

研究简报

测定微生物中黄曲霉素含量 的一种新的快速荧光法

A NEW FAST FLUORESCENCE METHOD TO DETERMINE AFLATOXIN CONTENT IN MICROBIALS

卢大用 刘冬玮 张勤 姚玉英 赵云泉

(上海大学生命科学学院, 201800)

LU Da-Yong, LIU Dong-Wei, ZHANG Qin, YAO Yu-Ying, ZHAO Yun-Quan

(School of Life Sciences, Shanghai University, 201800)

关键词 黄曲霉素, 黑曲霉, 快速荧光分析

KEYWORDS aflatoxin, aspergillus niger, fast fluore metry

中图分类号 TQ651.2

黄曲霉素是由微生物分泌的具有高度致癌性的物质 [CAST 1989, Pestka 和 Casale 1990], 检测能产生黄曲霉素的食品和粮食中黄曲霉素含量是十分必要的, 它是现代食品分析的重要内容之一。由于黄曲霉素的含量甚微, 又易于与其它物质混淆, 因此其测定方法比较复杂。以往常用的测定黄曲霉素的方法是先经层析后, 再测定其光吸收值或荧光值。本法利用碱能使黄曲霉素分解的原理(图1), 无需进行层析分离而测其荧光值, 这是一种新的快速测定方法。

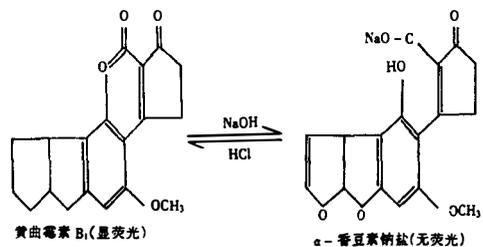


图1 碱处理后黄曲霉素 B₁ 的结构

Fig. 1 The structure of aflatoxin B₁ after alkali treatment

1 材料与方方法

1.1 仪器与材料

930型荧光分光光度计,上海分析仪器三厂生产。黄曲霉素 G_1 (aflatoxin G_1) 标准品:购自美国 Sigma 公司。黑曲霉 (*aspergillus niger*), 本院微生物教研室保种。霉菌培养条件见卢大用等[1994]。氢氧化钠和氯仿为分析纯。

1.2 测定步骤

经高压蒸气灭菌处理的培养液冷却后,接种黑曲霉,37℃培养3天。将带霉毒素的培养基转移到150mL 三角烧杯中,加入约20mL 氯仿,烧杯置于50℃水浴中(不断摇晃),5min 后吸取氯仿层;再加少许氯仿至三角烧杯中,重复上述操作,合并氯仿提取液,定容至30mL。该液在激发波长为360nm 和发射波长为450nm 下测荧光值,然后加入提取液体积1/5的3N NaOH 氯仿溶液,1min 后测其荧光值。

另外,用氯仿配制黄曲霉素标准溶液(1~3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和10~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$),同上述操作制作黄曲霉素标准曲线。

2 结果

2.1 黄曲霉素 G_1 的标准曲线

将仪器灵敏度调节到最高档位,得到的标准曲线如图2所示。图中显示,该仪器的最小检测限为1~3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 黑曲霉培养基中黄曲霉素的含量

测定结果表明(表1),黑曲霉培养基中黄曲霉素含量较高,当9cm 培养皿长满霉菌时,每皿含黄曲霉素300~500 μg 。且用本法能有效定量培养皿中黄曲霉素,误差小于1%。当上述提取液稀释数十倍,测定结果仍相当满意。

表1 用碱荧光法测定黄曲霉素的含量
Tab. 1 The fluorescence value of aflatoxin after alkali treatment

| 待测物 | 浓度 | 荧光差值(格) |
|------------|---------------------------|-----------------|
| 霉菌液 | 1:10 | 110.0 \pm 2.4 |
| 霉菌液 | 1:50 | 22.4 \pm 1.5 |
| 霉菌液 | 1:250 | 4.5 \pm 0.5 |
| 黄曲霉素 G_1 | 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ | 1.0 \pm 0.2 |

注:n=3

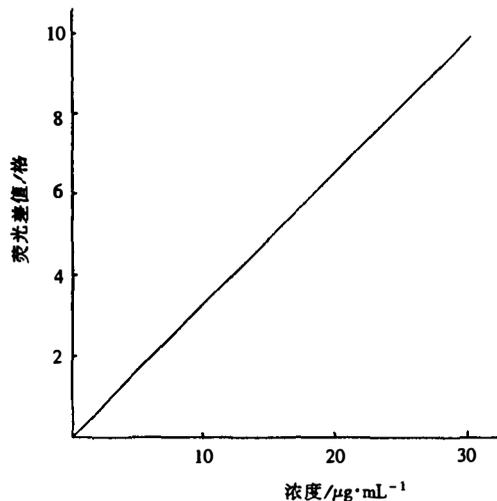


图2 黄曲霉素 G_1 标准曲线
Fig. 2 The standard curve of fluorescence change by aflatoxin G_1 damage

3 讨论

本方法所使用的仪器是国内常用的上海分析仪器三厂生产的930型荧光分光光度计,操作比较快速,整个过程连同提取等步骤仅需2小时,测定仅需1min;灵敏度和重复性皆较满意,在大量的食品监督中可能是很有用的。但本法与层析法相比较,它不能进一步区分样品中所含各种黄曲霉素衍生物,如需探讨其各种衍生物的特异性时具有一定的局限性;但它在某种黄曲霉素测定时优于层析法。如用黄曲霉素 M 或黄曲霉素 B 作标准品也能获得满意结果。本实验使用的是国产的、灵敏度较低的荧光仪,如采用更先进的荧光仪,并改用苯:乙晴(98:2)作溶剂,可使其灵敏度进一步提高。本工作为进一步深入对食品中黄曲霉素的测定提供了一个良好的开端。按本结果,本方法在样品溶剂浓缩至原食品量的1/100,灵敏度可相当于免疫法[Pestka 等 1995]。

参 考 文 献

- 卢大用,萧安民,殷 欣等. 1994. 工业微生物, 24(3): 31~34.
- CAST. 1989. Task force report No. 116 council for agricultural science and technology, Ames. Iowa. 1~30.
- Pestka J J, Casale W L. 1990. Naturally occurring fungal toxins. Food Contamination From Enviromental Sources (Simmons M S, Nriagu J ed), 613~638.
- Pestka J J, Abouried M N, Sutikno. 1995. Immunological assays for mycotoxin detection. Food Technology. 49(2):120~128.

欢迎订阅《珠江水产》

《珠江水产》杂志是中华人民共和国农业部主管、中国水产科学研究院珠江水产研究所、农业部热带亚热带鱼类选育与养殖重点开放实验室主办、广东省多个单位协作的学术性、实用性并重的综合性水产养殖科技刊物。

《珠江水产》杂志植根于养鱼最发达地区之一——珠江三角洲、广东省及珠江流域的沃土之中,是本地区唯一一本淡水养殖专业的科技杂志。本刊着力反映本地区先进的淡水养殖业的风貌,是水产工作者进行学术交流、展示水产科技成果和工作经验、报导渔业科技、经济、服务信息的园地,是团结和联系广大水产工作者为实现繁荣水产科技事业,促进渔业生产的阵地与纽带。

《珠江水产》为季刊,每期3.50元,全年14元。订阅者可直接邮汇至广州市白鹤洞西塍珠江水产研究所内《珠江水产》编辑部,邮编:510380。

银行汇款帐号:广州工商银行鹤洞办事处 014-264-0002467 珠江水产研究所

联系电话:(020)81508769