



中华人民共和国国家标准

GB/T 36858—2018

饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定 高效液相色谱法

Determination of aflatoxin B₁ in feeds—
High performance liquid chromatography

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施



国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定
高效液相色谱法
GB/T 36858—2018

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

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 0.5 字数 10 千字
2018 年 9 月第一版 2018 年 9 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-61396 定价 14.00 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)68510107

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位:华中农业大学。

本标准主要起草人:齐德生、张妮娅、张家才、孙铝辉、王峻、陶灿、王帅。

饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定

高效液相色谱法

警示——黄曲霉毒素 B₁ 是高致癌物质,应小心处理,分析操作过程应在通风橱内或指定区域内进行。分析过程中,操作者应采取相应的防护措施。分析过程结束后,接触过的器皿及黄曲霉毒素 B₁ 溶液应使用浓度为 5% 的次氯酸钠溶液浸泡过夜。

1 范围

本标准规定了测定饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的高效液相色谱法。

本标准适用于饲料原料、配合饲料、浓缩饲料、精料补充料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定。

本方法的检出限为 0.5 μg/kg,定量限为 2.0 μg/kg。

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

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中的黄曲霉毒素 B₁ 经黄曲霉毒素 B₁ 提取溶液提取后,再经三氯甲烷萃取、三氟乙酸衍生,衍生后的黄曲霉毒素 B₁ 采用反相高效液相色谱-荧光检测器进行测定,外标法定量。

4 试剂或材料

除非另有规定,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

4.1 水:符合 GB/T 6682 中规定的一级用水。

4.2 甲醇:色谱级。

4.3 乙腈:色谱级。

4.4 三氯甲烷。

4.5 黄曲霉毒素 B₁ 提取溶液:量取 84 mL 乙腈,加入到 16 mL 水中,混匀。

4.6 黄曲霉毒素 B₁ 衍生溶液:分别量取 20 mL 三氟乙酸,加入 70 mL 水中,混匀后加入 10 mL 冰乙酸,混匀。临用现配。

4.7 流动相:分别量取 20 mL 甲醇、10 mL 乙腈和 70 mL 水,混匀。经 0.22 μm 有机滤膜过滤后备用。

4.8 黄曲霉毒素 B₁ 标准储备溶液(1 000 μg/mL):精确称取黄曲霉毒素 B₁ 对照品(纯度≥98%)10.0 mg,用 10 mL 乙腈完全溶解,配制成黄曲霉毒素 B₁ 含量为 1 000 μg/mL 的标准储备溶液,-20 ℃保存,有效期为 6 个月。或有证标准溶液。

4.9 黄曲霉毒素 B₁ 标准工作溶液:取 1.0 mL 黄曲霉毒素 B₁ 标准储备溶液,用乙腈定容至 100 mL,浓度为 10 μg/mL。再取此稀释液 1.0 mL,用乙腈定容至 100 mL,则浓度稀释为 100 ng/mL 的标准工作溶液。

4.10 黄曲霉毒素 B₁ 标准系列溶液:将黄曲霉毒素 B₁ 标准工作溶液用乙腈分别稀释成 1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的标准系列溶液。临用现配。

4.11 有机滤膜:直径 50 mm,孔径 0.22 μm。

4.12 针头式过滤器:有机型,孔径 0.22 μm。

4.13 乙腈水溶液(90+10):量取 90 mL 乙腈,加入到 10 mL 水中,混匀。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪:配备荧光检测器。

5.2 分析天平:感量为 0.01 mg。

5.3 溶剂过滤器:规格 1 000 mL。

5.4 氮吹仪。

5.5 恒温振荡器。

5.6 旋涡混合仪。

5.7 超声波清洗仪。

5.8 水浴锅。

6 样品

按 GB/T 14699.1 规定采集有代表性的试样,按照 GB/T 20195 规定将试样粉碎,过 0.42 mm 分析筛,混匀后装入密闭容器中,备用。

7 试验步骤

7.1 试样处理

平行做两份试验。称取 5.00 g(精确到 0.01 g)试样置于 100 mL 带塞锥形瓶中,加入 25.0 mL 黄曲霉毒素 B₁ 提取溶液(4.5),室温下 200 r/min 振荡提取 60 min,用中速滤纸过滤,取 10.0 mL 滤液于 50 mL 具塞离心管中,加入 10.0 mL 三氯甲烷(4.4)萃取,旋涡混合 1 min,静置分层后,取下层萃取液于 15 mL 具塞离心管中,50 ℃水浴氮气吹干。加入 200 μL 乙腈水溶液(4.13)复溶,然后加入 700 μL 黄曲霉毒素 B₁ 衍生溶液(4.6),加塞混匀,40 ℃下恒温水浴衍生反应 75 min 后,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,待测。

7.2 标准系列

分别取 0.9 mL 黄曲霉毒素 B₁ 标准系列溶液(4.10)于 7 个 10 mL 具塞离心管中,50 ℃水浴氮气吹干,用 200 μL 乙腈水溶液(4.13)复溶,然后加 700 μL 黄曲霉毒素 B₁ 衍生溶液(4.6),加塞混匀,40 ℃下恒温水浴衍生反应 75 min,再经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,待测。

7.3 高效液相色谱参考条件

色谱柱:C₁₈ 色谱柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm;或性能相当者。

流动相(4.7)。

流速:1 mL/min。

激发波长:365 nm;发射波长:440 nm。

柱温:30 ℃。

进样体积:20 μL。

7.4 测定

在上述液相色谱参考条件下,将衍生后的黄曲霉毒素 B₁ 标准系列溶液、试样溶液注入高效液相色谱仪,测定相应的响应值(峰面积),采用单点或多点校正,外标法定量。黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液色谱图参见附录 A。

8 试验数据处理

试样中黄曲霉毒素 B₁ 的含量以质量分数 w 表示,单位为微克每千克(μg/kg),按式(1)计算:

$$w = \frac{0.9 \times \rho \times V_1}{m \times V_2} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ρ ——试样衍生液在标准曲线上对应的黄曲霉毒素 B₁ 含量,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V_1 ——提取液的总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——用于萃取的提取液体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g);

0.9——衍生后的试样溶液体积,单位为毫升(mL)。

以两个平行样品测定结果的算术平均值报告结果,结果保留至小数点后一位。

9 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值,不大于该平均值的 20%。

附录 A
(资料性附录)

黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液高效液相色谱图

黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液高效液相色谱图见图 A.1。

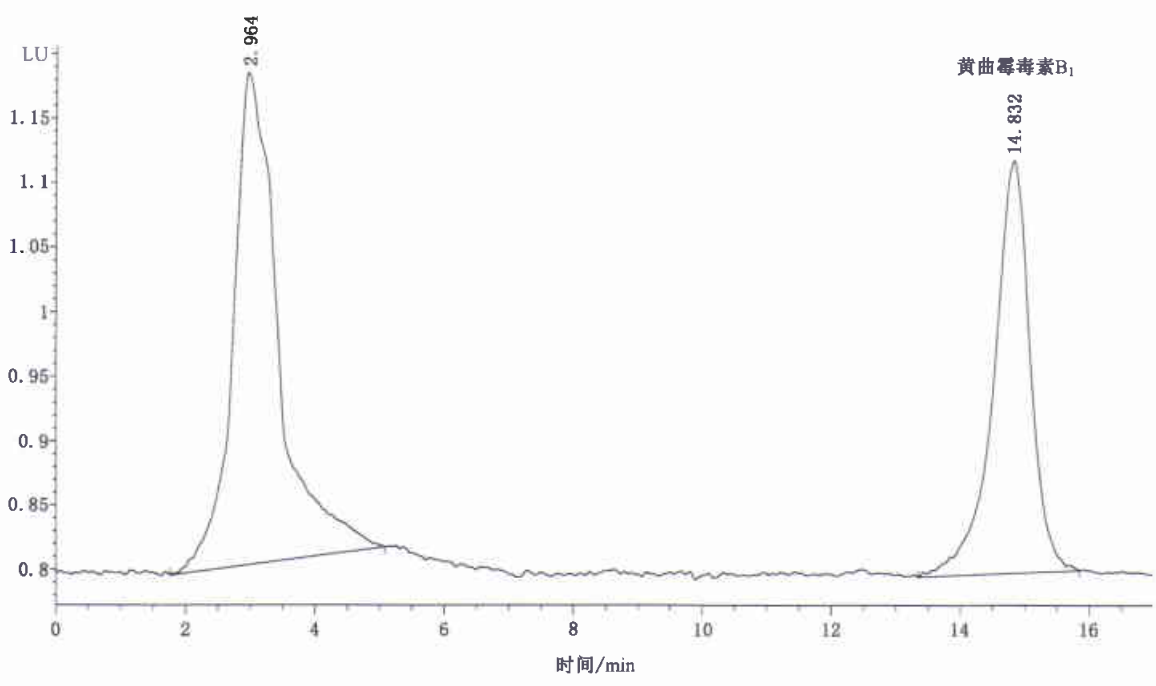


图 A.1 黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液(50 ng/mL)高效液相色谱图



GB/T 36858—2018

版权专有 侵权必究

*

书号: 155066 · 1-61396

定价: 14.00 元