

气相色谱-质谱联用测定肌醇含量

杨莉¹, 曲彩红^{2*}, 王新亚¹

(1. 南方医科大学南方医院药学部, 广州 510515; 2. 中山大学附属第三医院药剂科, 广州 510630)

摘要 目的: 建立测定肌醇含量的 GC-MS 法。方法: 以浓硫酸醋酐溶液将肌醇酯化为肌醇六乙酯后再以气-质联用法进行分析。色谱条件为 SE-30 色谱柱 (15 m × 0.2 mm × 0.33 μm), 初始柱温为 160 °C, 程序升温至 240 °C, 柱前压 30 kPa, 质谱条件为 EI 离子源, 肌醇的选择检测离子为 m/z 168。结果: 肌醇含量在 10~500 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好 ($r=0.9982$), 加样回收率为 99.6%~100.5% ($n=9$)。结论: 此检测方法简单、快速, 干扰少, 可用于肌醇的含量测定。

关键词: 肌醇; 气相色谱-质谱联用; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)03-0387-03

GC-MS determination of inositol

YANG Li¹, QU Cai-hong^{2*}, WANG Xin-ya¹

(1. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital of Nanfang Medical University Guangzhou 510515 China)

(2. Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital of Zhongshan University, Guangzhou 510630 China)

Abstract **Objective** To develop a reliable method for determination of inositol by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Method** An SE-30 (15 m × 0.2 mm × 0.33 μm) column was adopted. Initial temperature was set at 160 °C and then programmed rising to 240 °C. Anterior pressure was 30 kPa. EI was applied and selected ion mass (m/z) 168 was monitored for qualification. **Result** The standard curve was linear over the range of 10~500 μg·mL⁻¹ ($r=0.9982$). The average recovery was 99.6%~100.5% ($n=9$). **Conclusion** This method is simple, rapid and reliable. It can be applied to the determination of inositol.

Key words: inositol; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); content determination

肌醇是一种人体必需的营养因子。在动物细胞内, 肌醇以磷脂成分的形式存在, 在植物细胞中, 以植酸形式存在。肌醇在医药工业、食品和饲料工业有较多用途, 多由植酸盐水解得到。肌醇含量测定方法有质量法、微生物法、滴定法、高效液相色谱法和气相色谱法。质量法和微生物法操作烦琐, 费时费力^[1,2]; 滴定法专属性不是很好, 只适用于以肌醇为主要成分的样品测定^[3]; 采用高效液相色谱法和气相色谱法需进行柱前衍生化, 要注意衍生化反应的完全程度及杂质干扰会对测定结果产生影响^[4,5]。我们将肌醇以硫酸醋酐酯化法处理, 再以 GC-MS 方法定性肌醇色谱峰, 测得肌醇含量, 结果令人满意。

1 仪器与试剂

HP 6890 GC/5973 MS 型气相色谱-质谱联用

仪 (美国安捷伦公司); 肌醇对照品 (上海伯奥生物科技有限公司, 批号 20060628); 肌醇样品 (山西康友药业有限公司, 批号 050911, 051103, 051210); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SE-30 弹性石英毛细管柱 (15 m × 0.2 mm × 0.33 μm), 初始柱温为 160 °C, 程序升温至 240 °C; 载气氮气, 柱前压 30 kPa, 分流比 20:1, 进样量 1 μL。质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 扫描范围 29~400 u, EI 离子源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 倍增电压 2.3 kV, 接口温度 280 °C, 选择离子检测 m/z 168。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取肌醇对照品适量 (约 25 mg), 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加乙醇溶解并定

* 通讯作者 Tel: 13760823922; E-mail: zssyqch@126.com

容。分别精密量取 1Q 5Q 10Q 20Q 50Q μL 于 50 mL 试管中, 每管于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用氮吹仪吹干乙醇, 加入浓硫酸醋酐溶液 [$5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸 - 醋酐 (1: 5Q V/V) 5 mL], 于沸水浴中加热反应 60 min 取出放冷, 加水 20 mL, 再在沸水浴中加热 30 min, 放冷至室温, 用 1 mL 氯仿萃取反应产物, 得 1- 5 号系列溶液, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取供试品 20 片, 研细, 混匀, 精密称取适量 (约相当于肌醇 $120\text{ }\mu\text{g}$), 置 50 mL 具塞试管中, 自“加入浓硫酸醋酐溶液……”起,

按“2.2.1”项下方法操作, 即得。

2.3 线性关系考察 取“2.2.1”项下不同浓度肌醇对照品溶液, 按上述色谱条件进样 $1\text{ }\mu\text{L}$ 进行 GC-MS 分析, 得离子流色谱图和质谱图见图 1, 经谱库检索, 并与对照品对照, 确认峰 1 为肌醇乙酰化产物 (肌醇六乙酯)。以峰面积为纵坐标, 肌醇浓度为横坐标绘制标准曲线并进行线性回归, 得回归方程:

$$Y = 238.5 + 1185X \quad r = 0.9982$$

肌醇浓度在 $10\sim 500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

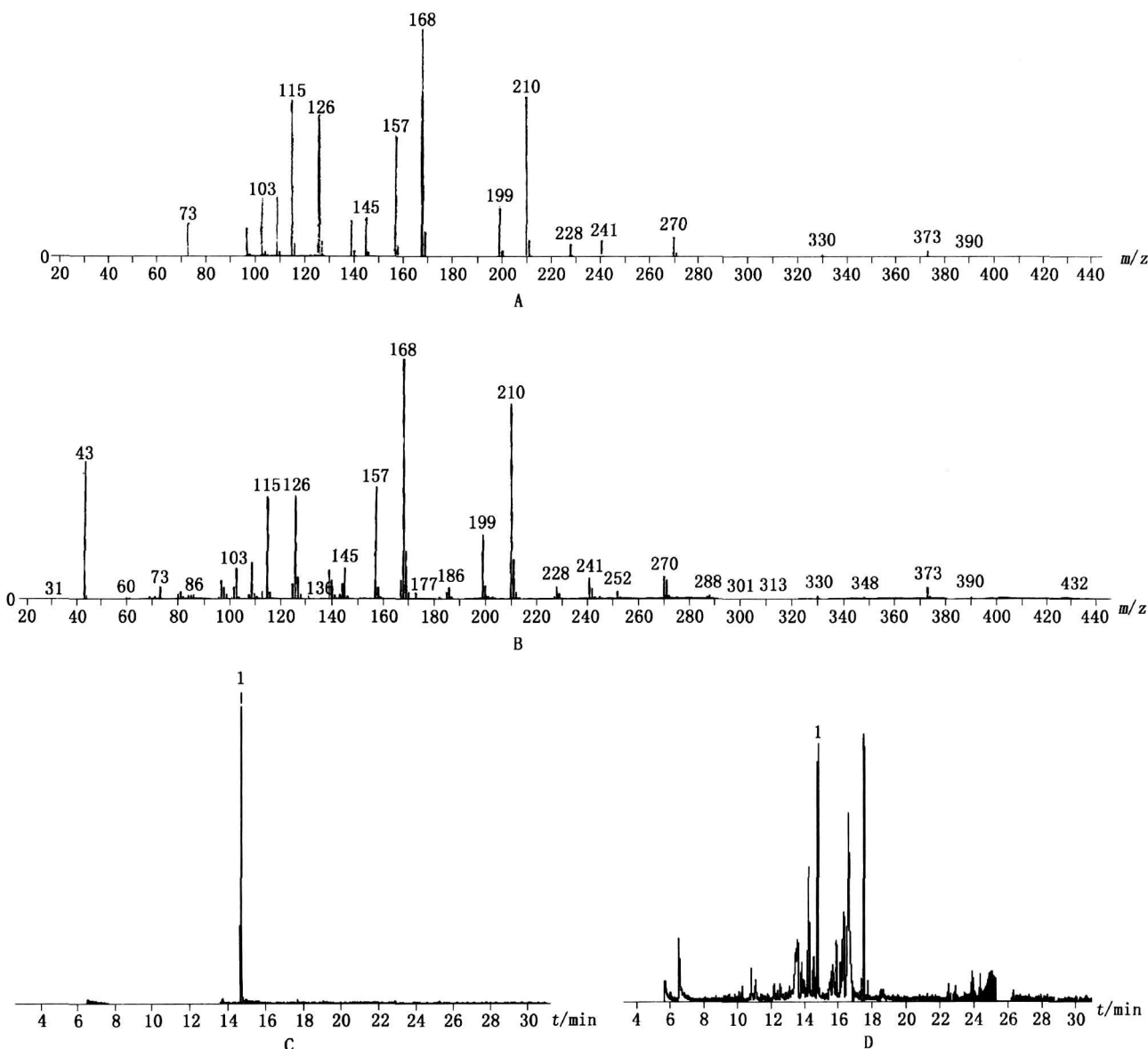


图 1 肌醇含量测定 GC-MS 图

Fig 1 The GC-MS graph of inositol

A. 对照品质谱图 (MS of reference substance) B. 样品质谱图 (MS of sample) C. 对照品总离子流图 (the total ion current graph of reference substance) D. 样品总离子流图 (the total ion current graph of sample)

2.4 精密度试验 按“2.2.1”项下方法配制肌醇对照品的 3 号溶液,精密吸取 1 μL ,按上述色谱条件重复进样 5 次,每次记录峰面积,计算 RSD 为 1.7%。

2.5 重复性试验 精密称取同批样品 6 份,按“2.2.2”项下方法操作,进样 1 μL ,在上述色谱条件下进行分析测定,测定含量的 RSD 为 1.7%,表明重复性较好。

2.6 加样回收率试验 精密称取 9 份约 0.2 g 的肌醇样品于 50 mL 具塞试管中,3 份为 1 组,分别精密加入 10.01, 100.62, 300.07 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3 个浓度的肌醇对照品溶液各 1 mL,每管于 60 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮吹仪吹干乙醇,按“2.2.2”项下方法操作,进样 1 μL ,在上述色谱条件进行分析测定,3 个浓度的平均回收率为 99.6%, 100.5, 98.7%; RSD 分别 1.9%, 0.5%, 1.3%。

2.7 样品测定 取 3 批肌醇样品,按“2.2.2”项下的方法操作,在上述色谱条件下进样 1 μL 测定肌醇含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n=3$)

Tab 1 The determination result of contents of sample

批号 (Lot No.)	肌醇含量 (inositol content) / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
050911	605.15	1.7
051103	648.18	0.7
051210	597.42	1.9

3 讨论

3.1 肌醇是带有 6 个羟基的六碳环状化合物,它能与无机酸、有机酸反应生成各种酯。用硫酸醋酐酯化法可将其酯化为肌醇六乙酯,反应完全迅速。即使对于天然药物中以植酸形式存在的肌醇,该酯化

法亦可直接将其转化为肌醇六乙酯,样品不需预处理,简化了操作过程。反应时应注意温度过高时乙酸酐剧烈沸腾,不利于反应进行,反应宜在沸水浴中加热进行。

3.2 采用气-质联用技术,可准确定性肌醇色谱峰,尤适用于成分较复杂的样品如天然药物中肌醇含量测定,可有效克服杂质干扰,保证分析结果的准确。

3.3 本方法灵敏度高,专属性好,可有效控制药物质量。

参考文献

- 1 AN Deng-kui(安登魁). *Pharmaceutical Analysis* Jinan(济南): Jinan Publishing House(济南出版社), 1992 1458
- 2 General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China(国家质量监督检验检疫总局). Milk powder and formula foods for infant and young children - Determination of inositol(婴儿配方食品和乳粉肌醇的测定). GB/T 5413.25-1997. 1998-09-01
- 3 HU Li-ming(胡利明), CHEN Jun(陈军). Oxidative determination of inositol and its tablets with sodium periodate(高碘酸法测定肌醇及其片剂的含量). *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 1990, 25(2): 734
- 4 WANG Jiang-shan(汪江山), YAN Zheng-yu(严拯宇), JIANG Xin-min(姜新民), et al. Determination of the inositol tablets with precolumn derivatization RP-HPLC(柱前衍生化 RP-HPLC 法测定肌醇片剂的含量). *Prog Pharm Sci*(药学进展), 2003, 27(1): 38
- 5 YAN Zheng-yu(严拯宇), JIANG Xin-min(姜新民), LI Hong-mei(黎红梅), et al. Programmed temperature-GC determination of inositol(程序升温气相色谱法测定肌醇的含量). *Jiangsu Pharm Clin Res*(江苏药学与临床研究), 2002, 10(4): 16

(本文于 2008 年 9 月 18 日修改回)