

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80780

全麦粉中玉米赤霉烯酮基体标准物质制备与定值

张 冰¹ 叶 金¹ 李 鹏¹ 吴 宇¹ 李 丽¹
董泽民² 万文根² 王松雪¹

(1. 国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037; 2. 江西省农业技术推广中心, 江西 南昌 330000)

摘要: [目的] 为拓展基体标准物质种类, 完善量值浓度水平并满足市场检测和科研需求, 研制全麦粉中玉米赤霉烯酮(ZEN)成分分析标准物质。[方法] 以自然污染的小麦为原料, 经清选、研磨、匀化等工艺制备, 选用铝箔袋真空包装并辐照灭菌处理。研究考察了粉碎粒径和混合时间对ZEN均匀性的影响, 采用超高效液相色谱法(UPLC)和稳定同位素稀释液相串联质谱法(LC-MS/MS)两种不同原理方法定值, 通过7家实验室联合定值验证。[结果] 确定最佳粉碎粒径为380 μm , 混合时间为32 h。均匀性检验(F 检验)和稳定性研究表明, 该标准物质在60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下可稳定保存7 d, (20 $\pm$ 5) $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下可稳定保存17个月。最终确定全麦粉中ZEN的特性值为(57.1 $\pm$ 6.0) $\mu\text{g/kg}$ ($k=2$, 置信区间95%)。[结论] 该标准物质补充完善了限量质量分数(60 $\mu\text{g/kg}$)基体标准物质体系, 可支持实验室检测方法确认、质量控制管理以及检验人员技能评定。

关键词: 全麦粉; 玉米赤霉烯酮; 基体标准物质; 不确定度评定

Preparation and certification of matrix reference material for zearalenone in whole wheat flour

Zhang Bing¹ Ye Jin¹ Li Peng¹ Wu Yu¹ Li Li¹ Dong Zemin² Wan Wengen² Wang Songxue¹

(1. Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China;
2. Jiangxi Agricultural Technology Extension Center, Nanchang, Jiangxi 330000, China)

Abstract: [Objective] To expand the varieties of matrix reference materials, improve the concentration levels of quantitative values, and meet the needs of market detection and scientific research, a matrix reference material for the compositional analysis of zearalenone (ZEN) in whole wheat flour was developed. [Methods] Naturally contaminated wheat was used as the raw material, and the matrix reference material was prepared through cleaning, milling, and homogenization processes. It was vacuum-packed in aluminum foil pouches and sterilized by irradiation. The effects of grinding particle size and mixing time on the homogeneity of ZEN were investigated. Value assignment was conducted using two methods with different principles: ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) and stable isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and was validated through a collaborative study involving seven laboratories. [Results] The optimal grinding particle size is determined to be 380 μm , with a mixing time of 32 h. The homogeneity test (F -test) and stability studies demonstrate that the reference material remains stable for 7 d at 60 $^{\circ}\text{C}$ and for 17 months under light-protected conditions at (20 $\pm$ 5) $^{\circ}\text{C}$. The ultimate certified value of ZEN in whole wheat flour is determined to be (57.1 $\pm$ 6.0) $\mu\text{g/kg}$ ($k=2$, 95% confidence interval). [Conclusion] The reference material supplements and improves the matrix reference material system at the limit of mass fraction (60 $\mu\text{g/kg}$) and can support laboratory method validation, quality control management, and skill assessment of inspectors.

Keywords: whole wheat flour; zearalenone; matrix reference material; uncertainty assessment

基金项目: 国家重点研发计划(编号:2024YFF1105802); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(编号:ZX2426)

通信作者: 李丽(1982—), 女, 国家粮食和物资储备局科学研究院副研究员, 硕士。E-mail: ll@ags.ac.cn

王松雪(1977—), 男, 国家粮食和物资储备局科学研究院研究员, 博士。E-mail: wsx@ags.ac.cn

收稿日期: 2025-08-22 **改回日期:** 2026-05-19

引用格式: 张冰, 叶金, 李鹏, 等. 全麦粉中玉米赤霉烯酮基体标准物质制备与定值[J]. 食品与机械, 2026, 42(9): 41-47.

Citation: Zhang Bing, Ye Jin, Li Peng, et al. Preparation and certification of matrix reference material for zearalenone in whole wheat flour [J]. Food & Machinery, 2026, 42(9): 41-47.

玉米赤霉烯酮(zearalenone,ZEN)是一种由禾谷镰刀菌和粗枝镰刀菌等真菌产生的非甾体类雌激素霉菌毒素^[1]。其具有遗传毒性、免疫毒性及致癌性,并可影响生殖发育过程,导致产仔数减少^[2]。ZEN易污染玉米、小麦、大米、燕麦及其制品^[3],且热稳定性高,难以通过加工过程去除^[4]。小麦作为三大谷物之一,是中国人日常摄入的主要食物来源,近年来由于受气候异常和耕作方式变化影响,导致ZEN污染加剧。欧盟委员会规定谷物及加工产品中ZEN最大限量为20~400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[5],中国规定小麦及小麦粉中ZEN限量为60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[6]。

目前常用的具有高灵敏度和良好重复性的玉米赤霉烯酮检测方法主要有液相色谱法^[7-9]、超高效液相色谱法^[10-11]、液相色谱-串联质谱法^[12-13]及气相色谱-串联质谱法^[14]。尽管这些方法能够提供可靠的检测结果,但仍需进一步验证其准确性。而基体标准物质作为确保测量准确性、可比性和溯源性的关键工具^[15],近年来受到广泛关注。由于传统化学标准物质难以充分反映复杂基质的基质效应,构建与样品基质一致的基体标准物质体系已经成为质量控制和能力验证的重要方向^[16-17]。目前,国外基体标准物质的研制主要集中在美国国家标准与技术研究院(NIST)和欧盟委员会联合研究中心(JRC)等机构^[18]。前期调研中,相关产品包括NIST的玉米粉中ZEN基体标准物质(SRM 1565)、JRC的玉米油中ZEN(ERM-BC715)、玉米粉中ZEN(ERM-BC716和ERM-BC717)^[19-20]以及加拿大国家研究委员会(NRC)研制的黑麦粉基体多真菌毒素标准物质(MYCO-1)。混合真菌毒素基体标准物质价格较高,其标准值与中国现行限量水平不对应。中国真菌毒素基体标准物质的研制起步较晚,但数量上增长迅速^[21]。通过国家标准物质资源共享平台查询,目前全麦粉基体仅有GBW(E)100384一种,标准值及不确定度为 $(95 \pm 12) \mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$),显著高于中国ZEN的限量要求,且平台现有其他相关产品均为玉米粉基体。研究拟开展全麦粉中玉米赤霉烯酮基体标准物质的研制,旨在为后续基体标准物质的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

甲醇、乙腈:色谱纯,德国默克公司;

甲醇中玉米赤霉烯酮标准溶液(CAS NO.:17924-92-4):GBW(E)100301,质量浓度标准值 $(20.52 \pm 0.25) \mu\text{g}/\text{mL}$,国家粮食和物资储备局科学研究院;

混合机:VHJ型,常州市佳善干燥设备有限公司;

可变速高速旋转粉碎机:Pulverisette 14 classic型,德国飞驰公司;

PBS磷酸盐缓冲盐干粉:分析纯,白鲨生物科技有限公司;

吐温20:分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;

离心管:50 mL,赛默飞世尔科技公司;

无针注射器:1 mL,上海安谱实验科技有限公司;

ZEN免疫亲和柱:6 mL,江苏省苏微微生物研究有限公司;

PTFE滤膜:0.2 μm ,美国颇尔公司;

天平:SQP型,德国赛多利斯公司;

涡旋振荡器:VX-IV型,安简(北京)科技有限公司;

离心机:5810R型,德国艾本德公司;

12位固相萃取装置:SBEQ-CG1012型,上海安谱实验科技有限公司;

超高效液相色谱仪:Waters I class型,美国沃特世公司;

色谱柱:Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 型($2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$, $1.7 \mu\text{m}$)、Waters CORTECS UPLC C_{18} 型($2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$, $1.6 \mu\text{m}$),美国沃特世公司。

1.2 试验方法

1.2.1 采集制备 根据GB 2761—2017中小麦、小麦粉中玉米赤霉烯酮污染物限量要求,设定标准物质目标量值约60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。筛选中国粮食主产区自然污染小麦,确定100 kg小麦候选样品。经清选、研磨、匀化等步骤,分装于100 g铝箔袋中并真空密封。分装好的样品经 ^{60}Co 辐照处理,18 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件保存。

1.2.2 粉碎粒径试验 试验中选用筛选的自然污染的小麦颗粒候选样品进行粉碎处理,根据不同的筛网孔径筛分得到不同粒径的全麦粉。取5份小麦颗粒样品各1.0 kg,采用不同目数筛网制备全麦粉样品,获得粉碎粒径分别为180,250,380,550,830 μm 的试样,每个粒径检测6个平行。按照1.2.6定值方法(1)中的方法检测各粒径样品中ZEN的质量分数,计算其相对标准偏差(RSD)作为均匀性评价指标。

1.2.3 混合时间试验 考察混合时间对小麦基质中ZEN分布均匀性的影响。混合机转速设定12 r/min、装载380 μm 的全麦粉样品40.0 kg。混合开始后每8 h取样一次,设定取样时间节点为0,8,16,24,32,40 h,每个时间点固定采集6个不同空间位置的试样,测定ZEN质量分数并计算RSD。按照1.2.6定值方法(1)中的方法检测每个样品中ZEN的质量分数。以各时间点6个样品ZEN质量分数的RSD作为均匀性评价指标。

1.2.4 均匀性检验 根据JJF 1343—2022的要求,当 $500 < N \leq 1\,000$ 时需抽取不少于25个单元。采用随机数表抽取25个单元进行均匀性检验,每单元上、中、下3点取样,进行3次平行测试。为降低测定时间引起的仪器漂移对统计结果的影响,对样品进行3轮测定,依次采用顺序、倒序、奇偶交替的顺序检测。

1.2.5 稳定性检验

(1) 短期稳定性:模拟运输环境将样品放置在60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温烘箱,连续7 d每天取样,监测候选物全麦粉中玉米

赤霉烯酮质量分数。

(2) 长期稳定性:在 $(20\pm 5)^\circ\text{C}$ (室温)避光条件下,监测17个月内玉米赤霉烯酮的质量分数变化。

1.2.6 定值方法

(1) 超高效液相色谱法:称取 (5.000 ± 0.005) g样品于50 mL离心管中,加入20 mL乙腈—水提取液($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=90:10$),经涡旋振荡20 min后以7 000 r/min离心5 min,取2 mL上清液加入20 mL 0.1% PBST稀释混匀,再以8 000 r/min离心10 min备用。将20 mL注射器与免疫亲和柱及固相萃取装置连接,移取全部离心液过柱,利用重力控制流速不超过1滴/s。流尽后以10 mL水淋洗两次,再通入约20 mL空气排尽残液。随后以2.0 mL甲醇洗脱并收集于10 mL离心管中。样品经 50°C 氮吹干燥后,加入1.0 mL流动相重新溶解,涡旋混匀30 s,再经 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤净化,最终收集滤液于进样瓶中进行检测。

液相色谱条件:色谱柱为Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 型($2.1\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}$, $1.7\ \mu\text{m}$);采用等度洗脱,流动相为乙腈—水($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}=60:40$),流量0.3 mL/min;柱温 35°C ;进样量 $5\ \mu\text{L}$;荧光检测器激发波长274 nm,发射波长440 nm。

(2) 稳定同位素液相串联质谱法:称取 (5.000 ± 0.005) g样品于50 mL离心管中,加入20 mL乙腈—水—乙酸提取液($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}:V_{\text{乙酸}}=70:29:1$),振荡提取20 min后以7 000 r/min离心10 min。吸取0.5 mL上清液加入0.5 mL水,在 4°C 下以12 000 r/min离心10 min,取上清液经 $0.2\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,吸取180 μL 滤液加入20 μL 稳定同位素混合作液于400 μL 内插管中上样测定。

液相色谱条件:色谱柱为Waters CORTECS UPLC C_{18} 型($2.1\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}$, $1.6\ \mu\text{m}$);流动相A为甲醇,B为含0.1%甲酸和1 mmol/L乙酸铵的水溶液,初始时B为60%维持2 min,6 min时B升至90%维持2 min,再于0.1 min内回调至60%并维持2.9 min;柱温 40°C ;进样量 $2\ \mu\text{L}$;流量0.3 mL/min。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),采用负离子模式,喷雾电压2.5 kV(负),加热气温度 200°C ,鞘气流量35 L/h,辅助气流量10 L/h,离子传输毛细管温度 350°C ,碰撞气压力0.20 Pa,质谱扫描循环时间0.7 s,具体条件参照表1。

表1 质谱条件[†]

Table 1 Mass spectrometry conditions

化合物	去簇电压/V	离子对 (m/z)	碰撞能 量/eV	碰撞出口 电压/V
ZEN	-80/-80	317/175 [*] 317/131	26/19	-7/-15
[^{13}C]-ZEN	-80	335.1/185.0	26	-7

[†] *表示定量离子。

2 结果与讨论

2.1 制备技术研究

2.1.1 粉碎粒径对基质标准物质中ZEN均匀性的影响

图1展示了不同粉碎粒径下6个平行检测结果的RSD,反映了全麦粉样品中ZEN质量分数的均匀性变化趋势。随着粉碎粒径的减小,RSD逐渐下降,表明样品的均匀性逐步改善。当粉碎粒径降至 $380\ \mu\text{m}$ 时,RSD达到了6.5%,此时样品的均匀性表现较为理想。进一步减小粒径后,RSD趋于平缓,表明过度细化对均匀性提升的贡献有限。尽管粉碎粒径的继续减小有助于提高均匀性,但过度细化会导致标准物质与常规检测样品之间的粒径差异增大,这可能影响定量溯源和质量控制^[22]。因此,在实际应用中需在均匀性要求和实际检测需求之间权衡。基于试验结果,确定 $380\ \mu\text{m}$ 为制备全麦粉基质的最优粉碎粒径。

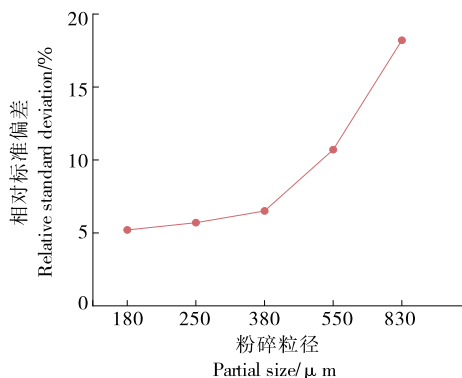


图1 粉碎粒径对基质标准物质中ZEN均匀性的影响

Figure 1 Effect of grinding particle size on homogeneity of ZEN in matrix reference material

2.1.2 混合时间对基质标准物质中ZEN均匀性的影响

由图2可知,延长混合时间可显著改善样品中ZEN的均匀性,各混合时间下ZEN质量分数的RSD逐步降低并趋于稳定。混合初始阶段(0~24 h),RSD下降幅度较大,表明样品中ZEN在混合机作用下趋于均一;混合24 h后,RSD降至7.1%;继续延长至32 h和40 h,RSD未出现显著下降。这一趋势表明,适当延长混合时间有助于提高ZEN在基质中的分布均匀性。综合考虑混合效率与时间成本,确定32 h为制备全麦粉基质标准物质的最佳混合时间。

2.2 定值方法研究

标准物质采用免疫亲和柱—超高效液相色谱法(UPLC)和稳定同位素稀释—液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)进行定值。UPLC法和LC-MS/MS法针对每个步骤进行实验室内优化确证后形成。两种方法均进行了方法学考察,可保证方法的准确性和精密度。通过加标

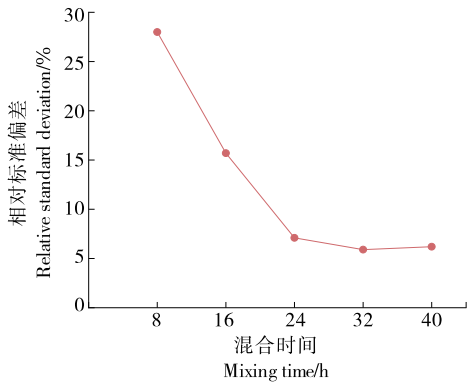


图2 混合时间对基体标准物质中ZEN均匀性的影响
Figure 2 Effect of mixing time on homogeneity of ZEN in matrix reference material

回收率验证方法准确度,采用阴性小麦样品添加质量分数分别为 30, 60, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 重复检测 6 次。两种方法的平均回收率分别为 97.7%, 102.4%, 日内精密度分别为 2.0%, 1.6%, 日间精密度分别为 4.5%, 3.6%, 满足标准物质定值要求。为验证 UPLC 法和 LC-MS/MS 法检测结果的一致性,分别采用两种方法对制备的基体标准物质进行实验室内检测,每种方法平行测定 11 次,结果见表 2。

表2 UPLC 法和 LC-MS/MS 法检测结果一致性比较
Table 2 Consistency comparison of test results between UPLC and LC-MS/MS methods

方法	平均值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	标准偏差/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	RSD/%
UPLC	60.4	1.67	2.77
LC-MS/MS	59.6	1.94	3.26

采用 SPSS 软件对两种方法检测结果进行独立样本 t 检验。Levene 方差齐性检验结果显示显著性概率 $P>0.05$, 表明两组数据在 95% 置信水平下离散程度无显著性差异, 满足方差齐性假设。 t 检验结果显示两种方法检测均值无显著性差异 (显著性概率 $P>0.05$), 证明 UPLC 法和 LC-MS/MS 法均适用于该标准物质的定值。

2.3 均匀性评估

全麦粉中 ZEN 基体标准物质均匀性数据见图 3, 单因素方差分析结果见表 3。样品的均匀性采用 F 检验分析, 通过比较 $F_{\text{统计值}}$ 和 $F_{\text{临界值}}$ 大小, 判断样品的均匀性。经计算, $F_{\text{统计值}} = \frac{s_1^2}{s_2^2} = 1.103 < F_{\text{临界值}} = 1.737$, 无显著性差异, 表明所研制的基体标准物质中玉米赤霉烯酮的质量分数具有良好的均匀性。

2.4 稳定性评估

根据 JJF 1343—2022《标准物质的定值、均匀性及稳

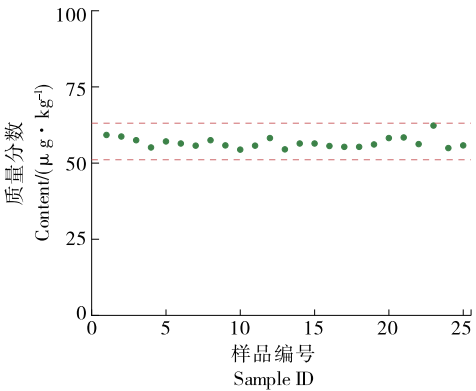


图3 全麦粉中玉米赤霉烯酮成分分析标准物质均匀性检测结果
Figure 3 Homogeneity test results of reference material for compositional analysis of zearalenone in whole wheat flour

表3 单因素方差分析结果
Table 3 Results of one-way analysis of variance

差异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	F 临界值
组间	229.23	24	9.551	1.103	0.374	1.737
组内	432.93	50	8.659			
总计	662.17	74				

定性评估》进行短期稳定性和长期稳定性的研究。采用一元线性拟合方程对短期稳定性和长期稳定性的数据进行检验分析^[23], 结果见图 4。

短期稳定性评估: 考虑到标准物质常温运输需求, 通过高温加速试验评估运输过程中的稳定性表现。设置 60 $^{\circ}\text{C}$ 环境连续保存 7 d 以模拟极端运输条件, 采用 UPLC 法监测 ZEN 质量分数变化。采用 Excel 进行回归分析结果显示, 在 95% 置信水平下, 自由度 $n-2=6$ 时查表 $t_{\text{临界}}$ 为 2.45, $|\beta_1| = 0.3988 < t_{0.95, n-2} \times s(\beta_1) = 0.5856$, 斜率不显著, 未观察到不稳定性。结果表明, 该基质标准物质在高温条件下 7 d 保持稳定, 满足常温运输要求。

长期稳定性评估: 基于回归模型评估标准物质的长期稳定性表现, 按照先密后疏监测原则开展考察试验。17 个月监测期内设置 8 个检测时间点。统计分析显示 $|\beta_1| = 0.0275 < t_{0.95, n-2} \times s(\beta_1) = 0.2604$, 回归斜率不显著, 无统计学意义, 表明 ZEN 质量分数未呈现显著的时间依赖性变化。结果表明, 该全麦粉基质标准物质在 $(20 \pm 5) ^{\circ}\text{C}$ 的保存条件下可保持 17 个月稳定。

长期稳定性相较短期稳定性的测定值增高的原因, 可能为短期稳定性采用同步稳定性研究而长期稳定性采用了实时稳定性研究。同步稳定性研究可以一次完成所有测量, 优点能提高测量精密度, 避免了测量系统的长期漂移导致的不稳定性; 实时稳定性研究是在不同的日期、

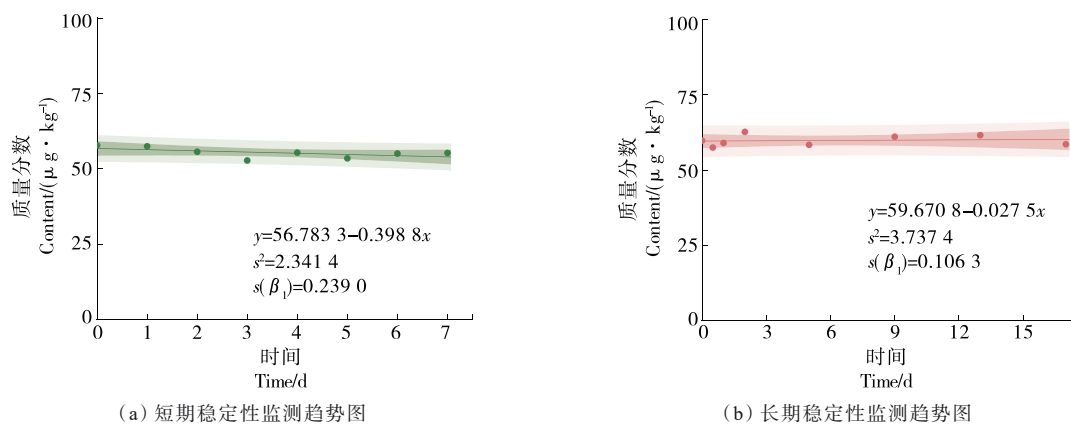


图4 全麦粉中玉米赤霉烯酮的稳定性检验结果

Figure 4 Stability test results of zearalenone in whole wheat flour

环境下进行样本检测,可能受到样本均匀性引入的误差、检测方法不确定度以及方法重复性和再现性等因素影响,导致长期稳定性比短期稳定性监测结果增高。在确定标准物质质量值及不确定度后,核查短期稳定性和长期稳定性的监测结果均处在不确定度(57.1 ± 6.0) $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($k=2$,置信区间95%)范围内。

2.5 定值结果

全麦粉中玉米赤霉烯酮基标准物质的定值工作由多家实验室联合完成,共有7家实验室参与。各实验室分别采用超高效液相色谱法和稳定同位素稀释液相色谱-质谱联用法对候选物进行定值,每家实验室提供6个测定结果,相关数据见表4。依据JJF 1343—2022开展统计分析,包括组内可疑值检验、组间均值等精度检验及正态分布等。

7家实验室提交的定值结果,经格拉布斯检验和迪克逊法检验均无可疑值剔除;采用科克伦检验, $C = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{i=1}^m s_i^2} = 0.2766 < C(\alpha, m, n) = 0.3726$,结果显示各实验室检测平均值间是等精度。进一步进行正态性检验,偏态系数 $A = \frac{m_3}{\sqrt{(m_2)^3}} = 0.22 < \text{临界值 } A_1 = 0.59$,峰态系数 $2.07 < B =$

$\frac{m_4}{(m_2)^2} = 2.10 < 4.06$,说明所有数据服从正态分布。最终以各实验室均值的总体平均值作为标准值,值为57.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.6 标准物质的不确定度评定

基体标准物质的不确定度主要由均匀性、稳定性以及定值过程引入,图5列出了不确定度评定的主要影响因素。

2.6.1 均匀性引入的不确定度 按照JJF1343—2022的要求,根据均匀性数据检测结果,瓶间、瓶内差方和记为

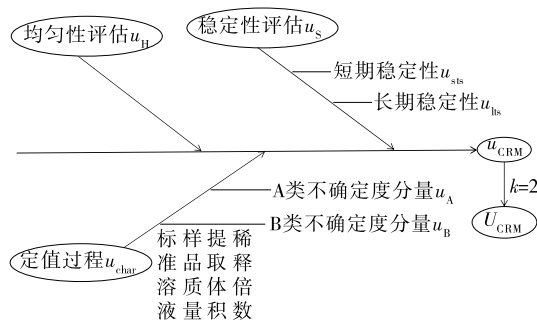


图5 不确定度评定的主要影响因素

Figure 5 Main influencing factors of uncertainty assessment

表4 全麦粉中玉米赤霉烯酮定值结果

Table 4 Value assignment results of zearalenone in whole wheat flour

实验室	检测结果/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)						平均值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
A	61.3	55.7	55.5	60.8	61.9	57.7	58.8	4.9
B	57.6	55.5	59.6	59.0	54.3	53.5	56.6	4.5
C	58.9	60.8	61.4	61.2	59.5	59.1	60.1	1.8
D	54.6	56.0	59.3	52.6	56.9	58.9	56.4	4.5
E	55.1	56.3	56.8	56.2	55.1	57.5	56.2	1.7
F	55.7	57.0	53.9	56.0	53.9	52.7	54.9	2.9
G	60.7	54.3	56.2	56.3	57.1	56.8	56.9	3.7
总平均值							57.1	

Q_1 、 Q_2 。瓶间、瓶内自由度分别记为 ν_1 和 ν_2 ，则瓶间方差表示为： $s_1^2 = \frac{Q_1}{V_1}$ ，瓶内方差表示为： $s_2^2 = \frac{Q_2}{\nu_2}$ 。均匀性产生的标准偏差表示为 s_H 。 $s_H^2 = \frac{s_1^2 - s_2^2}{n} = \frac{9.551 - 8.659}{3} = 0.2973 \mu\text{g/kg}$ ， $s_H = \sqrt{s_H^2} = \sqrt{0.2973} = 0.5453 \mu\text{g/kg}$ 。因此，均匀性引入的相对标准不确定度为 $u_H = \frac{s_H}{\bar{X}} = 0.96\%$ 。

2.6.2 稳定性引入的不确定度 稳定性引入的不确定度包括短期稳定性和长期稳定性两部分。短期稳定性监测时间 7 d，不确定度贡献为 $s = s(\beta_1) \times T = 1.67 \mu\text{g/kg}$ ，引入的相对标准不确定度为： $u_{\text{sts}} = \frac{s}{\bar{X}} = 3.02\%$ 。长期稳定性监测时间 17 个月，不确定度贡献为 $s = s(\beta_1) \times T = 1.807 \mu\text{g/kg}$ ，引入的相对标准不确定度为 $u_{\text{ls}} = \frac{s}{\bar{X}} = 3.02\%$ 。计算结果为 $u_s = \sqrt{u_{\text{sts}}^2 + u_{\text{ls}}^2} = 4.27\%$ 。

2.6.3 定值过程中引入的不确定度 定值过程引入的不确定度分为两类，由联合定值引入的 A 类不确定度和对测量结果产生影响的因素引入的 B 类不确定度^[24]。A 类不确定度： $u_A = \frac{S_{\bar{X}}}{\bar{X}} = 1.2\%$ ；B 类不确定度：具体来源于见表 5，根据表内数据计算， $u_B = 2.46\%$ 。

表 5 定值过程引入的 B 类不确定度
Table 5 Type B uncertainty introduced by value assignment process

B 类不确定度分量来源	相对标准不确定度/%
标准溶液 $u_B(S)$	0.61
标准中间液 $u_B(SI)$	0.55
称量质量 $u_B(M)$	0.057
样液提取、转移、稀释、复溶前处理 $u_B(P)$	0.91
移取内标引入 $u_B(IS)$	2.00
移取滤液引入 $u_B(F)$	0.75
u_B	2.46

通过以上 A 类不确定度和 B 类不确定度，计算定值过程中引入的不确定度为 $u_{\text{char}} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} = 2.74\%$ 。综上得到全麦粉中玉米赤霉烯酮的相对合成不确定度为 $u_{\text{CRM}} = \sqrt{u_H^2 + u_s^2 + u_{\text{char}}^2} = 5.2\%$ ，相对扩展不确定度为 10.4%，扩展不确定度为 $6.0 \mu\text{g/kg}$ 。因此，全麦粉中 ZEN 质量分数的标准值为 $(57.1 \pm 6.0) \mu\text{g/kg}$ ， $k=2$ 。

3 结论

基于天然污染小麦籽粒，建立了包含清选、研磨、匀化的系统化制备工艺。制备过程中研究了粉碎粒径对玉

米赤霉烯酮分布均匀性的影响，优化了混合时间参数，确保玉米赤霉烯酮在样品中的均匀性。采用超高效液相色谱和稳定同位素液相串联质谱两种不同原理的检测技术，完成了均匀性评估、稳定性评估及不确定度的评价。通过 7 家实验室协同定值，认证值为 $(57.1 \pm 6.0) \mu\text{g/kg}$ (95% 置信区间， $k=2$)。该标准物质完善了限量浓度水平基质标准物质体系，为检测方法验证、实验室间比对及日常质量控制提供了可靠的计量基准。未来仍需针对不同粮食基质和污染水平开发系列化产品，以满足多样化检测需求。

参考文献

[1] Zheng W L, Pan S Y, Wang G G, et al. Zearalenone impairs the male reproductive system functions via inducing structural and functional alterations of sertoli cells[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2016, 42: 146-155.

[2] Tabuc C, Marin D, Guerre P, et al. Molds and mycotoxin content of cereals in southeastern Romania[J]. Journal of Food Protection, 2009, 72(3): 662-665.

[3] Pérez-Torrado E, Blesa J, Moltó J C, et al. Pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry for determination of zearalenone in cereal flours [J]. Food Control, 2010, 21(4): 399-402.

[4] Zhang Y, Liu D H, Peng J, et al. Magnetic hyperbranched molecularly imprinted polymers for selective enrichment and determination of zearalenone in wheat proceeded by HPLC-DAD analysis[J]. Talanta, 2020, 209: 120555.

[5] European Commission. Commission Regulation (EC) No 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize and maize products[S]. Brussels: Publications Office of the European Union, 2007: 14-17.

[6] 国家卫生和计划生育委员会. GB 2761—2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 4-5.

National Health and Family Planning Commission. GB 2761—2017 Food safety national standard Fungi toxins in food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 4-5.

[7] 刘坚, 孙婷琳, 秦时聪, 等. 高效液相色谱同步检测小麦中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮的方法研究[J]. 食品科技, 2024, 49(2): 329-333.

Liu J, Sun T L, Qin S C, et al. Simultaneous determination of deoxynivalenol and zearalenone in wheat by high performance liquid chromatography[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(2): 329-333.

[8] 董梅, 武琴园, 薛海燕, 等. 高效液相色谱法测定食品中玉米赤霉烯酮的研究[J]. 粮食与食品工业, 2022, 29(3): 65-68.

Dong M, Wu Q Y, Xue H Y, et al. Determination method of zearalenone in food by means of high-performance liquid chromatography[J]. Cereal & Food Industry, 2022, 29(3): 65-68.

- [9] 吴宇, 叶金, 李丽, 等. 免疫亲和柱全自动固相萃取—高效液相色谱法测定粮油中玉米赤霉烯酮[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(3): 176-180.
- Wu Y, Ye J, Li L, et al. Zearalenone in cereals and the oil by high performance liquid chromatography[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(3): 176-180.
- [10] 国家粮食局. LS/T 6129—2017 粮油检验粮食中玉米赤霉烯酮的测定超高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-2.
- National Food and Strategic Reserves Administration. LS/T 6129—2017 Inspection of grain and oils-determination of zearalenone in grains-ultra-high performance liquid chromatography[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 1-2.
- [11] 陈金男, 叶金, 郭旭光, 等. 免疫磁珠高通量自动净化—超高效液相色谱法测定粮食中玉米赤霉烯酮[J]. 食品科学, 2021, 42(22): 318-323.
- Chen J N, Ye J, Guo X G, et al. Determination of zearalenone in grains by high-throughput automatic purification with immunomagnetic beads coupled with ultra-high performance liquid chromatography[J]. Food Science, 2021, 42(22): 318-323.
- [12] 张玮, 李会荣, 朱娜, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定饲料中黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮含量的研究[J]. 饲料研究, 2023, 46(3): 126-129.
- Zhang W, Li H R, Zhu N, et al. Study on determination of aflatoxin B₁ and zearalenone in feed by UPLC/MS[J]. Feed Research, 2023, 46(3): 126-129.
- [13] 吴宇, 叶金, 李丽, 等. 免疫亲和柱全自动净化—超高效液相色谱—串联质谱—全碳标记内标法精确测定粮油中玉米赤霉烯酮[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 267-272.
- Wu Y, Ye J, Li L, et al. Fully ¹³C isotope labeled internal standard for the accurate quantification of zearalenone in cereals and oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry after automated purification with immunoaffinity column[J]. Food Science, 2020, 41(24): 267-272.
- [14] 吴文达, 王宝杰, 蔡兰芬, 等. 薄层色谱和高效液相色谱联合检测玉米赤霉烯酮的方法研究[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(7): 17-20.
- Wu W D, Wang B J, Cai L F, et al. Detection of zearalenone by thin-layer chromatography combined with high-performance liquid chromatography[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2010, 42(7): 17-20.
- [15] Lijalem Y G, Gab-Allah M A, Yu H, et al. Development of a corn flour certified reference material for the accurate determination of zearalenone[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2024, 416(13): 3 173-3 183.
- [16] 林若漫, 林振华. 生物毒素基体标准物质研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022(35): 183-187.
- Lin R M, Lin Z H. Research progress of biotoxin matrix reference materials[J]. China Food Safety Magazine, 2022(35): 183-187.
- [17] 方海仙, 陈兴连, 李昕昀, 等. 绿茶中联苯菊酯和氯氟氰菊酯残留检测质量控制基体标准物质的研制[J]. 食品与机械, 2024, 40(4): 40-46.
- Fang H X, Chen X L, Li X Y, et al. Preparation of matrix reference materials of bifenthrin and cyhalothrin pesticide residues in green tea[J]. Food & Machinery, 2024, 40(4): 40-46.
- [18] 刘清毅. 恩镰孢菌素 B 纯度和基体标准物质定值技术研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2024: 7-9.
- Liu Q Y. Study on the purity of ennatin B and the technique of characterization of matrix reference material[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Thesis, 2024: 7-9.
- [19] Riedel J, Recknagel S, Sassenroth D, et al. Development and certification of a reference material for zearalenone in maize germ oil[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(21): 5 483-5 491.
- [20] Krska R, Josephs R D, Pettersson H, et al. Preparation and certification of zearalenone mass concentration of two low-level maize reference materials[J]. Journal of AOAC International, 2004, 87(4): 892-908.
- [21] 赵辉, 赵华, 刘原栋, 等. 基于国家标准物质资源共享平台探讨我国标准物质发展现状与趋势[J]. 化学试剂, 2017, 39(8): 856-860.
- Zhao H, Zhao H, Liu Y D, et al. Status and tendency of reference materials based on national sharing platform for reference materials resource[J]. Chemical Reagents, 2017, 39(8): 856-860.
- [22] Li L, Li P, Wu Y, et al. A study of a new certified reference material for accurate determination of the main fusarium mycotoxins in whole-wheat flour[J]. Foods, 2023, 12(23): 4 358.
- [23] 谢继安, 刘柏林, 赵紫薇, 等. 小麦粉中细交链孢菌酮酸和毒素标准物质的研制[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(6): 716-722.
- Xie J A, Liu B L, Zhao Z W, et al. Preparation and certification of wheat flour reference material for tenuazonic acid and tentoxin using isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2021, 33(6): 716-722.
- [24] 牛欣宁. 玉米粉中伏马毒素 FB₁ 与玉米赤霉烯酮 ZEA 基体标准(质控)物质的研制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020: 21-23.
- Niu X N. Preparation of matrix reference (quality control) materials of fumonisin FB₁ and zearalenone ZEA in corn flour[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Thesis, 2020: 21-23.