

# 全自动固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定水产品中8种雌激素

## 关键词

全自动固相萃取；气相色谱-串联质谱；8种雌激素

## 介绍

激素类化合物进入生物体后能破坏机体内环境的稳定，引起生殖障碍、发育异常和某些癌症，其危害已引起全世界广泛关注。环境雌激素（辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、17A-乙炔雌二醇）以及内源性雌激素（17B-雌二醇、雌三醇、雌酮）在环境中屡有检出，如果被水产动物吸收，将会对水产品质量安全造成极大影响。

目前激素类物质的测定方法有气相色谱法（GC）、液相色谱法（LC）、气相色谱-质谱法（GC-MS）、液相色谱-质谱法（L-MS），测定的样品以尿液、饲料、化妆品为主。水产品中激素的检测研究也有报道，但同时测定这8种雌激素化合物的方法还未见报道。因此迫切需要建立灵敏度高，准确可靠的检测方法来解决水产品中激素类物质的检测问题。

对于辛基酚、壬基酚等8种雌激素的检测，国家即将发布实施《GB 31660.2-2019 食品安全国家标准 水产品中辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、雌酮、17A-乙炔雌二醇、17B-雌二醇、雌三醇残留量的测定 气相色谱-质谱法》。其GB31660.2-2019采用气质方法对水产品中8种雌激素含量分别进行测定。



## 水产品中8种雌激素残留量的测定

激素类化合物进入生物体后会破坏机体内环境的稳定，引起生殖障碍、发育异常和某些癌症，其危害已引起全世界广泛关注。环境雌激素（辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、17 $\alpha$ -乙炔雌二醇）以及内源性雌激素（17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇、雌酮）在环境中屡有检出，如果被水产动物吸收，将会对水产品质量安全造成极大影响。

目前激素类物质的测定方法有气相色谱法（GC）、液相色谱法（LC）、气相色谱-质谱法（GC-MS）、液相色谱-质谱法（L-MS），测定的样品以尿液、饲料、化妆品为主。水产品中激素的检测研究已有报道，但同时测定这8种雌激素化合物的方法还未见报道。因此迫切需要建立灵敏度高，准确可靠的检测方法来解决水产品中激素类物质的检测问题。对于辛基酚、壬基酚等8种雌激素的检测，国家已经发布实施《GB 31660.2-2019 食品安全国家标准 水产品中辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、雌酮、17 $\alpha$ -乙炔雌二醇、17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇残留量的测定 气相色谱-质谱法》。

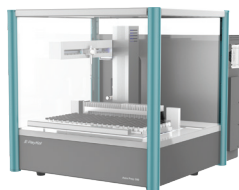
本方法参考了上述国标的前处理过程，试样中辛基酚、壬基酚、双酚A、己烯雌酚、雌酮、17 $\alpha$ -乙炔雌二醇、17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇残留经乙酸乙酯提取，HLB固相萃取净化，七氟丁酸酐衍生，经气相色谱-质谱法测定，使用外标法定量。

### 仪器、耗材与试剂

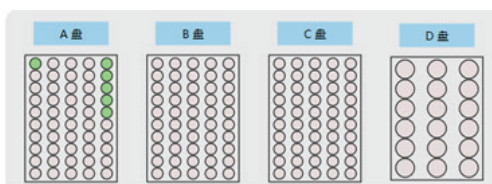
仪器	Raykol Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪
	Raykol MPE系列高通量真空平行浓缩仪
	Raykol Auto Prep 200全自动液体样品处理工作站
	Raykol AH 50全自动均质器
	Raykol Auto EVA 80高通量全自动平行浓缩仪
	Agilent 1290气相色谱（HPLC），Agilent 6470质谱检测器（MS）或相当
耗材	HLB固相萃取柱（RayCure HLB，60mg/3mL），货号：RC-204-36473
试剂	乙酸乙酯（HPLC）；丙酮（HPLC）；正己烷（HPLC）；甲醇（HPLC）；环己烷（HPLC）；七氟丁酸酐；碳酸钠溶液：称取10g 碳酸钠溶解于100mL 水中；50%的环己烷乙酸乙酯溶液；50%甲醇水溶液

### 标准曲线配制

将100ng/mL的混合标准储备液取出，于室温平衡后用Auto Prep 200全自动液体样品处理工作站配成浓度为2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 $\mu$ g/L的标准工作曲线。



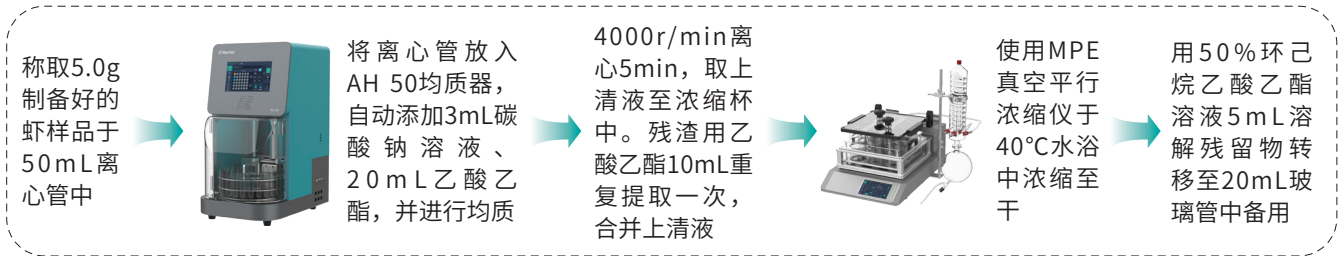
全自动液体样品处理工作站



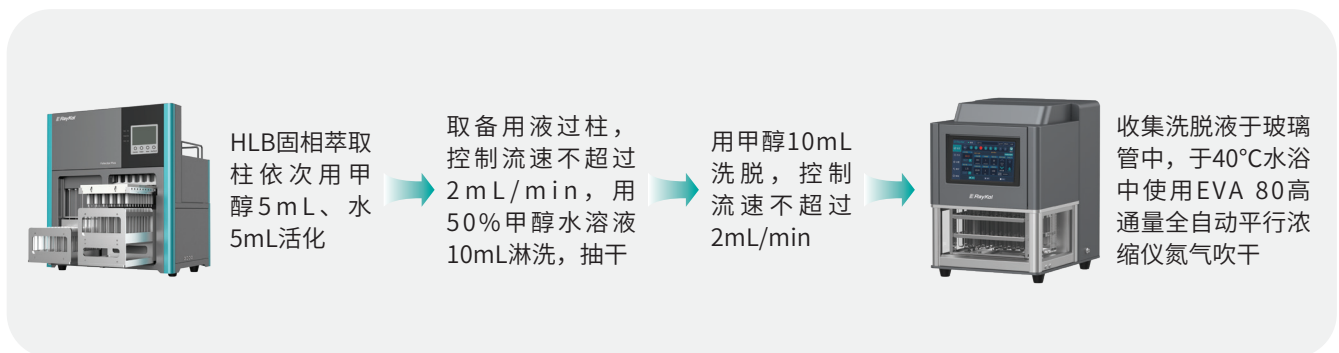
序号	命令	源液位	源液浓度	源液体积(mL)	目标位	目标浓度	目标体积(mL)	溶剂	洗针溶剂
1	填充管路						3.00	正己烷	
2	直接稀释	A1	100.00	1.00	A41	2.00	1.00	正己烷	正己烷
3	直接稀释	A1	100.00	1.00	A42	5.00	1.00	正己烷	正己烷
4	直接稀释	A1	100.00	1.00	A43	10.00	1.00	正己烷	正己烷
5	直接稀释	A1	100.00	1.00	A44	20.00	1.00	正己烷	正己烷
6	直接稀释	A1	100.00	1.00	A45	50.00	1.00	正己烷	正己烷
7	方法结束								

## 样品制备

### 鲜活水产品



### 净化



### 衍生



### 固相萃取净化条件

全自动固相萃取仪	Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪
固相萃取柱	HLB固相萃取柱柱 (60mg/3mL)
活化	甲醇、水
淋洗	50%甲醇水溶液
洗脱	甲醇

命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
清洗样品通道	CH <sub>3</sub> OH				2.8
活化	CH <sub>3</sub> OH	有机废液	10	5	0.9
活化	H <sub>2</sub> O	废水	10	5	0.9
上样		有机废液	1	5	5.6
淋洗	50%甲醇水	有机废液	10	10	1.6
吹干					5
洗脱	CH <sub>3</sub> OH	收集	1	10	10.5
气推		收集	10	5	1.1
结束					

### 液相色谱条件

柱子	HP-5ms石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
载气	高纯氮气，纯度≥99.999%，流速1.0 mL/min
进样方式	无分流进样
进样口温度	250°C
进样体积	1μL
检测器	Agilent 气质7890B/5977A
离子源	EI源
离子源温度	230°C
四级杆温度	150°C
接口温度	280°C
溶剂延迟	8min
柱温	初始柱温120°C，保持2min，以15°C/min升至250°C，再以5°C/min升至300°C，保持5 min

图-1. Fotector Plus固相萃取方法



睿科集团股份有限公司  
RayKol Group Corp., Ltd.

## 智能化、自动化实验室整体解决方案

网址: [www.raykol.com](http://www.raykol.com)

电话: 400-885-1816

邮箱: [info@raykol.com](mailto: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10月版