

大米中黄曲霉毒素 B1 的测定 (Copure® 黄曲霉毒素 B1 免疫亲和柱)

《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》

大米在储存不当的情况下极易发霉产生霉菌毒素，且霉菌毒素可以通过污染食物链，在人体内实现累积，因此大米中所含霉菌毒素只有低于最大允许残留限量才能保证人和动物的食用安全。

免疫亲和法具有方法准确、回收率高、精密度好等优点。逗点生物结合自身产品优势，建立了免疫亲和-高效液相色谱串联质谱法测定大米中黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 含量的方法，试样经提取后，经免疫亲和柱净化，经质谱分析，同位素内标法定量。经验证，加标回收率范围 95-100%，RSD 值小于 5%，满足测试要求。

一、样本前处理

1.1 提取

大米经粉碎后，称取样本 5.00 g(精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管(带盖)中，加入 100 μ L 同位素内标工作液(10.0 ng/mL)后静置。加入 20 mL 乙腈水溶液(84+16)，涡旋振荡提取 20 min，8000 r/min 离心 5.0 min。取 4.0 mL 提取液，加入 46 mL PBS 溶液，混匀待净化。

1.2 净化(Copure® 黄曲霉毒素 B1 免疫亲和柱)

将免疫亲和柱连接于固相萃取装置上，将上述全部待净化稀释液过黄曲霉毒素 B1 免疫亲和柱(货号: COAFMB103)，流速控制在 1~2 滴/秒。然后依次加入 5.0 mL PBS 缓冲溶液和 5.0 mL 一级水淋洗小柱，弃去全部流出液，压干。用 1.0 mL 甲醇进行洗脱，关闭阀门浸泡 30 s，然后洗脱至进样小瓶中，LC-MS/MS 测试。

1.3 过程空白实验

不称取试样，按上述步骤进行实验。

二、仪器条件

色谱柱: CommaSil® BEH T-C18(2.1 mm \times 100 mm,3 μ m)

流动相: A: 5 mmol/L 乙酸铵溶液

B: 甲醇(含 0.1% 甲酸)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样量: 5 μ L

洗脱程序: 梯度洗脱表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	90	10
1.2	40	60
2.1	10	90
4.8	10	90
5.0	90	10
6.0	90	10

离子源: HESI

扫描方式: 正离子模式 (ESI+)

鞘气压力: 30 arb

辅气压力: 8 arb

离子传输管: 300 $^{\circ}$ C

辅气温度: 350 $^{\circ}$ C

表 2 组分名称、及特征离子一览表 (* 为定量离子)

名称	母离子	子离子	离子模式
黄曲霉毒素 B1	313.1	241.1、285*	ESI+
13C17-AFB1	330.1	255、301*	ESI+

三、实验测试结果

表 3 大米中黄曲霉毒素 B1 加标回收实验结果

检测项目	加标浓度 (μ g/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
黄曲霉毒素 B1	1.00	98.3	96.4	1.73
		95.7		
		95.2		

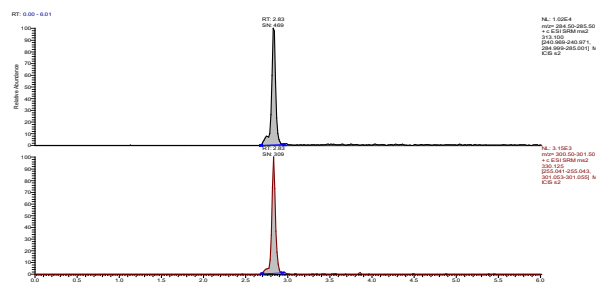


图 1 黄曲霉毒素 B1 校准点外标和同位素内标的定量离子提取色谱图 (1.0 μ g/L)

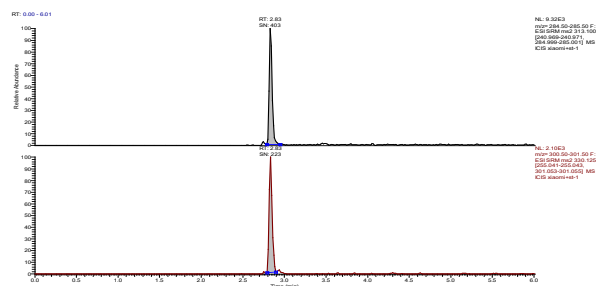


图 2 大米中黄曲霉毒素 B1 外标和同位素内标的定量离子提取色谱图 (加标浓度 1.00 μ g/kg)

订购信息

货号	描述	包装
COAFMB103	Copure® 黄曲霉毒素 B1 免疫亲和柱, 3 mL	20 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
BCBS100F-1000	磷酸盐缓冲溶液 (PBS)	1000 mL / 瓶
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒