

中国粮油学会团体标准

饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌
烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定 高
效液相色谱法
(征求意见稿)
编制说明

标准起草组

2026 年 8 月

《饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、 黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定 高效液相 色谱法》编制说明

1. 工作简况

1.1 任务来源及协作单位

1.1.1 标准下达计划

根据《关于发布中国粮油学会 2023 年团体标准立项公告的通知》（中粮油学发〔2023〕90 号）的要求，江苏省苏微微生物研究有限公司作为第一起草单位，牵头成立标准起草组，负责开展《饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定 高效液相色谱法》的起草工作。

1.1.2 标准制修订的背景、必要性和重要意义

脱氧雪腐镰刀菌烯醇（DON），又名呕吐毒素，是由镰刀菌属（*Fusarium*）的禾谷镰刀菌、黄色镰刀菌等菌株产生的代谢产物，主要污染小麦、玉米、大麦等，具有很强的毒性。DON 也是饲料中常见的真菌毒素污染物，受污染的玉米、小麦及其加工副产物进入饲料后，可引起猪、禽等动物采食量下降、呕吐、免疫抑制和生产性能降低，进而影响养殖业安全。

黄曲霉毒素（aflatoxins, AFs）主要是由黄曲霉和寄生曲霉等产生的一类次生代谢产物，其中黄曲霉毒素 B₁ 毒性最强，具有很强的肝毒性、致癌性和致突变性，常污染玉米、花生、稻谷、小麦、坚果及其制品等粮油食品。黄曲霉毒素也是饲料污染中危害较大的真菌毒素之一，常见于霉变玉米、花生粕、棉籽粕、玉米加工副产物和青贮饲料中，动物长期摄入后可造成肝损伤、免疫力下降、生长受阻和生产性能降低，其中奶牛摄入黄曲霉毒素 B₁ 后还可在体内转化为黄曲霉毒素 M₁ 并进入乳中，增加动物源性食品安全风险。黄曲霉毒素污染食品后可引起人和动物急慢性中毒，长期摄入可增加肝癌等疾病风

险，已经被世界卫生组织国际癌症研究机构（IARC）列为 I 类致癌物。

玉米赤霉烯酮（zearalenone, ZEN）主要是禾谷镰刀菌和黄色镰刀菌等产生的 2, 4-二羟基苯甲酸内酯类化合物，是一种具有雌激素样活性的非类固醇结构，常污染玉米、小麦、大米、大麦、小米和燕麦等谷物。ZEN 在饲料原料和配合饲料中也较为常见，尤其是霉变玉米、玉米副产物和谷物类饲料受污染后，可导致母猪假发情、流产、死胎、繁殖障碍等问题，对畜禽繁殖性能和饲料安全造成危害。玉米赤霉烯酮污染的食物可引起人的流产、死胎和畸胎，已经被联合国粮农组织（FAO）和世界卫生组织（WHO）确定为最危险的自然发生的食品污染物之一。《饲料卫生标准》（GB 13078-2017）针对 DON、AFB₁ 及 ZEN 在饲料原料及配合饲料均作出了限量规定。表 1 和表 2 罗列了饲料原料、饲料产品及谷物原料中 DON、AFB₁ 及 ZEN 的限量值。

表 1 饲料原料、饲料产品中 DON、AFB₁ 及 ZEN 限量表

项目	产品名称/适用对象	限量值	单位
黄曲霉毒素 B ₁	玉米加工产品、花生饼（粕）	50	μg/kg
	植物油脂（玉米油、花生油除外）	10	
	玉米油、花生油	20	
	其他植物性饲料原料	30	
	仔猪、雏禽浓缩饲料	10	
	肉用仔鸭后期、生长鸭、产蛋鸭浓缩饲料	15	
	其他浓缩饲料	20	
	犊牛、羔羊精料补充料	20	
	泌乳期精料补充料	10	
	其他精料补充料	30	
	仔猪、雏禽配合饲料	10	
	肉用仔鸭后期、生长鸭、产蛋鸭配合饲料	15	
	其他配合饲料	20	
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	植物性饲料原料	5	mg/kg
	犊牛、羔羊、泌乳期精料补充料	1	
	其他精料补充料	3	
	猪配合饲料	1	
	其他配合饲料	3	

玉米赤霉烯酮	玉米及其加工产品（玉米皮、喷浆玉米皮、玉米浆干粉除外）	0.5	
	玉米皮、喷浆玉米皮、玉米浆干粉、玉米酒糟类产品	1.5	
	其他植物性饲料原料	1	
	犊牛、羔羊、泌乳期精料补充料	0.5	
	仔猪配合饲料	0.15	
	青年母猪配合饲料	0.1	
	其他猪配合饲料	0.25	
	其他配合饲料	0.5	

表 2 谷物原粮中 DON、AFB₁ 及 ZEN 限量表（单位：μg/kg）

项目	食品类别/名称	限量值
黄曲霉毒素 B ₁	玉米	20
	稻谷	10
	小麦、大麦、其他谷物	5
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	玉米	1000
	大麦、小麦	1000
玉米赤霉烯酮	小麦	60
	玉米	60

本标准旨在建立饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的高效液相色谱检测方法，为基层粮库、粮油企业及粮食监管部门开展相关真菌毒素污染检测与风险防控提供技术支撑。通过建立科学、准确、适用的检测方法，可提升饲料及谷物原料质量安全监管能力，有效防范真菌毒素污染风险，保障我国粮食质量安全、饲料安全和人民群众身体健康。饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮存在一定污染风险。建立上述三类真菌毒素同步测定的高效液相色谱检测方法，有助于提高检测效率和结果准确性，为饲料及谷物原料质量评价提供可靠的方法依据，对从源头保障饲料安全、维护畜牧业健康发展具有重要意义。

1.1.3 可行性

从技术角度看，高效液相色谱法具有分离效果好、灵敏度高、准确性强、重复性好等特点，已广泛应用于食品、粮食及饲料中真菌毒

素的检测。将其用于饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的同步测定，具备较好的技术基础和应用条件。从应用条件看，基层检测机构、粮油企业及监管部门已具备一定的仪器设备基础和检测人员储备，高效液相色谱仪在相关质量检测实验室中应用较为普遍。通过优化样品前处理、色谱条件和检测参数，可形成操作性较强、结果稳定可靠的检测方法，便于在实际检测工作中推广应用。从管理需求看，建立该检测方法符合饲料及谷物原料质量安全监管的实际需要。该方法可为真菌毒素污染监测、产品质量判定、风险防控和监管执法提供技术支撑，具有较强的实用价值和推广前景。因此，本标准的制定具备良好的技术基础、应用基础和现实条件，整体上具有较强可行性。

1.1.4 必要性

饲料及谷物原料是粮食安全、饲料安全和畜牧业生产的重要基础。脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮是饲料及谷物原料中较为常见的真菌毒素，具有一定污染风险，且可能对动物健康、饲料产品质量以及食品安全产生不利影响。因此，建立科学、准确、稳定的检测方法，对于及时掌握饲料及谷物原料中真菌毒素污染状况、加强质量风险防控具有重要意义。目前，基层粮库、粮油企业及粮食监管部门在开展饲料及谷物原料质量检测过程中，对检测方法的准确性、适用性和操作效率提出了更高要求。建立脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮同步测定的高效液相色谱检测方法，有助于提高检测效率，降低重复检测成本，为日常监管、质量评价和风险预警提供可靠技术依据。同时，该检测方法的建立有利于完善饲料及谷物原料真菌毒素检测技术体系，提升相关单位对真菌毒素污染的识别、监测和防控能力。通过从源头加强质量安全控制，可有效保障饲料安全和畜牧业健康发展，对维护粮食质量和人民群众身体健康具有现实必要性。

1.2 起草单位

江苏省苏微微生物研究有限公司、国家粮食和物资储备局科学研究院、江西省农业技术推广中心、中国农业大学。

1.3 主要工作过程

2023 年 12 月—2024 年 6 月，成立标准起草组，查阅了国内外相关资料，对相关检测机构、粮库、粮食加工企业进行了调研，召开了第一次讨论会，确定了标准制订方案和工作计划；

2024 年 6 月—2025 年 6 月，在国家粮食和物资储备局科学研究院实验室进行标准的研制工作，主要包括方法的建立、灵敏度测试、线性范围确定以及回收率研究等；编写完成《饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定 高效液相色谱法》标准草案及编制说明；

2025 年 6 月—2026 年 6 月，组织实验室间方法验证，对验证结果进行处理和统计，并形成标准通过征求意见稿；

2026 年 8 月—2026 年 9 月，通过中国粮油学会网站向社会公开征求了意见；

1.4 标准主要起草人及其所做工作

本文件主要起草人：李丽、张海涛、张冰、杨婷婷、叶金、董泽民、陈金男、贺平丽、吴宇、王松雪、万文根、王红连、华洵璐、于婷。

主要起草人李丽、张海涛、叶金、贺平丽和王松雪主要负责调研及三合一免疫亲和柱前处理净化方法实验方案的制定及关键技术问题的解决；由李丽牵头，张海涛、叶金、张冰、杨婷婷、董泽民、王红连、陈金男等参与撰写了标准草案；李丽、张冰、陈金男、吴宇、万文根等完成了标准的主要实验，建立并优化了标准的关键指标；吴宇、华洵璐、于婷协助对标准文本及编制说明的修改完善；李丽牵头，张冰、陈金男、贺平丽和董泽民参与了标准实验室间协同验证，并根

据验证结果对标准方法提出了修改意见。

2. 标准编制原则和确定标准主要内容的论据

2.1 标准编制原则

本标准是根据 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》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定及 GB 13078-2017《饲料卫生标准》要求下进行编制，本标准在制定过程中遵循“科学性、适用性、规范性”的原则。

2.2 确定标准主要内容的论据

2.2.1 标准的适用范围

本标准规定了高效液相色谱法测定饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的原理、试剂和材料、仪器和设备、样品制备、样品测定、结果表述和精密度。本标准适用于饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的检测。

2.2.2 标准关键流程和技术指标的确定

2.2.2.1 免疫亲和柱性能考察

(1) 柱本底考察

为考察三合一多毒素免疫亲和柱在 AFB₁、ZEN 和 DON 标准品出峰时间附近是否存在本底干扰，对柱空白洗脱液进行了测定。结果表明，在三种目标毒素相应的保留时间附近，柱空白洗脱液均未观察到明显的色谱响应或干扰峰，说明该免疫亲和柱及其处理过程不存在可观测的本底干扰，不会对 AFB₁、ZEN 和 DON 的定性判定及定量分析产生明显影响，具有良好的选择性和适用性。

(2) 柱容量测定

柱容量指每毫升免疫吸附剂对待测物的最大吸附量 (μg/L)。分别将 3 种毒素的单标和 AFB₁/ZEN/DON 混标（配制溶剂均为 20%甲

醇-水) 过三合一多毒素免疫亲和柱, 收集流出液、10 mL 水去杂和 2 mL 甲醇洗脱液, HPLC 分别测定各毒素的浓度。

测定结果如下表 1-1 所示。无论单标还是混标过柱, 流出量加上柱容量的总和与过柱总量基本一致 (AFB₁ 总量为 400 ng、ZEN 总量为 2000 ng、DON 总量为 2500 ng)。数据揭示, 三种毒素同时存在, 每种毒素与对应的单抗结合时, 互不干扰。将单标和混标的柱容量取平均值, 则三合一多毒素免疫亲和柱的柱容量分别为: AFB₁ 295 ng/0.25 mL 胶, ZEN 1510 ng/0.25 mL 胶, DON 2040 ng/0.25 mL 胶。

表 1-1 单标上样柱容量比较 (n=3)

名称	单标过柱柱容量 (ng, 0.25mL 胶)					流出
	柱 1	柱 2	柱 3	平均值	RSD (%)	平均值
AFB ₁	288	292	297	292	1.5	98
ZEN	1530	1501	1514	1515	1.0	468
DON	2047	1988	2024	2020	1.5	486

表 1-2 混标上样柱容量比较 (n=3)

名称	混标过柱柱容量 (ng, 0.25mL 胶)					流出
	柱 1	柱 2	柱 3	平均值	RSD (%)	平均值
AFB ₁	304	292	297	298	2.0	86
ZEN	1504	1498	1516	1506	0.6	448
DON	1998	2114	2069	2060	2.8	597

(3) 柱回收率测定

将 AFB₁、ZEN、DON 混标 (配制溶剂为 20%甲醇-水), 分别取不同体积过三合一多毒素免疫亲和柱, 其余步骤同柱容量测定。计算不同上样量时亲和柱对每种毒素的平均回收率。AFB₁ 上样量分别为 50、150 和 250 ng 时, 平均回收率在 94.4%-101.3%之间 (RSD ≤3.1%); ZEN 上样量分别为 142、426 和 710 ng 时, 平均回收率在 95.2%~98.1%之间 (RSD≤3.4%); DON 上样量分别为 340、1020 和 1700 ng 时, 平均回收率在 92.9%-101.2%之间 (RSD≤2.5%), 柱回收率高。同时发现三种真菌毒素高浓度过柱并未流穿, 对柱效测定无

影响。

（4）比较免疫亲和柱品牌柱容量性能

为评价不同品牌免疫亲和柱在三种真菌毒素吸附目标化合物的性能，起草组选取市场上三种品牌（品牌 1：苏微、品牌 2：深圳易瑞、品牌 3：山东），通过加标回收实验评价考察 3 个品牌免疫亲和柱的性能，见下图 1。结果显示，品牌 1 对三种真菌毒素的加标回收率范围为 95.6%–102.3%，RSD 为 1.4%–2.7%；品牌 2 对三种毒素的回收率为 88.8%–103.1%，RSD 为 2.1%–5.4%；品牌 3 对三种毒素的回收率为 87.6%–98.3%，RSD 为 1.2%–3.1%。在三种品牌中，品牌 1 的 AFB₁回收率最高且 RSD 最低，显示其吸附 AFB₁的稳定性和可靠性较比品牌 2 和品牌 3 更优。另 DON 的加标回收率及 RSD 亦优于品牌 2 和品牌 3。因此，本实验最终选用品牌 1：苏微三合一免疫亲和柱用于后续饲料样品的分析。

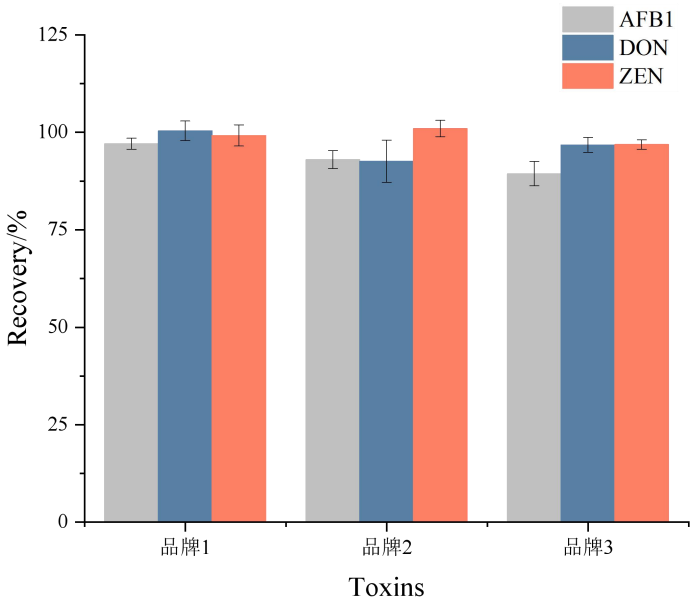


图 1 不同品牌免疫亲和柱的性能

（5）提取液的优化和确定

根据查阅国内外饲料中毒素检测的标准及文献可知，饲料原料及饲料产品等提取多采用水、甲醇-水体系、乙腈-水体系作为提取溶剂。本实验主要以添加回收的方式考察了甲醇-水体系、乙腈-水体系对饲

料原料（5%蛋鸡产蛋期复合预混料、4%肉牛羊专用复合预混料、4%仔猪用复合预混料）及饲料产品（DDGS、玉米皮、玉米胚芽粕）基质中 AFB₁、DON 及 ZEN 的提取效率。通过以上饲料样品中添加 3 种毒素标准溶液,分别加入 20 mL 的乙腈-水(84:16)、乙腈-水(70:30)、甲醇-水（70:30），涡旋震荡提取 20 min。7 000 转/min，离心 5 min，移取 3.0 mL 上清液，加 27 mL PBST 溶液混匀后于玻璃滤纸过滤。移取 20 mL 滤液通过免疫亲和柱，10 mL 水冲洗两次，吹干。采用 2 mL 甲醇洗脱免疫亲和柱，40℃氮吹条件吹至近干，1.0 mL 流动相溶解，溶解液 0.45 μm 滤膜过滤。结果如下，见图 2:

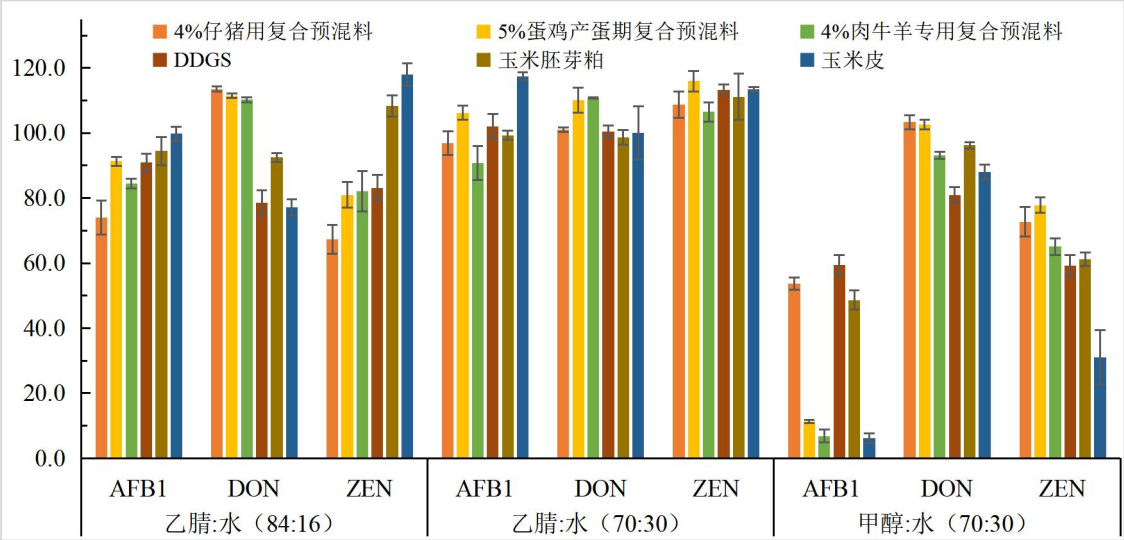


图 2 提取溶液对三种化合物回收率的影响 (n=3)

由图可知，甲醇-水（70:30）提取效果相对于其他两种提取溶液提取效率最差，尤其是在蛋鸡、牛羊预混料及玉米皮的样品中 AFB₁ 的提取表现尤为明显。此三种基质下的 AFB₁ 加标回收率低于 7.0%。乙腈-水（70:30）针对三种真菌毒素提取效率优于乙腈-水（84:16）。仔猪预混料、蛋鸡预混料及 DDGS 中，乙腈-水（84:16）对 AFB₁ 及 ZEN 的加标回收率均低于乙腈-水（70:30）。因此，本实验选用乙腈-水（70:30）作为三种化合物的提取溶液。

（6）提取固液比的考察

通过查询饲料中毒素检测的国家标准，即 GB/T 30955-2014、

GB/T 19540-2025 中固液比为 1:2 和 1:2.5; GB/T 30956-2014 为 1:4。实验发现 1:4 可以满足提取的要求,样品能够在涡旋中和提取溶液充分混合。由于饲料样品蓬松吸湿的特性,固液比在 1:2 时,提取溶液页面与样品面基本持平,且在实验过程中不能有效涡旋,见图 3。

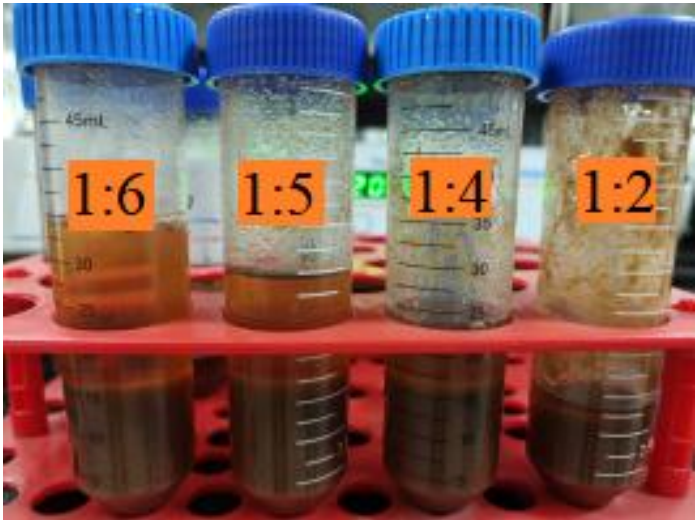


图 3 固液比为 1: 2、1: 4、1: 5、1: 6 时震荡后状态的图片

实验考察了固液比为 1:4、1:5、1:6 阳性样品中 AFB₁、DON、ZEN 的含量。配对样本 t 检验比较 3 种提取液固液比比例,通过两两比较 DON、AFB₁、ZEN 在 95%的置信水平上差异不显著,双尾检验值均 > 0.05,即采用不同的固液比配比检测 3 种毒素均不存在显著性差异。为减少有机溶剂的消耗,最终确定提取溶液固液比为 1:4。具体比较结果见下表 2:

表 2-1 不同固液比比例的 DON 配对样本 t 检验结果

固液比	平均值	标准偏差	标准误差 平均值	95% 置信区间		t	Sig. (双尾)
				下限	上限		
1:4 - 1:5	194.350	32.315	22.850	-95.987	484.687	8.505	0.075
1:4 - 1:6	202.300	26.022	18.400	-31.494	436.094	10.995	0.058
1:5 - 1:6	7.950	6.293	4.450	-48.593	64.493	1.787	0.325

表 2-2 不同固液比比例的 AFB₁ 配对样本 t 检验结果

固液比	平均值	标准偏差	标准误差 平均值	95% 置信区间		t	Sig. (双尾)
				下限	上限		
1:4 - 1:5	-0.4	0.566	0.400	-5.482	4.682	-1.000	0.500

1:4 - 1:6	0.7	0.424	0.300	-3.112	4.512	2.333	0.258
1:5 - 1:6	1.1	0.141	0.100	-0.171	2.371	11.000	0.058

表 2-3 不同固液比比例的 ZEN 配对样本 t 检验结果

固液比	平均值	标准偏差	标准误差 平均值	95% 置信区间		t	Sig. (双尾)
				下限	上限		
1:4 - 1:5	5.35	12.940	9.150	-110.912	121.612	0.585	0.663
1:4 - 1:6	11.5	3.111	2.200	-16.454	39.454	5.227	0.120
1:5 - 1:6	6.15	16.051	11.350	-138.065	150.365	0.542	0.684

(7) 稀释液浓度的考察

经文献查阅，饲料原料及饲料产品因发酵工艺、配方设计及原料自身特性而呈现酸性，该特性有助于促进动物消化、抑制病原微生物以及提升养殖效益。在真菌毒素检测过程中，常用水、PBS 及 PBST 作为提取液的稀释剂。然而，用水稀释 DDGS 等饲料原料的提取液后，体系仍保持酸性，可能对免疫亲和柱的性能产生不利影响，因此本方法不考虑将水作为稀释剂，重点考察 PBS 和 PBST 两种稀释剂。

首先确定 PBS 的浓度，一般标准中 PBS 的配制是称取 8.0 g 氯化钠(NaCl)、1.44 g 磷酸氢二钠(Na₂HPO₄)、0.24 g 磷酸二氢钾(KH₂PO₄)、0.2 g 氯化钾(KCl)，溶于约 990 mL 纯水中，用浓盐酸调节 pH 至 7.0，最后定容至 1000 mL，所得浓度为 10 mmol/L。实验发现，部分饲料基体经 10 mmol/L PBS 稀释后仍呈酸性。为此，将 PBS 浓度提高至 20 mmol/L，经验证，多种饲料原料及成品稀释后均呈中性。故后续实验选用 20 mmol/L 的 PBS。

在此基础上，进一步考察不同稀释液的性能，共设置以下四种条件：(I) 20 mmol/L PBS 溶液；(II) 含 0.1%吐温-20 的 20 mmol/L PBS 溶液；(III) 含 0.5%吐温-20 的 20 mmol/L PBS 溶液；(IV) 含 1.0%吐温-20 的 20 mmol/L PBS 溶液，见图 4。

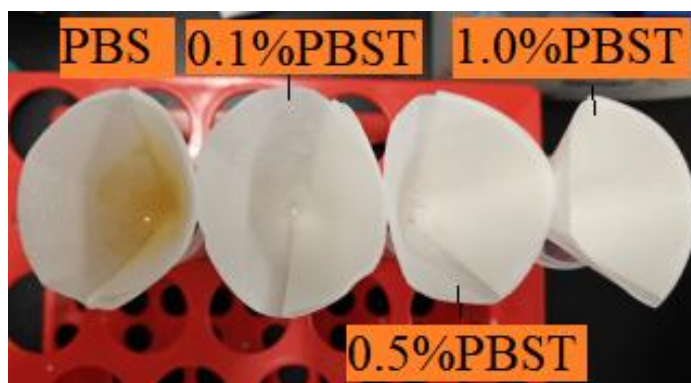


图 4 不同浓度 PBS 溶液滤纸过滤现象

通过对实验过程中过滤步骤观察：经（I）过滤后，滤纸上残留黄色物质，过滤后的溶液较（II）和（IV）澄清，与（III）澄清程度相近。原因分析可能为（I）未添加吐温-20，对溶液中的黄色状物质没有较好的溶解性，导致不能穿过滤纸的孔径最终残留在滤纸上。（II）（III）（IV）均能溶解黄色状物质，滤纸上没有明显的黄色物质残留，但是经（III）稀释后的溶液更为澄清，溶液更加透彻，见图 5。

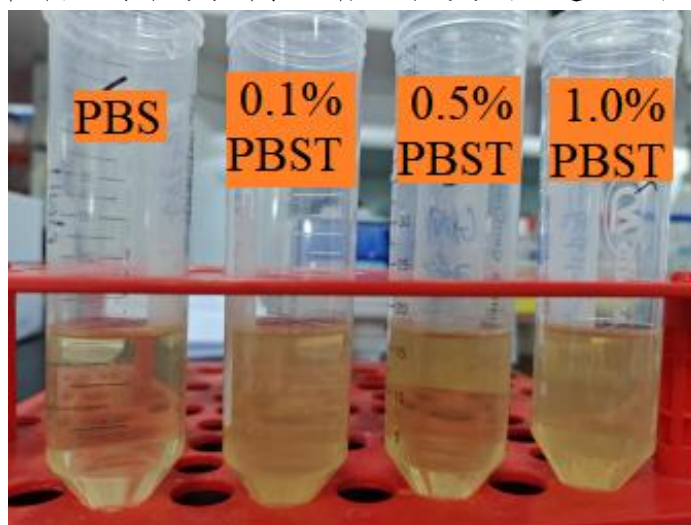


图 5 经滤纸过滤后的溶液澄清度对比

比较不同稀释液 3 种毒素的加标回收率结果，见图 7。除 PBS 稀释液中 ZEN 的加标回收率为 70.5%外，其余稀释液下 DON、AFB₁、ZEN 的加标回收率在 100~120%之间。综合实验现象及加标回收率结果（图 5 和图 6），（III）含 0.5%吐温-20 的 20 mmol/L PBS 溶液的加标回收率相对标准偏差相较于（II）和（IV）更低，且溶液更澄清过滤速度快。因此选择（III）0.5%吐温-20 的 20 mmol/L PBS 溶液作

为稀释液。

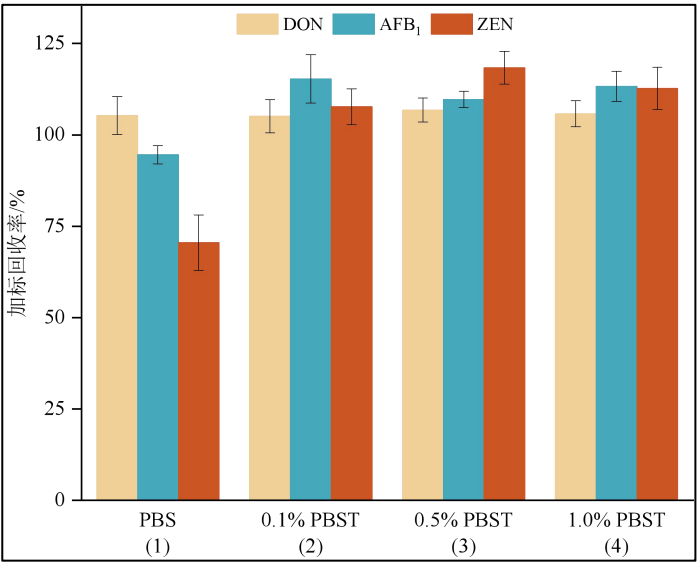


图 6 不同稀释液下 3 种毒素的加标回收率 (n=3)

(8) 与国标方法比对

分别采用检测 GB/T 30955-2014、GB/T 19540-2025、GB/T 30956-2014 单一毒素的国家标准方法和建立的 3 种毒素同时检测的三合一方法对玉米酒糟蛋白饲料阳性样品进行测定,检测结果见图 7。从图中可知 DON 在两种方法下检测结果相当,经过配对样本 T 检验, $p > 0.05$, 两种方法没有显著性差异。AFB₁ 和 ZEN 三合一方法的检测结果均高于国标方法, 相对标准偏差更小, 检测重复性好。国标方法中 AFB₁ 和 ZEN 结果偏低的原因可能为由于采用震荡提取的方式, 饲料样品基体蓬松且提取溶液过少, 导致样品中目标组分提取不完全。

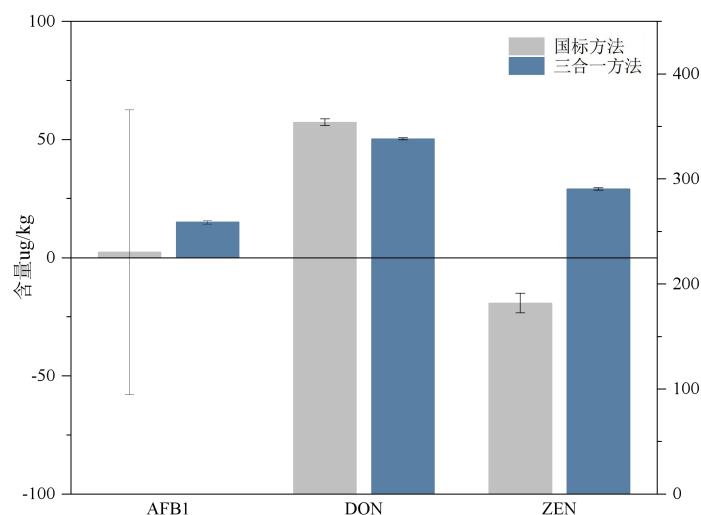


图 7 国标方法和三合一方法的检测结果比较 (n=3)

(9) 液相色谱条件的优化

a) 色谱柱的选择

为筛选最适色谱柱，本研究对三款规格相同 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 的色谱柱—Athena PAHs、Eclipse C18 和 Caprisil C18 在 AFB₁、DON 和 ZEN 三种目标化合物的分离性能方面进行了系统比较。C18 固定相通过非极性烷基链与溶质之间的疏水相互作用实现保留，该机制与上述三种霉毒素的极性特征高度匹配：DON 具有较强极性，保留时间较短；AFB₁ 和 ZEN 含芳香环骨架，极性较弱，在 C18 填料上展现出适度的疏水保留，有利于三者在反相系统中实现梯度洗脱分离。评价结果表明，三款色谱柱均可实现目标化合物的基线分离，总运行时间均在 30 min 以内。但 Athena PAHs 色谱柱在 AFB₁ 和 ZEN 的分离过程中出现基线漂移，ZEN 色谱峰叠加于下降基线之上。基线不稳定将直接干扰峰面积的准确积分，尤其在低浓度样品分析中。相比之下，Eclipse C18 与 Caprisil C18 均呈现稳定基线和完全分离的峰型，见图 8-1 和图 8-2。Eclipse C18 在 AFB₁ 和 ZEN 的分离中相较于 Caprisil C18 峰形更加对称，表明该色谱柱对目标化合物的保留均一性更好。综合上述色谱性能指标，本研究选定 Eclipse C18 色谱柱用于后续分析。

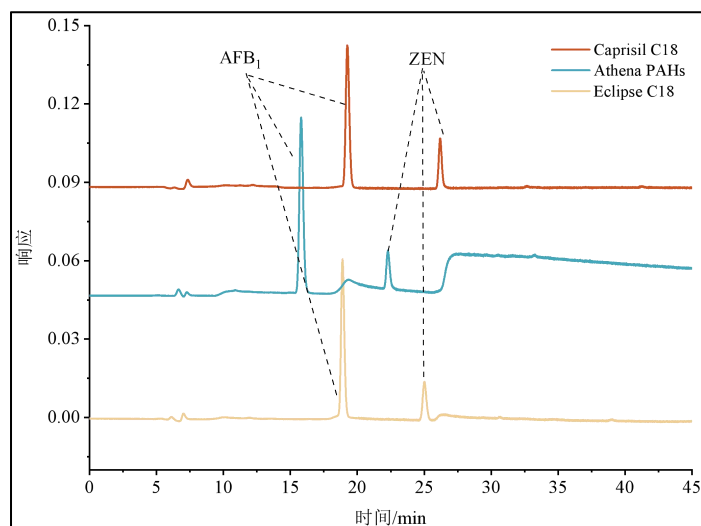
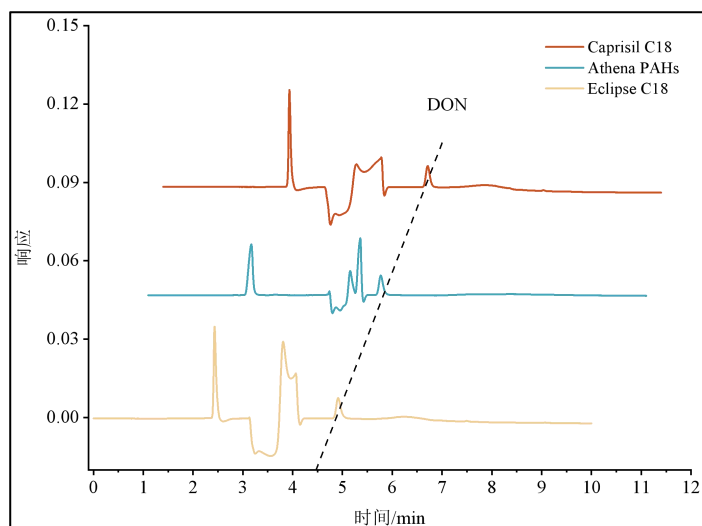


图 8-1 不同色谱柱下脱氧雪腐镰刀菌烯醇的紫外吸收色谱图

图 8-2 不同色谱柱下黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的荧光色谱图

b) 梯度洗脱程序的优化

为实现 AFB₁、DON 和 ZEN 三种目标物的有效色谱分离，本研究系统考察了三种甲醇-水-乙腈三元梯度洗脱程序。仪器检测参数统一设置如下：柱温 40°C，流速 1.0 mL/min；紫外检测波长 218 nm 用于 DON 的定量；荧光检测器用于 AFB₁（激发/发射：362/440 nm）和 ZEN（激发/发射：274/440 nm）的定量。三种梯度程序的时间-组成参数详见表 3。三种梯度程序的差异体现在初始有机相强度、梯度斜率和总运行时长。

梯度条件 1 与条件 3 均以乙腈为初始有机相组分（初始乙腈比例 15%），初始洗脱强度较低；梯度条件 2 以甲醇为初始有机相（甲醇 20%）。在梯度斜率方面，条件 3 引入两段阶跃式变化，有机相比比例快速递增；条件 1 的有机相提升过渡相对平缓；条件 2 则维持较长的等度平台期后再进行比例的阶跃。在液相色谱中，流动相有机溶剂强度直接决定目标物的保留行为：初始有机相比比例越高，分析物在固定相上的保留时间越短；梯度斜率越陡，峰容量越小，但过快的有机相增加易导致保留时间相近的目标物峰形展宽，信噪比下降。

基于此，三种梯度条件的评估结果如下：梯度条件 2 下，DON 与 ZEN 的保留时间均显著长于其余两种条件。受初始等度平台期较

长的影响，DON 色谱峰出现基线波动，峰形变差；ZEN 洗脱时间明显滞后，峰形展宽，S/N 偏低，不利于低浓度样品的准确定量。梯度条件 3 采用多段阶跃式梯度，有机相增加过快，ZEN 在该条件下未见可识别色谱峰，推测与过强的洗脱条件导致 ZEN 保留行为异常或峰形严重展宽有关。梯度条件 1 以较低的初始有机相强度出发，通过两段平缓过渡使三种目标物在 30 min 内依次洗脱，峰形对称，基线稳定，信噪比满足定量分析要求，见图 9-1 和图 9-2。综合比较分离效率、峰形质量和检测灵敏度，梯度条件 1 为三种目标物同时分析的最优洗脱程序。

表 3 三种流动相梯度洗脱程序的时间-组成参数
梯度条件 1（甲醇-水-乙腈体系，总运行时间 30 min）

时间 min	甲醇%	水%	乙腈%
0	0	85	15
3	0	85	15
4	20	55	25
15	20	55	25
16	30	30	40
24	30	30	40
25	0	85	15
30	0	85	15

梯度条件 2（甲醇-水-乙腈体系，总运行时间 34 min）

时间 min	甲醇%	水%	乙腈%
0	20	80	0
5	20	80	0
6	20	60	20
18	20	60	20
19	25	35	40
27	25	35	40
28	20	80	0
34	20	80	0

梯度条件 3（甲醇-水-乙腈体系，总运行时间 28 min）

时间 min	甲醇%	水%	乙腈%
0	0	85	15
3	0	85	15
4	15	65	20
6	25	55	20

12	25	55	20
13	25	35	40
21	25	35	40
22	0	85	15
28	0	85	15

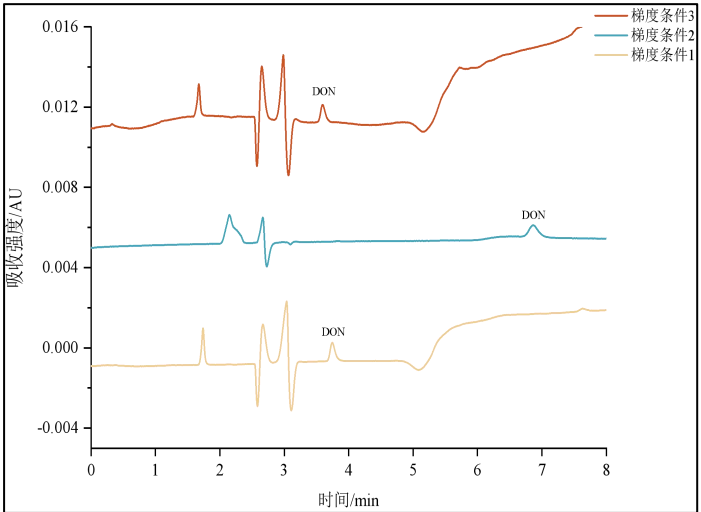
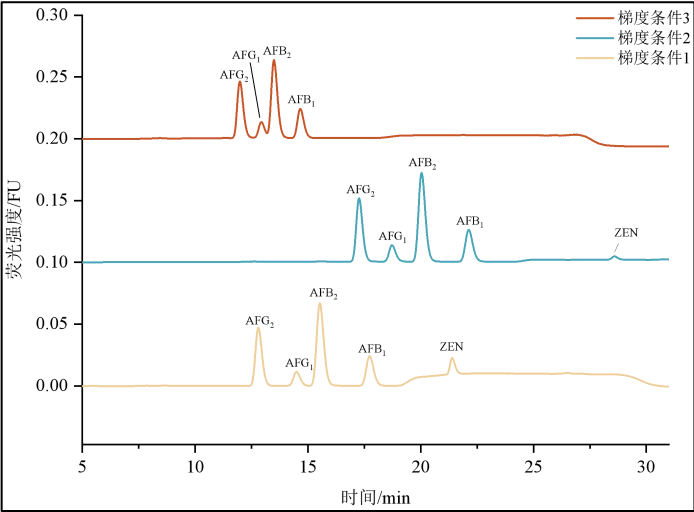


图 9-1 不同梯度洗脱条件下 AFB₁ 和 ZEN 的荧光色谱图

图 9-2 不同梯度洗脱条件下 DON 的紫外吸收色谱图

此外，对于基质复杂的实际样品，柱后残留的强保留干扰物可能在下一针进样时造成基线污染或鬼峰，建议在梯度末端增设高有机相冲洗步骤，以彻底洗脱残留组分，保证色谱柱的分离性能和方法的重现性。

（10）方法的线性范围、检出限与定量限

配制 AFB₁、DON 和 ZEN 的混合标准系列溶液，各目标物的浓度水平参照 GB 13078-2017《饲料卫生标准》的限量要求进行梯度设计：AFB₁ 为 1、2、5、10、25、100 ng/mL，DON 为 40、100、200、500、2000、4000 ng/mL，ZEN 为 20、50、100、250、1000、2000 ng/mL。标准系列溶液均以初始流动相为溶剂配制，以消除溶剂效应对色谱峰形的影响，确保进样基质与样品提取液保持一致。将各浓度标准溶液由低至高顺序进样，以峰面积对浓度作图，采用线性回归建立标准曲线方程。方法的检出限（LOD）和定量限（LOQ）通过逐级稀释法确定，分别以信噪比 S/N≥3 和 S/N≥10 为判定标准。各目标物的线性

范围、LOD 及 LOQ 汇总于下表 4。在各自线性范围内，标准曲线的线性拟合优度良好，相关系数 R^2 均大于 0.9995，表明峰面积与浓度之间存在高度线性相关，方法可准确定量。所得 LOD 和 LOQ 均低于 GB 13078-2017 规定的限量要求，表明本方法灵敏度满足饲料样品中多种真菌毒素的实际检测需求。

表 4 三种毒素线性范围、相关系数、检出限、定量限

真菌毒素	回归方程	R^2	线性范围 (ng/mL)	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)
AFB ₁	$y = 119004x - 10671$	0.9995	1~100	0.01	0.03
DON	$y = 200.9x + 199.02$	0.9999	40~4000	9.5	31.8
ZEN	$y = 1693.7x + 172.02$	0.9999	20~2000	2.4	7.9

下面图 10-1、图 10-2 和图 10-3 分别是 AFB₁、DON 和 ZEN 的标准曲线图。

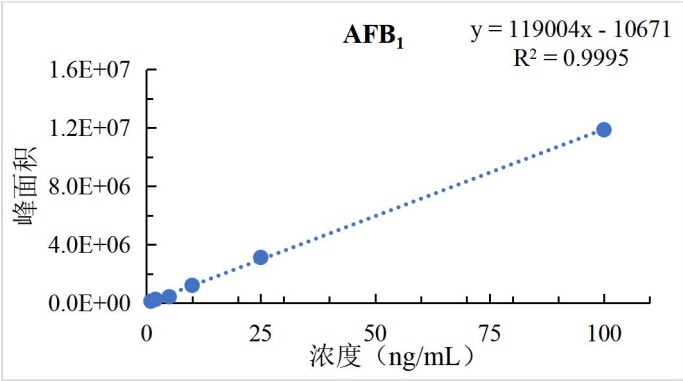


图 10-1 AFB₁ 的标准曲线图

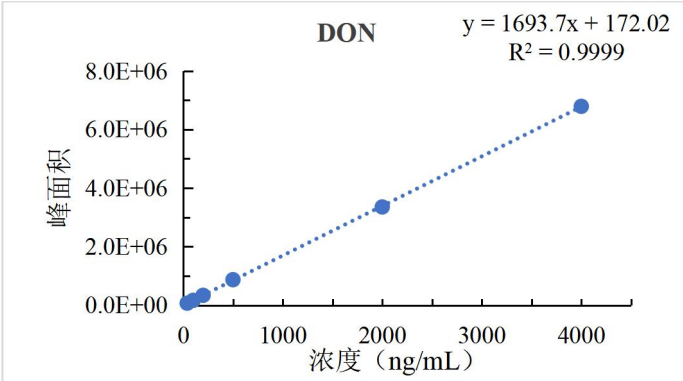


图 10-2 DON 的标准曲线图

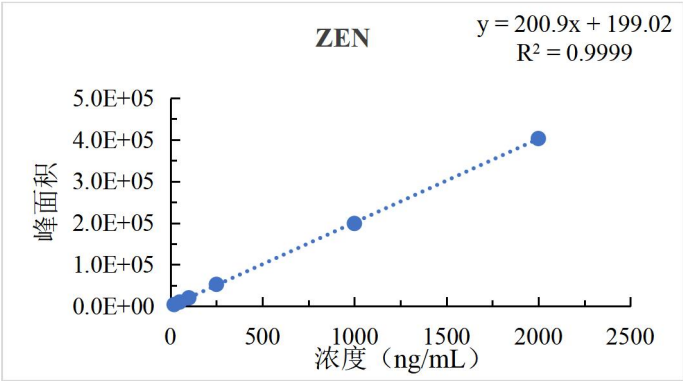


图 10-3 ZEN 的标准曲线图

下图 11-1 和图 11-2 为分别标准品和样品中 DON 和(AFB₁+ZEN)

的紫外吸收色谱图和荧光色谱图的对比。

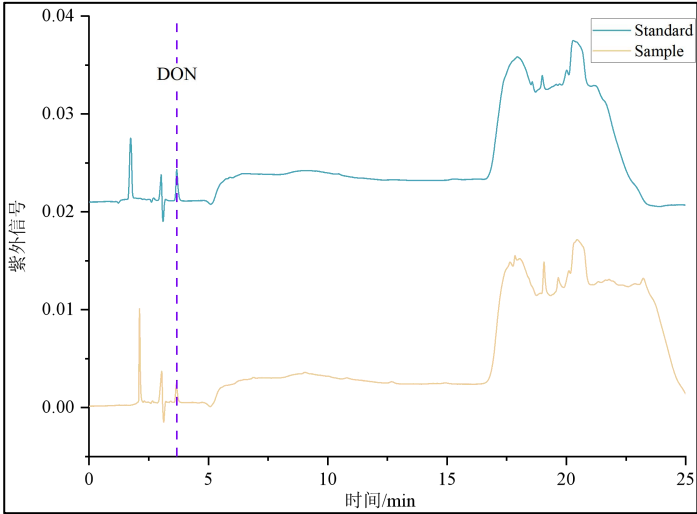


图 11-1 标准溶液和样品紫外吸收色谱图（DON）

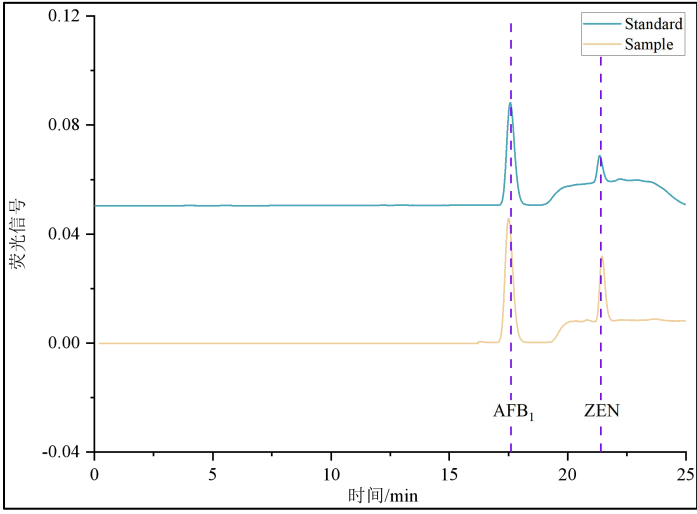


图 11-2 标准溶液和样品荧光信号色谱图（AFB₁+ZEN）

（11）方法的准确度、精密度实验

以玉米酒糟蛋白饲料等 6 种样品为测定基质，分别进行 3 个浓度水平的添加测定试验，每个浓度水平需要独立检测 3 次，计算添加回收率、相对标准偏差（RSD），以验证方法的准确度和精密度。具体数据见下表 5、6、7：

表 5 方法的准确度、精密度实验（免疫亲和柱法，AFB₁）

样品名称	本底值	添加水平 ($\mu\text{g/kg}$)	实测值（扣除本底）	回收率（%）	平均回收率 (%)	RSD（%）
DDGS	27.7	20	20.7	103.5	103.8	1.5
			21.1	105.5		
			20.5	102.4		
	27.7	50	55.4	110.8	110.2	7.4
			50.8	101.6		
			59.0	118.0		
	27.7	100	101.6	101.6	99.1	2.2
			98.3	98.3		
			97.4	97.4		
玉米胚芽粕	8.0	20	19.9	99.6	99.3	1.4
			20.1	100.6		
			19.6	97.8		
	8.0	50	50.4	97.3	99.7	2.0
			48.7	100.9		
			50.4	100.8		
	8.0	100	94.3	94.3	95.3	0.9

			95.7	95.7		
			95.8	95.8		
玉米皮	22.6	20	23.6	118	117.5	1.0
			23.6	118.1		
			23.2	116.1		
	22.6	50	52.7	105.5	106.6	0.9
			53.4	106.8		
			53.7	107.4		
	22.6	100	91.5	91.5	91.0	0.5
			90.7	90.7		
			90.7	90.7		
雏鸡饲料	14.0	5	5.4	108.6	110.6	2.3
			5.5	109.8		
			5.7	113.5		
	14.0	10	10.7	106.8	106.3	1.1
			10.5	104.9		
			10.7	107.1		
	14.0	20	22.4	112.2	109.8	4.0
			22.5	112.4		
			20.9	104.7		
仔猪饲料	5.3	5	4.4	87.5	88.5	2.6
			4.4	87.4		
			4.5	90.7		
	5.3	10	9.6	96.3	96.8	2.3
			9.6	95.5		
			9.9	98.7		
	5.3	20	21.1	105.4	101.1	1.4
			19.6	97.9		
			20.0	99.9		
肉羊饲料	14.3	10	7.5	75.4	79.1	4.6
			8.3	82.7		
			7.9	79.2		
	14.3	20	16.9	84.6	88.0	3.5
			18.1	90.4		
			17.8	89.0		
	14.3	40	34.2	85.5	88.6	3.5
			35.4	88.5		
			36.7	91.7		

表 6 方法的准确度、精密度实验（免疫亲和柱法，DON）

样品名称	本底值	添加水平 ($\mu\text{g/kg}$)	实测值（扣除本底）	回收率（%）	平均回收率 (%)	RSD (%)
DDGS	423.9	3000	3200.1	106.7	105.3	6.1
			2951.9	98.4		
			3328.3	110.9		
	423.9	5000	4944.9	98.9	100.5	1.7
			5016.2	100.3		
			5119.0	102.4		

	423.9	7500	7498.2	100.0	100.6	0.8
			7612.2	101.5		
			7516.8	100.2		
玉米胚芽 粕	368.6	3000	2897.2	96.6	98.7	2.4
			2948.2	98.3		
			3035.8	101.2		
	368.6	5000	4842.9	96.9	101.4	4.0
			5124.1	102.5		
			5241.2	104.8		
	368.6	7500	7409.6	98.8	100.1	1.1
			7544.5	100.6		
			7561.9	100.8		
玉米皮	2004.2	3000	3169.5	105.6	105.3	0.5
			3164.1	105.5		
			3139.6	104.7		
	2004.2	5000	5471.6	109.4	100.0	8.2
			4757.8	95.2		
			4770.8	95.4		
	2004.2	7500	7217.5	96.2	91.9	4.1
			6750.3	90.0		
			6714.9	89.5		
雏鸡饲料	249.3	1500	1494.1	99.6	100.8	1.7
			1499.7	100.0		
			1541.7	102.8		
	249.3	3000	2986.3	99.5	101.2	1.5
			3044.3	101.5		
			3074.5	102.5		
	249.3	6000	6065.9	101.1	100.2	0.9
			6003.6	100.1		
			5959.8	99.3		
仔猪饲料	899.3	500	556.0	111.2	109.0	3.4
			555.5	111.1		
			524.0	104.8		
	899.3	1000	954.3	95.4	96.8	1.2
			966.0	96.6		
			982.6	98.3		
	899.3	2000	1997.7	99.9	100.8	0.1
			2022.3	101.1		
			2025.7	101.3		
肉羊饲料	228.9	1500	1508.5	100.6	101.6	1.9
			1506.9	100.5		
			1558.0	103.9		
	228.9	3000	2992.2	99.7	101.1	1.2
			3057.8	101.1		
			3053.2	101.8		
	228.9	6000	5708.0	95.1	97.0	1.7
			5877.9	98.0		
			5871.1	97.9		

表 7 方法的准确度、精密度实验（免疫亲和柱法，ZEN）

样品名称	本底值	添加水平 ($\mu\text{g/kg}$)	实测值（扣 除本底）	回收率（%）	平均回收率 (%)	RSD (%)
DDGS	233.3	600	616.2	102.7	108.8	4.9
			664.2	110.7		
			677.3	112.9		
	233.3	1500	1712.3	114.2	113.3	1.5
			1714.8	114.3		
			1669.8	111.3		
	233.3	3000	3415.8	113.9	110.3	2.8
			3257.5	108.6		
			3256.2	108.5		
玉米胚芽 粕	100.7	250	250.1	100.0	103.3	2.8
			262.7	105.1		
			262.2	104.9		
	100.7	500	522.2	104.4	111.2	6.4
			592.7	118.5		
			552.7	110.5		
	100.7	1000	1076.3	107.6	108.3	0.8
			1080.3	108.0		
			1093.8	109.4		
玉米皮	233.4	600	710.5	118.4	115.5	2.2
			682.0	113.7		
			686.4	114.4		
	233.4	1500	1711.1	114.1	113.5	0.6
			1692.6	112.8		
			1704.6	113.6		
	233.4	3000	3235.7	107.9	106.8	0.9
			3186.8	106.2		
			3186.1	106.2		
雏鸡饲料	130.2	250	273.7	109.5	112.8	3.3
			280.1	112.0		
			291.9	116.7		
	130.2	500	542.3	108.5	108.9	3.6
			526.3	105.3		
			564.8	113.0		
	130.2	1000	1113.4	111.3	112.6	1.0
			1135.1	113.5		
			1129.3	112.9		
仔猪饲料	12.9	75	76.0	101.3	104.6	8.2
			75.2	100.2		
			84.2	112.3		
	12.9	150	163.7	109.1	109.0	1.3
			161.8	107.9		
			164.8	109.9		
	12.9	250	279.1	111.6	115.6	1.3

肉羊饲料	67.1	250	296.8	118.7	109.4	1.5
			291.3	116.5		
			275.7	110.3		
	67.1	500	268.8	107.5	110.2	0.7
			276.0	110.4		
			552.0	110.4		
	67.1	1000	554.2	110.8	107.6	2.6
			546.7	109.3		
			1143.7	104.4		
			1197.6	109.8		
			1185.3	108.5		

经验证，本方法针对所验证的基质的精密度在允许范围内，AFB₁ 的添加回收率范围为 75.4%~118.1%，相对标准偏差 RSD 为 0.5%~7.4%。DON 的添加回收率范围为 89.5%~111.2%，相对标准偏差 RSD 为 0.1%~8.2%。ZEN 的添加回收率范围为 100.0%~118.7%，相对标准偏差 RSD 为 0.6%~8.2%。

(12) 方法应用

本方法共应用于 24 份实际样品的检测，涵盖鸡配合饲料(3 份)、牛饲料(10 份)、羊饲料(5 份)、猪饲料(1 份)及饲料原料(5 份)，基质种类覆盖配合饲料与原料两大类型。在目标毒素的检出方面，ZEN 检出率最高，为 75.00%(18 份/24 份)，其次为 DON(50.00%，12 份/24 份)和 AFB₁(25.00%，6 份/24 份)，汇总数据见表 8。表明该方法在实际样品的复杂基质中具有稳定的检出能力。以现行国家限量标准为判定基准，AFB₁、DON 和 ZEN 的超标样品数分别为 2 份、1 份和 2 份，对应超标率为 8.33%、4.17%和 8.33%。在浓度分布方面，AFB₁的平均浓度为 17.7 µg/kg，中位数为 12.4 µg/kg；DON 的平均浓度为 1587.2 µg/kg，中位数为 313.0 µg/kg；ZEN 的平均浓度为 171.9 µg/kg，中位数为 31.5 µg/kg。实际样品浓度跨度较大，而该方法在低浓度和高浓度样品中均能实现准确定量，覆盖了较宽的线性范围。在基质适用性方面，三种目标毒素在配合饲料与饲料原料(豆粕、DDGS)中均有检出，进一步证实了该方法对不同饲料基质类型的适

用性。

表 8 实际饲料样品的检测结果汇总

毒素	AFB ₁	DON	ZEN
总样品数	24	24	24
检出数	6	12	18
检出率 (%)	25	50	75
超标数	2	1	2
超标率 (%)	8.3	4.2	8.3
平均值 (μg/kg)	17.7	1587.2	171.9
最小值 (μg/kg)	1.5	84.6	10.7
最大值 (μg/kg)	48.7	7215.9	1157.4
P25 (μg/kg)	8.1	107.2	17.5
中位数 (μg/kg)	12.4	313.0	31.5
P75 (μg/kg)	21.4	2825.8	213.6

3. 主要试验（或验证）情况的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

本方法目前已在行业内外 5 家实验室验证。验证样品采用自然污染的质控样品，采用柯克伦检验和格拉布斯检验剔除离群值，重复性的变异系数小于 10%，再现性变异系数小于 10%，HorRat 在 2 之内，均符合《食品法典委员会程序手册》（第二十版）中关于联合验证的要求。说明本方法在各实验室验证均有很好的重复性和再现性。

起草组在建立方法后，积极开展了本次行业标准的联合验证工作。起草单位协同 4 家具有检验资质的验证单位，共计 5 家单位对 9 个饲料样品进行实验室间验证。验证样品种类为玉米胚芽粕、玉米蛋白粉、玉米皮、喷浆玉米皮、干酒糟及其可溶物、玉米原粮不同浓度水平的饲料样品。目前，所有验证数据均已返回，测试结果按 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 进行统计分析，采用柯克伦和格拉布斯（Grubbs）法检验，剔除离群值，根据情况处理离群值后，分别计算 DON、AFB₁ 和 ZEN 总体平均值（m），重复性限（r）和再现性限（R），验证数据统计结果见表 9-1、表 9-2 和表 9-3，由此，确定本方法的精密度。

表 9-1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇（DON）实验室间比对试验统计结果

样品	玉米皮 1	玉米蛋白粉 1	玉米胚芽粕	玉米蛋白粉 2	玉米皮 2	玉米皮 3	干酒糟 及其可溶物 1	干酒糟 及其可溶物 2	喷浆玉米皮	玉米 1	玉米 2
实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
参加统计实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
平均值/μg/kg	973.49	551.45	3935.52	286.88	4531.86	266.49	981.04	3352.11	717.27	1069.22	397.26
重复性标准偏差, S_r /μg/kg	10.63	13.6	48.57	4.43	107.24	5.22	14.69	40.71	5.28	51.56	7.49
重复性限, r /μg/kg	29.77	38.07	136.01	12.4	300.27	14.6	41.14	113.99	14.77	144.37	20.97
重复性变异系数, CV_r /%	1.09	2.47	1.23	1.54	2.37	1.96	1.5	1.21	0.74	4.82	1.89
再现性标准偏差, S_R /μg/kg	64.53	34.88	102.48	13.91	187.27	18.44	42.23	118.4	11.82	51.56	16.61
再现性限, R /μg/kg	180.67	97.66	286.93	38.94	524.34	51.65	118.25	331.53	33.1	144.37	46.5
再现性变异系数, CVR /%	6.63	6.33	2.6	4.85	4.13	6.92	4.3	3.53	1.65	4.82	4.18
HorRat 值	0.41	0.36	0.2	0.25	0.32	0.35	0.27	0.26	0.1	0.3	0.23

表 9-2 黄曲霉毒素 B₁（AFB₁）实验室间比对试验统计结果

样品	玉米皮 1	玉米蛋白粉 1	玉米胚芽粕	玉米蛋白粉 2	玉米皮 3	干酒糟 及其可溶物 1	喷浆玉米皮	玉米 1	玉米 2
实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5
参加统计实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均值/μg/kg	50.72	197.19	70.15	330.02	3.64	3.59	5.23	19.49	46.62
重复性标准偏差, S_r /μg/kg	2.1	0.98	1.78	1.53	0.15	0.07	0.16	0.58	1.42

重复性限, $r/\mu\text{g/kg}$	5.88	2.75	4.99	4.28	0.41	0.2	0.44	1.61	3.97
重复性变异系数, $CV_r/\%$	4.14	0.5	2.54	0.46	3.99	1.99	3.03	2.96	3.04
再现性标准偏差, $S_R/\mu\text{g/kg}$	3.85	2.36	5.52	6.84	0.44	0.13	0.29	0.65	2.23
再现性限, $R/\mu\text{g/kg}$	10.77	6.62	15.47	19.16	1.22	0.35	0.8	1.82	6.26
再现性变异系数, $CVR/\%$	7.58	1.2	7.88	2.07	12	3.5	5.49	3.33	4.79
HorRat 值	0.3	0.06	0.33	0.11	0.32	0.09	0.16	0.11	0.19

表 9-3 玉米赤霉烯酮（ZEN）实验室间比对试验统计结果

样品	玉米皮 1	玉米蛋白粉 1	玉米胚芽粕	玉米蛋白粉 2	玉米皮 2	玉米皮 3	干酒糟 及其可溶物 1	干酒糟 及其可溶物 2	喷浆玉米皮	玉米 1	玉米 2
实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
参加统计实验室数目	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
离群实验室数目	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均值/ $\mu\text{g/kg}$	686.36	4736.65	1579.42	2204.31	2886.23	1384.02	391.12	178.65	1015.67	96.44	141.55
重复性标准偏差, $S_r/\mu\text{g/kg}$	12.05	62.31	28.13	16.75	31.09	13.8	5.27	1.24	8.28	5.98	4.75
重复性限, $r/\mu\text{g/kg}$	33.73	174.46	78.75	46.89	87.04	38.64	14.76	3.46	23.17	16.75	13.29
重复性变异系数, $CV_r/\%$	1.76	1.32	1.78	0.76	1.08	1	1.35	0.69	0.81	6.2	3.35
再现性标准偏差, $S_R/\mu\text{g/kg}$	32.7	195.94	69.29	40.55	101.64	46.41	14.47	3.17	16.11	5.98	13.43
再现性限, $R/\mu\text{g/kg}$	91.55	548.63	194.01	113.55	284.59	129.94	40.51	8.86	45.12	16.75	37.61
再现性变异系数, $CVR/\%$	4.76	4.14	4.39	1.84	3.52	3.35	3.7	1.77	1.59	6.2	9.49
HorRat 值	0.28	0.33	0.29	0.13	0.26	0.22	0.2	0.09	0.1	0.27	0.44

其他品牌仪器方法验证结果

(1) 安捷伦仪器型号：Agilent 1260

仪器方法参数设置：1.0 mL/min，柱温：40℃，紫外波长参数设置：218 nm，荧光波长设置 1：激发波长：362 nm，发射波长：440 nm；
荧光波长设置 1：激发波长：274 nm，发射波长：440 nm。流动相比
例根据实际出峰情况做了调整，具体见表 10。

表 10 安捷伦流动相比比例

时间 min	甲醇%	水%	乙腈%
0	0	85	15
3	0	85	15
4	20	60	20
17	20	60	20
18	30	30	40
27	30	30	40
28	0	85	15
35	0	85	15

图 12 和图 13 分别是采用安捷伦 1260 仪器测试的 DON、AFB₁、ZEN 的标准色谱图和样品色谱图。

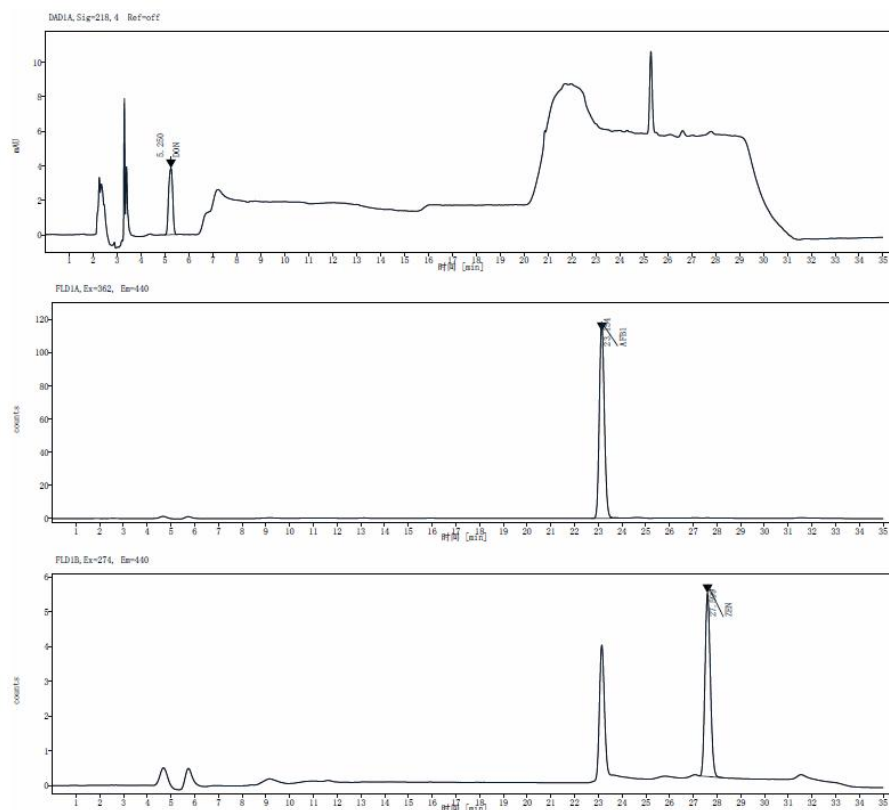


图 12 DON、AFB₁、ZEN 标准品色谱图

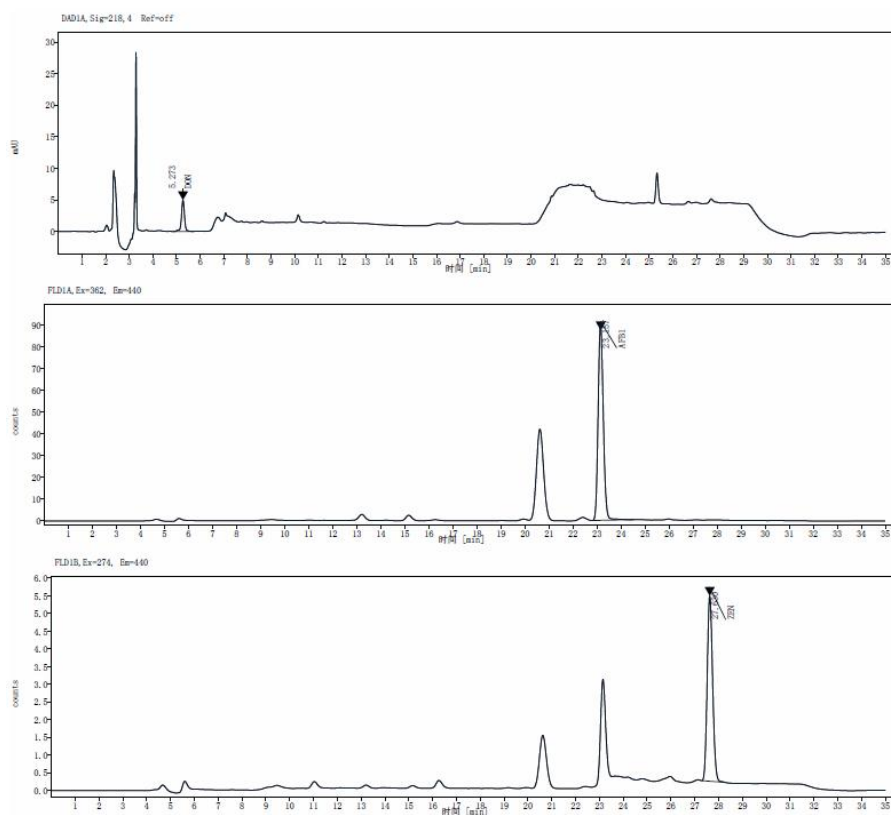


图 13 饲料样品免疫亲和柱过柱上机色谱图

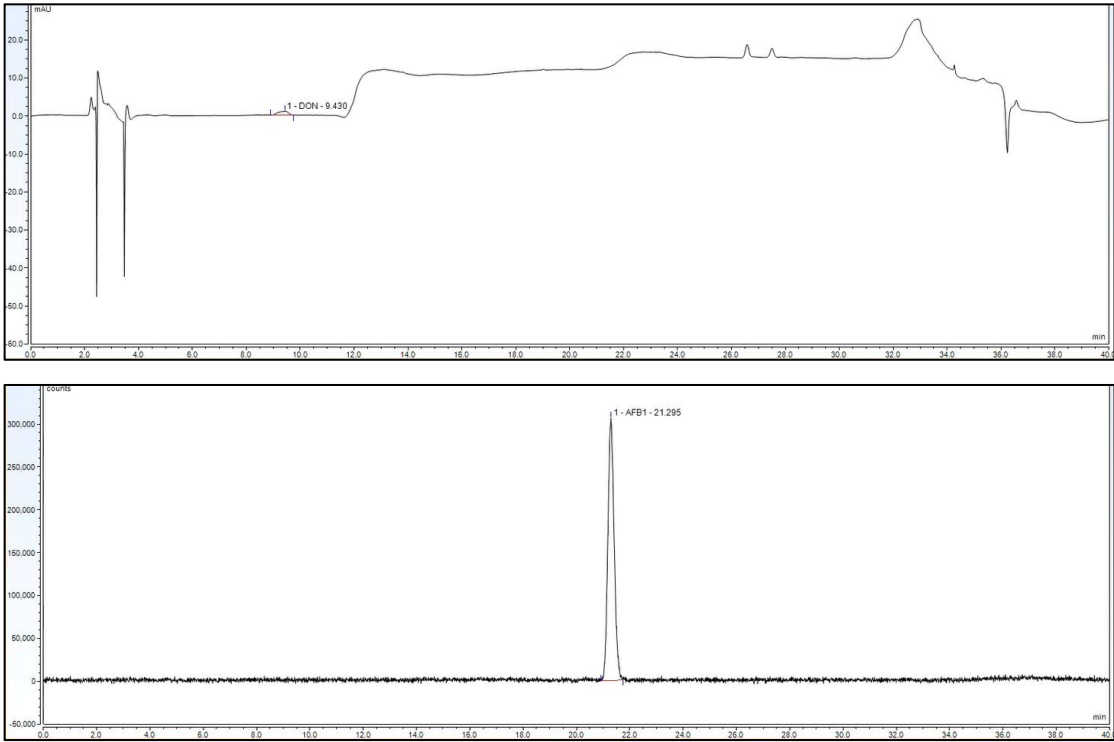
(2) 赛默飞仪器型号: U3000

仪器方法参数设置：流速 1.0 mL/min，柱温：40℃，紫外波长参数设置：218 nm。荧光波长设置 1：激发波长：362 nm，发射波长：440 nm；荧光波长设置 2：激发波长：274 nm，发射波长：440 nm。流动相比比例根据实际出峰情况做了调整，流动相比比例见表 11。

表 11 赛默飞 U3000 液相色谱梯度洗脱参数

时间 min	甲醇%	水%	乙腈%
0	0	85	15
3	0	85	15
4	20	60	20
18	20	60	20
19	20	40	40
29	20	40	40
30	0	5	95
33	0	5	95
34	0	85	15
40	0	85	15

图 14 和图 15 分别是采用赛默飞 U3000 液相色谱仪测试的 DON、AFB₁、ZEN 的标准色谱图和样品色谱图。



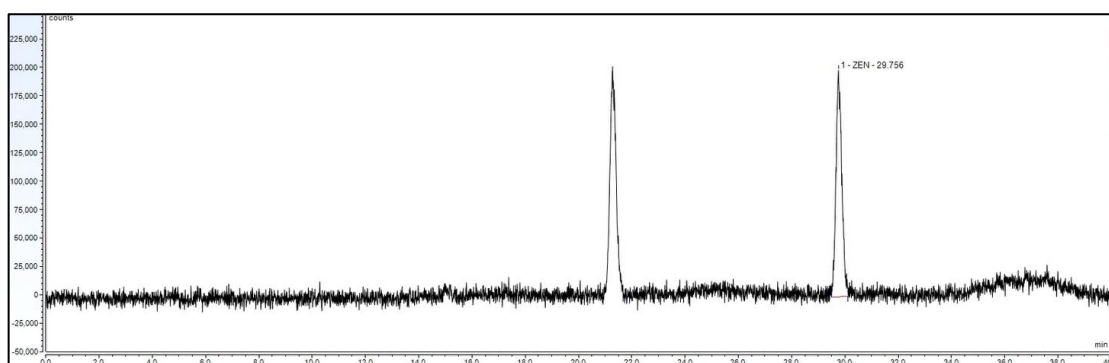


图 14 DON、AFB₁、ZEN 标准物质色谱图

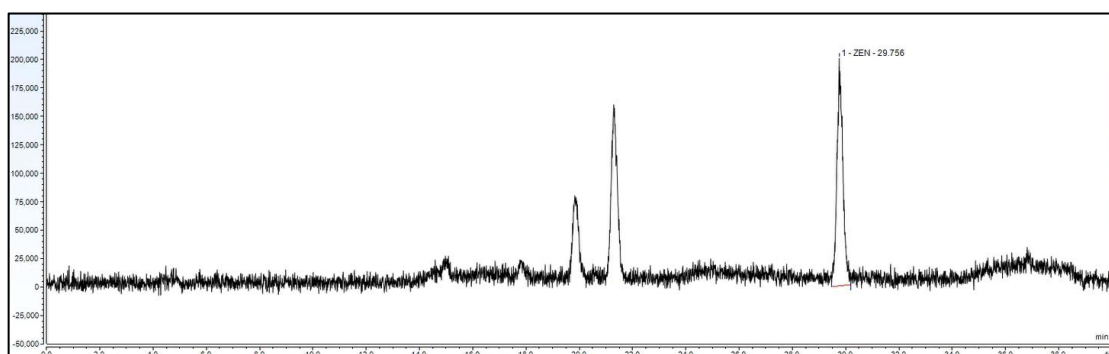
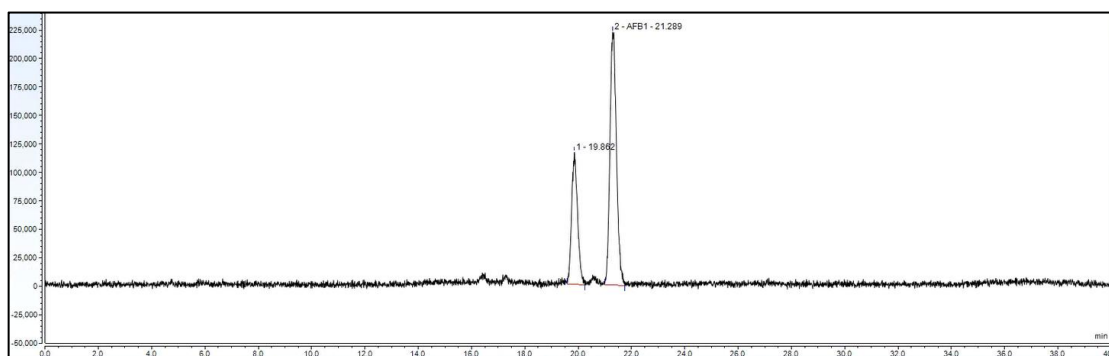
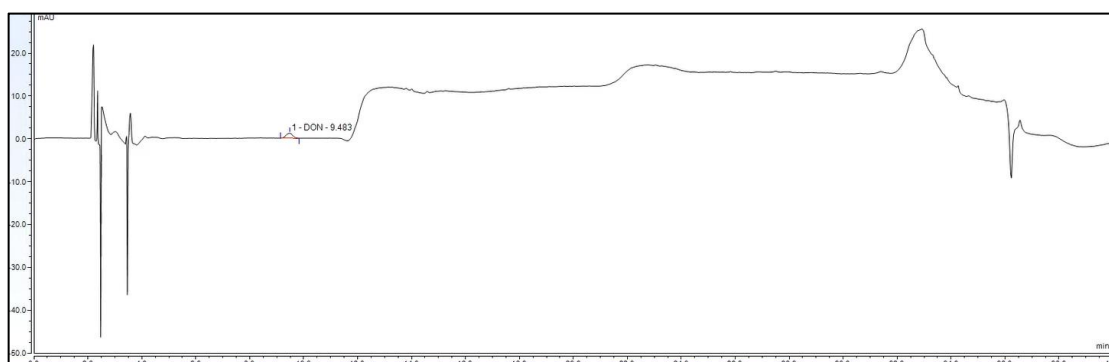


图 15 DON、AFB₁、ZEN 样品谱图

本方法所建立的梯度洗脱程序及检测器时序参数是基于特定仪器配置优化所得，不同品牌或型号的液相色谱仪在管路死体积、泵头延迟体积及检测器串联方式上存在结构差异。本研究在紫外检测器与

荧光检测器之间接入了柱后光化学衍生器，使流动相在到达荧光检测器前需经过额外的管路传输，该段延迟时间因仪器配置不同而存在差异，直接影响 AFB₁ 和 ZEN 的荧光检测信号与色谱保留时间的对应关系，尤其是分段设置激发波长和发射波长的仪器。因此，在不同仪器使用本方法时结合了自身仪器的实际死体积和延迟体积，对检测器时序及梯度切换进行了必要的调整。

4. 与国际、国外对比情况

目前，国际标准中尚未有关于饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮同时测定的高效液相色谱定量法的相关标准，只有部分文献报道。

5. 与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本标准方法检出限和定量限较低，具有较高的精密度、准确性和特异性，同时该方法前处理简单，可以实现同步筛查，易于推广使用。

本标准颁布实施后，针对饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定，符合现行的法律法规和强制性（国家、行业、地方）标准要求。

6. 重大分歧意见的处理经过和依据

无。

7. 标准作为推荐性标准的建议

建议将本标准列为团体标准。

8. 贯彻标准的要求和措施建议

本标准过渡期建议为 6 个月。

9. 废止现行有关标准的建议

无。

10. 其他应予说明的事项

无。

11. 附录

附表 标准征求意见汇总处理表。

《饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和
玉米赤霉烯酮的测定 高效液相色谱法》团体标准起草组

2026 年 8 月

附件

标准征求意见汇总处理表

标准名称： 饲料及谷物原料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B₁ 和玉米赤霉烯酮的测定 高效液相色谱法 标准类型： 团体标准

标准负责起草单位： 国家粮食和物资储备局科学研究院

承办人： 电话： 年 月 日填写

序号	标准章条编号	意见内容	提出单位	处理意见	备注
1					
2					
3					
4					
5					
6					

7					
8					
9					
10					

说明：①发送“征求意见稿”的单位：个。

②收到“征求意见稿”后，回函的单位：个。

③收到“征求意见稿”后，回函并有建议或意见的单位：个。

④没有回函的单位数个。