

韩卫荣,牟 微,赵婷婷,等. 葡萄糖漫反射二维红外光谱[J]. 江苏农业科学,2018,46(15):142-146.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.15.039

葡萄糖漫反射二维红外光谱

韩卫荣,牟 微,赵婷婷,杨晓雪,唐甜甜,于宏伟

(石家庄学院化工学院,河北石家庄 050035)

摘要:采用漫反射红外光谱技术,研究葡萄糖的结构。结果表明,葡萄糖同时存在 OH 伸缩振动模式(ν_{OH})、CH₂ 不对称伸缩振动模式(ν_{asCH_2})、CH₂ 对称伸缩振动模式(ν_{sCH_2})、C—O 伸缩振动模式($\nu_{\text{C-O}}$)、OH 面内弯曲振动模式(δ_{OH})、葡萄糖环振动模式($\nu_{\text{I型}}$)、葡萄糖环呼吸振动模式($\nu_{\text{III型}}$)等。采用漫反射二维红外光谱技术研究葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 和 $\nu_{\text{III型}}$ 的二维红外光谱。结果表明,葡萄糖存在 $\alpha-D-(+)$ -吡喃葡萄糖及 $\beta-D-(+)$ -吡喃葡萄糖 2 种异构体,并进一步研究室温对于葡萄糖异构体结构的影响。

关键词:葡萄糖;异构体;漫反射二维红外光谱;能量来源;新陈代谢

中图分类号: O657.33; Q532⁺.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)15-0142-04

葡萄糖是自然界分布最广的一种单糖。葡萄糖在生物学领域具有重要地位,是活细胞的能量来源和新陈代谢的中间产物^[1-4],此外葡萄糖被广泛应用于食品工业生产的各个领域^[5-9]。已有文献报道,葡萄糖在水溶液中同时存在 $\alpha-D-(+)$ -吡喃葡萄糖和 $\beta-D-(+)$ -吡喃葡萄糖^[10],但由于测试仪器的局限性,关于固相葡萄糖异构体的研究少见报道。红外光谱法被广泛应用于有机化合物的结构研究,但有关固相葡萄糖异构体的研究同样少见报道,这主要是因为固相葡萄糖异构体的红外吸收频率重叠,而传统的红外光谱由于分辨率不高,不能提供更有价值的光谱信息,二维红外光谱的分辨率要优于传统的红外光谱。因此,本研究采用漫反射红外光谱技术,以时间为物理扰动因素,重点开展对葡萄糖漫反射二维红外光谱的研究。

1 材料与方法

1.1 试剂

主要试剂有溴化钾(分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司)、葡萄糖(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Spectrum 100 型中红外光谱仪(分辨率为 4 cm,FR-DTGS 检测器),由美国 Perkinelmer 有限公司提供;漫反射红外光谱附件,由英国 Specac 公司提供。

1.3 方法

1.3.1 红外光谱仪操作条件 室温下试验以溴化钾(含量 100%)为背景,每次对样品(葡萄糖与溴化钾的混合物)漫反射红外光谱信号进行 16 次扫描累加,测定频率范围为 4 000 ~

400 cm⁻¹。中红外光谱仪稳定后 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60 min 测试样品。

1.3.2 数据获得与处理 漫反射一维红外光谱数据(参数部分:通过 K-M 转化)、漫反射二阶及四阶导数红外光谱数据(参数部分:平滑点数为 13)、漫反射去卷积红外光谱数据(参数部分:Gamma = 3.0, Length = 10.0),均采用 Spectrum v 6.3.5 软件进行处理;漫反射二维红外光谱数据(参数部分:Interval = 2.0, Contour Number = 30.0)采用 TD Versin 4.2 软件进行处理。

2 结果与分析

在 4 000 ~ 400 cm⁻¹ 的频率范围内,首先开展葡萄糖漫反射红外光谱研究(图 1)。根据文献报道,3 400 ~ 3 100 cm⁻¹ 频率处较宽的红外吸收峰归属于葡萄糖 O—H 伸缩振动模式(ν_{OH}),2 964 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖 CH₂ 不对称伸缩振动模式(ν_{asCH_2}),2 884 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖 CH₂ 对称伸缩振动模式(ν_{sCH_2}),1 374 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖 OH 面内弯曲振动模式(δ_{OH}),1 070 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖 C—O 伸缩振动模式($\nu_{\text{C-O}}$),917 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖环振动模式($\nu_{\text{I型}}$),而 772 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属于葡萄糖环呼吸振动模式($\nu_{\text{III型}}$)^[11-12]。关于葡萄糖 ν_{OH} 、 ν_{asCH_2} 、 ν_{sCH_2} 、 $\nu_{\text{C-O}}$ 、 δ_{OH} 的红外光谱研究已有文献报道^[11-12],而葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 和 $\nu_{\text{III型}}$ 与其异构体结构有关,但由于传统红外光谱的分辨率不高,相关研究少见报道,因此,重点开展对葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 和 $\nu_{\text{III型}}$ 的漫反射二维红外光谱的研究。

2.1 葡萄糖漫反射红外光谱研究

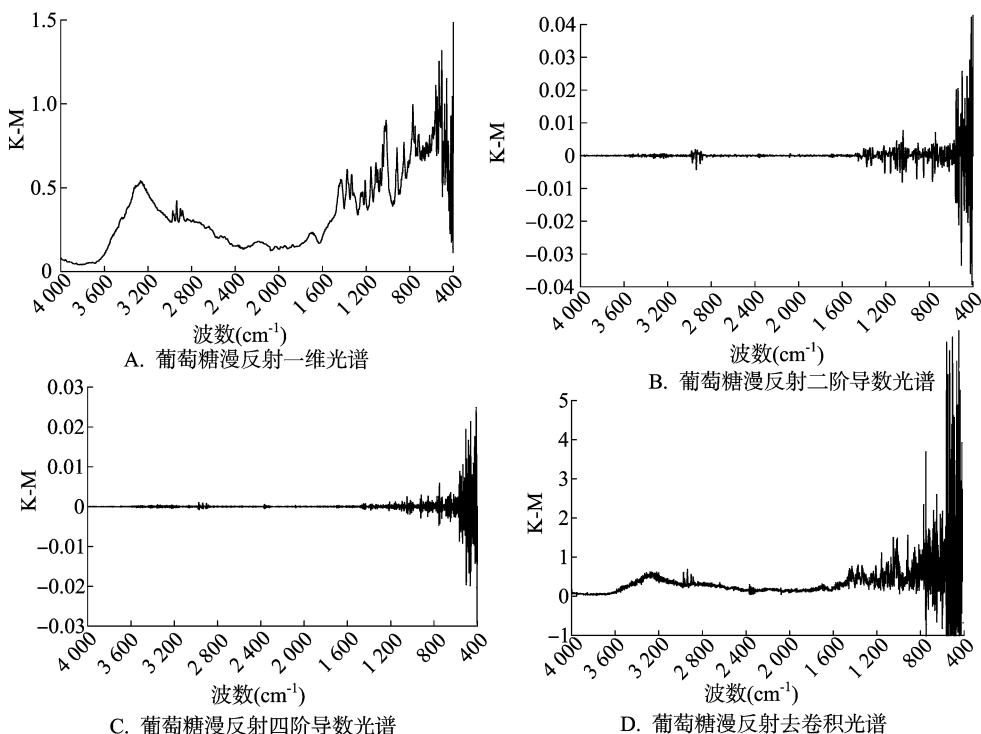
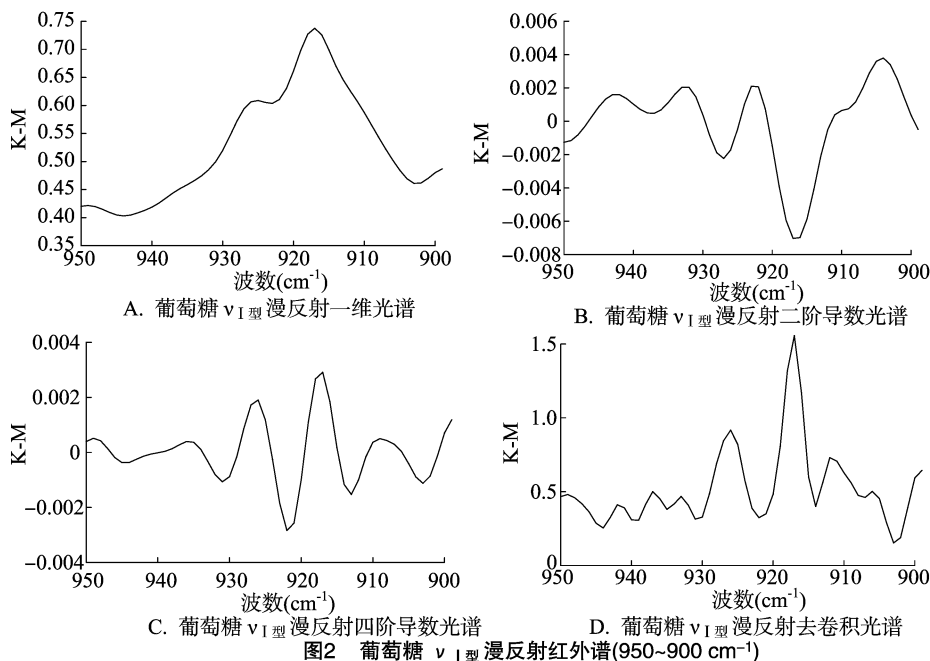
2.1.1 葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 漫反射红外光谱研究 950 ~ 900 cm⁻¹ 频率范围内的红外吸收谱带归属于葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 。首先开展漫反射一维光谱的研究(图 2-A),其中 917 cm⁻¹ 频率处的红外吸收峰归属 $\alpha-D-(+)$ -吡喃葡萄糖环振动红外吸收模式($\nu_{\text{I-}\alpha\text{型}}$);漫反射导数及去卷积光谱的分辨率则有了明显提高(图 2-B、图 2-C、图 2-D),其中在 926 cm⁻¹ 频率处发现

收稿日期:2017-03-13

基金项目:河北省科学技术研究与发展计划(编号:12222802);河北省石家庄市科学技术研究与发展计划(编号:151500182A)。

作者简介:韩卫荣(1968—),女,河北石家庄人,博士,副教授,从事绿色化工生产工艺研究。E-mail:625586274@qq.com。

通信作者:于宏伟,博士,副教授,从事二维红外光谱技术的理论研究。E-mail:yhw0411@163.com。

图1 葡萄糖漫反射红外光谱(4 000~400 cm^{-1})图2 葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 漫反射红外谱(950~900 cm^{-1})

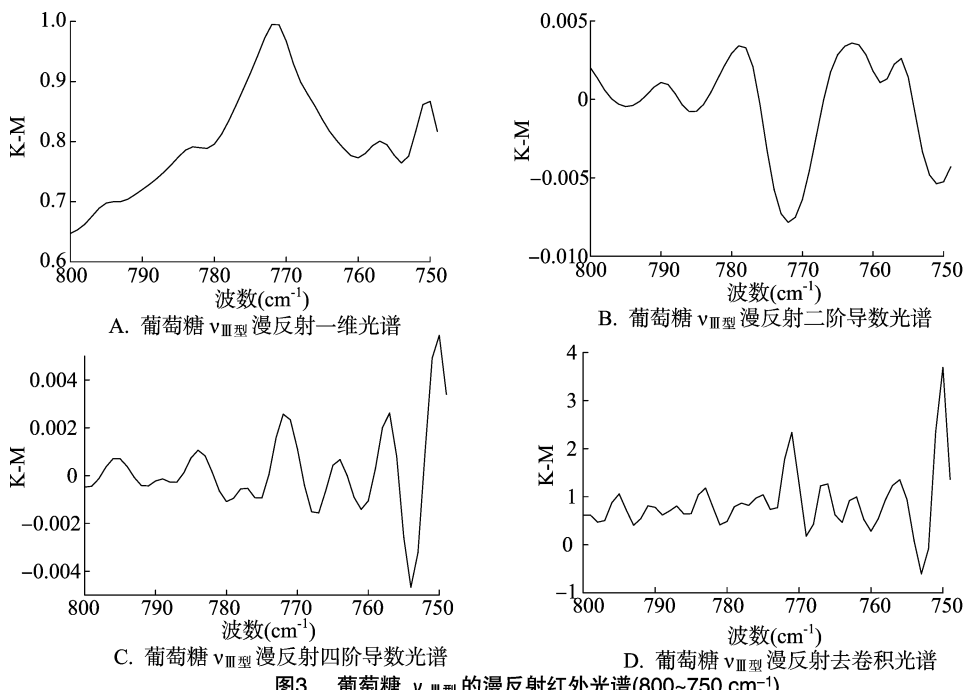
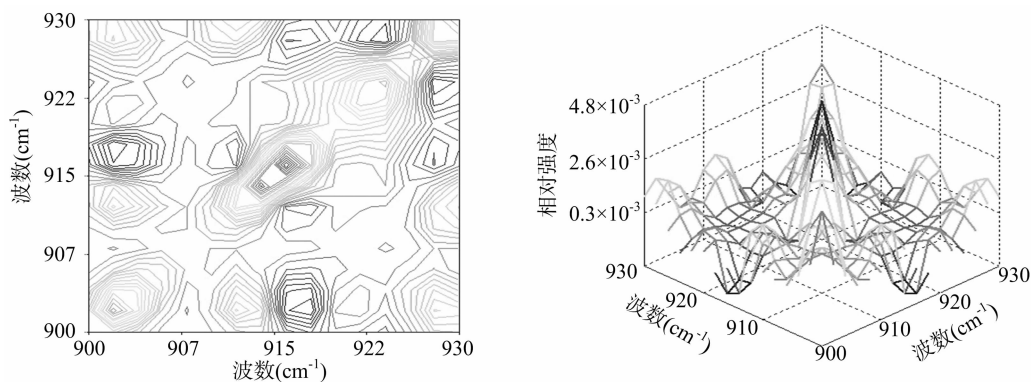
了1个明显的红外吸收峰,归属于 β -D-(+)-吡喃葡萄糖环振动红外吸收模式($\nu_{\text{I型}}$)。

2.1.2 葡萄糖 $\nu_{\text{III型}}$ 漫反射红外光谱研究 在800~750 cm^{-1} 频率范围内,首先开展葡萄糖的漫反射一维及二阶导数红外光谱的研究(图3-A、图3-B),其中,在772 cm^{-1} 频率处的红外吸收峰属于葡萄糖 $\nu_{\text{III型}}$,而相应漫反射四阶导数红外光谱的分辨率有了进一步提高(图3-C),其中,在784 cm^{-1} 频率处发现了一个新的红外吸收峰,归属于 β -D-(+)-吡喃葡萄糖环呼吸振动模式($\nu_{\text{III型}}$),进一步研究漫反射去卷

积红外光谱(图3-D)则得到同样的红外光谱信息。

2.2 葡萄糖漫反射二维红外光谱研究

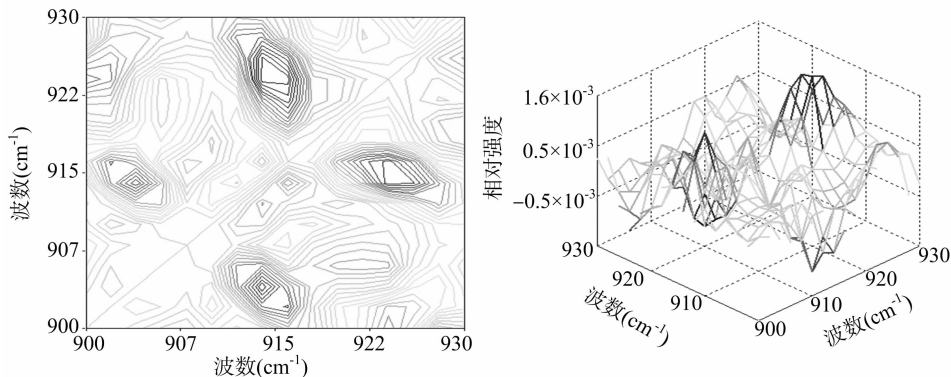
2.2.1 葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 漫反射二维红外光谱研究 在930~900 cm^{-1} 的频率范围内,开展葡萄糖 $\nu_{\text{I型}}$ 漫反射同步二维红外光谱研究(图4)。在(916、916 cm^{-1})和(925、925 cm^{-1})频率位置处发现了2个自动峰,且在930~900 cm^{-1} 的频率范围内没有发现明显的交叉峰,这证明葡萄糖在916、925 cm^{-1} 频率处对应的红外吸收峰之间不存在较强的分子内或分子间相关作用^[13-19]。

图3 葡萄糖 ν_{III} 型的漫反射红外光谱(800~750 cm^{-1})

在 930 ~ 900 cm^{-1} 的频率范围内,进一步开展葡萄糖 ν_{I} 型漫反射异步二维红外光谱研究(图 5)。其中,在(916、925 cm^{-1})频率位置处发现了 1 个明显交叉峰,则进一步说明,葡萄糖 ν_{I} 型的红外吸收频率包括 916、925 cm^{-1} 。其中 925 cm^{-1} 频率处的红外吸收峰归属于 β -D-(+)-吡喃葡萄糖环振动红外吸收模式($\nu_{I-\beta}$ 型),而 916 cm^{-1} 频率处的红外吸收峰均归属于 α -D-(+)-吡喃葡萄糖环振动红外吸

收模式($\nu_{I-\alpha}$ 型),根据 Noda 规则^[13-19]可知,室温下葡萄糖环振动的红外吸收峰变化快慢的顺序为 925 cm^{-1} ($\nu_{I-\beta}$ 型) > 916 cm^{-1} ($\nu_{I-\alpha}$ 型)。

2.2.2 葡萄糖 ν_{III} 型漫反射二维红外光谱研究 在 800 ~ 760 cm^{-1} 的频率范围内,开展葡萄糖漫反射同步二维红外光谱研究(图 6)。在(776、776 cm^{-1})和(785、785 cm^{-1})频率位置处发现了 2 个自动峰,其中(776、776 cm^{-1})频率处的自动



峰强度较大,说明该频率处的红外吸收峰对于温度变化比较敏感。而在(776、785 cm^{-1})频率处发现 1 个弱的交叉峰,证明葡萄糖在 776、785 cm^{-1} 频率处对应的红外吸收峰之间存在较弱的分子内或分子间相关作用。

进一步开展葡萄糖漫反射异步二维红外光谱研究(图 7),在(776、785 cm^{-1})频率位置处发现 1 个相对强度较大的

交叉峰,其中 785 cm^{-1} 频率处的红外吸收峰归属于 β -D-(+)-吡喃葡萄糖环呼吸振动模式($\nu_{\text{III}}-\beta$ 型),而 776 cm^{-1} 频率处的红外吸收峰归属于 α -D-(+)-吡喃葡萄糖环呼吸振动模式($\nu_{\text{III}}-\alpha$ 型),根据 Noda 规则^[13-19],室温下葡萄糖环呼吸振动的红外吸收峰变化快慢的顺序为 785 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\beta$ 型) > 776 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\alpha$ 型)。

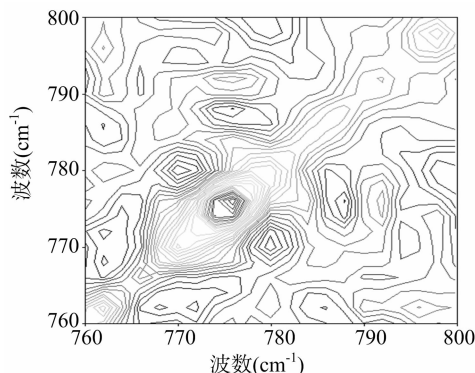


图6 葡萄糖 ν_{III} 型漫反射同步二维红外光谱(800~760 cm^{-1})

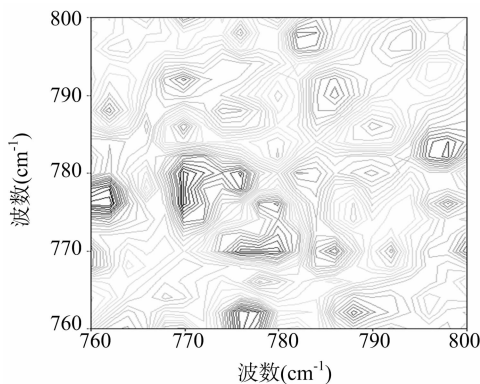
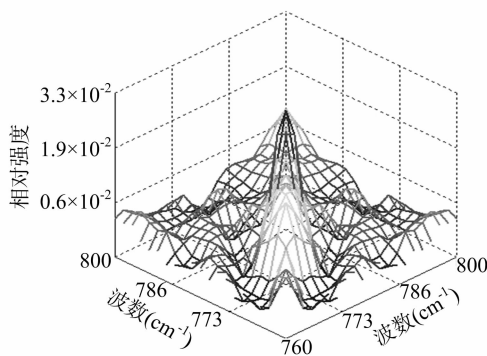
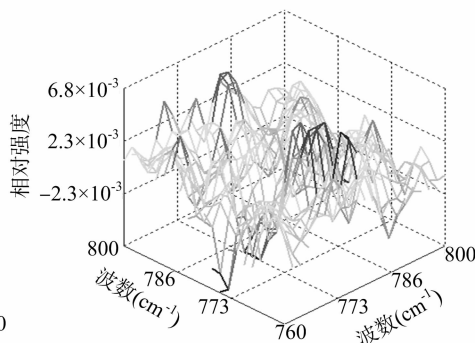


图7 葡萄糖 ν_{III} 型漫反射异步二维红外光谱(800~760 cm^{-1})



3 结论

本研究分别探讨葡萄糖的漫反射红外光谱和漫反射二维红外光谱。结果表明,葡萄糖环振动红外吸收频率包括 925 cm^{-1} ($\nu_{\text{I}}-\beta$ 型)、916 cm^{-1} ($\nu_{\text{I}}-\alpha$ 型),在室温下,葡萄糖环振动的红外吸收峰变化快慢的顺序为 925 cm^{-1} ($\nu_{\text{I}}-\beta$ 型) > 916 cm^{-1} ($\nu_{\text{I}}-\alpha$ 型);同时葡萄糖环呼吸振动模式红外吸收频率包括 785 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\beta$ 型)和 776 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\alpha$ 型),在室温下,葡萄糖环呼吸振动的红外吸收峰变化快慢的顺序为 785 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\beta$ 型) > 776 cm^{-1} ($\nu_{\text{III}}-\alpha$ 型)。本研究拓展了漫反射二维红外光谱在固相葡萄糖异构体结构的研究范围,具有重要的理论研究价值。

参考文献:

- [1] Reddy S Y, Bruice T C. Mechanism of glucose oxidation by quinoprotein soluble glucose dehydrogenase: insights from molecular dynamics studies[J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(8): 2431-2438.
- [2] Tsujimura S, Murata K, Akatsuka W. Exceptionally high glucose current on a hierarchically structured porous carbon electrode with "wired" flavin adenine dinucleotide - dependent glucose

dehydrogenase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(41): 14432-14437.

- [3] Zhang S, Trokowski R, Sherry A D. A paramagnetic CEST agent for imaging glucose by MRI[J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(50): 15288-15289.
- [4] Lewis B E, Schramm V L. Isotope effect - mapping of the ionization of glucose demonstrates unusual charge sharing[J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(26): 7872-7877.
- [5] 江学良, 余露, 张姣, 等. 水热合成单分散碳球的制备与表征[J]. 武汉科技大学学报, 2015, 38(2): 101-105, 116.
- [6] 杨清华, 王焕平, 张文娟, 等. 钙辅助溶胶-凝胶碳热还原法合成超细氮化铝粉体[J]. 化工学报, 2012, 63(6): 1907-1912.
- [7] 夏傲, 于婉茹, 谈国强. 葡萄糖对微波水热合成正极材料 LiFePO_4 的结构和性能的影响[J]. 材料工程, 2016, 44(10): 68-73.
- [8] 张俊喜, 曹小卫, 张铃松, 等. LiFePO_4 表面碳包覆方法中碳源的碳化及碳源选择[J]. 化学通报, 2009, 72(4): 313-319.
- [9] 曾爱文, 刘志坚, 夏建华, 等. 碳包覆 Sn-Co 合金作为锂离子电池负极的研究[J]. 电源技术, 2012, 36(9): 1273-1275.
- [10] 邢其毅, 徐瑞秋, 裴伟伟, 等. 基础有机化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 938-939.

冒玉娟,邢晓玲,沈小艮,等. UPLC-MS/MS 法测定鸡肉中阿维菌素类药物残留检测方法的建立[J]. 江苏农业科学,2018,46(15):146-150. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.15.040

UPLC-MS/MS 法测定鸡肉中阿维菌素类药物残留检测方法的建立

冒玉娟,邢晓玲,沈小艮,何晋瑶

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:为建立 UPLC-MS/MS 同时检测鸡肉中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素残留量的方法,样品以 50% 的乙腈制备组织匀浆液,匀浆液中添加对照药物后采用乙腈沉淀蛋白法,高速离心,用含 0.1% 甲酸的超纯水作为水相,含 0.1% 甲酸的乙腈作为有机相,以 0.5 mL/min 流速梯度洗脱,LC-MS/MS 电喷雾电源(ESI),正离子多反应监测(MRM)模式下进行检测。结果显示,4 种药物标准工作曲线在 20~5 000 ng/g 的范围内线性良好, r^2 为 0.994 4~0.998 6,最低检测限均为 4 ng/g,最低定量限为 20 ng/g。在添加量为 50,500,4 000 ng/g 时平均回收率为 92.89%~94.68%,RSD 为 1.26%~1.94%。故该方法快速、简易可行,能满足鸡肉中阿维菌素类药物残留检测要求。

关键词:UPLC-MS/MS;伊维菌素;阿维菌素;多拉菌素;乙酰氨基阿维菌素;鸡肉;残留

中图分类号:S859.84 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)15-0146-05

随着我国社会经济和生活水平的提高,食品安全问题引起了全社会的广泛重视,采取有效的检测手段对动物源食品中药物残留问题进行风险预警及监督控制是保障人们“舌尖上”安全的重要举措。阿维菌素类药物(ivermectins,AVMs)是由链霉素产生的一组类似于大环内酯类药物的物质,由于有杀虫活性强^[1-2]、杀虫谱广的特点,成为现代农牧业上用量最大的抗寄生虫药物^[3]。目前,已商品化的主要品种有阿维菌素(ivermectin,AVM)、伊维菌素(ivermectin,IVM)、多拉菌素(domectin,DOR)、埃普菌素(epinomectin,EPR)、莫西丁克(mox-idectin,MOX)和塞拉菌素(selamectin,SEM)^[4]。虽然,阿维菌素类药物的作用剂量较小(ng/kg 级),但是此类药物的脂溶性较高,而且具有神经毒性和发育毒素,在体内残留时间较长,因此按照世界卫生组织(WHO)5 级分类标准,仍将其列为高毒化合物^[5]。几乎每个国家都有食品中 AVMs 残

留限量(MRL)的规定,欧盟(EU)、美国(US)、联合国食品法典委员会(CAC)和我国都制定了阿维菌素类药品在哺乳动物体内的农药最高残留限量(MRL),欧盟为 15 $\mu\text{g/kg}$ 、美国为 20 $\mu\text{g/kg}$ 、联合国食品法典委员会和许多国家对该类化合物的残留限量为 10 $\mu\text{g/kg}$ ^[6-7]。

阿维菌素类药物相对分子量较大,气化困难,且尚无可行的气相色谱分析方法。目前,检测方法主要有免疫亲和色谱技术(IAC)、酶联免疫吸附法(ELISA)、液相色谱法(HPLC)等。免疫亲和和色谱技术需要选择合适的抗体固定方式,在洗脱待测抗原时应保证固定的抗体不被解离下来,试验成本较昂贵;酶联免疫吸附法的最低检测限较低,可以满足阿维菌素类药物残留的检测,但是免疫分析检测具有一定的盲目性,以及抗体依赖于国外进口等因素的影响,使酶联免疫法的广泛应用受到限制;HPLC 技术是阿维菌素类较为常用的药物分析技术,其中 HPLC-DAD 检测法灵敏度低,无法精确检测残留量;HPLC-FLD 光检测法是国内目前使用最广泛的阿维菌素类药物残留的检测方法^[7],但是样品前处理复杂,需要进行衍生化,花费较高。近年来,UPLC-MS/MS 法在国内外屡见报道,此法将超高效液相色谱的高速、高分离度与质谱的高

收稿日期:2017-03-10

基金项目:江苏省大学生创新训练项目(编号:201612806012Y)。

作者简介:冒玉娟(1979—),女,江苏泰州人,讲师,硕士,主要从事药物分析及新药研发研究。E-mail:maoyujuan@jsahvc.edu.cn。

[11]翁诗甫.傅里叶变换红外光谱分析[M].北京:化学工业出版社,2010:304-304.

[12]赵瑶兴,孙祥玉.有机分子结构光谱鉴定[M].北京:科学出版社,2003:21-27.

[13]Maekawa H, Ballano G, Toniolo C, et al. Linear and two-dimensional infrared spectroscopic study of the amide I and II modes in fully extended peptide chains[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2011, 115(18):5168-5182.

[14]Noda I. Two-dimensional infrared(2D IR)spectroscopy:theory and applications[J]. Applied Spectroscopy, 1990, 44(4):550-561.

[15]Maekawa H, Ge N H. Comparative study of electrostatic models for the amide-I and -II modes:linear and two-dimensional infrared

spectra[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2010, 114(3):1434-1446.

[16]Wang J. Ab initio-based all-mode two-dimensional infrared spectroscopy of a sugar molecule[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2007, 111(31):9193-9196.

[17]常明,武玉洁,张海燕,等.聚乙烯亚甲基面内摇摆振动二维红外光谱研究[J].红外技术,2015,37(2):161-165.

[18]胡瑞省,刘会茹,周一冉,等.硬脂酸亚甲基变角振动二维红外光谱研究[J].红外技术,2014,36(9):757-761.

[19]王维,隋丽丽,李中秋,等.氮化硅 $\nu(\text{Si}-\text{N})$ 伸缩振动的衰减全反射红外光谱研究[J].理化检验(化学分册),2016,52(11):1241-1245.