

LCMS-8040 测定减肥类保健品中非法添加麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明

LCMSMS-068

摘要： 参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 联用测定减肥类保健品中非法添加麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 3 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析，因此可以快速、准确地测定麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明。这 3 种物质的线性良好，相关系数均大于 0.999；不同浓度的精密度实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.03 ~ 0.28% 和 0.44 ~ 2.87% 间，仪器精密度良好；麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的检出限分别为 0.02、0.01 和 0.01 $\mu\text{g/L}$ ，定量限分别为 0.07、0.05 和 0.05 $\mu\text{g/L}$ ；样品加标回收率为 79.0~ 116.1%。

关键词： 非法添加减肥类保健品超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

盐酸芬氟拉明是一种化学合成的食欲抑制剂，人服用后会起头晕、嗜睡、抑郁；近年还发现它会对人体神经系统造成损伤，使服用者心脏瓣膜出现异常。因此，美国食品与药物管理局 (FDA) 和我国卫生部都已明确规定禁止在减肥食品和药物中添加盐酸芬氟拉明。盐酸西布曲明是一种中枢神经抑制剂，具有兴奋、抑食等作用，它有可能引起血压升高、心率加快、厌食、失眠、肝功能异常等危害严重的副作用，也是近年来一种减肥新药，国外规定须在医生指导下使用，按处方药管理。麻黄碱是易制毒物质，根据《危险化学品安全管理条例》和《易制毒化学品管理条例》受公安部门管制，此外，麻黄碱为似肾上腺素药，能兴奋交感神经、松弛支气管平滑肌、收缩血管，有显著的中枢兴奋作用，属于国际奥委会严格禁止的兴奋剂。然而，目前有些中药减肥保健品的生产厂家却在产品中非法掺入西药盐酸芬氟拉明、盐酸西布曲明和麻黄碱。这种行为不仅违反了食品卫生法规，对消费者健康的危害也极大。为此，建立减肥保健品中芬氟拉明、西布曲明和麻黄碱的准确、快速的检测方法势在必行。

测试这些物质常用的分析方法主要为气相色谱法，液相色谱法以及联用技术。由于中药保健品中化学成分复杂，单独依靠色谱行为难以进行可靠的定性分析。本文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，建立了测定减肥类保健品中非法添加麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的方法，此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高，供相关检测人员参考。

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 \times 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

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODSIII2.0

mmI.D. \times 50 mmL., 1.6 μm

流动相：A - 10 mM 乙酸铵 + 0.1% 甲酸水溶液；B - 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
1.00	Pumps	Pump B Conc.	90
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
1.60	Pumps	Pump B Conc.	20
3.50	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 正离子扫描

离子源接口电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 30 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: MRM 分组采集, 见表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	麻黄碱	166.2	148.1*	-21	-15	-28
			117.1	-21	-22	-23
2	芬氟拉明	232.2	159.1*	-26	-22	-29
			187.1	-26	-14	-19
3	西布曲明	280.1	125.0*	-20	-24	-24
			139.1	-20	-17	-27

* 表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制:

将 1000 mg/L 的标准溶液, 用流动相 (50% 乙腈 -10 mM 乙酸铵 +0.1% 甲酸) 逐级稀释, 麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明浓度为 50、10、5、1、0.5 和 0.1 μg/L 的标准工作液。

样品前处理方法: 将样品研细混匀, 称取 0.3 g 置于 50 mL 样品瓶中, 加入 50 mL 流动相 (乙腈与 10 mM 乙酸铵 +0.1% 甲酸体积比为 50:50), 超声提取 10 min, 静置分层, 取 1 mL 上清液至 25 mL 容量瓶中, 用流动相定容。经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 用液质分析。

■ 结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

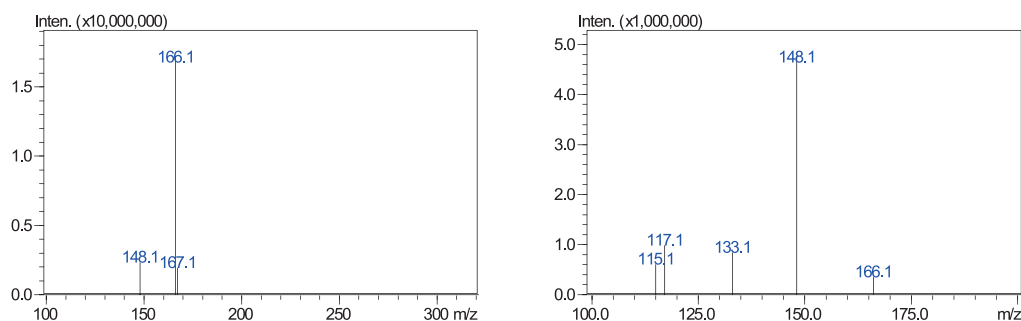


图 1 麻黄碱的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值 -18V, 右图)

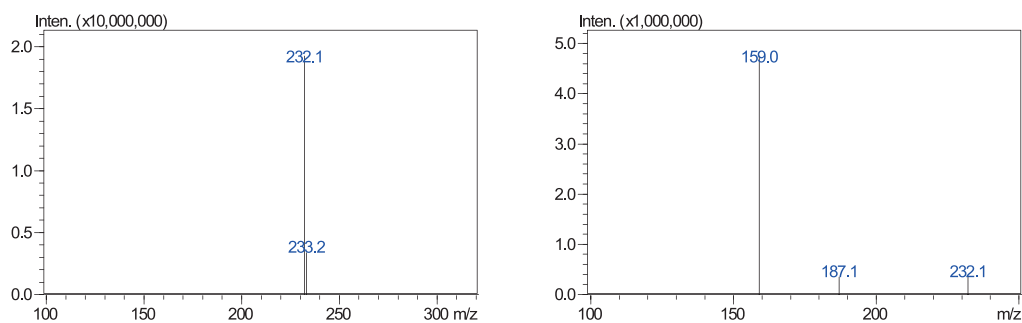


图2 芬氟拉明的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值 -20V，右图）

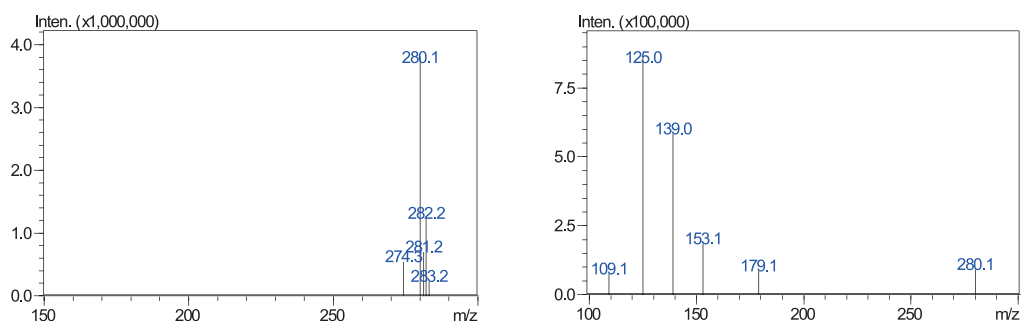


图3 西布曲明的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值 -18V，右图）

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 4 所示。

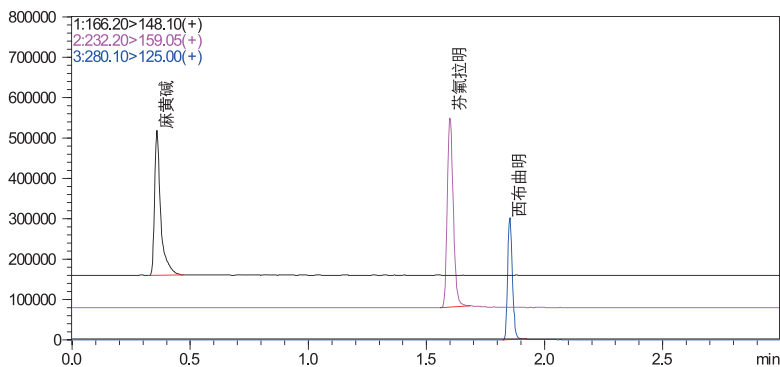


图4 20 µg/L 混合标准样品的 MRM 色谱图

2.3 线性关系

将浓度为 0.1, 0.5, 1, 5, 10 和 50 µg/L 麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 5~7 所示。在 0.1~50 µg/L 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

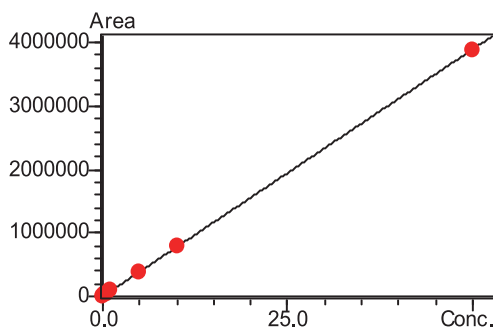


图5 麻黄碱的标准工作曲线

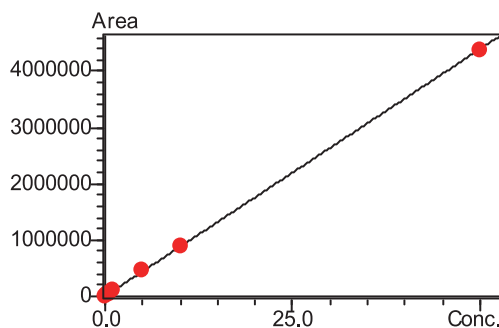


图6 芬氟拉明的标准工作曲线

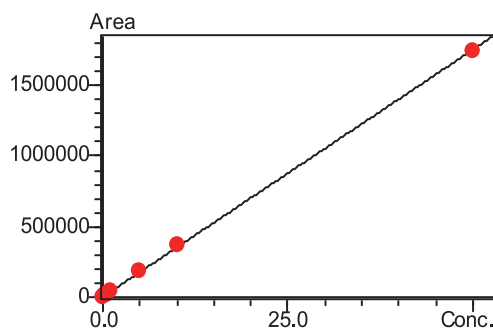


图 7 西布曲明的标准工作曲线

表 3 3 种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R
1	麻黄碱	$Y = (77843.1)X + (1691.44)$	0.9999
2	芬氟拉明	$Y = (87694.1)X + (7373.35)$	0.9999
7	西布曲明	$Y = (34995.6)X + (3701.15)$	0.9999

2.3 检出限和定量限

配制 0.1 $\mu\text{g/L}$ 的混合标样 7 份, 进样分析, 对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S, 此时检出限 $\text{MDL} = 3.14 \times S$, 定量限 $\text{LOQ} = 4 \times \text{MDL}$ 。测定结果如表 4 所示:

表 4 3 种物质的检出限和定量限

No.	名称	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差(S)	检出限($\mu\text{g/L}$)	定量限($\mu\text{g/L}$)
1	麻黄碱	0.10	0.006	0.02	0.07
2	芬氟拉明	0.10	0.004	0.01	0.05
3	西布曲明	0.10	0.004	0.01	0.05

2.4 精密度实验

平行配置如表 5 浓度的混合标液各 6 份, 依次进样。3 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03~ 0.28% 和 0.44 ~ 2.87% 之间, 仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	RSD% (0.5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	麻黄碱	0.13	2.44	0.10	0.44	0.06	0.93
2	芬氟拉明	0.15	2.87	0.28	0.97	0.04	0.59
3	西布曲明	0.05	2.79	0.07	1.17	0.03	1.01

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法, 样品中添加混合标样, 加标含量如表 6, 各平行 4 次。测试结果显示: 减肥药的样品加标回收率在 79.0~ 116.1% 之间; 具体结果如表 6。减肥药基体空白的色谱图如图 8 所示, 减肥药的加标样品色谱图如图 9 所示。

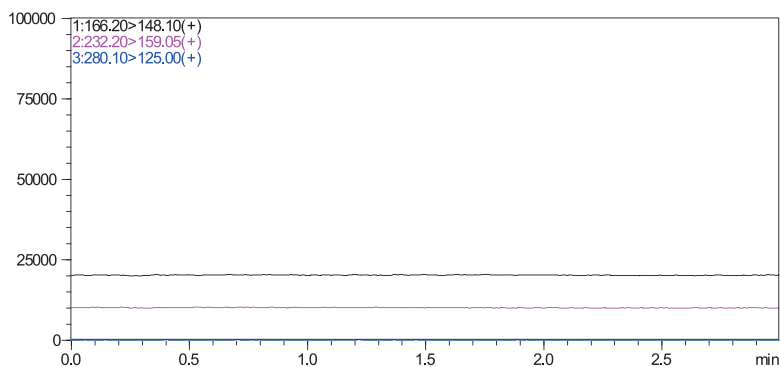


图 8 减肥药基质空白色谱图

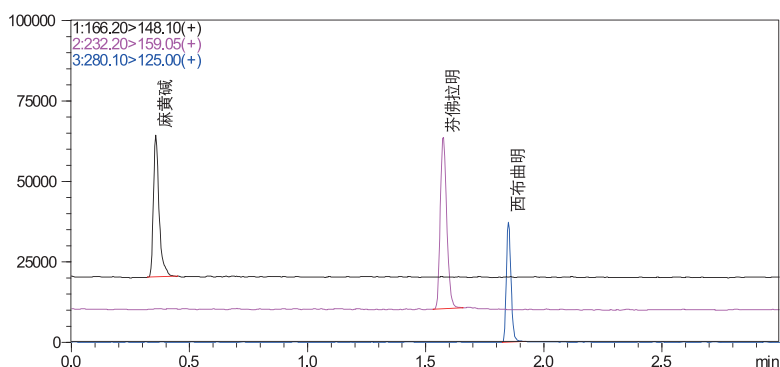


图 9 2 µg/L 样品基质加标样色谱图

表 6 加标样的回收率结果 (n=4)

No.	样品名称	测量值 (µg/L)			回收率 (%)		
		0.1 µg/L	2 µg/L	20 µg/L	0.1 µg/L	2 µg/L	20 µg/L
1	麻黄碱	0.09	1.81	15.8	92.0	90.6	79.0
2	芬氟拉明	0.10	2.32	19.2	101.0	116.1	96.1
3	西布曲明	0.09	2.15	18.4	85.0	107.6	92.0

结论

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 联用测定减肥类保健品中非法添加的麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明。3 种物质的线性良好, 相关系数均大于 0.999。麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的仪器检出限分别为 0.02、0.01 和 0.01 µg/L, 定量限分别为 0.07、0.05 和 0.05 µg/L; 基质加标回收率在 79.0 ~ 116.1% 之间。此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高, 可作为减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明的有效检测方法。