

串联固相萃取超高效液相色谱三重四极杆质谱法同时同时测定用于改善阳虚和/或缓解疲劳类的 20 种保健品非法添加物

谭丽容*, 程 敏, 林伟斌, 张龙开

(弘正道(中国)中药研究有限公司, 广州 510665)

摘 要: 目的 建立串联式固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法(series solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry, SPE-UPLC-MS/MS)同时测定保健品中 20 种改善阳虚和/或缓解疲劳类化学物质的分析方法。**方法** 待测样品经预处理后, 依次经过 C₁₈ 固相萃取柱、季胺固相萃取柱、羧酸固相萃取柱纯化。采用 0.1%甲酸(A)和 0.1%甲酸-乙腈(B)作为流动相进行梯度洗脱, 质谱(ESI+)采用多离子检测模式(multiple reaction monitoring, MRM)进行检测。**结果** 本方法在 5 min 内完成 20 种目标化合物的分离鉴定。20 种改善阳虚或缓解疲劳类化合物在 0.5~30 µg/L 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数(r)大于 0.98, 样品加标后平均回收率在 82.0%~105.2%, 相对标准偏差小于 10%, 方法定量限在 0.1~0.5 ng/mL 范围。**结论** 该方法快速、准确、灵敏度高且重现性好, 为筛查改善阳虚和/或缓解疲劳类保健食品中非法添加物质提供有力工具。

关键词: 改善阳虚; 缓解体力疲劳; 固相萃取; 超高效液相色谱-三重四极杆质谱法; 非法添加物

Simultaneous determination of 20 kinds of illegally-added medicals in foods with claims of improving yang deficiency and/or relieving fatigue by series solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry

TAN Li-Rong*, CHENG Min, LIN Wei-Bin, ZHANG Long-Kai

(Hong Zheng Dao (China) Traditional Chinese Medicine Research Company Ltd., Guangzhou 510665, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneously determination of 20 kinds of yang-deficiency and/or fatigue-relieving chemicals in health food by series solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (SPE-UPLC-MS/MS). **Methods** Samples were pretreated and purified via a series of solid phase extractions, including C₁₈, SAX (quaternary amine), and WCX (carboxylic acid) SPE columns. And then samples were analyzed on a reversed phase using a gradient elution program of 0.1% formic acid aqueous solution (A) and 0.1% formic acid in acetonitrile solution (B), and determined using UPLC-MS/MS including electrospray ionization source and positive ion scan multiple reaction monitoring

*通讯作者: 谭丽容, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为中药及食品质量安全研究。E-mail: elena_tam@foxmail.com

*Corresponding author: TAN Li-Rong, Master, Intermediate Engineer, Hong Zheng Dao (China) Traditional Chinese Medicine Research Company Ltd., Guangzhou 510665, China. E-mail: elena_tam@foxmail.com

(MRM) mode. **Results** The isolation and identification of 20 target compounds were completed within 5 min. The results showed that 20 kinds medicals with functions of improving yang or relieving fatigue had good linear dose-response relationship in 0.5–30 $\mu\text{g/L}$, with correlation coefficients (r) greater than 0.98. The average yields were 82.0%–105.2%. The relative standard deviations (RSDs) were less than 10%, and the limits of quantitation (LOQ) for the 20 kinds medicals were between 0.1 and 0.5 ng/mL . **Conclusion** This method is rapid, accurate, sensitive and reproducible, which is a powerful tool to screen illegally medicals-added foods with claims of improving yang and/or relieving fatigue.

KEY WORDS: improving Yang deficiency; anti-fatigue preparations; series solid phase extraction; ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry; illegally added chemicals

1 引言

随着现代社会生活压力的逐渐增大, 越来越多人面临性欲减弱、易疲劳的困扰, 因此, 改善阳虚、缓解疲劳类保健食品及中成药的市场需求日益增长。然而, 一些不法商家为了吸引消费者以牟取暴利, 在改善阳虚、缓解疲劳的保健食品及中成药中随意添加短期内见效快、副作用大的西药^[1,2], 而且非法添加的药物剂量随意^[3]。消费者长期、超量服用含有壮阳或缓解疲劳类药物的保健食品或中成药, 会引起毒性反应, 严重甚至危及生命。

为规范市场秩序, 打击非法添加, 目前执行的保健食品进出口标准^[4]规定了 3 种禁用的西药: 西地那非、伐地那非、他达拉非。国家食品药品监督管理局在 2009 年颁布了药品补充检验标准^[5], 规定了非法添加的 11 种补肾壮阳类化学药。新颁布的保健品标准中, 未将任何西药列入添加范围^[6]。但不法分子在保健食品及中成药中添加其他壮阳类化合物的衍生物或类似物, 限于现有检测方法的局限性而导致了监管困难, 因此迫切需要建立多指标的检测方法, 为保健食品及中成药的质量安全提供技术保障。

目前国内外已有许多文献报道关于保健食品及中成药中非法添加化合物的检测方法, 常见的检测手段主要包括: 薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)^[7,8]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[9–11]、超高效液相色谱-三重四极杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)^[12–15]、高分辨质谱法等^[16–18]。TLC 法具有仪器设备简单、操作简便、省时和成本低等优点, 但专属性较差, 容易出现假阳性; HPLC 法专属性强, 但只能通过保留时间定性, 不能确证化合物结构信息; LC-MS/MS 法具有高灵敏度和高选择性, 是目前非法添加化合物检测中使用广泛的技术手段之一; 高分辨质谱如飞行时间质谱因价格昂贵, 不易推广^[19]。本研究建立了快速检测 20 种改善阳虚和/或缓解疲劳类化学物质的串联固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法(solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem

mass spectrometry, SPE-UPLC-MS/MS), 其中的盐酸育亨宾和二乙氨基前他达拉非极少见文献报道, 以期完善非法添加壮阳类药物的检测种类, 并为进一步规范保健食品市场提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 材料、仪器与试剂

市售玛卡含片样品 A 和 B。

Waters UPLC-Xevo TQ 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(电喷雾离子源 ESI 和 Masslynx 4.1 工作站); KQ-300 超声波清洗仪器(昆山舒美公司); MS-TS 分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); Milli-Q 超纯水器(默克密理博公司); MS3 涡旋混合器(德国 IKA 公司); C_{18} 固相萃取柱、SAX 固相萃取柱、WCX 固相萃取柱(60 $\text{mg}/3\text{mL}$) (上海安谱公司)。

对照品伪伐地那非(CAS: 224788-34-5)、羟基豪莫西地那非(CAS: 139755-85-4)、豪莫西地那非(CAS: 642928-07-2)、硫代艾地那非(CAS: 856190-47-1)、那红地那非(CAS: 949091-38-7)、那莫西地那非(CAS: 371959-09-0)、盐酸育亨宾(CAS: 65-19-0)、氨基他达拉非(CAS: 385769-84-6)、红地那非(CAS: 831217-01-7)、西地那非(CAS: 139755-83-2)、伐地那非(CAS: 224789-15-5)、甲磺酸酚妥拉明(CAS: 65-28-1)、他达拉非(CAS: 171596-29-5)、巯基西地那非(CAS: 479073-79-5)、去乙基伐地那非(CAS: 448184-46-1)、N-去甲基西地那非(CAS: 139755-82-1)、二甲基西地那非(CAS: 1416130-63-6)、格列齐特(CAS: 21187-98-4)、二乙氨基前他达拉非(CAS: 1588526-67-3)、羟基伐地那非(CAS: 224785-98-2)(纯度均大于 98%, 德国 DRE 公司); 甲醇、甲酸、乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 对照品溶液配制

分别称取伪伐地那非、羟基豪莫西地那非、豪莫西地那非、硫代艾地那非、那红地那非、那莫西地那非、盐酸育亨宾、氨基他达拉非、红地那非、西地那非、伐地那非、

他达那非、巯基西地那非、去乙基伐地那非、*N*-去甲基西地那非、二甲基西地那非、格列齐特、二乙氨基前他达拉非、羟基伐地那非和甲磺酸酚妥拉明对照品各 2.5 mg, 超声 10 min, 分别加甲醇定容到 25 mL, 制成最终浓度为 0.1 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 样品前处理

①提取

精确称取 5 g 玛卡含片 A 或 B, 碾细并过 80 目筛, 用 100 mL 甲醇:水=80:20(V:V)溶液提取 20 min, 过滤, 减压浓缩至 5 mL。−20 °C 冰箱静置 12 h。

②纯化

采用 C₁₈ 固相萃取柱进行样品纯化。预先用 5 mL 甲醇和 5 mL 去离子水活化小柱, 5 mL 待分析样品以 1 滴/s 的流速过柱。用 10 mL 的去离子水和体积浓度为 95% 的甲醇溶液淋洗。最后用 20 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液 A。

采用 SAX 固相萃取柱进行纯化。预先用 5 mL 的去离子水活化小柱, 洗脱液 A 以 1 mL/min 的流速过柱, 用 5 mL 水和 5 mL 甲醇分别淋洗柱子, 收集洗脱液 B。再用 15 mL 含 1% HCl 的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液 C。

采用 WCX 固相萃取柱进行纯化。用去离子水活化 WCX 固相萃取柱, 加入上一步洗脱液 B, 依次加入 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗, 弃去流出液, 最后用 3 mL 含 5% 氨水的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液 D。

合并 C 和 D 洗脱液, 40 °C 水浴氮气吹干, 用甲醇溶解定容至 2 mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜。

2.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

Waters BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相: 0.1%甲酸(A)–0.1%甲酸乙腈(B), 流速: 0.3 mL/min, 进样体积: 5.0 μL, 柱温: 室温。液相色谱梯度洗脱程序: 0~5.0 min, 10%~100% B; 5.0~7.0 min, 100% B; 7.0~7.5 min,

100%~10% B; 7.5~10.0 min, 10% B。

(2) 质谱条件

离子源: 电喷雾电离 ESI(+), 电喷雾电压(IS): 5.5 kV, 离子源温度: 550 °C, 脱溶剂气和锥孔反吹气: N₂, 脱溶剂气流压力: 50 psi, 锥孔反吹气流压力: 35 psi, 碰撞气: N₂。扫描模式: 多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM)模式。

3 结果与分析

3.1 色谱条件优化

实验研究了甲醇、乙腈作为流动相对目标物质出峰时间的影响。结果表明, 乙腈出峰时间较快, 也有利于快速检测, 因此流动相采用乙腈–水体系。其次, 研究了流动相添加易挥发的酸来提高离子化效果, 在流动相 A、B 中分别添加 0.1%甲酸、0.1%乙酸、0.1%三氟乙酸, 结果表明, 加 0.1%甲酸和三氟乙酸, 雾化、峰形、分离度、灵敏度较好。

最后, 研究甲酸的添加量对 C₁₈ 液相柱分离效果的影响。流动相中添加 0.01%、0.05%、0.1%、0.5% 体积比的甲酸, 发现随着甲酸浓度的增加, 20 种化合物的保留时间减少且分辨率增大。但是当浓度增加到 0.5% 以后, 效果变化降低。因此甲酸添加量为 0.1%, 各个峰在总离子流图谱上基本能分开且检测出。

3.2 质谱参数优化

采用 ESI 正离子模式进行一级质谱扫描, 得到各标准品母离子峰 M。以各母离子峰作二级质谱, 得到碎片离子峰 D, 选取 2 个子离子峰 D₁ 和 D₂, 分别与母离子 M 形成离子对, 然后进行 MRM 模式检测, 并对各质谱参数进行优化。优化后的质谱参数见表 1, 带*的子离子与其对应的母离子为定量离子对。20 种混合对照品的总离子流图谱见图 1, 各化合物的 MRM 色谱图见图 2。

表 1 20 种对照品溶液的质谱参数
Table 1 Chromatogram parameters of 20 standards

编号	化合物	母离子 M(m/z)	子离子 D(m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/V	碰撞室射出电压/V
1	伪伐地那非 (pseudo vardenafil)	460.4	151*	50	45	11
			312	50	43	16
2	羟基豪莫西地那非 (hydroxyhomosildenafil)	505.2	99.1	50	43	10
			487.3*	50	33	25
3	豪莫西地那非 (omosildenafil)	489.2	72.3*	50	64	10
			283.1	50	50	15
4	硫代艾地那非 (thiodimethylsildenafil)	505.3	99.1	105	35	17
			299*	105	55	16
5	那红地那非 (noracetildenafil)	453.3	113	55	38	14
			297.2*	55	49	14
6	那莫西地那非 (norneosildenafil)	460.3	283.3*	200	44	8
			299.2	200	48	15

续表 1

编号	化合物	母离子 M(m/z)	子离子 D(m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/V	碰撞室射出电压/V
7	盐酸育亨宾 (yohimbine hydrochloride)	355.3	144*	80	26	20
			212.2	80	30	12
8	氨基他达那非 (amino tadalafil)	391.3	269.2*	70	15	18
			169.2	70	40	17
9	红地那非 (acetildenafil)	467.4	111*	50	37	10
			297.2	50	50	16
10	西地那非 (sildenafil)	475.2	100.2*	100	34	10
			311.3	100	40	17
11	伐地那非 (varденаfil)	489.3	151.3*	100	46	14
			312.2	100	50	17
12	甲磺酸酚妥拉明 (phentolamine mesylate)	282.1	212.2*	200	20	10
			90.8	60	50	10
13	他达那非 (cialis)	390.3	268.2*	94	13	19
			134.9	94	28	30
14	巯基西地那非 (thiosildenafil)	491.3	299.2*	110	47	15
			341.2	110	37	16
15	去乙基伐地那非 (N-desethyl vardenafil)	461.4	151.3*	50	43	16
			312.1	50	46	16
16	N-去甲基西地那非 (N-desmethyl sildenafil)	461.4	283.2*	65	54	24
			311.2	65	37	20
17	二甲基西地那非 (dimethylsildenafil)	489.3	99.1*	132	38	17
			283.2	132	28	14
18	格列齐特 (gliclazide)	324.0	127.1*	97	23	17
			110.2	97	27	16
19	二乙氨基前他达拉非 (diethylaminopretadalafil)	464.2	134.9*	100	39	12
			334.1	100	29	18
20	羟基伐地那非 (hydroxy vardenafil)	505.2	151.1*	100	50	13
			312	100	49	16

注: *为定量离子对。

3.3 前处理条件优化

保健食品中糖类、色素等杂质会干扰目标物的检测。为了获得准确可靠的检测结果, 采用固液萃取柱净化, 可有效除去大部分杂质, 且方法具有操作简单、快速、有机溶剂用量少的特点。因此, 本实验采用了 C₁₈、SAX、WCX 固相萃取小柱进行串联使用, 其中 C₁₈ 小柱除去糖类等极性物质, 再经过 SAX 强阴离子交换小柱, 利用季胺基团官能团吸附和获得带有弱阴离子的化合物, 最后经过 WCX 弱阳离子交换反相吸附剂, 吸附和获得碱性的化合物。合并 SAX 和 WCX 固相萃取小柱纯化后获得洗脱液, 过 0.22 μm 微孔滤膜后, 上机测样。

3.4 方法的线性范围及检出限、定量限

取上述 20 种对照品适量, 加甲醇配制成不同浓度的对照品溶液, 在 Waters 超高效液相色谱-三重四级质谱联用仪进行检测分析。根据定量离子对(表 1)响应面积和对应浓度进行线性回

归得到标准曲线, 计算回归方程和相关系数。结果表明 20 种化合物在 0.5~30 μg/L 范围内具有良好的线性关系(*r* 均大于 0.98)。

在空白样品中添加低浓度化合物, 按 2.2 所述处理方法进行样品前处理, 上机检测, 以至少 3 倍和 10 倍信噪比 (*S/N*)对应的浓度计算检出限和定量限。20 种对照品的最低检出限(limits of detection, LOD)均低于 0.2 ng/mL, 定量限(limits of quantitation, LOQ)在 0.1~0.5 ng/mL 范围。各化合物的线性方程、相关系数和检出限、定量限见表 2。

3.5 回收率及精密度实验

在玛卡样品 A 里添加以上混合标准品, 加标量分别为 5、10、20 μg/L, 每个水平平行制备 6 份样品, 按照样品前处理方法进行纯化、制备、检测, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 20 种化合物在 3 个加标水平下的平均回收率在 81.5%~105.2% 之间, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSDs)均小于 10%, 具有较好的准确度和精密度。

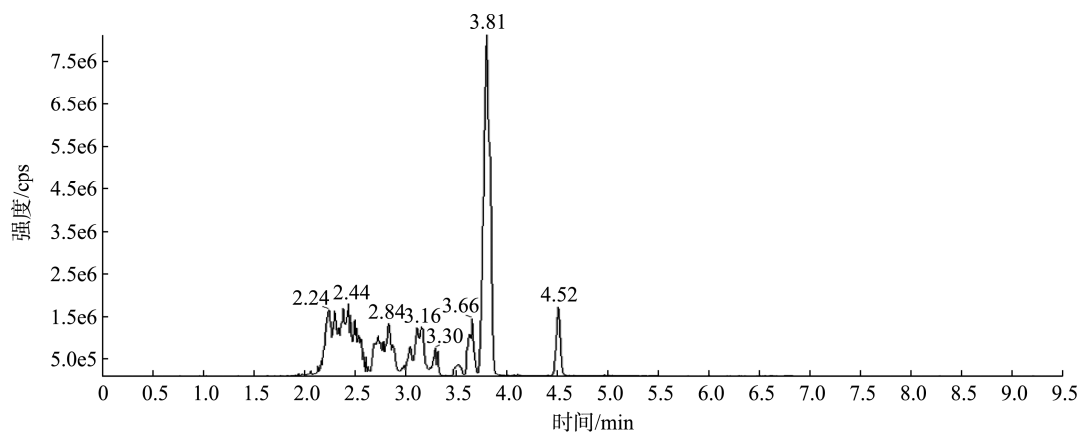


图 1 20 种混合对照品的总离子流图谱

Fig.1 Total ion flow spectra of 20 mixed reference materials

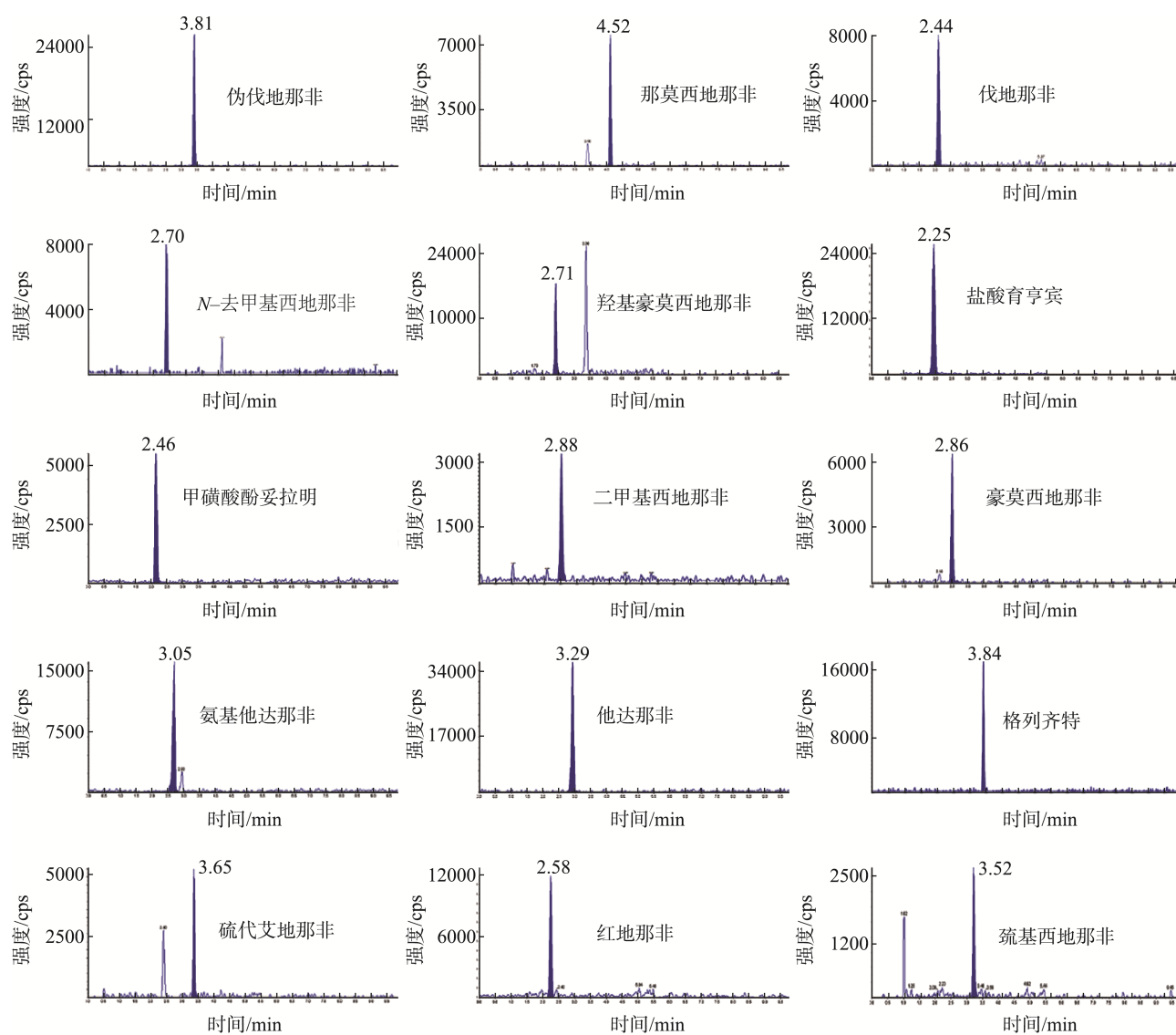
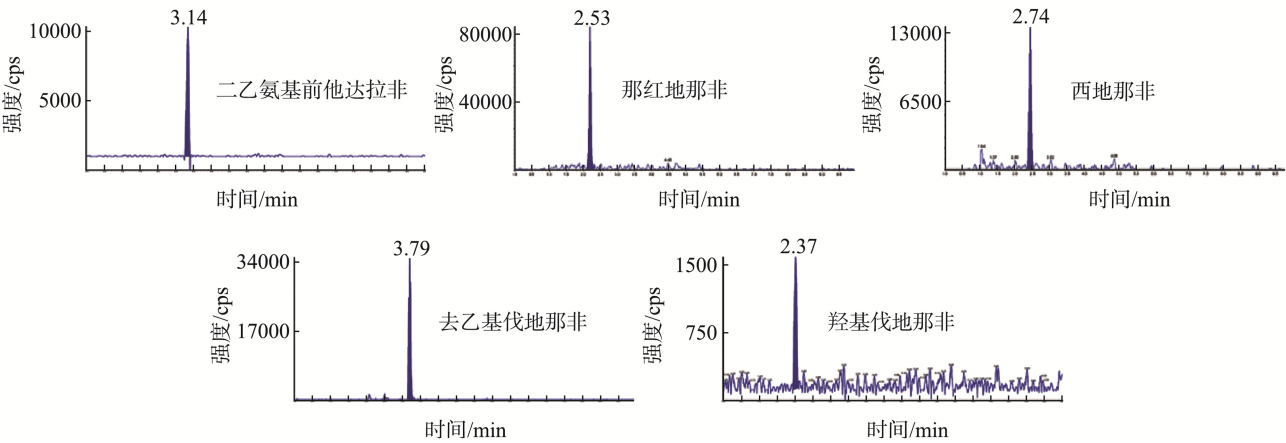


图 2 20 种化合物的 MRM 质谱图

Fig.2 MRM chromatograms of 20 mixture standards



续图 2 20 种化合物的 MRM 质谱图
Fig.2 MRM chromatograms of 20 mixture standards

表 2 对照品线性方程、线性范围、相关系数及最低检测限(LOD)和定量限(LOQ)
Table 2 Linear equations, linear range, correlation coefficients, LOD and LOQ of mixture standards

序号	化合物	保留时间/min	线性方程	相关系数/r	线性范围/(μg/L)	LOD/(ng/mL)	LOQ/(ng/mL)
1	伪伐地那非	3.81	$Y=3.82\times10^5X-2.52\times10^4$	0.9992	0.5~30	0.03	0.1
2	羟基豪莫西地那非	2.71	$Y=2.64\times10^4X+7.89\times10^3$	0.9954	0.5~30	0.07	0.3
3	豪莫西地那非	2.86	$Y=6.18\times10^4X+4.72\times10^3$	0.9894	0.5~30	0.07	0.3
4	硫代艾地那非	3.65	$Y=7.31\times10^4X-2.69\times10^3$	0.9900	0.5~30	0.07	0.3
5	那红地那非	2.53	$Y=3.69\times10^4X-1.1\times10^3$	0.9934	0.5~30	0.03	0.1
6	那莫西地那非	4.52	$Y=5.93\times10^4X+238$	0.9938	0.5~30	0.1	0.3
7	盐酸育亨宾	2.25	$Y=1.74\times10^5X+7.71\times10^3$	0.9914	0.5~30	0.03	0.1
8	氨基他达那非	3.05	$Y=6.92\times10^4X-2.3\times10^3$	0.9998	0.5~30	0.2	0.5
9	红地那非	2.58	$Y=4.93\times10^4X-4.05\times10^3$	0.9968	0.5~20	0.03	0.1
10	西地那非	2.74	$Y=2.74\times10^4X-256$	0.9932	0.5~30	0.2	0.5
11	伐地那非	2.44	$Y=6.34\times10^4X-1.27\times10^3$	0.9928	0.5~30	0.2	0.5
12	甲磺酸酚妥拉明	2.46	$Y=4.87\times10^4X+517$	0.9940	0.5~30	0.03	0.1
13	他达那非	3.29	$Y=5.92\times10^4X-2.63\times10^3$	0.9902	0.5~30	0.1	0.3
14	巯基西地那非	3.52	$Y=1.83\times10^3X-186$	0.9954	0.5~30	0.2	0.5
15	去乙基伐地那非	3.79	$Y=8.03\times10^3X+3.52\times10^3$	0.9938	0.5~30	0.07	0.3
16	N-去甲基西地那非	2.70	$Y=1.91\times10^4X+871$	0.9930	0.5~30	0.03	0.1
17	二甲基西地那非	2.88	$Y=5.93\times10^4X-6.95\times10^3$	0.9930	0.5~30	0.2	0.5
18	格列齐特	3.84	$Y=2.93\times10^5X-1.04\times10^4$	0.9966	0.5~30	0.03	0.1
19	二乙氨基前他达拉非	3.14	$Y=1.07\times10^5X-3.5\times10^3$	0.9974	0.5~30	0.03	0.1
20	羟基伐地那非	2.37	$Y=5.02\times10^4X+1.98\times10^3$	0.9942	0.5~30	0.07	0.3

表 3 玛卡样品 A 中 20 种化合物的加标回收率与相对标准偏差
(n=6)
Table 3 Recovers and relative standard deviation (RSDs) of 20 chemical drugs in Maca sample A (n=6)

序号	化合物	加标水平 /(μg/L)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
1	伪伐地那非	5	104.4	7.9
		10	101.0	9.9
		20	87.2	4.1
		5	96.6	7.2
2	羟基豪莫西地那非	10	94.8	5.4
		20	93.5	6.3
		5	102.6	8.8
		10	88.1	3.9
3	豪莫西地那非	20	96.6	4.0
		5	87.0	6.6
		10	97.8	7.8
		20	91.2	2.5
4	硫代艾地那非	5	90.4	5.7
		10	103.7	6.5
		20	88.0	3.3
		5	95.0	4.8
5	那红地那非	10	83.8	5.1
		20	92.5	2.4
		5	82.0	7.1
		10	103.5	8.2
6	那莫西地那非	20	105.0	3.6
		5	88.4	8.4
		10	103.5	5.7
		20	96.3	3.6
7	盐酸育亨宾	5	102.4	5.9
		10	85.5	6.4
		20	94.6	5.8
		5	91.2	8.9
8	氨基他达那非	10	87.5	4.6
		20	105.5	2.8
		5	97.4	7.3
		10	91.5	6.5
9	红地那非	20	105.2	3.3
		5	102.0	8.2
		10	103.5	8.9
		20	94.2	2.7
10	西地那非			
11	伐地那非			
12	甲磺酸酚妥拉明			

续表 3

序号	化合物	加标水平 /(μg/L)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
13	他达那非	5	105.0	6.1
		10	87.5	6.7
		20	97.3	3.5
		5	95.4	4.9
14	巯基西地那非	10	83.4	6.4
		20	104.3	2.2
		5	104.6	9.4
		10	87.6	6.8
15	去乙基伐地那非	20	93.3	5.2
		5	97.0	8.8
		10	103.5	7.8
		20	91.4	4.9
16	N-去甲基西地那非	5	86.4	6.7
		10	91.4	5.5
		20	103.6	4.9
		5	90.2	5.2
17	二甲基西地那非	10	92.3	6.6
		20	101.1	1.9
		5	87.0	4.8
		10	95.4	5.4
18	格列齐特	20	95.8	6.0
		5	85.8	8.3
		10	104.5	6.7
		20	85.9	4.2

3.6 实际样品测定

市售玛卡样品 A 和 B 经过样品纯化制备, 上样分析获得总离子流图谱(图 3 和图 4)。通过比对实际样品与对照品的 2 对离子对保留时间(图 1、图 2 和表 1), 发现样品 A 未出现与混合对照品中各对照品总离子图谱保留时间相同的色谱峰, 即判断此供试品为阴性; 样品 B 出现与混合对照品中各对照品中总离子流图谱保留时间相同的离子流峰, 460.4/151 和 460.4/312 离子对的保留时间均在 3.81 min, 与伪伐地那非对照品优化的离子对(表 1)保留时间一致, 因此通过判定对照品即可判断此样品 B 为阳性, 含有伪伐地那非。通过定量离子的所建立的外标曲线, 测得样品 B 中伪伐地那非的含量为(45.5±0.32) ng/mL。

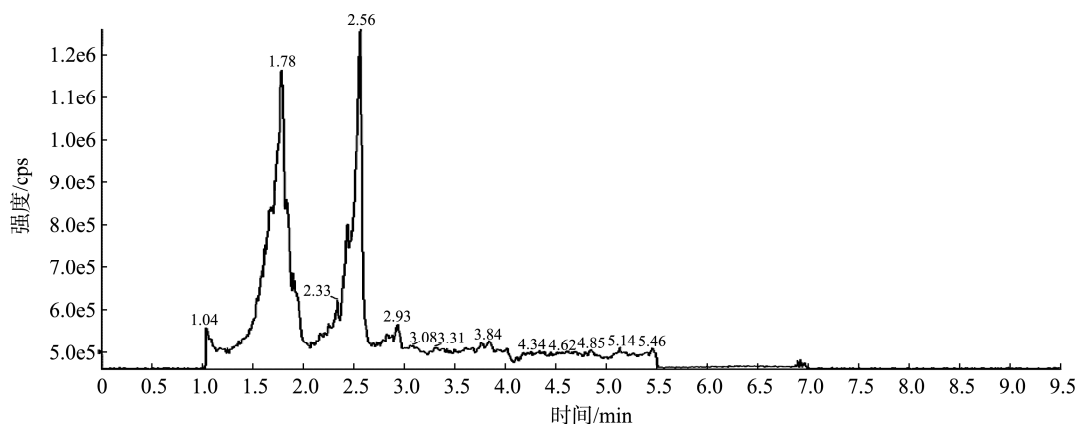


图 3 玛卡样品 A 的总离子流图谱
Fig.3 Total ion current chromatograms of Maca sample A

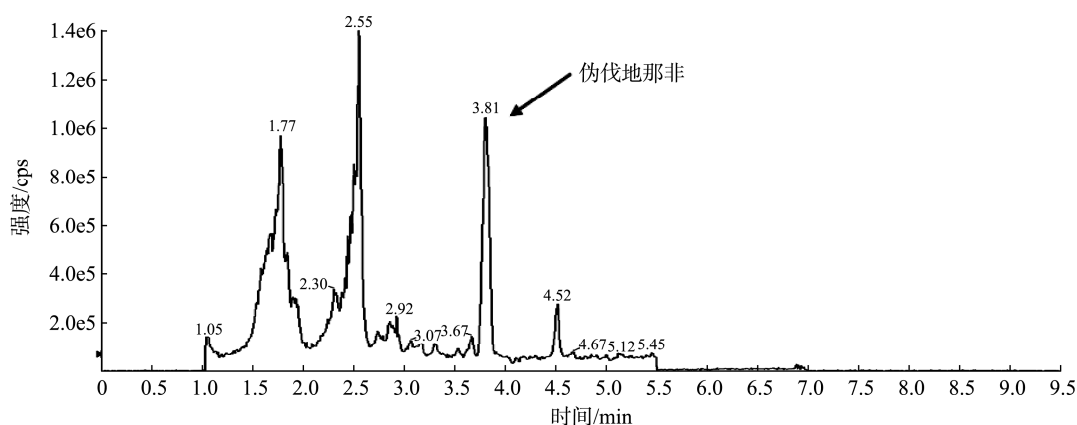


图 4 玛卡样品 B 的总离子流图谱
Fig.4 Total ion current chromatograms of Maca sample B

4 结 论

本研究建立了串联固相萃取-超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法同时测定改善阳虚和/或缓解疲劳保健食品中 20 种非法添加物的分析方法。通过对实验条件进行选择和优化, 确定了固相萃取纯化条件、色谱条件、质谱条件, 在 5 min 内可以完全分离鉴定 20 种非法添加物。应用固相萃取串联法净化复杂样品, 有效减少食品基质成分的干扰, 提高了检测灵敏度。该方法简单快捷, 结果准确可靠, 并可节约大量溶剂, 适用于对该类保健品中非法添加物的检测, 为监管保健食品及中成药中非法添加化学药物提供有力的技术支持。

参考文献

- [1] 石岩, 魏锋, 朱晓鹏, 等. 中药及保健食品中 PDE₅ 抑制剂检测的再研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(1): 121-129.
Shi Y, Wei F, Zhu XP, et al. Restudy on PDE₅ inhibitors in traditional Chinese medicine and health food [J]. Chin J Pharm Anal, 2014, 34(1): 121-129.

- [2] 彭涛, 李晓娟, 代汉慧, 等. 色谱联用技术在保健食品违禁化学物质分析中的应用[J]. 质谱学报, 2012, 33(6): 370-379.
Peng T, Li XJ, Dai HH, et al. Application of chromatography-mass spectrometry combined technology on illegal chemical analysis in health foods [J]. Chin J Mass Spectrom, 2012, 33(6): 370-379.
- [3] 王静文, 黄湘鹭, 曹进, 等. 超高效液相色谱法同时测定减肥类保健食品中非法添加的 25 种药物[J]. 色谱, 2014, 32(2): 151-156.
Wang JW, Huang XL, Cao J, et al. Simultaneous determination of 25 illegally added drugs in diet health foods by ultra-high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(2): 151-156.
- [4] SN/T 1951-2007 进出口保健食品中伐地那非、西地那非、他达拉非的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].
SN/T 1951-2007 Determination of vardenafil, sildenafil and tadalafil in health foods for import and export-LC-MS/MS method [S].
- [5] 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[Z].
State Food and Drug Administration inspection and additional testing methods and project approval documents [Z].
- [6] GB 16740-2014 食品安全国家标准 保健食品[S].
GB 16740-2014 National food safety standard - Health food [S].
- [7] 查登峰. TLC 法快速检测补肾壮阳类中成药中非法添加酚妥拉明[J].

- 中国实用医药, 2012, 7(36): 250–251.
- Zha DF. Rapid determination of phentolamine illegally added into traditional Chinese medicines for invigorants by TLC [J]. *China Pract Med*, 2012, 7(36): 250–251.
- [8] 韩宁娟, 杜玮, 常春, 等. 食品中 β_2 受体激动剂快速检测方法的建立与应用[J]. *西北药学杂志*, 2016, 31(6): 574–578.
- Han NJ, Du W, Chang C, *et al.* Establishment and application of thin layer chromatography method for rapid detection of 4 kinds of β_2 agonists in food [J]. *Northwest Pharm J*, 2016, 31(6): 574–578.
- [9] 邢俊波, 曹红, 张炯, 等. 高效液相色谱法同时测定补肾壮阳类中成药及保健食品中非法添加 7 种化药成分[J]. *时珍国医国药*, 2014, 25(2): 451–453.
- Xing JB, Cao H, Zhang J, *et al.* Simultaneous determination of 7 illegal components illegally added in traditional Chinese medicine and health food by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2014, 25(2): 451–453.
- [10] Tamiris AJ, Igor FZ, Jerusa SG, *et al.* Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC–UV [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2013, 111: 2037–2044.
- [11] 金舒, 杨敏智, 申兰慧. HPLC–DAD 法同时测定降压类保健食品中非法添加的 12 种化学成分[J]. *药学与临床研究*, 2019, 27(1): 25–28.
- Jin S, Yang MZ, Shen LH. Simultaneous determination of twelve chemical materials illegally added in antihypertensive health products by HPLC–DAD [J]. *Pharm Clin Res*, 2019, 27(1): 25–28.
- [12] 蒋丽萍, 屠健红, 徐宏祥, 等. UPLC–MS/MS 法测定抗疲劳类保健食品中非法添加的 9 种壮阳类化学药物[J]. *中草药*, 2015, 46(15): 2238–2245.
- Jiang LP, Tu JH, Xu HX, *et al.* Determination of nine chemicals illegally added into antifatigue health foods by UPLC–MS/MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2015, 46(15): 2238–2245.
- [13] 黄芳, 吴惠勤, 黄晓兰, 等. 高效液相色谱–串联质谱法同时测定保健品及中成药中非法添加的 17 种壮阳类化学药[J]. *色谱*, 2016, 34(3): 270–278.
- Huang F, Wu HQ, Huang XL, *et al.* Simultaneous determination of 17 aphrodisiac chemical drugs illegally added in health products and Chinese patent medicines by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2016, 34(3): 270–278.
- [14] 徐敦明, 赖国银, 陈燕, 等. 固相萃取–超高效液相色谱–串联质谱法同时测定保健食品中 21 种非法添加化合物[J]. *色谱*, 2019, 37(7): 778–785.
- Xu DM, Lai GY, Chen Y, *et al.* Simultaneous determination of 21 illegally added compounds in health foods by ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry with solid phase extraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(7): 778–785.
- [15] 励炯, 金滕娜, 李玮, 等. 实心核颗粒色谱分离–HPLC–MS/MS 法同时测定性保健品中非法添加 15 种壮阳类化学成分[J]. *中草药*, 2018, 49(3): 604–609.
- Li J, Jin MN, Li W, *et al.* Detection of 15 afrodyn drugs illegally added in sex-enhancing product by HPLC–MS/MS with solid nuclear particle chromatographic column [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49(3): 604–609.
- [16] 于泓, 胡青, 张甦, 等. 补肾壮阳类中药及保健食品中 31 种 5 型磷酸二酯酶抑制剂的高分辨四级杆飞行时间质谱定性定量检测方法[J]. *中国药理学杂志*, 2013, 48(15): 1312–1318.
- Yu H, Hu Q, Zhang S, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of 31 PDE–5 inhibitors in herbal products and dietary supplements by UPLC/Q–TOF–MS [J]. *Chin Pharm J*, 2013, 48(15): 1312–1318.
- [17] 黄泽玮, 刘忠莹, 黄琰, 等. Orbitrap–Elite 高分辨质谱用于减肥及壮阳类保健食品和中成药中 54 种非法添加物的快速筛查及确证[J]. *中国测试*, 2019, 45(1): 70–76.
- Huang ZW, Liu ZY, Huang Y, *et al.* Application of Orbitrap–Elite high resolution mass spectrometry for the rapid screening and confirmation of 54 illegal additives in healthy food and herbal medicines for slimming and anti–impotence [J]. *China Meas Test*, 2019, 45(1): 70–76.
- [18] 刘斌, 包懿, 郎乐, 等. 超高效液相色谱–四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查及定量分析保健品中 29 种非法添加物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(6): 1511–1518.
- Liu B, Bao Y, Lang L, *et al.* Rapid screening and quantitative analysis of 29 kinds of illegally added compounds in diet health foods by ultra performance liquid chromatography–quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(6): 1511–1518.
- [19] 徐硕, 金鹏飞, 徐文峰, 等. 补肾壮阳类药品中非法添加化学药物检测技术的研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2017, 32(5): 677–680.
- Xu S, Jin PF, Xu WF, *et al.* Research advances on analytical technologies of illegally adulterated chemical substances in medicines for invigorants [J]. *Northwest Pharm J*, 2017, 32(5): 677–680.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



谭丽容, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为中药及食品质量安全研究。
E-mail: elena_tam@foxmail.com