



中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6127—2017

粮油检验 粮食中脱氧雪腐镰刀菌 烯醇的测定 超高效液相色谱法

Inspection of grain and oils—Determination of deoxynivalenol in grains—
Ultra-high performance liquid chromatography

2017-10-27 发布

2017-12-20 实施

国家粮食局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会(SAT/TC 270)归口。

本标准起草单位：国家粮食局科学研究院、吉林省粮油卫生检验监测站、安徽国家粮食质量监测中心、北京农业质量标准与检测技术研究中心。

本标准主要起草人：谢刚、李丽、黎睿、叶金、王松雪、徐振斌、胡斌、崔华、吴宇、辛媛媛、陆安祥。

粮油检验 粮食中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 超高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了粮食及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇超高效液相色谱法测定的原理、试剂与仪器设备、分析步骤、结果计算等内容。

本标准适用于粮食及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定。

本标准方法脱氧雪腐镰刀菌烯醇的检出限为 0.05 mg/kg, 定量限为 0.15 mg/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 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

经过水提取试样中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇, 免疫亲和柱净化、富集后, 用超高效液相色谱紫外检测器测定, 外标法定量。

4 试剂与仪器设备

除另有规定外, 所用试剂均为分析纯, 实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇(CH₃OH): 色谱纯。

4.1.2 乙腈(CH₃CN): 色谱纯。

4.1.3 聚乙二醇(相对分子量 8 000): 分析纯。

4.1.4 乙腈+水(10+90): 取 10 mL 乙腈(4.1.2)加入 90 mL 水。

其他试剂符合 GB/T 602 的要求。

4.2 标准品

4.2.1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准品: 纯度≥99%; 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.2.2 标准储备液: 准确称取脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准品(4.2.1)1 mg(准确至 0.01 mg), 用乙腈溶解并定容至 10 mL, 配成浓度为 100 mg/L 的标准储备液, -20 °C 避光保存。

4.2.3 标准工作液: 根据需要使用, 准确移取适量的脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准品储备液(4.2.2), 用流动相定容至 10 mL, 分别配成浓度为 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L 的标准工

作液。4℃避光密封保存,有效期一周。

4.3 材料与仪器设备

4.3.1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫亲和柱。

4.3.2 定性滤纸:φ12 cm Whatman 4号,或性能相当者。

4.3.3 玻璃纤维滤纸:φ9 cm Whatman GF/A,或性能相当者。

4.3.4 滤膜:0.22 μm孔径,有机相。

4.3.5 注射器:10 mL。

4.3.6 离心管:50 mL。

4.3.7 三角瓶:250 mL。

4.3.8 量筒。

4.3.9 高速粉碎机。

4.3.10 高速均质器:转速6 500 r/min~24 000 r/min。

4.3.11 氮气吹干仪。

4.3.12 天平:感量0.1 g和0.01 mg。

4.3.13 离心机:转速≥5 000 r/min。

4.3.14 调速多用振荡器(振荡频率≥150次)。

4.3.15 空气压力泵。

4.3.16 试验筛:1 mm孔径。

4.3.17 液相色谱柱:C18柱(柱长50 mm或100 mm,柱内径2.1 mm,填料粒径1.7 μm),或性能相当者。

4.3.18 超高效液相色谱仪:包括超高效液相色谱仪、超高压液相色谱仪和超高速液相色谱仪,配备PDA或紫外检测器和数据处理系统。

色谱参考条件:

色谱柱:C18柱(4.3.17)。

流动相:A:乙腈(4.1.2),B:水;等度洗脱,A:B=10:90。

流速:0.1 mL/min。

紫外检测波长:218 nm。

进样量:10 μL。

柱温:25℃。

5 分析步骤

5.1 扦样与分样

按GB 5491执行,在采样过程中,注意防止样品污染。

5.2 样品制备

5.2.1 提取

样品用高速粉碎机(4.3.9)粉碎,过1 mm孔径试验筛(4.3.16),混合均匀后,取有代表性样品不少于500 g,供检测用。准确称取25 g(m,精确到0.1 g)充分混匀的试样,置于均质杯或250 mL三角瓶中,加入5.0 g聚乙二醇(4.1.3)和100 mL(V_1)水,高速均质提取2 min,或者使用调速多用振荡器(4.3.14)振荡提取30 min,用定性滤纸(4.3.2)过滤或转移25 mL的提取液于50 mL的离心管中,于5 000 r/min

离心 5 min。再用玻璃纤维滤纸(4.3.3)过滤或于 7 000 r/min 离心 10 min,滤液或离心液备用。

5.2.2 净化

将免疫亲和柱(4.3.1)与 10 mL 注射器(4.3.5)下端连接,准确移取 2.0 mL(V_2)滤液于注射器中,将空气压力泵(4.3.15)与注射器另一端连接,调节压力使溶液以约 1 滴/s 的流速缓慢通过免疫亲和柱,直至空气进入亲和柱中,用 5 mL 水淋洗亲和柱,流速为 1 滴/s~2 滴/s,弃掉全部流出液,抽干免疫亲和柱。准确加入 1.0 mL(V)甲醇(4.1.1)洗脱,流速为 1 滴/s,收集全部洗脱液于样品瓶中,于 55 °C 下氮气吹至近干,准确加入 1 mL(V)乙腈/水溶液(4.1.4)溶解残渣,涡旋混合 30 s,过 0.22 μ m 滤膜(4.3.4),作为待测样液备用。

注:对于脱氧雪腐镰刀菌烯醇含量较高的样品,可将提取滤液进行适当稀释,以保证脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量不超过免疫亲和柱的吸附容量。由于不同厂商提供的亲和柱操作程序可能有所不同,实际操作时,请参照免疫亲和柱厂商提供的操作说明和程序使用。

5.3 标准曲线的制作

脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准工作液(4.2.3)由低到高注入快速高效液相色谱仪进行分析,以脱氧雪腐镰刀菌烯醇浓度为横坐标,相对应色谱峰峰面积为纵坐标,建立标准工作曲线。

5.4 试验溶液的测定

待测样液(5.2)中待测化合物的响应值应在标准曲线线性范围内,浓度超过线性范围的样品则应重新按 5.2 进行处理符合要求后再进样分析。待测样液中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的浓度为 c_1 。液相色谱图详见附录 A。

5.5 空白试验

不称取试样,按 5.2 的步骤做空白实验,分析得到空白试样中待测物的浓度为 c_0 。

5.6 平行试样

按 5.2 的步骤,对同一试样进行平行试验测定。

6 结果计算

试样中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量按式(1)、式(2)计算:

$$X_1 = \frac{(c_1 - c_0) \times V}{W} \dots\dots\dots (1)$$

其中:

$$W = \frac{m}{V_1} \times V_2 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_1 ——试样中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_1 ——样液中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量,单位为毫克每升(mg/L);

c_0 ——空白试验脱氧雪腐镰刀菌烯醇的含量,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

W ——最终样液所代表的试样质量,单位为克(g);

m ——试样称取量,单位为克(g);

LS/T 6127—2017

V_1 ——样品提取液总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——通过亲和柱的样品提取液体积,单位为毫升(mL)。

计算结果表示到小数点后两位。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性附录)

脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准溶液超高效液相色谱图

脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准溶液超高效液相色谱图见图 A.1。

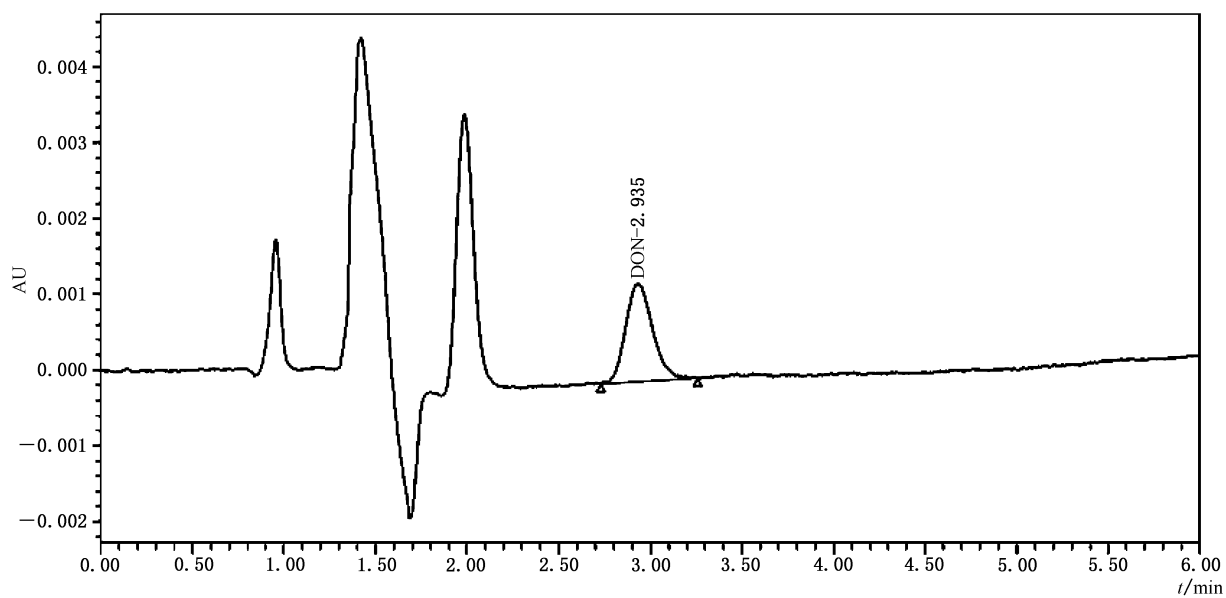


图 A.1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准谱图