

tương đương. Đối với detector điều chỉnh được, chế độ cài đặt được khuyến cáo là bước sóng kích thích 366 nm và bước sóng phát xạ 435 nm.

Thể tích tiêm: 500 µl.

Dẫn xuất hóa sau cột bằng pyridinium hydrobromid perbromid (PBPB)

- bơm không có xung;
- bộ trộn chữ T có thể tích chết bằng 0;
- ống phản ứng bằng polytetrafluoroethylen, l = 0,45 m;
- Φ = 0,5 mm;
- pha động A;
- thuốc thử dẫn xuất hóa sau cột: Hòa tan 50 mg pyridinium hydrobromid perbromid (TT) trong 1000 ml nước (bảo quản tránh ánh sáng và dùng trong 4 ngày);
- tốc độ dòng thuốc thử tạo dẫn xuất: 0,4 ml/min.

Dẫn xuất hóa sau cột với phản ứng quang hóa (PHRED)

- ống phản ứng với đèn UV hơi thủy ngân áp suất thấp 254 nm (tối thiểu 8 W);
- gương hỗ trợ;
- cuộn phản ứng: Ống polytetrafluoroethylen bao chặt quanh bóng UV, l = 25 m; Φ = 0,25 mm; thể tích trống danh định 1,25 ml;
- thời gian chiếu: 2 min;
- pha động A.

Dẫn xuất hóa sau cột bằng brom mới sinh từ phản ứng điện hóa (KOBRA)

- pin KOBRA: Pin điện hóa sinh ra brom hoạt tính để tạo dẫn xuất với aflatoxin, làm tăng sự phát huỳnh quang; sẵn có trên thị trường;
- nguồn điện 1 chiều cùng bộ với pin KOBRA, cung cấp một dòng không đổi khoảng 100 µA;
- ống phản ứng bằng polytetrafluoroethylen, l = 0,12 m; Φ = 0,25 mm;
- pha động B.

Thuật ngữ rửa giải: Aflatoxin G₂, aflatoxin G₁, aflatoxin B₂, aflatoxin B₁.

Tính kết quả

Thiết lập phương trình đường chuẩn y = ax + b với nồng độ aflatoxin B₁ (ng/ml) trên trục x và tín hiệu đáp ứng (S) trên trục y. Nồng độ aflatoxin B₁ (C) trong dung dịch đo được tính bằng biểu thức:

$$C(\text{ng/ml}) = \frac{S - b}{a}$$

Tính hàm lượng aflatoxin B₁ (X) trong dược liệu, biểu thị bằng ng/g, theo công thức sau:

$$X(\text{ng/g}) = \frac{V_1 \times V_2 \times C}{m \times V_i}$$

Trong đó:

- m là khối lượng dược liệu lấy để phân tích (g).
- V₁ là thể tích dung môi được dùng để chiết (ml).

V₁ là thể tích dịch chiết được làm sạch bằng cột sắc ký ái lực miễn dịch (ml).

V₂ là thể tích dung dịch cuối cùng sau khi rửa giải từ cột sắc ký ái lực miễn dịch và pha loãng (ml).

C là nồng độ aflatoxin đo được từ dung dịch thử (ng/ml). Sự có mặt aflatoxin B₁ có thể được khẳng định bằng cách ghi lại sắc ký đồ dung dịch thử không qua dẫn xuất hóa sau cột; tín hiệu đáp ứng của aflatoxin B₁ trên sắc đồ này bị giảm đi đáng kể (hơn 10 lần).

12.22 XÁC ĐỊNH ACID ARISTOLOCHIC I TRONG DƯỢC LIỆU

Acid aristolochic I là chất có độc tính cao, được cho là có khả năng gây ra suy thận và ung thư, acid aristolochic I thường được tìm thấy trong các cây thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae). Do đó, các dược liệu có thể có chứa acid aristolochic I cần được kiểm tra phát hiện acid aristolochic I trước khi sử dụng.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm phosphat 0,05 M - acetonitril (11 : 9).

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M: Hòa tan 7,8 g natri dihydrophosphat (TT) và 2,0 ml acid phosphoric (TT) trong nước và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng acid aristolochic chuẩn tương đương với 10,0 mg acid aristolochic I trong hỗn hợp methanol - nước (3 : 1) và pha loãng thành 200,0 ml với hỗn hợp methanol - nước (3 : 1). Hút 2,0 ml dung dịch này, pha loãng thành 10,0 ml với hỗn hợp methanol - nước (3 : 1).

Dung dịch thử: Cân 2,0 g bột dược liệu (qua rây số 125) vào một bình nón nút mài, thêm 50,0 ml hỗn hợp gồm methanol - nước (3 : 1), lắc kỹ trong 15 min, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 400 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào máy sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi lại sắc ký đồ.

Mẫu thử được chấp nhận khi trên sắc ký đồ của dung dịch thử không xuất hiện pic có cùng thời gian lưu với pic của acid aristolochic I trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

12.23 HƯỚNG DẪN THIẾT LẬP DẤU VÂN TAY HÓA HỌC CỦA DƯỢC LIỆU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HOẶC SẮC KÝ KHÍ

Dấu vân tay hóa học (DVT) là các thông tin hóa học của dược liệu được biểu thị dưới dạng sắc ký đồ, các phổ và