

黄曲霉毒素 B₁ 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黄曲霉毒素 B₁，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 或 LC-MS/MS 分析。

2、概述：

黄曲霉毒素是一类真菌（如黄曲霉和寄生曲霉）的有毒的代谢产物，它们具有很强的致癌性，主要存在于谷物、花生、坚果、棉籽、饲料、植物油以及动物组织和血液中。其中黄曲霉毒素 B₁ 的毒性、致癌性、污染频率均居于首位。

3、原理：

测定的基础是抗原、抗体反应，抗体连接在柱体内，样品中的黄曲霉毒素 B₁ 经过提取、过滤、稀释，然后缓慢的通过黄曲霉毒素 B₁ 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。用甲醇洗脱黄曲霉毒素 B₁，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黄曲霉毒素 B₁ 免疫亲和柱及 1 份说明书。

5、注意事项：

- 使用前，免疫亲和柱需回至室温（22~25℃）。
- 亲和柱 2~8℃ 储存，不得冻存。
- 请在有效日期内使用免疫亲和柱。
- 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：200ng，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。
- 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。
- 黄曲霉毒素 B₁ 可致癌，应戴手套口罩等防护工具操作。
- 使用过的容器及黄曲霉毒素 B₁ 溶液最好用次氯酸钠溶液（5%V/V）浸泡过夜。

6、配液：

- 6.1 提取液（84%乙腈-水溶液）：
80%乙腈-水溶液（V 乙腈:V 水=84:16）：取 840ml 乙腈，加入

160ml 纯水，混匀。

6.2 1%吐温-水溶液：

取 1ml 吐温-20，加入去离子水并定容至 100ml。

6.3 磷酸盐缓冲溶液（简称：PBS）

称取 8.00g 氯化钠、1.20g 磷酸氢二钠（或 2.92g 十二水磷酸氢二钠）、0.20g 磷酸二氢钾、0.20g 氯化钾，用 900ml 水溶解，用盐酸调节 PH 至 7.4±0.1，加水稀释至 1000ml。

7、样品处理：

方法一：适用于玉米、小麦等粮食作物，坚果、玉米油、花生油、饲料等样品

---5g±0.01g 样品（固体样品需粉碎，并过 1mm 分样筛）加入 20.0ml 提取液（84%乙腈-水溶液）混匀；

---高速均质（≥10,000r/min）3min 或摇床（200r/min ~ 300r/min）剧烈振荡 20min，然后离心机（6000r/min）离心 10min（或均质后玻璃纤维纸过滤），取上清液备用。

---取 4ml 滤液加入 46ml 水或 PBS 溶液稀释，作为上样液；

---取全部上样液过免疫亲和柱净化。

稀释倍数：1

方法二：适用于辣椒、花椒、黄豆酱等调料，面粉、麦芯粉、芝麻油及其它植物油、谷草、花生及其制品等样品

---5g±0.01g 样品（固体样品需粉碎，并过 1mm 分样筛）加入 20.0ml 提取液（84%乙腈-水溶液）混匀；

---高速均质（≥10,000r/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 4ml 滤液加入 46ml 水或 PBS 溶液稀释，必要时再用玻璃纤维滤纸过滤，并收集滤液作为上样液；

---取全部上样液过免疫亲和柱净化。

稀释倍数：1

方法三：适用于中药

---15g±0.01g 样品（固体样品需粉碎，并过 1mm 分样筛）加入 75ml 提取液（84%乙腈-水溶液）混匀；

---高速均质（≥10,000r/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 5ml 滤液加入 1%吐温-水溶液稀释并定容至 50.0ml，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：2

8、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/秒的速
度流出；

----待液体排干后，用 10mL 水洗涤 2 次，流速 2~3 滴/秒；对
于颜色附着比较深的样品，先用 1%Tween-20 水溶液洗涤 10mL，
再用水洗涤 10mL，流速 2~3 滴/秒；

----待液体排干后，上样 1.5mL 甲醇，流速 1 滴/秒，收集洗脱
液并用水定容至 2mL；

----洗脱液用 0.22 μ m 微孔滤器过滤后转移至样品瓶用 HPLC 或
LC-MS/MS 分析。

* 每次上样前都要将上次液体完全排干。

* 也适用于 GB5009.22-2016、GB/T30955-2014 和药典方法。

9、判读结果：

黄曲霉毒素 B₁ 的含量=检测浓度×稀释倍数

10、贮藏条件及有效期：

贮藏条件：2~8℃。

有效期：该产品有效期为 12 个月。