

高效液相色谱-串联质谱法检测减肥茶中的 匹可硫酸钠

周 璞, 魏华琳*, 徐晓楠, 白 天, 郭旭光

(河南省食品检验研究院, 郑州 450003)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法检测减肥茶中非法添加匹可硫酸钠的分析方法。**方法** 样品经 1 mol/L 盐酸溶液提取后, 经过聚酰胺固相萃取小柱净化, 采用 Agilent RRHD Eclipse Plus C₁₈ 柱(2.1 mm×50 mm, 1.8 μm)分离, 以乙腈-乙酸铵溶液为流动相梯度洗脱, 多反应监测模式下检测, 外标法定量。**结果** 匹可硫酸钠在 5~500 ng/mL 时响应值与浓度呈良好线性关系, 方法检出限为 0.125 mg/kg, 样品的加标回收率为 90.4%~99.1%, 相对标准偏差为 2.8%~6.9%。**结论** 本方法通过对目标物的有效净化和富集, 能有效除去基质干扰、提高方法灵敏度、降低基质效应、实现快速测定、准确定量和确证的目的, 适用于减肥茶中匹可硫酸钠的检测。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 匹可硫酸钠; 减肥茶

Determination of sodium picosulfate in slimming tea by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHOU Pu, WEI Hua-Lin*, XU Xiao-Nan, BAI Tian, GUO Xu-Guang

(Food Inspection and Testing Institute of Henan Province, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the illegal addition of sodium picosulfate in diet tea by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with 1 mol/L hydrochloric acid solution, purified with polyamide solid phase extraction column, and separated by Agilent RRHD Eclipse Plus C₁₈ column (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm). The mobile phase was gradient elution with acetonitrile-ammonium acetate solution. The detection was carried out in multi-reaction monitoring mode, and the quantitative analysis was carried out by external standard method. **Results** The detection limit of the method was 0.125 mg/kg. The recoveries of the samples were 90.4%–99.1%, and the relative standard deviations were 2.8%–6.9%. **Conclusion** The method can effectively remove the matrix interference, improve the sensitivity of the method, reduce the matrix effect, and achieve the purpose of rapid determination, accurate quantitative and confirmatory through the effective purification and enrichment of the target substance. It is suitable for the determination of sodium picosulfate in diet tea.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; sodium picosulfate; slimming tea

基金项目: 国家自然科学基金项目(21577042)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21577042)

*通信作者: 魏华琳, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品检验, 色谱分析。E-mail: 185791052@qq.com

*Corresponding author: WEI Hua-Lin, Master, Chief Technician, Food Inspection and Testing Institute of Henan Province, No.8 Jinger Road, Jinshui District, Zhengzhou 450003, China. E-mail: 185791052@qq.com

0 引言

目前, 保健食品产业已成为我国重要且极具发展潜力的产业之一, 并呈现快速增长趋势^[1]。随着人们爱美的追求越来越高, 减肥茶的种类及销售逐渐增加。市面上常见的减肥茶主要功能是刺激神经使食欲下降, 抑制肠胃的消化吸收功能, 使食物不能完全消化吸收^[2-4]。茶中含有高浓度的茶多酚和荷叶素具有加快脂肪代谢, 促进脂肪分解的作用, 还可以调理、滋养身体。然而一些商家为提高通便减肥效果非法添加缓泻药物, 其副作用有腹泻、胃肠功能紊乱、血压升高、心跳加快、电解质紊乱、脱水、新陈代谢率加快等, 从而危害人体健康^[5-8]。匹可硫酸钠是目前发现最多的一种。

匹可硫酸钠是意大利 De Angeli 公司合成的一种缓泻剂。美国 FDA 于 2012 年批准匹可硫酸钠-氧化镁-枸橼酸口服散剂上市, 用于成人结肠镜检查前的结肠清洁^[9-10]。匹可硫酸钠口服后几乎不吸收, 直接到达大肠, 被大肠微生物硫酸酯酶分解成具有活性的双苯酚代谢物, 其活性代谢产物[4, 4'-(2-吡啶亚甲基)-苯酚]刺激大肠粘膜引起肠蠕动亢进, 同时阻碍水分的吸收, 引起泻下, 部分活性代谢产物经肠道吸收后, 从胆汁中排泄, 呈现出良好的润肠通便的功效。研究人员发现存在匹可硫酸钠保健食品、食品中的非法添加问题, 且近四成酵素食品中匹可硫酸钠呈阳性, 非法添加情况非常严峻^[11-12]。

匹可硫酸钠的检测多采用薄层色谱法、液相色谱法^[13-15]、液相色谱-串联质谱法^[16-18]。国家市场监督管理总局颁布食品补充检验方法《食品中匹可硫酸钠的测定》采用液相色谱-串联质谱法^[19]。方法采用水溶液提取, 三氯乙酸调节溶液 pH, 聚酰胺柱净化等处理方法在筛查减肥茶中的非法添加药物匹可硫酸钠时, 存在基质干扰和提取率差等问题。本研究采用盐酸溶液作为提取试剂, 有效分解茶多酚等茶叶中的主要成分, 以期实现快速测定、准确定量和确证, 适用于减肥茶中匹可硫酸钠的检测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Thermo Scientific™TMSQ Altis™三重四极杆质谱仪、超纯水仪(电阻率为 18.2 MΩ·cm, 25 °C)(美国 Millipore 公司); 涡旋混合器(美国 IKEA 公司); Sigma3-30K 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); 超声波振荡仪(昆山舒美超声有限公司); Mettler XS205 电子天平(瑞士梅特勒公司); 固相萃取仪(美国 Agilent 公司)。

匹可硫酸钠对照品(批号: 75530010, 上海安谱实验科技股份有限公司); 盐酸、氨水(分析纯, 试剂天津市科密欧化学试剂有限公司); 无水乙醇、乙酸铵、甲醇、乙腈(色谱纯, 德

国 Merck 公司)。Agela Technologies Cleanert JXA 固相萃取小柱(1g/6 mL 30/pkg, 北京 Agela Technologies 公司)。

样品为随机购买的市售减肥茶, 样品基质包括绿茶、黑茶、红茶, 芦荟干粉等。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

准确称取 1 g (精确到 0.001 g) 试样于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 1 mol/L 盐酸溶液, 25 °C 超声处理 25 min, 8000 r/min 离心 10 min, 待上柱。

取 10 mL 上清液至已活化的聚酰胺固相萃取柱内, 待溶液流尽后, 依次用 10 mL 纯水、15 mL 70% 甲醇溶液洗涤、20 mL 无水乙醇-氨水-水溶液洗脱, 收集洗脱液于 80 °C 水浴上蒸发至近干, 用纯水定容至 10 mL, 过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

1.2.2 色谱-质谱条件

色谱条件: 色谱柱 Agilent RRHD Eclipse Plus C₁₈ 柱 (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm); 流动相 10 mmol/L 乙酸铵溶液-乙腈, 梯度洗脱程序见表 1; 柱温 35 °C; 进样量 1 μL。

质谱条件: 电离方式: ESI(+); 毛细管电压: 3500 V; 雾化温度: 350 °C; 检测方式: 多反应监测 (multiple-reaction monitoring, MRM)。质谱测定参数见表 2。

表 1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution procedure

时间 /min	流速 / (mL/min)	流动相 A (10 mmol/L 乙酸铵溶液/%)	流动相 B (乙腈/%)
0.00	0.3	95	5
1.00	0.3	95	5
2.00	0.3	0	100
3.00	0.3	0	100
3.01	0.3	95	5
4.00	0.3	95	5

表 2 质谱条件
Table 2 Mass spectrometry conditions

母离子(m/z)	子离子(m/z)	锥孔电压/V	碰撞电压/V	检测模式
438.2	183.9	74	34.44	ESI+
438.2	278.2	74	16.79	ESI+

1.2.3 标准曲线

用纯水配制质量浓度为 5、10、25、50、100、250、500 ng/mL 的匹可硫酸钠标准溶液, 以色谱-质谱条件进行分析, 记录色谱图及质谱图, 根据浓度和峰面积绘制标准曲线。

1.2.4 样品测定

取处理后的试液,以色谱-质谱条件进行分析,记录色谱图及质谱图。样品中匹可硫酸钠的含量用标准曲线法定量。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

选择 1-盐酸溶液、2-水溶液(原标准方法)和 3-氢氧化钠溶液为提取溶剂,样品基质为红茶,结果 2-原标准方法采用水溶液提取时基质效应强,提取效果差,回收率基本为零;3-氢氧化钠溶液提取时,目标化合物不能在聚酰胺柱保留而有较多损失,回收率为 16%;1-盐酸溶液提取时净化效果好,回收率符合要求。结果见图 1,本研究选择盐酸溶液提取试剂。

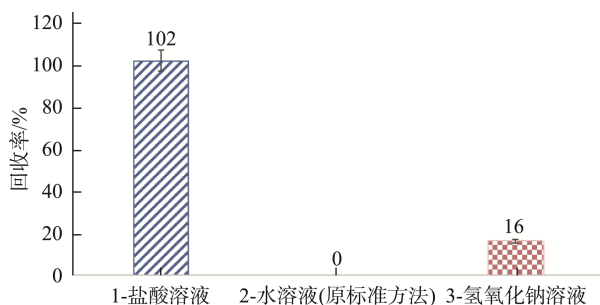


图 1 不同提取试剂的加标回收率(n=3)

Fig.1 Recoveries of different extraction reagents (n=3)

2.2 提取剂浓度的优化

选择绿茶,黑茶,红茶,芦荟干粉等 4 种不同发酵程度的减肥茶作为样品基质,采用盐酸溶液作为提取试剂,考察不同酸度下的提取效果,结果 0.1 mol/L 盐酸溶液提取时,绿茶和芦荟干粉 2 种基质的减肥茶仍未消除基质效应,回收率偏高,1.0 mol/L 盐酸溶液提取时提取率满足要求,4 种不同基质的减肥茶回收率均在 94%~103%间,结果详见图 2,选用 1.0 mol/L 盐酸溶液作为前处理方法的提取溶液。

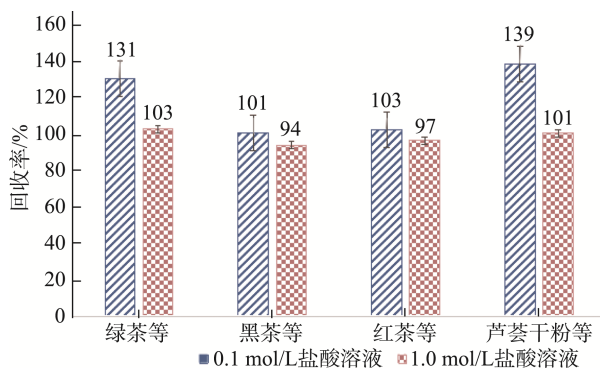


图 2 不同浓度提取溶液的加标回收率(n=3)

Fig.2 Recoveries of extraction solutions with different concentrations were obtained by adding standard (n=3)

2.3 净化方式的选择

一些基质样品的提化液较混浊,过聚酰胺净化柱时易堵塞填料,选用过滤、静置、离心等净化方式,结果显示在 8000 r/min 离心 5 min,取上清液净化效果较好。

2.4 方法的线性关系

将不同质量浓度的匹可硫酸钠标准溶液分别上机测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标进行线性回归分析。结果表明,匹可硫酸钠在 5~500 ng/mL 范围内线性关系良好($r=0.9994$)。

2.5 方法的检出限

对未检出匹可硫酸钠的样品添加一定浓度的对照品溶液,使之在同样条件下可以检出。按照信噪比为 $S/N=3$ 计算,最低检出限确定为 0.125 mg/kg。

2.6 精密度和加标实验

采用空白样品进行精密度和加标实验。样品中添加匹可硫酸钠标准溶液,制成 0.5、5 mg/kg 2 个浓度水平,回收率为 90.4%~99.1%,见表 3。每个浓度进行 6 次平行实验,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.8%~6.9%,见表 4,结果表明该方法的精密度和准确度较高。样品空白、样品加标回收图谱见图 3、图 4。

表 3 各基质的加标回收率

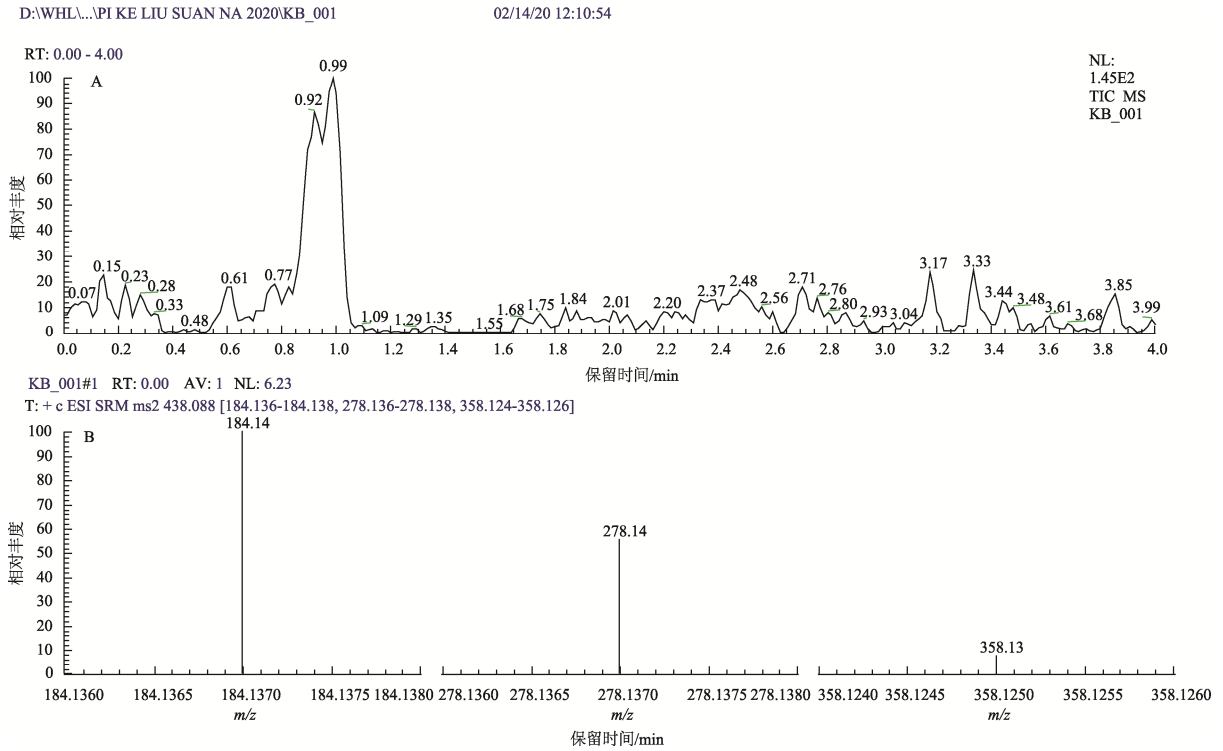
Table 3 Spiked recovery of each matrix

基质	添加量/(mg/kg)	回收率/%
绿茶等	0.5	96.7
绿茶等	5	95.6
黑茶等	0.5	94.2
黑茶等	5	90.4
红茶等	0.5	97.6
红茶等	5	96.4
无茶(芦荟干粉等)	0.5	99.1
无茶(芦荟干粉等)	5	98.8

表 4 精密度(n=6)

Table 4 Relative standard deviation (n=6)

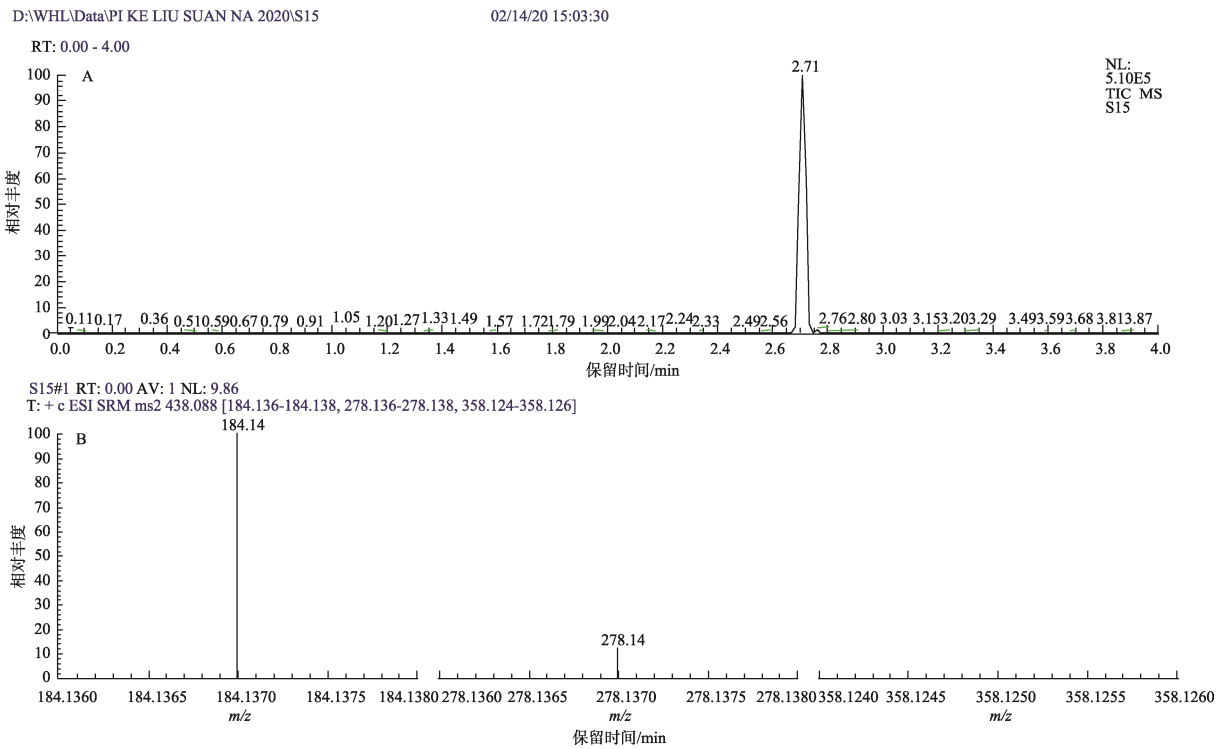
基质	添加量/(mg/kg)	相对标准偏差/%
绿茶等	0.5	4.0
绿茶等	5	4.6
黑茶等	0.5	5.1
黑茶等	5	6.9
红茶等	0.5	4.4
红茶等	5	4.7
无茶(芦荟干粉等)	0.5	2.8
无茶(芦荟干粉等)	5	3.0



注: A: 色谱图; B: 质谱图。

图 3 样品空白溶液 MRM 图谱

Fig.3 MRM pattern of blank solution of sample



注: A: 色谱图; B: 质谱图。

图 4 样品加标溶液 MRM 图谱

Fig.4 MRM pattern of the sample was labeled solution

3 结论与讨论

采用水溶液提取,三氯乙酸调节溶液 pH 值,聚酰胺柱净化等处理方法在筛查减肥茶中目标化合物时,不能有效的实现分离和净化,存在基质干扰和提取率差等问题,本研究采用强酸和强碱作为提取试剂,降解减肥茶样品中的茶多酚等主要成分,以实现净化和提高目标化合物提取率的作用。实际实验结果验证了此方案的可行性,且通过不同减肥茶基质的实验对比,还发现酸溶液的浓度越高其作用越强。

本研究采用盐酸溶液作为提取试剂,可有效分解茶多酚等茶叶中的主要成分,建立高效液相色谱-串联质谱法测定减肥茶中匹可硫酸钠的方法,能够有效地净化和富集,除去基质干扰,提高了方法灵敏度方法的回收率、重复性和检测限均满足实验要求,具有快速准确灵敏的特点,降低了基质效应,实现了高效分离和快速测定,准确度和精密度高,可以实现快速测定、准确定量和确证的目的,适用于减肥茶中匹可硫酸钠的检测。为减肥茶中匹可硫酸钠的监测和风险评估提供技术支持。

参考文献

- 李建辉, 张朝晖, 王琳, 等. 减肥保健食品中非法添加物检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1585-1595.
LI JH, ZHANG ZH, WANG L, *et al.* Research progress of analysis of illegal additives in weight-reducing dietary supplements [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 8(5): 1585-1595.
- 熊岑, 林叶婧, 李卫岗, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定减肥保健食品中 10 种减肥类化合物的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(7): 780-786.
XIONG C, LIN YJ, LI WG, *et al.* UHPLC-MS/MS determination of 10 weight loss compounds in slimming health foods [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2017, 53(7): 780-786.
- 许立. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定减肥类保健食品中 29 种非法添加化学药品[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2017.
XU L. Simultaneous determination of 29 chemical drugs illegally added in slimming health food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2017.
- 刁飞燕, 吴晓云, 刘春霖, 等. 高效液相色谱-二极管阵列检测器同时测定减肥通便茶中 6 种蒽醌类成分的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4357-4362.
DIAO FY, WU XY, LIU CL, *et al.* Simultaneous determination of 6 kinds of anthraquinones derivatives in weight reduction/defecation tea by high performance liquid chromatography coupled with diode array detector [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 8(11): 4357-4362.
- 肖之敏, 莫益倩, 廖雯意, 等. 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, *et al.* 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.
- STEVEN S, LIU LQ, KUANG H, *et al.* Gold immunochromatographic assay for simultaneous detection of sibutramine and sildenafil in slimming tea and coffee [J]. *Sci China Materials*, 2020, 63(4): 654-659.
- 徐晓楠, 叶刚, 张楠, 等. 液相色谱-串联质谱法测定减肥降脂通便类保健食品中 38 种非法添加药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 6075-6085.
XU XN, YE G, ZHANG N, *et al.* Determination of 38 kinds of illegally added drugs in health food for reducing weight, reducing blood fat and relaxing the bowels by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(17): 6075-6085.
- 刘静, 姜鑫, 曲绪楷, 等. 高效液相色谱-质谱联用法快速检测中成药和保健食品中非法添加的 12 种减肥类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(8): 2518-2523.
LIU J, JIANG X, QU XK, *et al.* Rapid determination of 12 kinds of slimming chemical drugs illegally added into traditional Chinese medicine and health food by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(8): 2518-2523.
- 孙晋瑞, 李丹, 王洪臣, 等. 匹可硫酸钠的合成工艺改进[J]. 中国药房, 2017, 28(31): 4404-4406.
SUN JR, LI D, WANG HC, *et al.* Improvement of synthesis technology for sodium picosulfate [J]. *China Pharm*, 2017, 28(31): 4404-4406.
- 黄世杰. FDA 批准匹可硫酸钠、氧化镁和无水柠檬酸复方口服溶液用于结肠镜检查[J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(5): 352.
HUANG SJ. FDA approved oral solution of sodium bicarbonate, magnesium oxide and anhydrous citric acid for colonoscopy [J]. *J Int Pharm Res*, 2018, 45(5): 352.
- KASTNER P, BURDOVÁ K, PILAŘOVÁ P. HPLC method for stability evaluation of pharmaceutical preparations containing sodium picosulfate [J]. *Ceska Slov Farm*, 2015, 64(5): 215.
- HOY SM, SCOTT LJ, WAGSTAFF AJ. Sodium picosulfate/magnesium citrate: A review of its use as a colorectal cleanser [J]. *Drugs*, 2009, 69(1): 123-136.
- IVANA S, GORAN N, VALENTINA M, *et al.* Monitoring of thermal and oxidation stability of sodium picosulfate by modified RP-HPLC method [J]. *Chem Ind Chem Eng Quar*, 2010, 16(1): 103-110.
- 朱国锋. HPLC 法测定匹可硫酸钠片中匹可硫酸钠的含量[J]. 中国医药导报, 2011, 8(9): 29-30.
ZHUO GF. Determination of sodium picosulfate in the sodium picosulfate tablets by HPLC [J]. *China Med Herald*, 2011, 8(9): 29-30.
- 吴振军, 臧恒昌. 匹可硫酸钠薄膜衣片的制备及质量评价[J]. 药学研究, 2016, 35(6): 344-346, 366.
WU ZJ, ZANG HC. Preparation and quality evaluation of sodium picosulfate film-coated tablets [J]. *J Pharm Res*, 2016, 35(6): 344-346, 366.
- 何嘉雯, 温家欣, 赖宇红, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定酵素食品中的匹可硫酸钠[J]. 色谱, 2019, 37(12): 1331-1336.
HE JW, WEN JX, LAI YH, *et al.* Determination of sodium picosulfate in enzyme products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(12): 1331-1336.
- 胡青, 孙健, 冯睿, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定食品中 34 种非法添加减肥类化合物[J]. 色谱, 2017, 35(6): 594-600.

HU Q, SUN J, FENG R, *et al.* Determination of 34 illegally adulterated weight loss compounds in foods by ultra high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(6): 594-600.

- [18] 宋晓婉, 刘坤, 宋旭凤, 等. HPLC-MS/MS 法检测减肥类保健品中 4 种致泻类非法添加物[J]. *食品科技*, 2020, 45(5): 346-349.

SONG XW, LIU K, SONG XF, *et al.* Determination of four diarrheal components illegally added in slimming functional products by HPLC-MS/MS method [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 45(5): 346-349.

- [19] 市场监管总局关于发布《食品中匹可硫酸钠的测定》食品补充检验方法的公告[EB/OL]. (2019 年第 30 号)[2019-6-19].

Announcement of the General Administration of market supervision on the release of supplementary inspection method for food "determination of sodium picosulfate in foods" [EB/OL]. (No. 30, 2019) [2019-6-19].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



周 璞, 助理工程师, 主要研究方向为食品中的有害物质分析。

E-mail: 64167278@qq.com

魏华琳, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品检验, 色谱分析。

E-mail: 185791052@qq.com