

三重四极杆液质联用仪快速检测凉茶中非法添加药物

LCMSMS-713

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 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》，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。

■ 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℃

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

MRM 参数: 见表 2

接口电压: 1 kV(+), -3 kV(-)

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，8000 转 /min 离心 3 min，过有机滤膜后，上机备用。

■ 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。

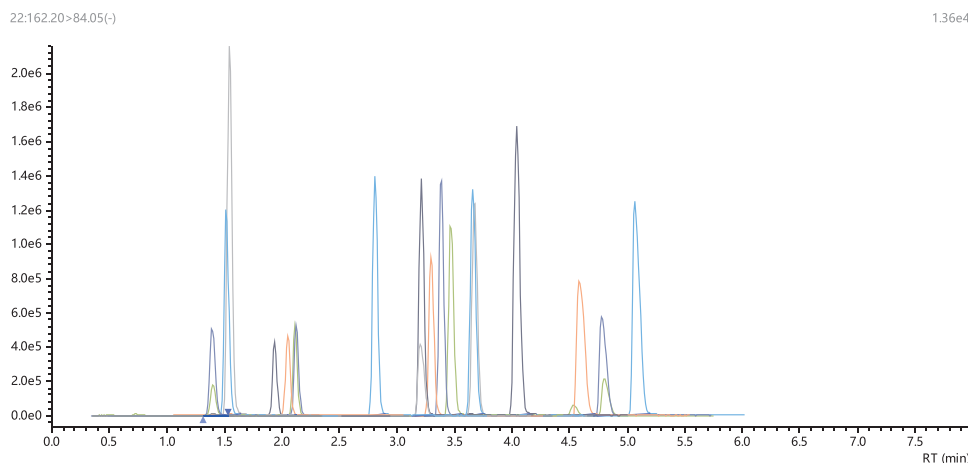


图 1 22 种止咳平喘非法添加物的色谱图（浓度为 1 ng/mL~10 ng/mL）

2.2 校准曲线

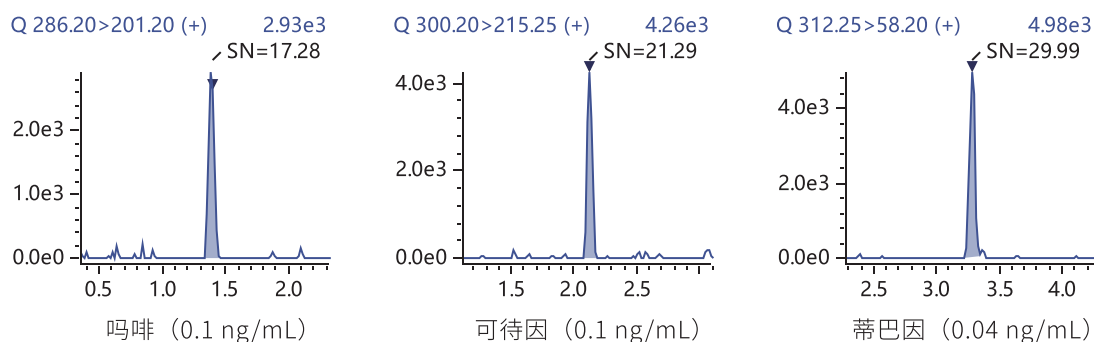
用 10% 甲醇水溶液（含 0.1% 甲酸）将 22 种止咳平喘非法添加物质按逐级稀释的方法，依次稀释，得到一系列不同浓度的混合标准工作溶液。上机分析后，以各目标物的加标浓度为横坐标，目标物峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，所得校准曲线线性关系良好，均大于 0.995，线性方程及相关系数见表 3。

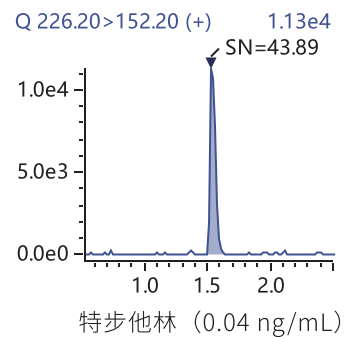
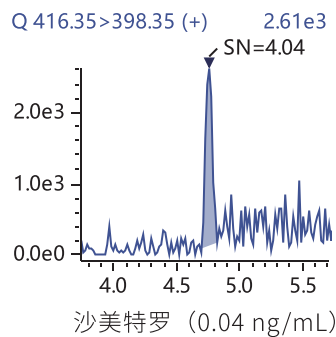
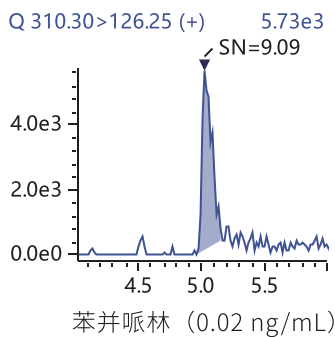
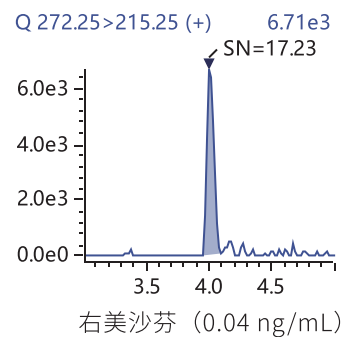
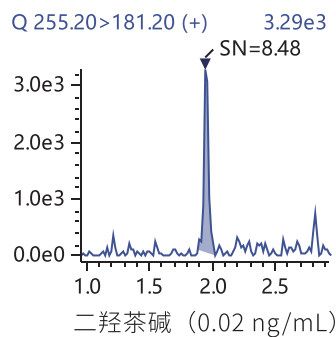
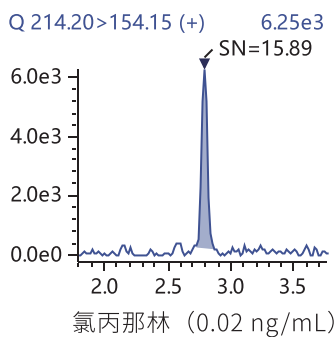
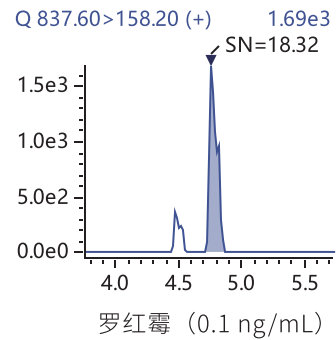
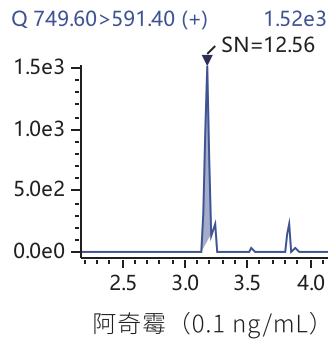
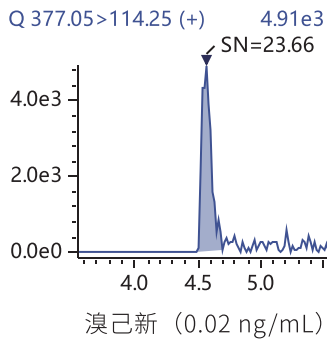
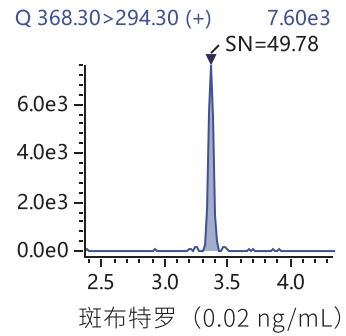
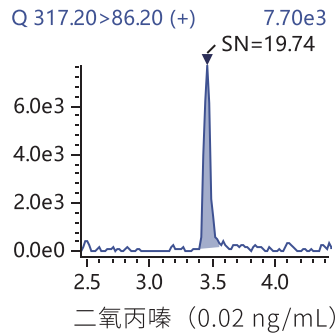
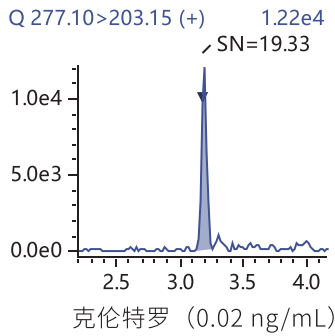
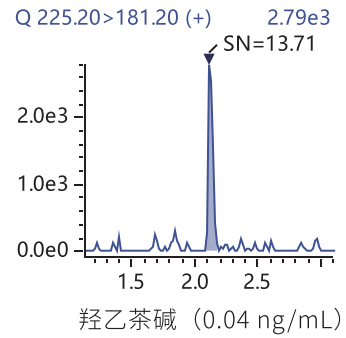
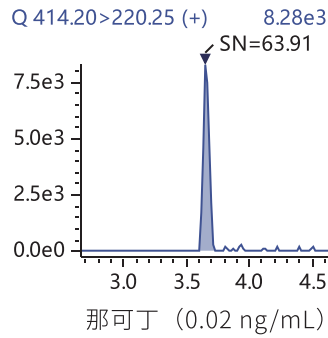
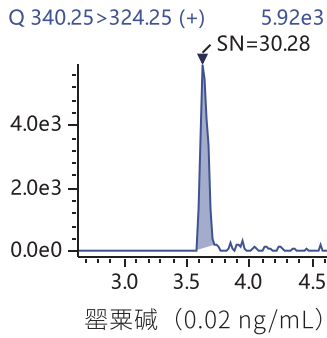
表 3 校准曲线

序号	化合物	保留时间 /min	线性范围 ng/mL	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。





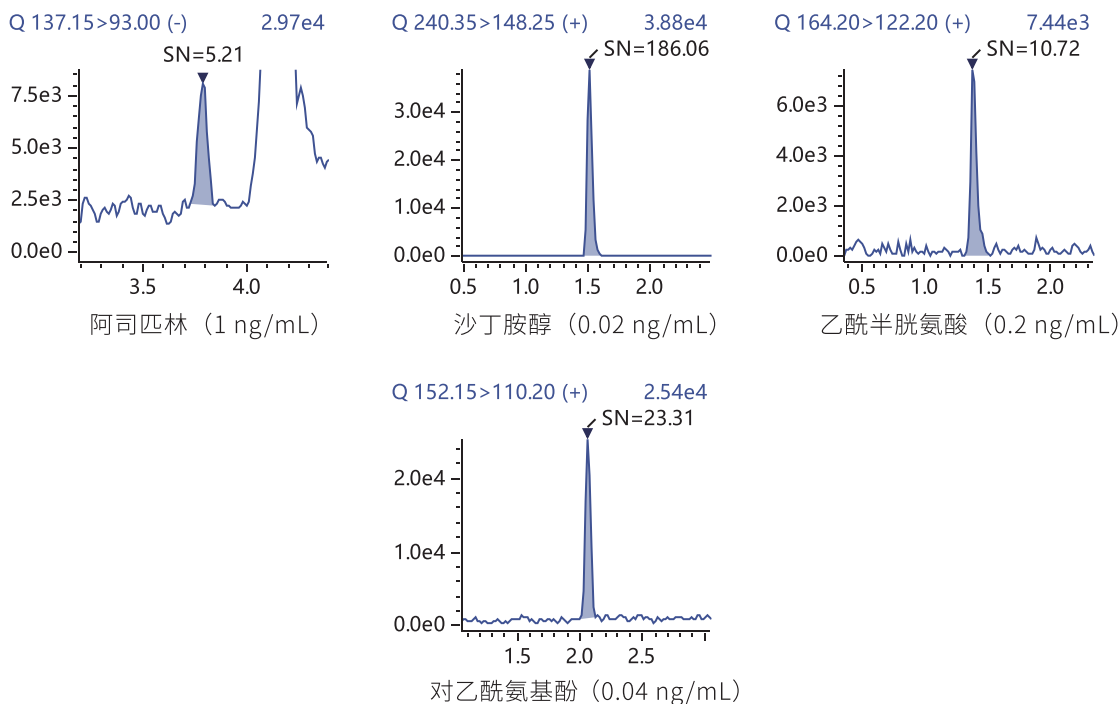


图 2 22 种止咳平喘非法添加药物在检出限附近色谱图和信噪比

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 ng/mL	保留时间 RSD %	峰面积 RSD %	浓度 ng/mL	保留时间 RSD %	峰面积 RSD %	浓度 ng/mL	保留时间 RSD %	峰面积 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 mg/kg	回收率	RSD%	加标浓度 mg/kg	回收率	RSD%	加标浓度 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

■ 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。

■ 参考文献

- [1] 凉茶. 中国非物质文化遗产网·中国非物质文化遗产数字博物馆]

岛津应用云

