

实验技术与方法

血浆中85种有毒生物碱快速筛查方法的建立及其应用

刘小红¹, 李永刚¹, 孔芳¹, 唐琳¹, 何晓宏², 杨荣娇¹, 闻胜¹, 罗苹¹

(1. 应用毒理湖北省重点实验室, 湖北省疾病预防控制中心, 湖北 武汉 430079;

2. 恩施土家族苗族自治州疾病预防控制中心, 湖北 恩施 445000)

摘要:目的 利用超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱建立血浆中85种有毒生物碱快速筛查方法。方法 构建85种生物碱高分辨数据库;血浆经乙腈沉淀蛋白进行预处理,采用Acquity Waters BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),以5 mmol/L 甲酸铵(含0.1% 甲酸)和乙腈为流动相进行梯度洗脱,对比了3种数据采集方式下(Full mass/dd-MS²、Full mass/AIF、Full mass/DIA)加标血浆中85种有毒生物碱筛查情况。结果 血浆在5、50和250 ng/mL 3个浓度添加水平下,Full mass/DIA模式下的筛选准确率均为最高。利用生物碱数据库,选择Full mass/DIA模式采集样品数据信息,建立了血浆中85种有毒生物碱快速筛查方法。80%以上生物碱在血浆中的检出限低于10 ng/mL。利用该方法成功在滇乌头碱毒物代谢动力学实验获得的3份Wistar大鼠血浆中筛选到了目标物滇乌头碱及其可能的代谢产物脱氧乌头碱及印乌头碱。结论 该方法快速、高效,可以在无标准品情况下实现突发性有毒生物碱中毒血浆的快速筛查。

关键词:超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱;血浆;有毒生物碱;Full mass/DIA;快速筛查

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2022)06-1202-10

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.06.012

Establishment and application of a rapid screening method for 85 toxic alkaloids in plasma samples

LIU Xiaohong¹, LI Yonggang¹, KONG Fang¹, TANG Lin¹, HE Xiaohong², YANG Rongjiao¹,
WEN Sheng¹, LUO Ping¹

(1. Hubei Provincial Key Laboratory for Applied Toxicology, Hubei Provincial Centre for Disease Control and Prevention, Hubei Wuhan 430079, China; 2. The Center for Disease Control and Prevention of Enshi Tujia & Miao Autonomous Prefecture, Hubei Enshi 445000, China)

Abstract: Objective To establish a rapid screening method for 85 toxic alkaloids in plasma samples using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole/exactive high resolution mass spectrometry (UHPLC-Q/Exactive). **Methods** A high resolution mass spectrometry compound database (CDB) of 85 alkaloids was established by UHPLC-Q/Exactive. Acetonitrile was used for protein precipitation as pretreatment in plasma samples. An Acquity Waters BEH C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) was applied for gradient elution with 5 mmol/L ammonium formate (containing 0.1% formic acid) and acetonitrile as mobile phases. The screening accuracy of 85 toxic alkaloids in spiked plasma samples was compared in three data collection modes (Full mass/dd-MS², Full mass/AIF and Full mass/DIA). **Results** The screening accuracy of Full mass/DIA was the highest when plasma samples were added at three concentration levels of 5, 50 and 250 ng/mL. Combined with the CDB, a rapid screening method for 85 toxic alkaloids in plasma samples was established under the Full mass/DIA data acquisition mode. The limits of detection of more than 80% of the alkaloids in plasma samples were lower than 10 ng/mL. With this method, the target substance-yunaconitine and its possible metabolites, 3-deoxyacontine and indaconitine were successfully screened in the 3 Wistar rat plasma samples obtained from the yunaconitine toxicokinetics experiment. **Conclusion** The method is fast, efficient, and suitable for the rapid screening of 85 toxic alkaloids in acute toxic alkaloid poisoned plasma samples with the absence of standard substances.

收稿日期:2022-03-16

基金项目:湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2021M209);武汉市卫生健康科研基金资助(WY22A02)

作者简介:刘小红 女 主管技师 研究方向为食物中毒应急检测及理化检验分析 E-mail:784219251@qq.com

通信作者:罗苹 女 主任技师 研究方向为食品安全和卫生应急检测 E-mail:2111131@qq.com

Key words: UHPLC-Q/Exactive; plasma; toxic alkaloids; Full mass/DIA; rapid screening

生物碱是一类含氮原子的有机碱性化合物,主要分布在植物界。大部分生物碱具有高效的药理作用和毒性作用,有抗癌、镇痛、降血压、抗菌和消炎等功效,是中草药中重要的有效成分之一^[1-2]。但是由于治疗剂量与中毒剂量接近,如果不正确使用这些植物药材,会导致毒性反应,甚至致人死亡^[3]。在我国,因食用有毒植物导致的生物碱中毒时有发生,尤其是南方地区使用乌头、钩吻等中药自制药酒,食用自采的野生蜂蜜、蜂蛹所致中毒最为常见^[4]。从湖北省食源性疾病预防监测网站数据得知,每年湖北省均发生几十起因有毒动植物导致中毒甚至死亡案例,仅 2021 年,湖北省就接报有毒植物及其毒素、毒蘑菇引起的食源性疾病预防事件 35 起,发病 108 人,死亡 4 人。尤其是在 2015 年湖北恩施鹤峰县五里乡出现因食用野生蜂蜜导致的中毒事件,最终 4 人中毒死亡,多人入院治疗,由于缺乏有毒物质快速筛查技术,当地实验室历时 2 个月最终在蜂蜜中检出了有毒蜜源物质为雷公藤甲素^[5],事件调查才告一段落。由此可以看出有毒生物碱快速筛查技术的缺乏直接影响了中毒事件原因的快速确证,因此急需建立有毒生物碱的快速筛查方法,为突发公共卫生中毒事件提供技术支撑。

目前,关于生物碱的检测方法有高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)^[6]、气相色谱-质谱联用法(Gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)^[7]、液相色谱-串联质谱法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)^[8]。由于 HPLC 灵敏度较低且仅以保留时间进行定性,易造成假阳性结果;GC-MS 分析生物碱类高沸点化合物时需要衍生化后进样,操作繁琐。HPLC-MS/MS^[9]是近年来在生物样本中有毒生物碱痕量分析应用最为广泛的技术。但是 HPLC-MS/MS 需要在有标准品的前提下才能实现有毒生物碱的分析,无法满足中毒事件快速应急处置的需求。近几年来,高分辨质谱如超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱(Ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole/exactive high resolution mass spectrometry, UHPLC-Q/Exactive)和超高效液相色谱-飞行时间质谱(Ultra performance liquid chromatography-flight mass spectrometry, UPLC-TOF-MS)等在食物中毒应急处置中应用越来越广泛^[10-13]。UHPLC-Q/Exactive 因具有超高分辨率,因此能获得物质的精确分子量信息,这就使得能够在没有标准品的情况下,根据全扫描模

式下获得的精确质量数来对高通量的目标物或非目标物进行筛选,结合在二级质谱模式下,样品与标准品之间碎片离子精确分子量的比对更进一步确证筛选的准确性。

湖北省恩施地区常发生野生蜂蜜中毒事件,经查可能与蜜蜂采集有毒蜜源植物,如雷公藤类、昆明山海棠、马桑、博落回类植物的花粉有关;乌头类常被用于泡制药酒治疗风湿,也易产生中毒事件,还有一些因误食野菜(颠茄类)导致的中毒事件。根据湖北省植被调查情况和文献调研结果,本研究利用 UHPLC-Q/Exactive 建立了一个包括有雷公藤类、乌头类、钩吻类、曼陀罗类、博落回类等、颠茄类等共计 85 种有毒生物碱的质谱数据库,并建立了血浆中 85 种有毒生物碱的快速筛查方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Thermo Scientific Q/Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱系统、Vanquish 高效液相色谱(赛默飞公司,美国);Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司,美国);涡旋混匀器(VXMNDG,常州奥豪斯仪器有限公司);ML104 电子天平(万分之一,梅特勒,瑞士);H1750R 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

85 种生物碱标准品(纯度>98%,成都普菲德生物技术有限公司);色谱纯甲醇(Fisher Chemical,美国);色谱纯乙醇(Fisher Chemical,美国);色谱纯乙腈(Fisher Chemical,美国);色谱纯甲酸(Merck,德国);色谱纯甲酸铵(Sigma,美国);试验用水为超纯水。

滇乌头碱毒物代谢动力学实验获得的 1 份空白 Wistar 大鼠血浆和 3 份不同灌胃剂量的 Wistar 大鼠血浆由中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所提供。

1.2 标准溶液的配制

生物碱标准品除乙酰乌头碱、滇乌头碱、脱氧乌头碱、乌头原碱、次乌头原碱、附子灵、钩吻素子、雷公藤甲素用乙醇溶解外,其余标准品均以甲醇超声溶解后,配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的单标储备溶液。在建立数据库时,将上述单标储备液以甲醇逐级稀释至 50 ng/mL 以备用。在进行样本筛查时,将上述标准储备液配制成 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的生物碱混合标准工作液以备用。

1.3 数据库的建立

参考文献调研结果^[14-16],对于 Q/Exactive 靶向数据库的建立,Full mass/dd-MS²是最常见和有效的

方式。由于文中所研究的大部分生物碱是在环上含氮原子的结构,在ESI模式下易得到一个 H^+ 形成准分子离子峰 $[M+H]^+$,因此采用5 mmol/L 甲酸铵(含0.1%甲酸)和乙腈作为流动相。将85种生物碱标准品单标(50 ng/mL)在ESI⁺模式下采用Full mass/dd-MS²结合目标离子列表数据采集方法依次进样分析。在各生物碱精确分子量 ± 5 ppm范围内手动提取其 $[M+H]^+$ 准分子流图,获得目标化合物的一级母离子精确质量数及保留时间。依据其保留时间提取二级质谱图即可获得目标化合物的二级碎片信息,选择响应最高的2~4个碎片离子录入数据库,若有特征碎片离子,优先选择其特征碎片。最终建立的数据库详见表1。

1.4 样品前处理

取血浆0.5 mL于15 mL具盖离心管中,加入1.5 mL乙腈,振荡器振荡1 min,离心机9 500 r/min离心6 min,取上清液,经微孔滤膜过滤,供仪器检测。

1.5 仪器条件

液相条件:Acquity Waters BEH C₁₈色谱柱(100 mm \times 2.1 mm,1.7 μ m);流速0.2 mL/min;柱温40 $^{\circ}$ C;进样量2 μ L;流动相A为5 mmol/L 甲酸铵(含0.1%甲酸)溶液,B为乙腈。梯度洗脱:0~1 min,10%B;1~5 min,10%~30%B;5~8 min,30%~50%B;8~12 min,50%~90%B;12~15 min,90%B;15~15.5 min,90%~10%B;15.5~18 min,10%B。

质谱条件:电喷雾电离源正离子模式HESI⁺;喷雾电压:3.2 kV;毛细管温度:320 $^{\circ}$ C;雾化蒸发温度:350 $^{\circ}$ C;鞘气流速:40 arb,辅助气流速:10 arb;S-lens RF电压55 V。

构建生物碱数据库采用Full mass/dd-MS²(Top10)模式。其中Full mass扫描范围:150~950;分辨率:70 000;自动增益:3e⁶;最大离子注入时间:100 ms;ddMS²分辨率:17 500;自动增益:1e⁵;最大离子注入时间:50 ms;循环次数:10;隔离窗口:1.5 m/z ;归一化碰撞能量:20、40、70;响应阈值:1.6e⁵;顶点激发:3~6 s;动态排除:3.0 s。

血浆中有毒生物碱的筛查采用3种模式。

Full mass/AIF模式:Full mass:扫描范围:150~950;分辨率:70 000;自动增益:3e⁶;最大离子注入时间:200 ms;AIF:分辨率:17 500;自动增益:2e⁵,最大离子注入时间:50 ms;归一化碰撞能量:20、40和70;扫描范围:150~950。

Full mass/dd-MS²模式(Top10)参数同上。

Full mass/DIA模式:Full mass:扫描范围:150~950;分辨率:70 000;自动增益:3e⁶;最大离子注入时间:200 ms;DIA:扫描范围:100~900;分辨率:

17 500;自动增益:2e⁵,最大离子注入时间:auto;循环次数:8;MSX count:1;隔离窗口: m/z 101.0;将一级的扫描质量范围分为8段:150~250,250~350,350~450,450~550,550~650,650~750,750~850,850~950;归一化碰撞能量:20、40和70。

1.6 数据处理

利用Trace Finder 4.1软件进行数据处理分析。根据欧盟(EU) 2018/555 of 9 April 2018的要求^[17],残留分析结果的高分辨质谱确证要求质量数相对偏差的绝对值不超过 5×10^{-6} ,即5 ppm。参考美国FDA设置的化学污染物残留量鉴定确证要求^[18],文中设置以下筛查条件,一级母离子质量准确度: ± 5 ppm,保留时间偏差: ± 0.5 min,二级碎片的质量准确度: ± 10 ppm。

2 结果

2.1 数据采集方式的比较

由于中毒血浆基质复杂,而且需要一次性筛查样品中85种目标化合物,选择何种扫描方式既能排除基质干扰不遗漏样本中目标物信息,又能保证目标物获得足够的响应。本文对比了3种数据扫描模式Full mass/dd-MS²(Top10)、Full mass/AIF与Full mass/DIA下加标血浆的筛查情况。在空白血浆中添加生物碱混合标准工作液,使目标物在血浆中质量浓度分别为5、50和250 ng/mL,按1.4进行样品前处理,每个添加浓度做2个平行样,验证试验重复3 d。不同添加浓度血浆均在3种模式下采集数据然后利用数据库进行筛查。其中AIF是全离子裂解模式,在该模式下所有质量范围内目标物均会产生二级碎片从而不会造成信息丢失。DIA被称为数据非依赖采集,它是将扫描范围等分为多个质量段,分别对每一段进行AIF扫描^[19]。

2.1.1 数据筛查数量

图1是3种数据采集方式下,在5、50和250 ng/mL 3个添加水平下的筛查情况柱状图。在不同加标浓度下,3种数据采集方式在3 d内(D1、D2、D3)的筛查数量基本保持一致,这证明了仪器及方法的稳定性。随着加标浓度的增加,3种模式下筛查到的目标生物碱数量也逐渐增加,这是因为一些灵敏度较差的生物碱,随着添加浓度的升高,其峰面积响应也逐渐增加超过了数据库设置的阈值从而被成功筛选。

2.1.2 数据筛查准确率

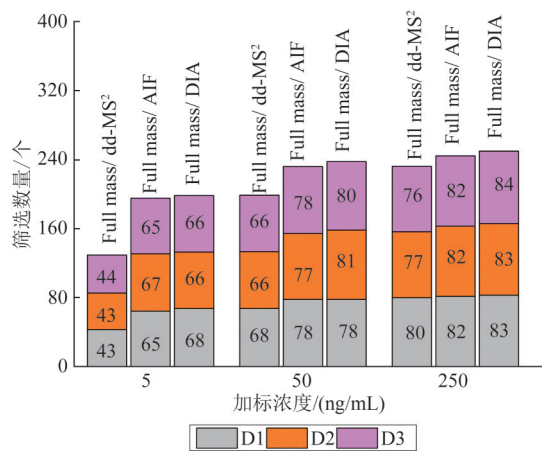
参考欧盟强制执行法案Directive 2002/657/EC打分系统的规定^[20],对于高分辨质谱,当色谱峰的保留时间在一定置信区间内,若前级离子匹配得2分,碎

表1 85种生物碱高分辨质谱数据库
Table 1 High resolution mass spectrometry database of 85 alkaloids

序号	化合物	英文名称	CAS号	分子式	理论分子量 [M+H] ⁺	实测分子量 [M+H] ⁺	保留时间/min	碎片1	碎片2	碎片3	碎片4	检出限/ (ng/mL)
1	乌头碱	Aconitine	302-27-2	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₁	646.323 3	646.323 1	10.29	368.184 1	586.300 0	95.049 4	—	2
2	次乌头碱	Hypaconitine	6900-87-4	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₀	616.313 5	616.313 5	10.31	524.263 3	105.033 6	338.174 3	556.289 9	2
3	新乌头碱	Mesaconitine	2752-64-9	C ₃₃ H ₄₅ NO ₁₁	632.308 2	632.307 7	9.62	105.033 6	95.049 3	56.658 1	—	5
4	苯甲酰新乌头原碱	Benzoylnesaconine	63238-67-5	C ₃₁ H ₄₃ NO ₁₀	590.298 4	590.296 9	7.82	95.049 7	540.257 3	558.269 9	58.065 4	2
5	苯甲酰次乌头原碱	Benzoylhypaconitine	63238-66-4	C ₃₁ H ₄₃ NO ₉	574.300 5	574.302 7	8.66	95.049 3	58.065 3	105.033 7	542.274 2	25
6	苯甲酰乌头原碱	Benzoylaconitine	466-24-0	C ₃₂ H ₄₅ NO ₁₀	604.312 7	604.313 1	8.27	105.033 7	554.273 9	58.065 8	95.049 3	2
7	乙酰乌头碱	Acetylaconitine	77181-26-1	C ₃₆ H ₄₉ NO ₁₂	688.333 5	688.335 0	10.94	596.286 9	105.033 6	536.262 7	568.288 8	10
8	滇乌头碱	Yunaconitine	70578-24-4	C ₃₅ H ₄₉ NO ₁₁	660.339 2	660.338 4	10.23	520.278 3	568.288 8	600.315 2	135.043 8	2
9	脱氧乌头碱	3-Deoxyaconitine	3175-95-9	C ₃₄ H ₄₇ NO ₁₀	630.329 1	630.328 2	10.21	520.268 8	630.329 1	570.305 1	538.279 1	2
10	粗茎乌头碱甲	Crassicauline A	79592-91-9	C ₃₄ H ₄₉ NO ₁₀	644.344 1	644.344 1	10.75	552.294 3	135.043 9	125.059 6	520.268 7	2
11	8-乙酰基滇乌头碱	8-Deacetylnesaconitine	93460-55-0	C ₃₃ H ₄₇ NO ₁₀	618.329 8	618.329 2	8.89	439.084 1	568.289 7	125.059 9	—	5
12	苯甲酰异叶乌头碱	6-Benzoylheteratisine	99759-48-5	C ₂₉ H ₃₇ NO ₆	496.268 4	496.270 8	8.56	342.205 6	58.065 2	105.033 6	124.112 1	10
13	高乌甲素	Lappaconine	32854-75-4	C ₃₂ H ₄₄ N ₂ O ₈	585.318 7	585.318 4	7.69	356.220 5	162.054 6	120.044 2	324.194 7	2
14	12-表欧乌头碱	12-Epinapelline	110064-71-6	C ₃₆ H ₄₃ NO ₃	360.254 5	360.252 8	4.16	58.065 2	79.054 7	145.101 2	342.230 4	2
15	乌头原碱	Aconine	509-20-6	C ₂₅ H ₄₁ NO ₉	500.287 4	500.286 9	3.86	482.269 0	450.248 0	58.065 3	468.259 4	2
16	次乌头原碱	Hypaconine	63238-68-6	C ₂₄ H ₃₉ NO ₈	470.276 6	470.275 8	4.69	406.220 7	94.065 4	269.975 7	378.187 7	2
17	去甲乌药碱	Demethylcoelaurine	11041-94-4	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	272.129 1	272.128 9	3.04	255.100 8	161.059 8	210.919 7	107.049 3	100
18	附子灵	Fuziline	80665-72-1	C ₂₄ H ₃₉ NO ₇	454.281 6	454.281 0	4.74	404.241 3	108.080 9	58.065 3	436.268 6	2
19	尼奥灵	Neoline	466-26-2	C ₂₄ H ₃₉ NO ₆	438.286 7	438.285 8	5.04	420.273 8	388.248 7	72.080 7	108.080 8	2
20	塔拉萨敏	Talatisamine	20501-56-8	C ₂₄ H ₃₉ NO ₅	422.291 4	422.290 9	5.59	390.263 0	58.065 3	98.096 7	129.069 8	2
21	宋果灵	Songorine	509-24-0	C ₂₈ H ₃₁ NO ₃	358.238 7	358.238 8	4.14	98.096 5	56.049 6	105.070 0	340.226 4	5
22	钩吻素子	Koumine	1358-76-5	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O ₂	307.181 1	307.180 4	5.61	70.065 6	130.065 1	180.080 3	220.111 9	2
23	钩吻素甲	Gelsemine	509-15-9	C ₂₀ H ₂₂ N ₂ O ₂	323.175 4	323.175 5	4.67	70.065 6	195.067 6	91.054 5	236.106 5	2
24	胡蔓藤碱甲	Humantenmine	82354-38-9	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₃	327.171 1	327.170 9	6.47	265.132 8	108.080 9	71.073 5	296.151 3	2
25	氢溴酸东莨菪碱	Scopolamine Hydrobromide	114-49-8	C ₁₇ H ₂₂ BrNO ₄	304.154 6	304.154 5	4.50	156.101 8	138.091 3	103.054 5	121.064 9	2
26	香草乙酮	Acetovanillone	498-02-2	C ₉ H ₁₀ O ₃	167.070 1	167.070 9	6.08	125.059 7	110.036 4	84.960 2	—	5
27	雷公藤甲素	Triptolide	38748-32-2	C ₃₀ H ₂₄ O ₆	361.164	361.165 5	8.42	91.053 8	105.069 9	79.054 1	—	50
28	雷公藤次碱	Wilforine	11088-09-8	C ₄₃ H ₄₉ NO ₁₈	868.302 2	868.303 5	11.96	105.033 6	132.080 6	178.085 9	206.080 8	2
29	雷公藤吉碱	Wilforgine	37239-47-7	C ₄₁ H ₄₇ NO ₁₉	858.283 2	858.283 5	11.52	132.080 6	95.012 9	178.085 9	206.080 8	2
30	雷公藤福定	Tripterifordin	139122-81-9	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	319.227 8	319.227 4	10.78	131.085 4	227.178 7	225.210 5	301.215 9	5
31	雷箭丙酯	Triptophenolide	74285-86-2	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	313.180 2	313.180 2	11.75	183.078 8	133.064 9	271.131 4	225.127 1	10
32	别隐品碱	Allocriptopine	485-91-6	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	370.166	370.165 1	7.81	206.080 9	149.059 5	188.070 3	189.078 2	2
33	盐酸白屈菜红碱	Chelerythrine chloride	3895-92-9	C ₂₁ H ₁₈ ClNO ₄	348.124 2	348.123 8	9.24	290.080 5	304.096 3	332.091 1	318.075 5	10
34	非洲防己碱	Columbamine	3621-36-1	C ₃₀ H ₂₀ NO ₄	338.139 7	338.139 2	7.61	394.111 5	279.088 3	265.072 7	323.114 5	2
35	盐酸血根碱	Sanguinarine Chloride	5578-73-4	C ₂₀ H ₁₄ ClNO ₄	332.092 5	332.092 5	8.24	317.068 7	246.091 4	274.086 5	304.097 4	5
36	二氢白屈菜红碱	Dihydrochelerythrine	6880-91-7	C ₂₁ H ₁₉ NO ₄	350.139 3	350.139 1	13.25	290.080 6	335.114 6	334.106 8	318.074 8	5
37	去甲白屈菜红碱	Norchelerythrine	6900-99-8	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	334.107 9	334.107 3	13.19	261.077 9	319.083 3	318.075 7	304.098 8	50
38	16-表伏康树卡平碱	16-epi-Voacarpine	1140207-38-2	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₄	369.180 2	369.182 0	6.38	184.075 7	166.086 1	—	—	2
39	钩吻素丁	(19Z)-Akuammidine	113973-31-2	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₃	353.186 8	353.186 3	6.50	323.174 9	166.086 1	158.096 3	—	5
40	土的宁	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.176	335.175 0	5.30	264.101 2	184.075 5	156.080 5	—	50
41	马钱子碱	Brucine	357-57-3	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	395.197 4	395.197 0	5.24	213.078 0	324.122 4	367.164 7	244.096 4	5
42	莨菪碱	L-Hyoscyamine	101-31-5	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	290.175 7	290.174 9	5.67	67.054 8	91.054 5	124.112 0	93.070 2	2

序号	化合物	英文名称	CAS号	分子式	理论分子量 [M+H] ⁺	实测分子量 [M+H] ⁺	保留时间/min	碎片1	碎片2	碎片3	碎片4	检出限/ (ng/mL)
43	秋水仙碱	Colchicine	64-86-8	C ₂₂ H ₂₅ N ₆ O ₆	400.176 6	400.176 1	7.66	267.101 6	282.124 9	358.164 7	310.119 4	2
44	硫秋水仙苷	Thiocolchicoside	602-41-5	C ₂₇ H ₃₃ N ₁₀ S ₆	564.191 8	564.191 7	5.78	296.102 2	343.099 4	402.136 1	360.125 9	5
45	草乌甲素	Bulleyaconitine A	107668-79-1	C ₃₈ H ₄₀ N ₉ O ₉	628.347 6	628.350 1	11.35	135.044 1	536.300 8	568.326 4	—	50
46	多根乌头碱	Karacoline	39089-30-0	C ₂₂ H ₃₅ N ₄ O ₄	378.263	378.264 7	3.55	124.111 1	328.225 3	360.252 4	58.065 2	50
47	新乌头原碱	Mesaconine	6792-09-2	C ₂₄ H ₃₉ N ₅ O ₉	486.269 1	486.270 9	2.49	436.232 0	454.242 6	75.044 0	—	50
48	硬飞燕草碱	Delsoline	509-18-2	C ₂₈ H ₄₁ N ₇ O ₇	468.294 8	468.296 9	5.88	108.080 9	386.232 0	418.257 7	—	10
49	印乌头碱	Indaconitine	4491-19-4	C ₃₄ H ₄₇ N ₁₀ O ₁₀	630.328 6	630.328 6	10.17	570.305 4	538.280 4	105.033 7	520.269 0	2
50	光翠雀碱	Denudatine	26166-37-0	C ₂₂ H ₃₃ N ₅ O ₂	344.259 3	344.259 3	4.02	167.205 5	58.065 3	235.147 9	72.080 6	2
51	德尔塔林	Deltaline	6836-11-9	C ₂₇ H ₄₁ N ₈ O ₈	508.292 1	508.291 7	6.66	110.096 5	386.239 1	476.263 2	75.044 6	2
52	查斯曼林	Chasmanine	5066-78-4	C ₂₈ H ₄₁ N ₆ O ₆	452.3	452.302 1	6.16	356.221 0	108.080 0	420.273 4	388.247 3	50
53	川翠定甲	Bonvalotidine A	929019-25-0	C ₂₇ H ₄₁ N ₈ O ₈	508.29	508.291 7	6.56	110.096 4	75.043 9	476.263 3	386.232 3	5
54	去乙酰粗茎乌头碱甲	Deacetyl crassicauline A	CB24672553	C ₃₃ H ₄₇ N ₉ O ₉	602.333 7	602.333 6	9.59	58.065 7	135.043 9	570.304 8	538.280 4	2
55	再乌头碱	Ranaconitine	1360-76-5	C ₃₂ H ₄₄ N ₇ O ₉	601.313 9	601.313 0	7.72	162.054 7	120.044 4	583.299 8	422.252 9	5
56	10-羟基喜树碱	10-Hydroxycamptothecin	19685-09-7	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₅	365.113 2	365.114 0	6.76	321.122 8	235.085 6	265.094 2	—	50
57	7-乙基-10-羟基喜树碱	7-Ethyl-10-Hydroxycamptothecin	130194-92-2	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₅	365.112 5	365.114 0	6.70	321.122 9	235.086 1	265.094 2	—	25
58	9-甲氧基喜树碱	9-Aminocamptothecin	19685-10-0	C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₅	379.128 8	379.129 6	8.57	249.101 4	235.085 5	335.138 0	—	5
59	N-甲基野靛碱	N-Methylcytisine	486-86-2	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	205.133 7	205.133 7	1.27	108.081 0	163.403 0	58.065 7	—	5
60	茶碱	Theophylline	58-55-9	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	181.072 5	181.072 9	2.28	142.061 6	124.051 1	96.056 3	—	5
61	金雀花碱	Cytisine	485-35-8	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	191.118 4	191.118 4	1.39	82.064 6	148.075 4	162.089 8	—	10
62	罗通定	Rotundine	10097-84-4	C ₂₁ H ₂₈ N ₄ O ₄	356.185	356.186 3	7.70	192.101 6	165.090 9	—	—	2
63	骆驼蓬碱	Harmaline	304-21-2	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O	215.117 7	215.117 9	6.64	200.094 2	174.091 2	—	—	2
64	去氢骆驼蓬碱	Harmine	442-51-3	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O	213.102 8	213.102 8	6.67	169.075 7	198.078 4	—	—	2
65	吴茱萸碱	Evodiamine	518-17-2	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O	304.144 3	304.144 5	11.06	106.065 3	134.059 9	170.083 5	—	2
66	喜树碱	Camptothecin	7689-3-4	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₄	349.119 3	349.119 8	8.14	248.091 2	305.128 3	219.091 6	—	2
67	延胡索乙素	Tetrahydropalmatine	2934-97-6	C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₄	356.186 5	356.186 3	7.80	176.070 3	165.090 9	192.101 6	—	2
68	氧化苦参碱	Oxymatrine	16837-52-8	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	265.191 7	265.191 5	1.45	148.111 8	247.180 0	205.133 2	—	10
69	右旋四氢巴马汀	D-Tetrahydropalmatine	3520-14-7	C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₄	356.184 8	356.186 3	7.80	165.090 7	176.070 3	192.101 5	—	25
70	槐果碱	Sophocarpine	145572-44-7	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	247.181 2	247.181 3	1.45	179.154 1	136.111 9	—	—	2
71	苦参碱	Matrine	519-02-8	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	249.196 8	249.196 4	1.44	247.180 1	148.111 9	112.075 9	—	2
72	青藤碱	Simomenine	115-53-7	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₄	330.170 9	330.171 1	4.19	239.069 9	181.064 5	—	—	5
73	粉防己碱	Tetraandrine	518-34-3	C ₃₈ H ₄₂ N ₂ O ₆	623.313 6	623.312 6	7.30	146.095 9	381.180 2	—	—	10
74	可碱	Theobromine	83-67-0	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	181.072 6	181.072 6	1.88	108.055 7	116.972 0	138.066 2	—	5
75	药根碱	Jatrobrizine	3621-38-3	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₄	338.139 7	338.139 2	7.80	279.088 5	323.114 7	294.111 7	323.114 7	2
76	防己诺林碱	Fangchinoline	436-77-1	C ₃₇ H ₄₀ N ₂ O ₆	609.298 4	609.297 2	6.81	174.091 4	367.164 2	192.101 7	—	2
77	胡椒碱	Piperine	7780-20-3	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃	286.143 8	286.144 2	11.15	143.049 0	201.054 7	135.044 0	—	2
78	原阿片碱	Protopine	130-86-9	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O ₅	354.134 4	354.134 6	7.42	189.078 7	275.069 7	149.059 6	—	2
79	延胡索甲素	Corydaline	518-69-4	C ₂₂ H ₂₇ N ₃ O ₄	370.202 2	370.202 1	8.38	165.090 8	150.067 3	192.101 6	—	2
80	檫榔碱	Arecoline	18513-76-3	C ₈ H ₁₃ N ₂ O ₂	156.102 4	156.102 3	1.45	113.059 1	124.075 1	81.033 2	100.953 2	5
81	小檗胺	Berberamine	478-61-5	C ₃₇ H ₄₀ N ₂ O ₆	609.297 4	609.297 2	6.70	367.164 6	192.101 6	148.075 5	—	5
82	氧化槐果碱	Oxysophocarpine	26904-64-3	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂	263.176 3	263.176 2	1.45	245.164 5	136.112 0	150.127 5	203.117 8	5
83	小檗碱	Berberine	2086-83-1	C ₃₀ H ₁₈ N ₄ O ₄	336.122 3	336.123 7	8.63	320.091 2	292.096 2	278.080 6	—	2
84	千里光宁	Senecionine	130-01-8	C ₁₈ H ₂₅ N ₃ O ₅	336.181 4	336.181 2	6.01	94.065 4	308.184 8	120.080 8	138.091 1	5
85	千里光非灵	Seneciophylline	480-81-9	C ₁₈ H ₂₃ N ₃ O ₅	334.165 7	334.166 0	5.26	138.091 2	306.169 3	120.080 8	94.065 4	2

注:—代表无



注: D1: 第 1 天; D2: 第 2 天; D3: 第 3 天

图 1 3 种数据采集方式在不同添加浓度水平下的筛查数量

Figure 1 Number of compounds detected at different spiked concentration levels under the three data collection methods

片离子匹配得 2.5 分, 总分高于 4 分即可认为结果可信。按照文中设置的筛查条件, 本方法筛查到的目标物打分结果均高于 4 分, 以此来确保鉴定结果的准确性。文中对比了不同数据采集方式在 3 个添加水平下的平均筛查准确率(筛查准确率=筛查到的生物碱数量/添加的生物碱数量), 如图 2 所示。

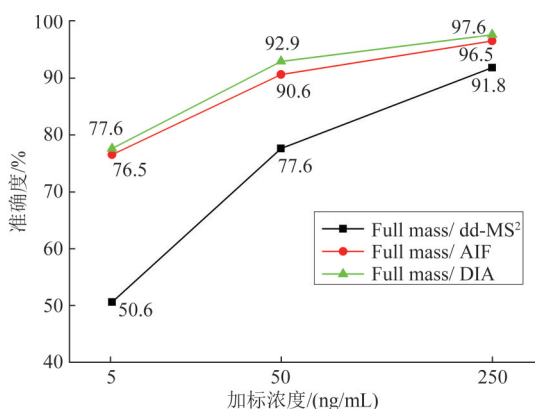


图 2 3 种数据采集方式在不同添加浓度水平下的筛查准确率

Figure 2 The screening accuracy of three data collection methods at different spiked concentration levels

5 ng/mL 时 Full mass/AIF 模式与 Full mass/DIA 模式筛查准确率分别为 76.5% (65/85) 和 77.6% (66/85), 均明显高于 Full mass/dd-MS² 模式下 50.6% (43/85) 的筛查准确率。而当浓度上升至 50 ng/mL 时, Full mass/AIF 模式与 Full mass/DIA 模式筛查准确率迅速升至 90% 以上, 而 Full mass/dd-MS² 模式筛查准确率仍然较低, 仅为 77.6% (66/85)。在 250 ng/mL 时 3 种模式的筛查准确率均能达到 90% 以上, 尤其是 Full mass/DIA 模式筛查准确率为 97.6% (83/85), 仅遗漏了 2 种目标生物碱。在 50 和 250 ng/mL 加标水平下, AIF 筛查准确率与 DIA 相接近, 但是 AIF 选择性较差, 无法将碎片和

母离子一一对应, 在实际中毒样品筛查中易造成假阳性结果^[21]。

2.1.3 数据筛查谱图

图 3 是 5 ng/mL 添加水平下二氢白屈菜红碱在 3 种数据采集模式下的筛查结果谱图, 虽然 3 种模式下均筛查到了二氢白屈菜红碱的母离子, 但是仅 Full mass/DIA 模式筛查到了二氢白屈菜红碱 3 个二级碎片信息, 匹配成功。Full mass/dd-MS² 模式下, 由于一次循环仅扫描前 10 强的母离子打碎做二级, 二氢白屈菜红碱在该模式下母离子响应较低, 未能进入碰撞池产生二级碎片而被遗漏。Full mass/AIF 模式下二氢白屈菜红碱虽然产生了碎片, 但二级碎片质量数偏差均未大于 10 ppm 而未能被成功筛查。

DIA 在数据采集时不依赖于检测到的代谢物的丰度, 而是对所有检测到的代谢物在一定的质荷比的窗口下进行碎裂并检测其二级谱图, 从而可以无遗漏、无差异地获得样本中所有离子的全部碎片信息^[22]。在 3 个加标水平下, Full mass/DIA 模式的筛查准确性均为最高。因此在建立血浆中高通量有毒生物碱筛查方法时, 选择 Full mass/DIA 模式采集数据信息。

2.2 检出限

本研究以空白血浆添加不同浓度生物碱, 使目标物浓度分别为 2、5、10、25、50、100、200、250、400 和 500 ng/mL, 按照 1.4 处理样品后, 在每个水平随机检测 10 次, 记录检出结果。对于每一种生物碱, 以 10 次检测中方法均能检出的最低质量浓度作为检出限。实验结果表明, 大于 85% 的生物碱在血浆中的检出限均小于 10 ng/mL, 能满足中毒样品低浓度快速筛查的需求, 85 种生物碱的检出限详见表 1。

2.3 基质效应

采用基质标准曲线拟合的线性方程斜率与溶剂标准曲线线性方程斜率比 (Slope ratio, SR) 来评价基质效应, 若 SR=100%, 说明无基质效应; 若 SR<100%, 呈基质抑制效应; 若 SR>100%, 呈基质增强效应。当 SR 为 80%~120% 时, 存在基质效应, 但影响不大; 当 50%≤SR<80% 或 120%<SR<150% 时, 表现为中等程度的基质效应, 当 SR≤50% 或 SR≥150%, 表示基质效应强烈^[23-24]。其中基质标准曲线的溶剂以经前处理后空白血浆提取液代替, 溶剂标准曲线的溶剂使用乙腈, 分别配制 85 种生物碱浓度为 2、5、10、25、50、100、200、250 和 500 ng/mL 的溶剂标准曲线及基质标准曲线的标准溶液。以一级母离子色谱峰面积对浓度 (ng/mL) 进行线性回归拟合由此计算基质效应。计算结果显

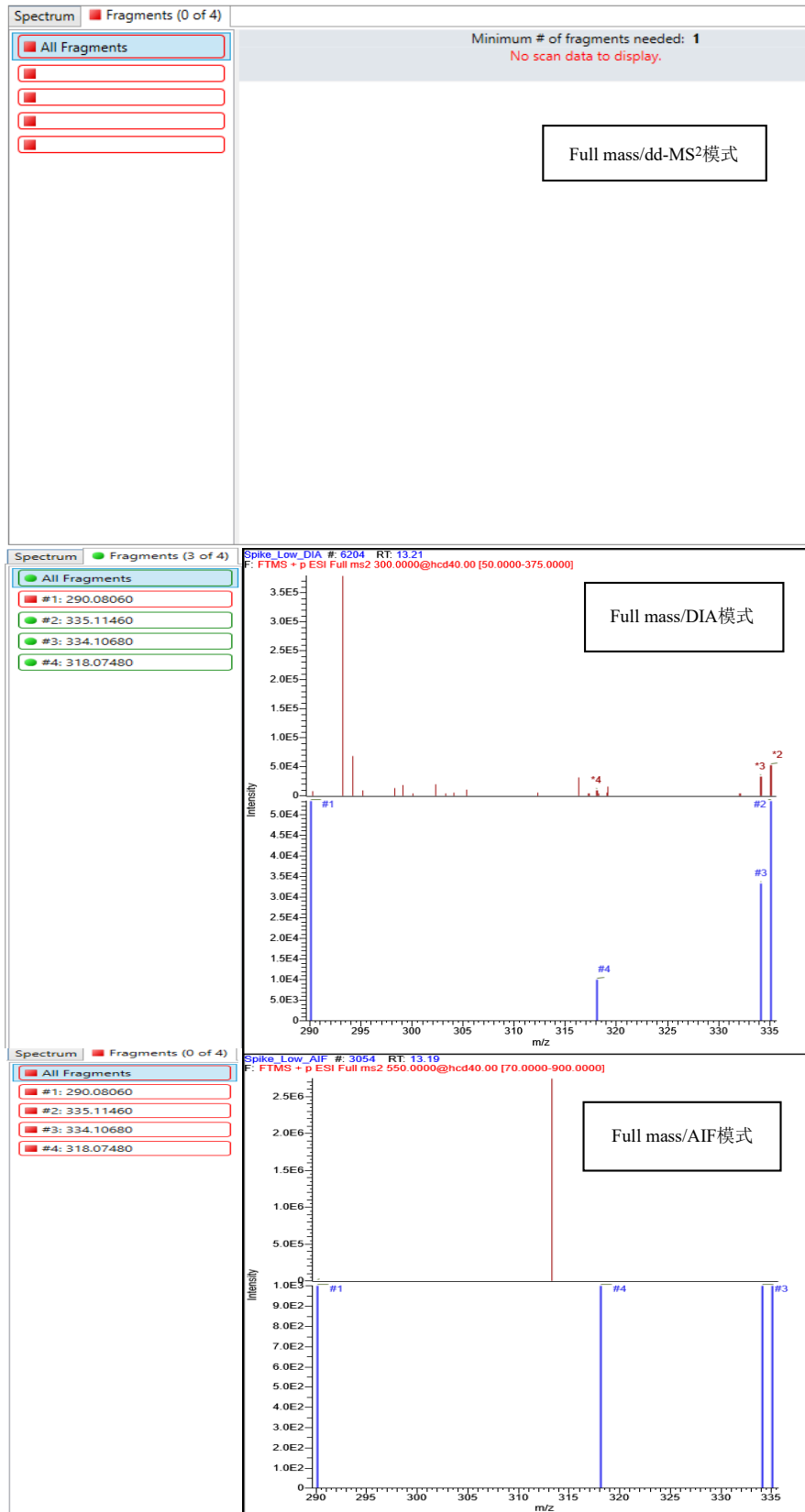


图3 5 ng/mL加标血浆中二氢白屈菜红碱在3种数据采集方式下的筛查图谱

Figure 3 The screening spectrums of dihydrochelerythrine in spiked plasma samples at 5 ng/mL under three different data acquisition modes

示 85 种生物碱的 SR 值范围在 93% ~ 107%，其中 93% ≤ SR < 100% 的有 20 种，SR = 100% 的有 11 种，100% < SR ≤ 107% 的有 54 种。这说明血浆对于生物碱的检测虽存在一定程度基质效应，但影响不大。

2.4 筛查方法的应用

2.4.1 模拟中毒血浆样本的靶向筛查

因生物碱中毒血浆较难获得，本文以滇乌头碱毒物代谢动力学实验获得的 Wistar 雄性大鼠血浆

样本对建立的筛查方法进行了验证。在3份不同灌胃剂量的大鼠血浆-3#、6#和15#样品中均检出了滇乌头碱,其中3#和15#血浆样品中还检出了脱氧

乌头碱及印乌头碱,可能为滇乌头碱在大鼠体内的代谢产物^[25],而空白大鼠血浆中均未有生物碱检出,具体筛查结果及图谱见图4。

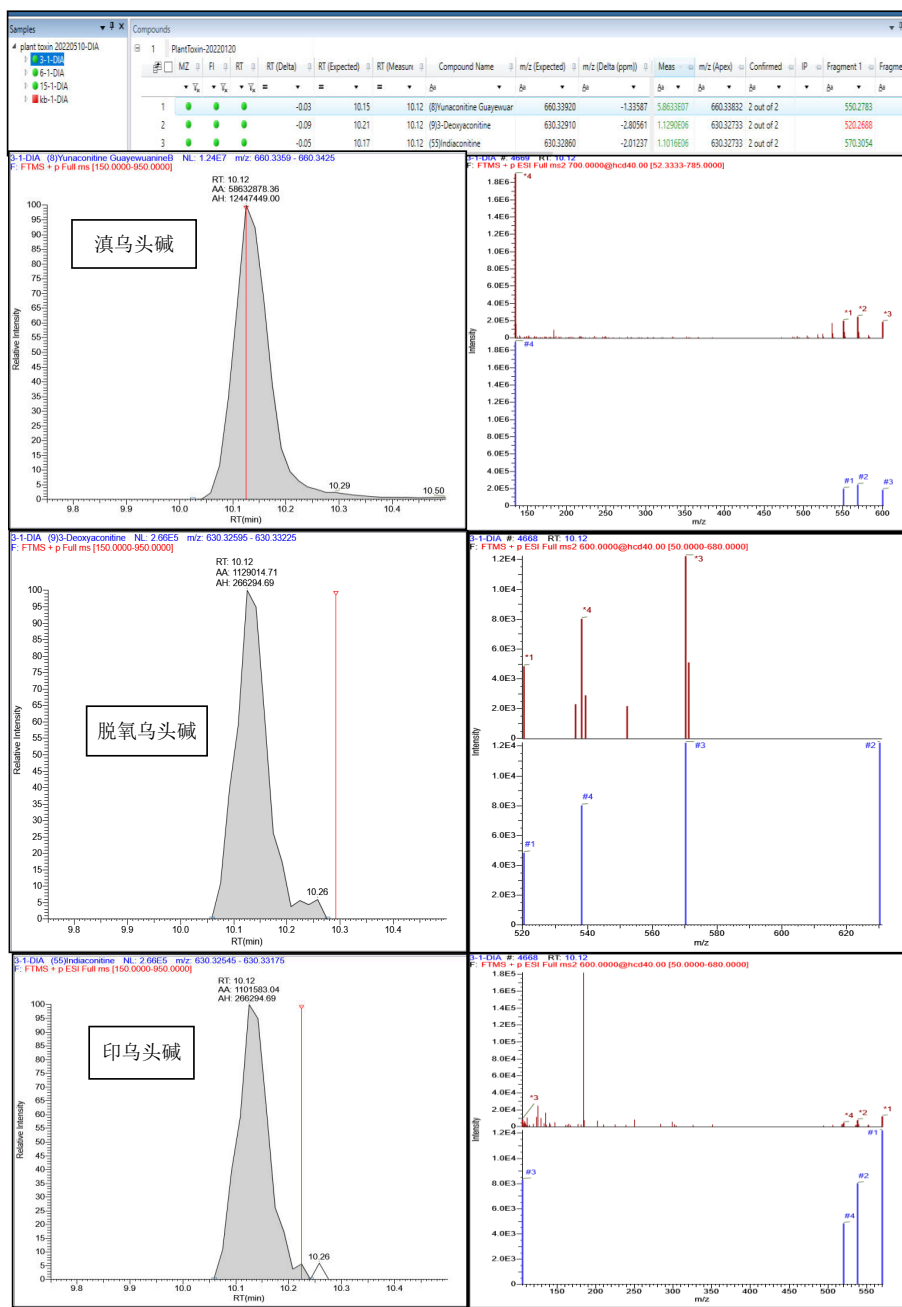


图4 3#大鼠血浆样品的筛查结果及图谱

Figure 4 The screening results and spectra of 3# rat plasma samples

2.4.2 加标血浆样本的靶向筛查

本文以加标血浆样本对建立的筛查方法进行验证。按照85种有毒生物碱的不同类别,随机选择1~2种代表性生物碱,以不同浓度水平随机添加到空白血浆中,按照1.4进行样品前处理,筛查结果如表2所示。由表2可知,在5~100 ng/mL添加水平下,添加的生物碱全部被成功筛选,这表明本文建立的筛查方法适用于中毒病人血浆中有毒生物碱的快速筛查,能满足常见生物碱中毒事件如

乌头类、雷公藤类、颠茄类中毒血浆样本毒物的快速定性检测。

2.4.3 未知物非靶向筛查

由于实验室能获得的生物碱标准物质十分有限,但是自然界中存在的有毒生物碱成千上万,仅依靠文中构建85种生物碱数据库进行生物碱中毒筛查远不能满足实际需求。UHPLC-Q/Exactive因具有超高分辨率、高选择性并配备高能碰撞解离模式,因此能获得未知物质的精确分子量和碎片离子

表2 空白血浆随机加标筛查结果

Table 2 Additional screening of blind spike

血浆	添加浓度/(ng/mL)	是否成功筛选
空白血浆 A		
胡椒碱	5	是
雷公藤甲素	100	是
空白血浆 B		
脱氧乌头碱	5	是
莨菪碱	20	是
千里光宁	50	是
空白血浆 C		
塔拉萨敏	20	是
秋水仙碱	50	是
去乙酰粗茎乌头碱甲	100	是
去氢骆驼蓬碱	50	是

信息。这就使得在无标准品情况下,对未录入库中的其他有毒生物碱进行非靶向筛查成为可能。针对某一类特定的生物碱,通过结构式了解其质谱裂解规律,参考数据库中获得的其特征碎片离子,可以对与库中生物碱结构类似物进行化学结构的筛查鉴定。例如,在正离子模式下,乌头类生物碱由于母核中甲氧基和羟基较多,最常见的质谱碎裂途径就是不断失去 CH_3OH 与 H_2O ,会产生相应的特征碎片^[26];吡咯里西啶类生物碱会在正离子模式下产生 94、120、138 等特征结构碎片离子。将这些特征离子与样品提取液中扫描所得离子进行对比,即可筛查出乌头碱类和吡咯里西啶类生物碱及其结构类似物^[27],这也进一步扩展了该数据库的应用。

3 结论

本文利用 UHPLC-Q/Exactive 建立了一个包含 85 种有毒生物碱的数据库,数据库包含生物碱的中英文名称、分子式、CAS 号、母离子理论分子量与实测分子量、保留时间、特征碎片分子峰。结合数据库比较了 3 种数据采集模式 Full mass/dd-MS²、Full mass/AIF 以及 Full mass/DIA 的筛查准确率,结果表明 Full mass/DIA 模式更适合血浆中有毒生物碱的采集。利用本文建立的筛查方法可以在无标准品的状况下实现突发性生物碱中毒事件血浆中有毒生物碱的快速筛查。

参考文献

- [1] MOL H G J, DAM R C V, ZOMER P, et al. Screening of plant toxins in food, feed and botanicals using full-scan high-resolution (Orbitrap) mass spectrometry[J]. Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2011, 28(10): 1405-1423.
- [2] 麦沛明,朱炳辉,余胜兵,等.有毒生物碱中毒及检测的研究进展[J].中国卫生检验杂志,2014,24(24):3638-3641,3644. MAI P M, ZHU B H, YU S B, et al. Research progress of toxic alkaloid poisoning and its detection [J]. Chinese Journal of

Health Laboratory Technology, 2014, 24(24): 3638-3641, 3644.

- [3] 翟雨佳.植物药酒中常见有毒生物碱研究进展[J].现代食品,2019(5):37-39. ZHAI Y J. Recent developments of common toxic alkaloids in botanical medicinal liquor[J]. Modern Food, 2019(5): 37-39.
- [4] 何仟,谢立璟,马沛滨,等.我国有毒动物、有毒植物、毒草中毒现状分析[J].药物不良反应杂志,2013,15(1):6-10. HE Q, XIE L J, MA P B, et al. Analysis of current situation of poisoning caused by poisonous animals, poisonous plants, and poisonous mushrooms in China [J]. Adverse Drug Reactions Journal, 2013, 15(1): 6-10.
- [5] 刘小红,周妍,李永刚,等.超高效液相色谱-串联质谱法检测蜂蜜中雷公藤甲素残留量[J].食品安全质量检测学报,2016,7(12):4960-4965. LIU X H, ZHOU Y, LI Y G, et al. Determination of triptolide in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(12): 4960-4965.
- [6] 张敏,董嘉皓,李斐,等.高效液相色谱法同时测定吴茱萸醇提物中4种生物碱[J].医药导报,2019,38(9):1203-1207. ZHANG M, DONG J H, LI F, et al. Simultaneous determination of four alkaloids in the ethanol extract of euodia rutaecarpa by HPLC[J]. Herald of Medicine, 2019, 38(9): 1203-1207.
- [7] 吴惠勤,张春华,黄晓兰,等.气相色谱-串联质谱法同时检测尿液中15种有毒生物碱[J].分析测试学报,2013,32(9):1031-1037. WU H Q, ZHANG C H, HUANG X L, et al. Simultaneous determination of 15 toxic alkaloids in urine by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(9): 1031-1037.
- [8] 崔佳丽,赵高琼,梅晶,等.高效液相色谱-串联质谱法同时测定人血中8种有毒生物碱[J].中国医院用药评价与分析,2019,19(5):513-517,520. CUI J L, ZHAO G Q, MEI J, et al. Simultaneous determination of 8 toxic alkaloids in human plasma by HPLC-MS/MS [J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2019, 19(5): 513-517, 520.
- [9] 刘伟,沈敏,沈保华,等.LC-MS/MS-MRM筛选血液中22种有毒生物碱成分[J].法医学杂志,2007,23(5):349-352. LIU W, SHEN M, SHEN B H, et al. Simultaneous screening for 22 poisonous alkaloids in blood by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with multiple-reaction monitoring [J]. Journal of Forensic Medicine, 2007, 23(5): 349-352.
- [10] 唐晓琴,赵舰,贺丽迎,等.72种生物碱高分辨质谱数据库建立与应用[J].中国食品卫生杂志,2020,32(3):228-233. TANG X Q, ZHAO J, HE L Y, et al. Establishment and application of 72 alkaloids database with high resolution mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(3): 228-233.
- [11] WANG J, LEUNG D, CHOW W, et al. Target screening of 105 veterinary drug residues in milk using UHPLC/ESI Q-Orbitrap multiplexing data independent acquisition [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018, 410(22): 5373-5389.

- [12] 朱峰, 吉文亮, 刘华良, 等. 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法用于食物中毒的快速筛查与确证[J]. 色谱, 2017, 35(9): 957-962.
ZHU F, JI W L, LIU H L, et al. Rapid screening and identification of food poisonings by ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(9): 957-962.
- [13] 郭巧珍, 赵丽丛, 张昕, 等. 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱筛查一起由生物碱引起的食物中毒[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(1): 49-54.
GUO Q Z, ZHAO L C, ZHANG X, et al. Screening of a food poisoning caused by alkaloids by ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022, 34(1): 49-54.
- [14] 郭添荣, 万渝平, 孙利, 等. 通过式固相萃取结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查畜禽肉中108种兽药残留[J]. 分析化学, 2022, 50(2): 271-289.
GUO T R, WAN Y P, SUN L, et al. Rapid screening and confirmation of 108 kinds of veterinary drug residues in livestock and poultry meat by solid phase extraction purification and liquid chromatography coupled with quadrupole/orbitrap mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(2): 271-289.
- [15] 周楠, 黄姗, 陈卓, 等. 超高效液相色谱仪-四级杆/静电轨道阱高分辨质谱法快速筛查及不同酒类中64种非法添加化合物[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 229-242.
ZHOU N, HUANG S, CHEN Z, et al. Rapid screening and quantification of 64 kinds of illegally added compounds in different wines by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 229-242.
- [16] 吴明媛, 余焱, 谢宗升, 等. 液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查海水中大环内酯类抗生素[J]. 理化检验: 化学分册, 2021, 57(5): 444-449.
WU M Y, YU T, XIE Z S, et al. Rapid screening of macrolide antibiotics in seawater by liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Physical Testing and Chemical Analysis: Part B: Chemical Analysis, 2021, 57(5): 444-449.
- [17] European Union. Guidance SANTE 11312/2021—Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed[Z/OL]. (2022-01-01) [2022-07-20]. https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727.
- [18] US Food and Drug Administration. Acceptance Criteria for Confirmation of Identity of Chemical Residues using Exact Mass Data within the Office of Foods and Veterinary Medicine[EB/OL]. (2019-09-29) [2022-07-20]. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/posters/PO-HRMS-Chemical-Residues-FDA-NACRW2016-EN.pdf#:~:text=The%20office%20of%20Foods%20and%20Veterinary%20Medicine%20%28OFVM%29,data%20collected%20with%20high%20resolution%20mass%20spectrometry%20%28HRMS%29>.
- [19] VACLAVIK L, KRYNITSKY A J, RADER J I. Targeted analysis of multiple pharmaceuticals, plant toxins and other secondary metabolites in herbal dietary supplements by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbital ion trap mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 810: 45-60.
- [20] The Commission of the European Communities. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results[Z/OL]. (2002-08-12) [2022-07-20]. <https://matsne.gov.ge/en/document/view/3626220?publication=0>.
- [21] WU I L, TURNIPSEED S B, STOREY J M, et al. Comparison of data acquisition modes with Orbitrap high-resolution mass spectrometry for targeted and non-targeted residue screening in aquacultured eel[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM, 2020, 34(7): e8642.
- [22] 尹岩东, 蔡玉萍, 朱正江. 基于非数据依赖质谱技术的非靶向代谢物鉴定方法[C]. 第三届全国质谱分析学术报告会摘要集-分会场2: 蛋白组学与代谢组学, 2017.
YIN Y D, CAI Y P, ZHU Z J. Nontargeted metabolite identification method based on non-data-dependent mass spectrometry[C]. The abstract book of The 3rd National Conference on Mass Spectrometry -Session 2: Proteomics and Metabolomics, 2017.
- [23] 王小乔, 邱国玉, 杨志敏, 等. 液质联用高通量检测技术基质效应评价与消除[J]. 现代食品, 2020(12): 44-46.
WANG X Q, QIU G Y, YANG Z M, et al. Evaluation and elimination of matrix effect in high throughput of LC-MS[J]. Modern Food, 2020(12): 44-46.
- [24] 王娇, 齐沛沛, 刘之炜, 等. 液相色谱-串联质谱法分析葡萄中农药残留的基质效应评价[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(10): 1750-1753, 1759.
WANG J, QI P P, LIU Z W, et al. Evaluation of matrix effect in determining pesticide residues in grape by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2018, 59(10): 1750-1753, 1759.
- [25] 张宏桂, 史向国, 孙莹, 等. 兔血液中乌头碱代谢产物的研究[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2006, 44(2): 284-286.
ZHANG H G, SHI X G, SUN Y, et al. Study on the metabolites of aconitine in rabbit blood[J]. Journal of Jilin University: Science Edition, 2006, 44(2): 284-286.
- [26] 孙蕾, 王少辰, 孙明谦, 等. 基于HPLC-Q-TOF-MS研究6种乌头生物碱类成分的裂解途径[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2827-2831.
SUN L, WANG S C, SUN M Q, et al. Fragmentation pathways of six aconitine alkaloids using HPLC-Q-TOF-MS technology[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(16): 2827-2831.
- [27] 许秀丽, 许博舟, 王茜, 等. 超高效液相色谱-高分辨质谱法同时测定茶叶中15种吡咯里西啶类生物碱[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(6): 783-790.
XU X L, XU B Z, WANG H, et al. Simultaneous determination of pyrrolizidine alkaloids (PAs) in tea by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(6): 783-790.