

气相色谱-质谱法检测减肥食品中芬氟拉明和西布曲明

朱志鑫, 吴惠勤, 黄晓兰, 林晓珊, 黄芳

(中国广州分析测试中心, 广东省分析测试技术公共实验室, 广东广州 510070)

摘要: 采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 分析技术, 选择离子检测法 (SIM), 建立了减肥食品中芬氟拉明和西布曲明的测定方法。样品经乙醇超声提取, 用 HP-5 MS 石英毛细管柱分离, 选择 m/z 72、114 和 159 用于 SIM 检测, 并根据提取离子色谱图的峰面积比进行目标物确证, 实现了色谱保留时间、质谱特征离子同时定性, 消除了减肥食品中复杂基体的干扰, 避免了假阳性结果的出现。西布曲明和芬氟拉明在 0.1 mg/L~50 mg/L 浓度范围内与峰面积之间线性关系良好, 在低、中、高 3 个添加水平范围内的平均回收率为 93.8%~97.6%, 检测限可以达到 1.0 mg/kg, 可用于减肥食品中非法添加芬氟拉明和西布曲明的检测。

关键词: 芬氟拉明; 西布曲明; 减肥食品; 气相色谱-质谱; 选择离子检测

文章编号: 1673-9078(2012)10-1419-1422

Quantification of Sibutramine and Fenfluramine in Slimming

Foods by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHU Zhi-xin, WU Hui-qin, HUANG Xiao-lan, LIN Xiao-shan, Huang Fang

(Guangdong Provincial public Laboratory of Analysis and Testing Technology, China National Analytical Center, Guangzhou 510070, China)

Abstract: A new method for the determination of sibutramine and fenfluramine in slimming foods by gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitor (GC-MS/SIM) was established in this paper. The sample was extracted by ethanol, then the chromatographic separation was performed on a HP-5 MS capillary column. The conditions of GC-MS were optimized, and the selected ions were m/z 72, 114 and 159. Qualitative assessment was conducted using both retention time and mass spectrum which the complex matrix disturbance in slimming foods sample could avoided. Quantitative assertion was achieved using base peak m/z 114 and 72, respectively. Good linear was acquired within the range of 0.1 mg/L~50 mg/L, while and recovery rate at three spike levers (low, medium and high) were between 93.8% and 97.6%. The limit of detection was 1.0 mg/kg. The method was proved to be simple and accurate, and could be applied to the determination of sibutramine and fenfluramine in slimming foods flavor with satisfactory results.

Key words: sibutramine; fenfluramine; slimming foods, GC-MS; select ion monitor

食品安全当前已日益成为全社会关注的焦点, 确保食品安全已成为国内广大消费者的共同心声^[1-2]。目前市场上存在减肥保健食品中非法添加违禁成分的现象, 主要添加的是芬氟拉明和西布曲明^[3], 其中芬氟拉明一种化学合成的食欲抑制剂, 人服用后会引发头晕、嗜睡、抑郁, 甚至可导致心脏瓣膜损害, 肺动脉高压等严重不良反应^[4], 西布曲明为非苯丙胺类食欲抑制剂, 长期服用可能导致血压上升、脉搏明显加快以及心电图异常等^[5], 我国分别于2009年1月和2011年3月叫停芬氟拉明和西布曲明的生产、销售和使用, 然而市场上依然存在减肥类食品中非法添加减肥西药的情况, 有些含量远超过安全剂量范围, 给消费者健康带

收稿日期: 2012-05-24

作者简介: 朱志鑫 (1977-), 硕士, 助理研究员, 主要从事食品安全方面的研究

来极大的安全隐患。

食品中芬氟拉明和西布曲明的检测方法已有较多报道, 有采用薄层色谱法^[6]、分光光度法^[7]、毛细管电泳法^[8]、气相色谱法^[9], 高效液相色谱法^[10]、气相色谱-质谱法^[11-12]及液相色谱-串联质谱法^[11]等方法进行检测。其中薄层色谱法仅是快速简便的筛选方法, 分光光度法、毛细管电泳法等存在前处理复杂, 灵敏度不高及选择性低, 应用范围窄等问题, 而气相色谱法和液相色谱法则由于减肥食品的化学成分复杂, 干扰较大, 容易出现假阳性结果。液相色谱-质谱联用法虽也可实现西布曲明的准确定性定量, 但其适于复杂基质的痕量物质的检测, 但如果样品中添加量较高, 容易导致对体系的污染, 且仪器成本高在我国尚未完全普及。本研究采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 技术, 建立了不同基质中减肥食品中芬氟拉明和西布曲明的快速

检测方法,而在先期的研究^[9-10]中,对样品基体的复杂性考查较少。该方法样品处理简单快速,测定结果准确可靠,检出限达到1.0 mg/kg,已成功应用于减肥食品中的芬氟拉明和西布曲明的测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器

Agilent 6890GC/5973MS 气相色谱/质谱仪,美国安捷伦公司。

1.1.2 试剂和材料

甲醇、乙醇、二氯甲烷,分析纯,广州化学试剂厂。

1.1.3 标准物质

盐酸西布曲明和盐酸芬氟拉明均购自中国药品生物制品检定所。

1.2 标准储备液的配制

精密称取盐酸西布曲明和盐酸芬氟拉明对照品,于100 mL容量瓶中,加乙醇溶解后并定容,分别制成含西布曲明(以盐酸西布曲明计,下同)0.102 mg/mL和含芬氟拉明(以盐酸芬氟拉明计,下同)0.101 mg/mL的对照品储备溶液。摇匀后密封于冰箱中4 ℃中保存,使用前乙醇稀释至所需的倍数。

1.3 样品处理方法

固体样品若为胶囊,取其粉末内容物;若为片剂,则取一定量的样品碾碎、混匀。称量1.0 g样品于烧杯,加乙醇约30 mL,超声10 min,冷却,2000 r/min离心10 min取上清液后定容到50 mL,用0.45 μm膜过滤后供GC-MS检测。

1.4 仪器条件

色谱条件:HP -5 MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm石英毛细管柱;载气高纯(99.999%)氮气;柱流量为0.8 mL/min;进样口温度250 ℃;柱温70 ℃,12 ℃/min升至280 ℃,保持5 min;分流比10:1;进样量为1.0 μL,离子源温度230 ℃、四级杆温度150 ℃、传输线温度280 ℃。

质谱条件:电子轰击电离源EI,电子能量70 eV;扫描方式:选择离子(SIM),西布曲明:72, 114, 芬氟拉明:72, 159。

1.5 定性与定量方法

若样品的色谱保留时间和质谱碎片离子与标样吻合,且质谱的2个提取离子的面积比也与标样相符,即可确定样品中含有目标化合物。

定量方法:西布曲明和芬氟拉明分别以基峰 m/z 114 和 m/z 72 为定量离子外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 提取方式和提取时间的选择

2.1.1 提取方式的选择

由于西布曲明和芬氟拉明极性较强,易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂。本研究比较了用甲醇、乙醇、二氯甲烷等作为提取剂的提取效果。在1.0 g减肥胶囊中加入50 mg/kg的西布曲明和芬氟拉明标准溶液各1 mL,浸泡2 h后分别用甲醇、乙醇、二氯甲烷进行超声波振荡提取,按前述方法测定回收率(见表1)。结果表明三种溶剂提取效率都很高,考虑到乙醇的安全性及无污染,故选择乙醇作为提取溶剂。

表1 甲醇、乙醇、二氯甲烷提取效果对比

Table 1 Comparison of the extraction rate of methanol, ethanol and dichloromethane

提取溶剂	回收率/%	
	西布曲明	芬氟拉明
甲醇	96.3	96.5
乙醇	96.8	97.1
二氯甲烷	95.4	95.8

2.1.2 提取时间的选择

以加标50 mg/kg的某减肥胶囊为研究对象,分别超声提取5 min、10 min和15 min提取,经比较,以上不同样品提取时间测得西布曲明的检测浓度分别为:45.1 mg/kg, 48.4 mg/kg, 48.5 mg/kg, 芬氟拉明的检测浓度分别为:40.1 g/kg, 48.5 mg/kg, 48.7 mg/kg。实验结果表明,以乙醇作为萃取溶剂进行超声振荡提取10 min后其回收率就可超过95%,且延长也不能对提取率有明显的提高,故选择提取时间为10 min就能取得满意的提取效果。

2.2 目标物确证

为了保证结果准确可靠,采用提取离子法进一步验证^[5]。将西布曲明的 m/z 72、114 二个离子(图1)和芬氟拉明的 m/z 72、159 二个离子作提取离子图(图2),并分别对这2个离子峰积分计算峰面积,其峰面积比分别为8.5和8.2,样品的色谱保留时间和质谱碎片离子须与标样基本吻合,且质谱的2个提取离子的峰面积比也必须与标样相符,才能确定为目标物;只要其中有一离子在此处无峰,即表明样品不含西布曲明或芬氟拉明。提取离子法是作为确证的有效手段,可避免产生假阳性,保证测定结果准确可靠。

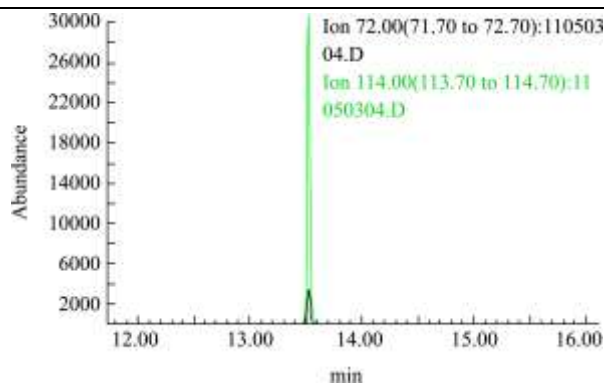


图1 西布曲明的GC-MS提取离子图

Fig.1 GC-MS extracted ion chromatogram of sibutramine

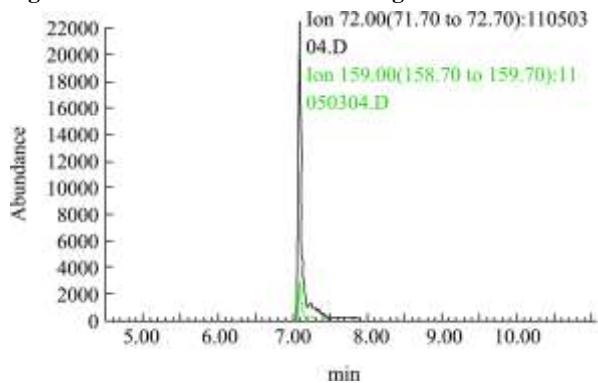


图2 芬氟拉明的GC-MS提取离子图

Fig.2 GC-MS extracted ion chromatogram of fenfluramine

2.3 线性范围、线性方程、检出限

取西布曲明和芬氟拉明标准储备液逐级稀释成50、10、5、1.0、0.5和0.1 mg/L系列标准溶液，以色谱峰面积(A)和质量浓度(ρmg/L)做工作曲线，西布曲明线性方程为 $A=24259\rho+148$, $r=0.9999$ ，芬氟拉明线性方程为 $A=14768\rho-155$, $r=0.9999$ ，结果表明，西布曲明和芬氟拉明在0.1mg/L~50mg/L浓度范围内与峰面积之间线性关系良好，可实现减肥食品中西布曲明和芬氟拉明的检测。以取样量1.0 g计，本法对样品的检测限可以达到1.0 mg/kg。

2.4 方法的回收率和精密度

采用经测定不含有西布曲明和芬氟拉明的某减肥咖啡、减肥胶囊及减肥蛋白素等3种不同基质类型的减肥食品，分别进行加标回收率和精密度实验。样品中添加不同量的标准溶液(标准品溶液加到空白样品中)，

其回收率和相对标准偏差结果分别见表2和表3。

表2 不同减肥食品中西布曲明加标回收率结果

Table 2 Recovery and RSD of sibutramine in the samples

样品名称	加入量 (mg/kg)	测得量 (mg/kg)	回收率 /%	相对标准偏差 RSD/%
减肥咖啡	5.0	4.74	94.8	4.7
	20	19.1	95.6	4.5
	50	48.3	96.6	4.4
减肥胶囊	5.0	4.75	95.0	4.6
	20	19.2	96.0	3.8
	50	48.4	96.8	3.7
减肥蛋白素	5.0	4.76	95.2	4.5
	20	19.3	96.5	3.4
	50	48.5	97.0	2.6

表3 不同减肥食品中芬氟拉明加标回收率结果

Table 3 Recovery and RSD of fenfluramine in the samples

样品名称	加标量 /(mg/kg)	测得量 /(mg/kg)	回收率 /%	RSD/%
减肥咖啡	5.0	4.69	93.8	4.6
	20	18.9	94.5	4.2
	50	47.6	95.2	4.0
减肥胶囊	5.0	4.71	94.2	3.8
	20	19.1	95.5	3.7
	50	48.6	97.2	3.6
减肥蛋白素	5.0	4.74	94.8	3.5
	20	19.1	95.5	3.3
	50	48.8	97.6	3.2

结果表明，在低、中、高3个添加水平范围内，三种不同基质的平均回收率(每个添加量平行测定6次)为93.8%~97.6%，相对标准偏差均在5%以下，方法的回收率结果令人满意。

2.5 实际样品测定

用本方法分析了客户送检的减肥咖啡、减肥胶囊、减肥茶、苹果醋咀嚼片以及减肥蛋白素等样品，结果发现部分样品中存在违规添加西布曲明和芬氟拉明的情况，有代表性的阳性样品的测定结果见表4。

表4 不同样品中西布曲明和芬氟拉明的检测结果

Table 4 Results for the determination of sibutramine and fenfluramine in some representative samples (g/kg)

化合物	减肥茶1	减肥茶2	减肥胶囊	收腹胶囊	清脂胶囊	减肥咖啡
西布曲明	2.0	1.8	18.2	20.3	17.1	5.0
芬氟拉明	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

3 结论

建立了用气相色谱-质谱法同时测定减肥食品中芬

氟拉明和西布曲明的快速检测方法。分别选择m/z 72、114及159离子进行SIM模式检测，并根据抽出提取离子色谱图的峰面积比进行目标物确证，然后分别选择m/z

114及72离子定量。该方法消除了减肥食品中复杂基体的干扰,避免了假阳性结果的出现,结果准确可靠,检出限为1.0 mg/kg,可用于减肥食品中非法添加芬氟拉明和西布曲明的检测。

参考文献

- [1] 吴培,许喜林,张毅.食品安全风险分析与应用[J].现代食品科技,2006,22(4):200-203
- [2] 李锦生,张霞,李琳.重视广东省食品安全的现状与发展[J].现代食品科技,2010,24(1):1-4
- [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] 曾涛.常用减肥药物的不良反应[J].中国药师,2007,10(6):599-6011
- [5] 梁祈,刘振龙,金星,等.反相离子对高效液相色谱法对中成药与保健食品中盐酸西布曲明的测定[J].分析测试学报,2009,28(9):1092-1095
- [6] 刘吉金,李军.减肥食品或保健品中非法添加盐酸西布曲明、盐酸芬氟拉明、酚酞的快速检测方法研究[J].药物分析杂志,2006,26(6):793-794
- [7] 秦宗会,谭蓉.柠檬酸与乙酸酐混合溶液中分光光度法测定盐酸西布曲明[J].理化检验-化学分册,2007,43(12):1045-1047
- [8] 黄芳,陈华,夏之宁.西布曲明对映体的毛细管电泳分离与定量分析方法研究[J].药物分析杂志,2004,24(2):113-116
- [9] 陶巧凤.衍生化气相色谱法测定盐酸芬氟拉明片的纯度[J].色谱,2001,19(3):270-272
- [10] 梁祈,刘振龙,金星,等.反相离子对高效液相色谱法对中成药与保健食品中盐酸西布曲明的测定[J].分析测试学报,2009,28(9):1092-1095
- [11] 冯家力,潘振球,曹华娟,等.减肥食品中违禁药物芬氟拉明、安非拉酮、马明啉的气相色谱-质谱检测[J].色谱,2004,22(3):228-230
- [12] 李少霞,黄伟雄,杜达安.GC-MS法检测减肥功能保健食品中的西布曲明[J].分析测试学报,2005,24(5):194-197(supple)
- [13] 权伍英,栾燕,张欣.LC-MS/MS检测减肥保健品中的盐酸芬氟拉明和盐酸西布曲明[J].中国卫生检验杂志,2007,17(1):10-12