



# 中华人民共和国国家标准

GB 5009.209—2016

---

## 食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定

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 GB/T 5009.209—2008《谷物中玉米赤霉烯酮的测定》、GB/T 23504—2009《食品中玉米赤霉烯酮的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法》、GB/T 21982—2008《动物源食品中玉米赤霉醇、 $\beta$ -玉米赤霉醇、 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇、 $\beta$ -玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和玉米赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》、SN/T 1745—2006《进出口大豆、油菜籽和食用植物油中玉米赤霉烯酮的检验方法》、SN/T 1772—2006《进出口粮谷中玉米赤霉烯酮的测定 免疫亲和柱-液相色谱法》。

本标准与 GB/T 5009.209—2008 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定”;
- 增加了适用范围;
- 增加了荧光光度法作为第二法;
- 增加了固相萃取柱净化液相色谱-质谱法作为第三法。

# 食品安全国家标准

## 食品中玉米赤霉烯酮的测定

### 1 范围

本标准规定了食品中玉米赤霉烯酮的测定方法。

本标准第一法适用于粮食和粮食制品,酒类,酱油、醋、酱及酱制品,大豆、油菜籽、食用植物油中玉米赤霉烯酮的测定,第二法适用于大豆、油菜籽、食用植物油中玉米赤霉烯酮的测定,第三法适用于牛肉、猪肉、牛肝、牛奶、鸡蛋中玉米赤霉烯酮的测定。

### 第一法 液相色谱法

### 2 原理

用乙腈溶液提取试样中的玉米赤霉烯酮,经免疫亲和柱净化后,用高效液相色谱荧光检测器测定,外标法定量。

### 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 甲醇(CH<sub>3</sub>OH):色谱纯。

3.1.2 乙腈(CH<sub>3</sub>CN):色谱纯。

3.1.3 氯化钠(NaCl)。

3.1.4 氯化钾(KCl)。

3.1.5 磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)。

3.1.6 磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

3.1.7 吐温-20(C<sub>58</sub>H<sub>114</sub>O<sub>26</sub>)。

3.1.8 盐酸(HCl)。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 提取液:乙腈-水(9+1)。

3.2.2 PBS清洗缓冲液:称取 8.0 g 氯化钠、1.2 g 磷酸氢二钠、0.2 g 磷酸二氢钾、0.2 g 氯化钾,用 990 mL 水将上述试剂溶解,用盐酸调节 pH 至 7.0,用水定容至 1 L。

3.2.3 PBS/吐温-20缓冲液:称取 8.0 g 氯化钠、1.2 g 磷酸氢二钠、0.2 g 磷酸二氢钾、0.2 g 氯化钾,用 900 mL 水将上述试剂溶解,用盐酸调节 pH 至 7.0,加入 1 mL 吐温-20,用水定容至 1 L。

#### 3.3 标准品

玉米赤霉烯酮(C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>,CAS号:17924-92-4),纯度≥98.0%。或经国家认证并授予标准物质证

书的标准物质。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液:准确称取适量的标准品(精确至 0.000 1 g),用乙腈溶解,配制成浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液,  $-18\text{ }^\circ\text{C}$  以下避光保存。

3.4.2 系列标准工作液:根据需要准确吸取适量标准储备液,用流动相稀释,配制成 10  $\text{ng}/\text{mL}$ 、50  $\text{ng}/\text{mL}$ 、100  $\text{ng}/\text{mL}$ 、200  $\text{ng}/\text{mL}$ 、500  $\text{ng}/\text{mL}$  的系列标准工作液,  $4\text{ }^\circ\text{C}$  避光保存。

### 3.5 材料

3.5.1 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱:柱规格 1 mL 或 3 mL,柱容量 $\geq 1\ 500\ \text{ng}$ ,或等效柱。

3.5.2 玻璃纤维滤纸:直径 11 cm,孔径 1.5  $\mu\text{m}$ ,无荧光特性。

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪:配有荧光检测器。

4.2 高速粉碎机:转速 $\geq 12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 。

4.3 均质器:转速 $\geq 12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 。

4.4 高速均质器:转速 18 000  $\text{r}/\text{min}$ ~22 000  $\text{r}/\text{min}$ 。

4.5 氮吹仪。

4.6 空气压力泵。

4.7 玻璃注射器:10 mL。

4.8 天平:感量 0.000 1 g 和 0.01 g。

## 5 分析步骤

### 5.1 提取

#### 5.1.1 粮食和粮食制品

称取 40.0 g 粉碎试样(精确到 0.1 g)于均质杯中,加入 4 g 氯化钠和 100 mL 提取液,以均质器(4.3)高速搅拌提取 2 min,定量滤纸过滤。移取 10.0 mL 滤液加入 40 mL 水稀释混匀,经玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,滤液备用。

#### 5.1.2 酱油、醋、酱及酱制品

称取 25.0 g(精确到 0.1 g)混匀的试样,用乙腈定容至 100.0 mL,超声提取 2 min,定量滤纸过滤。移取 10.0 mL 滤液并加入 40 mL 水稀释混匀,经玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,滤液备用。

#### 5.1.3 大豆、油菜籽、食用植物油

准确称取试样 40.0 g(准确到 0.1 g)(大豆需要磨细且粒度 $\leq 2\ \text{mm}$ )于均质杯中,加入 4.0 g 氯化钠和 100 mL 提取液,以高速均质器(4.4)高速搅拌提取 1 min,定量滤纸过滤。移取 10.0 mL 滤液并加入 40 mL 水稀释,经玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,滤液备用。

#### 5.1.4 酒类

取脱气酒类试样(含二氧化碳的酒类使用前先置于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱冷藏 30 min,过滤或超声脱气)或其他

不含二氧化碳的酒类试样 20.0 g(精确到 0.1 g)于 50 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度,摇匀。移取 10.0 mL 滤液并加入 40 mL 水稀释混匀,经玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,滤液备用。

## 5.2 净化

### 5.2.1 粮食和粮食制品

将免疫亲和柱连接于玻璃注射器下,准确移取 10.0 mL(相当于 0.8 g 样品)5.1.1 中的滤液,注入玻璃注射器中。将空气压力泵与玻璃注射器连接,调节压力使溶液以 1 滴/s~2 滴/s 的流速缓慢通过免疫亲和柱,直至有部分空气进入亲和柱中。用 5 mL 水淋洗柱子 1 次,流速为 1 滴/s~2 滴/s,直至有部分空气进入亲和柱中,弃去全部流出液。准确加入 1.5 mL 甲醇洗脱,流速约为 1 滴/s。收集洗脱液于玻璃试管中,于 55 °C 以下氮气吹干后,用 1.0 mL 流动相溶解残渣,供液相色谱测定。

### 5.2.2 酱油、醋、酱及酱制品、酒类

将免疫亲和柱连接于玻璃注射器下,准确移取 10.0 mL 5.1.2 或 5.1.4 中的滤液,注入玻璃注射器中。将空气压力泵与玻璃注射器相连接,调节压力使溶液以 1 滴/s~2 滴/s 的流速缓慢通过免疫亲和柱,直至有部分空气进入亲和柱中。依次用 10 mL PBS 清洗缓冲液和 10 mL 水淋洗免疫亲和柱,流速为 1 滴/s~2 滴/s,直至空气进入亲和柱中,弃去全部流出液。准确加入 1.0 mL 甲醇洗脱,流速约为 1 滴/s。收集洗脱液于玻璃试管中,于 55 °C 以下氮气吹干后,用 1.0 mL 流动相溶解残渣,供液相色谱测定。

### 5.2.3 大豆、油菜籽、食用植物油

将免疫亲和柱连接于玻璃注射器下,准确移取 10.0 mL 5.1.3 中的滤液,注入玻璃注射器中。将空气压力泵与玻璃注射器相连接,调节压力使溶液以 1 滴/s~2 滴/s 的流速缓慢通过免疫亲和柱,直至有部分空气进入亲和柱中。依次用 10 mL PBS/吐温-20 缓冲液和 10 mL 水淋洗免疫亲和柱,流速为 1 滴/s~2 滴/s,直至空气进入亲和柱中,弃去全部流出液。准确加入 1.5 mL 甲醇洗脱,流速约为 1 滴/s。收集洗脱液于干净的玻璃试管中,于 55 °C 以下氮气吹干后,用 1.0 mL 流动相溶解残渣,供液相色谱测定。

## 5.3 空白试验

不称取试样,按 5.1 和 5.2 的步骤做空白试验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

## 5.4 测定

### 5.4.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下:

- 色谱柱: C<sub>18</sub> 柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒度 4 μm,或等效柱;
- 流动相: 乙腈-水-甲醇(46 : 46 : 8,体积比);
- 流速: 1.0 mL/min;
- 检测波长: 激发波长 274 nm,发射波长 440 nm;
- 进样量: 100 μL;
- 柱温: 室温。

### 5.4.2 标准曲线的制作

将系列玉米赤霉烯酮标准工作液按浓度从低到高依次注入高效液相色谱仪,得到相应的峰面积。

以目标物质的浓度为横坐标,目标物质的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

### 5.4.3 试样溶液的测定

将待测试样溶液注入高效液相色谱仪,得到玉米赤霉烯酮的峰面积。由标准曲线得到试样溶液中玉米赤霉烯酮的浓度。

## 6 分析结果的表述

试样中玉米赤霉烯酮的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times f \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- $X$  —— 试样中玉米赤霉烯酮的含量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );
- $\rho$  —— 试样测定液中玉米赤霉烯酮的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );
- $V$  —— 试样测定液的最终定容体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );
- 1 000 —— 单位换算常数;
- $m$  —— 试样的称样量,单位为克( $\text{g}$ );
- $f$  —— 稀释倍数。

计算结果需扣除空白值,保留两位有效数字。

## 7 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得超过算术平均值的 15%。

## 8 其他

本方法对粮食和粮食制品中玉米赤霉烯酮的检出限为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 17  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酒类中玉米赤霉烯酮的检出限为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 66  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。酱油、醋、酱及酱制品中玉米赤霉烯酮的检出限为 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 165  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。大豆、油菜籽、食用植物油中玉米赤霉烯酮的检出限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限 33  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 第二法 荧光光度法

## 9 原理

用乙腈溶液提取试样中的玉米赤霉烯酮,经免疫亲和柱净化后,加入氯化铝溶液进行衍生。洗脱液通过荧光光度计测定。

## 10 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 规定的一水。

### 10.1 试剂

10.1.1 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):色谱纯。

- 10.1.2 甲醇(CH<sub>3</sub>OH):色谱纯。
- 10.1.3 氯化钠(NaCl)。
- 10.1.4 磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)。
- 10.1.5 磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。
- 10.1.6 氯化钾(KCl)。
- 10.1.7 吐温-20(C<sub>58</sub>H<sub>114</sub>O<sub>26</sub>)。
- 10.1.8 盐酸(HCl)。
- 10.1.9 硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。
- 10.1.10 氯化铝(AlCl<sub>3</sub>·10H<sub>2</sub>O)。
- 10.1.11 硫酸奎宁(C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O)。

## 10.2 试剂配制

- 10.2.1 提取液:乙腈-水(9+1)。
- 10.2.2 PBS/吐温-20 缓冲液:称取 8.0 g 氯化钠、1.2 g 磷酸氢二钠、0.2 g 磷酸二氢钾、0.2 g 氯化钾溶于 900 mL 水中,用盐酸调节 pH 至 7.0,加入 1 mL 吐温-20,用水稀释至 1 L。
- 10.2.3 氯化铝衍生溶液:称取 2.5 g 氯化铝溶解于 50 mL 甲醇中。
- 10.2.4 硫酸溶液(0.05 mol/L):取 2.8 mL 硫酸,缓慢加入适量水中,冷却后定容至 1 000 mL。
- 10.2.5 荧光光度计校准溶液:称取 3.40 g 硫酸奎宁,用 0.05 mol/L 硫酸溶液稀释至 100 mL,此溶液的荧光光度计读数相当于 0.45。

## 10.3 标准品

玉米赤霉烯酮(C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>,CAS 号:17924-92-4),纯度≥98.0%。或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

## 10.4 材料

- 10.4.1 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱:柱规格 1 mL 或 3 mL,柱容量≥1 500 ng,或等效柱。
- 10.4.2 玻璃纤维滤纸:直径 11 cm,孔径 1.5 μm,无荧光特性。

## 11 仪器和设备

- 11.1 荧光光度计。
- 11.2 高速均质器:18 000 r/min~22 000 r/min。
- 11.3 空气压力泵。
- 11.4 玻璃注射器:10 mL。
- 11.5 天平:感量 0.000 1 g 和 0.01 g。

## 12 分析步骤

### 12.1 提取

准确称取试样 40.0 g(精确至 0.1 g)(大豆需要磨细且粒度≤2 mm)于均质杯中,加入 4.0 g 氯化钠和 100 mL 提取液(10.2.1),以高速均质器高速搅拌提取 1 min,定量滤纸过滤。移取 10.0 mL 滤液并加入 40 mL PBS/吐温-20 缓冲液稀释混匀,经玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清,滤液备用。

## 12.2 净化

将免疫亲和柱连接于玻璃注射器下,准确移取 10.0 mL 滤液,注入玻璃注射器中。将空气压力泵与玻璃注射器相连接,调节压力使溶液以 1 滴/s~2 滴/s 的流速缓慢通过免疫亲和柱,直至有部分空气进入亲和柱中。依次用 10 mL PBS/吐温-20 缓冲液和 10 mL 水淋洗免疫亲和柱,流速为 1 滴/s~2 滴/s,直至空气进入亲和柱中,弃去全部流出液。准确加入 1.0 mL 甲醇洗脱,流速约为 1 滴/s。收集洗脱液于玻璃试管中,于 55 °C 以下氮气吹干后,用 1.0 mL 流动相溶解残渣供测定。

## 12.3 空白试验

不称取试样,按 12.1 和 12.2 的步骤做空白试验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

## 12.4 测定

### 12.4.1 测定条件

激发波长 360 nm,发射波长 450 nm。

### 12.4.2 荧光光度计校准

以 0.05 mol/L 硫酸溶液为空白调零,以荧光光度计校准溶液进行校准。

### 12.4.3 样液测定

在 12.2 得到的样液中加入 1.0 mL 氯化铝衍生溶液,立即置于荧光光度计中读取玉米赤霉烯酮的浓度。

## 13 分析结果的表述

试样中玉米赤霉烯酮的含量按式(2)算:

$$X = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times f \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

$X$  ——试样中玉米赤霉烯酮的含量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$\rho$  ——试样测定液中玉米赤霉烯酮的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );

$V$  ——试样测定液的最终定容体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

1 000——单位换算常数;

$m$  ——试样的称样量,单位为克( $\text{g}$ );

$f$  ——稀释倍数。

计算结果需扣除空白值,保留两位有效数字。

## 14 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得超过算术平均值的 15%。

## 15 其他

方法检出限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 33  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。



### 第三法 液相色谱-质谱法

#### 16 原理

样品经 $\beta$ -葡萄糖苷酸/硫酸酯复合酶水解后,采用乙醚提取,经液液分配、固相萃取柱净化后,用液相色谱-质谱测定,外标法定量。

#### 17 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。

##### 17.1 试剂

- 17.1.1 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ ):色谱纯。
- 17.1.2 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):色谱纯。
- 17.1.3 无水乙醚( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ )。
- 17.1.4 三氯甲烷( $\text{CHCl}_3$ )。
- 17.1.5 氢氧化钠( $\text{NaOH}$ )。
- 17.1.6 三水合乙酸钠( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )。
- 17.1.7 磷酸( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ):纯度大于 85%。
- 17.1.8 冰乙酸( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ):色谱纯。
- 17.1.9  $\beta$ -葡萄糖苷酸。
- 17.1.10 硫酸酯酶。

##### 17.2 试剂配制

- 17.2.1 氢氧化钠溶液(0.5 mol/L):称取 20 g 氢氧化钠用水溶解并定容至 1 L。
- 17.2.2 乙酸钠缓冲溶液(0.05 mol/L):称取 6.8 g 三水合乙酸钠用 900 mL 水溶解,冰乙酸调 pH 至 4.8,定容至 1 L。
- 17.2.3 磷酸-水溶液:(1+4)。
- 17.2.4 甲醇-水溶液:(1+1)。
- 17.2.5  $\beta$ -葡萄糖苷酸/硫酸酯复合酶:96 000 U/mL  $\beta$ -葡萄糖苷酸,390 U/mL 硫酸酯酶。

##### 17.3 标准品

玉米赤霉烯酮( $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ,CAS 号:17924-92-4),纯度 $\geq 98.0\%$ 。或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

##### 17.4 标准溶液配制

- 17.4.1 标准储备液:准确称取适量标准品(精确至 0.000 1 g),用乙腈溶解,配制成浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$  以下避光保存。
- 17.4.2 标准工作液:根据需要准确吸取适量标准储备液,用乙腈稀释,配制成适当浓度的标准工作液, $4\text{ }^\circ\text{C}$  避光保存。

## 17.5 材料

- 17.5.1 固相萃取柱: *N*-乙炔吡咯烷酮和二乙烯基苯共聚物填料, HLB, 6 mL, 500 mg, 或等效柱。
- 17.5.2 微孔滤膜: 0.20  $\mu\text{m}$ , 有机相型。
- 17.5.3 氮气: 纯度 $\geq 99.999\%$ 。
- 17.5.4 氩气: 纯度 $\geq 99.999\%$ 。

## 18 仪器和设备

- 18.1 液相色谱-质谱仪: 配备电喷雾离子源(ESI)。
- 18.2 组织捣碎机。
- 18.3 天平: 感量为 0.000 1 g 和 0.01 g。
- 18.4 均质器:  $\geq 12\ 000$  r/min。
- 18.5 振荡器。
- 18.6 恒温振荡器。
- 18.7 离心机:  $\geq 6\ 000$  r/min。
- 18.8 pH 计: 测量精度 $\pm 0.02$  pH 单位。
- 18.9 氮吹仪。
- 18.10 涡旋混合器。
- 18.11 旋转蒸发器。
- 18.12 超声清洗器。

## 19 分析步骤

### 19.1 试样制备

注: 在制样的操作过程中, 应防止样品污染或发生残留物含量的变化。

#### 19.1.1 肌肉和内脏

取 500 g 样品, 用组织捣碎机充分捣碎混匀, 均分成两份, 分别装入洁净容器作为试样, 密封。于  $-18\ ^\circ\text{C}$  以下避光保存。

#### 19.1.2 牛奶

取 500 g 样品, 充分混匀, 均分成两份, 分别装入洁净容器作为试样, 密封。于  $0\ ^\circ\text{C}\sim 4\ ^\circ\text{C}$  避光保存。

#### 19.1.3 鸡蛋

取 500 g 样品, 去壳后用组织捣碎机搅拌充分混匀, 均分成两份, 分别装入洁净容器作为试样, 密封。于  $0\ ^\circ\text{C}\sim 4\ ^\circ\text{C}$  避光保存。

### 19.2 水解

称取 5.0 g 试样(精确至 0.1 g)于 50 mL 具塞离心管中, 加入 10 mL 0.05 mol/L 乙酸钠缓冲溶液和 0.025 mL  $\beta$ -葡萄糖苷酸/硫酸酯复合酶, 旋涡混匀, 于  $37\ ^\circ\text{C}$  水浴中振荡 12 h。

### 19.3 提取

水解后加入 15 mL 无水乙醚,振荡提取 5 min 后,以 4 000 r/min 离心 2 min,将上清液转移至浓缩瓶中,再用 15 mL 无水乙醚重复提取一次,合并上清液,40 °C 以下旋转浓缩至近干。加入 1 mL 三氯甲烷溶解残渣,超声波助溶 2 min 后,转入 10 mL 离心管中,再用 3 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液润洗浓缩瓶后转移至同一离心管中,涡旋混匀,以 4 000 r/min 离心 2 min,吸取上层氢氧化钠溶液。再用 3 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠重复润洗、萃取一次,合并氢氧化钠萃取液,加入 1 mL 磷酸-水溶液,混匀后待净化。

### 19.4 净化

使用前依次用 5 mL 甲醇和 5 mL 水预淋洗固相萃取柱。

将 19.3 中样品提取液转入固相萃取柱。用 5 mL 水、5 mL 甲醇-水溶液淋洗,弃去流出液;再用 10 mL 甲醇进行洗脱,收集洗脱液。整个固相萃取净化过程控制流速不超过 2 mL/min。洗脱液在 40 °C 以下用氮气吹干。残留物用 1.0 mL 乙腈溶解,涡旋混匀后,过 0.2 μm 微孔滤膜,供仪器检测。

### 19.5 基质标准溶液的制备

称取 5 份 5.0 g 空白试样(精确至 0.1 g)于 50 mL 具塞离心管中,分别加入相应体积的玉米赤霉烯酮标准工作溶液,配制成浓度为 1 μg/kg、5 μg/kg、10 μg/kg、50 μg/kg 和 100 μg/kg 的基质标准溶液,然后按 19.2、19.3、19.4 操作。

### 19.6 测定

#### 19.6.1 液相色谱参考条件

液相色谱条件列出如下:

- a) 色谱柱:C<sub>18</sub>,柱长 50 mm,内径 2.0 mm,粒径 2 μm,或等效柱;
- b) 流速:0.2 mL/min;
- c) 进样量:5 μL;
- d) 柱温:40 °C;
- e) 流动相及梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	乙腈/%	水/%
0	25	75
5	70	30
6	70	30
9	25	75

#### 19.6.2 质谱参考条件

质谱条件列出如下:

- a) 电离方式:电喷雾电离(ESI-);
- b) 毛细管电压:3.0 kV;
- c) 源温度:120 °C;

- d) 去溶剂温度:350 ℃;  
 e) 锥孔气流:氮气,流速 100 L/h;  
 f) 去溶剂气流:氮气,流速 600 L/h;  
 g) 碰撞气:氩气,碰撞气压  $2.60 \times 10^{-4}$  Pa;  
 h) 扫描方式:负离子扫描;  
 i) 检测方式:多反应监测(MRM),条件见表 2。

表 2 多反应监测条件

中文名称	英文名称	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	驻留时间/ s	锥孔电压/ V	碰撞能量/ eV	保留时间/ min
玉米赤霉烯酮	Zearalenone	317.1	174.9 <sup>a</sup>	0.2	30	25	4.38
			273.9	0.2	30	20	
<sup>a</sup> 用于定量测定。							

### 19.6.3 标准曲线的制作

按浓度由小到大的顺序,依次分析基质标准溶液,得到相应的峰面积。以基质标准溶液的浓度为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

### 19.6.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱-质谱仪中,得到相应的峰面积,由标准曲线得到试样溶液中玉米赤霉烯酮的浓度。

### 19.6.5 定性

如果样品的质量色谱峰保留时间与基质标准溶液一致,定性离子对的相对丰度与浓度相当的基质标准溶液的相对丰度一致,相对丰度偏差不超过表 3 的规定,则可判断样品中存在相应的被测物。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

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

## 20 分析结果的表述

试样中玉米赤霉烯酮的含量按式(3)计算:

$$X = \frac{\rho \times V}{m \times 1\,000} \times 1\,000 \dots\dots\dots (3)$$

式中:

*X* —— 试样中玉米赤霉烯酮的含量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$\rho$  —— 从基质标准曲线得到的试样测定液中玉米赤霉烯酮的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );

*V* —— 试样测定液的最终定容体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

*m* —— 最终样液所代表的试样质量,单位为克( $\text{g}$ )。

21 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得超过算术平均值的 15%。

22 其他

方法检出限为 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A  
玉米赤霉烯酮标准的色谱图

玉米赤霉烯酮标准的色谱图见图 A.1。

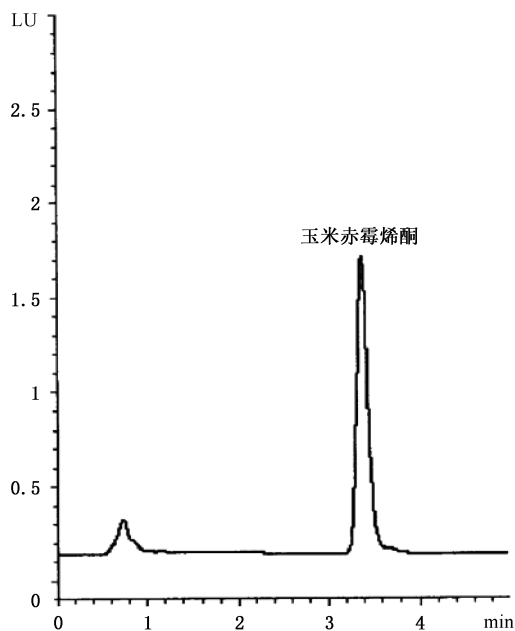


图 A.1 玉米赤霉烯酮标准的色谱图

玉米赤霉烯酮基质标准溶液的 MRM 色谱图见图 A.2。

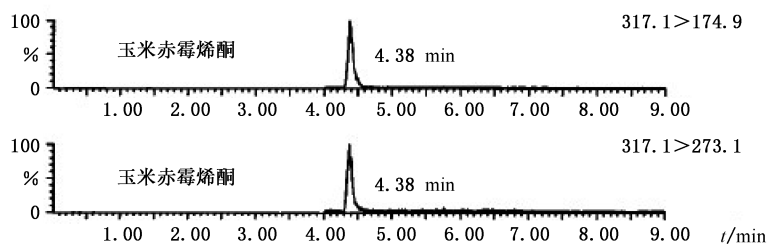


图 A.2 玉米赤霉烯酮基质标准溶液的 MRM 色谱图