

角鲨烯软胶囊中角鲨烯的鉴定和分析*

Identification and Analysis of Squalene in Capsule

雷 富,许铭本,何小英,张荣灿,姜发军

LEI Fu, XU Ming-ben, He Xiao-ying, ZHANG Rong-can, JIANG Fa-jun

(广西科学院,广西南宁 530007)

(Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China)

摘要:用红外光谱和质谱对角鲨烯软胶囊中的角鲨烯进行成分鉴定,用气相色谱-质谱法测定角鲨烯含量。结果表明:所建立的气相色谱-质谱定量分析方法的平均回收率为 98.7%,相对标准偏差为 5.9%,线性相关系数为 0.9999,最低检出限为 0.6ng/ml。

关键词:角鲨烯 气相色谱-质谱 红外光谱

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2011)03-0199-03

Abstract: Infrared spectroscopy and mass spectrometry were used to identify squalene in capsule, and the content of squalene was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Results showed that the average recovery of the quantitative analysis established by gas chromatography-mass spectrometry was 98.7%; the relative standard deviation was 5.9%; linear correlation coefficient was 0.9999; the detection limit was 0.6ng/ml.

Key words: squalene, gas chromatography-mass spectrometry, infrared spectrum

角鲨烯(Squalene)是一种重要的海洋生物活性物质,化学名为 2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯,别名为鲨烯、三十六烯、角鲛油素或鱼肝油萜,分子式为 $C_{30}H_{50}$,分子量为 410^[1]。

角鲨烯最早在霞鲨的肝油中被发现^[2]。由于具有极高的生物输氧能力和抗氧化能力,该物质具有抗肿瘤^[3,4]、增强机体免疫力和抗衰老^[5]等生理活性,已被广泛用于药物和化妆品。目前,角鲨烯含量测定方法主要有高效液相色谱法^[6]和气相色谱法^[7],其特点是分离效率高、分析速度快、灵敏度高,但定性能力较差,不能直接鉴别化合物。而气相色谱-质谱法既可以直接对未知化合物进行定性,又可以对痕量组分进行定量。本实验利用气相色谱-质谱法进行角鲨烯的检测和分析。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Nicolet 5700 型傅立叶变换红外光谱仪(DTGS 检测器),Agilent6890N 气相色谱仪,Agilent5975C 质谱仪,角鲨烯标准品(中国药品生物制品检定所,标称含量 99.5%,0.5 毫升/支,批号 140721-200601),正己烷为色谱纯。

1.2 角鲨烯标准储备溶液的制备

准确称取 0.0880g 角鲨烯标准品,置 10ml 容量瓶中,加正己烷至刻度,混匀,制成浓度为 8.80mg/ml 的标准储备液。

1.3 角鲨烯标准中间溶液的制备

准确移取角鲨烯标准储备液 3ml,置 100ml 容量瓶中,加正己烷至刻度,混匀,制成浓度为 0.264mg/ml 的标准中间液。

1.4 角鲨烯标准使用液的制备

分别移取角鲨烯标准中间液 1ml、2ml、3ml,置 10ml 容量瓶中,加正己烷至刻度,混匀,制成浓度分别为 0.02640mg/ml、0.05280mg/ml、0.07920mg/ml 的标准使用液。

收稿日期:2010-07-23

作者简介:雷 富(1975-),男,副研究员,主要从事海洋活性物质提取、海洋环境调查和检测工作。

* 广西科学院基本科研业务费项目(编号:09YJ17HY01)资助。

1.5 角鲨烯软胶囊溶液的制备

准确称取4粒康麦斯牌深海角鲨烯软胶囊,重量分别为1.5028g、1.5046g、1.5073g、1.5065g,分别将胶囊内溶物全量移入10ml容量瓶中,加正己烷定容至刻度,混匀。

1.6 分析条件

1.6.1 红外光谱测试条件

将待测液滴加到CaF₂上,吹干正己烷,将膜片放入红外光谱仪样品室中,在4000~400 cm⁻¹的中红外区扫描,使用DTGS检测器检测,扫描累加64次。

1.6.2 色谱测试条件

色谱柱:HP-5毛细管柱(30m×0.320mm);升温程序:200℃,以40℃/min升温至280℃,保持10min;进样口温度:280℃;载气:高纯氦气;载气流速:1.0ml/min;进样方式:不分流进样;进样量:1μl。

1.6.3 质谱测试条件

EMV:1200V;离子源:230℃;四极杆:150℃;发射电源:34.6uA;电子能量:70.0eV;全扫描,扫描质量范围为20~450amu;溶剂延迟3.0min。

2 结果与分析

2.1 角鲨烯软胶囊样品红外光谱分析

用傅里叶红外光谱仪测定角鲨烯软胶囊待测样品光谱(见图1)和角鲨烯标准样品光谱图(见图2)。利用Nicolet Condensde红外数据库得出待测样品可能属于的化合物(见表1)。从表1可以看出,角鲨烯的匹配度最高,为98%;其次是乙基环己烷,为78%;再次是金刚烷,为73%。从匹配度看,待测物可能是角鲨烯、乙基环己烷或金刚烷。考虑到溶剂为正己烷,故乙基环己烷和金刚烷可能是溶剂中的产物。因此,从数据库检测结果可以确定待测物为角鲨烯。

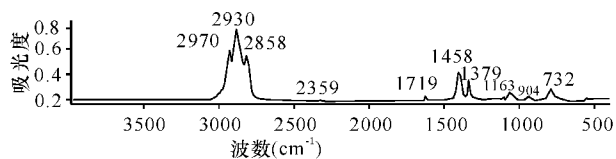


图1 角鲨烯软胶囊样品红外光谱

另外,比较红外光谱图特征可以得出,在波长4000~2000cm⁻¹之间,角鲨烯软胶囊样品和标准样品的红外光谱有着相同的吸收波长,为2970cm⁻¹、2930cm⁻¹、2858cm⁻¹、2359cm⁻¹,而且吸收峰最强;在波长小于2000cm⁻¹时,角鲨烯软胶囊样品和标准

样品吸收峰基本一致,可以确定角鲨烯软胶囊主要成分为角鲨烯。

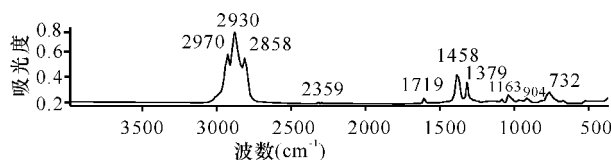


图2 角鲨烯标准品红外光谱

表1 角鲨烯软胶囊样品 Nicolet Condensde 红外数据库检索结果

序号	化合物名称	检索号	分子量	匹配度(%)
1	角鲨烯	47	410	98
2	乙基环己烷	54	112	78
3	金刚烷	58	243	73
4	2,5-二甲基-2,4-己烯	46	110	72
5	萘烷	56	138	71
6	香茅醇	262	156	70

2.2 角鲨烯软胶囊样品气相色谱-质谱分析

角鲨烯软胶囊待测样品用气相色谱-质谱进行分析,得出总离子流图(见图3)以及质谱图(见图4)。从质谱图和NIST08.L质谱数据库检索结果看(见表2),在样品保留时间为5.520s时,样品检索为角鲨烯,而且检索结果中,匹配度最高的为角鲨烯,匹配度96%,说明该样品中含有角鲨烯。

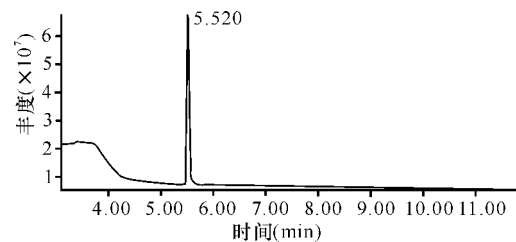


图3 角鲨烯样品总离子流

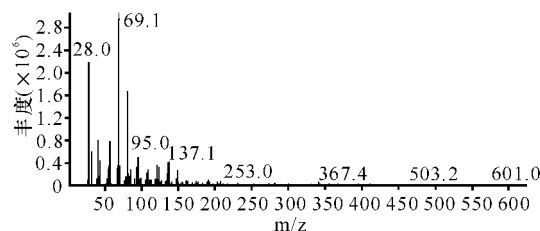


图4 角鲨烯软胶囊样品质谱

表2 角鲨烯软胶囊样品 NIST08.L 质谱数据库检索结果

序号	化合物名称	检索号	分子量	匹配度(%)
1	角鲨烯	198715	410	96
2	角鲨烯	198696	410	64
3	角鲨烯	198699	410	58
4	角鲨烯	198700	410	58
5	角鲨烯	198717	410	58

2.3 角鲨烯软胶囊样品含量气相色谱-质谱分析

2.3.1 分析条件

角鲨烯是一种高度不饱和烃类化合物,分子量较大,沸点高(280℃),难挥发。本实验选用的色谱柱温度为280℃,根据角鲨烯质谱图选择SIM模式,选择检测离子的质荷比(m/z)为69、95、137。

2.3.2 方法的线性范围和最低检出限

移取适量角鲨烯储备液,用正己烷稀释成浓度为0.02640mg/ml、0.05280mg/ml、0.07920mg/ml的角鲨烯标准使用液。取1 μ l进样,以峰面积对浓度进行线性回归。结果表明,在上述范围内线性良好,回归方程为 $Y = 0.03352X - 0.01367$, $R = 0.9999$ 。在测定条件下,当信噪比为3:1时,角鲨烯的最低检出限为0.6ng/ml。

2.3.3 方法的准确度和回收率

采用直接测量标准样品的方法,用正己烷准确配制6个0.0864mg/ml的标准已知样品,取1 μ l进样,并计算回收率。6个样品检测结果分别为0.0881mg/ml、0.0873mg/ml、0.0841mg/ml、0.0830mg/ml、0.0851mg/ml、0.0843mg/ml,检测平均值为0.0853mg/ml,平均回收率为98.7%,相对标准偏差为5.9%。

2.3.4 角鲨烯软胶囊样品含量分析

用所建立的方法对配制的角鲨烯软胶囊溶液进行测试,得出测试样品中角鲨烯平均含量为33.8g/100g(见表3)。说明角鲨烯软胶囊样品中角鲨烯的平均含量在该产品标识含量的范围内。

表3 角鲨烯软胶囊样品气相色谱-质谱法测量结果

胶囊样品	胶囊重量(g)	角鲨烯重量(g)	角鲨烯含量(g/100g)
1	1.5028	0.5227	34.8
2	1.5046	0.5641	37.5
3	1.5073	0.4541	30.1
4	1.5065	0.5022	33.4

3 结束语

本实验利用傅里叶红外光谱法和气相色谱-质

谱法对角鲨烯软胶囊中角鲨烯进行鉴定和含量分析。结果表明,本方法可行、结果准确、有效避免了用单一仪器定性检测化合物可能出现的“假阳性”现象。另外,用气相色谱-质谱法对角鲨烯进行鉴定和分析,具有重复性好、快速和直观等特点,可以为含角鲨烯成分的药品以及保健品的质量检测提供参考。

参考文献:

- [1] Takahira O, Ichiro K, Norio T, et al. Microbial production of squalene by a nicotinic acid-resistant mutant derived from *Fusarium* sp No. 5-128B[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering (Japan), 1994, 77(4): 436-438.
- [2] 赵振东, 孙震. 化学及生物学方法合成角鲨烯研究现状[J]. 林产化学与工业, 2003, 23(04): 95-98.
- [3] Yamaguchi T, Nakagawa M, Hidaka K, et al. Potentiation by squalene of antitumor effect of 3-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl) methyl]-1-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea in a murine tumor system[J]. Jpn J Cancer Res (GANN), 1985, 76(10): 1021-1026.
- [4] Nakagawa M, Yamaguchi T, Fukawa H, et al. Potentiation by squalene of the cyto-toxicity of anticancer agents against cultured mammalian cells and murine tumor[J]. Jpn J Cancer Res (GANN), 1985, 76(04): 315-520.
- [5] Ohkuma T, Otagiri K, Tanaka S, et al. Intensification of host's immunity by squalene in sarcoma 180 bearing ICR mice[J]. Pharmacobio-dyn, 1983, 6(02): 148-151.
- [6] 陈全斌, 程忠泉, 杨建香, 等. 罗汉果种仁油中角鲨烯的高效液相色谱分析[J]. 广西科学, 2006, 13(02): 118-120.
- [7] 车欣颖, 卢雯. 气相色谱法测定角鲨烯软胶囊中角鲨烯含量[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2008, 29(12): 1475-1476.

(责任编辑:陈小玲)