

ICS 65.120  
B 46



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 17480—1998

---

## 饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定 酶联免疫吸附法

Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in feeds  
—Enzyme-linked immunosorbent assay

1998-08-28 发布

1999-01-01 实施

---

国家质量技术监督局 发布

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定  
酶联免疫吸附法

GB/T 17480—1998

\*

中国标准出版社出版发行  
北京西城区复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码：100045

<http://www.bzcbs.com>

电话：63787337、63787447

1999 年 1 月第一版 2005 年 1 月电子版制作

\*

书号：155066·1-15410

版权专有 侵权必究

举报电话：(010) 68533533

## 前 言

酶联免疫吸附(ELISA)法测定黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>),是近 20 年来发展起来的一种新的分析方法。它比原 GB 8381—87 薄层荧光限量法(半定量)测定 AFB<sub>1</sub> 具有技术先进、灵敏度高、特异性强、精确度高、重复性好、测定速度快、成本低、污染少等优点。其原理是通过 AFB<sub>1</sub> 抗体与酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原和待测抗原之间免疫竞争反应以及酶的催化显色反应相结合来检测样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量。国外已研制成专门的测试盒供检测部门使用,如美国 Agri-Screen 等公司就有这种产品。

本标准等效采用 AOAC(美国公职分析化学家协会)中关于棉籽制品和混合饲料中 AFB<sub>1</sub> 酶联免疫吸附筛选法,该法 1989 年首次在 AOAC 上获得通过。

本标准作为饲料中 AFB<sub>1</sub> 限量和定量测定法,可与原 GB 8381—87 标准并列使用,而以原标准为仲裁法。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准由江苏省微生物研究所、上海市饲料质量监督检验站、国家饲料质量监督检验中心(北京)、上海市嘉定纤检仪器厂共同组成的起草工作组负责起草。

本标准主要起草人:成恒嵩、潘中华、张瑜、陈必芳、宓晓黎、赵晓联、袁建兴、杨焱、徐燕芳、葛其德。

# 中华人民共和国国家标准

## 饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定 酶联免疫吸附法

GB/T 17480—1998

Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in feeds  
—Enzyme-linked immunosorbent assay

### 1 范围

本标准规定了饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 的酶联免疫吸附测定 (ELISA) 方法。  
本标准适用于各种饲料原料、配(混)合饲料中 AFB<sub>1</sub> 的测定。

### 2 引用标准

GB 8381—87 饲料中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的测定方法

### 3 原理

利用固相酶联免疫吸附原理,将 AFB<sub>1</sub> 特异性抗体包被于聚苯乙烯微量反应板的孔穴中,再加入样品提取液(未知抗原)及酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原(已知抗原),使两者与抗体之间进行免疫竞争反应,然后加酶底物显色,颜色的深浅取决于抗体和酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原结合的量,即样品中 AFB<sub>1</sub> 多,则被抗体结合酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原少,颜色浅,反之则深。用目测法或仪器法与 AFB<sub>1</sub> 标样比较来判断样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量。

### 4 试剂和材料

#### 4.1 AFB<sub>1</sub> 酶联免疫测试盒组成

4.1.1 包被抗体的聚苯乙烯微量反应板:24 孔或 48 孔。

4.1.2 A 试剂:稀释液,甲醇:蒸馏水为 7:93(V/V)。

4.1.3 B 试剂:AFB<sub>1</sub> 标准物质(Sigma 公司,纯度 100%)溶液,1.00 μg/L。

4.1.4 C 试剂:酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原(AFB<sub>1</sub>-辣根过氧化物酶交联物,AFB<sub>1</sub>-HRP),AFB<sub>1</sub>:HRP(摩尔比) < 2:1。

4.1.5 D 试剂:酶标 AFB<sub>1</sub> 抗原稀释液,含 0.1% 牛血清白蛋白(BSA)的 pH7.5 磷酸盐缓冲液(PBS)。pH7.5 磷酸盐缓冲液的配制:称取 3.01 g 磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O),0.25 g 磷酸二氢钠(NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O),8.76 g 氯化钠(NaCl)加水溶解至 1 L。

4.1.6 E 试剂:洗涤液,含 0.05% 吐温-20 的 PBS 溶液。

4.1.7 F 试剂:底物液 a,四甲基联苯胺(TMB),用 pH5.0 乙酸钠-柠檬酸缓冲液配成浓度为 0.2 g/L。pH5.0 乙酸钠-柠檬酸缓冲液配制:称取 15.09 g 乙酸钠(CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O),1.56 g 柠檬酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O)加水溶解至 1 L。

4.1.8 G 试剂:底物液 b,1 mL pH5.0 乙酸钠-柠檬酸缓冲液中加入 0.3% 过氧化氢溶液 28 μL。

4.1.9 H 试剂:终止液,c(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)=2 mol/L 硫酸溶液。

国家质量技术监督局 1998-08-28 批准

1999-01-01 实施