



中华人民共和国国家标准

GB/T ×××××—201×

生物产品降解霉菌毒素功效评价技术规范

Technical specification of efficacy evaluation for degradation of
mycotoxin by biological products

××××-××-×× 发布

××××-××-×× 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：江南大学、中国标准化研究院、北京萨姆伯科技有限公司。

本标准主要起草人：吴晓玲、胥传来、匡华、马爱进、曾露、刘丽强、马伟、徐丽广、郭玲玲、郝帅。

生物产品降解霉菌毒素功效评价技术规范

1 范围

本标准规定了生物产品降解霉菌毒素功效评价的一般原则、基本要求、评价方法、评价报告表述。
本标准适用于生物产品降解霉菌毒素的效果评价。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 17480 饲料中黄曲霉毒素 B1 的测定 酶联免疫吸附法
- GB/T 19540 饲料中玉米赤霉烯酮的测定
- GB/T 28718 饲料中 T-2 毒素的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法
- GB/T 30956 饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法
- GB/T 30957 饲料中赭曲霉毒素 A 的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生物产品 biological products

由生物技术制备的产品。

注:本标准中的生物产品特指具有降解霉菌毒素功能的微生物或酶产品。

3.2

霉菌毒素 mycotoxin

由某些霉菌在生长过程中产生的次级代谢产物。

注:目前已知的霉菌毒素有 400 余种,主要由曲霉菌属、镰刀霉菌属和青霉菌属产生,常见霉菌毒素有黄曲霉毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素、T-2 毒素等。

4 一般原则

- 4.1 生物产品标签或说明书有明确的微生物或酶产品名称的方可开展评价。
- 4.2 科学、公正开展功效评价工作,评价过程及评价方法科学。
- 4.3 采用统计方法进行比较,不得伪造、变造检验报告。

5 基本要求

- 5.1 按照相关法律法规、标准及产品说明书的要求对样品进行接收、保管、交接、配制、回收、退还/销毁处理,并制定相应的管理制度和程序。
- 5.2 开展微生物评价的实验室应符合生物安全一级要求。

- 5.3 评价使用的仪器与设备种类、数量、性能、量程、精度应能满足功效评价的需要。微生物产品功效评价需要的器皿材料应经过无菌处理。
- 5.4 评价使用的试剂应为分析纯,水应符合 GB/T 6682 中规定的二级水。
- 5.5 评价使用的霉菌毒素由纯度大于或等于 98%霉菌毒素标准品,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质,配制成一定浓度的标准溶液。
- 5.6 评价实验结束后,实验材料应进行无害化处理。

6 评价方法

6.1 试验设计

应符合表 1 要求。

表 1 试验设计

项目	产品种类	
	微生物产品	酶产品
处理设计	供试样品、失活样品、空白对照	
霉菌毒素选择	根据评价目标和评价需要选择一种或多种	
重复次数	不少于 3 次	
反应体系	按正交试验结果确定 ^a	
^a 微生物和酶产品说明书中有明确反应体系的按说明书要求进行。无明确反应体系的生物产品按正交试验设计确定降解霉菌毒素的最佳反应体系,以降解率为考察指标,选取 5 个因素为考察对象(底物浓度、生物产品浓度、pH、温度和时间),每个因素选择 4 个水平,进行五因素四水平的正交试验。		

6.2 霉菌毒素溶液制备

用缓冲液稀释霉菌毒素标准溶液,配制成浓度为 100 μg/mL 的储备溶液,试验时用缓冲液稀释成一定浓度的工作液,现用现配。

6.3 样品处理

6.3.1 供试样品

待测生物产品若为块状固体产品应进行粉碎或充分研磨处理,过 0.25 mm 孔径筛。准确称取一定重量的固体供试样品,用不同 pH 的缓冲液按要求稀释为不同浓度(g/mL)备用;供测样品若为液体,用不同 pH 的缓冲液按要求稀释为不同浓度(g/mL)备用。

6.3.2 失活样品

取部分供试样品在灭菌锅 121 ℃处理 30 min,备用。

6.3.3 空白样品

用缓冲液代替待测生物产品,备用。

6.4 反应体系确定

设计正交实验,选取底物浓度、样品浓度、pH、温度、时间等影响微生物或酶产品作用的因素确定反应体系。

6.5 降解处理

6.5.1 微生物产品降解处理

取 250 mL 三角瓶 9 个,其中空白样品 3 个、供试样品 3 个、失活样品 3 个。按照最佳反应体系确定的底物浓度、微生物产品添加量,制备成反应体系为 100 mL 的培养液,在最佳反应体系条件下进行降解反应。

6.5.2 酶产品降解处理

取 50 mL 离心管 9 个,其中空白样品 3 个,供试样品 3 个,失活样品 3 个。按照最佳反应体系确定的酶产品添加量、底物浓度,制备成反应体系为 15 mL 的反应液,在最佳反应体系条件下进行降解反应。

6.6 测定

降解处理结束后,上离心机 6 000 r/min 离心 20 min,取上清液。根据霉菌毒素的特性,分别按 GB/T 17480、GB/T 30956、GB/T 19540、GB/T 30957、GB/T 28718 规定的方法进行霉菌毒素浓度测定。

6.7 降解率计算

按式(1)计算:

$$R = \frac{(\rho_0 - \rho_1) - (\rho_0 - \rho_2) - (\rho_0 - \rho')}{\rho_0} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- R ——降解率,%;
 - ρ₀ ——反应开始时起始底物中霉菌毒素浓度,单位为微克每升(μg/L);
 - ρ₁ ——供试样品反应后残留底物中霉菌毒素浓度,单位为微克每升(μg/L);
 - ρ₂ ——失活样品反应后残留底物中霉菌毒素浓度,单位为微克每升(μg/L);
 - ρ' ——空白样品反应后残留底物中霉菌毒素浓度,单位为微克每升(μg/L)。
- 以平行样的平均值为最终降解率值,计算结果保留到小数点后两位。

7 评价报告表述

7.1 功效评价结果以降解率表示,见表 2。

表 2 功效评价结果

类别	结果				
降解率 R	好	良好	较好	一般	差
	R≥80%	80%>R≥60%	60%>R≥40%	40%>R≥20%	R<20%

7.2 应表述出评价产品的名称、生产组织名称、霉菌毒素的名称、霉菌毒素的浓度、降解率、反应体系参数(包括 pH 值、温度、时间等)、降解效果(好、良好、较好、一般、差)。