

HS-SPME-GC-MS 分析番石榴果实中的挥发性成分

白丽丽¹, 戴华², 孔杜林¹, 张万科¹, 李娟¹

(1. 海南医学院药学院, 海南海口 571199) (2. 海南医学院公共卫生学院, 海南海口 571199)

摘要: 采用顶空固相微萃取 (HS-SPME) 结合气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分析番石榴果实中的挥发性成分。经计算机检索与标准谱图对照, 确定其化学成分, 采用峰面积归一法计算各成分的相对含量。从番石榴果实中共分出 71 个色谱峰, 初步鉴定了其中的 38 种化学成分, 占总挥发性化学成分的 76.55%。相对含量由高到低依次为萜烯类、醛类、酯类、烷类及其它类化合物, 其中主要成分为己醛 (22.91%)、 β -石竹烯 (15.31%)、(顺)-乙酸叶醇酯 (8.52%)、(E)-2-己烯醛 (6.45%)、 α -蒎烯 (4.56%)、(D)-柠檬烯 (3.84%)、(+)- δ -杜松烯 (2.11%)、(+)-香橙烯 (1.93%)、Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯 (1.54%)、氧化石竹烯 (0.95%)、别罗勒烯 (0.89%) 等。本研究结果可为进一步开发和利用番石榴果实的生物活性提供基础研究数据。

关键词: 番石榴果实; 顶空固相微萃取 (HS-SPME); 气相色谱-质谱联用 (GC-MS); 挥发性成分

文章编号: 1673-9078(2017)11-230-234

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.11.033

Analysis of Volatile Chemical Components of Guava Fruit by HS-SPME-GC-MS

BAI Li-li¹, DAI Hua², KONG Du-lin¹, ZHANG Wan-ke¹, LI Juan¹

(1.School of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

(2.School of Public Health, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

Abstract: The volatile chemical components of guava fruit were analyzed by HS-SPME-GC-MS. The relative content of each component was calculated using the peak areas to determine the chemical compositions compared with computer retrieval and standard spectrogram. 71 compounds were separated from guava fruit and 38 of them were identified, which accounted for 76.55% of the volatile chemical components. Comparison of the relative contents of those volatile chemical components showed that: terpenes>aldehydes>esters>alkanes> other compounds. The main components with higher relative mass fraction were hexanal (22.91%), (-) - β - caryophyllene (15.31%), cis-3-hexenyl acetate (8.52%), (E)-2-hexenal (6.45%), α -copaene (4.56%), D-limonene (3.84%), (+) - δ -cadinene (2.11%), (+)- aromandendrene (1.93%), Z,Z,Z-1,5,9,9-tetramethyl-1,4,7,-cycloundecatriene(1.54%), (-)-caryophyllene oxide (0.95%), (4E, 6Z)-2, 6-dimethylocta-2,4,6-triene (0.89%) and so on. The present study can provide scientific evidence for the further development and utilization of the biological activity of guava fruits.

Key words: guava fruit; headspace solid phase microextraction(HS-SPME); gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS); volatile chemical components

番石榴 (*Psidium guajava* L.) 又名番桃树、鸡屎果和芭乐等, 为桃金娘科番石榴属, 常绿灌木或小乔木, 原产于南美洲热带地区, 在我国广东、广西、福建、云南和海南等热带与亚热带地区广泛栽培^[1]。番石榴果实营养价值高, 果肉酸甜, 略有涩味, 常吃 not 腻, 富含 Vc, 具有促进新陈代谢、润肺利咽及延缓衰老等功能^[2], 深受广大消费者的青睐, 是保健、美容养颜的最佳水果之一。果实及叶子均可入药^[3]。性平、味

收稿日期: 2017-05-22

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (214033)

作者简介: 白丽丽 (1974-), 女, 副教授, 主要从事天然产物有机化学及合成研究

通讯作者: 戴华 (1972-), 男, 讲师, 主要从事食品卫生学的研究

甘涩, 具有生津止渴、收敛止泻和消炎止血等效用。中国民间传统医药有用番石榴叶水煎服治疗腹泻, 其方法是将番石榴鲜叶和红糖用适量水煎煮, 一日一次分服即可治疗肠炎和痢疾^[4]。闽南地区有用番石榴叶、玫瑰茄、乌梅和单参组成的番石榴汤来治疗 II 型糖尿病^[5], 或将未成熟的果子摘下, 榨成果汁辅助治疗糖尿病, 此外, 番石榴对跌打损伤、皮肤湿疹、血崩和牙痛等疾病均有一定效果^[6]。目前对番石榴中化学成分的研究主要集中在叶子上^[7-13], 从叶子中分离得到黄酮、多酚、萜类和鞣质等多种化学成分。药理研究表明这些成分主要有降血糖^[10,11]、抗病毒、抗菌^[12]、抗氧化^[13]、保护肾功能的作用。李吉来等^[14]用气相色谱-质谱联用技术分析了其叶挥发油的化学成分, 分

出 93 个峰, 通过计算机检索与标准图谱对照鉴定了 60 种成分, 确定主要为倍半萜类和单萜类物质; 黄建林等^[15]也采用 GC-MS 法对番石榴叶的乙醇提取物的化学成分进行了分析, 共检测到 78 个色谱峰, 采用归一化法测定了各物质的相对含量, 鉴定出 53 种成分, 鉴定的化合物可分为有机酸、糖、多酚、三萜酸、挥发油和其它类等。番石榴叶中挥发性成分的定性、定量分析已有报道, 而对果实中挥发性成分的研究鲜有报道。番石榴作为海南的特产之一, 有广泛的种植资源, 已经成为百姓的日常减肥圣果。顶空固相微萃取 (SPME) 简便、快速、无溶剂、选择性好且灵敏度高, 集提取、净化、浓缩、进样于一体, 与气相色谱-质谱、高效液相色谱、毛细管电泳仪等联用, 大大加快了分析检测的速度。本研究采用顶空固相微萃取 (HS-SPME) 进样结合 GC-MS 联用技术分析番石榴果实的挥发性成分, 为进一步探索开发番石榴果实中化学成分的生物活性奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器

Agilent 6890A+5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司); HP-5MS 气相色谱柱 30 m×250 μm×0.25 μm(美国安捷伦公司); PDMS/DVB 固相微萃取头 65 μm(美国 Supelco 公司); JYZ-V919 九阳果汁机(中国九阳公司); 分析天平(北京赛多利斯公司)。

1.2 材料

番石榴果实采自海南文昌, 经海南医学院杨卫莉副教授鉴定为桃金娘科 (*Myrtaceae*) 番石榴属 (*Psidium guajava* L.) 番石榴果实。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

将精选成熟果实, 洗净, 控水后打成果浆, 密封瓶中, 放置冰箱中于 -40 °C 低温储存。准确量取 10 mL 匀浆置于 20 mL 顶空样品瓶中, 密封, 以空顶空瓶为对照。

1.3.2 GC-MS 分析

PDMS/DVB 固相微萃取头老化: 每次进样前萃取头均 250 °C 预先老化 15 min。

气相色谱条件: HP-5MS 色谱柱, 载气为氦气(纯度 99.99%), 流速 1 mL/min。进样口温度 250 °C, 不分流, 程序升温: 初始温度 40 °C, 保持 4 min, 以 5 °C/min 升至 80 °C, 然后以 10 °C/min 升至 260 °C,

保持 10 min。

质谱条件: 离子源: 电子轰击 (EI) 源; 离子源温度: 230 °C, 四级杆 150 °C; 电离电压 70 eV; 扫描范围: 35.0~800.0 u, 全扫描采集模式。

将 PDMS/DVB 固相微萃取头插入进样口, 按上述气相色谱和质谱条件进行仪器老化, 直到色谱图没有峰出现为止。将萃取头分别插入对照顶空瓶和果浆样品瓶中萃取, 进样解析时间为 2 min。

对萃取温度和时间进行优化, 获得比较理想的萃取温度和时间。

1.3.3 成分定性及定量分析

采用 GC-MS 与计算机联用技术分析, 得番石榴果实中挥发性物质的总离子流色谱图如图 1 所示。用安捷伦 MSD Chemstation E2.02 将获得的色谱峰做本底扣除后, 获得扣除本底的挥发性组分的质谱图, 用美国国家标准与技术研究院标准质谱图库进行物质检索 (NIST11.0), 结合文献核对, 同时采用 MSD Chemstation E2.02, 运用峰面积归一法计算各成分相对百分含量。

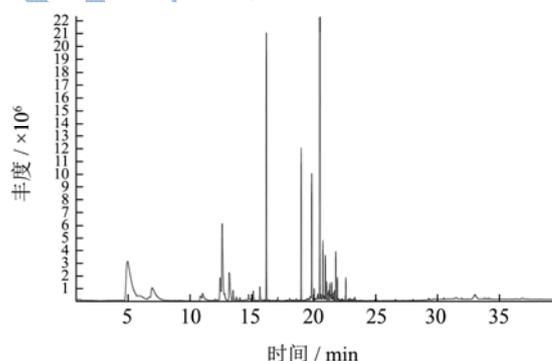


图 1 番石榴果实中挥发性成分总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of volatile constituents in guava fruit

2 结果与讨论

经 GC-MS 分析, 由图 1 和表 1 可知: 从番石榴果实中共分离出 71 个峰, 初步鉴定其中的 38 种化学成分, 占总挥发性化学成分的 76.55%。相对含量自高到低依次为萜烯类 26 种 (36.14%), 醛类 4 种 (30.07%)、酯类 1 种 (8.52%)、其它种类 3 种 (1.03%) 和烷类 4 种 (0.79%), 未见文献^[16]报道的脂肪酸类物质。含量较高的成分主要有: 己醛 (22.91%)、β-石竹烯 (15.31%)、(顺)-乙酸叶醇酯 (8.52%)、(E)-2-己烯醛 (6.45%)、α-蒎烯 (4.56%)、(D)-柠檬烯 (3.84%)、(+)-δ-杜松烯 (2.11%)、(+)-香橙烯 (1.93%)、Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯 (1.54%)、氧化石竹烯 (0.95%) 和别罗勒烯 (0.89%) 等。

表1 番石榴果实中挥发性成分及含量

Table 1 Volatile chemical components and contents of guava fruit

编号	保留时间/min	化合物名称	分子式	分子量	相对含量/%
1	4.969	己醛	C ₆ H ₁₂ O	100	22.91
2	6.944	E-2-己烯醛	C ₆ H ₁₀ O	98	6.45
3	12.594	(顺)-乙酸叶醇酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	142	8.52
4	13.167	(D)-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	3.84
5	13.475	(E)- β -罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.86
6	13.757	β -罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.32
7	14.731	(+)-4-萹烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.33
8	15.107	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	142	0.57
9	15.637	别罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.89
10	17.082	正癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	156	0.14
11	18.587	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	184	0.07
12	19.425	(-)- α -萹澄茄油烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.05
13	19.835	α -蒹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	4.56
14	20.023	十四烷	C ₁₄ H ₃₀	198	0.39
15	20.134	3,3,7,11-四甲基-三环[6.3.0.0(2,4)]十一碳-8-烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.04
16	20.279	异丁子香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.10
17	20.322	(-)- α -古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.18
18	20.485	β -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	15.31
19	20.579	10,10-二甲基-2,6-二亚甲基-二环[7.2.0]十一烷	C ₁₅ H ₂₄	204	0.21
20	20.647	白菖烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.04
21	20.732	(+)-香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.93
22	20.852	2,6,10,14-四甲基十七烷	C ₂₁ H ₄₄	296	0.12
23	20.929	Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.54
24	21.023	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.63
25	21.151	(+)- γ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.25
26	21.186	γ -摩勒烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.31
27	21.357	α -蛇床烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.33
28	21.451	(-)- α -雪松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.84
29	21.536	(S)- β -没药烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.34
30	21.681	(-)- α -摩勒烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.36
31	21.767	(+)- δ -杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	2.11
32	21.904	萹澄茄烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.75
33	21.955	(+)-环苜蓿烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.07
34	22.382	鸡蛋果素 II	C ₁₃ H ₂₀ O	192	0.03
35	22.588	氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.95
36	22.827	喇叭茶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.05
37	23.083	(Z,Z)- α -法呢烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.05
38	23.246	(+)- α -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.11

由表1中可知,萹烯类和醛类是番石榴果实中挥发性物质中相对含量最高的两类化合物,也是果实香气的主要来源,其中含量较高的石竹烯、柠檬烯、蒹烯等是一种天然的单萹类化合物,可作为香精香料添

加剂用于食品中^[17]。柠檬烯具有很好的预防和抑制肿瘤活性,以柠檬烯为主要成分的复方柠檬烯胶囊,用于治疗胆结石、胆囊炎及胆道术后综合症等^[18]。 β -石竹烯具有局麻作用、抗炎作用、驱蚊虫作用、抗焦虑、

抗抑郁作用,对脑缺血再灌注有明显保护作用; β -石竹烯醇应用于镇咳祛痰药物中,石竹烯氧化物具有镇痛和抗炎作用,抗真菌作用,还有细胞毒性等生物活性^[19,20]。显然,番石榴果实中挥发性化学成分有较好的药用前景。

顶空固相微萃取方法中萃取温度和萃取时间对挥发物的测定影响较大。一般来说,温度较高,有利于样品中挥发性物质的释放,增加萃取物中的蒸气压及顶空中的浓度,从而缩短达到平衡的时间,提高萃取效率;另一方面,温度升高会增加萃取头固有组分的解吸,从而降低萃取头萃取分析组分的能力^[21]。本研究考察 15 °C、25 °C 和 35 °C 三个萃取温度时,发现 25 °C 效果最好。在 15 °C 时萃取,可能因温度偏低萃取的物质偏少;而在 35 °C 萃取时,温度较高,可能是瓶中水汽影响了萃取头的吸附效果;在 25 °C 条件下,分别考察 20 min、30 min、40 min 和 50 min 四个萃取时间,在 20 min~40 min 时随着时间的延长,萃取能力逐渐增加,但 40 min 和 50 min 两个区间萃取能力增加不明显,这是由于刚开始萃取时,挥发性成分极易吸附在萃取头,然而随着萃取时间延长,吸附逐渐达到平衡,萃取头吸附能力减弱,考虑到效率和效果因素,本试验采用 25 °C, 40 min 进行萃取吸附。

3 结论

番石榴果实甜美,香气怡人,有较高的营养和药用价值,已经引起人们越来越多的关注。本研究对番石榴果实中挥发性物质的 HS-SPME-GC-MS 分析结果表明,番石榴果实中挥发性物质主要为萜烯类、醛类、酯类和烷类等,为进一步开发和利用番石榴果实的生物活性提供基础研究数据。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编写委员会.中国植物志,第三十卷[M].北京:科学出版社,1996
- [2] 温靖,徐玉娟,肖更生,等.番石榴果实的营养价值和药理作用及其加工利用[J].农产品加工学刊,2009,6:11-17
WEN Jing, XU Yu-juan, XIAO Geng-sheng, et al. Research progress on nutritional value, pharmacological action and processing utility of guava fruit [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2009, 6: 11-17
- [3] 汪梅花,魏文浩,吴振强.番石榴叶的生物活性研究进展[J].中药材,2015,38(10):2215-2219
WANG Mei-hua, WEI Wen-hao, WU Zhen-qiang. Advances on biological activities of guava leaves [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(10): 2215-2219

- [4] 彭朝忠,郭绍荣.布朗族民间药用植物收集[J].中国民族民间医药杂志,1997,1:22-23
PENG Zhao-zhong, GUO Shao-rong. Collection of folk medicinal plants of Brown nationality [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 1997, 1: 22-23
- [5] 桂永洪,桂龙泽.番石榴汤治疗 2 型糖尿病 14 例[J].内蒙古中医药,2011,30(10):5
GUI Yong-hong, GUI Long-ze. Treatment of Type 2 diabetes mellitus with guava Decoction in 14 cases [J]. Nei Mongol Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 30(10): 5
- [6] 陈继培.番石榴-营养药用两相宜[N].中国医药报,2003-06-16
CHEN Ji-pei. Guava - nutrition and medicinal herbs [N]. Chinese Pharmaceutical News, 2003-06-16
- [7] 付辉政,罗永明,张东明.番石榴叶化学成分研究[J].中国中药杂志,2009,34(5):577-579
FU Hui-zheng, LUO Yong-ming, ZHANG Dong-ming. Studies on chemical constituents of leaves of *Psidium guajava* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(5): 577-579
- [8] 徐金瑞,张名位,张瑞芬,等.番石榴中总黄酮的微波萃取工艺研究[J].现代食品科技,2008,24(7):674-677
XU Jin-rui, ZHANG Ming-wei, ZHANG Rui-fen, et al. Microwave extraction of total flavones from guava [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(7): 674-677
- [9] 张云竹,王芳,谭秀霞.番石榴中多酚物质的提取[J].食品研究与开发,2007,28(4):40-44
ZHANG Yun-zhu, WANG Fang, TAN Xiu-xia. Extract polyphenol matter in guava [J]. Food Research and Development, 2007, 28(4): 40-44
- [10] 叶开和,王小康,吕艳青,等.番石榴叶总三萜改善糖尿病周围神经病变[J].中成药,2016,38(56):961-966
YE Kai-he, WANG Xiao-kang, LV Yan-qing, et al. Ameliorative effect of total triterpenoids from *Psidium guajava* leaves on diabetic peripheral neuropathy [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2016, 38(56): 961-966
- [11] 刘美凤,谷灵芝,蒋利荣,等.番石榴叶杂源萜类中抗糖尿病活性成分的虚拟筛选[J].华南理工大学学报(自然科学版),2012,40(8):101-105
LIU Mei-feng, GU Ling-ling, JIANG Li-rong, et al. Virtual screening of anti-diabetes active components in meroterpenoids from *Psidium guajava* leaves [J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2012, 40(8): 101-105
- [12] 郭莹,熊阳,宋忠诚,等.番石榴叶挥发油的提取、成分分析及

- 抑菌活性研究[J].中华中医药杂志(原中国医药学报), 2015,30(10):3754-3757
- GUO Ying, XIONG Yang, SONG Zhong-cheng, et al. Study on extraction technology, components analysis and antibacterial activity of *Psidium guajava* L. [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2015, 30(10): 3754-3757
- [13] 吴慧星,李晓帆,李荣,等.番石榴叶中抗氧化活性成分的研究[J].中草药,2010,41(10):1593-1597
- WU Hui-xing, LI Xiao-fan, LI Rong, et al. Study on anti-oxidative components from leaves of *Psidium guajava* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2010, 41(10): 1593-1597
- [14] 李吉来,陈飞龙,罗佳波.番石榴叶挥发油成分的GC-MS分析[J].中药材,1999,22(2):78-80
- LI Ji-lai, CHEN Fei-long, LUO Jia-bo. GC-MS analysis of essential oil from the leaves of *Psidium guajava* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 1999, 22(2): 78-80
- [15] 黄建林,张展霞.GC-MS分析番石榴叶乙醇提取物的化学成分[J].中山大学学报(自然科学版),2004,43(6):118-120
- HUANG Jian-lin, ZHANG Zhan-xia. Gas chromatographic mass spectroscopic analysis of the chemical components in the ethanol extract of guava leaves [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2004, 43(6): 118-120
- [16] 李国鹏,静玮,袁源,等.红肉番石榴(*Psidium guajava* L.)果实香气物质的研究[J].热带作物学报,2014,35(5):985-991
- LI Guo-peng, JING Wei, YUAN Yuan, et al. Volatile composition of red-fleshed guava fruit (*Psidium guajava* L.) [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(5): 985-991
- [17] 李小凤,王超,汪勇,等.固相微萃取-气相色谱-质谱法对比分析湘菜类地沟油与市售植物油中的挥发性成分[J].现代食品科技,2015,31(3):242-248,265
- LI Xiao-feng, WANG Chao, WANG Yong, et al. Comparison of volatile components in commercial vegetable oils and gutter oils from Hunan cuisine [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(3): 242-248, 265
- [18] 王伟江.天然活性单萜:柠檬烯的研究进展[J].中国食品添加剂,2005,1:33-37
- WANG Wei-jiang. Recent advances on limonene, a natural and active monoterpene [J]. Chinese Food Additives, 2005, 1: 33-37
- [19] 曹光秀,李然然,刘洁,等. β -石竹烯通过抗氧化作用减轻局灶性脑缺血再灌注大鼠大脑皮质损伤[J].中药药理与临床,2016,1:56-60
- CAO Guang-xiu, LI Ran-ran, LIU Jie, et al. β -caryophyllene protects cerebral cortical neurons against cerebral ischemia and reperfusion in rats by improving antioxidant activities [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2016, 1: 56-60
- [20] 刘晓宇,陈旭冰,陈光勇. β -石竹烯及其衍生物的生物活性与合成研究进展[J].林产化学与工业,2012,32(1):104-110
- LIU Xiao-yu, CHEN Xu-bing, CHEN Guang-yong. Research progress in bioactivity and synthesis of β -caryophyllene and its derivatives [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2012, 32(1): 104-110
- [21] 严留俊,张艳芳,陶文沂,等.顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法快速测定酱油中的挥发性风味成分[J].色谱,2008,26(3):285-291
- YAN Liu-jun, ZHANG Yan-fang, TAO Wen-yi, et al. Rapid determination of volatile flavor compounds in soyauce using head space solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2008, 26(3): 285-291