

# 高效液相色谱法测定食品中5种非法添加物

陈 琴 郝 帅 张艳芳 晏晓清 胡 洁

(黄冈大别山检测认证有限公司,湖北黄冈 438000)

**摘要** 本文建立了高效液相色谱法测定食品中罂粟碱、那可丁、吗啡、可待因和蒂巴因等5种非法添加物的检测方法,色谱柱 ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm 5- $\mu$ m),流动相为 0.1%甲酸的 10 mmol/L 乙酸铵溶液-乙腈(10:90),流速 0.3 mL/min,检测波长 280 nm,进样量 10  $\mu$ L,柱温 30  $^{\circ}$ C,进行定量分析。结果表明,在浓度为 0.01~10.00  $\mu$ g/mL 范围内,标准曲线线性关系良好(相关系数  $R^2>0.999\ 0$ ),罂粟碱、那可丁、吗啡、可待因和蒂巴因的检出限分别是 0.05、0.03、0.10、0.10、0.05  $\mu$ g/mL。5种生物碱加标水平在 1.2、1.5 mg/kg 时,回收率为 88%~93%,相对偏差为 1.4%~3.2%。该方法方便快捷、成本较低、操作简便、分析快速,可用于食品中5种非法添加物的检测。

**关键词** 罂粟碱;那可丁;吗啡;可待因;蒂巴因;高效液相色谱法

**中图分类号** TS207.3;O657.63 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2019)12-0221-02

## Determination of Five Kinds of Illegal Additives in Foods by HPLC

CHEN Qin HAO Shuai ZHANG Yan-fang YAN Xiao-qing HU Jie

(Huanggang Dabie Mountain Testing and Certification Co. Ltd., Huanggang Hubei 438000)

**Abstract** The detection method of papaverine hydrochloride, noscapine hydrochloride, morphine, codeine and thebaine in foods by HPLC was established. The chromatogram conditions included ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6×150 mm 5- $\mu$ m), 10 mmol/L ammonium acetate solution of 0.1% formic acid and acetonitrile (volume ratio 10:90) as the mobile phase, isocratic elution (speed: 0.3 mL/min), ultraviolet detector (UVD, 280 nm), 10  $\mu$ L injection volume and 30  $^{\circ}$ C column temperature. The results showed that, under the concentration range of 0.01~10.00  $\mu$ g/mL, the standard curve had a good linear relationship (correlation coefficient  $R^2>0.999\ 0$ ), the detection limits of papaverine hydrochloride noscapine hydrochloride, morphine, codeine and thebaine was 0.05  $\mu$ g/mL, 0.03  $\mu$ g/mL, 0.10  $\mu$ g/mL, 0.10  $\mu$ g/mL, 0.05  $\mu$ g/mL, respectively. The recoveries of five alkaloids were 88%~93% and the relative deviations were 1.4%~3.2% at the standard addition levels of 1.2 mg/kg and 1.5 mg/kg. The method is convenient, quick, low in cost, simple in operation, fast in analysis, and can be used for detecting five illegal additives in food.

**Key words** papaverine hydrochloride; noscapine hydrochloride; morphine; codeine; thebaine; HPLC

罂粟壳中含有吗啡、可待因、罂粟碱、蒂巴因、那可丁等生物碱类物质,其中吗啡、可待因和罂粟碱在罂粟壳中含量较高,比较有代表性<sup>[1]</sup>。我国于 2009 年发布的《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单》中就有罂粟壳,并标注了可能添加的主要食品类别为火锅、火锅底料及小吃类,另外还有可能用于卤味制品、饮料中<sup>[2]</sup>。罂粟壳中的生物碱虽然含量较少,但长期食用会对人体神经系统造成损害,并可能造成慢性中毒<sup>[3]</sup>。目前,同时检测吗啡、可待因、罂粟碱、蒂巴因、那可丁等生物碱类物质的方法主要是液质联用法,但该方法成本较高、前处理较为复杂,很难得到普及<sup>[4-5]</sup>。因此,建立一种方便快捷、定量准确、线性关系良好的高效液相色谱法非常具有实际意义<sup>[6]</sup>。

## 1 材料与方

### 1.1 试剂与仪器

**1.1.1 试剂**。5种药品的纯度分别为罂粟碱 99.9%、那可丁 98.0%、蒂巴因 99.9%、可待因 99.9%、吗啡 99.6%,美国 A ChemTek 公司生产;其他试剂有乙腈(色谱纯)、甲酸(色谱纯)、乙酸铵(色谱纯)、无水硫酸镁(研磨后在 500  $^{\circ}$ C 马弗炉内烘 5 h, 200  $^{\circ}$ C 时取出装瓶,贮存于干燥器中,冷却后备用)、无水乙酸钠(分析纯)、盐酸(0.1 mol/L)、乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)填料(粒度 40~70  $\mu$ m)、C18 填料(粒度 40~50  $\mu$ m)。

**1.1.2 仪器**。高效液相色谱仪:Agilent 1200,美国安捷伦科技有限公司(配有 DAD 检测器)生产。电子分析天平:AUY-220,日本岛津生产。涡旋混合器:WH-2,金坛市新航仪器厂生产。高速冷冻离心机:TGL-16M,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司生产。超声波清洗仪:AS10200T-10L,天津奥特

赛恩斯仪器有限公司生产。滤膜(0.22  $\mu$ m)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 样品前处理**。①试样提取:称取 2 g 试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中,液体样品、半固体样品加入 5 mL 水,固体样品加入 5 mL 盐酸溶液,分别涡旋振荡 30 s,加入 15 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声 30 min,加入 6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 无水乙酸钠的混合粉末,迅速振摇,涡旋振荡 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,取上清液待净化。②试样净化:称取 150 mg PSA、300 mg 无水硫酸镁、300 mg C18 粉末置于 10 mL 聚四氟乙烯离心管中,移取 5 mL 上清液至此离心管中,涡旋振荡 1 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,经 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤,待检测。

**1.2.2 仪器条件**。检测器为二极管阵列检测器;色谱柱为 ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm 5- $\mu$ m);流动相为 0.1%甲酸的 10 mmol/L 乙酸铵溶液:乙腈(10:90);柱温 30  $^{\circ}$ C;进样量 10  $\mu$ L;检测波长 280 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线

按照试验方法进行检测,建立标准曲线,曲线类型为线性回归,横坐标为标准使用液浓度,纵坐标为目标物峰面积,得到 5 种生物碱的相关系数均在 0.999 0 以上,线性关系良好,结果见表 1、图 1~5。

### 2.2 5种生物碱标准使用液 HPLC 色谱图

本方法分离效果明显,峰型理想,出峰时间较早,为食品中 5 种非法添加物的检测提供了一种快速有效的方法(图 6)。

### 2.3 方法的回收率和精密度

在不含目标的样品中添加标准物质后,按试验方法进

表1 标准工作曲线

检测物名称	保留时间/min	R <sup>2</sup>	线性回归方程
罂粟碱	10.400	0.999 97	y=358.675 00x-1.216 40
那可丁	11.509	0.999 86	y=489.720 00x-0.402 20
吗啡	12.423	0.999 81	y=473.512 00x-0.400 00
可待因	13.443	0.999 51	y=571.292 00x-0.804 40
蒂巴因	14.179	0.999 36	y=587.185 00x-2.040 40

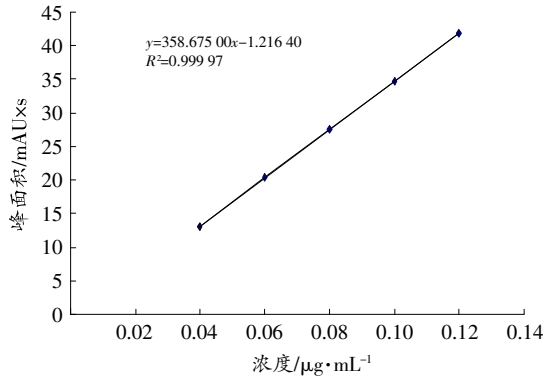


图1 罂粟碱标准曲线

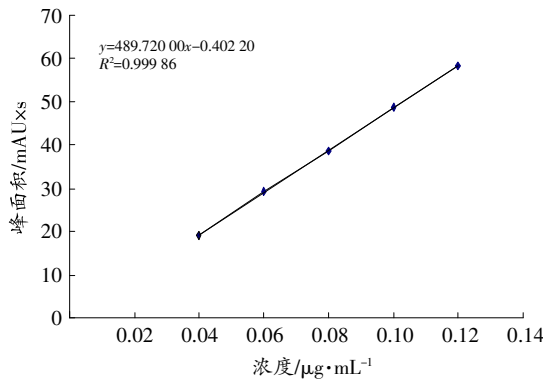


图2 那可丁标准曲线

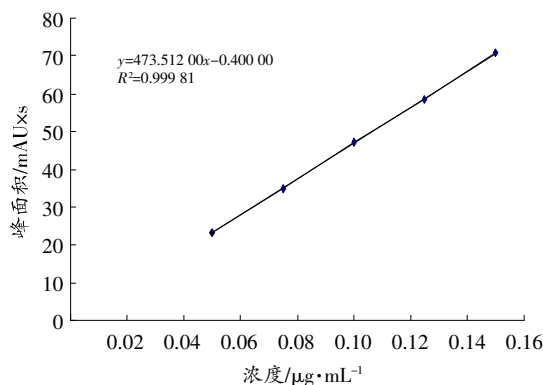


图3 吗啡标准曲线

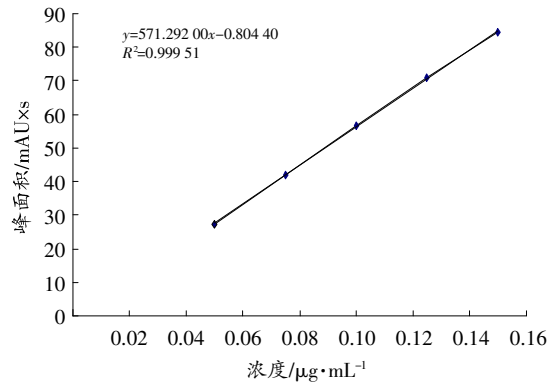


图4 可待因标准曲线

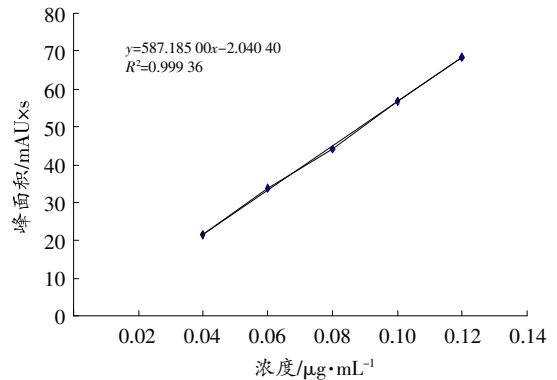


图5 蒂巴因标准曲线

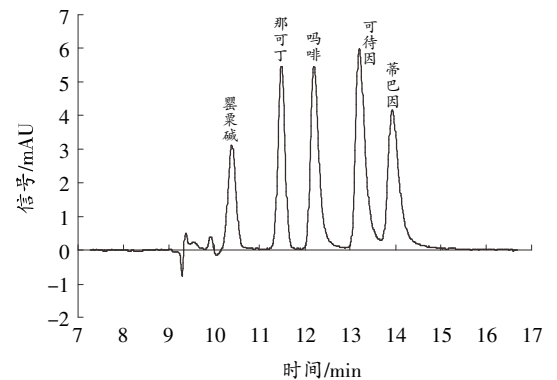


图6 5种生物碱色谱图

表2 5种生物碱加标回收结果

检测物名称	添加水平/mg·kg <sup>-1</sup>	回收率/%	RSD/%
罂粟碱	1.2	93.0	1.7
那可丁	1.2	89.7	2.3
吗啡	1.5	90.1	1.4
可待因	1.5	88.3	3.2
蒂巴因	1.5	92.5	2.6

行提取、净化和测定,其回收率和精密度结果见表2。可以看出,5种生物碱加标水平在1.2、1.5 mg/kg时,回收率为88%~93%,相对偏差为1.4%~3.2%。表明本方法的回收率稳定,可满足实际样品检测要求。

### 3 结论

本文建立的方法操作简单、选择性强、灵敏度高,简化了食品中非法添加罂粟壳的检测流程,提高了工作效率,节省了检测成本,为打击食品中非法添加罂粟壳的行为提供了一种行之有效的有力依据,保证了消费者的合法利益和人身安全。

### 4 参考文献

- [1] 戴萌娜,张建华,井洪,等.食品添加罂粟壳根源分析与对策研究[J].食品工业,2018,39(1):243-245.
- [2] 于世林.高效液相色谱方法及应用[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [3] 戴维杰,钮伟民.高效液相色谱法检测掺罂粟壳食品中的罂粟碱[J].中国卫生检验杂志,2003,13(5):607-608.
- [4] 徐丽红,王建清,陶秋,等.高效液相色谱同时测定3类食品中的5种罂粟壳生物碱[J].分析测试学报,2011,30(12):1387-1391.
- [5] 王力清,郝明浩,李锦清,等.超高效液相色谱-串联质谱法高通量快速测定调料中罂粟壳生物碱含量[J].食品与发酵工业,2012,38(8):168.
- [6] 刘敏敏,张朝正,李延志,等.液相色谱-串联质谱法检测火锅底料中罂粟壳[J].食品研究与开发,2013(1):91-94.