

(中国药典) 酸枣仁中黄曲霉毒素B1, B2, G1, G2的测定 (液相色谱荧光法)

应用编号: CU1009

参考 2010 版药典 附录 IX V 黄曲霉毒素测定法

表 2 柱回收率实验 (2 ng/mL)

1. 混合对照品溶液的制备

精密量取黄曲霉毒素混合标准品 (黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 标示浓度分别为 1.0 μg/mL、0.3 μg/mL、1.0 μg/mL、0.3 μg/mL) 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 作为储备液。精密量取储备液 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用 70% 甲醇溶液稀释至刻度, 即得。

2. 样品提取及净化

取供试品粉末约 10 g, 精密称定, 加入氯化钠 2 g, 精密加入 70% 甲醇溶液 100 mL, 超声处理 20 min, 离心 5 min (离心速度 8000 r/min), 精密量取上清液 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 25 mL, 通过免疫亲和柱, 流速每分钟 2-3 mL, 用水 5 mL 淋洗, 洗液弃去, 使空气进入柱子, 再用甲醇 1.4 mL 分 2 次洗脱, 收集洗脱液, 用水定容至 2 mL, 即得。

分别精密吸取上述混合对照品溶液 20 μL、供试品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 从标准曲线上读出供试品中相当于黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的量, 计算, 即得。

3. 色谱条件

仪器: LC-10F 高效液相色谱仪, 荧光检测器, 光化学柱后衍生装置 (德国 LC Tech)

色谱柱: Venusil® MP C18

4.6 × 150 mm; (P/N: VA951505-0)

进样量: 20 μL; 柱温: 40°C; 流速: 1.1 mL/min

梯度洗脱程序: 见表1 (B: 乙腈; C: 甲醇; D: 水)

表 1 梯度洗脱程序

	Time	Flow	A%	B%	C%	D%
1	0.01	1.10	0.0	10.0	25.0	65.0
2	17.00	1.10	0.0	10.0	45.0	45.0
3	17.50	1.10	0.0	10.0	25.0	65.0

4. 实验结果

4.1 柱回收实验:

取酸枣仁提取液 5 mL, 加 2 ng/mL 混标 5 mL, 用水稀释至 50 mL, 同法以 IAC 柱净化, 测定, 计算回收率, 见表2。

		G2	G1	B2	B1
峰面积	标液	43312	70186	71599	102448
	1	50909	81338	84045	123450
	2	50909	81338	84045	123450
	3	52124	84091	86785	125209
	4	52832	83899	86318	121965
	5	49030	77503	81502	115793
回收率 (%)	1	94.03	92.71	93.91	96.40
	2	94.03	92.71	93.91	96.40
	3	96.28	95.85	96.97	97.77
	4	97.58	95.63	96.45	95.24
	5	90.56	88.34	91.06	90.42
	平均	94.50	93.05	94.46	95.25
	RSD	2.83	3.26	2.50	2.99

4.2 进样精密度实验, 见表3

表 3 精密度实验 (n=6)

n	G2	G1	B2	B1
1	40388	64089	73374	104343
2	40275	64031	73154	104405
3	41324	64982	73406	104862
4	40265	64785	73938	104432
5	40993	65243	74473	105622
6	40726	64987	74403	106207
平均	40661.83	64686.17	73791.33	104978.5
RSD	1.06%	0.78%	0.76%	0.73%

4.3 实验图谱

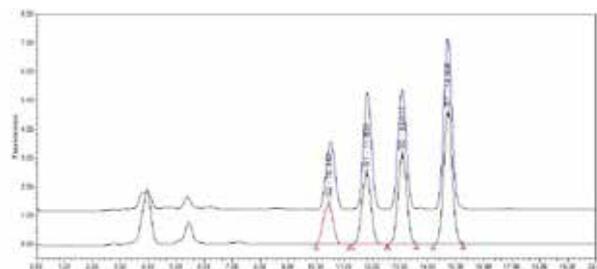


图 1 供试品 (酸枣仁) 加标, 对照品叠加色谱图

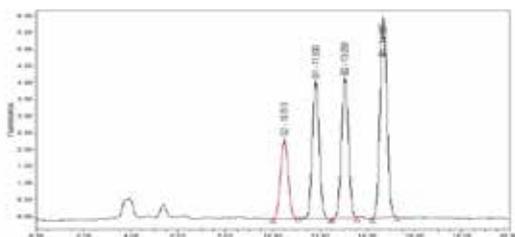


图 2 混合对照品色谱图

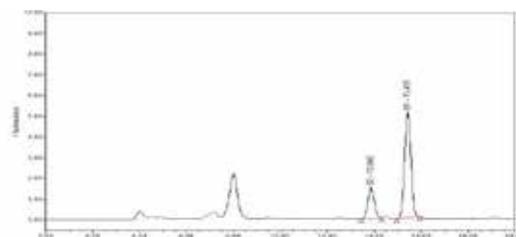


图 4 酸枣仁样品色谱图

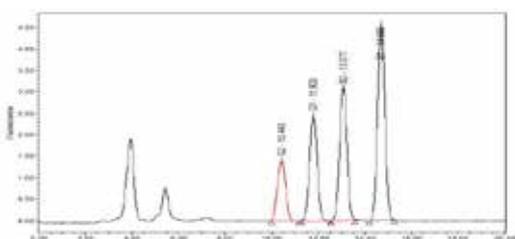


图 3 供试品 (酸枣仁) 加标色谱图

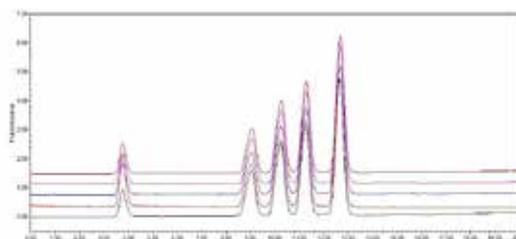


图 5 精密度实验

5. 订货信息

产品名称	规格包装	订货号
LC-10F 高效液相色谱仪	10 mL/min, 梯度系统, 200-800 nm 双波长检测器	FL-LC010GS
CC-100 分析型色谱柱温箱	温控范围: 5-70°C, 可安装 1-2 支 300 mm 色谱柱	CC-100
黄曲霉毒素总量 (B1, B2, G1, G2) 免疫亲和柱	1 mL, 25支/pk	BAC09001
Venusil® MPC18 液相色谱柱	4.6 × 150 mm, 5 μm	VA951505-0
1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32 × 11.6 mm, 100/pk	1109-0519
1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫, 45. Shore A 1.0 mm, 100/pk	0915-1819