

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.23—2006
代替 GB/T 5009.23—2003

GB/T 5009.23—2006

食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定

Determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ in foods

中华人民共和国
国家标准
食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定
GB/T 5009.23—2006

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

2007年2月第一版 2007年2月第一次印刷

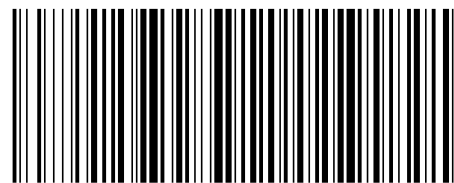
*

书号: 155066·1-28833 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 5009.23-2006

2006-09-14 发布

2007-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

此溶液密封后避光 4℃ 保存,三个月有效。

12.10 标准系列溶液:准确移取标准工作液适量,至 10 mL 容量瓶中,加乙腈(分析纯)稀释至刻度(含黄曲霉毒素 B₁、G₁ 的浓度为 0.00 μg/L、0.500 0 μg/L、1.000 μg/L、2.000 μg/L、5.000 μg/L、10.00 μg/L、25.00 μg/L、50.00 μg/L、100.0 μg/L;黄曲霉毒素 B₂、G₂ 的浓度为 0.00 μg/L、0.125 0 μg/L、0.250 0 μg/L、0.500 0 μg/L、1.250 μg/L、2.500 μg/L、6.250 μg/L、12.50 μg/L、25.00 μg/L 的系列标准溶液),注意避光。

13 仪器和设备

13.1 液相色谱系统(HPLC):附荧光检测器。

13.2 色谱柱:反相 C₁₈ 柱,要求 4 种毒素的峰能够达到基线分离。

13.3 含有反相离子交换吸附剂的多功能净化柱:Mycosep™226 MFC 柱或 Mycosep™228 MFC 柱¹⁾。

13.4 电动振荡器。

13.5 漩涡混合器。

13.6 烘干箱。

13.7 离心机。

13.8 真空吹干机,或氮气及水浴锅。

13.9 天平:感量为万分之一。

14 分析步骤

14.1 试样提取

称取 20 g 经充分粉碎过的试样至 250 mL 的三角瓶中,加入 80 mL 乙腈-水(84+16)提取液,在电动振荡器上振荡 30 min 后,定性滤纸过滤,收集滤液。

14.2 试样净化

移取约 8 mL 提取液至多功能净化柱的玻璃管内,将多功能净化柱的填料管插入玻璃管中并缓慢推动填料管,净化液就被收集到多功能净化柱的收集池中。

14.3 试样衍生化

从多功能净化柱的收集池内转移 2 mL 净化液到棕色具塞小瓶中,在真空吹干机下 60℃±1℃ 吹干(或在 60℃ 水浴下氮气吹干,注意不要使液体鼓泡、飞溅)。加入 200 μL 正己烷和 100 μL 三氟乙酸,密闭混匀 30 s 后,在 40℃±1℃ 烘干箱中衍生 15 min。室温真空吹干机吹干(或室温水浴下氮气吹干),以 200 μL 水-乙腈(85+15)溶解,混匀 30 s,1 000 r/min 离心 15 min,取上清液至液相色谱仪的样品瓶中,供测定用。

14.4 标准系列溶液的制备

吸取标准系列溶液各 200 μL,在真空吹干机下 60℃ 吹干(或在 60℃ 水浴下氮气吹干,注意不要使液体鼓泡、飞溅),衍生化方法同 14.3。

14.5 测定

14.5.1 色谱条件

色谱柱:12.5 cm×2.1 mm,5 μm,C₁₈。

柱温:30℃。

流动相:乙腈(色谱纯),水,梯度洗脱的变化可参考表 2。调整洗脱梯度,使 4 种黄曲霉毒素的保留时间在 4 min~25 min。

1) Mycosep™226 MFC 柱或 Mycosep™228 MFC 柱是由 Romer Labs 提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

前 言

本标准代替 GB/T 5009.23—2003《食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定》

本标准与 GB/T 5009.23—2003 相比主要变化如下:

——增加了第三法,即高效液相色谱测定方法。

第三法对应于国际分析家协会(AOAC)AOAC Official Method 994.08 方法《用多功能柱检测玉米、杏仁、巴西坚果、花生和阿月浑子果中黄曲霉毒素的方法》[Aflatoxins in Corn, Almonds, Brazil Nuts, Peanuts, and Pistachio Nuts—Multifunctional Column(Mycosep) Method]。本标准与 AOAC Official Method 994.08 的一致性程度为非等效。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准第一法由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所、中华人民共和国青岛进出口商品检验局负责起草。

本标准第二法由北京市卫生防疫站、中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所、卫生部食品卫生监督检验所负责起草。

本标准第三法由中国疾病预防控制中心营养与食品安全所负责起草;山东省疾病预防控制中心、宁波市疾病预防控制中心、厦门市疾病预防控制中心参加起草。

本标准第三法主要起草人:刘秀梅、王君、李凤琴、计融、陈金东、姚浔平、骆和东、张宏元。

本标准于 1985 年首次发布,1996 年第一次修订,2003 年第二次修订,本次为第三次修订。

标准使用液Ⅱ代替黄曲霉毒素 B₁ 标准使用液(0.04 μg/mL)。稀释定量与结果计算参照 GB/T 5009.22—2003 中 5.3.2.2 与 5.3.1.6。

第二法 微柱筛选法

7 原理

试样提取液通过由氧化铝与硅镁吸附剂组成的微柱层析管,杂质被氧化铝吸附,黄曲霉毒素被硅镁吸附剂吸附,在 365 nm 紫外线下呈蓝紫色荧光,其荧光强度在一定范围内与黄曲霉毒素的含量成正比,由于微柱不能分离 B₁、B₂、G₁、G₂,故结果为黄曲霉毒素的总量。

8 试剂

- 8.1 石油醚:沸程 60℃~90℃或 30℃~60℃。
- 8.2 中性氧化铝:层析用 100 目~200 目。
- 8.3 酸性氧化铝:层析用 100 目~200 目。
- 8.4 无水硫酸钠:过 40 目~80 目筛或 80 目~100 目筛。
- 8.5 硅镁型吸附剂:层析用 100 目~200 目。
- 8.6 甲醇水溶液:(55+45)。
- 8.7 展开剂:丙酮-三氯甲烷(1+9)。
- 8.8 脱脂棉:用索氏提取器以二氯甲烷为溶剂提取 2 h 后,挥干后贮于瓶中保存。
- 8.9 黄曲霉毒素 B₁ 标准液:用苯-乙腈(98+2)配成 0.4 μg/mL 的贮存液及 0.1 μg/mL 的使用液,避光冷藏。

注:层析用氧化铝、硅镁型吸附剂、无水硫酸钠应在 120℃活化 2 h,密塞,贮干燥器内可保存一周。

9 仪器

- 9.1 紫外光灯:8 W~100 W,带有波长 365 nm 滤光片。
- 9.2 微柱管:内径 0.4 cm、长 12 cm 的玻璃管,为加液方便上加一段粗管。
- 9.3 微柱管架。
- 9.4 微量注射器:50 mL。

10 分析步骤

10.1 提取

10.1.1 粮食、花生及其制品:取粉碎过筛(20 目)试样 20.00 g 于具塞锥形瓶中,加 100 mL 甲醇水溶液,30 mL 石油醚,密塞振摇 30 min,静置片刻,过滤于 50 mL 具塞量筒中,收集 50 mL 甲醇水滤液(注意切勿将石油醚层带入滤液中),转入分液漏斗中,加 50 mL 硫酸钠溶液(20 g/L)稀释,加三氯甲烷 10 mL,轻摇 2 min~3 min,静置分层,三氯甲烷层通过装有 5 g 无水硫酸钠的小漏斗脱水(以少量脱脂棉球塞住漏斗颈口,并以少量三氯甲烷润湿),并滤入 10 mL 比色管中,再向分液漏斗中加 3 mL 三氯甲烷重提一次,脱水后滤入原比色管中,以少量三氯甲烷洗漏斗并定容至 10.0 mL,密塞,混匀,待测。此样液 1 mL 相当 1.0 g 试样。

10.1.2 植物油:称混匀油样 10.00 g 于 20 mL 的烧杯中,用 50 mL 石油醚分数次洗入分液漏斗中,加 50 mL 甲醇水轻摇 2 min~3 min,静置分层,将下层甲醇水转入另一分液漏斗中,加 50 mL 硫酸钠水溶液(20 g/L)稀释,加三氯甲烷 10 mL,以下按 10.1.1 自“轻摇 2 min~3 min……”起操作。此样液 1 mL

食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定

1 范围

本标准规定了各种食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定方法。

本标准的第一法、第二法适用于各种食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定,第三法适用于大米、玉米、花生、杏仁、核桃、松子等食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定。

本标准第一法和第二法的最低检出量:黄曲霉毒素 B₁、G₁ 为 0.004 μg, B₂、G₂ 为 0.002 μg;最低检出浓度:黄曲霉毒素 B₁、G₁ 为 5 μg/kg, B₂、G₂ 为 2.5 μg/kg。

第三法中黄曲霉毒素的检出限: B₁、G₁ 为 0.50 μg/L, B₂、G₂ 为 0.125 μg/L,相当于样品中的浓度: B₁、G₁ 为 0.20 μg/kg, B₂、G₂ 为:0.05 μg/kg。黄曲霉毒素的线性范围: B₁、G₁ 为 0.50 μg/L~100.0 μg/L, B₂、G₂ 为 0.125 μg/L~25.0 μg/L。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.22—2003 食品中黄曲霉毒素 B₁ 的测定

第一法 薄层色谱法

3 原理

试样经提取、浓缩、薄层分离后,在 365 nm 紫外光下,黄曲霉毒素 B₁、B₂ 产生蓝紫色荧光,黄曲霉毒素 G₁、G₂ 产生黄绿色荧光,根据其在薄层板上显示的荧光的最低检出量来定量。

4 试剂

- 4.1 同 GB/T 5009.22—2003 中 3.1~3.13。
- 4.2 次氯酸钠溶液(消毒用):配制方法见 GB/T 5009.22—2003 中 3.16。
- 4.3 苯-乙醇-水(46+35+19)展开剂:取此比例配制的溶液置于分液漏斗中,振摇 5 min,静置过夜。将上下层溶液分别置于具塞瓶中保存,上下层交界的溶液弃去不要。若溶液出现混浊,则在 80℃水浴上加热,待清晰后,即停止加热,取上层溶液作展开剂用。另取一定量的下层溶液置小皿中,再放于展开槽内。将薄层板放入展开槽内,预先饱和 10 min 后展开。
- 4.4 硫酸(1+3)。
- 4.5 黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 标准溶液如下:
 - 4.5.1 单一标准溶液(10 μg/mL):准确称取黄曲霉毒素 B₁、G₁ 标准品各 1 mg~1.2 mg,黄曲霉毒素 B₂、G₂ 标准品各 0.5 mg~0.6 mg,用苯-乙腈混合液作溶剂。配制方法、浓度及纯度的测定参照 GB/T 5009.22—2003 中 3.14。

黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的分子质量及用苯-乙腈作溶剂时的最大吸收峰的波长及摩尔消光系数见表 1。