

LC-MS/MS 检测保健品中 42 种非法添加物

LCMSMS-649

摘要：本文建立了一种快速检测保健品中 42 种非法添加化学物质高效液相色谱 - 串联质谱法。样品经甲醇萃取后，使用五氟苯基丙基色谱柱（100 mm×2.1 mm，5 μm）分离，以乙腈、20 mmol/L 乙酸铵和 0.1% 甲酸缓冲水溶液为流动相进行梯度洗脱，采用多反应监测模式测定，外标法定量。结果表明：42 种化学物质在 10~1000 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数（ r^2 ）均大于 0.99；检出限和定量限分别为 0.5~10 ng/g 和 1~50 ng/g；42 种化学物质在空白基质中 3 个添加水平下的平均回收率为 80.6%~136.8%，相对标准偏差为 0.41%~13.44%。该方法操作简单，检测覆盖范围广、耗时少、准确度高，适用于保健品中非法添加化学物质的快速筛查和定量分析。

关键词：高效液相色谱 - 串联质谱法 保健品 多反应监测 非法添加物

我国保健品行业发展起始于 20 世纪 80 年代，改革开放之后，国民经济水平不断提高，人们对保健品的需求不断上升。保健品行业经历了 20 世纪 90 年代至 21 世纪初的飞速发展阶段，到近年来的整体市场趋向于更加精细化、更加高品质的发展阶段，同时，

监管新政不断出台，推动行业规范化发展。

目前保健品中非法添加化学物质的问题仍然比较突出，这些非法化学添加物质主要有 6 大类：减肥类、降糖降脂类、降压类、止咳类、精神类和壮阳类。现有非法添加化学物质的检测方法主要有：拉曼光谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法、近红外光谱法以及液相色谱 - 质谱联用法等，高效液相色谱 - 四级杆飞行时

间串联质谱法和高效液相色谱 - 四级杆 / 静电场轨道阱质谱法，但可筛选的化学添加物质数量有限。近些年来国家食品药品监督管理局不断出台关于保健品非法添加的补充检验方法，但是随着不法分子对添加物质和添加手段不断改进，现行方法覆盖范围难以满足市场上保健品非法添加的检测要求。

本文在现行国家标准基础上选择了 6 大类 42 种保健品中常见的非法添加的化学物质作为目标物，采用高效液相色谱 - 串联质谱法建立了一个高通量筛查、定量分析保健品中 42 种非法添加化学物质的方法，用于实际样品检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为

输液泵：LC-30AD×2

在线脱气机：DGU-20A5

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

系统控制器：CBM-20A

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

质谱仪：LCMS-8045

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Restek-Ultra II PFPP（100 mm×2.1 mm，5 μm）

流动相：A 相 -20 mM 乙酸铵水溶液含有 0.1%（体积分数）甲酸；B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40°C

进样体积：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始流动相比比例为 10%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
3.00	泵	B.Conc	20
8.00	泵	B.Conc	75
10.00	泵	B.Conc	95
10.10	泵	B.Conc	10
12.00	控制器	Stop	

LCMS-8045 质谱条件:

离子源: ESI (+)

雾化气流速: 3 L/min

加热气流速: 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 250°C

接口电压: 4 kV

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气流速: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

No.	名称	CAS	保留时间	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	盐酸西布曲明	106650-56-0	10.393	280.15	124.95*	-30	-24	-22
					138.90	-14	-15	-26
2	盐酸 N- 单去甲西布曲明	84467-94-7	8.589	266.2	124.95*	-20	-25	-20
					138.95	-22	-14	-22
3	盐酸 N, N- 双去甲西布曲明	84484-78-6	7.389	252.2	124.90*	-13	-20	-22
					152.90	-13	-9	-18
4	盐酸氯卡色林	616202-92-7	5.003	196.05	129.05*	-21	-29	-23
					144.10	-20	-21	-27
5	奥利司他	96829-58-2	2.530	496.4	319.20*	-14	-13	-23
					160.00	-14	-12	-30
6	酚酞	77-09-8	1.098	319.1	224.95*	-16	-20	-24
					141.00	-16	-40	-26
7	麻黄碱	299-42-3	3.734	166.1	148.10*	-13	-13	-29
					133.05	-13	-21	-24
8	盐酸丁二胍	1190-53-0	3.605	158.15	60.05*	-12	-15	-23
					57.05	-13	-24	-22
9	盐酸二甲双胍	657-24-9	3.327	130.15	71.05*	-14	-21	-29
					60.00	-14	-14	-24
10	盐酸苯乙双胍	114-86-3	3.859	206.15	60.10*	-10	-17	-23
					105.05	-10	-26	-20
11	辛伐他汀	79902-63-9	1.446	419.3	199.05*	-21	-13	-20
					285.05	-21	-11	-20

12	瑞格列奈	135062-02-1	1.528	453.25	230.15*	-13	-28	-23
					162.05	-13	-20	-30
13	盐酸罗格列酮	122320-73-4	1.412	358.1	135.00*	-10	-26	-24
					94.05	-18	-40	-18
14	格列齐特	21187-98-4	1.219	324.1	127.05*	-16	-18	-24
					110.00	-16	-21	-20
15	格列喹酮	33342-05-1	1.329	528.25	403.05*	-26	-13	-20
					385.95	-26	-22	-27
16	甲苯磺丁脲	64-77-7	1.151	271.15	91.00*	-13	-32	-17
					154.95	-14	-16	-29
17	卡托普利	62571-86-2	1.339	218.15	70.05*	-11	-22	-26
					115.95	-11	-12	-22
18	苯磺酸氨氯地平	88150-42-9	4.635	409.15	237.95*	-20	-11	-16
					293.95	-20	-11	-20
19	尼群地平	39562-70-4	1.337	361.15	315.05*	-18	-12	-21
					329.00	-19	-14	-23
20	非洛地平	72509-76-3	1.413	384.1	337.90*	-19	-11	-24
					351.95	-19	-11	-25
21	盐酸哌唑嗪	19216-56-9	3.247	384.15	94.90	-19	-50	-17
					247.00*	-19	-28	-26
22	盐酸可乐定	4205-90-7	4.161	230.15	212.90*	-26	-24	-23
					159.90	-27	-35	-30
23	可待因	76-57-3	3.350	300.2	215.10*	-14	-25	-23
					165.05	-14	-41	-29
24	福尔可定	509-67-1	10.545	399.2	114.00*	-19	-35	-21
					381.15	-19	-25	-26
25	盐酸氯丙那林	3811-25-4	4.331	214.15	153.95*	-11	-16	-29
					196.00	-11	-11	-20
26	盐酸二氧丙嗪	13754-56-8	4.507	317.1	86.05	-15	-23	-17
					272.00*	-16	-20	-28
27	盐酸氟西汀	54910-89-3	6.961	310.2	43.95	-16	-12	-17
					148.00*	-15	-8	-10
28	扎来普隆	151319-34-5	1.171	306.15	236.05	-15	-27	-24
					263.95*	-15	-22	-28
29	丁丙诺非	52485-79-7	5.310	468.2	54.95	-23	-50	-21
					414.05*	-13	-34	-29
30	硝苯地平	21829-25-4	1.263	347.2	315.00*	-10	-8	-22
					254.05	-10	-18	-27

31	烟酸	59-67-6	1.715	124.1	78.00 79.95*	-14 -14	-22 -22	-29 -30
32	西地那非	139755-83-2	2.123	475.2	58.00 100.00*	-24 -23	-44 -29	-24 -19
33	豪莫西地那非	642928-07-2	2.543	489.2	113.05* 98.95	-14 -14	-30 -36	-21 -17
34	枸橼酸羟基豪莫西地那非	139755-85-4	1.583	505.15	99.05 129.00*	-24 -24	-41 -31	-19 -24
35	那莫西地那非	371959-09-0	1.387	460.2	283.00 311.10*	-22 -23	-35 -37	-30 -22
36	红地那非	831217-01-7	4.259	467.2	127.10 297.05*	-13 -13	-32 -41	-24 -30
37	那红地那非	949091-38-7	4.184	453.25	297.10* 166.10	-13 -13	-41 -52	-30 -30
38	伪伐地那非	224788-34-5	1.349	460.25	312.10* 284.05	-23 -23	-42 -37	-21 -30
39	盐酸伐地那非	224785-90-4	2.157	489.25	151.00 312.05*	-24 -14	-46 -40	-28 -21
40	硫代艾地那非	856190-47-1	1.580	505.2	112.95 299.00*	-24 -24	-31 -40	-21 -30
41	他达那非	171596-29-5	1.124	390.2	134.95 268.00*	-19 -19	-20 -14	-26 -18
42	氨基他达那非	385769-84-6	1.087	391.15	262.00 269.10*	-20 -20	-32 -15	-27 -29

注：* 表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

分别准确称取 42 种非法添加化学物质标准品 10 mg（精确至 0.1 mg），置于 10 mL 容量瓶，用甲醇定容，配置成 1 mg/mL 的标准储备液；用甲醇稀释至 1 µg/mL 于 -20°C 避光保存；再用甲醇配制成不同浓度的标准工作液，供上机使用。

1.4 样品前处理方法

准确称取样品约 10 mg，置于 15 mL 聚乙烯离心管中，加入 10 mL 甲醇，超声萃取 30 min，冷却至室温，3500 r/min 离心 3 min，取上清液 1 mL 通过 0.22 µm 滤膜，滤液在 50°C 下使用高纯氮气吹干，用 200 µL 甲醇复溶，转移至样品瓶，供液质检测。

基质匹配样品制备：取空白样品，按上述方法制备空白基质溶液，上机前使用空白基质溶液稀释 42 种化学物质混合标准溶液，制成基质混合标准溶液。

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

本研究对比了 C18 柱，发现在 C18 柱上保留较弱，而 PFPP 柱分子中含有 5 个氟原子，具有较强的氢键作用力和阳离子交换作用力，因此选用 Restek-Ultra II PFPP 液相色谱柱。采用 1.2 所述的梯度洗脱方法，得到的 42 种化学物质的总离子流色谱图如图 1 所示。

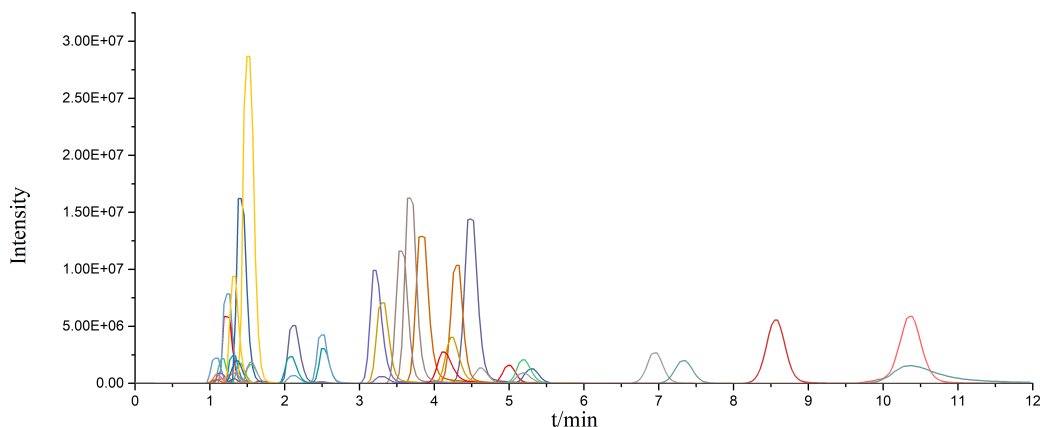


图 1 42 种化学物质的总离子流图

2.2 线性范围

按 1.4 所述方法配制系列基质混合标准溶液，以各化学物质的色谱峰峰面积 (y) 对进样质量浓度 (x, ng/mL) 进行回归计算，42 种化学物质的线性回归方程及相关系数 (r^2) 如表 3 所示。结果表明，42 种化学物质在 10~1000 ng/mL 质量浓度范围内与色谱峰峰面积呈良好的线性关系，相关系数 r^2 均在 0.9903~0.9997。在空白样品中添加系列质量浓度的混合标准溶液，得到检出限 (limits of detection, LOD) 和定量限 (limits of quantification, LOQ)。结果表明，42 种化学物质的 LOD 为 0.5~10 ng/g，LOQ 为 1~50 ng/g，能够满足非法化学添加物质的检测要求。

表 3 校准曲线、检出限和定量限

序号	化合物	线性范围 (ng/mL)	校准曲线	相关系数	检出限 (ng/g)	定量限 (ng/g)
1	盐酸西布曲明	10~1000	$y=78\ 054.6x-171\ 586$	0.9983	0.5	1
2	盐酸 N- 单去甲西布曲明	10~1000	$y=69\ 306.1x+104\ 384$	0.9988	1.0	10
3	盐酸 N, N- 双去甲西布曲明	10~1000	$y=18\ 554.6x+195\ 736$	0.9952	5.0	10
4	盐酸氯卡色林	10~1000	$y=11\ 815.1x+11\ 828.1$	0.9982	5.0	10
5	奥利司他	10~1000	$y=15\ 586.4x+26\ 171.7$	0.9994	0.5	1
6	酚酞	10~1000	$y=17\ 488.0x-80\ 553.2$	0.9997	0.5	1
7	麻黄碱	10~1000	$y=91\ 950.3x+21\ 20340$	0.9907	1.0	10
8	盐酸丁二胍	10~1000	$y=123\ 947x+4\ 742\ 940$	0.9924	0.5	1
9	盐酸二甲双胍	10~1000	$y=42\ 987.8x+1\ 259\ 590$	0.9922	0.5	1
10	盐酸苯乙双胍	10~1000	$y=113\ 464x+4\ 884\ 600$	0.9911	0.5	1
11	辛伐他汀	10~1000	$y=1\ 477.54x+4\ 577.10$	0.9982	5.0	10
12	瑞格列奈	10~1000	$y=215\ 630x+6\ 878\ 780$	0.9996	0.5	1

13	盐酸罗格列酮	10~1000	$y=134\ 866x+4\ 139\ 280$	0.9929	0.5	1
14	格列齐特	10~1000	$y=27\ 296.7x-392\ 677$	0.9995	0.5	1
15	格列喹酮	10~1000	$y=15\ 039.9x-192\ 157$	0.9995	5.0	10
16	甲苯磺丁脲	10~1000	$y=3\ 304.91x-37\ 776.8$	0.9989	10.0	50
17	卡托普利	10~1000	$y=6\ 945.56x-669\ 41.7$	0.9996	10.0	50
18	苯磺酸氨氯地平	10~1000	$y=10\ 526.3x+259\ 934$	0.9989	5.0	10
19	尼群地平	10~1000	$y=1\ 597.96x+16\ 429.5$	0.9981	5.0	10
20	非洛地平	10~1000	$y=9\ 228.80x+72\ 993.8$	0.9966	5.0	10
21	盐酸哌唑嗪	10~1000	$y=66\ 061.2x+2\ 576\ 920$	0.9903	0.5	1
22	盐酸可乐定	10~1000	$y=2\ 944.74x+45\ 751.0$	0.9932	1.0	10
23	可待因	10~1000	$y=3\ 477.02x+89\ 840.4$	0.9934	1.0	10
24	福尔可定	10~1000	$y=53\ 039.8x-40\ 537.6$	0.9957	1.0	10
25	盐酸氯丙那林	10~1000	$y=71\ 140.3x+1\ 008\ 360$	0.9956	1.0	10
26	盐酸二氧丙嗪	10~1000	$y=153\ 185x+844\ 475$	0.9977	1.0	10
27	盐酸氟西汀	10~1000	$y=37\ 021.1x-208\ 802$	0.9996	1.0	5
28	扎来普隆	10~1000	$y=9\ 259.29x-36\ 263.8$	0.9992	1.0	10
29	丁丙诺非	10~1000	$y=14\ 929.4x+132\ 475$	0.9972	5.0	10
30	硝苯地平	10~1000	$y=53\ 814.8x-365\ 761$	0.9987	0.5	1
31	烟酸	50~1000	$y=1\ 126.79x+3\ 641.12$	0.9957	50.0	100
32	西地那非	10~1000	$y=16\ 532.7x+539\ 519$	0.9911	1.0	10
33	豪莫西地那非	10~1000	$y=26\ 074.7x+730\ 380$	0.9926	1.0	10
34	枸橼酸羟基豪莫西地那非	10~1000	$y=16\ 102.4x+367\ 181$	0.9938	1.0	10
35	那莫西地那非	10~1000	$y=6\ 425.55x-39\ 678.9$	0.9995	1.0	10
36	红地那非	10~1000	$y=25\ 242.9x+311\ 344$	0.9960	1.0	10
37	那红地那非	10~1000	$y=20\ 524.2x+335\ 229$	0.9954	1.0	10
38	伪伐地那非	10~1000	$y=57\ 512.4x+971\ 623$	0.9941	1.0	10
39	盐酸伐地那非	10~1000	$y=38\ 123.6x+525\ 248$	0.9961	1.0	10
40	硫代艾地那非	10~1000	$y=15\ 336.8x+465\ 020$	0.9904	1.0	10
41	他达拉非	10~1000	$y=2\ 135.78x+2\ 895.78$	0.9977	1.0	10
42	氨基他达拉非	10~1000	$y=678.36x+3\ 320.78$	0.9972	1.0	10

2.3 重复性

选取 1 µg/g 混合标准溶液，在同一实验条件下连续 10 次平行实验以评价方法稳定性，分别计算保留时间和出峰面积的相对标准偏差。结果表明，42 种化学物质保留时间 RSD 为 0.059% ~ 0.287%，峰面积 RSD 为 0.536% ~ 2.640%，方法稳定性理想。

2.4 加标回收

以空白样品为基质，分别选取低质量浓度（30 ng/g）中质量浓度（600 ng/g）和高质量浓度（1000 ng/g）3 个水平的混合标准溶液，按优化后的实验条件，每个水平做 6 次平行实验，连续 3 d。结果显示，在空白基质中所有化学物质的回收率相对标准偏差（relative standard deviation, RSD）均小于 15%，满足精密度要求。42 种化学物质的平均回收率为 80.6%~136.8%，RSD 为 0.41% ~ 13.44%，方法的随机误差满足测定要求。

表 4 基质加标实验结果 (n=6)

序号	化合物	30 ng/g (%)	600 ng/g (%)	1000 ng/g (%)	序号	化合物	30 ng/g (%)	600 ng/g (%)	1000 ng/g (%)
1	盐酸西布曲明	104.1	109.9	108.2	22	盐酸可乐定	83.1	96.8	97.5
2	盐酸 N-单去甲西布曲明	136.3	106.3	96.4	23	可待因	98.7	112.9	111.6
3	盐酸 N,N-双去甲西布曲明	123.8	110.1	111.1	24	福尔可定	88.5	99.6	96.1
4	盐酸氯卡色林	102.1	101.8	100.6	25	盐酸氯丙那林	99.2	113.2	111.9
5	奥利司他	113.4	108.5	100.1	26	盐酸二氧丙嗪	99.3	103.7	99.3
6	酚酞	101.3	109.9	108.2	27	盐酸氟西汀	93.8	98.6	90.6
7	麻黄碱	81.9	98.4	99.2	28	扎来普隆	103.9	105.1	99.9
8	盐酸丁二胍	90.2	91.1	81.2	29	丁丙诺非	103.5	99.6	87.6
9	盐酸二甲双胍	96.6	105.9	103.0	30	硝苯地平	111.2	105.9	98.9
10	盐酸苯乙双胍	103.6	109.1	110.4	31	烟酸	120.3	107.5	97.6
11	辛伐他汀	80.6	103.2	98.9	32	西地那非	105.6	102.2	99.6
12	瑞格列奈	86.8	101.9	94.2	33	豪莫西地那非	109.5	100.9	99.0
13	盐酸罗格列酮	98.4	98.0	100.7	34	枸橼酸羟基豪莫西地那非	102.5	101.2	104.2
14	格列齐特	117.4	108.1	100.1	35	那莫西地那非	112.8	106.3	98.6
15	格列喹酮	136.8	106.3	93.5	36	红地那非	122.5	107.5	99.9
16	甲苯磺丁脲	91.7	108.5	102.0	37	那红地那非	109.1	102.8	103.5
17	卡托普利	132.6	106.6	99.4	38	伪伐地那非	114.2	103.3	97.9
18	苯磺酸氨氯地平	105.4	103.6	93.5	39	盐酸伐地那非	106.5	99.8	97.6
19	尼群地平	119.9	107.9	113.7	40	硫代艾地那非	100.5	102.7	104.4
20	非洛地平	133.5	103.6	93.9	41	他达拉非	89.9	101.4	100.5
21	盐酸呱唑嗪	125.2	98.8	93.4	42	氨基他达拉非	90.2	104.5	110.6

2.5 实际样品检测

按照上述方法,分别检测了深圳某派出所和某海关送检的多份样品。分析结果表明:送检的保健品中,3份样品检出他达拉非,定量结果分别为 5.5、9.4 和 7.9 mg/g;2份分别检出西布曲明和酚酞,定量结果分别为 74.7 和 586.0 mg/g;1份检出为氟西汀,定量结果为 18.6 mg/g;以上结果均被办案机关依法采信。

■ 结论

本研究建立了 LC-MS/MS 快速筛选和测定保健品中 42 种非法添加化学物质的分析方法。该方法样品前处理简便,分析覆盖范围广、耗时少、准确度高,能满足对保健品中非法添加物质的测定要求。在实际样品的检测中,按照本方法对相关办案机关送检的保健品检测,非法添加的化学物质均被准确筛查和定量检测并出具司法鉴定意见书,所有送检样品的检测结果均被办案机关依法采信。

岛津应用云

