

肌肉中已烷雌酚的 GC-MS 测定

吴平谷

(浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310009)

摘 要:本文建立了肌肉中已烷雌酚的气相色谱-质谱法快速测定方法,肌肉中已烷雌酚经甲醇提取后,提取液蒸发至干;用乙醚溶解后加到 CLE-SLH 型 SPE 净化柱上,先用乙醚溶液淋脱除杂,然后用 50% 乙酸乙酯/乙醚(V:V) 将已烷雌酚洗脱,洗脱液蒸发至干后,用三氟醋酸酐衍生,采用 GC-MS 选择离子监测方式进行测定,以离子碎片 261 作为定量离子,外标法定量。试验表明,肌肉中添加 5.0~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平的已烷雌酚,方法回收率在 85.0%~95.0% 之间,肌肉中已烷雌酚的最低检测限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

关键词:肌肉;已烷雌酚;气质色谱法

中图分类号:O658

文献标识号:A

文章编号:1671-8798(2003)S0-0023-03

我国农业部卫生部国家药品监督管理局明文禁止已烷雌酚用于动物饲料,建立肌肉中已烷雌酚的快速、准确的测定适合市场监测十分必要。国内外对已烷雌酚测定的方法主要有:酶联免疫法、GC 法、HPLC 法、LC-MS 法以及 GC-MS 法等,本文采用气相色谱-质谱法测定肌肉中已烷雌酚。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP 6890GC-5973MS 色质联用仪;旋转蒸发仪;超声清洗器;已烷雌酚标准品(纯度大于 98%,意大利 Pa-leolog 博士惠赠);甲醇、乙醚、乙酸乙酯、三氟醋酸酐、无水硫酸钠等均为分析纯;CLE-SLH 型 SPE 净化柱(购于杭州福裕科技服务有限公司);已烷雌酚标准储备溶液(1.0 mg/mL,甲醇溶液存放于冰箱中备用)。

1.2 实验条件

1.2.1 色谱条件 HP-35 MS 弹性石英毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样口温度 300 $^{\circ}\text{C}$,柱温程序:初温 150 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min,然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 10 min,再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min;载气为高纯氦气(99.999%),流速 1.0 mL/min,不分流进样。

1.2.2 质谱条件 EI 源 源温 230 $^{\circ}\text{C}$;电子能量 70 eV;接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$;电子倍增器电压 1506 V;质量扫描范围 30~550 U;选择离子监测方式(SIM);监测离子(m/z):115,175,203,231,462 定量离子 231 溶剂延迟:6 min。

1.3 样品处理

1.3.1 已烷雌酚的提取 称取 5.0 g,加 30.0 mL 甲醇,在超声清洗器提取 10 min,每隔 5 min 振荡一次,然后在 5000r/min 下离心 10 min,分出上清液,重复一次,合并上清液。在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中真空蒸发,氮气吹干。

1.3.2 加 4.0 mL 乙醚溶解剩余物,全部移到预先用乙酸乙酯预淋的 CLE-SLH 型 SPE 净化柱上,然后用

收稿日期:2003-09-25

基金项目:2001 年浙江省分析测试基金项目。

作者简介:吴平谷(1970—),男,工程师,浙江人,从事色谱分析等方面的研究。

10 mL 乙醚淋洗除杂,最后用 10 mL 50% 乙酸乙酯/乙醚(V:V)洗脱,洗脱液在水浴中蒸干,氮气吹干。

1.3.3 已烷雌酚的衍生^[1] 蒸发剩余物加 0.1 ml 三氟醋酸酐,加盖瓶于旋涡混合器上震荡,在 80℃ 的烘箱中加热 1.0 h,氮气吹干,加 0.2 mL 甲苯溶解,在 4000r/min 下离心 10 min。取适量的已烷雌酚标准溶液,氮气吹干,同时进行衍生化。取离心后 1.0 μ L 甲苯溶液进行 GC-MS 分析。

2 结果与讨论

2.1 已烷雌酚标准品的气相色谱质谱分析

已烷雌酚标准品经三氟醋酸酐衍生后的总离子流图见图 1,衍生物质谱图见图 2。

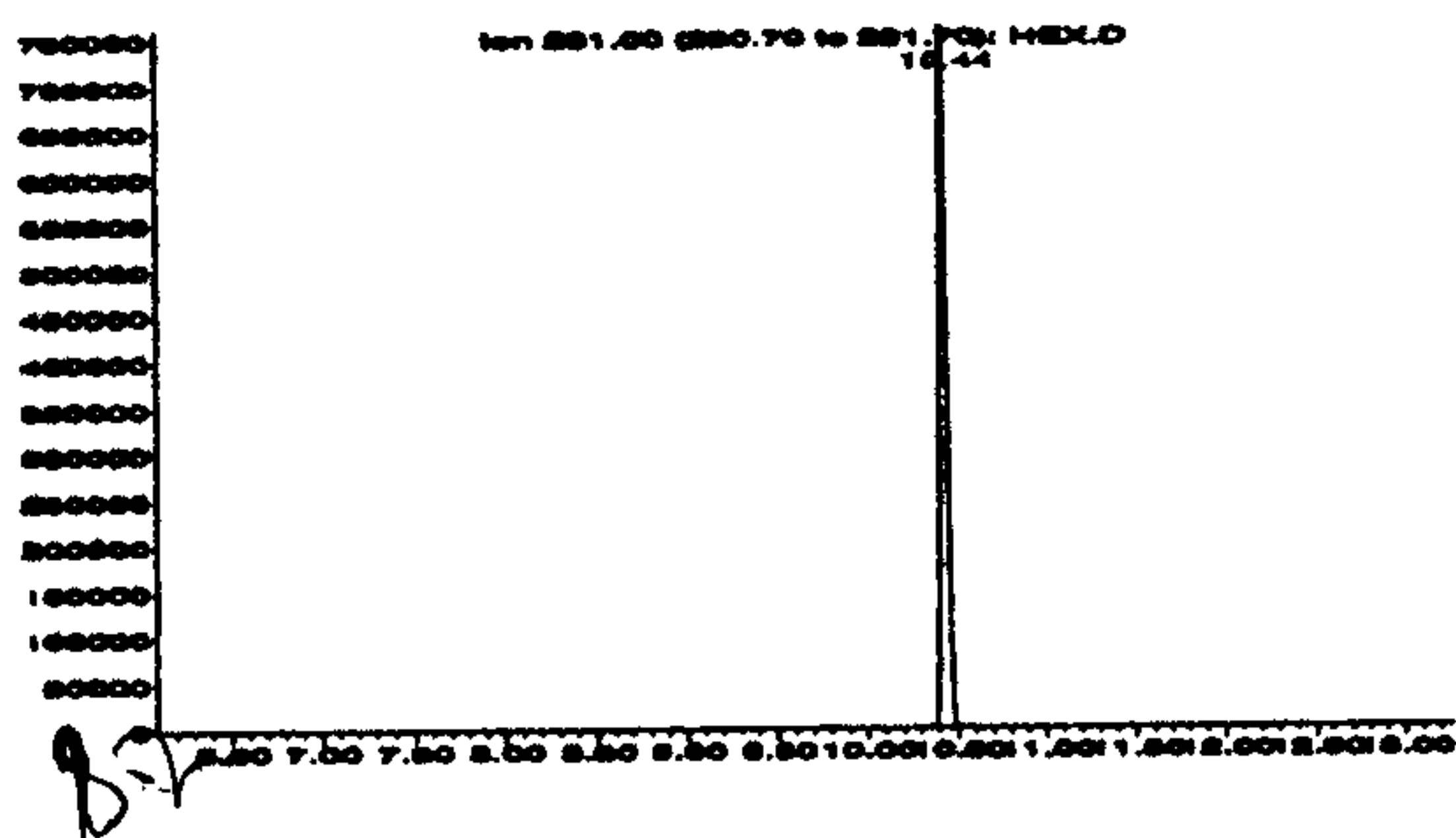


图 1 已烷雌酚标准品衍生物(0.01mg/ml)总离子流色谱图(scan mode)

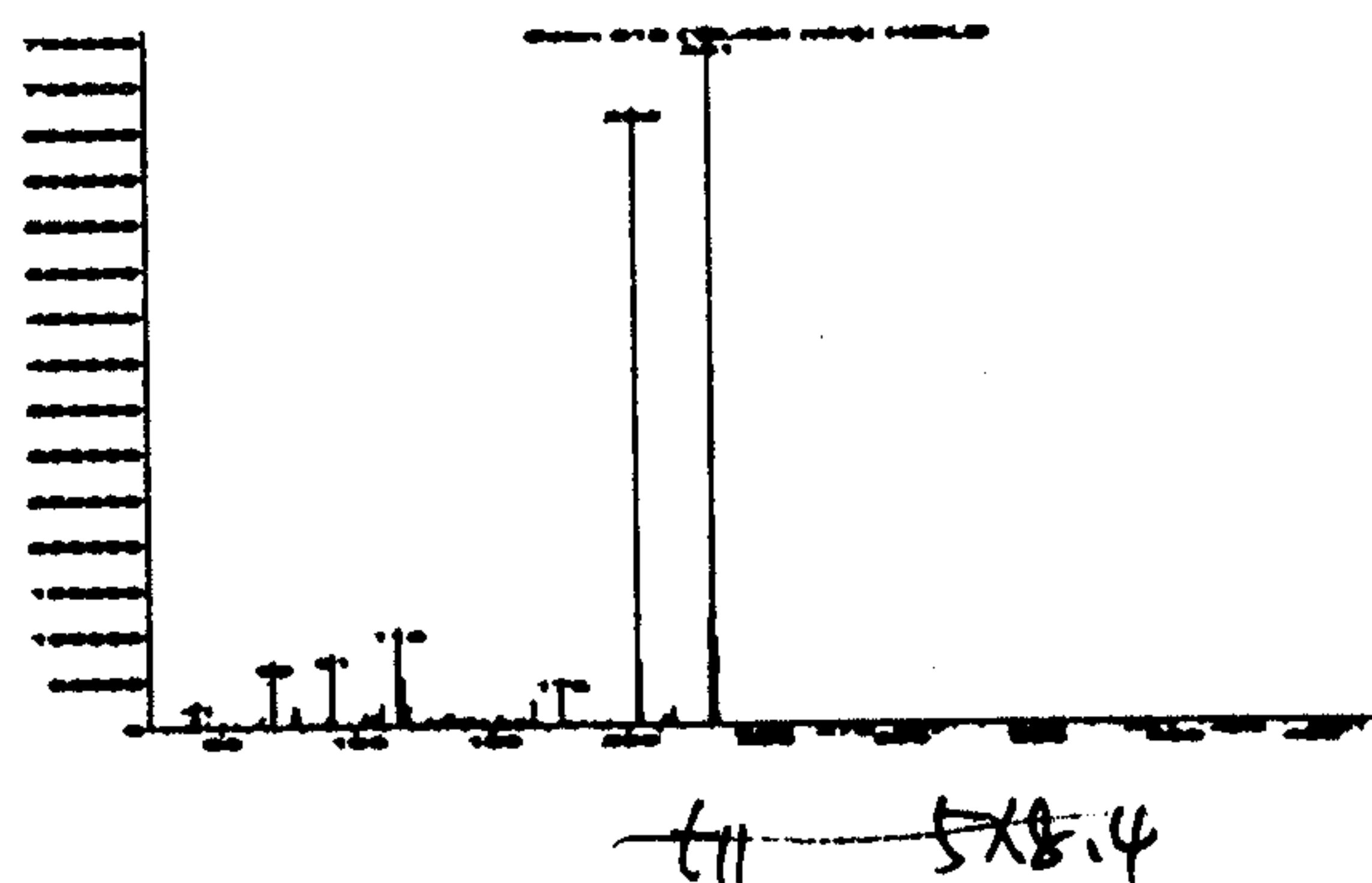


图 2 已烷雌酚标准品衍生物质谱图

由图 1、2 可知,已烷雌酚标准品经三氟醋酸酐衍生化后采用 GC-MS 法测定,可以满足实验要求,且灵敏度高。已烷雌酚分子量为 270,分子中有 2 个羟基,经三氟醋酸酐衍生后分子量为 462,根据欧盟对兴奋剂检测要求在定性时至少选择 4 个以上离子碎片,由图 2 可知,结合灵敏度和特异性,本方法将 231 作为定量离子,115,175,203,462 作为已烷雌酚辅助定性、定量离子。采用选择离子监测方式,已烷雌酚在 50 ~ 1000 ng/mL 浓度水平进行测定,绘制标准曲线见图 3,线性相关系数 R 为 0.996 3。

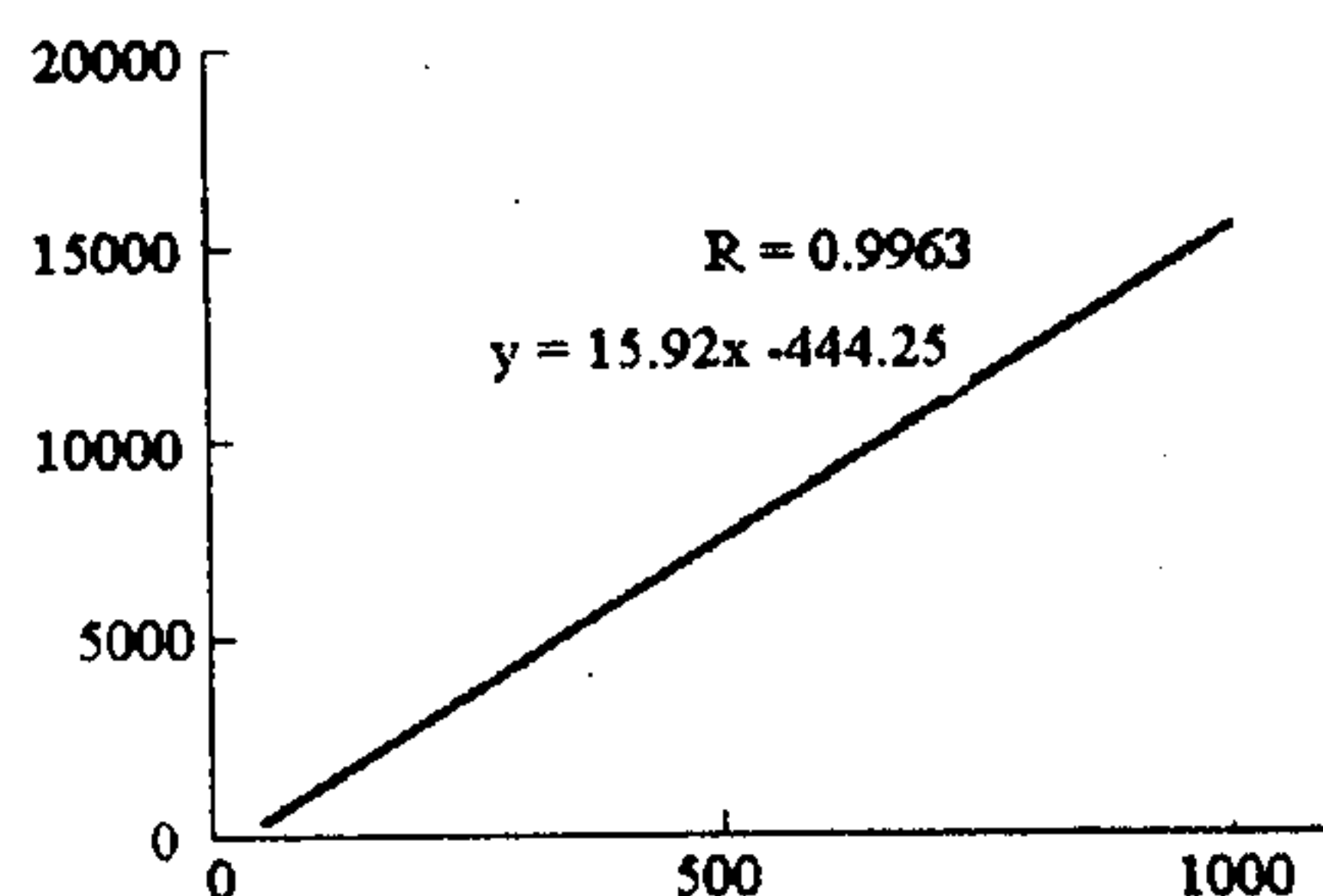


图 3 50 ~ 1000 ng/mL 浓度范围已烷雌酚标准曲线(sim mode)

2.2 肌肉中已烷雌酚的测定

肌肉中已烷雌酚以游离、结合形式存在,生物材料中总的已烷雌酚测定需要通过 β -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶酶解。肌肉中游离的已烷雌酚溶于甲醇,另外,通过 CLE-SLH 型 SPE 净化柱净化,可以较好地达到净化目的,且过柱回收率在 90% 以上。采用肌肉加标准已烷雌酚后进行上述测定,测定结果见表 1。

表 1 肌肉中加标测定结果

添加值 μ g/kg	测定值 μ g/kg	平均值 μ g/kg	回收率 %
200	189	190.5	95.3
200	192		
50	45.5	44.2	88.4
50	42.9		
10	8.7	8.95	89.5
10	9.2		

由表 1 可知,已烷雌酚在 10 ~ 200 μ g/kg 范围内进行加标测定,方法回收率在 88.4% ~ 95.3% 之间,加标回收较好。方法检出限按照 3 倍噪音计,本方法已烷雌酚最低检出限为 0.2 μ g/kg,完全可以满足动物饲料中已烷雌酚测定要求。

3 结 论

本方法建立的肌肉中己烷雌酚的气相色谱-质谱法测定具有快速、杂质干扰少、灵敏度高等特点。同样本方法也适合非甾体类同化激素如己烯雌酚、丁烯雌酚、双烯雌酚等的测定。由于本方法采用三氟醋酸酐衍生,因此衍生产物同时适合进行 GC-ECD 测定。

The determination of dihydrodiethylstilbestrol in muscle by GC/MS

WU Ping-gu

(Zhejiang center for disease prevention and control Hangzhou 310009, China)

Abstract: A fast GC/MS detection method of dihydrodiethylstilbestrol was presented in this paper. After extracted, washed and derived, the dihydrodiethylstilbestrol in muscle sample was detected with GC/MS. The recovery was between 85.0% ~ 95.0%, the minimum detectable quantity was 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Key words: muscle; dihydrodiethylstilbestrol; GC/MS

(上接第 33 页)

Analysis of the impurities in the fenbutatin oxide product by GC/MS

JIANG Ke-zhi, HUANG Qiao-qiao, CHEN Guan-xi, FENG Jian-yue

(Center of Analysis & Measurement of Zhejiang University, Hangzhou, 310027, China)

Abstract: The impurities of Fenbutatin oxide product were extracted with methanol. 10 compounds were identified by GC/MS, such as Dia(2-methyl-2-phenylpropyl)tin etc.

Key words: Fenbutatin oxide; impurities; GC/MS

(上接第 47 页)

The determination of chloramphenicol by GC/MS/MS

ZHANG Hui

(Varian technologies China Ltd., Shanghai 200021, China)

Abstract: The residual chloramphenicol is determined by GC/MS/Ms, after extracted with mixed solvent, cleaned by C_{18} micro-column and silica gel column, and derivated with BSTFA. The method is accurate and stable, the detecting sensitivity is 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Key words: chloramphenicol; ion trap MS; food