

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240812004

引用格式: 陈扬, 姚晓庆, 何敏恒, 等. 磁性分散固相微萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定糖果中25种非法添加剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 16-23.

CHEN Y, YAO XQ, HE MH, *et al.* Determination of 25 kinds of illegal additives in candy by dispersive solid phase microextraction extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 16-23. (in Chinese with English abstract).

磁性分散固相微萃取-超高效液相色谱-串联质谱 法测定糖果中25种非法添加剂

陈扬^{1,2}, 姚晓庆^{1,2}, 何敏恒^{1,2}, 林晓佳^{1,2}, 陈惠林^{1,2}, 黄嘉乐^{1,2*}

[1. 广州检验检测认证集团有限公司, 广州 511447; 2. 国家加工食品质量检验中心(广东), 广州 511447]

摘要: **目的** 建立磁性分散固相微萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定糖果中25种非法添加剂。**方法** 样品采用50%甲醇水提取, 经磁性分散固相微萃取净化后由ACQUITY UPLC TSS T3色谱柱分离, 以甲酸铵水溶液-酸铵乙腈为流动相进行梯度洗脱, 经超高效液相色谱-串联质谱法测定, 外标法定量。**结果** 25种非法添加剂在2.00~50.00 μg/L范围内线性关系良好, 相关系数(r^2)>0.99, 回收率65.1%~99.3%, 相对标准偏差为1.1%~5.0%, 检出限0.05 mg/kg, 定量限0.10 mg/kg。应用该方法对105批次样品进行检测, 其中有1批次压片糖果中检出新利司他, 2批次糖果中检出双丙酮丁。**结论** 该方法采用磁性分散固相微萃取净化, 超高效液相色谱-串联质谱法检测, 准确性好, 灵敏度高, 能够满足糖果中25种非法添加剂的检测需求。

关键词: 磁性分散固相微萃取; 临床/违禁药物; 超高效液相色谱-串联质谱法; 非法添加剂

Determination of 25 kinds of illegal additives in candy by dispersive solid phase microextraction extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

CHEN Yang^{1,2}, YAO Xiao-Qin^{1,2}, HE Min-Heng^{1,2}, LIN Xiao-Jia^{1,2},
CHEN Hui-Lin^{1,2}, HUANG Jia-Le^{1,2*}

[1. Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511447, China;
2. National Quality Testing Center for Processed Food (Guangdong), Guangzhou 511447, China]

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 25 kinds of illegal additives in candy by dispersive solid phase microextraction extraction coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with 50% methanol water, purified by dispersive solid phase microextraction extraction and separated by ACQUITY UPLC TSS T3 column. The samples were then eluted with ammonium formate aqueous solution and ammonium acetonitrile as mobile phase by gradient elution. The

收稿日期: 2024-08-12

基金项目: 广东省市场监督管理局科技项目(2023CS03)

第一作者: 陈扬(1995—), 男, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品及食品相关产品分析技术。E-mail: 18826077109@163.com

*通信作者: 黄嘉乐(1988—), 男, 工程师, 主要研究方向为食品及食品相关产品分析技术。E-mail: jingdaping@gmail.com

samples were determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and quantified by external standard method. **Results** The results showed that the 25 kinds of illegal additives had good linearity in the range of 2.00 to 50.00 $\mu\text{g/L}$ with a correlation coefficient (r^2) greater than 0.99, recoveries were between 65.1% and 99.3%, relative standard deviations were 1.1% to 5.0%, and limit of detection was 0.05 mg/kg and limit of quantification was 0.10 mg/kg. The method was applied to the detection of 105 batches of samples, in which one batch of compressed candy was found to contain xinlisisita, and two batches of candy were found to contain dipropylphenidate. **Conclusion** The method is purified by dispersive solid phase microextraction extraction and detected by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The method has good accuracy and high sensitivity, and can meet the detection requirements of 25 kinds of illegal additives in candy.

KEY WORDS: dispersive solid phase microextraction extraction; clinical/illicit drugs; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; illegal additives

0 引言

食品安全问题始终是公众关注的热点。近几年来,一些声称具有减肥、抗风湿、抗病毒效果的食物中被发现含有非法添加的药物成分^[1-3]。2022年,多个凉茶、保健品和代用茶品牌宣称具有抗风湿功效的产品被检出含有布洛芬或氯苯那敏^[4-5];2023年,某知名品牌的酵素果冻声称具有减肥效果,实际上却非法添加了芦荟大黄素作为缓泻剂,该产品以决明子、芦荟等药食同源配料为幌子,掩盖其非法添加行为^[6];同年,国家市场监督管理总局对一批声称具有减肥功效的食品进行了查办,多个压片糖果中检出非法添加了新型非法添加药物双丙酚丁^[7]。根据我国《食品安全法》第三十八条的规定,食品生产经营中严禁添加药品,但允许添加那些既是食品又是中药材的物质。然而,一些生产商为了夸大产品效果,在声称具有减肥、抗病毒、抗风湿功效的食品中非法添加了临床或违禁药物,这给消费者的健康安全带来了严重威胁^[5]。

基于上述现象,本研究选择了较高风险的 25 种非法添加物建立检测方法,包括:马兜铃酸类化合物,已被欧盟列为消费品中禁用品,可能在声称具有有抗风湿、解毒消肿功效的食品中被检出^[6-8];喜树碱、紫杉醇等 12 种天然产物,可能在具有抗病毒、抗肿瘤、提高免疫力功效的食品中检出^[9-16];新利司他^[17-19]、双丙酚丁^[20-23],以及比沙可啶等其他 7 种临床缓泻药物^[24-29],可能在宣称有减肥功效的食品中被检出。此外,糖果在目前的食品监管中,常作为非法添加行为的载体,而其中添加的色素会较明显影响定量结果^[6,30],因此亟需针对糖果基质中的杂质进行净化。现有的研究对于这些化合物的检测方法以液相色谱法为主,也有部分液相色谱-串联质谱方法的报道,但仅包含其中的一种或几种化合物,且多数主要集中于中药原料、中成药、代用茶以及保健品等基质中的常量检测^[8-9,12,16],并不适用于糖果中非法添加的微量检测。鉴于此,本研究利用磁性分散固相微萃取法净化糖果中的色素等杂质,开发一种

测定糖果中 25 种非法添加物的超高效液相色谱-串联质谱法,以提高食品安全监管效率,为相关监测提供方法参考。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 材料和试剂

马兜铃酸 A(纯度 $\geq 99.0\%$)、马兜铃酸 B(纯度 $\geq 99.0\%$)、马兜铃酸 C(纯度 $\geq 95.0\%$)、马兜铃酸 D(纯度 $\geq 97.0\%$)、硫唑嘌呤(纯度 $\geq 99.0\%$)、依沙吖啶(纯度 $\geq 95.0\%$)、雷莫司琼(纯度 $\geq 99.0\%$)、酚酞(纯度 $\geq 95.0\%$)、双醋酚丁(纯度 $\geq 97.0\%$)、芦荟大黄素(纯度 $\geq 99.0\%$)、大黄酚(纯度 $\geq 95.0\%$)、拉克替醇(纯度 $\geq 97.0\%$)(美国 Sigma-Aldrich 公司);喜树碱(纯度 $\geq 95.0\%$)、紫杉醇(纯度 $\geq 99.7\%$)、恩曲他滨(纯度 $\geq 95.0\%$)、更昔洛韦(纯度 $\geq 97.0\%$)、来曲唑(纯度 $\geq 95.0\%$)、吡嗪酮(纯度 $\geq 99.7\%$)、新利司他(纯度 $\geq 99.0\%$)、比沙可啶(纯度 $\geq 95.0\%$)、双丙酚丁(纯度 $\geq 99.0\%$)、西沙比利(纯度 $\geq 95.0\%$)、大黄素(纯度 $\geq 99.7\%$)、大黄酸(纯度 $\geq 99.0\%$)、大黄素甲醚(纯度 $\geq 95.0\%$)(天津 First Standrad 公司);氧化石墨烯(德国 Sigma 公司);七水合物硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 纯度 99%)、六水合氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 纯度 99%)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司];氨水溶液(NH_4OH , 纯度 25%, 德国默克公司);乙醇、甲酸(分析纯, 广试化学试剂有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯, 赛默飞化学试剂有限公司)。

1.1.2 主要仪器设备

MS3 basic 漩涡混合器(德国艾卡公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Merck 密理博公司); KQ-250DV 数控超声波清洗仪(昆山市舒美牌超声仪器有限公司); Sciex Qtrap 5500 高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Sciex 公司); SU8010 日立扫描电子显微镜(株式会社日立制作所); ME2002E 分析电子天平(精度 0.01 g, 瑞士梅特勒-托利多集团有限公司); ACQUITY UPLC TSS T3 色谱柱(2.1 mm \times 10 mm, 1.8 μm , 美国 Waters 公司)。

1.1.3 样品来源

本研究所采用的样品均采购自广州市超市。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液

使用天平分别准确称取 25 种非法添加物标准品约 10.0 mg, 用 50% 甲醇水(V:V,下同)溶液溶解并且定容到 25.00 mL 的容量瓶中, 配制标准混合储备液, 质量浓度为 400 mg/L。再使用移液器分别移取适量储备液, 用 50% 甲醇水作为溶液配制成 10.0 mg/L 的混合溶液, 根据实际样品浓度稀释配制成标准工作液。

1.2.2 样品前处理

准确称取样品 2 g(精确至 0.01 g)至 50.0 mL 离心管中, 加入 50.0 mL 50% 甲醇水溶液后混匀, 480 W 功率下超声提取 20 min, 以 4000 r/min 的速率离心 2 min, 上层液即为样品萃取液。

1.2.3 净化材料的制备

磁性氧化石墨烯制备过程如下, 该研究使用化学共沉淀对氧化石墨烯^[31-32]。首先将 200 mg 氧化石墨烯精确称量后加入 50 mL 的超纯水中, 在室温下超声分散 1 h 以使羧基团转化为羧酸阴离子。然后, 将 0.04 mol 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (3.64 g) 和 0.02 mol 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.80 g) 溶于 25 mL 水中。利用室温下的氮气流和(40 mL/min)剧烈搅拌将铁离子溶液滴加至氧化石墨烯溶液中, 并超声分散 30~40 min。之后, 在 80 °C 水浴振荡下分滴缓慢滴加 5 mL 25% (V:V) 氨水溶液。继续 80 °C 下水浴振荡 2 h, 得到的黑色沉淀物经过去离子水和乙醇交替洗涤 3 次, 最后在真空干燥箱中干燥 12 h, 得到磁性氧化石墨烯^[33-34]。

1.2.4 样品的净化

以磁性氧化石墨烯粉末为制备原料, 准确称取 80.0 mg 至比色管, 加入 5.00 mL 超纯水后超声 3.0 min 分散从而形成均匀悬浮液。取 0.500 mL 磁性氧化石墨烯悬浮液至样品瓶中(带螺纹盖), 并加入 0.500 mL 样品萃取液(1.2.2)后于室温中在振摇 10 min 分散。利用带磁力的磁铁分离出磁性氧化石墨烯并取出回收, 观察到净化剂基本澄清后。溶液通过聚四氟乙烯膜 0.22 μm 过滤, 供超高效液相色谱-串联质谱仪检测。

1.2.5 液相色谱分离条件

流动相 A: 5.00 mmol/L 甲酸铵水溶液; 流动相 B: 5.00 mmol/L 甲酸铵乙腈; 色谱柱: ACQUITY UPLC TSS T3 色谱柱(2.1 mm \times 10 mm, 1.8 μm); 柱温: 30 °C; 进样体积: 5 μL ; 流速: 0.400 mL/min, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 洗脱程序
Table 1 Gradient procedure

时间/min	A/%	B/%
0.00	95	5
4.00	95	5
14.00	5	95
18.00	5	95
22.00	95	5
25.00	95	5

1.2.6 质谱条件

离子源类型: 电喷雾电离源正/负离子模式; 雾化器压力: 50 psi; 气帘气压力: 45 psi; 辅助气压力: 30 psi; 电喷雾电压: 4500 V; 离子源温度: 500 °C; 25 种非法添加物的母离子、子离子、去簇电压及碰撞能量等参数见表 2。

表 2 25 种非法添加物的质谱参数
Table 2 Mass parameters of 25 kinds of illegal additives compounds

目标物	CAS 号	化学式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
马兜铃酸 A	486-84-0	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	359.1	296.0 [*] , 298.1	65	65, 23
马兜铃酸 B	467-66-7	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	329.0	268.0 [*] , 294.1	85	85, 18
马兜铃酸 C	2447-55-2	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	345.2	282.0 [*] , 310.0	60	60, 23
马兜铃酸 D	20325-40-0	$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	375.0	297.0 [*] , 312.0	65	65, 43
喜树碱	392973	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$	349.1	305.1 [*] , 220.1	60	60, 32
紫杉醇	33967-61-8	$\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$	852.3	525.2 [*] , 121.1	-60	-60, -19
硫唑嘌呤	69-55-8	$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_3\text{S}$	276.1	158.0 [*] , 117.0	-60	-60, -38
恩曲他滨	132944-85-1	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_4$	216.2	160.1 [*] , 142.5	60	60, 16
依沙吖啶	54-85-3	$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$	254.1	226.1 [*] , 197.1	60	60, 35
更昔洛韦	93479-97-1	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$	254.1	150.1 [*] , 133.0	-60	-60, -26
来曲唑	123441-03-0	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_2$	284.1	242.1 [*] , 127.0	-60	-60, -30
吡嗪酮	21399	$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$	313.2	203.1 [*] , 174.2	60	60, 24
雷莫司琼	98489-61-1	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$	280.2	120.3 [*] , 143.7	60	60, 50
新利司他	28376	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{S}$	402.3	180.1 [*] , 178.1	60	60, 40
酚酞	61-68-7	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	319.0	105.0 [*] , 225.0	100	100, 54

表 2(续)

目标物	CAS 号	化学式	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
比沙可啶	105650-23-5	C ₃₅ H ₄₉ NO ₁₃	362.1	184.1*, 226.1	60	60, 38
双醋酚丁	59986-10-6	C ₂₆ H ₃₇ N ₃ O ₄	402.1	224.1*, 266.1	120	120, 25
双丙酚丁	63-92-3	C ₂₀ H ₂₂ O ₄	430.1	224.1*, 196.1	100	100, 30
西沙比利	518-28-5	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	466.2	234.2*, 434.3	60	60, 33
大黄素	481-74-1	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.0	225.0*, 240.9	-60	-60, -38
芦荟大黄素	518-82-1	C ₁₅ H ₈ O ₆	269.0	239.0*, 182.9	-60	-60, -35
大黄酸	471-53-4	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.0	240.9*, 212.9	-60	-60, -19
大黄酚	517-38-4	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	253.0	225.0*, 182.0	-60	-60, -40
大黄素甲醚	76-49-3	C ₆ H ₁₄ O ₆	283.3	240.1*, 183.2	-60	-60, -35
拉克替醇	50-84-0	C ₂₂ H ₃₀ O ₄	311.1	182.9*, 196.8	-60	-60, -60

注: *为定量离子。

1.3 数据处理

实验重复 3 次测定, 结果采用微软公司 Microsoft Excel 2013 软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 前处理优化

2.1.1 提取溶剂优化

由于糖果等食品的基质相对比较复杂, 样品提取过程中, 提取溶剂也是影响提取效果的一个重要因素。结合目前文献报道中 25 种非法添加物常用的提取试剂^[25-29], 该研究考察了 0.1%甲酸水溶液、纯水、50%乙腈水溶液、50%甲醇水溶液、70%甲醇水溶液(以上均为体积分数)和甲醇对 25 种非法添加物提取效果研究, 其 3 次重复实验平均回收率如图 1 所示。

实验结果表明, 25 种非法添加物由于极性大小不同, 对不同的提取溶剂有不同的提取效果, 硫唑嘌呤、恩曲他滨、更昔洛韦在 5 种提取溶剂中在超纯水中回收率都达到 85%以上, 相比之下, 使用 0.1%甲酸水溶液作为提取溶剂时多数化合物的提取效果有小幅上升但均不明显; 而小极性的新利司他在超纯水以及 0.1%甲酸水中则没有很好的萃取效果, 因此, 考虑采用混合溶剂对样品进行提取, 分别使用 50%乙腈水、50%甲醇水、70%甲醇水和甲醇进行试验并计算平均回收率, 结果表明 70%甲醇水和甲醇的平均回收率分别是 78.3%和 75.8%, 与使用 0.1%甲酸水和纯水的回收率 75.0%和 73.5%没有明显区别, 而 50%乙腈水、50%甲醇水作为提取溶剂时提取效果较好, 平均回收率分别为 79.6%和 82.4%, 且使用 50%甲醇水时 25 种非法添加物回收率在 68%~97%之间, 因此综合 25 种非法添加物对 6 种提取

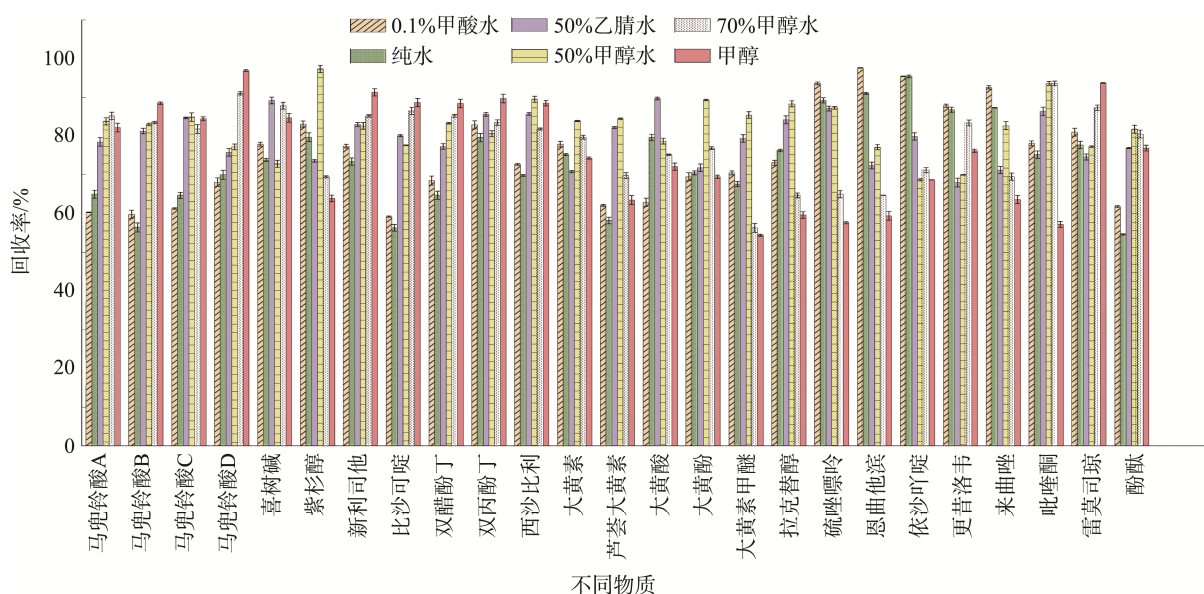


图 1 提取溶剂的提取效果比较

Fig.1 Comparison of extraction effect of extraction solvents

溶剂的提取效果,提取溶剂选择 50%甲醇水效果较好。这可能是因为甲醇作为一种溶剂极性较强的有机化合物^[30],与多种极性溶剂互溶,可以与多种极性化合物之间形成氢键、范德华力等多种分子间相互作用力,因而提高萃取效率,综上所述,本研究最终选择 50%甲醇水为提取溶剂。

2.1.2 提取溶剂比例优化

在样品含量不变的前提条件下,提取溶剂含量越多,提取效果越好。考察样品在 1:10, 1:15, 1:20, 1:40, 1:50 (g:mL, 下同)提取溶剂比例下 25 种非法添加物的 3 次重复试验平均回收率效果。实验结果表明,随着提取溶剂比例逐渐增大,25 种非法添加物的平均加标回收率都随着提取溶剂比例的升高而升高,回收率从 60%上升至 85%左右;继续增大溶剂比例到 1:50 时,回收率上升趋势明显观察到有显减缓,这表明在 1:50 比例能够使目标化合物充分溶解于提取剂中,因此,该研究最终提取溶剂选定的比例为 1:50。

2.1.3 超声时间优化

本研究采用超声的方式提高对目标物质的提取效率,相较于机械振荡或者高速匀浆处理,超声操作简便,耗时更短,适合大规模样品同时检测。在 1.0 g 样品中加入 45 mL 10%甲醇水(V:V)溶液,在 480 W 功率下超声,研究提取时间为 5、10、20、40、50 min 时的 3 次重复试验平均提取效果。结果如图 2 所示,在最初的 10 min 之内超声时间越长和目标化合物的回收率呈现较强的正相关关系,在 0~20 min 时段内,多数化合物的回收率增长曲线呈放缓趋势,部分化合物回收率仍旧随着提取时间的增加而有一定提高,在 20~50 min 内,继续增大超声时间,回收率增长曲线逐渐平缓,表明在超过 30 min 之后,目标物质已被充分提取,然而,考虑到目标物时间成本和检验效率,本研究选择 20 min 作为最优提取时间。

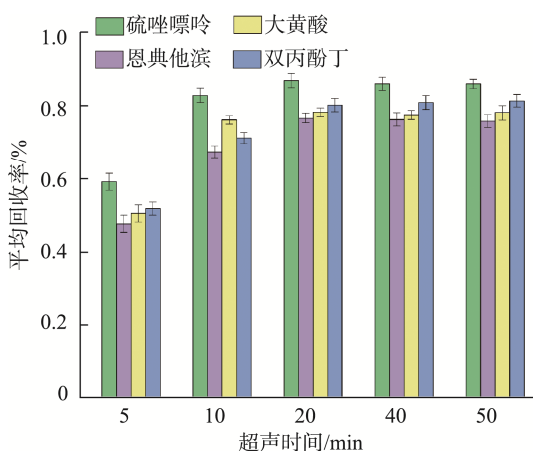


图 2 超声时间对 25 种非法添加物回收率的影响

Fig.2 Effects of ultrasonic time on the recoveries of 25 kinds of illegal additives

2.2 净化材料的表征

分别对本净化材料磁性氧化石墨烯和原料氧化石墨

烯进行检测。扫描电子显微镜显示,氧化石墨烯的片层结构经过化学共沉淀处理,在原本光滑的氧化石墨烯片层结构表面带上了约为 50 nm 的球形颗粒结构(见图 3),它们修饰在氧化石墨烯片表面上;此外,通过在扫描电子显微镜上配备的能谱仪确认了在 Fe₃O₄/氧化石墨烯纳米复合材料中元素组成的铁元素的成功负载;基于上述谱图和数据分析,Fe₃O₄/氧化石墨烯纳米复合材料被成功合成并被表征修饰在氧化石墨烯的表面上。

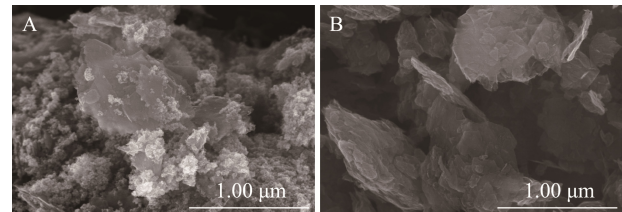


图 3 Fe₃O₄/氧化石墨烯纳米复合材料(A)和氧化石墨烯(B)的扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscopy images of the Fe₃O₄/graphene oxide (A) and graphene oxide (B) nanocomposites

2.3 仪器条件优化

该研究用针泵直接进样,在电喷雾电离源正负电离模式下对 25 种非法添加物标准溶液进行 Q1 全扫描分析。结果表明,在电喷雾电离源正离子模式下,马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D、喜树碱、恩曲他滨、依沙吡啶、吡啶酮、雷莫司琼、新利司他、酚酞、比沙可啶、双醋酚丁、双丙酚丁、西沙比利够获得较高强度的[M+H]⁺分子离子峰,大黄素等其他化合物在电喷雾电离源负离子模式下有较高的分子离子峰响应值(图 4),本研究通过对准分子离子增加碰撞能量对碎片离子进行二级质谱扫描,在 25 eV 碰撞能量下选择丰度较高的两个碎片离子分别作为定性和定量离子,并进一步优化确定其去簇电压和碰撞能量,同步优化离子源温度、离子源电压、雾化气流速等参数,使仪器的稳定性、灵敏度,专属性处在较好状态,仪器参数如表 2 所示。

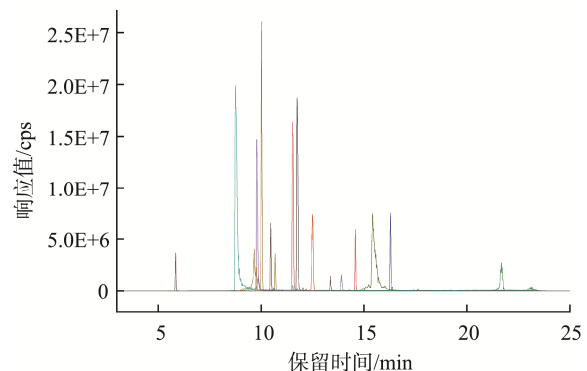


图 4 25 种非法添加物谱图的总离子流图

Fig.4 Total ion chromatogram of 25 kinds of illegal additives

2.4 方法学评价

2.4.1 基质效应

考察了糖果基质中 25 种非法添加物的基质效应。采用本方法进行样品前处理,得到空白基质溶液,配制上机质量浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的基质标准溶液,将基质标准溶液的峰面积与相应浓度甲醇配制的混合标准溶液所得峰面积相比,得到比值 K 。当 $K < 0.8$ 时表示存在基质抑制现象,当 $K > 1.2$ 时表示存在基质增强现象。结果表明,上述基质中 25 种非法添加物的 K 值为 0.76~1.24;大部分化合物的 K 值在 0.8~1.2 之间;糖果中马兜铃酸 D ($K=0.78$)和喜树碱 ($K=0.79$)呈基质抑制现象;吡嗪酮和西沙比利虽没有出现明显基质增强现象,但 K 分别为 1.14 和 1.15。因此,在检验中若遇到批次内回收率低于 80%或高于 120%的情况,建议采用混合基质标准曲线定量。

2.4.2 线性关系及检出限、定量限

在优化过的最佳条件下,本研究配制了质量浓度为

2、5、10、20、50 $\mu\text{g/L}$ 的 25 种非法添加物的混合标准溶液进行分析,以 25 种非法添加物标准溶液的质量浓度作为横坐标($X, \mu\text{g/L}$)对 25 种非法添加物峰面积作为纵坐标(Y)建立对应的标准工作曲线,线性方程、相关系数表 3 所示,相关系数处于 0.990~0.999 之间,表明线性关系良好,定量结果拟合度高。

依据仪器的检出限($S/N=3$)及定量限($S/N=10$),结合前处理过程,计算得到方法的检出限和定量限如表 3 所示。25 种化合物的检出限与定量限均能满足检验需求。

2.4.3 方法回收率、精密度

为了验证方法的准确性何可靠性,该实验方法对空白压片糖果样品进行 0.1、0.2、1.0 mg/kg 3 水平的加标回收实验($n=6$)。结果见表 4,25 种非法添加物低、中、高 3 个浓度组的平均回收率范围在回收率 65.1%~99.3%之间,相对标准偏差为 1.1%~5.0%之间。能够满足 25 种非法添加物的检验需求。

表 3 25 种非法添加物的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitation of 25 kinds of illegal additives

组分	线性范围/ $(\mu\text{g/L})$	线性方程	相关系数(r)	检出限/ (mg/kg)	定量限/ (mg/kg)
马兜铃酸 A	2.00~50.00	$Y=1162.48X+37957.28$	0.9989	0.05	0.10
马兜铃酸 B	2.00~50.00	$Y=1407.49X-6925.69$	0.9918	0.05	0.10
马兜铃酸 C	2.00~50.00	$Y=1349.15X-11051.90$	0.9980	0.05	0.10
马兜铃酸 D	2.00~50.00	$Y=1254.96X-11349.54$	0.9981	0.05	0.10
喜树碱	2.00~50.00	$Y=5729.91X-1241.43$	0.9990	0.05	0.10
紫杉醇	2.00~50.00	$Y=494.86X-3941.95$	0.9914	0.05	0.10
硫唑嘌呤	2.00~50.00	$Y=576.4X-7451.81$	0.9836	0.05	0.10
恩曲他滨	2.00~50.00	$Y=761.09X-4810.69$	0.9979	0.05	0.10
依沙吡啶	2.00~50.00	$Y=1040.3X+37784.76$	0.9950	0.05	0.10
更昔洛韦	2.00~50.00	$Y=1407.63X-6888.80$	0.9976	0.05	0.10
来曲唑	2.00~50.00	$Y=1450.2X-10875.66$	0.9937	0.05	0.10
吡嗪酮	2.00~50.00	$Y=1317.61X-11480.07$	0.9938	0.05	0.10
雷莫司琼	2.00~50.00	$Y=5707.67X-1635.59$	0.9976	0.05	0.10
新利司他	2.00~50.00	$Y=985.5X-4062.42$	0.9987	0.05	0.10
酚酞	2.00~50.00	$Y=694.45X-6991.94$	0.9912	0.05	0.10
比沙可啶	2.00~50.00	$Y=1026.59X-4449.1$	0.9938	0.05	0.10
双醋酚丁	2.00~50.00	$Y=711.83X-7459.26$	0.9945	0.05	0.10
双丙酚丁	2.00~50.00	$Y=891.27X-4801.84$	0.9970	0.05	0.10
西沙比利	2.00~50.00	$Y=998.94X+37791.08$	0.9904	0.05	0.10
大黄素	2.00~50.00	$Y=1394.42X-6640.81$	0.9979	0.05	0.10
芦荟大黄素	2.00~50.00	$Y=1444.58X-11099.2$	0.9970	0.05	0.10
大黄酸	2.00~50.00	$Y=5715.91X-1412.3$	0.9933	0.05	0.10
大黄酚	2.00~50.00	$Y=909.54X-7427.85$	0.9909	0.05	0.10
大黄素甲醚	2.00~50.00	$Y=629.52X-4668.76$	0.9915	0.05	0.10
拉克替醇	2.00~50.00	$Y=948.49X-6932.69$	0.9941	0.05	0.10

表 4 25 种非法添加物的加标回收率及精密度
Table 4 Recoveries and precisions for 25 kinds of illegal additives

化合物	0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		1.0 mg/kg	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
马兜铃酸 A	84.1	2.0	82.8	1.9	85.8	4.1
马兜铃酸 B	84.0	3.5	84.5	2.3	82.9	2.5
马兜铃酸 C	84.3	2.9	88.1	1.3	83.1	3.4
马兜铃酸 D	77.4	5.0	75.4	4.7	79.4	4.5
喜树碱	73.3	3.0	69.8	2.8	68.7	2.5
紫杉醇	96.8	4.4	95.2	3.1	99.3	2.6
硫唑嘌呤	86.4	4.7	87.6	1.6	87.1	2.8
恩曲他滨	76.7	4.0	73.7	3.9	77.8	3.8
依沙吡啶	69.4	1.2	65.5	2.3	65.1	3.4
更昔洛韦	69.7	1.8	67.2	3.0	72.3	1.8
来曲唑	83.0	4.0	79.1	3.9	82.6	4.3
吡嗪酮	94.1	1.7	94.2	1.7	91.9	2.8
雷莫司琼	76.5	5.0	72.4	2.8	72.0	2.3
新利司他	83.0	4.7	78.2	2.3	79.2	3.9
酚酞	82.7	2.3	85.7	3.1	86.3	3.1
比沙可啶	76.9	3.1	74.5	2.1	74.4	2.1
双醋酚丁	83.5	3.5	81.7	4.9	80.6	3.5
双丙酚丁	81.3	3.4	85.2	2.3	82.3	4.5
西沙比利	89.8	3.8	91.4	2.2	85.3	2.4
大黄素	83.4	4.6	84.6	4.9	80.1	4.5
芦荟大黄素	84.8	3.1	86.4	2.1	81.4	2.0
大黄酸	77.9	2.1	80.1	1.3	79.8	2.3
大黄酚	88.9	3.1	90.2	1.4	85.1	4.9
大黄素甲醚	86.1	4.4	83.2	3.7	84.3	4.3
拉克替醇	89.3	2.1	91.3	1.8	90.8	1.1

2.5 实际样品测定

本研究建立的方法对市售 105 批次的声称具有减肥、抗病毒、抗风湿、提高免疫力功效的食品进行检测, 其中有 1 批次压片糖果中检出新利司他, 2 批次糖果中检出双丙酚丁, 其他化合物均未检出, 检出率为 2.8%, 说明市售该类食品中具有一定的违法行为存在。

3 结论

本研究通过样品前处理、液相色谱条件、质谱条件和样品净化方法的优化, 利用磁性氧化石墨烯作为绿色净化试剂建立了超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中 25 种非法添加物含量方法, 以多反应监测模式进行定量分析。25 种非法添加物的加标和日内精密度实验回收率范围为 65.1%~99.3%, 精密度为 1.1%~5.0%。在实际样品的检测中, 本研究成功检出了市售压片糖果等食品中的新型非法添加物, 如新利司他和双丙酚丁, 检出率为 2.8%, 这表明该方法能够有效地应用于市场监管, 为政府监管部门提供了有力的技术支持。此外, 本研究开发的检测方法操作简单、快速、高效, 具有较高的实用性和推广价值。

参考文献

[1] 林海滢, 梁永恒, 任艳琦, 等. 食品安全现状及食品质量管理的探

讨[J]. 食品工业, 2023, 44(6): 341-343.

LIN HY, LIANG YH, REN YQ, *et al.* Discussion on the current status of food safety and food quality management [J]. The Food Industry, 2023, 44(6): 341-343.

[2] 王慧. 我国餐饮行业食品安全现状及质量控制措施[J]. 现代食品, 2024, 30(11): 137-140.

WANG H. The current status of food safety and quality control measures in China's catering industry [J]. Modern Food, 2024, 30(11): 137-140.

[3] 孟文, 金鹏, 叶莉敏. 预制菜食品安全现状与食品检测技术的应用[J]. 现代食品, 2024, 30(3): 89-91.

MENG W, JIN P, YE LM. The current status of food safety in pre-prepared meals and the application of food testing technologies [J]. Modern Food, 2024, 30(3): 89-91.

[4] 高涛, 唐华丽, 孙桂菊, 等. 保健食品产业中存在的问题及对策分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(2): 311-321.

GAO T, TANG HL, SUN GJ, *et al.* Analysis of problems and countermeasures in the health food industry [J]. Food Fermentation Industries, 2021, 47(2): 311-321.

[5] 申一鸣, 冯峰, 金敏, 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保健品中 136 种非法添加降压药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 24: 7964-7971.

SHEN YM, FENG F, JIM M, *et al.* Rapid screening of 136 kinds of illegally added antihypertensive drugs in health food by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 24: 7964-7971.

[6] 李远飞, 郑静, 贺璐, 等. 浅析高效液相色谱-串联质谱法测定酵素果冻中大黄素和芦荟大黄素[J]. 现代食品, 2023, 29: 213-217.

- LI YF, ZHENG J, HE L, *et al.* Determination of emodin and aloe emodin in enzyme jelly by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Moden Food*, 2023, 29: 213–217.
- [7] 郭跃平, 叶欣彤, 陈丽娥, 等. UPLC-MS/MS 法测定减肥类压片糖果中非法添加双丙酮丁[J]. *食品工业*, 2024, 45(7): 306–309.
- GUO YP, YE XT, CHEN LE, *et al.* Determination of illegal addition of dipropofol in weight loss candy by UPLC-MS/MS [J]. *The Food Industry*, 2024, 45(7): 306–309.
- [8] YU FY, LIN YH, SU CC. A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for detecting carcinogenic aristolochic acid in herbal remedies [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(7): 2496–2501.
- [9] YEH YH, LEE YT, SU C. Short-term toxicity of aristolochic acid, aristolochic acid-I and aristolochic acid-II in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(3): 1157–1163.
- [10] 马临科, 王娟娟, 郑成. HPLC-MS/MS 测定鱼腥草和复方鱼腥草合剂中马兜铃酸类化合物含量[J]. *中国现代应用药学*, 2022(15): 39.
- MA LK, WANG JJ, ZHENG C. Determination of aristolochic acids in *houltuynia cordata* and compound *houltuynia cordata* syrup by HPLC-MS/MS [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2022(15): 39.
- [11] 曹雅静, 温家欣, 胡佳哲, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定龙胆泻肝丸中高毒成分马兜铃酸I与鬼臼毒素[J]. *药物流行病学杂志*, 2023, 32(5): 522–527.
- CAO YJ, WENG JX, HU JZ, *et al.* Simultaneous determination of aristolochic acid I and podophyllotoxin in Longdan Xiegan pills by HPLC-MS/MS [J]. *Chinese Journal of Pharmacoepidemiology*, 2023, 32(5): 522–527
- [12] VOELLER DM, GREM JL, POMMIER Y, *et al.* Identification and proposed mechanism of action of thymidine kinase inhibition associated with cellular exposure to camptothecin analogs [J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2000, 45(5): 409–416.
- [13] GAREY KW, STREETMAN DS, RAINISH MC. Azathioprine hypersensitivity reaction in a patient with ulcerative colitis [J]. *Annals of Pharmacotherapy*, 1998, 32(4): 425–428.
- [14] MODRZEJEWSKI KA, HERMAN RA. Emtricitabine: A once-daily nucleoside reverse transcriptase inhibitor [J]. *Annals of Pharmacotherapy*, 2004, 38(6): 1006–1014.
- [15] JABRI T, NAVEED AK, ZINB M, *et al.* Antibacterial properties of ethacridine lactate and sulfmethoxazole loaded functionalized graphene oxide nanocomposites [J]. *Antibiotics*, 2023, 12(4): 755–761.
- [16] ZHANG H, YANG H, WEI W, *et al.* Ethacridine regulation of JAK/STAT/ERK Signaling pathway in colon cancer cells SW620: *In vitro* approach [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2023, 19(2): 214–221.
- [17] MATSUMOTO K, AKARI S, KAZURO I, *et al.* Risk factors for ganciclovir-induced thrombocytopenia and leukopenia [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2015, 38(2): 235–238.
- [18] LALEZARI JP, FRIEDBERG DN, BISSETT J, *et al.* High dose oral ganciclovir treatment for *Cytomegalovirus retinitis* [J]. *Journal of Clinical Virology*, 2002, 24(2): 70–77.
- [19] CIOLI D, SANAA S, KATHERINE WF, *et al.* Determination of ED50 values for praziquantel in praziquantel-resistant and-susceptible *Schistosoma mansoni* isolates [J]. *International Journal for Parasitology*, 2004, 34(8): 979–987.
- [20] LIANG YS, GERALD CC, MICHAEL JD, *et al.* *In vitro* responses of praziquantel-resistant and-susceptible *Schistosoma mansoni* to praziquantel [J]. *International Journal for Parasitology*, 2001, 31(11): 1227–1235.
- [21] KIM WJ, KANG H, SHIN HY, *et al.* Ramosetron, midazolam, and combination of ramosetron and midazolam for prevention of postoperative nausea and vomiting: A prospective, randomized, double-blind study [J]. *Journal of International Medical Research*, 2013, 41(4): 1203–1213.
- [22] VILLALON A, CHAN V. Multicenter, randomized trial of ramosetron plus dexamethasone versus ramosetron alone in controlling cisplatin-induced emesis [J]. *Supportive Care in Cancer*, 2004, 12(1): 58–63.
- [23] GALES MA, DUSTIN WH. Is rectally administered cisapride an effective prokinetic agent? [J]. *Annals of Pharmacotherapy*, 1999, 33(11): 1217–1220.
- [24] YUAN S, CHAN JFW, CHIK KKH, *et al.* Discovery of the FDA-approved drugs bexarotene, cetilistat, diiodohydroxyquinoline, and abiraterone as potential COVID-19 treatments with a robust two-tier screening system [J]. *Pharmacological Research*, 2020, 159: 104960.
- [25] TIWARI SS, MUKESH S, SANGAMWAR AT, *et al.* *In vivo* metabolic investigation of cetilistat in normal versus pseudo-germ-free rats using UPLC-QTOFMS/MS and *in silico* toxicological evaluation of its metabolites [J]. *Biomedical Chromatography*, 2020, 34(8): 4860.
- [26] NITIN AL, NEERAJ KP, SNEHA CJ, *et al.* Inhibitors of pancreatic lipase: State of the art and clinical perspectives [J]. *Excli Journal*, 2014, 13: 897–921.
- [27] KEIKO S, KAZUMASA Y, YOSHINORI H, *et al.* Molecular genetics and metabolism [J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2008, 94: 410–416.
- [28] 张烨, 杨国伟, 陈煜, 等. 表面增强拉曼光谱法快速检测减肥类保健食品中的比沙可啶[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(5): 1778–1782.
- ZHANG Y, YANG GW, CHEN Y, *et al.* Rapid determination of bisacodyl in weight-loss functional foods by surface enhanced Raman spectroscopy [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(5): 1778–1782.
- [29] 刘东升, 杨平荣, 姚世霞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测风痛安胶囊中马兜铃酸I[J]. *中国药业*, 2021, 30(19): 77–80.
- LIU DS, YANG PR, YAO SX, *et al.* Detection of aristolochic acid I in Fengtong'an capsules by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2021, 30(19): 77–80.
- [30] 闫震, 聂继云, 徐国锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法对比 4 种净化方式对不同色素含量基质中 19 种农药残留检测的影响[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(9): 1000–1009.
- YAN Z, NIE JY, XU GF, *et al.* Effect of four purification methods on detection of 19 pesticide residues in different pigment content substrates by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2014, 33(9): 1000–1009.
- [31] 郑珊珊, 宋伟. HPLC 法测定炎可宁胶囊中盐酸小檗碱, 黄芩苷, 大黄酸, 大黄素, 大黄酚和大黄素甲醚[J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(8): 1590–1593.
- ZHENG SN, SONG W. Determination of berberine hydrochloride, baicalin, rhein, emodin, physcion, and chrysophanol in Yankening capsules by HPLC [J]. *Modern Drug and Clinical Therapy*, 2021, 36(8): 1590–1593.
- [32] BURROWS CJ, HARPER JB, SANDER W, *et al.* Solvation effects in organic chemistry [J]. *Drugs & Clinics*, 2022, 87(3): 1599–1601.
- [33] REICHARDT C. Solvation effects in organic chemistry: A short historical overview [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 2022(3): 87.
- [34] XIAN Y, WU Y, DONG H, *et al.* Modified QuEChERS purification and Fe₃O₄ nanoparticle decoloration for robust analysis of 14 heterocyclic aromatic amines and acrylamide in coffee products using UHPLC-MS/MS [J]. *Food Chemistry*, 2019, 285: 77–85.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)