

附录 A
(资料性附录)

T-2 毒素标准品的液相色谱图

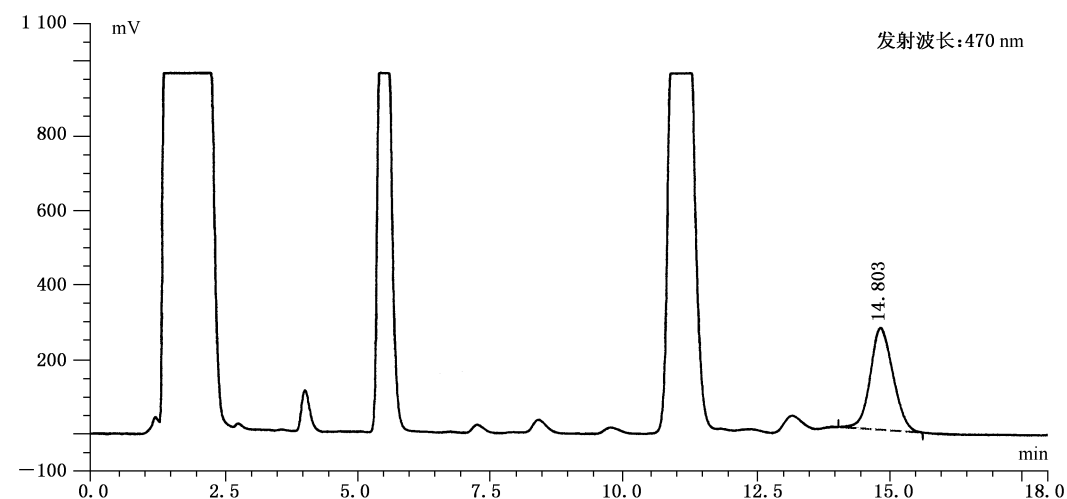


图 A.1 T-2 毒素标准品的液相色谱图

GB/T 23501—2009



中华人民共和国国家标准

GB/T 23501—2009

食品中 T-2 毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法

Determination of T-2 toxin in food—High performance
liquid chromatographic method with immunoaffinity column clean-up



GB/T 23501—2009

版权专有 侵权必究

*

书号: 155066 · 1-36948

定价: 14.00 元

2009-04-08 发布

2009-05-01 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

中 华 人 民 共 和 国
 国 家 标 准
 食 品 中 T-2 毒 素 的 测 定
 免 疫 亲 和 层 析 净 化 高 效 液 相 色 谱 法
 GB/T 23501—2009

*
 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 0.5 字 数 8 千 字
 2009 年 5 月 第 一 版 2009 年 5 月 第 一 次 印 刷
 *
 书 号 : 155066 · 1-36948 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)68533533

6.6 定量测定

以 T-2 毒素标准工作溶液浓度为横坐标,以峰面积积分值为纵坐标,绘制标准工作曲线,用标准工作曲线对试样进行定量,标准工作溶液和试样溶液中 T-2 毒素的响应值均应在仪器检测线性范围内。在上述色谱条件下,T-2 毒素标准品色谱图参见图 A.1。

6.7 空白试验

除不加试样外,空白试验应与测定平行进行,并采用相同的分析步骤。

6.8 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7 结果计算

试样中 T-2 毒素的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(c_1 - c_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X——试样中 T-2 毒素的含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- c₁——试样溶液中 T-2 毒素的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- c₀——空白试样溶液中 T-2 毒素的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V——衍生化后甲醇定容体积,单位为毫升(mL);
- m——试样的质量,单位为克(g);
- f——稀释倍数。

检测结果以两次测定值的算术平均值表示。计算结果表示到小数点后 1 位。

8 回收率

添加浓度在 10 μg/kg~100 μg/kg 时,回收率在 80%~110%之间。

9 重复性

在重复性条件下,获得的 T-2 毒素的两次独立测试结果的绝对差值不大于其算术平均值的 10%。

- 5.3 高速万能粉碎机:转速 10 000 r/min。
- 5.4 均质器:转速大于 10 000 r/min。
- 5.5 涡旋混合器。
- 5.6 玻璃注射器:10 mL。
- 5.7 氮气吹干仪。
- 5.8 试验筛:1 mm 孔径。
- 5.9 空气压力泵。
- 5.10 超声波发生器:功率大于 180 W。

6 分析步骤

6.1 试样的制备与提取

- 6.1.1 粮食和粮食制品:将样品研磨,硬质的粮食等用高速万能粉碎机磨细并通过试验筛(5.8),不要磨成粉末。称取 25 g(精确到 0.01 g)磨碎的试样于容量瓶中,用提取液(4.3)定容至 100.0 mL,混匀,转移至均质杯中,高速均质 2 min。定量滤纸过滤,移取 10.0 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,混匀,用玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,收集滤液 A 于干净的容器中。
- 6.1.2 酒类:取脱气酒类试样(含二氧化碳的酒类样品使用前先置于 4 °C 冰箱冷藏 30 min,过滤或超声脱气)或其他不含二氧化碳的酒类试样 20 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,混匀,定量滤纸过滤,移取 10.0 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,混匀,用玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,收集滤液 B 于干净的容器中。
- 6.1.3 酱油、醋、酱及酱制品:称取 25 g(精确到 0.01 g)混匀的试样,用甲醇定容至 50.0 mL,超声提取 10 min,定量滤纸过滤,移取 10.0 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,混匀,用玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,收集滤液 C 于干净的容器中。

6.2 净化

将免疫亲和柱连接于玻璃注射器(5.6)下,准确移取 6.1 中的滤液 A 或 B 或 C 10.0 mL,注入玻璃注射器中。将空气压力泵与玻璃注射器相连接,调节压力,使溶液以约 1 滴/s 的流速通过免疫亲和柱,直至空气进入亲和柱中。再用 10 mL 水淋洗免疫亲和柱,流速约为 1 滴/s~2 滴/s,直至空气进入亲和柱中,弃去全部流出液,抽干小柱。

6.3 洗脱

准确加入 1.0 mL 甲醇洗脱,流速约为 1 滴/s,收集全部洗脱液 D 于干净的玻璃试管中。

6.4 衍生

6.4.1 T-2 毒素标准工作液的衍生:取不同浓度的 T-2 毒素标准工作液各 1 mL,在 50 °C 下用氮气吹干,加入 50 μ L 4-二甲氨基吡啶(DMAP)溶液(4.4)和 50 μ L 1-萘膦(1-AN)溶液(4.5),在涡旋混合器上混匀 1 min,50 °C 反应 15 min,在冰水中冷却 10 min 后取出,50 °C 下氮气吹干,用 1.0 mL 流动相(6.5)溶解,HPLC 测定。

6.4.2 样品的衍生:将洗脱液 D 在 50 °C 下用氮气吹干,按 6.4.1 步骤进行。

6.5 高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱:C₁₈柱,5 μ m,150 mm×4.6 mm 或相当者;
- b) 流动相:乙腈+水(75+25);
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:35 °C;
- e) 进样量:20 μ L;
- f) 检测波长:激发波长 381 nm,发射波长 470 nm。

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会(SAC/TC 64)提出。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会食品通用检测技术分技术委员会(SAC/TC 64/SC 8)归口。

本标准起草单位:青岛市产品质量监督检验所、中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中检维康技术有限公司、青岛啤酒股份有限公司。

本标准主要起草人:张辉珍、李惠颖、王晓滨、郝俊光、鲍蕾、孙霄洁、王雄。