

# LC-MS/MS 法测定饮料、茶叶等中二氟尼柳等 18 种非甾体类抗炎药

## LCMSMS-977

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的方法。18 种化合物的校准曲线的相关系数  $r$  均大于 0.999，在相应标曲范围内线性相关性良好，各浓度点的准确度在 90.9%~111.8% 之间。稳定性考察中，18 种化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086% 之间和 0.29%~2.71% 之间，仪器精密度良好。样品加标回收率在 82.88%~109.87% 之间，仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 非甾体类抗炎药 保健食品 茶叶

### 技术特点：

- ❖ 18 种化合物检出限在 0.18~3.25 ng/mL (即 0.02~0.41 mg/kg) 之间，优于标准给出的 0.5~2.5 mg/kg 定量限。
- ❖ Peak intelligence 智能积分功能，提高实际样品分析效率。

非甾体类抗炎药通过抑制环氧合酶同工酶阻断花生四烯酸转化为前列腺素，从而达到解热、镇痛、抗炎、抗风湿、改善肌肉和关节功能等作用。非甾体类抗炎药是一类广泛的药物，其中较常使用的有萘普生、奥沙普秦、芬不芬、依托度酸、非普拉宗等。这些药物大多为酸性结构，若使用不当或长时间过度使用会产生严重毒副作用，如引起消化道溃疡、肾毒性和影响血液系统功能等问题。有报道称，不法商贩向保健食品及相关制品中非法添加该类药

物以达到其宣称的效果。非法添加该类药物的食品有对人体产生毒副作用的风险，影响人体健康，甚至可危害生命。因此建立保健食品中非甾体类抗炎药准确的检测方法有着重要的意义。

本文参考 BJS 201714《饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定》，采用岛津三重四极杆液质联用仪建立测定饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定分析方法，为相关从业人员参考使用。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

采用岛津高效液相色谱 LC-30 AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-30AC
输液泵：	LC-30AD	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-30AC	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack GIST, 2.1×100 mm, 2 μm C18, P/N: 227-30001-04, 岛津(上海)实验器材有限公司		
流动相：	A- 含 0.05% 甲酸的 2 mmol/L 乙酸铵溶液, B- 乙腈		
流速：	0.3 mL/min	柱温：	35°C
进样体积：	2 μL	洗脱方式：	梯度洗脱, B 初始 5%, 见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
11.00	Pumps	Pump B Conc.	95
13.00	Pumps	Pump B Conc.	95
14.00	Pumps	Pump B Conc.	5
16.00	Pumps	Pump B Conc.	5

质谱条件

离子源：	ESI+/-	D L 温度：	250℃
雾化气流速：	3.0 L/min	加热模块温度：	400℃
加热气流速：	10.0 L/min	接口温度：	300℃
干燥气流速：	10.0 L/min	扫描模式：	多反应监测 (MRM)
接口电压：	4 kV		

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	二氟尼柳	22494-42-4	249.00	205.10*	12.0	21.0	10.0
				157.10	17.0	32.0	17.0
2	美洛昔康	71125-38-7	352.05	115.10*	-10.0	-21.0	-10.0
				141.00	-24.0	-21.0	-26.0
3	舒林酸	38194-50-2	357.10	233.20*	-13.0	-49.0	-14.0
				340.00	-18.0	-21.0	-22.0
4	吡罗昔康	36322-90-4	332.05	121.10*	-23.0	-24.0	-23.0
				164.10	-12.0	-17.0	-15.0
5	醋氯芬酸	89796-99-6	354.00	214.05*	-10.0	-44.0	-13.0
				250.15	-10.0	-16.0	-10.0
6	贝诺酯	5003-48-5	314.10	121.00*	-16.0	-16.0	-10.0
				272.10	-16.0	-9.0	-17.0
7	依托考昔	202409-33-4	359.00	280.00*	-10.0	-31.0	-28.0
				252.10	-18.0	-51.0	-26.0
8	萘普生	22204-53-1	228.95	169.30*	11.0	30.0	10.0
				170.30	25.0	16.0	30.0
9	芬布芬	36330-85-5	255.10	237.10*	-30.0	-12.0	-29.0
				181.20	-19.0	-25.0	-16.0
10	奥沙普秦	21256-18-8	294.10	103.00*	-15.0	-32.0	-18.0
				276.10	-15.0	-17.0	-30.0

11	尼美舒利	51803-78-2	307.00	229.10*	30.0	17.0	27.0
				198.10	15.0	28.0	14.0
12	氟比洛芬	5104-49-4	243.00	199.10*	29.0	10.0	10.0
				179.10	10.0	13.0	16.0
13	双氯芬酸钠	15307-79-6	296.00	252.00*	30.0	11.0	29.0
				214.00	15.0	22.0	21.0
14	依托度酸	41340-25-4	286.15	242.10*	14.0	16.0	17.0
				212.20	10.0	25.0	10.0
15	吲哚美辛	53-86-1	356.05	312.10*	26.0	9.0	15.0
				297.10	10.0	19.0	30.0
16	萘丁美酮	42924-53-8	229.10	171.10*	-16.0	-16.0	-15.0
				128.10	-27.0	-38.0	-25.0
17	非普拉宗	30748-29-9	321.15	253.10*	-23.0	-16.0	-26.0
				265.10	-12.0	-17.0	-11.0
18	塞来昔布	169590-42-5	382.10	362.10*	-11.0	-29.0	-29.0
				282.00	-14.0	-38.0	-17.0

\* 表示定量离子

### 1.3 混合标准溶液配制

标准储备液 (1.0 mg/mL)：准确称取 10.0 mg 标准品至 10 mL 容量瓶中，加入 10 mL 甲醇溶解定容，摇匀，制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液，-20℃ 保存，有效期 3 个月。

混合标准系列工作溶液：取各标准储备溶液适量于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释，逐级稀释配制成浓度分别为 1、2、4、10、20、40、100、200、400 ng/mL 标准工作溶液。

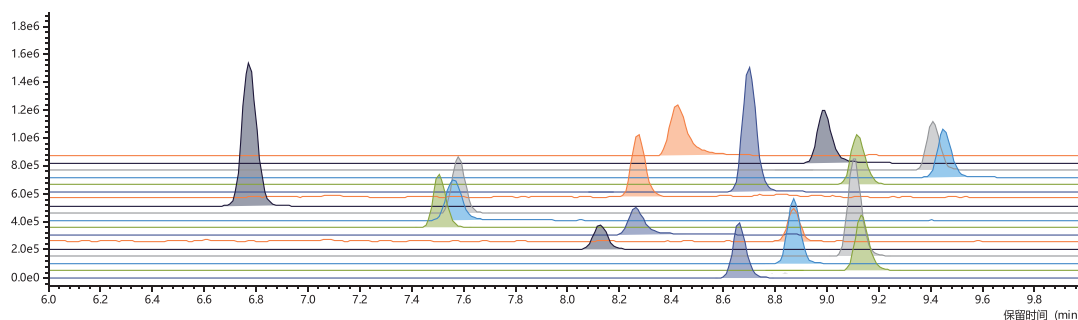
### 1.4 样品前处理方法

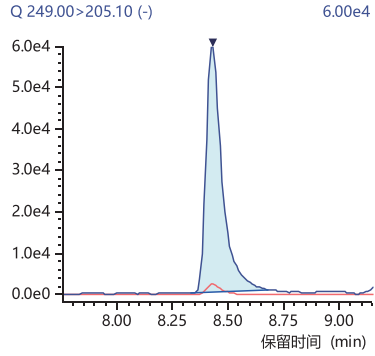
准确称取 1.0 g 茶叶于 25 mL 容量瓶中，加入 20 mL 甲醇 - 水溶液 (4+1)，摇匀，超声 30 min，冷却至室温后，用甲醇 - 水溶液 (4+1) 定容至刻度，混匀静置 10 min，准确吸取 2 mL 上清液至 10 mL 容量瓶中，用甲醇 - 水溶液 (4+1) 定容至刻度，混匀，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，滤液作为待测溶液，并于 4℃ 条件下 24 小时内完成检测。

## ■ 结果与讨论

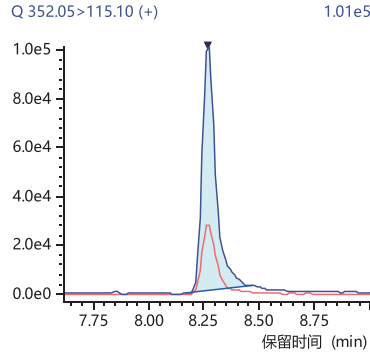
### 2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液的色谱图如图 1 所示。

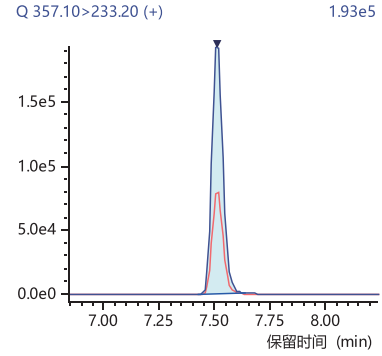




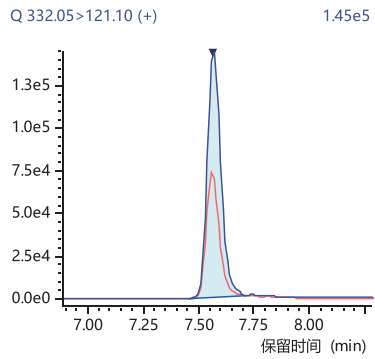
二氟尼柳



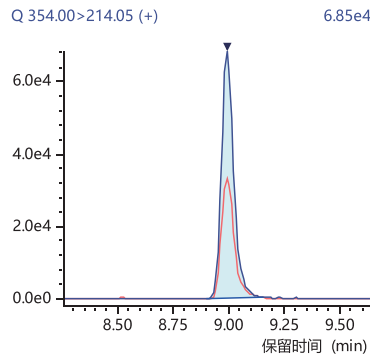
美洛昔康



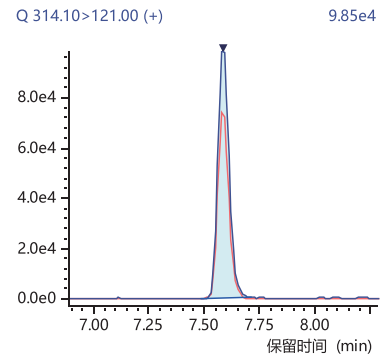
舒林酸



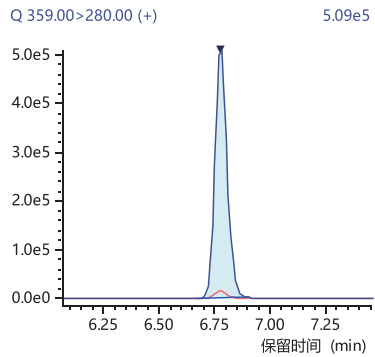
吡罗昔康



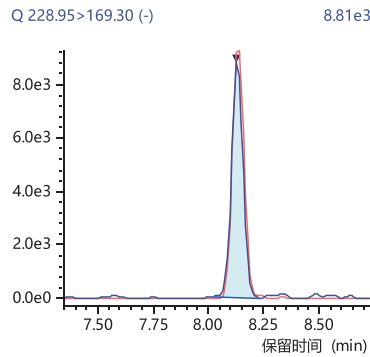
醋氯芬酸



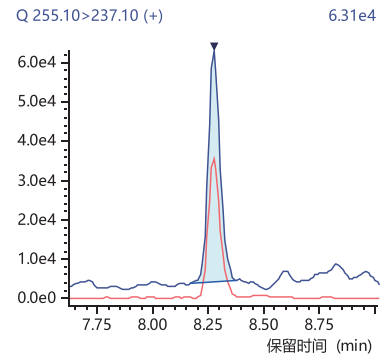
贝诺酯



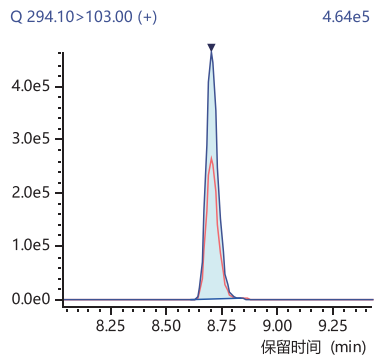
依托考昔



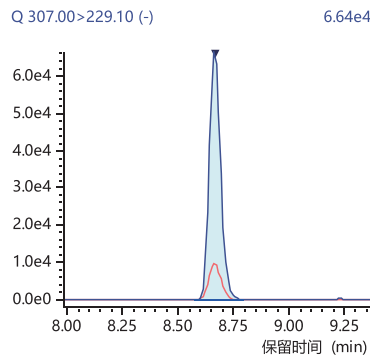
萘普生



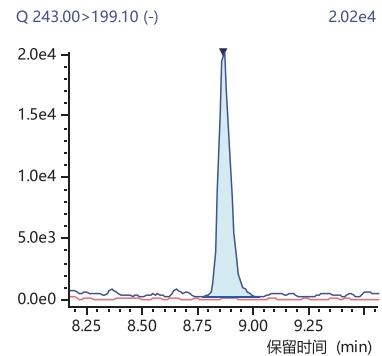
芬布芬



奥沙普秦



尼美舒利



氟比洛芬

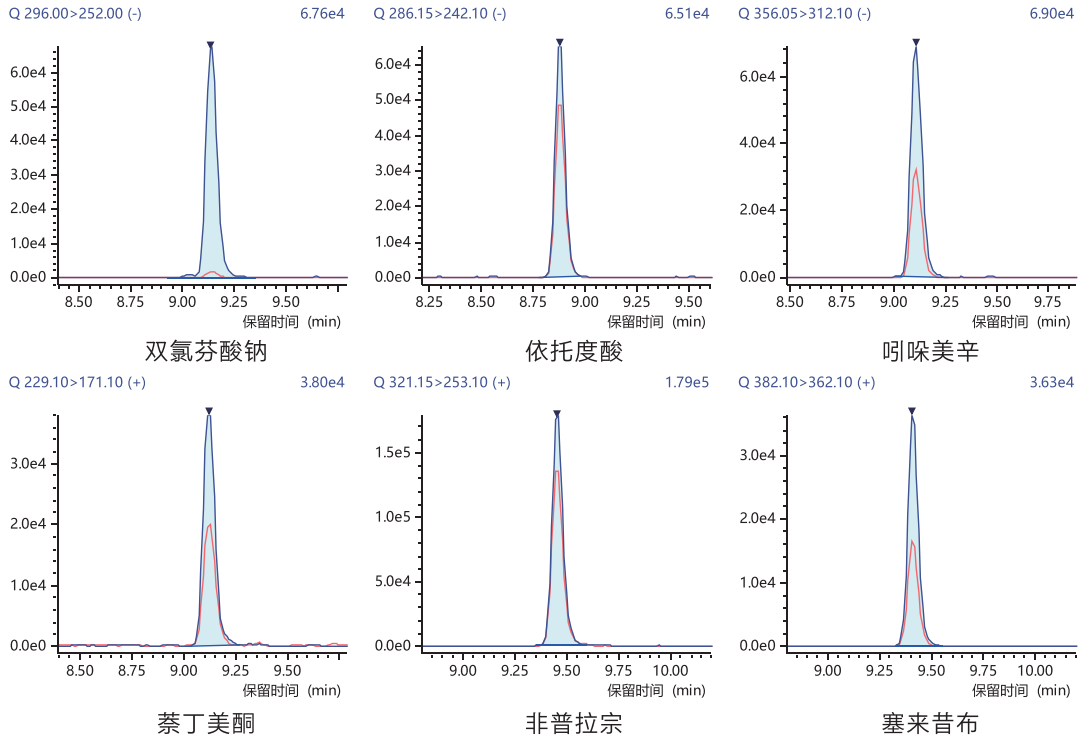


图 1 18 种化合物 MRM 色谱图 (20 ng/mL)

## 2.2 线性范围

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.2 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，部分化合物校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数  $r$ 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法， $S/N=3$ ）见表 3。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数  $r$  都大于 0.999，准确度在 90.9%~111.8% 之间，仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间，满足相关测试要求。

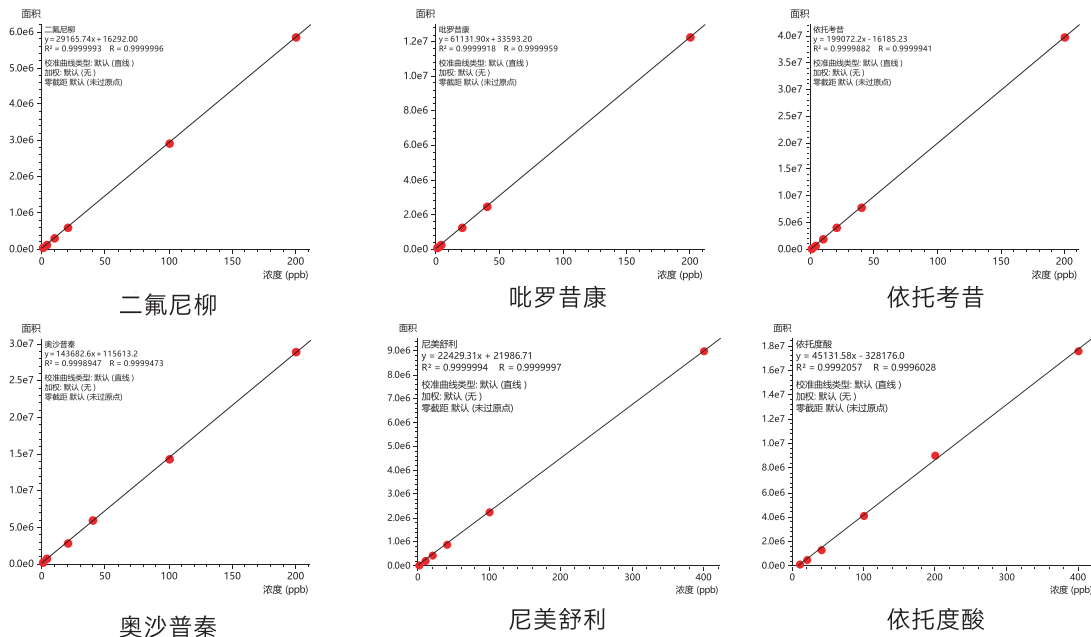


图 2 部分化合物校准曲线

表 3 18 种化合物校准曲线信息

No.	化合物名称	保留时间 (min)	线性范围 (ppb)	相关系数 r	准确度 (%)	仪器检出限 (ng/mL)
1	二氟尼柳	8.422	1~200	0.9999	99.3~102.9	0.25
2	美洛昔康	8.264	4~400	0.9999	94.2~111.8	0.85
3	舒林酸	7.507	1~400	0.9998	90.9~102.3	0.21
4	吡罗昔康	7.563	1~200	0.9999	93.9~101.1	0.25
5	醋氯芬酸	8.988	2~400	0.9998	96.2~102.9	0.52
6	贝诺酯	7.58	1~200	0.9999	92.9~101.4	0.26
7	依托考昔	6.773	1~200	0.9999	98.9~102.1	0.35
8	萘普生	8.125	4~200	0.9999	98.8~106.1	0.93
9	芬布芬	8.272	4~200	0.9998	97.9~107.0	1.05
10	奥沙普秦	8.699	1~200	0.9999	93.3~110.3	0.18
11	尼美舒利	8.66	4~400	0.9999	98.1~101.6	1.28
12	氟比洛芬	8.87	10~400	0.9998	91.7~105.0	3.25
13	双氯芬酸钠	9.133	4~400	0.9999	98.2~107.9	1.54
14	依托度酸	8.871	4~400	0.9996	92.3~110.3	1.22
15	吲哚美辛	9.104	4~400	0.9999	97.4~101.9	0.85
16	萘丁美酮	9.115	10~400	0.9998	91.2~104.8	2.85
17	非普拉宗	9.45	4~400	0.9997	91.7~103.7	0.80
18	塞来昔布	9.406	4~400	0.9999	96.1~109.9	1.25

### 2.3 精密度实验

配制不同浓度的混合标准溶液依次进样，每个浓度平行测定 6 次，考察仪器的精密度。结果显示，18 种化合物在各浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086% 和 0.29%~2.71% 之间，仪器精密度良好，测定结果如图 3-4 所示。

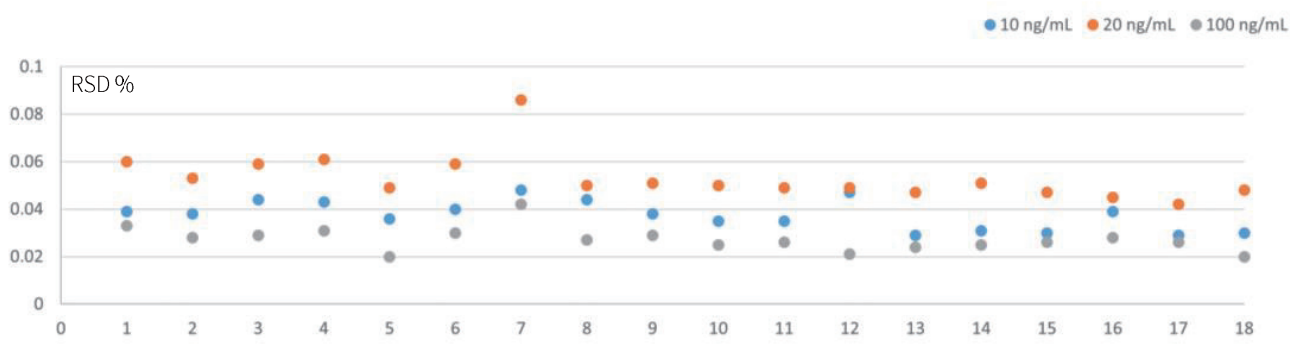


图 3 保留时间重复性结果 (n=6)

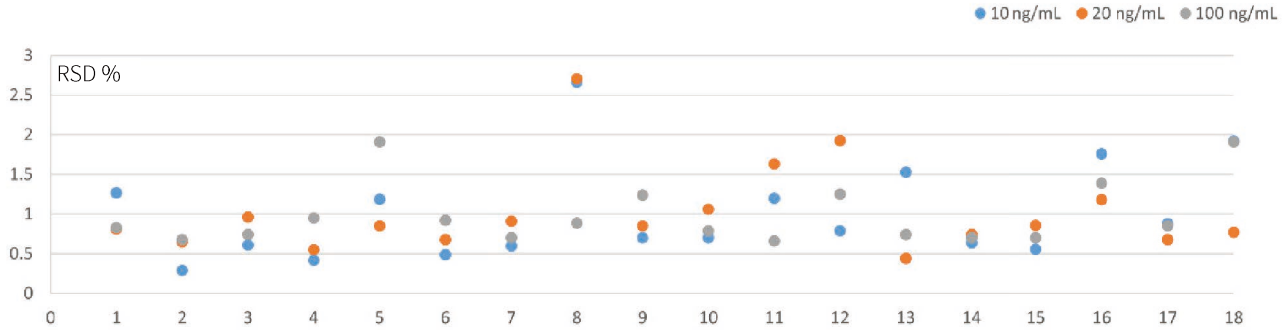


图 4 峰面积重复性结果 (n=6)

#### 2.4 加标回收率测试

取茶叶样品（本底样品经测试未检出二氟尼柳等 18 种化合物）加入一定浓度的混合标准工作溶液，按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品，其中样品本底（未检出）和加标样的色谱图分别见下图 5 和 6。加标回收率测试结果显示：18 种化合物的样品加标回收率在 82.88%~109.87% 之间，满足标准测试要求。

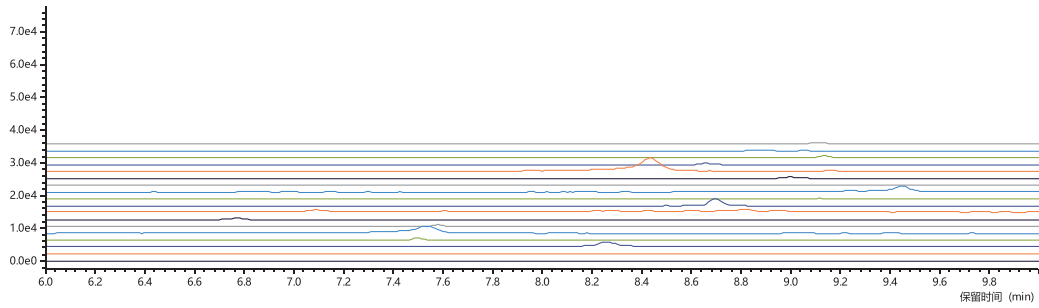


图 5 空白样品 MRM 色谱图

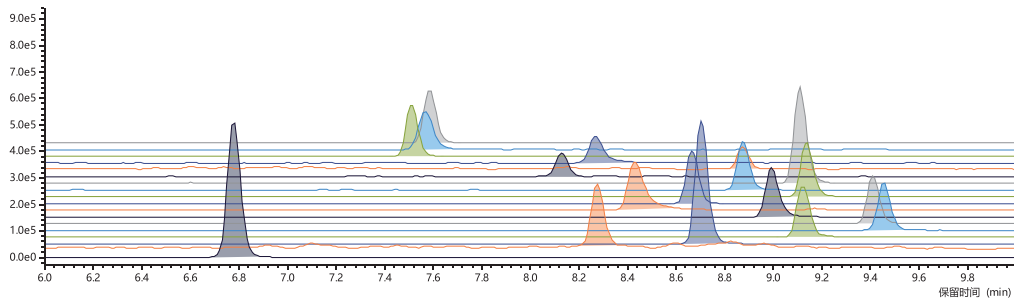


图 6 5 µg/g 样品加标样的 MRM 色谱图

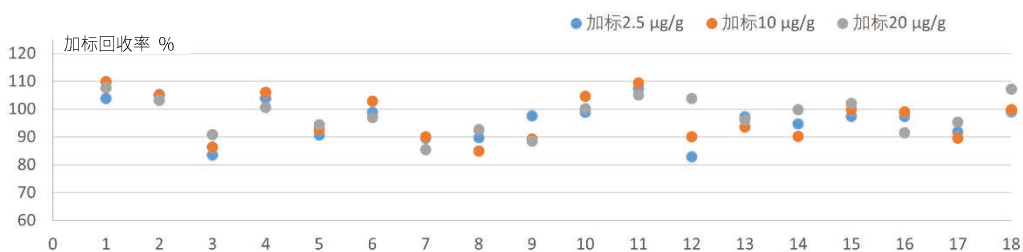


图 7 加标回收率结果 (n=3)

## ■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.999 以上。在分析精密度上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086% 之间和 0.29%~2.71% 之间；加标回收率在 82.88%~109.87% 之间，仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间，满足方法检测限要求，可用于饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的定性定量检测。

岛津应用云

