

牙膏中凝血剂的定性与定量分析

Qualitative and quantitative analysis of coagulant in toothpaste

李志刚, 孙小杰, 刘冰洁, 郭立海

Li Zhigang, Sun Xiaojie, Liu Bingjie, Guo Lihai

SCIEX应用技术中心, 北京

Key words: coagulant, toothpaste

前言

凝血药物就是指对人体的凝血功能有治疗作用的药物, 在牙膏使用过程中主要的凝血药物为抑制纤维蛋白溶解系统的止血药, 包括氨甲苯酸、氨基己酸、氨甲环酸等, 这类药物抑制纤溶酶原各种激活因子, 使纤溶酶原不能转变为纤溶酶, 或直接抑制纤维蛋白溶解, 达到止血作用, 主要用于手术创伤、体外循环、肝脏疾病或肿瘤等引起的纤溶亢进或原发性纤溶活性过强所引起的出血。

市售的牙膏品牌可以看到在其配料表中含有凝血剂的添加来减少牙龈出血, 但是凝血剂的添加人为性的抑制牙龈出血, 掩盖牙龈出血的根本原因, 误导使用者延缓就医, 进而会影响病情的实际情况, 最后导致更为严重的牙龈问题。目前牙膏中凝血剂的检测标准只有GB/T 32121-2015《牙膏中4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的测定 高效液相色谱-串联质谱法》检测氨甲环酸, 定量限要求为1.0 µg/g。该类凝血剂的检测还没有检测方案, 建立三种凝血剂的完整解决方案可以帮助检测牙膏凝血剂的实际添加组分及含量。

试验方法

1. 样品前处理

1.1. 提取

牙膏样品挤出约2 cm弃去, 称取0.2 g牙膏样品于10 mL刻度试管中, 加入4 mL EDTA二钠水溶液涡旋至样品完全分散, 然后加入3 mL二氯甲烷, 涡旋1-2 min, 5000 r/min离心10 min, 准确移取1 mL上清液于5 mL离心管中, 向离心管中加入1 mL 3%加酸水溶液, 超声均匀后待进一步净化。

1.2 净化

将待净化溶液小心加入预先处理好的SCX固相萃取小柱, 用1 mL 1.5 %甲酸水溶液润洗离心管, 润洗溶液也加入固相萃取小柱,

待所有溶液通过固相萃取小柱后, 用3 mL 1.5 %甲酸水溶液淋洗, 弃去所有流出溶液, 然后在柱出口处放置5 mL具塞刻度管。继续向柱床加入3 mL 20 %甲醇水溶液(含2 %氨水)洗脱目标物, 收集所有洗脱溶液, 用3 %甲酸水溶液中和并定容至4 mL, 涡旋混匀后待测。

2. 液相条件

液相: SCIEX ExionLC™系统

分析柱及流动相条件: T3色谱柱, 流速0.3 mL/min,

流动相A: 水(0.1%甲酸); B: 甲醇, 梯度见表1。

柱温: 40 °C

梯度洗脱条件:

表1. 流动相洗脱程序

时间	A %	B %
0	95	5
5	25	75
6	25	75
6.1	95	5
9.0	95	5

3. 质谱条件

离子源: ESI源

离子源参数:

IS电压: 2000 V

气帘气: 30 psi

雾化气GS1: 60 psi

辅助加热气GS2: 55psi

源温度TEM: 650 °C

碰撞气CAD: 8

表2. 三种凝血剂的质谱参数

化合物名称	英文名称	保留时间RT, min	母离子	子离子	去簇电压DP, V	碰撞能量CE, v
氨甲环酸	4-(Aminomethyl) cyclohexanecarboxylic acid	3.50	158.0	123	40	15
			158.0	95	40	23
氨基己酸	6-Aminohexanoic acid	2.80	132.0	79	40	22
			132.0	69	40	21
氨甲苯酸	4-(Aminomethyl) benzoic acid	3.10	152.0	135	30	15
			152.0	107	30	29

4. 实验结果

4.1 三种凝血剂的典型色谱图 (见图1)

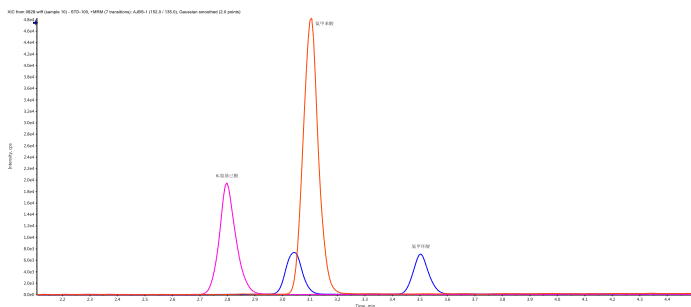


图1. 三种凝血剂的典型色谱图

4.2 标准曲线及灵敏度结果 (见表3)

采用空白溶剂加标, 配制浓度在0.5-100 µg/L范围内的系列标准曲线, 三种化合物线性关系良好; 将100 µg/L的标准品溶液逐级用水稀释, 以信噪比S/N≥10为定量限标准, 确定三种化合物的仪器灵敏度及标准曲线, 见表3。

表3. 三种凝血剂的线性方程及定量限结果

化合物名称	线性方程	相关系数	线性范围 (µg/L)
氨甲环酸	$y = 262.88973x + 435.27261$	0.99562	0.5-100
氨甲苯酸	$y = 1844.09692x + 6906.85344$	0.99751	0.5-100
氨基己酸	$y = 823.55941x + 646.97381$	0.99994	0.5-100

总结

本实验在SCIEX Triple Quad™ 液质联用系统上, 建立了牙膏中三种凝血剂的检测方法, 前处理方法依照国标, 灵敏度低于国标定量限1.0 µg/g要求, 操作简便, 拿来即用, 满足标准中的相关要求, 可用于牙膏中凝血剂残留分析检测。

参考文献

- GB/T 32121-2015《牙膏中4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的测定 高效液相色谱-串联质谱法》

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15749-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)