



中华人民共和国国家标准

GB/T 18980—2003

乳和乳粉中黄曲霉毒素 M_1 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_1 content in milk and milk powder—
Cleanup by immunoaffinity chromatography and determination by
high-performance liquid chromatography and fluorometer

(ISO 14501:1998, IDT)



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 M₁ 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 M₁。

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。

本标准为首次发布。

乳和乳粉中黄曲霉毒素 M₁ 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 M₁ 含量的测定。乳粉中的最低检测限是 0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$,乳中的最低检测限是 0.008 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

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 M₁ 含量 aflatoxin M₁ 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 M₁ 的含量以微克/升($\mu\text{g}/\text{L}$)或微克/千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)表示。

1.3 原理

试样通过免疫亲和柱时,黄曲霉毒素 M₁ 被提取。亲和柱内含有的黄曲霉毒素 M₁ 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 M₁ (抗原)键合,形成抗体-抗原复合体。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 M₁,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 M₁ 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 M₁ 的抗体。亲和柱的最大容量不小于 100 ng 黄曲霉毒素 M₁ (相当于 50 mL 浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的试样),当标准溶液含有 4 ng 黄曲霉毒素 M₁ (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 M₁ 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 M₁。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 M₁ 含量。

计算黄曲霉毒素 M₁ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黄曲霉毒素 M₁ 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 M₁。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 M₁ 含量。计

算黄曲霉毒素 M₁ 的回收率,将其结果与 1.4.1 中所要求的指标进行对比。

1.4.2 乙腈:色谱级。

1.4.2.1 25%乙腈-水溶液:将 250 mL 的乙腈(1.4.2)与 750 mL 的水混溶(使用前需要脱气)。

1.4.2.2 10%乙腈-水溶液:将 100 mL 的乙腈(1.4.2)与 900 mL 的水混溶(使用前需要脱气)。

1.4.3 氮气。

1.4.4 三氯甲烷:加入 0.5%~1.0%质量比(与三氯甲烷质量比)的乙醇进行稳定。

1.4.5 黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液

1.4.5.1 校准溶液

黄曲霉毒素 M₁ 三氯甲烷溶液标称浓度为 10 μg/mL。根据下面的方法,在最大吸收波段处测定溶液的吸光度,以确定黄曲霉毒素 M₁ 的实际浓度。

用分光光度计(1.5.11)在 340 nm~370 nm 处测定,扣除三氯甲烷的空白本底,读取标准溶液的吸光度值。在接近 360 nm 最大吸收波段 λ_{max} 处,测得吸光度值为 A,根据式(1)计算出浓度值 c_i (μg/mL)。

$$c_i = A \times M \times 100/\epsilon \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- A——在 λ_{max} 处测得的吸光度值;
- M——328 g/mol,黄曲霉毒素 M₁ 摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol);
- ε——1995,溶于三氯甲烷中的黄曲霉毒素 M₁ 的吸光系数,单位为平方米每摩尔(m²/mol)。

1.4.5.2 标准储备液

确定黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液的实际浓度值后(1.4.5.1),继续用三氯甲烷将其稀释至浓度为 0.1 μg/mL 的储备液。储备液密封后于冰箱中 5℃ 以下避光保存。在此条件下,储备液可以稳定两个月。两个月后,应该对储备液的稳定性进行核查。

1.4.5.3 黄曲霉毒素 M₁ 标准工作液

从冰箱中取出储备液(1.4.5.2)放置至室温,移取一定量的储备液进行稀释制备成工作液。工作液当天使用当天制备。

黄曲霉毒素 M₁ 标准工作液配制:用移液管(1.5.4)准确移取 1.0 mL 的储备液(1.4.5.2)到 20 mL 的锥形试管中(1.5.9),用和缓的氮气(1.4.3)将溶液吹干,然后用 20.0 mL 10% 的乙腈(1.4.2.2)将残渣重新溶解,30 min 内振摇、混匀,配成浓度为 0.005 μg/mL 的黄曲霉毒素 M₁ 标准工作液。在用氮气对储备液吹干的过程中,一定要仔细操作,不能让温度降低太多而出现结露。

在作标准曲线时,黄曲霉毒素 M₁ 的进样量分别为 0.05 ng、0.1 ng、0.2 ng 和 0.4 ng。根据高效液相色谱仪进样环的容积量,用工作液配制一系列适当浓度的黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液,稀释液用 10% 乙腈(1.4.2.2)。

1.5 仪器及材料

使用实验室通用仪器设备,特殊仪器及材料说明如下。

- 1.5.1 一次性注射器:10 mL 和 50 mL。
- 1.5.2 真空系统。
- 1.5.3 离心机:4 000 g 离心力(离心力 g=1.12×10⁻⁵×转/分×旋转半径)。
- 1.5.4 移液管:1.0 mL、2.0 mL 和 50.0 mL。
- 1.5.5 玻璃烧杯:250 mL。
- 1.5.6 容量瓶:100 mL。
- 1.5.7 水浴:温控 30℃±2℃,50℃±2℃,温度范围 35℃~37℃。
- 1.5.8 滤纸。
- 1.5.9 带刻度的磨口锥形玻璃试管:5 mL、10 mL、20 mL。
- 1.5.10 高效液相色谱仪

- 1.5.10.1 无脉冲泵:适合恒定体积流量约 1 mL/min 的泵。
- 1.5.10.2 进样系统:具有固定或可变容积的进样环,进样体积 50 μ L~500 μ L。
- 1.5.10.3 反相色谱柱:填充 3 μ m 或者 5 μ m 的十八烷基硅胶,加有填充反相材料的保护柱。
- 1.5.10.4 荧光检测器:具有 365 nm 激发波长、435 nm 发射波长,在适当的色谱条件下能够测定 0.02 ng 的黄曲霉毒素 M₁(相当于 5 倍噪音)。
- 1.5.10.5 记录仪:带打印机或绘图仪、电子积分仪或计算机数据处理系统。
- 1.5.11 分光光度计:波长范围为 200 nm~400 nm,带光径长度为 1 cm 的石英比色池。
- 1.5.12 天平:准确至 0.1 g,最小分度 0.01 g。

1.6 采样

采样方法不属于本标准叙述的范围,推荐的采样方法请参见 ISO 707[1]。

实验室收到的样品应该具有真正的代表性,在运输和储藏的过程中没有被损坏和改变。

1.7 分析步骤

1.7.1 概述

所有的操作分析均应尽可能在避光条件下进行。

使用不同厂商的亲合柱,在乳粉的制作、洗涤和洗脱的操作方面可能略有不同,应该严格按照说明书要求进行操作。通常的分析步骤包括:用水或者盐水缓冲液将乳粉冲制成乳,离心分离后在一定压力过柱(可能需要预洗),用水洗柱,并用甲醇或乙腈洗脱吸附在柱上黄曲霉毒素 M₁。严格按照规定的流速进行操作。

1.7.2 制备试样

1.7.2.1 乳

将乳样品在水浴(1.5.7)中加热到 35℃~37℃。用滤纸(1.5.8)过滤(根据情况,也许需要用几张滤纸进行过滤),或者在 4 000 g 离心力下离心 15 min。至少收集 50 mL 乳试样,按照 1.7.4 继续进行分析。

1.7.2.2 乳粉

称取 10 g 样品(精确到 0.1 g),置于 250 mL 的烧杯(1.5.5)中。将 50 mL 已预热到 50℃ 的水多次少量地加入到乳粉中,用搅拌棒将其混合均匀。

如果乳粉不能完全溶解,将烧杯在 50℃ 的水浴(1.5.7)中放置至少 30 min,仔细混匀。

将溶解的乳粉冷却至 20℃ 后,移入 100 mL 容量瓶(1.5.6)中,用少量的水分次淋洗烧杯,淋洗液一并移入容量瓶中,再用水定容至刻度。用滤纸(1.5.8)过滤乳,或者在 4 000 g 离心力下离心 15 min。至少收集 50 mL 的乳试样,按照 1.7.4 继续进行分析。

1.7.3 免疫亲和柱的准备

将一次性的 50 mL 注射器筒(1.5.1)与亲和柱(1.4.1)的顶部相连,再将亲和柱与真空系统(1.5.2)连接起来。

1.7.4 样品的提取与纯化

用移液管移取 50 mL 试样(1.7.2.1 或 1.7.2.2)到 50 mL 注射器(1.5.1)中,调节真空系统(1.5.2),控制试样以 2 mL/min~3 mL/min 稳定的流速过柱。

取下 50 mL 的注射器,装上 10 mL 注射器。注射器内加入 10 mL 水,以稳定的流速洗柱,然后,抽干亲和柱。

脱开真空系统,装上另一个 10 mL 注射器,加入 4 mL 乙腈(1.4.2)。缓缓推动注射器栓塞,通过柱塞控制流速,洗脱黄曲霉毒素 M₁,洗脱液收集在锥形管(1.5.9)中,洗脱时间不少于 60 s。然后用和缓的氮气(1.4.3)在 30℃ 下将洗脱液蒸发至体积 V_e 为 50 μ L~500 μ L(警告:如果蒸发至干,会损失黄曲霉毒素 M₁)。用水将 V_e 稀释 10 倍至最终体积为 V_f(即 500 μ L~5 000 μ L)。

注:如果注入高效液相色谱仪含黄曲霉毒素 M₁ 的样品,乙腈含量超过 10%,色谱峰变宽。如果水含量超过 90%,则对色谱峰的形状没有影响。

1.7.5 高效液相色谱分析仪

1.7.5.1 泵

以恒定流速将乙腈-水溶液(1.4.2.1)泵流通过高效液相色谱柱。如果需要(根据所用色谱柱的型号),调整乙腈-水的比例,以保证使黄曲霉毒素 M₁ 与其他成分的分离效果最佳。

乙腈-水溶液(1.4.2.1)的体积流速根据所用色谱柱(1.5.10.3)而定。对于普通色谱柱(柱长约 25 cm、柱内径约 4.6 mm)而言,流速在 1 mL/min 左右,效果最好;柱内径为 3 mm 时,流速在 0.5 mL/min左右,效果最好。

为了确定最佳的色谱条件,最好先将不含黄曲霉毒素 M₁ 的阴性样品提取液注入 HPLC,然后再注入样品提取液与黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液的混合液。

1.7.5.2 色谱性能

标准曲线的线性度和色谱系统的稳定性需要经常检查,多次反复地注入固定量的黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液,直至获得稳定的峰面积和峰高。相邻两次峰面积和峰高的差异不得超过 5%。

黄曲霉毒素 M₁ 的保留时间与温度有关,所以对测定系统的漂移需要补偿。每隔一段时间测定固定量的黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液,这些标准溶液的测定结果可以根据漂移的情况进行校正。

1.7.5.3 黄曲霉毒素 M₁ 的标准曲线

根据 HPLC 进样环容积,选择适当体积数 V_e,分别注入含有 0.05 ng、0.1 ng、0.2 ng 和 0.4 ng 的黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液。绘制成峰面积或峰高对黄曲霉毒素 M₁ 质量数的标准曲线。

1.7.5.4 样品洗脱液的色谱分析及进样方案

通过进样环将适量体积 V_i 洗脱液注入高效液相色谱仪。采用与标准溶液相同的色谱条件分离出洗脱液中的黄曲霉毒素 M₁。标准溶液和样品洗脱液均按照规定的方案进样。当连续检测一系列样品时,建议每隔五个样品,加测一个黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液。

根据样品洗脱液色谱图中黄曲霉毒素 M₁ 的峰高或峰面积值,从标准曲线上得出样品洗脱液中所含有的黄曲霉毒素 M₁ 质量数(ng)。

如果样品洗脱液的黄曲霉毒素 M₁ 的峰面积或峰高值高于标准溶液,用水定容稀释样品洗脱液后,重新进样分析。

1.8 测定结果的计算与表示

1.8.1 乳

应用式(2)计算被测样品中的黄曲霉毒素 M₁ 的含量 w_m。

$$w_m = m_A \times (V_f/V_i) \times (1/V) \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- w_m——黄曲霉毒素 M₁ 的含量,单位为微克每升(μg/L);
- m_A——样品洗脱液黄曲霉毒素 M₁ 的峰面积或峰高从标准曲线上得出的黄曲霉毒素 M₁ 的质量数,单位为纳克(ng);
- V_i——样品洗脱液的体积数,单位为微升(μL);
- V_f——样品洗脱液的最终体积数,单位为微升(μL);
- V——通过免疫亲和柱被测样品的体积数,单位为毫升(mL)。

计算结果表示到小数点后三位。

1.8.2 乳粉

应用式(3)计算被测样品中的黄曲霉毒素 M₁ 的含量 w_p。

$$w_p = m_A \times (V_f/V_i) \times (1/m) \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- w_p——样品中的黄曲霉毒素 M₁ 的含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- m——50 mL 样液(7.4)中所含有的乳粉质量数,单位为克(g);

m_A 、 V_f 、 V_i 的含义与 1.8.1 中所定义的一样。

式(3)适用于未经稀释的试样,否则应该乘以稀释倍数。

计算结果表示到小数点后三位。

1.9 精密度

各实验室试验结果的精密度总结于附录 A 中,这些数据不适用于其他的浓度范围和材质。

1.10 测试报告

测试报告中应该含有:

- 描述样品完整特征所需要的所有信息;
- 采样方法,如果知道请写上;
- 根据该标准,所采用的试验方法;
- 该标准没有提出的其他操作细节,对测试结果可能产生影响的操作、现象以及采取的措施;
- 测试结果;
- 如果检查了重复性,最终的验证结果。

2 免疫亲和层析净化荧光光度法

2.1 范围

本方法规定了用免疫亲和层析净化荧光光度法测定乳和乳粉中黄曲霉毒素 M_1 的条件和详细分析步骤。

本方法适用于乳和乳粉中黄曲霉毒素 M_1 的快速测定。乳中黄曲霉毒素 M_1 的检出限为 $0.1 \mu\text{g/L}$,乳粉中黄曲霉毒素 M_1 的检出限为 $0.1 \mu\text{g/kg}$ 。

2.2 方法提要

试样经过离心、脱脂、过滤后,滤液经过含有黄曲霉毒素 M_1 特异性单克隆抗体的免疫亲和层析净化,黄曲霉毒素 M_1 交联在层析介质中的抗体上。此抗体对黄曲霉毒素 M_1 具有专一性,当样品通过亲和柱时,抗体选择性的与所有存在的黄曲霉毒素 M_1 (抗原)键合。用甲醇-水(10+90)将免疫亲和柱上杂质除去,以甲醇-水(80+20)通过免疫亲和柱洗脱,加入溴溶液衍生后的洗脱液于荧光光度计中测定黄曲霉毒素 M_1 含量。

2.3 试剂

除非另有规定,仅使用分析纯试剂、重蒸馏水。

2.3.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

2.3.2 氯化钠(NaCl)。

2.3.3 甲醇-水(10+90):取 10 mL 甲醇加入 90 mL 水。

2.3.4 甲醇-水(80+20):取 80 mL 甲醇加入 20 mL 水。

2.3.5 溴溶液储备液(0.01%):称取适量溴,溶于水后,配成 0.01%的储备液,避光保存。

2.3.6 溴溶液工作液(0.002%):取 10 mL 0.01%的溴溶液加入 40 mL 水混匀,于棕色瓶中保存备用。现用现配。

2.3.7 二水硫酸奎宁($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

2.3.8 硫酸溶液(0.05 mol/L):取 2.8 mL 浓硫酸,缓慢加入适量水中,冷却后定容至 1 000 mL。

2.3.9 荧光光度计校准溶液:称取 0.340 g 硫酸奎宁($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),用 0.05 mol/L 硫酸溶液溶解并定容至 100 mL,此溶液荧光光度计读数相当于 $2.0 \mu\text{g/L}$ 黄曲霉毒素 M_1 标准溶液。
0.05 mol/L 硫酸溶液荧光光度计读数相当于 $0.0 \mu\text{g/L}$ 黄曲霉毒素 M_1 。

2.4 仪器

2.4.1 荧光光度计。

2.4.2 离心机:离心力不低于 4 000 r/min。

- 2.4.3 玻璃纤维滤纸:直径 11 cm,孔径 1.5 μm。
- 2.4.4 黄曲霉毒素 M₁ 免疫亲和柱。
- 2.4.5 空气压力泵。
- 2.4.6 玻璃试管:直径 12 mm,长 75 mm,无荧光特性。
- 2.4.7 玻璃注射器。

2.5 分析步骤

2.5.1 样品提取

2.5.1.1 乳

取 50 mL 乳样品,加入 1.0 g 氯化钠,4 000 r/min 离心力下离心 10 min,小心移取用于分析的乳底层脱脂部分,不要扰动顶部脂肪层,将脱脂的乳以玻璃纤维滤纸过滤,滤液备用。

2.5.1.2 乳粉

称取 5.0 g 乳粉,用 30℃~60℃ 水将其慢慢溶解,定容为 50 mL,加入 1.0 g 氯化钠,以下按 2.5.1.1 的步骤操作。

2.5.2 净化

将免疫亲和柱连接于 10 mL 玻璃注射器下。准确移取 10.0 mL 上述滤液注入玻璃注射器中,将空气压力泵与注射器连接,调节压力使溶液以约 6 mL/min 流速缓慢通过免疫亲和柱,直至 2 mL~3 mL 空气通过柱体。以 10 mL 甲醇-水(10+90)清洗柱子两次,弃去全部流出液,并使 2 mL~3 mL 空气通过柱体。准确加入 1.0 mL(V₁)甲醇-水(80+20)洗脱液洗脱,流速为 1 mL/min~2 mL/min,收集全部甲醇-水洗脱液于玻璃试管中,备用。

2.5.3 测定

2.5.3.1 荧光光度计校准

在激发波长 360 nm,发射波长 450 nm 条件下,以 0.05 mol/L 硫酸溶液为空白,调节荧光光度计的读数值为 0.0 μg/L;以荧光光度计校准溶液调节荧光光度计的读数值为 2.0 μg/L。

2.5.3.2 样液测定

取上述洗脱液加入 1.0 mL(V)0.002%溴溶液,1 min 后立即于荧光光度计测定样液中黄曲霉毒素 M₁ 含量 c。

2.5.3.3 空白试验

用水代替试样,按 2.5.1~2.5.3 步骤做空白试验。

2.6 结果计算

2.6.1 乳

乳检测结果按式(4)计算。

$$X_1 = \frac{(c_1 - c_0) \times V_1 \times 10}{V} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

X₁——试样中黄曲霉毒素 M₁ 含量,单位为微克每升(μg/L);

c₁——荧光光度计中读取的样液中黄曲霉毒素 M₁ 的浓度,单位为微克每升(μg/L);

c₀——荧光光度计中读取的空白试验中黄曲霉毒素 M₁ 的浓度,单位为微克每升(μg/L);

V₁——最终净化甲醇-水洗脱液体积,单位为毫升(mL);

V——通过亲和柱试样体积,单位为毫升(mL);

10——仪器的读数系数。

计算结果表示到小数点后一位。

2.6.2 乳粉

乳粉检测结果按式(5)计算:

$$X_2 = \frac{(c_2 - c_0) \times V_1 \times 10}{m \times V} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

- X₂——试样中黄曲霉毒素 M₁ 含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- c₂——荧光光度计中读取的样液中黄曲霉毒素 M₁ 的浓度,单位为微克每升(μg/L);
- c₀——荧光光度计中读取的空白试验中黄曲霉毒素 M₁ 的浓度,单位为微克每升(μg/L);
- V₁——最终净化甲醇-水洗脱液体积,单位为毫升(mL);
- V——通过亲和柱试样体积,单位为毫升(mL);
- m——50 mL 试样中所含乳粉的质量数,单位为克每毫升(g/mL);
- 10——仪器的读数系数。

计算结果表示到小数点后一位。

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剩留物[4],所以黄曲霉毒素 M₁ 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 ^a	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
^a 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。					

参 考 文 献

- [1] ISO 707:1997, Milk and milk products—Guidance on sampling.
 - [2] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 1: General principles and definitions.
 - [3] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.
 - [4] Commission of the European Community. Community Bureau of Reference, BCR. The certification of aflatoxin M₁ in three milk powder samples, CRM No. 282, 284, 285. Van Egmond H. P and Wagstaffe P. J. , *Report and Addendum report*, EUR 10412, 1986.
 - [5] IDF collaborative study on the determination of aflatoxin M₁ in milk powder, using immunoaffinity columns, L. G. M. T. Tuinstra, Roos A. H. and Van Trijp J. M. P. , RIKILT Report, 92, 1992, p. 14.
 - [6] Liquid chromatographic determination of aflatoxin M₁ in milk powder using immunoaffinity columns for cleanup: Interlaboratory study. Tuinstra L. G. M. t. , Roos A. H. and van Trijp J. M. P. , *J. A. O. A. C. Int.* , 1993, 76(6), pp. 1248-1254.
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
乳和乳粉中黄曲霉毒素 M₁ 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

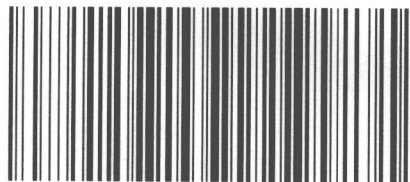
*

书号: 155066·1-19508 定价 12.00 元

网址 www.bzcbbs.com

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 18980—2003