

食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定 分析报告

一、检测方法:

依据国家标准: 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定 (GB5009.22-2016)

二、测试目的:

食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定

三、方法原理

试样中的黄曲霉毒素 B1、黄曲霉毒素 B2、黄曲霉毒素 G1、黄曲霉毒素 G2, 用乙腈-水溶液或甲醇-水溶液的混合溶液提取, 提取液经免疫亲和柱净化和富集, 净化液浓缩、定容和过滤后经液相色谱分离, 柱后光化学衍生, 经荧光检测器检测, 外标法定量。

四、试剂和材料

4.1 试剂

4.1.1 甲醇 (CH_3OH): 色谱纯

4.1.2 乙腈 (CH_3CN): 色谱纯

4.1.3 纯水

4.1.4 AFT B1 标准品($\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_6$, CAS 号:1162-65-8): 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.1.5 AFT B2 标准品($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$, CAS 号:7220-81-7): 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.1.6 AFT G1 标准品($\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_7$, CAS 号:1165-39-5): 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.1.7 AFT G2 标准品 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$, CAS 号:7241-98-7): 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.2 试剂配制

4.2.1 乙腈-甲醇溶液(50+50): 取 500mL 乙腈加入 500mL 甲醇。

4.3 材料与仪器

4.3.1 天平: 感量 0.00001g

4.3.2 容量瓶: 100mL 和 10mL 若干

4.3.3 液相色谱仪: 福立 LC5090 梯度输液泵+福立 LC5090 柱温箱+岛津 RF-20 荧光检测器

4.3.4 液相色谱柱: Sunniest C18 色谱柱, 柱长 250mm, 内径 4.6mm, 粒径 5 μ m

4.3.5 光化学柱后衍生器 (型号)

4.3.6 一次性微孔滤头: 带 0.22 μ m 微孔滤膜(所选用滤膜应采用标准溶液检验确认无吸附现象, 方可使用)。

五、标准系列配置

5.1 标准储备溶液(10 μ g/mL): 分别称取 AFT B1、AFT B2、AFT G1 和 AFT G2 各 1 mg(精确至 0.01 mg), 用乙腈溶解并定容至 100 mL。此溶液浓度约为 10 μ g/mL。溶液转移至试剂瓶中后, 在-20 $^{\circ}$ C 下避光保存, 备用。临用前进行浓度校准(校准方法参见附录 A)。

5.2 混合标准工作液(AFT B1 和 AFT G1:100 ng/mL, AFT B2 和 AFT G2:30 ng/mL): 准确移取 AFT B1 和 AFT G1 标准储备溶液各 1mL, AFT B2 和 AFT G2 标准储备溶液各 300 μ L 至 100 mL 容量瓶中, 乙腈定容。密封后避光-20 $^{\circ}$ C下保存, 三个月内有效。

5.3 标准系列工作溶液:分别准确移取混合标准工作液 50 μ L、100 μ L、200 μ L、400 μ L、800 μ L、1600 μ L 至 10 mL 容量瓶中, 用初始流动相定容至刻度(含 AFT B1 和 AFT G1 浓度为 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、4.0 ng/mL、8.0 ng/mL、16.0 ng/mL, AFTB2 和 AFTG2 浓度为 0.15 ng/mL、0.3 ng/mL、0.6 ng/mL、1.2 ng/mL、2.4 ng/mL、4.8 ng/mL 的系列标准溶液)。

六、色谱条件

流动相: A 相:5 mmol/L 乙酸铵溶液; B 相:乙腈-甲醇溶液(50+50);

梯度洗脱: 32% B(0 min~0.5 min),45% B(3 min~4 min), 100% B(4.2 min~4.8 min),
32% B(5.0 min~7.0 min);

流速: 1.0 ml/ min;

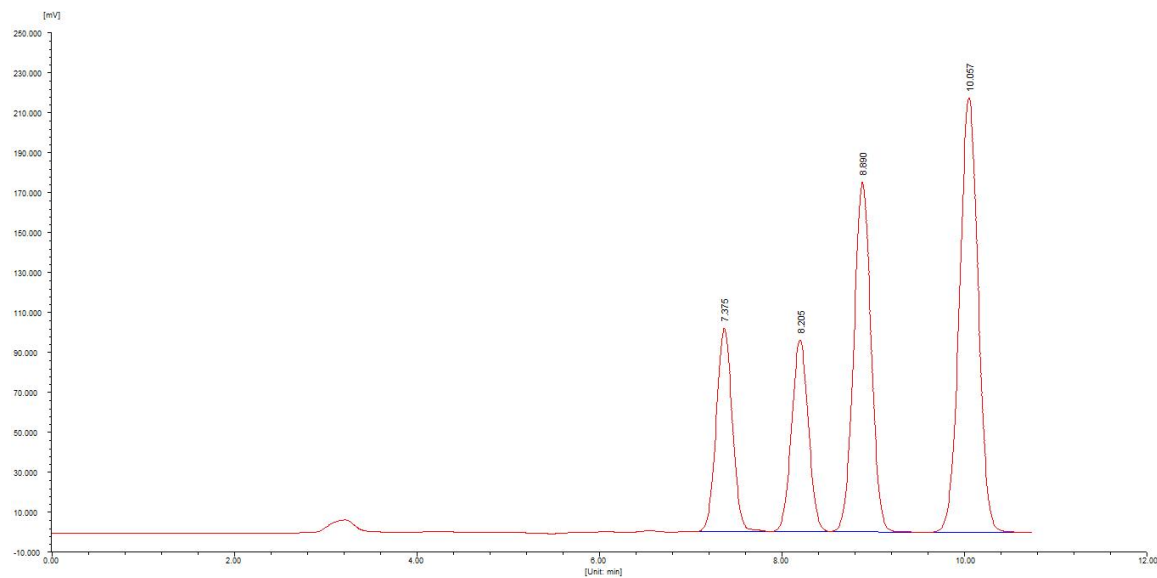
柱温: 40 $^{\circ}$ C;

进样体积: 10 μ L。

七、分析结果

7.1 液相色谱图及结果

a)标样谱图及结果(AFT B1 和 AFT G1 浓度为 16.0 ng/mL, AFT B2 和 AFT G2 浓度为 4.80 ng/mL)



名称	t/min	峰面积/ μ Au*s	峰高/ μ Au	理论塔板	拖尾因子
AFT G2	7.375	1259058.4	102069.2	8346	1.030
AFT G1	8.205	1226855.2	95926.8	9481	1.024
AFT B2	8.890	2313097.9	175200.2	10418	1.008
AFT B1	10.057	3103287.7	217709.7	11576	1.000

联系电话: 0576-89965381

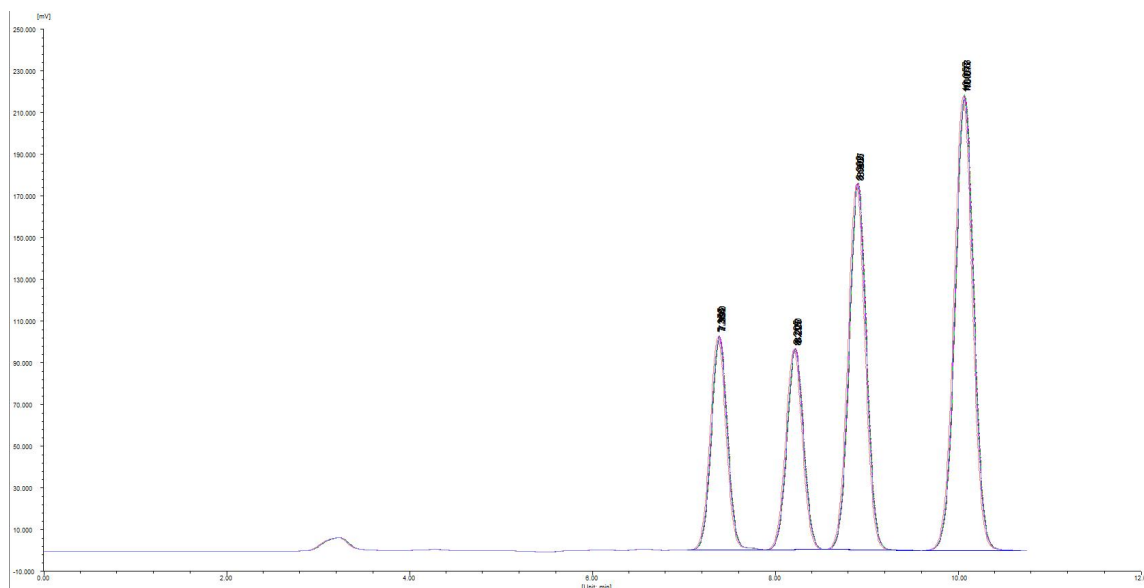
地址: 浙江温岭经济开发区百丈南路95号

分析员:

邮编: 317500

审核: 刘健

b)标样重复性谱图及结果(AFT B1 和 AFT G1 浓度为 16.0 ng/mL, AFT B2 和 AFT G2 浓度为 4.80 ng/mL)



序号		1	2	3	4	5	6	平均值	RSD/%
t/min	AFT G2	7.375	7.395	7.392	7.390	7.388	7.387	7.388	0.093
	AFT G1	8.205	8.225	8.222	8.220	8.218	8.217	8.218	0.084
	AFT B2	8.890	8.910	8.907	8.905	8.903	8.902	8.903	0.077
	AFT B1	10.057	10.077	10.073	10.072	10.070	10.068	10.069	0.068
峰面积 /μAu*s	AFT G2	1259058.4	1261998.3	1263958.7	1266898.2	1254158.1	1257098.2	1260528.3	0.3704
	AFT G1	1226855.2	1229915.1	1231955.3	1235015.3	1221755.2	1224815.1	1228385.1	0.3956
	AFT B2	2313097.9	2321417.5	2323498.3	2321417.5	2304778.3	2307897.7	2315351.3	0.3414
	AFT B1	3103287.7	3112007.0	3114187.3	3108736.5	3094566.7	3097837.1	3105103.7	0.2538
峰高 /μAu	AFT G2	102069.2	102334.4	102569.1	102869.1	101534.4	101869.1	102207.6	0.4736
	AFT G1	95926.8	96262.5	96462.5	96762.5	95426.8	95762.5	96100.6	0.5085
	AFT B2	175200.2	175963.5	176200.2	176000.2	174400.2	174663.5	175404.7	0.4342
	AFT B1	217709.7	218509.7	218709.7	218209.7	216909.7	217209.7	217876.4	0.3318

联系电话： 0576-89965381

地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号

分析员：

邮编： 317500

审核：刘健



7.2 标准曲线

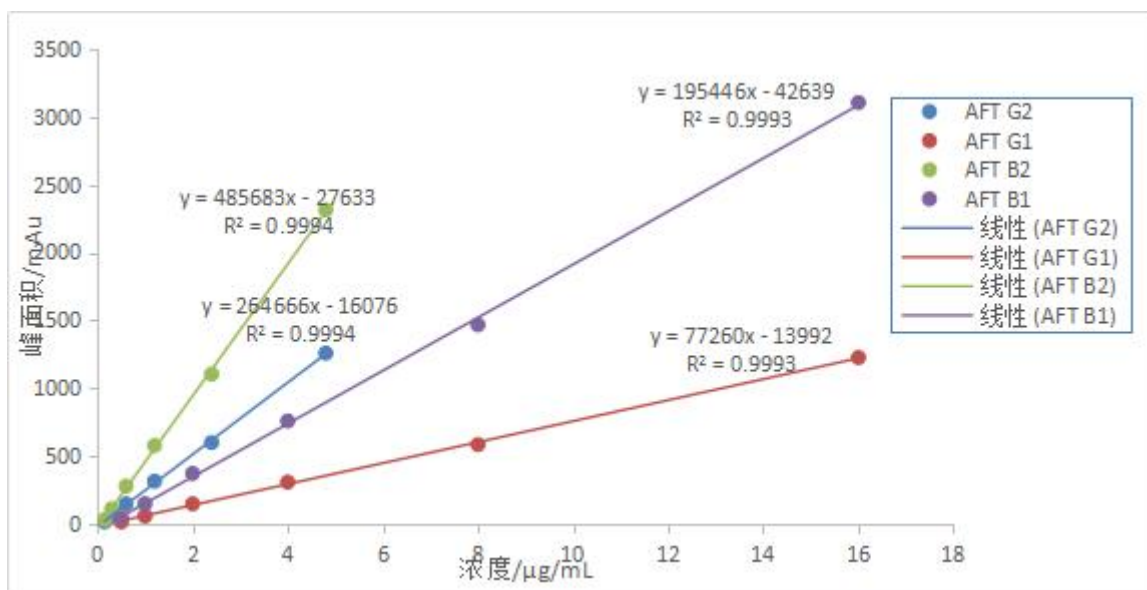
标准曲线的绘制：AFT B1 和 AFT G1 浓度依次为 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、4.0 ng/mL、8.0 ng/mL、16.0 ng/mL，AFT B2 和 AFT G2 浓度依次为 0.15 ng/mL、0.30 ng/mL、0.60 ng/mL、1.20 ng/mL、2.40 ng/mL、4.80 ng/mL 做标准曲线。

AFT G2：相关系数为 0.9994

AFT G1：相关系数为 0.9993

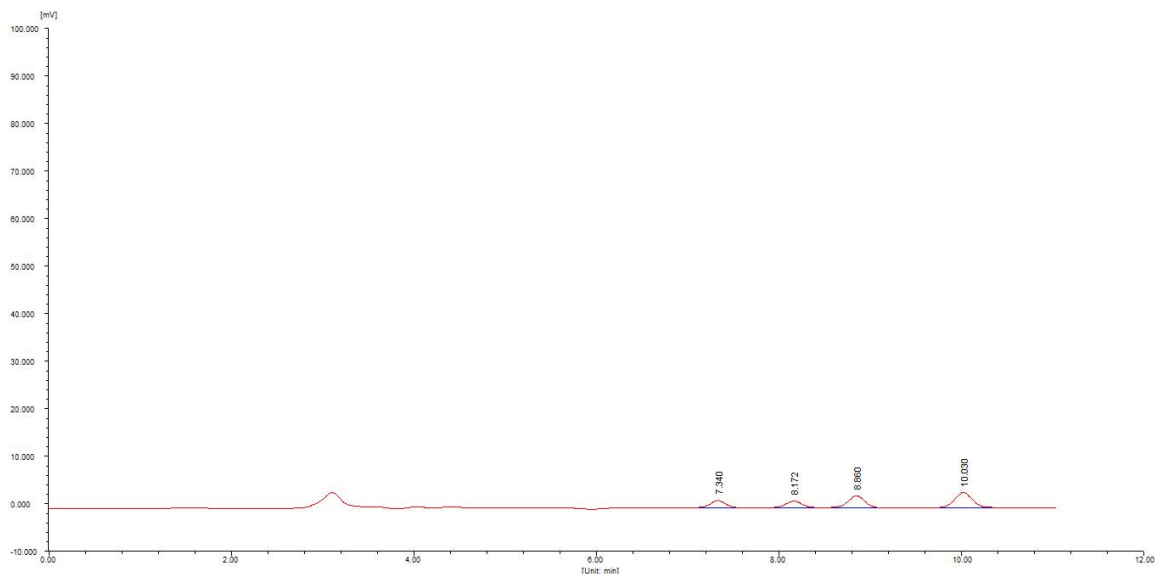
AFT B2：相关系数为 0.9994

AFT B1：相关系数为 0.9993





7.3 最低检出限 (AFT B1 和 AFT G1 浓度为 0.5 ng/mL, AFT B2 和 AFT G2 浓度为 0.15 ng/mL)



名称	t/min	峰面积/ $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$	峰高/ μAu	理论塔板	拖尾因子
AFT G2	7.340	17379.8	1489.0	9043	1.009
AFT G1	8.172	17073.0	1374.2	9897	1.025
AFT B2	8.860	33217.5	2549.1	11055	0.940
AFT B1	10.030	45614.0	3215.8	12056	1.029

计算得到 AFT G2 最低检出限为: $0.15 \times 30 \div 1489.0 = 0.003 \text{ ng/mL}$

AFT G1 最低检出限为: $0.5 \times 30 \div 1374.2 = 0.01 \text{ ng/mL}$

AFT B2 最低检出限为: $0.15 \times 30 \div 2549.1 = 0.002 \text{ ng/mL}$

AFT B1 最低检出限为: $0.5 \times 30 \div 3215.8 = 0.005 \text{ ng/mL}$

7.4 实验结果

方法验证结论：各测试水平的检出限、线性相关系数结果汇总：

方法验证汇总表

化合物	最低检出限 （ng/mL）	标准曲线线性相关系数
AFT G2	0.003	0.9994
AFT G1	0.01	0.9993
AFT B2	0.002	0.9994
AFT B1	0.005	0.9993