

玉米面粉中赭曲霉毒素 A 的提取与检测

背景

赭曲霉毒素 A 是真菌毒素之一，是由赭曲霉及青霉菌等产毒菌株侵染粮食、食品、饲料及其他农副产品后所产生的一种有毒代谢产物，它的毒性主要有肾脏毒、肝毒、致畸、致癌、致突变和免疫抑制作用。赭曲霉毒素 A 广泛存在于谷物、油料及其制品、调味品、酒类等食品中。纳谱分析的 SelectCore OTA 免疫亲和柱可为赭曲霉毒素 A 的快捷有效检测提供强有力地支持。

适用范围

本方法参照 GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定 第一法 免疫亲和层析净化液相色谱法，适用于谷物、油料及其制品、酒类、酱油、醋、酱及酱制品、葡萄干、胡椒粒/粉中赭曲霉毒素 A 的提取与检测。

实验步骤

1、溶液配制

磷酸盐缓冲液：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 氯化钾溶解于约 990 mL 水中，用浓盐酸调节 pH 至 7.0，用水稀释至 1 L。

2%乙酸甲醇溶液：准确吸取 2 mL 乙酸，使用甲醇定容至 100 mL。

2、样品制备

称取试样 5.0 g（精确到 0.1 g），加入 20 mL 60%乙腈水溶液，超声 30 min，4000 r/min 离心 10 min，移取 4 mL 上清液加入 26 mL 磷酸盐缓冲液混合均匀，混匀后于 4000 r/min 离心 10 min，取上清液备用。

3、固相萃取方法

SelectCore OTA 免疫亲和柱 3 mL

（1）亲和柱预处理：取出亲和柱，恢复至室温（22-25 °C），亲和柱连接于注射器下，打开下端堵头，将柱内保存液流尽；

（2）上样：准确移取样品制备中的上清液，注入注射器中，使溶液以约 1 滴/s 的流速通过免疫亲和柱，直至空气进入亲和柱中；

（3）淋洗：依次用 10 mL 磷酸盐缓冲液、10 mL 水先后淋洗免疫亲和柱，流速为 1 滴/s~2 滴/s，弃去全部流出液，抽干亲和柱；

（4）洗脱：准确加入 2 mL 2%乙酸甲醇溶液，流速约为 1 滴/s，收集全部洗脱液于干净的离心管中，于 45 °C 下氮气吹干。用流动相溶解残渣并定容到 1 mL，过 0.45 μm 尼龙针式滤器，供检测用。

4、液相色谱-荧光检测器条件

Column: ChromCore C18 5 μm

Dimension: 4.6×150 mm

Mobile Phase: 48/51/1 v/v/v 乙腈/水/冰乙酸

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 35 °C

Injection: 50 μL

Detection: E_x: 333 nm E_m: 460 nm

实验谱图

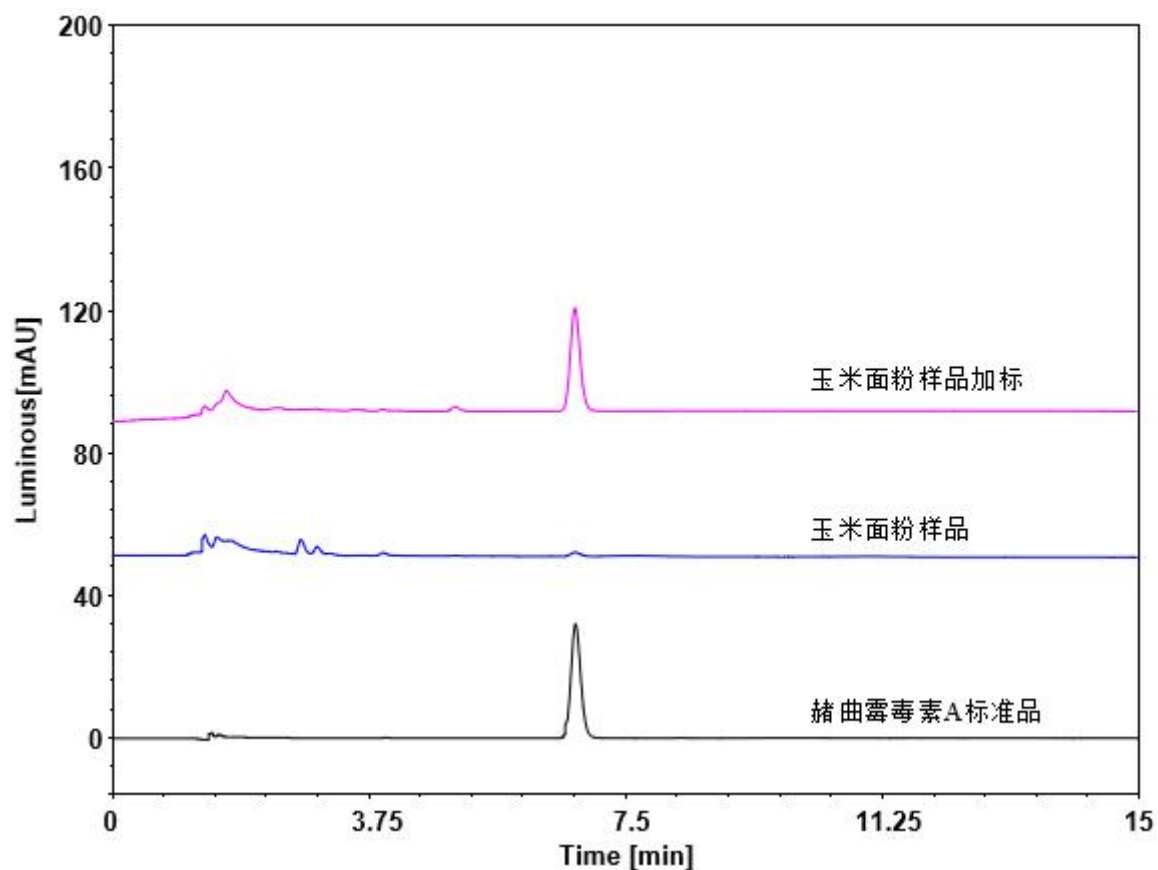


图 1 赭曲霉毒素 A 标准品、玉米面粉样品、玉米面粉样品加标对比图

加标回收率

加标量	加标回收率
10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	92.82%

实验结论

根据色谱图及加标回收率结果可以看出，ChromCore C18 色谱柱可快速、准确的对含有赭曲霉毒素 A 的样品进行分析；SelectCore OTA 免疫亲和柱可特异性吸附赭曲霉毒素 A，并且回收率符合检测要求。