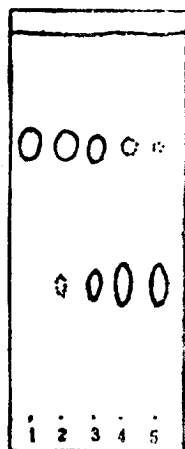


(三) 确定各馏分的主要成分

在反应混合物减压蒸馏后，测定各馏分主要成分是用150×60mm的硅胶板进行的。分别点上已知样、原料、第一馏分、第二馏分、第三馏分。如前展板、吹干、显色如下：



从图3可以看出第一馏分中几乎都是原料，第二馏分中原料占大部分，第三馏分中几乎都是所需产物。用气相色谱测定的结果与薄层色谱分析的相符。

图3 确定各馏分的主要成分的薄层色谱图

注：1为原料间-苯氧基甲苯；2、3、4分别为第一、二、三馏分；5为已知样。

经试验本法检测灵敏度：对间-苯氧基甲苯和间-苯氧基苯甲醛的最小检出量分别为0.154μg, 0.227μg。经实际应用可看到薄层色谱分析对科研起到了很好的促进作用，具有操作简单，使用方便，速度快，效果好，成本低等特点。

参 考 文 献

- (1) 顾可权等, 《拟除虫菊酯》, 华东师范大学出版社, 上海, 1984年.
 - (2) 马慰霖、叶文法, 农药, 3.17(1985).
 - (3) 马慰霖、李中华, 华中师院学报, 1.69(1983).
- (收稿日期: 1987年3月24日)

Application of Thin-Layer Chromatography in the Synthesis of m-Phenoxybenzaldehyde Ye Wenfa and Ma Weilin, Department of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan

This paper describes a simple TLC method for monitoring the synthesis process of m-phenoxybenzaldehyde.

芥子苷主要酶解产物的色/质联用分析

史 坚 周以泉

(南京大学化学系)

王 融 吴和明

(北京医科大学) (南京大学化学系)

菜籽粕是重要的饲用蛋白资源。由于粕中含有水溶性芥子苷，在动物体内会酶解成油性毒物，如异硫氰酸酯、腈类等，使粕的应用受到限制。各地芥子苷种类不一，酶解产物也不完全相同。因此研究芥子苷酶解产物具有重要意义。关于国外十字花科植物中芥子苷酶解产物的色/质联用分析已有报道(1)。但未见有关中国菜籽粕中芥子苷酶解产物的报道。本文探讨了芥子酶的制备及酶解芥子苷的技术，并用色/质联用技术对酶解产物进行定性分析。

实 验 部 分

(一) 仪器和试剂

VG-ZAB-HS双聚焦GC-MS联用仪；20PR-5冷冻离心机(日本日立公司)，0.01mol/L抗坏血酸溶液；柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液(pH7)；二氯甲烷、乙醚、乙醇均为分析纯。

(二) 芥子酶的提取

将150g白芥籽研成粉末状，加冰水450ml，置

于冰箱(4℃)中过夜。用冷冻离心机在-2℃, 5000 r/min 下离心冰水提取物15min, 分出上层黄色清液。置冰浴上，缓慢加入用冰水冷却的等体积乙醇(90%)，将生成沉淀物冷冻离心15min, 弃去清液，加冰水冷却过的乙醇(70%)400ml, 洗涤沉淀，再次离心。再用冰水冷却的蒸馏水稀释沉淀至200ml后离心，分出上层清液。此为酶水提液，经冷冻真空干燥24h, 得白色絮状的芥子酶结晶。

(三) 样品处理

粕应预先干热钝化，即将粕置于100℃恒温箱内0.5h。取出，用乙醚洗涤至澄清。称取以上干燥的粕2.5g, 置于带磨口塞的平底烧瓶中，加入100mg酶(或25ml酶水提液)，25ml缓冲液，3ml抗坏血酸溶液，于50℃恒温水浴上水解2h, 冷至室温。加入25ml二氯甲烷，在振荡器上振荡2h。静置，分出二氯甲烷乳液层。在1000 r/min下离心，分出二氯甲烷溶液，加少许无水硫酸钠，得澄清溶液，以用于色/质联用分析。

(四) 分析条件

色谱条件: SP-1000 玻璃开管柱, 25m×
 ϕ0.25mm, 柱温50℃(5min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 100℃(5min)
 $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 150℃。进样器温度200℃。分流比 100
 :1。载气(He)流量6.2ml/min。

质谱条件: EI源, 70eV, 加速电压8000V, 分辨率2000, 质量扫描范围40—400a.m.u. 指数式扫描, 速率为2S/10倍程。回扫时间0.5s。

结果与讨论

(一) 芥子酶的提取及酶活性的测定

采用普通黑芥籽制备酶, 其活性低。采用新鲜白芥子制得的酶, 酶解效率达 84.3% (表 1)。若缺少冷冻干燥设备, 也可采用酶水提液直接酶解。为除去由白芥子带入的酶解产物, 须用 200ml 乙醚分 4 次萃取酶水提液。酶水提液应现配现用, 不宜存放。

表 1 酶活性测定结果

总芥子苷含量* ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	25.9	35.8
酶解的芥子苷 含量($\mu\text{mol}/\text{g}$)	21.5	30.6
酶解效率 (%)	83.0	85.5
平均酶解效率 (%)	84.3	

* 标准芥子苷含量由江苏省农科院提供

(二) 酶解条件

实验证明酶解温度以 50℃ 为宜。酶用量大于 30mg/g 样品, 响应值趋于稳定。加入少量抗坏血酸可提高酶的活性。若酶解产物浓度过低, 可将二氯甲烷提取液置于冰浴中, 让氮气流过液面而不鼓泡。这种浓缩方法的回收率达 97%。

(三) 色/质联用定性结果

河南菜籽粕中芥子苷的主要酶解产物的色谱分离结果见图 1。根据各峰的 EI 谱, 查找标准图谱(2), 结果见表 2。芥子苷的主要酶解产物为异硫氰酸酯和腈类。

参考文献

- (1) F. S. Gayland et al., J. Sci. Food Agric., 31, 359(1980).
- (2) S. R. Heller et al., EPA/NIH Mass Spectral Data Base, U. S. Dept. of Commerce Philip M. Klutznick, Secretary 1980. Issued December, 1980.

(收稿日期: 1987年3月24日)

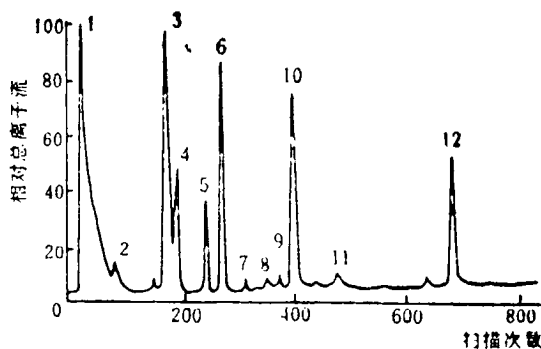


图 1 芥子苷主要酶解产物分离图

表 2 河南菜籽粕中芥子苷的主要酶解产物

峰号	化合物名称	结 构 式	分子 量
2	异硫氰酸丙烯酯	$\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{NCS}$	99
3	异硫氰酸丁烯酯	$\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{NCS}$	113
4	3-甲基, 3-羟基 戊腈	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{CN}$	113
5	1,1'-亚甲基氮 杂环丁烷		126
6	5,6-环硫己腈	$\text{H}_2\text{C}-\overset{\text{S}}{\text{C}}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CN}$	127
7	异硫氰酸异己基 酯	$\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\text{CH}}(\text{CH}_2)_3\text{NCS}$	143
8	5-甲硫基戊腈	$\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_4\text{CN}$	129
9	异硫氰酸正己基 酯	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{NCS}$	145
10	苯丙腈		131
11	6-甲硫基己腈	$\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_5\text{CN}$	145
12	异硫氰酸苯乙基 酯		163

注: 1号峰为溶剂二氯甲烷

Analysis of the Major Products of Enzyme Hydrolysis of Glucosinolates by Gas Chromatography/Mass Spectrometry Shi Jian, Zhou Yiqun Department of Chemistry, Nanjing University, Wang Rong, Beijing Medical University, Wu Heming, Department of Chemistry, Nanjing University.

Myrosinase was extracted from white mustard seeds and was used for enzyme-hydrolysis of glucosinolates. GC-MS was used for identifying the major products of enzyme-hydrolysis. The separation was accomplished on SP-1000 glass capillary column with two-step temperature programm. The constitutional formulas of eleven components were determined.