

# 气质联用法在应急检测疑似断肠草中毒中的应用

吕芬\*, 余胜兵, 黄伟雄, 龙朝阳, 李少霞

(广东省疾病预防控制中心, 广州 511430)

**摘要:** **目的** 快速查找食物中毒原因, 为中毒事件的调查提供技术支持。**方法** 根据流行病学调查初步判断为疑似断肠草中毒, 应用气质联用技术检测样本中的钩吻碱。**结果** 近两年已处理的4起疑似断肠草中毒事件, 共9份检测样品, 其中8份中毒样品被检出钩吻碱。**结论** 气质联用法可快速、准确检测中毒样品中的钩吻碱, 值得推广应用。

**关键词:** 钩吻碱; 中毒; 应急; 检测

## Emergency detection of suspicious food poisoning caused by *Gelsemium elegans benth* using gas chromatography-mass spectrometry

LV Fen\*, YU Sheng-Bing, HUANG Wei-Xiong, LONG Chao-Yang, LI Shao-Xia

(Guangdong Province Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 511430, China)

**ABSTRACT: Objective** To quickly investigate the cause of food poisoning and provide technical support for the incident. **Methods** The possible cause of poisoning was analyzed by field epidemiological investigation, and was further confirmed by gas chromatography-mass spectrometry. **Results** Gelsemine was detected in eight samples out of nine samples from four food poisoning incidents in Guangdong province. **Conclusion** The method is rapid and accurate, and it is suitable for quick analysis of food poisoning samples.

**KEY WORDS:** gelsemine; poisoning; emergency; detection

断肠草又名钩吻、大茶药、葫蔓藤、毒根、野葛等, 为马钱科葫蔓藤属植物。其根、茎、叶均可用药, 性温味辛、苦, 有大毒<sup>[1]</sup>。因其毒性大, 一直以外用为主。随着对其毒性的深入了解, 目前从过去仅供外用发展到用于抗肿瘤、免疫调节、镇痛镇静、促进造血功能、扩瞳等方面<sup>[2]</sup>。由于断肠草常常缠绕和混杂在其他植物中, 且形状与一些常用煲汤药材如“金锁匙 (*Polygala japonica* Houtt.)”十分相似, 容易混淆, 群众难以鉴别并剔除<sup>[3]</sup>, 因此误食断肠草引起中毒的事件时有发生, 从近两年有关断肠草中毒的文献报

道中可见一斑<sup>[4,5]</sup>。

断肠草具有极强的神经毒作用, 可直接抑制中枢神经系统, 使呼吸中枢麻痹, 导致呼吸衰竭而死亡<sup>[6,7]</sup>。临床症状轻则头晕、恶心、呕吐、腹痛、乏力, 重则出现抽搐、昏迷、肺水肿、呼吸和(或)循环系统衰竭<sup>[8]</sup>。断肠草的主要成分为吲哚类生物碱, 其中含量最大的是钩吻素子, 其次为钩吻素甲<sup>[9]</sup>(也称钩吻碱)。发生疑似断肠草中毒时, 通过实验室的快速检测, 可为毒物的来源和含量调查提供技术支持, 以便中毒人员的救治和中毒事件的调查。

基金项目: 广东省科技计划项目(2012B031500013)

**Fund:** Supported by Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2012B031500013)

\*通讯作者: 吕芬, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。E-mail: 18290925@qq.com

\*Corresponding author: LV Fen, Technologist-in-Charge, Guangdong Province Center for Disease Control and Prevention, No.160, Qunxian Road, Panyu District, Guangzhou 511430, China. E-mail: 18290925@qq.com

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 仪器与试剂

气相色谱-质谱联用仪(GC/MS-QP2010, 日本 Shimadzu 公司); 超声波提取仪(中国恒奥公司); 漩涡振荡器(美国 SI 公司); 氮吹仪(英国 Organomation Associates 公司)。

钩吻素甲(gelsemine): 纯度 99.0%, 分子式  $C_{20}H_{22}N_2O_2$ , 分子量 322, 美国 Sigma 公司。

三氯甲烷和无水硫酸钠均为分析纯。

样品是中毒者食用剩余的饭、菜、汤、酒等, 以及食物的原材料, 有时还会采集中毒病人的呕吐物、尿液、血液等。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 提取<sup>[3]</sup>

称取捣碎样品 5 g 于 50 mL 比色管中, 加入 5% 氢氧化钠溶液 25 mL(以浸过试样量为准), 漩涡振荡 2 min, 超声波提取 10 min, 吸取提取液 10 mL 于分液漏斗中, 分别用三氯甲烷 20、10 mL 提取两次, 合并提取液待净化。

#### 1.2.2 净化

将提取液滤过装有少量无水硫酸钠的小漏斗, 并用 15 mL 三氯甲烷淋洗无水硫酸钠, 收集三氯甲烷溶液, 定容至 50 mL, 待 GC-MS 测定用。如待测物浓度偏低可先经氮吹浓缩后再上机测定。

#### 1.2.3 仪器条件

色谱条件: 进样口温度 270 °C; 毛细管色谱柱

DB-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 初始柱温 100 °C, 保持 1 min, 以 40 °C/min 升至 280 °C, 保持 10 min; 恒定线速度 32.2 cm/sec; 不分流进样模式。

质谱条件: 接口温度 280 °C; 离子源温度 230 °C; 电压 70 eV; 采集时间 8~13 min; 全扫描模式(Scan)扫描范围 50~350 amu; 选择离子模式(SIM)采集特征碎片离子( $m/z$ )108、279、322、251。

此实验条件下采集的标准和样品谱图见图 1~4。

#### 1.2.4 定性定量方式

相同仪器条件下测定标准溶液和样品测试液, 通过比较各特征碎片离子的丰度来定性。钩吻素甲标准品各特征碎片离子丰度分别为: 108(100%)、279(42%)、322(35%)、251(18%), 并要求试样中各离子的丰度不得超过标准的±20%。没有标准溶液时, 可直接与谱库中的钩吻素甲质谱图比较来定性。

采用外标法定量, 选择  $m/z$ 108 为定量离子, 以标准系列浓度为横坐标, 标准定量离子峰面积为纵坐标制作校正曲线, 待测目标化合物定量离子峰面积与相应校正曲线比较定量。应急检测中有时也采用单点外标法定量。

## 2 结果与分析

### 2.1 应急检测应用

2011 年至今我实验室共受理了 4 例断肠草中毒检测事件, 共检测 9 份样品, 其中 8 份检出含有钩吻

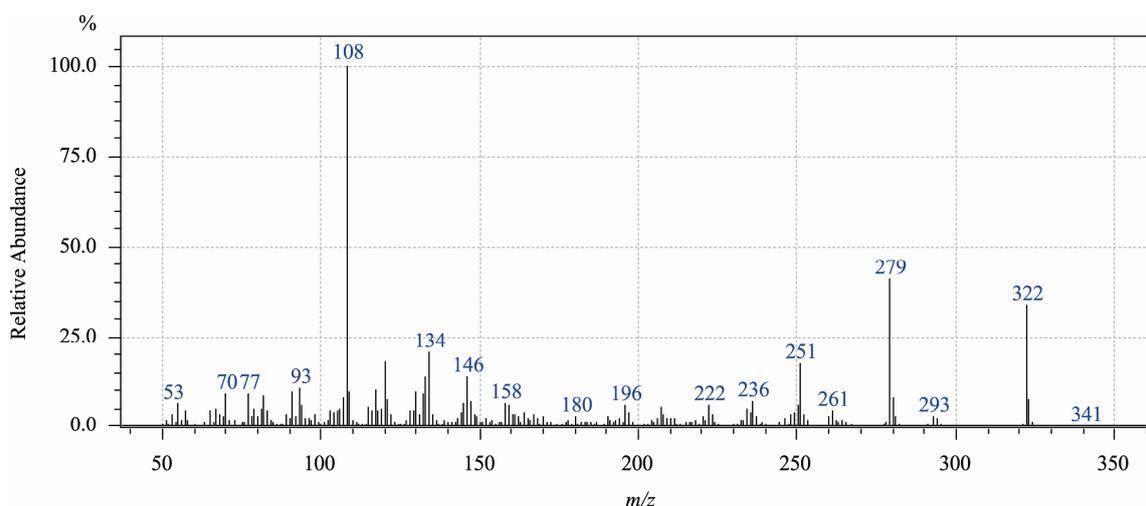


图 1 钩吻素甲标准的质谱图

Fig. 1 Mass spectra of gelsemine standard

碱, 浓度范围 0.98~85 mg/kg。这 4 例中毒包括 2011 年 12 月发生在阳春广东省人大代表喝断肠草猫汤中毒身亡案件、2012 年 2 起误用断肠草煲汤和泡药酒致 4 人死亡事件、2013 年 3 月阳春民工误用断肠草泡药酒致 2 人死亡事件。应用本方法均在几小时内完成采集样本中钩吻碱定量检测, 及时、准确的结果反

馈对于食物中毒事件的应急处置举足轻重。

## 2.2 检测方法的选择

食物中毒采集的样品一般均可采用加碱液提取后用三氯甲烷萃取的方法处理样品。如果时间紧迫也可直接用三氯甲烷浸泡样品, 漩涡震荡, 取少量三氯

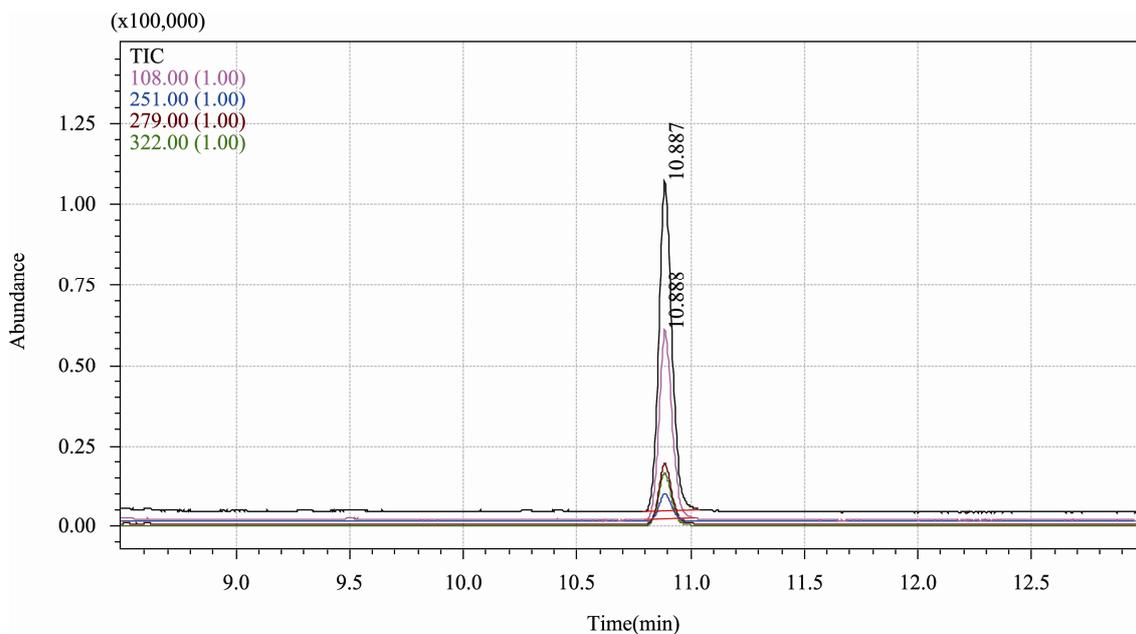


图 2 钩吻素甲标准溶液(1.0 µg/mL)的 TIC 谱图

Fig. 2 The TIC chromatogram of gelsemine (1.0 µg/mL)

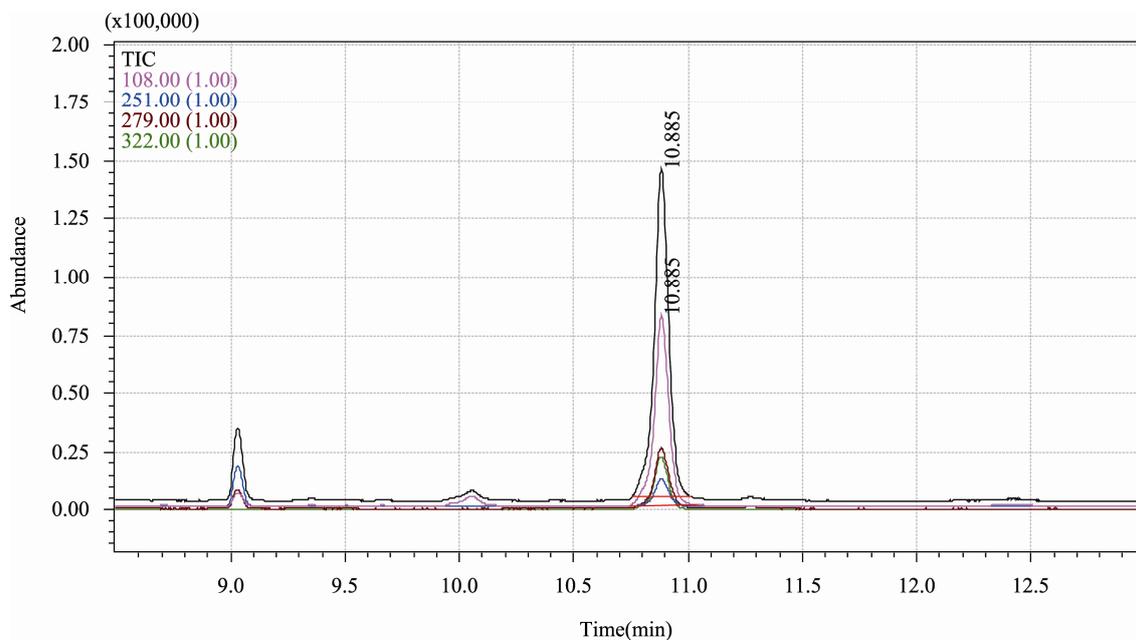


图 3 阳性样品的 TIC 谱图

Fig. 3 The TIC chromatogram of a positive sample

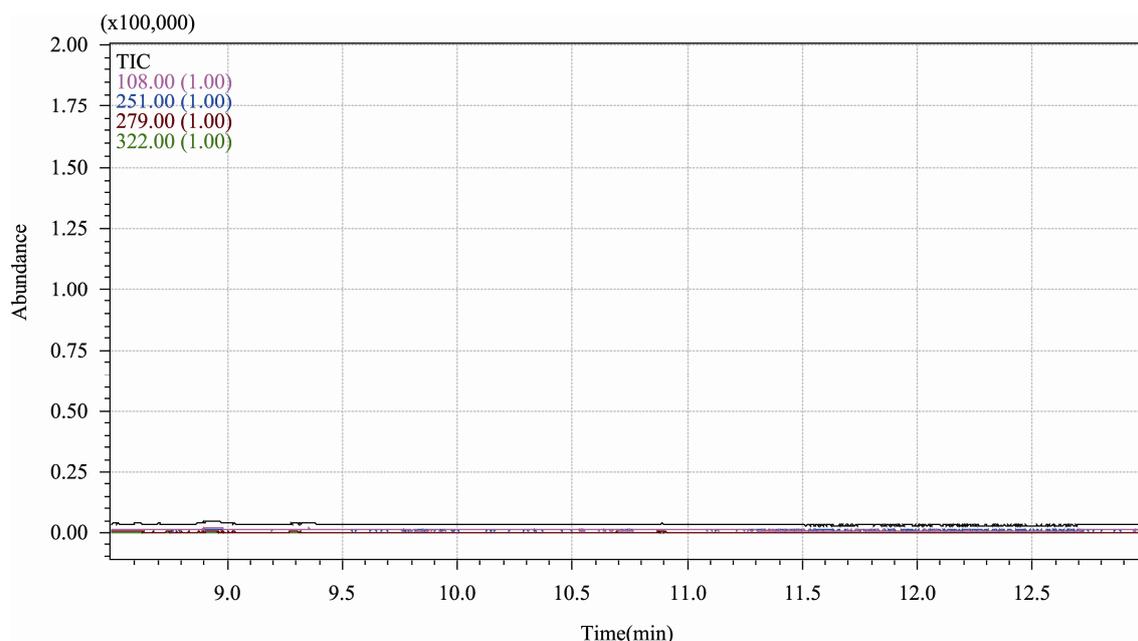


图4 阴性样品的 TIC 谱图

Fig. 4 The TIC chromatogram of a negative sample

甲烷浸泡液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜即可上机测定。如果是酒类样品也可直接进样检测,快速查看定性结果。食物中毒尤其是群体性急性中毒一旦造成人员伤亡,抢救病人真正体现了“时间就是生命”的重要性,能否尽快排查出毒物也关系到更多人的生命安全。因此,毒物的定性检测就尤为重要,应尽量选择简单、快速的样品前处理方法,而不必拘泥于常用方法。

采用 GC-MS 法可对钩吻碱进行准确定性定量测定,但断肠草中毒事件往往多发于欠发达山区,如我省这 4 例中毒均发生在粤东、粤西和粤北山区。当地检测机构可能未配备这类仪器设备,只能利用相对简易的仪器开展断肠草中毒的定性实验,如薄层色谱(TLC)法<sup>[10,11]</sup>、特异显色反应法<sup>[12]</sup>等也能在此类应急检测中发挥重要作用。

### 3 结 论

气质联用法应用于中毒样品中钩吻碱的检测,既能满足应急检验又快又准的要求,又能消除复杂基质对检测结果的干扰。另外 GC-MS 一般附有标准谱库,即使实验室缺乏钩吻碱标准品也能运用该方法对样品进行定性检测。需要注意的是,如果样品被检出钩吻碱,应增加“阳性样品”的全扫描(Scan)模式检测,分析更多的离子碎片以保障检验结果的准

确性。

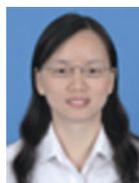
### 参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编, 下册[M]. 人民卫生出版社, 1983.  
Writing group of the national herbal medicine. The national assembly of Chinese herbal medicine, the last volume [M]. People's Medical Publishing House, 1983.
- [2] 迟德彪, 杨鸿轩, 郑有顺. 钩吻研究进展[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(2): 48-49.  
Chi DB, Yang HX, Zheng YS. Research progress in gelsemium elegans benth [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2001, 17(2): 48-49.
- [3] 黄伟雄, 李汴生, 梁春穗, 等. GC/MS 测定断肠草中钩吻碱方法研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(2): 136-138.  
Huang WX, Li BS, Liang CS, *et al.* Determination of gelsemine in graceful jessamine herb by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Food Hyg, 2008, 20(2): 136-138.
- [4] 潘榕, 秦景新, 莫素娟, 等. 一起饮用自制药酒食物中毒的报告[J]. 应用预防医学, 2011, 17(4): 251.  
Pan R, Qin JX, Mo SJ, *et al.* Report of a case of food poison cased by drinking self-made medicine wine [J]. J Appl Prev Med, 2011, 17(4): 251.
- [5] 张琦, 陈前进, 杜恣闲. 一起误服断肠草食物中毒的调查报告[J]. 中国城乡企业卫生, 2012, 27(4): 93.  
Zhang Q, Chen QJ, Du ZX. Investigation of a case of food poi-

- son caused by gelsemium elegans benth [J]. Chin J Urban Rural Ind Hyg, 2012, 27(4): 93.
- [6] 易金娥, 袁慧. 钩吻碱毒性作用机理的研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003, 29(3): 231-233.  
Yi JE, Yuan H. On Toxic Mechanism of Gelsemium Total Alkaloids [J]. J Hunan Agr Univ (Natural Sci), 2003, 29(3): 231-233.
- [7] 周跃平, 徐纬. 葫蔓藤碱甲的毒性及呼吸抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1995, 9(1):69-72.  
Zhou YP, Xu W. The toxicity and respiratory of humantenmine [J]. Chin J Pharm Toxicol, 1995, 9(1): 69-72.
- [8] 韦爱昌, 黄旭美, 张宗和, 等. 救治钩吻中毒56例临床报告[J]. 中国农村医学, 1996, 24(10): 52-53.  
Wei AC, Huang XM, Zhang ZH, *et al.* 56 clinic report of remedy gelsemism [J]. Chin J Rural Med, 1996, 24(10): 52-53.
- [9] 罗淑荣, 李彤, 杨峻山. RP-HPLC 法测定钩吻生物碱[J]. 药化学报, 1993, 28(9):695-698.  
Luo SR, Li T, Yang JS. Determination of alkaloids of gelsegium elegans benth by RP-HPLC [J]. Acta Pharm Sinica, 1993, 28(9): 695-698.
- [10] 黄伟雄, 李沛生, 范山湖, 等. 应用 TLC 法鉴定断肠草中钩吻碱[J]. 华南预防医学, 2008, 34(1): 60-62.  
Huang WX, Li BS, Fan SH, *et al.* Identification of gelsemine in gelsemium elegans benth by TLC [J]. South China J Prev Med, 2008, 34(1): 60-62.
- [11] 冯时茵, 栗建明, 侯惠婵, 等. 钩吻生物碱成分的薄层色谱研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(1): 77-80.  
Feng SY, Li JM, Hou HC, *et al.* Study on thin-layer chromatography method for determination of alkaloids of gelsemium elegans benth [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2013, 24(1): 77-80.
- [12] 黄玉玲, 王志城. 大茶药中毒样品中钩吻生物碱的快速检测[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(2): 134-136.  
Huang YL, Wang ZC. Quick test of gelsemium elegans benth in poisoned sample [J]. Chin J Food Hyg, 2006, 18(2): 134-136.

(责任编辑: 赵静)

### 作者简介



吕芬, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。  
E-mail: 18290925@qq.com