

高效液相荧光检测器柱后衍生法黄曲霉毒素的测定

1 引言

黄曲霉毒素是黄曲霉在生长繁殖过程中产生的一组有毒代谢产物,黄曲霉毒素主要污染粮食和油料作物,如花生、玉米、大米、棉籽等。黄曲霉毒素是一种毒性极强的剧毒物质,对人及动物肝脏组织有破坏作用,严重时可导致肝癌甚至死亡。因此国际上对食品中黄曲霉毒素有严格的限量要求。

本文采用高效液相荧光检测器柱后衍生法对黄曲霉毒素进行测定,通过色谱柱的选择,流动相配比的优化以及检测器条件的调整等手段,以期得到黄曲霉毒素的最佳分离效果。

2 实验材料与方法

Cometro 高效液相色谱系统;

岛津 RF-10A 荧光检测器,激发波长 360nm,发射波长 450nm ,Sensitivity: 3 GAIN:1;

Cometro 柱后衍生系统,柱后衍生 70 度,衍生剂:碘的 0.03%甲醇水溶液,流速 0.3ml/min;

流动相: 甲醇-乙腈-水;

流速: 0.8ml/min;

色谱柱: 多种品牌的十八烷基键合硅胶柱;

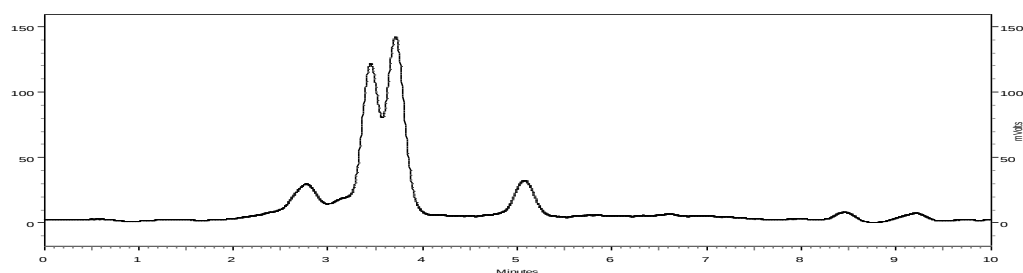
样品: 黄曲霉毒素储备液;

3 结果与分析

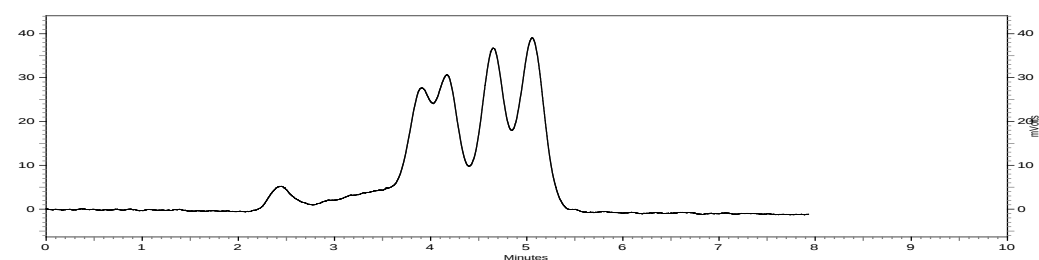
3.1 色谱柱的选型

采用四种不同品牌的 C18 色谱柱,分别标记为进口柱 1、进口柱 2、进口柱 3、comatex 柱。流动相比比例为甲醇: 乙腈: 水=40:18:42,进样量为 10 μ l,比较其分离效果。

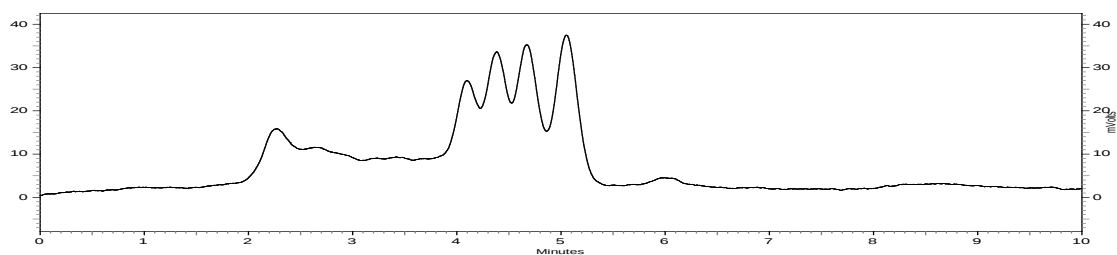
进口柱 1



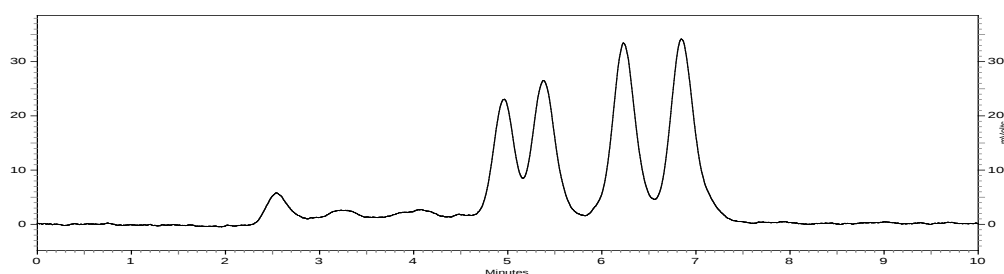
进口柱 2



进口柱 3



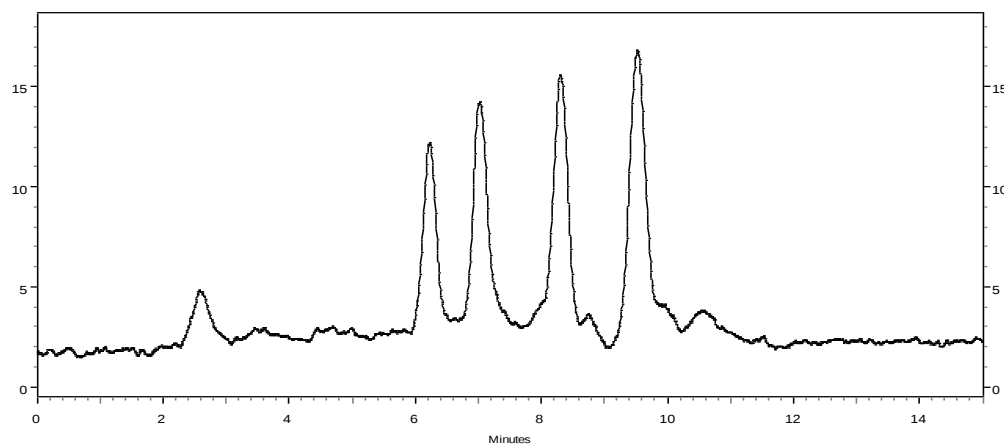
comatex 柱



由实验结果可以看出，四种不同填料的色谱柱中，comatex 柱的分离效果最好，但仍然不能得到一个良好的分离度，因此，通过改变流动相的比例来进一步改善分离效果。

3.2 流动相配比的优化

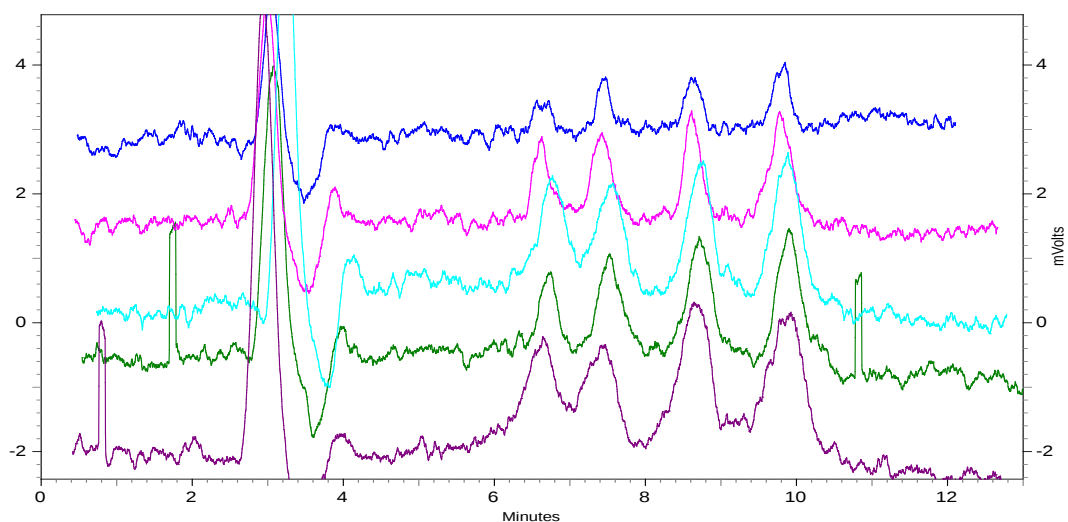
通过上述实验，选择分离效果最好的 comatex 柱，调节流动相的比例为甲醇：乙腈：水=40：10：50，其他实验条件不变。



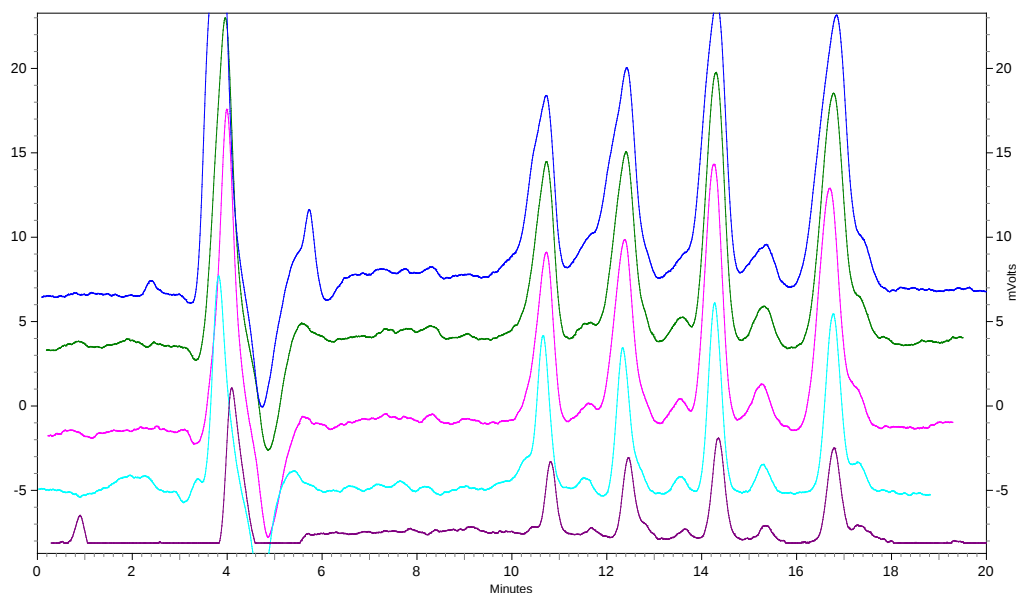
由图可见，色谱柱为 comatex 柱，流动相比比例为甲醇：乙腈：水=40：10：50 时，可以得到一个较好的分离效果。

3.3 检测器条件的调整

将工作液稀释 25 倍后，进样量分别为 5 μ l, 10 μ l, 15 μ l, 20 μ l, 25 μ l, 测定样品的标准曲线。



由图看出，在上述选定条件下，所得到的结果噪音大灵敏度低，信噪比、分离度达不到药典要求。因此，将检测器条件调整为 Sensitivity: 1, GAIN: 1; comatex 柱；流动相比比例 甲醇: 乙腈: 水=40: 10: 50; 进样量分别为 5 μ l, 10 μ l, 15 μ l, 20 μ l, 25 μ l, 重复上述实验。



上述结果中，基线噪音 (0.2mv)，灵敏度，信噪比 (>10)，柱效 (>9000)，主峰之间的分离度 (>1.5) 完全符合新药典的要求。

4 结论

通过色谱柱的选择，流动相配比的优化，以及灯的能量的调节，可以提高分离度，降低噪音，提高灵敏度，得到良好的分离效果。采用高效液相荧光检测器柱后衍生法测定黄曲霉毒素，选用 comatex 柱；流动相比比例为 甲醇: 乙腈: 水=40: 10: 50; 检测器条件为 Sensitivity: 1, GAIN: 1 时，可以得到最佳分离效果。