

# 自动化静态顶空 - 气相色谱 - 质谱对天然香精中挥发性化学成分的快速分析

王昊阳<sup>1</sup>, 郭寅龙<sup>1</sup>, 张正行<sup>2</sup>, 安登魁<sup>2</sup>

(1. 中国科学院上海有机化学研究所, 上海 200032; 2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 运用静态顶空 - 毛细管气相色谱 - 质谱法对天然香精中挥发性化学成分进行了分析, 采用质谱和保留指数检索结合的方法对香精中挥发性成分进行定性分析; 对香精顶空分析条件进行了优化, 在香精样品中加入适量饱和 NaCl 溶液, 显著地提高了低极性挥发性组分的分析灵敏度; 从该香精中检出了 68 个化合物, 将峰面积归一化结果大于 0.1% 的 60 种挥发性成分进行了定性分析, 并通过保留指数分析对其中 45 种化合物进行了确认; 分析结果表明: 香精中含有萜类 (30.3%)、萜类衍生物 (11.7%)、酚醚类 (17.0%)、脂肪酸酯 (20.9%) 和一些小分子的缩醛类化合物 (17.7%), 其中主要的挥发性成分为丁酸-1,1-二甲基-苯基乙酯 (18.9%)、茴香脑 (15.6%)、2-乙基-4-甲基-1,3-二氧戊环 (9.8%) 和 -石竹烯 (7.7%); 对方法精密度进行考察, 相对标准偏差 (RSD) 在 0.62~9.36 之间。

**关键词:** 自动化静态顶空; 气相色谱 - 质谱; 保留指数; 香精; 挥发性成分

**中图分类号:** O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2004)01-0009-05

## Fast Analysis of Volatile Compounds in Natural Essences by Automatic Static - Headspace - GC - MS

WANG Hao-yang<sup>1</sup>, GUO Yin-long<sup>1</sup>, ZHANG Zheng-xing<sup>2</sup>, AN Deng-kui<sup>2</sup>

(1. Shanghai Institute of Organic Chemistry, Shanghai 200032, China; 2. Pharmaceutical Institute, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** A fast method for the analysis of volatile compounds in natural essence by automatic static - headspace - GC - MS was established. The qualitative analysis of volatile compounds in essence was performed by using mass spectrum and retention index library search. The analytical sensitivities of low polar volatile compounds in essence increased greatly in the presence of an appropriate amount of saturated NaCl solution. The operating conditions for static - headspace - GC - MS were optimized. Sixty - eight compounds in the essence were identified. Sixty volatile compounds with normalized peak area larger than 0.1% were analysed qualitatively. Among them, 45 compounds were finally confirmed with retention indices. It was found that the main compounds of this essence were butanoic acid 1,1-dimethyl-phenylethyl ester (18.9%), anethole (15.6%), 2-ethyl-4-methyl-1,3-dioxolane (9.8%) and beta-caryophyllene (7.7%), respectively. The RSD of this method was 0.62% ~ 9.36%. The established method is suitable for the quality control of essence.

**Key words:** Automatic static headspace; GC - MS; Retention index; Volatile compounds; Essence

香精是日用品、烟草、酒类和食品生产中重要的配料。目前香精中挥发性成分的分析一般采用水蒸气蒸馏、有机溶剂萃取、超临界流体萃取 (SFE) 等方法<sup>[1,2]</sup>, 但提取方法样品消耗量大, 费时费力。近年来快速便捷的顶空分析方法日渐成为香精分析的重要手段<sup>[3,4]</sup>。程青、吴惠勤等用动态顶空方法对酒类中重要的致香性挥发性化学成分进行了气相色谱/质谱分析<sup>[5]</sup>, 刘百战、高芸分别用固相微萃取和动态顶空法分离栀子鲜花的头香成分<sup>[6]</sup>。葛兴采用静态顶空进样 - 气相色谱 - 质谱分析了天然香料油中香味成分的化学组成<sup>[7]</sup>。从这些研究中可以看出顶空分析法无需溶剂提取, 对色谱柱伤害小, 其中静态顶空方法最为常用。

本文对香精分析的顶空方法进行了优化。在对香精中挥发性成分进行质谱检索定性时, 有些同

收稿日期: 2003-03-06; 修回日期: 2003-11-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20175034); 国家烟草专卖局资助项目 (国烟科[2001]504)

作者简介: 王昊阳 (1978-), 男, 河南平顶山人, 博士研究生; 郭寅龙, 联系人。

分异构化合物的质谱没有明显区别, 本文采用气相色谱保留指数对质谱的分析结果进行验证<sup>[8-10]</sup>。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

仪器: 美国 VARIAN 公司的 GC/MS (CP-3800 气相色谱仪, Saturn2000 离子阱质谱仪); 工作站为 Saturn GC/MS Workstation (Version 5.41)。COMBI PAL 自动进样器 (集顶空自动预热和气体自动进样装置于一体的系统), 顶空分析自动控制系统为 PAL System。

气相色谱条件: 色谱柱: CP-SIL-8 (交联 5% 苯基, 95% 甲基硅酮) LOW BLEED/MS 毛细管色谱柱 (30 m × ID 0.32 mm × Film 0.25 μm), 载气为氦气。进样口 250。程序升温条件: 50 停留 5 min, 再以 5 /min 升至 200, 总分析时间为 35 min。恒流模式: 流速 1 mL/min, 分流比 50:1。

质谱条件: EI 电离方式, 电子能量 70 eV, 离子阱 200, 质量扫描范围: 30~500 u。分析结果运用 Saturn 与 NIST 标准谱库进行检索。

### 1.2 样品及试剂

香精样品由龙岩卷烟厂提供, 为天然香料植物乙醇和 1,2-丙二醇的粗提混合液, 本天然香精外观为棕黑色高度粘稠的液体, 具有浓郁的植物甜香味, 在烟草中添加本品可以提高烟气的自然醇香, 改善口感。实验用水为自制的双蒸蒸馏水, NaCl (分析纯, 上海联试化工试剂有限公司)。正构烷烃标样 (C<sub>6</sub>-C<sub>44</sub>) 购自美国的 Chem. Service 公司。

### 1.3 实验方法

精密称取香精料液 500 mg 放入 10 mL 的顶空瓶, 加入 1 mL 饱和 NaCl 溶液, 立刻用硅橡胶隔垫密封压紧。当温度到达 100 时进样器自动将装有样品的顶空瓶放在加热器中加热, 预热 20 min。然后取顶空气体 500 μL, 自动进样进行气相色谱分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 香精顶空分析中的基质改性剂的影响

顶空分析中的基质改性剂的影响, 通过香精的直接顶空分析和在香精中加入饱和 NaCl 溶液后分析进行了对比, 结果见图 1。在香精中加入饱和 NaCl 溶液后低极性的化合物如: -蒎烯, -石竹烯, 桉油醇, 茴香脑和丁酸-1,1-二甲基-苯基乙酯等化合物的分析灵敏度显著提高。而香精中所含的提取溶剂乙醇和 1,2-丙二醇的响应显著下降, 这说明加入饱和 NaCl 溶液降低了提取溶剂对顶空分析存在的干扰。原因: (1) 加水降低了香精的粘度, 降低基质对低极性挥发性有机化合物的吸附, 同时使得低极性挥发性物质从香精基质中释放到水相的上层。(2) 极性挥发性化合物 (这里为乙醇和 1,2-丙二醇) 在水中溶解度高, 加水降低了极性挥发性化合物在气相中的分配系数。(3) 加盐会提高体系的离子强度, 增强挥发性组分的挥发性。经考察加饱和 NaCl 溶液 1~2 mL 之间灵敏度无明显提高, 最终确定加饱和 NaCl 溶液 1 mL。

### 2.2 顶空分析中样品预热时间和温度的考察

在固定预热时间为 30 min 的条件下, 选取 6 个峰面积最大的化合物为标准, 对样品的预热温度进行了考察。图 2 为这些化合物的峰面积随加热温度的变化趋势, 100 以下时升温可以增

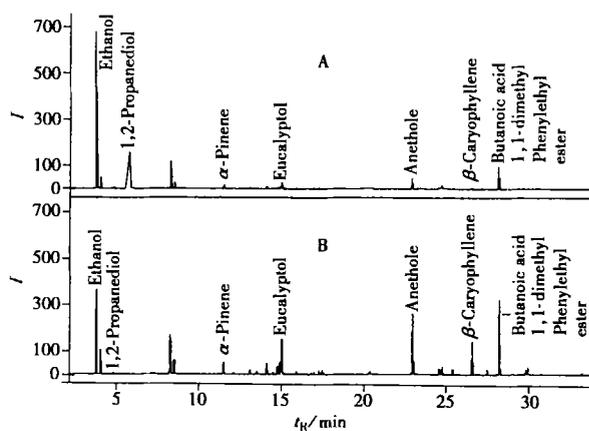


图 1 香精进行直接顶空分析(A)和香精加入饱和 NaCl 溶液 1 mL(B)的顶空-气相色谱总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile compounds of the sample headspace analysis of essences(A) and headspace analysis of the essences in the presence of 1 mL saturated NaCl solution(B)

加顶空分析的灵敏度, 温度高于 100 时可以看到乙醇的峰面积显著增大, 而这 6 种挥发性组分的灵敏度相对降低。这是因为此时水和乙醇的沸腾使得瓶内压力很高, 对其它组分的挥发产生一定程度的抑制, 而且可能会因高温带来副反应, 所以这时的分析灵敏度降低<sup>[9]</sup>。

在固定预热温度 100 的条件下, 对样品的预热时间进行了考察。实验结果表明样品加热到 20 min 分配基本达到平衡, 加热时间的延长会使一些性质不稳定挥发性成分发生热分解、氧化等副反应<sup>[9]</sup>。

### 2.3 分析方法的精密度

在分析方法确定后, 选取相对含量最大的 6 个化合物为指标, 对实验方法的精密度进行考察, 3 次平行测定 6 个化合物峰面积的相对标准偏差分别为: 2-乙基-4-甲基-1,3-二氧戊环(8.52%), 2-甲基-2-(2-甲基丙基)-1,3-二氧戊环(6.52%), 桉油醇(6.30%), 茴香脑(0.62%), -石竹烯(9.36%), 丁酸-1,1-二甲基-苯基乙酯(4.78%), 6 个化合物峰面积的最大的相对标准偏差小于 10%, 说明该分析方法具有较好的重复性。

### 2.4 质谱检索和保留指数相结合的二维定性方法

香精中一些化合物从质谱上难以区分, 本文采用保留指数定性的方法来辅助质谱检索定性。保留指数定性是一种很有效的定性方法, 既可以单独用于定性, 也可以作为其它定性结果的佐证。例证见图 3, -蒎烯和桉烯的质谱图难以区分, 但 -蒎烯的保留指数为 935, 桉烯的保留指数为 980, 运用保留指数可以将两化合物清晰区分。

程序升温条件下保留指数的计算公式, 见公式(1)。n、N 表示两种正构烷烃的碳原子数, N 与 n 一般相差 1, 组分的保留时间为 t,  $t_n < t < t_N$ 。

$$RI = 100n + 100 \frac{N - n}{t_N - t_n} * [t - t_n] / [t_N - t_n] \quad (1)$$

使用保留指数进行定性分析时, 实验计算值和文献报道值会存在差异, 一般以 1% 作为检索的尺度。质谱检索和保留指数相结合的二维定性方法是一种可信度较高的定性方法。

### 2.5 香精的测定结果

图 4 为顶空 - 毛细管气相色谱 - 质谱得到的分析结果。对其中相对含量大于 0.1% 的 60 种挥发性成分进行了质谱检索定性, 并利用保留指数检索对其中 45 种化合物进行了确认, 分析结果详见表 1。提取溶剂乙醇、1,2-丙二醇和流失峰(峰号 60 之后的峰)未列入分析结果中。分析结果表明该香精中主要含有萜类、萜类衍生物、酚醚类、脂肪酸酯和一些小分子的缩醛类化合物。萜类物质的含量最大, 占总挥发性物质的 30.3%, 以 -石竹烯(7.7%)、柠檬烯(2.8%)、-蒎烯(2.8%)、-水芹烯(2.6%) 为主。萜类衍生物占总挥发性物质的 11.7%, 以桉油醇(8.4%) 为主。脂肪酸酯占总挥发性物质的 20.9%, 以戊酸-1,1-二甲基-苯基乙酯(18.9%) 为主。小分子的缩醛类化合物占总挥发性物质的 17.7%, 以 2-乙基-4-甲基-1,3-二氧戊环(9.8%) 和 2-甲基-2-(2-甲基丙基)-1,3-二氧戊环(3.3%) 为主。酚醚类占总挥

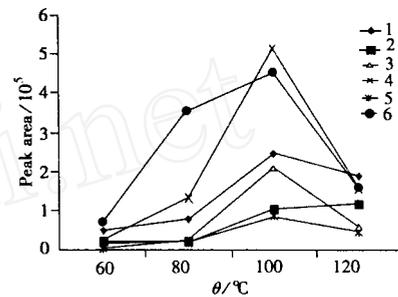


图 2 顶空分析中样品预热温度对挥发性成分影响

Fig. 2 The effect of headspace heating temperature on the peak area of volatile compounds

1. 2-ethyl-4-methyl-1,3-dioxolane; 2. 2-methyl-2-(2-methylpropyl)-1,3-dioxolane; 3. Eucalyptol; 4. Anethole; 5. -caryophyllene; 6. Butanoic acid 1,1-dimethyl-phenylethyl ester

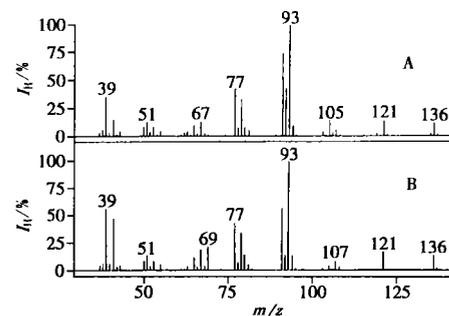


图 3 -蒎烯(A)和桉烯(B)的质谱图

Fig. 3 Mass spectrum of -pinene(A) and sabinene(B)

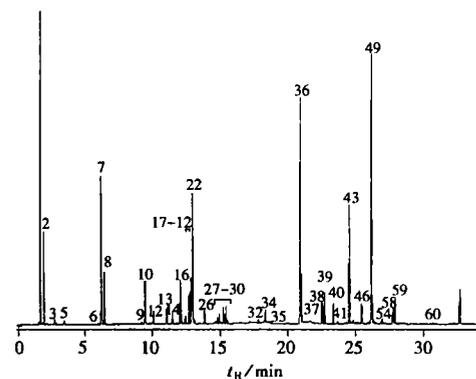


图 4 样品的顶空气相色谱 - 质谱总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogram of volatile compounds in the sample by headspace GC-MS

发性物质的 17.0%, 以茴香脑 15.6% 为主。所有挥发性物质中以戊酸-1,1-二甲基-苯基乙酯(18.9%)含量最高。

表 1 样品中挥发性成分的分析结果

Table 1 Analytical results of volatile compounds in the sample

Peak No	Compound	$M_r$	Relative content/ %	Retention index
1	1,1-Diethoxy-ethane(1,1-二乙氧基乙烷)	118	0.1	
2	2-Methyl-propanal(2-甲基丙醛)	72	3.9	
3	2-Methyl-1,3-dioxane(2-甲基-1,3-二氧戊环)	102	0.3	
4	Acetic acid,1-methylethyl ester(乙酸-1-甲基乙酯)	102	0.1	
5	2-Hydroxy-propanoic acid methyl ester(2-羟基-丙酸甲酯)	104	0.2	
6	Furfural(糠醛)	96	* *	835
7	2-Ethyl-4-methyl-1,3-dioxolane*(2-乙基-4-甲基-1,3-二氧戊环)	116	9.8	843
8	2-Methyl-2-(2-methylpropyl)-1,3-dioxolane*(2-甲基-2-(2-甲基丙基)-1,3-二氧戊环)	144	3.3	851
9	-Thujene( - 桉烯)	136	0.2	929
10	-Pinene( - 蒎烯)	136	2.8	935
11	2-Butyl-4-methyl-1,3-dioxolane(2-丁基-4-甲基-1,3-二氧戊环)	144	0.1	945
12	Camphene(莰烯)	136	0.4	953
13	Sabinene(桉烯)	136	1.0	980
14	-Pinene( - 蒎烯)	136	0.7	991
15	Hexanoic acid ethyl ester(己酸乙酯)	144	0.1	1 002
16	-Phellandrene( - 水芹烯)	136	2.6	1 009
17	3-Carene(3-萜烯)	136	0.2	1 011
18	-Terpinene( - 萜品烯)	136	0.5	1 020
19	2-Butenyl-benzene(2-丁烯基苯)	132	0.1	1 024
20	<i>p</i> -Cymene(对伞花烯)	134	1.9	1 028
21	Limonene(柠檬烯)	136	2.8	1 031
22	-Phellandrene( - 水芹烯)	136	0.8	1 034
23	Eucalyptol(桉油醇)	154	8.4	1 036
24	<i>Z</i> -Ocimene(顺-罗勒烯)	136	0.3	1 039
25	<i>E</i> -Ocimene(反-罗勒烯)	136	0.1	1 049
26	-Terpinene( - 萜品烯)	136	0.8	1 062
27	Terpinolene(萜品油烯)	136	0.4	1 088
28	Fenchone(小茴香酮)	152	0.6	1 093
29	Linalol(芳樟醇)	154	0.9	1 102
30	3-Methylbutanoic acid-3-methylbutyl ester*(3-甲基丁酸-3-甲基丁酯)	172	1.0	1 108
31	3-Methylbutanoic acid pentyl ester*(3-甲基丁酸戊酯)	172	0.3	1 111
32	Terpinene-4-ol(萜品-4-醇)	154	0.2	1 186
33	-Terpineol( - 松油醇)	154	0.1	1 200
34	Estragole(蒿脑)	148	0.8	1 203
35	<i>cis</i> -1-Methyl-4-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol*(顺-1-甲基-4-(1-甲基乙基)-2-环己-1-醇)	154	0.1	1 218
36	Anethole(茴香脑)	148	15.6	1 295
37	Methyl cinnamate*(月桂酸甲酯)	162	0.5	1 300
38	-Terpineol acetate(乙酸-松油醇)	196	1.4	1 353
39	Eugenol(丁香烯)	164	1.9	1 359
40	Copaene(胡椒烯)	204	1.3	1 383
41	-Elemene(榄香烯)	204	0.2	1 394
42	Methyleugenol(甲基丁香酚)	178	0.1	1 404
43	-Caryophyllene( - 石竹烯)	204	7.7	1 424
44	Valencene(瓦伦烯)	204	0.2	1 448
45	Cinnamyl acetate(月桂酸乙酯)	176	0.1	1 453
46	-Caryophyllene( - 石竹烯)	204	1.4	1 466
47	-Muulolene( - 衣兰油烯)	204	* *	1 481
48	Cedrene(松木烯)	204	0.1	1 484
49	Butanoic acid-1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester*(丁酸-1,1-二甲基-2-苯基乙酯)	220	0.1	1 488
50	Butanoic acid-1,1-dimethyl-phenylethyl ester*(丁酸-1,1-二甲基-苯基乙酯)	220	18.9	1 496
51	Ledene(喇叭烯)	204	0.4	1 502
52	-Muulolene( - 衣兰油烯)	204	0.2	1 507
53	-Cadinene( - 杜松烯)	204	0.2	1 523
54	-Cadinene( - 杜松烯)	204	0.5	1 527
55	Calamene(去氢白萜烯)	202	0.2	1 532
56	Pentyl phenylacetate*(苯乙酸-戊酯)	206	0.1	1 537
57	-Himachalene( - 雪松烯)	204	0.1	1 547
58	<i>Z</i> -Nerolidol(顺-橙花叔醇)	222	1.0	1 559
59	<i>E</i> -Nerolidol(反-橙花叔醇)	222	1.6	1 565
60	4-(2-Propenyl)-phenol acetate*(乙酸-4-(2-丙烯基)-酚酯)	176	0.1	1 676

\* not found in the retention index database, these compounds were identified only by the mass spectrum search; \*\* very low level content

### 3 结 论

实验结果表明静态顶空 - 气相色谱 - 保留指数/质谱分析是一种快速有效分析香精中挥发性成分的方法, 香精香料样品消耗量只有 500 mg, 无需有机溶剂提取, 整个过程高度自动化。本文还采用质谱检索与保留指数二维定性方法对挥发性成分进行了可信度较高的定性研究。静态顶空 - 气相色谱 - 质谱法也可以用于其它含挥发性成分复杂的样品进行分析, 如中草药、天然香料、卷烟、食品等。

致谢: 感谢龙岩卷烟厂的廖启斌等人提供的天然香精样品。

#### 参考文献:

- [1] STEINHART H, STEPHAN A, BUCKING M. Advances in flavor research[J]. J High Resolut Chromatogr, 2000, 23(7-8): 489-496.
- [2] CHIALVA F, GABRI G, LIDDLE P A P, *et al.* Applications of the method and comparison with the traditional analysis of essential oils[J]. J High Resolut Chromatogr, 1982, 5(4): 182-8.
- [3] PHILIP M, ROBERT S, CHARLES C. Gas chromatographic technologies for analysis of essential oil[J]. J Chromatogr, A, 2001, 934: 1-22.
- [4] KOLD B. Headspace sampling with capillary columns[J]. J Chromatogr, A, 1999, 842(1-2): 163-205.
- [5] 程建青, 吴惠勤, 何守明, 等. 酱香型酒香气成分研究 3. 珍酒、茅台酒前香成分的分离及气相色谱/质谱分析[J]. 分析测试学报, 1996, 15(5): 8-11.
- [6] 刘百战, 高芸. 固相微萃取 - 气相色谱/质谱分析梔子花的头香成分[J]. 色谱, 2000, 18(5): 452-455.
- [7] 葛兴. 顶空分析法用于天然香料油气味分析[J]. 北京农学院学报, 1994, 9(1): 96-98.
- [8] TANIA A SASAKI, CHARLES WILKINS. Gas chromatography with Fourier transform infrared and detection[J]. J Chromatogr, A, 1999, 842: 341-349.
- [9] 凌大奎, 朱永新, 王维, 等. 气相色谱保留指数谱用于中药材鉴别的研究[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(4): 13-20.
- [10] GONZALEZ F R, NARDILLO A M. Retention Index temperature - programmed gas chromatography[J]. J Chromatogr, A, 1999, 842: 29-49.

(上接第 8 页)

- [3] ZHENG X P, MO J Y, XIE T Y. Studies of spline wavelet least square in processing electro - chemical chemistry signals[J]. Talanta, 1999, 48: 425-436.
- [4] DAUBECHIES I, SWELDENS W. Factoring wavelet transforms into lifting steps[J]. J Fourier Anal Appl, 1998, 4(3): 245-267.
- [5] SWELDENS W. The lifting scheme: a custom design construction of biorthogonal wavelets[J]. Appl Comp Harm Anal, 1996, 3(2): 186-200.
- [6] HO W J, CHANG W T. Adaptive predictor based on maximally flat halfband filter in lifting scheme[J]. IEEE Trans on Signal Proc, 1998, 47(11): 2965-2977.
- [7] GROSSMANN A, MORLET J. Decomposition of hardy functions into square integrable wavelets of constant shape[J]. SIAM J Math Anal, 1984, 15(4): 723-736.
- [8] WOODS J W, SEAN D O. Subband coding of images[J]. IEEE Trans Acoust Speech Signal Process, 1986, 34(5): 1278-1288.
- [9] ANTONINI M, BARLAND M, MATHIEU P, *et al.* Image coding using wavelet transform[J]. IEEE Trans on Image Processing, 1992, 1(2): 205-220.