

大豆粉中赭曲霉毒素 A 的高通量固相萃取方法 (Copure® 229 多功能净化板)

赭曲霉毒素是一些曲霉属和青霉属真菌的代谢产物，其是继黄曲霉毒素后被发现的第一大类真菌毒素。根据赭曲霉毒素化学结构的不同，通常被划分为 A、B、C 3 类，其中 A 类 (Ochratoxin A, OTA) 毒性最大、污染最广。一旦人体食入 OTA 污染的农产品，OTA 会通过胃肠道系统吸收并对身体造成严重影响。因此精准快速地检测粮食作物及其制品中赭曲霉毒素 A 含量，对于保证食品安全具有重要的意义。

逗点生物采用最新自主研发的 24 孔 Copure® 229 多功能净化板，实现了赭曲霉毒素 A 的快速、高通量检测。建立大豆粉中赭曲霉毒素 A 检测的 LC 检测方法，该方法两个水平 (4 ng/g, 8 ng/g) 的加标回收率均在 90-110% 之间，孔间回收率 CV 值小于 5%。本方法操作简便快捷，具有回收率高和除杂效果好的优势，能够作为大豆粉中赭曲霉毒素 A 检测的参考方法。

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》。

一、样品前处理

1.1 样品提取

- 1) 称取 5 g 样品，再加入 20 mL 乙腈 - 水溶液 (84: 16) 混合均匀。
- 2) 涡旋 15 min 后，6000 r/min 离心 5 min，取上清液，待净化用。

1.2 样品净化

- 1) 将 24 孔净化板放置在 24 孔收集板上，再向净化板孔中加入 6 mL 样品提取液。
- 2) 将 24 孔净化板和收集板放置在 24 孔正压提取装置下，开启气阀开关，使净化板孔和输气孔保持对应，匹配良好。
- 3) 调整气体输出压力，使样品提取液过滤至收集板中。
- 4) 取 4 mL 样品净化液，40°C 下氮气吹干，用 1 mL 初始流动相复溶，涡旋 30s 溶解残渣，过 0.22 μm 微孔滤膜，上机分析。

二、仪器条件

仪器设备: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific)，

订购信息

产品信息	名称	描述	规格
COAF226-GTL	Copure® 226 多功能净化板	玉米赤霉烯酮, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF228-GTL	Copure® 228 多功能净化板	展青霉素, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	1 块 / 盒
COAF224-GTL	Copure® 224 多功能净化板	玉米赤霉烯酮	1 块 / 盒
COAF223-GTL	Copure® 223 多功能净化板	黄曲霉毒素 M1、M2	1 块 / 盒
COAF229-GTL	Copure® 229 多功能净化板	赭曲霉毒素	1 块 / 盒
COAF230-GTL	Copure® 230 多功能净化板	呕吐毒素	1 块 / 盒
COAF302-GTL	Copure® 302 多功能净化板	黄曲霉毒素 B 族、G 族、M 族, 玉米赤霉烯酮, 呕吐毒素, T-2 毒素, 赭曲霉毒素, 伏马毒素, 3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇, 15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	1 块 / 盒

配 FLD 检测器

色谱柱: Agilent ZORBAX C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)

流动相: A: 2% 乙酸水 B: 乙腈

流动相梯度:

表 1 流动相洗脱程序

时间	A (%)	B (%)
0.00	50	50
1.00	50	50
15.0	50	50

流速: 1.0 mL/min

柱温: 30°C

进样体积: 10.0 mL

检测波长: 激发波长 333 nm, 发射波长 460 nm

检测器: 荧光检测器 (FLD)

三、实验结果

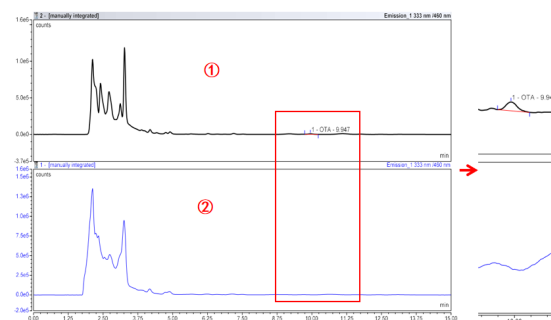


图 1 使用多功能净化板处理前后的色谱图
(① Copure® 229 多功能净化板 - 净化处理 ② 大豆粉样品 - 未净化处理)

表 2 大豆粉中赭曲霉毒素 A 加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure® 229 多功能净化板	
		平均回收率 R/% (n=24)	CV/%
赭曲霉毒素 A	4	91.3	2.32
	8	94.0	3.25

从图 1 中可知，经过 Copure® 229 多功能净化板净化处理后，上机液中杂质被明显吸附，目标峰旁边无干扰峰，定量更准确。表 2 中，24 个孔中赭曲霉毒素 A 的回收率均在 90-110% 之间，孔间回收率 CV 值小于 5%，能满足实验使用需求。