

GCMSMS 法结合气味数据库分析甘松根特征性气味成分

GCMSMS-218

摘要：本文利用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪结合 AOC-6000 自动进样器 SPME Arrow 进样建立了中药材甘松根中 150 种气味成分 MRM 定量方法。采用正构烷烃 C9-C30 数据调整 150 种气味组分保留时间，3 种内标物校正数据库中标准曲线，无需 150 种气味物质标准品，自动生成 150 种气味物质的 MRM 分析方法。利用此方法分析了甘松根中特征性气味成分，并比较了野生和栽培甘松根中气味成分含量差异性。该方法可以为道地药材的相关研究提供参考。

关键词：气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 中药材 甘松 气味成分

中药鉴别的精髓在于“辨状论质”，即根据药材外观性状所表现出来的特点，判断药材的真伪优劣，从而阐明其本质。在外观性状的表征中，气味是重要的特征指标，依据药材特征气味有效地鉴别药材是传统中药质量评价重要内容。目前关于中药气味的鉴别，主要以经验继承、人工评价为主，其鉴别结果主要建立在人的生理感官基础上，主观性较强，缺乏客观性和可重现性，因而受到质疑与挑战。对中药气味进行

客观数据化，量化不同中药材之间的气味差异，是中药材气味鉴别研究的发展趋势，随着科学技术的发展，越来越多的分析方法被用于评价药材的特征气味。

本文利用 HS-SPME-GC-MS/MS 结合岛津气味数据库，实现了在无标准品的情况下快速建立 150 种气味成分 MRM 定量方法。并分析了野生和栽培甘松根中特征性气味成分，定量气味成分含量。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪
AOC-6000 自动样品处理平台

1.2 分析条件

SPME Arrow: ARR15-DVB/C-WR-120/20
老化温度: 250°C; 平衡温度: 50°C
平衡时间: 5min; 萃取时间: 15min
解吸时间: 2min
进样口温度: 250°C
载气控制方式: 恒压控制, 83.5 KPa
进样方式: 分流进样, 分流比: 5:1

色谱柱:

InertCap Pure-wax, 30m × 0.25mm × 0.25μm
柱温程序: 50°C (5min)_10°C /min_250°C (10min)
离子源温度: 200°C
接口温度: 250°C
采集模式: MRM/SCAN

■ 样品前处理

准确称取中药甘松根部样品 1.0 g 置于 20 mL 顶空瓶中，压盖密封后上机分析。

■ 结果与讨论

3.1 150 种气味物质 MRM 方法建立

正构烷烃 C9-C30 标准溶液 (10 μg/mL) 质量色谱图如图 1。

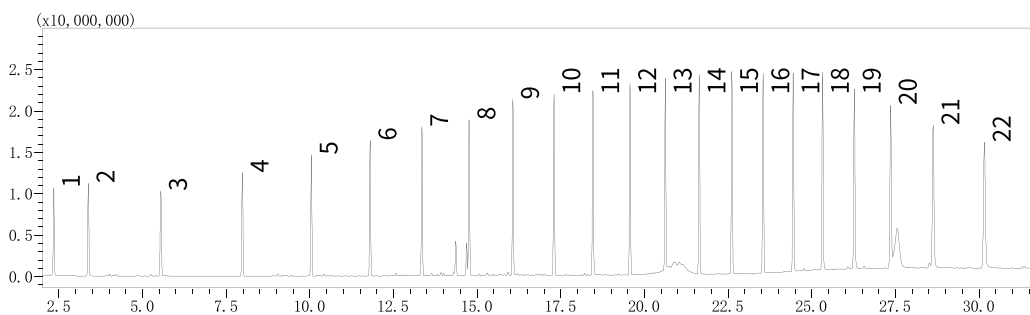


图1 正构烷烃 (C9-C30) 质量色谱图

150 种气味成分校准曲线校正用内标物质 (4- 溴氟苯、1,2- 二氯苯 -d4、萘 -d10) 质量色谱图见图 2, 3 种内标信息见表 2。

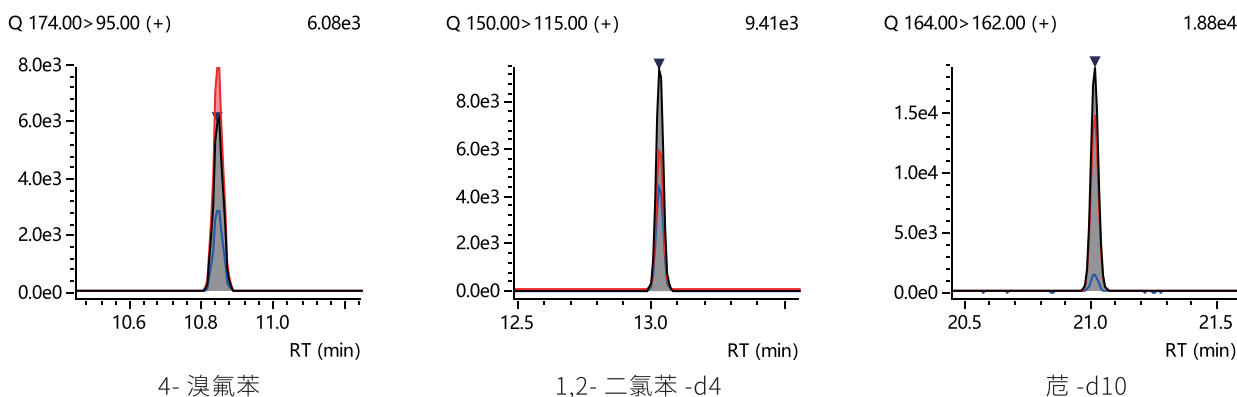


图2 标准曲线校正用 3 种内标 MRM 图

表 2 内标物质信息表

序号	名称	保留时间 /min	定量离子对	CE
1	4- 溴氟苯	10.846	174.0 > 95.0	15
2	1,2- 二氯苯 -d4	13.032	150.0 > 115.0	15
3	萘 -d10	21.014	164.0 > 162.0	15

气味物质数据库结合正构烷烃数据及内标数据, 无需 150 种气味物质标准品, 自动生成 150 种气味物质的 MRM 定量方法。

3.2 甘松根 MRM 测试结果

取栽培甘松根样品和野生甘松根样品粉碎, 过三号筛后, 分别准确称 1.0 g 置于 20 mL 顶空瓶中, 压紧瓶盖密封后, 按着 1.2 分析条件上机分析, TIC 图见图 3。甘松根中的特征性气味成分及含量见表 3。

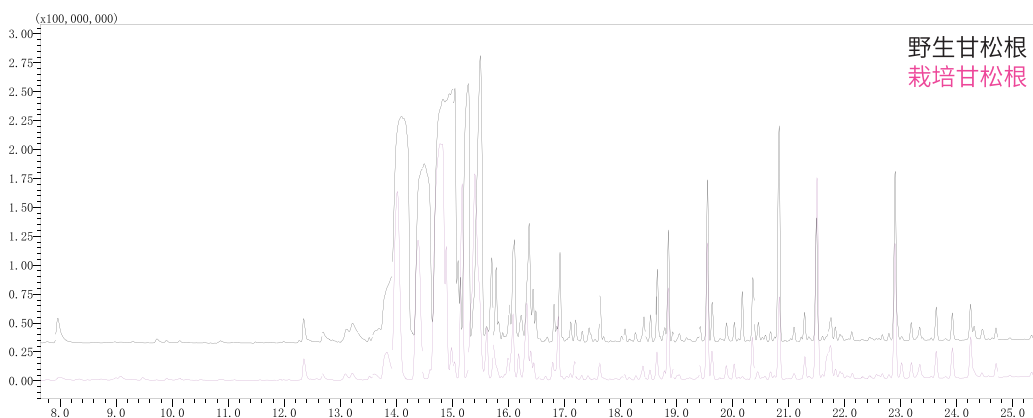


图3 甘松根样品中气味成分 TIC 图

表3 野生甘松根和栽培甘松根气味成分定量结果

No.	化合物	英文名称	CAS 号	定量结果 (pg/mg)		气味特征
				野生甘松根	栽培甘松根	
1	乙酸乙酯	Ethyl acetate	141-78-6	9.319	4.783	菠萝香味
2	alpha- 蒎烯	alpha-Pinene	80-56-8	5.142	0.185	松木、针叶气味
3	正己醛	Hexanal	66-25-1	5.907	6.030	油脂气味
4	beta- 蒎烯	beta-Pinene	110-43-0	26.625	1.154	松脂气味
5	4- 甲基 -3- 戊烯 -2- 酮	Mesityl oxide	141-79-7	4.863	2.854	蜂蜜气味
6	双戊烯	Limonene	138-86-3	2.028	0.720	薄荷气味
7	桉叶油醇	Eucalyptol	470-82-6	88.772	10.616	薄荷气味
8	仲辛酮	2-Octanone	111-13-7	0.452	-	皂香气味
9	正辛醛	Octanal	124-13-0	4.262	-	果香气味
10	2- 壬酮	2-Nonanone	821-55-6	4.184	-	清香、皂香
11	乙二醇单丁醚	Butyl cellosolve	111-76-2	0.116	0.159	甜味
12	2- 异丙基 -3- 甲氧基吡嗪	2-Isopropyl-3-methoxypyrazine	25773-40-4	0.034	-	土气、豌豆气
13	乙酸	Acetic acid	64-19-7	99.759	99.384	酸味
14	2- 乙基 -1- 己醇	2-Ethyl-1-hexanol	104-76-7	1.077	1.603	玫瑰花气味
15	2- 蒎酮	Camphor	76-22-2	1.414	1.840	樟脑气味
16	苯甲醛	Benzaldehyde	100-52-7	11.961	12.419	杏仁气味
17	2- 甲氧基 -3- 异丁基吡嗪	2-Isobutyl-3-methoxy	24683-00-9	0.089	0.098	土味
18	丙酸	Propionic acid	79-09-4	12.184	8.534	腐臭气味
19	3- 乙基 -4- 甲基吡啶	3-Ethyl-4-methylpyridine	529-21-5	37.204	2.60	坚果气味
20	芳樟醇	Linalool	78-70-6	282.991	140.967	花香
21	异丁酸	Isobutyric acid	79-31-2	12.946	6.222	腐臭味
22	丁酸	Butyric acid	107-92-6	1.254	5.130	腐臭味
23	苯乙酮	Acetophenone	98-86-2	122.861	15.736	发霉气味
24	马鞭烯醇	Verbenol	473-67-6	309.654	386.440	薄荷气味
25	异戊酸	Isovaleric acid	503-74-2	102.530	115.347	腐臭味
26	水杨醛	Salicylaldehyde	90-02-8	10.670	-	草药味
27	正戊酸	n-Valeric acid	109-52-4	8.347	4.813	汗味
28	己酸	Caproic acid	142-62-1	18.649	8.468	汗臭味
29	2- 甲基萘	2-Methylnaphthalene	91-57-6	0.170	0.134	腐臭味
30	苯甲醇	Benzyl alcohol	100-51-6	4.092	5.694	芳香味
31	1- 甲基萘	1-Methylnaphthalene	90-12-0	0.327	0.309	腐臭味
32	丙位辛内酯	gamma-Octalactone	104-50-7	0.568	0.442	椰子香气
33	beta- 紫罗酮	beta-Ionone	79-77-6	107.249	103.351	海藻香气
34	正庚酸	Enanthic acid	111-14-8	1.529	0.978	青香气
35	正辛酸	Caprylic acid	124-07-2	1.951	1.029	汗味
36	正壬酸	Pelargonic acid	112-05-0	0.791	0.623	油脂香味
37	4- 乙基苯酚	p-Ethylphenol	123-07-9	0.623	0.620	香料气味

38	4-丙基苯酚	p-Propylphenol	645-56-7	0.168	0.445	湿毛发味
39	正癸酸	Capric acid	334-48-5	0.245	0.214	陈腐气味
40	异丁香酚	Isoeugenol	97-54-1	9.008	7.874	芳香气味
41	香豆素	Coumarin	91-64-5	0.133	0.199	青香气味
42	月桂酸	Lauric acid	143-07-7	0.406	0.444	金属气味
43	香兰素	Vanillin	121-33-5	0.090	0.096	香草气味

分析结果显示,野生甘松根中筛查出 43 种气味成分,栽培甘松根中筛查出 38 种气味成分,野生甘松根中独有 5 种气味成分,包括:仲辛酮,仲辛醛,2-壬酮,2-异丙基-3-甲氧基吡嗪,水杨醛,且野生甘松根中部分气味成分的含量明显高于栽培甘松根中对应气味成分含量。

为了更直观的呈现含量差异,用野生甘松根中每个化合物含量除以栽培甘松根中对应化合物含量得到含量倍数,以含量倍数大于 2 倍计,筛选出含量差异较大的气味成分有 9 个,包括:alpha-蒎烯,beta-蒎烯,3-乙基-4-甲基吡啶,桉叶油醇,苯乙酮,双戊烯,己酸,异丁酸,芳樟醇;这些化合物可能可以作为区分野生和栽培甘松的特征气味成分。部分气味成分质量色谱图见图 4 和图 5。

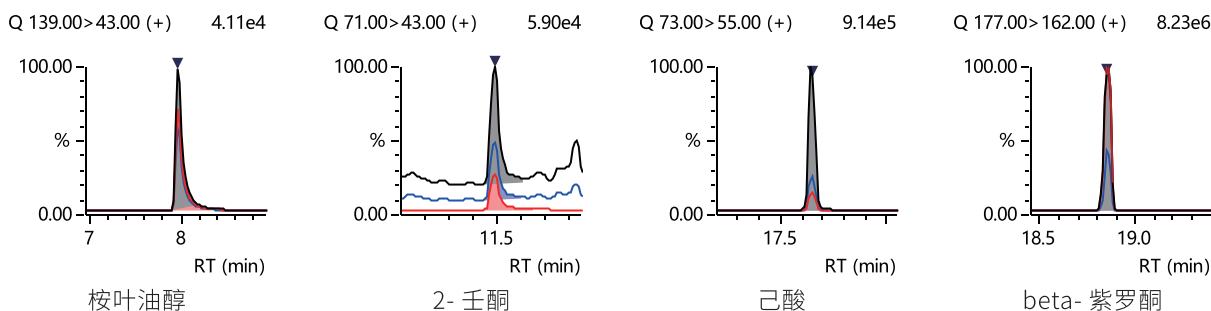


图 4 野生甘松根中特征气味成分(部分)MRM 图

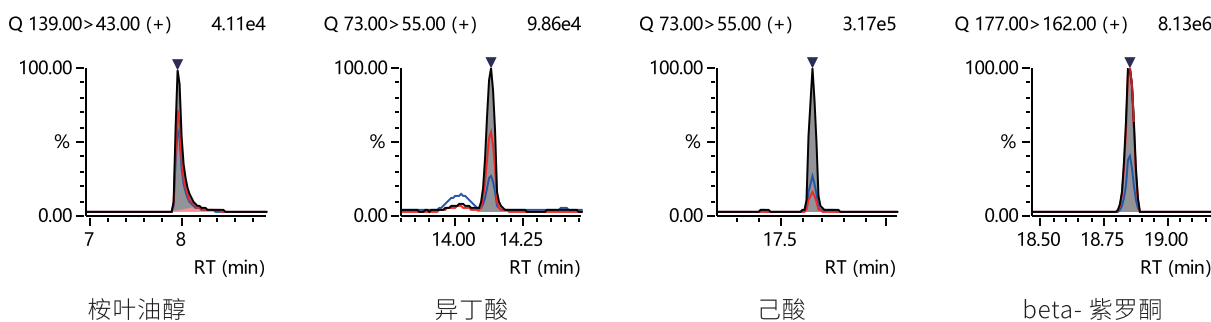


图 5 栽培甘松根中特征气味成分(部分)MRM 图

3.3 重复性实验

按着前述样品制备方式重复制备栽培和野生甘松根样品各 6 个,分别连续进样 6 次,计算栽培甘松根和野生甘松根中各气味成分峰面积 RSD%,考察仪器重复性。连续 6 次进样,野生甘松根中各气味成分峰面积 RSD% 分布在 0.73%-8.62% 之间,栽培甘松根中各气味成分峰面积 RSD% 分布在 0.96%-9.50% 之间,实验结果表明,HS-SPME Arrow 进样,仪器重复性良好,详细结果见表 4。

表 4 甘松根中特征性气味成分峰面积重复性实验结果

No.	化合物	RSD%(n=6)		No.	化合物	RSD%(n=6)	
		野生甘松根	栽培甘松根			野生甘松根	栽培甘松根
1	乙酸乙酯	2.65	3.44	23	苯乙酮	3.03	3.48
2	α -蒎烯	2.59	5.12	24	马鞭烯醇	3.94	2.60
3	正己醛	4.34	6.98	25	异戊酸	0.73	0.96
4	beta-蒎烯	3.91	5.93	26	水杨醛	6.67	-
5	4-甲基-3-戊烯-2-酮	5.62	6.42	27	正戊酸	2.30	6.96
6	双戊烯	3.92	5.42	28	己酸	4.14	5.87
7	桉叶油醇	4.09	5.17	29	2-甲基萘	5.14	6.79
8	仲辛酮	4.68	-	30	苯甲醇	5.93	7.15
9	正辛醛	3.49	-	31	1-甲基萘	3.34	6.16
10	2-壬酮	6.71	-	32	丙位辛内酯	7.32	7.05
11	乙二醇单丁醚	3.31	6.57	33	beta-紫罗酮	3.88	4.78
12	2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	5.64	-	34	正庚酸	5.25	8.51
13	乙酸	2.22	5.09	35	正辛酸	6.09	6.16
14	2-乙基-1-己醇	4.39	4.93	36	正壬酸	8.49	6.68
15	2-蒎酮	5.40	6.19	37	4-乙基苯酚	4.98	6.96
16	苯甲醛	4.87	6.85	38	4-丙基苯酚	2.67	7.51
17	2-甲氧基-3-异丁基吡嗪	6.02	6.01	39	正癸酸	8.62	5.79
18	丙酸	1.48	5.07	40	异丁香酚	3.02	9.39
19	3-乙基-4-甲基吡啶	4.99	3.81	41	香豆素	2.63	7.42
20	芳樟醇	5.66	4.15	42	月桂酸	6.65	4.92
21	异丁酸	5.29	9.50	43	香兰素	5.00	7.27
22	丁酸	2.91	5.45				

■ 结论

本方法使用岛津气味数据库结合 GCMS-TQ8050 NX 建立了甘松根中 150 种特征性气味成分 MRM 定量方法。利用 AOC-6000 SPME Arrow 进样, 分析了野生和栽培甘松根中特征性气味成分。野生甘松根中筛查出 43 种气味成分, 栽培甘松根中筛查出 38 种气味成分。实验结果说明, 野生甘松根中至少有 5 种气味成分是独有的, 在野生甘松根中含量明显高于栽培甘松根中含量的气味成分 (含量倍数大于 2) 有 9 个。岛津气味数据库结合 GCMS-TQ8050 NX 可用于甘松根特征性气味分析, 量化栽培和野生中药材的气味成分差异, 为道地药材的相关研究提供参考。

岛津应用云

