

高分辨质谱法快速筛查和定量分析改善胃肠道功能类保健食品中的 22 种非法添加化合物

袁阳蕾, 袁利杰*, 郭立净, 石璐

(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), 河南省特殊食品工程技术研究中心, 河南郑州 450003)

摘要: 建立一种超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法, 快速筛查同时定量分析保健食品中 22 种非法添加化合物。该研究以市面上常见的改善胃肠道功能类保健食品(片剂和口服液基质)为研究对象, 样品经甲醇涡旋振荡和超声提取; 用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm) 色谱柱分离, φ=0.1% 甲酸水和甲醇梯度洗脱; 质谱条件采用正离子扫描, Full MS/dd-MS² (一级全扫描/数据依赖的二级扫描) 模式, 以化合物的保留时间、一级母离子和自动触发采集的二级碎片离子信息建立数据库, 进行高通量定性筛查, 以一级母离子进行定量分析, 22 种化合物在 6.5 min 内得到有效分离, 精确质量数偏差≤1.77×10⁻⁶。结果表明, 各目标化合物在 5~500 ng/mL 的浓度范围内线性关系良好($r^2>0.995$), 定量限均为 50 μg/kg, 片剂回收率为 82.11%~116.16%, 口服液回收率为 83.64%~117.21%。该方法操作简单快速, 灵敏度高, 结果准确, 适用于片剂和口服液基质的改善胃肠道功能类保健食品中 22 种非法添加化合物的快速筛查和定量分析。

关键词: 改善胃肠道功能; 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(2023)01-311-319

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.1.0196

Rapid Screening and Quantitative Analysis of 22 Illegally Added Compounds in Gut Health-improving Foods by High-resolution Mass Spectrometry

YUAN Yanglei, YUAN Lijie*, GUO Lijing, SHI Lu

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

Abstract: A method for rapid screening and quantitative analysis of 22 kinds of illegally added compounds in health-promoting foods using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic orbitrap high-resolution mass spectrometry was established. In this paper, the commonly marketed gut function-improving healthcare products (tablets and oral liquid matrices) were taken as the research objects. Samples were extracted with methanol by vortex oscillation and ultrasonic treatment, and separated on an Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm) using 0.1% formic acid aqueous solution and methyl alcohol as the mobile phase for gradient elution. Mass spectrometry analyses adopted a positive ion scan and full MS/dd-MS² mode, and a database was established based on the retention times of compounds, primary parent ions and secondary fragment ions information collected automatically for high-throughput qualitative screening and

引文格式:

袁阳蕾,袁利杰,郭立净,等.高分辨质谱法快速筛查和定量分析改善胃肠道功能类保健食品中的 22 种非法添加化合物[J].现代食品科技,2023,39(1):311-319

YUAN Yanglei, YUAN Lijie, GUO Lijing, et al. Rapid screening and quantitative analysis of 22 illegally added compounds in gut health-improving foods by high-resolution mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 311-319

收稿日期: 2022-02-25

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科技计划项目(2020sj36)

作者简介: 袁阳蕾(1990-), 女, 硕士研究生, 助理工程师, 研究方向: 食品检验检测, E-mail:602766247@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:yuanlijie@126.com

quantitative analyses with primary parent ions. The 22 kinds of chemical compounds were well separated within 6.5 minutes with the mass accuracy deviation less than 1.77×10^{-6} . The results showed a good linear relationship for each target compound in the concentration range of 5 ng/mL~500 ng/mL ($r^2 > 0.995$). The limits of quantitation (LOQs) were 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries were 82.11%~116.16% for tablet samples and 83.64%~117.21% for the oral liquid samples. This method is simple, rapid, sensitive and accurate, thus suitable for rapid screening and quantitative analysis of 22 kinds of illegally added compounds in gut function-improving healthcare products in tablet and oral liquid forms.

Key words: improving gastrointestinal function; health food; illegally adulteration; ultra high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic orbitrap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q/Orbitrap HRMS)

随着生活节奏的加快, 外卖和快餐食品成为很多上班族的主要饮食来源, 随之而来的是胃肠道消化方面的疾病越来越多, 改善胃肠道功能类保健食品^[1]备受欢迎。其存在的安全问题不容忽视, 尤其是保健食品中非法添加化学药物的事件不断被报道^[2-5]。消费者购买服用非法添加药物的保健食品, 会误认为产品“疗效好”、且“安全可靠, 对身体无害处”, 但是长期服用会对人的身体健康产生不良影响。

常见的改善胃肠道功能类化合物主要有多巴胺受体阻断药、 H_2 受体阻断药、缓泻类药物、促胃液素受体阻断药、胃质子泵抑制剂、5-HT₄受体激动药^[6]。这些治疗胃肠道类药物长期大量服用可能会产生腹痛、恶心、呕吐等不良反应^[7-11], 严重时危及生命安全。

目前已报道的非法添加药物的检测手段主要有光谱法^[12-15]、色谱法^[16-18]、色谱质谱联用法^[7-11, 19]、离子迁移谱^[20, 21]、快检试剂盒^[22]等。四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法具有高分辨率和高质量精度的优点, 质量范围宽, 动态范围广^[23], 突出了高效液相色谱的有效分离能力, 同时又弥补了低分辨率质谱可能出现的假阳性问题, 可以在没有标准物质的情况下, 根据已建立好的数据库对未知样品进行定性分析^[22], 节约时间和经济成本。目前已经广泛应用于食品安全^[24-33]、药物分析^[23, 34-37]、代谢组学^[38]等相关领域。本研究以市面上常见的改善胃肠道功能类保健食品为研究对象, 建立了一种超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法, 可同时快速筛查和定量测定 22 种非法添加化合物, 为监管部门打击保健食品非法添加行为提供新的技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

样品来源: 48 批次改善胃肠道功能类保健食品 (25 批次片剂和 23 批次口服液) 样品均采购于本地市场。

标准物质: 奥美拉唑 (批号: 100367-201706)、丙谷胺 (批号: 100176-201104)、法莫替丁 (批号: 100305-201304)、甲氧氯普胺 (批号: 100832-201404)、

拉呋替丁 (批号: 100861-201302)、兰索拉唑 (批号: 100709-201705)、雷贝拉唑钠 (批号: 100658-201705)、盐酸雷尼替丁 (批号: 100163-201607)、盐酸洛哌丁胺 (批号: 100300-201102)、枸橼酸莫沙必利 (批号: 100656-201903)、尼扎替丁 (批号: 100853-201502)、泮托拉唑钠 (批号: 100575-201505)、马来酸曲美布汀 (批号: 100580-201302)、硫酸天仙子胺 (批号: 111982-202002)、西咪替丁 (批号: 100158-201406)、盐酸伊托必利 (批号: 100939-201803) 均购于中国食品药品检定研究院; 比沙可啶 (批号: D0015778) 购于北京曼哈格生物科技有限公司; 多潘立酮 (批号: 21040678) 购于坛墨质检-标准物质中心; 地芬诺酯盐酸盐 (批号: S086173)、双醋酚丁 (批号: S066495)、脱乙酰比沙可啶 (批号: S079839)、西沙必利 (批号: S039819) 购于天津阿尔塔科技有限公司。其中天津阿尔塔科技有限公司 4 种标准物质均为液体, 含量均为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 规格 $\geq 1 \text{ mL}$; 其余标准物质均为固体, 纯度 $\geq 94.2\%$ 。

主要试剂: 甲醇、乙腈 (色谱纯), Merck 德国; 甲酸 (色谱纯), Sigma 美国; 超纯水 (电阻率 18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$, 25 $^\circ\text{C}$, 超纯水机制得)。

主要仪器设备: Vanquish 超高效液相色谱-Q ExactiveTM Plus 组合型四极杆/轨道阱高分辨质谱联用仪 (Thermo Fisher, 美国); ME203、XPE205DR 电子天平 (Mettler Toledo, 瑞士); 3-30K 高速冷冻离心机 (Sigma 德国); KQ-500 TDB 温控超声仪 (昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q IQ 7000 超纯水机 (Millipore 美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

18 种固体混合标准物质储备液的配制: 精密称取比沙可啶、多潘立酮、奥美拉唑、丙谷胺、法莫替丁、甲氧氯普胺、拉呋替丁、兰索拉唑、雷贝拉唑钠、盐酸雷尼替丁、盐酸洛哌丁胺、枸橼酸莫沙必利、尼扎替丁、泮托拉唑钠、马来酸曲美布汀、硫酸天仙子胺、西咪替丁、盐酸伊托必利 18 种标准物质适量, 用甲醇溶解并

稀释,制成浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准物质储备液。

22种混合标准物质中间液的配制:精密移取上述18种固体混合标准物质储备液100 μL 和地芬诺酯盐酸盐、双醋酚丁、脱乙酰比沙可啶、西沙必利四种液体标准物质各1.0 mL,用甲醇稀释制成浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准物质中间液。置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中储存备用。

1.2.2 样品前处理

片剂样品:取20片以上的片剂样品,经制样机打碎,研磨成粉,混匀,备用;口服液样品:混匀后备用。

准确称取保健食品试样1.0 g(精确至0.01 g),置

于15 mL离心管中,加入10 mL甲醇,涡旋振荡10 min,超声提取10 min,放冷至室温,8 000 r/min离心5 min,上清液经0.22 μm 有机系滤膜过滤后供上机测定。

1.2.3 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (2.1 mm \times 50 mm, 1.8 μm);柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:5 μL ;流量:0.3 mL/min;流动相: $\varphi=0.1\%$ 甲酸水(A)和甲醇(B);梯度洗脱程序:0.0~1.5 min, 10% B; 1.5~2.5 min, 10%~95% B; 2.5~6.0 min, 95% B; 6.0~6.5 min, 95%~10% B; 6.5~10.0 min, 10% B。

表1 22种化合物质谱信息

Table 1 Mass parameters for the 22 kinds of compounds

序号	化合物名称	分子式	理论分子质量(m/z)	实测分子质量(m/z)	相对质量偏差(10^{-6})	碎片离子(m/z)
1	奥美拉唑	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	346.121 99	346.121 77	-0.65	136.075 69, 198.058 33, 180.047 76, 151.099 17
2	丙谷胺	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$	335.196 53	335.196 17	-1.09	105.033 49, 102.127 73, 84.044 39, 206.081 17
3	比沙可啶	$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_4$	362.138 68	362.138 15	-1.47	184.075 69, 167.072 95, 226.086 26, 185.080 48
4	地芬诺酯	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$	453.253 65	453.253 27	-0.86	187.099 17, 379.216 88, 91.054 23, 233.141 03
5	多潘立酮	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_2$	426.169 13	426.168 49	-1.51	147.055 29, 175.086 59, 119.060 37, 426.169 13
6	法莫替丁	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}_3$	338.052 21	338.051 70	-1.52	189.026 31, 155.038 59, 113.061 80, 138.012 04
7	甲氧氯普胺	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2$	300.147 33	300.146 94	-1.30	227.058 18, 184.015 98, 212.034 71, 268.998 66
8	拉贝替丁	$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	432.19515	432.194 76	-0.90	193.133 54, 98.0964 3, 351.161 11, 159.034 85
9	兰索拉唑	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	370.083 16	370.082 67	-1.31	119.060 37, 252.030 06, 136.075 69, 234.019 50
10	雷贝拉唑	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	360.137 64	360.137 12	-1.45	150.091 34, 242.084 54, 195.125 38, 136.075 69
11	雷尼替丁	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	315.148 54	315.148 01	-1.67	176.048 82, 102.037 20, 130.055 92, 125.005 56
12	洛哌丁胺	$\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{ClN}_2\text{O}_2$	477.230 33	477.229 95	-0.80	266.153 94, 210.127 73, 115.054 23, 238.122 64
13	莫沙必利	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClFN}_3\text{O}_3$	422.164 12	422.163 54	-1.37	198.031 63, 170.000 33, 135.067 87, 114.010 50
14	尼扎替丁	$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}_2$	332.120 94	332.120 45	-1.47	131.063 75, 155.063 75, 271.104 56, 232.093 67
15	泮托拉唑	$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$	384.082 41	384.082 00	-1.06	138.054 96, 200.037 59, 153.078 43, 136.039 30
16	曲美布汀	$\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_5$	388.211 85	388.211 27	-1.48	195.065 19, 131.065 53, 91.054 23, 154.062 45
17	双醋酚丁	$\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	402.13360	402.133 33	-0.67	224.070 61, 196.075 69, 266.081 17, 168.080 78
18	天仙子胺	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	290.175 07	290.174 77	-1.02	124.112 08, 93.069 88, 260.164 51, 67.054 23
19	脱乙酰比沙可啶	$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_2$	278.117 56	278.117 31	-0.88	184.075 69, 167.072 95, 156.080 78
20	西咪替丁	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}$	253.122 99	253.122 54	-1.77	95.060 37, 117.048 10, 159.069 89, 99.066 52
21	西沙必利	$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{ClFN}_3\text{O}_4$	466.190 34	466.189 94	-0.85	184.015 98, 234.128 87, 140.997 59, 96.080 78
22	伊托必利	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$	359.196 53	359.195 98	-1.53	165.054 62, 72.080 78, 70.065 13, 133.064 79

1.2.4 质谱条件

离子源:电喷雾离子源;扫描模式:正离子扫描;扫描方式:Full MS/dd-MS²(一级全扫描/数据依赖的二级扫描);喷雾电压:3.0 kV; S-lensRF 电压:60 V;毛细管温度:325 $^{\circ}\text{C}$;辅助气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;鞘气流速:40 Arb;辅助气流速:10 Arb。Full MS(一级质谱全扫描)分辨率:70 000 FWHM, 质谱扫描范围:200~500 m/z , AGC target(自动增益控制):1.0 e⁵, IT(最大注入时间):50 ms; dd-MS²(数据依赖的二级

质谱扫描)分辨率:17 500 FWHM, AGC target:5.0 e⁴, IT:50 ms, Isolation window(分离窗口):4.0 m/z , Intensity threshold(强度阈值):1.6 e⁵, 同位素排除:on, 动态排除:10.0 s。22种化合物的NCE(步进归一化碰撞能量)统一设为30、50和70 eV。22种化合物的一级质谱信息及二级质谱信息见表1。

1.2.5 数据处理

通过高效液相色谱分离和质谱Full MS/dd-MS²的数据采集得到22种化合物的保留时间、一级母离子和

自动触发采集的二级碎片离子信息,建立数据库,进行高通量定性筛查;以一级母离子进行定量分析,用标准品的浓度和峰面积绘制标准曲线,计算样品中化合物对应的含量,从而进行方法学的考察。

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取溶剂的选择

本实验分别考察了甲醇、乙腈、甲醇/水(50:50, V/V)和乙腈/水(50:50, V/V)对两种基质(片剂和口服液)的改善胃肠道功能类保健食品中非法添加化合物的提取效率(除提取溶剂外其它步骤同 1.2.2),以加标回收的结果对比不同溶剂的提取效率。结果表明甲醇/水、乙腈/水作为提取溶剂时奥美拉唑和雷贝拉唑钠的回收率明显低于甲醇或乙腈作为提取溶剂时的回收率,乙腈作为提取溶剂时法莫替丁和西咪替丁的回收率明显低于甲醇作为提取溶剂时的回收率。而甲醇作为提取溶剂时,22种化合物在片剂基质和口服液基质中的回收率分别为81.52%~109.35%和82.13%~114.24%,均能达到较好的提取效率,因此选用甲醇作为提取溶剂。

2.1.2 提取体积的确定

本实验考察了不同提取体积(5、10、20 mL)对提取效率的影响,以加标回收率比较不同提取体积的提取效率(除提取体积外其它步骤同 1.2.2)。结果表明提取体积为5 mL时,雷贝拉唑钠在片剂基质和口服液基质中回收率分别为46.53%、59.31%,原因可能为基质复杂,干扰杂质浓度较高,存在基质抑制效应。当甲醇提取体积为10 mL时,雷贝拉唑钠的回收率明显升高。其在片剂基质和口服液基质中回收率分别达到81.91%、83.06%,其他21种化合物在片剂基质和口服液基质中的回收率分别为81.65%~113.85%、80.31%~107.11%。提取体积为20 mL时,22种化合物的回收率和提取体积为10 mL时基本一致,考虑到节约试剂成本,实验选择甲醇提取体积为10 mL。

2.1.3 提取时间的确定

考虑到部分样品为片剂,为了保证样品分散均匀,实验考察了涡旋振荡和超声提取两种提取方式同时作用的提取效率,实验分别以涡旋振荡10 min与超声提取10、20、30 min,涡旋振荡10、20、30 min与超声提取10 min进行两种提取方式的优化(除提取时间外其它步骤同 1.2.2)。结果表明,涡旋振荡10 min和超声提取10 min,22种化合物在片剂基质和口服液基质中的回收率分别为80.13%~118.08%、82.67%~111.02%,

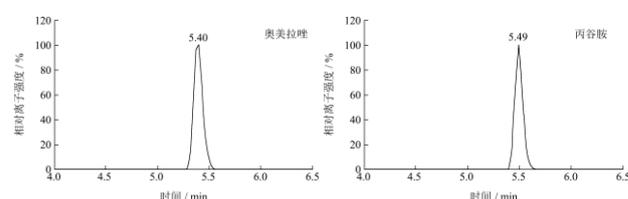
延长涡旋振荡或超声提取的时间,回收率变化不大,实验最终采用提取时间为涡旋振荡10 min,超声提取10 min的前处理方法。

2.2 色谱条件的优化

由于质谱扫描模式均为正离子模式,所以流动相选取0.1%甲酸水作为水相,甲醇和乙腈分别作为有机相进行考察。结果发现,甲醇作为有机相时得到的峰形更加尖锐,分离度更高,而且能在更短的时间内使22种化合物得到良好的基线分离。因此,实验选择0.1%甲酸水和甲醇作为流动相进行梯度洗脱。22种化合物混合标准溶液(200 ng/mL)的提取离子流色谱图见图1。实验采用常见的C₁₈色谱柱,同时考察了Agilent XDB C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.8 μm)和Waters BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)两个不同品牌的C₁₈色谱柱,发现二者没有显著性差异。

2.3 质谱条件的优化

根据22种化合物分子量设定质谱扫描质量范围(200 *m/z*~500 *m/z*),使用Full MS/dd-MS²模式,首先进行一级质谱全扫描,发现母离子后达到自动增益控制强度则自动触发二级质谱扫描,在得到精确的一级母离子质量数的同时,还可以得到二级子离子的全扫描信息。分辨率和自动增益控制设置越高,得到的质量数精度越高,但同时会降低仪器的灵敏度和扫描速度,同样的时间采集数据点数减少,定量的准确性会受到影响,经过实验,最终选择一级质谱扫描分辨率为70 000 FWHM,自动增益控制为1.0 e⁵,二级质谱扫描分辨率为17 500 FWHM,自动增益控制为5.0 e⁴,既能满足实验所需的灵敏度,也能达到与高效液相色谱分离相匹配的扫描速度,一个扫描循环的时间约为0.8 s,扫描点数也能满足筛查与定量分析要求,实验得到22种化合物的相对质量偏差均小于1.77×10⁻⁶(见表1),准确度也满足实验需要。高通量筛查时,不同化合物的性质差异使得它们在分子断裂时所需要的碰撞能量不尽相同,设置不同的归一化碰撞能量,可以有效解决由于碰撞能量不合适带来的二级碎片离子信号低的问题,实验统一设为30、50和70 eV,在三个不同能量下叠加二级碎片离子的信息,灵敏度能够满足分析要求,对目标化合物的定性更加准确。



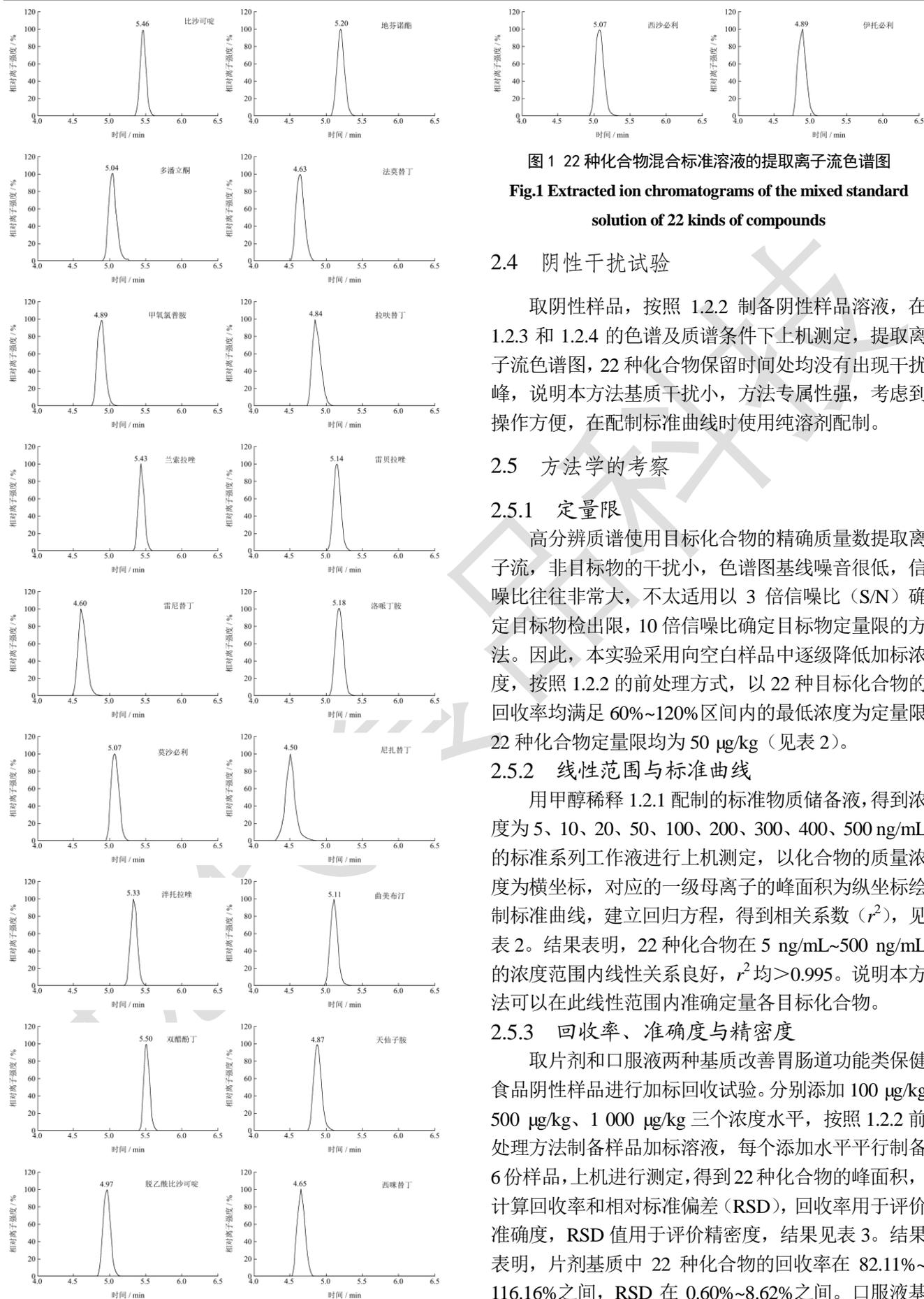


图 1 22 种化合物混合标准溶液的提取离子流色谱图

Fig.1 Extracted ion chromatograms of the mixed standard solution of 22 kinds of compounds

2.4 阴性干扰试验

取阴性样品,按照 1.2.2 制备阴性样品溶液,在 1.2.3 和 1.2.4 的色谱及质谱条件下上机测定,提取离子流色谱图,22 种化合物保留时间处均没有出现干扰峰,说明本方法基质干扰小,方法专属性强,考虑到操作方便,在配制标准曲线时使用纯溶剂配制。

2.5 方法学的考察

2.5.1 定量限

高分辨质谱使用目标化合物的精确质量数提取离子流,非目标物的干扰小,色谱图基线噪音很低,信噪比往往非常大,不太适用以 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。因此,本实验采用向空白样品中逐级降低加标浓度,按照 1.2.2 的前处理方式,以 22 种目标化合物的回收率均满足 60%~120% 区间内的最低浓度为定量限,22 种化合物定量限均为 50 μg/kg (见表 2)。

2.5.2 线性范围与标准曲线

用甲醇稀释 1.2.1 配制的标准物质储备液,得到浓度为 5、10、20、50、100、200、300、400、500 ng/mL 的标准系列工作液进行上机测定,以化合物的质量浓度为横坐标,对应的一级母离子的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,建立回归方程,得到相关系数 (r^2),见表 2。结果表明,22 种化合物在 5 ng/mL~500 ng/mL 的浓度范围内线性关系良好, r^2 均 > 0.995。说明本方法可以在此线性范围内准确定量各目标化合物。

2.5.3 回收率、准确度与精密度

取片剂和口服液两种基质改善胃肠道功能类保健食品阴性样品进行加标回收试验。分别添加 100 μg/kg、500 μg/kg、1 000 μg/kg 三个浓度水平,按照 1.2.2 前处理方法制备样品加标溶液,每个添加水平平行制备 6 份样品,上机进行测定,得到 22 种化合物的峰面积,计算回收率和相对标准偏差 (RSD),回收率用于评价准确度,RSD 值用于评价精密度,结果见表 3。结果表明,片剂基质中 22 种化合物的回收率在 82.11%~116.16% 之间,RSD 在 0.60%~8.62% 之间。口服液基

质中 22 种化合物的回收率在 83.64%~117.21%之间, RSD 在 0.86%~9.36%之间。表明 22 种化合物在两种基质中的回收率高, 准确度高, 精密度好。

2.5.4 基质效应和稳定性

取片剂和口服液两种基质改善胃肠道功能类的保健食品阴性样品进行加标回收试验。添加水平为 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 按照 1.2.2 前处理方法制备样品加标溶液。将基质加标溶液和相同浓度的标准溶液 (100 ng/mL) 分别进样, 得到峰面积, 计算响应百分比, 即为基质效应。结果表明 2 种基质中 22 种化合物的基质效应均在 88.6%~112.5%之间, 表明两种基质对 22 种化合物的基质影响较小。

将基质加标溶液分别在 0、2、4、6、8、12、16、20、24 h 的时间进样, 得到 22 种化合物的峰面积, 计算回收率, 考察稳定性。结果表明在 24 小时内, 2 种基质中 22 种化合物的添加回收率在 90.2%~113.9%之间, 随时间变化小, 表明加标提取溶液的稳定性良好。

2.6 数据库的建立

按照 1.2.3 和 1.2.4 的实验条件, 分别对 22 种化合

物标准溶液进行质谱数据采集, 得到保留时间、一级母离子的准确质量数和二级碎片离子的准确质量数, 导入 TraceFinder 软件, 建立 22 种化合物的定性快速筛查数据库。若样品中检测出的某种物质保留时间、一级母离子的准确质量数和二级碎片离子的准确质量数均与已建立的数据库中的化合物信息相匹配, 可以初步认定样品中检出该化合物。可以进一步用该化合物的标准溶液在相同条件下得到保留时间和一级母离子的峰面积确证和定量分析, 从而实现改善胃肠道功能类保健食品中 22 种非法添加化合物的快速筛查和定量检测。

2.7 实际样品的测定

按照 1.2.2 前处理方法和 1.2.3 与 1.2.4 的仪器方法对 48 批次改善胃肠道功能类保健食品 (25 批片剂和 23 批口服液) 进行测定, 经过与建立的数据库进行比对, 筛查出其中 3 批样品检出马来酸曲美布汀, 1 批样品检出多潘立酮。经定量计算, 马来酸曲美布汀检出值分别为 $3.02 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $1.62 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $0.43 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$; 多潘立酮检出值为 $1.59 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 2 22 种化合物的线性方程、相关系数和定量限

Table 2 The linear equation, correlation coefficient and limit of quantitation of the 22 kinds of compounds

序号	化合物名称	相对保留时间/min	线性方程	相关系数/ r^2	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
1	奥美拉唑	5.24	$Y=1.53 \times 10^6 X - 7.81 \times 10^5$	0.999 7	50
2	丙谷胺	5.34	$Y=1.74 \times 10^5 X + 1.47 \times 10^6$	0.998 5	50
3	比沙可啶	5.31	$Y=3.93 \times 10^6 X + 7.97 \times 10^6$	0.999 5	50
4	地芬诺酯盐酸盐	5.05	$Y=2.19 \times 10^6 X + 5.26 \times 10^6$	0.999 9	50
5	多潘立酮	4.89	$Y=4.86 \times 10^5 X + 2.29 \times 10^6$	0.999 3	50
6	法莫替丁	4.48	$Y=1.67 \times 10^5 X + 1.31 \times 10^6$	0.999 0	50
7	甲氧氯普胺	4.74	$Y=1.11 \times 10^6 X - 4.24 \times 10^6$	0.998 9	50
8	拉贝替丁	4.73	$Y=6.58 \times 10^5 X + 2.25 \times 10^6$	0.999 6	50
9	兰索拉唑	5.28	$Y=1.21 \times 10^6 X - 9.05 \times 10^4$	0.999 0	50
10	雷贝拉唑钠	5.01	$Y=7.43 \times 10^5 X + 2.02 \times 10^6$	0.999 2	50
11	盐酸雷尼替丁	4.45	$Y=4.63 \times 10^5 X - 2.96 \times 10^6$	0.998 4	50
12	盐酸洛哌丁胺	5.05	$Y=1.63 \times 10^6 X - 2.57 \times 10^6$	0.999 6	50
13	枸橼酸莫沙必利	4.93	$Y=5.25 \times 10^5 X + 1.61 \times 10^6$	0.999 5	50
14	尼扎替丁	4.35	$Y=3.28 \times 10^5 X + 1.67 \times 10^6$	0.999 1	50
15	泮托拉唑钠	5.18	$Y=1.25 \times 10^6 X - 1.70 \times 10^6$	0.999 5	50
16	马来酸曲美布汀	4.97	$Y=1.09 \times 10^6 X + 1.38 \times 10^6$	0.999 8	50
17	双醋酚丁	5.36	$Y=4.82 \times 10^5 X - 6.88 \times 10^4$	0.997 6	50
18	硫酸天仙子胺	4.74	$Y=8.03 \times 10^5 X + 3.26 \times 10^6$	0.998 7	50
19	脱乙酰比沙可啶	4.81	$Y=8.39 \times 10^5 X + 1.47 \times 10^7$	0.995 4	50
20	西咪替丁	4.49	$Y=4.83 \times 10^5 X + 5.04 \times 10^6$	0.997 2	50
21	西沙必利	4.95	$Y=9.70 \times 10^5 X + 8.74 \times 10^6$	0.997 6	50
22	盐酸伊托必利	4.75	$Y=6.46 \times 10^5 X + 4.01 \times 10^6$	0.999 1	50

表 3 22 种化合物在片剂和口服液样品中的加标回收率和精密度 ($n=6$)Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations (RSD) of the 22 kinds of compounds in tablet and liquid form ($n=6$)

化合物名称	片剂平均回收率(%) / RSD(%)			口服液平均回收率(%) / RSD(%)		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
奥美拉唑	109.70(4.02)	112.31(3.59)	96.70(0.60)	108.41(4.43)	109.22(3.70)	99.65(2.39)
丙谷胺	89.75(7.92)	93.03(3.73)	98.07(4.62)	105.58(5.34)	100.38(6.32)	93.08(4.14)
比沙可啶	103.21(2.91)	86.22(2.01)	110.70(2.13)	117.21(1.12)	101.75(2.76)	104.69(1.81)
地芬诺酯盐酸盐	112.70(5.80)	92.70(3.23)	83.17(2.44)	91.94(2.96)	90.31(3.66)	100.15(1.72)
多潘立酮	110.98(7.11)	113.24(3.39)	92.44(3.11)	97.01(3.87)	95.52(2.88)	96.40(2.86)
法莫替丁	96.51(4.30)	115.04(2.08)	95.49(3.16)	94.72(3.81)	86.03(2.76)	104.95(1.85)
甲氧氯普胺	113.03(4.14)	109.77(5.61)	91.71(1.69)	105.28(7.17)	93.37(7.22)	105.55(2.08)
拉呋替丁	103.54(2.44)	103.55(4.29)	96.10(2.24)	109.90(2.47)	111.68(5.04)	115.43(1.42)
兰索拉唑	111.03(2.07)	89.76(2.09)	107.04(1.43)	113.53(3.18)	94.29(3.32)	100.34(1.81)
雷贝拉唑钠	106.70(7.00)	84.76(1.79)	85.41(2.66)	102.05(3.45)	107.09(3.67)	105.42(3.41)
盐酸雷尼替丁	97.89(5.45)	93.12(2.76)	96.21(1.45)	95.65(5.60)	89.78(2.59)	84.04(1.72)
盐酸洛哌丁胺	104.41(3.67)	87.70(3.51)	106.21(2.05)	112.76(3.97)	101.71(2.07)	99.18(2.29)
枸橼酸莫沙必利	108.44(4.78)	111.05(1.57)	87.84(2.12)	88.96(4.71)	103.98(4.03)	104.66(2.29)
尼扎替丁	108.49(5.49)	86.23(3.54)	97.85(6.92)	96.62(9.24)	89.41(4.70)	96.48(9.36)
泮托拉唑钠	105.47(3.54)	82.11(1.46)	105.23(1.06)	114.54(3.03)	94.84(1.44)	99.95(1.78)
马来酸曲美布汀	104.25(2.79)	90.31(1.51)	97.79(1.73)	94.79(3.81)	99.19(1.73)	83.94(3.07)
双醋酚丁	90.03(6.97)	88.17(8.62)	102.70(4.99)	116.21(5.76)	96.72(2.08)	105.61(7.13)
硫酸天仙子胺	112.49(1.55)	116.16(1.38)	114.46(1.20)	89.05(1.60)	102.01(3.27)	93.99(1.21)
脱乙酰比沙可啶	106.40(0.68)	95.22(5.59)	102.55(1.84)	116.00(1.90)	85.85(1.66)	83.64(0.86)
西咪替丁	88.23(6.31)	104.58(1.95)	113.15(2.34)	92.12(3.27)	92.97(3.25)	85.60(1.66)
西沙必利	106.73(4.27)	85.51(2.63)	113.04(2.23)	103.15(3.58)	87.50(2.96)	83.69(2.41)
盐酸伊托必利	100.17(2.01)	109.90(1.40)	89.50(2.07)	111.77(2.97)	97.42(4.21)	84.80(1.08)

注: 低浓度: 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 中浓度: 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 高浓度: 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 结论

本实验建立了一种超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法, 可以快速筛查同时定量分析片剂和口服液两种基质的改善胃肠道功能类保健食品中非法添加化合物。依据保留时间、一级母离子精确质量数、二级碎片离子精确质量数建立数据库进行快速定性筛查, 一级母离子进行定量分析。该方法操作简单快速, 灵敏度高, 结果准确, 适用于改善胃肠道功能类保健食品中非法添加化合物的快速筛查和定量分析, 为监管部门打击保健食品非法添加行为提供了新的技术支撑。

参考文献

- [1] GB 16740-2014, 食品安全国家标准保健食品[S]
- [2] 陈东洋, 张昊, 冯家力, 等. 保健食品中违禁药物检验技术研究进展[J]. 色谱, 2020, 38(8): 880-890
- [3] 贾婧怡, 李玮, 张焯, 等. 保健食品中非法添加药物事件及检测方法[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3558-3570
- [4] 火婷, 胡玥, 高旭东, 等. 保健食品中非法添加物检测的前处理及分析方法研究进展[J]. 分析测试技术与仪器, 2020, 26(1): 49-55
- [5] 钮正睿, 王聪, 曹进. 保健食品中非法添加药物种类及其检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(18): 6131-6142
- [6] 赵丽红, 曹娇娇, 李忠华. 改善胃肠道功能类中成药及食品中非法添加化学药物的检测方法研究进展[J]. 现代食品, 2019, 21(17): 50-51, 61
- [7] 郭常川, 孙华, 石峰, 等. Orbitrap 高分辨质谱法高通量筛查生化药品、中成药与保健品中非法添加的 13 种消化类化学药物[J]. 分析测试学报, 2018, 37(3): 300-306
- [8] 冯睿, 胡青, 孙健, 等. UHPLC-QQQ-MS 法测定食品中 30 种非法添加调节消化功能类化合物[J]. 上海预防医学, 2019, 31(6): 432-438
- [9] 冯江江, 申兰慧, 杨敏智. UPLC-Q-TOF-MS 快速检测健胃消化类中成药和保健食品中非法添加的 9 种化学物质[J]. 中

- 药师,2019,22(10):1934-1937
- [10] 马春燕,段琼,高晋梅,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定改善胃肠道功能类食品及中成药中非法添加的15种化学药物[J].食品安全质量检测学报,2021,12(12):4998-5006
- [11] 刘云,杨玉忠.超高效液相色谱-串联质谱法定性定量检测中成药及保健食品中非法添加的17种化学药物[J].安徽医药,2020,24(1):82-86
- [12] 田国贺,王梓巍,单元春,等.NIR快速筛选降糖类中药及保健食品中非法添加盐酸二甲双胍的方法研究[J].中国现代中药,2014,16(1):17-20
- [13] 孙立宏.保健食品中降糖药物盐酸二甲双胍的测定[J].中国药事,2017,31(1):79-81
- [14] 许凤,冯钰,付双,等.薄层色谱-显微红外光谱(TLC-Micro IR)联用技术检测减肥保健食品中非法添加盐酸芬氟拉明[J].中国医院药学杂志,2016,36(5):358-361
- [15] 李静辉,程闹闹,刘吉成,等.TLC-SERS法快速检测改善睡眠类保健食品中四种化学成分[J].光谱学与光谱分析,2018,38(4):1122-1128
- [16] 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
- [17] 徐硕,金鹏飞,邝咏梅,等.HPLC法检测中成药及保健品中非法添加的10种镇静催眠类药物[J].西北药学杂志,2019,34(2):181-185
- [18] 程燕,谭顺中,姜登军.超高效液相色谱法同时测定功能性饮品和抗疲劳类保健食品中非法添加的11种化学药物[J].食品安全质量检测学报,2018,9(15):4078-4084
- [19] 肖之敏,莫益倩,虞雯意,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定减肥类保健食品中3种违法添加的缓泻药成分的含量[J].食品安全质量检测学报,2020,11(5):1379-1383
- [20] 冯雪,尹利辉,金少鸿,等.离子迁移谱法快速检测保健食品中添加的5型磷酸二酯酶抑制剂[J].药物分析杂志,2016,36(2):313-320
- [21] 朱俐,冯雪,尹利辉.离子迁移谱法快速筛查保健食品中非法添加降糖类药品[J].分析科学学报,2018,34(2):165-170
- [22] 姚世平,刘光中,姚洪涛,等.保健食品中二氢吡啶类硝苯地平快速检测卡的研制[J].中国医学装备,2016,13(9):16-19
- [23] 曾彬,刘红梅,刘晓梅,等.UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术在中药分析中的应用[J].中药材,2020,43(9):2312-2318
- [24] 韩智,龚蕾,王会霞,等.轨道离子阱快速筛查及定量分析保健食品中73种非法添加成分[J].食品与机械,2019,35(7):74-79,116
- [25] 周楠,黄姗,陈卓,等.超高效液相色谱仪-四级杆/静电轨道阱高分辨质谱法快速筛查及不同酒类中64种非法添加化合物[J].现代食品科技,2021,37(1):229-242
- [26] WU Wenlin, LIU Shiyao, GUO Tianrong, et al. Rapid screening of 70 colorants in dyeable foods by using ultra-high-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometry with customized accurate-mass database and mass spectral library [J]. Food Chemistry, 2021, 356: 129643
- [27] Ellen De Paepe, Jella Wauters, Mik Van Der Borgh, et al. Ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry for multi-residue screening of pesticides, (veterinary) drugs and mycotoxins in edible insects [J]. Food Chemistry, 2019, 293: 187-196
- [28] QI Ping, ZHOU Qionqing, LIN Zihao, et al. Qualitative screening and quantitative determination of multiclass water-soluble synthetic dyes in foodstuffs by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2021, 360:129948
- [29] Christina I Kosma, Ourania L Koloka, Triantafyllos A Albanis, et al. Accurate mass screening of pesticide residues in wine by modified QuEChERS and LC-hybrid LTQ/Orbitrap-MS [J]. Food Chemistry, 2021, 360:130008
- [30] SUO Decheng, Fan xia, XIAO Zhiming, et al. Trace analysis of progesterone and 21 progestins in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled with high-field quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130115
- [31] XU Yan, LI Haixia, LIANG Jian, et al. High-throughput quantification of eighteen heterocyclic aromatic amines in roasted and pan-fried meat on the basis of high performance liquid chromatography-quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130147
- [32] ZHONG Jiayi, REN Dabing, SHANG Ying, et al. Targeted identification of glycosylated flavones and isomers in green tea through integrated ion-filtering strategy and mass-fragmentation characteristics based on the UPLC-Q-Orbitrap-MS/MS platform [J]. Food Chemistry, 2022, 377: 131901
- [33] CHENG Qiaoyuan, SHOU Linjun, CHEN Cen, et al. Application of ultra-high-performance liquid chromatography coupled with LTQ-Orbitrap mass spectrometry for identification, confirmation and quantitation of illegal adulterated weight-loss drugs in plant dietary supplements [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1064: 92-99
- [34] SHI Feng, GUO Changchuan, GONG Liping, et al. Application of a high resolution benchtop

- quadrupole-orbitrap mass spectrometry for the rapid screening, confirmation and quantification of illegal adulterated phosphodiesterase-5 inhibitors in herbal medicines and dietary supplements [J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1344: 91-98
- [35] GUO Changchuan, SHI Feng, JIANG Shuyin, et al. Simultaneous identification, confirmation and quantitation of illegal adulterated antidiabetics in herbal medicines and dietary supplements using high-resolution benchtop quadrupole-orbitrap mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography B*, 2014, 967: 174-182
- [36] ZHOU Shuiqing, GUO Changchuan, SHI Feng, et al. Application of an ultrahigh-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry for the rapid screening, identification and quantification of illegal adulterated glucocorticoids in herbal medicines [J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1038: 34-42
- [37] 黄雯雯,胡光辉,勾新磊,等.高效液相色谱-Q-Exactive 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱在食品药品安全分析中的应用概述[J].*食品安全质量检测学报*,2016,7(11):4289-4294
- [38] HUANG Xianhui, GUO Chunna, CHEN Zhangliu. Metabolism of nitazoxanide in rats, pigs, and chickens: Application of liquid chromatography coupled to hybrid linear ion trap/Orbitrap mass spectrometer [J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 1000: 147-154