

LS

中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6133-XXXX
代替 LS/T 6133-2018

粮油检验 主要谷物中 17 种真菌毒素的测定
液相色谱-串联质谱法

Inspection of grain and oils—Determination of 17 mycotoxins in
cereals—HPLC-MS/MS method

(征求意见稿)

XXXX - XX- XX 发布

XXXX - XX-XX 实施

国家粮食和物资储备局 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。

本文件代替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》，与LS/T 6133—2018相比，除编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了FB3的测定技术参数；
- b) 增加了质控样品的制备（见8.4）；
- c) 更改了仪器条件部分的表述（见8.5，2018年版的7.4）；
- d) 增加了进样序列（见8.6）；
- e) 更改了定性测定要求（见8.7，2018年版的7.5）；
- f) 更改了结果计算的公式（见第9章，2018年版的第8章）；

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。

本文件由国家粮食和物资储备局提出。

本文件由全国粮油标准化技术委员会（SAC/TC 270）归口。

本文件起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、新疆维吾尔自治区粮油科学研究所（新疆维吾尔自治区粮油质量监督检验站）、广西-东盟食品检验检测中心、广西壮族自治区粮油质量检验中心、河南省食品和盐业检验技术研究院、江西省农业技术推广中心、江西省检验检测认证总院、中国农业大学、东北农业大学、青岛市粮油质量检测 and 军队粮油供应中心、大庆市粮食质量安全监测中心。

本文件起草人：吴宇、王松雪、叶金、李丽、张蕊、陈金男、朱琳、李秀娟、王海波、伍先绍、姬建生、董泽民、贺平丽、郭增旺、彭志兵、张晨、胡蓉、崔迪、胡莎、李文文。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——20118年首次发布为LS/T 6133-2018。

——本次为第一次修订。

粮油检验 主要谷物中 17 种真菌毒素的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了液相色谱-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、B₃ (FB₁、FB₂、FB₃)、T-2 毒素 (T-2)、HT-2 毒素 (HT-2)、杂色曲霉毒素 (ST) 等 17 种真菌毒素的原理, 规定了试剂和材料、仪器和设备、试样的制备、分析步骤、结果计算、精密度、检出限和定量限。

本文件适用于小麦、玉米和稻谷中 17 种真菌毒素的测定。

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 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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品采用乙腈-水-乙酸溶液提取, 提取液经稀释、离心、过滤后, 加入稳定同位素内标, 采用液相色谱-串联质谱测定, 稳定同位素内标法定量。

5 试剂和材料

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

5.1 乙腈: 色谱纯。

5.2 甲醇: 色谱纯。

5.3 乙酸铵: 色谱纯。

5.4 乙酸: 色谱纯。

5.5 甲酸：色谱纯。

5.6 提取液：乙腈-水-乙酸混合液（70+29+1，体积比），准确量取 700 mL 乙腈、290 mL 水、10 mL 乙酸，混匀。

5.7 提取稀释液：取 5 mL 提取液（5.7）于 12 mL 棕色储液瓶内，加入 5 mL 水涡旋混匀。

5.8 标准品

5.8.1 真菌毒素标准品：17 种真菌毒素的固体粉末（纯度 $\geq 99\%$ ）或标准溶液（见表 A.1）。

5.8.2 真菌毒素稳定同位素内标标准品：17 种真菌毒素稳定同位素内标标准溶液（见表 A.1）。

5.9 标准溶液配制

5.9.1 单标标准储备液：参考表 A.1 所示质量浓度及溶剂配制标准储备液，准确称取（精确至 0.1 mg）固体真菌毒素标准品（5.9.1）分别于 10 mL 容量瓶中并定容至刻度，在 -20°C 密封避光保存，有效期 1 年。

5.9.2 17 种真菌毒素混合标准储备液：参照表 A.2 所示质量浓度配制混合标准储备液，准确移取一定体积的真菌毒素标准溶液（5.9.1）或单标标准储备液（5.10.1）于 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，在 -20°C 密封避光保存，有效期 1 年。

5.9.3 17 种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液：参照表 A.3 所示质量浓度配制 17 种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液，准确移取一定体积的 17 种真菌毒素稳定同位素内标标准溶液（5.9.2）于 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，在 -20°C 密封避光保存，有效期 1 年。

5.9.4 系列标准工作溶液：准确移取 17 种真菌毒素混合标准储备液（5.10.2）25 μL 、50 μL 、100 μL 、250 μL 、500 μL 、1000 μL 分别于 10 mL 容量瓶中，用提取稀释液（5.8）定容至刻度。分别准确吸取 180 μL 系列标准工作溶液于放有 400 μL 内插管（5.13）的 2 mL 色谱进样瓶（5.14）中，加入 20 μL 17 种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液（5.10.3）涡旋混匀，配制标准曲线溶液质量浓度见表 A.4，现用现配。

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。

5.10 塑料离心管：50 mL 和 1.5 mL。

5.11 聚四氟乙烯针头过滤器，直径 13 mm，孔径 0.2 μm 。

5.12 玻璃内插管：400 μL 。

5.13 色谱进样瓶：2 mL。

5.14 塑料无菌注射器：2 mL。

5.15 陶瓷研磨颗粒：斜椭圆柱金刚石，长 1.5 cm，外径 0.65 cm。

5.16 棕色储液瓶：12 mL。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

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

6.3 天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.4 微型涡旋振荡器：转速 $\geq 2\,500\text{ r/min}$ 。

6.5 多管涡旋振荡器：转速 $\geq 2\,500\text{ r/min}$ 。

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

6.7 筛网：500 μm 孔径试验筛。

6.8 容量瓶：10 mL。

7 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。

8 分析步骤

8.1 样品粉碎

样品经粉碎机粉碎，过500 μm 孔径试验筛（6.7），混匀，待测。

8.2 提取

准确称取5 g（精确到0.01 g）样品于50 mL离心管（5.11）中，加入20 mL提取液（5.7），使用多管涡旋振荡器（6.5）2500 r/min涡旋提取30 min，然后以6000 r/min离心10 min，吸取0.5 mL上清液于1.5 mL离心管（5.11）中，加入0.5 mL水并涡旋（6.4）混匀，在4 $^{\circ}\text{C}$ 以12000 r/min离心10 min，上清液过0.2 μm 的聚四氟乙烯滤膜（5.12），收集滤液A。

注：对于小麦样品，需在提取过程中加入2个陶瓷研磨颗粒（5.16）。

8.3 上机样品制备

分别准确吸取180 μL 滤液A（8.2）于放有400 μL 内插管（5.13）的2 mL色谱进样瓶（5.14）中，加入20 μL 17种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液（5.10.3）涡旋混匀，供液相色谱-串联质谱测定。

注：确保系列标准工作溶液和上机样品制备所用的17种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液为同一瓶。

8.4 质控样品的制备

对于每批样品，应包含一个试验空白和一个阳性对照。

8.4.1 试验空白的制备

制备试验空白，除不称量样品外，其余步骤按8.2和8.3操作。

8.4.2 阳性对照的制备

阳性对照应为每1 g的空白样品（真菌毒素未检出）中加入80 μL 17种真菌毒素混合标准储备液（5.10.2）或者使用已知含有目标真菌毒素的标准物质。然后按8.2和8.3操作。

8.5 仪器条件

通过采集每种单一真菌毒素标准溶液来优化仪器参数（电离模式、母离子和子离子质量、离子源参数和碰撞能量等）。对于未标记的真菌毒素，应至少检测两个子离子对。选择峰面积最大的子离子对作为定量离子。对于稳定同位素内标，选择与未标记真菌毒素定量离子对应的子离子对进行监测和定量。

应选择最佳的分析柱、流动相组成、梯度和进样体积的组合，以确保最佳的灵敏度、选择性和稳定性。

流动相组成及梯度洗脱参考条件见附录 B。

17种真菌毒素的多反应监测图（MRM）见附录 C。

8.6 进样序列

样品分析时按以下顺序依次进行采集：

- a) 采集一针提取稀释液（5.8）以检查仪器是否存在真菌毒素污染。
- b) 依次采集系列标准工作溶液（5.10.4），并确保所有真菌毒素及其内标在最低质量浓度水平全部检出。
- c) 采集一针提取稀释液（35+64.5+0.5，体积比）（5.8），以检查是否存在真菌毒素残留。
- d) 采集一针试验空白（8.4），以检查实验过程中试剂、容器是否存在真菌毒素污染。
- e) 采集一针阳性对照（8.4），以确保整个方法是否存在操作错误。
- f) 采集一针提取稀释液（5.8），以检查是否存在真菌毒素残留。
- g) 采集样品（8.3），并每隔 10 或 20 个样品采集一针提取稀释液（5.8）以检查是否存在真菌毒素残留。
- h) 依次采集系列标准工作溶液（5.10.4）来结束序列。

8.7 定性测定

当满足以下标准时，样品中真菌毒素为检出：

- a) 样品中真菌毒素选定的两个子离子 S/N（信噪比）≥3。
- b) 样品中真菌毒素的保留时间应与其稳定同位素内标保留时间一致，误差范围为±0.1 min。
- c) 样品中真菌毒素选定的两个子离子峰面积比应在同一序列标准系列工作溶液平均值的±30%（相对）范围内。

8.8 定量测定

按照仪器条件（8.5）和进样序列（8.6）测定样品，将系列标准工作溶液（5.10.4）按质量浓度从低到高依次注入液相色谱-串联质谱联用仪，以目标化合物的质量浓度为横坐标(x 轴)，目标化合物和对应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：

$$y = ax + b.....(1)$$

- 式中：
- y——目标化合物/内标的峰面积比；
 - a——回归曲线的斜率；
 - x——目标化合物的质量浓度；
 - 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。样品待测液响应值如超过标准曲线，则应适当稀释样品待测液, 重新进行测定。

9 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：

$$X = \frac{C \times V \times f}{m}.....(2)$$

式中：

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

C ——最终上机检测样品溶液中待测真菌毒素的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

V ——加入提取液的体积，20 毫升（ mL ）；

m ——试样的质量，单位为克（ g ）；

f ——提取液稀释因子，2。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，保留至小数点后一位。

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。

10 精密度

10.1 实验室间测试

附录 D 中表 D.1~D.9 统计了本方法精密度的实验室间合作测定结果，适用于本分析质量浓度范围和基质之内的样品。

10.2 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两次独立测试结果的绝对差值大于附录 D 所示的重复性限值（ r ）的情况不超过 5%。

10.3 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两次独立测试结果的绝对差值大于附录 D 所示的再现性限值（ R ）的情况不超过 5%。

11 检出限和定量限

本方法检出限为 $0.3 \mu\text{g/kg} \sim 66.7 \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $1.0 \mu\text{g/kg} \sim 200.0 \mu\text{g/kg}$ （见表 E.1）。

附录 A
(资料性)

真菌毒素及其同位素的相关信息

真菌毒素及其稳定同位素内标的相关信息见表 A. 1，质量浓度信息见表 A. 2~A. 4。

表 A. 1 真菌毒素及其稳定同位素内标的相关信息

真菌毒素名称	真菌毒素简称	分子式	分子量 Da	质量浓度 μg/mL	溶剂
雪腐镰刀菌烯醇	NIV	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	312.32	100	乙腈
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	DON	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	296.32	100	乙腈
脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷	DON-3G	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	458.46	50	乙腈
3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	3-AcDON	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338.35	100	乙腈
15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇	15-AcDON	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338.35	100	乙腈
黄曲霉毒素B ₁	AFB ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312.27	1.0	乙腈
黄曲霉毒素B ₂	AFB ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29	1.0	乙腈
黄曲霉毒素G ₁	AFG ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.27	1.0	乙腈
黄曲霉毒素G ₂	AFG ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.29	1.0	乙腈
伏马毒素B ₁	FB ₁	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	721.83	50	乙腈-水 (50+50, 体积比)
伏马毒素B ₂	FB ₂	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705.83	50	乙腈-水 (50+50, 体积比)
伏马毒素B ₃	FB ₃	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705.83	50	乙腈-水 (50+50, 体积比)
T-2毒素	T-2	C ₂₄ H ₃₄ O ₉	466.52	100	乙腈
HT-2毒素	HT-2	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	424.48	100	乙腈
玉米赤霉烯酮	ZEN	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.36	100	乙腈
赭曲霉毒素A	OTA	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₆	403.81	10	乙腈
杂色曲霉毒素	ST	C ₁₈ H ₁₂ O ₆	324.48	50	乙腈
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	25	乙腈
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	25	乙腈
脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷同位素内标	[¹³ C ₂₁]-DON-3G	¹³ C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	479.26	10	乙腈
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	25	乙腈
15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌	[¹³ C ₁₇]-15-AcDON	¹³ C ₁₇ H ₂₂ O ₇	355.19	10	乙腈

真菌毒素名称	真菌毒素简称	分子式	分子量 Da	质量浓度 μg/mL	溶剂
烯醇同位素内标					
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	0.5	乙腈
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	0.5	乙腈
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	0.5	乙腈
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	0.5	乙腈
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	25	乙腈-水 (50+50, 体积比)
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	10	乙腈-水 (50+50, 体积比)
伏马毒素B ₃ 同位素内标	[¹³ C ₃₄]-FB ₃	¹³ C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	739.51	10	乙腈-水 (50+50, 体积比)
T-2毒素同位素内标	[¹³ C ₂₄]-T-2	¹³ C ₂₄ H ₃₄ O ₉	490.30	25	乙腈
HT-2毒素同位素内标	[¹³ C ₂₂]-HT-2	¹³ C ₂₂ H ₃₂ O ₈	446.28	25	乙腈
玉米赤霉烯酮同位素内标	[¹³ C ₁₈]-ZEN	¹³ C ₁₈ H ₂₂ O ₅	336.21	25	乙腈
赭曲霉毒素A同位素内标	[¹³ C ₂₀]-OTA	¹³ C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₆	423.15	10	乙腈
杂色曲霉毒素同位素内标	[¹³ C ₁₈]-ST	¹³ C ₁₈ H ₁₂ O ₆	342.12	25	乙腈

表 A.2 17 种真菌毒素混合标准储备液质量浓度

单位为微克每毫升

真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度
NIV	20	AFB ₂	0.1	T-2	0.2
DON	15	AFG ₁	0.1	HT-2	1
DON-3G	2.5	AFG ₂	0.1	ZEN	2
3-AcDON	4	FB ₁	12.5	OTA	0.2
15-AcDON	2	FB ₂	7.5	ST	0.1
AFB ₁	0.1	FB ₃	9.0		

表 A.3 17 种真菌毒素稳定同位素内标混合储备液质量浓度

单位为微克每毫升

真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度
[¹³ C ₁₅]-NIV	2.5	[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	0.01	[¹³ C ₃₄]-FB ₂	0.3	[¹³ C ₂₀]-OTA	0.04
[¹³ C ₁₅]-DON	2	[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	0.01	[¹³ C ₃₄]-FB ₃	0.3	[¹³ C ₁₈]-ST	0.025
[¹³ C ₂₁]-DON-3G	1	[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	0.01	[¹³ C ₂₄]-T-2	0.05		

单位为微克每毫升

真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度	真菌毒素	质量浓度
[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	1	[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	0.01	[¹³ C ₂₂]-HT-2	0.125		
[¹³ C ₁₇]-15-AcDON	1	[¹³ C ₃₄]-FB ₁	0.5	[¹³ C ₁₈]-ZEN	0.2		

表 A. 4 系列标准工作溶液质量浓度

单位为微克每升

真菌毒素	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	25	50	100	200	400	1 000
DON	18. 75	37. 5	75	150	300	750
DON-3G	3. 125	6. 25	12. 5	25	50	125
3-ACDON	5	10	20	40	80	200
15-ACDON	2. 5	5	10	20	40	100
AFB ₁	0. 125	0. 25	0. 5	1	2	5
AFB ₂	0. 125	0. 25	0. 5	1	2	5
AFG ₁	0. 125	0. 25	0. 5	1	2	5
AFG ₂	0. 125	0. 25	0. 5	1	2	5
FB ₁	15. 625	31. 25	62. 5	125	250	625
FB ₂	9. 375	18. 75	37. 5	75	150	375
FB ₃	11. 25	22. 5	45	90	180	450
T-2	0. 25	0. 5	1	2	4	10
HT-2	1. 25	2. 5	5	10	20	50
ZEN	2. 5	5	10	20	40	100
OTA	0. 25	0. 5	1	2	4	10
ST	0. 125	0. 25	0. 5	1	2	5

附录 B
(资料性)
液相色谱-串联质谱仪参考条件

本附录中描述的仪器参数均为参考值，可根据实验室仪器调整仪器参数。仪器条件的适用性应通过测量系列标准工作溶液（5.10.4）来验证。

B.1 液相色谱参考条件

B.1.1 液相色谱参考条件 1

液相系统： Agilent 1290 Infinity™ LC system¹
色谱柱： Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)¹
流动相 A： 含 1%乙酸（体积比）和 5 mmol/L 乙酸铵的水溶液
流动相 B： 甲醇
进样体积： 2 μL
流速： 0.3 mL/min
柱温： 35 °C
流动相参考梯度洗脱条件见表 B.1。

表 B.1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	流动相A%	流动相B%
0.0	90	10
2.0	90	10
3.0	80	20
7.0	76	24
10.5	70	30
13.5	40	60
15.0	30	70
18.0	25	75
18.1	5	95
21.9	5	95
22.0	90	10
25.0	90	10

B.1.2 液相色谱参考条件 2

液相系统： Waters ACQUITY UPLC® I-Class¹
色谱柱： Waters ACQUITY UPLC® CORTECS C18 (2.1 mm x 100 mm, 1.6 μm)¹
流动相 A： 含 0.1%甲酸（体积比）和 1 mmol/L 甲酸铵的水溶液
流动相 B： 甲醇
进样体积： 2 μL

流速：0.3 mL/min
 柱温：40 ℃
 流动相参考梯度洗脱条件见表 B. 2。

表 B. 2 流动相梯度洗脱条件

时间 min	流动相A%	流动相B%
Initial	90	10
2.0	90	10
3.0	80	20
4.0	79	21
5.0	74	26
9.0	73	27
9.5	50	50
12.0	35	65
15.0	20	80
15.1	5	95
17.8	5	95
18.0	90	10
21.0	90	10

B. 1. 3 液相色谱参考条件 3

液相系统：SCIEX LC-30A1¹
 色谱柱：Waters ACQUITY UPLC® CORTECS C18 (2.1 mm x 100 mm, 1.6 μm)¹
 流动相 A：含 0.1%甲酸（体积比）和 1 mmol/L 甲酸铵的水溶液
 流动相 B：甲醇
 进样体积：2 μL
 流速：0.3 mL/min
 柱温：40 ℃
 流动相参考梯度洗脱条件见表 B. 3。

表 B. 3 流动相梯度洗脱条件

时间 min	流动相A%	流动相B%
Initial	90	10
2.0	90	10
3.0	80	20
4.0	79	21
5.0	74	26
9.0	73	27
9.5	50	50
12.0	35	65
15.0	20	80
15.1	5	95

时间 min	流动相A%	流动相B%
17.8	5	95
18.0	90	10
21.0	90	10

B.2 质谱仪器参考条件

B.2.1 质谱仪器参考条件 1

质谱系统:	Agilent 6495 ¹
离子源:	电喷雾离子源 (ESI)
质谱扫描方式:	多反应检测模式 (MRM)
毛细管电压:	3.5 kV(+) 和 3.5 kV(-)
干燥气温度:	300 °C
干燥气流速:	7 L/min
鞘气流速:	11 L/min
鞘气温度:	350 °C
雾化气压力:	241.32 kPa (35 psi)

17 种真菌毒素的质谱参考条件见表 B.4。

表 B.4 17 种真菌毒素的质谱条件

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	离子化方式
NIV	2.7	357.2	281.1 ^a /311.1	13/13	-
DON	4.4	297.2	231.0 ^a /203.0	22/20	+
DON-3G	4.7	297.2	231.0 ^a /203.0	22/20	+
3-AcDON	10.4	339.2	231.1 ^a /213.1	10/20	+
15-AcDON	10.7	356.1	261.0/137.0 ^a	15/15	+
AFB ₁	14.3	313.2	285.1 ^a /241.1	22/38	+
AFB ₂	13.9	315.2	287.1 ^a /259.1	24/30	+
AFG ₁	13.6	329.2	311.1 ^a /243.1	20/25	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	离子化方式
AFG ₂	13.1	331.2	313.1 ^a /245.1	23/30	+
FB ₁	15.5	722.4	352.3/334.3 ^a	45/45	+
FB ₂	16.8	706.5	336.3 ^a /318.3	45/45	+
FB ₃	15.8	706.5	336.3 ^a /318.3	45/45	+
T-2	16.1	484.3	305.1 ^a /185.1	10/20	+
HT-2	15.4	442.2	263.1/215.1 ^a	10/10	+
ZEN	16.7	317.1	175.0 ^a /130.8	25/33	-
OTA	16.4	404.1	358.0/239.0 ^a	10/25	+
ST	17.0	325.0	310.0/281.0 ^a	20/36	+
[¹³ C ₁₅]-NIV	2.7	372.1	295.1	13	-
[¹³ C ₁₅]-DON	4.4	312.2	245.1	22	+
[¹³ C ₂₁]-DON-3G	4.7	312.2	245.1	22	+
[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	10.4	356.2	245.1	10	+
[¹³ C ₁₇]-15-AcDON	10.7	373.1	276.0	15	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	14.3	330.1	301.1	21	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	13.9	332.2	303.0	21	+
[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	13.6	346.1	257.1	25	+
[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	13.1	348.1	330.1	23	+
[¹³ C ₃₄]-FB ₁	15.5	756.5	356.4	45	+
[¹³ C ₃₄]-FB ₂	16.8	740.5	358.3	45	+
[¹³ C ₃₄]-FB ₃	15.8	740.5	358.3	45	+
[¹³ C ₂₄]-T-2	16.1	508.3	322.1	10	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	离子化方式
[¹³ C ₁₇]-HT-2	15.4	464.1	278.1	10	+
[¹³ C ₁₈]-ZEN	16.7	335.2	185.0	25	-
[¹³ C ₂₀]-OTA	16.4	424.2	250.1	25	+
[¹³ C ₁₈]-ST	17.0	343.1	327.1	20	+
^a 定量离子.					

B.2.2 质谱仪器参考条件 2

质谱系统:	Waters Xevo TQ-S ¹
离子源:	电喷雾离子源 (ESI)
质谱扫描方式:	多反应检测模式 (MRM)
毛细管电压:	3.0 kV(+) 和 2.7 kV(-)
脱溶剂气温度:	500 °C
脱溶剂气流速:	1 000 L/hr
锥孔温度:	150 °C
锥孔反吹气流速:	150 L/hr
质量偏差:	0.2
驻留时间:	0.025 s

17 种真菌毒素的质谱参考条件见表 B.5。

表 B.5 17 种真菌毒素的质谱条件

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	锥孔电压 V	离子化 方式
NIV	2.3	357.0	281.0 ^a /311.0	14/12	14	-
DON	4.4	297.2	203.2/249.1 ^a	10/10	20	+
DON-3G	4.9	297.2	203.2/249.1 ^a	10/10	20	+
3-AcDON	9.1	339.1	203.1/231.1 ^a	13/13	17	+
15-AcDON	9.3	339.2	261.0 ^a /279.0	12/10	18	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	锥孔电压 V	离子化 方式
AFB ₁	11.7	313.1	241.1/285.0 ^a	30/22	25	+
AFB ₂	11.4	315.1	259.1/287.1 ^a	30/24	25	+
AFG ₁	11.1	329.1	310.1/243.1 ^a	25/28	36	+
AFG ₂	10.7	331.1	245.1/313.1 ^a	30/24	36	+
FB ₁	13.0	722.5	334.4 ^a /352.4	40/32	42	+
FB ₂	15.7	706.5	318.4/336.4 ^a	38/38	40	+
FB ₃	14.4	706.5	318.4/336.4 ^a	38/38	40	+
T-2	14.2	484.3	185.1/305.2 ^a	17/15	15	+
HT-2	13.0	442.2	215.1/263 ^a	12/12	14	+
ZEN	15.3	319.2	187.1 ^a /283.1	19/11	17	-
OTA	15.7	404.1	239 ^a /358.1	27/18	21	+
ST	15.8	325.1	281.1 ^a /310.1	31/25	33	+
[¹³ C ₁₅]-NIV	2.3	371.8	294.9	14	14	-
[¹³ C ₁₅]-DON	4.4	312.0	263.0	12	20	+
[¹³ C ₂₁]-DON-3G	4.9	312.0	263.0	12	20	+
[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	9.1	356.0	245.0	12	17	+
[¹³ C ₁₇]-15-AcDON	9.3	356.0	245.0	12	18	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	11.7	330.0	301.0	30	25	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	11.4	332.0	303.0	25	25	+
[¹³ C ₁₇]-AFG ₁	11.1	346.2	257.0	37	36	+
[¹³ C ₁₇]-AFG ₂	10.7	348.0	259.0	29	36	+
[¹³ C ₃₄]-FB ₁	13.0	756.4	356.0	39	42	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	锥孔电压 V	离子化 方式
$[^{13}\text{C}_{34}]\text{-FB}_2$	15.7	740.5	358.0	40	40	+
$[^{13}\text{C}_{34}]\text{-FB}_3$	14.4	740.5	358.3	45	40	+
$[^{13}\text{C}_{24}]\text{-T-2}$	14.2	508.0	322.0	13	15	+
$[^{13}\text{C}_{17}]\text{-HT-2}$	13.0	464.0	278.0	15	14	+
$[^{13}\text{C}_{18}]\text{-ZEN}$	15.3	337.0	197.0	20	17	-
$[^{13}\text{C}_{20}]\text{-OTA}$	15.7	424.0	250.0	32	21	+
$[^{13}\text{C}_{18}]\text{-ST}$	15.8	343.0	327.0	23	33	+
^a 定量离子.						

B.2.3 质谱仪器参考条件 3

质谱系统: SCIEX QTRAP™ 6500¹
 离子源: 电喷雾离子源 (ESI)
 质谱扫描方式: 多反应检测模式 (MRM)
 离子喷雾电压: 4 500 V (-) 和 5 500 V (+)
 辅助加热器温度: 400 °C
 气帘气压力: 172.37 kPa (25 psi)
 气体1压力: 379.21 kPa (55 psi)
 气体2压力: 379.21 kPa (55 psi)
 碰撞气压力: 中

17 种真菌毒素的质谱参考条件见表 B. 6。

表 B. 6 17 种真菌毒素的质谱条件

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	去簇电压 V	离子化 方式
NIV	2.2	357.2	311.0/281.0 ^a	-13/-13	-40	-
DON	4.0	297.2	231.0 ^a /203.0	22/20	55	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	去簇电压 V	离子化 方式
DON-3G	4.3	297.2	231.0 ^a /203.0	22/20	55	+
3-AcDON	8.3	339.2	231.1 ^a /213.1	18/22	20	+
15-AcDON	8.5	356.2	137.0 ^a /321.0	23/19	40	+
AFB ₁	11.5	313.1	285.0 ^a /269.0	30/43	70	+
AFB ₂	11.2	315.1	287.0 ^a /259.0	34/38	80	+
AFG ₁	11.0	329.15	243.0/311.0 ^a	35/38	80	+
AFG ₂	10.8	331.15	285.0/245.0 ^a	37/40	90	+
FB ₁	12.6	722.5	352.3/334.3 ^a	49/54	40	+
FB ₂	13.9	706.5	336.3 ^a /318.2	50/43	30	+
FB ₃	13.3	706.5	336.3 ^a /318.2	50/43	30	+
T-2	13.3	484.2	185.0/305.1 ^a	27/19	20	+
HT-2	12.5	442.14	263.1/215.0 ^a	17/19	40	+
ZEN	13.8	317.0	175.0 ^a /131.0	-25/-40	-80	-
OTA	14.0	404.1	358.1/239.0 ^a	26/30	30	+
ST	14.1	325.1	310.0/281.0 ^a	35/51	90	+
[¹³ C ₁₅]-NIV	2.2	372.1	295.0	-13	-40	-
[¹³ C ₁₅]-DON	4.0	312.2	245.1	22	55	+
[¹³ C ₂₁]-DON-3G	4.3	312.2	245.1	22	55	+
[¹³ C ₁₇]-3-AcDON	8.3	356.2	245.1	18	20	+
[¹³ C ₁₇]-15-AcDON	8.5	373.1	276.0	15	40	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₁	11.5	330.1	301.1	30	70	+
[¹³ C ₁₇]-AFB ₂	11.2	332.15	303.1	34	80	+

真菌毒素	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 V	去簇电压 V	离子化 方式
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFG ₁	11.0	346.1	257.1	35	80	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -AFG ₂	10.8	348.1	259.1	40	90	+
$[^{13}\text{C}_{34}]$ -FB ₁	12.6	756.5	356.3	54	40	+
$[^{13}\text{C}_{34}]$ -FB ₂	13.9	740.4	358.3	50	30	+
$[^{13}\text{C}_{34}]$ -FB ₃	13.3	740.5	358.3	45	30	+
$[^{13}\text{C}_{24}]$ -T-2	13.3	508.3	322.1	19	20	+
$[^{13}\text{C}_{17}]$ -HT-2	12.5	464.2	278.1	17	40	+
$[^{13}\text{C}_{18}]$ -ZEN	13.8	335.1	185.0	-41	-80	-
$[^{13}\text{C}_{20}]$ -OTA	14.0	424.1	250.0	30	30	+
$[^{13}\text{C}_{18}]$ -ST	14.1	343.1	327.0	35	90	+
^a 定量离子.						

附录 C
(资料性)

17 种真菌毒素及其稳定同位素内标多反应监测图 (MRM)

17 种真菌毒素及其稳定同位素内标多反应监测图 (MRM) 见图 C. 1~C. 2。

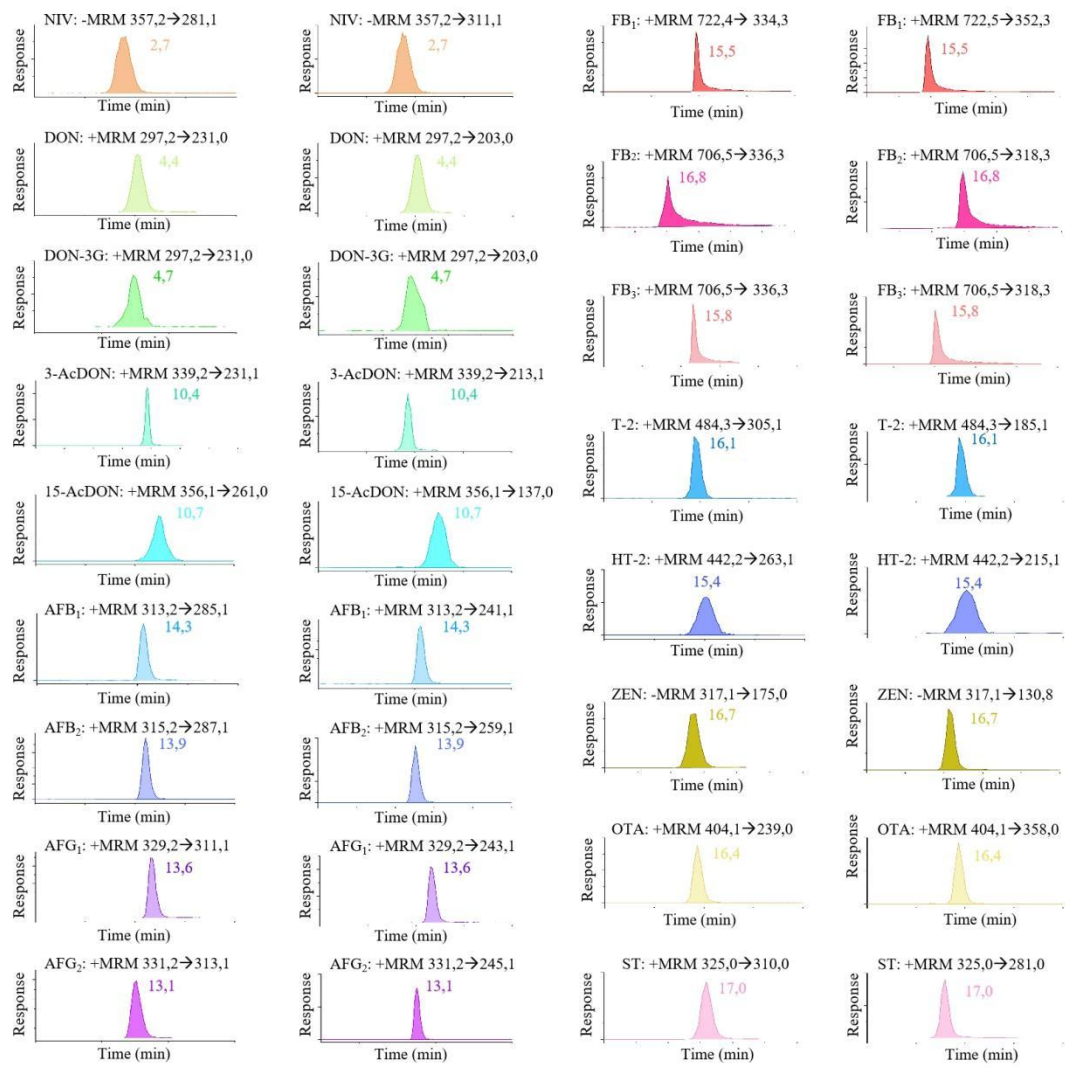


图 C. 1 17 种真菌毒素的多反应监测图 (MRM) (标曲点 3)

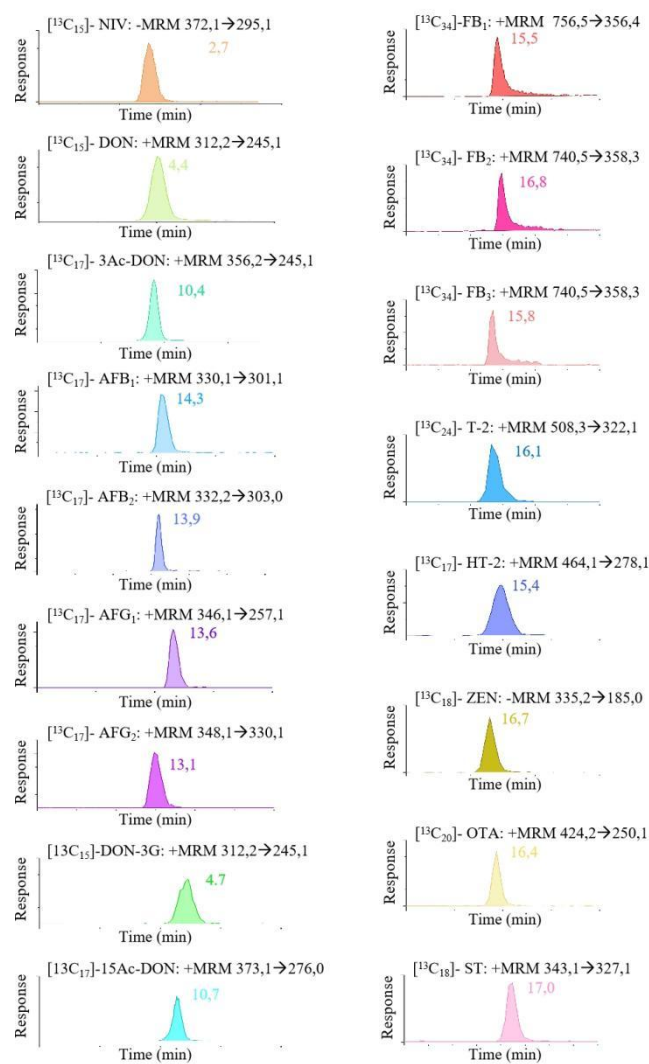


图 C.2 17 种真菌毒素稳定同位素内标的多反应监测图（MRM）

附录 D
(资料性)
17 种真菌毒素精密度数据

D.1 概述

本文件的重复性限值和再现性限值由 8 家实验室合作，按 ISO 5725-2:2019 标准对实验数据进行统计分析。

D.2 精密度数据

精密度数据见表见表 D.1~D.9。

表 D.1 小麦低质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	8
离群实验室数目	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	356.24	323.16	50.13	53.50	41.64	1.91	2.02	2.01	2.04	211.18	135.22	169.02	3.13	17.89	45.23	3.90	2.00
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	14.10	14.01	2.14	1.66	2.25	0.10	0.13	0.10	0.11	8.77	10.64	9.20	0.14	2.29	1.16	0.29	0.05
重复性限, r (μg/kg)	39.89	39.64	6.06	4.69	6.37	0.28	0.37	0.29	0.30	24.82	30.11	26.03	0.41	6.48	3.27	0.83	0.15
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	14.10	27.57	4.79	6.46	3.52	0.24	0.43	0.26	0.24	17.16	14.95	15.79	0.36	3.19	6.46	0.46	0.19
再现性限, R (μg/kg)	39.89	78.02	13.56	18.29	9.95	0.67	1.21	0.74	0.68	48.57	42.31	44.70	1.00	9.04	18.28	1.30	0.54
HorRat 值	0.60	1.28	1.08	1.38	0.93	0.86	1.48	0.92	0.83	1.14	1.45	1.27	0.85	1.73	1.59	0.91	0.66

表 D.2 小麦高质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
离群实验室数目	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	2 903.78	2 340.69	287.98	615.56	311.65	15.05	15.32	15.01	15.71	1 714.25	1 050.55	1 315.27	25.00	141.3 7	349.0 4	28.53	15.03
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	94.24	27.19	13.13	8.62	10.13	0.38	0.70	0.40	0.62	44.69	47.99	30.74	1.02	7.27	7.36	0.96	0.34
重复性限, r (μg/kg)	266.70	76.93	37.15	24.41	28.68	1.09	1.99	1.12	1.76	126.48	135.82	86.98	2.90	20.58	20.84	2.72	0.96
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	137.98	78.58	36.05	44.50	16.08	0.99	2.59	2.37	0.86	146.21	47.99	87.99	3.37	9.97	37.66	1.47	0.78
再现性限, R (μg/kg)	390.47	222.39	102.01	125.93	45.50	2.81	7.32	6.71	2.43	413.77	135.82	249.00	9.55	28.22	106.5 7	4.16	2.21
HorRat 值	0.99	0.68	1.84	1.19	0.77	0.62	1.60	1.49	0.52	1.64	0.82	1.24	1.38	0.93	1.63	0.54	0.49

表 D.3 玉米低质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	7	8	7	8
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
平均值, m (μg/kg)	1 530.34	1 218.46	198.96	212.44	166.12	7.36	7.88	7.62	7.80	1 005.37	574.06	713.77	13.07	70.98	169.93	13.51	6.99
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	54.82	19.27	10.36	4.12	6.50	0.23	0.36	0.23	0.26	27.95	5.65	26.34	0.39	3.51	4.24	0.55	0.21
重复性限, r (μg/kg)	155.13	54.53	29.31	11.66	18.39	0.64	1.03	0.65	0.75	79.11	16.00	74.53	1.10	9.92	12.01	1.56	0.59
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	85.71	34.07	12.96	11.26	12.50	0.50	1.24	1.15	0.49	78.65	42.04	57.23	2.04	5.83	20.63	1.04	0.43
再现性限, R (μg/kg)	242.55	96.41	36.68	31.86	35.38	1.42	3.51	3.26	1.38	222.58	118.98	161.97	5.76	16.49	58.39	2.95	1.23
HorRat 值	1.06	0.51	0.91	0.75	1.02	0.58	1.35	1.29	0.53	1.39	1.20	1.35	1.44	0.98	1.65	0.72	0.52

表 D.4 玉米高质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
离群实验室数目	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	3 009.86	2 375.03	305.62	313.62	318.90	14.54	15.38	14.75	15.13	1 919.63	1 162.59	1 433.39	25.38	142.36	324.97	26.50	13.67
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	89.02	69.82	15.08	7.79	12.31	0.49	0.64	0.48	0.69	37.81	18.41	37.00	1.46	9.74	12.06	0.89	0.54
重复性限, r (μg/kg)	251.93	197.60	42.68	22.06	34.84	1.38	1.80	1.36	1.95	107.01	52.11	104.72	4.14	27.57	34.13	2.51	1.52
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	112.75	108.14	40.84	27.49	22.98	1.00	2.34	2.16	0.69	114.48	74.09	101.68	3.80	16.65	40.20	1.70	0.85
再现性限, R (μg/kg)	319.08	306.03	115.58	77.79	65.04	2.83	6.63	6.11	1.95	323.98	209.68	287.76	10.76	47.12	113.77	4.82	2.40
HorRat 值	0.78	0.92	1.98	1.31	1.08	0.65	1.45	1.38	0.43	1.17	1.16	1.33	1.53	1.55	1.85	0.66	0.58

表 D.5 糙米低质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8	8	8
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	370.71	287.54	48.06	82.14	42.00	1.90	2.02	1.92	2.08	222.14	135.03	170.19	3.15	17.02	43.30	3.69	2.03
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	9.52	9.38	5.11	1.75	2.74	0.09	0.11	0.08	0.16	11.75	3.30	9.04	0.24	1.34	1.83	0.20	0.07
重复性限, r (μg/kg)	26.93	26.56	14.47	4.96	7.76	0.26	0.31	0.22	0.46	33.25	9.35	25.59	0.67	3.79	5.17	0.56	0.21
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	29.85	29.28	5.51	8.49	5.94	0.18	0.34	0.29	0.18	18.17	11.19	11.01	0.43	3.52	3.51	0.27	0.19
再现性限, R (μg/kg)	84.47	82.87	15.58	24.03	16.80	0.51	0.97	0.82	0.52	51.43	31.68	31.16	1.22	9.97	9.94	0.76	0.53
HorRat 值	1.23	1.50	1.29	1.26	1.56	0.66	1.19	1.05	0.62	1.16	1.09	0.88	1.02	1.99	0.90	0.55	0.65

表 D. 6 糙米高质量浓度水平加标实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	3-AcDON	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	T-2	HT-2	ZEN	OTA	ST
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7	8
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
平均值, m (μg/kg)	1 532.89	1 195.32	201.21	210.60	164.04	7.36	7.97	7.78	7.88	922.90	535.58	656.40	12.89	74.42	179.66	14.31	7.66
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	50.00	19.36	12.63	5.77	4.30	0.46	0.23	0.37	0.32	31.63	24.80	23.83	0.71	5.45	5.40	0.72	0.29
重复性限, r (μg/kg)	141.49	54.80	35.75	16.33	12.18	1.29	0.65	1.03	0.91	89.51	70.20	67.45	2.00	15.42	15.27	2.04	0.81
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	59.01	56.99	17.72	9.88	10.39	0.46	1.45	1.23	0.45	97.68	36.98	60.05	1.73	6.30	15.83	0.96	0.50
再现性限, R (μg/kg)	167.00	161.29	50.14	27.96	29.40	1.30	4.11	3.48	1.28	276.43	104.64	169.93	4.89	17.82	44.79	2.71	1.41
HorRat 值	0.73	0.87	1.23	0.66	0.86	0.53	1.56	1.35	0.49	1.86	1.12	1.52	1.24	1.02	1.21	0.63	0.56

表 D.7 玉米自然污染样品 1 实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	DON	DON-3G	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	ZEN
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	7	8	8	8	8	8	8	8
离群实验室数目	0	1	0	0	0	0	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	1 004.91	156.57	226.00	16.31	2.15	1 395.48	491.19	147.35	40.39
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	27.57	15.93	4.70	1.10	0.22	40.38	17.77	6.16	2.31
重复性限, r (μg/kg)	78.03	45.07	13.29	3.11	0.61	114.27	50.29	17.43	6.55
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	48.26	21.21	11.76	1.38	0.22	103.10	24.34	16.03	5.14
再现性限, R (μg/kg)	136.56	60.01	33.28	3.90	0.61	291.76	68.89	45.37	14.54
HorRat 值	0.85	1.82	0.74	0.81	0.71	1.38	0.79	1.45	1.39

表 D.8 玉米自然污染样品 2 实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	DON	DON-3G	15-AcDON	AFB ₁	AFB ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₃	ZEN
实验室数目	8	8	8	8	8	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	7	8	8	8	8	8	8	8
离群实验室数目	0	1	0	0	0	0	0	0	0
平均值, m (μg/kg)	932.45	177.04	376.39	18.43	2.60	1 448.63	472.51	154.26	91.06
重复性标准偏差, Sr (μg/kg)	26.11	18.68	13.84	1.19	0.21	67.69	29.63	9.27	4.51
重复性限, r (μg/kg)	73.88	52.86	39.18	3.35	0.59	191.58	83.86	26.23	12.76
再现性标准偏差, SR (μg/kg)	48.80	18.68	30.81	1.31	0.21	76.60	35.93	11.79	6.16
再现性限, R (μg/kg)	138.11	52.86	87.20	3.70	0.59	216.79	101.68	33.35	17.42
HorRat 值	0.92	1.44	1.25	0.69	0.59	0.99	1.21	1.02	0.84

表 D.9 小麦自然污染样品实验室间真菌毒素的验证结果

真菌毒素	NIV	DON	DON-3G	ZEN
实验室数目	8	8	8	8
参加统计实验室数目	8	8	7	8
离群实验室数目	0	0	1	0
平均值, m ($\mu\text{g/kg}$)	1 304.88	933.02	208.34	387.03
重复性标准偏差, S_r ($\mu\text{g/kg}$)	25.17	19.40	12.76	14.58
重复性限, r ($\mu\text{g/kg}$)	71.24	54.90	36.11	41.27
再现性标准偏差, S_R ($\mu\text{g/kg}$)	76.26	53.93	25.59	38.39
再现性限, R ($\mu\text{g/kg}$)	215.83	152.61	72.42	108.65
HorRat 值	1.08	1.01	1.72	1.53

附录 E
(规范性)

17 种真菌毒素的方法检出限和定量限

17 种真菌毒素的方法检出限和定量限见表 E. 1。

表 E. 1 17 种真菌毒素的方法检出限和定量限

单位为微克每千克

真菌毒素	检出限	定量限	真菌毒素	检出限	定量限
NIV	60.0	200.0	FB ₁	6.0	20.0
DON	45.0	150.0	FB ₂	3.0	10.0
DON-3G	7.5	25.0	FB ₃	3.0	10.0
3-AcDON	12.0	40.0	T-2	0.6	2.0
15-AcDON	6.0	20.0	HT-2	3.0	10.0
AFB ₁	0.3	1.0	ZEN	6.0	20.0
AFB ₂	0.3	1.0	OTA	0.6	2.0
AFG ₁	0.3	1.0	ST	0.3	1.0
AFG ₂	0.3	1.0			

参考文献

- [1] ISO 5725-2:2019 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
— Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a
standard measurement method.
-