团　　体　　标　　准

T/SZTIC XXX-2021

保健食品中非法添加物的快速检测直接离子化小型质谱法

Direct ionization mini-mass spectrometry for rapid detection of illegal additives in healthy food

（征求意见稿）

2021-××-××发布　　2021-××-××实施

深 圳 市 检 验 检 测 认 证 协 会 发 布

前　言

本标准参照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准由深圳市检验检测认证协会提出并归口。

本标准起草单位：深圳市易瑞生物技术股份有限公司、深圳市至秦仪器有限公司、清华大学深圳国际研究生院、中国食品药品检定研究院、深圳市药品检验研究院、深圳市通量检测科技有限公司、厦门海荭兴仪器股份有限公司、食亦安（厦门）检测技术有限公司。

本标准主要起草人：严义勇、霍新明、王炳志、鲁信琼、宛玉茼、张高飞、孙姗姗、余泉、钱翔、倪凯、于玥、董喆、王晓炜、曹进、唐飞、莫秋华、史泽雁、王晓浩、唐中令、钟应立、陈和秀、林茂香。

保健食品中非法添加物的快速检测直接离子化小型质谱法（方法草案）

1　范围

本方法规定了片剂、胶囊、中药食材、口服液及保健酒等保健食品中的罗通定、硫代艾地那非、瑞格列奈、沙丁胺醇、红地那非、阿替洛尔、伪伐地那非、利血平、格列齐特、罗格列酮、盐酸二氧丙嗪、硝苯地平、西地那非、酚酞、苯乙双胍、文拉法辛、吡咯列酮、卡托普利、马来酸氯苯那敏、西布曲明、那莫西地那非、羟基豪莫西地那非、二甲双胍、格列苯脲、尼群地平、他达拉非、豪莫西地那非、伐地那非、那红地那非、氨基他达拉非、丁二胍共31种非法添加物质的快速检测方法。

本方法适用于保健食品种31种非法添加物的快速检定。

2　原理

本方法采用直接离子化小型质谱法。试样经由提取后，使用直接离子化小型质谱仪进行检测，采用数据依赖型数据采集模式进行分析，采集目标离子的一级与二级质谱图，并将测试结果与内置标准谱图库中的 31 种保健品质谱图进行匹配计算，对测试结果进行判定。

3　试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

3.1　试剂

3.1.1　甲酸，色谱纯。

3.1.2　乙腈，色谱纯。

3.1.3　乙醇，色谱纯。

3.1.4　提取液：5‰甲酸-10%乙腈-乙醇溶液：使用移液器取500 μL甲酸（3.1.1）、10 mL乙腈（3.1.2），用乙醇（3.1.3）定容至100 mL。

3.2　参考物质

罗通定、硫代艾地那非、瑞格列奈等31种参考物质的中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子质量见附录A，纯度均≥95%。

注：或等同可溯源物质。

3.3　标准溶液配制

3.3.1　标准储备液（1 mg/mL）：精密称取适量 31 种参考物质（3.2），分别置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）溶解并稀释至刻度，摇匀，分别制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。-20℃避光保存。

3.3.2　标准中间液（100 μg/mL）：分别准确吸取 1000 μL 标准储备溶液(3.3.1)至 10 mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）稀释至刻度，盖紧摇匀，分别制成浓度为 100 μg/mL 的标准中间液。

3.4　材料

3.4.1　滴瓶

3.4.2　500 μL EP 管。

3.4.3　0.22 μm 有机尼龙滤膜。

3.4.4　取样勺。

4　仪器设备

4.1　小型离子阱质谱仪

4.2　离子源：自吸式电喷雾离子源或其他等效电喷雾离子源。

4.3　涡旋振荡仪。

4.4　超声波清洗器。

4.5　电子天平：感量为 0.0001 g。

4.6　移液器：量程 1 μL、100 μL 和 1 mL。

4.7　环境条件：温度 15℃~40℃，湿度≤80%。

5　分析步骤

5.1　试样制备

固态试样：片剂、硬胶囊、中药食材类保健食品，取代表性样品，混匀磨碎；
液态试样：口服液或保健酒保健品，直接取代表性样品。
备注：药片如有糖衣需除糖衣；硬胶囊需除胶囊壳。

5.2　试样提取与净化

称取 100 毫克样品于滴瓶（3.4.1）中，使用移液器移取 3 mL 提取液（3.1.4），将滴瓶盖好拧紧后，将滴瓶放在涡旋振荡仪（4.3）震荡 1 min 或者大力摇匀 1 min；然后将 0.22 μm 有机尼龙滤膜（3.4.3）装在滴瓶嘴上，挤压滴瓶，将提取液过滤至 500 μL EP 管（3.4.2）中，收集滤液略超过 300 μL，待上机测试。

5.3　测定步骤

5.3.1　测定步骤

将样品安放在离子源卡位上，选择目标物种类进行质谱分析。

5.3.2　仪器测定条件

电离模式：正离子模式
喷雾电压：5000V
质量扫描范围：m/z 50-650
质量扫描速度：不低于每秒 1500 质量数
质谱分析方式：数据依赖型串级质谱分析模式，31 种非法添加化学药物对应的母离子与子离子

参数见下表

其余参数参照仪器使用说明书进行设定。

表 1 31 种非法添加化学药物的小型质谱分析参数

序号	目标物	母离子（m/z）	子离子（m/z）
1	罗通定	356	192、165
2	瑞格列奈	453	162、230
3	沙丁胺醇	240	148、166
4	阿替洛尔	267	190、145、225
5	利血平	609	397、448、
6	罗格列酮	358	135、119
7	盐酸二氧丙嗪	317	272、208
8	酚酞	319	225
9	文拉法辛	278	260、215
10	吡咯列酮	357	134、119
11	马来酸氯苯那敏	275	230、167
12	西布曲明	280	139、125
13	硫代艾地那非	505	393、448
14	红地那非	467	420、396、353
15	伪伐地那非	460	432、377
16	格列齐特	324	127、110
17	硝苯地平	347	315
18	西地那非	475	377、311
19	苯乙双胍	206	60、189
20	卡托普利	218	116、172
21	那莫西地那非	460	377、329
22	羟基豪莫西地那非	505	487、461
23	二甲双胍	130	60、85、113
24	格列本脲	495	369
25	尼群地平	361	329、315
26	他达拉非	390	268、262、135
27	氨基他达拉非	391	269、262、135
28	伐地那非	489	299、377
29	那红地那非	453	353、396
30	丁二胍	158	60、116、141
31	豪莫西地那非	489	461、377、311

6 质控实验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

6.1 空白实验

称取空白试样，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

6.2 加标质控实验

称取100毫克空白样品于滴瓶（3.4.1）中，使用移液器移取3 mL提取液（4.6），加入适量标准中间液（100 μg/mL）（3.3.2），使质控样浓度与 《表3 31种非法添加化学药物的检出限》中的浓度一致，然后按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

7 结果判定

仪器软件将采集得到的目标离子的一级质谱及其二级质谱图呈现，并与内置标准谱图库中的31 种保健品质谱谱图进行匹配计算，对测试结果进行判定。当仪器判断结果为阳性时，应对测试结果进行复核，样品谱图中定性离子对的相对丰度与标准物质质谱谱图相对丰度一致，相对丰度（k）偏差不超过表 2 规定的范围，则可判定为试样中存在该成分。

表 2 定性复核时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度（%）	k>50%	50%≥k>20%	20%≥k>10%	k≤10%
允许的最大偏差（%）	± 20	± 25	± 30	± 50

备注：

31 种非法添加化学药物标准物质质谱谱图见附录 B。

7.1 空白试验要求

空白试验测定结果应为阴性。

7.2 加标质控实验

加标测试结果应为阳性；否则需要对设备进行维护或调整质谱参数。

8 结论

当复核结果为阳性时，应采用实验室仪器方法，如《保健食品中75种非法添加化学药物的检测》BJS 201710 对结果进行进一步确证。

9 性能指标

9.1 灵敏度：灵敏度应≥90%。

9.2 特异性：特异性应≥95%。

9.3 假阴性率：假阴性率应≤10%。

9.4 假阳性率：假阳性率应≤5%。

注：性能指标计算方法见附录C。

10 检出限：

表 3 31 种非法添加化学药物的检出限

标号	目标物	液态样检出限 ug/ml	固态样检出限 ug/g
1	罗通定	0.5	1
2	瑞格列奈	0.5	1
3	沙丁胺醇	3	1
4	阿替洛尔	1.5	1
5	利血平	2	1
6	罗格列酮	0.5	1
7	盐酸二氧丙嗪	1	1
8	酚酞	5	1
9	文拉法辛	3	1
10	吡咯列酮	0.5	1
11	马来酸氯苯那敏	0.8	1
12	西布曲明	2	1

13	硫代艾地那非	2	1
14	红地那非	4	1
15	伪伐地那非	2	1
16	格列齐特	2	1
17	硝苯地平	15	5
18	西地那非	4	1
19	苯乙双胍	3	1
20	卡托普利	10	5
21	那莫西地那非	4	1
22	羟基豪莫西地那非	2	1
23	二甲双胍	1	1
24	格列本脲	10	5
25	尼群地平	20	5
26	他达拉非	20	10
27	氨基他达拉非	20	10
28	伐地那非	4	1
29	那红地那非	4	1
30	丁二胍	4	1
31	豪莫西地那非	4	1

11 其他

本方法参比标准为《保健食品中75种非法添加化学药物的检测》BJS 201710

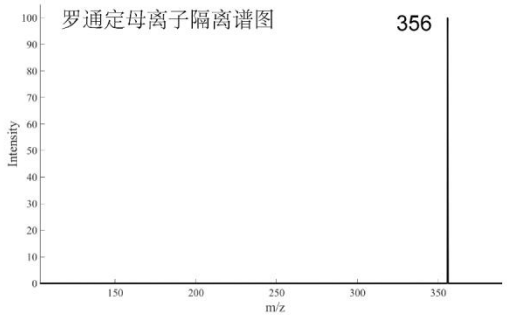
附录 A

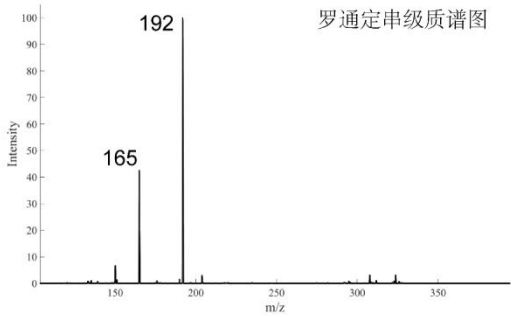
表A.1　片剂、胶囊、中药食材、口服液及保健酒等保健食品中的西布曲明、酚酞、羟基豪莫西地那非等 31 种参考物质中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子质量

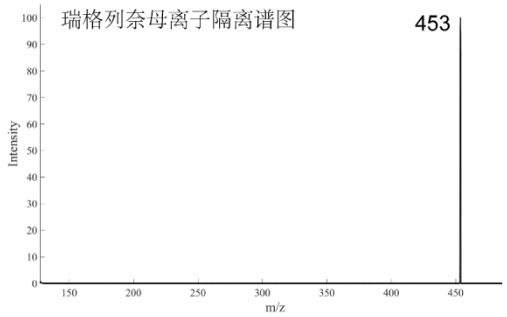
序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
1	罗通定	Tetrahydropalmatine	2934-97-6	$C_{21}H_{25}NO_4$	355.43
2	硫代艾地那非	Thioaildenafil	856190-47-1	$C_{23}H_{32}N_6O_3S_2$	504.67
3	瑞格列奈	Repaglinide	135062-02-1	$C_{27}H_{36}N_2O_4$	452.27
4	沙丁胺醇	Salbutamol	18559-94-9	$C_{13}H_{21}NO_3$	239.31
5	红地那非	Hongdenafil	831217-01-7	$C_{25}H_{34}N_6O_3$	466.58
6	阿替洛尔	Atenolol	29122-68-7	$C_{14}H_{22}N_2O_3$	266.34
7	伪伐地那非	Pseudovardenafil	224788-34-5	$C_{22}H_{29}N_5O_4S$	459.56
8	利血平	Reserpine	50-55-5	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	608.68
9	格列齐特	Gliclazide	21187-98-4	$C_{15}H_{21}N_3O_3S$	323.13
10	罗格列酮	Rosiglitazone	122320-73-4	$C_{18}H_{19}N_3O_3S$	357.11
11	盐酸二氧丙嗪	Dioxopromethazine	13754-56-8	$C_{17}H_{20}N_2O_2S$	316.42
12	硝苯地平	Nifedipine	21829-25-4	$C_{17}H_{18}N_2O_6$	346.34
13	西地那非	Sildenafil	139755-83-2	$C_{22}H_{30}N_6O_4S$	474.58
14	酚酞	Phenolphthalein	1977/9/8	$C_{20}H_{14}O_4$	318.33
15	苯乙双胍	Phenformin	114-86-3	$C_{10}H_{15}N_5$	205.13
16	文拉法辛	Venlafaxine	93413-69-5	$C_{17}H_{27}NO_2$	277.2
17	吡咯列酮	Pioglitazone	111025-46-8	$C_{19}H_{20}N_2O_3S$	356.44
18	卡托普利	Captopril	62571-86-2	$C_9H_{15}NO_3S$	217.29
19	马来酸氯苯那敏	Chlorphenamine	132-22-9	$C_{12}H_5N_7O_{12}$	439.21
20	西布曲明	Sibutramine	106650-56-0	$C_{17}H_{26}ClN$	279.85
21	那莫西地那非	Norneosildenafil	371959-09-0	$C_{22}H_{29}N_5O_4S$	459.56
22	羟基豪莫西地那非	Hydroxyhomosildenafil	139755-85-4	$C_{23}H_{32}N_6O_5S$	504.6
23	二甲双胍	Metformin	657-24-9	$C_4H_{11}N_5$	129.1
24	格列苯脲	Glibenclamide	10238-21-8	$C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$	494
25	尼群地平	Nitrendipine	39562-70-4	$C_{18}H_{20}N_2O_6$	360.36
26	他达拉非	Tadalafil	171596-29-5	$C_{22}H_{19}N_3O_4$	389.4
27	豪莫西地那非	Homosildenafil	642928-07-2	$C_{23}H_{32}N_6O_4S$	488.22
28	伐地那非	Vardenafil	224785-90-4	$C_{23}H_{32}N_6O_4S$	488.22
29	那红地那非	Noracetildenafil	949091-38-7	$C_{24}H_{32}N_6O_3$	452.56
30	氨基他达拉非	Aminotadalafil	385769-84-6	$C_{21}H_{18}N_4O_4$	390.39
31	丁二胍	buformin	692-13-7	$C_6H_{15}N_5$	157.22

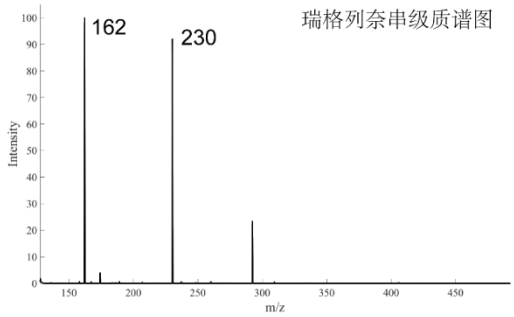
附录 B

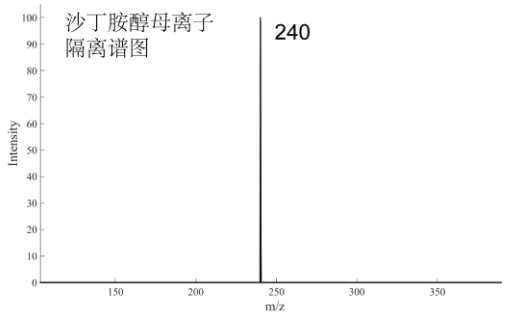
31 种非法添加化学药物标准物质质谱谱图

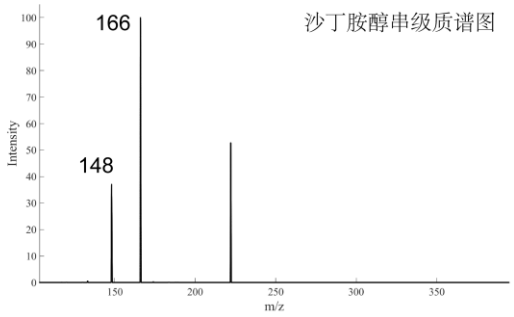


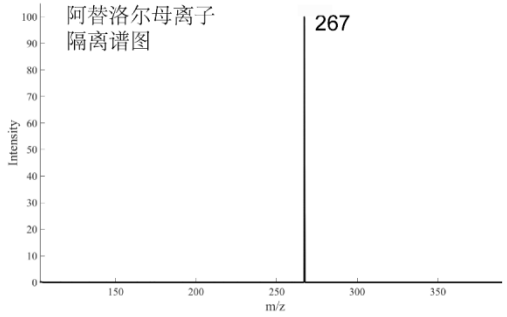


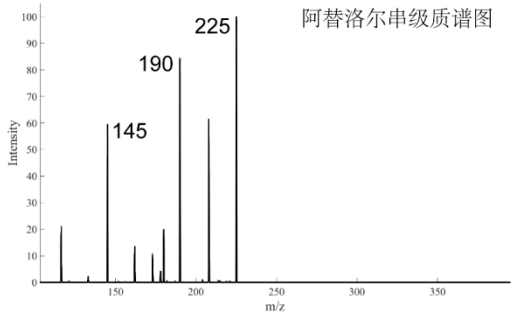


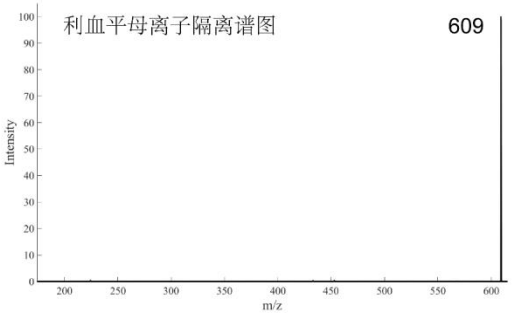


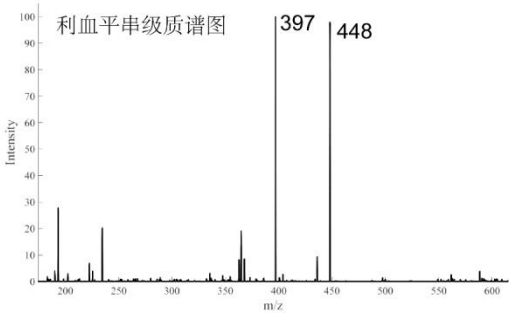


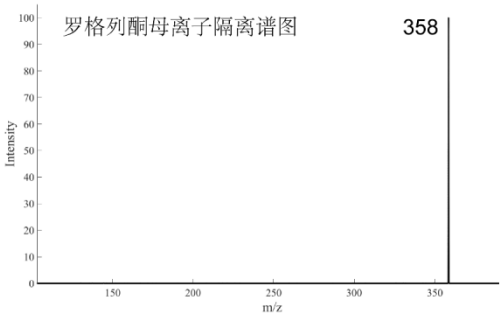


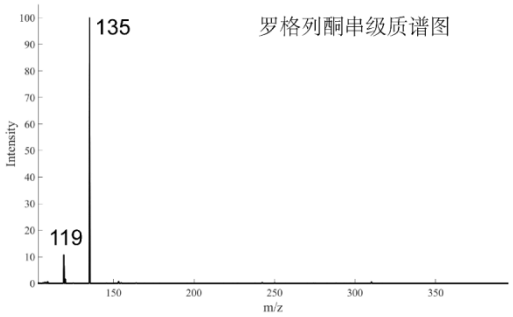


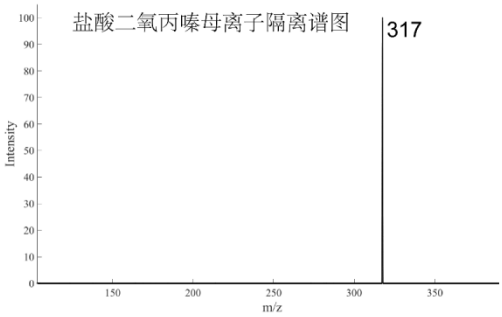


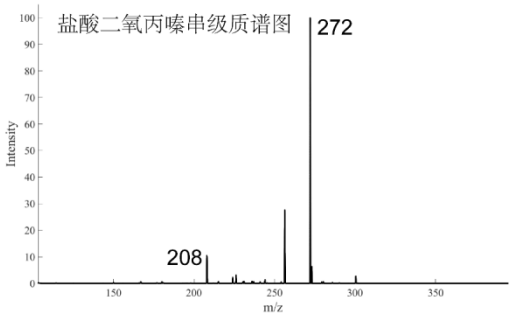

利血平母离子隔离谱图
609
Intensity
m/z

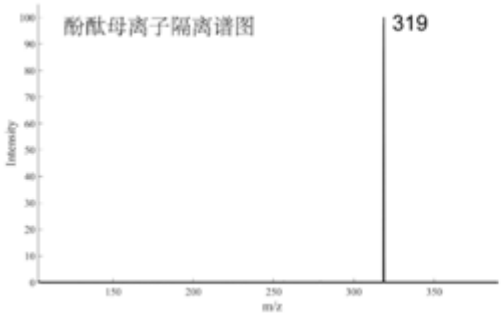

利血平串级质谱图
397
448
Intensity
m/z

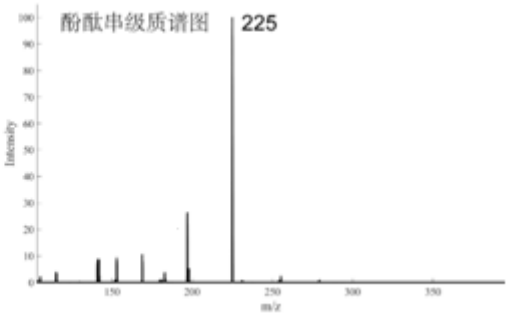

罗格列酮母离子隔离谱图
358
Intensity
m/z

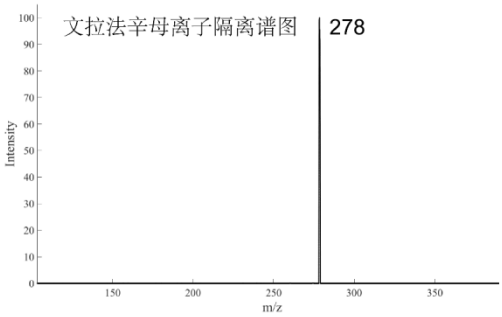

135
罗格列酮串级质谱图
119
Intensity
m/z

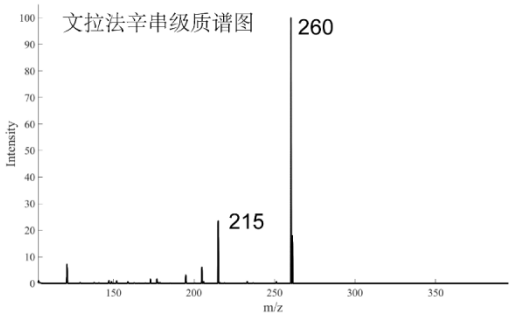

盐酸二氧丙嗪母离子隔离谱图
317
Intensity
m/z

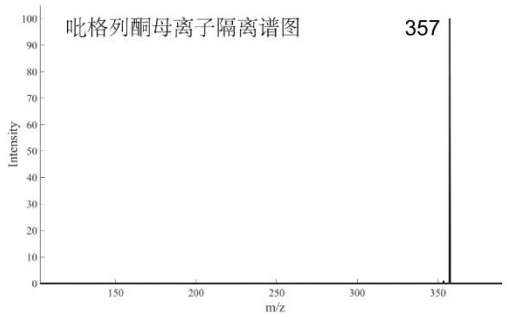

盐酸二氧丙嗪串级质谱图
272
208
Intensity
m/z

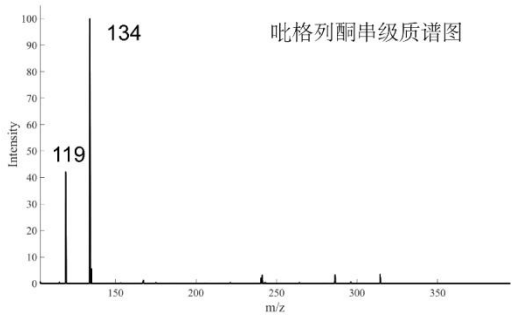

酚酞母离子隔离谱图
319
Intensity
m/z

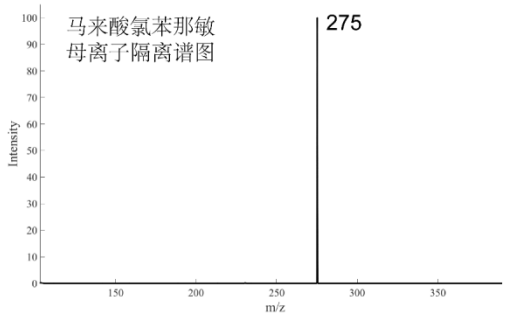

酚酞串级质谱图
225
Intensity
m/z

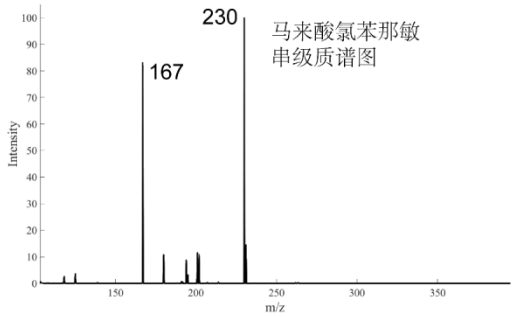

文拉法辛母离子隔离谱图
278
Intensity
m/z

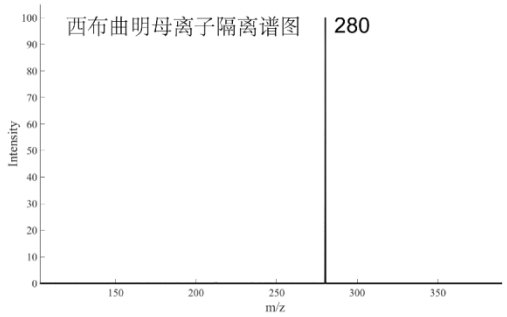

文拉法辛串级质谱图
260
215
Intensity
m/z

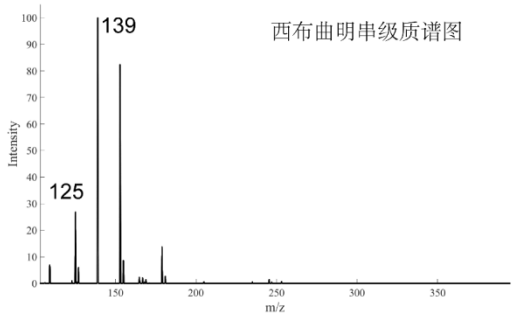

吡格列酮母离子隔离谱图
357
Intensity
m/z

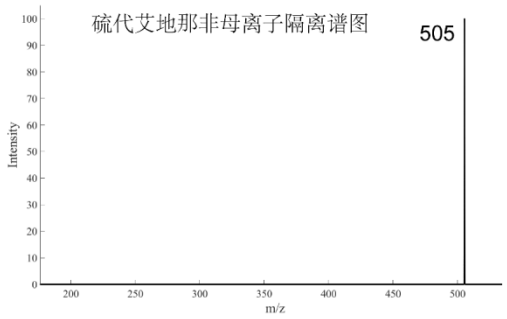

134
119
吡格列酮串级质谱图
Intensity
m/z

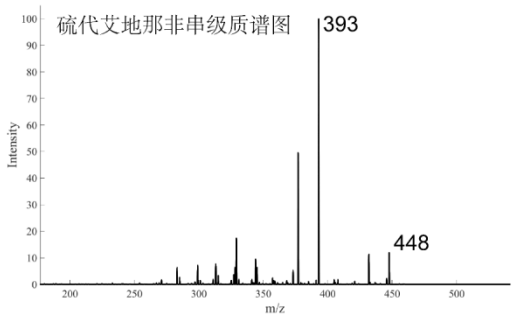

马来酸氯苯那敏
母离子隔离谱图
275
Intensity
m/z

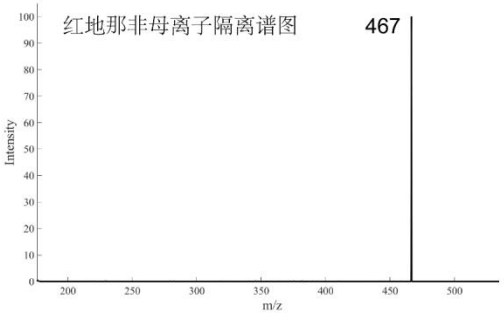

230
167
马来酸氯苯那敏
串级质谱图
Intensity
m/z

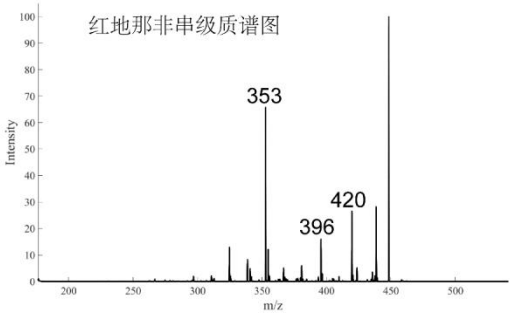

西布曲明母离子隔离谱图
280
Intensity
m/z

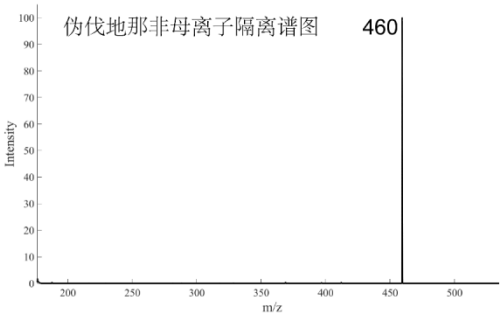

139
125
西布曲明串级质谱图
Intensity
m/z

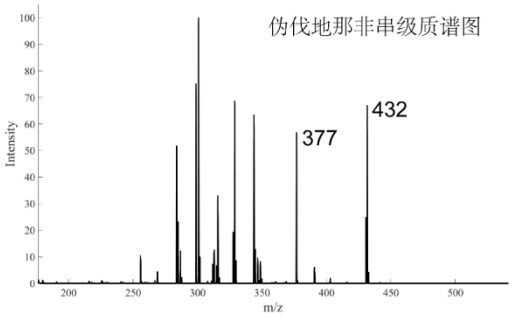

硫代艾地那非母离子隔离谱图
505
Intensity
m/z

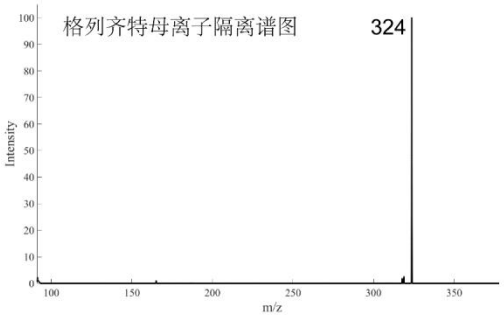

硫代艾地那非串级质谱图
393
448
Intensity
m/z

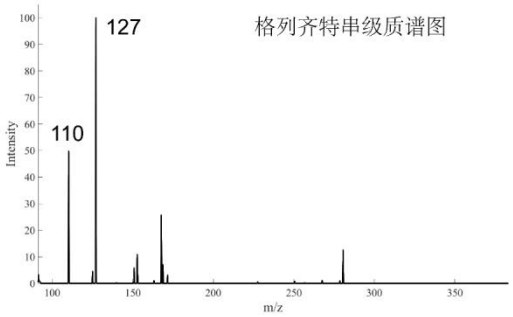

红地那非母离子隔离谱图
467
Intensity
m/z

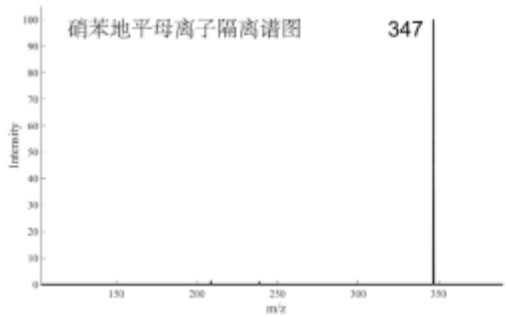

红地那非串级质谱图
353
420
396
Intensity
m/z

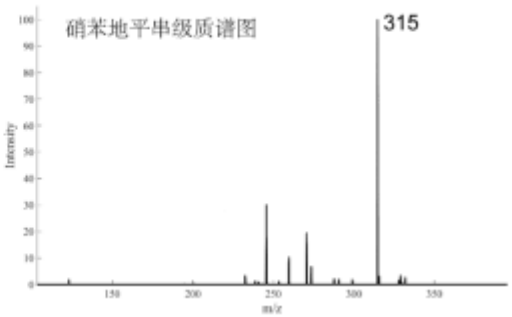

伪伐地那非母离子隔离谱图
460
Intensity
m/z

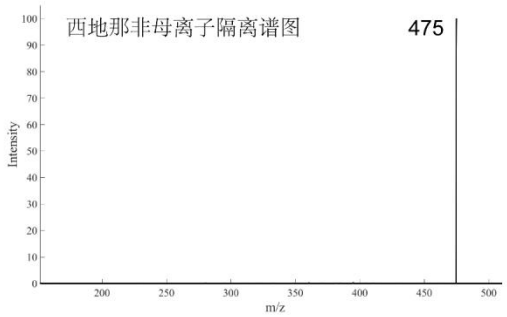

伪伐地那非串级质谱图
432
377
Intensity
m/z

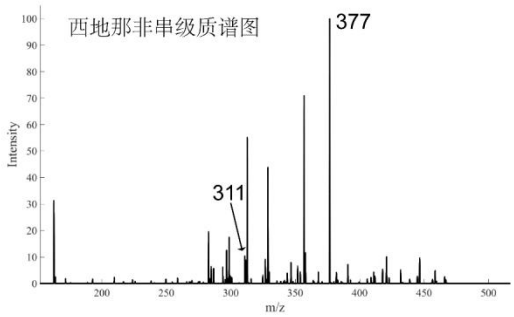

格列齐特母离子隔离谱图
324
Intensity
m/z

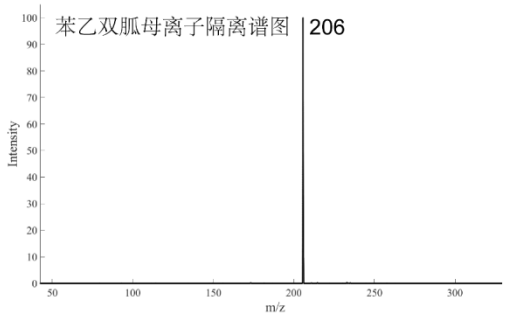

127
格列齐特串级质谱图
110
Intensity
m/z

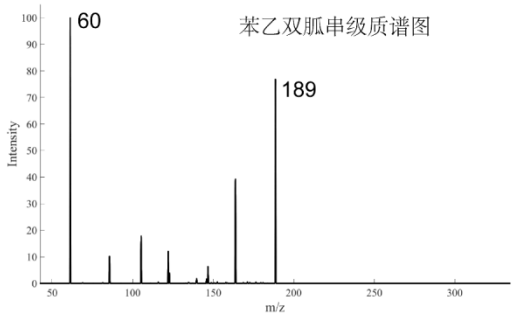

硝苯地平母离子隔离谱图
347
Intensity
m/z

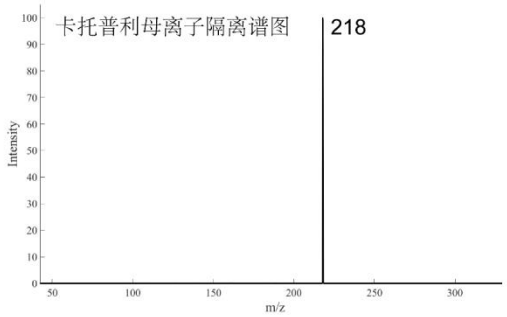

硝苯地平串级质谱图
315
Intensity
m/z

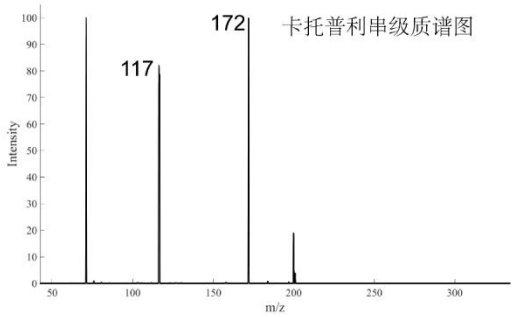

西地那非母离子隔离谱图
475
Intensity
m/z

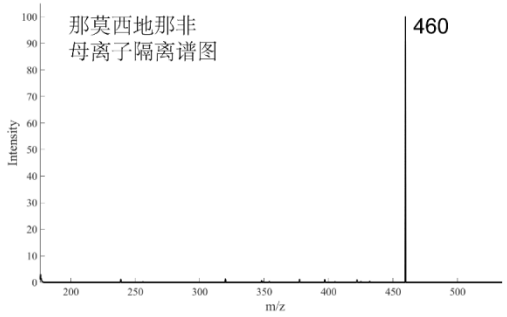

西地那非串级质谱图
377
311
Intensity
m/z

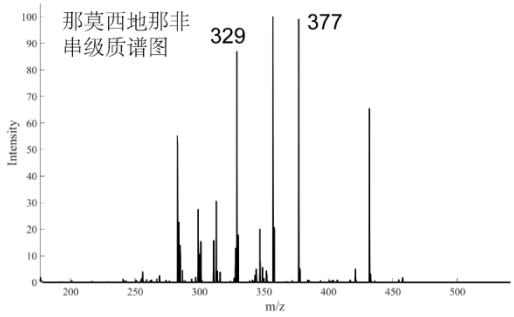

苯乙双胍母离子隔离谱图
206
Intensity
m/z

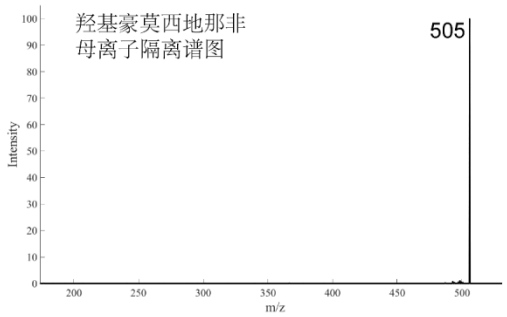

60
苯乙双胍串级质谱图
189
Intensity
m/z

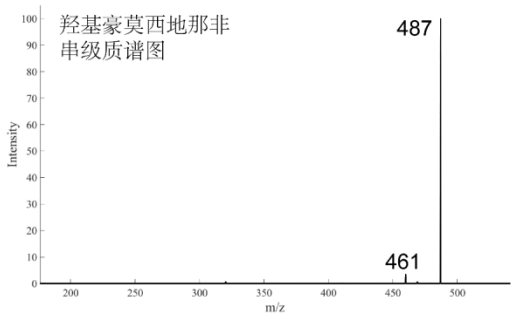

卡托普利母离子隔离谱图
218
Intensity
m/z

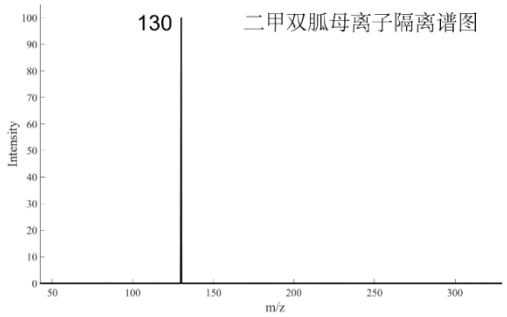

172
卡托普利串级质谱图
117
Intensity
m/z

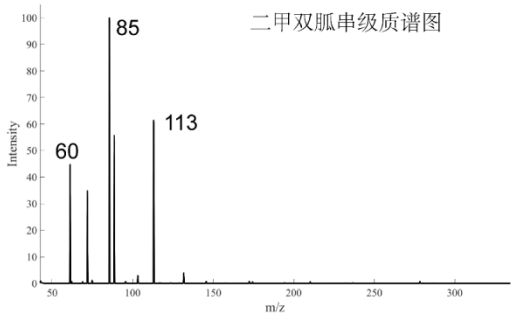

那莫西地那非
母离子隔离谱图
460
Intensity
m/z

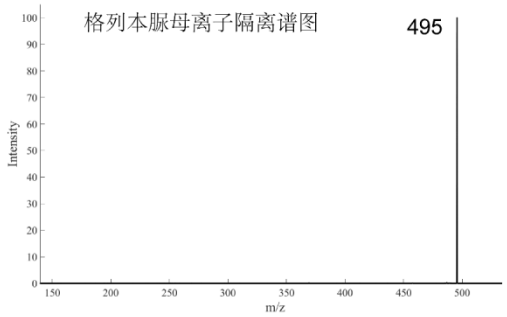

那莫西地那非
串级质谱图
329
377
Intensity
m/z

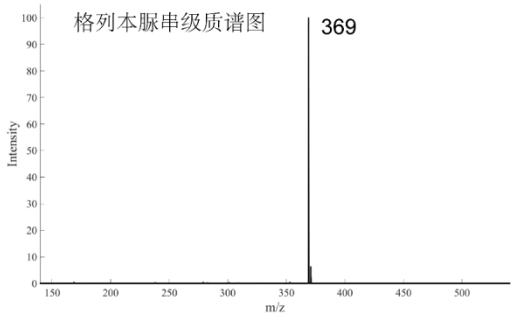

羟基豪莫西地那非
母离子隔离谱图
505
Intensity
m/z

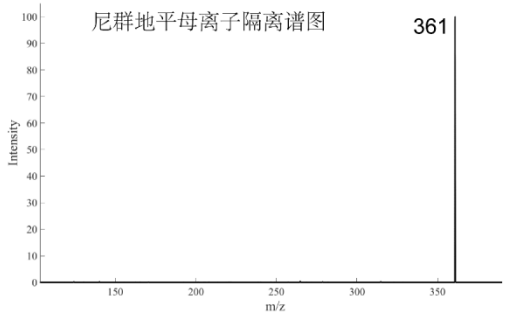

羟基豪莫西地那非
串级质谱图
487
461
Intensity
m/z

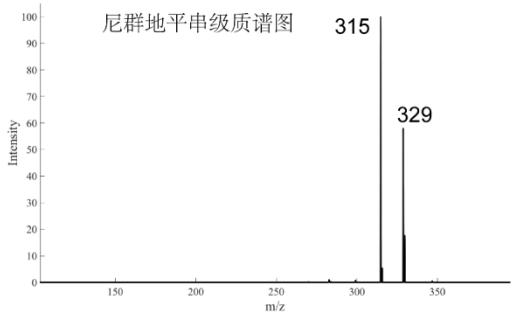

130
二甲双胍母离子隔离谱图
Intensity
m/z

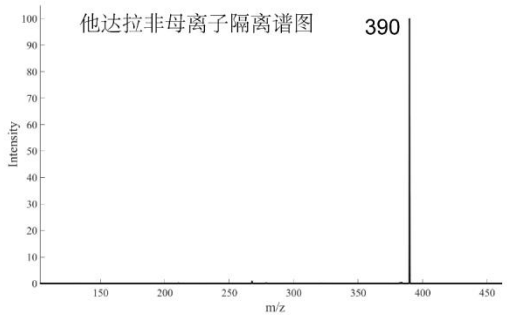

85
二甲双胍串级质谱图
113
60
Intensity
m/z

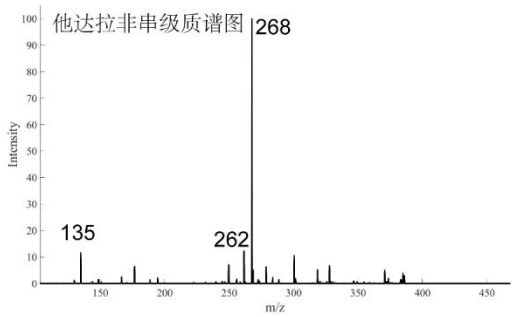

格列本脲母离子隔离谱图
495
Intensity
m/z

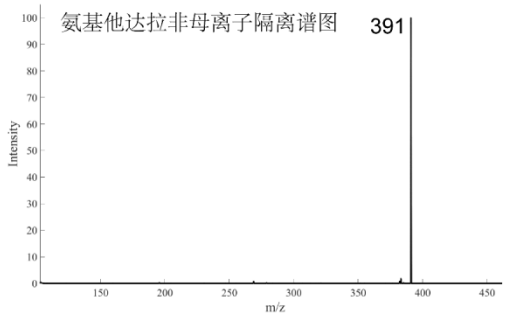

格列本脲串级质谱图
369
Intensity
m/z

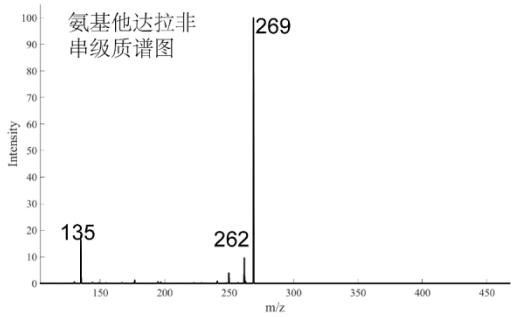

尼群地平母离子隔离谱图
361
Intensity
m/z

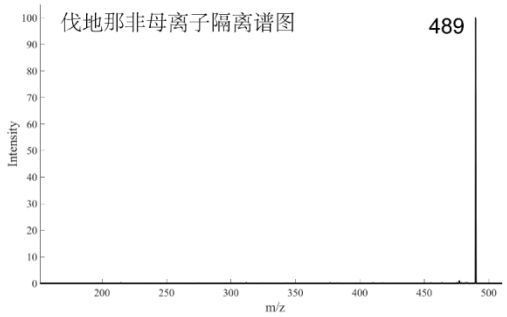

尼群地平串级质谱图
315
329
Intensity
m/z

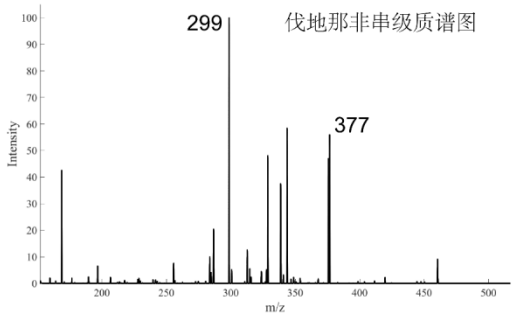

他达拉非母离子隔离谱图
390
Intensity
m/z

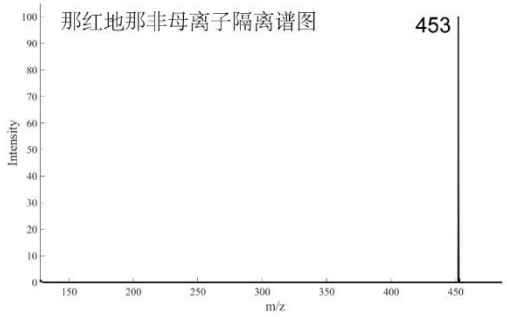

他达拉非串级质谱图
268
135
262
Intensity
m/z

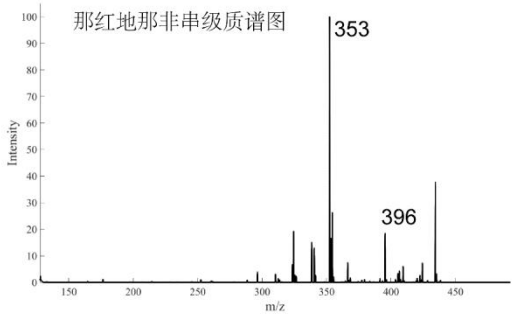

氨基他达拉非母离子隔离谱图
391
Intensity
m/z

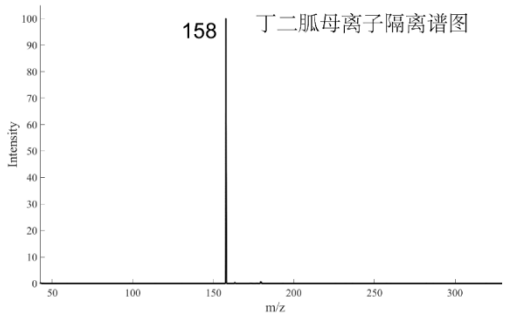

氨基他达拉非
串级质谱图
269
135
262
Intensity
m/z

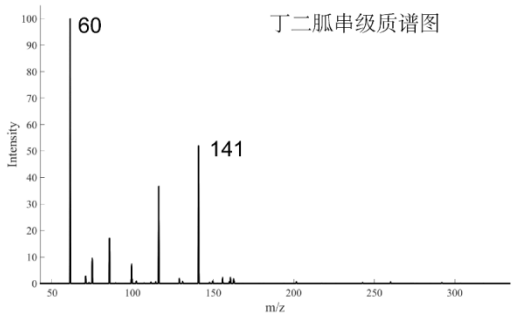

伐地那非母离子隔离谱图
489
Intensity
m/z

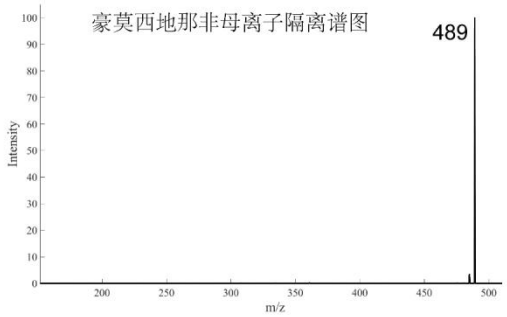

299
伐地那非串级质谱图
377
Intensity
m/z

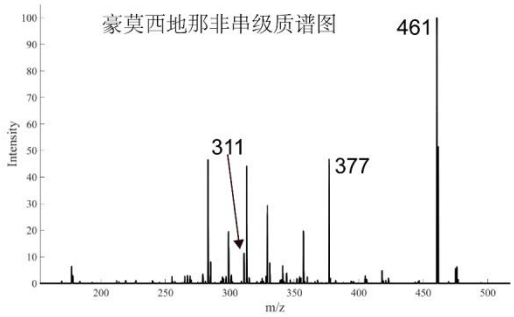

那红地那非母离子隔离谱图
453
Intensity
m/z


那红地那非串级质谱图
353
396
Intensity
m/z


丁二胍母离子隔离谱图
158
Intensity
m/z


丁二胍串级质谱图
60
141
Intensity
m/z


豪莫西地那非母离子隔离谱图
489
Intensity
m/z


豪莫西地那非串级质谱图
461
311
377
Intensity
m/z

附录 C

定性方法性能计算表

表 C.1 性能指标计算方法

样品情况 [a]	检测结果 [b]		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N21	N.2=N12+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异(x^2)	$\chi 2=(\lvert N12-N21\rvert-1)^2/(N12+N21)$, 自由度（df）=1		
灵敏度（p+，%）	p+=N11/N1.		
特异性（p-，%）	p-=N22/N2.		
假阴性率（pf-，%）	pf-=N12/N1.=100-灵敏度		
假阳性率（pf+，%）	pf+=N21/N2.=100-特异性		
相对准确度，%[c]	（N11+N22）/(N1.+N2.)		

注：

[a] 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果；

[b] 由待确认方法检验得到的结果，灵敏度的计算使用确认后的结果。

N：任何特定单元的结果数，第一个下标指行，第二个下标指列。例如：N11 表示第一行，第一列，N1.表示所有的第一行，N.2 表示所有的第二列；N12 表示第一行，第二列。

[C] 为方法的检测结果相对准确性的结果，与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。