

HPLC - FD 法测定牧马豆草中黄曲霉毒素

陈莉莉¹ 李春利^{2*}

(1. 陕西大河药业有限责任公司, 陕西 西安 710201; 2. 陕西康惠制药股份有限公司, 陕西 咸阳 712000)

摘要:目的 建立牧马豆草中黄曲霉毒素的高效液相色谱法测定方法。方法 样品提取液经免疫亲和柱净化和光化学柱后衍生化, 荧光检测器检测。结果 黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 分别在 0.52ng/mL ~ 4.16ng/mL、0.175ng/mL ~ 1.4ng/mL、0.59ng/mL ~ 4.72ng/mL、0.295ng/mL ~ 2.36ng/mL 线性关系良好。且免疫亲和柱载样量 79.0ng ~ 474ng 洗脱流速在 3mL/min 至 5mL/min 范围内能满足实验需求。结论 该方法简单、准确, 重复性良好, 可以作为牧马豆草中黄曲霉毒素质量控制方法。

关键词:牧马豆草; 黄曲霉毒素; 高效液相色谱

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1672-0571(2018)02-0090-03

DOI: 10.13424/j.cnki.mtc.2018.02.032

黄曲霉毒素 (aflatoxins, AF) 是黄曲霉菌和寄生曲霉菌产生的毒素, 主要有 B 和 G 两大类, 黄曲霉毒素 B₁ 的代谢产物是黄曲霉毒素 M^[1], 会诱发动物癌变。黄曲霉毒素繁殖的条件为温度 30℃ ~ 38℃, 相对湿度 80% ~ 85%^[2]。中药材在采集、加工、运输、贮藏过程中因保存不当易受潮霉变, 污染黄曲霉毒素^[3]。

牧马豆草是双子叶植物豆科 Leguminosae 披针叶黄华 *Thermopsis lanceolata* R. Br. 的全草。具有祛痰、止咳功效。收载于《宁夏中草药手册》。主要分布于中国东北、华北及西北德国广大地区, 资源丰富。牧马豆草作为金雀花碱提取原料, 在贮藏过程中, 有可能产生黄曲霉毒素, 故参照欧洲药典及中国药典 2015 年版四部黄曲霉毒素测定方法^[4] 及有关文献^[5-10] 对牧马豆草中黄曲霉毒素进行了方法学研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters Alliance HT 2689 高效液相色谱仪, Pribolab 光化学柱后衍生反应器, Waters 2475 荧光检测器, 梅特勒托利多 ME 204 电子分析天平, 十八烷基键合硅胶色谱柱 (Diamonsil C18 250 × 4.6mm, 5μm), 十八烷基键合硅胶色谱柱 (Ultimate C18 250 × 4.6mm, 5μm 耐用性用), Aflatoxin Total (B₁ B₂ G₁ G₂) Immunoaffinity Column 免疫亲和柱 (lot: I0118A1)

1.2 试剂 牧马豆草 (陕西大河药业有限责任公司, 批号 20160601、20160602、20160603); 黄曲霉毒素混合对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号为 610001-201301, 含黄曲霉毒素 B₁、黄曲霉毒素 B₂、黄曲霉毒素 G₁、黄曲霉毒素 G₂ 标示浓度分别为 1.04μg · mL⁻¹、0.35μg · mL⁻¹、1.18μg · mL⁻¹、0.59μg · mL⁻¹; 甲醇 (MACRON 公司, 批号 1405009801)、乙腈 (MACRON 公司, 批号 1405504802)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 固定相为十八烷基键合硅胶 (250 × 4.6mm, 5μm); 5 流动相流速: 1.0mL/min; 进样量: 0.5μL 柱后衍生化法; 衍生化泵流速: 0.4mL/min。柱后光化学衍生波长 254nm; 荧光检测器 (激发波长 365nm, 发射波长 435nm); 流动相 A: 甲醇; 流动相 B: 乙腈; 流动相 C: 水, A、B、C 三项梯度洗脱, 梯度条件见表 1。

表 1 梯度条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	流动相 C (%)
0	30	16	54
16	30	16	54
17	40	40	20
24	40	40	20
25	30	16	54
32	30	16	54

2.2 标准曲线溶液的配制 精密量取黄曲霉毒

* 通讯作者: 李春利 (1980-), 女, 主管药师, 研究方向: 中药新品种开发。E-mail: 80679336@qq.com