

# 全自动固相萃取-高效液相联用测定小麦粉和玉米粉中的玉米赤霉烯酮

## 1. 介绍

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 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；小麦的检出率为 20%，含毒量为 0.364~11.05 mg/kg。玉米赤霉烯酮的耐热性较强，110 °C 下处理 1h 才被完全破坏。

玉米赤霉烯酮具有雌激素作用，主要作用于生

殖系统，可使家畜，家禽和实验小鼠产生雌性激素亢进症。妊娠期的动物（包括人）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种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。

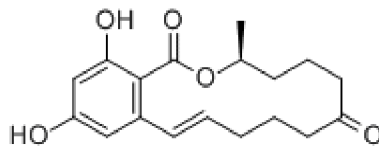


图-1. 玉米赤霉烯酮的结构式

本应用文章参考 GB 5009.209-2016《食品中玉米赤霉烯酮的测定》中第一法，采用免疫亲和柱净化，高效液相色谱联用技术检测，建立了大麦粉及

玉米粉基质中对玉米赤霉烯酮 (ZEN) 的前处理和检测分析方法，对于 ZEN 的加标回收率在 87.9-104.4% 之间。

**关键字：**全自动固相萃取；高效液相色谱；玉米赤霉烯酮

## 2. 仪器、试剂以及耗材

Raykol Fotector Plus 全自动固相萃取仪

氮气吹干装置：Raykol AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪（睿科）

AH-30 全自动均质器（睿科）

Auto Prep 200 全自动液体样品处理工作站（睿科）

玉米赤霉烯酮免疫亲和柱 (Romer, 60 mg/3mL)

高效液相色谱：(HPLC) Agilent 1260

## 3. 样品提取与净化

### 3.1 提取

#### 3.1.1 大豆类或者玉米类固体样品

准确称取 5 g 粉碎后的大豆类谷物或玉米粉于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈/去离子水 (v: v, 84/16) 中，采用 AH-30 全自动均质器高速均质 3 分钟。取上清液定性滤纸过滤，准确移取滤液 3 mL 至 60 mL 玻璃上样管 (Raykol)，加入 25 mL 1% 的吐温-20PBS 缓冲液 (pH-7.4) 混合均匀备用。

#### 3.1.2 空白样品

空白样品以已知空白大麦粉为样品，进行上述实验操作。

### 3.1.3 加标回收实验

添加不同浓度的标准品于不同的样品基质中，进行相对应的提取方法。

### 3.2 固相萃取净化条件

全自动固相萃取仪	睿科 Fotector Plus or Fotector 02HT
固相萃取柱	玉米赤霉烯酮免疫亲和柱 (Romer, 60 mg/3 mL)
淋洗	PBS 缓冲液, 纯水
洗脱	甲醇

### 3.3 固相萃取流程

以 4 mL/min 的速度精确上样 28 mL 待测液，

2mL PBS 缓冲溶液润洗样品瓶，8 mL PBS 缓冲溶液和 10 mL 水淋洗，气推 50 mL 吹干免疫亲和柱，推速为 160 mL/min；最后以 2 mL 的甲醇，以 0.5 mL/min 的速度洗脱样品（若样品浓度较大，可适

当加大洗脱液体积），温和氮吹浓缩至干，加入 30% 乙腈水定容至 1 mL。详细步骤见图-2。（Fotector Plus 上下位机软件版本在 v2.21 以上）。

序号	命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
1	清洗样品通道	CH3OH		40	5	1.7
2	填充样品路径	0.01M PBS ...		80	2	1.1
3	上样		废液1	4	28	8.7
4	清洗样品瓶	0.01M PBS ...	废液1	80	2	1.2
5	淋洗	0.01M PBS ...	废液1	10	8	1.3
6	淋洗	H2O	废液1	10	10	1.6
7	气推		废液1	160	50	3.1
8	清洗注射泵	CH3OH		80	1	0.3
9	洗脱	CH3OH	收集	0.5	1.5	3.3
10	气推		收集	0.5	1.5	3.4
11	气推		收集	20	5	0.8
12	结束					

图-2. Fotector Plus 赭曲霉毒素的免疫亲和净化方法

#### 4.液相色谱检测条件

色谱柱	Waters XBridge BEH HILIC 2.5 $\mu$ m $\times$ 21 mm $\times$ 50mm
流速	1 mL/min
流动相	A: H <sub>2</sub> O, B: Acetonitrile
柱温	30 °C
进样体积	30 $\mu$ L
洗脱梯度	35%B (9 min), 45%B (10 min), 45%B (11.0min), 35%B (11.0-15.0 min)
激发发射波长	激发 235 nm, 发射波长 460 nm

#### 5. 方法验证

空白大麦粉中添加水平为 60  $\mu$ g/kg 的玉米赤霉烯酮的回收率结果测试。

表-1. 添加水平为 60  $\mu$ g/kg 的玉米赤霉烯酮的回收率结果 (n=4)

名称	回收率 (%)				平均回收率 (%)	RSD (%)
	1	2	3	4		
ZEN	88.70	104.4	87.90	92.40	93.00	8.16

#### 6.结果与讨论

**6.1** 淋洗溶剂对回收率的影响。以 10 mL 的 PBS 缓冲液清洗样品瓶和 10 mL 的纯水除去免疫亲和柱上残留的色素和基质，以免液质检测时产生基质抑制。若不进行淋洗，3 平行样品平行性降低明

显，RSD 值提高。

**6.2** 谷物中离心完成后，不可放置过长时间，否则谷物容易重新吸水，导致提取液的浓度过高，导致样品的回收率偏高，影响测试结果。

#### 7.仪器优势

睿科 Auto Prep 200 全自动液体样品处理工作站可实现标准品的全自动化配制，使用高精度双注射泵和自带补偿的软件完美配合，通过智能稀释、直接稀释、内标曲线等多种命令进行自动计算、自动移液、智能操作一步到位，重现性好，准确性高。

睿科 AH 30 全自动均质器样品管体积选择范围大，从 10mL 到 200mL，还可选的带冰浴样品架，以保证样品在低温条件下进行均质；带有高速运转的刀头，刀头在对大麦等谷物进行打浆粉碎的时候上下移动以增强均质效果；可选择自带水、有机溶剂及超声波三种清洗模式，将交叉污染降至最低，也解放了实验员双手，提高处理效率。

睿科 Fotector Plus 全自动固相萃取仪使用镀铂

金上样针和特氟龙管路，与高精度注射泵、12 通阀完美配合，能同步进行 6 个样品处理，自动连续处理 60 个样品，从活化、上样、淋洗到洗脱等多种基础命令全部实现自动化，还能实现自动化清洗样品瓶，大大提高了仪器精度和可靠性的同时，保证了样品回收率。

睿科 Auto EVA-60 全自动平行浓缩仪能够与睿科 Fotector Plus 全自动固相萃取仪进行完美搭配，二者氮吹试管架与收集架能够完美兼容，便捷的操作软件能控制水浴加热温度。氮吹压力和氮吹针自动化下降调整，使得净化与浓缩一步到位，省时省力省气。



全自动液体样品处理工作站  
标准溶液配制



全自动均质器  
样品提取



全自动固相萃取仪  
样品净化



全自动浓缩仪  
样品浓缩