

表面增强拉曼光谱法快速检测减肥类保健食品中的比沙可啶

张 焱*, 杨国伟, 陈 煜, 阎安婷

(山西省食品药品检验所, 太原 030031)

摘要: 目的 建立表面增强拉曼光谱法(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)快速测定减肥类保健食品中比沙可啶的分析方法。**方法** 激发波长 $785\text{ nm}\pm 0.5\text{ nm}$, 光谱覆盖范围为 $300\sim 2300\text{ cm}^{-1}$, 光谱分辨率为 $4\sim 10\text{ cm}^{-1}$, 拉曼光谱仪进行测定, 最后采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)进行验证。**结果** 该方法的线性范围为 $0.5\sim 5\text{ mg/L}$, 检出限为 0.2 mg/kg , 回收率为 $77.3\%\sim 107.2\%$, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)($n=6$)不大于 6.3% , 检测结果与高效液相色谱法检测的结果无明显差异。

结论 该方法快速、简便, 可作为检测减肥类保健食品中非法添加的比沙可啶的快检方法。

关键词: 表面增强拉曼光谱法; 减肥类保健食品; 比沙可啶

Rapid determination of bisacodyl in weight-loss functional foods by surface enhanced Raman spectroscopy

ZHANG Ye*, YANG Guo-Wei, CHEN Yu, YAN An-Ting

(Shanxi Institute of Food and Drug Control, Taiyuan 030031, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid method for the determination of bisacodyl in weight-loss functional foods by surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). **Methods** The excitation wavelength of the experiment was $785\text{ nm}\pm 0.5\text{ nm}$, the spectral coverage was $300\sim 2300\text{ cm}^{-1}$, and the spectral resolution was $4\sim 10\text{ cm}^{-1}$. Raman spectroscopy was used to determine the content, and high performance liquid chromatography (HPLC) was used for verification finally. **Results** The linear range of this method was from 0.5 to 5 mg/L , and the limit of detection was 0.2 mg/kg . The good recoveries were in range of $77.3\%\sim 107.2\%$ with relative standard deviations (RSD, $n=6$) no more than 6.3% . The results showed no significant difference with those of HPLC. **Conclusion** The method is rapid and simple. It can be used for the detection of bisacodyl in weight-loss functional foods rapidly.

KEY WORDS: surface enhanced Raman spectroscopy; weight-loss functional foods; bisacodyl

0 引言

随着社会经济发展和生活质量的提高, 近年来,

人民群众对于体重和健康的重视程度日益增加, 减肥类产品的需求也日益增大, 但国内相关产品市场起步晚、标准欠缺、监管体系不完善, 另有不法商贩受利益驱动, 往往

基金项目: 山西省重点研发计划项目(201903D311002)

Fund: Supported by the Key R&D Project of Shanxi Province (201903D311002)

*通信作者: 张焱, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。E-mail: 3104320049@qq.com

*Corresponding author: ZHANG Ye, Engineer, Shanxi Institute for Food and Drug Control, No.85, Longcheng Street, Taiyuan 030031, China. E-mail: 3104320049@qq.com

会在保健品中非法添加化学药物, 以达到快速减肥的目的, 而保健品中违法添加的化学药物成分对消费者的身体健康会产生极大隐患。经常曝光的减肥类违法添加药物如西布曲明等, 检测方法较多, 而比沙可啉(结构式见图 1)是一种通便类药物, 其检测方法则较为欠缺, 已有的方法包括紫外-可见分光光度法、液相色谱法^[1]、液相色谱-质谱法等^[2-4], 这些方法可靠性好、稳定性高、重复性好, 但前处理过程复杂、耗时长、涉及检测仪器设备大型且昂贵。相比之下, 基于表面增强拉曼光谱的检测技术, 因其高灵敏度、高选择性、指纹图谱等优点, 越来越得到大家的认可^[5-8]。

表面增强拉曼光谱技术(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)是一种结合拉曼光谱和纳米材料技术的高灵敏度方法^[9-12], 近年已在食品中非法、超限添加物的快速检测领域得到较多应用^[13-18], 特别是在保健食品非法添加化学药物的检测方面。本研究即采用表面增强拉曼光谱法, 首次实现了减肥类保健品中比沙可啉的快速检测, 同时, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)对本方法的实用性进行了验证, 以期为快捷、准确、有效的监督检验及有效的评价保健食品的质量提供技术保障。

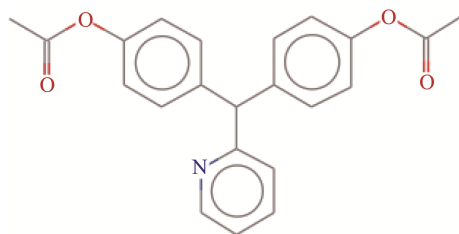


图 1 比沙可啉的分子结构式

Fig.1 Structural formula of bisacodyl

1 材料与amp;方法

1.1 试剂和仪器

增强试剂 A、增强试剂 B(南京简智仪器设备有限公司); 乙酸乙酯、乙腈、甲醇[色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; 磷酸、硫酸、磷酸氢二钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 比沙可啉(纯度 98%, 中国食品药品检定研究院)。

TruScan RM 便携式拉曼光谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; LC-20AT 高效液相色谱仪(配备低压四元泵、在线脱气单元、自动进样器、二极管阵列检测器, 日本岛津公司); HC-3018 离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); CP213 电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司]; VORTEX 2 涡旋振荡器(德国艾卡中国分公司)。

样品来自日常抽检的 4 种减肥类保健品, 有胶囊、片剂、散剂和颗粒剂等。

1.2 实验方法

1.2.1 对照品及阳性样本的制备

精确称取 100 mg 比沙可啉粉末, 用适量甲醇溶解后, 定容至 100 mL, 得到 1000 mg/L 的母液; 将母液用水稀释成浓度为 0、0.5、1、2、5、10 mg/kg 的比沙可啉工作液。

精确称取 1 g 粉碎后的样本, 置于 10 mL 离心管中, 平行称取 6 份; 分别向装有样本的离心管中加入 0.1 mL 浓度为 0、50、100、200、500、1000 mg/L 的比沙可啉工作液, 挥干溶剂后得到的样品中比沙可啉的浓度分别为 0、5、10、20、50、100 mg/kg, 稀释完成后 4 °C 保存待用。

1.2.2 样品前处理

取 1 g 样本置于 10 mL 提取管中, 加入 2 mL 乙酸乙酯, 涡旋振荡 1 min 后, 超声波提取 2 min, 离心后取上清液; 再向原提取管中加入 2 mL 乙酸乙酯, 重复上述步骤后, 合并上清液; 往合并的上清液中加入 1 mL 1% 硫酸溶液, 涡旋振荡 1 min 后静置待其分层, 上层清液取出后氮吹干, 底部固形物用 0.5 mL 乙酸乙酯复溶后待测。

1.2.3 检测条件

(1)SERS 检测

取 50 μ L 样品溶液, 加入 400 μ L 增强试剂 A 和 200 μ L 增强试剂 B, 混匀后迅速置于便携式拉曼光谱仪检测仓中进行检测。对于对照品, 可直接取样检测。其中, 拉曼激光波长为 1168 cm^{-1} 的 He-Ne 激光光源, 激光功率为 280 mW, 激发时间为 5 s, 光谱扫描范围 300~2300 cm^{-1} 。

(2)HPLC 检测

取上述提取液离心, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 采用 HPLC 进行测定。其中, 色谱条件: 色谱柱为 Agilent C₁₈ 柱(4.6 mm \times 25 mm, 5 μ m), 流动性 A 为乙腈, 流动性 B 为甲醇-0.05 mol/L 磷酸氢二钾溶液(55:45, V:V, 磷酸调节 pH 至 3.0), 洗脱流动相的比例为 A:B=20:80(V:V), 检测波长为 223 nm。

1.2.4 方法比对验证

随机抽取含不同浓度比沙可啉的样本 0.5 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 40 μ L 甲醇, 超声波提取 10 min 后, 离心得上清液, 过滤膜后, 取 10 μ L 清液供仪器测定; 同时用 SERS 方法进行检测, 比较 2 种方法的检测结果。

2 结果与分析

2.1 特征峰的选择

图 2 为不同浓度比沙可啉的拉曼光谱, 自下而上分别为 0、0.5、1、2、5 mg/L, 其特征峰有 478、513、632、680、730、801、823、855、1061、1168、1196 cm^{-1} 等, 其中可明显区别于空白谱图的特征峰有 730、1061、1168 cm^{-1} 等, 由于 1168 cm^{-1} 处 SERS 峰强度最高, 因此本研究选择 1168 cm^{-1} 作为比沙可啉检测的 SERS 特征峰。

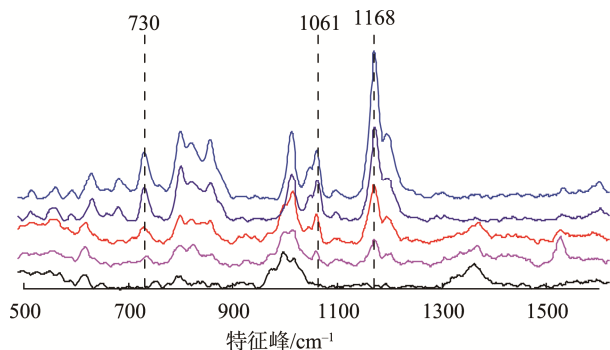


图2 不同浓度比沙可啶的表面增强拉曼图谱

Fig.2 Surface enhanced Raman spectra of different concentrations of bisacodyl

2.2 线性关系及检出限

分别取 50 μL 稀释后的对照品溶液, 加入 400 μL 增强试剂 A 和 200 μL 增强试剂 B, 混匀后迅速置于便携式拉曼光谱仪中进行检测, 记录 1168 cm^{-1} 处的强度值, 并以此绘制标准曲线, 如下图 3 所示, 相关系数 r 大于 0.996, 在 0.5~5 mg/L 线性范围内线性关系良好; 检出限以 3 倍的信噪比表示, 经计算本方法的检出限为 0.2 mg/kg , 满足检测要求。

2.3 回收率和精密度

选取 1.2.1 中配制的比沙可啶阳性样本(5、10、20 mg/kg)按照本方法进行检测, 平行测定 6 次来评价该方法的准确度, 所得数据如表 1 中所示。本方法在 3 个浓度水平的平均添加回收率在 77.3%~107.2%之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 3.1%~6.3%之间, 符合检测的要求。

表1 加标回收率实验结果($n=6$)
Table 1 Recovery test of bisacodyl ($n=6$)

名称	添加浓度/(mg/kg)	测定浓度平均值/(mg/kg)	回收率/%	相对标准偏差/%
某胶囊	5	4.88	79.9~96.2	6.3
	10	9.82	77.3~91.2	5.6
	20	20.21	87.3~105.8	3.9
某片剂	5	4.69	83.6~97.2	4.2
	10	9.78	89.3~95.1	3.1
	20	20.13	91.3~98.6	3.7
某散剂	5	4.82	92.5~103.8	4.8
	10	9.93	81.6~91.2	4.5
	20	19.86	91.6~107.2	5.8
某颗粒剂	5	4.98	98.2~101.6	4.6
	10	9.85	81.5~97.6	4.3
	20	20.11	91.3~98.6	3.7

2.4 实际样品的检测

随机抽取 1.2.1 中配制的比沙可啶阳性样本, 比较 SERS 法和 HPLC 法的检测结果, 对照结果见表 2, 可见 2 种方法检测结果间具有较高一致性。

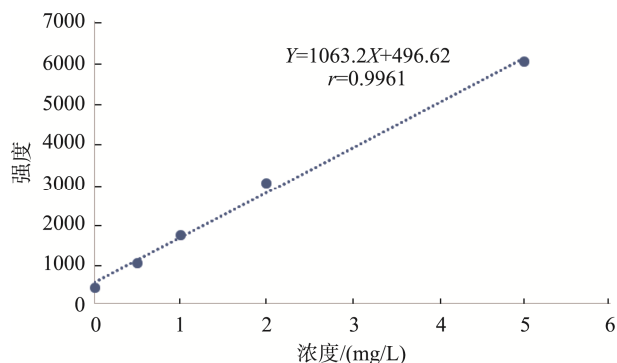


图3 比沙可啶标准曲线

Fig.3 Linear equation of bisacodyl

3 结论与讨论

本研究建立了一种基于 SERS 技术快速检测减肥类保健品中比沙可啶的方法, 方法的检出限为 0.2 mg/L , 定量范围 0.5~5 mg/L , 同现有的 HPLC 法相比, 本方法简便易操作, 检测周期短, 无需特殊耗材和试剂, 成本较低, 节省了时间和工作量, 同时方法的稳定性和适用性较好, 为现场的大量筛查和实验室检验奠定了基础, 可用于食品安全监管部门和相关企业对减肥类保健品中比沙可啶的检测。

表 2 SERS 方法和 HPLC 方法检测结果比对($n=6$)
Table 2 Comparison of the results of SERS and HPLC($n=6$)

样本	SERS/(mg/kg)	HPLC/(mg/kg)	偏差/%	回收率/%	
				SERS	HPLC
a	4.88	5.08	4.3	97.6	101.6
b	9.82	9.98	4.6	99.8	99.8
c	20.21	19.81	5.3	101.1	99.1

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Committee. pharmacopoeia of the people's republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [2] 李卓, 陈玉龙, 孙晓. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥类保健食品中 10 种非法添加利尿类及泻下类药物[J]. 食品工业科技, 2015, 22: 214-220.
LI Z, CHEN YL, SUN X. Simultaneous determination of 10 diuretics and laxatives illegally added in slimming health foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 22: 214-220.
- [3] 朱吕, 陆春燕, 厉晨皓. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中 4 种减肥类非法添加药物[J]. 分析仪器, 2020, 5: 36-41.
ZHU L, LU CY, LI CH. Simultaneous determination of 4 compounds illegally added in foods and losing weight healthy food by HPLC-MS/MS [J]. Anal Instrum, 2020, 5: 36-41.
- [4] 肖之敏, 莫益倩, 廖雯意. 超高效液相色谱-串联质谱法测定减肥类保健食品中 3 种违法添加的缓泻药成分的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(5): 1379-1383.
XIAO ZM, MO YQ, LIAO WY. Determination for 3 kinds of illegally added laxatives in slimming health foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(5): 1379-1383.
- [5] 王晓斌, 曾海龙. 基于 SERS 技术的脐橙果肉中三唑磷农药残留快速检测研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(10): 83-95.
WANG XB, ZENG HL. Study on rapid detection of triazophos residues in flesh of navel orange by SERS [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(10): 83-95.
- [6] 李丹, 汪冰, 李晓. 表面增强拉曼光谱法快速鉴别非法染色的关黄柏药材[J]. 药学研究, 2015, 34(4): 202-205.
LI D, WANG B, LI X. Rapid identification of illegal dyed cortex phellodendri by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Pharm Res, 2015, 34(4): 202-205.
- [7] 王玲, 王雪, 田静秒. 表面增强拉曼光谱检测保健品中的盐酸吡咯列酮, 盐酸罗格列酮与盐酸苯乙双胍[J]. 食品工业科技, 2016, 37(13): 295-303.
WANG L, WANG X, TIAN JM. Surface-enhanced Raman spectroscopy(SERS) assay method for pioglitazone hydrochloride and phenformin hydrochloride in health care products [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(13): 295-303.
- [8] 包琳, 孙银凤, 赵玉荣. 表面增强拉曼光谱法对盐酸四环素注射液的定量分析[J]. 海峡药学, 2017, 29(10): 50-53.
BAO L, SUN YF, ZHAO YR. Quantitative analysis of tetracycline hydrochloride for injection using SERS technique [J]. Strait Pharm J, 2017, 29(10): 50-53.
- [9] 张雁, 尹利辉, 金少鸿. 表面增强拉曼光谱法检测微量添加物质的研究[J]. 中国药事, 2012, 26(4): 335-339.
ZHANG Y, YIN LH, JIN SH. Research of detecting trace substances illegally added by surface enhanced Raman spectroscopy [J]. Chin Pharm Affair, 2012, 26(4): 335-339.
- [10] 甘盛, 赖青鸟, 李志成. 药物分析领域拉曼光谱表面信号增强剂应用研究进展[J]. 中国药业, 2015, 19: 75-81.
GAN S, LAI QN, LI ZC. Advances in the application of Raman spectral surface signal enhancer in drug analysis [J]. Chin Pharm, 2015, 19: 75-81.
- [11] 韩莹. 非法添加药物成分快速检测方法研究及应用进展[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2015, 2: 93-102.
HAN Y. Research and application progress of rapid detection method for illegal drug addition [J]. Chin J Drug Abuse Prev Control, 2015, 2: 93-102.
- [12] KIM A, BARCELO SJ, WILLIAMS RS, *et al.* Raman spectroscopy in the analysis of food and pharmaceutical nanomaterials [J]. Anal Chem, 2012: 157117907.
- [13] 冯彦婷, 林沛纯, 谢慧凤. 基于纳米银颗粒团聚反应的表面增强拉曼光谱法测定牛奶中三聚氰胺的含量[J]. 食品发酵与工业, 2019, 45(15): 256-260.
FENG YT, LIN PC, XIE HF. Surface-enhanced Raman spectrophotometric method for the determination of silver nanoparticles in milk [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(15): 256-260.
- [14] 李耀, 刘木华, 袁海超. 表面增强拉曼光谱法测定鸭肉中氧氟沙星残留[J]. 分析科学学报, 2019, 34(3): 367-371.
LI Y, LIU MH, YUAN HC. The determination of ofloxacin residue in duck meat by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. J Anal Sci, 2019, 34(3): 367-371.
- [15] 陈正毅, 卢雅琳, 梁豫. 表面增强拉曼光谱法快速测定干果类食品中

的糖精钠[J]. 分析测试学报, 2017, 36(5): 650-654.

CHEN ZY, LU YL, LIANG Y. Rapid analysis of saccharin sodium salt in dried fruits by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy [J]. J Instrum Anal, 2017, 36(5): 650-654.

[16] DENG Z, CHENX X, WANG YR, *et al.* Headspace thin-film microextraction coupled with surface enhanced Raman scattering as a facile method for reproducible and specific detection of sulfur dioxide in wine [J]. Anal Chem, 2015, 87(1): 633-640.

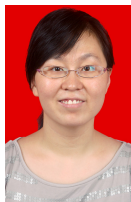
[17] MA PY, LIANG FH, LI XP, *et al.* Development and optimization of a SERS method for on-site determination of nitrite in foods and water [J]. Food Anal Method, 2014, 7(9): 1866-1873.

[18] 王海波. 表面增强拉曼光谱用于食品检测的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 15: 322-328.

WANG HB. Research progress on application of surface-enhanced Raman spectroscopy in food detection [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 15: 322-328.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



张 焯, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: 3104320049@qq.com

“天然产物综合利用与检测”专题征稿函

天然产物是指由动物、植物或昆虫、海洋生物和微生物体内分离出来的生物二次代谢产物及生物体内源性生理活性化合物。近年来随着养生理念逐渐深入人心,天然产物对健康促进作用的相关研究也获得了越来越多的关注。此外,茶多酚、香辛料、壳聚糖、细菌素等天然产物在食品的护色保鲜领域也起着重要的作用。我国是天然资源大国,也是应用天然产物历史最悠久的国家之一。如何充分发挥我国的资源优势,从而更好地利用我国丰富的自然资源,是亟待解决问题。

鉴于此,本刊特别策划了“天然产物综合利用与检测”专题。专题将围绕天然产物的作用机理、分离鉴定、分析提纯、活性评价以及天然产物综合利用与检测等,或您认为本领域有意义的问题综述及研究论文均可,专题计划在 2021 年 4 月出版。

本刊主编国家食品安全风险评估中心吴永宁研究员与本专题主编吕兆林教授特邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件,综述、研究论文和研究简报均可。请在 2021 年 4 月 1 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下,希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题**天然产物综合利用与检测**):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者

登录-注册投稿-投稿栏目选择“2021 专题: **天然产物综合利用与检测**”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: **天然产物综合利用与检测**专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部