

顶空固相微萃取气—质联用分析香蕉的香气成分

朱虹¹, 陈玉芬², 李雪萍¹, 李军¹, 韩冬芳¹, 陈维信^{1*}

(¹广东省广州市果蔬保鲜重点实验室, 华南农业大学园艺学院, 广州 510642; ²华南农业大学测试中心, 广州 510642)

摘要: 采用顶空固相微萃取技术提取不同成熟阶段香蕉的香气成分, 再经气质联用进行分析鉴定。着重研究 3 种极性不同的萃取头对香蕉香气成分萃取的影响, 优化了分析条件, 建立了稳定的萃取与气质联用分析测定的方法。研究表明, 香蕉处于不同成熟阶段香气成分的种类和相对含量具有明显差异, 在香蕉绿熟阶段分析测定适宜采用 DVB/CAR/PDMS 型萃取头, 黄熟阶段采用 PDMS 型萃取头, 过熟阶段采用 CW/DVB 型萃取头。

关键词: 香蕉; 香气成分; 顶空—固相微萃取; 气质联用

中图分类号: S 668.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0485-04

Determination of Volatiles in Harvested Banana Fruit by HS - SPME and GC - MS

ZHU Hong¹, CHEN Yu-fen², LI Xue-ping¹, LI Jun¹, HAN Dong-fang¹, and CHEN Wei-xin^{1*}

(¹ Guangdong Key Laboratory for Postharvest Science and Technology, College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ² Instrumental Analysis & Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The headspace solid-phase microextraction coupled with capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC - MS) was used for the determination of volatiles in harvested banana fruit (*Musa* spp. 'Baxi') during ripening. The fiber coating, as one of the main parameters that influence the extraction effect, was extensively studied and optimized. A steady method of HS - SPME coupled with GC - MS for banana volatiles determination was established. The results showed that the constituent and amount of volatiles in banana fruit were shown to be of great difference during ripening. Therefore, it was very necessary and important to select appropriate fibers and optimize GC - MS condition for the extraction and determination of volatiles in banana at different stages of ripening.

Key words: Banana; Volatile; HS - SPME; GC - MS

顶空固相微萃取 (Solid-Phase Microextraction, 简称 SPME) (Arthur & Pawliszyn, 1993) 是一项样品分析预处理新技术, 与传统的预处理方法, 如蒸馏、溶剂萃取等相比, 具有测试速度快且无需有机溶剂的优点, 集采样、萃取、浓缩、进样于一体, 并能直接和气相或液相色谱仪联用, 越来越广泛应用于食品和园艺产品香气测定及品质鉴定等方面 (Elena et al, 1998; 钟明等, 2003; 王利平等, 2003; McCarthy et al, 1963; 刘春香等, 2002)。香蕉香气成分的变化不仅是香蕉采后贮藏及货架寿命的重要指标之一, 也是评价香蕉品质的一个重要因素。采收后的香蕉无论在贮藏过程中还是货架期间, 其香气成分的种类和含量会因果实成熟阶段的变化而异, 形成不同阶段香蕉特有的香气。因此

收稿日期: 2006 - 11 - 16; 修回日期: 2007 - 03 - 06

基金项目: 农业部科技项目 (2006-G32); 广东省自然科学基金团队项目 (06200670); 国家自然科学基金—广东联合基金项目 (U0631004)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: wxchen@scau.edu.cn)

分析采后不同成熟阶段的香蕉香气成分具有理论和实践意义。目前对于香蕉香气成分的研究多数侧重于香蕉黄熟阶段时的特征性香气的化学组成、合成途径等 (Tressl & Drawert, 1973; Ueda et al, 1992), 而关于顶空固相微萃取—气相色谱—质谱分析香蕉香气成分的优化条件研究和不同成熟阶段香蕉的香气成分种类与含量的动态变化研究报道较少。本研究旨在对顶空固相微萃取—气相色谱—质谱分析香蕉香气成分的技术进行优化, 使之能客观地反映不同成熟阶段香蕉的特征香气成分。

1 材料与方法

供试材料为‘巴西’香蕉 (*Musa* spp. ‘Baxi’) 果实, 采收时饱满度为七至八成。采收后进行催熟处理, 放在 21℃ 恒温箱中贮藏。

选用 Supelco 公司生产的 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型、100 μm PDMS 型和 65 μm CW/DVB 型 3 种极性与液膜厚度不同的萃取头分别进行试验。使用前将萃取头在 250℃ 下老化 2 h。分别在香蕉处于绿熟、黄熟和过熟阶段取样, 重复 3 次。

取 200 g 新鲜果肉适当研磨均匀, 再准确称取 5 g 装入 20 mL SPME 采样瓶中, 密封瓶盖, 将萃取纤维头插入瓶中顶空部分, 保持离样品表面 1.5 cm。水浴保持萃取温度 25℃ 左右, 萃取时间 30 min。采用 Finnigan 公司 Trace GC-MS 联用仪分析样品。GC-MS 条件: DB-1 石英毛细管柱 (长 30 m, 内径 0.25 mm, 液膜厚度 0.1 μm), 载气 He (99.99%), 流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。进样口温度 250℃, 固相微萃取进样脱附 5 min。程序升温: 50℃ 保持 1 min, 以 4℃ $\cdot \text{min}^{-1}$ 升至 250℃, 保持 5 min。GC-MS 传输线速度 250℃, EI 离子源温度 170℃, 电子能量 70 eV, 光电倍增管电压 350 V。质量扫描范围 30~350 amu。

对采集到的质谱图用 NIST 谱库搜索, 与有关文献进行核对, 确定其香气成分的化学组成, 同时峰面积归一化定量, 得到各组分的相对含量。再结合保留时间、质谱、实际成分和保留指数等参数对部分组分进一步确定。

2 结果与分析

2.1 不同成熟阶段的香蕉香气成分特点

由表 1 可以看出, 绿熟阶段, 香蕉挥发性物质中绝大部分是醛类。多数醛类具有类似青草味的典型气味, 代表了此状态下香蕉的特征香气。有人认为青草气味是 C_5 、 C_6 -醇、醛及酮类共同作用的结果 (McCarthy et al, 1963)。在这些醛类物质中, 多数为不饱和态, 如反-2-壬烯醛、反-2-己烯醛和顺-2-庚烯醛等, 此外某些不饱和醇如顺-2-壬烯醇和反-3-壬烯醇也有一定的比例。这些成分中有些在黄瓜 (刘春香等, 2002) 和未充分成熟的甜瓜中也曾检测到 (马永昆等, 2004)。香蕉在尚未进入后熟期前, 合成酯类的前体物质较少, 相关合成酶活性较低 (Wyllie & Felman, 2000), 所以绿熟香蕉中酯类成分非常少, 此时香蕉的果香很淡。

黄熟阶段, 酯类成分的比例明显增加, 这对于形成香蕉浓郁的酯香气影响很大。而其中乙酸酯和丁酸酯又是两类主要成分。参考 Guadagni 香气值理论 (Buttery et al, 1971), 这些峰面积较大且香气阈值较低的乙酸酯和丁酸酯代表了黄熟香蕉的特征香气。

随着香蕉由黄熟向过熟阶段转变, 酯类成分的比例发生明显变化。主要体现在乙酸酯类比例下降, 从黄熟时的 48.29% 下降到 39.64%。同时丁酸酯类从 33.17% 增加到 45.1%。另一变化是在香蕉过熟阶段, 果实开始发病, 果皮表面开始出现病斑且逐渐增多, 此时可闻到香蕉散发出一股较浓的酒精味, 醇类物质的增多是其最直接的原因之一。表 1 的数据表明, 香蕉在过熟阶段醇类物质的比例显著上升, 其中又以乙醇的增加最为明显。由此推测, 酯类成分的比例变化及乙醇浓度的显著升高对香蕉特征香气的转变具有较大影响。

表 1 不同成熟阶段香蕉香气成分变化

Table 1 Changes in typical volatiles in banana fruit at various stages of ripening (%)

成熟阶段 Stages of ripening	香气成分 Volatiles	萃取头类型 Fiber type		
		DVB /CAR /PDMS	PDMS	CW /DVB
绿熟 Mature-green	醛类总量 Aldehydes	94.16 a	86.73 b	88.84 b
	反 - 2 - 壬烯醛 Trans-2-Nonenal	23.93 a	-	-
	己醛 Hexanal	19.85 a	-	-
	己烯醛 Trans-2-Hexenal	16.43 a	-	-
	醇类总量 Alcohols	4.41 a	10.80 a	9.69 a
黄熟 Ripe	顺 - 2 - 壬烯醇 Cis-2-Nonenol	1.08 a	-	0.32 b
	酯类总量 Esters	83.46 b	88.42 a	87.97 a
	乙酸酯类总量 Acetate	54.82 a	48.29 a	48.44 a
	乙酸异戊酯 Isoamyl acetate	24.79 a	18.83 b	18.21 b
	乙酸己酯 Hexyl acetate	9.76 a	7.07 b	8.92 b
	乙酸丁酯 Butyl acetate	3.54 a	6.81 a	3.91 a
	丁酸酯类总量 Butyrate	22.36 b	33.17 a	29.54 b
	丁酸戊酯 Pentyl butyrate	8.34 b	11.36 a	12.45 a
	醇类总量 Alcohols	0.16 b	0.55 a	0.52 a
	乙醇 Ethanol	-	-	-
过熟 Overripe	醛类总量 Aldehydes	12.06 a	6.39 b	6.04 b
	酯类总量 Esters	79.09 c	91.89 a	83.65 b
	乙酸酯类总量 Acetate	50.19 a	39.64 b	38.23 b
	乙酸异戊酯 Isoamyl acetate	14.42 a	13.58 a	12.88 a
	丁酸酯类总量 Butyrate	25.44 c	45.10 a	38.84 b
	醇类总量 Alcohols	4.55 b	6.06 b	13.47 a
	乙醇 Ethanol	2.50 c	5.70 b	12.27 a
	醛类总量 Aldehydes	12.00 a	0.81 c	1.45 b

注：- 表示未检出。同行中标有不同字母的数值达到显著性差异 ($P < 0.05$)。
Note: - Below detection limit The different letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

2.2 萃取头对不同成熟阶段的香蕉香气成分的萃取效果

从表 2 可看出，不同萃取头对不同成熟阶段香蕉香气成分的萃取效果差异明显。香蕉绿熟阶段时香气的主要成分是某些醛类和醇类物质，而 DVB /CAR /PDMS 型萃取头对这些成分的富集能力明显强于 PDMS 型和 CW /DVB 型萃取头。因此对于萃取绿熟阶段香蕉的香气成分而言，DVB /CAR /PDMS 型萃取头的萃取效果明显比 PDMS 型和 CW /DVB 型萃取头好，共鉴别出 31 种香气成分，而另两种萃取头只分别鉴定出 14 种和 10 种。处于黄熟阶段的香蕉产生较多小分子组分，多为极性弱但挥发性强的酯类成分，PDMS 型萃取头的优势体现在萃取到的种类最多，共鉴别出 41 种香气成分，而另两种萃取头只分别鉴定出 35 种和 24 种。香蕉在过熟阶段时，某些醇类产生并释放出来，特别是乙醇的量明显增加，而 CW /DVB 型萃取头对醇类物质的萃取量显著高于另两种萃取头，因此能比较客观地反映出这一变化。

通过采用顶空固相微萃取—气质联用方法对不同成熟阶段香蕉香气成分的研究表明，不同成熟阶段的香蕉香气成分在种类和含量上有很大差异，形成香蕉不同成熟阶段特有的香气。为了更有效地富集香气成分和得到更准确的测定结果，选用合适的萃取头是十分必要的。另外，对于过熟阶段的香蕉香气若仍采用原先的色谱条件，会出现因组分浓度过高，各个峰无法分开的现象。为了更好地分离这些组分，需采用分流进样方式，分流比 20 : 1，并将升温程序调整为初温 40℃ 保持 5 min，以 4℃ · min⁻¹ 升至 250℃，保持 5 min。调整后这些小分子得到了较好的分离。所以适当调整色谱条件如柱温、进样方式等，有利于获得较好的分离检测效果，从而较为客观地反映不同成熟阶段香蕉的特征香气成分。优化后的顶空固相微萃取方法有助于深入探讨香蕉成熟进程与其特征香气成分之间的关系，实现对香蕉品质的客观评价。

表 2 萃取头对不同成熟阶段香蕉香气成分萃取效果的影响

Table 2 Effect of the fibers on the volatiles profile in banana fruit at various stages of ripening

香气成分 Volatiles	萃取头类型 Fiber type	绿熟 Mature-green		黄熟 Ripe		过熟 Over-ripe	
		种数 Kinds	相对含量 Content (%)	种数 Kinds	相对含量 Content (%)	种数 Kinds	相对含量 Content (%)
醛类 Aldehydes	DVB /CAR /PDMS	12	94.16 a	1	12.06 a	2	12.00 a
	PDMS	5	86.73 b	1	6.39 b	1	0.81 b
	CW /DVB	6	88.84 b	1	6.04 b	1	1.45 b
醇类 Alcohols	DVB /CAR /PDMS	4	4.41 a	1	0.16 b	8	4.55 b
	PDMS	1	10.80 a	3	0.55 a	3	6.06 b
	CW /DVB	5	9.69 a	2	0.52 a	8	13.47 a
酯类 Esters	DVB /CAR /PDMS	2	0.05 a	19	83.46 b	36	79.09 c
	PDMS	0	-	28	88.42 a	33	91.89 a
	CW /DVB	0	-	25	87.97 a	32	83.65 b
酸类 Acids	DVB /CAR /PDMS	6	0.42 a	0	-	3	1.63 a
	PDMS	0	-	3	1.23 a	0	-
	CW /DVB	2	0.72 a	4	1.70 a	0	-
烃类 Alkanes	DVB /CAR /PDMS	6	0.47 a	2	0.32 b	3	0.37 a
	PDMS	1	0.12 a	4	0.94 a	3	0.62 a
	CW /DVB	0	-	1	0.45 b	1	0.39 a
酮类 Ketones	DVB /CAR /PDMS	1	0.50 b	1	3.29 a	3	2.36 a
	PDMS	3	2.34 a	2	0.74 b	2	0.61 c
	CW /DVB	1	0.60 b	2	1.19 b	2	1.04 b

注: - 表示未检出。不同字母表示显著性差异 ($P < 0.05$)。

Note: - Below detection limit The different letters among three fibers are significantly different ($P < 0.05$).

References

- Arthur L, Pawliszyn J. 1993. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *High Resolution Chromatography*, 16 (12): 689 - 692.
- Buttery R G, Seifert R M, Guadagni D G. 1971. Characterization of additional volatile components of tomato. *J. Agric. Food Chem.*, 19: 524 - 529.
- Elena Ibanez, Sara Lopez-Sebastian, Elena Ramos, Javier Tabera, Guillermo Reglero. 1998. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 63 (2): 281 - 286.
- Liu Chun-xiang, He Qi-wei, Liu Yang-min. 2002. Head-space solid phase microextraction and GC - MS analysis of fragrance of cucumber. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (6): 581 - 583. (in Chinese)
- 刘春香, 何启伟, 刘扬岷. 2002. 黄瓜香气成分的顶空固相微萃取气质联用分析. *园艺学报*, 29 (6): 581 - 583.
- Ma Yong-kong, Zhou Shan, Chen Ji-luan, Hu Xiao-song. 2004. Analysis of aromatic compounds in ripe and unripe golden empress melon (*Cucumis melon* L.). *Food Science*, 25 (7): 136 - 139. (in Chinese)
- 马永昆, 周珊, 陈计峦, 胡小松. 2004. 用 SPME 方法分析不同成熟度哈密瓜香气的研究. *食品科学*, 25 (7): 136 - 139.
- Mccarthy A I, Palmer J K, Shaw C P. 1963. Correlation of gas chromatographic data with flavor profiles of fresh banana fruit. *Journal of Food Science*, 28: 379 - 384.
- Tressl R, Drawert F. 1973. Biogenesis of banana volatiles. *J. Agric. Food Chem.*, 21: 560 - 565.
- Ueda Y, Tsuda A, Bai J H. 1992. Characteristic pattern of aroma ester formation from banana, melon and strawberry with reference to the substrate specificity of ester synthetase and alcohol contents in pulp. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 39: 183 - 187.
- Wang Li-ping, Liu Yang-min, Yuan Shen-shu. 2003. Fragrance of the *Pinus mume*. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (1): 42. (in Chinese)
- 王利平, 刘扬岷, 袁身淑. 2003. 梅花香气成分初探. *园艺学报*, 30 (1): 42.
- Wyllie S G, Felman J K. 2000. Formation of branched chain esters in bananas (*Musa sapientum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3493 - 3496.
- Zhong Ming, Chen Yu-fen, Gan Lian-sheng, Cai Shi-ke. 2003. Studies on the volatile aroma compounds in fruit of Chinese white olive sanling. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (6): 757. (in Chinese)
- 钟明, 陈玉芬, 甘廉生, 蔡时可. 2003. '三棱榄' 橄榄果实香气成分分析. *园艺学报*, 30 (6): 757.