

液相色谱与三重串联四极杆质谱联用技术 用于动物源性食品中 11 种合成类固醇类激素的检测

冉小蓉, 张之旭

(安捷伦科技有限公司, 北京 100102)

Determination of 11 Steroid Hormone in Animal Derived Food Using Liquid Chromatography Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry

RAN Xiao-rong, ZHANG Zhi-xu

(Agilent Technologies, Inc., Beijing 100102, China)

Abstract: A simple, rapid and specific analytical method for simultaneous determination of 11 kinds of steroid hormone including boldenone, methanodrostermone, methyltestosterone, nandrolone, stanozolol, testosterone, trenbolone, nandrolone phenylpropionate, nandrolone propionat, progesterone, testosterone propionate was developed by Agilent 6410 LC-MS/MS. The LOD of target compounds is all lower than $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The method is successfully applied to determination steroid hormone in chicken, shrimp and pork.

Key words: steroid hormone; LC-MS/MS

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0170-02

合成类固醇类激素属于兴奋剂的一种, 是国际奥委会明文规定的违禁药物。使用兴奋剂不仅是一种违法行为, 还会严重损害人的身心健康。因此, 对兴奋剂药物的检测无论从体育赛事的角度还是从国民食品安全控制的层面都有着非常重要的意义。本研究采用 Agilent 6410 LC-MS/MS 建立了对 11 种动物源性合成类固醇类激素, 包括勃地龙、美雄酮、甲基睾酮、诺龙、康力龙、睾酮、群勃龙、苯丙酸诺龙、丙酸诺龙、孕酮、丙酸睾酮等的同时检测方法。11 种合成类固醇药物的检测灵敏度均低于 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC, Agilent 6410 三重串联四极杆质谱。甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯): 购自Dima公司; 二次水由Mill-Q纯水系统制备。

1.2 样品处理

取 2 g 动物肌肉组织均浆样品, 加入 3 mL 碳酸钠溶液, 25 mL 叔丁基甲醚, 振荡提取 10 min, 4°C 下 $6\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 重复上述步骤 2 次, 合并上清液, 40°C 旋转蒸发浓缩近干。用 1 mL 流动相定容, 冷冻 30 min, $16\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清进样。

1.3 仪器测量

1.3.1 液相色谱条件 Agilent SB-C₁₈色谱柱 (2.1 mm×100 mm×3.5 μm); 流动相: A为0.1%甲酸水, B为乙腈; 流速0.4 mL·min⁻¹; 梯度洗脱: 0~7 min, 30%~90%B, 7~12 min, 90%B。

1.3.2 质谱条件 ESI+, 多反应监测模式 (MRM), 干燥气流速10 L·min⁻¹, 干燥气温度350 °C, 雾化气压力2.62×10⁵ Pa, 各化合物的MRM参数列于表1。

表1 11种合成类固醇激素的MRM参数

Compound Name	Precursor ion	Product ion	Fragmentor	CE
Stanozolol	329.5	94.8	130	45
	329.5	80.8	130	45
Methyltestosterone	303	285.2	110	10
	303	96.7	110	20
Methandrosterolone	301	148.8	110	15
	301	120.8	110	20
Testosterone	289	108.7	110	25
	289	96.8	110	20
Blodenone	287	134.8	110	10
	287	121	110	20
Nandrolone	275	239.1	130	15
	275	108.7	130	20
Trenbolone	271	253	130	25
	271	198.9	130	25
Nandrolone phenylprop	407.3	257.2	140	10
	407.3	105.1	140	30
testosterone prop	345	271	110	10
	345	96.7	110	20
Nandrolone prop	331	257.2	130	15
	331	57.1	130	25
Progesterone	315.5	108.7	130	25
	315.5	96.7	130	20

2 结果与讨论

为使 11 种极性差异的化合物在色谱上实现分离, 采用 Agilent SB-C₁₈ (2.1 mm×100 mm×3.5 μm) 色谱柱进行梯度洗脱, 11 种化合物在 12 min 内即可完成分离。化合物在正离子模式下有较好的响应, 于是流动相加入 0.1% 甲酸以增强离子响应。采用 MRM 模式, 每一个化合物同时监测 2 个离子, 1 个作为定量离子, 1 个作为定性离子, 这样可以实现在一次分析中定量分析与定性确证同时完成。所建立的方法线性良好, 11 种化合物的线性相关系数均好于 0.994。通过在鸡肉、虾及猪肉样品中分析, 表明所有化合物的检测限均可低于 0.1 μg·kg⁻¹。

3 小结

本研究采用液相色谱与三重串联四极杆质谱联用技术建立了对动物源性食品中 11 种合成类固醇类激素的检测, 该方法简单、快速、灵敏, 可成功用于实际样品的分析检测。