

高效液相色谱法测定大米中桔青霉素的含量

LC-267

摘要：本文建立了一种高效液相色谱法测定大米中桔青霉素含量的方法。样品参照《GB 5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中的前处理和实验条件进行上机分析。桔青霉素在 10-1000 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 > 0.999 ，检出限在 0.046 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限在 0.138 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，加标回收率在 88.7-95.4% 之间，连续 6 次进样保留时间 RSD% 为 0.005~0.007%，峰面积 RSD% 为 0.901~1.508%，系统精密度良好。方法准确可靠，灵敏度高，可用于实际大米样品的检测。

关键词：高效液相色谱 桔青霉素 大米

桔青霉素是曲霉属、青霉属以及红曲霉属的几类霉菌产生的一种真菌毒素，会污染大米、小麦等粮食。桔青霉素主要的作用器官是肾脏，长期食用被污染的作物会导致肾脏肿大、上皮细胞坏死，有致癌和致畸作用，甚至会引发肿瘤产生。因此，建立一种快速简单、准确、灵敏的检测桔青霉素的方法意义重大。

目前国内外测定桔青霉素的方法主要有薄层色谱法、高效液相色谱法以及酶联免疫吸附法等，我国《GB

5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中规定了桔青霉素的测定方法，该标准中规定了 2 种高效液相色谱检测方法，分别采用免疫亲和柱和 C18 固相萃取柱两种净化方法处理样品。

本文使用岛津高效液相色谱仪，参照《GB 5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中规定的方法，建立了一种可以准确测定大米中桔青霉素的方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-16 高效液相色谱仪，具体配置为：

输液泵：LC-16

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A_{5R}

检测器：RF-20A

自动进样器：SIL-16

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.91

柱温箱：CTO-20A

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm)，P/N:227-30017-08，岛津（上海）实验器材有限公司)

流动相：乙腈：异丙醇：磷酸溶液 =35:10:55

流速：1 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：28 $^{\circ}\text{C}$

检测波长：激发波长 331 nm，发射波长 500 nm

洗脱方式：等度洗脱

■ 样品前处理

按照《GB 5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中第二法规定的提取和净化步骤进行。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图

精密量取桔青霉素标准品适量，用流动相稀释成浓度为 10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL 六个浓度的标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，桔青霉素标准品溶液色谱图如图 1 所示。

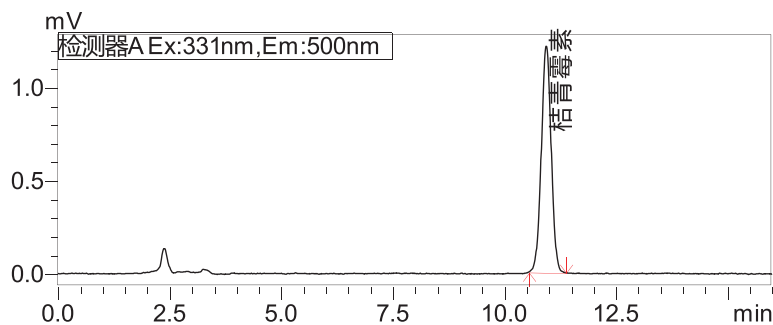


图 1 标准品溶液色谱图 (10 ng/mL)

3.2 线性范围和灵敏度

将不同浓度的标准品溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立标准曲线，结果如图 2 所示。桔青霉素在 10 - 1000 ng/mL 浓度范围内，具有较好的线性关系，线性相关系数 > 0.999，具体结果见表 1。

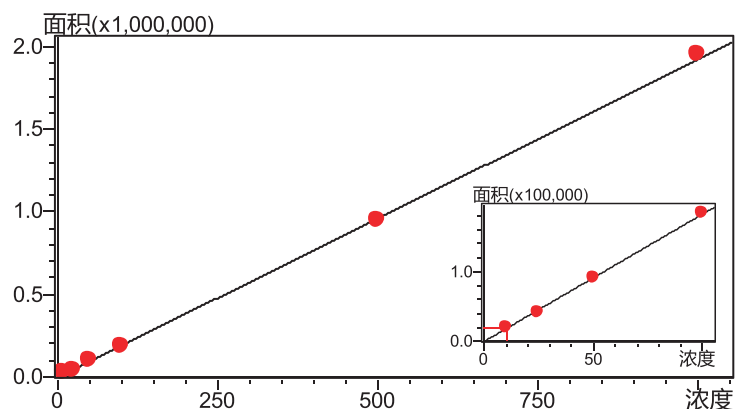


图 2 桔青霉素校准曲线

表 1 校准曲线参数

化合物名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
桔青霉素	$Y = 1908.03 X - 2150.51$	0.9998	10-1000	0.046	0.138

3.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样6次,用于考察仪器的精密度,保留时间和峰面积的重复性结果如表2所示。结果显示,保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.005~0.007%和0.901~1.508%之间,仪器精密度良好。

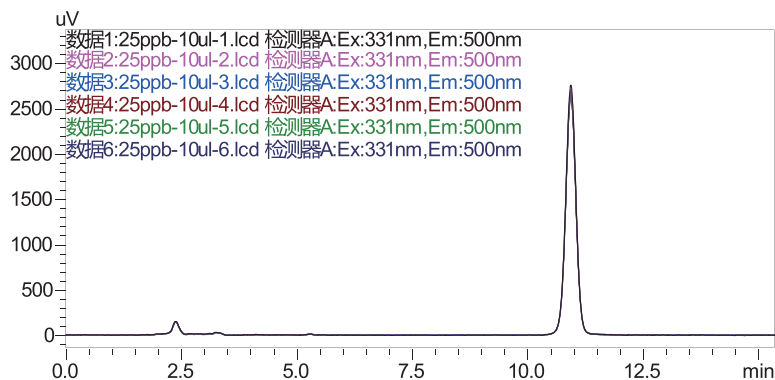


图3 标准品溶液重复性色谱图 (浓度 25 ng/mL, n=6)

表2 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (25 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)		RSD% (1000 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
AFT M2	0.008	1.508	0.007	1.382	0.005	0.901

3.4 回收率实验

以空白大米样品进行加标回收实验,准确称取5g样品,分别添加三个浓度水平的标准品,按照《GB 5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中规定的前处理方法处理样品,计算平均回收率。见图4,空白基质中未检测到桔青霉素,空白样品色谱图和加标回收色谱图见图4,各添加水平的平均回收率在88.7-95.4%之间,详见表5。

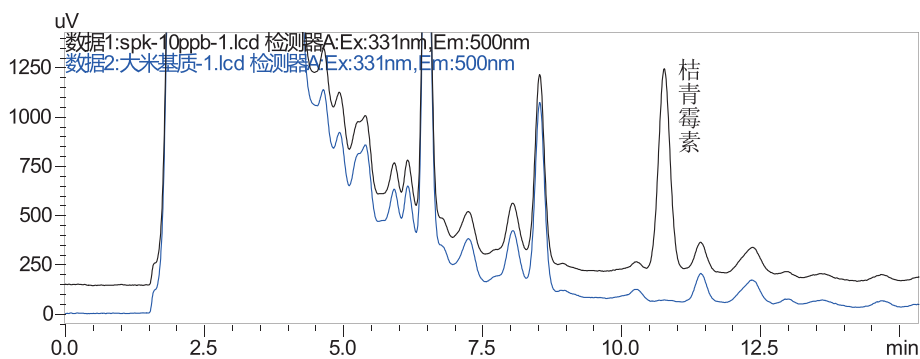


图4 空白大米基质色谱图 (蓝色) 和基质加标回收色谱图 (黑色, 2 μg/kg)

表 3 桔青霉素回收率 (n=3)

名称	加标水平 (µg/kg)	回收率 %
桔青霉素	2	88.7
	10	90.6
	100	95.4

■ 结论

本文使用岛津高效液相色谱仪建立了一种大米中桔青霉素含量测定的方法。样品参照《GB 5009.222-2016 食品中桔青霉素的测定》中的前处理和实验条件进行上机分析。该方法准确可靠，灵敏度高，可供相关行业参考。

岛津应用云

