

高效液相色谱-串联质谱法检测保健食品中 25 种非甾体类抗炎药

胡晓楠, 徐慧静, 李莹*, 郭文丽, 纪卫红, 王欣

(天津市食品安全检测技术研究院, 天津 300308)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)分析保健食品中 25 种非法添加非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)的分析方法。**方法** 保健食品固体试样经甲醇超声提取, 液体试样经水-甲醇萃取来提取, 经液相色谱柱分离后, 在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下测进行 25 种 NSAIDs 含量的测定, 外标法定量。**结果** 25 种非甾体抗炎药在 1~500 ng/mL 范围内呈现良好线性关系, 相关系数均大于 0.99, 检出限为 1.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 5.0~6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 6.0、12.0 和 60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个水平平均加标回收率为 80.0%~108.2%, 相对标准偏差为 6.4%~9.9% ($n=6$)。**结论** 该方法针对保健食品基质, 对固体和液体样品分别采取超声萃取和液液直接萃取的提取方式, 操作简便、节约成本、专属性强且灵敏度、回收率高, 满足保健食品中 NSAIDs 的检测。

关键词: 非甾体类抗炎药; 保健食品; 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of 25 kinds of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dietary supplements by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HU Xiao-Nan, XU Hui-Jing, LI Ying*, GUO Wen-Li, JI Wei-Hong, WANG Xin

(Tianjin Institute for Food Safety Inspection Technology, Tianjin 300308, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 25 kinds of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) illegally added to dietary supplements by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The analytes were extracted from the solid samples by ultrasound-assisted extraction and extracted from the liquid samples by liquid-liquid extraction both using methanol as extractant. After separated by liquid chromatography column, the content of 25 kinds of NSAIDs was finally determined under multiple reaction monitoring (MRM) mode by external standard method. **Results** The 25 kinds of NSAIDs showed a good linear relationship in the range of 1–500 ng/mL, with the correlation coefficient all greater than 0.99, the limits of detection and limits of quantitation were 1.5–2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 5.0–6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The average recoveries ranged between 80.0% and 108.2% at spiked levels of 6.0, 12.0 and 60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively, with relative

基金项目: 天津市市场监督管理委员会科技项目(2020-W20)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Tianjin Administration for Market Regulation (2020-W20)

*通信作者: 李莹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。E-mail: liying20000210@163.com

*Corresponding author: LI Ying, Master, Senior Engineer, Tianjin Institute for Food Safety Inspection Technology, Tianjin 300308, China. E-mail: liying20000210@163.com

standard deviations varying from 6.4% to 9.9% ($n=6$). **Conclusion** This method has proved to be applicable for solid and liquid samples by ultrasound-assisted and liquid-liquid extraction, respectively. This method offers high overall recoveries with substantial convenience, low cost, strong specificity and excellent sensitivity, fulfilling all requirements of the determination of NSAIDs in dietary supplements.

KEY WORDS: non-steroidal anti-inflammatory drugs; dietary supplements; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引言

非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是一类作用不同于甾体激素的抗炎药,通过抑制环氧合酶(cyclooxygenase, COX)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^[1-3]。NSAIDs 因不同于阿片类口服镇痛药,且不会产生镇定、控制呼吸和成瘾的效果,因此被大量应用^[4-7]。这些药品大多为酸性结构,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^[8-10]。NSAIDs 是一类广泛的药物,其中较常使用的有依托度酸、萘普生、酮洛芬、奥沙普秦、芬布芬、非普拉宗、安替比林、氯诺昔康、双氯芬酸钾、醋酸泼尼松、对乙酰氨基酚、乙酰水杨酸等^[11-14]。有报道称,不法商贩向保健食品及植物药酒中非法添加该类药物以达到其宣称的效果^[15-17],如冯了性风湿跌打假药酒案;减肥类保健品中发现掺入双氯酚酸;风湿类中药胶囊中检出不同类别、不同功效的 4 种化学药成分等^[18]。2003 年,欧盟发布双氯酚酸在猪和牛组织内最高残留限量标准 1~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[19-20]。欧盟委员会于 2009 年 12 月 22 日第 37/2010 号法规中制定了关于该类药理活性物质和动物源性食品中最大残留限量的分类^[21-23]。因此建立保健食品中 NSAIDs 准确的检测方法有着重要的意义。

目前,国内对 NSAIDs 的检测主要有高效液相色谱法^[24]、气相色谱-质谱法和液相色谱-质谱法等^[25],检测的样品基质主要为环境水资源、动物组织、血液和尿液等,前处理也多以固相萃取或磁性固相萃取提取净化^[26-30],而对保健食品中 NSAIDs 检测的报道很少。同类研究中针对中成药中的非法添加药物检测时间相对较长,且检测目标物并不针对非甾体类的抗炎药或检测的非甾体抗炎药种类偏少^[31],我国尚未出台保健食品中非甾体类抗药的相关检测方法标准,存在一定的食品安全隐患^[32-33]。基于保健品天然处方基质复杂的特点,本研究针对固体和液体保健食品,分别采取超声萃取和液液直接萃取法快速提取,建立高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)快速检测保健食品中 25 种 NSAIDs,为非法添加 NSAIDs 的

测定及相关检测方法标准的制定提供数据参考,为监管部门对保健食品中非法添加 NSAIDs 的监管提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

市售保健食品(荷清茶、蜂胶灵软胶囊、决明子山楂茶、消渴茶、洋参含片、灵芝皇胶囊、保健饮料、蛋白口服液、牛磺酸饮品、氨基酸口服液、女仕口服液);固体阴性样品(汤臣倍健蜂胶软胶囊);液体阴性样品(斯维诗血橙精华液)。

依托度酸、萘普生、酮洛芬、奥沙普秦、芬布芬、非普拉宗、安替比林、氯诺昔康、双氯芬酸钾、醋酸泼尼松、对乙酰氨基酚、乙酰水杨酸、安乃近、氨基比林、吡罗昔康、舒林酸、二氟尼柳 17 种混合标准物质(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司);氟尼辛、吡罗昔康、依托考昔、托芬那酸、氟比洛芬、萘丁美酮 6 种混合标准物质(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 德国 DRE 公司);富马酸酮替芬、巴氯芬(纯度>99%, 德国 DRE 公司);甲醇、乙腈(色谱级, 德国默克公司);甲酸(色谱级, 梯希爱上海化成工业发展有限公司);

1.2 仪器与设备

1290-6470 高效液相色谱-串联质谱仪、ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(150 mm \times 3.0 mm, 1.8 μm)、Infinitylab Poroshell 120 Ec- C_{18} 色谱柱(150 mm \times 3.0 mm, 2.7 μm)(美国 Agilent 公司);Endeavorsil C_{18} 色谱柱(150 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm)(北京迪马科技公司);Minilab 全自动稀释配标仪(美国 Labtech 公司);BSA224S-CW 电子天平(感量 0.1 mg, 德国赛多利斯公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);N-EVAP-112 氮吹仪(美国 Rganomation 公司);Vortex-5 涡旋仪(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);DK-98-IIA 水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);H-2100R 高速冷冻离心机(湖南湘潭湘仪仪器有限公司);Scientz-IIDM 超声波清洗机(江苏张家港三友超声设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液制备

准确称取富马酸酮替芬、巴氯芬各 1000 μg (精确至 0.01 mg)至 10 mL 容量瓶中,甲醇定容,配制成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准溶液,再分别移取 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准溶液各 1 mL,用甲醇定容至 10 mL,配制成 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准储备液,

存储于棕色储液瓶中, -20°C 保存。

1.3.2 样品前处理

(1) 固体样品

取供试品 2.0 g(胶囊取内容物, 片剂、颗粒剂均研细)至于 50 mL 容量瓶中, 加入 40 mL 甲醇, 涡旋 5 min, 200 W 超声处理 20 min, 取出放冷, 加入流动相定容至刻度, 转移至离心管中, 3000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 针头滤器过滤后, 待进样分析。

(2) 液体样品

取供试品中, 口服液取 10 mL、糖浆取 5 mL、酒剂取 10 mL(蒸去乙醇), 分别加水 10 mL, 加甲醇 30 mL 振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 每次 15 min, 合并提取液, 取上清液经氮气流吹干, 再分别用 1 mL 流动相溶解, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 针头滤器过滤后, 待进样分析。

(3) 基质加标工作曲线

称取与试样基质相应的阴性样品(精确至 0.01 g), 按照 1.3.2(1)和(2)方法, 与试样一起进行提取和净化, 得到空白基质溶液。精确吸取一定量的混合标准溶液, 逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为 500、200、100、50、20、10、1 ng/mL 的基质匹配标准工作溶液, 供 HPLC-MS/MS 测定。

1.3.3 色谱条件

ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(150 mm \times 3.0 mm, 1.8 μm), 柱温 40°C , 进样体积 10 μL , 流速 0.30 mL/min。流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, 流动相 B 为乙腈。洗脱条件见表 1。

表 1 色谱梯度洗脱条件

Table 1 Chromatographic gradient elution conditions

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/(mL/min)	压力/bar
0	95.00	5.00	0.300	1200.00
2.00	95.00	5.00	0.300	1200.00
5.00	60.00	40.00	0.300	1200.00
10.00	60.00	40.00	0.300	1200.00
15.00	2.00	98.00	0.300	1200.00
18.00	2.00	98.00	0.300	1200.00
19.00	95.00	5.00	0.300	1200.00
20.00	95.00	5.00	0.300	1200.00

1.3.4 质谱条件

电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 正负 2 种模式切换扫描; 质谱扫描方式为多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 喷雾电压 4 kV; 雾化气压 40 psi; 气帘气流速 12 L/min, 离子源温度 350°C 。

1.3.5 数据处理

样品中各 NSAIDs 含量按照公式(1)计算:

$$X = \frac{C \times V}{m} \quad (1)$$

式中: X -样品中被测组分的含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$; C -按照标准曲线计算所得的被测组分的质量浓度, ng/mL ; V -定容体积, mL; m -样品称样量, g。

2 结果与分析

2.1 提取试剂的选择

由于 NSAIDs 多为酸性或中性物质, 更易被有机溶剂提取。本研究选取甲醇、75%甲醇水、乙腈为提取试剂进行实验, 分别向固体和液体试样添加 $6.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 混合标准溶液, 保持其他条件一致, 对 3 种提取溶剂进行比较。其中乙腈在液体和固体试样中平均回收率为 62.6%和 65.7%, 提取率均最低。在固体试样中, 甲醇作为提取试剂时, 25 种 NSAIDs 平均回收率最高, 为 82.5%, 且提取效果高于其他提取试剂($P<0.01$); 在液体试样中, 75%甲醇水作为提取试剂时, 25 种 NSAIDs 平均回收率最高, 为 84.3%, 且提取效果高于其他试剂($P<0.01$)。因此, 本研究固体试样选择甲醇作为提取试剂, 液体试样选择 75%甲醇水作为提取试剂。

2.2 质谱条件优化

将质量浓度为 $0.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 25 种 NSAIDs 按照每种化合物分子量和分子结构选择合适的电离方式进行一级质谱分析, 得到母离子, 并优化其锥孔电压。再对母离子进行二级质谱分析, 得到碎片离子信息, 选取 2 个响应较高且稳定的特征性子离子, 并优化其碰撞能量。优化离子源温度、雾化电压、雾化气、气帘气、辅助加热气等条件, 选择合适的质谱条件。其中, 大部分 NSAIDs 由于电负性原子的存在, 在正离子模式下容易形成分子离子 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 吲哚美辛、安乃近、双氯芬酸钾、乙酰水杨酸、二氟尼柳、氟比洛芬则容易失去质子, 选择了负离子扫描模式 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。25 种 NSAIDs 各化合物的信息及离子对、锥孔电压、碰撞能量等质谱参数见表 2。

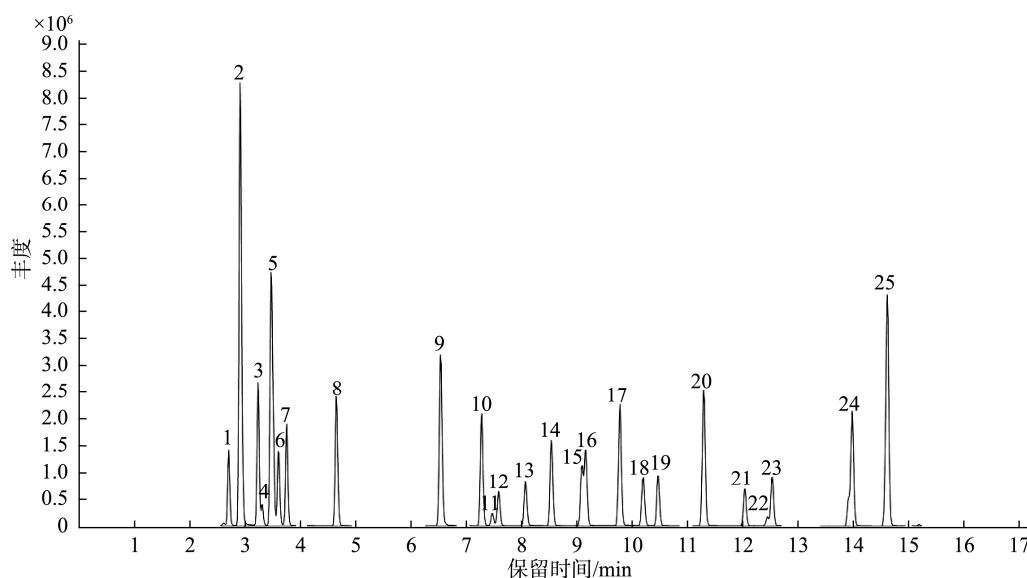
2.3 色谱条件优化

25 种非甾体抗炎药物极性较弱、熔点低、加热易挥发, 一般选用反相色谱柱进行分离。本研究对比了 ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (150 mm \times 3.0 mm, 1.8 μm)、Infinitylab Poroshell 120 Ec- C_{18} (150 mm \times 3.0 mm, 2.7 μm)、Endeavorsil C_{18} (150 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm) 3 种色谱柱对 25 种非甾体抗炎药分离效果, 其中 Endeavorsil C_{18} 色谱柱分离效果较差, 氨基比林、巴氯芬与依托考昔等 12 种非甾体化合物均不能有效分离, 且整体响应较低; Infinitylab Poroshell 120 Ec- C_{18} 色谱柱分离效果一般, 响应较低; ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱对 25 种非甾体抗炎药分离效果较好, 且峰形理想, 响应高。此外, 应用不同比例的甲酸-乙腈、甲醇(甲酸铵-甲酸)-水(甲酸铵-甲酸)等流动相系统进行等度和梯度洗脱分离。经过对比实验, 上述流动相系统在测定 25 种非甾体化学物质时, 流动相为 0.1%甲酸水-乙腈等度洗脱时, 分离效果较差, 分离度 $R<1$; 流动相为甲醇(1%甲酸铵-0.1%甲酸)-水(1%甲酸铵-0.1%甲酸)梯度洗脱时, 分离度 $R<1.5$; 0.1%

甲酸-乙腈为流动相进行梯度洗脱时, 分离效果较好, 分离度 $R > 1.5$ 。故选取 ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(150 mm \times 3.0 mm, 1.8 μ m)进行分离, 0.1%甲酸-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 总离子流图见图 1。

表 2 MRM 质谱采集参数
Table 2 MRM mass spectrometry acquisition parameters

序号	化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/V	极性
1	醋酸泼尼松	401.2	295.1; 277.1	125	15; 20	+
2	氯诺昔康	372.1	120.9; 94.9	32	30; 16	+
3	依托考昔	359.1	280.1; 244.0	175	42; 55	+
4	舒林酸	357.1	340.0; 233.0	210	40; 60	+
5	富马酸酮替芬	424.5	141.0; 115.0	140	35; 35	+
6	吡罗昔康	332.1	120.9; 95.0	120	35; 30	+
7	非普拉宗	321.2	265.0; 211.0	100	20; 20	+
8	氟尼辛	297.1	279.1; 264.0	140	25; 40	+
9	奥沙普秦	294.2	276.0; 103.0	135	30; 30	+
10	依托度酸	288.2	172.0; 143.0	80	10; 40	+
11	酮洛芬	255.3	209.0; 105.0	77	13; 29	+
12	芬布芬	255.1	237.1; 181.1	110	20; 20	+
13	氨基比林	232.2	98.0; 113.0	110	17; 17	+
14	萘普生	229.0	185.0; 170.0	145	5; 13	-
15	萘丁美酮	228.1	172.0; 128.0	90	30; 30	+
16	巴氯芬	214.0	151.0; 115.8	90	15; 35	+
17	安替比林	189.0	103.6; 76.7	125	25; 30	+
18	对乙酰氨基酚	152.0	110.0; 65.1	110	20; 25	+
19	吲哚美辛	356.0	311.9; 296.9	20	13; 27	-
20	安乃近	310.1	190.8; 175.7	100	20; 15	-
21	托芬那酸	262.1	243.1; 208.9	110	20; 20	+
22	双氯芬酸钾	250.0	206.1; 205.9	110	30; 20	-
23	二氟尼柳	249.0	205.0; 156.9	105	20; 25	-
24	氟比洛芬	243.0	198.9; 179.0	10	15; 20	-
25	乙酰水杨酸	179.0	137.0; 93.0	125	5; 20	-



注: 1: 巴氯芬; 2: 对乙酰氨基酚; 3: 安替比林; 4: 氨基比林; 5: 依托考昔; 6: 氟比洛芬; 7: 舒林酸; 8: 氯诺昔康; 9: 托芬那酸;
10: 酮洛芬; 11: 芬布芬; 12: 吲哚美辛; 13: 双氯芬酸钾; 14: 吡罗昔康; 15: 醋酸泼尼松; 16: 氟尼辛; 17: 乙酰水杨酸; 18: 奥沙普秦;
19: 富马酸酮替芬; 20: 萘丁美酮; 21: 二氟尼柳; 22: 萘普生; 23: 依托度酸; 24: 安乃近; 25: 非普拉宗。

图 1 25 种非甾体抗炎药的总离子流图(100 μ g/L)

Fig.1 Total ion chromatogram of 25 kinds of NSAIDs (100 μ g/L)

2.4 基质效应

基质效应在质谱分析中很常见, 消除基质效应的方法有很多, 如样品完全净化、标准曲线与基质匹配、同位素内标校正、添加分析保护剂等^[34]。本研究通过对固体和液体的空白基质匹配标准曲线与纯溶剂曲线进行比较评价基质效应(matrix effect, ME), ME>0 表示基质溶液对目标化合物具有基质增强效应, ME<0 表示基质溶液对目标化合物具有抑制效应, 当 $0 \leq |ME| \leq 20\%$ 时基质溶液对待测物干扰程度较低, $20\% < |ME| < 50\%$ 时基质溶液对待测物干扰程度中等, $|ME| \geq 50\%$ 时基质效应干扰强烈。发现经过该实验方法前处理后, 依然存在基质效应, 尤其对氟尼辛、萘丁美酮的影响较大, ME 分别为 56.5% 和 55.3%。因此, 该实验最终采用基质匹配标准曲线进行定量。

2.5 方法学验证

以各目标物的定量离子的响应值为纵坐标(Y)、质量浓度为横坐标(X, ng/mL), 绘制标准曲线, 得到线性回归方程, 用空白基质提取溶液配制 25 种非甾体抗炎药的标准工作溶液, 以信噪比(S/N)为 3 和 10 时的浓度作为各化合物的检出限(limits of detection, LODs)和定量限(limits of quantitation, LOQs)。结果表明, 25 种非甾体抗炎药在 1~500 ng/mL 范围内的线性关系良好($r^2 > 0.99$), 回归方程见表 3。在固体和液体试样中分别添加 6.0、12.0 和 60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个水平的混合标准溶液进行回收率实验, 每个添加水平进行 6 次平行测定。结果表明, 加标回收率在 80.0%~108.2%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 6.4%~9.9% ($n=6$), 均在 10% 以下, 符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》要求。

2.6 实际样品的测定

应用该研究建立的分析方法对市售保健食品进行测定。随机选取荷清茶、蜂胶灵软胶囊、决明子山楂茶、消渴茶、洋参含片、灵芝皇胶囊、保健饮料、蛋白口服液、牛磺酸饮品、氨基酸口服液、女仕口服液, 检测结果显示, 11 个样本中, 1 批次液体样品检出吲哚美辛 5.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 批次固体样品检出对乙酰氨基酚 6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、吲哚美辛 5.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 25 种非甾体化合物检出率为 18.2%, 结果表明该方法适用于保健食品中 25 种 NSAIDs 的测定。

2.7 与文献方法对比

与黎雪清等^[29]的检测方法所需检测时间为 40 min, 检测的目标物中只有 11 种非甾体抗炎药, 而本研究建立的方法检测时间为 20 min, 且检测物针对 NSAIDs, 检测的同类非甾体抗炎药为 25 种, 目标物更多, 专属性更强; 与侯小梅等^[35]的采用固相萃取柱提取净化, 液相色谱法测得 20 种 NSAIDs 在 1~50 g/mL 范围内线性关系良好, 检出限

为 30~80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相比, 本研究前处理过程简便, 针对不同状态基质采取不同溶剂直接萃取, HPLC-MS/MS 测得 25 种 NSAIDs 在 1~500 ng/mL 范围内呈现良好线性关系, 检出限(1.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)更低, 采用 HPLC-MS/MC 定性定量分析更准确。

表 3 回归方程、检出限和定量限
Table 3 Regression equations, LODs and LOQs

化合物	回归方程	LODs /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQs /($\mu\text{g}/\text{kg}$)
醋酸泼尼松	$Y=15824X-47778$	1.5	5.0
氯诺昔康	$Y=10628X-21108$	1.5	5.0
依托考昔	$Y=10992X+15426$	1.5	5.0
舒林酸	$Y=10096X+10223$	1.0	5.0
富马酸酮替芬	$Y=17532X-10861$	2.0	6.0
吡罗昔康	$Y=14214X-41002$	2.0	6.0
非普拉宗	$Y=20122X+32677$	2.0	6.0
氟尼辛	$Y=17544X-12475$	2.0	6.0
奥沙普秦	$Y=14068X-11105$	1.5	5.0
依托度酸	$Y=18224X+34177$	1.0	5.0
酮洛芬	$Y=16062X+33228$	1.5	5.0
芬布芬	$Y=17754X+11857$	1.5	5.0
氨基比林	$Y=16895X-58842$	1.5	5.0
萘普生	$Y=19654X+50400$	1.5	5.0
萘丁美酮	$Y=16051X+49902$	1.5	5.0
巴氯芬	$Y=20014X+17475$	1.5	5.0
安替比林	$Y=30091X+10012$	1.5	5.0
对乙酰氨基酚	$Y=19902X+77785$	1.5	5.0
吲哚美辛	$Y=17049X+47601$	1.5	5.0
安乃近	$Y=12479X+5069$	1.5	5.0
托芬那酸	$Y=18470X+77805$	2.0	6.0
双氯芬酸钾	$Y=10884X+95755$	2.0	6.0
二氟尼柳	$Y=12474X-77576$	2.0	6.0
氟比洛芬	$Y=24049X+78010$	2.0	6.0
乙酰水杨酸	$Y=47909X-8957$	2.0	6.0

3 结 论

本研究针对保健食品基质复杂天然物质较多的特点, 通过优化不同基质保健品的前处理条件, 采取固体试样经甲醇超声提取, 液体试样经水-甲醇直接萃取后氮吹浓缩, 基质标准曲线外标法定量, 建立了 HPLC-MS/MS 定量检测保健食品中 25 种非甾体抗炎药的方法。结果表明, 本研究样品前处理过程简便、高效且回收率高, 满足保健食品中 NSAIDs 的检测质谱条

件。为保健食品中 25 种 NSAIDs 的测定及相关检测方法标准的制定提供数据参考, 为监管部门的有效监管提供技术支持。

参考文献

- [1] 王俊菊, 史艳艳, 侯慧文. 我国动物性食品中兽药残留的现状、问题及对策[J]. 中国动物保健, 2021, 23(3): 5-7.
WANG JJ, SHI YY, HOU HW. Current situation, problems and Countermeasures of veterinary drug residues in animal food in China [J]. China Anim Health, 2021, 23(3): 5-7.
- [2] 赵欢欢, 潘源虎, 王湘如, 等. 兽用非甾体抗炎药的应用现状[J]. 动物医学进展, 2020, 41(2): 114-119.
ZHAO HH, PAN YH, WANG XR, *et al.* Application status of non steroidal anti-inflammatory drugs for animals [J]. Prog Vet Med, 2020, 41(2): 114-119.
- [3] ASGHARI A, KHANALIPOOR F, BARFI B, *et al.* Optimized miniaturized air-assisted liquid liquid microextraction for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in bio-fluid samples [J]. Rsc Adv, 2016, 6: 109473-109484.
- [4] VAN PE, DAESELEIRE E. A multiresidue liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the detection and quantitation of 15 nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in bovine meat and milk [J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407: 4485-4494.
- [5] MIRZAJANI R, KARDANI F, RAMEZANI Z. Preparation and characterization of magnetic metal-organic framework nanocomposite as solid-phase microextraction fibers coupled with high-performance liquid chromatography for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in biological fluids and tablet formulation samples [J]. Microchem J, 2019, 144: 270-284.
- [6] KALAMBATE PK, NOIPHUNG J, RODTHONGKUM N, *et al.* Nanomaterials-based electrochemical sensors and biosensors for the detection of non-steroidal anti-inflammatory drugs [J]. TrAC-Trend Anal Chem, 2021, 143(11): 116403.
- [7] ZHENG RJ, YANG YC, YANG C, *et al.* Core-shell MOF@COFs used as an adsorbent and matrix for the detection of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by MALDI-TOF MS [J]. Microchim Acta, 2021, 188: 179.
- [8] ZHANG N, GAO Y, XU XL, *et al.* Hydrophilic carboxyl supported immobilization of UiO-66 for novel bar sorptive extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs in food samples [J]. Food Chem, 2021, 355: 12963.
- [9] TARTAGLIA A, KABIRB A, D'AMBROSIO F, *et al.* Fast off-line FPSE-HPLC-PDA determination of six NSAIDs in saliva samples [J]. J Chromatogr B, 2020, 1144: 122082.
- [10] BORAHAN T, UNUTKAN T, ŞAHİN A, *et al.* A rapid and sensitive reversed phase-HPLC method for simultaneous determination of ibuprofen and paracetamol in drug samples and their behaviors in simulated gastric conditions [J]. J Sep Sci, 2019, 42(3): 678-683.
- [11] MÁRTA Z, BOBÁLY B, FEKETE J. Simultaneous determination of ten nonsteroidal anti-inflammatory drugs from drinking water, surface water and wastewater using micro UHPLC-MS/MS with on-line SPE system [J]. J Pharmaceut Biomed, 2018, 160: 99-108.
- [12] HIEU TQ, HUYNH P, PHUONG PK, *et al.* Validation of the method for determination of phenolphthalein and sibutramine in weight-loss functional foods from Vietnam by UPLC-MS/MS [J]. Vietnam J Chem, 2021, 59(4): 467-474.
- [13] PIETRUK M, JEDZINIAK P, OLEJNIK M. LC-MS/MS determination of 21 non-steroidal anti-inflammatory drugs residues in animal milk and muscles [J]. Molecules, 2021, 26: 5892.
- [14] LUO TS, SHI GL, HU JY, *et al.* Detection of 10 anti-rheumatic constituents illegally added in Chinese traditional medicine and health products by UPLC-MS/MS [J]. Drugs Clin, 2017, 40(11): 1576-1580.
- [15] GUĆ M, SCHROEDER G. Application of molecularly imprinted polymers (MIP) and flowing atmospheric-pressure afterglow mass spectrometry (FAPA-MS) to analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [J]. Appl Sci, 2020, 10(12): 4217.
- [16] SHISHOV A, NECHAEVA D, BULATOV A. HPLC-MS/MS determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in bovine milk based on simultaneous deep eutectic solvents formation and its solidification [J]. Microchem J, 2019, 150: 104080.
- [17] BIAŁK-BIELIŃSKA A, KUMIRSKA J, BORECKA M, *et al.* Selected analytical challenges in the determination of pharmaceuticals in drinking/marine waters and soil/sediment samples [J]. J Pharmaceut Biomed, 2016, 121: 271-296.
- [18] 侯晓芳, 施迎娣, 王嗣岑. 中药及保健品中非法添加物的分析技术研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(1): 33-40.
HOU XF, SHI YD, WANG SC. Progress in the analysis of adulterated additives in traditional Chinese medicines and health care products [J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(1): 33-40.
- [19] WANG T, WU HL, XIE LX, *et al.* Simultaneous and interference-free determination of eleven non-steroidal anti-inflammatory drugs illegally added into Chinese patent drugs using chemometrics-assisted HPLC-DAD strategy [J]. Sci China Chem, 2018, (61): 739-749.
- [20] CHO SH, PARK HJ, LEE JH, *et al.* Monitoring of 35 illegally added steroid compounds in foods and dietary supplements [J]. Food Addit Contam A, 2014, 31(9): 1470-1475.
- [21] AVINO P, NOTARDONATO I, PASSARELLA S. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in animal urine samples by ultrasound vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography coupled to ion trap-mass spectrometry [J]. Appl Sci, 2020, 10(16): 5441.
- [22] LIANG SH, JIAN NG, CAO JK, *et al.* Rapid, simple and green solid phase extraction based on polyanilinenanofibers-mat for detecting nonsteroidal anti-inflammatory drug residues in animal-origin food [J]. Food Chem, 2020, 328: 127097.
- [23] LIAO LY, HUANG YM, FANG Y. Dual functional monomers modified

- magnetic adsorbent for the enrichment of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water and urine samples [J]. *Talanta*, 2019, 201: 496–501.
- [24] WANG W, LIU YS, QIAO S, *et al.* Simultaneous determination of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2013, 30(11): 1215–1220.
- [25] QIAO LZ, SUN RT, YU CM, *et al.* Novel hydrophobic deep eutectic solvents for ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction of trace non-steroidal anti-inflammatory drugs in water and milk samples [J]. *Microchem J*, 2021, 170: 106686.
- [26] KIMA HJ, LEEA JH, PARK HJ. Determination of non-opioid analgesics in adulterated food and dietary supplements by LC-MS/MS [J]. *Food Addit Contam A*, 2014, 31: 973–978.
- [27] LI RJ, WU MC. High-throughput determination of 30 veterinary drug residues in milk powder by dispersive solid-phase extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Anal Methods*, 2017, 10(11): 3753–3762.
- [28] 芦丽, 宫旭, 谭力. 高效液相色谱-离子阱质谱法快速筛查改善睡眠类保健食品中非法添加的 24 种镇静催眠药[J]. *色谱*, 2015, 33(3): 256–266.
- LU L, GONG X, TAN L. Rapid screening of 24 kinds of sedative and hypnotic drugs illegally added in sleep health food by high performance liquid chromatography ion trap mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(3): 256–266.
- [29] 黎雪清, 鲁艺, 王铁杰, 等. 抗风湿类中成药和保健品中非法添加化学成分的高效液相色谱-质谱/质谱法检测[J]. *中国医药导报*, 2015, 12(6): 86–90.
- LI XQ, LU Y, WANG TJ, *et al.* Detection of illegally added chemical components in wind dampness resistant Chinese patent medicine and health care products by high performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry [J]. *China Med Her*, 2015, 12(6): 86–90.
- [30] KEPEKCI-TEKKELI SE, DURMUS Z. Magnetic solid phase extraction applications combined with analytical methods for determination of drugs in different matrices review [J]. *J Chil Chem Soc*, 2019, 64: 2.
- [31] 徐硕, 金鹏飞, 何笑荣, 等. 检测抗风湿类中成药和保健品非法添加化学药物的研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2018, 33(1): 135–136.
- XU S, JIN PF, HE XR, *et al.* Research advances on analytical technologies of illegally adulterated chemical substances in antirheumatic Chinese patent medicines and health foods [J]. *Northwest Pharm J*, 2018, 33(1): 135–136.
- [32] 张念森. 非甾体抗炎药的临床应用及不良反应[J]. *中国药物评价*, 2013, 30(1): 37–38.
- ZHANG NS. Clinical application and adverse reactions of non steroidal anti-inflammatory drugs [J]. *Chin J Drug Eval*, 2013, 30(1): 37–38.
- [33] HASSAN M, ALSHANA U. Switchable-hydrophilicity solvent liquid-liquid microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from biological fluids prior to HPLC-DAD determination [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2019, 174: 509–517.
- [34] 方志娟, 李晓芹, 丁洪流, 等. UPLC-MS/MS 法测定动物源性食品中 16 种非甾体消炎药残留量[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(21): 211–214, 217.
- FANG ZJ, LI XQ, DING HL, *et al.* Determination of 16 non steroidal anti-inflammatory drug residues in animal derived foods by UPLC-MS/MS [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2021, 49(21): 211–214, 217.
- [35] 侯小梅, 冯安勇, 袁平, 等. 中成药及保健品中违禁添加 20 种非甾体抗炎药的 SPE-HPLC-DAD 测定[J]. *中国医药工业杂志*, 2016, 47(7): 910–614.
- HOU XM, FENG ANY, YUAN P, *et al.* Determination of 20 NSAIDs added illegally in Chinese patent drugs and health products by solid phase extraction-HPLC-DAD [J]. *Chin J Pharmaceut*, 2016, 47(7): 910–614.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



胡晓楠, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: mermaid0410@163.com



李莹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: liying20000210@163.com