

MassworksTM技术结合气相色谱/质谱联用 分析黄花蒿挥发油成分

胡广晶¹,周 围^{1,2,*},张雅珩²,雷春妮²

(1.西北师范大学地理与环境科学学院,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)

摘要:运用气相色谱/质谱联用技术(GC/MS)对甘肃永登产黄花蒿挥发油化学成分进行了分析。结合MassworksTM质谱解析软件及NIST谱库检索等手段,确定了黄花蒿挥发油中33种挥发性成分,主要为侧柏酮、桉树醇、邻异丙基甲苯、 β -蒎烯、蒿酮、双戊烯和樟脑等。结果显示,MassworksTM技术提供的模拟精准分子量信息对未知化合物的确定具有非常重要的意义,可以为单四级杆质谱确定未知化合物提供重要的依据,可提高谱库检索定性的可靠性。

关键词:气相色谱-质谱联用技术,黄花蒿油,MassworksTM质谱解析软件,挥发性成分

Analysis of volatile oil of *Artemisia annua* L. by MassworksTM technology and gas chromatography / mass spectrometry

HU Guang-jing¹, ZHOU Wei^{1,2,*}, ZHANG Ya-heng², LEI Chun-ni²

(1.School of Geography & Environmental Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China;

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

Abstract: The constituents of the *Artemisia annua* L. volatile oil from Yongdeng of Gansu were analyzed by GC/MS, MassworksTM software and NIST library. There were 33 kinds of components determined in the *Artemisia annua* L. volatile oil, mainly for thujone, eucalyptus alcohol, isopropyl toluene, β -pinene, artemisia ketone, dipentene, camphor and so on. The results showed that MassworksTM technology had very important significance to provide accurate molecular weight information of unknown compound. It could provide a strong basis to identify unknown compounds which was obtained by the low-resolution quadruple mass spectrometer, and meanwhile could improve the reliability of spectral library search.

Key words:GC/MS; volatile oil of *Artemisia annua* L.; MassworksTM; volatile component

中图分类号:TS201.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2015)18-0070-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.18.005

黄花蒿(*Artemisia annua* Linn)为菊科(Asteraceae)蒿属一年生草本植物,植株有浓烈的挥发性香气,遍及全国,广布于欧洲、亚洲的温带、寒温带及亚热带地区^[1]。黄花蒿是我国传统的中草药,可用作消暑、退热、治疗感冒等,还具有抗疟、抗血吸虫、抗病毒与增强肌体免疫力的作用^[2],其化学成分可分为挥发性和非挥发性两类,非挥发性成分的代表是青蒿素,是抗疟的有效成分,该成分已引起高度关注,并得到了较为广泛的应用^[3]。目前,国内学者已报道过山东^[2]、新疆^[4]、福建^[5]、陕北^[6]及盐池湾^[7](盐池湾国家级自然保护区位于甘肃省肃北蒙古族自治县的东南部)等地产的黄花蒿挥发油化学成分,不同地区的黄花蒿挥发油的成分差异很大。

通常使用气相色谱/质谱联用(GC/MS)技术分析

鉴定天然未知产物,结合NIST谱库对其进行定性。但在实践过程中往往发现,使用单一谱库检索未知化合物,会出现同一质谱图具有多个高匹配度的化合物或者一个匹配度特别低的化合物与之对应,这种情况会使定性变得非常困难,也有可能导致定性错误。而MassworksTM作为一种新颖的质谱校正技术,在低分辨质谱和高分辨质谱两者之间架起桥梁,利用精确质量数测定和线性同位素峰形校正专利技术,使低分辨质谱真正实现高分辨的功能,在低分辨质谱上进行精确质量数测定,精度可达5 ppm,并且对候选化合物进行线性同位素峰形校正检索,确定最为可能的唯一化合物分子式,极大地拓展了低分辨质谱的定性功能^[8],使其成为了分析植物精油成分的一种新手段。目前国内外关于MassWorksTM技术结合

收稿日期:2015-01-06

作者简介:胡广晶(1989-),女,在读硕士研究生,研究方向:环境监测,E-mail:15193185297@163.com。

* 通讯作者:周围(1953-),男,研究员,主要从事食品营养及食品安全分析方面的研究,E-mail:zhouwei845@163.com。

GC/MS联用分析黄花蒿挥发性化学成分的研究尚未报道。本文采用GC/MS技术,结合MassworksTM软件对甘肃永登生产的黄花蒿油挥发性成分进行分析,可以为甘肃黄花蒿资源的开发及研究利用提供有效的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄花蒿 采摘甘肃省永登县种植的黄花蒿后,经工厂生产水蒸气蒸馏法蒸馏,油水分离得到黄花蒿挥发油,所得挥发油不经任何处理,直接进样。

Agilent 7890A/5975C气相色谱/质谱联用仪 美国安捷伦科技有限公司;MassworksTM软件 美国CernoBioscience公司;NIST 11谱库 美国标准与技术研究院。

1.2 分析条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱:HP-INNOWAX (60 m×0.250 mm×0.50 μm);程序升温:初温60 °C保持1 min,再以2 °C/min升到255 °C,保持20 min;进样口温度:260 °C;载气:氦气(纯度>99.999%);载气流速:0.7 mL/min;分流比:100:1;检测器:FID;检测器温度:260 °C。

1.2.2 质谱条件 电子轰击离子源;电子能量:70 eV;离子源温度230 °C;传输线温度:250 °C;质量扫描范围:50~400 m/z。

围m/z30~400。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 黄花蒿挥发油化学成分分析

采用GC/MS分析黄花蒿挥发油的化学成分,总离子流图见图1。利用NIST 11标准谱库对黄花蒿挥发油的化学组分进行初步检索定性,然后采用MassworksTM质谱解析软件对其谱图进行校正,获得各组分的模拟精准分子量,再结合相关文献,对黄花蒿挥发油化学组分进一步确定,分析结果见表1。

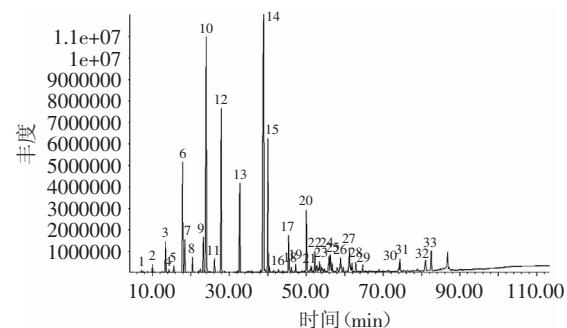


图1 黄花蒿挥发油总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of volatile oil of *Artemisia annua* L.

表1 黄花蒿挥发油化学成分分析结果

Table 1 Chemical composition results of volatile oil of *Artemisia annua* L.

峰号	保留时间 (min)	化学名称	分子式	Massworks TM		NIST谱库		相对含量 (%)
				谱图精度 (排序)	理论精准 分子量(u) ⁽¹⁾	模拟精准 分子量(u)	误差 (10 ⁻³ u)	
1	7.19	Acetone(丙酮)	C ₃ H ₆ O	99.3893(1)	58.0413	58.0349	-6.4162	859/889(1)
2	10.01	Cyclopropane(环丙烷)	C ₃ H ₆	97.5230(1)	124.1247	124.1001	-24.5519	832/856(1)
3	13.45	α-Pinene(α-蒎烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.4520(1)	136.1247	136.1167	-7.9519	960/962(1)
4	14.34	2-Methylbutanoic acid ethyl ester (2-甲基丁酸乙酯)	C ₇ H ₁₄ O ₂	94.6790(2)	130.0413	130.0467	41.3987	908/927(1)
5	15.62	Camphene(莰烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.2790(1)	136.1247	136.1121	-12.5519	923/925(1)
6	17.88	β-Pinene(β-蒎烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.2696(2)	136.1247	136.1300	5.3481	932/933(2)
7	18.41	Sabinene(桧烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.4115(2)	136.1247	136.1224	-2.2519	930/948(1)
8	20.45	Myrcene(月桂烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.2103(1)	136.1247	136.1145	-10.1519	904/905(2)
9	23.56	Limonene(柠檬烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.2649(2)	136.1247	136.1228	-1.8519	927/927(2)
10	24.02	Eucalyptol(桉树醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	98.6509(1)	154.1352	154.153	17.7834	971/972(1)
11	26.21	r-Terpine(α-萜品烯)	C ₁₀ H ₁₆	99.4120(1)	136.1247	136.1178	-6.8519	929/942(1)
12	27.9	o-Cymenen(邻异丙基甲苯)	C ₁₀ H ₁₄	99.3927(1)	134.1090	134.1249	15.8981	939/946(1)
13	32.73	Artemisia Ketone(蒿酮)	C ₁₀ H ₁₆ O	99.7726(1)	152.1196	152.1078	-11.7666	909/909(1)
14	38.91	Thujone-1(侧柏酮-1)	C ₁₀ H ₁₆ O	97.5080(1)	152.1196	152.1346	15.0334	926/930(1)
15	40.01	Thujone-2(侧柏酮-2)	C ₁₀ H ₁₆ O	99.2768(1)	152.1196	152.1266	7.0334	932/935(1)
16	42.79	Artemisia alcohol(蒿醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	94.56(1)	154.1352	154.1393	4.0989	812/873(1)
17	45.41	Camphor(樟脑)	C ₁₀ H ₁₆ O	99.5712(1)	152.1196	154.1164	-3.1666	932/971(1)
18	46.14	Cyclohexanol(环己醇)	C ₆ H ₁₂ O	98.4794(2)	154.1352	154.1031	-32.1166	906/935(1)
19	47.22	cis-p-Menthene-1-ol(2-环己烯醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	99.3230(1)	154.1352	154.1113	-22.2166	882/938(1)
20	50.06	1-Terpinen-4-ol(4-萜烯醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	99.6306(1)	154.1352	154.1321	-3.1166	924/927(2)
21	51.05	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis-(4-(异丙基)-1-甲基环己-2-烯-1-醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	99.1268(1)	154.1352	154.1118	-23.4166	904/924(1)
								0.21

续表

峰号	保留时间 (min)	化学名称	分子式	Massworks™			NIST谱库 (排序)	相对含量 (%)
				谱图精度 (排序)	理论精准 分子量(u) ⁽¹⁾	模拟精准 分子量(u)		
22	52.26	2-Bornene(2-蒈烯)	C ₁₀ H ₁₆	98.7874(3)	136.1247	136.0781	-46.5519	841/846(1)
23	53.51	L-Pinocarveol ((–)-反式-松草芹醇)	C ₁₀ H ₁₆ O	97.8334(1)	152.1201	152.1376	17.5123	927/932(1)
24	55.98	Myrtetyl acetate (乙酸桃金娘烯醇酯)	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	96.8567(1)	194.1307	194.1382	7.4927	808/809(2)
25	56.29	endo-Borneol(龙脑)	C ₁₀ H ₁₈ O	99.2398(1)	154.1358	154.1525	16.6540	782/843(3)
26	58.91	β-Selinene(β-芹子烯)	C ₁₅ H ₂₄	99.3271(2)	204.1873	204.1748	-12.4522	978/945(1)
27	61.22	Dehydrosabinene(4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)双环[3.1.0]2-己烯)	C ₁₀ H ₁₄	84.6540(1)	134.1090	134.0942	-14.8019	769/813(1)
28	62.91	4-Isopropylbenzaldehyde(4-异丙基苯甲醛)	C ₁₀ H ₁₂ O	90.1432(3)	148.0883	148.0720	-16.2664	906/925(1)
29	64.67	p-Cymen-8-ol(对甲苯基异丙醇)	C ₁₀ H ₁₄ O	98.9363(2)	150.1039	150.0870	-16.9165	879/908(1)
30	74.09	Methyleugenol(甲基丁香酚)	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	99.6006(1)	178.0988	178.0913	-7.5311	905/915(1)
31	74.38	Caryophyllene oxide(氧化石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄ O	97.5372(2)	204.1873	204.1927	4.1519	912/939(1)
32	81.06	(–)-Spathulenol(桉油烯醇)	C ₁₅ H ₂₄ O	99.0085(1)	220.1822	220.1562	-25.9668	907/915(1)
33	82.53	Eugenol(丁香酚)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	99.6634(1)	164.0832	164.0791	-4.0810	924/933(1)

注:理论精准分子量参考NIST谱库,由Massworks™确定;模拟精准分子量来自Massworks™。

表2 永登及其他地区黄花蒿挥发油化学成分比较

Table 2 Chemical composition of volatile oil of *Artemisia annua* L. in Yongdeng and other areas

产地	提取方法	测定方法	组分数	主要成分
永登	水蒸馏提取法	GC/MS	33	侧柏酮(33.91%)、桉树醇(16.14%)、异丙基甲苯(7.99%)、 β-蒎烯(5.99%)、蒿酮(3.88%)
盐池湾 ^[7]	水蒸馏提取法	GC/MS	21(A样品)	古芸烯(11.5%)、桉叶醇(7.35%)、(1R)-双环[2,2,1]heptan-2-酮, 1,7,7-三甲基(3.76%)、
			23(B样品)	桉叶醇(7.91%)、石竹烯氧化物(2.19%)、十八烷(1.74%)
山东 ^[2]	水蒸馏提取法	GC/MS	59	桉树脑、天然樟脑、蒿酮、异石竹烯
新疆 ^[4]	水蒸馏提取法	GC/MS	48	2,5-二氢-3-甲基呋喃(68.48%)、β-月桂烯(10.13%)、1R,3Z,9S- 4,11,11-三甲基-8亚甲基二环[7,2,0]-3-十一碳烯(7.74%)、7,11- 二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯(2.42%)、桉油醇(1.68%)
福建 ^[5]	水蒸馏提取法	GC/MS	18	蒿酮(19.80%)、反-β-金合欢烯(10.40%)、石竹烯(10.30%)、 β-吉云香烯(9.50%)、1,8-桉叶油素(8.30%)
陕北 ^[6]	水蒸馏提取法	GC/MS	41	(–)-斯巴醇(16.34%)、石竹烯氧化物(12.05%)、视黄醛(12.21%)

从表1可知,共鉴定出甘肃永登产黄花蒿挥发油中的33种化学成分,其中7种主要挥发性化合物占总挥发油成分的71.19%,主要以酮、烯、醇化合物为主,分别为侧柏酮(33.91%)、桉树醇(16.14%)、邻异丙基甲苯(7.99%)、β-蒎烯(5.99%)、蒿酮(3.88%)、柠檬烯(2.01%)和樟脑(1.99%)。此外,除了上述几种化合物之外,还有α-蒎烯、桧烯、乙酸桃花金娘烯醇酯、龙脑、β-芹子烯、4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)双环[3.1.0]2-己烯和丁香酚的相对含量在1%以上,这些组分均具有特殊的香气特征。

分析表明,本次结果与文献[2,4-7]所报道的黄花蒿挥发油的化学成分大有不同(表2),经比较可知,山东、新疆、福建、陕北等地的黄花蒿挥发油中天然樟脑、蒿酮及氧化石竹烯等物质含量较高,盐池湾地区及山东地区中桉叶醇含量略高,而永登产黄花蒿挥发油除含略高的桉树醇及樟脑等物质以外,还含较高的侧柏酮,其他地区产黄花蒿挥发油均无此

物质。出现此差异的原因可能有以下两点:一、黄花蒿挥发油的产地及其植株的生长环境不同;二、分析检测其成分的方法不同。

通过查阅文献可知,侧柏酮有似薄荷醇的气味,能作用于大脑中的GABA受体和5-HT3受体^[9],具有抗兴奋的作用;桉树醇广泛用于医药,配制牙膏香精等,有似樟脑的气味,是一种天然萜醇类香料,这些都表明永登产黄花蒿油具有重要的开发利用价值。同时,根据相关报道,樟脑、蒿酮等成分有抑制细菌、流感病毒作用^[10],樟脑有强心效力,在医药上用作强心剂以及配制十滴水、清凉油等,樟脑还可有驱虫防蛀作用;龙脑清香宣散,具有缓解闭证神昏、目赤肿痛,喉痹口疮、疮疡肿痛,溃后不敛等症状的功效^[11]。这些功能亦与黄花蒿的药用特征相符合。

2.2 定性方法评价

为准确定性样品中的挥发油成分,并识别目标物
(下转第86页)

salar) fillets stored at 0 and 4 °C[J]. Journal of food science, 2003, 68(3): 784–789.

[13] E C Y Li-Chan, C Y Ma. Thermal analysis of flaxseed (*Linum usitatissimum*) proteins by differential scanning calorimetry [J]. Food Chemistry, 2002, 77(4): 495–502.

[14] 于源, 张敏, 邵弘. 差示扫描量热法在大豆蛋白产品品质检测中的应用[J]. 大豆通报, 2008(1): 26–28.

[15] Paredi M E, Crupkin M. Biochemical and physicochemical properties of actomyosin from pre-and post-spawned flounder (*Paralichthys patagonicus*) stored on ice[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(10): 1716–1722.

[16] 尤娟. 鲢鱼鱼肉蛋白抗氧化肽的制备及其糖基化产物功

能特性的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.

[17] Soottawat Benjakul, Wonnop Visessanguan, Chutima Thongkaew, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. Food Research International, 2003, 36: 787–795.

[18] Benjakul S, Visessanguan W, Aewsiri T, et al. ATPase activities and autolysis of kuruma prawn *Penaeus japonicus* muscle proteins[J]. Int Aquat Res, 2011, 3: 53–61.

[19] Gabriel Antonio Sánchez, Daniel Eduardo Di Croce, Ana Clara Casadoumecq, et al. Characterization of the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase from rabbit temporalis muscle[J]. Archives of Oral Biology, 2012, 57: 1429–1437.

(上接第72页)

的分子式, 在NIST谱库检索的基础上采用 Massworks™ 软件定性。Massworks™ 通过建立校正函数方程, 并将同位素效应、仪器噪音过滤及峰形补偿等纳入函数方程中, 经过计算校正RAW SCAN模式下采集的质谱轮廓图(Profile), 不仅能获得目标化合物的精确分子质量值, 而且对分子离子进行同位素峰形校正后, 按校正峰形与理论峰形的谱图准确度的大小对化合物可能的元素组成进行排序, 这就为解析化合物的元素组成提供了依据^[12]。Massworks™ 质谱解析软件提供的元素组成、模拟精准分子量等信息, 可以大大缩小谱库检索范围, 增加谱库检索的针对性, 便于筛选经谱库检索得到的匹配度相近的化合物, 以及辅助确定匹配度较低的化合物^[13]。例如, 图1中保留时间为10.01 min的色谱峰, 经谱库检索的结果表明, 环丙烷(C_9H_{16})和1-壬炔($C_{10}H_{18}$)的匹配度相近(环丙烷的正/反匹配度为832/856, 1-壬炔的正/反匹配度为828/856), 显然, 仅仅依靠NIST谱库检索很难确定该组分, 由Massworks™ 质谱解析软件分析后, 可知该组分的模拟精准分子量为124.1001 u, 而环丙烷和1-壬炔的精准分子量分别为124.1252 u和138.1408 u, 通过解析软件计算, 该组分模拟精准分子量与环丙烷的理论精准分子量相差较小, 质量误差仅为 24.5519×10^{-3} u, 因此可以确定该组分应为环丙烷。同样, 图1中保留时间为55.98 min的色谱峰, 经谱库检索可知, 排在第一位的是顺式桧醇($C_{10}H_{12}O$) (正/反匹配度为814/818), 其理论精准分子量为152.1201 u, 但经Massworks™ 质谱解析软件分析后发现, 该峰的模拟精准分子量为194.1382 u, 故而排除顺式桧醇, 排在第二位的乙酸桃花金娘烯醇酯($C_9H_{12}O_2$) (正/反匹配度为808/809), 其理论精准分子量为194.1307 u, 与该组分的模拟精准分子量的误差仅为 7.4927×10^{-3} u, 所以, 将该组分定性为乙酸桃花金娘烯醇酯。同理, 本文运用上述方法确定了永登产黄花蒿挥发油的其他化学成分, 列于表1中。

3 结论

运用GC/MS技术结合Massworks™ 质谱解析软件

分析甘肃永登产黄花蒿挥发油, 总共确定了33个组分, Massworks™ 技术得到的模拟精准分子量信息可以为单四级杆质谱确定未知化合物提供重要的依据, 可以增加谱库检索定性的可靠性, 同时, 也为植物挥发油的成分分析提供了一种新的手段。

参考文献

- 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志第76(2)卷[M]. 北京: 科学出版社, 1991: 62–63.
- 张秀玲. 山东产中药黄花蒿挥发油成分研究[J]. 黄冈师范学院学报, 2005, 25(3): 44–47.
- 张凤杰, 陈功锡, 刘祝祥. 湘西产黄花蒿挥发性成分分析[J]. 中药材, 2010, 33(11): 1743–1748.
- 张燕, 张继, 姚健, 等. 新疆产黄花蒿挥发油成分研究[J]. 西北师范大学学报, 2004, 40(1): 67–69.
- 陈靖, 陈庆之. 福建崇安黄花蒿精油成分分析[J]. 中国野生植物资源, 1998, 17(1): 45–47.
- 杨华, 李葵, 田锐, 等. 陕北野生黄花蒿挥发油化学成分分析[J]. 广东农业科学, 2009, 20(1): 71–72.
- 张毕阳, 李莹, 肖雯. 盐池湾自然保护区黄蒿挥发油成分研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2003, 48(5): 175–180.
- 李卫建, 袁有荣, 阳伟民, 等. Massworks™ 分子式识别技术在质谱中应用[J]. 现代仪器, 2010, 16(5): 11–19.
- Deiml T, Haseneder R, Zieglergänsberger W, et al. Alpha-thujone reduces 5-HT3 receptor activity by an effect on the agonist-reduced desensitization[J]. Neuropharmacology, 2004, 46(2): 192–201.
- 柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性(修订本)[M]. 长沙: 湖南科技出版社, 1982.
- 周小虎. 龙脑对药物经皮渗透作用的影响[J]. 河南中医, 2014, 34(1): 156–157.
- 李斌, 周围. Massworks软件在环境有机污染物质谱解析中的应用研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2011.
- 周围, 雷春妮, 张雅珩. Masswork™与气相色谱-质谱联用分析当归油挥发性成分[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 69–72.