

高效液相色谱法测定花生中黄曲霉毒素的样品前处理方法比较

广西壮族自治区卫生防疫站 甘宾宾 陈广林 池 风 俊储民

摘要 本文对高效液相色谱法(HPLC)测定花生中黄曲霉毒素(AFT)的几种前处理方法进行比较,结果表明直接用氯仿水(50:1)提取,经硅镁吸附剂柱净化,能有效去除干扰杂质,然后用反相 C_{18} 柱,荧光检测器的HPLC测定 AFB_1 、 B_2 、 G_1 、 G_2 、可由峰高或峰面积定量计算出花生中AFT的含量。用本法测定一份天然污染的花生,其 AFB_1 、 B_2 的含量分别为2119ppb(CV15.61% $n=6$)和695.8ppb、(CV34.94% $n=6$),花生中人工加入10ppb AFB_1 、 B_2 的平均回收率分别为93.4%、96.4%,CV分别为17.2%和15.12%。测定87年IARC质控样品获得满意的结果。

用HPLC测定花生中黄曲霉毒素的样品前处理方法,国外通常采用:氯仿水提取法(250:25)再用硅胶柱净化为CB法¹,甲醇水(55:45)提取后,用己烷脱脂,再用氯仿或二氯甲烷萃取然后硅胶柱净化为BF法²;Pons提出甲醇+0.1NHCL(4:1)提取,经己烷去脂,再用氯仿或二氯甲烷萃取,然后经硅胶柱净化³。Henry等人⁴用CB和BF法测定花生粉和花生酱中 AFB_1 、 B_2 、 G_1 、 G_2 ,结果CB法的回收率均高于BF法。Pons³等人对以上三种方法作了比较,其结果Pons法优于BF和CB法,而CB法又优于BF法。我们认为Pons法和BF法要经过数次液液分配,手续繁琐。本法就BF和CB法作比较后,选定以CB法为基础进行改进,提出简便、快速的提取方法。用本法测定IARC质控样品,花生粉中人工加入 AFB_1 、 B_2 ,以及天然污染阳性样品,均获得了满意的结果。

1 实验方法

1.1 试剂、仪器:见本实验室1987年提出的方法。

1.2 实验材料

1.2.1 天然污染花生,从市售的花生中挑

选出霉花生研成粉末,经20目筛。

1.2.2 市售好花生,挑出霉花生后,粉碎后过20目筛,经测定未检出黄曲霉毒素。

1.3 样品前处理

1.3.1 于200ml具塞锥形瓶内,分别称取霉花生5克与好花生10克加入100ng AFB_1 、 B_2 标准液(r/ml AFB_1 、 B_2 各100ul),各加入甲醇水(55:45)50ml,振荡30分钟,经快速滤纸过滤,取25ml滤液置于125ml分液漏斗内,用氯仿15、10ml提取二次,氯仿萃取液合并于25ml比色管内,加氯仿定容至25ml,加入3克无水硫酸钠,激烈振荡,放置约1分钟后,取上清液5ml,经硅镁吸附剂净化后,将洗脱液挥干,衍生化,视黄曲霉毒素含量用流动相定容至100ul-2ml,然后HPLC分析。

1.3.2 在两个200ml具塞锥形瓶内分别称5g霉花生与10克好花生加入 AFB_1 、 B_2 各100ng,各加入甲醇水(55:45)50ml,振荡30分钟,用快速滤纸过滤,取滤液25ml于125ml分液漏斗内,加入25ml饱和氯化钠,用氯仿15、10ml萃取二次,以下步骤与1.3.1法同。

1.3.3 于两个200ml锥形瓶内分别称霉花