

免疫亲和柱净化-大体积流通池高效液相色谱法 同时检测食品中 6 种黄曲霉毒素

徐艳群¹, 罗自生¹, 徐庭巧², 魏云潇², 李岗²

(1. 浙江大学食品科学与营养系, 浙江杭州 310058) (2. 杭州市余杭区农产品监测中心, 浙江杭州 311199)

摘要:建立了免疫亲和柱净化-大体积流通池无需衍生同时测定食品中 6 种黄曲霉毒素 (Aflatoxins) 的检测方法。样品采用乙腈-水 (84:16, V/V) 超声辅助提取, 用免疫亲和柱净化, 经过 XBridgeTM C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 分离。采用乙腈-甲醇-水 (15:25:60, V/V) 为流动相, 大体积流通池荧光检测器检测, 无需衍生, 外标法定量。6 种黄曲霉毒素在 9.5 min 内有效分离, 从样品前处理到结果分析整个过程小于 50 min。黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂ 的检出限 (LOD, S/N=3) 分别为 0.05 μg/kg、0.02 μg/kg、0.05 μg/kg、0.02 μg/kg、0.04 μg/kg、0.03 μg/kg, 能够满足我国对食品中黄曲霉毒素限量的要求。6 种黄曲霉毒素标准曲线线性良好, 线性相关系数 r² 大于 0.999; 样品加标回收率为 77.6%~90.5%, 精密度 RSD 为 2.42%~6.08%。本方法简便、准确、灵敏度高, 无需衍生即可同时检测食品中 6 种黄曲霉毒素, 适用于食品中 6 种黄曲霉毒素的快速定量测定。

关键词: 食品; 黄曲霉毒素; 高效液相色谱法; 免疫亲和柱; 大体积流通池

文章编号: 1673-9078(2015)10-301-306

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.049

Simultaneous Determination of Six Aflatoxins in Food by Immunoaffinity Purification-high Performance Liquid Chromatography Combined with a Large Volume Flow Cell

XU Yan-qun¹, LUO Zi-sheng¹, XU Ting-qiao², WEI Yun-xiao², LI Gang²

(1. College of Food Science and Nutrition, Zhejiang University, Hangzhou 311199, China)

(2. Hangzhou Yuhang District Monitoring Centre of Agricultural Products, Hangzhou 310058, China)

Abstract: A method without derivative based on immunoaffinity purification and fluorimetric detection combined with large volume flow cell was developed for simultaneous determination of six kinds of aflatoxins in food. The samples were ultrasonic-extracted with acetonitrile-aqueous solution (84:16, V/V), cleaned up by immunoaffinity column, and then were separated by XBridgeTM C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm). The analytes were detected by large volume flow cell fluorescence detection in a mobile phase of acetonitrile-aqueous solution (84:16, V/V) without derivatization. External standard method was used for quantitative. All analytes were successfully separated within 6 min, and one sample determination from pretreatment to result analysis was finished within 50 min. The detection limit (LOD, S/N=3) of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂ respectively were 0.05 μg/kg, 0.02 μg/kg, 0.05 μg/kg, 0.02 μg/kg, 0.04 μg/kg, 0.03 μg/kg, meeting the national limits of aflatoxins in food. The correlation coefficient of six kinds of aflatoxins, r² were more than 0.999, and the spiked recoveries were in the ranges of 77.6%~90.5%, and relative standard deviation (RSD, n=3) were 2.42%~6.08%. The method was simple, effective and sensitive, detecting the aflatoxins without derivatization and suitable for the simultaneous determination of six kinds of aflatoxins in food.

Key words: food; aflatoxins; high performance liquid chromatography; immunoaffinity column; large volume flow cell

黄曲霉毒素 (Aflatoxins) 主要是由黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、寄生曲霉 (*A. parasiticus*) 和模式曲霉 (*A. nomius*) 等产生的一类危害极大的真菌毒素, 具有致癌性、肝毒性、致畸性和致突变, 可污染多种食物, 包括油料、谷物、坚果、调味料及牛奶等^[1]。人和动物体主要通过膳食渠道摄入, 对公众健康有很大的威胁, 1993 年被世界卫生组织的癌症研究机构列为 I 类致癌物质^[2]。鉴于此, 各国对食品中黄曲霉毒素的含量水平都做出了严格的规定。不同食品中黄曲霉

收稿日期: 2014-12-16
基金项目: 浙江大学馥莉食品研究院基金资助 (KY201405); 浙江省科技项目 (2014C32089); 杭州市社会发展科研专项 (20140533B61)

作者简介: 徐艳群 (1991-), 女, 博士生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 罗自生 (1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学

霉 (*A. nomius*) 等产生的一类危害极大的真菌毒素, 具有致癌性、肝毒性、致畸性和致突变, 可污染多种食物, 包括油料、谷物、坚果、调味料及牛奶等^[1]。人和动物体主要通过膳食渠道摄入, 对公众健康有很大的威胁, 1993 年被世界卫生组织的癌症研究机构列为 I 类致癌物质^[2]。鉴于此, 各国对食品中黄曲霉毒素的含量水平都做出了严格的规定。不同食品中黄曲

霉菌毒素的种类和含量有所不同,其中最常见有黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)、B₂(AFB₂)、G₁(AFG₁)、G₂(AFG₂)、M₁(AFM₁)、M₂(AFM₂) 6 种。一般被污染食物中只包含其中几种黄曲霉毒素,但随着研究不断深入,发现某些食品中 6 种黄曲霉毒素同时存在^[3],仅检测食品中一种或几种黄曲霉毒素并不能真正反映食品中黄曲霉毒素的污染水平。而目前我国现行国标大都只检测食品中的 4 种^[4]、2 种^[5]或 1 种^[7]黄曲霉毒素,因此,建立高灵敏度、高效性同时测定食品中 6 种黄曲霉毒素的方法对于食品安全的监督管理十分必要。

目前检测黄曲霉毒素的标准方法主要有薄层色谱法(TLC)^[4-5],酶联免疫吸附法(ELISA)^[6-7],高效液相色谱法(HPLC)^[4,8],液相色谱-质谱联用法(LC-MS)^[3,7],其中,TLC 法灵敏度低,重现性不好,而且操作复杂,需要使用有毒有害试剂。ELISA 法只能测定黄曲霉毒素的总量,且容易出现假阳性,只能作为初筛方法。LC-MS 法需要昂贵的质谱检测器和同位素内标,使得其使用受限。高效液相色谱荧光检测法具有前处理简单、可异构体分离、分离灵敏度高、良好稳定性等优点,近年来得到广泛的应用^[9-10]。GB 5413.37-2010 采用普通流通池只能检测乳制品中的 M₁^[7],由于黄曲霉毒素 B₁和 G₁接触水后,会发生荧光淬灭现象,GB/T 23212-2008、GB/T 5009.23-2006 及相关文献中要采用柱前或柱后衍生才能达到检测限的要求^[4,8,11],需要额外的衍生装置,耗费有机试剂,增加了检测步骤和检测成本。当前急需建立一种更加灵敏、高效、低溶剂量、不需要衍生的微量黄曲霉毒素检测方法。相比而言,大体积流通池荧光检测器不需要衍生就可以直接测定黄曲霉毒素,简化了检测过程,减少试剂损耗,降低管路死体积从而改善峰型。本研究采用大体积流通池直接检测,结合免疫亲和柱净化,基于高效液相色谱,对各环节进行优化,建立了一种无需衍生、操作简单、快速准确,可同时检测食品中 6 种黄曲霉毒素的定量检测方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 混标(纯度>98%,Romer 公司);黄曲霉毒素 M₁、M₂(纯度 99.8%,美国 Sigma 公司);乙腈、甲醇(色谱纯);氯化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氯化钾(分析纯);实验用水由 Millipore 纯水机制备;花生酱阳性样品、花生酱空白样品(购自市场,质谱法标定);花生酱、米粉、腐乳、豆瓣酱、油辣椒(购自市场)。

磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS): 8.0 g 氯化钠, 1.2 g 磷酸氢二钠, 0.2 g 磷酸二氢钾, 0.2 g 氯化钾,用水定容至 1 L,用盐酸调 pH 值至 7.4。

标准系列溶液:将标准液用乙腈配制成含黄曲霉毒素 B₁、G₁、M₁、M₂ 浓度为 100 ng/mL 及含黄曲霉毒素 B₂、G₂ 浓度为 30 ng/mL 的标准储备液。准确移取适量标准储备液用乙腈-水(10:90, V/V) 溶液分别稀释成黄曲霉毒素 B₁、G₁、M₁、M₂ 浓度为 0.1、0.5、0.8、1.0、2.0、5.0、8.0、10.0 ng/mL, B₂、G₂ 浓度为 0.03、0.15、0.24、0.6、1.5、2.4、3.0 ng/mL 的系列标准溶液。

1.2 仪器与设备

超高压液相色谱仪 ACQMITYTM,配自动进样器和荧光检测器(带大体积流通池)(美国 Waters 公司);色谱柱:Waters XBridgeTM C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);固相萃取装置(20 pos 16×100 mm;美国 Waters 公司);AflaTest W3 免疫亲和柱(美国 Vicam 公司);Mycosep 226 多功能柱(Romer 公司);Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司);WH-861 涡旋混合器(太仓市科教器材厂);KQ-500E 型超声清洗器(昆山超声仪器有限公司);WBL25B36 料理机(Midea 公司);AllegraTM64R 型离心机(Beckman 公司);N-EVAPTM112 型氮吹仪(美国 Organomation 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

提取:酱类产品(腐乳、豆瓣酱、油辣椒)经料理机均浆后,固体产品经研磨机研磨后,粉类产品(米粉),准确称取 5.0 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 乙腈-水溶液(84:16, V/V),涡旋 2~5 min,使样品均匀浸入提取液中后,超声提取 20 min,期间隔 10 min 取出涡旋 30 s,后 10 °C 5000 r/min 离心 5 min,取上清液供净化用。

免疫亲和柱净化:将免疫亲和柱内液体放空后,取上清液 5.0 mL,加 45 mL PBS 缓冲液稀释,混匀后上样,以约 2~3 mL/min 的流速缓慢全部通过免疫亲和柱;用约 10 mL PBS 缓冲液淋洗柱子 2 次,用洗耳球吹干免疫亲和柱;用 4.0 mL 乙腈洗脱 60 s 以上,收集洗脱液于玻璃试管中;45 °C 下氮气缓慢吹干,用 1.0 mL 乙腈-水(90:10, V/V) 溶液复溶,涡旋 30 s,超声 30 s,过 0.22 μm 滤膜,收集于进样瓶中。

多功能柱净化:移取约 8 mL 提取液至多功能净化柱的玻璃管内,将多功能净化柱的填料管插入玻璃

管中并缓慢推动填料管,净化液就被收集到多功能净化柱的收集池中。取 5 mL 净化液在 45 °C 下氮气缓慢吹干,用 1.0 mL 乙腈-水 (90:10, V/V) 溶液复溶,涡旋 30 s,超声 30 s,过 0.22 μm 滤膜,收集于进样瓶中。

1.3.2 色谱条件

色谱柱: Waters XBridge™ C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 40 °C; 试液温度: 10 °C; 进样体积: 10 μL; 激发波长, 365 nm; 发射波长, 455 nm; 流动相: 甲醇-乙腈-水溶液 (25:15:60, V/V); 流速: 0.8 mL/min; 洗脱条件: 等度洗脱。

2 结果与讨论

2.1 提取过程优化

黄曲霉毒素难溶于水,易溶于乙腈、甲醇等极性有机溶剂。根据不同食品基质来选择合适的提取溶剂,本实验分别以不同体积比的甲醇-水和乙腈-水溶液进行回收率实验,结果表明乙腈-水 (84:16, V/V) 对黄曲霉毒素等真菌毒素具有很好的提取效率,这是因为乙腈具有很好的渗透性,而水分的存在使得基质湿润,提高了有机溶剂在样品中的渗透能力。实验采用超声、涡旋等手段来辅助提取,涡旋震荡有助于样品完全浸入提取溶液中,尤其是像花生酱等易于粘壁的样品,本实验采用 3000 r/min 转速涡旋使样品与提取溶液充分混合。超声辅助提取是利用超声波的空化效应、扩散效应、机械振动等,从而加速分子运动,加快目标化合物扩散,使其迅速溶解。为缩短检测时间,本实验采用超声辅助加快提取效率,实验结果表明,最大功率下超声 20 min 足以使 6 种组分的回收率达到 80% 左右。同时,实验发现采用低温离心可促进样品中脂肪和蛋白质等杂质的分离和沉淀,使样品易于过柱,增强净化效果。

2.2 净化方法的选择

黄曲霉毒素的净化方法一般有免疫亲和柱净化和多功能柱净化两种。其中,免疫亲和柱采用特异性抗体来捕捉样品中的黄曲霉毒素,抗基质干扰能力强;多功能柱将杂质拦截而使待测物通过来达到净化目的,操作简单,通常只需要 30 s 就可以完成净化。按照上述方法,本实验考察了免疫亲和柱和 MycoSep 226 多功能柱在本方法中的适用性。图 1a 为花生酱加标样品经 MycoSep 226 多功能柱净化后测定图谱与标准溶液测定图谱的比对。由图 1 可以看出,多功能柱的净化效果较差,残留杂质干扰较大,无法很好的进

行定量。而免疫亲和柱净化花生酱加标样品效果很好,残留杂质较少,且能够和待测各组分完全分离,实验最终选择免疫亲和柱净化法,其净化样品色谱图见图 1b。

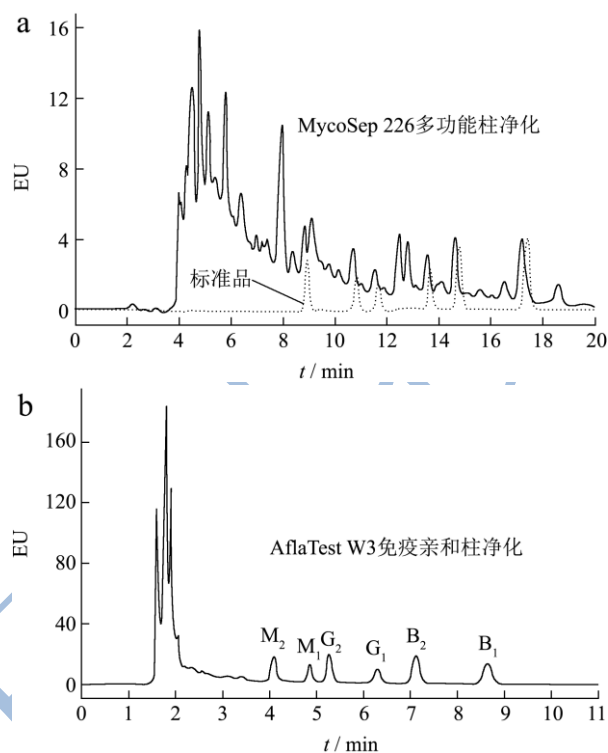


图 1 MycoSep 226 多功能柱净化和 AflaTest W3 免疫亲和柱净化效果效果

Fig.1 Purification effect by MycoSep 226 multi-function column and AflaTest W3 immunoaffinity column

2.3 色谱条件优化

实验比较了不同体积比甲醇-乙腈-水混合溶液作为流动相的分离效果。当流动相中水相过多时,各组分出峰时间较晚,甲醇过多时 M₁ 和 G₂ 峰型重叠,乙腈过多时 G₁ 和 B₂ 峰型重叠。经过比例调试,采用甲醇-乙腈-水 (25:15:60, V/V) 时,实验只需要在等梯度洗脱条件下,单个样品各组分可在 9.5 min 内实现有效分离 (见图 2)。实验比较了流动相流速为 0.6、0.8、1.0 mL/min 时的峰型情况,结果表明 3 种流速下 6 种黄曲霉毒素都能有效分离,但流速越低出峰时间越长且峰宽加大。0.6 mL/min 时出峰时间最长,峰型较 0.8、1.0 mL/min 流速时峰展宽明显变大,峰高降低,影响检测灵敏度。0.8 mL/min 与 1.0 mL/min 的峰型相差不大,同时考虑 M₂ 与杂质峰的有效分离,所以择 0.8 mL/min 作为本实验流动相流速。本实验所使用的标准品储备液是由乙腈配制的,实验中发现定容溶液中乙腈含量过高则峰展宽过大甚至出现塌峰,为得到更好峰型实验比较了 10% 乙腈-水溶液和 20%

乙腈-水溶液定容后其中 4 种黄曲霉毒素 (B₁、B₂、G₁、G₂) 的峰型 (见图 3), 结果表明 10% 乙腈水溶液定容的样品峰型较为尖锐对称, 峰展宽小, 有利于提高检测的灵敏度和准确性, 故本方法采用 10% 乙腈水溶液定容。兼顾几种 AFT 的荧光光谱强度及检测灵敏度, 选择 365 nm 作为荧光检测的激发波长, 440 nm 作为荧光发射波长。

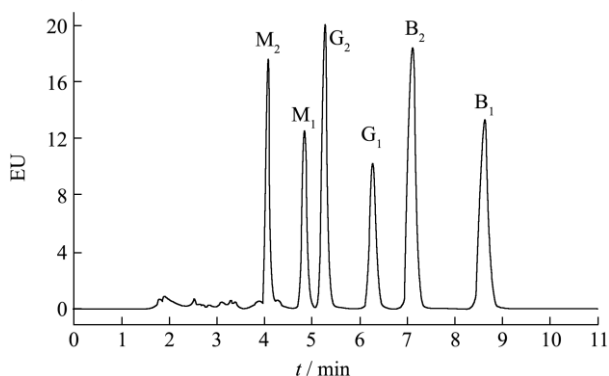


图 2 6 种黄曲霉毒素流动相优化后色谱图

Fig.2 Chromatograms of the six aflatoxins after the optimization of

mobile phase

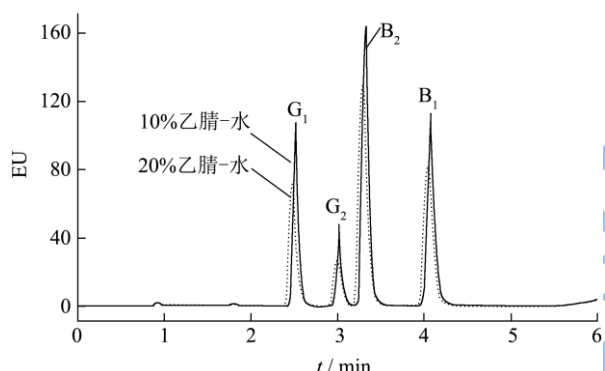


图 3 不同定容溶液对 4 种黄曲霉毒素峰型的影响

Fig.3 Effect of different dilute solutions on the chromatograms of four aflatoxins

2.4 标准曲线、线性范围和检出限

在上述色谱条件下, 分别测定 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂、AFM₁、AFM₂ 的系列标准溶液, 以检测峰面积为纵坐标 (Y), 相应的浓度 (ng/mL) 为纵坐标 (X) 绘制标准曲线。结果表明, 各组分峰面积与质量浓度在线性范围内呈现很好的线性关系, 相关系数均优于 0.999, 表明该方法具有好的可靠性和稳定性。根据 3 倍信噪比 (S/N) 的峰响应值所对应的该物质浓度分别确定该方法检测检出限 (LOD), 得到黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 和 M₂ 的最低检出限分别为 0.05、0.02、0.05、0.02、0.04、0.03 μg/kg (见表 1)。本法在无需衍生的情况下 AFB₁、AFM₁ 的灵敏度较高, 可以满足我国 GB 2761-2011 中对某些食品中

黄曲霉毒素 B₁、M₁ 最低限量 0.5 μg/kg 的检测要求^[12], 同时完全可以满足国际上针对 AFT 总量和 B1 分量设定的最严格的限量要求 (欧盟最大残留限量: AFT 总量不大于 4 μg/kg, B₁ 不大于 2 μg/kg)^[13]。本方法不需要衍生且灵敏度较高, 无需增加其他衍生装置和衍生试剂, 从而减少检测步骤, 缩短检测时间, 降低检测成本。

表 1 6 种黄曲霉毒素的线性回归方程及检出限

Table 1 Regression equations and detection limits of the six

aflatoxins				
黄曲霉毒素	线性回归方程	线性范围 / (ng/mL)	相关系数 R ²	检出限 / (μg/kg)
AFB ₁	Y=9.65×10 ⁵ X-1.20×10 ⁵	0.10~10.0	0.9998	0.05
AFB ₂	Y=3.24×10 ⁶ X-5.54×10 ⁴	0.03~3.0	0.9998	0.02
AFG ₁	Y=5.02×10 ⁵ X-3.49×10 ⁴	0.10~10.0	0.9999	0.05
AFG ₂	Y=2.53×10 ⁶ X-2.81×10 ⁴	0.03~3.0	0.9998	0.02
AFM ₁	Y=5.78×10 ⁵ X-1.10×10 ⁵	0.10~10.0	0.9991	0.04
AFM ₂	Y=5.89×10 ⁵ X-2.93×10 ⁴	0.10~5.00	0.9990	0.03

2.5 回收率和精密度

采用本方法对添加 AF 的空白花生酱样品进行检测。采用标准储备液按 AFB₁ 2.0 μg/kg 的添加量加标, 按照测量值和真实值计算回收率, 重复测定 6 次计算变异系数, 考察方法的回收率精密度 (见表 2)。黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 和 M₂ 的平均回收率 77.6%~90.5%, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.4%~6.1%, 符合残留检测方法对回收率和精密度的要求。

表 2 6 种黄曲霉毒素在样品中加标回收率及精密度 (n=6)

Table 2 Spike recovery and RSD of the six aflatoxins (n = 6)

名称	加标量 / (ng/mL)	实测量 / (ng/mL)	回收率 R/%	RSD _{ST} / %
AFB ₁	2.00	1.81	90.5	3.99
AFB ₂	0.60	0.58	87.9	2.55
AFG ₁	2.00	1.62	85.9	2.42
AFG ₂	0.60	0.48	80.2	6.08
AFM ₁	2.00	1.61	80.5	4.15
AFM ₂	2.00	1.55	77.6	6.00

2.6 实际样品的测定

花生酱阳性样品分别参照国标 GB 5413.37-2010 中的 HPLC-MS 法和本实验所建立的方法进行定量测定, 依据 HPLC-MS 法所测得的各组分含量作为参考值, 与本方法测得值进行比较, 测定结果见表 3。结果表明本方法所测定的花生酱中 6 种黄曲霉毒素含量与 HPLC-MS 法测定结果相比均在理想范围内 (参考

值±15%)，说明该方法定量上准确可靠。

表 3 花生酱阳性样品测定结果

Table 3 Results of a positive peanut butter sample

名称	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFM ₁	AFM ₂
参考值/(μg/kg)	62.6	17.4	76.2	35.7	3.7	1.5
理想范围/(μg/kg)	53.2~72.0	14.8~20.0	64.8~87.6	30.3~41.1	3.1~4.3	1.27~1.71
实测量/(μg/kg)	61.3	17.7	69.2	31.3	3.3	1.7

利用本实验所建立的方法对其他市售的花生酱、米粉、腐乳、豆瓣酱、油辣椒样品进行黄曲霉毒素测定,测定结果见表 4。其中花生酱样品中 AFB₁ 和 AFB₂ 检出率较高,花生酱样品 1 和 3 中 AFB₁ 含量分别为 1.15 和 2.38 μg/kg, 小于我国对花生及其制品中黄曲霉毒素 B₁ 的限量^[12],但花生酱样品 3 超出去了欧盟对黄曲霉毒素 B₁ 2 μg/kg 的限量^[13]。成人米粉样品中 AFB₁ 检出率较高,但含量远低于我国对谷物中黄曲霉毒素限量要求。油辣椒和腐乳样品中 AFB₁ 呈阳性,但含量较少。豆瓣酱样品中未有检出黄曲霉毒素。

冯靓等^[14]采用三氟乙酸柱前衍生-高效液相色谱法对食品中的四种 (B₁、B₂、G₁、G₂) 黄曲霉毒素进行了检测,样品经过摇床混匀进行提取,然后经滤纸过滤后净化。相比而言,本方法采用超声辅助提取,使得提取更充分;离心分离相比过滤操作更简单,花费时间更少;采用大体积流通池直接检测较柱前衍生

法操作简单,无需三氟乙酸等有机试剂,同灵敏度较高,可以同时检测 6 种黄曲霉毒素。花生酱阳性样品高效液相色谱图如图 4 所示,结果表明本方法中 6 种黄曲霉毒素有效分离,基质干扰较少,峰型较好,本方法对食品中黄曲霉毒素检测具有很好的适用性。

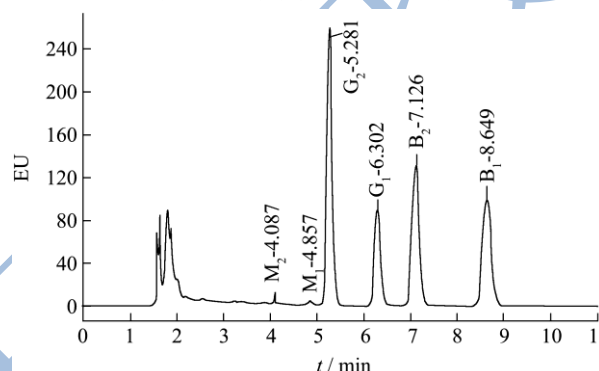


图 4 花生酱阳性样品色谱图

Fig.4 Results of food samples (n=3)

表 4 食品样品测定结果 (n=3)

Table 4 Analysis results of food samples (n=3)

样品名称	称样量/g	检测结果/(μg/kg±SD)					
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFM ₁	AFM ₂
花生酱样品 1	5.03	1.15±0.05	0.49±0.01	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
花生酱样品 2	4.99	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
花生酱样品 3	5.02	2.38±0.11	0.51±0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
米粉样品 1	5.04	0.53±0.03	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
米粉样品 2	5.13	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
米粉样品 3	5.02	0.39±0.02	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
米粉样品 4	5.06	0.17±0.01	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
腐乳样品	5.02	0.25±0.01	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
豆瓣酱样品	5.01	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03
油辣椒样品	4.99	0.44±0.03	<0.02	<0.05	<0.02	<0.04	<0.03

3 结论

本文建立了免疫亲和柱净化-大体积流通高效液相色谱法同时检测食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 和 M₂ 的方法。该方法不需要其他衍生装置和衍生试剂,样品经过色谱柱分离后直接进入流通池进行检测,从而简化检测步骤,降低检测成本,同时大大减少了管路的死体积,峰型表现出很好的优越性。

本方法具有快速、灵敏等特点,分析时间小于 9.5 min,单个样品可在 50 min 内完成测定,AFB₁ 和 AFM₁ 的检测线分别为 0.05 μg/kg 和 0.04 μg/kg (LOD, S/N=3),远小于我国最新修订的 GB 2761-2011 中对食品中黄曲霉毒素限量的要求^[12],同时各组分线性相关系数 r²>0.999, RSD 为 2.4%~6.1%。利用该方法对市售的米粉、花生酱、腐乳、豆瓣酱和油辣椒等检测,都得到了较好的结果。6 种黄曲霉毒素的同时测定使黄曲

霉毒素的监测更加全面,该方法为建立完善的食品中黄曲霉毒素污染风险监测提供了技术支持。

参考文献

- [1] Zain M E. Impact of mycotoxins on humans and animals [J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2011, 15(2): 129-144
- [2] Ren Y, Zhang Y, Shao S, et al. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J. Chromatogr A., 2007, 1143(1): 48-64
- [3] Huang B, Han Z, Cai Z, et al. Simultaneous determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ and M₂ in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 662(1): 62-68.
- [4] GB 5009.23-2006.食品安全国家标准:食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定[S]
GB 5009.23-2006. National food safety standard: determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ in foods (in Chinese) [S]
- [5] GB 5009.24-2010.食品安全国家标准:食品中黄曲霉毒素 M₁ 和 B₁ 的测定[S]
GB 5009.24-2010. National food safety standard: determination of aflatoxins M₁ and B₁ in foods (in Chinese) [S]
- [6] Kav K, Col R, Kaan TK. Detection of aflatoxin M₁ levels by ELISA in white-brined Urfa cheese consumed in Turkey [J]. Food Contr, 2011, 22(12): 1883-1886.
- [7] GB 5413.37-2010.食品安全国家标准:乳和乳制品中黄曲霉毒素 M₁ 的测定[S]
GB 5413.37-2010. National food safety standard: determination of aflatoxins M₁ in milk and milk products (in Chinese) [S]
- [8] GB/T 23212-2008 牛奶和米粉中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂ 的测定-液相色谱-荧光检测法[S]
GB/T 23212-2008. Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂ content in milk and milk powder-HPLC-fluorescence detection method (in Chinese) [S]
- [9] Saalia F K, Phillips R D. Degradation of aflatoxins by extrusion cooking: Effects on nutritional quality of extrudates [J]. LWT-Food Sci Technol, 2011, 44(6): 1496-1501
- [10] Ogiso M, Kimura A, Chikasou M, et al. A sensitive analytical method for six aflatoxins in rainbow trout muscle and liver [J]. J. Food Hyg. Soc. Jap., 2010, 52(3): 161-166
- [11] Khayoon W S, Saas B, Yan C B, et al. Determination of aflatoxins in animal feeds by HPLC with multifunctional column clean-up [J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 882-886
- [12] GB 2761-2011.食品安全国家标准:食品中真菌毒素限量[S]
GB 2761-2011. National Food safety standard: limit level of mycotoxins in food. (in Chinese) [S]
- [13] Commission Regulation (EC). No.1525P98. Off J Eur Communities, 1998: L201P4346[S]
- [14] 冯靓,蔡增轩,谭莹,王天娇,等.HPLC 同时测定食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ [J].中国卫生检验杂志,2007,3: 511-513
FENG Liang, CAI Zeng-xuan, TAN Ying, et al. Simultaneous detection of aflatoxin B₁,B₂,G₁,G₂ in foods by HPLC [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2007, 3:511-513