DB43

湖南省地方标准

DB XX/T XXXX-XXXX

饲料脱霉剂霉菌毒素吸附率测定液相色谱串联质谱法

Determination of mycotoxin adsorption rate by feed mycotoxin adsorbents Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS) method

(送审稿)

(本草案完成时间：2022 年 9 月 3 日)

2022 - XX - XX 发布 2022 - XX - XX 实施

湖南省市场监督管理局 发 布

目次

[前言 II](#_Toc6581)

[1 范围 1](#_Toc11571)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc1958)

[3 术语和定义 1](#_Toc26358)

[4 原理 1](#_Toc13496)

[5 试剂与材料 1](#_Toc8526)

[6 仪器设备 2](#_Toc20265)

[7 试验步骤 2](#_Toc19249)

[7.1 取样 2](#_Toc25858)

[7.2 吸附 2](#_Toc20933)

[7.3 测定 3](#_Toc28936)

[8 结果计算 3](#_Toc26128)

[9 重复性 3](#_Toc17459)

[附录A 4](#_Toc4359)

[附录B 5](#_Toc22527)

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖南省农业农村厅提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：湖南农业大学。

本文件主要起草人：唐圣果、宋泽和、康萌、黄珂、黄正君、尹鑫

饲料脱霉剂霉菌毒素吸附率测定 液相色谱串联质谱法

# 范围

本文件规定了饲料脱霉剂霉菌毒素吸附率测定 液相色谱串联质谱法的术语和定义、原理、试剂与材料、仪器设备、样品、试验步骤等技术操作。

本文件适用于各种饲料脱霉剂黄曲霉毒素（AFB）B1、B2、G1和G2，玉米赤霉烯酮（ZEA）、伏马毒素和脱氧雪腐镰刀菌烯醇（DON）吸附率的测定。

# 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料采样

NY/T 3803 饲料中37种霉菌毒素的测定液相色谱串联质谱法

# 术语和定义

饲料脱霉剂吸附率：在模拟胃肠道pH=3的缓冲溶液饲料脱霉剂与已知浓度毒素标准溶液反应1小时后，吸附前后标准溶液中毒素浓度的差值与吸附前毒素标准溶液浓度之比。

# 原理

在模拟胃肠道pH=3的缓冲溶液中饲料脱霉剂与毒素标准液反应1小时后，离心取上清测定其中毒素的浓度，计算吸附前后标准溶液毒素浓度之差与吸附前标准溶液毒素浓度的比值。

# 试剂与材料

所用试剂除另有规定，均使用分析纯试剂。水符合GB/T 6682中一级水的规定。

5.1 氯化钾：分析纯；

5.2 磷酸二氢钾：分析纯；

5.3 十二水磷酸氢钠：分析纯；

5.4 氯化钠：分析纯；

5.5 盐酸溶液（0.2 mol/L）：准确移取18 mL盐酸于1 L容量瓶中，加水定容至刻度，混匀后备用；

5.6 磷酸缓冲液（pH=3）：准确称取0.2 g氯化钾（5.1），0.2 g磷酸二氢钾（5.2），2.92 g十二水磷酸氢二钠（5..3），8g氯化钠（5.4），加950 mL水溶解，使用2N盐酸（5.5）调整至pH=3，最后用纯水定容到1000 mL；

5.7 吸附操作溶液：分别准确称取适量的AB组或CD组混合标准储备溶液（5.8），AB组用磷酸缓冲液（5.7）配置成AB混合吸附操作液，其中吸附操作液浓度中A组毒素浓度为30 ng/mL，B组毒素浓度为100 ng/mL；CD组用甲酸铵溶液（5.8）配制成CD混合吸附操作液，其中吸附操作液浓度中C组毒素浓度为150 ng/mL，D组毒素浓度为300 ng/mL；

5.8 其余同NY/T 3803 饲料中37种霉菌毒素的测定液相色谱串联质谱法。

# 仪器设备

同NY/T 3803 饲料中37种霉菌毒素的测定液相色谱串联质谱法。

# 试验步骤

## 取样

按GB/T 14699.1的规定均匀取样后，放入烘箱37℃烘干24小时，干燥器中冷却后，密封袋封装，置于阴凉干燥处。

## 吸附

平行做2份试验。称取1g（精确至0.0001 g）试样于10ml的离心管中，准确加入5ml吸附操作溶液（5.7），涡旋混匀，置于恒温摇床中37℃，200rpm条件下，反应60 min；于8000 rpm/min 离心5 min，立即移取上清液，于60℃真空浓缩或氮吹至近干，备用。

## 测定

同NY/T 3803 饲料中37种霉菌毒素的测定液相色谱串联质谱法。

# 结果计算

饲料脱霉剂毒素吸附率按下式计算：

式中：

X...............................................饲料脱霉剂毒素吸附率%；

..............................................标准溶液中毒素浓度（ng/mL）；

.............................................吸附后上清液中毒素浓度（ng/mL）。

# 重复性

在重复条件下，获得的2次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算数平均值的10%。

附 录 A

（规范性附录）

本标准所测霉菌毒素分组、中文名称、英文名称、分子式、分子量、标准品纯度与检出限见表A.1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 分组 | 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 分子式 | 分子量 | CAS号 | 纯度  % | 检出限  μg/kg |
| A | 1 | 黄曲霉毒素B1 | Aflatoxin B1 | C17H12O6 | 312.3 | 1162-65-8 | 99 | 2 |
| 2 | 黄曲霉毒素B2 | Aflatoxin B2 | C17H14O6 | 314.3 | 7720-81-7 | 99 |
| 3 | 黄曲霉毒素G1 | Aflatoxin G1 | C17H12O7 | 328.3 | 1165-39-5 | 99 |
| 4 | 黄曲霉毒素G2 | Aflatoxin G2 | C17H14O7 | 330.3 | 7241-98-7 | 99 |
| B | 5 | 玉米赤霉烯酮 | Zearalenone | C18H22O5 | 318.4 | 17924-92-4 | 99 | 20 |
| 6 | 赭曲霉毒素A | OchratoxinA | C20H18ClNO6 | 403.8 | 303-47-9 | 99 |
| 7 | 赭曲霉毒素B | OchratoxinB | C20H19NO6 | 369.4 | 4825-86-9 | 98 |
| 8 | T-2毒素 | T-2 toxin | C24H34O9 | 466.5 | 21259-20-1 | 99 |
| C | 9 | 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | Deoxynivalenol | C15H20O6 | 296.3 | 51481-10-8 | 99 | 40 |
| 10 | 15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 15-AcetylDeoxynivalenol | C17H22O7 | 338.4 | 88337-96-6 | 99 |
| 11 | 3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 3-AcetylDeoxynivalenol | C17H22O7 | 338.4 | 50722-38-8 | 99 |
| 12 | 伏马霉素B1 | Fumonisin B1 | C34H59NO15 | 721.8 | 116355-83-0 | 99 |
| 13 | 伏马霉素B2 | Fumonisin B2 | C34H59NO14 | 705.8 | 116355-84-1 | 99 |
| 14 | 伏马霉素B3 | Fumonisin B3 | C34H59NO14 | 705.8 | 136379-59-4 | 95 |

附 录 B

（资料性附录）

霉菌毒素扫描时间、保留时间、电离方式、监测离子对、锥孔电压和碰撞能量信息

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 中文名称 | 扫描时间  min | 备留时间  min | 电离方式 | 监测离子对  m/z | 锥孔电压  V | 碰撞能量  eV |
| 1 | 黄曲霉毒素B1 | 8.0～8.6 | 8.25 | [M+H]+ | 313.1>284a；313.1>241.0 | 46 | 26；40 |
| 2 | 黄曲霉毒素B2 | 7.6～8.4 | 7.92 | [M+H]+ | 312.2>287.1a；315.2>259.0 | 46 | 30；32 |
| 3 | 黄曲霉毒素G1 | 7.4～8.2 | 7.73 | [M+H]+ | 329.1>242.9a；329.1>200.0 | 42 | 28；42 |
| 4 | 黄曲霉毒素G2 | 7.1～7.8 | 7.89 | [M+H]+ | 331.1>189.0a；331.1>245.0 | 48 | 43；34 |
| 5 | 玉米赤霉烯酮 | 10.6～11.2 | 10.83 | [M+H]+ | 317.2>131.0a；317.2>175.1 | 48 | 35；30 |
| 6 | 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 4.0～4.7 | 4.38 | [M+H]+ | 296.9>249.1a；296.9>203.0 | 15 | 10；15 |
| 7 | 15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 6.4～7.1 | 6.75 | [M+H]+ | 338.6>137.0a；338.6>321.0 | 25 | 22；15 |
| 8 | 3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 | 6.4～7.1 | 6.75 | [M+H]+ | 339.0>231.0a；339.0>203.1 | 28 | 16；22 |
| 9 | 伏马霉素B1 |  | 8.69 | [M+H]+ | 722.2>352.3a；722.2>334.3 | 50 | 36；40 |
| 10 | 伏马霉素B2 | 9.4～10.0 | 9.49 | [M+H]+ | 706.4>336.5a；706.4>354.5 | 40 | 40；35 |
| 11 | 伏马霉素B3 | 8.8～9.4 | 9.14 | [M+H]+ | 706.4>336.5a；706.4>354.5 | 40 | 40；35 |