

## 气相色谱-质谱法测定茶叶中香豆素的含量

招云芳<sup>1,2</sup>, 陆舍铭<sup>1</sup>, 刘春波<sup>1,3</sup>, 曹秋娥<sup>2</sup>, 缪明明<sup>4</sup>

(1. 云南红塔烟草(集团)有限责任公司技术中心, 云南 玉溪 653100; 2. 云南大学化学科学与工程学院, 云南 昆明 650091;

3. 云南民族大学化学与生物技术学院, 云南 昆明 650031; 4. 云南烟草科学研究院 云南 昆明 650106)

### Determination of Coumarin in Teas by GC/MS

ZHAO Yun-fang<sup>1,2</sup>, LU She-ming<sup>1</sup>, LIU Chun-bo<sup>1,3</sup>, CAO Qiu-e<sup>2</sup>, MIAO Ming-ming<sup>4</sup>

(1. R&D Center of HongTa Tobacco Group Co., Ltd., Yuxi 653100, China; 2. School of Chemistry Science and Technology of Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. School of Chemistry and Biotechnology, Yunnan Nationalities University, Kunming 650031, China; 4. Yunnan Academy of Tobacco Science, Kunming 650106, China)

**Abstract:** Coumarin in teas was determined by GC/MS. The teas were extracted with dichloromethane using a sonicator, purified by a Silica column, and determined by GC/MS with selection ion monitoring mode. The result show that the calibration curve of coumarin is linear( $R=0.999\ 8$ ) between  $0.05\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $4\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . The precision is perfect( $\text{RSD}=2.80\%$ ). The average recoveries are from 96.22% to 100.44%. The detection limit is  $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . The method is suitable for the quantitative analysis of coumarin in natural products.

**Key words:** GC/MS; cigarette coumarin

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0214-02

香豆素是主要豆香型香料之一, 常用于日用香精中<sup>[1]</sup>。但毒理实验发现, 香豆素对小鼠胚胎有毒性, 能引起痛觉消失, 使中性胆碱酯酶发生变化, 对大鼠为可疑致肿瘤物<sup>[2]</sup>。此外, 香豆素还会转化为毒性物质双香豆素, 双香豆素具有抗凝血作用, 会导致动物毛细血管出血而使机体广泛出血, 最终使动物内脏器官受损<sup>[3-4]</sup>, 因此, 对茶叶中香豆素含量的测定很有意义。香豆素的定量分析方法主要有紫外分光光度法<sup>[5]</sup>, 薄层扫描法, 高效液相色谱法<sup>[6]</sup>和气相色谱法<sup>[7]</sup>。本工作采用GC/MS联用技术对几种茶叶进行检测, 并选用性质与香豆素相似的乙酸苯乙酯为内标物进行定量分析。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器、试剂与材料

Clarus 600气相色谱和质谱: 美国PE公司产品; Turbo Vap II 氮吹仪: Caliper Life Sciences Technical Support Center产品; 固相萃取小柱Silica 3cc (500 mg): 美国Waters公司产品。

香豆素(99%): J&K CHEMICAL LTD产品; 二氯甲烷(分析纯): 国药集团化学试剂有限公司产品; 乙酸苯乙酯(98%); 茶叶: 市售购买。

### 1.2 色谱条件

色谱柱为 HP-5MS 柱 ( $30\ \text{m}\times 0.250\ \text{mm}\times 0.25\ \mu\text{m}$ ); 进样量  $1\ \mu\text{L}$ ; 载气(高纯氦气)流速  $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 分流比 10:1; 气化室温度  $250\ ^\circ\text{C}$ ; 程序升温: 初温  $100\ ^\circ\text{C}$ , 保留 1 min, 以

作者简介: 招云芳 (1982~), 女, 云南玉溪人, 硕士研究生。E-mail: wincxyf1982@126.com

通信作者: 陆舍铭 (1976~), 男, 江苏美堰人, 博士, 从事烟草化学研究。E-mail: lusheming@sohu.com

3 °C·min<sup>-1</sup>升温至 160 °C, 继续以 20 °C·min<sup>-1</sup>升至 280 °C, 保留 20 min。

### 1.3 质谱条件

EI 源; 电离电压70 eV; 离子源温度230 °C; 质量扫描范围:  $m/z$  50~400; 进样量1  $\mu$ L; 分流比 10:1; 离子选择:  $m/z$  104,  $m/z$  118; 扫描时间分别为: 7.5~9.5 min, 13~15 min; 谱图检索: WILEY 谱库和NIST谱库。

### 1.4 样品的处理

把茶叶磨成粉末, 准确称取2 g茶叶粉末, 每个样品加入5 mL内标液乙酸苯乙酯, 再加入45 mL二氯甲烷进行萃取。超声20 min, 过滤, 移取10.0 mL萃取液, 用活化好的固相萃取柱纯化, 并用25 mL二氯甲烷冲洗, 氮吹至1.0 mL, 待测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性关系与检测限

按上述色谱条件分别检测一系列浓度水平的标准溶液各1  $\mu$ L, 测定峰面积, 用仪器提供的软件采用内标法做出标准曲线。结果表明, 在0.05~4 mg·L<sup>-1</sup>范围内, 均与对应的峰面积比呈线性关系。香豆素的线性回归方程:  $y = 2.544 3x + 0.058 8$ ,  $R = 0.999 8$ , 最低检测限为8  $\mu$ g·L<sup>-1</sup> (S/N=3)。

### 2.2 精密度及回收率实验

准确称取 2 g 某茶叶粉末, 平行称 6 份, 按 1.4 方法处理, 测得的结果分别为 0.586 6、0.566 8、0.569 4、0.561 6、0.601 8、0.593 2  $\mu$ g·g<sup>-1</sup>, 计算 RSD 为 2.80%, 说明实验的精密度较高。在已知香豆素含量的茶叶中分别加入 1.0 mL 的 0.5、1、2 mg·L<sup>-1</sup> 3 个浓度的标准溶液, 按照本方法测定, 并根据样品的原含量、加标量和测定量计算回收率, 结果得出本方法的回收率范围为 96.22%~100.44%。

### 2.3 样品的测定

对 6 种茶叶 (糯米茶、青山绿水茶、红雪茶、白雪茶、铁观音、普洱茶) 样品进行含量测定, 每种茶叶样品平行测定 3 次, 6 种茶叶样品中均不含香豆素。

## 3 结论

本工作建立的GC/MS法准确度和灵敏度均较高, 操作简便、快速, 适合于天然产物中香豆素含量的检测。

### 参考文献:

- [1] 杨松, 贾英, 毕开顺. RP-HPLC 法测定桂枝中 4 种活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(2): 143-146.
- [2] 王倩, 于治国, 李柯, 等. 反相高效液相色谱法测定大鼠血浆中 6,7-二甲氧基香豆素含量及其在药理学中的应用[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 11(5): 272-274.
- [3] 林生, 刘明韬, 王素娟, 等. 小蜡树香豆素类成分及其抗氧化活性[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1709.
- [4] IRESON C R, PARISH D, PUROHIT A, et al. Development of a sensitive high-performance liquid chromatography method for the detection of 667 COUMATE in vivo[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2003, 84 (2/3): 337-342.
- [5] 马逾英, 钟世红, 贾敏如, 等. 紫外分光光度法测定川白芷中总香豆素类成分的含量[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20(2): 159-160.
- [6] SHARIFI S, MICHAELIS H C, LOTTERER E, et al. Determination of coumarin, 7-hydroxy-coumarin, 7-hydroxycoumarin-glucuronide, and 3-hydroxycoumarin by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Liquid Chromatography, 1996, 16 (6): 1263-1278.
- [7] 李洁, 王超, 武婷, 等. 气相色谱质谱法测定化妆品中三种香豆素类物质的含量[J]. 生命科学仪器, 2006, 4(2): 33-35.