

作者：

李想

珀金埃尔默中国高级质谱产品专家

药材及饮片 中黄曲霉毒素的 解决方案



PerkinElmer LX50 UHPLC-QSight 系列
三重四级杆液质联用仪

背景

黄曲霉毒素(Aflatoxin)是由黄曲霉, 寄生曲霉等真菌产生的一类分子结构相似的次级代谢产物, 是一类毒性和致癌性很强的化合物, 为第一类致癌物, 是人类原发性肝癌的主要致病因素之一。中药材在生长和储存过程中, 环境条件不当便会滋生霉菌从而产生黄曲霉毒素。

2015版《中国药典》对柏子仁、莲子、使君子、槟榔、麦芽、肉豆蔻、决明子、远志、薏苡仁、大枣、地龙、蜈蚣、水蛭、全蝎等14味药材及其饮片品种项下增加“黄曲霉毒素”检查项目, 限度为“黄曲霉毒素B1不得过 $5\mu\text{g}/\text{kg}$; 黄曲霉毒素G2、黄曲霉毒素G1、黄曲霉毒素B2总量不得过 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ ”。

药典中已经确定LC-MS/MS分析方法为黄曲霉毒素的仲裁检测方法。珀金埃尔默公司采用QSight LC-MS/MS液质联用系统, 建立了药材及饮片中黄曲霉毒素残留分析的整体解决方案。

样品前处理方法

提取:

取供试品粉末约15g (过二号筛), 精密称定, 加入氯化钠3g, 置于均质瓶中, 加入70%甲醇溶液75mL, 高速搅拌2分钟 (搅拌速度大于11000转/分), 离心5分钟 (离心速度2500转/分), 精密量取上清液15mL, 置于50mL量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.22μm) 滤过, 待净化。

净化:

- 上样: 将准确移取15.0mL样品提取液注入免疫亲和柱, 调节空气压力泵的压力使溶液以约6mL/min 流速缓慢通过免疫亲和柱, 直至2mL~3 mL空气通过柱体, 随后调节开关, 使液体以1~2d/s的速度流出;
- 淋洗: 以10mL水淋洗免疫亲和柱两次, 弃去全部流出液, 并使2mL~3mL空气通过免疫亲和柱, 流速为2~3d/s;
- 洗脱: 准确加入1.0mL色谱级甲醇洗脱, 流速为1mL/min~2mL/min, 收集全部洗脱液于玻璃试管中, 供检测用。

LC-MS/MS仪器方法

1.PerkinElmer LX50 UHPLC参数:

- 色谱柱: Brownlee SPP C18, 100mm*2.1mm, 2.7μm
- 柱温: 40℃
- 流速: 0.3mL/min
- 进样量: 10μL

Time/min	A/%	B/%
	0.1%甲酸水	乙腈
0.0	80	20
1.0	80	20
3.0	65	35
5.0	65	35
5.5	20	80
6.5	20	80
6.8	80	20
8.0	80	20

表1 四种黄曲霉毒素液相色谱梯度洗脱表

2. 质谱参数:

以下参数以珀金埃尔默 QSight 210®三重四极杆质谱仪为例, 目标化合物质谱参数见表2和表3。

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (V)	EV (V)	CCL2 (V)
黄曲霉毒素B1	313.0	285.0*	-38	54	-176
	313.0	241.2	-12	54	-201
黄曲霉毒素B2	315.0	259.0	-28	57	-172
	315.0	287.1*	-21	62	-216
黄曲霉毒素G1	329.0	243.2*	-27	55	-108
	329.0	311.2	-13	52	-188
黄曲霉毒素G2	331.1	285.0	-37	40	-128
	331.1	245.1*	-38	40	-128

表2 4种黄曲霉毒化合物质谱参数表 (*为定量离子对)

离子源	ESI+
喷雾电压	5500 V
反吹气	90
雾化气	180
离子源温度	400 °C

表3 质谱离子源参数

结果与讨论

图1中展示了采用4种黄曲霉毒素的提取离子流色谱图, 经色谱条件优化, 各个化合物的峰型对称, 获得优异的色谱分离效果, 图2为4种黄曲霉毒素标准曲线, 表4为相关系数和检出下限及重复性。

化合物	线性范围 (μg/L)	相关系数R ²	检出下限 LOQ(ug/kg)	0.5 μg/L RSD/% n=6
AFB1	0.12~18.0	0.9975	0.03	3.21
AFB2	0.03~4.9	0.9939	0.03	4.25
AFG1	0.11~17.2	0.9982	0.05	4.77
AFG2	0.14~5.37	0.9979	0.05	3.90

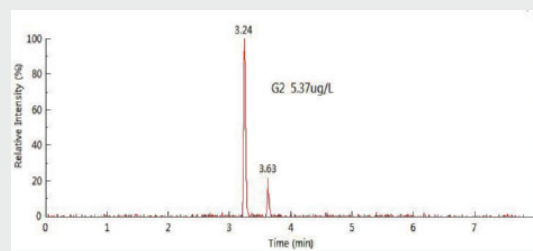
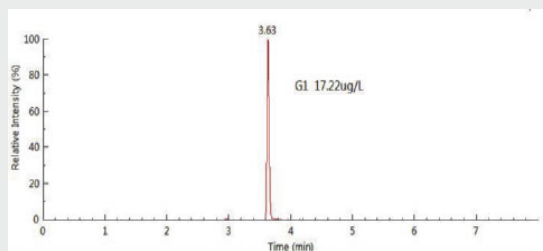
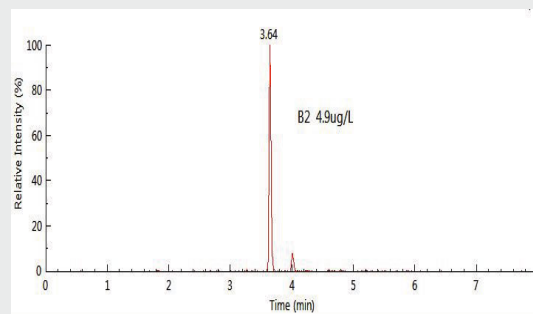
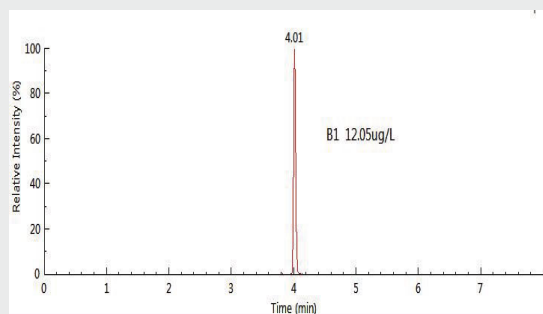


图1 4种黄曲霉毒素提取离子色谱图

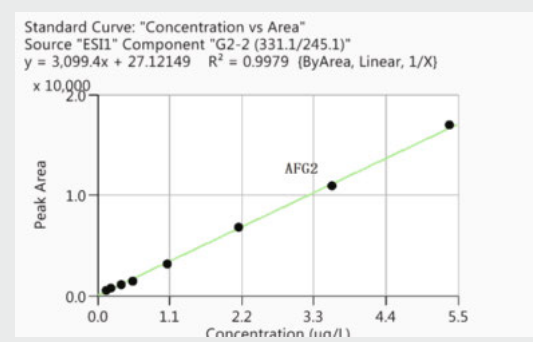
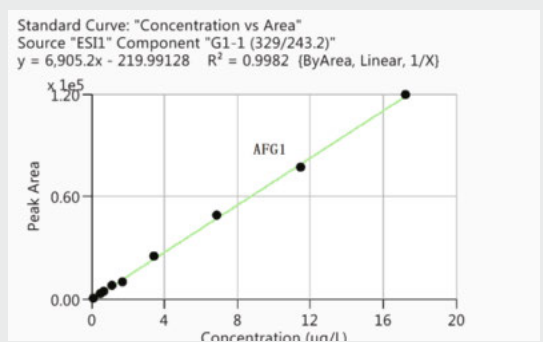
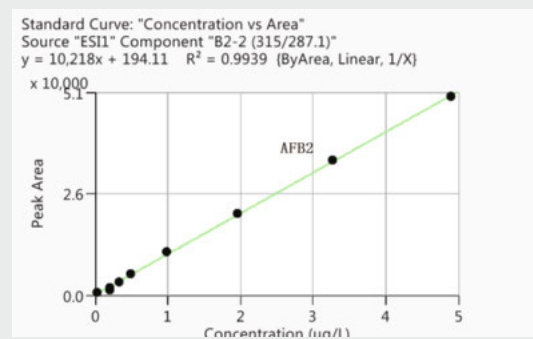
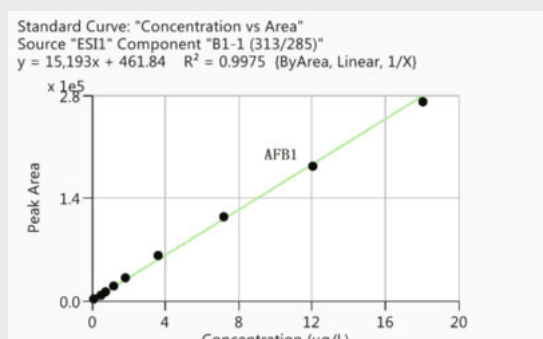


图2 4种黄曲霉毒素线性和相关系数

结论

本文采用QSight LX50 UHPLC-QSight™ 210三重四极杆液质联用系统建立了快速、高灵敏度和可靠的LC-MS/MS实验方法测定中药材及饮片中黄曲霉毒素。本方法具有分析速度快、灵敏度高等特点,适用于中药质检部门对中药材及饮片中黄曲霉毒素的定性定量分析。

参考文献

[1]. 2351 黄曲霉毒素测定法 公示稿 中国药典,国家药典委员会。

珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司
地址: 上海张江高科技园区张衡路1670号
邮编: 201203
电话: 021-60645888
传真: 021-60645999
www.perkinelmer.com.cn



要获取我们位于全球的各个办公室的完整列表,请访问 <http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs/>

版权所有 ©2019, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是 PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。

本资料中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。