

PEAK

NEWS FOR
USERS OF
ANALYTICAL
INSTRUMENTATION

IN THIS ISSUE

- Why Skunks Smell So Bad
- Screening Samples With SFC
- New Ways for Automated On-Column Injection
- Customizing LC for On-Line Quality Control
- Searching for a Dual-Purpose Column
- 3-D HPLC for Complex Samples



Why Skunks Smell So Bad

by William F. Wood, Department of Chemistry, Humboldt State University, Arcata (California)

Natural product chemists have long been interested in the constituents of the defensive spray of the striped skunk, *Mephitis mephitis*. GC/MS analysis of this repulsive-smelling secretion shows it to contain seven major components, including thiols, alkaloids, and thioacetate derivatives of the thiols.

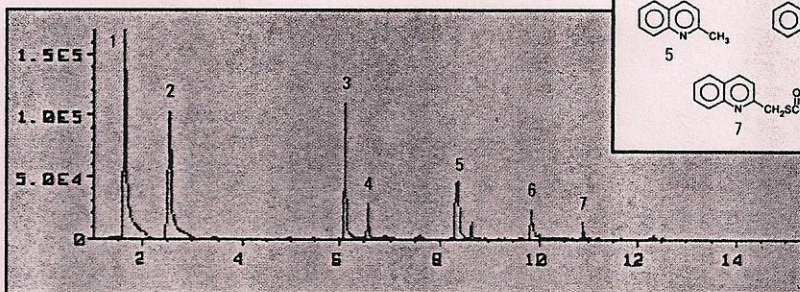
History of Skunk Research

Research on the repulsive-smelling defensive secretion of the striped skunk has long been of interest to chemists. In 1862, the German chemist Swarts reported the secretion to be composed of 18% sulfur, to have several fractions that distilled at different temperatures and contain a nitrous base.¹ In 1897, 35 years later, Aldrich and Jones of Johns Hopkins University showed this base to be 2-methylquinoline (Compound 5 — see table).²

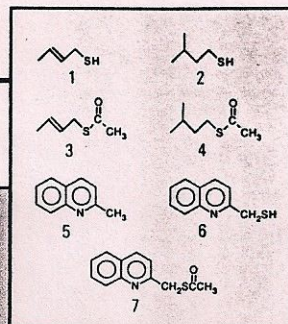
A previous publication by Aldrich in 1896 incorrectly identified 1-butane-thiol (butyl mercaptan) as the major constituent in this secretion.³ This error was widely perpetuated for over 80 years, until 1975, when Andersen and Bernstein showed the compound to be *trans*-2-butene-1-thiol (Compound 1).⁴ In the latter investigation, a second major odoriferous compound, 3-methyl-1-butanethiol (Compound 2) was identified.

The present study of the defensive secretion of the striped skunk has shown that there are seven major components in this secretion (see figure).⁵ Besides the thiols identified by Andersen and Bernstein and the 2-methylquinoline found by Aldrich, the secretion was shown to contain a number of other compounds. These include the alkaloid 2-quinolinemethanethiol and thioacetate derivatives of all thiols.

Major components of the striped skunk's defensive spray in order of retention time.



Capillary GC chromatogram of striped-skunk defensive secretion (numerals represent Compound No.).



Collection of Secretion

The skunks used in this research were live-trapped in areas where they were a nuisance. After treatment with ether, a blunt needle was gently inserted into the anal sac, and the contents were removed by suction. A few drops of the secretion were diluted with 50 ml of diethyl ether, and 2 μ l of this solution were immediately analyzed by GC/MS.

Analysis of the Sample

The capillary GC chromatogram in the figure was obtained by analysis of the ether solution using an HP 5890 gas chromatograph fitted with an HP 5970 MSD. Integration of the TIC showed seven compounds to be present at a concentration greater than 1%. The variation of the amounts of each component from four different skunks is shown in the table.

Identification of Components

The first component, *trans*-2-butene-1-thiol, was identified by its mass spectrum. The second compound, 3-methyl-1-butanethiol, was identified by comparison with an entry in the

NBS Mass Spectral Library (Revision E). It was confirmed by comparison with an authentic sample of this compound. The third compound, *trans*-2-butenyl thioacetate (Compound 3) was identified by comparison with a synthetically prepared sample. Compound 4, 3-methylbutenyl thioacetate, was likewise identified.

2-Methylquinoline had mass spectra and retention time identical to those of an authentic sample. The two other alkaloids, 2-quinolinemethanethiol (Compound 6) and 2-quinolinemethyl thioacetate (Compound 7) were identified by comparison with synthetically prepared samples.

Why Skunk Odor Persists

"Skunk odor" can linger for days on sprayed animals and will return weeks later when the animal's fur is wet. The persistence of the odor may be attributed to the thioacetates in the secretion. These compounds decompose slowly in water and continue

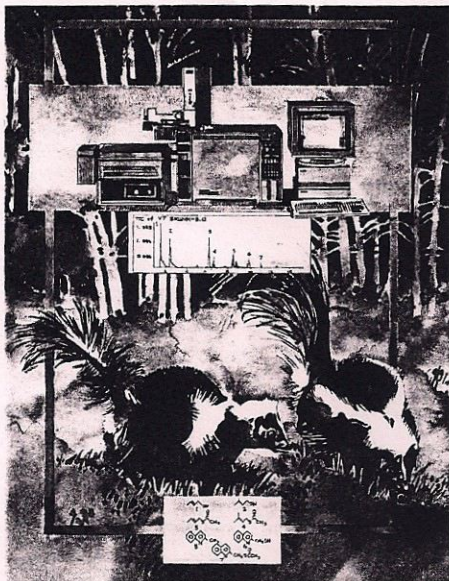
The Instrumentation Used

HP 5890 gas chromatograph
Column: HP-1, 12 m x 0.2 mm x 0.33 μ m
Temperature: 400°C for 4 min, 40° to 250°C at 25°C/min, 250°C 4 min

HP 5970 mass spectral detector
HP 9133 ChemStation with NBS Mass Spectral Library (Revision E)

Percent Variation of Components (4 Skunks)

Compound No.	Amount (% TIC)
1	38-40
2	18-26
3	12-18
4	2-3
5	4-11
6	4-12
7	1-4



to release the more potent thiols for days. To speed the destruction of the thioacetates, animals can be washed with laundry or castile soap. Thioacetates are rapidly hydrolyzed under mildly basic conditions.

About the Author

William Wood is a professor of chemistry at Humboldt State University. His research interests are centered on the chemistry of biologically important compounds, primarily in the field of semiochemistry. His published works in this field include the identification of arthropod pheromones and allomones (defensive secretions), the investigation of mammalian defensive secretions, and the identification of natural products from plants. He was a research fellow at the International Centre for Insect Physiology and Ecology (ICIPE) in Nairobi, Kenya.

References

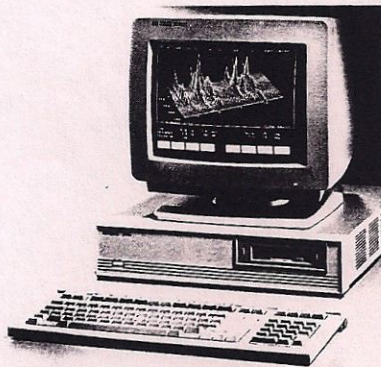
1. Swarts, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 123, 266 (1862).
2. Aldrich, T. B., and Jones, W., *J. Exp. Med.* 2, 439 (1897).
3. Aldrich, T. B., *J. Exp. Med.* 1, 323 (1896).
4. Andersen, K. K. and Bernstein, D. T., *J. Chem. Ecol.* 1, 493 (1975).
5. Wood, W. F., *J. Chem. Ecol.* 16, 2057 (1990)

More Power for HPLC ChemStation

Now that the new HP 9000 Series 300 Model 362 computer is being used in the HPLC ChemStation (Pascal series), performance of the HP 1090 Series II/M HPLC system has received still another boost. The computer, running at 25 MHz and offering direct access to the built-in hard drive, allows data evaluation virtually simultaneously with data acquisition.

The ChemStation will be offered with a VGA color monitor, 4 Mbytes of computer RAM, a built-in 3.5-inch 1.44-Mbyte flexible-disk drive, and a built-in 200-Mbyte hard-disk drive.

For more information on the new HPLC ChemStation, check A on the PEAK reply card.



IN THIS ISSUE

Why Skunks Smell So Bad	2
Screening Samples With SFC	4
New Savings With UV-Vis Solutions	5
New Ways for Automated On-Column Injection	6
The Best Benchtop GC/MS Just Got Better	7
Customizing LC for On-Line Quality Control	8
Searching for a Dual-Purpose Column	10
3-D HPLC for Complex Samples	11
New Analytical Tools from HP	12

PEAK is published quarterly by the Hewlett-Packard Company and is distributed to users of analytical instrumentation throughout the world.

If you are not already receiving your own copy of PEAK, please check the appropriate box on the reply card.

Editor: Hans Toepfer
Hewlett-Packard Company
Analytical Products Group
3495 Deer Creek Road
Palo Alto, CA 94304
U.S.A.

Cover Illustration: Dick Cole
Graphic Design: Guild West,
Los Altos, California, U.S.A.
Copyright © Hewlett-Packard
Company 1992

Warum Skunks stinken

Von William F. Wood, Department of Chemistry, Humboldt State University, Arcata, Kalifornien, USA

Naturstoff-Chemiker interessieren sich seit geraumer Zeit für die Inhaltsstoffe im Abwehrsekret des Streifen-Skunks (*Mephitis mephitis*). Analysen mit Hilfe der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) haben ergeben, daß das ekelerregend riechende Sekret sieben Hauptkomponenten enthält, darunter Thiole, Alkaloide und Thioacetat-Derivate der Thiole.

Die Geschichte der Skunk-Forschung

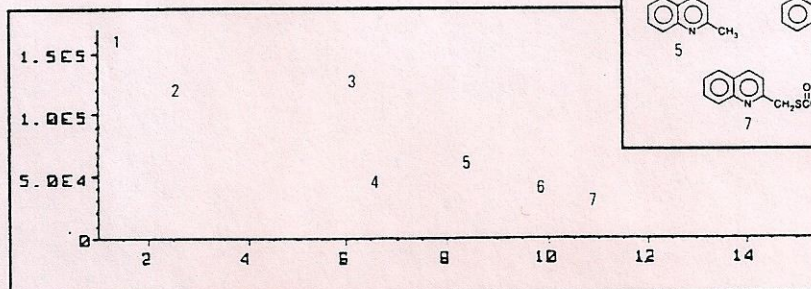
Die Erforschung des ekelerregend riechenden Abwehrsekrets des Streifen-Skunks interessiert die Chemiker schon seit langem. Im Jahre 1862 berichtete der deutsche Chemiker Swarts, daß das Sekret zu 18 % aus Schwefel bestehe, sich aus mehreren, bei unterschiedlichen Temperaturen destillierbaren Fraktionen zusammensetze und eine salpetrige Base enthalte.¹ Im Jahre 1897 zeigten Aldrich und Jones von der Johns Hopkins University, daß es sich bei dieser Base um 2-Methylchinolin handelte (Verbindung 5 - siehe Tabelle).²

In einer früheren Veröffentlichung im Jahre 1896 hatte Aldrich fälschlicherweise 1-Butanthiol (Butylmercaptan) als den Hauptbestandteil des Sekrets identifiziert.³ Diese Fehleinschätzung hielt sich über 80 Jahre lang, bis es schließlich Andersen und Bernstein im Jahre 1975 gelang, die fragliche Verbindung als trans-2-Buten-1-thiol (Verbindung 1) zu bestimmen.⁴ Die Untersuchungen der letztgenannten Autoren führten auch zur Identifizierung eines zweiten wichtigen Geruchsstoffes, des 3-Methyl-1-butanthiols (Verbindung 2).

Sekretgewinnung

Die Skunks für diese Forschungsarbeit wurden lebend gefangen, und zwar in Gegenden, in denen sie eine Plage darstellten. Unter leichter Äthernarkose wurde das anale Sekretreservoir vorsichtig mit einer stumpfen Nadel

Hauptbestandteile des Abwehrsekrets des Streifen-Skunks, geordnet nach Retentionszeiten



Kapillargaschromatogramm vom Abwehrsekret des Streifen-Skunks (die Ziffern geben die Nummer der Verbindung an)

punktiert und der Inhalt abgesaugt. Einige Tropfen des Sekrets wurden mit 50 ml Diäthyläther verdünnt, woraufhin 2 µl dieser Lösung mit Hilfe der GC-MS sofort analysiert wurden.

Probenanalyse

Das abgebildete Kapillargaschromatogramm wurde durch die Analyse der Ätherlösung mit einem Gaschromatographen des Typs HP 5890 gewonnen, der mit einem Massenselektiven Detektor vom Typ HP 5970 ausgerüstet war. Die TIC-Integration ergab, daß sieben Verbindungen in einer Konzentration von jeweils über 1% vorhanden waren. Die Tabelle zeigt die Variabilität der Konzentrationen jeder dieser Komponenten bei vier verschiedenen Skunks.

Identifizierung der Komponenten

Die erste Komponente, das trans-2-Buten-1-thiol, wurde anhand seines Massenspektrums identifiziert. Die zweite Komponente, das 3-Methyl-1-butanthiol, ließ sich durch den Vergleich mit einem Eintrag in der Bibliothek (Revision E) des National Bureau

of Standards (NBS) bestimmen. Die Bestätigung erfolgte anhand des Vergleichs mit einer authentischen Probe dieser Verbindung. Die dritte Komponente, das trans-2-Butenylthioacetat (Verbindung 3), wurde durch Vergleich mit einer synthetisch hergestellten Probe identifiziert. Auf dieselbe Art wurde Verbindung 4, das 3-Methylbutenylthioacetat, identifiziert. Das Massenspektrum sowie die Retentionszeit von 2-Methylchinolin zeigten Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten einer authentischen Probe. Die beiden anderen Alkaloide, 2-Chinolinmethylmercaptan (Verbindung 6) und 2-Chinolinmethylthioacetat (Verbindung 7), wurden durch Vergleich mit synthetisch hergestellten Proben identifiziert.

Warum Skunk-Gestank so hartnäckig ist

Bei Tieren, die der Skunk mit seinem Sekret eingesprüht hat, kann sich der Skunk-Gestank tagelang halten und bei Naßwerden des Fells auch noch nach Wochen zurückkehren. Diese Hartnäckigkeit des Gestanks läßt sich

Instrumentierung

Gaschromatograph HP 5890
Säule: HP-1, 12 mm x 0,2 mm x 0,33 µm
Temperatur: 4 Minuten bei 40 °C, von 40 °C auf 250 °C mit 25 °C/min, 4 Minuten bei 250 °C

Massenselektiver Detektor HP 5970
ChemStation HP 9133 mit NBS Mass Spectral Library (Revision E)

Prozentuale Schwankungen der Konzentration einzelner Komponenten bei 4 Skunks

Verbindungsnummer	Gehalt (% TIC)
1	38 - 40
2	18 - 26
3	12 - 18
4	2 - 3
5	4 - 11
6	4 - 12
7	1 - 4

Pourquoi le putois sent si mauvais

par William F. Wood, Département de Chimie, Humboldt State University, Arcata (Californie)

Les chimistes des produits naturels s'intéressent depuis longtemps aux constituants de la sécrétion défensive du putois d'Amérique, *Mephitis mephitis*. L'analyse CPG-SM de cette sécrétion à l'odeur repoussante montre qu'elle contient sept composants majeurs, incluant des thiols, des alcaloïdes, et des dérivés thioacétates des thiols.

Historique de la recherche sur le putois

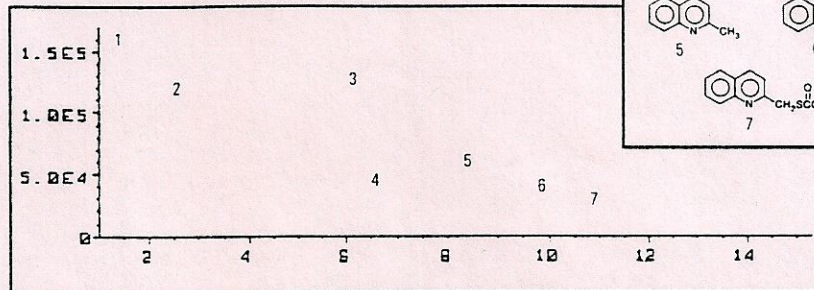
Depuis longtemps les recherches sur la sécrétion défensive à l'odeur repoussante du putois d'Amérique intéressent les chimistes. En 1862, le chimiste allemand Swarts indique que la sécrétion est composée de 18 % de soufre, qu'elle comporte plusieurs fractions distillées à différentes températures et contient une base nitrée¹. En 1897, trente cinq ans plus tard, Aldrich et Jones de l'Université John Hopkins démontrent que cette base est la 2-méthylquinoline (composé 5, voir tableau)².

Une publication précédente d'Aldrich en 1896, identifiait incorrectement le 1-butanethiol (butyl mercaptan) comme étant le constituant majeur de cette sécrétion³, erreur qui s'est perpétuée plus de 80 ans, jusqu'en 1975, lorsque Andersen et Bernstein ont démontré que ce composé était le trans-2-butène-1-thiol (composé 1)⁴. Lors des travaux rapportés ci-après, un deuxième composé odoriférant majeur, 3-méthyl-1-butanethiol (composé 2) fut identifié.

Collecte de la sécrétion

Les putois utilisés pour cette recherche ont été capturés vivants dans des régions où ils sont de véritables fléaux. Après traitement à l'éther, une aiguille à bout conique a été introduite dans la poche anale dont le contenu a été prélevé par succion. Après dilution de quelques gouttes de la sécrétion dans 50 ml de diéthyl éther, on a immédiatement

Composants majeurs de la sécrétion défensive du putois d'Amérique en ordre de temps de rétention



Chromatogramme de CPG capillaire de la sécrétion défensive du putois d'Amérique (les chiffres indiquent le numéro du composé).

analysé 2 µl de cette solution en CPG-SM.

Analyse de l'échantillon

Le chromatogramme capillaire en illustration a été obtenu avec un CPG HP 5890 couplé à un MSD HP 5970. L'intégration du chromatogramme ionique indique la présence de sept composés à une concentration supérieure à 1 %. La variation des quantités de chaque composé pour quatre putois différents est indiquée dans le tableau.

Identification des composants

Le premier composé, trans-2-butène-1-thiol a été identifié par son spectre de masse. Le deuxième, 3-méthyl-1-butanethiol, l'a été par comparaison avec un spectre de la bibliothèque de spectres de masse NBS (révision E). Il a été confirmé par comparaison avec un échantillon authentique de ce composé. Le troisième composé, trans-2-butényl thioacétate, a été identifié par comparaison avec une préparation synthétique ainsi que le composé 4, 3-méthylbutényl thioacétate.

Instrumentation utilisée

Chromatographe en phase gazeuse HP 5890
Colonne : HP-1, 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Température : 40°C pendant 4 mn, 40°C à 250°C à 25°C/mn, 250°C pendant 4 mn.

Détecteur de masse HP 5970
ChemStation avec disque HP 9133 et bibliothèque de spectres de masse NBS (révision E)

2-méthylquinoline présente un spectre de masse et un temps de rétention identiques à ceux d'un échantillon authentique. Les deux autres alcaloïdes, 2-quinolinémethanethiol (composé 6) et 2-quinolinéméthyl thioacétate (composé 7) ont été identifiés par comparaison avec des échantillons synthétiques.

Pourquoi l'odeur du putois persiste

L'odeur du putois peut persister plusieurs jours sur un animal aspergé, et se manifester de nouveau des semaines plus tard lorsque la fourrure de l'animal est humide. Sa persistance peut être attribuée aux thioacétates de la sécrétion. Ces composés se décomposent lentement dans l'eau en continuant à libérer les thiols les plus actifs pendant plusieurs jours. Pour accélérer la destruction des thioacétates, l'animal peut être lavé avec un savon de blanchisserie ou du savon blanc : les thioacétates sont rapidement hydrolysés en conditions moyennement basiques. □

Variation des composés (%) 4 putois

N° du composé	Quantité (% CIT)
1	38-40
2	18-26
3	12-18
4	2-3
5	4-11
6	4-12
7	1-4

Analisi GC delle secrezioni della moffetta

di William F. Wood, Dipartimento di Chimica, Humboldt State University, Arcata (California)

La moffetta striata *Mephitis mephitis* secerne a scopo difensivo un liquido maleodorante che è stato recentemente studiato nei nostri laboratori. L'analisi GC-MS di questa secrezione ha rivelato la presenza di sette componenti principali, tra cui tioli, alcaloidi e derivati tioacetati.

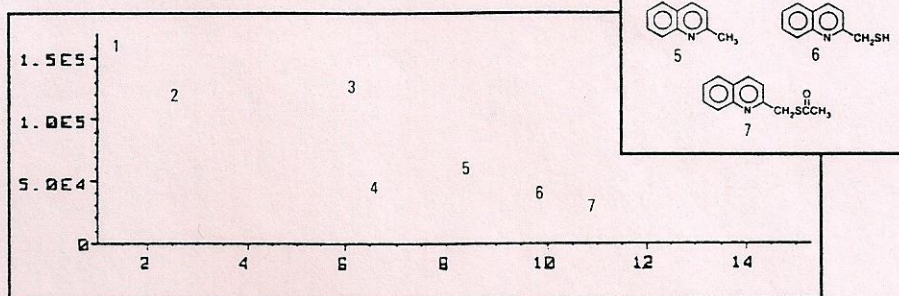
Breve cronistoria degli studi effettuati

La secrezione maleodorante della moffetta striata è da tempo oggetto di studi. Già nel 1862, il chimico tedesco Swarts rilevò che il liquido, separabile in diverse frazioni per distillazione, conteneva il 18% di zolfo e una base azotata.¹ Sette anni più tardi, Aldrich e Jones della John Hopkins University dimostrarono che questa base era in effetti la 2-metilchinolina (composto 5 - v. tabella).²

In una precedente pubblicazione inoltre, Aldrich aveva erroneamente identificato nell'1-butantiolo (butilmercaptano) il principale componente di questa secrezione³ e solo nel 1975 Anderson e Bernstein mostrarono che si trattava in realtà di trans-2-buten-1-tiolo (composto 1)⁴. In quest'ultima fase di ricerca fu inoltre identificato anche un altro importante componente, causa dell'odore maleodorante, il 3-metil-1-butantiolo (composto 2).

In questo studio sono riportati i risultati delle analisi effettuate: oltre ai tioli e alla 2-metilchinolina, sono stati identificati diversi altri composti tra cui la 2-chinolinmetantiolo e i derivati tioacetati di tutti i tioli.

I principali componenti del liquido secreto dalle moffette, ordinati secondo il tempo di ritenzione



Cromatogramma GC capillare della stessa sostanza (i numeri indicano i differenti composti).

Prelievo delle sostanze secrete

Le moffette, catturate vive in zone in cui stavano arrecando gravi danni all'ambiente circostante, sono state anestetizzate, il liquido della secrezione è stato quindi prelevato dalla sacca anale con un ago senza punta e poche gocce di esso sono state diluite con 50 ml di etere; 2 µl della soluzione così ottenuta sono stati poi analizzati tramite GC-MS.

Analisi del campione

Il cromatogramma illustrato nella figura è stato ottenuto analizzando la soluzione in etere con un gascromatografo HP 5890, collegato ad un MSD HP 5970. L'integrazione del TIC ha mostrato che sette elementi erano presenti in una concentrazione superiore all'1%. La tabella illustra le variazioni nelle quantità dei singoli componenti nei campioni prelevati da quattro animali.

Identificazione dei componenti

Il primo componente, il trans-2-buten-1-tiolo, è stato identificato

mediante il suo spettro di massa. Il secondo, il 3-metil-1-butantiolo, mediante confronto nella biblioteca spettri di massa NBS (Rev.E), con successiva conferma tramite l'iniezione di un campione autentico. Il terzo e il quarto componente, il trans-2-butenil-tioacetato e il 3-metilbutenil-tioacetato, sono stati invece identificati iniettando campioni preparati sinteticamente.

La 2-metilchinolina ha mostrato uno spettro di massa e un tempo di ritenzione identici a quelli di un campione reale. Gli altri due alcaloidi, il 2-chinolinmetantiolo (sostanza 6) e il 2-chinolinmetil-tioacetato (sostanza 7), sono invece stati identificati mediante confronto con campioni di sintesi.

Cause della persistenza dell'odore

L'odore della moffetta può permanere sugli animali contaminati per diversi giorni e si può avvertire anche dopo diverse settimane ogni

La strumentazione utilizzata

Gascromatografo: HP 5890
Colonna: HP-1, 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Temperatura: 40°C per 4 min, aumento fino a 250°C con incrementi di 25°C/min, poi mantenuta per 4 min

Rivelatore a selezione di massa: HP 5970,
ChemStation HP con Biblioteca* spettri di massa NBS (Rev.E)

Variazione percentuale dei componenti (4 animali)

Sostanza N.	Quantità (% TIC)
1	38-40
2	18-26
3	12-18
4	2-3
5	4-11
6	4-12
7	1-4

Waarom bunzings zo kunnen stinken

William F. Wood, Department of Chemistry, Humboldt State University, Arcata (California)

De natuurstoffenchemie is al heel lang geïnteresseerd in de samenstelling van het mengsel dat de gestreepte bunzing, *Mephitis mephitis*, in de richting van zijn belagers sproeit. Volgens GC/MS analyse van deze stinkende af scheiding zitten er 7 hoofcomponenten in dit uiterst onaangenaam ruikende produkt: thiolen, thioacetaten en alkaloiden.

Historie

De stank van de gestreepte bunzing heeft de chemici al heel lang gefascineerd. In 1862 meldde de Duitse chemicus Swarts dat de afscheiding bestond uit 18% zwavel en bij destillatie fracties met verschillende kookpunten opleverde en een stikstofbase bevatte [1]. In 1897 toonden Aldrich en Jones van de Johns Hopkins University aan dat de betreffende base 2-methylchinoline was (verbinding 5) [2].

In 1896 had Aldrich 1-butaanthiol (butyl mercaptaan) abusievelijk als hoofbestanddeel aangewezen [3] en die vergissing werd meer dan 80 jaar volgehouden tot in 1975 Andersen en Bernstein aantoonde dat het ging om trans-2-buteen-1-thiol (verbinding 1) [4]. Ze identificeerden bovendien een tweede belangrijke stankveroorzaker, 3-methyl-1-butaanthiol (verbinding 2).

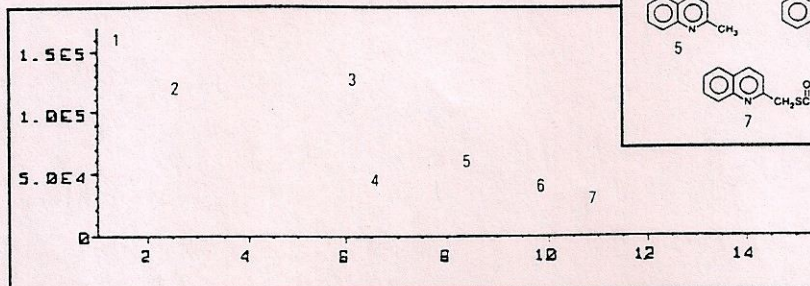
Het materiaal in handen krijgen

De onderzochte bunzings waren levend gevangen in een omgeving waar ze overlast gaven. Ze werden eerst verdoofd met ether waarna voorzichtig via een stompe naald de inhoud van het reservoir bij de anus werd leeggezogen. Een paar druppels van het mengsel werden verdund met 50 ml diethylether en 2 µl van deze oplossing werd direct met GC/MS geanalyseerd.

Analyse

Het capillaire GC chromatogram is afkomstig van de analyse van de ether

Hoofbestanddelen van de stankaf scheiding van de gestreepte bunzing, in volgorde van retentietijd.



Capillaire GC chromatogram van de chemische afweermiddelen van de gestreepte bunzing. De getallen corresponderen met de nummers van de verbindingen in de tekst.

oplossing met een HP 5890 gaschromatograaf/ HP 5970 MSD. Volgens integratie van het TIC zijn er 7 verbindingen in een concentratie groter dan 1% aanwezig. Verschillen in samenstelling tussen individuele bunzings staan in de tabel.

Identificatie van de verbindingen

De eerste stof, trans-2-buteen-1-thiol, werd geïdentificeerd op basis van zijn massaspectrum. De structuur van de tweede verbinding, 3-methyl-1-butaanthiol, die uit een zoekactie in de NBS mass spectral library (revisie E) tevoorschijn was gekomen, werd bevestigd door vergelijking met de zuivere verbinding. De derde component trans-2-butenyl thioacetaat (verbinding 3) werd geïdentificeerd door vergelijking met de gesynthetiseerde verbinding, net als verbinding 4, 3-methylbutenyl thioacetaat

Massaspectrum en retentietijd van 2-methylchinoline waren identiek aan die van de zuivere verbinding. De twee andere alkaloiden, 2-chinolinemethaanthiol (verbinding 6) en 2-chinoli-

nemethyl thioacetaat (verbinding 7) werden weer net als 3 en 4 geïdentificeerd door vergelijking met de gesynthetiseerde verbindingen.

Waarom de stank zo hardnekkig is

Dieren die de volle laag van een bunzing hebben gehad kunnen dagen blijven stinken en kunnen nog weken later weer gaan stinken als hun vacht vochtig wordt. Dat kan heel goed komen van de thioacetaten. Die ontleden langzaam in water en maken zo dagenlang de nog veel erger stinkende thiolen vrij. Om die thioacetaten sneller kwijt te raken helpt wassen van de besproeiende slachtoffers met zeep of een wasmiddel. Thioacetaten hydrolyseren namelijk snel onder zwak basische omstandigheden. □

Instrumentatie	Variaties in samenstelling (4 bunzings)
HP 5890 gaschromatograaf	Verbinding
Kolom: HP-1, 12 m x 0.2 mm x 0.33 mm	"Hoeveelheid" (% TIC)
Temperatuur: 4 min 40 °C, van 40-250 °C met 25 °C/min, 4 min 250 °C	1 38-40
HP 5970 massagevoelige detector	2 18-26
HP 9133 ChemStation met NBS mass spectral library (revisie E)	3 12-18
	4 2-3
	5 4-11
	6 4-12
	7 1-4

爲甚麼臭鼬如此臭？

美加州Acrata市Humbolt州立大學化學系William F. Wood

對條斑臭鼬 (*Mephitis mepitis*) 噴出的自衛分泌物的成份，天然產物化學家很久以來就很感興趣。GC/MS的鑒定顯示這種氣味令人厭惡的分泌液含有七種主要成份包括硫脢，生物碱和硫脢代乙酸鹽的衍生物。

臭鼬研究的歷史

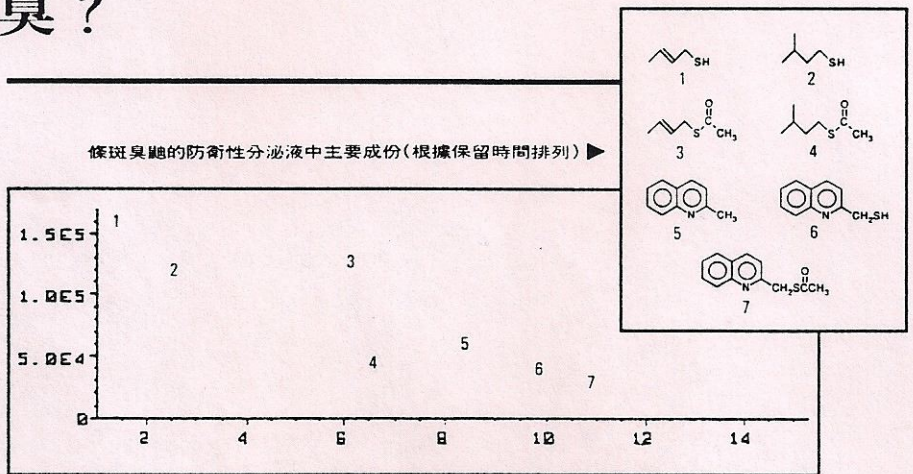
條斑臭鼬令人厭惡的防衛性分泌液很久以來就是化學家研究的題目。1862年，德國化學家Swarts發表文章述說這種分泌物由18%的硫組成，有數個餾份可在不同的溫度蒸溜，並有一個硝基。三十五年後，在1897年，Johns Hopkins大學的Aldrich和Jones證明這個硝基是2-甲基喹啉(見表中第5個化合物)。

Aldrich在1896年一篇較早發表的文章中誤把這種分泌物的主成份定爲1-丁硫脢烷(丁基硫醇)。這一錯誤一直延續了八十年直到1975年方由Andersen和Bernstein証明這一化合物是反-2-丁烯-1-硫脢(第1個化合物)。在第二個研究中鑒定出第二種主要氣味化合物爲3-甲基-1-丁硫醇(第2個化合物)。

最近對條斑臭鼬的自衛性分泌物的研究中，顯示出分泌物中共有七種主要的組份(見圖)。除安德遜和賓斯坦鑒定的硫脢和愛治烈找到的2-甲基喹啉之外，分泌物中，仍含有另外一些組份。這些組份包括硫脢的硫代乙酸鹽的衍生物。

分泌液的收集

這一研究所用的臭鼬是在其爲害區活捉後用乙醚麻醉。用一個禿頭針輕輕地插入肛門液囊中，然後將分泌物抽出。數滴分泌物用50ml二乙基乙醚稀釋，並馬上將2ul的溶劑以GC/MS分析。



條斑臭鼬的防衛性分泌液的毛細管柱色譜圖(數字代表化合物洗脫順序)

樣品分析

圖中所示毛細管柱GC譜圖是由HP5890氣相色譜儀聯HP5970 MSD分析乙醚溶液獲得。TIC積分結果顯示有七種化合物濃度超過1%。從四種不同的臭鼬中提取的各種組份，其份量差別列於表中。

組份的鑒定

第一個組份反-2-丁烯-1-硫脢是由其質譜圖識別的。第二個化合物3-甲基-1-丁硫醇是首先由與NBS質譜庫(版本E)中的一張譜圖比較識別，然後，再與這個化合物的真實樣品比較確認的。第三個化合物反-2-丁烯基硫代乙酸鹽(第3個化合物)是與一個人工合成的樣品比較後鑒別的。第四個化合物三甲基丁烯基硫代乙酸鹽也是這樣識別的。

2-甲基喹啉的質譜圖和保留時間與真實樣品的完全一樣。其他兩個生物碱，2-喹啉甲硫醇(第6個化合物)和2-喹啉甲基硫代乙酸鹽(第7個化合物)均是與人工合成的樣品比較後鑒別的。

爲甚麼臭鼬的氣味持久不散

“臭鼬的氣味”可以滯留在受攻擊的動物身上數日不去，並且一旦該動物毛皮幾週後被沾濕，其氣味又會散出。這種持續的氣味是歸因於分泌物中的硫代乙酸鹽。這種化合物在水中分解很慢，並且可數日連續散發更有效力的硫脢。不過用洗衣皂或橄欖油皂清洗動物可加速硫代乙酸鹽的分解。硫代乙酸鹽在微鹼的條件下可以快速水解。

實驗儀器

HP 5890氣相色譜
色譜柱: HP-1, 12m × 0.2mm × 0.33um
溫度: 400°C 4分鐘, 40°C至250°C 25°C/分鐘, 250°C 4分鐘

HP 5970質譜檢測器
HP 9133化學工作站配NBS譜庫(版本E)

組分百分比變化(4種臭鼬)

化合物順序	含量(% TIC)
1	38-40
2	18-26
3	12-18
4	2-3
5	4-11
6	4-12
7	1-4