

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240927002

引用格式: 王娟强, 孔维恒, 李慧晨, 等. 食品中新型那非衍生物丙氧苯基羟基伐地那非的筛查和定量测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(12): 50–58.

WANG JQ, KONG WH, LI HC, *et al.* Screening and quantitative determination of novel nafil derivative propoxyphenyl hydroxyvardenafil in foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(12): 50–58. (in Chinese with English abstract).

食品中新型那非衍生物丙氧苯基羟基伐地那非的 筛查和定量测定

王娟强¹, 孔维恒², 李慧晨¹, 董雨馨¹, 郭超¹, 赵文涛¹, 郭文萍^{1*},
张颖颖¹, 姜锐¹

(1. 中国肉类食品综合研究中心, 肉类加工技术北京市重点实验室, 北京 100068;
2. 中国海关科学技术研究中心, 北京 100026)

摘 要: **目的** 对在食品中发现的一种新型伐地那非衍生物进行筛查, 并建立定量测定方法。**方法** 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法在食品中发现一种与伐地那非结构类似的化合物。通过高分辨质谱碎片离子推测该伐地那非结构类似物的分子结构及裂解规律, 与定制合成的对照品比较, 确定物质名称。采用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法的多反应监测模式进行扫描, 外标法定量测定。**结果** 在食品中筛查出新型那非衍生物丙氧苯基羟基伐地那非, 丙氧苯基羟基伐地那非在 2~50 ng/mL 质量浓度范围内线性关系良好, 检出限为 0.03 mg/kg, 定量限为 0.10 mg/kg, 在咖啡、压片糖果、果冻及植物饮料基质中 3 个加标水平下的平均回收率为 87.6%~102.6%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.5%~6.3%, 方法重现性和稳定性良好, RSD<5%。采用该方法对实际样品进行测定, 发现 34 个阳性样品, 含量范围为 $1.60 \times 10^3 \sim 2.62 \times 10^4$ mg/kg。**结论** 该方法具有快速、准确、灵敏度高等优点, 可用于食品中那非衍生物丙氧苯基羟基伐地那非的筛查和定量测定, 为打击非法添加伐地那非衍生物的监管提供技术支持。

关键词: 非法添加; 丙氧苯基羟基伐地那非; 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法; 伐地那非结构类似物

Screening and quantitative determination of novel nafil derivative propoxyphenyl hydroxyvardenafil in foods

WANG Juan-Qiang¹, KONG Wei-Heng², LI Hui-Chen¹, DONG Yu-Xin¹, GUO Chao¹,
ZHAO Wen-Tao¹, GUO Wen-Ping^{1*}, ZHANG Ying-Ying¹, JIANG Rui¹

(1. China Meat Research Center, Beijing Key Laboratory of Meat Processing Technology, Beijing 100068, China;
2. Science and Technology Research Center of China Customs, Beijing 100026, China)

收稿日期: 2024-09-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFF1104700); 国产质谱类设备海关验证评价技术和体系研究项目(2023HK141)

第一作者: 王娟强(1992—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。E-mail: wangjq1206@163.com

*通信作者: 郭文萍(1970—), 女, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: guowenping0810@163.com

ABSTRACT: Objective To study and screen the novel vardenafil derivative in food, and establish a quantitative method. **Methods** A compound with similar structure to vardenafil was detected in food by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-exactive orbitrap-high resolution mass spectrometry. The molecular structure and fragmentation law of the vardenafil structure analogue were inferred from the fragment ions of high-resolution mass spectrometry. The compound name was clarity compared with the custom-synthesized reference substance. Quantitative analysis was carried out in a multiple reaction monitoring by high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry with the external standard method. **Results** The novel vardenafil derivative in food was identified as propoxyphenyl hydroxy-vardenafil. The results showed that good linearity was observed for propoxyphenyl hydroxyvardenafil within the concentration range of 2–50 ng/mL. The limit of detection was 0.03 mg/kg, and the limit of quantitation was 0.10 mg/kg. The average recoveries and relative standard deviations (RSD) of coffee, confectionery, jelly and plant-based drinks were 87.6%–102.6% and 0.5%–6.3% respectively. The reproducibility and stability of the method were good (RSD<5%). The method was applied to measure the real samples, and 34 batches of positive samples were found with the content range of 1.60×10^3 – 2.62×10^4 mg/kg. **Conclusion** This method is fast, accurate and high sensitivity, can be used for screening and quantitative determination of the derivative propoxyphenyl hydroxyvardenafil in food, and can provide technical support for the supervision of the illegal addition of vardenafil derivatives.

KEY WORDS: illegal addition; propoxyphenyl hydroxyvardenafil; high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-exactive orbitrap-high resolution mass spectrometry; vardenafil structural analogues

0 引言

那非类药物是用于治疗男性勃起功能障碍的一类药物,通过选择性抑制 5 型磷酸二酯酶(phosphodiesterase type 5, PDE-5),提高环鸟苷酸含量水平,增强阴茎血流量,从而恢复勃起功能^[1–3]。目前国内外常用的那非类药物主要包括阿伐那非、西地那非、伐地那非、他达拉非等^[4–7]。近年来,为迎合健康食品消费新风潮,不法分子在补肾壮阳、抗疲劳等保健食品或者暗示具有增强性功能的食品中非法添加新型那非类衍生物^[8–11],从而逃避监管并牟取暴利。新型那非类衍生物一般与 PDE-5 抑制剂具有相同的母核结构^[12–14],如伐地那非的咪唑并三嗪母核结构^[15],通常为已知那非类化合物的同分异构体,或修饰部分结构得到。这些新型那非类衍生物未进行安全性评价,在食品中非法添加,将严重危害消费者的健康^[16–18]。

为打击此类违法行为,监管部门颁布实施了一系列涉及那非类物质的补充检验方法,包括 BJS 201601《食品中那非类物质的测定》、BJS 201805《食品中那非类物质的测定》等。国家市场监督管理总局办公厅在 2022 年 8 月 11 日印发了《市场监管总局办公厅关于打击食品中非法添加那非类物质及其系列衍生物违法行为的意见》,发布了市监稽发〔2022〕74 号附件 1《食品中苯丙代卡巴地那非的检验方法》,以及市监稽发〔2023〕95 号附件 2《食品中伐地那非杂质 30 的测定方法》等新型

那非衍生物检测方法^[19–20]。这些补充检验方法涵盖了 90 多种那非类化合物,检测方法的不断完善,监管力度的不断增强,强有力地打击了非法添加行为。但是不法分子逃避监管手段不断升级^[21–22],新型那非类衍生物不断涌现,更新迭代速度极快。孙健等^[23]在保健食品中发现一种新型西地那非衍生物。XIA 等^[24]在食品中发现一种新型伐地那非衍生物 O-丙基伐地那非。冯亭亭等^[25]在保健食品中发现一种他达拉非衍生物 3-羟丙基去甲他达拉非。这些化合物一般为常见的 PDE-5 抑制剂西地那非、伐地那非、他达拉非等经过化学结构修饰而来,没有现行的国家标准或行业标准检测方法,缺乏相应的对照品,在实际监管中难度较大。

本研究采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪进行筛查,发现食品中一种新型伐地那非衍生物,根据二级碎片裂解规律,并通过定制合成的对照品,最终确定该物质名称。同时采用高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法进行定量分析,为执法机关及时有效打击非法添加行为提供有力技术保障。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

选择暗示或者宣称具有壮阳功效的实际样品进行检测,咖啡、压片糖果、植物饮料、果冻、牡蛎粉和口服液等均购买于网络销售平台。

乙腈、甲酸(色谱纯,德国 CNW 公司);甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);那非类快速检测试剂卡(湖州艾维德生物技术有限公司);BJS 201805 中西地那非等 90 种那非混标(质量浓度 10 $\mu\text{g/mL}$,天津阿尔塔科技有限公司);丙氧苯基伐地那非(纯度为 99.3%,CAS 号 2840532-32-1,上海安谱瑾世标准技术服务有限公司);丙氧苯基羟基伐地那非(纯度为 100%,CAS 号 1339092-18-0,湖北弘信化学试剂有限公司);实验用水均为一级水。

1.2 仪器与设备

Agilent 1290-6470 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱仪、Agilent Eclipse plus C_{18} 色谱柱(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm)(美国 Agilent 公司);Thermo Orbitrap Q Exactive-HF-X 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱联用质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);AUW220 分析天平(精度 0.1 mg,日本 Shimadzu 公司);Milli-Q 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司);KQ5200DE 超声波清洗器(昆山舒美超声仪器公司);S-100 涡旋混合仪(日本 Taiyo 公司);CR21N 高速离心机(日本 Hitachi 公司);HM100 研磨仪(北京格瑞德曼仪器设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液配制

分别称取约 10 mg 丙氧苯基伐地那非和丙氧苯基羟基伐地那非对照品,加适量甲醇溶解且稀释至 50 mL 容量瓶,定容,分别配制质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液,置于-18 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱贮存,有效期 3 个月。

1.3.2 样品制备

固体试样取适量混匀后用研磨仪研细,液体试样搅拌均匀。参照 BJS 201805 中样品前处理方法,称取试样 1 g(精确至 0.001 g)于离心管中,加 40 mL 甲醇,超声提取 15 min,放于离心机 12000 r/min 离心 5 min,取出上清液转移至 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容。混匀静置后,取上清液过微孔滤膜,根据样品实际浓度用 50% 甲醇水适当稀释到线性范围内,待上机测定。

1.3.3 仪器方法

(1) 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法

色谱条件: Agilent Eclipse plus C_{18} (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm);柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;流动相: 0.1% 甲酸水溶液(A 相)-乙腈(B 相);洗脱梯度: 0~1.0 min, 10%~50% B; 1.0~2.5 min, 50%~85% B; 2.5~4.0 min, 85% B; 4.1~6.5 min, 10% B, 流速 0.3 mL/min;进样体积 2 μL 。

质谱条件: 电喷雾离子源;扫描方式: 正模式多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描;毛细管电压: 3.5 kV;离子源温度: 350 $^{\circ}\text{C}$;干燥气流量: 9 L/min。监测离子对: m/z 519/151(定量离子对), m/z 519/299、 m/z 519/99(定性离子对)。

(2) 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法

色谱条件: Agilent Eclipse plus C_{18} (2.1 mm $\times$ 150 mm, 1.8 μm);柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;流动相: 0.1% 甲酸水溶液(A 相)-乙腈(B 相)。洗脱梯度 0~1.0 min, 20%~50% B; 1.0~8.0 min, 50%~60% B; 8.0~11.0 min, 60%~90% B; 11~13 min, 20% B;流速 0.2 mL/min;进样体积 5 μL 。

质谱条件: 扫描模式为 Full MS-dd-MS2;正模式扫描,鞘气流量: 40 L/min;辅助气流量: 15 L/min;喷雾电压: 3.5 kV;离子源温度: 325 $^{\circ}\text{C}$;辅助气温度: 350 $^{\circ}\text{C}$;全扫描分辨率: 60000;二级扫描分辨率: 15000。

1.4 数据处理

采用 Thermo Xcalibur 4.1 进行高分辨质谱定性数据分析, Agilent MassHunter Workstation Software 10.1 进行定量数据分析,采用 Origin 9.1 及 ChemBioDraw Ultra 14.0 绘制图谱。

2 结果与分析

2.1 定性测定

2.1.1 那非类快速检测试剂卡测定

按照那非类快速检测试剂卡使用说明对咖啡等样品进行测定,试剂卡的对照线显色,检测线无显色,则样品中那非浓度高于检出限,实验结果判断为阳性,说明样品中可能含有那非类化合物。

2.1.2 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定

按照食品补充检验方法 BJS 201805 中标准方法(超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法)对样品进行测定,未检测到标准方法中的 90 种那非。但在数据分析提取 MRM 色谱图时,监测到 1 个新的色谱峰,如图 1 所示,该未知物既具有丙氧苯基羟基豪莫西地那非的特征离子对 m/z 519/99,又具有丙氧苯基硫代艾地那非和丙氧苯基硫代豪莫西地那非的特征离子对 m/z 519/299,但其保留时间(retention time, RT) (RT=5.676 min)却与丙氧苯基羟基豪莫西地那非(RT=6.011 min)、丙氧苯基硫代艾地那非(RT=13.976 min)和丙氧苯基硫代豪莫西地那非(RT=13.124 min)都不相同,极大可能是这些化合物的同分异构体,因此推测该化合物可能为新型那非衍生物。

2.1.3 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法筛查

按照 1.3.3 步骤进行定性筛查,样品中未知物以及丙氧苯基羟基伐地那非的提取色谱图和二级碎片质谱图如图 2 所示。如图 2A 所示咖啡样品在 9.78 min 处出现 1 个色谱峰,正扫描模式下加氢峰的准分子离子峰为 m/z 519.23785,推测其分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$,由二级碎片离子质谱图(图 2B)可以看出其主要的特征碎片离子为 m/z 376.10678、 m/z 326.17294、 m/z 299.11331、 m/z 284.12643、 m/z 169.09689、 m/z 151.08640、

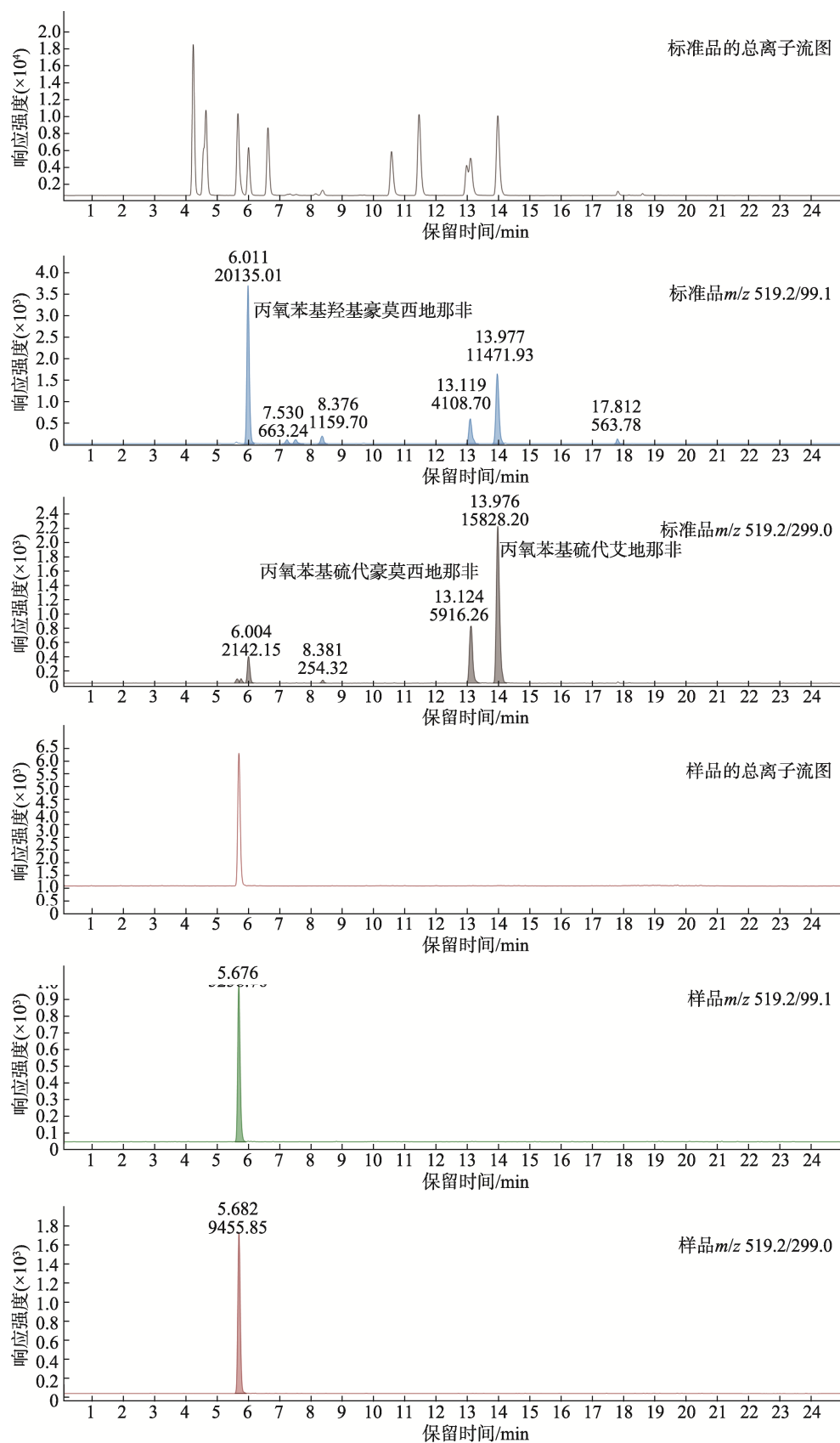
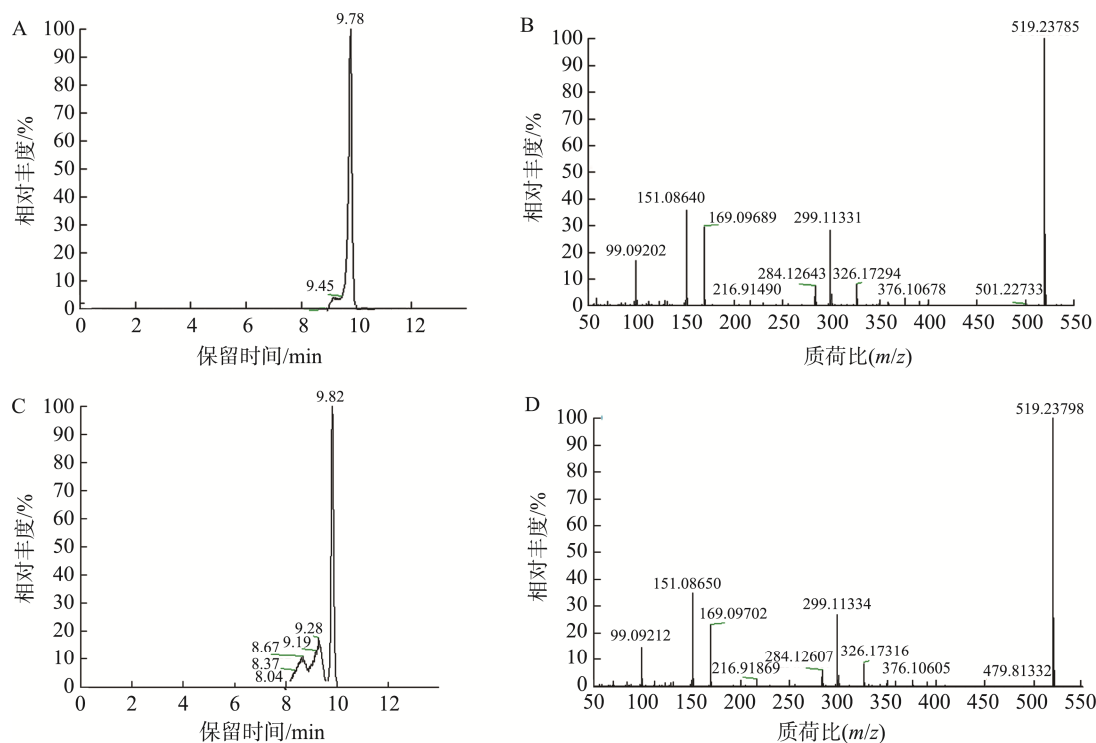


图 1 标准品和样品的总离子流图及提取色谱图

Fig.1 Total ion chromatograms and extraction chromatograms of standard and sample



注: A. 样品中未知物提取色谱图; B. 样品中未知物二级碎片质谱图; C. 丙氧苯基羟基伐地那非提取色谱图; D. 丙氧苯基羟基伐地那非二级碎片质谱图。

图2 样品中未知物以及丙氧苯基羟基伐地那非的提取色谱图和二级碎片质谱图

Fig.2 Chromatogram and secondary fragmentation mass spectrum of the unknown compound in sample and propoxyphenyl hydroxyvaridenafil

m/z 99.09202。其中 m/z 376.10678、 m/z 299.11331、 m/z 284.12643、 m/z 169.09689、 m/z 151.08640 均与伐地那非(图3A)与丙氧苯基伐地那非(图3B)的特征碎片离子相同,说明该化合物具有与伐地那非相同的母核结构。此外 m/z 326.17294 与丙氧苯基伐地那非特征碎片离子相同,未知物准分子离子与丙氧苯基伐地那非的准分子离子峰 m/z 503.2433($[M+H]^+$)相差 15.9946 amu,可能比丙氧苯基伐地那非多 1 个氧原子。通过分析伐地那非^[26-28]和丙氧苯基伐地那非的结构和质谱裂解规律^[24,29-31],该化合物可能为丙氧苯基伐地那非末端的甲基上氢原子被羟基取代,未知物质谱解析如图 4 所示。

2.1.4 未知物确证

根据推断的化合物,定制合成获取目标物丙氧苯基羟基伐地那非对照品,按照 1.3.3 条件进行检测。提取的对照品的色谱峰及二级碎片质谱图(图 2C 和图 2D),保留时间 9.82 min 与样品中保留时间 9.78 min 基本一致(偏差 0.4%),样品中二级碎片谱图与对照品中特征碎片离子 m/z 376.10605、 m/z 326.17316、 m/z 299.11334、 m/z 284.12607、 m/z 169.09702、 m/z 151.08650、 m/z 99.09212 完全匹配(图 2),其中 m/z 299.11334、 m/z 151.08650、 m/z 99.09212 等高丰度离子的相对强度基本一致,说明样品中的未知物为丙氧苯基羟基伐地那非。

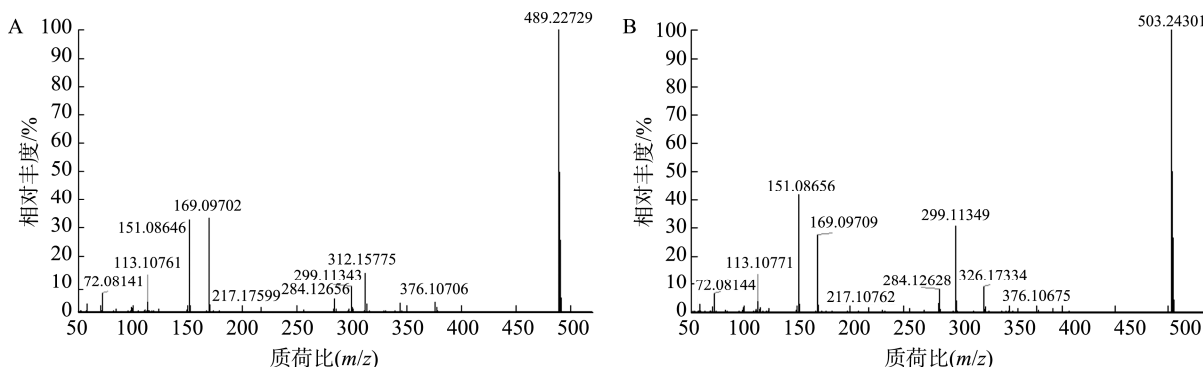


图3 伐地那非(A)和丙氧苯基伐地那非(B)的二级碎片质谱图

Fig.3 Secondary fragmentation mass spectra of vardenafil (A) and propoxyphenyl hydroxyvaridenafil (B)

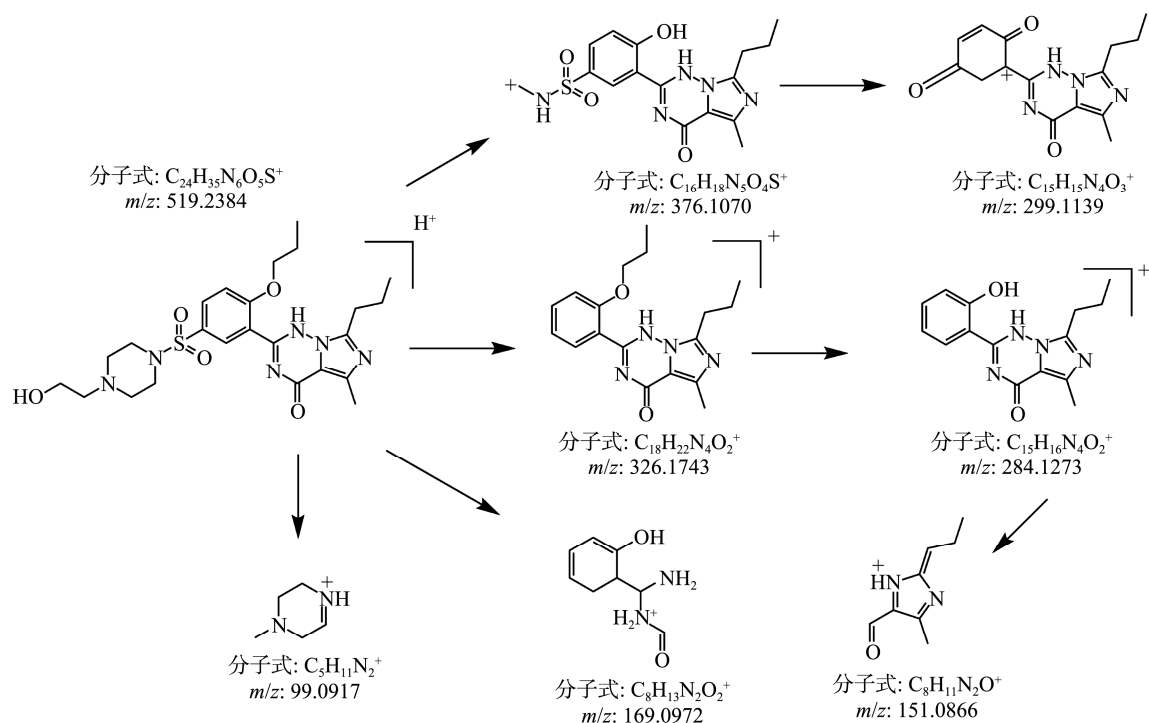


图 4 未知物的质谱裂解方式

Fig.4 Mass spectrum fragment pathway of unknown compound

2.2 高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法定量测定结果

2.2.1 线性范围、检出限和定量限

配制丙氧苯基羟基地那非质量浓度分别为 2、5、10、20、50 ng/mL 的系列溶液, 外标法定量分析, 在 2~50 ng/mL 的质量浓度范围内, 线性方程为 $Y=847.56X+1452.05$, 线性相关系数为 0.9963, 线性关系良好。通过在空白基质加标的方式以 3 倍信噪比及 10 倍信噪比分别确定方法的检出限及定量限, 在空白基质中添加检出限和定量限浓度水平时, 化合物的检出限大于 3 倍信噪比, 定量限大于 10 倍信噪比, 均能满足要求, 因此, 丙氧苯基羟基地那非检出限为 0.03 mg/kg, 定量限为 0.10 mg/kg。

2.2.2 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是随目标物共流出的其他内源性杂质造成, 在质谱分析中主要干扰目标物的离子化, 使进入质谱的离子减少或增多, 从而影响定量结果的可靠性^[32-33]。按照 $ME\%=[(基质匹配标准曲线的斜率-溶剂标准曲线的斜率)/溶剂标准曲线的斜率] \times 100\%$ 来评价 ME 大小。当 $|ME|<20\%$ 时为弱 ME, 当 $20\% \leq |ME| \leq 50\%$ 时为中等 ME, 当 $|ME|>50\%$ 时为强 ME。结果为正值和负值时分别表示基质增强和基质抑制效应。通过配制的溶剂标准曲线和咖啡、压片糖果、果冻、植物饮料基质匹配标准曲线的斜率计算, ME 结果如表 1 所示, 4 种基质中丙氧苯基羟基地那非的 ME 均为负值, 表现为基质抑制效应, 化合物在基质中的响应低于在纯溶剂中的响应, 如果用溶剂曲线去校正样品含量, 则

检测值偏小。咖啡和压片糖果为强 ME, 果冻和植物饮料中为中等 ME, 基质中不同的杂质成分对化合物离子化影响不同, 导致 ME 存在差异。咖啡和压片糖果基质成分更为复杂, 其中糖类、蛋白等物质会增加流动相的黏度, 改变质谱喷雾溶液的表面张力, 从而降低质谱离子化效率, 表现为强 ME。因此, 实际样品检测时可配制空白基质匹配标准工作曲线用于定量分析, 从而减少 ME 对定量结果的影响。

此外, 用 50% 甲醇水溶液稀释前处理后的 4 种基质空白溶液, 获取稀释 10、20、50、100 倍后的基质空白溶液, 均配制 10 ng/mL 基质标准溶液^[26]。通过不同稀释倍数基质空白溶液(A)与纯溶剂(B)配制的标准溶液的响应信号的比值, 即计算公式 $ME\%=A/B \times 100\%$ 测定 ME, 当比值大于 1 时, 为基质增强效应, 当比值小于 1 时, 为基质抑制效应, 比值在 0.8~1.2 时为弱 ME。如表 1 测定结果表明: 当空白基质稀释 10 倍后, 果冻、植物饮料中 ME 明显减弱, 将空白基质稀释 50 倍后, 咖啡和压片糖果 ME 较弱。因此, 在实际样品检测过程中, 阳性样品含量较大的情况下, 在前处理过程中可增大样品稀释倍数来降低 ME 对定量结果的影响。

2.2.3 准确度和精密度

按定量限、2 倍定量限和 10 倍定量限共 3 个浓度水平向咖啡、压片糖果、果冻、植物饮料基质中加入丙氧苯基羟基地那非标准溶液, 每个水平进行 6 次平行, 加标样品通过提取后测定相应含量, 计算回收率评价方法的准确度, 测定相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)

表 1 不同基质中丙氧苯基羟基伐地那非 ME 评价
Table 1 Evaluation of ME of propoxyphenyl hydroxyvaridenafil in different matrices

基质		咖啡	压片糖果		果冻		植物饮料	
再稀释倍数	ME/%	评价结果	ME/%	评价结果	ME/%	评价结果	ME/%	评价结果
1 倍	-66.7	强	-57.4	强	-40.3	中	-22.5	中
10 倍	73.9	中	69.4	中	95.2	弱	100.4	弱
20 倍	91.7	弱	87.1	弱	100.8	弱	97.3	弱
50 倍	103.2	弱	95.9	弱	100.4	弱	98.4	弱
100 倍	103.7	弱	105.0	弱	103.2	弱	101.7	弱

考察方法精密度^[34]。如表 2 所示, 丙氧苯基羟基伐地那非在 4 种基质中的回收率在 87.6%~102.6%之间, RSDs 为 0.5%~6.3%, 均小于 6.5%, 满足实验要求。

2.2.4 重现性和稳定性

为考察方法重现性, 由 3 个不同实验人员对丙氧苯基羟基伐地那非样品进行测定, 由表 3 可知, 重现性实验中丙氧苯基羟基伐地那非的 RSDs 为 0.6%~4.4%。在方法稳定性实验^[35]中, 考察了样品中丙氧苯基羟基伐地那非的日内和日间稳定性, 日内稳定性为 1 d 内测定 5 次, 含量的 RSDs 为 1.1%~4.9%。日间稳定性为 1 d 内测定 1 次, 共测定 3 d, 其 RSDs 为 1.3%~4.5%。结果表明该方法重现性良好, 日内和日间较为稳定。

2.3 实际样品检测

通过高分辨质谱确认样品中新型伐地那非衍生物的物质名称和结构, 在此基础上, 采用高效液相色谱-串联

三重四级杆质谱建立定量检测方法, 考察了样品中化合物的 ME, 该方法的线性关系良好, 准确度和精密度高, 且具有良好的重现性和稳定性。将该方法应用于实际样品检测: 对采集的宣称具有壮阳功效的 80 个样品进行测定, 包括咖啡 31 个、压片糖果 27 个、植物饮料 11 个、果冻 5 个、牡蛎粉 4 个、口服液 2 个。在果冻、牡蛎粉、口服液中未检出目标物。咖啡样品中丙氧苯基羟基伐地那非检出率为 77.4% (24/31), 含量范围 $1.60\times 10^3\sim 2.92\times 10^3$ mg/kg。压片糖果样品中丙氧苯基羟基伐地那非检出率为 25.9% (7/27), 含量范围 $8.10\times 10^3\sim 2.62\times 10^4$ mg/kg。植物饮料样品中丙氧苯基羟基伐地那非检出率为 27.3% (3/11), 含量范围 $1.79\times 10^3\sim 2.13\times 10^3$ mg/kg。实验结果表明, 丙氧苯基羟基伐地那非在可疑样品中检出率高, 存在较大风险。监管部门应提高对此类作案手段的识别和研判。这些样品主要通过网络销售, 消费者需谨慎购买。

表 2 不同基质中丙氧苯基羟基伐地那非的加标回收率和 RSDs (% , n=6)
Table 2 Recoveries and RSDs of propoxyphenyl hydroxyvaridenafil in different matrices (% , n=6)

化合物	添加水平 (mg/kg)	回收率				RSDs			
		咖啡	压片糖果	果冻	植物饮料	咖啡	压片糖果	果冻	植物饮料
丙氧苯基 羟基伐地 那非	0.1	87.6	100.0	97.1	102.6	5.4	4.0	2.9	3.4
	0.2	89.3	93.3	96.7	96.9	5.7	5.9	2.8	1.3
	1.0	88.4	91.0	90.4	95.7	5.8	6.3	2.0	0.5

表 3 不同基质中丙氧苯基羟基伐地那非的重现性和日内、日间稳定性(%)
Table 3 Reproducibility and intra- and inter-day stability of propoxyphenyl hydroxyvaridenafil in different matrices (%)

化合物	添加量 (mg/kg)	重现性 RSDs (n=3)				日内稳定性 RSDs (n=5)				日间稳定性 RSDs (n=3)			
		咖啡	压片糖果	果冻	植物饮料	咖啡	压片糖果	果冻	饮料	咖啡	压片糖果	果冻	植物饮料
丙氧苯基 羟基伐地 那非	0.1	2.8	2.2	4.4	1.5	1.8	4.9	3.9	1.1	3.6	4.5	2.0	2.6
	0.2	2.3	1.4	2.4	1.9	2.7	3.8	1.6	4.6	3.1	3.0	3.1	1.4
	1.0	0.6	3.3	3.1	2.0	2.4	3.2	3.3	2.5	2.9	3.2	1.3	2.9

3 结 论

本研究通过快检试剂卡初步筛查, 高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法谱靶向筛查, 在食品中发现已知物的

同分异构体后, 进一步通过高分辨质谱, 对未知物进行结构解析, 定制合成相应的对照品, 最终发现了新型那非衍生物丙氧苯基羟基伐地那非, 并对其进行了定性和定量的系统分析。该方法快速、灵敏、准确, 首次在食品中检出

丙氧苯基羟基伐地那非, 为发现新型那非衍生物提供了解题思路和参考依据, 可作为食品中丙氧苯基羟基伐地那非快速筛查和测定的有效方法。目前尚无相关正式颁布的国家、行业标准对食品中丙氧苯基羟基伐地那非进行测定, 而食品中非法添加问题严峻, 该方法的建立也弥补了丙氧苯基羟基伐地那非检测方法的空缺。可将该方法转化为国家食品补充检验方法作为检测标准在市场监管和各检测机构进行广泛应用。目前该方法已多次用于公安等执法部门委托的涉案应急检测, 能够有效服务监管, 为打击非法添加、保障食药安全提供了有力的技术支持。此外, 建议监管部门加强对该类非法添加的筛查工作, 以保障消费者的健康和安全。

参考文献

- [1] LI CZ, WANG XZ, WU SM, *et al.* Separation and structural elucidation of a novel vardenafil analogue as an adulterant in a natural health care dietary supplement [J]. *Heliyon*, 2023(9): e15418.
- [2] 王进欣, 储刚, 孙飘扬, 等. 伐地那非衍生物的合成和体内活性评价[J]. *化学学报*, 2007, 65(24): 2917–2922.
- WANG JX, CHU G, SUN PY, *et al.* Synthesis of vardenafil analogue and its activity evaluation *in vivo* [J]. *Acta Chimica Sinica*, 2007, 65(24): 2917–2922.
- [3] 姜辉. 伐地那非的分子学研究[J]. *中华男科学杂志*, 2005, 11(5): 396–399.
- JIANG H. Molecular studies of vardenafil [J]. *National Journal of Andrology*, 2005, 11(5): 396–399.
- [4] KEE CL, GE XW, VÉRONIQUE G, *et al.* A review of synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE-5i) found as adulterants in dietary supplements [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 147: 250–277.
- [5] ELINA PG, STANISLAV G, HRISTINA L, *et al.* Survey on sildenafil, tadalafil, and vardenafil concentrations in food supplements for erectile dysfunction [J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 3950190: 1–6.
- [6] SHIN D, KWON J, KANG HS, *et al.* The presence of unauthorized ingredients in dietary supplements: An analysis of the risk warning data in Korea [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 108: 104462.
- [7] ZURAWIN JL, STEWART CA, ANAISSIE JE, *et al.* Avanafil for the treatment of erectile dysfunction [J]. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 2016, 9: 1163–1170.
- [8] LIU JL, SUN J, WEI H, *et al.* Isolation and characterization of a novel tadalafil analogue adulterant, N-cyclohexyl nortadalafil, in a dietary supplement [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2023, 227: 115144.
- [9] 夏金涛, 吴婉琴, 朱松松, 等. 固体饮料中一种新型卡巴地那非类似物的定性鉴别和定量分析[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(5): 754–760.
- XIA JT, WU WQ, ZHU SS, *et al.* Qualitative and quantitative identification of a new carbadenafil analogue in solid beverages [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2022, 41(5): 754–760.
- [10] 李涛, 袁磊, 王建山, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱法快速筛查和鉴定保健食品中非法添加的新型西地那非类衍生物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(10): 3991–3996.
- LI T, YUAN L, WANG JS, *et al.* Screening and identification of sildenafil analogues illegally added in healthy foods by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole linear/ion trap of mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(10): 3991–3996.
- [11] 宁霄, 金绍明, 李志远, 等. 功能性老年乳粉中 300 种非法添加药物及其类似物的液相色谱-高分辨质谱分析[J]. *色谱*, 2023, 41(11): 960–975.
- NING X, JIN SM, LI ZY, *et al.* Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry analysis of 300 illegally added drugs and their analogues in functional milk powder for the elderly [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2023, 41(11): 960–975.
- [12] DAYOUNG H, JAE SK, SANGGIL C, *et al.* Metabolic study of vardenafil analogues: Pseudovardenafil and hydroxyvaridenafil [J]. *Journal of Chromatography, B*, 2020, 1139: 121940.
- [13] KASHGARI FK, RAVNA A, SAGER G, *et al.* Identification and experimental confirmation of novel cGMP efflux inhibitors by virtual ligand screening of vardenafil-analogues [J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2020, 126: 110109.
- [14] VENHUIS BJ, KASTE DD. Towards a decade of detecting new analogues of sildenafil, tadalafil and vardenafil in food supplements: A history, analytical aspects and health risks [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 69: 196–208.
- [15] TRAVIS MF, BIRGIT S, CARSTEN B, *et al.* Combining trapped ion mobility spectrometry with liquid chromatography and tandem mass spectrometry for analysis of isomeric PDE-5 inhibitor analogs [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2023, 225: 115210.
- [16] 李少元, 接强, 栾玉静, 等. 保健食品中西地那非等 PDE-5i 检测方法研究进展[J]. *刑事技术*, 2023, 48(3): 221–227.
- LI SY, JIE Q, LUAN YJ, *et al.* Research progress of detection methods about PDE-5i including sildenafil in healthcare food [J]. *Forensic Science and Technology*, 2023, 48(3): 221–227.
- [17] KLAUDIA S, BULCSÚ D, ANNA É, *et al.* Possible retinotoxicity of long-term vardenafil treatment [J]. *Experimental Eye Research*, 2024, 243: 109890.
- [18] TAKA AKI N, GENYA W, RYUHEI H, *et al.* Acute intracranial and spinal subdural hematoma associated with vardenafil [J]. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 2018, 27(9): e201–e202.
- [19] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局办公厅关于打击食品中非法添加那非拉非类物质及其系列衍生物违法行为的意见(市监稽发〔2022〕74号)[EB/OL]. (2022-08-11) [2024-09-27]. https://www.samr.gov.cn/cms_files/filemanager/1647978232/attach/20238/c6ca62afb8d4942be5b0591a4830fba.pdf
- State Administration for Market Regulation. Opinions of the general office of the state administration for market regulation on cracking down on illegal addition of nafila-fine-like substances and their series of derivatives in food (No. 74 of 2022 issued by the general office of the state administration for market regulation) [EB/OL]. (2022-08-11) [2024-09-27]. https://www.samr.gov.cn/cms_files/filemanager/1647978232/attach/20238/c6ca62afb8d4942be5b0591a4830fba.pdf
- [20] 国家市场监督管理总局. 市场监管总局办公厅关于打击食品中非法添加酚汀(酚丁)、酚酞及其酯类衍生物或类似物违法行为的通知(市监稽

- 发〔2023〕95号〕[EB/OL]. (2023-10-13) [2024-09-27]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2023/art_5b69a28fde634bfab1dc178a63fce009.html
- State Administration for Market Regulation. Notice of the general office of the state administration for market regulation on cracking down on illegal addition of phenolphthalins (phenolphthalins), phenolphthalein and their ester derivatives or analogues in food (No. 95 of 2023 issued by the general office of the state administration for market regulation) [EB/OL]. (2023-10-13) [2024-09-27]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2023/art_5b69a28fde634bfab1dc178a63fce009.html
- [21] 田明, 王玉伟, 冯军, 等. 保健食品及相关食品典型案例[J]. 中国食品学报, 2024, 24(1): 487–496.
- TIAN M, WANG YW, FENG J, *et al.* Typical case analysis of health food and related food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(1): 487–496.
- [22] 陈美芳, 陈秀萍. 电商模式下保健食品市场监管问题及对策分析[J]. 卫生软科学, 2024, 38(6): 33–37.
- CHEN MF, CHEN XP. Analysis of problems and countermeasures of market supervision in health food market under e-commerce model [J]. Soft Science of Health, 2024, 38(6): 33–37.
- [23] 孙健, 于泓, 胡青, 等. 一种新型西地那非衍生物的 Q-TOF-MS 鉴定[J]. 药学报, 2014, 49(4): 513–516.
- SUN J, YU H, HU Q, *et al.* Identification of a new sildenafil analogue based on Q-TOF-MS [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2014, 49(4): 513–516.
- [24] XIA JT, WU WQ, JIANG F, *et al.* A novel vardenafil analog in a healthcare product: Preparation, characterization, and quantification [J]. Heliyon, 2023, (9): e19456.
- [25] 冯亭亭, 孙健, 张静娴, 等. 一种他达拉非衍生物的发现与鉴定[J]. 药学报, 2020, 55(8): 1877–1881.
- FENG TT, SUN J, ZHANG JX, *et al.* Discovery and identification of a tadalafil analogue [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2020, 55(8): 1877–1881.
- [26] 张建丽, 王小兵. LC/MS 和 LC-MS/MS 定性检测保健品中非法添加的伐地那非[J]. 质谱学报, 2009, 30(4): 219–222.
- ZHANG JL, WANG XB. Detection of vardenafil in health products by LC/MS and LC-MS/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2009, 30(4): 219–222.
- [27] 夏金涛, 吴婉琴, 江丰, 等. 压片糖果中一种新型伐地那非衍生物发现和确证[J]. 分析实验室, 2024, 43(7): 1004–1010.
- XIA JT, WU WQ, JIANG F, *et al.* Discovery and confirmation of a new type of vardenafil derivatives in pressed candy [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2024, 43(7): 1004–1010.
- [28] 朱泽兵, 郭娅, 张德伟, 等. 补肾壮阳类中成药中 15 种非法添加化学药物的检测方法研究[J]. 质量与安全检验检测, 2024, 34(1): 42–49.
- ZHU ZB, GUO Y, ZHANG DW, *et al.* Study on the detection methods of 15 kinds of chemical drugs illegally added to kidney-tonifying and aphrodisiacal Chinese patent medicine [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2024, 34(1): 42–49.
- [29] SUN J, YU H, ZHANG JX, *et al.* Isolation and identification of a novel vardenafil analogue, propoxy-vardenafil, found as an adulterant in a health supplement [J]. Heliyon, 2023(9): e17253.
- [30] 刘雅婷, 郭予昕, 刘振强, 等. 食品中一种新型伐地那非结构类似物的筛查与定量测定[J]. 分析测试学报, 2023, 42(11): 1488–1494.
- LIU YT, GUO YX, LIU ZQ, *et al.* Screening and quantitative determination of a new vardenafil analogue in foods [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(11): 1488–1494.
- [31] 饶雅琨, 王苑桃, 孙晓, 等. 食品中一种新型非法添加物 O-丙基伐地那非的快速筛查和定量测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(6): 228–235.
- RAO YK, WANG YT, SUN X, *et al.* Rapid screening and quantitative determination of a new illegally added compound O-propyl vardenafil in foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(6): 228–235.
- [32] 郭超, 陈超, 李慧晨, 等. 基于高效液相色谱-质谱联用技术检测畜肉中的瓜尔胶[J]. 食品科学, 2022, 43(24): 349–356.
- GUO C, CHEN C, LI HC, *et al.* Detection of guar gum in adulterated livestock meat by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Food Science, 2022, 43(24): 349–356.
- [33] 廖伟杰, 黄兆翔, 高佳敏. 优化液质法测定多种基质中五氯酚残留量[J]. 广州化学, 2024, 49(3): 66–69.
- LIAO WJ, HUANG ZX, GAO JM, *et al.* Lc-ms for the determination of pentachlorophenol residues in a variety of matrices [J]. Guangzhou Chemistry, 2024, 49(3): 66–69.
- [34] 王娟强, 刘梦瑶, 张明悦, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测畜肉及内脏中苯甲酸和马尿酸残留[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 311–318.
- WANG JQ, LIU MY, ZHANG MY, *et al.* Determination of benzoic acid and hippuric acid residues in meat and offal by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science, 2022, 43(14): 311–318.
- [35] WANG JQ, LIU XR, WEI Y. Magnetic solid-phase extraction based on magnetic zeolitic imazolate framework-8 coupled with high performance liquid chromatography for the determination of polymer additives in drinks and foods packed with plastic [J]. Food Chemistry, 2018, 256: 358–366.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)