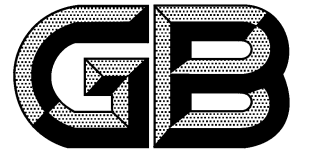


ICS 67.100.10  
X 04



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18980—2003

GB/T 18980—2003

## 乳和乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法 和荧光光度法

Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> content in milk and milk powder—  
Cleanup by immunoaffinity chromatography and determination by  
high-performance liquid chromatography and fluorometer

(ISO 14501:1998, IDT)

中华人民共和国  
国家标准  
乳和乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的测定  
免疫亲和层析净化高效液相色谱法  
和荧光光度法  
GB/T 18980—2003

\*

中国标准出版社出版  
北京复兴门外三里河北街16号  
邮政编码:100045

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷  
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

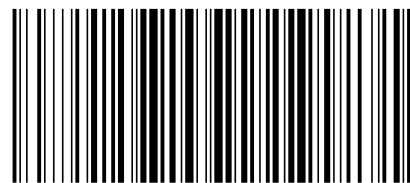
\*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 18 千字  
2003年6月第一版 2003年6月第一次印刷  
印数 1—2 000

\*

书号:155066·1-19508 定价 12.00 元  
网址 www.bzcb.com

版权专有 侵权必究  
举报电话:(010)68533533



GB/T 18980-2003

2003-02-21 发布

2003-08-01 实施

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 前 言

本标准的免疫亲和层析净化—高效液相色谱法等同采用 ISO 14501:1998《乳和乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 免疫亲和层析净化高效液相色谱法》。

本标准免疫亲和层析净化—荧光光度法快速测定乳和乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub>。

本标准中的附录 A 为资料性附录。

本标准由北京市质量技术监督局提出。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：北京市产品质量监督检验所、青岛出入境检验检疫局、国家标准物质研究中心。

本标准主要起草人：王晶、张鹏、张艺兵、邵明武。

本标准首次发布。

附 录 A  
(资料性附录)  
多个不同实验室的试验结果

世界各地 16 个实验室参加了低脂肪(1%)和高脂肪(28%)乳粉样品的协同试验。高脂肪样品是用于制作参比物质的残留物[4],所以黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的含量是已知的。

对于乳粉,其污染水平为 0.08 μg/kg~0.6 μg/kg,即对于乳而言,污染水平为 8 ng/L~60 ng/L。

试验结果根据 ISO 5725-1 和 ISO 5725-2[2;3]规定的统计方法获得,其精密度的数据列于表 A.1 (注:试验数据来自于参考文献[5]和[6])。

表 A.1 精密度数据

样品编号	1	2	3	4	5
实验室个数 <sup>a</sup>	12	4	13	11	14
平均值/(ng/kg)	81	150	80	202	580
重复性值 <i>r</i> /(ng/kg)	23	60.1	15	27	203
再现性值 <i>R</i> /(ng/kg)	52	98	41	61	310
重复性变异系数/(%)	9.9	14.0	6.8	4.7	12.5
复验性变异系数/(%)	23	22.7	18.3	10.8	19.1

<sup>a</sup> 减少的实验室数是根据 Cochran 和 Grubbs 统计方法应该从样本中剔除的数据。

## 乳和乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法 和荧光光度法

### 1 免疫亲和层析净化高效液相色谱法

#### 1.1 范围

本标准适用于乳、乳粉,以及低脂乳、脱脂乳、低脂乳粉和脱脂乳粉中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 含量的测定。乳粉中的最低检测限是 0.08 μg/kg,乳中的最低检测限是 0.008 μg/L。

#### 1.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

##### 1.2.1

#### 黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 含量 aflatoxin M<sub>1</sub> content

通过本标准所测定出的本物质的质量含量。

注:黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的含量以微克/升(μg/L)或微克/千克(μg/kg)表示。

#### 1.3 原理

试样通过免疫亲和柱时,黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 被提取。亲和柱内含有的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 特异性单克隆抗体交联在固体支持物上,当样品通过亲和柱时,抗体选择性的与黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> (抗原)键合,形成抗体-抗原复合物。用水洗柱除去柱内杂质,然后用洗脱剂洗脱吸附在柱上的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub>,收集洗脱液。用带有荧光检测器的高效液相色谱仪测定洗脱液中黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 含量。

#### 1.4 试剂

除非特别声明,所用试剂为分析纯;使用蒸馏水、去离子水或其他相当纯度的水。

1.4.1 免疫亲和柱:应该含有黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的抗体。亲和柱的最大容量不小于 100 ng 黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> (相当于 50 mL 浓度为 2 μg/L 的试样),当标准溶液含有 4 ng 黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> (相当于 50 mL 浓度为 80 ng/L 的试样)时回收率不低于 80%。应该定期检查亲和柱的柱效和回收率,对于每个批次的亲和柱至少检查一次(见 1.4.1.1 和 1.4.1.2)。

##### 1.4.1.1 柱效检查

用移液管(1.5.4)移取 1.0 mL 的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 储备液(1.4.5.2)到 20 mL 的锥形试管中(1.5.9)。用恒流的氮气(1.4.3)将液体慢慢吹干,然后用 10 mL 10%的乙腈(1.4.2.2)溶解残渣,用力摇荡。

将该溶液加入到 40 mL 的水中,充分混匀,全部通过免疫亲和柱。按说明书要求使用免疫亲和柱。淋洗免疫亲和柱后,洗脱下黄曲霉毒素 M<sub>1</sub>。将洗脱液进行适当稀释后,用高效液相色谱仪测定免疫亲和柱键合的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 含量。

计算黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的回收率,将其结果与 1.4.1 中所要求的指标进行比较。

##### 1.4.1.2 回收率检查

用移液管(1.5.4)移取 0.8 mL 0.005 μg/mL 的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 标准工作液(1.4.5.3)到 10 mL 的水中,充分混匀,全部通过免疫亲和柱。按说明书使用免疫亲和柱。淋洗免疫亲和柱,洗脱下黄曲霉毒素 M<sub>1</sub>。将洗脱液进行适当稀释后,用高效液相色谱仪测定免疫亲和柱键合的黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 含量。计