

中华人民共和国国家标准

农业部 1163 号公告—9—2009

水产品中己烯雌酚残留检测 气相色谱—质谱法

Determination of diethylstilbestrol residues in fishery products
Gas chromatography—mass spectrometry method

2009-02-06 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部渔业局提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：山东省水产品质量检验中心、山东省海洋水产研究所。

本标准主要起草人：张秀珍、徐英江、宫向红、邢红艳、刘义豪、宋莉辉。

水产品中己烯雌酚残留检测 气相色谱—质谱法

1 范围

本标准规定了水产品中己烯雌酚残留量的气相色谱-质谱测定方法。
本标准适用于鱼、虾可食部分中己烯雌酚残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

以乙酸乙酯提取样品中的己烯雌酚,固相萃取柱净化,硅烷化试剂衍生化后,用气相色谱-质谱仪测定,外标法定量。

4 试剂

所有试剂除另有规定外均为分析纯,试验用水符合 GB/T 6682 一级水要求。

- 4.1 己烯雌酚标准品:纯度 $\geq 99\%$ 。
- 4.2 乙酸乙酯:色谱纯。
- 4.3 甲醇:色谱纯。
- 4.4 正己烷:色谱纯。
- 4.5 无水乙醚。
- 4.6 无水碳酸钠。
- 4.7 碳酸钠溶液:10%(W/V)。称取 10 g 无水碳酸钠,溶于 100 mL 水中。
- 4.8 己烯雌酚标准储备液:准确称取己烯雌酚标准品 0.010 g,用甲醇溶解,定容于 100 mL 容量瓶中,即浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液,置于 -18°C 冰箱中保存,有效期为 6 个月。
- 4.9 己烯雌酚标准工作液:临用前,准确吸取己烯雌酚标准储备液,用甲醇稀释成浓度为 0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作液。
- 4.10 衍生化试剂:N-O-双-(三甲基硅基)三氟乙酰胺(BSTFA)/三甲基氯硅烷(TMCS)体积比 99:1。

5 仪器

- 5.1 气相色谱质谱联用仪:配备电子电离(EI)离子源。
- 5.2 分析天平:感量 0.000 01 g。
- 5.3 旋涡混合器。
- 5.4 高速冷冻离心机。

- 5.5 氮吹仪。
- 5.6 旋转蒸发仪。
- 5.7 固相萃取装置。
- 5.8 具塞玻璃离心管:10 mL。
- 5.9 SLH 固相萃取柱:500 mg,6 mL。
- 5.10 样品反应瓶:2 mL,去活,螺纹口。

6 测定步骤

6.1 样品预处理

取水产品可食部分,充分匀浆,冷冻保存备用。

6.2 提取

称取 5 g(精确到 0.01 g)样品于 50 mL 离心管中,加入碳酸钠溶液(4.7)3 mL,乙酸乙酯 20 mL,均质 30 s,7 000 r/min 离心 10 min,移取乙酸乙酯层于 100 mL 梨形瓶中,残渣再加入 10 mL 乙酸乙酯,重复提取一次,合并乙酸乙酯层,于 40℃ 旋转蒸发至干,用 2 mL 正己烷和乙酸乙酯(体积比为 85:15)混合溶液溶解残留物,备用。

6.3 净化

依次用 5 mL 正己烷、5 mL 乙酸乙酯活化 SLH 固相萃取柱,取备用液过柱,控制流速不超过 2 mL/min,依次用 2 mL 正己烷,2 mL 正己烷和乙酸乙酯(体积比为 85:15)混合溶液淋洗小柱,弃淋洗液,将固相萃取柱抽干,用 10 mL 正己烷和乙酸乙酯(体积比为 80:20)混合溶液洗脱,流速控制不超过 2 mL/min,收集洗脱液于 10 mL 具塞玻璃离心管中,50℃ 水浴中氮气吹干。用 1.0 mL 无水乙醚溶解残留物,转移至样品反应瓶(5.10)中,氮气吹干。

6.4 衍生化

6.4.1 试样的衍生化

于反应瓶中加入 100 μ L 衍生化试剂(4.10),盖紧塞子,旋涡混合 30 s,80℃ 烘箱中衍生 30 min,用氮气吹干。加入 0.5 mL 正己烷,旋涡混合 10 s,供 GC-MS 分析。

6.4.2 标准溶液的衍生化

吸取一定量的己烯雌酚标准工作液于 2 mL 样品反应瓶中,氮气吹干,再按 6.4.1 操作。

6.5 测定

6.5.1 色谱条件

- 6.5.1.1 色谱柱:HP-5 ms 石英毛细管柱,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m;或相当者;
- 6.5.1.2 载气:高纯氮气,纯度 \geq 99.999%,流速 1.0 mL/min;
- 6.5.1.3 进样口温度:250℃;
- 6.5.1.4 进样方式:无分流进样方式;
- 6.5.1.5 进样量:1 μ L;
- 6.5.1.6 柱温:初始柱温 150℃,以 20℃/min 升至 180℃,保持 10 min,再以 3℃/min 升至 230℃,保持 4 min,再以 30℃/min 升到 280℃ 保持 2 min。

6.5.2 质谱条件

- 6.5.2.1 离子源:EI 源;
- 6.5.2.2 离子源温度:230℃;
- 6.5.2.3 四极杆温度:150℃;

- 6.5.2.4 接口温度:280℃;
 6.5.2.5 溶剂延迟:12 min;
 6.5.2.6 选择离子监测(SIM):己烯雌酚衍生物(m/z):383、397、412、413。

6.5.3 气相色谱-质谱分析

6.5.3.1 定性方法

样品峰与标准物质的保留时间之差不大于 0.10 min,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的特征离子均应出现,要求样品峰的各选择离子相对强度与标准物质相应选择离子的相对强度之差不大于允许相对标准偏差(表 1)。

表 1 选择离子监测表

名称	监测离子, m/z	相对强度, %	允许相对偏差, %
<i>cis</i> -DES 衍生物	412	100	—
	413	37	±15
	397	17	±20
	383	17	±20
<i>trans</i> -DES 衍生物	412	100	—
	413	37	±15
	397	17	±20
	383	17	±20

6.5.3.2 定量方法

以己烯雌酚衍生物定量离子(m/z 412)的峰面积单点或多点校准定量。当单点校准定量时,根据样品溶液中己烯雌酚含量情况,选择峰面积相近的标准工作液进行定量,结果以 *cis*-DES 衍生物峰和 *trans*-DES 衍生物的峰面积之和进行计算。同时,标准工作液和样品液中己烯雌酚响应值均应在仪器检测的线性范围之内。

7 结果计算

样品中己烯雌酚的含量按式(1)计算。

$$X = \frac{C_s \times (A_1 + A_2) \times V \times 1000}{(A_{S1} + A_{S2}) \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X ——样品中己烯雌酚含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
 C_s ——标准工作溶液中己烯雌酚含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
 V ——样品最终定容体积,单位为毫升(mL);
 A_{S1} ——标准工作溶液中 *cis*-DES 衍生物的峰面积;
 A_{S2} ——标准工作溶液中 *trans*-DES 衍生物的峰面积;
 A_1 ——试样液中 *cis*-DES 衍生物的峰面积;
 A_2 ——试样液中 *trans*-DES 衍生物的峰面积;
 m ——样品质量,单位为克(g)。

8 灵敏度

本方法在鱼、虾中的定量限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9 准确度

本方法添加浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,回收率 $\geq 70\%$ 。

10 精密度

本方法的批内相对标准偏差小于 10%，批间相对标准偏差小于 15%。

附录 A
(资料性附录)
总离子流图和质谱图

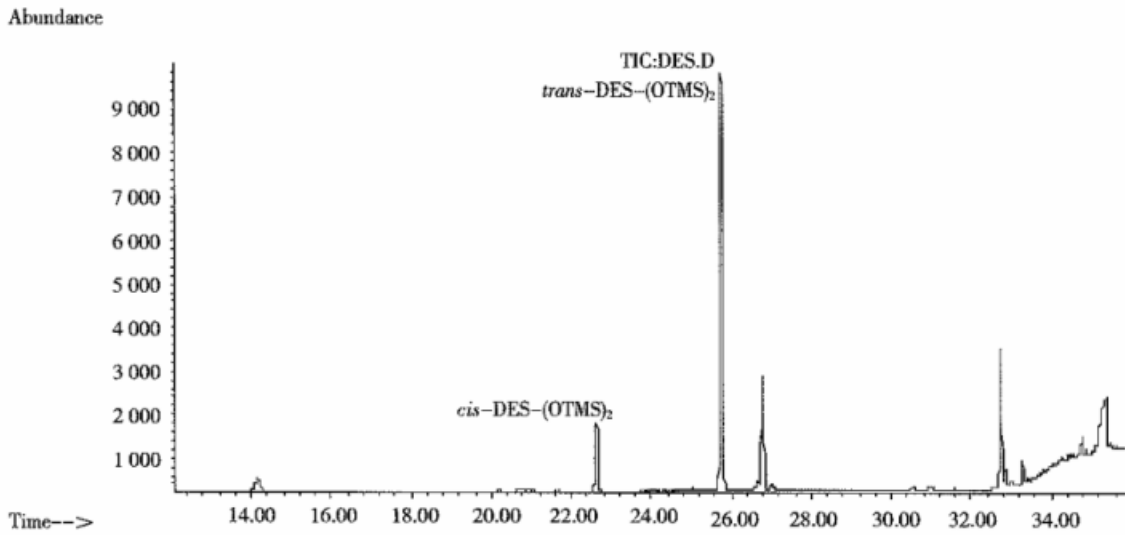


图 A. 1 己烯雌酚标准品衍生物总离子流图

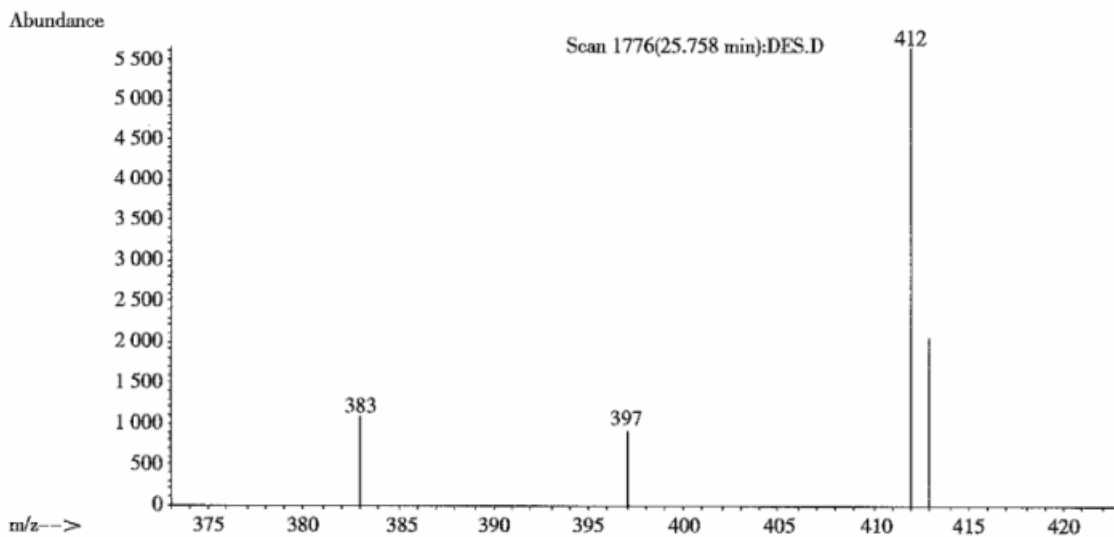


图 A. 2 己烯雌酚标准品衍生物质谱图