

LC-30A 测定粮食中玉米赤霉烯酮的含量

LC-110

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定粮食中玉米赤霉烯酮的方法。实验结果表明: 在浓度范围 10 $\mu\text{g/L}$ ~ 500 $\mu\text{g/L}$ 内, 校准曲线相关系数为 0.9998; 进样量 2 μL , 仪器检出限为 1.5 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 5 $\mu\text{g/L}$ 。三个浓度下标准品的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.03~0.15% 和 0.28~1.71% 之间; 玉米样品平均加标回收率为 92.7%~104.0%。该方法简便快速, 且易操作。

关键词: 玉米赤霉烯酮 粮食 超高效液相色谱

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone) 又称 F-2 毒素, 它首先从有赤霉病的玉米中分离得到。玉米赤霉烯酮主要污染玉米、小麦、大米、大麦、小米和燕麦等谷物。其中玉米的阳性检出率为 45%, 最高含毒量可达到 2909 mg/kg。玉米赤霉烯酮的耐热性较强, 110 $^{\circ}\text{C}$ 下处理 1 h 才被完全破坏。玉米赤霉烯酮具有雌激素作用, 主要用于生殖系统, 可使家畜、家禽和实验小鼠产生雌性激素亢进症。妊娠期食用含玉米赤霉烯酮的食物可引起流产、死胎和畸胎。食用含赤霉病麦面粉制作的各種面食也可引起中枢神经系统的中毒症状, 如恶心、发冷、头痛、神智抑郁和共济失调等。我国食品安全国家标准《GB2761-2011 食品中真菌毒素限量》中规定谷物及其制品中玉米赤霉烯酮限量为 60 $\mu\text{g/kg}$ 。

目前报道用于检测玉米赤霉烯酮的分析方法有气相色谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法等。

本文参照 GB/T 5009.209-2008, 采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A, 分析了玉米中的玉米赤霉烯酮, 得到了令人满意的分析结果。

实验条件

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 二元高压梯度系统。具体配置为: LC-30AD 输液泵, DGU-20A5R 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, RF-20AXS 荧光检测器, CBM-20A 系统控制器, LabSolutions Ver. 5.42SP3 色谱工作站。

1.2 分析条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS II 3.0 mm I.D. \times 75 mm L., 2.2 μm

流动相: 乙腈 + 水 + 甲醇按体积比 40: 53: 7 混合, 并脱气。流速: 1.0 mL/min

进样体积: 2 μL 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

检测波长: Ex=305 nm, Em = 460 nm

洗脱方式: 等度洗脱

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制:

①标准储备溶液: 准确称取适量的玉米赤霉烯酮标准品, 用乙腈配成浓度为 0.1 mg/mL 的标准储备液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存。

②标准工作溶液: 准确移取适量的玉米赤霉烯酮标准储备溶液, 用流动相稀释成玉米赤霉烯酮标准工作溶液, 浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 。

1.3.2 样品前处理方法:

①提取: 称取 40 g 粉碎试样置于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入 4 g 氯化钠和 100 mL 甲醇-水 (8+2), 以均质器高速搅拌提取 2 min, 通过折叠快速定性滤纸过滤, 准确移取 10.0 mL 滤液并加入 40 mL 水稀释混匀, 以玻璃纤维滤纸过滤 1 ~ 2 次, 至滤液澄清, 得到样品提取液。

②净化: 将免疫亲和柱连接于 10 mL 玻璃注射器下。准确移取 10 mL 上述提取滤液注入玻璃注射器中, 将空气压力泵与玻璃注射器连接, 调节压力使溶液以约 1 ~ 2 滴 / 秒流速缓慢通过免疫亲和柱, 直至有部分空气通过柱体。以 10 mL 水淋洗柱子 1 次, 弃去全部流出液, 并使部分空气通过柱体。准确加入 1.5 mL 甲醇洗脱, 流速控制为 1 mL/min ~ 2 mL/min, 收集全部洗脱液于玻璃试管中, 于 60 $^{\circ}\text{C}$ 以下用氮气吹干。准确加入 1.0 mL 流动相溶解残渣, 过 0.22 μm 滤膜, 供液相色谱测定。

实验结果

2.1 标准样品的色谱图

500 $\mu\text{g/L}$ 的标准样品色谱图如图 1 所示。保留时间为 3.205 min。

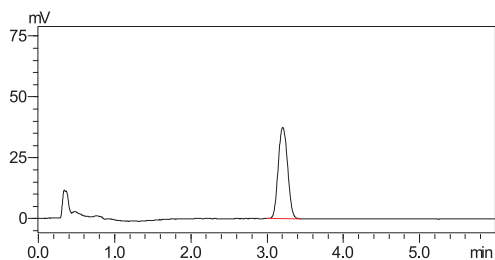


图1 玉米赤霉烯酮标准样品色谱图

实验部分

2.2 线性关系

将6个不同浓度的玉米赤霉烯酮标准工作溶液，按前述的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，结果如图2所示。标准曲线方程和相关系数结果见表1。

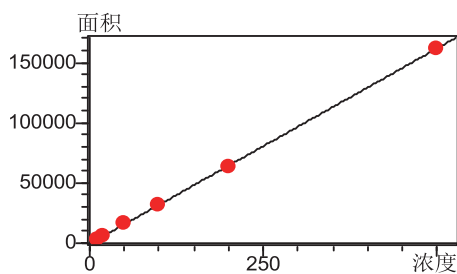


图2 玉米赤霉烯酮的标准工作曲线

表1 标准曲线方程

Y= aX+b	R
Y=324.09X-7.78	0.9998

2.3 检出限和定量限

根据标准曲线中的最低点 (10 $\mu\text{g/L}$) 计算仪器的灵敏度，仪器检测限 (3 倍噪声计算)、定量限 (10 倍噪声计算) 分别为 1.5 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ ，色谱图如图3所示。

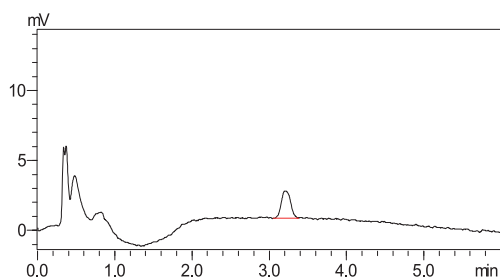


图3 标准溶液的色谱图 (10 $\mu\text{g/L}$)

2.4 精密度实验

取低、中、高三不同浓度标准溶液，分别平行进样6次，目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03~0.15% 和 0.28~1.71% 之间，仪器精密度良好。

表2 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

浓度($\mu\text{g/L}$)	R.T. (RSD%)	Area (RSD%)
10	0.15	1.71
50	0.03	0.68
200	0.04	0.28

2.5 基质加标实验

按照上述方法处理玉米样品，上机测试，未检出玉米赤霉烯酮。在玉米样品中添加标样，平行5次。玉米样品色谱图如图4所示。玉米样品加标色谱图如图5所示。基质加标回收结果如表3所示。

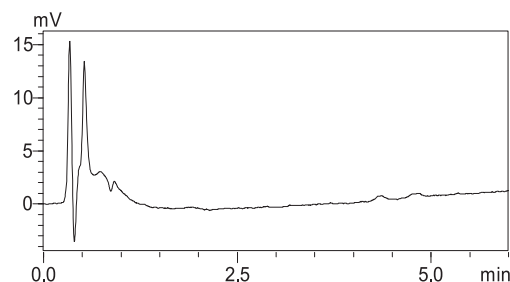


图4 玉米空白样品的色谱图

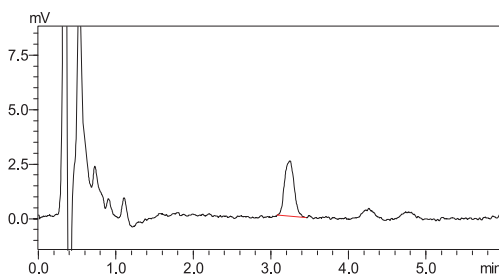


图5 玉米加标样品的色谱图(添加浓度为10 $\mu\text{g/kg}$)

表3 基质加标回收结果

添加浓度 级别	加标量 ($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率 (%)
1	10	104.0
2	60	92.7
3	120	95.6

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定粮食中玉米赤霉烯酮的方法。实验结果表明：方法的灵敏度、重复性及线性均良好，可以满足对此种毒素的分析要求。

附录：

表4 玉米赤霉烯酮化合物信息表

中文名称	英文名称	CAS号
玉米赤霉烯酮	Zearalenone	17924-92-4