

UPLC-MS/MS 法同时测定多类食品中酚丁与比沙可啶衍生物

刘霞丽^{1*}, 孔欣欣¹, 陈林², 刘颖³, 李婷婷¹, 安晓敏³, 蒋静³,
郭楠楠¹, 袁利杰⁴

(1. 郑州科技学院 食品科学与工程学院, 河南 郑州 450064; 2. 南阳市产品质量检验检测中心, 河南 南阳 473003; 3. 河南省食品和盐业检验技术研究院, 河南 郑州 450003; 4. 河南省产品质量检验技术研究院, 河南 郑州 450047)

摘要: 本研究建立了同时测定多类食品中酚丁与比沙可啶新型衍生物的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法, 其中4-氯双异丁酚丁及比沙可啶环丙甲酰替代物的同步检测方法属首次报道。以饼干、果冻、茶饮料、蜜饯、代用茶、果蔬粉、果酒、配制酒、压片糖果、其他糖果等为代表性基质, 以4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁和比沙可啶环丙甲酰替代物为目标物, 样品经甲醇超声-涡旋提取、离心、微孔滤膜过滤后进行检测。采用Acquity BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)色谱柱分离, 以0.05%甲酸水溶液-甲醇为流动相进行梯度洗脱, 正离子多反应监测模式检测, 基质匹配外标法定量。结果表明, 4种目标物线性关系良好, 相关系数(r^2)为0.998 4~0.999 9; 方法检出限为0.003~0.03 mg/kg, 定量下限为0.01~0.10 mg/kg。在3个加标水平下, 10种基质中目标物的平均回收率为70.1%~118%, 相对标准偏差为0.90%~9.0%($n=6$)。采用该方法对10类共45批市售食品进行测定, 在3批样品中检出4种目标物, 含量为17.6~1.13×10³ mg/kg。该方法作为“针对性靶向检测”手段, 与现有广谱筛查方法互补, 前处理简便、灵敏度高、基质适用范围广, 可为多类食品中新型衍生物的靶向检测提供技术支撑。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱; 酚丁衍生物; 比沙可啶衍生物; 食品; 非法添加

中图分类号: O657.7; TS207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)11-0001-09

Simultaneous Determination of Derivatives of Oxyphenisatin and Bisacodyl in Various Foods by UPLC-MS/MS

LIU Xia-li^{1*}, KONG Xin-xin¹, CHEN Lin², LIU Ying³, LI Ting-ting¹, AN Xiao-min³,
JIANG Jing³, GUO Nan-nan¹, YUAN Li-jie⁴

(1. School of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China; 2. Nanyang Product Quality Inspection and Testing Center, Nanyang 473003, China; 3. Henan Institute of Food and Salt Industry Inspection Technology, Zhengzhou 450003, China; 4. Henan Institute of Product Quality Inspection Technology, Zhengzhou 450047, China)

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed for simultaneously determining the presence of novel derivatives of oxyphenisatin and bisacodyl in various foods. This simultaneous detection of 4-chloro-oxyphenisatin diisobutyrate and cyclopropanecarboxylic acid in multiple food matrices is reported for the first time. Biscuits, jelly, tea drinks, preserves, substitute tea, fruit and vegetable powder, fruit wine, prepared wine, pressed candy, and other candies were used as representative substrates, and 4-chloro-oxyphenisatin, 4-chloro-oxyphenisatin diisobutyrate, oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate, and cyclopropanecarboxylic acid were selected as target analytes. The samples were extracted using methanol via ultrasonic vortexing, centrifuged, filtered through a microporous membrane, and analyzed. Chromatographic separation was performed on an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) with gradient elution using 0.05% formic acid aqueous solution-methanol as the mobile

收稿日期: 2026-06-16; 修回日期: 2026-07-28

基金项目: 河南省市场监督管理局科技计划项目(2023sj105); 河南省科技攻关项目(252102110079)

* 通讯作者: 刘霞丽, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全与质量分析, E-mail: 569690972@qq.com

phase. The samples were detected by multiple reaction monitoring (MRM) in positive ion mode and quantified using a matrix-matched external standard. The four target analytes showed good linear relationships within their respective concentration ranges and the correlation coefficient (r^2) was 0.998 4–0.999 9. The limits of detection (LODs) were 0.003–0.03 mg/kg, and the limits of quantitation (LOQs) were 0.01–0.10 mg/kg. At the three spiked levels across the 10 matrices, the average recoveries of the target analytes ranged from 70.1% to 118%, with relative standard deviations of 0.90%–9.0% ($n=6$). This method was applied to 45 batches of commercial foods covering 10 categories, and the four target derivatives were detected in three batches, with contents ranging from 17.6 mg/kg to 1.13×10^3 mg/kg. As a targeted detection approach, this method complements existing broad-spectrum screening methods. Its advantages include simple pretreatment, high sensitivity, and a wide matrix application range, which can provide technical support for the targeted detection of new derivatives in various food matrices.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry; oxyphenisatin derivative; bisacodyl derivative; food; illegal additive

全球肥胖问题日趋严峻, 2024 年全球超重人口已超 20 亿, 预计 2030 年全球减肥药物市场规模将突破 1 000 亿美元^[1], 由此带动减肥、通便类功能食品产业快速发展。在经济利益驱动下, 部分不法商家在食品中非法添加致泻类化学药物, 严重损害消费者身体健康^[2–3]。为规避监管, 违法人员持续对违禁成分进行结构改造, 新型衍生物不断涌现, 其添加成分的隐蔽性给消费者带来健康风险, 且缺乏科学的测定方法, 给食品安全监管带来巨大挑战^[4–7]。

酚丁及其酯类衍生物(如双醋酚丁、双丙酚丁、双辛酚丁等)是一类具有强致泻活性的二苯甲烷类物质, 其核心药效团与酚酞相似^[8], 但致泻作用更强^[9–10]。国家市场监督管理总局明确指出, 食品中检出酚丁(酚汀)、酚酞及其酯类衍生物与结构类似物, 均认定为非法添加^[11], 并相继发布《食品中双醋酚丁等 19 种化合物的测定》(BJS 202209)、《食品中双丙酚汀的测定方法》等补充检验方法^[12–13], 但面对不断迭代的结构修饰物, 现有标准方法仍存在覆盖滞后的问题。2025 年, Wu 等^[14]在果蔬梅中首次分离鉴定出双环己甲酰酚丁; 同年, 酚酞、酚丁(类似物)及双环己甲酰酚丁等酯类衍生物共 15 种物质纳入执法检验范畴^[15], 这表明酚丁类非法添加物已从简单酯类衍生物向卤代及多元酰基化等方向持续演变^[16]。

与此同时, 比沙可啶及其结构类似物同样存在被修饰后非法添加的风险; Li 等^[17]在话梅类减肥食品中鉴定出比沙可啶环丙甲酰替代物(化学结构式如图 1A 所示), 长期或过量摄入该类物质可对肝、肾等器官造成不可逆损伤^[18], 该物质于 2025 年被纳入执法检验范畴^[19]。

本团队在近期风险监测工作中, 发现一种未见文献报道的新型非法添加物; 通过超高效液相色谱–四极杆–飞行时间质谱(UPLC–Q–TOF–MS)高分辨分析, 结合核磁共振氢谱(^1H NMR)与碳谱(^{13}C NMR)技术, 首次分离鉴定其为 4-氯双异丁酚丁^[20](化学结构式如图 1B 所示), 其检测方法已被国家市场监督管理总局采纳为官方执法检验方法^[21]。该化合物为 4-氯酚丁的酯类衍生物, 揭示了酚丁类非法添加物向“卤代修饰+支链酰基化”双重修饰方向演变的新趋势。

在检测方法方面, 针对新型酚丁衍生物, 国内外已建立多种方法^[22–26], 部分研究还发现了长碳链同系物^[27]; Zhu 等^[28]首次在功能性果蔬汁饮料中确证新型氯代比沙可啶衍生物, 证实比沙可啶类同样呈现结构修饰趋势。但上述方法均未涵盖 4-氯双异丁酚丁及比沙可啶环丙甲酰替代物; 且现有方法基质范围有限, 夏宝林等^[23]的研究仅局限于酵素梅, 张秋炎等^[25]的研究覆盖了 7 种基质但未包含饼干、果酒、配制酒等高风险食品, 难以满足多样化载体的监管需求。

基于此, 本研究选取 4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁和比沙可啶环丙甲酰替代物为目标物, 分别代表卤代修饰、双重修饰、环烷烃酰基修饰及比沙可啶类环丙酰基修饰, 共同覆盖了当前致泻类非法添加物结构修饰的主要路径。这 4 种化合物均为近年来实际检出并已造成健康危害的新

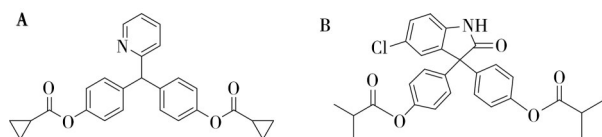


图 1 比沙可啶环丙甲酰替代物(A)和 4-氯双异丁酚丁(B)的化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of cyclopropanecarboxylic acid(A) and 4-chloro-oxyphenisatin diisobutyrate(B)

型添加物, 其中后 3 种已纳入国家市场监督管理总局执法检验方法^[19,21,15], 4-氯酚丁为高频检出的典型卤代衍生物^[23,25]; 现有方法均未实现这 4 种化合物在多类食品基质中的同步检测。因此, 本研究建立 UPLC-MS/MS 方法, 用于同时测定蜜饯、果冻、压片糖果、其他糖果、果蔬粉、饼干、代用茶、茶饮料、果酒、配制酒共 10 种食品基质中上述 4 种物质, 通过优化样品前处理、仪器条件, 开展方法学验证, 以期实现高灵敏度、高准确性检测, 为减肥类食品非法添加监管提供技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

安捷伦 1290 Infinity II /6470B 型超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Agilent 公司); XS205 型电子天平(感量 0.1 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司); 4-16KS 型台式高速离心机(德国 Sigma 公司); 纯净水(娃哈哈集团); 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); 多管涡旋振荡仪(德国 Heidolph 公司)。甲醇、乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司); 丙酮(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲酸(质谱级, 美国 Sigma-Aldrich 公司)。

标准品: 4-氯双异丁酚丁(CAS 号: N/A, 合成定制, 纯度 94.3%); 双环己甲酰酚丁(CAS 号: N/A, 纯度 95.7%); 4-氯酚丁(CAS 号: 861070-76-0, 纯度 98.8%); 比沙可啶环丙甲酰替代物(CAS 号: 3040279-06-6, 纯度 98.5%)。其中双环己甲酰酚丁、4-氯酚丁、比沙可啶环丙甲酰替代物均购自天津阿尔塔科技有限公司; 10 种空白基质样品均为市售随机抽检的阴性食品样品。

1.2 标准溶液的配制

单标准储备液(1 000 $\mu\text{g/mL}$): 分别准确称取各标准品适量(相当于有效成分 10 mg, 精确至 0.1 mg), 加入适量甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 即得。其中比沙可啶环丙甲酰替代物需先加入 2 mL 丙酮充分溶解, 再用甲醇定容。-20 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存, 有效期 3 个月。

混合标准中间液: 分别准确移取 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的各单标准储备液 0.50 mL(比沙可啶环丙甲酰替代物储备液移取 0.05 mL)至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释定容至刻度, 摇匀, 即得。其中 4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁的质量浓度均为 10.0 $\mu\text{g/mL}$, 比沙可啶环丙甲酰替代物的质量浓度为 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 。4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存, 有效期 1 个月。

1.3 样品前处理

1.3.1 试样制备和保存 取 50 g 试样或所有试样(低于 50 g 时), 糖果(除胶质糖果)、果蔬粉、饼干、代用茶样品研磨或粉碎混匀, 蜜饯取可食部分剪至粒径不超过 2 mm, 胶质糖果加热熔化后混匀, 果冻充分搅碎至浆状, 含二氧化碳液体样品通过加热或超声除去气体, 果酒、配制酒通过 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴除去乙醇。制备好的试样于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存备用。

1.3.2 样品前处理 准确称取 1.0 g(精确至 0.001 g)样品于 25 mL 具塞刻度离心管中, 加入 20 mL 甲醇, 超声提取 10 min(超声过程中摇匀 2~3 次), 涡旋振荡 10 min, 冷却至室温, 用甲醇稀释至刻度并摇匀。取 5 mL 溶液以 4 000 r/min 离心 5 min, 精确吸取 1.0 mL 离心后上清液, 用水稀释至 2 mL, 涡旋混匀后用 0.22 μm 聚四氟乙烯微孔滤膜过滤, 待测定。

1.4 仪器分析条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: Acquity BEH C_{18} 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相 A: 0.05% 甲酸水溶液, 流动相 B: 甲醇; 梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 10% B; 0.5~1.5 min, 10%~70% B; 1.5~3.5 min, 70%~95% B; 3.5~8.0 min, 95% B; 8.0~8.1 min, 95%~10% B; 8.1~10.0 min, 10% B; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 5 μL 。

1.4.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源(ESI), 扫描方式: 正离子模式多反应监测(MRM), 鞘气温度: 300 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气流速: 11.0 L/min, 毛细管电压: 3 500 V, 干燥气流速: 5.0 L/min, 喷嘴电压: 500 V, 雾化气压力: 310 kPa。各目标物的质谱参数见表 1。

表 1 4 种目标物的质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters of the four target analytes

Compound	Ionization mode	Retention time/min	Ion pair	Collision energy/eV
4-Chloro-oxyphenisatin	ESI ⁺	3.128	352.0>258.0 [*] , 352.0>223.0	20, 35
Cyclopropanecarboxylic acid	ESI ⁺	3.588	414.3>184.0 [*] , 414.3>252.1	40, 25
4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	ESI ⁺	4.277	492.2>258.0 [*] , 492.2>223.0	20, 65
Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	ESI ⁺	4.705	538.0>224.0 [*] , 538.0>196.0	20, 80

*quantitative ion pair

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 质谱条件的优化 采用电喷雾电离方式, 4 种目标物均可实现有效离子化, 且均可形成母离子 $[M+H]^+$ 或 $[M-H]^-$ 。分别配制适当浓度的标准溶液, 采用电喷雾离子源(ESI), 考察了正、负离子扫描模式下各化合物的响应强度。结果显示, 正离子模式下各化合物的分子离子峰均有较高的响应强度, 故最终选择正离子模式进行参数优化, 具体质谱参数见表 1。

2.1.2 色谱条件的优化 4 种目标物均带有 3 个芳香环骨架, 整体呈中等极性, C_{18} 反相色谱柱适配此类组分的分离分析。实验对比了 3 种规格的 C_{18} 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m; 100 mm×2.1 mm, 2.5 μ m; 50 mm×2.1 mm, 1.8 μ m), 综合考虑各组分的响应强度、分离度与色谱峰形, 最终选定规格为 100 mm×2.1 mm、填料粒径 1.8 μ m 的 C_{18} 色谱柱用于后续实验。

采用 ESI⁺ 电离模式, 酸性水溶液可向分析物提供质子, 有助于提升正离子模式下母离子的电离效率; 流动相中添加缓冲盐虽可优化色谱峰对称性, 但盐类组分易抑制电喷雾电离过程, 造成质谱响应下降。基于上述特性, 本研究系统考察两类共 10 组流动相体系: 第一类为甲酸水溶液-有机相体系, 包括 0.05% 甲酸水-甲醇、0.10% 甲酸水-甲醇、0.15% 甲酸水-甲醇、0.20% 甲酸水-甲醇、0.25% 甲酸水-甲醇与 0.10% 甲酸水-乙腈; 第二类为缓冲盐-有机相体系, 包括 5 mmol/L 甲酸铵-甲醇、5 mmol/L 乙酸铵-甲醇、含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 甲酸铵-甲醇、含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵-甲醇。

对比甲醇、乙腈两种有机相发现: 除 4-氯双异丁酚丁外, 其余 3 种目标物在甲酸-甲醇流动相体系中的质谱响应强度更高。针对甲醇体系中不同甲酸浓度进行筛选, 0.05% 甲酸水溶液可实现良好的色谱分离效果, 且目标物质谱响应与更高甲酸浓度体系相比并无显著区别。对于各类缓冲盐流动相, 尽管其能够获得对称性更佳的色谱峰, 但多数待测物的质谱信号强度显著降低, 盐离子带来的电离抑制作用无法忽视。

综合考量组分分离效果、质谱响应水平、色谱峰形状态及电离稳定性等, 本研究最终选定 0.05% 甲酸水溶液-甲醇为最优流动相体系, 4 种目标物的总离子流色谱图如图 2 所示。

2.2 前处理条件的优化

2.2.1 提取溶剂的优化 现有 BJS 202209 标准^[12] 及相关文献^[22-26] 针对泻药类非法添加物所采用的提取溶剂体系存在明显差异: BJS 202209 标准中提取溶剂为含 0.1% 甲酸的 50% 甲醇水溶液, 而部分研究则选择乙腈作为提取介质。为建立同步测定 10 类复杂食品基质中 4 种目标物的分析方法, 本研究选取饼干、果冻、茶饮料、蜜饯、其他糖果、配制酒、代用茶、压片糖果、果酒、果蔬粉共 10 种阴性食品基质, 进行 0.5 mg/kg 加标回收验证, 每组实验设置 3 组平行样, 系统比较不同提取溶剂条件下目标物的提取性能; 实验以乙腈、纯甲醇、50% 甲醇水溶液、0.1% 甲酸-50% 甲醇水溶液 4 种溶剂体系为考察变量, 探究提取溶剂对 10 种食品基质中 4 种目标物提取效率的影响。

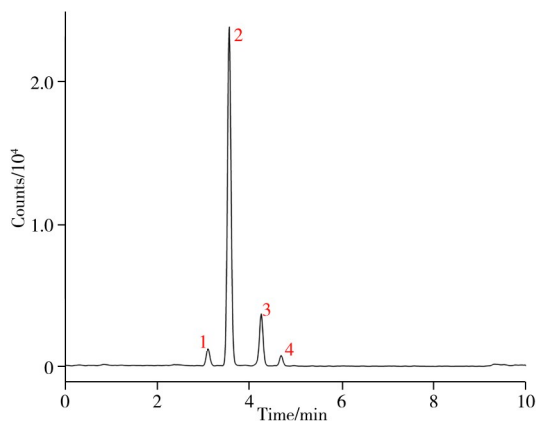


图 2 4 种目标物的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatograms of the four target analytes

1: 4-chloro-oxyphenisatin; 2: cyclopropanecarboxylic acid;
3: 4-chloro-oxyphenisatin diisobutyrate; 4: oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate

首先对比乙腈与纯甲醇两种有机提取溶剂,多数食品基质中二者对目标物的提取回收率水平接近,但乙腈体系的抗基质干扰能力弱,基质效应明显。进一步对比了纯甲醇、50%甲醇水溶液、50%甲醇(0.1%甲酸)水溶液3种甲醇基提取体系:两种含水甲醇体系在饼干、代用茶、果蔬粉等多种基质中均存在目标物提取不充分问题,多种待测组分的回收率低于70%,适用基质范围窄,综合提取性能不佳。

综上,纯甲醇对本研究的10类食品基质均表现出良好适配性,4种目标物的加标回收率可稳定在70%~120%区间,绝大多数食品基质下的基质干扰程度低,回收结果稳定可靠。因此本研究最终选取纯甲醇作为最优提取溶剂。

2.2.2 提取方式的优化 以纯甲醇为最优提取溶剂,采用阴性食品基质制备0.5 mg/kg加标试样,固定提取溶剂体积为25 mL;考虑到压片糖果与其他糖果、果酒与配制酒的基质理化特性高度趋同,选取饼干、果冻、茶饮料、蜜饯、代用茶、压片糖果、果酒、果蔬粉共8种典型基质开展实验。设置5种提取模式:超声10 min+涡旋10 min、超声20 min、涡旋20 min、超声10 min+涡旋20 min、超声20 min+涡旋10 min,对比不同超声-涡旋处理时长下,4种目标物的提取回收率(图3)。

由图3可见:单独20 min超声或单独20 min涡旋处理难以获得稳定提取效果,多种基质中待测物的回收率波动较大;在超声-涡旋联合处理模式下,延长超声或涡旋任一工序时长(超声10 min+涡旋20 min、超声20 min+涡旋10 min),4种目标物的提取回收率在绝大多数基质中无明显提升。从基质干扰与前处理实操性角度分析,果冻、蜜饯、糖果等高糖、高碳水基质经长时间超声、涡旋作用,易大量溶出糖类、有机酸等内源共存组分,提升基质效应发生风险,干扰质谱定量过程,同时额外延长前处理耗时,综合应用价值有限。综上,本研究选定超声10 min+涡旋10 min作为最优提取操作方案。

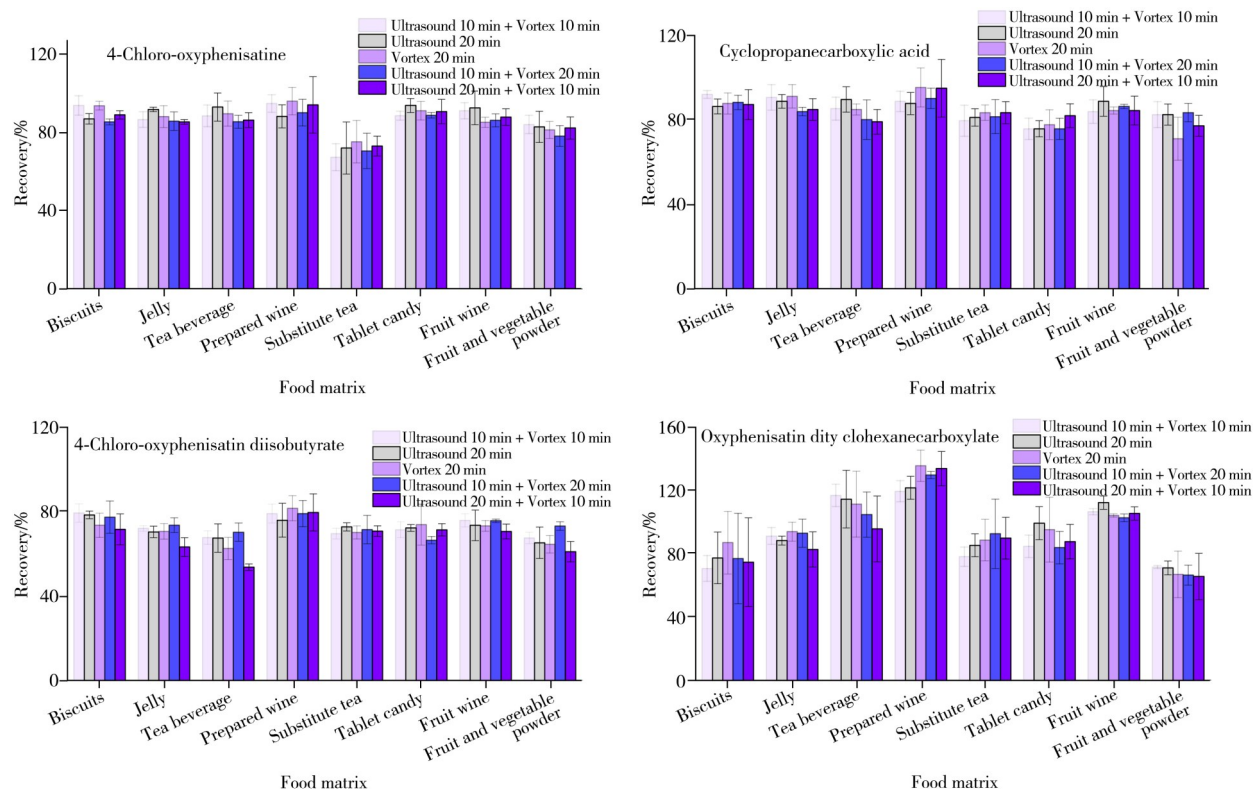


图3 不同提取方式对8种食品基质中4种目标物提取效率的影响

Fig. 3 Effects of the different extraction methods on the extraction efficiencies of the four target analytes in the eight food matrices

2.3 方法学验证

2.3.1 线性范围与基质效应 分别采用纯甲醇溶剂与10种食品空白基质提取液配制系列梯度标准工作溶液,以目标物的质量浓度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标,对应色谱峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线,分别得到纯溶剂标准曲线与基质匹配标准曲线的回归方程、线性相关系数等参数(见表2)。4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁的线性范围为2~100 ng/mL,比沙可啉环丙甲酰替代物的线性范围为0.2~10.0 ng/mL,相关系数(r^2)为0.998 4~0.999 9。

通过对比纯溶剂标准曲线与空白基质匹配标准曲线的斜率, 定量评价 10 种食品基质对 4 种目标物检测的基质效应(ME)。计算公式为: $ME=(k_2/k_1-1)\times 100\%$, 式中: k_1 为标准溶液曲线的斜率, k_2 为基质标准曲线的斜率, 当 ME 为 -20%~20% 时, 表明基质效应在可接受范围内^[29]。由表 2 可知, 10 种食品基质对 4 种目标物均存在不同程度的基质干扰, 基质效应存在明显差异; 且同一基质对不同目标物的基质效应表现不一致, 干扰特性具有显著的化合物特异性。因此, 为消除基质干扰对检测结果准确性的影响, 本方法选择基质匹配标准曲线进行定量校正, 以保障检测结果的精准可靠。

表 2 4 种化合物的线性方程、相关系数(r^2)、线性范围及基质效应(ME)

Table 2 Linear equations, determination coefficients(r^2), linear ranges, and matrix effects (ME) of the four target analytes

Sample	Compound	Linear equation	r^2	Linear range/ (ng·mL ⁻¹)	ME/%
Solvent calibration curve	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=19.770\ 7x+3.422\ 5$	0.998 5	2~100	/
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 129.889\ 9x-131.354\ 0$	0.999 4	0.2~10	/
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=20.229\ 7x-11.556\ 1$	0.999 6	2~100	/
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=12.986\ 7x+17.871\ 8$	0.998 9	2~100	/
Biscuits	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=23.128\ 7x-2.829\ 0$	0.999 1	2~100	17.0
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 455.391\ 0x-64.759\ 8$	0.999 7	0.2~10	15.3
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=20.729\ 4x-2.978\ 7$	0.999 4	2~100	2.5
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=8.146\ 2x+17.970\ 6$	0.999 1	2~100	-37.3
Jelly	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=23.017\ 6x+0.752\ 9$	0.998 7	2~100	16.4
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 450.568\ 0x-33.627\ 3$	0.999 8	0.2~10	15.1
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=21.922\ 8x+10.748\ 1$	0.999 6	2~100	8.4
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=13.093\ 4x-5.294\ 8$	0.999 9	2~100	0.8
Tea beverage	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=24.094\ 6x+23.192\ 9$	0.998 7	2~100	21.9
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 632.938\ 2x+204.867\ 4$	0.999 2	0.2~10	23.6
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=21.219\ 6x+14.029\ 2$	0.999 4	2~100	4.9
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=13.197\ 4x+4.447\ 8$	0.999 7	2~100	1.6
Preserved fruit	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=27.237\ 6x-18.082\ 0$	0.999 5	2~100	37.8
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 547.816\ 2x-191.161\ 5$	0.999 7	0.2~10	19.6
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=23.693\ 8x-30.291\ 8$	0.998 8	2~100	17.1
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=14.263\ 4x-6.161\ 8$	0.999 7	2~100	9.8
Other candy	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=27.133\ 1x+4.298\ 4$	0.999 4	2~100	37.2
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 428.641\ 6x+1.752\ 8$	0.999 9	0.2~10	14.0
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=15.144\ 1x+14.777\ 3$	0.999 8	2~100	-25.1
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=8.076\ 6x+4.604\ 6$	0.999 6	2~100	-37.8
Prepared wine	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=24.140\ 2x+13.758\ 7$	0.999 9	2~100	22.1
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 224.158\ 4x-12.271\ 6$	0.999 9	0.2~10	4.4
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=23.609\ 9x+23.384\ 3$	0.998 8	2~100	16.7
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=15.509\ 3x+16.391\ 4$	0.999 4	2~100	19.4
Substitute tea	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=25.780\ 7x-7.371\ 9$	0.999 6	2~100	30.4
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 423.755\ 5x-6.110\ 3$	0.999 9	0.2~10	13.8
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=23.274\ 3x-4.111\ 8$	0.999 5	2~100	15.1
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=16.177\ 2x-0.842\ 4$	0.999 9	2~100	24.6
Tableted candy	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=27.085\ 2x-15.125\ 7$	0.999 7	2~100	37.0
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 592.290\ 4x+76.449\ 8$	0.999 9	0.2~10	21.7
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=23.282\ 3x+6.147\ 2$	0.999 6	2~100	15.1
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=16.233\ 4x+6.516\ 7$	0.999 5	2~100	25.0
Fruit wine	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=21.853\ 9x+14.188\ 0$	0.998 5	2~100	10.5
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 376.454\ 4x+71.304\ 5$	0.999 9	0.2~10	11.6
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=23.318\ 0x+10.778\ 8$	0.999 9	2~100	15.3
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=12.582\ 9x+4.201\ 7$	0.999 7	2~100	-3.1
Fruit and vegetable powder	4-Chloro-oxyphenisatin	$y=27.610\ 8x+23.603\ 5$	0.999 6	2~100	39.7
	Cyclopropanecarboxylic acid	$y=2\ 655.902\ 5x+195.543\ 6$	0.998 4	0.2~10	24.7
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutyrate	$y=25.293\ 1x+16.543\ 3$	0.999 4	2~100	25.0
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	$y=18.555\ 7x+5.808\ 4$	0.998 8	2~100	42.9

2.3.2 检出限与定量下限 依据 GB 5009.295-2023^[30], 采用空白基质加标结合信噪比法进行方法检出限(LOD)与定量下限(LOQ)验证。每种空白基质各称取 20 份试样进行 LOD 加标试验: 4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁的加标水平为 0.03 mg/kg, 比沙可啶环丙甲酰替代物的加标水平为

0.003 mg/kg。在该添加浓度下,所有待测组分的信噪比(S/N) ≥ 3 ,样品阳性检出率达 100%,因此将上述浓度确定为各目标物的 LOD。以 $S/N \geq 10$ 、回收率处于 80%~120% 且精密度符合国家标准限值为约束条件确定 LOQ。取每种空白基质各 6 份试样进行加标:4-氯酚丁、4-氯双异丁酚丁、双环己甲酰酚丁加标 0.10 mg/kg,比沙可啶环丙甲酰替代物加标 0.01 mg/kg,各组分均满足 $S/N \geq 10$ 且回收率符合规范要求,将上述浓度定为方法 LOQ。

2.3.3 回收率与相对标准偏差 选取未检出 4 种目标物的 10 种目标空白基质进行加标回收与精密度实验。每种基质平行制备 18 份试样,每 6 份试样对应低、中、高 3 个加标浓度水平,依照“1.3”前处理流程处理后上机测定。表 3 显示,4 种目标物的平均回收率分别为 73.6%~116%、75.1%~107%、75.5%~109%、70.1%~118%,相对标准偏差(RSD)依次为 1.9%~8.9%、0.90%~9.0%、2.0%~8.0%、1.3%~9.0%,表明方法的准确度及精密度良好。

表 3 4 种化合物在不同基质中的回收率及相对标准偏差

Table 3 Recoveries and relative standard deviations (RSD) of the four target analytes in different sample matrices

Sample	Compound	Spiked 0.10 mg/kg*		Spiked 0.20 mg/kg*		Spiked 1.0 mg/kg*	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Biscuits	4-Chloro-oxyphenisatin	103	7.4	103	3.3	112	5.7
	Cyclopropanecarboxylic acid	101	6.4	100	2.4	96.2	2.5
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	80.9	3.2	90.7	2.6	84.8	4.7
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	79.9	6.6	87.2	4.6	91.9	6.5
Jelly	4-Chloro-oxyphenisatin	108	4.0	105	3.0	112	3.1
	Cyclopropanecarboxylic acid	106	2.6	105	2.0	104	2.0
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	103	3.9	97.8	3.0	98.0	3.8
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	110	7.0	113	2.9	83.2	7.8
Tea beverage	4-Chloro-oxyphenisatin	109	3.4	105	4.1	116	3.3
	Cyclopropanecarboxylic acid	107	3.6	105	6.7	95.7	5.7
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	109	4.5	100	5.1	102	4.7
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	98.6	8.0	108	4.8	115	8.6
Preserved fruit	4-Chloro-oxyphenisatin	101	6.3	103	2.6	110	5.5
	Cyclopropanecarboxylic acid	101	1.4	101	2.5	102	3.6
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	108	7.1	98.3	2.9	96.2	4.0
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	80.5	6.1	98.6	2.4	110	7.3
Other candy	4-Chloro-oxyphenisatin	106	4.4	104	3.2	108	6.7
	Cyclopropanecarboxylic acid	94.7	1.6	96.9	4.5	94.2	4.6
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	91.8	5.0	87.2	4.1	76.9	3.3
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	112	2.5	115	4.4	78.4	4.2
Prepared wine	4-Chloro-oxyphenisatin	106	6.2	102	1.9	111	3.5
	Cyclopropanecarboxylic acid	106	2.0	102	1.5	101	1.8
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	103	5.4	100	2.8	100	2.7
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	112	7.5	118	4.9	91.9	9.0
Substitute tea	4-Chloro-oxyphenisatin	97.4	3.9	98.6	2.9	73.6	3.0
	Cyclopropanecarboxylic acid	75.1	3.6	79.6	2.9	75.1	3.7
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	78.3	5.1	80.7	2.0	78.3	3.7
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	81.7	5.4	90.7	5.5	93.7	7.4
Tableted candy	4-Chloro-oxyphenisatin	108	3.9	104	4.5	107	2.2
	Cyclopropanecarboxylic acid	90.0	3.2	85.7	9.0	81.8	1.0
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	97.6	6.8	96.8	2.8	94.0	3.0
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	111	5.2	107	4.5	78.8	3.8
Fruit wine	4-Chloro-oxyphenisatin	99.9	8.9	106	2.4	112	2.7
	Cyclopropanecarboxylic acid	107	4.3	104	2.0	102	1.0
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	104	3.7	99.0	3.9	98.7	2.3
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	114	4.3	117	1.3	90.0	4.6
Fruit and vegetable powder	4-Chloro-oxyphenisatin	101	2.8	91.0	5.2	87.7	3.3
	Cyclopropanecarboxylic acid	87.2	3.0	82.8	2.8	82.0	0.89
	4-Chloro-oxyphenisatin diisobutryate	82.3	7.9	76.2	8.0	75.5	3.9
	Oxyphenisatin dicyclohexanecarboxylate	99.1	7.2	110	2.4	70.1	6.4

*the three spiking levels of cyclopropanecarboxylic acid were 0.01, 0.02, and 0.10 mg/kg

2.3.4 实际样品检测 随机采集线上、线下流通渠道中 10 类基质共 45 批市售样品。参照“1.3”进

行样品前处理,采用优化后的检测方法进行测定。结果显示共有3批实际样品检出目标致泻衍生物:1批蜜饯样品检出比沙可啶环丙甲酰替代物,1批酵素梅类蜜饯样品同时检出4-氯酚丁与4-氯双异丁酚丁;1批其他糖果中检出4-氯酚丁和双环己甲酰酚丁,检出含量为 $17.6\sim 1.13\times 10^3$ mg/kg。实际样品筛查结果证实,市场中存在4种目标新型致泻衍生物非法添加的问题,宣称具备减肥、通便功效的食品存在高剂量、多组分非法添加该类衍生物的安全隐患,该类违法添加问题需引起监管部门重视。

2.4 方法对比

与已有方法相比,本方法在创新性、灵敏度、基质适用范围及前处理效率方面均具明显优势。目标物创新性方面,4-氯双异丁酚丁为本团队首次在食品中发现并鉴定,其UPLC-MS/MS检测方法系首次建立;比沙可啶环丙甲酰替代物虽已有报道及执法方法^[17,19],但本研究首次实现了该化合物与酚丁类衍生物在多类基质中的同步检测。灵敏度方面,本方法对4-氯酚丁的LOD(0.03 mg/kg)和LOQ(0.10 mg/kg)较张秋炎等^[25]的方法(LOD 0.5 mg/kg, LOQ 1.0 mg/kg)分别降低约17倍和10倍;对比沙可啶环丙甲酰替代物的LOD(0.003 mg/kg)和LOQ(0.01 mg/kg)较官方方法^[19](LOD 0.05 mg/kg, LOQ 0.10 mg/kg)分别降低约17倍和10倍。基质适用范围方面,本方法覆盖10种食品基质,填补了已有方法^[23,25]在饼干、果酒、配制酒等基质中的空白。前处理效率方面,本方法仅需超声10 min结合涡旋10 min一步提取,较已有方法^[23](重复提取2次、超声60 min)时间大幅缩短。综上,本方法在新型目标物建立、灵敏度、基质普适性和前处理效率方面均优于已有方法,体现了明显的技术进步和创新性。

3 结论

本方法适用于饼干等食品中酚丁类及比沙可啶类非法添加物的检测,可同时测定10种不同类型食品(包括蜜饯、果冻、压片糖果、其他糖果、果蔬粉、饼干、代用茶、饮料、果酒、配制酒)中4种新型致泻性非法添加物。该方法前处理简便高效、定量准确、灵敏度高,适用基质范围广,为减肥类食品中酚丁及比沙可啶类衍生物的日常监管与多样化非法添加载体的风险防控提供了可靠技术支撑,对保障食品安全具有重要意义。

参考文献:

- [1] Jairoun A A, Al-Hemyari S S, Shahwan M, Zyoud S H. *Molecules*, **2021**, 26(22): 6903.
- [2] Gao T, Tang H L, Sun G J, Liang X A, Luo H Y. *Sci. Technol. Food Ind.* (高涛,唐华丽,孙桂菊,梁西爱,罗黄洋.食品与发酵工业), **2021**, 47(2): 311-321.
- [3] Yu X Q, Liu M, Li S C, Wen Q, Zhou J, Du G. *Chin. J. Food Hyg.* (余晓琴,刘美,李澍才,温泉,周佳,杜钢.中国食品卫生杂志), **2023**, 35(9): 1357-1363.
- [4] Hu Q, Sun J, Ji S. *China Food Drug Adm. Mag.* (胡青,孙健,季申.中国食品药品监管), **2022**, (3): 88-95.
- [5] Mao D, Liu M, Yang S J, Xiang X, Wang T, Min Y H. *Food Ind.* (貌达,刘美,杨诗嘉,向昕,王涛,闵宇航.食品工业), **2023**, 44(10): 316-321.
- [6] Zhang J X, Yu H, Sun J, Shen Y Y, Ran Y Y, Mao X H, Hu Q, Ji S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2023**, 230: 115391.
- [7] Liu M, Su Y, Wen Q, He S Z, Zhou J, Min Y H, Li S C, Yu X Q. *Chin. J. Food Hyg.* (刘美,苏燕,温泉,何绍志,周佳,闵宇航,李澍才,余晓琴.中国食品卫生杂志), **2024**, 36(5): 582-587.
- [8] Huang K H, Lu X, Zhou X, Wang W F, Yang F X, Zhu G F, Sun Y. *Food Sci. Technol.* (黄康惠,卢鑫,周璇,王文富,杨福兴,朱桂芳,孙宇.食品科技), **2023**, 48(6): 301-307.
- [9] Wang Y S. *J. Food Saf. Qual.* (王岩松.食品安全质量检测学报), **2021**, 12(19): 7675-7680.
- [10] Yu Y D, Guo Y, Huang S C. *Shandong Chem. Ind.* (余奕东,郭洋,黄少婵.山东化工), **2023**, 52(24): 133-136.
- [11] State Administration for Market Regulation. Notice from the General Office of the State Administration for Market Regulation on Cracking Down on Illegal Addition of Phenisatin (Oxyphenisatin), Phenolphthalein and Their Ester Derivatives or Analogues in Food(市场监管总局办公厅.市场监管总局办公厅关于打击食品中非法添加酚汀(酚丁)、酚酞及其酯类衍生物或类似物违法行为的通知:市监稽发[2023]94号). [2023-10-13]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2023/art_5b69a28fde634bfab1dc178a63fce009.html.
- [12] BJS 202209. Determination of 19 Compounds Including Oxyphenisatine Diacetate in Food. Food Additional Testing Methods(食品中双醋酚丁等19种化合物的测定.食品补充检测方法).
- [13] State Administration for Market Regulation. Document No.[2023]95 of the General Office of the State Administration for Market Regulation. Determination of Oxyphenisatin Dipropionate in Food(国家市场监督管理总局.国家市场监督管理总局办公厅文件市监稽发[2023]95号.食品中双丙酚汀的测定方法).

- [14] Wu W Q, Zhu S S, Xia J T, Jiang F, Fan X L, Zhang L. *J. Chromatogr. Open*, **2025**, 7: 100214.
- [15] State Administration for Market Regulation. Notice from the General Office of the State Administration for Market Regulation on Issuing the Law Enforcement Inspection Methods for 15 Kinds of Phenisatin (Oxyphenisatin), Phenolphthalein and Their Ester Derivatives or Analogues in Food(市场监管总局. 市场监管总局办公厅关于发布 15 种酚汀(酚丁)、酚酞及其酯类衍生物或类似物执法检验方法的通知).[2025-03-05]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2025/art_d39285cfe10f402aa9479a33d552ec35.html.
- [16] Xia J T, Wu W Q, Zhu S S, Jiang F. *Food Mach.* (夏金涛, 吴婉琴, 朱松松, 江丰. 食品与机械), **2024**, 40(2): 21-27.
- [17] Li X X, Jiang F, Yu H, Huang X J, Zhang J X, Xia J T, Ran Y Y, Huang F, Sun J, Hu Q. *Food Addit. Contam. A*, **2025**, 42(5): 562-569.
- [18] Battaglia E, Grassini M, Dore M P, Bassotti G. *Dig. Dis. Sci.*, **2018**, 63(11): 3105-3111.
- [19] State Administration for Market Regulation. Notice from the General Office of the State Administration for Market Regulation on Cracking Down on Illegal Addition of Bisacodyl and Its Series Derivatives in Food(市场监管总局. 市场监管总局办公厅关于打击食品中非法添加比沙可啶及其系列衍生物违法行为的通知).[2025-06-10]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2025/art_e357c00946a24d19905b2098cdf4f955.html.
- [20] Chen L, Huang H, Liu X L, Zhao P J, Zhou B. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2025**, 260: 116804.
- [21] State Administration for Market Regulation. Notice from the General Office of the State Administration for Market Regulation on Issuing the Law Enforcement Inspection Method for 4-Chloro-oxyphenisatin Diisobutyrate(市场监管总局. 市场监管总局办公厅关于发布 4-氯双异丁酚丁执法检验方法的通知).[2025-11-04]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/zfjcs/art/2025/art_be69b7f0746649b98ba4dbd756045f9e.html.
- [22] Zhou J F, Qian X X, Jin Y B, Shi J, Zhang B Y, Zheng C, Wang X Y, Liu J L. *Chin. J. Anal. Lab.* (周建峰, 钱晓晓, 金煜彬, 时君, 张碧宇, 郑程, 王晓园, 刘建丽. 分析科学学报), **2025**, 41(5): 565-570.
- [23] Xia B L, Hu Z Q, Zhang Y Q, Yin J J, Wang S T, Yang N, Zhang W Y. *J. Instrum. Anal.* (夏宝林, 扈战强, 张亚清, 殷晶晶, 汪仕韬, 杨娜, 张维益. 分析测试学报), **2025**, 44(3): 493-499.
- [24] Chen L Q, Wu Y H, Zhang L, Ge Q F. *J. Yangzhou Univ.: Agric. Life Sci. Ed.* (陈良茜, 吴悦豪, 张露, 葛庆丰. 扬州大学学报: 农业与生命科学版), **2026**, 47(1): 128-137.
- [25] Zhang Q Y, Luo H T, Liao J T, Huang F, Liang W W, Wu H Q. *J. Instrum. Anal.* (张秋炎, 罗辉泰, 廖均涛, 黄芳, 梁维维, 吴惠勤. 分析测试学报), **2025**, 44(2): 211-220.
- [26] Liao L F, Qiu H X, Zheng Y P, Weng Y X, Huang Z X, Xu Y Z. *Food Sci. Technol.* (廖丽芳, 邱红鑫, 郑月平, 翁溢鑫, 黄宗雄, 许艳稚. 食品科技), **2025**, 50(8): 341-348.
- [27] Zhang L P, Zhang W L, Lin J C, Zhang J, Lei Y. *J. Instrum. Anal.* (张丽萍, 张婉梨, 林洁纯, 张静, 雷毅. 分析测试学报), **2024**, 43(9): 1409-1416.
- [28] Zhu S S, Wu W Q, Peng Z K, Jiang F, Fan X L, Zhang L, Xia J T. *Food Compos. Anal.*, **2026**, 155: 109220.
- [29] Kittlaus S, Schimanke J, Kempe G, Speer K. *J. Chromatogr. A*, **2011**, 1218(46): 8399-8410.
- [30] GB 5009.295-2023. General Principles for the Validation of Chemical Analytical Methods. National Standards of the People's Republic of China(食品安全国家标准 化学分析方法验证通则. 中华人民共和国国家标准).

(责任编辑: 丁 岩)