

Essentia 黄曲霉毒素分析系统测定食品中的黄曲霉毒素

LC-318

摘要： 本文使用 Essentia 黄曲霉毒素分析系统，参考国标 GB 23200.112-2018 《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》柱后碘衍生法，对辣椒中黄曲霉毒素进行方法建立和测定。以外标法定量，4 种黄曲霉毒素在各自浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数 r 均大于 0.999，准确度在 93.1~109.9% 之间。对标准溶液连续进样 5 次，重复性结果（RSD% 表示）显示，4 种黄曲霉毒素的保留时间 RSD% 在 0.17~0.22% 之间，峰面积的 RSD% 在 3.31~4.64% 之间，加标回收率在 72.3 ~84.3% 之间。上述结果表明，该方法准确度高，重复性好，可为辣椒中黄曲霉毒素的测定提供参考。

关键词： GB 23200.112-2018 黄曲霉毒素 柱后碘衍生法

黄曲霉毒素 (AFT) 是黄曲霉和寄生曲霉等产生的双呋喃环类毒素，具有极强的毒性和致癌性，可引发动物的肝癌、肾癌、胃癌等。其中以黄曲霉毒素 B1 最为多见，其毒性和致癌性也最强。免疫亲和柱是将特异性的黄曲霉毒素单克隆抗体与载体蛋白偶联并填柱而成，能特效性地、高选择性地吸附黄曲霉毒素，而让其它杂质通过柱子，使样品得以纯化，黄曲霉毒素吸附后可被

极性有机溶剂洗脱。免疫亲和柱将提取、净化、浓缩一次完成，大大简化了前处理过程，提高了方法的准确度、精密度和灵敏度。

本研究参考《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中柱后碘衍生法，使用 Essentia 黄曲霉毒素分析系统对辣椒中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 进行测定。

■ 实验部分

1.1 仪器

本文使用 Essentia 黄曲霉毒素分析系统，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20Alite	自动进样器：SIL-16
柱温箱：CTO-16L	输液泵：LC-16 × 3
脱气机：DGU-20A _{5R}	化学反应箱：CRB-40
检测器：RF-20A	色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.106

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm) P/N: 227-30017-07; 岛津 (上海) 实验器材有限公司	
流动相：A 相：水，B 相：乙腈 - 甲醇溶液 (50: 50)	
流速：1 mL/min	进样体积：50 μL
洗脱方式：等度洗脱 (A,68%; B,32%)	柱温：40°C
检测波长：Ex=360 nm, Em=440 nm	
衍生溶液：0.05% 碘溶液 (取 0.1 g 碘，加甲醇 20 mL，用水定容至 200 mL)	
衍生液流速：0.2 mL/min	衍生化温度：70°C

1.3 标准品与主要耗材试剂

黄曲霉毒素 B1, B2, G1, G2 混标：购于上海安谱，于 -20°C 冰箱保存，备用。

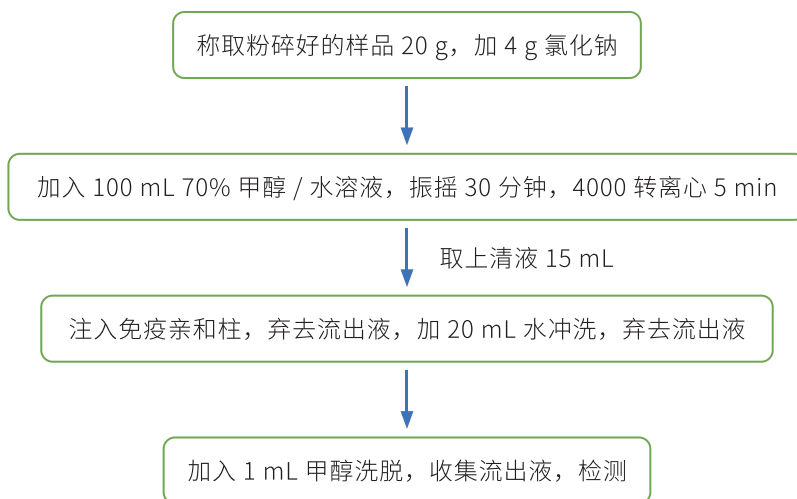
CNW 黄曲霉毒素总量免疫亲和柱：规格 3 mL/20 pcs；购于上海安谱，于 4°C 冰箱保存，备用。

1.4 标准系列对照品溶液

准确吸取一定量的黄曲霉毒素混合对照品溶液（黄曲霉毒素 B1、黄曲霉毒素 B2、黄曲霉毒素 G1、黄曲霉毒素 G2 标识浓度分别为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），用流动相稀释配置成（含 AFT B1 和 AFT G1 浓度为 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL，AFT B2 和 AFT G2 浓度为 0.03 ng/mL、0.15 ng/mL、0.6 ng/mL、1.5 ng/mL、3 ng/mL、6 ng/mL、12 ng/mL）七个浓度的混合标准溶液，现用现配。

1.5 样品前处理

参考《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中柱后碘衍生法 19.3 以及免疫亲和柱说明书测试步骤对样品进行前处理。



■ 结果与讨论

2.1 标准样品色谱图

按照 1.2 中分析条件进行测定，对照品色谱图如图 1 所示。

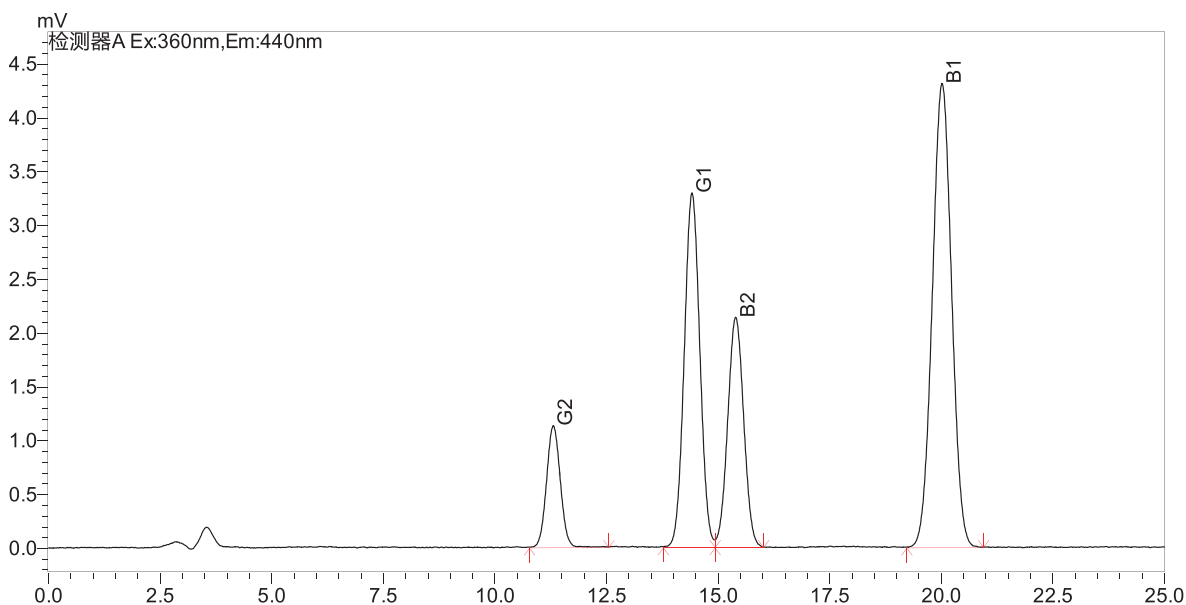


图 1 对照品溶液色谱图（AFT B1 和 AFT G1 浓度 0.15 ng/mL AFT B2 和 AFTG2 浓度 0.5 ng/mL）

2.2 线性

将不同浓度的标准溶液，按相同条件进行测定，以浓度（C）为横坐标，峰面积（A）为纵坐标，权重 1/C。采用外标法建立校准曲线，结果如图 2 所示。目标物上机浓度在校准曲线浓度范围内，均具有较好的线性关系，线性相关系数均 > 0.999，具体结果见表 1。

表 1 黄曲霉毒素标准曲线

#	化合物	校准曲线	准确度 (%)	相关系数 r	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	AFB1	$Y = (2486.76)X + (-555.325)$	95.5-104.0	0.9999	0.006	0.018
2	AFB2	$Y = (369507)X + (-1188.41)$	93.1-109.1	0.9996	0.004	0.012
3	AFG1	$Y = (156048)X + (1099.88)$	97.4-103.8	0.9999	0.008	0.023
4	AFG2	$Y = (164084)X + (-489.539)$	93.8-109.9	0.9997	0.007	0.022

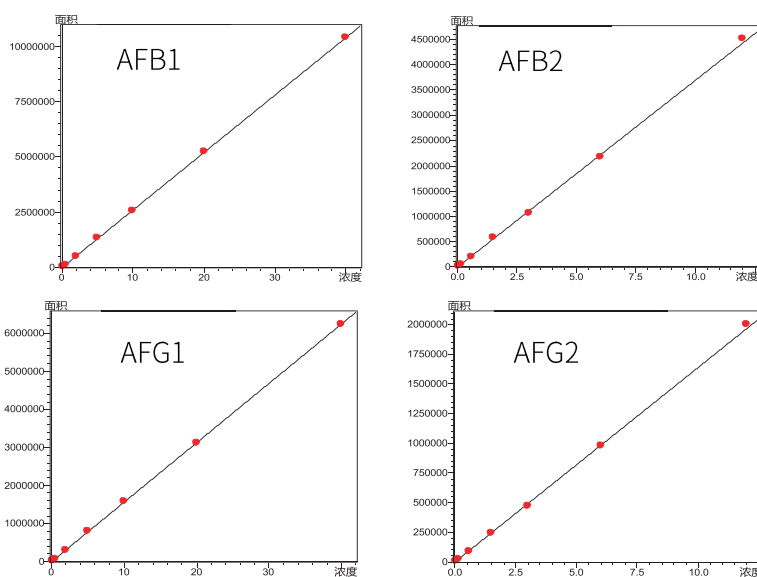


图 2 黄曲霉毒素校准曲线

2.3 精密度

按照 1.2 分析条件，取 AFT B1 和 AFT G1 浓度为 30 ng/mL，AFT G2 浓度为 9 ng/mL 标准溶液重复测试 5 次，并计算各化合物保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%)，具体结果见表 2。结果显示 RSD 分别在 0.17~0.22% 和 3.31~4.64% 之间，表明该系统精密度良好。

表 2 精密度实验结果 (n=5)

#	化合物	RSD%	
		保留时间	峰面积
1	AFB1	0.22	4.28
2	AFB2	0.19	3.31
3	AFG1	0.19	4.64
4	AFG2	0.17	3.83

2.4 方法回收率

取空白辣椒样品两份进行平行加标，按照 1.2 步骤制备样品和加标样品，加标浓度为黄曲霉毒素 B1 和 G1 为 1 μg/kg，黄曲霉毒素 B2 和 G2 为 0.3 μg/kg。测试结果显示：各目标物加标回收率在 72.3 ~84.3% 之间，说明本方法准确性良好。

按照 1.2 中分析条件进行测定，空白样品色谱图如图 3 所示，加标回收率结果见表 3。

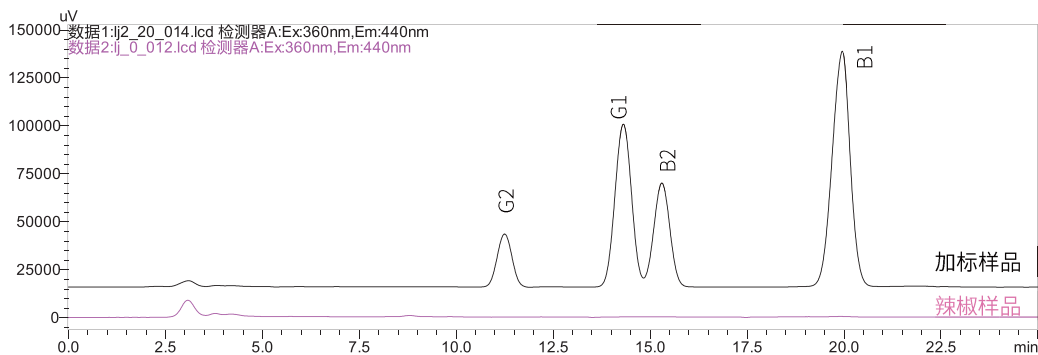


图 3 空白样品溶液和样品加标回收率重叠色谱图

表 3 加标回收实验结果 (n=2)

#	化合物	辣椒样品测得结果	加标量 μg/kg	加标样测得结果 μg/kg	加标回收率	RSD%
1	AFB1	0	1	0.772	77.2	5.8
				0.839	83.9	
2	AFB2	0	0.3	0.217	72.3	5.1
				0.233	77.7	
3	AFG1	0	1	0.815	81.5	2.4
				0.843	84.3	
4	AFG2	0	0.3	0.224	74.8	0.26
				0.225	75.1	

■ 结论

本研究采用 Essentia 黄曲霉毒素分析系统，参考《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》中柱后碘衍生法对辣椒中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 进行测定。实验结果表明，系统稳定性良好、结果准确度高。该方法为食品安全检测行业检测工作提供了参考。

岛津应用云

