

UPLC-MS/MS 法快速检测压片糖果中非法添加西布曲明等化学药物成份

王楠楠, 张波*, 王然然

承德市食品药品检验检测中心 河北承德

【摘要】目的 建立 UPLC-MS/MS 法快速检测压片糖果中易添加的壮阳类和减肥类化学药物。方法: 检测样品用甲醇提取, 采用 Agela Technologies Venusil MP C18 色谱柱 (3.0 mm×100 mm, 3 μm) 分离, 以 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈为流动相, 梯度洗脱; 采用电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 多反应监测 (MRM) 进行检测。结果 该方法中 17 种组分分离度良好, 在浓度为 2~200ng/mL 内线性关系良好, 相关系数均大于 0.991; 低、中、高 3 个添加水平的平均回收率为 81.7%~105.2%, 相对标准偏差为 3.8%~8.7%, 定量限为 1.35~330 μg/kg。结论 该方法灵敏度高、操作简便, 可用于压片糖果中 17 种非法添加化学药物成分的定量分析。

【关键词】 UPLC-MS/MS; 压片糖果; 非法添加

【收稿日期】 2023 年 2 月 12 日 **【出刊日期】** 2023 年 3 月 18 日 **【DOI】** 10.12208/j.imrf.20230026

Determination of sibutramine illegal addition in tabletcandy by UPLC-MS/MS

Nannan Wang, Bo Zhang*, Ranran Wang

Chengde Food and Drug Inspection and Testing Center, Chengde, Hebei

【Abstract】 **Objective** To establish UPLC-MS/MS method to quickly detect aphrodisiac and weight loss chemicals in tablet candy. **Methods** The test samples were extracted with methanol, separated by Agela Technologies Venusil MP C18 column (3.0 mm*100 mm, 3 μm), gradient eluted with 0.1% formic acid in water and 0.1% formic acid acetonitrile as mobile phase; electrospray ion source (ESI), positive ion mode, multiple reaction monitoring (MRM) for detection. **Results** In this method, 17 components were well separated, with good linear relationship within 2 to 200 ng/mL, correlation coefficient greater than 0.991; the average recovery of low, medium and high addition levels was 81.7%~105.2%, the relative standard deviation was 3.8%~8.7%, and the limit of quantification was 1.35~330 μg/kg. **Conclusion** This method has high sensitivity and simple operation, and can be used for quantitative analysis of 17 illegal chemical drug ingredients in tabletcandy.

【Keywords】 UPLC-MS/MS; Tabletcandy; Illegal addition

目前一些网购平台上标称有壮阳、减肥作用的压片糖果比比皆是, 但是压片糖果作为食品, 不允许标称有特定的功能与作用, 因此急需建立一种检测方法快速筛查出有可能添加在压片糖果中的具有治疗性作用的药物。

非法添加药物种类繁多, 液质联用技术因具有检测范围广、选择性高、准确、快速等特点^[1-4], 在多种化合物同时检测中具有较强的优势。本文从减肥药和壮阳药中选定 17 种易被添加的化学药物作为检测对象, 采用液相色谱-质谱联用法进行测定,

建立了前处理简单, 快速稳定的检测方法。同时采购 20 批次压片糖果样品, 用建立的方法进行摸底监测, 为执法和监管部门提供依据, 并且为日后建立相应的检验标准提供数据支撑。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

超高效液相色谱三重四级杆质谱联用仪 (美国 AB5500⁺), 电子天平 (梅特勒 ME303T/02), 多管涡旋混合仪 (北京优晟 UWV-2)

1.2 试剂

*通讯作者: 张波

西布曲明 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S082285); 酚酞 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S093519); 去甲基西布曲明 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S096745); N,N-双去甲基西布曲明 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S075623); 奥利司他 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S086845); 双醋酚丁 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S093673); 11 种那非类混标 (天津阿尔塔科技有限公司, 100 $\mu\text{g/mL}$, 批号: S094889)。

甲醇、乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲酸 (质谱纯, TCI 公司); 实验用水为超纯水。

2 实验方法与结果

2.1 液相色谱条件

色谱柱: Agela Technologies Venusil MP C18 色谱柱 (3.0 mm \times 100 mm, 3 μm), 进样体积: 5 μL , 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$, 流动相 A: 0.1%甲酸水, 流动相 B: 0.1%甲酸乙腈, 梯度洗脱程序见表 1。

2.2 质谱条件

电喷雾离子源正离子模式 (ESI+); 多反应监测 (MRM) 扫描; 离子化电压: 5500V; 离子源温度: 500 $^{\circ}\text{C}$; 去簇电压: 100V; GS1 压力: 50psi; GS2 压力: 55psi; 碰撞室出口电压 (CXP): 9.0V; 母离子、子离子、碰撞能见表 2。

2.3 标准溶液的配制

分别吸取标准溶液 1mL, 置同一容量瓶中用甲醇稀释定容至 10mL, 配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液, 然后在吸取 1mL 该溶液用甲醇稀释定容至 10mL, 配制成 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作溶液, 使用前用甲醇逐级稀释成浓度为 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200ng/mL 的系列标准溶液, 图 1 为 50ng/mL 的总离子流图。

2.4 样品前处理

精密称取 1g 研磨好的样品于 50mL 离心管中, 加入甲醇溶液 25mL, 涡旋提取 10min 后, 5000r/min 离心 5min, 将上清液转移至 50mL 容量瓶中, 再加入 20mL 乙腈溶液重复提取一次后, 用乙腈定容至 50mL, 摇匀后过 0.22 μm 滤膜后待测。

2.5 方法学数据

(1) 线性关系

将配制好的 2.3 系列标准溶液, 用 2.1 和 2.2 的液相和质谱条件进行上机测定, 以定量离子浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 结果表明在 2~200ng/mL 浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.991, 结果见表 3。

(2) 定量限试验

在阴性样品中加入混合标准溶液, 不断稀释后进样, 以各组分的信噪比为 10 时, 计算各组分的定量限见表 3。从结果表明该方法有较高的灵敏度。

(3) 加标回收率和重复性试验

在阴性样品中加入 0.5, 1, 2 $\mu\text{g/g}$ 三个不同浓度的混合标准溶液, 每个浓度平行测定 6 份样品, 计算加标回收率和 RSD, 结果见表 3。

2.6 样品测定

在网络平台上购买了 20 批次标称有不同保健作用的压片糖果进行测定, 发现有一批次检出酚酞; 三批次同时检出单去甲基西布曲明和西布曲明; 一批次样品同时检出酚酞、单去甲基西布曲明和西布曲明。

3 讨论

3.1 样品提取溶剂选择

对阳性样品同时选用甲醇、乙腈、0.1%甲酸甲醇和 0.1%甲酸乙腈进行提取, 结果表明甲醇的提取率更高, 同时甲醇对本文研究的其他标准物质也都有很好的溶解性, 因此选用甲醇作为提取溶剂。

表 1 梯度洗脱程序表

时间/min	流速/mL/min	A/%	B/%
0.00~1.00	0.3	95.0	5.0
1.00~7.00	0.3	95.0~5.0	5.0~95.0
7.00~12.00	0.3	5.0	95.0
12.00~12.10	0.3	5.0~95.0	95.0~5.0
12.10~14.00	0.3	95.0	5.0

表 2 非法添加药物的定性、定量离子和质谱采集参数

非法添加药物名称	保留时间 (min)	母离子	子离子	碰撞能量 (CE)
西地那非	5.819	475.3	283.4, 311.3	48, 39
豪莫西地那非	5.87	489.2	113.2, 311.4	42, 42
羟基豪莫西地那非	5.802	505.1	487.1, 377.4	32, 41
那莫西地那非	7.809	460.1	329.3, 377.1	40, 41
硫代艾地那非	6.212	505.2	393.4, 448.4	40, 38
红地那非	5.666	467.4	396.4, 420.4	41, 38
那红地那非	5.666	453.3	353.2, 406.5	39, 40
伐地那非	5.597	489.2	151.2, 299.1	59, 53
伪伐地那非	7.85	460.5	432.2, 377.4	40, 40
他达拉非	6.826	390.2	268.3, 302.3	15, 30
氨基他达拉非	6.621	391.3	262.1, 269.2	43, 15
双醋酚丁	7.236	402.1	224.1, 266.2	27, 16
酚酞	6.69	319.1	225.1, 140.9	21, 45
双去甲基西布曲明	6.007	252.2	124.9, 138.9	33, 30
单去甲基西布曲明	6.075	266.2	124.9, 138.9	29, 25
西布曲明	5.802	280.2	124.9, 138.9	33, 25
奥利司他	10.406	496.4	319.2, 337.1	17, 15

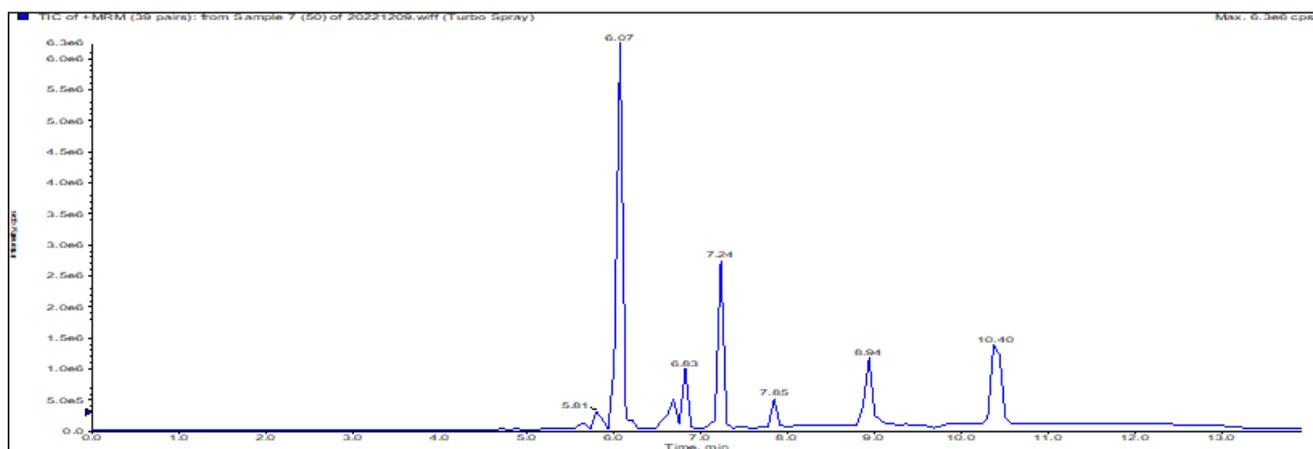


图 1 50ng/mL 的总离子流图

表 3 17 种非法添加组分的线性方程、相关系数、定量限、加标回收率及相对标准偏差

非法添加组分	线性方程	相关系数	定量限/(ug/kg)	加标量/(ug/g)	平均回收率/%	RSD/%
西地那非	$Y=5263.69975x-9154.66124$	$r=0.997$	25.0	0.5,1,2	85.5,92.3,101.5	5.3,4.3,3.8
豪莫西地那非	$Y=7132.14638x+5954.20492$	$r=0.991$	33.3	0.5,1,2	82.5,87.1,94.6	4.7,7.2,4.5
羟基豪莫西地那非	$Y=6632.40630+1.90604e^5$	$r=0.998$	66.7	0.5,1,2	90.2,87.1,95.6	3.8,7.2,5.4
那莫西地那非	$Y=10919.39830x-319514e^4$	$r=0.992$	62.5	0.5,1,2	93.2,98.7,105.2	4.5,6.2,4.8
硫代艾地那非	$Y=3406.93685x+11573.32361$	$r=0.991$	45.4	0.5,1,2	85.4,93.5,98.1	5.5,6.2,7.1
红地那非	$Y=2543.90568x-2409.55207$	$r=0.991$	35.7	0.5,1,2	81.7,89.0,95.3	6.0,7.3,8.7
那红地那非	$Y=2532.16798x+7.41241e^4$	$r=0.991$	200	0.5,1,2	92.0,89.1,99.8	5.6,6.4,7.2
伐地那非	$Y=8811.98056x-3.20399e^4$	$r=0.993$	1.35	0.5,1,2	85.4,93.8,104.2	3.8,4.2,6.3
伪伐地那非	$Y=10145.10519x+12778.16061$	$r=0.991$	7.30	0.5,1,2	98.2,94.3,103.4	5.3,8.7,4.8
他达拉非	$Y=4.98196e^4x+24085.67226$	$r=0.992$	2.02	0.5,1,2	93.8,99.2,95.4	8.1,6.2,5.4
氨基他达拉非	$Y=7840.10346x-258.10711$	$r=0.993$	59.5	0.5,1,2	94.8,91.6,95.7	7.2,5.3,4.1
双醋酚丁	$Y=1.54920e^5x+2010754e^5$	$r=0.991$	3.90	0.5,1,2	87.2,89.3,98.8	6.5,4.2,5.8
酚酞	$Y=4.68540e^4x-118553.02758$	$r=0.998$	330	0.5,1,2	93.5,95.6,98.7	5.2,4.6,6.1
双去甲基西布曲明	$Y=23030.68783x+6.64505e^4$	$r=0.992$	43.5	0.5,1,2	91.2,89.7,102.5	5.4,4.8,6.7
单去甲基西布曲明	$Y=1.48270e^5x-11033.82301$	$r=0.992$	10.6	0.5,1,2	94.7,89.8,103.5	5.2,4.8,6.5
西布曲明	$Y=1.59305e^5x+3.93339e^5$	$r=0.993$	250	0.5,1,2	84.3,89.2,99.7	3.9,4.5,6.4
奥利司他	$Y=1.34839e^5x+3.89481e^5$	$r=0.995$	29.4	0.5,1,2	89.1,98.9,96.7	8.1,4.5,3.8

3.2 样品提取方法选择

对阳性样品同时用超声方法和涡旋方法进行提取,结果表明提取率差异不大,由于超声提取会引起提取溶剂的挥发,因此选用涡旋提取作为提取方法。

4 结论

本文采用超高效液相串联三重四级杆质谱联用分析技术,建立了同时检测那非类等 17 种化学成分的试验方法。该方法前处理过程简单,且灵敏度高、回收率良好,可用于市场上质量良莠不齐的压片糖果制品的日常检测,为保证消费者权益提供技术支撑^[5]。

参考文献

- [1] 王伟姣,龙凌云,姜成君,等.UPLC-MS/MS 法测定减肥类保健食品中非法添加 17 种化学药的研究[J]. 中中药学, 2019,17(8):1255-1260.
- [2] 辜慧,杜钢,李澍才,等.UPLC-MS/MS 法检测中药制

剂中的 27 种非法添加化药成分[J]. 中国测试,2021,7(47):49-54.

- [3] 刘静,吴琼,王超.液相色谱-离子阱质谱法同时测定减肥类保健食品中非法添加的 12 种化学药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2021,12(18):7287-7292.
- [4] 万远航,李静.UPLC-MS/MS 法快速检测保健食品中非法添加西地那非等化学药物成分[J]. 中国检验检测,2021,3:16-18.
- [5] 梁晟,杨青,李瑞莲, et al. UPLC-MS/MS 法测定 13 种中成药中的马兜铃酸 A[J]. 华西药理学杂志 2020 年 35 卷 1 期, 78-81 页, ISTIC CSCD CA, 2020.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS