

多重机制杂质吸附萃取净化-快速液相色谱-串联质谱法 测定鱼组织中 11 种同化激素

姚珊珊*, 赵永纲, 李小平, 陈晓红, 金米聪

(宁波市疾病预防控制中心 宁波市毒物研究与控制重点实验室, 浙江 宁波 315010)

摘要: 建立了准确、灵敏的鱼组织中 11 种同化激素(勃地酮、雄烯二酮、诺龙、美雄酮、甲睾酮、睾酮、醋酸睾酮、群勃龙、丙酸睾酮、康力龙、氟甲睾酮) 的多重机制杂质吸附萃取净化-快速液相色谱-串联质谱的分析方法。鱼组织均质样品经甲醇提取后, 在上清液中加入一定量的 C₁₈ 固体吸附剂、中性氧化铝吸附剂和氨基功能化纳米吸附剂实现快速净化。采用 Shim-Pack XR-ODS II 色谱柱(100 mm × 2.0 mm, 2.2 μm) 分离, 以乙腈(含 0.1% 甲酸) 和水(含 0.1% 甲酸) 为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾正离子多反应监测(MRM) 模式下检测, 外标法定量。结果表明, 11 种目标化合物在线性范围内具有良好的线性关系, 相关系数大于 0.999, 其在鱼组织中的检出限(S/N > 3) 为 0.03 ~ 0.4 μg/kg, 定量限(S/N > 10) 为 0.1 ~ 1.5 μg/kg, 平均回收率为 80.9% ~ 98.1%, 相对标准偏差(RSD) 为 5.2% ~ 11.5%。该方法简便、快速、准确, 可用于鱼组织中同化激素的定性、定量监测。

关键词: 多重机制杂质吸附萃取净化; 快速液相色谱-串联质谱; 同化激素; 鱼组织

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2012) 06-0572-06

Determination of 11 anabolic hormones in fish tissue by multi-function impurity adsorption solid-phase extraction-ultrafast liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YAO Shanshan*, ZHAO Yonggang, LI Xiaoping, CHEN Xiaohong, JIN Micong

(Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Ningbo Key Laboratory of
Poison Research and Control, Ningbo 315010, China)

Abstract: A method was developed for the determination of 11 anabolic hormones (boldenone, androstenedione, nandrolone, methandrostenolone, methyltestosterone, testosterone, testosterone acetate, trenbolone, testosterone propionate, stanozolol, fluoxymesterone) in fish by multi-function impurity adsorption solid-phase extraction-ultrafast liquid chromatography-tandem mass spectrometry. After the sample was extracted by methanol, the extract was cleaned-up quickly by C₁₈ adsorbent, neutral alumina adsorbent and amino-functionalized nano-adsorbent. The separation was performed on a Shim-Pack XR-ODS II column (100 mm × 2.0 mm, 2.2 μm) using the mobile phases of 0.1% (v/v) formic acid in acetonitrile and 0.1% (v/v) formic acid solution in a gradient elution mode. The identification and quantification were achieved by using electrospray ionization in positive ion mode (ESI⁺) in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The matrix-matched external standard calibration curves were used for quantitative determination. The results showed that the calibration curves were in good linearity for the eleven analytes with the correlation coefficients (*r*) more than 0.999. The limits of detection (LODs, S/N > 3) for the 11 anabolic hormones were from 0.03 μg/kg to 0.4 μg/kg and the limits of quantification (LOQs, S/N > 10) were from 0.1 μg/kg to 1.5 μg/kg. The average recoveries ranged from 80.9% to 98.1% with the relative standard deviations between 5.2%

* 通讯联系人: 姚珊珊, 硕士, 主管技师, 主要从事理化检测研究工作。E-mail: yaoss@nbcdc.org.cn.

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2010KYB098)、宁波市自然科学基金项目(2010A610010)、浙江省医药卫生平台研究计划骨干人才项目(No. 2011RCB033) 和宁波市农业与社会发展重点择优委托项目(No. 2011C11021)。

收稿日期: 2012-02-09

and 11.5%. The method is simple, rapid, sensitive, accurate and suitable for the quantitative determination and confirmation of the 11 anabolic hormones in fish.

Key words: multi-function impurity adsorption solid-phase extraction; ultrafast liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UFLC-MS/MS); anabolic hormone; fish tissue

同化激素,亦称蛋白同化激素,它能促进细胞的生长与分化,并使肌肉扩增。在水产行业中,同化激素被添加在饲料中,利用其蛋白同化作用,促进鱼类生长和提高饲料转化率。但如果滥用同化激素,会造成在动物体内的残留,被人食用后进入人体,会损害肝脏,引起水肿或血钙过高,严重的还会造成男女性别特征紊乱及致癌。为此,中国、日本、欧盟等国家和组织相继制定了相应的法律限制或禁止同化激素在动物饲养中应用。2002年9月,农业部出台《无公害食品渔药使用准则》规定:甲基睾酮(包括丙酸睾酮、去氢甲睾酮以及同化物等雄性激素)为禁用渔药^[1]。农业部第235号公告规定了《动物性食品中兽药最高残留限量》,甲基睾酮、群勃龙等为禁止使用的药物,在动物性食品中不得检出^[2]。因此开展水产鱼类中的激素类药物残留的快速分析方法研究具有重要的现实意义。

有关同化类激素药物残留的检测方法主要有气相色谱-质谱法(GC-MS)^[3-7]、高效液相色谱法(HPLC)^[8]和液相色谱-质谱法(LC-MS)^[9-13]。HPLC法的灵敏度较低,基质干扰大,对前处理要求高。GC-MS方法虽然灵敏度和特异性都很高,但衍生过程繁琐。HPLC-MS方法灵敏度高,选择性和特异性好,能够对低浓度的样品进行很好的确认,已用于各种不同基质中同化激素残留的测定。目前,采用LC-MS法测定痕量兽药残留的样品处理多采用固相萃取(SPE)法^[4,12-15],该方法可同时完成样品的富集与净化,净化效果较好,但是固相萃取小柱成本较高,而且有机溶剂的使用量较大,一般情况下需同时采用有机溶剂淋洗和洗脱,操作繁琐费时。也有文献报道采用低温脱脂净化的快速前处理方法^[11],但该处理方法过于简单,净化后的样品溶液中杂质依然较多,基质效应较严重,且容易污染仪器和色谱柱。因此,开展一种新型、环保、简便的样品预处理方法研究十分必要。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)方法作为一种简便、快速、安全、价格低廉的分析方法,主要用于农产品中农药多残留检测。近年来也有报道将此方法用于兽药残留领域^[16],但由于样品基质的不同,兽药和农药的化学性质不同等因素,QuEChERS在兽药残留领域的应用还很有限。多重机制杂质吸

附萃取净化方法(multi-function impurity adsorption solid-phase extraction, MAS)^[17]是一种最新提出的基于介质分散固相萃取的方法,此方法将QuEChERS方法推广到了兽药残留分析领域。该方法主要通过多种功能化吸附材料,将样品中的主要干扰杂质吸附,有效地去除基体中可能存在的磷脂、脂肪和部分蛋白质等,同时将被测物质留在样品溶液中,而达到净化和富集的目的。该方法快速、简单,可大大节省样品前处理的时间。本文将MAS净化方法应用于鱼组织中同化激素残留的检测,优化了样品提取溶剂和MAS净化程序,建立了一种简便、环保、快速、准确的鱼组织中11种同化激素(勃地酮、雄烯二酮、诺龙、美雄酮、甲睾酮、睾酮、醋酸睾酮、群勃龙、丙酸睾酮、康力龙、氟甲睾酮)的MAS-LC-MS/MS分析方法,取得了较为满意的结果。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

API 5500 串联质谱仪,配有电喷雾离子源(美国 AB SCIEX 公司); Prominence UFLC XR 型超快速高分离液相色谱仪(日本岛津株式会社); T25 basic 高速组织捣碎机(德国 IKA 公司); KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Legend RT 型离心机(德国 Heraeus 公司); HGC-24 型氮吹仪(天津恒奥科技有限公司); WH-861 旋涡混合器(太仓市科技器材厂); Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

甲醇、乙腈、甲酸、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮均为 HPLC 级(德国 Merck 公司)。试验用水均来自 Milli-Q 纯水系统。勃地酮(boldenone, 98.0%)、雄烯二酮(androstenedione, 98.0%)、诺龙(nandrolone, 98.0%)、美雄酮(methandrostenolone, 98.0%)、甲睾酮(methyltestosterone, 98.0%)、睾酮(testosterone, 99.5%)、醋酸睾酮(testosterone acetate, 99.5%)、群勃龙(trenbolone, 98.2%)、丙酸睾酮(testosterone propionate, 98.5%)、康力龙(stanozolol, 99.5%)、氟甲睾酮(flouxymesterone, 98.5%)均购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。C₁₈ 固体吸附剂和中性氧化铝吸附剂(Agilent 公司)、氨基功能化纳米吸附剂(自制)^[18]。

标准储备液(1.0 g/L)的配制:分别准确称取各种同化激素标准品 10.0 mg 于 11 个 10 mL 容量瓶中,用少量甲醇溶解后,用甲醇定容至刻度,得 1.0 g/L 标准储备液,于 -18 °C 冰箱中保存备用。

混合标准溶液的配制:分别吸取各标准储备液 200 μL 于 10 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度,此混合标准溶液质量浓度为 20.0 mg/L,备用。

鱼样分别采集于宁波市高塘菜场(鲫鱼、草鱼各 5 份)与白沙菜场(鲫鱼、草鱼各 5 份)。

1.2 样品提取与净化

取鱼肉样品可食部分,置于高速组织捣碎机上捣碎备用。称取均匀样品 2.0 g 于 25 mL 离心管中,加入 10.0 mL 甲醇,混匀后超声提取 10 min,于 4 °C、8 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液后,再加入甲醇 5.0 mL,重复提取一次,合并上清液,于 40 °C 下氮吹至近干。加入约 2 mL 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液,在旋涡混合器上溶解残留物,并定容至 2 mL,加入 0.1 g C₁₈ 固体吸附剂、0.2 g 中性氧化铝吸

附剂和 0.1 g 氨基功能化纳米吸附剂,旋涡混匀 1 min,于 4 °C、8 000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.2 μm 滤膜后进样分析。

1.3 液相色谱与质谱条件

色谱柱: Shim-Pack XR-ODS II 柱(100 mm × 2.0 mm, 2.2 μm); 柱温: 35 °C; 流速: 0.4 mL/min; 进样量 5.0 μL; 流动相 A: 水(含 0.1% 甲酸) 流动相 B: 乙腈(含 0.1% 甲酸)。洗脱程序: 0→6.0 min, 30% B→95% B; 6.0→10.0 min, 95% B; 10.0→10.2 min, 95% B→30% B; 10.2→15.0 min, 30% B。

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 定量检测方式: 多反应监测模式(MRM); 电喷雾电压: 5 000 V; 雾化气压力: 344.8 kPa; 辅助气流速: 344.8 kPa; 气帘气压力: 275.8 kPa; 碰撞气: 41.4 kPa; 离子源温度: 500 °C; 扫描时间: 10 ms; 碰撞室出口电压: 11.0 V; 碰撞室入口电压: 8.0 V; 定性离子对、定量离子对、碰撞气能量及去簇电压见表 1。

表 1 11 种同化激素的 MRM 测定 Q1/Q3 离子对、去簇电压、碰撞能量和保留时间
Table 1 Q1/Q3 ion pairs, declustering potentials (DP), collision energies (CE) of MRM and retention times (t_R) for the 11 anabolic hormones

Compound	Precursor ion (Q1, m/z)	Fragment ion (Q3, m/z)	DP/V	CE/eV	t _R /min
Boldenone	287.3	135.2*, 121.1	130	22, 17	3.70
Androstenedione	287.2	97.0*, 109.2	130	30, 30	4.46
Nandrolone	275.2	109.1*, 239.3	200	36, 20	3.85
Methandrostenolone	301.2	121.1*, 149.2	100	28, 23	3.95
Methyltestosterone	303.2	97.1*, 109.2	150	32, 24	4.40
Testosterone	289.2	97.0*, 109.1	120	28, 33	4.12
Testosterone acetate	331.2	97.0*, 109.2	180	28, 35	5.91
Trenbolone	271.2	253.2*, 199.2	80	26, 32	3.54
Testosterone propionate	345.2	97.0*, 109.0	100	27, 33	6.48
Stanozolol	329.2	81.1*, 95.1	140	60, 50	3.72
Fluoxymesterone	337.2	241.2*, 131.2	160	35, 42	3.37

* Quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 样品前处理方法的优化

2.1.1 提取溶剂的优化

实验中考察了甲醇、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮等不同提取溶剂对 11 种同化激素回收率的影响(见图 1)。从图 1 中可以看出,采用二氯甲烷提取的回收率最低,各目标化合物的回收率均在 40% 以下。采用丙酮和乙酸乙酯提取的回收率中等,各目标化合物的回收率在 60% 与 80% 之间。甲醇和乙腈的提取回收率都较高,各目标化合物的回收率达 80% 以上。试验结果表明,提取溶剂极性越强,回收率越高,杂质也越多。由于甲醇的毒性比乙腈小,而且由于鱼肉组织水分含量较高,甲醇与水的互

溶性好,可充分渗入鱼组织内部,对鱼组织内部物质的进行充分提取,因此本实验采用甲醇作为提取溶剂。本文还考察了在甲醇溶剂里加入 5% 甲酸对鱼肉样品提取效率的影响,研究发现,采用酸化甲醇提取得到的回收率比甲醇提取的回收率略有下降,且杂质增多。因此,本文选择甲醇作为提取溶剂。

2.1.2 MAS 方法的建立

吸附剂的选择 鱼肉样品中含有大量的蛋白质、磷脂及脂肪酸。加入甲醇可沉淀蛋白质,但是仍然存在大量的杂质,检测时基线较高,也容易污染色谱柱和仪器。文献多采用固相萃取小柱进行净化处理,但是使用固相萃取小柱成本较高,操作相对繁琐。MAS 法通过使用固体吸附剂,吸附样品中的主要干扰杂质来净化。图 2 为未净化和净化后空白样

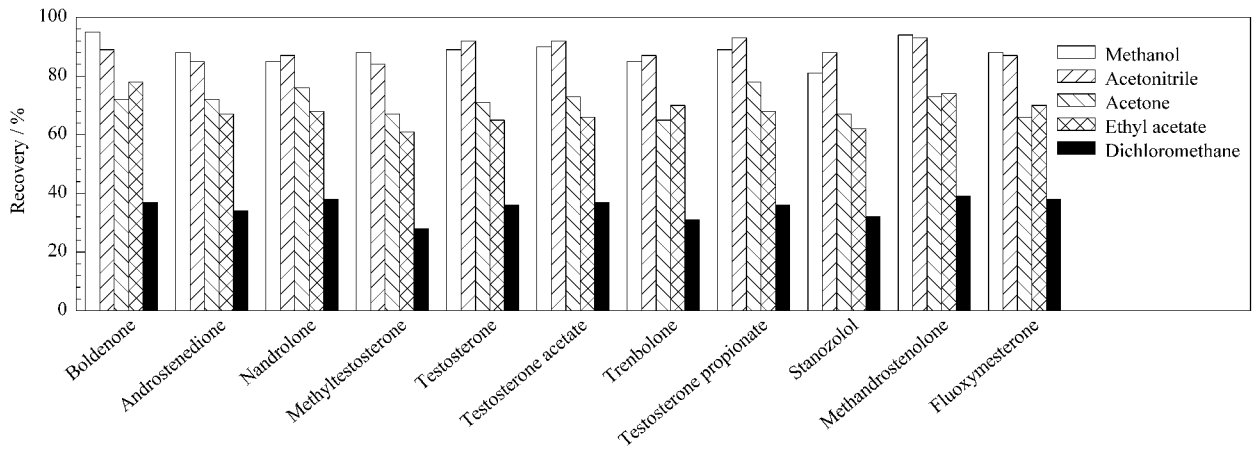


图 1 11 种同化激素采用甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯和二氯甲烷提取的回收率
Fig. 1 Recoveries of 11 anabolic hormones extracted by methanol, acetonitrile, acetone, ethyl acetate and dichloromethane

品(鲫鱼,采集于高塘菜场)的总离子流色谱图。从图 2 中可以看出,空白样品在使用固体吸附剂净化前(见图 2a),其杂质最大峰信号强度达 10^6 级。使用 C_{18} 固体吸附剂净化后(见图 2b),杂质信号峰稍有下降,样品溶液颜色变浅。 C_{18} 固体吸附剂主要吸附非极性的化合物,可防止非极性化合物进入色谱柱。氨基功能化纳米吸附剂是经悬浮聚合反应、开环反应等制备的一种表面富含 $-NH_2$ 活性位点的吸附材料,该材料可有效吸附样品中的酸性化合物,去除脂肪酸、磷脂等干扰物质。采用氨基功能化纳米吸附剂净化后(见图 2c),杂质最大峰信号强度下降将近一个数量级,其处理后的样品溶液也更为清晰。中性氧化铝吸附剂可去除脂肪类物质。采用中性氧化铝吸附剂净化后(见图 2d),在目标化合物的出峰时间段杂质信号大幅下降,基本上消除了样品基质对色谱峰的干扰。

吸附剂用量的选择 在取样量为 2 g 时,分别加入 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 g 固体吸附剂,考察不同的吸附剂加入量对杂质净化效果的影响。结果表明,当 C_{18} 固体吸附剂加入量达 0.1 g、中性氧化铝吸附剂加入量达 0.2 g、氨基功能化纳米吸附剂加入量达 0.1 g 后,继续加大吸附剂的用量对样品杂质的净化效果无明显改善。试验将这 3 种固体吸附剂混合使用,当加入 0.1 g C_{18} 固体吸附剂、0.2 g 中性氧化铝吸附剂、0.1 g 氨基功能化纳米吸附剂吸附净化后,样品溶液澄清,杂质信号下降在 95% 以上(见图 2e),大大降低了目标化合物的基体效应。

2.2 色谱分离条件和质谱方法的优化

分别采用甲醇-水和乙腈-水为流动相。研究发现,采用乙腈-水为流动相时,勃地酮、群勃龙、美雄酮、康力龙、氟甲睾酮的信号较强,而采用甲醇-水为

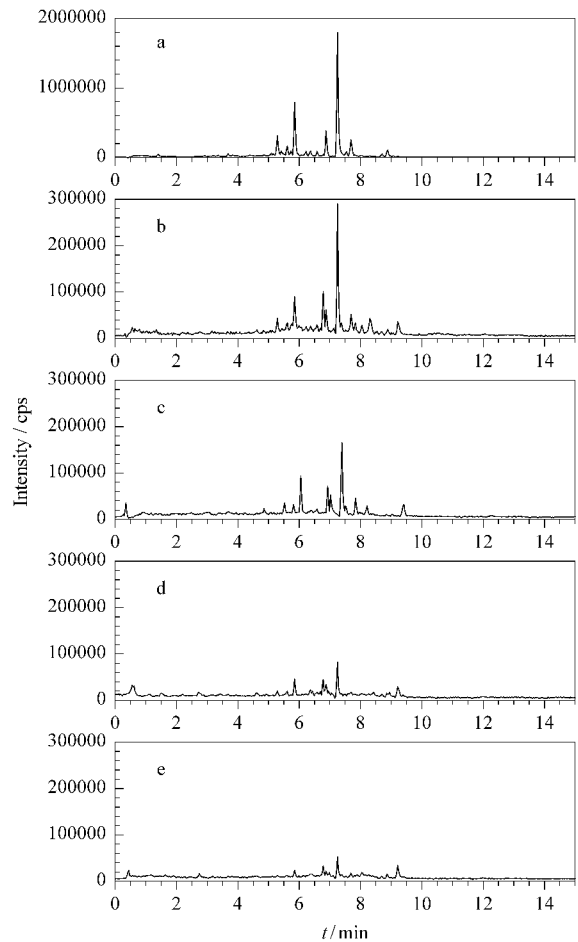


图 2 (a) 未净化、(b) C_{18} 固体吸附剂净化、(c) 氨基功能化纳米吸附剂净化、(d) 中性氧化铝固体吸附剂净化和 (e) 混合吸附剂净化后空白样品在 MRM 模式下的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion current chromatograms of a blank sample cleaned-up with (a) no adsorbent, (b) C_{18} adsorbent, (c) amino-functionalized nano-adsorbent, (d) neutral alumina adsorbent and (e) mixed adsorbents in the MRM mode

流动相时 雄烯二酮、醋酸甲睾酮、丙酸睾酮的信号较强。由于氟甲睾酮和诺龙的检出限相对较高,为了降低雄激素总体的检出限水平,故而采用乙腈-水为流动相。在流动相中加入少量酸能提高离子化效率,本实验在水和乙腈体系中加入 0.1% 的甲酸,使化合物的离子化效率得到增加,从而使化合物的信号得到增强。

实验中采用电喷雾电离源在正离子化模式下对各目标化合物的质谱信号强度、稳定性及碎片离子进行了试验。利用仪器的自动优化程序,采用蠕动泵将质量浓度为 100.0 μg/L 的目标同化激素以 7.0 μL/min 的速度直接引入质谱仪,考察其质谱行为。试验表明,当采用一级质谱时,在 ESI⁺ 模式下产生的基峰均为目标同化激素的准分子离子峰,可以作为各同化激素定性分析的依据之一。随后,本实验采用串联质谱的模式,分别对 11 种目标化合物的串联质谱参数,如喷雾电压、离子源温度、雾化气压力、气帘气压力、辅助气流速、碰撞能量等条件进行了优化。图 3 是空白样品加标 10.0 μg/kg 和空白样品中 11 种同化激素的 MRM 色谱图。从图 3 中可以看出,在优化条件下 11 种同化激素的分离较好,且峰形对称,样品基质对目标同化激素的测定基本无影响。

2.3 方法的线性范围和检出限

在空白基质溶液中,分别加入 20.0 mg/L 的混合标准溶液 1、2、5、10、25、50、100、250、500 和 1 000 μL 至 100 mL 容量瓶中,配制成质量浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50、100 和 200 μg/L 的标准系列溶液,在选定的色谱和串联质谱条件下进行测定,以各待测物的 MRM 峰面积 *A* 对其在溶液中的质量浓度 (*C*, μg/L) 进行线性回归,其典型的线性回归方程、相关系数 (*r*) 和线性范围见表 2。

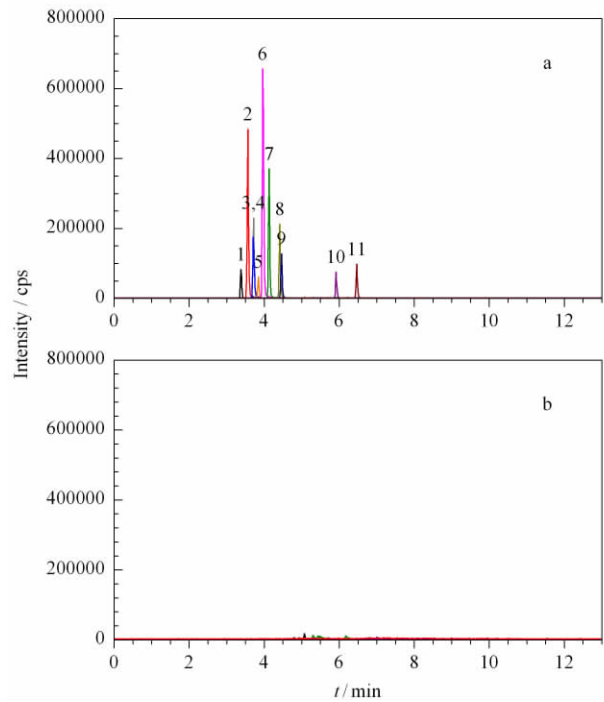


图 3 (a) 空白样品加标 10.0 μg/kg 和 (b) 空白样品中 11 种同化激素的 MRM 色谱图

Fig. 3 MRM chromatograms of 11 anabolic hormones in (a) a blank sample spiked with 10.0 μg/kg standards and (b) a blank sample

- 1. fluoxymesterone; 2. trenbolone; 3. stanozolol; 4. boldenone; 5. nandrolone; 6. methandrostenolone; 7. testosterone; 8. methyltestosterone; 9. androstenedione; 10. testosterone acetate; 11. testosterone propionate.

由表 2 可知,11 种目标化合物在线性范围内具有良好的线性关系,相关系数均不小于 0.999。采用在空白基质中添加目标组分的方法,以样品称样量为 2.0 g 计算,依据 MRM 色谱峰的信噪比 (*S/N*) 大于 3 确定检出限 (LOD), *S/N* 大于 10 倍确定最低定量限 (LOQ),得到 11 种目标组分的 LOD 和 LOQ 分别为 0.03 ~ 0.4 μg/kg 和 0.1 ~ 1.5 μg/kg,结果见表 2。

表 2 11 种同化激素的线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear regression equations, linear ranges, correlation coefficients (*r*), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of 11 anabolic hormones

Compound	Regression equation	Linear range/(μg/L)	<i>r</i>	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)
Boldenone	$A = 5.62 \times 10^4 C + 4.58 \times 10^3$	0.5 - 200	0.9995	0.09	0.3
Androstenedione	$A = 3.34 \times 10^4 C + 3.51 \times 10^2$	1.0 - 200	0.9996	0.2	0.6
Nandrolone	$A = 1.27 \times 10^4 C + 9.48 \times 10^2$	2.0 - 200	0.9998	0.4	1.5
Methandrostenolone	$A = 1.53 \times 10^5 C + 2.66 \times 10^4$	0.2 - 200	0.9999	0.03	0.1
Methyltestosterone	$A = 5.53 \times 10^4 C + 4.27 \times 10^2$	0.5 - 200	0.9999	0.1	0.3
Testosterone	$A = 8.54 \times 10^4 C + 6.02 \times 10^3$	0.5 - 200	0.9995	0.05	0.2
Testosterone acetate	$A = 2.23 \times 10^4 C - 8.96 \times 10^2$	2.0 - 200	0.9992	0.3	1.0
Trenbolone	$A = 9.72 \times 10^4 C + 1.09 \times 10^4$	0.2 - 200	0.9997	0.04	0.15
Testosterone propionate	$A = 2.81 \times 10^4 C - 1.62 \times 10^2$	1.0 - 200	0.9990	0.2	0.6
Stanozolol	$A = 5.83 \times 10^4 C + 1.13 \times 10^4$	0.5 - 200	0.9988	0.06	0.2
Fluoxymesterone	$A = 2.02 \times 10^4 C + 1.90 \times 10^3$	1.0 - 200	0.9999	0.2	0.7

A: peak area; *C*: mass concentration, μg/L. LOD: *S/N* > 3. LOQ: *S/N* > 10.

2.4 方法的回收率与精密度

在空白样品中分别添加低、中、高 3 个不同浓度水平的同化激素混合标准溶液,配成含量分别为 2.0、10.0 和 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的质量控制样品,每个浓度水平进行 6 次平行测定,其回收率和相对标准偏差(RSD)测定结果见表 3。由表 3 可知,11 种同化激素的平均回收率为 80.9% ~ 98.1%, RSD 为 5.2% ~ 11.5%。

表 3 11 种同化激素的加标回收率和精密度($n=6$)
Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations (RSDs) of 11 anabolic hormones ($n=6$)

Compound	Added/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Found/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %
Boldenone	2.0	1.96 \pm 0.15	98.1	7.6
	10.0	9.49 \pm 0.60	94.9	6.4
	100.0	88.5 \pm 5.9	88.5	6.7
Androstenedione	2.0	1.90 \pm 0.18	95.2	9.2
	10.0	8.84 \pm 0.53	88.4	6.0
	100.0	85.0 \pm 6.2	85.0	7.3
Nandrolone	2.0	1.81 \pm 0.19	90.7	10.7
	10.0	8.46 \pm 0.65	84.6	7.7
	100.0	86.5 \pm 7.3	86.5	8.4
Methyltestosterone	2.0	1.83 \pm 0.16	91.6	8.6
	10.0	8.78 \pm 0.48	87.7	5.4
	100.0	83.9 \pm 5.7	83.9	6.7
Testosterone	2.0	1.95 \pm 0.14	97.6	7.3
	10.0	8.93 \pm 0.46	89.3	5.2
	100.0	91.4 \pm 5.8	91.4	6.3
Testosterone acetate	2.0	1.85 \pm 0.16	92.3	8.6
	10.0	9.01 \pm 0.58	90.1	6.5
	100.0	91.6 \pm 6.9	91.6	7.6
Trenbolone	2.0	1.76 \pm 0.13	88.1	7.7
	10.0	8.45 \pm 0.51	84.5	6.1
	100.0	86.7 \pm 6.0	86.7	6.9
Testosterone propionate	2.0	1.76 \pm 0.17	87.9	9.4
	10.0	8.92 \pm 0.66	89.2	7.4
	100.0	92.3 \pm 7.3	92.3	7.9
Stanozolol	2.0	1.71 \pm 0.20	85.4	11.5
	10.0	8.09 \pm 0.68	80.9	8.4
	100.0	88.0 \pm 7.3	88.0	8.3
Methandrostenolone	2.0	1.92 \pm 0.16	96.0	8.2
	10.0	9.44 \pm 0.69	94.4	7.3
	100.0	92.7 \pm 7.3	92.7	7.8
Fluoxymesterone	2.0	1.85 \pm 0.18	92.5	9.6
	10.0	8.81 \pm 0.71	88.1	8.0
	100.0	90.1 \pm 7.9	90.1	8.7

2.5 实际样品的分析

将建立的方法用于 20 份市售鱼样(10 份鲫鱼、10 份草鱼)的检测,结果发现这 20 份样品均未检出同化激素。说明正规市场上出售的鱼类产品基本上都未违规添加同化激素。

3 结论

通过对多重机制杂质吸附萃取净化方法提取溶剂、吸附剂等的优化,建立了多重机制杂质吸附萃取净化-快速液相色谱-串联质谱法测定鱼组织中 11 种同化激素的分析方法。该方法简便、快速、环保、回收率高、精密度好,可满足鱼组织中痕量同化激素残留的分析要求。

参考文献:

- [1] NY 5071-2002
- [2] Ministry of Agriculture. No. 235 Bulletin of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China (农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号)
- [3] Yang L H, Lan C Y, Liu H T, et al. Anal Bioanal Chem, 2006, 386: 391
- [4] Seo J, Kim H Y, Chung B C, et al. J Chromatogr A, 2005, 1067: 303
- [5] Zorita S, Hallgren P, Mathiasson L. J Chromatogr A, 2008, 1192: 1
- [6] Lin W H, Dong W F, Chen X, et al. Chinese Journal of Chromatography (林维宣,董伟峰,陈溪,等. 色谱), 2009, 27(3): 294
- [7] Chen J, Qin Y, Zhang M J. Chinese Journal of Chromatography (陈捷,秦燕,张美金. 色谱), 2006, 24(1): 19
- [8] Xie W P, Ou-Yang Y L, Huang Y Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (谢维平,欧阳燕玲,黄盈煜,等. 色谱), 2010, 28(4): 388
- [9] Schlusener M P, Bester K. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19: 3269
- [10] Huang X J, Lin J B, Yuan D X, et al. J Chromatogr A, 2009, 1216: 3508
- [11] He L M, Huang X H, Fang B H, et al. Chinese Journal of Chromatography (贺利民,黄显会,方炳虎,等. 色谱), 2008, 26(6): 714
- [12] Chen H H, Ying Y F, Wu P G, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (陈慧华,应永飞,吴平谷,等. 分析化学), 2009, 37(2): 181
- [13] Qin Y, Chen J, Zhang M J. Chinese Journal of Analytical Chemistry (秦燕,陈捷,张美金. 分析化学), 2006, 34(3): 298
- [14] Regal P, Vazquez B I, Franco C M, et al. J Chromatogr B, 2009, 877: 2457
- [15] Yang Y, Shao B, Zhang J. J Chromatogr B, 2009, 877: 489
- [16] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, et al. Journal of Instrumental Analysis (罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,等. 分析测试学报), 2011, 30(12): 1329
- [17] Li J W, Wang W, Huang W, et al. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society (李建旺,王宛,黄韦,等. 质谱学报), 2009, 30(Suppl): 128
- [18] Zhao Y G, Shen H Y, Shi J W, et al. J Chromatogr A, 2011, 1218: 5568