DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241212003
引用格式: 李文廷, 叶沛, 陶蓉蓉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速检测自制草乌药酒中 9 种乌头类生物碱含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 45–52.
LI WT, YE P, TAO RR, *et al*. Rapid determination of 9 kinds of aconitum alkaloids in homemade *Radix aconiti* Kusnezoffii medicinal liquor by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 45–52. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-串联质谱法快速检测自制草乌药酒中 9 种乌头类生物碱含量

李文廷[1#], 叶　沛[1,2#], 陶蓉蓉[1,2], 董玉英[1], 梁孟军[1], 刘　玲[3], 蒋孟圆[4*], 刘树东[5*]

(1. 昆明市疾病预防控制中心, 昆明　650228; 2. 昆明医科大学公共卫生学院, 昆明　650500; 3. 楚雄州疾病预防控制中心, 楚雄　675000; 4. 云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 昆明　650504; 5. 昆明市东川区疾病预防控制中心, 昆明　654100)

摘　要: 目的　建立超高效液相色谱-串联质谱法快速测定自制草乌药酒中 9 种乌头类生物碱含量的方法。**方法**　以云南野生的滇草乌为主要原料, 将草乌制成 5 种不同形状(整块、去皮、片状、块状、粉末状), 分别取 250 g 浸泡于 900 mL 52 度玉米酿制白酒中, 浸泡时间约为 1.5 年。移取 1 mL 药酒样品, 加入 30%甲醇水溶液(3:7, *V:V*)至 100 mL, 经 0.22 μm 滤膜过滤后备测。利用 C_{18} 色谱柱和乙腈-0.1%甲酸水的流动相进行梯度洗脱分离, 多反应监测模式检测, 通过基质工作曲线外标法定量。**结果**　9 种乌头类生物碱在 1~100 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999, 检出限为 0.63~0.98 μg/L, 定量限为 2.11~3.26 μg/L, 低、中、高 3 种浓度水平下加标回收率为 81.14%~116.01%, 相对标准偏差为 0.97%~11.26% (*n*=6)。经实际样品测定分析, 药酒中 9 种乌头类生物碱的双酯型生物碱含量居高, 其中以乌头碱含量最多, 毒性较强。**结论**　该方法前处理简便, 灵敏度高, 准确性好, 检测效率高, 适用于卫生应急中毒事件中自制草乌药酒 9 种乌头类生物碱的快速筛查, 为医疗救治的快速诊断和采取对应急救治疗措施提供强有力技术支撑。

关键词: 滇草乌; 自制药酒; 乌头类生物碱; 快速筛查; 超高效液相色谱-串联质谱法

收稿日期: 2024-12-12
基金项目: 云南省基础研究计划项目(202401AT070040); 昆明市科技计划项目(昆科计字 2024-1-NS-0034); 昆明市卫生科技人才培养项目(2022-SW(带头)-16); 昆明市卫生科研课题项目(2025-12-06-002)
#李文廷与叶沛为共同第一作者
第一作者: 李文廷(1982—), 男, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为植物毒素防控。E-mail: lwt0883@qq.com
叶沛(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为植物毒素防控。E-mail: 343942217@qq.com
***通信作者:** 蒋孟圆(1983—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为药物检测分析。E-mail: jmy0778@163.com
刘树东(1982—), 男, 副主任技师, 主要研究方向为食品理化检验。E-mail: 87007706@qq.com

Rapid determination of 9 kinds of aconitum alkaloids in homemade *Radix aconiti* Kusnezoffii medicinal liquor by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Wen-Ting[1#], YE Pei[1,2#], TAO Rong-Rong[1,2], DONG Yu-Ying[1], LIANG Meng-Jun[1], LIU Ling[3], JIANG Meng-Yuan[4*], LIU Shu-Dong[5*]

(1. *Kunming Center for Disease Control and Prevention*, *Kunming* 650228, *China*; 2. *School of Public Health*, *Kunming Medical University*, *Kunming* 650500, *China*; 3. *Chuxiong Prefectural Center for Disease Control and Prevention*, *Chuxiong* 675000, *China*; 4. *Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources*, *State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education*, *Yunnan Minzu University*, *Kunming* 650504, *China*; 5. *Kunming Dongchuan District Center for Disease Control and Prevention*, *Kunming* 654100, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of the content of 9 kinds of aconitum alkaloids in homemade *Radix aconiti* Kusnezoffii medicinal wine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The wild *Radix aconiti* Kusnezoffii in Yunnan was used as the main raw material. It was made into 5 kinds of different shapes (whole, peeled, flake, block, powder), and 250 g was soaked in 900 mL of 52-degree corn to brew liquor, and the soaking time was about 1.5 years. Took 1 mL sample of medicinal liquor, added 30% methanol water solution (3:7, *V:V*) to 100 mL, and filtered it with 0.22 μm filter membrane, ready for testing. C_{18} column and mobile phase of acetonitrile-0.1% formic acid water were used for gradient elution separation, multi-reaction monitoring mode detection, and quantification was carried out by matrix working curve external standard method. **Results** The linear relationship of 9 kinds of aconitum alkaloids was good in the range of 1–100 μg/L, the correlation coefficients were all greater than 0.999, the limits of detection were 0.63–0.98 μg/L, the limit of quantitation were 2.11–3.26 μg/L, and the recovery rates were 81.14%–116.01% at low, medium and high concentrations, the relative standard deviations were 0.97%–11.26% (n=6). According to the analysis of actual samples, the content of diester alkaloids of 9 kinds of aconitum alkaloids in medicinal liquor was high, among which aconitine had the most content and strong toxicity. **Conclusion** This method is simple in pretreatment, high in sensitivity, good in accuracy and high in detection efficiency. It is suitable for rapid screening of 9 kinds of aconitum alkaloids in *Radix aconiti* Kusnezoffii homemade medicinal liquor in health emergency poisoning events, and provides strong technical support for rapid diagnosis of medical treatment and corresponding emergency treatment measures.

KEY WORDS: Yunnan *Radix aconiti* Kusnezoffii; homemade medicinal liquor; aconitum alkaloids; rapid screening; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引 言

乌头类生物碱是乌头属植物中主要药性成分，其常见于我国西南地区的川乌、草乌、附子等一类植物。因其具有良好的祛风除湿、温经止痛等[1–2]保健作用，民间常用来烹饪食用及自制药酒擦拭或饮用，然而草乌中所含有的乌头类生物碱毒性极高，0.2 mg 的乌头碱即可导致中毒，2~4 mg 的乌头碱即会导致死亡[3–4]。由于乙醇可促进乌头碱溶解及吸收，自制药酒毒性更为严重[5]。其化学结构中带有两个酯键，属于双酯型生物碱，在体内更易被吸收，对心脏、神经、肝脏等器官可造成严重损害[6–7]，除此之外，还存在毒性较低的单酯型生物碱和醇胺型生物碱，其毒性大小为双酯型生物碱>单酯型生物碱>醇胺型生物碱[8]，但均可危及生命安全[9–10]，因此草乌药酒的检测及相关知识的宣传普及尤为重要。

由于广大居民对此类毒素的认识不足，乌头中毒事件常有发生[11–13]，冬季尤为显著，使用草乌自制药酒而引起的中毒事件亦占较大比例[1,14–16]，但同时乌头类生物碱中毒快速诊断技术尤为缺乏以及尚未有治疗的特效解毒剂，临床救治较为困难。因此建立快速、准确的检测方法对卫生应急中毒因子的筛查至关重要。目前乌头类生物碱检测技术多集中于高效液相色谱法[17–21]、高效液相色谱-串联质谱法[22–28]等，高效液相色谱法对于该类生物碱响应较低，且对降解产物难于识别检测[19–20]；尽管高效液相色谱-串联质谱法凭借高分辨、高灵敏度等优势在食品药品等基质检测中得到了广泛应用[2,19–20,23,29]，有关草乌药酒的相关检测技术的研究则仍存在不足[30]，现有方法主要集中于几种常见的双酯型生物碱研究，存在覆盖范围有限的问题，

其他同类型生物碱或降解产物基本未涉及, 应急事件中, 泡酒类样品基质常较为复杂, 除草乌外往往还混杂其他中药材, 常规高效液相色谱法难以满足检测需求。此外乌头类生物碱存在转化降解情况, 准确识别测定降解产物将为应急事件处置提供更有利的保障, 因此开发能覆盖更多毒素并高效定性定量的检测方法显得尤为迫切。

鉴于此, 本研究通过优化色谱质谱参数, 旨在建立一种能同时测定药酒中 9 种乌头类生物碱的超高效液相色谱-串联质谱法, 对不同形态草乌样品的药酒及浸泡不同时长的草乌药酒进行实时监测, 掌控草乌药酒中乌头类生物碱含量情况, 为后期更好地处置公共卫生突发乌头类生物碱中毒事件提供参考, 为医疗诊断及采取临床应急救治方案提供强有力技术支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

滇草乌样品: 昆明市中药材店; 3 瓶药酒为送检样品, 经室温保存留用; 52 度玉米酿造白酒: 昆明市场。

乌头碱、新乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、次乌头原碱、新乌头原碱(纯度≥98%)、次乌头碱、乌头原碱(纯度≥99%)(成都德思特/乐美天生物科技有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 甲酸(色谱纯, 美国 ROE SCIENTIFIC INC 公司); 实验中使用的水均为超纯水。

1.2　仪器与设备

QTRAP 4500 三重四级杆质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); 1290 Infinity II 型高效液相色谱仪、Agilent SB C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)(美国 Agilent Technologies 公司); XS205DU 十万分之一分析天平(精度 0.01 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　质谱条件

采用电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)正离子模式扫描; 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式检测; 离子源温度为 550 ℃; 离子喷雾电压为 5500 V。

1.3.2　色谱条件

色谱柱: Agilent SB C_{18} 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 柱温: 35 ℃, 流动相: A 相为乙腈, B 相为 0.1%甲酸水; 流速: 0.3 mL/min; 进样体积: 5 μL。其梯度洗脱程序为: 0.0~1.0 min, 10% A; 1.0~2.0 min, 10%~20% A; 2.0~3.0 min, 20% A; 3.0~3.1 min, 20%~30% A; 3.1~4.5 min, 30% A; 4.5~4.6 min, 30%~40% A; 4.6~6.3 min, 40% A; 6.3~6.4 min, 40%~60% A; 6.4~7.8 min, 60% A; 7.8~7.9 min, 60%~80% A; 7.9~8.3 min, 80% A; 8.3~8.4 min, 80%~100% A; 8.4~9.4 min, 100% A; 9.4~9.5 min, 100%~40% A; 9.5~10.3 min, 40% A; 10.3~10.4 min, 40%~10% A; 10.4~11.0 min, 10% A。

1.3.3　标准溶液制备

分别采用甲醇将标准品溶解, 制成质量浓度为 1 mg/mL 的储备液, 再分别稀释质量浓度为 100 μg/mL 的中间液, 取各中间液 100 μL 于 10 mL 离心管中, 定容至 10 mL, 制成 1 μg/mL 的混合标准溶液。

1.3.4　草乌药酒制备

以云南野生的滇草乌为主要原料, 将草乌制成 5 种不同形状(整块、去皮、片状、块状、粉末状), 分别取 250 g 浸泡于 900 mL 52 度玉米酿制白酒中, 浸泡时间约为 1.5 年; 3 瓶送检药酒源于突发公共卫生事件, 浸泡时间均超过 2 年。

1.3.5　样品前处理

将 8 瓶药酒分别吸取适量体积, 经 30%甲醇溶液稀释 100 倍后采用 0.22 μm 滤膜过滤, 上机测定。

1.4　数据处理

采用 MultiQuant 3.0 软件进行仪器数据分析处理, 利用 Excel 2016 进行数据整理分析。设平行实验 6 次, 实验结果采用提取率平均值 ± 标准偏差表示。

2　结果与分析

2.1　质谱条件的优化

通过针泵注入方式将 9 种乌头类生物碱标准溶液分别注入仪器进行检测分析, ESI^+ 进行扫描, 依次通过 Q1 MS 扫描模式寻找一级质谱母离子, Product Ion Scan (MS2) 扫描模式寻找二级质谱碎片离子, 选择 2 个丰度高、特异性强的碎片离子作为定量离子和定性离子, 利用 MRM 模式对去簇电压及碰撞能量进行参数优化, 通过母离子和碎片离子的确定, 表明 9 种目标化合物的专属性较强, 另外去簇电压及碰撞能量的优化, 说明目标化合物的灵敏度较好, 优化的质谱条件能完成 9 种乌头类生物碱的测定分析, 具体质谱参数结果如表 1 所示。

2.2　色谱条件的优化

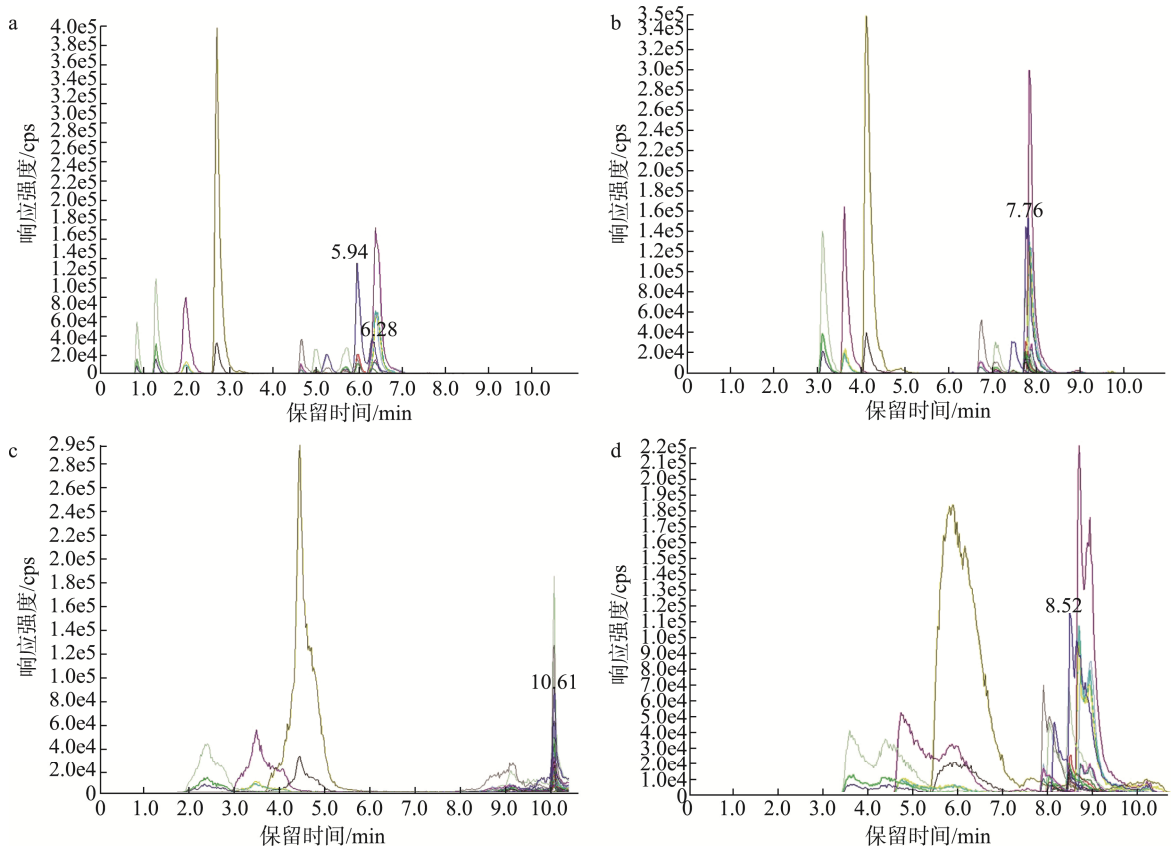
为确保实验结果的准确性和严谨性, 本研究分别对 4 种不同的流动相组合进行考察与优化, 结果如图 1 所示。其中乙腈-0.1%甲酸水体系(图 1a)下的峰型和分离度均较为理想, 乌头类生物碱为碱性化合物, 甲酸的加入能有效改善其峰形。该体系下, 目标化合物的色谱峰对称性良好, 峰形尖锐, 且具有最好的分离度和最高的响应值; 甲醇-0.1%甲酸水体系(图 1b)下的色谱峰型保持较好, 但其响应值和分离度均较图 1a 次之, 其原因可能为甲醇对目标化合物的洗脱能力弱于乙腈, 导致其响应值和分离度降低, 尽管甲酸能够改善其峰形, 但整体效果不如乙腈-0.1%甲酸水体系; 乙腈-水和甲醇-水体系由于缺少甲酸的加入, 导致严重的峰形拖尾和变形, 其分离度与响应值也均不理想。最终采用乙腈-0.1%甲酸水作为流动相进行梯度洗脱, 流动相 A 相为乙腈, B 相为 0.1%甲酸水。

表 1　9 种乌头类生物碱质谱参数

Table 1　Mass spectrum parameters of 9 kinds of aconitum alkaloids

化合物名称	母离子(*m*/z)	子离子(*m*/z)	去簇电压/V	碰撞能量/V
新乌头碱	632.3	572.3*	130	44
		354.1	130	52
乌头碱	646.3	586.5*	125	44
		526.3	125	51
次乌头碱	616.6	556.3*	120	41
		524.2	120	48
苯甲酰乌头原碱	604.4	554.2*	100	49
		105.0	100	72
次乌头原碱	470.3	438.2*	131	43
		406.1	131	48
苯甲酰次乌头原碱	574.3	542.3*	125	46
		510.4	125	50
苯甲酰新乌头原碱	590.3	540.2*	125	48
		105.1	125	95
乌头原碱	500.3	450.3*	100	44
		392.2	100	53
新乌头原碱	486.3	436.3*	105	45
		404.2	105	50

注: *为定量离子。



注: a. 乙腈-0.1%甲酸水; b. 甲醇-0.1%甲酸水; c. 乙腈-水; d. 甲醇-水。

图 1　9 种乌头类生物碱在 4 组流动相中的总离子流色谱图

Fig.1　Total ion flow chromatograms of 9 kinds of aconitine alkaloids in 4 groups of mobile phases

2.3　白酒浓度的影响考察

本研究通过不同白酒浓度进行加标实验, 以考察白酒浓度对目标化合物测定的影响。配制白酒 30%、50%、70%、90%、100%浓度进行加标实验, 平行实验 6 次, 结果采用回收率平均值±标准偏差表示, 所得回收率如表 2 所示, 5 种浓度下的回收率均在 82.11%±1.46%~105.37%±3.19%范围内。但随着白酒浓度的增高, 乌头原碱、新乌头原碱和次乌头原碱 3 种毒素的色谱峰逐渐由一个峰裂分为两个峰, 存在溶剂效应。实验数据表明, 药酒里面白酒浓度高于 30%即出现色谱峰裂分情况, 导致不能准确定性定量目标化合物, 因此浸泡药酒需要经稀释后方可准确测定。

2.4　稀释试剂的考察

向空白药酒基质中加入定量的混合标准溶液, 分别采用不同体积分数的甲醇进行稀释, 平行实验 6 次, 结果采用提取率平均值±标准偏差表示, 如表 3 所示。30%、50%、70%、90%甲醇所得提取率均在 81.64%±2.48%~102.46%±2.49%之间, 纯甲醇对新乌头原碱的提取率为 73.69%±2.38%, 对其余 8 种乌头类生物碱的提取率均在 90%左右。5 种体积分数的甲醇对 9 种乌头类生物碱的提取率均较理想, 但除 30%甲醇外, 乌头原碱和次乌头原碱色谱峰均由一个峰分裂为两个峰, 且分离程度随甲醇体积分数的增加而逐步变大, 说明溶剂效应较为明显。综合考虑, 最终采用 30%甲醇作为草乌药酒样品的稀释液。

2.5　基质效应的考察

基质效应是质谱分析过程中常见的干扰现象, 是指样品基质中除目标物外的其他成分对目标物检测信号产生增强或抑制的干扰效应。分别于 30%甲醇溶剂和空白药酒中加入标准物质进行测试, 以基质响应值和溶剂响应值的百分比作为评价依据, 若基质效应低于 80%, 则存在基质抑制效应; 高于 120%, 则存在基质增强效应; 位于 80%~120%之间, 属于正常范围, 无明显基质效应[31]。本研究的基质效应分析如图 2 所示, 9 种乌头类生物碱的基质效应均在 90%~110%之间, 无明显基质效应, 验证了方法有效性。

表 2　不同白酒浓度下 9 种乌头类生物碱的回收率(%)

Table 2　Recovery rates of 9 kinds of aconitum alkaloids under different liquor concentrations (%)

乌头类生物碱	白酒浓度				
	30%	50%	70%	90%	100%
新乌头碱	100.90±2.45	98.47±2.56	99.42±2.47	95.09±1.69	96.05±2.12
乌头碱	95.42±0.92	94.42±2.25	93.11±1.91	94.28±1.89	92.50±3.55
次乌头碱	98.74±2.94	98.34±2.45	93.46±1.77	97.91±1.80	93.78±2.83
苯甲酰乌头原碱	100.71±2.95	96.59±2.58	95.82±2.06	95.88±1.92	95.38±1.68
次乌头原碱	95.27±3.14	90.08±1.79	87.69±1.67	86.79±1.11	86.58±3.44
苯甲酰次乌头原碱	102.74±3.81	98.43±5.02	101.93±4.76	103.60±6.91	105.37±3.19
苯甲酰新乌头原碱	96.90±2.68	95.50±5.44	95.89±1.31	97.20±3.97	94.90±2.59
乌头原碱	97.80±1.95	98.52±1.60	97.24±1.35	95.52±2.98	98.52±2.09
新乌头原碱	84.17±1.24	82.11±1.46	83.85±2.95	89.59±1.07	89.60±2.67

表 3　不同甲醇体积分数下 9 种乌头类生物碱的提取率(%)

Table 3　Extraction rates of 9 kinds of aconitum alkaloids with different methanol volume fractions (%)

乌头类生物碱	甲醇体积分数				
	30%	50%	70%	90%	100%
新乌头碱	102.46±2.49	99.75±2.45	95.50±2.38	100.68±3.25	94.07±2.82
乌头碱	98.42±0.95	101.36±1.37	100.93±2.28	94.40±1.56	96.05±2.21
次乌头碱	91.19±2.72	96.76±3.26	97.51±3.87	96.35±2.86	97.72±2.70
苯甲酰乌头原碱	100.08±2.93	97.63±1.51	97.34±1.83	97.81±1.75	94.63±2.80
次乌头原碱	96.18±3.17	97.73±1.92	92.18±2.54	94.54±2.82	92.69±2.68
苯甲酰次乌头原碱	91.41±3.39	100.17±3.21	98.71±7.38	96.57±3.72	95.60±2.89
苯甲酰新乌头原碱	97.30±2.69	89.08±4.95	100.35±4.09	97.76±4.04	89.28±4.55
乌头原碱	94.38±1.88	98.11±1.68	90.77±1.53	91.88±1.78	92.47±1.33
新乌头原碱	85.40±1.26	81.64±2.48	82.73±2.06	84.34±1.79	73.69±2.38

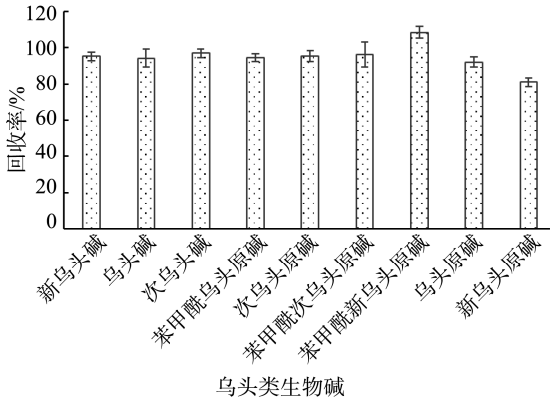


图 2 9 种乌头类生物碱的基质效应分析

Fig.2 Matrix effects analysis of 9 kinds of aconitum alkaloids

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察

按照 1.3.3 的方法配制混合标准溶液系列质量浓度，并采用已优化好的条件对标准系列进行测定，其横坐标(*X*, μg/L)为标准物质质量浓度，纵坐标(*Y*)为组分对应峰面积。其线性范围、回归方程、相关系数以及检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)如表 4 所示，9 种乌头类生物碱在 1~100 μg/L 范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.999。取空白药酒基质，制成添加水平为 2.0 μg/L 的样品，得到该加标基质的信噪比(*S*/*N*)，并计算 3 倍和 10 倍信噪比时的浓度为方法的 LOD 和 LOQ, LOD 为 0.63~0.98 μg/L, LOQ 为 2.11~3.26 μg/L，实验数据表明该方法具有良好的线性关系，较高的灵敏度，适用于 9 种乌头类生物碱的检测分析。

2.6.2 方法的回收率与精密度考察

取空白药酒基质，每种乌头类生物碱均设 3 个质量浓度加标水平 2、6、20 μg/L，采用上述条件对其进行平行测定 6 次，计算加标回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)，结果如表 5 所示，9 种乌头类生物碱加标回收率为 81.14%~116.01%, RSDs 为 0.97%~11.26% (*n*=6)，具有较好的准确性。

表 4 9 种乌头类生物碱的线性范围、回归方程、相关系数、LODs 和 LOQs

Table 4 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of 9 kinds of aconitum alkaloids

化合物名称	线性范围/(μg/L)	线性回归方程	相关系数	LODs/(μg/L)	LOQs/(μg/L)
乌头碱	1~100	Y=9507.11606X+22079.26	0.9993	0.63	2.11
次乌头碱	1~100	Y=20816.55836X+55516.90	0.9994	0.72	2.41
新乌头碱	1~100	Y=14708.66395X+39406.30	0.9994	0.98	3.26
苯甲酰乌头原碱	1~100	Y=7392.97411X+13122.17	0.9990	0.98	3.25
苯甲酰次乌头原碱	1~100	Y=2934.84931X+4052.66	0.9993	0.82	2.73
苯甲酰新乌头原碱	1~100	Y=3979.10007X+20784.64	0.9995	0.94	3.13
乌头原碱	1~100	Y=10791.09853X+43425.60	0.9993	0.86	2.86
次乌头原碱	1~100	Y=3110.39000X+218604.00	0.9990	0.68	2.27
新乌头原碱	1~100	Y=11053.05683X+52141.30	0.9991	0.91	3.03

表 5 9 种乌头类生物碱的加标回收率与精密度(*n*=6)

Table 5 Recovery rates and precision of 9 kinds of aconitum alkaloids (*n*=6)

化合物名称	加标水平/(μg/L)	回收率/%	RSDs/%	化合物名称	加标水平/(μg/L)	回收率/%	RSDs/%
乌头碱	2	98.09	2.82	苯甲酰新乌头原碱	2	99.51	11.26
	6	94.26	5.19		6	108.54	3.04
	20	95.42	0.97		20	96.90	2.76
次乌头碱	2	95.86	7.84	乌头原碱	2	93.30	5.93
	6	97.07	2.39		6	92.07	3.06
	20	98.74	2.98		20	97.80	1.99
新乌头碱	2	100.77	2.22	次乌头原碱	2	94.47	5.01
	6	95.34	2.54		6	95.49	3.15
	20	100.90	2.43		20	95.27	3.29
苯甲酰乌头原碱	2	98.24	3.89	新乌头原碱	2	85.75	3.80
	6	94.55	2.20		6	81.14	3.02
	20	100.71	2.93		20	84.17	1.47
苯甲酰次乌头原碱	2	116.01	6.89				
	6	96.33	7.27				
	20	102.74	3.71				

2.7　实际样品检测

草乌药酒经 1.3.4 方法制备, 经 1.3.5 方法稀释处理后, 采用优化好的高效液相色谱-串联质谱法对 9 种乌头类生物碱进行检测。5 种不同形态的草乌药酒中, 均检出 5 种乌头类生物碱, 包括乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱和苯甲酰次乌头原碱, 其中, 乌头碱的含量最高, 其范围为 165.80~224.35 mg/L, 其余 4 种乌头类生物碱含量均低于 15.00 mg/L。

3 瓶送检药酒样品由于泡制时间较长(>2 年), 9 种乌头类生物碱均检出, 并且以双酯型生物碱居多, 含量高达 564.02 mg/L, 单酯型生物碱次之, 醇胺型生物碱最少。总体而言, 草乌药酒中双酯型生物碱含量最高, 毒性极大, 应引起高度重视和关注。

3　结 论

本研究建立了一种超高效液相色谱-串联质谱法, 实现对草乌药酒中 9 种乌头类生物碱快速检测分析。通过加标回收的方式对该方法进行方法学验证, 其实验结果表明, 该方法快速、准确且特异性强。应用该方法对实际样品进行检测, 结果显示, 草乌药酒中双酯型乌头类生物碱含量居高, 毒性大, 揭示了自制草乌药酒潜藏着严重的中毒风险, 不可盲目使用和饮用。本研究所建立的方法覆盖目标毒素更为广泛, 包括双酯型生物碱、单酯型生物碱和醇胺型生物碱, 以及揭示了草乌药酒中乌头类生物碱存在转化降解情况, 为应急事件处置中毒因子的快速筛查和临床的准确诊断工作提供更为可靠的保障, 并在灵敏度、分析速度和准确性方面表现出显著优势, 更适用于药酒基质的高通量筛查。该研究可为相关检测部门提供强有力的技术支持, 为大众提供安全警示。基于本研究的发现, 未来的工作应致力于扩大样本来源和数量, 系统评估不同炮制方法对草乌毒性的影响, 并建立科学的风险评估模型, 从而为全面保障公众健康提供更完善的科学依据。

参考文献

[1] 张晓艺, 郑三燕, 张秀尧. 一起误服含有乌头类生物碱药酒引起食源性中毒事件的调查[J]. 上海预防医学, 2024, 36(7): 650–652.
ZHANG XY, ZHENG SY, ZHANG XY. Investigation of a foodborne poisoning incident caused by accidental consumption of medicinal liquor containing aconite alkaloids [J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2024, 36(7): 650–652.

[2] 张元元, 王晓蕾, 赵振霞, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定风湿安泰片中 6 种乌头类生物碱成分含量及风险评价[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024(8): 2168–2174.
ZHANG YY, WANG XL, ZHAO ZX, *et al*. Simultaneous determination of 6 *Aconitum* alkaloids in Fengshiantai tablets by UPLC-MS/MS and risk assessment [J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2024(8) : 2168–2174.

[3] 胡增美, 黄露, 侯佳华, 等. 中药中生物碱类化学成分的毒性作用研究进展[J]. 中南药学, 2022, 20(3) : 633–641.
HU ZM, HUANG L, HOU JH, *et al*. Research progress in toxicity of alkaloids in traditional Chinese medicine [J]. Central South Pharmacy, 2022, 20(3): 633–641.

[4] JEON SY, JEONG W, PARK JS, *et al*. Clinical relationship between blood concentration and clinical symptoms in aconitine intoxication [J]. American Journal of Emergency Medicine, 2021, 40: 184–187.

[5] 王志圆, 郭云昌, 付萍, 等. 中国 2010—2020 年有毒植物乌头中毒流行病学与时空聚集分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(9) : 1370–1374.
WANG ZY, GUO YC, FU P, *et al*. Epidemiological and spatio-temporal clustering analysis of aconite poisoning in China from 2010 to 2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(9): 1370–1374.

[6] MJøLSTAD OC, RADTKE M, BRODTKORB E, *et al*. Recurrent malignant ventricular arrhythmias and paresthesia-a mystery revealed as aconitine poisoning: A case report [J]. Journal of Medical Case Reports, 2023, 17(1): 554.

[7] RAHIMI M, ALIZADEH R, HASSANIAN-MOGHADDAM H, *et al*. Clinical manifestations and outcomes of colchicine poisoning cases; a cross sectional study [J]. Archives of Academic Emergency Medicine, 2020, 8(1) : e53.

[8] 杨康迪. 乌头煎剂调节 NK 细胞免疫功能抗肝癌的实验研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2023.
YANG KD. Experimental study on the effect of *Aconitie* decoction on the immune function of NK cells to treat liver cancer [D]. Shanghai: Naval Medical University, 2023.

[9] 李谦, 过立农, 郑健, 等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(7): 1129–1149.
LI Q, GUO LN, ZHENG J, *et al*. Reaserch progress of medicinal genus *Aconitum* [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 36(7): 1129–1149.

[10] 杨洋, 杨光义, 冯光军, 等. 附子炮制前后化学成分及药效毒理学研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(11): 2724–2727.
YANG Y, YANG GY, FENG GJ, *et al*. Study on chemical constituents and pharmacotoxicology of monkshood before and after processing [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2019, 30(11): 2724–2727.

[11] MICHEL A, SIEBE I, AUWÄRTER V, *et al*. Aconitine poisoning due to confusion of aconite leaves with lovage [J]. Anaesthesist, 2021, 70(8): 633–638.

[12] WANG XC, JIA QZ, YU YL, *et al*. Inhibition of the I(Na/K) and the activation of peak I(Na) contribute to the arrhythmogenic effects of aconitine and mesaconitine in guinea pigs [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2021, 42(2) : 218–229.

[13] YAN S, WANG K, AL NAGGAR Y, *et al*. Natural plant toxins in honey: An ignored threat to human health [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 424(Pt D) : 127682.

[14] 陈双燕, 段恬筱, 翁健. 一起误饮川乌药酒致乌头碱中毒事件调查[J]. 预防医学, 2021, 33(11): 1170–1171.
CHEN SY, DUAN TX, WENG J. Investigation of a Chuanwu medicinal

liquor caused *Aconitine* poisoning event [J]. China Preventive Medicine Journal, 2021, 33(11): 1170–1171.

[15] 陈振明. 一起误饮乌头碱药酒引起的中毒事件调查[J]. 应用预防医学, 2021, 27(3): 207–208.
CHEN ZM. Investigation on a poisoning incident caused by drinking aconitine medicinal liquor by mistake [J]. Applied Preventive Medicine, 2021, 27(3): 207–208.

[16] 廖茜茜, 黄维兰. 一起饮用泡酒致乌头类生物碱中毒的调查分析[J]. 中国乡村医药, 2023, 30(3): 60–61.
LIAO XX, HUANG WL. Investigation and analysis of aconitum alkaloids poisoning caused by drinking soaked wine [J]. Chinese Journal of Rural Medicine and Pharmacy, 2023, 30(3): 60–61.

[17] CHEN YF, HE W, ZHU FC. Determination of aconitine alkaloids in a pesticide-0.25% aconitine alkaloids mixed with emulsion by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2002, 20(3): 253–255.

[18] WANG ZH, GUO D, HE Y, *et al*. Quantitative determination of *Aconitum* alkaloids in blood and urine samples by high-performance liquid chromatography [J]. Phytochemical Analysis, 2004, 15(1): 16–20.

[19] 杨海宁, 文瑾, 孙筱林, 等. 高效液相色谱法测定生附子中 3 种双酯型生物碱含量[J]. 医药导报, 2019, 38(11): 1459–1462.
YANG HN, WEN J, SUN XL, *et al*. Determination of three diester alkaloids in lateral roots of *Aconitum carmichaelii* Debx. by HPLC [J]. Herald of Medicine, 2019, 38(11): 1459–1462.

[20] 张妍, 付雪艳. UPLC 同时测定铁棒锤中 6 种酯型生物碱类成分的含量[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(5): 62–65.
ZHANG Y, FU XY. UPLC siultaneous determination of six esteric alkaloids components in *Aconitum* Flaram Hand. Mazz [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2020, 16(5): 62–65.

[21] 杨坤, 解瑞辉, 张海娜, 等. UPLC 法测定乙酰乌头碱片含量及溶出度[J]. 中国医药导刊, 2023, 25(11): 1112–1116.
YANG K, XIE RH, ZHANG HN, *et al*. Determination of content and dissolution of acetylaconitine tablets by UPLC [J]. Chinese Journal of Medicinal Guide, 2023, 25(11): 1112–1116.

[22] CHEN F, SHEN X, HUANG P, *et al*. Quantification of lappaconitine in mouse blood by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 6262105.

[23] 张秀尧, 蔡欣欣, 张晓艺, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱法同时快速测定血浆和尿液中 84 种有毒植物成分[J]. 色谱, 2019, 37(11): 1142–1156.
ZHANG XY, CAI XX, ZHANG XY, *et al*. Simultaneous rapid determination of 84 toxic plant constituents in plasma and urine by ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(11): 1142–1156.

[24] CHO YS, CHOI HW, CHUN BJ, *et al*. Quantitative analysis of *Aconitine* in body fluids in a case of *Aconitine* poisoning [J]. Forensic Science, Medicine and Pathology, 2020, 16(2): 330–334.

[25] NATORI Y, KAMIOKA S, YOSHIMOTO T, *et al*. A simple and rapid method for quantifying aconitines and their metabolites in whole blood by modified QuEChERS and liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) [J]. Forensic Science International, 2022, 341: 111475.

[26] WURITA A, HASEGAWA K, NOZAWA H, *et al*. Postmortem distribution/redistribution of buformin in body fluids and solid tissues in an autopsy case using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS extraction method [J]. Forensic Science International, 2020, 314: 110376.

[27] WEI N, SONG D, LU C, *et al*. Identification and quality evaluation of different processed products of *Aconitum carmichaelii* by ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2023, 46(17): e2300235.

[28] SHEN B Q, QU C, MI L, *et al*. Simultaneous quantification of twenty-eight components of Shenfu Injection in rat plasma by UHPLC-QQQ MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2021, 203: 114211.

[29] 黄莹偲, 郑倩清, 刘国平, 等. 盐析辅助液液萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定糕点中 14 种生物碱[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(11): 125–132.
HUANG YS, ZHENG QQ, LIU GP, *et al*. Rapid determination of 14 kinds of alkaloids in pastries by salting-out assisted liquid-liquid extraction with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(11): 125–132.

[30] 赵丽, 李文廷, 张瑞雨, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定自制泡酒中的 3 种乌头碱[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(10): 3324–3329.
ZHAO L, LI WT, ZHANG RY, *et al*. Determination of three kinds of aconitum alkaloids in self-made sparkling wine by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(10): 3324–3329.

[31] 岳超, 毛思浩, 周霞, 等. 全自动 QuEChERS-UPLC-MS/MS 法测定麦冬中 19 种植物生长调节剂和杀菌剂[J]. 分析测试学报, 2025, 44(2): 318–325.
YUE C, MAO SH, ZHOU X, *et al*. Detection of 19 plant growth regulators and fungicides in radix ophiopogonis by automatic QuEChERS combined with UPLC-MS/MS [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2025, 44(2): 318–325.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)