

## 薏苡仁中玉米赤霉烯酮的测定

SGLC-LC-186

**摘要：**本应用建立了薏苡仁中玉米赤霉烯酮的测定方法。按照 2020 年版《中国药典》四部中 2351 真菌毒素测定法中呕吐毒素测定法(第一法),采用岛津 SHIMSEN 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱产品对样品进行净化, Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离,分析薏苡仁中的玉米赤霉烯酮,回收率高,重复性好,满足《中国药典》要求,此方法可为薏苡仁中玉米赤霉烯酮的测定提供参考。

### 1. 实验部分

#### 1.1 实验仪器及耗材

仪器配置: 岛津高效液相色谱仪 RF-20A;

色谱柱: Shim-pack GIST C18, 250mm×4.6 mm, 5 $\mu$ m (P/N: 227-30017-08)

免疫亲和柱: SHIMSEN 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱, 3 mL (P/N: 380-00916)

标准品: SHIMSEN 玉米赤霉烯酮溶液 (P/N: 380-03390)

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05);

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01);

SHIMSEN Pipet 移液枪: SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02);

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04);

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

#### 1.2 混合对照品溶液制备

精密量取玉米赤霉烯酮对照品溶液 (100  $\mu$ g/mL) (SHIMSEN 玉米赤霉烯酮溶液, 货号: 380-03390) 1.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 作为贮备溶液, 精密量取贮备溶液 1.0 mL, 置 10mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得 0.1  $\mu$ g/ml 的工作溶液。

#### 1.3 分析条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18 (250mm×4.6 mm, 5 $\mu$ m; P/N: 227-30017-08)

流速: 1.0 mL/min;

进样量: 5  $\mu$ L-50  $\mu$ L;

柱温: 30 $^{\circ}$ C;

流动相: 乙腈-水=50: 50

检测器: 荧光检测器; 激发波长 232nm, 发射波长 460nm

#### 1.4 样品前处理

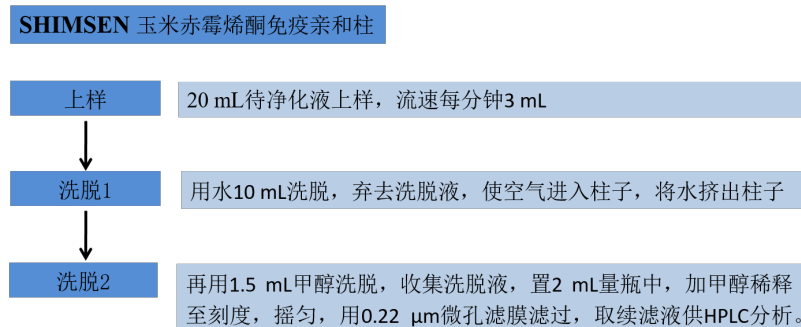
### 1.4.1 样品提取

称取 20 g 薏苡仁样品粉末（过二号筛）精密称定，置均质瓶中，加入氯化钠 4 g，精密加入 90%乙腈溶液 100 mL，高速搅拌 2 分钟（搅拌速度大于 11000r/min），离心 10 分钟（离心速度 4000 r/min），精密量取上清液 10 mL，置于 50 mL 量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，离心 10 分钟（离心速度 4000 r/min），精密量取上清液 20 mL 待净化。

### 1.3.2 样品净化

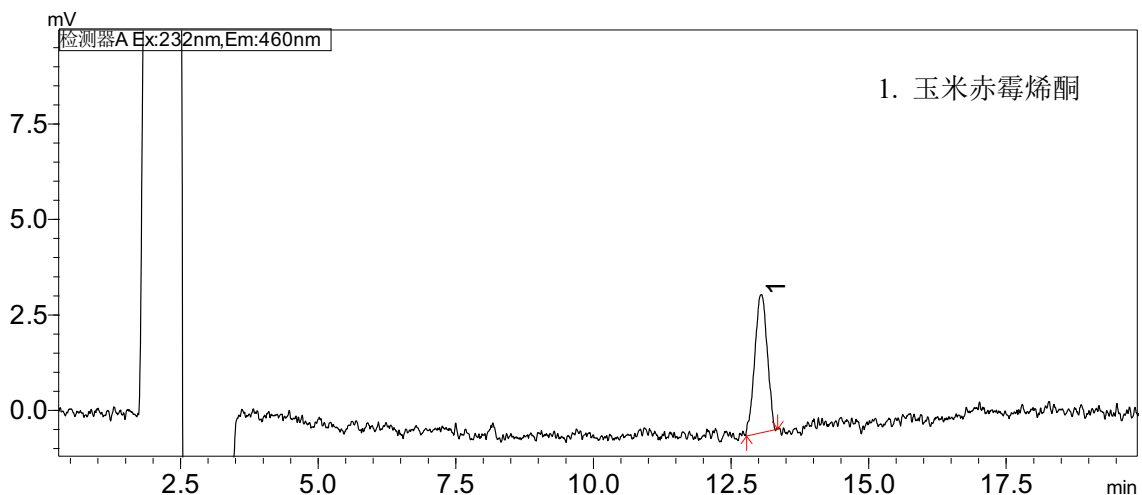
#### SHIMSEN 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱，3 mL

精密量取上述上清液 20 mL，通过免疫亲和柱（SHIMSEN 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱 货号：380-00916），流速每分钟 3 mL，用水 10 mL 洗脱，弃去洗脱液，使空气进入柱子，将水挤出柱子，再用 1.5 mL 甲醇洗脱，收集洗脱液，置 2 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过，取续滤液供 HPLC 分析。流程图见下图 1。

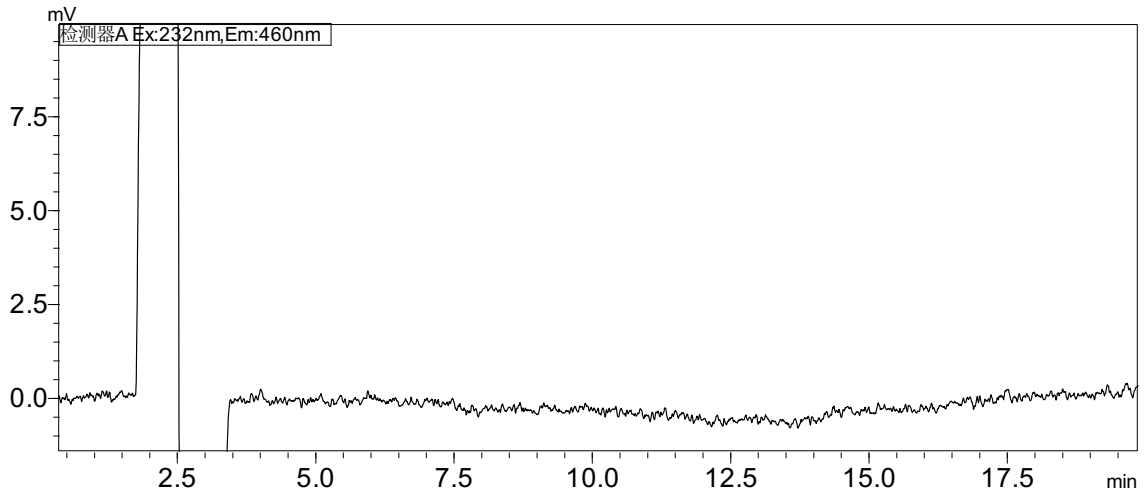


## 2. 结果及讨论

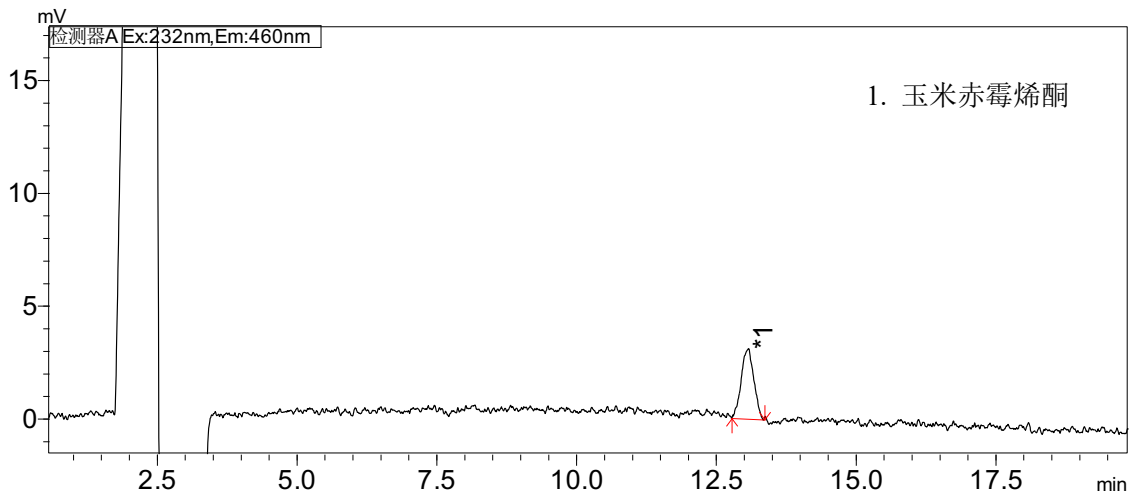
### 2.1 色谱图



玉米赤霉烯酮标准溶液色谱图（进样量：25  $\mu\text{L}$ ）



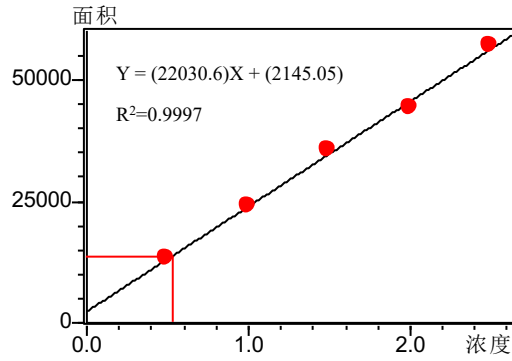
薏苡仁空白样品液相色谱图（进样量：20  $\mu$ L）



薏苡仁加标样品（加标浓度：500  $\mu$ g/g）液相色谱图（进样量：20  $\mu$ L）

## 2.2 线性范围

分别吸取对照品混合工作液，5  $\mu$ L、1  $\mu$ L、15  $\mu$ L、20  $\mu$ L、25  $\mu$ L，注入液相色谱仪，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，如下图所示。



玉米赤霉烯酮标准曲线

### 2.3 薏苡仁中玉米赤霉烯酮的检测添加回收结果

将薏苡仁样品进行 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 3 份样品考察回收率和 RSD，具体结果如下：

添加水平	实验结果
	87.00
回收率 (%)	87.30
30 $\mu\text{g}/\text{kg}$	89.82
平均回收率 (%)	88.04
RSD (%)	1.76

### 3. 结论

本应用建立了薏苡仁中玉米赤霉烯酮的测定方法。按照 2020 年版《中国药典》四部中 2351 真菌毒素测定法中呕吐毒素测定法（第一法），采用岛津 SHIMSEN 玉米赤霉烯酮免疫亲和柱产品对样品进行净化，Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离，分析薏苡仁中的玉米赤霉烯酮，回收率高，重复性好，满足《中国药典》要求，此方法可为薏苡仁中玉米赤霉烯酮的测定提供参考。