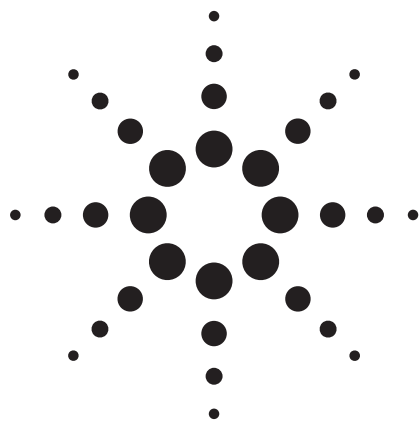




高效液相色谱分离黄曲毒素 应用

环境，食品安全

作者

Coral Barbas
Facultad de CC Experimentales y de la Salud
Universidad San Pablo-CEU
Urbanización Montepríncipe
Boadilla del Monte, 28668 Madrid
Spain

Andre Dams*
Agilent Technologies, Inc.
Amstelveen
The Netherlands

Ronald E. Majors
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

*现在地址:
Andre Dams
Analytical Consultancy, Amstelveen
The Netherlands

摘要

本实验采用以水、甲醇和乙腈为三元均匀混合流动相和以 **365 nm** 为紫外检测波长的高效液相色谱方法在不到 **5.5 分钟** 时间内对四种黄曲毒素目标化合物 (**B₁**, **B₂**, **G₁** 和 **G₂**) 实现了基线分离。

前言

黄曲毒素是由多种黄曲霉菌产生的真菌毒素。这些化合物不仅有极强的毒性，而且具有致突变，致畸形（引起胎儿畸形）和致癌作用。不幸的是，黄曲毒素是一种在热带和亚热带国家常见的霉菌而且已形成黄曲毒素污染。这种污染是由于作物储存条件不当引起的，如花生、谷物种子、干果等农作物以及阿月浑子树果、山胡桃、核桃、杏仁等树类坚果和红胡椒、黑胡椒、丁香、肉桂等草类种子。因为其毒性和致癌作用，食品中对黄曲毒素的最低检测限要求非常低。

化学性质

目前已鉴定出 18 种黄曲毒素，但最常见的仍然是黄曲毒素 **B₁**, **B₂**, **G₁** 和 **G₂**，他们的化学结构示于图 1。黄曲毒素 **B₁** 是已知的其中最强烈和丰富的环境诱变剂和致癌物质，它在食品中非常稳定而且不易降解。纯的黄曲毒素 **B₁** 是一种灰白色到黄色结晶，无臭固体，它易溶于氯仿、甲醇、二甲亚砆等中极性溶剂，并且在水中的溶解度是 10-20 mg/L，其甲醇溶液在 265 nm 和 360-362 nm 处有极强的吸光系数（约 10000）。由于黄曲毒素在紫外激发下能产生荧光，因此在高效液相色谱痕量分析中经常用荧光检测。利用黄曲毒素 **B₁**, **B₂**, **G₁** 和 **G₂** 各自荧光效率的差异，将紫外和荧光检测联合起来应用非常有效。黄曲毒素没有极性官能团，因而可以利用其疏水性进行分离。



Agilent Technologies

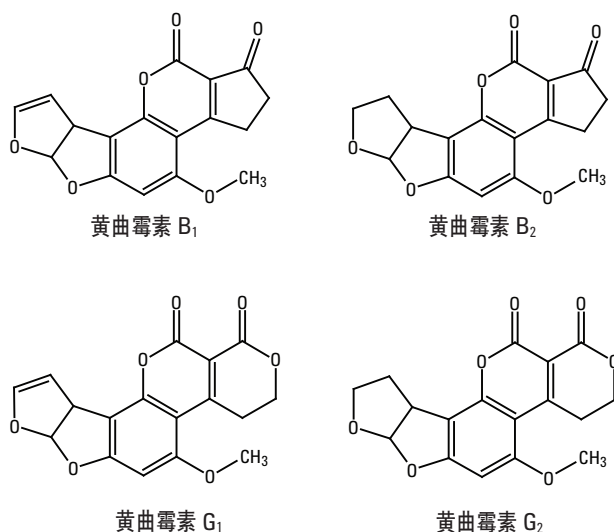


图 1. 目标化合物黄曲霉素的化学结构

高效液相色谱方法学

在过去，薄层色谱法得到广泛应用，如今，由于高效液相色谱简便的操作方法和更好的定量能力，使它逐渐得到应用。目前，在已发表的高效液相色谱方法中，大部分是利用黄曲霉素的疏水性在 C18 键合相上进行的反相色谱分离 [1-4]，而且大多使用 5 微米粒径填料的 25 厘米长的色谱柱。如今常用的是更小粒径填料、更短长度的色谱柱，这种色谱柱能在更短的分析时间内达到与 5 微米粒径填料色谱柱相同的分离效果和相似的分度度。在本研究中，我们拟使用这种色谱柱得到比以前方法更好的结果来证明其优越性，见图 2。

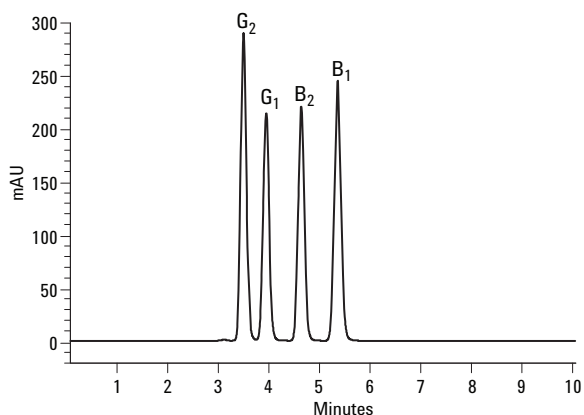


图 2. 使用 ZORBAX XDB-C18 快速分离色谱柱对目标化合物黄曲毒素进行反相分离

实验条件

化合物:	黄曲毒素, 购于 Sigma Aldrich (马德里, 西班牙)
液相色谱条件	
色谱柱:	ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 mm x 150 mm, 3.5 μ m
流动相 A:	水/甲醇/乙腈; 50/40/10 (V/V/V)
流速:	0.8 mL/min
柱温:	室温
检测器:	365 nm 紫外光检测
进样量:	10 微升 (0.044 mg/mL)

结果与讨论

所有四种黄曲毒素以水、甲醇、乙腈为三元均匀混合流动相，在不到 5.5 分钟内实现了基线分离。尽管文中提到紫外检测，但仍需使用荧光 ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 455 \text{ nm}$) 来检测更低水平的黄曲毒素 B₂ 和 G₂。质谱检测方法也可使用。

参考文献

1. R. Schuster, G. Marx, and M. Rothaupt, "Analysis of Mycotoxins by HPLC with Automated Spectroscopic Confirmation by Spectral Library", Agilent Technologies, publication 5091-8692E, www.agilent.com/chem
2. A. Gratzfeld-Heusgen, "HPLC Analysis of Aflatoxins in Pistachio Nuts", Agilent Technologies, publication 5966-0632E, www.agilent.com/chem
3. I. Ferreira, E. Mendes, and M. Oliveira, (2004) *J. Liquid Chromatog.*, **27** (2), 325-334.
4. E. Chiaavaro, C. Dall'Asta, G. Galaverna, A. Biancardi, and E. Gambarelli, (2001) *J. Chromatogr. A*, **937** (1-2), 31-40.

了解更多信息

如需进一步了解我们的产品和服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦公司对本材料中可能有的错误或有关装备、性能或使用这一材料而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本材料中的信息、说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司, 2005

中国印刷
2005 年 8 月 16 日
5889-3634CHCN



Agilent Technologies