

# 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱说明书

## 1、用途：

免疫亲和柱可选择性吸附样品液中的玉米赤霉烯酮，从而对样品起到非常针对性的净化作用，过柱净化后的样品液可直接用于 HPLC 分析或氮吹复溶后用 LC-MS/MS 分析。

## 2、概述：

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 又称 F-2 毒素，主要由镰刀菌属菌株产生，其成分为禾谷镰刀菌和黄色镰刀菌等产生的 2, 4-二羟基苯甲酸内酯类化合物。

## 3、原理：

测定的基础是抗原、抗体反应，抗体连接在柱体内，样品经过提取、过滤后，缓慢的通过玉米赤霉烯酮免疫亲和柱，在免疫亲和柱内毒素与抗体结合，之后洗涤免疫亲和柱除去没有被结合的其他无关物质。用甲醇洗脱玉米赤霉烯酮，然后注入到分析仪器中用于检测。

## 4、包装组成：

每一个盒中包括各种规格的玉米赤霉烯酮免疫亲和柱及 1 份说明书。

## 5、需要的材料但盒中不提供：

### 5.1 设备及耗材

- HPLC/LC-MS/MS
- 气控操作架
- 空气泵
- 天平
- 高速均质器 (最高转速 $\geq 10,000\text{r/min}$ ) 或摇床
- 粉碎机
- 分样筛
- pH 计
- 量筒：100mL/10mL
- 漏斗：50mL
- 注射器：10 mL/20mL
- 移液器或移液管：1mL
- 均质杯 (或 250mL 具塞锥形瓶)
- 样品瓶
- 快速定性滤纸
- 微纤维滤纸 (Whatman 934-AH)

### 5.2 试剂

- 甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )：色谱纯
- 乙腈 ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )：分析纯
- 氯化钾 (KCl)：分析纯
- 氯化钠 (NaCl)：分析纯

- 磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )：分析纯
- 十二水合磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )：分析纯
- 乙酸 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )：色谱纯
- 吐温-20 ( $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$ )：分析纯
- 氢氧化钠 (NaOH)：分析纯
- 盐酸 (HCl)：分析纯
- 水 ( $\text{H}_2\text{O}$ )：蒸馏水或去离子水

## 6、注意事项：

- 使用前，免疫亲和柱需回至室温 ( $22 \sim 25^\circ\text{C}$ )。
- 亲和柱  $2 \sim 8^\circ\text{C}$  储存，不得冻存。
- 不要使用过了有效日期的免疫亲和柱。
- 取样量：根据需要可以适当增加或减少取样量，注意提取液量要相应改变。
- 柱容量：1500ng，当样本中待检毒素的含量除以稀释倍数高于柱容量时，需要适当降低上样液的体积，重新检测。
- pH：亲和柱的上样溶液 pH 需在 6~8 之间，若偏离此范围需要用盐酸或氢氧化钠调节 pH。
- 玉米赤霉烯酮可致癌，应戴手套口罩的等防护工具操作。
- 使用过的容器及标准品溶液最好用次氯酸钠溶液 (5%V/V) 浸泡过夜。
- 上机检测时的溶剂与流动相保持一致，可以消除溶剂效应的影响。

## 7、配液

### 7.1 提取液：80%乙腈

- 用量筒移取 800mL 乙腈，加入超纯水定容至至 1L。

### 7.2 稀释液：0.01M PBST 溶液

- 称取 8g NaCl、0.2g KCl、0.2g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  和 1.16g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ，加入 800mL 超纯水溶解，加入 2mL Tween-20，定容至 1L。

## 8、样品处理：粮食及饲料

- $20\text{g} \pm 0.01\text{g}$  样品 (固体样品需粉碎，并过 2mm 分样筛) 加入 100mL 提取液 (80%乙腈-水溶液) 混匀；
- 高速均质 ( $\geq 10,000\text{r/min}$ ) 1min，或摇床 (200r/min ~ 300r/min) 剧烈振荡 20min，用快速定性滤纸过滤，收集滤液；
- 取 10mL 滤液加入 40mL 稀释液稀释，再用微纤维滤纸过滤，并收集滤液作为上样液；
- 取 25mL 上样液过免疫亲和柱净化。

### 稀释倍数：1

## 9、操作程序：

- 取出免疫亲和柱，将注射器筒的下端直接穿透亲和柱上方的塞子，完成注射器筒与亲和柱的连接，将其放置在气控操作架上

进行固定;

----取适量步骤 8 中处理后的溶液, 注入到注射器筒中;

----去掉亲和柱下方堵头, 调节开关, 使液体以 1~2 滴/秒速度流出;

----待液体排干后, 用 10mL 水洗涤 2 次, 流速 2~3 滴/秒;

----待液体排干后, 上样 1mL 甲醇, 流速 1 滴/秒, 收集洗脱液并定容至 1mL;

----洗脱液用 0.22 $\mu$ m 微孔滤器过滤后转移至样品瓶用于 HPLC 分析。

\* 每次上样前都要将上次液体完全排干。

\* 也适用于 GB 5009.209-2016 和 GB/T 28716-2012。

## 10、结果判读:

玉米赤霉烯酮的含量=检测浓度 $\times$ 稀释倍数

## 11、贮藏条件及有效期

贮藏条件: 2~8 $^{\circ}$ C。

有效期: 该产品有效期为 12 个月。