

食品中黄曲霉毒素的测定免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法（完全执行国标 GB/T 18979-2003）

1、适用范围

本方法适用于玉米、花生及其制品（花生酱、花生仁、花生米）、大米、小麦、植物油脂、酱油、食醋等食品中黄曲霉毒素的测定

2、提取步骤

准确称取 25.0 g 试样于 250 mL 具塞锥形瓶中，加入 5.0 g 氯化钠以及甲醇-水溶液（7：3）125 mL，以均质器高速搅拌提取 2 min，定量滤纸过滤，准确移取 15 mL 滤液并加入 30 mL 水稀释，用玻璃纤维滤纸过滤 1-2 次，至滤液澄清，待净化。

3、免疫亲和 SPE 柱净化步骤净化

SPE 柱：月旭黄曲霉毒素免疫亲和柱（3 mL）

- 1) 回温解冻：提前半个小时将黄曲霉毒素免疫亲和柱从冰箱拿出常温解冻；
- 2) 上样：准确移取 15 mL 提取好的样品溶液注入免疫亲和柱，使溶液以 1 滴/S 的速度通过免疫亲和柱，直至 2mL-3mL 空气通过柱体，弃去流出液；
- 3) 淋洗：用 10 mL 水淋洗免疫亲和柱，流速为 1 滴/s---2 滴/s，淋洗两次。直至空气进入免疫亲和柱，直至 2mL-3mL 空气通过柱体，弃去全部的流出液，抽干小柱；

4) 洗脱: 准确加入 1.0 mL 甲醇洗脱, 流速约为 1 滴/s, 收集全部的洗脱液于干净的离心管中, 用甲醇-水(45/55)定容至 2 mL, 供液相色谱测定。

注: 1) 进行加标回收率实验时, 当样品用提取液提取完成, 并用定量滤纸过滤之后即进行加标, 然后进行免疫亲和柱净化等后续的处理。

2) 黄曲霉毒素标准溶液的稀释, 必须要用流动相甲醇-水(45/55)进行稀释, 否则峰型极为不理想, 这是本实验过程中的一个非常重要的小细节。

4、色谱条件

色谱柱: 月旭 Ultimate®XB-C18,4.6×150 mm, 5 μm,

流动相: : 甲醇+水 (45+55)

流速: 1.0 mL/min

柱温: 30 °C

进样量: 20 μL

检测波长: Ex = 360 nm, Em = 420 nm

5.色谱图或者加标回收率结果

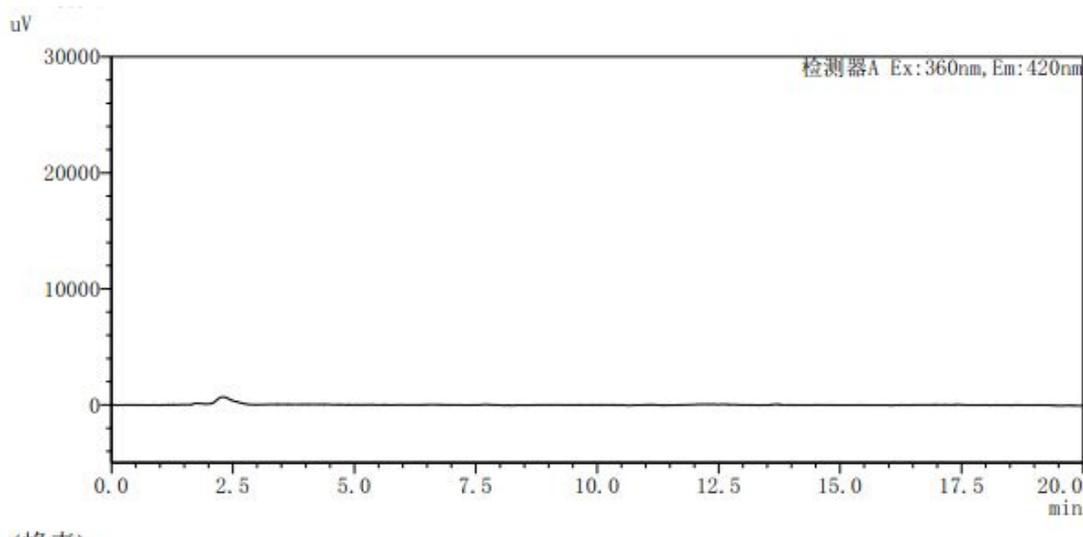


图 1: 葵瓜子壳样品色谱图

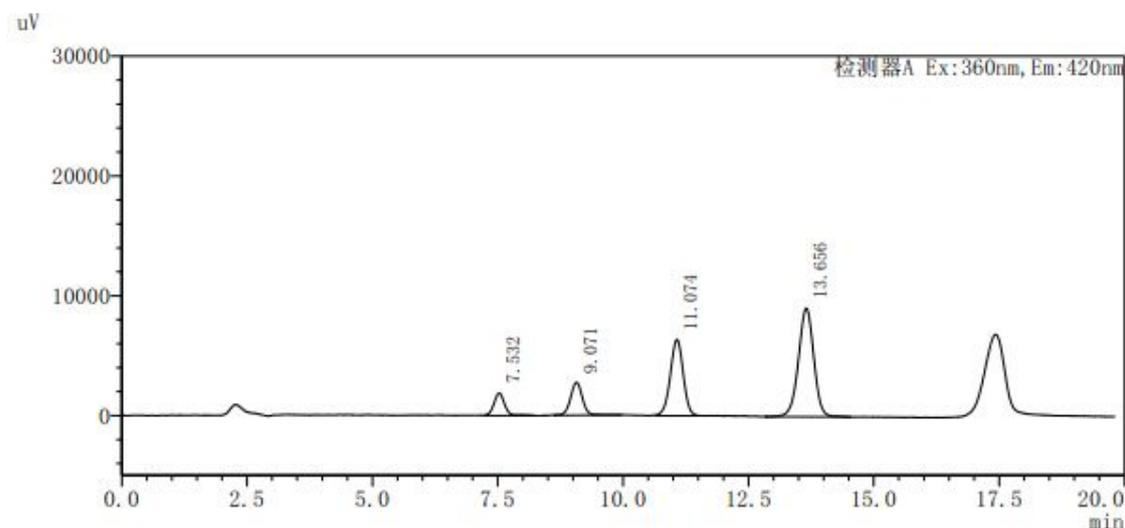


图2: 四种黄曲霉毒素标准样品色谱图 (从左到右依次为 G2, G1, B2, B1, 浓度为 0.75 ppb, 2.5 ppb, 0.75 ppb, 2.5 ppb)

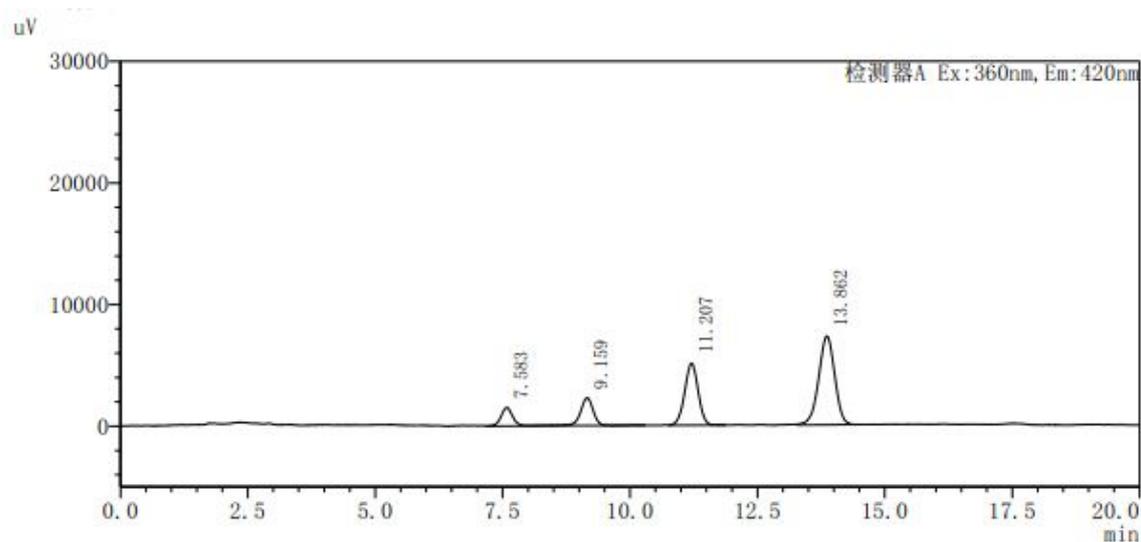


图 3: 葵瓜子壳样品加标色谱图 (从左到右依次为 G2, G1, B2, B1, 加标浓度为 0.75 ppb, 2.5 ppb, 0.75 ppb, 2.5 ppb)

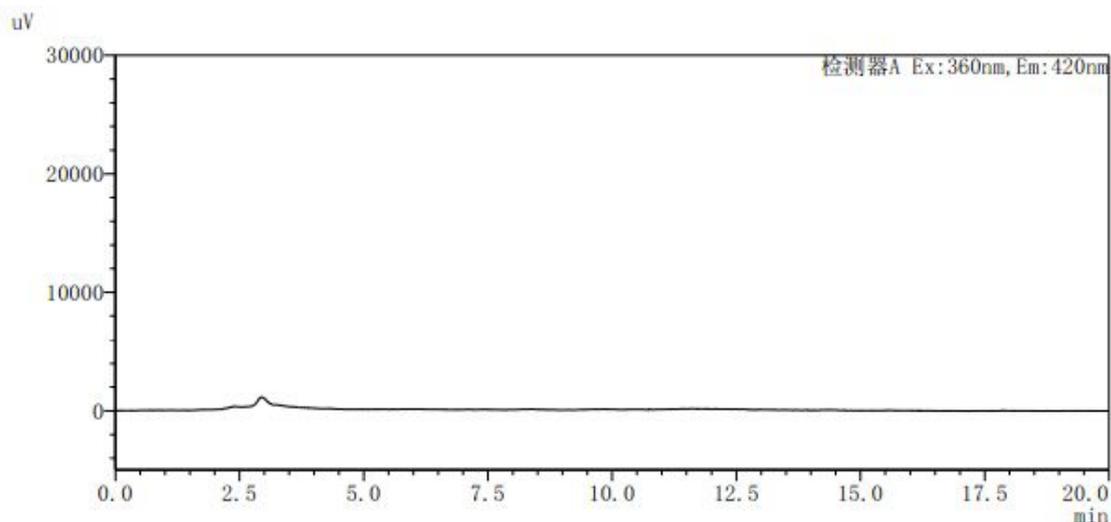


图 4：花生仁样品色谱图

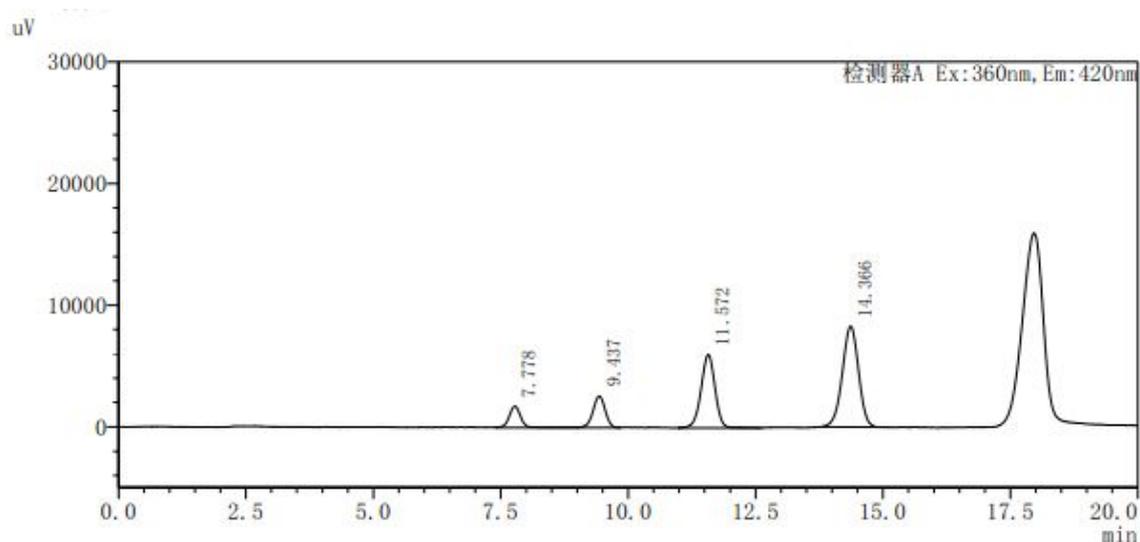


图:5：四种黄曲霉毒素标准样品色谱图（从左到右依次为 G2，G1，B2，B1，

浓度为 0.75 ppb，2.5 ppb，0.75 ppb，2.5 ppb）

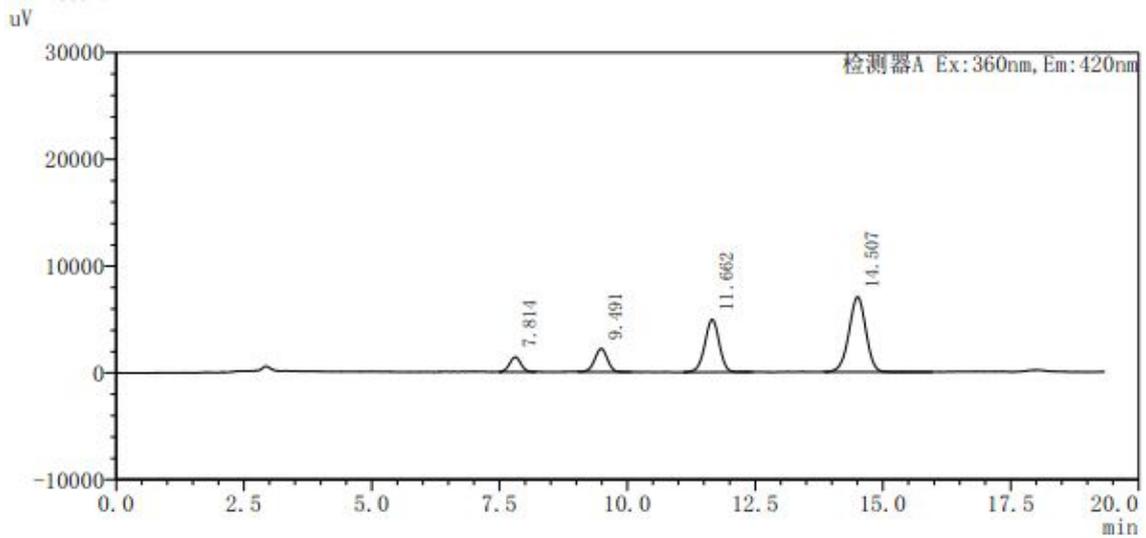


图 6：花生仁样品加标色谱图（从左到右依次为 G2，G1，B2，B1，加标浓度为 0.75 ppb，2.5 ppb，0.75 ppb，2.5 ppb）

表 1：加标回收率试验

样品	加标浓度 (ppb)	回收率 (%)			
		G2/B2: 0.75; G1/B1: 2.5	B1	B2	G1
葵瓜子壳 1	同上	92.4	83.4	79.2	78.9
葵瓜子壳 2	同上	88.5	83.1	80.5	81.0
葵瓜子壳 3	同上	90.6	85.1	82.0	81.9
花生仁 1	同上	70.7	72.9	72.1	74.2
花生仁 2	同上	76.8	83.2	76.1	80.7
花生仁 2	同上	79.8	88.9	84.2	88.3