



# 中华人民共和国国家标准

GB 5009.261—2016

---

## 食品安全国家标准

### 贝类中神经性贝类毒素的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

---

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会  
国家食品药品监督管理总局 发布

## 前 言

本标准代替 SN/T 1573—2013《出口贝类中神经性贝类毒素检验方法 小鼠生物法》。

本标准与 SN/T 1573—2013 相比,主要变化如下:

——标准名称修改为“食品安全国家标准 贝类中神经性贝类毒素的测定”。

# 食品安全国家标准

## 贝类中神经性贝类毒素的测定

### 1 范围

本标准规定了贝类中神经性贝类毒素(NSP)检测的小鼠生物测定方法。  
本标准适用于贝类及制品中神经性贝类毒素(NSP)的检测。

### 2 原理

用乙醚提取贝类中神经性贝类毒素,提取物经减压蒸干后,再以1%吐温-60生理盐水为分散介质,制备NSP-1%吐温-60生理盐水混悬液,将该混悬液注射入腹腔,观察小鼠存活情况,计算其毒力。

### 3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

- 3.1.1 盐酸(HCl)。
- 3.1.2 无水乙醚(C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O)。
- 3.1.3 吐温-60(C<sub>64</sub>H<sub>126</sub>O<sub>26</sub>)。
- 3.1.4 氯化钠(NaCl)。
- 3.1.5 次氯酸钠(NaClO)。

#### 3.2 试剂配制

- 3.2.1 氯化钠溶液(0.85%):称取0.85 g NaCl,加水溶解并定容至100 mL。
- 3.2.2 1%吐温-60:称取1.0 g吐温-60,用0.85%氯化钠溶液溶解并定容至100 mL。
- 3.2.3 次氯酸钠溶液(5%):称取次氯酸钠50 g,用水溶解,并稀释至1 000 mL。

#### 3.3 标准品

短裸甲藻毒素标准品(brevetoxin-2),纯度 $\geq 90\%$ 。

#### 3.4 材料

小白鼠:体重为19 g~21 g的健康ICR品系雄性小鼠。

### 4 仪器和设备

- 4.1 旋转蒸发器。
- 4.2 均质器。

- 4.3 天平:感量为 0.1 g。
- 4.4 分液漏斗。
- 4.5 圆底烧瓶。
- 4.6 布氏漏斗。
- 4.7 一次性注射器:1 mL。
- 4.8 离心机:转速 $\geq 6\ 000$  r/min。
- 4.9 金属筛网:孔径约 2 mm。

## 5 分析步骤

注:橡胶手套、玻璃制品等用过的器材,以及废弃的提取液应在次氯酸钠溶液(5%)中浸泡 1 h 以上,以使毒素分解。

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 样品采集

每个分析样品至少要取 10 个以上贝类,并使贝肉达 200 g 以上。

冷冻样品置于保温盒中冷冻送检,或保证其处于低温状态(0℃~10℃)送检。如为带壳样品,应开壳去除水分后冷冻送检。

#### 5.1.2 试样制备

##### 5.1.2.1 生鲜带壳样品

用清水将贝壳外表彻底洗净,切断闭壳肌,开壳,用水淋洗内部去除泥沙及其他外来物。将闭壳肌和连接在胶合部的组织分开,取出贝肉,切勿割破肉体。开壳前不要加热或用麻醉剂。收集 200 g 贝肉放在孔径约 2 mm 的金属筛网上沥水 5 min,检出碎壳等杂物,将贝肉均质,备用。

##### 5.1.2.2 冷冻样品

在室温下,使冷冻样品呈半冷冻状态。带壳冷冻样品,按 5.1.2.1 方法清洗、开壳、淋洗取肉,除去贝肉外部附着的冰片,抹去水分后,室温缓化。收集 200 g 贝肉放在孔径约 2 mm 的金属筛网上沥水 5 min,将贝肉均质,备用。

##### 5.1.2.3 贝类罐头

将罐头内容物沥干水分,倒入均质器充分均质,备用。

##### 5.1.2.4 贝肉干制品

称取 100 g 干制品放入足量清水中浸泡 24 h~48 h(4℃冷藏),沥干、均质、备用。

##### 5.1.2.5 盐渍品

用清水洗涤,流水脱盐,沥干,均质、备用。

### 5.2 试样提取

取 100 g 试样到 500 mL 烧杯中,加入 5 g 氯化钠和 1 mL 浓盐酸。搅拌均匀。边搅拌边加热混合物至沸腾,文火煮 5 min,冷却至室温。

将混合物移至 500 mL 离心管中,用 50 mL 乙醚冲洗烧杯,将冲洗液一同移到离心管中。向离心管

中再加入 100 mL 乙醚,盖塞,充分振摇。6 000 r/min 离心 15 min。

离心后小心倒出醚层(上层)溶液至 1 000 mL 分液漏斗中,用乙醚重复三次抽提离心管中的沉淀,三次抽提用总量为 250 mL 乙醚,转移醚层液体至分液漏斗中。轻轻振荡(不能生成乳浊液),静置分层后去除水层(下层)及贝肉碎片。

将乙醚层移入 500 mL 的圆底烧瓶中,减压浓缩(旋转蒸发器,35 °C±1 °C)去除乙醚。

用 1%吐温-60 生理盐水将浓缩物在刻度试管中稀释到 10 mL,充分振摇,制成均匀 NSP-1%吐温-60 生理盐水混悬液。此时 1 mL 液量相当于预先测定的 10 g 去壳贝肉的重量,以此悬浮液作为试验原液进行动物实验。

### 5.3 小白鼠试验

选择体重为 19 g~21 g 的健康 ICR 品系雄性小鼠 6 只,随机分 2 组:检测样品组和空白对照组(1%吐温-60 生理盐水),3 只/组。

分别取 1 mL 待测液或 1%吐温-60 生理盐水腹腔注射。注射时若有提取液溢出,须将该只小鼠丢弃,并重新注射一只小鼠。记录注射完毕时间和小鼠停止呼吸时的死亡时间,连续观测 930 min。若小鼠的中位数死亡时间在 2 h 以内,则要用 1%吐温-60 生理盐水处理待测液进行稀释后重新注射,直到小鼠的死亡时间在 2 h~6 h 内。

## 6 分析结果的表述

### 6.1 待测样品校正鼠单位(CMU)的确定

根据待测样品的小鼠死亡时间(见表 A.1)查出相应的鼠单位数 MU;根据小鼠的重量(见表 A.2)查出其对应的体重校正系数。同一只小鼠的鼠单位与体重校正系数相乘,即得该只小鼠的 CMU。选取检测样品受试组中 3 只小鼠 CMU 的中位数,即为该样品受试组的中位数 CMU,以此值进行 6.2 的计算。

### 6.2 毒素毒力的计算与结果表述

#### 6.2.1 NSP 毒力的计算

试样中 NSP 毒力按式(1)计算:

$$X = \frac{\text{CMU} \times 10}{100} \times \text{DF} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$X$  ——试样中 NSP 毒力,单位为鼠单位每克(MU/g);

CMU——检测样品受试组小鼠的中位数校正鼠单位,单位为鼠单位每毫升(MU/mL);

$DF$  ——稀释倍数。

注:10—单位为毫升;100—单位为克。

#### 6.2.2 结果表述

在空白对照组小鼠正常的情况下进行如下判断和表述:

若小鼠的死亡时间等于 360 min,则待测样品的 NSP 毒力即相当于 0.2 MU/g。

若实验组中位数死亡时间小于 120 min,则应对样品提取液进行稀释,再选取 3 只小鼠进行试验,直至得到中位数死亡时间为 120 min~360 min 为止,根据最后的稀释液实验结果计算样品的鼠单位毒力,报告该样品的 NSP 毒力为:×××MU/g。

若实验组中位数死亡时间大于 360 min,则直接计算确定样品鼠单位毒力,报告该样品的 NSP 毒力为:×××MU/g。

若实验组中所有小鼠在观察 930 min 内均不死亡,则也可报告该样品的 NSP 毒力小于 0.1 MU/g。

附 录 A  
小鼠死亡时间与鼠单位换算关系

小鼠死亡时间与鼠单位换算关系见表 A.1。

表 A.1 小鼠死亡时间与鼠单位换算关系

死亡时间/min	鼠单位/MU
8	10.0
10	9.0
12	8.0
14	7.0
16	6.0
18	5.0
20	4.5
30	4.0
38	3.8
45	3.6
60	3.4
83	3.2
105	3.0
140	2.8
180	2.6
234	2.4
300	2.2
360	2.0
435	1.8
540	1.6
645	1.4
780	1.2
930	1.0

表 A.2 小鼠体重校正系数表

小鼠体重/g	体重校正系数
15	0.69
16	0.75
17	0.81

表 A.2 (续)

小鼠体重/g	体重校正系数
18	0.87
19	0.94
20	1.00
21	1.06
22	1.12
23	1.18
24	1.24
25	1.30
26	1.36

---