

# 高效液相色谱法测定玉米中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 含量

LC-289

**摘要：** 本文参照食品安全国家标准《GB 5009.111-2016 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定 免疫亲和柱层析净化高效液相色谱法》，利用 Essentia LC-16 系统测定了玉米中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 含量。仪器精密度良好，0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品溶液平行测定 6 次，目标峰保留时间和峰面积的 RSD 值分别为 0.15% 和 0.62%；外标法定量，在 0.1-5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内，校准曲线线性相关系数为 0.9999；仪器检出限为 7.87  $\text{ng}/\text{mL}$ ；加标样品的平均回收率为 99.97%。

**关键词：** Essentia LC-16 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON)

脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 因其能引发动物呕吐的特性，故被定名为呕吐毒素。

在粮食谷物中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 导致的污染情况非常普遍。被脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 污染的粮谷在被食用后，是导致胃癌、食管癌等恶性肿

瘤的重要诱因。

本文参照《GB 5009.111-2016 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定 免疫亲和柱层析净化高效液相色谱法》，利用 Essentia LC-16 系统测定了玉米中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 含量。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 Essentia LC-16 高效液相色谱系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-20Alite

脱气机：DGU-20A<sub>5R</sub>

输液泵：LC-16 × 2

自动进样器：SIL-16

柱温箱：CTO-16L

检测器：SPD-16

色谱工作站：LabSolutions Essentia V.5.98

### 1.2 分析条件

#### 1.2.1 液相色谱条件

色谱柱：WondaSil™ C18, 150 mm × 4.6 mm(W), 5 $\mu\text{m}$

流动相：A- 甲醇；B- 水

流速：1.0 mL/min

柱温：35 °C

进样体积：50  $\mu\text{L}$

波长：218 nm

洗脱方式：等度洗脱，A 相浓度为 20%，B 相浓度为 80%

### 1.3 样品前处理

参照《GB 5009.111-2016 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定 免疫亲和柱层析净化高效液相色谱法》。

#### 1.3.1 试样提取

称取 25 g (精确到 0.1 g) 磨碎的玉米试样 (过 1 mm 孔径筛网) 于 100 mL 具塞三角瓶中，加入 5 g 聚乙二醇 (相对分子质量 8000)，加水 100 mL，混匀，超声提取 20 min。以玻璃纤维滤纸过滤至滤液澄清，收集滤液于干净的容器中，10000 r/min 离心 5 min。

### 1.3.2 净化

事先将低温下保存的免疫亲和柱恢复至室温，待柱内原有液体流尽后，取上述滤液 2.0 mL 注入免疫亲和柱中。调节下滴速度，控制样液以每秒 1 滴的速度通过免疫亲和柱，直至空气进入亲和柱中。用 5 mL PBS 缓冲盐溶液和 5 mL 水先后淋洗免疫亲和柱，流速约为每秒 1 滴，直至空气进入柱中，弃去全部流出液，抽干小柱。

### 1.3.3 洗脱

准确加入 2 mL 甲醇洗脱亲和柱，控制每秒 1 滴的下滴速度，收集全部洗脱液于试管中，在 45 °C 氮吹洗脱液至近干，加入 1 mL 流动相，涡旋 30 s 溶解残留物，溶液用 0.45 μm 滤膜过滤，收集滤液于进样瓶中，等待进样。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 标准溶液 (0.5 μg/mL) 谱图

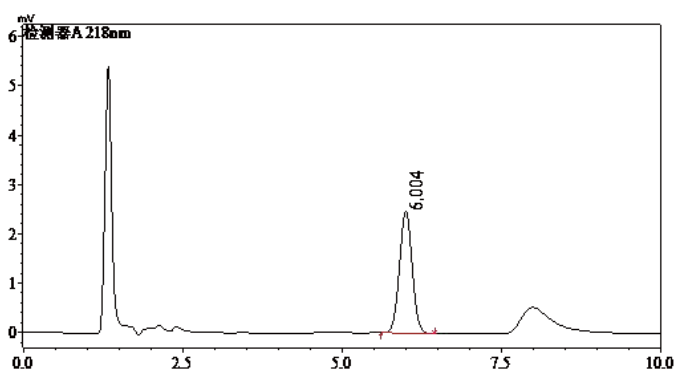


图 1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 标准溶液 (0.5 μg/mL) 谱图

表 1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 信息

中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	Deoxynivalenol	51481-10-8	6.004

### 2.2 重复性实验

取 0.5 μg/mL 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果显示保留时间和峰面积的 RSD% 分别为 0.15% 和 0.62%，表明系统精密度良好。

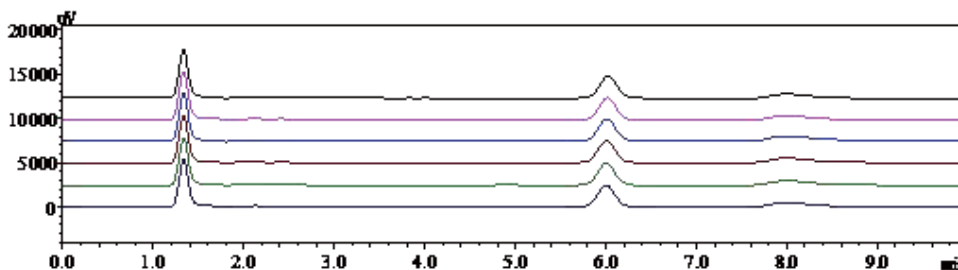
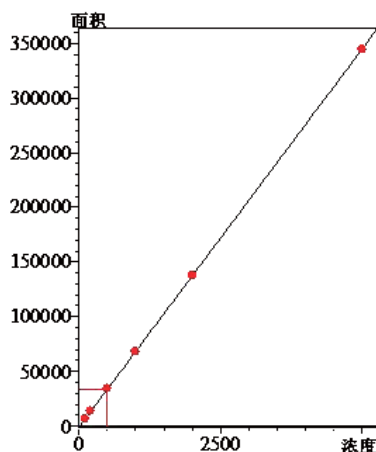


图 2 标准品溶液色谱图重复性

### 2.3 校准曲线和检出限

分别配制 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 μg/mL 的脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准溶液，取 50 μL 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做校准曲线。根据 0.1 μg/mL 标样数据，以 3 倍信噪比 (峰至峰) 计算脱氧雪腐镰刀菌烯醇检出限，化合物检出限以及线性相关系数如图 3 所示。



项目	参数
组分名称	脱氧雪腐镰刀菌烯醇
线性方程	$Y = 68.9917X - (122.543)$
相关系数 (R)	0.9999
准确度 (%)	97.30-101.05
检出限 (ng/mL)	7.87

图3 脱氧雪腐镰刀菌烯醇校准曲线及相关信息

#### 2.4 加标回收率

取三分玉米样品进行测定，并平行3份对该样品进行0.2 μg/mL浓度DON加标，按照上述前处理方法处理后上机测试，具体结果显示：加标回收率分别为98.71%、101.18%和100.03%，RSD为1.23%，加标回收率及重复性满足一般定量分析要求。

表4 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 加标回收率及 RSD (%)

#	测试结果 (μg/mL)		回收率结果	
	玉米样品	加标样	加标回收率 (%)	RSD%
1	N.D.	0.214	98.71	
2	N.D.	0.219	101.18	1.23%
3	N.D.	0.217	100.03	

## ■ 结论

本文参照《GB 5009.111-2016 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定 免疫亲和柱层析净化高效液相色谱法》，建立了Essentia LC-16对玉米中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 的含量测定方法。结果显示在0.1~5.0 μg/mL浓度范围内校准曲线线性良好，相关系数为0.9999，仪器检出限在7.87 ng/mL。0.5 μg/mL标准品溶液连续进样6针，峰面积RSD为0.62%，精密度良好。0.2 μg/mL加标浓度的加标平均回收率为99.97%。该方法灵敏度高，准确性好，适合玉米中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 含量的检测。

岛津应用云

