DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.93056

研究简报

玉米粉中伏马毒素 FB1 基体标准物质的评价

牛欣宁 王步军*

中国农业科学院作物科学研究所 / 农业农村部谷物质量监督检验测试中心, 北京 100081

摘要: 为填补我国在伏马毒素基体标准物质的空白, 本试验研制了以玉米粉为基体的伏马毒素 FB1 标准物质, 玉米样品经过筛、加标、冷冻干燥、磨粉、混匀、密封分装后, 用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法检验样品的均匀性、稳定性, 并联合多家实验室对玉米粉中伏马毒素 FB1 含量定值, 同时分析样品的不确定度。样品均匀性经方差分析法表明 F 值为 1.42, 小于临界值 $F_{0.05}$, 且伏马毒素 FB1 含量在规定时间内 6 个月内无明显变化。结果表明, 均匀性与稳定性均符合标准物质的要求。样品定值为 $1475.56 \mu\text{g kg}^{-1}$, 不确定度为 $169.98 \mu\text{g kg}^{-1}$ 。该标准物质可替代进口标准物质, 用于伏马毒素检测过程中的仪器校准、实验室质量控制和操作人员水平考核等。

关键词: 玉米粉; 伏马毒素 FB1; 超高效液相色谱-串联质谱法; 标准物质

Evaluation of matrix reference material of Fumonisin FB1 in corn flour

NIU Xin-Ning and WANG Bu-Jun*

Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences / Cereal Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China

Abstract: To fill the gap of matrix reference material of fumonisins in our country, we developed a reference material of Fumonisin FB1 in corn flour. The homogeneity and stability of corn samples were tested by UPLC-MS/MS after screening, labeling, freeze-drying, grinding, mixing and sealing it. The content of Fumonisin FB1 in corn flour was determined by several laboratories, and the uncertainty of samples was analyzed. The homogeneity of the sample was calculated, with 1.42 of F which was less than the critical $F_{0.05}$, and there was no significant change in the content of Fumonisin FB1 within the limited time for six months. The results showed that the uniformity and stability fulfill the requirements of reference material. The determined value of the sample was $1475.56 \mu\text{g kg}^{-1}$, and the uncertainty was $169.98 \mu\text{g kg}^{-1}$. The reference material can be used to calibrate the instrument, control laboratory quality and evaluate the testing quality of operators during the testing process of Fumonisin.

Keywords: corn flour; Fumonisin FB1; UPLC-MS/MS; reference material

伏马毒素(Fumonisin), 是由串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)、轮状镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)等在适宜的温度和湿度条件下产生的一种次级代谢产物。到目前为止, 已发现 A、B、C 和 P 四大类共 28 种伏马毒素, FB1、FB2、FB3 三种最为常见, 其中 FB1 污染最多, 含量最高(约占 60%)、毒性最强、对谷物的污染最为严重^[1-2]。伏马毒素易溶于甲醇、乙腈、水等极性溶剂, 具有极强的热稳定性, 广泛存在于玉米、小麦、水稻等粮食作物及其加工制品中, 主要污染玉米及其制品, 可通过食物链进入人

体及动物体内, 引起各种疾病, 包括神经毒性^[3-5]、免疫毒性^[6-10]、器官和组织毒性^[11-14]、生殖毒性^[15-16]、致癌性^[17]等, 因此加强对粮食作物中伏马毒素的监测和控制格外重要。

标准物质具有准确的测量标准, 可对量值溯源性、实验室的质量保证能力及监测体系进行客观评价^[18]。我国对标准物质的研制起步比较晚, 尤其在生物毒素基体标准物质研制方面与国外其他国家相比仍相对落后。生物毒素基体标准物质是指基体中有确定含量的生物毒素物质。

本研究由国家自然科学基金项目(31701704), 国家粮油作物产品质量安全风险专项(GJFP2019001), 中国农业科学院科技创新工程项目和国家重点研发计划项目(2016YFF0201803)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31701704), the National Grain and Oil Crop Product Quality and Safety Risk Assessment Special (GJFP2019001), the Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences, and the National Key Research and Development Program (2016YFF0201803).

* 通信作者(Corresponding author): 王步军, E-mail: wangbujun@caas.cn

第一作者联系方式: E-mail: niuxinning123@126.com

Received (收稿日期): 2019-10-15; Accepted (接受日期): 2020-03-24; Published online (网络出版日期): 2020-04-21.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200420.1940.002.html>

基体标准物质可以避免基质中所存在的活性物质与生物毒素产生反应,对测定结果产生干扰。与纯品标准物质相比,基体标准物质为目标化合物和基体结合,与真实检测样品更一致,可以保障测试结果的准确性和质量控制的有效性^[19]。

国外伏马毒素相关的标准物质价格昂贵,且货运期长,购买不便,远远不能满足国内对于伏马毒素的检测和质量控制的需求。而我国“国家标准物质资源共享平台”上暂未查到有关伏马毒素 FB1 的基体标准物质,本次试验根据 JJF 1006-1994《一级标准物质技术规范》^[20]、JJF 1343-2012《标准物质定值的通用原则及统计学原理》^[21]以及 ISO 导则^[22]研制了玉米粉中伏马毒素 FB1 基体标准物质,对于实验室中玉米及其加工品中伏马毒素 FB1 的检测起到准确性、可溯源性等重要作用。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

仪器包括:超高效液相色谱-串联四级杆质谱(UPLC-XEVO TQ, 美国 Waters 公司); THZ-300 恒温培养摇床(上海一恒科学仪器公司);台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); MILLI-Q 纯水机(美国 Millipore 公司); LGJ-10FD 真空冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司); V 型混合机;均质分离机;涡旋混匀器;氮吹仪;天平。

试剂包括:甲醇、乙腈(色谱级,美国 Fisher 公司);甲酸(色谱级,美国 Sigma 公司);伏马毒素标准品(美国 Romer 公司)。玉米原料购买自市场。

1.2 仪器条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 粒径 1.6 μm);柱温 40 °C;样品温度 10 °C;进样体积为 5 μL;流动相 A: 甲醇(色谱级),流动相 B: 0.1%的甲酸,流速为 0.2 mL min⁻¹;FB1 梯度洗脱程序 0~5.5 min 流动相 A 由 2%增加至 85%,5.5~5.6 min 流动相 A 降至 2%,平衡 2.4 min。

1.2.2 质谱条件 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),正离子模式;MRM 多反应监测模式;毛细管电压 2.50 kV;离子源温度 110 °C;去溶剂气流量 800 L h⁻¹;溶剂气温度为 450 °C。

1.3 标准物质的研制

将所购玉米颗粒进行伏马毒素 FB1 毒素含量初检,符合要求后按照一定比例添加一定浓度伏马毒素 FB1 标准溶液,经浸泡使之达到预期含量,之后将样品冷冻干燥、磨细粉,过 40 目筛,充分混匀并分装,抽真空密封保存。

1.4 均匀性检验

均匀性是标准物质最基本的属性,是标准物质研制能顺利进行的基础。按照 JJG 1006-1994^[20]和 JJF 1343-2012^[21]中的相关规定,从制得的 200 袋样品中随机

抽取 15 袋,进行单元间均匀性检测,每袋平行测定 3 次,进行单元内均匀性检测。样品最小取样量为 2.0 g,用超高压液相色谱串联质谱法检测,对检测结果进行单因素方差(F 检验法)分析,评价样品的均匀性。

1.5 稳定性检验

依据 JJG 1006-1994^[20]和 JJF 1343-2012^[21]的规定,按照先密后疏的原则进行样品运输过程中的短期稳定性考察和储存过程中的长期稳定性考察。在 44 条件下,于 0、1、4、7、14 d 检测样品中的 FB1 毒素含量,考察样品的短期稳定性;在 4 和-18 条件下,于 0、1、2、4、6 月分别检测样品的 FB1 毒素含量,考察样品的长期稳定性。每次检测随机取 3 袋标准物质样品,每一袋样品平行测定 2 次,取 2 次数据的平均值作为最终检测结果。所用检测方法与均匀性检验保持一致。

对测定结果采用趋势分析法进行分析,以此来考察线性关系的斜率随样品稳定性变化的变化值,用该变化值对标准物质的稳定性进行评价,拟合直线 $Y=b_0+b_1X$, X 表示稳定性考察时间, Y 表示标准物质的特性值, b_0 、 b_1 表示回归系数,若 $|b_1|<t_{0.95, n-2} \cdot S(b_1)$,说明斜率无显著性变化,该标准物质在监测时间内能够保持稳定。该拟合直线的斜率计算公式为:

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

截距计算公式为:

$$b_0 = Y - b_1 \bar{X}$$

直线标准偏差计算公式为:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 x_i)^2}{n - 2}$$

斜率的不确定度计算公式为:

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

1.6 标准物质定值和不确定度

标准物质定值依据《标准样品定值的一般原则和统计方法》^[23]的要求,本次标准物质的定值采取 6~8 家实验室联合测定的方法,所选定的实验室均为国内权威检测机构且具有伏马毒素检测资质的实验室。各实验室均按照 GB 5009.240-2016《食品安全国家标准食品中伏马毒素的测定》进行检测。将各实验室的组间数据经格拉布斯(Grubbs)检验进行可疑值剔除,科克伦(Cochran)法检验实验室间数据是否为等精度数据,狄克逊(Dixon)法检验实验室间数据是否有离群值。计算出符合条件的实验室数据的平均值,该平均值即为样品的定值结果。

依据《不确定度评估指南》^[24]和 GB/T 15000.3-2008^[25]的方法,标准物质的不确定度主要由 3 个方面组成,即均匀性引起的不确定度 u_{bb} 、稳定性引起的不确定度 u_s 、定值过程中引入的不确定度 u_{char} 。其中稳定性不确定度 u_s 包括短期稳定性不确定度 u_{sts} 和长期稳定性不确定度 u_{lts} 。

标准物质相对扩展不确定度 $U = k\sqrt{u_{bb}^2 + u_s^2 + u_{char}^2}$
($k=2$)。

2 结果与分析

2.1 均匀性检验结果

采用单因素方差分析法进行与单元内的均匀性检验,
 F 为单元间方差(S_1^2)与单元内方差(S_2^2)的比值, 与在 95%
置信水平下的临界值 F_α 比较大小, 若 F 值小于 F_α , 则认

为样品间无显著性的差异, 均匀性好。本文 F_α 为 $F_{0.05(14,30)}$
 $= 2.04$, 检验结果由表 1 可知, $F < F_{0.05(14,30)}$, 说明玉米粉
中 FB1 样品均匀, 能满足标准物质均匀性要求。

2.2 稳定性检验结果

表 2 为玉米样品在 44 环境下保存 14 d 所测数据,
由表 2 可知, 玉米样品在 14 d 内所计算出 $|b_1| < t_{0.95, n-2} \cdot s(b_1)$,
且由图 1 所示, 直线拟合方程的斜率不显著, 因此该标准
物质在 44 模拟运输环境下可以保持稳定。

表 1 玉米粉中伏马毒素 FB1 均匀性检验结果

Table 1 Test results of homogeneity of Fumzonisins FB1 in corn flour ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

编号 No.	测定值 Estimated value			平均值 Mean
	样品 1 Sample 1	样品 2 Sample 2	样品 3 Sample 3	
1	1526.94	1515.99	1548.48	1530.47
2	1475.93	1561.67	1466.99	1501.53
3	1541.65	1578.75	1586.70	1569.03
4	1642.69	1523.99	1477.12	1547.93
5	1547.76	1553.40	1320.62	1473.93
6	1550.76	1523.61	1429.61	1501.33
7	1409.22	1429.40	1519.65	1452.76
8	1564.07	1584.00	1582.17	1576.74
9	1515.83	1487.58	1465.17	1489.52
10	1550.90	1519.14	1513.76	1527.93
11	1498.30	1473.52	1516.96	1496.26
12	1425.48	1570.33	1425.64	1473.82
13	1455.89	1375.58	1479.23	1436.90
14	1461.25	1342.56	1568.66	1457.49
15	1446.23	1483.95	1393.13	1441.11
组间标准偏差的平方 S_1^2	5915.88			
组内标准偏差的平方 S_2^2	4164.09			
统计量 F Statistic F	1.42			
$F_{0.05(14,30)}$	2.04			
判断 Judgment	均匀 Inhomogeneous			

表 2 玉米粉中伏马毒素 FB1 短期稳定性检验结果

Table 2 Short-term stability test results of Fumonisin FB1 in corn flour ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

时间 Day (d)	测定值 Estimated value			平均值 Mean
	样品 1 Sample 1	样品 2 Sample 2	样品 3 Sample 3	
0	1443.21	1527.20	1401.19	1457.20
1	1437.83	1505.11	1410.89	1451.28
4	1483.95	1512.63	1563.87	1520.15
7	1457.61	1471.37	1438.96	1455.98
14	1412.94	1400.17	1369.62	1394.24
斜率 b_1	-4.79			
斜率不确定度 $s(b_1)$	3.64			
临界值 $t_{0.95, n-2} \times s(b_1)$	11.58			
结论 Conclusion	稳定 Stabilization

图 1 玉米粉中伏马毒素 FB1 短期稳定性趋势分析图
Fig. 1 Analysis chart of short-term stability trend of Fumonisin FB1 in corn flour

表 3 为标准物质在 4 和-18 条件下储存 6 个月, 分别在 1、2、4、6 个月时对样品用 UPLC-MS/MS 进行伏马

表 3 玉米粉中伏马毒素 FB1 长期稳定性检验结果
Table 3 Long-term stability test results of Fumonisin FB1 in corn flour (µg kg⁻¹)

温度 Temperature	时间(月) Time (month)	测定值 Estimated value			平均值 Mean	斜率 b_1	临界值 $t_{0.95, n-2} \times s(b_1)$	结论 Conclusion
		样品 1 Sample 1	样品 2 Sample 2	样品 3 Sample 3				
4	0	1443.21	1527.20	1401.19	1457.20	-20.86	31.60	稳定 Stabilization
	1	1481.61	1527.86	1525.53	1511.67			
	2	1368.36	1430.24	1428.94	1409.18			
	4	1442.54	1422.36	1477.85	1447.58			
	6	1389.45	1334.99	1283.45	1335.96			
-18	1	1468.15	1382.05	1450.64	1433.62	-10.27	31.40	稳定 Stabilization
	2	1498.44	1526.57	1531.25	1518.75			
	4	1407.69	1372.59	1405.98	1395.42			
	6	1457.35	1381.64	1398.07	1412.35

图 2 玉米粉中伏马毒素 FB1 长期稳定性趋势分析图
Fig. 2 Analysis chart of long-term stability trend of Fumonisin FB1 in corn flour

2.4 标准物质的不确定度

2.4.1 均匀性不确定度

$$S_{bb}^2 = \frac{1}{n} (S_1^2 - S_2^2) = \frac{1}{3} (5915.88 - 4164.09) = 583.93 \mu\text{g kg}^{-1}$$

毒素含量检测, 取样方法、数据处理与短期稳定性检验一致, 由表 3 可知, 该标准物质在 6 个月时间范围内 $|b_1| < t_{0.95, n-2} \cdot s(b_1)$, 且由图 2 所示, 该标准物质的拟合直线斜率不显著, 即玉米粉中伏马毒素 FB1 含量无明显增加或减少, 因此可认为该标准物质在 4、-18 温度下可以较好地储存 6 个月。

2.3 定值和不确定度分析

本批标准物质由多家实验室采用指定检测方法进行联合定值, 为每家实验室随机分发两袋样品, 对每袋样品至少平行测定 3 次, 最终每家实验室提供 6 组数据。将所有实验室所测数据汇总并分析, 每个实验室的组内数据经狄克逊准则检验是否有异常值, 各实验室的定值数据经格拉布斯检验进行统计分析, 采用科克伦准则判断数据有无可疑值, 最终有 6 家实验室的数据被采用(表 4), 将所保留的最终数据计算出平均值, 即为最终的定值结果。

$u_{bb} = S_{bb} = 24.165 \mu\text{g kg}^{-1}$
2.4.2 稳定性引入的不确定度
短期稳定性不确定度 $u_{sts} = s(b_1) \cdot t = 3.6429 \times 14 = 51 \mu\text{g kg}^{-1}$
长期稳定性不确定度 $u_{lts} = 59.61 \mu\text{g kg}^{-1}$
2.4.3 定值引入的不确定度 标准物质定值过程中带来的 A 类不确定度, 主要为联合定值过程中引入的不确定度, B 类不确定度主要为对测量产生影响的因素所产生的不确定度。

联合定值引入的不确定度 $u_A = 10.05\%$
测量过程中不确定度 $u_B = 1.0\%$
合成不确定度 $u_{\text{char}} = u_{\text{char,rel}} \cdot \bar{X} = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} \times X = 148.85 \mu\text{g kg}^{-1}$

2.4.4 扩展不确定度

$$U_{\text{CRM}} = k \sqrt{u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2 + u_{\text{char}}^2} = 169.98 \mu\text{g kg}^{-1}$$

表 4 各实验室联合定值测定结果

Table 4 Results of joint determination of fixed value by various laboratories ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

实验室编号 Laboratory number	测定值 Estimated value					
	1	2	3	4	5	6
A	930	940	940	950	960	1100
B	1400	1300	1500	1500	1300	1300
C	1800	1500	1300	1600	1400	1400
D	1800	2200	1900	2200	2100	2300
E	1400	1400	1200	1300	1400	1400
F	1500	1500	1500	1600	1600	1700
平均值 Mean	1475.56					

3 讨论

本研究通过对 JJF 1343-2012《标准物质定值的通用原则及统计学原理》^[21]以及 ISO 导则^[22]的学习和研究,制备了玉米粉中伏马毒素 FB1 基体标准物质,将购买的玉米样品经筛选,加伏马毒素 FB1 标准溶液浸泡,冷冻干燥,磨粉,混匀后抽真空包装制得标准物质。按照 JJG 1006-1994^[20]与 JJF1343-2012^[21]中的有关规定,对标准物质进行均匀性检验和为期半年的稳定性检验的研究。根据《标准样品定值的一般原则和统计方法》^[23]中的要求,选取了多家具具有伏马毒素检测资质的实验室进行定值,因毒素检测较为复杂,且不同实验室操作环境及不同操作人员难以保证检测结果在误差范围内,最终只有 6 家实验室结果予以采用,最后计算平均值即为标准物质的定值结果。

实验中对标准物质中的伏马毒素 FB1 用超高效液相色谱-串联质谱法进行了均匀性和稳定性检验,均匀性检验 $F < F_{0.05(14,30)}$,可以证明所研制的标准物质达到了均匀性的要求,稳定性检验分为短期稳定性和长期稳定性检验,检验结果在置信水平 $p=0.95\%$ (95%置信水平)下,检验拟合直线斜率 b_1 小于 $t_{0.95, n-2} \cdot s(b_1)$,斜率无显著性差异,因此在 6 个月时间范围内,伏马毒素 FB1 稳定性良好,符合标准物质要求。最后经联合定值得出该标准物质的特征值为 $1475.56 \mu\text{g kg}^{-1}$,不确定度为 $169.98 \mu\text{g kg}^{-1}$ 。

因目前国内对于生物毒素基体标准物质研制较少,尤其基体标准物质起步更晚,基体标准物质研制过程较为复杂,但其与待检测样品有较高相似性,能够避免干扰检测结果,因此研制基体标准物质是很有必要的,对于我国的生物毒素检测技术的提升具有重要意义。

References

- [1] 杨朋飞, 王南希, 屈凌波, 伍松陵, 孙长坡. 伏马毒素消减方法研究进展. 粮油食品科技, 2015, (5): 82–85.
Yang P F, Wang N X, Qu L B, Wu S L, Sun C P. Research progress in fumonisins' degradation. *Sci Technol Cereals Oils Foods*, 2015, (5): 82–85 (in Chinese with English abstract).
- [2] Ramesh C G. Reproductive and Developmental Toxicology. New York: Academic Press, 2017. pp 925–943.
- [3] Poersch A B, Trombetta F, Souto N S, Oliveira Lima C, Braga A C M, Dobrachinski F, Ribeiro L R, Soares F A, Figuera M R, Royes L F F, Oliveira M S, Furian A F. Fumonisin B1 facilitates seizures induced by pentylentetrazol in mice. *Neurotoxicol Teratol*, 2015, 51: 61–67.
- [4] Pepeljnjak S, Petrincic Z, Kovaci S, Segvic M. Screening toxicity study in young carp (*Cyprinus carpio* L.) on feed amended with Fumonisin B1. *Arch Ind Hygiene Toxicol*, 2009, 60: 419–426.
- [5] Osuchowski M F, Edwards G L, Sharma R P. Fumonisin B1 induced neurodegeneration in mice after intracerebroventricular infusion is concurrent with disruption of sphingolipid metabolism and activation of proinflammatory signaling. *Neurotoxicology*, 2005, 26: 211–221.
- [6] Antonissen G, Van Immerseel, Pasmans F, Ducatelle R, Janssens G P, De Baere S, Mountzouris K C, Su S, Wong E A, De Meulenaer B, Verlinden M, Devreese M, Haesebrouck F, Novak B, Dohnal I, Martel A, Groubels S. Mycotoxins deoxynivalenol and fumonisins alter the extrinsic component of intestinal barrier in broiler chickens. *J Agr Food Chem*, 2015, 63: 10846–10855.
- [7] Grenier B, Loureiro-Bracarense A P, Luciola J, Pacheco G D, Cossalter A M, Moll W D, Schatzmayr G, Oswald I P. Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55: 761–771.
- [8] Li Y, Fan Y, Xia B, Xian Q, Wang Q, Sun W, Zhang H, He C. The immunosuppressive characteristics of FB1 by inhibition of maturation and function of BMDCs. *Int Immunopharmacol*, 2017, 47: 206–211.
- [9] Mahmoodi M, Alizadeh A M, Sohanaki H, Rezaei N, Amini-Najafi F, Khosravi A R, Hosseini S K, Safari Z, Hydarnasab D, Khori V. Impact of fumonisin B1 on the production of inflammatory cytokines by gastric and colon cell lines. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2012, 11: 165–173.
- [10] Keck B B, Bodine A B. The effects of fumonisin B1 on viability and mitogenic response of avian immune cells. *Poultry Sci*, 2006, 85: 1020–1024.
- [11] Singh M P, Kang S C. Endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy activation attenuates fumonisin B1 induced hepato-toxicity *in vitro* and *in vivo*. *Food Chem Toxicol*, 2017, 110: 371–382.
- [12] Loiseau N, Polizzi A, Dupuy A, Therville N, Rakotonirainy M, Loy J, Viadere J L, Cossalter A M, Bailly J D, Puel O, Kolf-Clauw M, Bertrand-Michel J, Levade T, Guillaud H, Oswald

- I P. New insights into the organ-specific adverse effects of fumonisin B1: comparison between lung and liver. *Arch Toxicol*, 2005, 89: 1619–1629.
- [13] Riley R T, Voss K A. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. *Toxicol Sci*, 2006, 92: 335–345.
- [14] Bouhet S, Oswald I P. The intestine as a possible target for fumonisin toxicity. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51: 925–931.
- [15] Ewuola E O, Egbunike G N. Gonadal and extra-gonadal sperm reserves and sperm production of pubertal rabbits fed dietary fumonisin B1. *Animal Reprod Sci*, 2010, 119: 282–286.
- [16] Somosk I B, Kov C M, Cseh S. Effects of T-2 and fumonisin B1 combined treatment on *in vitro* mouse embryo development and blastocyst quality. *Toxicol Ind Health*, 2018, 34: 353–360.
- [17] Bondy G, Mehta R, Caldwell D, Coady L, Armstrong C, Savard M, Miller J D, Chomyshyn E, Bronson R, Zitomer N, Riley R T. Effects of long term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53 homozygous transgenic mice. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50: 3604–3613.
- [18] Köppen R, Bremser W, Stephan I, Klein-hartwig K, Rasenko T, Koch M. T-2 and HT-2 toxins in oat flakes: development of a certified reference material. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407: 2997–3007.
- [19] 刘素丽, 王宏伟, 赵梅, 曹进, 黄丙楠, 钮正睿. 食品中基体标准物质研究进展. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(1): 8–13.
- Liu S L, Wang H W, Zhao M, Cao J, Huang B N, Niu Z R. Research progress of matrix reference materials for food. *J Food Saf Qual*, 2019, 10 (1): 8–13 (in Chinese with English abstract).
- [20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 一级标准物质技术规范: JJF 1006-1994. 北京: 中国计量出版社, 1994.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Technical Norm of Primary Reference Material: JJF 1006-1994. Beijing: Chinese Metrology Press, 1994 (in Chinese).
- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 标准物质定值的通用原则及统计学原理: JJF 1343-2012. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. General and Statistical Principles for Characterization of Reference Materials: JJF 1343-2012. Beijing: Standards Press of China, 2012 (in Chinese).
- [22] ISO. ISO Guide 35: 2006 Reference Materials-general and Statistical Principles for Certification. International Organization for Standardization (ISO): Geneva, 2006.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 标准样品工作导则: (3)标准样品定值的一般原则和统计方法: GB/T 15000. 3-2008. 北京: 中国计量出版社, 2008.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Standardization Administration of the People's Republic of China. Standard Sample Work Guidelines: (3) Reference Materials-General and Statistical Principles for Certification: GB/T 15000. 3–2008. Beijing: Chinese Metrology Press, 2008 (in Chinese).
- [24] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南. 北京: 中国计量出版社, 2006. pp 31–36.
- China National Accreditation Board for Laboratories. Guidance on Evaluating the Uncertainty in Chemical Analysis. Beijing: Chinese Metrology Press, 2006. pp 31–36 (in Chinese).
- [25] 中国国家标准化管理委员会. 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示: GB/T 27411-2012. 北京: 中国计量出版社, 2013.
- Standardization Administration of the People's Republic of China. Routine Methods for Evaluation and Expression of Measurement Uncertainty in Testing Laboratory: GB/T 27411-2012. Beijing: Chinese Metrology Press, 2013 (in Chinese).