

文章编号: 1006-2858(2010)09-0719-05

GC 法同时测定韭菜中 3 种硫化物的含量

徐超¹, 谭亮², 陈晓辉², 毕开顺², 贾英¹

(1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016 2. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立 GC 法同时测定韭菜中烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯含量的方法。方法 采用 GC 内标法。色谱柱为 DB-17 石英毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); FID 检测器; 内标物为十一碳烯。结果 烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯质量浓度分别在 0.014 4 ~ 0.130 g L⁻¹ (r = 0.999 6)、0.203 ~ 1.831 g L⁻¹ (r = 0.999 6)、0.412 ~ 3.710 g L⁻¹ (r = 0.999 8) 内与峰面积呈良好的线性关系 (n = 5)。3 种成分的加样回收率均高于 97.5%, RSD 均小于 2.9%。结论 该方法快速、准确, 重现性好, 为韭菜作为一种新保健品的质量控制提供依据。

关键词: 韭菜; 硫化物; 气相色谱法; 含量测定
中图分类号: R 917 文献标志码: A

韭 (*Allium tuberosum* Rottl ex spreng) 为百合科葱属多年生草本植物, 不仅具有强烈特殊气味, 还是一种药用植物^[1]。现代医学研究证明, 其所含的挥发油及含硫化合物, 具有很好的杀螨活性, 具有促进食欲、杀菌消炎和降低血脂的作用, 对治疗高血压及冠心病也有一定的疗效^[2-3]。有关韭菜中挥发性成分的研究, 根据文献报道^[4-8], 主要采用水蒸气蒸馏和溶剂浸提法进行提取, 利用 GC/MS 法对其化学成分进行分离鉴定, 以峰面积归一化法测定各组分的相对百分含量。因此, 有必要对韭菜挥发油进行深入的研究。作者选择韭菜中 3 种特征硫化物为研究对象, 首次采用毛细管气相色谱法同时测定韭菜中烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯的含量 (结构式见图 1), 为韭菜的质量控制提供依据。

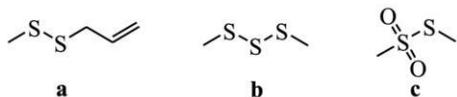


Fig 1 Structures of methyl allyl disulfide (a), dimethyl trisulfide (b) and S-methyl methanethiosulfonate (c) in *Allium tuberosum*

1 仪器与材料

Agilent 6890 毛细管气相色谱仪、氢焰离子化

检测器、Agilent 色谱工作站 (美国 Agilent 公司), BP210S 电子分析天平 (德国 Sartorius 公司)。

烯丙基甲基二硫醚对照品 (methyl allyl disulfide, MAD)、二甲基三硫对照品 (dimethyl trisulfide, DT)、甲基硫代磺酸甲酯对照品 (S-methyl methanethiosulfonate, SM) (纯度质量分数均大于 97%, 北京百灵威公司)。

十一碳烯 (色谱纯, 纯度质量分数大于 97.5%, 美国 Fluka 公司), 二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、无水硫酸钠均 (分析纯, 山东禹王实业有限公司化工分公司)。从不同产地收集 16 批新鲜韭菜。

2 方法与结果

2.1 含水质量分数测定

分别将各个产地韭菜洗净泥土, 晾干浮水。精确称取 100 g 各 4 份。置避光通风处阴干, 直到各样品质量不再改变, 称质量, 计算平均含水质量分数。结果表明各个产地的韭菜含水质量分数不存在明显差异, 均为 9% 左右。结果见表 1。

2.2 色谱条件选择及系统适用性试验

色谱柱: DB-17 石英毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度: 230 °C; 检测器

收稿日期: 2009-12-02

作者简介: 徐超 (1983-), 女 (满族), 辽宁沈阳人, 硕士研究生, E-mail xuchao121717@163.com; 贾英 (1969-), 女 (汉族), 辽宁沈阳人, 副教授, 主要从事中药质量控制、中药有效成分药动学研究, Tel 18940017699, E-mail jiaying-syph@yahoo.com.cn

温度: 270 °C; 检测器: FD; 载气: 氮气; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样 1 μL, 分流比为 10:1。升温程序: 初始温度 35 °C, 停留 5 min 以每分钟 10 °C

升至 85 °C, 以每分钟 5 °C 升至 90 °C, 停留 3 min 以每分钟 5 °C 升至 100 °C, 以每分钟 1 °C 升至 107 °C, 再以每分钟 7 °C 升至 160 °C。

Table 1 The moisture content(w) in *Allium tuberosum* of the different habitats (n=4)

No	Habitat	w /%	No	Habitat	w /%
1	Dalian, Liaoning	90.8	9	Yangquan, Shanxi	91.3
2	Ningbo Zhejiang	90.6	10	Beijing	90.9
3	Changsha Hunan	91.2	11	Nanchang Jiangxi	90.5
4	Changji Xinjiang	91.1	12	Nanyang Henan	91.2
5	Manzhouli Neimengu	90.6	13	Fengcheng Liaoning	90.4
6	Xinan, Shaanxi	90.5	14	Jinzhou, Liaoning	90.6
7	Nanning Guangxi	91.7	15	Chaoxian, Shandong	91.3
8	Haerbin Heilongjiang	91.2	16	Shenyang Liaoning	91.6

按上述色谱条件测定, 理论板数按烯丙基甲基二硫醚计算大于 10 000, 烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯与其相邻色谱峰的

分离度大于 1.5, 拖尾因子均在 0.95~1.05 之间, 重现性好。样品和对照品色谱图见图 2。

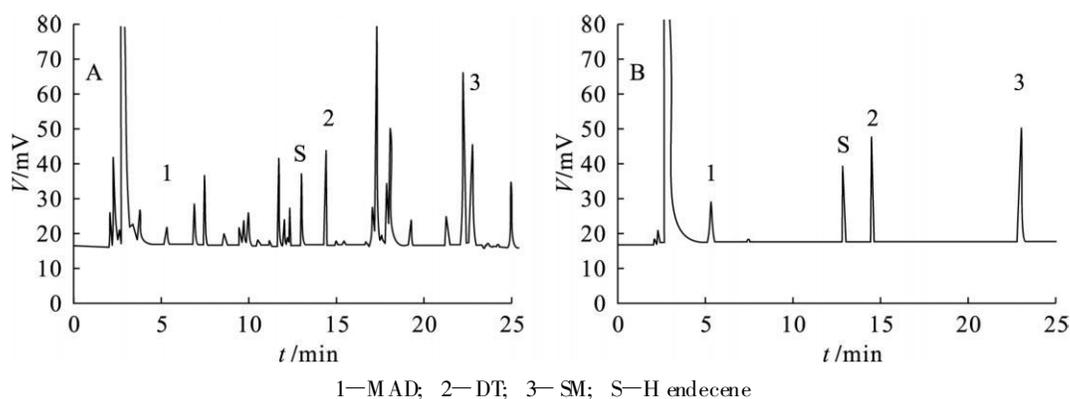


Fig 2 GC-FID chromatograms of *Allium tuberosum* sample (A) and mixed reference substances and an internal standard (B)

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照溶液

分别取 3 种硫化物对照品适量, 精密称定, 加二氯甲烷制成含烯丙基甲基二硫醚质量浓度为 0.718 g·L⁻¹, 二甲基三硫质量浓度为 10.17 g·L⁻¹, 甲基硫代磺酸甲酯质量浓度为 20.61 g·L⁻¹ 储备液。精密量取储备液各 5 mL 置同一 25 mL 量瓶中, 用二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 制成烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯的混合对照溶液, 质量浓度分别为 0.144 2.034 4.122 g·L⁻¹。

2.3.2 内标溶液

取十一碳烯对照品适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加二氯甲烷溶解并稀释至刻度, 制成质量浓度为 2.078 g·L⁻¹ 的内标溶液。

2.3.3 供试溶液

取新鲜韭菜约 100 g 精密称定, 打浆, 加入二氯甲烷 250 mL 超声提取 20 min, 滤过, 挥去溶剂, 加适量无水硫酸钠脱水, 振摇, 静置, 过夜。将脱水后的挥发油置 5 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 0.5 mL, 加二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系考察

分别精密移取上述混和对照品溶液 0.5、1、2、3、4.5 mL 置 5 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 0.5 mL, 再加二氯甲烷稀释至刻度, 摇匀, 得系列标准对照溶液。分别取系列标准溶液按“2.2”条色谱条件分析。以对照品溶液质量浓度 (ρ, g·L⁻¹) 为横坐标, 以对照品与内标峰面积的比值 (A) 为纵坐标, 绘制标准曲线。烯丙基甲基

二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯的回归方程分别为 $A = 2.678\rho + 8.700 \times 10^{-3}$, $r = 0.999$ $6 A = 1.221\rho + 5.270 \times 10^{-2}$, $r = 0.999$ $6 A = 1.032\rho + 2.690 \times 10^{-2}$, $r = 0.999$ 8。结果表明, 烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯质量浓度分别在 $0.0144 \sim 0.130 \text{ g L}^{-1}$ 、 $0.203 \sim 1.831 \text{ g L}^{-1}$ 、 $0.412 \sim 3.710 \text{ g L}^{-1}$ 内与峰面积呈良好线性关系。

2.4.2 精密度试验

取标准对照溶液(烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯的质量浓度为 $0.0576 \sim 0.814 \sim 1.649 \text{ g L}^{-1}$), 在“2.2”色谱条件下重复进样 6 次, 以烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯与内标峰面积的比值计算 RSD, 结果分别为 1.7%、0.9%、1.1%。表明仪器精密度良好。

2.4.3 方法重复性试验

取同一批号新鲜韭菜 6 份(沈阳), 按

“2.3.3”条方法制备供试溶液, 在“2.2”条色谱条件进样分析, 测得烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯含量的 RSD 分别为 2.3%、1.7%、1.8%。表明方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验

取同一供试溶液(沈阳), 于室温下放置, 分别于 0、1、2、4、8、12 h 进样, 以烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯与内标峰面积的比值计算 RSD, 分别为 2.1%、1.0%、1.9%。表明供试溶液室温放置 12 h 内稳定。

2.4.5 回收率试验

称取已知含量的同一批号新鲜韭菜共 9 份(沈阳), 按“2.3.3”条方法制备供试溶液, 按低、中、高质量浓度分别精密加入适量对照品溶液, 每一质量浓度制备 3 份, 在“2.2”条色谱条件进样分析, 计算回收率, 结果见表 2。

Table 2 Results of recovery($n = 9$)

Component	$m_{\text{sample}} / \text{mg}$	$m_{\text{added}} / \text{mg}$	$m_{\text{found}} / \text{mg}$	Recovery /%	Mean recovery /%	RSD /%
MAD	0.1225	0.0718	0.1945	100.3	97.9	2.3
	0.1209	0.0718	0.1915	98.3		
	0.1215	0.0718	0.1920	98.2		
	0.1206	0.1436	0.2625	98.8		
	0.1223	0.1436	0.2585	94.8		
	0.1221	0.1436	0.2620	97.4		
	0.1218	0.2158	0.3395	100.9		
	0.1196	0.2158	0.3225	94.0		
	0.1232	0.2158	0.3360	98.6		
	DT	0.7628	0.407	1.169		
0.7527		0.407	1.152	98.1		
0.7567		0.407	1.166	100.6		
0.7508		0.814	1.550	98.2		
0.7618		0.814	1.579	100.4		
0.7604		0.814	1.542	96.0		
0.7585		1.221	1.896	93.2		
0.7446		1.221	1.915	95.9		
0.7674		1.221	1.992	100.3		
SM		3.506	2.061	5.530	98.2	97.6
	3.460	2.061	5.495	98.7		
	3.478	2.061	5.545	100.3		
	3.451	3.091	6.490	98.3		
	3.501	3.091	6.480	96.4		
	3.495	3.091	6.590	100.1		
	3.486	5.152	8.385	95.1		
	3.422	5.152	8.260	93.9		
	3.527	5.152	8.565	97.8		

2.5 样品含量测定

取不同产地新鲜韭菜,按“2.3.3”条方法制备供试溶液。在“2.2”条色谱条件下,按内标对比法计算新鲜韭菜中 3 种硫化物的含量,根据各

产地韭菜含水量折算成干燥韭菜中烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯的含量。结果见表 3。

Table 3 Contents (c) of sulfides in different *Allium tuberosum* samples (mg g^{-1}) ($n=3$)

No	MAD (fresh)	DT (fresh)	SM (fresh)	MAD (dry)	DT (dry)	SM (dry)
1	1.71×10^{-3}	3.20×10^{-2}	0.150	0.018 5	0.348	1.630
2	2.57×10^{-3}	6.29×10^{-2}	0.178	0.027 3	0.237	1.892
3	3.50×10^{-3}	5.41×10^{-2}	0.100	0.039 7	0.615	1.140
4	4.03×10^{-3}	5.50×10^{-2}	0.112	0.045 3	0.618	1.255
5	1.90×10^{-3}	1.46×10^{-2}	0.035 8	0.020 2	0.155	0.381
6	4.19×10^{-3}	7.43×10^{-2}	0.111	0.044 2	0.782	1.172
7	2.55×10^{-3}	8.20×10^{-2}	0.081 6	0.030 8	0.988	0.983
8	2.37×10^{-3}	1.39×10^{-2}	0.076 1	0.027 0	0.158	0.865
9	3.91×10^{-3}	3.39×10^{-2}	0.110	0.045 0	0.390	1.264
10	1.12×10^{-3}	3.95×10^{-2}	0.102	0.012 3	0.434	1.120
11	1.89×10^{-3}	3.03×10^{-2}	0.082 4	0.053 4	0.319	0.868
12	3.99×10^{-3}	4.24×10^{-2}	0.091 1	0.045 4	0.482	1.035
13	5.58×10^{-2}	5.99×10^{-2}	0.130	0.058 1	0.624	1.351
14	1.39×10^{-3}	3.81×10^{-2}	0.150	0.014 8	0.405	1.599
15	3.59×10^{-3}	3.54×10^{-2}	0.066 0	0.041 3	0.406	0.759
16	2.42×10^{-3}	1.51×10^{-2}	0.069 4	0.028 9	0.180	0.826

MAD (fresh), DT (fresh), SM (fresh) — Contents of in fresh *Allium tuberosum*; MAD (dry), DT (dry), SM (dry) — Contents of in dry *Allium tuberosum*

3 讨论与结论

a. 本研究对 DB-1, HP-5, DB-17 毛细管色谱柱进行考察,结果表明 DB-17 峰形较好,基线平稳,故选择 DB-17 为色谱柱。对石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯 3 种提取溶剂进行考察,结果表明二氯甲烷提取烯丙基甲基二硫醚、二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯含量均较高,故选择二氯甲烷为提取溶剂。又以二氯甲烷作为提取溶剂比较了回流、浸渍、超声 3 种提取方法,结果表明回流提取和超声提取效率一致,考虑到超声提取简便易行,故选择超声提取方法。在此基础上,考察了超声提取的次数和提取时间对实验结果的影响,结果表明超声提取一次、20 min 即可将韭菜中 3 种硫化物成分提取完全。

b. 由表 3 可知,干燥韭菜中 3 种硫化物成分含量分布趋势与新鲜韭菜的相同,16 批韭菜含量测定结果表明,各产地韭菜中均含有这 3 种硫化物,但是成分含量差异较大,二甲基三硫和甲基硫代磺酸甲酯含量较大,烯丙基甲基二硫醚含量较小,广西南宁产的干燥韭菜中二甲基三硫含量最大,为 0.988 mg g^{-1} ,浙江宁波产的干燥韭菜中甲基硫代磺酸甲酯含量最大,为 1.892 mg g^{-1} ,

辽宁凤城产的干燥韭菜中烯丙基甲基二硫醚含量最大,为 0.0581 mg g^{-1} 。

c. 由于韭菜油的提取方法不同,造成其组成成分及各成分含量都有较大差异。本实验采用溶剂浸提法提取韭菜挥发油,避免了传统水蒸气蒸馏法因提取时间过长提取温度过高对挥发油的香气成分的影响^[4],尽可能保证韭菜油的香气成分,继而对韭菜油的化学成分和质量控制做深入的研究。

参考文献:

- [1] 张世琏, 吴莉, 杨光忠, 等. 韭菜中挥发性含硫组分 GC/MS 的研究 [J]. 华中师范大学学报, 1996, 30 (2): 182-185.
- [2] 吴莉, 陈文利. 韭菜中化学成分的生物活性研究 [J]. 化学与生物工程, 2005, 22 (2): 49-51.
- [3] 潘文亮, 刘文义. 营养保健说韭菜 [J]. 河北农业科技, 2002 (8): 43.
- [4] 吴莉, 张平. 气-质联用法检测韭菜中香味成分的研究 [J]. 广东化工, 2005, 32 (7): 67-68.
- [5] 王鸿梅, 冯静. 韭菜挥发油中化学成分的研究 [J]. 天津医科大学学报, 2002, 8 (2): 191-192.
- [6] 卫煜英, 万仁忠. 韭菜挥发油主要成分的气相色谱 / 质谱分析 [J]. 分析化学, 1996, 24 (2): 192-194.
- [7] 张世琏, 吴莉, 杨光忠, 等. 韭菜中挥发性含硫组分

GC/MS 的研究 [J]. 华中师范大学学报, 1996, 30 (2): 182-185.

[8] 孟正木, 王俏先, 操燕明, 等. 草钟乳挥发性成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(3): 139-140.

Simultaneous determination of the content of three sulfides in *Allium tuberosum* by GC

XU Chao¹, TAN Liang², CHEN Xiao-hui², BIK ar shun², JIA Ying¹

(1. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China)

Abstract Objective To determine 3 kinds of sulfides in *Allium tuberosum*, namely methyl allyl disulfide, diethyl trisulfide and S-methyl methane thiosulfonate were quantified. **Methods** The capillary GC system consisted of a DB-17 capillary column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) and hendecene was used as an internal standard. **Results** The linear response ranges of methyl allyl disulfide, diethyl trisulfide and S-methyl methane thiosulfonate were 0.014 4-0.130 g L⁻¹ (r = 0.999 6), 0.203-1.831 g L⁻¹ (r = 0.999 6) and 0.412-3.710 g L⁻¹ (r = 0.999 8), respectively (n = 5). The average recoveries (n = 9) of three sulfides were greater than 97.5% and relative standard deviations were less than 2.9%. **Conclusions** The method is accurate and selective to measure the concentrations of three sulfides in *Allium tuberosum*.

Key words *Allium tuberosum*; sulfide; GC; assay

(上接第 718 页)

Isolation and identification of chemical constituents of roots of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

TIAN Yang¹, HAO Shur-juan¹, MA Yue-ping², ZHANG Zhen-xue¹, WANG Jir-hui²

(1. School of Chemical Engineering, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142 China; 2. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 China)

Abstract Objective To study the chemical constituents from the roots of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. **Methods** The constituents were isolated by chromatographic methods such as silica gel, ODS column chromatography, Sephadex LH-20 and HPLC. Physico-chemical properties and spectroscopic analysis were employed for the structural identification. **Results** Seven compounds were obtained and their structures were identified as 2α, 3α, 23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (1), 2α, 3α, 23-trihydroxyurs-12, 20(30)-dien-28-oic acid (2), 2α, 3α, 24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (3), euscaphic acid (4), ursolic acid (5), oleanolic acid (6) and aurantiamide acetate (7). **Conclusions** Compounds 1, 2, 3 and 7 are obtained from this genus for the first time.

Key words *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; chemical constituent; structure identification