

LC-MS/MS 法测定马铃薯中的龙葵素

LCMSMS-874

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了一种快速测定马铃薯中龙葵素含量的方法。该方法样品前处理操作简单，样品经酸化的乙腈提取后，无需转溶剂即可上机分析。采用外标法建立校准曲线，2种龙葵素在1-100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数 $r > 0.999$ 。在1 ng/mL 浓度下，2种龙葵素的保留时间和峰面积的RSD% 分别在在0.152-0.135% 和2.74-4.42% 之间，仪器精密度良好。对样品进行了加标回收实验，回收率在91.9-92.4% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于马铃薯中龙葵素的快速检测。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 马铃薯 龙葵素

技术特点：

- ❖ 本方法检测龙葵素灵敏度高、分析时间短，只需8 min 即可完成分析。
- ❖ 本方法前处理简单，样品回收率高。

马铃薯是世界上许多国家重要的粮食作物，由马铃薯制成的食物更是深受大家喜爱。但是马铃薯植株和块茎中含有一种生物碱——龙葵素（Solanine），这种生物碱在发芽和变绿的山铃薯中含量会增高，且性质较稳定，烹调时不易去除或破坏。龙葵素的主要成份是茄碱和卡茄碱，其中主要存在的是 α -茄碱和 α -卡茄碱两种，含量占马铃薯中糖苷类生物碱总量的90% 以上。少量的龙葵素具有降压、抗肿瘤、平喘等药理作用。但是如果摄入过多会造成急性中毒，出现

腹泻、呕吐、头晕目眩、呼吸困难等症状，严重时还可能危及生命安全。报道称龙葵素食用的安全限量为20 mg/100 g。在马铃薯存储过程中确保良好的存储环境，减少龙葵素含量的增长，就可以降低中毒风险。因此，建立一种检测马铃薯中龙葵素含量的方法，对马铃薯食用安全监测有很大意义。

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了一种快速准确测定马铃薯中龙葵素的方法，该方法准确可靠，可为相关检测人员提供帮助。



图1 α -茄碱（左）和 α -卡茄碱（右）的结构式

实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A 5R
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-20A
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8045
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-32001-03)

流 动 相 : A-0.1% 甲酸水 10 MM 乙酸铵溶液; B- 乙腈

进 样 体 积 : 2 μL 柱 温 : 35°C

流 速 : 0.3 mL/min

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
2.00	泵	B Conc	5
4.00	泵	B Conc	95
6.00	泵	B Conc	95
6.10	泵	B Conc	5
8.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : ESI+

雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : 4 kV

干燥气流速 : 10.0 L/min

接口温度 : 300°C

加热气流速 : 10.0 L/min

D L 温度 : 250°C

碰撞气 : 氦气

加热模块温度 : 400°C

扫描模式 : 多反应监测 (MRM)

MRM 参 数 : 见表 2

表 2 MRM 参数

中文名称	结构式	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
α- 茄碱	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	20562-02-1	868.70	97.90*	-20	-87	-38
				398.20	-20	-78	-28
α- 卡茄碱	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₄	20562-03-2	852.70	706.60*	-20	-70	-26
				398.40	-20	-77	-28

* 代表定量离子对。

■ 样品前处理

称取试样 1 g 于 50 mL 具塞离心管中, 加入 5 mL 水涡旋混匀 1 min, 再准确加入 25 mL 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液, 涡旋振荡 10 min 后, 向离心管中加入 2.0 g 无水硫酸镁, 1.0 g 无水乙酸钠。剧烈振动 1 min 后涡旋混匀 5 min。再将离心管置于离心机中, 在 4°C 条件下以 10000 r/min 的速度, 离心 5 min。取 0.25 mL 上清液于 10 mL 容量瓶中, 加入水溶液至刻度, 取 1 mL 过 0.22 μm 滤膜后, 上机测定。

■ 结果与讨论

3.1 标准溶液谱图

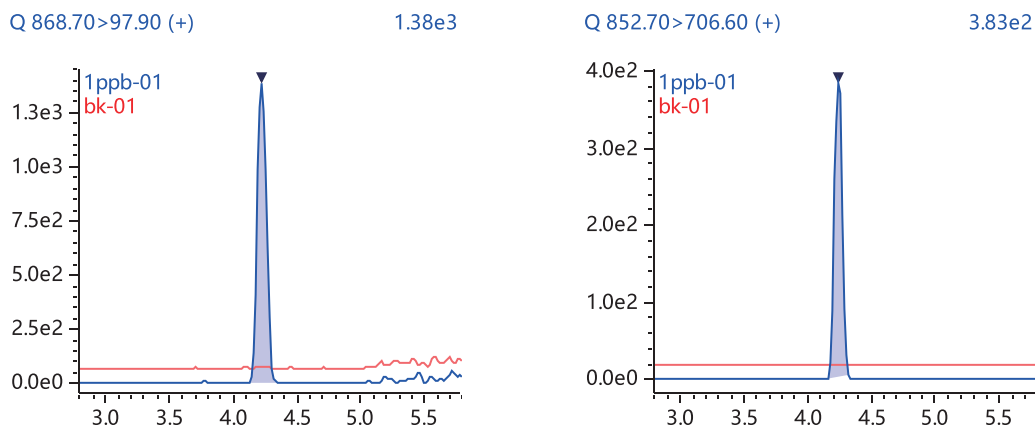


图2 α-茄碱（左）和α-卡茄碱（右）的MRM色谱图（浓度均为1 ng/mL）

3.2 校准曲线和灵敏度

分别精密量取α-茄碱和α-卡茄碱标准品适量，用水稀释成浓度为1、5、50、75、100 ng/mL的混合标准系列工作溶液，按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，结果如图3所示。α-茄碱和α-卡茄碱在1-100 ng/mL浓度范围内，具有较好的线性关系，线性相关系数 > 0.999。选择1 ng/mL浓度混合标准溶液，按照上述分析条件上机进行测定，以ASTM作为噪音计算方法，根据S/N=3为检出限计算的原则，计算2种龙葵素的检出限和定量限，具体结果见表3。

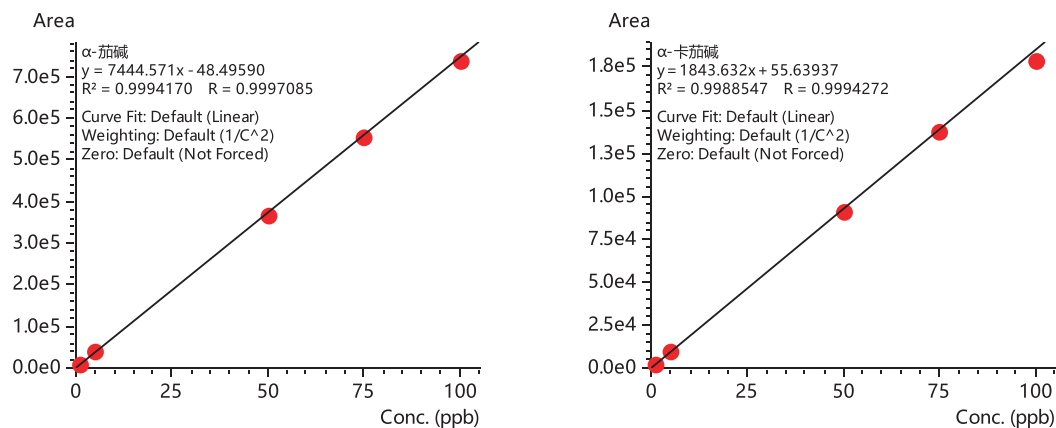


图3 校准曲线

表3 校准曲线参数

化合物名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)	准确度	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
α-茄碱	Y = 7444.571 X - 48.496	0.9997	1-100	97.6-103.8%	0.04	0.12
α-卡茄碱	Y = 1843.632 X + 55.639	0.9994	1-100	99.1-101.8%	0.06	0.19

3.3 重复性实验

取 1 ng/mL 龙葵素标准混合溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性， α -茄碱的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.152% 和 4.42%， α -卡茄碱的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.135% 和 2.74%，仪器精密度良好。

3.4 实际样品和回收率测试

分别取发芽和未发芽马铃薯样品，按照 2.0 中方法处理样品后得到 2 种样品溶液。因为发芽样品中龙葵素含量较高，需要稀释 100 倍后上机分析。未发芽样品溶液检测色谱图如图 4 所示。选择未发芽样品进行加标回收实验，加标浓度为 12 mg/kg，处理方法与之前相同，各样品的检测结果见表 4。

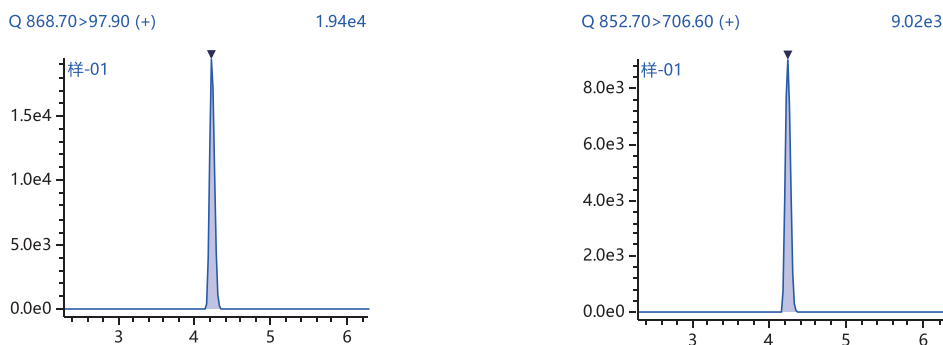


图 4 未发芽样品溶液 MRM 色谱图

表 4 检测结果 (n=3)

化合物名称	发芽样品 (mg/kg)	未发芽样品 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	加标样品	
				回收率 %	RSD%
α -茄碱	2636.4	15.1	12	92.4	1.55
α -卡茄碱	3552.1	27.7	12	91.9	1.25

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测马铃薯中龙葵素含量的方法。2 种龙葵素在 1-100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数 $r > 0.999$ ，加标浓度为 12 mg/kg 的样品回收率在 91.9-92.4% 之间。该分析方法灵敏度高，重复性好，准确度高，可供相关行业检测人员参考使用。

岛津应用云

