

中药及保健品中非法添加物的分析技术研究进展

侯晓芳, 施迎娣, 王嗣岑*

(西安交通大学药学院, 西安 710061)

摘要 近年来, 中药及保健品中非法添加化学药物的事件时有发生。为此, 开发快速、灵敏、准确检测非法添加物的方法和技术十分重要。通过查阅 2016–2017 年国内外发表的相关文献资料, 本文从方法和技术的角度对中药和保健品中非法化学药物的分析技术研究进展进行了综述, 为进一步开发快速检测新方法和新技术提供理论参考。

关键词 中药; 保健品; 非法添加物; 分析技术

中图分类号 R917 **文献标志码** A **文章编号** 1000–5048(2019)01–0033–08

doi:10.11665/j.issn.1000–5048.20190104

引用本文 侯晓芳, 施迎娣, 王嗣岑. 中药及保健品中非法添加物的分析技术研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(1): 33–40.
Cite this article as: HOU Xiaofang, SHI Yingdi, WANG Sicen. Progress in the analysis of adulterated additives in traditional Chinese medicines and health care products[J]. *J China Pharm Univ*, 2019, 50(1): 33–40.

Progress in the analysis of adulterated additives in traditional Chinese medicines and health care products

HOU Xiaofang, SHI Yingdi, WANG Sicen*

School of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract In recent years, cases of illegal addition of chemical substances into the TCMs and health-care products happened regularly. Therefore, it is particularly important to develop fast, sensitive and accurate analysis methods for detection of the adulterated chemical substances. Through literature survey of relevant papers published in 2016–2017, this article summarizes the application of various analytical techniques for adulterated chemical substances to the TCMs and health-care products with useful information for the further development of new methods and technologies in this field.

Key words traditional Chinese medicines (TCMs); health-care products; adulterated additives; analytical techniques

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81673398), and the Natural Science Foundation of Shaanxi Province (No. 2017JQ8024)

目前, 全球有近 40 亿人使用中草药产品, 占总人口的近 80%。全球中草药市场年交易额已接近 5 千亿元, 并以每年 10% ~ 20% 的速度递增。然而, 近年来, 不法商贩为了谋求高额利润, 在中药及保健品中非法添加化学药物的案例时有发生, 而且添加的成分也越来越隐蔽和复杂, 对人民群众的用药安全产生了极大的威胁。例如: 二氢吡啶类钙拮

抗剂药物临床效果好, 价格便宜并且容易获得, 适用于各型高血压尤其是重症高血压, 现已成为降压类健康产品非法添加的主要化学药物之一^[1]; 将抗组胺的化学药物添加至中药制剂中^[2], 导致消费者产生药物过敏; 另外, 中药材及饮片染色情况也较为常见^[3]。这些危害性大、影响面广的事件引发了制药行业和药政管理人员的广泛关注, 对于

收稿日期 2018-10-11 *通信作者 Tel: 029–82656788 E-mail: wangsc@mail.xjtu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 81673398); 陕西省自然科学基金资助项目 (No. 2017JQ8024)

非法添加物的分析技术研究值得深入探讨。日常检验过程中,发现一些减肥类、降血脂类和润肠通便类保健食品在功能宣传和非法添加的药物类型上往往具有交叉,例如一些不法商家在降脂类保健食品中掺入泻下通便的药物,既能迅速达到所宣传的功效,又规避了非法添加降脂类化学药物的检测,因此需建立全方位的检测方法,打击此类多种类、隐蔽性强的非法添加行为。徐硕等^[4]已在 2015 年对中药和保健品非法添加化学药物的类别、检测技术发展方向以及监管对策等多方面进行了综述。本文针对 2016-2017 年间国内外学者采用高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法、气相色谱-质谱法、离子迁移谱法、红外光谱法和拉曼光谱法等方法检测中药及保健品中非法添加化学药物的文献进行全面综述,为进一步开发快速检测新方法和新技术提供理论参考。

1 主要分析技术在非法添加物检测中的应用

1.1 高效液相色谱技术

1.1.1 高效液相色谱法 高效液相色谱技术因其稳定性好、重复性好、准确度高、易于操作等优势,在中药及保健品中非法添加剂的应用最为广泛。在食品药品非法添加的监督检验工作中,需要对海量样品中可能添加的多种化学成分进行快速分析,这使得检测机构面临巨大的压力,迫切需要高通量快速检测方法。陈国权等^[1]采用常规高效液相色谱技术建立了 40 min 内同时测定氨氯地平、硝苯地平、尼群地平、尼莫地平、尼索地平和非洛地平 6 种抗高血压成分的方法,检出限为 56 mg/kg。对市场收集的 200 批样品进行测定,非法添加二氢吡啶类化学成分的阳性样品有 15 批,涉及成分有硝苯地平、氨氯地平、尼群地平和尼莫地平,混合添加两种以上化学成分的占 53.3%。其中,清脂降压素检出氨氯地平和尼群地平,罗布麻胶囊检出硝苯地平、尼群地平和尼莫地平等。

1.1.2 超高效液相色谱法 相较于普通 HPLC,基于 1.7 μm 填料的超高效液相色谱仪(UPLC)具有更高的灵敏度、更快的分析速度和更强的分辨率^[5]。韩春晓等^[6]采用 UPLC 技术实现了 5 min 内快速检测鱼腥草、柴胡、维生素 C、盐酸林可霉素、黄芪多糖等注射液中的非法添加地塞米松磷酸钠,检出限为 10.0 mg/L。Heo 等^[7]采用 UPLC 技

术建立了 30 min 内同时测定氨氯地平、阿替洛尔、坎地沙坦西酯、美开朗、塞利洛尔、地尔硫草、多沙唑嗪、非洛地平、依拉地平、乐卡地平、氯沙坦、米诺地尔、纳多洛尔、硝苯地平、尼伐地平、尼索地平、奥美沙坦、喷布特罗、酚妥拉明、吲哚洛尔、哌唑嗪、普萘洛尔、特拉唑嗪、替米沙坦以及缬沙坦,检出限为 0.2 ~ 1.0 mg/L,并应用于 15 种片剂、4 种硬胶囊、18 种软胶囊、22 种粉剂、19 种液体制剂以及 19 种丸剂等 97 种药品的检测,其中分别在 1 种丸剂和 1 种片剂中分别检测到 16.81 和 28.07 mg/kg 阿替洛尔。黄芳等^[8]通过 UPLC 技术建立了同时测定 17 种壮阳类化合物的方法,检测了包括胶囊、片剂、酒、咖啡、糖果等 300 多个保健样品,其中检出频率最高的是西地那非和他达拉非,另有少部分检出羟基硫代豪莫西地那非、去甲西地那非、硫代豪莫西地那非等成分;保健酒中药物的添加量一般为 0.01% ~ 0.05%,咖啡中的添加量为 0.1% ~ 1.0%,片剂及胶囊中的添加量为 0.2% ~ 20%。

1.1.3 新型固定相 考虑到 UPLC 价格较贵、维护费用高、抗污染能力差,应用受到一定的限制。为了达到低柱压、高柱效的效果,需要寻求粒径与压力的平衡点,Fused-Core(核壳或熔融)技术应运而生。它将多孔硅壳熔融到实心硅核上制备成色谱柱固定相,其亚 3 μm (2 ~ 3 μm)填料产生的柱压明显低于亚 2 μm 填料产生的柱压,可应用于常规 HPLC 仪器,同时其柱效显著优于传统色谱填料(4.5 μm)^[9]。因此,基于 Fused-Core 技术的亚 3 μm 填料色谱柱开始成为关注焦点。雷毅等^[10]采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(50 mm × 4.6 mm, 2.7 μm), 1.5 mL/min 的流速,20 min 内同时快速测定壮阳类保健品中的 18 种非法添加物阿扑吗啡、酚妥拉明、育亨宾、那红地那非、红地那非、氨基他达拉非、艾地那非、羟基豪莫西地那非、豪莫西地那非、那莫西地那非、伪伐地那非、硫代艾地那非、羟基硫代豪莫西地那非、硫代西地那非、硫代豪莫西地那非、他达拉非、枸橼酸西地那非、伐地那非,18 种添加物的检出限均为 1.0 mg/kg。对市场收集的 500 批(其中网购样品 50 批)样品进行检测,发现非法添加的样品有 42 批,检出率为 8.4%,涉及育亨宾、西地那非、羟基豪莫西地那非、艾地那非、他达拉非、氨基他达拉非、红地那非、伐地那非、硫代艾地那非、硫

代西地那非、羟基硫代豪莫西地那非、硫代豪莫西地那非等 12 种化合物。非法添加频率较高的化合物依次为西地那非、他达拉非、硫代艾地那非,还同时存在混合添加两种成分的情况;主要剂型依次为胶囊剂、片剂、丸剂。阳性样品主要来源于网购,表明网络销售的壮阳类保健品存在较大安全风险。何睿偲等^[11]基于亚 3 μm 核壳填料色谱柱技术建立了高效液相色谱法 20 min 内快速筛查 21 种抗风湿类化合物,乙酰氨基酚、氨基比林、甲氧苄啶、水杨酰胺、磺胺甲唑、阿司匹林、水杨酸、非那西丁、氢化可的松、吡罗昔康、地塞米松、醋酸泼尼松、酮洛芬、萘普生、芬布芬、醋酸地塞米松、保泰松、双氯酚酸钠、吡罗美辛、布洛芬、泼尼松、盐酸奈福泮,萘普生的检出限为 0.8 mg/kg,其余化合物的检出限为 2.0 mg/kg。对 70 批抽检样品进行检测,发现 18 批阳性样品。

1.1.4 定量分析 HPLC 法常采用的含量测定方法为外标法,但在药品快速检测现场往往缺少对照品,因此外标法不适用于快速检测时的含量测定。采用相对校正因子法,可在物理性质或结构相似的一类化合物中选择其中的 1 个化合物为内标,检测时可少用或不用对照品,加快检测分析速度^[12]。如采用相对容量因子和紫外光谱相似度双指标进行定性,相对校正因子法进行定量分析中成药及保健食品中非法添加 9 种调血脂类药物成分(普伐他汀钠、苯扎贝特、阿托伐他汀

钙、氟伐他汀钠、氯贝丁酯、美伐他汀、吉非罗齐、洛伐他汀、辛伐他汀)。

1.2 高效液相色谱-串联质谱技术

质谱技术因具有灵敏度高、特异性好、响应速度快等特点,在食品安全、药物分析和物证分析等领域得到了广泛应用。确证非法添加物的一般模式为:将串联质谱法和 HPLC-PDA 法结合起来,相互佐证,最大限度的提供非法添加物的信息,为非法添加物的确证提供了双重保险。若供试品中发现添加物,采用 HPLC-PDA 法进行初筛,将所得添加物的紫外光谱图与已建立的数据库进行匹配,若匹配成功,找到疑似添加物,用 HPLC-PDA 法对添加物进行确证;若匹配不成功,用串联质谱法采集添加物质谱信息,分析准分子离子峰并与已建立的一级质谱数据库进行匹配,同时根据所给出的质谱信息推导结构特征,找到疑似添加物,再建立串联质谱法或 HPLC-PDA 法对添加物进行确证。

表 1 为近年学者采用液质联用技术检测中药及保健品中非法添加剂的代表性文献。可见,50% 的文献使用的是 Waters 公司 1.7 μm 粒径的 BEH-C₁₈ 色谱柱,采用 UPLC-MS/MS 方法,以多离子反应监测(MRM)为测定模式,可实现多成分同时快速分析^[13-16]。如,宫旭等^[13]建立的方法可在 15 min 之内同时测定 37 种具有减肥、降脂、通便功能的化合物,钱叶飞等^[16]建立的方法可在 15 min 之内同时测定 38 种糖皮质激素类化合物。

表 1 HPLC-MS/MS 法检测药品及保健品中非法添加化学药物的主要文献

编号	色谱柱及分析时间	待测化合物	LOD	检测结果	文献
1	Agilent Eclipse Plus C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 3.5 μm), 8 min	氯雷他定、盐酸苯海拉明、盐酸赛庚啶、盐酸西替利嗪、盐酸异丙嗪、咪唑斯汀和马来酸氯苯那敏(7 种)	0.5 ~ 2.5 ng/mL	共检样 12 批, [2] 阳性结果 7 批, 阳性率 58%	
2	Waters BEH Shield RP ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 15 min	阿昔莫司、烟酸、麻黄碱、氯噻嗪、氢氯噻嗪、咖啡因、甲基安非他明、番泻苷 B、番泻苷 A、氨苯蝶啶、氯噻酮、呋塞米、安非他酮、芬氟拉明、维拉帕米、吲达帕胺、布美他尼、苄氟噻嗪、酚酞、氟西汀、苯扎贝特、N-单去甲基西布曲明、大黄酸、西布曲明、N,N-双去甲基西布曲明、吡沙可啶、舍曲林、芦荟大黄素、氟伐他汀、吉非罗齐、洛伐他汀、辛伐他汀、非诺贝特、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚、普罗布考(37 种)	0.01 ~ 5.12 ng/mL	共检样 74 批, [13] 阳性结果 9 批, 阳性率 12%	
3	Waters Acquity BEH-C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 13 min	对乙酰氨基酚、阿司匹林、非那西丁、马来酸氯苯那敏、罗非昔布、吡罗昔康、氯诺昔康、美洛昔康、醋酸泼尼松、舒林酸、萘普生、醋酸地塞米松、保泰松、奥沙普秦、塞米昔布、双氯芬酸钠、吡罗美辛(17 种)	0.3 ~ 5.0 ng/g	共检样 55 批, [14] 阳性结果 26 批, 阳性率 47%	
4	Waters Acquity BEH-C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 12 min	硫酸特布他林、EH、茶碱、咖啡因、多索茶碱、CH、TH、BH、FH、呋塞米、吲达帕胺、酚酞、SH、盐酸 N-单去甲基西布曲明、盐酸 N,N-双去甲基西布曲明(15 种)	0.1 ~ 5.0 ng/g	共检样 86 批, [15] 阳性结果 74 批, 阳性率 86%	

续表 1

编号	色谱柱及分析时间	待测化合物	LOD	检测结果	文献
5	Waters Acquity BEH-C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm), 15 min	曲安西龙、泼尼松龙、氢化可的松、泼尼松、可的松、甲基泼尼松龙、倍他米松、氟米松、倍氯米松、曲安奈德、氟氢缩松、曲安西龙双醋酸酯、泼尼松龙醋酸酯、氟米松、氢化可的松醋酸酯、地夫可特、氟氢可的松醋酸酯、泼尼松醋酸酯、可的松醋酸酯、甲基泼尼松龙醋酸酯、倍他米松醋酸酯、氢化可的松丁酸酯、地塞米松醋酸酯、氟米松醋酸酯、氢化可的松戊酸酯、曲安奈德醋酸酯、二氟拉松双醋酸酯、倍他米松戊酸酯、泼尼卡酯、哈西奈德、阿氯米松双丙酸酯、安西奈德、氯倍他索丙酸酯、氟替卡松丙酸酯、莫米他松糠酸酯、倍他米松双丙酸酯、倍氯米松双丙酸酯、氯倍他松丁酸酯(38 种)	0.37 ~ 1.62 ng/mL	共检样 13 批, [16] 阳性结果 9 批, 阳性率 69%	
6	Phenomenex C ₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 100 mm, 2.6 μm), 10 min	甲苯磺丁脲、格列苯脲、格列齐特、格列吡嗪、格列喹酮、格列美脲、马来酸罗格列酮、瑞格列奈、盐酸吡格列酮、盐酸二甲双胍、盐酸苯乙双胍、那红地那非、红地那非、伐地那非、羟基豪莫西地那非、西地那非、豪莫西地那非、氨基他达拉非、他达拉非、硫代艾地那非、伪伐地那非、那莫西地那非、地西洋、硝西泮、氯硝西泮、氯氮草、奥沙西洋、马来酸咪唑啉仑、劳拉西洋、艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑、苯巴比妥、异戊巴比妥、司可巴比妥、氯美扎酮、阿替洛尔、盐酸可乐定、氢氯噻嗪、卡托普利、哌唑嗪、硝苯地平(42 种)	1.5 ~ 10 ng/mL	共检样 31 批, [17] 阳性结果 4 批, 阳性率 12.9%	
7	Acquity UPLC Hss T3 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), 11 min	二甲双胍、苯乙双胍、咖啡因、氨苯蝶啶、马来酸氯苯那敏、伐地那非、氯噻酮、西地那非、托拉塞米、呋塞米、卡马西平、酚酞、吲达帕胺、他达那非、格列吡嗪、布美他尼、格列齐特、格列本脲、尼群地平、格列美脲、大黄素、格列喹酮、非洛地平、育享宾、洛伐他汀、立莫那班(26 种)	0.5 ~ 2.0 ng/g	共检样 94 批, [18] 阳性结果 5 批, 阳性率 5%	
8	Zorbax SB-C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm), 10 min	三唑仑、阿普唑仑、艾司唑仑、地西洋、硝西洋、奥沙西洋、劳拉西洋(7 种)	0.1 ~ 2.1 ng/g	共检样 13 批, [19] 阳性结果 0 批, 阳性率为 0	
9	Zorbax SB-C ₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm), 10 min	盐酸二甲双胍、盐酸丁二胍、盐酸苯乙双胍、甲苯磺丁脲、格列吡嗪、格列齐特、格列波脲、盐酸罗格列酮、格列本脲、盐酸吡格列酮、格列美脲、瑞格列奈、格列喹酮(13 种)	0.1 ~ 0.3 ng/mL	共检样 13 批, [20] 阳性结果 6 批, 阳性率 46%	

四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱仪具有定量分析能力强和分辨率高的特点,对化合物的分辨率可达 10 万,相对质量偏差在 $0.1 \sim 1 \times 10^{-6}$ 之间^[21-22],目前已被广泛应用于蛋白质组学、中药安全控制、代谢组学和食品安全领域中小分子和大分子的研究。刘芸等^[21]采用四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱仪,Phenomenex 公司的 C₁₈ 色谱柱(粒径为 2.6 μm)所建立的方法,实现了中药及保健品中非法添加的化学药物快速定性定量测定,可在 10 min 内同时准确检测出声称缓解体力疲劳(抗疲劳类)、辅助降血压类、辅助降血糖类、改善睡眠功能类共 4 类 42 种非法添加的化学药物。测定了 31 批样品,包括蜂胶胶囊、功能饮料、褪黑素、鱼油胶囊、大豆磷脂胶囊、玛卡胶囊等。在 4 批保健品中发现了非法添加的化学药物,其中 3 批保健品(褪黑素、促睡眠胶囊、中成药)添加了盐酸二甲

双胍,添加量分别为 165.9、11.3 和 3.6 ng/g;1 批螺旋藻中添加了西地那非,添加量为 83.3 ng/g;1 批玛咖胶囊添加了羟基豪莫西地那非,添加量为 12.6 ng/g;阳性样品的检出率为 12.9%。如詹淑玉课题组检测了减肥类中成药及保健食品共 86 个样品(胶囊、颗粒剂等不同基质类型)中检出 74 批添加了化学药,阳性率为 86.0%。样品中主要检出 SH(39 批)、呋塞米(20 批)、酚酞(23 批)、茶碱(1 批)、咖啡因(15 批),其中检出 2 种的 22 批,3 种的 1 批。可见非法添加现象普遍存在。

传统的质谱技术存在基体耐受性差,需进行繁琐的样品预处理等不足^[23]。2004 年,Coors 等^[24]提出了在无需样品预处理情况下直接对表面样品进行质谱分析的电喷雾解吸电离质谱技术(DESI-MS),掀起了基于直接离子化技术的常压质谱分析研究热潮。目前,常见的常压质谱分析技术主要包

括实时在线分析、介质阻挡放电电离、低温等离子体探针、空气动力辅助离子化、电喷雾辅助激光解吸电离、表面解吸常压化学电离和电喷雾萃取电离等。其中,一种衍生于电喷雾电离技术的常压电离质谱-固体基质电离质谱(solid-substrate electrospray ionization mass spectrometry)^[25],因具有操作简便、取样量少、灵敏度高、分析速度快等特点,已应用于人体内脏、组织、血液以及尿液等复杂基体样品化学成分的快速分析。应用牙签电喷雾电离质谱(Wooden-tip ESI-MS)技术建立了同时测定 33 种常见非法添加化合物的方法,检出限达 0.1 ng/g,分析速度达 15 s,极大地提高了分析效率。他们将该方法应用于 144 种中草药的检测。与传统的分析方法相比,Wooden-tip ESI-MS 法具有无需样品预处理、取样量少、操作简便、检出限低、无化学试剂引入等优点,可用于中草药等复杂基体物质中非法添加剂的快速分析^[26]。

目前,文献报道测定的样品剂型涵盖胶囊剂、片剂、丸剂、粉剂、液体制剂等。因此对于含量大于 0.01% 的成分采用高效液相色谱-紫外检测法定量更加准确可靠;对于含量低的成分采用基质匹配标准溶液的方法以抵消基质效应,满足定量的要求^[8]。另外对于基质复杂的胶囊样品,直接用甲醇提取测定时,由于部分成分存在基质抑制效应而导致回收率偏低。分别在甲醇和胶囊空白基质中添加系列浓度的标准品,配制基质混合标准溶液,得到基质标准曲线,考察基质效应(matrix effect, ME)^[27]。采用公式 $ME = B/A \times 100\%$ 计算(式中 B 为基质标准曲线的斜率, A 为溶剂标准曲线的斜率)。若计算结果在 85% ~ 115% 之间,则无需考虑基质效应;若在这范围之外,则需考虑采取固相萃取等措施消除基质干扰^[18-19]。

1.3 离子迁移谱技术

离子迁移谱(ion mobility spectrometry, IMS)是以离子漂移时间的差别来进行离子分离定性的一种技术^[28],与传统的质谱、色谱法比较,IMS 技术具有分析速度快、灵敏度高、无溶剂和气体消耗等优点。尤其 IMS 技术在小型化以及微型化方面则具有其独特之处:第一,不需要真空系统,整个装置可以做得很小;第二,其灵敏度极高,在不加任何富集的情况下,IMS 就可以达到皮克(pg)量级,这些特点使得其很适合于现场在线快速分析;第三,具

有很好的结构区分性,能对同分异构体等实现很好的区分。该技术在爆炸物、毒品和化学毒剂等国土安全领域中使用很广泛,但在药物筛查分析中的应用还较少。冯雪等^[29]建立了快速检测保健食品中非法添加的西地那非、那红地那非、他达拉非、氨基他达拉非、伪伐地那非、那莫西地那非、二乙胺他达拉非 7 种 5 型磷酸二酯酶抑制剂的离子迁移谱方法。采用正离子模式,离子源电压为 2.5 kV,迁移管电压为 7.5 kV,进气口温度和迁移管温度均为 180 ℃。7 种 5 型磷酸二酯酶抑制剂迁移时间在 13.8 ~ 16.2 ms 之间,检出限为 0.05 ~ 2 μg/mL。利用所建立方法对 20 批市售缓解体力疲劳类保健食品进行非法添加筛查,20 批市售样品中 13 批检出西地那非,2 批检出他达拉非,2 批同时检出西地那非与他达拉非,与 LC-MS 检测结果一致。焦建东等^[30]采用离子迁移谱技术,建立改善睡眠类保健品中苯巴比妥、异戊巴比妥、司可巴比妥的非法添加快速检测方法。采用离子迁移谱负离子模式,离子源电压 1.9 kV,漂移管电压 7.5 kV,进气温度 180 ℃,漂移管温度 180 ℃,栅电压 45 V,栅脉冲宽度 120 μs,漂移管流速 1.2 L/min,排气泵 0.8 L/min,运行时间 30 s,光谱范围 25 ms;对市场抽查的 9 批次改善睡眠类样品(归枣、睡博士、活脑、枣仁、睡乐、睡宝、安睡、贝齿、金眠乐)进行分析,发现 2 个样品添加了苯巴比妥,并通过 LC-MS 进行了确认。

1.4 气相色谱-质谱技术

近年来,气相色谱-质谱联用技术得到较快发展,已广泛应用于各领域,成为分析复杂混合物最为有效的手段之一。Paraschos 等^[31]通过 GC-MS 技术建立了天然乳香油的防伪方法,他们采用手性色谱柱分离并测定了 30 种成分的含量,确定其中两种主要成分(-)/(+)-α-pinene(≤1%)和(-)-α-pinene/myrcene(1.9% ~ 11%)可以作为鉴别天然乳香油是否掺假的标志物。应用该方法测定了 25 份食品和化妆品等样品,发现了 1 份样品属于人工伪造乳香油。

1.5 表面增强拉曼光谱技术

表面增强拉曼散射(surface enhancement of Raman scattering, SERS)是指当一些分子被吸附到某些粗糙的金属(如银、铜、金等)表面上时,它们的拉曼散射强度会增加 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 倍,谐振

时高达 $1 \times 10^{14} \sim 1 \times 10^{15}$ 倍,解决了常规的 SERS 信号弱、检测灵敏度低的问题^[32]。王磊等^[33]建立了一种薄层色谱 (TLC) 结合表面增强拉曼光谱 (SERS) 用于快速检测抗精神失常类中药中非法掺杂化学成分的方法。利用 TLC 对中药基质和掺伪 4 种化学药物成分,即奋乃静、卡马西平、利培酮、舒必利进行初步分离,以三氯甲烷-甲醇-水 (8:2:0.2) 为展开剂,于 254 nm 紫外灯下检视定位,进而使用 SERS 技术对分离的微量物质进行鉴别,检测限可低至 0.02 mg/mL。与 HPLC 法相比,该方法简单快速,无需样品前处理,在现场快速检测方面具有广阔的应用前景。王琳等^[34]采用表面增强拉曼光谱分析方法检测盐酸吡咯列酮、盐酸罗格列酮和盐酸苯乙双胍,当 pH 为 2.0 时,上述 3 种降糖药的表面增强拉曼效应较显著,检测限分别为 4、4、1 $\mu\text{g/mL}$,前处理与检测时间一共只需 15 min,适合现场快速筛查保健品中添加的盐酸吡咯列酮,盐酸罗格列酮与盐酸苯乙双胍。张建红等^[35]采用拉曼光谱技术建立抗疲劳类保健品中非法添加化学药物的快速筛查方法,并对在市场上抽样送检的上百种保健品进行了测试,检测的准确率高于 95%。

1.6 红外光谱技术

近红外光谱技术 ($12\,000 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$) 近年来发展比较迅速,既可以定性,还可以通过建模等方式实现准确定量,是一种很有发展前途的筛查技术。中红外光谱技术 ($4\,000 \sim 200\text{ cm}^{-1}$) 可以根据官能团进行定性和定量,是最为常用的方法。显微红外光谱 (Micro-FTIR)^[36] 与常规红外光谱技术 (IR) 相比,显微红外光谱灵敏度高,可以实现痕量样品的分析;可避免溴化钾压片法时出现的水的吸收峰,谱图清晰干净。而 Micro-FTIR 技术分析时不需要添加任何稀释剂,能反映样品的本质光谱;无损检测;根据特征吸收峰在样品中的分布,可以判断官能团的空间分布。许凤等^[37]将薄层色谱法和显微红外光谱法相结合,建立了减肥保健食品中非法添加盐酸芬氟拉明的定性检测方法,发现 9 批供试品中有 2 批含有盐酸芬氟拉明。

1.7 核磁共振波谱技术

目前主要集中在 H (氢谱) 和 C (碳谱) 两类原子核的波谱。人们可以从核磁共振波谱上通过化学位移获取分子中化学官能团的数目和种类等信

息。一般用于蛋白质结构解析以及小分子化合物的结构解析。Hachem 等^[38]等利用 ^1H -NMR 技术检测天然减肥保健品中非法添加的化学药物,从同一个包装箱不同泡沫盒中取样,共测定了 164 个样品,发现有 75 个样品涉及添加 6 种化学药物,其中 43 个检出西布曲明,9 个检出酚酞,23 个检出混合药物,12 个检出西地那非,还有 4 个样本检出氟西汀,该结果同时用 LC-MS/MS 进行了验证,说明了 ^1H NMR 技术作为检测非法添加化学药物的可靠性和准确性。

1.8 基因检测技术

DNA 条形码技术是利用生物体 DNA 中一段保守片段对物种进行快速准确鉴定的新兴技术^[39]。该技术给中药鉴定学发展带来新的机遇,中药材 DNA 条形码鉴定数据库及中草药 DNA 条形码生物鉴定体系的创建有利于推进中药鉴定标准化和国际化。中药材 DNA 条形码分子鉴定法指导原则已纳入《中华人民共和国药典》2010 版第三增补本,为中药材基原物种鉴定提供强有力的技术支撑,将在中药材及中成药流通监管、道地药材鉴别、保健食品和食品质量安全控制等领域发挥重要作用。将中药材 DNA 条形码分子鉴定法与《中华人民共和国药典》规定的其他鉴别方法相结合,能够对药品质量进行综合评价与有效监控。

2 总结与展望

近年来,中药及保健品中非法添加化学药物的现象时有发生。不法商贩添加化学药物的隐蔽性也越来越强,分析的难度也越来越大。随着检测技术的提高和进步,非法添加检测的实际应用范围逐渐增加。所测定的中药及保健品种类包括降压类^[40–41]、抗风湿类^[16]、壮阳类^[8,42]、镇静类^[19]、减肥类^[15,43–44]、降脂类^[13]、降糖类^[20,45]、通便类^[13]、抗炎镇痛类^[14]、抗疲劳、抗抑郁^[18]及抗过敏类^[2]等,常用于添加的化学药物主要包括增强性功能类药物、镇静催眠类药物、抗糖尿病类药物、抗病毒类药物、抗生素类药物、解热镇痛和抗炎类药物、糖皮质激素类药物、镇咳类药物、抗高血压类药物、减肥类药物和抑制胃酸分泌类药物等。微红外吸收光谱法、表面增强拉曼光谱法、传感器技术等方法较为适用于现场快速分析和筛查;HPLC-PDA 方法适用于非法添加物的常规定性分析与定量分析,而 LC-

MS/MS 技术通常适用于最终的结果确认以及痕量物质的精确筛查和定量分析。大力发展简便的样品预处理技术以及便携性的定量检测仪器是未来非法添加物筛查的发展方向。

参考文献

- [1] Chen GQ, Lei Y. HPLC determination of 6 dihydropyridine chemicals in health products for anti-hypertension[J]. *Phys Test Chem Anal B; Chem Anal* (理化检验 化学分册), 2016, **52**(7): 770 – 773.
- [2] Ye LH, Xu S, Wang LS, et al. Simultaneous determination of 7 antihistamine agents added into traditional Chinese medicine preparation by LC-MS/MS[J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, **36**(11): 2022 – 2028.
- [3] Lian YL, Du J, Qiao YF. Determination of seven yellow pigments illegally added into Chinese materia medica by HPLC-MS[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2016, **47**(18): 3219 – 3223.
- [4] Xu S, Jin PF, Xu QL, et al. Advances in the chemical substances illegally adulterated in traditional Chinese medicines and health foods[J]. *Chin New Drug J* (中国新药杂志), 2015, **24**(16): 1843 – 1850.
- [5] Novakova L, Matysova L, Solich P. Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis[J]. *Talanta*, 2006, **68**(3): 908 – 918.
- [6] Han CX, Li Y, Li HW, et al. Establishment of detection methods for dexamethasone sodium phosphate in injections by UPLC-PDA[J]. *China Anim Husb Vet Med* (中国畜牧兽医), 2016, **43**(10): 2748 – 2755.
- [7] Heo S, Yoo GJ, Choi JY, et al. A rapid method for the simultaneous determination of 25 anti-hypertensive compounds in dietary supplements using ultra-high-pressure liquid chromatography[J]. *Food Addit Contam A*, 2016, **33**(11): 1627 – 1636.
- [8] Huang F, Wu HQ, Huang XL, et al. Simultaneous determination of 17 aphrodisiac chemical drugs illegally added in health products and Chinese patent medicines by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chin J Chrom* (色谱), 2016, **34**(3): 270 – 278.
- [9] Cunliffe JM, Maloney TD. Fused-core particle technology as an alternative to sub-2-microm particles to achieve high separation efficiency with low backpressure[J]. *J Sep Sci*, 2007, **30**(18): 3104 – 3109.
- [10] Lei Y, Huang T, Chen H, et al. Simultaneous rapid determination of 18 illegal additives in impotence healthy products by HPLC[J]. *Phys Test Chem Anal B; Chem Anal* (理化检验 化学分册), 2016, **52**(3): 249 – 254.
- [11] He RS, Huang YT, Lei Y, et al. Rapid determination of 21 adulterants in anti-rheumatic Chinese patent drugs or dietary supplements by HPLC[J]. *J Instrumental Anal* (分析测试学报), 2016, **35**(11): 1486 – 1490.
- [12] Deng M, Zhu B, Yin YH, et al. Rapid HPLC testing method for lipid-regulating drugs illegally added in traditional Chinese medicines and health food[J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, **36**(9): 1639 – 1647.
- [13] Gong X, Lu L, Feng YL, et al. Determination of 37 drugs illegally added in weight-losing, lipid-lowering and laxative health foods by UPLC-MS/MS[J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, **36**(5): 918 – 928.
- [14] Huang YY, Tu JH, Xu HX, et al. Rapid determination of 17 anti-inflammatory and analgesic chemicals illegally added into Chinese patent medicine and health foods by UPLC-MS/MS[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2016, **47**(2): 246 – 254.
- [15] Zhan SY, Zhu QF, Xu HX, et al. Rapid determination of 15 chemical drugs illegally added into slimming Chinese patent medicines and health foods by UPLC-MS/MS[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2016, **47**(17): 3023 – 3031.
- [16] Qian YF, Jia PC, Lu F, et al. Rapid determination of 38 glucocorticoids illegally added into Chinese patent medicines and dietary supplements by UPLC-MS-MS[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, **22**(10): 60 – 66.
- [17] Liu Y, Ding T, Liao XQ, et al. Direct determination of 42 chemical drugs illegally added in herbal medicines and dietary supplement by high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2016, **44**(3): 423 – 429.
- [18] Zhu WX, Liu YF, Sun ZL, et al. Simultaneous determination of 26 illegal additives in health-care food by UHPLC-MS/MS[J]. *Phys Test Chem Anal B; Chem Anal* (理化检验 化学分册), 2016, **52**(11): 1286 – 1291.
- [19] Wang L. UPLC-MS/MS determination of seven illegally added chemical sedatives in health-care food[J]. *Phys Test Chem Anal B; Chem Anal* (理化检验 化学分册), 2016, **52**(6): 629 – 634.
- [20] Lin F, Li T, Wang YX, et al. Simultaneous determination of 13 illegally added chemical drugs in hypoglycemic health foods by ultra performance liquid chromatography[J]. *Food Sci* (食品科学), 2016, **37**(18): 178 – 184.
- [21] Olsen JV, Godoy LMF, Li GQ, et al. Parts per million mass accuracy on an Orbitrap mass spectrometer via lock mass injection into a C-trap[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2005, **4**(12): 2010 – 2021.
- [22] Makarov A, Denisov E, Kholomeev A, et al. Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer[J]. *Anal Chem*, 2006, **78**(7): 2113 – 2120.
- [23] Zhong T, Zhang ZL, Zhang H, et al. Analysis of navel orange juice components by wooden-tip electrospray mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom* (质谱学报), 2016, **37**(1): 75 – 81.
- [24] Cooks RG, Ouyang Z, Takats Z, et al. Ambient mass spectrometry[J]. *Science*, 2006, **311**(5767): 1566 – 1570.
- [25] Yang YY, Deng JW, Yao ZP. Pharmaceutical analysis by solid-

- substrate electrospray ionization mass spectrometry with wooden tips[J]. *J Am Soc Mass Spectr*, 2014, **25**(1):37-47.
- [26] Hu B, Huang YY, Yin G, *et al.* Rapid detection of adulterated drugs in herbal dietary supplements by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Methods*, 2016, **8**: 6840-6846.
- [27] Hubert P, Nguyen-Huu JJ, Boulanger B, *et al.* Harmonization of strategies for the validation of quantitative analytical procedures-A SFSTP proposal-part II[J]. *J Pharm Biomed*, 2007, **45**(1):70-81.
- [28] Hill HH, Siems WF, Stlouis RH, *et al.* Ion mobility spectrometry[J]. *Anal Chem*, 1990, **62**(23):1201A-1209A.
- [29] Feng X, Yin LH, Jin SH, *et al.* Rapid detection of undeclared phosphodiesterase type 5 inhibitors in dietary supplements by ion mobility spectrometry[J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, **36**(2):313-320.
- [30] Jiao JD, Li JQ, Wang JF, *et al.* Rapid detection of illegally added barbiturates in sleep-improving healthy foods by ion mobility spectrometry[J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2016, **36**(2):321-329.
- [31] Paraschos S, Magiatis P, Gikas E, *et al.* Quality profile determination of Chios mastic gum essential oil and detection of adulteration in mastic oil products with the application of chiral and non-chiral GC-MS analysis[J]. *Fitoterapia*, 2016, **114**:12-17.
- [32] Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, *et al.* Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS) [J]. *Phys Rev Lett*, 1997, **78**(9):1667-1670.
- [33] Wang L, Chen MY, Li X, *et al.* Rapid detection of chemical drugs in antipsychotic traditional Chinese medicines by TLC-SERS[J]. *Res Explor Lab* (实验室研究与探索), 2016, **35**(5):22-26.
- [34] Wang L, Wang X, Tian JM, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) assay method for pioglitazone hydrochloride, rosiglitazone hydrochloride and phenformin hydrochloride in health care products[J]. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 2016, **37**(13):295-298, 303.
- [35] Zhang JH, Wang HQ, Xu L, *et al.* Inspection of illegally added medicine in anti-fatigue health food by Raman spectroscopy[J]. *Chin J Light Sct* (光散射学报), 2016, **28**(3):226-229.
- [36] Marshall CP, Javaux EJ, Knoll AH, *et al.* Combined micro-fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and micro-Raman spectroscopy of proterozoic acritarchs: a new approach to palaeobiology[J]. *Precambrian Res*, 2005, **138**(3/4):208-224.
- [37] Xu F, Feng Y, Fu S, *et al.* Determination of fenfluramine hydrochloride added illegally into anti-obesity and healthcare food by TLC-Micro IR method[J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2016, **36**(5):358-361.
- [38] Hachem R, Assemet G, Martins N, *et al.* Proton NMR for detection, identification and quantification of adulterants in 160 herbal food supplements marketed for weight loss[J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2016, **124**:34-47.
- [39] Hebert PDN, Penton EH, Burns JM, *et al.* Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101**(41):14812-14817.
- [40] Ling HY, Tang Y, Zhu N, *et al.* Detection of 24 chemical substances that illegally added into antihypertensive traditional Chinese patent medicines by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *J Chin Pharm* (中国药房), 2016, **27**(33):4712-4715.
- [41] Chen L, Wen JX, Qi CY, *et al.* Rapid detection and conformation of 21 illegal chemical drugs in anti-hypertension traditional Chinese medicine and healthy food[J]. *J Instrumental Anal* (分析测试学报), 2016, **35**(8):937-942.
- [42] Zhang J, Ding T, Liu Y, *et al.* Direct determination of 9 illegal added anti-impotence medicines in dietary supplement by UPLC-MS/MS [J]. *Environ Chem* (环境化学), 2016, **35**(2):415-418.
- [43] Ma CY, Feng SH, Feng L, *et al.* Detection of fluoxetine illegally added into slimming products by LC-MS [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2016, **38**(5):1056-1061.
- [44] Lu H, Qian YF, Zhang B, *et al.* Determination of anthraquinones and illegal addition of chemical drugs in diet foods [J]. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 2016, **37**(10):88-93.
- [45] Meng L, Chen W, OUYang BS, *et al.* Simultaneous determination of 9 illegally added anti-diabetic chemical components in Chinese patent medicines by HPLC-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, **22**(19):66-69.