

SCIEX QTRAP®系统对血液中有毒生物碱的定性与定量分析

Identification and Quantitation of Poisonous Alkaloids in Blood by SCIEX QTRAP®

张景然, 刘冰洁, 李立军, 郭立海

Zhang Jingran, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX 亚太应用支持中心, 上海

SCIEX China, Shanghai

Key words: QTRAP®; 4500; Poisonous Alkaloids; MRM-IDA-EPI;

引言

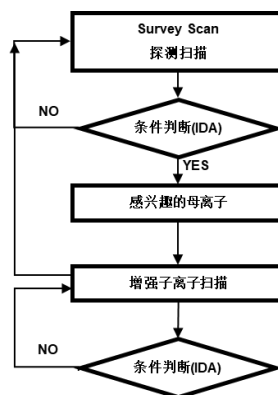
生物碱是存在于自然界（主要为植物）中的一类含氮碱性有机化合物，大多数生物碱具有杂环状结构。很多生物碱是中药的有效成分，其在具有生物活性的同时也具有一定的毒性，过量摄入过量会产生副作用。生物碱是引发食物中毒的主要原因之一，有些生物碱还会被犯罪分子利用进行违法犯罪类活动。

由于有毒生物碱的成分复杂多样、含量低、毒性大、生物检材基质复杂等原因，为公安司法的鉴定工作带来难题。因此，本实验使用QTRAP®质谱独有的复合功能和扫描方式建立了血液中31种有毒生物碱的快速筛查、鉴定和定量的方法。

SCIEX QTRAP®质谱系统将行业标准的三重四极杆质谱技术与专有的线性加速离子阱技术相结合。不仅具有三重四级杆质谱的所有功能，离子阱技术更能提供超快的扫描速度，以及具有提高两个数量级以上的二级碎片灵敏度。QTRAP®质谱并不仅是两种质谱技术简单的叠加，其能够瞬时从三重四极杆模式切换到线性加速离子阱模式，故可智能化的将这两类质谱的扫描方式相结合，实现一针进样同时获得不同扫描模式下的数据。本实验使用QTRAP®质谱系统独有的MRM-IDA-EPI扫描模式（见图1），实现一针进样同时获得定性与定量数据。

实验方法特点

1. 检测方法简单快速：单针分析时间8 min即可完成31种有毒生物碱的定量与定性分析。31种生物碱的提取离子流色谱图见图2。



步骤1，探测扫描（可有多种方式，如MRM、中性丢失(NL)、母离子(Precursor)扫描等）；

步骤2，系统自动判断：探测扫描采集到离子信号是否符合IDA的各项限定条件

步骤3，当步骤2的条件满足时，系统自动快速切换（<1ms）为线性离子阱模式，进行增强子离子扫描（EPI），获得高质量MS²谱图；

图1. 一针进样同时获得定性（EPI）与定量（MRM）数据。

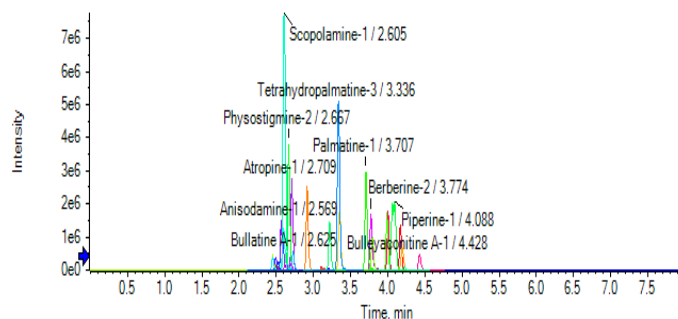


图2. 31种有毒生物碱MRM提取离子流色谱图。

2. 强大的定性功能：QTRAP®质谱系统独有的EPI模式，即增强型离子阱扫描模式，可得到灵敏度更高（与三重四极杆相比可提高两个数量级以上），且不同能量碎裂的全质量范围的二级碎片谱。软件通过与标准品谱库的自动比对，使定性结果更准确。

3. 强大的定量功能：QTRAP®质谱系统具有与三重四极杆质谱完全一致的定量性能。提供pg级的灵敏度，以及出色的仪器重现性和稳定性，保证定量准确。
4. 目标物定性与定量一针完成：QTRAP®质谱系统独有的MRM-IDA-EPI复合扫描模式一针进样同时获得MRM定量数据以及高灵敏度的二级碎片全谱数据（EPI）。实现同时进行目标化合物的定性和定量分析。
5. 高质量的二级谱图为化合物的定性提供依据，结合SCIEX OS软件可以自动将化合物二级碎片谱图与数据库进行匹配，快速完成目标化合物的筛查和定性。

仪器设备

液质系统：SCIEX ExionLC™液相 + QTRAP® 4500质谱系统



实验方法

前处理方法：

参照《血液中45种有毒生物碱成分的液相色谱-串联质谱检验方法》（SF/Z JD0107015-2015）

液相方法：

色谱柱：Phenomenex Kinetex F5 (100 × 3.0 mm, 2.6 μm)

流速：0.4 mL/min；

柱温：40 °C；

进样量：5 μL；

洗脱方式：梯度洗脱；

质谱方法：

扫描方式：MRM-IDA-EPI；

离子源：ESI+源

IS电压：3000 V (+)

源温度 TEM: 550 °C

气帘气 CUR: 25 psi

碰撞气 CAD: 7 psi

雾化气 GS1: 45 psi

辅助气 GS2: 55 psi

EPI碰撞能量CE: 35 ± 15 V；

结果与讨论

定性结果

SCIEX OS 软件的集成界面，具有高自动化、简单易用，一目了然的特点。软件自动根据化合物的保留时间和二级碎片谱图进行目标化合物筛查和定性。

如图3，根据软件结果显示，在某样本中检测出阿托品，其保留时间和二级碎片谱图均为绿色对勾，说明匹配良好。实测二级谱图与数据库匹配Purity 得分为96.6分，体现QTRAP®质谱的EPI的独有优势，即便在复杂基质中的低浓度目标物仍能得到高质量的二级谱图，保证定性结果的准确性。

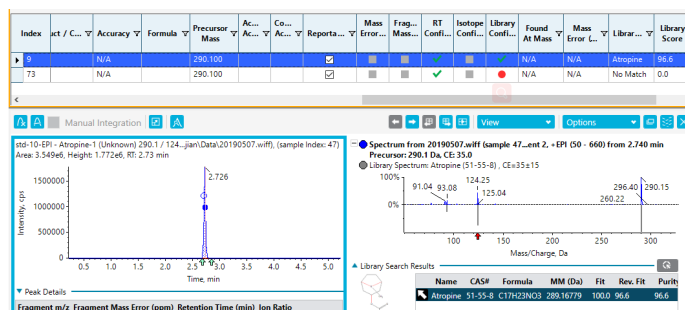


图3. 样品中检测出的阿托品色谱图及其二级谱图与数据库匹配结果。

定量结果

标准曲线及检出限

将空白血液样品按照“前处理方法”提取净化后，得到空白基质，使用空白基质配制线性范围为0.1-100 ng/mL的基质标准溶液。实验结果表明（见表1），各目标化合物的线性关系良好，相关系数均大于0.995，检测结果满足血液中有毒生物碱的检测要求。

使用空白基质溶液配制6份浓度为1 ng/mL的质控样品，通过计算6份样品的RSD考察方法的重现性，数据结果表明（见表2）方法的重现性良好，满足检测要求。

表1. 31种有毒生物碱的线性方程及定量限。

编号	化合物名称	定量限 ng/mL	线性范围 ng/mL	线性方程	相关系数
1	石山碱甲	0.04	0.1-100	$y = 11858.20084 x + 686.74202$	$r=0.99872$
2	喜树碱	0.1	0.1-100	$y = 7904.43557 x + 200.34331$	$r=0.99727$
3	氧化苦参碱	0.1	0.1-100	$y = 6.10628e4 x + 864.44780$	$r=0.99813$
4	消旋山莨菪碱	0.02	0.1-100	$y = 2.81196e5 x + 999.11354$	$r=0.99754$
5	阿托品	0.01	0.1-100	$y = 3.11947e5 x + 868.88403$	$r=0.99625$
6	盐酸小檗碱	0.05	0.1-100	$y = 3.25780e5 x + 3596.32447$	$r=0.99807$
7	马钱子碱	0.1	0.1-100	$y = 25233.25228 x + 835.26718$	$r=0.99722$
8	雪山一支蒿甲素	0.05	0.1-100	$y = 7.16212e4 x + 881.18653$	$r=0.99718$
9	草乌甲素	0.05	0.1-100	$y = 1.06230e5 x + 2535.19434$	$r=0.99943$
10	天然辣椒素	0.05	0.1-100	$y = 1.92689e5 x + 1078.78189$	$r=0.99782$
11	秋水仙碱	0.1	0.1-100	$y = 21495.35124 x + 1605.94851$	$r=0.99685$
12	二氢辣椒素	0.02	0.1-100	$y = 1.60055e5 x + 901.72743$	$r=0.99677$
13	二羟丙茶碱	0.1	0.1-100	$y = 3.83407e4 x + 2823.32456$	$r=0.99791$
14	粉防己碱	0.1	0.1-100	$y = 16124.19051 x + -2287.64120$	$r=0.99681$
15	高三尖杉酯碱	0.02	0.1-100	$y = 3.70479e5 x + 591.91404$	$r=0.99813$
16	次乌头碱	0.02	0.1-100	$y = 1.53941e5 x + 5763.40045$	$r=0.99817$
17	药根碱	0.02	0.1-100	$y = 3.03593e5 x + 1760.69140$	$r=0.99808$
18	新乌头碱	0.02	0.1-100	$y = 2.03892e5 x + 6005.47920$	$r=0.99705$
19	合成辣椒素	0.02	0.1-100	$y = 4.31062e5 x + 5758.71996$	$r=0.99809$
20	盐酸巴马汀	0.02	0.1-100	$y = 3.88577e5 x + 2178.03855$	$r=0.99682$
21	毒扁豆碱	0.01	0.1-100	$y = 6.07215e5 x + 1001.25454$	$r=0.99838$
22	胡椒碱	0.05	0.1-100	$y = 4.45212e5 x + 5216.17661$	$r=0.99628$
23	原阿片碱	0.02	0.1-100	$y = 1.12835e5 x + 1131.57049$	$r=0.99571$
24	利血平	0.1	0.1-100	$y = 21186.88628 x + -700.11755$	$r=0.99949$
25	东莨菪碱	0.002	0.1-100	$y = 5.73171e5 x + 6609.02175$	$r=0.99539$
26	青藤碱	0.01	0.1-100	$y = 1.75872e5 x + 608.62341$	$r=0.99714$
27	槐定碱	0.1	0.1-100	$y = 5.18948e4 x + 1985.17326$	$r=0.99780$
28	土的宁	0.1	0.1-100	$y = 7.47103e4 x + 1172.95841$	$r=0.99848$
29	延胡索乙素	0.01	0.1-100	$y = 5.30766e5 x + 1658.33279$	$r=0.99649$
30	可可碱	0.1	0.1-100	$y = 6830.25059 x + 1320.11258$	$r=0.99549$
31	茶碱	0.1	0.1-100	$y = 4.93122e4 x + 8033.83516$	$r=0.99575$

表2. 31种有毒生物碱的重现性数据。

编号	化合物名称	实际浓度 ng/mL	平行样 数量	平均计 算浓度 ng/mL	RSD %
1	石山碱甲	1.00	6 of 6	0.93	2.94
2	喜树碱	1.00	6 of 6	1.02	3.18
3	氧化苦参碱	1.00	6 of 6	0.94	1.39
4	消旋山莨菪碱	1.00	6 of 6	1.02	4.51
5	阿托品	1.00	6 of 6	0.99	4.24
6	盐酸小檗碱	1.00	6 of 6	0.98	2.01
7	马钱子碱	1.00	6 of 6	0.88	3.06
8	雪山一支蒿甲素	1.00	6 of 6	0.99	2.82
9	草乌甲素	1.00	6 of 6	0.91	5.35
10	天然辣椒素	1.00	6 of 6	1.01	4.10
11	秋水仙碱	1.00	6 of 6	0.95	4.02
12	二氢辣椒素	1.00	6 of 6	0.98	1.52
13	二羟丙茶碱	1.00	6 of 6	1.00	4.22
14	粉防己碱	1.00	6 of 6	0.84	2.10
15	高三尖杉酯碱	1.00	6 of 6	1.02	2.42
16	次乌头碱	1.00	6 of 6	0.98	4.39
17	药根碱	1.00	6 of 6	0.99	3.40
18	新乌头碱	1.00	6 of 6	1.04	2.83
19	合成辣椒素	1.00	6 of 6	0.99	5.65
20	盐酸巴马汀	1.00	6 of 6	1.00	2.69
21	毒扁豆碱	1.00	6 of 6	0.97	2.59
22	胡椒碱	1.00	6 of 6	1.00	2.17
23	原阿片碱	1.00	6 of 6	1.02	2.45
24	利血平	1.00	6 of 6	0.92	3.49
25	东莨菪碱	1.00	6 of 6	0.96	1.63
26	青藤碱	1.00	6 of 6	0.97	1.04
27	槐定碱	1.00	6 of 6	0.88	4.99
28	土的宁	1.00	6 of 6	0.96	3.91
29	延胡索乙素	1.00	6 of 6	1.01	3.28
30	可可碱	1.00	6 of 6	1.02	3.41
31	茶碱	1.00	6 of 6	1.05	3.92

总结

1. 本文应用SCIEX QTRAP® 4500系统独有的MRM-IDA-EPI模式，建立了血液中31种有毒生物碱的定量和定性筛查方法。一针进样同时得到准确高质量的MRM数据和EPI数据，使得定量和定性筛查可以一针完成，省时省力。
2. SCIEX 专利技术的Turbo V™ 离子源，业内最高的离子源温度设计和专利技术的主动排空功能带来高离子化效率和极强的抗污染能力。在日常大批量样本检测过程中仍保证的稳定的高灵敏度和重现性。
3. QTRAP®质谱独有的EPI扫描模式，利用碰撞池的多能量碎裂功能以及离子阱质量分析器的富集功能，可得到更全质量范围的二级碎片谱，且具有与三重四极杆质谱离子扫描模式相比大于两个数量级以上的灵敏度。即便对复杂基质中的低浓度目标化合物仍能得到高质量的二级碎片谱，通过与标准谱库的匹配使定性结果更准确。
4. SCIEX OS 软件自动化高，操作简单，可在同一界面完成定性和定量分析，界面直观，省时省力。软件可以自动根据化合物的保留时间和二级碎片谱图进行目标化合物筛查和定性。
5. 高质量的二级谱图为化合物的定性提供依据，在没有标准品的情况下，也可以快速完成目标化合物的筛查和定性。
6. 该方法能快速准确的对血液中31种有毒生物碱进行定性和定量分析，化合物灵敏度远高于标准要求。该方法和实验思路同样适用于SCIEX 其它型号QTRAP®产品。为公安法医领域提供方法参考。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2019. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte.

Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-9985-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司

地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层

电话：010-5808 1388

传真：010-5808 1390

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心

地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室

电话：021-2419 7200

传真：021-2419 7333

网址：www.sciex.com.cn

广州分公司

地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室

电话：020-8510 0200

传真：020-3876 0835

微博：@SCIEX