

咖啡豆中赭曲霉毒素 A 的测定 (Copure® MAX 固相萃取柱)

《GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定 第二法 离子交换固相萃取柱净化高效液相色谱法》

咖啡作为一种日常饮料，其质量安全至关重要。真菌毒素污染是影响咖啡质量安全的关键风险因子之一，其中赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA) 是咖啡中最常见的真菌毒素之一。

逗点生物结合自身产品优势，建立了固相萃取 - 高效液相色谱法测定咖啡豆中 OTA 含量的方法，试样经提取后，经离子交换固相萃取柱净化后，采用高效液相色谱仪结合荧光检测器测定。经验证，加标回收率范围 95-105%，RSD 值小于 5%，满足测试要求。

一、样本前处理

1.1 提取

咖啡豆样品经粉碎后，称取试样粉 2.5 g(精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管(带盖)中，加入 25 mL 甲醇 - 碳酸氢钠溶液(30 g/L)(体积比 50: 50) 于涡旋振荡器振荡提取 10 min, 8000 r/min 离心 5.0 min 后上清液用滤纸过滤，取 10 mL 提取滤液待净化。

1.2 净化

分别用 5.0 mL 甲醇、5.0 mL 甲醇 - 碳酸氢钠溶液(30 g/L)(体积比 50: 50) 活化 MAX 萃取柱，然后将上述待净化提取液加入固相萃取柱，调节流速以 1 滴/s~2 滴/s 的速度通过柱子，压干。然后分别依次用 5.0 mL 淋洗液(0.1 mol/L 氢氧化钾溶液: 乙腈: 水=(3: 50: 47)、5.0 mL 水、5.0 mL 甲醇淋洗小柱，抽干。加入 5.0 mL 洗脱液(甲醇: 甲酸: 水=40: 50: 5: 5)，收集洗脱液于玻璃氮吹管中，于 45°C 下氮气吹至近干。加入 1.0 mL 乙腈 -2% 乙酸水溶液(体积比 50: 50)，涡旋复溶，过滤至进样小瓶中，上液相色谱测试。

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

设备: Thermo Scientific UltiMate 3000

色谱柱: Comasil®AQ-C18 (4.6 mm*250 mm, 5 μm)

检测器: 荧光检测器(激发波长 333 nm、发射波长 460 nm)

流动相: A: 2% 乙酸水 B: 乙腈

洗脱方式: 梯度洗脱条件见下表 1

流速: 1 mL/min

进样体积: 5 μL

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间 /min	流动相 A	流动相 B
0	88	12
2.0	88	12
10.0	80	20
12.0	70	30
19.0	50	50
30.0	50	50
31.0	0	100
39.0	0	100
40.0	88	12
45.0	88	12

三、实验测试结果

表 2 咖啡豆中赭曲霉毒素 A 加标回收实验结果

检测项目	加标浓度 (μg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
赭曲霉毒素 A	20.0	97.0	99.0	2.74
		101		
		95.9		

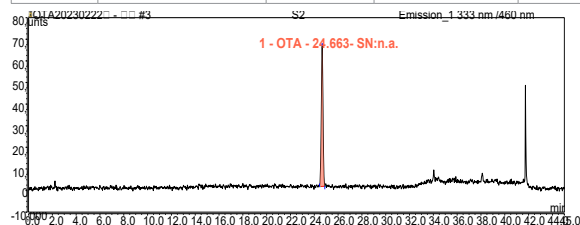


图 1 校准点液相色谱图 (5 μg/L)

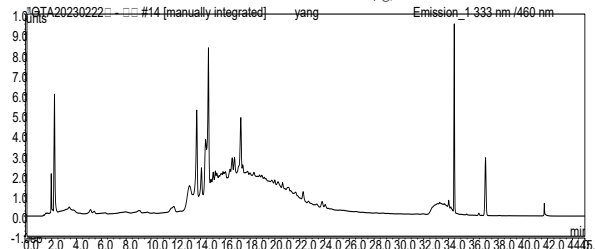


图 2 咖啡豆本底液相色谱图

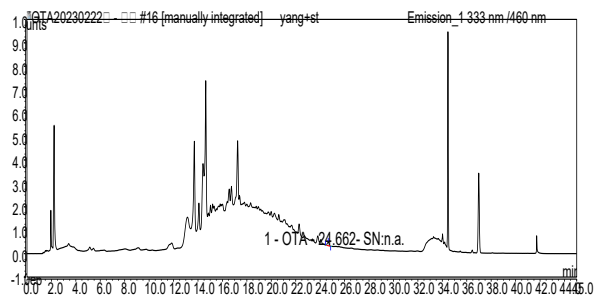


图 3 咖啡豆中赭曲霉毒素 A 的液相色谱图 (加标浓度 20 μg/kg)

订购信息

货号	描述	包装
COMAX3200	Copure® MAX 固相萃取柱, 200 mg/3 mL	50 支 / 盒
CSAQC183059	Commasil® AQ-C18 4.6mm*250mm,5um	1 根 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
BN24	biocomma® 24 孔智能氮吹仪	1 台 / 箱
SF130-22-PTFE	Copure® 针式过滤器, 孔径 0.22 μm, PTFE 有机系	100 个 / 盒
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*32 mm, 9-425	100 个 / 盒