

高效液相色谱法在食品和药品安全分析中的应用

马博凯¹, 勾新磊¹, 赵新颖^{1,2*}

(1. 北京市理化分析测试中心, 有机材料检测技术与质量评价北京市重点实验室, 北京 100089;
2. 北京市科学技术研究院分析测试技术重点实验室, 北京 100089)

摘要: 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)是一种常用完善的分离技术, 常用于解决多种分析问题, 它能够分离各种基质中复杂的混合物, 包括从低和高分子量化合物到不同的极性和酸碱性的化合物, 能满足大量分析物在食品和药品领域中的检测需求。高效液相色谱法具有分离效率高、选择性好、检测灵敏度高和操作自动化等优点。本文简要介绍了高效液相色谱法的特点以及在食品和药品检测领域中的应用。

关键词: 高效液相色谱法; 食品; 药品; 安全分析

Application of high performance liquid chromatography in food and drug safety analysis

MA Bo-Kai¹, GOU Xin-Lei¹, ZHAO Xin-Ying^{1,2*}

(1. Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis, Beijing Key Laboratory of Organic Materials Testing Technology & Quality Evaluation, Beijing 100089, China; 2. Beijing Academy of Science and Technology Key Laboratory of Analysis and Testing Technology, Beijing 100089, China)

ABSTRACT: High performance liquid chromatography (HPLC) is a common and well-established separation technique which is frequently used to solve multiple analytical problems, as it is able to separate quite complicated mixtures in various matrices, including low and high molecular weight compounds as well as different polarities and acid-base properties, which can meet the detection needs of variety of analytes in the food and pharmaceutical industry. HPLC has the advantages of high separation efficiency, good selectivity, high sensitivity and operation automation, etc. In this paper, the characteristics of HPLC and its application in food and drug detection were briefly introduced.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; food; drug; safety analysis

1 引言

高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 是 20 世纪 60 年代发展起来的一种新型分离分析技术, 经过数十年的发展, 已在医药、食品、生命科学、环境检测等领域成为了一种不可或缺的分析手

段^[1]。由于高效液相色谱法具备高速高效、高灵敏度、高自动化等优点, 已经广泛应用于检测机构行业中, 并备受分析工作者青睐。

随着我国社会经济的快速发展, 食品和药品安全问题日益凸显, 人们越来越重视食品和药品安全问题。落实好药品质量监控和食品安全任务, 才能有力保障人们身体

*通讯作者: 赵新颖, 副研究员, 主要研究方向为生物医药分析方向。E-mail: zhaoxinying_123@sina.com

*Corresponding author: ZHAO Xin-Ying, Associate Researcher, Beijing Centre for Physical and Chemical Analysis, Beijing Key Laboratory of Organic Materials Testing Technology & Quality Evaluation, Beijing Academy of Science and Technology Key Laboratory of Analysis and Testing Technology, Beijing 100089, China. E-mail: zhaoxinying_123@sina.com

健康安全。高效液相色谱分析技术是食品药品检测技术中一种分离速度快、分离效能与检测灵敏度高的现代分离技术,同时该技术可以与多种检测器联用,应用更加广泛。本文主要结合高效液相色谱法特点在其食品药品检测分析中的应用进行简要分析。

2 高效液相色谱法的特点

高效液相色谱法是在经典液相色谱的基础上发展起来的一种色谱方法^[2]。与经典液相色谱法相比,填料颗粒细小,采用高压输液泵输送流动相,具有分离效率高、速度快等优点^[3],从而提高工作效率,还可以结合不同种类检测器如二极管阵列检测器、示差折光检测器、蒸发光散射检测器和荧光检测器,在食品药品检验中的应用范围较广。

与气相色谱法相比,高效液相色谱法的分析对象沸点较高,检测物质占有机化合物总数近80%^[4]。此外,高效液相色谱法结合的检测器可以保留分离物的完整性及活性,作为纯化收集分析物的一种手段,已经广泛应用于制备化学和生命科学中。另外,气相色谱法采用的流动相是惰性气体,它对组分没有亲和力,即不产生相互作用力,仅起运载作用。高效液相色谱法中流动相种类多,选择范围广,还可以通过改变流动相的pH值,改善极性大的化合物的色谱峰型。因此,流动相对分离效果起了很大的作用,这更有利于选择最佳分离条件。

高效液相色谱法还可与质谱仪联用,联用技术相互弥补了色谱和质谱两者不足之处,两者相辅相成,实际应用更广泛,为分离和鉴别混合物提供了更好的分析平台,同时为分析工作者提供了既可靠又准确的数据。

3 HPLC在食品安全分析中的应用

3.1 抗氧化剂类

抗氧化剂可以作为防腐和保鲜作用,方便人们储存食品。但是,不规范的使用添加会对人类健康造成危害。乙氧基喹啉是优良的饲料抗氧化剂之一,可防止饲料中油脂、维生素A、维生素E的氧化变质,还可以让水果达到保鲜作用^[5]。黄超群等^[5]通过引入另一抗氧化剂,有效抑制了乙氧基喹啉的氧化反应,经正己烷提取、乙腈定容、C₁₈色谱柱分离,以乙腈和水作为流动相梯度洗脱和荧光法测定,方法定量限是0.05 mg/kg。叔丁基羟基茴香醚、二叔丁基羟基甲酚、没食子酸丙酯和特丁基对苯二酚作为抗氧化剂常用于在油性食品中使用^[6]。林海宏^[7]用甲醇匀质提取后,乙酸水溶液(pH 3.0)甲醇为流动相,经C₁₈色谱柱分离,紫外波长280 nm下检测,检出限分别为0.26、0.10、0.16和0.16 μg/mL,回收率为93.8%~102.4%。

3.2 微生物代谢类

很多真菌的代谢产物具有毒性,如黄曲霉菌产生的

黄曲霉素 AFB₁、AFB₂、AFG₁和 AFG₂,主要存在于腐烂的花生和大米中,这些毒素可致畸致癌,严重影响正常活细胞^[8]。黄曲霉素具有荧光特性,可通过荧光检测器来进行检测^[9,10]。在正相体系中,荧光检测器能检测到纳克水平的 AFG₁和 AFG₂,而由于流动相原因,AFB₁和 AFB₂^[6]发生荧光猝灭而无法被检测到。Manabe等^[11]发现往流动相添加有机酸可以增加 AFB₁和 AFB₂的荧光强度。在反相体系中,AFB₁和 AFG₁荧光强度很低^[12,13],无法实现检测。Kok等^[14]提出用溴作为柱前衍生生化试剂来解决此问题,但缺点是产物稳定性差。Garner等^[15]通过用三溴化吡啶鎓作为衍生试剂克服了这个缺点。伏马菌素 B₁和 B₂是由串珠镰刀菌产生的水溶性代谢产物,主要存在于腐烂的玉米中,人类食用后会对人体健康产生极大的危害。Khayoon等^[16]建立了高效液相色谱法检测玉米、大米和果汁中伏马菌素 B₁和 B₂的含量,色谱柱为 C₁₈,流动相为甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钾(78:22, V:V),采用荧光检测器检测,激发波长为335 nm,发射波长为440 nm,该方法简单且灵敏度高。

3.3 糖类

糖类在食品中影响食品质构、风味、稳定性、甜味等性质,同时也是食品中的主要营养素。但是人类摄入过多的糖类物质,会导致高血压、高血脂和糖尿病等疾病发生。调整饮食结构可以预防疾病的发生,控制每天摄入糖的含量可以有效减缓疾病进一步恶化。采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法不仅可以避免前处理衍生化的繁琐,而且还能保证食品中基质的分离,有效避免基质对分析目标物的干扰。丁洪流等^[17]建立了高效液相色谱法同时检测食品中常用的13种单糖、双糖、低聚果糖和糖醇的含量,该方法采用 ZORBAX NH₂ 柱(250 m×4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水为流动相梯度洗脱,蒸发光散射检测器检测,检出限均在0.1 g/L以下,回收率为96.1%~105.2%。

4 HPLC在药品领域的应用

4.1 手性药物分析

手性药物往往呈现一种对映体,具有强的生物活性和药效,而另外一种却无效。由于对映体的物理化学性质相同,实现其分离很困难。对于制药行业和监管部门来说,手性药物的检测仍具有挑战性^[18]。对于手性药物对映异构体的拆分也是 HPLC 法分析的热点。HPLC 法拆分手性药物对映体可分为直接法和间接法^[4]。直接法常用的方法是手性流动相添加剂(chiral mobile phase additives, CMPA)法,张虎等^[19]以磺丁基醚-β-环糊精(SBE-β-CD)作为手性流动相添加剂,建立了阿卓乳酸对映体的高效液相色谱拆分方法。该方法分离好,简便易行,比使用手性固定相分离更加经济。间接法是将手性试剂衍生生化法,它是将不对称中心引入分子内,如栾燕等^[20]采用二氯亚砷和 S-(-)-1-(1-萘基)

乙胺作为衍生化试剂, 分离 *S*-(+)-酮洛芬和 *R*-(-)-酮洛芬衍生化产物, 该方法衍生化产物稳定, 方法灵敏度高。

4.2 药物中有效成分含量分析

药物有效成分的含量直接影响着药物的内在质量和临床疗效, 是药物质量控制的关键。

如果药物有效成分含量过低, 则达不到药物疗效, 耽误患者治疗最佳时机。高效液相色谱法因其准确、高效的特点, 已成为药检工作者洞察药品内在质量的眼睛^[21]。黄松等^[22]建立测定妇科栓剂中氧化苦参碱、苦参碱和小檗碱含量的高效液相色谱法, 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱分离, 以甲醇-乙腈-乙酸铵缓冲溶液(浓氨水调 pH 至 8.5)为流动相进行梯度洗脱, 在波长 220 nm 和 265 nm 下检测, 获得了较高准确度。方强等^[23]建立了反相高效液相色谱法测定安胃片中延胡索乙素含量的方法。

5 总 结

高效液相色谱法已成为一种十分有效的分离分析手段, 为检测提供了准确、可靠的分析结果, 已经在食品和药品分析领域中发挥着重要的作用。高效液相色谱法联合质谱技术也拓宽了 HPLC 技术的应用范围, 提供了多种检测功能性, 提高了分析工作者的工作效率。

参考文献

- [1] 贺家亮, 李开雄, 刘海燕. 高效液相色谱法在食品分析中的应用[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 175-177.
He JL, Li KX, Liu HY. The application of high performance liquid chromatography in food analysis [J]. Food Res Dev, 2008, 29(11): 175-177.
- [2] 于世林. 高效液相色谱法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
Yu SL. High performance liquid chromatography and Its application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [3] 孙会敏, 田頌九. 高效液相色谱法简介及其在药品检验中的应用[J]. 药学研究, 2011, 30(1): 38-42.
Sun HM, Tian SJ. HPLC method introduction and its application in drug control [J]. Pharm Res, 2011, 30(1): 38-42.
- [4] 王慧文. 高效液相色谱技术在药品检验中的应用及进展[J]. 安徽医药, 2008, 12(11): 1087-1091.
Wang HW. The application and progress of high performance liquid chromatography in drug analysis [J]. Anhui Med Pharm, 2008, 12(11): 1087-1091.
- [5] 黄超群, 余志宏, 谢文, 等. 氧化抑制-液相色谱法测定水果中乙氧基喹啉的残留[J]. 分析测试学报, 2014, 33(3): 358-361.
Huang CQ, Yu ZH, Xie W, et al. Determination of ethoxyquin residue in fruits by liquid chromatography with inhibited oxidation reaction [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(3): 358-361.
- [6] 姜晓辉. 食品中抗氧化剂 BHA、BHT、TBHQ 和 PG 的检测[J]. 计量与测试技术, 2009, 36(10): 78-79.
Jiang XH. Determination of BHA, BHT, TBHQ&PG in FOods [J]. Metrol Meas Tech, 2009, 36(10): 78-79.
- [7] 林海宏. 高效液相色谱法快速测定食品中的四种抗氧化剂[J]. 福建轻纺, 2008, (7): 10-13.
Lin HH. Rapid determination of four antioxidants in food by high performance liquid chromatography [J]. Fujian Textile J, 2008, (7): 10-13.
- [8] Jaimez J, Fente CA, Vazquez BI, et al. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis [J]. J Chromatogr A, 2000, 882(1-2): 1-10.
- [9] Panalaks T, Scott PM. Sensitive silica gel-packed flowcell for fluorometric detection of aflatoxins by high pressure liquid chromatography [J]. J Ass Off Anal Chem, 1977, 60(60): 583-589.
- [10] Takahashi DM. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analytical system for aflatoxins in wines with fluorescence detection [J]. J Chromatogr A, 1977, 131: 147-156.
- [11] Manabe M, Goto T, Matsuura S. High-performance liquid chromatography of aflatoxins with fluorescence detection [J]. Agric Biol Chem, 1978, 42(11): 2003-2007.
- [12] Holcomb M, Wilson DM, Trucksess MW, et al. Determination of aflatoxins in food products by chromatography [J]. J Chromatogr A, 1992, 624(1-2): 341-352.
- [13] Kok WT. Derivatization reactions for the determination of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection [J]. J Chromatogr B Biomed Appl, 1994, 659(1-2): 127-137.
- [14] Kok WT, Voogt WH, Brinkman UAT, et al. On-line electrochemical reagent production for fluorescence detection of phenothiazines in liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 1986, 354(01): 249-257.
- [15] Garner RC, Whattam MM, Taylor PJJ, et al. Analysis of united kingdom purchased spices for aflatoxins using an immunoaffinity column clean-up procedure followed by high-performance liquid chroma [J]. J Chromatogr A, 1993, 648(2): 485-490.
- [16] Khayoon WS, Saad B, Salleh B, et al. A reversed phase high performance liquid chromatography method for the determination of fumonisins B 1, and B 2, in food and feed using monolithic column and positive confirmation by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2010, 679(1-2): 91-97.
- [17] 丁洪流, 李灿, 金萍, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射法测定食品中的单糖、双糖、低聚果糖和糖醇[J]. 色谱, 2013, 31(8): 804-808.
Ding HL, Lin C, Jin P, et al. Simultaneous determination of monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides and suger alcohols in foods by high performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(8): 804-808.
- [18] Mullangi R, Yao M, Srinivas NR. Resolution of enantiomers of ketoprofen by HPLC: a review [J]. Biomed Chromatogr BMC, 2003, 17(7): 423-434.
- [19] 张虎, 沈芒芒, 童胜强, 等. 高效液相色谱-手性流动相添加法拆分阿卓乳酸对映体[J]. 色谱, 2014, (6): 612-615.
Zhang H, Shen MM, Dong SQ, et al. High performance liquid chromatographic enantioseparation of atrolactic acids using chiral mobile phase additive [J]. Chin J Chromatogr, 2014, (6): 612-615.
- [20] 栾燕, 杜宗敏, 钟大放, 等. 柱前衍生化-反相高效液相色谱法拆分酮洛芬对映异构体[J]. 药物分析杂志, 2001, (4): 281-283.
Luan Y, Du ZM, Zhong DF, et al. Enantiospecific analysis of ketoprofen by RP-HPLC with chiral precolumn derivatization [J]. Chin J Pharm Anal, 2001, (4): 281-283.
- [21] 卢晓江. 中药提取工艺与设备[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.

Lu XJ. Chinese medicine extraction technology and equipment [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.

[22] 黄松, 陈吉航, 陶艳, 等. RP-HPLC 法测定妇科栓剂中氧化苦参碱、苦参碱和小檗碱含量[J]. 药物分析杂志, 2010, (1): 110-113.

Huang S, Chen JH, Tao Y, *et al.* RP-HPLC method for the determination of matrine suppository gynecology, and berberine matrine oxide [J]. Chin J Pharm Anal, 2010, (1): 110-113.

[23] 方强, 陈晓龙, 陈彬. 反相高效液相色谱法测定安胃片中延胡索乙素的含量[J]. 医药导报, 2006, 25(8): 827-828.

Fang Q, Chen XL, Chen B. Determination of tetrahydropalmatine in Anwei tablet by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Her Med, 2006, 25(8): 827-828.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



马博凯, 助理工程师, 主要研究方向为质谱分析。

E-mail: mabokai123@sina.com



赵新颖, 副研究员, 主要研究方向为生物医药分析。

E-mail: zhaoxinying_123@sina.com

“乳及乳制品质量与安全”专题征稿函

随着现代科技的发展和消费者的生活质量、安全意识的提高, 人们对于乳制品的新产品开发和质量安全提出了更为严格的要求, 在食品质量安全问题日益受到关注的今天, 乳制品的质量安全越来越受到关注。在这种形势下, 很多学者和企业开始关注和研究从原料乳到消费者食用各阶段的乳制品质量安全问题。

乳品安全关乎人们的健康, 本刊特别策划“乳及乳制品质量与安全”专题, 由北京市疾病预防控制中心的邵兵研究员担任专题主编。邵兵研究员现任食品安全国家审评委员会检验方法委员会专家委员和中心实验室主任等职务, 长期从事食品中农兽药残留检测、食品中毒原因筛查、环境痕量污染物检测等相关的研究。本专题主要围绕国内外乳品产业发展现状、原料乳质量控制及监测、乳制品品质检测、乳制品营养和毒理学研究、新型检测技术在乳及乳制品中的应用、乳制品中的功能成分研究等方面进行论述, 计划在 2017 年 2 月出版。

本刊编辑部主编吴永宁研究员及邵兵研究员特邀各位专家为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、研究型论文均可, 请在 2016 年 12 月 31 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsqa@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部