

# DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/013—2013

---

食品安全地方标准  
植物源性食品中  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇  
和赤霉烯酮的测定 液相色谱-质谱/质谱法

2013-10-08 发布

2013-10-08 实施

---

吉林省卫生厅 发布

## 前 言

附录A、附录B为资料性附录。

本标准起草单位：吉林省农业科学院。

本标准起草人：宋志峰、魏春雁、蔡玉红、孟繁磊、牛红红、张之鑫、刘笑笑、何智勇、樊慧梅、仇建飞、武巍、马虹、王巍巍、杨建、张国辉、蔡红梅。

# 食品安全地方标准

## 植物源性食品中 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇 和赤霉烯酮的测定 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本标准规定了植物源性食品中 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和赤霉烯酮液相色谱-质谱/质谱的测定方法。

本标准适用于玉米、大豆、大米、花生、玉米淀粉、面粉、大豆油、玉米色拉油、芝麻油等植物源性食品中 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮的定性确证和定量测定。

本标准方法检出限： $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮分别为1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 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，仅所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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

- GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定  
SN/T 0800.1 进出口粮油、饲料检验 抽样和制样方法  
GB/T 5524 植物油脂检验 取样、扦样法

### 3 原理

试料中 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮经三氯甲烷提取，采用碱性水溶液萃取并调至中性，经二氯甲烷反萃取，使用液相色谱-质谱/质谱仪测定，外标法定量。

### 4 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

- 4.1 三氯甲烷 ( $\text{CHCl}_3$ )。
- 4.2 二氯甲烷 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )。
- 4.3 硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )。
- 4.4 氯化钠 ( $\text{NaCl}$ )。
- 4.5 氢氧化钠 ( $\text{NaOH}$ )。
- 4.6 柠檬酸 ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )。
- 4.7 乙腈 ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$ )，色谱纯。
- 4.8 标准品： $\alpha$ -玉米赤霉烯醇 ( $\alpha$ -Zearalenol,  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$ , CAS: 36455-72-8)、玉米赤霉烯酮 (Zearalenone,  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_5$ , CAS: 17924-92-4)，纯度均大于 99%。
- 4.9 饱和氯化钠溶液：称取 36 g 氯化钠 (4.4) 溶于 100 mL 水中。

- 4.10 20g/L 氢氧化钠溶液：称取 20 g 氢氧化钠（4.5）用水溶解并定溶至 1 L。
- 4.11 106g/L 柠檬酸溶液：称取 106 g 柠檬酸（4.6）用水溶解并定溶至 1 L。
- 4.12 乙腈-水溶液（1+1，体积比）：取 500 mL 乙腈（4.7）和 500 mL 水混合。
- 4.13 基质提取液：按照 6.2~6.3 处理空白样品得到的溶液。
- 4.14 标准储备液：分别准确称取  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮标准物质（4.8）适量（精确至 0.000 1 g）用乙腈溶解，配制成浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。0 °C~4 °C 避光保存，有效期为 6 个月。
- 4.15 标准中间液：准确量取标准储备液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中，用乙腈（4.7）定容至刻度，混匀备用。0 °C~4 °C 避光保存，有效期为 1 个月。
- 4.16 标准工作液：分别准确量取  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮标准储备液适量（精确至 0.000 1 g），于一组容量瓶中，用乙腈（4.7）稀释至刻度，配制成浓度为 1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL 的标准工作液。此溶液现用现配。
- 4.17 基质标准工作液：将标准工作液在氮吹仪上吹干，用相同体积的基质提取液（4.13）复溶，此溶液现用现配。
- 4.18 滤膜：孔径为 0.22  $\mu$ m，有机相型。

## 5 仪器与设备

- 5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配备电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 分析天平：感量 $\pm$ 0.000 1 g 和 $\pm$ 0.01 g。
- 5.3 旋转蒸发仪。
- 5.4 氮吹仪。
- 5.5 振荡提取器：转速不低于 180 r/min。
- 5.6 漩涡混合器。
- 5.7 分液漏斗：125 mL。
- 5.8 实验室常用玻璃器皿。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样制备与保存

根据不同类型的样品，分别按 SN/T 0800.1 和 GB/T 5524 的要求制备与保存试样。固体样品粉碎后全部通过 0.425 mm 的标准网筛。

### 6.2 提取

称取试料 10 g（精确至 0.01 g）于 100 mL 具塞锥形瓶中。固体试料加入 50 mL 三氯甲烷（4.1），植物油试料加入 35 mL 三氯甲烷（4.1），盖紧塞子，于振荡提取器上（5.5）室温振荡（180 r/min）提取 30 min。

### 6.3 净化

使用中速滤纸过滤提取液（6.2）并用三氯甲烷定容至 50 mL ( $V_1$ )。吸取 25.0 mL 提取液 ( $V_2$ ) 至 125 mL 分液漏斗（5.7）中，加入 5 mL 饱和氯化钠溶液（4.9），混匀，加入 25 mL 20g/L 氢氧化钠（4.10）溶液，剧烈振荡 1 min，静置分层，弃去三氯甲烷层。用 25 mL 三氯甲烷重复萃取一次，弃去三氯甲烷层。加入 25 mL 柠檬酸溶液（4.11），混匀。加入 25 mL 二氯甲烷（4.2），剧烈振荡 1 min，静置分层。将

二氯甲烷层溶液通过装有 5 g 无水硫酸钠 (4.3) 的漏斗。用 25 mL 二氯甲烷重复萃取一次, 操作同上。用 5 mL 二氯甲烷冲洗无水硫酸钠, 合并二氯甲烷萃取液至浓缩瓶中, 40 °C 以下于旋转蒸发仪上浓缩至近干。残留物用 5 mL 二氯甲烷溶解并转移至玻璃离心管中, 于 40 °C 以下用氮气吹干, 残留物用 1.0 mL( $V_3$ )乙腈-水溶液 (4.12) 溶解, 于漩涡混合器 (5.6) 上漩涡混匀后, 过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜 (4.18), 备用。

#### 6.4 空白试验

除不加试料外, 采用完全相同的分析步骤。

#### 6.5 测定

##### 6.5.1 仪器参考条件

##### 6.5.2 色谱参考条件

- a) 色谱柱: C18 色谱柱, 100 mm $\times$ 2.1 mm, 粒径 1.8  $\mu\text{m}$ , 或性能相当者;
- b) 柱温: 40 °C;
- c) 流动相、流速及洗脱梯度: 流速 0.3 mL/min; 洗脱梯度见表 1;
- d) 进样量: 20  $\mu\text{L}$ 。

表 1 流动相、流速及洗脱梯度

时间/min	流速/(mL/min)	A 相: 水/%	B 相: 乙腈/%
0.0	0.3	50	50
5.0	0.3	25	75
5.1	0.3	0	100
10.1	0.3	0	100
10.2	0.3	50	50
18.1	0.3	50	50

##### 6.5.3 质谱参考条件

- a) 电离方式: 电喷雾电离;
- b) 扫描方式: 负离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- d) 离子源温度: 350 °C;
- e) 干燥气流量: 10 L/min;
- f) 监测离子、去簇电压及碰撞能量: 见表 2。

表 2  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇和玉米赤霉烯酮监测离子、去簇电压及碰撞能量

化合物名称	英文名称	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV	保留时间/min
$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	$\alpha$ -Zearalenol	319	275 <sup>a</sup>	-160	-15	2.33
			301	-160	-30	
玉米赤霉烯酮	Zearalenone	317	175 <sup>a</sup>	-150	-25	3.56
			273	-150	-25	

<sup>a</sup> 定量离子

#### 6.5.4 定性分析

按照 6.4.1 仪器参考条件对基质标准工作液（4.17）和样品进行测定，如果样品的色谱峰与基质标准工作液色谱峰保留时间偏差±5%范围内、定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准溶液相对丰度偏差在允许范围内（相对丰度偏差不超过表 3 的规定），则可判定样品中存在相应的测定物。基质标准工作液的多反应监测（MRM）色谱图见附录 A。

表 3 定性离子相对丰度最大允许偏差 单位：%

相对离子丰度	>50	20~50	10~20	≤10
最大允许偏差	±20	±25	±30	±50

#### 6.5.5 定量测定

按浓度由小到大的顺序，按照 6.4.1 仪器参考条件依次对基质标准工作液（4.17）进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。同时按相同条件对样品测定液进行测定，利用标准工作曲线对样品中被测组分按照外标法进行定量。高浓度样品应适当稀释，保证被测组分在标准工作曲线范围内。

### 7 结果计算

试料中分析物的含量，按式（1）计算。

$$X_i = \frac{c_i \times V_1 \times V_3 \times 1000}{m \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- $X_i$ —— 试料中分析物的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- $c_i$ —— 从标准曲线上得到的试样溶液中分析物的含量，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；
- $V_1$ —— 提取液定容的体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；
- $V_2$ —— 吸取三氯甲烷提取液的体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；
- $V_3$ —— 供试溶液最终体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；
- $m$ —— 试料的质量，单位为克（ $\text{g}$ ）。

平行测定结果用算术平均值表示，数值修约按照 GB/T 8170 执行，保留两位有效数字。

### 8 回收率及精密度

回收率及精密度测定数据见附录 B。

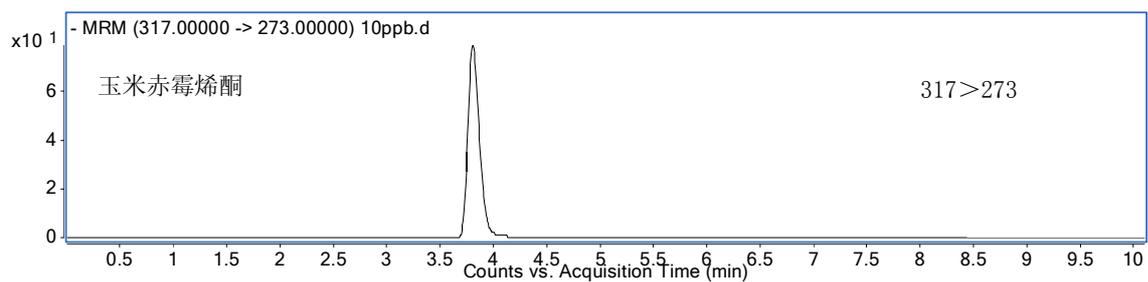
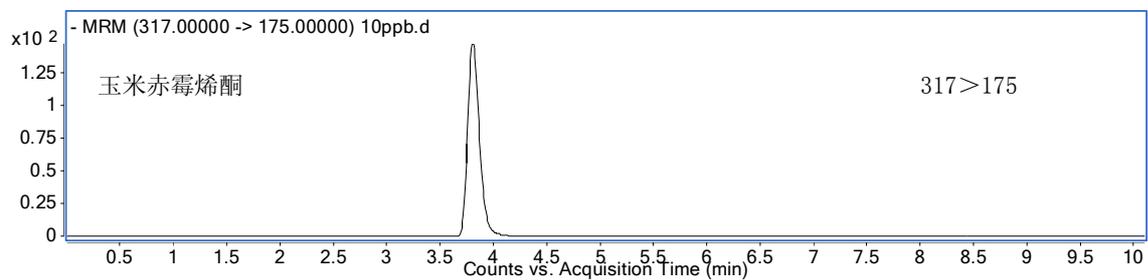
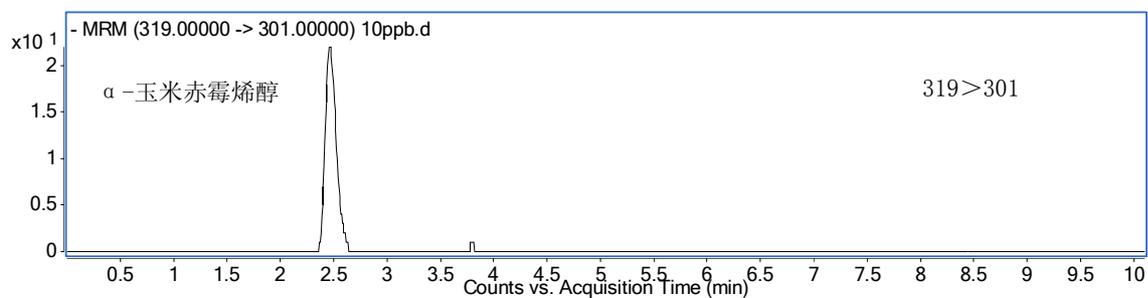
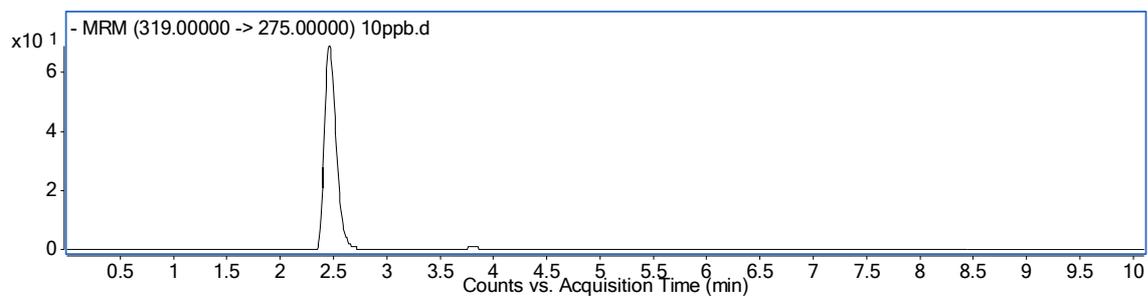
#### 8.1 重复性

在重复性条件下，获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的15%。

#### 8.2 再现性

在再现性条件下，获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的20%。

附录 A  
(资料性附录)  
基质标准工作液多反应监测 (MRM) 色谱图



(浓度为10  $\mu\text{g/L}$ )

附 录 B  
(资料性附录)

实验室内和实验室间回收率及重复性测定数据

表 B.1 实验室内回收率及重复性测定数据

食品名称	化合物	添加浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率范围 /%	相对标准偏差 (RSD) /%
玉米	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	76.4~96.5	9.04
		12.0	77.2~92.3	6.44
		60.0	75.3~95.6	8.58
	玉米赤霉烯酮	3.0	76.3~98.3	9.26
		6.0	82.3~98.6	6.80
		60.0	84.3~97.6	5.92
大豆	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	79.4~98.5	8.36
		12.0	83.2~97.3	6.04
		60.0	80.3~98.9	7.85
	玉米赤霉烯酮	3.0	78.3~98.9	8.92
		6.0	85.5~97.9	5.76
		60.0	85.9~98.4	5.52
大米	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	78.4~96.9	8.09
		12.0	82.4~96.3	5.91
		60.0	81.3~94.9	6.39
	玉米赤霉烯酮	3.0	77.3~97.9	8.83
		6.0	84.5~96.9	5.53
		60.0	84.6~97.4	5.05
花生	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	74.2~91.9	8.44
		12.0	72.4~91.3	7.89
		60.0	78.3~90.9	5.95
	玉米赤霉烯酮	3.0	76.3~92.9	7.85
		6.0	76.5~92.4	6.66
		60.0	80.6~91.9	5.31
玉米淀粉	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	73.2~92.4	8.52
		12.0	71.6~89.3	7.40
		60.0	73.3~89.3	7.42
	玉米赤霉烯酮	3.0	72.6~91.5	8.71
		6.0	72.5~90.1	7.54
		60.0	75.6~91.4	7.36

表 B.1 (续)

面粉	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	71.2~90.4	8.41
		12.0	73.3~89.5	6.88
		60.0	72.0~90.1	7.71
	玉米赤霉烯酮	3.0	72.7~90.4	7.80
		6.0	74.5~89.1	6.48
		60.0	73.6~91.4	7.70
大豆油	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	70.9~88.4	8.06
		12.0	71.3~89.8	8.44
		60.0	71.9~90.4	7.56
	玉米赤霉烯酮	3.0	71.5~90.3	8.24
		6.0	72.8~89.9	7.37
		60.0	72.7~89.5	7.69
玉米色拉油	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	71.4~90.5	8.37
		12.0	73.3~91.8	8.04
		60.0	73.9~92.6	7.35
	玉米赤霉烯酮	3.0	72.8~91.3	8.01
		6.0	72.6~90.1	7.50
		60.0	73.5~90.5	7.57
芝麻油	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	70.1~89.0	8.89
		12.0	72.1~90.4	8.22
		60.0	71.7~90.4	7.64
	玉米赤霉烯酮	3.0	72.9~91.6	8.06
		6.0	70.6~88.1	7.77
		60.0	72.5~89.5	7.76

表 B.2 实验室间回收率及重复性测定数据

食品名称	化合物	添加水平 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	不同实验室平均测定回收率/%				平均值/%	RSD/%
			A	B	C	D		
玉米	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	75.50	89.15	98.33	87.48	87.66	10.70
		12	89.58	87.05	79.58	86.22	85.41	4.99
		60	89.38	85.89	83.22	86.13	86.16	2.93
	玉米赤霉烯酮	3.0	91.33	86.05	79.33	85.88	85.57	5.74
		6.0	81.50	90.05	73.83	90.15	81.79	9.58
		60	91.47	90.68	75.23	91.39	85.79	9.30
大豆	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	89.83	89.82	81.17	88.48	86.94	4.78
		12	93.33	89.72	74.75	88.72	85.93	9.50
		60	92.05	88.38	84.88	88.18	88.44	3.31
	玉米赤霉烯酮	3.0	81.67	89.48	80.33	86.32	83.83	5.04
		6.0	74.33	91.23	73.83	90.57	79.80	12.18
		60	80.78	92.45	84.95	91.87	86.06	6.55
大米	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	90.83	88.72	92.00	86.55	90.52	2.66
		12	75.92	89.42	90.67	88.42	85.34	8.03
		60	91.22	87.89	94.55	87.60	91.22	3.58
	玉米赤霉烯酮	3.0	90.67	86.95	79.67	85.98	85.76	5.33
		6.0	82.36	89.83	93.17	89.73	88.45	5.16
		60	86.33	90.3	78.63	90.83	85.09	6.62
玉米油	$\alpha$ -玉米赤霉烯醇	6.0	87.00	82.95	71.33	82.38	80.43	8.34
		12	80.25	84.68	84.33	84.32	83.09	2.53
		60	79.38	83.5	91.30	84.10	84.73	5.84
	玉米赤霉烯酮	3.0	95.63	83.78	71.33	82.80	83.58	11.88
		6.0	83.50	81.97	73.17	81.95	79.55	5.92
		60	79.07	84.13	85.03	84.26	82.74	3.30