

Essentia 黄曲霉毒素分析系统测定辣椒中的黄曲霉毒素的含量作业指导书 (SOP)

标准号：GB 5009.22-2016

■ 参考标准

GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定。

■ 方法概述

2.1 方法编制说明

2016 年 12 月 23 日，国家食品药品监督管理总局发布《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》，2017 年 6 月 23 日正式实施。本 SOP 参考该标准，利用岛津黄曲霉毒素分析仪建立食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族含量检测方法并进行方法学验证。

2.2 方法使用范围

本方法适用于高效液相色谱 - 柱后衍生法测定食品中 黄曲霉毒素 B1(AFTB1)、黄曲霉毒素 B2(AFTB2)、黄曲霉毒素 G1(AFTG1) 和 黄曲霉毒素 G2(AFTG2)。

2.3 方法技术指标

本方法的检出限：AFTB1、AFTG1 应为 0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；AFTB2、AFTG2 应为 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本方法的定量限：AFTB1、AFTG1 应为 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；AFTB2、AFTG2 应为 0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

■ 方法原理

供试品中的 AFTB1、AFTB2、AFTG1、AFTG2，用甲醇 - 水溶液提取，通过免疫亲和柱净化、定容和过滤后经液相色谱分离测定。根据保留时间定性，外标法定量。

■ 仪器设备及辅助设备

4.1 仪器设备

Essentia 黄曲霉毒素分析系统

4.2 辅助设备

分析天平

离心机

涡旋仪

移液枪：1000 μL ，100 μL ，10 μL

■ 标准品、试剂、耗材

AFTB1, AFTB2, AFTG1, AFTG2 混标（详细信息见附录）；

乙腈、甲醇：色谱级；

碘、氯化钠：分析纯级

CNW 黄曲霉毒素总量免疫亲和柱：规格 3 mL/20 pcs；于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存，备用；

无针注射器：5 mL；

微孔过滤膜：有机相尼龙针式滤器，0.22 μm

■ 操作步骤

6.1 标准工作曲线制作

准确吸取一定量的黄曲霉毒素混合对照品溶液（AFTB1、AFTB2、AFTG1、AFTG2 标识浓度分别为 1 μg/mL、0.3 μg/mL、1 μg/mL、0.3 μg/mL），用流动相稀释配置成（含 AFTB1 和 AFTG1 浓度为 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL，AFTB2 和 AFTG2 浓度为 0.03 ng/mL、0.15 ng/mL、0.6 ng/mL、1.5 ng/mL、3 ng/mL、6 ng/mL、12 ng/mL）七个浓度的混合标准溶液，现用现配。

6.2 仪器条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18（150 mm×4.6 mm I.D.，5 μm）

流动相：A 相：水，B 相：乙腈 - 甲醇溶液（50：50）

流速：1 mL/min

进样体积：50 μL

洗脱方式：等度洗脱（A,68%;B,32%）

柱温：40 °C

检测波长：Ex=360 nm, Em=440 nm

衍生溶液：0.05% 碘溶液（取 0.1 g 碘，加甲醇 20 mL，用水定容至 200 mL）

衍生液流速：0.2 mL/min 衍生化温度：70 °C

6.3 样品前处理

1) 采样量需大于 1 kg，用高速粉碎机将其粉碎，过筛，使其粒径小于 2 mm 孔径试验筛，混合均匀后缩分至 100 g，储存于样品瓶中，密封保存，供检测用；

2) 称取粉碎好的样品 20 g，加 4 g 氯化钠，100 mL70% 甲醇 / 水溶液，振摇 30 分钟，4000 转离心 5 min；

3) 从 2) 中精密量取上清液 15 mL，注入免疫亲和柱，弃去流出液，加 20 mL 水冲洗，弃去流出液；

4) 加入 1 mL 甲醇洗脱，收集流出液，用微孔滤膜（0.22 μm）滤过，取续滤液，即得。

6.4 加标试样

取空白辣椒样品进行加标，按照 6.3 步骤制备加标样品，加标浓度为 AFTB1 和 AFTG1 为 1 μg/kg，AFTB2 和 AFTG2 为 0.3 μg/kg

6.5 测定

按照 6.2 的仪器分析条件进行分析，进样量为 50.0 μL，若检测溶液中的含量超过本方法的标准曲线范围，则需要稀释检测溶液后进样分析。

6.6 计算和报告

精密吸取供试品溶液 50.0 μL，注入色谱分析仪，测定峰面积，外标法计算黄曲霉毒素的量。

供试品中 AFTB1、AFTB2、AFTG1、AFTG2 的量按下式计算：

$$X = C_s \times \frac{A}{A_s} \times \frac{V \times D}{m}$$

X — 供试品中待测物的含量，mg/kg；

C_s — 混合对照品溶液中被测物的浓度，μg/mL；

A — 供试品溶液中被测物的色谱峰面积；

A_s — 混合对照品溶液中被测物的色谱峰面积；

V — 供试品最终定容体积，mL；

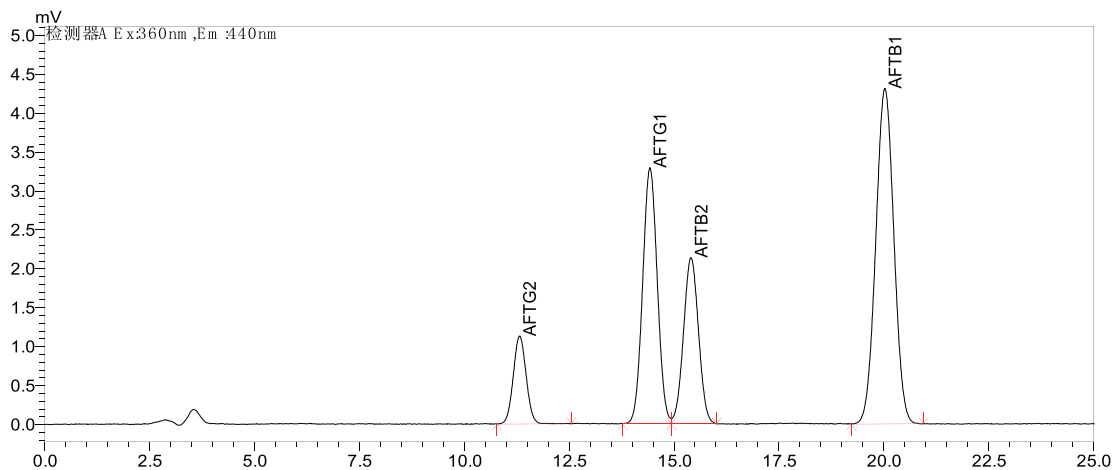
m — 供试品的称样量，g；

D — 稀释倍数

■ 附录

表 1 黄曲霉毒素化合物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	AFTB1	Aflatoxin B ₁	1162-65-8	20.033
2	AFTB2	Aflatoxin B ₂	7220-81-7	15.409
3	AFTG1	Aflatoxin G ₁	1165-39-5	14.434
4	AFTG2	Aflatoxin G ₂	7241-98-7	11.317



AFTB1、AFTB2、AFTG1、AFTG2 混合对照品溶液色谱图

岛津应用云

