

植物油中黄曲霉毒素含量检测的固相萃取方法 (Copure®226 多功能净化柱)

黄曲霉毒素 (aflatoxins) 是一种由黄曲霉和寄生曲霉等真菌经过聚酮途径产生的次生代谢产物, 其结构通常包含一个双呋喃环和一个氧杂萘邻酮, 天然产生的黄曲霉毒素根据其化学结构不同分为 B1、B2、G1、G2 四种。食品遭受产毒真菌以及霉菌毒素污染的问题在世界范围内反复发生, 被污染的农作物作为饲料资源被畜禽食用后, 携带的霉菌毒素又可在肉、蛋、奶等食品中蓄积, 通过食物链传递, 危害人类健康。

逗点生物采用最新自主研发的 Copure®226 多功能净化柱, 建立植物油中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 检测的 LC-MS/MS 检测方法。该方法低、中、高三个水平的加标回收率均在 90-100 % 之间, RSD 小于 5 %, 操作简便快捷, 与国内外的竞品相比, 具有回收率高和脱色净化效果好的优势, 能够作为植物油中黄曲霉毒素检测的参考方法。

本方法适用于谷物及其制品、豆类及其制品、坚果及籽类、油脂及其制品、调味品、婴幼儿配方食品和婴幼儿辅助食品中黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的测定。

参照《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》。

一、样品前处理

1.1 样品提取

- 1) 称取 5 g 试样于 50 mL 离心管中, 加入一定量同位素内标工作液振荡混合后静置 30 min。
- 2) 加入 20 mL 乙腈-水溶液 (84+16), 涡旋混匀, 置于超声波/涡旋振荡器或摇床中振荡 20 min, 在 6000 r/min 下离心 10 min, 取上清液备用。

1.2 样品净化

- 1) 向玻璃试管中加入 10 mL 样品提取液。
- 2) 将净化柱橡胶头从试管顶端插入试管中, 并向下压净化柱至试管底端。
- 3) 将净化柱上部净化后的样品提取液取出至样品瓶或 EP 管中。
- 4) 取 5 mL 净化提取液, 氮气吹干, 用 1 mL 初始流动相复溶, 涡旋 30s 溶解残渣, 过微孔滤膜, 上机分析。

二、仪器条件

仪器设备: 液相色谱 - 串联质谱联用仪 SCIEX Triple Quad™ 4500

色谱柱: Waters C18 2.1x100mm 1.7um

流动相: A: 0.1% 甲酸水 B: 乙腈

流动相梯度: 初始 80%A, 20%A (0 min~2 min),

20%A (2 min~3 min), 80%A (3 min~3.1min), 80%A (3.1min~5min)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 室温

进样体积: 10.0 mL

质谱条件:

检测方式: 多离子反应检测 (MRM);

表 1 离子源控制条件

Curtain Gas (CUR)	35.0
Collision Gas (CAD)	9
IonSpray Voltage (IS)	5500
Temperature (TEM)	550
Ion Source Gas1 (GS1)	50.0
Ion Source Gas2 (GS2)	50.0

表 2 离子选择参数

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	DP(V)	CE(V)
AFB1	313.000	285.000*	100.000	33.000
	313.000	241.000	100.000	51.000
AFB2	315.000	287.000*	95.000	37.000
	315.000	259.000	89.000	41.000
AFG1	329.000	243.000*	98.000	39.000
	329.000	283.000	91.000	35.000
AFG2	331.000	245.000*	113.000	41.000
	331.000	285.000	103.000	39.000

注: * 为定量离子。

三、实验结果

表 3 植物油中黄曲霉毒素加标回收实验结果

检测项目	加标水平 (ng/g)	Copure®226		国外 A 品牌		国内 B 品牌	
		回收率 R/%	RSD /%	回收率 R/%	RSD/%	回收率 R/%	RSD /%
AFB1	0.2	95.7	3.12	95.4	5.25	90.1	5.21
	0.5	94.5	4.47	96.7	5.13	89.1	5.05
	1.0	96.7	4.21	93.2	5.04	89.5	4.52
AFB2	0.2	95.4	3.50	82.1	4.85	95.1	5.11
	0.5	93.5	4.31	92.7	4.75	94.2	5.01
	1.0	94.5	4.52	97.2	3.95	93.4	4.25
AFG1	0.2	95.9	4.15	97.3	4.31	97.2	5.21
	0.5	92.8	4.31	98.2	4.21	95.2	4.35
	1.0	93.9	4.29	88.3	5.25	88.1	3.24
AFG2	0.2	95.1	4.25	95.1	4.75	92.1	3.56
	0.5	97.1	4.25	92.1	3.19	93.5	4.27
	1.0	93.2	4.20	92.2	4.27	91.2	4.13

从图 1 可知, Copure®226 净化效果与国外 A 品牌相当, 并优于国内 B 品牌。从表 3 可知, Copure®226 低、中、高三个水平的加标回收率均在 90-100 % 之间, RSD 小于 5 %, 可以满足实验检测要求。

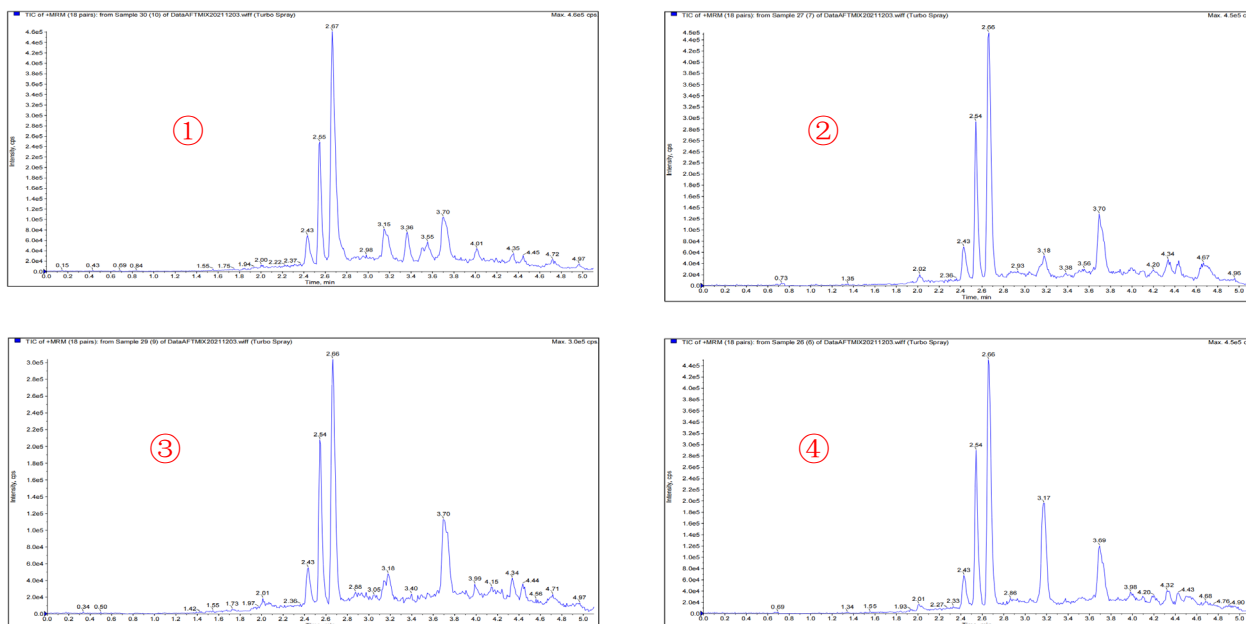


图1 不同品牌多功能净化柱处理加标样品后的 TIC 色谱图 (①植物油样品 - 未净化处理 ② Copure®226- 净化处理 ③ 国外 A 品牌 - 净化处理 ④ 国内 B 品牌 - 净化处理)

订购信息

产品信息	名称	描述	规格
COAF226	Copure® 226 多功能净化柱	玉米赤霉烯酮, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	25 支 / 盒
COAF228	Copure® 228 多功能净化柱	展青霉素, 黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2	25 支 / 盒
COAF224	Copure® 224 多功能净化柱	玉米赤霉烯酮	25 支 / 盒
COAF223	Copure® 223 多功能净化柱	黄曲霉毒素 M1、M2	25 支 / 盒
COAF229	Copure® 229 多功能净化柱	赭曲霉毒素	25 支 / 盒
COAF230	Copure® 230 多功能净化柱	呕吐毒素	25 支 / 盒