化 学 学 报
ACTA CHIMICA SINICA

研究论文
Article

DOI: 10.6023/A13091003

后目标分析法用于盐益智仁挥发性成分的顶空-气相色谱-四级杆/飞行时间质谱分析

陈房姣[a,b]　苏越*,[a]　郭寅龙*,[b]

([a]上海中医药大学健康营养研究室　上海 201203)

([b]中国科学院上海有机化学研究所上海质谱中心　上海 200032)

摘要　后目标分析法用于中药挥发性成分分析, 可对复杂基体实行快速、准确、宽范围的分析, 成功解决了化合物因共洗脱、柱流失等干扰无法定性的问题. 气相色谱-质谱检测的结果运用图谱检索结合保留指数和准确质量的后目标分析方法从盐益智仁挥发性成分中共鉴定出 119 个化合物. 通过保留指数推算保留时间, 结合窄质量窗口提取离子色谱图的后目标分析方法降低了背景干扰, 提高选择性, 有利于复杂基体中痕量成分的分析, 又鉴定出 3 个目标化合物. 此外, 由串联质谱推测化合物裂解规律, 辅以二级质谱中碎片离子准确质量, 又鉴定出一个化合物.

关键词　后目标分析法; 窄质量窗口提取离子色谱; 串联质谱; 准确质量; 保留指数; 盐益智仁; 挥发性成分

Post-target Analysis for the Volatile Compounds from Salty *Alpinia oxyphyllae Fructus* with Headspace-gas Chromatography-quadrupole/time of Flight Mass Spectrometry

Chen, Fangjiao[a,b]　Su, Yue*,[a]　Guo, Yinlong*,[b]

([a] *Research Center for Health and Nutrition, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203*)

([b] *Shanghai Mass Spectrometry Center, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032*)

Abstract　Post-target analysis is a superior method for qualitative analysis. This method can make a rapid, accurate and wide-scope screening for non-target and target compounds, and it has been used widely in the metabonomics, environmental analysis and pesticide residues. With post-target method to analysis non-target compounds, retention index, accurate mass and library were applied to investigate non-target analytes and then a total of 119 compounds were identified. Within those 119 compounds, there are different kinds of compounds, such as aliphatic aldehyde, aromatic ketone, aromatic aldehyde, monoterpene and its oxide, sesquiterpenes and its oxide and so on. Eremophilene is the best peak ingredient, *p*-cymene, aromadendrene, nootkatone and *δ*-cadinene are the main ingredients. Besides, nootkatone is the main active ingredient according to previous pharmacology research. Narrow mass window extracted ion chromatograms (nw-XIC) can decrease background noise greatly and improve the signal-to-noise rate. Hence, the trace level or co-elution compounds can be identified. With the post-target analytical method for target analytes, we calculated retention time from retention index of target compounds, and then nw-XIC (mass window 0.02 Da) was carried out. Four characteristic ions of target compounds were extracted to get extracted ion chromatograms at calculated retention time. As peaks at calculated retention time had the same chromatographic behavior, we identified three target compounds: nootkatol, *α*-cyperone and perillaldehyde. Tandem mass technology has been widely used since its introduction in the 1970s, it was used in trace analysis, chemical reaction mechanistic studies and propose the fragmentation pattern of compounds. In this paper, we got first-stage mass spectra and second-stage mass spectra data in one experiment. Moreover, we could obtain accurate mass of precursor ion and product ion from second-stage mass spectra at the same time, then we inferred the MS fragmentation pattern of compounds. This method is more simple, convenient and accurate than the traditional tandem mass spectrometry. Myrtenal was identified in this post-target way. Post-target analytical method can distinguish compounds from complex matrix samples as many as possible. This method solves the problems of co-elution and high background and can be used to investigate the medicine's pharmacology and toxicology mechanism.

Keywords　post-target analysis; nw-XIC; tandem mass spectrometry; accurate mass measurement; retention index; salty *Alpinia oxyphylla Miq.*; volatile compounds

* E-mail: suyue@shutcm.edu.cn; ylguo@mail.sioc.ac.cn

Received September 24, 2013; published November 25, 2013.

Project supported by Shanghai Doctoral Degree Construction Project, the Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission (No.12ZZ121), Innovation Method Fund of China (No. 2011IM030200) and the National Natural Science Foundation of China (No. 21275155).

项目受 2013 上海市博士点基金、上海市教育委员会科研创新重点项目(No. 12ZZ121)、中国创新方法基金(No. 2011IM030200)、国家自然科学基金(No. 21275155)资助.

1 引言

气相色谱–质谱联用仪(GC-MS)集气相色谱的高分离能力和质谱的高分辨力于一体, 是用于挥发性成分分离分析的强有力的工具. 后目标分析法用于目标化合物与非目标化合物的分析能快速、准确且尽可能多的对化合物进行鉴定[1~5]. 对非目标化合物的分析方法结合了图谱检索, 保留指数以及准确质量的信息, 与单纯用图谱检索鉴定化合物相比, 这种多维的分析法使得定性结果更加准确可靠[6~10]. 谱图检索的结果, 通常匹配度越高, 定性结果越准确, 但这种方法出错率也高. 保留指数作为色谱的定性参数, 准确度高、重现性好[11], 在同分异构体定性中显示出极大的优越性[8]. 高分辨质谱具有良好的灵敏度、准确度及精密度, 测定化合物的准确质量能推测化合物的元素组成, 缩小检索范围, 使得定性结果更加准确可靠. 目前, 分辨率较高的质谱分析仪有飞行时间质谱仪、轨道阱质谱仪以及傅立叶变换离子回旋共振质谱仪等, 这些仪器因其分辨率高, 灵敏度好, 在复杂样品(蛋白组学、新药研发、环境分析、代谢组学)分析中显现出广阔的运用前景[12,13]. 串联质谱始于20 世纪 70 年代, 至今已经成功应用于复杂样品痕量成分分析、未知化合物结构确证及离子裂解规律的研究[14~17]. 串联质谱能显著增强选择性, 提高检出限, 多种串联质谱扫描技术的联合应用(同位素串联质谱、母离子扫描、子离子扫描、中性丢失扫描)提高了化合物定性的准确性[18,19].

高分辨质谱能在一次分析中获得一级全扫描准确质量, 这使得研究者可采用后目标分析法从总离子流图中提取所需信息以满足分析需求. 常见的后目标分析法有: (1) NIST 谱库搜索并评价化合物 5 个特征离子的准确质量, (2)获得至少五个离子的窄质量窗口提取离子色谱图(nw-XIC 质量窗口 0.02 Da)并考察相应质谱图的 Q/q (Q: 最大丰度离子, q: 其它测定离子)[20], (3) 在保留时间处获得至少两个特征离子 nw-XIC(质量窗口 0.02 Da), 且质量偏差小于 3 mDa[21]. nw-XIC 能显著降低背景干扰, 增强选择性, 适用于痕量成分及共洗脱成分分析, 这种方法已广泛运用于代谢组学、农药残留、食品安全以及环境分析等众多领域的研究[22~25]. 中药挥发性成分极其复杂, 气相色谱存在柱流失, 掩蔽及共洗脱现象, 使得一些微量和痕量成分难以被鉴定, 而采用后目标分析法, 可大幅降低背景离子干扰, 提高检出限, 增强选择性, 有利于中药挥发性成分中痕量成分和共洗脱成分的鉴定.

益智系姜科(Zingiberaceae)山姜属植物益智(*Alpinia oxyphylla Miq.*)的干燥成熟果实, 广布于海南、广东、广西等地, 为我国四大南药之一. 益智性味辛、温, 归脾、肾经, 有温脾止泻摄唾涎, 暖肾固精缩尿之功效[26]. 目前对益智仁挥发油的研究大多先采用水蒸气蒸馏[27]、索式提取、超临界流体萃取[28]、柱层析[29]等方法提取挥发油, 然后进行 GC-MS 分析, 最后根据谱图信息检索化合物, 但是这些方法样品的前处理过程繁琐, 基质效应不容忽视, 且易引入其他杂质干扰测定, 直接检索的结果错误率也高.

本研究采用顶空–气相色谱–四级杆质谱和顶空–气相色谱–四级杆/飞行时间质谱分析盐益智仁挥发性成分. 以谱图检索, 保留指数及准确质量相结合的后目标分析法进行非目标化合物分析, 共鉴定出 119 种化合物. nw-XIC 可显著降低背景干扰. nw-XIC 结合保留时间及特征离子准确质量又鉴定出三个化合物. 串联质谱可推测化合物裂解规律, 串联质谱结合碎片离子准确质量又鉴定出一个化合物.

2 结果与讨论

2.1 盐益智仁挥发性成分检测结果

经顶空–气相色谱–四级杆质谱分析检测, 得盐益智仁挥发性成分总离子流图如图 1 所示.

2.2 非目标化合物的分析结果

图谱检索佐以保留指数、准确质量定性, 共鉴定出 119 个化合物, 结果如表 1 所示. 其中包含醛、酮、醇、单萜烯、单萜烯含氧衍生物及倍半萜等多类化合物. 雅榄蓝烯(Eremophilene $C_{15}H_{24}$)的峰高最高, 对伞花烃(*p*-cymene $C_{10}H_{14}$)、香橙烯(aromadendrene $C_{15}H_{24}$)、诺卡酮(nootkatone $C_{15}H_{22}O$)和 δ-荜澄茄烯(δ-cadinene $C_{15}H_{24}$)等为盐益智仁的主要成分, 诺卡酮为盐益智仁的主要活性成分[30].

2.3 目标化合物的分析结果

已知某化合物的保留指数, 根据保留指数计算公式, 可推算目标化合物在该实验条件下的保留时间. 保留时间结合目标化合物特征离子准确质量及特征离子 nw-XIC, 即是对目标化合物定性的后目标分析法.

早在 1984 年 Shoji 等[31]就从盐益智仁中分离得到诺卡醇(nootkatol, $C_{15}H_{24}O$), 并进行了结构确证. 根据后目标分析法: 诺卡醇的保留指数为 1715[32], 计算得诺卡醇的理论保留时间为 29.69 min. 采用 nw-XIC(质量窗口 0.02 Da)提取诺卡醇特征离子: 220.1822, 119.0855, 105.0699, 91.0542, 结果如图 2 所示. 依据保留时间、nw-XIC 色谱峰的色谱行为及特征离子准确质量定性该化合物为诺卡醇. α-香附酮(α-cyperone, $C_{15}H_{22}O$)(图 3)和紫苏醛(perillaldehyde, $C_{10}H_{14}O$)(图 4)也用同样的方法鉴定出, 各化合物特征离子准确质量见表 2.

2.4 非目标分析转为目标分析结果

由串联质谱可推测化合物的裂解规律. 经四级杆/飞行时间质谱串联分析, 得一级质谱图(MS^1)和二级质谱图(MS^2), 且同时获得一级全扫描和二级全扫描的碎片离子准确质量. 对 MS^2 进行 nw-XIC 后能迅速查找出

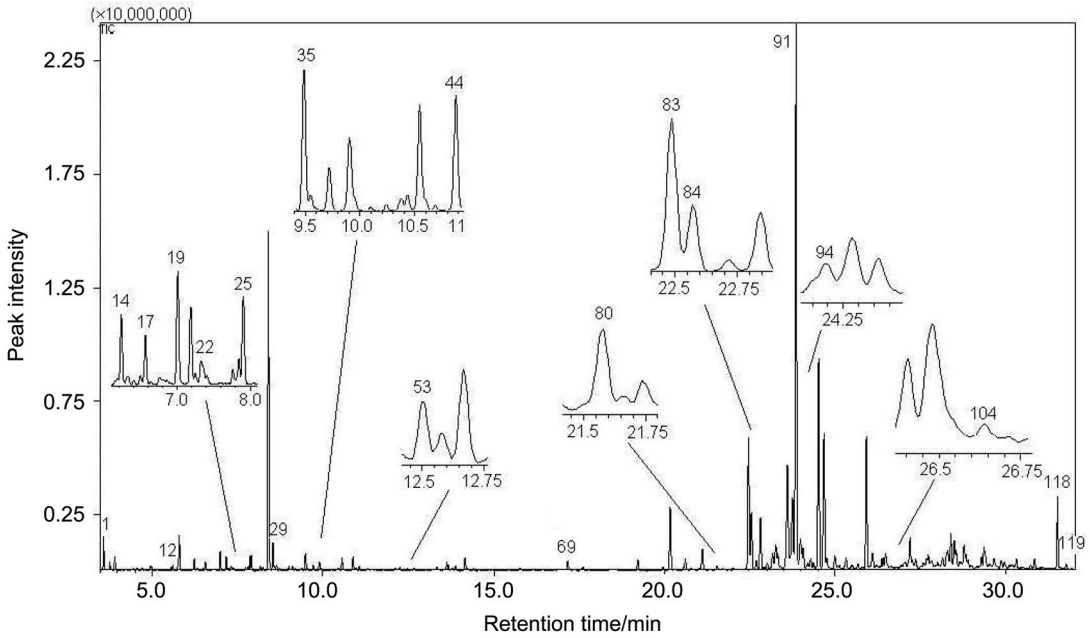

图 1 盐益智仁挥发性成分总离子流图
Figure 1 Total ion current chromatogram of volatile compounds from Salty *Alpinia oxyphyllae Fructus*

表 1 盐益智仁挥发性成分分析结果
Table 1 Identification of the volatile compound from Salty *Alpinia oxyphyllae Fructus*

No.	Compound	Molecular formular	Retention index		Accurate mass		
			I_{lit}	I_{exp}	M_{exp}/amu	M_{cal}/amu	*Error*/mmu
1	Furfural	$C_5H_4O_2$	827	829	96.0196	96.0206	−1.0
2	Cyclopentanone, 2-methyl-	$C_6H_{10}O$	837	—[a]	98.0718	98.0726	−0.8
3	Cyclopentanone, 3-methyl-	$C_6H_{10}O$	845	848	98.0719	98.0726	−0.7
4	1-Hexanol	$C_6H_{14}O$	863	863	—	102.1039	—
5	Benzene, 1,3-dimethyl-	C_8H_{10}	866	866	106.0769	106.0777	−0.8
6	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	$C_7H_{14}O$	872	874	—	103.0988	—
7	1-Butanol, 2-methyl-, acetate	$C_7H_{14}O$	874	877	—	103.0988	—
8	2-Heptanone	$C_7H_{14}O$	887	889	114.1062	114.1039	2.3
9	Butyric acid, 2-hydroxy-3-methyl-, methyl ester	$C_6H_{12}O_3$	888	889	—	132.0781	—
10	Heptanal	$C_7H_{12}O$	902	902	—	112.0883	—
11	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	$C_6H_6O_2$	908	908	110.0362	110.0362	0
12	*α*-Thujene	$C_{10}H_{16}$	924	924	136.1249	136.1247	0.2
13	*α*-Pinene	$C_{10}H_{16}$	924	924	136.1248	136.1247	0.1
14	Camphene	$C_{10}H_{16}$	948	947	136.1248	136.1247	0.1
15	Dehydrosabinene	$C_{10}H_{14}$	951	953	134.1090	134.1096	0.6
16	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	$C_6H_6O_2$	957	957	110.0365	110.0362	0.3
17	Benzaldehyde	C_7H_6O	960	960	106.0420	106.0413	0.7
18	*β*-Sabinene	$C_{10}H_{16}$	971	974	—	136.1247	—
19	*β*-Pinene	$C_{10}H_{16}$	976	978	136.1245	136.1247	−0.2
20	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	$C_8H_{14}O$	983	982	126.1039	126.1039	0
21	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1,5-dimethyl-	$C_8H_{14}O$	986	—	126.1037	126.1039	−0.2
22	*β*-Myrcene	$C_{10}H_{16}$	988	988	136.1246	136.1247	−0.1
23	Octanal	$C_8H_{16}O$	1004	1004	—	118.0413	—

续表

No.	Compound	Molecular formular	Retention index		Accurate mass		
			I_{lit}	I_{exp}	M_{exp}/amu	M_{cal}/amu	*Error*/mmu
24	*α*-Phellandrene	$C_{10}H_{16}$	1006	1003	136.1246	136.1247	−0.1
25	3-Carene	$C_{10}H_{16}$	1008	1010	136.1245	136.1247	−0.2
26	*α*-Terpinene	$C_{10}H_{16}$	1016	1016	136.1244	136.1247	−0.3
27	*o*-Cymene	$C_{10}H_{14}$	1019	1018	134.1091	134.1090	0.1
28	*p*-Cymene	$C_{10}H_{14}$	1024	1022	134.1085	134.1090	−0.5
29	*D*-Limonene	$C_{10}H_{16}$	1028	1027	136.1246	136.1247	−0.1
30	*β*-Phellandrene	$C_{10}H_{16}$	1030	1030	136.1241	136.1247	−0.6
31	Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	1031	1031	154.1352	154.1352	0
32	Benzeneacetaldehyde	C_8H_8O	1042	1043	120.0569	120.0570	−0.1
33	*β*-Ocimene	$C_{10}H_{16}$	1045	1045	136.1245	136.1247	−0.2
34	5-Heptenal, 2,6-dimethyl	$C_9H_{16}O$	1052	1053	140.1197	140.1196	0.1
35	*γ*-Terpinene	$C_{10}H_{16}$	1057	1057	136.1247	136.1247	0
36	Benzenemethanol, *α*-methyl-	$C_8H_{10}O$	1059	1057	122.0730	122.0726	0.4
37	Acetophenone	C_8H_8O	1064	1064	120.0574	120.0570	0.4
38	2-Heptanone, 1-ethoxy-	$C_9H_{18}O_2$	1070	1068	—	158.1301	—
39	Benzene,1-methyl- 4-(1-methylethenyl)-	$C_{10}H_{12}$	1080	1080	132.0931	132.0934	−0.3
40	Terpinolene	$C_{10}H_{16}$	1084	1084	136.1246	136.1247	−0.1
41	*trans*-Linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	1086	1086	—	170.1301	—
42	Benzene, (2-methyl-1-propenyl)-	$C_{10}H_{12}$	1089	—	132.0929	132.0934	−0.5
43	Benzoic acid, methyl ester	$C_8H_8O_2$	1094	1094	136.0519	136.0519	0
44	*β*-Linalool	$C_{10}H_{18}O$	1099	1100	—	154.1352	—
45	6-Methyl-3,5-heptadiene-2-one	$C_8H_{12}O$	1103	1106	140.0826	140.0832	−0.6
46	Nonanal	$C_9H_{18}O$	1105	1105	—	142.1352	—
47	*cis*-*p*-Mentha-2,8-dien-1-ol	$C_{10}H_{16}O$	1112	1122	152.1197	152.1196	0.1
48	*β*-Fenchol	$C_{10}H_{18}O$	1119	1119	—	154.1352	—
49	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, *E*,*E*-	$C_{10}H_{14}$	1133	1134	134.1090	134.1090	0
50	(+)-(*E*)-Limonene oxide	$C_{10}H_{16}O$	1136	1139	—	152.1196	—
51	(+)-Nopinone	$C_9H_{14}O$	1138	1142	138.1032	138.1039	−0.7
52	*L*-Pinocarveol	$C_{10}H_{16}O$	1140	1140	—	152.1196	—
53	(+)-2-Bornanone	$C_{10}H_{16}O$	1147	1144	152.1191	152.1196	−0.5
54	Borneol	$C_{10}H_{18}O$	1171	1172	—	154.1352	—
55	2-Cyclohexen-1-one, 4-ethyl-3,4-dimethyl-	$C_{10}H_{16}O$	1173	—	152.1195	152.1196	−0.1
56	*L*-terpinen-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	1180	1182	154.1350	154.1352	−0.2
57	*m*-Methylacetophenone	$C_9H_{10}O$	1184	1176	134.0724	134.0726	−0.2
58	*p*-Cymen-8-ol	$C_{10}H_{14}O$	1186	1186	154.1350	154.1352	−0.2
59	Decanal	$C_{10}H_{20}O$	1207	1203	—	156.1509	—
60	*cis*-Carveol	$C_{10}H_{16}O$	1218	1226	152.1192	152.1196	−0.4
61	Citronellol	$C_{10}H_{20}O$	1226	1226	—	156.1509	—
62	Benzene, (3,3-dimethylbutyl)-	$C_{12}H_{18}$	1234	—	162.1402	162.1403	−0.1
63	*β*-Citral	$C_{10}H_{16}O$	1237	1241	152.1196	152.1196	0
64	Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-	$C_{10}H_{12}O$	1242	1243	148.0886	148.0883	0.3
65	Carvotanaceton	$C_{10}H_{16}O$	1248	1247	152.1167	152.1196	−2.9
66	Phellandral	$C_{10}H_{16}O$	1277	1276	152.1194	152.1196	−0.2
67	Thymol	$C_{10}H_{14}O$	1280	1280	150.1038	150.1539	−0.1

续表

No.	Compound	Molecular formular	Retention index		Accurate mass		
			I_{lit}	I_{exp}	M_{exp}/amu	M_{cal}/amu	*Error*/mmu
68	Bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	1283	1283	—	196.1458	—
69	Anethole	$C_{10}H_{12}O$	1285	1286	148.0879	148.0883	−0.4
70	*p*-Cymen-7-ol	$C_{10}H_{14}O$	1289	1288	150.1038	150.1039	−0.1
71	Carvacrol	$C_{10}H_{14}O$	1296	1297	150.1938	150.1039	−0.1
72	*δ*-Elemene	$C_{15}H_{24}$	1333	1334	—	204.1873	—
73	*α*-Cubebene	$C_{15}H_{24}$	1345	1346	204.1873	204.1873	0
74	Isocaryophyllene	$C_{15}H_{24}$	1358	1387	204.1871	204.1873	−0.2
75	Ylangene	$C_{15}H_{24}$	1367	1367	204.1869	204.1873	−0.4
76	*α*-Copaene	$C_{15}H_{24}$	1374	1375	204.1868	204.1873	−0.5
77	*β*-Elemene	$C_{15}H_{24}$	1387	1388	204.1872	204.1873	−0.1
78	Longifolene	$C_{15}H_{24}$	1392	1402	204.1880	204.1873	0.7
79	*α*-Gurjunene	$C_{15}H_{24}$	1400	1409	204.1876	204.1873	0.3
80	*β*-Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	1417	1418	204.0872	204.1873	−0.1
81	*β*-Gurjunene	$C_{15}H_{24}$	1428	1428	204.1872	204.1873	−0.1
82	*α*-Bergamotene	$C_{15}H_{24}$	1431	1433	204.1886	204.1873	1.3
83	Aromandendrene	$C_{15}H_{24}$	1441	1442	204.1870	204.1873	−0.3
84	*α*-Guaiene	$C_{15}H_{24}$	1449	1440	204.1871	204.1873	−0.2
85	Humulene	$C_{15}H_{24}$	1453	1453	204.1872	204.1873	−0.1
86	Alloaromandendrene	$C_{15}H_{24}$	1453	1447	204.1872	204.1873	−0.1
87	*α*-Curcumene	$C_{15}H_{22}$	1471	1475	204.1870	204.1873	−0.3
88	*γ*-Muurolene	$C_{15}H_{24}$	1474	1474	204.1873	204.1873	0
89	Chamigrene	$C_{15}H_{24}$	1482	1484	204.1872	204.1873	−0.1
90	*β*-Selinene	$C_{15}H_{24}$	1487	1484	204.1867	204.1873	−0.6
91	Eremophilene	$C_{15}H_{24}$	1490	1489	204.1874	204.1873	0.1
92	6-Isopropyl-4,8*a*-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaphthalene	$C_{15}H_{24}$	1494	—	204.1871	204.1873	−0.2
93	*α*-Muurolene	$C_{15}H_{24}$	1496	1499	204.1871	204.1873	−0.2
94	*δ*-Guaiene	$C_{15}H_{24}$	1501	1505	204.1872	204.1873	−0.1
95	*β*-Bisabolene	$C_{15}H_{24}$	1057	1056	204.1875	204.1873	0.2
96	*δ*-Cadinene	$C_{15}H_{24}$	1512	1524	204.1879	204.1873	0.6
97	Selina-3,7(11)-diene	$C_{15}H_{24}$	1517	1519	204.1873	204.1873	0
98	*L*-calamenene	$C_{15}H_{22}$	1520	1520	202.1717	202.1716	0.1
99	Cadinadiene-1,4	$C_{15}H_{24}$	1532	1528	204.1871	204.1873	−0.2
100	*α*-Calacorene	$C_{15}H_{20}$	1541	1542	200.1555	200.1560	−0.5
101	(6*E*)-Nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	1562	1563	—	222.1978	—
102	(−)-Spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	1568	1572	220.1825	220.1822	0.3
103	Isoaromadendrene epoxide	$C_{15}H_{24}O$	1580	1579	220.1824	220.1822	0.2
104	Cedrenol	$C_{15}H_{24}O$	1586	1604	—	220.1822	—
105	Ledol	$C_{15}H_{26}O$	1602	1580	220.1824	220.1822	0.2
106	Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	1608	1594	220.1819	220.1822	−0.3
107	Viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$	1615	1612	—	222.1978	—
108	Agarospirol	$C_{15}H_{26}O$	1653	1646	—	222.1978	—
109	Juniper camphor	$C_{15}H_{26}O$	1664	1689	222.1974	222.1978	−0.4
110	*τ*-Cadinol	$C1_5H_{26}O$	1668	1648	222.1976	222.1978	−0.2
111	Longiverbenone	$C_{15}H_{22}O$	1673	1670	218.1662	218.1665	−0.3

续表

序号	Compound	Molecular formular	Retention index		Accurate mass		
			I_{lit}	I_{exp}	M_{exp}/amu	M_{cal}/amu	*Error*/mmu
112	6-Isopropenyl-4,8*a*-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8*a*-octahydronaphthalene-2-ol	$C_{15}H_{24}O$	1675	1714	—	220.1822	—
113	Cedren-13-ol, 8-	$C_{15}H_{24}O$	1689	1688	220.1821	220.1822	−0.1
114	Aromadendrene oxide II	$C_{15}H_{24}O$	1694	1706	—	220.1822	—
115	6-Isopropenyl-4,8*a*-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8*a*-octahydronaphthalene-2-ol	$C_{15}H_{24}O$	1698	1714	220.1823	220.1822	0.1
116	Nerolidyl acetate	$C_{17}H_{28}O_2$	1721	1715	264.2084	264.2084	0
117	7-Isopropenyl-1,4a-dimethyl-4,4*a*,5,6,7,8-hexahydro-3*H*-naphthalen-2-one	$C_{15}H_{22}O$	1769	—	218.1664	218.1665	−0.1
118	Nootkatone	$C_{15}H_{22}O$	1801	1781	218.1663	218.1665	−0.2
119	Iso-longifolol acetate	$C_{15}H_{22}O$	1815	1822	—	264.2084	—

[a] Not available.

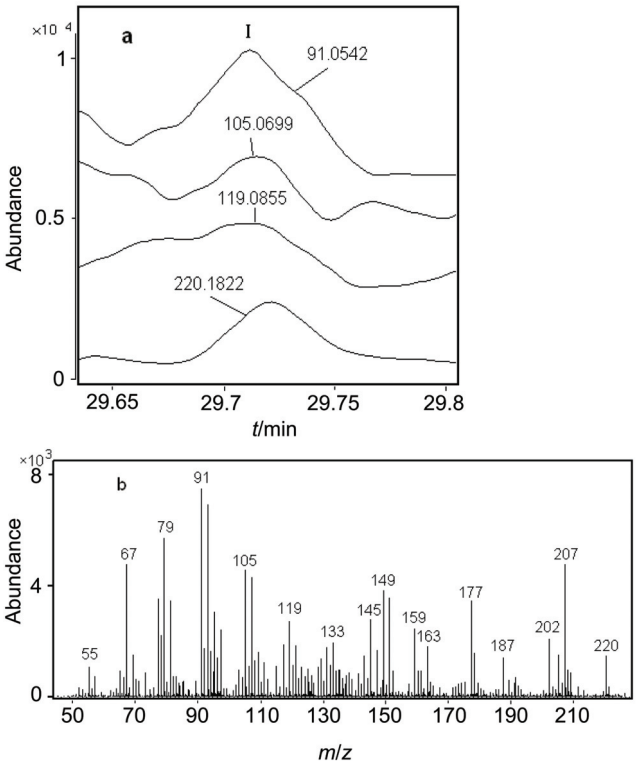

图 2 (a) 4 个诺卡醇离子的 EIC 色谱图(质量窗口 0.02 Da); (b)峰 I 的 EI 质谱图

Figure 2 (a) Extracted ion chromatograms for four nootkatol ions (mass window 0.02 Da), (b) EI Mass spectrum of peak I

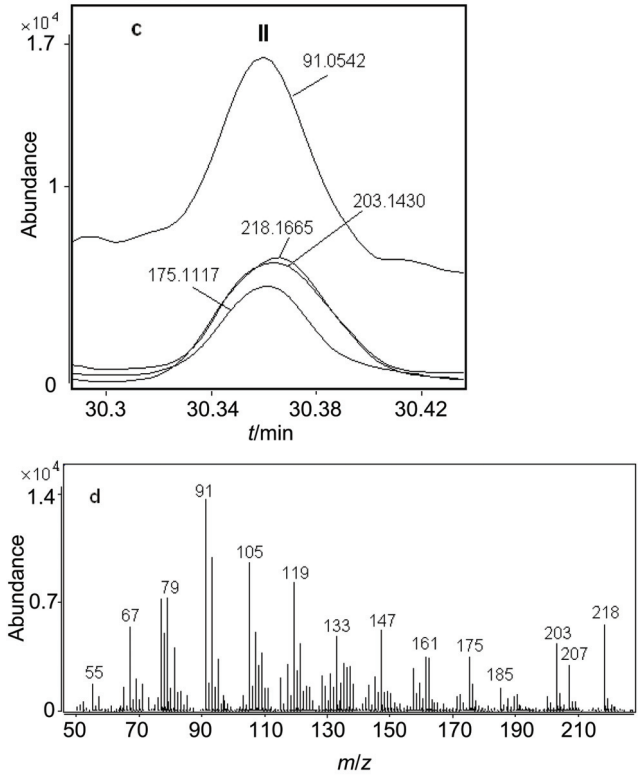

图 3 (c) 4 个 *α*-香附酮离子的 EIC 色谱图; (d) 峰 II 的 EI 质谱图

Figure 3 (c) Extracted ion chromatograms for four *α*-cyperone ions; (d) EI Mass spectrum of peak II

碎片离子准确质量, 推测碎片离子元素组成, 解释化合物裂解规律. 以桃金娘烯醛(Myrtenal, $C_{10}H_{14}O$)为例: 对保留时间为 14.15 的色谱峰(峰 IV)谱图检索时出现了桃金娘烯醛和桃金娘烯醇(Myrtenol, $C_{10}H_{16}O$)两个备选化合物, 其保留指数依次为 1196[37]和 1198[37], 十分相近, 且 NIST 标准图谱[图 5(a, b)]也相近, 难以定性. 选择 *m*/*z* 107 的母离子进行串联质谱研究, 得 MS^2 如图 5(d)所示. 峰 IV 的 MS^1 如图 5(c)所示. 推测化合物裂解规律如图 6 所示, 因此该化合物为桃金娘烯醛. 又如 68 号化合物, 在 MS^1 中无法找到分子离子峰[图 7(f)], 为了进一步确认该化合物为乙酸龙脑酯(Bornyl acetate, $C_{12}H_{20}O_2$), 对该峰进行串联质谱研究. 分别以 *m*/*z* 154, *m*/*z* 136, *m*/*z* 121, *m*/*z* 95 为母离子, 得到对应 MS^2 分别如图 7(g), 7(h), 7(i), 7(j)所示. 通过解释化合物裂解规律(图 8)定性该化合物即为乙酸龙脑酯. 峰 IV 和峰 68 的碎片离子准确质量见表 3. 利用串联质谱推测化合物的

表 2 3 个目标化合物分析结果
Table 2 The identification of three target compounds

Compound	Retention index	t_R/min$_{(cal)}$	Characteristic Ions			
			1	2	3	4
Nootkatol	1715	29.69	220.1823[a] (+0.1)[b]	119.0848 (−0.7)	105.0696 (−0.3)	91.0535 (−0.7)
α-cyperone[33]	1752[34]	30.50	218.1661 (−0.4)	203.1439 (+0.9)	175.1108 (+0.9)	91.0536 (−0.6)
Perillaldehyde[35]	1274[36]	16.88	150.1028 (−1.1)	135.0799 (−0.5)	107.0829 (−2.6)	93.0689 (−1.0)

[a] Experimental mass; [b] mass error in mDa.

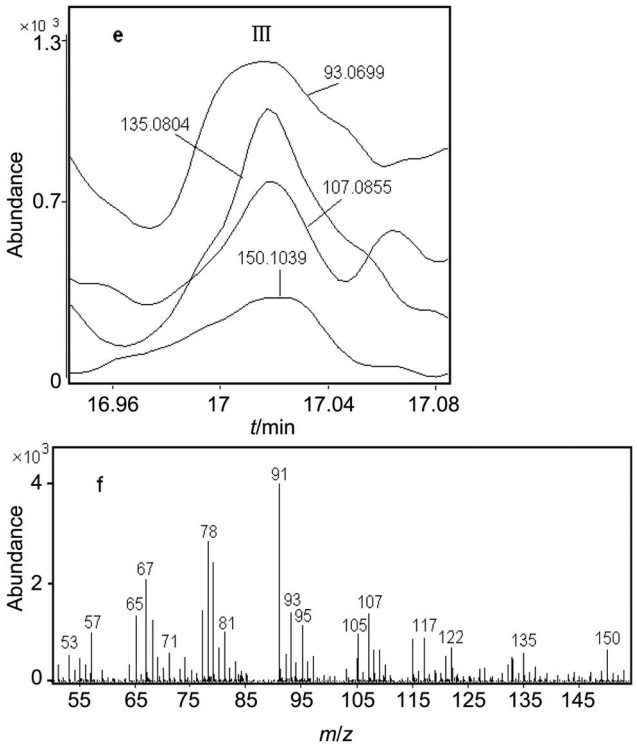

图 4 (e) 4 个紫苏醛离子的 EIC 色谱图; (f) 峰 III 的 EI 质谱图
Figure 4 (e) Extracted ion chromatorgrams for four perillaldehyde ions; (f) EI Mass spectrum of peak III

裂解规律, 辅以二级质谱中碎片离子的准确质量鉴定化合物的结构, 在其它方法失效的时候, 通过化合物的裂解规律进行结构鉴定就显得尤为重要和有效, 且该方法结果准确可靠.

3 结论

采用后目标分析法分析盐益智仁挥发性成分增强了化合物定性分析的能力, 扩大定性范围. 利用谱图检索、保留指数结合准确质量的后目标分析法分析非目标化合物, 共鉴定出 119 个化合物. nw-XIC 降低了背景干扰, 提高选择性, 成功解决了复杂样品中低含量成分及共洗脱成分难以定性的问题. 采用 nw-XIC 结合保留指数和特征离子准确质量的后目标分析法鉴定出三个化合物. 由碎片离子准确质量可推测碎片的元素组成, 再根据串联质谱推测化合物的裂解规律, 比单纯的串联质谱结果更加准确可靠, 在其它方法失效的时候, 通过化

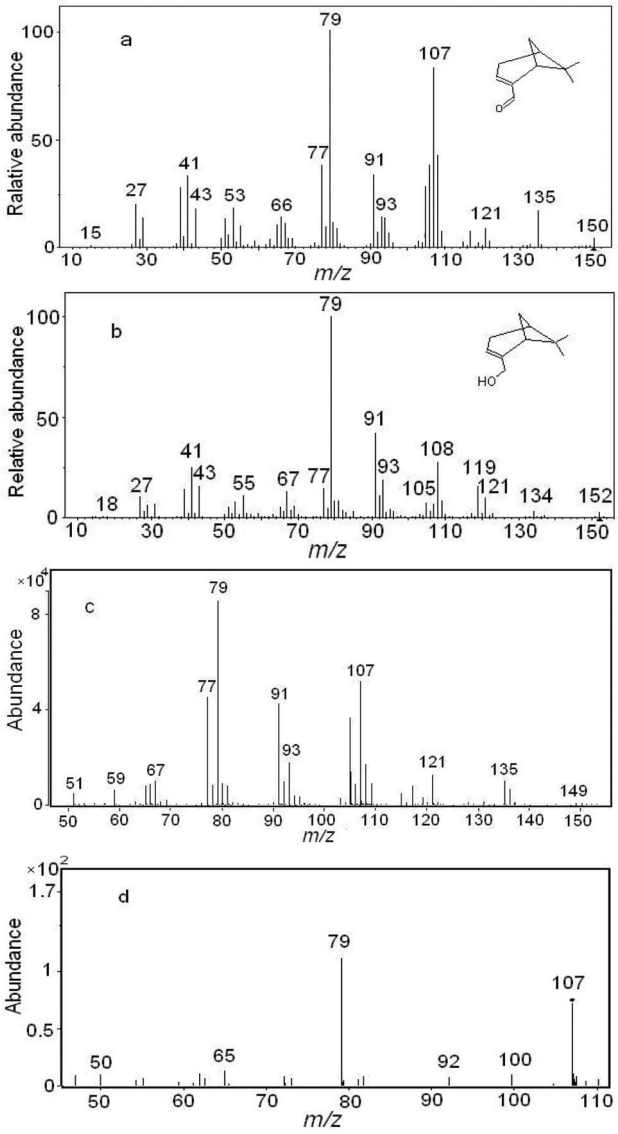

图 5 (a) 桃金娘烯醛 NIST 标准图谱; (b) 桃金娘烯醇 NIST 标准图谱; (c) 峰 IV 的 MS^1; (d) 母离子 *m*/*z* 107 的 MS^2
Figure 5 (a) NIST library spectrum of Myrtenal; (b) NIST library spectrum of Myrtenol; (c) MS^1 spectrum of peak IV; (d) MS^2 spectrum of precursor ion *m*/*z* 107

合物的裂解规律进行结构鉴定就显得尤为重要和有效. 同时, 串联质谱能显著提高信噪比, 适用于痕量分析, 采用这种后目标分析法又鉴定出一个化合物. 中药挥发性成分极其复杂, 将后目标分析法运用于该类样品的分析能最大范围地对其成分定性, 痕量成分及共洗脱成分

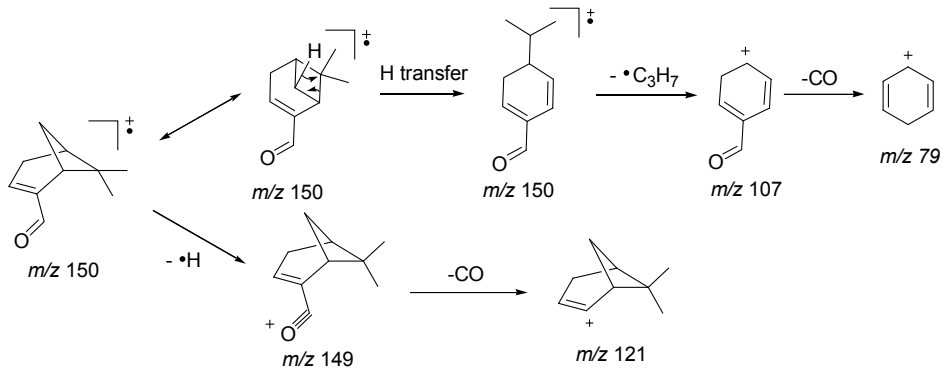

图 6 Myrtenal 可能的裂解途径
Figure 6 Possible fragmentation pathway of Myrtenal

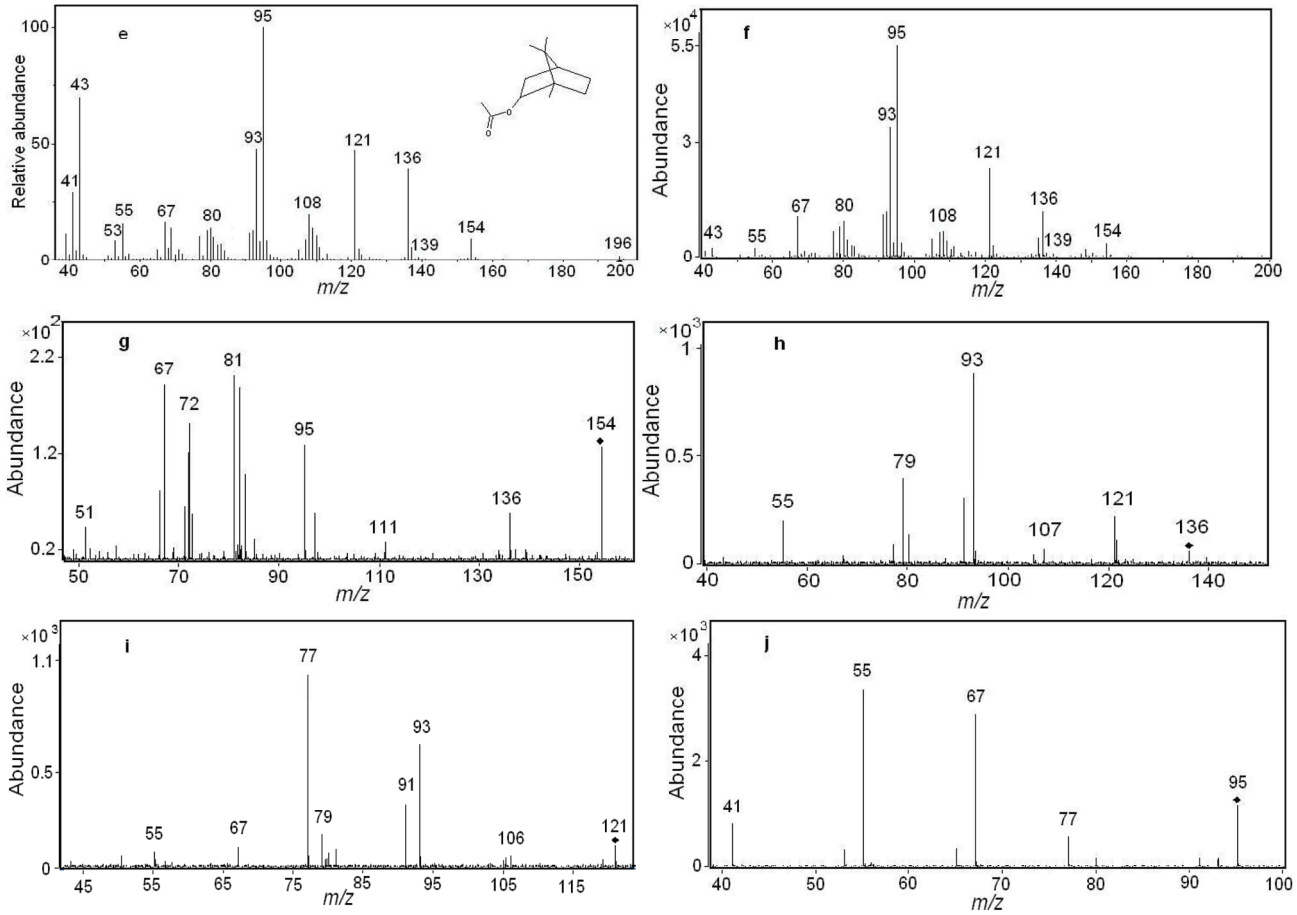

图 7 (e) 乙酸龙脑酯 NIST 库标准谱图; (f) 峰 68 的 MS^1; (g) 母离子 *m*/*z* 154 的 MS^2; (h) 母离子 *m*/*z* 136 的 MS^2; (i) 母离子 *m*/*z* 121 的 MS^2; (j) 母离子 *m*/*z* 95 的 MS^2
Figure 7 (e) NIST library spectrum of Bornyl acetate; (f) MS^1 spectrum of peak 68; (g) MS^2 spectrum of precursor ion *m*/*z* 154; (h) MS^2 spectrum of precursor ion *m*/*z* 136; (i) MS^2 spectrum of precursor ion *m*/*z* 121; (j) MS^2 spectrum of precursor ion *m*/*z* 95

也能被检测出, 有利于揭示中药药理、毒理学机制.

4 实验部分

4.1 样品与试剂

盐益智仁购自上海康桥中药饮片有限公司, 正构烷烃(C_4～C_{18})购自美国 Chem. Service 公司.

4.2 主要仪器与装置

日本岛津(SHIMADZU)公司 GCMS-QP2010 气相色谱质谱联用分析仪, 配岛津 AOC 5000 顶空自动进样器. 美国安捷伦(Agilent Technologies)公司 7890A GC-7200 Q/TOF MS 气相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用分析仪, 配 Agilent GC sampler 80 顶空自动进样器.

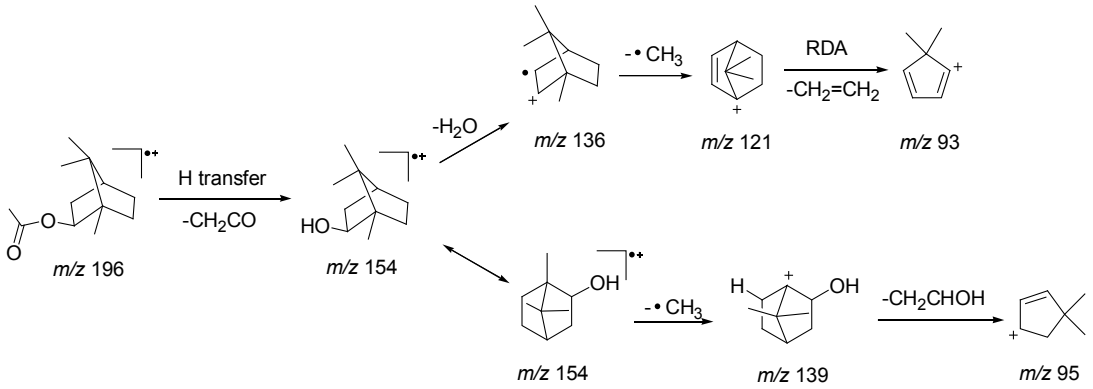

图 8 Bornyl acetate 可能的裂解规律
Figure 8 Possible fragmentation pathway of Bornyl acetate

表 3 峰Ⅳ和峰 68 MS^1 和 MS^2 中碎片离子准确质量
Table 3 Accurate mass of ions from peak Ⅳ and peak 68 in MS^1 and MS^2

Compound	Retention index		Characteristic ions			
	I_{exp}	I_{lit}	1	2	3	4
Myrtenal	1195	1196	$C_7H_7O^+$ (MS^2) 107.0483[a] (+1.3)[b]	$C_6H_7^+$ (MS^2) 79.0547 (+0.1)	$C_{10}H_{13}O^+$ (MS^1) 149.0965 (−0.4)	$C_9H_{13}^+$ (MS^1) 121.1013 (−0.1)
Bornyl acetate	1283	1283	$C_{10}H_{18}O^{+\bullet}$ (MS^2) 154.1352 (+0.6)	$C_{10}H_{16}^{+\bullet}$ (MS^2) 136.1247 (+0.1)	$C_9H_{13}^+$ (MS^2) 121.1012 (+0.4)	$C_7H_{11}^+$ (MS^2) 95.0855 (0)

[a] Experimental mass; [b] mass error in mDa.

4.3 气相色谱-质谱分析条件

色谱条件: 色谱柱 DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 载气: 高纯氦气, 载气流速: 1.0 mL/min(恒流模式); 分流比: 1∶20; 进样口温度: 250 ℃; 程序升温条件: 初始温度 50 ℃, 以 4 ℃/min 升至 150 ℃, 再以 6 ℃/min 升至 250 ℃, 保持 10 min; 进样量 800 μL.

GC-Q MS 质谱条件: 电子轰击离子源(EI): 70 eV; 离子源温度 230 ℃; 传输线温度 250 ℃; 扫描方式为全扫描, 质量扫描范围 *m*/*z* 40～550 Da, 溶剂延迟 3 min; 质谱数据运用 NIST 08 和 NIST 08s 质谱数据库进行谱图检索.

GC-Q/TOF MS 质谱条件: 电子轰击离子源(EI): 70 eV; 离子源温度 230 ℃; 传输线温度 250 ℃; 一级全扫描质量范围 *m*/*z* 45～450 Da; 二级全扫描质量范围 *m*/*z* 50～450; N_2 为碰撞气, 碰撞能量: 10 eV; 倍增器电压 1200 V; 溶剂延迟 3 min.

4.4 样品处理

称取 5.0 g 盐益智仁样品置于 20 mL 顶空瓶中, 120 ℃条件下加热 30 min, 同时以 250 r/min 的转速振荡, 自动进样系统取顶空气体 800 μL 进行 GC-Q MS 检测.

另称取 5.0 g 盐益智仁样品置于 20 mL 顶空瓶中, 120 ℃条件下加热 30 min, 同时以 300 r/min 转速震荡, 自动进样系统取顶空气体 800 μL 进行 GC-Q/TOF MS 检测.

References

[1] Hernandez, F.; Portoles, T.; Pitarch, E.; Lopez, F. J. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 9494.
[2] Zhang, F.; Yu, C.-T.; Wang, W.-W.; Fan, R.-J.; Zhang, Z.-X.; Guo, Y.-L. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *757*, 39.
[3] Kang, W.-Y.; Zhang, F.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2013**, *19*, 103.
[4] Gomez, M. J.; Gomez-Ramos, M. M.; Aguera, A.; Mezcua, M.; Herrera, S.; Fernandez-Alba, A. R. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 4071.
[5] Li, Y.; Ruan, Q.; Li, Y.-L.; Ye, G.-Z.; Lu, X.; Lin, X.-H.; Xu, G.-W. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1255*, 228.
[6] Wang, C.-Z.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*, 948. (王呈仲, 苏越, 郭寅龙, 有机化学, **2009**, *29*, 948.)
[7] Su, Y.; Wang, C.-Z.; Guo, Y.-L. *Acta Chim. Sinica* **2009**, *67*, 546. (苏越, 王呈仲, 郭寅龙, 化学学报, **2009**, *67*, 546.)
[8] Liu, S.-H.; Wang, C.-Z.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *J. Instrum. Anal.* **2010**, *29*(2), 126. (刘素红, 王呈仲, 苏越, 郭寅龙, 分析测试学报, **2010**, *29*(2), 126.)
[9] Wang, C.-Z.; Su, Y.; Li, D.; Cai, B.; Guo, Y.-L. *Anal. Lett.* **2010**, *43*, 2297.
[10] Zhu, F.-J.; Guo, Y.-L. *Chin. J. Chem.* **2010**, *28*, 1451.
[11] Su, Y.; Ji, H.-W.; Su, S.-B.; Guo, Y.-L. *Anal. Test. Tech. Instrum.* **2008**, *14*, 131. (苏越, 姬厚伟, 苏式兵, 郭寅龙, 分析测试技术与仪器, **2008**, *14*, 131.)
[12] Xian, F.; Hendrickson, C. L.; Marshall, A. G. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 708.
[13] Wang, H.; Wang, H.-Y.; Zhang, L.; Zhang, J.; Guo, Y.-L. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *690*, 1.
[14] Johnson, J. V.; Yost, R. A. *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 758.
[15] Wang, H.-Y.; Guo, Y.-L. *J. Mass. Spectrom.* **2011**, *46*, 856.
[16] Leng, J.-P.; Wang, H.-Y.; Zhang, L.; Zhang, J.; Guo, Y.-L. *Chin. J. Chem.* **2010**, *28*, 1751.
[17] Hong, S.-S.; Kang, W.-Y.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Chin. J. Chem* . **2013**, *31*, 1329.
[18] Lu, S.-S.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2011**, *17*(4), 353.
[19] Liu, S.-H.; Lu, S.-S.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Chromatographia* **2011**, *74*, 497.
[20] Portoles, T.; Pitarch, E.; Lopez, F. J.; Sancho, J. V.; Hernandez, F. *J.*

Mass Spectrom. **2007**, *42*, 1175.
[21] Cervera, M. I.; Portoles, T.; Pitarch, E.; Beltran, J.; Hernandez, F. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1244*, 168.
[22] Serrano, R.; Nacher-Mestre, J.; Portoles, T.; Amat, F.; Hernandez, F. *Talanta* **2011**, *85*, 877.
[23] Redeuil, K.; Smarrito-Menozzi, C.; Guy, P.; Rezzi, S.; Dionisi, F.; Williamson, G.; Nagy, K.; Renouf, M. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 4678.
[24] Portoles, T.; Pitarch, E.; Lopez, F. J.; Hernandez, F. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 303.
[25] Fan, R.-J.; Zhang, F.; Wang, H.-Y.; Zhang, L.; Zhang, J.; Zhang, Y.; Yu, C.-T.; Guo, Y.-L. *Sci. China*, *Ser. B*: *Chem.* **2013**, *56*, 1.
[26] The Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China, *The Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 1st ed., Chemical Industry Press, Beijing, **2010**. (中华人民共和国药典 (一部), 化学工业出版社, 北京, **2010**.)
[27] Yi, M.-H.; Xiao, H.; Liang, Z.-Y. *China Trop. Med.* **2004**, *4*(3), 339. (易美华, 肖红, 梁振益, 中国热带医学, **2004**, *4*(3), 339.)
[28] Lin, J.-M.; He, W.; Wu, M.-M.; Wu, Z.; Fu, T.-H.; Xia, P.-G.; Chen, F.-L. *J. Chin. Med. Mater.* **2000**, *23*(8), 448. (林敬明, 贺巍, 吴旻明, 吴忠, 付庭焕, 夏平光, 陈飞龙, 中药材, **2000**, *23*(8), 448.)
[29] Luo, X.-Z.; Yu, J.-G.; Xu, L.-Z.; Yang, S.-L.; Feng, J.-D.; Ou, S.-L. *China J. Chin. Mater. Med.* **2001**, *26*(4), 262. (罗秀珍, 余竞光, 徐丽珍, 杨世林, 冯锦东, 欧淑玲, 中国中药杂志, **2001**, *26*(4), 262.)
[30] Morikawa, T.; Matsuda, H.; Toguchida, I.; Ueda, K.; Yoshikawa, M. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*(10), 1468.
[31] Shoji, N.; Umeyama, A.; Asakawa, Y.; Takemoto, T.; Nomoto, K.; Ohizumi, Y. *J. Pharm. Sci.* **1984**, *73*, 843.
[32] Adams, R. P.; Habte, M.; Park, S.; Dafforn, M. R. *Biochem. Syst. Ecol.* **2004**, *32*, 1137.
[33] Huang, W.-Q.; Hu, C.-J.; Li, X.-Y.; Li, X.-H.; Yang, Z.-K.; Xie, X.-Q.; Peng, K.-C. *China Pharm.* **2008**, *17*(5), 3. (黄勤挽, 胡昌江, 李兴迎, 李兴华, 杨宗锟, 谢秀琼, 彭克成, 中国药业, **2008**, *17*(5), 3.)
[34] Morteza-Semnani, K.; Saeedi, M. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20*, 332.
[35] Yang, B.; Li, X.-B. *Cent. South Pharm.* **2010**, *8*(11), 817. (阳波, 李湘斌, 中南药学, **2010**, *8*(11), 817.)
[36] Javidnia, K.; Miri, R.; Kamalinejad, M.; Mehdipour, A. R. *J. Essent. Oil Res.* **2006**, *18*, 86.
[37] Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; da Silva, A. C. M.; Oliveira, J.; Carreira, L. M. M.; Araujo, J. S. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20*, 474.

(Cheng, F.)

