中国粮油学会团体标准

食用油中黄曲霉毒素 B_1 的测定 时间分辨荧光免疫层析法

编制说明

起草小组

2024 年 2 月

《食用油中黄曲霉毒素 B1 的测定 时间分辨荧光免疫层析法》编制说明

一、工作简况：任务来源、目的意义、国内外相关标准情况、主要工作过程、标准主编单位和参编单位、人员及分工等。

（一）任务来源

任务来源于中粮油学发〔2023〕90 号《关于发布中国粮油学会 2023 年团体标准立项公告的通知》。

（二）目的意义

黄曲霉毒素 B1 是由黄曲霉和寄生曲霉等菌株产生的有毒次生代谢产物，具有致癌致畸致突变作用，国际癌症研究机构将其列为 I 类致癌物。广泛存在于霉变的花生、玉米、食用油等农产品中。食用油是人们日常烧菜中必不可少的调料，在加工和储藏过程中易受黄曲霉毒素的污染。我国为了保护人民的健康安全，在 GB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中明确规定：黄曲霉毒素 B1 在花生油、玉米油中限量值为 20 μg/kg，在除花生油、玉米油外的植物油脂中限量值为 10 μg /kg。然而，食用油中黄曲霉毒素含量超标事件屡有发生。2021 年，河北省邢台市市场监管局通报河北厨友食用油有限公司的香油黄曲霉毒素 B1 超标；2020 年，广州市市场监督管理局查处香润食用植物油加工店花生油黄曲霉毒素 B1 超标；2019 年，国家市场监管总局抽查出“熊八妹花生油”的黄曲霉毒素 B1 超标 12 倍多。黄建锋等对全国 9 大城市花生油黄曲霉毒素 B1 的调查发现，其平均超标率为 3.4%；程恒怡等对广西居民食用植物油黄曲霉毒素 B1 膳食暴露评估发现，食用植物油中黄曲霉毒素 B1 的超标率为 25.56%，其中花生油中黄曲霉毒素 B1 的超标率达 31.51%；邓幸飞等对不同生产企业中花生原料和花生油中黄曲霉毒素 B1 的污染分析发现，小作坊花生油中黄曲霉毒素 B1 的超标率为 11.8%。

目前，黄曲霉毒素的检测方法主要包括：薄层色谱法、高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法、酶联免疫吸筛查法与放射免疫法等。薄层色谱法曾是使用最广泛的分析方法，但是由于操作步骤繁琐，毒性大，现在已经很少使用。高效液相色谱-串联质谱法与高效液相色谱法因为设备价格较高，还不能在基层检验检测机构普遍采用，而酶联免疫吸附筛查法因准确度不高而仅限于常规的定性快速筛查检测。时间分辨荧光免疫层析法是近年来发展较为迅速的方法，是国际先进、成熟、通行的测定技术，具有简便、快速、廉价、对操作人员要求较低、现场结果可视化等优点，基本满足基层监管的需求，

可配备于农贸市场快检室、快检车等。因此，研究建立食用油中黄曲霉毒素测定时间分辨荧光免疫层析法，能有促进我国食用油质量安全等产品质量安全生产，有效保障食用油消费安全。项目申请团队前期研制出黄曲霉毒素高灵敏抗体靶向创制技术，获得国家技术发明二等奖，为本项目的顺利实施提供坚实的基础。

制定《食用油中黄曲霉毒素 B1 的测定　时间分辨荧光免疫层析法》中国粮油学会团体标准，为农食用油安全监管提供关键技术支撑，是从源头上实现高效监管的基础和有效抓手，保证农产品及食品消费安全的重要技术支撑。

（三）国内外相关标准情况

从上世纪 90 年代，我国逐渐建立了多种食用油黄曲霉毒素测定技术，这些技术为食用油黄曲霉毒素测定做出了一定贡献，但也存在着操作复杂、污染大、准确率不高、未符合国情、与国际通行测定技术未全面接轨等缺陷；特别是随着时代的发展，已经不能适应中国食用油现代化安全生产准确度高、操作简单的测定要求。我国相关标准有 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》，该测定方法中薄层色谱法操作复杂毒性大，酶联免疫法假阳性率高，高效液相色谱与液质联用法都需要大型仪器，无法满足现场快速检测需求；LS/T 6122-2017 《粮油检验 粮油及制品中黄曲霉毒素含量测定 柱后光化学衍生高效液相色谱法》需要高效液相色谱仪成本高，不适合现场快速检测；KJ 201708 《食用油中黄曲霉毒素 B1 的快速检测 胶体金免疫层析法》采用胶体金试纸条，在花生油中检出限为 20 μg/kg，无法进行精准微量定量检测。国外 AOAC Official Method 968.22 标准中，需要用到三氯甲烷等剧毒试剂，且薄层色谱法耗时长，无法精准定量。缺乏适合我国国情的食用油黄曲霉毒素测定方法，是提高食用油质量和市场竞争力的重要限制因素。建立符合国情、准确可靠、与国际接轨的食用油中黄曲霉毒素测定方法是食用油生产、监管的迫切需求。

（四）主要工作过程

前期工作，提案和立项。2023 年 5 月-2023 年 12 月，由中国农业科学院油料作物研究所、武汉轻工大学、武汉华美维士康生物工程有限公司成立标准工作组，启动《食用油中黄曲霉毒素 B1 的测定 时间分辨荧光免疫层析法》制定工作。工作组通过调查研究，收集相关技术资料，确定标准框架和编写原则，完成标准初稿。向归口单位提交立项申请，并开展项目立项专家论证。开展征求意见。2024 年 1 月-2024 年 3 月，工作组就标准草案进行讨论完善后形成征求意见稿，并向相关单位征求意见。

（五）标准主编单位和参编单位

标准主编单位：中国农业科学院油料作物研究所

标准参编单位：武汉轻工大学、武汉华美维士康生物工程有限公司

（六）人员及分工等

李培武，中国农业科学院油料作物研究所，研究员，负责指导标准研制工作。

胡小风，中国农业科学院油料作物研究所，助理研究员，负责研究相关技术，起草标准、验证、征求意见等工作。

张兆威，中国农业科学院油料作物研究所，研究员，负责统筹标准起草、验证、征求意见等工作。

吴文琴，中国农业科学院油料作物研究所，助理研究员，负责协助验证、征求意见等工作。

张奇，中国农业科学院油料作物研究所，研究员，负责指导验证、征求意见等相关工作。

何东平，武汉轻工大学，教授，负责研究建立相关规范。

华权高，武汉华美维士康生物工程有限公司，董事长，负责技术规范验证。

王督，中国农业科学院油料作物研究所，副研究员，负责研究快速检测质量关键控制点。

姜俊，中国农业科学院油料作物研究所，副研究员，负责研究快速检测质量关键控制点。

马飞，中国农业科学院油料作物研究所，副研究员，负责研究快速检测质量关键控制点。

唐晓倩，中国农业科学院油料作物研究所，副研究员，负责研究快速检测质量关键控制点。

二、标准编制原则和确定标准的主要内容(如技术指标、参数公式、性能、要求、实验方法、检验规则等)的论据:

（一）标准编制原则

本标准按照 GB/T 1.1—2020 给出的规则起草。

（二）确定标准的主要内容

1 主要内容

1.1 适用范围

本标准规定了时间分辨荧光免疫层析法测定食用油中黄曲霉毒素 B1 方法。

本标准适用于大豆油、菜籽油、花生油等食用油中黄曲霉毒素 B1 的测定。。

1.2 主要原理

试样中黄曲霉毒素 B1 与铕乳胶标记的特异性抗体发生结合后，抑制了层析过程中抗体与硝酸纤维素膜检测线上黄曲霉毒素 B1-BSA 偶联物的免疫反应，使检测线时间分辨荧光强度降低，通过检测时间分辨荧光强度变化进行定量测定。

1.3 性能及评价

本标准黄曲霉毒素 B1 的检出限为 1.0 μg/ kg。

本标准黄曲霉毒素 B1 的线性范围 1-25 μg/kg。1 主要内容

2 前处理条件的优化

2.1 取样量的优化

对食用油取样量进行优化，以花生油、大豆油、菜籽油为例，研究部分实验结果见表 1。

取样量为 1.0 g 时，5 次重复检测结果的相对标准偏差（RSD%）分别为：花生油 9.5%、大豆油 6.3%、菜籽油 6.7%，显著低于取样量为 0.2 g 和 0.5 g 时 5 次重复检测结果的相对标准偏差，与取样量为 2.0 g 和 5.0 g 时 5 次重复检测结果的平均值和相对标准偏差均无显著差异，相对标准偏差在 15%以内，重复性符合检测要求。综合考虑取样的代表性、前处理时间和试剂用量等因素，选择最佳取样量为 1.0 g。

表 1　食用植物油取样量对样品检测结果重复性的影响

样品	取样量，g	检测结果，μg/kg					平均值 μg/kg	RSD %
		1	2	3	4	5		
花生油	0.2	39.00	27.00	22.05	19.20	20.85	25.62	31.33
	0.5	28.50	30.15	20.55	25.20	27.45	26.37	14.09
	1.0	25.35	21.15	20.25	21.15	23.70	22.32	9.53
	2.0	23.85	21.00	19.65	19.35	22.95	21.36	9.31
	5.0	19.05	19.50	20.40	16.20	17.25	18.48	9.28
大豆油	0.2	6.46	9.07	11.05	8.94	9.34	8.97	18.29
	0.5	11.65	8.02	11.01	9.80	9.61	10.02	13.99
	1.0	9.34	9.60	9.56	9.84	9.30	9.33	6.27
	2.0	11.61	9.35	9.96	10.93	10.08	10.39	8.53
	5.0	10.16	12.05	9.35	9.76	10.07	10.28	10.12
菜籽油	0.2	5.60	5.05	8.20	5.80	4.75	5.88	23.18
	0.5	4.30	5.45	6.40	4.80	5.65	5.32	15.16
	1.0	6.45	5.90	6.20	5.45	5.70	5.94	6.67
	2.0	4.99	5.57	5.68	5.68	6.26	5.64	8.01
	5.0	5.80	5.68	5.34	4.93	6.09	5.57	8.02

2.2 提取溶剂选择和用量

2.2.1 提取溶剂选择

测定花生油、大豆油和菜籽油等食用油中黄曲霉毒素 B1，主要使用的提取溶剂有：甲醇溶液、乙醇溶液、乙腈溶液和三氯甲烷。其中，三氯甲烷提取黄曲霉毒素后，主要与液液萃取或经弗罗里硅土柱净化方式联用，且毒性较大；乙腈溶液提取黄曲霉毒素后，主要是与装有反向离子交换吸附剂的多功能净化柱联用；甲醇溶液有毒，对人体有害。考虑到检测方法的适用性和与相关标准检测结果的可比性，选择提取溶剂为乙醇溶液。

2.2.2 提取溶剂量优化

实验材料包括花生油、大豆油和菜籽油，分别用 80%乙醇溶液 50 mL、75 mL、100 mL、125 mL 和 150 mL 提取，进行 5 次重复实验，比较不同提起溶剂量的提取效果。主要实验结果见表 2。

表 2　提取溶剂量的影响

样品	80%乙醇溶液用量									
	0.4 mL		0.6 mL		1.0 mL		2.0 mL		3.0 mL	
	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %
花生油	15.6	24.1	18.5	13.1	21.8	8.2	22.5	8.1	21.5	7.9
大豆油	6.5	20.1	8.9	14.6	9.8	8.6	10.1	8.0	10.5	8.2
菜籽油	3.2	22.7	4.8	14.1	5.2	9.1	5.4	9.4	5.3	9.5

从表 4 可看出，提取花生油、大豆油和菜籽油样品，随着乙醇溶液用量增大，提取越完全，乙醇溶液超过 1.0 mL 后检测结果无显著差异，考虑绿色环保及节约试剂，因此，选择 1.0 mL 的 80%乙醇溶液作为提取溶剂。

2.3 提取方式、时间选择

选择大豆油、菜籽油和花生油为例，采用旋涡混合、振摇提取和超声波提取 3 种提取方式，比较不同的提取时间对检测结果影响。

结果表明：样品采用旋涡混合方式提取 1.0 min 时检测回收率符合要求，且检测回收率数值随提取时间增加区别不大。此外，大豆油、菜籽油和花生油样品用振摇提取、超声波提取与旋涡混合提取对比，区别不大。因此为了操作更简易、食用植物油样品采用旋涡混合方式提取 1.0 min。

表 3　不同提取方式、不同提取时间条件下提取效果比较

提取方式	提取时间	样品（加标浓度 μg/kg）		
		花生油	大豆油	菜籽油

旋涡提取方式(测试回收率%)	1 min	90.4	95.8	86.2
	2 min	86.4	92.1	93.1
	5 min	94.6	88.5	93.8
	10 min	92.1	103.2	94.8
	20 min	89.5	84.9	94.1
振摇提取方式(测试回收率%)	1 min	85.2	99.3	105.3
	2 min	92.0	93.5	103.1
	5 min	93.2	93.3	95.4
	10 min	86.6	105.2	94.2
	20 min	105.7	88.1	84.5
超声波提取方式(测试回收率%)	1 min	75.9	74.4	82.2
	2 min	83.6	74.2	83.5
	5 min	78.2	84.9	84.4
	10 min	85.3	95.4	92.6
	20 min	92.3	90.6	94.1

3　免疫层析反应温度对实验的影响

黄曲霉毒素 B1 免疫层析检测装置使用硝酸纤维素膜为载体，利用微孔膜的毛细管作用，从样品垫膜条一端的液体向另一端渗移。在移动的过程中，会发生相应的抗原抗体反应。样品中的黄曲霉毒 B1 在与铕标记的特异性单克隆抗体结合，抑制了抗体和硝酸纤维素（NC）膜检测线上黄曲霉毒 B1－BSA 偶联物的结合，黄曲霉毒 B1 时间分辨荧光检测仪根据控制线和检测线的荧光显色变化定量。

反应温度和时间是影响黄曲霉毒 B1 与铕标记的特异性单克隆抗体发生抗原抗体反应的重要因素。抗原抗体反应一般在 15℃～40℃范围内进行，在此范围内，温度越高，分子运动速度加快，增加抗原抗体接触机会，反应速度越快，但温度过高抗原抗体复合物也容易解离；温度越低，反应速度缓慢，但抗原抗体结合牢固，易于观察。为规范黄曲霉毒 B1 现场筛查检测技术，保证反应温度的一致性，选择了最适合抗原抗体反应的温度 37℃。

4 免疫层析反应时间对实验的影响

标准起草小组还比较了反应时间对检测结果的影响。选择花生油、大豆油、菜籽油样品，提取、稀释、过滤后，取滤液，垂直滴加于黄曲霉毒素时间分辨荧光免疫层析检

测装置加样孔内，取出黄曲霉毒素免疫层析装置，按箭头方向插入加样后的样品瓶中，于恒温装置中，在 37 ℃下分别反应 1 min、 2 min、3min、5 min、10 min 用黄曲霉毒素时间分辨荧光检测仪判读结果，进行 5 次重复实验。部分实验结果见表 4。

表 4　反应时间对检测结果影响

样品名称	反应时间									
	1 min		2min		3min		5min		10 min	
	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %	含量 μg/kg	RSD %
花生油	11.3	14.5	16.4	14.2	22.2	9.1	22.6	9.3	22.1	8.7
大豆油	6.6	13.2	8.9	12.1	10.3	9.0	10.6	8.8	10.5	8.0
菜籽油	3.5	17.4	4.8	13.3	5.7	10.5	5.8	9.2	5.3	10.2

可以看出：检测结果随反应时间延长趋向稳定，反应 3 min、5 min、10min 时，检测结果和重复性无显著差异，考虑到检测结果稳定性及黄曲霉毒素现场筛查检测对时间的要求，选择反应时间为 5 min。

5 结果计算

本方法为竞争抑制法。将一定直径的铕乳胶颗粒通过脱水反应标记上抗体。以硝酸纤维素膜为载体，利用了微孔膜的毛细作用，滴加在样品反应瓶中的液体溶解了铕-抗体探针后在膜条一端慢慢向另一端渗移。在移动的过程中，会发生相应的抗原抗体反应，并通过铕-抗体探针的荧光表现出来。样本中的黄曲霉毒素 B1 在流动的过程中与铕乳胶标记的特异性单克隆抗体结合，抑制了抗体和硝酸纤维素（NC）膜检测线上黄曲霉毒 B1-BSA 偶联物的结合，使检测线荧光强度降低，从而样品中黄曲霉毒素浓度与检测线荧光强度呈现一定的负相关关系，通过梯度实验建立标准曲线，从而实现对样品中黄曲霉毒 B1 的测量。通过绘制黄曲霉毒 B1 的标准曲线来确定试样中的黄曲霉毒 B1 含量，用时间分辨荧光检测仪测定黄曲霉毒 B1 免疫层析装置上检测线（T）与质控线（C）的信号，按照限量法测定样品基质中添加梯度标准黄曲霉毒素的信号值，计算各浓度点信号值纵坐标，以对应的黄曲霉毒 B1 溶液的自然对数为横坐标，建立标准曲线。

时间分辨荧光检测仪测定试样中黄曲霉毒 B1 含量，以每千克样品中含黄曲霉毒 B1 的微克数表示（单位：μg/kg）。

$$X = \frac{\rho \times V \times n}{m}$$

式中：

ρ—— 从标准曲线上查得的测定液中黄曲霉毒素含量，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V —— 样品测定液体积的数值，单位为毫升（mL）；

n —— 试样的稀释倍数；

m —— 试样质量的数值，单位为克（g）

计算结果保留到小数点后两位。

若需结果确认，采用免疫亲和层析液相色谱法或免疫亲和层析液相色谱串联质谱法进行确认。

6 标准曲线

标准起草小组分别建立了花生油、大豆油、菜籽油的标准曲线。

标准曲线建立步骤：用制备好的黄曲霉毒素 B1 加标的食用油系列梯度阳性样本（1 μg/kg，3 μg/kg，5 μg/kg，10 μg/kg，15 μg/kg，20 μg/kg，25 μg/kg）作为标准曲线建立的样本。由低浓度到高浓度进行检测，根据检测线 T 信号值与质控线 C 信号值的比值（T/C）和标准工作溶液浓度的自然对数值（Inc）建立标准曲线。标准系列中每个点重复 5 次，用时间分辨荧光检测仪检测，分别检测读取黄曲霉毒素免疫层析装置中 C 线和 T 线的荧光信号强度值，计算 5 次重复平均值。以标准系列浓度值自然对数（Lnc）和 T 线的荧光信号强度值/C 线的荧光信号强度值（T/C）绘制标准曲线，线性回归方程为：Y=-2.3039X+3.2425，相关系数 0.9807。

7 检出限

根据 GB/T 5009.1－2003 （附录 A 检验方法中技术参数和数据处理），检出限计算见公式（2）：

$$L = \frac{X_1 \times \overline{X_i}}{b} \times \frac{k_s}{b} \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（2）$$

式中：

L－方法检出限；

XL－全试剂空白响应值；

$\overline{X_i}$ －测定 n 次空白溶液的平均值（n≥20）；

b－单位标准溶液峰面积响应值；

S－n 次空白值的标准偏差；

Ks－一般为 3。

标准起草小组分别对花生油、大豆油、菜籽油空白样品进行了 21 次重复实验，用

时间分辨荧光检测仪检测读取黄曲霉毒素 B1 免疫层析装置中 C 线和 T 线的时间分辨荧光信号强度值，带入标准曲线方程 Y=a*X+b（其中：Y—T 线荧光信号强度值/C 线荧光信号强度值，T/C；X—标准系列浓度值自然对数，Lnc），21 次测定结果的标准偏差的 3 倍所对应的浓度即为检出限。

花生油、大豆油、菜籽油样品 21 次重复测定结果中黄曲霉毒素 B1 时间分辨荧光免疫层析法的检出限均低于 1.0μg/kg。

8 方法性能评估

8.1 准确度

分别采用本标准中时间分辨荧光免疫层析法及免疫亲和高效液相色谱法对花生油、大豆油、菜籽油的黄曲霉毒素 B1 进行平行测定实验，测定结果见表 5。结果表明两种方法具有很好的一致性，方法检测结果准确。

表 5 时间分辨荧光免疫法与免疫亲和高效液相色谱法的测定结果

样品	免疫亲和层析净化高效液相色谱法μg/kg	时间分辨荧光免疫层析法μg/kg	时间分辨荧光免疫层析法RSD%	绝对差μg/kg
花生油	22.2	21.9	8.5	0.3
大豆油	10.3	10.9	7.6	0.6
菜籽油	6.4	5.6	7.1	0.8

8.2 重复性测定

标准起草小组在同一时间对花生油、大豆油、菜籽油样品分别进行了 11 次重复测定，以考查方法的重现性，实验数据见表 6。由表数据可见，花生油、大豆油、菜籽油样品中黄曲霉毒素 B1 的 11 次测定结果相对相差在 13.1%-18.9％之间，表明方法重复性好，能满足食用油黄曲霉毒素的快速测定的重复性要求。

由此确定本标准重复性要求为：在重复性条件下，黄曲霉毒素 B1 含量不大于 10.0 μg/kg 时，两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%；黄曲霉毒 B1 含量大于 10.0 μg/kg 时，两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

表 6 黄曲霉毒素 11 次重复性测定结果

样品名称	黄曲霉毒素 B_1 含量，μg/kg												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	平均值	相对相差%
花生油	21.8	22.1	21.0	20.3	20.6	20.2	21.5	20.6	22.5	20.3	19.7	21.1	13.1

大豆油	9.5	10.7	10.0	9.6	9.2	9.8	9.5	9.4	9.0	9.4	10.2	9.98	17.3
菜籽油	5.4	5.3	5.5	4.8	5.6	5.5	5.2	5.8	5.7	5.7	5.6	5.3	18.9

8.3 实验室内再现性

标准起草小组在不同时间对花生油、大豆油、菜籽油的黄曲霉毒素 B1 进行了测定，以考查方法的再现性，实验数据见表 7。

表 7　黄曲霉毒素不同时间测定结果

样品名称	黄曲霉毒素 B_1 含量，μg/kg				
	2023 年 09 月 13 日	2023 年 10 月 20 日	2023 年 11 月 30 日	平均值	相对相差%
花生油	24.4	23.1	25.9	24.4	11.4
大豆油	12.1	10.0	12.0	11.4	18.8
菜籽油	5.1	5.2	6.4	5.6	23.2

由表数据可见，花生油、大豆油、菜籽油中的黄曲霉毒素在不同时间 3 次测定结果之间相对标准偏差 11.4％-23.2%，表明方法再现性好，能满足食用油等样品中黄曲霉毒 B1 测定的再现性要求。由此确定本标准再现性要求为：在重复性条件下，黄曲霉毒素 B1 含量不大于 10.0 μg/kg 时，两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 30%；黄曲霉毒 B1 含量大于 10.0 μg/kg 时，两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

8.4 实验室间再现性

为检验本标准测定食用油中黄曲霉毒素 B1 含量的实验室间再现性，由 4 个实验室对 4 个食用油样品中黄曲霉毒素 B1 进行了比对检测，检测结果汇总见表 8；对结果统计分析表（见表 9）显示：实验室间检测结果变异系数在 4.0%-4.9%间，极差在 1.0μg/kg -2.5μg/kg 间。

验证汇总结果表明，制定的黄曲霉毒素 B1 时间分辨荧光检测方法重复性好，再现性强，不同单位（操作环境）和不同操作人员应用，均能得到抑制的检测结果，可用于现场食用油中黄曲霉毒素筛查检测。

表 8　食用油中黄曲霉毒素实验室间比对检测结果

单位	样品	重复 1 μg/kg	重复 2 μg/kg	重复 3 μg/kg	重复 4 μg/kg	重复 5 μg/kg	平均值 μg/kg	变异系数 %
实验室 1	1 号油样	24.4	25.0	23.0	25.3	20.2	23.6	8.8

	2 号油样	9.8	8.4	9.6	7.2	10.2	9.1	13.3
	3 号油样	14.6	13.3	15.0	13.2	16.3	14.5	8.7
	4 号油样	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
实验室 2	1 号油样	23.3	23.8	22.0	24.2	19.3	22.5	8.8
	2 号油样	9.4	8.1	10.6	6.9	9.7	8.9	16.3
	3 号油样	13.9	12.0	14.3	12.6	15.5	13.7	10.1
	4 号油样	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
实验室 3	1 号油样	25.6	26.2	24.2	26.6	21.6	24.8	8.1
	2 号油样	10.3	8.9	12.1	7.6	10.7	9.9	17.6
	3 号油样	15.3	13.9	15.7	13.9	17.1	15.2	8.7
	4 号油样	ND	ND	ND	ND	ND	-	-
实验室 4	1 号油样	25.3	24.9	23.8	24.9	20.9	24.0	7.5
	2 号油样	10.2	8.7	11.0	7.5	10.5	9.6	15.0
	3 号油样	15.1	13.8	15.5	14.5	16.8	15.1	7.6
	4 号油样	ND	ND	ND	ND	ND	-	-

表 9　食用油中黄曲霉毒素实验室间比对检测结果统计分析表

项目	1 号油样	2 号油样	3 号油样	4 号油样
平均值μg/kg	23.7	9.4	14.6	ND
变异系数%	4.0	4.9	4.7	—
最大值μg/kg	24.8	9.9	15.2	ND
最小值μg/kg	22.5	8.9	13.7	ND
极差μg/kg	2.3	1.0	1.5	—

三、主要试验、验证结果，预期的经济效果

（一）主要试验、验证结果

1、方法验证方案

选择有资质的验证单位，向单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照方法草案在规定时间内完成验证工作并反馈验证结果。

2、验证方案

定量限：分别取 6 份大豆油、菜籽油和花生油空白样品，加入 5.0 μg/kg 标样，经前处理后时间分辨荧光法测定并计算平均值和相对标准偏差。

精密度：分别取 6 份大豆油、菜籽油和花生油空白样品，加入 5.0 μg/kg、20.0 μg/kg 标样，进行精密度测定，经前处理后时间分辨荧光法测定并计算平均值和相对标准偏差。

准确度：分别取 6 份大豆油、菜籽油和花生油空白样品，加入 5.0 μg/kg、20.0 μg/kg 标样，进行准确度测定，经前处理后时间分辨荧光法测定并计算回收率。

3 方法验证结论

定量限：5.0 μg/kg 加标样品,经处理后进行测定，大豆油、菜籽油和花生油的平均回收率为 91.9%、102.1%、95.6%；相对标准偏差为 9.6%，9.9%，10.2%。

精密度：5.0 μg/kg、20.0 μg/kg 加标样品,经处理后测试大豆油、菜籽油和花生油时的相对标准偏差分别为 6.3%、5.8%、4.9%。

准确度：5.0 μg/kg、20.0 μg/kg 加标样品,经处理后测定大豆油、菜籽油和花生油时的平均回收率分别为 91.9%、96.9%、98.1%。

（二）预期的经济效果

1、促进油料油脂产业发展。我国现有油脂生产经营企业 2.7 万家，其中规模化生产企业 1600-1800 家，每家规模化企业相关检测设备成本约 300-500 万元，据专家预测，通过该标准及技术的实施，仅配套仪器设备实现 30%的迭代，产值可达 78 亿元，给企业节约成本，促进了油脂企业行业发展。

2、为食用油黄曲霉毒素 B1 等政府监管提供关键技术支撑，保护消费者利益。该标准及检测技术的建立可实时监测食用油黄曲霉毒素 B1 污染状况，可在食用油流通的各个环节随时随地进行监控，将极大降低黄曲霉毒素 B1 超标的食用油流向市场。实现早预警、早阻控对保障粮油安全以及人民生命健康具有重要意义。

四、标准涉及的相关知识产权说明

不涉及专利，不是由地标或其他标转化。

五、采用国际标准的程度及水平，与现行有关法律法规和强制性标准的关系

不采用国际标准。

参考国家标准：GB2762—2022《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中食用油中苯并芘的限量值选择设置加标浓度点。

六、重大意见分歧的处理（包括处理过程、依据和结果。）

无重大意见分歧。

七、其它应予说明的事项。

无。

《食用油中黄曲霉毒素 B1 的测定 时间分辨荧光免疫层析法》团体标准起草组

2024 年 2 月 20 日