

UPLC-Q/Orbitrap HRMS 快速测定清咽类保健食品中 12 种非法添加药物

郭立净, 袁利杰*, 袁阳蕾

(河南省食品检验研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(食品安全快速检测与智慧监管技术), 特殊食品工程技术中心, 河南郑州 450003)

摘要: 建立了一种基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q/Orbitrap HRMS)快速筛查及定量分析清咽类保健食品中 12 种非法添加药物的方法。样品经乙腈超声提取, 高速离心, 以 ZORBAX XDB-C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 为色谱柱, 甲醇与 0.1% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)为流动相, 梯度洗脱, 质谱采集用 Q Extractive 高分辨质谱中正离子扫描, 一级全扫描和数据依赖的二级子离子扫描(Full MS/dd-MS²)监测模式, 以 Full MS 提取高分辨母离子色谱峰的面积定量, 以保留时间、一级母离子以及 dd-MS² 扫描所得的二级碎片离子信息建立数据库定性筛查。12 种药物在 7.63 min 内的得到有效分离, 精确质量数偏差不大于 1.48×10^{-6} , 在 1.00~200.00 μg/L 范围内线性关系良好(相关系数 ≥ 0.999), 测定下限为 50.00~150.00 μg/kg, 加标回收率在 75.15%~117.65% 之间, 相对标准偏差(RSD)为 0.89%~4.84%。该方法前处理简单、快速, 分析检测准确, 灵敏度高, 选择性强, 可用于清咽类保健食品中 12 种非法添加药物快速定性筛查和定量分析。

关键词: 保健食品; 非法添加; 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱

文章编号: 1673-9078(2022)12-375-382

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0113

Rapid Determination of 12 Kinds of Illegally Added Drugs in

Throat-clearing Healthcare Food Products by UPLC-Q/Orbitrap HRMS

GUO Lijing, YUAN Lijie*, YUAN Yanglei

(Henan Institute of Food Inspection, Key Laboratory of Food Safety Quick Testing and Smart Supervision Technology for State Market Regulation, Special Food Engineering Technology Center, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: A method for rapid screening and quantitative analysis of 12 kinds of illegally added drugs in throat-clearing healthcare food products based on ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q/Orbitrap HRMS) was developed. The sample was extracted with acetonitrile and centrifuged at a high speed. The separation of the 12 target compounds was performed on a ZORBAX XDB-C₁₈ column (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) through a gradient elution with 0.1% formic acid (containing 5 mmol/L ammonium acetate) and methanol as the mobile phase. Mass spectrometry analysis was performed *via* the full MS/dd-MS² acquisition with positive ionization mode, and the chromatographic peak areas obtained through extracting the accurate mass number of parent ions by full MS first-order mass spectrometry were quantified. A database was established for qualitative screening based on the retention time, primary precursor mass and secondary fragment ions information from DD-MS² scans. The 12 kinds of drugs were effectively separated within 7.63 min with the mass accuracy deviation lower than 1.48×10^{-6} . A good linearity was obtained in the range from 1.00 μg/L to 200.00 μg/L, with a correlation coefficients higher than 0.999. The lower limits of detection ranged from 50.00 μg/kg to

引文格式:

郭立净,袁利杰,袁阳蕾.UPLC-Q/Orbitrap HRMS 快速测定清咽类保健食品中 12 种非法添加药物[J].现代食品科技,2022,38(12):375-382

GUO Lijing, YUAN Lijie, YUAN Yanglei. Rapid determination of 12 kinds of illegally added drugs in throat-clearing healthcare food products by UPLC-Q/Orbitrap HRMS [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 375-382

收稿日期: 2022-02-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21577042); 河南省市场监督管理局应用技术研究项目(2020sj36)

作者简介: 郭立净(1988-), 女, 硕士研究生, 助理工程师, 研究方向: 食品检验检测, E-mail: 876678220@qq.com

通讯作者: 袁利杰(1979-), 女, 硕士研究生, 副主任技师, 研究方向: 食品检验检测, E-mail: yuanlij@126.com

150.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average spiked recoveries for 12 target compounds were between 75.15% and 117.65%, with relative standard derivations (RSDs) ranged from 0.89% to 4.84%. The method was simple, fast, accurate, sensitive and selective, thus can be used for rapid qualitative screening and quantitative analysis of illegally added chemical drugs in throat-cleaning healthcare food products.

Key words: health food with effect of clearing the throat; illegally adulteration; ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q/Orbitrap HRMS)

随着我国工业经济的发展, 环境污染问题使得空气质量不断恶化, 以及人们工作压力增大, 嗜好烟酒、熬夜、饮食油腻辛辣等生活习惯, 咽喉疾病发病率呈逐年上升趋势^[1], 加上人们保健意识的提升, 清咽类保健食品深受广大消费者的追捧。从申报注册的资料发现, 清咽类保健食品的原料主要是金银花、胖大海、罗汉果等药食同源类中草药, 但是一些不法分子为牟取利润和快速缓解咽喉不适, 在清咽类保健食品中添加疗效更为显著的化学药物, 添加的药物种类和添加剂量均处于一个不可控制的状态, 消费者在不知情的情况下超剂量或长期服用, 会对身体造成较大的伤害^[2-4]。有文献报道, 在中成药复方咳喘王胶囊中检出盐酸二氧丙嗪^[5], 盐酸二氧丙嗪属于抗组胺类药物, 具有镇咳、祛痰、平喘、消炎和黏膜表面局部麻醉等作用; 另外近期出现保健食品中检出麻黄碱的报道^[6], 麻黄碱属于肾上腺素受体激动剂, 主要用来治疗支气管哮喘、过敏反应、鼻粘膜充血等疾病。从抗组胺类药物和麻黄碱类药物的治疗功能上分析, 很容易被添加到清咽类保健食品中用来快速缓解咽喉疾病^[7], 而且这些药物存在一定的副作用, 譬如抗组胺类药物存在中枢神经抑制作用、抗胆碱作用、心脏毒性及体重增加的不良反应^[8], 均不得在保健食品中添加。

目前已报道的中成药或保健食品中非法添加药物的检测技术主要有薄层色谱法^[9]、高效液相色谱法^[7,10]、液相色谱串联质谱法^[11-15]、高分辨质谱法^[16-18]、红外光谱法^[19-21]、核磁共振法^[22,23]等, 其中文献报道关于清咽类保健食品中非法添加药物主要是沙丁胺醇、盐酸二氧丙嗪等。UPLC-Q/Orbitrap HRMS 是一种高通量的筛查技术, 具有高灵敏度和高选择性, 在缺少标准品的情况下根据建立的数据库实现可靠性的快速定性筛查, 目前已在食品安全领域广泛应用, 但尚没有使用 UPLC-Q/Orbitrap HRMS 对清咽类保健食品中麻黄碱、甲基麻黄碱以及 10 种抗组胺类药物的快速筛查分析的文献报道。本研究以市面上常见的六类清咽类保健食品为研究对象, 建立 UPLC-Q/Orbitrap HRMS 同时快速筛查麻黄碱、抗组胺类等 12 种药物的分析方法, 实现清咽类保健食品中 12 种非法添加药物快速定性筛查和定量分析, 为监管部门做到早预警、早发现提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Vanquish 超高效液相色谱系统、Q Exactive PlusTM 四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱系统, 美国 Thermo; Mettler XS205 电子天平, 瑞士梅特勒; 3-30K 高速冷冻离心机, 德国 Sigma; Milli-Q 超纯水器, 美国密理博公司; KQ-500 TDB 温控超声仪, 昆山市超声仪器有限公司。

12 种药物标准品: 苯海拉明 (批号 21060496, 纯度 99.80%)、盐酸异丙嗪 (批号 21070641, 纯度 99.50%)、马来酸氯苯那敏 (批号 21070312, 纯度 99.90%)、西替利嗪 (批号 21040011, 纯度 99.80%)、氯雷他定 (批号 21081374, 纯度 99.80%)、地氯雷他定 (批号 11692103, 纯度 99.90%)、盐酸二氧丙嗪 (批号 9062103, 纯度 99.50%), 坛墨质检科技股份有限公司; 麻黄碱 (批号 S036177, 100.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 阿尔塔科技有限公司; 甲基麻黄碱 (批号 11279, 1.00 mg/mL), LGC Mikromol; 伊巴斯汀 (批号 2106580, 纯度 99.9%), 上海安普瑞世标准技术服务有限公司; 氮卓斯汀 (批号 22Z042-B4, 纯度 98.00%)、非索非那定 (批号 22Z042-B2, 纯度 99.60%), 上海甄准生物科技有限公司; 甲醇、乙腈 (色谱纯), 德国 Merck 公司; 甲酸 (质谱纯)、乙酸铵 (质谱纯), 美国 Sigma 公司; 超纯水 (电阻率为 18.20 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, 25 $^{\circ}\text{C}$), 美国 Millipore 公司。105 批次的草珊瑚、罗汉果、川贝枇杷、金银花、西瓜霜、胖大海等为原料的含片清咽类保健食品, 购买于本地市场。

1.2 实验方法

1.2.1 混合标准溶液的配制

分别准确称取标准品适量, 用甲醇溶解并定容至刻度, 配制成质量浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。分别精密量取上述 12 种标准储备溶液适量, 用初始流动相逐级稀释成标准工作溶液, 临用新制。

1.2.2 样品前处理

取草珊瑚、罗汉果、川贝枇杷、金银花、西瓜霜、胖大海六类药食同源中草药为原料的含片清咽类保健

食品,经制样机打碎,研磨成粉状,精密称取制备样品 1.00 g 于 50 mL 容量瓶中,加 30 mL 乙腈,振荡混匀,超声 10 min,放冷至室温,用乙腈稀释至刻度,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,上机测试。

1.2.3 色谱条件

色谱柱:Agilent ZOBAX XDB C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm);柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 5 μL ;流速:0.30 mL/min;流动相 A:0.1%甲酸(含 5 mmol/L 乙酸铵)溶液, B:甲醇;梯度洗脱程序:0~4.0 min, 95% A~10% A; 4.0~7.5 min, 10% A; 7.5~7.6 min, 10% A~95% A; 7.6~10.0 min, 95% A。

1.2.4 质谱条件

Q Exactive TM 质谱系统配有加热电喷雾离子源(HESI),采用正离子扫描模式(ESI⁺);喷雾电压为

3.00 kV,毛细管温度和喷雾温度分别为 350 $^{\circ}\text{C}$ 和 250 $^{\circ}\text{C}$;鞘气和辅助气流速分别设为 35 arb 和 5 arb,雾化气为氮气,S-lens RF 电压为 50 V。质谱扫描方式为 Full MS/dd-MS² 模式.Full MS(一级母离子全扫描)分辨率设为 70 000 FWHM,质谱扫描范围为 m/z 100~550,自动增益控制(AGC)、最大注入时间(IT)分别设为 1.00×10^6 和 50 ms; dd-MS²(数据依赖的二级质谱扫描)分辨率设为 17 500 FWHM,AGC 设为 5.00×10^5 ,IT 设为 50 ms,分离窗口设为 m/z 2.00,强度阈值(Intensity Threshold)设为 2.00×10^5 ,同位素排除设为“on”,动态排除值设为 10.00 s。各化合物的步进归一化碰撞能量(NCE)值统一设为 30、50、70 eV。12 种药物的质谱分析参数见表 1。

表 1 12 种药物的质谱分析参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of the 12 drugs

化合物	分子式	理论质量数 (m/z)	实测质量数 (m/z)	质量数偏差 / 10^6	碎片离子(m/z)
苯海拉明	C ₁₇ H ₂₁ NO	256.169 59	256.169 22	-1.447 83	152.062 05, 115.111 74, 92.049 48, 167.085 53
盐酸异丙嗪	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ S·HCl	285.142 00	285.141 66	-1.169 01	198.037 17, 86.096 43, 71.072 95, 105.069 88, 162.037 2
马来酸氯苯那敏	C ₂₀ H ₂₃ ClN ₂ O ₄	275.130 95	275.130 74	-0.783 61	230.073 10, 202.051 8, 167.0729 5, 118.065 13
西替利嗪	C ₂₁ H ₂₅ ClN ₂ O ₃	389.162 65	389.162 51	-0.361 74	201.044 72, 166.077 70, 132.052 94, 193.076 02, 187.107 72
氯雷他定	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₂	383.152 08	383.151 67	-1.069 7	337.110 22, 90.975 92, 267.080 44, 280.088 27, 259.135 55
地氯雷他定	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₂	311.130 95	311.130 68	-0.889 11	259.135 55, 294.104 40, 282.104 4, 278.073 1, 267.080 93
盐酸二氧丙嗪	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₂ S·HCl	317.131 83	317.131 59	-0.735 76	86.096 43, 167.072 95, 272.073 98, 71.072 95, 87.104 25
麻黄碱	C ₁₀ H ₁₅ NO	166.122 64	166.122 62	-0.126 72	148.112 08, 133.088 60, 117.069 88, 70.065 13, 56.049 4
甲基麻黄碱	C ₁₁ H ₁₇ NO	180.138 29	180.138 2	-0.510 09	147.104 25, 117.069 88, 135.080 44, 70.065 13, 57.033 49
伊巴斯汀	C ₃₂ H ₃₉ NO ₂	470.305 36	470.305 3	-0.123 64	167.085 53, 302.511 46, 203.142 97, 161.096 01, 152.062 05
氯卓斯汀	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₃ O	382.168 07	382.167 54	-1.374 13	112.112 08, 271.063 27, 342.347 89, 81.069 88, 58.065 33
非索非那定	C ₃₂ H ₃₉ NO ₄	502.295 19	502.294 8	-0.767 27	466.274 06, 171.116 74, 131.085 53, 484.284 52, 262.159 03

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的确定

实验采用常见的 C₁₈ 色谱柱,分别选取 $\phi=0.1\%$ 甲

酸溶液和 $\phi=0.1\%$ 甲酸溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)作为水相,甲醇和乙腈作为有机相进行考察,结果发现,流动相为 $\phi=0.1\%$ 甲酸(含 5 mmol/L 乙酸铵)溶液和甲醇时,各物质响应强度明显高于流动相为 $\phi=0.1\%$ 甲酸水溶液和甲醇的强度,且峰型拖尾现象得到明显改

善;与乙腈作为有机相相比,甲醇能在更短时间内使待测组分得到有效分离。因此,实验选择 $\phi=0.1\%$ 甲酸(含5 mmol/L 乙酸铵)溶液和甲醇为流动相进行梯度洗脱;同时实验考察了 Agilent ZOBAX XDB C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 和 Waters BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 两个品牌的 C₁₈ 色谱柱,发现二者没有显著性差异。

取六类清咽类保健食品作为空白基质样品,按照 1.2.2 操作,从提取的离子色谱图(Extracted Ion Chromatograms, XICs)中显示,12种药物的保留时间处均没有干扰峰,表明方法专属性较强。在阴性样品中添加12种药物,浓度均为100.00 $\mu\text{g/L}$,按照 1.2.2 操作,12种药物提取的离子色谱图分离良好,单次测定12种药物在7.63 min之内完成分离,见图1。

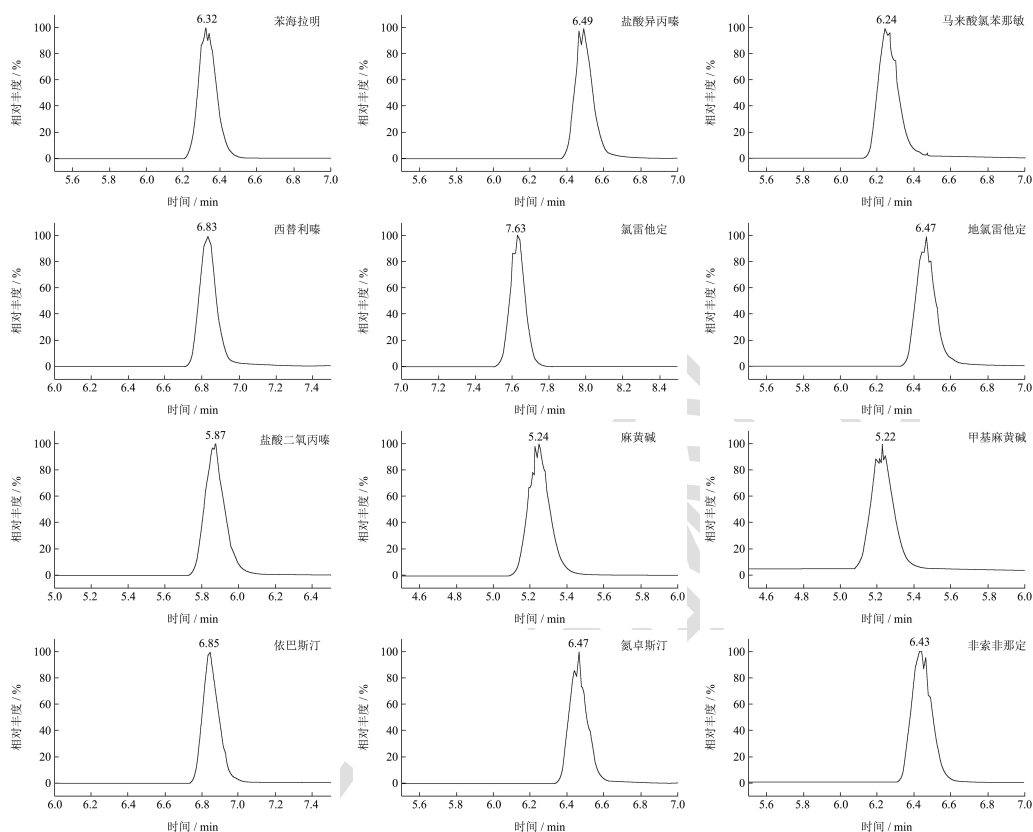


图1 12种药物提取的离子色谱图

Fig.1 Extracted ion chromatograms of 12 drugs

2.2 提取溶剂的选择

按照 1.2.2, 实验考察了甲醇、乙腈、乙醇3种常见提取溶剂对12种药物加标回收率的影响。结果表明,草珊瑚与罗汉果清咽类保健食品在提取溶剂为乙腈、甲醇时,12种药物的回收率明显高于乙醇;胖大海、西瓜霜、金银花清咽类保健食品中12种药物的回收率在三种提取溶剂中无明显差异;川贝枇杷清咽类保健食品在提取溶剂为乙腈时,12种药物回收率明显高于甲醇、乙醇。结合实验分析测定采用的为轨道阱高分辨质谱技术,乙腈抗干扰能力较强,实验选取乙腈作为提取溶剂。

2.3 提取溶剂体积和基质效应的考察

按照 1.2.2, 实验考察了提取溶剂体积为10、25、50 mL对12种药物加标回收率的影响。从图2金银花

清咽类保健食品中12种药物在不同提取体积的回收率变化可以看出,地氯雷他定在提取溶液为10 mL时的回收率明显低于25 mL和50 mL,其他11种药物在三种提取体积时的回收率均在80.00%以上,这种回收率变化趋势同样出现在胖大海和西瓜霜清咽类保健食品中。

从图3草珊瑚清咽类保健食品中12种药物在不同提取体积的回收率变化可以看出,12种药物的回收率均随提取溶液体积的增大而增加,在提取溶液体积为10 mL和25 mL时,8种药物的回收率未达到60.00%,而提取溶液体积为50 mL时,除地氯雷他定回收率为76.13%外,其余11种药物的回收率均在80.00%以上,这种回收率变化趋势同样出现在罗汉果清咽类保健食品中。

从图4川贝枇杷清咽类保健食品中12种药物在不同提取体积的回收率变化可以看出,地氯雷他定、西

替利嗪、非索非那定的回收率随着提取体积的增大而明显增加,尤其在提取液体积为 10 mL 时,回收率均低于 50.00%。

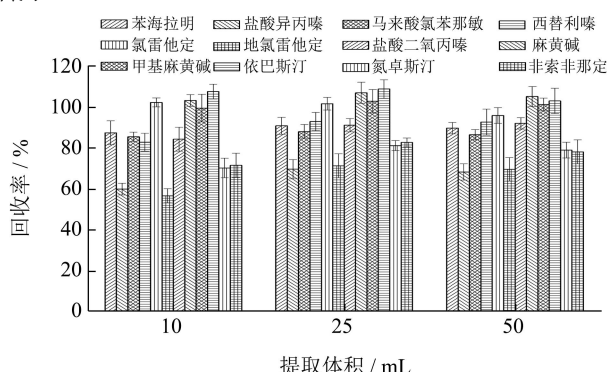


图 2 金银花清咽类保健食品中 12 种药物在不同提取体积的回收率变化

Fig.2 The recoveries of 12 drugs added to honeysuckle throat-clearing health food at different extraction volume

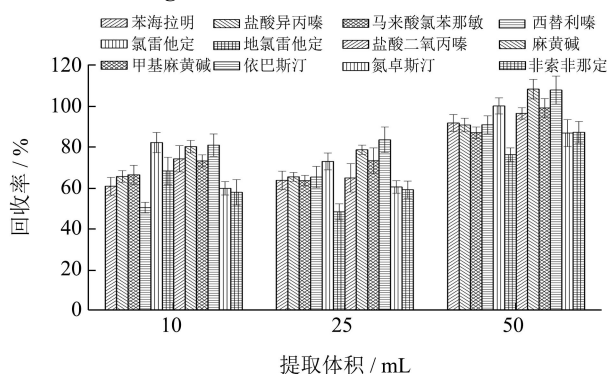


图 3 草珊瑚清咽类保健食品中 12 种药物在不同提取体积的回收率变化

Fig.3 The recoveries of 12 drugs added to Sarcandra glabra throat-clearing health food at different extraction volume

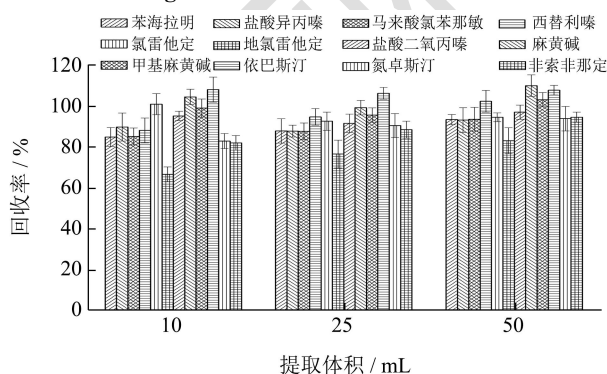


图 4 川贝枇杷清咽类保健食品中 12 种药物在不同提取体积的回收率变化

Fig.4 The recoveries of 12 drugs added to chuanbei pipa throat-clearing health food at different extraction volume

这些数据表明以药食同源类中草药为原料的清咽类保健食品,在用乙醇溶剂提取时,由于提取的基质溶液比较复杂,不同药物在不同的中草药基质提取液

中呈现了不同程度的基质效应,尤其地氯雷他定在六种清咽类保健食品中均呈现较强的基质抑制效应,但随着提取溶液稀释倍数的增加,基质效应逐渐消除,考虑到保健食品中非法添加药物的量比较大,实验选择提取溶液体积为 50 mL,12 种药物在六种清咽类保健食品中提取回收率均在 75.15%~117.65%之间。

2.4 提取时间的选择

按照 1.2.2,实验考察了超声提取时间为 10、20、30 min 对样品加标回收率的影响,结果表明,草珊瑚与罗汉果糖清咽类保健食品中西替利嗪与氯雷他定在超声时间为 20 min 时,回收率达到最高,30 min 基本保持不变,其他四种清咽类保健食品中 12 种药物的回收率随超声时间的改变无显著性变化,所以实验选择超声提取时间为 20 min。

2.5 质谱条件的优化

12 种药物均采用 ESI⁺,使用一级质谱全扫描/数据依赖的二级质谱子离子扫描模式(Full MS/dd-MS²)对选定的质量数(m/z 100~550)进行扫描,该模式能够同时得到一级质谱母离子精确质量数和二级质谱的子离子全扫描信息,尽管 Q/Orbitrap 能提供不同的分辨率,考虑到定性和定量的准确性,高分辨率可带来更好的质量精度,但同时也会降低相应的灵敏度并减少采集的扫描点数,最终一级质谱扫描采用分辨率 $R=70\ 000$,保证得到准确质量数并作为定量分析;而二级质谱扫描采用相对较低的分辨率 $R=17\ 500$,保证高分辨扫描的同时加快扫描速度,利用碎片离子的质谱图和离子信息进行定性。在此分辨率下,各化合物的灵敏度较好,且质量偏差均小于 1.45×10^{-6} (见表 1),理论质量数与实测质量数相对偏差越小,结果准确度越高。12 种药物二级质谱扫描的碰撞能量设为 30、50、70 eV,得到的二级质谱图是在 3 种碰撞能量下的叠加,有效避免了采用单一碰撞能量导致的不同仪器间重现性差的情况。

2.6 线性方程与测定下限

Q/Orbitrap 可以通过全扫描并提取精确质量数色谱图完成定性定量测定,利用自动触发的二级质谱采集完成准确定性。实验按照 1.2.2,配制 12 种药物浓度为 1.00、5.00、10.00、25.00、50.00、100.00、200.00 $\mu\text{g/L}$ 标准工作溶液,以药物的一级高分辨准分子离子峰的色谱峰面积(Y)为纵坐标,以质量浓度(X , $\mu\text{g/L}$)为横坐标,进行线性回归,结果表明,12 种药物在线性范围 1.00 $\mu\text{g/L}$ ~200.00 $\mu\text{g/L}$ 内呈良好的线性关系,

相关系数大于 0.999 (见表 2), 可满足检测要求。

高分辨质谱使用目标物的精确质量数提取, 色谱图基线噪音很低, 信噪比往往无穷大, 因此不采用以 3 倍信噪比 (S/N) 确定目标物检出限, 10 倍信噪比确定目标物定量限的方法。实验按照 1.2.2, 在六类清咽类保健食品空白基质中逐级降低加标浓度, 以各目标物在线性范围中满足回收率值在 60%~120% 区间内的最低浓度为方法的测定下限, 结果表明 12 种药物在六种清咽类保健食品中的测定下限为 50.00 μg/kg~

150.00 μg/kg (见表 2)。

2.7 回收率与精密度

实验按照 1.2.2, 取六类清咽类保健食品的空白基质样品, 分别添加 250、2 500、5 000 μg/kg 三个浓度水平, 每个样品重复测定 6 次, 计算回收率与相对标准偏差 (Relative Standard Deviations, RSDs), 结果见表 3, 12 种药物回收率在 75.15%~117.65% 之间, 精密度的 0.89%~4.84%, 符合检验检测要求。

表 2 12 种药物的线性方程和在六种清咽类保健食品中的测定下限

Table 2 Linear equation and lower limits of determination of 12 drugs in six throat-clearing health food

药物名称	线性方程	相关系数 r^2	测定下限/(μg/kg)					
			金银花类	胖大海类	西瓜霜类	草珊瑚类	罗汉果类	川贝枇杷类
苯海拉明	$Y=1.26 \times 10^6 X + 1.28 \times 10^5$	0.999 7	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
盐酸异丙嗪	$Y=5.07 \times 10^6 X + 9.67 \times 10^6$	0.999 0	50.00	50.00	100.00	50.00	50.00	50.00
马来酸氯苯那敏	$Y=4.06 \times 10^6 X + 5.20 \times 10^6$	0.999 4	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
西替利嗪	$Y=2.67 \times 10^6 X + 8.60 \times 10^4$	0.999 9	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	150.00
氯雷他定	$Y=2.10 \times 10^6 X + 1.83 \times 10^6$	0.999 3	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
地氯雷他定	$Y=9.46 \times 10^5 X + 3.41 \times 10^4$	0.999 4	100.00	50.00	100.00	150.00	150.00	150.00
盐酸二氧丙嗪	$Y=2.68 \times 10^6 X - 3.85 \times 10^5$	0.999 9	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
麻黄碱	$Y=1.84 \times 10^6 X + 7.20 \times 10^5$	0.999 7	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
甲基麻黄碱	$Y=1.95 \times 10^6 X - 1.11 \times 10^6$	0.999 9	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
伊巴斯汀	$Y=3.45 \times 10^6 X - 5.69 \times 10^6$	0.999 0	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
氮卓斯汀	$Y=2.67 \times 10^6 X - 3.02 \times 10^6$	0.999 7	50.00	50.00	100.00	100.00	100.00	100.00
非索非那定	$Y=2.20 \times 10^6 X + 3.11 \times 10^6$	0.999 3	50.00	50.00	100.00	100.00	100.00	150.00

表 3 12 种药物在六种清咽类保健食品中的加标回收率和精确度 (n=6)

Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations (RSDs) of the 12 kinds of drugs in six throat-clearing health food (n=6)

药物名称	添加水平/(μg/kg)	回收率(RSD)/%					
		金银花类	胖大海类	西瓜霜类	草珊瑚类	罗汉果类	川贝枇杷类
苯海拉明	250	84.31(4.30)	95.34(3.13)	82.72(3.67)	86.96(3.44)	83.42(4.33)	81.34(4.25)
	250 0	83.92(2.51)	101.25(2.87)	83.54(3.12)	89.38(2.96)	85.30(2.69)	85.32(3.66)
	500 0	93.86(1.91)	103.84(2.78)	88.76(2.13)	91.69(1.80)	86.15(2.48)	86.21(2.53)
盐酸异丙嗪	250	82.94(3.57)	96.26(4.14)	75.64(3.17)	85.95(3.11)	82.52(2.61)	79.33(4.39)
	250 0	92.81(2.38)	99.86(2.68)	77.27(2.13)	88.77(2.46)	83.43(3.15)	82.52(3.61)
	500 0	96.82(0.95)	105.34(2.78)	78.33(2.78)	92.45(1.73)	84.12(2.17)	86.43(2.57)
马来酸氯苯那敏	250	79.95(3.16)	96.77(2.87)	82.57(3.16)	82.68(2.13)	82.78(3.12)	82.39(3.82)
	250 0	82.97(3.22)	101.65(2.93)	84.67(2.82)	85.92(1.68)	85.34(2.68)	85.36(2.68)
	500 0	87.21(1.54)	105.86(1.82)	86.73(2.63)	87.37(2.92)	87.35(2.12)	86.33(1.80)
西替利嗪	250	96.84(4.84)	98.35(3.87)	83.57(3.66)	83.78(2.93)	86.17(3.18)	75.65(4.68)
	250 0	105.95(3.17)	105.83(2.84)	87.35(2.94)	86.44(3.06)	91.22(2.33)	75.35(2.98)
	500 0	110.51(1.91)	110.64(2.76)	89.22(2.14)	93.76(2.43)	94.64(1.77)	78.63(2.70)
氯雷他定	250	80.61(3.21)	94.32(2.80)	86.29(3.75)	82.76(3.93)	89.11(2.17)	85.74(2.66)
	250 0	85.94(2.17)	102.33(2.88)	92.87(2.62)	85.15(2.57)	93.46(2.43)	91.55(2.64)
	500 0	95.84(1.38)	97.88(3.16)	95.80(2.43)	93.74(1.59)	96.75(1.32)	94.63(2.14)

续表 3

药物名称	添加水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率(RSD)/%					
		金银花类	胖大海类	西瓜霜类	草珊瑚类	罗汉果类	川贝枇杷类
地氯雷他定	250	76.36(3.97)	84.93(2.81)	76.39(3.51)	75.37(4.11)	76.34(3.58)	75.15(3.56)
	250 0	80.62(2.34)	86.75(3.49)	75.90(3.54)	78.34(3.40)	77.26(3.18)	77.36(3.17)
	500 0	81.94(1.75)	86.91(1.32)	78.62(2.85)	75.92(2.43)	79.10(2.12)	79.13(2.45)
盐酸二氧丙嗪	250	80.93(2.37)	101.36(2.50)	81.38(2.72)	86.17(2.92)	85.22(3.79)	85.35(3.01)
	250 0	86.98(2.02)	106.54(2.79)	86.56(3.17)	88.47(3.18)	91.85(2.86)	91.54(2.85)
	500 0	89.77(1.94)	107.35(1.51)	89.63(2.46)	94.33(2.87)	93.92(2.35)	93.92(2.38)
麻黄碱	250	117.65(2.82)	103.29(2.97)	95.18(3.53)	95.30(3.73)	96.13(3.53)	95.37(3.18)
	250 0	113.65(2.91)	101.84(1.28)	113.51(2.95)	115.25 (2.84)	113.45(2.97)	102.54(2.80)
	500 0	108.54(1.56)	110.13(0.96)	109.80(2.73)	106.71 (1.37)	105.86(1.89)	116.41(1.89)
甲基麻黄碱	250	112.67(2.41)	101.64(2.98)	116.32(4.27)	105.66 (2.34)	111.14(3.54)	114.72(4.80)
	250 0	109.66(3.91)	107.67(2.89)	113.56(3.63)	101.62 (2.69)	105.72(2.84)	100.80(2.62)
	500 0	107.24(1.73)	113.93(3.22)	106.92(2.24)	109.40 (1.16)	98.17(1.22)	102.77(2.44)
伊巴斯汀	250	96.84(2.88)	96.86(4.37)	91.25(4.13)	94.38(4.32)	95.16(4.33)	89.68(3.77)
	250 0	106.92(1.34)	105.60(2.54)	103.80(3.29)	102.63 (2.46)	103.57(3.13)	91.82(2.38)
	500 0	107.35(0.98)	102.97(2.32)	107.63(2.83)	104.92(1.98)	107.14(2.17)	96.13(2.08)
氮卓斯汀	250	81.32(2.95)	91.30(4.28)	76.26(4.56)	81.37(4.25)	79.31(4.34)	75.35(3.67)
	250 0	85.73(2.27)	96.74(2.86)	76.35(3.88)	83.75(3.41)	82.74(3.24)	83.92(3.71)
	500 0	91.37(1.83)	96.32(2.17)	78.27(2.93)	88.76(2.93)	86.44(2.05)	86.16(2.94)
非索非那定	250	89.35(4.66)	89.66(2.82)	75.35(4.33)	80.61(3.35)	77.65(3.98)	76.22(3.21)
	250 0	85.97(3.13)	92.88(2.17)	75.97(2.64)	84.94(2.76)	81.54(3.44)	77.33(2.56)
	500 0	95.72(1.08)	95.82(0.89)	77.93(2.54)	86.16(2.34)	87.31(2.17)	79.97(2.17)

2.8 数据库的建立

实验按照 1.2.2, 分别对 12 种药物标准溶液进行质谱数据采集, 得到保留时间、一级质谱的母离子精确质量数、二级质谱的子离子信息, 导入 Trace Finder 软件, 建立 12 种药物的定性快速筛查数据库。在不使用标准品的情况下, 如果样品中的药物一级母离子的准确质量数和二级碎片离子的准确质量数及同位素分布与数据库里的药物离子质量数信息能够匹配, 则初步判定样品为阳性, 可以进一步用该药物标准溶液在同一色谱条件下考察保留时间和峰面积进行确证和定量分析, 从而实现清咽类保健食品中 12 种药物的快速筛查定量检测。

2.9 样品测定

实验按照 1.2.2, 应用所建立的快速筛查方法对市场购买的 105 批清咽类保健食品进行监测, 每个样品做 2 个平行测定。经与建立的数据库比对, 筛查出一批次样品中含麻黄碱和甲基麻黄碱成分; 经麻黄碱和甲基麻黄碱标准品进一步定量计算, 检出值分别为 $30.79 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $0.31 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 结论

本实验利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱联用系统建立了清咽类保健食品中 12 种药物的快速筛查和定量分析方法。依靠一级母离子精确质量数、二级碎片离子精确质量数进行数据库的快速匹配, 利用一级高分辨母离子峰进行定量, 该方法前处理过程简单, 测定结果准确, 适用于清咽类保健食品中添加药物的快速筛查及定量检测, 为保健食品安全监管工作提供了必要的技术支持。

参考文献

- [1] 吕辰鹏, 何泉泉, 王丽斐, 等. 清咽功能保健食品的研究进展[J]. 食品工业科, 2015, 36(9): 215-219
- [2] 董永成, 杜士明, 陈永顺, 等. 中成药及保健食品非法添加化学成分的类型、危害及对策[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(8): 1601-1602
- [3] 何秋霞. 镇咳药的临床应用评价[J]. 海峡药学, 2012, 24(5): 224-225
- [4] 沈于兰, 申兰慧, 苏嘉焱, 等. HPLC 法同时测定止咳平喘类中成药中非法添加的 9 种化学成分[J]. 中国药品标准, 2016,

- 17(1):37-40
- [5] 申兰慧.UPLC Q-TOF MS 快速检测复方哮喘王胶囊中非法掺入 5 个化学物质[J].中国药师,2016,19(11):2161-2165
- [6] 李建.轩生堂牌保健食品非法添加兴奋剂[N].中国消费者报,20220106(第 004 版)
- [7] 吴景,陈骁鹏,袁华峰,等.清咽类保健食品中非法添加盐酸二氧丙嗪的检测方法研究[J].食品安全质量检测学报,2014,5(9):2664-2669
- [8] 刘永贵,于鹏,徐颂,等.抗组胺药研究进展[J].现代药物与临床,2010,25(1):19-22
- [9] LIU Yonggui, YU Peng, XU Song, et al. Advances in antihistamines [J]. *Drugs & Clinic*, 2010, 25(1): 19-22
- [10] 徐玉文,李冰,郑静.TLC 检查止咳平喘中成药中非法添加四种化学药品的方法[J].中国药品标准,2011,12(1):58-60
- [11] 吴公平,雷玉萍,廖彬,等.反相高效液相色谱法同时测定清咽类保健食品中非法添加化学药品曲安西龙等 7 种成分的研究[J].药物分析杂志,2010,30(12):2391-2394
- [12] 马俊美,王静,孙文,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中 90 种那非类药物[J].食品科学,2020,41(14):307-313
- [13] 张崇生,倪瓚,叶建晨,等.超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法测定中成药及保健食品中非法添加的 15 种抗组胺类化学成分[J].中南药学,2021,19(5):954-957
- [14] 郭建博,薛晓文,刘开,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定清咽类保健食品中 14 种 β_2 受体激动剂非法添加物[J].食品安全质量检测学报,2020,11(19):6767-6774
- [15] 王任,吴鸳鸯,胡磊,等.全自动固相萃取-UPLC-MS/MS 法检测清咽类保健食品中非法添加的盐酸二氧丙嗪和沙丁胺醇[J].食品工业科技,2021,42(16):271-278
- [16] 王任,陈岑,吴鸳鸯,等.HPLC-MS/MS 法同时快速检测清咽类保健食品中添加的 5 个化学成分的方法[J].药物分析杂志,2020,40(96):1632-1638
- [17] 洪灯,谢文,侯建波,等.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保健食品中的西布曲明及其 5 种衍生物[J].色谱,2019,37(11):1173-1178
- [18] 赵孔祥,杨爽,柴铭骏,等.液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定保健食品中 11 种磷酸二酯酶抑制剂[J].理化检验-化学分册,2020,56(2):136-141
- [19] 董喆,李梦怡,孙磊,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减肥类保健食品中 20 种非法添加药物[J].食品安全质量检测学报,2017,8(10):4031-4038
- [20] Hespanhol M C, Souza J C, Pasquini C. Feasibility of a portable, low-cost near-infrared spectrophotometer for the quality screening of omega-3 dietary supplements [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 189: 113436
- [21] Cebi N, Yilmaz M T, Sagdic O. A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses [J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 517-526
- [22] WANG Cheng, YU Hang, YAO Weirong, et al. A study on the screening of anti-inflammatory drug diclofenac sodium in dietary supplements by near infrared hyperspectral imaging [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2021, 41(2): 592-598
- [23] ZHAO Jianping, WANG Mei, Avula Bharathi, et al. Detection and quantification of phenethylamines in sports dietary supplements by NMR approach [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 151: 347-355
- [24] WU Nao, Stéphane Balayssac, Saïda Danoun, et al. Chemometric analysis of low-field ^1H NMR spectra for unveiling adulteration of slimming dietary supplements by pharmaceutical compounds [J]. *Molecules*, 2020, 25(5): 1193