

利用 SepLine 全自动固相萃取仪 测定食用油中的黄曲霉毒素

北京莱伯泰科仪器股份有限公司

前言:

黄曲霉毒素对人和动物健康具有极大的危害，其中以黄曲霉毒素B1毒性最大，属特剧毒的毒物范围。引起人的中毒主要是损害肝脏，发生肝炎肝硬化，肝坏死等，急性中毒严重者会出现水肿昏迷，以至抽搐而死。黄曲霉毒素是目前发现的最强的致癌物质，主要诱使动物发生肝癌，也能诱发胃癌、肾癌、直肠癌及乳腺、卵巢、小肠等部位的癌症。

本文建立了SepLine-S4全自动固相萃取仪测定食用油中的黄曲霉毒素B1的方法。系统的密闭性及溶剂回收功能，可保护操作人员免受有毒有害物质的危害。同时降低了实验室工作量，提高了工作效率，保证结果的平行性和准确性，具有较高的回收率。



1. 实验部分:

1.1 仪器与试剂

SepLine-S4 全自动固相萃取仪（莱伯泰科有限公司，美国）；

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪，配备荧光(FLR)检测器（沃特世，美国）；

黄曲霉毒素B1标准溶液，浓度 $2.0 \mu\text{g/ml}$ ，溶于苯-乙腈（98:2）溶液；

甲醇（色谱纯），超纯水；

Aflatoxin B1 Columns (1ml) 免疫亲和柱（Beacon，美国）。

1.2 标准物质的处理

1.2.1 标准储备液：移取 1.5ml 黄曲霉毒素 B1 标准溶液，用甲醇定容在 10ml 容量瓶中，配置成 300ng/ml 的标准储备液，于 4℃ 冰箱中避光保存。

1.2.2 标准使用液：移取标准储备液 0.2ml，用甲醇-水（1:1）溶液定容在 10mL 容量瓶中，配置成 6ng/ml 的标准使用液，现配现用。

北京莱伯泰科仪器股份有限公司

地址：北京顺义区空港工业区B区安庆大街6号

电话：010-80486450

传真：010-80486354

1.3 样品的处理

1.3.1 样品的提取

选取市售的菜籽油，香油各一份。另有已知含黄曲霉毒素 B1 的花生油一份（含量已知）。

称取 5g 食用油于 50ml 离心管中，加入 25ml 甲醇-水（7:3）溶液，涡旋震荡约 1min，待震荡均匀后超声提取 10min。将提取液通过滤纸过滤，吸取 5ml 滤液至 SepLine 进样瓶，再加入 10ml 的水，混合均匀等待净化上样。

1.3.2 加标样品的提取

同样称取 1.3.1 中选用的菜籽油及香油 5g，向离心管中加入 1ml 黄曲霉毒素 B1 的标准使用液（加标标准为 1.2ng/g），之后的提取过程与 1.3.1 完全一致。

1.3.3 样品的净化

将 Aflatoxin B1 免疫亲和柱的两端盖子去掉，倾倒出里面的保护液，放入 SepLine 萃取柱架中。注意随用随放，不可提前倒掉保护液使柱子干掉。

固相萃取方法编辑如下：

步骤	溶剂	体积(ml)	流速(ml/min)	干燥时间(sec)	是否收集
上样	Sample	12.0	1.0	0.0	N
淋洗	甲醇-水（3:7）	2.0	1.0	0.0	N
淋洗	水	10.0	1.0	30.0	N
洗脱	甲醇	1.0	1.0	10.0	Y
洗脱	水	1.0	1.0	60.0	Y

经 SepLine 固相萃取仪净化后的样品，再经过滤膜过滤，待检测。

1.4 UPLC 检测条件

色谱柱：C18（250mm×4.6mm, 5 μm）；

柱温：35℃；

流动相：甲醇-水（1:1）

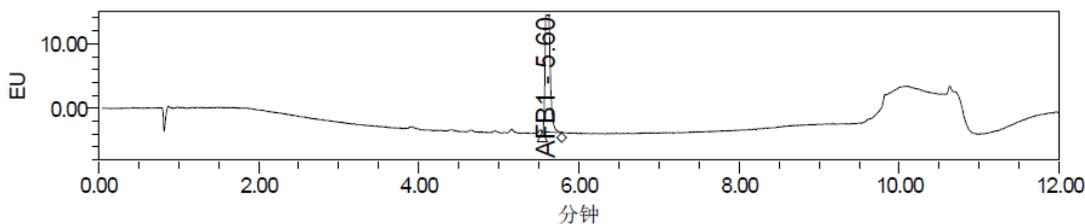
流速：0.5ml/min；

FLR 检测器激发波长：360nm；发射波长：440nm；

进样量：5 μL。

2. 结果与讨论

2.1 黄曲霉毒素 B1 标准使用液（6ng/ml）的液相色谱图



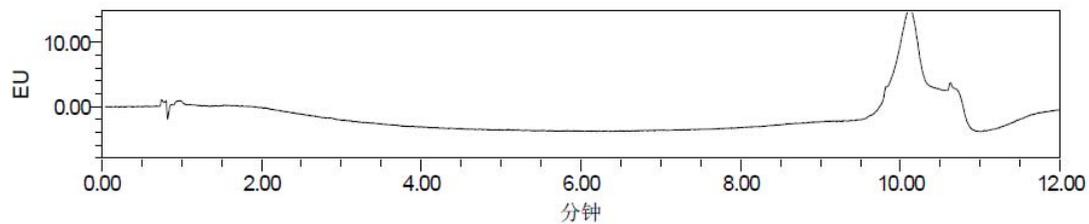
北京莱伯泰科仪器股份有限公司

地址：北京顺义区空港工业区B区安庆大街6号

电话：010-80486450

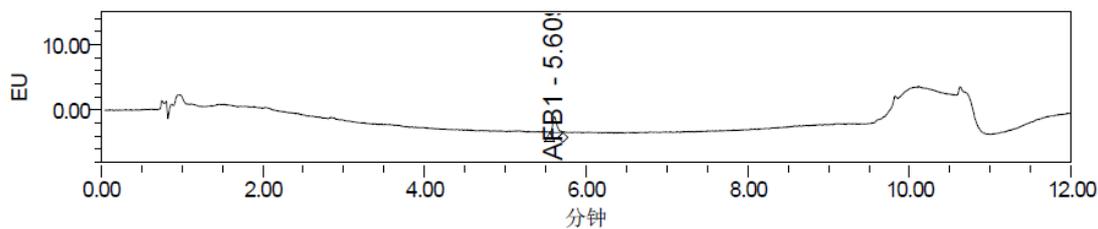
传真：010-80486354

2.2 菜籽油样品色谱图

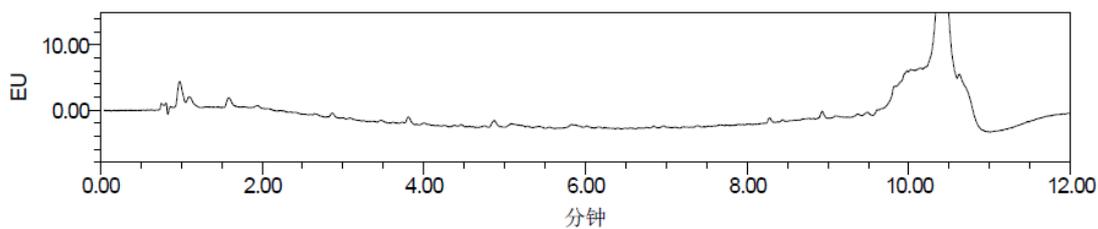


未检出

2.3 菜籽油加标样品色谱图

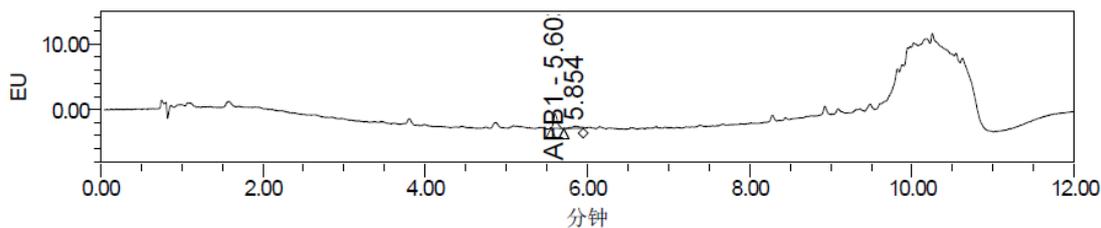


2.4 香油样品色谱图

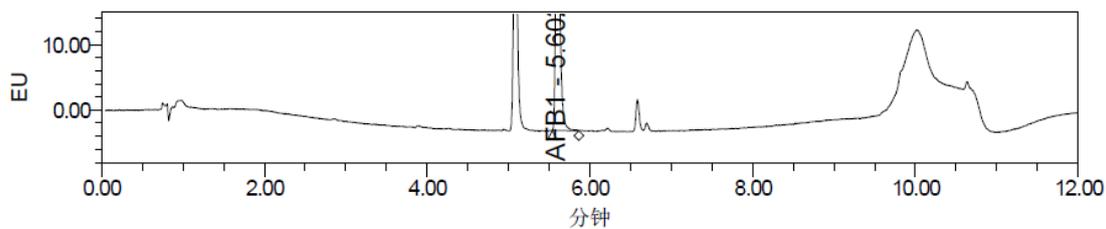


未检出

2.5 香油加标样品色谱图



2.6 已知黄曲霉毒素 B1 含量的花生油样品色谱图



2.7 计算菜籽油和香油样品的加标回收率及相对偏差，回收率均在 86.88%~102.08%之间，RSD 均在 5%以下，具体见下表：

样品	黄曲霉毒素B1的加标回收率 (%)				标准偏差
	一	二	三	平均	
菜籽油	97.91	102.08	95.21	98.40	3.52%
香油	95.00	86.88	90.21	90.70	4.50%

已知黄曲霉毒素 B1 含量的花生油检测结果为:

样品	黄曲霉毒素B1的浓度 (ng/g)				已知含量 (ng/g)	偏差
	一	二	三	平均		
花生油	22.74	23.17	22.82	22.91	23.00	0.39%

结论:

本方法采用 SepLine 全自动固相萃取仪, 利用 Aflatoxin B1 免疫亲和柱对菜籽油、香油及花生油进行提取净化, 采用配备荧光检测器的 UPLC 检测黄曲霉毒素 B1, 平均回收率达到 90%以上, RSD 均小于 5%。实验过程自动化程度高, 平行性好, 结果数据理想, 且能最大限度的保护操作人员免受有毒有害物质的危害, 能够完全满足食用油中黄曲霉毒素的检测要求。

参考文献:

1. GB/T 18979-2003 食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法
2. 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
3. GB/T 5009.23-2006 食品中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的测定

撰稿人: 康锐