

基于高分辨质谱-相依成分分析的 怀菊花泡饮过程分析

董春红^{1,2}, 李振兴¹, 赵绍伟¹, 刘应凡¹, 孙雨安¹, 王国庆¹

(1. 郑州轻工业学院 材料与化学工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 焦作大学 怀药研究中心, 河南 焦作 454003)

摘要:采用高分辨质谱法(HRMS)对菊花泡饮过程分析,以准确分子量直接定性菊花泡饮过程中27种典型成分,结合其典型成分质谱响应强度,得到菊花泡饮过程的高分辨质谱指纹图.进一步以相依成分分析(DCA)解析,得到能够体现菊花泡饮过程典型化学成分特征的3组相依组分(DC),并以DC相对浓度变化表征菊花泡饮过程.研究表明,3组DC与挥发油、氨基酸、黄酮类为主要特征的菊花中典型成分相对应,不同类型的化合物质谱相应值具有较大的差异,菊花泡饮时前2次相依组分相对含量变化较大;冲泡5次后菊花中溶于水的活性成分的种类明显减少、相对含量也明显降低而不再具有饮用价值.HRMS-DCA为菊花泡饮过程高分辨质谱指纹图谱解析利用提供了新途径.

关键词:高分辨质谱;相依成分分析;怀菊花;泡饮过程分析

中图分类号: O657; Q944.5 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-476X.2013.02.012

Analysis of brewing process of Huai chrysanthemum based on high resolution mass spectrometry and dependent component analysis

DONG Chun-hong^{1,2}, LI Zhen-xing¹, ZHAO Shao-wei¹, LIU Ying-fan¹, SUN Yu-an¹, WANG Guo-qing¹

(1. College of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
2. Research Center of Huaiqing Chinese Medicine, Jiaozuo University, Jiaozuo 454003, China)

Abstract: Using high resolution mass spectrometry (HRMS) to analyze the brewing process of Huai chrysanthemum, 27 typical components in drinking process were directly qualified with accurate molecular weight, and the high resolution mass spectrometric (MS) fingerprints of chrysanthemum tea process were obtained combined with the mass spectrometric response strength of the components. The fingerprints were processed by dependent component analysis (DCA), and 3 groups of dependent components (DCs) that can used to characterize the characteristics of the typical components in the drink chrysanthemum bubble and the brewing process. Research results showed that the 3 groups of DCs are corresponding to volatile oil, amino acids, and flavonoids as the main components of the Huai chrysanthemum, there are great differences among the response MS values of of different components. The relative concentration of DCs obviously de-

收稿日期:2013-02-22

基金项目:国家自然科学基金项目(21075113,21171150);河南省科技攻关项目(102102310071)

作者简介:董春红(1974—),女,河南省洛阳市人,郑州轻工业学院兼职研究生导师,焦作大学副教授,博士,主要研究方向为天然产物化学.

通信作者:王国庆(1965—),男,河南省汤阴县人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为化学信息学.

creased during the first 2 times of the brewing process; while after 5 times brewing, the variation of DCs are negligible and there is no drinking value. HRMS-DCA provides a new way to resolve HRMS fingerprints of chrysanthemum brewing process.

Key words: high resolution mass spectrometry; dependent component analysis (DCA); Huai chrysanthemum; analysis of brewing process

0 引言

菊花(茶)是人们喜欢四季饮用的天然产物,其中怀菊花味道甘苦、性凉^[1-2],主要有效成分有黄酮类、氨基酸类和挥发油类化合物.关于菊花中的功效成分的报道较多^[3-5],但是对泡饮过程中菊花的水中溶解成分及其含量变化的研究,以及根据菊花泡饮过程中溶于水的有效成分的含量相对变化确定最佳冲泡次数的研究尚未见报道.笔者前期研究利用以独立成分分析(ICA)为代表的盲源分离方法^[6-10]与仪器分析方法相结合,进行基于天然产物谱学特征的炮制过程分析^[8-9],取得了具有积极意义的效果.然而,当源信号间相似或相关性较高、源信号呈宽带分布时,ICA解析混合光谱信号的效能将受到影响.相依成分分析(DCA)则是一种借助于一定的先验信息和源信号之间的相依性从混合信号中提取纯组分信息的信号处理和数据分析方法,可用于盲源信号分离和特征信号提取,与传统的ICA方法具有一定的互补性^[11-13].

本文拟利用高分辨质谱法(HRMS)定性和半定量确认怀菊花的泡饮过程典型有效成分,得到菊花泡饮过程高分辨质谱指纹图,进一步利用相依成分分析(DCA)解析得到相依组分(DC),并根据其相对变化趋势表征菊花泡饮过程,为天然产物指纹图谱解析利用提供新途径.

1 相依成分分析

假定 m 维(本工作中表征质谱的质荷比 m/z 的点数) n 个测定得到的混合质谱(MS)信号 $\mathbf{X} = [x_1, x_2, \dots, x_n]$,其中包括 d 个相依的源信号 $\mathbf{S} = [s_1, s_2, \dots, s_d]^T$ (混合体系中纯组分质谱),混合体系的通用质谱吸收模型可以描述为

$$\mathbf{X} = \mathbf{A}\mathbf{S}^T$$

其中, \mathbf{A} 是描述从 \mathbf{S} 到 \mathbf{X} 的混合矩阵.

传统 ICA 模型的一种扩展是当源信号不是独立的,而是不独立或者通过其方差具有相依性.为

了对这种相依性建模,假定 d 个源信号 \mathbf{S} 由 2 个随机信号 v 和 y 的乘积得到

$$\mathbf{S}^T = vy$$

其中, v 是给出一般活性水平的非负方差信号,其可以是统计上相依的; y 表示均值为 0 的亚高斯随机过程信号,并且 v 独立于 y ,因此 v 可以表示不同源信号 \mathbf{S} 之间的相依性; y 随着时间变化是独立的并且其组成相互之间统计上独立,并且具有足够的方差相依性.这样,通用的混合光谱吸收模型可以表示为

$$\mathbf{X} = \mathbf{A}\mathbf{S}^T = \mathbf{A}vy$$

假定原始数据由白化矩阵 \mathbf{V} 预白化并表示为 $\mathbf{Z} = \mathbf{V}\mathbf{X}$, $\mathbf{W} = \mathbf{V}\mathbf{A}$ 是正交约束的,则 DCA 的目的就是寻找一个转置阵 \mathbf{W} ,使得可以从混合光谱矩阵 \mathbf{X} 提取得到源信号

$$\hat{\mathbf{S}}^T = \mathbf{W}^{-1}\mathbf{Z} = \mathbf{W}^{-1}\mathbf{V}\mathbf{X} = \mathbf{W}^{-1}\mathbf{W}\mathbf{A}^{-1}\mathbf{A}\mathbf{S}^T = \mathbf{S}^T$$

其中, $\hat{\mathbf{S}}$ 是 \mathbf{S} 的估计值.这样, DCA 的任务变为在 v 的相依性与 y 的独立性约束下的优化问题.常用的几种方法可以达此目的,如多维 DCA^[11],高通滤波 DCA^[12]和方差 DCA^[13].本研究采用基于准随机梯度算法的方差 DCA 方法^[13].

2 实验

2.1 材料与仪器参数设定

实验材料:怀菊花,2011年11月采摘于河南省焦作市武陟县菊花种植田,采摘样品在室内阴干 30 d后用塑料袋密封贮存备用.

超高效液相色谱 - Orbitrap Exactive 高分辨质谱仪,美国 ThermoFisher 公司产;参数设置:进样量 0.5 μL ,流速 0.2 mL/min,电压 3.4 kV,扫描范围 50 ~ 1 000 m/z ,辅助气氮气流速 30 L/min,电子传输管温度 275 $^{\circ}\text{C}$.

2.2 菊花泡饮过程高分辨质谱的测定

准确称取鲜菊花 3 g 左右,用 300 mL 的开水冲泡,间隔 10 min 取样 150 mL,再补充 150 mL 开水,共冲泡 8 次.采得样品过滤后,直接利用超高效液相色谱(UPLC)进校并在 Orbitrap Exactive 高分辨质谱(HRMS)仪上测定得到菊花泡饮过程 HRMS 指

纹图.

2.3 混合模拟质谱信号合成

模拟生成3组纯组分质谱信号 S^T ,产生一个随机浓度矩阵 A ,将 A 与 S^T 相乘得一组混合质谱信号.

3 结果与讨论

3.1 DCA 用于模拟混合质谱信号中纯组分信息的提取

由3组模拟纯组分质谱产生的混合质谱及由DCA提取得到的纯组分信息如图1所示.

图1中3个源信号间具有一定程度的重叠,源信号1与源信号2、源信号3及源信号2与源信号3之间的相关系数分别为-0.095 4,0.177 7,0.242 4.从图1可以看出,DCA所提取的源信号信息与实际采用的模拟纯组分质谱信号的轮廓非常相似,计算得到的源信号 S 与提取得到的DC相关系数分别为1.000 0,0.995 7,0.985 3.结果表明,在源信号之间具有一定的相关性或质谱信号部分重叠时,DCA能够将源信号信息从混合质谱信号中有效地提取出来,其提取的信息可以用于对混合组分的定性和定量分析.

3.2 菊花泡饮过程 HRMS 指纹图谱的测定

现代药理研究表明,菊花中挥发油、黄酮类化合物及氨基酸类为主要活性成分,其中一般游离苷元难溶或不溶于水.因此,基于对菊花成分已有的研究成果及UPLC-HRMS实验测定得到的高分辨质谱数据,以相关的准确分子量对泡饮过程中溶于水的化学成分进行选择直接定性确认,得到怀菊花中27种化学成分如表1所示.以分子量为横坐标,

以各成分相对质谱强度作为纵坐标表示半定量信息,得到怀菊花泡饮过程HRMS指纹图如图2所示.

从表1可以看出,定性确认的27种化合物主要是氨基酸、挥发油、黄酮类化合物,与文献[14]报道一致.从图2可以看出,不同成分的质谱响应值相差较大,说明不同成分含量有较大差异;HRMS指纹图能够体现菊花溶于水的成分组成轮廓,各成分的质谱响应值总体上呈先降低后趋稳的规律;某些成分经过一定次数泡饮后未能检测到,说明菊花在泡饮过程中其药用或其他价值有较大的变化,研究结果与人们传统习惯中菊花等茶品冲泡一定次数后饮之无味或味淡而弃之相符合.

进一步结合表1观测图2可以看出,第1次冲泡得到的成分包括了菊花的3类药效成分,氨基酸及其他类成分比较多;第2次、第3次冲泡得到的成分数与第1次大体相当,相对含量有所降低;第4次至第8次冲泡所得到的成分数依次是18,15,9,6,5,随着泡饮次数增加能够定性确认得到的化合物成分数下降趋势明显,其中,第4次、第5次得到的成分主要还是氨基酸、挥发油类、黄酮类成分,挥发油类成分有2-羟基-安息香酸甲酯、2,3,3-三甲基-2-(3-甲基丁基-1,3-二乙基)-6-亚甲基环己酮,黄酮类有金合欢素、大波斯菊苷,氨基酸种类有少量减少;从第6次开始,作为菊花主要药效成分的黄酮类化合物未检出,其他成分也明显减少;第8次主要药效成分只剩下氨基酸与少量的其他成分.

3.3 基于 DCA 的菊花泡饮过程分析

对怀菊花泡饮过程分析得到的质谱指纹信息进

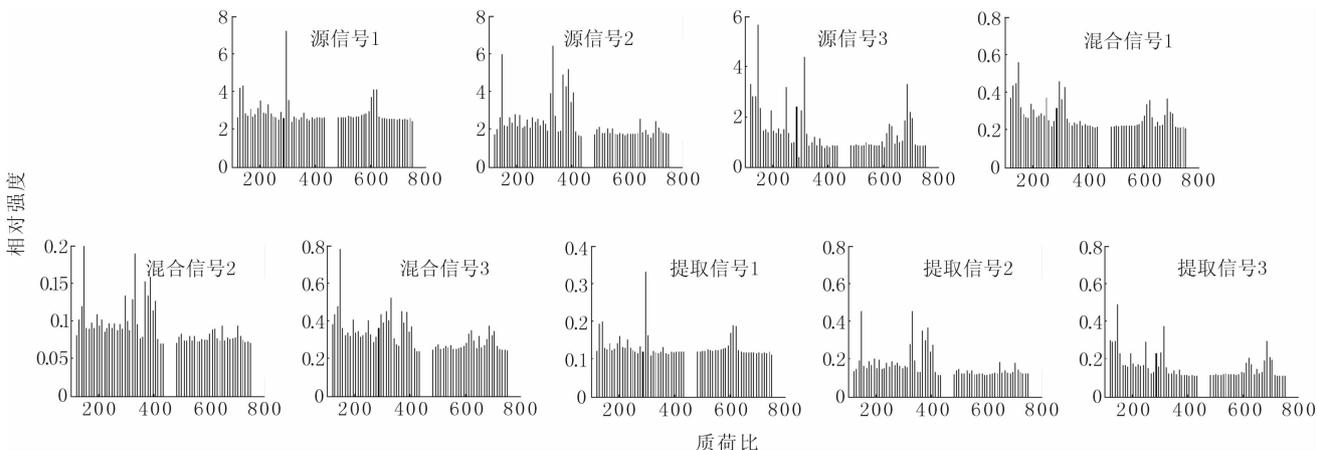
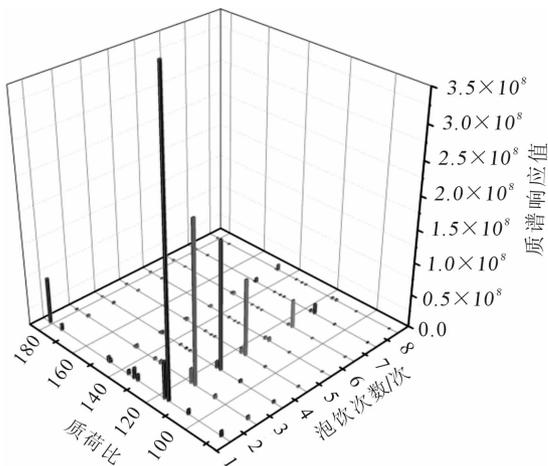


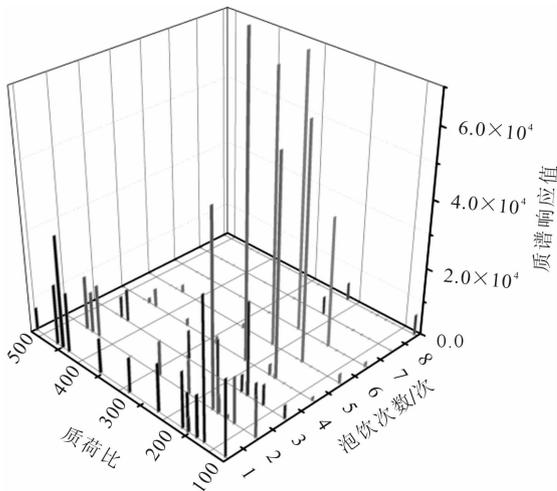
图1 相依成分分析用于模拟混合质谱信号中源信号提取

表 1 定性确认的怀菊花泡饮过程中 27 种特征成分

化合物名称	准确分子量	化合物名称	准确分子量
甘氨酸	75.032	1,3,3-三甲基-4-甲醛基-1-环己烯	152.120
丙氨酸	89.048	龙脑	154.136
丝氨酸	105.043	苯丙氨酸	165.079
脯氨酸	115.063	精氨酸	174.112
缬氨酸	117.079	酪氨酸	181.074
苏氨酸	119.058	2,3,3-三甲基-2-(3-甲基丁基-1,3-二乙基)-6-亚甲基环己酮	218.167
亮氨酸	131.095	金合欢素	284.068
天门冬氨酸	133.037	木犀草素	286.048
1-甲基-4-(1-甲基乙基)苯	134.110	绿原酸	354.095
腺嘌呤	135.054	大波斯菊苷	432.106
α -蒎烯	136.125	木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷	448.101
赖氨酸	146.106	香叶木素-7-O- β -D-葡萄糖苷	462.116
谷氨酸	147.053	鸡纳酸-3,5-咖啡酯	516.127
2-羟基-安息香酸甲酯	152.504		



a) 质谱响应值较高的成分



b) 质谱响应值较低的成分

图 2 菊花泡饮过程测定得到的高分辨质谱指纹图

行主成分分析 (PCA) 得到其主成分数 3, 因此将混合质谱数据中相依成分数也设定为 3. 以 DCA 处理怀菊花泡饮过程得到的混合质谱信号, 提取得到 3 个相依组分如图 3 所示. 可以看出, DC1 中具有典型氨基酸成分, DC2 中具有典型黄酮类化合物特征, DC3 中挥发油特征较为明显. 这说明 DCA 具有从混合质谱指纹图中提取特定相依组分信息的能力, 研究中提取得到的相依组分信息, 体现了菊花中某些成分共同存在的特征. 直接以质谱响应值进行半定量分析, 利用多元线性回归分析各相依组分在泡饮过程中的相对浓度, 变化趋势如图 4 所示.

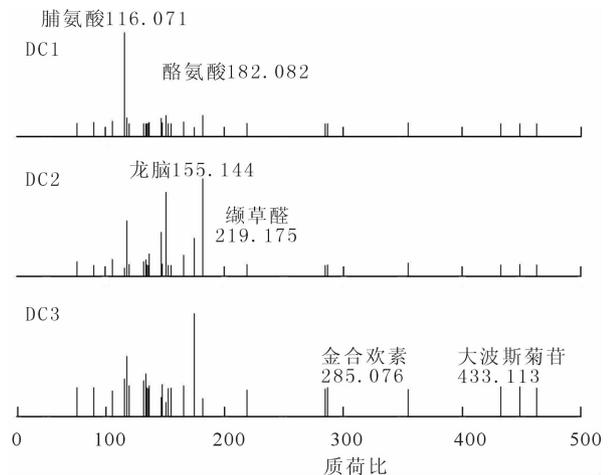


图 3 DCA 提取得到的 3 个相依组分

从图 4 可以看出, 3 个相依组分前 2 次泡饮时相对含量变化较大, 而以后则渐趋平缓, 研究结果能

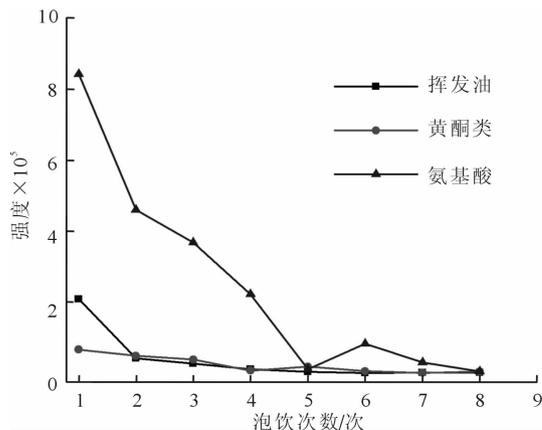


图4 菊花泡饮过程中相依组分相对浓度变化

够有效说明菊花在泡饮的前2次颜色和气味比较明显,以后则慢慢变淡的实验现象。第1次泡饮结果氨基酸类的相对强度值依次大于挥发油和黄酮类化合物,这说明菊花溶于水的氨基酸具有比较高的质谱响应值。DC1所代表氨基酸前5次泡饮中变化幅度较大,DC3代表的挥发油次之,而DC2代表的黄酮类化合物则变化较小,这些现象与菊花中有机组分在水中的溶解度有较大差异具有一定的相关性。结合3个相依组分响应强度的变化趋势与口感饮用效果,在本实验条件下冲泡5次最佳。

4 结论

采用高分辨质谱法(HRMS)对菊花泡饮过程分析,以准确分子量直接定性菊花泡饮过程中27种典型成分,结合其典型成分质谱响应强度,得到菊花泡饮过程的高分辨质谱指纹图。进一步以相依成分分析(DCA)解析,得到能够体现菊花泡饮过程典型化学成分特征的3组相依组分(DC),并以DC相对浓度变化表征菊花泡饮过程。研究结果表明,3组DC与挥发油、氨基酸、黄酮类为主要特征的菊花中典型成分相对应,不同类型的化合物质谱相应值具有较大的差异,菊花泡饮时前2次相依组分相对含量变化较大;冲泡5次后菊花中溶于水的活性成分的种类明显减少、相对含量也明显降低而不再具有饮用价值。

基于特定混合体系中先验的化学成分信息,直接利用Orbitrap Exactive高分辨质谱仪采集得到准确分子量信息直接定性确认相关的化学成分,可以避免繁琐的色谱等分离分析条件,进一步利用各成分的质谱响应值作为定量信息能够得到混合体系的高分辨质谱指纹图。DCA具有从高分辨质谱指纹图谱中解析得到其中包含的相依组分信息的能力,

HRMS-DCA为菊花泡饮过程分析或其他天然产物炮制加工过程分析提供了新途径。

参考文献:

- [1] 谢媛媛,袁丹,田慧芳,等. 怀菊花化学成分的研究[J]. 中国药物化学杂志,2009,19(4):270.
- [2] 张清华,张玲. 菊花化学成分及药理作用的进展[J]. 食品与药品,2007,9(2):60.
- [3] Alvarez Castellanos P P, Bishop C D, Pascual Villalobos M J. Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens[J]. Phytochemistry, 2001, 57(7):99.
- [4] 李君山,蔡少青. 雪莲花类药材的化学药理研究进展[J]. 中国药学杂志,1998,33(8):449.
- [5] 曹伟国,刘志勤,邵云. 黄酮类化合物的研究进展[J]. 西北植物学报,2003,23(12):2241.
- [6] Wang Guoqing, Ding Qingzhu, Hou Zhenyu. Independent component analysis and its applications in signal processing for analytical chemistry[J]. TrAC-Trends in Analytical Chemistry, 2008, 27:368.
- [7] 王国庆,彭杨,刘绍文,等. 基于自适应核独立成分分析的活性二氧化锰助剂光谱信息的提取[J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(5):13403.
- [8] Wang Guoqing, Dong Chunhong, Shang Yukuan, et al. Characterization of radix rehmanniae processing procedure using FT-IR spectroscopy through nonnegative independent component analysis[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 394(3):827.
- [9] Wang Guoqing, Hou Zhenyu, Peng Yang, et al. Adaptive kernel independent component analysis and UV spectrometry applied to characterize the procedure for processing prepared rhubarb roots[J]. Analyst, 2011, 136:4552.
- [10] 王国庆,丁青竹,孙雨安,等. 基于独立成分分析的乙酰螺旋霉素片成分分布及共存性研究[J]. 郑州轻工业学院学报:自然科学版,2008,23(2):7.
- [11] Li Rui, Li Hongwei, Wang Fasong. Dependent component analysis: Concepts and algorithms[J]. Journal of Computers, 2010, 5(4):589.
- [12] Kopriva I, Peršin A, Puizina-Ivic N, et al. Robust demarcation of basal cell carcinoma by dependent component analysis-based segmentation of multi-spectral fluorescence images[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B, 2010, 100(1-2):10.
- [13] Hyvärinen A, Shimizu S A. Quasi-stochastic gradient algorithm for variance-dependent component analysis[J]. Lecture Notes in Computer Sciences, 2006, 41(32):211.
- [14] 孙昱,马晓斌,刘建勋. 野菊花心血管活性部位化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(1):73.