

GCMS 法测定血液中钩吻素甲和钩吻素子

GCMS-477

摘要： 本文采用岛津气相色谱质谱联用仪建立了一种快速测定血液中钩吻素甲和钩吻素子的检测方法。在 0.2~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，钩吻素甲和钩吻素子线性良好，相关系数均在 0.995 以上，钩吻素甲和钩吻素子检出限分别为 6.053 和 3.442 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；取浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液连续 6 针进样分析，峰面积的相对标准偏差均小于 5%，精密度良好。本方法操作简单，分析速度快，适用于生物检材中钩吻素甲和钩吻素子的检测。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 血液 钩吻素甲 钩吻素子

钩吻，为马钱科胡蔓藤属植物，又名断肠草、大茶药等，是我国传统的药用植物，也是世界著名的剧毒药物。目前，相关科研工作者已从钩吻中分离出了多种有毒的生物碱，其中含量最大的是钩吻素子，其次是钩吻素甲。

目前，生物检材中钩吻素甲和钩吻素子的分析方法主要有液相色谱法、GCMS 法、GC-MS/MS 法以及 LC-MS/MS 法等。

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪，参照《GA/T 1912-2021 法庭科学 生物检材中钩吻素甲和钩吻素子检验 气相色谱 - 质谱法》中的方法，对血液中的钩吻素甲和钩吻素子进行了分析，实验结果表明：线性，检出限，精密度等结果均符合要求。该方法方便快捷，适用于生物检材样品中钩吻素甲和钩吻素子的定量分析。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津气质联用仪 GCMS-QP2020 NX

1.2 分析条件

色谱柱：SH Rxi-5Sil MS, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

柱温程序：150 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) _10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$ _20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _280 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)

载气控制方式：恒流

分流比：5:1

色谱柱流量：1.5 mL/min

进样体积：1 μL

进样方式：分流进样

离子化方式：EI

离子源温度：250 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：相对调谐电压 +0.1 kV

色谱质谱接口温度：260 $^{\circ}\text{C}$

采集模式：SIM

1.3 样品前处理

样品前处理如图 1 所示：

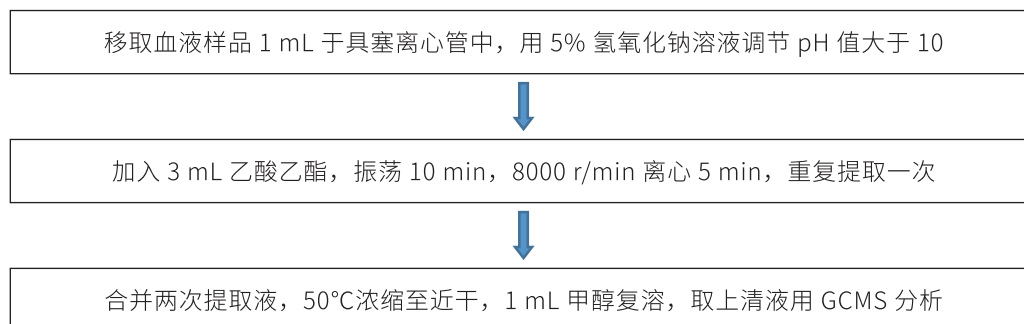


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

钩吻素甲和钩吻素子标准溶液色谱图见图 2，该化合物具体信息详见表 1。

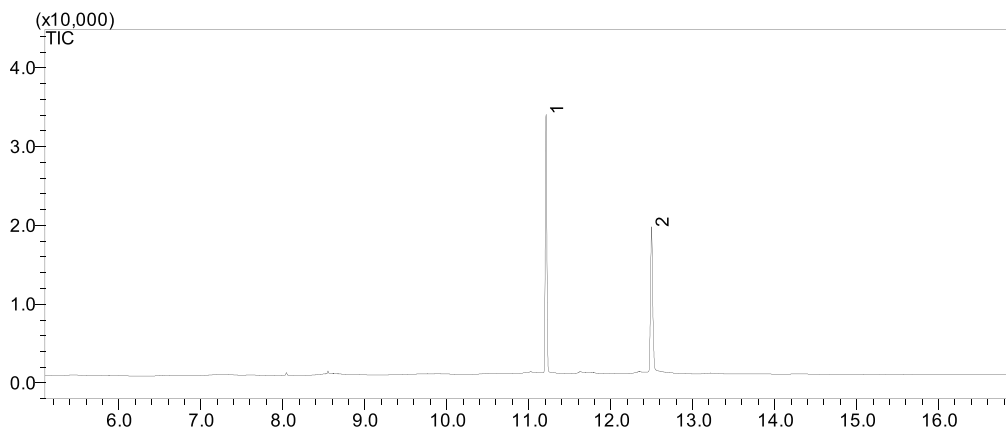


图 2 标准品色谱图 (浓度 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 1 钩吻素甲和钩吻素子信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	钩吻素子	Koumine	1358-76-5	11.213	306	70, 120
2	钩吻素甲	Gelsemine	509-15-9	12.498	108	279,322

2.2 标准曲线及检出限

取钩吻素甲和钩吻素子标准溶液，用甲醇稀释成浓度分别为 0.2、0.5、1.0、5.0、10 和 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。进样分析，外标法建立标准曲线如图 3 所示。根据 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标样数据，以 3 倍信噪比计算钩吻素甲和钩吻素子的仪器检出限。相关系数 R、检出限如表 2 所示。

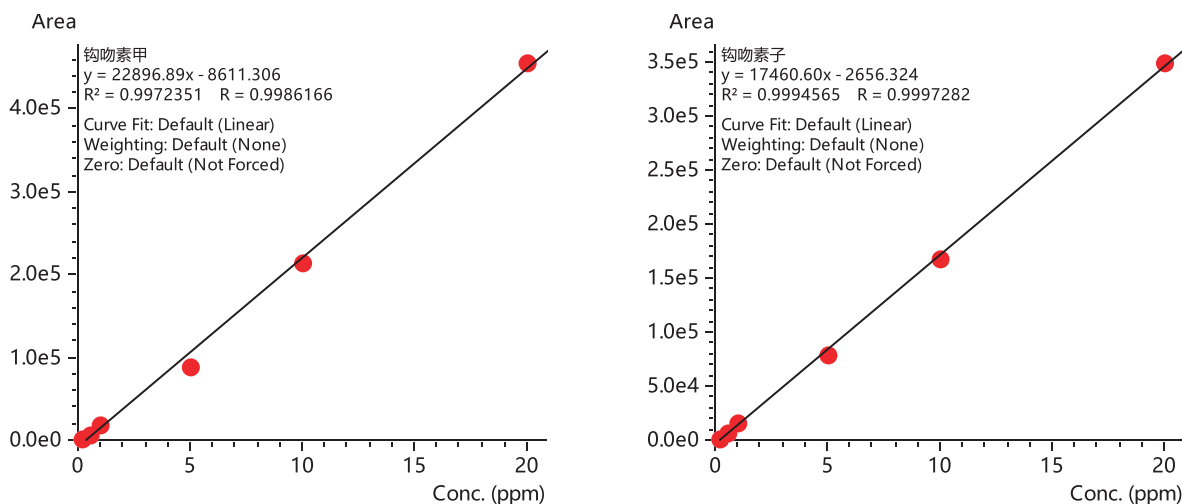


图 3 钩吻素甲和钩吻素子标准曲线

表 2 钩吻素甲和钩吻素子线性相关系数及仪器检出限

No.	化合物名称	相关系数	检出限 (ng/mL)
1	钩吻素甲	0.9986	6.05
2	钩吻素子	0.9997	3.44

2.3 重复性实验

取浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 钩吻素甲和钩吻素子标准溶液，连续进样 6 次，考察重复性，结果如表 3。

表 3 重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	面积 1	面积 2	面积 3	面积 4	面积 5	面积 6	RSD (%)
1	钩吻素甲	2173	2149	2109	2042	2070	2085	2.3
2	钩吻素子	2600	2482	2420	2399	2388	2472	3.2

2.4 实际样品分析与回收率测试

将钩吻素甲和钩吻素子标准溶液添加到空白血液检材样品中，样品加标浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，按照样品前处理方法制备，分别平行制样 3 次。回收率结果见表 4。

表 4 回收率结果

No.	化合物名称	平行 1	平行 2	平行 3	平均回收率 (%)
1	钩吻素甲	0.9227	0.9447	0.9400	93.5
2	钩吻素子	0.9390	0.9627	0.9614	95.4

按照上文所述方法对 3 个血液检材样品进行了前处理并上机测定，3 个样品中均未检出钩吻素甲和钩吻素子。空白血液样品谱图以及空白血液加标样品谱图如图 4、5 所示。

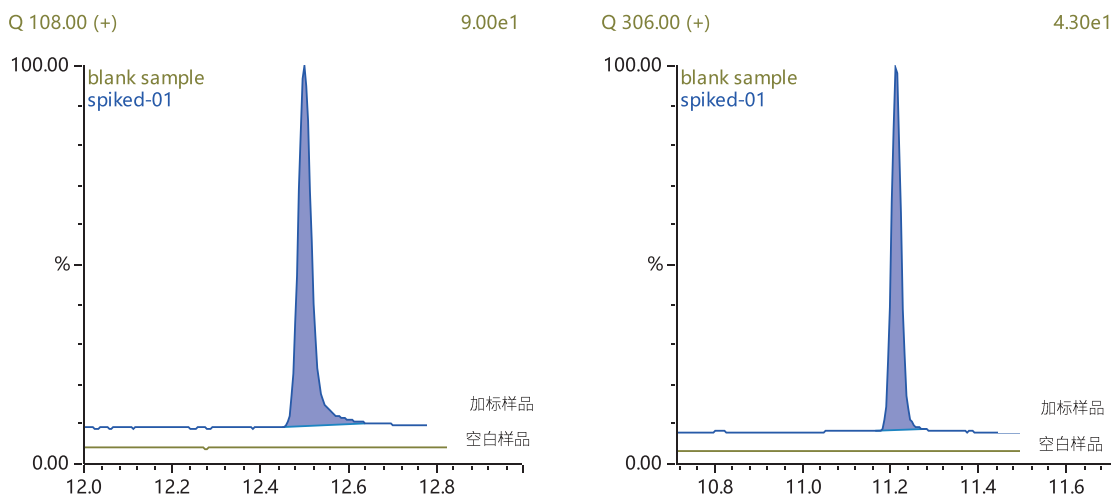


图 4 钩吻素甲空白血液样品以及加标样品色谱图 图 5. 钩吻素子空白血液样品以及加标样品色谱图

结论

本文使用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪，建立了血液中钩吻素甲和钩吻素子的检测方法。在 0.2~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，钩吻素甲和钩吻素子线性良好，相关系数均在 0.995 以上，钩吻素甲和钩吻素子的仪器检出限分别为 6.05 和 3.44 ng/mL ；取浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液 6 次，峰面积的相对标准偏差均小于 5%，精密度良好。采用空白血液检材样品，样品加标浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，平均回收率均大于 90%。本方法操作简单，分析速度快，适用于生物检材中钩吻素甲和钩吻素子的检测。

岛津应用云

