

SPME 顶空衍生气质联用法检测头发中蛋白同化激素

邱丽君, 刘 薇, 陈国南, 张 兰

(福州大学, 食品安全分析与检测教育部重点实验室, 福建 福州 350002)

Determination of Anabolic Steroids in Human Hair by Solid-Phase Microextraction with Headspace Derivatization and Gas Chromatography Mass Spectrometry

QIU Li-jun, LIU Wei, CHEN Guo-nan, ZHANG Lan

(Ministry of Education Key Laboratory of Analysis and Detection for Food Safety,
Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The method for extraction and determination of androsterone, 5α -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol, epiandrosterone and 5α -androstane- $3\beta,17\beta$ -diol were developed by SPME with headspace derivatization and GC/MS. It was applied to the simultaneous analysis of 4 anabolic steroids in the spiked human hair with the satisfactory accuracy and precision. The limits of detection(S/N=3) for 4 anabolic steroids in spiked human hair are in the range of 0.027-0.150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: solid-phase microextraction; derivatization; gas chromatography mass spectrometry; anabolic steroids

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0212-02

蛋白同化激素类药物具有增加肌肉和力量, 以及加快训练后恢复的作用, 体育上被用于提高比赛成绩。但是长期服用该类物质会增加患心血管病的危险, 严重的甚至会引起肝、肾损害和肝癌。国际奥委会 (IOC) 于 1974 年开始明文禁止使用这类药物。

固相微萃取 (SPME) 是一种简单、快速的无溶剂样品前处理技术, 与衍生化技术结合, 使其不仅适用于挥发性和半挥发性有机物, 也适用于由极性引起的非挥发性有机物^[1]。本研究将 SPME-顶空衍生化与气相色谱-质谱 (GC/MS) 结合, 建立测定头发样品中 4 种蛋白同化激素的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

6980N/5973i 气相色谱与质谱联用仪: 美国 Agilent 公司产品; 雄酮、 5α -雄烷- $3\alpha,17\beta$ -二醇、表雄酮、 5α -雄烷- $3\beta,17\beta$ -二醇、*N,O*-双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA): 均购自美国 Sigma 公司; *N*-甲基-*N*-三甲基硅基三氟乙酰胺 (MSTFA): 购自 Acros 公司。

1.2 实验方法

称取 50 mg 头发, 加入 20 mL 1 mol·L⁻¹ NaOH 及 20 g NaCl, 超声 1 h, 加入 20 mL 1 mol·L⁻¹ HCl,

基金项目: 国家自然科学基金 (20675016), 福建省体育局重大专项 (HX2005-74), 教育部科技创新工程重大项目培育资金项目 (708056), 福建省教育厅科技计划项目 (2007F5067), 福建省自然科学基金 (2007J0279), 福建省科技计划重点项目 (2006I0020, 2007Y0060), 福建省新世纪优秀人才计划 (HX2006-101) 资助

作者简介: 邱丽君 (1985~), 女 (汉族), 福建石狮人, 硕士研究生。E-mail: rabbit_0127@yahoo.cn

通信作者: 张 兰。E-mail: zlan@fzu.edu.cn

调至 pH=7, 过滤。取 1 mL 上述头发样品, 用一定浓度的 NaCl 水溶液定容至 20 mL。加入一定量蛋白同化激素进行固相微萃取操作。空白头发样品不加入蛋白同化激素。

2 结果讨论

2.1 SPME 衍生条件的优化

蛋白同化激素的硅烷化衍生采用顶空衍生化技术。选择 MSTFA 和 BSTFA 两种硅烷化试剂。在同样的衍生条件下, MSTFA 对蛋白同化激素的响应较好。当 MSTFA 用量为 3.0 μL 时, 衍生反应已经进行完全。因此选择 3 μL MSTFA 为衍生剂用量。

同时比较了衍生温度的影响。发现温度达到 70 $^{\circ}\text{C}$ 时, 萃取效果最佳。此外, 在衍生温度和衍生剂用量确定的情况下, 测定衍生时间与衍生物峰面积的关系。衍生 10 min 后, 各衍生物峰面积基本保持不变, 可见衍生化反应已基本达到平衡。故选定衍生时间为 10 min。

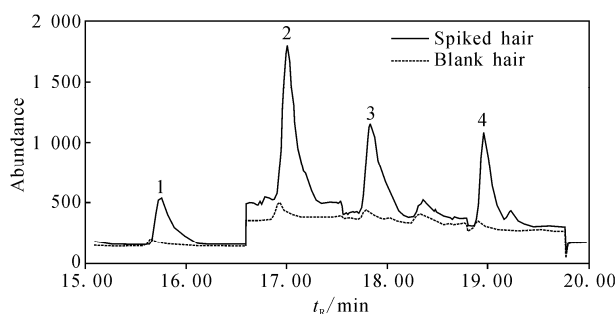
2.2 SPME 解吸条件的优化

在最优化的衍生及萃取条件^[2]下, 解吸温度为 240 $^{\circ}\text{C}$, 解吸时间为 2 min 时, 加标的水样中 4 种蛋白同化激素分析物的解析总量趋于最大。

2.3 检测体系的建立与方法确证

2.3.1 头发样品加标准品工作曲线的绘制 在最优化条件下, 加标头发样品中 4 种蛋白同化激素经萃取、衍生和解析, 均呈现良好的线性, 其在头发基质中的检测限为 0.027~0.150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。空白头发样品色谱图以及加标色谱图示于图 1。从图中可以观察到, 4 种蛋白同化激素出峰位置上基本没有干扰峰存在。

2.3.2 精密度及准确度实验 在处理后的头发样品空白中加入适量的 4 种蛋白同化激素标准品混合溶液, 使其在头发样品中的浓度分别为 0.500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、2.000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 平行萃取、衍生和解析操作 3 次。根据头发基质中各分析物的峰面积和浓度关系, 计算出 4 种蛋白同化激素的浓度和 RSD, 各分析物准确度在 95.1%~109.2% 之间, RSD 在 4.0%~7.4% 之间, 完全能够满足痕量分析的要求。



注: 1. 雄酮; 2. 5 α -雄烷-3 α ,17 β -二醇; 3. 表雄酮; 4. 5 α -雄烷-3 β ,17 β -二醇 (浓度均为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

图 1 头发样品空白及加标样在 SIM 模式的总离子流色谱图

3 小结

将分子印迹聚合物固相微萃取涂层与气相色谱-质谱 (GC/MS) 联用, 实现了分子印迹聚合物固相微萃, 取涂层顶空衍生萃取, 建立了同时分离检测 4 种蛋白同化激素 (雄酮、5 α -雄烷-3 α ,17 β -二醇、表雄酮、5 α -雄烷-3 β ,17 β -二醇) 的方法。通过萃取加标水样优化了衍生和解析条件。在最优化条件下, 萃取加标头发样品, 4 种物质的检测限为 0.027~0.150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。并进行了加标头发样品中准确度与精密度实验, 结果令人满意。

参考文献:

- [1] 栾天罡, 张展霞. 固相微萃取-衍生化技术及其在环境和生物分析中的应用[J]. 分析化学, 2003, 31(4): 496-500.
- [2] ZHANG Z M, DUAN H B, ZHANG L, et al. Direct determination of anabolic steroids in pig urine by a new SPME-GC-MS method[J]. Talanta, 2009, 78: 1 083-1 089.