

ICS 67.040  
C 53



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.189—2003  
部分代替 GB 11675—1989

GB/T 5009.189—2003

## 银耳中米酵菌酸的测定

Determination of bongkrekic acid in tremella  
fuciformis berk

中华人民共和国  
国家标准  
银耳中米酵菌酸的测定  
GB/T 5009.189—2003

\*

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.bzcb.com](http://www.bzcb.com)

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 0.5 字数 8 千字

2004年9月第一版 2004年9月第一次印刷

\*

书号: 155066·1-21653 定价 8.00 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 5009.189—2003

2003-08-11 发布

2004-01-01 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

将以上滤液移入分液漏斗中,加入与滤液体积相同的碳酸氢钠水溶液,振摇 2 min,静置分层,用带自动控制球吸管吸出上层于另一分液漏斗中,再用碳酸氢钠水溶液重复提取两次,每次 10 mL,轻摇,静置,将三次碳酸氢钠水层合并,加入三氯甲烷 25 mL,振摇 2 min,静置分层后弃去三氯甲烷层,于分液漏斗中慢慢滴入 6 mol/L 盐酸以调该溶液 pH 至 2~3,加入石油醚(沸程 30℃~60℃)50 mL(鲜银耳试样加 40 mL),振摇 3 min,静置分层,取出石油醚层于梨形瓶中,再重复用石油醚 30 mL 和 20 mL 各提取一次(鲜银耳试样两次均为 20 mL),将石油醚层并入同一瓶中,于 40℃水浴中减压吹气浓缩至干,用甲醇移至带 1 mL 刻度的浓缩管中,于 40℃用减压法浓缩至 0.2 mL 以下,并用少许甲醇洗管壁,继续浓缩至干,加甲醇 0.125 mL,将干物质溶解,混匀,作为样液以供薄层色谱测定用。

### 5.2 薄层色谱测定

以薄层板的短边为底边,距底边 3 cm 的基线上用微量注射器滴加 20 μg/mL 标准液 8 μL 与 10 μL 两个点,以及样液两个点,每点 10 μL(鲜银耳试样滴加 20 μL),在样液的一个点上再滴加 20 μg/mL 标准液 10 μL。用展开剂展开 16 cm,取出挥干。在 254 nm 紫外灯光下观察结果如下:

- a) 标准点应出现黑色点;
- b) 如样液点在标准点相应位置上未出现黑色点,则试样中米酵菌酸的含量在测定方法灵敏度 0.25 μg/g 以下;如在相应位置上有黑色点,而另一点中样液与标准液点重叠,则为阳性,根据样液黑点的强度估计减少滴加微升数,或经稀释后再滴入不同微升数,直至样液与标准色点的强度与面积一致为止。米酵菌酸的比移值为 0.22。

### 5.3 结果计算

见式(1)。

$$X = 0.2 \times \frac{V_1}{V_2} \times D \times \frac{1}{m} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$X$ ——米酵菌酸含量,单位为微克每克( $\mu\text{g/g}$ );

0.2——米酵菌酸的最低检出量,单位为微克( $\mu\text{g}$ );

$V_1$ ——加入甲醇溶解的体积,单位为毫升(mL);

$V_2$ ——出现最低检出量时滴加样液的体积,单位为毫升(mL);

$D$ ——样液的总稀释倍数;

$m$ ——甲醇溶解时相当试样的质量,单位为克(g)。

### 5.4 确证试验

对含量高的试样可以进一步作确证试验;将剩余的阳性样液与空白甲醇液分别经薄层分离后,刮下并收集与米酵菌酸标准相应的色谱带与空白处硅胶。各加甲醇 4 mL,于室温中浸泡 1 h~2 h,混匀,离心,吸出上清液,以空白硅胶甲醇洗脱液作对照,用紫外分光光度计测定,应在 267 nm 和 236 nm 处有米酵菌酸的两个最高吸收峰。

## 高压液相色谱测定法

## 6 原理

试样中的米酵菌酸经提取、净化及浓缩后,根据在高压液相色谱上的出峰面积测定含量。

## 7 试剂

7.1 高压液相色谱洗脱剂:甲醇-水-冰乙酸[75+27+1.7],在配制前,所用试剂及水均需分别重蒸馏。

7.2 其他试剂同 4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、4.10、4.11。

## 前 言

本标准代替 GB 11675—1989《银耳卫生标准》中 5.1 米酵菌酸的测定。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由河南省食品卫生监督检验所、河南省南阳地区卫生防疫站负责起草。

本标准主要起草人:任中善、马军、赵国庆、张丁、韦喜亭。

## 引 言

米酵菌酸[bongkrekic acid(BA),即酵米面黄杆菌毒素 A(flavotoxin A)]是由椰毒假单胞菌(pseudomonas cocovenenans)产生的一种可以引起食物中毒的毒素。系统命名为:3-羧甲基-17-甲氧基-6,18,21-三甲基-廿二碳-2,4,8,12,14,18,20-七烯二酸。

## 银耳中米酵菌酸的测定

### 1 范围

本标准规定了银耳中米酵菌酸的测定方法。  
本标准适用于银耳中米酵菌酸的测定。

### 薄层色谱测定法

### 2 原理

试样中的米酵菌酸经提取、净化及浓缩后,根据其在短波紫外光 GF<sub>254</sub> 硅胶薄层色谱上显示黑色点的最低检出量测定含量。

### 3 仪器

- 3.1 层析槽(内径长×宽×高,25 cm×6 cm×4 cm)。
- 3.2 GF<sub>254</sub> 硅胶薄层 50 mm×200 mm×0.3 mm),自制,经 110℃~115℃活化 2 h~3 h,置干燥器中可保存一周。
- 3.3 紫外线灯(波长 254 nm)。
- 3.4 紫外分光光度计。

### 4 试剂

本标准所用的试剂除特殊规定外,均为分析纯,水为蒸馏水或同等纯度的水,溶液为水溶液。

- 4.1 硅胶:GF<sub>254</sub> 层析用。
- 4.2 薄层色谱展开剂:石油醚-无水乙醚-冰乙酸[60+40+1.5]。
- 4.3 米酵菌酸标准溶液:称取米酵菌酸标准品,用甲醇配制成每毫升含有米酵菌酸 20 μg 供测定用,置于 4℃ 冰箱中避光保存。
- 4.4 甲醇。
- 4.5 冰乙酸。
- 4.6 石油醚,沸程 30℃~60℃。
- 4.7 无水乙醚。
- 4.8 三氯甲烷。
- 4.9 85 g/100 mL 磷酸。
- 4.10 40 g/L 碳酸氢钠水溶液。
- 4.11 6 mol/L 盐酸。

### 5 分析步骤

#### 5.1 米酵菌酸的提取

干银耳试样经粉碎过 40 目筛后,称取 20 g,置具塞锥形瓶中,加入甲醇 20 mL,于室温中避光浸泡 1 h,然后再加入三氯甲烷 80 mL 和 85 g/100 mL 磷酸 0.2 mL,鲜银耳试样经剪碎、磨细及混匀后称取 10 g,加入甲醇 16 mL 于室温中避光浸泡 1 h,然后再加入三氯甲烷 64 mL 和 85 g/100 mL 的磷酸 0.16 mL;振荡 30 min,过滤,干银耳取滤液 50 mL,鲜银耳取滤液 40 mL。