

中华人民共和国国家标准

转基因植物及其产品食用安全检测
油菜中芥子碱的测定 液相色谱法

编 制 说 明

(征求意见稿)

中国农业科学院北京畜牧兽医研究所
农业农村部科技发展中心
中国疾病预防控制中心营养与健康所

2026 年 10 月 20 日

目 录

一、工作简况	1
(一) 任务来源.....	1
(二) 制定背景.....	1
(三) 起草单位情况.....	2
(四) 起草过程.....	4
1. 前期准备.....	4
2. 方法建立.....	4
3. 文本起草及组织方法验证.....	4
4. 定向征求意见.....	5
5. 标准预审.....	5
二、标准编制原则、主要内容及其确定依据	5
(一) 标准编制原则.....	5
1. 科学性.....	5
2. 先进性.....	5
3. 适用性.....	6
4. 一致性.....	6
5. 协调性.....	6
6. 易用性.....	6
(二) 标准编制依据.....	6
(三) 标准的主要技术内容.....	6
1 液相条件的确定.....	6
2 样品制备和提取条件的优化.....	8
3 方法学评价.....	12
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益	17
(一) 实验室间方法学验证及数据.....	17
(二) 主要试验结论.....	18
(三) 预期经济效益、社会效益、生态效益.....	18
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况	19

五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因	19
六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系	19
七、重大分歧意见的处理经过和依据	19
八、涉及专利的有关说明	19
九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议	20
十、其他应当说明的事项	20

一、工作简况

（一）任务来源

本文件来源于农业农村部关于下达 2025 年第二批农业国家和行业标准制修订项目计划的通知（农质标函[2025]96 号），项目编号 NYB-25132。由中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、农业农村部科技发展中心、中国疾病预防控制中心营养与健康所联合起草。

本文件主要起草人为：陈亮、张连华、张宏福、孟庆石、张馨元、郝月、焦悦、卓勤。

（二）制定背景

转基因植物及其产品食用安全检测的核心逻辑建立在“实质等同”原则之上，即通过系统比较转基因材料与非转基因受体或常规对照的关键成分，判断其是否发生非预期改变。《转基因植物安全评价指南》明确要求对油菜籽的天然毒素及有害物质（如硫代葡萄糖甙、芥酸）进行重点检测，并强调需根据“个案分析”原则增减指标。在这一政策框架下，凡是油菜中天然存在、可能影响食用安全或营养品质、且可能因外源基因插入而连带改变的组分，均具备纳入检测清单的充分理由。芥子碱作为油菜籽中特征性的次生代谢物，正是在这一评价逻辑的驱动下，从单纯的作物品质性状上升为转基因食用安全检测的潜在关键指标，其含量变化可直接反映转基因操作对籽实组成的非预期影响。

芥子碱是广泛存在于十字花科种子中的酚类化合物，在油菜籽中含量尤为突出，其本身具有苦辛味，影响动物采食量，降解产物还可能带来生殖毒性担忧，同时与菜籽粕的适口性、蛋白质消化吸收及蛋品风味（如导致褐壳蛋鸡产鱼腥味蛋）密切相关，属于典型的抗营养因子。传统油菜安全评价主要聚焦于硫苷和芥酸，但随着转基因技术的深入，外源基因的插入可能通过代谢网络间接干扰苯丙烷途径，导致籽实中芥子碱含量发生非预期波动。然而，在该标准出台前，芥子碱的测定方法多散见于药材质量标准或饲料研究文献中，提取溶剂、流动相、检测波长等条件各异，不同实验室结果缺乏可比性，难以直接作为转基因安全评价出具的正式、互认的检测数据。这种指标重要性与方法混乱性的矛盾，迫切需要

通过标准化手段加以解决。

液相色谱法（HPLC）凭借其高分离度、高灵敏度和良好的定量准确性，成为测定芥子碱最为成熟且理想的技术路线。芥子碱分子具有特征性的紫外吸收（约 326 nm），采用反相 C18 柱和紫外检测器即可实现与基质中其他酚类物质的良好分离，且线性范围宽、回收率高，完全满足“转基因与对照”差异判定的精度要求。参照 NY/T 1103 系列转基因植物食用安全检测标准的技术框架，建立油菜中芥子碱的液相色谱测定方法，不仅统一了样品前处理、色谱条件和定量判定要求，确保了实验室间数据的可比性和复现性，更将转基因油菜的安全评价从传统的“硫苷+芥酸”二元体系，拓展为涵盖特征次生代谢物的更完整组分图谱。该标准的制定，实质上是转基因食用作物安全评价向精细化、系统化发展的必然产物，为实质等同判断提供了坚实的方法学支撑。

（三）起草单位情况

项目牵头申报单位中国农业科学院北京畜牧兽医研究所隶属于农业农村部，是国家设立的中央级畜牧科研机构，在全国畜牧兽医类农业科研机构中综合实力排名第一，是畜禽营养与饲养全国重点实验室和农业农村部动物营养与饲料学（综合性）重点实验室等依托单位，在全国第四轮学科评估中，牵头组织参评的畜牧学评估结果为 A+。现拥有畜禽营养与饲养全国重点实验室、畜禽生物育种全国重点实验室等多个国家级及省部级一流研究平台。建有国际一流的科研设施共享平台，覆盖细胞生物学、基因组学、蛋白质组学、微生物组学、代谢组学及营养元素分析等六大研究方向。仪器设备先进、配套齐全，配备有 QTRAP 6500 质谱仪、LC-QQQ 串联三重四极杆质谱仪、GC-MS 气相色谱质谱联用仪、NanoLC-TripleTOF 6600 高分辨质谱仪、ICPMS 电感耦合等离子体质谱仪等先进分析设备，可精准解析代谢物动态变化；配备有 Miseq 高通量测序仪、透射电子显微镜、超高分辨显微镜、激光共聚焦显微镜等，支持单细胞测序、亚细胞结构观测及分子互作研究；配套有多功能酶标仪、荧光定量 PCR 仪、Western blot 系统、荧光倒置显微镜、细胞培养箱、全自动生化分析仪等分子生物学设备，满足基因表达、蛋白定量及细胞培养等试验需求。动物试验基地方面，建有北京昌平马池口基地、昌平南口基地、天津武清基地等试验基地，拥有人工气候实验舱和环境排放实验舱，配备有封闭式自繁猪场、标准化饲料配制车间、屠宰取样室及

-80℃超低温冰箱等，可实现从饲料配制、饲养管理到样品采集的全流程标准化操作。长期牵头组织畜牧业国家重大计划项目，领衔国家农业大数据“饲料营养价值评定和畜禽营养需要”长期监测项目，组织全国 31 个省 62 个试验站 226 个监测点开展测定工作；构建首个畜牧高质量数据集汇交共享服务 HERD 平台和连续 35 年向全国发布《中国饲料成分及营养价值表》。建所 60 多年来，先后承担各类项目课题近千项，累计取得获奖成果 130 余项，包括国家技术发明和科技进步二等奖的成果 21 项，省部级奖励 60 余项。获审定品种 24 个，登记著作权软件 90 余个，国家专利授权 120 余项，其中发明专利 84 项，发表学术论文 3600 余篇，出版著作近 300 部。

农业农村部科技发展中心为农业农村部直属事业单位，加挂农业农村部转基因生物安全监管中心牌子，是国家农业转基因生物安全评价与检定中心的依托单位，是我国专门从事转基因生物检测鉴定、监测监控和安全评价的全国性技术机构，主要职能包括：参与国家有关农业转基因生物安全管理法律法规的制定和组织实施；负责农业转基因生物安全评价和标识申请的受理与审查，参与评审的组织工作；负责农业转基因生物安全评价、检定与监控技术标准的制修订；负责全国农业转基因生物安全标准化技术委员会秘书处工作；负责农业转基因生物安全技术检测体系建设与管理的组织实施；组织开展农业转基因生物产品成分、食用安全、环境安全检测鉴定与监测监控；负责承担国际《生物安全议定书》规定的农业转基因生物安全管理信息交流与交换；组织开展农业转基因生物安全评价、检定与监控技术的国际合作与交流；负责农业转基因生物安全管理技术培训与公众宣传工作；承担农业农村部交办的其他工作。多年来，已主持和参与 260 余项转基因检测标准的研制。依托于农业农村部科技发展中心建立的农业农村部农业生物技术产品质量安全检验检测中心（以下简称“检测中心”），拥有实验大楼 13613.2 平方米，试验基地 75 亩，动物房 440 平方米，液质联用色谱仪、气相色谱仪，荧光定量 PCR 仪、数字 PCR 仪等仪器设备 610 台套。检测中心按照与国际接轨和国内领先的标准，建设有各类农业转基因生物成分、环境和食用安全检测及生物材料保存设施。农业农村部科技发展中心具备进行转基因检测标准研制的设备设施和技术能力；且与各转基因生物研发机构和安全检测技术机构具有广泛的业务联系，具备统筹实验材料，组织循环验证、协调项目实施的条件和技术能力。

中国疾病预防控制中心营养与健康所是中国疾病预防控制中心领导下的国家级营养、食品与健康专业研究、技术指导与咨询机构，是全国营养与健康业务技术指导中心。承担全国营养与健康监测、食物成分数据库、人群营养参考摄入量及膳食营养指导、人群营养改善及干预、营养标准、营养与健康代谢研究等工作。营养与健康所设有营养标准委员会、国家卫生计生委微量元素重点实验室、国家碘缺乏病参照实验室，获得中国国家认证认可监督管理委员会食品检验机构、计量认证资质认定和 CNAS 认证，同时也是是特膳、婴配、保健食品、特医食品标准及检验方法制修订工作的承担单位。营养与健康所近年主持多项转基因产品食用安全评价研究课题，包括转基因产品食用安全性评价模型（“973”，2007-2012 年）、转基因生物的食用和饲用安全性评价（转基因生物新品种培育科技重大专项重大项目（2008-2010，2011-2012，2013、2014-2015，2016-2020），并主持和参与多项转基因生物及其产品食用安全检测方法标准的研制，具备实施本项目的技术条件和能力。

（四）起草过程

1. 前期准备

2025 年 9 月-10 月，在编写标准之前，首先收集分析国内外有关油菜芥子碱检测的试验方法，根据转基因生物食用安全评价要求，确定试验设计原则、检测方法的各项技术指标和具体分析方法，确定试验的详细技术路线、各项技术指标的详细技术方法。

2. 方法建立

2025 年 11 月-2026 年 6 月，根据确定的详细技术路线，开展试验，并验证各项技术指标技术方法的适用性、科学性和可靠性。解决标准中各项技术参数的具体方法，并对实验设计中存在的问题进行修正并验证，最终建立标准的方法技术体系。

3. 文本起草及组织方法验证

2026 年 7 月-9 月，标准文本的起草及编制说明由标准起草组负责编写，标准起草组成员为陈亮、张连华、张宏福、孟庆石、张馨元、郝月、焦悦、卓勤。标准的编写规则及表述按照 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 5009.295-2023《化学分析方法验证通则》、GB/T

27417-2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》、GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》、GB/T 5009.1-2003《食品卫生检验方法 理化部分 总则》的要求，整理汇总试验数据，编写《转基因生物及其产品食用安全检测 油菜中芥子碱的测定 液相色谱法》标准征求意见稿。同时，邀请经 3 家检测单位对标准中制定的技术指标等内容进行验证。

4. 定向征求意见

2026 年 10 月，以信函或邮件形式将标准文本征求意见稿和编制说明征求意见稿发往该领域相关专家征求意见，专家对标准的技术内容、文本和编制说明提出修改建议和意见。发送征求意见稿单位 19 家，共 21 位专家，收到回函 21 份，收到建议或意见 74 条，其中采纳 69 条，部分采纳 1 条，不采纳 4 条。根据反馈意见，采纳合理建议对标准文本进行修改。

5. 标准预审

2026 年 10 月 21 日，全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会组织专家对《转基因生物及其产品食用安全检测 油菜中芥子碱的测定 液相色谱法》标准进行了认真审查。专家组由万靓军、谢家建、崔金杰、吴刚、王渭霞、路兴波、李飞武、温洪涛、王永、陈笑芸、刘文娟、贺晓云和姜大刚组成。在听取制定专家汇报的基础上，专家组审查了标准文本及编制说明。专家组一致同意审查通过，建议标准起草单位按照修改意见进一步修改后形成公开征求意见稿。

二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则

本文件的制定过程严格遵循国家有关方针、政策、法规和规章，遵循以下几项原则：

1. 科学性

在检测方法的选择、技术指标的确定、结果分析判断等方面首先确保科学，在标准适用范围规定的界限内力求完整，在标准文本编制过程中力求做到技术内容的表述科学准确、清晰易懂。

2. 先进性

对标准中有关内容的确定，严格遵守我国农业转基因生物安全管理法律法规

及相关规章制度的要求,力求反映本研究领域的国内外先进技术及标准的发展现状与趋势,既体现目前稳定可靠的最新研究成果,又能为未来技术发展提供框架,使标准中所规定的技术内容有利于提高检测结果的准确性和可重复性。

3.适用性

在标准方法操作程序的设计、试剂和仪器设备需求方面,始终把经济实用和可操作性作为重要的依据,确保标准的内容便于实施,并且易于被其他标准和文件所引用。

4.一致性

每个文件内或分为部分的文件各部分之间,其结构以及要素的表述保持一致。标准文本的表述、逻辑和结构需保持高度统一,避免自相矛盾或歧义。

5.协调性

起草的文件与现行有效的文件之间相互协调,避免重复和不必要的差异。标准内容与现有标准体系(国际、国家、行业)兼容,避免冲突或重复。

6.易用性

文件内容的表述便于直接应用,并且易于被其他文件引用或剪裁使用。标准文本需便于用户理解、实施和引用,避免晦涩或冗余。

(二) 标准编制依据

标准编制严格按照 GB/T1.1-2020《标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则》和 GB/T20001.4-2015《标准编写规则第4部分:试验方法标准》的要求规则起草。参考相关国家及行业标准、查阅参考文献,进行大量试验和反复比较,最终确定样品前处理方法、液相条件、方法学验证等。试验过程中产生的所有数据参照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的相关要求进行统计处理。本文中所提到的芥子碱含量均以测得的芥子碱硫氰酸盐含量计。

(三) 标准的主要技术内容

1 液相条件的确定

实验选用 C18 色谱柱对油菜籽中芥子碱进行分离。采用 C18 反相色谱柱是由于芥子碱分子同时具有一定的疏水性和极性,在反相色谱体系中能够与 C18

固定相产生适度的疏水相互作用，从而获得良好的保留和峰形。同时，C18 柱对油菜样品中不同极性和疏水性的共存组分具有较好的分离能力，可有效降低基质干扰，提高芥子碱定量分析的选择性、准确性和重复性。为确保芥子碱在色谱柱上得到有效分离，本试验采用梯度洗脱方式，并对流动相的组成和流速等条件进行优化。

采用紫外-可见分光光度计对芥子碱标准溶液在 200~400 nm 范围内进行光谱扫描，结果见表 1。结果表明，芥子碱在 326 nm 附近具有明显的特征吸收峰，其中 326 nm 处吸光度达到最大值。选择最大吸收波长作为液相色谱检测波长，可以获得较高的检测灵敏度和较好的信噪比，因此本试验选择 326 nm 作为芥子碱的检测波长。

表 1 芥子碱标准溶液吸光度

波长 / nm	吸光度 A
280	0.218
290	0.284
300	0.391
310	0.526
315	0.634
320	0.748
322	0.801
324	0.846
326	0.872
328	0.861
330	0.831
332	0.782
335	0.701
340	0.586
350	0.402
360	0.285
380	0.126
400	0.058

实验分别比较了 0.5%乙酸水、水溶液两种不同的溶液和 20%乙腈水溶液组成的流动相体系对油菜籽中芥子碱的分离效果及响应值的影响。结果表明，两种流动相组成体系均能将两种化合物分离，含有乙酸的水溶液的流动相体系分离度和响应值更高，实验选用 0.5%乙酸水溶液和 20%乙腈水溶液体系，芥子碱既能良好的分离，也有较高的灵敏度和重复性。优化后的色谱条件见表 2。

表 2 梯度洗脱条件

时间, min	A, %	B, %
0.00	80.00	20.00
1.00	80.00	20.00
8.00	0.00	100.00
10.00	0.00	100.00
10.10	80.00	20.00
15.00	80.00	20.00

参考优化后的流动相, 确定液相条件: 色谱柱: C18, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm , 或性能相当者; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: A 相为 0.5%乙酸, B 相为 20%乙腈; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL 。

2 样品制备和提取条件的优化

2.1 样品来源与制备

本标准所采用的油菜籽均来源于市场。将其准确称取粉碎、混匀后的油菜籽试样 1.00 g, 加入 20 mL 70%甲醇水溶液, 超声提取 30 min, 取上清液, 经 0.42 μm 微孔滤膜过滤后供高效液相色谱分析。以下试验均以油菜籽中芥子碱硫氰酸盐含量为考察指标, 分别考察了提取试剂、提取时间、提取方式等因素对提取率的影响, 确立最优提取条件。

2.2 提取试剂的选择

芥子碱 (Sinapine) 是油菜籽中具有代表性的酚类化合物之一, 主要以芥子碱等形式存在于十字花科植物种子中。芥子碱分子结构中含有酚羟基、甲氧基、酯基及季铵盐结构, 具有一定的极性和亲水性。其分子中的季铵盐结构使其易于与极性溶剂发生相互作用, 因此, 采用具有一定极性的提取溶剂有利于芥子碱从油菜籽样品中溶出。同时油菜籽的基质组成较为复杂, 含有大量脂类、蛋白质、碳水化合物及其他酚类化合物。提取过程中, 不同溶剂对芥子碱及样品中其他组分的溶解能力存在差异, 可能影响芥子碱的提取效率、提取液的基质组成及后续色谱分析的准确性。

因此, 在选择提取试剂时, 不仅需要考虑目标化合物的溶解特性, 还应兼顾

油菜籽样品的基质特点以及提取溶剂与高效液相色谱检测体系的兼容性。综合考虑以上因素，本试验分别采用了 70%甲醇水、70%乙腈水、70%乙醇水和水溶液进行上机测定，由图 1（a）可知，在 70 %甲醇溶液作用下油菜籽中芥子碱提取含量最大。同时，本试验还考察了甲醇水溶液的浓度对提取效果的影响。随着甲醇溶液中甲醇比例的增大，试样提取离心后的上清液会比超纯水提取后的上清液更清澈，但由图 1（b）结果可知 70%甲醇水溶液作用下油菜籽中芥子碱提取含量最大。

综上所述，我们选择用 70%甲醇溶液的提取方式。

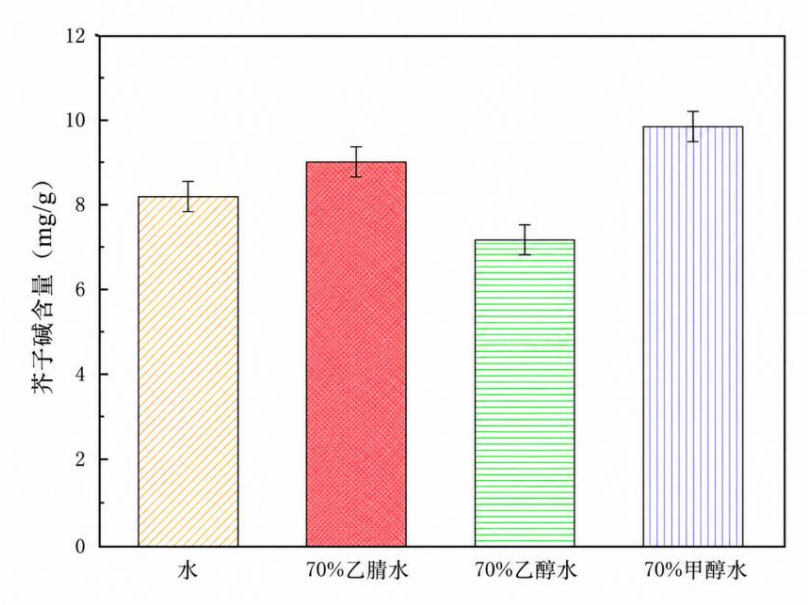


图 1（a）提取试剂对提取效果的影响

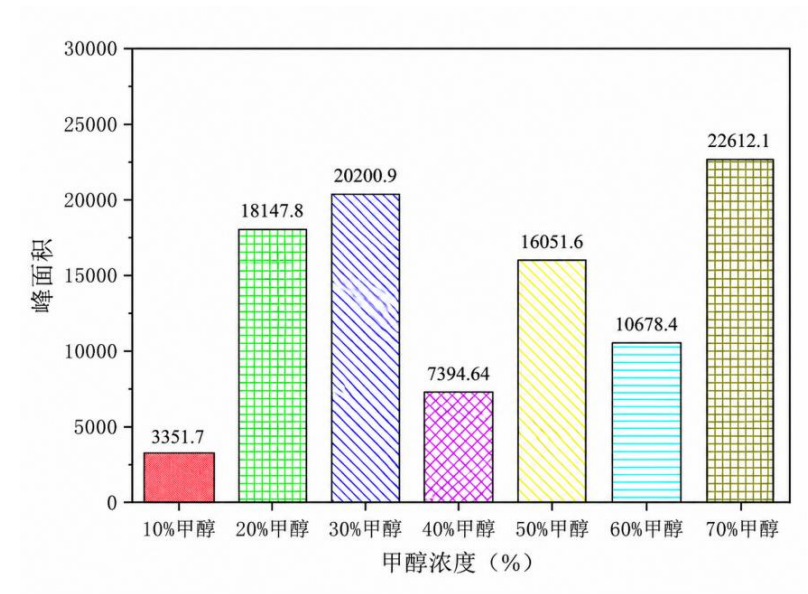


图 1（b） 甲醇溶液浓度对提取效果的影响

2.3 提取方式的选择

选用油菜籽作为试验样品，分别考察了涡旋振荡、振荡、超声 3 种提取方式对提取效果的影响。由图 2 可知，油菜籽在 3 种提取方式下的芥子碱硫氰酸盐含量分别是 5.3 mg/g、4.2 mg/g 和 9.8 mg/g。因此，选择超声提取方式。

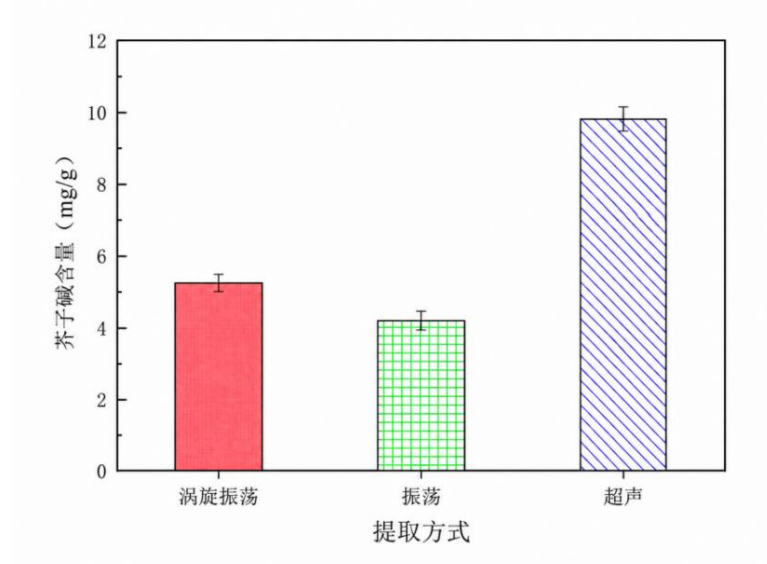


图 2 提取方式对提取效果的影响

2.4 提取时间的选择

选用油菜籽作为试验样品，分别考察了不同提取时间对提取效果的影响。由图 3 可知，当提取时间为 30 min 时，芥子碱含量达到最大值；继续延长提取时间，由于提取效果已达饱和，芥子碱含量趋于平缓。所以选择提取时间为 30 min。

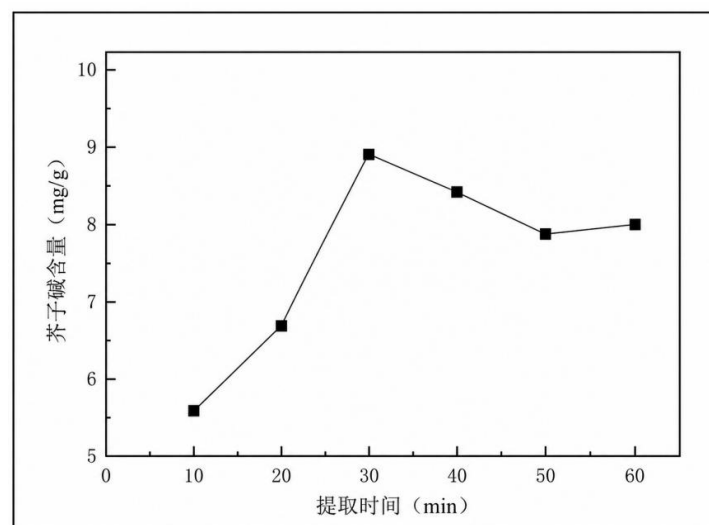


图 3 提取时间对提取效果的影响

2.5 试验前处理方法的确定

油菜籽试样经粉碎、混匀后,准确称取 1.00 g,加入 20 mL 70%甲醇水溶液,超声提取 30 min。取上清液,经 0.42 μm 微孔滤膜过滤后,采用高效液相色谱法分析。

2.6 样品基质效应

虽然前处理后进样瓶的上样溶液清澈,但不同样品组织产生的基质效应有差异,也会对目标分析物的分析过程产生干扰。这种干扰可能源自基质与目标分析物之间的相互作用,也可能源自基质对分析仪器响应的影响。因此,为准确定量目标物,需评估基质对目标物测定的影响。

按本试验方法处理 1.0 g 油菜籽样品,用上述试样溶液配制成浓度分别为 5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 基质匹配标准工作溶液并上机测定。用基质匹配标准溶液各点对应的峰面积与油菜样品本底值峰面积的差值为纵坐标,基质匹配标准工作溶液的浓度为横坐标,绘制基质匹配标准工作曲线,计算线性相关系数和斜率 (S_m)。同理,配制相同浓度点的纯溶剂标准工作溶液并上机测定,计算其线性相关系数和斜率 (S_s)。按如下公式 (1) 计算基质效应:

$$\text{ME} = (S_m/S_s - 1) \times 100\% \quad (1)$$

若 $\text{ME} > 0$, 表示为基质增强效应; 若 $\text{ME} < 0$, 表示为基质抑制效应。

当 $0 \leq |\text{ME}| \leq 20\%$ 时,说明基质对信号干扰较低,可忽略不计; 当 $20 < |\text{ME}| < 50\%$ 时,说明为中等强度基质干扰; 当 $|\text{ME}| \geq 50\%$ 时,说明为强基质干扰。

由表 3 中的数据可知,油菜籽中芥子碱的基质效应 ME 值小于 20%,说明油菜籽中芥子碱的基质效应较弱,可忽略不计。

表 3 基质效应

基质	标准曲线方程	相关系数 R^2	ME
纯溶剂	$y=51.852x-79.761$	0.9912	/
油菜籽	$y=51.502x-67.499$	0.9972	0.67%

3 方法学评价

3.1 标准曲线

本试验准确移取适量芥子碱硫氰酸盐标准储备溶液（1 mg/mL），用 70%配制成 5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL 系列标准工作溶液，现用现配。以目标物峰面积对其质量浓度绘制标准曲线，计算线性方程及相关系数。由结果可知，在 5 μg/mL~100 μg/mL 范围内， $y=51.852x-79.761$ ($R^2=0.9912$)，线性良好。说明选择 5 μg/mL~100 μg/mL 浓度范围，绘制标准工作曲线，是合理的。不同试验阶段的标准工作曲线线性的结果见下表。

表 4 标准曲线线性回归方程及相关系数

化合物	线性范围（μg/mL）	线性方程	相关系数
芥子碱硫氰酸盐	5~100	$y=51.852x-79.761$	0.9912

3.2 方法的灵敏度

因受样品基质的影响，又未找到芥子碱阴性的油菜籽样品，从而无法获得在检出限或接近检出限的样品数据，所以采用 GB/T 27417-2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》中校准方程的适用范围评估方法检出限（LOD）和定量限（LOQ）。即测定一组标准曲线溶液，并重复测定油菜籽样品 20 次，代入下列公式（2）和公式（3）计算，得到油菜中的芥子碱测定的 LOD 为 16.52 μg/g，LOQ 为 55.05 μg/g。因此，确定本试验的 X_{LOD} 为 20 μg/g， X_{LOQ} 为 60 μg/g。

$$X_{LOD} = 3S/b \quad (2)$$

$$X_{LOQ} = 10S/b \quad (3)$$

式中：S—油菜样品重复测定 20 次的校准标准误差；b—标准曲线线性回归方程的斜率。

3.3 方法的精密度

按试验前处理方法提取油菜籽中芥子碱并用高效液相色谱法测定其峰面积和浓度，计算芥子碱含量和批内相对标准偏差（RSD），结果见表 5。按同样的方式进行 6 个批次试验，计算批间相对标准偏差（RSD），结果见表 6。由表 5 和表 6 可知，相对标准偏差符合 GB/T27404 的要求，说明试验具有很好的重复性，精密度高。

表 5 批内精密度 (n=6)

基质	实测值 (mg/g)						平均值 (mg/g)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
油菜籽 1	7.66	7.49	7.51	7.78	7.50	7.25	7.53	2.37
油菜籽 2	7.86	7.33	7.54	7.03	7.28	7.25	7.38	3.89
油菜籽 3	9.13	9.15	9.24	9.19	9.23	9.25	9.20	0.52

表 6 批间精密度 (n=6)

基质	实测值 (mg/g)						平均值 (mg/g)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
油菜籽 4	8.30	8.08	8.14	8.12	8.79	8.77	8.16	3.92
油菜籽 5	7.43	7.48	7.68	7.56	7.60	7.65	7.54	1.26
油菜籽 6	8.99	9.23	9.56	9.43	9.32	9.89	9.30	3.26

3.4 方法的准确度

准确称取做批内精密度和批间精密度的油菜籽样品,因为批内精密度和批间精密度的相对标准偏差 RSD 低于 GB/T 27404 附录 F (5.3%) 精密度的要求,所以批内精密度和批间精密度(表 5、6)中的平均值可以作为这 3 种油菜样品中芥子碱的含量。因为芥子碱不是禁用物质,没有测定低限和最高残留限量(MRL)的规定,所以加标回收试验的三个浓度水平满足实际需求即可。综合油菜样品中芥子碱的含量和本试验标准曲线线性范围,在 3 种样品中分别添加低、中、高 3 个浓度水平标准溶液,使添加量约为本底值的 25%、50%、100%,每一浓度 6 次平行,计算方法的回收率。根据下列公式(4)计算回收率。由表 7 可知,3 种样品的平均回收率均在 86%~14%范围内,符合 GB/T 27404 要求,说明试验准确度高。油菜及其添加样品中芥子碱测定液相色谱图如图所示。

$$\text{回收率} = (\text{A}-\text{B}) / \text{C} \times 100\% \quad (4)$$

式中: A—加标后样品中芥子碱含量的数值 (mg/g);

B—样品中芥子碱含量的数值 (mg/g);

C—芥子碱标准品添加量的数值 (mg/g)。

表 7 准确度 (n=6)

样品名称	本底值 (mg/g)	添加量 (mg/g)	回收率 (%)						RSD (%)
油菜籽 1	7.53	2	98.8	102.1	99.6	97.3	102.8	98.6	2.15
		4	95	98	96.6	92	99.8	99	3.01
		7	95.82	95.5	99.5	96	103.2	96	3.16
油菜籽 4	8.16	2	87.5	87	88.8	80.9	87.6	86.7	3.2
		5	97.4	99.1	95.2	100.2	103.3	97.7	2.8
		8	109	103.2	103.7	99	98.87	104.9	3.58
油菜籽 5	7.54	2	96.3	101.3	98.2	100	99.3	97.6	1.82
		4	89.4	89	87.2	88.6	91.2	90	1.58
		7	100.6	103.8	98.2	100.6	99	101.5	1.94

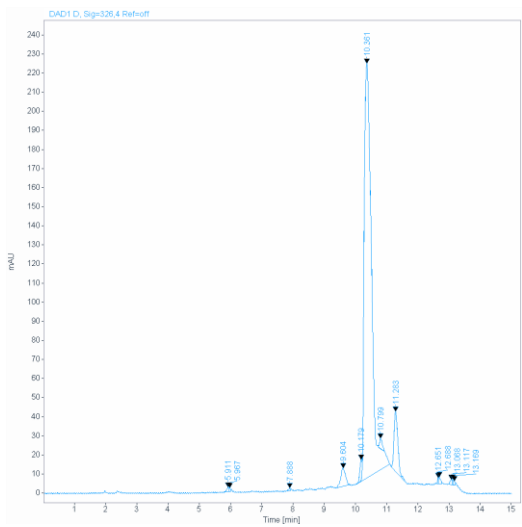


图 4-1 油菜样品 1 中芥子碱测定液相色谱图

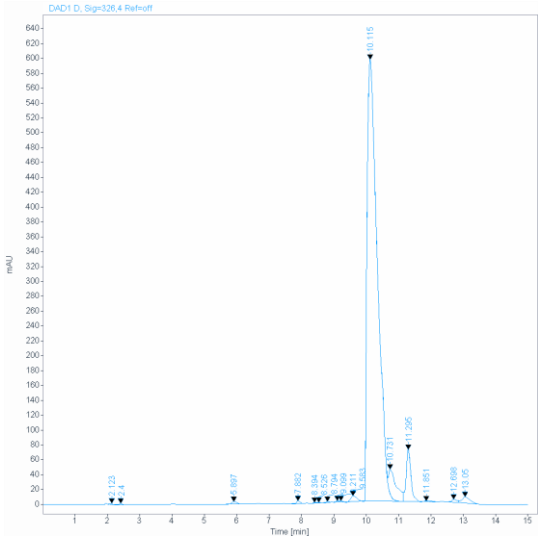


图 4-2 添加量为 2 mg 油菜样品 1 中芥子碱测定液相色谱图

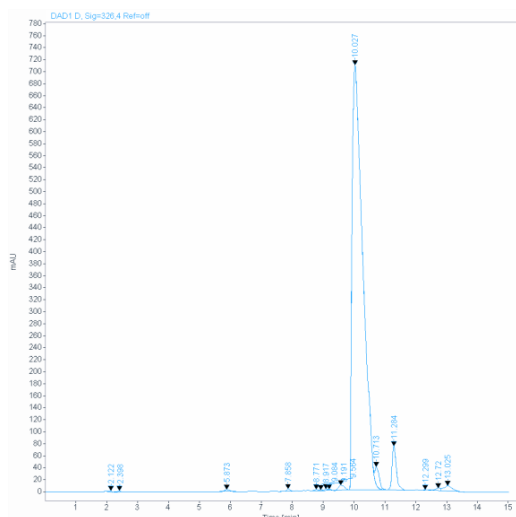


图 4-3 添加量为 4 mg 油菜样品 1 中芥子碱测定液相色谱图

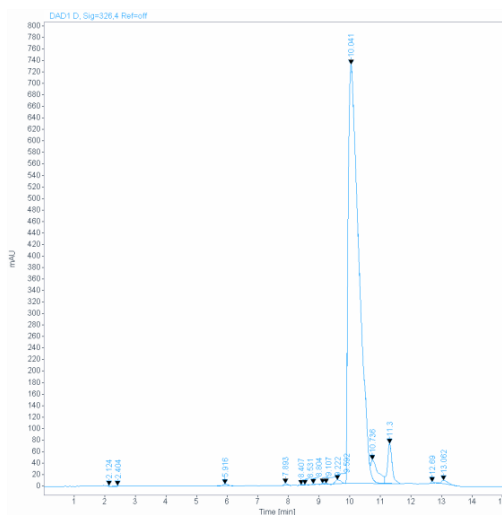


图 4-4 添加量为 7 mg 油菜样品 1 中芥子碱测定液相色谱图

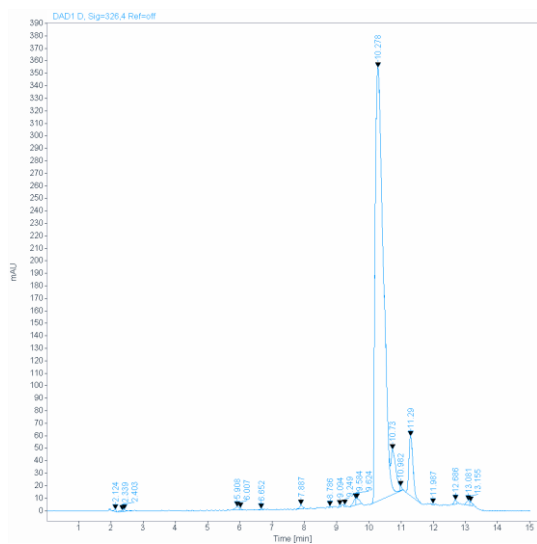


图 5-1 油菜样品 4 中芥子碱测定液相色谱图

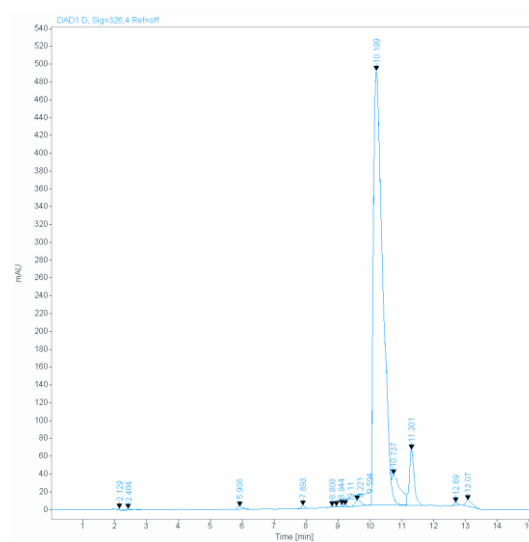


图 5-2 添加量为 2 mg 油菜样品 4 中芥子碱测定液相色谱图

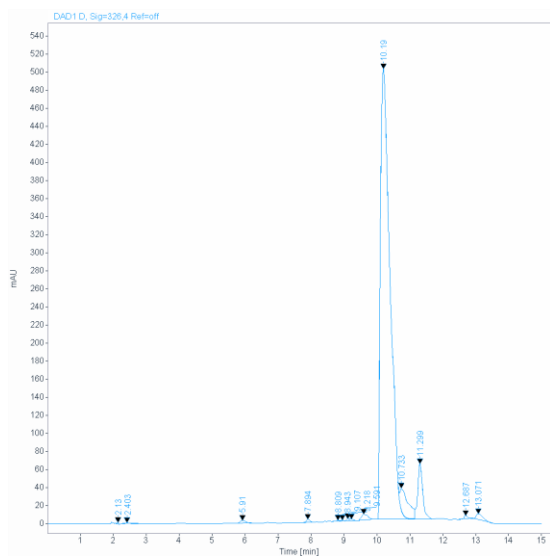


图 5-3 添加量为 5 mg 油菜样品 4 中芥子碱测定液相色谱图

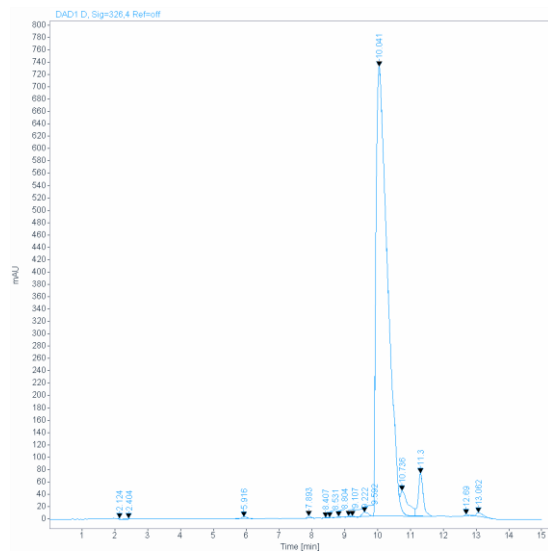


图 5-4 添加量为 8 mg 油菜样品 4 中芥子碱测定液相色谱图

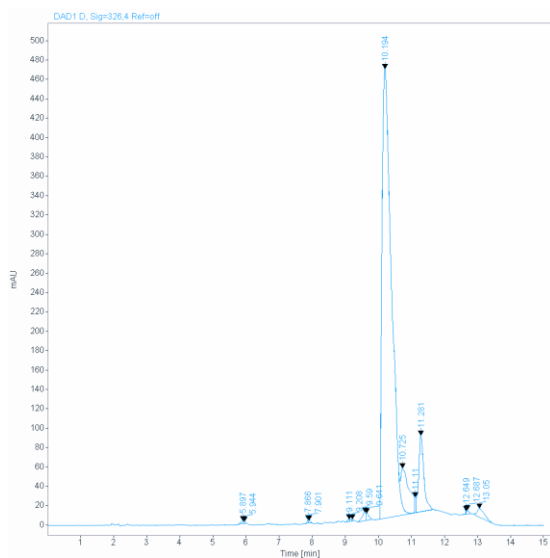


图 6-1 油菜样品 5 中芥子碱测定液相色谱图

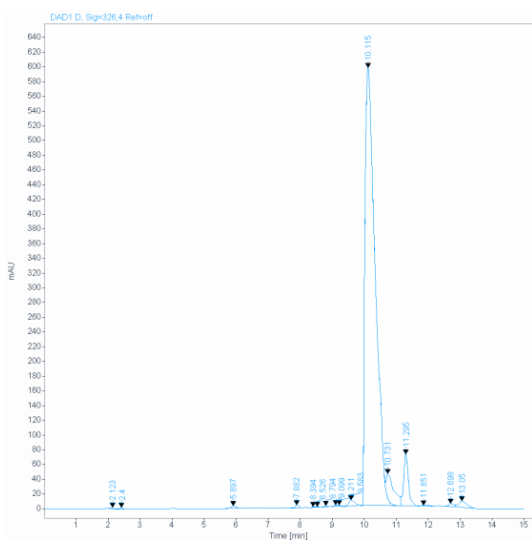


图 6-2 添加量为 2 mg 油菜样品 5 中芥子碱测定液相色谱图

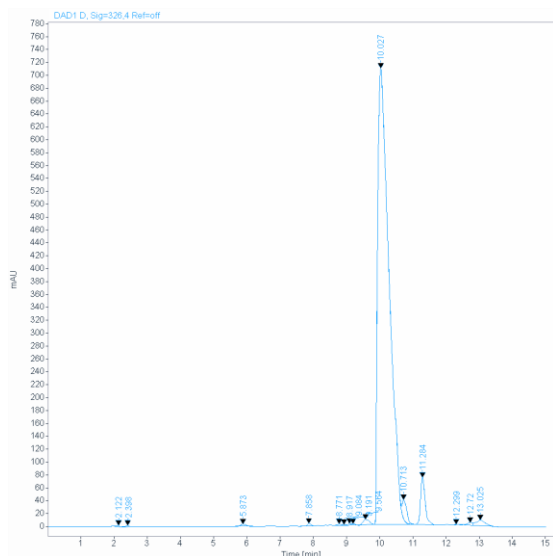


图 6-3 添加量为 4 mg 油菜样品 5 中芥子碱测定液相色谱图

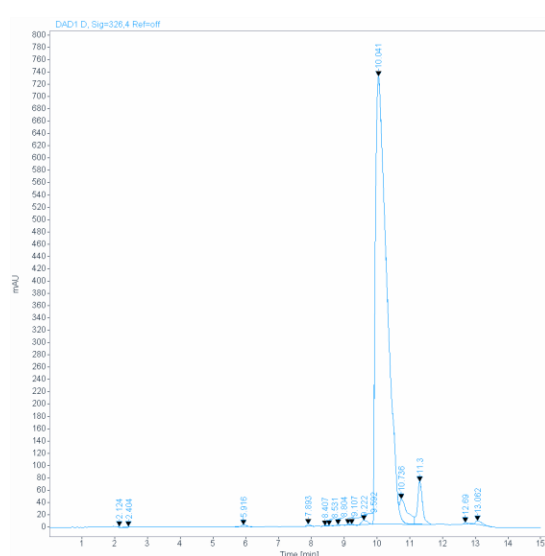


图 6-4 添加量为 7 mg 油菜样品 5 中芥子碱测定液相色谱图

3.5 实际样品测定

按所建立的方法,对转基因油菜籽和对应的原型油菜籽样本中芥子碱的含量进行测定。结果显示,转 Bt 基因抗虫油菜籽样品中芥子碱含量为 7.09 mg/g,原型油菜籽样品中芥子碱含量为 7.16 mg/g。

三、试验验证的分析、综述报告,技术经济论证,预期的经济效益、社会效益和生态效益

(一) 实验室间方法学验证及数据

将统一制备的油菜籽样品,同时送至新疆维吾尔自治区畜牧科学院畜牧业质量标准研究所(实验室 1)、天津市农业科学院畜牧兽医研究所(实验室 2)、山东省农业科学院家禽研究所(实验室 3)进行方法学验证,分别对标准曲线的线性相关系数、精密度、准确度进行验证。

表 8 线性回归方程及相关系数

验证单位	线性范围 (μg/mL)	线性方程	相关系数
实验室 1	5~100	$y = 19.845x + 44.208$	0.9970
实验室 2	5~100	$y = 18.718x + 13.72$	0.9996
实验室 3	5~100	$y = 26.819x + 47.53$	0.9997

表 9 精密度 (n=6)

样品编号	批内 RSD (%)			样品编号	批间 RSD (%)		
	实验室 1	实验室 2	实验室 3		实验室 1	实验室 2	实验室 3
油菜籽 1	4.16	2.01	1.76	油菜籽 4	4.02	3.57	1.62
油菜籽 2	2.29	3.81	2.63	油菜籽 5	3.45	3.34	1.92
油菜籽 3	1.91	2.68	2.23	油菜籽 6	3.36	1.85	1.42

表 10 准确度 (n=6)

样品编号	实验室 1		实验室 2		实验室 3	
	添加量 (mg/g)	平均回收率 (%)	添加量 (mg/g)	平均回收率 (%)	添加量 (mg/g)	平均回收率 (%)
油菜籽 1	2	100.05±0.91	2	100.21±0.91	2	100.03±0.83
	5	100.00±0.87	5	100.01±0.89	5	100.08±0.86
	8	100.13±0.92	8	100.13±0.91	8	100.01±0.76
油菜籽 3	2	100.12±0.94	2	100.12±0.94	2	99.88±0.82
	5	100.20±0.92	5	104.21±0.93	5	100.04±0.73
	8	100.10±0.97	8	100.11±0.96	8	99.98±0.83
油菜籽 6	3	100.47±0.30	3	101.22±0.30	3	100.52±0.27
	6	99.55±0.54	6	100.65±0.52	6	99.60±0.57
	13	103.76±0.16	13	104.01±0.18	13	103.90±0.14

(二) 主要试验结论

本试验是针对液相色谱检测油菜样品中芥子碱含量进行的方法学验证。对以下七个方面进行了试验分析：包括样品前处理条件、仪器分析条件、标准曲线的相关系数、方法检出限和定量限、方法精密度、方法准确度以及实验室间方法学验证。通过验证以证明所采用的试验方法及试验条件适合油菜样品中芥子碱的检测。

(三) 预期经济效益、社会效益、生态效益

本文件的内容主要针对生物育种产品中转基因生物的食用安全评价, 标准的

制定和实施是保障我国转基因生物技术产业健康发展的重要技术支撑，是一项社会公益性事业。农业农村部科技发展中心组织制定并发布实施的一批转基因植物及其产品食用安全检测标准，为我国的转基因生物技术安全健康发展起到了积极的促进作用，为我国转基因作物安全评价提供了科学手段和标准技术方法。标准的实施将会产生良好的社会效益，由此促进生物技术产业的发展，保障食品安全，将间接产生巨大的经济效益。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

目前，尚未检索到国际、国内同类标准。

五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因

本标准未检索到相关国际标准。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

在标准的制订过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章，遵循政策性和协调同一性的原则，与现行相关法律、法规和强制性标准没有冲突。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准制定过程中，标准编制小组查阅了国内外相关文献资料，向高校、检测机构、企业等单位有关专家广泛征求意见，并将按照征求的意见、预审和终审专家意见进行修改、完善。本标准制定实验过程、征求意见、审定会上均未出现重大意见分歧。

八、涉及专利的有关说明

本文件不涉及特定的专利。

九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

本标准作为成分检验方法标准，并不涉及人身健康和生命财产安全、国家安全、生态环境安全以及满足经济社会管理基本需要等有关强制性地方标准或强制性条文等的要求，建议将其作为推荐性标准颁布实施。其实施旨在将转基因植物及其产品食用安全的检测工作推向更加科学、规范的方向发展，为政府管理部门在食品安全监管、营养评估及产业政策制定等方面提供更具公信力与一致性的科学依据。为确保标准得以快速有效实施，现提出如下宣传贯彻的建议。

（一）加强宣传推广

在行业媒体、专业自媒体及相关公众号平台发布标准内容，并借助有关行政管理与技术推广机构开展权威解读与系统宣贯。同时，积极利用各类行业会议、专题研讨会等场合，面向行业内外开展多渠道、多层次的宣传推广工作。

（二）组织培训与贯彻

面向高校、科研院所、检测机构和企业等相关单位人员组织开展标准专题培训。通过标准解读、实操培训以及新媒体平台信息推送等多种形式，提升各方对标准的理解深度与执行能力。

（三）实施安排

建议本标准自正式批准发布至实施日期之间的过渡期定为 6 个月。

十、其他应当说明的事项

无。