# HPLC 柱前衍生法分析黄曲霉毒素 B1

黄曲霉毒素（AFT）对有机体具有致突、致癌、致畸性，被列为可能的人体致癌物质。黄曲霉毒素在多种人类食物中被发现，如玉米、坚果、花生等等，以 B1、B2、G1、G2 的形式存在。AFTB1 在动物体内可转变成两种主要代谢产物- AFTM1 和 AFTQ，前者的毒性和致癌性与 AFTB1 相近，主要存在于动物的尿和乳汁中。

黄曲霉毒素可使用正相和反相液相色谱法分离，反相色谱法操作较容易、流动相毒性也较低，被广泛采用。使用反相液相色谱检测时，可通过柱前衍生法或柱后衍生法，提高 AFTB1、AFTG1 的检测灵敏度，使之与 AFTB2、AFTG2 在相近水平下检测。柱前衍生法无需专用柱后衍生反应系统，方法简单。本方法通过三氟乙酸（TFA）柱前衍生，HPLC 检测黄曲霉毒素 B1。该方法可用于 4 种黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 同时检测，也可用于 AFTM1 检测。

## ■ 样品前处理

取 50μL 黄曲霉毒素 B1 标样溶液(10ng/mL，溶剂苯-乙腈溶液(98:2 v/v))，用氮气吹干，加入200μL正己烷和100μL三氟乙酸，混匀1min，室温下放置10min，氮气吹干，用乙腈水溶液(乙腈/水 85：15 v/v) 50μL重新溶解，混匀30s，经0.45μm滤膜过滤，供液相色谱仪检测用。

## ■ LC 分析条件

### 仪器

Shimadzu LC-20A 液相色谱系统（含 LC-20AT 二元泵、CTO-20A 柱温箱，RF-10AXL 荧光检测器，LCsolution 色谱工作站）

### 色谱分析条件

流动相：甲醇:乙腈:水=1:3:6　　Shim-pack VP-ODS (4.6mm*150mm,5μm)

流速　：1.0mL/min　　激发波长 365nm　发射波长 425nm

色谱柱：Shim-pack GVP-ODS (4.6mm*10mm)；　　柱温：40℃　　进样量：10μL

## ■ 分析结果

黄曲霉毒素 B1（AFTB1）标样色谱图及分析结果

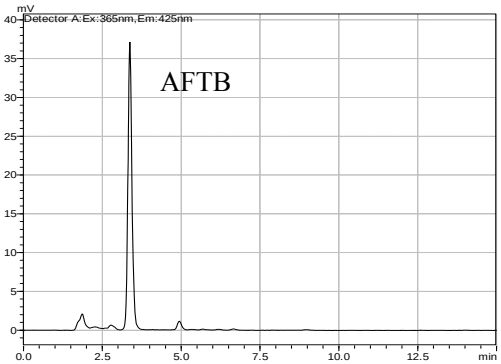


**图 1** 衍生后AFB1标样色谱图

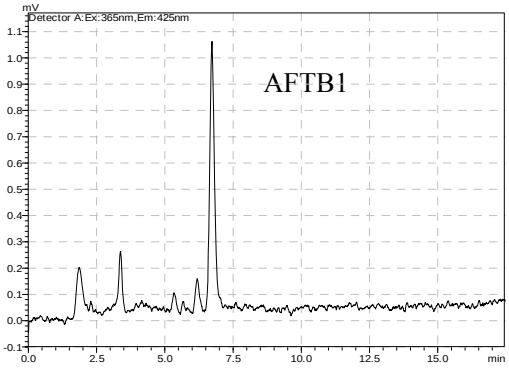


**图 2** 未衍生AFTB1标样色谱图

**表 1**　黄曲霉毒素 B1 分析结果

| 化合物 | | 标样浓度 (ng/mL) | 保留时间 (min) | 峰面积 | 峰高 |
|---|---|---|---|---|---|
| AFTB1 | 衍生 | 10 | 3.368 | 329246 | 37098 |
| AFTB1 | 未衍生 | 10 | 6.721 | 12685 | 1024 |

## ■　结论

三氟乙酸柱前衍生法可用于 AFTB1 检测，增强其荧光强度，提高检测灵敏度。通过以上实验检测 AFTB1 标样（10ng/mL），未经衍生标液的信噪比为 42，衍生后信噪比提高至 S/N=1434。

注：数据出自日本 CSC