

ICS 67.050
X 04
备案号: 36360-2013

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 1535—2011

人参中黄曲霉素 B₁ 的测定 液相色谱法

Determination of aflatoxin B₁ in Gginsengs——Liquid chromatography

2012 - 04 - 01 发布

2012 - 05 - 01 实施

吉林省质量技术监督局 发 布

前 言

本标准按 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由吉林省工信厅提出并归口。

本标准起草单位：吉林省现代检测技术工程研究中心。

本标准起草人：石莹岩、丁兰、周丽、王旭、宋薇、陈雷。

人参中黄曲霉素 B₁ 的测定 液相色谱法

1 范围

本标准规定了人参中黄曲霉素B₁的测定方法的原理、试剂、材料、检测仪器、分析步骤、结果计算和方法的精密度。

本标准适用于生晒参中黄曲霉素B₁的测定。

本标准的检出限：1 µg/kg。

本标准的测定范围：0.5 µg/L—100 µg/L。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样经乙腈-水提取，提取液过滤后，经多功能净化柱净化，去除脂肪、蛋白质、色素及碳水化合物等干扰物质。净化液中的黄曲霉素B₁以三氟乙酸衍生，用带有荧光检测器的液相色谱系统分析，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯。

4.1 水，符合 GB/T 6682 规定的一级水要求。

4.2 乙腈。

4.3 乙腈，色谱纯。

4.4 三氟乙酸。

4.5 正己烷。

4.6 乙腈-水提取液（84+16）：量取乙腈（4.2）840 mL，加水 160 mL，混匀。

4.7 水-乙腈溶液（85+15）：量取乙腈（4.3）150 mL，加水 850 mL，混匀。

4.8 标准储备液（20000 mg/L）：分别准确称取黄曲霉素 B₁ 0.2000 g（精确至 0.000 1 g），置于 10 mL 容量瓶中，加乙腈（4.3）溶解，并稀释至刻度。此溶液密封后避光-30 °C 保存，两年有效。

4.9 标准工作液（200 mg/L）：准确移取标准储备液 0.100 mL，至 10 mL 容量瓶中，加乙腈（4.3）稀释至刻度。此溶液密封后避光 4 °C 保存，两个月有效。

4.10 标准系列溶液：准确移取标准工作液，至 10 mL 容量瓶中，加乙腈（4.3）稀释至刻度（含黄曲霉素 B₁ 浓度为 0.10 µg/L、0.50 µg/L、1.00 µg/L、2.00 µg/L、5.00 µg/L、10.00 µg/L、25.00 µg/L、50.00 µg/L、100.00 µg/L 的系列标准溶液），注意避光。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱仪：具荧光检测器。
- 5.2 可调式振荡器。
- 5.3 涡旋混合器。
- 5.4 烘箱。
- 5.5 氮吹仪。
- 5.6 离心机。
- 5.7 植物样本粉碎机。
- 5.8 分析天平：感量 0.1 mg。
- 5.9 含有反向离子交换吸附剂的多功能净化柱。

6 样品制备

6.1 试样制备

人参样品去杂后，磨碎，过20目筛（40 μm ~60 μm ），全部通过，储于洁净容器中，保存备用。

注：在采样和制备过程中，应避免试样污染。

6.2 提取

称取20.000 g（精确到0.001 g）具有代表性的试样至250 mL的三角瓶中，加80 mL乙腈-水（4.6）定容，震荡30 min后过滤，收集滤液。

6.3 净化

移取约 8 mL 提取液至多功能净化柱的玻璃管中，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。

6.4 衍生化

从多功能净化柱的收集池内转移2 mL净化液到液相色谱用棕色样品瓶中，在60℃水浴下氮气吹干。加入200 μL 正己烷（4.5）和100 μL 三氟乙酸（4.4），密闭混匀30 s后，在40℃ $\pm$ 1℃烘箱中衍生15 min。室温水浴下氮气吹干，以200 μL 水-乙腈（4.7）溶解，混匀30 s，1 000 r/min离心15 min，取上清液至液相色谱仪样品瓶中，供测定用。

6.5 标准系列溶液的衍生化

吸取标准系列溶液各200 μL ，在60℃水浴下氮气吹干，衍生化方法同6.4。

6.6 测定

6.6.1 液相色谱参考条件

- 6.6.1.1 色谱柱：反相 C18 柱，长 12.5 cm、内径 2.1 mm、粒径 5 μm ；或等效柱。
- 6.6.1.2 柱温：30℃。
- 6.6.1.3 流动相：乙腈（4.3），水，梯度洗脱的变化可参考表 1。

表1 流动相的梯度变化

时间 min	乙腈 %	水 %
0.00	15.0	85.0
6.00	17.0	83.0
8.00	25.0	75.0
14.00	15.0	85.0

- 6.6.1.4 流速：0.5 mL/min。
- 6.6.1.5 荧光检测器：激发波长：360 nm；发射波长：440 nm。
- 6.6.1.6 进样量：25 μL。

6.6.2 色谱分析

以标准系列的峰面积对浓度绘制黄曲霉素B₁的标准曲线。试样通过与标准色谱图保留时间的比较定性，根据黄曲霉素B₁的标准曲线及试样中的峰面积计算试样中的黄曲霉素B₁含量。

6.6.3 色谱图

色谱图参见附录A。

7 结果计算

样品中黄曲霉素B₁的含量按式（1）计算。

$$x = \frac{A \times V}{m \times f} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X——试样中黄曲霉素B₁的含量，单位为微克每千克（μg/kg）；
- A——试样按外标法在标准曲线中对应的浓度，单位为微克每升（μg/L）；
- V——试样提取过程中提取液的体积，单位为毫升（mL）；
- f——试样溶液衍生后较衍生前的浓缩倍数；
- m——试样质量，单位为克（g）；

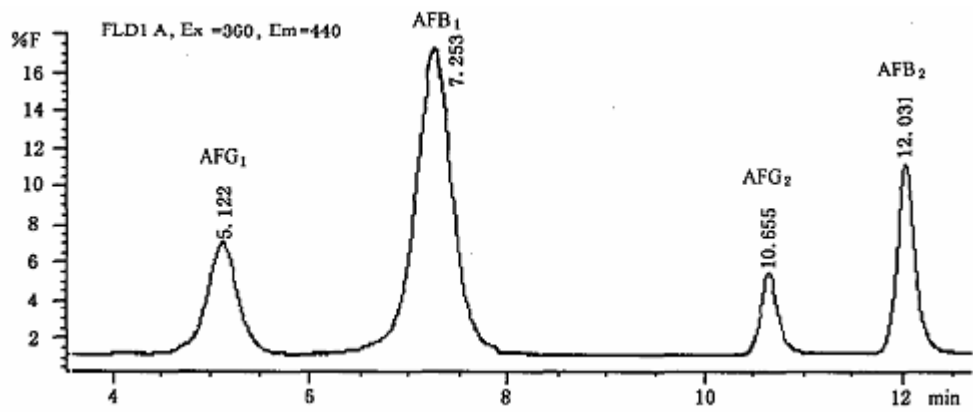
计算结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

附 录 A
(资料性附录)
黄曲霉素混合标准溶液的色谱图

黄曲霉素混合标准溶液的色谱图见图A. 1。



1、黄曲霉素 G₁；2、黄曲霉素 B₁；3、黄曲霉素 G₂；4、黄曲霉素 B₂。

图A. 1 黄曲霉素混合标准溶液的色谱图