[应用纪要]

使用一种化学计量学的方法快速鉴定和解析香精油标记物

Cristiana C. Leandro[1], Peter Hancock[1], Christian Soulier[2], Françoise Aime[2]
[1]沃特世公司，曼彻斯特，英国。 [2]Argeville S.A., Domaine d'Argeville, Mougins, 法国。

目的

为鉴定香精油中潜在标记物以及解析香味提供解决方案；辅助香精香料市场的质量控制和鉴定。

前言

全世界香精香料和芳香化学品市场据说价值 150 亿，随着消费者青睐更多天然产物，精油市场也在显著地增长。

由于香精香料市场的产品通常价值不菲，对原材料，调和品和最终产品的分析和比较能力具有重要的商业意义。

天然产物的价格浮动依赖于原材料。其中的决定因素有原产国，天气，批次，含量，提取方法和保质期等。这些因素对质量控制和防止伪造都至关重要。

据报道在全球贸易中每年有 5 - 7% 是伪造品，价值达 5000 亿。因此天然产物中成分的确认如香精油变得更加重要。

目前鉴定和分析香料是一个以手工为主且非常耗时的过程。一个分析过程可能需要训练有素的分析化学家工作许多小时，并且还可能有人为误差。

利用气相色谱 - 飞行时间质谱(GC-ToF)精确质量 - 质谱的解决方案，可生成一套强大的信息丰富的数据集。之后使用自动化的化学计量学软件，对多维变量数据进行进一步的统计学分析。得到的结果是对组分的更快更精确的评价。

该方案的优势是在样品间有很好的统计分离并有助于样品间差异或相似性的鉴定。

以下的方法描述了使用 GC-TOF-MS 及化学计量学数据分析对柑橘类的一系列样品中香精油的分类。

本文描述了香精油的分离，标志物的鉴定，种属内及种属间区分的实例，还包括数据库的构建和香料的分类。

来自柑橘类的四种香精油。

实验方法

样品

本文研究了来自柑橘类(柠檬，柑，橙，香柠檬)的四种香精油。所分析的香精油在表一中列出。样品在被 GCT Premier™ 分析之前，按 1000:1 酒精稀释。

	精油	原产地
1	香柠檬	象牙海岸
2	香柠檬	意大利
3	柠檬	阿根廷
4	柠檬	阿根廷
5	柠檬	象牙海岸
6	柠檬	西班牙
7	柠檬	意大利
8	柠檬	意大利
9	柠檬	意大利
10	黄柑	意大利
11	黄柑	意大利
12	红柑	意大利
13	红柑	意大利
14	红柑	意大利
15	红柑	意大利
16	绿柑	意大利
17	绿柑	意大利
18	绿柑	意大利
19	橙	南非
20	橙	佛罗里达州
21	橙	佛罗里达州
22	橙	意大利
23	苦橙	象牙海岸
24	佩拉甜橙	巴西
25	橙	巴西

表 1. 纯的香精油列表。

气相色谱条件

系统:	Agilent 6890N 气相色谱系统
分离柱:	Restek Rtx -5 ms, 30 m x 0.25 mm 0.25 µm
流速:	1.0 ml/min 氦气恒定流动
进样方法:	分流(分流比例 10:1), 1 µl
温度渐进:	60 至 180 °C, 7.5 °C/min, 至 250 °C, 50 °C/min(停留 1.6 min)
总分析时间:	20 min

质谱条件

质谱系统:	沃特世(Waters®)GCT Premier
离子化模式:	电喷雾(EI^+)
电子能量:	70 eV
离子源:	200 °C
捕获电流:	200 µA
界面温度:	280 °C
检测器电压:	2850 V
采集范围:	*m/z* 50 - 500
采集时间:	0.19 s, 0.01 s 延迟(2.5 spectra/ s)

GCT Premier 质谱仪

在分析中连续进样单点锁定质量获得精确质量质谱图(perfluorotributylamine, *m/z* = 218.9856)。调节仪器使其分辨率大于 7000 FWHM (半峰宽)。

采集和处理方法

数据采集使用沃特世 MassLynx™ 操作软件版本 v. 4.1, 使用 MarkerLynx™ 和 ChromaLynx™ 应用软件处理数据。

- MarkerLynx 用于化学计量学完整数据处理, 包括多维统计分析和绘图。
- ChromaLynx 辅助快速检测, 鉴定和半定量测定复杂背景中的组分。

结果与讨论

图 1 显示柑橘类香精油之间的差别不容易被辨别，而每张色谱图的手工检查耗费人力。MarkerLynx 将这个过程自动化，基于主成份分析数据集快速分析香精油，并生成 t_R – *m/z* 数据对列表，按照统计学重要性排列。

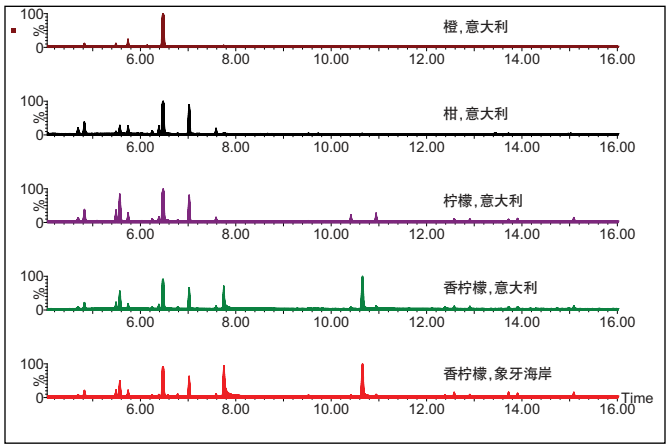

图 1. GC-TOF-MS 上获得的五种柑橘类香精油的总离子色谱图。

快速种属间的柑橘类香精油的区别

图 2 表明在处理了 25 种香精油后，MarkerLynx 代谢组学软件的得分图。结果显示 3 种柑油在统计学上相似，但与橙，柠檬和香柠檬有分歧。该系统的高重现性通过同种香精油紧密的样品分布而被证明。

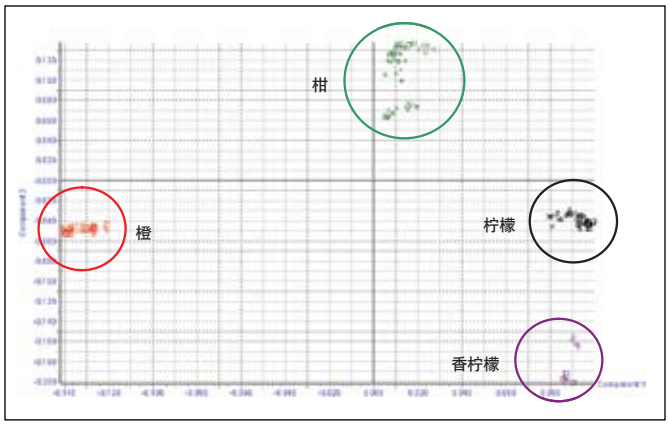

图 2. MarkerLynx 代谢组学软件的得分图，表明 25 种香精油的组间相似性。

结果说明香精油可以被成功地分离。然而，为了寻找这种区别的原因，需要对结果进一步地分析。

图 3 t_R - *m/z* 数据对之一对区分柠檬与其它香精油贡献最显著。这张趋势图表明样品编号与标记物对分组的重要性，代表柠檬香精油的一种潜在的标记物。

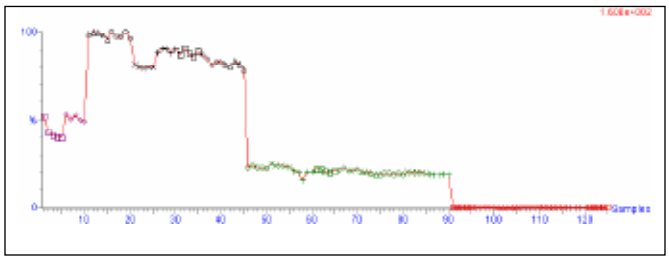

图 3. 25 种香精油的 t_R - m/z 数据对 12.89 - 93.0700 之间的趋势图。

潜在的香精油标记物的鉴定

在使用 ChromaLynx 自动处理数据集之后，图 4 表示的潜在标记物经数据库和精确质量鉴定。精确质量为 136.1256 的标记物被鉴定为 β- 蒎烯，与计算质量 $C_{10}H_{16}$ 相差 0.4 mDa。

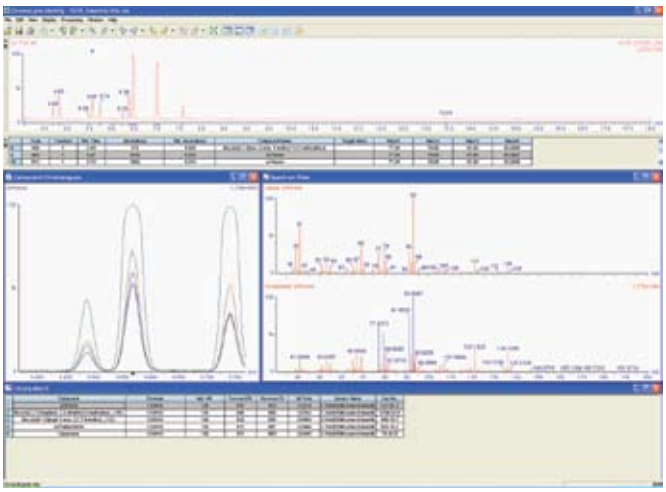

图 4. 使用 ChromaLynx 鉴定柠檬香精油中的 β- 蒎烯。

如果潜在的标记物在数据库中不存在，作为建立机构鉴定的起始点，可用精确质量数进行元素组成分析。

在潜在的标记物被鉴定之后，MarkerLynx 代谢组学软件可用来创建化合物数据库帮助查找后续分析中的标记物。

快速种属内香精油的区分

使用多变量分析也可以寻找同一种香精油样品间的相似性。这些同组内的区别包括原产国，树龄，质量等。

例如，图 5 表明使用 MarkerLynx 代谢组学软件对种属内红柑香精油的分离。样品分组的差异与收获年代和柑橘味道相关。

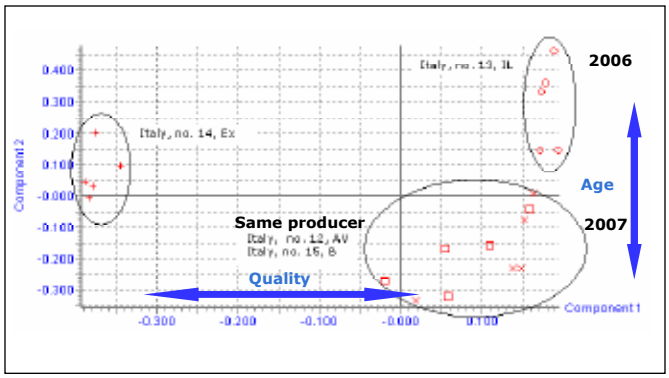

图 5. MarkerLynx 的得分图表明四种意大利红柑香精油组内的相似性。

另外，一个附加的软件包，即 Umetrics 公司的 SIMCA-P，可以用来进一步搜索每种类别内的差别。SIMCA-P 鉴定两个样品之间的差别，使用先进的统计学工具，如偏最小二乘法辨别分析(PLSDA)和正交偏最小二乘法(OPLS),让研究人员可以看到他们的数据并从实验结果中提取有意义的信息。

图 6 表示两组柠檬香精油的增强的差别。超过 80% 显著水平(以红色标出)的点被选出创建另外一张潜在标记物列表，并可被输回至 MarkerLynx 代谢组学软件。

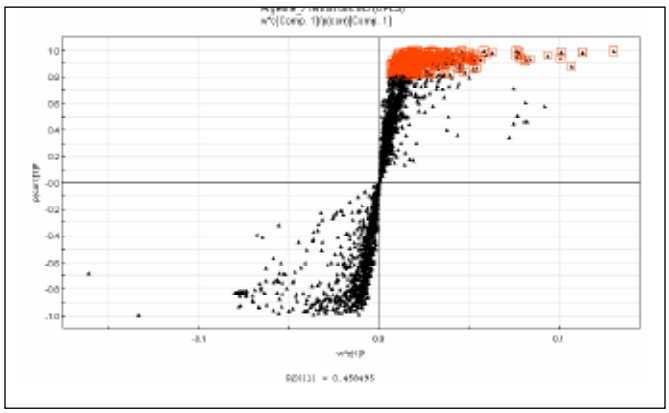

图 6. 7 号柠檬香精油相比 9 号柠檬香精油的散点图，从 SIMCA-P 的正交偏最小二乘法 OPLS 模型获得。

在一种香精中鉴定香精油

ChromaLynx 比较软件提供完整的功能，可以评价多个样品，在样品间鉴定出共同或独特的组分。

图 7 表示在一种香精和一种柠檬香精油之间的比较。结果显示独特的保留时间和质量(以深色三角标出)组分。共同的组分提示出这种多样化的柠檬香精油是分析中香精的组成部分。

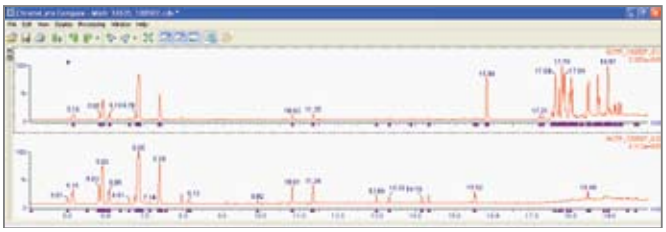

图 7. 7 号柠檬香精油相比 9 号柠檬香精油的散点图，从 SIMCA-P 的正交偏最小二乘法 OPLS 模型获得。

结论

由于原材料的价格差异很大，而假冒产品也是愈发出现的问题，气相色谱飞行时间质谱(GCT Premier)带有 MarkerLynx 代谢组学软件和 ChromaLynx 应用管理软件是香精香料市场上产品鉴定和质量控制的理想解决方案。

由于拥有无可比拟的功能组合，以及高扫描灵敏度和快速图谱采集速度，沃特世公司的完整解决方案是全面解析各种形式样品组分的理想选择。

使用 GC-TOF-MS 可以分离并鉴定柑橘类样品中香精油的潜在标记物。

MarkerLynx 代谢组学软件对数据解析采取化学计量学的方法，做到有价值地检测和鉴定这些香精油中的潜在标记物。使用 SIMCA-P 软件中多变量的偏最小二乘法或正交偏最小二乘法的统计学方法可进行在样品种属内和种属间的区分。

ChromaLynx 比较软件也是分析香精的有力工具。它可以比较单一(或共同)的经自动数据库搜索鉴定的组分。

GCT Premier 与 MarkerLynx 代谢组学软件和 ChromaLynx 应用管理软件组合增加了强大的数据采集和分析香精分类的功能。此外，将以前耗费人工的过程自动化能使实验室的生产力和效率增加。

50 YEAR LEGACY
VISION ■ CONTRIBUTION ■ ADVANCEMENT

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters 是沃特世公司的注册商标。GCT Premier, MassLynx, ChromaLynx, MarkerLynx 和 the Science of What's Possible 是沃特世公司的商标。所有其他商标属于各自的所有者。

©2008 沃特世公司 中国印刷
2008 年 7 月 720002563ZH

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 8586 8899
上海: 021 - 6879 5888
广州: 020 - 8626 6678
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com www.waterschina.com

LLOYD'S REGISTER QUALITY ASSURANCE ISO9001
UKAS QUALITY MANAGEMENT 001
VIT