

保健食品中违禁成分非法添加 应用文集



前言

保健食品是指声称具有保健功能或者以补充维生素、矿物质等营养物质为目的的食品。即适宜于特定人群食用，具有调节机体功能，不以治疗疾病为目的，并且对人体不产生任何急性、亚急性或慢性危害的食品。

值得注意的是，保健食品可以声称“保健功能”，而普通食品如果声称保健功能则是违法的。保健食品可以使用列入目录的中药材为原料，其形态可有片剂、胶囊、口服液等多种形式，有严格的摄入量和特定的食用人群，而普通食品则没有这些要求。针对“保健功能”名称表述及其产品功效评价，国家出台一系列的法规来监管。依据 2019 年发布的《保健食品原料目录与保健功能目录管理办法》，保健食品采用保健功能目录管理；相关目录内容参考 2023 年 8 月 15 日，市场监管总局、国家卫生健康委、国家中医药局联合发布的《允许保健食品声称的保健功能目录（非营养素补充剂）（2023 年版）》，《保健食品原料目录 营养素补充剂》（2023 年版）规定；其功能评价应符合《保健食品功能检验与评价技术指导原则（2023 年版）》《保健食品功能检验与评价方法（2023 年版）》《保健食品人群试食试验伦理审查工作指导原则（2023 年版）》等文件规定；这些法规规范了“保健功能”名称表述更加科学严谨，避免与药品的疾病预防、治疗作用混淆，有效地打击了市场上混淆保健食品概念，进行虚假宣传的不法行为。

“保健食品不是药物，不能代替药物治疗疾病”，但是近年来市场上出现一些不法商家在产品中加入未获批准或不符合标准的药物成分，以增强其功效，从而夸大产品效果，提高市场竞争力来吸引消费者，这类物质统称为“违禁成分”。比如：2024 年 1 月市场监督管理总局市场抽检时发现“每粒坚”“中医世家壮阳丹”

“蚁力神”等 12 种标注保健食品的产品，均检出含有“西地那非”成分。2024 年 8 月爆出“减肥咖啡”添加违禁成分“西布曲明”相关警方抓获 23 人。保健食品中的“违禁成分”的非法添加，这种行为不仅违反法律法规，还可能导致消费者的过敏反应、药物相互作用等，对消费者健康构成严重威胁。从法规监管检测层面，国家在《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则（2020 年版）》中“第四部分违禁成分的测定”列出违禁添加物具体成分以及检测方法的参考标准。这些“违禁成分”按其功效分有缓解体力疲劳类 / 提高免疫力类、壮阳类、减肥类、泻下类、辅助降血糖类、改善睡眠类、辅助降血压类、辅助降血脂类、镇痛抗炎类、抗风湿累和止咳平喘类等。其检测方法主要参考国标或国家食品药品监管总局发布的“食品补充检验规定”；主要是 LCMSMS 法。这些品种里缓解疲劳（那非类物质）、致泻类、减肥类、非甾体抗炎类是重点监管的非法添加，但是面对违禁成分的不断翻新，相关监管部门，质检、食药检、第三法、公安以及海关等部门也都在不断推出新的检测方法来应对。

作为全球知名的实验室分析测试产品供应商，岛津致力于提供技术领先的仪器设备及全面可靠的综合方案。因此，特奉上《保健食品中违禁成分非法添加应用文集》，该文集主要分 8 个章节，按照违禁成分功能分类，主要包括减肥类、泄下类、辅助降脂类、降血糖类、降血压类、缓解疲劳类、抗风湿类、止咳平喘类、解热镇痛类、镇定安神类、植物毒素类、食源性兴奋剂等共计 25 篇应用方案，供质检、食药检、第三方、公安和海关等单位相关检测人员参考。

本文集仅供有关人员学习交流使用，不用于任何商业用途。

岛津企业管理（中国）有限公司
分析中心

目 录

前 言.....	1
第 1 章 关于保健食品中的非法添加成分	1
第 2 章 违禁成分的法规介绍	2
第 3 章 违禁成分检测应用方案.....	5
3.1 减肥、缓泻、辅助降血脂类	6
LCMSMS 法测定食品中番泻苷 A、番泻苷 B、大黄素甲醚等成分	7
LCMSMS 法测定功能饮料中双醋酚丁等 19 种化合物.....	11
LCMSMS 法测定减肥类保健品中麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明	14
LCMSMS 法测定减肥类保健品中奥利司他	19
GCMS 法测定减肥食品中 4 种禁用药物成分	22
3.2 辅助降血糖、降血压类	26
LCMSMS 法测定饮料中维达列汀等 22 种降糖类药物	27
LCMSMS 法测定保健食品中二甲双胍等 11 种降糖类药物	34
LCMSMS 法测定保健食品中酚妥拉明等 5 种 α -受体阻断药物	39
3.3 缓解疲劳、增强免疫力类	43
LCMSMS 法测定抗疲劳饮料和补肾药酒中 90 种那非类物质	44
LCMS-QTOF 定性筛查抗疲劳饮料中 90 种那非类物质	61
LCMSMS 法测定食品中的淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素	71
3.4 抗风湿、止咳平喘、解热镇痛类	75
LCMSMS 测定饮料中二氟尼柳等 18 种抗风湿类药物	76
LCMSMS 分析凉茶中吗啡等 22 种止咳平喘药物	83
LCMSMS 分析曲安西龙等 63 种激素	90
LCMSMS 法测定保健品中 3 种雌激素残留	98
3.5 改善睡眠安神类	102
LCMSMS 法测定保健品中阿普唑仑等 7 种镇静类药物	103
LCMSMS 分析保健品中巴比妥类 4 种药物	108
3.6 植物毒素类	112
LCMSMS 分析中药酒剂中东莨菪碱等 24 种生物碱	113
LCMSMS 分析 68 种植物毒素	119
3.7 食源性兴奋剂类	127
LCMSMS 法筛查饮料中 83 种兴奋剂含量	128
LCMSMS 法测定阿替洛尔等 20 种 β 受体阻断剂	141
3.8 违禁成分的综合分析	145
LCMSMS 分析保健食品中 110 种非法添加药物	146
LCMSMS 检测保健品中 42 种非法添加物	162

LCMS-QTOF 快速筛查保健品中非法添加药物.....	169
LCMS-QTOF 快速筛查保健品中 26 种非法添加.....	174
附录 违禁检测项目和岛津仪器应对一览表	183



第 1 章 关于保健食品中的非法添加成分

保健食品是一种特殊的食品，介于一般食品和药品之间，主要包含营养补充剂或者具有一定功效的提取物为主要部分，进而混合和药品类似的辅料制成相关制剂。由于存在某种补充或调节功能，在功能与治疗范畴间存在灰色区域，常有部分非法厂商会添加具有该类功能等效的药物成分来加强其标识功效。根据国家食品药品监督管理局发布的《保健食品注册与备案管理办法》（2016 年 14 号）中明确指出：“第十二条 企业申请保健食品注册时（六）安全性和保健功能评价材料，包括目录外原料及产品的安全性、保健功能试验评价材料，人群食用评价材料；功效成分或者标志性成分、卫生学、稳定性、菌种鉴定、菌种毒力等试验报告，以及涉及兴奋剂、违禁药物成分等检测报告。”因此，对于保健功能食品检测可以分为两部分，保健食品功效成分检测和非法添加成分检测。本文集重点介绍下保健食品中非法添加成分检测。

非法添加常见有两类：一类是药物添加，如降压、降脂等药物；另一类则是以劣质或者其他替代原料，替代原料常见于提取物。非法添加的目的，无外乎于降低产品的生产成本，同时提高产品的治疗功效。对于非法药物添加，由于保健食品是基于功能的产品，为显示其有效性，添加一般会在其有效浓度，多数为微量到常量的水平，同时为增强其功效显示，还存在复合添加的情况。添加的药物往往是常见药物、退市药物或者是前体药物等。保健食品中非法药物添加存在主要的隐患在于剂量不明确、配伍关系不确切、药物来源不明、药物杂质不清晰等情况，对其筛查检测，通常是利用药物功能相关性信息的比对，寻找可能应用的药物成分针对性地检查，但是由于物质的药物活性功能与保健品功效之间不是点对点的关系，因此，为筛查的目标选择带来了难度，需要建立可比较、可验证的检测方案进行筛查发现。

由于保健食品的基质复杂、基体干扰严重，因此对于保健食品中微量甚至痕量非法添加物的分析而言，高效、高选择性和灵敏的分析手段至关重要。检测方法的局限性导致了监管困难，因此迫切需要建立多指标、全方位的检测方法。保健食品依据其具体功效可分为缓解体力疲劳类/提高免疫力类、壮阳类、减肥类、缓泻类、辅助降血糖类、改善睡眠类、辅助降血压类、辅助降血脂类、镇痛抗炎类、抗风湿累和止咳平喘类等等；随着市面上非法添加药物技术的不断提高，单一类别非法添加药物的种类逐渐庞大；更有部分保健食品存在复合添加的现象。因此迫切需求高通量、高效率的检测技术手段，液相色谱-串联质谱技术通过色谱技术实现目标化合物的分离，质谱技术进行定性确认和检测是保健食品非法添加的主要检测手段。该方法又主要分为两种，一是基于标准品的 LCMSMS 定量分析技术，可同时进行已知的多个非法添加物质的同时检测；该技术是目前非法添加药物检测的主要方法，国家市场监督管理总局针对每个类别的非法添加和复合添加颁布了多个食品补充检验方法进行参考。另一类是基于高分辨质谱数据库的 LCMS-QTOF 快速筛查方法，该方法可以在没有标准品的情况下，通过与高分辨数据库对比一级、二级质谱信息快速筛查保健食品中可能存在的非法添加药物。

第 2 章 违禁成分的法规介绍

保健食品作为特殊食品，其声称的保健功能是消费者选择产品的重要参考。2023 年 8 月 15 日，市场监管总局、国家卫生健康委、国家中医药局联合发布的《允许保健食品声称的保健功能目录（非营养素补充剂）（2023 年版）》，明确规定了 24 种声称的保健功能（参考表 1），删除了原来的 27 种保健功能“改善生长发育”、“促进泌乳”、“改善皮肤油分”等 3 种共识度不高、健康需求不明晰的保健功能。

表 1《允许保健食品声称的保健功能目录（非营养素补充剂）（2023 年版）》--24 种声称保健功能

声称保健功能	声称保健功能
1 有助于增强免疫力	13 有助于改善黄褐斑
2 有助于抗氧化	14 有助于改善皮肤水份状况
3 辅助改善记忆	15 有助于调节肠道菌群
4 缓解视觉疲劳	16 有助于消化
5 清咽润喉	17 有助于润肠通便
6 有助于改善睡眠	18 辅助保护胃粘膜
7 缓解体力疲劳	19 有助于维持血脂（胆固醇/甘油三酯）健康水平
8 耐缺氧	20 有助于维持血糖健康水平
9 有助于控制体内脂肪	21 有助于维持血压健康水平
10 有助于改善骨密度	22 对化学性肝损伤有辅助保护作用
11 改善缺铁性贫血	23 对电离辐射危害有辅助保护作用
12 有助于改善痤疮	24 有助于排铅

保健食品中违禁成分的划分，也主要依据其保健功能来进行分类。比如：2012 年 3 月 20 日，国家局发布了《保健食品中可能非法添加的物质名单(第一批)》，涉及减肥、调节血糖、抗疲劳、调节免疫、改善睡眠以及调节血脂等 6 大类 50 余种物质（如表 2）；其相关检测方法主要参考 2009 年 12 月国家食品药品监督管理局发布的《中成药药品检验补充检验方法和检验项目批准件》。

表 2《保健食品中可能非法添加的物质名单(第一批)》（2012 年）非法添加清单及其检测方法

序号	保健功能	可能非法添加物质名称	检测依据
1	声称减肥	西布曲明、麻黄碱、芬氟拉明	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 2006004
2	声称辅助降血糖 (调节血糖)	甲苯磺丁脲、格列苯脲、格列齐特、格列吡嗪、格列喹酮、格列美脲、马来酸罗格列酮、瑞格列奈、盐酸吡格列酮、盐酸二甲双胍、盐酸苯乙双胍	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 2009029
3	声称缓解体力疲劳 (抗疲劳)	那红地那非、红地那非、伐地那非、羟基豪莫西地那非、西地那非、豪莫西地那非、氨基他达拉非、他达拉非、硫代艾地那非、伪伐地那非和那莫西地那非等	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 2008016, 2009030
4	声称增强免疫力 (调节免疫)	PDE5 型（磷酸二酯酶 5 型）抑制剂	
5	声称改善睡眠	地西洋、硝西洋、氯硝西洋、氯氮卓、奥沙西洋、马来酸咪哒唑仑、劳拉西洋、艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑、巴比妥、苯巴比妥、异戊巴比妥、司可巴比妥、氯美扎酮	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 2009024
6	声称辅助降血压 (调节血脂)	阿替洛尔、盐酸可乐定、氢氯噻嗪、卡托普利、哌唑嗪、利血平、硝苯地平	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 2009032

随着违禁成分的不断更新变化,在2020年10月31日,国家市场监督管理总局发布《保健食品理化及卫生指标检验与评价技术指导原则(2020年版)》(以下简称“2020版指导原则”)中“第四部分违禁成分的测定”,列出140种违禁成分主要是缓解疲劳类(90种那非类);减肥、止泻、降脂类(38种);镇痛安神类(22种)。主要变化是违禁成分由50种增至140种,其中那非类增加到90种,还有减肥类种类扩增。

表3“2020版指导原则”-第四部分 违禁成分测定

违禁物质	检测标准(新)
2-羟丙基去甲他达拉非; 2-羟乙基去甲他达拉非; N-苯丙烯基他达拉非; N-丁基他达拉非; N-去甲基西地那非; N-去乙基-N-甲基伐地那非; N-去乙基伐地那非; N-去乙基红地那非; N-叔丁氧羰基-N-去乙基红地那非; N-辛基去甲他达拉非; N-乙基他达拉非; O-去乙基西地那非; 阿伐那非; 艾地那非; 氨基他达拉非; 氨基西地那非; 苯噻啉红地那非; 苯酰胺那非; 吡唑 N-去甲基西地那非; 苄西地那非; 丙氧苯基艾地那非; 丙氧苯基硫代艾地那非; 丙氧苯基硫代豪莫西地那非; 丙氧苯基硫代羟基豪莫西地那非; 丙氧苯基硫代西地那非; 丙氧苯基羟基豪莫西地那非; 丙氧苯基西地那非; 丙氧苯基异丁基艾地那非; 达泊西汀; 二甲基红地那非; 二硫代去甲基卡巴地那非; 二硫代去乙基卡巴地那非; 伐地那非; 伐地那非 N-氧化物; 伐地那非二聚体; 伐地那非哌嗪酮; 伐地那非乙酰基类似物; 桂地那非; 豪莫西地那非; 红地那非; 环戊那非; 卡巴地那非; 硫代艾地那非; 硫代豪莫西地那非; 硫代西地那非; 硫喹那非; 罗地那非碳酸酯; 氯地那非; 米罗那非; 那非乙酸; 那红地那非; 那莫伐地那非; 那莫西地那非; 哌唑那非; 羟基伐地那非; 羟基豪莫西地那非; 羟基红地那非; 羟基硫代伐地那非; 羟基硫代豪莫西地那非; 羟基硫代红地那非; 羟基氯地那非; 庆地那非; 去甲基卡巴地那非; 去甲基硫代西地那非; 去甲基哌嗪基西地那非磺酸; 去甲基他达拉非; 去碳西地那非; 去乙基卡巴地那非; 双氯地那非; 双去碳西地那非; 双酮红地那非; 他达拉非; 他达拉非二氯代杂质; 他达拉非甲基氯化物; 酮红地那非; 脱硫伐地那非; 脱哌嗪基硫代西地那非; 伪伐地那非; 乌地那非; 西地那非; 西地那非 N-氧化物; 西地那非二聚体杂质; 西地那非杂质 12; 西地那非杂质 14; 硝地那非; 亚硝地那非; 乙酰胺基他达拉非; 乙酰伐地那非; 异丁基西地那非。(90种)	国家市场监督管理总局食品补充检验方法(食品中那非类物质的测定 BJS201805);
N,N-双去甲基西布曲明; N-单去甲基西布曲明; 安非他明; 安非他酮; 奥利司他; 苯丙醇胺; 苯扎贝特; 比沙可啶; 苄基西布曲明; 布美他尼; 非诺贝特; 分特拉明; 芬氟拉明; 酚酞; 吠塞米; 氟西汀; 豪莫西布曲明; 甲基安非他明; 甲基麻黄碱; 咖啡因; 利莫那班; 洛伐他汀; 氯代西布曲明; 氯卡色林; 氯噻嗪; 麻黄碱; 普伐他汀; 氢氯噻嗪; 去甲伪麻黄碱; 伪麻黄碱; 西布曲明; 辛伐他汀; 吲达帕胺; 洛伐他汀羟酸; 美伐他汀; 脱羟基洛伐他汀; 烟酸; 匹可硫酸钠。(38种)	食品补充检验方法(食品中西布曲明等化合物的测定 BJS201701)、(食品中匹可硫酸钠的测定 BJS201911)、(保健食品中75种非法添加化学药物检测 BJS201710)
佐匹克隆; 罗通定; 三唑仑; 青藤碱; 咪达唑仑; 劳拉西洋; 氯硝西洋; 阿普唑仑; 扎来普隆; 氯氮卓; 艾司唑仑; 奥沙西洋; 地西洋; 硝西洋; 文拉法辛; 氯苯那敏; 氯美扎酮; 司可巴比妥; 褪黑素; 苯巴比妥; 异戊巴比妥; 巴比妥。(22种)	食品补充检验方法(保健食品中75种非法添加化学药物检测 BJS201710)

此外,国家市场监督管理总局(原国家食品药品监督管理局)还发布了多个违禁成分检测的食品补充检验规定,还有国标、行标也发布相关检测标准,以应对不断市场变化需求。常见的现行法规如表4,按其常见的功能分,涉及的违禁组分的种类有:减肥类、缓泻类、缓解疲劳类、降血糖类、改善睡眠类、降血压类、降血脂类、镇痛抗炎类、抗风湿类和止咳平喘类外,还有食源性兴奋剂类。这些标准检测方法主要使用液相色谱-串联质谱法(LCMSMS法)。其中《食品中那非类物质的测定 BJS201805》中引入LCMSMS法和QTOF(液相色谱-高分辨质谱法),QTOF法用快速的定性筛查,LCMSMS法用于定量分析。《保健食品中75种非法添加化学药物检测 BJS201710》和SN/T 5357-2021《出口保健食品中多类非法添加物的测定 液相色谱-质谱/质谱法》就是涉及多种类的综合筛查方法(LCMSMS法)。

表 4 常见的检测方法参考标准

序号	标准	化合物数目
1	《食品中西布曲明等化合物的测定 BJS201701》	33 种
2	《食品中匹可硫酸钠的测定 BJS202213》	1 种
3	《食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测 BJS201917》	3 种
4	《食品中那非类物质的测定 BJS 201805》	90 种
5	《食品中 5 种 α -受体阻断类药物的测定 BJS201808》	5 种
6	《食品中二甲双胍等非食品用化学物质的测定 BJS 201901》	27 种
7	《饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定 BJS201714》	18 种
8	T/GITU 012-2021 《凉茶中 22 种止咳平喘非法添加物的测定液相色谱-串联质谱法》	22 种
9	《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测 BJS201713》	59 种
10	《保健食品中 75 种非法添加化学药物检测 BJS201710》	33 种
11	SN/T 5357-2021 《出口保健食品中多类非法添加物的测定 液相色谱-质谱/质谱法》	51 种
12	T/CCAA 71-2023 《食品中克仑特罗、克仑丙罗、莱克多巴胺等 24 种食源性兴奋剂的测定液相色谱-质谱/质谱法》	24 种
13	T/CCAA 73-2023 食品中泼尼松、泼尼松龙、甲基泼尼松龙等 34 种食源性兴奋剂的测定 液相色谱-质谱/质谱法	34 种

第 3 章 违禁成分检测应用方案

对于保健食品中微量甚至痕量非法添加物的分析而言，高效、高选择性和灵敏的分析手段至关重要。检测方法的局限性导致了监管困难，因此迫切需要建立多指标、全方位的检测方法。常见的保健食品按类别，可分为减肥类、泄下类、辅助降脂类、降血糖类、降血压类、缓解疲劳类、抗风湿类、止咳平喘类、解热镇痛类等等；除此之外，食品中可能添加的食源性兴奋剂、药酒中可能引入的植物毒素等，也是需要监管的非法添加类别。可以注意到，不同类别的保健食品，其所可能添加的非法物质也按照类别划分，如减肥类保健食品，往往可能添加减肥类非法添加药物，如味塞米、西布曲明等；缓解疲劳类保健食品，可能会添加抗疲劳类非法添加药物，如西地那非。因此，本章首先针对不同类别的非法添加药物，分节归类，整理出关于各类别非法添加相对应的检测方法。近年来，为了规避监管，市面上出现了一些混合添加、复合添加的食品或保健食品，增加了非法添加的监管难度；因此，多类别非法添加的同时检测和筛查需要孕育而生。本章第 8 节整理了保健食品中多类别物质同时检测的应用方案。

非法添加类别化合物成分多，基质复杂。因此，满足高通量需求的质谱检测方法适合于非法添加的检测。常见的非法添加质谱检测方法包括液相色谱-三重四极杆质谱法（LCMSMS）、气相色谱-四极杆质谱法（GCMS）、高分辨液相色谱-四极杆飞行时间质谱法（LCMS-QTOF）等。这其中，LCMSMS、GCMS 法适合于有标准品的非法添加成分定性和准确定量。非法添加物质含有大量极性官能团，在 LCMSMS 上能够更好的电离，因此 LCMSMS 是非法添加药物检测的主要手段，也有部分方案采用 GCMS 法。LCMS-QTOF 法主要用于非法添加成分的快速筛查，其主要优点是可借助数据库，在无需标品的前提下快速进行样品筛查。

本章节共分为 8 小节。前 5 小节分别从减肥、缓泻和辅助降血脂类、辅助降血糖和降血压类、缓解疲劳与增强免疫力类、抗风湿、止咳平喘和解热镇痛类、改善睡眠类等方向归纳了常见保健食品类别中非法添加药物的检测方法。3.6 节是药酒中植物毒素的检测方案。3.7 节归纳了食源性兴奋剂类非法添加的检测方案。3.8 节针对违禁成分复合添加的现象，列举了多类别非法添加同时检测或筛查的方案。

3.1 减肥、缓泻、辅助降血脂类

减肥类保健食品通常是指那些通过调节人体代谢、抑制食欲或促进脂肪燃烧等方式，帮助人们减轻体重的产品。这些产品通常含有天然植物提取物、膳食纤维、维生素和矿物质等成分。常见的成分包括绿茶提取物、左旋肉碱、藤黄果提取物和辣椒素等，它们被认为可以提高新陈代谢率或减少脂肪吸收。此外，一些产品还可能添加益生菌，以改善肠道健康，从而间接支持体重管理。

然而，一些不法商家为了使保健食品达到减肥的功效，向产品中添加非法药物。减肥类保健食品中常见的非法添加药物主要包括西布曲明、芬氟拉明和利尿剂等。这些药物虽然在短期内可能有效帮助减重，但由于其潜在的严重副作用，已被多个国家禁止使用。西布曲明是一种抑制食欲的药物，可能导致心血管问题，如高血压和心率加快。芬氟拉明曾用于减肥，但因其与心脏瓣膜病和肺动脉高压的风险相关而被撤市。利尿剂则通过增加尿液排出暂时降低体重，但可能导致电解质失衡和脱水。

降脂保健食品是指通过调节血脂水平，帮助降低胆固醇和甘油三酯的产品。这些食品通常含有天然成分，如植物甾醇、Omega-3 脂肪酸、膳食纤维和多酚类化合物。植物甾醇能够抑制胆固醇的吸收，从而降低血液中的胆固醇水平。Omega-3 脂肪酸则有助于减少甘油三酯，并改善心血管健康。膳食纤维，如燕麦中的 β -葡聚糖，可以通过增加胆固醇的排泄来降低其水平。此外，某些降脂保健食品还可能含有抗氧化剂，如维生素 E 和 C，以保护心血管系统免受氧化应激的损害。

降脂类保健食品中常见的非法添加药物主要包括他汀类药物和贝特类药物。这些药物通常用于治疗高胆固醇和高甘油三酯血症，但由于其可能引发严重副作用，被禁止在保健食品中添加。他汀类药物，如辛伐他汀和阿托伐他汀，通过抑制胆固醇合成酶来降低胆固醇水平。然而，它们可能导致肌肉损伤、肝功能异常等副作用。贝特类药物，如非诺贝特，主要用于降低甘油三酯，但可能引发肝损伤和胆结石。

减肥降脂类非法添加药物的检测主要有 LCMSMS 法和 GCMS 法。参考的标准主要有《食品中西布曲明等化合物的测定 BJS201701》、《食品中匹可硫酸钠的测定 BJS202213》、《食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测 BJS201917》。本章汇总了部分减肥降脂类非法添加药物应用方案，供相关检测人员参考。

LCMSMS 法测定食品中番泻苷 A、番泻苷 B、大黄素甲醚等成分

摘要: 本文使用岛津液相色谱三重四极杆质谱仪, 配备全新 RX 离子源, 建立了食品中番泻苷 B 等非法添加成分的测定方法。食品经提取后上机, 外标法定量。在指定的条件下, 番泻苷 B 等 3 种组分在指定浓度范围内线性良好, 检出限为 0.01~0.02 $\mu\text{g/mL}$; 使用全新 RX 源配备 Corespray 技术, 茶饮料基质加标样本连续进样 200 针 RSD 为 2.4%~3.0%, 重复性良好。分别进行 0.2 和 1.0 mg/kg 的加标回收测试, 回收率为 93.1~101.2%。本方法快速、有效, 准确, 可用于食品中番泻苷 B 等 3 种非法添加成分的测定。

关键词: 三重四极杆 RX 源 番泻苷

番泻苷是一种从番泻叶中提取的蒽醌类化合物, 具有显著的泻下作用。它通过刺激肠道蠕动和增加肠道液体分泌来促进排便, 常用于治疗便秘。大黄素甲醚是从大黄中提取的另一种蒽醌类化合物, 具有抗炎、抗菌和抗氧化等多种生物活性。它在中药中常用于治疗消化系统疾病和炎症性疾病。这两种化合物在传统医学中有着广泛应用, 但使用时需要注意剂量, 过量使用会导致腹泻和电解质失衡。食品和保健食品中, 番泻苷与大黄素甲醚属于非法添加成分, 宣称减肥或具有减肥功效的食品和保健食品需注意是否添加此类成分。BJS 201917《食品中番泻苷 A、番泻苷 B、大黄素甲醚的测定》规定了使用 LC-MS/MS 方法测定食品中番泻苷与大黄素甲醚非法添加的方法。

岛津最新推出的 LCMS-8050RX 采用全新设计的加热 ESI 离子源, 具有出色的脱溶剂能力和离子化效率。CoreSpray 技术以更高的流量和更优异的传热效率, 显著提升雾化效果和均匀性, 可促进各种目标化合物的离子化。搭载岛津独有的 IonFocus 离子聚焦技术, 更有效地将离子导入质谱仪中, 从而进一步提升分析性能和数据质量。本文参照 BJS 201917, 使用 LCMS-8050RX 建立了食品中番泻苷等非法添加成分的测定方法。方法快速、有效, 准确, 供相关人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050RX 联用系统。具体配置为:

系统控制器	: CBM-40lite	脱气机	: DGU-40A _{5R}
输液泵	: LC-40D XS×2	自动进样器	: SIL-40C XS
柱温箱	: CTO-40S	色谱工作站	: LabSolutions Ver.5.128

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST C ₁₈ 柱 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm) (P/N 227-30001-02);		
流动相	: A-0.02%甲酸水溶液; B-甲醇		
流速	: 0.2 mL/min	柱温	: 40°C
进样体积	: 2 μL		
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 25%, 时间程序见表 1。		

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pump	B.Conc	45
5.00	Pump	B.Conc	55
6.00	Pump	B.Conc	95
9.00	Pump	B.Conc	95

9.10	Pump	B.Conc	25
12.00	Control	Stop	

质谱条件

离子化模式	: ESI -	接口电压	: -3 kV
雾化气流速	: 3.0 L/min	接口温度	: 300 °C
加热模块温度	: 400 °C	干燥气流速	: 3 L/min
DL 温度	: 250 °C	加热气流速	: 5 L/min
MRM 参数	: 见表 2	扫描模式	: 多反应监测(MRM)

表 2. MRM 参数

序号	名称	保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	番泻苷 B	4.01	861.4	386.2*	24	42	16
				699.2	20	29	24
2	番泻苷 A	5.00	861.4	386.2*	24	42	16
				699.2	20	29	24
3	大黄素甲醚	8.57	283.3	240.1	14	26	22
				183.2	13	53	16

*代表定量离子对。

1.3 标准品及样品制备

样品前处理：按照 BJS 201917《食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测定》标准方法中前处理步骤进行。

混合标准中间液：按照 BJS 201917《食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测定》标准方法中标准溶液配制步骤进行。

混合标准工作溶液：以空白基质提取液为溶剂，配制浓度为 0.1、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 μg/mL 的系列基质匹配混合标准工作溶液。

2. 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

本方法在 12 min 内完成 3 种目标物的分析，番泻苷 A 和番泻苷 B 分离良好；分析效率优于标准 28 min 的分析时间。

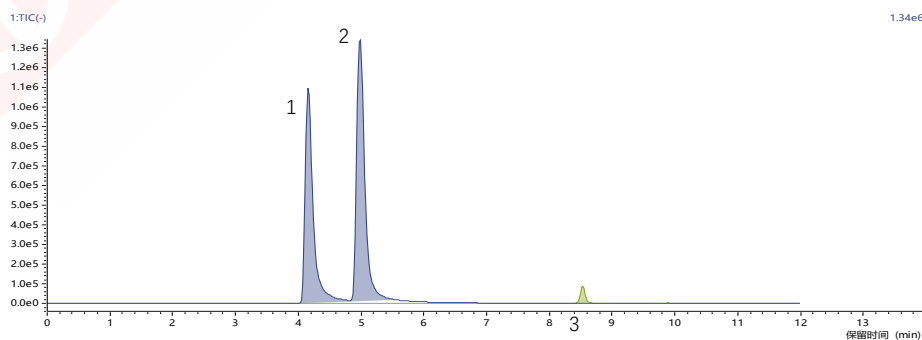


图 1. 番泻苷等 3 种组分 MRM 色谱图 (1、番泻苷 B; 2、番泻苷 A; 3、大黄素甲醚)

2.2 雾化气流量的优化

RX 源雾化气气体流量可进一步提升。本实验优化了雾化气流量在 1~7 L/min 下三个化合物的响应情况。结果如图 2，番泻苷 A 和番泻苷 B 在 4 L/min 下响应最强，大黄素甲醚在 2 L/min 下响应最强，综合考虑本

例中雾化气流量设置为 3 L/min。RX 源更宽的雾化气流量选择范围，可以进一步提升部分化合物的灵敏度。

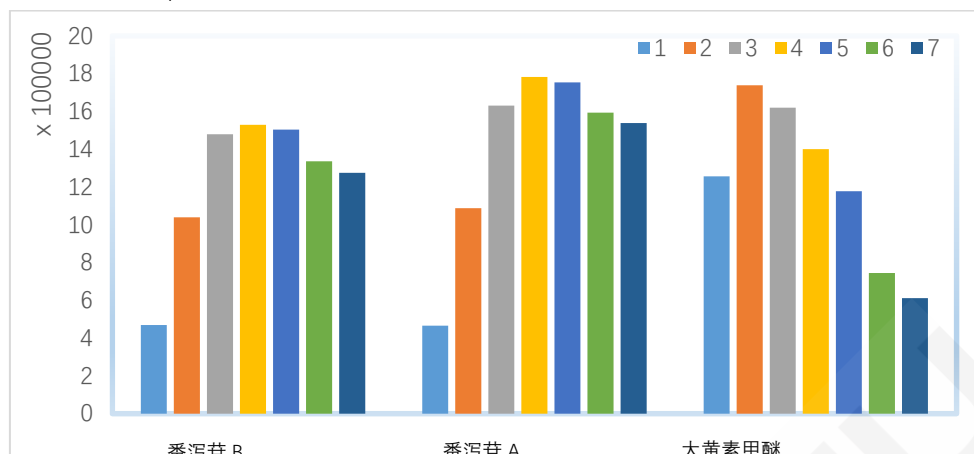


图 2. 不同雾化气流量下番泻苷 B 等 3 种组分响应对比

2.3 稳定性

RX 源配备全新 Corespray 技术，雾化气流更加稳定，在复杂样本基质中实现更加稳定的离子化。本实验考察了茶饮料基质下，番泻苷 B 等 3 种组分加标样本连续进样 200 针重复性，如图 3 所示，3 种组分 RSD 为 2.4%~3.0%，表明使用全新的 RX 源即使在复杂基质下多针运行依次保持良好的重复性。

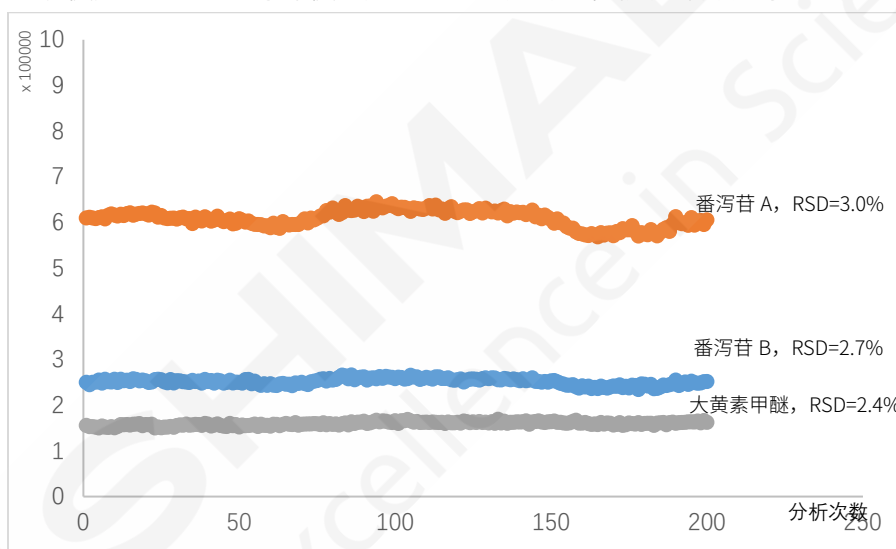


图 3. 茶饮料基质中番泻苷 B 等 3 种组分连续进样 200 针重复情况

2.4 方法学考察

2.4.1 校准曲线与检出限

采用外标法建立校准曲线，结果如表 3 所示。3 种组分在指定浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.998。仪器检出限为 0.01~0.02 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 3. 化合物校准曲线信息

序号	化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 r^2	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	番泻苷 B	0.1~8	0.999	0.02
2	番泻苷 A	0.1~8	0.999	0.01
3	大黄素甲醚	0.1~8	0.998	0.01

2.4.2 样品和加标回收测试

按照 1.2 中的分析条件和 1.3 中前处理方法对某茶饮料进行分析和加标回收测试，结果如表 4 所示。各组分别进行不同浓度的加标回收测试，平行 3 次，回收率为 93.1~101.2%，重复性为 1.48~2.69%。

表 4. 样品和加标回收测试结果 (n=3)

序号	化合物	样品浓度 (mg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
1	番泻苷 B	N.D.	0.2	96.2	2.29
			1.0	93.1	1.48
2	番泻苷 A	N.D.	0.2	99.0	2.69
			1.0	99.3	2.38
3	大黄素甲醚	N.D.	0.2	101.2	2.50
			1.0	98.3	1.99

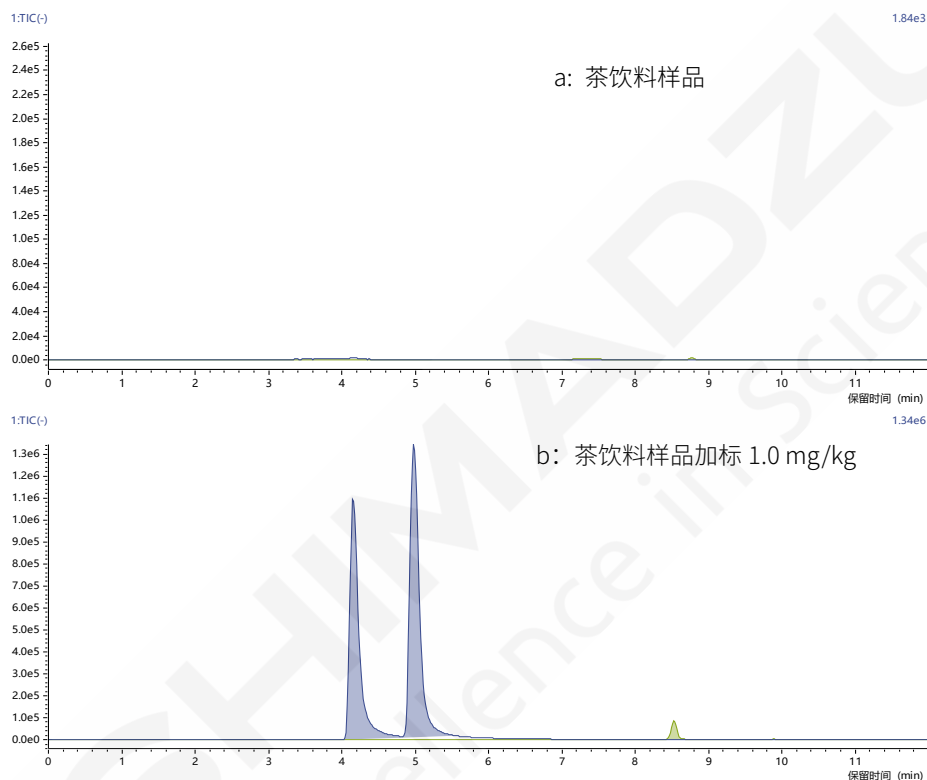


图 4. 样品色谱图 (a:茶饮料样品; b:茶饮料样品加标 1.0 mg/kg)

3. 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050RX 联用系统,建立了食品中番泻苷 B 等 3 种组分的测定方法。番泻苷 B 等 3 种组分在指定浓度范围内,相关系数大于 0.998,异构体分离度良好且分析效率优于标准;重复性、回收率的考察均满足标准 BJS 201917《食品中番泻苷 A、番泻苷 B、大黄素甲醚的测定》要求;可用于食品非法添加检测的参考。

LCMSMS 法测定功能饮料中双醋酚丁等 19 种化合物

摘要: 本文建立了功能饮料中双醋酚丁等 19 种化合物的检测方法。参照 BJS 202209 食品补充检验方法, 采用岛津 Shim-pack Scepter C8 色谱柱进行分离, 采用岛津液相色谱 - 质谱联用仪 LCMS-8050 进行检测分析。结果显示, 19 个化合物峰型良好, 灵敏度高。该方法可为饮料等食品中双醋酚丁等 19 种化合物的检测提供参考。

关键词: 双醋酚丁等 19 种化合物 饮料 LCMSMS

1. 实验部分

1.1 实验仪器

Shimadzu LC-30AD 与 LCMS-8050 联用系统

1.2 分析条件

UHPLC 条件

色谱柱: Shim-pack Scepter C8 (1.9 μ m, 2.1 \times 50mm; P/N: 227 - 31033 - 03)

流速: 0.3mL/min

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样量: 5 μ L (Co - injection: 20 μ L 水)

流动相: A: 0.1%甲酸水; B: 0.1%甲酸乙腈

梯度程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pump	B.Conc	10
8.00	Pump	B.Conc	70
12.00	Pump	B.Conc	95
17.00	Pump	B.Conc	95
17.10	Pump	B.Conc	10
20.00	Control	Stop	

质谱条件

离子化模式	: ESI 正负离子同时扫描	接口电压	: 4 kV (+) 和-3KV (-)
雾化气流速	: 3.0 L/min	接口温度	: 300 $^{\circ}$ C
加热模块温度	: 400 $^{\circ}$ C	干燥气流速	: 3 L/min
DL 温度	: 250 $^{\circ}$ C	加热气流速	: 5 L/min
MRM 参数	: 见表 2	扫描模式	: 多反应监测(MRM)

MRM 参数

No.	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	阿米洛利	229.9	171.1*	-11	-17	-10
			143.2	-13	-18	-22
2	茶碱	181.3	124.2*	-12	-21	-10
			96.2	-13	-18	-22
3	纳曲酮	342.3	324.2*	-12	-21	-10
			270.20	-12	-28	-11
4	氨苯蝶啶	254.1	237.1*	-12	-26	-14
			195.1	-12	-31	-19

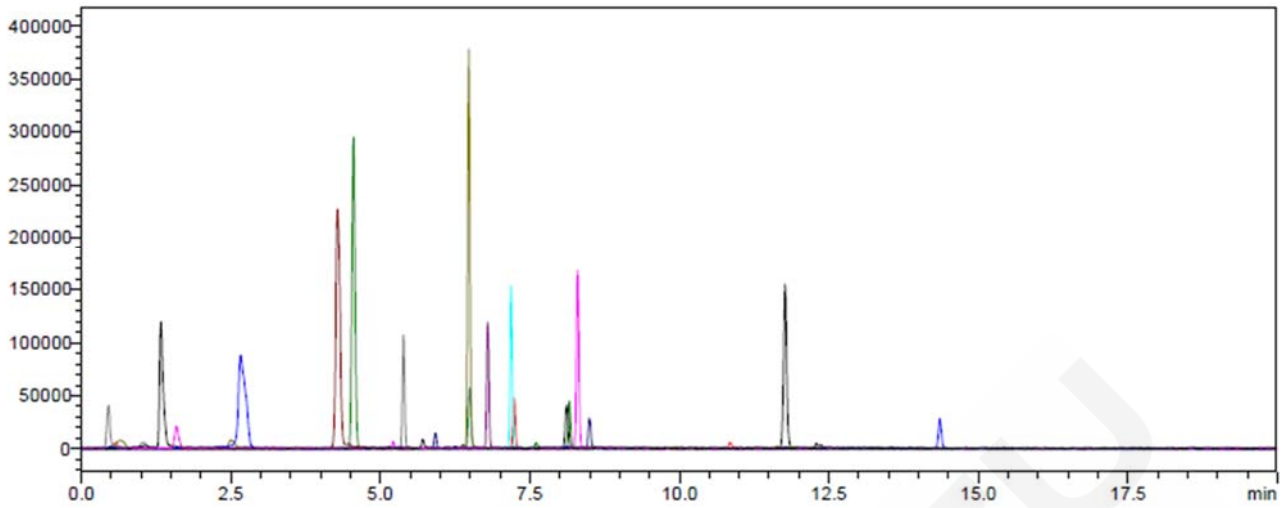
5	脱乙酰比沙可啶	278.1	184.2*	-13	-20	-18
			167.2	-13	-37	-16
6	苯甲吗酮	192.1	117.1*	-12	-21	-11
			134.3	-20	-19	-22
7	西酞普兰	325.2	109.1*	-15	-26	-16
			262.2	-15	-20	-11
8	氯苯丁胺	184.3	125.0*	-12	-21	-20
			167.2	-13	-11	-17
9	苯佐卡因	166.1	138.1*	-11	-15	-28
			94.2	-11	-20	-20
10	帕罗西汀	330.1	192.2*	-16	-21	-11
			151.1	-16	-24	-13
11	舍曲林	306.3	275.2*	-11	-13	-18
			159.1	-11	-27	-14
12	奈法唑酮	471.3	275.2*	-16	-27	-28
			247.2	-17	-35	-14
13	螺内酯	341.3	107.1*	-12	-30	-10
			186.9	-24	-23	-10
14	双醋酚钠	402.1	224.1*	-14	-22	-22
			266.2	-19	-12	-11
15	新利司他	402.1	160.2*	-18	-23	-15
			177.9	-13	-12	-10
16	拖吡酯	340.2	264.1*	-16	-10	-15
			281.9	-13	-14	-17
17	依他尼酸	300.9	242.9*	20	16	28
			206.9	19	28	22
18	大黄素	268.9	224.8*	17	26	15
			241.0	17	27	25
19	唑尼沙胺 ^a	210.8	119.0*	24	14	12
			147.1	26	10	16

1.3 样品前处理

精密称取 1.0g 饮料于 50mL 离心管中，加入 50% 甲醇溶液（含 0.1% 甲酸）20mL，超声提取 10 分钟，冷却至室温，转移至 25mL 容量瓶中，用 50% 甲醇溶液（含 0.1% 甲酸）定容至刻度，摇匀，取 5mL 溶液 4000r/min 离心 5min，精密吸取 1mL 离心后的上清液，加醇稀释至 2mL，涡旋混匀后过 0.22 μ m 聚四氟乙烯微孔滤膜，待 LC-MS/MS 分析。

2. 实验结果

2.1 标准品溶液的 MRM 色谱图



双醋酚丁等 19 种化合物基质标液（标准品用空白基质稀释）的 MRM 色谱图（2 $\mu\text{g/L}$ ）

3. 结论

本文建立了饮料中双醋酚丁等 19 种化合物的检测方法。参照 BJS 202209 食品补充检验方法，采用岛津 Shim-pack Scepter C8 色谱柱进行分离，采用岛津液相色谱-质谱联用仪 LCMS-8050 进行检测分析。结果显示，19 个化合物峰型良好，灵敏度高。该方法可为饮料等食品中双醋酚丁等 19 种化合物的检测提供参考。

LCMSMS法定测定减肥类保健品中麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定减肥类保健品中非法添加麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 3 min 内实现快速分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析, 因此可以快速、准确地测定麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明。这 3 种物质的线性良好, 相关系数均大于 0.999; 不同浓度的精密度实验结果表明: 其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.03~0.28%和 0.44~2.87%间, 仪器精密度良好; 麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的检出限分别为 0.02、0.01 和 0.01 $\mu\text{g/L}$, 定量限分别为 0.07、0.05 和 0.05 $\mu\text{g/L}$; 样品加标回收率为 79.0~116.1%。

关键词: 非法添加 减肥类保健品 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

盐酸芬氟拉明是一种化学合成的食欲抑制剂, 人服用后会引发头晕、嗜睡、抑郁; 近年还发现它会对人体神经系统造成损伤, 使服用者心脏瓣膜出现异常。因此, 美国食品与药物管理局(FDA)和我国卫生部都已明确规定禁止在减肥食品和药物中添加盐酸芬氟拉明。盐酸西布曲明是一种中枢神经抑制剂, 具有兴奋、抑食等作用, 它有可能引起血压升高、心率加快、厌食、失眠、肝功能异常等危害严重的副作用, 也是近年来一种减肥新药, 国外规定须在医生指导下使用, 按处方药管理。麻黄碱是易制毒物质, 根据《危险化学品安全管理条例》和《易制毒化学品管理条例》受公安部门管制, 此外, 麻黄碱为似肾上腺素药, 能兴奋交感神经、松弛支气管平滑肌、收缩血管, 有显著的中枢兴奋作用, 属于国际奥委会严格禁止的兴奋剂。然而, 目前有些中药减肥保健品的生产厂家却在产品中非法掺入西药盐酸芬氟拉明、盐酸西布曲明和麻黄碱。这种行为不仅违反了食品卫生法规, 对消费者健康的危害也极大。为此, 建立减肥保健品中芬氟拉明、西布曲明和麻黄碱的准确、快速的检测方法势在必行。

测试这些物质常用的分析方法主要为气相色谱法, 液相色谱法以及联用技术。由于中药保健品中化学成分复杂, 单独依靠色谱行为难以进行可靠的定性分析。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用, 建立了测定减肥类保健品中非法添加麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的方法, 此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高, 供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D. \times 50 mmL., 1.6 μm

流动相: A—10mM 乙酸铵+0.1%甲酸水溶液; B—乙腈

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 5 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
1.00	Pumps	Pump B Conc.	90
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
1.60	Pumps	Pump B Conc.	20
3.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI，正离子扫描
 离子源接口电压：4.5 kV
 雾化气：氮气 3.0 L/min
 干燥气：氮气 15 L/min
 碰撞气：氩气
 脱溶剂管温度：250 °C

加热模块温度：400 °C
 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 驻留时间：30 ms
 延迟时间：3 ms
 MRM 参数：MRM 分组采集，见表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	麻黄碱	166.2	148.1*	-21	-15	-28
			117.1	-21	-22	-23
2	芬氟拉明	232.2	159.1*	-26	-22	-29
			187.1	-26	-14	-19
3	西布曲明	280.1	125.0*	-20	-24	-24
			139.1	-20	-17	-27

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制：

将 1000 mg/L 的标准溶液，用流动相（50%乙腈-10 mM 乙酸铵+0.1%甲酸）逐级稀释，麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明浓度为 50、10、5、1、0.5 和 0.1 µg/L 的标准工作液。

样品前处理方法：将样品研细混匀，称取 0.3g 置于 50 mL 样品瓶中，加入 50 mL 流动相（乙腈与 10 mM 乙酸铵+0.1%甲酸体积比为 50:50），超声提取 10 min，静置分层，取 1 mL 上清液至 25 mL 容量瓶中，用流动相定容。经 0.22 µm 微孔滤膜过滤后，用液质分析。

2、结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

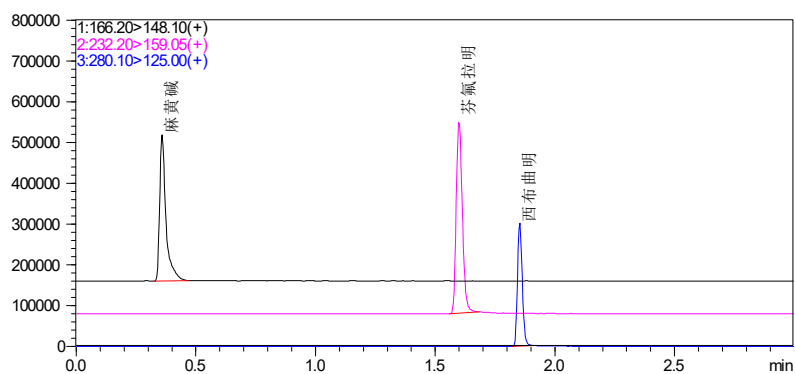


图 1 20 µg/L 混合标准样品的 MRM 色谱图

2.2 线性关系

将浓度为 0.1, 0.5, 1, 5, 10 和 50 µg/L 麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2 所示。在 0.1~50 µg/L 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

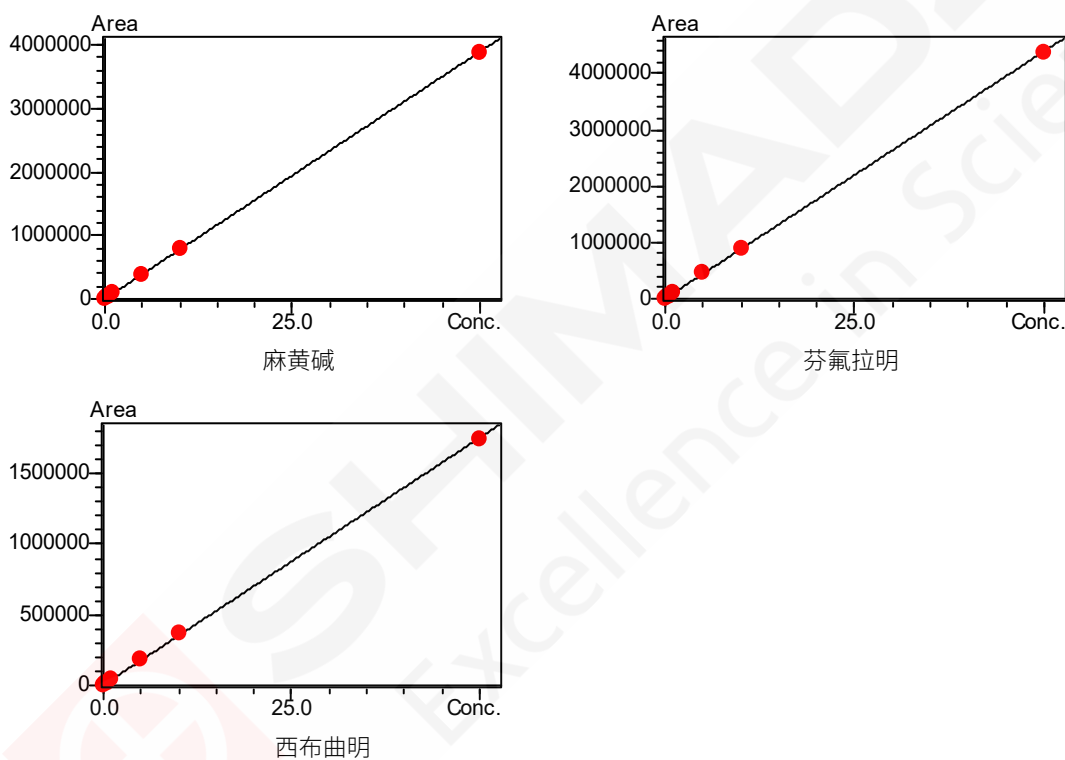


图 2 3 种物质标准工作曲线

表 3 3 种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R
1	麻黄碱	$Y = (77843.1)X + (1691.44)$	0.9999
2	芬氟拉明	$Y = (87694.1)X + (7373.35)$	0.9999
7	西布曲明	$Y = (34995.6)X + (3701.15)$	0.9999

2.3 检出限和定量限

配制 0.1 µg/L 的混合标样 7 份，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量限 $LOQ = 4 \times MDL$ 。测定结果如表 4 所示：

表 4 3 种物质的检出限和定量限

No.	名称	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差(S)	检出限($\mu\text{g/L}$)	定量限($\mu\text{g/L}$)
1	麻黄碱	0.10	0.006	0.02	0.07
2	芬氟拉明	0.10	0.004	0.01	0.05
3	西布曲明	0.10	0.004	0.01	0.05

2.4 精密度实验

平行配置如表 5 浓度的混合标液各 6 份, 依次进样。3 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03 ~ 0.28% 和 0.44 ~ 2.87% 之间, 仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	RSD% (0.5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	麻黄碱	0.13	2.44	0.10	0.44	0.06	0.93
2	芬氟拉明	0.15	2.87	0.28	0.97	0.04	0.59
3	西布曲明	0.05	2.79	0.07	1.17	0.03	1.01

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法, 样品中添加混合标样, 加标含量如表 6, 各平行 4 次。测试结果显示: 减肥药的样品加标回收率在 79.0~116.1% 之间; 具体结果如表 6。减肥药基体空白的色谱图如图 3 所示, 减肥药的加标样品色谱图如图 4 所示。

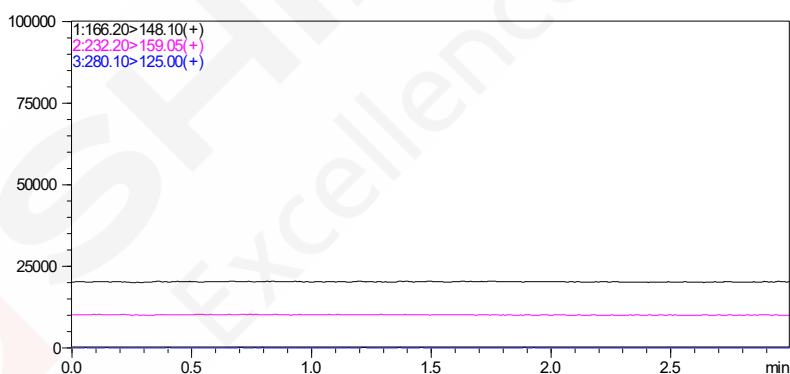


图 3 减肥药基体空白色谱图

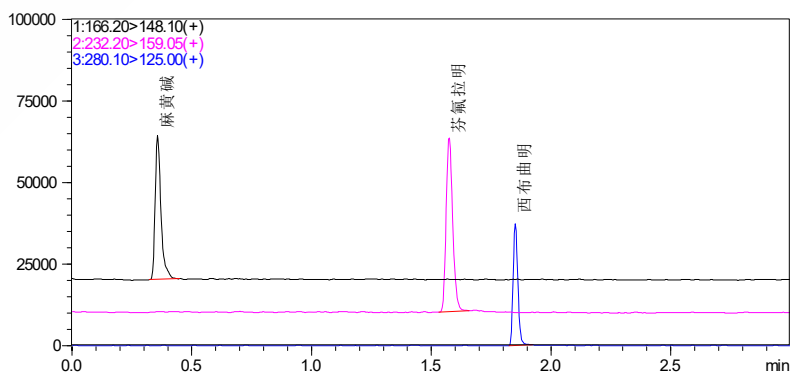
图 4 2 $\mu\text{g/L}$ 样品基质加标样色谱图

表 6 加标样的回收率结果 (n=4)

No.	样品名称	测量值 (μg/L)			回收率 (%)		
		0.1 μg/L	2 μg/L	20 μg/L	0.1 μg/L	2 μg/L	20 μg/L
1	麻黄碱	0.09	1.81	15.8	92.0	90.6	79.0
2	芬氟拉明	0.10	2.32	19.2	101.0	116.1	96.1
3	西布曲明	0.09	2.15	18.4	85.0	107.6	92.0

3. 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定减肥类保健品中非法添加的麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明。3 种物质的线性良好, 相关系数均大于 0.999。麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明的仪器检出限分别为 0.02、0.01 和 0.01 μg/L, 定量限分别为 0.07、0.05 和 0.05 μg/L; 基质加标回收率在 79.0~116.1%之间。此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高, 可作为减肥制剂中非法添加麻黄碱、西布曲明和芬氟拉明的有效检测方法。

LCMSMS法测定减肥类保健品中奥利司他

摘要: 本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用建立一种外标法测定减肥类保健品中奥利司他的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 4 min 内实现快速分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析, 因此可以快速、准确地测定奥利司他。奥利司他的线性良好, 相关系数均大于 0.9999; 不同浓度的精密度实验结果表明: 其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.23 ~ 0.47% 和 1.03 ~ 2.00% 之间, 仪器精密度良好; 奥利司他的检出限为 0.02 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 0.08 $\mu\text{g/L}$; 样品加标回收率为 93.6 ~ 111.5% 之间。

关键词: 减肥类保健品 奥利司他 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

奥利司他是近年来研发用于减肥的新药, 它是长效的特异性胃肠道脂肪酶抑制剂, 能竞争性抑制摄入脂肪的吸收, 从而能有效减轻体重。尽管这种药物的减肥效果明显, 但所带来的不良反应也应引起消费者的关注。国家药品不良反应监测中心和美国食品药品监督管理局 (FDA) 都发布指出, 服用减肥药奥利司他轻者可能出现便秘、腹痛、腹泻、头晕、月经紊乱、皮疹等不良反应, 严重者会引发结肠癌和乳腺癌的危险, 如若消费者在不知情和未按药物处方的情况下长期服用, 更会严重影响身体健康。因此, 建立一种检测方法来监控不法厂商在减肥类保健品中非法添加奥利司他是十分必要的。

目前, 国内外报道的检测方法有 HPLC 法, HPLC-MS 法, HPLC-MS/MS 法和 GC-MS/MS 法等方法。因此, 本文参考相关文献, 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用, 建立了减肥类保健品中奥利司他的分析方法, 此方法采用外标法, 操作简单, 分析快速、选择性强和灵敏度高, 供相关检测人员参考。

1、实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

流速: 0.4 mL/min

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0
mmI.D. \times 50 mmL., 1.6 μm

进样体积: 5 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

流动相: 甲醇: 10mM 乙酸铵水溶液 (90:10)

洗脱方式: 等度洗脱

质谱条件

离子源: ESI, 正离子扫描

脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

离子源接口电压: 4.5 kV

加热模块温度: 450 $^{\circ}\text{C}$

雾化气: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气: 氮气 15 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

MRM 参数：MRM 分组采集，见表 1

表 1 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
奥利司他	496.4	319.2 [*]	-14	-14	-23
		160.2	-14	-14	-28

1.3 样品制备

标准溶液配制：用甲醇配制 1000 mg/L 的标准溶液，用甲醇稀释成 0.2、0.5、1、5、20、50 和 200 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度的标准工作液。

样品前处理方法：称取样品 0.50 g，置 50 mL 塑料离心管中，加入 25 mL 甲醇，超声 30 min，然后以 10000 rpm 转速离心 10 min，取上清液，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后，用液质分析。

2、结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

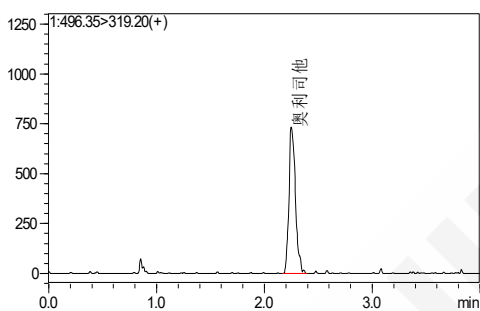


图 1 0.5 $\mu\text{g/L}$ 标准样品的 MRM 色谱图

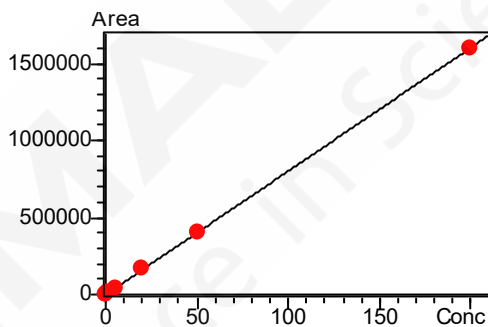


图 2 奥利司他的工作曲线

2.2 线性关系

将浓度为 0.2、0.5、1、5、20、50 和 100 $\mu\text{g/L}$ 奥利司他的标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 2 所示。奥利司他的线性方程为 $Y = (8031.38)X + (-498.341)$ ，相关系数为 0.9999，线性良好。

2.3 检出限和定量限

配制 7 份标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量限 $LOQ = 4 \times MDL$ 。测定结果如表 2 所示：

表 2 奥利司他的检出限和定量限

名称	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差(S)	检出限($\mu\text{g/L}$)	定量限($\mu\text{g/L}$)
奥利司他	0.2	0.007	0.02	0.08

2.4 精密度实验

配制如表 3 浓度的标液，平行进样 6 次。奥利司他的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.23 ~ 0.47% 和 1.03 ~ 2.00% 之间，仪器精密度良好。

表 3 奥利司他的保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	RSD% (0.5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	2.250	3,329	2.264	34,576	2.272	384,817
2	2.261	3,288	2.250	35,577	2.274	391,025
3	2.245	3,391	2.252	34,556	2.273	379,791
4	2.251	3,339	2.253	34,612	2.278	381,038
5	2.267	3,327	2.263	34,327	2.281	382,874
6	2.272	3,337	2.269	35,171	2.277	385,020
RSD %	0.47	2.00	0.34	1.35	0.23	1.03

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法, 样品中添加标液, 加标含量如表 4。测试结果显示: 减肥药的样品加标回收率在 93.6 ~ 111.5%之间; 具体结果如表 4。样品基体空白色谱图与加标样的色谱图如图 3 ~ 4 所示。

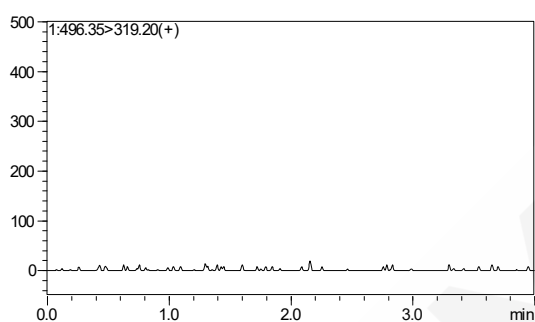


图 3 减肥药样品的色谱图

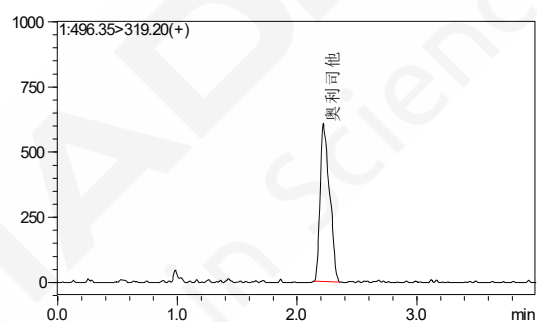


图 4 减肥药加标样 (0.025 mg/kg) 的色谱图

表 4 加标样的回收率结果

样品名称	样品浓度 (mg/kg)	加标样的回收率%		
		0.025 mg/kg	0.25 mg/kg	2.5 mg/kg
减肥药	ND	94.2	93.6	111.5

注: N.D.表示未检出

3. 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定测定减肥类保健品中奥利司他的方法。奥利司他的线性良好, 相关系数均大于 0.9999; 检出限分别为 0.02 $\mu\text{g/L}$ (0.001 mg/kg), 定量限分别为 0.08 $\mu\text{g/L}$ (0.004 mg/kg); 对减肥药基质进行加标, 其加标回收率在 93.6~111.5%之间。实验结果表明该方法灵敏度高, 岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用可以满足减肥类保健品中奥利司他的检测需求。

GCMS 法测定减肥食品中 4 种禁用药物成分

摘要: 本文使用岛津气质联用仪 GCMS-QP2020 NX, 建立了减肥食品中西布曲明等 4 种禁用药物成分含量的检测方法。样品用甲醇超声萃取, 经滤膜过滤后, 使用 GCMS 进行检测。各目标组分方法线性、重复性、回收率良好。在 0.2~5.0 mg/L 浓度范围内, 线性相关系数在 0.997 以上。取浓度为 0.2 mg/L 的标准溶液, 连续进样 6 次, 峰面积的相对标准偏差均小于 4%。在 20 mg/kg 加标水平下, 回收率在 102~115% 之间。本方法操作简单, 可为减肥食品中禁用药物成分的测定提供参考。

关键词: 气相色谱质谱联用法 减肥食品 禁用药物

食品中的减肥成分主要有食品抑制剂、吸收抑制剂和代谢促进剂三类。其中问题最多的是食品抑制剂。食品抑制剂也称作食欲抑制剂, 包括苯丙胺、马引哚等拟儿茶酚胺类递质药物以及西布曲明、芬氟拉明等拟 5-羟色胺神经递质类药物。食用含有禁用药物成分的减肥食品可能会导致人失眠, 易怒, 易疲劳, 胃肠功能紊乱, 血压异常, 也可能会引发肝肾脏疾病甚至癌症等。

目前减肥食品中禁用药物成分的测试方法有很多, 包括分光光度法、毛细管电泳法等筛选方法, 以及气液相、气液相色谱质谱联用法等定量方法。相较其它测试方法, 气液相色谱质谱联用法定性定量准确, 抗干扰能力强。

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气质联用仪, 建立减肥食品中 4 种禁用药物成分的检测方法, 方法操作简单, 重复性好, 可用于测定减肥食品中西布曲明等 4 种化合物的含量。

1. 实验部分

1.1 仪器

气质联用仪: GCMS-QP2020 NX

1.2 分析条件

色谱柱: SH-Rxi-5Sil MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm

柱温程序: 100°C(1 min)_15°C/min_250°C_25°C/min_300°C(4 min)

进样口温度: 320°C

离子源温度: 230°C

载气控制方式: 恒线速度, 41.1cm/sec

接口温度: 320°C

进样方式: 分流进样 (5:1)

检测器电压: 调谐电压+0.2 kV

离子化方式: EI

采集模式: Scan&SIM, 具体参数见表1。

2. 样品前处理

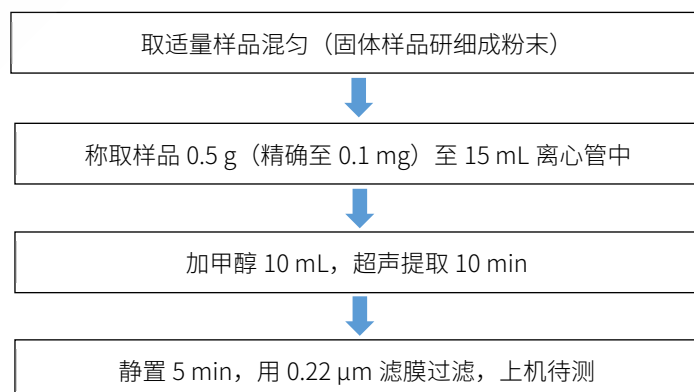


图 1. 样品前处理流程图

3. 结果与讨论

3.1 标准品图谱

4 种禁用药物混合标准溶液色谱图见图 2，质量色谱图见图 3（西布曲明、芬氟拉明和去氢表雄酮浓度均为 0.2 mg/L，氟西汀为 1.0 mg/L）。相关化合物信息见表 1。

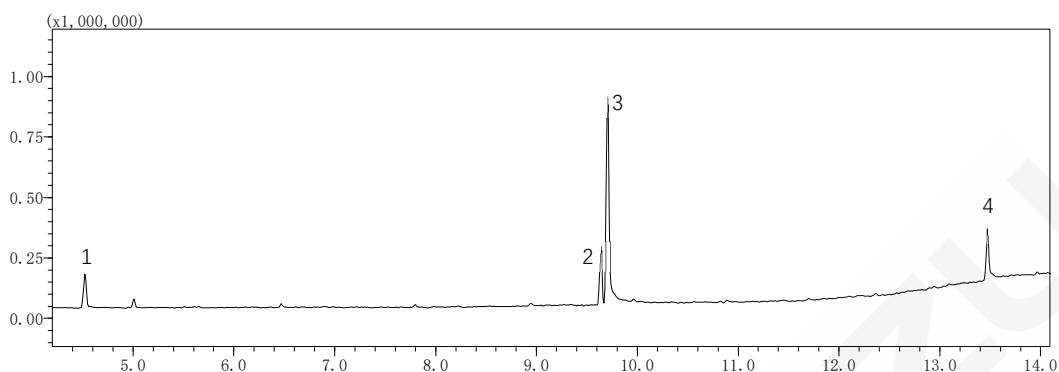


图 2. 4 种禁用药物标准溶液色谱图

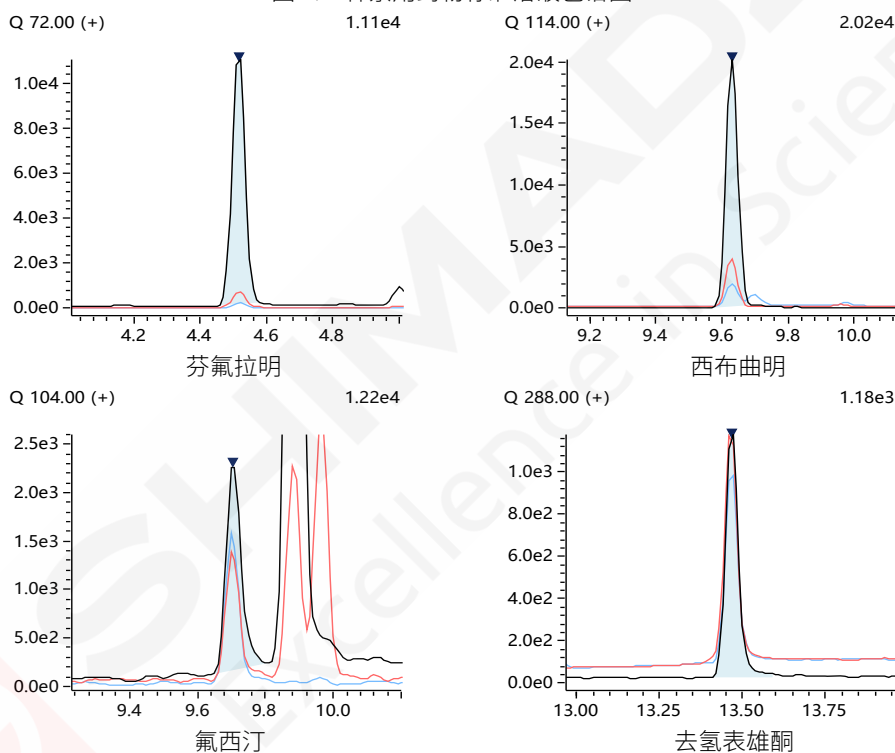


图 3. 4 种禁用药物成分质量色谱图

表 1. 化合物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	芬氟拉明	Fenfluramine	458-24-2	4.154	72	159、216
2	西布曲明	Sibutramine	106650-56-0	9.631	114	72、115
3	氟西汀	Fluoxetine	54910-89-3	9.706	104	148、309
4	去氢表雄酮	Prasterone	53-43-0	13.467	288	255、270

3.2 标准曲线和检出限

用甲醇为溶剂，配制浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg/L 的标准曲线溶液（氟西汀为 1、2.5、5.0、10 和 25 mg/L），考察各化合物校准曲线回归方程的相关系数。根据 0.2 mg/L（氟西汀为 1 mg/L）标准溶液谱图，并以 3 倍信噪比计算仪器检测限。各化合物标准曲线见图 4，线性相关系数和仪器检出限见表 2。

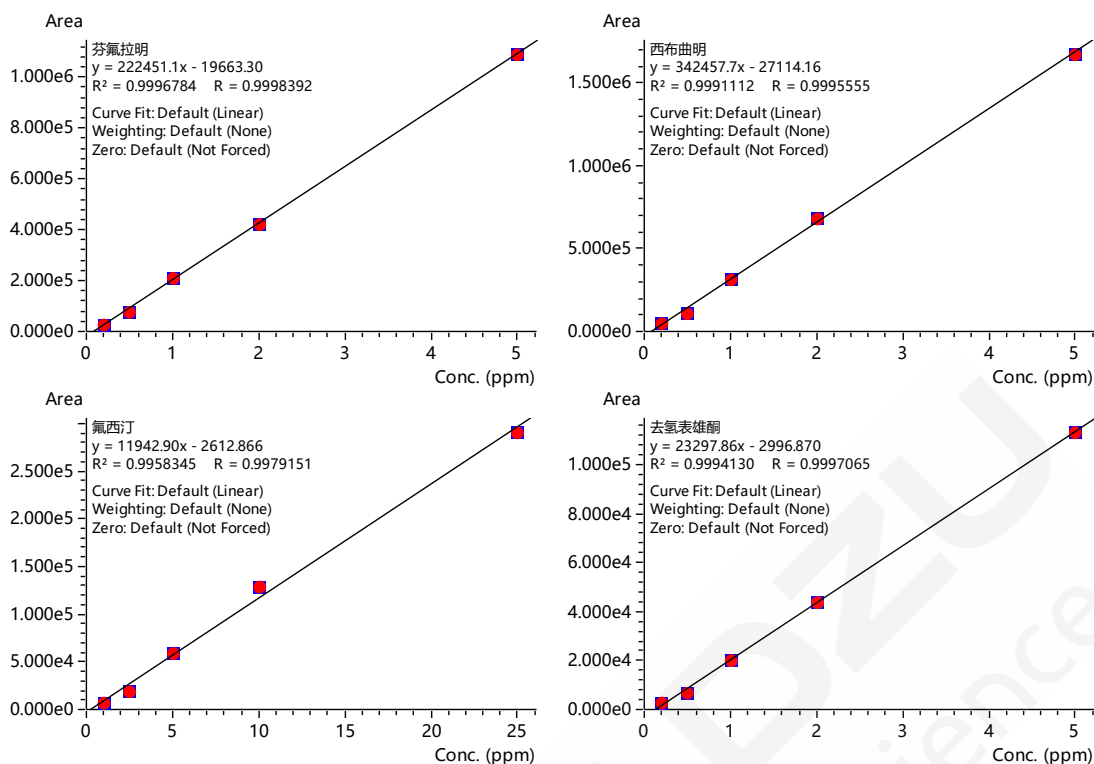


图 4.4 种禁用药物组分标准曲线

表 2.4 种禁用药物组分标准曲线信息和仪器检出限

No.	化合物名称	相关系数	仪器检出限 (mg/L)
1	芬氟拉明	0.9998	0.003
2	西布曲明	0.9995	0.001
3	氟西汀	0.997	0.094
4	去氢表雄酮	0.9997	0.003

3.3 重复性测试

取浓度为 0.2 mg/L 的标准溶液（氟西汀 1.0 mg/L），重复进样 6 次，考察仪器的重复性。重复性结果见表 3。

表 3. 重复性结果

No	化合物名称	峰面积						RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	
1	芬氟拉明	31096	30264	30253	29437	29479	30208	2.0
2	西布曲明	49753	48391	48576	48310	48270	49622	1.4
3	氟西汀	6750	7103	7114	6961	7432	7318	3.4
4	去氢表雄酮	2796	2818	2839	2734	2767	2907	2.1

3.4 回收率测试

取空白样品进行加标回收实验，按图 1 进行前处理，做 3 个平行样。回收率结果见表 4。

表 4. 回收率结果

No.	化合物名称	加标量 (mg/kg)	加标样测得值 (μg/kg)			平均回收率 (%)
			1	2	3	
1	芬氟拉明	20	22.77	23.27	22.42	114.1
2	西布曲明	20	23.14	22.68	22.05	113.1

3	氟西汀	100	102.47	104.91	100.62	102.7
4	去氢表雄酮	20	22.85	22.95	22.02	113.0

3.5 样品测定

称取某品牌的减肥饮品 0.5 g, 按照图 1 前处理步骤处理并测定。样品中未检出目标物, 色谱图见图 5。

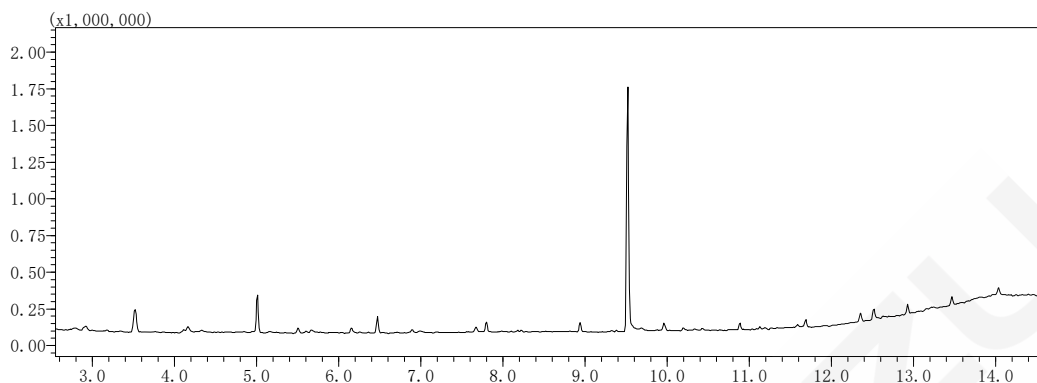


图 5. 测试样品色谱图

4. 结论

采用岛津气质联用仪 GCMS-QP2020 NX 建立了减肥食品中西布曲明等 4 种禁用药物成分的检测方法。各目标组分方法线性、重复性、回收率良好。在 0.2~5.0 mg/L 浓度范围内, 线性相关系数在 0.997 以上。取浓度为 0.2 mg/L 的标准溶液, 连续进样 6 次, 峰面积的相对标准偏差均小于 4%。在 20 mg/kg 加标水平下, 回收率在 102~115%之间。本方法操作简单, 可为减肥食品中禁用药物成分的测定提供参考。

3.2 辅助降血糖、降血压类

降糖类保健食品是指那些通过调节血糖水平，帮助预防或管理高血糖的产品。这些食品通常含有天然成分，如苦瓜提取物、肉桂、铬、和膳食纤维等。苦瓜提取物被认为具有类似胰岛素的作用，可以帮助降低血糖水平。肉桂则可能通过改善胰岛素敏感性来辅助血糖控制。铬是一种微量元素，参与碳水化合物代谢，有助于维持正常的血糖水平。此外，膳食纤维，如洋车前子壳，能够减缓碳水化合物的吸收，从而平稳血糖波动。某些降糖保健食品还可能含有抗氧化剂，以减少糖尿病相关的氧化应激。

降糖保健食品中常见的非法添加药物主要包括二甲双胍和磺脲类药物。这些药物通常用于糖尿病的临床治疗，但由于其可能引发严重副作用，被禁止在保健食品中添加。二甲双胍是一种常用的口服降糖药，通过减少肝糖输出和提高外周组织对胰岛素的敏感性来降低血糖。然而，它可能导致胃肠不适和乳酸酸中毒等副作用。磺脲类药物，如格列本脲，通过刺激胰岛素分泌来降低血糖，但可能引发低血糖和体重增加。

降压类保健食品是指那些通过调节血压水平，帮助预防或管理高血压的产品。这些食品通常含有天然成分，如钾、钙、镁、欧米伽-3 脂肪酸和多酚类化合物。钾有助于平衡体内的钠含量，从而降低血压。钙和镁则通过促进血管舒张和改善血管功能来辅助降压。欧米伽-3 脂肪酸，常见于鱼油中，能够减少血管炎症和改善血液流动。此外，多酚类化合物，如绿茶中的儿茶素和葡萄中的白藜芦醇，具有抗氧化作用，有助于保护心血管系统。某些降压保健食品还可能含有大蒜提取物和辅酶 Q10，这些成分被认为有助于改善心脏健康。

降压类保健食品中常见的非法添加药物主要包括利尿剂和 β -受体阻滞剂。这些药物通常用于高血压的临床治疗，但由于可能引发严重副作用，被禁止在保健食品中添加。利尿剂，如氢氯噻嗪，通过促进钠和水的排泄来降低血压，但可能导致电解质失衡和脱水。 β -受体阻滞剂，如美托洛尔，通过减慢心率和降低心输出量来控制血压，但可能引发疲劳、心动过缓和呼吸困难。

降血糖类、降血压类违禁物质检测方法参考国家局发布的食品补充检验方法《食品中二甲双胍等非食品用化学物质的测定 BJS 201901》；《食品中 5 种 α -受体阻断类药物的测定 BJS201808》；《保健食品中 75 种非法添加化学药物的检测 BJS 201710》等。这些检测主要为 LCMSMS 法。本章汇总了部分降糖降压类违禁药物的应用方案，供相关检测人员参考。

LCMSMS 法测定饮料中维达列汀等 22 种降糖类药物

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液相色谱质谱联用仪 (LCMS-8050) 开发了饮料等食品中 22 种非法添加物的检测方法。实验结果表明, 在 5-100 ng/mL 浓度范围内, 方法线性良好, 线性相关系数在 0.9973-0.9999 之间。曲线各标点准确度在 86.9-113.7%之间。10 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.02-0.07%和 1.31-4.62%之间, 方法精密度良好。0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 和 5 $\mu\text{g/mL}$ 三个不同浓度加标回收率在 86.3-105.8%之间, 平行三份样品的相对标准偏差(RSD%)在 1.1-4.6%之间。该方法简单、方便、高效, 适用于饮料等食品中 22 种非法添加物的检测。

关键词: LCMS-8050 食品 非法添加物

现阶段, 市场中声称有辅助降血糖、降血脂等功能的食品及保健食品琳琅满目, 越来越多的消费者也开始食用这些食品以改善身体状况。某些商家由于利益驱使, 选择在食品中添加违禁药物来达到提高其产品功能性的目的, 这种行为违反了《中华人民共和国食品安全法》, 会给人民群众的身体健康带来很大的安全隐患。因此对食品中非法添加物质进行快速准确地检测有着重要的意义。

目前, 保健食品中非法添加物的研究比较常见, 但饮料、茶叶、酒等普通食品没有引起足够的重视。本文采用岛津三重四极杆液质联用仪LCMS-8050, 建立了饮料中22种非法添加物的分析方法, 供相关检测人员参考, 为国家食品质量标准的提高提供依据。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统, 具体配置为:

系统控制器: CBM-20A	脱气机: DGU-20A _{5R}
输液泵: LC-30AD \times 2	自动进样器: SIL-30ACMP
柱温箱: CTO-30A	色谱工作站: LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: RRHD SB-C18 (100 mm \times 2.1 mm I.D., 1.8 μm)

流动相: A 相-0.1%甲酸水; B 相-乙腈 流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$ 进样器温度: 15 $^{\circ}\text{C}$

进样量: 2 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	5
17.00	Pumps	Pump B Conc.	98
24.00	Pumps	Pump B Conc.	98
24.10	Pumps	Pump B Conc.	5
29.00	Controller	Stop	

LCMS-8050 质谱条件:

离子源: ESI, 正、负离子模式同时采集 加热模块温度: 400°C
 雾化气: 氮气 3.0 L/min 接口温度: 350°C
 干燥气: 氮气 10.0 L/min 扫描模式: 多反应监测(MRM)
 加热气: 空气 10.0 L/min MRM 参数: 见表 2
 DL 管温度: 300°C

表 2. MRM 参数

No.	名称	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	维达列汀	274901-16-5	304.4	154.3*	-12.0	-17.0	-15.0
				97.3	-12.0	-30.0	-18.0
2	罗格列酮	122320-73-4	358.0	135.3*	-24.0	-26.0	-26.0
				119.3	-24.0	-48.0	-22.0
3	西他列汀	486460-32-6	407.9	235.3*	-28.0	-18.0	-24.0
				193.3	-28.0	-26.0	-20.0
4	吡格列酮	111025-46-8	357.1	134.3*	-24.0	-27.0	-26.0
				119.3	-24.0	-44.0	-22.0
5	格列吡嗪	29096-61-9	445.8	103.2*	-34.0	-42.0	-18.0
				167.2	-34.0	-29.0	-16.0
6	甲苯磺丁脲	64-77-7	271.3	91.2*	-20.0	-29.0	-18.0
				74.3	-20.0	-14.0	-14.0
7	达格列净	461432-26-8	426.9	249.4*	-16.0	-14.0	-16.0
				191.3	-16.0	-25.0	-20.0
8	卡格列净	842133-18-0	461.9	191.3*	-16.0	-35.0	-12.0
				147.4	-17.0	-34.0	-29.0
9	妥拉磺脲	1156-19-0	311.9	115.4*	-16.0	-17.0	-22.0
				91.2	-16.0	-32.0	-16.0
10	瑞格列奈	135062-02-1	453.3	230.5*	-17.0	-29.0	-15.0
				86.3	-17.0	-26.0	-16.0
11	格列齐特	21187-98-4	323.9	127.3*	-22.0	-19.0	-12.0
				110.3	-22.0	-22.0	-22.0
12	格列波脲	26944-48-9	366.8	152.3*	-14.0	-21.0	-30.0
				170.4	-14.0	-19.0	-32.0
13	格列本脲	10238-21-8	493.9	169.2*	-18.0	-35.0	-17.0
				369.4	-18.0	-15.0	-17.0
14	那格列奈	105816-04-4	317.9	166.3*	-12.0	-13.0	-10.0
				120.3	-16.0	-23.0	-24.0

15	格列美脲	93479-97-1	490.9	126.3*	-19.0	-26.0	-22.0
				352.5	-25.0	-15.0	-16.0
16	曲格列酮	97322-87-7	441.8	165.3*	-13.0	-24.0	-16.0
				219.4	-16.0	-13.0	-23.0
17	格列喹酮	33342-05-1	528.0	403.5*	-36.0	-14.0	-19.0
				386.5	-36.0	-23.0	-27.0
18	莫格他唑	331741-94-7	517.3	186.3*	-20.0	-25.0	-12.0
				292.4	-20.0	-16.0	-19.0
19	GW501516	317318-70-0	454.1	257.4*	-17.0	-29.0	-17.0
				188.3	-30.0	-55.0	-15.0
20	氯磺丙脲	94-20-2	275.1	190.3*	30.0	18.0	20.0
				126.2	30.0	26.0	24.0
21	醋磺己脲	968-81-0	323.4	134.3*	16.0	28.0	25.0
				198.3	16.0	19.0	13.0
22	环格列酮	74772-77-3	332.5	289.5*	17.0	19.0	14.0
				150.2	16.0	35.0	15.0

注：*表示定量离子

1.3 标准品溶液制备

混合标准储备液：精密称取表 2 中 22 种非法添加物标准品各 5 mg，用甲醇定容至 100 mL 容量瓶中，制得 50 µg/mL 的混合标准储备液。

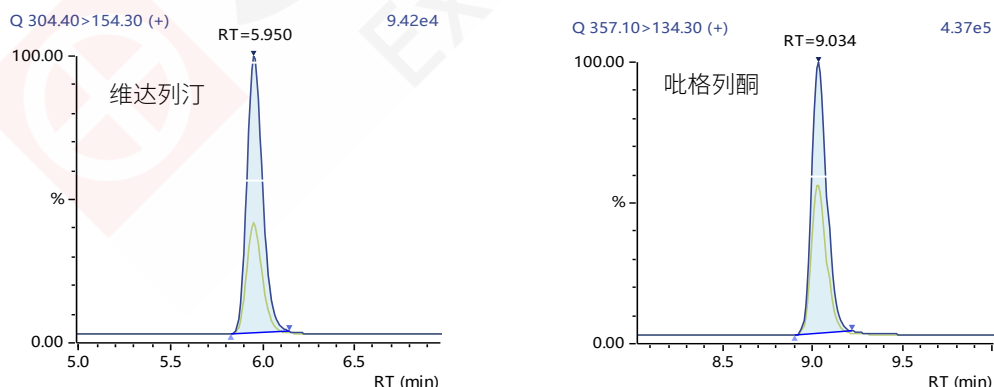
混合标准系列工作溶液：从上述储备液中移取适量，用甲醇配制成 5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 标准系列工作溶液。

1.4 样品前处理

准确称取 1 mL 试样至 50 mL 离心管中，加入甲醇 45 mL，涡旋混匀 2 分钟，超声处理 20 分钟，取出，放冷，用甲醇定容至 50 mL，以 10000 转/分的速率离心 10 分钟，将上清液过 0.22 µm 滤膜过滤，取滤液上机。

2. 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图



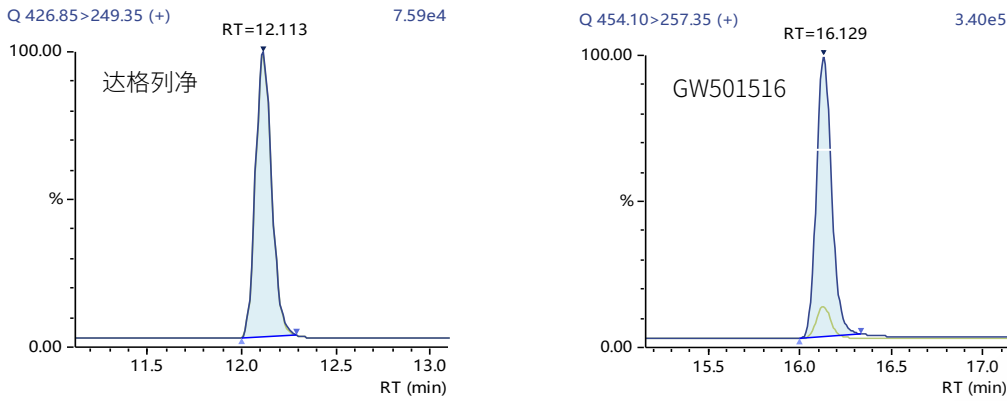


图 1. 部分标准品溶液 (5 ng/mL) MRM 色谱图

2.2 线性范围

将 1.3 中制备的 5、10、20、50、100 ng/mL 标准系列工作溶液，取 2 μ L 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，使用外标法拟合工作曲线。标准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、判定系数 R^2 等结果见表 3。

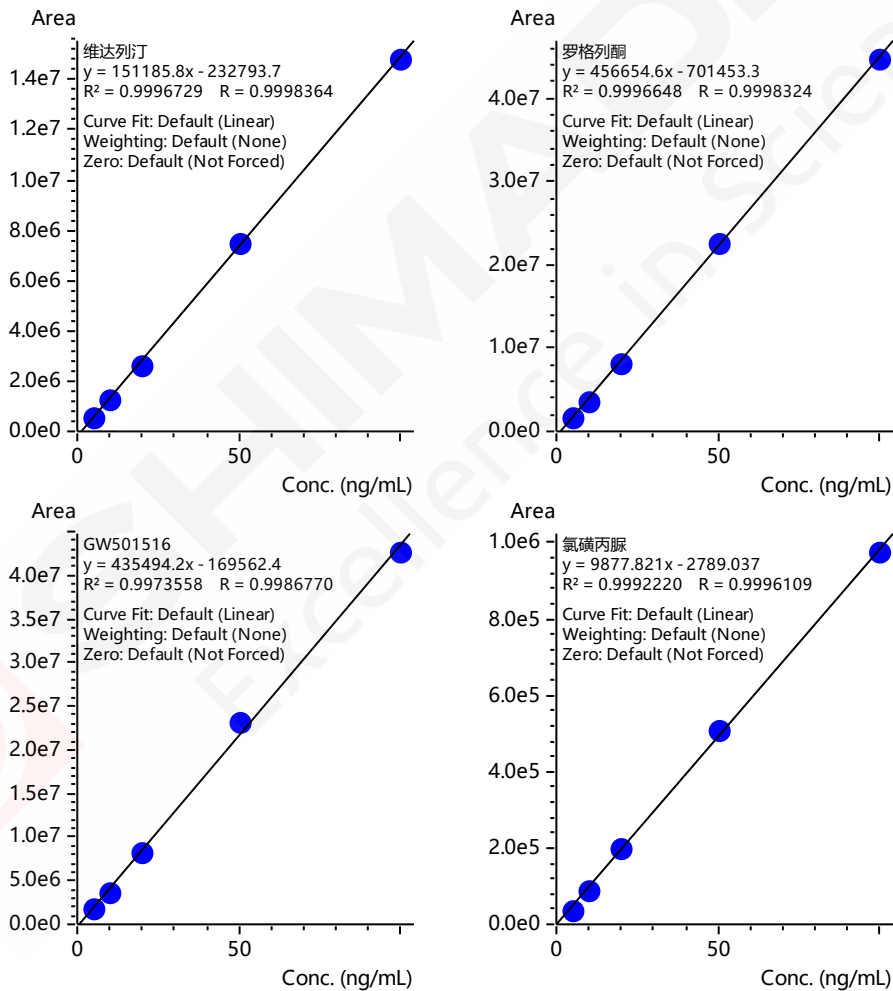


图 2. 部分化合物工作曲线

表 3. 校准曲线信息

No.	化合物	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	判定系数 R ²
1	维达列汀	5-100	96.0-104.7	0.9997
2	罗格列酮	5-100	95.9-103.4	0.9997
3	西他列汀	5-100	95.8-103.3	0.9996
4	吡格列酮	5-100	96.4-112.2	0.9999
5	格列吡嗪	5-100	89.7-109.5	0.9978
6	甲苯磺丁脲	5-100	90.5-105.2	0.9977
7	达格列净	5-100	87.2-110.0	0.9973
8	卡格列净	5-100	94.7-101.3	0.9998
9	妥拉磺脲	5-100	91.2-103.8	0.9992
10	瑞格列奈	5-100	93.8-113.7	0.9997
11	格列齐特	5-100	86.9-104.7	0.9988
12	格列波脲	5-100	94.8-104.0	0.9985
13	格列本脲	5-100	91.2-103.9	0.9975
14	那格列奈	5-100	92.1-105.0	0.9980
15	格列美脲	5-100	94.5-110.2	0.9982
16	曲格列酮	5-100	89.3-107.1	0.9973
17	格列隆酮	5-100	90.8-105.3	0.9973
18	莫格他唑	5-100	98.4-101.9	0.9999
19	GW501516	5-100	87.5-106.8	0.9975
20	氯磺丙脲	5-100	97.0-103.0	0.9992
21	醋磺己脲	5-100	95.3-104.3	0.9982
22	环格列酮	5-100	90.8-111.0	0.9999

2.3 重复性考察

10 ng/mL 浓度对照品溶液, 连续进样 6 次, 考察保留时间和峰面积的重复性, 结果如下表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.02-0.07%和 1.31-4.62%之间, 方法精密度良好。

表 4. 10 ng/mL 标准溶液连续 6 针重复性结果

No.	化合物名称	RSD% (10 ng/mL)	
		R.T.	Area
1	维达列汀	0.07	1.98
2	罗格列酮	0.04	2.03
3	西他列汀	0.04	3.25
4	吡格列酮	0.04	1.58
5	格列吡嗪	0.03	4.62
6	甲苯磺丁脲	0.03	3.13
7	达格列净	0.03	2.22
8	卡格列净	0.03	4.18
9	妥拉磺脲	0.03	3.04
10	瑞格列奈	0.03	2.27

11	格列齐特	0.03	1.74
12	格列波脲	0.03	4.20
13	格列本脲	0.02	2.93
14	那格列奈	0.02	3.79
15	格列美脲	0.03	4.10
16	曲格列酮	0.02	1.31
17	格列喹酮	0.03	2.15
18	莫格他唑	0.02	1.53
19	GW501516	0.02	3.49
20	氯磺丙脲	0.04	1.73
21	醋磺己脲	0.03	2.32
22	环格列酮	0.02	3.33

2.4 加标回收率及重复性考察

按照 1.4 前处理方法,对饮料样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品,进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5. 三浓度水平加标回收率及重复性计算结果 (n=3)

No.	名称	0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$		1 $\mu\text{g}/\text{mL}$		5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
1	维达列汀	93.7	2.7	96.0	2.2	92.1	3.2
2	罗格列酮	94.9	3.4	92.3	3.5	95.6	2.9
3	西他列汀	97.0	2.5	93.7	1.8	92.3	3.7
4	吡格列酮	97.7	2.5	91.2	3.3	104.4	3.8
5	格列吡嗪	88.5	2.7	92.6	1.6	94.4	2.0
6	甲苯磺丁脲	90.7	3.6	98.5	3.4	102.3	3.1
7	达格列净	87.4	4.1	93.2	4.3	92.0	3.6
8	卡格列净	93.8	2.2	95.6	4.1	94.2	3.9
9	妥拉磺脲	95.3	2.8	99.6	2.9	103.4	2.4
10	瑞格列奈	98.5	4.2	94.1	3.3	95.7	3.8
11	格列齐特	94.0	1.3	92.3	2.4	89.7	2.6
12	格列波脲	89.4	4.4	91.5	2.0	93.3	1.9
13	格列本脲	90.7	3.8	93.5	4.6	94.0	3.4
14	那格列奈	96.4	2.1	95.3	2.4	95.6	3.2
15	格列美脲	87.6	1.1	94.2	3.5	92.3	4.0
16	曲格列酮	97.1	2.2	104.6	1.4	103.2	3.3
17	格列喹酮	94.5	3.7	95.9	2.5	99.2	2.9
18	莫格他唑	86.3	3.2	90.5	2.7	92.0	4.1
19	GW501516	94.4	1.9	92.7	1.8	92.9	2.3
20	氯磺丙脲	87.2	3.3	93.9	4.6	90.4	3.2
21	醋磺己脲	98.5	2.5	103.6	3.0	105.8	4.1
22	环格列酮	92.7	3.6	95.0	1.4	96.2	3.4

3. 结论

本文利用岛津 LCMS-8050 三重四级杆液质联用仪定量测定了饮料中 22 种非法添加物。实验结果表明，在 5-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性判定系数在 0.9973-0.9999 之间。曲线各标点准确度在 86.9-113.7%之间。10 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.02-0.07%和 1.31-4.62%之间，方法精密度良好。0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 和 5 $\mu\text{g/mL}$ 三个不同浓度加标回收率在 86.3-105.8%之间，平行三份样品的相对标准偏差(RSD%)在 1.1-4.6%之间。该方法灵敏，准确，稳定性好，回收率高，抗假阳性能力强，适用于饮料等食品中 22 种非法添加物的检测。



LCMSMS 法测定保健食品中二甲双胍等 11 种降糖类药物

摘要: 本文针对降糖类保健品中非法添加的 11 种药物建立了液相色谱 LC-30A 串联三重四极质谱 LCMS-8030 的检测方法。样品经提取后,用超高效液相色谱 LC-30A 快速分离,三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。11 种组分标准曲线的相关系数为 0.994 以上;对 LOQ、LQC、MQC、HQC 四个浓度基质加标溶液进行回收率、精密度实验,取 5 份溶液分别进样,精密度及回收率分别在 0.25%~7.31%和 78%~110.7% 之间,本方法精密度良好。方法定量限为 0.963~26.2 $\mu\text{g/g}$ 之间;检出限在 0.0400 $\mu\text{g/g}$ ~9.89 $\mu\text{g/g}$ 之间。随即抽取市售降糖类保健品 3 份,实验结果显示本方法可快速筛查违禁组分。

关键词: 保健品 非法添加 降糖 超高效液相色谱仪 三重四级杆质谱仪

保健品的全称是保健食品,不允许添加药物,但是一些企业为了突出产品的功能,擅自在保健食品中添加违禁物品。保健品中非法添加的各种违禁成分,消费者在不知情的情况下服用,极易造成滥用还可能导致产生药物依赖性。由于保健食品、中药保健品的特殊性,国家食品药品监督管理局在 2011 年 5 月 25 日颁布了关于严厉打击保健食品化妆品非法添加行为的通知。重点对宣称改善睡眠、辅助降血糖、缓解体力疲劳、减肥等功能的保健食品,宣称美白、祛痘、去皱、抗衰老功能的护肤产品,祛斑、育发、染发等特殊用途化妆品,以及洗浴类产品等进行抽检。保健食品中易非法添加的物质、组分及检测依据(第一批)中明确列出抗疲劳类保健品包括伐地那非、西地那非及他达拉非类非法添加组分。

本文利用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用,建立了快速准确测定 11 种降糖类非法添加的方法,供相关人员参考。

1、实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8030 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.41 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器: LC-30A

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODSII 2.0 mm \times 100 mm, 2.2 μm

流动相:, A—0.1%乙酸, 10 mM 甲酸铵水溶液; B—乙腈

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 5 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 初始浓度为 5%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	45
6.00	Pumps	Pump B Conc.	45
7.00	Pumps	Pump B Conc.	55

8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
10.00	Pumps	Pump B Conc.	90
10.10	Pumps	Pump B Conc.	5
14.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器:	LCMS-8030	脱溶剂管温度:	250°C
离子源:	ESI(+/-)	加热模块温度:	400°C
离子源接口电压:	4.5 kV	扫描模式:	多反应监测 (MRM)
雾化气:	氮气 3.0 L/min	驻留时间:	20 ms
干燥气:	氮气 15 L/min	延迟时间:	2 ms
碰撞气:	氩气	MRM 参数:	见表 2

三重四极杆离子对及相关电压参数设定如表 2

表 2 三重四极杆离子对及相关电压参数设定表

No.	Name	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	二甲双胍	130.10	60.20*	-14.0	-15.0	-22.0
			71.15	-14.0	-20.0	-14.0
2	苯乙双胍	206.10	60.20*	-23.0	-20.0	-23.0
			105.20	-23.0	-25.0	-20.0
3	氯磺丙脲	274.80	190.00*	29.0	15.0	13.0
			126.20	29.0	30.0	24.0
4	格列吡嗪	446.00	103.15*	-22.0	-45.0	-20.0
			167.00	-22.0	-30.0	-17.0
5	甲苯磺丁脲	271.10	74.20*	-19.0	-15.0	-14.0
			91.15	-19.0	-30.0	-17.0
6	甲磺氮卓脲	312.00	115.15*	-16.0	-20.0	-24.0
			91.10	-16.0	-35.0	-17.0
7	格列奇特	324.10	127.15*	-16.0	-20.0	-13.0
			110.15	-16.0	-20.0	-23.0
8	那格列奈	318.20	69.15*	-16.0	-30.0	-13.0
			120.15	-16.0	-20.0	-12.0
9	格列本脲	494.00	169.00*	-25.0	-35.0	-18.0
			304.05	-25.0	-25.0	-22.0
10	格列美脲	491.10	126.10*	-25.0	-30.0	-13.0
			181.10	-25.0	-30.0	-12.0
11	瑞格列奈	453.10	230.20*	-22.0	-30.0	-16.0
			86.20	-23.0	-30.0	-17.0

*: 定量离子对

1.3 样品制备

标准溶液配制:

分别精密称取二甲双胍、苯乙双胍、格列美脲、瑞格列奈 2 mg [精确到 0.01 mg, 其中, 盐酸二甲双胍准确称取 2.56 mg (相当于二甲双胍 2 mg); 盐酸苯乙双胍准确称取 2.36 mg (相当于苯乙双胍 2 mg)], 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 40 µg/mL 的二甲双胍、苯乙双胍、格列

美脲、瑞格列奈的标准浓储备溶液。

分别精密称取格列吡嗪、甲磺氮卓脲、格列奇特、格列本脲 2 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇使溶解并定容至刻度，摇匀，即得浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的格列吡嗪、甲磺氮卓脲、格列奇特、格列本脲的标准浓储备溶液。

分别精密称取氯磺丙脲、甲苯磺丁脲、那格列奈 2 mg（精确到 0.01 mg），置 2 mL 量瓶中，加甲醇使溶解并定容至刻度，摇匀，即得浓度为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的氯磺丙脲、甲苯磺丁脲、那格列奈的标准浓储备溶液。

分别精密量取 11 种降糖类禁化学成分浓储备液 0.5 mL，置 10 mL 容量瓶中，加入 80% 甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，即得盐酸二甲双胍、盐酸苯乙双胍、格列美脲、瑞格列奈 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，格列吡嗪、甲磺氮卓脲、格列奇特、格列本脲 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，氯磺丙脲、甲苯磺丁脲、那格列奈 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品浓储备液。混合对照品浓储备溶液以 80% 甲醇溶液按一定比例稀释，得系列浓度的对照品工作溶液。最终配成：(1) 二甲双胍、苯乙双胍、格列美脲、瑞格列奈 0.8、1.6、3.2、8、16、20、32、40、64、80、200、400、800 ng/mL ，1.6、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液。(2) 格列吡嗪、甲磺氮卓脲、格列奇特、格列本脲浓度为 4、8、16、40、80、100、160、200、320、400 ng/mL ，1、2、4、8、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液。(3) 氯磺丙脲、甲苯磺丁脲、那格列奈浓度为 20、40、80、200、400、500、800 ng/mL ，1、1.6、2、5、10、20、40、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液。

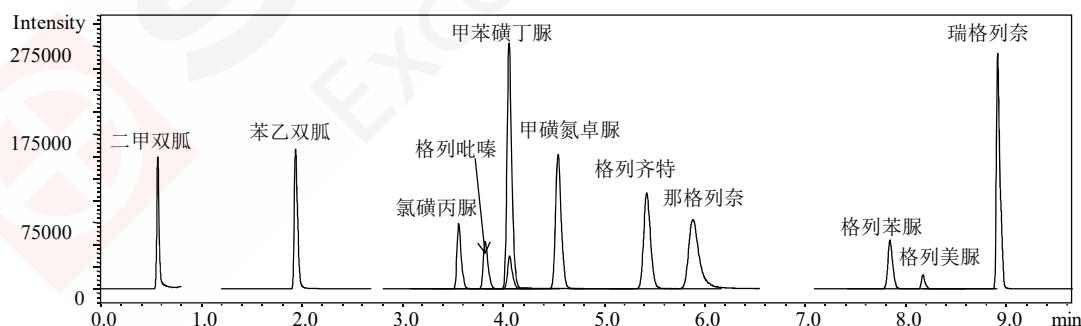
样品前处理方法：

取样品 5 粒，5 片或者 5 袋，倾出内容物，混匀。取样品约 0.2 g（精确至 1 mg）于 10 mL 塑料离心管中，加入 5 mL 甲醇后，称重。涡旋 60 s 后，超声 15 min，放冷后，再称重，用甲醇补足减失的重量。4500 rpm 离心 10 min。取样品溶液 20 μL ，加 80% 甲醇稀释至 1 mL，涡旋 30 s 后，13000 rpm 离心 10 min。取上清液转入液相小瓶中，进样 5 μL ，进行 HPLC-MS/MS 分析。超出线性范围的样品稀释后进行 HPLC-MS/MS 分析。

2. 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

下图为 10 ng/mL 样品 11 种组分混标色谱图，峰形正常、分离度良好。



2.2 线性关系及检出限

在设定的分析条件下，结果表明 11 种降糖类违禁成分在线性范围内，其峰面积线性良好，相关系数 r 高于 0.994。最低定量浓度 (LOQ) 二甲双胍、苯乙双胍、氯磺丙脲、格列吡嗪、甲苯磺丁脲、甲磺氮卓脲、格列奇特、那格列奈、格列本脲、格列美脲、瑞格列奈分别为 0.963、0.998、24.7、5.00、26.2、5.00、5.02、24.9、5.02、1.04、1.00 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，满足实际样品测定需要。以噪音的 3 倍计算，二甲双胍、苯乙双胍、氯磺丙脲、格列吡嗪、甲苯磺丁脲、甲磺氮卓脲、格列奇特、那格列奈、格列本脲、格列美脲、瑞格列奈最低检出浓度 (LOD) 分别为 0.0770、0.0798、9.89、2.00、2.10、1.00、1.00、4.98、1.01、0.414、0.0400 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

表 3 回归方程、相关系数及线性范围及最低定量限（基质标准曲线）

类别	回归方程	相关系数 r	线性范围	检出限 (ng/mL)	检出浓度 ($\mu\text{g/g}$)
二甲双胍	$Y=1932.007+20977.014X$	1.000	0.963-48.2 $\mu\text{g/g}$	0.0616	0.0770
苯乙双胍	$Y=3055.323+13252.99X$	0.998	0.998-49.9 $\mu\text{g/g}$	0.0639	0.0798
氯磺丙脲	$Y=-606.422+259.047X$	0.994	24.7-1236 $\mu\text{g/g}$	7.92	9.89
格列吡嗪	$Y=-166.785+772.715X$	0.998	5.00-250 $\mu\text{g/g}$	1.60	2.00
甲苯磺丁脲	$Y=-3176.184+857.126X$	0.995	26.2-1312 $\mu\text{g/g}$	1.68	2.10
甲磺氮卓脲	$Y=510.439+2555.127X$	1.000	5.00-250 $\mu\text{g/g}$	0.800	1.00
格列齐特	$Y=952.949+2093.000X$	0.999	5.02-504 $\mu\text{g/g}$	0.803	1.00
那格列奈	$Y=-301.193+541.488X$	0.999	24.9-1243 $\mu\text{g/g}$	3.98	4.98
格列本脲	$Y=-125.412+1310.823X$	0.997	5.02-251 $\mu\text{g/g}$	0.804	1.01
格列美脲	$Y=-28.644+1537.736X$	0.999	1.04-51.8 $\mu\text{g/g}$	0.331	0.414
瑞格列奈	$Y=1927.581+20218.295X$	1.000	1.00-50.0 $\mu\text{g/g}$	0.0320	0.0400

2.3 精密度试验

对 LOQ、LQC、MQC、HQC 四个浓度基质加标溶液进行回收率、精密度实验，得到 5 份溶液分别进样，精密度及回收率分别在 0.25%~7.31%和 78%~110.7%之间，本方法精密度良好。

表 4 降糖类违禁成分的绝对回收率 (n=5)

类别	实际浓度 ($\mu\text{g/g}$)	检出浓度 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	准确度 (%)
二甲双胍	0.963	0.818 \pm 0.013	1.59	84.9
	1.93	1.80 \pm 0.03	1.52	93.4
	9.63	9.10 \pm 0.16	1.73	94.5
	38.5	34.7 \pm 0.3	0.77	90.1
苯乙双胍	0.998	0.663 \pm 0.025	3.78	85.4
	2.00	1.71 \pm 0.03	1.87	105.7
	9.98	9.45 \pm 0.17	1.84	94.6
	39.9	34.1 \pm 0.2	0.66	85.5
氯磺丙脲	24.7	24.9 \pm 0.7	2.76	100.8
	49.5	48.1 \pm 1.1	2.20	97.3
	247	243 \pm 4	1.57	98.5
	989	1055 \pm 16	1.52	106.6
格列吡嗪	5.00	3.94 \pm 0.18	4.64	78.7
	10.0	8.33 \pm 0.36	4.32	83.3
	50.0	44.3 \pm 0.6	1.28	88.6
	200	188 \pm 2	1.19	93.9
甲苯磺丁脲	26.2	27.7 \pm 0.8	2.99	105.6
	52.5	51.9 \pm 1.2	2.30	98.9
	262	256 \pm 2	0.80	97.5
	1050	1162 \pm 12	1.00	110.7
甲磺氮卓脲	5.00	4.05 \pm 0.14	3.42	81.1
	10.0	8.71 \pm 0.12	1.42	87.1

类别	实际浓度 (μg/g)	检出浓度 (μg/g)	RSD (%)	准确度 (%)
格列齐特	50.0	46.1±1.2	2.59	92.2
	200	179±2	1.11	89.6
	5.02	3.92±0.15	3.73	78.0
	10.0	8.75±0.15	1.69	87.5
	50.2	46.4±0.1	0.25	92.4
那格列奈	201	182±1	0.53	90.7
	24.9	21.4±0.6	2.61	86.0
	49.8	44.3±0.6	1.38	89.0
格列本脲	249	224±3	1.34	89.9
	995	928±15	1.61	93.2
	5.02	4.45±0.25	5.66	88.6
	10.0	9.02±0.23	2.51	90.2
	50.2	45.6±1.0	2.27	90.8
格列美脲	201	193±2	1.23	96.1
	1.04	0.855±0.052	6.10	82.2
	2.07	1.87±0.14	7.31	90.3
	10.4	9.40±0.30	3.16	90.4
	41.4	38.0±0.2	0.42	91.8
瑞格列奈	1.00	0.848±0.013	1.59	84.8
	2.00	1.87±0.03	1.52	93.5
	10.0	9.40±0.08	0.88	94.0
	40.0	36.0±0.3	0.77	90.0

2.4 实际样品含量测定

对筛查确证的阳性样品进行含量测定，代入基质标准曲线，结果如表 5 所示。

表 5 降糖保健食品含量测定结果

名称	二甲双胍 (mg/g)	苯乙双胍 (mg/g)	格列本脲 (mg/g)	格列美脲 (mg/g)
平糖 6.0	75.9	0.00975	2.64	ND
唐素清	ND	9.75	2.27	0.00617
神农本草降糖	0.0435	ND	5.91	ND

ND: not detect

3. 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定降糖类保健食品中11种非法添加。本法线性范围宽，11种组分校准曲线的相关系数在0.994以上，可以满足实际样品筛查需要。本研究采用HPLC-MS/MS法对降糖类保健食品中违法添加的降糖类违禁成分进行含量测定。根据样品测定结果可以看出，市场上销售的降糖保健食品违法添加违禁成分现象十分严重，含量高达几个到几百个毫克，并且存在一种保健食品同时添加几种违禁成分的现象。因此，对降糖保健食品中违法添加化学药物的现象需要加强监管的力度。同时，应制定方法，用于日常检测，保障保健食品安全。

LCMSMS法测定保健食品中酚妥拉明等5种 α -受体阻断药物

摘要: 本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了保健品中酚妥拉明等5种 α -受体阻断药物的定量分析方法。该方法中,5种组分在0.5~50 ng/mL(以酚妥拉明为例)浓度范围内线性良好,相关系数均大于0.998,准确度为85.1~114.9%。精密度实验中,校准曲线S2标准溶液重复分析6次,保留时间RSD小于0.50%,峰面积RSD小于4.00%。实际样品加标实验中,高中低浓度加标回收率分别为96.6~109.0%、106.3~114.4%、99.4~107.2%,回收率高。实验结果表明,该方法能快速准确定量分析保健品中酚妥拉明等5种 α -受体阻断药物。

关键词: α -受体阻断药物 保健品 LC-MS/MS

随着社会的发展和公众健康保健意识的增强,人们在购买食品时不仅关注食物本身的营养价值,还关注食物是否具有抗氧化、缓解体力疲劳、辅助降血压等保健功能。有不法商家为了降低成本、赋予食品“保健功能”,使用化学药物成分替代天然成分,造成了行业乱象,消费者误食此类食品也给身体埋下健康隐患。 α -受体阻断药物具有扩张血管、加强心肌收缩力、加快心率、增加心排出量等广泛的药理作用,可用于高血压及泌尿外科、男科疾病的治疗,且疗效显著。常见的 α -受体阻断药主要有酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪、育亨宾、妥拉唑林等。

为了有效打击非法添加导致的食品安全问题,国家市场监督管理总局发布了《食品中5种 α -受体阻断类药物的测定》食品补充检验方法的公告,采用LC-MS/MS法测定食品(含保健品)中5种 α -受体阻断类药物。本文参考此检验方法,建立了保健品中5种 α -受体阻断类药物的分析方法,方法灵敏度高、操作简便。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050,具体配置为:

系统控制器	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C XR
脱气机	: DGU-405	柱温箱	: CTO-40C
输液泵	: LC-40D XR×2	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack Scepter C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μ m, P/N: 227-31012-05, 岛津(上海)实验器材有限公司)		
流动相	: A相-0.1%甲酸水溶液, B相-0.1%甲酸乙腈		
流速	: 0.3 mL/min	柱温	: 40°C
进样体积	: 5 μ L		
洗脱方式	: 梯度洗脱, B相初始浓度为10%, 时间程序见表1。		

表 1. 流动相梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
11.00	Pumps	Pump B Conc.	90
11.10	Pumps	Pump B Conc.	10
15.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI (+)	接口温度	: 300°C
接口电压	: 4.5 kV	D L 温度	: 250°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	加热块温度	: 400°C
加热气	: 空气 10.0 L/min	扫描模式	: MRM
干燥气	: 氮气 10.0 L/min	M R M 参数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

No.	中文名	英文名	CAS. No.	离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	酚妥拉明	Phentolamine	50-60-2	282.20>212.15*	-22	-20	-21
				282.20>120.10	-11	-33	-10
2	育亨滨	Corynine	65-19-0	355.20>144.10*	-24	-32	-26
				355.20>212.15	-24	-24	-23
3	特拉唑嗪	Terazosin	63590-64-7	388.10>247.15*	-28	-31	-27
				388.10>289.95	-29	-40	-29
4	哌唑嗪	Prazosin	19216-56-9	384.20>247.05*	-28	-54	-17
				384.20>366.20	-29	-29	-27
5	妥拉唑林	Tolazoline	59-98-3	161.20>91.10*	-28	-32	-20
				161.20>65.15	-28	-22	-17

注: *表示定量离子

1.3 标准品配制

标准储备液: 准确称取标准品 10 mg, 用甲醇并定容至 10 mL, 配制浓度为 1000 µg/mL 标准储备液。

标准溶液: 取适量标准储备液, 用水逐级稀释, 配制校准曲线浓度为如下表3所示。

表3. 混合标准溶液浓度表

No.	化合物	混合标准系列溶液浓度 (ng/mL)						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	酚妥拉明	0.5	1	2	5	10	20	50
2	育亨滨	0.25	0.5	1	2.5	5	10	25
3	特拉唑嗪	0.25	0.5	1	2.5	5	10	25
4	哌唑嗪	0.5	1	2	5	10	20	50
5	妥拉唑林	2	4	8	20	40	80	200

1.4 样品前处理

准确称取液体保健样品 1 g 至离心管中, 加入 10 mL 甲醇, 涡旋后超声 30 min。离心, 上清液经 0.22 µm 滤膜过滤后上机分析。

2. 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

0.25~2 ng/mL 标准溶液色谱图及信噪比如图 1 所示。

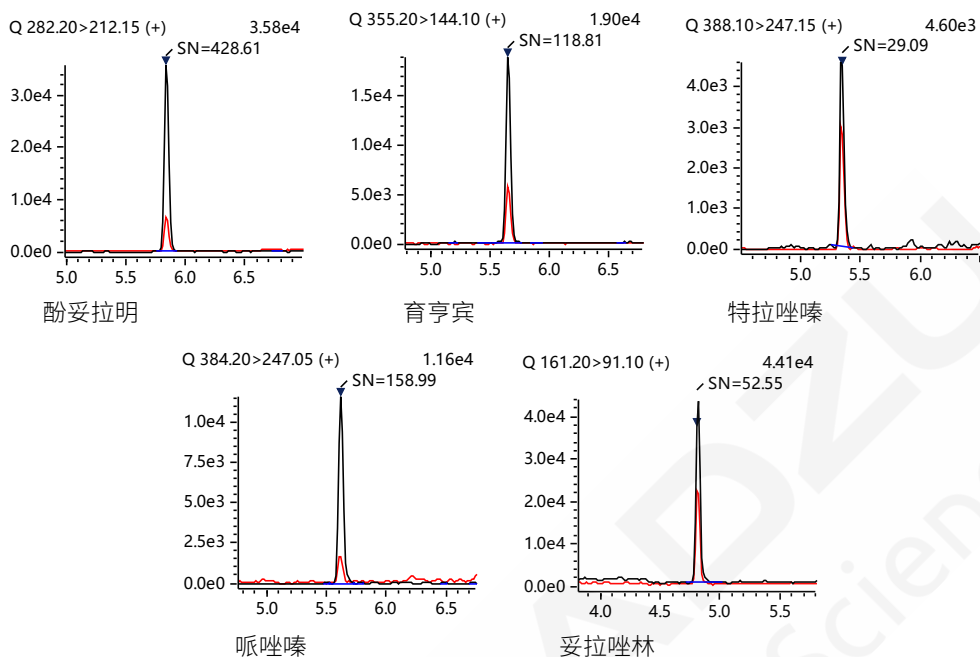
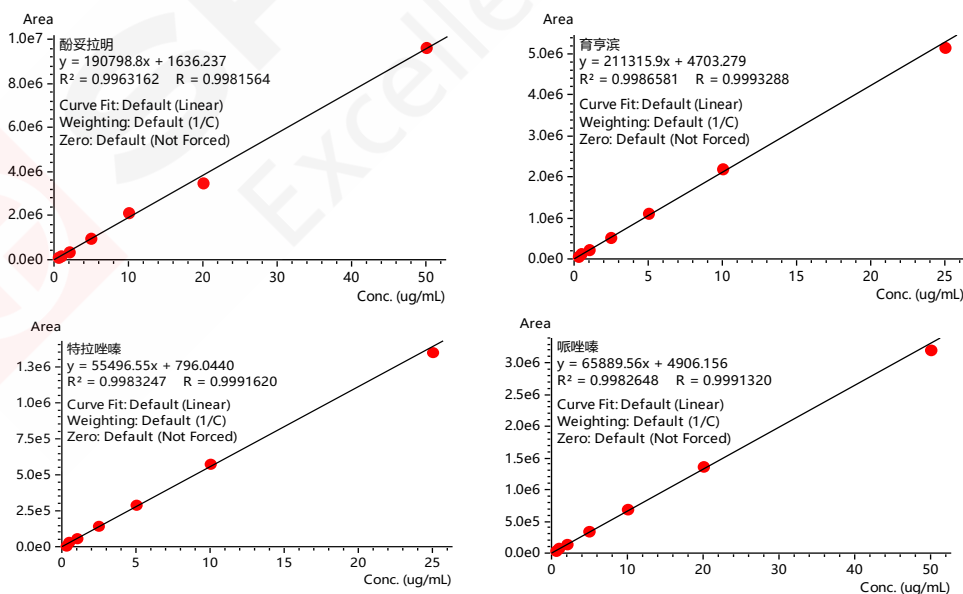


图 1. 校准曲线最低点色谱图

(酚妥拉明、哌唑嗪浓度为 0.5 ng/mL；育亨宾、特拉唑嗪为 0.25 ng/mL；妥拉唑林浓度为 2 ng/mL)

2.2 校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线。校准曲线线性范围如表 3 所示，校准曲线如图 2 所示，结果显示 5 种化合物线性相关性良好，线性相关系数大于 0.998，准确度为 85.1~114.9%。



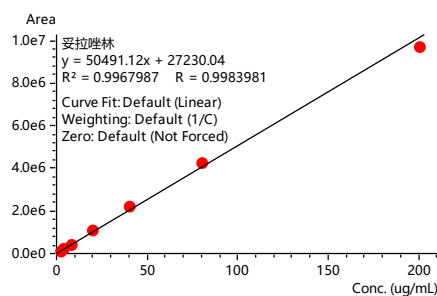


图 2.5 种化合物校准曲线图

2.3 精密度实验

按照 1.2 分析条件，将校准曲线中 S2 基质标准溶液重复分析 6 次。5 种化合物保留时间 RSD 小于 0.50%，峰面积 RSD 小于 4.00%。

表 4.5 种化合物重复性实验结果

No.	化合物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	酚妥拉明	0.22	2.23
2	育亨滨	0.24	1.69
3	特拉唑嗪	0.25	3.34
4	哌唑嗪	0.23	3.98
5	妥拉唑林	0.46	2.96

2.4 样品测定及加标实验结果

按照 1.4 中样品处理方法对某口服液保健样品进行处理，上机分析，样品中未检出 5 种化合物。对此样品进行高中低浓度加标实验，重复实验 3 次，加标量及加标结果如表 3 所示。

表 5. 实际乳液样品加标结果

No.	化合物名	低浓度加标			中浓度加标			高浓度加标		
		加标量 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)	加标量 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)	加标量 (mg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
1	酚妥拉明	0.01	96.6	3.70	0.05	109.2	3.19	0.5	105.0	3.44
2	育亨滨	0.005	109.0	4.70	0.025	107.2	0.70	0.25	105.2	1.12
3	特拉唑嗪	0.005	107.7	4.18	0.025	114.4	1.57	0.25	107.2	0.31
4	哌唑嗪	0.01	106.5	1.05	0.05	113.1	1.53	0.5	105.5	1.37
5	妥拉唑林	0.04	104.8	5.72	0.2	106.3	0.71	2	99.4	1.69

3. 结论

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了保健品中酚妥拉明等 5 种 α -受体阻断类药物的定量分析方法。该方法灵敏度高、线性范围广、重复性和样品加标回收率均良好，可用于化保健品中酚妥拉明等 5 种 α -受体阻断类药物的检测。

3.3 缓解疲劳、增强免疫力类

当人体剧烈运动或不间断地从事某项体力活动后，会产生疲劳感。产生疲劳的因素是多方面的，其中与乳酸堆积过多和肌糖元的消耗过量等有关。有些保健食品能有效减缓体内乳酸的堆积，促进肝糖元转化为肌糖元，从而提高机体的疲劳阈和运动耐力及应激能力。此类保健食品通过对照性实验，证实具有抗疲劳功能，适宜于易疲劳人群，同时适宜于缓解长期体力劳动产生的机体劳累，具有缓解体力疲劳的功效。

缓解疲劳类保健食品可能含有维生素、矿物质、氨基酸等功效成分，能为身体提供能量支持。人参皂苷是常见功效成分之一，人参被广泛认为有抗疲劳功效，人参皂苷可提高机体的适应性，增强机体对各种有害刺激的非特异性抵抗力；咖啡因能刺激中枢神经系统，提高警觉性和注意力，减轻疲劳感；牛磺酸有助于增强体力和抗疲劳能力，同时对心脏和眼睛也有保护作用；维生素 B 族，如维生素 B1、B2、B6 等，参与能量代谢过程，维持神经系统正常功能；辅酶 Q10，可促进细胞能量产生，提高身体的抗氧化能力。这些功效成分通过不同的作用机制，帮助人们缓解疲劳，恢复精力，

缓解疲劳类保健食品中常见的非法添加主要有以下几类。一类是西地那非等壮阳成分。一些不法商家为了使产品在短时间内呈现出明显的效果，在缓解疲劳保健食品中添加西地那非等药物成分，这可能会对消费者的身体健康造成严重危害，如心血管系统问题等。另一类是精神药品成分，如苯丙胺等。这些成分能在短期内让人感觉兴奋、精力充沛，但长期使用会产生严重的依赖性和副作用，对神经系统造成不可逆转的损伤。近些年，一些不法分子为逃避监管，在原有非法添加的结构基础上，化学合成了新型非法添加药物，这无疑给保健食品非法添加的监管提高了难度。

由于缓解疲劳类非法添加成分多，种类杂，国家局发布的食品补充检验方法《食品中那非类物质的测定 BJS 201805》中规定的 LCMSMS 法（液相色谱-串联质谱法）和 QTOF 法（液相色谱-高分辨质谱法）进行检测，QTOF 法用快速的定性筛查，LCMSMS 法用于定量分析。本章汇总了部分缓解疲劳类非法添加药物的应用方案，供相关检测人员参考。

LCMSMS 法测定抗疲劳饮料和补肾药酒中 90 种那非类物质

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定抗疲劳饮料和补肾药酒中 90 种那非类物质的方法。采用外标法定量, 方法线性范围为 0.1~50.0 ng/mL, 相关系数大于 0.998。保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.34%和 1.22~4.96%之间。进样 5.0 μ L, 检出限在 0.0007~0.1379 ng/mL 之间, 定量限在 0.0021~0.4221 ng/mL 之间。抗疲劳饮料样品有 89 种化合物加标回收率在 81.6~113.5%之间。药酒样品有 82 种化合物加标回收率在 80.2~111.9%之间, 有 4 种化合物加标回收率在 70.6~79.9%之间。使用本方法检测了三个品牌的抗疲劳饮料, 其中两个品牌检出西地那非 (Sildenafil)。

关键词: 超高效液相色谱 三重四极杆质谱 那非类物质 保健食品

那非类物质 (Antifatigue drugs) 是一种人体内 5 型磷酸二酯酶 (PDE5) 的抑制剂, 可用于治疗男性勃起功能障碍。该类物质已知的副作用包括面部潮红、头晕、头痛、鼻塞和视觉异常等, 严重的会导致死亡, 是一种须在医生指导下服用的处方药。

近年来, 随着化学合成技术的进步, 一些具有 PDE5 抑制活性的那非类衍生物不断涌现, 被一些不法分子添加至标示或暗示具有补肾壮阳、抗疲劳、改善免疫力等作用的食品中, 对服用者的健康和生命安全造成严重威胁。我国《食品安全法》第三十八条规定, 生产经营的食品中不得添加药品, 但是可以添加按照传统既是食品又是中药材的物质。那非类物质是处方药, 在食品或保健食品等特殊食品中添加属于违法行为, 必须予以打击。

这些那非类物质结构类似, 存在多种同分异构体, 给质谱检测带来挑战。故需要充分优化色谱方法, 有效分离同分异构体, 从而实现准确定量。

本文参考国家市场监督管理总局于 2018 年 7 月 2 日发布的《食品中那非类物质的测定》的食品补充检验方法, 采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 建立了食品中 90 种那非类物质的分析方法。供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8050 三重四极杆质谱仪, LabSolutions (Version 5.93) 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST 2.1 mm I.D. \times 150 mm L., 2.0 μ m

流 动 相 : A 相-0.1%甲酸; B 相-甲醇

洗 针 模 式 : 进样前后洗针, External only (进样针外壁清洗), Rinse Port

流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C

进 样 体 积 : 5 μ L 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 15%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	50
16.00	泵	B.Conc	65
19.00	泵	B.Conc	98
22.00	泵	B.Conc	98
22.10	泵	B.Conc	15
25.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI, 正负离子同时检测 碰撞气 : 氩气 270 kPa
 雾化气流速 : 3.0 L/min 加热模块温度 : 400°C
 加热气流速 : 10.0 L/min 干燥气流速 : 10.0 L/min
 接口温度 : 300°C 扫描模式 : 多反应监测(MRM)
 D L 温度 : 250°C M R M 参数 : 见附表

1.3 标准溶液配制

取 90 种那非类化合物混合标准贮备液 (5 mg/L), 以纯甲醇逐级稀释为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50 ng/mL 的九个不同浓度的混合标准工作溶液。

1.4 样品前处理

取试样 (饮料、酒) 适量摇匀, 准确吸取 1 mL 置于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇适量, 超声提取 15 min, 放冷至室温, 用甲醇定容, 经有机相微孔滤膜过滤, 取滤液待测。

建议实验全过程采用塑料容器, 以避免少数那非类化合物对于玻璃器皿的吸附。

2. 结果与讨论

2.1 混合标准样品色谱图

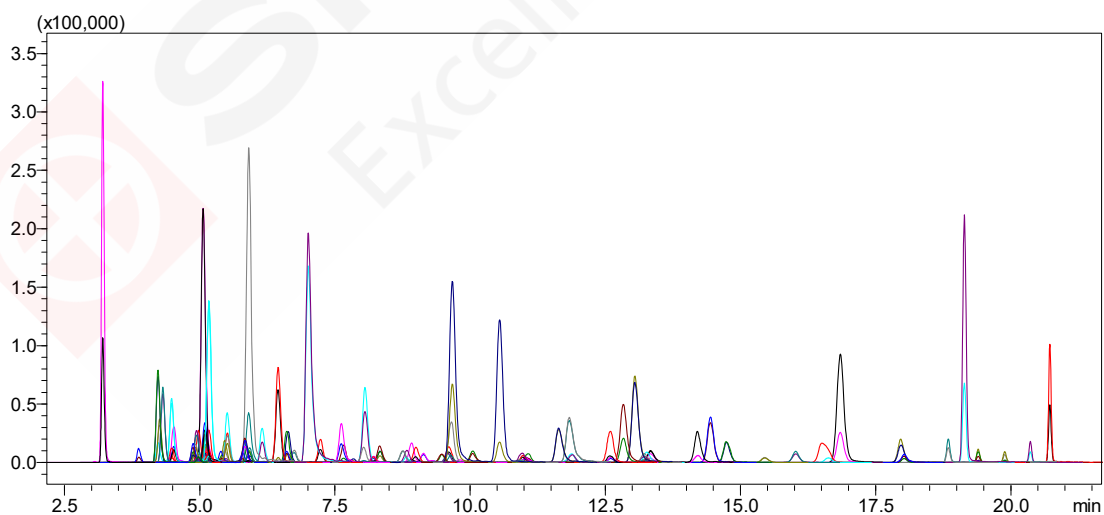


图 1. 90 种那非类化合物标准品色谱图 (1.0 ng/mL)

2.2 线性关系

按照 1.3 配制九个不同浓度的混合标准工作溶液, 按照 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 外标法绘制标准曲线。各化合物线性方程、线性范围、相关系数、检出限 ($S/N=3$, 软件计算) 和定量限 ($S/N=10$, 软件计算) 结果见表 3。90 种那非类化合物校准曲线在 0.1~50 ng/mL 浓度范围内,

相关系数大于0.998，线性良好。检出限在0.0007~0.1379 ng/mL之间，定量限在0.0021~0.4221 ng/mL之间，灵敏度高。

表 3. 线性关系、检出限和定量限 (权重 1/C)

编号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	相关系数 r	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	Sildenafil	$Y = (52493.4)X + (-1849.75)$	0.1-50	82.9-109.8	0.9996	0.0207	0.0628
2	Tadalafil	$Y = (63354.4)X + (-2263.43)$	0.1-50	92.4-113.2	0.9998	0.0088	0.0267
3	Imidazosagatriazinone	$Y = (1.01399e+006)X + (-11262.0)$	0.1-50	96.8-108.4	0.9999	0.0032	0.0098
4	Gildenafil	$Y = (348548)X + (-2738.93)$	0.1-50	92.5-109.3	0.9998	0.0059	0.0180
5	Acetil acid	$Y = (227101)X + (-3825.70)$	0.1-50	88.8-110.0	0.9998	0.0144	0.0435
6	Xanthoanthrafil	$Y = (93334.8)X + (-2119.44)$	0.1-50	90.5-107.6	0.9998	0.0076	0.0229
7	Aminotadalafil	$Y = (235077)X + (-3694.59)$	0.1-50	87.3-108.5	0.9999	0.0066	0.0200
8	Chloropretadalafil	$Y = (40806.1)X + (-669.973)$	0.1-50	89.5-106.5	0.9995	0.0328	0.0995
9	Piperiacetildenafil	$Y = (842203)X + (-4958.30)$	0.1-20	96.2-105.9	0.9999	0.0049	0.0148
10	Noracetildenafil	$Y = (152262)X + (-620.495)$	0.1-20	87.1-109.5	0.9993	0.0161	0.0488
11	Carbodenafil	$Y = (334896)X + (-2276.67)$	0.1-50	90.0-113.6	0.9998	0.0060	0.0183
12	Pseudovardenafil	$Y = (861629)X + (-99.7632)$	0.1-50	92.8-106.7	0.9996	0.0008	0.0024
13	Norneosildenafil	$Y = (95930.2)X + (-633.023)$	0.1-50	89.9-105.9	0.9996	0.0132	0.0401
14	N-Desethylvaridenafil	$Y = (86785.7)X + (1528.99)$	0.1-20	85.3-110.9	0.9997	0.0049	0.0148
15	N-Desmethylsildenafil	$Y = (98577.1)X + (-1760.82)$	0.1-50	89.7-109.7	0.9995	0.0126	0.0382
16	Acetildenafil	$Y = (197616)X + (887.250)$	0.1-20	89.5-110.0	0.9991	0.0050	0.0153
17	Hydroxyacetildenafil	$Y = (49433.2)X + (-65.0266)$	0.1-20	85.0-111.5	0.9996	0.0147	0.0445
18	Avanafil	$Y = (1.23387e+006)X + (13335.7)$	0.1-20	90.1-107.4	0.9994	0.0022	0.0068
19	Aildenafil	$Y = (91944.7)X + (1320.76)$	0.1-50	86.6-113.1	0.9992	0.0131	0.0397
20	Homosildenafil	$Y = (20029.8)X + (-2839.67)$	0.2-20	92.8-113.9	0.9995	0.0238	0.0722
21	Vardenafil	$Y = (105430)X + (577.532)$	0.1-20	85.0-112.7	0.9994	0.0025	0.0077
22	Thiosildenafil	$Y = (20311.4)X + (-3183.29)$	0.5-50	87.0-112.4	0.9998	0.0405	0.1227
23	Thiohomosildenafil	$Y = (39308.2)X + (-6266.29)$	0.5-50	88.5-108.5	0.9998	0.0322	0.0977
24	Hydroxyvaridenafil	$Y = (62739.9)X + (1533.29)$	0.1-20	85.9-113.5	0.9995	0.0131	0.0396
25	Hydroxyhomosildenafil	$Y = (40423.7)X + (-8870.15)$	0.5-20	85.6-110.5	0.9991	0.0770	0.2334
26	Udenafil	$Y = (528133)X + (2836.63)$	0.1-20	88.1-111.3	0.9996	0.0009	0.0026
27	Hydroxythiohomosildenafil	$Y = (74446.4)X + (-6209.99)$	0.2-50	91.6-109.6	0.9998	0.0238	0.0722
28	Norneovardenafil	$Y = (993184)X + (-27170.0)$	0.1-50	90.7-109.4	0.9998	0.0053	0.0161
29	Nitrodenafil	$Y = (158670)X + (-3362.71)$	0.1-50	91.5-112.1	0.9998	0.0122	0.0369
30	Nortadalafil	$Y = (38809.0)X + (37.1953)$	0.2-50	92.4-108	0.9996	0.0231	0.0699
31	Chlorodenafil	$Y = (79681.8)X + (-1128.66)$	0.1-50	90.1-103.1	0.9998	0.0143	0.0434
32	Hydroxychlorodenafil	$Y = (164818)X + (-59.2093)$	0.1-50	94.2-105.8	0.9997	0.0264	0.0801
33	N-Butyltadalafil	$Y = (37413.0)X + (-1255.79)$	0.2-50	94.7-103.9	0.9999	0.0113	0.0343
34	Desmethylcarbodenafil	$Y = (388004)X + (2270.05)$	0.1-50	87.8-105.1	0.9996	0.0024	0.0074
35	Descarbonsildenafil	$Y = (85082.8)X + (522.866)$	0.1-20	88.8-112.6	0.9996	0.0036	0.0110
36	Dimethylacetildenafil	$Y = (127961)X + (953.809)$	0.1-20	87.8-111.3	0.9991	0.0138	0.0418
37	Dithio-desmethylcarbodenafil	$Y = (512590)X + (-145462)$	0.5-50	89.0-115.0	0.9996	0.0176	0.0533
38	Oxohongdenafil	$Y = (65329.1)X + (-1740.26)$	0.1-50	92.6-105.6	0.9995	0.0009	0.0027

39	N-Octylnortadalafil	$Y = (64924.4)X + (1126.80)$	0.1-50	86.2-105.3	0.9992	0.0077	0.0234
40	Dioxohongdenafil	$Y = (113647)X + (1284.53)$	0.1-50	92.7-108.9	0.9998	0.0014	0.0043
41	Hydroxythiovarndenafil	$Y = (90382.9)X + (8.49455)$	0.1-50	91.2-108.6	0.9990	0.0098	0.0298
42	Cyclopentynafil Propoxyphenyl	$Y = (165184)X + (1656.54)$	0.1-50	90.7-108.5	0.9992	0.0019	0.0059
43	Thiohydroxyhomo sildenafil	$Y = (81082.8)X + (-3678.87)$	0.1-50	90.7-112.8	0.9998	0.0211	0.0640
44	Benzylsildenafil	$Y = (77687.4)X + (-1720.34)$	0.1-50	90.2-108.2	0.9997	0.0097	0.0295
45	Cinnamylndenafil	$Y = (1.29594e+006)X + (-22984.9)$	0.1-20	94.7-104.1	0.9997	0.0010	0.0029
46	Lodenafil carbonate	$Y = (58665.9)X + (-8754.62)$	0.5-50	91.7-111.7	0.9991	0.0410	0.1241
47	Propoxyphenylsildenafil	$Y = (63497.6)X + (68.9150)$	0.2-50	88.2-109.5	0.9996	0.0313	0.0947
48	Depiperazinothio sildenafil (+)	$Y = (97972.8)X + (-1163.38)$	0.1-50	87.5-111.6	0.9999	0.0105	0.0319
48	Depiperazinothio sildenafil (-)	$Y = (64879.5)X + (-276.580)$	0.1-50	88.7-112.5	0.9998	0.0060	0.0181
49	Acetaminotadalafil	$Y = (20152.2)X + (400.171)$	0.5-50	90.1-107.2	0.9998	0.0188	0.0570
50	2-Hydroxypropylnor tadalafil	$Y = (18259.0)X + (-963.744)$	0.5-50	92.7-108.4	0.9995	0.1253	0.3797
51	Acetylvardenafil	$Y = (186432)X + (-78.8775)$	0.1-20	86.6-110.6	0.9990	0.0074	0.0224
52	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	$Y = (167381)X + (-879.791)$	0.1-50	85.1-106.7	0.9997	0.0035	0.0105
53	Propoxyphenyl thioailndenafil	$Y = (273194)X + (-6894.47)$	0.1-50	90.1-111.8	0.9997	0.0255	0.0772
54	Yohimbine	$Y = (1.15926e+006)X + (-5036.05)$	0.1-20	95.8-104.2	0.9999	0.0007	0.0021
55	Dapoxetine	$Y = (1.53509e+006)X + (-21148.3)$	0.1-50	96.8-104.4	0.9998	0.0015	0.0045
56	N-Desethylacetildenafil	$Y = (154854)X + (2095.35)$	0.1-20	89.1-109.6	0.9990	0.0260	0.0788
57	Desmethylthiosildenafil	$Y = (55162.0)X + (-9275.39)$	0.5-50	85.5-113.3	0.9996	0.0416	0.1261
58	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	$Y = (273657)X + (-4039.75)$	0.1-50	93.6-105.0	0.9998	0.0033	0.0100
59	N-Ethyltadalafil	$Y = (61388.1)X + (-1524.63)$	0.1-50	92.1-108.7	0.9999	0.0111	0.0335
60	O-Desethylsildenafil	$Y = (77566.7)X + (-852.783)$	0.1-50	89.4-109.6	0.9998	0.0277	0.0839
61	Pyrazole N- desmethylsildenafil	$Y = (54765.7)X + (794.412)$	0.1-50	92.3-110.6	0.9995	0.0081	0.0245
62	Isobutylsildenafil	$Y = (173672)X + (-725.553)$	0.1-50	90.8-104.7	0.9997	0.0024	0.0073
63	Sildenafil dimer impurity	$Y = (20747.7)X + (496.758)$	0.2-20	86.0-107.5	0.9999	0.0176	0.0532
64	Vardenafil oxopiperazine	$Y = (455943)X + (4873.99)$	0.1-50	94.6-105.0	0.9999	0.0033	0.0101
65	Sildenafil N-oxide	$Y = (80788.0)X + (859.040)$	0.1-50	94.3-109.1	0.9994	0.0106	0.0320
66	Vardenafil N-oxide	$Y = (243660)X + (1336.92)$	0.1-50	86.3-106.3	0.9991	0.0070	0.0212
67	2-Hydroxyethylnor tadalafil	$Y = (31792.0)X + (-457.678)$	0.2-50	91.0-111.4	0.9996	0.0298	0.0903
68	Vardenafil acetyl analogue	$Y = (268684)X + (-111.528)$	0.1-20	87.5-108.2	0.9993	0.0020	0.0059
69	Vardenafil dimer (+)	$Y = (45497.8)X + (-1506.98)$	0.1-50	89.6-107.5	0.9992	0.0264	0.0800

69	Vardenafil dimer (-)	$Y = (53305.5)X + (-483.201)$	0.1-50	92.0-110.6	0.9999	0.0072	0.0219
70	Mirodenafil	$Y = (57104.2)X + (-1120.21)$	0.1-50	91.1-108.0	0.9996	0.0071	0.0216
71	Mutaprodenafil	$Y = (88084.3)X + (-614.563)$	0.1-50	90.7-108.8	0.9990	0.0121	0.0366
72	Thioquinapiperfil	$Y = (1.89825e+006)X + (-68472.7)$	0.1-50	91.8-106.9	0.9989	0.0041	0.0125
73	Aminosildenafil	$Y = (104905)X + (-2121.30)$	0.1-50	92.8-104.7	0.9998	0.0140	0.0425
74	Desethylcarbodenafil	$Y = (178444)X + (-805.307)$	0.1-50	88.0-112.6	0.9997	0.0055	0.0166
75	Didescarbonsildenafil	$Y = (97259.6)X + (-2467.70)$	0.1-50	89.1-108.6	0.9996	0.0080	0.0244
76	N-Phenylpropenyl tadalafil (+)	$Y = (11703.5)X + (-287.958)$	0.5-50	87.5-107.5	0.9997	0.1393	0.4221
76	N-Phenylpropenyl tadalafil (-)	$Y = (4847.98)X + (57.8305)$	0.5-50	88.6-108.6	0.9995	0.1379	0.4180
77	N-Desethyl-N-methylvardenafil	$Y = (118175)X + (244.781)$	0.1-20	87.2-111.5	0.9994	0.0049	0.0149
78	Thioaildenafil	$Y = (69533.2)X + (3367.93)$	0.2-50	89.2-111.7	0.9997	0.0389	0.1178
79	Dichlorodenafil	$Y = (314294)X + (10414.1)$	0.1-50	85.5-106.6	0.9997	0.0069	0.0209
80	Piperazonifil	$Y = (50539.4)X + (-712.163)$	0.2-50	86.6-109.6	0.9994	0.0422	0.1278
81	Propoxyphenyl thiosildenafil	$Y = (81550.7)X + (-12405.6)$	0.5-50	90.1-108.4	0.9997	0.0221	0.0669
82	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	$Y = (98169.5)X + (-8631.39)$	0.2-50	87.7-113.6	0.9998	0.0605	0.1834
83	Dithiodesethyl carbodenafil	$Y = (349865)X + (-89360.1)$	0.5-50	90.6-115.9	0.9996	0.0255	0.0774
84	Hydroxythioacetildenafil	$Y = (89554.1)X + (-6779.36)$	0.2-50	91.8-107.3	0.9994	0.0161	0.0487
85	Tadalafil dichloro impurity	$Y = (41168.4)X + (-2174.28)$	0.2-50	88.9-115.4	0.9998	0.0287	0.0871
86	Sildenafil impurity 12	$Y = (570727)X + (-112257)$	0.5-50	91.9-112.4	0.9997	0.0099	0.0301
87	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	$Y = (18105.8)X + (-2088.66)$	0.5-50	88.7-110.8	0.9998	0.0611	0.1850
88	Propoxyphenyl aildenafil	$Y = (116590)X + (-48.6511)$	0.1-50	89.1-111.9	0.9995	0.0179	0.0544
89	Sildenafil impurity 14	$Y = (813346)X + (-167325)$	0.5-50	90.2-114.6	0.9997	0.0020	0.0060
90	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	$Y = (79158.4)X + (-1467.57)$	0.1-50	90.3-109.8	0.9996	0.0046	0.0140

2.3 精密度实验

对 2 ng/mL 的混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.34%和 1.22~4.96%之间，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	名称	RSD%		No.	名称	RSD%	
		R.T.	Area			R.T.	Area
1	Sildenafil	0.19	4.90	48	Depiperazinothiosildenafil (+)	0.20	2.68
2	Tadalafil	0.22	3.97	48	Depiperazinothiosildenafil (-)	0.20	4.69
3	Imidazosagatriazinone	0.04	2.03	49	Acetaminotadalafil	0.25	4.26
4	Gendenafil	0.16	1.55	50	2-Hydroxypropylnortadalafil	0.24	4.89
5	Acetil acid	0.19	2.47	51	Acetylvardenafil	0.16	3.00

6	Xanthoanthrafil	0.24	2.36	52	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	0.33	2.15
7	Aminotadalafil	0.23	1.75	53	Propoxyphenyl thioaildenafil	0.18	1.22
8	Chloropretadalafil	0.17	2.97	54	Yohimbine	0.21	2.14
9	Piperiacetildenafil	0.17	2.59	55	Dapoxetine	0.29	2.57
10	Noracetildenafil	0.14	3.83	56	N-Desethylacetildenafil	0.16	3.57
11	Carbodenafil	0.14	1.90	57	Desmethylthiosildenafil	0.26	3.93
12	Pseudovardenafil	0.13	2.16	58	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	0.27	3.25
13	Norneosildenafil	0.05	3.37	59	N-Ethyltadalafil	0.20	4.91
14	N-Desethylvaridenafil	0.20	4.53	60	O-Desethylsildenafil	0.29	4.14
15	N-Desmethylsildenafil	0.18	3.91	61	Pyrazole N-desmethylsildenafil	0.18	4.76
16	Acetildenafil	0.18	2.56	62	Isobutylsildenafil	0.30	2.43
17	Hydroxyacetildenafil	0.18	4.36	63	Sildenafil dimer impurity	0.02	4.08
18	Avanafil	0.16	1.80	64	Vardenafil oxopiperazine	0.22	2.72
19	Aildenafil	0.27	3.64	65	Sildenafil N-oxide	0.26	4.50
20	Homosildenafil	0.22	4.13	66	Vardenafil N-oxide	0.20	4.26
21	Vardenafil	0.18	4.71	67	2-Hydroxyethylnortadalafil	0.27	4.94
22	Thiosildenafil	0.32	4.17	68	Vardenafil acetyl analogue	0.13	1.50
23	Thiohomosildenafil	0.25	4.68	69	Vardenafil dimer (+)	0.03	3.79
24	Hydroxyvaridenafil	0.18	3.90	69	Vardenafil dimer (-)	0.03	2.76
25	Hydroxyhomosildenafil	0.21	3.93	70	Mirodenafil	0.30	4.94
26	Udenafil	0.31	3.15	71	Mutaprodenafil	0.33	2.53
27	Hydroxythiohomosildenafil	0.24	2.90	72	Thioquinapiperfil	0.22	1.47
28	Norneovardenafil	0.20	2.09	73	Aminosildenafil	0.23	4.03
29	Nitrodenafil	0.10	2.44	74	Desethylcarbodenafil	0.16	4.05
30	Nortadalafil	0.21	4.70	75	Didescarbonsildenafil	0.13	3.14
31	Chlorodenafil	0.14	2.41	76	N-Phenylpropenyltadalafil (+)	0.03	4.18
32	Hydroxychlorodenafil	0.16	2.28	76	N-Phenylpropenyltadalafil (-)	0.04	4.41
33	N-Butyltadalafil	0.14	2.52	77	N-Desethyl-N-methylvaridenafil	0.21	4.34
34	Desmethylcarbodenafil	0.15	3.24	78	Thioaildenafil	0.21	2.90
35	Descarbonsildenafil	0.18	4.63	79	Dichlorodenafil	0.02	2.69
36	Dimethylacetildenafil	0.23	2.28	80	Piperazonifil	0.21	4.42
37	Dithio-desmethylcarbodenafil	0.22	3.03	81	Propoxyphenyl thiosildenafil	0.18	4.96
38	Oxohongdenafil	0.22	3.55	82	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	0.20	3.48
39	N-Octylnortadalafil	0.02	2.46	83	Dithiodesethyl carbodenafil	0.24	1.61
40	Dioxohongdenafil	0.24	3.18	84	Hydroxythioacetildenafil	0.26	2.32
41	Hydroxythiovaridenafil	0.26	3.06	85	Tadalafil dichloro impurity	0.14	2.65
42	Cyclopentynafil	0.27	4.22	86	Sildenafil impurity 12	0.21	1.58
43	Propoxyphenyl thiohydroxyhomosildenafil	0.21	2.66	87	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	0.13	4.96
44	Benzylsildenafil	0.23	4.33	88	Propoxyphenyl aildenafil	0.34	4.57
45	Cinnamylidenafil	0.30	2.03	89	Sildenafil impurity 14	0.20	0.99
46	Lodenafil carbonate	0.09	3.66	90	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	0.26	3.05
47	Propoxyphenylsildenafil	0.33	2.32				

2.4 加标回收实验

取 1 mL 样品，加入那非类化合物混合标准溶液，配制成浓度为 100 ng/mL 的加标样品，按照 1.4 中的方法进行前处理，上机分析。抗疲劳饮料样品色谱图和补肾药酒样品色谱图见图 2~图 3。加标回收结果

见表 5。该抗疲劳样品中检出 Sildenafil，浓度为 38.85 ng/mL。抗疲劳饮料样品有 89 种化合物加标回收率在 81.6~113.5%之间。药酒样品有 82 种化合物加标回收率在 80.2~111.9%之间，有 4 种化合物加标回收率在 70.6~79.9%之间。

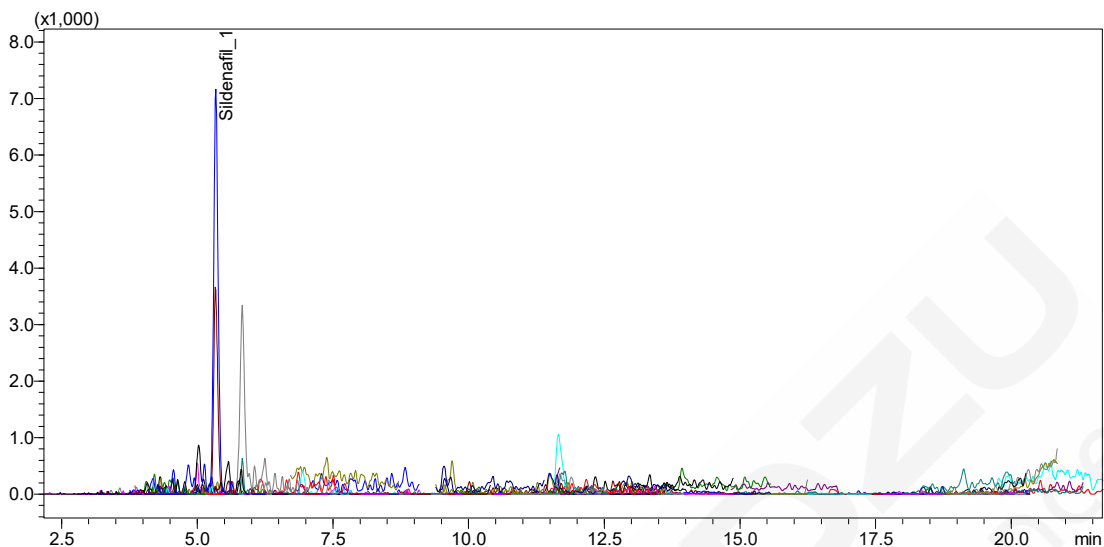


图 2. 抗疲劳饮料样品

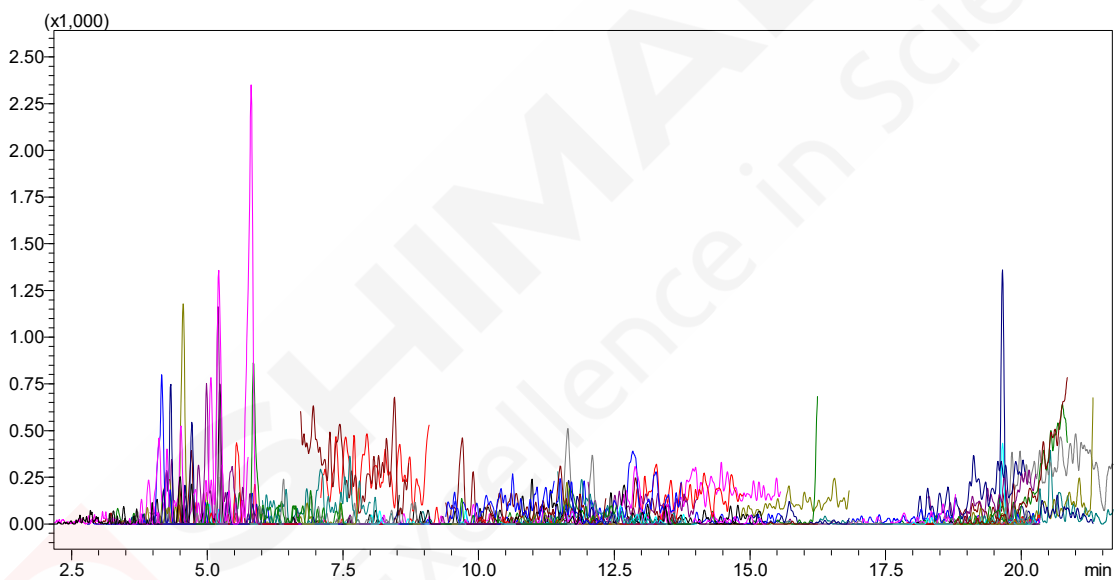


图 3. 补肾药酒样品

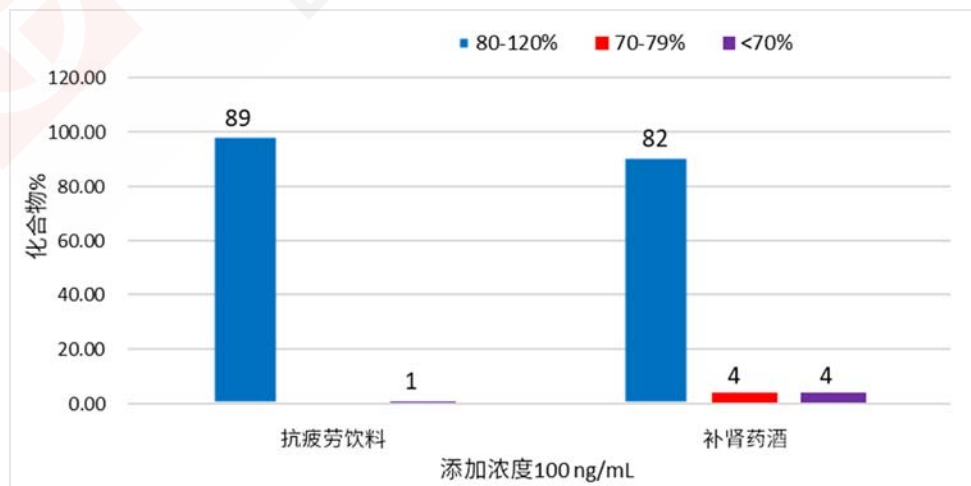


图 4. 抗疲劳饮料和补肾药酒回收率统计

表 5. 样品加标回收率 (加标浓度 100 ng/mL)

抗疲劳饮料				补肾药酒			
No.	名称	样品 浓度 ng/mL	加标回 收率 %	No.	名称	样品 浓度 ng/mL	加标回 收率 %
1	Sildenafil	38.85	109.9	1	Sildenafil	N.D.	102.3
2	Tadalafil	N.D.	103.6	2	Tadalafil	N.D.	108.1
3	Imidazosagatriazinone	N.D.	100.3	3	Imidazosagatriazinone	N.D.	100.5
4	Gendenafil	N.D.	100.3	4	Gendenafil	N.D.	102.5
5	Acetil acid	N.D.	104.1	5	Acetil acid	N.D.	102.7
6	Xanthoanthrafil	N.D.	109.2	6	Xanthoanthrafil	N.D.	111.1
7	Aminotadalafil	N.D.	106.3	7	Aminotadalafil	N.D.	108.8
8	Chloropretadalafil	N.D.	99.7	8	Chloropretadalafil	N.D.	97.3
9	Piperiacetildenafil	N.D.	93.8	9	Piperiacetildenafil	N.D.	80.2
10	Noracetildenafil	N.D.	88.5	10	Noracetildenafil	N.D.	77.0
11	Carbodenafil	N.D.	101.8	11	Carbodenafil	N.D.	101.1
12	Pseudovardenafil	N.D.	100.8	12	Pseudovardenafil	N.D.	99.4
13	Norneosildenafil	N.D.	99.1	13	Norneosildenafil	N.D.	102.1
14	N-Desethylvaridenafil	N.D.	92.9	14	N-Desethylvaridenafil	N.D.	96.3
15	N-Desmethylsildenafil	N.D.	106.5	15	N-Desmethylsildenafil	N.D.	111.9
16	Acetildenafil	N.D.	91.9	16	Acetildenafil	N.D.	79.9
17	Hydroxyacetildenafil	N.D.	96.7	17	Hydroxyacetildenafil	N.D.	82.8
18	Avanafil	N.D.	91.9	18	Avanafil	N.D.	89.8
19	Aildenafil	N.D.	102.8	19	Aildenafil	N.D.	99.6
20	Homosildenafil	N.D.	111.0	20	Homosildenafil	N.D.	106.1
21	Vardenafil	N.D.	84.3	21	Vardenafil	N.D.	89.5
22	Thiosildenafil	N.D.	104.7	22	Thiosildenafil	N.D.	103.9
23	Thiohomosildenafil	N.D.	97.7	23	Thiohomosildenafil	N.D.	95.1
24	Hydroxyvaridenafil	N.D.	91.8	24	Hydroxyvaridenafil	N.D.	101.8
25	Hydroxyhomosildenafil	N.D.	96.4	25	Hydroxyhomosildenafil	N.D.	96.2
26	Udenafil	N.D.	95.9	26	Udenafil	N.D.	70.6
27	Hydroxythiohomosilden afil	N.D.	97.8	27	Hydroxythiohomosilden afil	N.D.	98.2
28	Norneovardenafil	N.D.	102.4	28	Norneovardenafil	N.D.	101.4
29	Nitrodenafil	N.D.	100.2	29	Nitrodenafil	N.D.	101.3
30	Nortadalafil	N.D.	109.2	30	Nortadalafil	N.D.	104.0
31	Chlorodenafil	N.D.	102.8	31	Chlorodenafil	N.D.	102.8
32	Hydroxychlorodenafil	N.D.	102.3	32	Hydroxychlorodenafil	N.D.	103.8
33	N-Butyltadalafil	N.D.	105.0	33	N-Butyltadalafil	N.D.	105.5
34	Desmethylcarbodenafil	N.D.	105.4	34	Desmethylcarbodenafil	N.D.	106.5
35	Descarbonsildenafil	N.D.	101.3	35	Descarbonsildenafil	N.D.	89.5
36	Dimethylacetildenafil	N.D.	89.1	36	Dimethylacetildenafil	N.D.	41.0
37	Dithio- desmethylcarbodenafil	N.D.	98.0	37	Dithio- desmethylcarbodenafil	N.D.	93.8
38	Oxohongdenafil	N.D.	99.5	38	Oxohongdenafil	N.D.	97.7
39	N-Octylnortadalafil	N.D.	107.4	39	N-Octylnortadalafil	N.D.	104.6

40	Dioxohongdenafil	N.D.	101.8	40	Dioxohongdenafil	N.D.	106.0
41	Hydroxythiovardenafil	N.D.	101.2	41	Hydroxythiovardenafil	N.D.	100.4
42	Cyclopentynafil Propoxyphenyl	N.D.	96.5	42	Cyclopentynafil Propoxyphenyl	N.D.	96.3
43	thiohydroxyhomosilden afil	N.D.	96.3	43	thiohydroxyhomosilдена fil	N.D.	97.0
44	Benzylsildenafil	N.D.	108.5	44	Benzylsildenafil	N.D.	109.5
45	Cinnamyldenafil	N.D.	100.3	45	Cinnamyldenafil	N.D.	93.9
46	Lodenafil carbonate	N.D.	99.9	46	Lodenafil carbonate	N.D.	102.5
47	Propoxyphenylsildenafil	N.D.	108.1	47	Propoxyphenylsildenafil	N.D.	96.8
48	Depiperazinothiosilden afil (+)	N.D.	102.0	48	Depiperazinothiosildenaf il (+)	N.D.	105.8
48	Depiperazinothiosilden afil (-)	N.D.	101.5	48	Depiperazinothiosildenaf il (-)	N.D.	101.3
49	Acetaminotadalafil 2-	N.D.	94.1	49	Acetaminotadalafil 2-	N.D.	108.2
50	Hydroxypropylnortadal afil	N.D.	108.2	50	Hydroxypropylnortadalaf il	N.D.	112.0
51	Acetylvardenafil	N.D.	81.6	51	Acetylvardenafil	N.D.	65.7
52	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	N.D.	102.2	52	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	N.D.	102.7
53	Propoxyphenyl thioaildenafil	N.D.	101.8	53	Propoxyphenyl thioaildenafil	N.D.	102.1
54	Yohimbine	N.D.	67.8	54	Yohimbine	N.D.	72.5
55	Dapoxetine	N.D.	102.6	55	Dapoxetine	N.D.	102.8
56	N-Desethylacetildenafil	N.D.	83.6	56	N-Desethylacetildenafil	N.D.	68.6
57	Desmethylthiosildenafil	N.D.	104.7	57	Desmethylthiosildenafil	N.D.	100.1
58	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	N.D.	99.6	58	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	N.D.	94.1
59	N-Ethyltadalafil	N.D.	105.3	59	N-Ethyltadalafil	N.D.	101.2
60	O-Desethylsildenafil	N.D.	104.0	60	O-Desethylsildenafil	N.D.	106.2
61	Pyrazole N- desmethylsildenafil	N.D.	105.5	61	Pyrazole N- desmethylsildenafil	N.D.	102.1
62	Isobutylsildenafil	N.D.	105.0	62	Isobutylsildenafil	N.D.	104.2
63	Sildenafil dimer impurity	N.D.	103.3	63	Sildenafil dimer impurity	N.D.	98.4
64	Vardenafil oxopiperazine	N.D.	100.6	64	Vardenafil oxopiperazine	N.D.	101.5
65	Sildenafil N-oxide	N.D.	100.2	65	Sildenafil N-oxide	N.D.	91.6
66	Vardenafil N-oxide 2-	N.D.	98.5	66	Vardenafil N-oxide 2-	N.D.	95.5
67	Hydroxyethylnortadalafi l	N.D.	112.5	67	Hydroxyethylnortadalafil	N.D.	112.4
68	Vardenafil acetyl analogue	N.D.	88.8	68	Vardenafil acetyl analogue	N.D.	74.0
69	Vardenafil dimer (+)	N.D.	97.2	69	Vardenafil dimer (+)	N.D.	95.8
69	Vardenafil dimer (-)	N.D.	99.8	69	Vardenafil dimer (-)	N.D.	102.5
70	Mirodenafil	N.D.	103.5	70	Mirodenafil	N.D.	91.9

71	Mutaprodenafil	N.D.	101.6	71	Mutaprodenafil	N.D.	97.5
72	Thioquinapiperfil	N.D.	95.7	72	Thioquinapiperfil	N.D.	46.3
73	Aminosildenafil	N.D.	99.8	73	Aminosildenafil	N.D.	97.5
74	Desethylcarbodenafil	N.D.	103.0	74	Desethylcarbodenafil	N.D.	100.7
75	Didescarbonsildenafil	N.D.	113.5	75	Didescarbonsildenafil	N.D.	110.8
	N-				N-		
76	Phenylpropenyldadalafil (+)	N.D.	98.8	76	Phenylpropenyldadalafil (+)	N.D.	96.6
	N-				N-		
76	Phenylpropenyldadalafil (-)	N.D.	95.1	76	Phenylpropenyldadalafil (-)	N.D.	107.4
	N-Desethyl-N-methylwardenafil	N.D.	90.6	77	N-Desethyl-N-methylwardenafil	N.D.	97.8
78	Thioaildenafil	N.D.	99.6	78	Thioaildenafil	N.D.	98.6
79	Dichlorodenafil	N.D.	98.8	79	Dichlorodenafil	N.D.	100.6
80	Piperazonifil	N.D.	108.8	80	Piperazonifil	N.D.	105.9
81	Propoxyphenyl thiosildenafil	N.D.	98.2	81	Propoxyphenyl thiosildenafil	N.D.	102.8
82	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	N.D.	100.6	82	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	N.D.	105.2
83	Dithiodesethyl carbodenafil	N.D.	100.8	83	Dithiodesethyl carbodenafil	N.D.	99.4
84	Hydroxythioacetildenafil	N.D.	96.0	84	Hydroxythioacetildenafil	N.D.	85.9
85	Tadalafil dichloro impurity	N.D.	106.2	85	Tadalafil dichloro impurity	N.D.	105.8
86	Sildenafil impurity 12	N.D.	101.6	86	Sildenafil impurity 12	N.D.	100.8
87	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	N.D.	112.2	87	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	N.D.	108.3
88	Propoxyphenyl aildenafil	N.D.	101.2	88	Propoxyphenyl aildenafil	N.D.	99.6
89	Sildenafil impurity 14	N.D.	99.2	89	Sildenafil impurity 14	N.D.	99.8
90	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	N.D.	103.5	90	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	N.D.	96.3

2.5 实际样品分析

使用本方法分析了三种品牌的抗疲劳饮料，每个样品平行分析两次，品牌 1 和品牌 2 检出西地那非，未检出其他化合物。品牌 3 未检出任何化合物。西地那非定量结果见表 6。

表 6. 样品分析结果

样品名称	分析结果
品牌 1	西地那非 (Sildenafil) ,38.85 ng/mL
品牌 2	西地那非 (Sildenafil) ,51.15 ng/mL
品牌 3	未检出

3. 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定抗疲劳饮料和补肾药酒中 90 种那非类化合物的方法。本方法基于国家市场监督管理总局发布的标准，可在 25 min 内正负离子同时检测 90 种那非类化合物。方法线性范围宽、重复性好、准确度高，优于食品补充检验方法标准要求。使用本方法测定了三个品牌的抗疲劳饮料样品，其中两个品牌检出西地那非 (Sildenafil)。补肾药酒中未检出 90 种那非类化合物。本方法简单、快速、灵敏、准确，可用于食品中 90 种那非类物质的定量检测和定性筛查。



表 2. MRM 参数

No.	英文名称	中文名称	CAS 号	参考保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	Sildenafil	西地那非	139755-83-2	5.386	475.20	100.20*	-11	-28	-18
						283.20	-11	-39	-19
2	Tadalafil	他达拉非	171596-29-5	9.395	390.10	135.00*	-30	-23	-14
						204.05	-30	-55	-30
3	Imidazosagatriazinone	脱硫伐地那非	139756-21-1	19.110	313.15	285.10*	-11	-25	-30
						256.10	-11	-29	-28
4	Gildenafil	伐地那非	147676-66-2	14.338	355.20	285.20*	-10	-30	-19
						327.20	-10	-25	-16
5	Acetil acid	那非乙酸	147676-78-6	12.474	357.20	329.20*	-10	-26	-16
						285.20	-10	-30	-20
6	Xanthoanthrafil	苯酰胺那非	1020251-53-9	7.596	390.20	151.10*	-11	-20	-16
						107.10	-11	-58	-19
7	Aminotadalafil	氨基他达拉非	385769-84-6	7.569	391.10	204.10*	-14	-60	-21
						262.10	-20	-32	-30
8	Chloropretadalafil	他达拉非甲基氯化物	171489-59-1	12.499	427.15	135.10*	-10	-21	-14
						274.10	-12	-33	-30
9	Piperiacetildenafil	苯噻啉红地那非	147676-50-4	5.061	438.25	98.15*	-10	-32	-18
						297.20	-10	-37	-20
10	Noracetildenafil	那红地那非	949091-38-7	4.814	453.25	97.10*	-10	-31	-18
						113.15	-13	-31	-20
11	Carbodenafil	卡巴地那非	944241-52-5	4.221	453.30	339.20*	-10	-24	-17
						311.20	-10	-33	-15
12	Pseudovardenafil	伪伐地那非	224788-34-5	16.629	460.2	151.15*	-13	-42	-16
						312.25	-11	-37	-22
13	Norneosildenafil	那莫西地那非	371959-09-0	18.768	460.2	283.10*	-13	-36	-19
						299.20	-13	-37	-21
14	N-Desethylvaridenafil	N-去乙基伐地那非	448184-46-1	4.976	461.20	151.10*	-13	-43	-15

						312.25	-11	-37	-22
15	N-Desmethylsildenafil	N-去甲基西地那非	139755-82-1	5.308	461.20	283.10*	-13	-38	-19
						311.20	-13	-29	-15
16	Acetildenafil	红地那非	831217-01-7	4.956	467.30	111.20*	-11	-31	-21
						127.20	-13	-31	-13
17	Hydroxyacetildenafil	羟基红地那非	147676-56-0	4.755	483.25	127.15*	-11	-30	-23
						143.15	-11	-33	-27
18	Avanafil	阿伐那非	330784-47-9	4.939	484.15	375.20*	-11	-26	-18
						155.10	-11	-43	-16
19	Aildenafil	艾地那非	496835-35-9	5.733	489.20	99.10*	-11	-35	-22
						113.15	-11	-31	-18
20	Homosildenafil	豪莫西地那非	642928-07-2	5.325	489.20	72.10*	-11	-48	-18
						113.15	-11	-29	-26
21	Vardenafil	伐地那非	224785-90-4	5.009	489.20	151.10*	-11	-47	-15
						312.20	-14	-40	-22
22	Thiosildenafil	硫代西地那非	479073-79-5	10.631	491.15	299.05*	-30	-38	-15
						100.20	-30	-30	-20
23	Thiohomosildenafil	硫代豪莫西地那非	479073-80-8	10.760	505.25	113.20*	-24	-31	-21
						299.10	-24	-39	-20
24	Hydroxyvardenafil	羟基伐地那非	224785-98-2	4.973	505.20	151.10*	-20	-49	-15
						312.20	-20	-39	-15
25	Hydroxyhomosildenafil	羟基豪莫西地那非	139755-85-4	5.269	505.25	99.20*	-20	-39	-19
						129.20	-24	-29	-24
26	Udenafil	乌地那非	268203-93-6	6.261	517.25	283.15*	-20	-45	-19
						112.15	-20	-34	-21
27	Hydroxythiohomosildenafil	羟基硫代豪莫西地那非	479073-82-0	10.682	521.25	99.20*	-20	-40	-18
						129.20	-24	-31	-13
28	Norneovardenafil	那莫伐地那非	358390-39-3	10.395	357.15	151.10*	-10	-30	-16
						329.20	-10	-24	-16
29	Nitrodenafil	硝地那非	147676-99-1	17.791	358.20	284.20*	-10	-31	-19
						330.20	-10	-23	-23
30	Nortadalafil	去甲基他达拉非	171596-36-4	8.091	376.10	204.10*	-30	-56	-21

						262.10	-30	-29	-28
31	Chlorodenafil	氯地那非	1058653-74-9	15.832	389.10	361.20*	-11	-27	-18
						285.10	-11	-33	-20
32	Hydroxychlorodenafil	羟基氯地那非	1391054-00-4	14.566	391.20	313.20*	-11	-34	-22
						285.20	-11	-32	-20
33	N-Butyltadalafil	N-丁基他达拉非	171596-31-9	16.426	432.20	310.20*	-10	-17	-15
						135.10	-10	-24	-14
34	Desmethylcarbodenafil	去甲基卡巴地那非	147676-79-7	4.138	439.20	339.20*	-10	-23	-17
						311.20	-10	-33	-15
35	Descarbonsildenafil	去碳西地那非	1393816-99-3	4.794	463.20	283.20*	-11	-39	-19
						311.20	-11	-31	-22
36	Dimethylacetildenafil	二甲基红地那非	1290041-88-1	5.667	467.25	127.20*	-11	-31	-17
						166.10	-11	-53	-13
37	Dithio-desmethylcarbodenafil	二硫代去甲基 卡巴地那非	1333233-46-7	11.548	471.25	371.20*	-13	-24	-18
						343.20	-11	-35	-24
38	Oxohongdenafil	酮红地那非	1446144-70-2	9.427	481.30	410.25*	-11	-31	-20
						297.20	-11	-44	-20
39	N-Octylnortadalafil	N-辛基去甲他达拉非	1173706-35-8	20.325	488.20	366.30*	-11	-20	-18
						169.10	-11	-44	-17
40	Dioxohongdenafil	双酮红地那非	1609405-33-5	8.771	495.20	127.20*	-11	-38	-23
						311.20	-11	-40	-22
41	Hydroxythiovardenafil	羟基硫代伐地那非	912576-30-8	8.749	521.20	167.10*	-20	-54	-17
						99.20	-20	-36	-19
42	Cyclopentynafil	环戊那非	1173706-34-7	5.971	529.20	98.20*	-20	-36	-18
						461.25	-20	-39	-23
43	Propoxyphenyl thiohydroxyhomosildenafil	丙氧苯基硫代 羟基豪莫西地那非	479073-90-0	12.963	535.25	99.20*	-20	-39	-18
						299.20	-20	-38	-20
44	Benzylsildenafil	苄西地那非	1446089-82-2	8.621	551.20	377.20*	-20	-29	-18
						134.20	-20	-41	-26
45	Cinnamylidenafil	桂地那非	1446089-83-3	9.405	555.25	117.10*	-20	-32	-12
						115.20	-20	-69	-21
46	Lodenafil carbonate	罗地那非碳酸酯	398507-55-6	17.741	518.30	487.30*	-26	-22	-30

						244.10	-29	-27	-26
						230.20	-12	-36	-11
47	Propoxyphenylsildenafil	丙氧苯基西地那非	877777-10-1	6.409	489.25	283.20*	-11	-36	-20
						166.30	-11	-53	-11
48	Depiperazinothiosildenafil (+)	脱哌嗪基硫代西地那非	1353018-10-6	8.302	409.10	167.20*	-12	-36	-17
						381.20	-12	-28	-19
48	Depiperazinothiosildenafil (-)	脱哌嗪基硫代西地那非	1353018-10-6	8.302	407.10	314.10*	14	30	20
						378.20	14	24	17
49	Acetaminotadalafil	乙酰胺基他达拉非	1446144-71-3	7.719	433.20	204.10*	-10	-66	-21
						135.10	-12	-22	-14
50	2-Hydroxypropylnortadalafil	2-羟丙基去甲他达拉非	1353020-85-5	9.682	434.20	312.20*	-10	-16	-22
						135.10	-12	-24	-24
51	Acetylvardenafil	乙酰伐地那非	1261351-28-3	4.410	467.30	151.10*	-13	-46	-15
						111.20	-10	-31	-20
52	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	丙氧苯基羟基豪莫西地那非	139755-87-6	6.443	519.20	99.20*	-20	-40	-18
						283.10	-20	-38	-19
53	Propoxyphenyl thioaildenafil	丙氧苯基硫代艾地那非	856190-49-3	13.879	519.20	299.00*	-12	-37	-21
						112.95	-30	-33	-30
54	Yohimbine	育亨宾	146-48-5	3.179	355.20	144.10*	-10	-30	-15
						212.10	-10	-24	-22
55	Dapoxetine	达泊西汀	119356-77-3	6.792	306.15	157.10*	-11	-25	-16
						127.10	-11	-50	-22
56	N-Desethylacetildenafil	N-去乙基红地那非	147676-55-9	4.848	439.20	99.20*	-10	-30	-19
						166.10	-10	-49	-17
57	Desmethylthiosildenafil	去甲基硫代西地那非	479073-86-4	10.698	477.20	299.20*	-11	-37	-21
						327.20	-11	-29	-16
58	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	N-叔丁氧羰基-N-去乙基红地那非	1246820-46-1	9.413	539.30	439.20*	-20	-21	-22
						99.20	-20	-37	-18
59	N-Ethyltadalafil	N-乙基他达拉非	1609405-34-6	10.919	404.20	135.10*	-11	-21	-25
						282.20	-11	-16	-19
60	O-Desethylsildenafil	O-去乙基西地那非	139755-91-2	6.559	447.20	283.10*	-10	-28	-19
						299.20	-10	-31	-21

61	Pyrazole N-desmethylsildenafil	吡唑 N-去甲基西地那非	139755-95-6	3.792	461.20	100.20*	-10	-28	-19
						269.10	-10	-38	-18
62	Isobutylsildenafil	异丁基西地那非	1391053-95-4	6.409	489.20	100.20*	-11	-29	-19
						297.20	-11	-39	-20
63	Sildenafil dimer impurity	西地那非二聚体杂质	1346602-67-2	19.850	835.30	283.20*	-20	-60	-19
						299.10	-20	-53	-21
64	Vardenafil oxopiperazine	伐地那非哌嗪酮	448184-58-5	7.932	475.15	151.10*	-11	-52	-15
						312.20	-11	-36	-22
65	Sildenafil N-oxide	西地那非 N-氧化物	1094598-75-0	5.732	491.20	404.20*	-11	-29	-20
						99.20	-20	-23	-24
66	Vardenafil N-oxide	伐地那非 N-氧化物	448184-48-3	5.370	505.20	477.25*	-20	-23	-24
						151.10	-24	-62	-15
67	2-Hydroxyethylnortadalafil	2-羟乙基去甲他达拉非	385769-94-8	8.487	420.15	298.20*	-12	-16	-21
						169.10	-12	-38	-17
68	Vardenafil acetyl analogue	伐地那非乙酰基类似物	/	4.377	438.25	98.20*	-10	-31	-19
						151.10	-10	-44	-15
69	Vardenafil dimer (+)	伐地那非二聚体	1255919-03-9	19.342	835.30	312.20*	-24	-55	-15
						151.20	-24	-55	-15
69	Vardenafil dimer (-)	伐地那非二聚体	1255919-03-9	19.345	833.30	805.20*	22	40	22
						282.10	22	64	18
70	Mirodenafil	米罗那非	862189-95-5	8.890	532.30	296.20*	-20	-40	-20
						99.20	-20	-42	-18
71	Mutaprodenafil	亚硝地那非	1387577-30-1	7.782	630.25	141.95*	-22	-29	-15
						312.20	-22	-42	-15
72	Thioquinapiperfil	硫喹哌非	220060-39-9	5.746	449.20	204.10*	-10	-23	-22
						186.10	-10	-36	-20
73	Aminosildenafil	氨基西地那非	319491-68-4	9.462	406.20	364.20*	-11	-24	-18
						299.20	-11	-33	-21
74	Desethylcarbodenafil	去乙基卡巴地那非	1027192-92-2	4.165	425.25	339.20*	-12	-23	-16
						311.20	-12	-32	-22
75	Didescarbonsildenafil	双去碳西地那非	466684-88-8	4.752	449.2	283.20*	-10	-36	-19
						311.20	-10	-29	-15

76	N-Phenylpropenyltadalafil (+)	N-苯丙烯基他达拉非	2064212-00-4	19.275	505.20	383.10*	-24	-19	-19
						261.95	-22	-32	-28
76	N-Phenylpropenyltadalafil (-)	N-苯丙烯基他达拉非	2064212-00-4	19.264	503.20	262.40*	24	22	16
						232.30	24	45	14
77	N-Desethyl-N-methylvaridenafil	N-去乙基-N-甲基 伐地那非	224785-87-9	4.964	475.20	151.10*	-11	-43	-15
						312.20	-11	-37	-15
78	Thioaildenafil	硫代艾地那非	856190-47-1	11.595	505.20	99.20*	-20	-34	-19
						113.20	-20	-31	-21
79	Dichlorodenafil	双氯地那非	1446089-84-4	20.694	407.10	379.10*	-11	-27	-19
						350.10	-11	-32	-17
80	Piperazonifil	哌唑那非	1335201-04-1	5.667	483.20	436.30*	-11	-30	-22
						166.10	-11	-53	-17
81	Propoxyphenyl thiosildenafil	丙氧苯基硫代西地那非	479073-87-5	12.912	505.20	299.15*	-14	-38	-21
						313.20	-30	-33	-30
82	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	丙氧苯基硫代 豪莫西地那非	479073-88-6	13.019	519.20	299.10*	-20	-39	-20
						113.20	-20	-31	-20
83	Dithiodesethyl carbodenafil	二硫代去乙基卡 巴地那非	1610830-81-3	11.345	457.20	371.20*	-10	-23	-18
						343.10	-10	-34	-24
84	Hydroxythioacetildenafil	羟基硫代红地那非	1159977-47-5	9.773	499.20	127.20*	-11	-31	-13
						143.20	-11	-32	-15
85	Tadalafil dichloro impurity	他达拉非二氯代杂质	1598416-08-0	15.251	461.00	134.95*	-30	-21	-14
						204.10	-30	-68	-22
86	Sildenafil impurity 12	西地那非杂质 12	/	12.538	499.20	343.15*	-11	-38	-24
						371.15	-30	-27	-30
87	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	去甲基哌嗪基 西地那非磺酸	1357931-55-5	5.410	393.10	365.20*	-11	-27	-26
						256.10	-11	-34	-28
88	Propoxyphenyl aildenafil	丙氧苯基艾地那非	1391053-82-9	7.014	503.20	283.10*	-24	-38	-19
						113.25	-24	-31	-22
89	Sildenafil impurity 14	西地那非杂质 14	2146091-79-2	12.741	485.20	343.10*	-11	-36	-24
						371.20	-11	-25	-18
90	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	丙氧苯基异丁基 艾地那非	1621873-33-3	8.503	517.30	297.35*	-20	-38	-20
						113.20	-20	-32	-22

*代表定量离子对。

LCMS-QTOF定性筛查抗疲劳饮料中90种那非类物质

摘要: 本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 建立了定性筛查抗疲劳饮料中 90 种那非类物质的方法。结合保留时间、一级质谱准确质量数和同位素丰度评价信息实现 90 种那非类化合物的快速定性筛查。一级质谱准确质量数相对误差均小于 2.0 ppm, 优于定性的一般要求 (小于 5 ppm)。建立了 90 种那非类化合物的二级质谱库, 使用二级质谱库搜索匹配评价功能可进行进一步的确证。使用抗疲劳饮料加标样品考察方法检出限, 90 种那非类物质方法检出限在 0.003~0.490 mg/L 之间。使用该方法测试了抗疲劳饮料样品, 检出西地那非, 其一级质谱质量数相对误差为 0.44 ppm, 检索得分为 97.55 分, 同位素丰度匹配得分为 97.47, 二级质谱信息搜索匹配相似度为 94%。

关键词: LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 那非类物质 抗疲劳饮料

那非类物质是最重要的一类人体内5型磷酸二酯酶 (phosphodiesterase 5, PDE-5) 抑制剂, 可用于治疗男性勃起功能障碍。该类物质已知的副作用包括面部潮红、头晕、头痛、鼻塞和视觉异常等, 严重的会导致死亡, 是一种须在医生指导下服用的处方药。

近年来, 随着化学合成技术的进步, 一些具有PDE5抑制活性的那非类衍生物不断涌现, 被一些不法分子添加至标示或暗示具有补肾壮阳、抗疲劳、改善免疫力等作用的食品中, 对服用者健康和生命安全造成严重威胁。我国《食品安全法》第三十八条规定, 生产经营的食品中不得添加药品, 但是可以添加按照传统既是食品又是中药材的物质。那非类物质是处方药, 在食品或保健食品等特殊食品中添加属于违法行为, 必须予以打击。

本文参考国家市场监督管理总局发布的《食品中那非类物质的测定 (BJS 201805)》食品补充检验方法, 利用岛津LCMS-9030超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱仪, 建立了一种定性筛查抗疲劳饮料中90种那非类物质的方法。本方法简便、快速、准确、灵敏度高, 无需标准物质即可快速定性筛查90种那非类物质。供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置: LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A_{SR} 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪, LabSolutions V 5.96 工作站软件, LabSolutions Insight Explore V 3.4 (用于同位素丰度评价和分子式预测)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST 2.1 mm I.D.× 150 mm L., 2.0 μm (P/N: 227-30001-05, SGLC)
流 动 相 : A相-0.1%甲酸; B相-甲醇
洗 针 模 式 : 进样前后洗针, External only (进样针外壁清洗), Rinse Port
流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C
进 样 体 积 : 1 μL 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为15%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	50
16.00	泵	B.Conc	65
19.00	泵	B.Conc	98
22.00	泵	B.Conc	98
22.10	泵	B.Conc	15
25.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源：ESI(+)

DL 管温度：250°C

接口电压：4.0 kV

加热块温度：400°C

雾化气：3.0 L/min

校准方法：外标法校准质量数 (NaI)，分辨率 >30000 (m/z 1972)，质量误差 <2 ppm

加热气流量：10.0 L/min

扫描模式：MS Scan (m/z 200 -1000) & MS/MS (m/z 10 -900)

干燥气流量：10.0 L/min

接口温度：300°C

1.3 样品前处理

取试样适量摇匀，准确吸取 1 mL 置于 50 mL 容量瓶中，加甲醇适量，超声提取 15 min，放冷至室温，用甲醇定容，经有机相微孔滤膜过滤，取滤液待测。

2. 结果与讨论

2.1 准确质量数提取结果

90 种那非类化合物提取离子流色谱图 (EIC) 如图 1 所示。

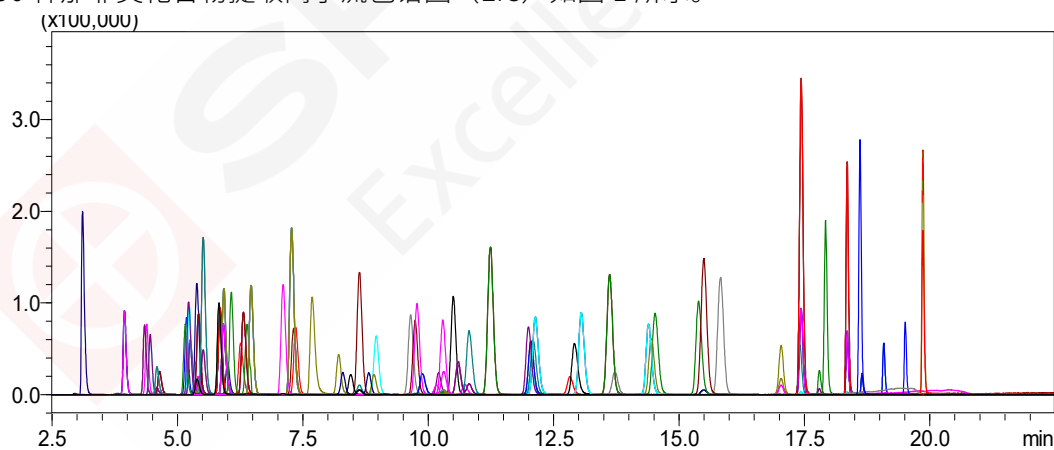


图 1. 90 种那非类物质 EIC 图 (10 ng/mL)

2.2 方法检出限

配制浓度 0.5 mg/L 的抗疲劳饮料加标样品，按照上述前处理方法处理后，上机进行测定，90 种那非类物质的方法检出限 (ASTM, S/N=3) 为 0.003~0.490 mg/L，具体结果表 2。

表 2.90 种那非类化合物方法检出限

编号	化合物名称	方法检出限 (mg/L)	编号	化合物名称	方法检出限 (mg/L)
1	西地那非	0.100	46	罗地那非碳酸酯	0.136
2	他达拉非	0.100	47	丙氧苯基西地那非	0.205
3	脱硫伐地那非	0.057	48	脱哌嗪基硫代西地那非	0.064
4	庆地那非	0.020	49	乙酰胺基他达拉非	0.031
5	那非乙酸	0.008	50	2-羟丙基去甲他达拉非	0.161
6	苯酰胺那非	0.109	51	乙酰伐地那非	0.014
7	氨基他达拉非	0.035	52	丙氧苯基羟基豪莫西地那非	0.013
8	他达拉非甲基氯化物	0.490	53	丙氧苯基硫代艾地那非	0.012
9	苯噻啶红地那非	0.020	54	育亨宾	0.012
10	那红地那非	0.015	55	达泊西汀	0.034
11	卡巴地那非	0.009	56	N-去乙基红地那非	0.006
12	伪伐地那非	0.007	57	去甲基硫代西地那非	0.005
13	那莫西地那非	0.012	58	N-叔丁氧羰基-N-去乙基红地 那非	0.023
14	N-去乙基伐地那非	0.017	59	N-乙基他达拉非	0.031
15	N-去甲基西地那非	0.021	60	O-去乙基西地那非	0.029
16	红地那非	0.004	61	吡唑 N-去甲基西地那非	0.020
17	羟基红地那非	0.020	62	异丁基西地那非	0.004
18	阿伐那非	0.009	63	西地那非二聚体杂质	0.017
19	艾地那非	0.003	64	伐地那非哌嗪酮	0.003
20	豪莫西地那非	0.003	65	西地那非 N-氧化物	0.009
21	伐地那非	0.006	66	伐地那非 N-氧化物	0.200
22	硫代西地那非	0.013	67	2-羟乙基去甲他达拉非	0.100
23	硫代豪莫西地那非	0.012	68	伐地那非乙酰基类似物	0.009
24	羟基伐地那非	0.022	69	伐地那非二聚体	0.014
25	羟基豪莫西地那非	0.016	70	米罗那非	0.034
26	乌地那非	0.005	71	亚硝地那非	0.057
27	羟基硫代豪莫西地那非	0.022	72	硫喹那非	0.025
28	那莫伐地那非	0.017	73	氨基西地那非	0.001
29	硝地那非	0.088	74	去乙基卡巴地那非	0.022
30	去甲基他达拉非	0.119	75	双去碳西地那非	0.081
31	氯地那非	0.206	76	N-苯丙烯基他达拉非	0.027
32	羟基氯地那非	0.041	77	N-去乙基-N-甲基伐地那非	0.017
33	N-丁基他达拉非	0.054	78	硫代艾地那非	0.115
34	去甲基卡巴地那非	0.012	79	双氯地那非	0.066
35	去碳西地那非	0.025	80	哌唑那非	0.011

36	二甲基红地那非	0.005	81	丙氧苯基硫代西地那非	0.061
37	二硫代去甲基卡巴地那非	0.035	82	丙氧苯基硫代豪莫西地那非	0.033
38	酮红地那非	0.200	83	二硫代去乙基卡巴地那非	0.017
39	N-辛基去甲他达拉非	0.300	84	羟基硫代红地那非	0.014
40	双酮红地那非	0.018	85	他达拉非二氯代杂质	0.026
41	羟基硫代伐地那非	0.035	86	西地那非杂质 12	0.007
42	环戊那非	0.055	87	去甲基哌嗪基西地那非磺酸	0.267
43	丙氧苯基硫代 羟基豪莫西地那非	0.020	88	丙氧苯基艾地那非	0.015
44	苄西地那非	0.007	89	西地那非杂质 14	0.088
45	桂地那非	0.026	90	丙氧苯基异丁基艾地那非	0.013

2.3 一级质谱质量数准确度考察

配制 0.5 mg/L 90 种那非类化合物的抗疲劳饮料加标样品溶液，按照前述条件进行前处理，上机分析，进行一级 MS 扫描，根据 90 种那非类化合物的准确质荷比信息，考察各化合物的质量数准确度，结果见表 3。由测试结果可知，90 种那非类化合物准确质量数实测值与理论值的相对误差均小于 2.0 ppm，优于定性的一般要求（小于 5 ppm）。

2.4 抗疲劳饮料样品分析

2.4.1 一级质谱质量数准确度和同位素丰度匹配度评价

按照前述分析条件分析抗疲劳饮料样品，利用岛津 LabSolutions Insight Explore 中分子式预测功能，基于一级质谱准确质量数和同位素丰度比匹配度进行定性筛查。使用该软件计算其同位素丰度匹配得分，设定误差范围 5 ppm，设定元素组成为 C、H、O、N、S。图 2 为西地那非一级质谱提取离子流图，可见图中有一明显的色谱峰，其保留时间与西地那非标准品一致。图 3 为一级质谱准确质量数相对误差和同位素丰度比与理论值的匹配得分。结果表明，软件预测得到的分子式中排名第一的是 $C_{22}H_{30}N_6O_4S$ ，一级质谱质量数相对误差为 0.44 ppm，检索得分为 97.55 分，同位素丰度匹配得分为 97.47，故判定该化合物为西地那非。

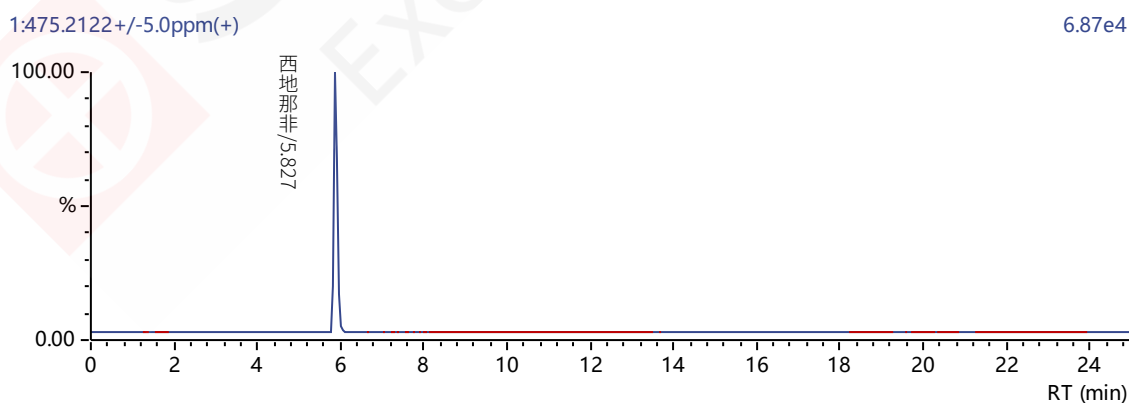


图 2. 西地那非的一级提取离子流图

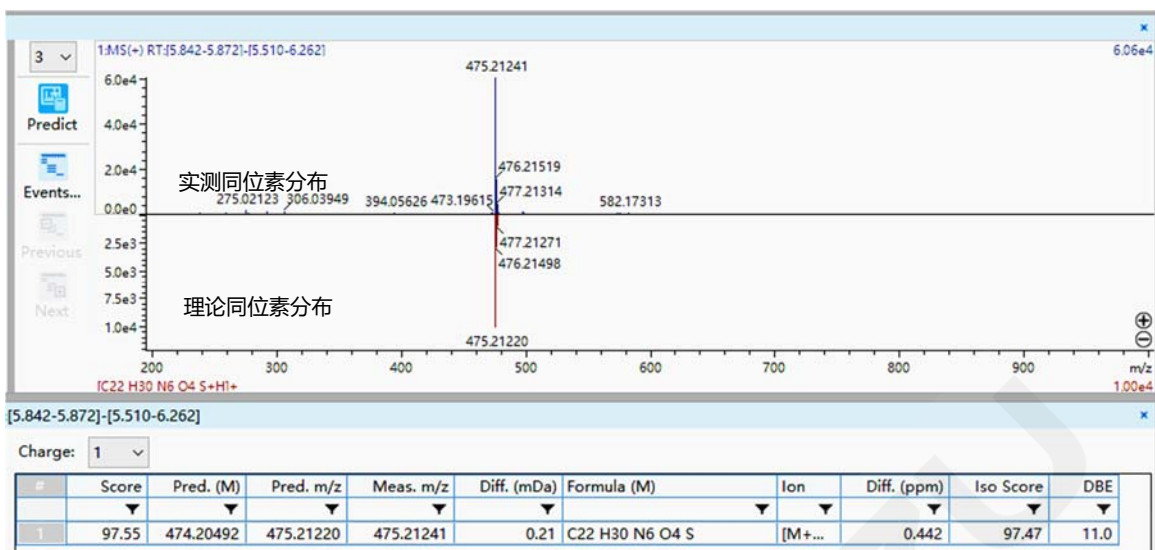


图 3. 西地那非同位素分布评价结果

2.4.2 二级质谱库搜索匹配评价

在 LabSolutions 软件中使用 MSn 谱库搜索功能，调用已创建的 90 种那非类化合物筛查二级质谱库，设置相应的搜索参数，可对抗疲劳饮料样品中的筛查结果做进一步确认。图 4 为抗疲劳饮料样品中筛查出的化合物西地那非的二级质谱搜库结果。由搜库结果可知，西地那非的实测二级质谱图与谱库中碰撞能量 (CE) 在 35 V 下采集到的二级质谱信息搜索匹配相似度为 94%。

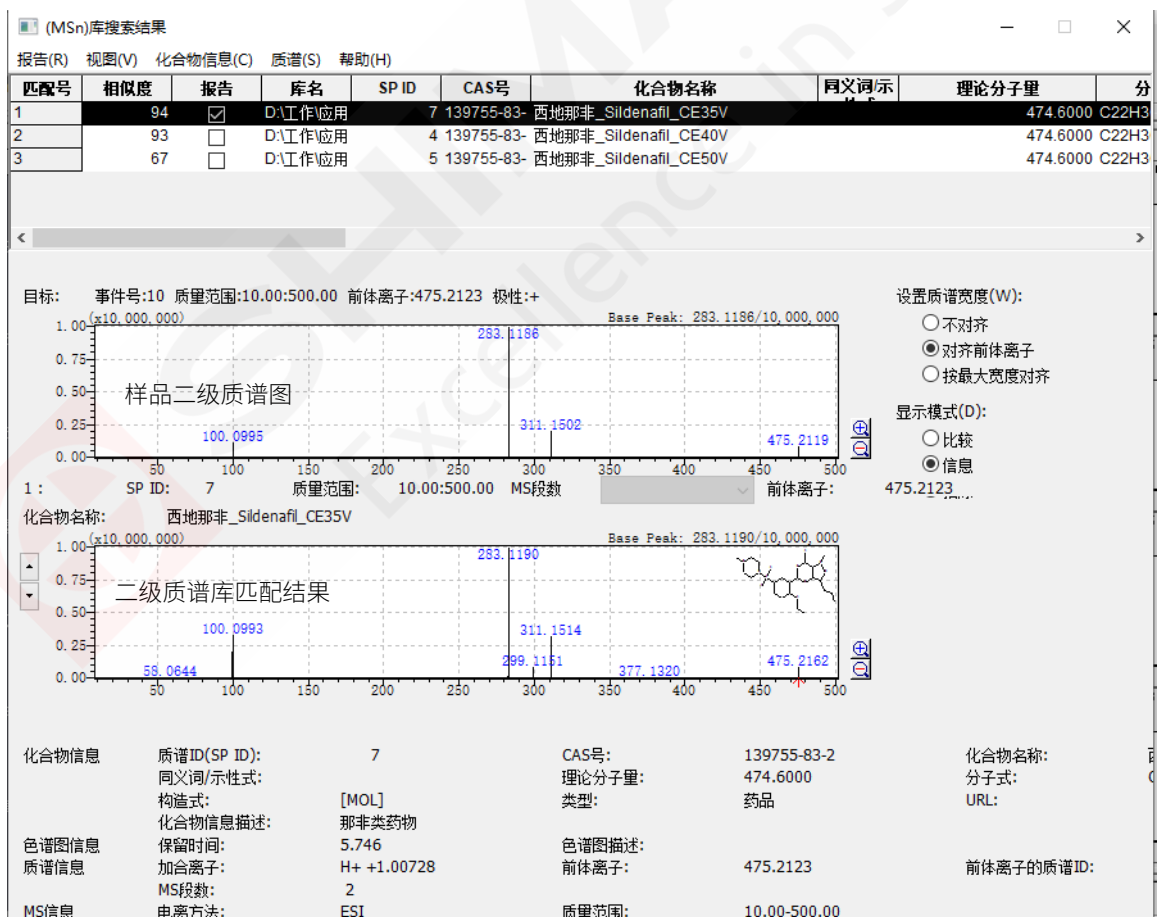


图 4. 西地那非二级质谱库搜索结果

3. 结论

本文采用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了对抗疲劳饮料中 90 种那非类物质定性筛查的方法，同时创建了二级质谱库。方法检出限为 0.003 ~0.490 mg/L，灵敏度高。一级质谱质量数准确度误差小于 2.0 ppm，同位素分布真实准确，二级质谱库匹配度好。该方法简便、灵敏、定性筛查准确性好，适用于抗疲劳饮料中 90 种那非类化合物的快速定性筛查。



表 3. 抗疲劳饮料加标样品中 90 种那非类化合物的准确质量数相对误差

编号	中文名	英文名	CAS#	分子式	RT (min)	离子 类型	理论 m/z	实测 m/z	相对误差 (ppm)
1	西地那非	Sildenafil	139755-83-2	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	5.752	[M+H] ⁺	475.21220	475.21234	0.29
2	他达拉非	Tadalafil	171596-29-5	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₄	10.311	[M+H] ⁺	390.14483	390.14492	0.22
3	脱硫伐地那非	Imidazosagatriazinone	139756-21-1	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₂	18.602	[M+H] ⁺	313.16590	313.16616	0.82
4	伐地那非	Gildenafil	147676-66-2	C ₁₉ H ₂₂ N ₄ O ₃	15.474	[M+H] ⁺	355.17647	355.17637	-0.27
5	那非乙酸	Acetil acid	147676-78-6	C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₄	13.605	[M+H] ⁺	357.15573	357.15571	-0.06
6	苯酰胺那非	Xanthoanthrafil	1020251-53-9	C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₆	8.309	[M+H] ⁺	390.16596	390.16605	0.23
7	氨基他达拉非	Aminotadalafil	385769-84-6	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₄	8.215	[M+H] ⁺	391.14008	391.14001	-0.18
8	他达拉非甲基氯化物	Chloropretadalafil	171489-59-1	C ₂₂ H ₁₉ ClN ₂ O ₅	13.686	[M+H] ⁺	427.10553	427.10536	-0.39
9	苯噻啉红地那非	Piperiacetildenafil	147676-50-4	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₃	5.439	[M+H] ⁺	438.24997	438.25017	0.47
10	那红地那非	Noracetildenafil	949091-38-7	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃	5.156	[M+H] ⁺	453.26087	453.26112	0.56
11	卡巴地那非	Carbodenafil	944241-52-5	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃	4.415	[M+H] ⁺	453.26087	453.26099	0.28
12	伪伐地那非	Pseudovardenafil	224788-34-5	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S	17.427	[M+H] ⁺	460.20130	460.20152	0.47
13	那莫西地那非	Norneosildenafil	371959-09-0	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S	18.354	[M+H] ⁺	460.20130	460.20174	0.95
14	N-去乙基伐地那非	N-Desethylvaridenafil	448184-46-1	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	5.350	[M+H] ⁺	461.19655	461.19687	0.69
15	N-去甲基西地那非	N-Desmethylsildenafil	139755-82-1	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	5.850	[M+H] ⁺	461.19655	461.19676	0.45
16	红地那非	Acetildenafil	831217-01-7	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	5.351	[M+H] ⁺	467.27652	467.27677	0.54
17	羟基红地那非	Hydroxyacetildenafil	147676-56-0	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₄	5.094	[M+H] ⁺	483.27143	483.27175	0.66
18	阿伐那非	Avanafil	330784-47-9	C ₂₃ H ₂₆ ClN ₇ O ₃	5.327	[M+H] ⁺	484.18584	484.18614	0.62
19	艾地那非	Aildenafil	496835-35-9	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	6.395	[M+H] ⁺	489.22785	489.22818	0.67
20	豪莫西地那非	Homosildenafil	642928-07-2	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	5.855	[M+H] ⁺	489.22785	489.22812	0.55
21	伐地那非	Vardenafil	224785-90-4	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	5.383	[M+H] ⁺	489.22785	489.22822	0.75
22	硫代西地那非	Thiosildenafil	479073-79-5	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₃ S ₂	11.858	[M+H] ⁺	491.18936	491.18958	0.45
23	硫代豪莫西地那非	Thiohomosildenafil	479073-80-8	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	11.971	[M+H] ⁺	505.20501	505.20526	0.50
24	羟基伐地那非	Hydroxyvaridenafil	224785-98-2	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S	5.344	[M+H] ⁺	505.22277	505.22319	0.84
25	羟基豪莫西地那非	Hydroxyhomosildenafil	139755-85-4	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S	5.731	[M+H] ⁺	505.22277	505.22307	0.60
26	乌地那非	Udenafil	268203-93-6	C ₂₅ H ₃₆ N ₆ O ₄ S	7.015	[M+H] ⁺	517.25915	517.25939	0.46
27	羟基硫代豪莫西地那非	Hydroxythiohomosildenafil	479073-82-0	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂	11.893	[M+H] ⁺	521.19992	521.20022	0.57

28	那莫伐地那非	Norneovardenafil	358390-39-3	C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₄	11.230	[M+H] ⁺	357.15573	357.15572	-0.03
29	硝地那非	Nitrodenafil	147676-99-1	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₄	17.917	[M+H] ⁺	358.15098	358.15112	0.39
30	去甲基他达拉非	Nortadalafil	171596-36-4	C ₂₁ H ₁₇ N ₃ O ₄	8.825	[M+H] ⁺	376.12918	376.12889	-0.78
31	氯地那非	Chlorodenafil	1058653-74-9	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	17.019	[M+H] ⁺	389.13750	389.13764	0.37
32	羟基氯地那非	Hydroxychlorodenafil	1391054-00-4	C ₁₉ H ₂₃ ClN ₄ O ₃	15.810	[M+H] ⁺	391.15315	391.15321	0.17
33	N-丁基他达拉非	N-Butyltadalafil	171596-31-9	C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₄	17.406	[M+H] ⁺	432.19178	432.19172	-0.15
34	去甲基卡巴地那非	Desmethylcarbodenafil	147676-79-7	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃	4.314	[M+H] ⁺	439.24522	439.24540	0.42
35	去碳西地那非	Descarbonsildenafil	1393816-99-3	C ₂₁ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	5.234	[M+H] ⁺	463.21220	463.21251	0.67
36	二甲基红地那非	Dimethylacetildenafil	1290041-88-1	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	6.242	[M+H] ⁺	467.27652	467.27681	0.63
37	二硫代去甲基卡巴地那非	Dithio-desmethylcarbodenafil	1333233-46-7	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ OS ₂	12.925	[M+H] ⁺	471.19953	471.19976	0.49
38	酮红地那非	Oxohongdenafil	1446144-70-2	C ₂₅ H ₃₂ N ₆ O ₄	10.303	[M+H] ⁺	481.25578	481.25590	0.25
39	N-辛基去甲他达拉非	N-Octylnortadalafil	1173706-35-8	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₄	19.518	[M+H] ⁺	488.25438	488.25490	1.06
40	双酮红地那非	Dioxohongdenafil	1609405-33-5	C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₅	9.753	[M+H] ⁺	495.23505	495.23532	0.56
41	羟基硫代伐地那非	Hydroxythiovardenafil	912576-30-8	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂	9.774	[M+H] ⁺	521.19992	521.2004	0.92
42	环戊那非	Cyclopentynafil	1173706-34-7	C ₂₆ H ₃₆ N ₆ O ₄ S	6.002	[M+H] ⁺	529.25915	529.25961	0.87
43	丙氧苯基硫代羟基豪莫西地那非	Propoxyphenyl thiohydroxyhomosildenafil	479073-90-0	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₄ S ₂	14.444	[M+H] ⁺	535.21557	535.21591	0.63
44	苄西地那非	Benzylsildenafil	1446089-82-2	C ₂₈ H ₃₄ N ₆ O ₄ S	9.644	[M+H] ⁺	551.24350	551.24386	0.65
45	桂地那非	Cinnamylsildenafil	1446089-83-3	C ₃₂ H ₃₈ N ₆ O ₃	10.834	[M+H] ⁺	555.30782	555.30810	0.51
46	罗地那非碳酸酯	Lodenafil carbonate	398507-55-6	C ₄₇ H ₆₂ N ₁₂ O ₁₁ S ₂	17.800	[M+2H] ²⁺	518.21230	518.21313	1.60
47	丙氧苯基西地那非	Propoxyphenylsildenafil	877777-10-1	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	7.190	[M+H] ⁺	489.22785	489.22805	0.41
48	脱哌嗪基硫代西地那非	Depiperazinothiosildenafil	1353018-10-6	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₄ S ₂	12.843	[M+H] ⁺	409.09987	409.09998	0.26
49	乙酰胺基他达拉非	Acetaminotadalafil	1446144-71-3	C ₂₃ H ₂₀ N ₄ O ₅	8.460	[M+H] ⁺	433.15065	433.15056	-0.20
50	2-羟丙基去甲他达拉非	2-Hydroxypropylnortadalafil	1353020-85-5	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₅	10.745	[M+H] ⁺	434.17105	434.17087	-0.41
51	乙酰伐地那非	Acetylvardenafil	1261351-28-3	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	4.611	[M+H] ⁺	467.27652	467.27674	0.48
52	丙氧苯基羟基豪莫西地那非	Propoxyphenyl hydroxyhomosildenafil	139755-87-6	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₅ S	7.328	[M+H] ⁺	519.23842	519.23864	0.43
53	丙氧苯基硫代艾地那非	Propoxyphenyl thioaildenafil	856190-49-3	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₃ S ₂	15.207	[M+H] ⁺	519.22066	519.22091	0.49
54	育亨宾	Yohimbine	146-48-5	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃	3.136	[M+H] ⁺	355.20162	355.20155	-0.19

55	达泊西汀	Dapoxetine	119356-77-3	C ₂₁ H ₂₃ NO	7.702	[M+H] ⁺	306.18524	306.18518	-0.20
56	N-去乙基红地那非	N-Desethylacetildenafil	147676-55-9	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃	5.185	[M+H] ⁺	439.24522	439.24547	0.58
57	去甲基硫代西地那非	Desmethylthiosildenafil	479073-86-4	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₃ S ₂	12.105	[M+H] ⁺	477.17371	477.17395	0.51
58	N-叔丁氧羰基-N-去乙基红地那非	N-Boc-N-desethyl acetildenafil	1246820-46-1	C ₂₈ H ₃₈ N ₆ O ₅	10.604	[M+H] ⁺	539.29765	539.29797	0.60
59	N-乙基他达拉非	N-Ethyltadalafil	1609405-34-6	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₄	12.056	[M+H] ⁺	404.16048	404.16024	-0.60
60	O-去乙基西地那非	O-Desethylsildenafil	139755-91-2	C ₂₀ H ₂₆ N ₆ O ₄ S	7.363	[M+H] ⁺	447.18090	447.18106	0.36
61	吡唑 N-去甲基西地那非	Pyrazole N-desmethylsildenafil	139755-95-6	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	3.933	[M+H] ⁺	461.19655	461.19676	0.45
62	异丁基西地那非	Isobutylsildenafil	1391053-95-4	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	7.190	[M+H] ⁺	489.22785	489.22805	0.41
63	西地那非二聚体杂质	Sildenafil dimer impurity	1346602-67-2	C ₃₈ H ₄₆ N ₁₀ O ₈ S ₂	19.090	[M+H] ⁺	835.30143	835.30279	1.63
64	伐地那非哌嗪酮	Vardenafil oxopiperazine	448184-58-5	C ₂₁ H ₂₆ N ₆ O ₅ S	8.649	[M+H] ⁺	475.17582	475.17597	0.33
65	西地那非 N-氧化物	Sildenafil N-oxide	1094598-75-0	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₅ S	6.383	[M+H] ⁺	491.20712	491.2076	0.99
66	伐地那非 N-氧化物	Vardenafil N-oxide	448184-48-3	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S	5.869	[M+H] ⁺	505.22277	505.22307	0.60
67	2-羟乙基去甲他达拉非	2-Hydroxyethylnortadalafil	385769-94-8	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₅	8.932	[M+H] ⁺	420.15540	420.15541	0.03
68	伐地那非乙酰基类似物	Vardenafil acetyl analogue	/	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₃	4.547	[M+H] ⁺	438.24997	438.25009	0.28
69	伐地那非二聚体	Vardenafil dimer	1255919-03-9	C ₃₈ H ₄₆ N ₁₀ O ₈ S ₂	18.654	[M+H] ⁺	835.30143	835.30272	1.55
70	米罗那非	Mirodenafil	862189-95-5	C ₂₆ H ₃₇ N ₅ O ₅ S	10.224	[M+H] ⁺	532.25882	532.25912	0.57
71	亚硝地那非	Mutaprodenafil	1387577-30-1	C ₂₇ H ₃₅ N ₉ O ₅ S ₂	8.981	[M+H] ⁺	630.22751	630.22804	0.84
72	硫喹哌非	Thioquinapiperfil	220060-39-9	C ₂₄ H ₂₈ N ₆ OS	6.265	[M+H] ⁺	449.21181	449.21196	0.34
73	氨基西地那非	Aminosildenafil	319491-68-4	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₄ S	10.517	[M+H] ⁺	406.15435	406.15447	0.29
74	去乙基卡巴地那非	Desethylcarbodenafil	1027192-92-2	C ₂₂ H ₂₈ N ₆ O ₃	4.384	[M+H] ⁺	425.22957	425.22968	0.27
75	双去碳西地那非	Didescarbonsildenafil	466684-88-8	C ₂₀ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	5.177	[M+H] ⁺	449.19655	449.19682	0.60
76	N-苯丙烯基他达拉非	N-Phenylpropenyltadalafil	2064212-00-4	C ₃₀ H ₂₄ N ₄ O ₄	18.654	[M+H] ⁺	505.18703	505.18754	1.01
77	N-去乙基-N-甲基伐地那非	N-Desethyl-N-methylvardenafil	224785-87-9	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	5.318	[M+H] ⁺	475.21220	475.21244	0.50
78	硫代艾地那非	Thioaildenafil	856190-47-1	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	12.880	[M+H] ⁺	505.20501	505.20528	0.54
79	双氯地那非	Dichlorodenafil	1446089-84-4	C ₁₉ H ₂₀ Cl ₂ N ₄ O ₂	19.876	[M+H] ⁺	407.10361	407.10436	1.85
80	哌唑那非	Piperazonifil	1335201-04-1	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₄	6.049	[M+H] ⁺	483.27143	483.27168	0.52
81	丙氧苯基硫代西地那非	Propoxyphenyl thiosildenafil	479073-87-5	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	14.205	[M+H] ⁺	505.20501	505.20525	0.48

82	丙氧苯基硫代豪莫西地 那非	Propoxyphenyl thiohomosildenafil	479073-88-6	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₃ S ₂	14.343	[M+H] ⁺	519.22066	519.22084	0.35
83	二硫代去乙基卡巴地那 非	Dithiodesethyl carbodenafil	1610830-81-3	C ₂₂ H ₂₈ N ₆ OS ₂	12.760	[M+H] ⁺	457.18388	457.18398	0.23
84	羟基硫代红地那非	Hydroxythioacetildenafil	1159977-47-5	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃ S	11.055	[M+H] ⁺	499.24859	499.24881	0.45
85	他达拉非二氯代杂质	Tadalafil dichloro impurity	1598416-08-0	C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₅	16.600	[M+H] ⁺	461.06655	461.06601	-1.18
86	西地那非杂质 12	Sildenafil impurity 12	/	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ OS ₂	13.966	[M+H] ⁺	499.23083	499.23112	0.58
87	去甲基哌嗪基西地那非 磺酸	Demethylpiperaziny sildenafil sulfonic acid	1357931-55-5	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₅ S	5.674	[M+H] ⁺	393.12272	393.12283	0.29
88	丙氧苯基艾地那非	Propoxyphenyl aildenafil	1391053-82-9	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₄ S	8.039	[M+H] ⁺	503.24350	503.24371	0.42
89	西地那非杂质 14	Sildenafil impurity 14	2146091-79-2	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ OS ₂	14.224	[M+H] ⁺	485.21518	485.21536	0.38
90	丙氧苯基异丁基艾地那 非	Propoxyphenylisobutyl aildenafil	1621873-33-3	C ₂₅ H ₃₆ N ₆ O ₄ S	9.660	[M+H] ⁺	517.25915	517.25938	0.44

LCMSMS法测定食品中的淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素

摘要: 本文参考《BJS202303 食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的测定》标准,使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素含量的方法。3种化合物的校准曲线的相关系数 r 均大于 0.999,在相应标曲范围内线性相关性良好,各浓度点的准确度在 91.3%~109.3%之间。稳定性考察中,3种化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099%之间和 0.24%~1.21%之间,仪器精密度良好。样品加标回收率在 102.0%~117.5%之间,仪器检出限在 0.02~0.20ng/mL 之间。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 淫羊藿苷 金丝桃苷 补骨脂素

淫羊藿、菟丝子、补骨脂作为可用于保健食品的中药,其主要功能成分为淫羊藿苷、金丝桃苷、补骨脂素,在增强免疫类保健食品中广泛应用。淫羊藿苷属于黄酮类,具有增加心脑血管血流量、促进造血功能、免疫功能及骨代谢等功效。金丝桃苷是一种常见的黄酮醇苷类化合物,具有护肝、心血管保护、神经系统保护、抗炎等多种药理活性。补骨脂素是补骨脂中的呋喃香豆素类化合物,具有补肾助阳、抗肿瘤、抗炎、抗氧化等药理活性。由于这些化合物明确的功效,一些不法商家以“食疗”为噱头,在其生产的产品中宣称添加了该类中药材而实际未添加,同时还存在为了功效在食品中违法添加中药材的情况,这些不仅损害消费者的权利,还可能威胁食用者的身体健康。

本文参考国家市场监督管理总局发布的食品补充检验规定《BJS202303 食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的测定》,采用岛津三重四极杆液质联用仪建立测定食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定量分析方法,为相关监管部门参考使用。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱 LC-30 AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为:

系统控制器	: CBM-20A	自动进样器	: SIL-30AC
输液泵	: LC-30AD	质谱仪	: LCMS-8050
柱温箱	: CTO-30AC	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIS C18 (2.1×150 mm, 2 μm, P/N: 227-30093-04, 岛津(上海)实验器材有限公司)		
流动相	: A-0.1%甲酸水溶液, B-乙腈		
流速	: 0.25 mL/min	柱温	: 35 °C
进样体积	: 10 μL	洗脱方式	: 梯度洗脱, B 初始20%, 见表1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
0.00	Pumps	Pump B Conc.	20
1.00	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90

8.01	Pumps	Pump B Conc.	20
10.00	Pumps	Pump B Conc.	20

质谱条件

离子源	: 电喷雾离子源 (ESI 源)	D L 温度	: 250°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	加热模块温度	: 400°C
加热气流速	: 10.0 L/min	接口温度	: 300°C
干燥气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
接口电压	: 4 kV		

表 2. MRM 参数

序号	化合物名	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre	CE(V)	Q3 Pre
1	淫羊藿苷	489-32-7	721.15	513.20*	20	18.0	26.0
				367.30	20	39.0	18.0
2	金丝桃苷	482-36-0	463.00	300.10*	13.0	26.0	22.0
				271.00	13.0	42.0	29.0
3	补骨脂素	66-97-7	187.10	131.10*	-28.0	-23.0	-30.0
				77.00	-13.0	-42.0	-12.0

*表示定量离子

1.3 混合标准溶液配置

混合标准工作溶液：取浓度为 1.0 g/L 的各标准储备溶液适量于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释，配制浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、4、10、20、40、100、200、400 ng/mL 的混合标准工作溶液。

1.4 样品前处理方法

移取 1.0 mL 液体试样于 25 mL 容量瓶中，加 70% 甲醇溶液定容至刻度，摇匀。取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，续滤液作为待测溶液，并于 4 °C 条件下 24 小时内完成检测。

2. 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液 4 ng/mL 的色谱图如图 1 所示。

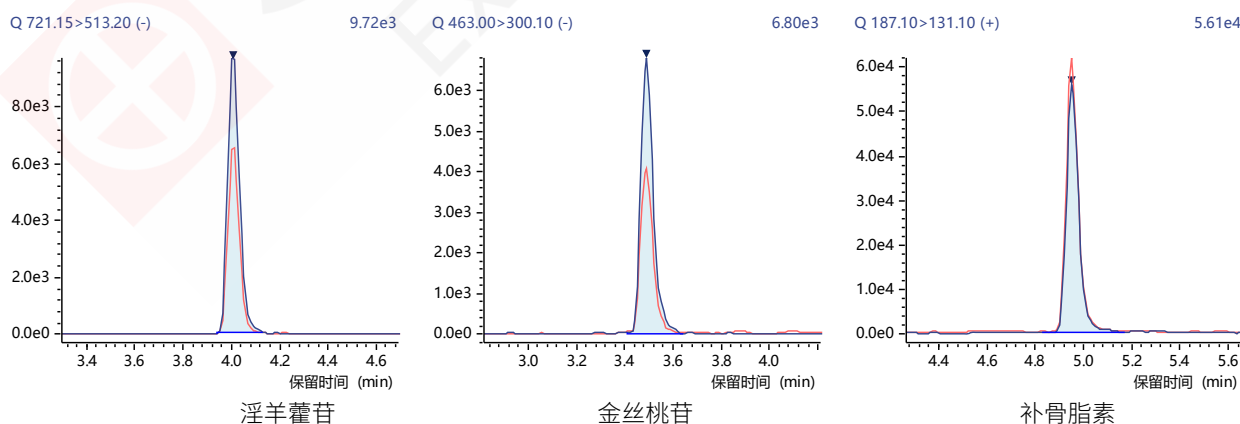


图 1.3 种化合物 MRM 色谱图 (4 ng/mL)

2.2 线性范围

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.2 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，3 种化合物校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数 r、仪器检出限（根据线

性最低浓度点计算, ASTM法, S/N=3) 见表3。结果显示, 各化合物在相应线性范围内线性关系良好, 相关系数 r 都大于0.999, 准确度在91.3%~109.3%之间, 仪器检出限在0.02~0.20 ng/mL 之间, 满足相关测试要求。

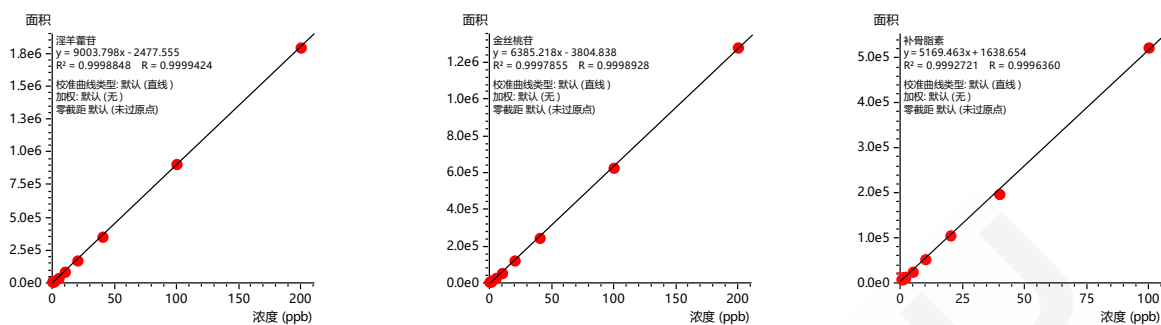


图 2. 化合物校准曲线

表 3. 校准曲线参数

No.	化合物名称	线性范围(ng/mL)	相关系数 r	准确度(%)	仪器检出限(ng/mL)
1	淫羊藿苷	0.5-200	0.9999	91.3~109.3	0.12
2	金丝桃苷	0.5-200	0.9998	98.8~102.6	0.20
3	补骨脂素	0.05-100	0.9996	96.9~102.0	0.02

2.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样 6 次, 用于考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099%之间和 0.24%~1.21%之间, 仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性测试结果

No.	化合物名称	RSD% (5 ng/mL)		RSD% (20 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	淫羊藿苷	0.079	0.70	0.076	0.84	0.073	1.21
2	金丝桃苷	0.085	0.51	0.099	0.72	0.088	0.95
3	补骨脂素	0.058	0.24	0.060	0.36	0.062	0.90

2.4 加标回收率测试

取液体饮料样品(本底样品经测试未检出淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素)加入一定浓度的混合标准工作溶液(加标浓度如表 4 所示), 按照 1.4 中样品制备方法, 每个浓度平行制备 3 份样品, 加标样的色谱图分别见图 3。加标回收率测试结果显示: 3 种化合物的样品加标回收率在 102.0%~117.5%之间, 满足标准测试要求, 结果如表 4。

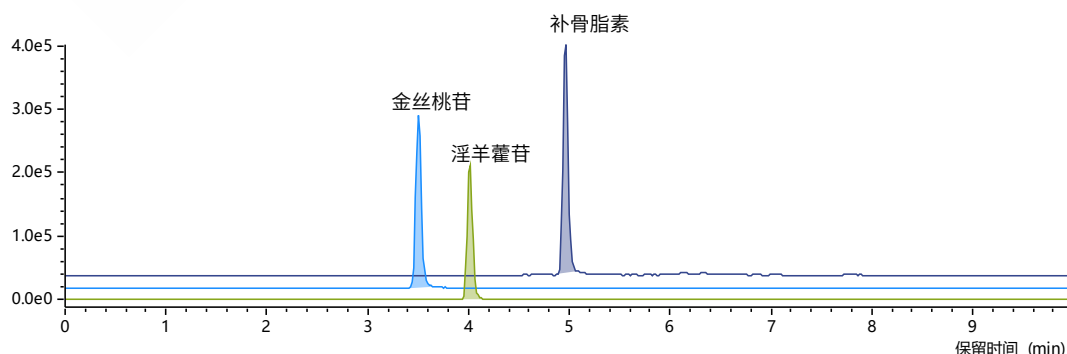


图 3. 加标回收测试色谱图 (40 ng/mL)

表 5. 回收率测试结果

No.	化合物名称	加标浓度 (40 ng/mL)		加标浓度 (100 ng/mL)		加标浓度 (200 ng/mL)	
		检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)
1	淫羊藿苷	47.1	116.6	111.2	110.7	222.4	111.0
2	金丝桃苷	49.6	117.5	112.9	110.4	224.3	110.9
3	补骨脂素	44.9	105.7	113.9	111.3	206.5	102.0

2.5 智能积分软件的使用

本次实验过程使用了岛津 Peakintelligence 智能积分功能。如图 4.1 和 4.2 所示, 对于未检出的化合物, 传统的积分方式仍会对噪音进行积分, 需要实验人员手动取消该样品积分; 而智能积分方式判断正确不进行积分。智能积分无需设置任何参数, 较传统积分方式更加正确的对样品进行积分, 减少实验人员重复校正积分的次数, 提高工作效率。

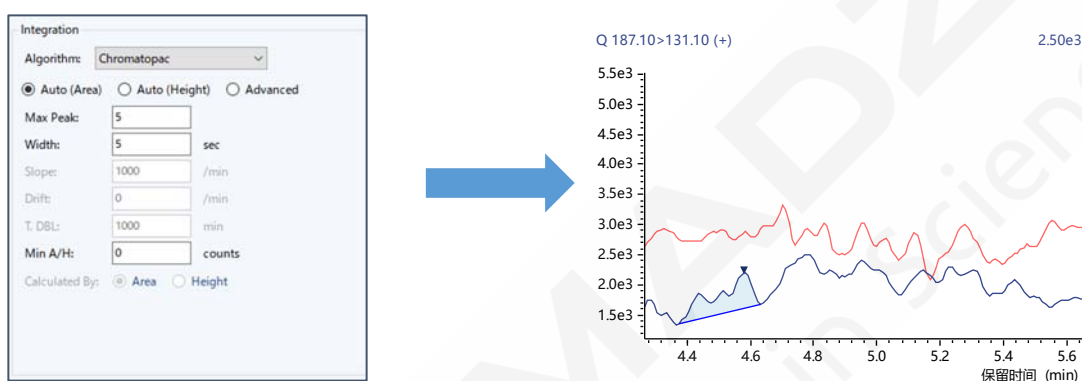


图 4.1. 传统积分方式

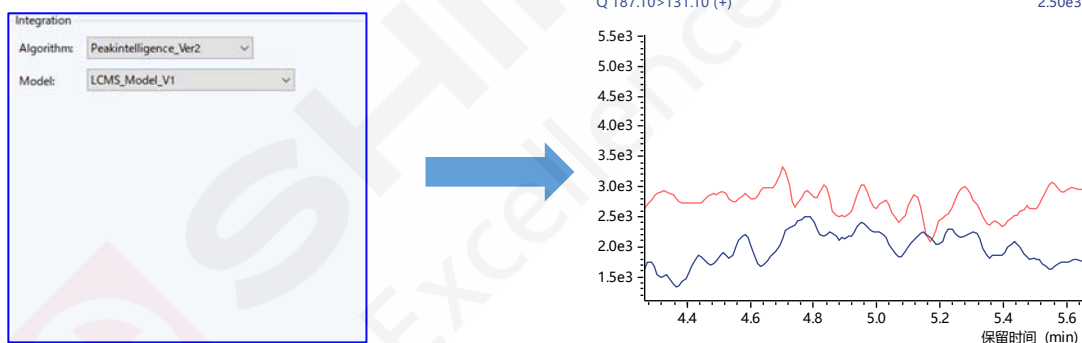


图 4.2. 智能积分方式

3. 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定量测定方法。在相应标曲范围内, 各化合物的相关系数均在 0.999 以上。在分析精密性上, 各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.058%~0.099%之间和 0.24%~1.21%之间; 加标回收率在 102.0%~117.5%之间, 仪器检出限在 0.02~0.20ng/mL 之间, 满足方法检测限要求, 可用于食品中淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素的定性定量检测。

3.4 抗风湿、止咳平喘、解热镇痛类

抗风湿类保健食品主要用于辅助缓解风湿症状、改善关节健康的产品；解热镇痛类保健食品主要致力于缓解身体的发热和疼痛症状。它们通常含有一些具有特定功效的成分，如一些抗风湿产品可能富含葡萄糖胺，它有助于修复和维护关节软骨，减轻关节疼痛和炎症；还有的会添加硫酸软骨素，能促进软骨再生，增加关节的润滑度。Omega-3 脂肪酸也常见于这类保健食品中，其具有抗炎特性，可缓解关节的红肿热痛症状。此外，一些天然植物提取物如姜黄，具有抗氧化和抗炎作用，对风湿患者有益。抗风湿类与解热镇痛类保健食品不能替代药物治疗，但可以作为日常保健的补充，帮助增强关节的抵抗力，改善关节功能，提高患者的生活质量。

抗风湿类与解热镇痛类保健食品中常见的非法添加药物主要有以下几类：一是糖皮质激素类药物，如地塞米松、泼尼松等；这类药物能快速抗炎、止痛、消肿，但长期非法添加使用会导致骨质疏松、股骨头坏死等严重后果。例如，长期摄入含地塞米松的保健食品，可能会使患者骨骼变得脆弱。二是非甾体抗炎药物，如双氯芬酸钠。它有很好的解热、镇痛、抗炎作用。然而，随意添加可能会引起消化道出血、肝肾功能损害等不良反应。还有免疫抑制剂，如甲氨蝶呤。在保健食品中非法添加会干扰人体正常的免疫功能调节，增加感染风险，而且可能对骨髓造血功能等产生不良影响。

止咳平喘类保健食品主要是用于辅助改善呼吸道相关症状，起到一定的保健作用。这类保健食品的成分通常包含多种天然植物提取物。例如，枇杷叶提取物，枇杷叶在传统医学中有清肺止咳的功效，其提取物有助于缓解咳嗽；还有罗汉果提取物，罗汉果味甜且具有清热润肺、止咳利咽的特点，能够减轻咽喉的不适感，对咳嗽多痰等情况有一定的改善作用。此外，一些产品含有紫苏子提取物，紫苏子可以降气消痰、平喘，能在一定程度上帮助舒缓气管痉挛，减轻气喘症状。它们主要是在日常保健中，通过滋养呼吸道，缓解轻微咳嗽、气喘等症状，帮助人们维持呼吸道的健康状态。

止咳平喘类保健食品中常见的非法添加药物，首先是吗啡、可待因等中枢性镇咳药。它能有效抑制咳嗽反射，但长期或过量使用会导致成瘾性，还可能引起呼吸抑制等严重后果。例如，一些不法商家为了增强止咳效果添加可待因，消费者在不知情的情况下长期服用后，身体对其产生依赖，对健康危害极大。其次是氨茶碱，氨茶碱可以有效舒张支气管平滑肌，起到平喘的作用。然而，非法添加氨茶碱可能会因剂量不准确而引发恶心、呕吐、心律失常等不良反应。

抗风湿、止咳平喘、解热镇痛类违禁药物检测方法主要参考国家局发布的食品补充检验方法《饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定 BJS201714》、《饮料、茶叶及相关制品中对乙酰氨基酚等 59 种化合物的测定 BJS201713》和团体标准 T/GITU 012—2021《凉茶中 22 种止咳平喘非法添加物的测定液相色谱-串联质谱法》，这些方法主要为 LCMSMS 法。本章汇总了部分此类非法添加药物的应用方案，供相关检测人员参考。

LCMSMS测定饮料中二氟尼柳等18种抗风湿类药物

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的方法。18 种化合物的校准曲线的相关系数 r 均大于 0.999, 在相应标曲范围内线性相关性良好, 各浓度点的准确度在 90.9%~111.8%之间。稳定性考察中, 18 种化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086%之间和 0.29%~2.71%之间, 仪器精密度良好。样品加标回收率在 82.88%~109.87%之间, 仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 非甾体类抗炎药 保健食品 茶叶

非甾体类抗炎药通过抑制环氧合酶同工酶阻断花生四烯酸转化为前列腺素, 从而达到解热、镇痛、抗炎、抗风湿、改善肌肉和关节功能等作用。非甾体类抗炎药是一类广泛的药物, 其中较常使用的有萘普生、奥沙普秦、芬不芬、依托度酸、非普拉宗等。这些药物大多为酸性结构, 若使用不当或长时间过度使用会产生严重毒副作用, 如引起消化道溃疡、肾毒性和影响血液系统功能等问题。有报道称, 不法商贩向保健食品及相关制品中非法添加该类药物以达到其宣称的效果。非法添加该类药物的食品有对人体产生毒副作用的风险, 影响人体健康。因此建立保健食品中非甾体类抗炎药准确的检测方法有着重要意义。

本文参考 BJS 201714 《饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定》, 采用岛津三重四极杆液质联用仪建立测定饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定分析方法, 为相关从业人员参考使用。

1. 实验部分

1.1 仪器

采用岛津高效液相色谱 LC-30 AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为:

系统控制器 : CBM-20A 自动进样器 : SIL-30AC
输 液 泵 : LC-30AD 质 谱 仪 : LCMS-8050
柱 温 箱 : CTO-30AC 色 谱 工 作 站 : LabSolutions Ver. 5.118
色 谱 柱 : Shim-pack GIST, 2.1×100 mm, 2 μ m C18, P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司
流 动 相 : A-含0.05%甲酸的2 mmol/L 乙酸铵溶液, B-乙腈
流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 35 $^{\circ}$ C
进 样 体 积 : 2 μ L 洗脱方式 : 梯度洗脱, B 初始5%, 见表1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
11.00	Pumps	Pump B Conc.	95
13.00	Pumps	Pump B Conc.	95
14.00	Pumps	Pump B Conc.	5
16.00	Pumps	Pump B Conc.	5

1.3 混合标准溶液配制

标准储备液 (1.0 mg/mL): 准确称取 10.0 mg 标准品至 10 mL 容量瓶中, 加入 10 mL 甲醇溶解定容, 摇匀, 制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液, -20 °C 保存, 有效期 3 个月。

混合标准系列工作溶液: 取各标准储备溶液适量于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释, 逐级稀释配制成浓度分别为 1、2、4、10、20、40、100、200、400 ng/mL 标准工作溶液。

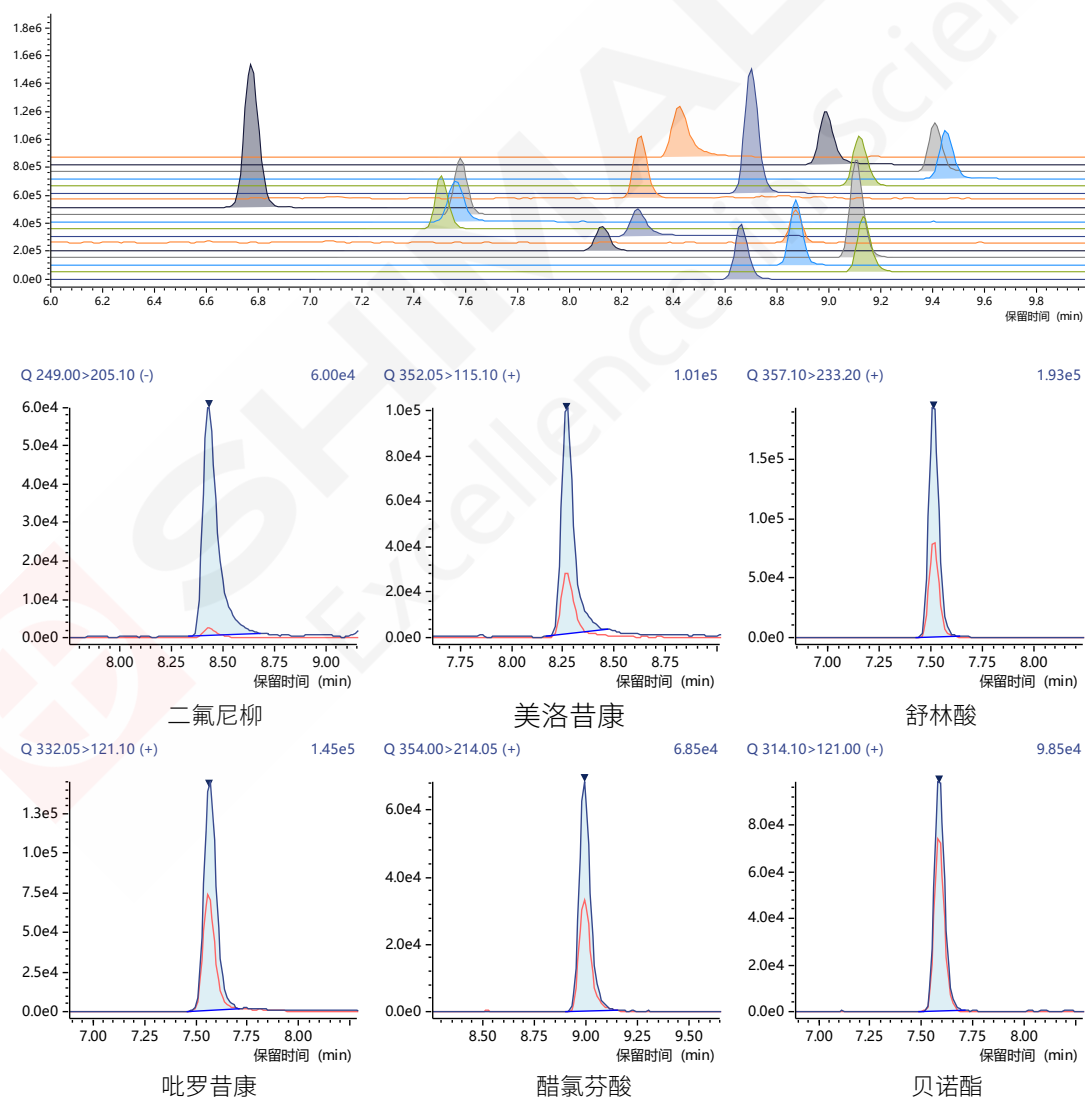
1.4 样品前处理方法

准确称取 1.0 g 茶叶于 25 mL 容量瓶中, 加入 20 mL 甲醇-水溶液 (4+1), 摇匀, 超声 30 min, 冷却至室温后, 用甲醇-水溶液 (4+1) 定容至刻度, 混匀静置 10 min, 准确吸取 2 mL 上清液至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇-水溶液 (4+1) 定容至刻度, 混匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 滤液作为待测溶液, 并于 4 °C 条件下 24 小时内完成检测。

2. 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液的色谱图如图1所示。



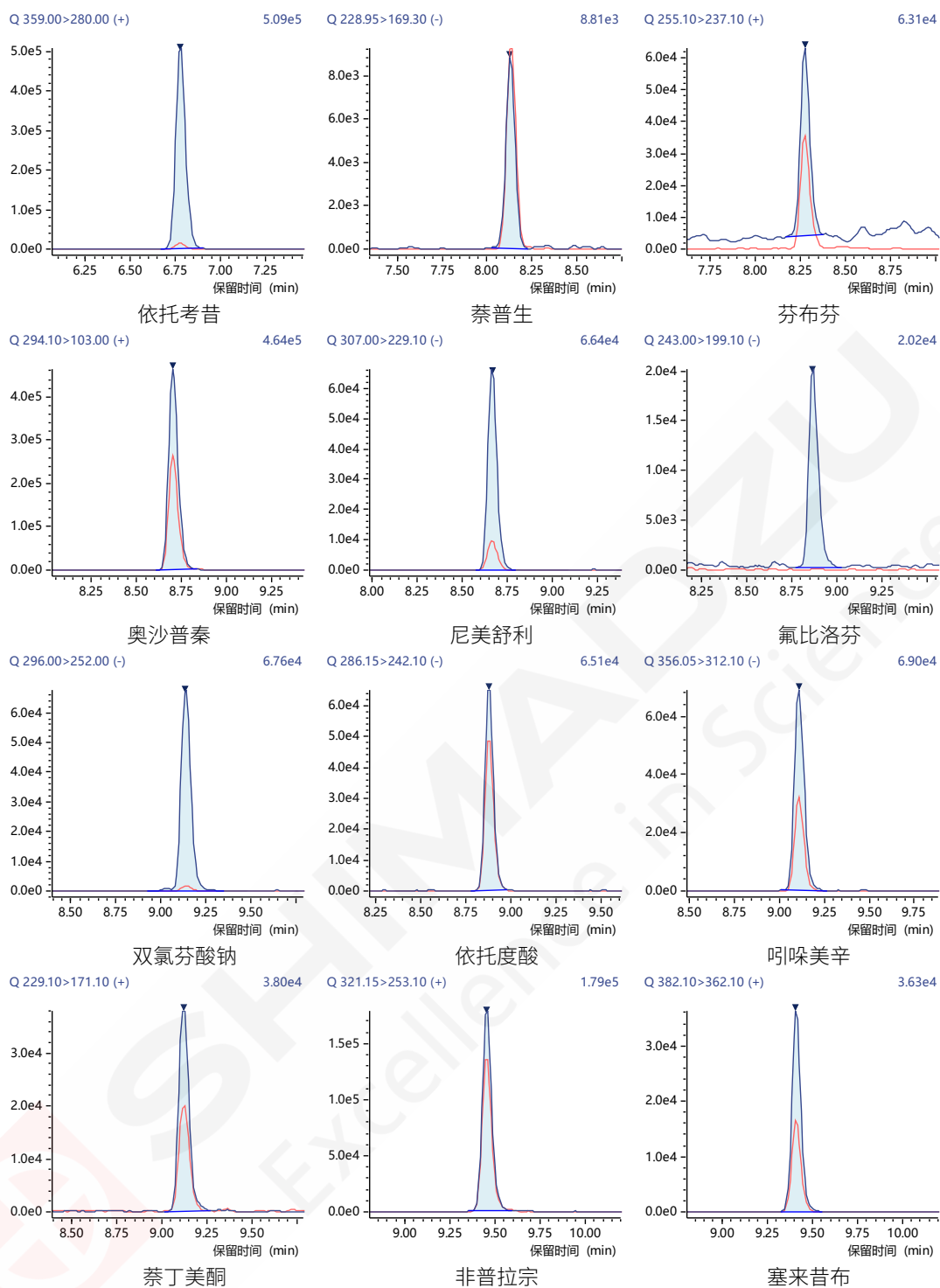


图 1. 18 种化合物 MRM 色谱图 (20 ng/mL)

2.2 线性范围

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.2 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，部分化合物校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数 r 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法， $S/N=3$ ）见表 3。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数 r 都大于 0.999，准确度在 90.9%~111.8% 之间，仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间，满足相关测试要求。

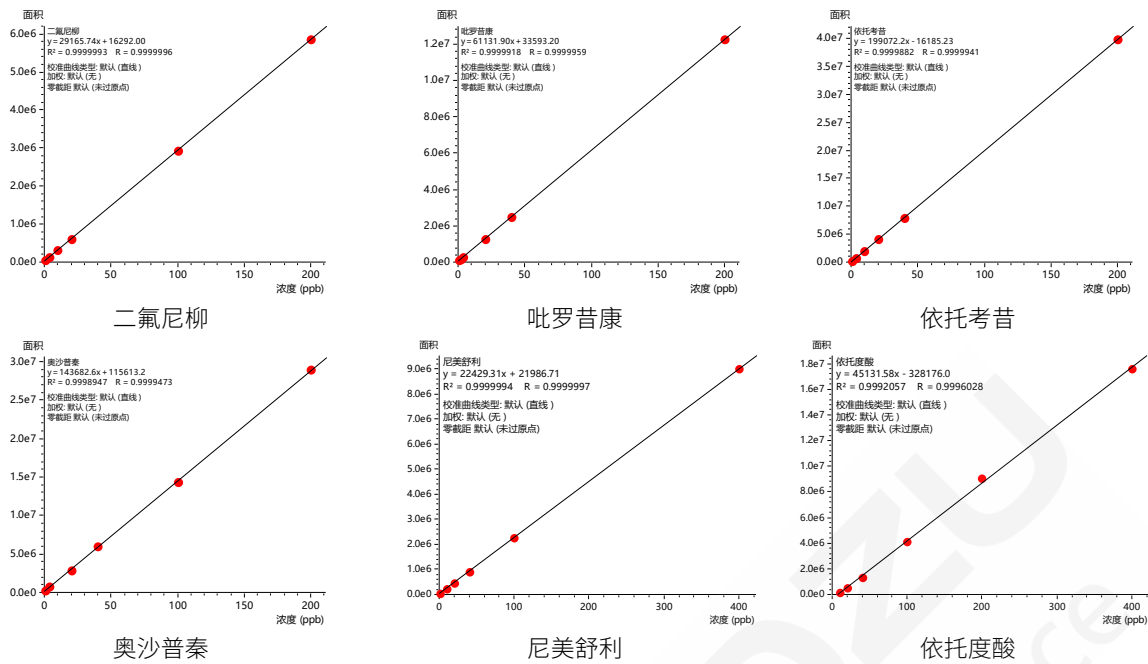


图 2. 部分化合物校准曲线

表 3. 18 种化合物校准曲线信息

No.	化合物名称	保留时间 (min)	线性范围 (ppb)	相关系数 r	准确度(%)	仪器检出限 (ng/mL)
1	二氟尼柳	8.422	1~200	0.9999	99.3~102.9	0.25
2	美洛昔康	8.264	4~400	0.9999	94.2~111.8	0.85
3	舒林酸	7.507	1~400	0.9998	90.9~102.3	0.21
4	吡罗昔康	7.563	1~200	0.9999	93.9~101.1	0.25
5	醋氯芬酸	8.988	2~400	0.9998	96.2~102.9	0.52
6	贝诺酯	7.58	1~200	0.9999	92.9~101.4	0.26
7	依托考昔	6.773	1~200	0.9999	98.9~102.1	0.35
8	萘普生	8.125	4~200	0.9999	98.8~106.1	0.93
9	芬布芬	8.272	4~200	0.9998	97.9~107.0	1.05
10	奥沙普秦	8.699	1~200	0.9999	93.3~110.3	0.18
11	尼美舒利	8.66	4~400	0.9999	98.1~101.6	1.28
12	氟比洛芬	8.87	10~400	0.9998	91.7~105.0	3.25
13	双氯芬酸钠	9.133	4~400	0.9999	98.2~107.9	1.54
14	依托度酸	8.871	4~400	0.9996	92.3~110.3	1.22
15	吲哚美辛	9.104	4~400	0.9999	97.4~101.9	0.85
16	萘丁美酮	9.115	10~400	0.9998	91.2~104.8	2.85
17	非普拉宗	9.45	4~400	0.9997	91.7~103.7	0.80
18	塞来昔布	9.406	4~400	0.9999	96.1~109.9	1.25

2.3 精密度实验

配制不同浓度的混合标准溶液依次进样，每个浓度平行测定 6 次，考察仪器的精密度。结果显示，18 种化合物在各浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086%和 0.29%~2.71%之间，仪器精密度良好，测定结果如图 3-4 所示。

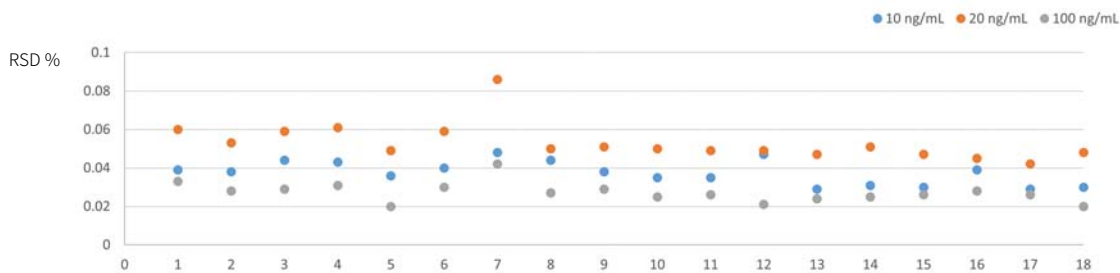


图 3. 保留时间重复性结果(n=6)

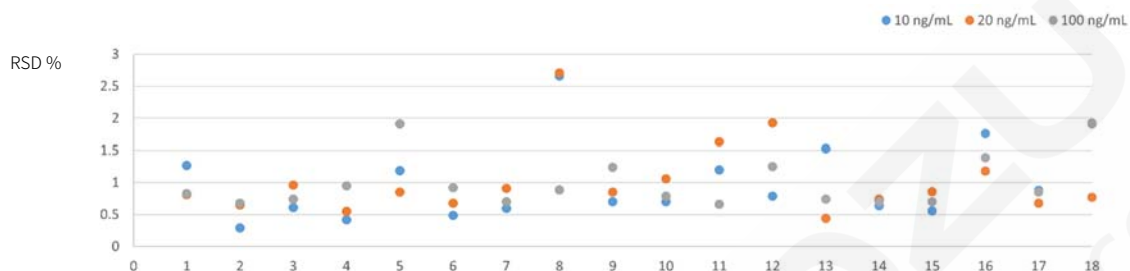


图 4. 峰面积重复性结果(n=6)

2.4 加标回收率测试

取茶叶样品（本底样品经测试未检出二氟尼柳等 18 种化合物）加入一定浓度的混合标准工作溶液，按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品，其中样品本底（未检出）和加标样的色谱图分别见下图 5 和 6。加标回收率测试结果显示：18 种化合物的样品加标回收率在 82.88%~109.87%之间，满足标准测试要求。

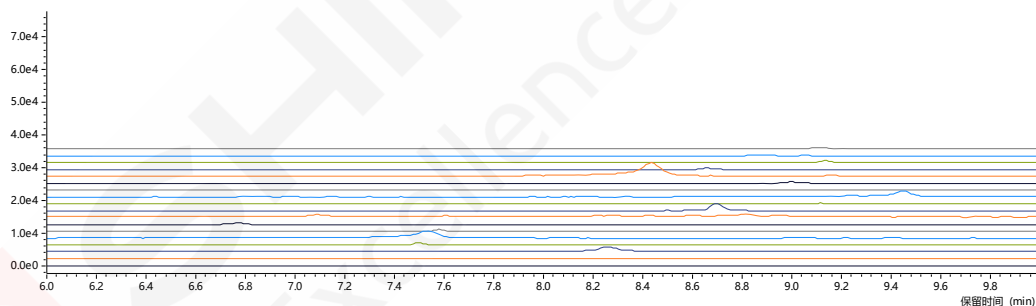


图 5. 空白样品 MRM 色谱图

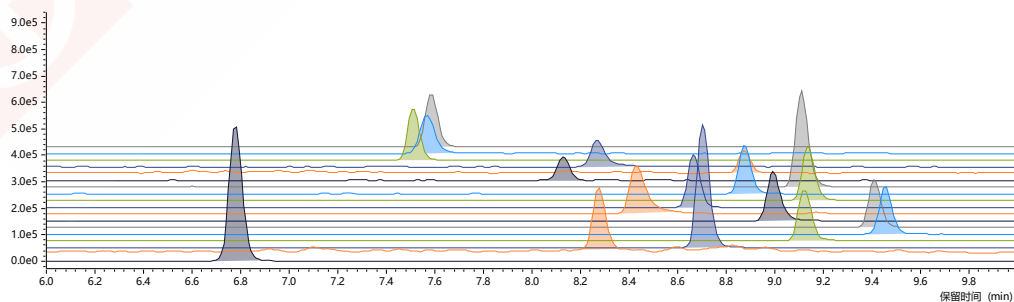


图 6. 5 µg/g 样品加标样的 MRM 色谱图

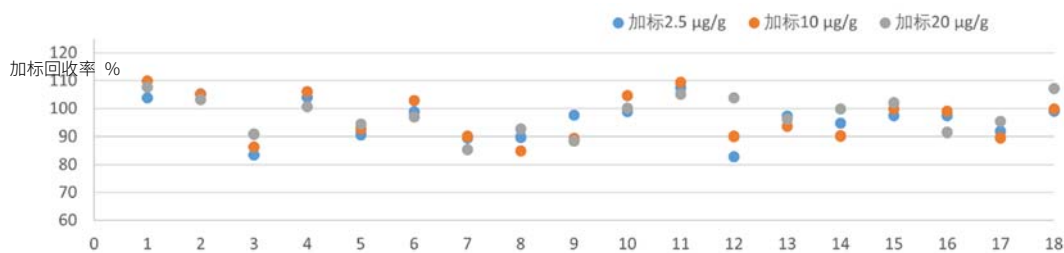


图 7. 加标回收率结果 (n=3)

2.5 智能积分软件的使用

本次实验过程使用了岛津 Peakintelligence 智能积分功能。如图 8.1 和 8.2 所示，对于未检出的化合物，传统的积分方式仍会对噪音进行积分，需要实验人员手动取消该样品积分；而智能积分方式判断正确不进行积分。智能积分无需设置任何参数，较传统积分方式更加正确的对样品进行积分，减少实验人员重复校正积分的次数，提高工作效率。

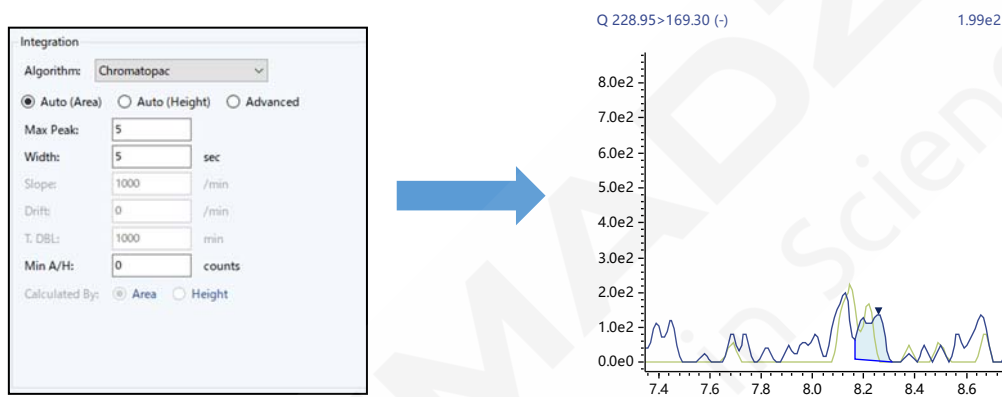


图 8.1. 传统积分方式

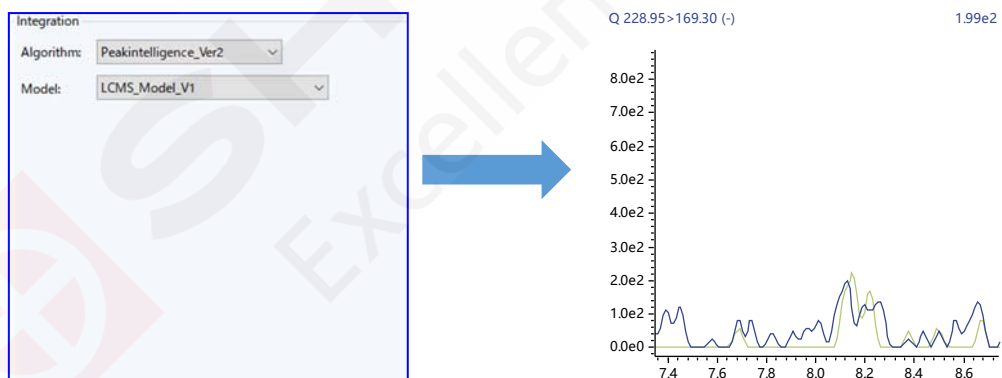


图 8.2. 智能积分方式

3. 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.999 以上。在分析精密度上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.020%~0.086%之间和 0.29%~2.71%之间；加标回收率在 82.88%~109.87%之间，仪器检出限在 0.18~3.25 ng/mL 之间，满足方法检测限要求，可用于饮料、茶叶及相关制品中二氟尼柳等 18 种化合物的定性定量检测。

LCMSMS分析凉茶中吗啡等22种止咳平喘药物

摘要: 本文利用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用,建立了凉茶种 22 种止咳平喘非法添加物的分析方法。参考团体标准 T/GITU 012021《凉茶中 22 种止咳平喘非法添加物的测定 液相色谱-串联质谱法》,该方法分析时间为 10 min,采用外标法定量,化合物线性相关性良好,相关系数在 0.995 以上。低、中、高三个浓度水平加标回收率及重复性考察,其结果显示,各组分回收率在 82.3% ~ 117.6%之间,相对标准偏差在 0.67%~9.10%之间,方法准确可靠。

关键词: LCMSMS 凉茶 非法添加

凉茶起源于中国岭南地区,是岭南人民根据当地的气候、水土特征,在长期预防疾病与保健的过程中,以中医养生理论为指导,以中草药为原料,食用、总结出的一种具有清热解毒、生津止渴、祛火除湿等功效,伴随着人们日常生活的饮料^[1]。2006年5月20日,凉茶入选第一批国家级非物质文化遗产名录。

长期以来,像凉茶这类不含有化学药物成分的食品或保健品由于其具备的特定功效和副作用小的特点,一直深受人们的喜爱和信赖。但近年来,一些不法分子,为了最求“速效”的假象,在其中擅自非法添加功效相似的化学药物以谋取暴利,给使用者的健康带来潜在的危害。

本文依据团体标准 T/GITU 012—2021《凉茶中 22 种止咳平喘非法添加物的测定 液相色谱-串联质谱法》,利用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用,建立一种简便、快速、准确的分析方法,供相关人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8060NX 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪,具体配置为

输 液 泵 : LC-40B X3 系 统 控 制 器 : CBM-40
自 动 进 样 器 : SIL-40C X3 三 重 四 极 杆 质 谱 仪 : LCMS-8060NX
柱 温 箱 : CTO-40C
色 谱 工 作 站 : LabSolutions Ver. 5.114; LabSolutions Insight Ver. 3.84

1.2 分析条件液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST AQ-C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津
(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)
流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水; B 相-0.1%甲酸乙腈
流 速 : 0.4 mL/min
进 样 体 积 : 3 μL 柱 温 : 30°C
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为10%,洗脱程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	Pumps	B.Conc	50
6.00	Pumps	B.Conc	90
7.00	Pumps	B.Conc	90
7.10	Pumps	B.Conc	10
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI+/ ESI-	加热模块温度	: 400°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	DL 温度	: 150°C
加热气流速	: 20.0 L/min	接口温度	: 380°C
干燥气流速	: 5.0 L/min	喷雾针位置	: +3
M R M 参数	: 见表 2	接口电压	: 1kV(+), -3kV(-)

表 2. MRM 参数

No.	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	吗啡	57-27-2	286.20	201.20*	-21	-39	-17
				152.20	-22	-55	-28
2	可待因	76-57-3	300.20	215.25*	-21	-42	-16
				165.20	-21	-42	-16
3	蒂巴因	115-37-7	312.25	58.20*	-12	-16	-17
				251.20	-12	-27	-17
4	罂粟碱	58-74-2	340.25	324.25*	-13	-38	-17
				202.30	-13	-27	-21
5	那可丁	912-60-7	414.20	220.25*	-11	-45	-21
				353.20	-11	-25	-24
6	羟乙茶碱	519-37-9	225.20	181.20*	-27	-11	-29
				124.15	-10	-27	-21
7	克伦特罗	37148-27-9	277.10	203.15*	-12	-28	-23
				259.20	-20	-10	-18
8	二氧丙嗪	13754-56-8	317.20	86.20*	-23	-42	-29
				272.20	-22	-21	-18
9	班布特罗	81732-65-2	368.30	294.30*	-10	-14	-21
				312.30	-10	-14	-21
10	溴己新	3572-43-8	377.05	114.25*	-17	-45	-15
				264.00	-28	-29	-18
11	阿奇霉素	83905-01-5	749.60	591.40*	-20	-42	-21
				158.20	-20	-39	-10
12	罗红霉素	80214-83-1	837.60	158.20*	-20	-38	-22
				679.40	-20	-21	-26
13	氯丙那林	3811-25-4	214.20	154.15*	-10	-25	-22
				196.20	-10	-13	-20
14	二羟茶碱	479-18-5	255.20	181.20*	-18	-37	-17
				124.15	-11	-30	-23
15	右美沙芬	125-71-3	272.25	215.25*	-20	-27	-14
				171.20	-25	-37	-17
16	苯并哌林	2156-27-6	310.30	126.25*	-12	-35	-15
				91.20	-14	-39	-17
17	沙美特罗	89365-50-4	416.35	398.35*	-10	-22	-16
				380.35	-10	-19	-27

18	特步他林	23031-25-6	226.20	152.20*	-16	-31	-20
				125.20	-10	-24	-23
19	阿司匹林 ^a	50-78-2	137.15	93.00*	13	28	10
				65.05	13	28	10
20	沙丁胺醇	18559-94-9	240.35	148.25*	-17	-14	-30
				166.25	-17	-14	-30
21	乙酰半胱氨酸	616-91-1	164.20	122.20*	-11	-20	-13
				59.20	-11	-33	-10
22	对乙酰氨基酚	103-90-2	152.15	110.20*	-11	-31	-11
				93.20	-11	-23	-17

注：*表示定量离子

a 阿司匹林在离子源内高温下分解为水杨酸

1.3 标准溶液配制

标准储备溶液配制 (1 mg/mL)：精密称取适量的羟乙茶碱、特布他林、沙丁胺醇、克伦特罗、盐酸二氧丙嗪、盐酸班布特罗、溴己新、阿奇霉素、罗红霉素、对乙酰氨基酚、乙酰半胱氨酸、阿司匹林、氯丙那林、二羟丙茶碱、右美沙芬、苯并哌林、沙美特罗标准物质分别置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解，摇匀。

22 种止咳平喘非法添加物混合标准工作溶液：吸取适量的标准储备溶液，根据实际需要用 10% 甲醇水 (含 0.1% 甲酸) 配制成不同浓度的混合标准工作溶液。

1.4 样品前处理

称取 1.0 g 液体凉茶试样 (精确至 0.01 g) 于 50 mL 容量瓶中，用 10% 甲醇水 (含 0.1% 甲酸) 稀释定容，摇匀，超声提取 20 min，8 000 转/min 离心 3 min，过有机滤膜后，上机备用。

2. 结果与讨论

2.1 色谱图

根据 22 种止咳平喘非法添加物质的信号强度，将目标物进行分组，并配制混合标准工作溶液。22 种止咳平喘非法添加物质的标准溶液色谱图如图 1 所示。

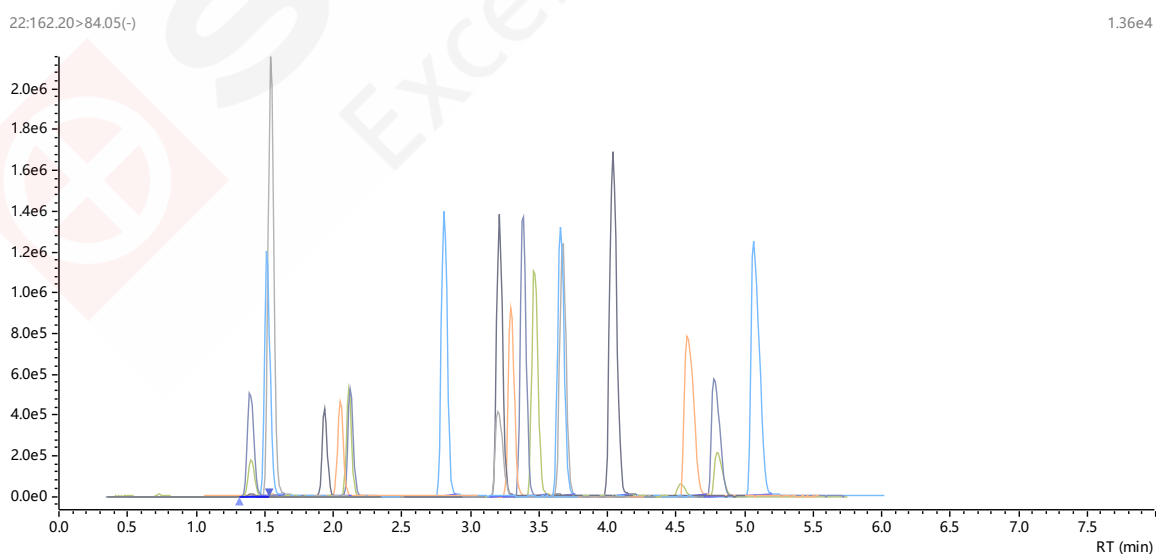


图 1. 22 种止咳平喘非法添加物的色谱图 (浓度为 1 ng/mL~10 ng/mL)

2.2 校准曲线

用 10% 甲醇水溶液 (含 0.1% 甲酸) 将 22 种止咳平喘非法添加物质按逐级稀释的方法，依次稀释，得

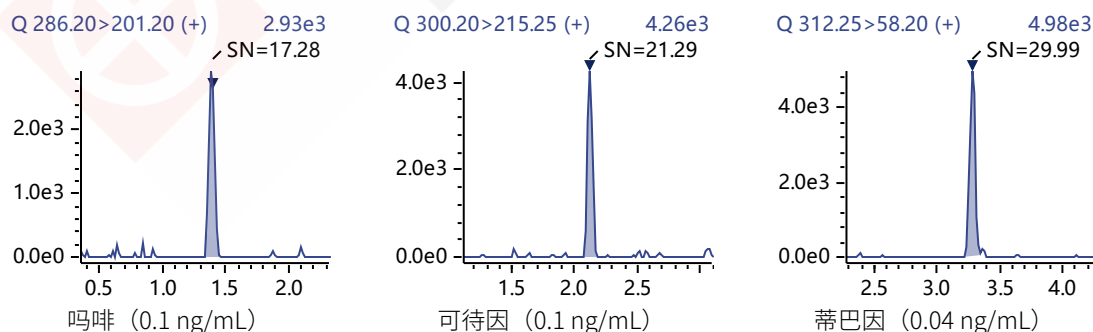
到一系列不同浓度的混合标准工作溶液。上机分析后，以各目标物的加标浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，均大于 0.995，线性方程及相关系数见表 3。

表 3. 校准曲线

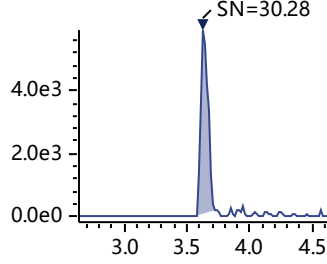
序号	化合物	保留时间 /min	线性范围 ng/L	校准曲线方程	相关系数 r	精确度 %
1	吗啡	1.377	0.5-100	$y = 133983.2x - 14608.56$	0.9988	93.60~105.63
2	可待因	2.118	0.5-100	$y = 117356.1x + 3524.793$	0.9987	93.02~106.40
3	蒂巴因	3.278	0.2-40	$y = 500354.5x - 23118.25$	0.9994	95.96~104.00
4	罂粟碱	3.634	0.1-20	$y = 1477045x - 62687.66$	0.9997	90.03~101.18
5	那可丁	3.652	0.1-20	$y = 1491420x + 43.18483$	0.9986	91.23~104.37
6	羟乙茶碱	2.127	0.2-40	$y = 265549.9x - 12644.35$	0.9993	96.88~105.45
7	克伦特罗	3.192	0.1-20	$y = 1703125x + 46816.72$	0.9990	96.67~110.41
8	二氧丙嗪	3.448	0.1-20	$y = 1313235x - 15073.26$	0.9992	94.49~103.37
9	班布特罗	3.362	0.1-20	$y = 1612156x - 44044.19$	0.9989	95.24~106.37
10	溴己新	4.541	0.1-20	$y = 1300239x - 15581.50$	0.9982	90.59~106.65
11	阿奇霉素	3.168	0.5-100	$y = 120628.1x - 35659.47$	0.9994	95.61~106.18
12	罗红霉素	4.75	0.5-100	$y = 111408.9x - 20675.51$	0.9996	84.50~120.88
13	氯丙那林	2.791	0.1-20	$y = 1665131x - 30408.39$	0.9987	94.41~106.05
14	二羟茶碱	1.953	0.1-20	$y = 479236.7 - 18503.35$	0.9994	93.51~116.02
15	右美沙芬	4.005	0.2-40	$y = 1160994x - 83136.41$	0.9959	90.14~108.10
16	苯并哌林	5.017	0.1-20	$y = 2009798x - 49165.17$	0.9987	96.04~108.72
17	沙美特罗	4.733	0.2-40	$y = 320607.3x - 21680.57$	0.9983	90.55~105.00
18	特步他林	1.538	0.2-40	$y = 1327493x - 55521.25$	0.9996	95.25~101.34
19	阿司匹林	3.79	1.0-200	$y = 17364.66x + 527.5368$	0.9988	94.13~106.19
20	沙丁胺醇	1.508	0.1-20	$y = 1155926x - 15252.26$	0.9995	96.11~102.74
21	乙酰半胱氨酸	1.377	1.0-200	$y = 32382.22x - 6397.998$	0.9994	95.52~103.99
22	对乙酰氨基酚	2.066	0.2-40	$y = 347561.0x + 651.3470$	0.9992	93.64~103.84

2.3 灵敏度

将校准曲线混合标准工作溶液稀释至检出限附近，22 种止咳平喘非法添加物质在检出限附近的色谱图如图 2 所示。

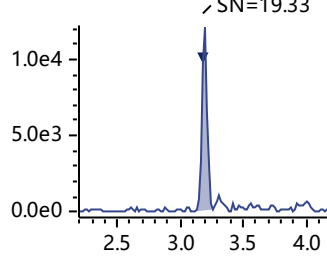


Q 340.25>324.25 (+) 5.92e3



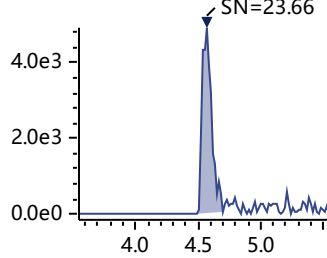
罂粟碱 (0.02 ng/mL)

Q 277.10>203.15 (+) 1.22e4



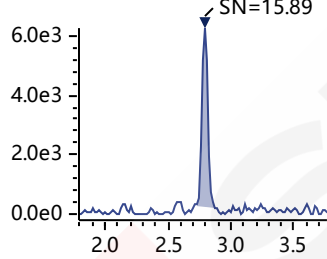
克伦特罗 (0.02 ng/mL)

Q 377.05>114.25 (+) 4.91e3



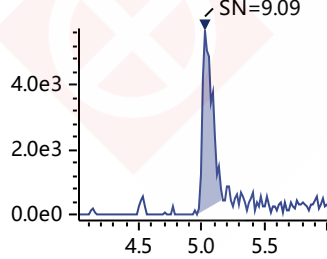
溴己新 (0.02 ng/mL)

Q 214.20>154.15 (+) 6.25e3



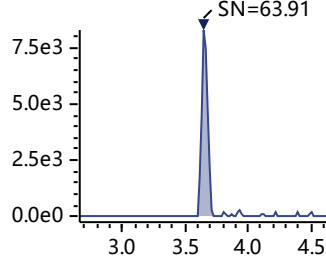
氯丙那林 (0.02 ng/mL)

Q 310.30>126.25 (+) 5.73e3



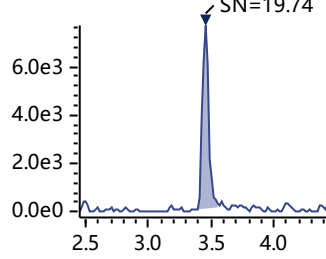
苯并哌林 (0.02 ng/mL)

Q 414.20>220.25 (+) 8.28e3



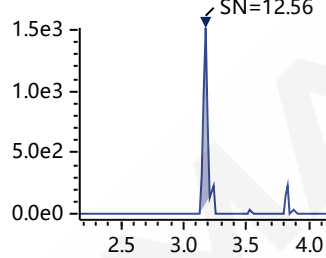
那可丁 (0.02 ng/mL)

Q 317.20>86.20 (+) 7.70e3



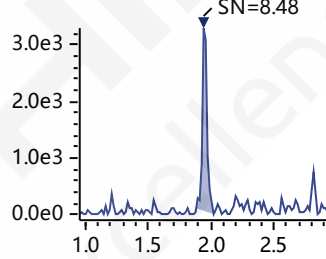
二氧丙嗪 (0.02 ng/mL)

Q 749.60>591.40 (+) 1.52e3



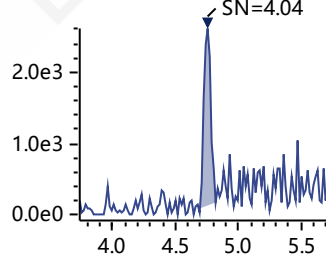
阿奇霉 (0.1 ng/mL)

Q 255.20>181.20 (+) 3.29e3



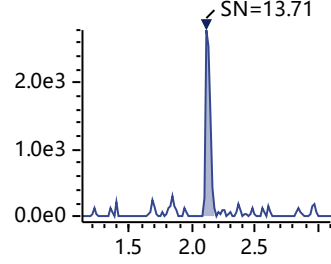
二羟茶碱 (0.02 ng/mL)

Q 416.35>398.35 (+) 2.61e3



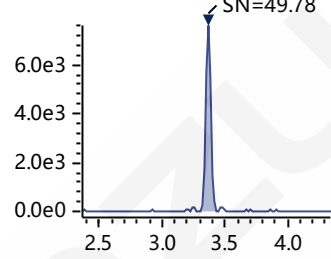
沙美特罗 (0.04 ng/mL)

Q 225.20>181.20 (+) 2.79e3



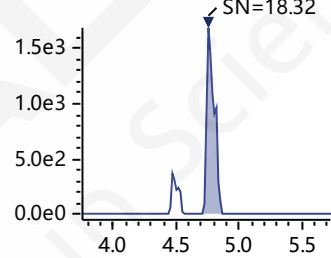
羟乙茶碱 (0.04 ng/mL)

Q 368.30>294.30 (+) 7.60e3



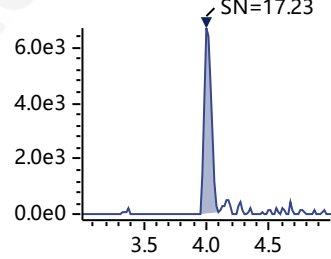
斑布特罗 (0.02 ng/mL)

Q 837.60>158.20 (+) 1.69e3



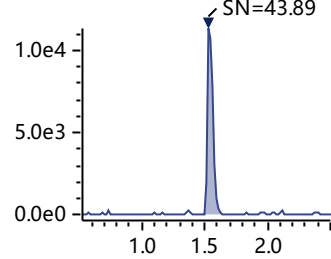
罗红霉 (0.1 ng/mL)

Q 272.25>215.25 (+) 6.71e3



右美沙芬 (0.04 ng/mL)

Q 226.20>152.20 (+) 1.13e4



特步他林 (0.04 ng/mL)

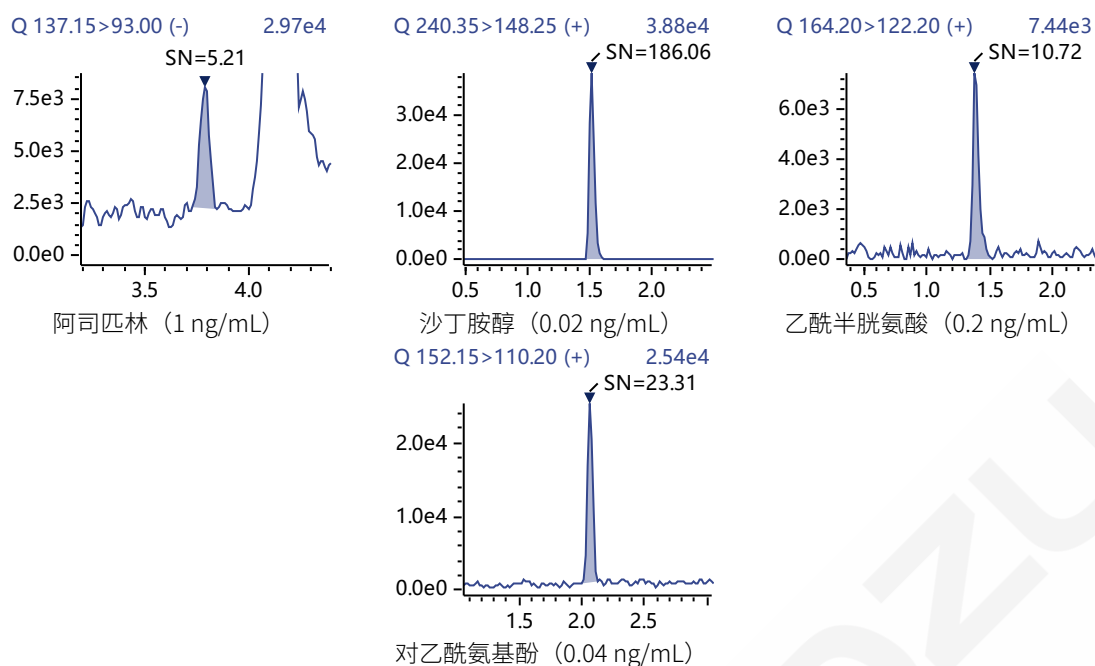


图 2.22 种止咳平喘非法添加药物在检出限附近色谱图和信噪比

2.4 重复性

按照1.3步骤配制低、中、高浓度标准溶液，连续进样6次，考察该分析方法下待测物峰面积和保留时间的重复性。22种止咳平喘非法添加物的峰面积RSD%在0.72~6.85%间，保留时间RSD%在0.04~0.48%间，表明方法重复性良好。

表 4. 重复性测试 (n=6)

序号	化合物	浓度	保留时	峰面积	浓度	保留时	峰面积	浓度	保留时	峰面积
		ng/mL	间 RSD	RSD	ng/mL	间 RSD	RSD	ng/mL	间 RSD	RSD
			%	%		%	%		%	%
1	吗啡	1.0	0.33	4.32	10	0.48	1.34	50	0.20	1.41
2	可待因	1.0	0.31	4.46	10	0.23	0.99	50	0.28	1.06
3	蒂巴因	0.4	0.12	2.6	4	0.16	1.85	20	0.11	0.84
4	罂粟碱	0.2	0.12	3.54	2	0.13	4.14	10	0.08	1.62
5	那可丁	0.2	0.19	3.45	2	0.14	3.23	10	0.08	0.91
6	羟乙茶碱	0.4	0.26	4.19	4	0.23	2.71	20	0.27	1.79
7	克伦特罗	0.2	0.11	1.71	2	0.18	4.71	10	0.07	1.12
8	二氧丙嗪	0.2	0.19	0.87	2	0.12	3.52	10	0.09	1.37
9	班布特罗	0.2	0.13	2.89	2	0.13	1.41	10	0.11	1.23
10	溴己新	0.2	0.09	3.55	2	0.12	4.82	10	0.06	1.86
11	阿奇霉素	1.0	0.11	4.81	10	0.15	2.63	50	0.10	3.70
12	罗红霉素	1.0	0.19	4.48	10	0.10	4.98	50	0.04	2.07
13	氯丙那林	0.2	0.14	2.05	2	0.23	1.67	10	0.11	0.48
14	二羟茶碱	0.2	0.30	4.57	2	0.28	1.11	10	0.32	0.80
15	右美沙芬	0.4	0.14	0.97	4	0.12	6.57	20	0.06	2.46
16	苯并哌林	2.0	0.04	1.66	2	0.08	1.71	10	0.04	0.72
17	沙美特罗	0.4	0.12	2.05	4	0.11	2.88	20	0.06	1.02
18	特步他林	0.4	0.24	3.34	4	0.49	5.25	20	0.34	1.10
19	阿司匹林	2.0	0.15	3.87	20	0.13	1.12	100	0.06	1.40
20	沙丁胺醇	0.2	0.26	2.88	2	0.52	2.04	10	0.34	2.27

21	乙酰半胱氨酸	2.0	0.19	6.85	20	0.33	4.00	100	0.16	1.19
22	对乙酰氨基酚	0.4	0.25	4.05	4	0.23	2.89	20	0.24	1.74

2.5 加标回收

取空白凉茶样品,按照 1.4 步骤中制备样品和加标样品,低中高 3 个水平加标浓度如下表 5 所示,各浓度平行处理 4 份。测试结果显示:各水平的平均加标回收率在 82.3%~117.6%之间,相对标准偏差在 0.67%~9.10%之间。

表 5. 基质加标实验结果 (n=4)

序号	化合物	加标浓度			加标浓度			加标浓度		
		mg/kg	回收率	RSD%	mg/kg	回收率	RSD%	mg/kg	回收率	RSD%
1	吗啡	0.05	115.1%	3.96	0.25	109.5%	2.43	1.25	98.6%	0.86
2	可待因	0.05	109.7%	2.57	0.25	114.7%	2.09	1.25	109.9%	1.34
3	蒂巴因	0.02	97.6%	3.61	0.10	90.5%	0.60	0.50	115.9%	0.85
4	罂粟碱	0.01	87.9%	5.54	0.05	82.3%	2.54	0.25	91.4%	0.58
5	那可丁	0.01	106.2%	3.91	0.05	107.4%	4.68	0.25	109.4%	1.20
6	羟乙茶碱	0.02	96.8%	3.88	0.10	90.7%	1.68	0.50	87.0%	0.67
7	克伦特罗	0.01	113.4%	2.72	0.05	113.0%	2.04	0.25	99.4%	1.48
8	二氧丙嗪	0.01	90.9%	2.33	0.05	91.5%	4.40	0.25	101.8%	0.63
9	班布特罗	0.01	116.5%	0.67	0.05	111.6%	0.91	0.25	108.5%	1.13
10	溴己新	0.01	85.3%	3.84	0.05	107.1%	6.96	0.25	83.3%	6.35
11	阿奇霉素	0.05	84.8%	6.93	0.20	94.3%	2.18	1.25	100.4%	8.63
12	罗红霉素	0.05	112.3%	1.57	0.25	93.9%	7.81	1.25	98.3%	1.92
13	氯丙那林	0.01	95.9%	1.90	0.05	91.8%	1.25	0.25	91.2%	1.82
14	二羟茶碱	0.01	103.1%	3.86	0.05	94.3%	1.41	0.25	91.5%	1.20
15	右美沙芬	0.02	98.9%	3.03	0.10	90.2%	2.78	0.50	117.4%	1.31
16	苯并哌林	0.01	114.8%	7.42	0.05	116.2%	7.01	0.25	85.4%	3.86
17	沙美特罗	0.02	82.7%	4.25	0.10	94.0%	6.47	0.50	92.8%	0.86
18	特步他林	0.02	98.6%	1.76	0.10	94.9%	0.48	0.50	86.9%	1.83
19	阿司匹林	0.10	112.1%	5.26	0.50	93.3%	1.75	2.50	88.2%	4.38
20	沙丁胺醇	0.01	115.3%	4.84	0.05	117.6%	3.01	0.25	111.6%	1.26
21	乙酰半胱氨酸	0.10	99.7%	9.10	0.50	99.8%	1.92	2.50	108.0%	1.20
22	对乙酰氨基酚	0.02	95.9%	3.73	0.10	95.4%	1.55	0.50	95.2%	0.86

3. 结论

本文依据团体标准 T/GITU 012—2021,利用岛津超高效液相色谱-三重四极杆液质联用仪,建立一种简便、快速、准确的凉茶中非法添加物的分析方法。本方法分析时间短、灵敏度高、线性相关性好、重复性好、回收率稳定,检测结果可靠。该方法前处理简单快速,分析通量高,可供公安理化检测人员参考。

LCMSMS 分析曲安西龙等 63 种激素

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定 63 种激素的方法。63 种激素在相应标曲范围内, 其相关系数在 0.9952~0.9999 之间, 各浓度点的回读准确度在 85.0%~112.7%之间, 线性相关性良好。稳定性考察中, 63 种组分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02%~0.64%和 0.40%~11.85%之间, 仪器精密度良好。可用于 63 种激素的测定。

关键词: 激素 三重四极杆液质联用仪

1、实验部分

1.1 仪器

采用岛津高效液相色谱 LC-30 AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为:

系统控制器	: CBM-20A	自动进样器	: SIL-30AC
输液泵	: LC-30AD	质谱仪	: LCMS-8045
柱温箱	: CTO-30AC	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

色谱柱 : Shim-pack Velox C18 2.1 mm I.D.× 100 mm L., 2.7 μm
流动相 : A相- 水; B相-乙腈
流速 : 0.45 mL/min
柱温 : 40°C
进样体积 : 5 μL
洗脱方式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为25%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	泵	B.Conc	25
9.50	泵	B.Conc	38
10.50	泵	B.Conc	38
14.50	泵	B.Conc	60
15.00	泵	B.Conc	95
16.00	泵	B.Conc	95
16.10	泵	B.Conc	25
18.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI+/-	D L 温度	: 250°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	加热模块温度	: 400°C
加热气流速	: 10.0 L/min	接口温度	: 300°C
干燥气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
接口电压	: 4 kV(ESI+);3 kV(ESI-)		

表 3. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias(V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias(V)
1	曲安西龙	Triamcinolone	124-94-7	395.15	357.20*	-21	-14	-16
					225.15	-21	-20	-23
2	泼尼松龙	Prednisolone	50-24-8	361.15	343.25*	-19	-12	-15
					147.15	-19	-24	-13
3	泼尼松	Prednisone	19420	359.20	341.20*	-19	-12	-15
					147.20	-19	-24	-14
4	异氟泼尼松	9-fluoroprednisolone	338-95-4	379.20	359.25*	-20	-9	-24
					341.20	-20	-12	-23
5	氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	363.20	121.20*	-18	-24	-22
					105.15	-13	-46	-18
6	可的松	Cortisone	53-06-5	361.15	163.25*	-19	-23	-15
					121.20	-19	-30	-11
7	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	375.20	357.25*	-20	-11	-23
					161.20	-20	-20	-15
8	倍他米松	Betamethasone	378-44-9	393.20	355.25*	-27	-13	-23
					147.15	-14	-26	-25
9	地塞米松	Dexamethasone	18296	393.20	373.20	-20	-9	-12
					355.25*	-20	-13	-16
10	氟米松	Flumethasone	2135-17-3	411.15	147.15	-14	-10	-25
					373.25	-19	-25	-27
11	倍氯米松	Beclomethasone	4419-39-0	409.15	253.20*	-22	-17	-26
					121.15	-22	-35	-21
12	曲安奈德	Triamcinolone acetonide	76-25-5	435.15	391.20*	-22	-12	-18
					279.20	-22	-19	-12
13	地索奈德	Desonide	638-94-8	417.20	147.20	-22	-29	-26
					415.25*	-23	-11	-19
14	氟尼缩松	Flunisolide	77326-96-6	435.15	339.20	-23	-15	-15
					397.25	-23	-16	-18
15	氟轻松	Fluocinolone acetonide	67-73-2	453.15	399.30*	-22	-13	-18
					225.15	-22	-25	-22
16	曲安西龙双醋酸酯	Triamcinolone diacetate	67-78-7	479.15	323.25	-22	-14	-22
					321.20*	-16	-14	-20
17	氟氢缩松	Fludrocortide	1524-88-5	437.20	397.20	-30	-11	-18
					339.20	-30	-14	-15
18	泼尼松龙醋酸酯	Prednisolone 21-acetate	52-21-1	403.20	121.20*	-23	-34	-21
					337.20	-23	-15	-15
19	氟米龙	Fluorometholone	426-13-1	377.20	441.15*	-25	-12	-21
					321.20	-25	-17	-14
20	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21-acetate	50-03-3	405.20	361.20*	-23	-19	-16
					285.15	-23	-25	-12
21	氟氢可的松醋酸酯	Fludrocortisone 21-acetate	514-36-3	423.20	147.20*	-21	-25	-28
					307.20	-21	-14	-13
20	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21-acetate	50-03-3	405.20	385.25	-22	-11	-17
					321.30	-12	-17	-18
20	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21-acetate	50-03-3	405.20	279.30*	-12	-17	-18
					321.30	-12	-14	-14
20	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21-acetate	50-03-3	405.20	309.25*	-12	-18	-19
					121.15	-23	-28	-11
21	氟氢可的松醋酸酯	Fludrocortisone 21-acetate	514-36-3	423.20	239.30*	-23	-25	-10
					121.10	-23	-33	-17

22	地夫可特	Deflazacort	14484-47-0	442.20	142.20*	-24	-35	-13
					124.10	-24	-47	-11
23	泼尼松醋酸酯	Prednisone 21-acetate	125-10-0	401.15	295.20*	-21	-16	-13
					147.15	-21	-14	-20
24	可的松醋酸酯	Cortisone 21-acetate	50-04-4	403.20	163.20*	-21	-26	-15
					343.20	-21	-20	-23
25	卤美他松	Halometasone	50629-82-8	445.10	155.10*	-23	-32	-25
					287.15	-23	-15	-18
26	甲基泼尼松龙醋酸酯	Methylprednisolone 21-acetate	53-36-1	417.20	399.25*	-22	-11	-18
					253.30	-22	-22	-26
27	倍他米松醋酸酯	Betamethasone 21-acetate	987-24-6	435.20	309.20*	-23	-14	-13
					337.20	-23	-14	-13
					415.25	-23	-9	-19
28	睾酮	Testosterone	58-22-0	289.15	97.00*	-14	-23	-17
					109.05	-14	-24	-17
					309.25*	-13	-14	-14
29	地塞米松醋酸酯	Dexamethasone 21-acetate	1177-87-3	435.20	337.25	-23	-13	-15
					415.25	-13	-10	-19
30	布地奈德	Budesonide	51333-22-3	431.20	413.25*	-23	-12	-19
					147.20	-23	-30	-14
31	氢化可的松丁酸酯	Hydrocortisone 17-butyrate	13609-67-1	433.20	345.25*	-23	-13	-22
					121.15	-13	-28	-11
32	孕三烯酮	Gestrinone	16320-04-0	309.10	241.20*	-16	-23	-25
					199.15	-16	-33	-19
33	氟米龙醋酸酯	Fluorometholone 17-acetate	3801-06-7	419.20	279.25*	-22	-16	-18
					321.25	-22	-14	-14
34	甲基睾丸酮	Methyltestosterone	58-18-4	303.20	109.10*	-16	-27	-17
					97.10	-16	-26	-16
35	氢化可的松戊酸酯	Hydrocortisone 17-valerate	57524-89-7	447.25	345.30*	-14	-13	-15
					121.20	-24	-25	-11
					339.15*	-26	-16	-15
36	曲安奈德醋酸酯	Triamcinolone acetonide acetate	3870-07-3	477.20	321.20	-25	-19	-10
					457.20	-15	-10	-21
37	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone diacetate	33564-31-7	495.15	317.15*	-26	-14	-14
					279.20	-26	-16	-12
38	氟轻松醋酸酯	Fluocinonide	356-12-7	495.15	337.15*	-26	-18	-15
					121.15	-26	-41	-11
39	炔诺孕酮	Norgestrel	6533-00-2	313.20	109.15*	-16	-27	-10
					245.25	-17	-18	-15
40	倍他米松戊酸酯	Betamethasone 17-valerate	2152-44-5	477.20	355.20*	-25	-12	-16
					279.20	-25	-18	-18
41	哈西奈德	Halcinonide	3093-35-4	455.15	105.20*	-24	-53	-21
					121.20	-24	-45	-19
42	泼尼卡酯	Prednicarbate	73771-04-7	489.30	381.20*	-26	-12	-17
					115.10	-26	-15	-19
43	氯替泼诺	Loteprednol etabonate	82034-46-6	467.15	265.25*	-24	-21	-17
					359.20	-24	-13	-16
44	阿氯米松双丙酸酯	Alclometasone dipropionate	66734-13-2	521.20	301.20*	-28	-21	-19
					279.20	-28	-19	-10
45	安西奈德	Amcinonide	51022-69-6	503.20	339.15*	-26	-17	-15
					321.20	-26	-20	-14
46	卤倍他索丙酸酯	Halobetasol Propionate	66852-54-8	485.15	391.05*	-25	-13	-18
					353.15	-25	-16	-16

47	氯倍他索丙酸酯	Clobetasol 17-propionate	25122-46-7	467.15	373.20*	-25	-12	-17
					355.25	-24	-15	-16
48	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	80474-14-2	501.15	313.25*	-26	-15	-20
					293.20	-26	-18	-30
49	莫米他松糠酸酯	Mometasone furoate	83919-23-7	521.10	503.15*	-28	-13	-24
					263.25	-28	-25	-27
50	醋酸甲地孕酮	Megestrol acetate	595-33-5	385.25	325.25*	-20	-15	-14
					267.25	-20	-18	-17
51	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone acetate	302-22-7	405.15	309.20*	-21	-17	-19
					267.20	-21	-22	-16
					319.20*	-26	-16	-20
52	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone dipropionate	5593-20-4	505.20	411.25	-26	-12	-19
					279.20	-26	-19	-18
					97.15*	-17	-23	-17
					109.15	-17	-26	-10
54	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone 17-acetate	71-58-9	387.20	327.25*	-20	-15	-14
					123.15	-20	-29	-11
55	倍氯米松双丙酸酯	Beclmetasone dipropionate	5534-09-8	521.20	503.20*	-28	-13	-24
					319.20	-28	-17	-14
56	双氟可龙戊酸酯	Diflucortolone valerate	59198-70-8	479.25	375.25*	-25	-14	-17
					439.25	-25	-13	-20
57	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone 17-butyrate	25122-57-0	479.20	343.15*	-15	-17	-23
					279.15	-15	-18	-18
58	己酸羟孕酮	Hydroxyprogesterone caproate	630-56-8	429.25	313.30*	-22	-15	-21
					271.25	-22	-21	-17
59	环索奈德	Ciclesonide	126544-47-6	541.30	523.30*	-28	-13	-24
					323.20	-28	-18	-14
60	雌二醇	Estriol	50-27-1	271.25	183.10*	13	39	19
					145.15	13	38	29
61	雌三醇	Estradiol	50-28-2	287.20	143.10*	14	54	14
					171.20	13	37	17
62	雌酮	Estrone	53-16-7	269.25	145.10*	13	36	27
					183.20	13	35	12
63	己烯雌酚	Diethylstilbestrol	56-53-1	267.20	251.15*	13	24	17
					222.10	13	34	23

*定量离子对

2. 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图与同分异构体的分离

在63种激素（MRM色谱图见图1）中，有几组物质互为同分异构体，分离难度较大，特别是互为顺反异构的地塞米松和倍他米松（结构见图2），以及存在R型和S型的两种差向异构体的布地奈德（Budesonide，简称BUD，结构见图4）。本方法选择高柱效的Velox色谱柱，将地塞米松和倍他米松（图2）、布地奈德R型和S型（见图3）两种同分异构体实现液相分离。

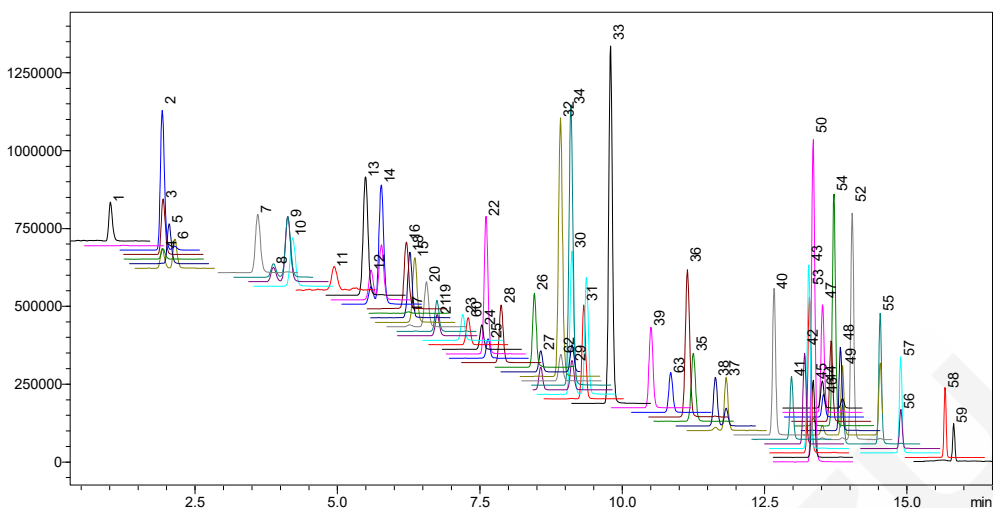


图 1. 63 种激素基质标准溶液 MRM 色谱图 (10 $\mu\text{g/L}$, 峰 ID 号同表 2)

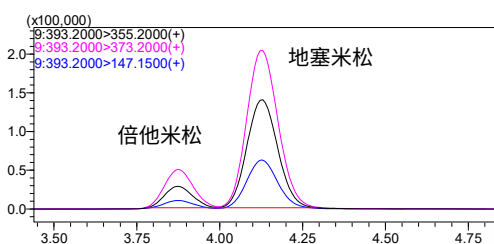


图 2. 倍他米松和地塞米松 MRM 色谱图

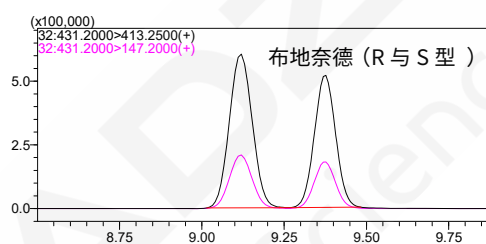


图 3. 布地奈德 MRM 色谱图

2.2 标准曲线

按 1.2 分析条件测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 采用外标法建立基质匹配校准曲线 (部分化合物的校准曲线见图 4), 63 种激素在相应线性浓度范围内, 相关系数在 0.9952~0.9999 之间, 各浓度点的回读准确度在 85.0%~112.7%之间, 线性相关性良好。63 种化合物的检出限 (ASTM, $S/N=3$) 在 0.002-0.62 $\mu\text{g/L}$ 间, 满足标准 0.6 $\mu\text{g/L}$ (部分化合物为 2 $\mu\text{g/L}$) 要求, 其线性方程、相关系数及仪器检出限见表 3。

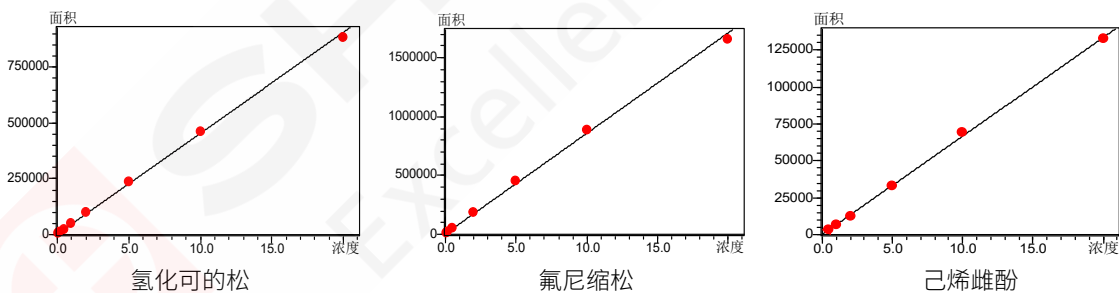


图 4. 3 种激素标准曲线

表 3. 63 种激素标准曲线参数 (权重 1/c)

编号	化合物	线性范围($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r	准确度(%)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	曲安西龙	0.5~100	0.9994	89.0~107.1	0.10
2	泼尼松龙	0.2~20	0.9991	87.7~107.7	0.01
3	泼尼松	0.2~20	0.9995	86.3~107.6	0.04
4	异氟泼尼松	0.5~20	0.9996	96.8~104.9	0.10
5	氢化可的松	0.1~20	0.9995	87.4~106.9	0.01
6	可的松	0.2~20	0.9998	87.9~104.5	0.06
7	甲基泼尼松龙	0.1~20	0.9999	94.7~103.7	0.03
8	倍他米松	0.2~20	0.9998	93.5~104.9	0.03

9	地塞米松	0.1~20	0.9996	92.6~107.3	0.01
10	氟米松	0.1~20	0.9998	85.0~105.4	0.01
11	倍氯米松	2~100	0.9978	94.4~107.7	0.60
12	曲安奈德	0.2~20	0.9998	96.4~103.5	0.02
13	地索奈德	0.1~20	0.9994	86.6~107.3	0.01
14	氟尼缩松	0.1~20	0.9990	88.3~106.4	0.02
15	氟轻松	0.1~20	0.9990	86.3~107.8	0.01
16	曲安西龙双醋酸酯	0.1~20	0.9989	89.4~109.3	0.002
17	氟氢缩松	0.5~20	0.9997	90.8~106.6	0.12
18	泼尼松龙醋酸酯	0.5~20	0.9991	96.9~105.4	0.10
19	氟米龙	0.5~20	0.9997	92.8~106.7	0.11
20	氢化可的松醋酸酯	0.5~20	0.9997	90.5~108.5	0.07
21	氟氢可的松醋酸酯	0.5~20	0.9993	92.1~111.6	0.11
22	地夫可特	0.1~20	0.9996	84.9~105.7	0.008
23	泼尼松醋酸酯	0.2~20	0.9999	96.4~104.4	0.06
24	可的松醋酸酯	0.2~20	0.9998	92.1~104.5	0.05
25	卤美他松	1~20	0.9987	90.8~108.5	0.27
26	甲基泼尼松龙醋酸酯	0.2~20	0.9998	88.4~106.3	0.03
27	倍他米松醋酸酯	0.5~60	0.9981	86.7~108.8	0.12
28	睾酮	0.2~20	0.9998	87.1~109.1	0.06
29	地塞米松醋酸酯	0.5~20	0.9988	88.0~109.5	0.15
30	布地奈德	0.2~20	0.9989	86.2~107.3	0.03
31	氢化可的松丁酸酯	0.2~10	0.9991	86.8~105.7	0.01
32	孕三烯酮	0.1~20	0.9975	85.9~111.7	0.005
33	氟米龙醋酸酯	0.1~10	0.9996	93.5~105.1	0.005
34	甲基睾丸酮	0.1~10	0.9995	89.7~106.7	0.02
35	氢化可的松戊酸酯	0.2~20	0.9996	94.4~106.7	0.07
36	曲安奈德醋酸酯	0.1~10	0.9997	95.1~104.5	0.01
37	二氟拉松双醋酸酯	0.1~10	0.9994	84.9~109.8	0.06
38	氟轻松醋酸酯	0.1~10	0.9997	92.3~103.6	0.03
39	炔诺孕酮	0.2~20	0.9994	86.5~105.3	0.02
40	倍他米松戊酸酯	0.1~10	0.9986	86.0~106.8	0.01
41	哈西奈德	0.5~20	0.9980	92.2~107.2	0.13
42	泼尼卡酯	0.1~20	0.9990	90.4~107.8	0.003
43	氯替泼诺	0.1~10	0.9993	91.3~105.0	0.01
44	阿氯米松双丙酸酯	0.2~10	0.9950	85.3~114.7	0.03
45	安西奈德	0.5~10	0.9982	89.9~111.2	0.05
46	卤倍他索丙酸酯	0.2~10	0.9952	91.8~112.7	0.04
47	氯倍他索丙酸酯	0.1~5	0.9986	87.7~106.9	0.02
48	氟替卡松丙酸酯	0.2~10	0.9992	85.9~108.1	0.01
49	莫米他松糠酸酯	0.2~10	0.9991	89.8~105.9	0.04
50	醋酸甲地孕酮	0.1~10	0.9995	86.3~107.9	0.01
51	醋酸氯地孕酮	0.1~10	0.9997	90.5~107.6	0.01
52	倍他米松双丙酸酯	0.2~10	0.9989	93.2~105.7	0.02
53	黄体酮	0.2~10	0.9997	91.6~105.3	0.03
54	醋酸甲羟孕酮	0.1~10	0.9998	89.6~104.8	0.02

55	倍氯米松双丙酸酯	0.2~10	0.9997	90.7~105.5	0.01
56	双氟可龙戊酸酯	0.2~10	0.9988	88.4~107.7	0.04
57	氯倍他松丁酸酯	0.5~20	0.9983	85.9~107.7	0.02
58	己酸羟孕酮	0.2~20	0.9998	92.2~105.3	0.03
59	环索奈德	1~100	0.9994	93.0~104.5	0.31
60	雌二醇	1~60	0.9969	91.8~112.1	0.30
61	雌三醇	2~100	0.9993	93.3~109.1	0.61
62	雌酮	0.5~60	0.9990	92.1~106.3	0.12
63	己烯雌酚	0.5~20	0.9996	94.0~103.4	0.11

2.3 精密度

用空白基质配制不同浓度的混合标准溶液依次进样，每个浓度平行测定 6 次，考察仪器的精密度。结果显示，63 种激素在各浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02%~0.64%和 0.40%~11.85%之间，结果表明仪器测试的精密度高(见表 4)。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	化合物名称	0.5 µg/L		2 µg/L		10 µg/L	
		(RSD%)		(RSD%)		(RSD%)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	曲安西龙	0.23	5.44	0.23	4.94	0.10	3.75
2	泼尼松龙	0.22	2.77	0.11	2.18	0.11	1.47
3	泼尼松	0.18	2.51	0.14	2.43	0.12	1.12
4	异氟泼尼松	0.26	6.67	0.21	4.95	0.10	1.17
5	氢化可的松	0.24	2.69	0.11	0.97	0.14	0.69
6	可的松	0.20	5.98	0.14	1.96	0.12	1.17
7	甲基泼尼松龙	0.22	2.86	0.10	1.39	0.14	1.69
8	倍他米松	0.34	7.16	0.16	5.73	0.15	2.96
9	地塞米松	0.16	3.16	0.11	1.36	0.15	1.45
10	氟米松	0.18	2.95	0.10	1.84	0.13	1.20
11	倍氯米松	--	--	0.32	6.08	0.23	4.19
12	曲安奈德	0.20	5.66	0.10	3.52	0.13	0.69
13	地索奈德	0.14	2.31	0.07	0.63	0.10	0.48
14	氟尼缩松	0.15	5.23	0.05	1.56	0.11	0.85
15	氟轻松	0.10	2.76	0.08	2.12	0.09	0.96
16	曲安西龙双醋酸酯	0.13	3.68	0.08	2.01	0.07	1.19
17	氟氢缩松	0.27	11.85	0.09	8.52	0.11	5.75
18	泼尼松龙醋酸酯	0.10	6.81	0.07	5.60	0.07	1.92
19	氟米龙	0.12	9.62	0.07	6.28	0.09	3.22
20	氢化可的松醋酸酯	0.06	7.40	0.06	4.35	0.08	1.80
21	氟氢可的松醋酸酯	0.07	6.47	0.05	5.55	0.07	1.80
22	地夫可特	0.09	2.64	0.03	1.30	0.07	0.78
23	泼尼松醋酸酯	0.08	5.86	0.04	2.38	0.07	1.57
24	可的松醋酸酯	0.09	6.52	0.06	3.13	0.07	1.00
25	卤美他松	--	--	0.07	4.70	0.07	6.47
26	甲基泼尼松龙醋酸酯	0.08	2.26	0.03	1.80	0.06	1.89
27	倍他米松醋酸酯	0.06	7.97	0.04	4.70	0.06	3.40
28	睾酮	0.07	2.29	0.04	1.72	0.06	0.76

29	地塞米松醋酸酯	0.08	6.62	0.02	3.65	0.06	2.53
30	布地奈德	0.07	3.45	0.03	1.68	0.05	1.12
31	氢化可的松丁酸酯	0.07	1.68	0.03	1.36	0.05	0.40
32	孕三烯酮	0.06	1.75	0.03	1.63	0.05	1.05
33	氟米龙醋酸酯	0.07	1.95	0.03	0.74	0.04	0.63
34	甲基睾丸酮	0.07	2.78	0.03	1.12	0.05	1.04
35	氢化可的松戊酸酯	0.07	6.07	0.02	3.21	0.05	1.14
36	曲安奈德醋酸酯	0.06	3.40	0.03	2.97	0.04	1.47
37	二氟拉松双醋酸酯	0.06	3.98	0.02	1.06	0.04	0.84
38	氟轻松醋酸酯	0.10	2.59	0.02	1.38	0.04	0.75
39	炔诺孕酮	0.07	4.29	0.02	1.99	0.04	0.85
40	倍他米松戊酸酯	0.05	2.49	0.03	0.79	0.03	1.82
41	哈西奈德	0.04	4.60	0.03	4.22	0.03	1.91
42	泼尼卡酯	0.04	3.52	0.02	2.45	0.03	2.50
43	氯替泼诺	0.04	4.17	0.02	1.74	0.03	1.60
44	阿氯米松双丙酸酯	0.05	6.17	0.02	3.84	0.03	2.16
45	安西奈德	0.04	4.79	0.02	3.53	0.03	2.60
46	卤倍他索丙酸酯	0.03	6.89	0.02	5.90	0.03	3.72
47	氯倍他索丙酸酯	0.04	2.50	0.02	1.12	--	--
48	氟替卡松丙酸酯	0.03	5.45	0.02	1.71	0.03	1.36
49	莫米他松糠酸酯	0.03	3.55	0.02	2.46	0.03	2.15
50	醋酸甲地孕酮	0.04	3.04	0.03	1.14	0.03	0.63
51	醋酸氯地孕酮	0.03	6.67	0.02	2.88	0.03	1.68
52	倍他米松双丙酸酯	0.04	7.20	0.02	2.88	0.03	2.13
53	黄体酮	0.04	2.77	0.03	2.72	0.03	1.61
54	醋酸甲羟孕酮	0.03	2.74	0.02	2.69	0.03	1.60
55	倍氯米松双丙酸酯	0.04	4.22	0.02	2.19	0.03	1.52
56	双氟可龙戊酸酯	0.03	3.84	0.02	3.02	0.03	2.23
57	氯倍他松丁酸酯	0.04	4.35	0.02	2.20	0.03	1.95
58	己酸羟孕酮	0.02	2.36	0.02	1.53	0.02	2.97
59	环索奈德	--	--	0.02	3.93	0.02	1.72
60	雌二醇	--	--	0.06	6.63	0.07	3.79
61	雌三醇	--	--	0.64	10.42	0.27	7.21
62	雌酮	0.08	4.93	0.05	3.91	0.04	2.69
63	己烯雌酚	0.07	6.47	0.04	4.31	0.04	2.84

3. 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪LCMS-8045建立测定63种激素的分析方法。该方法中63种激素的校准曲线，其相关系数在0.9952~0.9999之间，线性相关性良好，其检出限（ASTM，S/N=3）在0.002-0.62 μg/L间。稳定性考察中，63种激素的保留时间相和峰面积的相对标准偏差分别在0.02%~0.64%和0.40%~11.85%之间，仪器精密度良好。可用于63种激素的定性定量检测。

LCMSMS法测定保健品中3种雌激素残留

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定保健品中 3 种雌激素残留的分析方法。保健品基质经超声提取、旋转蒸发等样品前处理后,以乙腈和水作为流动相,超高效液相色谱 LC-30A 进行梯度洗脱分离,用多反应监测串极质谱进行定量分析。采用外标法建立定量方法,3 种雌性激素具有良好的线性相关性,相关系数在 0.9994-0.9999 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样进行精密度实验,3 种雌激素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.744%和 5.55%以下,系统精密度良好。样品基质加标不同浓度所得回收率范围为 92.5%-119.0%,方法检出限在 0.26-0.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,定量限在 0.87-1.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。实验表明,本方法可以满足保健品中雌激素的检测需求。

关键词: 雌激素 保健品 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

市场上有许多保健品,特别是儿童用的一些保健品往往让家长们有一种想买却又不敢买的顾虑,产生这种顾虑的最大因素是怕保健食品中含有性激素成分。雌二醇、雌酮、己烯雌酚属于 18-碳雌烃系,雌二醇、雌酮是由卵泡和黄体所分泌的天然激素,生理活性最强的为雌二醇,雌酮是雌二醇的代谢产物,雌二醇、雌酮的活性比是 100:3。己烯雌酚是人工合成激素,其生理活性比天然雌激素强很多,这类雌性激素具有调节机体不同功能的作用,有的具有抗疲劳、延缓衰老、促进生长发育、改善性功能等保健作用,特别是对绝经后的妇女可缓解更年期综合征、预防骨质疏松,但性激素在长期毒性实验过程中也显示了致肿瘤、乳腺癌等作用。目前并没有三重四极杆测定保健品中雌激素的相关检测标准,岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 采用多反应监测模式,能有效的排除基质干扰,具有高的分离效率,能准确实现定量分析。

本文提出超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用法测定保健品中的雌激素,供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D. \times 100 mm L, 2.2 μm	流速: 0.4 mL/min
流动相: A—纯水, B—乙腈, A/B=60%/40% (V/V)	进样体积: 10 μL
洗脱方式: 梯度洗脱见表 1	柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

表 1. 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
3.0	Pumps	Pump B Conc.	65%
3.1	Pumps	Pump B Conc.	40%
6	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI，负离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

喷雾针位置：1.0 mm

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250°C

加热模块温度：450°C

扫描模式：多反应监测（MRM）

驻留时间：80 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2. MRM 参数

中文名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias (V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias (V)
雌二醇	Estradiol	50-28-2	271.20	145.15 ⁺	10.0	39.0	25.0
			271.20	183.20	10.0	45.0	29.0
雌酮	Estrone	53-16-7	269.20	145.10 ⁺	10.0	30.0	25.0
			269.20	143.20	10.0	50.0	24.0
己烯雌酚	Diethylstilbestrol	6898-97-1	267.15	251.20 ⁺	10.0	25.0	25.0
			267.15	237.25	10.0	27.0	24.0

1.3 样品制备

1.3.1 基质标准工作曲线配制

用乙腈配制浓度为 1.0 mg/mL 的上述 3 种激素，将浓度为 1.0 mg/mL 的 3 种激素用乙腈和水（v/v，4:6）依次稀释至 10 μg/mL 的混合标样。将 10 μg/mL 的 3 种激素混合标样，加标于保健品中使得最终浓度点分别为 10、20、50、100、200 μg/kg 的标准工作液用于建立基质曲线。

1.3.2 样品前处理方法

准确称取排毒养颜类保健食品胶囊中的粉末 1.0 g 于离心管中，加入 10 mL 甲醇进行溶解，涡旋 5 min，超声提取 30 min，然后置于旋转蒸发器进行浓缩，最后用 1 mL 乙腈和水（v/v，4:6）进行定容，定容液过 0.22 μm 滤膜后取 10 μL 用于液质联用仪分析。

2. 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

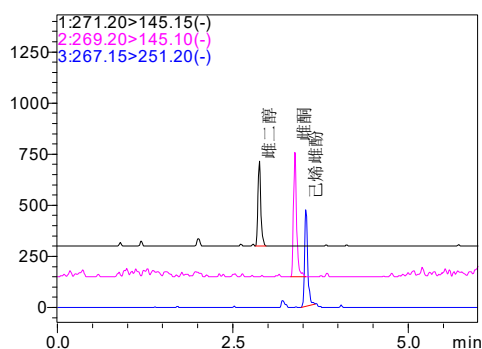


图 1. 雌激素浓度为 2 μg/L 的 MRM 色谱图

2.2 线性关系

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，3 种雌激素在 10-200 μg/kg 的线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数在 0.9994-0.9999 之间，方法检出限和定量限见表 3。

表 3. 雌激素的校准曲线参数、检出限及定量限

名称	校准曲线	线性范围 (μg/kg)	相关系数 (R)	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
雌二醇	$Y = (275821)X + (-523.805)$	10-200	0.9999	0.39	1.30
雌酮	$Y = (617762)X + (-2333.08)$	10-200	0.9994	0.47	1.57
己烯雌酚	$Y = (396753)X + (-2166.69)$	10-200	0.9998	0.26	0.87

2.3 精密度实验

配制低中高不同浓度的混合标样依次进样（浓度见表 4），平行测定 6 次，3 种物质的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在 0.349%~0.744%和 2.16%~5.55%之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (10 μg/L)		RSD% (50 μg/L)		RSD% (200 μg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
雌二醇	0.744	5.50	0.600	5.33	0.713	3.48
雌酮	0.512	4.40	0.628	3.62	0.375	3.22
己烯雌酚	0.538	5.55	0.556	4.72	0.349	2.16

2.4 基质加标实验

图 4 为保健品基质按照 1.3 中样品制备方法所得 MRM 色谱图。往保健品基质中添加 3 种雌激素混合标样，加标 MRM 色谱图如图 3 所示，从图 3 中可以看到，基质加标样品在定量限以上均有很好的响应，加标回收率结果见表 5。

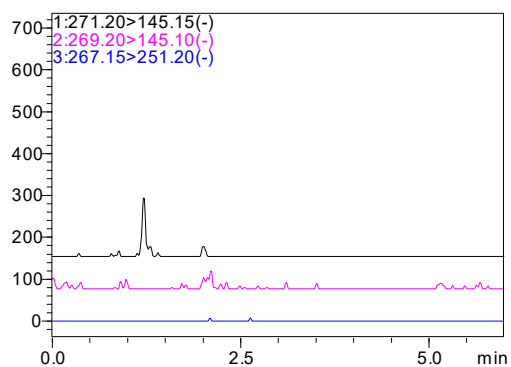


图 2. 保健品基质的 MRM 色谱图

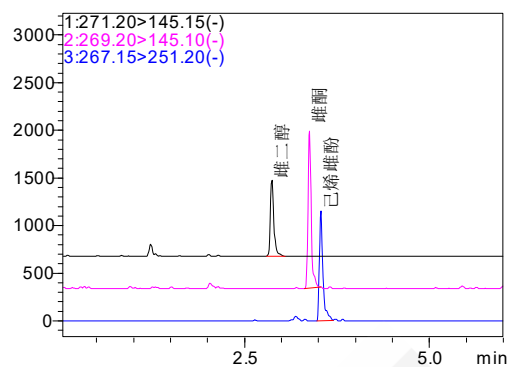


图 3. 保健品基质加标 10 µg/kg 的 MRM 色谱图

表 5. 保健品中雌激素检测与加标回收率结果

名称	检测浓度 (µg/kg)	加标浓度 1 (µg/kg)	实测浓度 1 (µg/kg)	回收率 1 (%)	加标浓度 2 (µg/kg)	实测浓度 2 (µg/kg)	回收率 2 (%)
雌二醇	N.D.	10	9.25	92.5	50	54.2	108.4
雌酮	N.D.	10	11.3	113.4	50	50.4	100.8
己烯雌酚	N.D.	10	11.9	119.0	50	48.5	97.0

注：N.D.表示未检出

3. 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用仪测定保健品中雌激素残留的分析方法。3 种雌性激素在 10-200 µg/kg 线性范围内，相关系数在 0.9994-0.9999 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.744%和 5.55%以下，仪器精密度良好。3 种雌激素加标不同浓度回收率范围为 92.5%-119.0%，方法检出限在 0.26-0.47 µg/kg 之间，定量限在 0.87-1.57 µg/kg 之间。实验结果表明该方法灵敏度高，岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用仪可以满足保健品中雌激素的检测需求。

3.5 改善睡眠安神类

改善睡眠类保健食品旨在帮助人们改善睡眠质量、缓解焦虑情绪、调节神经系统功能，从而达到安神宁心的效果。此类保健食品通常含有多种有益成分。其中，酸枣仁是常见的一种，它具有养肝、宁心、安神的功效，能有效缓解心烦失眠等症状；百合也常被应用于安神类产品中，其有清心安神的作用，对于心神不宁、失眠多梦有一定的改善效果。此外，一些保健食品会添加褪黑素。褪黑素可以调节人体的生物钟，帮助改善睡眠节律，对于因生物钟紊乱导致的睡眠问题有较好的作用。还有的产品含有天麻，天麻能息风止痉、平抑肝阳、祛风通络，对头晕目眩、肢体麻木等有一定疗效，进而有助于缓解焦虑情绪，达到安神的目的。安神类保健食品适合于一些轻度睡眠障碍或精神压力较大的人群日常使用。

改善睡眠类保健食品中常见的非法添加药物，其中最常见的是苯二氮䓬类药物，如地西洋、艾司唑仑等。这些药物属于镇静催眠药，具有强大的抗焦虑和催眠作用。例如，地西洋能够快速减少大脑的兴奋性，使人产生困倦感从而入睡。然而，非法添加这类药物存在巨大风险。它们有很强的成瘾性，长期使用会导致身体和心理依赖，一旦停药可能会出现戒断反应，如焦虑、失眠加重、震颤等。并且，不恰当的使用剂量可能会抑制呼吸、降低血压，甚至危及生命。另外，还会有巴比妥类药物的非法添加情况，像苯巴比妥。这类药物对中枢神经系统有广泛的抑制作用，可以诱导睡眠。但过量使用可能会导致呼吸抑制、昏迷等严重后果。这些非法添加药物的行为是为了增强产品的所谓“安神效果”，却完全忽视了消费者的健康和安全，严重扰乱了保健食品市场秩序。

改善睡眠类违禁药物的检测方法参考国家局发布的食品补充检验方法《保健食品中 75 种非法添加化学药物的检测 BJS 201710》，这些方法主要为 LCMSMS 法。本章汇总了部分此类非法添加药物的应用方案，供相关检测人员参考。

LCMSMS法测定保健品中阿普唑仑等7种镇静类药物

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定镇静类保健品中苯二氮卓类药物(咪达唑仑, 艾司唑仑, 硝西泮, 阿普唑仑, 氯硝西泮, 三唑仑, 地西泮)的方法。采用外标法快速、准确地测定 7 种苯二氮卓类药物, 其在 0.5 ~ 50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 相关系数均大于 0.999; 不同浓度的精密度实验结果表明: 其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.03 ~ 0.23% 和 0.73 ~ 5.77% 之间, 仪器精密度良好; 7 种物质的检出限在 0.04 ~ 0.10 $\mu\text{g/L}$ 之间, 定量限 0.17 ~ 0.40 $\mu\text{g/L}$; 样品加标回收率在 75.9 ~ 125.0% 间。

关键词: 苯二氮卓类 镇静类保健品 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

苯二氮卓类药物(Benzodiazepines, BZDs) 多为 1, 4-苯并二氮卓的衍生物, 临床常用的有 20 余种, 因其具有镇静催眠、抗焦虑、抗惊厥、肌肉松弛和安定作用, 常被不法厂商添加于镇静安神类中成药及保健食品中, 以增强其疗效。但是服用 BZDs 可产生头晕嗜睡、乏力、昏迷、呼吸抑制等副作用, 长期服用容易产生耐受性、依赖性和成瘾性。因此, 我国法律明确规定, 禁止在中成药及保健食品中添加化学药物成分。2012年3月, 国家食品药品监督管理局公布的《保健食品中可能非法添加的物质名单(第一批)》50种物质中就包含BZDs;其中还要求相关部门制定检测方法。为应对此要求, 建立BZDs药物的检测方法是十分必要。

目前, 中成药及保健食品中BZDs的测定方法主要有薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱/质谱法(GC/MS)、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS); 但鉴于LC-MS/MS 可对多组分进行定性和定量分析, 同时具有灵敏度高, 检出限低的特点, 是近年来BZDs检测的主要研究方向。因此, 本文参考相关文献方法, 建立测定镇定类保健品中BZDs的超高效液相色谱-串联质谱分析方法, 可供相关检测人员参考。

1、实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III

2.0 mmI.D. \times 50 mmL., 1.6 μm

流动相: A—0.1%甲酸水溶液; B—乙腈流速:

0.3 mL/min

进样体积: 10 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%,

时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	45
2.50	Pumps	Pump B Conc.	45
3.50	Pumps	Pump B Conc.	90
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.10	Pumps	Pump B Conc.	20
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI(+)

加热模块温度: 400°C

离子源接口电压: 4.5 kV

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

雾化气: 氮气 3.0 L/min

驻留时间: 20 ms

干燥气: 氮气 15 L/min

延迟时间: 3 ms

碰撞气: 氦气

MRM 参数: 见表 2

脱溶剂管温度: 250°C

表 2 MRM 参数

编号	中文名	英文名	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	咪达唑仑	Midazolam	59467-64-0	326.05	291.10*	-17	-27	-30
					249.10	-17	-37	-25
2	艾司唑仑	Estazolam	29975-16-4	295.00	267.05*	-15	-24	-28
					241.10	-15	-24	-25
3	硝西泮	Nitrazepam	146-22-5	282.05	236.10*	-14	-24	-16
					207.25	-14	-35	-22
4	阿普唑仑	Alprazolam	28981-97-7	309.05	281.10*	-16	-27	-30
					274.15	-16	-25	-19
5	氯硝西泮	Clonazepam	1622-61-3	316.00	270.05*	-16	-25	-29
					241.05	-16	-37	-16
6	三唑仑	Triazolam	28911-01-5	343.00	308.05*	-17	-28	-21
					238.90	-17	-45	-25
7	地西泮	Diazepam	439-14-5	285.00	222.10*	-14	-32	-20
					193.10	-14	-26	-22

*表示定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制: 用乙腈:水 (20/80, v/v) 溶液做溶剂, 将 10 mg/L 混合标液溶液稀释成 0.5、1、5、20 和 50 µg/L 不同浓度的混合标准工作液。

1.3.2 样品前处理方法:

称取 1.0 g 试样(胶囊、片剂同时将糖衣和胶囊壳碾碎)于 50 mL 离心管中, 加入 50 mL 甲醇, 超声提取 20 min, 然后以 10000 rpm 转速高速离心 10 min, 取出 1 mL 上清液, 用乙腈:水 (20/80, v/v) 溶液稀释 1 倍, 经 0.45 µm 微孔滤膜过滤后, 用液质分析。

2、结果讨论

2.1 标准溶液的 MRM 色谱图

1.0 µg/L 混合标准溶液的 MRM 色谱如图 1 所示。

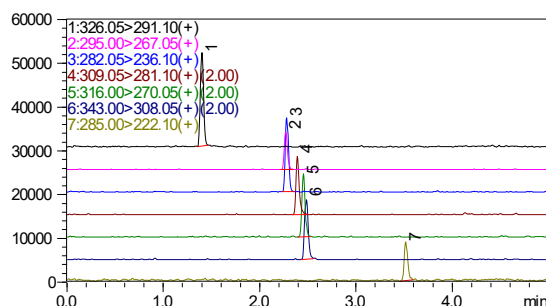


图 1 1.0 µg/L 混合标样的 MRM 图

(1.咪达唑仑, 2.艾司唑仑, 3.硝西洋, 4.阿普唑仑, 5.氯硝西洋, 6.三唑仑, 7.地西洋)

2.2 线性关系

将浓度为 0.5、1、5、20 和 50 µg/L 混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 2 所示。

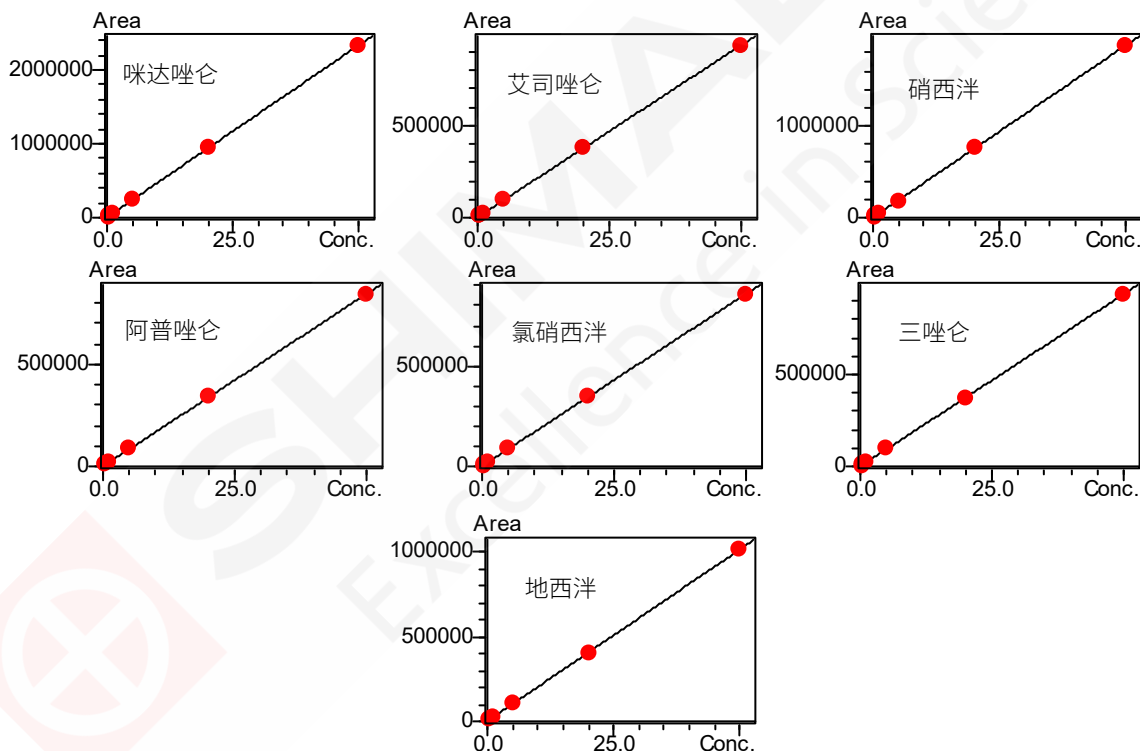


图 2 7 种化合物标准曲线图

表 3 7 种物质的校准曲线参数

No.	名称	线性范围	校准曲线	相关系数 R
1	咪达唑仑	0.5 ~50 µg/L	$Y = (46687.0)X + (5569.65)$	0.9999
2	艾司唑仑	0.5 ~50 µg/L	$Y = (18687.0)X + (2226.34)$	0.9999
3	硝西洋	0.5 ~50 µg/L	$Y = (37702.3)X + (3394.27)$	0.9999
4	阿普唑仑	0.5 ~50 µg/L	$Y = (16930.2)X + (-137.049)$	0.9999
5	氯硝西洋	0.5 ~50 µg/L	$Y = (17171.6)X + (1151.02)$	0.9999
6	三唑仑	0.5 ~50 µg/L	$Y = (18783.0)X + (-642.364)$	0.9999
7	地西洋	0.5 ~50 µg/L	$Y = (20309.8)X + (759.258)$	0.9999

2.3 检出限和定量限

配制 0.5 μg/L 的混合标样，平行 7 次进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL=3.14×S，定量限 LOQ=4×MDL。

表 4 7 种物质的检出限与定量限(n=7)

No.	名称	标准偏差(S)	检出限(μg/L)	定量限(μg/L)
1	咪达唑仑	0.02	0.07	0.28
2	艾司唑仑	0.03	0.10	0.40
3	硝西洋	0.01	0.04	0.17
4	阿普唑仑	0.03	0.09	0.37
5	氯硝西洋	0.03	0.10	0.39
6	三唑仑	0.03	0.08	0.33
7	地西洋	0.03	0.10	0.38

2.4 精密度实验

配制如表 4 浓度的混合标液，重复进样 6 次。7 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03 ~ 0.23% 和 0.73 ~ 5.77% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	名称	RSD% (0.5 μg/L)		RSD% (5 μg/L)		RSD% (50 μg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	咪达唑仑	0.23	4.19	0.12	3.06	0.08	1.38
2	艾司唑仑	0.08	5.45	0.09	2.10	0.04	0.87
3	硝西洋	0.14	3.58	0.08	1.78	0.03	1.71
4	阿普唑仑	0.19	5.77	0.10	2.98	0.03	1.11
5	氯硝西洋	0.10	4.29	0.08	2.48	0.04	0.92
6	三唑仑	0.20	3.72	0.11	3.20	0.03	0.73
7	地西洋	0.06	5.74	0.08	1.41	0.03	1.06

2.6 基质加标实验

按照 1.3.2 中样品制备方法，加标含量如表 6。测试结果显示：安神剂样品的加标回收率在 75.9 ~ 125.0% 之间；具体结果如表 6。样品与样品加标的色谱图如图 3、图 4 所示。

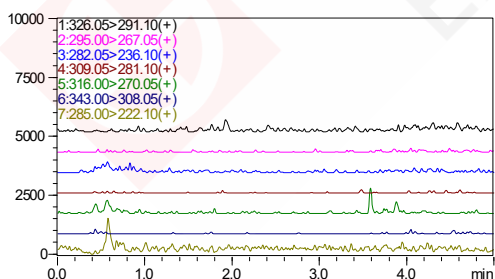


图 3 安神剂样品的色谱图

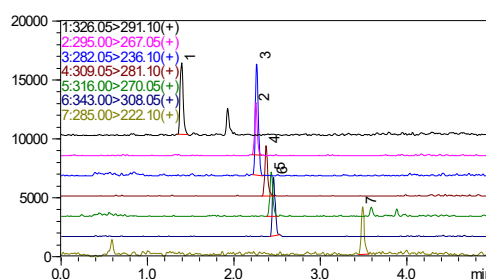


图 4 0.05 mg/kg 基质加标样色谱图

(1.咪达唑仑, 2.艾司唑仑, 3.硝西洋, 4.阿普唑仑, 5.氯硝西洋, 6.三唑仑, 7.地西洋) 表 6 加标样的回收率结果

No.	样品名称	样品浓度 (μg/kg)	加标回收率%		
			0.05 mg/kg	0.25 mg/kg	2.0 mg/kg
1	咪达唑仑	N.D	89.6%	75.9%	78.8%
2	艾司唑仑	N.D	80.4%	93.8%	101.7%
3	硝西洋	N.D	108.0%	112.0%	106.0%

4	阿普唑仑	N.D	118.4%	115.7%	107.4%
5	氯硝西洋	N.D	93.2%	88.3%	90.6%
6	三唑仑	N.D	125.0%	117.5%	112.7%
7	地西洋	N.D	88.6%	95.1%	94.9%

注：N.D 表示未检出

3. 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定镇静类保健品中 7 种苯二氮卓类药物（咪达唑仑，艾司唑仑，硝西洋，阿普唑仑，氯硝西洋，三唑仑，地西洋），线性良好，相关系数均大于 0.9999；其检出限在 0.04 ~ 0.10 $\mu\text{g/L}$ 之间，定量限 0.17 ~ 0.40 $\mu\text{g/L}$ 之间；安神剂样品加标的回收率在 75.9 ~ 125.0% 之间；该方法具有分析速度快、灵敏高的特点，适合测定镇定安神类药物中苯二氮卓类药物，以应对国家食品药品监督管理局公布的《保健食品中可能非法添加的物质名单（第一批）》中苯二氮卓类药物的监控。

LCMSMS 分析保健品中巴比妥类 4 种药物

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定保健品中巴比妥、苯巴比妥、异戊巴比妥和速可眠的方法。本方法在 2 min 内快速分离四种巴比妥药物; 不同浓度的精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.11%~0.31%和 1.7%~5.9%之间, 结果表明仪器精密度良好; 基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9994, 方法检出限和方法定量限分别介于 0.36-0.40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.46-1.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。

关键词: 保健品 巴比妥 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

巴比妥类药物(又称巴比妥酸盐)是一类作用于中枢神经系统的镇静剂, 属于巴比妥酸的衍生物, 其应用范围可以从轻度镇静到完全麻醉, 还可以用作抗焦虑药、安眠药、抗痉挛药。但长期使用会导致成瘾性并对人体内脏造成损伤。一些市售保健品药剂为增加疗效非法添加了苯巴比妥类药物, 由于对其剂量没有进行控制, 给患者造成伤害甚至危及生命。因此建立一个有效的方法检测此类药物, 以便及时查处制假行为是十分必要的。目前没有三重四极杆测定保健品中巴比妥类药物的相关检测标准, 本文参考《SN/T 2217-2008 进出口动物源食品中巴比妥类药物残留量的检测方法高效液相色谱-质谱/质谱法》, 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用, 建立了保健品中巴比妥类药物的检测方法, 供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱优化条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm

I.D. \times 50 mm L., 1.6 μm

流动相: A—0.1%乙酸水, B—乙腈,

A/B=60%/40% (V/V) 等度洗脱

流速: 0.35 mL/min

进样体积: 5 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

质谱优化条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 负离子扫描

离子源接口电压: 4.5 kV

喷雾针位置: 1.0 mm

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度: 400 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 1

表 1. MRM 参数

中文名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias (V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias (V)
巴比妥	Barbital	57-44-3	183.00	42.15 ⁺	21.0	21.0	15.0
			183.00	140.20	21.0	14.0	26.0
苯巴比妥	Phenobarbital	50-06-6	231.00	42.20 ⁺	16.0	16.0	15.0
			231.00	188.10	16.0	9.0	19.0
异戊巴比妥	Amobarbital	57-43-2	225.00	182.20 ⁺	11.0	13.0	18.0
			225.00	42.20	11.0	22.0	14.0
速可眠	Secobarbital sodium salt	309-43-3	237.00	42.15 ⁺	12.0	18.0	14.0
			237.00	194.20	12.0	11.0	19.0

1.3 样品制备

1.3.1 基质标准工作曲线配制

用乙腈配制浓度为 200 mg/L 的上述 4 种药物，用乙腈稀释制备得到 200 μg/L 的混合标样；再依次用水稀释得到浓度点分别为 0.8、2.0、4.0、8.0、20、40、80 μg/L 的标准工作液用于建立标准曲线。

1.3.2 样品前处理方法

准确称取安眠类保健胶囊中的粉末 0.5 g 于离心管中，加入 5 mL 乙腈进行溶解，涡旋 5 min，超声提取 30 min，然后 10000 rpm 高速离心 5 min，取上清液氮吹浓缩后用水定容至 0.5 mL，过 0.22 μm 滤膜后待测。

2. 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

巴比妥类药物混合标样的 MRM 色谱图如图 2 所示。

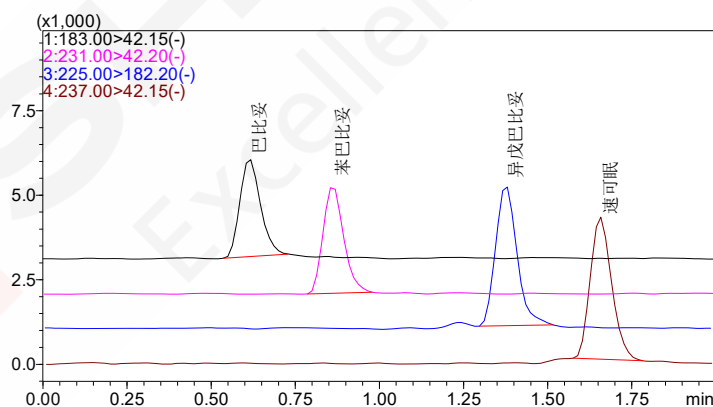


图 1. 巴比妥类药物浓度为 20 μg/L 的 MRM 色谱图

2.2 线性关系

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，如图 2 所示，4 种巴比妥类药物在 0.8-80 μg/L 的线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数在 0.9994-0.9997 之间，方法检出限和定量限见表 2。

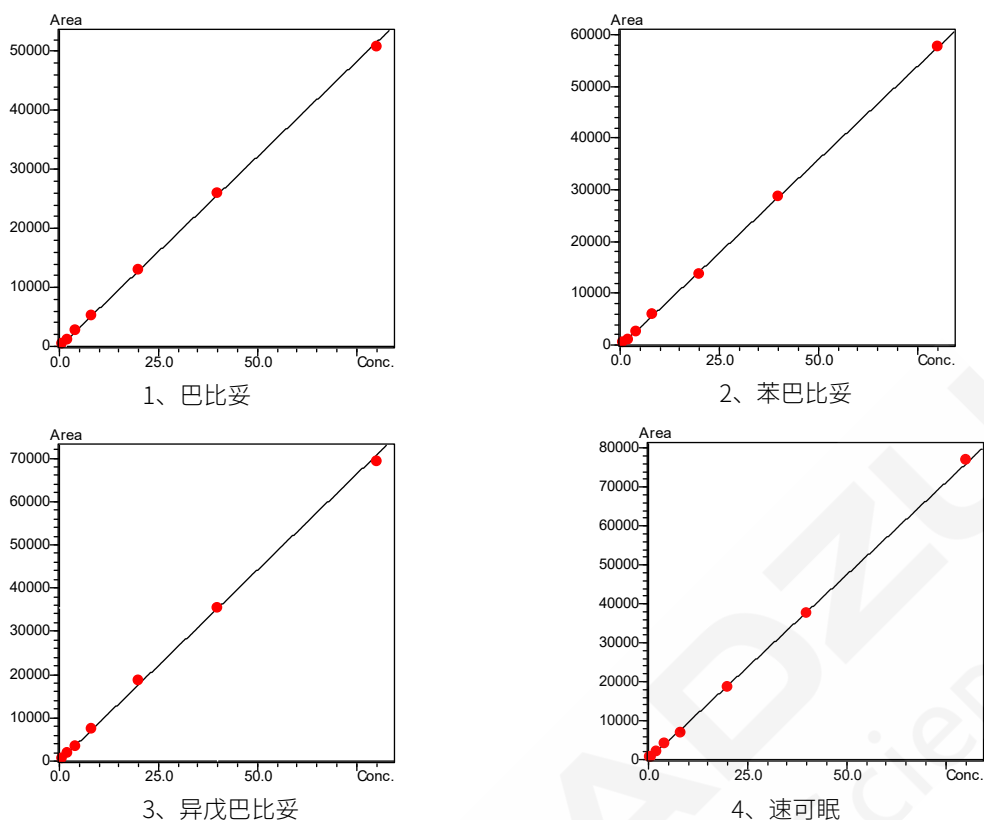


图 2.4 种巴比妥药物的标准曲线

表 2. 巴比妥类药物的校准曲线参数、检出限及定量限

名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 (R)	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
巴比妥	$Y = (644.343)X + (-38.1247)$	0.8-80	0.9997	0.36	1.46
苯巴比妥	$Y = (720.977)X + (-222.995)$	0.8-80	0.9996	0.40	1.62
异戊巴比妥	$Y = (883.306)X + (28.0151)$	0.8-80	0.9994	0.38	1.48
速可眠	$Y = (948.048)X + (74.1888)$	0.8-80	0.9994	0.38	1.54

2.3 精密度实验

配制低中高不同浓度的混合标样依次进样（浓度见表 3），平行测定 6 次，4 种物质的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在 0.11%~0.31%和 1.7%~5.9%之间,结果表明系统具有良好的精密度。

表 3. 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (2 μg/L)		RSD% (8 μg/L)		RSD% (40 μg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
巴比妥	0.31	3.7	0.21	3.7	0.18	2.2
苯巴比妥	0.31	5.9	0.17	4.0	0.12	1.7
异戊巴比妥	0.20	4.8	0.11	3.5	0.12	2.9
速可眠	0.12	5.8	0.10	3.1	0.11	3.3

2.4 基质加标实验

图 4 为保健品基质按照 1.3 中样品制备方法所得 MRM 色谱图。往保健品基质中添加低中高三种浓度的巴比妥类药物混合标样，加标 MRM 色谱图如图 4 所示，从图 4 中可以看到，基质加标样品在定量限以上均有很好的响应，加标回收率结果见表 5。

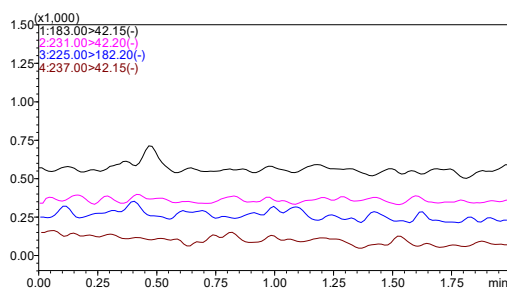


图 3. 保健品基质的 MRM 色谱图

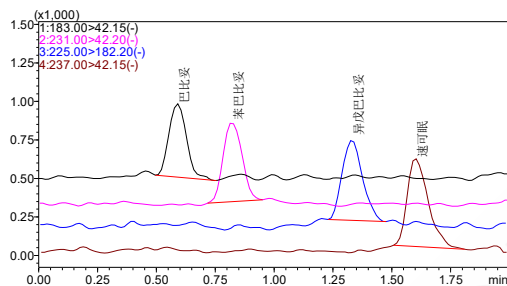


图 4. 保健品基质加标 4 µg/kg 的 MRM 色谱图

表 4. 保健品中巴比妥类药物检测与加标回收率结果 (原药中未检出目标物) (n=3)

名称\ 加标浓度	2 µg/kg		4 µg/kg		10 µg/kg	
	回收率 (%)	RSD%	回收率 (%)	RSD%	回收率 (%)	RSD%
巴比妥	78.4	5.4	92.9	5.2	102.2	4.3
苯巴比妥	123.2	5.8	98.4	3.9	118.5	2.3
异戊巴比妥	100.5	6.1	93.4	3.7	121.0	2.2
速可眠	83.6	6.8	93.1	3.7	119.9	3.8

3. 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用仪测定保健品中巴比妥类药物残留的分析方法。4 种巴比妥类药物在 2 min 内完成分离,线性范围和相关系数分别在 0.8-80 µg/L 和 0.9994-0.9997 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验,连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.31%和 5.9%之间以下,仪器精密度良好。4 种巴比妥类药物加标不同浓度回收率范围为 78.4%-123.2%,方法检出限在 0.36-0.40 µg/kg 之间,定量限在 1.46-1.62 µg/kg 之间。实验结果表明该方法快速高效、精密度好、灵敏度高,可以满足保健品中巴比妥类药物的检测需求。

3.6 植物毒素类

在传统医学中，药酒有着独特的地位，然而，人们往往忽视了炮制药酒过程中可能迁移出的植物毒素所带来的潜在危害。许多用于泡酒的植物本身含有有毒成分。例如，乌头类植物，其含有的乌头碱是一种剧毒物质。在炮制不当的情况下，乌头碱会大量溶出到酒中。正常饮用这种药酒，可能会迅速引发中毒症状，从口唇发麻到心慌、呼吸困难，甚至危及生命。马钱子也是常见的泡酒材料，但马钱子中含有的番木鳖碱，毒性剧烈。如果在炮制药酒时没有遵循严格的规范，比如浸泡时间、温度控制不佳，番木鳖碱就可能迁移到药酒中。一旦摄入，会对神经系统造成严重损害，引起肌肉强直、抽搐等可怕症状。此外，炮制过程中如果对植物的处理不够精细，比如没有去除某些含毒的根茎部分，或者没有经过合适的解毒步骤，都会增加植物毒素迁移到药酒中的可能性。而且，不少人自行采集植物炮制药酒，缺乏专业知识，无法准确辨别植物种类和毒性，进一步加大了健康风险。

因此开发有效的植物毒素检测方法，对中药材炮制药酒的安全评估具有重要意义。这些植物毒素的检测方法包括化学分析法、高效液相色谱法、液质联用法、免疫分析法和拉曼光谱法等。其中，使用三重四极杆液质联用仪，能够同时检测多种不同理化性质目标物，目前在痕量分析领域使用十分广泛，是中药材炮制药酒中植物毒素筛查与检测的有效方法。本章汇总了部分植物毒素的应用方案，供相关检测人员参考。



18	次乌头碱	6900-87-4	616.40	556.35*	-15	-35	-15
				524.30	-15	-39	-15
19	雪上一枝蒿甲素	1354-84-3	344.10	235.10*	-18	-38	-24
				58.00	-19	-39	-22
20	雪上一枝蒿乙素	466-26-2	438.10	388.20*	-23	-34	-26
				420.25	-23	-32	-29
21	马兜铃酸 A	313-67-7	359.05	296.10*	-25	-21	-22
				298.00	-23	-21	-29
22	马兜铃内酰胺	13395-02-3	294.05	279.00*	-20	-26	-29
				251.05	-11	-36	-16
23	秋水仙碱	64-86-8	400.00	358.20*	-22	-25	-17
				310.10	-21	-27	-22
24	藜芦胺	60-70-8	410.15	84.00*	-22	-30	-15
				392.25	-22	-27	-27

注：*表示定量离子

1.3 混合标准溶液的配制

分别准确称取表 2 中的 24 种毒性成分对照品各适量于 20 mL 量瓶,用 50%甲醇溶解,配制成 100 mg/L 的单标储备液 (-30 °C 暗处保存)。精密吸取各单标储备液适量,用甲醇制备成各含 500 ng/mL 的混合标准品溶液。

1.4 供试品溶液的制备

取供试品适量,离心 5 min,精密量取上清液 1 mL,加 0.5%氨水甲醇 1 mL,混匀,用微孔滤膜 (0.22 μm) 滤过,即得。

2. 结果与讨论

2.1 化合物 TIC 图

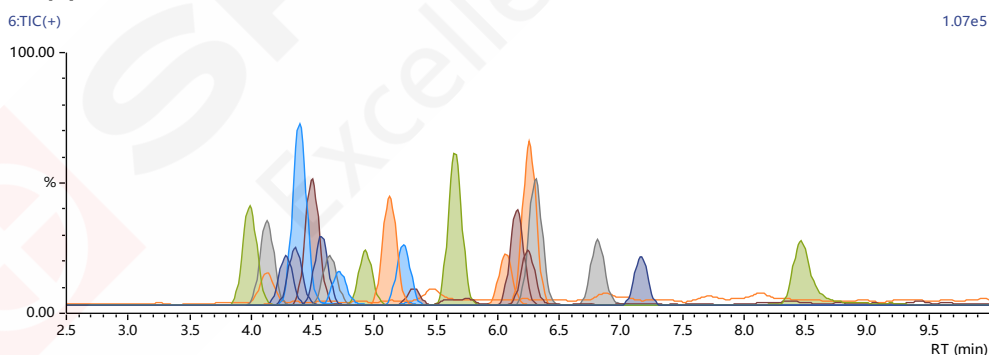


图 1. 24 种毒性成分基质混合对照品溶液 TIC 图 (100 ng/mL)

2.2 基质效应

采用相对法考察基质效应,分别配制溶剂标准溶液与基质匹配的标准溶液,建立相应的标准曲线并计算回归方程,通过斜率比值进行判断。计算公式如下:基质效应=基质匹配的标准曲线斜率/溶剂标准曲线斜率×100%。计算结果在 85%~115%之间,显示基质效应在可控范围;计算结果小于 85%,显示有基质抑制效应;计算结果大于 115%,显示有基质增强效应,具体结果见表 3。结果表明,24 种毒性成分中,部分化合物具有基质增强效应和基质抑制效应。为了抵消基质效应对定量结果的差异影响,采用基质匹配的混合对照品溶液建立标准曲线。

表 3. 24 种毒性成分基质效应

No.	化合物名称	基质效应 (%)	No.	化合物名称	基质效应 (%)
1	东莨菪碱	95.1	13	钩吻碱	78.6
2	山莨菪碱	110.0	14	胡蔓藤碱甲	108.0
3	莨菪碱/天仙子胺	112.0	15	常绿钩吻碱	95.9
4	樟柳碱	103.0	16	乌头碱	106.0
5	青藤碱	99.8	17	新乌头碱	88.7
6	雷公藤甲素	120.0	18	次乌头碱	99.8
7	雷公藤吉碱	96.7	19	雪上一枝蒿甲素	95.0
8	雷公藤红素	123.0	20	雪上一枝蒿乙素	99.4
9	土的宁/番木鳖碱	80.7	21	马兜铃酸 A	88.6
10	马钱子碱	88.9	22	马兜铃内酰胺	95.4
11	番木鳖次碱	56.1	23	秋水仙碱	65.5
12	钩吻素子	94.6	24	藜芦胺	96.5

2.3 线性，检测限及定量限

分别取 1.4 制备得到的空白基质溶液各 8 份，每份 0.5 mL，分别精密吸取混合标准品溶液 2、5、10、20、50、100、200、300 μL ，加 0.5%氨水甲醇补充至 1 mL，得到基质匹配的系列浓度混合对照品溶液，上机测试。以化合物浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归分析。结果表明，24 种毒性成分线性范围内相关系数大于 0.99，线性良好。

表 4. 24 种毒性成分校准曲线参数

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 (r)	准确度 (%)	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	东莨菪碱	0.9-128.6	0.9946	88.7-114.6	0.3	1.7
2	山莨菪碱	1.1-170.0	0.9960	93.3-117.8	0.5	2.3
3	莨菪碱/天仙子胺	1.1-158.1	0.9984	94.9-116.0	0.4	2.1
4	樟柳碱	1.3-188.5	0.9921	93.5-115.2	0.5	2.5
5	青藤碱	0.9-140.0	0.9935	85.7-116.9	0.4	1.9
6	雷公藤甲素	1.2-174.6	0.9977	83.6-118.3	0.5	2.3
7	雷公藤吉碱	1.1-161.4	0.9997	90.6-105.6	0.4	2.2
8	雷公藤红素	1.2-175.0	0.9992	92.0-111.2	0.5	2.3
9	土的宁/番木鳖碱	1.1-160.2	0.9994	95.8-115.3	0.5	2.1
10	马钱子碱	1.0-156.0	0.9973	92.8-113.6	1.0	2.1
11	番木鳖次碱	1.1-158.9	0.9973	93.8-112.0	1.1	2.1
12	钩吻素子	1.1-158.8	0.9924	85.1-115.6	0.4	2.1
13	钩吻碱	1.0-153.0	0.9991	95.9-115.4	0.4	2.0
14	胡蔓藤碱甲	1.0-146.0	0.9993	95.6-115.5	0.2	1.9
15	常绿钩吻碱	1.0-157.5	0.9911	86.4-119.3	0.2	2.1
16	乌头碱	1.1-158.7	0.9990	95.4-117.9	0.2	2.1
17	新乌头碱	1.1-158.5	0.9990	92.2-117.2	0.2	2.1
18	次乌头碱	1.0-144.1	0.9951	90.2-117.9	0.2	1.9
19	雪上一枝蒿甲素	1.2-176.3	0.9917	91.2-118.4	0.6	2.4
20	雪上一枝蒿乙素	1.0-155.0	0.9987	83.9-109.8	0.4	2.1
21	马兜铃酸 A	1.1-163.0	0.9990	97.4-116.3	1.1	2.2

22	马兜铃内酰胺	1.1-163.9	0.9987	90.3-118.4	0.4	2.2
23	秋水仙碱	1.0-145.6	0.9942	87.4-116.7	1.0	1.9
24	藜芦胺	1.1-159.1	0.9986	85.3-116.9	0.4	2.1

2.4 加标回收率试验

取未检出毒性成分样品作为空白基质，加入 3 个加标水平（5、25、100 ng/mL），按照 1.4 前处理方式进行处理，平行测定 2 次，进行加标回收率试验。结果表明，24 种毒性成分的平均回收率为 79.6%~107.0%，相对标准偏差 RSD% 为 5.3%~17.0%，具体结果见表 5。

表 5. 加标回收率结果 (n=2)

No.	化合物名称	回收率 (%)	RSD(%)	No.	化合物名称	回收率 (%)	RSD(%)
1	东莨菪碱	96.6	7.8	13	钩吻碱	97.3	6.4
2	山莨菪碱	95.1	5.3	14	胡蔓藤碱甲	96.8	7.3
3	莨菪碱/天仙子胺	95.8	5.1	15	常绿钩吻碱	99.9	8.6
4	樟柳碱	96.4	7.7	16	乌头碱	92.4	6.9
5	青藤碱	107.0	12.0	17	新乌头碱	96.1	6.4
6	雷公藤甲素	97.6	16.0	18	次乌头碱	99.8	9.0
7	雷公藤吉碱	79.6	7.5	19	雪上一枝蒿甲素	99.9	12.0
8	雷公藤红素	101.0	14.0	20	雪上一枝蒿乙素	96.7	6.1
9	土的宁/番木鳖碱	96.1	8.5	21	马兜铃酸 A	97.3	17.0
10	马钱子碱	96.3	5.3	22	马兜铃内酰胺	94.9	14.0
11	番木鳖次碱	86.8	12.0	23	秋水仙碱	91.2	10.0
12	钩吻素子	96.3	8.7	24	藜芦胺	97.9	5.4

2.5 样品测定

取 4 批中药酒剂（含酞剂）按照 1.4 前处理方式进行处理，1.2 分析条件上机分析，样品 TIC 图见图 2，结果见表 6。结果表明，样品 1、2 为药店购买的具有国药准字号的药酒，毒性成分检出情况与处方中药材基本一致；样品 3、4 为农贸市场购买的自制药酒，均检出毒性成分，提示自制药酒有滥用毒性药材的现象。

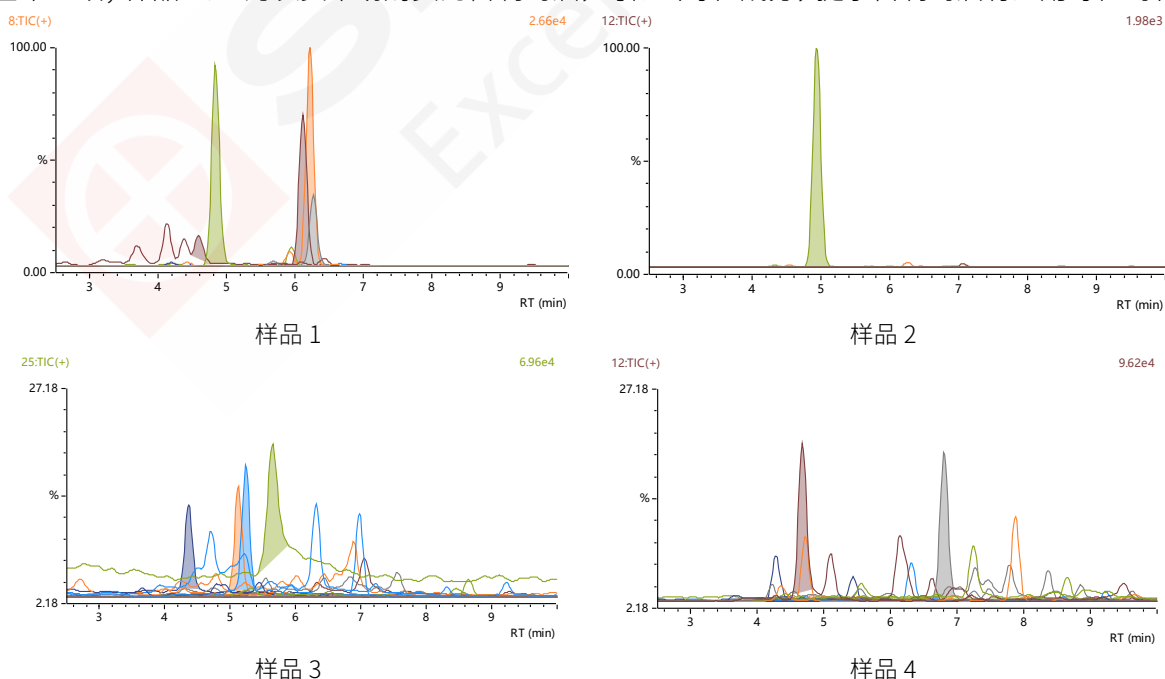


图 2. 样品 TIC 图

表 6. 样品检出情况

名称	含毒性药材	检出毒性成分 (ng/mL)	
样品 1	草乌, 川乌	青藤碱	6.1
		乌头碱	199.5
		新乌头碱	445.2
		次乌头碱	521.1
		雪上一支蒿乙素	937.8
样品 2	附子	雪上一支蒿乙素	464.8
样品 3	未有说明	钩吻素子	27.8
		钩吻碱	9.8
		胡曼藤碱甲	13.7
		常绿钩吻碱	14.8
样品 4	未有说明	青藤碱	265.6
		马兜铃内酰胺	72.6

3. 结论

本文建立了针对中药酒剂中 24 种毒性生物碱的快速筛查检测方法, 该方法简单、快速, 稳定性强, 适用于中药酒剂中毒性成分的检测及安全性评价, 能满足食品安全突发事件的应急检测要求。

LCMSMS 分析 68 种植物毒素

摘要: 本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术,建立了 68 种植物毒素检测方法。该方法方法验证结果表明:在考察的线性范围内,其相关系数均大于 0.995,线性良好;高中低标准溶液重复进 6 次,保留时间和峰面积相对标准偏差%RSD 分别小于 0.3%和 10%,仪器精密度良好。该方法可为植物中毒检测提供良好参考。

关键词: 三重四极杆质谱 植物毒素

植物毒素指一类天然产生的(如由植物、微生物或是通过自然发生的化学反应而产生的)有毒物质,包括非蛋白质氨基酸、肽类、蛋白质、生物碱及甙类等,其中蓖麻毒素、相思子毒素、乌头碱等。

植物毒素产生的机体中毒效应广泛,包括致死及非致死性的神经系统、消化系统、心血管系统以及皮肤、呼吸道、眼睛、肝、肾等各部位或器官的损伤或功能性障碍。我国每年都会发生多起有毒植物食物中毒事件,植物毒素引起的中毒发病急,严重时甚至会引起死亡,而植物毒素中毒发生时,毒物在血液中的浓度比较低,通常比尿液中低数倍乃至数十倍,因此建立尿液中植物毒素检测方法,对植物毒素中毒临床诊断及拯救生命有着重要意义。

本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术,建立了68种植物毒素检测方法。该方法20 min 即可完成样品定量分析,可供相关检测人员参考使用。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为:

系统控制器:	CBM-20A	脱气机:	DGU-20A _{5R}
输液泵:	LC-30AD×2	自动进样器:	SIL-30AC
柱温箱:	CTO-20AC	检测器:	LCMS-8045
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.114		

1.2 分析条件

液相条件色 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04)

流动相 : A相-0.5mM 氟化铵+0.1%甲酸水溶液; B相-甲醇

流速 : 0.30 mL/min

进样体积 : 1 μL

质谱条件

离子化模式 :	ESI+	接口温度 :	350°C
接口电压 :	1.0 kV	D L 温度 :	200°C
雾化气流速 :	氮气 3.0 L/min	加热块温度 :	400°C
加热气流速 :	空气 12 L/min	驻留时间 :	23 ms
干燥气流速 :	氮气 8 L/min	扫描模式 :	多反应监测(MRM)
碰撞气 :	氦气 230 kPa	M R M 参数 :	见表2

表 2. 依托咪酯类化合物 MRM 采集参数

No.	化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais (V)	CE(V)	Q3 Pre Bais (V)
1	N-甲基野靛碱	486-86-2	205.10	58.10* 42.10	-23 -11	-26 -74	-22 -14
2	槟榔碱	63-75-2	156.05	113.20* 53.00	-11 -10	-14 -25	-19 -22
3	金雀花碱	485-35-8	191.05	148.10* 133.00	-10 -10	-21 -33	-25 -21
4	毛果云香碱	92-13-7	209.05	95.10* 163.10	-11 -11	-33 -19	-15 -15
5	毒黄素	84-82-2	194.00	109.00* 137.00	-10 -10	-21 -17	-17 -23
6	苦参碱	519-02-8	249.10	148.10* 150.10	-13 -12	-31 -31	-25 -26
7	石蒜碱	496-28-8	288.10	119.05* 147.05	-15 -15	-38 -30	-20 -26
8	野百合碱-	315-22-0	326.10	120.10* 94.10	-12 -12	-34 -46	-19 -15
9	鹰爪豆碱	90-39-1	235.15	98.10* 70.10	-12 -12	-36 -53	-16 -27
10	加兰他敏	357-70-0	288.05	213.00* 231.00	-10 -15	-23 -17	-20 -22
11	氧化苦参碱	16837-52-8	265.10	247.10* 205.15	-30 -13	-28 -29	-24 -19
12	野百合碱-N-氧化物	35337-98-5	342.10	137.05* 119.10	-10 -10	-29 -32	-12 -19
13	毒芹碱	3238-60-6	128.10	69.10* 55.10	-14 -15	-17 -22	-26 -21
14	蓖麻碱	524-40-3	165.00	82.05* 138.05	-11 -20	-25 -20	-13 -24
15	相思子碱	526-31-8	219.05	188.00* 146.00	-11 -11	-12 -19	-17 -26
16	山莨菪碱	17659-49-3	306.05	140.15* 122.10	-11 -15	-26 -29	-25 -19
17	东莨菪碱	51-34-3	304.05	138.10* 156.05	-11 -11	-23 -17	-12 -14
18	常山乙素	24159-07-7	302.05	100.00* 138.10	-11 -11	-22 -16	-15 -23
19	倒千里光碱	480-54-6	352.10	120.00* 94.10	-18 -10	-30 -36	-10 -15
20	钩吻素甲	509-15-9	323.10	70.10* 236.05	-12 -17	-33 -28	-10 -23
21	倒千里光碱-N-氧化物	15503-86-3	368.05	94.10* 118.00	-19 -11	-50 -31	-15 -10
22	异常山碱	32434-44-9	302.10	138.10* 121.05	-15 -16	-16 -24	-12 -20

23	毒扁豆碱	57-47-6	276.10	162.05*	-14	-21	-26
				219.10	-14	-12	-22
24	士的宁	57-24-9	335.05	184.05*	-10	-38	-17
				156.05	-10	-46	-27
25	苦杏仁苷	29883-15-6	475.10	163.05*	-14	-17	-27
				325.05	-14	-13	-21
26	阿托品	51-55-8	290.10	124.10*	-15	-24	-20
				93.10	-15	-30	-15
27	马钱子碱	357-57-3	395.05	244.00*	-14	-37	-24
				324.00	-11	-32	-20
28	钩吻素子	1358-76-5	307.05	204.00*	-16	-52	-19
				180.05	-15	-45	-16
29	石斛碱	2115-91-5	264.15	176.15*	-14	-38	-17
				122.10	-30	-40	-19
30	千里光碱	130-01-8	336.10	120.05*	-10	-29	-20
				138.00	-10	-28	-12
31	千里光碱-N-氧化物	13268-67-2	352.10	94.05*	-18	-46	-15
				117.95	-10	-31	-10
32	奎宁	130-95-0	325.15	160.10*	-17	-30	-29
				172.10	-12	-36	-16
33	蒂巴因	115-37-7	312.05	58.20*	-11	-15	-21
				251.00	-16	-29	-24
34	苯甲酰牙子碱	519-09-5	290.00	168.10*	-14	-20	-15
				105.05	-14	-30	-16
35	钩吻素已	82354-38-9	327.10	296.10*	-17	-19	-30
				265.10	-10	-28	-11
36	田麦角碱	548-42-5	239.10	183.05*	-12	-18	-17
				208.10	-13	-18	-20
37	育亨宾	148-48-5	355.20	144.00*	-10	-30	-23
				212.10	-11	-24	-20
38	原阿片碱	130-86-9	354.05	189.10*	-10	-29	-18
				149.10	-18	-25	-25
39	骆驼蓬碱	304-21-2	215.05	200.10*	-11	-24	-19
				174.10	-11	-22	-29
40	伞花内酯	93-35-6	163.00	107.10*	-19	-23	-16
				77.10	-11	-33	-29
41	黎芦托素	475-00-3	572.20	457.15*	-20	-35	-21
				114.00	-20	-39	-18
42	雷公藤甲素	38748-32-2	361.05	91.05*	-18	-49	-14
				145.00	-18	-28	-13
43	文多灵	2182-14-1	457.15	188.05*	-13	-34	-17
				397.10	-13	-23	-26
44	白屈菜红碱	34316-15-9	348.00	332.00*	-10	-30	-21
				303.95	-10	-31	-30
45	麦角柯宁碱	564-36-3	562.15	268.15*	-20	-27	-11
				223.10	-20	-37	-21
46	苯甲酰乌头碱	466-24-0	604.15	104.90*	-30	-54	-18
				554.00	-30	-37	-26

47	新乌头碱	2752-64-9	632.20	572.15*	-32	-34	-26
				104.90	-32	-63	-16
48	龙葵碱	20562-02-1	868.25	98.00*	-24	-84	-15
				398.25	-24	-72	-26
49	秋水仙碱	64-86-8	400.10	358.10*	-15	-23	-23
				310.05	-12	-25	-13
50	卡茄碱	20562-03-2	852.30	97.90*	-24	-83	-15
				706.35	-24	-69	-24
51	芥黎芦胺	469-59-0	426.15	114.05*	-12	-32	-10
				109.00	-12	-33	-17
52	次乌头碱	6900-87-4	616.15	556.15*	-32	-34	-26
				338.20	-22	-43	-15
53	黎芦定	71-62-5	674.20	456.10*	-20	-52	-30
				474.05	-20	-44	-15
54	乌头碱	302-27-2	646.20	586.30*	-34	-36	-28
				526.15	-20	-39	-24
55	黎芦碱	60-70-8	410.20	295.10*	-12	-29	-30
				114.00	-12	-30	-18
56	喜树碱	7689-3-4	349.00	305.00*	-10	-23	-19
				219.00	-10	-49	-21
57	雷公藤内酯酮	38647-11-9	359.00	127.90*	-18	-55	-20
				105.00	-18	-40	-17
58	茄啶	80-78-4	398.20	98.00*	-20	-46	-15
				382.3	-14	-48	-24
59	马兜铃酸 C	4849-90-5	345.00	282.00*	-10	-15	-29
				284.00	-10	-13	-12
60	葫芦素 B	6199-67-3	576.20	499.15*	-20	-14	-23
				481.20	-20	-19	-16
61	葫芦素 E	18444-66-1	574.20	497.15*	-30	-16	-23
				479.10	-30	-21	-16
62	夹竹桃苷	465-16-7	577.20	433.20*	-30	-11	-19
				373.15	-30	-15	-24
63	马兜铃酸 B	475-80-9	329.00	268.05*	-23	-12	-27
				294.00	-12	-14	-12
64	雷公藤吉碱	37239-47-7	858.05	178.10*	-24	-58	-16
				206.15	-24	-42	-12
65	马兜铃酸 A	313-67-7	358.95	296.00*	-18	-15	-28
				298.00	-10	-12	-29
66	雷公藤次碱	11088-09-8	868.05	206.10*	-26	-45	-19
				850.05	-26	-28	-30
67	鱼酮藤	83-79-4	395.00	213.00*	-20	-23	-20
				192.00	-11	-25	-18
68	雷公藤红素	34157-83-0	451.15	201.00*	-10	-27	-12
				215.05	-13	-22	-21

注：*表示定量离子对

2. 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

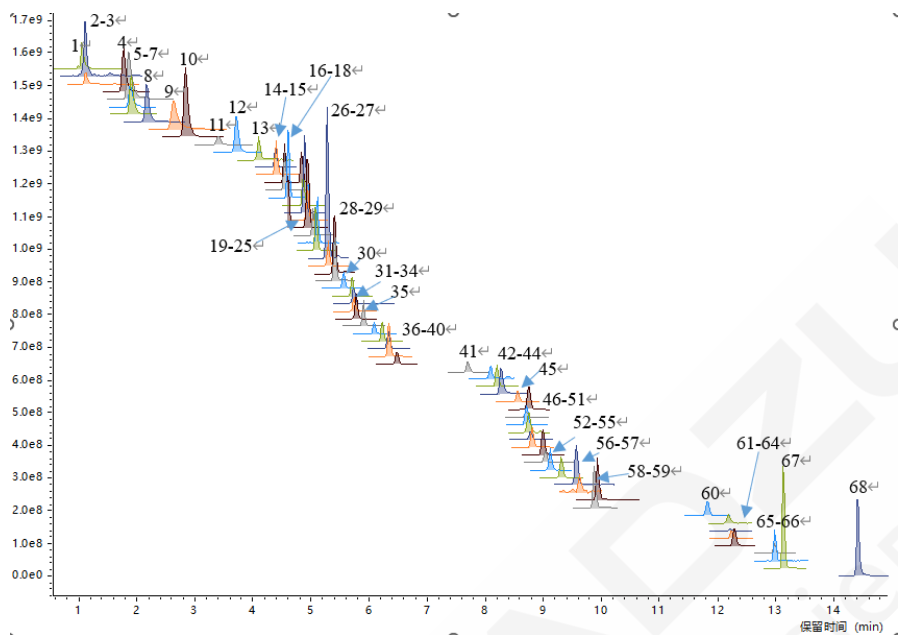


图 1. 68 种植物毒素 (20 ng/mL) 的 MRM 图谱 (出峰顺序见表 2)

2.2 线性范围

将上述混合标准系列工作溶液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 使用外标法定量。以浓度为横坐标, 峰面积比值为纵坐标, 绘制校准曲线如图 2 所示, 68 种植物毒素线性相关系数 R 均大于 0.995, 线性良好。采用信噪比 $S/N=3$ (ASTM) 计算仪器检出限, 检出限见表 3。

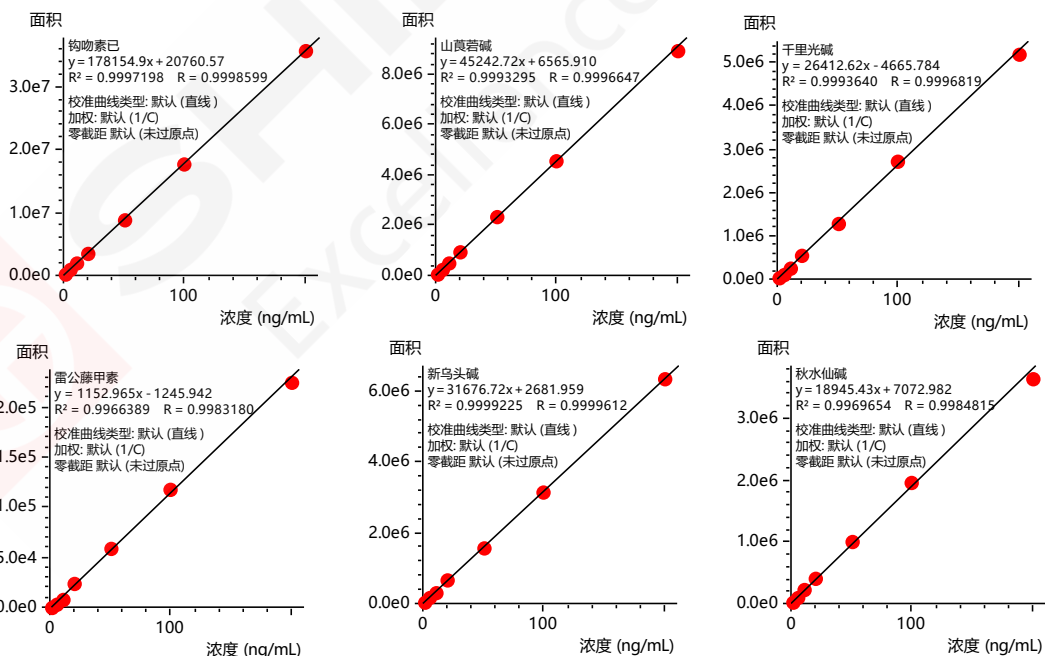


图 2. 部分植物毒素校准曲线

表 3. 植物毒素标准曲线信息 (1/C)

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度(%)	检出限 (ng/mL)
1	石斛碱	1-200	0.9990	86.7-115.7	0.05
2	鱼藤酮	1-200	0.9998	93.4-105.5	0.12
3	伞花内酯	1-200	0.9997	84.5-108.8	0.08
4	毒黄素	1-200	0.9993	92.1-105.2	0.13
5	加兰他敏	1-200	0.9996	93.2-105.5	0.01
6	野百合碱-N-氧化物	1-200	0.9996	83.1-109.4	0.01
7	野百合碱	1-200	0.9998	93.0-106.6	0.01
8	钩吻素已	1-200	0.9998	89.0-107.8	0.01
9	钩吻素甲	1-200	0.9995	85.9-109.9	0.02
10	钩吻素子	1-200	0.9988	84.5-109.8	0.04
11	马兜铃酸 C	1-200	0.9994	90.7-112.8	0.10
12	马兜铃酸 B	1-200	0.9986	82.9-106.4	0.23
13	马兜铃酸 A	1-200	0.9998	91.4-105.7	0.07
14	山莨菪碱	1-200	0.9997	98.4-110.7	0.02
15	阿托品	1-200	0.9999	94.0-106.2	0.01
16	东莨菪碱	1-200	0.9985	86.5-107.2	0.01
17	黎芦定	1-200	0.9999	97.1-104.4	0.02
18	芥黎芦胺	1-200	0.9991	96.8-108.6	0.01
19	黎芦托素	1-200	0.9999	96.6-103.4	0.01
20	苦参碱	1-200	0.9991	98.2~115.1	0.02
21	氧化苦参碱	1-200	0.9992	86.6-105.9	0.05
22	金雀花碱	1-200	0.9995	88.6-109.7	0.03
23	N-甲基野靛碱	1-200	0.9995	98.0-110.9	0.01
24	千里光碱-N-氧化物	1-200	0.9991	81.9-110.1	0.04
25	千里光碱	1-200	0.9997	90.2-105.0	0.01
26	雷公藤次碱	1-200	0.9998	96.1-118.5	0.15
27	雷公藤内酯酮	5-200	0.9981	87.0-111.6	0.54
28	雷公藤甲素	1-200	0.9983	97.8-107.1	0.24
29	雷公藤吉碱	1-200	0.9999	98.5-101.3	0.01
30	雷公藤红素	1-200	0.9997	98.5-111.0	0.01
31	苯甲酰乌头碱	1-200	0.9998	95.2-102.1	0.01
32	新乌头碱	1-200	1.0000	95.6-102.8	0.01
33	次乌头碱	1-200	0.9998	95.8-105.7	0.02
34	乌头碱	1-200	0.9997	93.1-106.5	0.01
35	茄啶	1-200	0.9999	97.9-104.6	0.08
36	卡茄碱	1-200	0.9995	94.3-113.1	0.01
37	龙葵碱	1-200	0.9952	83.6-115.1	0.04
38	土的宁	1-200	0.9998	93.5-105.6	0.01

39	马钱子碱	1-200	0.9990	98.8-104.2	0.01
40	相思子碱	1-200	0.9953	91.7-115.5	0.03
41	蓖麻碱	1-200	0.9966	93.9-114.8	0.01
42	喜树碱	1-200	0.9998	88.7-104.2	0.05
43	黎芦碱	1-200	0.9997	95.8-106.4	0.01
44	常山乙素	1-200	0.9969	93.5-116.6	0.03
45	夹竹桃苷	1-200	0.9966	80.5-110.2	0.16
46	白屈菜红碱	1-200	0.9982	83.9-109.9	0.03
47	鹰爪豆碱	1-200	0.9989	81.5-106.1	0.11
48	倒千里光碱	1-200	0.9995	87.3-113.7	0.01
49	倒千里光碱-N-氧化物	1-200	0.9959	93.2-111.0	0.03
50	麦角柯宁碱	1-200	0.9998	91.6-106.6	0.10
51	毛果云香碱	1-200	0.9994	99.0-111.5	0.02
52	毒芹碱	1-200	0.9992	97.1-113.2	0.06
53	槟榔碱	5-200	0.9987	91.8-111.1	0.51
54	田麦角碱	1-200	0.9997	89.1-103.5	0.01
55	葫芦素 E	1-200	0.9991	85.1-112.2	0.02
56	葫芦素 B	1-200	0.9994	90.9-112.4	0.03
57	育亨宾	1-200	0.9999	97.3-103.7	0.01
58	蒂巴因	1-200	0.9994	89.5-111.2	0.02
59	苯甲酰牙子碱	1-200	0.9994	81.0-108.1	0.02
60	苦杏仁苷	5-200	0.9989	90.8-118.4	0.61
61	秋水仙碱	1-200	0.9984	95.7-116.5	0.01
62	原阿片碱	1-200	0.9998	93.7-104.6	0.02
63	骆驼蓬碱	1-200	0.9981	83.7-114.6	0.01
64	毒扁豆碱	1-200	0.9998	98.1-105.2	0.01
65	文多灵	1-200	0.9998	98.1-105.1	0.01
66	奎宁	1-200	0.9997	86.7-104.8	0.10
67	石蒜碱	1-200	0.9997	87.2-106.6	0.02
68	异常山碱	1-200	0.9975	95.1-114.4	0.02

2.3 精密度实验

对 5、20、100 ng/mL 不同浓度的植物毒素混合标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，其保留时间和峰面积的重复性结果如图 3 所示，保留时间和峰面积相对标准偏差 %RSD 分别小于 0.3% 和 10%，显示仪器精密度良好。

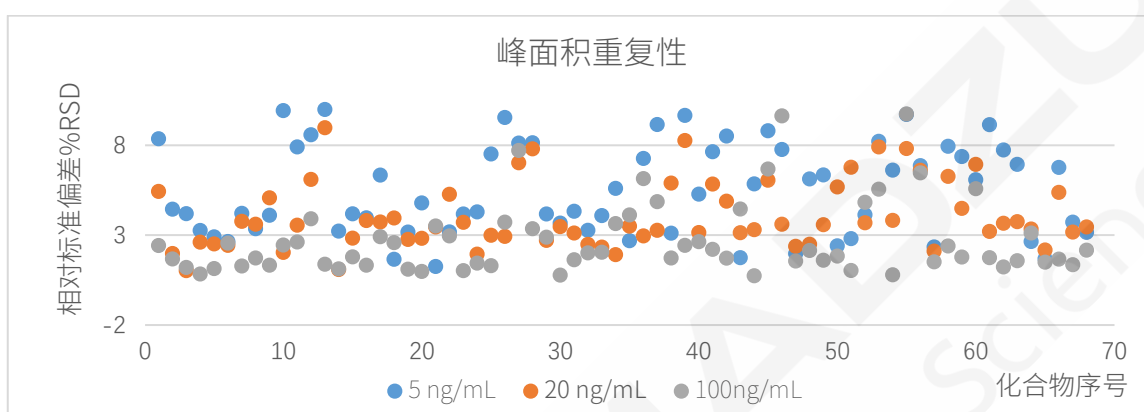
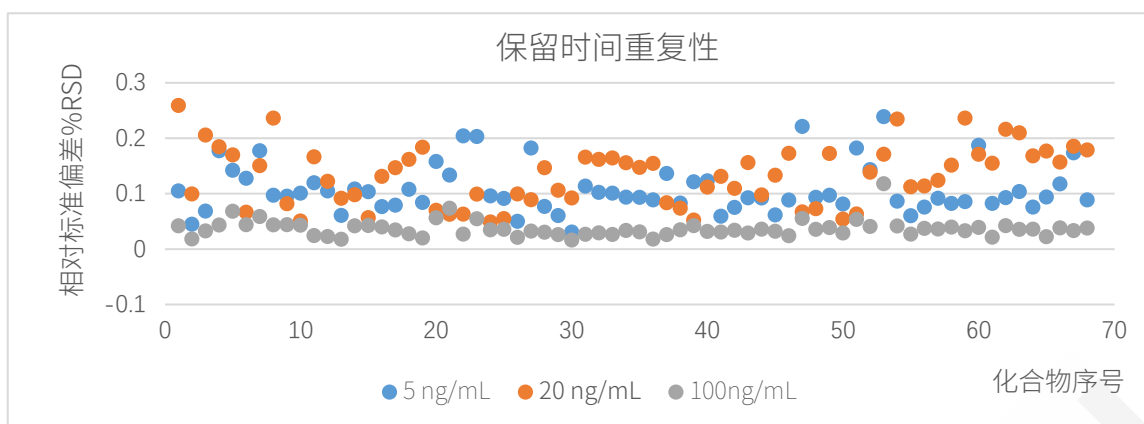


图 3. 68 种植物毒素重复性

使用Insight 标记功能, 可以根据设定的浓度上限值等参数, 快速对超过限定的浓度化合物进行筛选和背景颜色标记, 同时选中标记化合物即可打印对应报告, 大大降低处理疑似植物中毒筛查样品的工作量。

#	标记	标记ID	化合物名称	保留时间(实... ^	浓度	单位
<input checked="" type="checkbox"/>			倒千里光碱	5.417	0.9015	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			钩吻素甲	5.454	0.7965	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			倒千里光碱-N-氧化...	5.514	0.9109	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			异常山碱	5.518	0.4239	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			毒扁豆碱	5.635	0.9687	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	土的宁	5.693	1.1417	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	苦杏仁苷	5.815	1.4804	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			阿托品	5.885	0.9546	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	马钱子碱	5.952	1.2205	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	石斛碱	6.016	1.5212	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			钩吻素子	6.030	0.2292	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	千里光碱	6.186	1.1250	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	莲宁	6.347	1.0653	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			千里光碱-N-氧化物	6.351	0.8604	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	蒂巴因	6.393	1.0557	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	苯甲酰子碱	6.531	1.2942	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			钩吻素B	6.547	0.9196	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>	F	>R	田麦角碱	6.750	1.0009	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			育亨宾	6.883	0.9564	ng/mL
<input checked="" type="checkbox"/>			原阿片碱	7.001	0.8435	ng/mL

图5. Insight 软件标记功能展示

3. 结论

本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术, 建立了68种植物毒素检测方法。方法验证结果表明: 在考察的线性范围内, 线性良好, 高中低标准溶液重复进6次, 仪器重复性良好。该方法灵敏度高且结果准确, 可为植物中毒检测提供参考。

3.7 食源性兴奋剂类

食源性兴奋剂是指来源于食品中的兴奋剂，包括一般性食品及保健食品中从生产到加工过程中天然存在或故意添加而残留的兴奋剂成分。在日常生活中，许多常见食物都可能含有食源性兴奋剂。比如，瘦肉中的盐酸克伦特罗（瘦肉精），它属于 β -受体兴奋剂，能提高瘦肉率，但会对运动员身体机能产生不良影响且违规。一些含有麻黄碱成分的中草药或其制品，像麻黄，若运动员食用可能导致问题。此外，部分动物内脏含有较高的激素，也有潜在风险。食源性兴奋剂对运动员危害极大，可能影响比赛公平性，导致运动员成绩取消、禁赛等严重后果。为避免误食，运动员需要严格控制饮食，食用经过反兴奋剂机构认证的安全食品，确保自身竞技生涯不受不必要因素干扰。

根据国家食品药品监督管理总局发布的《保健食品注册与备案管理办法》(2016年14号)中明确指出：“第十二条 企业申请保健食品注册时(六)安全性和保健功能评价材料,包括目录外原料及产品的安全性、保健功能试验评价材料,人群食用评价材料;功效成分或者标志性成分、卫生学、稳定性、菌种鉴定、菌种毒力等试验报告,以及涉及兴奋剂、违禁药物成分等检测报告。”在保健食品注册时提及的兴奋剂检测,仅限声称缓解体力疲劳、促进生长发育、减肥功能等保健食品。

依据国家认监委规定的检测项目将食源性兴奋剂划分为4类: β 2-受体激动剂类、合成类固醇类、糖皮质激素类和玉米赤霉醇类,分别对应WADA禁用清单分类的S1.蛋白同化制剂、S3. β 2-激动剂和S9.糖皮质激素类。由于三重四极杆液质联用仪能够同时检测多种不同理化性质目标物,目前在痕量分析领域使用十分广泛,因此目前食源性兴奋剂的检测,主要依赖于三重四极杆液质联用仪完成。本章汇总了食源性兴奋剂的应用方案,供相关检测人员参考。



LCMSMS法筛查饮料中83种兴奋剂含量

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪,建立了饮料中83种兴奋剂的测定方法。连续6针相应检出限浓度的标样分析显示,保留时间及峰面积的RSD分别在0.03~0.63%和0.59~11.75%之间。分别对红牛、可乐和茶π3类饮料进行检出限浓度的加标回收实验,大部分目标物加标回收率在60.0~120.0%之间。该方法操作简单,特异性好,灵敏度高,分析速度快,可以为饮料中83种兴奋剂的同时筛查提供参考。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 兴奋剂 饮料

食源性兴奋剂是指存在于各类食品中的具有兴奋剂作用的成分或者药物,按来源可分内源性和外源性两类。内源性食品兴奋剂是指存在于食品中的天然兴奋剂成分,常见的有花椒、胡椒、莲子中的去甲乌药碱等。外源性兴奋剂是指食品加工、动植物生长、运输储存过程中人为添加或养殖过程代谢残留在食品中的成分,也是我国食源性兴奋剂的主要风险源。国家体育总局反兴奋剂中心于2021年发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》(体反兴奋剂字〔2021〕584号),要求大型赛事举办方对肉食品中食源性兴奋剂进行分级检测,但对于茶或代用茶、功能性饮料等饮料的监管尚处于空白。

本文使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱联用系统,基于《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》及《2022年兴奋剂目录公告》(国家体育总局〔2022〕56号)相关要求,建立了饮料中83种兴奋剂同时筛查方法,该方法操作简单,特异性好,灵敏度高,可实现对83种兴奋剂的有效检测,为相关从业人员提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8060NX。具体配置为

系统控制器	: CBM-40	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-40D X3	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C X3	色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack Velox sp C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm), 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: R227-32001-03
流动相 : A-0.1%甲酸水溶液; B-乙腈
进样体积 : 10 μL 柱温 : 30°C
流速 : 0.4 mL/min 洗针液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)
洗脱方式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为5%, 时间程序如表1所示。

表1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	5
1.00	泵	B Conc	30
5.00	泵	B Conc	35
11.00	泵	B Conc	95
12.00	泵	B Conc	95

12.20 泵 B Conc 5
15.00 控制器 STOP

质谱条件

离子化模式 : ESI+/- 雾化气流速 : 3.0 L/min
接口电压 : ±1 kV 干燥气流速 : 3.0 L/min
接口温度 : 300 °C 加热气流速 : 15.0 L/min
D L 温度 : 250 °C 碰撞气 : 氦气
加热模块温度 : 400 °C 扫描模式 : 多反应监测(MRM)
M R M 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

序号	中文名称	英文名称	测定模式	前体离子	产物离子	Q1 Pre (V)	CE(V)	Q3 Pre (V)
1	克伦特罗	Clenbuterol	+	277.1	203.0*	-20	-16	-21
					132.0	-11	-27	-14
					259.0	-20	-8	-21
					168.0	-20	-27	-21
2	沙丁胺醇	Salbutamol	+	240.0	148.1*	-13	-20	-18
					222.1	-13	-10	-18
					107.2*	-12	-30	-23
3	莱克多巴胺	Ractopamine	+	302.2	164.2	-12	-15	-13
					284.2	-12	-15	-13
					152.1*	-17	-16	-30
4	特布他林	Terbutaline	+	226.1	107.1	-17	-29	-11
					154.0*	-22	-16	-29
					118.0	-26	-28	-22
5	妥布特罗	Tulobuterol	+	228.1	172.0	-22	-18	-29
					107.0	-11	-30	-19
					135.3*	-22	-18	-13
6	非诺特罗	Fenoterol	+	304.2	202.3*	-15	-12	-13
					143.2	-24	-24	-26
					236.2*	-19	-17	-24
7	西马特罗	Cimaterol	+	220.2	201.1	-19	-22	-19
					133.1	-19	-25	-12
					74.1	-19	-25	-12
					398.1	-12	-16	-20
8	喷布特罗	Penbutolol	+	292.2	380.1	-15	-21	-28
					232.2*	-15	-23	-24
9	沙米特罗	Salmeterol	+	416.2				

					116.1	-13	-18	-21
10	普萘洛尔	Propranolol	+	260.2	183.1*	-13	-17	-18
					155.1	-13	-26	-29
11	泼尼松	Prednisone	+	359.00	147.0*	-18	-28	-24
					341.0	-13	-10	-24
12	泼尼松龙	Prednisolone	+	361.1	343.3*	-18	-11	-11
					147.2	-10	-20	-29
13	甲基泼尼松龙	Meprednisone	+	375.2	357.0*	30	19	25
					161.0	20	32	21
14-15	地塞/倍他米松	Dexamethasone	+	393.2	355.1	-22	-12	-29
					373.2*	-14	-8	-12
					147.0	-27	-54	-18
					391.1*	-11	-11	-25
16	倍氯米松	Beclomethasone	+	409.1	279.1	-14	-7	-20
					147.0	-14	-31	-16
					239.1*	-30	-28	-12
17	氟氢可的松	Fludrocortisone acetate	+	423.2	325.2	-12	-25	-16
					121.0	-12	-37	-16
					121.1*	-26	-25	-26
18	氢化可的松	Hydrocortisone	+	363.2	327.2	-13	-18	-17
					105.0	-26	-25	-26
19	可的松	Cortisone	+	361.2	163.1*	-18	-24	-30
					121.1	-17	-35	-22
					244.1*	-19	-15	-26
20	齐帕特罗	Zilpaterol	+	262.2	185.0	-13	-27	-18
					202.0	-13	-27	-18
					81.1	-12	-50	-16
21	司坦唑醇	Stanozolol	+	329.3	121.1	-24	-37	-21
					95.1*	-25	-45	-10
					199.1	-29	-21	-27
22	群勃龙	Trenbolone	+	271.2	165.3*	-15	-48	-17
					253.0	-10	-10	-28
					121.2*	-26	-25	-13
23	美雄酮	Metandienone	+	301.3	149.2	-26	-15	-16
					93.0	-26	-15	-16
					109.2	-25	-30	-21
24	甲（基）睾酮	Methyltestosterone	+	303.3	97.2*	-25	-25	-19
					121.0	-25	-25	-19

25	睾酮	Testosterone	+	289.3	97.0	-23	-25	-15
					109.1*	-21	-25	-22
					109.3*	-28	-26	-25
26	诺龙	Nandrolone	+	275.2	239.1	-17	-20	-30
					91.1	-23	-45	-18
					97.1	-26	-26	-26
27	丙酸睾酮	Testosterone propionate	+	345.2	109.1*	-10	-30	-11
					271.2	-17	-16	-10
					257.1*	-23	-16	-28
28	丙酸诺龙	Nandrolone 17-propionate	+	331.2	239.2	-23	-21	-16
					275.2	-16	-20	-30
					121.1*	-26	-25	-26
29	勃地酮	Boldenone	+	287.1	135.1	-26	-15	-15
					93.0	-26	-25	-26
30	苯丙酸诺龙	Nandrolone phenylpropionate	+	407.2	105.1*	-21	-31	-23
					257.1	-12	-18	-28
					213.2*	-15	-21	-20
					253.2	-15	-14	-23
31	脱氢表雄酮	Dethyltestosterone	+	289.2	91.1	-11	-48	-30
					271.2	-10	-12	-11
					91.1	-10	-46	-15
					271.2	197.2	-29	-21
32-33	α/β -玉米赤霉醇	Zearalanol	-	321.3	277.2*	15	22	13
					303.2	22	20	10
					259.1	24	23	29
34-35	α/β -玉米赤霉烯醇	Zearalenol	-	319.3	275.2*	11	19	14
					160.0	16	30	17
					174.0	15	25	18
36	玉米赤霉酮	Zearlanone	-	319.1	301.0	11	20	21
					275.1*	11	21	19
					205.2	11	22	13
37	玉米赤霉烯酮	Zearalenone	-	317.2	273.2	11	20	15
					175.1	11	25	15
					131.1*	11	30	11
38	乙酰唑胺	Acetazolamide	-	221.0	83.0*	24	20	30
					58.0	23	15	19
					80.0	25	21	28

					216.0*	30	30	30
39	氢氯噻嗪	Hydrochlorothiazide	-	295.8	179.1	14	45	18
					217.0	14	26	14
					269.0	14	26	14
					107.1*	-23	-26	-22
40-41	坎利酮/螺内酯	Canrenone	+	341.1	91.1	-15	-52	-17
					187.0	-15	-52	-17
					205.0	-15	-52	-17
					285.0	23	15	27
42	呋塞米	Furosemide	-	328.9	205.1*	23	22	21
					126.0	17	32	24
					214.0*	24	30	25
43	氯噻嗪	Chlorothiazide	-	293.9	179.1	19	43	19
					215.0	10	26	14
44	氨基--氯-, -苯二磺酰胺	4-amino-6-chlorobenzene-1,3-disulfonamide	-	284.1	169.0	10	21	18
					205.0*	21	19	24
45	氯噻酮	Chlorthalidone	-	337.0	190.0*	24	14	19
					145.9	24	18	14
					237.2*	-15	-27	-15
46	氨苯蝶啶	Triamterene	+	254.1	168.1	-15	-37	-15
					104.1	-15	-45	-15
					166.1*	-22	-11	-16
47	肾上腺素	Epinephrine	+	184.1	107.1	-10	-23	-18
					77.2	-13	-42	-13
					245.0*	-21	-13	-23
48	克伦丙罗	Clenproperol	+	263.1	203.0	-12	-18	-19
					107.1*	-13	-22	-17
49	去甲乌药碱	Higenamine	+	272.1	255.1	-29	-14	-18
					77.0	-29	-54	-15
					149.1	-13	-54	-26
					137.2*	-17	-44	-14
50	曲托喹酚	Tretoquinol Hydrochloride	+	346.1	115.1	-13	-54	-12
					164.0	-13	-20	-17
					83.1*	-14	-23	-16
51	美替诺龙	Merenolone	+	303.1	187.2	-20	-21	-20
					91.1	-11	-48	-19

					225.1	-14	-16	-15
52	阿替洛尔	Atenolol	+	266.9	145.0*	-14	-26	-26
					190.0	-13	-18	-20
					191.1	-14	-18	-19
53	美托洛尔	Metoprolol	+	268.1	116.1*	-14	-18	-24
					159.0	-14	-21	-29
					77.0	-14	-55	-24
					289.0*	29	32	18
54	苄氟噻嗪	Bendroflumethiazide	-	420.0	197.0	17	27	26
					328.0	17	22	24
					237.1*	-14	-16	-25
55	卡替洛尔	Carteolol	+	292.9	202.1	-15	-21	-20
					164.0	-14	-24	-30
					264.1*	-17	-17	-11
56	托拉塞米	Torasemide	+	349.2	168.1	-17	-45	-15
					290.0	-17	-17	-11
57	曲美他嗪	Trimetazidine	+	267.2	181.1	-12	-28	-21
					166.1*	-12	-28	-21
					100.1	-20	-24	-18
58	氯米芬	Clomiphene	+	406.2	58.1	-29	-48	-24
					72.1*	-20	-45	-18
					58.1*	-11	-25	-22
59	米屈肼	Meldonium	+	147.1	59.2	-17	-22	-20
					42.1	-11	-49	-17
60	布美他尼	Bumetanide	-	363.0	319.1	14	15	22
					80.0*	14	26	17
					121.2*	-18	-30	-20
61	福莫特罗	Formotero	+	345.2	149.3	-18	-20	-20
					327.3	-19	-13	-17
					321.2*	-24	-19	-25
62	氟尼缩松	Flunisolide	+	435.3	339.3	-29	-21	-11
					223.3	-11	-35	-29
					121.2*	-16	-20	-25
63	依西美坦	Exemestane	-	297.30	279.3	-10	-11	-15
					149.2	-16	-14	-27
					72.1*	-19	-30	-20
64	托瑞米芬	Toremifene	+	406.20	44.2	-21	-50	-18
					70.2	-22	-47	-14

					72.1	-10	-31	-11
65	他莫昔芬	Tamoxifen	+	372.15	44.2*	-11	-47	-15
					70.1	-10	-43	-10
					589.4*	-20	-14	-24
66	氟维司群	Fulvestrant	+	607.30	467.2	-32	-21	-30
					159.2	-24	-36	-11
					243.0*	11	16	10
67	依他尼酸	Ethacrynic acid	-	301.10	207.3	17	24	13
					192.2	11	40	12
					424.3	-24	-13	-22
68	地夫可特	Deflazacort	+	442.20	400.3	-23	-25	-16
					142.2*	-24	-34	-27
					259.1*	-19	-19	-14
69	美托拉宗	Metolazone	+	366.10	179.2	-11	-37	-19
					151.2	-19	-40	-30
					116.2*	-17	-18	-20
70	吲哚洛尔	Pindolol	+	249.20	172.2	-13	-17	-13
					56.2	-30	-29	-22
					172.1*	-12	-16	-19
71	阿米洛利	Amiloride	+	231.10	60.2	-12	-22	-11
					117.1	-12	-31	-13
					155.1	-13	-33	-17
72	达普司他	Daprodustat	+	394.30	230.0	-13	-20	-17
					76.2*	-14	-24	-30
					100.2*	-12	-29	-20
73	卡维地洛	Carvedilol	+	407.20	224.2	-21	-22	-25
					222.2	-21	-24	-16
					94.20	-29	-15	-11
74	氨鲁米特	Aminoglutethimide	+	233.20	188.2*	-12	-14	-10
					111.2	-12	-15	-21
					413.3	-13	-12	-16
75	布地奈德	Budesonide	+	431.30	147.2*	-15	-27	-16
					173.2	-14	-25	-19
					116.2*	-13	-15	-13
76	阿普洛尔	Alprenolol	+	250.20	56.2	-13	-25	-11
					72.2	-13	-20	-14
					116.2*	-16	-20	-23
77	倍他洛尔	Betaxolol	+	308.30	72.2	-16	-21	-15
					98.2	-11	-22	-11

					240.2	15	15	15
78	丙磺舒	Probenecid	-	284.20	140.0*	18	23	27
					76.1	15	41	11
					126.2*	-18	-32	-20
79	巴多昔芬	Bazedoxifene	+	471.30	70.2	-14	-54	-14
					99.2	-14	-33	-21
					121.2	-20	-33	-22
80	奥达特罗	Olodaterol	+	387.20	163.2	-21	-19	-19
					207.1*	-21	-19	-24
					375.3	-12	-15	-15
81	茆达特罗	Indacaterol	+	393.30	117.2	-12	-41	-13
					145.2*	-12	-30	-16
					311.3	-18	-13	-20
82	拉贝洛尔	Labetalol	+	329.20	162.2	-10	-26	-22
					91.2*	-17	-42	-19
					132.2*	-19	-15	-15
83	吲达帕胺	Indapamide	+	366.10	91.2	-11	-41	-11
					117.2	-20	-39	-21

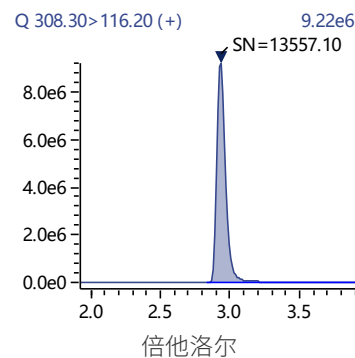
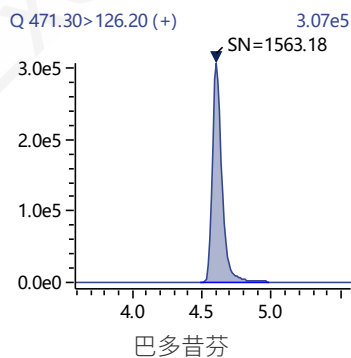
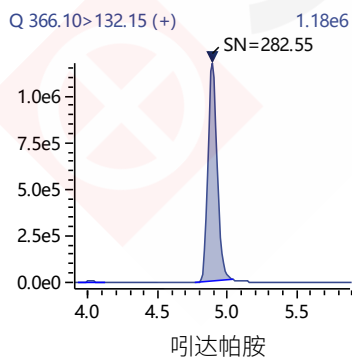
* 参考定量离子对

2. 样品前处理

称取 5 g (精确至 0.01g) 样品, 转移至 HLB 固相萃取柱 (规格为 6 mL, 200 mg; 使用前用依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化), 以约 1 滴/s 的流速过柱, 10 mL 水淋洗, 弃去所有淋洗液, 10 mL 甲醇洗脱, 收集流出液, 40°C 氮气吹干, 用 20% 甲醇溶液定容至 1 mL, 涡旋, 过 0.22 μm 滤膜, 上机测定。

3. 结果与讨论

3.1 标准样品谱图



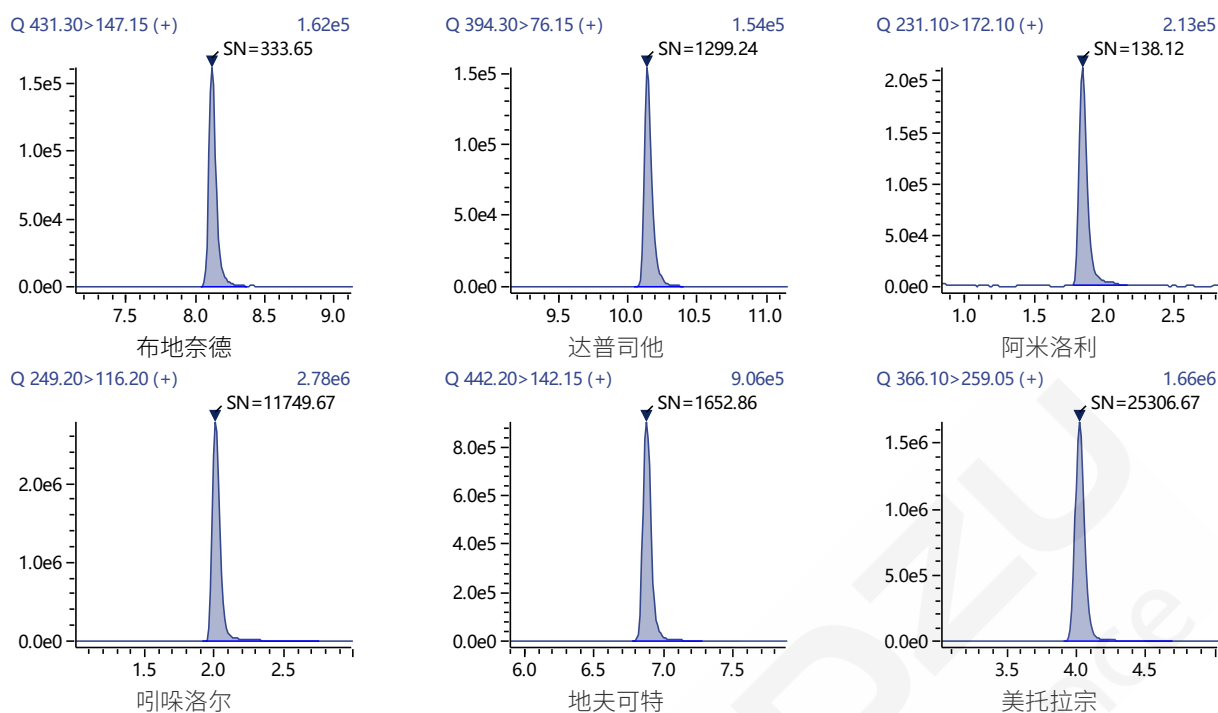


图 1. 部分兴奋剂 MRM 色谱图 (检出限浓度, 见表 3)

3.2 前处理优化

通过型固相萃取方法是现有的多残留兴奋剂检测最常见的净化手段, 其净化对象为肉食品中的蛋白质和脂类, 对于主要基质干扰物为糖和色素的饮料净化效果不佳, 部分目标物因基质抑制甚至质谱无影响。本文选取红牛 (特殊用途饮料)、可乐 (碳酸饮料)、茶π (茶饮料) 3 种代表性饮料以基质效应 (Matrix effect, ME) 评价了 C₁₈、HLB、Si、MCX 小柱对 83 种兴奋剂的净化效果。ME 计算公式如下: (ME) = (检出限浓度空白基质溶液响应值/检出限浓度空白溶剂响应值) × 100 %。最终选择 HLB 作为 SPE 方法的使用柱。HLB 净化结果见表 3, 考虑到不同基质样品中目标物基质效应各异, 建议选择基质匹配标准溶液对样品中的目标物进行定量, 以抵消基质效应的影响。

表 3. 83 兴奋剂检出限及基质效应

编号	目标物	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	基质效应 (%)		
			红牛	可乐	茶饮
1	克伦特罗	0.05	75.0	93.0	76.0
2	沙丁胺醇	0.25	86.0	25.0	99.0
3	莱克多巴胺	0.25	137.0	138.0	59.0
4	特布他林	0.25	82.0	27.0	150.0
5	妥布特罗	0.25	77.0	117.0	56.0
6	非诺特罗	0.25	34.0	23.0	88.0
7	西马特罗	0.25	241.0	41.0	501.0
8	喷布特罗	0.25	194.0	197.0	155.0
9	沙米特罗	0.5	238.0	242.0	182.0
10	普萘洛尔	0.5	108.0	110.0	96.0
11	泼尼松	0.5	44.0	91.0	97.0
12	泼尼松龙	0.5	76.0	80.0	93.0
13	甲基泼尼松龙	0.5	76.0	84.0	70.0
14	地塞米松	0.5	94.0	98.0	92.0

15	倍他米松	0.5	77.0	95.0	79.0
16	倍氯米松	1	76.0	93.0	87.0
17	氟氢可的松	1	53.0	74.0	66.0
18	氢化可的松	2	45.0	75.0	59.0
19	可的松	0.4	54.0	72.0	55.0
20	齐帕特罗	0.5	83.0	12.0	181.0
21	司坦唑醇	0.4	80.0	80.0	53.0
22	群勃龙	0.5	48.0	42.0	48.0
23	美雄酮	0.4	66.0	76.0	74.0
24	甲(基)睾酮	0.4	61.0	61.0	71.0
25	睾酮	1.0	72.0	73.0	59.0
26	诺龙	0.5	104.0	87.0	96.0
27	丙酸睾酮	0.5	86.0	92.0	83.0
28	丙酸诺龙	0.5	69.0	72.0	70.0
29	勃地酮	0.4	54.0	67.0	66.0
30	苯丙酸诺龙	0.5	272.0	278.0	161.0
31	脱氢异雄酮	2	99.0	106.0	90.0
32	α -玉米赤霉醇	1	210.0	149.0	152.0
33	β -玉米赤霉醇	1	188.0	151.0	217.0
34	α -玉米赤霉烯醇	1	111.0	82.0	98.0
35	β -玉米赤霉烯醇	1	113.0	86.0	97.0
36	玉米赤霉酮	1	95.0	101.0	85.0
37	玉米赤霉烯酮	1	121.0	129.0	122.0
38	乙酰唑胺	5	42.0	70.0	11.0
39	氢氯噻嗪	2	36.0	48.0	3.0
40	坎利酮	5	67.0	76.0	82.0
41	螺内酯	5	137.0	154.0	166.0
42	呋塞米	5	89.0	100.0	102.0
43	氯噻嗪	2	55.0	50.0	9.0
44	氨基-6-氯-1,3-苯二磺酰胺	10	7.0	25.0	1.0
45	氯噻酮	5	32.0	52.0	24.0
46	氨苯蝶啶	5	56.0	62.0	36.0
47	肾上腺素	100	87.0	90.4	72.1
48	克伦丙罗	2	83.0	77.0	44.0
49	去甲乌药碱	10	46.0	20.0	61.0
50	曲托唑酚	20	175.0	161.0	64.0
51	美替诺龙	1	58.0	54.0	64.0
52	阿替洛尔	1	95.0	43.0	69.0
53	美托洛尔	0.5	67.0	80.0	54.0
54	苄氟噻嗪	5	122.0	114.0	119.0
55	卡替洛尔	0.5	22.0	45.0	36.0
56	托拉塞米	5	118.0	106.0	128.0
57	曲美他嗪	2	14.0	107.0	21.0

58	氯米芬	1	2205.0	2085.0	472.0
59	米屈肼	20	23.0	73.0	41.0
60	布美他尼	5	116.0	118.0	121.0
61	吲达帕胺	1	110.0	119.0	117.0
62	拉贝洛尔	10	124.0	113.0	132.0
63	茚达特罗	10	508.0	386.0	262.0
64	奥达特罗	10	110.0	78.0	92.0
65	巴多昔芬	10	584.0	646.0	297.0
66	丙磺舒	10	108.0	112.0	115.0
67	倍他洛尔	10	115.0	121.0	111.0
68	阿普洛尔	10	104.0	122.0	110.0
69	氨鲁米特	10	18.0	26.0	15.0
70	布地奈德	10	74.0	86.0	88.0
71	卡维地洛	10	301.0	282.0	186.0
72	达普司他	10	144.0	75.0	350.0
73	阿米洛利	10	86.0	10.0	80.0
74	吲哚洛尔	10	76.0	9.0	48.0
75	地夫可特	10	73.0	73.0	77.0
76	美托拉宗	10	139.0	153.0	142.0
77	依他尼酸	10	129.0	139.0	140.0
78	氟维司群	10	607.0	417.0	231.0
79	托瑞米芬	10	2181.0	2066.0	461.0
80	依西美坦	10	86.0	96.0	95.0
81	氟尼缩松	10	61.0	53.0	57.0
82	福莫特罗	10	128.0	105.0	105.0
83	他莫昔芬	10	1982.0	1921.0	405.0

3.3 Peakintelligence™ 色谱峰智能算法积分

本实验色谱图积分处理使用的是Peakintelligence™色谱峰智能算法。相较于传统的积分模式，Peakintelligence无需设置任何积分参数，即可自动、快速、准确完成目标物色谱峰的积分。对于分离度较差的峰可以得到较合理的积分结果，无需实验人员手动设置积分参数，减少实验人员的校验积分的工作量，提高工作效率，见图2

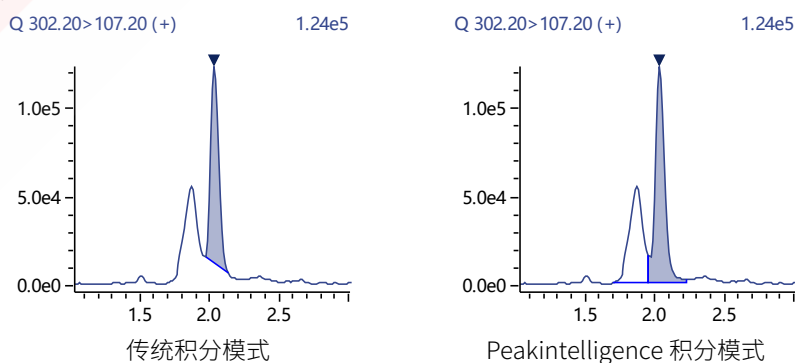


图 2. 茶π中莱克多巴胺不同积分模式下 MRM 色谱图

3.3 重复性实验

取检出限浓度的标准溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果如表4所示：各目标物的保留

时间和峰面积的RSD分别在0.03~0.63%和0.59~11.75%之间。

表 4. 83 兴奋剂保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	目标物	R.T.RSD	Area RSD	编号	目标物	R.T.RSD	Area RSD
1	克伦特罗	0.23	11.75	43	氯噻嗪	0.18	3.67
2	沙丁胺醇	0.18	3.27	44	精碘胺	0.18	3.92
3	莱克多巴胺	0.20	3.10	45	氯噻酮	0.24	6.65
4	特布他林	0.18	3.30	46	氨苯蝶啶	0.19	1.68
5	妥布特罗	0.15	6.03	47	肾上腺素	0.34	3.28
6	非诺特罗	0.17	4.00	48	克伦丙罗	0.18	8.20
7	西马特罗	0.18	2.84	49	去甲乌药碱	0.19	2.39
8	喷布特罗	0.11	1.51	50	曲托隆酚	0.18	2.34
9	沙米特罗	0.12	3.06	51	美替诺龙	0.04	2.81
10	普萘洛尔	0.17	4.23	52	阿替洛尔	0.16	11.05
11	泼尼松	0.18	5.39	53	美托洛尔	0.21	5.10
12	泼尼松龙	0.16	1.94	54	苄氟噻嗪	0.08	1.99
13	甲基泼尼松龙	0.17	4.03	55	卡替洛尔	0.22	4.92
14	地塞米松	0.17	5.24	56	托拉塞米	0.19	2.94
15	倍他米松	0.17	5.23	57	曲美他嗪	0.63	4.48
16	倍氯米松	0.14	2.72	58	氯米芬	0.04	4.15
17	氟氢可的松	0.14	5.51	59	米屈肼	0.34	4.92
18	氢化可的松	0.17	1.31	60	布美他尼	0.06	7.41
19	可的松	0.17	3.28	61	吲达帕胺	0.05	8.75
20	齐帕特罗	0.16	7.05	62	拉贝洛尔	0.13	1.54
21	司坦唑醇	0.06	4.12	63	茚达特罗	0.21	1.91
22	群勃龙	0.08	2.39	64	奥达特罗	0.15	2.21
23	美雄酮	0.05	2.69	65	巴多昔芬	0.19	2.68
24	甲(基)睾酮	0.03	3.78	66	丙磺舒	0.16	2.29
25	睾酮	0.05	1.95	67	倍他洛尔	0.05	2.77
26	诺龙	0.05	5.34	68	阿普洛尔	0.17	1.68
27	丙酸睾酮	0.03	3.13	69	氨鲁米特	0.18	2.10
28	丙酸诺龙	0.03	5.80	70	布地奈德	0.23	5.80
29	勃地酮	0.07	5.63	71	卡维地洛	0.05	2.66
30	苯丙酸诺龙	0.03	5.38	72	达普司他	0.14	1.29
31	脱氢异雄酮	0.05	3.94	73	阿米洛利	0.03	2.05
32	α -玉米赤霉醇	0.12	7.41	74	吲哚洛尔	0.20	3.77
33	β -玉米赤霉醇	0.13	8.78	75	地夫可特	0.19	3.07
34	α -玉米赤霉烯醇	0.04	10.63	76	美托拉宗	0.06	2.31
35	β -玉米赤霉烯醇	0.04	10.93	77	依他尼酸	0.15	0.59
36	玉米赤霉酮	0.06	5.31	78	氟维司群	0.04	2.45
37	玉米赤霉烯酮	0.04	3.49	79	托瑞米芬	0.03	4.10
38	乙酰唑胺	0.31	4.50	80	依西美坦	0.04	3.30
39	氢氯噻嗪	0.21	7.06	81	氟尼缩松	0.04	1.91
40	坎利酮	0.03	4.14	82	福莫特罗	0.19	1.50
41	螺内酯	0.04	3.72	83	他莫昔芬	0.03	3.89
42	呋塞米	0.14	5.58				

3.4 加标回收率

选择红牛、可乐、茶π进行检出限浓度加标回收试验，每个加标浓度 3 个平行，按照前述前处理方式处理，上机测定，以单点基质外标法定量，计算回收率，回收率结果见图 3。大部分目标物加标回收率在 60.0~120.0%之间。

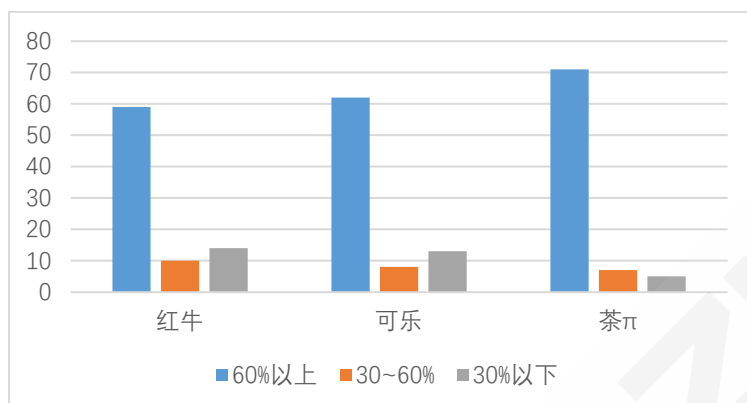


图 3. 不同基质中 83 种兴奋剂回收率

4. 结论

本实验使用岛津LCMS-8060NX三重四极杆液质联用系统，建立了饮料中83种兴奋剂的检测方法。实验结果表明，在对应的检出限浓度下，连续6针进样，目标物的保留时间和峰面积的RSD分别在0.03~0.63%和0.59~11.75%，仪器精密度良好。平行测定3份检出限浓度不同基质加标样品，大部分目标物加标回收率在 60.0~120.0%之间。该方法操作简单，分离选择性好，分析速度快，灵敏度高，可以为饮料中多种兴奋剂同时筛查提供参考。

LCMSMS法测定阿替洛尔等20种β受体阻断剂

摘要:采用岛津三重四极杆液质联用仪,建立了20种β受体阻断剂的定性定量方法。结果显示该方法在0.1~5 ng/mL范围内,普萘洛尔等20种β受体阻断剂,线性良好,相关系数R均>0.997;20种β受体阻断剂的检出限0.003-0.08 ng/mL,定量限为0.01-0.24 ng/mL。该方法分析速度快,灵敏度高,适用于低浓度β受体阻断剂筛查定量。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 β受体阻断剂 兴奋剂

β受体阻断剂是一类主要用于治疗各种心律失常,以应对心绞痛、高血压及甲状腺功能亢进的控制。常见的β受体阻断剂包括普萘洛尔、阿替洛尔、美托洛尔、卡替洛尔等,世界反兴奋剂中心(WADA)发布了《禁用清单》,β受体阻断剂属于P1类兴奋剂,包括醋丁洛尔、阿普洛尔、阿替洛尔等20种。禁止运动员在赛车、射箭、滑雪等场合使用β受体阻断剂。除了使用药物导致的阳性,已有报道,肉类、化妆品中检测出β受体阻断剂,对食源性兴奋剂污染防控造成较大挑战。因此,国家体育总局发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控指南》,规定了动物源食品中普萘洛尔、阿替洛尔、美托洛尔、卡替洛尔β受体四种阻断剂检出限0.5 μg/kg。目前,β受体阻断剂的检测方法以液相色谱-串联质谱法为主,尚未见相关检测标准。

本文建立了20种β受体阻断剂的液相色谱-串联质谱测定方法。该方法快速、准确、灵敏度高,适合极低浓度的β受体阻断剂的筛查。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输液泵	:LC-40D XR×2	系统控制器	:CBM-40
自动进样器	:SIL-40C XR	三重四极杆质谱仪	:LCMS-8045
柱温箱	:CTO-40C	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GISS-HP (100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm), 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30084-02

流动相 : A相-0.1%甲酸 5mM 乙酸铵水溶液; B相-甲醇

流速 : 0.3 mL/min 进样量 : 10 μL

柱温 : 40°C 洗针模式 : 水: 甲醇 (1: 1)

洗脱方式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为20%, 时间程序见表1。

表1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.30	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.20	Pumps	Pump B Conc.	20
9.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪 : LCMS-8045	脱溶剂管温度 : 150°C
离子源 : ESI+(1.0kV)	加热模块温度 : 400°C
雾化气 : 氮气 3 L/min	接口温度 : 400°C
干燥气 : 氮气 5 L/min	扫描模式 : MRM
加热气 : 空气 20 L/min	M R M 参数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

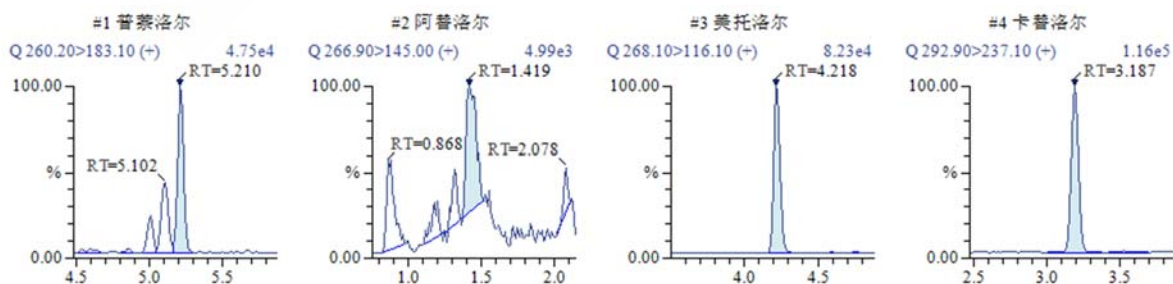
序号	中文名	英文名	前体离子 (m/z)	产物离子 1 (m/z)	CE1 (eV)	产物离子 2 (m/z)	CE2 (eV)
1	普萘洛尔	Propranolol	260.2	183.1*	-17	116.1	-18
2	阿替洛尔	Atenolol	266.9	145.0*	-26	225.1	-16
3	美托洛尔	Metoprolol	268.1	116.1	-18	191.1	-18
4	卡替洛尔	Carteolol	292.9	237.1*	-16	202.1	-21
5	阿普洛尔	Alprenolol	249.9	116.1*	-16	173.0	-18
6	倍他洛尔	Betaxolol	308.1	116.1*	-20	72.1	-24
7	卡维地洛	Carvedilol	406.9	224.0	-23	100.0*	-27
8	索他洛尔	Sotalol	273.2	133.1*	-27	213.0	-18
9	纳多洛尔	Nadolol	310.1	254.1*	-17	236.1	-21
10	噻吗洛尔	Timolol	317.2	261.0*	-17	244.0	-22
11	醋丁洛尔	Acebutolol	336.9	116.1*	-23	260.1	-21
12	布诺洛尔	Bunolol	291.9	236.1*	-16	201.0	-21
13	艾司洛尔	Esmolol	295.9	219.1*	-18	145.0	-26
14	塞利洛尔	Celiprolol	380.1	251.0*	-24	307.1	-18
15	比索洛尔	Bisoprolol	325.9	116.1*	-19	222.0	-13
16	氧烯洛尔	Oxprenolol	266.1	116.1*	-17	225.1	-13
17	奈必洛尔	Nebivolol	406.2	151.0*	-31	123.0	-44
18	吲哚洛尔	Pindolol	249.0	116.1*	-17	72.1	-23
19	喷布洛尔	Penbutolol	292.1	236.1*	-16	201.0	-21
20	卡拉洛尔	Carazolol	298.9	116.0	-21	222.0*	-19

* 定量离子对

2. 结果与讨论

2.1 基质标准溶液色谱图

0.5 ng/mL 基质标准溶液上机测定，20 种β受体阻断剂类的化合物 MRM 色谱图如下，色谱峰形良好，无干扰。此外，由于纳多洛尔有手性异构体，色谱峰有一定的分离趋势。



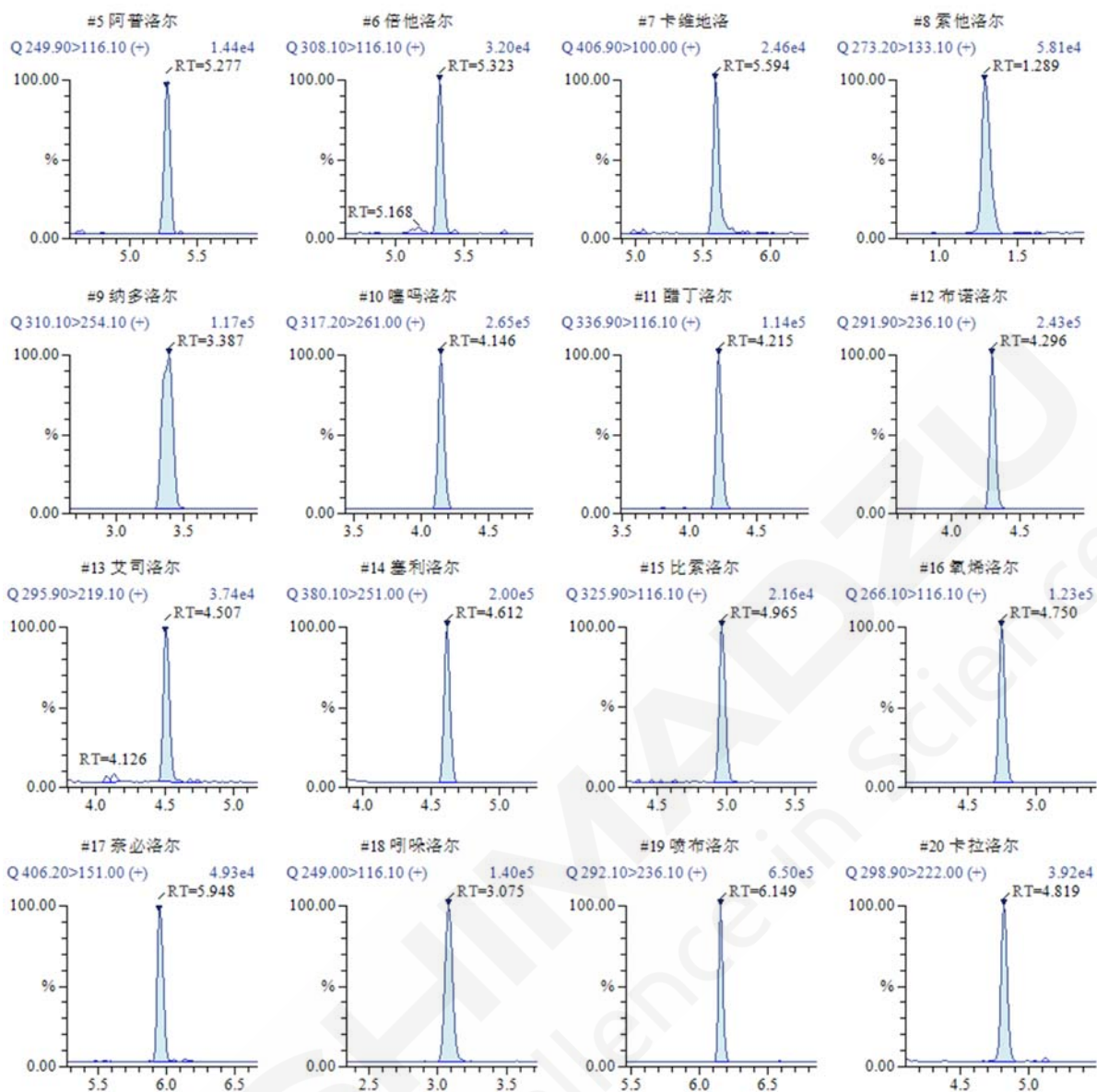
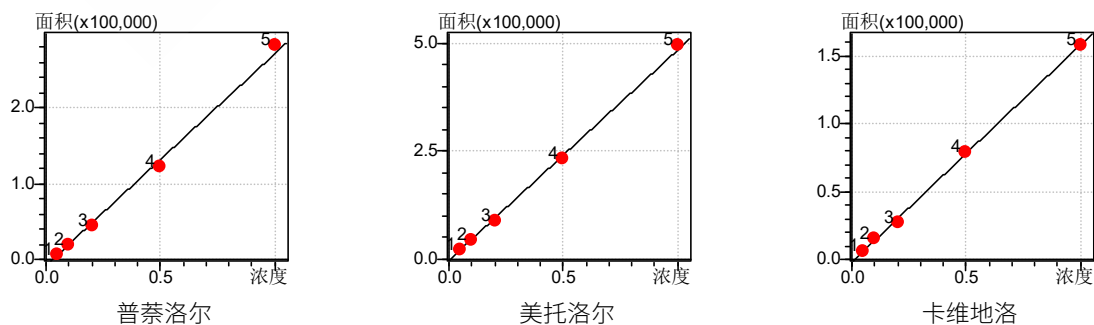


图 1. 0.05 ng/mL 基质加标的 MRM 色谱图

2.2 线性及灵敏度

除普萘洛尔、吲哚洛尔外，其他β受体阻断剂均存在一定程度的基质抑制效应（29%-87%），因此，采用基质匹配标准曲线进行定量。本文按照 1.4 方法配制标准系列溶液，以峰面积对浓度作图，进行线性拟合，得标准曲线。结果表明，20 种β受体阻断剂线性良好，相关系数 R 均>0.997，准确度 89.3%~117.6%之间。β受体阻断剂标准曲线见图 2。根据信噪比，计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)。检出限 0.003 - 0.08 ng/mL，定量限 0.01-0.24 ng/mL。



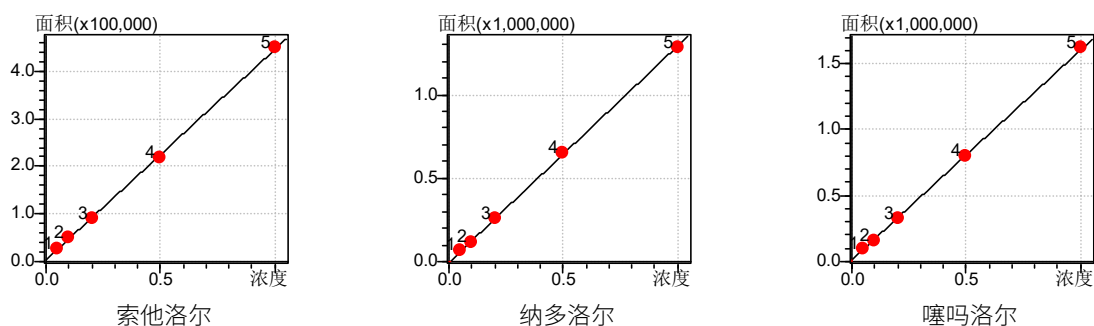


图 2. 部分化合物标准曲线

表 3. β 受体阻断剂标准曲线的线性关系

编号	化合物	线性范围/ (ng/mL)	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 ng/mL	定量限 ng/mL
1	普萘洛尔	0.05-5	$Y = (278847)X + (-8047.59)$	0.9979	89.4-106.1	0.03	0.09
2	阿替洛尔	0.2-5	$Y = (83451.5)X + (-26791.3)$	0.9988	91.8-109.0	0.02	0.06
3	美托洛尔	0.05-5	$Y = (486526)X + (-2348.48)$	0.9992	89.3-113.9	0.01	0.02
4	卡替洛尔	0.05-5	$Y = (830723)X + (2807.08)$	0.9997	89.9-109.2	0.01	0.02
5	阿普洛尔	0.05-5	$Y = (87193.1)X + (-1742.09)$	0.9995	86.9-110.4	0.01	0.04
6	倍他洛尔	0.05-5	$Y = (207191)X + (-4383.99)$	0.9993	86.5-113.2	0.02	0.07
7	卡维地洛	0.05-5	$Y = (160529)X + (-2196.85)$	0.9993	91.2-117.6	0.02	0.07
8	索他洛尔	0.05-5	$Y = (441384)X + (3690.47)$	0.9998	96.7-103.1	0.01	0.03
9	纳多洛尔	0.05-5	$Y = (1.29517e+006)X + (-4615.29)$	0.9998	91.0-105.1	0.003	0.01
10	噻吗洛尔	0.05-5	$Y = (1.58637e+006)X + (13331.9)$	0.9995	92.2-115.4	0.003	0.01
11	醋丁洛尔	0.05-5	$Y = (676039)X + (-5382.42)$	0.9997	89.8-113.3	0.01	0.04
12	布诺洛尔	0.05-5	$Y = (1.45484e+006)X + (-4526.34)$	0.9994	93.7-109.0	0.003	0.01
13	艾司洛尔	0.05-5	$Y = (239428)X + (-2634.99)$	0.9990	91.3-116.5	0.08	0.24
14	塞利洛尔	0.05-5	$Y = (1.25011e+006)X + (-6394.04)$	0.9989	92.4-115.2	0.01	0.04
15	比索洛尔	0.05-5	$Y = (133698)X + (-2213.21)$	0.9995	83.0-111.0	0.05	0.15
16	氧烯洛尔	0.05-5	$Y = (777888)X + (-4196.29)$	0.9997	92.2-111.3	0.003	0.01
17	奈必洛尔	0.05-5	$Y = (304988)X + (-1907.56)$	0.9991	91.6-110.5	0.02	0.06
18	吲哚洛尔	0.05-5	$Y = (1.09070e+006)X + (-328.447)$	0.9998	93.9-109.0	0.01	0.02
19	喷布洛尔	0.05-5	$Y = (2.93109e+006)X + (-14210.8)$	0.9996	96.6-107.1	0.01	0.02
20	卡拉洛尔	0.05-5	$Y = (253009)X + (-2664.48)$	0.9994	90.6-109.3	0.03	0.08

3. 结论

本实验使用岛津LCMS-8045液质联用系统，开发了20种 β 受体阻断剂含量的检测方法。方法学试验结果表明，在0.05~5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内，20种 β 受体阻断剂线性良好，相关系数 $R > 0.997$ ； β 受体阻断剂的检出限为0.003-0.08 ng/mL，定量限0.01-0.24 ng/mL。

3.8 违禁成分的综合分析

对于非法药物添加，由于保健食品是基于功能的产品，为显示其有效性，添加一般会在其有效浓度，多数为微量到常量的水平，同时为增强其功效显示，常存在复合添加的情况。添加的药物往往是常见药物、退市药物或者是前体药物等；根据文献及监测情况，添加掺伪主要出现的趋势有：a) 单一物质添加；b) 一类或多类物质残留；c) 多种物质的复合添加；d) 化学品的添加；从添加的成本、效益以及对现有方法的规避来看，主要添加的物质常为易购价廉的物质，但近年也存在添加新活性物质或者原料成本较高的物质，也有添加已禁止的毒副作用大的物质，同时针对规避现有标准检测项目或者方法的刻意添加也较为常见。

因此，针对保健食品中非法添加的复合添加的现象，需要建立完善的非法添加复合筛查检测方案，以满足目前非法添加复合添加监管的需求。主要参考国家局发布的食品补充检验方法《保健食品中 75 种非法添加化学药物的检测 BJS 201710》和海关总署发布 SN/T 5357-2021《出口保健食品中多类非法添加物的测定 液相色谱-质谱/质谱法》等综合筛查方法。同时结合岛津自建《保健食品中违禁药物 QTOF 质谱库》快速进行保健食品中违禁成分的快速定性定量分析。本章汇总了部分保健食品非法添加综合筛查的应用方案，供相关检测人员参考。

LCMS-9050

四极杆飞行时间质谱联用仪



LCMS-8050 RX

三重四极杆液质联用仪



质谱条件

离子化模式 : ESI±
 接口温度 : 300°C
 D L 温度 : 150°C
 加热模块温度 : 400°C
 扫描模式 : 多反应监测(MRM)
 M R M 参数 : 见表2

雾化气流速 : 3.0 L/min
 干燥气流速 : 3.0 L/min
 加热气流速 : 15.0 L/min
 碰撞气 : 氦气
 喷嘴位置 : +1.5 mm

表 2. 化合物信息及MRM参数

ID	化合物名	CAS 号	保留时间 (min)	离子化模 式	MRM 离子对	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	盐酸二甲双胍	657-24-9	0.877	(+)	130.15>71.05*	-10	-22	-15
					130.15>60.10	-24	-14	-26
2	烟酸	59-67-6	1.016	(+)	124.00>80.15*	-24	-22	-17
					124.00>78.10	-10	-22	-16
3	氨甲环酸	701-54-2	1.328	(+)	158.15>95.15*	-12	-17	-20
					158.15>67.10	-11	-27	-30
4	沙丁胺醇	18559-94-9	1.811	(+)	240.15>148.05*	-17	-17	-17
					240.15>166.15	-17	-13	-19
5	阿替洛尔	29122-68-7	1.959	(+)	267.10>145.10*	-19	-24	-30
					267.10>133.10	-19	-27	-29
6	丁二胍	692-13-7	2.057	(+)	158.15>60.15*	-12	-14	-26
					158.15>57.15	-11	-24	-23
7	麻黄碱	299-42-3	3.135	(+)	166.10>148.10*	-12	-14	-17
					166.10>117.10	-12	-20	-24
8	可乐定	4205-90-7	3.640	(+)	230.00>213.00*	-16	-24	-25
					230.00>160.00	-16	-34	-19
9	青藤碱	115-53-7	3.653	(+)	330.10>181.10*	-24	-33	-21
					330.10>239.10	-13	-25	-19
10	苯乙双胍	114-86-3	3.730	(+)	206.15>60.10*	-15	-17	-27
					206.10>105.10	-15	-25	-23
11	卡托普利	62571-86-2	3.844	(+)	218.10>116.10*	-15	-13	-24
					218.10>75.10	-15	-21	-16
12	佐匹克隆	43200-80-2	3.838	(+)	389.00>217.10*	-15	-33	-17
					389.00>345.10	-15	-10	-26
13	哌唑嗪	19216-56-9	3.949	(+)	384.00>247.15*	-15	-29	-29
					384.00>366.10	-15	-27	-28
14	二氧丙嗪	13754-56-8	4.104	(+)	317.10>86.20*	-12	-23	-18
					317.10>272.10	-12	-20	-21
15	罗格列酮	122320-73-4	4.313	(+)	358.10>135.10*	-14	-25	-29
					358.10>119.10	-14	-48	-25
16	文拉法辛	93413-69-5	4.387	(+)	278.10>58.10*	-11	-21	-25
					278.10>121.10	-11	-27	-25
17	那红地那非	949091-38-7	4.428	(+)	453.05>97.10*	-17	-30	-21
					453.05>113.15	-17	-30	-24
18	氯美扎酮	80-77-3	4.475	(+)	274.10>174.10*	-19	-19	-20
					274.10>159.10	-20	-33	-18
19	褪黑素	73-31-4	4.468	(+)	233.10>174.10*	-17	-14	-20
					233.10>159.10	-17	-25	-19
20	罗通定	2934-97-6	4.536	(+)	356.00>192.15*	-25	-28	-22
					356.00>176.15	-14	-50	-21
21	氯苯那敏	132-22-9	4.620	(+)	275.10>230.05*	-20	-16	-27

					275.10>167.10	-20	-37	-19
22	红地那非	831217-01-7	4.616	(+)	467.20>297.10*	-18	-41	-23
					467.10>341.10	-17	-33	-26
23	芬氟拉明	458-24-2	4.742	(+)	232.00>159.10*	-17	-22	-18
					232.00>187.10	-17	-13	-22
24	伐地那非	224785-90-4	4.807	(+)	489.00>151.10*	-19	-46	-18
					489.00>312.10	-19	-39	-24
25	羟基豪莫西地那非	139755-85-4	5.054	(+)	505.15>99.10*	-20	-38	-21
					505.15>129.20	-20	-28	-26
26	西地那非	139755-83-2	5.190	(+)	475.00>283.10*	-18	-41	-22
					475.00>100.10	-18	-28	-21
27	豪莫西地那非	642928-07-2	5.445	(+)	489.00>72.10*	-19	-55	-15
					489.00>113.15	-19	-31	-23
28	氯氮卓	58-25-3	5.561	(+)	299.90>227.00*	-22	-25	-26
					299.90>241.10	-12	-16	-19
29	咪达唑仑	59467-70-8	5.660	(+)	326.00>291.10*	-13	-27	-22
					326.00>249.10	-13	-37	-28
30	扎来普隆	151319-34-5	6.134	(+)	306.05>236.15*	-12	-26	-27
					306.05>264.05	-12	-21	-30
31	氨基他达拉非	385769-84-6	6.161	(+)	391.10>204.20*	-12	-55	-24
					391.10>262.10	-15	-29	-20
32	氯氮地平	88150-42-9	6.191	(+)	409.10>238.10*	-29	-14	-28
					409.10>206.10	-29	-27	-24
33	吡格列酮	111025-46-8	6.381	(+)	357.00>134.20*	-25	-28	-28
					357.00>119.10	-14	-44	-24
34	奥沙西洋	604-75-1	6.487	(+)	287.00>241.10*	-11	-21	-29
					287.00>163.00	-21	-37	-18
35	艾司唑仑	29975-16-4	6.519	(+)	295.00>267.05*	-21	-23	-20
					295.00>241.00	-21	-24	-19
36	硝西洋	146-22-5	6.741	(+)	282.10>236.10*	-11	-24	-27
					282.00>207.10	-11	-34	-23
37	酚酞	77-09-8	6.734	(+)	319.00>225.10*	-12	-19	-26
					319.00>197.10	-23	-31	-23
38	劳拉西洋	846-49-1	6.855	(+)	321.00>275.00*	-23	-21	-21
					321.00>229.10	-12	-31	-27
39	N,N-双去甲基西布曲明	84467-54-9	6.924	(+)	252.00>125.00*	-17	-21	-27
					252.00>139.00	-18	-12	-29
40	阿普唑仑	28981-97-7	6.942	(+)	309.00>281.10*	-12	-24	-21
					309.00>274.00	-12	-25	-21
41	氯硝西洋	1622-61-3	7.185	(+)	316.00>270.05*	-12	-24	-21
					316.00>241.05	-12	-36	-28
42	三唑仑	28911-01-5	7.220	(+)	343.00>308.00*	-13	-26	-23
					343.00>239.00	-13	-41	-27
43	N-单去甲基西布曲明	168835-59-4	7.343	(+)	266.10>125.10*	-10	-23	-26
					266.10>139.10	-10	-13	-29
44	他达拉非	171596-29-5	7.460	(+)	390.00>135.00*	-15	-20	-27
					390.00>204.05	-15	-54	-24
45	格列吡嗪	29094-61-9	7.780	(+)	446.00>103.00*	-17	-37	-22
					446.00>167.10	-17	-29	-19
46	利血平	50-55-5	7.802	(+)	609.00>195.10*	-24	-38	-23
					609.00>174.20	-24	-42	-20
47	西布曲明	106650-56-0	7.821	(+)	280.10>125.00*	-11	-22	-26
					280.00>139.00	-11	-15	-16
48	甲苯磺丁脲	64-77-7	7.889	(+)	271.10>91.10*	-19	-32	-20
					271.10>65.10	-19	-55	-27

49	硫代艾地那非	856190-47-1	8.034	(+)	505.00>99.10*	-20	-36	-20
					505.00>113.20	-20	-29	-24
50	硝苯地平	21829-25-4	8.120	(+)	347.10>239.10*	-25	-15	-29
					347.10>223.00	-13	-32	-26
51	格列齐特	21187-98-4	8.199	(+)	324.10>127.20*	-23	-19	-29
					324.10>153.10	-23	-23	-30
52	醋氯芬酸	89796-99-6	8.199	(+)	355.00>215.00*	-25	-35	-24
					355.00>216.00	-25	-23	-24
53	地西洋	439-14-5	8.280	(+)	285.00>193.10*	-11	-30	-23
					285.00>222.10	-11	-26	-25
54	格列波脲	26944-48-9	8.291	(+)	367.10>170.20*	-14	-17	-19
					367.10>152.00	-14	-19	-18
55	格列苯脲	10238-21-8	8.401	(+)	494.10>369.00*	-25	-14	-20
					494.10>169.10	-15	-34	-21
56	伪伐地那非	224788-34-5	8.444	(+)	460.00>151.15*	-18	-40	-30
					460.00>312.05	-17	-36	-24
57	尼群地平	39562-70-4	8.481	(+)	361.05>329.10*	-14	-13	-25
					361.05>315.05	-14	-12	-24
58	格列美脲	93479-97-1	8.491	(+)	491.10>352.20*	-18	-14	-28
					491.10>126.20	-18	-27	-24
59	尼莫地平	66085-59-4	8.583	(+)	419.10>343.15*	-16	-13	-26
					419.10>301.05	-16	-26	-22
60	洛伐他丁羟酸钠盐	75225-50-2	8.591	(+)	445.10>343.20*	-17	-22	-19
					445.10>173.10	-17	-35	-20
61	尼索地平	63675-72-9	8.724	(+)	389.00>315.00*	-28	-10	-25
					389.00>195.10	-28	-41	-22
62	格列喹酮	33342-05-1	8.750	(+)	528.00>403.15*	-38	-13	-30
					528.00>386.10	-20	-21	-29
63	那莫西地那非	371959-09-0	8.834	(+)	460.00>283.20*	-18	-36	-22
					460.00>299.20	-18	-37	-23
64	美伐他汀	73573-88-3	8.872	(+)	391.10>185.20*	-15	-14	-22
					391.10>159.20	-28	-26	-30
65	非洛地平	72509-76-3	8.930	(+)	384.00>338.00*	-15	-13	-26
					384.00>352.05	-27	-13	-27
66	洛伐他汀	75330-75-5	9.153	(+)	405.00>199.20*	-16	-19	-15
					405.00>285.20	-29	-11	-22
67	瑞格列奈	135062-02-1	9.167	(+)	453.10>230.20*	-17	-29	-27
					453.10>174.20	-17	-42	-21
68	辛伐他汀	79902-63-9	9.536	(+)	419.10>199.25*	-16	-15	-16
					419.10>285.10	-30	-10	-22
69	脱羟基洛伐他汀	109273-98-5	10.272	(+)	387.00>199.20*	-15	-19	-25
					387.00>173.20	-15	-23	-19
70	氢氯噻嗪	58-93-5	3.706	(-)	296.00>269.00*	15	19	28
					296.00>205.10	15	23	19
71	巴比妥	57-44-3	3.846	(-)	183.10>42.05*	22	24	11
					183.10>140.20	21	13	11
72	苯巴比妥	50-06-6	4.833	(-)	231.10>42.00*	12	18	10
					231.10>188.20	12	12	11
73	呋塞米	54-31-9	5.629	(-)	329.10>205.05*	16	23	18
					329.10>285.10	16	15	11
74	异戊巴比妥	57-43-2	6.235	(-)	225.10>182.20*	11	13	17
					225.10>42.10	12	23	14
75	司可巴比妥钠盐	76-73-3	6.835	(-)	237.10>42.05*	12	23	12
					237.10>194.20	12	13	11
76	硫酸奥西那林	5874-97-5	1.277	(+)	212.20>152.10*	-10	-16	-12

					212.20>194.20	-19	-11	-23
77	甲氧酪胺	1216788-76-9	1.493	(+)	168.10>91.10*	-13	-26	-20
					168.10>119.10	-13	-21	-24
78	西马特罗	54239-37-1	2.043	(+)	220.20>143.10*	-18	-21	-28
					220.20>202.10	-18	-10	-16
79	特布他林	23031-25-6	2.287	(+)	226.10>152.10*	-18	-15	-28
					226.10>125.10	-19	-23	-23
80	氯噻唑	58-94-6	2.417	(-)	293.90>214.00*	21	28	20
					293.90>179.10	20	45	16
81	齐帕特罗	117827-79-9	2.494	(+)	262.20>185.10*	-12	-24	-14
					262.20>202.10	-12	-19	-16
82	沙丁胺醇	18559-94-9	2.499	(+)	240.00>148.10*	-18	-17	-30
					240.00>166.00	-18	-12	-20
83	西布特罗	54239-39-3	3.293	(+)	234.20>160.10*	-20	-14	-30
					234.20>143.10	-20	-24	-17
84	非诺特罗	13392-18-2	3.738	(+)	304.00>107.00*	-24	-29	-21
					304.00>135.00	-24	-18	-29
85	丙卡特罗	72332-33-3	3.767	(+)	291.10>273.00*	-24	-13	-21
					291.10>231.20	-23	-19	-17
86	利托君	26652-09-5	4.000	(+)	288.00>121.00*	-24	-22	-24
					288.00>150.00	-24	-20	-30
87	曲美他嗪	5011-34-7	4.097	(+)	267.20>181.20*	-22	-15	-14
					267.20>166.10	-22	-25	-13
88	克伦塞罗	157877-79-7	4.602	(+)	319.10>203.00*	-26	-20	-23
					319.10>301.10	-27	-13	-23
89	克伦丙罗	38339-11-6	5.066	(+)	263.10>203.00*	-22	-18	-24
					263.10>245.00	-22	-11	-19
90	氯丙那林	3811-25-4	5.580	(+)	214.10>119.00*	-18	-28	-14
					214.10>154.10	-18	-18	-28
91	克伦特罗	129138-58-5	6.001	(+)	277.10>203.00*	-23	-16	-22
					277.10>132.10	-12	-27	-15
92	福莫特罗	73573-87-2	6.291	(+)	345.00>149.00*	-28	-20	-30
					345.00>121.00	-15	-32	-14
93	溴氯布特罗	37153-52-9	6.399	(+)	321.20>247.00*	-15	-18	-19
					321.20>168.10	-29	-16	-30
94	妥布特罗	41570-61-0	6.562	(+)	228.10>118.00*	-19	-29	-23
					228.10>154.00	-19	-16	-12
95	多巴胺	51-61-6	6.562	(+)	154.10>119.20*	-30	-20	-24
					154.10>91.10	-30	-26	-20
96	甲氯噻唑	135-07-9	6.826	(-)	358.10>322.10*	26	14	14
					358.10>258.00	18	18	10
97	溴布特罗	41937-02-4	6.870	(+)	367.00>292.80*	-16	-18	-16
					367.00>348.90	-30	-13	-28
98	马布特罗	56341-08-3	7.105	(+)	311.00>217.00*	-25	-25	-17
					311.00>237.00	-26	-17	-18
99	克伦潘特	37158-47-7	7.352	(+)	291.10>203.10*	-24	-16	-15
					291.10>168.10	-25	-28	-13
100	班布特罗	81732-65-2	8.130	(+)	368.00>312.10*	-28	-15	-24
					368.00>294.10	-27	-20	-22
101	拉贝特罗	36894-69-6	8.254	(+)	329.30>162.10*	-10	-25	-12
					329.30>207.20	-30	-16	-26
102	克伦异磅特罗	37158-48-8	8.302	(+)	291.10>188.10*	-24	-24	-21
					291.10>273.10	-25	-12	-20
103	马贵特罗	54238-51-6	8.451	(+)	325.10>237.00*	-28	-17	-18
					325.10>217.10	-28	-24	-17

104	苯乙醇胺 A	1346746-81-3	8.919	(+)	345.10>150.10*	-29	-23	-17
					345.10>327.10	-29	-14	-24
105	吲达帕胺	26807-65-8	9.077	(+)	366.10>132.10*	-16	-15	-15
					366.10>91.10	-30	-41	-19
106	氟西汀	54910-89-3	9.078	(+)	310.40>44.00*	-15	-12	-20
					310.40>148.20	-15	-9	-28
107	喷布特罗	36507-48-9	9.515	(+)	292.20>201.10*	-13	-20	-15
					292.20>236.20	-25	-16	-27
108	沙美特罗	89365-50-4	9.557	(+)	416.20>398.10*	-18	-15	-21
					416.20>380.10	-18	-20	-28
109	布美他尼	28395-03-1	10.312	(-)	363.00>80.00*	25	27	10
					363.00>207.00	26	21	21
110	利莫那班	168273-06-1	10.334	(+)	463.10>363.00*	-20	-26	-28
					463.10>298.80	-20	-47	-23

*代表定量离子对。

1.3 标准品溶液的配制

取110种非法添加药物标准品各适量，用甲醇配制成10 μg/mL的混合标准品储备液。用初始流动相逐级稀释，配制成1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0 ng/mL的混合标准系列工作液。

1.4 样品前处理

称取样品1g，置于50 mL容量瓶中，加甲醇适量，超声提取15 min，放冷至室温，用甲醇定容，取适量上清液，12000 r/min，离心5 min，经0.22 μm微孔滤膜过滤后，取续滤液进样检测。样前处理流程见图1。



图1. 样品前处理流程图

2. 结果与讨论

2.1 标准品溶液的MRM色谱图

混合标准系列工作液（25 ng/mL）进样检测，获得如下110种非法添加药物标准品的定性定量离子色谱图。

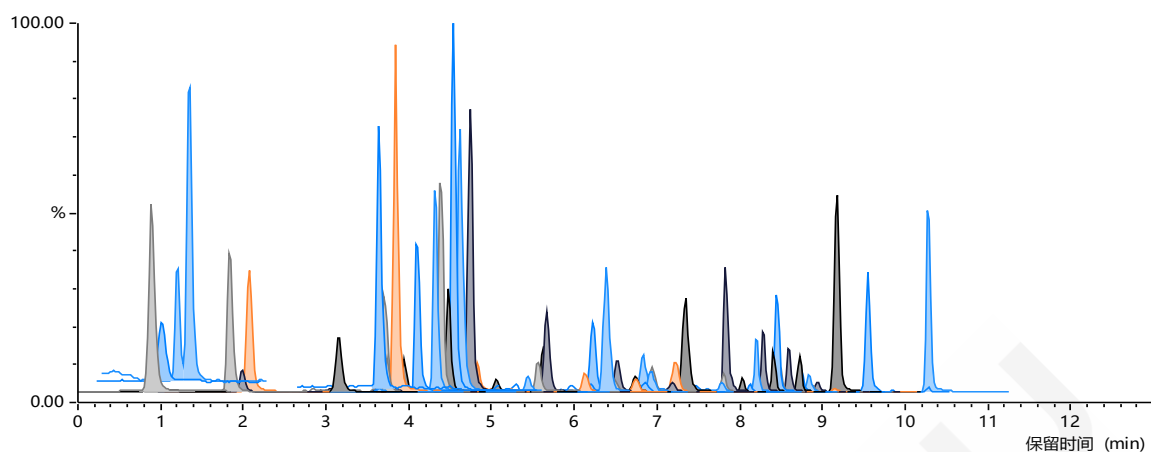
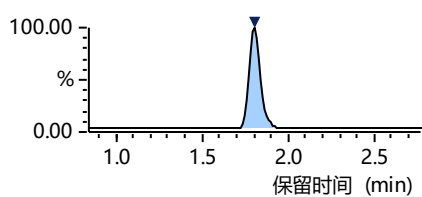
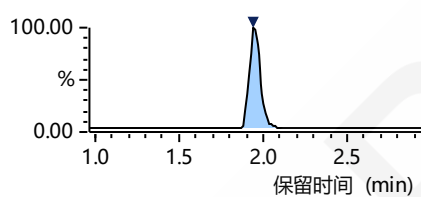


图 2. 总离子流色谱图

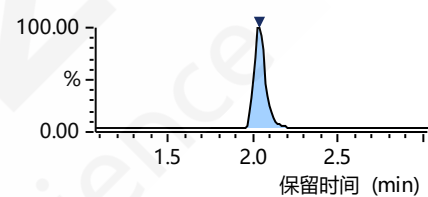
Q 240.15>148.05 (+) 1.10e7



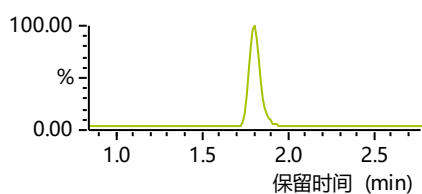
Q 267.10>145.10 (+) 1.57e6



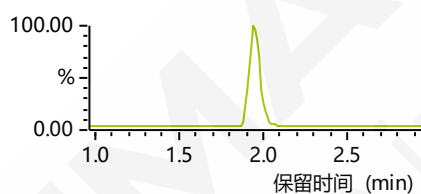
Q 158.15>60.15 (+) 6.44e6



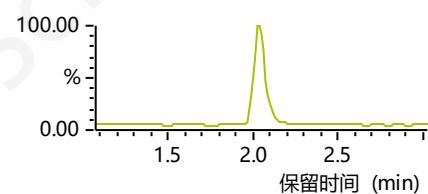
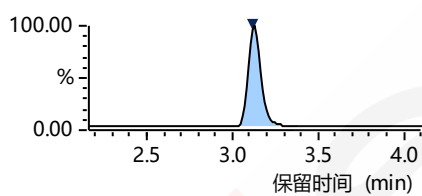
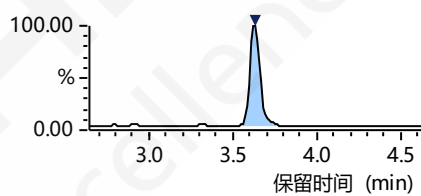
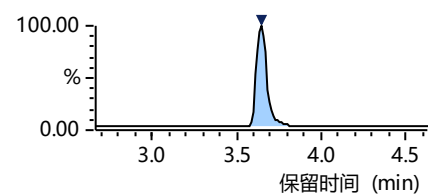
R1 240.15>166.15 (+) 2.78e5



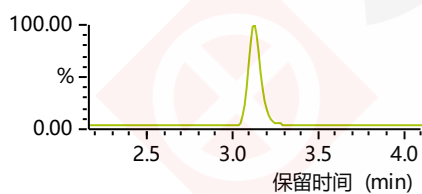
R1 267.10>133.10 (+) 4.43e5



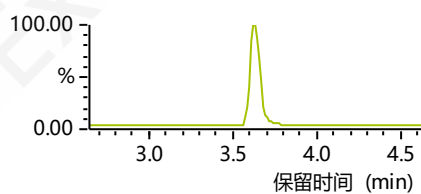
R1 158.15>57.15 (+) 3.29e5

沙丁胺醇
Q 166.10>148.10 (+) 3.50e6阿替洛尔
Q 230.00>213.00 (+) 1.59e5丁二胍
Q 330.10>181.10 (+) 9.09e4

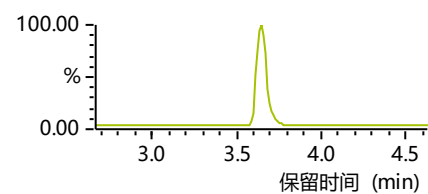
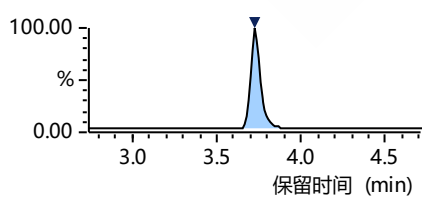
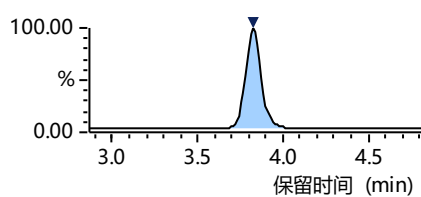
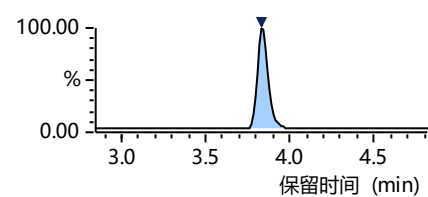
R1 166.10>117.10 (+) 9.27e5



R1 230.00>160.00 (+) 1.09e5

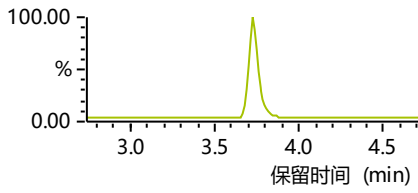


R1 330.10>239.10 (+) 7.30e4

麻黄碱
Q 206.15>60.10 (+) 1.73e6可乐定
Q 218.10>116.10 (+) 9.43e4青藤碱
Q 389.00>217.10 (+) 1.82e5

R1 206.10>105.10 (+)

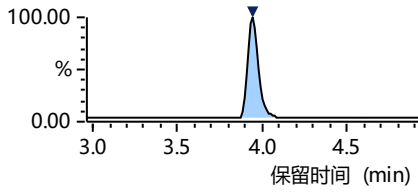
7.44e5



苯乙双胍

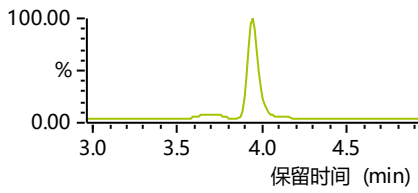
Q 384.00>247.15 (+)

1.13e6



R1 384.00>366.10 (+)

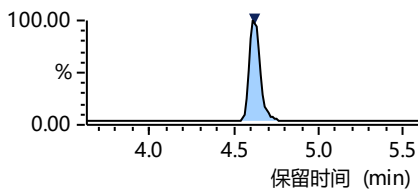
1.97e5



哌唑嗪

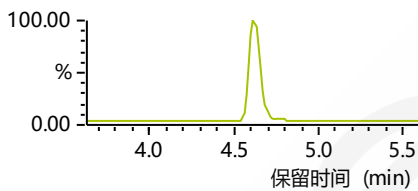
Q 467.20>297.10 (+)

3.73e5



R1 467.10>341.10 (+)

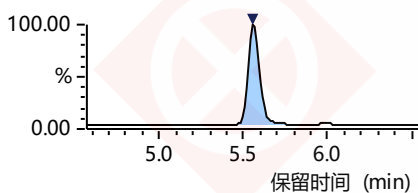
8.37e4



红地那非

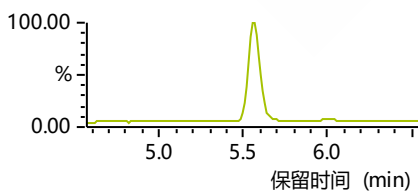
Q 299.90>227.00 (+)

1.01e6



R1 299.90>241.10 (+)

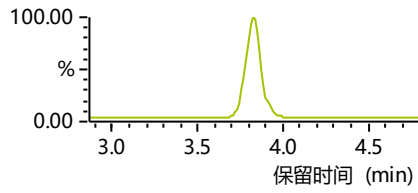
2.18e5



氯氮卓

R1 218.10>75.10 (+)

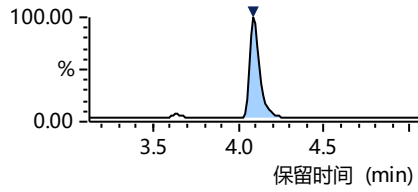
6.35e4



卡托普利

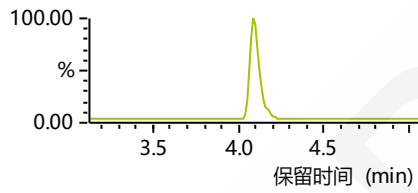
Q 317.10>86.20 (+)

5.15e6



R1 317.10>272.10 (+)

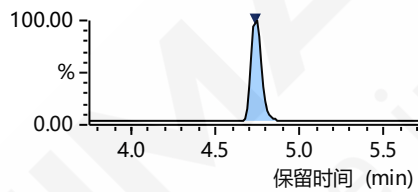
1.21e6



二氧丙嗪

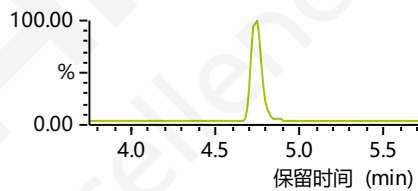
Q 232.00>159.10 (+)

9.43e6



R1 232.00>187.10 (+)

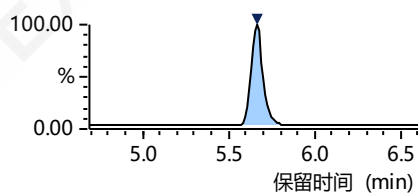
1.24e6



芬氟拉明

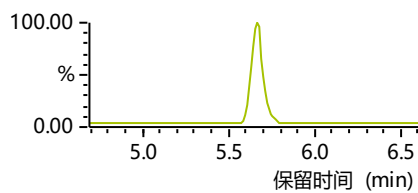
Q 326.00>291.10 (+)

2.60e6



R1 326.00>249.10 (+)

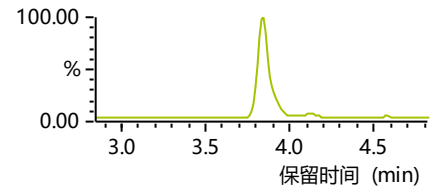
6.57e5



咪达唑仑

R1 389.00>345.10 (+)

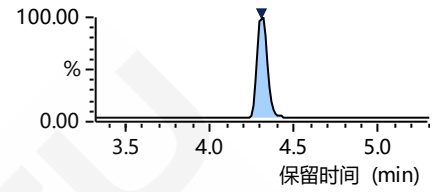
8.39e4



佐匹克隆

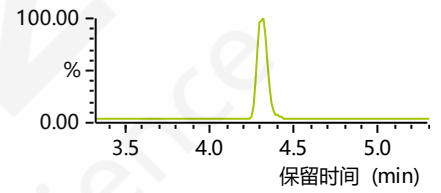
Q 358.10>135.10 (+)

8.59e6



R1 358.10>119.10 (+)

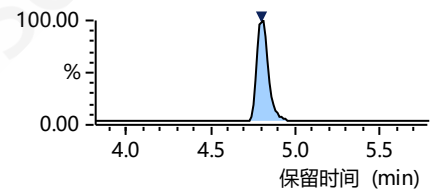
1.54e6



罗格列酮

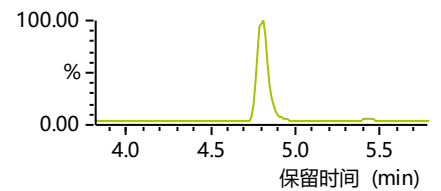
Q 489.00>151.10 (+)

9.37e5



R1 489.00>312.10 (+)

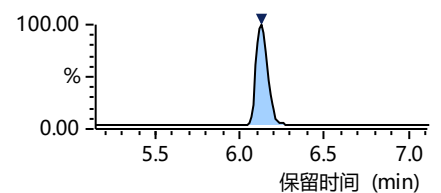
3.78e5



伐地那非

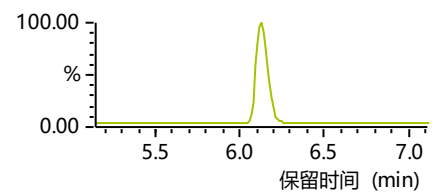
Q 306.05>236.15 (+)

6.10e5



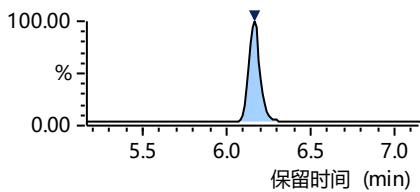
R1 306.05>264.05 (+)

5.30e5

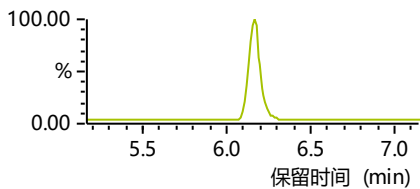


扎来普隆

Q 391.10>204.20 (+) 1.11e5

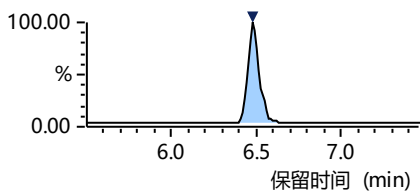


R1 391.10>262.10 (+) 9.62e4

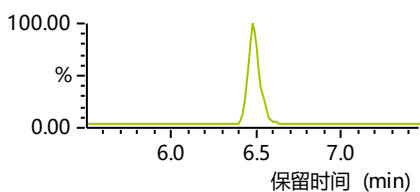


氨基他达拉非

Q 287.00>241.10 (+) 3.94e5

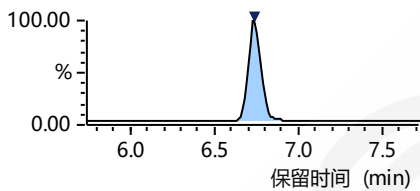


R1 287.00>163.00 (+) 5.77e4

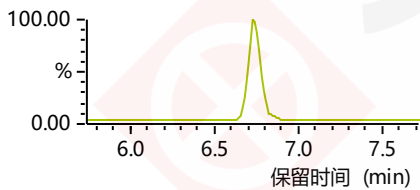


奥沙西洋

Q 319.00>225.10 (+) 5.01e5

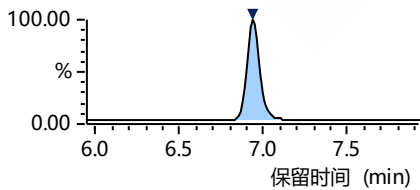


R1 319.00>197.10 (+) 7.29e4

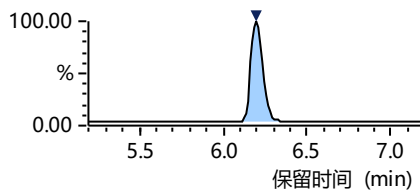


酚酞

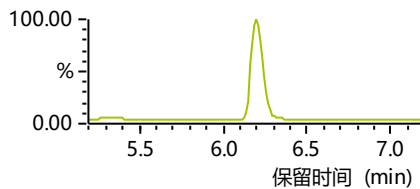
Q 309.00>281.10 (+) 8.36e5



Q 409.10>238.10 (+) 2.32e5

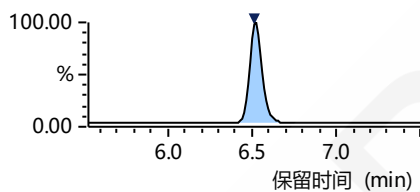


R1 409.10>206.10 (+) 8.51e4

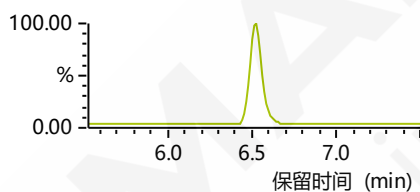


氨氯地平

Q 295.00>267.05 (+) 1.04e6

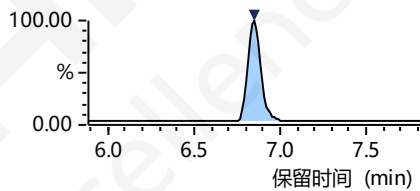


R1 295.00>241.00 (+) 1.75e5

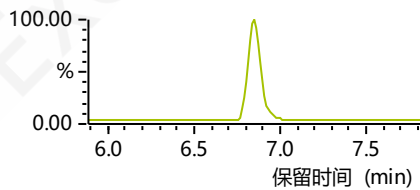


艾司唑仑

Q 321.00>275.00 (+) 3.06e5

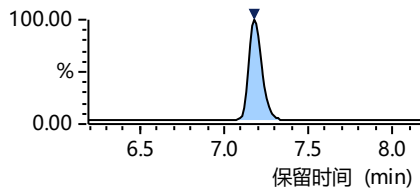


R1 321.00>229.10 (+) 9.02e4

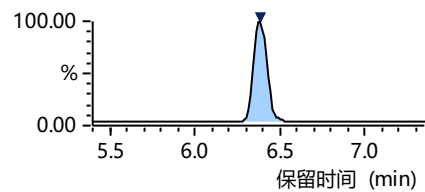


劳拉西洋

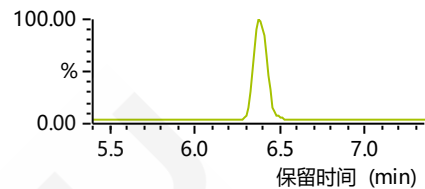
Q 316.00>270.05 (+) 2.71e5



Q 357.00>134.20 (+) 4.11e6

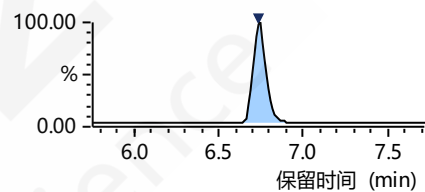


R1 357.00>119.10 (+) 2.52e6

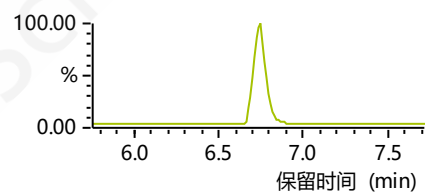


吡格列酮

Q 282.10>236.10 (+) 4.29e5

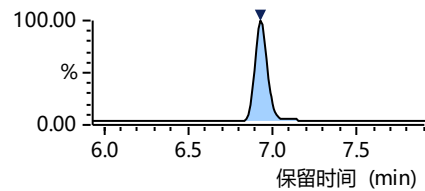


R1 282.00>207.10 (+) 1.59e5

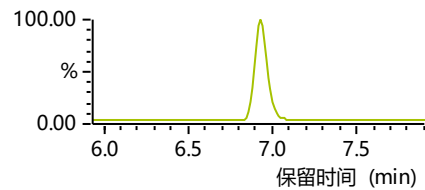


硝西泮

Q 252.00>125.00 (+) 6.88e5

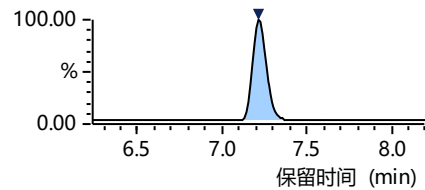


R1 252.00>139.00 (+) 4.09e5



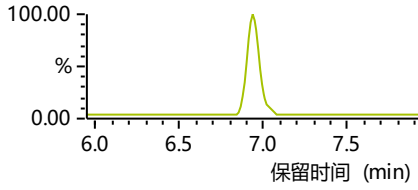
N,N-双去甲基西布曲明

Q 343.00>308.00 (+) 9.75e5



R1 309.00>274.00 (+)

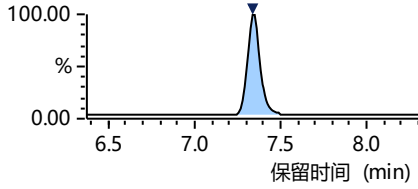
4.93e5



阿普唑仑

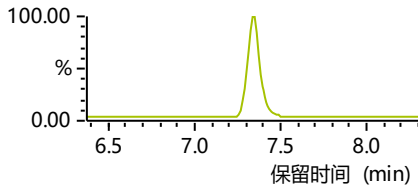
Q 266.10>125.10 (+)

3.05e6



R1 266.10>139.10 (+)

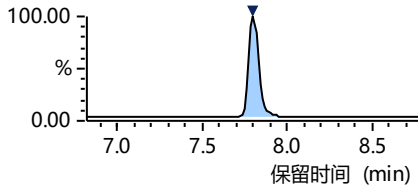
1.37e6



N-单去甲基西布曲明

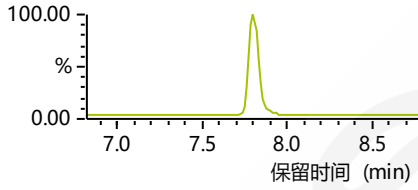
Q 609.00>195.10 (+)

5.66e5



R1 609.00>174.20 (+)

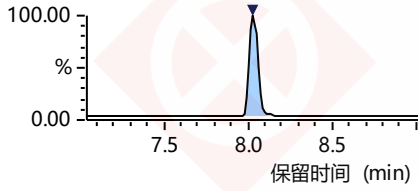
3.97e5



利血平

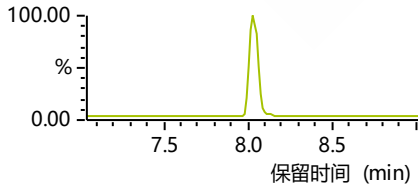
Q 505.00>99.10 (+)

4.53e5



R1 505.00>113.20 (+)

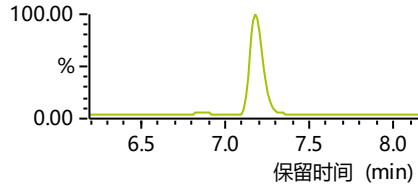
3.85e5



硫代艾地那非

R1 316.00>241.05 (+)

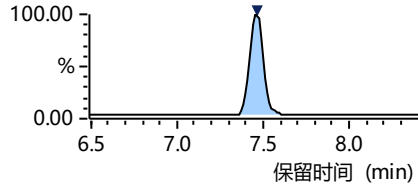
6.84e4



氯硝西泮

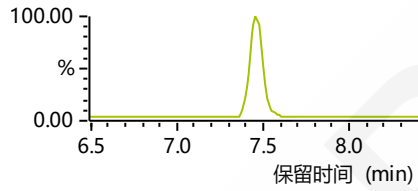
Q 390.00>135.00 (+)

2.04e5



R1 390.00>204.05 (+)

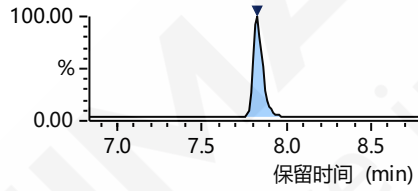
1.67e5



他达拉非

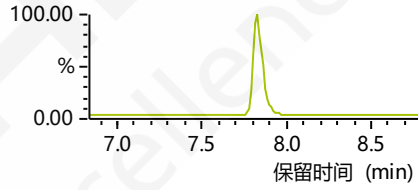
Q 280.10>125.00 (+)

4.07e6



R1 280.00>139.00 (+)

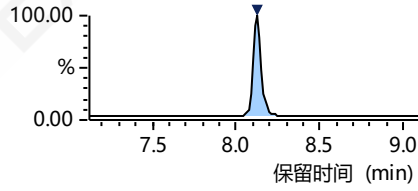
2.24e6



西布曲明

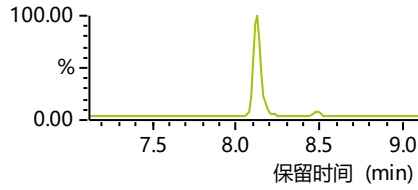
Q 347.10>239.10 (+)

3.11e5



R1 347.10>223.00 (+)

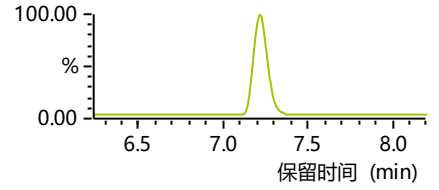
2.13e5



硝苯地平

R1 343.00>239.00 (+)

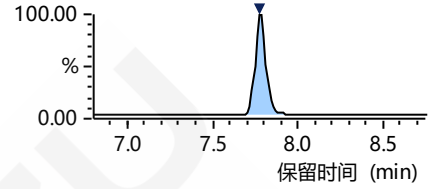
5.41e5



三唑仑

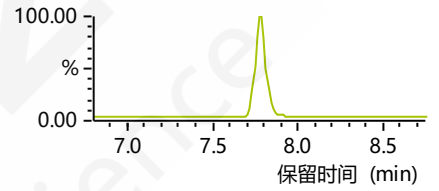
Q 446.00>103.00 (+)

3.10e5



R1 446.00>167.10 (+)

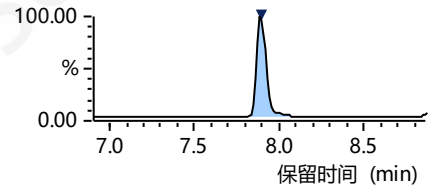
2.49e5



格列吡嗪

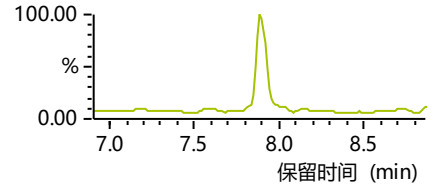
Q 271.10>91.10 (+)

1.25e5



R1 271.10>65.10 (+)

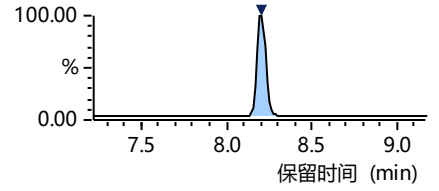
4.92e4



甲苯磺丁脲

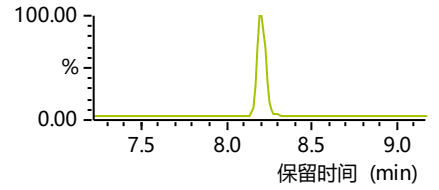
Q 324.10>127.20 (+)

1.74e6



R1 324.10>153.10 (+)

6.22e5



格列齐特

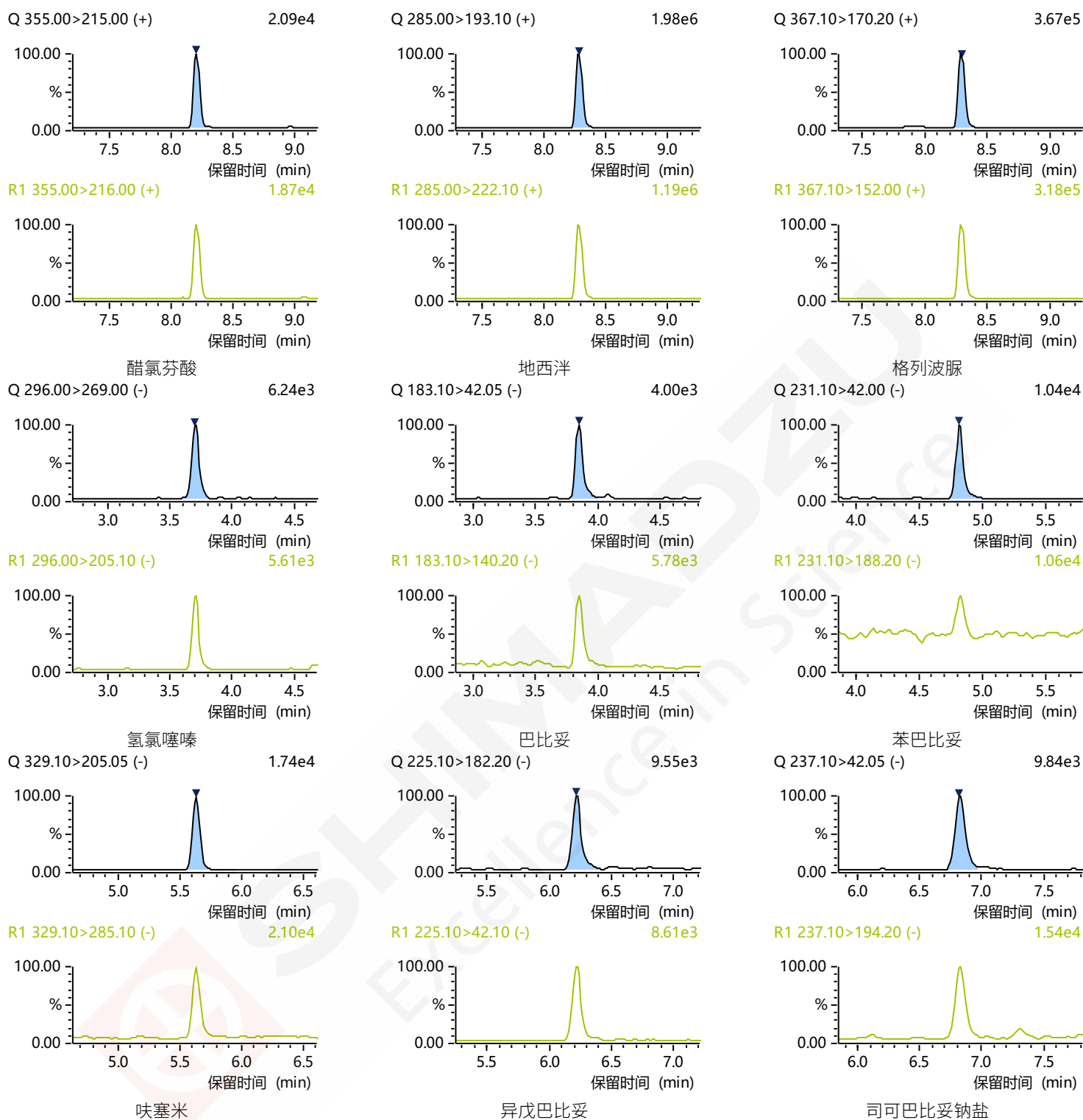


图 3. 部分药物定量定性离子对色谱图 (上图: 定量, 下图: 定性)

2.2 检出限与校准曲线

按照1.2项下分析条件, 标准系列溶液按照浓度从低到高的顺序依次上机测定, 以待测物的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线, 部分标准曲线如图4所示。110种非法添加药物在校准曲线浓度范围内线性关系良好, 相关系数 r 均大于0.997, 各校准点准确度均在85% - 115% 之间。以3倍信噪比计算检出限, 各化合物检出限及线性相关系数如表3所示。

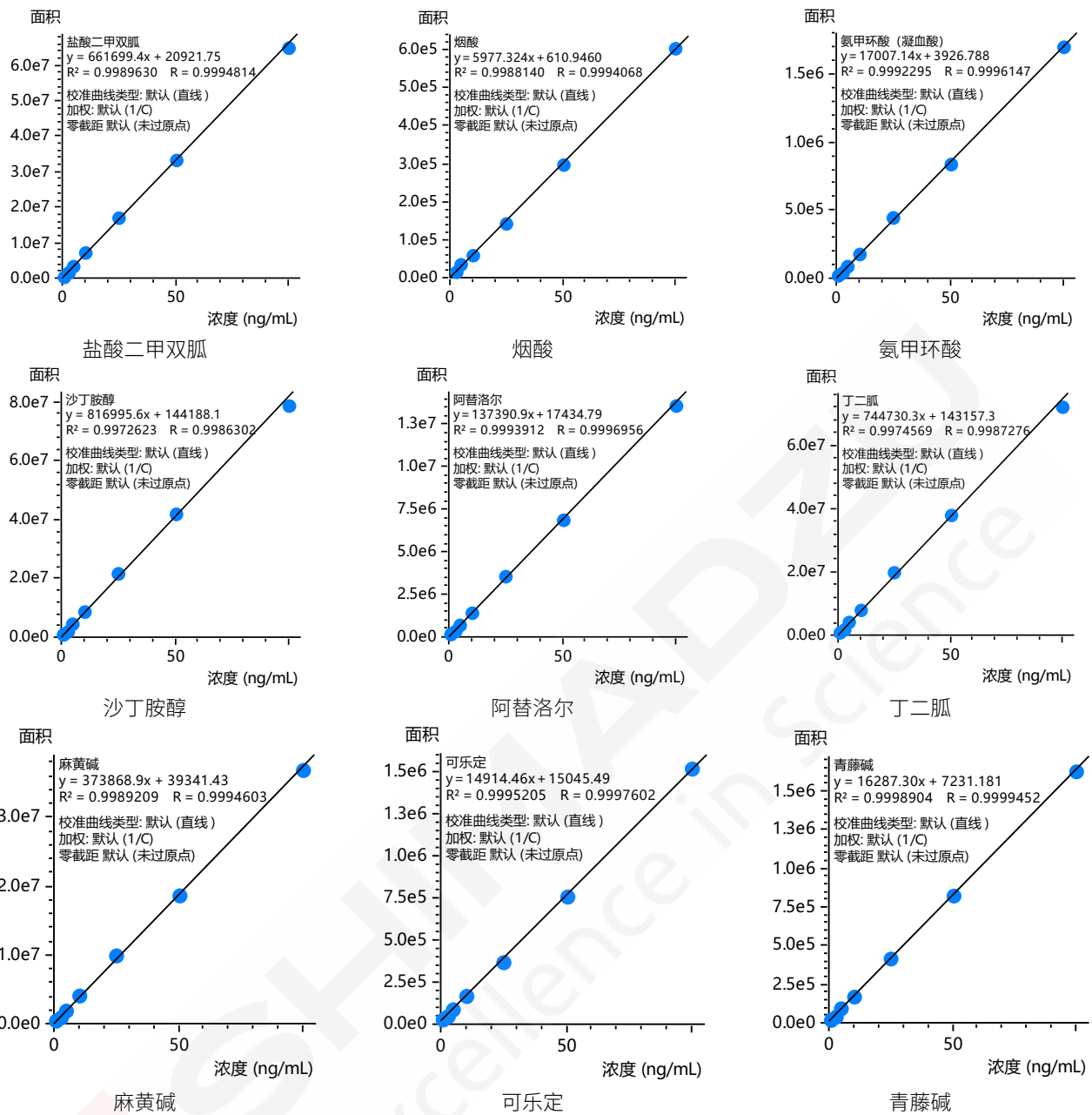


图 4. 部分药物校准曲线

表 3. 部分药物相关系数及检出限

ID	组分名称	相关系数 (r)	检出限 (ng/mL)	ID	组分名称	相关系数 (r)	检出限 (ng/mL)
1	盐酸二甲双胍	0.9995	0.02	38	劳拉西泮	0.9997	0.20
2	烟酸	0.9994	2.50	39	N,N-双去甲基西布曲明	0.9997	0.20
3	氨甲环酸 (凝血酸)	0.9996	0.50	40	阿普唑仑	0.9998	0.20
4	沙丁胺醇	0.9992	0.02	41	氯硝西泮	0.9999	0.20
5	阿替洛尔	0.9997	0.02	42	三唑仑	0.9998	0.20
6	丁二胍	0.9990	0.02	43	N-单去甲基西布曲明	0.9999	0.07
7	麻黄碱	0.9995	0.05	44	他达拉非	0.9998	0.30
8	可乐定	0.9998	0.50	45	格列吡嗪	0.9998	0.30
9	青藤碱	0.9999	0.50	46	利血平	0.9996	0.16
10	苯乙双胍	0.9998	0.05	47	西布曲明	0.9999	0.08
11	卡托普利	0.9999	0.50	48	甲苯磺丁脲	0.9987	0.50

12	佐匹克隆	0.9997	0.20	49	硫代艾地那非	0.9989	0.15
13	哌唑嗪	0.9999	0.25	50	硝苯地平	0.9980	0.15
14	二氧丙嗪	0.9997	0.38	51	格列齐特	0.9996	0.08
15	罗格列酮	0.9998	0.25	52	醋氯芬酸	0.9987	2.50
16	文拉法辛	0.9998	0.20	53	地西洋	0.9997	0.08
17	那红地那非	0.9995	0.80	54	格列波脲	0.9996	0.40
18	氯美扎酮	0.9995	1.00	55	格列苯脲	0.9971	0.10
19	褪黑素	0.9998	0.20	56	伪伐地那非	0.9979	0.10
20	罗通定	0.9997	1.00	57	尼群地平	0.9999	0.50
21	氯苯那敏	0.9996	0.50	58	格列美脲	0.9999	0.10
22	红地那非	0.9994	0.15	59	尼莫地平	0.9995	0.20
23	芬氟拉明	0.9994	0.20	60	洛伐他丁羟酸钠盐	0.9972	5.00
24	伐地那非	0.9999	0.20	61	尼索地平	0.9997	0.20
25	羟基豪莫西地那非	0.9999	0.30	62	格列喹酮	0.9998	0.15
26	西地那非	0.9999	0.25	63	那莫西地那非	0.9976	0.15
27	豪莫西地那非	0.9998	0.40	64	美伐他汀	0.9996	0.25
28	氯氮卓	0.9998	0.40	65	非洛地平	0.9985	0.80
29	咪达唑仑	0.9999	0.05	66	洛伐他汀	0.9972	2.50
30	扎来普隆	0.9998	0.10	67	瑞格列奈	0.9997	0.05
31	氨基他达拉非	0.9999	0.10	68	辛伐他汀	0.9999	2.50
32	氨氯地平	0.9994	0.50	69	脱羟基洛伐他汀	0.9997	0.30
33	吡格列酮	0.9999	0.10	70	氢氯噻嗪	0.9989	2.50
34	奥沙西洋	0.9998	0.20	71	巴比妥	0.9973	8.50
35	艾司唑仑	0.9998	0.10	72	苯巴比妥	0.9977	8.50
36	硝西洋	0.9999	0.25	73	呋塞米	0.9992	0.40
37	酚酞	0.9999	0.20	74	异戊巴比妥	0.9987	8.50

2.3 精密度

取 25 ng/mL 标准品溶液，连续进样 6 次，保留时间的 RSD%均小于 1%，峰面积的 RSD%均小于 5%，结果见表 4。

表 4. 部分药物保留时间及峰面积的检测精密度

ID	组分名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%	ID	组分名称	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	盐酸二甲双胍	0.20	0.80	38	劳拉西洋	0.10	1.31
2	烟酸	0.53	3.10	39	N,N-双去甲基西布曲明	0.12	1.51
3	氨甲环酸(凝血酸)	0.60	1.70	40	阿普唑仑	0.11	1.76
4	沙丁胺醇	0.50	2.46	41	氯硝西洋	0.11	0.92
5	阿替洛尔	0.56	1.35	42	三唑仑	0.12	0.87
6	丁二胍	0.32	0.89	43	N-单去甲基西布曲明	0.12	1.24
7	麻黄碱	0.20	1.48	44	他达拉非	0.11	1.96
8	可乐定	0.08	3.22	45	格列吡嗪	0.09	2.73
9	青藤碱	0.09	2.18	46	利血平	0.07	2.66
10	苯乙双胍	0.11	2.20	47	西布曲明	0.06	3.52
11	卡托普利	0.12	3.38	48	甲苯磺丁脲	0.05	2.18

12	佐匹克隆	0.09	2.07	49	硫代艾地那非	0.04	3.23
13	哌唑嗪	0.12	1.52	50	硝苯地平	0.04	2.68
14	二氧丙嗪	0.11	2.23	51	格列齐特	0.05	3.05
15	罗格列酮	0.11	2.14	52	醋氯芬酸	0.05	3.36
16	文拉法辛	0.11	2.74	53	地西洋	0.05	2.19
17	那红地那非	0.11	3.23	54	格列波脲	0.04	3.51
18	氯美扎酮	0.10	2.06	55	格列苯脲	0.04	2.17
19	褪黑素	0.11	2.52	56	伪伐地那非	0.04	3.47
20	罗通定	0.12	1.96	57	尼群地平	0.04	2.65
21	氯苯那敏	0.13	2.46	58	格列美脲	0.05	2.88
22	红地那非	0.12	2.53	59	尼莫地平	0.04	1.78
23	芬氟拉明	0.13	1.64	60	洛伐他丁羟酸钠盐	0.05	1.74
24	伐地那非	0.13	1.37	61	尼索地平	0.04	3.54
25	羟基豪莫西地那非	0.13	1.39	62	格列喹酮	0.04	0.74
26	西地那非	0.14	2.03	63	那莫西地那非	0.04	1.43
27	豪莫西地那非	0.10	0.70	64	美伐他汀	0.04	1.76
28	氯氮卓	0.09	0.63	65	非洛地平	0.04	2.29
29	咪达唑仑	0.09	0.70	66	洛伐他汀	0.05	2.93
30	扎来普隆	0.09	0.82	67	瑞格列奈	0.04	1.40
31	氨基他达拉非	0.10	2.77	68	辛伐他汀	0.04	2.77
32	氨氯地平	0.11	3.43	69	脱羟基洛伐他汀	0.04	1.20
33	吡格列酮	0.09	0.74	70	氢氯噻嗪	0.11	3.27
34	奥沙西洋	0.10	1.93	71	巴比妥	0.09	4.64
35	艾司唑仑	0.09	1.13	72	苯巴比妥	0.13	3.29
36	硝西洋	0.10	3.17	73	呋塞米	0.09	3.73
37	酚酞	0.10	0.82	74	异戊巴比妥	0.11	4.24

2.4 准确度与样品检测

取某品牌缓解疲劳类口服液，照 1.4 样品处理方法，平行制备 3 份上机浓度为 25 ng/mL 的 110 种非法添加药物加标样品进行测试。平均回收率在 81.38 – 108.31 之间，重复性 RSD% 小于 5%，结果见表 5、图 5。

表 5. 部分药物加标回收率及重复性

ID	组分名称	平均回收率%	RSD %	ID	组分名称	平均回收率%	RSD %
1	盐酸二甲双胍	104.02	0.69	38	劳拉西洋	100.32	1.30
2	烟酸	99.36	2.93	39	N,N-双去甲基西布曲明	103.77	1.52
3	氨甲环酸（凝血酸）	103.56	0.86	40	阿普唑仑	97.75	1.75
4	沙丁胺醇	103.34	2.45	41	氯硝西洋	99.93	0.91
5	阿替洛尔	102.93	0.95	42	三唑仑	101.17	0.86
6	丁二胍	101.60	0.91	43	N-单去甲基西布曲明	100.59	1.24
7	麻黄碱	103.02	1.38	44	他达拉非	95.86	1.95
8	可乐定	103.78	3.75	45	格列吡嗪	104.73	2.74
9	青藤碱	102.05	2.50	46	利血平	98.90	2.63
10	苯乙双胍	99.78	2.57	47	西布曲明	103.25	3.50

11	卡托普利	98.78	3.14	48	甲苯磺丁脲	97.54	2.19
12	佐匹克隆	100.21	1.09	49	硫代艾地那非	96.92	3.21
13	哌唑嗪	100.67	1.68	50	硝苯地平	87.42	2.75
14	二氧丙嗪	102.99	2.23	51	格列齐特	89.86	3.01
15	罗格列酮	102.38	2.23	52	醋氯芬酸	81.57	3.32
16	文拉法辛	103.44	2.37	53	地西洋	93.12	2.17
17	那红地那非	108.31	3.69	54	格列波脲	100.43	3.48
18	氯美扎酮	98.24	2.24	55	格列苯脲	86.69	2.11
19	褪黑素	98.50	1.88	56	伪伐地那非	94.47	3.39
20	罗通定	102.60	1.94	57	尼群地平	95.80	2.65
21	氯苯那敏	106.29	2.44	58	格列美脲	99.26	2.66
22	红地那非	101.97	2.52	59	尼莫地平	90.92	1.75
23	芬氟拉明	102.92	1.64	60	洛伐他丁羟酸钠盐	82.25	1.52
24	伐地那非	99.14	1.36	61	尼索地平	89.32	3.47
25	羟基豪莫西地那非	98.61	1.38	62	格列喹酮	98.80	0.63
26	西地那非	104.07	2.02	63	那莫西地那非	90.97	1.39
27	豪莫西地那非	100.70	0.70	64	美伐他汀	92.23	1.72
28	氯氮卓	100.67	0.63	65	非洛地平	89.50	2.22
29	咪达唑仑	101.08	0.70	66	洛伐他汀	90.60	2.77
30	扎来普隆	100.38	0.82	67	瑞格列奈	101.58	1.14
31	氨基他达拉非	102.84	2.76	68	辛伐他汀	98.27	2.34
32	氨氯地平	101.76	3.43	69	脱羟基洛伐他汀	99.74	1.02
33	吡格列酮	99.51	0.74	70	氢氯噻嗪	96.13	3.24
34	奥沙西洋	97.92	1.93	71	巴比妥	89.82	4.64
35	艾司唑仑	99.18	1.13	72	苯巴比妥	81.38	3.99
36	硝西洋	95.79	3.16	73	呋塞米	97.72	3.72
37	酚酞	99.54	0.83	74	异戊巴比妥	85.91	2.75

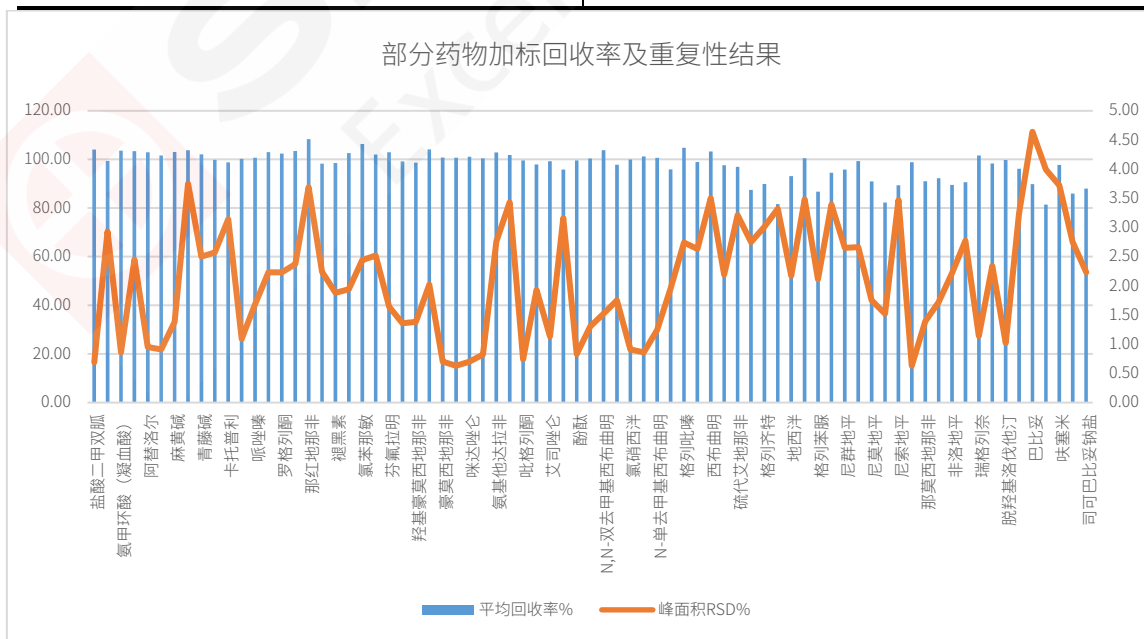


图 5. 部分药物加标回收率及重复性结果

3. 结论

本文利用 LCMS-8060NX 超高效液相色谱三重四极杆质谱系统,建立了保健食品中 110 种非法添加药物的筛查方法。样品经简单处理后即可上机检测,结合高效快速的检测方法,易于实现保健食品的高通量筛查。方法学评价结果显示该方案快速、稳定、可靠,可供相关检测行业人员参考。



LCMSMS检测保健品中42种非法添加物

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。近年来国家食品药品监督管理总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。

1. 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(+)	接口电压：4 kV
雾化气流速：3 L/min	加热模块温度：400°C
加热气流速：10.0 L/min	扫描模式：多反应监测(MRM)
接口温度：300°C	干燥气流速：10.0 L/min
D L 温度：250°C	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	-14	-22	-29
					79.95*	-14	-22	-30
32	西地那非	139755-83-2	2.123	475.2	58.00	-24	-44	-24
					100.00*	-23	-29	-19
33	豪莫西地那非	642928-07-2	2.543	489.2	113.05*	-14	-30	-21
					98.95	-14	-36	-17
34	枸橼酸羟基豪莫西地那非	139755-85-4	1.583	505.15	99.05	-24	-41	-19
					129.00*	-24	-31	-24
35	那莫西地那非	371959-09-0	1.387	460.2	283.00	-22	-35	-30
					311.10*	-23	-37	-22
36	红地那非	831217-01-7	4.259	467.2	127.10	-13	-32	-24
					297.05*	-13	-41	-30
37	那红地那非	949091-38-7	4.184	453.25	297.10*	-13	-41	-30

					166.10	-13	-52	-30
38	伪伐地那非	224788-34-5	1.349	460.25	312.10*	-23	-42	-21
					284.05	-23	-37	-30
39	盐酸伐地那非	224785-90-4	2.157	489.25	151.00	-24	-46	-28
					312.05*	-14	-40	-21
40	硫代艾地那非	856190-47-1	1.580	505.2	112.95	-24	-31	-21
					299.00*	-24	-40	-30
41	他达那非	171596-29-5	1.124	390.2	134.95	-19	-20	-26
					268.00*	-19	-14	-18
42	氨基他达那非	385769-84-6	1.087	391.15	262.00	-20	-32	-27
					269.10*	-20	-15	-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 μ g/mL于-20 $^{\circ}$ 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 μ m滤膜，滤液在50 $^{\circ}$ C下使用高纯氮气吹干，用200 μ L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。

2. 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。

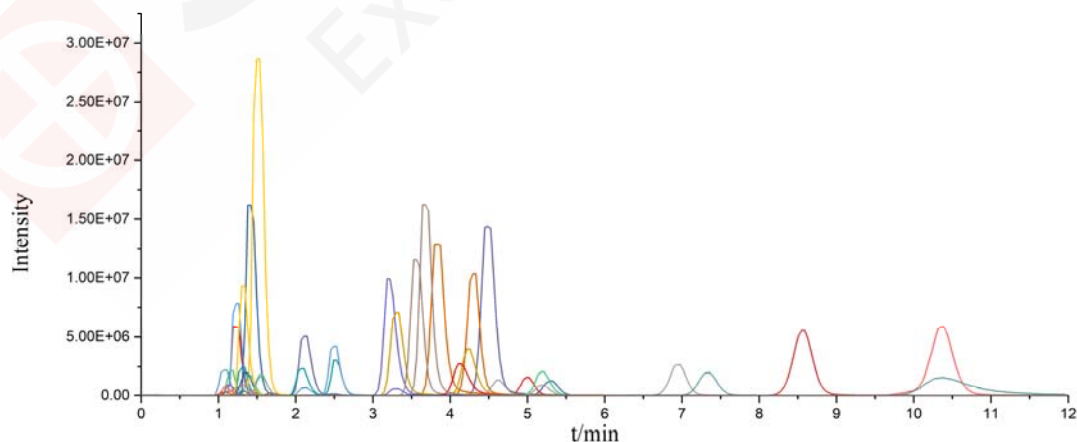


图 1. 42 种化学物质的总离子流图

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 (r2) 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 $\mu\text{g/g}$ 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	盐酸呱啶嗪	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。

3. 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。



LCMS-QTOF快速筛查保健品中非法添加药物

摘要: 本文利用岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 结合《保健品非法添加 QTOF 质谱库》建立了一种对保健品中非法添加物质的快速筛查方法。对 7 个样本中的非法添加物质进行定性分析, 其结果显示: 在 7 个样本中共筛查出 13 种添加化合物, 二级碎片与数据库匹配度高。使用该方法, 可通过一针进样, 快速完成目标物的定性筛查, 结果准确可靠。

关键词: 四极杆飞行时间串联质谱仪 保健品 非法添加

随着社会的发展, 越来越多的人关注保健, 在生活中也常服用保健品。为了追求利益, 部分不法生产者会在一些保健食品中非法添加各种药物以达到宣传的效果, 吸引消费者长期购买。然而长期食用这种食品, 可能会给消费者造成严重的身体健康问题。

对于保健品中非法添加物的检测一直是相关部门重点关注的领域。但是, 由于保健品的种类繁多, 需要针对每一类的保健品收集所需的标准品后才能建立对应的检测方法, 工作量大且效率低。因此, 非常需要一种灵敏、高效的检测方法能够快速对多种类的样品以及非法添加物进行检测。

本文使用岛津LCMS-9050超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪, 建立了一种对保健品中非法添加物快速定性的分析方法。对7个样品进行了分析, 可快速筛查出样品中的非法添加成分, 该方法准确可靠, 可为保健品的检测提供帮助。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置为:

输液泵	: LC-40B X3×2	系统控制器	: CBM-40
自动进样器	: SIL-40C	飞行时间质谱仪	: LCMS-9050
柱温箱	: CTO-40S	在线脱气机	: DGU-405
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.118; LabSolutions Insight Ver. 4.0SP2		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: GIST-HP_C18-AQ (150 mm×2.1 mm., 1.9 μm (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-03)		
流动相	: A相-5 mM 乙酸铵 (0.1%甲酸); B相-乙腈		
流速	: 0.3 mL/min		
进样体积	: 1 μL	柱温	: 40°C
洗脱方式	: 梯度洗脱, B相初始浓度为30%, 洗脱程序见表1。		

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	15
9.50	泵	B.Conc	75
20.00	泵	B.Conc	95
30.00	泵	B.Conc	95
30.10	泵	B.Conc	15
30.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI(+/-)	加热模块温度	: 400°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	DL 温度	: 250°C
加热气流速	: 10.0 L/min	接口温度	: 300°C
干燥气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: MS Scan(m/z 100 -1000) DDA MS/MS (m/z 100 -1000)

1.3 样品前处理

1.3.1 提取溶液配制

分别配置以下 3 种提取溶液各 500 mL。

提取溶液 1: 乙腈: 甲醇: 10 mM 乙酸铵=10: 55: 35

提取溶液 2: 乙腈: 甲醇: 10 mM 乙酸铵 (含 0.1%甲酸) =10: 55: 35

提取溶液 3: 乙腈: 甲醇: 0.2%三乙胺水溶液=40: 30: 30

1.3.2 样品溶液配制

取样品研细, 称取 0.3 g, 置于 50 mL 容量瓶中, 分别加入上述提取液适量, 超声 10 min 使其溶解, 放置冷却至室温, 加提取液稀释至刻度, 摇匀。放置过夜, 取上清液适量, 高速离心 (10000 r/min), 精密吸取上清液 1 mL, 至于进样小瓶中; 每种样品分别用上述三种提取液提取。

2. 结果与讨论

分别使用 DDA(+/-)模式对每个样品经过三种不同提取后的溶液进行采集, 结合《保健品非法添加二级质谱库》, 使用 Insight Explore 软件的批量搜库功能, 对每个样品中的非法添加进行快速筛查。数据处理步骤如下:

导入目标化合物, 并设置合适的积分参数

导入进行筛查的二级质谱库

编辑“Flags”参数

批量搜库, 快速查看数据

2.1 导入化合物信息

将 DDA 数据导入 Insight Explore 软件, 在“Edit Method”项下的“Compounds”列表中添加需要筛

查的非法添加物的名称以及 m/z 信息。

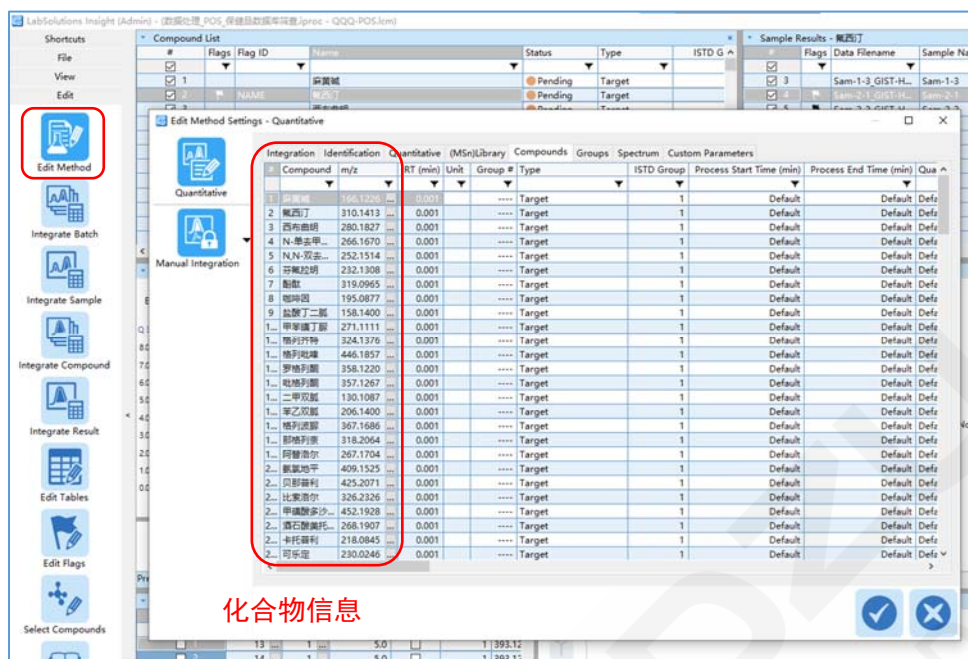


图 1. Insight Explore 软件截图

2.2 导入保健品二级质谱库

在“Edit Method”项下的“(MSn)Library”中添加《保健品非法添加二级质谱库》。如图 2 所示，添加了保健品中非法添加物的二级数据库，同时设置了搜索相同的前体离子等条件。

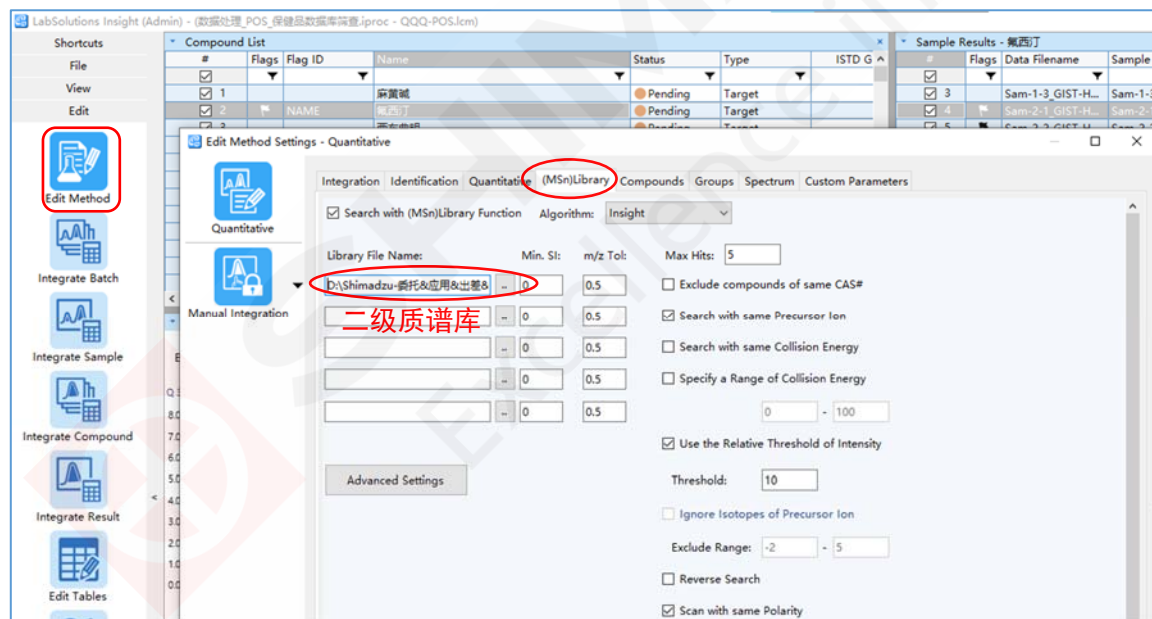


图 2. Insight Explore 软件截图

2.3 编辑“Flags”

在“Edit Flags”项下编辑结果判定的依据。如图3所示，本文中添加了两个判定依据，分别是“Lib Compound Name”和“Min. Library Similarity Index”，对于不满足其中任一条件的结果，会有“小旗”图标显示。

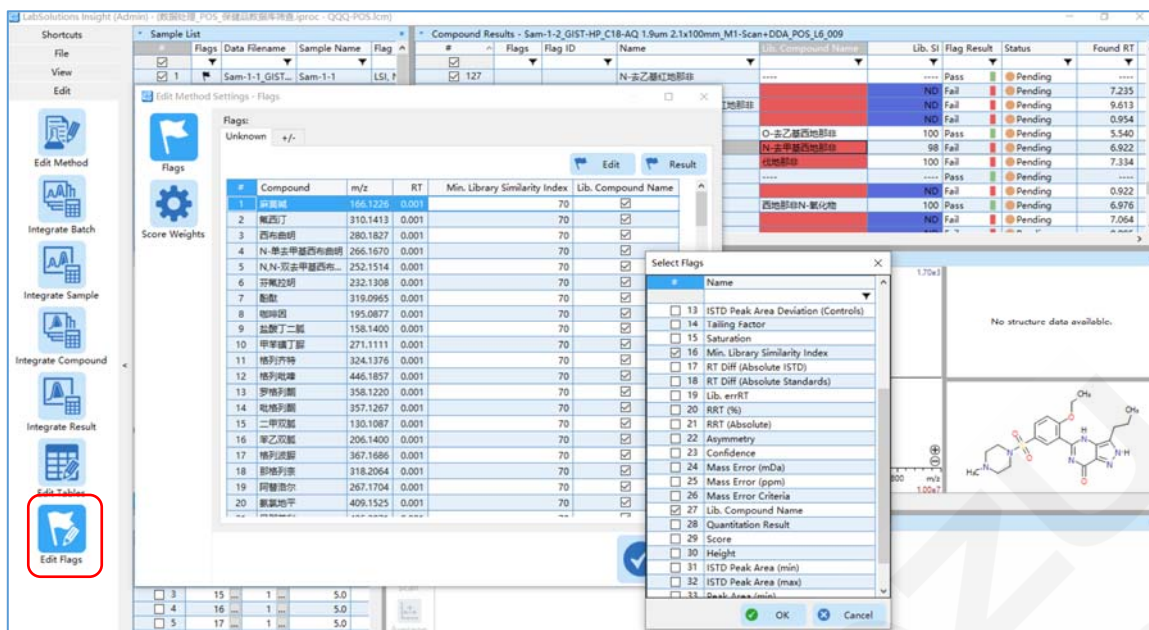


图 3. Insight Explore 软件截图

2.4 批量搜库及结果说明

对导入的数据使用“Search Library”。如图4所示，批量对导入的三个数据进行搜索。

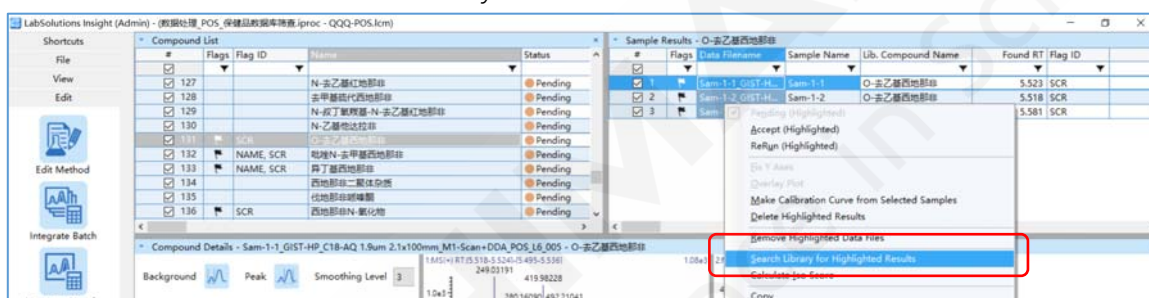


图 4. Insight Explore 软件截图

搜索结果如下图所示5所示，化合物列表中的名称“吡唑N-去甲基西地那非”二级碎片与数据库中质谱图匹配良好，匹配度大于70，故“Lib. SI”没有蓝色填充，但是名称与通过二级碎片比对得到的化合物名称不对，故在名称那一栏显示了红色，“Flag ID”显示了Name；“西地那非N-氧化物”二级碎片与数据库中质谱图匹配良好，匹配度大于70，且与数据库中名称一致，故没有Flag显示。



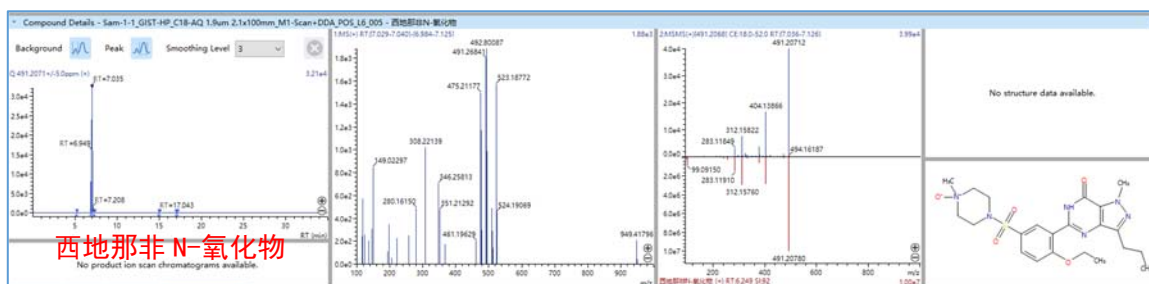


图 5. Insight Explore 软件截图

2.5 样品结果

利用上述方式进行批量搜库，7个样品的结果汇总如下表所示。



表 2. 13 种化合物在 7 个样品中的检出结果（面积值）

序号	化合物名称	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7
1	西地那非	2769373	2714488	2717451	3384771	8664063	8483894	19569747
2	他达拉非	1921641	1767011	2562125	1450922	N.D.	N.D.	1392645
3	脱硫伐地那非	13431	12999	31523	ND	789323	765683	15615
4	N-去乙基伐地那非	189833	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
5	N-去甲基西地那非	515718	438505	364713	355004	N.D.	N.D.	417011
6	吡唑 N-去甲基西地那非	63472	58470	54230	98954	1417040	1342914	76381
7	异丁基西地那非	84509	77690	152554	116668	2711682	2596266	96092
8	西地那非 N-氧化物	3089885	2948318	2977523	2316950	54638	77938	2534576
9	双去碳西地那非	25523	23882	25478	95905	219525	227367	26553
10	对乙酰氨基酚	N.D.	N.D.	N.D.	73844	N.D.	N.D.	N.D.
11	羟基豪莫西地那非	N.D.	N.D.	N.D.	19930	N.D.	N.D.	N.D.
12	去甲基哌嗪基西地那非磺酸	N.D.	N.D.	N.D.	14699	50303	49254	N.D.
13	氨基西地那非	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	15201	15492	N.D.

注：“N.D.”表示未检出。

3. 结论

本文利用岛津LCMS-9050超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，结合《保健品非法添加二级质谱库》快速对7个保健品样品中非法添加物进行筛查。结果显示：7个保健品样本中定性出13种非法添加物，所有定性出的化合物的二级碎片与质谱库匹配良好。通过7个保健品样本的测试验证，该方案可以实现一针进样，快速完成目标物的定性筛查，判定保健品中可能的非法添加物，具有一定的实际应用价值，供相关人员参考。

LCMS-QTOF快速筛查保健品中26种非法添加

摘要：本文利用岛津液相色谱-四极杆飞行时间质谱（Q-TOF）对保健食品中非法添加的降糖及抗疲劳药物进行定性分析。片剂或液体制剂经过乙腈提取，离心，移取上清液，过滤后进样分析。采用电喷雾离子源，正离子模式，数据采集使用 full scan MS 和 DDA 模式，根据岛津应用文集库，生成相应的优先离子列表。数据经过 LabSolutions Ver 5.95 软件解析，Formula Predictor 软件确认了 26 种非法添加化合物的 MS1 一级精确质谱信息、保留时间、质量数误差等信息。将不同碰撞能量（10、20、30、40 和 50V）下的目标化合物的二级质谱图导出，使用 ACD/Labs Ver2012 软件建立 26 种非法添加化合物的二级质谱库，便于后续未知物二级质谱图自动检索匹配评分。此外，对 26 种目标化合物的线性范围以及加标回收率进行了考察，结果显示，26 种化合物在两个数量级线性范围内线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.99，平均回收率 75.8%~128.4%，满足定性检测需要。

关键词：液相色谱-四极杆飞行时间质谱 Q-TOF 非法添加 保健食品

随着经济和社会的发展，人们对于保健食品的需求日益增长。市场上流通的保健食品中多有宣称“抗疲劳”、“降血压”等功能，一些非法厂商为了达到其宣传的疗效，在保健食品中非法添加某些化学成分。这些保健食品在食用后，会出现明显的不良反应，对人们的身体健康造成较大的安全隐患。常见的化学添加主要有二甲双胍类降糖药、磺脲类降糖药、胰岛素增敏剂、那非类药物等。

国家市场监督管理总局（原食品药品监督管理局）已发布了 138 号公告-《保健食品中 75 种非法添加化学药物的检测》标准、2018 年第 14 号公告--《食品中那非类物质的测定》食品补充检验方法等相关标准及指导文件，覆盖了市面上主要的非法添加药物种类。

本文参考前述标准条件，建立了基于岛津超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 LCMS-9030 的保健品中非法添加降糖或降血压药物的定性方法，MS1 一级高质量准确度数据快速筛查，MS2 二级特征碎片离子匹配精准定性。为保健品中非法添加物筛查方法建立提供参考。

1、实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 Nexera 系统--四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030。Nexera 系统包括 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A₅（在线脱气机），SIL-30AC 自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A（系统控制器）。数据采集和分析由 LabSolutions Ver5.95（工作站）完成。质谱图结构分析由 ACD/Labs Ver2012 完成。

1.2 样品制备

参考食药总局发布的 138 号公告-《保健食品中 75 种非法添加化学药物的检测》标准。称取 0.1 g 保健品（片剂或液体制剂），用 1 mL 超纯水溶解，振摇 1 min，静置 10 min，加入 4 mL 乙腈，超声 10 min，取 1 mL 上清液，12000 r/min 离心 5 min，0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后进样分析。

1.3 分析条件

液相条件：

流动相：A 相-0.1%甲酸水溶液；B 相-0.1%甲酸乙腈 流速：0.4 mL/min

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 2.1 mm I.D. ×100 mm L., 2.6 μm

柱温：40℃

进样体积: 2 μ L (Co-injection, 纯水=15 μ L)

洗脱方式: 梯度洗脱, 见表 1

表 1 梯度洗脱条件

时间	单元	处理命令	值
0.30	泵	B.Conc	10
4.00	泵	B.Conc	40
5.50	泵	B.Conc	95
7.50	泵	B.Conc	95
7.60	泵	B.Conc	10

质谱条件:

离子源: ESI(+) 接口电压: 4.5 kV 雾化气: 3.0 L/min

加热气流量: 10.0 L/min 干燥气流量: 10.0 L/min 接口温度: 300°C

DL 管温度: 250°C 加热块温度: 400°C

校准方法: 外标法校准质量数 (NaI), 分辨率>30000, 质量误差<2 ppm。

扫描模式: MS 全扫描 m/z 100-600、MS/MS(DDA)采集 m/z 50-600

2. 结果与讨论

2.1 定性分析

根据待测化合物的结构特征, 选择正离子模式进行质谱参数的优化。26 种非法添加化合物均能形成 $[M+H]^+$ 准分子离子峰。26 种化合物的精确质荷比信息如下表 2, 其中伪伐地那非与那末西地那非互为同分异构体, 经过单标确认, 伪伐地那非保留时间 5.52 min, 那末西地那非的保留时间为 5.98 min, 可以实现完全的色谱分离。类似的, 盐酸伐地那非在溶液中呈现离子状态, 脱掉了盐酸基团, 此时的结构与豪莫西地那非互为同分异构体, 一级精确质荷比相同, 通过保留时间也能予以区分。使用岛津的 Formula Predictor 软件计算 26 种目标化合物的理论 $[M+H]^+$ 峰, 实测 $[M+H]^+$ 与理论值的偏差均 <2 ppm, 优于定性的一般要求 (<5 ppm)。26 种目标化合物的一级提取离子流图如图 1 所示。

表 2 26 种非法添加化合物的保留时间、精确质量数、质量数偏差

编号	名称	分子式	CAS 号	保留时间/min	理论 $[M+H]^+$	实测 $[M+H]^+$	误差(ppm)
1	格列本脲	C ₂₃ H ₂₈ ClN ₃ O ₅ S	10238-21-8	5.76	494.15110	494.15093	-0.34
2	盐酸苯乙双胍	C ₁₀ H ₁₅ N ₅	834-28-6	1.55	206.14002	206.13980	-1.07
3	盐酸丁二胍	C ₆ H ₁₅ N ₅	1190-53-0	0.79	158.14002	158.13974	-1.78
4	马来酸罗格列酮	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	155141-29-0	3.02	358.12199	358.12235	1.01
5	格列齐特	C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₃ S	21187-98-4	5.55	324.13764	324.13773	0.29
6	格列喹酮	C ₂₇ H ₃₃ N ₃ O ₆ S	33342-05-1	5.98	528.21628	528.21609	-0.38
7	格列美脲	C ₂₄ H ₃₄ N ₄ O ₅ S	93479-97-1	5.84	491.23227	491.23198	-0.58
8	盐酸吡格列酮	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	112529-15-4	3.54	357.12674	357.12672	-0.05
9	格列吡嗪	C ₂₁ H ₂₇ N ₅ O ₄ S	29094-61-9	5.29	446.18565	446.18521	-1.00
10	甲苯磺丁脲	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	64-77-7	5.29	271.11109	271.11070	-1.46
11	格列波脲	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O ₄ S	26944-48-9	5.65	367.16861	367.16840	-0.57
12	瑞格列奈	C ₂₇ H ₃₆ N ₂ O ₄	135062-02-1	5.33	453.27479	453.27521	0.93
13	枸橼酸西地那非	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	171599-83-0	4.03	475.21220	475.21220	0.01

14	枸橼酸羟基豪莫							
	西地那非	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S		3.98	505.22277	505.22266	-0.21	
15	伪伐地那非	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S	224788-34-5	5.52	460.20130	460.20171	0.89	
16	氨基他达那非	C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₄	385769-84-6	4.79	391.14008	391.13961	-1.20	
17	那红地那非	C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃	949091-38-7	3.63	453.26087	453.26020	-1.48	
18	豪莫西地那非	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	642928-07-2	4.05	489.22785	489.22763	-0.46	
19	那末西地那非	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S	371959-09-0	5.98	460.20130	460.20135	0.11	
20	红地那非	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	831217-01-7	3.75	467.27652	467.27611	-0.86	
21	盐酸伐地那非	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	224785-91-5	3.46	489.22785	489.22715	-1.44	
22	N-去甲基西地那非							
	非	C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	139755-82-1	6.01	461.19655	461.19647	-0.18	
23	丙氧基艾地那非	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₄ S	1391053-82-9	4.57	503.24350	503.24317	-0.66	
24	羟丙基去甲基他							
	达那非	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₅	1353020-85-5	5.08	434.17105	434.17077	-0.65	
25	去甲基卡波地那							
	非	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃	147676-79-7	3.37	439.24522	439.24452	-1.59	
26	N-乙基他达那非	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₄	1609405-34-6	5.38	404.16048	404.16011	-0.93	

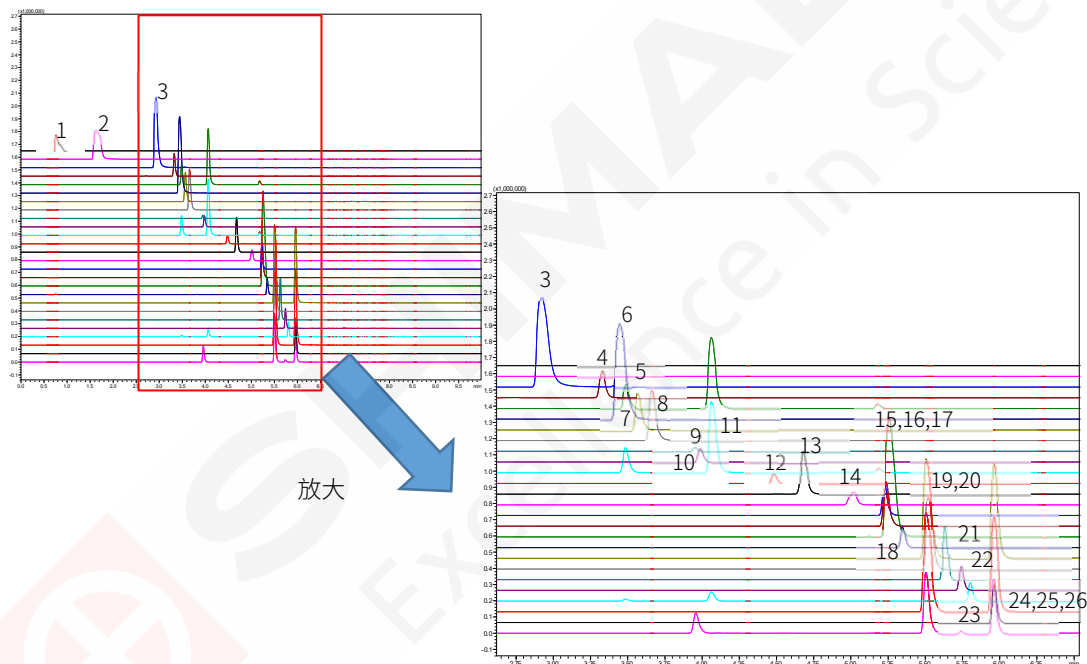


图 1 26 种化合物的提取离子流图

(注：1 盐酸丁二胍、2 盐酸苯乙双胍、3 马来酸罗格列酮、4 去甲基卡波地那非、5 盐酸伐地那非、6 盐酸吡格列酮、7 那红地那非、8 红地那非、9 枸橼酸羟基豪莫西地那非、10 枸橼酸西地那非、11 豪莫西地那非、12 丙氧基艾地那非、13 氨基他达那非、14 羟丙基去甲基他达那非、15 格列吡嗪、16 甲苯磺丁脲、17 瑞格列奈、18 N-乙基他达那非、19 伪伐地那非、20 格列齐特、21 格列波脲、22 格列本脲、23 格列美脲、24 那末西地那非、25 格列喹酮、26 N-去甲基西地那非)

通过以上条件的确认，建立了 26 种非法添加化合物的定性方法。岛津 Formula Predictor 分子式预测软件可以实现基于一级精确质荷比、同位素丰度比的匹配定性，得分在 70 分以上，可以判定为疑似非法添加物。以格列喹酮为例，使用岛津 Formula Predictor 软件计算其同位素丰度比例得分，设定误差范围 5 ppm，设定元素组成为 C、H、O、N、S、Cl 以及元素个数分别为 300、150、12、12、1，加合模式为+H，图 2a 格列喹酮为其一级提取离子流图，图 2b 为同位素丰度比与理论值的匹配度得分。结果显示，C₂₇H₃₃N₃O₆S 排

名第一，检索得分为 95.60 分，与格列隆酮的元素组成一致。

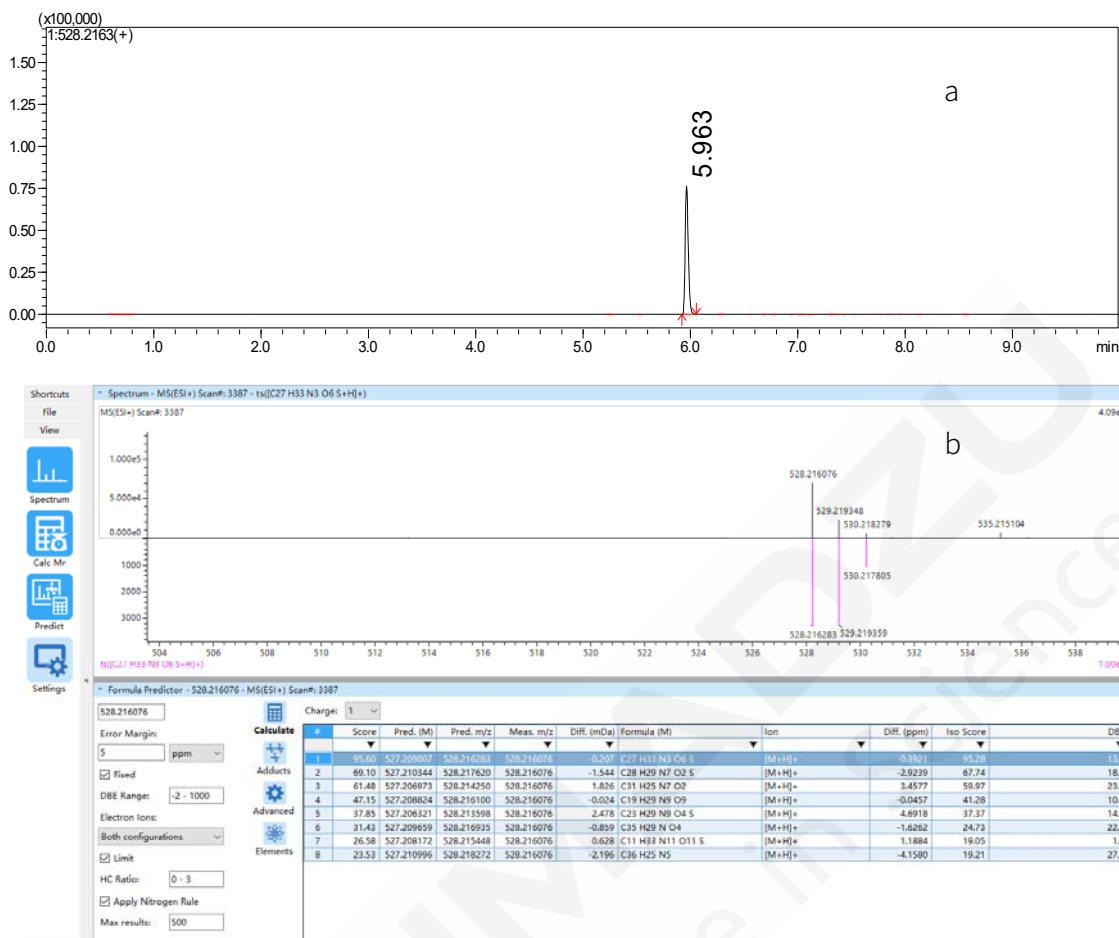


图 2 格列隆酮一级提取离子流图 (a) 同位素丰度比匹配结果截图 (b)

对于一级定性结果确认的化合物还需使用二级质谱碎片离子进一步确证。因此，根据 26 种目标物前体离子在不同的碰撞能量下 (10、20、30、40 和 50 V) 进行测定，采集二级质谱库所需的碎片离子信息，通过 ACD/Labs 2012 软件建立化合物的二级质谱库。自建谱图库中包括每种化合物的名称、分子式、精确分子量、CAS 号、一级精确质荷比信息、不同碰撞能下的二级全扫描质谱图。所建立的二级谱库如下图所示。

ACD/Spectrum DB: Database Window - [D:\LEGAL ADDITION DATABASE\LEGAL ADDITION.CFD]

Database View Record Search Lists Plates Options ACD/Labs Help

File Table Default (One Record)

#	ID	Structure	Spectrum	Formula	FW	HQI	Dataset File	CAS	Name
1	1			C ₅ H ₁₂	72.1054 (72.1054)			1118-70-4	益麟二甲烷
2	4			C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₅ S	404.0035			10238-21-8	格列本脲
3	7			C ₁₀ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ S	241.1205 (205.2588+36.4609)			934-29-6	益麟甲二烷
4	10			C ₉ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ S	192.5777 (157.2160+36.4609)			1190-03-0	益麟丁二烷
5	13			C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₅ S	412.4999 (327.4269+36.4609)			155141-29-0	马来酸罗格列酮
6	16			C ₁₉ H ₂₁ N ₂ O ₅ S	323.4105			21107-99-4	格列齐特
7	19			C ₂₀ H ₂₃ N ₂ O ₅ S	327.6324			23342-05-1	格列喹酮
8	22			C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₅ S	404.0156			93478-97-1	格列美脲
9	25			C ₁₉ H ₂₁ Cl ₂ N ₂ O ₅ S	392.8999 (326.4269+36.4609)			112529-15-4	马来酸格列酮
10	28			C ₂₁ H ₂₇ N ₂ O ₅ S	445.5352			29094-61-0	格列伏酮
11	31			C ₁₂ H ₁₉ N ₂ O ₅ S	270.3479			64-77-7	仲苯磺丁脲
12	34			C ₁₉ H ₂₃ N ₂ O ₅ S	366.4750			26944-45-9	格列伏脲
13	37			C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄	452.5557			135062-02-1	格列伏酮
14	40			C ₂₈ H ₃₈ N ₂ O ₁₁ S	606.6999 (474.2364+36.4609)			171099-03-0	格列喹酮地那非
15	43			C ₂₈ H ₃₈ N ₂ O ₁₁ S	606.6999 (474.2364+36.4609)			C28H38N2O11S	格列喹酮地那非

ID: 1 A: 127 B: 27 Last Updated: 06/11/2010 15:32 Single DU

图 3 26 种非法添加化合物的二级质谱库截图 (部分)

将样品的碎片离子信息与谱库中的碎片离子信息进行匹配, ACD/Lab Ver2012 软件根据匹配结果, 给出相似度得分。经过优化, 二级匹配得分>60 的非法添加物可判定为目标物。图 4 为格列喹酮的二级质谱匹配结果, 可以明显看到主要的特征碎片与谱库匹配良好, 格列喹酮二级匹配得分为 70.38 分, 因此可以确定样品中含有格列喹酮。参照欧盟 2002/657/EC 规定: 当使用高分辨质谱时, 每个离子可以获得两个定性得分。而岛津 LCMS-9030 通过全扫描+DDA 模式获得一级的精确质荷比和二级碎片离子信息, 格列喹酮可获得 16 个定性得分, 完全满足定性要求, 可实现无标准品情况下进行快速筛查与精准确证。



图 4 格列喹酮的二级质谱库检索结果

2.2 线性范围

以乙腈为溶剂, 将 26 种单标母液 (0.2899~1.2546 mg/mL) 稀释为 1000 倍的混合标准溶液, 作为校

准曲线最高浓度点 L8, 再逐级二倍稀释至 L1 (0.002~0.010 μg/mL)。在前述分析条件下分析, 以一级质谱峰面积对浓度做标准曲线, 并进行线性拟合。结果显示, 在各自线性范围内, 26 种目标化合物线性关系良好, 相关系数 r 均大于 0.99。以 S/N=10 计算方法的定量限。标准曲线方程、线性相关系数及定量限如下表 3 所示。

表 3 26 种非法添加化合物的校准曲线及定量限

名称	校准曲线	线性范围	线性相关系数 r	定量限 (μg/mL)
格列本脲	$Y = (127577)X + (-3246.92)$	0.0080-1.0260	0.9990	0.0085
盐酸苯乙双胍	$Y = (1.24740e+006)X + (6861.64)$	0.0085-1.0875	0.9994	0.0013
盐酸丁二胍	$Y = (420338)X + (8902.94)$	0.0083-1.0580	0.9973	0.0004
马来酸罗格列酮	$Y = (2.35986e+006)X + (43425.9)$	0.0085-0.5441	0.9942	0.0004
格列齐特	$Y = (820275)X + (15841.9)$	0.0087-1.1077	0.9965	0.0003
格列喹酮	$Y = (232757)X + (-2294.26)$	0.0074-0.9444	0.9998	0.0025
格列美脲	$Y = (71031.3)X + (-3142.47)$	0.0196-1.2546	0.9986	0.0262
盐酸吡格列酮	$Y = (3.04098e+006)X + (12422.5)$	0.0080-0.2556	0.9980	0.0004
格列吡嗪	$Y = (178298)X + (-3075.83)$	0.0084-1.0754	0.9998	0.0053
甲苯磺丁脲	$Y = (373754)X + (3157.70)$	0.0088-1.1248	0.9984	0.0014
格列波脲	$Y = (634501)X + (-4994.64)$	0.0077-0.4935	0.9999	0.0019
瑞格列奈	$Y = (2.76461e+006)X + (51262.2)$	0.0083-0.5338	0.9915	0.0002
枸橼酸西地那非	$Y = (206052)X + (-4344.84)$	0.0153-0.2441	0.9957	0.0146
枸橼酸羟基豪莫				
西地那非	$Y = (20008.3)X + (-2601.21)$	0.1287-1.0299	0.9940	0.0361
伪伐地那非	$Y = (2.53527e+006)X + (8896.53)$	0.0055-0.3523	0.9985	0.0001
氨基他达那非	$Y = (305600)X + (-6606.66)$	0.0160-1.0216	0.9998	0.0053
那红地那非	$Y = (539834)X + (-2375.43)$	0.0086-0.5477	0.9995	0.0023
豪莫西地那非	$Y = (740037)X + (-6431.58)$	0.0070-0.9004	0.9999	0.0013
那末西地那非	$Y = (1.45120e+006)X + (16732.7)$	0.0061-0.7757	0.9966	0.0002
红地那非	$Y = (730542)X + (485.243)$	0.0049-0.6282	0.9990	0.001
盐酸伐地那非	$Y = (310957)X + (-218.165)$	0.0040-0.5104	0.9976	0.0025
N-去甲基西地那非	$Y = (864945)X + (-2598.04)$	0.0031-0.3956	0.9999	0.0014
丙氧基艾地那非	$Y = (203136)X + (-3623.76)$	0.0091-0.2899	0.9966	0.0275
羟丙基去甲基他达那非	$Y = (245975)X + (-5543.24)$	0.0132-0.4224	0.9980	0.0216
去甲基卡波地那非	$Y = (410408)X + (-6828.31)$	0.0108-0.3446	0.9984	0.0056
N-乙基他达那非	$Y = (272124)X + (432.948)$	0.0064-0.4111	0.9949	0.0014

2.3 重复性考察

标准曲线 L6 点按照前述条件重复进样 6 次, 考察方法的重复性, 结果如下表 5 所示, 除了二甲双胍类降糖药保留较弱, 出现了一些保留时间偏移, 其余化合物保留时间 RSD<1.6%, 面积的 RSD<5%。

表 3 26 种非法添加化合物的保留时间及面积的 RSD

名称	保留时间 (min)	保留时间 RSD%	面积 RSD%
格列本脲	5.760	0.22	2.15
盐酸苯乙双胍	1.546	3.83	1.16

盐酸丁二胍	0.790	3.53	1.59
马来酸罗格列酮	3.020	1.54	0.90
格列齐特	5.554	0.24	1.68
格列喹酮	5.978	0.20	0.81
格列美脲	5.841	0.21	3.47
盐酸吡格列酮	3.541	1.06	0.50
格列吡嗪	5.291	0.24	1.55
甲苯磺丁脲	5.291	0.27	3.00
格列波脲	5.652	0.23	1.39
瑞格列奈	5.329	0.23	1.54
枸橼酸西地那非	4.030	0.60	3.78
枸橼酸羟基豪莫西地那非	3.979	0.58	3.95
伪伐地那非	5.520	0.23	1.69
氨基他达那非	4.793	0.57	0.92
那红地那非	3.625	0.86	1.54
豪莫西地那非	4.045	0.62	0.67
那末西地那非	5.976	0.20	0.65
红地那非	3.745	0.76	1.21
盐酸伐地那非	3.455	0.93	3.35
N-去甲基西地那非	6.012	0.20	0.83
丙氧基艾地那非	4.574	0.60	3.21
羟丙基去甲基他达那非	5.084	0.37	4.54
去甲基卡波地那非	3.367	1.08	1.28
N-乙基他达那非	5.377	0.22	1.97

2.4 回收率及精密度考察

以阿卡波糖降糖片为空白样品，添加 L5 和 L7 浓度的混标，重复进样 6 针，分析 26 种非法添加样品的回收率及精密度。目标物的回收率均大于 70%，6 针重复的面积 RSD 均小于 4%，具体结果见表 6。

表 4 空白加标的回收率及精密度

名称	L5 回收率%	面积 RSD%	L7 回收率%	面积 RSD%
格列本脲	97.8	0.5	97.7	0.5
盐酸苯乙双胍	110.3	1.0	93.7	1.2
盐酸丁二胍	98.3	0.7	100	0.7
马来酸罗格列酮	96.2	0.7	100.4	1.4
格列齐特	92.8	0.7	96.8	0.4
格列喹酮	98.3	0.8	98.7	0.5
格列美脲	103.1	0.9	101.9	0.6
盐酸吡格列酮	96.4	0.7	95.4	1.8
格列吡嗪	95.9	0.4	100.8	0.8
甲苯磺丁脲	97.5	1.2	101.8	0.7
格列波脲	105.3	0.7	98.3	0.8
瑞格列奈	97	0.3	97.5	0.6
枸橼酸西地那非	75.8	2.2	128.4	1.2
枸橼酸羟基豪莫西地那非	78.7	3.9	87.1	1.3
伪伐地那非	92.1	0.7	95.5	0.6

氨基他达那非	100.5	1.3	103	1.3
那红地那非	87.2	1.4	91.9	0.7
豪莫西地那非	91.9	1.2	97	0.4
那末西地那非	93.7	0.7	96.6	0.5
红地那非	92.6	0.9	96	0.9
盐酸伐地那非	87.2	2.7	95.5	1.3
N-去甲基西地那非	93.4	0.7	95.1	0.8
丙氧基艾地那非	91.9	1.7	97.3	0.7
羟丙基去甲基他达那非	109.4	0.4	109.5	0.8
去甲基卡波地那非	110.4	1.7	111.9	0.9
N-乙基他达那非	88	1.2	93.1	0.5

2.5 实际样品测定

将某疑似非法添加的片剂粉碎，称取 0.1 g，按照 1.2 进行样品处理，根据一级提取离子流图出峰情况，可以看到该化合物与枸橼酸西地那非保留时间一致。将一级质谱图导入 Formula Predictor 软件，得分最高的分子为 $C_{22}H_{30}N_6O_4S$ ，与西地那非一致；同位素丰度比与理论值匹配良好，得分 98.65 分，如图 5 所示。为了进一步确认该药片所含非法添加的信息，将其二级质谱图在前述建立的非法添加库中进行检索匹配，结果如图 6 所示，该二级谱图与库中枸橼酸西地那非匹配良好，相似度 77.13。由此，可以确证该片剂中可能含有西地那非。

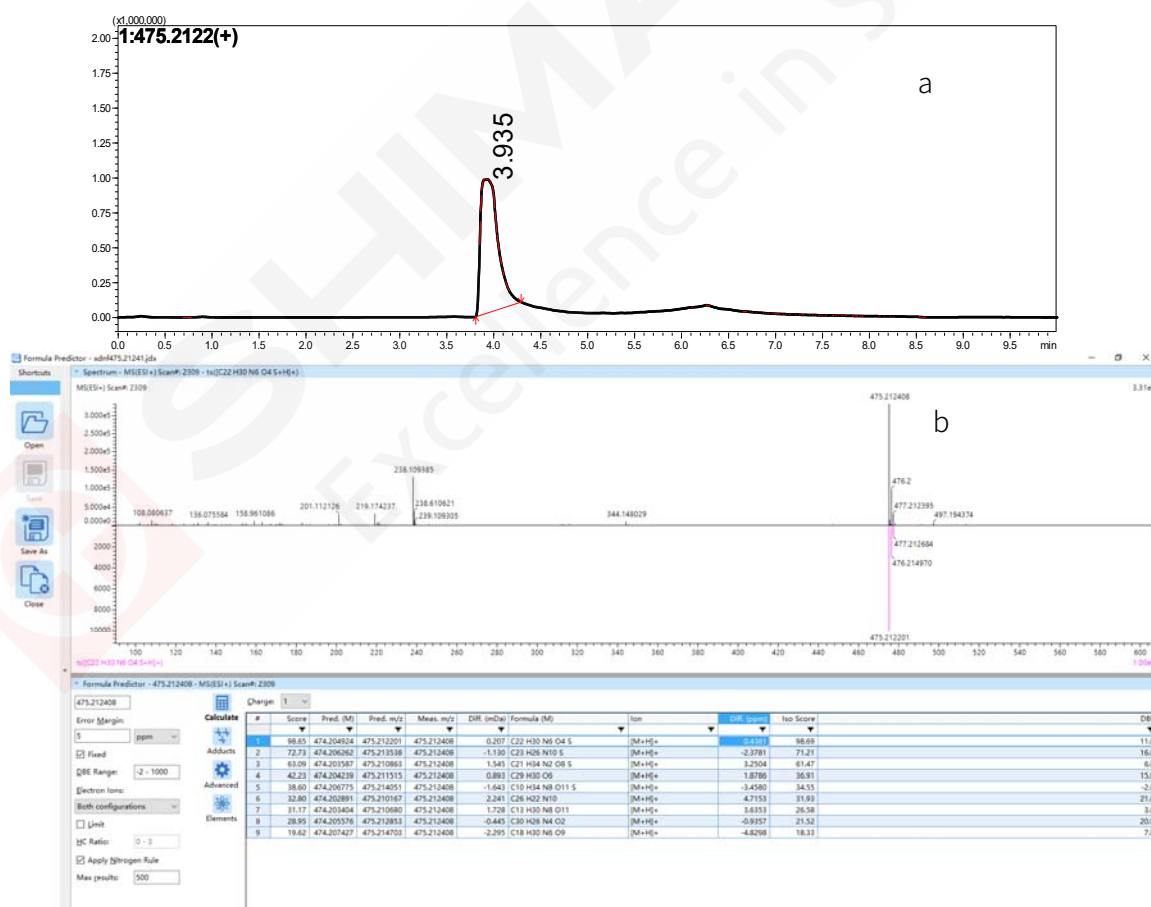


图 5 某样品的一级提取离子流图 (a) 和同位素丰度比匹配结果截图 (b)

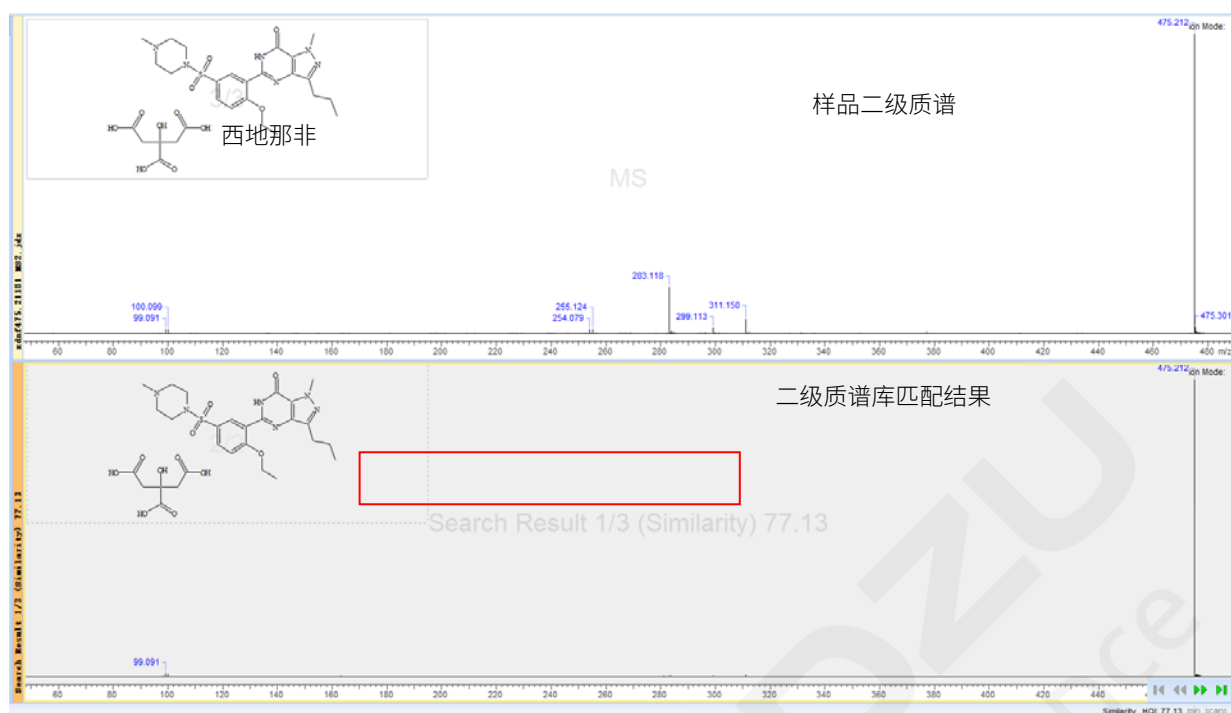


图 6 某样品的二级质谱库检索结果

3. 结论

本文采用岛津 Q-TOF 建立了 26 种降糖及抗疲劳药物的筛查方法。利用目标化合物一级精确质荷比、保留时间、同位素丰度比等信息，结合二级谱库搜索，实现了无需对照品同时筛查保健品中 26 种非法添加药物的需求。26 种目标物在 0.0031~1.2546 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性良好，相关系数 >0.99 ，平均回收率 75.8%~128.4%。该方法快速、准确，分析通量高，为保健品中非法添加确认提供参考。

附录 违禁检测项目和岛津仪器应对一览表

序号	检测类别	检测项目	岛津应对仪器	参考标准	页码
1	缓泻药类	番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚	LCMS-8050RX	BJS 201917	P7
2	辅助降血脂类	双醋酚丁等 19 种化合物	LCMS-8050	BJS 202209	P11
3	减肥类	麻黄碱、芬氟拉明和西布曲明	LCMS-8040	-	P14
		奥利司他	LCMS-8040	-	P19
		西布曲明、芬氟拉明、去氢表雄酮和氟西汀	GCMS-QP2020 NX	-	P22
4	辅助降血糖类	维达列汀等 22 种	LCMS-8050	BJS 201901	P27
		二甲双胍等 11 种	LCMS-8030		P34
5	辅助降血压类	酚妥拉明等 5 种	LCMS-8050	BJS201808	P39
6	缓解疲劳类	西地那非等 90 种那非类	LCMS-8050; LCMS-9030	BJS 201805	P44 P61
7	增强免疫力类	淫羊藿苷、金丝桃苷和补骨脂素	LCMS-8045	BJS202303	P71
8	抗风湿类	二氟尼柳等 18 种	LCMS-8045	BJS201714	P76
9	止咳平喘类	吗啡等 22 种	LCMS-8060NX	T/GITU 012-2021	P83
10	解热镇痛类	甲基泼尼松龙等 63 种激素	LCMS-8050	BJS201713、 T/CCAA 73-2023	P90
		雌二醇、雌酮、己烯雌酚	LCMS-8040	-	P98
11	改善睡眠安神类	阿普唑仑等 7 种苯二氮卓	LCMS-8040	-	P103
		巴比妥、苯巴比妥、异戊巴比妥和速可眠	LCMS-8040	-	P108
12	植物毒素类	东莨菪碱等 24 种生物碱	LCMS-8050	-	P113
		石斛碱等 68 种植物毒素	LCMS-8045	-	P119
13	食源性兴奋剂	克伦特罗等 86 种	LCMS-8060NX	-	P128
		阿替洛尔等 20 种β受体阻断剂	LCMS-8045	-	P141
14	综合筛查	二甲双胍等 110 种	LCMS-8060NX	BJS 201710	P146
		西布曲明等 42 种	LCMS-8045	-	P162
		筛查实际样品中非法添加药物	LCMS-9050	-	P169
		格列本脲等 26 种非法添加药物	LCMS-9030	-	P174

分析测试仪器客服热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

本公司在此对中国地图标注信息的行为仅限于表明本公司在中国各地分支机构的区域分布状况, 不作为任何测绘、绘制或其他用途。

本产品资料所宣传的内容, 以本版本为准, 资料中的试验数据除注明外均为本公司的试验数据。本资料所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知。

印刷日期: 2024

岛津企业管理(中国)有限公司 / 岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层
邮政编码: 100020
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码: 110016
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501
邮政编码: 710065
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座
邮政编码: 830002
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室
邮政编码: 450007
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋
邮政编码: 200233
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼
邮政编码: 610063 B座12层
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

南京

南京市鼓楼区汉中路2号亚太商务楼27层B座
邮政编码: 210005
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

重庆

重庆市渝中区长滨路2号来福士A座601
邮政编码: 400011
电话: (023)6380-6057 传真: (023)6380-6551

武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室
邮政编码: 430060
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦
邮政编码: 510656
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室
邮政编码: 650021
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

深圳

深圳市南山区粤海街道高新南七道18号高新技术产业园区R3-B座一楼
邮政编码: 518057
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室
邮政编码: 410005

香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室
SUITE 1028,OCEAN CENTRE,HARBOUR CITY,
TSIM SHA TSUI,KOWLOON,HONG KONG
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

株式会社 岛津制作所

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
电话: 81(75)823-1111 传真: 81(75)811-3188
URL: <http://www.shimadzu.com>

本书中所记载的公司名称、产品服务名称及商标均为株式会社岛津制作所
的注册商标或商标。本书中有未标明 TM 标志和 © 标志之处。
本书中所使用的其他公司的商号、商标的所有权非株式会社岛津制作所所有。