

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXXX—XXXX

发酵液中麦角硫因的测定 高效液相色谱法

Determination of ergothione in fermentation liquor-High performance liquid chromatography method

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部 发布

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》的规定起草。

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。

本文件由中国轻工联合会提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会（SCA/TC 64）归口。

本文件起草单位：略。

本文件主要起草人：略。

本文件为首次发布。

发酵液中麦角硫因的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了发酵液中麦角硫因的高效液相色谱检测方法。
本文件适用于麦角硫因发酵液中麦角硫因的测定。

2 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 分析实验用水规格和实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的麦角硫因经热水提取或直接稀释，定容过滤后，利用高效液相色谱仪经亲水反相色谱柱分离后，用紫外检测器检测，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 水：GB/T 6682，一级水。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 乙腈溶液：量取乙腈 3 mL，加水至 100 mL。

5.4 麦角硫因标准品（ $C_9H_{15}N_3O_2S$ ，CAS：497-30-3）：纯度 $\geq 98\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.5 麦角硫因标准储备液（1.0 mg/mL）：称取麦角硫因标准品 0.1 g，精确至 0.000 1 g，加水溶解并定容至 100 mL，4 °C 以下保存，有效期 3 个月。

5.6 麦角硫因标准系列工作液：分别移取麦角硫因标准储备液 1 mL、2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL，分别加水定容至 100 mL，混匀。麦角硫因标准系列工作液的浓度分别为 10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 、60 $\mu\text{g/mL}$ 、80 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 。4 °C 保存，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 分析天平：感量为 0.000 1 g 和 0.000 01 g。

6.2 具塞锥形瓶：150 mL。

6.3 水浴恒温磁力搅拌器：20 °C~100 °C 可调，搅拌转速 50 r/min~500 r/min 可调。

6.4 离心管：10 mL。

6.5 离心机：转速 500 r/min~5000 r/min 可调。

6.6 微孔滤膜：0.22 μm ，水相。

6.7 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

7 分析步骤

7.1 试样溶液的制备

7.1.1 发酵混合液

量取发酵混合液1 mL置于150 mL具塞锥形瓶中，加水至约60 mL，制成菌体悬液。置于95 °C水浴中，以200 r/min转速搅拌提取30 min后，冷却至室温，将该发酵混合提取液加水定容至100 mL，摇匀，微孔滤膜过滤。此发酵混合提取液应经适当的稀释，使麦角硫因浓度在标准曲线范围内。

7.1.2 发酵清液

量取发酵混合液1 mL置于10 mL离心管中，5000 r/min离心10 min后倒出上清液，定容至100 mL，摇匀，微孔滤膜过滤。此上清液的麦角硫因浓度应在标准曲线范围内。

7.1.3 发酵菌体

量取发酵液混合1 mL置于10 mL离心管中，5000 r/min离心10 min后倒出上清液，用约60 mL水将离心管中剩余的菌体完全洗入150 mL具塞锥形瓶中，制成菌体悬液。将菌体悬液置于95 °C水浴中，以200 r/min转速搅拌提取30 min后，释放细胞内麦角硫因，冷却至室温，将发酵菌体提取液加水定容至100 mL，摇匀，用微孔滤膜过滤。此发酵菌体提取液应经适当的稀释，使麦角硫因浓度在标准曲线范围内。

7.2 液相色谱参考条件

7.2.1 色谱柱：SB-Aq，250 mm×4.6 mm×5 μm，或等效的亲水柱。

7.2.2 柱温：30 °C。

7.2.3 检测波长：257 nm。

7.2.4 流动相：乙腈溶液。

7.2.5 流速：0.7 mL/min。

7.2.6 进样量：10 μL。

7.3 标准曲线的制作

将麦角硫因标准系列工作液，按浓度由低到高的顺序分别注入液相色谱仪中，测得相应的色谱峰面积，以标准系列工作液中麦角硫因的浓度为横坐标，以对应麦角硫因的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。麦角硫因标准溶液（10 μg/mL）液相色谱图参见附录A中图A.1。

7.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中麦角硫因的含量。

7.5 分析结果的表述

发酵液中麦角硫因的含量按式（1）进行计算：

$$X_i = \frac{c \times 100}{V \times 1000} \times f \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X_i ——发酵液中麦角硫因的含量，单位为克每升（g/L）；

c ——标准曲线得到的试样溶液中麦角硫因的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

100 ——试样定容的体积，单位为毫升（mL）；

V ——量取发酵液的体积，单位为毫升（mL）；

f ——提取液的稀释倍数；

1 000 ——换算系数。

试验结果以平行测定结果的算术平均值表示，计算结果保留三位有效数字。

8 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应超过算数平均值的10%。

9 其他

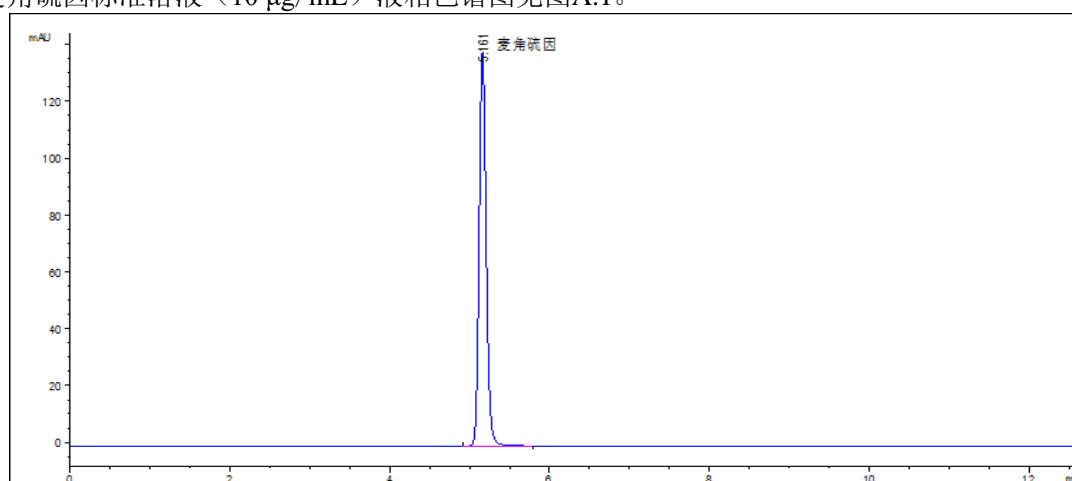
当发酵液量取1.0 mL时，方法的检出限为0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，定量限为2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

附录 A
(规范性)

麦角硫因标准溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 液相色谱图

A.1 麦角硫因标准溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 液相色谱图

麦角硫因标准溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 液相色谱图见图A.1。



图A.1 麦角硫因标准溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 液相色谱图