

广西甜茶叶中甜茶苷的 UPLC-MS 分析

张 健^{1,2}, 俞桂新², 刘李明¹, 刘志军³

(1. 上海应用技术学院香料香精技术与工程学院, 上海 200235; 2. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203;

3. 美国路易斯安那州立大学自然资源学院, LA 70803)

Determination of Rubusoside from *Rubus suavissimus* S. Lee by UPLC-MS

ZHANG Jian^{1,2}, CHOU Gui-xin², LIU Li-ming¹, LIU Zhi-jun³

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 200235, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Medical School, Shanghai 201203, China;

3. School of Renewable Natural Resources, Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803 U.S.A.)

Abstract: Rubusoside is a major sweet component in *Rubus suavissimus* S. Lee (sweet tea), which is a special product of Guangxi Province, China. A liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (LC-MS/MS) method was developed for the determination of Rubusoside in sweet tea. After pretreatment procedure, sample was separated on a ACQUITY UPLC@BEH C₁₈(2.1 × 100 mm i.d.; 1.7 μm) column with a mobile phase consisting of V(acetonitrile(0.1% formic acid)):V(distilled water(0.1% formic acid))=20:80 and injection volume of 5 μL at a flow-rate of 1.5 mL·min⁻¹ and the column temperature was 35 °C. Detection was performed by Waters mass spectrometer using multiple reaction monitoring (MRM) mode via electro spray ionization (ESI) source and selecting m/z 643-319 as detecting ion. A good linear calibration is obtained for 0.1-10 mg·L⁻¹ with a correlation coefficient of 0.999 3. The recoveries are in the range of 95.3%-97.7%. The limit of Determination is 0.04 mg·L⁻¹, and the limit of Quantification is 0.1 mg·L⁻¹. The proposed method is simple, sensitive and reproducible enough to be used for the determination of Rubusoside in *Rubus suavissimus* S. Lee.

Key words: Rubusoside; UPLC-MS/MS; *Rubus suavissimus* S. Lee

中图分类号: O 657.63

文献标识码: A

文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0236-02

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

甜茶原叶 (*Rubus suavissimus* S. Lee) 采自广西金秀, 贵州三都, 广西平乐; 甜茶苷标准品: 美国路易斯安那州立大学自然资源系药用植物实验室提供。液相色谱 Acquity-质谱联用仪 Quattro Premier XE: 美国 Waters 公司产品; 台式离心机 TDL-5: 上海安亭科学仪器厂产品; JL-60DTH 超声波振荡仪。

1.2 样品处理

1.2.1 甜茶原叶样液的制备 甜茶原叶经干燥、粉碎、去梗后, 称取 1g 分别采自广西金秀、平乐、贵州三都的甜茶原叶, 分二批进行提取及测定。将称取好的 3 个不同产地的甜茶叶样品放入标记好

的圆底烧瓶中,用20 mL 70%乙醇溶液,插上冷凝管后放入超声波振荡仪,在温度调至60℃水浴中超声波振荡萃取90 min。再用70%乙醇溶液洗涤甜茶叶,合并洗涤液,将溶液于离心机中高速(10 000 r·min⁻¹)离心3 min,移取上层清液,转入50 mL容量瓶中,经滤膜过滤取清液,使其混合均匀后定容至50 mL,用于测定。

1.2.2 标准溶液的制备 精确称取10 mg甜茶苷标准品,用100 mL去离子水配制成100 mg·L⁻¹标准储备溶液。准确量取不同体积溶液,分别定容至10 mL的容量瓶中,配制成0.1、0.4、1、4、10 mg·L⁻¹甜茶苷的标准溶液系列,经0.25 μm滤膜过滤后备测定。

1.3 仪器测量

1.3.1 液相色谱条件 ACQUITY UPLC@BEH C₁₈色谱柱(2.1×100 mm i.d.; 1.7 μm),流动相0.1%甲酸的乙腈水溶液-0.1%甲酸水溶液,柱温35℃,进样体积5 μL,流速0.15 mL·min⁻¹。

1.3.2 质谱条件 离子源ESI+;一级质谱(Scan)的毛细管电压3.00 kV,锥孔电压45 V,离子源温度110℃,脱溶剂气温度300℃;二级质谱(MRM)的低端分辨率LM 9V,高端分辨率HM 15 V,碰撞电压40 V,出口电压2 V,测定和比较标准品和样品待测组分的峰值。

2 结果与讨论

2.1 测量条件

根据甜茶苷的分子结构,选择ESI(+)作为电离化模式,将甜茶苷的标准品配制成各种浓度的水溶液,通过全扫描方式找出其母离子。使用Daughters扫描方式选择特征离子,逐步加大诱导碰撞能量,随着能量从20、30、35、45 V,母离子665丰度逐渐减少,子离子丰度逐渐增加。确定其最佳诱导碰撞能量的范围,最后在MRM方式中进一步调整碰撞能量,以便获得甜茶苷的最大灵敏度。鉴于甜茶苷的碎片离子中均存在 m/z 503和319,选择其作为定量离子,结果示于图1、图2。母离子 m/z 665为 m/z 642带入钠离子[M+Na]⁺的质量,实测值 m/z 503为甜茶苷断掉1个糖苷后的相对分子质量。图2中 m/z 319为甜茶苷断掉2个糖苷的相对分子质量。

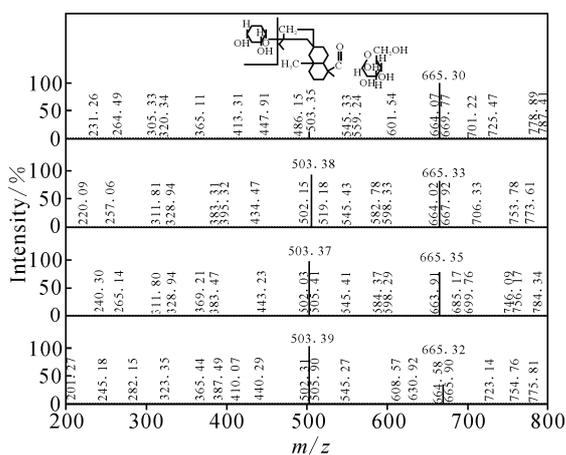


图1 碰撞能量从上至下分别为20、30、35、45 V, 碎片离子 m/z 503以及碎片机理

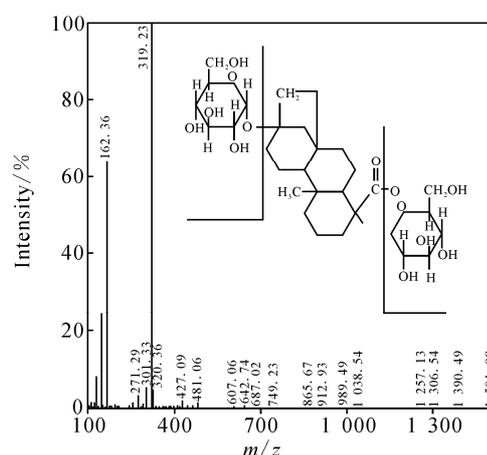


图2 碎片离子 m/z 319以及碎片机理

2.2 方法考查

甜茶苷的标准曲线方程为 $y=37\ 222x+1\ 935.6$,相关系数 $r=0.999\ 3$,其最低检出限(LOD)为0.04 mg·L⁻¹,定量限(LOQ)为0.1 mg·L⁻¹,日内精密度RSD=1.26%,日间精密度为RSD=1.81%,平均加样回收率为96.5%。分别对生长于广西金秀、广西平乐和贵州三都的甜茶叶提取制备后,测得样品中甜茶苷占甜茶叶的干重分别为5.10%、3.21%、4.96%。