

# 粮食和饲料中黄曲霉毒素、呕吐毒素和玉米赤霉烯酮 的分析方法

## 一、实验条件

### 1 仪器设备

岛津 LC-16 液相色谱仪；  
ASPE480 免疫亲和固相萃取系统。

### 2 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 液相条件

色谱柱：Robussil C18, 4.6×250 mm, 5 μm；  
流动相：A 相-水，B 相-甲醇；A:B=1:1  
流 速：1mL/min  
柱 温：40℃；进样量：20 μL；  
荧光检测器：激发波长 360nm，发射波长 450nm；

### 3 呕吐毒素液相条件

色谱柱：Robussil C18, 4.6×250 mm, 5 μm；  
流动相：A 相-水，B 相-乙腈；A: B=9: 1  
流 速：0.8mL/min  
柱 温：40℃；进样量：50 μL；  
紫外检测器：波长 218nm；

### 4 玉米赤霉烯酮液相条件

色谱柱：Robussil C18, 4.6×250 mm, 5 μm；  
流动相：A 相-水，B 相-乙腈；A: B=4: 6  
流 速：1mL/min  
柱 温：40℃；  
进样量：20 μL；

荧光检测器：激发波长 274nm，发射波长 440nm；

## 二、实验方案

### 1 实验用品

实验试剂：甲醇、乙腈均为色谱纯；氯化钠、聚乙二醇均为分析纯；一级水；0.22μm 滤膜；免疫亲和柱。

### 2 实验方法

ASP-480 仪器方法，如图 1-3：



| 美正生物 MEIZHENG BIO-TECH |        | 首页 | 设置     |       |    |     |           |        |       |
|------------------------|--------|----|--------|-------|----|-----|-----------|--------|-------|
| 单方法                    | 项目列表   | 参数 | 方法     | 数量    | 结束 |     |           |        |       |
| 多方法                    | AFT    | 序号 | 命令     | 溶剂    | 排出 | 流速  | 填充体积 (ml) | 体积(ml) | 时间(分) |
|                        | 清洗仪器   | 1  | 清洗样品通道 | CH3OH | 废水 |     |           |        | 1.65  |
|                        | DON    | 2  | 上样     |       | 废水 | 2   | 4         | 15     | 9.97  |
|                        | ZEN    | 3  | 淋洗     | H2O   | 废水 | 3   |           | 15     | 5.38  |
|                        | 液质DON  | 4  | 气推     |       | 废水 | 50  |           | 5      | 0.23  |
|                        | 上样精度测试 | 5  | 吹干     |       | 废水 |     |           |        | 0.1   |
|                        | 精度测试   | 6  | 清洗注射泵  | CH3OH | 废水 | 60  |           | 2      | 0.08  |
|                        | 噻诺酮    | 7  | 洗脱     | CH3OH | 收集 | 40  |           | 1      | 1     |
|                        | 四环素    | 8  | 气推     |       | 收集 | 1   |           | 2      | 2.05  |
|                        | 吹干     | 9  | 气推     |       | 收集 | 40  |           | 8      | 0.4   |
|                        | 创建项目   | 10 | 气推     |       | 收集 | 160 |           | 5      | 0.16  |
|                        |        | 11 | 吹干     |       | 收集 |     |           |        | 0.3   |

图1 仪器方法-黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>



| 序号 | 命令     | 溶剂       | 排出 | 流速  | 填充体积 (ml) | 体积(ml) | 时间(分) |
|----|--------|----------|----|-----|-----------|--------|-------|
| 1  | 清洗样品通道 | 20%CH3OH | 废水 |     |           |        | 1.65  |
| 2  | 上样     |          | 废水 | 2   | 5         | 2      | 3.67  |
| 3  | 淋洗     | H2O      | 废水 | 3   |           | 15     | 5.38  |
| 4  | 气推     |          | 废水 | 50  |           | 10     | 0.45  |
| 5  | 吹干     |          | 废水 |     |           |        | 0.1   |
| 6  | 清洗注射泵  | CH3OH    | 废水 | 60  |           | 2      | 0.08  |
| 7  | 洗脱     | CH3OH    | 收集 | 40  |           | 1      | 1     |
| 8  | 气推     |          | 收集 | 1   |           | 2      | 2.05  |
| 9  | 气推     |          | 收集 | 40  |           | 8      | 0.4   |
| 10 | 气推     |          | 收集 | 160 |           | 5      | 0.16  |
| 11 | 吹干     |          | 收集 |     |           |        | 0.3   |

图 2 仪器方法-呕吐毒素



| 序号 | 命令     | 溶剂       | 排出 | 流速  | 填充体积 (ml) | 体积(ml) | 时间(分) |
|----|--------|----------|----|-----|-----------|--------|-------|
| 1  | 清洗样品通道 | 20%CH3OH | 废水 |     |           |        | 1.65  |
| 2  | 上样     |          | 废水 | 2   | 4         | 25     | 15.22 |
| 3  | 淋洗     | H2O      | 废水 | 3   |           | 15     | 6.45  |
| 4  | 气推     |          | 废水 | 50  |           | 5      | 0.23  |
| 5  | 吹干     |          | 废水 |     |           |        | 0.1   |
| 6  | 清洗注射泵  | CH3OH    | 废水 | 60  |           | 2      | 0.08  |
| 7  | 洗脱     | CH3OH    | 收集 | 40  |           | 1      | 1     |
| 8  | 气推     |          | 收集 | 1   |           | 2      | 2.05  |
| 9  | 气推     |          | 收集 | 40  |           | 8      | 0.4   |
| 10 | 气推     |          | 收集 | 160 |           | 5      | 0.16  |
| 11 | 吹干     |          | 收集 |     |           |        | 0.3   |

图 3 仪器方法-玉米赤霉烯酮

### 3 实验数据

加标回收实验数据如表 1:

表1 加标回收实验结果(n=4)

| 样品种类 | 项目                  | 加标量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 加标回收率/% | RSD/% |
|------|---------------------|---------------------------------|---------|-------|
| 玉米粉  | 黄曲霉毒素B <sub>1</sub> | 5                               | 96.96   | 1.64  |
|      |                     | 10                              | 94.75   | 2.73  |
|      | 呕吐毒素                | 500                             | 102.90  | 4.77  |
|      |                     | 1000                            | 96.12   | 3.72  |
|      | 玉米赤霉烯酮              | 100                             | 100.69  | 2.58  |
|      |                     | 200                             | 101.43  | 1.68  |
| 小麦粉  | 黄曲霉毒素B <sub>1</sub> | 5                               | 92.81   | 2.30  |
|      |                     | 10                              | 91.62   | 4.36  |
|      | 呕吐毒素                | 500                             | 95.61   | 3.12  |
|      |                     | 1000                            | 97.42   | 4.52  |
|      | 玉米赤霉烯酮              | 100                             | 99.87   | 1.02  |
|      |                     | 200                             | 100.48  | 2.06  |
| 配合饲料 | 黄曲霉毒素B <sub>1</sub> | 5                               | 95.23   | 5.20  |
|      |                     | 10                              | 97.98   | 5.83  |
|      | 呕吐毒素                | 1000                            | 92.52   | 4.59  |
|      |                     | 2000                            | 88.39   | 5.16  |
|      | 玉米赤霉烯酮              | 200                             | 95.78   | 3.84  |
|      |                     | 500                             | 94.28   | 2.87  |

### 4 液相色谱图

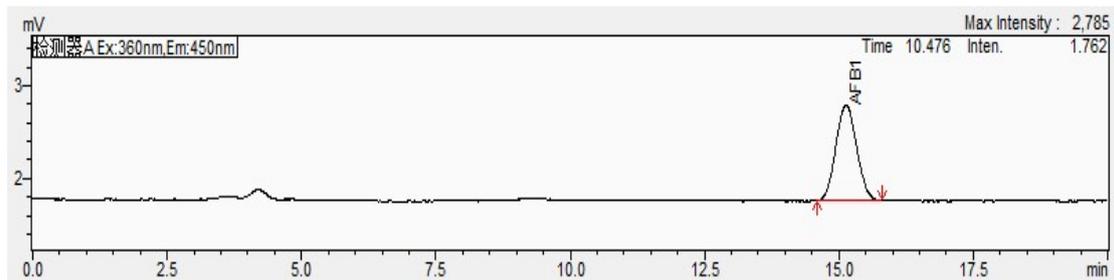


图1 黄曲霉毒素B1 加标5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 液相色谱图

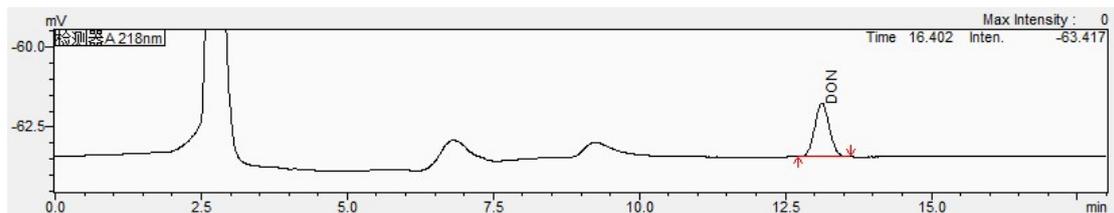


图2 呕吐毒素加标 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$  液相色谱图

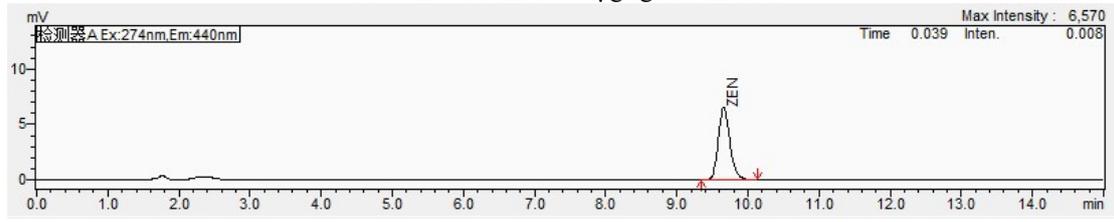


图3 玉米赤霉烯酮加标 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$  液相色谱图