

鸢尾中鸢尾酮的气相色谱 - 质谱联机分析

郭 涛, 杨克迪, 陈 钧
(江苏大学生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212013)

摘 要: 目的: 建立鸢尾原料中鸢尾酮含量的分析方法。方法: 采用气相色谱 - 质谱法定性鉴定鸢尾酮的三种异构体, 气相色谱外标法定量分析鸢尾酮的含量。结果: 依据质谱裂解规律初步鉴定三种鸢尾酮的异构体, 测定了两批原料中鸢尾酮的含量。结论: 采用气相色谱 - 质谱法及气相色谱法分析鸢尾酮, 简便、高效、准确、分析时间适中。

关键词: 鸢尾酮; 气相色谱法; 气相色谱 - 质谱法

Analysis of Irone in Iris Tectorum by GC/MS

GUO Tao, YANG Ke-di, CHEN Jun
(College of Biology Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Objective: To establish a method for determination of Irone in Iris tectorum. Method: The three isomers of Irone were quantitatively analyzed by GC-MS. Irone in Iris tectorum was determined according to the extra-calibration curve by GC. Results: The three isomers of irone were speculated according to the MS splitting decomposition law. Irone in two passel of Iris tectorum material was determined. Conclusion: The analysis method for irone using GC-MS and GC was high-efficient, precise. The analysis time was acceptable.

Key words: Irone; GC; GC-MS

收稿日期: 2003-12-09

基金项目 中国烟草总公司云南省公司项目(2001(B)203)

作者简介: 郭涛, 男, 硕士研究生, 主要从事医药学研究。

和酸度调节剂, 可有效抑制拖尾并延长保留时间。当流动相中磷酸比例为 0.2% 时, 峰形对称, pH 值约等于 3。
3.4 采用醇溶冷藏沉降法可以除去样品中的多糖等杂质, 而有效成分不损失, 有利于对柱子的保护。

4 结 论

本文建立的 HPLC 法测定蜂王浆及制品中 10-HDA 方法, 样品处理过程简单、分离效果好, 16min 可完成测定, 结果准确、快速, 适用于日常分析。

参考文献:

- [1] 凌关迪. 保健食品原料手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 41-43.
- [2] 张惠迪, 等. 蜂王浆中 10-HDA 和 TLCS 分析[J]. 药物分析杂志, 1987, 7(6): 338-339.
- [3] 张莉萍. 蜂王浆中 10-羟-2-癸烯酸的含量测定[J]. 中国中

药杂志, 1990, 15(6): 30.

- [4] 中华人民共和国国家标准, GB9697-88, 蜂王浆[S]. 北京: 中国标准出版社.
- [5] 王书俊, 崔智奇, 李翰章. HPLC 法测定蜂王浆制剂中的 10-HDA 及防腐剂的含量[J]. 中成药, 1995, 17(6): 11-12.
- [6] 范晖, 何承顺, 韩红岩. 高效液相色谱法测定蜜蜂蜂体王浆酸[J]. 色谱, 1999, 17(3): 301-302.
- [7] 六慕唐, 等. 应用反相液相色谱法测定人参蜂王浆口服液 中 10-羧基-2-癸烯酸[J]. 中药通报, 1987, 12(6): 41-43.
- [8] 吴禾, 等. 高效液相色谱法测定珍珠素及蜂王浆中 10-羧基-2-癸烯酸的含量[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(3): 201-202.
- [9] 俞建平, 等. HPLC 法测定虫草精王浆胶囊中 10-羧基-2-癸烯酸的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(6): 433-435.
- [10] 王书俊, 等. HPLC 法测定蜂王浆制剂中的 10-HDA 及防腐剂含量[J]. 中成药, 1995, 17(6): 11-12.

中图分类号 0657.63

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)01-0172-05

鸢尾(*Iris tectorum*)是重要的香料原料之一,其根茎中含有鸢尾酮(Irone),鸢尾酮具有柔和的甜香、香气清新纯正。国际公认,鸢尾酮是紫罗兰系列名贵香料中最高档的一种,其广泛应用于高档的化妆品、香烟、食品中。新鲜的鸢尾根茎并无香气,经过2-3年、甚至更长时间的陈化,待鸢尾酮逐渐形成后才具有香气;与紫罗兰类似,鸢尾酮以三种异构体(α 、 β 、 γ 型)形式存在(见图1)。其分子结构中存在2个双键,一个双键在C-7和C-8之间,另一个双键有三种不同的位置,位于C-4和C-5之间的为 α -鸢尾酮, β 和 γ 型鸢尾酮的结构特点与此类似。文献报道^[1]:所有的鸢尾酮异构体都有不同的香气特征,其中以(-)-cis- α 和(-)-cis- γ 型最具有鸢尾凝脂的特性,香气淡雅,更令人愉快。这很大程度上与C₂和C₆两个异构中心的相对和绝对构型有关。天然鸢尾根茎精油中所含鸢尾酮,其中大约是75%的 γ -鸢尾酮、25%的 α -鸢尾酮和微量的 β -鸢尾酮。由于天然产物中鸢尾酮的含量甚微,目前国际上获得鸢尾酮的方法主要是化学合成法^[2,3],全世界现在只有少数国家生产鸢尾酮,其价格昂贵,而且世界的需求量也在日益增加。目前关于鸢尾酮的提取和分析方法的文献报道还很少,未曾看到国内有关鸢尾原料中鸢尾酮含量的分析方法报道^[4-8],本文建立了鸢尾酮气相色谱-质谱联机分析方法,为鸢尾中鸢尾酮的含量分析提供依据。

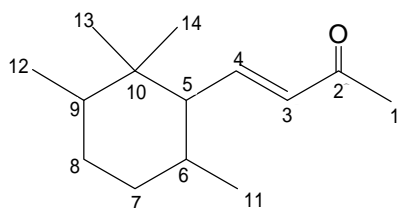


图1 鸢尾酮的结构式(α $\Delta^{6(7)}$ 、 β $\Delta^{5(6)}$ 、 γ $\Delta^{6(11)}$)
Fig.1 Molecular structure of irone^[1] (α $\Delta^{6(7)}$ 、 β $\Delta^{5(6)}$ 、 γ $\Delta^{6(11)}$)

1 材料与方法

1.1 仪器、药材与试剂

H66MC 超声清洗机 无锡超声电子厂; Agilent 4890D 气相色谱仪 美国安捷伦公司; 6890N 气相色谱-质谱联用仪 美国惠普公司 939 薄层制板器 重庆南岸贝尔德仪器技术厂。

原料: 由云南烟草科学研究院提供, 为新鲜鸢尾根茎经过2~3年陈化后切片的自然晾干品(经生药学研究所欧阳臻副教授鉴定为鸢尾科鸢尾属植物鸢尾的根茎), 本研究中将该原料于60℃烘干, 粉碎后过36目筛备用。

鸢尾酮标准品: 美国 Flucka 公司产品, 纯度大于98%。
GF₂₅₄ 薄层层析硅胶: 中国青岛海洋化工集团公司。正己烷、石油醚(沸程60~90℃)均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 样品液制备

准确称取粉末状鸢尾原料40g, 用200ml 石油醚超声提取40min, 重复提取2次, 过滤, 滤液减压浓缩得浸膏; 精密称取适量鸢尾浸膏于5ml 容量瓶中, 加少量正己烷超声促溶1~2min, 然后加正己烷定容至刻度作为供试液。分析时, 供试液经0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 10 μ l 进样。

1.2.2 鸢尾酮 TLC 定性条件

GF₂₅₄ 薄层板: 40mm \times 20mm、厚度0.3mm, 于105℃的烘箱中烘40min 备用。精密称取2mg 鸢尾酮标准品定容于10ml 正己烷溶液中, 点样10 μ l。提取物400mg 加正己烷定容于5ml 容量瓶, 经0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 点样10 μ l, 以石油醚:乙酸乙酯(9:1, V/V)为展开剂, 室温下展开, 展距160mm, 取出, 晾干, 喷0.5%的硫酸香草醛显色, 105℃烘5min。

1.2.3 气相色谱分析条件

Agilent 4890D 气相色谱仪, HP-1 毛细管柱(30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m), 进样口温度250℃, FID 检测器温度为250℃, 起始温度130℃, 保留1min, 程序升温速率3℃/min, 终止温度220℃, 保留10min, 载气氮气, 载气流速0.82ml/min, 总流量为34ml/min, 分流比约40:1。

1.2.4 气相色谱-质谱分析条件

毛细管气相色谱柱 HP-5MS (0.25mm \times 30m \times 0.25 μ m), 载气氦气, 流速50ml/min, 分流比50:1, 进样口温度240℃, 柱温: 初温130℃、保留1min, 终温250℃、保留5min, 升温速率5℃/min。电子轰击源EI, 电离能量70eV, 离子源温度260℃。质量扫描范围为30~380AMU, 进样量1 μ l。

2 结果与讨论

2.1 鸢尾酮 TLC 定性分析

在254nm的紫外灯下观察, 鸢尾酮标准品展开后可观察到2个斑点。R_f=0.70处为显深蓝色; R_f=0.82处显蓝紫色。样品液展开后可见6个斑点, 其中R_f=0.68处的斑点显深蓝色。挖取标准品R_f=0.70处和样品R_f=0.68处的斑点, 以正己烷溶解、过滤, 滤液经0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 进样10 μ l 于气相色谱。经过气相色谱保留时间的比较判断, 标准品R_f=0.70处为 α -、 β -、 γ -鸢尾酮的混合物的斑点; 样品R_f=0.68处为鸢尾酮(γ -鸢

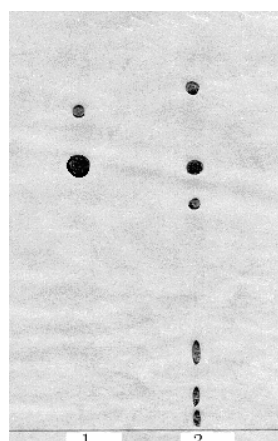


图2 鸢尾酮标准品和样品的TLC图
Fig.2 TLC of irone pure sample and extracts

尾酮) 的斑点。

2.2 气相色谱程序升温条件的选择

不同的程序升温条件对鸢尾酮与其它成分的分有一定的影响。试验发现程序升温速率为 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 时, γ -鸢尾酮与样品中的脂肪酸不能达到基线分离, 而升温速率为 $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 分离效果较好, 试验考察了不同起始温度和终止温度对各组分分离度的影响, 结果表明起始温度 130°C 、终止温度 220°C 时分离效果较好、保留时间适宜。图.2和图.3分别为前述“1气相色谱分析条件”下的标准品和样品的色谱图, 峰1、2、3分别为 α -、 γ -、 β -鸢尾酮, 详细分析见后述内容。

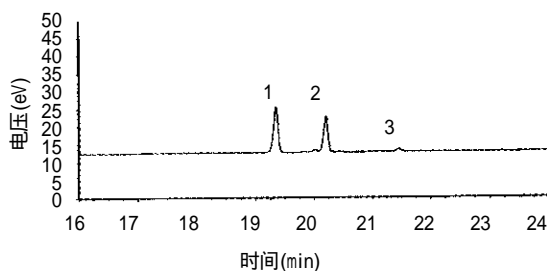


图3 鸢尾酮标准品的气相色谱图
Fig.3 Chromatogram of irone pure sample

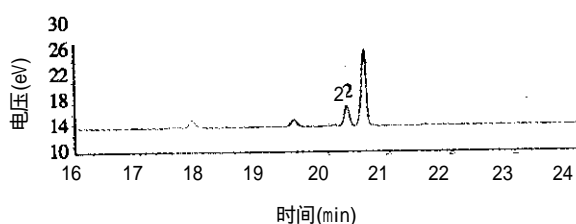


图4 样品的气相色谱图
Fig.4 Chromatogram of extracts

2.3 气相色谱-质谱联用分离与鉴定 α -、 β -、 γ -鸢尾酮三种异构体

图5为鸢尾酮标准品的总离子流质谱图, 图6、图7、图8分别为峰1、峰2、峰3的质谱图。 α -、 β -、 γ -鸢尾酮三种异构体成分的定性是经质谱测定, 在线计算机检索和有关文献的查阅^[9~11], 并结合有机化合物的质谱断裂规律来确定的; 同时已知Flucka公司提供的鸢尾酮标准样品主要为 α -鸢尾酮, 通过气相色谱的峰面积的比较进一步证实峰1、峰2、峰3分别为 α -、 γ -、 β -鸢尾酮; 在图6中分子离子峰 m/z 206, 基峰 m/z 121。图7中Peak2裂解规律与Peak1相似。图8中分子离子峰 m/z 206, 基峰碎片离子 m/z 191。并且试验中通过在样品中加入标准品后峰2得到显著增强, 进一步确定图4样品中峰2为 γ -鸢尾酮。说明鸢尾原料中主要含 γ -鸢尾酮。定量数据由气相色谱的峰面积归一化法得到。图9和图10分别为 α -和 β -鸢尾酮可能的裂解过程。

2.4 气相色谱标准曲线的制备

精密称取鸢尾酮适量, 加正己烷溶解, 配制25、40、80、120、260、600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的鸢尾酮标准溶液, 按前述“气相色谱条件”分析, 以浓度为横坐标, 鸢尾酮峰面积和为纵坐标做线性回归, 得回归方程 $Y=535.1348+2050.4400x$, 线性范围为40~600 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 相关系数 $r=0.9978$ 。信噪比为2时鸢尾酮的最低检出限为8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

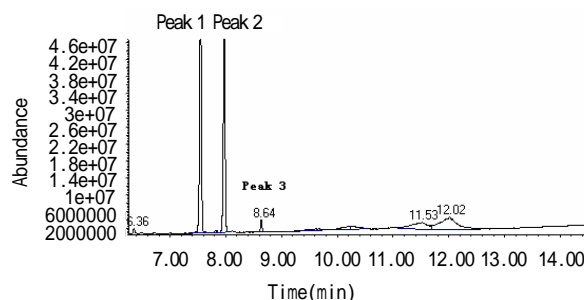


图5 鸢尾酮标准品的总离子流质谱图
Fig.5 Mass spectra of total ion current of irone pure sample

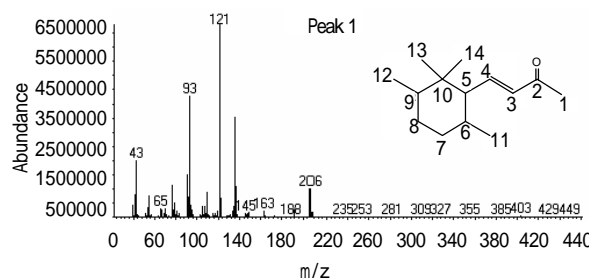


图6 图5中峰1的质谱图
Fig.6 Mass spectra of peak1 of Fig 5

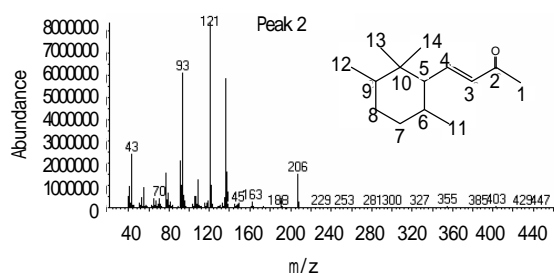


图7 图5中峰2的质谱图

Fig. 7 Mass spectra of peak2 Fig 5

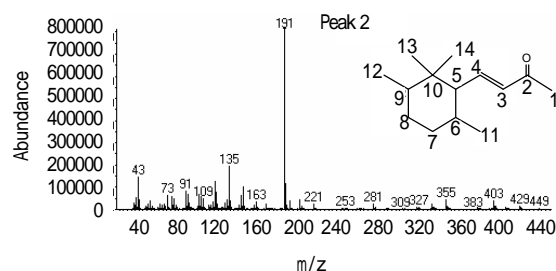
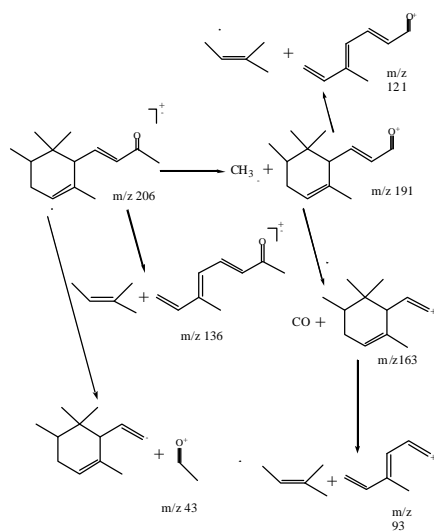


图8 图5中峰3的质谱图

Fig. 8 Mass spectra of peak3 Fig 5

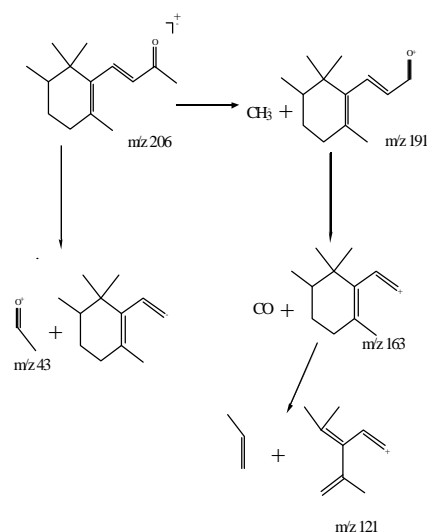
图9 α -鸢尾酮的质谱裂解过程推测Fig. 9 Speculating of splitting process of α -irone

2.5 精密度和重现性试验

以同一份鸢尾酮标准品溶液,连续进样5次,每次10 μ l进行测定,记录色谱图,以色谱峰面积计算, $RSD=1.77\%$ ($n=5$),按鸢尾样品液制备方法提取,按鸢尾样品液制备方法提取制备5份平行的样品供试液,进行进样,每份供试液进样10 μ l, $RSD=2.17\%$ ($n=5$)。

2.6 加样回收率试验

取已知含量的鸢尾原料,添加1ml的0.104mg/ml对照品正己烷溶液于原料中,按照样品液制备方法提取、测定,并计算回收率。平均回收率为97.24%, $RSD=1.92\%$

图10 β -鸢尾酮质谱裂解过程推测Fig. 10 Speculating of splitting process of β -irone

($n=6$)。

2.7 稳定性试验 将样品溶液在室温下贮存,于0、0.5、2、4、8、12、24h测定,结果样品溶液在24h内基本稳定, $RSD=1.87\%$ ($n=7$)。由于分析样品以正己烷为溶剂,而正己烷易挥发,因此样品宜现配现测,配后即测,避免由于溶剂挥发造成的误差。

2.8 样品测定结果

对两批栽培生产环境和陈化条件不同的原料进行测定,含量分别为 102.3×10^{-6} ($n=6$)和 26.7×10^{-6} ($n=6$)。表明鸢尾原料中鸢尾酮的含量差异较大。这与鸢尾原料的生产栽培条件及陈化条件有关,生产栽培条件主要影响了鸢尾中鸢尾酮前体物的含量。而陈化条件则影响了鸢尾酮前体物转化为鸢尾酮的生物转化过程。

3 结论

本文建立了鸢尾酮的气相色谱-质谱法及气相色谱分析方法,高效、准确、分析时间适中,可用于原料中鸢尾酮的定性及定量分析。

参考文献:

- [1] Elisabetta Brenna, Claudio Fuganti, Stefano Serra. From commercial racemic fragrances to odour active enantiopure compounds: the ten isomers of irone[J]. Comptes Rendus Chimie. 2003, 6(5-6): 529-546.
- [2] Pascal Gosselin, Angélique Perrotin and Stephan Mille. New preparation of (3aR*, 6S*, 7aR*)-6,7,7-trimethylhexahydro-2-benzofuran-1(3H)-one: formal synthesis of (±)- γ -irone [J]. Tetrahedron, 2001, 57(4): 529-546.

高效液相色谱法同时测定鳗鱼及其制品中八种磺胺类药物

林海丹, 谢守新, 吴映璇

(广州出入境检验检疫局食品实验室, 广东 广州 510623)

摘 要: 建立了高效液相色谱测定鳗鱼及其制品中磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉等八种磺胺类药物残留量的方法。研究了鳗鱼及其制品中八种磺胺类药物残留的提取、净化和高效液相色谱条件。样品经二氯甲烷提取、MCX 阳离子固相萃取小柱净化, 以 Cloversil C₁₈ 柱, 甲醇、1% 乙酸(V/V) 梯度洗脱分离, 紫外检测器检测、外标法定量。结果表明, 样品添加 0.1mg/kg 的回收率为 80%~93%, 定量测定低限为 0.02mg/kg。方法已应用于实际样品的测定。

关键词: 鳗鱼; 磺胺; 高效液相色谱法; 固相萃取

Determination of Sulfonamides Veterinary Drugs Residues in Eels and Roasted Eels by SPE-HPLC

LIN Hai-dan, XIE Shou-xin, WU Ying-xuan

(Technical Center for Inspection and Quarantine on Food of Guangzhou CIQ, Guangzhou 510623, China)

Abstract: The determination of sulfonamides veterinary drug residues in eels and roasted eels, including sulfadiazine, sulfamerazine, sulfadimidine, sulfamethoxypyridazine, sulfamethoxazole, sulfamonomethoxine, sulfadimethoxine, sulfaminoxaline was studied. Homogenized tissue was extracted with dichloromethane and centrifuged. The supernatant was filtrated and evaporated. The dry residue was dissolved in 1% acetate acid-methanol (65:35, V/V). After addition of hexane, the aqueous layer was collected and diluted with 5% acetate acid. The diluent was applied to a pre-conditioned MCX SPE column, washed with 5% acetate acid-methanol (50:50, V/V) and eluted with 5% ammonia methanol. Elution was analysed by LC on a column (250mm × 4.6mm i.d.) of Cloversil C₁₈ ODS, with 1% acetate acid-methanol as mobile phase (1.0ml/min) and detection at 265nm. The correlation coefficient was larger than 0.999. The detection limit were 0.020mg/kg. The recoveries were in the range of 80%~93%.

收稿日期: 2004-02-12

作者简介: 林海丹(1970-), 女, 硕士研究生, 主要从事食品检验研究工作。

-
- | | |
|--|---|
| [3] 陈学恒. 我国山苍子油产业化技术浅评和利用对策[J]. 香料化妆品, 2002, (4): 31-37. | [7] Becour Beatrice, Courtois Didier, Ehret Charles. Bioconversion [p]. EP, 353683A2, 1989-07-31. |
| [4] Didier Courtois, Charles Ehret, Laurence Marthe Marie Firmin. Process for the production of irones [P]. WO, 9849139, 1998-11-05. | [8] Asanuma Goro, Tamai Yoshin. Process for producing irones [p]. EP, 0499980B1, 1995-04-26. |
| [5] Philip J. Marriott, Robert Shellie, Charles Cornwell. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils [J]. Journal of chromatography A, 2001, 936: 1-22. | [9] 荣国斌, 译. 波谱数据表-有机化合物的结构解析[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2002. |
| [6] Misharina T A, samusenko A L, Belyaeva N V. Gas chromatographic and IR spectroscopic characteristics of tri- and tetramethylcyclohexenyl butenyl ketones [J]. Russian Chemical Bulletin, 2002, 51(9): 1684-1688. | [10] 陈耀祖, 涂亚平. 有机质谱原理及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2001. |
| | [11] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 北京: 科学出版社, 2002. |