



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106290821 A

(43)申请公布日 2017.01.04

(21)申请号 201610649307.3

(22)申请日 2016.08.09

(71)申请人 安徽青松食品有限公司

地址 230088 安徽省合肥市高新区宁西路
28号

(72)发明人 林松

(74)专利代理机构 北京和信华成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11390

代理人 胡剑辉

(51) Int. Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定
方法

(57)摘要

本发明公开了一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,包括如下具体步骤:称取一定量的花生糖磨碎过筛后加入石油醚-甲醇混合溶液中,调节pH后倒入均质机内均质;静置一段时间后用滤纸吸去上层石油醚层,过滤后得到花生糖甲醇提取液;将花生糖甲醇提取液经过超声处理后稀释,离心取上清液备用,得到黄曲霉素样品;通过酶联免疫法测定黄曲霉素样品中黄曲霉素含量。本发明通过结合甲醇提取与酶联免疫法测定花生糖中黄曲霉素的含量,超声波的辐射压强可以增大花生糖样品中物质分子运动频率和速度,提高提取效率,本发明降低了检测成本,提高了检测效率,满足了检疫标准确定量分析的需要。

1. 一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於,包括如下具体步骤:
 - S1、称取一定量的花生糖磨碎后过筛;
 - S2、将S1中磨碎的花生糖粉末加入石油醚-甲醇混合溶液中,调节pH为6-8的范围,之后倒入均质机内均质5-10min;
 - S3、将S2均质后的花生糖有机溶液静置一段时间,用滤纸吸去上层石油醚层,过滤后得到花生糖甲醇提取液;
 - S4、将S3中得到的花生糖甲醇提取液于25℃条件下超声处理20-30min,超声功率800-1200w;
 - S5、将S3中得到的滤液稀释,离心取上清液备用,得到黄曲霉素样品;
 - S6、用移液枪分别移取100μL所述黄曲霉素样品与等量黄曲霉素B₁标准品至微孔条中,先分别加入200μL酶联偶合物,之后在微孔条底部分别加入200μL抗体,培养一段时间后,加入100μL反应终止液终止反应,得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液;
 - S7、将S7中得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液用酶标仪于450nm滤镜与630nm示差滤镜下读取光密度值;
 - S8、根据S7中得到的光密度值,以黄曲霉素B₁标准品浓度的对数为横坐标,黄曲霉素B₁标准品的光密度值为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线读取并计算花生糖中黄曲霉素B₁含量。
2. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於:所述S1中过10-30目筛。
3. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: S2中所述石油醚-甲醇混合溶液中石油醚和甲醇的体积比为1:6。
4. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: 所述S2中用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调节pH。
5. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: 所述S3中静置时间为30-60min。
6. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: 所述S5中加入等体积蒸馏水稀释。
7. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: 所述S5中离心速率为1000-2000r/min,离心时间为5-10min。
8. 根据权利要求1所述的一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,其特征在於: 所述S6中培养温度为25℃,培养环境为避光环境,培养时间为20-40min。

一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法

技术领域

[0001] 本发明属于微生物鉴定培养技术领域,特别是涉及一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法。

背景技术

[0002] 黄曲霉毒素是常见霉菌黄曲霉和寄生曲中产毒菌株的代谢产物。主要毒素是B1、B2、G1和G2,其中B1是毒性和危害最大的一种,B2和G2是B1和G1的双羟基衍生物。黄曲霉毒素是目前所知致癌性最强的化合物,广泛存在于花生、花生油、大米、玉米、糕点等粮油食品和动物饲料中,严重影响人们的健康,甚至威胁着人们的安全。更重要的是,黄曲霉毒素与环境因素密切相关,是一种天然的毒素,普通的食物处理方法不会减少黄曲霉毒素的含量,因此,国际上对黄曲霉毒素尤其是B1的限量要求日益严格,世界各国都对食品中的黄曲霉毒素的含量制定出了严格的限量标准。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,本发明通过结合甲醇提取与酶联免疫法测定花生糖中黄曲霉毒素的含量,降低了检测成本,提高了检测效率,满足了检疫标准定量分析的需要。

[0004] 本发明是通过以下技术方案实现的:

[0005] 一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法,包括如下具体步骤:

[0006] S1、称取一定量的花生糖磨碎后过筛;

[0007] S2、将S1中磨碎的花生糖粉末加入石油醚-甲醇混合溶液中,调节pH为6-8的范围,之后倒入均质机内均质5-10min;

[0008] S3、将S2均质后的花生糖有机溶液静置一段时间,用滤纸吸去上层石油醚层,过滤后得到花生糖甲醇提取液;

[0009] S4、将S3中得到的花生糖甲醇提取液于25℃条件下超声处理20-30min,超声功率800-1200w;

[0010] S5、将S3中得到的滤液稀释,离心取上清液备用,得到黄曲霉毒素样品;

[0011] S6、用移液枪分别移取100μL所述黄曲霉毒素样品与等量黄曲霉毒素B₁标准品至微孔条中,先分别加入200μL酶联偶合物,之后在微孔条底部分别加入200μL抗体,培养一段时间后,加入100μL反应终止液终止反应,得到黄曲霉毒素待测液和黄曲霉毒素B₁标准品待测液;

[0012] S7、将S7中得到黄曲霉毒素待测液和黄曲霉毒素B₁标准品待测液用酶标仪于450nm滤镜与630nm示差滤镜下读取光密度值;

[0013] S8、根据S7中得到的光密度值,以黄曲霉毒素B₁标准品浓度的对数为横坐标,黄曲霉毒素B₁标准品的光密度值为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线读取并计算花生糖中黄曲霉毒素B₁含量。

[0014] 进一步地,所述S1中过10-30目筛。

- [0015] 进一步地,S2中所述石油醚-甲醇混合溶液中石油醚和甲醇的体积比为1:6。
- [0016] 进一步地,所述S2中用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调节pH。
- [0017] 进一步地,所述S3中静置时间为30-60min。
- [0018] 进一步地,所述S5中加入等体积蒸馏水稀释。
- [0019] 进一步地,所述S5中离心速率为1000-2000r/min,离心时间为5-10min。
- [0020] 进一步地,所述S6中培养温度为25℃,培养环境为避光环境,培养时间为20-40min。
- [0021] 本发明具有以下有益效果:
- [0022] 本发明通过结合甲醇提取与酶联免疫法测定花生糖中黄曲霉素的含量,超声波的辐射压强可以增大花生糖样品中物质分子运动频率和速度,提高提取效率,本发明降低了检测成本,提高了检测效率,满足了检疫标准定量分析的需要。
- [0023] 当然,实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有优点。

具体实施方式

[0024] 本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范围。

[0025] 实施例1

- [0026] S1、称取一定量的花生糖磨碎后过10目筛;
- [0027] S2、将S1中磨碎的花生糖粉末加入石油醚-甲醇混合溶液中,其中,石油醚和甲醇的体积比为1:6,用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调节pH为6,之后倒入均质机内均质5min;
- [0028] S3、将S2均质后的花生糖有机溶液静置30min,用滤纸吸去上层石油醚层后用滤纸过滤2次,得到花生糖甲醇提取液;
- [0029] S4、将S3中得到的花生糖甲醇提取液于25℃条件下超声处理20min,超声功率800w;
- [0030] S5、将S3中得到的滤液加入等体积蒸馏水稀释后,置于1000r/min离心机中离心5min,取上清液备用,得到黄曲霉素样品;
- [0031] S6、用移液枪分别移取100μL所述黄曲霉素样品与等量黄曲霉素B₁标准品至微孔条中,先分别加入200μL酶联偶合物,之后在微孔条底部分别加入200μL抗体,于25℃避光条件下放入恒温培养箱中培养20min后,加入100μL反应终止液终止反应,得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液;
- [0032] S7、将S7中得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液用酶标仪于450nm滤镜与630nm示差滤镜下读取光密度值;
- [0033] S8、根据S7中得到的光密度值,以黄曲霉素B₁标准品浓度的对数为横坐标,黄曲霉素B₁标准品的光密度值为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线读取并计算花生糖中黄曲霉素B₁含量。

[0034] 实施例2

- [0035] S1、称取一定量的花生糖磨碎后过30目筛;
- [0036] S2、将S1中磨碎的花生糖粉末加入石油醚-甲醇混合溶液中,其中,石油醚和甲醇

的体积比为1:6,用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调节pH为8,之后倒入均质机内均质10min;

[0037] S3、将S2均质后的花生糖有机溶液静置60min,用滤纸吸去上层石油醚层后用滤纸过滤3次,得到花生糖甲醇提取液;

[0038] S4、将S3中得到的花生糖甲醇提取液于25℃条件下超声处理30min,超声功率1200w;

[0039] S5、将S3中得到的滤液加入等体积蒸馏水稀释后,置于2000r/min离心机中离心10min,取上清液备用,得到黄曲霉素样品;

[0040] S6、用移液枪分别移取100μL所述黄曲霉素样品与等量黄曲霉素B₁标准品至微孔条中,先分别加入200μL酶联偶合物,之后在微孔条底部分别加入200μL抗体,于25℃避光条件下放入恒温培养箱中培养40min后,加入100μL反应终止液终止反应,得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液;

[0041] S7、将S7中得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液用酶标仪于450nm滤镜与630nm示差滤镜下读取光密度值;

[0042] S8、根据S7中得到的光密度值,以黄曲霉素B₁标准品浓度的对数为横坐标,黄曲霉素B₁标准品的光密度值为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线读取并计算花生糖中黄曲霉素B₁含量。

[0043] 实施例3

[0044] S1、称取一定量的花生糖磨碎后过20目筛;

[0045] S2、将S1中磨碎的花生糖粉末加入石油醚-甲醇混合溶液中,其中,石油醚和甲醇的体积比为1:6,用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调节pH为7,之后倒入均质机内均质7min;

[0046] S3、将S2均质后的花生糖有机溶液静置45min,用滤纸吸去上层石油醚层后用滤纸过滤2次,得到花生糖甲醇提取液;

[0047] S4、将S3中得到的花生糖甲醇提取液于25℃条件下超声处理25min,超声功率1000w;

[0048] S5、将S3中得到的滤液加入等体积蒸馏水稀释后,置于1500r/min离心机中离心7min,取上清液备用,得到黄曲霉素样品;

[0049] S6、用移液枪分别移取100μL所述黄曲霉素样品与等量黄曲霉素B₁标准品至微孔条中,先分别加入200μL酶联偶合物,之后在微孔条底部分别加入200μL抗体,于25℃避光条件下放入恒温培养箱中培养30min后,加入100μL反应终止液终止反应,得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液;

[0050] S7、将S7中得到黄曲霉素待测液和黄曲霉素B₁标准品待测液用酶标仪于450nm滤镜与630nm示差滤镜下读取光密度值;

[0051] S8、根据S7中得到的光密度值,以黄曲霉素B₁标准品浓度的对数为横坐标,黄曲霉素B₁标准品的光密度值为纵坐标绘制标准曲线,根据标准曲线读取并计算花生糖中黄曲霉素B₁含量。

[0052] 本发明通过结合甲醇提取与酶联免疫法测定花生糖中黄曲霉素的含量,超声波的辐射压强可以增大花生糖样品中物质分子运动频率和速度,提高提取效率,本发明降低了检测成本,提高了检测效率,满足了检疫标准确定量分析的需要。

[0053] 以上内容仅仅是对本发明所作的举例和说明,所属本技术领域的技术人员对所描

述的具体实施例做各种各样的修改或补充或采用类似的方式替代,只要不偏离发明或者超越本权利要求书所定义的范围,均应属于本发明的保护范围。

专利名称(译)	一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法		
公开(公告)号	CN106290821A	公开(公告)日	2017-01-04
申请号	CN201610649307.3	申请日	2016-08-09
[标]申请(专利权)人(译)	安徽青松食品有限公司		
申请(专利权)人(译)	安徽青松食品有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	安徽青松食品有限公司		
[标]发明人	林松		
发明人	林松		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/53 G01N2333/38		
代理人(译)	胡剑辉		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种花生糖中黄曲霉毒素潜在污染的鉴定方法，包括如下具体步骤：称取一定量的花生糖磨碎过筛后加入石油醚-甲醇混合溶液中，调节pH后倒入均质机内均质；静置一段时间后用滤纸吸去上层石油醚层，过滤后得到花生糖甲醇提取液；将花生糖甲醇提取液经过超声处理后稀释，离心取上清液备用，得到黄曲霉素样品；通过酶联免疫法测定黄曲霉素样品中黄曲霉素含量。本发明通过结合甲醇提取与酶联免疫法测定花生糖中黄曲霉素的含量，超声波的辐射压强可以增大花生糖样品中物质分子运动频率和速度，提高提取效率，本发明降低了检测成本，提高了检测效率，满足了检疫标准定量分析的需要。