

Исследование образцов порошка ежевика гребенчатого

Для проведения исследований предоставлено два образца высушенного зерномицелия ежевика гребенчатого - образец № 1 Ежевик А+ и образец № 2 Ежевик 25.

Цель исследования – определение массовой доли эринацинов в составе предоставленных образцов.

Для исследования был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС).

Метод ВЭЖХ-МС/МС

Исследования проводили на тандемном жидкостном хроматомасс-спектрометре LCMS-8040 («Шимадзу», Япония) с системой трёх квадруполей.

В конфигурацию прибора входят: системный контроллер CBM-20A, термостат колонок CTO-20AC, дегазатор DGU-20A5R, насосы высокого давления LC-30AD, автодозатор проб SIL-30AC, тандемный масс-спектрометр LCMS-8040.

Важнейшие технические характеристики прибора приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Технические характеристики LCMS-8040

Диапазон определяемых масс	От 10 до 2000 m/z
Чувствительность	Электроспрей (ESI), регистрация положительно заряженных ионов для 1 пг резерпина, S/N > 10000 (RMS), MRM-переходы
Разрешение	R < 0.7 u
Стабильность массы	0,05 / 12 ч
Взаимное влияние	< 0,003%
Макс. скорость сканирования	15000 аем /с
Время переключения полярностей	15 мсек
Методы ионизации	Электроспрей (ESI) (стандартно)
Диапазон скорости подвижной фазы	1 мкл / мин – 2 мл / мин

Анализ проводили с использованием колонки «Luna Omega Polar C18» 150 × 2,1 мм с размером зёрен неподвижной фазы 1,6 мкм (Phenomenex, США) в следующих условиях.

Дозируемый объем пробы	10 мкл;
Температура термостата колонок	40°C;
Расход подвижной фазы	0,25 мл · мин ⁻¹ ;
Подвижная фаза: А – вода (тип I, Milli-Q) + муравьиная кислота (0,1 %), Б - ацетонитрил;	
Режим элюирования: фаза Б – 20 - 90% с 0 до 8 мин (линейный градиент), 90% с 8 до 18 мин (площадка),	
Тип ионизации – электроспрей (ESI) (положительная и отрицательная полярность);	
Ионизирующее напряжение	3,5 кВ;
Энергия коллизии (коллизионный газ – аргон)	35 эВ;
Температуры: интерфейса - 400°C, линии десольватации - 250°C;	
Расход газов: распылителя (азот) - 3 л/мин, осушителя (азот) - 15 л/мин;	
Режим сбора данных: MRM, SIM.	

Последующую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения LabSolutions LCMS 5.86.

Навески исследуемых образцов зерноочищения 0,5 г суспендировали в 5 мл метанола при обработке на ультразвуковой бане. Полученные суспензии фильтровали через шприцевой полиамидный (нейлоновый) фильтр Chromafil АО-20/3 диаметром 3 мм, с размером пор 0,2 мкм.

В ходе проведения анализа в режиме MRM регистрировали хроматограммы по переходам m/z 429 $\rightarrow$ 411 (-) для эринацина S (мол. масса 430), 433 $\rightarrow$ 301 (+) для эринацина А (мол. масса 432). Хроматограммы представлены на рисунке 1.

В ходе проведения анализа в режиме SCAN регистрировали хроматограммы по полному ионному току в диапазоне m/z от 100 до 1000 при положительной полярности. Хроматограммы представлены на рисунке 2.

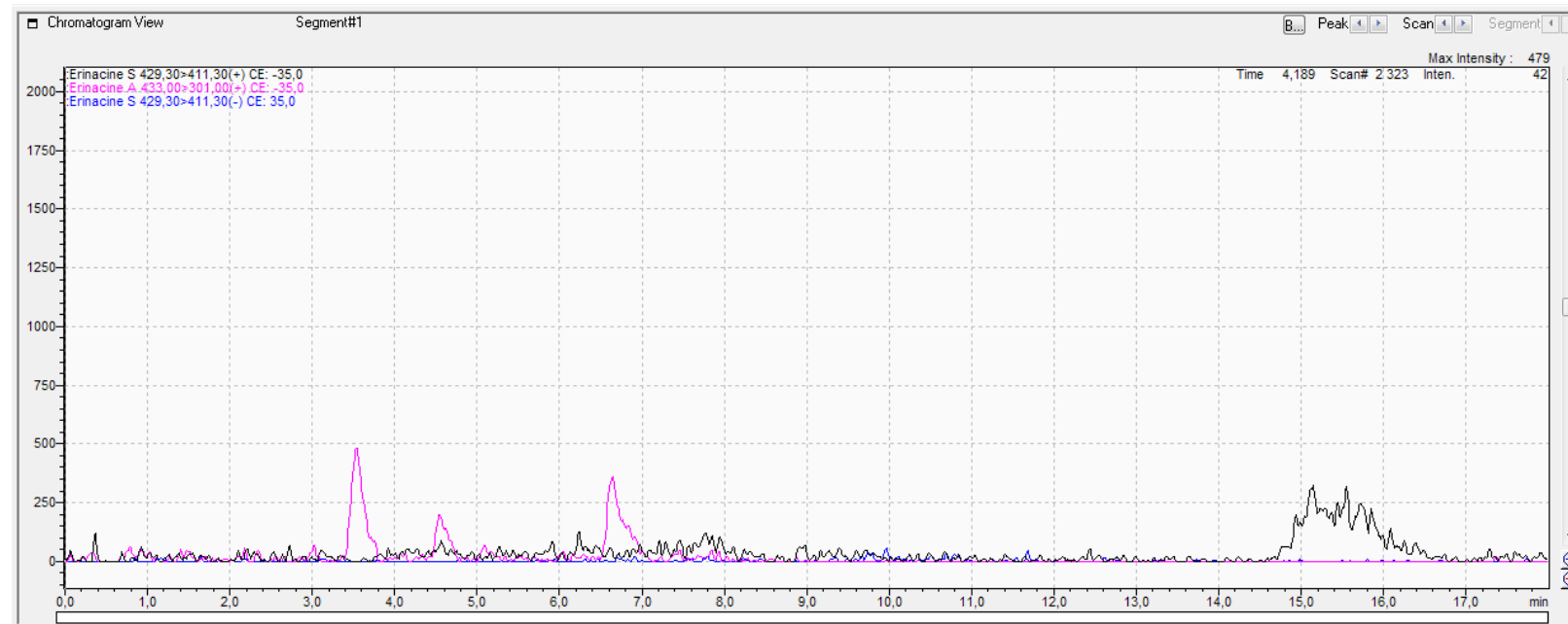
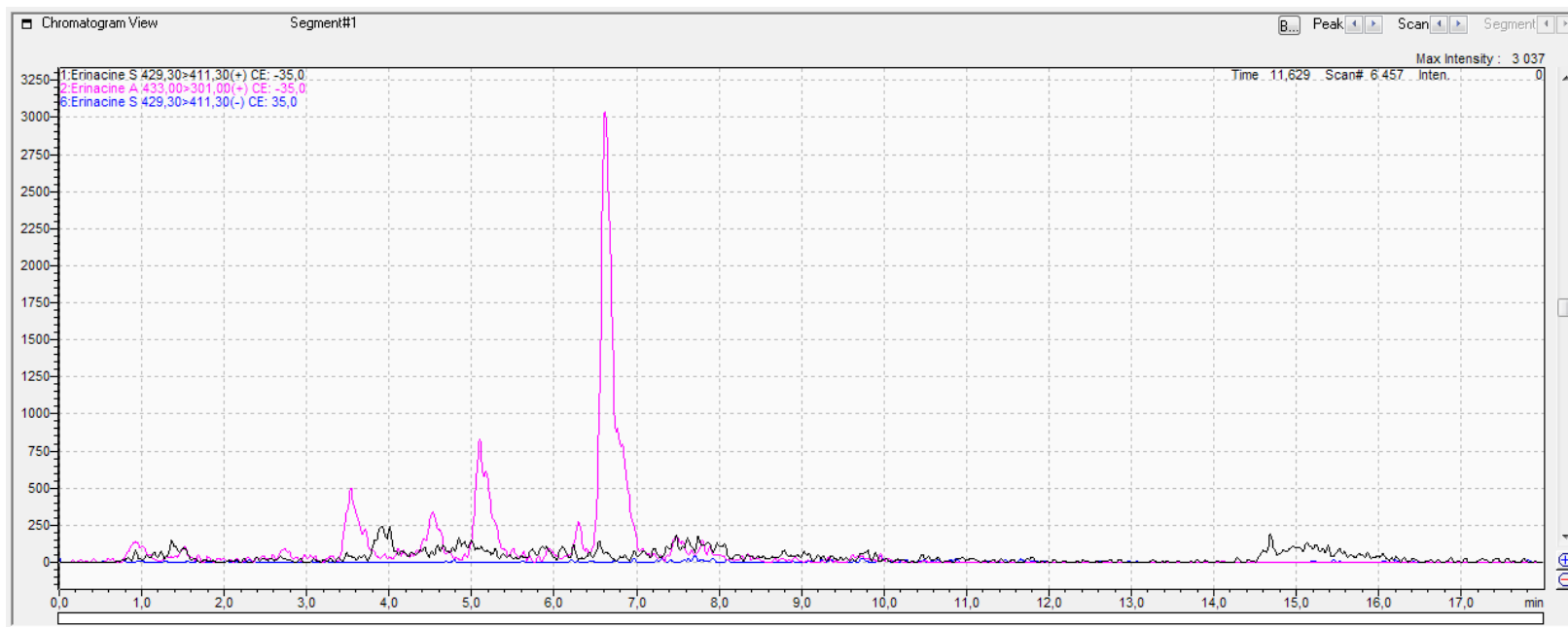


Рисунок 1 – Хроматограммы исследуемых образцов в режиме MRM

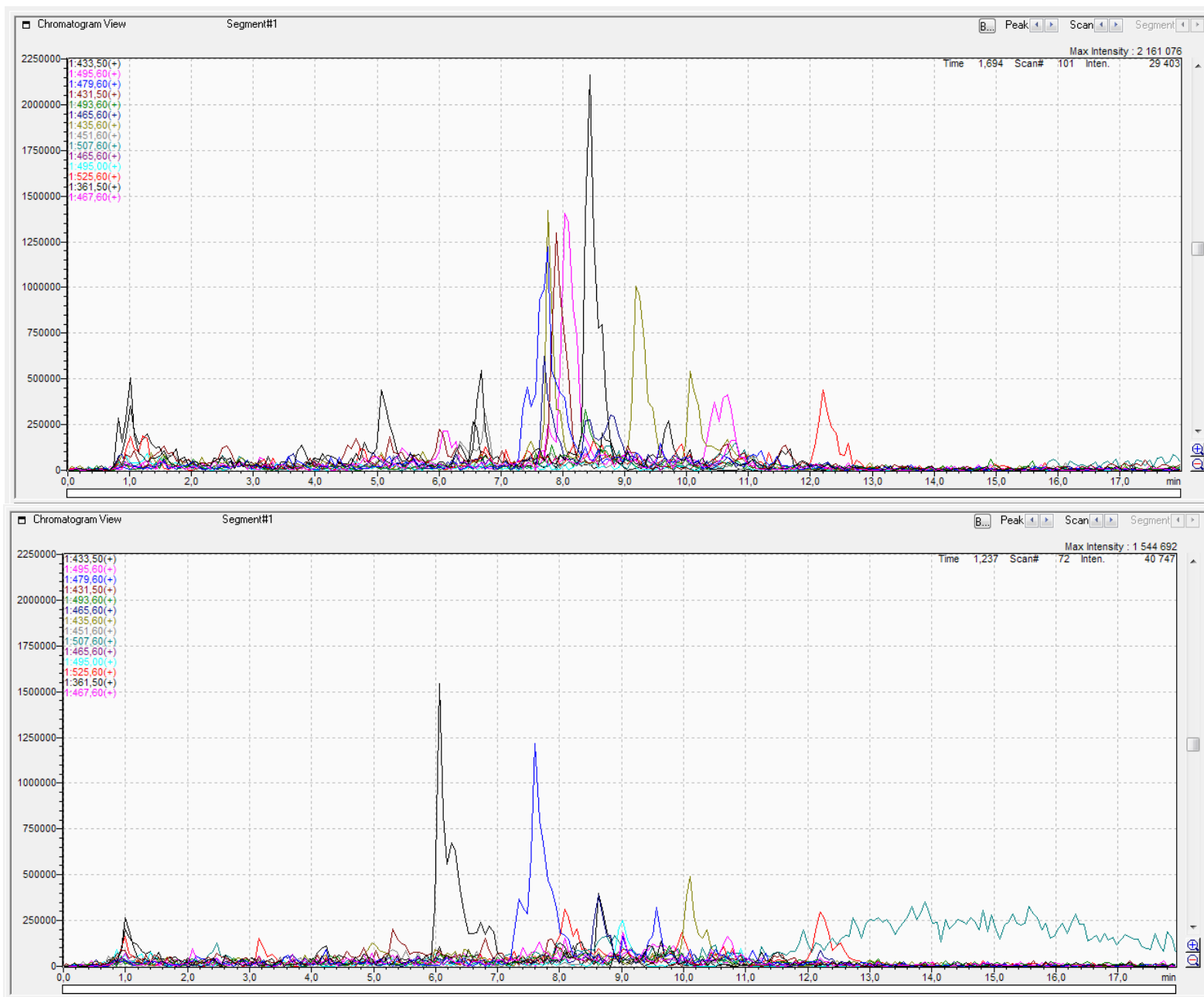


Рисунок 2 – Хроматограммы исследуемых образцов в режиме SCAN

На хроматограммах обоих образцов в режиме MRM присутствуют пики при 6,8 мин, соответствующий эринацину А и при 15,1 мин, соответствующий эринацину S.

На хроматограммах в режиме SCAN наблюдается присутствие массивов пиков в интервале времени 5-13 мин, соответствующих m/z протонированных молекулярных ионов $[M+H]^+$ различных эринацинов. Полученные данные коррелируют с данными режима MRM для эринацинов А и S.

По результатам двух проведённых испытаний в режимах MRM и SCAN образец № 1 Ежовик А+ характеризуется более высоким содержанием суммы эринацинов (в 1,5 – 1,7 раза) по сравнению с образцом № 2 Ежовик 25.

Массовая доля эринацинов **относительно других веществ** в пробе № 1 Ежовик А+ находится на уровне 8,1%, в пробе № 2 Ежовик 25 -5,2%.

По результатам исследования методом УФ-спектроскопии:

Массовая доля эринацинов **относительно других веществ** в пробе № 1 Ежовик А+ находится на уровне 8,5%, в пробе № 2 Ежовик 25 -5,6%.