

应用本土化质谱SCIEX Triple Quad™建立中药材中4种黄曲霉毒素的测定方法

Determination of four Aflatoxins in Traditional Chinese Medicines by localization SCIEX Triple Quad™

王玉; 钟晨春; 龙志敏; 郭立海

Wang Yu ; Zhong Chenchun ; Long Zhimin ; Guo Lihai

SCIEX应用支持中心 (上海)

SCIEX Application and Support Center (Shanghai)

Key Words: Localization, Aflatoxins, SCIEX Triple Quad™, MRM

引言

黄曲霉毒素是由黄曲霉寄生曲霉产生的次生代谢产物，其毒性远远高于氰化物、砷化物和有机农药的毒性，被世界卫生组织（WHO）的癌症研究机构划定为1类致癌物¹。主要的黄曲霉毒素有黄曲霉毒素 B1、B2、G1和G2，化学结构均为二氢呋喃香豆素的衍生物，其中以黄曲霉毒素B1毒性最大。黄曲霉毒素主要存在于药材、谷物、坚果、棉籽以及动物饲料相关的产品中，2020版中国药典2351通则中收录了黄曲霉毒素的限量标准，其中黄曲霉毒素B1不得高于5 µg/kg，黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2总量不得高于10 µg/kg。准确限定黄曲霉毒素含量是保障中药用药安全有效的重要基础。

2021年，国务院“十四五”规划和2035年远景目标纲要明确指出要“加强高端科研仪器设备研发制造。为积极响应国家政策，提高本土化水平和应用规模，同时更好的为客户提供服务，SCIEX 推出本土化Triple Quad™仪器。本文通过定量分析4种黄曲霉毒素的灵敏度、重现性、抗基质效应能力等，建立了中药水蛭中4种黄曲霉毒素的测定方法，同时考察本土化仪器的可靠性和稳定性，为中药材中真菌毒素的检测提供测定方案。

仪器设备

ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ 系统

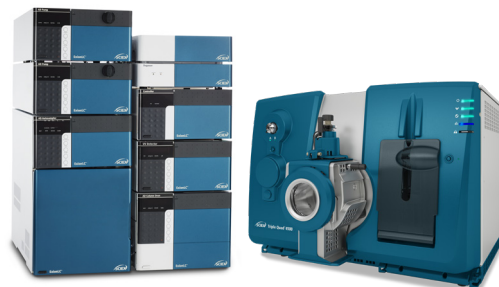


图1. ExionLC™ AD系统和SCIEX Triple Quad™ LC-MS/MS系统

液相条件

色谱柱：HSS T3 (100 mm × 2.1mm, 1.8 µm)

柱温：40 °C

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5 min

Time (min)	%A	%B
0.5	65	35
2.0	5	95
4.0	5	95
4.1	65	35
5.0	65	35

质谱条件

本土化SCIEX Triple Quad™ 质谱条件

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: 50 psi;

离子源温度为550 °C; 碰撞气: 9 psi

各化合物质谱参数见附表

实验结果

1. 4种黄曲霉毒素提取离子色谱图 (图2)

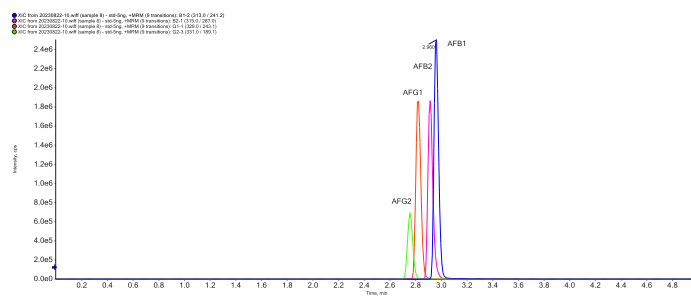


图2. 4种黄曲霉毒素的提取离子色谱图

2. 灵敏度和重现性

SCIEX Triple Quad™系统的灵敏度高，以黄曲霉毒素B1为例，本土化质谱在标准品5 pg/mL浓度下的信噪比为14.4 (图3)。

表2. 4种黄曲霉毒素的加标回收率

	黄曲霉毒素B1 (AFG2)		黄曲霉毒素B2 (AFG1)		黄曲霉毒素G1 (AFB2)		黄曲霉毒素G2 (AFB1)	
	回收率(%)	RSD (%)	回收率(%)	RSD (%)	回收率(%)	RSD (%)	回收率(%)	RSD (%)
低浓度	84.25	1.28	81.42	1.54	86.35	1.85	85.37	4.13
中浓度	85.66	1.26	83.82	1.97	86.16	1.38	83.14	2.61
高浓度	87.65	1.24	84.78	1.23	90.00	0.53	90.50	1.78

用70%甲醇稀释配制系列标准曲线，线性范围内线性关系良好，标曲浓度范围为5 pg/mL ~5000 pg/mL，线性相关系数 $R^2 > 0.99$ ，图4为本土化质谱测定4种黄曲霉毒素的标准曲线和相关系数。黄曲霉毒素G1、G2、B1、B2在本土化质谱的定量限为0.013 µg/kg，最低定量下限标准品连续进样6针，RSD值<10%。

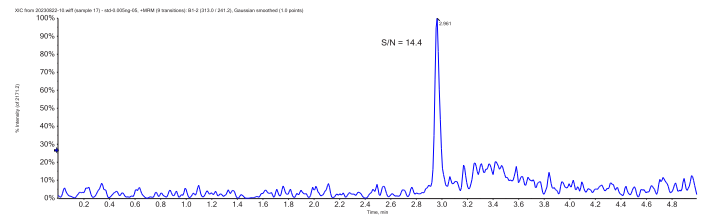


图3. 黄曲霉毒素B1在5 pg/mL浓度下的信噪比

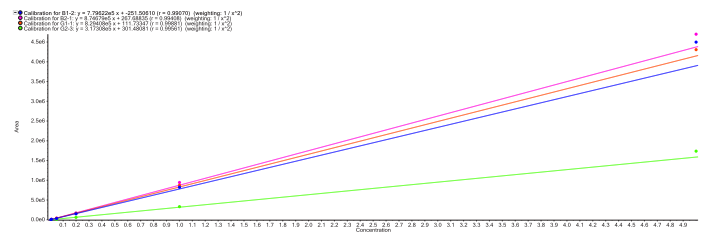


图4. 4种黄曲霉毒素的线性曲线

3. 加标回收率

以中药水蛭作为基质样本，加入三种浓度的标准品进行提取，6次重复，考察仪器的抗基质能力。本土化质谱测定的黄曲霉毒素B1、B2、G1、G2的加标回收率在81.42-90.50%内，RSD值<5%。

4. 同型号进口质谱性能比较

此外，用同型号进口质谱分析了4种黄曲霉毒素，得到的结果如下表3所示。同型号进口质谱定量下限的标准品连续进样6针，RSD值<10%；线性范围在5-5000 pg/mL内，基质加标回收率在90.17-97.08%，RSD值<5%。

表3. 本土化质谱与同型号进口质谱4种黄曲霉毒素的分析结果

	LLOQ重现性	线性范围	基质加标回收率 (%)
本土化质谱	RSD<10%	5-5000 pg/mL	81.42-90.50 (RSD<5%)
同型号进口质谱	RSD<10%	5-5000 pg/mL	90.17-97.08 (RSD<5%)

总结

本文使用本土化SCIEX Triple Quad™ 质谱建立了中药材水蛭中四种黄曲霉毒素的分析方法。结果表明，本土化质谱具有良好的灵敏度、重现性和抗基质效应能力，且与同型号进口质谱相比，本土化质谱性能相当；建立的质谱测定方法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。

附表1: 4种化合物保留时间及质谱参数

No	Compound	RT(min)	Q1	Q3	DP	CE
1	黄曲霉毒素B1 Aflatoxin B1	2.93	313.0	241.3	130	51
2	黄曲霉毒素B2 Aflatoxin B2	2.89	315.1	287.0	130	35
3	黄曲霉毒素G1 Aflatoxin G1	2.80	329.0	243.1	130	38
4	黄曲霉毒素G2 Aflatoxin G2	2.73	331.0	189.1	130	59

参考文献

1. Van Egmond H P, Jonker M A. Worldwide Regulations on Aflatoxins- The Situation in 2002 [J]. Toxin Reviews, 2008, 119(2-3):92-102.

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。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15774-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: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)