

## 中药材中黄曲霉毒素的定量分析检测

# The Determination of Aflatoxins in Traditional Chinese Medicines using LC-MS/MS

史晓媛；龙志敏；郭立海

Shi Xiaoyuan ; Long Zhimin ; Guo Lihai

SCIEX应用支持中心 (上海)

SCIEX Application and Support Center (Shanghai)

**Keywords:** Aflatoxins, Traditional Chinese Medicine, LC-MS/MS

真菌毒素是由产毒真菌在适宜的环境条件下产生的有毒次生代谢产物，中药材在种植、运输及储存等过程中易产生一些真菌毒素，如黄曲霉毒素、伏马毒素、赭曲霉毒素、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮等，黄曲霉毒素被世界卫生组织（WHO）划定为I类致癌物，是一种毒性极强的，对人和动物肝脏组织有破坏作用，严重时，可导致肝癌甚至死亡。主要的黄曲霉毒素有四种：黄曲霉B1、B2、G1和G2，以黄曲霉毒素B1最为多见。2020版中国药典对中药材的黄曲霉毒素制定了限量标准，其中黄曲霉毒素B1不得高于5 µg/kg，黄曲霉B1、B2、G1和G2总量不得高于10 µg/kg。本文以水蛭为基质，根据2020版中国药典2351通则，建立了中药材中黄曲霉毒素的定量方法，为真菌毒素的检测提供一套完整的解决方案。

### 方法特点

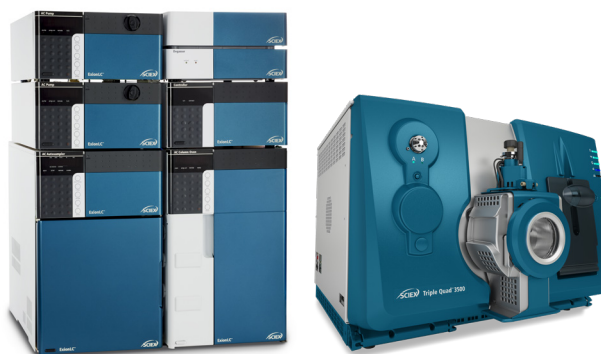
1. 提供一套完整的样品前处理方法、液相方法和质谱方法，节省了检测工作者的方法开发时间

### 样品前处理

遵照中国药典2351通则中黄曲霉毒素的前处理方法，准确称取样品粉末约15 g（过二号筛），加入氯化钠3 g，精密加入70%甲醇溶液70 mL，高速搅拌2 min（搅拌速度大于11000 r/min），离心5 min，精密量取上清液15 mL，用水稀释至50 mL，摇匀，离心10 min，精密量取上清液20 mL，通过免疫亲和柱。流速每分钟3 mL，用水20 mL洗脱，弃去洗脱液，使空气进入柱子，再用2 mL

甲醇洗脱，收集洗脱液，过0.22 µm微孔滤膜，滤液进行LC-MS/MS分析。

### 仪器设备



ExionLC™ AC系统+ SCIEX Triple Quad™ 3500 LC-MS/MS系统

### 液相条件

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (100mm × 2.1 mm, 1.7 µm)

柱温：25 °C

进样体积：5 µL

流动相：A为水含10 mM乙酸铵，B为甲醇

流速：0.3 mL/min

表1. 液相梯度洗脱，液相总运行时间为10 min

Time (min)	%A	%B
0	65	35
4.5	15	85
6.0	0	100
6.5	65	35
10	65	35

### 质谱条件

SCIEX Triple Quad™ 3500 LC-MS/MS系统

离子源为ESI源；

扫描方式为MRM采集模式，正离子扫描；

IS电压：5500 V； 气帘气CUR：35 psi；

雾化气GS1：50 psi； 辅助气：65 psi；

离子源温度为650 °C； 碰撞气：8 psi

各化合物质谱参数见附表

### 实验结果

#### 1. 4种黄曲霉毒素的提取离子色谱图（图2）

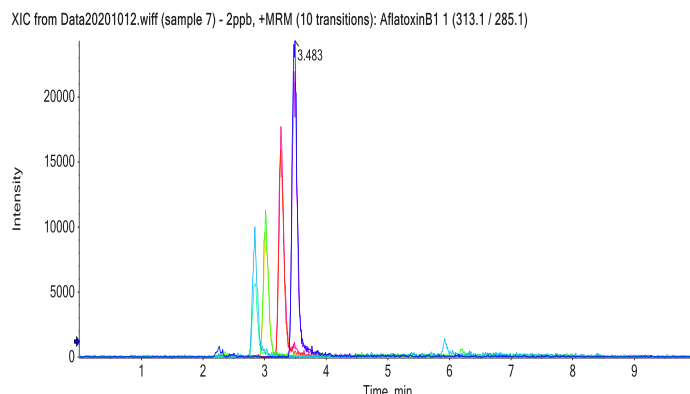


图2. 4种黄曲霉毒素提取离子色谱图

#### 2. 专属性

对空白基质样本中黄曲霉毒素提取离子流图的考察表明，4种黄曲霉毒素的出峰位置无干扰，专属性良好（图3）

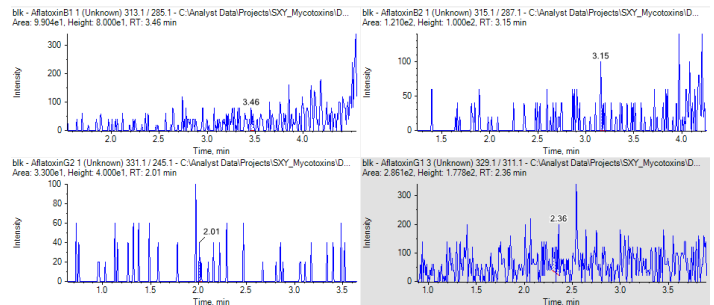


图3. 4种黄曲霉毒素在空白基质中的提取离子色谱图

#### 3. 定量限和线性范围

用70%甲醇稀释配制系列标准曲线，浓度为0.04ng/mL~10ng/mL，以峰面积对浓度做标准曲线，在线性范围内线性关系良好，相关系数大于0.99，标曲各点准确度在91.2%-112.7%之间。图4为黄曲霉毒素标准曲线和相关系数。黄曲霉毒素B1和B2在3500上的定量限为0.1 μg/kg，黄曲霉毒素G1和G2的定量限为0.3 μg/kg，最低定量下限样品连续进样6针，RSD<10%。

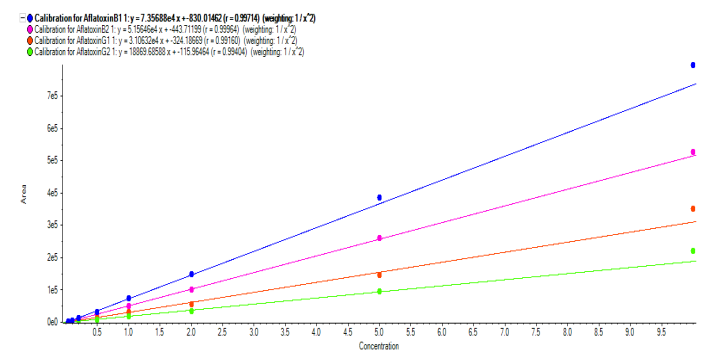


图4. 4种黄曲霉毒素的线性曲线

#### 4. 提取回收率

对样品进行前处理，3个浓度，6次重复样本，方法回收率在80%~120%之间，方法精密度RSD<5%，可满足药典的方法学验证要求。

表2. 加标回收率测试结果

序号	名称	加标回收率	加标回收率	加标回收率
		0.3 µg/kg	1 µg/kg	5 µg/kg
1	黄曲霉毒素B1	84.72	82.3	82.49
2	黄曲霉毒素B2	88.12	96.02	91.02
3	黄曲霉毒素G1	112.8	112.73	104.1
4	黄曲霉毒素G2	117.71	109.86	117.75

附表：4种黄曲霉毒素保留时间及质谱参数

No.	Compound	RT(min)	Q1	Q3	DP	CE
1	黄曲霉毒素B1	3.48	313.1	285.1	95	32
	Aflatoxin B1		313.1	241.1	95	50
2	黄曲霉毒素B2	3.27	315.1	287.1	113	41
	Aflatoxin B2		315.1	259.1	113	35
3	黄曲霉毒素G1	3.02	329.1	243.2	110	33
	Aflatoxin G1		329.1	311.1	110	30
4	黄曲霉毒素G2	2.84	331.1	245.1	115	39
	Aflatoxin G2		331.1	313.1	115	30

## 结论

本文针对中药材中黄曲霉毒素的检测方法，遵从2351通则，利用SCIEX Triple Quad™ 3500 LC-MS/MS系统进行检测，灵敏度、重现性和回收率良好，完全满足药典规定的检测需求，可用于多种中药材中黄曲霉毒素的检测工作。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12650-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
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  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
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  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：[ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)