

飞行时间质谱-GC-MS/MS法测定桂花中 β -紫罗兰酮

魏小华,章嘉晴,魏竹秋

(江苏省无锡环境监测中心,江苏 无锡 214000)

摘要:采用水蒸气蒸馏萃取法处理新鲜采摘的桂花,利用飞行时间质谱(GC-Q-TOF/MS)法定性分析 β -紫罗兰酮,考察 β -紫罗兰酮的碎裂方式,再用气相色谱-三重四级杆串联质谱(GC-MS/MS)多重反应监测(MRM)定量分析桂花中 β -紫罗兰酮。该方法在 $2.00\ \mu\text{g/L} \sim 100\ \mu\text{g/L}$ 范围内线性良好,方法检出限为 $8.67\ \text{ng/L}$ 。用该方法连续2 d测定新鲜桂花, β -紫罗兰酮均值为 $5.55\ \text{mg/kg}$ 。

关键词: β -紫罗兰酮;飞行时间质谱法;气相色谱-三重四级杆串联质谱法;桂花

中图分类号:O657.63 文献标志码:B 文章编号:1006-2009(2022)02-0050-03

Determination of β -Ionone in *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour. by GC-Q-TOF MS and GC-MS/MS

WEI Xiao-hua, ZHANG Jia-qing, WEI Zhu-qiu

(Jiangsu Province Wuxi Environmental Monitoring Central, Wuxi, Jiangsu 214000, China)

Abstract: β -ionone was extracted from fresh *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour. by steam distillation, and was qualitatively analyzed by time of flight mass spectrometry (GC-Q-TOF/MS), quantitatively analyzed by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) through investigating its fragmentation manner. By optimizing the test conditions, the method had good linearity at $2.00\ \mu\text{g/L} \sim 100\ \mu\text{g/L}$ of the target substance, the method detection limit was $8.67\ \text{ng/L}$. The method was applied in determining fresh *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour. for 2 days, β -ionone was detected in two batches of samples, and the average test results was $5.55\ \text{mg/kg}$.

Key words: β -ionone; GC-Q-TOF/MS; GC-MS/MS; *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour.

β -紫罗兰酮是一种重要的香料,有特殊香气,主要存在于桂花等花卉中,被广泛使用,是十分重要的工业原料^[1-2]。 β -紫罗兰酮的结构为典型的环化类异戊二烯,具有良好的生物活性^[3-5]。烟草中常添加 β -紫罗兰酮,以弥补降低香烟焦油含量后的香味损失。在医药行业中, β -紫罗兰酮作为重要的医药中间体,常被用于合成维生素A、E和脱落酸等,具有重要的经济价值。在食品行业, β -紫罗兰酮是被允许使用的食用级香料,常作为增香剂被应用于各种食品中。 β -紫罗兰酮的全球需求量近万吨,市场潜力巨大^[6]。因此,对 β -紫罗兰酮开展深入研究对工业生产和生活具有一定现实意义。

目前,植物提取、化学合成及微生物合成是获

取 β -紫罗兰酮的主要方式^[7-9]。今通过水蒸气蒸馏法提取桂花中的 β -紫罗兰酮,用GC-Q-TOF/MS法定性分析,确定精确分子量及其质谱裂解方式,再建立GC-MS/MS定量分析方法,结果令人满意。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7890 B/7200 Q-TOF MS型四级杆飞行

收稿日期:2021-02-04;修订日期:2022-03-02

基金项目:国家科技重大专项子课题“太湖流域浮游生物快速鉴定技术验证及应用转化”基金资助项目(2018ZX07208002-02)

作者简介:魏小华(1984—),男,回族,湖北洪湖人,工程师,硕士,从事环境污染物的分析研究工作。

时间质谱仪(Gerstel MPS 2XL 多功能进样平台); DB-5MSUI 型毛细管色谱柱、DB-17MS 型色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)。Agilent 7890B/7000C 型气相色谱-质谱仪; DC12H 型氮吹浓缩仪。

新鲜桂花(金桂),采自江苏省无锡环境监控中心院内;100 mg/L 的 β -紫罗兰酮标准溶液,美国 AccuStandard 公司;无水硫酸钠(国药集团)450 $^{\circ}$ C 烘 4 h,备用;正己烷、甲醇等(农残级),安谱试剂;试验用水为去离子水。

1.2 β -紫罗兰酮的提取

提取装置由双颈烧瓶+恒压滴液漏斗+蛇形冷凝管组成,恒压滴液漏斗为收集器。取新鲜金桂的花 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入一定比例的水浸泡,水蒸气提取法提取。静置分层后去掉水层,收集的有机相过无水硫酸钠干燥柱,氮吹定容至 5 mL,取 1 μ L 上机分析。

1.3 仪器条件

GC-Q-TOF/MS:进样口温度 220 $^{\circ}$ C,不分流进样,DB-5MSUI 型色谱柱;柱箱初始温度为 50 $^{\circ}$ C,保持 3 min,以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 230 $^{\circ}$ C,保持 3 min,以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 280 $^{\circ}$ C,保持 2 min。质谱条件:溶剂延迟 3.0 min,70 eV,传输线 280 $^{\circ}$ C,EI 源 250 $^{\circ}$ C;扫描范围为 40 u ~ 600 u。

GC-MS/MS:进样口温度 220 $^{\circ}$ C,不分流进样,DB-17MS 型色谱柱;柱箱初始温度 50 $^{\circ}$ C,保持 3 min,以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 150 $^{\circ}$ C,保持 5 min,再以 8 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 1 min。质谱条件:溶剂延迟 5.0 min,70 eV,传输线 280 $^{\circ}$ C,EI 源 230 $^{\circ}$ C;扫描范围为 50 u ~ 500 u。

2 结果与讨论

2.1 β -紫罗兰酮的定性和质谱碎裂方式

桂花挥发油在 1.3 所述的 GC-Q-TOF/MS 条件下进样分析,采用标准质谱库检索和匹配度定性,确定桂花挥发油中含有 β -紫罗兰酮,匹配度为 87.93%。

β -紫罗兰酮的结构式为 4-(2,6,6-三甲基-1 环己烯基)-3-丁烯-2 酮,其主体为异戊二烯结构,并含有 3-丁烯-2-酮、3 个甲基及烯键官能团。根据官能团的连接方式,质谱裂解方式主要以中性分子丢失和麦氏重排等方式裂解。在正离子模式下,其分子离子峰 $[C_{13}H_{20}O]^+$ (质荷比 192.150 8)主要有

以下几种碎裂方式。碎裂方式 I:—CH=CH—CO—CH₃ 烯酮结构从中间裂解,形成双烯键结构。碎裂方式 II:烯键加层打开后碎裂形成—CH₂—CH₂—CO—CH₃(质荷比 71.048 0)后进一步碎裂。碎裂方式 III:碎裂—CH₃,形成 $[C_{12}H_{17}O]^+$ (质荷比 177.126 8),环化形成 $[C_{10}H_{14}O]^+$ (质荷比 162.102 7)或 $[C_{12}H_{15}]^+$ (质荷比 159.115 5),并进一步以麦氏重排或以其他方式碎裂。碎裂方式 IV:丢失—CH₃,形成 $[C_{12}H_{17}O]^+$ (质荷比 177.126 8),烯键打开后进行麦氏重排。

2.2 β -紫罗兰酮三重四级杆方法的优化与建立^[10-11]

将 β -紫罗兰酮标准溶液稀释,配制成 500 μ g/L 的稀释液,按照 1.3 条件分析。GC-MS/MS 条件采用 Scan 全扫模式确定 β -紫罗兰酮的保留时间和前级离子。选择丰度高、质量数大的特征离子为前级离子(定量离子),通过 β -紫罗兰酮的全扫图谱确定质荷比 177 为前级离子。编辑产物离子扫描方法,优选碰撞能量、驻留时间和扫描分组,确定响应值较高的二级碎片离子为辅助定性离子,通过比较二级碎片离子在不同电压下的响应值,确定响应值最高的电压为最优电压。不同的二级碎片离子,其最优碰撞电压亦不相同。综合以上参数,得到最佳的 MRM 扫描条件:定性离子 1、定性离子 2 和定性离子 3 质荷比分别为 162、147 和 91,对应的碰撞能量分别为 25 eV、28 eV 和 40 eV。最佳条件下得到目标物谱图,见图 1, β -紫罗兰酮的保留时间为 16.755 min。

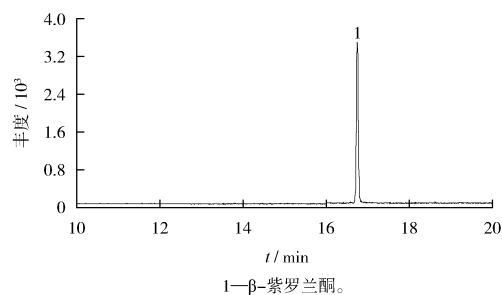


图 1 β -紫罗兰酮 GC-MS/MS 色谱峰

Fig. 1 Chromatogram of β -ionone

2.3 方法效能验证

将 10 mg/L 的 β -紫罗兰酮使用液配制成 2.00 μ g/L、6.00 μ g/L、10.0 μ g/L、30.0 μ g/L、

50.0 $\mu\text{g/L}$ 、80.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列,在 1.3 条件下测定,以色谱峰面积响应值(Y)对应质量浓度(X)绘制标准曲线,得到回归方程为 $Y = 155.59X + 55.41$,相关系数 R^2 为 0.999 9。

取 50 mL 水样和 6 个平行样,将 0.2 μL 的 β -紫罗兰酮使用液(10 mg/L)加入 50 mL 水样中,按照 1.2 所述处理,浓缩定容至 1 mL,在 1.3 条件下测定 7 次,计算 7 次测定结果的标准偏差 s ,为 2.76 ng/L。按照 $\text{MDL} = 3.143 \times s$,计算得到方法检出限为 8.67 ng/L。

2.4 样品测定

连续 2 d 采摘新鲜桂花 50 g,按照 1.2 所述处理后在 1.3 条件下测定,结果表明,两批样品中 β -紫罗兰酮均有检出,均值为 5.55 mg/kg。

3 结语

用 GC-Q-TOF/MS 法对 β -紫罗兰酮进行质谱分析,通过归属主要碎片离子考察了其裂解规律。其相对丰度最高的碎片离子为 $[\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}]^+$ (质荷比 177.126 8),为特征离子峰,通过考察 4 种裂解方式,为进一步研究 β -紫罗兰酮提供了试验依据。建立 GC-MS/MS 多重反应监测(MRM)法测定桂花中 β -紫罗兰酮,为进一步利用好桂花这一资源提供了研究方法,GC-MS/MS 三重四极杆的方法对于复杂基质中目标物的分析有着抗干扰性强、选择性高等优点,特别适合复杂样品中目标物的分析测定。

另外, β -紫罗兰酮虽然有着广泛用途,需求量大,但同时也是水体中致嗅物的一种^[12-13]。水体中藻类大量死亡后,会释放出包括 β -紫罗兰酮在内的大量致嗅物污染水体,使水体发出异味^[14-15]。 β -紫罗兰酮被各行业大量使用后亦不可避免会流入水体,对水体中致嗅物的监测产生干扰。因此,如何在监测水体中致嗅物 β -紫罗兰酮的同时,避免来自工业应用导致的干扰有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 王晓里,姜玲玲,李娜,等. 紫罗兰酮的气相色谱-质谱分析方法[J]. 鞍山科技大学学报,2007,30(6):573-575.
- [2] YANG J, MU W W, CAO Y X, et al. Synthesis and biological evaluation of β -ionone oriented proapoptosis agents by enhancing the ROS generation [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2020, 104: 104273-104275.
- [3] 叶丽琴,孙萌,张忠爽,等. 药用芳香植物资源开发与利用[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(5):127-130.
- [4] MIRANDA M L P, FURTADO K S, ANDRADE F O, et al. β -ionone inhibits nonalcoholic fatty liver disease and its association with hepatocarcinogenesis in male Wistar rats [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2019, 308: 377-384.
- [5] 贾美琪,刘菁菁,聂江平,等. 紫罗兰酮生物碱异噁唑衍生物的合成及其抗肿瘤转移活性研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 35(11): 2109-2116.
- [6] 卢彦坪. 解脂耶氏酵母合成 β -紫罗兰酮的代谢工程研究[D]. 广州:华南理工大学,2020.
- [7] 狄飞达,张弛松,郑亭,等. 桂花功能性成分提取及加工应用进展[J]. 农产品加工,2019(11):75-77.
- [8] 顾胜华,李湘洲,张盛伟. β -紫罗兰酮合成的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2015(4):173-177.
- [9] 杨晴玉. 解脂耶氏酵母乙酰 CoA 合成途径的重塑及其在 β -紫罗兰酮生产中的应用研究[D]. 广州:华南理工大学,2019.
- [10] 张付海,胡雅琴,田丙正,等. 全自动固相萃取-GC-MS/MS 法测定水中多氯联苯[J]. 环境监测管理与技术,2019,31(4):49-52.
- [11] 张纯淳. GC-MS-MS 法测定水中多种 N -亚硝胺类化合物[J]. 环境监测管理与技术,2019,31(3):57-59.
- [12] SHIN H S, AHN H S. Simple, rapid, and sensitive determination of odorous compounds in water by GC-MS [J]. *Chromatographia*, 2004, 59(1/2):107-113.
- [13] 廖蕾,张晓赞,李继影,等. 苏州太湖主要异味物质空间分布规律及防止对策研究[J]. 环境科学与管理,2019,44(8):100-103.
- [14] 廖蕾,张晓赞,徐振秋,等. 太湖东岸饮用水主要异味物质年变化规律及来源分析[J]. 环境监控与预警,2017,9(2):10-13.
- [15] 郑旭辉,安娜,高乃云,等. 两种异臭化合物 β -环柠檬醛和 β -紫罗兰酮在氯化过程中消毒副产物的生产及其影响因素[J]. 净水技术,2020,39(1):52-57.

启 事

本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、万方数据-数字化期刊群、重庆维普中文科技期刊数据库,凡被录用的稿件将同时在相关数据库产品中进行网络出版或提供信息服务,其作者著作权使用费与本刊稿酬一并支付。如作者不同意将文章编入数据库,请在来稿中注明,本刊将做适当处理。