

胶类药材定性鉴别解决方案



前 言

在国家食品药品监督管理总局 2015 年第 67 号公告中，发布了 2015 版《中华人民共和国药典》，并宣布于 2015 年 12 月 1 日起实施。与 2010 版药典相比，新颁布的 2015 版药典在原有的科学性、规范性、先进性的基础上大大提升和加强了药品的安全性和有效性的控制要求，该要求更具体、操作性更强、可执行、可监督性更强。

胶类药材是用动物的皮熬制成的明胶类物质，是具有典型的民族特色的中国传统中药，其中阿胶、龟角胶和鹿角胶为临床常用，2015 版药典共收录了阿胶、龟甲胶和鹿角胶三种胶类药材。随着传统医学的进步和发展，胶类药材又出现新的品种，如利用猪皮为原料熬制而成的胶类，经化学分析，该胶类含成分与驴皮制胶相似，俗称为新阿胶，并被证明有一定的治疗功效，且已在市场销售；同时也出现利用其他动物皮熬制而冒充有功效的胶类药材，如传统的驴皮源阿胶会有不法商贩采用牛皮源料等进行掺假销售。因此，对于胶类药材的定性鉴别及种源分析显得尤为重要。

无论何种动物皮类的胶类药材，水解后其胶原蛋白均变成分子量更小的肽类，从而失去原有胶原蛋白性质，无法进行来源鉴别。2015 版药典收录的三种胶类药材的定性方法进行修正，由茚三酮显色法修改为 LC-MS/MS 法。茚三酮显色法对胶内药材进行定性时因缺少特异性，不易对不同来源的胶原蛋白进行区分；而采用胰蛋白酶酶解胶类药材药品，选择特征肽段，用 LC-MS/MS 法检测特征性肽段对应的特征离子对，可对样品胶的种类和来源进行鉴定，方法更科学可靠。同时 LC-MS/MS 法检测特征性肽段对应的特征离子对方法，也适合于新阿胶及牛皮源掺假阿胶的鉴定。

岛津公司作为世界著名的分析仪器制造商，自 1875 年创业以来，始终秉承创始人岛津源藏的创业宗旨“以科学技术向社会做贡献”，自进入中国 30 多年来，一直关注国内各行业的发展及相关标准法规的颁布与实施，积极应对并及时提供全面、快速有效的解决方案；对医药行业而言，药品标准就是核心竞争力。随着 2015 新版药典的推行，胶类药材生产企业、添加胶类药材的保健品企业及相关的上下游企业必定对胶类药材的质量控制提出更高要求。为了应对胶类药材涉及到的相关行业用户的需求，岛津分析中心推出了岛津串联液质机种在胶类药材定性方面的应用解决方案。在方案中，除药典规定方法外，还结合岛津自身仪器特色，使用独有的在线酶切液相色谱仪 (Perfinity iDP) 对胶类药材进行在线酶解，酶解时间由 2015 版药典规定的 12h 缩短为 6min，从而提高了胶类药材来源鉴别的时效性，更适用于检验机构大量样品的分析需求。

目 录

前 言.....	1
1. 在线酶切液相色谱仪（Perfinity iDP）-三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 超快速定性检测阿胶药材	3
2. 高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8030 定性分析阿胶药材	8
3. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040 快速定性分析阿胶药材	11
4. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040 定性分析龟甲胶药材	14
5. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040 定性分析鹿角胶药材	17
6. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040 定性分析新阿胶（猪皮源）药材 ..	20
7. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040 测定阿胶中的牛皮源成份	23
8. 相关法规、文献摘录.....	27



SHIMADZU
Excellence in Science

在线酶切液相色谱仪（Perfinity iDP）-三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 超快速定性检测阿胶药材

摘要：Perfinity iDP 液相色谱仪是岛津推出的蛋白质在线酶切系统，可将蛋白质分子在几分钟内酶切成小分子的肽段。本文使用岛津在线酶切液相色谱（Perfinity iDP）-三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用系统建立了一种超快速定性检测阿胶药材的方法。本方法参照《中国药典（2015 版）》中阿胶项下，使用 NH_4HCO_3 溶液提取、过滤后，使用串联系统在线完成快速酶解、分离及检测。本方法选择阿胶的特征肽作为定性依据；按照药典要求建立了 m/z 539.8>612.4 和 m/z 539.8>923.8 检测离子对，结果显示对照品溶液及市售药材样品中阿胶特征肽的信噪比均远远大于 3:1，表明该方法完全满足药典的要求，且将酶切过程由手工的十几小时缩短为几分钟，可实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性检测。

关键词：在线酶切液相色谱仪（Perfinity iDP） 三重四极杆质谱 阿胶 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质，以补血、升血功能而著称。在 2010 版中国药典中通过茚三酮显色法进行定性鉴别，此方法缺少特异性，不易对不同来源的胶类药材进行区分。2015 版药典对鉴定方法进行修正，把原来的茚三酮显色法改为液质联用的方法检测特征性肽段，方法更科学可靠。该方法使用胰蛋白酶对不同来源的明胶类物质进行酶切处理，通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而通过检测样品胶中的特征肽段对样品胶的种类进行鉴定。但酶解胶类药材往往需要 12 小时以上，难以满足执法部门、企业等要求快速、准确得到样品检测结果的需求。

Perfinity iDP (Integrated Digestion Platform)是自动化在线蛋白质酶切液相色谱，采用高效率的胰蛋白酶固定化色谱柱，对样品中的蛋白质进行在线酶切。通过使用已最优化的专用胰蛋白酶酶解缓冲液，提高了酶解效率，实现了最快几分钟完成的在线酶切，与传统手工酶切（需要 12-24 小时）相比，大大缩短了样品前处理时间；同时在重现性方面，由于 Perfinity iDP 系统将酶切、浓缩、分离、检测的一系列过程在线自动化，降低了人为误差，提高了分析精度。

本文利用岛津在线酶切液相色谱（Perfinity iDP）-三重四极杆液质联用 LCMS-8040 对阿胶中的特征肽段进行了分析，建立了阿胶药材快速定性的方法，可为大量胶类药材样品的快速定性分析提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器

在线酶解液相色谱 Perfinity iDP-三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用系统，具体配置为 LC-20AD_{XR}×2 输液泵，DGU-20A₅脱气机，SIL-20AC_{HT}自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，

FCV-36AH×2, CBM-20A系统控制器, LC-20AD+LPGE, LCMS-8040三重四极杆质谱仪, Perfinity iDP V 1.0.0.30 (工作站), LabSolutions Ver. 5.80 CHS色谱工作站。

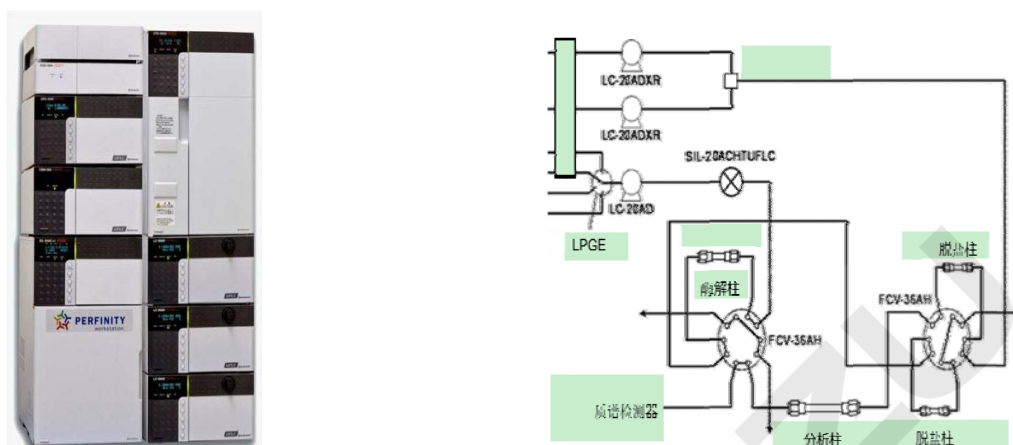


图 1 Perfinity iDP 系统及流程图

Perfinity iDP 工作原理: Perfinity iDP 工作时分为三个程序, 依次是酶解、脱盐和反相分离。酶解时, 样品经过高效率的胰蛋白酶固定化色谱柱被酶解成多肽片段, 经酶解柱流出后, 进入脱盐柱被富集; 脱盐时, 阀位进行切换, 高比例的水相冲洗脱盐柱, 将盐成分冲洗出去, 而多肽仍然被富集在脱盐柱上; 反向分离时, 采用梯度洗脱, 逐渐提高有机相的比例冲洗脱盐柱, 将多肽从脱盐柱上洗脱下来, 进入 C18 反向色谱柱柱进行分离, 之后进入质谱进行检测。

1.2 分析条件:

酶解条件:

用于酶解的流动相试剂包 (Perfinity 公司, 228-56951-60) 包括酶解试剂 A、B 和 C 三种试剂:

酶解试剂 A: 将预处理 Kit 中 “Wash Solution Concentrate” 加到烧杯中, 加 1 L 水充分混合、溶解。将配好溶液转移至流动相瓶中。脱气。

酶解试剂 B: 将预处理 Kit 中 “Digest Buffer Concentrate” 加到烧杯中, 加 500 mL 水和 20 mL 异丙醇充分混合、溶解。加水至 900 mL, 调整 pH 值至 8.4 (可接受范围: 7.9~8.4)。转移到容量瓶中, 加水定容至 1 L。将配好溶液转移至流动相瓶中。脱气。

酶解试剂 C: 将预处理 Kit 中 “Re-equilibration Concentrate” 加到烧杯中, 加 600 mL 水和 250 mL 异丙醇充分混合、溶解。转移到容量瓶中, 加水定容至 1 L。将配好溶液转移至流动相瓶中。脱气。

酶解时间: 6 分钟

分离条件:

色谱柱: Shim-pack GISS, 2.1 mm I.D. × 100 cm, 1.9 μm

流动相: A 相-0.1% 甲酸水溶液。 流动相 B: 乙腈

流速: 0.3 mL/min

时间程序: 初始浓度 5%B, 9 分钟内线性变化为 60%B

柱温: 40°C

进样体积: 5 μL

质谱检测条件:

离子化模式: ESI, 正离子模式

DL 温度: 300°C

离子喷雾电压: +4.5 kV

加热模块温度: 450°C

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

干燥气流速: 氮气 15 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 3

表 1 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
驴皮特征肽段	539.8	612.40	-38	-24	-22
		923.80	-38	-24	-40

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取一定量的对照药材或待测样品粉末, 加 1% NH_4HCO_3 溶液 50 mL, 超声处理 30 min, 使用微孔滤膜滤过。滤液直接进样分析。

2 结果与讨论

2.1 在线酶切系统分析阿胶对照药材的 MRM 色谱图

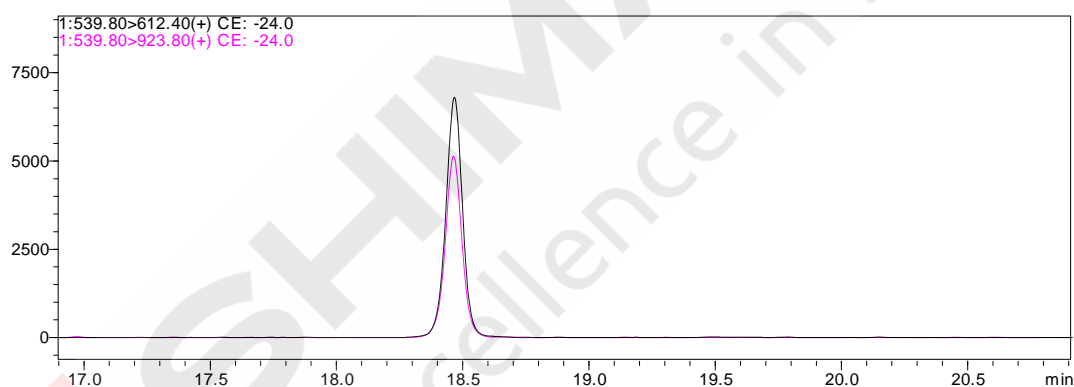


图 2 阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMSMS 分析获得阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图, 保留时间为: 18.43 min。图 1 中两对特征离子对 m/z 539.8>612.4 以及 m/z 539.8>923.8 的信噪比分别为 2145 和 1877, 充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品测试

对市售的二种阿胶药材样品进行分析, 结果如图 3~4 和表 3 所示。

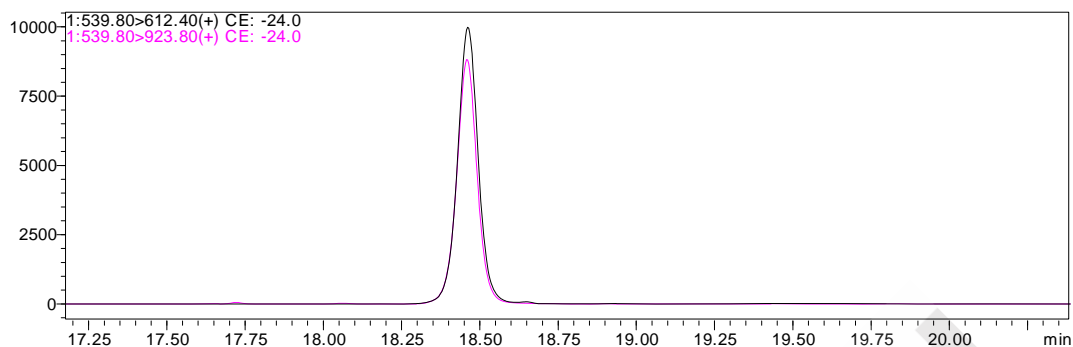


图3 市售阿胶样品1的色谱图

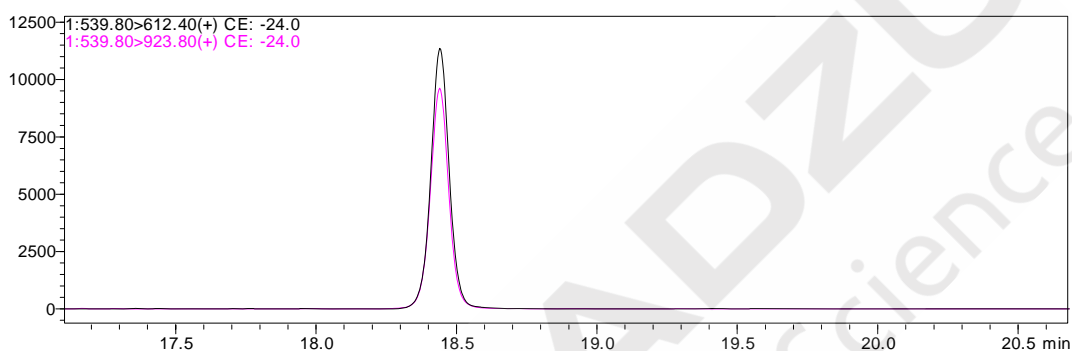


图4 市售阿胶样品2的色谱图

表2 实际样品中驴皮源特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	信噪比
样品 1	539.8>612.4	18.42	10154	45968	1624
	539.8>923.8		8654	39242	1697
样品 2	539.8>612.4	18.42	11286	50699	2210
	539.8>923.8		9555	43311	2128

3 结论

本文建立了一种使用岛津在线酶切液相色谱 (Perfinity iDP) -三重四极杆质谱 LCMS-8040 联用系统鉴定阿胶中特征肽段的方法, 此方法不需要十几小时的手工酶切过程, 可以超快地实现阿胶定性检测。该方法所检测阿胶特征肽段 MRM 色谱图中离子对 m/z 539.8>612.4, m/z 539.8>923.8 的响应明显, 完全满足 2015 版药典要求色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。市售两种阿胶药材样品分析结果表明均含有驴皮特征肽段 MRM 离子对, 表明所测样品中含有阿胶成分。因此, 本方法可为应对药典要求实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。

高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8030

定性分析阿胶药材

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用定性鉴别阿胶药材的方法。本文参照《中国药典（2015 版）》中阿胶项下，使用胰蛋白酶酶解阿胶样品，选择阿胶的特征肽作为定性依据；按照药典要求建立了 $m/z539.8>612.4$ 和 $m/z539.8>923.8$ 检测离子对，且对照品溶液及市售药材样品中阿胶特征肽的信噪比均远远大于 3:1。该方法完全满足药典的要求，实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词：超高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质。阿胶系驴皮经煎煮浓缩成的固体胶，能补血滋阴、润燥止血，用于贫血心悸、燥咳咯血、先兆流产、产后血虚、肌痿无力，是中医临床常用补益药。阿胶经水解后其胶原蛋白变为分子量更小的肽类，从而失去原有胶原蛋白的性质，无法进行来源鉴别。2015 版药典对阿胶的定性方法进行了修订，由 2010 版的茚三酮显色法修改为采用液质联用的方法检测特征肽段，方法更科学可靠。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8030 对阿胶中的特征肽段进行了分析，建立了阿胶定性鉴别分析方法，可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-20AD×2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Inertsil ODS-4 (2.1 mm I.D.×250 mm L., 5 μm)

流动相：A 相-0.1% 甲酸水溶液

柱温：40℃

B 相-乙腈

进样量：5 μL

流速：0.3 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.10	Pumps	Pump B Conc.	5
45.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式

DL 温度: 250°C

离子喷雾电压: +4.5 kV

加热模块温度: 400°C

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

干燥气流速: 氮气 15 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
驴皮特征肽段	539.8	612.40	-38	-22	-22
		923.80	-38	-22	-40

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g, 加 1% NH_4HCO_3 溶液 50 mL, 超声处理 30min, 使用微孔滤膜滤过。参照《中国药典 (2015 版)》阿胶项下, 取滤液 100 μL , 置于进样瓶中, 加胰蛋白酶溶液 (取序列分析纯胰蛋白酶适量, 加 1% NH_4HCO_3 溶液溶解, 制成每 1 μL 中含 1 mg 胰蛋白酶的溶液) 10 μL , 摇匀, 37°C 恒温酶解 12 h, 作为对照药材溶液或供试液, 进 LCMS-8030 分析。

2. 结果与讨论

2.1 阿胶对照药材的 MRM 色谱图

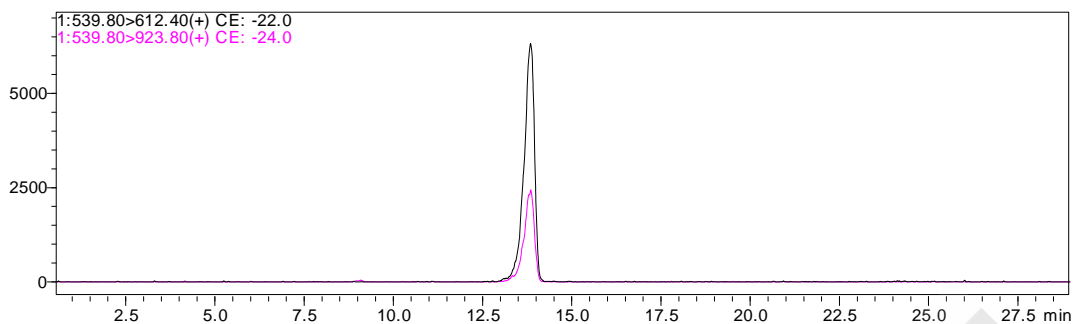


图 1 阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMSMS 分析获得阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，保留时间为：13.76min，图 1 中两对特征离子对 539.8>612.4 以及 539.8>923.8 的信噪比分别为 1161 和 705，充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对市售的一种阿胶药材样品进行分析，结果如图 2 和表 3 所示。

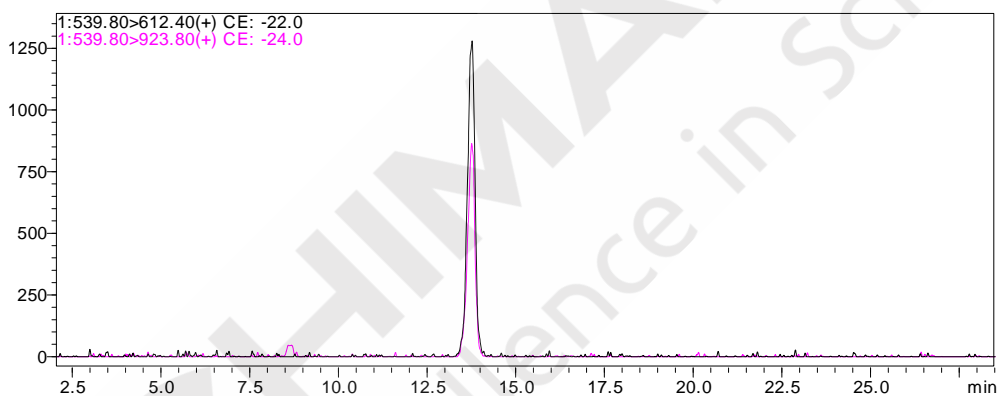


图 2 市售阿胶样品的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中驴皮源特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	信噪比
样品	539.8>612.4	13.76	1266	18994	464
	539.8>923.8		856	12360	499

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8030 鉴定阿胶中特征肽段，实现了阿胶定性鉴别的方法。该方法所检测阿胶特征肽段 MRM 色谱图中离子对 539.8>612.4，539.8>923.8 的响应明显，完全满足 2015 版药典要求色谱峰信噪比大于 3:1 的要求，市售阿胶药材样品分析结果表明所测样品中含有阿胶成分。因此，本方法可为应对药典要求实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040

快速定性分析阿胶药材

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用定性分析阿胶的方法。本文参照《中国药典（2015 版）公示标准》中阿胶项下，使用胰蛋白酶酶解阿胶样品，选择阿胶的特征肽段作为定性依据。阿胶对照药材和市售药材样品特征多肽对应的两对特征离子满足药典中要求的 MRM 色谱峰中信噪比大于 3:1 的规定，表明方法及系统可用于特征肽段的检测。本方法能够完全满足药典的要求，实现阿胶药材的快速、准确定性分析。

关键词：超高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶定性分析 特征肽段

胶类药材是传统中药材，以补血、升血功能而著称。阿胶中含量 85% 以上的主要成分是胶原蛋白，关于阿胶原料的鉴别是其质量控制中的关键步骤。在《中国药典（2010 版）》中通过茚三酮显色法进行定性鉴别，此方法缺少特异性，不易对其来源的胶原蛋白进行区分。已有文献报道，使用胰蛋白酶对阿胶、牛皮胶和猪皮胶等不同来源的明胶类物质进行酶切处理，通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而证明通过检测样品胶中的特征肽段可以对样品胶的种类进行鉴定。2015 版中国药典拟收录阿胶、龟甲胶和鹿角胶三种胶类药材采用液质联用检测特征肽段的定性方法，为此类药材的质量控制提供更加可靠和准确的分析依据。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对阿胶中的特征肽段进行分析，建立了阿胶定性鉴别的分析方法，可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A₅（在线脱气机），SIL-30AC（自动进样器），CTO-30AC（柱温箱），CBM-20A（系统控制器），LCMS-8040（三重四极杆质谱仪），LabSolutions Ver. 5.53（色谱工作站）。

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D.×75 mm L., 1.6 μm

流 动 相：A 相-0.1% 甲酸水溶液 柱 温：40℃

 B 相-乙腈 进 样 量：5 μL

流 速：0.3 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
4.00	Pumps	Pump B Conc.	20
6.00	Pumps	Pump B Conc.	60
7.00	Pumps	Pump B Conc.	5
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式:	ESI(+)	DL 温度:	250°C
离子喷雾电压:	+4.5 kV	加热模块温度:	400°C
雾化气:	氮气 3.0 L/min	扫描模式:	多反应监测(MRM)
干燥气:	氮气 15 L/min	驻留时间:	100 ms
碰撞气:	氩气	延迟时间:	3 ms
MRM 参数:	见表 2		

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q1 Pre Bias (V)
阿胶特征肽段	540.00	612.40	-38.0	-22.0	-22.0
		924.30	-38.0	-24.0	-40.0

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取阿胶对照药材或待测样品粉末 0.1 g, 加入 1% 碳酸氢铵溶液 50 mL, 超声处理 30 min, 用微孔滤膜滤过。参照《中国药典(2015 版) 公示标准》阿胶项下, 取滤液 100 μ L, 置于进样瓶中, 加入胰蛋白酶溶液 10 μ L (用 1% 碳酸氢铵溶液配制成浓度为 1 mg/mL 的胰酶溶液), 摇匀, 37°C 恒温酶解 12 小时, 作为供试液。

2. 结果与讨论

2.1 阿胶对照药材的 MRM 色谱图

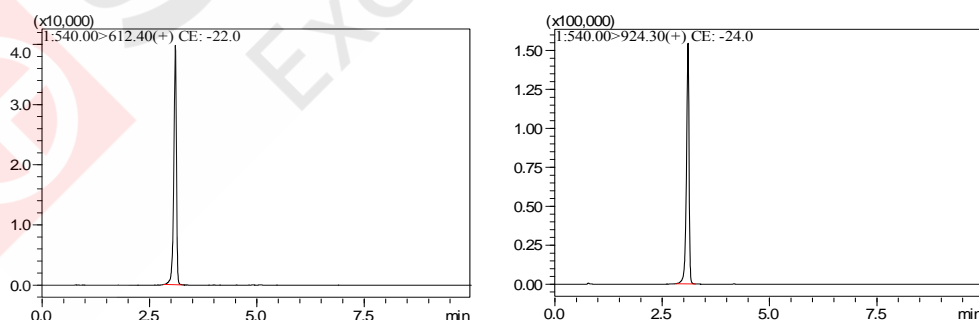


图 1 阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图, 保留时间 3.14 min, 图 1 中两对特征离子对 540.00>612.40, 540.00>924.30 的信噪比分别为 45555 和 938838, 充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对两种市售阿胶药材样品进行分析, 结果如图 2、3 和表 3 所示。

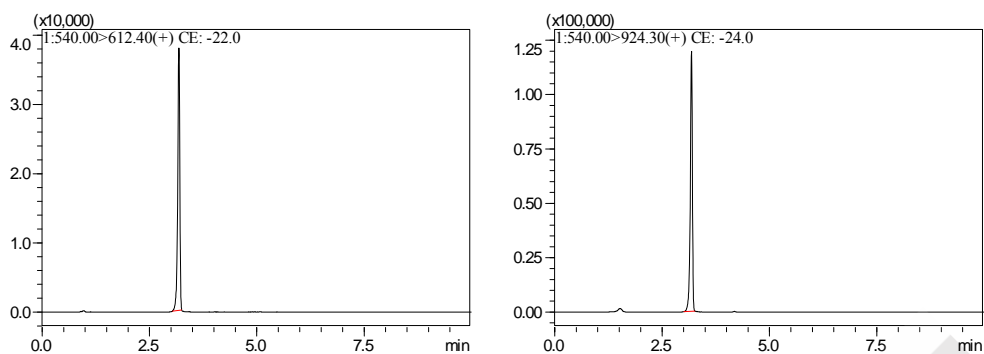


图2 样品1的MRM色谱图

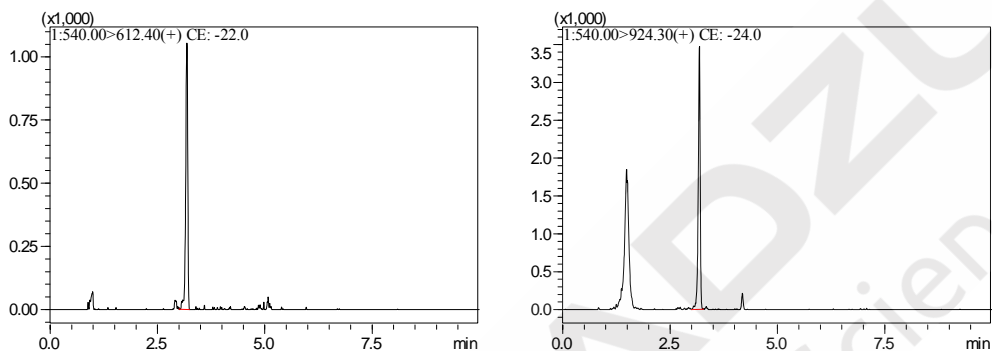


图3 样品2的MRM色谱图

表3 实际样品中阿胶定性分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	S/N
样品1	540.00>612.40	3.18	37884	126797	53991
	540.00>924.30		119509	398920	147413
样品2	540.00>612.40	3.18	1054	3566	1544
	540.00>924.30		3473	10893	5347

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 测定阿胶中特征肽段，实现阿胶定性分析的方法。该方法所检测的阿胶特征肽段 MRM 色谱图中两对离子对 540.00>612.40, 540.00>924.30 的响应明显，满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求，市售阿胶药材样品分析结果表明所测 2 个样品中均含有阿胶成份。因此，本方法可为应对药典要求实现阿胶药材的快速、准确定性鉴别提供参考。

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040

定性分析龟甲胶药材

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用定性分析龟甲胶的方法。本文参照《中国药典(2015 版)》中龟甲胶项下, 使用胰蛋白酶酶解龟甲胶样品, 选择龟甲胶的特征肽段作为定性依据。龟甲胶对照药材和市售药材样品特征肽段对应的两对特征离子满足药典中要求的 MRM 色谱峰中信噪比大于 3:1 的规定, 表明方法及系统可用于特征肽段的检测。本方法能够完全满足药典的要求, 实现龟甲胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词: 超高效液相色谱三重四极杆质谱 龟甲胶 定性分析 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药, 为动物的皮熬制而成的明胶类物质, 以补血、升血功能而著称。在 2010 版中国药典中通过茚三酮显色法进行定性鉴别, 此方法缺少特异性, 不易对不同来源的胶类药材进行区分。2015 版药典对鉴定方法进行修正, 把原来的茚三酮显色法改为液质联用的方法检测特征性肽段, 方法更科学可靠。该方法使用胰蛋白酶对不同来源的明胶类物质进行酶切处理, 通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而通过检测样品胶中的特征肽段对样品胶的种类进行鉴定。2015 版中国药典收录阿胶、鹿角胶和龟甲胶三种胶类药材采用液质联用检测特征肽段的定性方法, 为此类药材的质量控制提供更加可靠和准确的分析依据。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对龟甲胶中的特征肽段进行分析, 依据 2015 版中国药典建立了龟甲胶定性鉴别的分析方法, 可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS 2.0 mmI.D.×100 mm L., 2.2 μm

流动相: A 相-0.1% 甲酸水溶液

柱温: 35℃

B 相-乙腈

进样量: 5 μL

流速: 0.3 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
25.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
41.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.01	Pumps	Pump B Conc.	5
55.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI, 正离子模式

DL 温度：250℃

离子喷雾电压：+4.5 kV

加热模块温度：400℃

雾化气流速：氮气 3.0 L/min

扫描模式：多反应监测(MRM)

干燥气流速：氮气 15 L/min

驻留时间：100 ms

碰撞气：氩气

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q1 Pre Bias (V)
龟甲胶特征肽段	631.40	546.20	-32	-22	-38
		921.40	-32	-35	-40

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g，加入 1% 碳酸氢铵溶液 50 mL，超声处理 30 min，用微孔滤膜滤过。参照《中国药典（2015 版）》龟甲胶项下，取滤液 100 μL，置于进样瓶中，加入胰蛋白酶溶液 10 μL（用 1% 碳酸氢铵溶液配制成浓度为 1 mg/mL 的胰酶溶液），摇匀，37℃ 恒温酶解 12 小时，作为对照药材溶液或供试液。

2. 结果与讨论

2.1 龟甲胶对照药材的 MRM 色谱图

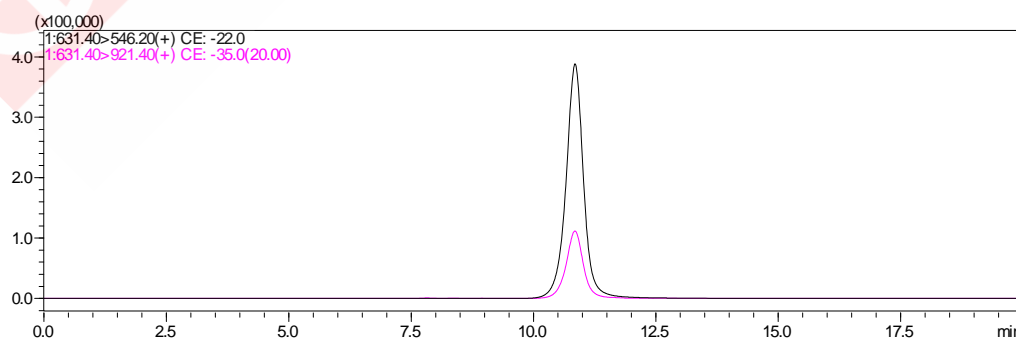


图 1 龟甲胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得龟甲胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，保留时间 10.85 min，图 1

中两对特征离子对 631.40>546.20 以及 631.40>921.40 的信噪比分别为 127479 和 7451, 充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对两种市售龟甲胶药材样品进行分析, 结果如图 2、3 和表 3 所示。

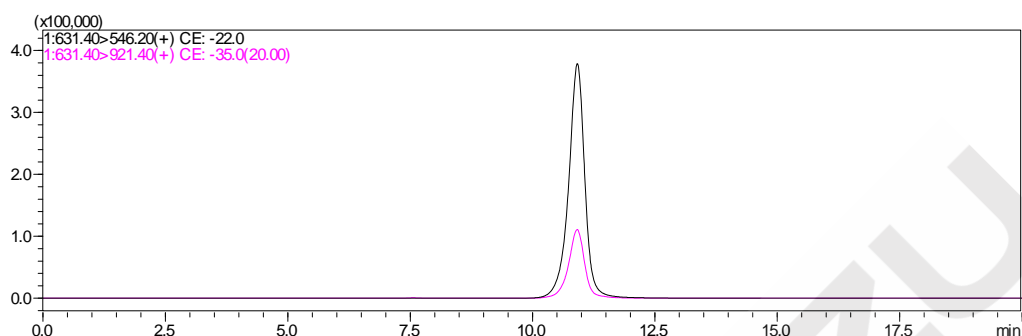


图 2 样品 1 的 MRM 色谱图

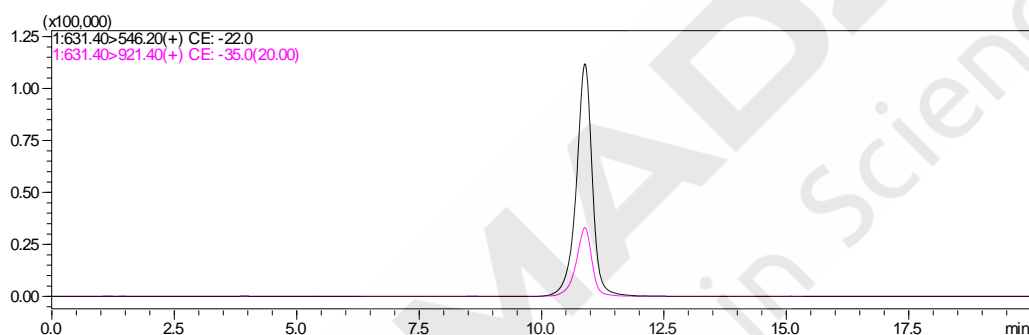


图 3 样品 2 的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中龟甲胶定性分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	S/N
样品 1	631.40>546.20	10.92	444872	8394157	107410
	631.40>921.40		6445	124599	6632
样品 2	631.40>546.20	10.89	131518	2454106	38049
	631.40>921.40		1998	35815	1238

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 测定龟甲胶中特征肽段, 实现龟甲胶定性分析的方法。该方法所检测的龟甲胶特征肽段 MRM 色谱图中两对离子对 631.40>546.20, 631.40>921.40 的响应明显, 完全满足 2015 版药典信噪比大于 3:1 的要求, 市售龟甲胶药材样品分析结果表明所测 2 个样品中均含有龟甲胶成份。因此, 本方法可为应对药典要求实现龟甲胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040

定性分析鹿角胶药材

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用定性分析鹿角胶的方法。本文参照《中国药典(2015 版)》中鹿角胶项下, 使用胰蛋白酶酶解鹿角胶样品, 选择鹿角胶的特征肽段作为定性依据。鹿角胶对照药材和市售药材样品特征肽段对应的两对特征离子满足药典中要求的 MRM 色谱峰中信噪比大于 3:1 的规定, 表明方法及系统可用于特征肽段的检测。本方法能够完全满足药典的要求, 实现鹿角胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词: 超高效液相色谱三重四极杆质谱 鹿角胶 定性分析 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药, 为动物的皮熬制而成的明胶类物质, 以补血、升血功能而著称。在 2010 版中国药典中通过茚三酮显色法进行定性鉴别, 此方法缺少特异性, 不易对不同来源的胶类药材进行区分。2015 版药典对鉴定方法进行修正, 把原来的茚三酮显色法改为液质联用的方法检测特征性肽段, 方法更科学可靠。该方法使用胰蛋白酶对不同来源的明胶类物质进行酶切处理, 通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而通过检测样品胶中的特征肽段对样品胶的种类进行鉴定。2015 版中国药典收录阿胶、鹿角胶和龟甲胶三种胶类药材采用液质联用检测特征肽段的定性方法, 为此类药材的质量控制提供更加可靠和准确的分析依据。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对鹿角胶中的特征肽段进行分析, 依据 2015 版中国药典建立了鹿角胶定性鉴别的分析方法, 可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS 2.0 mm I.D.×100 mm L., 2.2 μm

流动相: A 相-0.1% 甲酸水溶液 柱温: 35℃

B 相-乙腈 进样量: 5 μL

流速: 0.3 mL/min

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
25.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
41.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.00	Pumps	Pump B Conc.	99
45.01	Pumps	Pump B Conc.	5
55.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式

离子喷雾电压: +4.5 kV

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

干燥气流速: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

MRM 参数: 见表 2

DL 温度: 250℃

加热模块温度: 400℃

扫描模式: 多反应监测(MRM)

驻留时间: 100 ms

延迟时间: 3 ms

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q1 Pre Bias (V)
鹿角胶特征肽段	765.40	554.00	-34	-25	-38
		733.00	-34	-20	-30

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g, 加入 1% 碳酸氢铵溶液 50 mL, 超声处理 30 min, 用微孔滤膜滤过。参照《中国药典(2015 版)》鹿角胶项下, 取滤液 100 μ L, 置于进样瓶中, 加入胰蛋白酶溶液 10 μ L(用 1% 碳酸氢铵溶液配制成浓度为 1 mg/mL 的胰酶溶液), 摇匀, 37℃ 恒温酶解 12 小时, 作为对照药材溶液或供试液。

2. 结果与讨论

2.1 鹿角胶对照药材的 MRM 色谱图

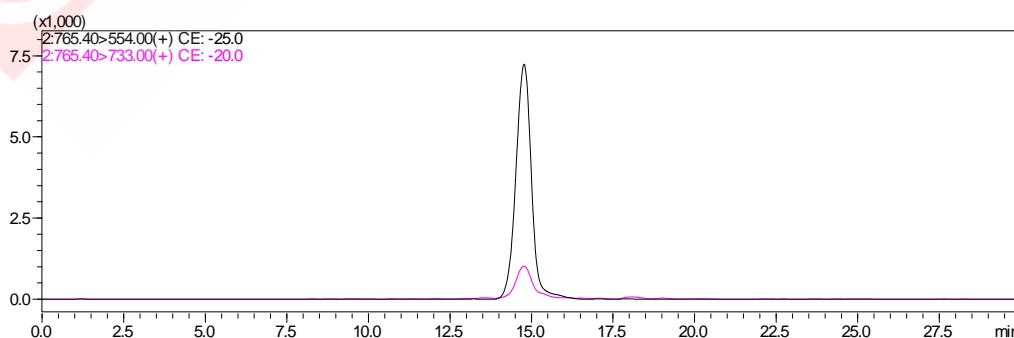


图 1 鹿角胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得鹿角胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图, 保留时间 14.80 min, 图 1

中两对特征离子对 765.40>554.00, 765.40>733.00 的信噪比分别为 1799 和 1411, 充分满足药典中要求的色谱峰信噪比大于 3:1 的要求。

2.2 实际样品分析

对两种市售鹿角胶药材样品进行分析, 结果如图 2、3 和表 3 所示。

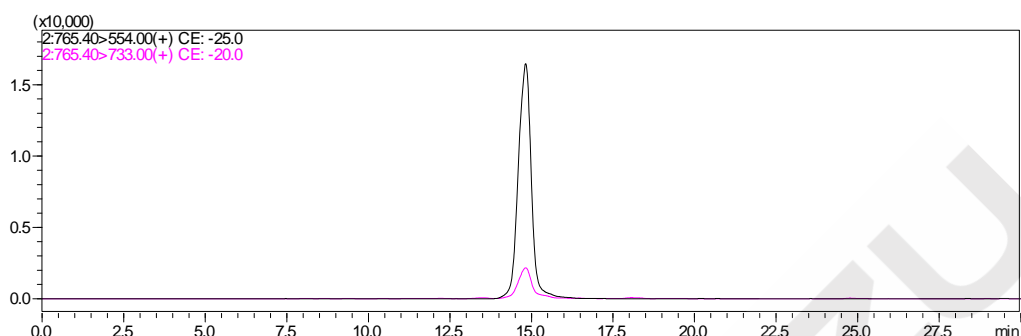


图 2 样品 1 的 MRM 色谱图

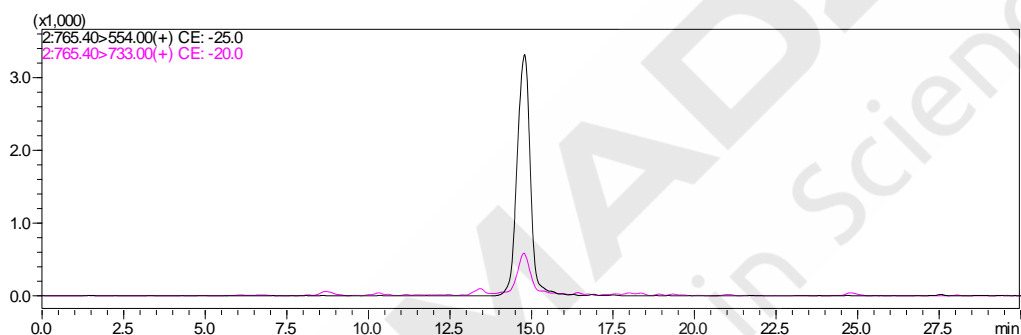


图 3 样品 2 的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中鹿角胶定性分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	S/N
样品 1	765.40>554.00	14.83	20742	474515	9248
	765.40>733.00		2532	59023	1907
样品 2	765.40>554.00	14.81	3556	90088	2216
	765.40>733.00		640	15000	305

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 测定鹿角胶中特征肽段, 实现鹿角胶定性分析的方法。该方法所检测的鹿角胶特征肽段 MRM 色谱图中两对离子对 765.40>554.00, 765.40>733.00 的响应明显, 完全满足 2015 版药典信噪比大于 3:1 的要求, 市售鹿角胶药材样品分析结果表明所测 2 个样品中均含有鹿角胶成份。因此, 本方法可为应对药典要求实现鹿角胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别提供参考。

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8040

定性分析新阿胶（猪皮源）药材

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用定性分析新阿胶（猪皮源）的方法。本文使用胰蛋白酶酶解新阿胶样品，选择新阿胶的特征肽段作为定性依据。新阿胶对照药材特征肽段对应的两对特征离子 MRM 色谱峰信噪比远远大于 3:1（药典中其他中药胶类产品要求），表明方法及系统可用于新阿胶特征肽段的检测。本方法能够实现新阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性分析。

关键词: 超高效液相色谱三重四极杆质谱 新阿胶 定性分析 特征肽段

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质，以补血、升血功能而著称。在 2010 版中国药典中通过茛三酮显色法进行定性鉴别，此方法缺少特异性，不易对不同来源的胶类药材进行区分。2015 版药典对鉴定方法进行修正，把原来的茛三酮显色法改为液质联用的方法检测特征性肽段，方法更科学可靠。该方法使用胰蛋白酶对不同来源的明胶类物质进行酶切处理，通过液质联用技术发现不同样品胶的酶解产物存在特征肽段的差异。从而通过检测样品胶中的特征肽段对样品胶的种类进行鉴定。2015 版中国药典收录阿胶、鹿角胶和龟甲胶三种胶类药材采用液质联用检测特征肽段的定性方法，为此类药材的质量控制提供更加可靠和准确的分析依据。

新阿胶为猪皮经煎煮、浓缩制成的固体胶，收载于卫生部药品标准中药成方制剂第十九册。具有滋补肝肾、补血止血之功效，临床广泛应用于原发性血小板减少症、白血球减少、子宫功能性出血、肺结核咯血、衄血、再生障碍性贫血、月经量减少、月经不调、产前产后血虚及血虚引起的头晕、乏力、心悸等症。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8040 对新阿胶特征肽段进行了分析，建立了新阿胶特征肽段的定性鉴别分析方法，为鉴别新阿胶特征肽段的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.80 CHS 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18, 2.0 mm I.D.×100 mm L., 1.9 μm

流动相：A 相-0.1% 甲酸水溶液

B 相-乙腈

流速：0.3 mL/min

进样量：5 μ L

柱温：40 $^{\circ}$ C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
25.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
41.00	Pumps	Pump B Conc.	5
50.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI, 正离子模式

DL 温度：250 $^{\circ}$ C

离子喷雾电压：+4.5 kV

加热模块温度：400 $^{\circ}$ C

雾化气流速：氮气 3.0 L/min

扫描模式：多反应监测(MRM)

干燥气流速：氮气 15 L/min

驻留时间：100 ms

碰撞气：氩气

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q1 Pre Bias (V)
新阿胶特征肽段	774.0	977.5	-30	-34	-28
		752.3	-30	-37	-24

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取对照药材或待测样品粉末 0.1 g，加入 1% 碳酸氢铵溶液 50 mL，超声处理 30 min，用微孔滤膜滤过。参照《中国药典（2015 版）》鹿角胶、龟甲胶和阿胶项下，取滤液 100 μ L，置于进样瓶中，加入胰蛋白酶溶液 10 μ L（用 1% 碳酸氢铵溶液配制成浓度为 1 mg/mL 的胰酶溶液），摇匀，37 $^{\circ}$ C 恒温酶解 12 小时，作为对照药材溶液或供试液。

2. 结果与讨论

2.1 新阿胶对照药材的 MRM 色谱图

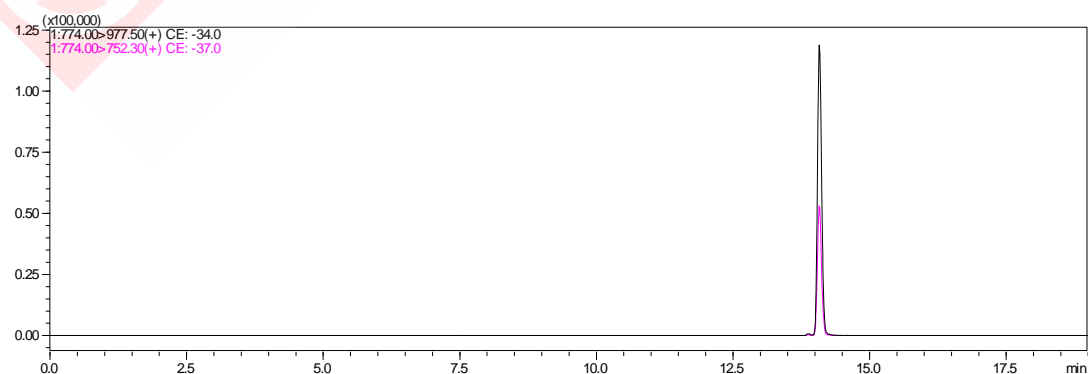


图 1 新阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

LCMS 分析获得新阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，保留时间 14.09 min，图 1 中两对特征离子对 774.0>977.5，774.0>752.3 的信噪比分别为 136211 和 53763。

2.2 实际样品分析

对两种市售新阿胶药材样品进行分析，结果如图 2、3 和表 3 所示。

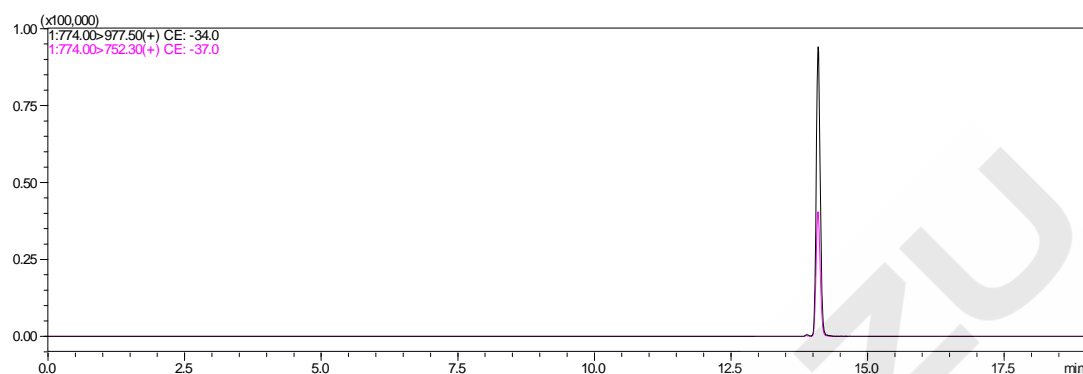


图 2 样品 1 的 MRM 色谱图

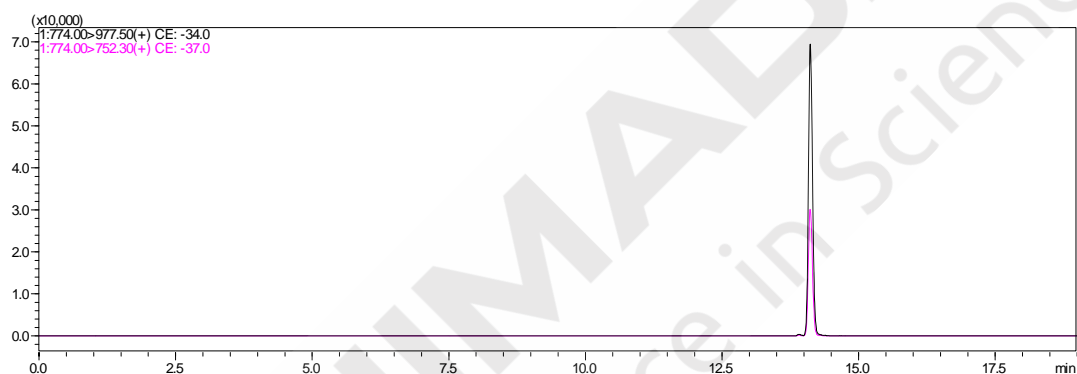


图 3 样品 2 的 MRM 色谱图

表 3 实际样品中鹿角胶定性分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	S/N
样品 1	774.0>977.5	14.09	93919	480605	168024
	774.0>752.3		40358	210138	76346
样品 2	774.0>977.5	14.10	69430	363410	161528
	774.0>752.3		30085	160472	24975

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 测定新阿胶（猪皮源）中特征肽段，实现新阿胶定性分析的方法。该方法所检测的新阿胶特征肽段 MRM 色谱图中两对离子对 774.0>977.5，774.0>752.30 的响应明显，远远大于 2015 版药典类似胶类产品信噪比大于 3:1 的要求，市售新阿胶药材样品分析结果表明所测 2 个样品中均含有新阿胶成份。因此，本方法可实现新阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
35.00	Pumps	Pump B Conc.	50
35.10	Pumps	Pump B Conc.	5
40.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子模式

DL 温度: 250°C

离子喷雾电压: +4.5 kV

加热模块温度: 450°C

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

干燥气流速: 氮气 15 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
牛皮特征肽段	641.3	726.20	-32	-28	-38.0
		783.30	-32	-30	-28.0

1.3 对照品和样品配制及前处理方法

取牛皮特征肽 A 适量, 精密称定, 如阿胶基质溶液 (取阿胶对照药材粉末 0.1g, 置 50ml 量瓶中, 加 1% NH₄HCO₃ 溶液 40mL, 超声处理 30 分钟, 使样品完全溶解, 加 1% NH₄HCO₃ 溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得) 的, 制成每 1mL 含 0.3μm 牛皮特征肽 A 的对照品溶液, 摇匀, 即得。参照《阿胶中牛皮源含量的补充检验方法》下, 取上述对照品溶液和供试品溶液各 5 mL, 过 0.22 μm 的滤膜, 精密量取 100 μL 滤液到 200 μL 微量进样瓶中, 加胰蛋白酶溶液 (取序列分析纯胰蛋白酶适量, 加 1% NH₄HCO₃ 溶液溶解, 制成每 1 μL 中含 1 μL 胰蛋白酶的溶液) 10 μL, 摇匀, 37°C 恒温酶解 12 h, 即得。

2. 结果与讨论

2.1 牛皮特征肽对照药材的 MRM 色谱图

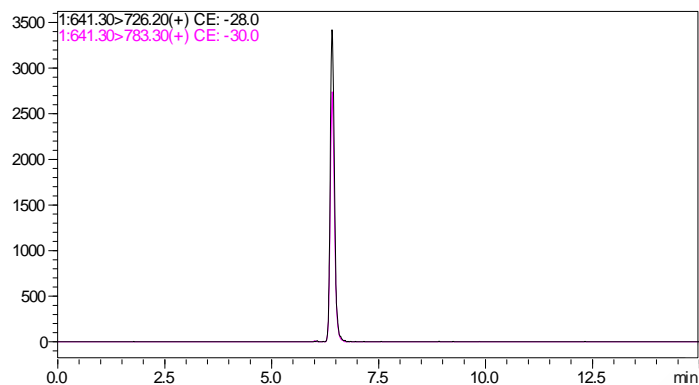


图1 对照药材特征多肽的MRM色谱图

LCMS 分析获得牛皮源对照药材特征多肽的 MRM 色谱图，图中特征离子对 $m/z641.3>726.2$ 的信噪比为 13560，远满足《阿胶中牛皮源含量的补充检验方法》中要求的色谱峰信噪比大于 10:1 的要求。

表3 对照品中牛皮特征肽段分析结果

编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积
牛皮特征肽段	641.30>726.20	6.41	3536	22844

2.2 实际样品分析

对两种由用户处获得的实际样品进行分析，结果下：

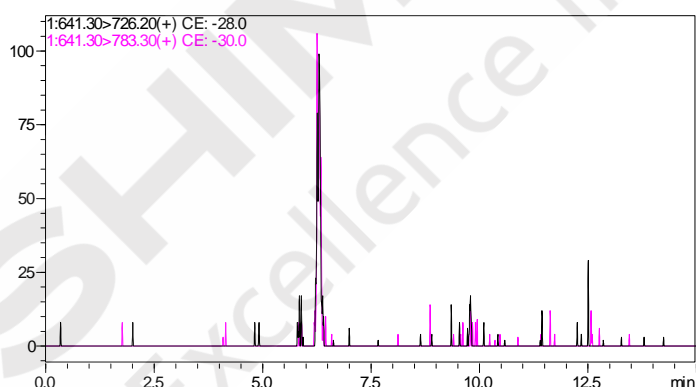


图2 样品1的MRM色谱图

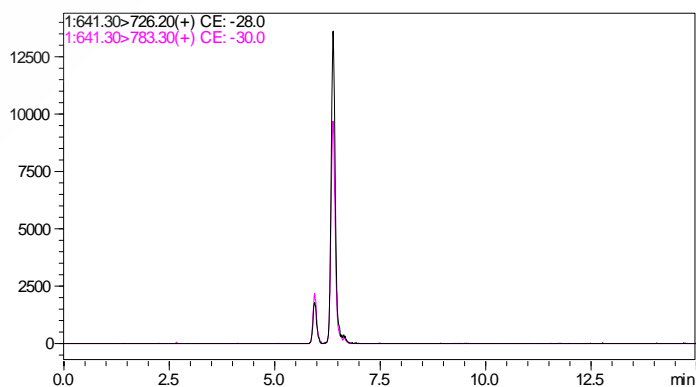


图3 样品2的MRM色谱图

表 4 实际样品中牛皮特征肽段分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积
样品 1	641.30>726.20	6.38	79	528
样品 2		6.40	13508	90316

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8040 鉴定阿胶中牛皮源的特征肽段的分析方法，实现了阿胶牛皮特征肽段鉴定分析。该方法所检测的牛皮特征肽段 MRM 色谱图中离子对 $m/z641.30>726.20$ 的响应明显，完全满足《阿胶中牛皮源含量的补充检验方法》信噪比大于 10:1 的要求。《阿胶中牛皮源含量的补充检验方法》要求供试品的 $m/z641.30>726.20$ 和 $m/z641.3>783.3$ 通道色谱图中，应不得同时出现与对照品色谱保留时间相同的色谱峰；若同时出现，则要求样品中 $m/z641.30>726.20$ 色谱图中色谱峰面积不得超过对照品 $m/z641.30>726.20$ 色谱图的峰面积。而对两份实际样品分析结果表明样品 2 不符合要求。因此，本方法可为实现牛皮源阿胶的牛皮特征肽段的快速、准确、灵敏的鉴别提供参考。

相关法规、文献摘录

1.1 阿胶的【鉴别】(2015 版药典第一部, 189 页)

阿胶为马科动物驴*Equus asinus*L.的干燥皮或鲜皮经煎煮、浓缩制成的固体胶。

参照《中国药典(2015 版) 公示标准》中阿胶项下规定: “采用质谱检测器, 电喷雾正离子模式(ESI+), 进行多反应监测(MRM), 选择质荷比(m/z) 539.8(双电荷)→612.4 和 m/z 539.8(双电荷)→923.8 作为检测离子对。取阿胶对照药材溶液, 进样 5 μ l, 按上述检测离子对测定的MRM 色谱峰的信噪比均应大于 3:1。”

1.2 龟甲胶的【鉴别】(2015 版药典第一部, 181 页)

龟甲胶为龟甲经水煎煮、浓缩制成的固体胶。

参照《中国药典(2015 版) 公示标准》中龟甲胶项下规定: “采用质谱检测器, 电喷雾正离子模式(ESI+), 进行多反应监测(MRM), 选择质荷比(m/z) 631.3(双电荷)→546.4 和 m/z 631.3(双电荷)→921.4 作为检测离子对。取龟甲胶对照药材溶液, 进样 5 μ l, 按上述检测离子对测定的MRM 色谱峰的信噪比均应大于 3:1。”

1.3 鹿角胶的【鉴别】(2015 版药典第一部, 322 页)

鹿角胶为鹿角经水煎煮、浓缩制成的固体胶。

参照《中国药典(2015 版) 公示标准》中鹿角胶项下规定 “采用质谱检测器, 电喷雾正离子模式(ESI+), 进行多反应监测(MRM), 选择质荷比(m/z) 765.4(双电荷)→554.0 和 m/z 765.4(双电荷)→733.0 作为检测离子对。取鹿角胶对照药材溶液, 进样 5 μ l, 按上述检测离子对测定的MRM 色谱峰的信噪比均应大于 3:1。”

1.4 新阿胶的【鉴别】(参考程显隆,陈佳,李明华,等. 特征肽段检测技术用于胶类药材 专属性鉴别方法研究,中国药学杂志, 2015.1(50)文章)

发表文章规定, “采用质谱检测器,电喷雾正离子模式(ESI+),进行多反应监测(MRM),选择质荷比(m/z) 774.5(双电荷)→977.8 和 m/z 774.5(双电荷)→752.5 作为检测离子对。”

1.5 阿胶中牛皮源质量的补充检测方法(中检院 2012 年标准)

参照中检院给定标准规定, “采用质谱检测器, 电喷雾正离子模式(ESI+), 进行多反应监测(MRM), 选择质荷比(m/z) 641.3(双电荷)→726.2 和 m/z 641.3(双电荷)→783.3 作为检测离子对。取对照药材溶液(进样 5 μ l)中牛皮源特征肽段的色谱峰(m/z 641.3→726.2)的信噪比均应大于 10:1。”



本公司三条工厂获得 ISO 认证

⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司 / 岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

北京
北京市朝阳区朝外大街 16 号中国人寿大厦 14F
邮政编码: 100020
电话: (010) 8525-2310/2312
传真: (010) 8525-2326/2329

上海
上海市淮海西路 570 号红坊 E 楼
邮政编码: 200052
电话: (021) 2201-3888
传真: (021) 2201-3555

沈阳
辽宁省沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码: 110001
电话: (024) 2383-6735
传真: (024) 2383-6378

四川
成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞创意成都B座12层
邮政编码: 610015
电话: (028) 8619-8421/8422
传真: (028) 8619-8420

武汉
武汉市汉口建设大道568号新世界国贸大厦1座41层4116室
邮政编码: 430022
电话: (027) 8555-7910
传真: (027) 8555-7920

广州
广州市流花路109号之9达宝广场7楼
邮政编码: 510010
电话: (020) 8710-8603
传真: (020) 8710-8698

西安
西安市南二环西段88号老三届世纪星大厦24层G座
邮政编码: 710065
电话: (029) 8838-6016
传真: (029) 8838-6497

乌鲁木齐
乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14层H座
邮政编码: 830000
电话: (0991) 230-6271/6272
传真: (0991) 230-6273

昆明
昆明市青年路 432 号天恒大酒店 908 室
邮政编码: 650021
电话: (0871) 315-2987
传真: (0871) 315-2991

南京
南京市中山南路 49 号商茂世纪广场 23 层 A1 座
邮政编码: 210005
电话: (025) 8689-0278
传真: (025) 8689-0237

重庆
重庆市渝中区青年路 38 号重庆国贸中心 1702 室
邮政编码: 400010
电话: (023) 6380-6057/6058
传真: (023) 6380-6551

深圳
深圳市福田区福华一路98号卓越大厦15楼1号
邮政编码: 518040
电话: (0755) 8340-2852
传真: (0755) 8389-3100

河南
郑州市郑东新区金水东路21号永和广场A区14层1405、1406室
邮政编码: 450046
电话: (0371) 8663-2981/2983
传真: (0371) 8663-2982

香港
Suite 1028, Ocean Centre, Harbour City.
Tsim Sha tsui, Kowloon, Hong-Kong
电话: (00852) 2375-4979
传真: (00852) 2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证
注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知