



中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6133—2018

粮油检验 主要谷物中 16 种真菌 毒素的测定 液相色谱-串联质谱法

Inspection of grain and oils—Determination of
16 mycotoxins in cereals—HPLC-MS/MS method

2018-04-09 发布

2018-07-01 实施

国家粮食和物资储备局 发布



前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家粮食和物资储备局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本标准起草单位:国家粮食局科学研究院、国家粮食局标准质量中心、河南省粮油饲料产品质量监督检验中心、安徽省粮油产品质量监督检测站、陕西省粮油产品质量监督检验所、湖北省粮油食品质量监督检测中心、四川省粮油中心监测站、河南省口岸食品检验检测所。

本标准主要起草人:王松雪、叶金、张艳、吴宇、辛媛媛、谢刚、高敬铭、刘莹、胡斌、李尧、李琦、李贵友、姬建生。

粮油检验 主要谷物中 16 种真菌毒素的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了液相色谱-串联质谱法测定主要谷物中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ (AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)、雪腐镰刀菌烯醇(NIV)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷(DON-3G)、3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇(3-AcDON)、15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇(15-AcDON)、玉米赤霉烯酮(ZEN)、赭曲霉毒素 A(OTA)、伏马毒素 B₁、B₂ (FB₁、FB₂)、T-2、HT-2、杂色曲霉毒素(ST)16 种真菌毒素的原理、操作步骤及结果计算。

本标准适用于小麦、玉米和稻谷等主要谷物中 16 种真菌毒素的测定。

本标准的方法检出限是 0.3 μg/kg~60.0 μg/kg,定量限是 1.0 μg/kg~200.0 μg/kg(见附录 A)。

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 5490 粮油检验 一般规则

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

采用乙腈-水-乙酸溶液提取试样中真菌毒素,经涡旋或振荡、离心,取上清液经稀释、离心、过滤后,加入稳定同位素内标,通过液相色谱-串联质谱测定,利用稳定同位素内标法定量。

4 试剂

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,实验用水应符合 GB/T 6682 中一级用水要求。

4.1 乙腈

色谱纯。

4.2 甲醇

色谱纯。

4.3 乙酸铵

色谱纯。

4.4 乙酸

色谱纯。

4.5 提取液

乙腈-水-乙酸混合液(70:29:1,体积比)。

4.6 标准曲线溶剂

乙腈-水-乙酸混合液(35:64.5:0.5,体积比)。

4.7 标准品

4.7.1 真菌毒素标准品:16种真菌毒素的固体粉末(纯度 $\geq 99\%$),16种真菌毒素标准品的信息见附录B表B.1。

4.7.2 真菌毒素稳定同位素标准品:除脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷和15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇外的14种真菌毒素稳定同位素标准品的固体粉末(纯度 $\geq 99\%$),14种真菌毒素稳定同位素标准品的信息见表B.1。

4.8 标准溶液配制

4.8.1 单标标准储备液:准确称取(精确至0.1 mg)真菌毒素标准品(4.7.1)分别于10 mL容量瓶中,按照表B.2所示浓度及溶剂配制标准储备液,此溶液 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 密封避光保存,有效期6个月。

4.8.2 混合标准中间液:准确移取一定体积的16种真菌毒素单标标准储备液(4.8.1)于10 mL容量瓶中,按照表B.3所示浓度配制混合标准溶液,用水定容至刻度,此溶液 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 密封避光保存,有效期1个月。

4.8.3 系列标准工作溶液:准确移取16种真菌毒素混合标准溶液(4.8.2)25 μL 、50 μL 、100 μL 、250 μL 、500 μL 、1 000 μL 分别于10 mL容量瓶中,用标准曲线溶剂(4.6)定容至刻度,配制标准曲线溶液浓度见表B.4,此溶液 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光密封保存,有效期一周。

4.8.4 稳定同位素单标储备液:准确称取(精确至0.1 mg)真菌毒素稳定同位素标准品(4.7.2)分别于10 mL容量瓶中,按照表B.5所示浓度及溶剂配制标准储备液,此溶液 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 密封避光保存,有效期6个月。

4.8.5 稳定同位素内标混合作液:准确移取一定体积的14种真菌毒素稳定同位素单标储备液(4.8.4)于10 mL容量瓶中,用水定容至刻度,此溶液 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 密封避光保存,有效期1个月,14种真菌毒素稳定同位素混合溶液浓度见表B.6。

注:为便于操作,可采用满足要求的商品化稳定同位素内标试剂盒。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.2 冷冻离心机:转速 $\geq 12\,000\text{ r/min}$,可设 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.3 天平:感量0.1 mg和0.01 g。

5.4 涡旋混合器:转速 $\geq 100\text{ r/min}$ 。

5.5 振荡器:振荡频率 $\geq 50\text{ 次/min}$ 。

5.6 粉碎机:电机转速 $\geq 1\,000\text{ r/min}$ 。

5.7 筛网:1 mm孔径试验筛。

5.8 塑料离心管:50 mL和1.5 mL。

5.9 13 mm聚四氟乙烯针头过滤器,孔径0.2 μm 。

5.10 玻璃内插管:400 μL 。

- 5.11 色谱进样瓶:2 mL。
- 5.12 塑料无菌注射器:2 mL。
- 5.13 容量瓶:10 mL。

6 扦样与分样

按 GB/T 5491 执行,在采样过程中,注意防止样品污染。

7 分析步骤

7.1 样品粉碎

样品经粉碎机粉碎,过 500 μm 孔径试验筛,混匀,待测。

7.2 提取

准确称取 5 g(精确到 0.01 g)样品于 50 mL 离心管(5.8)中,加入 20 mL 提取液(4.5),涡旋或振荡提取 30 min,然后以 6 000 r/min 离心 10 min,吸取 0.5 mL 上清液于 1.5 mL 离心管(5.8)中,加入 0.5 mL 水并涡旋混匀,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下以 12 000 r/min 离心 10 min,上清液过 0.2 μm 的聚四氟乙烯滤膜(5.9),收集滤液 A。

7.3 添加稳定同位素内标

准确吸取 180 μL 滤液 A(7.2)和标准系列工作溶液(4.8.3)于 400 μL 内插管(5.10)中,加入 20 μL 稳定同位素内标混合工作液(4.8.5)涡旋混匀,供液相色谱-串联质谱测定。

注:采用商品化稳定同位素内标试剂盒时,按照其使用说明进行。

7.4 仪器参考条件

7.4.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,100 mm $\times$ 2.1 mm,1.8 μm ,或相当者。

柱温:35 $^{\circ}\text{C}$ 。

进样量:2 μL 。

流速:0.3 mL/min。

流动相组成及梯度洗脱参考条件参见附录 C。

7.4.2 质谱参考条件

离子源:电喷雾离子源。

质谱扫描方式:多反应监测模式(MRM)。

毛细管电压:3.5 kV(+),3.5 kV(-)。

干燥气:300 $^{\circ}\text{C}$,7 L/min。

雾化气压力:241 kPa(35 psi)。

鞘流气:350 $^{\circ}\text{C}$,11 L/min。

其他质谱参考条件参见附录 C。

16 种真菌毒素的总离子流图和多反应监测图(MRM)参见附录 D。

7.5 定性测定

按照液相色谱-质谱条件(7.4)测定样品,如果检测的色谱峰保留时间与标准品色谱峰保留时间一致,允许偏差小于 $\pm 2.5\%$;定性离子与定量离子的相对丰度与浓度相当的标准工作液的相对丰度一致,相对丰度偏差不超过表 1 规定,则可判断样品中存在被测物。

表 1 定性确证相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	≥ 50	50~20	20~10	≤ 10
允许的相对偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

7.6 定量测定

按照液相色谱-质谱条件(7.4)测定样品,将 7.3 配制含有同位素内标的标准系列工作溶液按浓度从低到高依次注入液相色谱-串联质谱联用仪,待仪器条件稳定后,以待测毒素和其对应内标的浓度比为横坐标(x 轴),目标物质和内标的峰面积比为纵坐标(y 轴),对各个数值点进行最小二乘线性拟合,标准工作曲线按式(1)计算:

$$y = ax + b \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

y ——待测毒素/内标的峰面积比;

a ——回归曲线的斜率;

x ——待测毒素/内标的浓度比;

b ——回归曲线的截距。

标准工作溶液和样液中待测物的响应值均应在仪器线性响应范围内。

8 结果计算

采用同位素内标法进行定量。样品中真菌毒素的含量按式(2)计算:

$$X = \frac{x \times \rho \times V \times f}{m} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X ——样品中待测毒素的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

x ——按 7.6 中式(1)计算得到测定液中待测毒素/内标的浓度比;

ρ ——待测毒素对应的内标质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V ——加入提取液的体积,20 mL;

f ——提取液稀释因子,2;

m ——样品质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,保留至小数点后 1 位。

测定结果不符合重复性要求时,应按 GB/T 5490 的规定重新测定,计算结果。

9 精密度

9.1 实验室间测试

附录 E 统计了本方法精密度的实验室间合作测定结果,适用于本分析浓度范围和基质之内的

样品。

9.2 重复性

在同一实验室,由同一操作者使用相同设备,按相同的测试方法,并在短时间内对同一被测试对象相互独立进行测试获得的 2 次独立测试结果的绝对差值大于附录 E 所示的重复性限值(r)的情况不超过 5%。

9.3 再现性

在不同实验室,由不同的操作者使用不同的设备,按相同的测试方法,对同一被测试对象相互独立进行测试获得的 2 次独立测试结果的绝对差值大于附录 E 所示的再现性限值(R)的情况不超过 5%。

附 录 A

(规范性附录)

16 种真菌毒素的方法检出限和定量限

16 种真菌毒素的方法检出限和定量限见表 A.1。

表 A.1 16 种真菌毒素的方法检出限和定量限

毒素名称	检出限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	定量限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	毒素名称	检出限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	定量限 $\mu\text{g}/\text{kg}$
AFB ₁	0.3	1.0	NIV	60.0	200.0
AFB ₂	0.3	1.0	DON	45.0	150.0
AFG ₁	0.3	1.0	DON-3G	7.5	25.0
AFG ₂	0.3	1.0	3-AcDON	12.0	40.0
ZEN	6.0	20.0	15-AcDON	6.0	20.0
OTA	0.6	2.0	ST	0.3	1.0
HT-2	3.0	10.0	FB ₁	6.0	20.0
T-2	0.6	2.0	FB ₂	3.0	10.0

附 录 B

(规范性附录)

真菌毒素及其同位素的相关信息

真菌毒素及其同位素的相关信息见表 B.1, 浓度信息见表 B.2~表 B.6。

表 B.1 真菌毒素及其同位素的相关信息

名称	简称	分子式	相对分子质量
黄曲霉毒素 B ₁	AFB ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312.27
黄曲霉毒素 B ₂	AFB ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29
黄曲霉毒素 G ₁	AFG ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.27
黄曲霉毒素 G ₂	AFG ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.29
雪腐镰刀菌烯醇	NIV	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	312.32
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	DON	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	296.32
脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷	DON-3G	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	458.46
3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	3-AcDON	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338.35
15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	15-AcDON	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338.35
玉米赤霉烯酮	ZEN	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.36
赭曲霉毒素 A	OTA	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₆	403.81
T-2 毒素	T-2	C ₂₄ H ₃₄ O ₉	466.52
HT-2 毒素	HT-2	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	424.48
杂色曲霉毒素	ST	C ₁₈ H ₁₂ O ₆	324.48
伏马毒素 B ₁	FB ₁	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	721.83
伏马毒素 B ₂	FB ₂	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705.83
黄曲霉毒素 B ₁ 同位素内标	[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	¹³ C ₁₇ H ₁₂ O ₆	329.12
黄曲霉毒素 B ₂ 同位素内标	[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	¹³ C ₁₇ H ₁₄ O ₆	331.13
黄曲霉毒素 G ₁ 同位素内标	[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	¹³ C ₁₇ H ₁₂ O ₇	345.12
黄曲霉毒素 G ₂ 同位素内标	[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	¹³ C ₁₇ H ₁₄ O ₇	347.13
雪腐镰刀菌烯醇同位素内标	[¹³ C ₁₅]-NIV	¹³ C ₁₅ H ₂₀ O ₇	327.17
脱氧雪腐镰刀菌烯醇同位素内标	[¹³ C ₁₅]-DON	¹³ C ₁₅ H ₂₀ O ₆	311.18
3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇同位素内标	[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	¹³ C ₁₇ H ₂₂ O ₇	355.19
玉米赤霉烯酮同位素内标	[¹³ C ₁₈]-ZEN	¹³ C ₁₈ H ₂₂ O ₅	336.21
赭曲霉毒素 A 同位素内标	[¹³ C ₂₀]-OTA	¹³ C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₆	423.15
T-2 毒素同位素内标	[¹³ C ₂₄]-T-2	¹³ C ₂₄ H ₃₄ O ₉	490.30
HT-2 毒素同位素内标	[¹³ C ₂₂]-HT-2	¹³ C ₂₂ H ₃₂ O ₈	446.28
杂色曲霉毒素同位素内标	[¹³ C ₁₈]-ST	¹³ C ₁₈ H ₁₂ O ₆	342.12
伏马毒素 B ₁ 同位素内标	[¹³ C ₃₄]-FB ₁	¹³ C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	755.50
伏马毒素 B ₂ 同位素内标	[¹³ C ₃₄]-FB ₂	¹³ C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	739.51

表 B.2 16 种真菌毒素单标标准储备液

名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂
AFB ₁	4.0	甲醇	NIV	100	乙腈
AFB ₂	1.0	甲醇	DON	100	乙腈
AFG ₁	4.0	甲醇	DON-3G	50	乙腈
AFG ₂	1.0	甲醇	3-AcDON	100	乙腈
ZEN	100	甲醇	15-AcDON	100	乙腈
OTA	2	甲醇	ST	10	乙腈
HT-2	100	乙腈	FB ₁	50	乙腈 : 水 (50 : 50, 体积比)
T-2	100	乙腈	FB ₂	50	乙腈 : 水 (50 : 50, 体积比)

表 B.3 16 种真菌毒素混合标准中间液

名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$
AFB ₁	0.1	NIV	20	15-AcDON	2	HT-2	1
AFB ₂	0.03	DON	15	ZEN	2	ST	0.1
AFG ₁	0.1	DON-3G	2.5	OTA	0.2	FB ₁	2
AFG ₂	0.03	3-AcDON	4	T-2	0.2	FB ₂	1

表 B.4 标准曲线溶液浓度

名称	浓度 $\mu\text{g/L}$					
	标曲点 1	标曲点 2	标曲点 3	标曲点 4	标曲点 5	标曲点 6
NIV	50	100	200	500	1 000	2 000
DON	37.5	75	150	375	750	1 500
DON-3G	6.25	12.5	25	62.5	125	250
3-ACDON	10	20	40	100	200	400
15-ACDON	5	10	20	50	100	200
AFG ₂	0.075	0.15	0.3	0.75	1.5	3
AFG ₁	0.25	0.5	1	2.5	5	10
AFB ₂	0.075	0.15	0.3	0.75	1.5	3
AFB ₁	0.25	0.5	1	2.5	5	10
HT-2	2.5	5	10	25	50	100
FB ₁	5	10	20	50	100	200

表 B.4 (续)

名称	浓度 $\mu\text{g/L}$					
	标曲点 1	标曲点 2	标曲点 3	标曲点 4	标曲点 5	标曲点 6
T-2	0.5	1	2	5	10	20
ZEN	5	10	20	50	100	200
OTA	0.5	1	2	5	10	20
ST	0.25	0.5	1	2.5	5	10
FB ₂	2.5	5	10	25	50	100

表 B.5 14 种真菌毒素稳定同位素单标储备液的浓度

名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	0.5	乙腈	[¹³ C ₁₈]-ZEN	25	乙腈
[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	0.5	乙腈	[¹³ C ₂₀]-OTA	10	乙腈
[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	0.5	乙腈	[¹³ C ₂₄]-T-2	25	乙腈
[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	0.5	乙腈	[¹³ C ₂₂]-HT-2	25	乙腈
[¹³ C ₁₅]-DON	25	乙腈	[¹³ C ₁₅]-NIV	25	乙腈
[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	25	乙腈	[¹³ C ₃₄]-FB ₂	10	乙腈 : 水 (50 : 50, 体积比)
[¹³ C ₁₈]-ST	25	乙腈	[¹³ C ₃₄]-FB ₁	25	乙腈 : 水 (50 : 50, 体积比)

注：由于 DON-3G、15-AcDON 没有对应的商品化内标，分别采用与其结构相近的 [¹³C₁₅]-DON、[¹³C₁₇]-3-AcDON 作为其内标。

表 B.6 14 种真菌毒素稳定同位素混合工作液浓度

名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	0.01	[¹³ C ₁₅]-NIV	2.5	[¹³ C ₂₀]-OTA	0.04	[¹³ C ₃₄]-FB ₁	0.5
[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	0.01	[¹³ C ₁₅]-DON	2	[¹³ C ₂₄]-T-2	0.05	[¹³ C ₃₄]-FB ₂	0.3
[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	0.01	[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	1	[¹³ C ₂₂]-HT-2	0.125		
[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	0.01	[¹³ C ₁₈]-ZEN	0.2	[¹³ C ₁₈]-ST	0.025		

附 录 C
(资料性附录)

液相色谱-串联质谱仪参考条件

C.1 液相色谱-串联质谱仪参考条件

C.1.1 液相色谱参考条件

流动相组成:A:含 1%乙酸(体积分数)和 5 mmol/L 乙酸铵的水溶液;B:甲醇。
流动相参考梯度洗脱条件见表 C.1。

表 C.1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	90	10
2.00	90	10
3.00	80	20
7.00	76	24
10.50	70	30
13.50	40	60
15.00	30	70
18.00	25	75
18.10	5	95
21.90	5	95
22.00	90	10

C.1.2 质谱仪器参考条件

质谱参考条件见表 C.2。

表 C.2 16 种真菌毒素的质谱条件

化合物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量 eV	离子化 方式
$[^{13}\text{C}_{15}]$ -NIV	386	295.1	10	—
NIV	371	281.1* /59.1	10/30	—
$[^{13}\text{C}_{15}]$ -DON	370.1	279.0	10	—
DON	355.1	265.0* /247.0	10/10	—
DON-3G	517.1	427.0* /247.0	20/20	—
15-AcDON	356.1	261.0/137.0*	15/15	+

表 C.2 (续)

化合物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量 eV	离子化 方式
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -3AcDON	356.2	245.1	10	+
3-AcDON	339.2	231.1 [*] / 213.1	10/20	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFB ₁	330.1	301.1	21	+
AFB ₁	313.2	285.1 [*] / 241.1	22/38	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFB ₂	332.2	303.0	21	+
AFB ₂	315.2	287.1 [*] / 259.1	24/30	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFG ₁	346.1	257.1	25	+
AFG ₁	329.2	311.1 [*] / 243.1	20/25	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFG ₂	348.1	330.1	23	+
AFG ₂	331.2	313.1 [*] / 245.1	23/30	+
$[^{13}\text{C}_{34}]$ -FB ₁	756.5	356.4	45	+
FB ₁	722.4	352.3 / 334.3 [*]	45/45	+
$[^{13}\text{C}_{24}]$ -T-2	508.3	322.1	10	+
T-2	484.3	305.1 [*] / 185.1	10/20	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -HT-2	464.1	278.1	10	+
HT-2	442.2	263.1 / 215.1 [*]	10/10	+
$[^{13}\text{C}_{34}]$ -FB2	740.5	358.3	45	+
FB2	706.5	336.3 [*] / 318.3	45/45	+
$[^{13}\text{C}_{20}]$ -OTA	424.2	250.1	25	+
OTA	404.1	358.0 / 239.0 [*]	10/25	+
$[^{13}\text{C}_{18}]$ -ST	343.1	327.1	20	+
ST	325	310.0 / 281.0 [*]	20/36	+
$[^{13}\text{C}_{18}]$ -ZEN	335.2	185.0	25	-
ZEN	317.1	175.0 [*] / 130.8	25/33	-

注：表中带 * 为定量离子，对于不同质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

附录 D

(资料性附录)

液相色谱-串联质谱图谱

液相色谱-串联质谱图谱见图 D.1 和图 D.2。

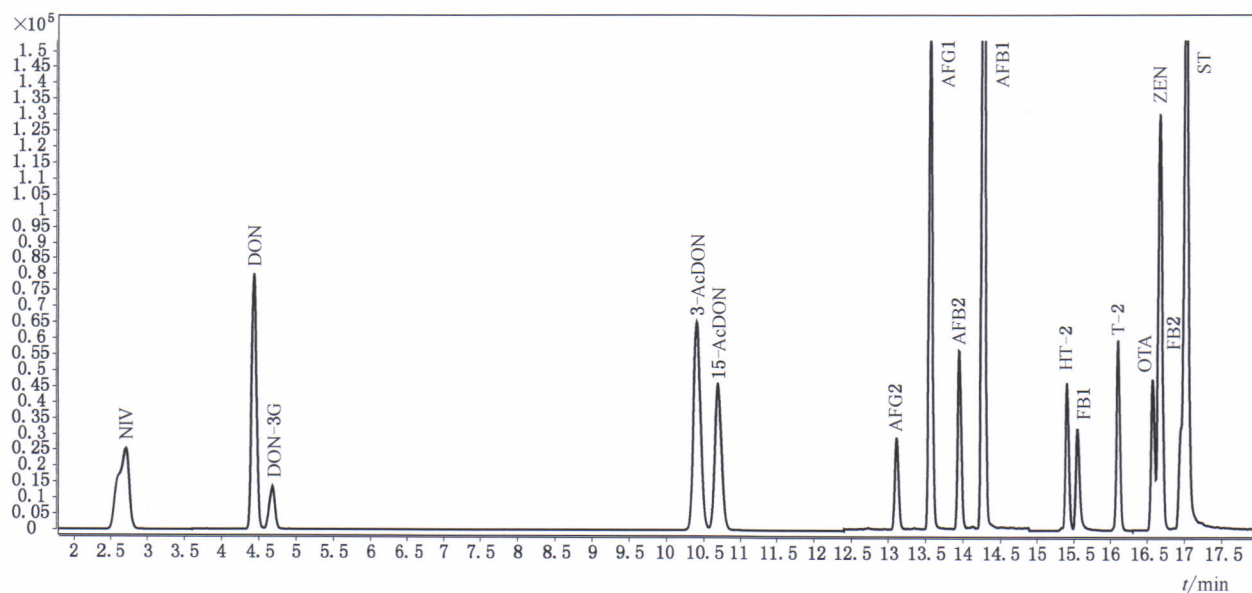


图 D.1 16 种真菌毒素总离子流图

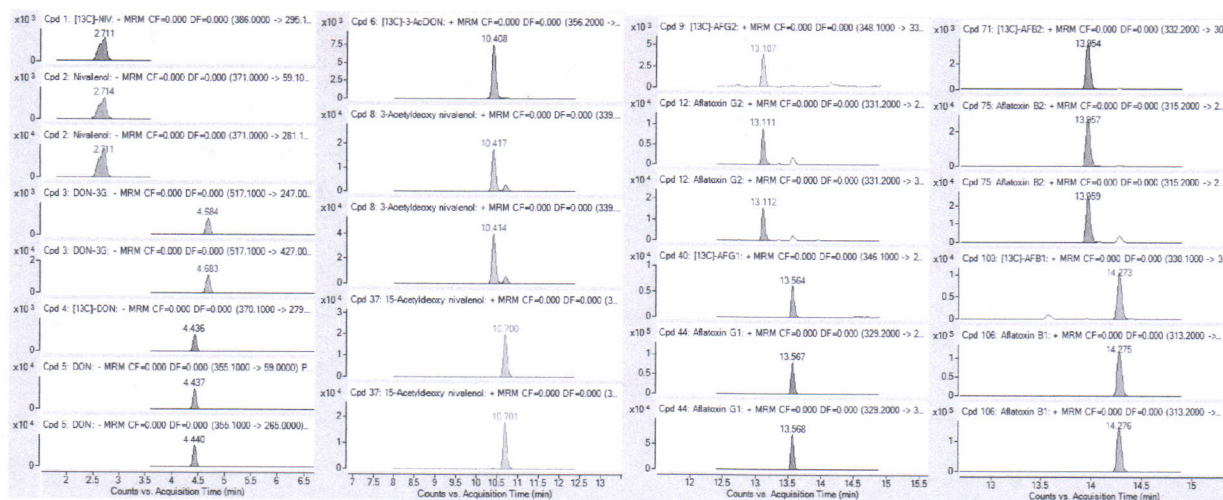


图 D.2 16 种真菌毒素及其内标的多反应监测(MRM)色谱图



图 D.2 (续)

附 录 E
(资料性附录)
16 种真菌毒素精密度数据

E.1 概述

本标准的重复性限值和再现性限值由 6～15 家实验室合作,按 ISO 5752-1、ISO 5752-2 和 ISO 5752-6 标准,分别对主要谷物样品进行测试,并按 ISO 5752-1、ISO 5752-2 和 ISO 5752-6 标准对实验数据进行统计分析。

E.2 精密度数据

见表 E.1～表 E.8。

表 E.1 小麦低浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
样品的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
去除离群值后的 测试实验室数量	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	6	6	5
所有可接受 结果的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	15	18	18	18	18	18	18	15
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	719.16	643.11	91.18	165.59	84.37	4.32	1.32	4.61	1.46	68.81	36.68	8.67	45.86	89.59	8.18	4.48
重复性的标准偏差, $s_r/(\mu\text{g}/\text{kg})$	39.92	21.28	8.09	10.30	4.51	0.17	0.10	0.26	0.04	4.06	2.76	0.55	2.21	3.88	0.51	0.16
重复性的 变异系数/%	5.6	3.3	8.9	6.2	5.3	4.0	7.2	5.6	2.5	5.9	7.5	6.4	4.8	4.3	6.3	3.5
重复性限值, $r/(\mu\text{g}/\text{kg})$	112.97	60.23	22.89	29.14	12.77	0.49	0.27	0.73	0.10	11.50	7.80	1.57	6.26	10.98	1.45	0.44
再现性标准偏差, $s_R/(\mu\text{g}/\text{kg})$	74.36	54.35	13.05	19.10	12.71	0.66	0.14	0.43	0.14	9.15	6.61	1.08	4.88	4.92	0.59	0.27
再现性的 变异系数/%	10.3	8.5	14.3	11.5	15.1	15.3	10.4	9.4	9.8	13.3	18.0	12.5	10.6	5.5	7.2	6.0
再现性限值, $R/(\mu\text{g}/\text{kg})$	210.43	153.80	36.94	54.05	35.97	1.87	0.39	1.23	0.40	25.88	18.70	3.07	13.81	13.92	1.67	0.76
回收率/%	89.9	107.2	91.2	103.5	105.5	99.6	109.1	113.3	118.9	86.0	91.7	108.4	114.7	112.0	102.3	112.1

表 E.2 小麦中浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
样品的数量	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
去除离群值后的 测试实验室数量	14	15	15	14	15	14	14	15	15	15	15	15	15	12	15	13
所有可接受 结果的数量	42	45	45	42	45	42	42	45	45	45	45	45	45	36	45	39
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1 328.45	1 323.22	183.77	323.74	170.93	8.30	2.58	8.66	2.84	132.02	71.81	18.23	86.31	159.55	14.79	8.38
重复性的标准偏差, s_r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	46.51	56.59	16.66	9.32	10.45	0.31	0.17	0.34	0.32	7.20	6.75	1.19	6.29	4.13	1.45	0.66
重复性的 变异系数/%	3.5	4.3	9.1	2.9	6.1	3.8	6.7	3.9	11.4	5.5	9.4	7.3	7.3	2.6	9.8	7.9
重复性限值, r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	131.62	160.16	47.16	26.38	29.56	0.89	0.49	0.96	0.92	20.38	19.09	3.36	17.79	11.68	4.10	1.86
再现性标准偏差, s_R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	302.51	293.57	53.01	43.96	27.95	1.39	0.35	0.98	0.55	30.50	24.11	2.72	11.78	20.78	3.14	0.78
再现性的 变异系数/%	22.8	22.2	28.8	13.6	16.4	16.8	13.7	11.3	19.2	23.1	33.6	13.6	13.6	13.0	21.2	9.3
再现性限值, R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	856.10	830.80	150.01	124.39	79.10	3.94	1.00	2.78	1.54	86.31	68.24	7.69	33.33	58.80	8.88	2.20
回收率/%	83.0	110.3	91.9	101.2	106.8	95.8	106.6	106.5	116.1	82.5	89.8	113.9	107.9	99.7	92.4	104.7

表 E.3 小麦高浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
样品的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
去除离群值后的 测试实验室数量	6	6	6	6	6	6	5	6	6	5	6	6	6	6	6	6
所有可接受 结果的数量	18	18	18	18	18	18	15	18	18	15	18	18	18	18	18	18
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3 595.49	2 983.45	421.01	790.19	394.69	20.23	6.52	21.14	6.71	319.79	178.03	41.24	211.36	423.35	37.52	21.38
重复性的标准偏差, s_r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	124.06	101.00	21.73	31.56	17.72	0.56	0.22	0.83	0.43	25.64	10.05	2.83	12.75	18.24	1.82	1.59
重复性的 变异系数/%	3.5	3.4	5.2	4.0	4.5	2.7	3.4	3.9	6.4	8.0	5.6	6.9	6.0	4.3	4.8	7.4
重复性限值, r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	351.09	285.83	61.49	89.31	50.16	1.57	0.62	2.34	1.22	72.55	28.44	8.00	36.09	51.63	5.15	4.49
再现性标准偏差, s_R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	231.05	156.25	52.67	92.95	29.46	2.68	0.31	2.11	0.62	39.86	30.28	2.83	23.46	20.04	2.08	2.77
再现性的 变异系数/%	6.4	5.2	12.5	11.8	7.5	13.3	4.8	10.0	9.2	12.5	17.0	6.9	11.1	4.7	5.6	13.0
再现性限值, R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	653.87	442.18	149.06	263.06	83.38	7.59	0.88	5.98	1.75	112.81	85.70	8.00	66.39	56.73	5.89	7.85
回收率/%	89.9	99.4	84.2	98.8	98.7	93.4	107.9	103.9	109.6	80.0	89.0	103.1	105.7	105.8	93.8	106.9

表 E.4 玉米低浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
样品的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
去除离群值后的 测试实验室数量	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6
所有可接受 结果的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	15	18	18	18
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	794.01	625.73	95.56	171.35	86.90	4.16	1.30	4.46	1.39	81.87	39.34	8.63	44.77	84.30	8.08	4.27
重复性的标准 偏差, s_r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	46.41	26.46	4.32	5.37	4.59	0.16	0.08	0.11	0.10	11.47	3.49	0.48	3.09	3.55	0.64	0.24
重复性的 变异系数/%	5.8	4.2	4.5	3.1	5.3	4.0	6.4	2.5	6.9	14.0	8.9	5.6	6.9	4.2	8.0	5.6
重复性限值, r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	131.33	74.89	12.24	15.20	13.00	0.47	0.23	0.32	0.27	32.45	9.89	1.36	8.74	10.06	1.82	0.67
再现性标准偏差, s_R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	72.30	54.48	20.19	15.66	10.74	0.50	0.16	0.39	0.13	12.27	4.05	1.00	5.42	7.26	0.86	0.32
再现性的 变异系数/%	9.1	8.7	21.1	9.1	12.4	12.0	12.0	8.7	9.2	15.0	10.3	11.6	12.1	8.6	10.7	7.6
再现性限值, R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	204.60	154.17	57.13	44.32	30.40	1.42	0.44	1.10	0.36	34.72	11.46	2.83	15.35	20.53	2.45	0.92
回收率/%	99.3	104.3	95.6	107.1	108.6	96.1	107.4	109.7	113.8	102.3	98.4	107.8	111.9	105.4	101.0	106.7

表 E.5 玉米中浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
样品的数量	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
去除离群值后的 测试实验室数量	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	14	14	15	13	15	14
所有可接受 结果的数量	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45	42	42	45	39	45	42
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	1 583.16	1 327.82	195.21	341.58	169.54	8.10	2.60	8.42	2.78	175.12	80.01	18.45	86.88	160.03	16.11	8.24
重复性的标准 偏差, s_r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	127.06	63.35	15.39	24.30	7.72	1.08	0.32	0.61	0.33	13.32	7.12	0.94	8.67	12.45	0.81	0.51
重复性的 变异系数/%	8.0	4.8	7.9	7.1	4.6	13.4	12.3	7.2	11.8	7.6	8.9	5.1	10.0	7.8	5.1	6.2
重复性限值, r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	359.59	179.27	43.54	68.77	21.85	3.07	0.91	1.72	0.93	37.71	20.15	2.65	24.52	35.24	2.30	1.45
再现性标准偏差, s_R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	192.84	264.35	49.22	38.85	17.85	1.45	0.56	1.05	0.45	30.79	14.68	2.93	9.33	17.07	2.27	0.82
再现性的 变异系数/%	12.2	19.9	25.2	11.4	10.5	17.8	21.4	12.4	16.3	17.6	18.3	15.9	10.7	10.7	14.1	9.9
再现性限值, R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	545.75	748.11	139.31	109.94	50.52	4.09	1.58	2.96	1.28	87.14	41.55	8.29	26.40	48.32	6.41	2.32
回收率/%	98.9	110.7	97.6	106.7	106.0	93.5	107.6	103.5	113.6	109.4	100.0	115.3	108.6	100.0	100.7	103.0

表 E.6 玉米高浓度水平加标实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
参加实验室的数目	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
样品的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
去除离群值后的 测试实验室数量	5	5	6	5	6	6	6	6	6	6	6	5	5	6	6	5
所有可接受 结果的数量	15	15	18	15	18	18	18	18	18	18	18	15	15	18	18	15
平均值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3 819.68	2 958.11	442.71	826.12	409.36	20.00	6.27	20.89	6.67	399.48	201.27	41.29	203.12	401.10	39.32	19.97
重复性的标准偏差, s_r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2.2%	3.1%	6.6%	2.4%	5.3%	3.1%	5.0%	2.8%	4.7%	4.6%	6.0%	3.3%	4.4%	3.5%	3.0%	3.2%
重复性的 变异系数/%	83.34	92.29	29.42	20.15	21.75	0.63	0.31	0.59	0.32	18.44	12.06	1.38	9.02	14.05	1.18	0.64
重复性限值, r /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	235.86	261.19	83.25	57.01	61.54	1.77	0.88	1.68	0.89	52.18	34.12	3.90	25.54	39.76	3.33	1.80
再现性标准偏差, s_R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	208.56	202.27	97.34	72.11	38.37	1.98	0.47	2.14	0.82	37.14	21.73	3.94	9.48	33.14	2.86	1.13
再现性的 变异系数/%	5.5	6.8	22.0	8.7	9.4	9.9	7.5	10.2	12.3	9.3	10.8	9.5	4.7	8.3	7.3	5.7
再现性限值, R /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	590.23	572.43	275.47	204.06	108.57	5.61	1.33	6.05	2.32	105.11	61.51	11.15	26.82	93.77	8.11	3.20
回收率/%	95.5	98.6	88.5	103.3	102.3	92.3	103.7	102.7	109.1	99.9	100.6	103.2	101.6	100.3	98.3	99.9

表 E.7 玉米自然污染样品实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	AFB ₁	DON	FB ₁	FB ₂	T-2	HT-2	ZEN
参加实验室的数目	15	15	15	15	15	15	15
样品的数量	30	30	30	30	30	30	30
去除离群值后的测试实验室数量	15	15	15	15	15	15	15
所有可接受结果的数量	30	30	30	30	30	30	30
平均值/(μg/kg)	5.47	1 241.40	781.73	355.71	151.48	110.94	281.64
重复性的标准偏差, <i>s_r</i> /(μg/kg)	0.74	127.67	129.81	46.24	18.56	12.85	30.80
重复性的变异系数/%	13.5	10.3	16.6	13.0	12.3	11.6	10.9
重复性限值, <i>r</i> /(μg/kg)	2.09	361.31	367.36	130.87	52.52	36.37	87.17
再现性标准偏差, <i>s_R</i> /(μg/kg)	0.93	127.67	133.63	83.81	20.82	13.61	47.12
再现性的变异系数/%	17.0	10.3	17.1	23.6	13.7	12.3	16.7
再现性限值, <i>R</i> /(μg/kg)	2.63	361.31	378.18	237.19	58.93	38.52	133.34

表 E.8 小麦自然污染样品实验室间真菌毒素的测量结果

毒素	DON	DON-3G	AFB ₁	ZEN
参加实验室的数目	8	8	8	8
样品的数量	16	16	16	16
去除离群值后的测试实验室数量	8	8	8	8
所有可接受结果的数量	16	16	16	16
平均值/(μg/kg)	4 676.34	981.01	2.22	198.87
重复性的标准偏差, <i>s_r</i> /(μg/kg)	253.68	68.94	0.31	25.93
重复性的变异系数/%	5.4	7.0	14.1	13.0
重复性限值, <i>r</i> /(μg/kg)	717.92	195.11	0.88	73.37

中 华 人 民 共 和 国 粮 食
行 业 标 准

粮油检验 主要谷物中16种真菌
毒素的测定 液相色谱-串联质谱法

LS/T 6133—2018

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

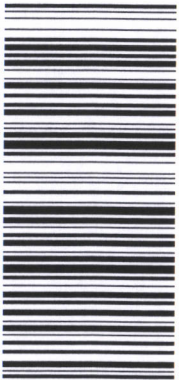
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 44 千字
2018 年 7 月第一版 2018 年 7 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-33532 定价 27.00 元



LS/T 6133-2018

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107