

文章编号: 1673—9620 (2008) 03—0056—03

# 电喷雾质谱法测定烟叶提取物中茄尼醇的含量<sup>\*</sup>

周永生, 林富荣

(江苏工业学院 化学化工学院, 江苏 常州 213164)

**摘要:** 采用电喷雾质谱 (ESI—MS) 技术对烟叶提取物中茄尼醇进行定量分析, 条件为: Hypersil ODS 柱, 甲醇—异丙醇 (体积比为 40 : 60) 混合液为流动相, 质谱采用选择离子模式 (SIM)。实验结果表明: 茄尼醇样品质量浓度在  $8 \times 10^{-4} \sim 80 \times 10^{-4}$  mg/mL 范围内有良好线性关系  $Y = 3.53 \times 10^5 + 1.53 \times 10^{14} X$  ( $r = 0.9951$ ); 最低检测限为 0.12 ng; 平均回收率为 99.1%; 6 次测定  $8 \times 10^{-4}$  mg/mL 的茄尼醇标准溶液保留时间的精密度为 0.11%, 峰面积的精密度 0.26%。该方法可避免共流出物对待测组分的干扰, 灵敏度高, 有良好的精密度和准确性, 提高了分析效率。

**关键词:** 电喷雾质谱; 茄尼醇; 定量分析

中图分类号: TQ 460.72

文献标识码: A

## Determination of Solanesol in the Extracts of Tobacco Leaves by Electrospray Ionization Mass Spectrometry

ZHOU Yong-sheng, LIN Fu-rong

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu Polytechnic University, Changzhou 213164, China)

**Abstract:** The qualitative and quantitative analysis of solanesol extracted from tobacco leaves were performed by electrospray ionization quadrupole ion optics mass spectrometry (ESI—MS) in positive ion mode. The analytes were separated on a Hypersil ODS column using isopropyl alcohol—methanol ( $V(\text{alcohol}) : V(\text{methanol}) = 60 : 40$ ) as mobile phase. Mass spectrometer was first tuned with standard solution of solanesol to obtain optimum parameters for detecting, then quantification of solanesol were carried out in selective ion mode. As the results showed, the linear range was  $8 \times 10^{-4} \sim 80 \times 10^{-4}$  mg/mL ( $r = 0.9951$ ). Limit of detection (LOD) of the method was 0.12 ng. Average recovery was 99.1%. The precision of the retention time was 0.11% RSD ( $n = 6$ ) and the precision of the peak area determination is 0.26% RSD ( $n = 6$ ). The method could avoid the disturbance of the co-effluence to solanesol.

**Key words:** Electrospray Ionization Mass Spectrometry; Solanesol; quantitative analysis

茄尼醇是一种不饱和的聚异戊二烯醇, 结构中的非共轭双键使其具有强烈的吸收自由基功能, 可用于合成辅酶 Q<sub>10</sub> 和维生素 K<sub>2</sub>, 在合成抗癌、抗溃疡及治疗心血管病等药物领域有很广泛的应用前

景。本工作采用的电喷雾质谱 (ESI—MS) 是近年来迅速发展起来的一种软电离质谱<sup>[1]</sup>, 适用于极性大、热不稳定的天然化合物。因其具有高灵敏度、高专属性<sup>[2]</sup>等技术特点, 在分析过程中样品制

\* 收稿日期: 2008—06—02

基金项目: 江苏省精细石油化工重点实验室开放课题 (ZDK 07020001)

作者简介: 周永生 (1981—), 男, 江苏盐城人, 助理工程师。

备和色谱分离要求可简化。此外, 在电喷雾离子化条件下, 分子的离子化行为不同于传统的电子轰击 (EI) 电离<sup>[3]</sup>, 以准分子离子为主, 碎片很少, 谱图的解析也相对容易。国内已有对茄尼醇定量分析的报道, 但采用的液相色谱紫外检测器和示差检测器稳定性较差<sup>[4]</sup>。采用电喷雾质谱 (ESI-MS) SIM 模式进行定量分析<sup>[5]</sup>, 弥补了这一不足, 简化了分析过程, 并获得良好的精密度和准确性。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及试剂

岛津 LCMS2010EV 液相色谱质谱联用仪, 电喷雾离子源, 单四极杆检测器; Mettler Toledo AL104 电子天平; 昆山市超声仪器有限公司 KQ-300VDB 超声波清洗器; 金坛市文华科教实验仪器厂 SYZ-550 石英亚沸高纯水蒸馏器; 美国 Millipore SLGV013SL 一次性针头滤器; 岛津公司 8125 手动进样器。

茄尼醇 ( $\geq 98.0\%$ , 山东潍坊安隆医药生物工程有限公司); 甲醇 (99.9%, 色谱纯, TEDIA); 异丙醇 (99.9%, 色谱纯, TEDIA)。

### 1.2 色谱条件

Hypersil ODS 柱 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 大连伊利特分析仪器有限公司); 甲醇-异丙醇 (体积比为 40:60) 混合液为流动相; 流速 0.7 mL/min。

### 1.3 质谱条件

电喷雾电离 (ESI) 源; SIM 正离子检测模式; 曲线脱溶剂管 (CDL) 温度 250 $^{\circ}\text{C}$ ; 曲线脱溶剂单元 (Heat Block) 温度 200 $^{\circ}\text{C}$ ; 喷雾毛细管电压 4.5 V; 检测器电压 1.3 V; 喷雾气流速 1.5 L/min。

### 1.4 样品处理

精密称取适量烟叶浸膏, 甲苯溶解后加入 NaOH 乙醇溶液, 混合液经皂化水洗后分去水相, 得到的有机相经旋蒸后冷却结晶, 得到茄尼醇样品。

## 2 结果与讨论

### 2.1 定性分析

根据总离子流 (TIC) 图中色谱峰的保留时间

和质谱棒状图中的基峰进行定性。按 1.2 色谱条件对茄尼醇标准品和烟叶提取物分别进行测定, 将烟叶提取物与标准品的 TIC 图进行比较。如图 1 所示, 烟叶提取物的保留时间与茄尼醇标准品完全一致, 为 4.78 min。

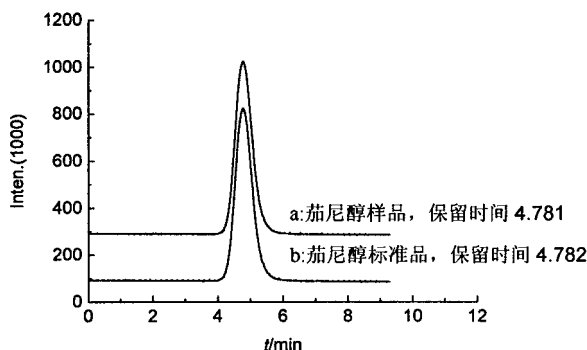


图 1 茄尼醇的总离子流 (TIC) 图

Fig 1 The total ion current chromatogram of solanesol

用电喷雾电离 (ESI) 源, 先在 Scan 正离子模式下扫描得到茄尼醇标准品及烟叶提取物的质谱图。如图 2 所示, 质荷比为 653.50 的离子峰是茄尼醇分子 (相对分子质量 631.1) 加上一个  $\text{Na}^+$  形成的分子离子峰<sup>[1]</sup>。

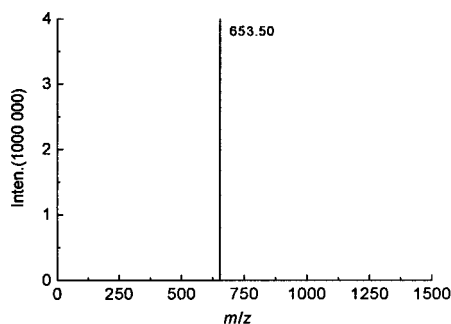


图 2 茄尼醇质谱图

Fig 2 ESI-MS spectrum of solanesol

### 2.2 标准曲线的线性范围

用低浓度的茄尼醇标准溶液对质谱进行调谐, 优化质谱对茄尼醇的检测条件, 以获得最佳灵敏度。精密称取 4 mg 茄尼醇标准品, 用甲醇定容至 100 mL, 得到浓度为 0.04 mg/mL 的茄尼醇标准储备液。用移液管依次移取 1, 2, 3, 5, 10 mL 该储备液至 50 mL 容量瓶, 甲醇定容, 得到 5 个质量浓度分别为  $8 \times 10^{-4}$ ,  $16 \times 10^{-4}$ ,  $24 \times 10^{-4}$ ,  $40 \times 10^{-4}$ ,  $80 \times 10^{-4}$  mg/mL 的样品, 并分别进样, 进样量均为 5  $\mu\text{L}$ , 每个浓度重复进样 3 次, 得峰面积 (Y) 对应于绝对质量 (X) 的线性回归方程为  $Y = 3.53 \times 10^5 + 1.53 \times 10^{14} X$ , 相关系数为

0.995 1, 说明本方法测定茄尼醇含量在  $8 \times 10^{-4} \sim 80 \times 10^{-4}$  mg/mL 范围线性关系良好。

### 2.3 精密度

按 1.2 和 1.3 节色谱质谱条件, 6 次重复测定质量浓度为  $8 \times 10^{-4}$  mg/mL 样品的保留时间和峰面积, 进样量为 5  $\mu$ L, 计算获得保留时间的精密度的 0.11%, 峰面积的精密度的 0.26%, 结果见表 1。由表 1 可见, 方法的精密度良好。

表 1 保留时间和峰面积的精密度

Table 1 The precision of the retention time and the peak area		
序号	保留时间/min	峰面积
1	4.781	708.096
2	4.785	707.862
3	4.779	707.645
4	4.781	708.136
5	4.770	708.057
6	4.784	707.997

### 2.4 回收率

取已知茄尼醇含量的样品 3 份, 精密称量, 分别加入茄尼醇标准品, 测定峰面积, 计算回收率, 结果见表 2 (样品含量为 4.01 ng, 平均回收率为 99.1%, 回收精密度的 0.85%)。

表 2 茄尼醇的回收率

Table 2 The recoveries of solanesol		
加入量/ng	测得量/ng	回收率/%
1.33	5.30	99.3
1.33	5.29	99.1
1.99	5.95	99.2
1.99	5.91	98.5
2.66	6.60	99.0
2.66	6.64	99.6

### 2.5 检测限

将标准溶液稀释进样, 测定其峰高响应值及基线噪音强度, 以 3 倍信噪比计算检测限, 获得 SIM 模式下的检测限为 0.12 ng。

### 2.6 样品测定

精密称取 1.4 节得到的茄尼醇样品 2 mg, 用甲醇定容至 100 mL, 移取 5 mL 至 50 mL 容量瓶, 振荡摇匀后进样 5  $\mu$ L, 重复 3 次, 结果见表 3 (3 次测得平均含量为 90.7%, 精密度的 0.40%)。

表 3 样品中茄尼醇含量的测定结果

Table 3 Determination results of solanesol contents of the sample			
序号	1	2	3
含量/(g/g)	90.1	90.9	91.2

## 3 结 论

本方法的显著优点是避免了共流出物对待测组分的干扰, 无需待测物和其他物质达到理想的基线分离, 即能保证定量的准确性。采用四极杆质量分析器, 弥补了液相色谱紫外检测器和示差检测器稳定性差的不足。实验结果表明, 该法精密度和重复性良好, 回收率理想, 且检测限低, 可实现对大量样品的分析。本方法还可以拓展到对烟草、茶叶等天然植物中多种生物碱的测定。

### 参考文献:

[1] Birendra N. Applied Electrospray Mass Spectrometry [M]. 蒋宏健, 译. Beijing: Chemical Industry Press, 2005. 213—214.

[2] 张明时, 黄俊学. 高效液相色谱法测定烟叶中茄尼醇的含量[J]. 色谱, 2001, 19(5): 470—471.

[3] Klaus T Wanner, Georg Höfner. Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry [M]. Wein Heim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2007. 10—11.

[4] Irma Lavagnini, Franco Magno, Roberta Semaglia, et al. Quantitative Applications of Mass Spectrometry [M]. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2006. 37—53.

[5] Christopher G Herbert, Robert A W Johnstone. Mass spectrometry basics [M]. New York: CRC Press, 2002. 55—60.