



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003872

(51) **G01N 30/00**
2016.01

(13) **Y**

(21) 2-2024-00128

(22) 30/08/2021

(67) 1-2021-05406

(45) 27/01/2025 442

(43) 27/12/2021 405

(73) Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (VN)

244 Điện Biên Phủ, phường Võ Thị Sáu, quận 3, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Nguyễn Thành Duy (VN); Lý Tuấn Kiệt (VN); Nguyễn Thúy Ngân Hà (VN); Đặng Thị Kim Hằng (VN); Nguyễn Lâm Kiều Diễm (VN).

(54) QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI ĐỘC TỐ AFLATOXIN B1, G1, B2, G2 TRONG BỘT ỚT BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHÔNG DẪN XUẤT VỚI KỸ THUẬT SẮC KÝ LỎNG SIÊU HIỆU NĂNG ĐẦU DÒ HUỖNH QUANG

(21) 2-2024-00128

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất bao gồm các bước: i) chiết mẫu bằng dung môi MeOH/H₂O (8/2); ii) làm sạch và làm giàu mẫu bằng cột ái lực miễn dịch; iii) phân tích trên thiết bị UPLC-FD với các thông số cụ thể; và iv) phân tích kết quả với các chất chuẩn aflatoxin B1, G1, B2, G2.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập quy trình phân tích định lượng đồng thời các aflatoxin B1 (AFB1), G1 (AFG1), B2 (AFB2), G2 (AFG2) trong sản phẩm bột ớt bằng hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng cao với đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD). Phương pháp không sử dụng dẫn xuất với những ưu điểm như: tiết kiệm thời gian phân tích, giảm lượng dung môi sử dụng, giúp giảm việc gây ô nhiễm môi trường, bảo vệ sức khỏe kiểm nghiệm viên, quy trình xử lý mẫu đơn giản, giá thành phân tích thấp, dễ triển khai cho các phòng thí nghiệm kiểm nghiệm an toàn thực phẩm.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Trong nhóm mycotoxins, aflatoxin (AF) là một trong những loại độc tố nấm mốc độc nhất và được sinh ra bởi một số loại nấm mốc (*Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus*) phát triển trong đất, thảm thực vật mục nát, cỏ khô và ngũ cốc. Hạt có dầu (đậu tương, đậu phộng, hạt hướng dương và hạt bông), ngũ cốc (ngô, lúa miến, lúa mì, và gạo), gia vị (ớt, hạt tiêu đen, rau mùi, nghệ, và gừng) và các loại hạt (quả hồ trăn, hạnh nhân, và quả óc chó) thường bị nhiễm aflatoxin sinh ra bởi loại nấm *Aspergillus* spp.. Với hàm lượng lớn, aflatoxin có thể dẫn đến ngộ độc cấp tính (aflatoxicosis) và có thể đe dọa tính mạng, thường là thông qua tổn thương gan. Do đó, cần có phương pháp phân tích với độ nhạy cao và chính xác để kiểm soát hàm lượng các AF trong thực phẩm.

Do đó, nhiều phương pháp đã được nghiên cứu và công bố, bao gồm các phương pháp định tính nhanh và các phương pháp định lượng bằng sắc ký. Các phương pháp định tính nhanh, như phương pháp hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA) và các que thử nhanh (Lateral flow test), có ưu điểm là cho kết quả nhanh, chi phí thấp, có thể áp dụng sàng lọc đối với nguyên liệu tại nhà máy. Tuy nhiên, các phương pháp này tồn tại một số nhược điểm như khả năng cho dương tính và âm tính giả còn cao, phân tích aflatoxin ở dạng tổng chứ không phân biệt được từng chất. Đối với phương pháp phân tích định lượng, hiện nay Việt Nam đang áp dụng các phương pháp của tổ chức AOAC, Mỹ, như: (1) định lượng aflatoxin trong ngô, hạnh nhân, quả hạch Brazil, đậu phộng và hạt hồ trăn bằng cột cột đa chức năng Mycosep (AOAC 994.08); (2) xác định aflatoxin

trong ngô, đậu phộng và bơ đậu phộng bằng phương pháp sắc ký lỏng với dẫn xuất quang hóa sau cột (AOAC 2005.08); và (3) xác định aflatoxin B1 trong thức ăn trẻ em (sữa bột) bằng phương pháp làm sạch với cột miễn dịch ái lực và định lượng bằng sắc ký lỏng tạo dẫn xuất sau cột với brom (AOAC 2000.16). Đây đều là các phương pháp tiêu chuẩn được áp dụng rộng rãi tại các phòng thí nghiệm trên thế giới. Ưu điểm của chúng là đã được thẩm định đầy đủ và kết quả đáng tin cậy vì đã được so sánh liên phòng trên khắp thế giới bởi các tổ chức độc lập. Tuy nhiên, có một nhược điểm vô cùng lớn đó là việc tạo dẫn xuất sau cột (do Aflatoxin không nhạy với đầu dò huỳnh quang). Việc này dẫn đến một số khó khăn như: phải trang bị bộ dẫn xuất sau cột (nếu tạo dẫn xuất sau); hoặc độ lặp lại không tốt, dễ hỏng cột sắc ký (phương pháp dẫn xuất trước cột). Gần đây, phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS) đã được áp dụng, cho độ nhạy đáp ứng được các quy định độ nhạy đáp ứng giới hạn tối đa (ML) của các nước. Tuy nhiên thiết bị này có chi phí cao và đòi hỏi khả năng vận hành của kỹ thuật viên phân tích, khó trang bị cho các phòng thí nghiệm của nhà máy cũng như các cơ quan quản lý thị trường tại các địa phương.

Đến thời điểm hiện nay, ở Việt Nam và thế giới chưa có nghiên cứu công bố đầy đủ về quy trình phân tích đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang, không sử dụng dẫn xuất.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đưa ra quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất, góp phần phát triển các phương pháp phân tích mới thân thiện môi trường, vận hành đơn giản, nhanh chóng. Bên cạnh đó phương pháp được thẩm định đầy đủ các thông số theo yêu cầu của tiêu chuẩn Việt Nam TCVN ISO 17025:2017, và độ nhạy đáp ứng giới hạn tối đa (ML) cho phép của độ tổ nắm mốc AF trong thực phẩm theo quy chuẩn Việt Nam QCVN 8-1:2011/BYT.

Để đạt được mục đích nêu trên, quy trình phân tích định lượng độc tố nấm mốc AFB1, AFG1, AFB2, AFG2 bao gồm các bước:

- i) chiết mẫu bằng dung môi MeOH/H₂O (8/2);
- ii) làm sạch và làm giàu mẫu bằng cột ái lực miễn dịch;

- iii) phân tích trên thiết bị UPLC-FD với các thông số cụ thể; và
- iv) phân tích kết quả với các chất chuẩn aflatoxin B1, G1, B2, G2.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ mô tả quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang, không sử dụng dẫn xuất theo giải pháp hữu ích.

Hình 2 là ảnh chụp thiết bị UPLC-FD được sử dụng trong quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang, không sử dụng dẫn xuất theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây là phần mô tả chi tiết phương án thực hiện ưu tiên theo giải pháp hữu ích cùng với việc tham khảo hình 1 kèm theo. Phần mô tả chi tiết này chỉ nhằm mục đích minh họa các nguyên tắc chung theo giải pháp hữu ích và các nguyên tắc này hoàn toàn không bị giới hạn bởi phần mô tả chi tiết này.

Quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất được thực hiện bao gồm các công đoạn chi tiết như sau:

i) chiết mẫu bằng dung môi MeOH/H₂O:

lấy mẫu bột ớt từ tủ đông (-20°C), để yên mẫu đến nhiệt độ phòng và đồng nhất mẫu bằng cối xay khô; bổ sung 20mL MeOH/H₂O (8/2) vào 5g mẫu bột ớt, khuấy đều, siêu âm 30 phút, sau đó ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, lọc qua giấy lọc xanh;

ii) làm sạch và làm giàu mẫu bằng cột ái lực miễn dịch:

rút 5mL dịch lọc, bổ sung 20mL Phosphate Buffered Saline (PBS), khuấy đều, ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, cho 20mL dịch lọc qua cột ái lực IAC (IAC chứa các kháng thể đơn dòng aflatoxin B1, B2, G1, G2 để liên kết với aflatoxin đã cố định trên bề mặt rắn. Khi mẫu chiết di chuyển xuống cột IAC, aflatoxin liên kết với các kháng thể và được giữ lại trên cột. Để loại bỏ các protein không liên kết và tạp chất, bước rửa thường được yêu cầu sử dụng chất đệm cường độ ion thích hợp hoặc nước cất. Sau đó, aflatoxin được thu hồi hoặc loại bỏ khỏi IAC bằng cách sử dụng các dung môi tinh khiết

nư Axetonitril (ACN) hoặc MeOH để phá vỡ liên kết giữa kháng thể và aflatoxin), rửa cột bằng 20mL H₂O; rửa giải 3mL MeOH, thổi khô bằng khí N₂;

iii) phân tích trên thiết bị UPLC-FD với các thông số cụ thể (hình 2):

sau khi mẫu được thổi khô, định mức 1mL dung dịch ACN/HCOOH (Axetonitril/axit formic) 0,2 % (1/1), lọc PTFE 0,22µm, sau đó tiêm mẫu vào hệ UPLC-FD; trong đó tỉ lệ pha động 0,1% HCOOH/ACN/MeOH (64/18/18), cột phân tích C₁₈ 1,7µ (150*2,1)mm ở nhiệt độ 40°C, với tốc độ dòng 0,2 mL/phút và thể tích tiêm 5µL, kết hợp thông số đầu dò huỳnh quang FD với bước sóng kích thích Ex = 365nm và bước sóng phát xạ Em = 455nm; và

iv) phân tích kết quả với các chất chuẩn aflatoxin B1, B2, G1 và G2.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: So sánh quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất theo giải pháp hữu ích (CASE.SK.0192) với quy trình theo tiêu chuẩn TCVN 10638:2014.

Phân tích đồng thời 10 mẫu bột ớt tương ứng 20 mũi tiêm bao gồm 1 blank dung môi, 5 dung dịch chuẩn, 1 blank mẫu, 1 mẫu kiểm soát (QC), 10 mẫu bột ớt, 1 blank mẫu và 1 mẫu QC.

Bảng 1: So sánh quy trình thực hiện phân tích đồng thời aflatoxin B1, B2, G1, G2 trong bột ớt theo quy trình giải pháp hữu ích và quy trình theo tiêu chuẩn Việt Nam

Các mục thực hiện	Phương pháp CASE.SK.0192	Phương pháp tiêu chuẩn TCVN 10638.2014
Lượng dung môi tiêu hao	MeOH: 300-340 mL ACN: 80-120 mL	MeOH: 2900-3000 mL ACN: 80-120 mL
Làm sạch mẫu cột IAC	Có	Có
Bộ dẫn xuất sau cột	Không	Có

Hoá chất sử dụng dẫn xuất sau cột	Không	Pyridini hydrobromua perbromua
Quy trình xử lý mẫu	Ít thao tác, đơn giản	Nhiều thao tác, phức tạp
Thời gian phân tích	420-460 phút	Không cụ thể

Quy trình phân tích đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất bao gồm:

Thuốc thử và vật liệu thử

- Axetonitril HPLC với độ tinh khiết $\geq 99,9$ %, hàm lượng nước $\leq 0,02$ %
- Axit formic với độ tinh khiết $\geq 99,9$ %, hàm lượng axit axetic $\leq 0,05$ %
- Metanol HPLC với độ tinh khiết $\geq 99,9$ %, hàm lượng nước $\leq 0,02$ %
- Cột ái lực miễn dịch Aflatoxin với tốc độ dòng chảy 1-3 ml/phút, nhiễm chéo chất khác $< 0,01$ %, thể tích cột 3mL (IAC- AflaTest WB)
- Nước cất 2 lần loại ion.
- NaCl với độ tinh khiết ≥ 99 %, độ ẩm $\leq 0,5$ %
- PBS với độ pH = 7,4
- Chuẩn hỗn hợp Aflatoxin: B1: 2 $\mu\text{g/mL}$; B2: 0,5 $\mu\text{g/mL}$; G1: 2 $\mu\text{g/mL}$; G2: 0,5 $\mu\text{g/mL}$ trong dung môi axetonitril

Thiết bị phân tích

- Hệ thống sắc ký lỏng siêu cao áp – Khay để pha động Waters Solvent Tray.
- Bơm Waters Acquity Quaternary solvent manager.
- Bộ tiêm mẫu tự động Waters Acquity Sample Manager FTN.
- Buồng cột Waters Acquity Column Heater.
- Đầu dò Waters Acquity FD detector.
- Cột BEH C18 1,7 μ (150*2,1)mm + tiền cột của hãng Waters hay cột tương đương

Thiết bị khác và dụng cụ

- Máy lắc, máy vortex, máy ly tâm, bồn siêu âm, hệ lọc pha động.
- Cân phân tích gram, chính xác tới 0,0001g
- Cân phân tích miligram, chính xác tới 0,001mg
- Micropipet, loại 20-200 μ L và 100-1000 μ L
- Ống đong 100 mL, 500 mL, 1000 mL.
- Bình định mức 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL.
- Vial thủy tinh 1,5mL
- Bình đựng dung môi loại 1 lít có nắp đậy.
- Ống ly tâm 50 mL chịu được dung môi loại PTFE
- Giấy lọc xanh $\varnothing = 11$ cm
- Siêu lọc PTFE lọc 0,22 μ m, đường kính 13mm

Chuẩn bị các dung dịch định mức và ly trích

- Dung dịch 0,1% HCOOH: Rút 1 mL HCOOH vào bình định mức 1000 mL, định mức đến vạch bằng H₂O lắc đều, đánh siêu âm 5 phút.
- Dung dịch 0,2% HCOOH: Rút 100 μ L HCOOH vào bình định mức 50 mL, định mức đến vạch bằng H₂O lắc đều, đánh siêu âm 2 phút.
- Dung dịch 0,2% HCOOH /ACN (1/1): Đong 50 mL 0,2% HCOOH vào bình định mức 100 mL, định mức đến vạch bằng ACN lắc đều, đánh siêu âm 5 phút.
- Dung dịch ACN/H₂O (6/4): Đong 640 mL ACN vào bình định mức 1000 mL, định mức đến vạch bằng H₂O lắc đều, đánh siêu âm 5 phút.

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn

- Chuẩn gốc C₀ nồng độ 5 μ g/mL: Chuẩn hỗn hợp Aflatoxin B1: 2 μ g/mL; B2: 0,5 μ g/mL; G1: 2 μ g/mL; G2: 0,5 μ g/mL trong dung môi axetonitril (ACN).
- Chuẩn trung gian 1 C_{TG1} nồng độ 500 μ g/L: Rút 1 mL chuẩn gốc C₀ nồng độ 5 μ g/mL vào bình định mức 10 mL làm đầy tới vạch bằng ACN.
- Chuẩn trung gian 2 C_{TG2} nồng độ 50 μ g/L: Rút 1 mL chuẩn C_{TG1} vào bình định mức 10 mL làm đầy tới vạch bằng 0,2% HCOOH /ACN (1/1).
- Chuẩn trung gian 3 C_{TG3} nồng độ 50 μ g/L: Rút 0,5 mL chuẩn C_{TG1} vào bình định mức 5 mL làm đầy tới vạch bằng ACN.

- Chuẩn gốc được lưu trữ ở nhiệt độ 2-8°C sử dụng trong 12 tháng
- Chuẩn trung gian được lưu trữ ở nhiệt độ 2-8°C sử dụng trong 6 tháng

Chuẩn làm việc được xây dựng 5 điểm chuẩn làm việc 0,5; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0µg/L trong 0,2% HCOOH /ACN (1/1)

Quy trình xử lý mẫu

Bảo quản mẫu: mẫu bột ớt chưa phân tích được lưu trong tủ đông (-20°C) không quá 21 ngày.

Đồng nhất mẫu: Mẫu được lấy ra từ tủ đông, sau đó để yên mẫu đến nhiệt độ phòng, sau đó mẫu được đồng nhất bằng cối xay khô.

Cân mẫu: mẫu sau khi được đồng nhất, cân mẫu với lượng cân ($5 \pm 0,0001$ g) vào ống ly tâm nhựa PTFE bằng cân phân tích 4 số sau dấu phẩy.

Xử lý mẫu: thêm 20 mL MeOH/H₂O (8/2), siêu âm 30 phút, ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, lọc qua giấy lọc xanh. Rút 5 mL dịch lọc, thêm 20 ml PBS, đánh siêu âm, ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, lấy 20mL dịch lọc qua cột ái lực IAC, rửa cột bằng 20mL H₂O. Rửa giải 3mL MeOH, thổi khô mẫu bằng khí Nitơ (N₂).

Tiêm vào hệ sắc ký UPLC-FD; Mẫu sau khi thổi khô, định mức 1mL dung dịch 0,2% HCOOH/ACN (1/1), siêu lọc PTFE 0,22µm. Tiêm vào hệ UPLC-FD

Phân tích kết quả với các chất chuẩn aflatoxin B1, B2, G1 và G2.

Xác định nồng độ khối lượng các chất aflatoxin, biểu thị bằng microgam trên lít (µg/L) trong dung dịch bơm từ đường chuẩn. Tính hàm lượng các chất aflatoxin B1, B2, G1 và G2 có trong mẫu đưa vào cột biểu thị bằng đơn vị microgam trên kilogram (µg/Kg) theo công thức

$$HL_{afla} = \frac{P_{afla} \times V_1 \times V_2 \times F}{V_3 \times m_g}$$

P_{afla} là nồng độ của aflatoxin trong dung dịch thử đã được bơm và thu được từ đường chuẩn, tính bằng microgam trên lít ($\mu\text{g/L}$);

V_1 là thể tích của dung môi đã lấy để chiết (trong trường hợp này là 20 mL), tính bằng mililit (mL);

V_2 là thể tích của dịch chiết mẫu chưa pha loãng được lấy (trong trường hợp này là 5 mL), tính bằng mililit (mL);

V_3 là thể tích của dịch chiết mẫu sau pha loãng và cho qua cột ái lực miễn nhiễm (trong trường hợp này là 20 mL), tính bằng mililit (mL);

F là hệ số pha loãng của dung dịch định mức cuối cùng trước khi đưa vào hệ thống tiêm (trong trường hợp này là 1)

m_g là khối lượng mẫu được lấy để phân tích (trong trường hợp này là 5 g) tính bằng gam (g).

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích mới của chúng tôi nhằm đưa ra quy trình phân tích đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang (UPLC-FD), không sử dụng dẫn xuất, với thời gian phân tích mẫu nhanh giảm lượng dung môi chạy máy, ít gây ô nhiễm môi trường, bảo vệ sức khỏe người thao tác, quy trình xử lý mẫu đơn giản, ít tốn dung môi và trên thiết bị đơn giản, dễ vận hành.

Tổng thời gian phân tích 10 mẫu bột ớt, 1 mẫu bột ớt kiểm soát (mẫu QC), 1 mẫu bột ớt không chứa độc tố aflatoxin (mẫu blank) và cho ra kết quả dao động 440 ± 20 phút, bao gồm thời gian đồng nhất và cân 12 mẫu bột ớt vào ống ly tâm (60 phút), thời gian xử lý mẫu trước khi tiêm vào thiết bị (60 phút), thời gian tiêm mẫu vào thiết bị bao gồm 5 điểm chuẩn, 1 blank dung môi, 1 blank mẫu, 1 mẫu QC, 10 mẫu bột ớt, 1 blank dung môi lặp lại, 1 mẫu QC lặp lại (300 phút), thời gian tính toán và cho ra kết quả (20 phút).

Lượng dung môi sử dụng phân tích đồng thời 12 mẫu bột ớt (320 ± 20 mL MeOH và 100 ± 20 mL ACN) bao gồm dung môi xử lý mẫu và dung môi tiêu hao khi chạy

máy.

Quy trình phân tích đưa ra có độ tin cậy cao khi có kết quả so sánh giữa 2 phòng thí nghiệm khác trên cùng 1 mẫu bột ớt được chuẩn bị và bảo quản trong cùng điều kiện (-20°C) trước khi xử lý mẫu và phân tích trên thiết bị với độ tái lập giữa 3 phòng thí nghiệm rất tốt tại mức nồng độ $\leq 100 \mu\text{g/Kg}$ (% độ tái lập $\text{RSD} = 0,95\text{-}5,09\%$ cho các chất Afla B1, G1, B2, trong khi theo tiêu chí chấp nhận AOAC 2016 bảng F quy định % RSD tái lập $\leq 22\%$ tại mức nồng độ $\leq 100 \mu\text{g/Kg}$).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình phân tích định lượng đồng thời aflatoxin B1, G1, B2, G2 trong bột ớt trên hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng đầu dò huỳnh quang, không sử dụng dẫn xuất bao gồm các bước:

i) chiết mẫu bằng dung môi MeOH/H₂O:

lấy mẫu bột ớt từ tủ đông (-20°C), để yên mẫu đến nhiệt độ phòng và đồng nhất mẫu bằng cối xay khô; bổ sung 20mL MeOH/H₂O (8/2) vào 5g mẫu bột ớt, khuấy đều, siêu âm 30 phút, sau đó ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, lọc qua giấy lọc xanh;

ii) làm sạch và làm giàu mẫu bằng cột ái lực miễn dịch:

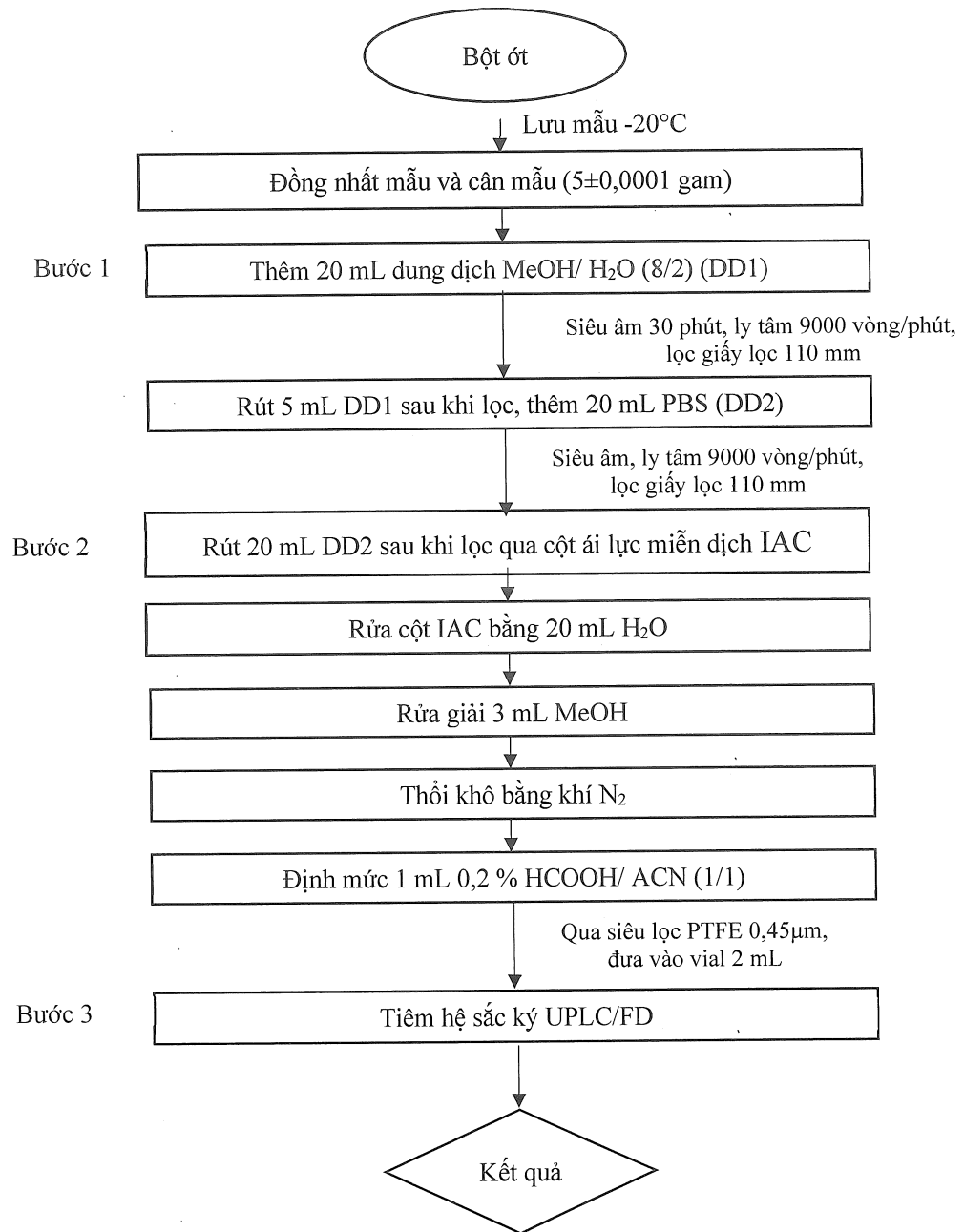
rút 5mL dịch lọc, bổ sung 20mL Phosphate Buffered Saline, khuấy đều, ly tâm 9000 vòng/phút trong 3 phút, cho 20mL dịch lọc qua cột ái lực IAC, rửa cột bằng 20mL H₂O; rửa giải 3mL MeOH, thổi khô bằng khí N₂;

iii) phân tích trên thiết bị UPLC-FD với các thông số cụ thể:

sau khi mẫu được thổi khô, định mức 1mL dung dịch ACN/HCOOH 0,2 % (1/1), lọc PTFE 0,22µm, sau đó tiêm mẫu vào hệ UPLC-FD; trong đó tỉ lệ pha động 0,1% HCOOH/ACN/MeOH (64/18/18), cột phân tích C₁₈ 1,7µ (150*2,1)mm ở nhiệt độ 40°C, với tốc độ dòng 0,2 mL/phút và thể tích tiêm 5µL, kết hợp thông số đầu dò huỳnh quang FD với bước sóng kích thích Ex = 365nm và bước sóng phát xạ Em = 455nm; và

iv) phân tích kết quả với các chất chuẩn aflatoxin B1, G1, B2, G2..

Hình 1



Hình 2

