

热脱附-气相色谱/质谱联用分析生、炙乳香挥发性成分

吴岳华¹, 周 围², 张雅珩², 魏荣霞³

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070;

2. 甘肃出入境检验检疫局综合技术中心, 甘肃 兰州 730010;

3. 西北师范大学地理与环境科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为了研究天然乳香的挥发性成分及生、炙乳香挥发性成分的异同,为乳香挥发油的工艺优化和品质评估提供科学的依据,同时为固体挥发性成分分析提供新思路,采用热脱附-气相色谱/质谱联用技术直接对自然状态下乳香颗粒的挥发性成分进行分析。结合 NIST 08 标准谱库检索和 Mass Works™ 质谱解析软件的分析结果,在分离出的 40 余种挥发性成分中,最终确定出 20 种化学成分。结果表明:生、炙乳香中的挥发性成分主要由单萜、醇及酯类物质构成,其中以醋酸辛酯含量最高,约占挥发性成分的 50%;其次为 1-辛醇、芳樟醇、乙酸龙脑酯,在生乳香中的含量分别为 19.44%、2.27%、2.64%,在炙乳香中的含量分别为 9.12%、2.61%、1.33%。

关键词:热脱附(TD);气相色谱-质谱(GC/MS);乳香;挥发性成分

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2013)01--

Analysis of Volatile Components of Fresh and Cooked Frankincense by Thermal Desorption and GC/MS

WU Yue-hua¹, ZHOU Wei², ZHANG Ya-heng², WEI Rong-xia³

(1. College of Food Science and Engineering,

Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Central Laboratory of Technical Center of Gansu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Lanzhou 730010, China;

3. College of Geography and Environment Science,

Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to make clear the natural volatile composition of frankincense and the differences between fresh frankincense and cooked frankincense, to provide a scientific basis on improving techniques and evaluating qualities of frankincense volatile oil, and to offer a new method to analyse volatile composition from solid for reference, the volatile components of natural fresh and cooked frankincense were extracted and determined directly by thermal desorption and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). More than 40

收稿日期:2012-08-23;修回日期:2012-11-29

作者简介:吴岳华(1986~),女(汉族),硕士研究生,食品营养与卫生专业。E-mail:358843684@qq.com

通信作者:周 围(1953~),男(汉族),研究员,从事食品营养及食品安全分析研究。E-mail:zhouwei845@163.com

components are separated and, 20 components are identified by comparing their mass spectra with those contained in the NIST mass spectral database and Mass Works™ software. The results show that the main components include terpenes, alcohol and esters et. al, *n*-octyl acetate is the most important volatile components to frankincense. The normalized peak areas exceed 50% both in fresh frankincense and cooked frankincense, followed by 1-octanol, linalool and bornyl acetate, the normalized peak areas in fresh frankincense are 19.44%, 2.27% and 2.64%, in cooked frankincense are 9.12%, 2.61% and 1.33%, respectively.

Key words: thermal desorption; GC/MS; frankincense; volatile components

乳香(*Boswellia carteri*)为橄榄科植物卡氏乳香树 *Boswellia carterii* Birdw. 及同属植物鲍达乳香树 *B. bhaw-dajiana* Birdw. 和野乳香树 *B. neglecta* Moore. 树皮渗出的树脂。主产于索马里和埃塞俄比亚,多呈小形乳头状颗粒,淡黄色、质坚硬、性温和、气芳香、味微苦,具有活血止痛、消肿生肌等功效,常被用作中药材使用,其化学成分由树脂(60%~70%)、树胶(27%~35%)和挥发油(3%~8%)三部分组成^[1]。关于乳香的研究,前期学者多集中在乳香挥发油的提取纯化、成分分析和医疗功效等方面,但在提取挥发油的过程中,不可避免的引入了有机溶剂,并伴随一些化合物发生降解、异构化等副反应,使乳香挥发油的挥发性成分与天然乳香颗粒的挥发性成分有所不同。刘洪玲^[2]使用挥发油提取器按常规回流 10 h 从乳香中提取出挥发油,利用 GC/MS 联用技术从提取出的挥发油中分离并鉴定出其中的 47 种化学成分;赵金凤等^[3]采用中国药典 2010 年版一部附录 XD 甲法从三批次乳香中提取出挥发油,利用 GC/MS 联用技术从提取出的挥发油中共鉴定出 100 种化学成分;国外学者 Sandrine 等^[5]采用固相微萃取-气相色谱-质谱(SPME-GC/MS)联用技术,从乳香中分离并鉴定了其中的 66 种化学成分。目前尚未发现采用热脱附和气相色谱-质谱联用技术直接对天然乳香挥发性成分进行研究的报道。

热脱附技术是集采样、富集、浓缩、进样于一体的样品预处理技术,灵敏度高、重现性好、样品无需前处理,充分保留样品的原状,挥发性组分在高温下从吸附剂或样品本身中释放出来直接进入气质联用系统进行分离分析。该技术与 GC/MS 联用为多种无法进行液体萃取的基质提供了解决方案,已在环境测试、食品分析、医疗卫生等领域有相关的应用报道^[6-7]。本实验采用热解吸法将自然状态下的乳香颗粒经研磨后直

接装入采样管进行热解吸,通过合理地设置解吸温度,充分释放挥发性物质,并结合标准质谱库(NIST 08s)检索和 Mass Works™ 质谱解析软件等分析手段,对生、炙乳香的挥发性成分进行了分析。

1 试验部分

1.1 样品来源

市售生乳香、炙乳香。

1.2 样品的制备

1.2.1 取 2~3 颗生乳香颗粒置于研钵中快速研成粉末,混匀后过 60 目筛,准确称取 10 mg 置于内径为 2 mm 的空心玻璃管中,两头用玻璃棉封堵,装入不锈钢采样管中备用。同 1.2.1。

1.2.2 炙乳香样品的制备

1.3 主要仪器

Agilent 7890A/5975C 气相色谱-质谱联用仪;美国 Agilent 公司产品;AutoTD 自动热脱附解吸仪、不锈钢采样管(90 mm×6.4 mm);中国成都科林仪器公司产品;Mass Works™ 质谱解析软件;美国 Cerno Bioscience 公司产品。

1.4 实验条件

1.4.1 热脱附条件 载气:高纯氦气(纯度≥99.999%);载气压力:140 kPa;一级解吸时间:5 min,一级解吸温度:180 °C;二级解吸时间:5 min,二级解吸温度:200 °C;冷阱吸附温度:-30 °C;进样时间:60 s;传输线/阀温度:220 °C。

1.4.2 气相色谱条件 色谱柱:DB-1701 毛细管色谱柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm);载气:高纯氦气(纯度≥99.999%);程序升温:初始温度 50 °C,保持 2 min,以 5 °C/min 的速率升至 260 °C,保持 10 min;进样口温度:250 °C;分流比:1:1。

1.4.3 质谱条件 EI 源能量:70 eV;MS 接口

温度:250 ℃;离子源温度:230 ℃;四极杆温度:150 ℃;采样模式:全扫描;EM 电压:1 576 V;质量扫描范围: m/z 30 ~ 600。以全氟三丁胺(PFTBA)标准品为外标对质谱进行校正。

2 结果与讨论

2.1 实验结果

按照 1.4 中的实验条件对乳香中的挥发性成分进行分析,得到生乳香、炙乳香的挥发性成

分总离子流图分别示于图 1,图 2。

利用 NIST 08 标准谱库检索对挥发性成分进行初步定性,然后用 Mass Works™ 质谱解析软件对质谱图进行校正,模拟计算出组分的精确分子量并得到组分的元素组成,综合两种分析方法的结果,最终得到生、炙乳香的挥发性成分质谱解析结果,并按照峰面积归一化法计算出各组分的相对百分含量,列于表 1。

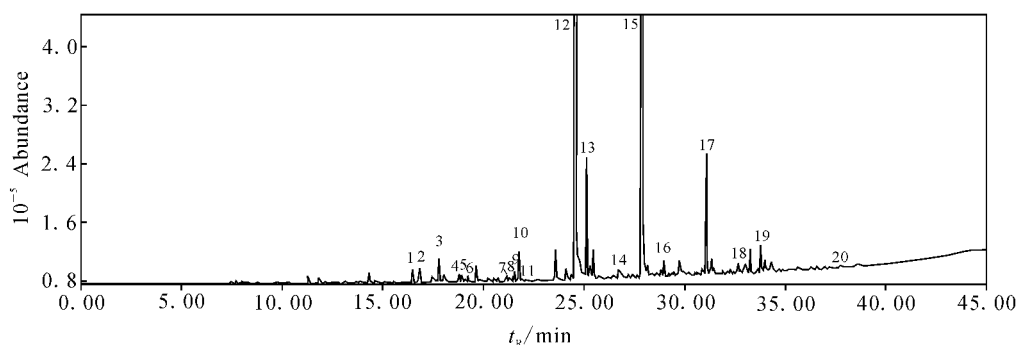


图 1 生乳香挥发性成分总离子流图

Fig. 1 Total ionic current chromatogram of the volatile components of fresh frankincense

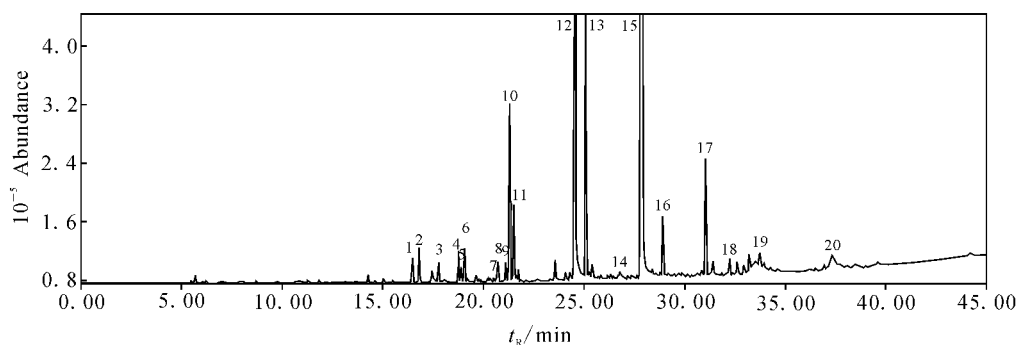


图 2 炙乳香挥发性成分总离子流图

Fig. 2 Total ionic current chromatogram of the volatile components of cooked frankincense

2.2 乳香的挥发性成分组成

生乳香、炙乳香中的挥发性成分种类相同,主要由单萜、萜烯醇、醇及酯类物质构成,但含量有所不同。单萜类物质主要有 α -水芹烯、 α -蒎烯、蒎烯、香桉烯、 β -蒎烯、罗勒烯、松油烯等,在生乳香、炙乳香中分别约占 2.1%、5.3%;萜烯醇类物质主要有芳樟醇、 α -松油醇等,在生乳香、炙乳香中分别约占 2.6%、3.6%;高级醇类物质

主要有 1-辛醇、月桂醇等,在生乳香、炙乳香中分别约占 20.1%、9.7%;酯类物质主要有辛酸辛酯、乙酸龙脑酯、辛酸己酯,在生乳香、炙乳香中分别约占 59.3%、54.9%,其中以辛酸辛酯含量最高,约占生、炙乳香挥发性成分的 50%。因此认为辛酸辛酯、1-辛醇、芳樟醇、乙酸龙脑酯等是乳香中最主要的特征挥发性成分。

表 1 生、炙乳香主要挥发性成分分析

Table 1 Identification of main volatile compositions in fresh and cooked frankincense

峰号	化合物名称		分子式	NIST 08 谱库检索 匹配度 (排序)	Mass Work			相对百分含量	
	中文名	英文名			检索离子精 确分子质量	光谱匹配度 (排序)	CLIPs 检索离子	生乳香	炙乳香
1	α 水芹烯	α -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	93(1)	136.125 2	99.809 1(1)	[M ⁺ ·]	0.25	0.33
2	α 蒎烯	α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	92(1)	136.126 1	98.750 3(1)	[M ⁺ ·]	0.28	0.43
3	莰烯	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	95(1)	136.125 9	99.704 4(1)	[M ⁺ ·]	0.45	0.26
4	香桉烯	Sabinene	C ₁₀ H ₁₆	90(1)	136.127 3	98.514 6(3)	[M ⁺ ·]	0.18	0.36
5	β 蒎烯	β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	90(1)	136.125 2	96.153 0(2)	[M ⁺ ·]	0.13	0.21
6	β 香叶烯	β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	91(1)	136.126 4	98.591 6(1)	[M ⁺ ·]	0.06	0.42
7	柠檬烯	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	97(2)	136.125 2	98.169 0(1)	[M ⁺ ·]	0.15	0.17
8	对伞花烃	<i>p</i> -Cymene	C ₁₀ H ₁₄	93(1)	134.109 6	99.340 8(1)	[M ⁺ ·]	0.07	0.08
9	罗勒烯	Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	91(2)	136.129 7	99.152 9(1)	[M ⁺ ·]	0.16	0.28
10	桉油精	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	97(1)	154.135 8	99.479 9(1)	[M ⁺ ·]	0.55	2.25
11	松油烯	Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	92(1)	136.128 2	98.169 0(1)	[M ⁺ ·]	0.03	1.09
12	1-辛醇	1-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	88(1)	112.125 8	98.156 0(1)	[M ⁺ · -H ₂ O]	19.44	9.12
13	芳樟醇	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	90(1)	136.125 2	97.753 0(1)	[M ⁺ · -H ₂ O]	2.27	2.61
14	6-甲基-3,5- -戊二烯-2-酮	6-Methylhepta-3,5- -dien-2-one	C ₈ H ₁₂ O	93(1)	124.088 8	99.029 1(2)	[M ⁺ ·]	0.05	0.14
15	醋酸辛酯	<i>n</i> -octylacetate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	90(1)		56.56	53.55		
16	α -松油醇	Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	91(1)	136.125 2	99.011 6(1)	[M ⁺ · -H ₂ O]	0.37	0.98
17	乙酸龙脑酯	Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	97(2)	196.146 3	96.798 7(1)	[M ⁺ ·]	2.64	1.33
18	丙酸香茅酯	Citronellol propionate	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	89(1)		0.36	0.30		
19	月桂醇	1-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	88(3)	168.252 3	96.311 9(1)	[M ⁺ · -H ₂ O]	0.63	0.58
20	辛酸己酯	Hexyloctanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	90(1)		0.09	0.06		

2.3 热脱附方法的评价

目前芳香植物的挥发性成分分析主要以顶空、固相微萃取等与气相色谱-质谱联用分析为主^[8]。热解吸法是一种较为新颖的预处理方法, 该法将天然乳香颗粒研磨后直接装入样品管在高温下进行解吸, 使挥发性成分充分释放, 再经冷阱短时聚焦, 直接进入气相色谱-质谱体系进行分离分析, 不使用吸附剂作为挥发性成分的载体, 避免了固相微萃取技术由于不同极性的萃取头对样品中挥发性成分的选择吸附性, 且特有的冷阱聚焦功能弥补了顶空-气相色谱法对挥发性成分进行富集的不足, 大大提高了灵敏度, 改善了谱带展宽的问题, 同时克服了蒸馏法、萃取法等传统挥发性成分分离技术, 使组分损失多、易造成挥发性成分变化的缺点, 并杜绝了溶剂带来

的污染^[9-13]。所得挥发性成分接近人体嗅觉所感觉到的气味, 真实地反映了样品挥发性成分的构成。

2.4 定性方法的特点

GC/MS 利用保留时间和 NIST 谱库检索对化合物进行定性是目前应用最为广泛的一种定性手段。但由于低分辨性的四极杆质谱只能给出化合物的整数质量, 对未知物的定性分析往往依靠谱库检索结果匹配度的高低而定, 谱库检索结果的匹配度又严重依赖于 GC 的分离效果, 色谱分离不佳会使匹配结果不准或难以匹配, 尤其是含量较低和未得到彻底分离的组分, 其定性分析易受干扰。此外, 异构体、同系物和结构特征相似的化合物的谱图往往非常相似, 谱库检索会给出几个匹配度相近的候选物, 给未知物的准确

鉴定带来很大困难^[14]。因此,仅靠谱库检索给未知化合物定性存在很大的不确定性。MassWorks 质谱解析软件利用同位素峰形校正检索技术(calibrated lineshape isotope profile, CLIPs),通过建立元素组成已知的一个或多个离子生成的校准函数,对样品质谱峰的精确质量数(质量准确度)和同位素峰形(谱图准确度)同时进行校正匹配^[15-16],实现对未知化合物分子式的识别,大大提高了低分辨质谱定性的准确度^[17-21]。在使用 MassWorks 质谱解析软件时,根据从重原则和氮规则,对质谱图最右侧的质荷比为偶数的碎片离子进行 CLIPs 检索,若该碎片是分子离子,则直接得到该化合物的元素组成和精确分子质量,并借助 NIST 谱库的反检索功能获得该化合物的结构以及化合物名称,若该碎片不是分子离子,则无法直接推断该化合物的元素组成和精确分子质量,但结合不同物质质谱裂解的一般规律,可以对特征碎片进行 CLIPs 检索,再反推分子离子。如伯醇类物质经 EI 源电离后不产生分子离子,会产生稳定的 $\text{CH}_2=\text{O}+\text{H}$ (m/z 31) 碎片离子和 $[\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}]$ 奇电子离子^[22]。观察峰号为 12(1-辛醇)、13(芳樟醇)、16(α -松油醇)、19(月桂醇)的质谱图,均有明显的 m/z 31 特征碎片离子,经 NIST 谱库检索,依次初步定性为 1-辛醇、芳樟醇、 α -松油醇和月桂醇,但匹配率均不高。利用 MassWorks 软件分别对该 4 种物质质谱图靠右侧的碎片离子进行 CLIPs 检索,得到元素组成为 C_8H_{16} 、 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ 、 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ 、 $\text{C}_{12}\text{H}_{24}$,依次在每个碎片的基础上加 H_2O ,得到元素组成为 $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$ 、 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ 、 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ 和 $\text{C}_{10}\text{H}_{26}\text{O}$ 的化合物,借助 NIST 谱库的反检索功能依次确定为 1-辛醇、芳樟醇、 α -松油醇、月桂醇,由此可见,经 CLIPs 检索的碎片离子为 $[\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}]$ 离子,符合伯醇裂解的一般规律。经 NIST 谱库检索和 MassWorks 质谱解析软件双重定性,大大提高了定性的可靠性。

3 小结

热脱附技术采用固体样品直接进样,消除了萃取溶剂产生的干扰,通过两级解吸充分捕集挥发性成分,更真实和直接地反映了乳香挥发性成分的构成,并综合标准谱库(NIST 08s)检索和 Mass WorksTM质谱解析软件的分析结果,在低分辨的四极杆质谱上实现了对精确质量数的

测定,大大提高了低分辨质谱定性的可靠性,同时热脱附与 GC 和 GC/MS 的联用大大拓展了 GC 和 GC/MS 的分析范围,为固体挥发性成分分析提供了新思路。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科技出版社,1986.
- [2] 刘洪玲. 乳香挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(2):370-371.
- [3] 赵金凤,周春兰,周凤琴,等. 乳香挥发性成分 GC-MS 分析[J]. 中国中药杂志,2001,36(8):1 050-1 053.
- [4] 夏华玲,赵新杰. 乳香挥发油化学成分的气相色谱-质谱分析[J]. 中草药,2003,34(2):119.
- [5] SANDRINE H, JEAN B. A chemical investigation by headspace SPME and GC-MS of volatile and semi-volatile terpenes in various olibanum samples [J]. Phytochemistry, 2005, (66):1 499-1 514.
- [6] 杜学伟,王 铠,杜光尧,等. 热脱附/冷阱聚焦/气相色谱/质谱法卷烟香气分析[J]. 分析测试技术与仪器,2007,13(1):33-40.
- [7] 谭培功,于彦彬. 热脱附气相色谱-质谱联用定量分析气体中的亚磷酸三甲酯 [J]. 分析化学,1996,24(1):116.
- [8] 杨 莉. 不同顶空分析法对植物挥发物测定的影响[D]. 北京:北京林业大学,2007.
- [9] 虞伊林,王秋云,姚 雷. 玫瑰自然香气成分及含量变化分析[J]. 上海交通大学学报,2012,29(2):80-87.
- [10] 程伟娜,郭景琦,黄映风,等. 热解析-气相色谱-质谱法测定烟草中的低沸点组分[J]. 浙江大学学报,2009,36(2):186-190.
- [11] 李德文,何兴元,史 奕. 热解析-气相色谱法测定植物源挥发性有机物[J]. 分析化学,2008,36(12):1 690-1 694.
- [12] 冯 青,高群英,张汝民,等. 3 种百合科植物挥发物成分分析[J]. 浙江农林大学学报,2011,28(3):513-518.
- [13] 陈云霞,梁 冰,王国俊. 吸附浓缩/热脱附技术进展[J]. 分析测试技术与仪器,1999,5(1):9-14.
- [14] 李 斌,周 围. MassworksTM与气相色谱-质谱联用分析洋甘菊精油成分[J]. 质谱学报,2011,32(4):241-245.
- [15] WANGY D, GU M. The concept of spectral accuracy for MS. [J]. Anal Chem, 2010, 82(17):7 055.
- [16] 钱建钦,胡昌勤. 高效液相色谱-单四极杆质谱仪

- 结合同位素峰形校正检索技术快速确定头孢呋辛水溶液降解杂质[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9):71-79.
- [17] 周 围, 李卫建. MassWorks 结合单位分辨质谱识别喹诺酮类药物分子式[J]. 质谱学报, 2009, 30(增刊):126-130.
- [18] 李卫健, 袁有荣, 欧阳伟民, 等. Massworks™ 分子式识别技术在质谱中的应用[J]. 现代仪器, 2010, 16(5):11-14.
- [19] ZHOU W, ZHAN Y H G, XU H L, et al. Determination of elemental composition of volatile organic compounds from Chinese rose oil by spectral accuracy and mass accuracy[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2011, 25:3 097-3 102.
- [20] 李雪生, 李子昂, 王正全, 等. 精确质量数在单四级杆质谱定性分析农药中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(12):2 383.
- [21] 刘 可, 马 彬, 王永东, 等. 一种新软件方法用于单位分辨质谱仪上药物相对分子量的准确测定[J]. 药学学报, 2007, 42(10):1 112.
- [22] 王光辉, 熊少祥. 有机质谱解析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004:84-89.