TLC-NIRS 联用技术快速检测保健品中非法添加性保健类化学药物研究

张立军[1],贾建忠[3],张新玥[2],张转平[1*],谭华森[1],徐桂新[1],李小安[1],刘家佳[1]

[1]陕西省安康市食品药品检验检测中心,安康 725000;[2]北京中医药大学 中药学院,北京 100029;
[3]陕西省食品药品研究院,西安 710061

摘　要:建立保健品中非法添加性保健类化学药物薄层色谱(TLC)-近红外光谱(NIRS)检测模型,用于保健品中添加违禁化学药物快速定性定量分析。采用高效液相色谱(HPLC)建立违禁化学药物含量测定法,作为参考值。采用 TLC 法,以三氯甲烷-甲醇-氨水(10∶1∶0.1)为添加违禁化学药物的展开剂,紫外灯下检视标记,利用 NIRS 仪分别采集 TLC 上化学药物斑点的 NIRS,采用偏最小二乘法(PLS)结合交叉验证法分别建立化学药物最优定性定量分析模型,并进行模型验证。所建立的 HPLC 含量测定方法分离度好、线性范围宽、准确度高。建立的西地那非、那红地那非 TLC-NIRS 快速定性定量检测模型经方法学验证线性范围宽、专属性强、模型稳定性好、预测结果好。建立的西地那非、那红地那非 TLC-NIRS 定量分析模型的决定系数(R^2)、验证均方差(RMSECV)、预测均方差(RMSEP)分别为 0.984、0.085、0.081 和 0.982、0.098、0.087。应用 TLC-NIRS 模型在 10 批性保健品中检测出 9 批添加了西地那非,检出率 90%;西地那非、那红地那非含量预测值的平均相对偏差分别为 1.86%、1.96%。结果表明,建立 TLC-NIRS 定性定量分析模型通用性强、操作简便,可用于市场上保健品中非法添加上述性保健类化学药物快速检测,为保健品非法添加快速检测研究提供科学思路。

关键词:保健品;非法添加;薄层色谱-近红外光谱联用技术;高效液相色谱;性保健

中图分类号:R917;R979.2　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2021)9-1572-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.9.015

Determination of sex-enhancing drugs illegally added in health care products by TLC-NIRS combined technology

ZHANG Li-jun[1],JIA Jian-zhong[3],ZHANG Xin-yue[2],
ZHANG Zhuan-ping[1*],TAN Hua-sen[1],XU Gui-xin[1],LI Xiao-an[1],LIU Jia-jia[1]

[1]*Ankang Inspection and Detection Center of Food and Drug Control,Ankang 725000,China*;
[2]*Department of Chinese Medicine,Beijing University of Chinese Medicine,Beijing 100029,China*;
[3]*Shanxi Institute for Food and Drug Control,Xi'an 710061,China*

Abstract:To establish the detection model of sex-enhancing drugs illegally added by the thin layer chromatography (TLC) and near-infrared spectroscopy (NIRS) combined technology,for the rapid qualitative and quantitative analysis of drugs illegally added in health care products. With the content of chemical drugs in health care products determined by HPLC method as a reference value. TLC was used in the study. Trichloromethane-methyl alcohol-ammonium hydroxide (10∶1∶0.1) was used as developing solvent and the plate was detected under ultraviolet lamp. The NIR spectrum of chemical component spots on TLC were collected by NIRS. The rapid qualitative and quantitative model of chemical drugs was established by using the partial least squares regression analysis (PLS) combined with cross validation method. And validated for model. Established the HPLC analysis method with better separation degree and wide linear range. Established the TLC-NIRS analysis models of sildenafil and noracetildenafil with wide linear range,and the better stable and predicted results. The correlation coefficient (R^2),the root mean square error of calibration validation (RMSECV) and the root mean square error of prediction (RM-

收稿日期:2021-04-12　　接受日期:2021-07-19
基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2015SF286)
*通信作者 Tel:86-915-3210257;E-mail:changfengherb@163.com

天然产物研究与开发

SEP) were 0.984, 0.085 and 0.081; 0.982, 0.098 and 0.087, respectively. Using the TLC-NIRS model, 9 batches of in 10 batches of sex-enhancing products were detected to be added sildenafil and an unqualified rate of 90%, the average relative deviation of the content of sildenafil and noracetildenafil of predicted were 1.86%, 1.96%, respectively. The results showed that the TLC-NIRS analysis models can be used for above chemical components rapid determination in sex-enhancing products. The method with specific and simple. Which provided the ideas for rapid determination of added illegally drugs in health care products.

Key words: health care products; added illegally; TLC-NIRS; HPLC; sex-enhancing product

随着大众保健意识的日益增强,人们对保健品需求与日俱增,特别是标注中药类的保健品。保健品是保健食品的通俗说法,在国外称为膳食补充剂(dietary supplements)不属于药品范畴,具有调节人体机能,用于特定人群食用,但不以治疗疾病为目的[1]。面对高额利润诱惑,不法商贩在保健品中超剂量添加价格低廉、副作用明显的化学原料药增强产品功效,很大程度上扰乱了我国保健品市场,给国民身体健康造成了严重威胁,如 2009 年发生在新疆地区辅助降糖保健品“糖脂宁胶囊”中超剂量添加违禁化药格列本脲致多人死亡、2014 发生在山西省“纤纤减肥胶囊”因添加违禁化药西布曲明及西地那非致使多人出现不良反应甚至丧命、近些年来在保健品抽检评价中发现不法厂家在性保健品及中药保健制剂中添加超剂量的西地那非欺骗消费者,严重危害了消费者的健康[2,3];类似在性保健、降糖及减肥类保健品中超剂量添加违禁化药那非类、双胍类、呋塞米及酚酞等现象层出不穷,添加隐蔽性越来越高[4,5];在国外此类现象也时常发生[6]。这些影响面广、危害大的违法行为值得药监部门深思,开发市场快速抽检检测方法显得尤为重要。

目前用于中成药和保健品中非法添加化药的检测方法主要包括薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)[7]、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)[8]、液相色谱-质谱联用(liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS)[9]、气相色谱-质谱联用(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)[10]、离子迁移谱(ion mobility spectrometry, IMS)及拉曼光谱(raman spectrometry, RS)[11]等。在已报道的各种检测方法中,LC-MS、GC-MS 及 IMS 等技术研究相对较多,但由于仪器价格昂贵、操作复杂,不易推广,在经济发展相对落后的城市山区很难普及。TLC 为传统药品四大鉴别之一,具有快速、简便、分离效果好的特点,广泛应用于药品定性定量鉴别中,但缺点是必须要有相应对照品或对照药材[12,13]。近红外光谱(near infrared spectroscopy, NIRS)是近几年发展起来的,是以采集被检测物质在近红外谱区 C-H、O-H、S-H、N-H、C = C 及 C = O 等基团振动、转动吸收信息用于物质定性和定量分析,广泛应用于农业、石油、化工、烟草及食品中,目前已被逐步应用于制药与药监行业,在药品快速定性定量检测分析方面具有很大的发展潜力[14,15]。因此,本文预采用现有普及强的仪器与检验方法创建 TLC-NIRS 联用技术,以性保健品为例,建立一种通用性强的非法添加违禁性保健类化学药物定性定量检测模型,可以高效、快速、简便的用于市场保健品中添加违禁化学药物筛查与检测,降低检测成本。

1 仪器与试药

1.1 仪器

傅里叶变换 Tensor 37 NIR 光谱仪(德国 BRUKER 公司),OPUS 5.0 分析软件; LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司),LC Solution 色谱工作站; BS224S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司);硅胶 GF_{254} 薄层板(青岛海洋生物化工有限公司)。

1.2 试药

西地那非(510068-201401, 99.9%)、那红地那非(520039-201902, 96.5%)均购于中国食品药品研究院,结构见图 1。甲醇为色谱纯,水为超纯水,三氯甲烷、磷酸及氨水均为分析纯。保健样品为市场抽检样品。

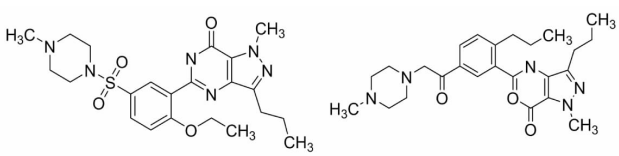

图 1 性保健类化学药物的结构

Fig. 1 Structures of sex-enhancing chemical drugs

2 方法与结果

2.1 对照品溶液与样品溶液制备

对照品溶液制备:分别取西地那非、那红地那非约 25 mg,精密称定,置于 5 mL 容量瓶中,加甲醇溶解配制成各约 5 mg/mL 的混合对照品储备溶液;再分别取西地那非、那红地那非约 5 mg,精密称定,置于 5 mL 容量瓶中,加甲醇溶解配制成各约 1 mg/mL 的单个指认对照品溶液。

样品溶液制备:分别取本品一次服用量,置 5 mL 量瓶中,加甲醇超声 30 min(100 W,56 kHz),冷却,加甲醇定容至刻度,过滤取续滤液。含量测定时,分别精密量取各样品溶液 1 mL 用流动相溶解定容至 25 mL,用 0.45 μm 滤膜滤过。由于阳性样品(检出添加违禁化学药物的保健品)中检出的各组成分质量浓度差异较大,可适当增加取样量或者适当稀释样液,使其最终质量浓度在线性范围内。

阳性样品溶液制备:由于那红地那非未抽到阳性样品,故取空白样品(黄精巴戟天胶囊,洛阳康体生物,检测结果为阴性)一次服用剂量,加入适当稀释的那红地那非对照品溶液,按样品溶液项下制备方法制备阳性样品溶液,使阳性样品溶液中那红地那非的质量浓度分别约为 5、7.5、10 mg/mL,每个质量浓度分别平行制备 4、3、3 份。

2.2 色谱条件与光谱条件

2.2.1 HPLC 色谱条件

采用 Phenomenex ODS C_{18}(250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱;45% 甲醇(A)-55% 的 0.3% 磷酸水溶液(B)为流动相洗脱 30 min;流速 1 mL/min,检测波长 290 nm;柱温 40 ℃;进样量 10 μL。

2.2.2 TLC 色谱条件

采用硅胶 GF_{254} 薄层色谱板,以三氯甲烷-甲醇-氨水(10∶1∶0.1)为展开剂展开、挥干,干燥器干燥 1 h 后,254 nm 紫外灯下检视标记(见图 2)。

图 2 性保健品 TLC 色谱图

Fig. 2 The TLC of sex-enhancing products

注:1. 那红地那非;2. 西地那非;3 ~ 12. 样品溶液。Note:1. Noracetildenafil;2. Sildenafil;3-12. Sample solution.

2.2.3 NIRS 采集条件

采用 BRUKER NIR 固体光纤探头测量,波数范围 12 000 ~ 4 000 cm^{-1},扫描次数 64 次,分辨率为 16 cm^{-1},温度 10 ~ 30 ℃,湿度 35% ±5%,以空白硅胶 GF_{254} 薄层板作为参比,扣除背景采集光谱图,每个化学成分斑点平行测定 5 次,保存 NIRS 信息。

2.3 HPLC 含量测定方法建立

2.3.1 线性关系考察

精密吸取混合对照品储备溶液(西地那非 5.25 mg/mL;那红地那非 5.15 mg/mL)2.0 mL 加甲醇定容至 10 mL,再分别精吸取 0.25、0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,用流动相溶解分别定容至 5 mL,摇匀。按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,测定峰面积,以各成分峰面积为纵坐标(Y),对照品质量浓度为横坐标(X)计算回归线方程:西地那非为 $Y = 3 \times 10^6 X$-36 606,r = 0.998 9,线性范围 0.052 5 ~ 1.05 μg;那红地那非为 $Y = 1 \times 10^6 X$-3 184.4,r = 0.999 9,线性范围 0.051 5 ~ 1.03 μg,结果表明上述对照品在各自线性范围内具有良好的线性。

2.3.2 精密度、稳定性、重复性及回收率试验

分别取“2.3.1”项下混合对照品溶液以及取空白样品(黄精巴戟天胶囊,洛阳康体生物,检测结果为阴性)按“2.1”项下方法平行制备 6 份含西地那非和那红地那非的样品溶液。按“2.2.1”项下色谱条件,精密度取混合对照品溶液连续进样 6 次;稳定性取其中一份制备样品溶液分别于 0、3、6、9、12、24 h 进样;重复性与回收率取 6 份平行制备样品溶液,每份进样一次,分别测定西地那非、那红地那非的峰面积,计算回收率及其 RSD 值。结果西地那非和那红地那非的平均回收率分别为 100.16%、

天然产物研究与开发

100.49%;RSD 值均小于 3%($n=6$),表明仪器的精密度良好、样品溶液在 24 h 内稳定、该法具有较好的回收率及良好重复性。

2.3.3　含量测定

精密吸取各样品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,每批测定 3 次,记录峰面积,计算含量。结果显示,在 10 批性保健样品中,9 批检出添加了违禁化学药物西地那非,添加剂量差异很大,检出率 90%,结果见表 1 和见图 3。

表 1　10 种性保健品中非法添加化学药物的检测结果($n=3$)

Table 1　Determination results of substances illegally added in 10 sex-enhancing products ($n=3$)

样品 Sample	生产厂家 Manufacturer	取样量 Sample weight	含量 Content(mg/time)
金枪不倒	西藏唐古拉神威生物	1×0.88 g/粒	50.78 ± 1.15
虫草藏秘丸	香港迪奥生物	2×0.38 g/丸	118.89 ± 1.86
虫草王藏秘丸	西藏双龙生物	1×0.50 g/粒	36.02 ± 1.01
德国魔棒	海南宝益康生物	2×1.60 g/粒	77.27 ± 1.26
早泄克星	香港紫光生物	1×0.98 g/粒	77.48 ± 1.31
蚁力神	香港天龙生物	1×1.68 g/粒	52.48 ± 1.14
超级伟哥	USA Habitat	2×0.20 g/粒	5.76 ± 0.72
A 爵	香港康思堂生物	2×0.50 g/粒	51.20 ± 1.13
玛卡果	西安鸿升药业	2×0.50 g/粒	123.23 ± 2.02
黄精巴戟天胶囊	洛阳康体生物	2×0.30 g/粒	Not detected

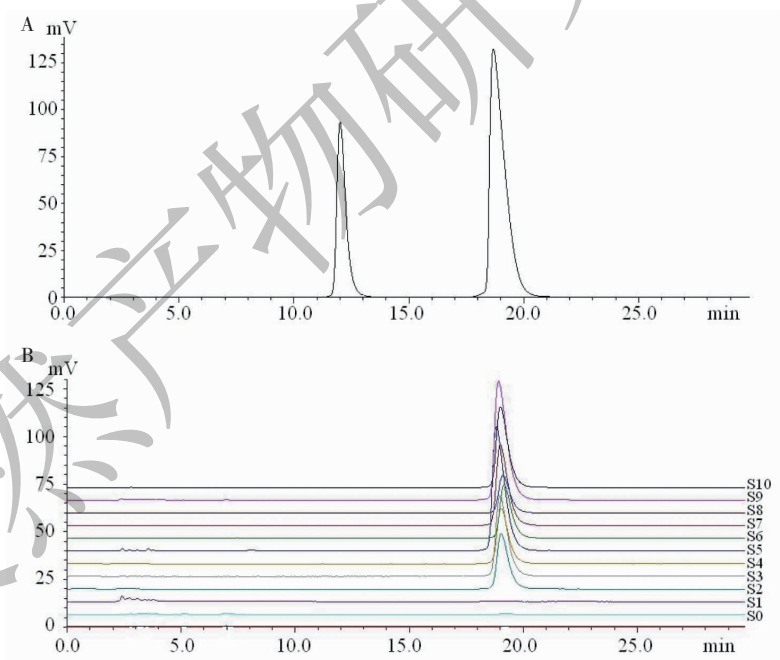

图 3　10 种性保健品 HPLC 色谱图

Fig. 3　HPLC of 10 sex-enhancing products

注:A. 混合对照品;B. 空白(S0)与样品(S1~S10)。Note:A. Mixed reference substances;B. Blank(S0) and samples (S1-S10).

2.4　性保健类化学药物 TLC-NIRS 定性模型建立

2.4.1　图谱信息采集

按“2.2.3”项下条件分别采集 TLC 薄层板上展开后经指认的对照品斑点 NIRS。混合对照品溶液点样体积分别为 1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 μL,样品溶液点样体积分别为 2、5、10 μL,混

天然产物研究与开发

合对照品和样品不同点样体积下的每个对照品斑点分别采集5次,NIRS叠加图见图4。实验中选取混合对照品不同点样体积下的光谱图作为校正集,样品不同点样体积下光谱图作为验证集,保证验证集图谱信息处于校正集图谱信息范围之内。

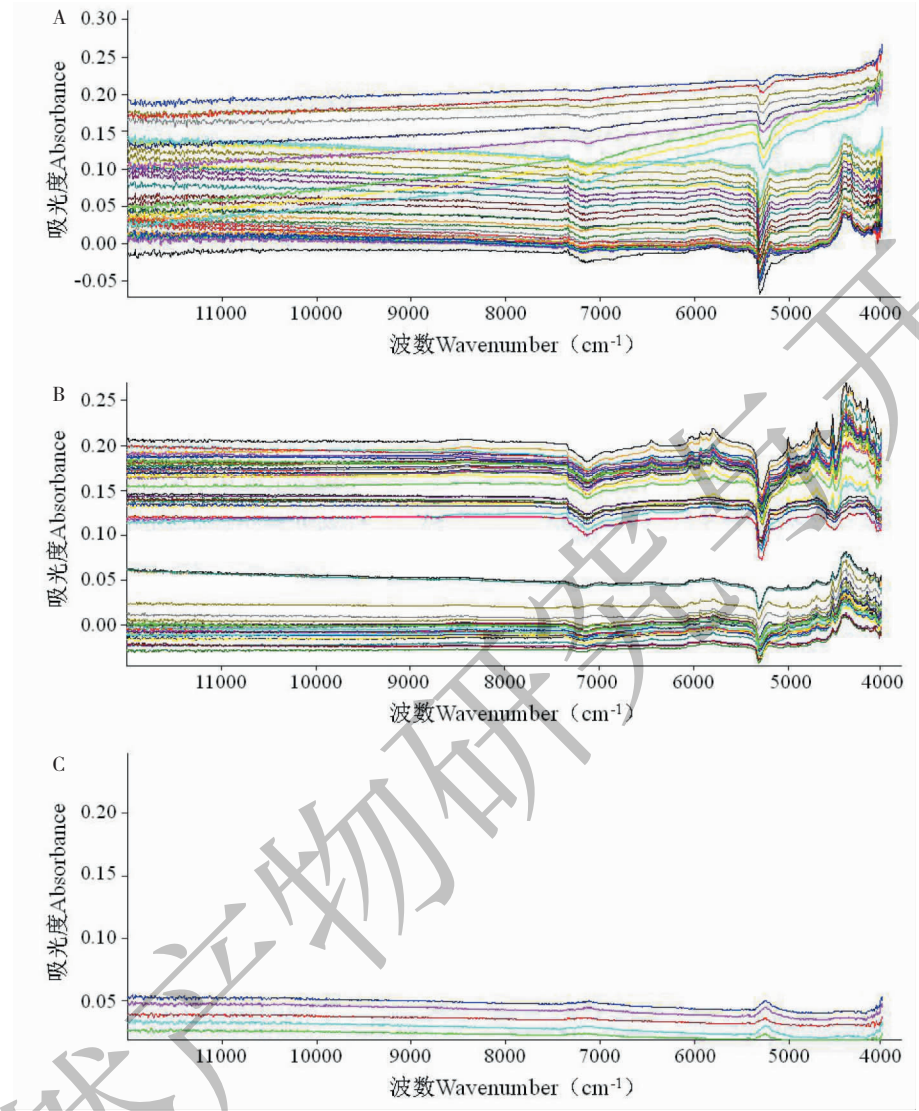

图4 化学药物的NIR原始光谱叠加图

Fig. 4 Original NIR spectra of chemical drugs

注:A. 西地那非;B. 那红地那非;C. 空白硅胶。Note: A. Sildenafil; B. Noracetildenafil; C. Blank silica gel.

2.4.2 模型建立

研究采用NIR光谱仪自带的OPUS软件对每个对照品光谱进行预处理。由于化学成分光谱信息受到外界噪声、基线漂移、光散射、背景信号及温湿度等影响,因此研究采用多散射校正(multiplication signal correction, MSC)、矢量归一化法(vector normalization, VN)、最小最大归一化(minimum maximum normalization, MMN)、消除常数偏移量(constant offset elimination, COE)、一阶导数(first derivative, FD)、二阶导数(second derivative, SD)及平滑点数(smoothing points, SP,平滑点数5、7、9、13、17、21、25)的过滤组合法处理光谱中存在的无用信息,提高模型判别准确度,以校正集样品判错数为指标(见表2)。

在原始光谱预处理基础上,使用光标交互式选择差别较大的谱区范围;采用标准算法-欧氏距离(standard, STD)与因子化法-因子数目(factorization, FC)计算分析方法;设置阈值(0.25)与置信水平

天然产物研究与开发

表 2 光谱预处理结果

Table 2 Results of spectral pretreatment

对照品信息 Reference substance	预处理方法 Pretreatment method	判错数 Misjudgment number
西地那非 Sildenafil	MSC + SD + VN + SP	3
	MSC + FD + VN + SP	7
	MSC + SD + SP	8
	MSC + FD + SP	9
	MSC + VN + SP	10
那红地那非 Noracetildenafil	MSC + FD + SP	4
	MSC + SD + VN + SP	8
	MSC + FD + VN + SP	8
	MSC + SD + SP	9
	MSC + VN + SP	11

(95% ~99.999 9%),结合 OPUS 软件优化及交互式手动优化,综合考虑选择最佳建模谱区及计算方法,以 100% 识别结果为考察指标,最终保证所有样品均被唯一被识别"uniquely identified"(见表 3)。

表 3 优选模型数据

Table 3 Optimization model of data

对照品信息 Reference substance	唯一识别 Uniquely identified(%)	谱区选择 Select band (cm^{-1})	计算方法 Calculation method	平滑点数 Smoothing point	预处理方法 Pretreatment method
西地那非 Sildenafil	100%	7 482.6 ~6 819.2;6 132.7 ~5 581.1;5 500.1 ~4 643.8	FC(1-4)	17	MSC + SD + VN
那红地那非 Noracetildenafil	100%	7 621.5 ~6 803.8;6 259.9 ~5 608.1;5 527.1 ~4 686.3	STD	5	MSC + FD

2.4.3 模型验证

为检测定性模型的预测性能,对建立的定性模型进行内部验证和外部验证,内部验证采用校正光谱对所建模型进行评价验证。外部验证采用建模外的 10 批样品进行外部验证。验证结果显示,西地那非与那红地那非的内部验证及 10 批样品外部验证准确度均为 100%,表明所建立的 TLC-NIRS 定性模型可以用于性保健品中添加上述违禁化学药物的快速检查。

2.5 性保健类化学药物 TLC-NIRS 定量模型建立

2.5.1 精密度、稳定性及重复性试验

取"2.1"项下混合对照品溶液,平行点样 6 份,点样体积 5 μL,按"2.2.2"项下色谱条件展开、挥干。干燥后,按"2.2.3"项下条件分别采集 TLC 上西地那非及那红地那非对照品斑点 NIRS,精密度试验分别连续采集 6 次;重复性试验每个斑点分别采集 1 次;稳定性试验每隔 2 h 分别采集一次,得各自 NIRS,对所得谱图进行相似度比较。结果其相似度值均大于 95.00%,说明仪器精密性的良好、对照品斑点在 24 h 内具有较好的稳定性、该法具有良好的重复性。

2.5.2 最低识别浓度

取"2.1"项下混合对照品溶液,进行系列稀释。点样体积 5 μL,按"2.2.2"项下色谱条件展开、挥干。干燥后,按"2.2.3"项下条件分别采集 TLC 上各个对照品斑点光谱图,记录其 NIRS 图谱。采用主成分分析法(principal components analysis,PCA)分别对每个对照品光谱进行聚类分析,统计对照品不同浓度间差异情况,按马氏距离大于 3.0 的浓度判定为最低识别浓度。同时对每个对照品最低识别浓度 NIRS 进行相似度分析,结果显示相似度均低于 50.00%。分别得到西地那非、那红地那非对照品的最低识别浓度为 0.525、0.515 μg/μL。不同点样浓度对 TLC-NIRS 的影响(见图 5)。

天然产物研究与开发

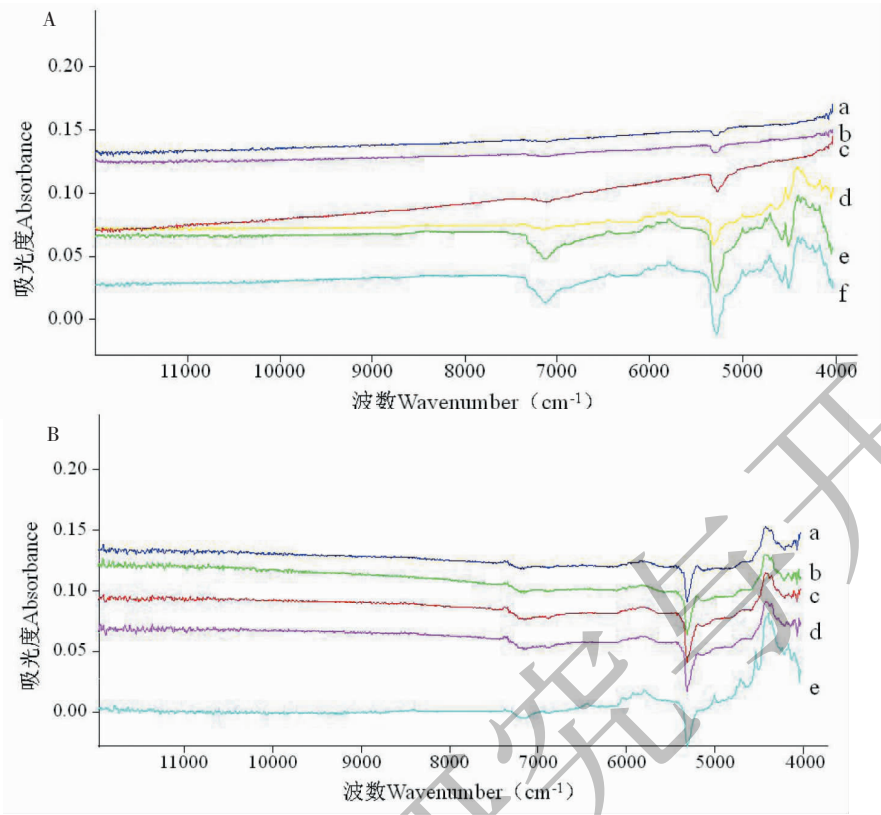

图 5　西地那非与那红地那非浓度对其 TLC-NIRS 的影响

Fig. 5　Influence of different concentration of sildenafil and noracetildenafil on the TLC-NIRS

注：A. Sildenafil：a. 0.525 μg/μL、b. 1.050 μg/μL、c. 2.625 μg/μL、d. 5.250 μg/μL、e. 10.50 μg/μL、f. 26.25 μg/μL；B. Noracetildenafil：a. 0.515 μg/μL、b. 1.030 μg/μL、c. 2.575 μg/μL、d. 5.150 μg/μL、e. 25.75 μg/μL。

2.5.3　NIRS 的采集与预处理

NIRS 的采集同“2.4”定性模型项下，采用 OPUS 软件对上述 NIRS 进行预处理、光谱波段区间的选择与优化、主因子数选择。通过偏最小二乘法（partial least square，PLS）和交叉检验法分别建立每个对照品的定量模型，以决定系数（correlation coefficient，R^2）、验证均方差（root mean square error of cross-validation，RMSECV）和相对分析误差（RPD）为考察指标对建模效果进行评价。一般认为 R^2 越接近 1，RMSECV 越小，模型的准确度和预测效果越好，当 RPD > 2.5，则认为所建模型可以满足分析要求[16,17]。西地那非、那红地那非光谱预处理方法及光谱最佳谱区（见表 4）。

表 4　不同预处理方法与光谱区段对模型的影响

Table 4　Effects of different spectra pretreatments and spectral section on the models

对照品信息 Reference substance	预处理方法 Pretreatment method	谱区选择 Select band (cm^{-1})	主因子数 Factor number	R^2	RMSECV	RPD
西地那非 Sildenafil	MMN	7 501.7 ~ 5 350.6；4 701.0 ~ 4 404.0	10	0.984	0.085	2.633
	MMN	5 453.8 ~ 4 597.6	7	0.815	0.135	1.91
	VN	7 501.9 ~ 4 597.6	6	0.782	0.136	1.85
那红地那非 Noracetildenafil	COE	7 501.9 ~ 5 450.6；4 601.0 ~ 4 414.0	7	0.982	0.098	2.820
	COE	5 152.7 ~ 4 415.0	5	0.816	0.141	1.86
	MMN	7 501.9 ~ 4 420.0	6	0.756	0.151	1.67

天然产物研究与开发

2.5.4　定量模型建立

采用上述最佳光谱预处理方法、谱区范围及主因子数建立性保健类化学药物定量分析模型,其中西地那非、那红地那非预测的 R^2 分别为 0.984、0.982,均大于 0.85;其 RMSECV 分别为 0.085、0.098,均为各自模型随变量变化的最小值,推测上述预测模型拥有较好的预测能力。为了检验所建模型的预测效果,对验证集样品相应化学成分进行了预测,结果显示预测值与实测值之间有良好的线性关系,结果见图 6。说明可以通过 TLC-NIRS 模型对保健品中添加违禁性化学药物进行快速定量分析,各模型的预测范围、R^2、RMSECV 及 RMSEP 指标(见表 5)。

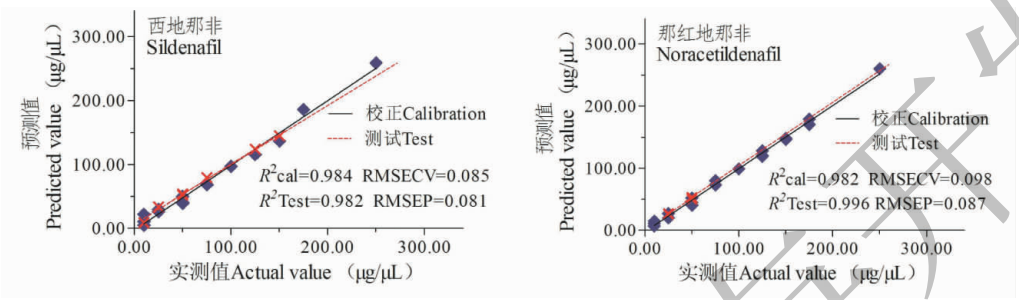

图 6　保健品中化学药物的 TLC-NIRS 定量检测模型

Fig. 6　TLC-NIRS quantitative model of chemical drugs in health products

表 5　保健品中化学药物含量的 TLC-NIRS 检测模型

Table 5　TLC-NIRS quantitative model of chemical drugs in health products

预测成分 Predicted ingredient	预测范围 Predicted range(μg/μL)	R^2	RMSECV(%)	RMSEP(%)
西地那非 Sildenafil	5.25~262.5	0.984	0.085	0.081
那红地那非 Noracetildenafil	5.15~257.5	0.982	0.098	0.087

2.5.5　模型验证与应用

利用上述模型分别对 10 批性保健样品和 10 批自制的那红地那非样品进行检验。TLC-NIRS 模型预测结果与 HPLC 含量测定结果相一致,西地那非与那红地那非的预测值和实测值之间的 R^2 分别为 0.982、0.996(见图 6);经计算 9 批性保健样品预测值的平均相对偏差为 1.86%,10 批自制那红地那非样品预测值的平均相对偏差为 1.96%,表明模型预测结果准确可靠(见表 6)。

表 6　10 批性保健品的 TLC-NIRS 模型预测值

Table 6　TLC-NIRS predicted values of 10 sex-enhancing products

样品 Sample	实测值 Actual value (mg/time)	预测值 Predicted value (mg/time)	绝对偏差 Absolute deviation (mg/time)	相对偏差 Relative deviation(%)	平均相对偏差 Mean relative deviation(%)
金枪不倒	50.78	52.36	1.58	1.53	1.86
虫草藏秘丸	118.89	127	8.11	3.30	
虫草王藏秘丸	36.02	33.06	2.96	4.28	
德国魔棒	77.27	79.35	2.08	1.33	
早泄克星	77.48	78.02	0.54	0.34	
蚁力神	52.48	54.01	1.53	1.44	
超级伟哥	5.76	6.06	0.30	2.51	
A 爵	51.20	53.26	2.06	1.97	

天然产物研究与开发

续表 6(Continued Tab. 6)

样品 Sample	实测值 Actual value (mg/time)	预测值 Predicted value (mg/time)	绝对偏差 Absolute deviation (mg/time)	相对偏差 Relative deviation(%)	平均相对偏差 Mean relative deviation(%)
玛卡果	123.23	123.39	0.16	0.07	
黄精巴戟天胶囊			未检出(Not detected)		
黄精巴戟天(自制)	25.75	23.35	2.40	4.89	1.96
黄精巴戟天(自制)	25.75	27.86	2.11	3.94	
黄精巴戟天(自制)	25.75	26.76	1.01	1.92	
黄精巴戟天(自制)	25.75	26.86	1.11	2.11	
黄精巴戟天(自制)	38.63	39.35	0.73	0.93	
黄精巴戟天(自制)	38.63	36.91	1.72	2.27	
黄精巴戟天(自制)	38.63	38.80	0.17	0.23	
黄精巴戟天(自制)	51.50	52.01	0.51	0.49	
黄精巴戟天(自制)	51.50	50.36	1.14	1.12	
黄精巴戟天(自制)	51.50	53.33	1.83	1.75	

3 结论

本研究首次创建 TLC-NIRS 联用技术,是因为 TLC 为经典的传统鉴别分析法,具有操作简便、普及性强等优点[12]。TLC 对样品处理自由空间大,针对可能添加的违禁化学药物可选择不同提取溶剂,很好的避免不同厂家产品因辅料不同对 NIRS 的影响;TLC 可选材料较多,如硅胶、氧化铝、聚酰胺等,展开剂可选不同极性试剂,以适用不同种类化学成分分离分析。同时,还可以采用不同的展开系统进行双向展开,具有较好的分离效果[12,13],可以很好提高 NIRS 采集化学物药物信息的准确率。NIRS 为近些年发展起来快速分析仪器,具有操作简便、分析速度快、无化学污染等特点[14]。本文结合了各自优点首次创建了 TLC-NIRS 联用技术,并对此方法进行了系统方法学考察。建立了保健品中添加违禁化学药西地那非、那红地那非快速定性定量分析模型,经验证集样品进行模型验证与评价,定性模型可以较好判断保健品中是否添加上述违禁化学药物,判断正确率 100%;定量模型可以较准确的预测出添加西地那非、那红地那非的含量,含量预测范围宽,分别为 5.25 ~262.5、5.15 ~257.5 μg/μL,在 10 保健品预测结果中平均相对偏差分别为 1.86%、1.96%,其预测结果均达到较好的效果,能够满足实际快检的需要。在实际工作中应用 TLC-NIRS 联用技术破获多批添加超剂量违禁化药西地那非的性保健品。

本研究选用那非类化药作为研究对象,因在性保健产品中那非类化药效果确切、价格低廉且易获得,是不法厂家首选的添加对象[3]。此外,此类性保健化药要达到预期效果,有效剂量为 50 ~ 100 mg/次,长期超剂量服用会造成严重的肝肾损伤及永久性性丧失等风险[18]。采用 TLC-NIRS 模型预测性保健品中是否添加那非类化药具有一定的可行性与研究价值。

本文利用目前实验平台上已有的分析技术及仪器进行组合联用,应用到实际药检中具有很好的效果。开发的 TLC-NIRS 联用技术,在面对保健品生产企业质量参差不齐、生产品种繁多、辅料来源难统一、非法添加严重等问题方面具有很好的应用前景。此联用技术应用理论与实践研究为开发 TLC-NIRS 联用仪器设备提供了科学依据。

参考文献

1 Conroy DM, Gan C, Errmann A, et al. Fortifying wellbeing: How Chinese consumers and doctors navigate the role of functional foods[J]. Appetite, 2021, 12: 105296.

2 Chen HZ, Gong JH. Innovating the concept of drug supervision and sampling inspection to crack down on illegal activities of illegally adding chemical substances in traditional Chinese medicine preparations[J]. Qilu Pharm Affairs(齐鲁药事), 2009, 28: 324-326.

3 Li K, Guo CC, Shi F, et al. Research progress in determination technologies for adulterated phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors and their analogue in invigorant herbal medicines and dietary supplements[J]. Chin J Pharm Anal(药物

天然产物研究与开发

分析杂志),2018,38:566-574.

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 J New Drugs(中国新药杂志),2015,24:1843-1850.

5 Magdalene HY,Tang Sammy PL,Chen Sau W,et al. Case series on a diversity of illicit weight-reducing agents:from the well known to the unexpected[J]. British J Clin Pharm,2011,71:250-253.

6 Kojima A,Sato Y,Chiba T,et al. Notable adverse events associated with concomitant use of health foods and drugs derived from the analysis of HFNet data on the safety and effectiveness ofhealth foods[J]. J Food Hyg Soc Jpn,2018,59(2):80-88.

7 Zhang YF,Zhou J,Ren Z,et al,Test of thirteen red pigments in Carthami Flos and Stigma Croci by TLC and HPLC-DAD[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志),2020,40:1624-1631.

8 He CL,Bai YQ,Lei LJ,et al. Determination of four components in Mongolian Medicine Sanzisan by quantitative analysis of multi-components via single marker method[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2017,29:805-809.

9 Ding BY,Tu JH,Xue LB,et al. Rapid determination of 34 chemicals illegally added into Chinese patent medicines and health foods with blood pressure lowering function by UPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2015,46:688-696.

10 Li T,Zhu XH,Lin F. GC-MS determination of chemical drugs added illegally in Chinese patent medicine and health food[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志),2010,30:2212-2215.

11 Wu GP,Zhou YH,Cao CX,et al. Detection of pioglitazone and rosigitazone illegally added in health carefoodstuffs by nano-gold surface-enhanced[J]. Phys Test Chem Anal(Part B:Chem Anal)(理化检验-化学分册),2019,55:1211-1223.

12 Wang Y,Zhu RH,Chen H. Thin layer chromatography and its development[J]. Univ Chem(大学化学),2006,10(3):34-40.

13 Kang TG. TLC Identification of Chinese Patent Medicines(中成药薄层色谱鉴别)[M]. Beijing:People's Medical Publishing House,1995:56-60.

14 Liu JX. Modern Near Infrared Spectroscopy Analysis Technology(现代近红外光谱分析技术)[M]. Beijing:Science Press(科学出版社),2008:102-106.

15 Bai G,Ding GY,Hou YY,et al. Rapid identification and evaluation of Chinese materia medica quality by near infrared spectroscopy[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2016,41:3501-3505.

16 Veselá AK,Barros AS,Synytsya A,et al. Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat,nitrogen,and moisture of cocoa powder[J]. Anal Chim Acta,2007,601(1):77-86.

17 Agussabti A,Rahmaddiansyah A,Satriyo P,et al. Data analysis on near infrared spectroscopy as a part of technology adoption for cocoa farmer in Aceh Province,Indonesia[J]. Data Brief,2020,29:105251.

18 Li YY,Xu SM,Zhou WZ,et al. Bioequivalence of two kinds of sildenafil tablets inhealthy volunteers[J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志),2020,39(2):102-107.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社

天然产物研究与开发