

牛奶中黄曲霉毒素 M 族检测的高通量固相萃取方法 (Copure® 223 多功能净化板)

黄曲霉素是一类真菌 (如黄曲霉和寄生曲霉) 的有毒代谢产物, 它们具有很强的致癌性, 黄曲霉素 M1 是黄曲霉素 B1 的羟基化代谢产物, 其毒性与黄曲霉素 B1 相当, 也是一种强致癌物。当奶牛食用了被黄曲霉素 B1 污染的饲料后, 黄曲霉素 B1 在动物体内会经过转化生成代谢产物黄曲霉素 M1。代谢产物黄曲霉素 M1 一部分随尿液和乳汁排出, 另一部分存于动物细胞的可食用组织中, 其中在乳汁中较为常见。因此, 检测生鲜乳中黄曲霉素 M1 和 M2, 对保证生鲜乳的质量安全具有重要意义。

逗点生物采用 24 孔 Copure® 223 多功能净化板, 实现了黄曲霉毒素 M 族的快速、高通量检测。建立牛奶中黄曲霉毒素 M1 和 M2 检测的 LC 检测方法。两个水平 (5 ng/g, 10 ng/g) 的加标回收率均在 90-110% 之间, 孔间回收率 CV 值小于 5%。本方法操作简便快捷, 具有回收率高和除杂效果好的优势, 能够作为牛奶中黄曲霉毒素 M 族检测的参考方法。

参照《GB 5009.24-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 M 族的测定》。

一、样品前处理

1.1 样品提取

1) 称取 4 g 试样于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 涡旋混匀, 置于超声波 / 涡旋振荡器或摇床中振荡 20 min, 在 6000 r/min 下离心 10 min, 取上清液备用。

1.2 样品净化

1) 将 24 孔净化板放置在 24 孔收集板上, 再向净化板孔中加入 6 mL 样品提取液。
2) 将 24 孔净化板和收集板放置在 24 孔正压提取装置下, 开启气阀开关, 使净化板孔和输气孔保持对应, 匹配良好。
3) 调整气体输出压力, 使样品提取液过滤至收集板中。
4) 取 4 mL 样品净化液, 40°C 下氮气吹干, 用 1 mL 初始流动相复溶, 涡旋 30s 溶解残渣, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 上机分析。

订购信息

产品信息	名称	描述	规格
COAF226-GTL	Copure® 226 多功能净化板	玉米赤霉烯酮, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF228-GTL	Copure® 228 多功能净化板	展青霉素, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF224-GTL	Copure® 224 多功能净化板	玉米赤霉烯酮	1 块 / 盒
COAF223-GTL	Copure® 223 多功能净化板	黄曲霉毒素 M1、M2	1 块 / 盒
COAF229-GTL	Copure® 229 多功能净化板	赭曲霉毒素	1 块 / 盒
COAF230-GTL	Copure® 230 多功能净化板	呕吐毒素	1 块 / 盒
COAF302-GTL	Copure® 302 多功能净化板	黄曲霉毒素 B 族、G 族、M 族, 玉米赤霉烯酮, 呕吐毒素, T-2 毒素, 赭曲霉毒素, 伏马毒素, 3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇, 15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	1 块 / 盒

二、仪器条件

仪器设备: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific), 配 FLD 检测器

色谱柱: Agilent ZORBAX C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)

流动相: A: 去离子水 B: 乙腈 - 甲醇 (50/50)

流动相洗脱条件: A, 70%; B, 30%

流速: 1.0 mL/min

柱温: 室温

进样体积: 20.0 mL

检测波长: 激发波长 360 nm, 发射波长 430 nm

检测器: 荧光检测器 (FLD)

三、实验结果

表 1 牛奶中黄曲霉毒素 M 族加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure® 223 多功能净化板	
		平均回收率 R/% (n=24)	CV/%
AFT M1	5	103	3.85
	10	98.4	2.28
AFT M2	5	98.2	4.42
	10	95.8	4.22

从图 1 中可知, 经过 Copure® 223 多功能净化板净化处理后, 提取液中杂质被明显吸附, 减少了杂质干扰; 从表 1 中可知, 24 个孔中黄曲霉毒素 M1 和 M2 的回收率均在 90-110% 之间, 孔间回收率 CV 值小于 5%, 能满足实验使用需求。

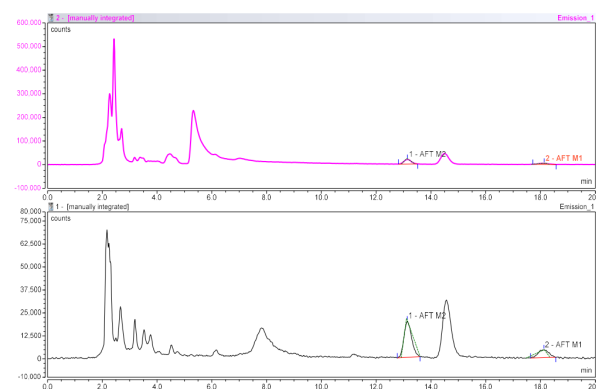


图 1 使用多功能净化板处理前后的色谱图 (5ng/g) (①牛奶样品 - 未净化处理 ② Copure®223 多功能净化板 - 净化处理)