

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)04-0085-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.04.020



# 超高效液相色谱串联线性离子阱质谱法检测减肥类产品中 *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺\*

方韵<sup>1</sup>, 贾昌平<sup>1</sup>, 张萍<sup>2</sup>, 张斌<sup>1△</sup>

(1. 江苏省苏州市药品检验检测研究中心, 江苏 苏州 215000; 2. 安徽省芜湖市食品药品检验中心, 安徽 芜湖 241006)

**摘要:**目的 建立减肥类产品(含中成药、保健食品及食品)中*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺的检测方法。方法 采用超高效液相色谱串联线性离子阱质谱法, 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC®HSS T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸-甲醇(梯度洗脱), 流速为 0.3 mL/min, 检测波长为 215 nm, 柱温为 30  $^{\circ}$ C, 进样量为 1  $\mu$ L; 电喷雾离子源、正电子模式(ESI<sup>+</sup>)。根据保留时间及离子对进行定性分析; 利用多反应监测模式(MRM)拟合标准曲线, 计算检出*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺的含量。结果 *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺质量浓度在 0.1~50 ng/mL 范围内与定量离子对峰面积线性关系良好( $r=1.0000$ ); 检测限为 0.4 ng/g, 定量限为 1.2 ng/g; 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3.0%; 平均加样回收率为 109.67%, RSD 为 5.46% ( $n=9$ )。结论 该方法可特异、快速地检出减肥类产品中添加的*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺, 从而可应用于大批量样品的筛查与确证。

**关键词:**超高效液相色谱法; 线性离子阱质谱法; 非法添加; *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺; 定性检测; 定量检测; 减肥类产品; 中成药; 保健食品; 食品

## Detection of *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)Phenyl]-2-Propanyl}-1-Butanamine in Products for Weight Loss by UPLC-QTRAP-MS/MS

FANG Yun<sup>1</sup>, JIA Changping<sup>1</sup>, ZHANG Ping<sup>2</sup>, ZHANG Bin<sup>1</sup>

(1. Suzhou Institute for Drug Control, Suzhou, Jiangsu, China 215000; 2. Wuhu Institute for Food and Drug Control, Wuhu, Anhui, China 241006)

**Abstract: Objective** To establish a method for the detection of *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine in the products for weight loss (including Chinese patent medicines, health food and food). **Methods** Ultra-high performance liquid chromatography tandem triple-quadrupole linear ion-trap mass spectrometry (UPLC-QTRAP-MS/MS) method was adopted. The chromatographic column was Waters ACQUITY UPLC®HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), the mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution-0.1% formic acid-methanol (gradient elution), the flow rate was 0.3 mL/min, the detection wavelength was 215 nm, the column temperature was 30  $^{\circ}$ C, and the injection volume was 1  $\mu$ L. The electro-spray ionization with positive mode (ESI<sup>+</sup>) was adopted. Qualitative analysis was conducted based on the retention time and ion pairs. The standard curve was fitted by the multiple reaction monitoring (MRM) mode, and the content of detected *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine was calculated. **Results** The linear range of *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine was 0.1-50 ng/mL ( $r=1.0000$ ). The limit of detection was 0.4 ng/g, and the limit of quantification was 1.2 ng/g. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 3.0%. The average recovery rate of *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine was 109.67%, with an RSD of 5.46% ( $n=9$ ). **Conclusion** The method can detect *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine specifically and rapidly in the products for weight loss, which can be used to the screening and confirmation of a large quantity of samples.

**Key words:** UPLC; QTRAP-MS/MS; illegal addition; *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine; qualitative detection; quantitative detection; product for weight loss; Chinese patent medicine; health food; food

随着社会的发展,越来越多的人关注健康,减肥类产品也愈加受关注<sup>[1-2]</sup>,但其中非法添加药物成分的情况也较常见。目前,市场上减肥类中成药及(保健)食品中添加的违禁成分主要有芬氟拉明、西布曲明等<sup>[3-4]</sup>。

芬氟拉明化学名为*N*-乙基- $\alpha$ -甲基-3-三氟甲基苯乙胺,属苯丙胺类食欲抑制剂<sup>[5]</sup>,不合理使用可能引起心脏瓣膜疾病、神经系统损伤、急性肾衰竭等<sup>[4,6-7]</sup>。国家法定检验标准(如《国家食品药品监督管理局药品

\*基金项目:安徽省药品监督管理局科技创新项目[AHYJ-KJ-202012]。

第一作者:方韵,女,硕士,副主任药师,研究方向为药品、化妆品等的检测,(电子信箱)32315503@qq.com。

△通信作者:张斌,男,硕士,副主任药师,研究方向为药品、化妆品等的检测,(电子信箱)112467994@qq.com。

检验补充检验方法和检验项目》均已收载芬氟拉明的检测方法,并列为禁用成分。*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺( $C_{14}H_{20}F_3N$ )为芬氟拉明的修饰物,也需防止其出现在减肥类产品中。目前尚未见常用方法<sup>[8-11]</sup>检测*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺的报道。鉴于此,本课题组拟建立超高效液相色谱串联线性离子阱质谱法检测减肥类产品中非法添加的该成分,以为相关产品的监管提供技术支撑。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-30A型超高效液相色谱仪,含二极管阵列检测器(日本Shimadzu公司);ABSCIEX QTRAP® 6500+线性离子阱质谱仪(美国AB SCIEX公司);KQ-300DA型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q纯水系统(美国Millipore公司);XS205DU型电子天平(梅特勒-托利多仪器<上海>有限公司,精度为0.1 mg)。

### 1.2 试剂

*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺对照品(加拿大TRC公司,批号为5-TJS-159-2,含量100%);甲醇和甲酸均为质谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。减肥类产品样品(10批,包括中成药2批,保健食品7批,食品1批,均为苏州市药品检验检测研究中心抽样所得,批号依次为170518,不详,170602,不详,181102,不详,20210502,19079890,150402,171029,记为样品A-J)。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Waters ACQUITY UPLC®HSS T3柱(100 mm × 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m);流动相为0.1%甲酸溶液(A)-0.1%甲酸水溶液-甲醇(B),梯度洗脱(0~1 min时30%B, 10~10.2 min时75%B → 95%B, 12~12.2 min时95%B → 30%B);流速为0.3 mL/min;检测波长为215 nm;柱温为30 °C;进样量为1  $\mu$ L。

质谱条件:电喷雾电离离子源、正离子模式(ESI<sup>+</sup>);脱溶剂气为氮气(N<sub>2</sub>);去溶剂气温度为550 °C;监测模式为正离子模式;离子化电压为5 500 V;喷雾气压力(Gas<sub>1</sub>)为55 psi;辅助加热气压力(Gas<sub>2</sub>)为55 psi;多反应监测模式(MRM)、二级质谱(MS<sup>2</sup>)采集模式;气帘气压25 psi;碰撞气为Medium。化合物离子对参数:母离子 *m/z* 260.2, 去簇电压60 V, MRM离子对 *m/z* 260.2/187.1及260.2/159.1(定量离子对),碰撞电压20, 25, 30 V, MS<sup>2</sup>碎片 *m/z* 187.1, 159.1, 109.1, 74.1, 57.2。

### 2.2 溶液制备

取*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺对照品约10 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,配成质量浓度约为100  $\mu$ g/mL的对照品贮备液;取适量,用甲醇逐级稀释,配成质量浓度约为10 ng/mL的对照品溶液。取一次服用量的样品,精密称定,置100 mL容量瓶中,加甲醇70 mL,涡旋1 min,室温水浴超声(功率300 W,频率40 kHz)提取30 min,放冷至室温,加甲醇定容,混匀,13 000 r/min离心5 min,取上清液,即得阳性、阴性供试品溶液。以甲醇为空白对照品。

### 2.3 质谱行为分析

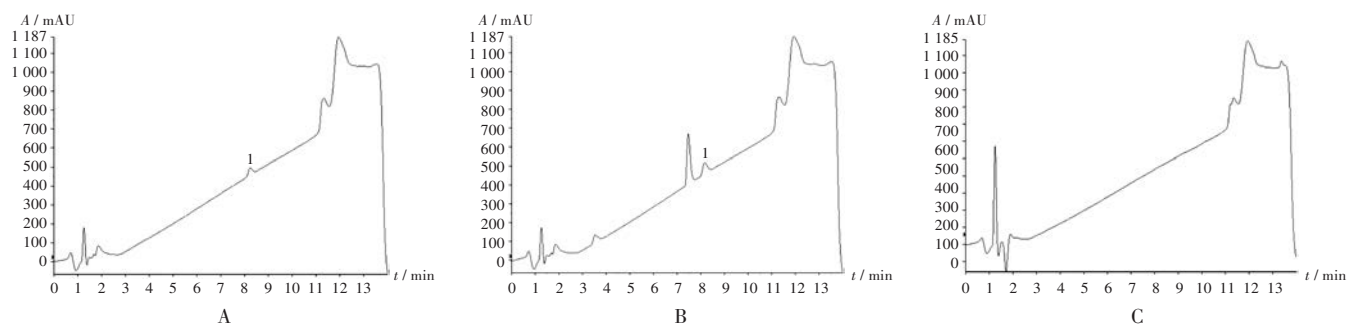
取2.2项下对照品溶液及供试品溶液,采用超高效液相色谱串联线性离子阱质谱法进行定性筛查,按2.1项下试验条件进样测定,采集空白对照品、供试品和对照品色谱图,如出现与对照品保留时间一致的色谱峰,且紫外吸收光谱均一致,其质谱一级母离子和二级主要子离子质量数均相同,主要子离子的相对丰度比接近(相对离子丰度 $\leq 10\%$ ,  $> 10\% \sim 20\%$ ,  $> 20\% \sim 50\%$ ,  $> 50\%$ 时,允许的最大偏差分别为 $\pm 50\%$ ,  $\pm 30\%$ ,  $\pm 25\%$ ,  $\pm 20\%$ )。以上要求若同时满足,则确定样品中添加了*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺,利用MRM模式建立标准曲线进行含量测定;任意一条不满足,则确定未添加*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺。

### 2.4 方法学考察

系统适用性试验及专属性试验:取2.2项下对照品溶液、阳性供试品溶液、空白对照品溶液各适量,按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图。结果阳性供试品溶液色谱图中,与对照品溶液色谱中各成分峰保留时间一致,峰形良好,且空白对照无干扰。详见图1、图2。

线性关系考察:精密吸取2.2项下的对照品贮备液适量,加甲醇稀释,配制成质量浓度分别为0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 ng/mL的系列对照品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,采集质谱数据,以质量浓度(*X*, ng/mL)为横坐标、MRM定量离子对峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 933\ 619X + 108\ 875$  ( $r = 1.000\ 0$ ,  $n = 6$ )。结果显示,*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺质量浓度在0.1~50 ng/mL范围内与定量离子对峰面积线性关系良好。

检测限与定量限考察:精密吸取对照品溶液适量,用甲醇溶液稀释10倍后按2.1项下试验条件进样测定,以信噪比为3和10时对应的质量浓度为检测限和

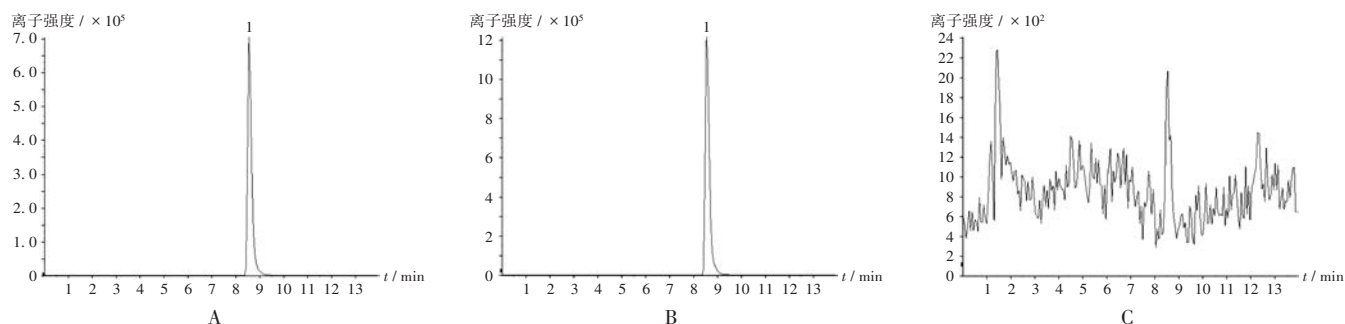


1. *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺  
A. 对照品溶液 B. 阳性供试品溶液 C. 阴性供试品溶液

图1 超高效液相色谱图

1. *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine  
A. Reference solution B. Positive test solution C. Negative test solution

Fig. 1 UPLC chromatograms



1. *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺  
A. 对照品溶液 B. 阳性供试品溶液 C. 阴性供试品溶液

图2 MRM色谱图( $m/z$  260.2 / 187.1)

1. *N*-{1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl}-1-butanamine  
A. Reference solution B. Positive test solution C. Negative test solution

Fig. 2 MRM chromatograms ( $m/z$  260.2 / 187.1)

定量限,结果分别为0.40 ng/g和1.20 ng/g。

**精密度试验:**取对照品溶液适量,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录质谱数据,计算待测成分的色谱保留时间和定量离子对峰面积。结果的RSD分别为0.12%和0.80%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

**稳定性试验:**取对照品溶液适量,置自动进样器中(15℃),分别于0,2,4,8,12,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录质谱数据计算定量离子对的峰面积。结果的RSD为2.26%( $n=6$ ),表明对照品溶液15℃下放置24 h内基本稳定。

**重复性试验:**取阳性样品(样品C)1粒,共6份,按2.2项下方法制备阳性供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录质谱数据,计算待测成分的母离子峰面积。结果的RSD为2.80%( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

**加样回收试验:**取阴性样品(样品J)1粒,置100 mL容量瓶中,加入对照品贮备液(稀释成100 ng/mL)1,5,10 mL,各平行3份,再加甲醇70 mL,按2.2项下方法制备阴性供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,记录质谱数据,计算离子对峰面积,并计算加样回收率。

表1 加样回收试验结果( $n=9$ )

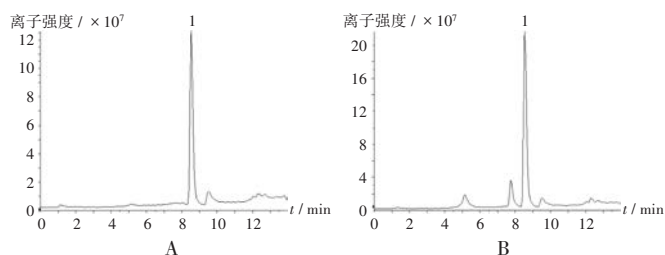
Tab. 1 Results of the recovery test ( $n=9$ )

取样量(g)	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.3523	0	101.54	120.26	118.43		
0.3507	0	101.54	121.09	119.25		
0.3518	0	101.54	112.64	110.93		
0.3550	0	507.70	521.19	102.66		
0.3494	0	507.70	524.77	103.36	109.67	5.46
0.3551	0	507.70	539.65	106.29		
0.3605	0	1015.40	1074.91	105.86		
0.3576	0	1015.40	1111.66	109.48		
0.3544	0	1015.40	1124.93	110.79		

结果见表1。

## 2.5 样品含量测定

取10批样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液(均平行2份),与对照品溶液按2.1项下试验条件进样测定。结果1批样品(样品C)供试品溶液色谱中,在与对照品溶液中*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺峰保留时间一致处对应的总离子流(TIC)图、



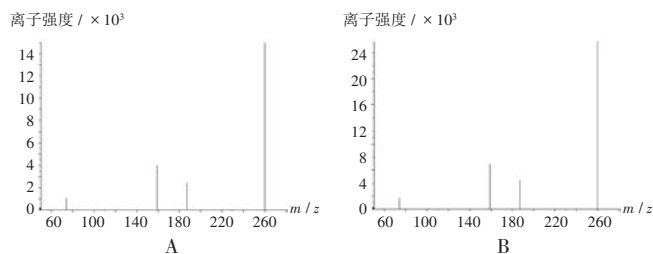
1. *N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺  
A. 对照品溶液 B. 阳性供试品溶液

图3 总离子流色谱图

1. *N*-[1-[3-(Trifluoromethyl)phenyl]-2-propanyl]-butanamine

A. Reference solution B. Positive test solution

Fig. 3 Total ion chromatograms

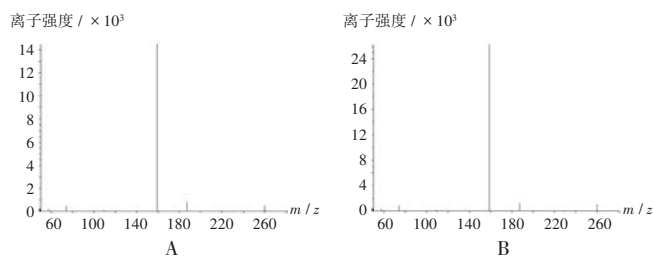


A. 对照品溶液 B. 阳性供试品溶液

图4 MS<sup>2</sup>质谱图(CE: 20 V)

A. Reference solution B. Positive test solution

Fig. 4 MS<sup>2</sup> spectra (CE: 20 V)



A. 对照品溶液 B. 阳性供试品溶液

图5 MS<sup>2</sup>质谱图(CE: 30 V)

A. Reference solution B. Positive test solution

Fig. 5 MS<sup>2</sup> spectra (CE: 30 V)

MRM图、MS<sup>2</sup>碎片均一致,且二级主要碎片的丰度比满足规定(见图3至图5)。最终确定了样品C中含有*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺,含量为41.6 mg/g。

### 3 讨论

#### 3.1 研究背景

随着社会的发展,以及人们对自身健康的关注度越来越高,减肥类中成药及保健食品中非法添加物质层出不穷,且越来越隐秘。本研究中的检出物与现行检验标准(BJS 201701)中收录的西布曲明、*N*-单去甲基西布曲明、*N,N*-双去甲基西布曲明取代基均仅有微小差异。其次,本研究中同时检出有一定减肥作用的*O*-

双去乙酰基比沙可啶、普萘洛尔、利多卡因<sup>[12-14]</sup>。*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺和芬氟拉明的骨架相同,差异在于侧链取代基由乙基换成了丁基,又在减肥保健食品中发现,推测新检出的化合物可能是一种新的非法添加物,且尚无明确的检测手段,可能成为不法分子逃避监管的新手段,亟须新的检测方法填补漏洞。否则,随着该物质的使用增多,不仅会影响人民健康,还会对目前的监管质量造成冲击。

#### 3.2 流动相选择和优化

预试验中考察了甲醇、乙腈作为有机相时化合物的色谱分离及质谱响应,发现待测物质谱响应良好,有机相的变化影响较小。由于使用乙腈时液相系统单向阀易造成黏连,故选择甲醇作为有机相。另外,还考察了甲酸、乙酸作为流动相添加剂对检测的影响,结果变化不大,所以选择0.1%甲酸溶液。

#### 3.3 质谱条件选择

本研究中采用的相关质谱仪器,可在实施MRM模式的同时,采集化合物的二级质谱,增加了定性的准确度。并可采用单因素试验优化去溶剂气温度、离子化电压、喷雾气压力、辅助加热器压力、去簇电压、碰撞电压等质谱条件参数,以使质谱信号最佳。

#### 3.4 方法评价

本研究中建立了定性、定量检测新的非法添加物*N*-丁基-3-(三氟甲基)- $\alpha$ -甲基苯乙胺的超高效液相色谱串联线性离子阱质谱法。通过比对色谱峰保留时间、一级质谱母离子、二级主要碎片离子进行定性确证,同时采用MRM模式建立外标法测定含量,可实现准确、快速、灵敏地完成样品的检测。但要注意,本方法采用的仪器灵敏度高,而造假样品中添加物的含量大,因此,样品前处理时需适当增加样品稀释倍数,避免仪器污染。此外,该方法虽然用的是离子阱质谱,但与普通的四极杆质谱仪基本原理相同,后期监管检测中若用到本试验中所建立的方法,微调分析参数,即可使用。

#### 参考文献

- [1] 刘静,吴琼,王超. 液相色谱-离子阱质谱法同时测定减肥类保健食品中非法添加的12种化学药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7286-7292.
- [2] 颜伟华,郭浩炜,王笑笑,等. 超高效液相色谱-质谱联用法同时测定减肥类保健食品中20种化学药物的研究[J]. 现代食品, 2020(8): 210-214.
- [3] 赖天兵,胡小红,刘晓革. 减肥类保健食品违禁添加药物现状及特点[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(4): 336-337.
- [4] 朱志鑫,吴惠勤,黄晓兰,等. 气相色谱-质谱法检测减肥食品中芬氟拉明和西布曲明[J]. 现代食品科技, 2012, 28(10): 1419-1422.
- [5] 沈国芳,余菁,励炯. UPLC-MS/MS法快速检测减肥类保健品中的芬氟拉明和西布曲明[J]. 中国卫生检验杂志,