

气相色谱/质谱法鉴定黑芝麻中黑色素的类型

尹佩玉¹, 陆懋荪¹, 孔庆山¹, 容蓉², 刘钢³

(1. 青岛大学化学系, 山东 青岛 266071; 2. 山东中医药大学天然药物实验室, 山东 济南 250014;

3. 山东省商检局, 山东 青岛 266002)

摘要:为获得天然高分子化合物黑芝麻中黑色素的分子结构信息, 对其进行碱熔降解, 然后对降解产物进行硅烷化衍生, 再利用气相色谱/质谱联用分析, 结果发现产物中含有儿茶酚、对苯二酚和儿茶酸, 从而证明黑芝麻中的黑色素具有儿茶酚型黑色素的特征。

关键词:气相色谱/质谱法; 黑色素; 黑芝麻

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2001)03-0268-02

1 引言

黑色素(melanin)是对广泛分布于动植物界、结构复杂多样的黑色难溶性色素的总称。它是一种生物大分子, 难溶于水, 不溶于有机溶剂, 其分子结构虽经过多年的研究, 至今尚不完全清楚。

在动植物体内, 一些黑色素具有抵御、保护功能, 在人体中亦参与许多生理、病理活动。研究其结构可以帮助我们更好地了解一些疾病(如恶性肿瘤)的发病机制并予以控制。目前较为普遍接受的观点是按照其结构单元对黑色素进行分类。Nicolaus 等人^[1]在 20 世纪 60 年代根据不同来源的黑色素碱熔或高锰酸钾降解产物的不同, 提出降解产物以吡啶、吡咯及其衍生物为主的黑色素属于吡啶型, 以儿茶酚(邻苯二酚)及酚酸类物质为主的属于儿茶酚型黑色素。

对儿茶酚型黑色素的碱熔产物进行分离鉴定一直沿用薄层色谱或纸色谱法。本文采用气相色谱/质谱(GC/MS)联用方法鉴定黑芝麻中黑色素的碱熔产物, 提高了鉴定的灵敏度和可靠性, 得到了该色素的分子结构信息。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

QP-5000 色谱/质谱联用仪(日本岛津)。

N, O-双-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(Merck, 色谱纯), 儿茶酸(CARL ROTH-KARLSRUHE, 化学试剂), 儿茶酚(上海试剂三厂, 化学纯), 对苯二酚(上海菲达有限公司, 分析纯), 其他试剂均为分析纯。

2.2 样品处理

2.2.1 样品的提取^[2] 取适量黑芝麻, 用水洗净, 以 0.5%~5% 的碱溶液浸泡 8 h~24 h, 过滤, 收集滤出液, 用盐酸酸化至 pH 1~4, 静置分层, 过滤, 用水洗涤滤渣, 烘干备用。

2.2.2 样品的碱熔降解^[1] 取上一步反应所得的黑芝麻中的黑色素 50 mg, 加入 NaOH 粉末 300 mg, Na₂S₂O₄ 50 mg, 置于坩锅中, 滴加少量水使之混匀, 于 308 ℃ (NaNO₃ 盐浴) 反应 10 min, 冷却。用 20 mL 10% Na₂S₂O₄ 转移, 25% 乙酸酸化后离心, 用乙醚(20 mL×5)萃取。合并萃取液, 浓缩至 20 mL, 用含少量 Na₂S₂O₄ 的饱和 NaHCO₃ 溶液萃取(10 mL×3)。将经过萃取的乙醚部分挥干溶剂, 残渣用乙腈溶解备用。

2.2.3 样品碱熔产物的硅烷化^[3] 取 0.5 mL 上一步反应所得的样品降解产物, 加 0.5 mL *N, O*-双-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺, 密封, 在 125 ℃ 的条件下反应 30 min。取样做 GC/MS 分析。

2.2.4 对照品的硅烷化 取对照品约 10 mg, 加乙腈和硅烷化试剂各 0.2 mL, 密封, 于 125 ℃ 条件下反应 30 min, 供 GC/MS 分析。

2.3 GC/MS 分析条件

色谱柱为 DB-1 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm i. d. × 0.25 μm); 氮气作载气, 流速 1 mL/min; 进样 1 μL; 分流比 40:1。柱温程序为 50 ℃ (2 min), 以 5 ℃/min 升至 300 ℃ (3 min)。质谱测定中, 离子源温度为 200 ℃, 电离模式 EI(70 eV), 扫描范围 30 u/s~500 u/s。

3 结果与讨论

黑芝麻中黑色素碱熔产物的分析结果见图 1。

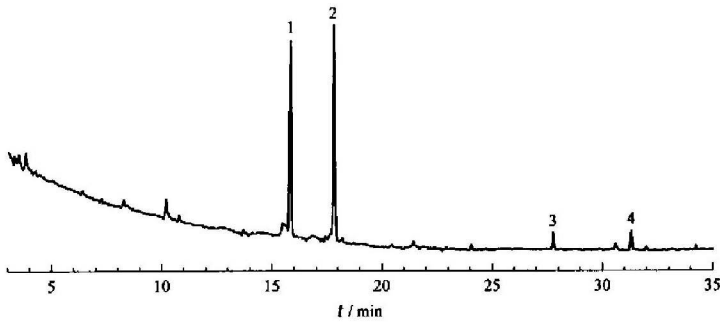


图1 样品的GC/MS总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of sample

1. catechol; 2. 1,4-dihydroxy benzene; 3. catechuic acid; 4. unknown compound.

对各峰进行谱库检索并用对照品对照确认,结果显示碱熔产物中有儿茶酚、对苯二酚和儿茶酸,从而表明黑芝麻的黑色素中含有酚类共轭结构,初步证明黑芝麻的黑色素具有儿茶酚型黑色素的结构特点。少量儿茶酸的存在使该色素具有弱酸性。

对于黑芝麻的黑色素的分子结构,还需要与核磁共振、红外光谱、电子自旋共振等其他分析测试手段相结合来做进一步研究确定。

参考文献:

[1] Nicolaus R A, Piattelli M, Fattorusso E. *Tetrahedron*,

1964,20:1 163-1 172

[2] LU Mao-sun, YIN Pei-yu. Chinese Patent: CN 91104469.8, 1991

陆懋森,尹佩玉. 中国专利:CN 91104469.8, 1991

[3] ZHU Shi-yong, CHEN Shi-jing. *Derivative gas chromatography*. Beijing: Chemical Industry Press, 1993. 171-173

朱世永,陈世京. 衍生物气相色谱法. 北京:化学工业出版社, 1993. 171-173

Structure Characterization of Melanin in Black Sesame by GC/MS

YIN Pei-yu¹, LU Mao-sun¹, KONG Qing-shan¹, RONG Rong², LIU Gang³

(1. Chemistry Department of Qingdao University, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory of Natural Drug, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China;

3. Shandong Import and Export Commodity Inspection Bureau, Qingdao 266002, China)

Abstract: Black sesame melanin, a kind of biopolymer was degraded by alkali fusion to study structure characterization. The degraded products were derivatized with bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide in a sealed tube at 125 °C for 30 min. The silylation derivatives of degradation products were analyzed by GC/MS. Catechol, 1,4-dihydroxy benzene and catechuic acid were detected. This method can be used to characterize the structure type of black sesame melanin.

Key words: gas chromatography/mass spectrometry; melanin; black sesame