

实验技术与方法

UPLC-MS/MS法同时测定减肥食品中55种非法添加物

胡紫艳, 金鑫, 张玲

(南京市食品药品监督检验院, 江苏 南京 210000)

摘要:目的 建立超高效液相色谱-串联质谱同时测定减肥类食品中55种非法添加物的分析方法。方法 样品经甲醇超声提取后,采用Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)分离,以乙腈-0.1%甲酸为流动相进行梯度洗脱。在正负离子扫描条件下,采用动态多反应监测模式监测。结果 55种非法添加物在相应的线性范围内均呈现良好线性关系,相关系数大于0.995,平均回收率75.2%~121.6%,相对标准偏差<12%,各化学药物的检测限在0.02~1.25 μg/g。应用该方法对50批样品进行了检测,其中有38批次样品检出托拉塞米、大黄素、西布曲明、N-单去甲基西布曲明、N,N-双去甲基西布曲明、比沙可啶、麻黄碱、甲基麻黄碱、氢氯噻嗪、氟西汀等非法添加物。结论 该方法简单、快速、灵敏、准确、高效,兼具定性定量检测的优点,可用于食品中减肥类化学药物的高通量检测。

关键词:液相色谱-串联质谱法;减肥食品;非法添加;化学药物

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)01-0038-11

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.01.007

Simultaneous determination of 55 kinds of chemicals illegally added into diet foods by UPLC-MS/MS

HU Ziyan, JIN Xin, ZHANG Ling

(Nanjing Institute for Food and Drug Control, Jiangsu Nanjing 210000, China)

Abstract: Objective To establish an analytical method for simultaneous determination of 55 illegal addition of compounds in diet foods by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Methods** After ultrasonic extraction with methanol, the samples were separated on Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with gradient elution using a mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile. Under positive and negative ion scanning conditions, dynamic multiple-reaction monitoring mode was used for monitoring. **Results** The 55 illegal addition of compounds showed good linear relationship in the corresponding linear range with all the correlation coefficient greater than 0.995. The average recoveries were 75%-125%, and the relative standard deviations were less than 12%, the LODs were all in the range of 0.02-1.25 μg/g. Fifty batches of samples were tested by this method. Fluoxetine, sibutramine, N-monodesmethyl sibutramine, N-didesmethyl sibutramine, bisacodyl, torasemide were detected in 38 samples. **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive, efficient and accurate, which can be widely applied in the high-throughput detection of illegally added chemicals in different kinds of diet foods matrices.

Key words: UPLC-MS/MS; diet foods; illegally added; chemical drugs

随着生活水平的不断提高,饮食标准越来越好,导致肥胖人群比例越来越高;然而锻炼的减少和追求以“瘦”为美的审美标准,让越来越多的人寻找快速减肥方法,目前多选择宣称有减肥功效的食品作为瘦身的捷径,这给不法分子带来可乘之机。一些商贩瞄准“商机”,结合概念炒作,在宣称减肥的食品

中非法添加化学药物,使其在短期内达到减轻体质量的效果^[1]。这些非法添加的化学药物,因化学成分和添加剂量无法控制,会对服用者的健康和生命造成严重威胁^[2]。能使体质量减轻的药物种类较多,根据药理作用可分为食欲抑制剂、能量消耗增强剂、脂肪酶抑制剂、抑制肠道消化吸收、利尿剂、抗抑郁药、降脂药、降糖药、抗癫痫药和β-受体兴奋剂等^[3-6]。因此,对应的可能添加到宣称有减肥作用食品中的化学药物非常广泛^[7]。在日常检验工作中和市场调研均发现,目前食品中非法添加物有两种趋势:一是标准范围之外的非法添加物,二是添加减缓

收稿日期:2021-12-30

作者简介:胡紫艳 女 副主任药师 研究方向为食品药品安全与质量控制研究 E-mail:huzy0903@163.com

通信作者:张玲 女 主任药师 研究方向为药物分析与质量评价 E-mail:2459437556@qq.com

非法添加物副作用的物质^[8]。已发布的检测减肥类食品中非法添加物的补充检验标准有8个^[9-15],仅涉及食欲抑制剂、能量消耗增强剂、脂肪酶抑制剂、抑制肠道消化吸收、利尿剂、和抗抑郁药、降脂药7类,涵盖39种非法添加物的检测方法。采用的检测方法主要有薄层色谱法、液相色谱法和液质联用法,薄层色谱法和液相色谱法作为初筛方法应用于早期发布的补充检验标准中。随着液质联用色谱仪的普及,以及检验标准采用靶向筛查的方法列出目标物,液相色谱-三重四极杆串联质谱联用技术得到广泛应用。目前检验标准中靶向筛查的化合物种类和数

量明显偏少,容易遗漏^[16],难以满足检测和监管的需求。本研究针对目前减肥类食品中筛查非法添加化学药物的数量不足^[17],并基于近年来本实验室检验实践中发现的新型非法添加物并结合报道^[18-19],列出可能作为非法添加物添加到食品中的55种风险较高的物质,详见表1,扩大了减肥类非法添加筛查范围。采用目前非法添加物筛查的主要技术超高效液相色谱-串联质谱法建立了检测减肥类食品中55种非法添加化学药物的高通量检测方法,针对性地扩充了筛查范围,同时,实现1针进样能同时检测55种非法添加化学药物的定性和定量检测。

表1 可能的非法添加于减肥食品中的化合物

Table 1 Chemicals that may be illegally added to slimming foods

类别	已监管的物质	未列入标准监测范围
食欲抑制剂	苯丙醇胺、西布曲明、N-去甲基西布曲明、N,N-双去甲基西布曲明、苄基西布曲明、豪莫西布曲明、氯代西布曲明、芬氟拉明、安非他酮、绿卡色林、分特拉明	西酞普兰、舍曲林
能量消耗增强剂	咖啡因、麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、去甲伪麻黄碱、安非他明、甲基安非他明、	左旋肉碱**、可可碱
脂肪酶抑制剂	利莫那班、奥利司他	
抑制肠道消化吸收(泻药)	酚酞、比沙可啶、大黄素甲醚	脱乙酰比沙可啶*、比沙可啶杂质C、大黄酸、大黄素*、芦荟大黄素、双醋酚丁*、荷叶碱*
利尿剂	呋塞米、氢氯噻嗪、氯噻嗪、吲达帕胺、布美他尼	螺内酯、托拉塞米**
抗抑郁药	氟西汀、	
降脂药	苯扎贝特、非诺贝特、普伐他汀、洛伐他汀、辛伐他汀	
降糖药		二甲双胍、苯乙双胍
抗癫痫药		托吡酯
β -受体兴奋剂		沙丁胺醇、班布特罗
减缓副作用药物		胺碘酮、普罗帕酮

注:*为近年来报道新出现的非法添加化合物,**为本实验室新发现的非法添加化合物

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1290-G6495 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(配备 ESI 源,美国 Agilent 公司);ME204 电子天平(十万分之一,瑞士 METTLER TOLEDO 公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

标准品信息见表2;乙腈、甲酸均为色谱纯,购自德国 Merck 公司;实验用水为超纯水;检测用的样品来自市场购买、监督抽验样品及稽查打假样品。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),进样体积:2 μL,柱温:30 °C,流动相 A:0.1% 甲酸水,流动相 B:乙腈,流速为 0.3 mL/min,梯度洗脱程序:0~5.0 min,5% B;5.0~22.0 min,5%~98% B;22.0~27.0 min,98% B;27.0~27.5 min,98%~5% B;27.5~32.0 min,5% B。

1.2.2 质谱条件

离子化方式:电喷雾电离(ESI+/ESI-);动态多反应监测(Dynamic multiple reaction monitoring; DMRM)模式;雾化气:N₂;干燥气流速:8 L/min;喷雾电压:500 V;气流温度:350 °C;毛细管电压:3 500 V(+),3 000 V(-);鞘气流速:11 L/min;鞘气温度:250 °C。具体质谱参数见表3。

1.3 对照品溶液的制备

取各对照品适量,用甲醇制成浓度均约为 100 μg/mL 的贮备液。

1.3.1 混合标准中间液 A

分别精密吸取盐酸苯丙醇胺、盐酸去甲伪麻黄碱、盐酸麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱、安非他明、甲基安非他明、咖啡因、分特拉明、盐酸氯卡色林、盐酸安非他酮、芬氟拉明、盐酸 N,N-双去甲基西布曲明、氟西汀、酚酞、N-单去甲基西布曲明、吲达帕胺、盐酸西布曲明、盐酸苄基西布曲明、盐酸豪莫西布曲明、比沙可啶、盐酸氯代西布曲明、苯扎贝特、布美他尼、洛伐他汀、辛伐他汀、盐酸利莫那班、非诺贝特、

表2 标准物质的相关信息

Table 2 Relevant information of standard substances

序号	化合物	CAS号	分子式	供应商	含量/%
1	盐酸苯丙醇胺	154-41-6	C ₉ H ₁₃ NO·HCl	阿尔塔	99.6
2	盐酸去甲伪麻黄碱	2153-98-2	C ₉ H ₁₃ NO·HCl	阿尔塔	97.0
3	盐酸麻黄碱	50-98-6	C ₁₀ H ₁₅ NO·HCl	阿尔塔	99.8
4	伪麻黄碱	90-82-4	C ₁₀ H ₁₅ NO	阿尔塔	99.8
5	甲基麻黄碱	552-79-4	C ₁₁ H ₁₇ NO	阿尔塔	99.9
6	安非他明	300-62-9	C ₉ H ₁₃ N	阿尔塔	99.8
7	氯噻嗪	58-94-6	C ₇ H ₆ ClN ₃ O ₄ S ₂	阿尔塔	99.7
8	氢氯噻嗪	58-93-5	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	阿尔塔	98.0
9	甲基安非他明	33817-09-3	C ₁₀ H ₁₅ N	阿尔塔	99.5
10	咖啡因	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	阿尔塔	99.9
11	分特拉明	122-09-8	C ₁₀ H ₁₅ N	阿尔塔	99.7
12	盐酸氯卡色林	846589-98-8	C ₁₁ H ₁₄ ClN·HCl	阿尔塔	99.3
13	盐酸安非他酮	31677-93-7	C ₁₃ H ₁₈ ClNO·HCl	阿尔塔	99.9
14	芬氟拉明	458-24-2	C ₁₂ H ₁₆ F ₃ N	阿尔塔	97.0
15	普伐他汀钠	81131-70-6	C ₂₃ H ₃₅ NaO ₇	阿尔塔	99.0
16	呋塞米	54-31-9	C ₁₂ H ₁₁ ClN ₂ O ₅ S	阿尔塔	99.9
17	盐酸N,N-双去甲基西布曲明	84484-78-6	C ₁₅ H ₂₂ ClN·HCl	阿尔塔	99.7
18	氟西汀	54910-89-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	阿尔塔	95.0
19	酚酞	77-09-8	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	阿尔塔	99.9
20	N-单去甲基西布曲明	168835-59-4	C ₁₆ H ₂₅ ClN	阿尔塔	98.0
21	吲达帕胺	26807-65-8	C ₁₆ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ S	阿尔塔	97.7
22	盐酸西布曲明单水合物	125494-59-9	C ₁₇ H ₂₆ ClN·HCl·H ₂ O	阿尔塔	99.9
23	盐酸苄基西布曲明	1446140-91-5	C ₂₀ H ₂₄ ClN·HCl	阿尔塔	98.0
24	盐酸豪莫西布曲明	935888-80-5	C ₁₈ H ₂₈ ClN·HCl	阿尔塔	99.4
25	比沙可啶	603-50-9	C ₂₂ H ₁₉ NO ₄	阿尔塔	99.8
26	盐酸氯代西布曲明	84485-08-5	C ₁₇ H ₂₅ Cl ₂ N	阿尔塔	99.4
27	苯扎贝特	41859-67-0	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄	阿尔塔	99.6
28	布美他尼	28395-03-1	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₅ S	阿尔塔	98.0
29	洛伐他汀	75330-75-5	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	阿尔塔	95.6
30	辛伐他汀	79902-63-9	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	阿尔塔	99.7
31	盐酸利莫那班	158681-13-1	C ₂₂ H ₂₁ Cl ₃ N ₄ O·HCl	阿尔塔	98.3
32	非诺贝特	49562-28-9	C ₂₀ H ₂₁ ClO ₄	阿尔塔	99.9
33	奥利司他	96829-58-2	C ₂₉ H ₅₃ NO ₅	阿尔塔	97.1
34	大黄素甲醚	521-61-9	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	中检院	99.2
35	大黄素	518-82-1	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	中检院	96.0
36	托拉塞米	56211-40-6	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	中检院	100.0
37	螺内酯	52-01-7	C ₂₄ H ₃₂ O ₄ S	中检院	99.9
38	双醋酚丁	115-33-3	C ₂₄ H ₁₉ NO ₅	阿尔塔	98.0
39	比沙可啶杂质C	72901-16-7	C ₂₀ H ₁₇ NO ₃	TRC	98.3
40	可可碱	83-67-0	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	中检院	99.4
41	脱乙酰比沙可啶	603-41-8	C ₁₈ H ₁₅ NO ₂	阿尔塔	99.9
42	盐酸舍曲林	79559-97-0	C ₁₇ H ₁₇ Cl ₂ N·HCl	中检院	99.9
43	托吡酯	97240-79-4	C ₁₂ H ₂₁ NO ₈ S	中检院	99.9
44	左旋肉碱	541-15-1	C ₇ H ₁₅ NO ₃	TMstandard	99.9
45	芦荟大黄素	481-72-1	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	中检院	97.5
46	盐酸苯乙双胍	834-28-6	C ₁₀ H ₁₅ N ₅ ·HCl	中检院	99.7
47	氢溴酸西酞普兰	59729-32-7	C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O·HBr	中检院	99.9
48	盐酸普罗帕酮	34183-22-7	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃ ·HCl	中检院	99.8
49	盐酸胺碘酮	19774-82-4	C ₂₅ H ₂₉ I ₂ NO ₃ ·HCl	中检院	100.0
50	荷叶碱	475-83-2	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	中检院	99.8
51	盐酸班布特罗	81732-46-9	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₅ ·HCl	中检院	99.7
52	大黄酸	478-43-3	C ₁₅ H ₈ O ₆	中检院	99.3
53	盐酸二甲双胍	1115-70-4	C ₄ H ₁₁ N ₅ ·HCl	中检院	100.0
54	沙丁胺醇	18559-94-9	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	中检院	99.7
55	大黄酚	481-74-3	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	中检院	99.4

奥利司他、托拉塞米、螺内酯、比沙可啶杂质C、可可碱、脱乙酰比沙可啶、盐酸舍曲林、左旋肉碱、芦荟大黄素、盐酸苯乙双胍、氢溴酸西酞普兰、盐酸普罗帕酮、盐酸胺碘酮、荷叶碱、盐酸班布特罗、盐酸二甲双胍、大黄酚准储备液(100 μg/mL)各0.1 mL,置于

同一10 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制成浓度为1 μg/mL的混合标准溶液。

1.3.2 混合标准中间液B

分别精密吸取氯噻嗪、氢氯噻嗪、普伐他汀钠、呋塞米、大黄素甲醚、大黄素、双醋酚丁、托吡酯、芦

表3 55种对照品质谱参数

Table 3 MS spectra parameters of 55 kinds standard substances

化合物	保留时间/min	电离方式	加合离子	母离子	子离子	碰撞能/V
苯丙醇胺	3.12	ESI+	[M+H] ⁺	152.1	134.1*,117.1	9,17
去甲伪麻黄碱	3.48	ESI+	[M+H] ⁺	152.1	134.0*,117.0	9,21
麻黄碱	4.59	ESI+	[M+H] ⁺	166.1	148.0*,116.9	9,21
伪麻黄碱	4.95	ESI+	[M+H] ⁺	166.1	148.0*,117.0	9,21
甲基麻黄碱	5.69	ESI+	[M+H] ⁺	180.1	162.1*,147.0	13,25
安非他明	6.67	ESI+	[M+H] ⁺	136.1	91.0*,119.0	21,5
氯噻嗪	6.07	ESI-	[M-H] ⁻	293.9	214.0*,178.7	37,49
氢氯噻嗪	7.23	ESI-	[M-H] ⁻	296.0	268.8*,204.9	17,25
甲基安非他明	7.59	ESI+	[M+H] ⁺	150.1	91.0*,119.0	29,9
咖啡因	7.99	ESI+	[M+H] ⁺	195.1	138.0*,110.1	21,29
分特拉明	8.21	ESI+	[M+H] ⁺	150.1	91.0*,133.0	17,9
氯卡色林	9.98	ESI+	[M+H] ⁺	196.1	128.9*,144.1	37,21
安非他酮	10.30	ESI+	[M+H] ⁺	240.1	184.0*,131.0	9,33
芬氟拉明	10.68	ESI+	[M+H] ⁺	232.1	158.9*,187.0	33,13
普伐他汀	12.22	ESI-	[M-H] ⁻	423.2	303.1*,321.2	17,17
呋塞米	12.53	ESI-	[M-H] ⁻	329.0	284.9*,205.0	17,25
N,N-双去甲基西布曲明	12.50	ESI+	[M+H] ⁺	252.2	124.9*,138.9	33,9
氟西汀	12.66	ESI+	[M+H] ⁺	310.1	44.2*,148.0	13,5
酚酞	13.06	ESI+	[M+H] ⁺	319.1	225.1*,140.9	21,45
N-单去甲基西布曲明	12.66	ESI+	[M+H] ⁺	266.2	124.9*,138.9	29,13
吲达帕胺	13.02	ESI+	[M+H] ⁺	366.1	132.1*,117.1	13,53
西布曲明	12.86	ESI+	[M+H] ⁺	280.2	124.9*,138.9	33,13
苄基西布曲明	13.14	ESI+	[M+H] ⁺	314.2	91.0*,124.9	49,25
豪莫西布曲明	13.17	ESI+	[M+H] ⁺	294.2	124.9*,138.9	41,17
比沙可啶	13.21	ESI+	[M+H] ⁺	362.1	183.9*,226.0	37,17
氯代西布曲明	13.41	ESI+	[M+H] ⁺	314.2	159.0*,172.8	33,17
苯扎贝特	14.45	ESI+	[M+H] ⁺	362.1	138.9*,316.1	33,13
布美他尼	14.59	ESI+	[M+H] ⁺	365.1	240.0*,184.1	21,25
洛伐他汀	18.08	ESI+	[M+H] ⁺	405.3	285.1*,199.1	9,9
辛伐他汀	18.92	ESI+	[M+H] ⁺	419.3	285.0*,199.1	9,9
利莫那班	19.19	ESI+	[M+H] ⁺	463.1	362.8*,84.1	37,33
非诺贝特	19.82	ESI+	[M+H] ⁺	361.1	233.0*,138.9	17,33
奥利司他	23.44	ESI+	[M+H] ⁺	496.4	319.2*,337.1	17,9
大黄素甲醚	18.32	ESI-	[M-H] ⁻	283.1	240.1*,183.2	25,53
大黄素	16.26	ESI-	[M-H] ⁻	269.1	241.0*,225.0	29,29
托拉塞米	11.17	ESI+	[M+H] ⁺	349.1	182.4*,168.0	53,57
螺内酯	15.35	ESI+	[M-C ₂ H ₅ OS] ⁺	341.2	187.0*,107.0	30,31
双醋酚丁	15.40	ESI+	[M+H] ⁺	402.1	266.0*,196.1	20,57
比沙可啶杂质C	10.70	ESI+	[M+H] ⁺	320.1	183.1*,167.1	57,25
可可碱	3.36	ESI+	[M+H] ⁺	181.1	138.1*,67.0	17,33
脱乙酰比沙可啶	8.48	ESI+	[M+H] ⁺	278.0	184.0*,167.0	16,36
舍曲林	12.75	ESI+	[M+H] ⁺	306.1	158.9*,275.0	24,7
托吡酯	11.86	ESI-	[M-H] ⁻	338.1	96.0*,78.0	20,20
左旋肉碱	0.83	ESI+	[M+H] ⁺	162.0	103.0*,85.0	12,16
芦荟大黄素	14.10	ESI-	[M-H] ⁻	269.0	240.1*,223.1	10,29
苯乙双胍	0.94	ESI+	[M+H] ⁺	206.0	60.0*,105.0	23,23
西酞普兰	11.55	ESI+	[M+H] ⁺	325.2	109.0*,262.0	25,15
普罗帕酮	12.25	ESI+	[M+H] ⁺	342.1	116.1*,72.0	22,34
胺碘酮	15.66	ESI+	[M+H] ⁺	646.1	58.1*,100.1	45,30
荷叶碱	10.88	ESI+	[M+H] ⁺	296.3	265.3*,250.5	24,30
班布特罗	10.10	ESI+	[M+H] ⁺	368.2	294.1*,72.0	21,40
大黄酸	14.37	ESI-	[M-H] ⁻	283.0	239.0*,183.0	10,25
二甲双胍	0.81	ESI+	[M+H] ⁺	130.0	60.0*,71.0	11,23
沙丁胺醇	3.20	ESI+	[M+H] ⁺	240.0	166.0*,147.9	20,40
大黄酚	18.02	ESI+	[M+H] ⁺	254.9	151.9*,180.6	40,40

注: *为定量离子

芦荟大黄素、大黄酸、沙丁胺醇标准储备液(100 μg/mL)各0.5 mL,置于同一10 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制成浓度为5 μg/mL的混合标准溶液。

1.3.3 混合标准工作溶液

分别准确吸取混合标准中间液A(1 μg/mL)和混合标准中间液B(5 μg/mL)适量,用甲醇稀释,摇匀,作为系列标准工作溶液S1~S5,质量浓度依次

为混合标准中间液 A 中各化合物 0.01、0.02、0.05、0.08、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及混合标准中间液 B 中各化合物 0.05、0.1、0.25、0.4、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

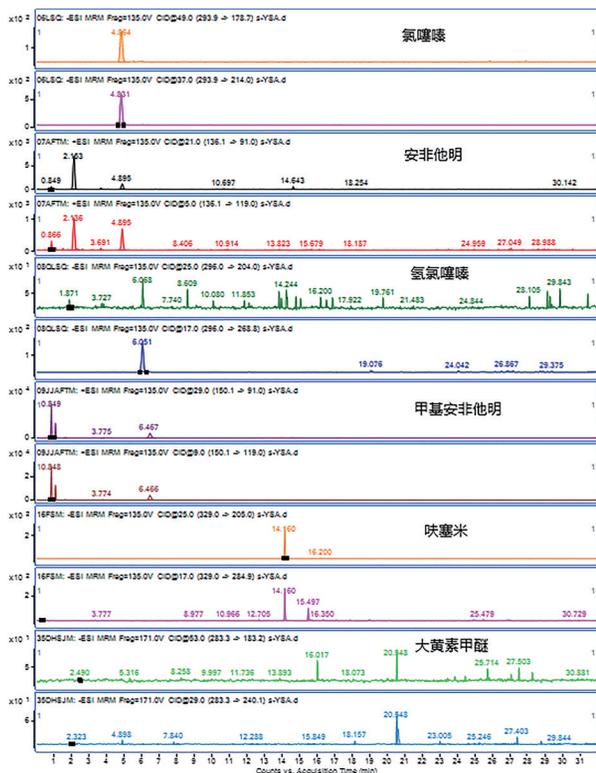
2 结果

2.1 液相色谱条件的优化

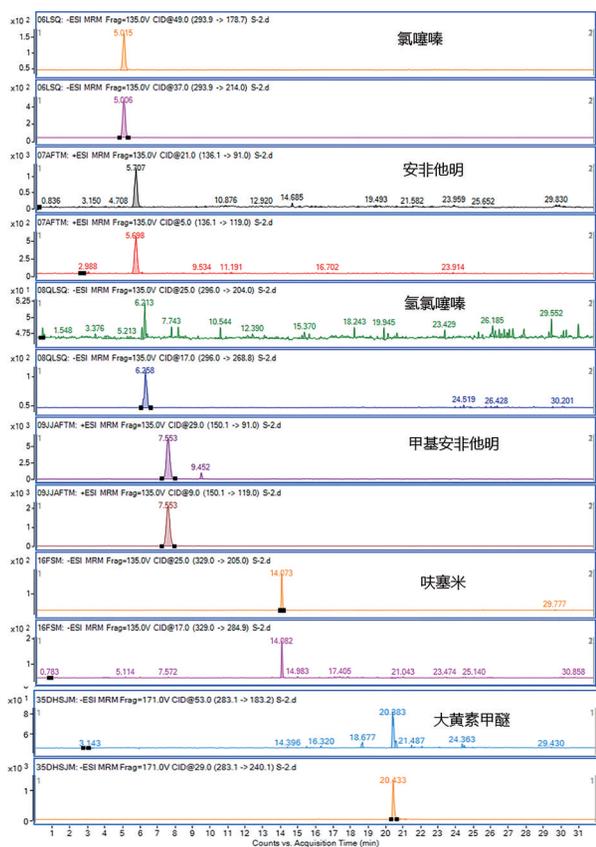
以氯噻嗪、安非他明、氢氯噻嗪、甲基安非他明、呋塞米和大黄素甲醚为代表化合物,考察了不同流动相对保留的影响。分别比较了甲醇与乙腈两种有机相,结果乙腈为有机相的分离效果略优于甲醇,故采用乙腈为有机相;考察了水、0.1% 甲酸水溶液和 10 mmol/L 乙酸铵水溶液 3 种水相,结果以乙腈-水为流动相时氯噻嗪、氢氯噻嗪、安非他明、甲基安非他明峰形较差,且呋塞米和大黄素甲醚的响应较低,以乙腈-10 mmol/L 乙酸铵为流动相时氯噻嗪、氢氯噻嗪、安非他明、甲基安非他明、呋塞米和大黄素甲醚的响应不如以乙腈-0.1% 甲酸为流动相的响应,见图 1,故选择 0.1% 甲酸水溶液作为水相。

2.2 质谱条件的选择和优化

本实验采用 ESI 进行离子化,分别采用正离子模式和负离子模式进行扫描,给每个目标化合物指定两对监测离子。要实现 55 个目标化合物 110 个离子对的高通量同时分析,常规的多反应监测 (Multiple reaction monitoring, MRM) 因驻留时间过短无法保证足够的采集数据点,因此采用 DMRM 模



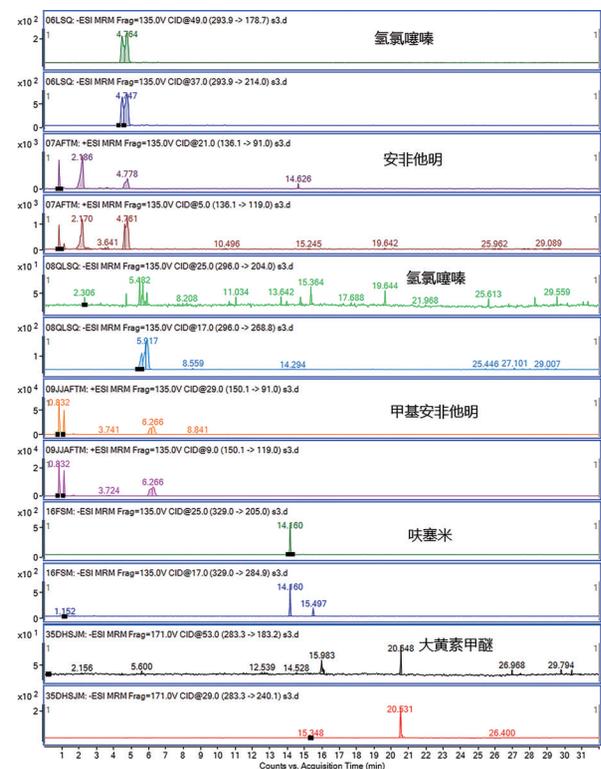
乙腈-10 mmol/L 乙酸铵



乙腈-0.1% 甲酸

图 1 氯噻嗪、安非他明、氢氯噻嗪、甲基安非他明、呋塞米和大黄素甲醚在以水、10 mmol/L 乙酸铵、0.1% 甲酸为水相的色谱图

Figure 1 The chromatogram of chlorothiazide, amphetamine, hydrochlorothiazide, methylamphetamine, furosemide, phycion when in water, 10 mmol/L ammonium acetate, 0.1% formic acid as aqueous phase



乙腈-水

式,在目标化合物的时间窗口内检测相应的监测离子对,确保每个色谱峰有足够的采集数据点,保证定量分析的重现性。

55个目标化合物中氯噻嗪、氢氯噻嗪、普伐他汀钠、吠塞米、大黄素甲醚、大黄素、托吡酯、芦荟大黄素、大黄酸等9个药物,易失去氢离子,在负电离模式下可以得到较好的响应,其余46个药物均在正离子模式下具有更高的响应值。以正离子模式检测的药物,均以 $[M+H]^+$ 形成母离子,而螺内酯则在正离子模式易脱去乙酰基硫基,生成 m/z 为341.2的带正电荷的稳定离子峰^[20];以负离子模式检测的药物均以 $[M-H]^-$ 方式形成母离子。

2.3 方法学考察

2.3.1 样品制备

取固体试样混匀,研细,液体试样摇匀,精密称取1.0 g,置具塞试管中,准确加入甲醇10 mL,密塞,称重,超声提取10 min,放冷,再次称重,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜过滤,取续滤液,根据实际浓度适当稀释至线性范围内。

2.3.2 空白基质干扰

取未检出的酵素、片剂和口服溶液阴性样品提取液各1份作为空白基质,加适量混合标准中间液,配成标准曲线的中间点浓度,作为基质样品溶液,与相应浓度的溶剂配制的标准溶液的响应值进行比对,按公式(1)计算。结果55种化合物的基质效应均在85%~115%范围内,表明测定物的基质干扰较小。

基质效应=基质溶液中待测物的响应/溶剂中待测物的响应 $\times 100\%$ 式(1)

2.3.3 线性

取1.3.3项下的混合标准系列工作液,依次进样,记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,以对照品质量浓度(X, ng/mL)为横坐标,进行线性回归分析,结果55种化合物在规定的范围内线性关系良好,相关系数均大于0.995(表4)。提取离子流色谱表图见图2。

2.3.4 精密度

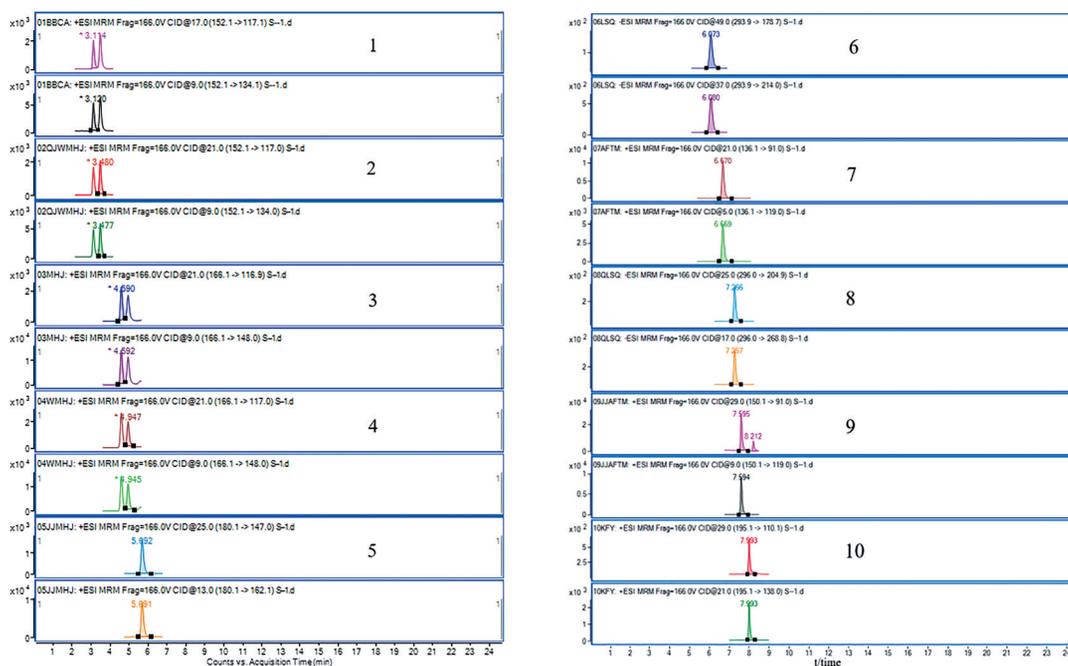
取未检出的样品作为空白基质,加适量混合标准中间液,配成浓度为标准曲线中间点的浓度,作为模拟样品,按上述条件重复测定6次,55种目标化合物的相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD, $n=6$)为0.68%~5.88%。说明本方法精密度良好(表4)。

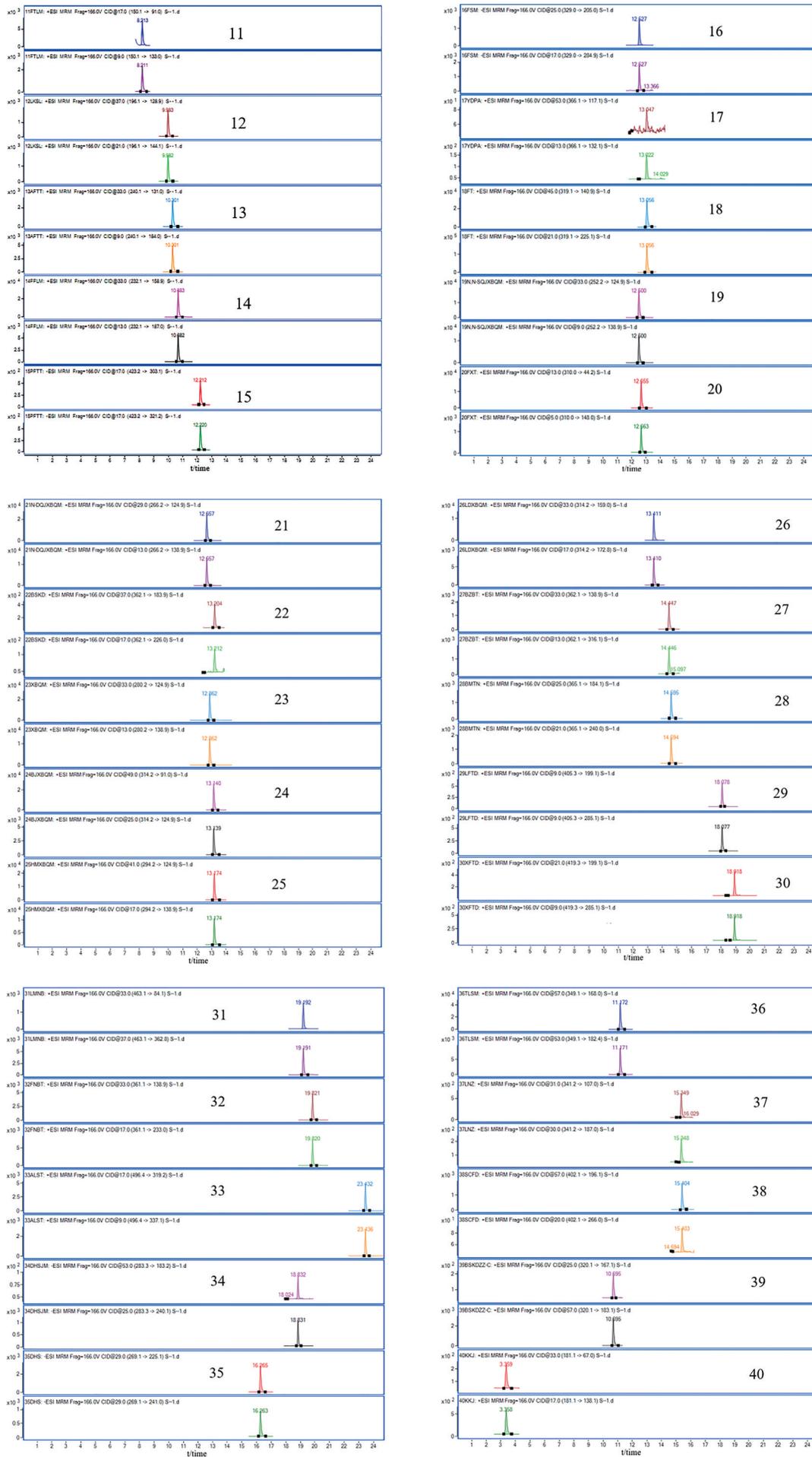
2.3.5 加样回收和重复性

以未检出的阴性样品作为空白,分别加适量混合标准中间液,配成标准曲线内最低、中、最高3个浓度水平的模拟样品,每个浓度平行制备3份样品。按2.1.1的方法处理并进行测定。结果回收率均在75.2%~121.6%之间,重复性的RSD $<12.0\%$ ($n=9$)。说明本方法能够满足不同剂型样品的分析要求,可用于日常分析的检测。

2.3.6 检出限

考察方法的灵敏度,取未检出的阴性样品,加适量混合标准中间液,逐步稀释后进样,以信噪比 $S/N \geq 3$ 时样品溶液的浓度作为检测限浓度,结果见表4,检出限在0.02~1.25 $\mu\text{g/g}$ 之间,与文献[21-23]中的方法相比,灵敏度较高。





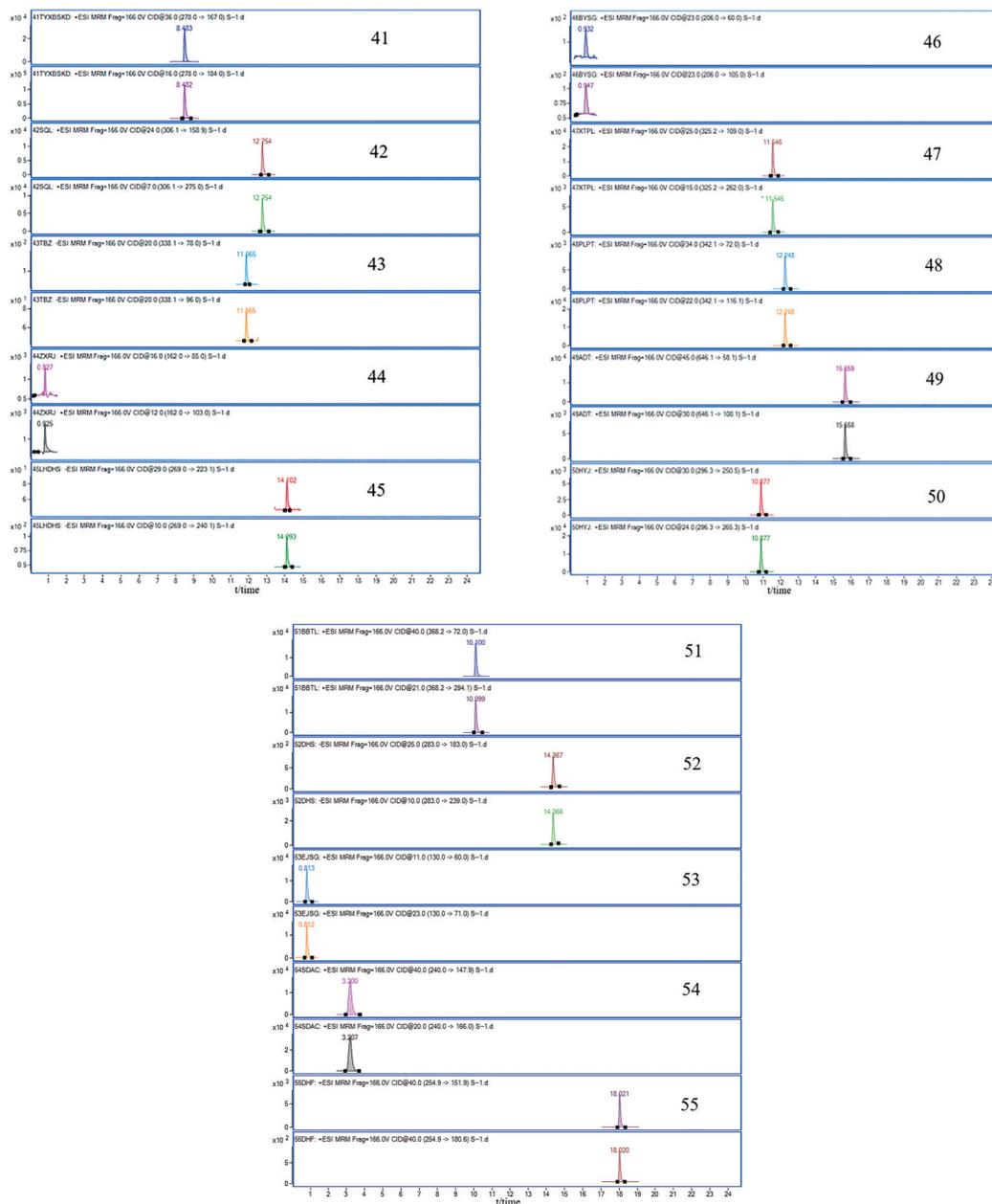


图2 55种化学药物定性和定量离子对的DMRM图

Figure 2 DMRM chromatograms of qualitative and quantitative ion pair for 55 chemical drugs

2.4 样品测定

利用建立的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法(Ultra high performance liquid chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry, UPLC/MS/MS)对市售样品及某些涉案样品(共50批)进行检测,其中38批样品检出非法添加化学药物,检出的化学药物有托拉塞米、大黄素、氟西汀、西布曲明、N-单去甲基西布曲明、N,N-双去甲基西布曲明、比沙可啶、麻黄碱、甲基麻黄碱、氢氯噻嗪、氟西汀等十几种。添加化学药物的剂量差别较大,存在一份样品中同时添加两种或两种以上不同作用机理减肥药物的情况,表明了非法添加的随意性和多样性,与文献研究一致^[24-25],多重添加的复杂性应引起

当地监管机构的高度重视。

3 结论

本文筛查目标物的选择基于药理作用的分类,并结合现实报道和实验室新发现的非法添加物,大幅增加了检测非法添加化合物的种类,且针对性较强。建立的UPLC-MS/MS方法与现有检测方法相比,具有简单、快速、灵敏、准确、高效,兼具定性定量检测的优点,可实现55种物质的高通量检测分析,同时适用于快速广谱筛查的应用场景,提高日常非法添加筛查的工作效率,可以有力震慑不法商家的非法添加行为,为保障食药安全提供简单快速、准确可靠的技术支持。对打击非法添加、保障

表4 55种化学药物的线性范围、回归方程、相关系数、回收率、重复性、精密度和检测限

Table 4 Linear range, linear equations, coefficient, recovery, repetition, RSD and LOD of 55 chemical drugs

化合物	线性范围/ (ng/mL)	回归方程	相关系数	回收率/%	重复性/%	RSD/%	检出限/ ($\mu\text{g/g}$)
苯丙醇胺	10~100	$y=1\ 125.8x-85.6$	0.997 1	82.3~96.5	6.87	2.58	0.02
去甲伪麻黄碱	10~100	$y=2\ 253.8x-174.5$	0.997 1	81.4~94.2	8.50	3.24	0.02
麻黄碱	10~100	$y=13\ 707.0x-1\ 296.6$	0.996 8	81.3~97.7	6.81	3.08	0.02
伪麻黄碱	10~100	$y=10\ 256.0x-763.8$	0.995 7	79.1~96.7	4.37	2.09	0.02
甲基麻黄碱	10~100	$y=7\ 163x-530.9$	0.998 8	97.5~102.3	4.75	4.15	0.02
安非他明	10~100	$y=3\ 974.9x-447.8$	0.998 9	101.2~110.3	4.21	0.89	0.02
氯噻嗪	50~500	$y=77.7x-44.9$	0.999 0	87.8~89.3	2.97	2.06	0.02
氢氯噻嗪	50~500	$y=29.3x-15.9$	0.997 4	87.0~106.6	9.27	3.69	0.02
甲基安非他明	10~100	$y=17\ 852.0x-2\ 090.7$	0.996 3	87.4~113.8	8.98	1.89	0.02
咖啡因	10~100	$y=1\ 756.5x-212.7$	0.996 5	92.8~106.6	4.91	5.17	0.02
分特拉明	10~100	$y=724.5x-23.2$	0.999 2	88.5~100.2	3.87	1.35	0.02
氯卡色林	10~100	$y=4\ 049.7x-391.2$	0.999 8	101.1~107.1	2.20	2.33	0.02
安非他酮	10~100	$y=6\ 908.1x-603.7$	0.999 5	102.8~109.8	2.89	1.59	0.02
芬氟拉明	10~100	$y=21\ 055.6x-1\ 464.9$	0.999 7	102.9~109.2	2.17	2.14	0.02
普伐他汀	50~500	$y=53.6x-21.1$	0.996 8	84.6~104.4	7.30	2.16	1.25
呋塞米	50~500	$y=131.1x-96.3$	0.996 3	76.6~92.4	10.35	3.24	1.25
N,N-双去甲基西布曲明	10~100	$y=3\ 213.9x+1\ 069.1$	0.997 5	99.0~111.3	9.62	5.63	0.02
氟西汀	10~100	$y=12\ 499.5x-951.5$	0.999 0	108.7~112.7	1.69	2.58	0.02
酚酞	10~100	$y=1\ 251.7x+383.3$	0.996 7	103.4~117.4	5.13	4.26	0.02
N-单去甲基西布曲明	10~100	$y=7\ 880.4x+218.2$	0.995 2	88.5~116.1	11.72	4.34	0.02
吲达帕胺	10~100	$y=694.4x-53.2$	0.997 5	99.1~111.7	5.87	2.69	0.02
西布曲明	10~100	$y=7\ 822.1x-607.2$	0.999 9	93.4~121.6	11.50	3.66	0.02
苄基西布曲明	10~100	$y=10\ 501.6x-757.8$	0.998 2	100.4~107.6	3.23	3.58	0.02
豪莫西布曲明	10~100	$y=9\ 497.7x-895.1$	0.997 6	99.8~110.5	4.10	3.87	0.02
比沙可啶	10~100	$y=17\ 871.5x-1\ 074.9$	0.998 8	96.9~115.6	6.14	2.59	0.02
氯代西布曲明	10~100	$y=3\ 896.3x-391.3$	0.998 7	98.3~108.0	3.40	4.35	0.02
苯扎贝特	10~100	$y=689.6x-68.3$	0.997 5	103.2~110.1	3.00	1.69	0.02
布美他尼	10~100	$y=882.4x-79.4$	0.999 3	100.0~106.9	2.33	1.89	0.02
洛伐他汀	10~100	$y=232.3x-18.0$	0.998 7	99.8~110.9	6.11	4.32	0.02
辛伐他汀	10~100	$y=231.42x-15.0$	0.997 6	98.4~112.5	4.59	3.02	0.02
利莫那班	10~100	$y=3\ 940.1x-152.7$	0.998 1	107.9~114.7	2.56	2.63	0.02
非诺贝特	10~100	$y=1\ 317.1x-110.2$	0.999 2	102.0~110.6	2.93	0.98	0.02
奥利司他	10~100	$y=1\ 051.2x-55.4$	0.999 7	75.9~87.3	8.23	3.24	0.02
大黄素甲醚	50~500	$y=1\ 111.8x-646.5$	0.999 8	75.2~82.1	5.69	3.07	0.02
大黄素	50~500	$y=1\ 809.8x+31.6$	0.999 9	76.2~83.5	4.32	2.89	0.02
托拉塞米	10~100	$y=2\ 673.3x+1\ 293.3$	0.999 9	89.2~96.5	3.27	0.68	0.02
螺内酯	10~100	$y=950.1x+196.5$	0.999 8	89.2~96.5	3.27	2.34	0.02
双醋酚丁	50~500	$y=9\ 277.9x+1\ 344.3$	0.999 9	92.3~98.5	2.97	2.69	1.25
比沙可啶杂质C	10~100	$y=1\ 823.0x-461.5$	0.996 8	90.2~101.5	7.23	3.13	0.02
可可碱	10~100	$y=2\ 062.8x+2\ 449.9$	0.999 3	79.2~88.4	6.28	3.91	0.02
脱乙酰比沙可啶	10~100	$y=3\ 348.5x+4\ 577.6$	0.998 6	92.4~106.8	7.73	3.62	0.02
舍曲林	10~100	$y=7\ 299.2x+576.9$	0.999 0	86.9~99.4	5.92	2.55	0.02
托吡酯	50~500	$y=832.2x-106.5$	0.998 5	84.2~96.1	7.2	3.07	1.25
左旋肉碱	10~100	$y=1\ 848.4x+528.0$	0.997 4	93.4~105.8	8.59	3.56	0.02
芦荟大黄素	50~500	$y=329.5x-7.6$	0.998 9	85.4~95.6	6.11	4.12	1.25
苯乙双胍	10~100	$y=80.6x+363.5$	0.996 2	79.4~93.3	8.70	5.88	0.02
西酞普兰	10~100	$y=1\ 351.2x+131.2$	0.999 1	85.4~99.3	4.01	2.87	0.02
普罗帕酮	10~100	$y=1\ 143.9x+80.1$	0.999 9	88.5~97.6	5.92	2.88	0.02
胺碘酮	10~100	$y=1\ 105.2x+307.5$	0.998 8	96.7~112.9	8.23	3.56	0.02
荷叶碱	10~100	$y=1\ 119.5x+111.6$	0.999 2	80.1~96.6	5.22	1.87	0.02
班布特罗	10~100	$y=1\ 244.4x+616.5$	0.999 9	88.5~98.4	5.57	2.84	0.02
大黄酸	50~500	$y=1\ 872.0x-112.0$	0.999 0	78.2~84.5	4.82	2.32	1.25
二甲双胍	10~100	$y=82\ 296.6x+1\ 343.1$	0.997 3	92.3~105.6	5.32	2.74	0.02
沙丁胺醇	50~500	$y=4\ 922.6x+1\ 364.9$	0.998 5	78.6~86.7	6.23	3.82	1.25
大黄酚	10~100	$y=359.0x+78.4$	0.997 2	77.0~85.7	5.20	1.59	0.02

食药安全提供了有力的技术支持。

参考文献

[1] 贾婧怡,李玮,张烨,等.保健食品中非法添加药物事件及

检测技术[J].食品安全质量检测学报,2020,11(11):3558-3570.

JIA J Y, LI W, ZHANG Y, et al. Illegal drug addition events and determination technologies in health supplements [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(11): 3558-3570.

- [2] 刘静, 吴琼, 王超. 液相色谱-离子阱质谱法同时测定减肥类保健食品中非法添加的12种化学药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7286-7292.
- LIU J, WU Q, WANG C. Simultaneous determination of 12 kinds of chemical drugs illegally mixed into slimming health foods by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(18): 7286-7292.
- [3] 钮正睿, 王聪, 曹进. 保健食品中非法添加药物种类及其检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18): 6131-6142.
- NIU Z R, WANG C, CAO J. Research advances on types of illegally added drugs and their detection methods in health foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(18): 6131-6142.
- [4] 王爱华, 任昕昕, 琚妍妍, 等. 减肥食品中非法添加化学药物现状及检测技术研究进展[J]. 刑事技术, 2019, 44(6): 530-534.
- WANG A H, REN X X, JU Y Y, et al. Illegal additives in diet products: status and identification evolution [J]. Forensic Science and Technology, 2019, 44(6): 530-534.
- [5] 陈东洋, 张昊, 冯家力, 等. 保健食品中违禁药物检验技术研究进展[J]. 色谱, 2020, 38(8): 880-890.
- CHEN D Y, ZHANG H, FENG J L, et al. Advances in technologies for determination of illegal drugs in health food [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(8): 880-890.
- [6] 张璐, 李可强, 朱辉, 等. 减肥类保健食品中非法添加化学药物及检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(3): 904-913.
- ZHANG L, LI K Q, ZHU H, et al. Research progress on illegal additions of chemical drugs in health food for weight loss and their detection technologies [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(3): 904-913.
- [7] 赫文龙, 宫国强, 刘斌, 等. 常用保健食品中可能的非法添加物质分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1438-1444.
- HE W L, GONG G Q, LIU B, et al. Analysis of possible illegal substances in common health foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(6): 1438-1444.
- [8] 胡紫艳, 金鑫, 史达, 蒋小文, 李丹, 张玲. 浅析减肥类保健食品中非法添加化学药物现状及检测策略[J]. 中国食品药品监管, 2022(8): 96-101.
- HU Z Y, JIN X, SHI D, et al. Brief Analysis on Current Situation on Illegal Additions of Chemical Drugs in Health Foods for Weight Loss and their Detection Strategies [J]. China Food & Drug Administration Magazine, 2022(8): 96-101.
- [9] 国家药品监督管理局. 药品检验补充检验方法和检验项目批准件2006004[Z]. 2006.
- State Drug Administration. Approval document for supplementary testing methods and testing items 2006004[Z]. 2006.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 药品检验补充检验方法和检验项目批准件2012005[Z]. 2012.
- National Food and Drug Administration. Supplementary inspection methods and approval items for drug inspection 2012005 [Z]. 2012.
- [11] 国家食品药品监督管理总局. 关于发布食品中西布曲明等化合物的测定等3项食品补充检验方法的公告(2017年第24号)食品中西布曲明等化合物的测定: BJS201701[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Food and Drug Administration. Announcement on Issuing Three Food Supplementary Inspection Methods Including the Determination of Sibutramine and Other Compounds in Food (No. 24 in 2017) Determination of sibutramine and other compounds in foods: BJS201701 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [12] 国家食品药品监督管理总局. 关于发布《保健食品中75种非法添加化学药物的检测》等3项食品补充检验方法的公告(2017年第138号)保健食品中75种非法添加化学药物的检测: BJS201710[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Food and Drug Administration. Announcement on Issuing Three food supplementary inspection methods including the Detection of 75 Kinds of Illegally Added Chemicals in Health Food (No. 138 in 2017) Determination of 75 kinds of illegally added chemical in Health foods: BJS201710 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [13] 国家市场监督管理总局. 关于发布《食品中匹可硫酸钠的测定》食品补充检验方法的公告(2019年第30号)食品中匹可硫酸钠的测定: BJS201911[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- State Administration for Market Regulation. Announcement on Issuing the Supplementary Inspection Method for Food in the Determination of Sodium Picosulfate in Food (No. 30 in 2019) Determination of Sodium Picosulfate in Food: BJS201911 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [14] 国家市场监督管理总局. 关于发布《食品中大黄酚和橙黄决明素的测定》等2项食品补充检验方法的公告(2019年第46号)食品中大黄酚和橙黄决明素的测定: BJS201916[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- State Administration for Market Regulation. Announcement on Issuing Two food supplementary inspection methods including Determination of chrysophanol and orange cassia in foods (No. 46 in 2019) Determination of chrysophanol and orange cassia in foods: BJS201916 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [15] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局关于发布《食品中大黄酚和橙黄决明素的测定》等2项食品补充检验方法的公告(2019年第46号)食品中番泻苷A、番泻苷B和大黄素甲醚的测定: BJS201917[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- State Administration for Market Regulation. Announcement on Issuing Two food supplementary inspection methods including Determination of chrysophanol and orange cassia in foods (No. 46 in 2019) Determination of sennoside A, sennoside B and emodin methyl ether in foods: BJS201917 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [16] 高涛, 唐华丽, 孙桂菊, 等. 保健食品产业中存在的问题及对策分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(2): 311-321.
- GAO T, TANG H L, SUN G J, et al. Issue and countermeasure in health food industry [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(2): 311-321.
- [17] 王小乔, 许晓辉, 杨志敏, 等. 液质联用高通量技术监测保健食品中非法添加的化学药物[J]. 食品安全导刊, 2020(6):

- 185-187.
WANG X Q, XU X H, YANG Z M, et al. Monitoring of illegally added chemicals in health food by LC-MS with high throughput technology [J]. *China Food Safety Magazine*, 2020 (6): 185-187.
- [18] 人民日报. 致命诱惑! 这些美食竟然有“剧毒”? [N/OL]. (2020-04-22) [2022-02-15] <http://www.ipraction.gov.cn/article/xwfb/tp/202004/309521.html>.
People's Daily Fatal temptation! These delicacies are “highly toxic”? [N/OL]. (2020-04-22) [2022-02-15] <http://www.ipraction.gov.cn/article/xwfb/tp/202004/309521.html>.
- [19] 南方日报. 减肥产品非法添加违禁成分 网购时须擦亮双眼 [EB/OL]. (2016-11-2) [2022-02-15] <http://gd.sina.com.cn/zj/2016-11-02/city-zj-ifxxmyuk5559168.shtml>.
Nanfang Daily. Illegal addition of prohibited ingredients in weight loss products, you must polish your eyes when shopping online [EB/OL]. (2016-11-2) [2022-02-15] <http://gd.sina.com.cn/zj/2016-11-02/city-zj-ifxxmyuk5559168.shtml>.
- [20] 许立, 吴鸳鸯, 寿林均, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥类保健食品中27种违法添加化学药品 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(13): 248-256, 306.
XU L, WU Y Y, SHOU L J, et al. Simultaneous determination of 27 chemical drugs illegally added in slimming health food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(13): 248-256, 306.
- [21] 沈洁. UPLC-MS/MS法同时测定降血脂类和减肥类保健食品中非法添加药物成分 [J]. *山东化工*, 2021, 50(24): 151-153, 156.
SHEN J. UPLC-MS/MS simultaneous determination of illegal drug ingredients in hypolipidemic and weight loss health foods [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2021, 50(24): 151-153, 156.
- [22] 刘子雄, 黄景辉, 谭贵良, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中78种非法添加化学药物 [J]. *现代食品科技*, 2020, 36(12): 283-292.
LIU Z X, HUANG J H, TAN G L, et al. Determination of 78 chemical drugs illegally added in health food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(12): 283-292.
- [23] 李卓, 陈玉龙, 孙晓, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥类保健食品中10种非法添加利尿类及泻下类药物 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(22): 214-220.
LI Z, CHEN Y L, SUN X, et al. Simultaneous determination of 10 diuretics and laxatives illegally added in slimming health foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(22): 214-220.
- [24] 储蓉, 陈丽波, 张斌, 等. 84批减肥类保健食品中非法添加化学物质的数据分析 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(16): 1973-1976.
CHU R, CHEN L B, ZHANG B, et al. Data analysis of illegally adding chemical substances in 84 batches of slimming health foods [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2020, 37(16): 1973-1976.
- [25] 田甜, 覃艳淑, 赵德恩, 等. 食品和保健食品中非法添加药物的筛查探究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(3): 1200-1208.
TIAN T, QIN Y S, ZHAO D E, et al. Research of screening of illegal added drugs in food and health food [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(3): 1200-1208.