

ICS 65.120
B 46



中华人民共和国国家标准

GB/T 8381—2008/ISO 6651:2001
代替 GB/T 8381—1987

GB/T 8381—2008/ISO 6651:2001

饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定 半定量薄层色谱法

Determination of aflatoxin B₁ in animal feeding stuffs—
Semi-quantitative thin layer chromatographic methods

(ISO 6651:2001, Animal feeding stuffs—Semi-quantitative
determination of aflatoxin B₁—Thin layer chromatographic methods, IDT)

中华人民共和国
国家标准
饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定
半定量薄层色谱法

GB/T 8381—2008/ISO 6651:2001

*

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 1 字数 21 千字
2009 年 1 月第一版 2009 年 1 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-35441 定价 16.00 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 8381—2008

2008-11-21 发布

2009-02-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

7.8 检测数量

相同试验样品进行重复检验。

8 计算和结果表示

8.1 目测法

试样中黄曲霉毒素 B₁ 的含量(X₁)以微克每千克(μg/kg)表示,按式(3)计算:

$$X_1 = \frac{c \times V_1 \times V_3}{m \times V_2} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

c——黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液(4.14)的浓度(约 0.1 μg/mL),单位为微克每毫升(μg/mL);

m——柱纯化用提取液的体积所相当的试料质量(10.0 g),单位为克(g);

V₁——提取液最终体积(必要时进行稀释),单位为微升(μL);

V₂,V₃——分别为试样体积和具有类似荧光强度标准溶液的体积,单位为微升(μL)。

8.2 薄层扫描仪荧光法

试样中黄曲霉毒素 B₁ 的含量(X₂)以微克每千克(μg/kg)表示,按式(4)计算:

$$X_2 = \frac{m_1 \times V_1}{m \times V_2} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

m₁——以 V₂ 体积计算,从测定中推算出的提取液斑点中黄曲霉毒素 B₁ 的质量,单位为纳克(ng);

V₁——提取液最终体积(必要时考虑稀释),单位为微升(μL);

m——柱纯化用提取液的体积所相当的试料质量(10.0 g),单位为克(g);

V₂——点到板上的提取液体积(10 μL 或 20 μL),单位为微升(μL)。

9 实验室间试验

实验室间试验方法精密度汇总于附录 A。实验室间试验获得的值可以不适用于附录 A 未列出的浓度范围和基质。

10 试验报告

试验报告应给出的内容:

- 样品测定的所有必要信息;
- 如果已知,使用的采样方法;
- 使用本标准提及的试验方法 A 或方法 B;
- 检测方法(目测法或薄层扫描仪荧光法);
- 在本标准中没有详细说明的所有操作方法或认为选择可能影响试验结果的任何事件的描述;
- 试验结果。

目 次

前言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 原理 1

4 试剂 1

5 仪器 2

6 采样 3

7 分析步骤 3

8 计算和结果表示 8

9 实验室间试验 8

10 试验报告 8

附录 A (资料性附录) 实验室间试验结果 9

7.6.1.2 方法 B

通过试液斑点荧光强度与 C、D 和 E 标准溶液的斑点荧光比较,测定试液中黄曲霉毒素 B₁ 的量。

如果 20 μL 试液所显荧光强度比 40 μL 标准溶液更强,在重新进行薄层层析之前,用三氯甲烷(4.1)或苯-乙腈混合液(4.4)稀释试液 10 倍或 100 倍。

7.6.2 薄层扫描仪荧光法

在 365 nm 激发波长,443 nm 发射波长下,用薄层扫描仪(5.10)检测黄曲霉毒素 B₁ 斑点的荧光强度。

在用方法 A 的情况下,通过比较标准溶液的斑点荧光强度,测定试液斑点中黄曲霉毒素 B₁ 的量。

在用方法 B 的情况下,通过比较标准溶液 C、D 和 E 的斑点荧光强度,测定试液斑点中黄曲霉毒素 B₁ 的量。

7.7 黄曲霉毒素 B₁ 确证试验

7.7.1 通则

用硫酸推测试验(7.7.2)验证鉴定试液中的黄曲霉毒素 B₁,如果测试结果为阳性,用有效的确证试验(7.7.3)。如果硫酸推测试验结果为阴性,这种情况提示黄曲霉毒素 B₁ 不存在,不需要实施有效的确证试验。

7.7.2 硫酸推测试验

喷硫酸溶液(4.13)在 7.5.1 或 7.5.2 获得的色谱上,在紫外灯下,黄曲霉毒素 B₁ 荧光斑点应由蓝色转为黄色。

7.7.3 确证试验

7.7.3.1 半乙酰化黄曲霉毒素 B₁ 的形成(黄曲霉毒素 B_{2a})

对单一或有轻微颜色的饲料,用 7.7.3.2 描述的单向薄层色谱方法。对单一颜色饲料、配合饲料或有疑问情况下,用 7.7.3.3 描述的双向薄层色谱方法。

7.7.3.2 单向薄层色谱法

在板(5.7)上划一直线将板分成两个均等份,在每一份上,距底边缘 20 mm 处点样,点距 15 mm,黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液和试液点样体积如下:

——25 μL 黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液(4.14);

——试液(7.4.2)的体积含约 2.5 ng 黄曲霉毒素 B₁;

——25 μL 黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液(4.14),在此点上叠加点试液(7.4.2),相当于 2.5 ng 黄曲霉毒素 B₁ 的体积。

在其中一个 1/2 板上,在先前点的斑点处叠加点 1 μL 或 2 μL 三氟乙酸(4.11),在室温下用空气流干燥。

在暗处,用一种展开剂(4.6)展开层析,事先选择好此展开剂,溶剂系统应保证半乙酰化黄曲霉毒素 B₁ 与干扰物清晰分离,溶剂前沿应达 120 mm 处。

在暗处挥发溶剂,然后将硫酸溶液(4.13)喷在没有用三氟乙酸处理的板部分,在紫外灯下检查薄层板。

黄曲霉毒素 B₁ 鉴别确证,如果

a) 试液中黄曲霉毒素 B₁ 衍生物的 R_f 值与标准溶液的 R_f 值相当;

b) 标准溶液加试液中黄曲霉毒素 B₁ 衍生物荧光,比试液中黄曲霉毒素 B₁ 衍生物的荧光更强。

由于试液荧光斑点与半乙酰化黄曲霉毒素 B₁ 荧光斑点有相同 R_f 值,可能导致色谱的假阳性干扰,这些现象用硫酸处理的板部分检查。

如果有疑问,应该用双向薄层色谱法(7.7.3.3)确证。

前 言

本标准等同采用国际标准 ISO 6651:2001《饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的半定量测定 薄层色谱法》(英文版)。

本标准等同翻译 ISO 6651:2001,为便于使用,做了下列编辑性修改:

——标准中文名称修改为《饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定 半定量薄层色谱法》;

——删除了国际标准的前言;

——将“本国际标准”改为“本标准”;

——用小数点符号“.”代替小数点符号“,”;

——在引用文件中,用“GB/T 20195 动物饲料 试样的制备”代替“ISO 6498”;

——在引用文件中,增加“GB/T 14699.1 饲料 采样”;

——对图 2 中的展开方向符号进行了更正,将“Ⅰ”改为“Ⅱ”,“Ⅱ”改为“Ⅰ”。

本标准代替 GB/T 8381—1987《饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的测定方法》。

本标准与 GB/T 8381—1987 相比,主要变化如下:

——在试剂条款中,删除黄曲霉毒素 B₁ 标准溶液制备时仪器校正内容,并增加黄曲霉毒素 B₁ 三氯甲烷标准溶液制备与浓度测定;

——层析时可选择的展开剂种类由两种增至五种;

——方法 A——单向薄层色谱法中,增加不同体积的标准溶液和样品溶液的点样点;

——方法 B——双向薄层色谱法中,减少辅助板的数量,并且点样的分布方式不同;

——检测中增加薄层扫描仪荧光法;

——确证试验中增加硫酸推测试验。

本标准的附录 A 是资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位:江苏省微生物研究所有限责任公司。

本标准主要起草人:宓晓黎、李利东、袁建兴、杜姝莲。

本标准于 1987 年首次发布,本次为第一次修订。