

文章编号:1001-5132(2007)04-0520-06

猪肉中16种性激素的多残留检测方法

湛 嘉, 李佐卿*, 俞雪钧, 樊苑牧, 陈树兵, 谢东华, 房科腾, 杨娟芬

(宁波出入境检验检疫局, 浙江 宁波 315012)

摘要:采用安捷仑GC/MS5975N能同时对猪肉中16种性激素残留进行筛选、定量和确证。对5.0g肌肉样品的检出限均在0.25~1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。猪肉的平均回收率分别为83.7%~107.9%,平均变异系数为6.8%~19.7%。当添加水平为1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,本方法不同批次猪肉回收率的相对标准偏差为7.7%~21.6%,重复性好。另外,与安捷仑GC/MS5973分析相比,采用GC/MS5975N时,雌三醇衍生物定量离子为 m/z 876,比 m/z 663峰度强。

关键词:性激素;气相色谱-质谱联用;猪肉

中图分类号:TS201.6

文献标识码:A

性激素具有强且持久的蛋白质同化作用,通过增强食欲、抑制发情、提高饲料转化率和控制性别等作用,能达到大幅度地提高动物养殖经济效益的目的^[1-4]。然而,长期摄入此类激素类药物会导致消费者内分泌紊乱、性早熟和肥胖症,增加致癌等风险,诸多严重的负面作用使性激素被大部分国家禁止用于促进动物生长,并不得在食品中检出^[2-5]。

由于动物组织内的性激素的检测下限要求到1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,必须有良好的净化手段来降低本底干扰,加上本身化学性质差异较大以及内源性性激素的影响给检测带来了一定的难度^[1]。国外性激素多残留检测方法虽有较多报道,但高灵敏的方法往往对净化设备和过程要求很高,或者通过昂贵液质联用(LC/MS/MS)检测,仪器投入、运行成本和消耗很高。安捷仑新一代GC/MS5975N仪器灵敏度和检测范围性能较GC/MS5973有一定程度的提高,但

鲜见有其应用于检测性激素残留的报道。本实验室采用简便的前处理手段结合安捷仑GC/MS5975N测定猪肉样品中16种激素,取得了满意的结果。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

气相色谱质谱仪(安捷仑GC6890-5975N),冷冻离心机(Sigma 3K30),真空旋转浓缩仪(BüCHI),氮吹仪(Organomation Associates),固相萃取仪器(Supeclo),超纯水器(MILLI-Q MILLIPORECO),旋涡混合仪(Votexgenie-2型),超声波清洗仪(SCQ-250)和台式水浴振荡器(TSHZ-A-05M)。

标准品:己烷雌酚(98%)、炔雌醇(98%)和左炔诺孕酮(99%)购自Sigma公司;己烯雌酚(99.5%)、玉米赤霉醇(99.3%)和雌酮(99.0%)购自Dr. Ehrens-

收稿日期:2007-04-02.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://3xb.nbu.edu.cn>

基金项目:国家质检总局项目(2005IK033)。

作者简介:湛 嘉(1977-),男,湖南平江人,硕士/工程师,主要研究方向:色谱与食品安全. E-mail: zhanjia2000@163.com

*通讯作者:李佐卿(1947-),男,浙江宁波人,研究员,主要研究方向:色谱与食品安全. Email: lizq@nbciq.gov.cn

torfer公司;睾酮(98%)、甲基睾酮(纯度97.5%)、炔诺酮(98%)和雌二醇(97%)购自Tokyo kasei公司;去氢睾酮(98.8%),双烯雌酚(98.0%)、甲孕酮(98.4%)购自Sigma-Aldrich公司;雌三醇(99.7%)和19-去甲睾酮(99%)购自Fluka公司;孕酮(98%)购自Acros公司。己烯雌酚中异构体的比例 *cis*-DES:*trans*DES=28%:72%^[5]。

β -葡糖苷酸酶(Sigma G0876)为H-2型;甲醇、异辛烷、乙酸乙酯和丙酮为色谱纯;七氟丁酸酐纯度97%;磷酸、碳酸氢钠、醋酸和醋酸钠为分析纯;无水硫酸钠为分析纯经550℃干燥4h;重蒸馏水。0.2 mol·L⁻¹水解缓冲液:12.95 g醋酸钠和2.52 g醋酸溶解在800 mL重蒸馏水中,调整pH至5.0后定容至1 L。15%甲醇淋洗液:15%甲醇水溶液(0.25%磷酸,用HCl调整pH至2.0)。

1.2 样品前处理

1.2.1 样品水解和提取

称取5.0 g已捣碎样品,加入醋酸钠缓冲液15 mL,60 μ L β -葡糖苷酸酶,37℃,过夜水解。水解结束后加入0.75 g碳酸氢钠粉末。加入25 mL叔丁基甲醚,充分混匀,4000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液,然后用15 mL、10 mL提取液重复提取2遍,合并上清液,45℃旋转蒸发至近干。

1.2.2 净化

在鸡心瓶中加入4.5 mL甲醇和1 mL水和2×3 mL异辛烷洗涤鸡心瓶后转入15 mL离心管,漩涡混匀后,4000 r·min⁻¹离心10 min,去掉异辛烷层,5 mL异辛烷重复去脂肪1次。将上述甲醇溶液,50

水浴N₂吹干至0.7 mL左右,加入100 μ L丙酮、15%甲醇淋洗液6 mL。然后再将此样液通过上部紧塞有脱脂棉(1 cm高)的C₁₈柱(预先依次用5 mL甲醇、15%甲醇淋洗液以及水各洗涤1次),然后用15%甲醇淋洗液5 mL洗涤1次,夹出柱内粘有杂质的脱脂棉,用5 mL水淋洗,并充分抽真空。NH₂小柱预先装入1.5 g无水硫酸钠,并依次用3 mL甲醇和3 mL乙酸乙酯活化,串连在C₁₈小柱下,用3×

2.5 mL乙酸乙酯洗脱,洗脱液50℃水浴N₂吹干。

1.2.3 衍生化

在吹干后的残渣中加入125 μ L七氟丁酸酐-丙酮(V/V=1:4,临用时配制),漩涡混匀,65℃下密闭衍生45 min后,冷却后吹干,并用125 μ L异辛烷定容。

1.3 GC-MS 参数

HP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μ m); GC条件:以氦气为载气,恒流流速0.6 mL·min⁻¹,进样口温度265℃;升温程序:初始温度为70℃,保持1 min,然后以40℃·min⁻¹至185℃,保持20 min,再以20℃·min⁻¹升至225℃,并保持10 min,以30℃·min⁻¹至270℃保持8 min,20℃·min⁻¹升至315℃,并保持6 min。不分流方式进样,进样体积2.0 μ L。MS条件:接口温度285℃,离子源为EI源,电子轰击能量70 eV,溶剂延迟时间14.5 min,全扫描范围为*m/z* 80~999。模式:选择离子监视(SIM)。

1.4 标准曲线

采用选择离子监测模式(SIM)测定。猪肉空白样品5.0 g中添加标准品做标准曲线,以添加质量浓度为横坐标(0 μ g·kg⁻¹、1 μ g·kg⁻¹、2.5 μ g·kg⁻¹、5 μ g·kg⁻¹),以衍生产物的定量离子的峰面积为纵坐标(对于本底含有的内源性激素,每一个Y值减去空白样品的定量离子的峰面积),在基质做线性回归方程,作为定量的依据。

1.5 阴性对照、检出限、回收率和精密度测定

空白样品5.0 g,按上述步骤进行对照处理(*n* = 6)。在空白样品中添加待测物,使之理论含量为0 μ g·kg⁻¹、0.1 μ g·kg⁻¹、0.25 μ g·kg⁻¹、0.5 μ g·kg⁻¹、1 μ g·kg⁻¹、2 μ g·kg⁻¹、5 μ g·kg⁻¹,以4个离子的信噪比*S/N* = 3倍,作为定性检出限依据,定量检测限以定量离子的*S/N* = 10倍。在空白样品中添加待测物,使之理论含量1 μ g·kg⁻¹、2.5 μ g·kg⁻¹和5 μ g·kg⁻¹,经上述步骤处理后,对3个水平进行相对回收率测试,求出回收率及其相对标准偏差。

对不同批次添加水平为 $1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的回收率前后进行比较, 求得其相对标准偏差($n=7$).

2 结果与讨论

2.1 标准曲线、检测限

衍生产物进入离子源后被击碎产生分子离子和碎片离子, 根据其对应的质谱图并参照文献[1-4, 6-9]确定特征离子; 16种性激素保留时间、最低检测限以及在基质的标准曲线及其回归系数见表1. 对照阴性样品经GC-MS分析, 空白猪肉含有少量的睾酮(0.66 ± 0.10) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和孕酮(0.61 ± 0.07) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 其他均为检出. 最低检出限均能达到 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 雌三醇、去氢睾酮和甲睾酮等检出限甚至可以达到 $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 灵敏度理想.

安捷伦GC/MS5975N在GC/MS5973基础上进行了技术改进, 采用惰性离子源, 大大减少了待测物的离子碎片在离子源上的吸附, 有效地防止离子峰变宽, 能获得比GC/MS5973更好的信噪比. 笔者

同时对这2种仪器进同浓度标样, SIM模式下的响应值比较发现, 前者灵敏度比后者均有不同程度的提高. 除此之外, 与GC/MS5973相比, 前者质量范围由800拓宽到1000. 采用GC/MS5975检测时雌三醇的特征离子峰由 m/z 663转变为离子强度大很多的 m/z 876, 灵敏度能获得大幅度的提高, 而至今未见过雌三醇衍生产物的特征离子为 m/z 876的报道. 本实验的检出限与秦燕等^[10]建立的LC/MS/MS较为一致, 证实安捷伦GC/MS5975能获得比GC/MS5973更好的信噪比, 提高灵敏度.

2.2 净化的简便与高效

本实验在样品进入反相 C_{18} 小柱之前, 用棉花挡住15%甲醇溶液中的大的颗粒, 并结合中极性的 NH_2 小柱, 净化简便, 效果理想. 相对平均回收率的数据处于83.7%~107.9%理想范围, 不仅如此, 其相对标准偏差范围在6.8%~19.7%(表2), 不同批次猪肉的回收率的相对偏差范围为7.7%~21.6%(表3). 与陈捷等^[9]的回收率和精密度的结果相比, 本实验采用添加标准曲线定量的精密度要稍

表1 16种性激素的保留时间、特征离子、检出限和标准曲线

化合物	保留时间/min	选择离子	$LOD^{(2)}/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	标准曲线	$R^{2(3)}$
顺式己烯雌酚 <i>cis</i> -Diethylstilbestrol	15.16	660 ⁽¹⁾ , 631, 341, 303	0.14	$Y=12\ 200X-2\ 920$	0.991
反式己烯雌酚 <i>trans</i> -Diethylstilbestrol	21.36	660 ⁽¹⁾ , 631, 341, 303	0.36	$Y=17\ 800X-2\ 310$	0.997
双烯雌酚 Dienoestrol	21.06	658 ⁽¹⁾ , 445, 461, 446	0.5	$Y=19\ 300X+2\ 050$	0.988
己烷雌酚 Hexestrol	21.03	331 ⁽¹⁾ , 332, 303, 275	0.5	$Y=268\ 000X-38\ 400$	0.996
甲睾酮 Methyltestosterone	27.68	480 ⁽¹⁾ , 465, 369, 335	0.25	$Y=28\ 200X+2\ 630$	0.992
炔诺酮 Norethisterone	29.33	476 ⁽¹⁾ , 477, 461, 355	0.5	$Y=17\ 200X+1\ 970$	0.998
玉米赤霉醇 Zeranol	29.68	696 ⁽¹⁾ , 625, 608, 555	1	$Y=2\ 530X-510$	0.992
炔雌醇 17α -Ethinylestradiol	30.72	474 ⁽¹⁾ , 459, 446, 431	0.5	$Y=31\ 500X+1\ 910$	0.983
去氢睾酮 Boldenone	31.12	678 ⁽¹⁾ , 465, 464, 369	0.25	$Y=15\ 300X+1\ 420$	0.998
左炔诺孕酮 D(-)Norgestrel	32.95	461 ⁽¹⁾ , 490, 462, 355	0.5	$Y=45\ 000X+1\ 460$	0.998
19-去甲睾酮 19-Nortestosterone	33.27	666 ⁽¹⁾ , 667, 306, 453	0.5	$Y=11\ 700X+2\ 980$	0.980
睾酮 Testosterone	34.18	320 ⁽¹⁾ , 680, 467, 451	0.5	$Y=20\ 300X-725$	0.991
雌二醇 β -Estradiol	34.68	664 ⁽¹⁾ , 409, 451, 355	0.5	$Y=43\ 900X+476$	0.999
雌酮 Estrone	35.62	466 ⁽¹⁾ , 409, 448, 422	0.5	$Y=44\ 300X-440$	0.999
雌三醇 Estriol	36.34	876 ⁽¹⁾ , 663, 449, 409	0.25	$Y=13\ 900X-528$	0.998
甲孕酮 Medroxyprogesterone	38.18	479 ⁽¹⁾ , 357, 383, 369	0.5	$Y=66\ 400X-1\ 800$	0.998
孕酮 Progesterone	38.75	510 ⁽¹⁾ , 511, 495, 425	0.5	$Y=15\ 900X+822$	0.997

注: (1)为定量离子; (2)LOD为最低检测限; (3)R为回归系数.

表2 猪肉中16种激素的回收率测定结果

化合物	添加水平 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	实际浓度($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%	平均回收率 /%	平均 RSD/%
顺式己烯雌酚 <i>cis</i> -Diethylstilbestrol	0.28	0.30, 0.22, 0.21, 0.23	85.5±15.2	17.8	89.5±13.9	15.5
	0.70	0.71, 0.69, 0.59	94.8±8.8	9.3		
	1.4	1.58, 1.42, 1.39, 1.41	103.5±6.3	6.1		
反式己烯雌酚 <i>trans</i> -Diethylstilbestrol	0.72	0.80, 0.61, 0.62, 0.73	95.8±12.5	13.1	94.9±12.4	13.0
	1.8	1.62, 1.81, 1.92	99.1±8.5	8.6		
	3.6	3.95, 2.74, 3.00	89.6±17.7	19.7		
双烯雌酚 Dienoestrol	1	1.18, 0.88, 0.97, 0.83	96.5±15.5	16.0	96.7±13.7	14.2
	2.5	1.89, 2.45, 2.50	91.2±13.5	14.9		
己烷雌酚 Hexestrol	5	5.63, 3.51, 4.56, 4.20	89.5±17.7	19.8	100.8±11.0	10.9
	1	1.04, 1.16, 1.04, 0.85	102.3±12.8	12.5		
	2.5	1.96, 2.50, 2.70	95.5±15.3	16.0		
甲睾酮 Methyltestosterone	5	5.73, 4.32, 5.33	102.5±14.5	14.2	99.9±6.8	6.8
	1	0.98, 1.06, 1.04, 0.90	99.5±7.2	7.2		
	2.5	2.41, 2.53, 2.66, 2.30	99.0±6.2	6.3		
炔诺酮 Norethisterone	5	4.47, 5.52, 5.14, 5.13	101.3±8.7	8.6	94.6±11.3	11.9
	1	1.00, 0.94, 0.91, 0.78	90.8±9.3	10.2		
	2.5	2.87, 2.63, 2.31	104.1±11.2	10.8		
玉米赤霉醇 Zeranol	5	4.04, 5.14, 4.95, 4.11	91.2±11.3	12.4	83.7±12.0	14.3
	1	0.95, 0.69, 0.87, 0.71	80.5±12.6	15.6		
	2.5	2.34, 1.88, 1.94	82.1±10.0	12.2		
炔雌醇 17 α -Ethinylestradiol	5	4.98, 3.34, 4.70, 4.62	88.2±14.6	16.5	92.1±12.4	13.5
	1	0.84, 0.86, 0.71, 0.94	83.8±9.5	11.4		
	2.5	2.90, 2.43, 2.00	97.7±18.0	18.4		
去氢睾酮 Boldenone	5	5.09, 5.06, 4.86, 4.26	96.4±7.7	8.0	107.9±17.6	16.4
	1	1.18, 1.31, 0.81, 1.14	111.0±21.3	19.2		
	2.5	3.51, 2.52, 2.83, 2.39	112.5±20.0	17.8		
左炔诺孕酮 <i>D</i> -(-)Norgestrel	5	4.30, 5.43, 4.63, 5.65	100.1±12.8	12.8	88.4±17.4	19.7
	1	0.89, 0.62, 0.67, 0.92	77.5±15.2	19.6		
	2.5	3.11, 2.52, 2.63, 2.29	105.5±13.8	13.1		
19-去甲睾酮 19-Nortestosterone	5	4.67, 4.33, 3.76, 3.68	82.2±9.4	11.5	102.7±15.6	15.2
	1	1.20, 1.13, 1.18, 0.77	107.0±20.2	18.9		
	2.5	3.10, 2.21, 2.51	104.3±18.1	17.4		
睾酮 Testosterone	5	4.70, 5.46, 5.10, 4.21	97.4±10.7	11.0	85.3±13.4	15.7
	1	1.10, 1.01, 0.95, 0.69	93.8±17.6	18.8		
	2.5	1.95, 1.97, 2.30	82.9±7.9	9.5		
雌二醇 β -Estradiol	5	4.59, 3.95, 3.62, 3.57	78.7±9.4	11.9	100.9±13.6	13.5
	1	0.99, 1.10, 1.12, 1.06	106.8±5.7	5.4		
雌酮 Estrone	2.5	3.22, 2.44, 2.51, 2.42	105.9±15.3	14.5	94.7±10.3	10.9
	5	4.38, 5.47, 4.14, 4.03	90.1±13.2	14.6		
雌三醇 Estriol	1	0.69, 1.1, 1.07, 0.85	92.8±15.8	17.0	99.4±10.9	10.9
	2.5	2.1, 2.59, 1.97, 2.83	94.9±13.5	14.2		
	5	5.3, 4.86, 5.05, 4.07	96.4±7.5	7.8		
甲孕酮 Medroxyprogesterone	1	1.13, 0.98, 0.95, 0.90	99.0±9.9	10.0	94.1±12.2	13.0
	2.5	2.65, 2.56, 2.45, 2.96	106.2±8.8	8.3		
	5	4.09, 5.32, 5.00, 4.21	93.1±12.0	12.9		
孕酮 Progesterone	1	1.08, 1.05, 0.99, 0.89	100.3±8.4	8.4	93.5±10.8	11.6
	2.5	2.19, 1.73, 2.08	80.0±9.6	12.0		
	5	5.32, 5.06, 4.24, 5.10	98.6±9.5	9.6		
	1	0.93, 0.89, 0.98, 0.84	91.0±5.9	6.5		
	2.5	2.69, 2.04, 2.55	97.1±13.7	14.1		
	5	3.96, 5.35, 4.11, 5.22	93.2±14.5	15.6		

表3 猪肉中的16种性激素测定的重复性($n=7$)

化合物	回收率/%	相对标准偏差/%
顺式己烯雌酚 <i>cis</i> -Diethylstilbestrol	108, 78, 75, 81, 79, 76, 83	13.8
反式己烯雌酚 <i>trans</i> -Diethylstilbestrol	111, 85, 86, 101, 68, 90, 91	14.9
双烯雌酚 Dienoestrol	104, 116, 104, 85, 110, 120, 106	10.6
己烷雌酚 Hexestrol	118, 88, 97, 83, 71, 65, 84	20.1
甲睾酮 Methyltestosterone	98, 106, 104, 90, 97, 87, 83	9.1
炔诺酮 Norethisterone	100, 94, 91, 78, 89, 88, 96	7.7
玉米赤霉醇 Zeranol	95, 69, 87, 71, 102, 87, 93	14.2
炔雌醇 17 α -Ethinylestradiol	84, 86, 71, 94, 133, 82, 103	21.6
去氢睾酮 Boldenone	118, 131, 81, 114, 104, 90, 100	16.2
左炔诺孕酮 D-(-)Norgestrel	89, 62, 67, 92, 61, 98, 78	19.4
19-去甲睾酮 19-Nortestosterone	120, 113, 118, 77, 125, 115, 140	16.6
睾酮 Testosterone	110, 101, 95, 69, 65, 78, 89	19.3
雌二醇 β -Estradiol	99, 110, 112, 106, 78, 79, 93	14.5
雌酮 Estrone	77, 85, 88, 91, 110, 95, 83	11.8
雌三醇 Estriol	113, 98, 95, 90, 114, 94, 78	13.0
甲孕酮 Medroxyprogesterone	108, 105, 99, 89, 101, 99, 83	9.0
孕酮 Progesterone	93, 89, 98, 84, 81, 79, 76	9.3

好.

从以往的文献看,GC/MS检测性激素方法要获得高的灵敏度,其净化的要求一般很高,降低本底干扰,极大维持相对峰度的比例,一般要求2~3种极性相反的固相萃取小柱,有的方法还需要制备液相色谱、超临界流体萃取或免疫亲和等手段. Alida等除了使用氧化铝固相萃取小柱外,还进行了超临界流体萃取(SFE),检测下限为2~5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [2]. Daeseleire检测去氢睾酮等25种性激素时,除采用串连 C_{18} 和 NH_2 柱外,还经制备液相色谱净化,牛尿和牛肉检测下限分别为0.1~2.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和0.3~4.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [10]. Michel检测己烯雌酚等12种性激素时,不仅采用了制备液相色谱净化,而且用到了消耗不菲的复合免疫亲和材料,检测下限低于2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [11]. 荷兰国家公共卫生和环境研究院残留分析实验室检测19-去甲睾酮等10种性激素时,也用到了复合的免疫亲和小柱[8].

2.3 确证方法

根据欧盟动物源性食品中兽药残留确证4分制要求,除保留时间吻合外,单极质谱同时选取4个

特征离子,峰纯度和离子峰度的比例也满足要求,与GC/MS/MS和LC/MS/MS同样胜任确证要求[4]. 本方法对于每一种待测物均严格选取4个离子,由于净化效果良好,保障了离子峰的纯度和相对峰度的比例,以4个离子 $S/N \geq 3$ 倍,作为确证依据,可靠性强. 由于净化效果良好,采用进一步浓缩到50 μL 或加大一倍的称样量还有提高灵敏度的潜力.

3 结论

本方法前处理手段较为简便而净化效果十分良好,具有效率高、灵敏度理想和可靠性强等特点,加上分析仪器的价格和运行费用都较LC/MS/MS低很多,便于在基层实验室推广使用,对检测动物源性食品中性激素类药物不失为很好的选择.

参考文献:

- [1] 李俊锁, 邱月明, 王超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
- [2] Alida A M S, Paulus W, Zoontjes A, et al. The use of supercritical fluid extraction for the determination of

- steroids in animal tissues[J]. *Analyst*, 1998, 123:2 671-2 676.
- [3] Daeseleire E, Vandeputte R, Peteghem C Van. Validation of multi-residue methods for the detection of anabolic steroids by GC-MS in muscle tissues and urine samples from cattle[J]. *Analyst*, 1998, 123:2 595-2 598.
- [4] Hewitt S A, Kearney M, Currie J W, et al. Screening and confirmatory strategies for the surveillance of anabolic steroid abuse within northern Ireland[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 473:99-109.
- [5] Franco D A, Adams C E. *Animal drugs and human health* [M]. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, 1994.
- [6] Koole A, Franke J P, Zeeuw R A. Multi-residue analysis of anabolics in calf urine using high-performance liquid chromatography with diode-array detection[J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1999, 724(1):41-51.
- [7] Koole A, Franke J P, Zeeuw R A. Solid phase extraction for multiresidue analysis of anabolic steroids and related substances from calf urine using C₁₈ and alumina columns[J]. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 1999, 22(17):2 627-2 650.
- [8] 庄无忌. *动物和动物源食品中兽药残留物分析方法*[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.
- [9] 秦燕, 陈捷, 张美金. 动物肌肉组织中甾类同化激素多组分残留的液相色谱-质谱检测方法[J]. *分析化学*, 2006, 34(3):298-302.
- [10] Michel Dubois, Xavier Taillieu, Yves Colemonts, et al. GC-MS determination of anabolic steroids after multi-immunoaffinity purification[J]. *Analyst*, 1998, 123, 2 611-2 616.

Determination of 16 Sex Hormones in Pork by Gas Chromatography-mass Spectrometry

ZHAN Jia, LI Zuo-qing*, YU Xue-jun, FAN Yuan-mu, CHEN Shu-bing,
XIE Dong-hua, FANG Ke-teng, YANG Juan-fen

(Ningbo Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo 315012, China)

Abstract: Using GC/MS (Agilent 5975N), the author proposes a highly efficient method for simultaneous determination of 16 sex hormones in pork. In analytical process the detection limits are 0.25~1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Overall recovery (%) and relative standard deviations(RSD, %) range from 83.7% to 107.9%, and from 6.8% to 19.7%, respectively. The within-laboratory repeatability (RSD, %) range from 7.7% to 21.6% when the adding level of 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ is used. The results show the satisfactory recovery and repeatability. In addition, when GC/MS(Agilent 5975N) is used, the quantifier ion of heptafluorobutyric anhydride derivative of estriol is m/z 876 whose intensity is higher than that of m/z 663.

Key words: sex hormone; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); pork

CLC number: TS201.6

Document code: A

(责任编辑 史小丽)