



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114002368 A

(43) 申请公布日 2022.02.01

(21) 申请号 202111641499.0

(22) 申请日 2021.12.30

(71) 申请人 天津市食品安全检测技术研究院
地址 300308 天津市滨海新区空港经济区
西十道106号

(72) 发明人 李莹 李伟 柳溪 杨栩 刘莹
翟雨佳

(74) 专利代理机构 天津合正知识产权代理有限公司 12229

代理人 张艳梅

(51) Int. Cl.

G01N 30/88 (2006.01)

G01N 30/86 (2006.01)

G01N 30/72 (2006.01)

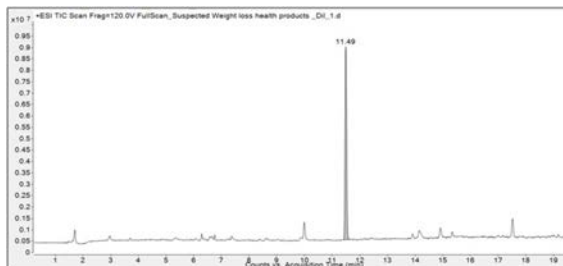
权利要求书2页 说明书15页 附图4页

(54) 发明名称

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法

(57) 摘要

本发明涉及超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,包括如下步骤:(1) 配制221种对照品单标储备溶液,按照浓度梯度配制混合标准工作溶液和多份标准系列溶液;(2) 建立色谱分离条件和质谱条件;(3) 建立一级谱库;(4) 建立二级高分辨质谱数据库。本发明的有益效果是:运用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法建立保健食品中221种非法添加化学成分的检测方法,并建立相应非法添加化学物质的高分辨质谱数据库。对比高分辨质谱数据库中相应的特征碎片离子,能够对保健食品监督抽检和风险监测的221种非法添加化学物质进行定性和定量风险筛查和测定。能够更有针对性,更快速有效地对保健品非法添加成分进行准确的分析检测,使得成分检测分析更快速。过程简单,检测精度高,检测灵敏。



1. 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,其特征在於,包括如下步骤:

标物配置 分别称取 221种对照品 10.0 mg,用甲醇定容至 10 mL,配制成单标贮备液;以甲醇为溶剂,将221种单标贮备液稀释为100倍,即得10 µg /mL 的混合标准工作溶液;

建立色谱分离条件、质谱条件: 仪器名称:Agilent 1290 Infinity IILC-6545Q-TOF/MS 液相色谱-质谱联用仪,配有双喷射电喷雾电离源;

确认了 221种非法添加化合物的一级质谱、一级精确质荷比、同位素丰度比、保留时间和质量数误差;

建立高分辨质谱数据库;

在优化好的色谱分离条件下对221种非法添加化合物标准溶液进行分析,获得 221种化合物的保留时间、精确分子质量以及离子化模式,采集不同碰撞能量10,20,40 V 下的目标化合物的二级质谱图,利用Masshunter定性软件提取每个化合物3个碰撞能量下的二级质谱图,同时利用分子式生成功能计算出子离子碎片的理论分子式,再将转化好的理论值导入到PCDL数据库中,从而建立高分辨质谱数据库,用于待检样品的数据库匹配确证。

2. 根据权利要求1所述的超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,其特征在於,所述建立色谱分离条件为: 流动相: A 相为体积分数 0.1% 甲酸水溶液+2mmol甲酸铵,B 甲醇; 流速0.4 mL /min; 色谱柱: Zorbax Eclipse Plus RRHD C₁₈ 型号为3.0 x 150 mm 1.8 µm; 柱温 40°C ;洗脱方式为梯度洗脱如下表:

Time	A%	B%
0.0	90	10
5.0	50	50
10.0	40	60
25.0	2	98
29.0	2	98
29.1	90	10
33.0	90	10

进样体积 1 µL;

质谱条件:

MS Source Conditions	
扫描方式	+/- (Positive/Negative)
干燥器温度	250 ° C
干燥器流速	7 L/min
喷雾器压力	30 psi
鞘气温度	325 ° C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	+3500 V/-3000V
喷嘴电压	+0 V/-500V
电喷雾电压	130 V
质荷比范围	50-1200 m/z

3. 根据权利要求1所述的超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,其特征在于,所述建立高分辨质谱数据库的方法是:在色谱分离条件下对221种非法添加化合物标准溶液进行分析,获得 221种化合物的保留时间、精确分子质量以及离子化方式,采集不同碰撞能量10、20 和 40 V 下的目标化合物的二级质谱图,利用Masshunter定性软件提取每个化合物3个碰撞能量下的二级谱图,同时利用分子式生成功能计算出子离子碎片的理论分子式,再导入PCDL数据库中选择导入计算的理论值,从而建立高分辨质谱数据库,用于待检样品的数据库匹配确证。

超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法

技术领域

[0001] 本发明属于保健品非法添加检测技术领域,对食品中非法添加化学成分的检测方法的开发。

背景技术

[0002] 保健食品是由天然营养成分和特殊活性物质所构成的,它区别于药品的最大一个特点是:它不含有任何药物成分,不具备治疗的功用,不能对人体造成任何伤害和副作用。我国GB16740-2014《食品安全国家标准 保健食品》中第2.1条将保健食品定义为:声称并具有特定保健功能或者以补充维生素、矿物质为目的的食品。由于保健食品属性的特殊性,某些商家受利益驱使,选择在保健食品中添加违禁药物来达到提高其产品功能性的目的。随着我国人民生活水平的提高,保健意识愈发强烈,保健品成为当今社会流行的保持身体健康的产品,得到大众的喜爱。同时近些年跨境电商零售进口商品中保健食品比例逐年攀升。但保健食品虚假宣传,滥用西药成分等问题层出不穷,致使部分我国国内市场的保健食品在安全性、质量可控性上存在一定的风险,甚至在配方的科学性和保健功能上可能缺乏一定的临床验证,为人民健康生活带来安全隐患。

[0003] 国家食品药品监督管理局在2009年颁布了药品补充检验标准,规定了非法添加的11种补肾壮阳类化学药检测方法。2018年颁布了《食品中那非类物质的测定》(BJS 201805)包含了90种那非类非法添加物质。出口保健食品检验标准、国家批准的文件及国家补充检验标准采用的检测方法主要为高效液相色谱法和高效液相色谱串联质谱法,这些方法通常适合在有对照品或标准物质的情况下,对已知目标物的检测,分析成本高、研究扩展性不强。保健食品种类繁多,而且还处于增长的态势,标准中涉及到的非法添加物质的主要包括:减肥类、降糖类、降血压类、降血脂类、安神类以及壮阳类。涉及到的类别只是其中一类中的部分非法添加物,对于日益繁杂的保健品市场,添加的非法添加物类别出现多种的态势,尤其针对不法分子在保健食品中添加其他化合物的衍生物或相似物的情况,往往会因现有检测方法的局限性而导致监管困难。但高通量识别和非目标成份激素类的检测鉴定方法尚没有建立。因此迫切需要建立非法添加化学物质多剂型、多指标的定量检测方法。

发明内容

[0004] 为了能够快速检测多种保健食品中的非法添加物,本发明提供了一种超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,本发明优化样品前处理、色谱、质谱等条件,完成方法学验证,并建立相应非法添加化学物质的高分辨质谱数据库。对比高分辨质谱数据库中相应的特征碎片离子,能够对保健食品监督抽检和风险监测221种非法添加化学物质进行定性和定量风险筛查和测定。这221种非法添加物均是实际检测工作中被检测或剖析出来的成分,如西布曲明和西地那非的被检出频率最高;氟米松等激素类检测方法尚无标准。保健食品中最常见的添加物,其中包括降血糖类27种、降

血脂类6种、降血压类12种,安神类22种,减肥类30种,激素类40种,壮阳类84种。不同功能种类的221种非法添加物质能一种方法一次检测,既方便又利于操作。

[0005] 本发明的具体技术方案是:一种超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法测定保健食品中非法添加成分的方法,包括如下步骤:

(1) 标物配置分别称取 221种对照品 10.0 mg,用甲醇定容至 10 mL,配制成单标贮备液;以甲醇为溶剂,将221种单标贮备液稀释为100倍,即得10 μg /mL 的混合标准工作溶液;

(2) 建立色谱分离条件、质谱条件: 仪器名称:Agilent 1290 InfinityIILC-6545Q-TOF/MS 液相色谱-质谱联用仪,配有双喷射电喷雾电离源;

色谱分离条件: 流动相: A 相为体积分数 0.1% 甲酸水溶液+2mmol甲酸铵,B 甲醇; 流速0.4 mL /min; 色谱柱: Zorbax Eclipse Plus RRHD C₁₈ (3.0 x 150 mm 1.8 μm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 洗脱方式为梯度洗脱;

Time	A%	B%
0.0	90	10
5.0	50	50
10.0	40	60
25.0	2	98
29.0	2	98
29.1	90	10
33.0	90	10

进样体积 1 μL ;

质谱条件:

MS Source Conditions	
扫描方式	+/- (Positive/Negative)
干燥器温度	250 ° C
干燥器流速	7 L/min
喷雾器压力	30 psi
鞘气温度	325 ° C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	+3500 V/-3000V
喷嘴电压	+0 V/-500V
电喷雾电压	130 V
质荷比范围	50-1200 m/z

本发明采用Zorbax Eclipse Plus RRHD C₁₈ (3.0 x 150 mm 1.8 μ m) 柱, 兼顾不同极性化合物性质, 比较理想的实现了色谱保留和分离。221种化合物的理化性质差别大, 在色谱柱上保留特征也不同, 为得到理想的色谱峰及合适的分离度, 对比选择了性质不同的色谱柱, 考察其保留行为及分离情况。下表为不同色谱柱检测结果:

色谱柱	检测物	检测结果
Zorbax Eclipse Plus RRHD C ₁₈ (3.0 x 150 mm 1.8 μ m)	221 种化合物	能分开且检测出
ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 x 150 mm 1.8 μ m)	221 种化合物	二甲双胍、烟酸等不能检出; 伪伐地那非与那莫西地那非互为同分异构体, 因此分离度低
Agilent C ₁₈ (2.1x 100 mm 1.8 μ m)	221 种化合物	阿卡波糖、伏格列波糖不能检出; 氯地那非、罗地那非碳酸酯等分离度低且拖尾严重

结果表明: 二甲双胍、阿卡波糖、伏格列波糖、烟酸等极性较强的化合物保留性极小, 容易受色谱前期极性共流出物干扰; 另有氯地那非部分化合物由于结构原因, 有峰形拖尾严重等情况。伪伐地那非与那莫西地那非互为同分异构体, 经优化后为17.66min, 18.65min, 可实现色谱基线分离。这样他们用一般的色谱柱会出现检测不准确的问题。

[0006] 本发明采用Zorbax Eclipse Plus RRHD C₁₈ (3.0 x 150 mm 1.8 μ m) 柱时兼顾不同极性化合物性质, 适合检测221种物质。

[0007] 本发明添加甲酸铵和甲酸的流动相, 从而提升离子化效率和检测灵敏度。221种化合物的性质不同, 检测时对流动相的要求也不同, 考虑到221种化合物的色谱行为和离子化程度。最后流动相加入甲酸会提高正离子物质的灵敏度, 加入甲酸铵可提高负离子物质的

灵敏度。流动相中添加低浓度甲酸铵,除了有利于提供缓冲体系外,还可以促进达格列净、曲格列酮、环格列酮等在离子化过程中产生 $[M+NH_4]^+$ 峰,从而提升离子化效率和检测灵敏度。比较0.02%、0.05%、0.1%、0.5%甲酸水溶液发现随着甲酸浓度的增加,保留时间降低至30min以内,分辨率加大。但是当浓度增加到0.5%以后,检测灵敏度差。优化甲酸铵含量,比较1mmol、2mmol、3mmol,最终2mmol可以将221种物质的分离较好,出峰时间缩短且分析时间适中,特征离子的峰型保持较好,满足221种化合物的准确检测灵敏度。最后通过优化后确定流动相及梯度洗脱程序。

[0008] 本发明采用 All Ions MS/MS模式中设置碰撞能量获得化合物二级质谱的信息。该模式可以选择多个碰撞能通道进行采集,根据目标物的保留时间、加合离子和碎片离子的精确分子量等信息与数据库进行检索比对,最终对化合物进行确证。不同碰撞能量,增加化合物判定准确性,确认性。比如在实际工作中,我们会遇到在某个能量下,某个物质会有相同的子离子,这就需要在其他能量下扫描该物质,做再次确认。我们的方法经过三种不同碰撞能量扫描,对保健品221种非法添加化学物质进行确认。保证检测物质的准确性,避免出现假阳性的可能。

[0009] 本发明优化确定10V、20V、40V三种能量使谱图信息量更加充分和准确。我们对221种化合物设定三种不同能量值,根据化合物结构的键能稳定性进行的选择。一般情况结构化学键键能越稳定,需要打碎的能量越高,键能越低,需要打碎的能量越低。碰撞能较低时,采集到的碎片离子较少,造成特征性碎片较少,响应不明显。最终用于定性的离子可能会偏少,导致定性信息不充分。如果碰撞能较高,化合物的主要定性离子强度降低,同时相对分子量较低的碎片离子增加,而基质中的干扰峰通常处于较低相对分子质量端,这会对化合物的定性产生干扰。优化后可见母离子和子离子碎片谱图,其中母离子碎片相应占到碎片最高峰相应的20%,此情况能使谱图信息量更加充分和准确。针对要检测的221种物质,数量庞大,性质各不相同,对比优化了在20V、10V和20V双碰撞能通道下、10V、20V和40V三碰撞能通道下和10V、20V、50V三碰撞能通道下采集所筛出非法添加化合物和假阳、阴性非法添加化合物的占比情况。可以看出,在10V、20V和40V三碰撞能通道下,可筛查出非法添加化合物的占比明显高于其他情况,可以使得一些相对稳定的化合物产生较强的特征二级碎片离子,有助于对化合物进行同时基于母离子和二级碎片离子的准确判断定性。根据在不同数量和碰撞能量下有不同的结果,为得到每种物质的理想灵敏度,实验最终优化采用碰撞能量在10V、20V、40V。下表为不同碰撞能下准确筛查筛查结果:

能量值 (v)	不同碰撞能下准确筛查出的非法添加物质占比(%)	不同碰撞能下准确筛查出的假阳性、假阴性非法添加物质占比(%)
20	50	56
10, 20	66	36
10, 20, 50	73	16
10, 20, 40	95	8

(3) 确认了 221种非法添加化合物的一级质谱、一级精确质荷比、同位素丰度比、保留时间和质量数误差;

(4) 建立高分辨质谱数据库

在色谱分离条件下对221种非法添加化合物标准溶液进行分析,获得 221种化合

物的保留时间、精确分子质量以及离子化方式,采集不同碰撞能量(10、20 和 40 V 下的目标化合物的二级质谱图,利用Masshunter定性软件提取每个化合物3个碰撞能量下的二级质谱图,同时利用分子式生成功能计算出离子碎片的理论分子式,在导入PCDL数据库中选择导入计算的理论值,从而建立高分辨质谱数据库,用于待检样品的数据库匹配确证。

[0010] 以下是221种保健品种分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

表1 编号1-36保健品种分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
降血糖类	1	苯乙双胍	Phenformin	114-86-3	C10H15N5	205.1327	5.01
	2	丁二胍	Buformine	692-13-7	C6H15N5	157.1327	3.17
	3	二甲双胍	Metformin	657-24-9	C4H11N5	129.1014	1.72
	4	维达列汀	Vildagliptin	274901-16-5	C17H25N3O2	303.1947	3.61
	5	罗格列酮	Rosiglitazone	122320-73-4	C18H19N3O3S	357.1147	6.16
	6	西他列汀	Sitagliptin	486460-32-6	C16H15F6N5O	407.1181	6.35
	7	吡格列酮	Pioglitazone	111025-46-8	C19H20N2O3S	356.1195	8.27
	8	氯磺丙胍	Chlorpropamide	94-20-2	C10H13ClN2O3S	276.0335	10.65
	9	格列吡嗪	Glipizide	29094-61-9	C21H27N5O4S	445.1784	12.93
	10	甲苯磺丁脲	Tolbutamide	64-77-7	C12H18N2O3S	270.1038	11.61
	11	醋磺己脲	Acetohexamide	968-81-0	C15H20N2O4S	324.1144	16.31
	12	妥拉磺脲	Tolazamide	1156-19-0	C14H21N3O3S	311.1304	12.26
	13	瑞格列奈	Repaglinide	135062-02-1	C27H36N2O4	452.2675	18.21
	14	格列齐特	Gliclazide	21187-98-4	C15H21N3O3S	323.1304	13.71
	15	格列波脲	Glutril (Glibornuride)	26944-48-9	C18H26N2O4S	366.1613	16.11
	16	格列本脲	Glibenclamide	10238-21-8	C23H28ClN3O5S	493.1438	17.16
	17	那格列奈	Nateglinide	105816-04-4	C19H27NO3	317.1991	19.03
	18	格列美脲	Glimepiride	93479-97-1	C24H34N4O5S	490.225	18.31
	19	格列隆脲	Gliquidone	33342-05-1	C27H33N3O6S	527.209	19.83
	20	莫格他唑	Muraglitazar	331741-94-7	C29H28N2O7	516.1897	20.71
	21	GW501516	GW501516	317318-70-0	C21H18F3NO3S2	453.068	22.23
	22	伏格列波糖	Voglibose	83480-29-9	C10H21NO7	267.1318	1.44
	23	阿卡波糖	Acarbose	56180-94-0	C25H43NO18	645.248	1.59
	24	达格列净	Dapagliflozin	461432-26-8	C21H25ClO6	408.134	15.27
	25	卡格列净	Canagliflozin	32384-65-9	C18H42O6Si4	466.2059	17.68
	26	曲格列酮	Troglitazone	97322-87-7	C24H27NO5S	441.161	19.28
	27	环格列酮	Ciglitazone	74772-77-3	C18H23NO3S	333.1399	22.53
降血脂类	28	洛伐他汀	Lovastatin	75330-75-5	C24H36O5	404.2563	21.55
	29	辛伐他汀	Simvastatin	79902-63-9	C25H38O5	418.2719	22.92
	30	烟酸	Nicotinic acid	59-67-6	C6H5NO2	123.032	2.33
	31	美伐他汀	Mevastatin	73573-88-3	C23H34O5	390.2406	20.63
	32	洛伐他汀羧酸	Lovastatin acid	75225-50-2	C24H38O6	422.2668	21.4
	33	脱羟基洛伐他汀	Dehydrolovastatin	109273-98-5	C24H34O4	386.2457	22.74
降血压类	34	尼莫地平	Nimodipine	66085-59-4	C21H26N2O7	418.174	16.87
	35	氨氯地平	Amlodipine	88150-42-9	C20H25ClN2O5	408.1452	11.41
	36	尼索地平	Nisoldipine	63675-72-9	C20H24N2O6	388.1634	17.73

表2编号37-72保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
降血压类	37	非洛地平	Felodipine	72509-76-3	C ₁₈ H ₁₉ Cl ₂ N ₂ O ₄	383.0691	18.98
	38	尼群地平	Nitrendipine	39562-70-4	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₆	360.1321	15.89
	39	硝苯地平	Nifedipine	21829-25-4	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₆	346.1165	12.86
	40	利血平	Reserpine	50-55-5	C ₃₃ H ₄₀ N ₂ O ₉	608.2734	11.07
	41	阿替洛尔	Atenolol	29122-68-7	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	266.163	3.42
	42	可乐定	Clonidine	4205-90-7	C ₉ H ₉ Cl ₂ N ₃	229.0174	4.41
	43	氢氯噻嗪	Hydrochlorothiazide	58-93-5	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	296.9645	3.85
	44	卡托普利	Captopril	62571-86-2	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₅	217.0773	11.41
	45	哌唑嗪	Prazosin	19216-56-9	C ₁₉ H ₂₁ N ₅ O ₄	383.1594	6.86
安神类	46	氯氮卓	Chlordiazepoxide	58-25-3	C ₁₆ H ₁₄ ClN ₃ O	299.0825	9.33
	47	马来酸咪达唑仑	Midazolam	59467-70-8	C ₁₈ H ₁₃ ClFN ₃	325.0782	8.33
	48	硝西泮	Nitrazepam	146-22-5	C ₁₅ H ₁₁ N ₃ O ₃	281.08	11.02
	49	艾司唑仑	Estazolam	29975-16-4	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₄	294.0672	11.81
	50	奥沙西泮	Oxazepam	604-75-1	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	286.0509	12.61
	51	阿普唑仑	Alprazolam	28981-97-7	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	308.0829	12.6
	52	劳拉西泮	Lorazepam	846-49-1	C ₁₅ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	320.0119	12.54
	53	氯硝西泮	Clonazepam	1622-61-3	C ₁₅ H ₁₀ ClN ₃ O ₃	315.0411	11.08
	54	三唑仑	Triazolam	28911-01-5	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₄	342.0439	12.42
	55	地西泮	Diazepam	439-14-5	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	284.0716	15.03
	56	巴比妥	Barbital	57-44-3	C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₃	184.0848	6.09
	57	苯巴比妥	Phenobarbital	1950/6/6	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	232.0848	7.91
	58	司可巴比妥	Secobarbital	76-73-3	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₃	238.1317	12.31
	59	异戊巴比妥	Amobarbital	57-43-2	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₃	226.1317	11.21
	60	氯美扎酮	Chlormezanone	80-77-3	C ₁₁ H ₁₂ ClN ₃ O ₃ S	273.0226	7.99
	61	褪黑素	Melatonin/Melatonine	73-31-4	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	232.1212	7.18
	62	佐匹克隆	Zopiclone	43200-80-2	C ₁₇ H ₁₇ ClN ₆ O ₃	388.1051	9.38
	63	氟苯那敏	Dipicyramine	131-73-7	C ₁₂ H ₅ N ₇ O ₁₂	438.9996	21.98
	64	扎来普隆	Zaleplone	151319-34-5	C ₁₇ H ₁₅ N ₅ O	305.1277	9.41
	65	文拉法辛	Venlafaxine	93413-69-5	C ₁₇ H ₂₇ N ₂ O ₂	277.2042	7.53
66	青藜碱	Sinomenine	115-53-7	C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₄	329.1627	3.99	
67	罗通定	Tetrahydropalmatine	10097-84-4	C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₄	355.1784	6.39	
减肥类	68	苯丙醇胺	D(+)-Norephedrine (d-Phenylpropanolamine)	14838-15-4	C ₉ H ₁₃ NO	151.0997	4.09
	69	去甲伪麻黄碱	Cathine (d-Norpseudoephedrine)	492-39-7	C ₉ H ₁₃ NO	151.0997	3.95
	70	伪麻黄碱	Pseudoephedrine	90-82-4	C ₁₀ H ₁₅ NO	165.1154	4.25
	71	甲基麻黄碱	Methylephedrine	552-79-4	C ₁₁ H ₁₇ NO	179.131	4.29
	72	安非他明	Amphetamine (Amfetamine)	300-62-9	C ₉ H ₁₃ N	135.1048	4.86

表3 编号73-100保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
减肥类	73	氯噻嗪	Chlorothiazide	58-94-6	C7H6ClN3O4S2	294.9488	3.71
	74	甲基安非他明	Methamphetamine (Metamphetamine) (Deoxyephedrine)	537-46-2	C10H15N	149.1205	4.93
	75	芬特拉明	Phentermine	122-09-8	C10H15N	149.1205	5.66
	76	氯卡色林	Lorcaserin	616202-92-7	C11H14ClN	195.0815	6.88
	77	安非他酮	Bupropion (Amfebutamone)	34911-55-2	C13H18ClNO	239.1077	7.02
	78	普伐他汀	Pravastatin	81093-37-0	C23H36O7	424.2461	13.05
	79	氟西汀	Fluoxetine	54910-89-3	C17H18F3NO	309.1341	11.56
	80	吲达帕胺	Indapamide	26807-65-8	C16H16ClN3O3S	365.0601	9.27
	81	苄基西布曲明	Benzylsibutramine	1446140-91-5	C20H24ClN	313.1597	12.01
	82	萘莫西布曲明	Homosibutramine	935888-80-5	C18H28ClN	293.191	11.91
	83	比沙可啶	Bisacodyl	603-50-9	C22H19NO4	361.1314	12.66
	84	氯代西布曲明	Chloro-Sibutramine	84485-08-5	C17H25Cl2N	313.1364	13.24
	85	苯扎贝特	Bezafibrate	41859-67-0	C19H20ClNO4	361.1081	15.11
	86	布美他尼	Bumetanide	28395-03-1	C17H20N2O5S	364.1093	13.77
	87	利莫那班	Rimonabant	168273-06-1	C22H21Cl3N4O	462.0781	22.85
	88	非诺贝特	Fenofibrate	49562-28-9	C20H21ClO4	360.1128	22.01
	89	奥利司他	Orlistat	96829-58-2	C29H53NO5	495.3924	26.56
	90	呋塞米	Furosemide	54-31-9	C12H11ClN2O5S	330.0077	10.75
	91	西布曲明	Sibutramine	106650-56-0	C17H26ClN	279.1754	11.51
	92	N-单去甲基西布曲明	Desmethylsibutramine (Sibutramine)	168835-59-4	C16H24ClN	265.1597	12.21
93	N, N-双去甲基西布曲明	N,N-Bisdesmethylsibutramine	84467-54-9	C15H22ClN	251.1441	12.79	
94	麻黄碱	Ephedrine	299-42-3	C10H15NO	165.1154	4.24	
95	咖啡因	Caffeine	1958/8/2	C8H10N4O2	194.0804	5.46	
96	酚酞	Phenolphthalein	1977/9/8	C20H14O4	318.0892	9.63	
97	芬氟拉明	Fenfluramine	458-24-2	C12H16F3N	231.1235	7.28	
激素类	98	倍他米松戊酸酯	Betamethasone valerate	2152-44-5	C27H37FO6	476.2574	18.94
	99	曲安西龙双醋酸酯	Triamcinolone diacetate	67-78-7	C25H31FO8	478.2003	11.88
	100	氢化可的松醋酸酯	Hydrocortisone 21-acetate	1950/3/3	C23H32O6	404.2199	13.68

表4 编号101-127保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
激素类	101	甲基泼尼松龙醋酸酯	Methylprednisolone acetate	53-36-1	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	416.2199	15.46
	102	曲安奈德醋酸酯	Triamcinolone acetonide 21-acetate	7/3/3870	C ₂₆ H ₃₃ F ₀₇	476.221	16.84
	103	氟轻松醋酸酯	Fluocinolone acetonide acetate	356-12-7	C ₂₆ H ₃₂ F ₂ O ₇	494.2116	16.71
	104	泼尼卡酯	Prednicarbate	73771-04-7	C ₂₇ H ₃₆ O ₈	488.241	18.54
	105	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone diacetate	33564-31-7	C ₂₆ H ₃₂ F ₂ O ₇	494.2116	16.35
	106	氯倍他索丙酸酯	Clobetasol propionate	25122-46-7	C ₂₅ H ₃₂ ClF ₀₅	466.1922	18.04
	107	泼尼松	Meprednisone	1247-42-3	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	372.1937	13.12
	108	地塞米松	Dexamethasone	1950/2/2	C ₂₂ H ₂₉ F ₀₅	392.1999	13.13
	109	曲安奈德	Triamcinolone acetonide	76-25-5	C ₂₄ H ₃₁ F ₀₆	434.2105	15.34
	110	泼尼松龙醋酸酯	Prednisolone?1-acetate	52-21-1	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	402.2042	13.62
	111	氟米龙	Fluoromethalone	426-13-1	C ₂₂ H ₂₉ F ₀₄	376.205	14.03
	112	氟氢可的松醋酸酯	Fludrocortisone acetate	514-36-3	C ₂₃ H ₃₁ F ₀₆	422.2105	13.43
	113	泼尼松醋酸酯	Prednisone acetate	125-10-0	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	400.1886	13.37
	114	可的松醋酸酯	Cortisone?1-acetate	1950/4/4	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	402.2042	13.64
	115	倍他米松醋酸酯	Betamethasone acetate	987-24-6	C ₂₄ H ₃₁ F ₀₆	434.2105	14.99
	116	布地奈德	Budesonide	51333-22-3	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	430.2355	17.13
	117	氢化可的松丁酸酯	Hydrocortisone 17-butyrate	13609-67-1	C ₂₅ H ₃₆ O ₆	432.2512	16.35
	118	氢化可的松戊酸酯	Hydrocortisone 17-valerate	57524-89-7	C ₂₆ H ₃₈ O ₆	446.2676	17.96
	119	莫米他送萘酸酯	Mometasone furoate	83919-23-7	C ₂₇ H ₃₀ Cl ₂ O ₆	520.1419	18.09
	120	倍氯米松双丙酸酯	Beclomethasone dipropionate (Beclomethasone dipropionate)	9/8/5534	C ₂₈ H ₃₇ Cl ₀₇	520.2228	20.25
	121	氟米龙醋酸酯	Fluorometholone 17-acetate	6/7/3801	C ₂₄ H ₃₁ F ₀₅	418.2156	15.41
	122	安西奈德	Amcinonide	51022-69-6	C ₂₈ H ₃₅ F ₀₇	502.2367	19.19
	123	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone butyrate	25122-57-0	C ₂₆ H ₃₂ ClF ₀₅	478.1922	19.27
	124	地塞米松醋酸酯	Dexamethasone 21-acetate	1177-87-3	C ₂₄ H ₃₁ F ₀₆	434.2105	13.5
	125	倍他米松	Betamethasone	378-44-9	C ₂₂ H ₂₉ F ₀₅	392.1999	13.03
	126	哈西奈德	Halcinonide	3093-35-4	C ₂₄ H ₃₂ ClF ₀₅	454.1922	18.32
	127	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	374.2093	13.37

表5 编号128-157保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS 号	分子式	精确质量	保留时间
激素类	128	阿氯米松双丙酸酯	Alclometasone-Dipropionate	66734-13-2	C28H37ClO7	520.2228	17.91
	129	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	80474-14-2	C25H31F3O5S	500.1844	18.11
	130	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone 17,21-dipropionate	5593-20-4	C28H37FO7	504.2523	19.53
	131	氢化可的松	Hydrocortisone (Cortisol)	50-23-7	C21H30O5	362.2093	11.37
	132	可的松	Cortisone	1953/6/5	C21H28O5	360.1937	11.32
	133	氟米松	Flumetasone (Flumetasone)	2135-17-3	C22H28F2O5	410.1905	12.5
	134	倍氯米松	Beclometasone (Beclomethasone)	4419-39-0	C22H29ClO5	408.1704	13.47
	135	地夫可特	Deflazacort	14484-47-0	C25H31NO6	441.2151	15.07
	136	泼尼松龙	Prednisolone	50-24-8	C21H28O5	360.1937	10.49
	137	氟氢缩松	Flurandrenolide	1524-88-5	C24H33FO6	436.2261	14.35
	壮阳类	138	西地那非	Sildenafil	139755-83-2	C22H30N6O4S	474.2049
139		他达拉非	Tadalafil	171596-29-5	C22H19N3O4	389.1376	12.74
140		脱氢伐地那非	Imidazosagatriazinone	139756-21-1	C17H20N4O2	312.1586	18.94
141		伐地那非	Gildenafil	147676-66-2	C19H22N4O3	354.1692	16.11
142		那非乙酰胺	Acetil Acid	147676-78-6	C18H20N4O4	356.1485	14.92
143		苯酰胺那非	Xanthoanthrafil	1020251-53-9	C19H23N3O6	389.1587	11.42
144		氨基他达拉非	Amino tadalafil	385769-84-6	C21H18N4O4	390.1328	11.21
145		他达拉非甲基氯化物	Chloropretadalafil	171489-59-1	C22H19ClN2O5	426.0982	14.86
146		苯噻啉红地那非	Piperiacetildenafil	147676-50-4	C24H31N5O3	437.2427	9.15
147		那红地那非	Nor-acetildenafil	949091-38-7	C24H32N6O3	452.2536	8.85
148		卡巴地那非	Carbodenafil	944241-52-5	C24H32N6O3	452.2536	8.07
149		伪伐地那非	Pseudovardenafil	224788-34-5	C22H29N5O4S	459.194	17.66
150		那莫西地那非	Norneosildenafil	371959-09-0	C22H29N5O4S	459.194	18.65
151		N-去乙基伐地那非	N-Desethyl Vardenafil	448184-46-1	C21H28N6O4S	460.1893	9.31
152		N-去甲基西地那非	N-Desmethyl Sildenafil	139755-82-1	C21H28N6O4S	460.1893	9.55
153		红地那非	Acetildenafil	831217-01-7	C25H34N6O3	466.2692	9.03
154		羟基红地那非	Hydroxyacetildenafil	147676-56-0	C25H34N6O4	482.2642	8.79
155	阿伐那非	Avanafil	330784-47-9	C23H26ClN7O3	483.1786	9.01	
156	艾地那非	Aildenafil	496835-35-9	C23H32N6O4S	488.2206	10.01	
157	奈莫西地那非	Homosildenafil	642928-07-2	C23H32N6O4S	488.2206	9.59	

表6 编号158-182保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
壮阳类	158	伐地那非	Vardenafil	224789-15-5	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	488.2206	9.37
	159	硫代西地那非	Thiosildenafil	479073-79-5	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₃ S ₂	490.1821	14.21
	160	硫代奈莫西地那非	Thiohomosildenafil	479073-80-8	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	504.1977	14.25
	161	羟基伐地那非	Hydroxy Vardenafil	224785-98-2	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S	504.2155	9.35
	162	羟基奈莫西地那非	Hydroxyhomosildenafil/Lodenafil	139755-85-4	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S	504.2155	9.54
	163	乌地那非	Udenafil	268203-93-6	C ₂₅ H ₃₆ N ₆ O ₄ S	516.2519	10.58
	164	羟基硫代奈莫西地那非	Hydroxythiohomosildenafil	479073-82-0	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂	520.1926	14.24
	165	那莫伐地那非	Norneovardenafil	358390-39-3	C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₄	356.1485	14.27
	166	硝地那非	Nitrodenafil	147676-99-1	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₄	357.1437	17.85
	167	去甲基他达拉非	Nortadalafil	171596-36-4	C ₂₁ H ₁₇ N ₃ O ₄	375.1219	11.66
	168	氯地那非	Chlorodenafil	1058653-74-9	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	388.1302	16.93
	169	羟基氯地那非	Hydroxychlorodenafil	1391054-00-4	C ₁₉ H ₂₃ ClN ₄ O ₃	390.1459	16.41
	170	N-丁基他达拉非	N-Butyl Nortadalafil	171596-31-9	C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₄	431.1845	17.04
	171	去甲基卡巴地那非	DesmethylCarbodenafil/Desmethyl Fondenafil	147676-79-7	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃	438.2379	7.95
	172	去碳西地那非	Descarbonsildenafil	1393816-99-3	C ₂₁ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	462.2049	8.89
	173	二甲基红地那非	Dimethyl Acetildenafil	1290041-88-1	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	466.2692	9.91
	174	二硫代去甲基卡巴地那非	Dithio-Desmethyl Carbodenafil	1333233-46-7	C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₂ S ₂	470.1923	14.86
	175	酮红地那非	Oxohongdenafil	1446144-70-2	C ₂₅ H ₃₂ N ₆ O ₄	480.2485	13.87
	176	N-辛基去甲他达拉非	N-Octyl-Nortadalafil	1173706-35-8	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₄	487.2471	22.15
	177	双酮红地那非	Dioxohongdenafil	1609405-33-5	C ₂₅ H ₃₀ N ₆ O ₅	494.2278	12.56
178	羟基硫代伐地那非	Hydroxythiovardenafil	912576-30-8	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂	520.1926	12.94	
179	环戊那非	Cyclopentynafil	1173706-34-7	C ₂₆ H ₃₆ N ₆ O ₄ S	528.2519	10.37	
180	丙氧苯基硫代羟基奈莫西地那非	Propoxyphenyl-Thiohydroxyhomosildenafil	479073-90-0	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₄ S ₂	534.2083	15.61	
181	苄西地那非	Benzyl Sildenafil	1446089-82-2	C ₂₈ H ₃₄ N ₆ O ₄ S	550.2362	13.74	
182	桂地那非	Cinnamylidenafil	1446089-83-3	C ₃₂ H ₃₈ N ₆ O ₃	554.3005	13.21	

表7 编号183-204保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
壮阳类	183	罗地那非碳酸酯	Lodenafile Carbonate	398507-55-6	C47H62N12O11S2	1034.4102	18.99
	184	丙氧苯基西地那非	Propoxyphenyl Sildenafil	877777-10-1	C23H32N6O4S	488.2206	10.86
	185	脱哌嗪基磺代西地那非	Depiperazinethiosildenafil	1353018-10-6	C17H20N4O4S2	408.0926	14.16
	186	乙酰胺基他达拉非	Acetaminotadalafil	1446144-71-3	C23H20N4O5	432.1434	11.27
	187	2-羟丙基去甲他达拉非	2-Hydroxypropyl nortadalafil	1353020-85-5	C24H23N3O5	433.1638	12.72
	188	乙酰伐地那非	Acetylwardenafil	1261351-28-3	C25H34N6O3	466.2692	8.49
	189	丙氧苯基羟基奈莫西地那非	Propoxyphenyl homohydroxysildenafil	139755-87-6	C24H34N6O5S	518.2311	10.88
	190	丙氧苯基磺代艾地那非	Propoxyphenyl thioisildenafil	856190-49-3	C24H34N6O3S2	518.2134	15.83
	191	育亨宾	Yohimbine	146-48-5	C21H26N2O3	354.1943	6.31
	192	达白西汀	Dapoxetine	119356-77-3	C21H23NO	305.178	11.11
	193	N-去乙基红地那非	N-Desethyl Acetildenafil	147676-55-9	C23H30N6O3	438.2379	8.91
	194	去甲基磺代西地那非	Desmethyl Thiosildenafil	479073-86-4	C21H28N6O3S2	476.1664	14.12
	195	N-叔丁氧羰基-N-去乙基红地那非	N-Boc-N-desethyl Acetildenafil	1246820-46-1	C28H38N6O5	538.2904	14.55
	196	N-乙基他达拉非	N-Ethyl Tadalafil	1609405-34-6	C23H21N3O4	403.1532	13.88
	197	O-去乙基西地那非	O-Desethyl Sildenafil	139755-91-2	C20H26N6O4S	446.1736	10.93
	198	吡唑 N-去甲基西地那非	Pyrazole N-Desmethyl Sildenafil	139755-95-6	C21H28N6O4S	460.1893	7.55
	199	异丁基西地那非	Isobutyl Sildenafil	1391053-95-4	C23H32N6O4S	488.2206	10.85
	200	西地那非二聚体杂质	Sildenafil Dimer Impurity	1346602-67-2	C38H46N10O8S2	834.2941	19.65
	201	伐地那非哌嗪酮	Vardenafil Oxopiperazine	448184-58-5	C21H26N6O5S	474.1685	12.31
	202	西地那非 N-氧化物	Sildenafil N-Oxide	1094598-75-0	C22H30N6O5S	490.1998	10.12
	203	伐地那非 N-氧化物	Vardenafil N-Oxide	448184-48-3	C23H32N6O5S	504.2155	9.85
	204	2-羟乙基去甲他达拉非	2-Hydroxyethyl Nortadalafil	385769-94-8	C23H21N3O5	419.1481	11.74

表8 编号205-221保健品种的分子式、保留时间(t)、定量离子和定性离子

类别	编号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确质量	保留时间
阳类	205	伐地那非乙酰基类似物	Vardenafil Acetyl Analogue	1261351-28-3	C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₃	437.2427	8.34
	206	伐地那非二聚体	Vardenafil Dimer	1255919-03-9	C ₃₈ H ₄₆ N ₁₀ O ₈ S ₂	834.2942	19.64
	207	米罗那非	Mirodenafil	862189-95-5	C ₂₆ H ₃₇ N ₅ O ₅ S	531.2515	12.99
	208	亚硝地那非	Mutaprodenafil	1387577-30-1	C ₂₇ H ₃₅ N ₉ O ₅ S ₂	629.2203	11.91
	209	噻唑那非	Thioquinapiperifil	220060-39-9	C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₅	448.2045	10.42
	210	氨基西地那非	Amino Sildenafil	319491-68-4	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₄ S	405.1471	13.18
	211	去乙基卡巴地那非	Desethyl Carbodenafil	1027192-92-2	C ₂₂ H ₂₈ N ₆ O ₃	424.2223	7.98
	212	双去碳西地那非	Descarbon Sildenafil	466684-88-8	C ₂₀ H ₂₈ N ₆ O ₄ S	448.1893	8.83
	213	N-苯丙烯基他达拉非	N-phenylpropenyl Tadalafil	2064212-00-4	C ₃₀ H ₂₄ N ₄ O ₄	504.1798	19.08
	214	N-去乙基-N-甲基伐地那非	N-Desethyl-N-Methyl Vardenafil	224785-87-9	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	474.2049	9.32
	215	硫代艾地那非	Thioildenafil	856190-47-1	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	504.1977	14.61
	216	双氯地那非	Dichlorodenafil	1446089-84-4	C ₁₉ H ₂₀ Cl ₂ N ₄ O ₂	406.0963	22.81
	217	哌嗪那非	Piperazonifil	1335201-04-1	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₄	482.2642	10.52
	218	丙氧苯基硫代西地那非	Propoxyphenyl Thiosildenafil	479073-87-5	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂	504.1977	15.55
	219	丙氧苯基硫代奈莫西地那非	Propoxyphenyl Thiohomo Sildenafil	479073-88-6	C ₂₄ H ₃₄ N ₆ O ₃ S ₂	518.2134	15.59
	220	二硫代去乙基卡巴地那非	Dithio-Desethyl Carbodenafil	1610830-81-3	C ₂₂ H ₂₈ N ₆ O ₂ S ₂	456.1766	14.47
	221	羟基硫代红地那非	Hydroxythio Acetildenafil	1159977-47-5	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃ S	498.2413	13.49

产品检测前需要对产品进行前处理,前处理方法为:

待测样为片剂、颗粒剂、胶囊内容物,取样品研细后准确称取混合均匀的试样1g(精确至0.01 g)于50 mL 棕色容量瓶中,加入20 mL 甲醇,超声10 min,冷却至室温,甲醇定容至刻度,过0.22 μ m有机系滤膜供仪器测定。

[0011] 待测样为液体,准确称取一次口服剂量样品于50 mL 棕色容量瓶中,加入20 mL 甲醇,超声10 min,冷却至室温,甲醇定容至刻度,过0.22 μ m有机系滤膜供仪器测定。

[0012] 待测样为胶囊,如需测量胶囊壳非法添加物的含量,将样品胶囊壳混合研细,加三氯甲烷20ml,超声处理10min,过滤后取滤渣,挥干三氯甲烷,用5ml甲醇复溶,过0.22 μ m有机系滤膜供仪器测定。

[0013] 保健食品样品剂型较为复杂,片剂、胶囊、粉末、口服液等。在检测之前需要经过样品前处理过程,使用甲醇直接超声提取获得了较好的提取效率和重复性。

[0014] 本发明的有益效果是:运用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法建立保健食品中221种非法添加化学成分的检测方法,并建立相应非法添加化学物质的高分辨质谱数据库。对比高分辨质谱数据库中相应的特征碎片离子,能够对保健食品监督抽检和风险监测的221种非法添加化学物质进行定性和定量风险筛查和测定。能够更有针对性,更

快速有效地对保健品非法添加进行准确的分析检测,使得成分检测分析更快速。过程简单,检测精度高,检测灵敏。

附图说明

- [0015] 图1目标化合物总离子流色谱图;
 图2目标化合物标准谱库中在三种碰撞能量下的二级碎片质谱图;
 图3设置二级质谱的一级质荷比(m/z)、保留时间的偏差范围参数图;
 图4设置二级质谱的母离子加合形式参数图;
 图5 PCDL数据库检索结果汇总图;
 图6一级质谱精确质量得分判别图;
 图7二级子离子与标准谱库的匹配得分判别图;
 图8 保留时间判别图。

具体实施方式

[0016] 实施例1

一种超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱法检测一宣称有减肥功效保健品221种非法添加成分检测方法,包括如下步骤:

(1) 标物配置 分别称取 221种对照品 10.0 mg,用甲醇定容至 10 mL,配制成单标贮备液;以甲醇为溶剂,将221种单标贮备液稀释为100倍,即得10 μg /mL 的混合标准工作溶液;

(2) 建立色谱分离条件、质谱条件: 仪器名称:Agilent 1290 InfinityIILC-6545Q-TOF/MS液相色谱-质谱联用仪,配有双喷射电喷雾电离源;(双喷射电喷雾电离源为美国Agilent公司)

色谱分离条件: 流动相: A 相为体积分数 0.1% 甲酸水溶液+2mmol甲酸铵,B 甲醇; 流速0.4 mL /min; 色谱柱: Zorbax Eclipse Plus RRHD C₁₈(3.0 x 150 mm1.8 μm) ; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 洗脱方式为梯度洗脱;

Time	A%	B%
0.0	90	10
5.0	50	50
10.0	40	60
25.0	2	98
29.0	2	98
29.1	90	10
33.0	90	10

进样体积 1 μL ;

质谱条件:

MS Source Conditions	
扫描方式	+/- (Positive/Negative)
干燥器温度	250 ° C
干燥器流速	7 L/min
喷雾器压力	30 psi
鞘气温度	325 ° C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	+3500 V/-3000V
喷嘴电压	+0 V/-500V
电喷雾电压	130 V
质荷比范围	50-1200 m/z

(3) 确认了 221种非法添加化合物的一级质谱、一级精确质荷比、同位素丰度比、保留时间和质量数误差；

(4) 建立高分辨质谱数据库

在色谱分离条件下对221种非法添加化合物标准溶液进行分析,获得 221种化合物的保留时间、精确分子质量以及离子化方式,采集不同碰撞能量(10、20 和 40 V 下的目标化合物的二级质谱图,利用Masshunter定性软件提取每个化合物3个碰撞能量下的二级质谱图,同时利用分子式生成功能计算出子离子碎片的理论分子式,在导入PCDL数据库中选择导入计算的理论值,从而建立高分辨质谱数据库,用于待检样品的数据库匹配确证。

[0017] (5) 待测物处理检测

某市售片剂减肥类保健品,样品收集后,按下述步骤进行分析和鉴定:

步骤1:准确称取待测样品1g,置于50ml具塞试管中,准确加入甲醇溶液20ml,密塞,超声提取10min,定容至50ml,过0.22 μ m有机系滤膜供仪器测定。

[0018] 步骤2:处理好的样品经Agilent 1290 Infinity IILC-6545Q-TOF/MS液相色谱质谱联用仪系统按建立的筛查方法进行数据采集,实际样品测试总离子流色谱图见图1,由图1可知目标物的保留时间11.49min,一级精确质荷比(m/z) 280.1828,正离子模式,分子离子峰为[M+H]⁺峰。

[0019] 步骤3:利用建立的保健品中非法添加数据库对样品采集得到的数据保留时间和一级精确质荷比对比一级谱库进行检索匹配,其中一级质荷比测定值与理论值偏差为0.48ppm(\leq 5ppm),匹配得分98.57分,保留时间匹配率达到96.6分,满足定性要求。

[0020] 步骤4:用Masshunter定性软件提取实际样品中西布曲明在10V、20V和 40V三种碰撞能量下的二级谱图(见图2),同时利用建立的标准谱库中的标准二级谱与实测样本中的目标物进行匹配确证。

[0021] 步骤5:设置一级质荷比(m/z)、保留时间的偏差范围,母离子加合形式(如图3、图4)三个参数开展二级谱库对目标化合物的确认工作。

[0022] 步骤6:利用设置参数设置完毕后,通过二级谱库检索匹配得到的目标化合物西布曲明分子式,总离子流图,精确一级质荷比,精确二级离子谱图等数据进行,最终结果汇总图5:

非法添加物确证的条件:一级质谱精确质量得分大于90分;二级子离子与标准谱库的匹配得分、保留时间与谱库保留时间的一致性得分大于70分,上述条件全部满足的情况下可以判定样品中含有该非法添加物质。以该样品为例,鉴定样品中西布曲明确证一级质谱精确质量得分判别图(见图6)得分98.57;二级质谱判别图(见图7)99.3;保留时间判别图(见图8)得分96.6。由结果可知全部满足确证条件,可以判定样品中含有西布曲明非法添加物质。

[0023] 因此本发明的方法基于超高效液相色谱-四级杆-飞行时间高分辨质谱方法建立了221种保健品中非法添加化合物的二级质谱库,包含了化合物名称、CAS 号、一级精确质荷比、二级质谱图等信息,可用于未知样品二级质谱图自动检索评分。对比高分辨质谱数据库中相应的特征碎片离子,通过较好的匹配度确证目标化合物。该方法前处理简便、灵敏度高、扩展性强,通量高,能够对保健食品监督抽检和风险监测中非法添加化学物质进行快速风险筛查和测定。

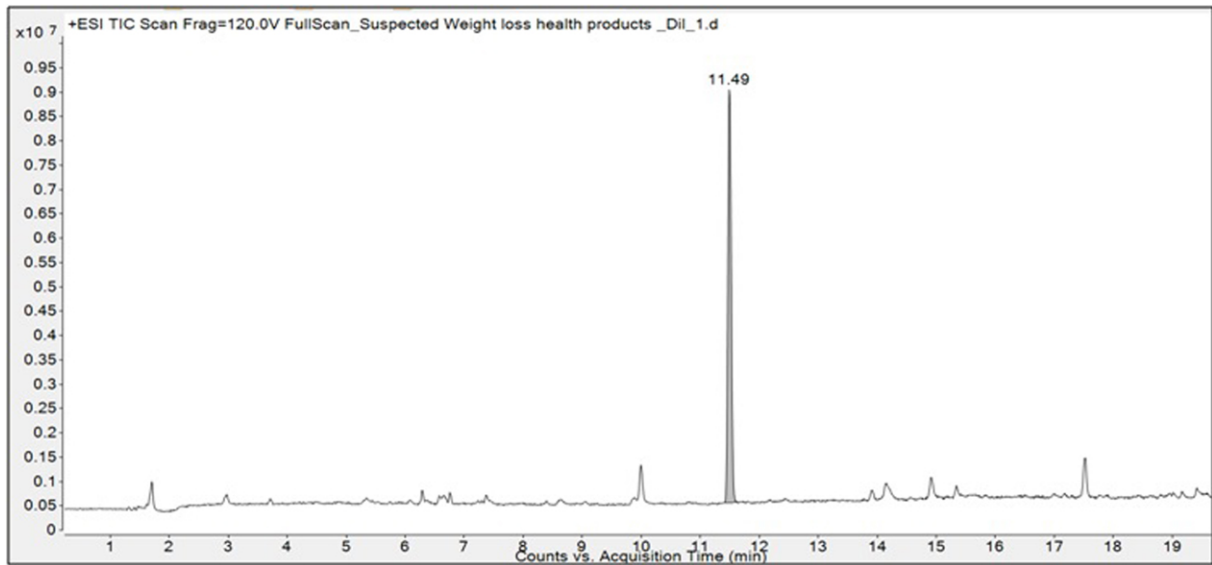


图1

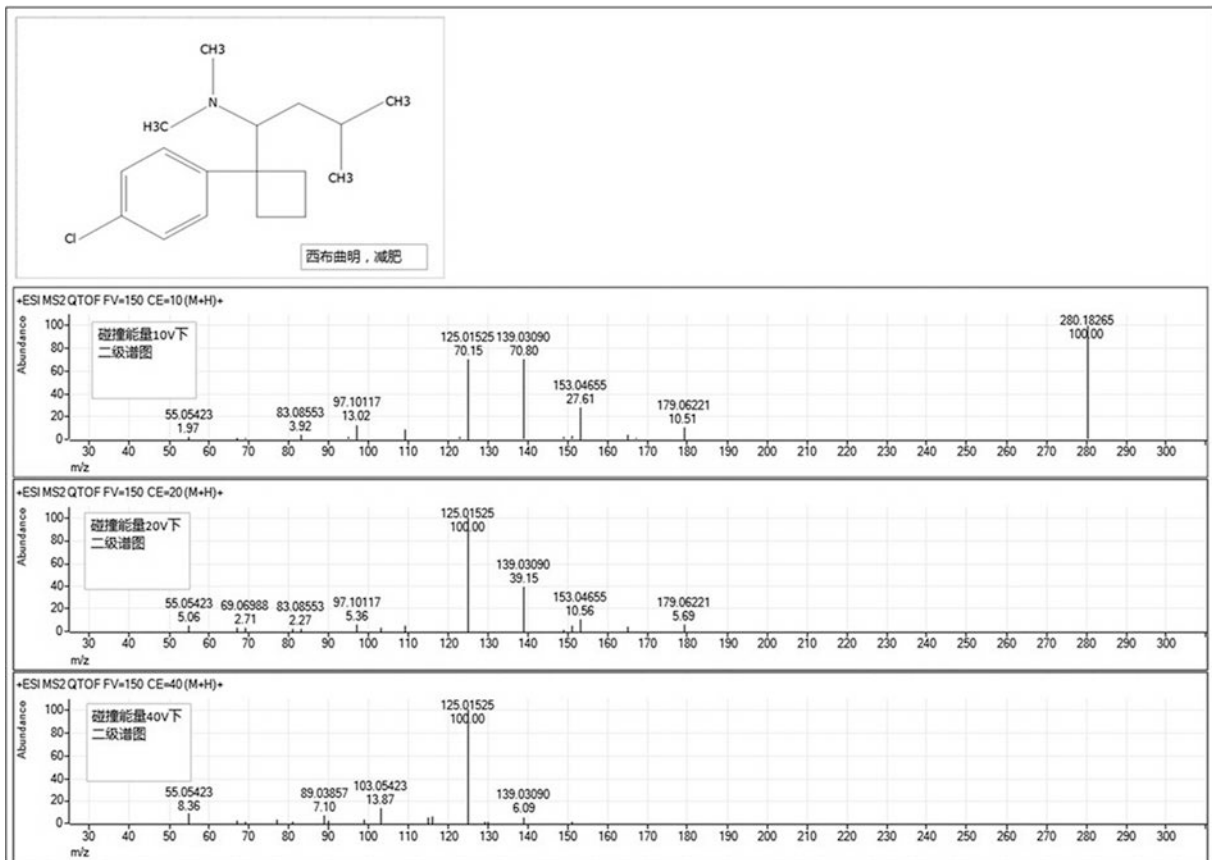


图2

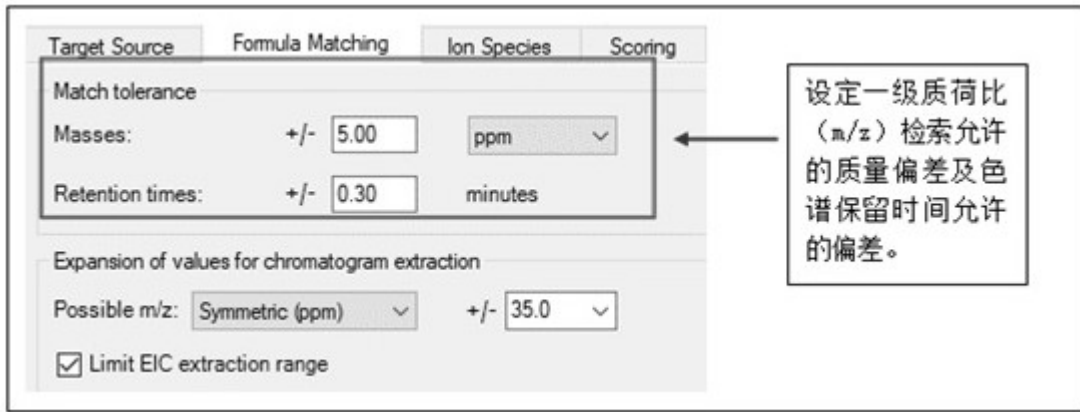


图3



图4

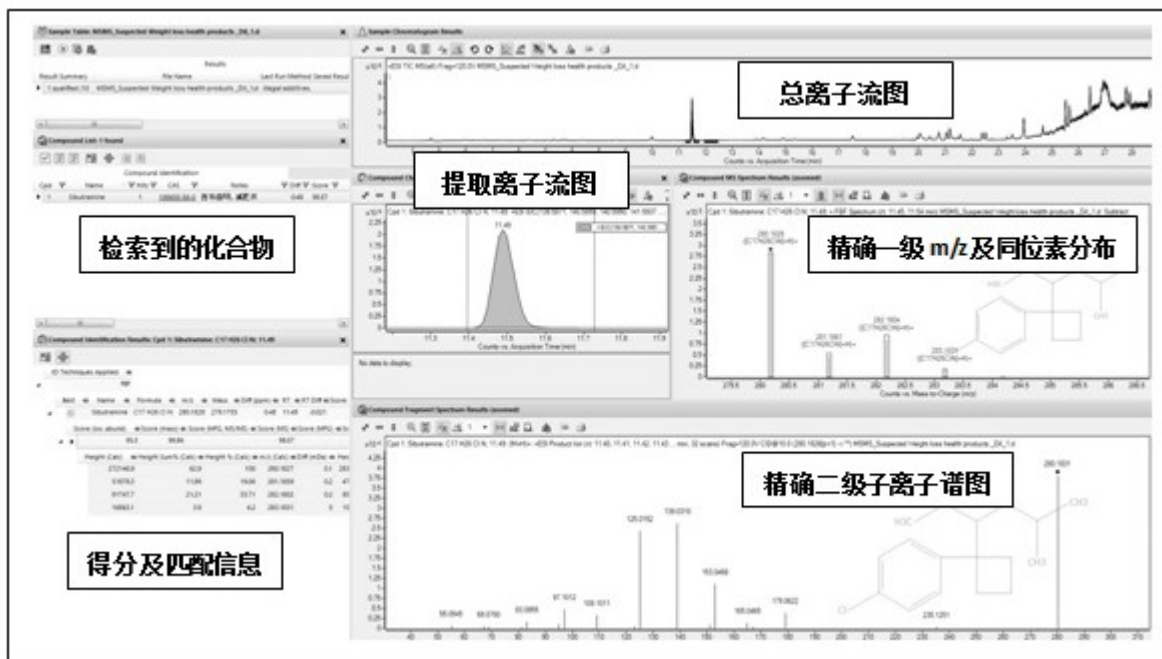


图5

Name	Formula	m/z	Mass	Score	Diff (ppm)
Sibutramine	C ₁₇ H ₂₆ ClN	280.1828	279.1755	98.57	0.48

检索鉴定 化合物名称	分子式	[M+H] ⁺ 精确母离子	精确 分子量	一级母离子 (m/z)得分	一级母离子 质量偏差
---------------	-----	-----------------------------	-----------	------------------	---------------

图6

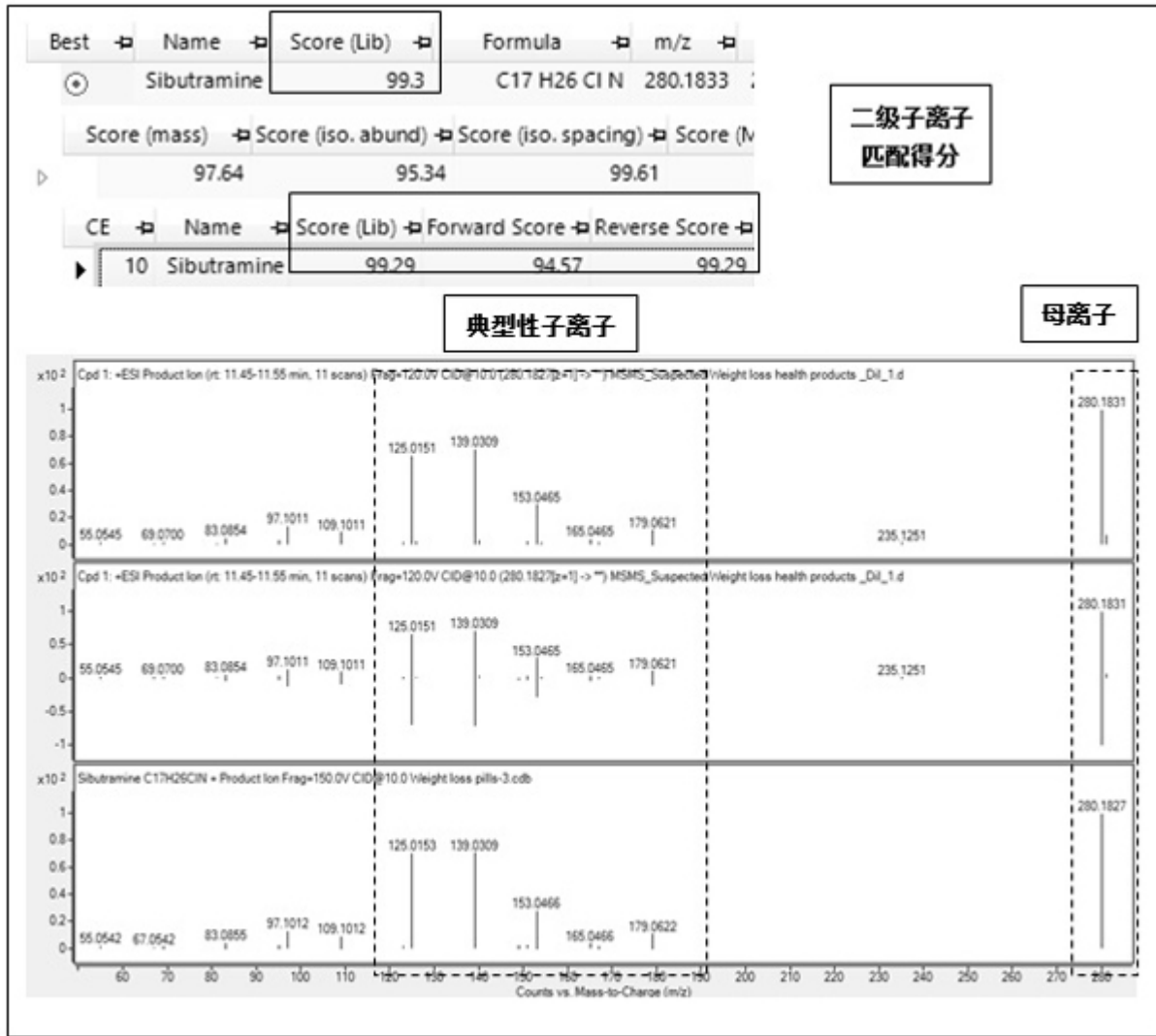


图7

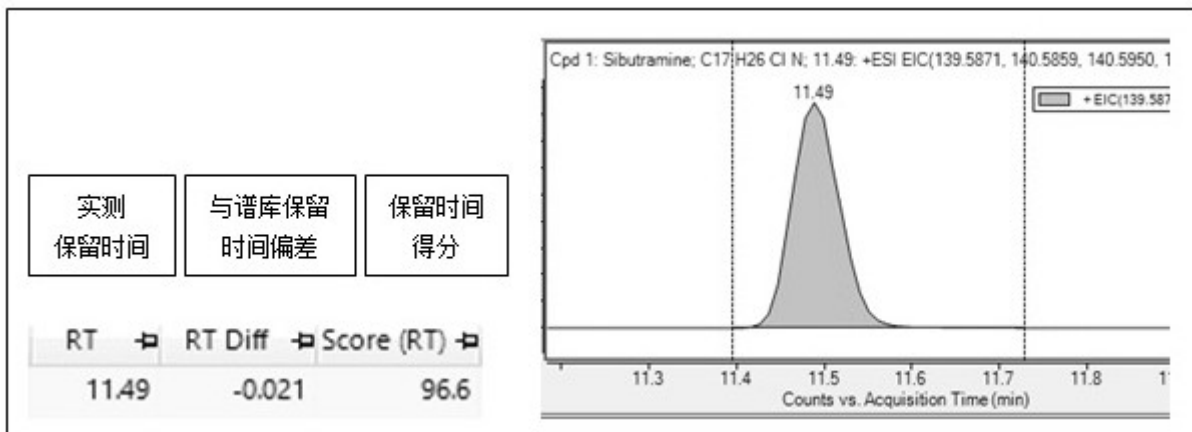


图8