

文章编号:1006-6144(2004)03-0312-05

芳香植物精油气相色谱分析进展

许鹏翔^{1,2}, 贾卫民¹, 毕良武¹, 刘先章³, 赵玉芬²

- (1. 福建厦门涌泉集团公司博士后科研工作站, 福建厦门 361023;
2. 厦门大学化学系, 福建厦门, 361005;
3. 中国林业科学研究院林产化学工业研究所, 南京 210042)

摘要:介绍了分析研究芳香植物精油所采用的气相色谱技术的新进展,包括气相色谱固定相、联用技术和多维气相色谱法,样品的提取和进样技术。

关键词:气相色谱法;精油;评述

中图分类号:O657.7⁺1;TQ651⁺.2

文献标识码:A

1 前言

芳香植物是调味品、药物和天然香料的主要来源,与人们生活关系密切。精油是存在于植物体中的一类可随水蒸气蒸馏出,且具有一定香味的挥发性油状液体的总称^[1]。由于芳香植物精油均具有一定的香味和对人体的疗效作用,因而在食品、日用品、化妆品、制药及烟草工业上获得了广泛应用^[2]。精油的化学成分相当复杂,往往具有一定的生物活性,多为萜类及其含氧的化合物例如醇、酚、醛、酮等的单萜、倍半萜或双萜化合物,一般具有易挥发的特点。早期对芳香植物精油化学成分的研究仅限于几个含量较高的主要成分,随着气相色谱技术的发展和运用,对精油化学成分的研究出现了很大的飞跃。

气相色谱法(GC)是20世纪60年代以后发展起来的一种分离分析技术,特别是对复杂混合物的分析,更显示出其优越性。GC具有分离效能高、分析速度快、样品用量少、易于实现自动化等特点,具有其它化学或物理分离分析法极难达到和不可比拟的优点。随着科学技术的发展,GC已进入了与新检测技术以及计算机联用的新阶段,如GC-IR^[3]、GC-MS^[4]和GC-IR-MS^[5]的应用,使物质的定性、定量分析达到一个新的水平。此外,高效能、高选择性的新型固定相的不断出现也使GC有了许多新的突破,大大提高了GC在定性、定量分析中的准确性和灵敏度。GC分析技术在分析化学方面的研究及其应用十分广泛,本文仅就GC技术在精油分析中的新发展作一简单的介绍。

2 精油分析的GC固定相

对于GC固定相的研究,通常是从热稳定性、化学稳定性、相化学、柱效和固定相的特殊添加成分如手性选择剂等几个方面来进行的。由于精油的化学成分相当复杂,极性范围相当的宽,使得柱子固定相的选择尤为重要。人们常常通过改变柱子的口径来提高柱效,但是固定相粒径较小的柱子对极性组分的分离能力会随时间的增长而下降,从而引起组分峰的重叠。为了解决组分的峰重叠问题,人们一般通过提高固定相的选择性来解决,但这常会为了两个组分的分离而影响到其它组分的分离效果。因此,有时利用改变柱子的极性将会取得更好的效果。

非极性柱子大多基于组分的沸点高低来进行分离。对于一个精油样品,如果含有的碳氢化合物组分包括氧化物很多,那么组分色谱峰将集中在很窄的保留时间范围内,使得峰重叠的可能性加大。若使用极性稍强的柱子,则极性组分的保留时间增长,样品色谱峰的保留时间范围将变宽,就可以获得好的分离效果。施梅儿等^[6]在评价留兰香油时,分别采用了弱极性固定相SE-54毛细管柱和极性固定相PEG20M毛

收稿日期:2002-05-21

通讯联系人:许鹏翔

细管柱,进行了GC的对比分析。结果表明,强极性固定相PEG20M毛细管柱具有很强的优越性,组分的分离效果更佳。李红霞等^[7]采用HP-5强极性毛细管柱研究了四川凉山杜鹃挥发油成分,共分离出了72个化合物,其中的烯烃、烷烃、醇类和酯类组分均获得良好的分离。蒲自连等^[8]使用OV-17毛细管柱,将淡黄杜鹃植物挥发油分离出了160多个化合物,为精油化学成分的鉴定提供了可靠的基础。

近年来,特定固定相如手性的GC,开始吸引许多研究者的目光。虽然尚未得到广泛应用,但已在精油化学成分分析鉴定中起着重要作用。GC手性固定相的出现,使得人们对萜类化合物中的光学异构体组分和其它化合物,可以进行更详细的研究^[9,10],近10年来已发展成为精油化学成分分析的有力工具,为精油的研究做出了重要的贡献。这可以从各种形式的手性GC柱的应用得到证明,比如咖啡花中环氧香叶醇的研究^[11],一些精油中薄荷酮^[12]、龙脑^[13]、香茅醇^[14]和松油醇^[15]的研究,迷迭香油中马鞭草烯酮^[16]的研究和罗勒油中芳樟醇^[17]的研究。各种植物精油中芳樟醇和乙酸芳樟酯^[18]的分析,香叶油^[19]、橙花油^[20]和玫瑰油^[21]等精油中萜类化合物的分析。此外,精油萜类化合物的生物合成机制的研究^[22]和精油生源的研究^[23]以及精油中许多具有手性碳化合物的分析,均属于手性分析的应用范畴。这些研究工作也仅仅反映了手性GC众多功能中的一小部分。

3 精油分析中的联用技术和多维GC

联用是指为了优化分离操作或提高分析数据质量而结合光谱检测方法或其它特效检测技术而进行的气相色谱分析。它应该包括GC分析前的预分离、多柱分离的GC和GC分离后的形态鉴定。

高效液相色谱(HPLC)和GC的分离机制各不相同,它们的联用有着很好的优越性。一般是HPLC对样品进行预分离,再把分离出的组分导入GC系统,根据沸点和/或极性不同进行进一步的高效分离。选择何种HPLC技术,在一定程度上决定着预定的分离效果能否取得。Mondello等^[24]曾在这方面开展了工作,把经HPLC预分离的目标组分导入手性GC柱进行再分离,测出了精油样品中芳樟醇等异构体的含量比例。另外,有报道自动HPLC-HR(高分辨)GC在精油分析上的应用。利用HPLC-HRGC-MS分析了柠檬油^[25]和其它一系列精油^[26]的化学成分。作者指出,该方法的分离效果好,减少了重叠峰的干扰,所得精油的分析结果更为准确。该方法将成为柑橘类植物精油定性分析的好帮手。Yarita等^[27]分析柑橘油时发展了在线的SFE-GC系统,精油经过填有硅胶的SFE系统时组分因极性不同而分离,再把流出来的三个组分(烃、醛和酯、醇)分别导入GC系统。很明显,这些预分离步骤都是为了简化随后的GC分析,以克服其在精油分析中分离效率不足的缺陷。

精油的化学成分是如此复杂,因此,多维气相色谱法(MDGC)被应用于精油分析是很自然的现象,并且很快被人们所接受。Schomburg等^[28]于1975年采用间接捕获进样法的双柱色谱分析方法,大大改善了精油的分析操作。他们在恒温条件下分析了一个芳香精油样品,并分别用两根柱子对保留指数进行计算。实验的创新之处在于从第二个进样口引入烷烃标准到冷捕组分,从而简化了保留指数的计算。但MDGC解决了单柱GC分析中一些无法克服的分离难题,它的突出表现还在于手性分析中的应用。手性分析时使用的第一根柱子通常是传统柱,第二根则为手性柱。Bernreuther等^[29]使用SE-54预柱和Lipodex B手性柱分离了各种水果萃取物中的 α -内酯。Mollenbeck等^[30]采用GC、GC-MS和MDGC研究精油,对样品中的大量组分均获得了预期的分离效果,其中包括手性物质的分离,并报道了五种化合物(柠檬烯、芳樟醇、松油烯、 β -松油醇和香茅醇)的异构体定量。Mondello等采用MDGC和手性GC技术,分析了一系列的植物精油。研究了柑橘油^[31]、柠檬油^[32]和香柠檬油^[33]中单萜碳氢化合物、醇和乙酸芳樟酯的异构体分布。

精油GC分析后形态鉴定方面的研究也有了很大的进展。GC-O(嗅觉器)检测可认为是色谱柱分离后,组分鉴定的一种生物传感器法。它可利用特定的香味来校正谱峰,以获得组分的精确保留时间,GC-FID的结果则可以指示组分的相对丰度。Nishimura^[34]采用离线MDGC系统,该系统装有与第二套GC相连的管子,可选择性捕获流出物。分析了姜油碳氢及其含氧化合物中,有气味物质的部分,同时也研究了影响嗅觉器效率的操作因素。

GC-MS在化合物分析中所起的作用,分别发挥了色谱和质谱的各自同样的重要作用。虽然质谱分析精油时所给出的组分质谱图在很多情况下并不是唯一的,比如分子式一样的异构体,存在着不同结构式的可能性,但质谱仍能为常规分析提供非常有价值的信息。采用单柱式GC-MS分析芳香精油的报道还是频

频见于报。张占旺等^[35]利用 GC-MS 联用技术,从花椒精油中分离出多种组分,研究并确定了 12 种单萜异构体,其中 5 种属于同种植物精油的首次报道。廖超林^[36]对泰国葵叶精油的化学成分进行了研究分析,鉴定了经色谱分离的 64 种成分中的 58 种,其主要成分为乙酸丁香酚酯和反式-异丁香酚。桂新等^[37]对国产野生薄荷挥发油化学成分进行了分析,并根据其主要成分的百分含量,将它们归纳为 6 个化学型。王兴国等^[5]用气相色谱-红外-质谱(GC-IR-MS)三联仪研究永登玫瑰精油化学成分,共分离鉴定了 93 个化合物,其中 28 个组分为首次鉴定报道,36 个化合物的 MS 谱得到 IR 谱的验证。Wilkins^[38]发展了基于分光检测(IR 和 MS)的 MDGC 技术,通过改变载流所到达的一系列平行冷捕获器,使仪器能按要求收集第一根柱子的流出物,并用来分析了桉油的化学成分。

最新提出的飞行时间质谱(GC-TOF-MS)已应用于关于复杂混合物的分析,它是一种为了消除重叠质谱峰的有效分析方法。该方法能够产生即时谱,不存在离子源丰度和扫描速度之间的不匹配问题。使用 GC-TOF-MS 分析精油的研究工作也已经有了报道^[39],但尚未能推广应用。

4 精油的提取和进样技术

芳香植物精油的提取技术主要有蒸馏、萃取、微波和吸附技术^[40]。在蒸馏技术中最受青睐的是连续蒸馏萃取(SDE)技术,它集蒸馏和萃取为一体,对各种芳香植物精油都有较高的回收率。目前已有许多的改良型^[41],并成为 20 世纪 90 年代的主流技术之一^[42]。超临界流体提取(SFE)是一种较新的分离技术。目前,国内外均采用二氧化碳(CO₂)作为超(亚)临界流体的提取剂。通过压力和温度的综合调节,不仅能使用超临界 CO₂提取技术具有很大的选择性,而且使所得的精油产品组分更纯、更全。微波辅助诱导提取(MAE)是工业微波应用的新成就,用该法提取精油要比常用的水蒸气蒸馏法(SD)快得多,而且很少影响香气质量。吸附技术主要用于捕捉鲜花等中的一些挥发性香气成分,常用的吸附剂有活性炭、XAD-4 树脂和 Tenax GC 等。

Stashenko 等^[43]采用 GC-FID 和 GC-MS 研究了 SD、SDE、MAE 和 SFE 等方法对 *Lepechinia Schiedeana* 精油的提取效果。实验结果显示,重组分(双萜类和植物甾醇)只能在 MAE 和 SFE 法提取的精油中检测到,而 SDE 法对单萜、倍半萜以及它们的氧化物具有最佳的回收率。Cherchi 等^[44]采用 SFE 法提取 *Santolina Insularis* 精油,研究了实验参数对结果的影响并与 SD 法进行了比较。他们发现,SFE 法具有一定的选择性,受水或水解过程的干扰更小,精油提取时不易发生热分解。近来,人们把提取剂的目光转向了水,除使用超临界水外,许多工作者正在开展加压热水或亚临界水提取技术的研究。Rovio 等^[45]对采用加压热水或亚临界水提取丁香等精油进行了研究,并与 SD 和 SFE 法做了比较。实验表明,亚临界水能选择性地提取香薄荷和胡椒薄荷中的氧化物。对于一些组分,亚临界水提取 30 分钟与 SD 提取 4 小时或 SFE 提取 1 小时的效果相当。水对极性组分有很好的提取效果,对非极性组分则较差。相反的,SFE 对于重烷烃(二十七碳-三十三碳)的提取效果则是 SD 和亚临界水所无法比拟的。Luque de Castro 等^[46]综述了 SD、SDE、MAE、SFE 和亚临界水提取技术的进展,并比较了它们的优缺点。

因样品的性质和人们研究的目的所决定,GC 分析芳香植物精油时所采用的进样方法只是 GC 众多进样法的一部分。精油的超痕量分析并不常见,因此大体积溶液进样并不是很受欢迎,而结合样品的分离-进样为一体的顶空进样法却显得非常有用。Kolb^[47]综述了顶空进样法在毛细管 GC 中的作用,描述了可作为静态或平衡过程或者连续过程(动态顶空)操作的气体提取程序。若样品的浓度较高,少量气样可直接进到柱子;若样品浓度低,则需要大体积的气体样,且为了减小进样带宽,必须在柱子前使用冷阱或其它技术以提供一个浓缩过程。在采用顶空气相色谱(HS-GC)分析精油时,人们使用了各种富集技术,其中使用最广的是固相微萃取(SPME)。Bichi 等^[48]介绍了顶空 SPME 的不同纤维涂层,在研究芳香和药用植物精油时对分析结果的影响。例如,他们比较了 S(静态)-HS-GC 和不同聚合物涂层纤维的顶空 SPME-GC,并在分析迷迭香油和颠草油时发现,PDMS 涂层纤维的效果远不如 S-HS-GC,但更具极性的 CAR-PDMS 和 CAR-DVB-PDMS 涂层纤维的效果则与 S-HS-GC 相当。An 等^[49]采用 SPME 结合 GC-MS 现场分析了薰衣草花油成分,并与传统的溶剂提取溶液进样法做了比较。他们用干净的空烧瓶罩住薰衣草植株上的花,并用不具吸附性的棉花密封,1 小时后插入 SPME 纤维进行 10 分钟的采样,然后进行 GC-MS 分析。与传统的溶剂提取法相比,除 3-辛酮外,两种分析法所获得的精油主成分、色谱主峰和峰面积的比例都基本一致。

SPME-GC-MS 还检测到了一些微量组分,而传统的溶剂提取溶液进样法则无法办到。分析结果的可比性也说明了 SPME 是一种可行的薰衣草精油的分析方法。

5 结 语

在精油分析中,采用 GC 技术对芳香植物精油化学成分进行分析研究是一种相当有效的途径。随着芳香植物精油研究的日益深入,人们对 GC 技术的要求也将越来越高。GC 新技术的发展也将对芳香植物精油的研究起着巨大的推动作用,它将为寻找新的天然香料资源和选育优良芳香植物提供可靠的科学依据,为香料产业的发展做出贡献。

参考文献:

- [1] 董玉山,傅建熙,许平安,王 强,王素荣. 河南林业科技[J],1999,4:23.
- [2] 吕洪飞. 中草药[J],2000,9:711.
- [3] 安承熙,罗湘宁,杨绪启,王雪萍. 分析测试技术与仪器[J],1995,4:40.
- [4] 甄昭世,廖超林. 香料香精化妆品[J],2001,1:9.
- [5] 王兴国,王亚平,赵 青,程学惠,崔明中. 兰州大学学报(自然科学版)[J],1996,1:79.
- [6] 施梅儿,唐民华,胡振元. 分析科学学报[J],1996,3:180.
- [7] 李红霞,董晓楠,丁明玉. 药物分析杂志[J],2000,2:78.
- [8] 蒲自连,梁 健. 应用与环境生物学报[J],1999,4:371.
- [9] König WA. Chirality[J],1998,10:499.
- [10] Bicchi C, D'Amata A, Rubiolo P. J. Chromatogr. A [J],1999,843:99.
- [11] Emura M, Nohara I, Toyoka T. Flavour Fragr. J. [J],1997,12:9.
- [12] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1994,9:85.
- [13] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1996,11:191.
- [14] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1992,7:235.
- [15] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1995,10:281.
- [16] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1997,12:109.
- [17] Ravid U, Putievsky E. Flavour Fragr. J. [J],1997,12:293.
- [18] Cassabianca H, Graff J B, J. High Resolut. Chromatogr. [J],1998,21:107.
- [19] Doimo L, Fletcher R. J, D'Arcy B. R. J. Essent. Oil Res. [J],1999,11:291.
- [20] Juchelka D, Steil A, Witt K. J. Essent. Oil Res. [J],1996,8:487.
- [21] Kreis P, Mosandl A. Flavour Fragr. J. [J],1992,7:199.
- [22] Bohlmann J, Meyer-Gauen G. Pwoc. Natl. Acad. Sci. [J],1998,95:4126.
- [23] Holm Y, Laakso I, Galambosi B. Flavour Fragr. J. [J],1997,12:241.
- [24] Mondello L, Dugo G, Bartle KD. LC-GC Int. [J],1998,8:26.
- [25] Mondello L, Bartle KD, Dugo P. J. Microcol. [J],1994,6:237.
- [26] Mondello L, Dugo P, Bartle KD. Flavour Fragr. J. [J],1995,10:33.
- [27] Yarita T, Nomura A, Horimoto Y. Anal. Sci. [J],1994,10:25.
- [28] Schomburg G, Husmann H. J. Chromatogr. [J],1975,12:205.
- [29] Bernreuther A, Christoph N. J. Chromatogr [J],1989,481:363.
- [30] Mollenbeck S, König T, Schreier P. Flavour Fragr. J. [J],1997,12:63.
- [31] Mondello L, Catalfamo M, Proteggente A R. J. Agric. Food Chem. [J],1998,46:54.
- [32] Mondello L, Catalfamo M, Cotroneo A. J. High Resolut. Chromatogr. [J],1999,22:350.
- [33] Mondello L, Verzera A, Previti P. J. Agric. Food Chem. [J],1998,46:4275.
- [34] Nishimura O. Flavour Fragr. J. [J],2001,16:13.
- [35] 张占旺,谢亚雄,姜永嘉,路纯明,张小麟. 质谱学报[J],1998,3:74.
- [36] 廖超林. 香料香精化妆品[J],2000,2:3.
- [37] 桂 新,周荣汉. 植物资源与环境[J],1998,3:13.
- [38] Wilkins C.L. Anal. Chem. [J],1994,66:295A.

- [39] Song J, Fan L. J. Agric. Food Chem. [J], 1998, **46**:3721.
- [40] 王关林, 史若夫. 化工进展[J], 2000, **4**:30.
- [41] 长谷部昭雄. 香料(日)[J], 1997, **6**:29.
- [42] 松浦则曦. 香料(日)[J], 1997, **6**:243.
- [43] Stashenko E, Cervantes M, Combariza Y, et al. J. High Resolut. Chromatogr. [J], 1999, **22**:343.
- [44] Cherchi G, Deidda D, De Goannis B. Flavour Fragr. J. [J], 2001, **16**:35.
- [45] Rovio S, Hartonen K, Holm Y, Hiltunen R. Flavour Fragr. J. [J], 1999, **14**:399.
- [46] Luque de Castro M. D, Jimenez-Carmona M. M, Fernandez-Perez V. Trends in Anal. Chem. [J], 1999, **18**(11):708.
- [47] Kolb B. J. Chromatogr. A [J], 1999, **842**:163.
- [48] Bichi C, Drigo S, Rubiolo P. J. Chromatogr. A [J], 2000, **892**:469.
- [49] An M, Haig T, Hatfield P. J. Chromatogr. A [J], 2001, **917**:245.

Gas Chromatographic Technologies for the Analysis of Essential Oil of Aromatic Plants

XU Peng-xiang^{1,2,*}, JIA Wei-min¹, BILiang-wu¹, LIU Xian-zhang³, ZHAO Yu-fen²

(1. Postdoctoral Research Workstation of Yongquan Group Co. Ltd., Xiamen, Fujian 361023;

2. The Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005;

3. Institute of Chemical Industry of Forestry, CAF, Nanjing, Jiangsu 210042)

Abstract : This article introduced the developments of gas chromatographic technologies used in the analysis of essential oil. It included the technologies of stationary phase, hyphenation and multidimensional gas chromatography, and extraction and introduction of samples.

Key words : Gas chromatographic technologies; Essential oil; Review