

实验技术与方法

扇贝和利玛原甲藻混合基体中大田软海绵酸和鳍藻毒素-1
标准样品的研制王伟¹, 尹新颖², 茶瑞美², 徐敦明³, 肖晶¹, 曹际娟²

(1. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022; 2. 大连民族大学, 辽宁 大连 116600;

3. 厦门海关技术中心, 福建 厦门 361013)

摘要:目的 研制基于扇贝和利玛原甲藻混合基质的大田软海绵酸(OA)和鳍藻毒素-1(DTX1)定量分析标准样品。方法 以扇贝组织和含有OA和DTX1的利玛原甲藻的藻泥为原料,经充分混匀、冷冻干燥制备基体OA和DTX1标准样品,开展定性确证以及均匀性、稳定性检验和协同定值分析。结果 经确证该标准样品中含有OA和DTX1;经方差分析法(*F*检验)检验评价均匀性良好;考察长期稳定性和模拟运输条件下短期稳定性,样品性能稳定;该基体标准样品中OA和DTX1特性标准值及不确定度分别为(7.039±0.272) mg/kg (*k*=2)、(2.012±0.021) mg/kg (*k*=2)。结论 该混合基体标准样品填补了国内目前没有该类标准样品的空白,可以用于方法验证、检测过程质量控制、能力验证等实验室质量控制活动。

关键词:扇贝;利玛原甲藻;大田软海绵酸;鳍藻毒素-1;混合基体标准样品;制备

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2022)04-0680-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.04.008

Preparation of okadaic acid and dinophysistoxins-1 reference material in the mixed
matrix of *Pectinidae* and *Prorocentrum lima*WANG Wei¹, YIN Xinying², CHA Ruimei², XU Dunming³, XIAO Jing¹, CAO Jijuan²

(1. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China;

2. Dalian Minzu University, Liaoning Dalian 116600, China;

3. Xiamen Customs Technology Center, Fujian Xiamen 361013, China)

Abstract: Objective To prepare the standard sample for quantitative analysis of okadaic acid (OA) and dinophysistoxins-1 (DTX1) based on the mixed matrix of *Pectinidae* and *Prorocentrum lima*. **Methods** *Pectinidae* tissue and algae mud of *Prorocentrum lima* containing OA and DTX1 were used as raw materials. The matrix OA and DTX1 reference materials were prepared by mixing and freeze-drying. The qualitative confirmation, uniformity and stability test and collaborative constant value analysis were carried out. **Results** It was confirmed that the reference materials contained OA and DTX1. The homogeneity was good by variance analysis (*F* test). The long-term stability and short-term stability under simulated transportation conditions were investigated, and the materials performance was stable. The characteristic standard value and uncertainty of OA and DTX1 in the reference materials were (7.039 ± 0.272) mg/kg (*k* = 2) and (2.012 ± 0.021) mg/kg (*k* = 2), respectively. **Conclusion** The mixed matrix reference material can fill the absence of such reference material in China at present. It can be used for laboratory quality control such as test method verification, test process quality control and capability verification.

Key words: *Pectinidae*; *Prorocentrum lima*; okadaic acid (OA); dinophysistoxins-1 (DTX1); mixed matrix reference material; preparation

收稿日期:2022-06-01

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFF0305002);辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC2002106)

作者简介:王伟 男 副研究员 研究方向为食品安全检验技术 E-mail: wangweisw@cfsa.net.cn

尹新颖 女 在读研究生 研究方向为食品生物安全检验检疫技术 E-mail: 2810739130@qq.com

通信作者:肖晶 女 研究员 研究方向为食品安全与标准 E-mail: xiaojing@cfsa.net.cn

曹际娟 女 研究员 研究方向为生物与食品安全 E-mail: caojijuan@dlnu.edu.cn

含有毒素的海洋微藻被贝类等水生动物摄食并在体内生物富集,这些微藻毒素在贝类中累积形成了贝类毒素^[1]。贝类累积贝类毒素的过程非常复杂,不仅可以滤食并累积有毒藻类胞内毒素,还可以直接累积胞外毒素。腹泻性贝类毒素(Diarrhetic shellfish poisoning, DSP)是一类脂溶性毒素,主要包括大田软海绵酸(Okadaic acid, OA)和鳍藻毒素-1(Dinophysistoxins-1, DTX1)^[1-2]。OA和DTX1主要来自于利玛原甲藻(*Procentrum lima*)^[3]。贝类累积毒素后并不表现出病理学中毒症状,然而人类误食含DSP的贝类食品,中毒轻微者会产生腹泻的症状,严重者可出现黄疸、急性萎缩性肝坏死^[4]。此外,也有报道OA和DTX1可抑制蛋白磷酸酶活性,并诱导肿瘤生长^[5]。贝类以海洋微藻为食,藻毒素可在贝类中累积和进入食物链,已成为严重威胁食品安全和贝类养殖业持续发展的一个重要问题。开展贝类食品中贝类毒素检测对保障食品安全至关重要。

标准样品在确保实验室测量结果的可比性、准确性和一致性方面发挥重要作用^[6]。目前,国内外现有的DSP标准样品主要有三种类型。第一种是采用天然染毒贝类匀浆制备的牡蛎基体DSP标准样品,仅适用于小鼠生物法检测用^[7]。该标准样品中只有DSP总量,而未确定具体毒素组分的种类及各组分含量,不能满足采用HPLC/MS/MS等理化分析方法检测质控需要。此外,天然染毒贝类易受到获取原料限制影响,无法保障持续复制标准样品。第二种是采用向基质内添加OA纯品标准样品的方法进行模拟添加^[8],OA纯品标准样品被列为有毒化学物质,多为国外进口,受价格昂贵等限制。第三种是贝类毒素多组分或单一组分的纯品标准样品^[9],均是从有毒藻类中提纯后的纯品,缺乏贝类基体。采用纯品的贝类毒素标准样品用于食品检测,无法反映有毒微藻累积在贝类体内的存在状态,会影响贝类毒素提取效率,进而影响检测结果的准确性。

食品理化检验通常会明确方法适用的食品基质范围,采用相应的基质样品、纯品标准样品和基体标准样品进行测试分析^[10]。基体标准样品可以对检测的全过程加以控制,在残留检测中越来越发挥不可或缺的作用^[11]。食品基体标准样品的研制已成为近年来的研究热点。

鉴于此,在食品安全检测领域,近几年多位研究人员已研制茶叶^[12]、鸡肉^[13]、黄瓜^[14]、羊奶^[15]、蜂蜜^[16]等基体的农兽药残留标准样品,也有报道粮食^[17]、干基蔬菜^[18]等基体的重金属标准样品制备研究,以及研制饲料基体黄曲霉毒素^[19]、玉米粉基体

伏马毒素^[20]等标准样品。为同时解决天然染毒贝类原料有限、纯品贝类毒素标准品资源受限、基体标准样品缺乏等问题,本研究以扇贝和利玛原甲藻混合基质为基料,制备一种OA和DTX1混合基体标准样品,希望该标准样品的均匀性和稳定性符合国家标准样品的要求,可以用于实验室方法验证、试剂盒评价、检测过程质量控制、能力验证等活动。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 6430 串联四极杆质谱(美国安捷伦科技有限公司);API 4000 液相色谱-串联质谱仪,配有电喷雾离子源(美国应用生物系统公司);CHRiST Epsilon2-6D 冷冻干燥机(德国 Marin Chris 公司);X-Bridge C₁₈ 液相色谱柱(150 mm×3 mm, 3.5 μm);硅胶表面修饰苯乙烯二乙烯基苯聚合物型固相萃取柱(60 mg, 3 mL, 用前分别用 1 mL 甲醇、1 mL 30% 甲醇溶液活化,德国默克公司);甲醇溶液(20%、30%)、碳酸氢铵溶液(2 mmol/L, pH11)、乙腈(色谱纯,美国 Burdick Jackson 公司);OA 和 DTX1 纯品标准品(纯度≥99%,加拿大国家研究院海洋生物科学研究所)。

1.2 实验方法

1.2.1 混合基体标准样品的制备

扇贝采购于辽宁省大连市水产品批发销售市场,要求原料新鲜,个体大小均一。将扇贝清洗,去壳,取贝柱、中肠腺、裙边等组织,经检测确认无贝类毒素后,均质匀浆制备成扇贝组织基料。利玛原甲藻由大连海洋大学提供,经检测确认同时含有OA和DTX1,取培养生长期处于生长平台期(70 d)的利玛原甲藻,经加入75%甲醇,用超声波清洗器超声30 min,制备成含胞内外毒素的利玛原甲藻基料。将扇贝组织基料和利玛原甲藻基料混合,以1:2的比例添加15%蔗糖溶液,加热搅拌至少15 min,充分混匀,制成扇贝和利玛原甲藻混合基料。将混合基料预冷冻、真空冷冻干燥、冻干粉研磨、过80目筛;再将冻干细粉的干粉混匀和均质,得到扇贝和利玛原甲藻混合基体OA和DTX1标准样品。分装于西林瓶中,共500瓶,每瓶2 g,放置于0℃~4℃以下条件保存。

1.2.2 鉴定分析

采用Agilent 6430 串联四极杆质谱进行标准样品的定性分析。样品中含有的OA和DTX1采用酸性甲醇提取,经酯化态毒素水解释放后,提取液浓缩,过0.22 μm滤膜后,进行纯品标准品质谱全扫描和基体标准样品的二级质谱分析确证。

1.2.3 均匀性检验

标准样品均匀性是指特性量值在空间分布的均匀程度,是对标准样品总体空间分布的评价,是标准样品的重要质量指标之一^[21-22]。参照 GB/T 15000.3—2008《标准样品定值的一般原则和统计方法》^[23]规定,从分装成独立包装的 500 瓶大批次标准样品中随机抽取 15 瓶进行均匀性检验 ($m=15, n=2$)。采用 GB 5009.212—2016《食品安全国家标准贝类中腹泻性贝类毒素的测定》^[24]中的液相色谱-串联质谱法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)进行分析 OA 和 DTX1 含量。采用方差分析法(F 检验)来进行差异性分析,评价标准样品的均匀性结果,通过组间方差和组内方差的比较来判断各组测量之间有无系统偏差。

1.2.4 稳定性检验

在适宜的环境条件下,标准样品特性值应不会随着贮存时间的延长发生显著变化^[22]。为确定标准样品的有效期,需要考察标准样品的长期稳定性^[21]。参照 GB/T 15000.3—2008^[23]规定,从分装成独立包装的 500 瓶大批次标准样品中随机抽取样品,放置于 0 °C~4 °C 低温条件下进行长时间保存,按照第一年每 2 个月、第二年每 3 个月的时间间隔点,每个时间点、每次随机抽取 2 瓶标准样品 ($m=2, n=2$) ,采用 GB 5009.212—2016^[24]中 LC-MS/MS 方法测定 OA 和 DTX1 含量,进行长期稳定性研究,采用直线经验模型分析标准样品的长期稳定性。针对短期稳定性检验,采用同步设计方法在 -20~50 °C 范围内(选择 -20 °C 7 d、0 °C~4 °C 7 d 和 14 d、25 °C 7 d、50 °C 7 d)进行运输条件下短期稳定性实

验,每个温度条件下测试 3 瓶标准样品,每瓶重复测试 2 次,采用线性回归方差分析短期稳定性。

1.2.5 定值分析

采用 GB 5009.212—2016^[24]中 LC-MS/MS 法进行测定,选取有经验的 8 家实验室,每家分发 6 瓶样品 ($m=6, n=2$),对混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 含量进行联合定值。将各实验室的测试结果按大小顺序排列,进行夏皮罗-威尔克(*Shapiro-Wilk*) 检验和 *Grubb's* 检验,考察测试结果的精度一致性。计算扇贝和利玛原甲藻混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 含量的标准值及不确定度。

2 结果

2.1 定性分析

OA 和 DTX1 纯品标准品的串联四极杆质谱全扫描图见图 1,本研究制备的混合基体标准样品 OA 和 DTX1 的二级质谱分析见图 2,其中一离子对分别为 827.5>723.4 和 841.5>765.5。实验结果表明,本研究制备的混合基体标准样品 OA 和 DTX1 的提取离子色谱峰保留时间与纯品标准品溶液一致且二级碎片谱图匹配度大于 90%,可以确证该混合基体标准样品中含有 OA 和 DTX1。OA($C_{44}H_{68}O_{13}$)的相对分子质量为 805,其形成的 $[M+Na]^+$ (m/z 为 827.5) 通过碰撞池时发生裂解生成产物离子,丢失 $76(C_2H_4O_3)$, 得到 m/z 为 751.4 的二级离子。DTX1($C_{45}H_{70}O_{13}$)的相对分子质量为 819,其形成的 $[M+Na]^+$ (m/z 为 841.5) 通过碰撞池时发生裂解生成产物离子,丢失 $76(C_2H_4O_3)$, 得到 m/z 为 765.5 的二级离子。通过碎片离子的解析可知纯品与基体标准样品的离子信息一致。

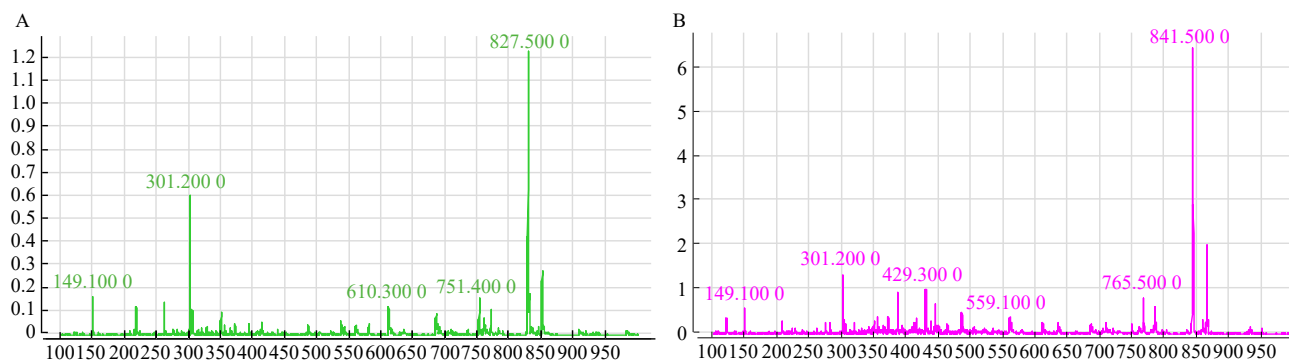


图 1 OA(A)和 DTX1(B)纯品标准品的质谱全扫描图

Figure 1 Full scan mass spectra of OA (A) and DTX1 (B) pure reference materials

2.2 均匀性试验

混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 均匀性检验测定结果见表 1。经 F 检验(表 2),在 95% 置信概率下,随机抽取的 15 瓶标准样品中 OA 和 DTX1 测定值的 F 比分别为 2.12 和 1.10,均小于 F 临界值 $F_{0.05(14, 15)}$,表明瓶间和瓶内不存在明显差异,标准样

品的均匀性良好,能满足国家标准样品的性能要求。该标准样品瓶间 OA 和 DTX1 的均匀性标准不确定度分别为 0.117% 和 0.002%。

2.3 稳定性试验

2.3.1 长期稳定性结果

混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 的长期稳定

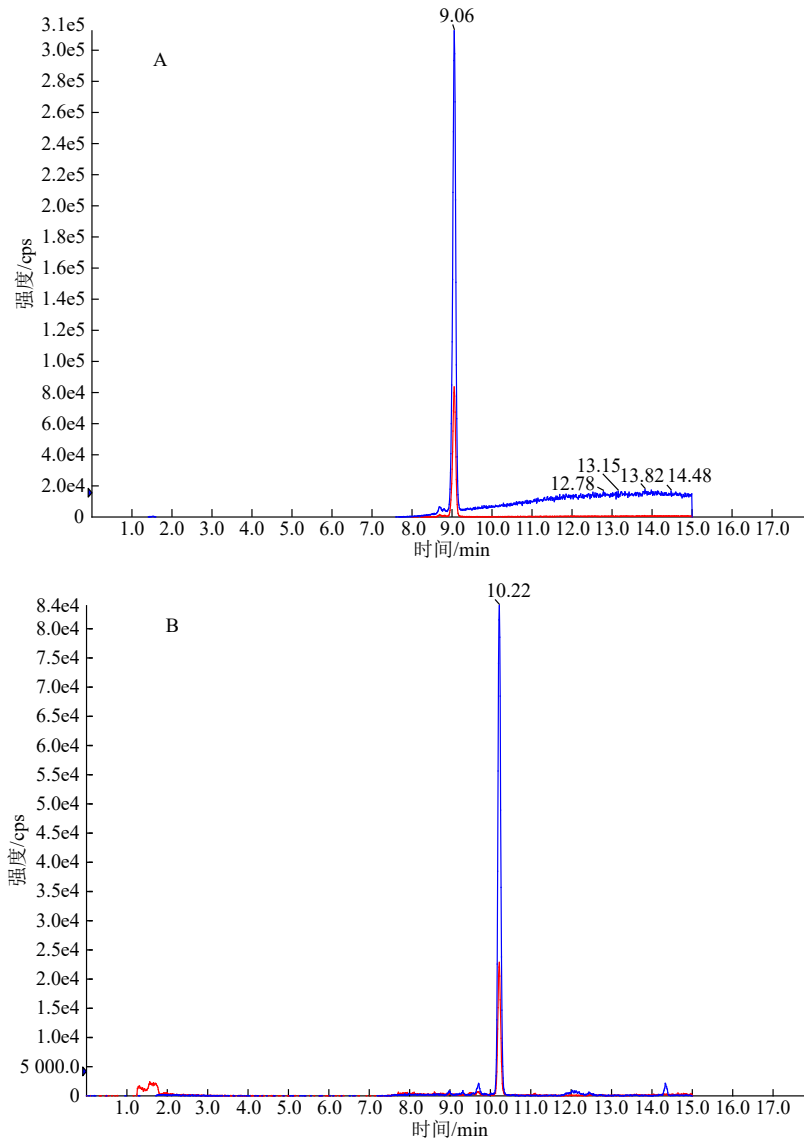


图2 混合基体标准样品中OA(A)和DTX1(B)的二级质谱图

Figure 2 Secondary mass spectrum of OA (A) and DTX1 (B) in mixed matrix reference materials

表1 混合基体标准样品中OA和DTX1均匀性

Table 1 Uniformity test results of OA and DTX1 in mixed matrix reference material

编号	OA 测定值/(mg/kg)			DTX1 测定值/(mg/kg)		
	子样1	子样2	平均值	子样1	子样2	平均值
1	6.974	7.379	7.177	1.997	1.982	1.990
2	6.773	7.277	7.025	1.993	1.989	1.991
3	7.151	6.723	6.937	1.987	2.014	2.001
4	6.962	7.015	6.989	1.986	1.991	1.989
5	6.849	6.921	6.885	2.001	1.995	1.998
6	7.270	7.376	7.323	2.005	1.988	1.997
7	6.913	7.105	7.009	2.002	2.015	2.009
8	6.872	6.883	6.878	2.007	2.001	2.004
9	7.129	7.347	7.238	1.998	2.010	2.004
10	7.024	7.115	7.070	1.990	1.993	1.992
11	7.226	7.244	7.235	1.985	1.993	1.989
12	7.051	6.986	7.019	1.994	1.991	1.993
13	6.882	6.970	6.926	1.996	1.987	1.992
14	7.36	7.332	7.346	2.001	1.989	1.995
15	7.215	7.304	7.260	2.003	1.992	1.998

性检验结果见表3。在95%置信概率下,经直线经验模型统计检验(表4),混合基体标准样品中OA和

DTX1测定值的 $|b_1|$ 分别为0.00501和0.00002,均小于 $t_{(0.95, n-2)} \times s(b_1)$,表明该标准样品在12个月

表2 均匀性检验方差分析结果

Table 2 The variances result of homogeneity test

项目	OA			DTX1		
	平方和/SS	自由度/df	均方差/MS	平方和/SS	自由度/df	均方差/MS
组间方差源	0.725 97	14	0.051 86	0.001 07	14	0.000 08
组内方差源	0.367 12	15	0.024 48	0.001 05	15	0.000 07
总和	1.093 10			0.002 12		0.000 08
F比		2.12			1.10	
F临界值		2.42			2.42	
样品间标准差/%		0.117			0.002	

表3 混合基体标准样品中OA和DTX1长期稳定性

Table 3 Long-term stability of OA and DTX1 in mixed matrix reference material

测试时间 间隔/月	OA测定值/(mg/kg)			DTX1测定值/(mg/kg)						
	样品1	样品2	平均值	样品1	样品2	平均值				
0	7.052	7.161	7.292	7.080	7.146	1.992	1.986	1.990	1.980	1.987
2	6.902	6.856	7.064	6.865	6.922	1.989	1.999	1.985	1.994	1.992
4	7.185	7.310	7.204	6.921	7.155	1.999	1.997	1.999	1.99	1.996
6	6.853	7.169	6.951	7.158	7.033	1.997	1.980	1.995	1.991	1.991
8	7.079	7.145	7.174	7.030	7.107	1.995	1.981	1.996	2.000	1.993
10	6.995	7.044	7.084	7.052	7.044	1.990	1.988	1.986	1.980	1.986
12	6.993	7.254	7.191	7.260	7.175	1.999	1.987	1.991	1.992	1.992

表4 长期稳定性的直线模型分析

Table 4 The linear model analysis results of long-term stability

项目	OA	DTX1
F比	2.39	1.38
临界值 $t_{(0.95, n-2)}$	2.57	2.57
均值斜率 b_1	0.005 01	0.000 02
均值截距 b_0	7.052 92	1.990 89
标准偏差 s	0.104 78	0.008 31
$s(b_1)$	0.009 90	0.000 79
$ b_1 $	0.005 01	0.000 02
$t_{(0.95, n-2)} \times s(b_1)$	0.025 45	0.002 02
不稳定标准差, %	0.068	0.002

注: $s(b_1)$ 为与斜率相关的不确定度

内稳定性良好(持续的长期监测仍在进行中), OA

和 DTX1 的量值没有发生明显的趋势性变化, 符合国家标准样品稳定性要求。长期稳定性标准不确定度分别为 0.068%、0.002%。

2.3.2 短期稳定性结果

短期稳定性检验统计分析结果见表5。在95%置信概率下, 采用线性回归方差分析短期稳定性。历经模拟运输条件后, 基体标准样品中 OA 和 DTX 特性值的显著性 P 值分别为 0.063 和 0.164 ($P > 0.05$), 表明在历经 -20 °C 和 50 °C 的运输模拟条件下, 该基体标准样品的 OA 和 DTX 特性值没有发生显著性变化, 短期稳定性良好。

表5 短期稳定性线性回归方差分析

Table 5 The regression analysis of variance of short-term stability

变差源	自由度	F 临界值	OA			DTX		
			方差	均方差	统计量 F	方差	均方差	统计量 F
温度	4	3.06	0.112 57	0.028 14	2.32	0.019 42	0.004 85	1.27
瓶间	10	2.54	0.277 24	0.027 72	2.29	0.039 16	0.003 92	1.02
随机	15		0.181 57	0.012 11		0.057 45	0.003 83	
总和			0.571 38			0.116 03		
置信概率/%				95			95	
群组间显著性 P 值				0.063			0.164	

2.4 定值结果及其不确定度评定

2.4.1 定值结果

本研究选择 8 家实验室进行合作定值, 结果见表 6。经不确定度统计分析, 扇贝和利玛原甲藻混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 含量的总平均值分别为 (7.039 ± 0.013) mg/kg、 (2.012 ± 0.010) mg/kg。

2.4.2 定值结果的不确定度评定

标准样品定值过程引入的总均值不确定度、均匀性检验和稳定性检验引入的不确定度组成标准样品定值结果的不确定度^[14-15]。依据 8 家实验室测

定结果, 计算混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 含量的合成标准不确定度及扩展不确定度, 分析统计结果见表 7。本研究制备的扇贝和利玛原甲藻混合基体标准样品中 OA 和 DTX1 含量的特性标准值和扩展不确定度分别为 (7.039 ± 0.272) mg/kg ($k=2$)、 (2.012 ± 0.021) mg/kg ($k=2$)。

3 结论

本研究首次研制基于扇贝和利玛原甲藻混合基质的 OA 和 DTX1 定量分析标准样品。以扇贝和利

表6 混合基体标准样品定值结果

Table 6 Fixed value results of mixed matrix reference material

实验室序号	OA测定值/(mg/kg)						DTX1测定值/(mg/kg)					
	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5	样品6	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5	样品6
1	7.075	7.105	6.955	7.103	6.962	7.191	2.047	1.944	1.981	1.998	2.095	2.082
2	6.979	7.042	7.005	7.041	6.988	7.091	1.910	1.967	2.04	1.956	2.012	2.036
3	7.035	7.001	7.088	7.066	7.023	7.059	2.088	1.991	2.083	2.083	2.099	1.908
4	6.926	6.980	6.983	6.964	7.026	6.959	1.997	1.929	2.061	2.015	2.008	1.940
5	6.957	7.017	6.979	7.002	7.106	7.013	1.973	2.076	2.041	1.957	1.909	1.971
6	7.003	6.912	7.072	7.181	6.978	7.101	1.992	1.926	2.103	2.044	1.993	1.928
7	7.024	7.056	7.057	7.124	7.171	7.079	2.123	2.089	1.939	1.911	1.958	1.968
8	7.058	7.048	7.083	7.023	7.097	7.095	2.067	2.095	2.124	2.035	2.035	2.039
统计量	总平均值=7.039,总平均值标准差=0.013						总平均值=2.012,总平均值标准差=0.010					

表7 混合基体标准样品中OA和DTX1含量的不确定度分量

Table 7 Uncertainty evaluation for OA and DTX1 in mixed matrix reference material

总体统计量	OA	DTX1
总平均值/(mg/kg)	7.039	2.012
总平均值标准差	0.013	0.029
瓶间均匀性标准差	0.117	0.002
稳定性标准差	0.068	0.002
合成标准不确定度	0.136	0.011
扩展不确定度(k=2)	0.272	0.021

玛原甲藻混合基体为基料,经均质混匀、冷冻干燥、颗粒筛分等工艺,制备混合基体OA和DTX1多组分标准样品。该标准样品中OA和DTX1的特性标准值和扩展不确定度分别为(7.039±0.272) mg/kg (k=2)、(2.012±0.021) mg/kg (k=2)。样品均匀、稳定,性能良好,联合定值量值可靠,能够达到预期使用用途。该标准样品解决了天然染毒贝类原料有限、纯品贝类毒素标准样品资源受限、基体标准样品缺乏等问题,制备简便,成本低廉,具有研复制可持续性,可用于方法验证、能力验证等质量控制活动,对保障食品安全具有积极的现实意义。

参考文献

- [1] 王婷,梁琼,赵晓野,等.9种腹泻性贝类毒素的高效液相色谱-串联质谱测定方法的建立[J].食品工业科技,2022,43(1):362-370.
WANG T, LIANG Q, ZHAO X Y, et al. Establishment of HPLC-MS/MS method for determination of nine diarrhoeal shellfish toxins[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 362-370.
- [2] 张秋云,朱晓华,杨洪生,等.液相色谱-串联质谱法测定文蛤中3种腹泻性贝类毒素[J].安徽农业科学,2018,46(34):166-168.
ZHANG Q Y, ZHU X H, YANG H S, et al. Determination of three diarrheal shellfish toxins in clam by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(34): 166-168.
- [3] NASCIMENTO S M, SALGUEIRO F, MENEZES M, et al. *Prorocentrum lima* from the South Atlantic: Morphological, molecular and toxicological characterization[J]. Harmful Algae, 2016, 57: 39-48.
- [4] SUZUKI T, QUILLIAM M A. LC-MS/MS analysis of diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins, okadaic acid and dinophysistoxin analogues, and other lipophilic toxins[J]. Analytical Sciences: the International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry, 2011, 27(6): 571-584.
- [5] MANERIO E, RODAS V L, COSTAS E, et al. Shellfish consumption: A major risk factor for colorectal cancer[J]. Medical Hypotheses, 2008, 70(2): 409-412.
- [6] 刘素丽,王宏伟,赵梅,等.食品中基体标准物质研究进展[J].食品安全质量检测学报,2019,10(1):8-13.
LIU S L, WANG H W, ZHAO M, et al. Research progress of matrix reference materials for food[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(1): 8-13.
- [7] BEACH D G, CRAIN S, LEWIS N, et al. Development of certified reference materials for diarrhetic shellfish poisoning toxins, part 1: Calibration solutions[J]. Journal of AOAC International, 2019, 99(5): 1151-1162.
- [8] MCCARRON P, REEVES K L, GIDDINGS S D, et al. Development of certified reference materials for diarrhetic shellfish poisoning toxins, part 2: Shellfish matrix materials[J]. Journal of AOAC International, 2019, 99(5): 1163-1172.
- [9] HASHIMOTO K, UCHIDA H, NISHIMURA T, et al. Determination of optimal culture conditions for toxin production by a *Prorocentrum lima* complex strain with high diarrhetic shellfish toxins yield[J]. Harmful Algae, 2021, 103: 102025.
- [10] BRAGA A C, ALVES R N, MAULVAULT A L, et al. *In vitro* bioaccessibility of the marine biotoxin okadaic acid in shellfish[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 89: 54-59.
- [11] HARJU K, RAPINOJA M L, AVONDET M A, et al. Results of a saxitoxin proficiency test including characterization of reference material and stability studies[J]. Toxins, 2015, 7(12): 4852-4867.
- [12] 余孔捷,黄杰,王丹红,等.含毒死蜱残留茶叶的自然基体标准样品研制[J].分析实验室,2014,33(11):1342-1344.
YU K J, HUANG J, WANG D H, et al. Development of natural matrix standard tea for quality control of chlorpyrifos residue analysis[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2014, 33(11): 1342-1344.
- [13] 刘正才,杨方,吕小玲,等.鸡肉中金刚烷胺和利巴韦林残留基体标准物质的研制[J].食品安全质量检测学报,2016,7(8):3327-3332.
LIU Z C, YANG F, LV X L, et al. Preparation of matrix reference material of amantadine and ribavirin residues in chicken

- muscle[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(8): 3327-3332.
- [14] 成长玉, 钟慈平, 黄丽娟, 等. 黄瓜中毒死蜱残留基体标准物质的研制[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(18): 6356-6361.
- CHENG C Y, ZHONG C P, HUANG L J, et al. Preparation of matrix reference material for chlorpyrifos residues in cucumber[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(18): 6356-6361.
- [15] 杨赵伟, 李博, 李宏娟, 等. 冻干羊奶中伊维菌素基体标准物质的研制[J]. *中国乳品工业*, 2021, 49(9): 23-27.
- YANG Z W, LI B, LI H J, et al. Preparation of matrix reference material for ivermectin residues in freeze-dried goat milk powder[J]. *China Dairy Industry*, 2021, 49(9): 23-27.
- [16] 施海燕, 宋美洁, 赵玲玲, 等. 蜂蜜中氯霉素残留基体标准物质的研制[J]. *中国蜂业*, 2020, 71(11): 64-68.
- SHI H Y, SONG M J, ZHAO L L, et al. Preparation of matrix reference material for chloramphenicol residues in honey[J]. *Apiculture of China*, 2020, 71(11): 64-68.
- [17] 潘传荣, 李文辉, 许艇, 等. 适用于粮食基体中重金属元素快检法的标准样品制备研究[J]. *粮食加工*, 2016, 41(2): 68-74.
- PAN C R, LI W H, XU T, et al. Preparation of reference materials for heavy metal elements' rapid detection in grain matrix[J]. *Grain Processing*, 2016, 41(2): 68-74.
- [18] 吕飞, 陈晓霞, 黄刚, 等. 干基蔬菜中多种重金属残留基体标准样品的制备及测定[J]. *惠州学院学报*, 2020, 40(6): 22-26.
- LYU F, CHEN X X, HUANG G, et al. Preparation and determination of standard samples of multiple heavy metal residues in dry-based vegetables[J]. *Journal of Huizhou University*, 2020, 40(6): 22-26.
- [19] 赵天天, 张伟, 王秀斌, 等. 黄曲霉毒素饲料基体标准物质研究[J]. *化学试剂*, 2019, 41(4): 343-347.
- ZHAO T T, ZHANG W, WANG X P, et al. Study on matrix reference material for aflatoxins in feed[J]. *Chemical Reagents*, 2019, 41(4): 343-347.
- [20] 牛欣宁, 王步军. 玉米粉中伏马毒素FB₁基体标准物质的评价[J]. *作物学报*, 2020, 46(7): 1128-1133.
- NIU X N, WANG B J. Evaluation of matrix reference material of Fumonisin FB₁ in corn flour[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(7): 1128-1133.
- [21] 郭萌萌, 彭吉星, 吴海燕, 等. 麻痹性贝类毒素 GTX1&4 和 GTX2&3 标准样品的制备技术[J]. *中国渔业质量与标准*, 2019, 9(2): 62-70.
- GUO M M, PENG J X, WU H Y, et al. Study on preparation technology of paralytic shellfish poison reference material[J]. *Chinese Fishery Quality and Standards*, 2019, 9(2): 62-70.
- [22] 王伟, 尹新颖, 西日尼阿衣·阿里甫, 等. 河鲢鱼基质中河豚毒素标准样品的研制[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(5): 1588-1596.
- WANG W, YIN X Y, XIRINIAYI A L F, et al. Preparation of matrix reference material for tetrodotoxin in Tetraodontidae[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(5): 1588-1596.
- [23] 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- Standardization Administration of the People's Republic of China. Directives for the work of reference materials (3) General principles and statistic methods for certification of reference materials: GB/T 15000.3—2008[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [24] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 贝类中腹泻性贝类毒素的测定: GB 5009.212—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- National Health and Family Planning Commission, National Food and Drug Administration. National food safety standard-Determination of diarrhetic shellfish poison in shellfish: GB 5009.212—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.