

解决方案

玉米、小麦中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定

关键字

全自动固相萃取；高效液相色谱法；脱氧雪腐镰刀菌烯醇

介绍

采用Raykol Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪分析食品中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇，试样经过去离子水提取，提取液经离心、稀释后用含有脱氧雪腐镰刀菌烯醇特异抗体的免疫亲和柱自动净化。用5 mL PBS缓冲盐溶液和5mL水淋洗柱子将免疫亲和柱上的杂质除去，以甲醇洗脱免疫亲和柱。将洗脱液在50℃条件下氮吹干，用1mL 10%乙腈水定容，经高效液相色谱仪上机分析。

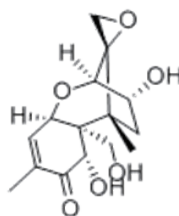


图-1. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇结构式

本文参考GB5009.111-2016《食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定》第二法，采用免疫亲和柱净化，高效液相色谱检测，建立了复杂粮油样品基质中脱氧雪腐镰刀菌烯醇高灵敏度的前处理和分析方法，得到常见粮油样品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的加标回收率在88.9-103.9%之间，RSD值小于10%。

1. 仪器、耗材

Raykol Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪

Raykol Auto Prep 200 全自动液体样品处理工作站

Raykol AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪

脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫亲和柱 (Romer, 60mg/3mL)

高效液相色谱: Waters ACQUITY UPLC I-Class

配备大体积流通池

甲醇 (Merck, 色谱纯)

乙腈 (Merck, 色谱纯)

吐温-20 (Sigma, 试剂纯)

超纯水 (Waston)

PBS 盐包

聚乙二醇 (相对分子质量为 8000)

2. 标准曲线配置

使用睿科 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置, 可将购买的单标母液 (1000 mg/L) 通过工作站的直接稀释模式, 配置成浓度为 10 mg/L 的工作中间液, 紧接着可通过程序设置, 吸取该工作液, 配置一条浓度分别为 0.01 mg/L, 0.05 mg/L, 0.2 mg/L, 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L 的标准工作曲线。



序号	命令	源液位	源液浓度	源液体积(mL)	目标位	目标浓度	目标体积(mL)	溶剂	稀释溶剂
1	直接稀释	A1	1000.00	1.00	A11	10.00	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
2	直接稀释	A11	10.00	1.00	A12	1.00	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
3	直接稀释	A12	1.00	1.00	A21	0.01	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
4	直接稀释	A12	1.00	1.00	A22	0.05	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
5	直接稀释	A11	10.00	1.00	A23	0.20	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
6	直接稀释	A11	10.00	1.00	A24	0.50	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
7	直接稀释	A11	10.00	1.00	A25	2.00	1.00	水/甲醇/9/1	水/甲醇/9/1
8	方法结束								

图-2. Auto Prep 200 液体工作站配标程序

3. 样品提取与前处理

玉米样品前处理

准确称取 5 g 玉米样品于 50 mL 离心管中, 加入 1g 聚乙二醇, 加入 20 mL 去离子水, 涡旋震荡

小麦样品

准确称取 5 g 小麦样品于 50 mL 离心管中, 加入 1 g 聚乙二醇, 加入 20 mL 去离子水, 涡旋震荡

固相萃取净化条件

以 1 mL/min 的速度精确上样 2 mL 待测液, 用 5 mL PBS 缓冲液和 5 mL 水淋洗免疫亲和柱, 气推 30 mL 吹干免疫亲和柱, 推速为 80 mL/min。最后用 2 mL 甲醇以 0.5 mL/min 的速度洗脱样品, 收集洗脱液用睿科 AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪于 50 °C、2 psi 条件下氮吹干, 用 10% 的乙腈水溶液定容至 1 mL, 过滤膜上机分析。详细步骤见图-3。

提取 20 min, 以 7000 r/min 的转速离心 5 min, 取 2 mL 上清液于 15 mL 玻璃上样管中, 待用。

提取 20 min, 以 7000 r/min 的转速离心 5 min, 取 2 mL 上清液于 15 mL 玻璃上样管中, 待用。

表-1 固相萃取净化条件

全自动固相萃取仪	睿科 Fotector Plus
固相萃取柱	脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫亲和柱 (Romer, 60 mg/3 mL)
淋洗	超纯水
洗脱	甲醇

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	H ₂ O				2.8
2	填充样品路径	H ₂ O		40	3	1.3
3	特殊上样		废水	1	2	2.4
4	清洗样品瓶	PBS	废水	80	5	5.9
5	淋洗	H ₂ O	废水	2	5	2.9
6	气推		废水	80	30	2.2
7	清洗注射泵	CH ₃ OH		80	5	0.5
8	洗脱	CH ₃ OH	收集	0.5	2	4.4
9	气推		收集	0.5	2	4.4
10	气推		收集	80	20	1.6
11	结束					
12						

图-3. Fotector Plus 脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫亲和净化方法

4. 检测条件

表-2 脱氧雪腐镰刀菌烯醇液相色谱检测条件

色谱柱	Waters BEH-C ₁₈ (2.1×100 mm, 1.7 μm)
流速	0.200 mL/min
流动相	A: 水, B: 甲醇
柱温	35 °C
进样体积	10 μL
梯度洗脱	等度洗脱 A:B=90:10
紫外检测器	波长 218nm

5. 样品测试

玉米样品加标测试

取玉米样品 5g, 添加 200 ug/kg 的脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准品, 进行上述步骤的前处理净化, 样品回收率如下表-3 所示:

表-3 添加水平为 200 ug/kg 玉米样品回收率

名称	回收率						平均回收率	RSD
	1	2	3	4	5	6		
DON	102.2%	102.8%	88.9%	98.7%	97.5%	103.9%	99.0%	5.6%

小麦样品加标测试

小麦样品中添加水平为 200 ug/kg 的脱氧雪腐镰刀菌烯醇回收率结果:

表-4 添加水平为 200 ug/kg 小麦样品回收率

名称	回收率						平均回收率	RSD
	1	2	3	4	5	6		
DON	98.5%	97.1%	99.7%	94.8%	97.1%	91.6%	96.5%	3.0%

6. 结果与讨论

淋洗柱子对回收率的影响

淋洗溶剂对回收率的有一定影响, 应以 5 mL PBS 缓冲液和 5 mL 纯水除去免疫亲和柱上残留的色素和基质。若不用 PBS 缓冲液淋洗, 6 个样品平行

性降低明显, RSD 值大于 10%。

洗脱速度的影响

采用 1 mL/min 的洗脱速度, 洗脱效果不佳, 回收率在 75-80%; 降低洗脱速度至 0.5 mL/min,

洗脱效果有明显提升，回收率在 88-104%之间。因此洗脱速度不宜设置得过快。

7. 注意事项

谷物进行分析时，由于样品中呕吐毒素含量往往较高，故需要对固相萃取仪的样品通道进行清洗，避免交叉污染。

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，可能导致提取液的浓度过高，使样品的回收率偏高，影响测试结果。

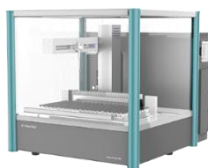
8. 总结

采用高通量全自动固相萃取仪法，准确性、重复性、再现性均满足实验要求，能够用于 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》方法对玉米和小麦样品的测定。

采用 Auto Prep 200 全自动液体工作站可实现混标、标准曲线的自动配置，全程无需人为值守，让实验人员远离有毒有害的化学物质，保护身体健

康。Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪对样品进行检测能同部进行 6 个样品净化，连续自动处理 60 个样品，做样通量高。AutoEVA-60 全自动氮吹浓缩仪处理通量高，60 个样品可同时进行氮吹，实验平行性好且氮气耗气量小，省时省力。

通过对前处理过程的优化，实现该方法常见粮油样品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的加标回收率在 88.9%-103.9%之间，RSD 值小于 10%。



全自动液体样品处理工作站
标液配制



高通量全自动固相萃取仪
净化



全自动平行浓缩仪
浓缩



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

自动化样品前处理解决方案领先供应商

网址: www.raykol.com

电话: 400-885-1816

邮箱: info@raykol.com



本文中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2020 年 5 月版