

食品中黄曲霉毒素M族的测定

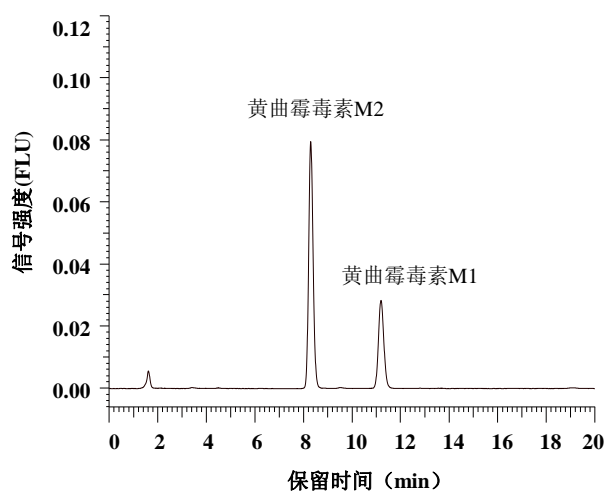
黄曲霉毒素是由黄曲霉和寄生曲霉产生的毒性致癌物，自然界至少存在14种以上不同的黄曲霉毒素。黄曲霉毒素B1是公认最具毒性的。黄曲霉毒素M1和黄曲霉毒素M2是黄曲霉毒素B1和黄曲霉毒素B2的代谢产物。当牛等牲畜食用了被污染的饲料时，经代谢转化成的M族黄曲霉就会出现在牛奶里。高浓度的黄曲霉毒素可以产生急性肝坏死，导致肝硬化或肝癌。慢性接触黄曲霉毒素会增加患肝胆疾病的风险。本文参考GB 5009.24-2016中的检方法，应用Primaide系统，对食品中黄曲霉毒素进行了分析。



Primaide 系统

标准样品测定例

标准样品测定例

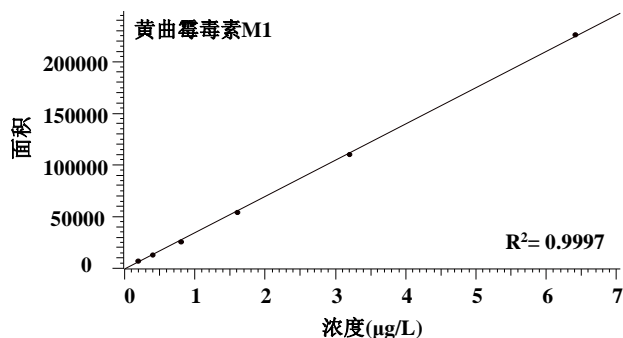
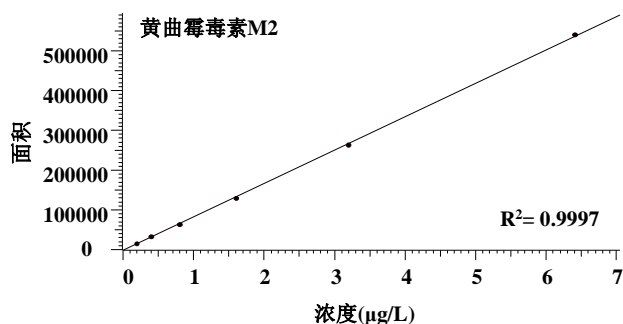


标准样品的色谱图(浓度: 6.4 μg/L)

分析条件

色谱柱 : HITACHI LaChrom C18 (5 μm)
4.6 mm I.D. × 150 mm
流动相 : 水 / 乙腈/甲醇= 70/15/15
流速 : 1.0 mL/min
柱温 : 40 °C
检测波长 : FLD: Ex=360 nm ; Em=430 nm
进样量 : 50 μL

线性



重现性 (6.4 μg/L 标准溶液, n=6)

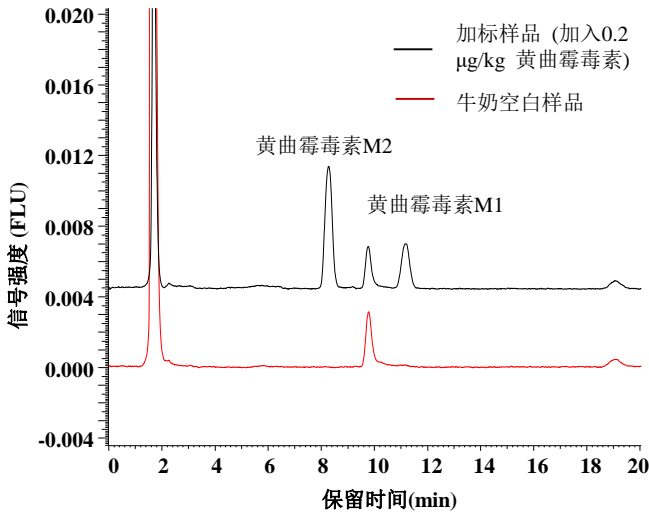
NO.	aflatoxin M2 (6.4 μg/L)		aflatoxin M1 (6.4 μg/L)	
	RT (min)	Area	RT (min)	Area
1	8.307	505888	11.193	221544
2	8.300	506057	11.193	221600
3	8.300	506723	11.193	221857
4	8.307	505794	11.200	220776
5	8.300	507825	11.193	220186
6	8.307	508939	11.200	221147
AVG	8.304	506871	11.195	221185
SD	0.004	1265	0.004	620
RSD	0.05%	0.25%	0.03%	0.28%

黄曲霉毒素M族在0.2 ~ 6.4 μg/L的浓度范围内线性关系良好，R²为0.9997。重现性良好。

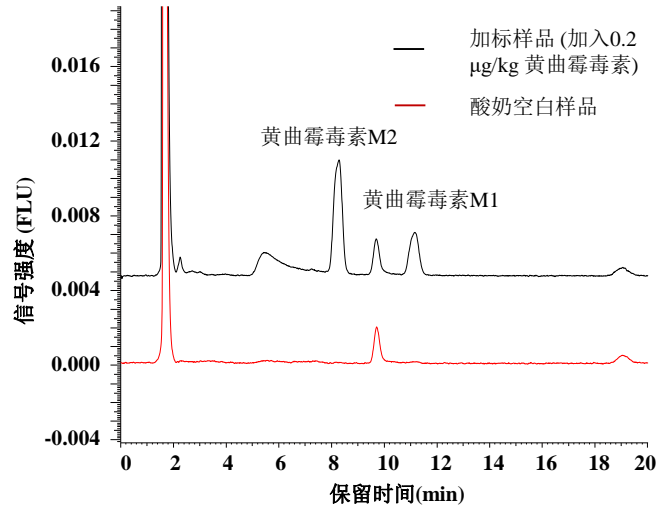


样品测定例

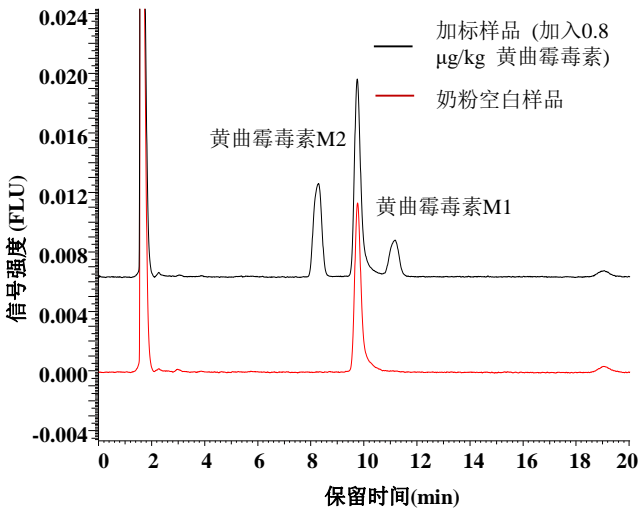
样品的测定例



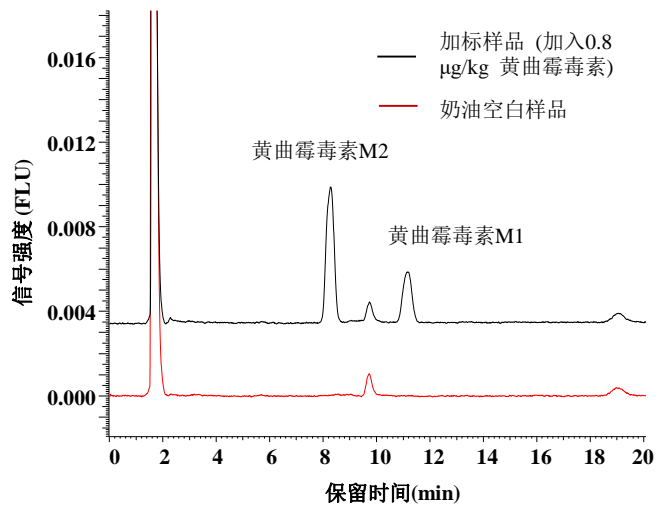
牛奶空白样品与添加样品的色谱重叠图



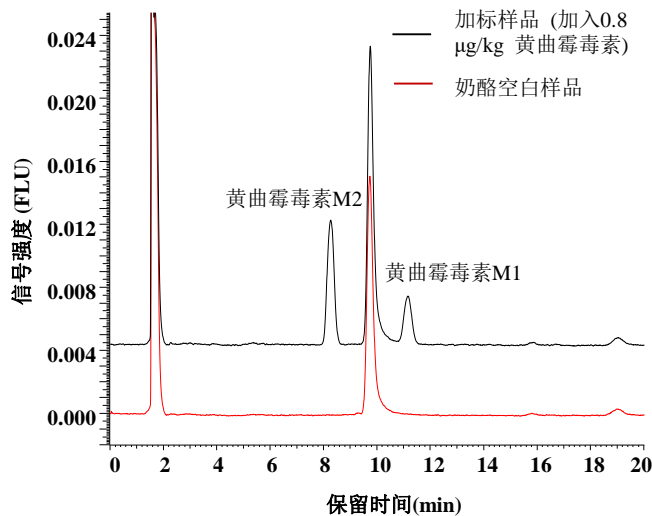
酸奶空白样品与添加样品的色谱重叠图



奶粉空白样品与添加样品的色谱重叠图



奶油空白样品与添加样品的色谱重叠图



奶酪空白样品与添加样品的色谱重叠图

对牛奶、酸奶、奶粉、奶油和奶酪等样品进行测定，均未检出M族黄曲霉毒素。对牛奶和酸奶样品进行加标回收率实验，在0.2 µg/kg的添加浓度下，样品中黄曲霉毒素M族的加标回收率在99.37%-101.36%。对奶粉，奶油和奶酪样品进行加标回收率实验，在0.8 µg/kg的添加浓度下，样品中黄曲霉毒素M族的加标回收率在94.02%-103.29%。



样品前处理方法

样品提取:

牛奶、酸奶样品

牛奶、酸奶样品 4.0 g ⇨ 加入10 mL 甲醇 ⇨ 漩涡混合 3 min ⇨ 10000 r/min 离心10 min ⇨
取全部上清液 (12 mL) ⇨ 加入40 mL PBS缓冲液 ⇨ 获得稀释液

奶粉样品

奶粉样品 1.0 g ⇨ 加入4 mL 50°C 热水 ⇨ 漩涡混合 ⇨ 静置样液10min ⇨ 加入甲醇 10 mL
漩涡混合 3 min ⇨ 10000 r/min 离心10 min ⇨ 取全部上清液 (12 mL) ⇨ 加入40 mL PBS缓冲液
⇨ 获得稀释液

奶油样品

奶油样品 1.0 g ⇨ 加入8 mL 石油醚 ⇨ 震荡溶解 ⇨ 加入 9 mL 水 ⇨ 加入甲醇 11 mL
震荡 30 min ⇨ 全部液体转移静置分层 ⇨ 下层溶液在45 °C 旋蒸浓缩 ⇨ 获得10 mL浓缩液
⇨ 加入30 mL PBS缓冲液 ⇨ 获得稀释液

奶酪样品

奶酪样品 1.0 g ⇨ 加入1 mL 水 ⇨ 加入18 mL 甲醇 ⇨ 漩涡混合2 min ⇨
震荡 30 min ⇨ 10000 r/min 离心10 min ⇨ 取全部上清液 (17 mL) ⇨ 45 °C 旋蒸浓缩至2 mL ⇨
用PBS缓冲液稀释至30 mL

免疫亲和净化:

全部的稀释液 ⇨ 滤液以1 滴/s流速通过免疫亲和柱 ⇨ 用10mL水以1 滴/s流速淋洗免疫亲和柱 ⇨
抽干免疫亲和柱 ⇨ 用甲醇洗脱并定容至1.0 mL ⇨ HPLC分析

注:

PBS清洗缓冲液: 称取8.0 g 氯化钠、1.2 g 磷酸氢二钠, 0.2 g 磷酸二氢钾, 0.2 g 氯化钾, 用990 mL水将上述试剂溶解, 然后用盐酸调节PH至7.4, 再用水定容至1 L。

仪器配置: Primaide 1110 泵, 1210 自动进样器, 1310 柱温箱, 1440 荧光检测器。

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。本仪器只是研究用仪器, 而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。