

超高效液相色谱三重四极杆质谱检测保健品中的巴比妥类药物

LCMSMS-116

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定保健品中巴比妥、苯巴比妥、异戊巴比妥和速可眠的方法。本方法在 2 min 内快速分离四种巴比妥药物；不同浓度的精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.11%~0.31% 和 1.7%~5.9% 之间，结果表明仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9994，方法检出限和方法定量限分别介于 0.36–0.40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.46–1.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。

关键词： 保健品 巴比妥 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

巴比妥类药物（又称巴比妥酸盐）是一类作用于中枢神经系统的镇静剂，属于巴比妥酸的衍生物，其应用范围可以从轻度镇静到完全麻醉，还可以用作抗焦虑药、安眠药、抗痉挛药。但长期使用会导致成瘾性并对人体内脏造成损伤。一些市售保健品药剂为增加疗效非法添加了苯巴比妥类药物，由于对其剂量没有进行控制，给患者造成伤害甚至危及生命。因此建立一个有效的方法检测此类药物，以便及时查处制假行为是十分必要的。目前没有三重四极杆测定保健品中巴比妥类药物的相关检测标准，本文参考《SN/T 2217–2008 进出口动物源食品中巴比妥类药物残留量的检测方法高效液相色谱–质谱/质谱法》，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，建立了保健品中巴比妥类药物的检测方法，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-30A 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

液相色谱优化条件

分析仪器：LC-30A 系统
 色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D. \times 50 mm L., 1.6 μm
 流动相：A – 0.1% 乙酸水，B – 乙腈，
 A/B=60%/40% (V/V) 等度洗脱
 流速：0.35 mL/min
 进样体积：5 μL
 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

质谱优化条件

分析仪器：LCMS-8040
 离子源：ESI，负离子扫描
 离子源接口电压：4.5 kV
 喷雾针位置：1.0 mm
 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 $^{\circ}\text{C}$
 加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$
 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 驻留时间：100 ms
 延迟时间：3 ms
 MRM 参数：见表 1

表1 MRM参数

| 中文名称 | 英文名称 | CAS号 | 前体离子 产物离子 | | Q ₁ Pre Bias (V) | CE (V) | Q ₃ Pre Bias (V) |
|-------|--------------------------|----------|-----------|---------|-----------------------------|--------|-----------------------------|
| 巴比妥 | Barbital | 57-44-3 | 183.00 | 42.15* | 21.0 | 21.0 | 15.0 |
| | | | 183.00 | 140.20 | 21.0 | 14.0 | 26.0 |
| 苯巴比妥 | Phenobarbital | 50-06-6 | 231.00 | 42.20* | 16.0 | 16.0 | 15.0 |
| | | | 231.00 | 188.10 | 16.0 | 9.0 | 19.0 |
| 异戊巴比妥 | Amobarbital | 57-43-2 | 225.00 | 182.20* | 11.0 | 13.0 | 18.0 |
| | | | 225.00 | 42.20 | 11.0 | 22.0 | 14.0 |
| 速可眠 | Secobarbital sodium salt | 309-43-3 | 237.00 | 42.15* | 12.0 | 18.0 | 14.0 |
| | | | 237.00 | 194.20 | 12.0 | 11.0 | 19.0 |

1.3 样品制备

1.3.1 基质标准工作曲线配制

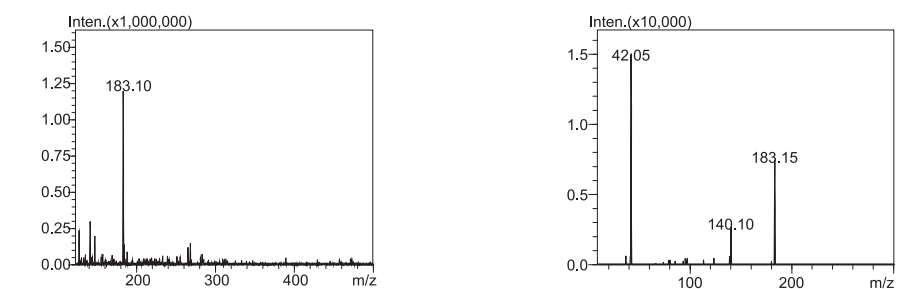
用乙腈配制浓度为 200 mg/L 的上述 4 种药物，用乙腈稀释制备得到 200 $\mu\text{g/L}$ 的混合标样；再依次用水稀释得到浓度点分别为 0.8、2.0、4.0、8.0、20、40、80 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液用于建立标准曲线。

1.3.2 样品前处理方法

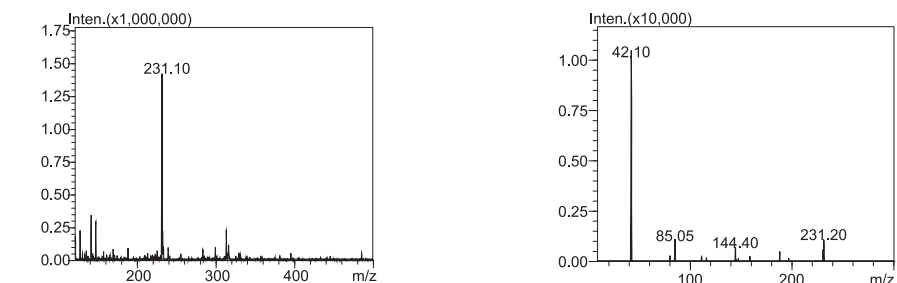
准确称取安眠类保健胶囊中的粉末 0.5 g 于离心管中，加入 5 mL 乙腈进行溶解，涡旋 5 min，超声提取 30 min，然后 10000 rpm 高速离心 5 min，取上清液氮吹浓缩后用水定容至 0.5 mL，过 0.22 μm 滤膜后待测。

结果讨论

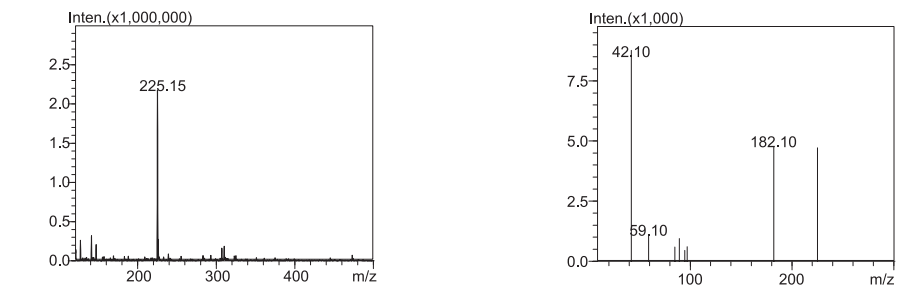
2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图



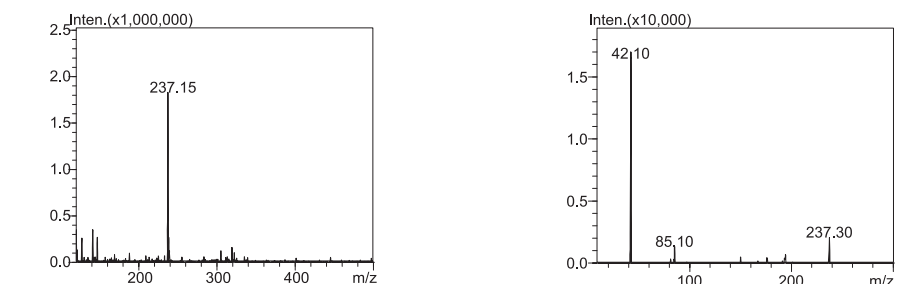
1 巴比妥的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为20V）（右图）



2 苯巴比妥的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为19V）（右图）



3 异戊巴比妥的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为18V）（右图）



4 速可眠的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为20V）（右图）

图1 巴比妥类药物的一级质谱图和产物离子扫描质谱图

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

巴比妥类药物混合标样的 MRM 色谱图如图 2 所示。

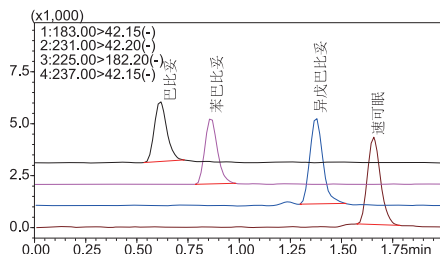


图2 巴比妥类药物浓度为20 µg/L的MRM色谱图

2.3 线性关系

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，采用外标法建立校准曲线，如图 3 所示，4 种巴比妥类药物在 0.8–80 µg/L 的线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数在 0.9994–0.9997 之间，方法检出限和定量限见表 2。

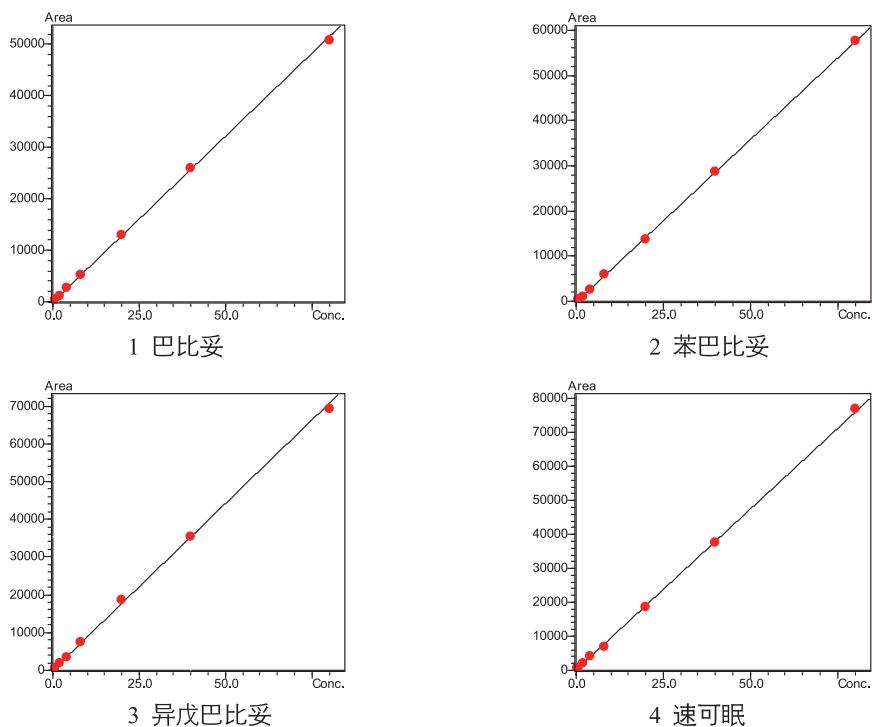


图3 4种巴比妥药物的标准曲线

表2 巴比妥类药物的校准曲线参数、检出限及定量限

| 名称 | 校准曲线 | 线性范围 (µg/L) | 相关系数 (R) | 检出限 (µg/kg) | 定量限 (µg/kg) |
|-------|-------------------------------|-------------|----------|-------------|-------------|
| 巴比妥 | $Y = (644.343)X + (-38.1247)$ | 0.8-80 | 0.9997 | 0.36 | 1.46 |
| 苯巴比妥 | $Y = (720.977)X + (-222.995)$ | 0.8-80 | 0.9996 | 0.40 | 1.62 |
| 异戊巴比妥 | $Y = (883.306)X + (28.0151)$ | 0.8-80 | 0.9994 | 0.38 | 1.48 |
| 速可眠 | $Y = (948.048)X + (74.1888)$ | 0.8-80 | 0.9994 | 0.38 | 1.54 |

2.4 精密度实验

配制低中高不同浓度的混合标样依次进样（浓度见表3），平行测定6次，4种物质的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在0.11%~0.31%和1.7%~5.9%之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

| 样品名称 | RSD% (2 µg/L) | | RSD% (8 µg/L) | | RSD% (40 µg/L) | |
|-------|---------------|------|---------------|------|----------------|------|
| | R.T. | Area | R.T. | Area | R.T. | Area |
| 巴比妥 | 0.31 | 3.7 | 0.21 | 3.7 | 0.18 | 2.2 |
| 苯巴比妥 | 0.31 | 5.9 | 0.17 | 4.0 | 0.12 | 1.7 |
| 异戊巴比妥 | 0.20 | 4.8 | 0.11 | 3.5 | 0.12 | 2.9 |
| 速可眠 | 0.12 | 5.8 | 0.10 | 3.1 | 0.11 | 3.3 |

2.5 基质加标实验

图4为保健品基质按照1.3中样品制备方法所得MRM色谱图。往保健品基质中添加低中高三种浓度的巴比妥类药物混合标样，加标MRM色谱图如图5所示，从图5中可以看到，基质加标样品在定量限以上均有很好的响应，加标回收率结果见表5。

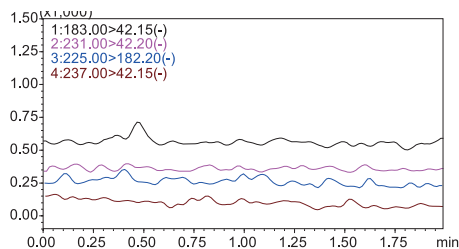


图4 保健品基质的MRM色谱图

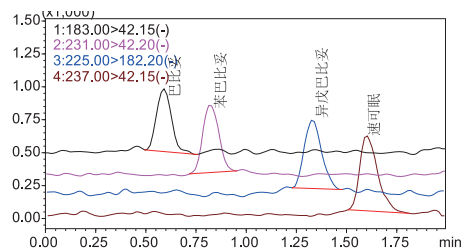


图5 保健品基质加标4 µg/kg的MRM色谱图

表4 保健品中巴比妥类药物检测与加标回收率结果（原药中未检出目标物）(n=3)

| 名称 | 2 µg/kg | | 4 µg/kg | | 10 µg/kg | |
|-------|---------|------|---------|------|----------|------|
| | 回收率 (%) | RSD% | 回收率 (%) | RSD% | 回收率 (%) | RSD% |
| 巴比妥 | 78.4 | 5.4 | 92.9 | 5.2 | 102.2 | 4.3 |
| 苯巴比妥 | 123.2 | 5.8 | 98.4 | 3.9 | 118.5 | 2.3 |
| 异戊巴比妥 | 100.5 | 6.1 | 93.4 | 3.7 | 121.0 | 2.2 |
| 速可眠 | 83.6 | 6.8 | 93.1 | 3.7 | 119.9 | 3.8 |

结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用仪测定保健品中巴比妥类药物残留的分析方法。4种巴比妥类药物在2 min内完成分离，线性范围和相关系数分别在0.8–80 µg/L和0.9994–0.9997之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续6次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.31%和5.9%之间以下，仪器精密度良好。4种巴比妥类药物加标不同浓度回收率范围为78.4%–123.2%，方法检出限在0.36–0.40 µg/kg之间，定量限在1.46–1.62 µg/kg之间。实验结果表明该方法快速高效、精密度好、灵敏度高，可以满足保健品中巴比妥类药物的检测需求。