

基于GC-TOF-MS技术优化青钱柳茶挥发性物质的萃取条件

寇晓琳¹, 李婷婷^{1,2}, 吴彩娥^{1,2}, 范龚健^{1,2}, 洪香香², 林杰²

(1. 南京林业大学轻工与食品学院, 江苏南京 210037) (2. 南方现代林业协同创新中心, 江苏南京 210037)

摘要: 为了优化青钱柳茶挥发性物质萃取的关键因素, 进一步为其挥发性物质鉴定提供合适的理论方法, 本研究采用顶空固相微萃取法 (SPME) 对青钱柳茶叶中的挥发性物质进行萃取, 并用气相色谱高通量飞行时间质谱 (Gas chromatograph high flux time of flight mass spectrometer, GC-TOF-MS) 技术对其进行分析。通过设计不同的萃取头、萃取温度、萃取时间, 以及不同料液比进行萃取实验, 以确定HS-SPME的最佳条件。结果表明: 选取75 μm CAR/PDMS的萃取头, 在萃取温度为80 ℃、料液比为1:15的条件下萃取60 min为最优萃取条件。在此条件下, 共检测出青钱柳茶叶229种挥发性物质, 包括酸类、醛类、酮类、醇类、酯类、烷烃类、烯烃类及杂环类化合物。其中, 醛类、杂环类和醇类化合物的相对含量较高, 相对含量排在前五位的分别为己醛、1-石竹烯、正己醇、2-甲基丙烯醛、2-己烯醛。

关键词: 青钱柳茶; 气相色谱高通量飞行时间质谱仪 (GC-TOF-MS); 萃取条件; 挥发性物质

文章编号: 1673-9078(2019)08-261-270

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.8.037

Optimization of the Extraction of the Volatile Substances in *Cyclocarya paliurus* Tea Based on GC-TOF-MS

KOU Xiao-lin¹, LI Ting-ting^{1,2}, WU Cai-e^{1,2}, FAN Gong-jian^{1,2}, FU Xiang-xiang², LIN Jie²

(1. College of Light Industry and Food Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

(2. Co-innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to optimize the key variables for the extraction of the volatile substances in *Cyclocarya paliurus* tea and further provide theoretical methods for the identification of the volatile substances, headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) was used in this study to extract volatile substances from *Cyclocarya paliurus* tea before analysis by high-throughput gas chromatography-time of flight-mass spectrometry. The optimum conditions for HS-SPME were determined by designing different SPME fiber assemblies, extraction temperatures, extraction times and tea-to-water ratios. The results revealed the optimal extraction conditions: the use of CAR/PDMS (75 μm) as SPME fiber for a 60-min extraction at 80 ℃ and a tea-to-water ratio of 1:15. Under these conditions, 229 volatile substances were detected, including acids, aldehydes, ketones, alcohols, esters, alkanes, olefins and heterocyclic compounds. Among them, aldehydes, heterocyclics and alcohols had relatively high contents, with the top five contents derived from hexanal, 1-carophyllene, n-hexanol, 2-methylpropenal, and 2-hexenal.

Key words: *Cyclocarya paliurus* tea; gas chromatograph high flux time of flight mass spectrometer; extraction conditions; volatile substances

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal) *Iljinskaja*] 又名青钱李、甜茶树、一串钱等, 系双子叶植物纲, 胡桃科 (*Juglandaceae*), 青钱柳属植物, 是国家重点保护的濒危植物之一^[1], 主要分布于江西、浙江、贵州等地。目前已从青钱柳叶中分离得到 70 多种化合物, 主要包括三萜类物质、黄酮类物质、多糖类物质、有机酸和矿物

收稿日期: 2019-03-06

基金项目: 南京林业大学青年科技创新基金项目 (CX2017020); 江苏省自然科学基金青年科学基金项目 (BK20150883); 国家重点研发计划项目 (2017YFC0505505); 江苏高校优势学科建设工程自主项目 (PAPD)

作者简介: 寇晓琳 (1993-), 女, 硕士生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 李婷婷 (1982-), 女, 副教授, 研究方向: 森林食品加工与利用

质元素等。青钱柳不仅有降血糖、降血压^[2]、降血脂^[3]、抗氧化^[4]等功能, 而且其茶汤甘甜滋润, 具有独特香味, 江西等地居民就有饮用青钱柳茶的习惯。虽然青钱柳叶一直被当做茶来饮用, 但长期以来青钱柳并不属于普通食品范畴, 直到 2013 年 10 月 30 日国家卫计委才正式批准青钱柳叶为新食品原料, 并且规定其食用方式为“冲泡”。因此, 当前青钱柳叶的主要加工形式是制茶, 但市场上青钱柳茶的质量参差不齐, 风味差异较大, 对其挥发性风味物质的研究较少。借助现代仪器的检测手段并结合统计分析等方法对青钱柳茶挥发性物质进行研究, 有利于青钱柳茶产业的发展^[5]。

目前, 茶叶挥发性物质的提取方法主要有: 同时蒸

馏萃取法 (SDE)、顶空固相微萃取法 (HS-SPME)、超临界 CO₂ 萃取法 (SFE)、液液萃取 (LLE)、减压蒸馏萃取法 (VDE) 等^[6]。与其他萃取方法相比, HS-SPME 可以鉴定出高挥发性化合物, 如低分子量醇、甲氧基酚化合物、醛、酮和碳氢化合物, 它们在感官评定中起主要作用, 提取率也相对较高, 且能较好地保持芳香族化合物^[7], 但 SPME 法相对超临界 CO₂ 萃取法 (SFE)、液液萃取 (LLE) 等液体进样方式^[8,9], 具有对于一些低沸点的化合物敏感度不高等一系列的缺点。茶叶挥发性物质检测常用的方法多为气相色谱-质谱联用 (GC-MS)^[10,11], 而气相色谱高通量飞行时间质谱技术 (GC-TOF-MS) 与 HS-SPME 结合进行萃取分析具有操作时间短、样品量少、选择性高、灵敏度高等优点^[12], 是将高分离效能与高灵敏性的物质鉴定结合起来的物质研究的有力手段, 可全面准确分析青钱柳茶的风味组成。自从青钱柳被纳入新食品原料后, 其茶产业日益繁盛。茶叶冲泡后的挥发性物质也是衡量茶叶品质的重要标准, 现有研究主要是针对传统茶, 但是青钱柳茶不同于传统意义上的茶, 其挥发性物质也不相同, 不能参照传统茶叶挥发性物质的固相微萃取条件, 需要进行系统优化。本研究采用 SPME 萃取青钱柳茶叶中的挥发性物质, 并用 GC-TOF-MS 技术对其进行分析。优化青钱柳茶挥发性物质萃取的关键因素及为物质的鉴定提供合适的理论方法, 对青钱柳茶质量的研究具有现实意义。

1 材料与方法

1.1 材料

青钱柳叶由江苏南京青钱柳信息科技有限责任公司提供, 并按照绿茶的加工方式加工成茶。

1.2 仪器

SPME 萃取装置, 75 μm CAR/PDMS (carbon/polydimethyl siloxane) 萃取头, 85 μm PDMS/DVB (polydimethyl siloxane/divinylbenzene) 萃取头, 65 μm PDMS/DVB 萃取头, 100 μm PDMS 萃取头, 美国 Supelco 公司制造; Agilent 7890A 气相色谱仪, 美国 Agilent 公司制造; Pegasus BT 气相色谱高通量飞行时间质谱仪, 美国力可公司制造; DB-2D 加热器; 英国 Techne 公司制造; 150 T 粉碎机, 湖南中诚制药机械设备有限公司制造。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的准备

将青钱柳茶粉碎过 40 目筛, 准确称取 0.5 g 青钱柳

茶叶样品粉末, 装入顶空瓶中, 再加入适量沸腾的蒸馏水, 及时进行密封, 尽量保证装瓶效果的一致, 并在恒温条件下平衡一定时间。

1.3.2 顶空固相微萃取 (HS-SPME) 青钱柳茶挥发性物质

将已老化好的萃取头穿过隔垫插入样品瓶顶空部分, 在相同温度条件下萃取一定时间后拔出, 迅速插入色谱仪进样口解析 5 min, 进行气相色谱高通量飞行时间质谱分析。

1.3.3 萃取头的筛选

用气相色谱高通量飞行时间质谱 (GC-TOF-MS) 联用技术分析考察不同型号萃取头萃取挥发性物质的种类、总峰面积以及峰个数, 选择最合适青钱柳茶挥发性物质提取的萃取头。本次实验选择的萃取头类型为 100 μm PDMS、75 μm CAR/PDMS、65 μm PDMS/DVB 和 85 μm PDMS/DVB。

1.3.4 HS-SPME 条件的优化

本实验选取萃取温度、萃取时间、料液比等实验因素, 进行相应条件优化。

在保持萃取时间为 60 min, 样品质量 0.5 g, 加入 5 mL 沸腾的蒸馏水, 及其他条件不变的情况下, 分别选取萃取温度为 50、60、70、80、90 °C 进行优化, 以选取合适萃取温度。

选用最佳萃取温度, 样品质量 0.5 g, 加入 5 mL 沸腾的蒸馏水, 及其他条件不变的情况下, 分别进行萃取时间 30、45、60、75、90 min 的顶空固相微萃取实验, 以选取合适的萃取时间。

选用最佳萃取温度, 萃取时间, 样品质量 0.5 g, 及其他条件不变的情况下, 分别加入与样品质量成 1:5、1:10、1:15、1:20、1:25 比例沸腾的蒸馏水, 以选取合适的料液比例。

萃取后的样品进行气相色谱 (GC) 分析, 以总峰面积、峰个数来判别优化条件。

1.3.5 GC-TOF-MS 条件

选用色谱柱为 DB-5 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 设定进样口温度为 250 °C, 且不分流进样; 载气为 He, 流速为 1 mL/min。程序升温气相色谱柱箱温度初始柱温为 45 °C, 保持 2 min, 再以 10 °C/min 升至 250 °C, 保持 6 min。电离方式为 EI, 传输线温度为 250 °C, 质量扫描范围为 33–450 u。

参照 NIST 和 Wiley 图谱库确定青钱柳茶样品的挥发性物质。

1.3.6 数据统计分析

利用 Excel 等统计软件对试验结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 4种不同型号萃取头筛选

不同萃取头萃取挥发性物质的总离子流图如图1所示。由图1可知,在萃取温度为70℃,萃取时间60min,料液比为1:15的条件下,100μm PDMS、75μm CAR/PDMS、65μm PDMS/DVB和85μm PDMS/DVB萃取头分别鉴定出110、246、199和139种化合物,并且与其他三种萃取头相比,75μm CAR/PDMS萃取头有较大总峰面积,故萃取头选取75μm CAR/PDMS。

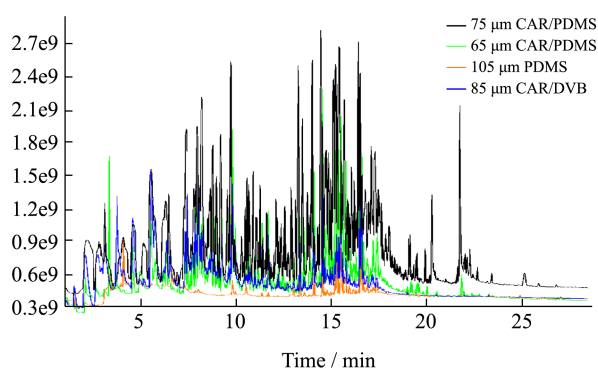


图1 不同萃取头萃取的挥发性物质总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of volatile substances in different extraction fibers

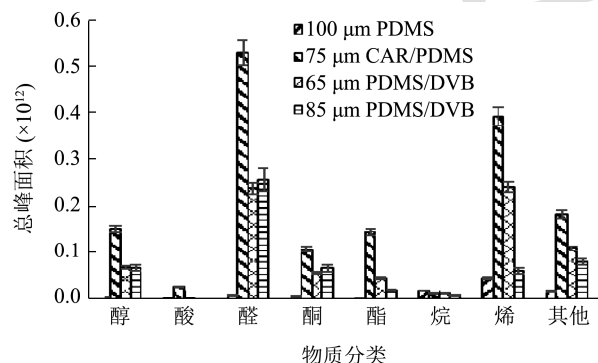


图2 不同萃取头萃取得到有效挥发性物质总峰面积

Fig.2 Total peak areas of effective volatile substances obtained by different SPME fibers

65μm DVB/PDMS萃取头与75μm CAR/PDMS萃取头均适于萃取双极性挥发性物质,对低沸点物质萃取能力较强;85μm PDMS/DVB萃取头多用于萃取极性半挥发性类物质;100μm PDMS萃取头多用于萃取小分子量或挥发性化合物的萃取,但对青钱柳茶挥发性组分的萃取不占优势。其中75μm CAR/PDMS萃取头对醇类,醛类,酯类以及碳氢类物质的萃取效果最好,可能是由于其由碳分子筛和聚二甲基硅氧烷复合材料制成,导致该萃取头的微孔比例较高,更适合富集痕量挥发性成分,与相关报道的结果一致^[13]。由图2和图3可知,75

μm CAR/PDMS的萃取头共萃取到229种挥发性物质,萃取到的化合物最全面,其中对醇类、醛酮类、酯类物质的萃取效果明显优于其他萃取头。其中己醛、1-石竹烯、正己醇、2-甲基丙烯醛、2-己烯醛是含量比较高的物质。

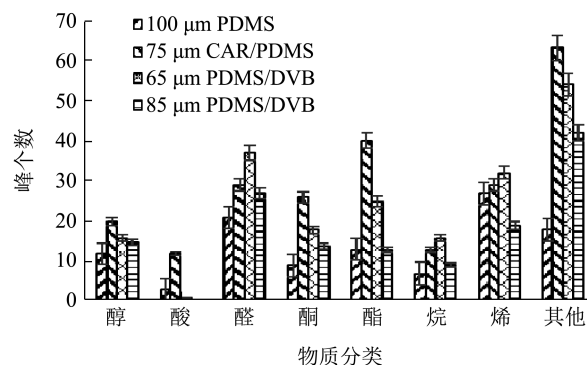


图3 不同萃取头萃取得到有效挥发性物质种类

Fig.3 Total peak species of effective volatile substances obtained by different SPME fibers

2.2 萃取温度对萃取结果的影响

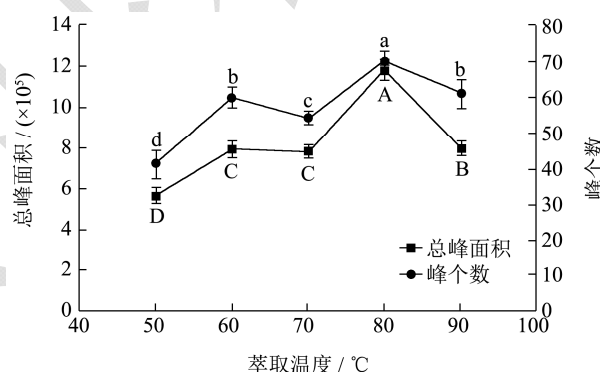


图4 萃取温度对SPME法萃取效果的影响

Fig.4 Effect of temperature on extraction result of volatile compounds by SPME

注:字母A~D表示不同料液比总峰面积间具有显著性($p < 0.05$);字母a~d表示不同料液比峰个数间具有显著性($p < 0.05$)。下同。

不同萃取温度对青钱柳茶挥发性物质萃取效果的影响如图4所示。选取75μm CAR/PDMS萃取头,并保证其他条件不变时,由图4分析可得,当萃取温度为50℃时,总峰面积最小、峰个数最少,随着温度升高,总峰面积和峰个数总体呈波动上升趋势,且峰面积和峰个数变化趋势相当。当萃取温度为80℃时,总峰面积和峰个数数值最大,趋于稳定,可能是因为温度升高加快分子运动,扩散系数随之增加,促使萃取头吸附能力增加^[14],效率提高,因此选择最优萃取温度为80℃^[15]。当萃取温度为80℃时,总峰面积为 1.2×10^6 ,峰个数为70,同时达最大值。当萃取温度过高,会造成萃取出来

的酯类物质含量偏高,而其他物质含量偏低,可能是由于温度较高,使得挥发性物质发生氧化,如醇类、醛类、酮类等物质被氧化而形成酯类物质;而萃取温度过低,使得挥发性物质不能很好地萃取出来,造成挥发性物质含量偏低,数量偏少。

2.3 萃取时间对萃取效果的影响

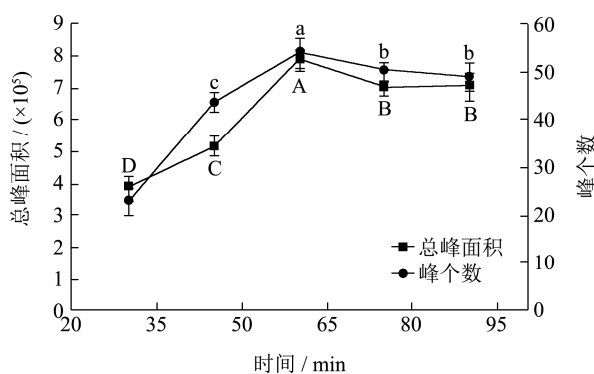


图5 萃取时间对 SPME 法萃取效果的影响

Fig.5 Effect of time on extraction result of volatile compounds by SPME

不同萃取时间对青钱柳茶挥发性物质萃取效果的影响如图2所示。选取 $75 \mu\text{m}$ CAR/PDMS 萃取头,萃取温度为 80°C ,并保证其他条件不变时,由图5分析可得,随着萃取时间的增加,挥发性物质的总峰面积和峰个数先增加后趋于平缓,且峰面积和峰个数变化趋势相当。当萃取时间为 60 min 时总峰面积为 7.9×10^5 ,峰个数为 54,达到最大值。而随着萃取时间的继续增加,总峰面积和峰个数都开始下降,可能是因为在顶空瓶中,固相微萃取纤维头吸附与解吸达到动态平衡时有最大的吸附量,但当萃取时间过长时,一些大分子物质的浓度将会增加使得小分子物质的浓度降低,最终导致峰面积以及峰个数降低^[16]。并且过长的萃取时间会增加组分之间发生化学反应的可能,减少固萃取纤维的寿命,因此最终选择萃取时间为 60 min 。并且在平衡的过程中,如果时间过长,则萃取出来的酯类物质较多,而其他种类的挥发性物质较少,可能是由于过长的时间使得一些挥发性物质经氧化形成酯类物质;时间过短,则萃取出来的物质种类较少,响应强度也较低^[17]。本研究结果虽然酯类物质种类较多但物质含量很低,所以选择的萃取时间较为合适。

2.4 料液比比较

不同料液比例对青钱柳茶挥发性物质萃取效果的影响如图3所示。选取 $75 \mu\text{m}$ CAR/PDMS 萃取头,萃取温度为 80°C ,萃取时间为 60 min 时,由图6分析可得,随着料液比的增加,总峰面积整体呈波动上升趋势,当

料液比为 1:15 时总峰面积最大,峰面积为 9.5×10^5 。当料液比例较小时,总峰面积较小,可能是因为用水量太少时,茶叶没有被充分浸润,预热时可能受热不匀,挥发性物质不能很好的挥发,从而降低萃取效果;当料液比较大时,液面上方的顶空体积变小,萃取头很难达到吸附平衡^[18]。不同料液比例的总峰面积和峰个数之间的变化趋势并不相同,其中峰个数的变化趋势不显著,可见不同料液比例对挥发性物质的种类没有太大的影响,结合峰面积考虑最终选择料液比 1:15。

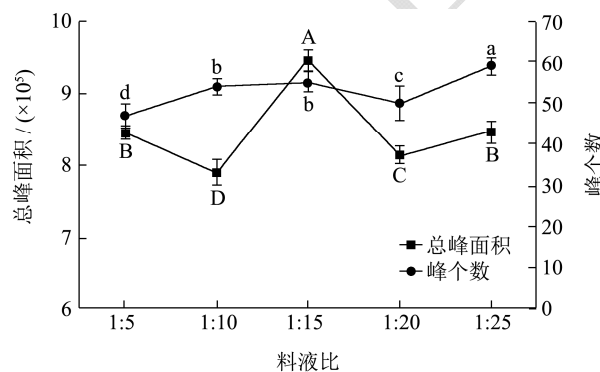


图6 料液比对 SPME 法萃取效果的影响

Fig.6 Effect of tea to water ratio on extraction result of volatile compounds by SPME

2.5 最优萃取条件下青钱柳茶的挥发性物质

选取萃取温度为 80°C 、料液比为 1:15、萃取 60 min 的最优条件下,选取 $75 \mu\text{m}$ CAR/PDMS 萃取头对青钱柳茶挥发性物质进行萃取。挥发性物质种类及相对含量结果见表1。由表1所示,经 GC-TOF-MS 分析得到挥发性物质 229 种,经与标准谱图比对以及去除杂质物质 17 种(重复出现或保留时间明显错误的物质),匹配度均 $> 80\%$,说明 HS-SPME 法能定性分析青钱柳茶的主要挥发性物质。其中酯类物质 36 种(4.66%)、醛类物质 33 种(38.42%)、烯炔类物质 34 种(18.35%)、烷烃类物质 26 种(3.00%)、醇类 20 种(11.81%)、酮类物质 16 种(6.43%)、酸类物质 3 种(0.21%)、含氮含硫及杂环化合物 61 种(8.16%)。相对含量排在前五位的分别为己醛、1-石竹烯、正己醇、2-甲基丙烯醛、2-己烯醛,与相关研究报道结果类似^[19]。酯类物质中含量较高的包括水杨酸甲酯、丙烯酸正丁酯、乙酸己酯;醛类物质中含量较高的包括己醛、2-甲基丙烯醛、2-己烯醛;烷烃类物质中含量较高的有[1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-1-乙炔基-1-甲基-2,4-双(1-甲基乙炔基)-环己烷、2,2,4,6,6-五甲基庚烷;醇类物质中含量较高的包括正己醇、芳樟醇;酮类物质含量较高的包括 6-甲基-5-庚烯-2-酮、2,3-辛二酮、 β -紫罗酮。醛类、醇类、酯类、烯炔类为江苏南京青钱柳茶叶挥发性物质的主要组成,使青钱柳茶叶呈现出青香、果香和花香。

表1 青钱柳茶挥发性物质种类和相对含量

Table 1 Varieties and contents of volatile substances in *Cyclocarya paliurus* tea

序号	保留时间	化合物名称	总峰面积 ($\times 10^9$)	相对含量/%	
醇类					
1	345.356	正己醇	1-Hexanol	33.76 \pm 1.85	4.27 \pm 0.45
2	450.639	庚醇	1-Heptanol	1.69 \pm 0.09	0.21 \pm 0.04
3	460.568	1-辛烯-3-醇	1-Octen-3-ol	2.88 \pm 0.11	0.36 \pm 0.02
4	504.291	(S)-3-乙基-4-甲基戊醇	(S)-3-Ethyl-4-methylpentanol	15.07 \pm 0.54	1.90 \pm 0.16
5	581.270	芳樟醇	Linalool	15.18 \pm 0.58	1.92 \pm 0.12
6	601.462	苯乙醇	Phenylethyl Alcohol	1.76 \pm 0.13	0.22 \pm 0.03
7	658.720	4-萜烯醇	Terpinen-4-ol	3.99 \pm 0.41	0.50 \pm 0.07
8	670.050	α -松油醇	α -Terpineol	1.93 \pm 0.25	0.24 \pm 0.15
9	721.879	橙花醇	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,(Z)-	1.50 \pm 0.22	0.19 \pm 0.09
10	987.346	依朴酚醇	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1 α -(1 $\alpha\alpha$,4 $\alpha\alpha$,7 β ,7 $\alpha\beta$,7 $\beta\alpha$)]-	5.65 \pm 0.63	0.71 \pm 0.13
11	1040.340	广藿香醇	1,4-Dimethyl-7-(prop-1-en-2-yl)decahydroazulen-4-ol	4.38 \pm 0.52	0.55 \pm 0.04
12	966.321	橙花叔醇	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	3.28 \pm 0.21	0.41 \pm 0.03
13	1309.730	植醇	Phytol	1.31 \pm 0.15	0.17 \pm 0.02
酸类					
14	1218.600	棕榈酸	Hexadecanoic Acid	1.55 \pm 0.12	0.20 \pm 0.05
醛类					
15	128.394	2-甲基丙烯醛	2-Propenal, 2-methyl-	30.73 \pm 1.69	3.88 \pm 0.34
16	234.344	反式-2-戊烯醛	2-Pentenal, (E)-	3.20 \pm 0.54	0.41 \pm 0.12
17	274.483	己醛	Hexanal	39.50 \pm 2.03	4.99 \pm 0.48
18	321.468	反式-2-己烯醛	2-Hexenal, (E)-	21.46 \pm 1.09	2.71 \pm 0.27
19	331.255	2-己烯醛	2-Hexenal	30.66 \pm 2.36	3.87 \pm 0.33
20	379.112	庚醛	Heptanal	9.02 \pm 0.43	1.14 \pm 0.19
21	388.823	(E,E)-2,4-己二烯醛	2,4-Hexadienal, (E,E)-	29.07 \pm 1.85	3.67 \pm 0.28
22	443.537	苯甲醛	Benzaldehyde	16.98 \pm 0.96	2.15 \pm 0.22
23	484.953	正辛醛	Octanal	7.71 \pm 0.53	0.97 \pm 0.06
24	493.185	(E,E)-2,4-庚二烯醛	2,4-Heptadienal, (E,E)-	22.46 \pm 1.26	2.84 \pm 0.13
25	528.585	苯乙醛	Benzeneacetaldehyde	8.87 \pm 0.54	1.12 \pm 0.08
26	540.514	反-2-辛烯醛	2-Octenal, (E)-	5.83 \pm 0.18	0.74 \pm 0.02

转下页

接上页

27	584.993	壬醛	Nonanal	19.73±1.02	2.49±0.15
28	590.699	(2E,4E)-2,4-辛二烯醛	2,4-Octadienal, (E,E)-	2.34±0.14	0.30±0.03
29	611.029	邻氯苯甲醛	Benzaldehyde, 2-chloro-	1.25±0.11	0.16±0.02
30	637.418	反式-2-壬烯醛	2-Nonenal, (E)-	12.13±0.75	1.53±0.07
31	644.514	3-乙基苯甲醛	Benzaldehyde, 3-ethyl-	1.10±0.25	0.14±0.03
32	678.514	癸醛	Decanal	10.12±0.78	1.28±0.06
33	687.175	反,反-2,4-壬二烯醛	2,4-Nonadienal, (E,E)-	2.50±0.16	0.32±0.02
34	698.141	β -环柠檬醛	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	8.17±0.29	1.03±0.13
35	728.164	反式-2-癸烯醛	2-Decenal, (E)-	2.08±0.11	0.26±0.08
36	730.824	2,6,6-三甲基-1-环己烯基乙醛	1-Cyclohexene-1-acetaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	2.13±0.12	0.27±0.06
37	813.050	2-十一烯醛	2-Undecenal	1.74±0.08	0.22±0.03
38	1067.840	正十五碳醛	Pentadecanal-	1.22±0.05	0.15±0.02
39	437.323	(Z)-2-庚烯醛	2-Heptenal, (Z)-	9.61±0.75	1.22±0.12
酮类					
40	464.696	2,3-辛二酮	2,3-Octanedione	14.88±0.96	1.88±0.23
41	468.444	甲基庚烯酮	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	16.93±0.98	2.14±0.18
42	552.979	(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮	3,5-Octadien-2-one, (E,E)-	6.49±0.28	0.82±0.07
43	749.976	3-十一酮	3-Undecanone	1.59±0.11	0.20±0.03
44	914.025	乙位紫罗兰酮	trans- β -Ionone	6.95±0.32	0.88±0.06
45	1161.860	1,3,7-三甲基-3,7-二氢-1H-嘌呤-2,6-二酮	Caffeine	1.59±0.09	0.20±0.05
酯类					
46	327.248	(-)-2-羟基-5-甲基-4-亚甲基-5-己酸甲酯	(-)-Methyl 2-Hydroxy-5-methyl-4-methylene-5-hexanoate	1.10±0.05	0.14±0.02
47	333.149	四癸-10,11-二烯酸甲酯	methyl Tetradeca-10,11-dienoate	0.86±0.04	0.11±0.02
48	373.478	丙烯酸正丁酯	2-Propenoic acid, butyl ester	3.07±0.13	0.39±0.06
49	494.467	乙酸己酯	Acetic acid, hexyl ester	2.95±0.19	0.37±0.08
50	496.839	(E)-乙酸-2-己烯-1-醇酯	2-Hexen-1-ol, acetate, (E)-	1.53±0.22	0.19±0.03
51	664.875	丁酸己酯	Butanoic acid, hexyl ester	1.39±0.19	0.18±0.03
52	674.357	水杨酸甲酯	Methyl salicylate	7.04±0.45	0.89±0.13
53	701.448	顺式-3-己烯醇-2-甲基丁酸酯	cis-3-Hexenyl- α -methylbutyrate	1.83±0.26	0.23±0.05
54	705.627	新戊酸乙酯	Vinyl neo-pentanoate	2.10±0.23	0.27±0.09
55	767.124	顺式-4-癸烯酸甲酯	methyl Z-4-decenoate	1.46±0.24	0.18±0.04

转下页

接上页

56	780.502	顺式-3-己烯醇 2-甲基-2-丁烯酸酯	cis-3-Hexenyl Tiglate	0.82±0.06	0.10±0.02
57	784.727	(E)-2-甲基-2-丁烯酸己酯	Hexyl tiglate	1.55±0.28	0.20±0.01
58	826.945	乙酸香叶酯	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	1.79±0.22	0.23±0.03
59	953.212	二氢猕猴桃内酯	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-Tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-	1.00±0.18	0.13±0.02
60	978.826	苯甲酸己酯	Benzoic acid, hexyl ester	1.12±0.12	0.14±0.02
61	488.259	乙酸叶醇酯	3-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	2.25±0.14	0.28±0.02
烷类					
62	457.771	4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己烷	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-Methylene-1-(1-methylethyl)-	3.25±0.49	0.41±0.12
63	473.751	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl-	4.74±0.56	0.60±0.11
64	512.267	2,2,4,4-四甲基辛烷	2,2,4,4-Tetramethyloctane	2.90±0.16	0.37±0.06
65	672.555	十二烷	Dodecane	2.03±0.14	0.26±0.02
66	745.391	1-丁烯基-环己烷	Cyclohexane, 1-butenylidene-	2.03±0.13	0.26±0.03
67	816.744	3-甲基十三烷	Tridecane, 3-methyl-	0.95±0.03	0.12±0.06
68	839.865	十四烷	Tetradecane	1.88±0.36	0.24±0.03
69	916.368	十五烷	Pentadecane	0.99±0.08	0.13±0.01
70	1056.490	十七烷	Heptadecane	1.50±0.32	0.19±0.03
烯类					
71	370.210	苯乙烯	Styrene	2.25±0.16	0.28±0.06
72	416.407	2-蒎烯	α -Pinene, (-)-	1.33±0.23	0.17±0.02
73	531.043	3,7-二甲基-1,3,7-辛三烯	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	12.75±0.75	1.61±0.08
74	808.514	α -萜荜茄烯	α -Cubebene	3.55±0.43	0.45±0.05
75	832.083	α -蒎烯	Copaene	2.07±0.16	0.26±0.03
76	869.451	1-石竹烯	Caryophyllene	33.90±0.95	4.28±0.26
77	884.376	(+)-香橙烯	Aromandrene	2.43±0.12	0.31±0.04
78	992.851	氧化石竹烯	Caryophyllene oxide	7.42±0.53	0.94±0.02
79	837.455	β -榄香烯	(-)- β -Elemene	7.50±0.58	0.95±0.08
80	711.929	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	1.43±0.23	0.18±0.03
81	880.080	愈创木烯	α -Guaiene	3.96±0.55	0.50±0.04
82	899.180	G-古芸香烯	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-Octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1 α ,3 α ,4 α ,7 β)]-	1.40±0.32	0.18±0.06
83	901.836	顺式-穆罗拉-4(15),5-二烯	cis-Muurolo-4(15),5-diene	6.15±0.54	0.78±0.08
84	915.889	吉马烯	germacrene-D	17.55±0.99	2.22±0.22

转下页

接上页

85	920.480	β -蒎烯	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4 α ,7 α ,8 α \beta)]-	11.41±0.82	1.44±0.18
86	932.565	α -布林烯	Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8 α \beta)]-	7.48±0.52	0.95±0.02
87	938.752	艾里莫芬烯	Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8 α \alpha)]-	8.23±0.29	1.04±0.24
88	943.850	δ -杜松萜烯	δ -Cadinene	9.28±0.58	1.17±0.18
89	955.453	α -杜松萜烯	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,4 α \beta,8 α \alpha)]-	1.57±0.31	0.20±0.04
90	960.356	α -菖蒲烯	α -Calacorene	0.80±0.02	0.10±0.02
其它					
91	94.872	氨基甲酸铵盐	Carbamic acid, monoammonium salt	6.91±0.49	0.87±0.03
92	190.611	2-乙基呋喃	Furan, 2-ethyl-	2.73±0.18	0.34±0.02
93	272.834	甲基-d31-二氯-2-丙烯基醚	methyl-d3 1-Dideuterio-2-propenyl Ether	5.14±0.23	0.65±0.06
94	347.863	间二甲苯	Benzene, 1,3-dimethyl-	0.96±0.05	0.12±0.02
95	474.539	2-戊基呋喃	Furan, 2-pentyl-	1.82±0.21	0.23±0.03
96	509.629	间异丙基甲苯	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	1.03±0.11	0.13±0.04
97	517.585	桉树脑(1,8-桉树脑)	eucalyptol (1,8-cineole)	1.15±0.15	0.15±0.03
98	552.573	反式-(6R,7R)-二羟基-(3R)-异丙基-(8aS)-甲基-1,2,3,4,6,7,8,8a-八氢化萘-(1R)-腈	trans-(6R,7R)-Dihydroxy-(3R)-isopropyl-(8aS)-methyl-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydronaphthalene-(1R)-carbOnitrile	1.55±0.22	0.20±0.02
99	620.452	苯乙腈	Benzyl nitrile	8.31±0.62	1.05±0.04
100	667.491	萘	Naphthalene	6.42±0.25	0.81±0.01
101	761.199	吲哚	Indole	2.08±0.18	0.26±0.02
102	798.571	榄香烯异构体	Elemene isomer	11.33±0.71	1.43±0.14
103	811.592	2-甲氧基-3-(2-丙烯基)-苯酚	Phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-	0.94±0.04	0.12±0.03
104	860.578	[1aR-(1 α ,3 α ,7 β \alpha)]-1a,2,3,3a,4,5,6,7b-八氢-1,1,3a,7-四甲基-1H-环丙并[a]萘	1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahydro-1,1,3a,7-tetramethyl-, [1aR-(1 α ,3 α ,7 β \alpha)]-	0.95±0.06	0.12±0.02
105	927.657	2-(2'-甲基丙烯基)-4-甲基硫醇-3-环己烯-1,1,二氧化物	2-(2'-Methylpropenyl)-4-methylthia-3-cyclohexene-1,1,dioxide	3.69±0.43	0.47±0.03
106	945.144	反式-炉甘石	trans-Calamenene	1.49±0.22	0.19±0.03
107	1012.620	新间萘二酚	Neointermedeol	2.71±0.18	0.34±0.05

注: 表中只列出相对含量 $\geq 0.1\%$ 的物质。

利用 GC-TOF-MS 鉴定青钱柳茶挥发性物质的种类远远多于 GC-MS^[19,20],其原因除了 GC-TOF-MS 比 GC-MS 的灵敏度高、重复性好等优点外,在青钱柳叶制成茶的过程中发生了美拉德等化学反应^[21],赋予青钱柳茶特殊的气味,衍生出更多的挥发性成分。在青钱柳茶的挥发性物质中有一些呈香成分,如其中醛类化合物中主要的呈香物质为呈柑桔香气的癸醛,呈玫瑰花香的壬醛,呈生的油脂和青草气及苹果香味的己醛,呈绿叶清香的反式-2-己烯醛,有典型的茶叶挥发性物质反式-2,4-庚二烯醛以及呈苹果香的苯甲醛;醇类化合物中香气贡献较大的包括具有特殊香味的正己醇,具有浓青带甜的木青气息及绿茶清香,香气柔和百合香气的芳樟醇和具有玫瑰花香的苯乙醇。酯类化合物中主要呈香成分为具有冬青香气的水杨酸甲酯。酮类化合物中有呈甜花香的 β -紫罗兰酮。另外,烯炔类主要呈香成分为呈丁香似香味的 1-石竹烯^[11,22-24],与陈玮玲等,李婷婷等的相关研究报道基本一致^[5,20],这些芳香物质大部分是结构简单的小分子有机物,主要为醇类和醛类化合物,相对含量较少,其中己醛的含量最高,其相对含量为 4.99%;其次含量较高的为石竹烯,其相对含量能达到 4.28%以上;再次为正己醇,相对含量为 4.27%;芳樟醇相对含量能达到 1.98%外,其他均低于 1%。

3 结论

本实验比较了不同萃取温度、萃取时间、料液比、萃取头等因素对青钱柳茶挥发性物质的影响,选取最佳萃取条件为萃取温度为 80 °C、萃取时间为 60 min、料液比为 1:15,最终选择萃取头为 75 μ m CAR/PDMS。在此最佳萃取条件下,得到的挥发性物质的种类和含量最高。通过 HS-SPME-GC-TOF-MS 共检测出挥发性物质 229 种,包括酯类物质 36 种(4.66%)、醛类物质 33 种(38.42%)、烯炔类物质 34 种(18.35%)、烷烃类物质 26 种(3.00%)、醇类 20 种(11.81%)、酮类物质 16 种(6.43%)、酸类物质 3 种(0.21%)、含氮含硫及杂环化合物 61 种(8.16%)。含量占主导地位的是醛类化合物,种类最多的为酯类化合物。其中在青钱柳茶挥发性物质中有一些呈香成分,如癸醛、苯甲醛、芳樟醇、水杨酸甲酯、 β -紫罗兰酮和 1-石竹烯等,它们共同构成了青钱柳茶独有的青香、果香和花香特征香味。虽然大量的挥发性物质已检测得到,但香气的特征组分,需要进一步深入研究。

参考文献

[1] 谢明勇,谢建华.青钱柳研究进展[J].食品与生物技术学

报,2008,1:113-121

XIE Ming-yong, XIE Jian-hua. Review about the research on *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2008, 1: 113-121

[2] 李磊,谢明勇,易醒,等.青钱柳多糖组分及其降血糖活性研究[J].江西农业大学学报,2001,4:484-486

LI Lei, XIE Ming-yong, YI Xing, et al. Bioactivity of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk leaves in reducing blood sugar [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2001, 4: 484-486

[3] 易醒,谢明勇,辜清,等.青钱柳对胆固醇调节作用的初步研究[J].中国商办工业,2000,4:51-52

YI Xing, XIE Ming-yong, GU Qing, et al. Preliminary study on the regulation of *Cyclocarya paliurus* on cholesterol [J]. Modern Business Trade Industry, 2000, 4: 51-52

[4] 崔保松,李帅.青钱柳叶的化学成分研究[J].中草药,2012,11: 2132-2136

CUI Bao-song, LI Shuai. Chemical constituents from leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 11: 2132-2136

[5] 陈玮玲.基于色谱-质谱技术研究青钱柳叶化学成分[D].南昌大学,2017

CHEN Wei-ling. Based on chromatography-mass spectrometry technology research chemical constituents of *Cyclocarya paliurus* leaf [J]. Nanchang University, 2017

[6] 赵阿丹,胡志全,刘友明,等.米茶焙炒挥发性气味的形成与特征研究[J].中国粮油学报,2016,3:1-6

ZHAO A-dan, HU Zhi-quan, LIU Yong-ming, et al. The formation and characteristics of volatile odor in roasted rice tea [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 3: 1-6

[7] 马军辉. HS-SPME-GC-MS 检测茶叶内挥发性组分方法的建立及应用[D].杭州:浙江大学,2008

MA Jun-hui. HP-SPME-GC-MS in the establishment and application of methods to the determination of tea aroma components [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008

[8] 杜丽君,牛先前,林晓红,等.水蒸气蒸馏法与超临界 CO₂ 萃取法结合气相色谱-质谱分析胡椒木精油成分[J].分析测试学报,2019,38(1):86-91

DU Li-jun, NIU Xian-qian, LIN Xiao-hong, et al. Analysis of compositions of essential oil in *Zanthoxylum piperitum* by gas chromatography-mass spectrometry with steam distillation and supercritical CO₂ Extraction [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(1): 86-91

[9] 肯生叶,温光和,段勤,等.三种萃取法提取秘鲁浸膏及其挥

- 发性成分分析[J].香料香精化妆品,2019,1:1-5
- KEN Sheng-ye, WEN Guang-he, DUAN Qin, et al. Analysis of volatile components in extracts of peru balsam obtained by three methods [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2019, 1: 1-5
- [10] Ntlhokwe Gaalebalewe, Muller Magdalena, Joubert Elizabeth, et al. Detailed qualitative analysis of honey bush tea (*Cyclopia* spp.) volatiles by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry and relation with sensory data [J]. Journal of chromatograph A, 2018, 1536: 137-150
- [11] Ntlhokwe Gaalebalewe, Tredoux Tredoux, Andreas G J, et al. Analysis of honey bush tea (*Cyclopia* spp.) volatiles by comprehensive two-dimensional gas chromatography using a single-stage thermal modulator [J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(17): 4127-4138
- [12] Huang Xu-hui, Zheng Xu, Chen Zeng-hui, et al. Fresh and grilled eel volatile fingerprinting by e-Nose, GC-O, GC-MS and GC-GC-QTOF combined with purge and trap and solvent-assisted flavor evaporation [J]. Food Res Int, 2019, 115:32- 43
- [13] 张文杰,刘聪,郑婷婷,等.不同萃取头对分析普洱熟茶挥发性成分的影响[J].食品研究与开发,2018,39(20):145-151
- ZHANG Wen-jie, LIU Cong, ZHENG Ting-ting, et al. Effects of different fibers on the analysis of volatile compounds of ripened pu-erh tea [J]. Food Research and Development, 2018, 39(20): 145-151
- [14] Xiang X L, Wang Y L, Yu Z H, et al. Non-destructive characterization of eggs odor in different statuses of fertilization by SPME/GC-MS coupled with electronic nose [J]. J Sci Food Agric, 2018
- [15] 王蔚,黄旭建,易国春,等.HS-GC/MS 法分析乌龙茶挥发性成分[J].天然产物研究与开发,2019,31(2):222-229
- WANG Yu, HUANG Xu-jian, YI Guo-chun, et al. Analysis of volatile components in Oolong tea by HS-GC/MS [J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(2): 222-229
- [16] 冯涛,水梦竹,宋诗清,等.云南新鲜松露和干制松露挥发性风味成分的对比分析[J].精细化工,2019,36(2):262-270
- FENG Tao, SHUI Meng-zhu, SONG Shi-qing, et al. Comparative analysis of volatile flavor compounds of fresh truffles and dried truffles in Yunnan [J]. Fine Chemicals, 2019, 36(2): 262-270
- [17] 任晓宇,张少云,裴晓静,等.红枣白兰地中香气成分的顶空固相微萃取条件优化[J].食品工业科技, 2018,39(7):249-254,291
- REN Xiao-yu, ZHANG Shao-yun, PEI Xiao-jing, et al. Optimization of extraction conditions for SPME-GC-MS analysis of volatile components in jujube brandy [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(7): 249-254, 291
- [18] 石嘉恂,张檬达,鞠兴荣.响应面法优化粘稻挥发性成分SPME 萃取条件的研究[J].中国粮油学报,2015,12:120-125
- SHI Jia-yi, ZHANG Meng-da, JU Xing-rong. Optimization of SPME conditions for volatile compounds research in Indica rice by response surface method [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2015, 12: 120-125
- [19] 陈玮玲,钟培培,范琳琳,等.固相微萃取-气相色谱-质谱分析青钱柳叶挥发性成分[J].食品工业科技, 2016,37(22):52-58
- CHEN Wei-ling, ZHONG Pei-pei, FAN Lin-lin, et al. Analysis of volatile compounds in *Cyclocarya paliurus* leaves by SPME-GC-MS [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(22): 52-58
- [20] 李婷婷,石叶蓉,吴彩娥,等.青钱柳茶的化学成分、农残及挥发性成分分析[J].食品与机械,2015,4:10-13
- LI Ting-ting, SHI Ye-rong, WU Cai-e, et al. Analysis of chemical and volatile components of *Cyclocarya paliurus* tea [J]. Food & Machinery, 2015, 4: 10-13
- [21] Suyoung KANG,朱荫,郑新强,等.不同季节绿茶香气成分的判别与聚类分析[J].食品科学,2018,39(14):268-275
- KANG Su-young, ZHU Yin, ZHENG Xin-qiang, et al. Multivariate statistical analysis of volatiles compounds in green teas from different harvesting seasons [J]. Food Science, 2018, 39(14): 268-275
- [22] Li Xin-fu, Zhu Jian-cai, Li Cong, et al. Evolution of volatile compounds and spoilage bacteria in smoked bacon during refrigeration using an e-nose and GC-MS combined with partial least squares regression [J]. Molecules, 2018, 23(12)
- [23] 刘盼盼,郑鹏程,龚自明,等.青砖茶的香气成分分析[J].食品科学,2017,38(8):164-170
- LIU Pan-pan, ZHENG Peng-cheng, GONG Zi-ming, et al. Analysis of aroma components in Qingzhuhan dark tea [J]. Food Science, 2017, 38(8): 164-170
- [24] 韩熠,洪灏,朱东来,等.应用GC-MS和GC-O鉴定不同等级洞庭碧螺春茶特征香气成分[J].香料香精化妆品,2018,3:1-10
- HAN Yi, HONG Liu, ZHU Dong-lai, et al. Identification of characteristic aroma components of different grades of Dongting Biluochun tea by GC-MS and GC-O [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2018, 3: 1-10