以氫氣為氣相層析質譜儀移動相進行中藥及食品中摻加西藥檢驗可行性之評估

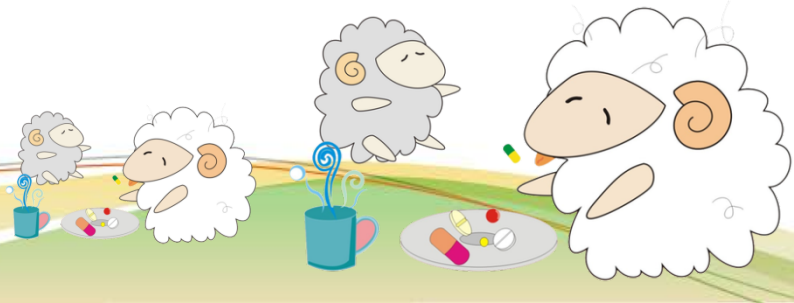
臺南市政府衛生局

報告者：林燕萍

TAINAN

大　　綱

- 前言
- 方法評估
  - 建立西藥標準品鑑別離子及滯留時間
  - 氫氣為GC/MS移動相，建立LOD
- 結果
- 討論



前　　言

臺南市政府衛生局
Department of Health, Tainan City Government

為什麼

1.氦氣主要存在於天然氣或放射性礦石中，在大氣層中之氦濃度只有5.2萬分之一

2.分離程序複繁

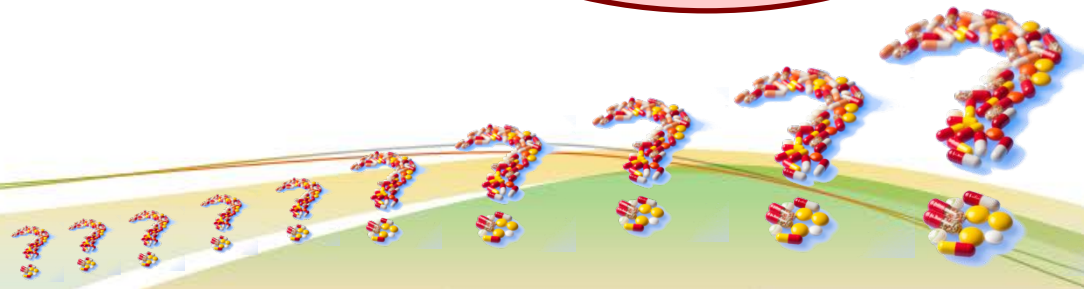
2.1天然氣分離法：以含有氦的天然氣為原料反覆進行液化分餾，利用活性碳進行吸附提純，得到純氦。

2.2鈾礦石法：含氦的鈾礦石經焙燒，分離出氣體，再經化學方法，除去水蒸氣...等雜質，提純出氦。

為什麼

因此
氦氣價格昂貴

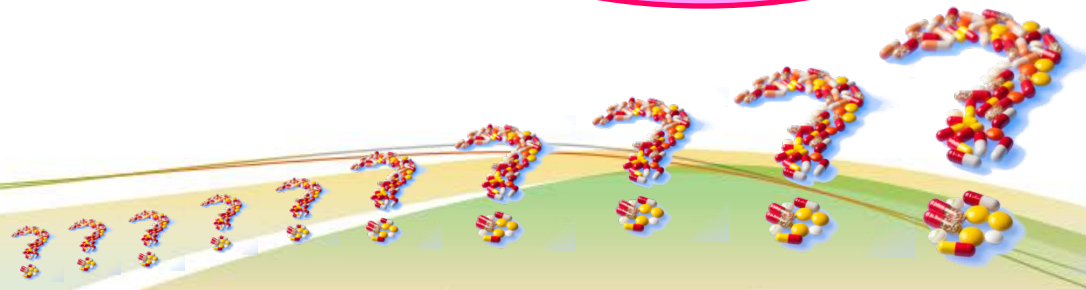
無法再生能源



為什麼

節省成本

節能減碳
綠色環保



食品藥物管理署103.02.17建議檢驗方法-中藥及食品中摻加西藥之檢驗方法

食品藥物管理署103.02.17建議檢驗方法-
中藥及食品中摻加西藥之檢驗方法

- 該檢驗方法為定性方法
- 檢驗項目計214項
- 以TLC及UV方法分析，檢出西藥時，再以GC/MS或LC/MS/MS進行確認
- GC/MS及LC/MS/MS檢驗項目
  - GC/MS ：170項
  - LC/MS/MS：213項
- GC/MS移動相氣體為氦氣

食品藥物管理署103.02.17建議檢驗方法-
中藥及食品中摻加西藥之檢驗方法

以氫氣替代氦氣

Journal of Chromatography A, 1218 (2011) 7365–7370

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Chromatography A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma

Use of hydrogen as a carrier gas for the analysis of steroids with anabolic activity by gas chromatography–mass spectrometry

J.A. Muñoz-Guerra*, P. Prado, S. Vargas García-Tenorio

Doping Control Laboratory of the State Antidoping Agency of Spain, Calle Del Greco s/n, Madrid 28040, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 September 2010
Received in revised form 25 July 2011
Accepted 5 August 2011
Available online 24 August 2011

Keywords:
Doping
Hydrogen
Carrier gas
Gas chromatography– mass spectrometry
Steroids

ABSTRACT

Due to the impact in the media and the requirements of sensitivity and robustness, the detection of the misuse of forbidden substances in sports is a really challenging area for analytical chemistry, where any study focused on enhancing the performance of the analytical methods will be of great interest. The aim of the present study was to evaluate the usefulness of using hydrogen instead of helium as a carrier gas for the analysis of anabolic steroids by gas chromatography–mass spectrometry with electron ionization. There are several drawbacks related with the use of helium as a carrier gas: it is expensive, is a non-renewable resource, and has limited availability in many parts of the world. In contrast, hydrogen is readily available using a hydrogen generator or high-pressure bottled gas, and allows a faster analysis without loss of efficiency; nevertheless it should not be forgotten that due to its explosiveness hydrogen must be handled with caution. Throughout the study the impact of the change of the carrier gas will be evaluated in terms of: performance of the chromatographic system, saving of time and money, impact on the high vacuum in the analyzer, changes in the fragmentation behaviour of the analytes, and finally consequences for the limits of detection achieved with the method.

方 法 評 估

臺南市政府衛生局
Department of Health, Tainan City Government

方 法 架 構

參考食品藥物管理署103.02.17建議檢驗方法
-中藥及食品中摻加西藥之檢驗方法

↓

氦氣為GC/MS移動相，以標準品建立鑑別離子及RT

↓

氫氣為GC/MS移動相，以標準品建立鑑別離子及RT

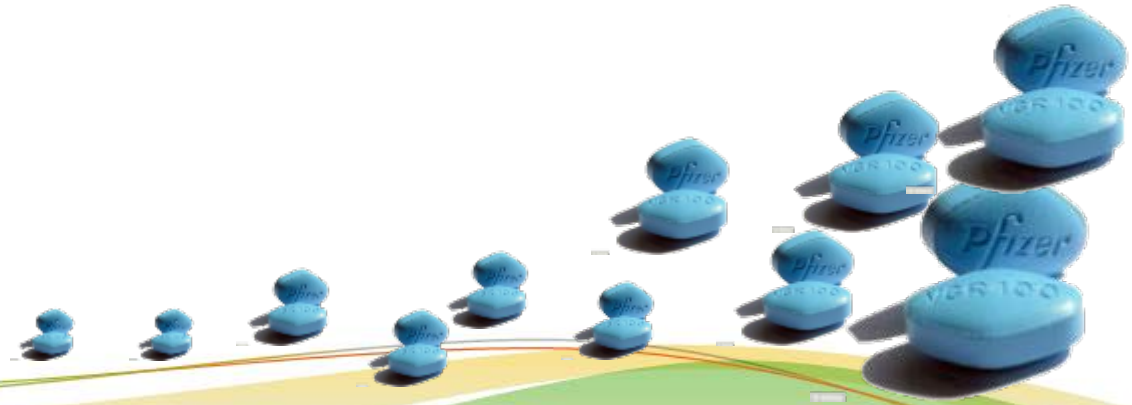
↓

氫氣為GC/MS移動相，建立LOD

↓

結　　果

建立西藥標準品鑑別離子及滯留時間之方法



臺南市政府衛生局
Department of Health, Tainan City Government

方 法 流 程

GC/MS移動相氣體：氦氣

標準品10ug/mL為最低濃度，無訊號者再增加濃度
100、500 、1000ug/mL ，計4種濃度

確認鑑別離子及RT

改變GC/MS移動相氣體：氫氣

以移動相為氦氣時，確認之標準品濃度為基礎

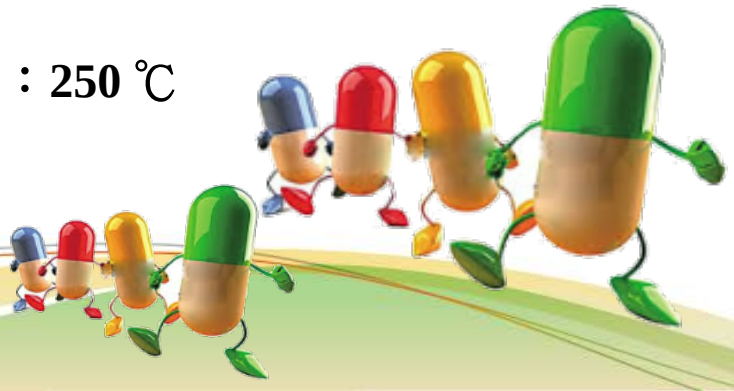
確認鑑別離子及RT

氨氣分析條件

- 分析儀器
  - **Agilent 7890B GC + 5977A MS**

氨氣分析條件

- 分析儀器
  - Agilent 7890B GC + 5977A MS
- 分析條件
  - 層析管：DB-5MS 毛細管，內膜厚度0.25um，內徑0.25 mm × 30 m
  - 層析管溫度：初溫：80℃，1 min
    升溫速率：6℃/min
    中溫：120℃
    升溫速率：8℃/min
    終溫：300℃，29 min
  - 移動相流速：氦氣，1 .4mL/min
  - 注入器溫度(Injector temperature)：250 ℃
  - 注入模式：不分流
  - 離子源溫度： 280 ℃



氫氣分析條件

- 分析儀器
  - **Agilent 7890B GC + 5977A MS**

氫氣分析條件

- 分析儀器
  - **Agilent 7890B GC + 5977A MS**

氫氣產生機

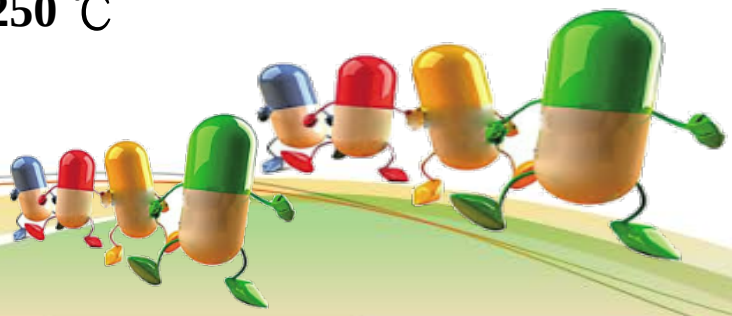
1.原理：利用將水電解游離 (electrolytic dissociation) 的方式連續產生氫氣，同時使用鈀膜去除多餘的水及其產生之氫氣中的污染物質。

2.純度：可達99.9999%

3.流量：500mL/min

氫氣分析條件

- 分析儀器
  - Agilent 7890B GC + 5977A MS
- 分析條件
  - 層析管：DB-5MS 毛細管，內膜厚度0.25um，內徑0.25 mm x 30 m
  - 層析管溫度：初溫：80℃，1 min
    升溫速率：6℃/min
    中溫：120℃
    升溫速率：8℃/min
    終溫：300℃，29 min
  - 移動相流速：氫氣，1 .0mL/min
  - 注入器溫度(Injector temperature)：250 ℃
  - 注入模式：不分流
  - 離子源溫度： 280 ℃



以氫氣為GC/MS移動相，建立LOD之方法

方 法 流 程

基質：小柴湖湯

↓

秤取小柴湖湯約5g

↓

添加混合西藥標準品

↓

加乙醇20mL（約檢體重量之3～4 倍量）

↓

超音波振盪30 分鐘

↓

靜置，取上清液，0.22um過濾

以GC/MS分析

？3次 S/N>10

是

確定LOD

否

提高添加濃度

重複上述實驗步驟

3次 S/N>10

確定LOD

結　　果

氦氣與氫氣標準品
滯留時間（RT）之比較

編號	名稱	RT（min）	
		He	H2
175	Salicylic acid	9.655	9.100
176	Scopolamine	25.121	24.172
177	Secobarbital	18.684	17.809
178	Sibu		
179	Silde		
180	Stan		
181	Stry		
182	Sulfa		
183	Sulfa		
183	Sulfa		
184	Sulfa		
185	Sulfa		
187	Sulfamethoxazole	26.156	25.579
188	Sulfamethoxypyridazine	29.673	28.799
189	Sulfanilamide	20.718	20.112
191	Sulfinpyrazone	24.242	23.429
193	Sulindac	30.083	29.207
143	Oxyphenbutazone	31.419	30.658
145	Pentazocine	24.505	23.647
146	Phenacetin	17.017	16.184
147	Phenazopyridine	24.670	23.833
148	Phenformin	14.844	14.011

編號	名稱	RT（min）	
		He	H2
194	Synephrine	16.281	15.602
195	Tadalafil	44.673	41.729
196	Terbinafine	24.139	23.292
		.115	27.168
		.012	23.189
		.157	19.022
		.141	20.324
		.571	40.912
		.952	50.969
		.798	31.712
		.652	47.756
		.921	21.175
207	Tolbutamide	16.398	15.612
210	Vardenafil analogue	28.462	27.628
212	Yohimbine	33.427	32.330
213	Zolpidem	29.717	28.784
214	Cetilistat	14.692	13.943
169	Quinine	29.839	28.967
170	Ranitidine I	22.514	21.701
170	Ranitidine II	29.960	28.971
172	Rimonabant	37.392	35.656
174	Salicylamide	12.979	12.103

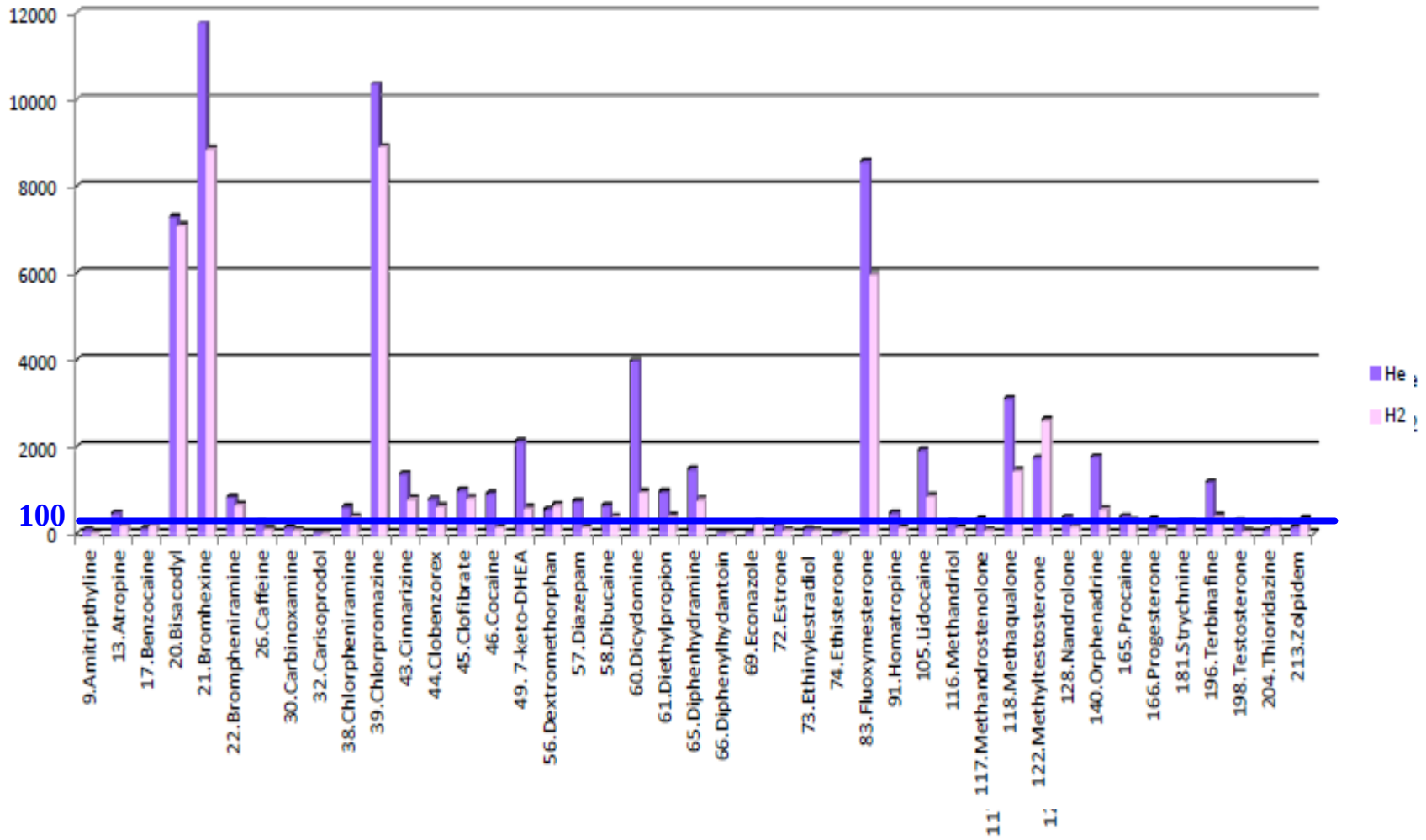
氫氣RT比氦氣早

氨氣與氫氣標準品濃度之比較

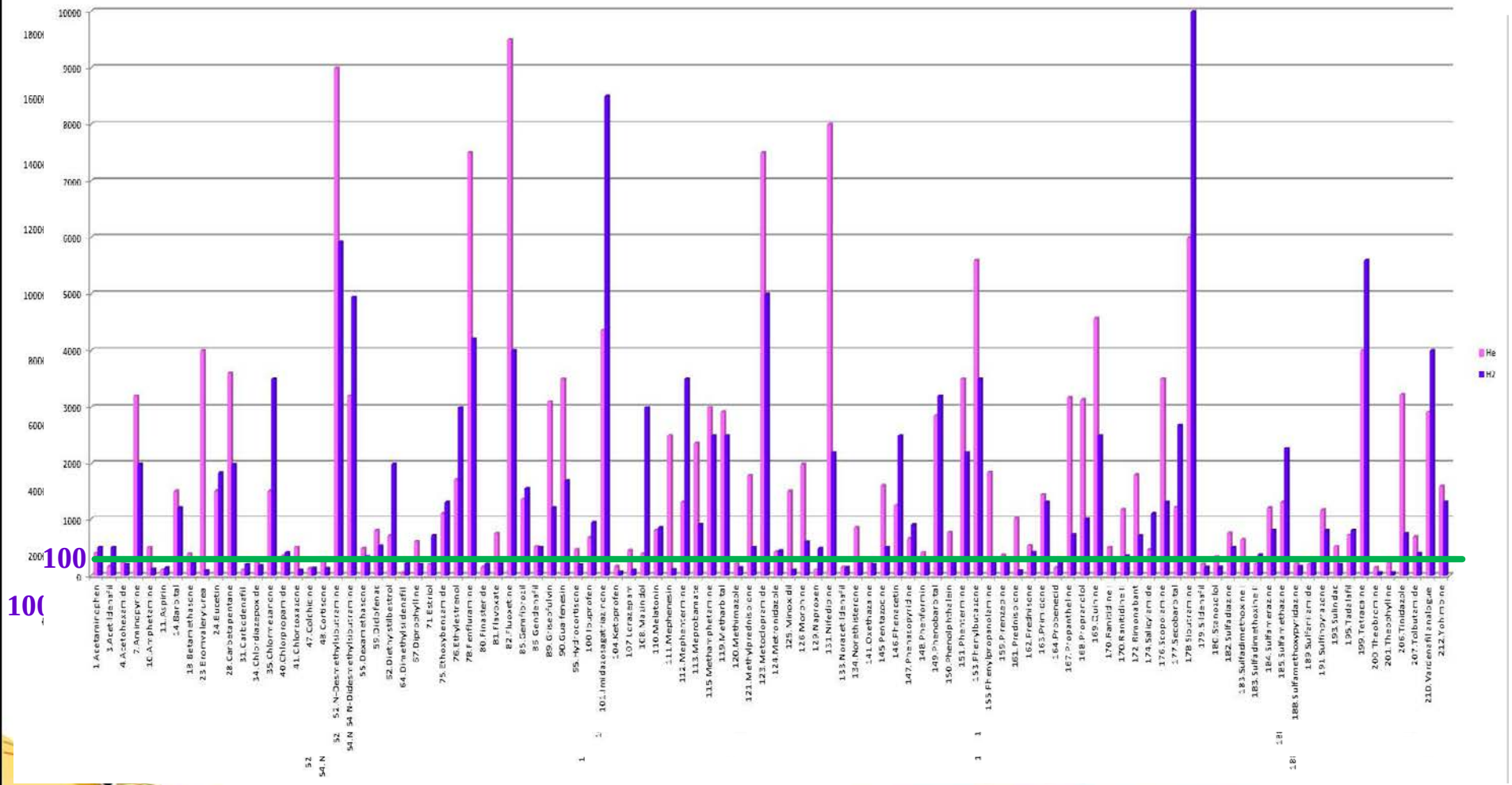
在移動相氣體為氫氣時，163項西藥與氦氣時相同，7項西藥與在氦氣時不同

編號	名稱	濃度（ppm）	
		He	H2
15	Benzbromarone	10	100
19	Bezafibrate	100	1000
70	Estradiol benzoate	10	100
109	Mefenamic acid	100	1000
142	Oxymetholone	100	1000
158	Piperidenafil	100	1000
214	Cetilistat	100	1000

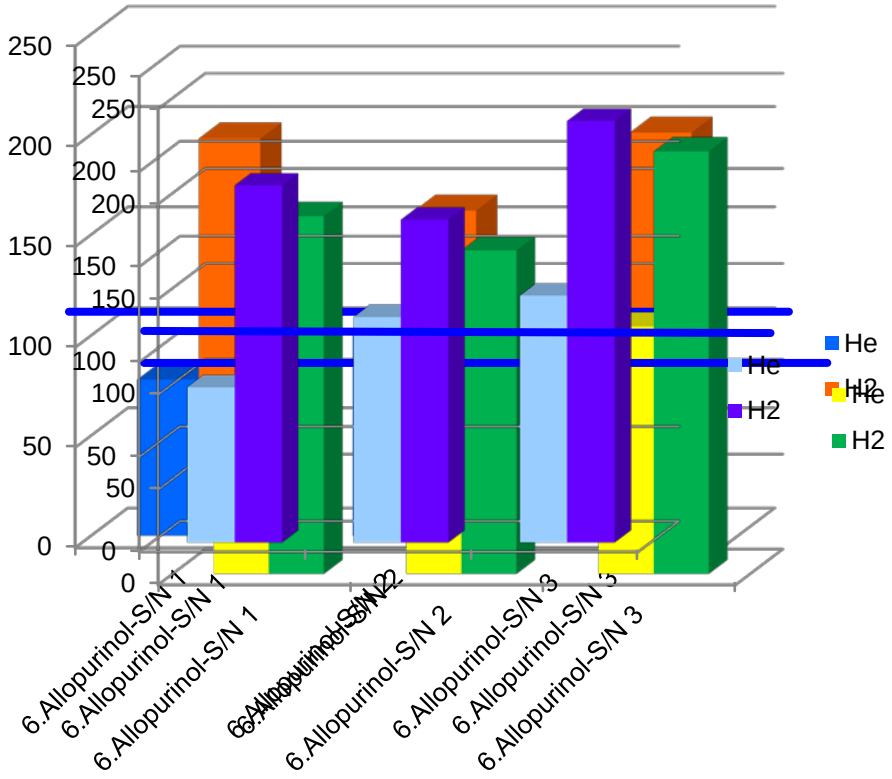
標準品濃度10ug/mL之S/N Ratio-3



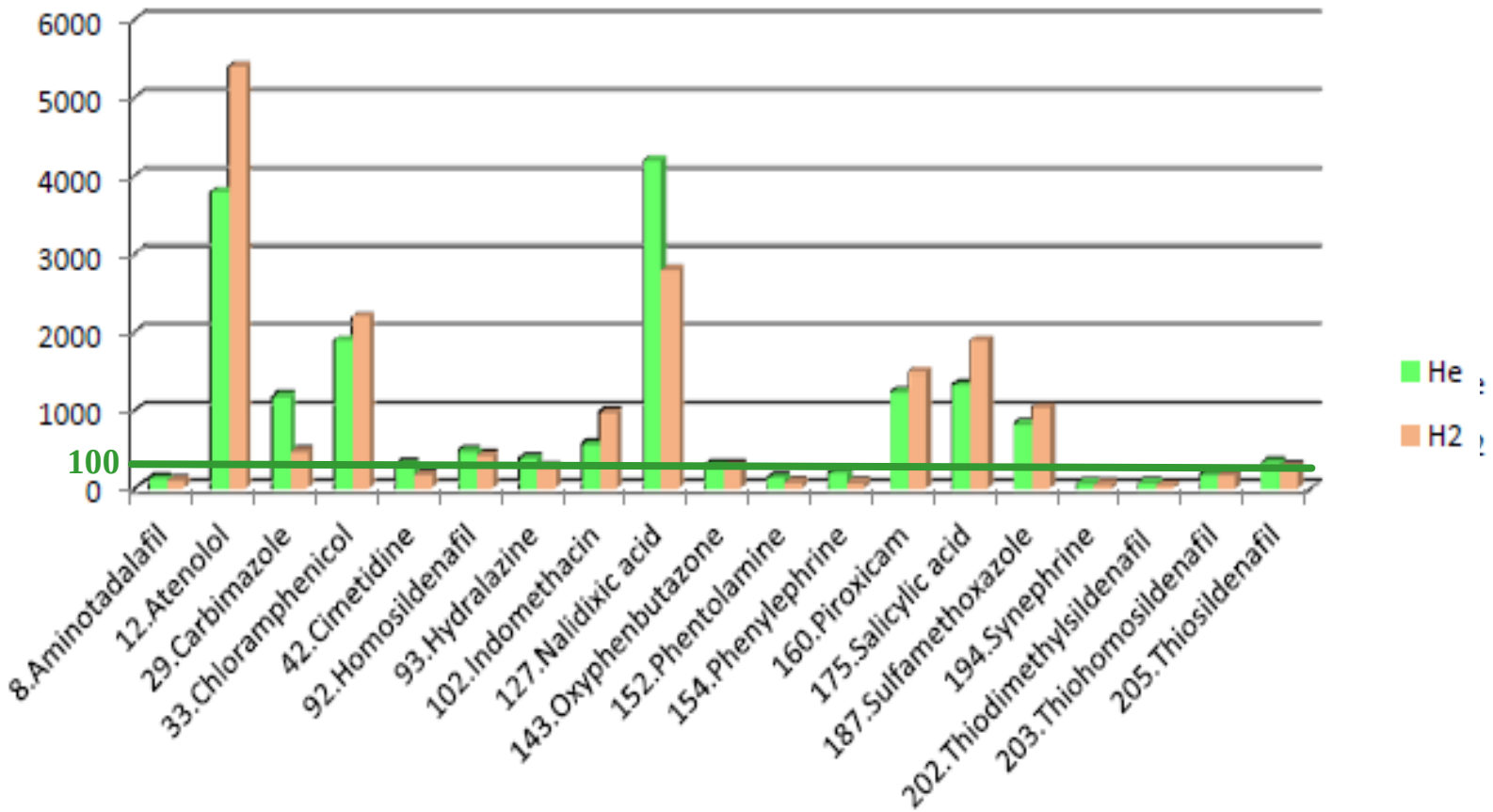
標準品濃度100ug/mL之S/N Ratio-3



標準品濃度500/mL之S/N Ratio



標準品濃度1000ng/mL之S/N Ratio



氨氣與氫氣標準品鑑別離子之比較

編號	名稱	鑑別離子		
		食藥署公告	氨氣	氫氣
178	Sibutramine	114, 72, 58, 101, 128, 137		
179	Sildenafil	404, 281, 207, 99, 56		
180	Stanozolol	96, 328, 257, 270, 133, 119, 175		
181				
182				
183				
184				
185				
187				
188				
189				
191	Sulfinpyrazone	278, 249, 209, 183, 152, 130,105, 77, 51		
193	Sulindac	233, 297, 312, 248, 67, 123, 47,133, 220		
194	Synephrine	135, 44, 107, 179, 160, 77, 51,91		
143	Oxyphenbutazone	93, 45, 55, 69, 161, 193, 77, 249		
145	Pentazocine	217, 202, 285, 110, 270, 70, 45,159, 173		
146	Phenacetin	179, 137, 108, 80, 65, 53		
147	Phenazopyridine	213, 108, 81, 54, 136, 97, 184,66, 155		
148	Phenformin	146, 104.91, 77, 65		

編號	名稱	鑑別離子		
		食藥署公告	氨氣	氫氣
198	Testosterone	288, 246, 203, 147, 124, 91, 55		
199	Tetracaine	58, 71, 176, 150, 105, 193, 92		
200	Theobromine	180, 67, 109, 55, 82, 137, 42, 94		
212	Yohimbine	353, 169		
213	Zolpidem	235, 207, 219, 281, 307, 65, 92,191		
214	Cetilistat	177, 160, 133, 55, 104, 77, 401		
170	Ranitidine	235, 137, 94, 67		
172	Rimonabant	84, 363, 55, 99, 282, 335, 299,41, 380, 145,462		
174	Salicylamide	120, 137, 92, 65, 53, 44, 80		
175	Salicylic acid	120, 92, 138, 64, 46		

項目	食品藥物管理署 建議檢驗方法	移動相 氨氣	移動相 氫氣
鑑別離子	一致		

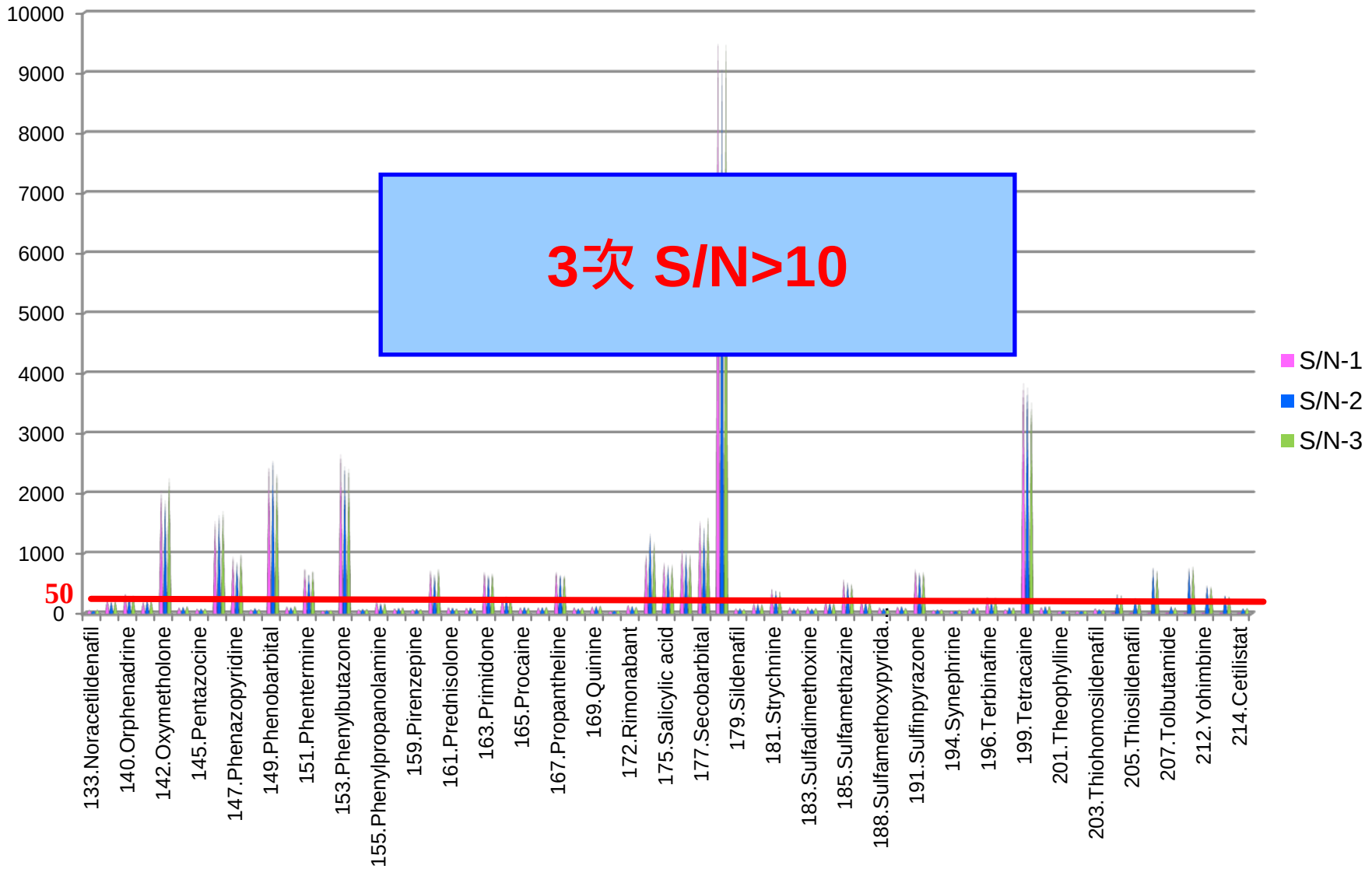
氫氣為GC/MS移動相之LOD

偵測極限(LOD)

編號	名稱	LOD (ppm)
176	Scopolamine	100
177	Secobarbital	100
178	Sibutramine	100
179	Sildenafil	100
180	Stanozolol	100
181	Strychnine	10
182	Sulfadiazine	100
183	Sulfadimethoxine	100
184	Sulfamerazine	100
185	Sulfamethazine	100
187	Sulfamethoxazole	1000
188	Sulfamethoxypyridazine	100
189	Sulfanilamide	100
191	Sulfinpyrazone	100
193	Sulindac	100
194	Synephrine	1000
142	Oxymetholone	1000
143	Oxyphenbutazone	1000
145	Pentazocine	100
146	Phenacetin	100
147	Phenazopyridine	100
148	Phenformin	100

編號	名稱	LOD (ppm)
195	Tadalafil	100
196	Terbinafine	10
198	Testosterone	10
199	Tetracaine	100
200	Theobromine	100
201	Theophylline	1000
202	Thiodimethylsildenafil	1000
203	Thiohomosildenafil	1000
204	Thioridazine	10
205	Thiosildenafil	1000
206	Tinidazole	100
207	Tolbutamide	100
210	Vardenafil analogue	100
212	Yohimbine	100
213	Zolpidem	10
214	Cetilistat	1000
168	Propranolol	100
169	Quinine	100
170	Ranitidine	100
172	Rimonabant	100
174	Salicylamide	100
175	Salicylic acid	1000

LOD S/N


10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
50
0
3次 S/N>10
S/N-1
S/N-2
S/N-3
133.Noracetildenafil
140.Orphenadrine
142.Oxymetholone
145.Pentazocine
147.Phenazopyridine
149.Phenobarbital
151.Phentermine
153.Phenylbutazone
155.Phenylpropanolamine
159.Pirenzepine
161.Prednisolone
163.Primidone
165.Procaine
167.Propantheline
169.Quinine
172.Rimonabant
175.Salicylic acid
177.Secobarbital
179.Sildenafil
181.Strychnine
183.Sulfadimethoxine
185.Sulfamethazine
188.Sulfamethoxypyrida...
191.Sulfinpyrazone
194.Synephrine
196.Terbinafine
199.Tetracaine
201.Theophylline
203.Thiohomosildenafil
205.Thiosildenafil
207.Tolbutamide
212.Yohimbine
214.Cetilistat

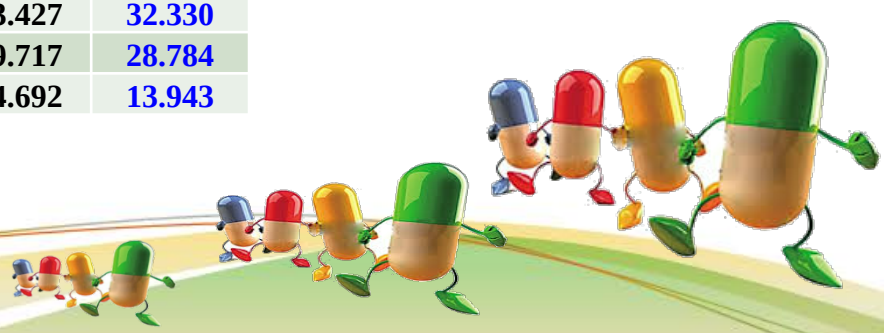
討　　論

●在氦氣與氫氣之GC/MS條件不同

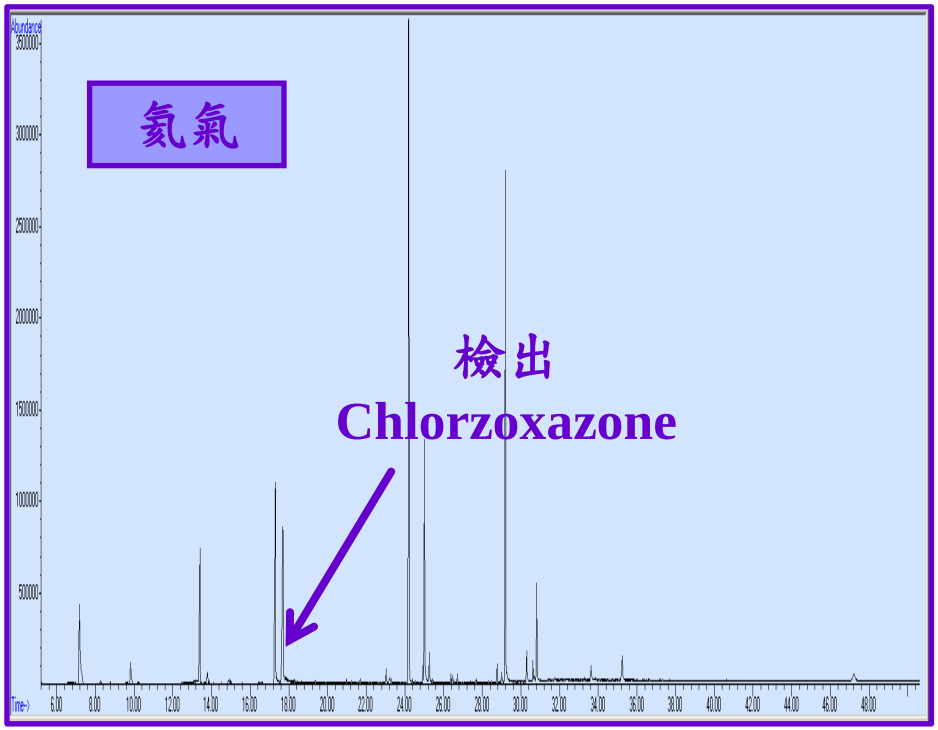
編號	名稱	RT（min）	
		He	H2
42	Cimetidine	6.651	5.722
78	Fenfluramine	8.267	7.506
151	Phentermine	6.779	6.160
115	Methamphetamine	7.195	6.505

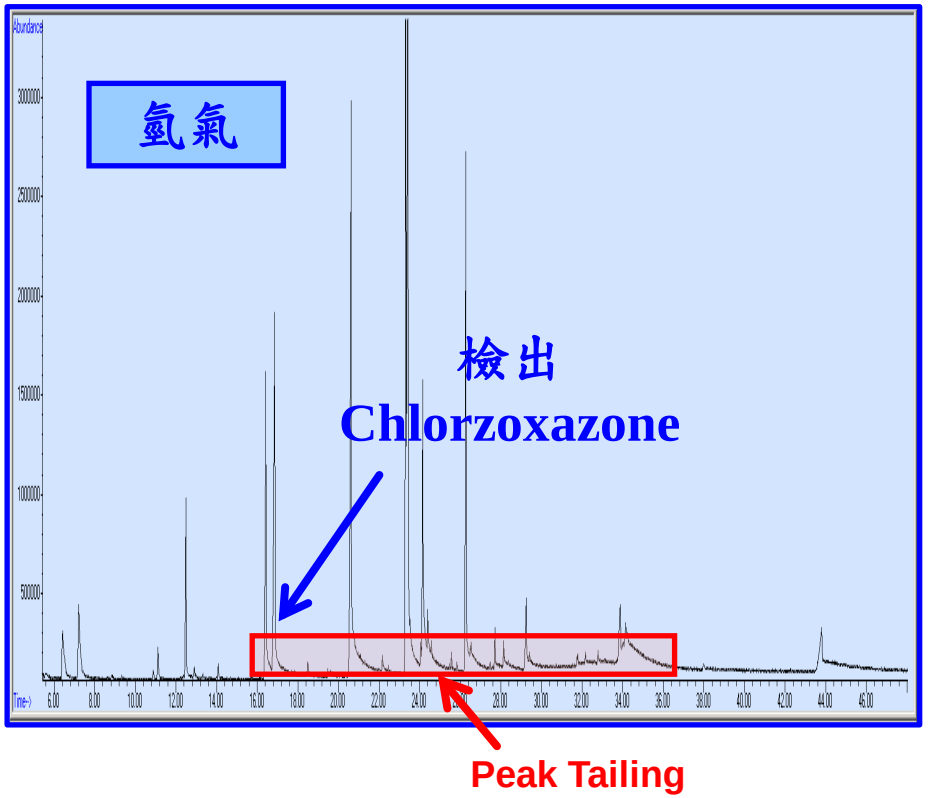
●移動相為氫氣時，RT比較早

編號	名稱	RT（min）	
		He	H2
194	Synephrine	16.281	15.602
195	Tadalafil	44.673	41.729
196	Terbinafine	24.139	23.292
198	Testosterone	28.115	27.168
199	Tetracaine	24.012	23.189
200	Theobromine	19.157	19.022
201	Theophylline	21.141	20.324
202	Thiodimethylsildenafil	43.571	40.912
203	Thiohomosildenafil	55.952	50.969
204	Thioridazine	32.798	31.712
205	Thiosildenafil	51.652	47.756
206	Tinidazole	21.921	21.175
207	Tolbutamide	16.398	15.612
210	Vardenafil analogue	28.462	27.628
212	Yohimbine	33.427	32.330
213	Zolpidem	29.717	28.784
214	Cetilistat	14.692	13.943



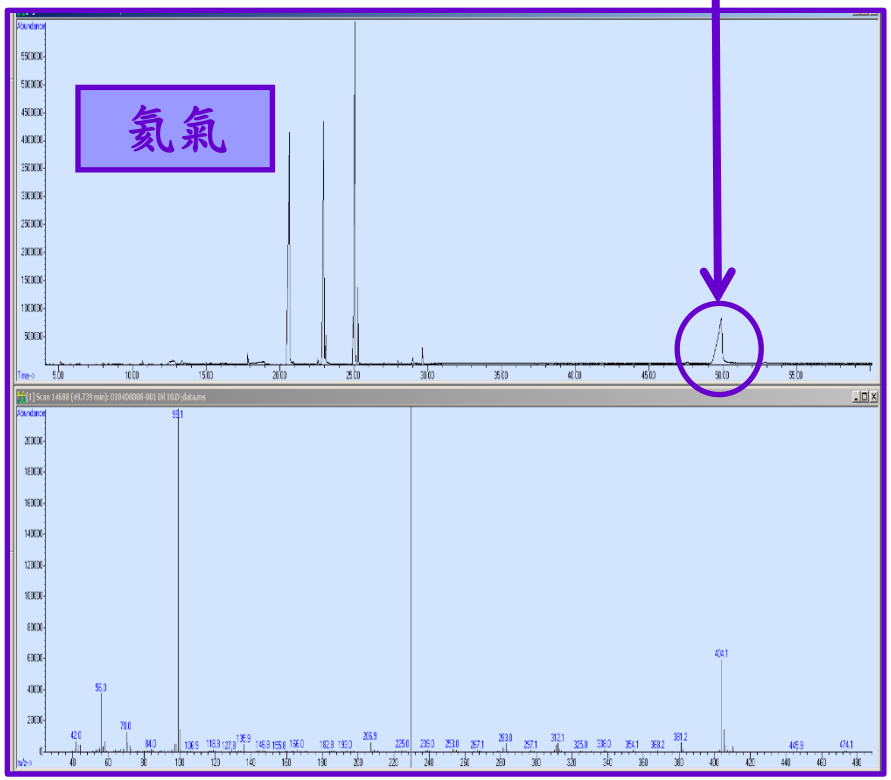
●移動相為氫氣時，peak較易tailing



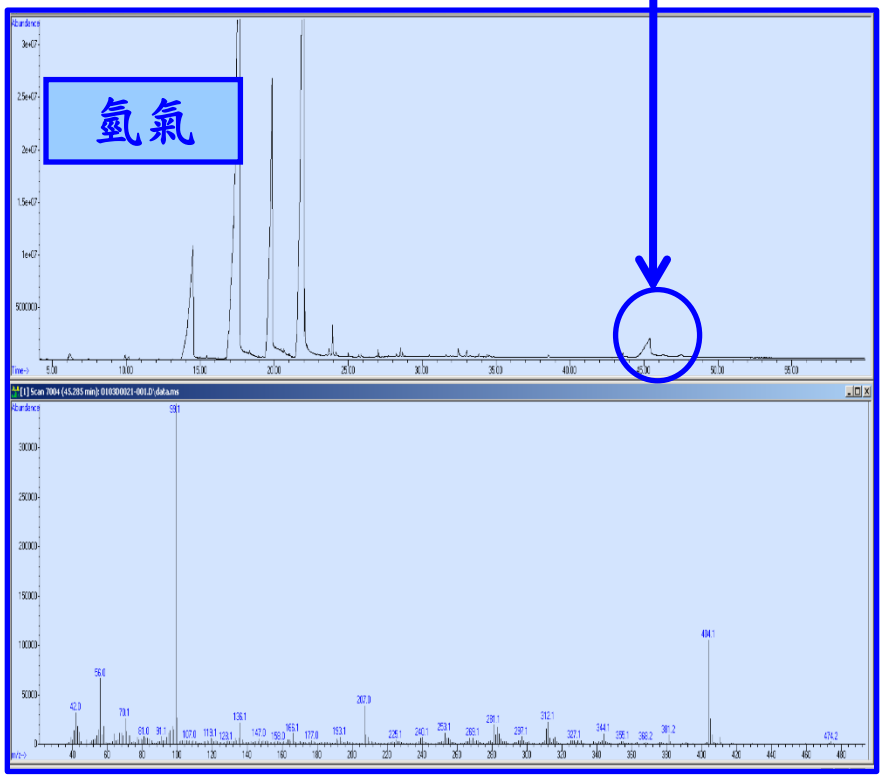


●實例

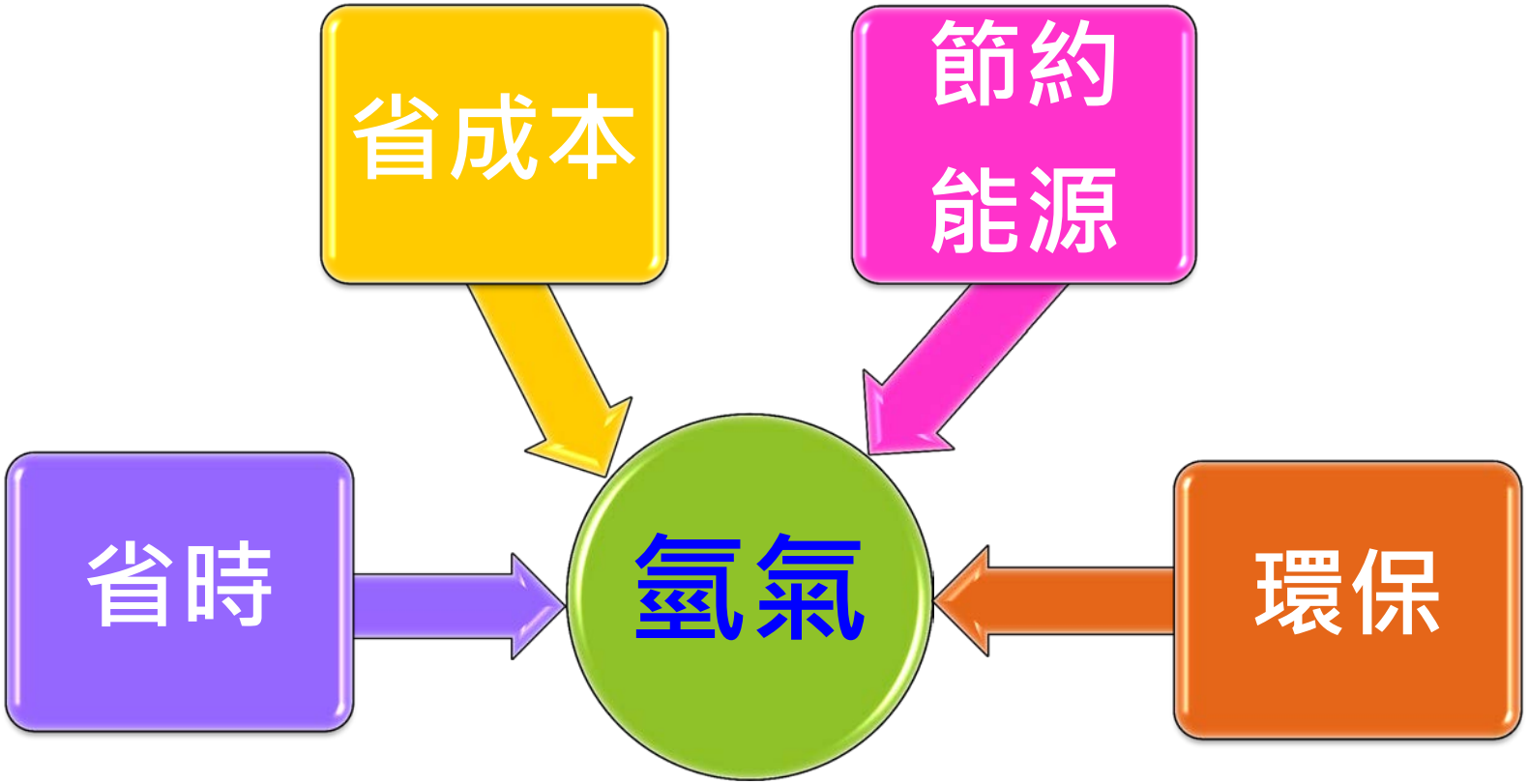
檢出Sildenafil



檢出Sildenafil



本實驗方法優點

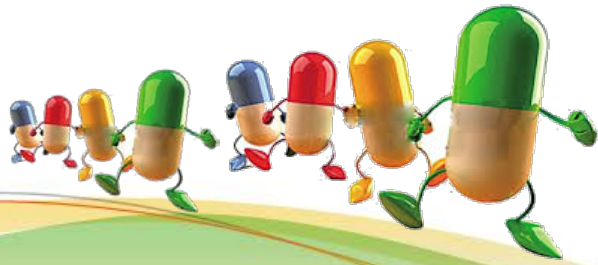


本實驗方法優點

證 實

氫氣可替代氦氣為GC/MS移動相
進行中藥及食品中摻加西藥檢驗

謝　謝　聆　聽



臺南市政府衛生局
Department of Health, Tainan City Government