



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102043044 A

(43) 申请公布日 2011.05.04

(21) 申请号 201010286138.4

(22) 申请日 2010.09.19

(71) 申请人 张福生

地址 401520 重庆市合川区合办处长青街
75号2单元3-1号

(72) 发明人 张福生

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

饲料中伏马毒素的检测方法

(57) 摘要

本发明一种饲料中伏马毒素的检测方法,免疫亲和柱-荧光仪检测法的原理为:将饲料样品与提取液混合、均匀、过滤,然后将滤液通过键合有伏马毒素特殊抗体的分离柱。用淋洗液通过分离柱,将伏马毒素从抗体上分离下来。最后,将淋洗液注入荧光计进行测定。检测范围为0~10mg/kg,检测限为0.25mg/kg,检测时间约为15分钟,回收率大于80%,变异系数小于15%。免疫亲和柱-HPLC法的原理为:经甲醇-水(4:1)提取,提取液通过FumoniTest免疫亲和柱净化,净化液经柱前衍生、Spherisorb C18色谱柱分离、荧光检测器检测、外标法定量。对玉米原料的检测回收率B1为82.3%~88.7%,B2为74.9%~81.6%,变异系数B1为4.9%~6.3%,B2为5.8%~7.2%,检测限B1可达0.020mg/kg,B2可达0.040mg/kg。

1. 本发明是一种饲料中伏马毒素的检测方法。
2. 将饲料样品与提取液混合、均匀、过滤,然后将滤液通过键合有伏马毒素特殊抗体的分离柱。

饲料中伏马毒素的检测方法

技术领域

[0001] 本发明是一种饲料中伏马毒素的检测方法,属饲料加工业。

背景技术

[0002] 伏马毒素主要是由串珠镰刀菌在一定温度和湿度条件下繁殖所产生的次级代谢产物。直到 1988 年,南非和美国的研究人员才首次从霉变的玉米中分离出伏马毒素。粮食在加工、贮存、运输过程中易受上述两种真菌污染,特别是当温度适宜时,更利于其生长繁殖,从而产生出一类结构性质相似的毒素,其中含有伏马毒素 B1、B2 和 B3,60%以上为伏马毒素 B1,其毒性也最强。因此,伏马毒素可以通过粮食加工、饲料生产等过程对畜牧业乃至人类健康产生较严重的危害。伏马毒素纯品为白色针状结晶,为一类相关的极性、水溶性代谢产物,为多氢醇和丙三羧酸的双酯化合物,对热很稳定,不易被蒸煮破坏,在多数粮食加工处理过程均比较稳定。

发明内容

[0003] 一、伏马毒素对动物及人类的危害

[0004] 1. 马大脑白质软化症

[0005] 这是一种马的神经失调疾病。根据南非研究人员的试验结果,每天以 0.125mg/kg 体重的水平给马进行皮下注射,大约 7 天后马开始发疯、发狂,冲撞栏杆而死。解剖发现马的大脑呈现白质软化症状。1989 年,美国有很多州陆续发生猪肺水肿、胸积水以及马大脑白质软化症等动物疾病的暴发和流行,并且这些疾病均集中发生在位于美国中西部地区玉米种植带上的各个州中,并且通过这些州输出的玉米饲料又扩大了疾病流行的地区和延长了流行时间,给当地的农业和畜牧业造成了巨大的损失。后经美国科学家研究证明,这一切都是因为当地生产的玉米被伏马毒素污染所致。这种病在南非、阿根廷、巴西均有发现。

[0006] 2. 猪肺水肿

[0007] 美国和南非的科学家研究表明,每天伏马毒素的摄取量在 0.4mg/kg 体重以上均可引发猪的肺水肿,还可造成猪生殖系统的紊乱,如早产、流产、死胎和发情周期异常等。这种病在美国及其他国家都有发现,并且容易对当地畜牧业造成较大的影响。

[0008] 3. 小鼠肝癌

[0009] 南非科研人员对小鼠进行了伏马毒素的毒理试验,试验结果表明,以 50mg/kg 体重水平饲养小鼠,18 ~ 26 个月后,发现肝肿瘤患病率急剧上升,这是首次发现伏马毒素引发肝癌的证据。对大鼠进行了伏马毒素毒理试验,结果相同。

[0010] 4. 人类食道癌

[0011] 南非科学家就对食道癌发病率高和低的地区进行过调查,结果发现食道癌高发地区的主食玉米受伏马毒素的污染情况比低发区严重,食道癌发病率与伏马毒素污染呈正相关,进一步的动物试验也得到了相同的结果。中国学者和日本学者对食道癌高发区的河南省林县进行了一次调查,发现该地区主食玉米中伏马毒素水平高达 30 ~ 50mg/kg,发霉玉

米中伏马毒素最高值达 118.4mg/kg。目前伏马毒素引发食道癌的机理还不清楚,需进一步确证和研究。

[0012] 二、伏马毒素的发生情况

[0013] 伏马毒素尤其是 FB1 对饲料污染的情况在世界范围内普遍存在,且对粮食作物的污染情况较严重,其污染的饲料主要为以玉米为原料的饲料。玉米中伏马毒素含量受许多环境因素的影响,如收获前和收获期间的温度、湿度、干旱情况和玉米中高水平的伏马毒素与前期干热后期一段高湿天气有关。玉米中伏马毒素含量也受贮存条件的影响,如收获的玉米在贮存期间水分在 18%~23%时,最适宜产伏马毒素的串珠镰刀菌的生产和繁殖,导致玉米中伏马毒素含量的增加。

[0014] 2001 年美国食品与药物管理局 (FDA) 发布了供人类食用的玉米和玉米产品伏马毒素最高限量指导性公告,规定人类食用玉米中伏马毒素最高限量为 2mg/kg;同时, FDA 的畜牧医学中心 (CVM) 也发布了动物饲料中伏马毒素的最高限量指导性公告,规定其限量范围为 1~50mg/kg。

具体实施方式

[0015] 伏马毒素的检测先后使用过薄层色谱法、气相色谱法、酶联免疫法 (ELISA)、高效液相色谱法 (HPLC) 等,目前研究和应用得最多的是利用免疫亲和柱净化后的荧光仪检测法和 HPLC 法。

[0016] 免疫亲和柱-荧光仪检测法的原理为:将饲料样品与提取液混合、均匀、过滤,然后将滤液通过键合有伏马毒素特殊抗体的分离柱。此时,伏马毒素键合在分离柱中的抗体上。用蒸馏水将免疫亲和柱上的杂质除去。用淋洗液通过分离柱,将伏马毒素从抗体上分离下来。最后,将淋洗液注入荧光计进行测定。检测范围为 0~10mg/kg,检测限为 0.25mg/kg,检测时间约为 15 分钟,回收率大于 80%,变异系数小于 15%。免疫亲和柱-HPLC 法的原理为:经甲醇-水 (4:1) 提取,提取液通过免疫亲和柱净化,净化液经柱前衍生、色谱柱分离、荧光检测器检测、外标法定量。对玉米原料的检测回收率 B1 为 82.3%~88.7%, B2 为 74.9%~81.6%,变异系数 B1 为 4.9%~6.3%, B2 为 5.8%~7.2%,检测限 B1 可达 0.020mg/kg, B2 可达 0.040mg/kg。

专利名称(译)	饲料中伏马毒素的检测方法		
公开(公告)号	CN102043044A	公开(公告)日	2011-05-04
申请号	CN201010286138.4	申请日	2010-09-19
[标]申请(专利权)人(译)	张福生		
申请(专利权)人(译)	张福生		
当前申请(专利权)人(译)	ZHANG FUSHENG		
[标]发明人	张福生		
发明人	张福生		
IPC分类号	G01N33/531 G01N30/02		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明一种饲料中伏马毒素的检测方法，免疫亲和柱-荧光仪检测法的原理为：将饲料样品与提取液混合、均匀、过滤，然后将滤液通过键合有伏马毒素特殊抗体的分离柱。用淋洗液通过分离柱，将伏马毒素从抗体上分离下来。最后，将淋洗液注入荧光计进行测定。检测范围为0~10mg/kg，检测限为0.25mg/kg，检测时间约为15分钟，回收率大于80%，变异系数小于15%。免疫亲和柱-HPLC法的原理为：经甲醇-水(4:1)提取，提取液通过FumoniTest免疫亲和柱净化，净化液经柱前衍生、Spherisorb C18色谱柱分离、荧光检测器检测、外标法定量。对玉米原料的检测回收率B1为82.3%~88.7%，B2为74.9%~81.6%，变异系数B1为4.9%~6.3%，B2为5.8%~7.2%，检测限B1可达0.020mg/kg，B2可达0.040mg/kg。