

# 顶空-气相色谱/质谱法测定互叶白千层 茶树精油中的挥发性成分

石金娥<sup>1\*</sup>, 杨波<sup>1</sup>, 王莹<sup>1</sup>, 刘斌<sup>1</sup>, 张鑫<sup>1,2</sup>, 李滢倩<sup>1</sup>, 刘文竹<sup>1,2</sup>, 陈雪<sup>1,2</sup>

(1. 吉林省食品检验所, 长春 130103; 2. 吉林省安信食品技术服务有限责任公司, 长春 130033)

**摘要:** **目的** 建立顶空-气相色谱/质谱法测定茶树精油中的挥发性成分的分析方法。**方法** 茶树精油样品用正己烷溶解, 放入顶空进样瓶中, 用顶空-气相色谱/质谱进行测定。**结果** 用该方法共分离了 15 个组分, 用 NIST Chemical Structures 库和 Wiley Library 质谱库进行检索, 以质谱相似度和利用标准品对部分主要成分进行进一步确认, 最终确认 13 种主要成分; 采用峰面积归一化法确定各组分峰的相对含量, 有效成分含量占总流出物的 98.46%。**结论** 该方法快速、准确、灵敏, 适合茶树精油等精油类物质中挥发性成分的测定。

**关键词:** 互叶白千层; 茶树精油; 顶空-气相色谱/质谱法; 挥发性成分

## Determination of volatile components in tea tree oil of *Melaleuca ahemifolia* by headspace-gas chromatography/mass spectrometry

SHI Jin-E<sup>1\*</sup>, YANG Bo<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, LIU Bin<sup>1</sup>, ZHANG Xin<sup>1,2</sup>, LI Ying-Qian<sup>1</sup>,  
LIU Wen-Zhu<sup>1,2</sup>, CHEN Xue<sup>1,2</sup>

(1. Jilin Institute for Food Control, Changchun 130103, China;

2. Jilin Anxin Food Technology Services Limited Company, Changchun 130012, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of volatile components in tea tree oil of *Melaleuca ahemifolia* by headspace-gas chromatography/mass spectrometry. **Methods** Tea tree oil samples were dissolved in *n*-hexane, placed in a headspace vial and assayed by headspace-gas chromatography/mass spectrometry. **Results** A total of 15 fractions were separated by this method and searched by NIST Chemical Structures library and Wiley Library mass spectrometry library. The mass spectrometry similarity and some main components were further confirmed by standard products, and 13 main components were finally confirmed. The relative content of each component peak were determined by the normalization method, and the active ingredient content accounted for 98.46% of the total effluent. **Conclusion** This method is rapid, accurate and sensitive, which is suitable for the determination of beneficial and volatile components of essential oils such as tea tree oil.

**KEY WORDS:** *Melaleuca ahemifolia*; tea tree oil; headspace-gas chromatography/mass spectrometry; volatile constituents

## 1 引言

互叶白千层(*Melaleuca ahemifolia*), 又名茶油树, 属

桃金娘科白千层目, 木本植物, 原产于澳大利亚南纬 23.5° 沿海地区及北方领地的北部等地区, 印度尼西亚、新几内亚、新喀里多尼亚和马来西亚等地也有种植<sup>[1]</sup>。互叶白千

\*通讯作者: 石金娥, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 370137461@qq.com

\*Corresponding author: SHI Jin-E, Ph.D, Professor, Jilin Institute for Food Control, Changchun 130103, China. E-mail: 370137461@qq.com

层是一种经济价值很高的经济作物,可以通过其新鲜枝叶提取一种名贵的茶树精油,现代研究结果表明茶树精油可以高效、无毒、无刺激地杀死人体皮肤表面的真菌和与细菌,并对某些病毒也有抑制作用<sup>[2]</sup>。Garozzo等<sup>[3]</sup>发现茶树精油可以抑制H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>病毒的复制,可以作为抗病毒药剂;D'Arrigo等<sup>[4]</sup>发现茶树精油与托普霉素可以抵抗葡萄状球菌和埃希氏菌感染;Tsao等<sup>[5]</sup>发现茶树精油可以预防链球菌感染;Greay等<sup>[6]</sup>发现茶树精油可以杀死鼠类癌细胞;Cui等<sup>[7]</sup>制备的茶树精油脂质体/壳聚糖纳米纤维能有效地防止沙门氏菌的微生物污染;An等<sup>[8]</sup>研究发现,茶树精油的关键成分 $\alpha$ -萜油醇和萜烯-4-醇通过诱导真菌的形态损伤和代谢变化,在体内外对葡萄黑曲霉具有抗真菌活性。茶树精油具有抗菌、消炎、驱虫和抗癌等医学用途,为互叶白千层开发提供更加广阔的发展前景。

茶树精油有诸多功效和广泛的应用前景,有必要对茶树精油的挥发性成分进行分析,了解茶树精油的主要成分及相对含量,为互叶白千层品种的优化、主要成分的提取、纯化,更好的应用于医疗<sup>[2-6,9,10]</sup>、食品<sup>[7,8]</sup>、化妆品<sup>[11]</sup>、农业<sup>[12]</sup>等行业奠定基础并提供有力的技术支持。目前,已有的分析方法为气相色谱法<sup>[13,14]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[12,13,15]</sup>。气相色谱因缺乏定性功能,无法满足未知化合物的定性分析;气相色谱-质谱法虽可以满足未知化合物的定性分析,但对未知化合物进行成分分析并采用面积归一化法进行定量测定时,因茶树精油属于挥发性物质,则要求出峰物质均为挥发性成分,否则会因非挥发性组分的存在而影响定量结果的准确性。茶树精油属于挥发性物质,当采用顶空-气相色谱/质谱法对挥发性成分进行测定时,即发挥了顶空法的优势,也发挥了质谱的优势,一方面可以消除非挥发性成分的干扰,另一方面也便于未知组分的面积归一化法定量;同时也最大程度的满足未知物的定性需求。

本研究建立一种顶空-气相色谱/质谱法(Headspace-gas chromatography/mass spectrometry, Headspace-GC/MS)测定茶树精油中的挥发性成分的方法,以期为茶树精油的进一步开发利用提供技术支持。

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器与试剂

7890B-5977A型气相色谱/质谱联用仪、7697A型顶空进样器(美国Agilent公司);IKA VORTEX GENIUS 3型圆周振荡器(广州仪科实验室技术有限公司)。

正己烷(色谱纯,美国TEDIA公司)

商品化茶树精油购于海南某市场。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 样品前处理

取0.1g茶树精油用正己烷溶解,定容至10mL,摇匀,

上机测定(气相色谱/质谱法);

取0.1g茶树精油用正己烷溶解,定容至10mL,转移至25mL顶空瓶中,上机测定(顶空-气相色谱/质谱法)。

#### 2.2.2 气相色谱-串联质谱条件

##### 1) 气相色谱条件

HP-5MS色谱柱(30m×0.25mm,0.25 $\mu$ m);升温程序为初始温度100 $^{\circ}$ C,保持2min,以6 $^{\circ}$ C/min升温至240 $^{\circ}$ C,保持10min;进样口温度240 $^{\circ}$ C;载气为高纯氮气,流速1.0mL/min;分流进样,分流比50:1;进样量1 $\mu$ L。

##### 2) 顶空条件

顶空平衡温度:80 $^{\circ}$ C;定量环温度:85 $^{\circ}$ C;传输线温度:90 $^{\circ}$ C;顶空平衡时间:20min;环平衡时间:0.05min;加压时间:0.2min;进样时间:1min;传输线气体流速:20mL/min。

##### 3) 质谱条件

接口温度250 $^{\circ}$ C;离子源温度230 $^{\circ}$ C;四极杆温度150 $^{\circ}$ C;电离方式:EI源;电离电压70eV;选择全扫描模式,溶剂延迟5min。

## 3 结果与分析

### 3.1 茶树精油的总离子流图

本方法采用顶空-气相色谱/质谱分离出茶树精油的15种主要成分,用NIST化学谱库(NIST Chemical Structures)和Wiley质谱库(Wiley Library)进行检索,以质谱相似度和利用标准品对部分主要成分进行进一步确认,最终确认13种主要成分,各组分峰相对含量的确定采用峰面积归一化法,有效成分含量占总流出物的98.46%(见图1);而采用气相色谱/质谱的非顶空模式,得到的总离子流图组分复杂,对茶树精油的主要挥发性组分的定性和定量干扰极大,不利于茶树精油中组分的面积归一化法定量(见图2)。

### 3.2 茶树精油挥发性成分的分析

本次测定分离出的15种组分中,含量最高的组分为萜烯-4-醇,又名为松油烯-4-醇,是茶树精油的特征性成分,松油烯-4-醇含量的高低是衡量互叶白千层是否属优良品系的标志之一。互叶白千层主要利用其植株所含芳香油的松油烯-4-醇及其他成分的芳香抗菌性能,所以松油烯-4-醇含量越高,品种越好<sup>[13]</sup>。有研究发现,同一科属的白千层(玉树)的芳香油,其主要成分的含量松油烯-4-醇为47.29%,1,8-桉叶素为0.96%;另一个白千层的变种(白树)的1,8-桉叶素为60.89%,松油烯-4-醇为0.17%。前者以松油烯-4-醇为主,后者以1,8-桉叶素为主<sup>[6]</sup>。说明本次测定样品为松油烯-4-醇型茶树精油。国家标准GB/T 26514-2011《互叶白千层(精油),松油烯-4-醇型[茶树(精油)]》<sup>[17]</sup>中规定,松油烯-4-醇的含量 $\geq$ 30%,该商品化的茶树精油中松油烯-4-醇的含量为34.9%,符合标准要求。

茶树精油的质量好坏,除了考察松油烯-4-醇的含量

外,还取决于其他主要成分的相对含量:1,8-桉叶素、 $\alpha$ -松油烯、 $\alpha$ -松油醇、 $\gamma$ -松油烯等<sup>[18]</sup>,这与GB/T26514-2011保持一致,本次测定茶树精油主要成分见表1。该茶树精油

的主要挥发性成分与文献<sup>[13]</sup>中澳大利亚茶树精油的成分和含量基本一致。

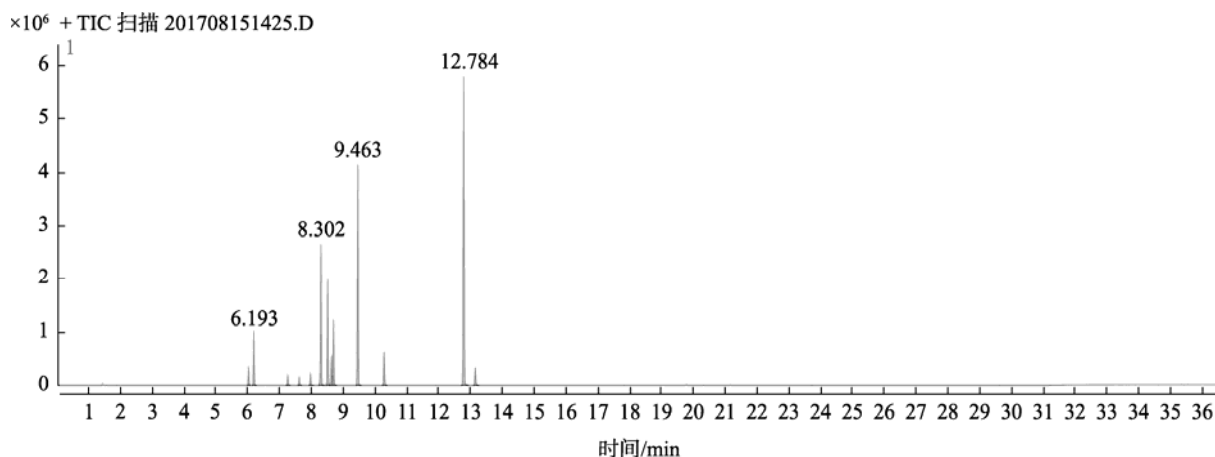


图1 顶空-气相色谱/质谱测定茶树精油的挥发性成分总离子流图

Fig. 1 The TIC for determination of volatile components in tea tree oil by headspace-GC/MS

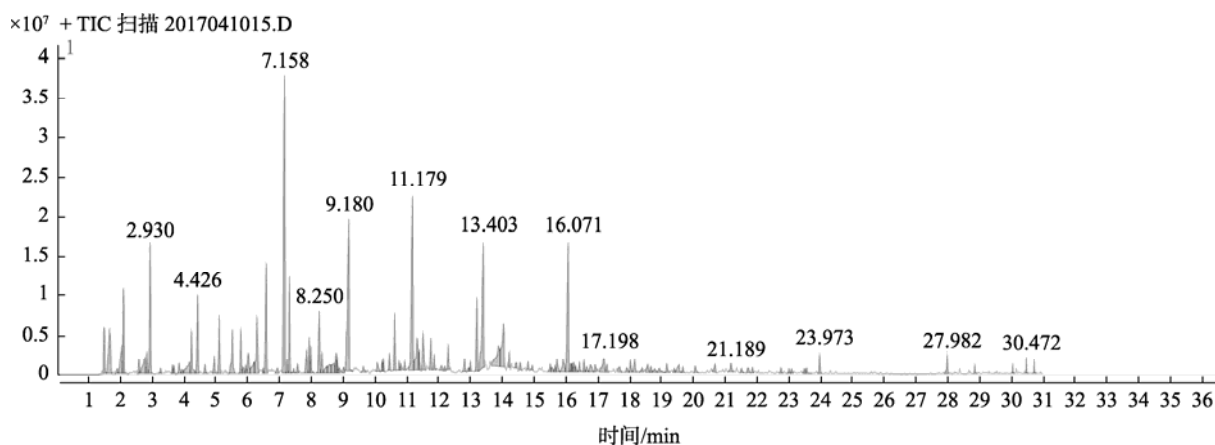


图2 气相色谱/质谱测定茶树精油的挥发性成分总离子流图

Fig. 2 The TIC for determination of volatile components in tea tree oil by GC/MS

表1 顶空-气相色谱/质谱分析茶树精油的主要组成( $n=3$ )

Table 1 Analysis of main compositions of tea tree oil by Headspace-GC/MS ( $n=3$ )

序号	RT	化合物名称	CAS	分子式	百分含量/%	RSD/%
1	6.027	$\alpha$ -水芹烯	99-83-2	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1.23	1.44
2	6.192	3-萜烯	13466-78-9	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	4.58	0.87
3	7.258	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己-2-烯	28634-89-1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.89	1.87
4	7.619	$\beta$ -月桂烯	123-35-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.53	1.69
5	7.972	水芹烯	4221-98-1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1.34	1.26
6	8.301	$\alpha$ -松油烯	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	12.46	1.19
7	8.514	对伞花烃	527-84-4	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	7.89	1.25
8	8.637	$\beta$ -水芹烯	555-10-2	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3.27	0.97
9	8.695	1,8-桉叶素	470-82-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	4.91	1.56
10	9.46	$\gamma$ -松油烯	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	21.7	0.95
11	10.285	异松油烯	586-62-9	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3.06	1.43
12	12.787	松油烯-4-醇	562-74-3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	34.9	1.84
13	13.149	<i>L</i> - $\alpha$ -松油醇	10482-56-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	1.7	1.13

## 4 结 论

茶树精油传统的提取方式为水蒸气蒸馏法, 因此, 茶树精油为挥发性物质, 其成分均为挥发性有机物, 且不同产地、不同品种、不同提取方式的茶树精油其组成及含量则会有所区别。因此, 采用顶空-气相色谱/质谱法测定茶树精油中的主要成分相比气相色谱、气相色谱/质谱法更科学、更准确, 同时, 可利用质谱的强大定性功能实现未知物的定性分析, 省时、省力。该方法采用顶空-气相色谱/质谱法测定茶树精油, 既能满足茶树精油中挥发性成分的定性需求, 又能满足 GB/T 26514-2011 标准中要求的面积归一化法定量的需求。

本研究得到的 13 个组分均为挥发性成分, 与 GB/T 26514-2011 中的茶树精油的主要的挥发性成分保持一致。其中, 松油烯-4-醇和 1,8-桉叶素作为茶树精油的特征组分, 其相对含量为 34.9% 和 4.91%, 满足 GB/T 26514-2011 要求,  $\alpha$ -松油烯、 $\alpha$ -松油醇、 $\gamma$ -松油烯也作为茶树精油的主要挥发性成分被检出。此法为茶树精油的成分分析提供了准确、快速、科学的分析方法, 为互叶白千层品种的品质判定、优化、主要成分的提取、纯化, 更好的应用于医疗、食品、化妆品、保健品、农业等行业奠定基础并提供有力的技术支持。

## 参考文献

- [1] 黄戈, 翁晓晨, 张帆, 等. 互叶白千层的种植和加工研究进展[J]. 广东化工, 2017, 44(4): 71-73.  
Huang G, Weng XC, Zhang F, et al. Research progress of planting and processing technology on the *Melaleuca alternifolia* [J]. Guangdong Chem, 2017, 44(4): 71-73.
- [2] 陈碧华, 吴丽君, 李乾振, 等. 互叶白千层研究进展[J]. 福建林业科技, 2010, (4): 177-182.  
Chen BH, Wu LJ, Li QZ, et al. The research progress on *Melaleuca alternifolia* [J]. J Fujian For Sci Technol, 2010, (4): 177-182.
- [3] Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, et al. In vitro antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil [J]. Lett Appl Micro-biol, 2009, 49(6): 806-808.
- [4] D'Arrigo M, Ginestra G, Mandalari G, et al. Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [J]. Phytomedicine, 2010, 17(5): 317-322.
- [5] Tsao N, Kuo CF, Lei HY, et al. Inhibition of group *Astreptococcal* infection by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil concentrate in the murine model [J]. J Appl Microbiol, 2010, 108(3): 936-944.
- [6] Greay SJ, Ireland DJ, Kissick HT, et al. Induction of necrosis and cell cycle arrest in murine cancer cell lines by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and terpinen-4-ol [J]. Cancer Chemother Pharm, 2010, 65(5): 877-888.
- [7] Cui HY, Bai M, Li CZ, et al. Fabrication of chitosan nanofibers containing tea tree oil liposomes against *Salmonella spp.* in chicken [J]. LWT, 2018, 17(5): 671-678.
- [8] An PP, Yang XB, Yu J, et al.  $\alpha$ -terpineol and terpen-4-ol, the critical components of tea tree oil, exert antifungal activities *in vitro* and *in vivo* against *Aspergillus niger* in grapes by inducing morphous damage and metabolic changes of fungus [J]. Food Contr, 2018, 17(5): 601-608.
- [9] Buck DS, Nidorf DM, Addino JG. Comparison of two topical preparations for the treatment of onychomycosis: *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and clotrimazole [J]. J Fam Pract, 1994, 38(6): 601-605.
- [10] Baner M, Cawley P, Phillips CA. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against bacterial and *Candida* spp. Isolates from clinical specimens [J]. Br Biomed Sci, 2001, 58(3): 139-145.
- [11] Bernhard OR. Consumer exposure to certain ingredients of cosmetic products: The case for tea tree oil [J]. Food Chem Toxicol, 2017, (1): 326-338.
- [12] 不同因素对互叶白千层精油化学组分的影响[EB/OL]. [2018-8-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20180810.1541.004.html>  
Different factors effect on chemical composition of *Melaleuca alternifolia* oils [EB/OL]. [2018-8-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20180810.1541.004.html>
- [13] 古佛政, 张燕君. 互叶白千层芳香油的提取和利用研究[J]. 林业与环境科学, 1999, 15(3): 33-38.  
Gu FZ, Zhang YJ. Extraction and utilization of aromatic oil from *Melaleuca alternifolia* [J]. For Environ Sci, 1999, 15(3): 33-38.
- [14] 柴玲, 刘布鸣, 何开家, 等. 万家辉柔枝互叶白千层生长量及其挥发油含量动态研究[J]. 香料香精化妆品, 2015, 4(2): 5-7  
Chai L, Liu BM, He KJ, et al. A dynamic study on tree growth and contents of volatile oil of *Melaleuca alternifolia* limber twig variation [J]. Flav Fragr Cosmet, 2015, 4(2): 5-7.
- [15] 罗盛旭, 梁振益, 杨雪蕊. 气相色谱-质谱联用分析茶树精油的成分[J]. 化学分析计量, 2003, 5(12): 37-38.  
Luo SX, Liang ZY, Yang XR. Component analysis of tea tree oil by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chem Anal Meter, 2003, 5(12): 37-38
- [16] 朱亮锋. 芳香植物及其化学成分[M]. 海南: 海南出版社, 1993.  
Zhu LF. Aromatic plants and their chemical constituents [M]. Hainan: Hainan Publishing House, 1993.
- [17] GB/T 26514-2011 互叶白千层(精油), 松油烯-4-醇型[茶树(精)油] [S]. GB/T 26514-2011 Oil of *Melaleuca alternifolia*, terpinen-4-ol type (tea tree oil) [S].
- [18] Sidonie T, Ilze V, Guy K, et al. Vibrational spectroscopy as a rapid quality control method for *Melaleuca alternifolia* cheel (tea tree oil) [J]. Phytochem Anal, 2014, 82(1): 81-88

(责任编辑: 陈雨薇)

## 作者简介



石金娥, 正高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。  
E-mail: 370137461@qq.com