

半枝莲中肝毒性成分吡咯里西啶生物碱含量分析及初步风险评估

咎珂¹, 周颖², 李耀磊¹, 王莹¹, 金红宇¹, 左甜甜¹, 刘丽娜^{1*}, 马双成^{1*}

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629

2. 浙江省食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 浙江 杭州 310052

摘要: 目的 建立了UPLC-MS/MS法测定半枝莲中印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物等4个吡咯里西啶生物碱的含量, 并根据测定结果进行初步的风险评估。方法 采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 以含0.05%甲酸和2.5 mmol/L甲酸铵的水溶液(A)及含0.05%甲酸和2.5 mmol/L甲酸铵的乙腈溶液(B)为流动相, 梯度洗脱; 电喷雾离子源, 正离子多反应模式监测, 外标法测定。采用暴露限值(MOE)法进行风险评估。结果 印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物质量浓度在0.974~97.400、0.992~99.200、1.024~102.400和1.012~101.200 ng/mL与峰面积呈现良好的线性关系($r>0.999$); 平均加样回收率分别为88.7%、93.2%、94.8%、85.4%, RSD分别为4.1%、3.6%、4.4%、3.9%。6批半枝莲样品中印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的含量范围分别为0.18~0.66、0.11~0.42、0.78~2.21、0.19~0.97 μg/g, MOE值为3 134~6 461。结论 所建立的方法可同时测定半枝莲中4个主要吡咯里西啶生物碱含量; 初步风险评估显示, 该药材存在一定的用药安全风险。

关键词: 半枝莲; 肝毒性成分; 吡咯里西啶生物碱; 印美定; 石松胺; 印美定氮氧化物; 石松胺氮氧化物; 超高效液相色谱-串联质谱; 风险评估

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2021)12-2608-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.12.012

Content analysis and preliminary risk assessment of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in *Scutellariae Barbatae Herba*

ZAN Ke¹, ZHOU Ying², LI Yaolei¹, WANG Ying¹, JIN Hongyu¹, ZUO Tiantian¹, LIU Lina¹, MA Shuangcheng¹

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China

2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory of Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (Traditional Chinese Patent Medicine), Hangzhou 310052, China

Abstract: **Objective** To establish a method for the simultaneous determination of four pyrrolizidine alkaloids (intermediate, lycopsamine, intermediate *N*-oxide, and lycopsamine *N*-oxide) in *Scutellariae Barbatae Herba* by UPLC-MS/MS. And to carry out preliminary risk assessment according to the research results. **Methods** The assay was performed on a ACQUITY UPLC HSS T3 column (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) and the sample was eluted with a gradient mobile phase consisted of 0.05% formic acid and 2.5 mmol/L ammonium formate in water (A)-0.05% formic acid and 2.5 mmol/L ammonium formate in acetonitrile (B). The MS system was operated by using electrospray ionization (ESI) in the positive ion mode, and the scan mode was in multiple reactions monitoring(MRM) mode. External standard method was used in the experiment. The risk assessment was carried out by margin of exposure (MOE) method. **Results** The linear ranges of intermediate, lycopsamine, intermediate *N*-oxide, and lycopsamine *N*-oxide were 0.974—97.4, 0.992—99.2, 1.024—102.4 and 1.012—101.2 ng/mL, respectively ($r > 0.999$). The average recoveries were 88.7%, 93.2%, 94.8% and 85.4% with RSD of 4.1%, 3.6%, 4.4% and 3.9%, respectively. The content ranges of intermediate, lycopsamine, intermediate *N*-oxide, and lycopsamine *N*-oxide in the six batches of *Scutellariae Barbatae Herba* were 0.18—0.66, 0.11—0.42, 0.78—2.21 and 0.19—0.97 μg/g, respectively. The MOE values ranged from 3 134 to 6 461. **Conclusion** The method

收稿日期: 2021-06-02

基金项目: 科技部重大新药创制项目(2018ZX09735-006)

第一作者: 咎珂, 副研究员。研究方向为中药质量研究。E-mail: 6206310@qq.com

*共同通信作者: 马双成, 研究员。研究方向为中药质量控制及质量标准研究。E-mail: masc@nifdc.org.cn

刘丽娜, 副研究员。研究方向为中药检验及质量控制研究。E-mail: kllln@163.com

can be used for the determination of four pyrrolizidine alkaloids in *Scutellariae Barbatae Herba*, providing a scientific basis for the quality evaluation and safe medication of this herb. Preliminary risk assessment showed that long-term use of the drug has certain drug safety risks.

Key words: *Scutellariae Barbatae Herba*; hepatotoxic component; pyrrolizidine alkaloids; intermedine; lycopsamine; intermedine *N*-oxide; lycopsamine *N*-oxide; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; risk assessment

半枝莲为唇形科植物半枝莲 *Scutellaria barbata* D. Don 的干燥全草,具有清热解毒、化瘀利尿的功效,用于疮痈肿毒、咽喉肿痛、跌扑伤痛、水肿、黄疸和蛇虫咬伤等疾病的治疗,分布于我国华北、华东、东南、华南和西南等地区。现有金蒲胶囊、抗骨髓炎片等中成药等使用半枝莲作为组方药材^[1-2]。半枝莲主要含有黄酮、二萜、多糖等多类化合物^[3-5]。Wang 等^[6]建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法从半枝莲中鉴定出石松胺及其氮氧化物和印美定氮氧化物等肝毒性吡咯里西啶生物碱(pyrrolizidine alkaloids, PAs)成分并测定了含量。PAs 广泛存在于菊科、紫草科、豆科、唇形科等植物中,吡咯里西啶环的1,2位为双键的PAs成分,具有较强肝毒性,过量或长期摄入可引起不可逆的肝损伤,严重的可造成肝硬化和肝纤维化等不良后果^[7-11]。PAs成分在半枝莲中属于痕量水平,供试品采用固相萃取(solid phase extraction, SPE)富集净化处理后,采用灵敏度高的UPLC-MS/MS法进行测定是较为常见的选择^[12-14]。印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物均为1,2位不饱和的PAs,结构式见图1,该类生物碱具有较强的肝毒性,是半枝莲中主要的PAs类成分。本研究建立UPLC-MS/MS法测定半枝莲中印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物4个PAs含量,并根据测定结果进行初步的风险评估。

1 材料

Waters Acquity™ UPLC 色谱仪(Waters 公司); Waters Xevo TQ-Smicro 三重四极杆串联质谱检测器(Waters 公司); KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); XS105DU 十万分之一电子分析天平(METTLER TOLEDO 公司); Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司)。

对照品:印美定(批号 13420,质量分数 99.08%)、石松胺(批号 12183,质量分数 99.11%)、印美定氮氧化物(批号 13418,质量分数 100.0%)和石松胺氮氧化物(批号 13484,质量分数 96.89%)购于 PhytoLab GmbH 公司。乙腈、甲醇、甲酸和甲酸铵均为质谱级(Fisher 公司),水为超纯水。

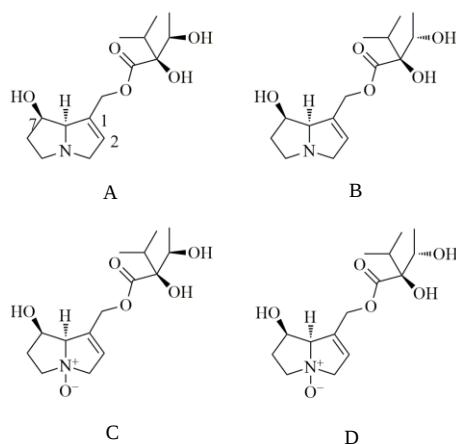


图1 印美定(A)、石松胺(B)、印美定氮氧化物(C)和石松胺氮氧化物(D)的结构式

Fig. 1 Chemical structures of intermedine (A), lycopsamine (B), intermedine *N*-oxide (C) and lycopsamine *N*-oxide (D)

半枝莲样品共6批,分别编号为S1~S6,分别采自广西、湖南等地,经中国食品药品检定研究院中药民族药检定所咎珂副研究员鉴定为唇形科植物半枝莲 *Scutellaria barbata* D. Don 的干燥全草。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 精密称取印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的对照品适量,分别以10%乙腈水配成质量浓度分别为0.974、0.992、1.024、1.012 μg/mL的对照品储备液。分别精密称取各对照品储备液适量,用10%乙腈水配成质量浓度分别为9.74、9.92、10.24、10.12 ng/mL的混合溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液 取半枝莲粉末1.0 g,精密称定,置50 mL离心管中,精密加入0.05 mol/L硫酸溶液20 mL,超声提取(300 W、40 kHz)30 min,滤过,取滤液10 mL进行固相萃取。具体流程为甲醇5 mL活化PCX固相萃取小柱,0.05 mol/L硫酸溶液5 mL平衡小柱,将硫酸溶液样品10 mL上柱,甲醇10 mL淋洗除杂,8%氨水-甲醇溶液10 mL洗脱,收集洗脱液并浓缩至1 mL左右,用10%乙腈水稀释定容至50 mL量瓶中,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即

为供试品溶液。

2.2 色谱-质谱条件

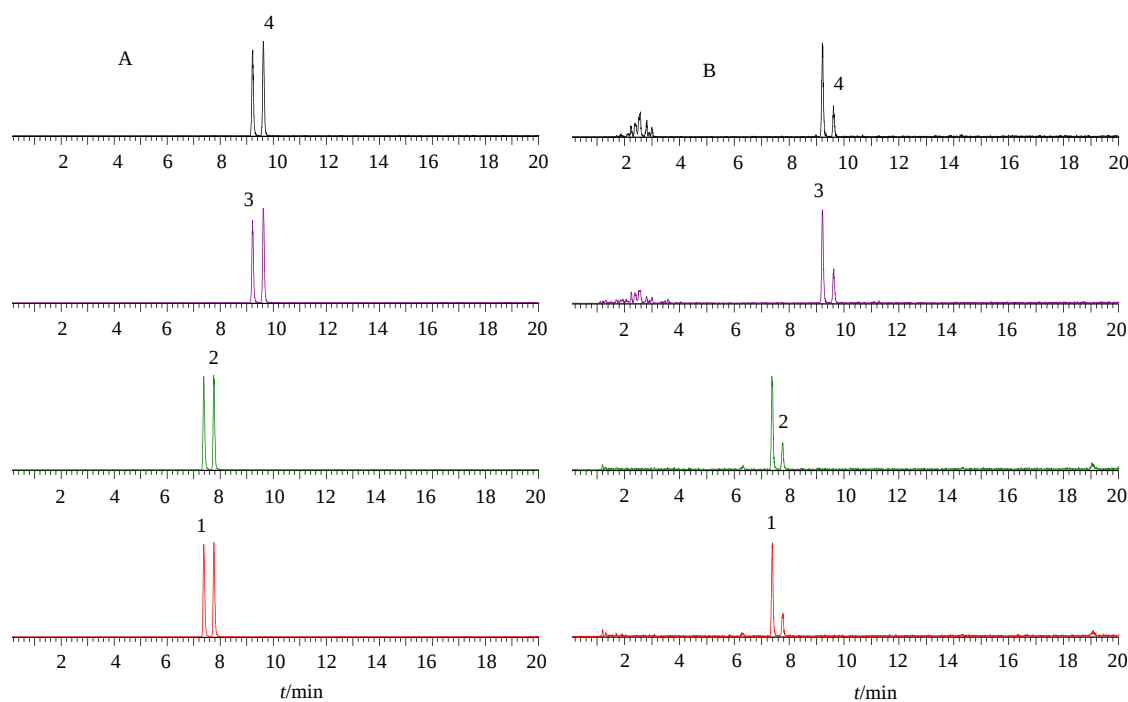
Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm); 柱温 40 °C; 流动相为 0.05% 甲酸和 2.5 mmol/L 甲酸铵的水溶液(A)及含 0.05% 甲酸和 2.5 mmol/L 甲酸铵的乙腈(B), 梯度

洗脱(0~8 min, 4%→10%B; 8~20 min, 10%B); 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 1 μL; 质谱离子源为电喷雾离子化源(ESI), 正离子, 多反应监测模式(MRM), 毛细管电压 3.0 kV, 离子源温度 150 °C, 去溶剂温度 500 °C。4 个 PAs 的质谱条件见表 1, 对照品及样品的色谱图见图 2。

表 1 目标成分的 MS 参数

Table 1 MS parameters of target analytes

成分	t_R/min	母离子 m/z	子离子 m/z		锥孔电压/V	碰撞能量/eV
			定量离子	定性离子		
印美定	7.40	300.2	94.1	138.1	22	28
石松胺	7.79	300.3	94.1	138.1	26	30
印美定氮氧化物	9.22	316.2	94.1	172.1	30	36
石松胺氮氧化物	9.69	316.3	172.1	94.1	36	44



1-印美定; 2-石松胺; 3-印美定氮氧化物; 4-石松胺氮氧化物

1-intermedine; 2-lycopsamine; 3-intermedine N-oxide; 4-lycopsamine N-oxide

图 2 混合对照品(A)和 S1 号样品(B)的 MRM 色谱图

Fig. 2 MRM chromatograms of mixed standard substances (A) and sample S1 (B)

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系、检测下限、定量下限和灵敏度考察 精密吸取各对照品储备液 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mL, 分别置于 6 个 10 mL 量瓶中, 加 10% 乙腈水定容至刻度, 摇匀, 即得各系列浓度的混合对照品溶液, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按照“2.2”项条件进样测定。以对照品的峰面积为纵坐标, 对应的质量浓度为横坐标, 进行线性回归。以定量离子的色谱峰信噪比 $S/N \geq 3$ 对应的最

低质量浓度为检测下限(LLOD), 以定量离子色谱峰信噪比 ≥ 10 对应的最低质量浓度为定量下限(LLOQ), 结果见表 2。

2.3.2 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项的混合对照品溶液 1 μL, 同一天内连续进样 6 次, 记录峰面积, 计算日内精密度。该对照品溶液, 于 -20 °C 保存, 每天进样 2 次, 连续测定 3 d, 计算日间精密度。印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的日内精密度($n=6$)的 RSD 分别为 2.8%、2.9%、

表2 线性方程、线性范围、检测下限和定量下限

Table 2 Linear equation, linear range, LLOD and LLOQ

成分	线性方程	<i>r</i>	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LLOD/(ng·mL ⁻¹)	LLOQ/(ng·mL ⁻¹)
印美定	$Y=10\,254X+1\,233$	0.999 3	0.974~97.4	0.19	0.49
石松胺	$Y=15\,632X+1\,754$	0.999 2	0.992~99.2	0.20	0.50
印美定氮氧化物	$Y=4\,572X-1\,321$	0.999 4	1.024~101.2	0.20	0.51
石松胺氮氧化物	$Y=8\,674X+1\,452$	0.999 1	1.012~101.2	0.20	0.51

2.8%、2.6%；日间精密度($n=6$)的RSD分别为3.3%、3.7%、3.5%、3.2%，表明该方法的精密度良好，仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一份供试品(S1)溶液，分别于0、2、4、8、12、24 h进样测定。印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物峰面积的RSD($n=6$)分别为2.1%、2.3%、2.6%、2.8%，表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.4 重复性试验 按照“2.1.2”项下方法制备S1号样品的供试品溶液6份，分别进样测定。印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的平均质量分数分别为0.41、0.19、1.05、0.48 μg/g，RSD分别为3.1%、3.5%、3.2%、2.8%，表明该方法的重复性良好。

2.3.5 加样回收试验 精密量取印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的对照品储备液适量，分别加10%乙腈水配制成上述4个成分质量浓度依次为197.6、99.2、512.0、240.0 ng/mL的各对照品溶液。取已知含量的S1号样品粉末6份，每份各约0.5 g，精密称定，分别置50 mL离心管中，精密加入上述4个对照品溶液各1.0 mL、0.05 mol/L硫酸溶液16 mL，超声提取(300 W, 40 kHz)30 min，按照“2.1.2”项方法平行制备供试品溶液，进样分析，计算回收率。印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物平均加样回收率($n=6$)分别为88.7%、93.2%、94.8%、85.4%，RSD分别为4.1%、3.6%、4.4%、3.9%。

2.4 含量测定

准确称取不同产地的半枝莲药材1.0 g，分别按照“2.1.2”项方法制备供试品溶液，在“2.2”项色谱条件下进样测定，依据外标法计算印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的含量，结果见表3。

2.5 风险评估

所测6批半枝莲样品中4个PAs的含量总和为1.62~3.34 μg/g。现行标准^[1]规定半枝莲用量为15~30 g，因此，每日摄入量最低为24.3 μg，最高为100.2 μg。欧洲药品监管局(European Medicines Agency, EMA)在2016年出台的关于含PAs的草药污染的公开声明中指出^[15-16]，草药委员会推荐每日吸收的PAs应限制在0.35 μg，这一水平最初是由欧洲食品安全局根据食品中遗传毒性致癌物风险评估的现行指南使用暴露限值(margin of exposure, MOE)框架得出的，这也是近年来国外机构对PAs的最新规定。半枝莲中PAs的含量超过EMA的规定；并且半枝莲还是可用于保健食品原料的中药材，存在一定的安全风险。

半枝莲作为药品服用时，每千克体质量PAs日暴露量[Exp, μg/(kg·d)]按如下公式计算：

$$\text{Exp} = \text{EF} \times \text{Ed} \times \text{IR} \times \text{C} / (\text{W} \times \text{AT})$$

EF为半枝莲的暴露频率；Ed为人一生服用中药的年限，按20年计算；IR为半枝莲的日摄入量15~30 g，按均值22.5 g计算；C为半枝莲中PAs的总量；W为人体质量，按70 kg计算；AT为平均寿命天数，按365 d/年×70年计算。

采用MOE法对于半枝莲中的肝毒性PAs进行

表3 样品含量测定结果($n=2$)Table 3 Results of sample determination($n=2$)

批次	产地	印美定/(μg·g ⁻¹)	石松胺/(μg·g ⁻¹)	印美定氮氧化物/(μg·g ⁻¹)	石松胺氮氧化物/(μg·g ⁻¹)	总量/(μg·g ⁻¹)
S1	山东泰安	0.41	0.19	1.05	0.48	2.13
S2	江苏扬州	0.32	0.11	0.85	0.34	1.62
S3	甘肃兰州	0.18	0.32	0.78	0.97	2.25
S4	吉林松原	0.44	0.18	2.21	0.51	3.34
S5	内蒙古赤峰	0.66	0.22	1.02	0.26	2.16
S6	广西柳州	0.22	0.42	0.98	0.19	1.81

风险特征描述。

$$\text{MOE} = \text{BMDL}/\text{Exp}$$

BMDL为PAs的健康指导值,为237 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})^{[13]}$

若 $\text{MOE} > 10\,000$,健康风险较低;反之,风险应予以关注,结果见表4。半枝莲的MOE为3 134~6 461,存在一定的健康风险。

表4 半枝莲风险评估结果

Table 4 Risk assessment results of *Scutellariae Barbatae* Herba

批号	Exp/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1})$	MOE
S1	0.048	4 914
S2	0.037	6 461
S3	0.051	4 652
S4	0.076	3 134
S5	0.049	4 845
S6	0.041	5 782

3 讨论

3.1 检测方法的选择

印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物等为半枝莲中最主要的PAs类成分,为痕量组分,高灵敏度的UPLC-MS/MS法检测为首选方法。本研究考察了ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm)、CORTECS UPLC C₁₈(150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.6 μm)和Acquity UPLC BEH C₁₈(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱,3种色谱柱均能达到测定要求,但第一种色谱柱峰形理想、保留时间适中,所以使用该色谱柱进行测定。由于PAs类成分为生物碱,流动相中加入适量甲酸铵和甲酸后易于化合物的电离,增强检测灵敏度。本研究在有机相和水相中添加0.05%的甲酸和2.5 mmol/L甲酸铵,化合物峰形较好。调节有机相和水相的洗脱比例,4个化合物在10 min内获得较好分离。通过沃特世仪器软件的“IntelliStart”功能优化获得MRM的锥孔电压和碰撞能量,应用表1中的质谱参数检测定量离子峰形好,其他物质无干扰,能够对待测物质准确测定。

3.2 流动相的选择

由于所测4个化合物中为2组非对映异构体(组1:印美定和石松胺;组2:印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物),非对映异构体的分子离子峰和质谱裂解行为基本一致,需要通过色谱柱将其分开,通过调节梯度比例,在10 min内这2组非对映异构体均达到基线分离,最终确定流动相为含0.05%

甲酸和2.5 mmol/L甲酸铵的水溶液及含0.05%甲酸和2.5 mmol/L甲酸铵的乙腈,梯度洗脱;在该系统下4个成分得到较好的保留和分离。

3.3 小结

本研究采用建立的UPLC-MS/MS法可同时测定半枝莲中4个主要PAs的含量,方法简便、准确且重复性好。6个批次的半枝莲中4个PAs的含量测定结果表明印美定、石松胺、印美定氮氧化物和石松胺氮氧化物的质量分数范围分别为0.18~0.66、0.11~0.42、0.78~2.21、0.19~0.97 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。风险评估显示存在一定的用药安全风险,应进一步研究该药材疗效风险比,重新评估半枝莲作为保健食品原料使用的可行性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2020:122-123.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020: 122-123.
- [2] 中国植物志编辑委员会.中国植物志.第65卷第2分册[M].北京:科学出版社,1977:229-232.
Editorial Committee of Chinese Flora. *Flora of China*. Vol.65 (2) [M]. Beijing: Science Press, 1977: 229-232.
- [3] 李娜,王平,孙铁锋,等.半枝莲化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(21): 5117-5128.
Li N, Wang P, Sun T F, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological action and quality control of *Scutellaria barbata* [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(21): 5117-5128.
- [4] 宋彤昕,贺明帅,吕佳霖,等.半枝莲化学成分及抗肿瘤作用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2020,22(10): 126-133.
Song T X, He M S, Lyu J L, et al. Research progress on chemical constituents of *Scutellaria barbata* [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2020, 22(10): 126-133.
- [5] Fu Q C, Tong C Y, Guo Y, et al. Flavonoid aglycone-oriented data-mining in high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry: Efficient and targeted profiling of flavonoids in *Scutellaria barbata* [J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(2): 321-333.
- [6] Wang J C, Zhang M, Chen L H, et al. Determination of toxic pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese herbal medicines by UPLC-MS/MS and accompanying risk assessment for human health [J]. Molecules, 2021, 26(6): 1648.

- [7] 高江国, 王长虹, 李岩, 等. 吡咯里西啶生物碱的药理作用、毒性及药(毒)物代谢动力学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(5): 506-511.
- Gao J G, Wang C H, Li Y, et al. Advance on pharmacologic actions, toxicity and pharmacokinetics of pyrrolizidine alkaloids [J]. China J Chin Mater Med, 2009, 34(5): 506-511.
- [8] 郭严, 张世荣, 文良志, 等. 我国吡咯烷生物碱致肝窦阻塞综合征的临床特征分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(6): 1277-1281.
- Guo Y, Zhang S R, Wen L Z, et al. Clinical features of sinusoidal obstruction syndrome induced by pyrrolizidine alkaloids in China [J]. J Clin Hepatol, 2018, 34(6): 1277-1281.
- [9] 王涛, 宋海波. 吡咯里西啶类生物碱肝毒性研究进展及风险分析 [J]. 医药导报, 2018, 37(9): 1033-1037.
- Wang T, Song H B. Research progress and risk analysis on hepatotoxicity of pyrrolizidine alkaloids [J]. Her Med, 2018, 37(9): 1033-1037.
- [10] 孙潇翔, 向娥, 邱帅凯, 等. 吡咯里西啶生物碱毒性作用研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2019, 16(2): 76-80.
- Sun X X, Xiang E, Qiu S K, et al. Research progress on toxicity of pyrrolizidine alkaloids [J]. Chin J Pharmacovigil, 2019, 16(2): 76-80.
- [11] 熊芬, 谷丽华, 杨莉, 等. 含吡咯里西啶生物碱中成药潜在风险评估 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5389-5400.
- Xiong F, Gu L H, Yang L, et al. Risk evaluation of Chinese patent medicine containing pyrrolizidine alkaloids [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(17): 5389-5400.
- [12] Bolechová M, Čáslavský J, Pospíchalová M, et al. UPLC-MS/MS method for determination of selected pyrrolizidine alkaloids in feed [J]. Food Chem, 2015, 170: 265-270.
- [13] Dzuman Z, Zachariasova M, Vepríkova Z, et al. Multi-analyte high performance liquid chromatography coupled to high resolution tandem mass spectrometry method for control of pesticide residues, mycotoxins, and pyrrolizidine alkaloids [J]. Anal Chim Acta, 2015, 863: 29-40.
- [14] Martinello M, Borin A, Stella R, et al. Development and validation of a QuEChERS method coupled to liquid chromatography and high resolution mass spectrometry to determine pyrrolizidine and tropane alkaloids in honey [J]. Food Chem, 2017, 234: 295-302.
- [15] European Medicines Agency. Public Statement on Contamination of Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products with Pyrrolizidine Alkaloids [R/OL]. (2016-5-31) [2020-05-20]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_gb/document_library/public_statement/2016/06/wc500208195.pdf
- [16] Knutsen HK, Alexander J, Barregård L, et al. Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements [J]. EFSA J, 2017, 15(7): e04908. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4908.

[责任编辑 兰新新]