

花生中黄曲霉毒素的测定 (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》

收获后的花生在流通和储藏过程中,容易受到霉菌的污染而发生霉变。其中,黄曲霉毒素在霉变花生中常被检出。花生受到黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 污染后不仅会降低花生的营养和商业价值,更重要的是影响花生及其制品的可食性和安全性。

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 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 90-110%,RSD 值小于 5%,满足测试要求。

一、样本前处理

1.1 提取

花生经粉碎后,称取样本 5.0 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 ng/mL) 后静。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 提取滤液,加入 46 mL PBS 溶液,混匀待净化。

1.2 净化

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 一级水洗淋小柱,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® 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 1 花生中黄曲霉毒素 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	108	105	2.52
		104		
		103		

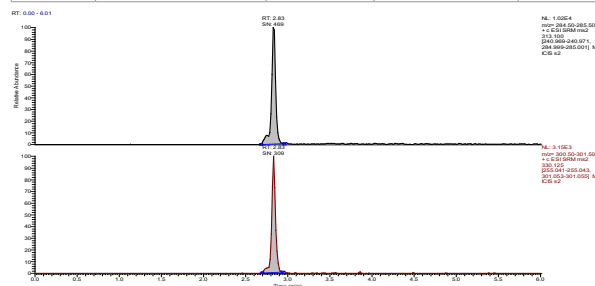


图 1 黄曲霉毒素 B1 校准点外标和同位素内标的定量离子提取色谱图 (1.0 μ g/L)

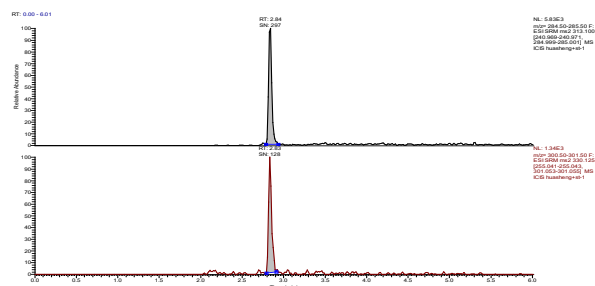


图 2 花生中黄曲霉毒素 B1 外标和同位素内标的定量离子提取色谱图 (加标浓度 1.00 μ g/kg)

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
CS2110003C18	Commasil® T-C18 2.1 mm \times 100 mm, 3 μ m	1 根 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
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 \times 32 mm, 9-425	100 个 / 盒