

新型、快速、低成本 SPE 法检测黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁

目前检测黄曲霉毒素的方法通常为免疫亲和层析净化高效液相色谱法和酶联免疫吸附法 (ELISA) 这两种方法。酶联免疫吸附法 (ELISA) 操作简单, 快速, 但灵敏度低且会出现假阳性, 需使用免疫亲和柱法进行精确定性、定量, 而免疫亲和柱又存在使用繁琐、价格昂贵、储存条件苛刻、保存期短等缺点。

针对上述问题, 迪马科技最新开发出新型、快速、低成本的ProElutTM固相萃取方法。该方法可实现与免疫亲和柱法相当的高精度回收率结果, 但使用成本却大大降低。ProElutTM固相萃取法单个样品的检测成本为免疫亲和柱法的 1/4, 酶联免疫法的 1/2, 同时ProElutTM固相萃取法简单易操作、不需要专用的大型设备、对操作人员要求不高, 特别适用于各种食品生产企业及检测机构, 将大大降低黄曲霉毒素的检测成本。

以下为使用ProElutTM固相萃取柱开发的黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 和黄曲霉毒素M₁的检测方案, 供您参考!

乳制品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 的检测

1 适用范围

适用于牛奶、奶粉等乳制品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁ 的检测。

2 样品准备/提取

2.1 牛奶、原料乳等液态奶制品

- (1) 称取 2 g 样品, 加入 2 mL 乙腈, 涡旋混合 1 min;
- (2) 再加入 4 mL 乙腈, 涡旋混合 1 min, 4000rpm, 离心 5 min;
- (3) 取上清液 4 mL, 作为上样液待净化。

2.2 奶粉等固体奶制品

- (1) 称取 2 g 样品, 加入 5mL 水, 涡旋混合 2min, 样品与水充分混匀;
- (2) 加入 5 mL 乙腈, 涡旋混合 1 min;
- (3) 再加入 10 mL 乙腈, 涡旋混合 1 min, 4000rpm, 离心 5 min;
- (4) 取上清液 5 mL, 作为上样液待净化。

3 SPE 柱净化——**ProElutTM AFT 黄曲霉毒素检测专用柱 1500 mg/12 mL** (Cat.#65904)

- (1)活 化: 10 mL 乙腈, 流出液弃去;
- (2)上 样: 将上样液加入柱中 (流速控制每滴/两秒), 接收流出液;
- (3)洗 脱: 10 mL 乙腈洗脱 (流速控制每滴/两秒), 收集流出液。合并步骤 (2)、(3) 流出液;
- (4)重新溶解: 在 40℃ 下用减压蒸馏将流出液浓缩至大约 2 mL, 向旋蒸瓶中加入 5 mL 无水乙醇, 继续减压蒸馏完全干燥;
- (5)衍 生: 依次加入 0.5 mL 正己烷和 0.5 mL 三氟乙酸, 旋好玻璃塞充分混匀衍生液, 45℃ 静置 10 min。然后挥干衍生液, 用 10% 乙腈水溶液定容至 0.5 mL。

4 分析条件

色谱柱: **Diamonsil C18 (2), 250 mm×4.6 mm, 5μm (Cat.#99603)**

流 速: 1.0 mL/min

检测器: 荧光检测器, Ex:365 nm; Em:435 nm

柱 温: 30℃

进样量: 20 μL

流动相: A: 水; B: 异丙醇+乙腈=3+2

梯度设置

时间/min	0	5	15	20	21	30
A%	90	80	80	60	90	90
B%	10	20	20	40	10	10

5 添加回收结果

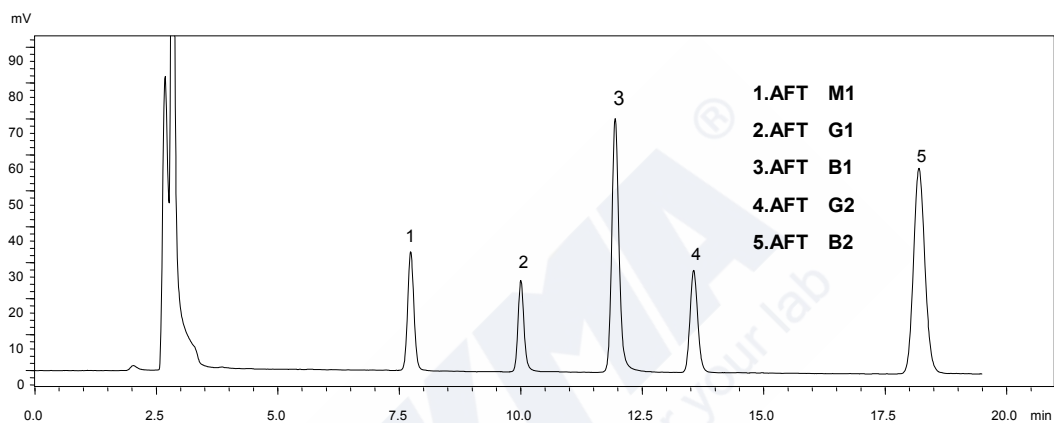
5.1 牛奶中黄曲霉毒素添加回收结果

分析物	添加水平(μg/kg)	回收率/%	RSD(n*=4)/%
黄曲霉毒素 B1	1.0	86.09	2.81
黄曲霉毒素 B2	1.0	83.94	2.04
黄曲霉毒素 G1	1.0	83.28	1.58
黄曲霉毒素 G2	1.0	92.15	3.71
黄曲霉毒素 M1	1.0	93.82	3.62

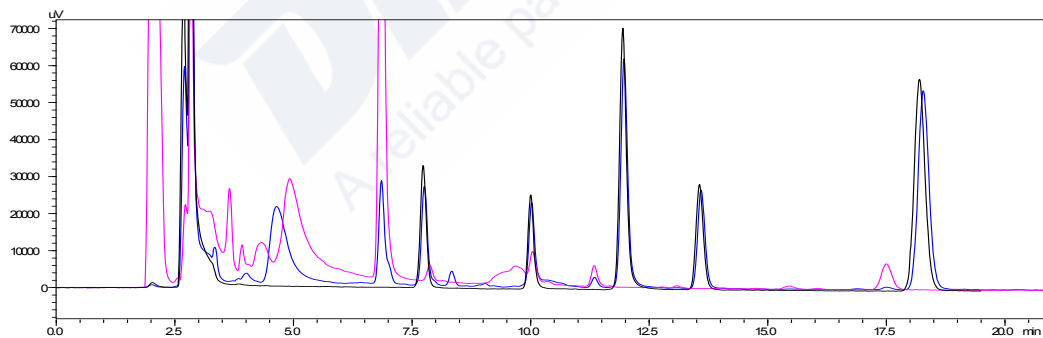
5.2 奶粉中黄曲霉毒素添加回收结果

分析物	添加水平(μg/kg)	回收率/%	RSD(n*=4)/%
黄曲霉毒素 B1	2.0	95.24	3.69
黄曲霉毒素 B2	2.0	75.77	2.65
黄曲霉毒素 G1	2.0	78.65	2.43
黄曲霉毒素 G2	2.0	85.08	1.79
黄曲霉毒素 M1	2.0	86.72	4.21

5.3 黄曲霉毒素 HPLC 图



5.4 牛奶中黄曲霉毒素检测 HPLC 图

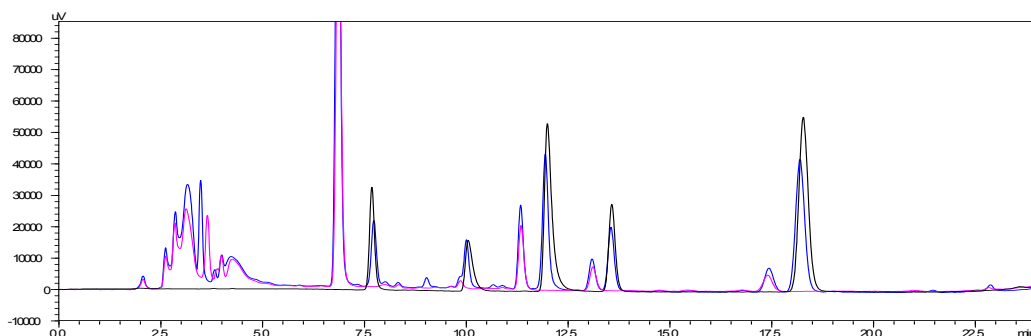


黑色: 黄曲霉毒素标准溶液 1.0 ng/mL 色谱图;

蓝色: 牛奶中黄曲霉毒素加标 1.0 ug/kg 色谱图;

粉色: 牛奶未添加黄曲霉毒素色谱图。

5.5 奶粉中黄曲霉毒素检测 HPLC 图



黑色: 黄曲霉毒素标准溶液 1.0 ng/mL 色谱图;

蓝色: 奶粉未添加黄曲霉毒素色谱图。

粉色: 奶粉中黄曲霉毒素加标 2.0 µg/kg 色谱图;

注: ProElut[™] SPE 法检测黄曲霉毒素 M₁ 的详细解决方案请链接
<http://www.dikma.com.cn/Application/show/id/606>

黄曲霉毒素检测相关产品信息(现货):

(参考 GB 5413.37-2010 乳和乳制品中黄曲霉毒素 M₁ 的测定, GB/T 5009.23-2006 食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定 等标准)

货号	名称	规格
样品前处理		
65904	黄曲霉毒素检测专用固相萃取柱 ProElut[™] AFT (可用于黄曲霉毒素总量及黄曲霉毒素M ₁ 的测定)	1500mg/12mL, 20/pk
820-COIAC1005	黄曲霉毒素M ₁ 免疫亲和柱	3mL, 25/pk
820-COIAC1001	黄曲霉毒素总量(B ₁ 、B ₂ 、G ₁ 、G ₂) 免疫亲和柱	1mL, 25/pk
820-COIAC1004	黄曲霉毒素总量(B ₁ 、B ₂ 、G ₁ 、G ₂) 免疫亲和柱	3mL, 25/pk
244358	12 管防交叉污染真空 SPE 萃取装置	12 位
4803	1,3,6mL 柱管通用连接器	15/pk
4806	考克(控制流量)	15/pk
99011	真空/正压两用泵, 无油	1/pk
99013	抽滤瓶套装 (包括硅橡胶管 2 米, 2L 抽滤瓶及橡胶塞)	1/pk
37177	针头式过滤器 Nylon	13mm, 0.22µm 100/pk
37180	针头式过滤器 Nylon	13mm, 0.45µm 100/pk

标准品		
51-46304-U-1EA	黄曲霉毒素混标 (B1,B2,G1,G2)	5 × 1mL in Methanol Aflatoxin B1, 1µg/mL Aflatoxin B2, 0.3µg/mL Aflatoxin G1, 1µg/mL Aflatoxin G2, 0.3µg/mL
51-46319-U-1EA	黄曲霉毒素M1[6795-23-9]	1mL, 10µg/mL in acetonitrile
51-46323-U-1EA	黄曲霉毒素 B1[1162-65-8]	1mL 3µg/mL in benzene:acetonitrile (98:2)
51-46324-U-1EA	黄曲霉毒素 B2[7220-81-7]	1mL 3µg/mL in benzene:acetonitrile (98:2)
51-46325-U-1EA	黄曲霉毒素 G1[1165-39-5]	1mL 3µg/mL in benzene:acetonitrile (98:2)
51-46326-U-1EA	黄曲霉毒素 G2[7241-98-7]	1mL 3µg/mL in benzene:acetonitrile (98:2)
色谱柱及保护柱		
99603	反相高效液相色谱柱 Diamonsil C18(2)	250 × 4.6mm, 5µm
6201	EasyGuard C18 保护柱	10 × 4.0mm 1/pk 2个柱芯+1个柱套
87003	UPLC专用色谱柱 Endeavorsil C18	1.8µ, 100 × 2.1mm
HPLC 溶剂•缓冲盐•离子对试剂		
50102	甲醇 HPLC级	4L
50101	乙腈 HPLC级	4L
50144	甲酸 HPLC级	50mL
50122	异丙醇 HPLC级	4L
50106	丙酮 HPLC 级	4L
50115	正己烷 HPLC 级	4L
50134	三氟乙酸 HPLC 级	50mL
通用色谱产品		
52401B	瓶架/蓝色 (现货)	50 孔
52401A	瓶架/白色 (现货)	50 孔
5323	样品瓶 (棕色/螺纹)	2mL, 100/pk
5325	样品瓶盖/含垫 (已经组装)	100/pk
H80465	HPLC 进样针	25µL