

用 LC-MS/MS 方法分析草本茶中的吡咯里西啶类生物碱 (PA)

09-SSK-015-CN

 Jihyun Lee
Shimadzu Scientific Korea

特点描述

- ◆ 开发了同时分析草本茶中 28 种吡咯里西啶类生物碱的定性和定量分析方法。
- ◆ 对所建立的方法进行了线性、定量限、回收率等方面的验证，其结果可靠满意。

■ 引言

吡咯里西啶类生物碱 (PA) 是植物为保护自身免受外界伤害而产生的天然有毒物质，已知会对人体肝脏造成损害。

国际癌症研究机构 (IARC) 将部分吡咯里西啶类生物碱分为 2B 类 (可能对人类致癌) 和 3 类 (对人类的致癌性无法分类)。吡咯里西啶类生物碱的基本结构是两个含氮的芳香戊烷。一些化合物的结构如图 1 所示。

目前，除蜂花粉产品外，韩国没有关于吡咯里西啶类生物碱的安全标准。不过，国内外都有关于草本茶、菊科植物、蜂蜜和一些中药中含有吡咯里西啶类生物碱的检测报告。

因此，本简报介绍了检测草本茶中吡咯里西啶类生物碱的 LC-MS/MS 分析方法，旨在帮助制定安全标准。

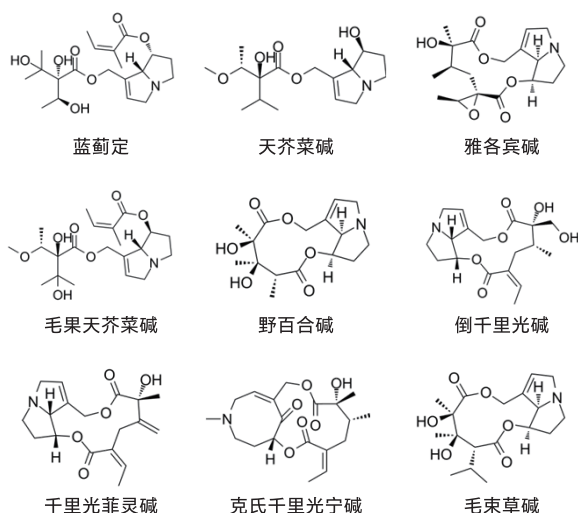


图 1 吡咯烷类生物碱结构示例

■ 测定条件

本分析采用岛津液相色谱质谱仪 LCMS-8060 和 Shim-pack™ GIST C18-HP (2.1×150 mm, 3 μm) 色谱柱，对 28 种吡咯里西啶类生物碱进行了优化。仪器条件和 MRM 参数如表 1 和表 2 所示。吡咯里西啶类生物碱混合标准溶液的色谱图如图 2 所示。

表 1 仪器条件

液相色谱仪 Nexera™ X3	
色谱柱	: Shim-pack™ GIST C18-HP (2.1 mm I.D. x 100 mm, 3 μm; P/N: 227-30039-04)
流速	: 0.3 mL/min
流动相 (A)	: 含 0.1% 甲酸和 5 mM 甲酸铵的水
流动相 (B)	: 含 0.1% 甲酸和 5 mM 甲酸铵的甲醇
柱箱温度	: 30°C
进样量	: 10 μL
梯度	: 1% B (0.0 - 1.5 min) -15% B (3.0 min) 30% B (18.0 min) -95% B (19.0 - 21.0 min) 1% B (21.0 - 25.0 min)
质谱仪 LCMS-8060	
离子源	: ESI
数据采集	: MRM 模式, 正离子模式
接口温度	: 400°C
DL 温度	: 300°C
加热模块温度	: 400°C
雾化气流量	: 3.0 L/min
干燥气流量	: 5.0 L/min
加热气流量	: 15.0 L/min

表 2 多反应监测 (MRM) 参数

化合物名称	前体 (m/z)	产物离子 (1) (m/z)	产物离子 (2) (m/z)
蓝薊定	398	120	220
蓝薊定 -N- 氧化物	414	254	352
芥子碱	350	120	138
芥子碱 -N- 氧化物	366	94	119
欧罗巴碱	330	138	156
欧罗巴碱 -N- 氧化物	346	172	111
天芥菜碱	314	138	156
天芥菜碱 -N- 氧化物	330	172	111
促黑激素	300	94	138
促黑激素 -N- 氧化物	316	172	94
雅各宾碱	352	120	155
雅各宾碱 -N- 氧化物	368	296	120
毛果天芥菜碱	412	120	336
毛果天芥菜碱 -N- 氧化物	428	254	94
石松胺	300	94	138
石松胺 -N- 氧化物	316	172	94
野百合碱	326	120	94
野百合碱 -N- 氧化物	342	137	119
倒千里光碱	352	120	138
倒千里光碱 -N- 氧化物	368	94	118
千里光碱	336	120	94
千里光碱 -N- 氧化物	352	94	118
千里光菲灵碱	334	120	94
千里光菲灵碱 -N- 氧化物	350	120	94
塞内漆碱	336	120	308
塞内漆碱 -N- 氧化物	352	118	94
克氏千里光宁碱	366	168	122
毛束草碱	354	222	120

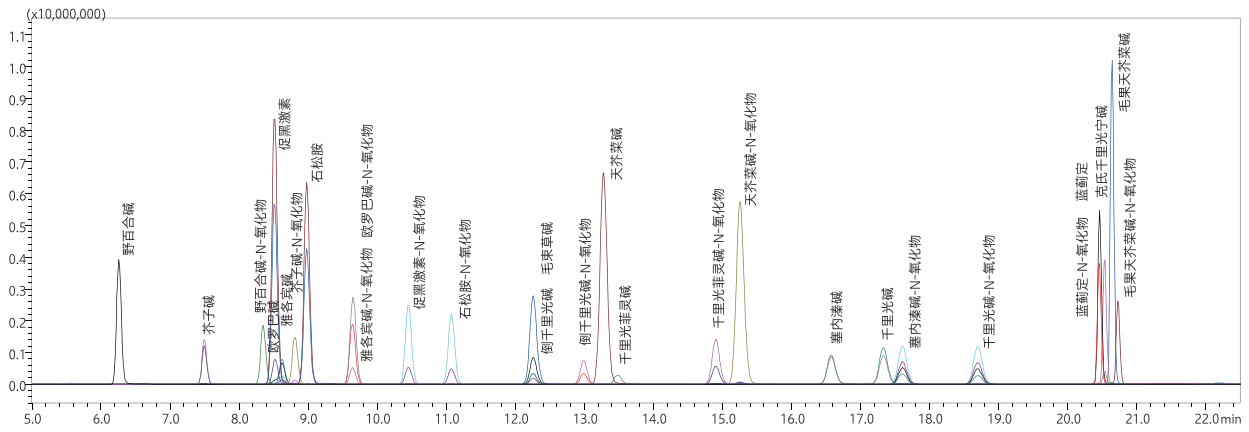


图 2 28 种吡咯里西啶类生物碱的 MS 色谱图 (浓度: 10 ng/mL)

■ 样品预处理

将草本茶样品粉碎均质, 然后进行提取、纯化和浓缩。预处理过程的细节如图 3 所示^[1]。

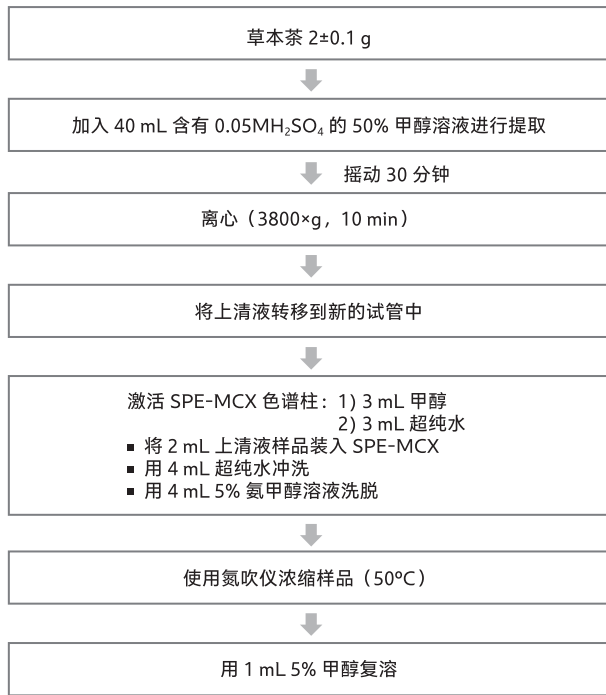


表 3 吡咯里西啶类生物碱分析方法的验证结果

■ 结果和讨论

标准曲线

该分析方法使用草本茶中的绿茶叶进行了验证。采用基质匹配校准法进行定量。考虑到定量限 (LOQ), 每种化合物的校准曲线范围都不同。所有化合物校准曲线的测定系数 (r^2) 均为 0.99 或以上, 线性良好。

回收率和定量限值

将此咯里西啶类生物碱的混合标准溶液加入草本茶样品中, 在校准曲线范围内, 分别加入低、中、高浓度的吡咯里西啶类生物碱混合标准溶液。通过预处理, 为每种浓度制备了五个样品。回收率从 75% 到 115% 不等, 相对标准偏差 (%RSD) 在 17% 以内。使用 Labsolutions™ 软件计算出的定量限 (LOQ) 为 $S/N=10$ 。根据化合物的不同, 定量限 (LOQ) 介于 0.1 ng/g 到 8.5 ng/g 之间 (表 3)。

化合物名称	回收率 (%) ±%RSD, n=5			LOQ ng/g (S/N=10)
	低水平	中等水平	高水平	
蓝薊定	86±9	89±11	103±7	0.1
蓝薊定-N-氧化物	100±9	104±12	115±5	0.2
芥子碱	75±8	79±10	76±5	1.1
芥子碱-N-氧化物	89±15	98±12	96±9	2.2
欧罗巴碱	77±11	82±12	79±9	0.2
欧罗巴碱-N-氧化物	85±10	92±11	92±10	1.3
天芥菜碱	91±6	92±14	87±11	0.3
天芥菜碱-N-氧化物	90±10	101±14	106±8	0.3
促黑激素	80±6	91±12	94±13	0.8
促黑激素-N-氧化物	75±7	81±10	83±11	0.7
雅各宾碱	82±13	85±15	88±9	1.0
雅各宾碱-N-氧化物	102±13	102±9	99±11	0.3
毛果天芥菜碱	87±15	89±11	98±10	0.2
毛果天芥菜碱-N-氧化物	100±4	112±7	115±6	3.3
石松胺	78±12	86±13	87±8	2.2
石松胺-N-氧化物	99±8	109±10	102±9	2.2
野百合碱	92±9	93±13	89±10	1.1
野百合碱-N-氧化物	82±7	93±9	91±11	0.9
倒千里光碱	79±17	82±15	83±8	1.2
倒千里光碱-N-氧化物	98±10	103±11	109±9	8.2
千里光碱	78±11	78±13	84±7	1.5
千里光碱-N-氧化物	97±12	102±7	109±8	2.1
千里光菲灵碱	79±8	78±13	79±9	8.5
千里光菲灵碱-N-氧化物	75±12	77±11	77±9	1.3
塞内溲碱	78±12	77±9	78±13	1.4
塞内溲碱-N-氧化物	98±7	105±8	110±8	0.7
克氏千里光宁碱	115±13	110±6	104±4	2.4
毛束草碱	76±3	88±13	98±9	1.0

■ 结论

使用岛津质谱仪 LCMS-8060 建立了草本茶中 28 中吡咯里西啶类生物碱的同时分析方法。吡咯里西啶类生物碱采用基质匹配校准法进行定量。校准曲线的判定系数 r^2 大于 0.99。在三个浓度水平下，回收率在 75% 至 115% 之间。根据化合物的不同，定量限在 0.1 ng/g 到 8.5 ng/g 之间。

< 参考文献 >

[1] Determination of pyrrolizidine alkaloids (PA) in plant material by SPE-LC- MS/MS, BfR-PA-Tea-2.0/2014

岛津应用云



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2023 年 5 月