

液相色谱-串联质谱技术在食品药品安全分析领域的应用

勾新磊¹, 刘伟丽^{1,2}, 高 峡^{1,2}, 周明强^{1,2}, 赵新颖^{1,2*}

(1. 北京市理化分析测试中心, 有机材料检测技术与质量评价北京市重点实验室, 北京 100089;
2. 北京市科学技术研究院分析测试技术重点实验室, 北京 100089)

摘 要: 液相色谱(liquid chromatogram, LC)在分离能力、灵敏度和专属性等方面有着巨大优势, 与质谱(mass spectrometry, MS)联用后可以展现出强大的定性、定量分析能力, 并已经在农兽药残留、非法添加、有毒物质研究等领域得到广泛应用。本文对液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)技术在食品相关国家标准, 如农残、兽残、食品接触类材料, 及《中华人民共和国药典(2015版)》中的应用进行了简单介绍, 并介绍了本部门在食品安全、药品安全、食品接触类塑料制品残留物分析等领域取得的工作进展。

关键词: 超高效液相色谱; 质谱; 食品安全; 药品安全

Application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in food and drug safety analysis

GOU Xin-Lei¹, LIU Wei-Li^{1,2}, GAO Xia^{1,2}, ZHOU Ming-Qiang^{1,2}, ZHAO Xin-Ying^{1,2*}

(1. Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis, Beijing Key Laboratory of Organic Materials Testing Technology & Quality Evaluation, Beijing 100089, China; 2. Beijing Academy of Science and Technology Key Laboratory of Analysis and Testing Technology, Beijing 100089, China)

ABSTRACT: Liquid chromatography (LC) has great advantages in the capacity of separation, sensitivity and specificity, and mass spectrometry (MS) can be combined to show strong qualitative and quantitative analysis capabilities, and they have been found widespread application in the food safety analysis, particularly in the analysis of pesticide residues, veterinary drug residues, illegal additives and toxic substances. This paper reviewed the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in the fields of pesticide residues, veterinary drug residues and food contact materials of national food standards and pharmacopoeia of China, and introduced the research progress of food safety, drug safety and residues in food plastic materials of our group.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography; mass spectrometry; food safety; drug safety

基金项目: 北京市科学技术研究院创新团队计划项目(IG204605N)、北京市科学技术研究院萌芽计划项目(2015-02)

Fund: Supported by the Innovation Team Project of Beijing Academy of Science and Technology (IG204605N) and the Project Sprout of Beijing Academy of Science and Technology (2015-02)

*通讯作者: 赵新颖, 博士, 副研究员, 主要研究方向为生物医药分析。E-mail: zhaoxinying_123@sina.com

*Corresponding author: ZHAO Xin-Ying, Ph.D, Associate Researcher, Beijing Academy of Science and Technology Key Laboratory of Analysis and Testing Technology, Beijing 100089, China. E-mail: zhaoxinying_123@sina.com

1 引言

近年来食品药品安全问题日益凸现。全球每年发生食源性药源性疾病约十亿人次, 食药安全问题已成为人类面临的重大健康问题。因此, 食药安全监督检验工作越来越受到重视, 各种新的分析测试仪器也被不断开发。采用高效、可靠的分析技术检测食品药品中的有毒有害物质, 是降低食药风险的有效手段之一^[1]。液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)是一种集高效分离、高灵敏度和多组分定性、定量于一体的系统, 成为近年来分析化学中发展迅速的一种新技术, 在食品安全、药品安全、环境分析、代谢组学等领域不断得到应用。本文对 LC-MS/MS 技术在食品相关国家标准和《中华人民共和国药典(2015 版)》中的应用进行了简单介绍, 并介绍了本部门在食品安全、药品安全、食品接触类塑料制品残留物分析等领域取得的工作进展。

2 LC-MS/MS 的特点

高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)是近年来在经典色谱的基础上, 引入了气相色谱的理论发展起来的以液体为流动相的分离分析技术。HPLC 技术上采用了高压泵、高效固定相和高灵敏度检测器, 从而具有分析速度快、分离效率高、检测灵敏度高以及操作自动化等特点。其分离原理是样品溶液中的各组分在两相中具有不同的分配系数, 在两相中做相对运动时, 经过反复多次的吸附-解析的分配过程, 各组分在移动速度上产生较大差别, 先后流出色谱柱并进入检测器检测, 从而实现对样品的分析。

超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)技术作为发展起来的分离技术, 使用 1.7 μm 颗粒度的色谱柱填料, 与 HPLC 相比较, 能够获得更高的柱效, 并且在更宽的线速度范围内柱效保持恒定, 有利于提高流动相流速, 能大幅度改善液相色谱的分离度、样品通量和灵敏度, 使液相色谱的分离能力得到进一步的延伸和扩展, 极大地提高分析工作的效率和质量^[2]。

被测组分经过 LC 分离后, 进入质谱系统, 利用高温和高电压, 使被分析物由液态转换为气相带电离子, 即为准分子离子, 并在一级质量分析器(MS1)根据质核比(m/z)进行分离。所得到的目标母离子进入碰撞室进行诱导解离, 产生与母离子对应的特征子离子碎片, 并在在二级质量分析器(MS2)进行分离^[3]。通过选择监测母离子和特征子离子, 可以有效降低本底噪音干扰, 在很大程度上提高检测灵敏度, 成为痕量检测的优选方法。

LC 与 MS/MS 联用, 可以最大限度地充分发挥两者的优势, 具有了卓越的分离性能和高通量高灵敏度的检测水平, 成为复杂体系分离分析以及化合物结构鉴定的

良好平台。

3 LC-MS/MS 在农兽药及包装材料相关国家标准中的应用

3.1 农兽药类

农兽药在防治病虫害、提高农产品及肉类食品的产量和质量等方面起着积极作用。但是, 近年来随着农兽药的大量及不合理使用, 食品中的农兽药残留对人类健康造成的负面影响也日益严重。农兽药残留分析属于微量至超微量分析范畴, 要求检测仪器有非常高的灵敏度。同时, 由于其具有种类繁多、结构复杂等特点, 对检测方法的通量和速度也提出了更高的要求。LC-MS/MS 技术简便、快速、高灵敏度、高通量等特点使其在农兽药残留检测中得到了很好的应用。

GB 29704-2013《食品安全国家标准 动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺多残留的测定 超高液相色谱-串联质谱法》^[4]中规定, 利用固相萃取-UPLC-MS/MS 法, HILIC 色谱柱分离, 对鸡的肌肉、肾脏和蛋中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺的残留量进行测定, 目标物的检测限均能达到 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。GB/T 20769-2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》^[5]可以同时检测 450 种目标物质, 实现了高通量高灵敏度的分析效果。GB/T 22992-2008《牛奶和奶粉中玉米赤霉醇、玉米赤霉酮、己烯雌酚、己烷雌酚、双烯雌酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》^[6]指出, 样品用乙腈沉淀蛋白后, 经 Oasis MAX 阴离子固相萃取小柱净化处理, 在电喷雾电离源负模式(ESI), 多反应监测(MRM)进行分析。

3.2 食品接触类材料

全氟烷基化合物由于其具有物理和化学稳定性、耐高温和抗氧化的特点, 被广泛用于包装、纺织、造纸等领域。然而全氟烷基化合物具有肝毒性、内分泌干扰毒性以及潜在的致癌性, 各国纷纷对全氟烷基化合物的适用范围和限量值进行了规定。

GB/T 23243-2009《食品包装材料中全氟辛烷磺酰基化合物(PFOS)的测定 高效液相色谱-串联质谱法》^[7]中指出, 采用快速溶剂萃取法提取食品包装材料中的全氟辛烷磺酰基化合物, 在 ESI 模式, 流动相乙腈-乙酸铵体系下检测目标物, 检出限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 。

4 LC-MS/MS 在《中华人民共和国药典》(2015 版)中的应用

4.1 农残类

在《中华人民共和国药典》(2015 版)四部 2341 农药残留量测定法第四法第 2 项下, 规定采用 LC-MS/MS 法测定 155 种农药。方法采用含乙腈-1%乙酸的溶液提取样品,

以无水硫酸镁和无水乙酸钠作为脱水剂, 经无水硫酸镁、N-丙基乙二胺、硅胶、石墨化炭黑、C₁₈ 混合净化剂净化, ESI⁺模式, 建立了相关分析方法。

4.2 色素类

色素一般分为天然色素和人工合成色素。人工合成色素虽然价格低廉、颜色丰富, 但具有一定的毒性, 会产生致畸、致癌等危害。然而近年来药材染色事件频频曝光, 用药安全已日益凸显。为此, 《中华人民共和国药典》(2015 版)四部 9303 色素测定法指导原则定性测定法第 3 项和定量测定法第 2 项下, 列举了 27 种人工合成色素的检测方法, 并提供了相应的监测离子对、碰撞能量等参考值。

4.3 真菌毒素类

真菌毒素是真菌产生的次级代谢产物。某些中药在种植、储存等过程中易产生一些真菌毒素, 如黄曲霉素、玉米赤霉烯酮、展青霉素等毒素, 对人体具有毒性, 有必要加强相关真菌毒素的控制^[8]。《中华人民共和国药典》(2015 版)四部 9305 中药中真菌毒素测定指导原则规定, 当出现基质干扰或含量较低难以采用 LC 法准确测定时, 应采用 LC-MS/MS 法测定, 此方法既可用于不同种类真菌毒素的同时测定, 还可以实现真菌毒素高通量快速筛选及含量测定。

4.4 胶类药材的鉴别

胶类药材是传统中药材, 以补血、升血功能而著称。胶类药材的主要成份是胶原蛋白, 其原料的鉴别是其质量控制中的关键步骤。《中华人民共和国药典》(2015 版)一部收录了阿胶、龟甲胶、鹿角胶等药材, 采用胰蛋白酶酶切、LC-MS/MS 检测特征肽段的定性方法, 为此类药材的质量控制提供了更加可靠的分析依据。

除此之外, 在《中华人民共和国药典》(2015 版)一部中也收录了川楝子中的川楝素含量, 千里光中阿多尼弗林碱含量等测定方法。

5 目前的工作进展

本部门利用超高效液相色谱-串联四级杆质谱(UPLC-MS/MS)在食品监测、材料安全分析、原料药有毒基因杂质鉴定及结构确认等多个领域开发了百余项检测方法, 满足了食品安全、产品质控、药物研发、工业生产等方面的需求。

5.1 保健食品中磷酸二酯酶-5 抑制剂(PDE-5)的测定

近年来, 随着工作和生活压力的逐渐加大, 很多人会出现易疲劳、免疫力下降等症状, 而市场上一些保健食品可以缓解这些症状。一些不法商贩受利益驱使, 在壮阳、补肾、抗疲劳类保健食品中非法添加西地那非、伐地那非、他达拉非等 PDE-5 抑制剂, 以增强其使用效果。消费者在

不知情的情况下误服或长期超量使用, 会出现头晕、恶心等症状, 严重者会造成肾功能、心脏功能及心血管系统的严重损伤^[9]。通过优化多种提取溶剂的提取效果, 利用超声提取和固相萃取技术, 建立了同时检测保健食品中 10 种 PDE-5 的 UPLC-MS/MS 分析方法, 10 种 PDE-5 总离子流色谱图见图 1。该方法操作简便、检出限低、准确度高, 能够满足保健食品中 10 种 PDE-5 的检测要求, 为保障食品安全提供了检测技术支持。

5.2 塑料包装矿泉水中双酚类化合物的测定

双酚类化合物(bisphenols, BPs)是一类具有相似化学结构的精细化学品, 目前已大量应用于日常生活用品中。作为一类环境内分泌干扰物, 双酚类化合物能与激素受体结合, 干扰生物体的正常生理代谢, 使内分泌系统失衡, 影响生殖与发育机能。随着双酚类材料用品的使用, 其可渗透、转移进入到环境、食品及饮品中, 对人类身体造成不容忽视的危害^[10]。利用 UPLC-MS/MS, 建立塑料矿泉水中 11 种双酚类化合物的分析方法^[11], 11 种双酚类化合物叠加总离子流色谱图见图 2。塑料包装矿泉水的基质相对单一, 样品冰冻后直接真空冷冻干燥, 以减少由于接触过多的试剂、容器而引入杂质的几率, 简化了样品前处理过程。

5.3 食品接触塑料制品中苯并三唑类紫外吸收剂的测定

苯并三唑类化合物(benzotriazoles, BZTs)是一种常用的紫外吸收剂, 广泛用于食品接触类塑料制品的工艺中, 用以减少塑料制品的光降解和老化, 延长其使用寿命。近年来研究表明, 多种苯并三唑类化合物均具有一定的生理毒性^[12,13]。由于直接接触食品, 塑料包装制品中残留的 BZTs 很可能会迁移到食品中, 造成二次污染。我国国家标准中仅规定了 UV-P、UV-234、UV-327 的特定迁移量分别为 30、1.5、30 mg/kg, 而对允许添加的 UV-328、UV-329、UV-360, 未限定其最大残留量和特定迁移量。除此之外, 我国没有检测食品接触类材料中 BZTs 的相关标准。采用甲醇-二氯甲烷混合溶剂超声提取, C₁₈ 固相萃取柱净化, 针对食品接触塑料制品中苯并三唑类紫外吸收剂的残留, 建立了 SPE-UPLC-MS/MS 的检测方法^[14], 10 种 BZTs 叠加总离子流色谱图见图 3。

5.4 原料药中基因毒性杂质的测定

药物中基因毒性物质的残留问题, 一直以来备受人们关注。此类物质是药物合成过程中产生的杂质, 由起始原料和中间副产物反应生成, 具有很强的致畸、致癌作用, 且难以完全从合成体系中除去, 给人们的身体健康带来了巨大威胁。针对原料药中的脱甲基羟可待因酮、对甲苯磺酸甲酯等基因毒性杂质, 建立了高灵敏度高选择性的实验方法。对甲苯磺酸脂类总离子流色谱图见图 4。

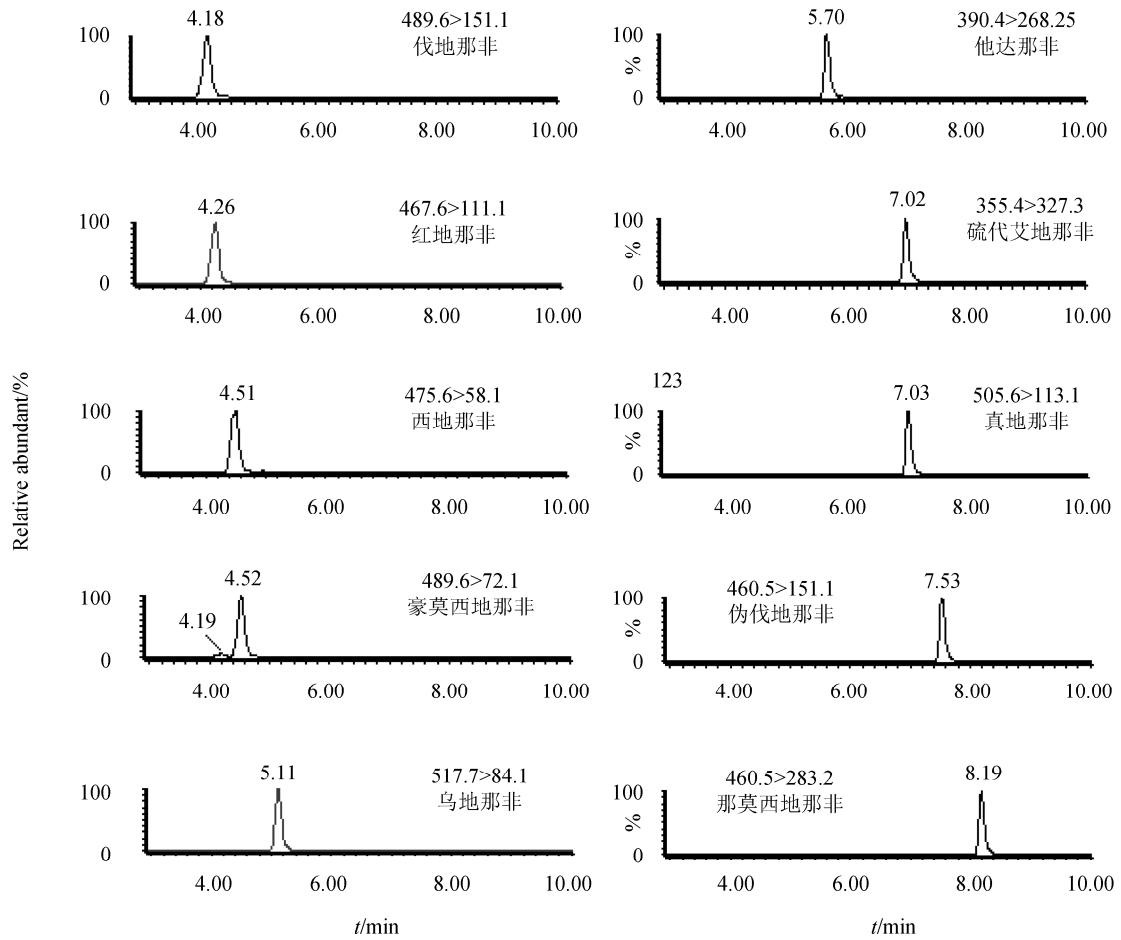


图 1 10 种磷酸二酯酶-5 抑制剂总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatograms of 10 kinds of PDE-5 inhibitors

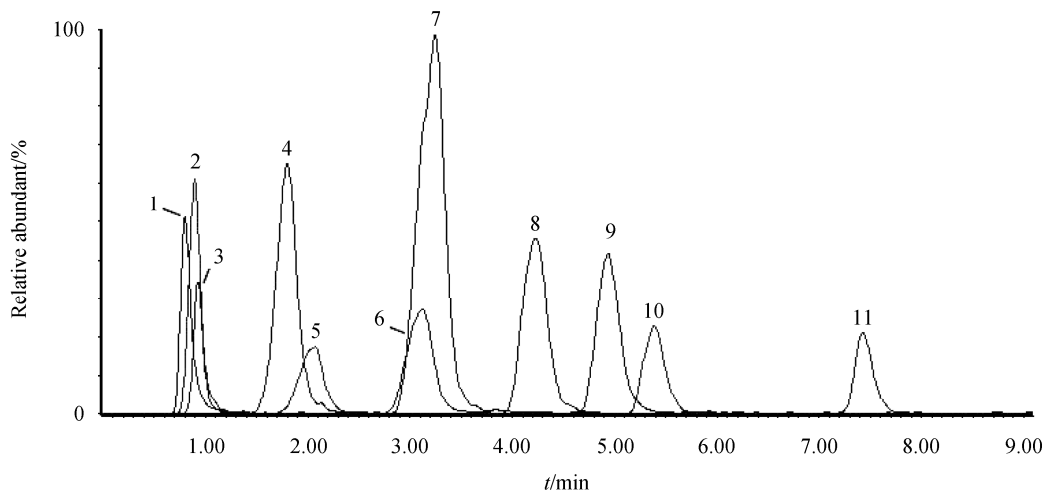


图 2 11 种双酚类化合物叠加总离子流色谱图

Fig. 2 Combined total ion chromatograms of 11 kinds of bisphenols

注: 1. 双酚 S; 2. 四氯双酚 A; 3. 四溴双酚 A; 4. 硫代双酚; 5. 双酚 F; 6. 双酚 A; 7. 双酚 AF; 8. 双酚 B; 9. 双酚 AP; 10. 双酚 C; 11. 2,2-双(4-羟基-3,5-二甲基苯基)丙烷

Note: 1. BPS; 2. TCBPA; 3. TBBPA; 4. TDP; 5. BPF; 6. BPA; 7. BPAF; 8. BPB; 9. BPAP; 10. BPC; 11. TMBPA

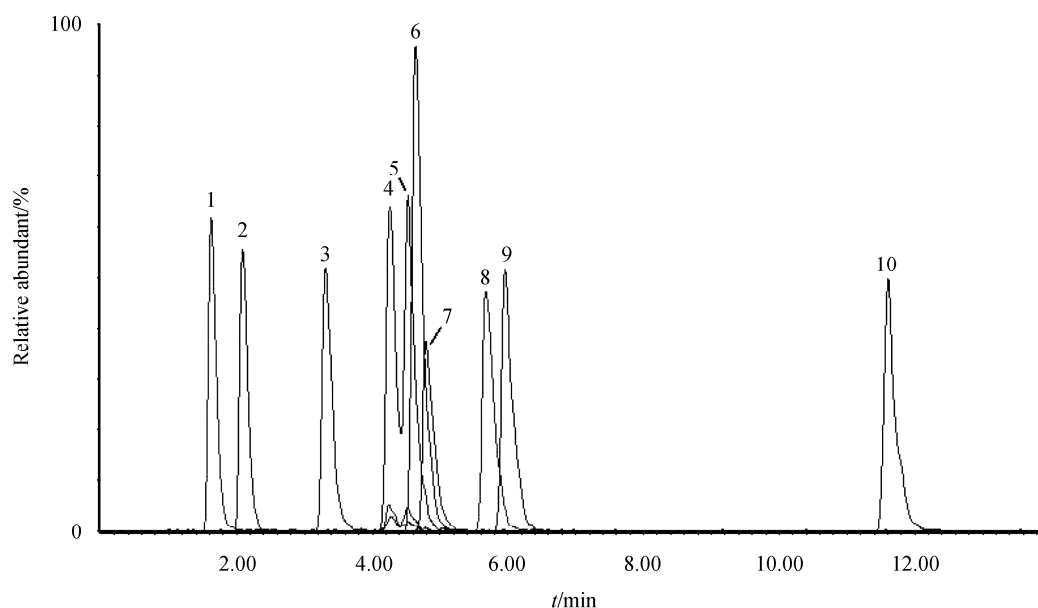


图 3 10 种 BZTs 叠加总离子流色谱图

Fig. 3 Combined total ion chromatograms of 10 kinds of BZTs

1. UV-P; 2. UV-PS; 3. UV-329; 4. UV-350; 5. UV-320; 6. UV-234; 7. UV-326; 8. UV-328; 9. UV-327; 10. UV-360

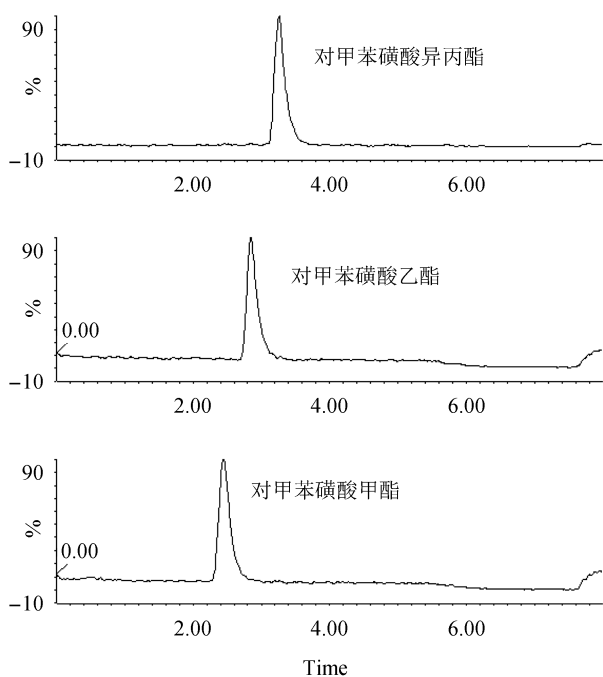


图 4 对甲苯磺酸脂类总离子流色谱图

Fig. 4 Total ion chromatograms of *p*-toluenesulfonate

6 总结与展望

LC-MS/MS 技术将 LC 的高分离性能和 MS 的高灵敏度、高鉴别特点相结合, 形成了更加完美的现代分析技术, 能够充分适应食品药品品的检测需求。

随着我国对食品药品安全工作的更加重视和经济水平的提高, 以及 LC-MS/MS 技术分析方法的进一步完善, 该技术的普及度会将越来越高, 具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 张婉, 王翊, 周悦, 等. 超高效液相色谱技术在食品安全检测中的应用[J]. 现代科学仪器 2010, 4(8): 119-122.
Zhang W, Wang T, Zhou Y, *et al.* Recent applications of ultra high performance liquid chromatography in food safety determination [J]. Mod Sci Instrum, 2010, 4(8): 119-122.
- [2] 黄昆, 王文辉, 李宝才, 等. 超高效液相色谱和质谱联用在药物研究领域的应用[J]. 光谱实验室, 2009, 26(4): 922-929.
Huang K, Wang WH, Li BC, *et al.* Applications of combined ultra-high performance liquid chromatography(uplc) and mass spectrometry (MS) in the field of drug research [J]. Chin J Spectr Lab, 2009, 26(4): 922-929.
- [3] 应永飞, 陈慧华, 吴平谷. 高效液相色谱-串联质谱在兽药残留分析中的应用[J]. 分析科学学报, 2008, 24(3): 359-366.
Ying YF, Chen HH, Wu PG. Determination of veterinary drug residues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2008, 24(3): 359-366.
- [4] GB 29704-2013 食品安全国家标准 动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺多残留的测定 超高效液相色谱-串联质谱法[S].
GB 29704-2013 Determination of cyromazine and melamine residue in animal derived food by ultra performance liquid chromatography- tandem mass spectrometric method [S].
- [5] GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 20769-2008 Determination of 450 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables-LC-MS-MS method [S].
- [6] GB/T 22992-2008 牛奶和奶粉中玉米赤霉醇、玉米赤霉酮、己烯雌酚、

- 己烷雌酚、双烯雌酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 22992-2008 Determination of zearalanol, zearalanone, diethylstilbestrol, hexestrol and dienestrol multi-residues in milk and milk powder-LC-MS-MS method [S].
- [7] GB/T 23243-2009 食品包装材料中全氟辛烷磺酰基化合物(PFOS)的测定 高液相色谱-串联质谱法[S].
GB/T 23243-2009 Determination of perfluorooctane sulfonates (PFOS) in the food packaging material-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[S].
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015 版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
National pharmacopoeia committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2015) [M]. Beijing: Chinese medical science and technology press, 2015.
- [9] 符江, 荆文光, 章军, 等. 中药中非法添加问题研究现状与分析[J]. 中草药, 2014, 45(3): 437-442.
Fu J, Ji WG, Zhang J, *et al.* Research status and analysis of illegal addition in traditional Chinese medicine [J]. Chin Herb Med, 2014, 45(3): 437-442.
- [10] Song SJ, Song MY, Zeng LZ, *et al.* Environ. Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China [J]. Environ Pollut, 2014, 186: 14-18.
- [11] 勾新磊, 高峡, 胡光辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定塑料包装矿泉水中 11 种双酚类化合物[J]. 色谱, 2014, 32(9): 988-991.
Gou XL, Gao X, Hu GH, *et al.* Simultaneous determination of 11 kinds of bisphenols in plastic bottled drinking water by ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(9): 988-991.
- [12] Kin JW, Isobe T, Ramaswamy BR, *et al.* Contamination and bioaccumulation of benzotriazole ultraviolet stabilizers in fish from Manila Bay, the Philippines using an ultra-fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chemosphere, 2011, 85: 751-758.
- [13] Fent K, Chew G, Li J, *et al.* Benzotriazole UV-stabilizers and benzotriazole: Antiandrogenic activity in vitro and activation of aryl hydrocarbon receptor pathway in zebrafish eleuthero-embryos [J]. Sci Total Environ, 2014, 482/483: 125-136.
- [14] 勾新磊, 赵新颖, 池海涛, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品接触塑料制品中 10 种苯并三唑类紫外吸收剂[J]. 色谱, 2015, 33(6): 571-576.
Gou XL, Zhao XY, Chi HT, *et al.* Simultaneous determination of 10 kinds of benzotriazole ultraviolet stabilizers in food plastic materials by solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(6): 571-576.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



勾新磊, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为色谱质谱分析。
E-mail: 817411@163.com



赵新颖, 博士, 副研究员, 主要研究方向为生物医药分析。
E-mail: zhaoxinying_123@sina.com