE S. Dietary cardamominhibits the formation of azoxymethane-induced aberrantcrypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expressionin the colon [J]. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**,2005,6(2):118-122.
- [19] PATTNAIK S,PADHAN D K,JANA G K. Evaluation of cinnamon oil,peppermint oil,cardamom oil & orange oil as antimicrobial agents[J]. **Journal of Pharmaceutical Research**,2010,3:414-416.
- [20] QIBLAWI S,ALHAZIMI A,ALMOGBEL M,et al. Chemopreventive effects of cardamom (Elettaria cardamomum L.) on chemically induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice[J]. **Journal of Medicinal Food**,2012,15(6):576-580.
- [21] GILANI AH,JABEEN Q,KHAN AU,et al. Gut modulatory,blood pressure lowering,diuretic and sedative activities ofcardamom[J]. **Journal of Ethnopharmacology**,2008,115(3):463-472.
- [22] JIN Jianzhong,HA Chengyong. GC-MS determination of chemical components of essential oil from Lavender [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2005,24(5):68-71.(in Chinese)
- [23] YU Shitao,CHU Jiayong,WANG Na,et al. Supercritical fluid CO₂ extraction of radix peucedani volatile oil and components analysis[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(2):255-257.(in Chinese)