

动物源食品中激素多残留的测定 GB/T21981-2008

1、适用范围

适用于动物源食品中激素多残留的测定（该实验选用基质为猪肉）

参考标准：《GB/T21981-2008 动物源食品中激素多残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：准确称取适量标准品，用甲醇溶解，配制成浓度为 100 μ g/mL 的标准储备液。
- 2) 内标储备液：准确称取适量内标物质，用甲醇溶解，配制成浓度为 100 μ g/mL 的内标储备液。
- 3) 混合标准储备液：准确移取标准储备液各 100 μ L，用甲醇定容至 10mL，浓度为 1 μ g/mL。
- 4) 混合标准中间液：准确移取混合标准储备液 1mL，用甲醇水（1:1）定容至 10mL，浓度为 0.1 μ g/mL。
- 5) 混合标准工作液：准确移取适量混合标准中间液，用甲醇水（1:1）溶解，配制成浓度为 1,2,5,10,20,40 μ g/L 的混合标准工作液。
- 6) 混合内标工作液：准确移取内标储备液各 10 μ L，用甲醇定容至 10mL，浓度为 100 μ g/L。
- 7) 甲醇-水溶液（1:1）：量取 100mL 甲醇，100mL 水，混匀。
- 8) 0.1%甲酸水：量取 1mL 甲酸，用水定容至 1000mL。
- 9) 二氯甲烷-甲醇溶液（7:3）：量取 70mL 二氯甲烷，30mL 甲醇，混匀。



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com

10) 乙酸-乙酸钠缓冲溶液 (pH5.2): 称取 43.0g 乙酸钠 ($\text{NaAC} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 加入 22mL 乙酸, 用水溶解并定容至 1000mL, 用乙酸调节 pH 到 5.2。

11) β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶溶液: 4.5U/mL β -葡萄糖醛酸酶, 14U/mL 芳香基硫酸酯酶。

3、提取步骤

试样称取 5g, 准确加入混合内标工作液 100 μ L 和 10mL 乙酸-乙酸钠缓冲溶液 (pH5.2), 涡旋混匀, 再加入 β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶 100 μ L, 于 37°C $\pm$ 1°C 振荡酶解 12h。取出冷却至室温, 加入 25mL 甲醇超声提取 30min, 0°C~4°C 下 8000r/min 离心 10min。取上清液转移至离心管中, 加入 15mL 水, 摇匀后待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱: Welchrom® Carb, 500mg/6mL,

活化: 6ml 二氯甲烷-甲醇 (7:3)、6ml 甲醇、6ml 水, 弃去

上样: 待净化液全部上样, 弃去

洗脱: 加入 8ml 二氯甲烷-甲醇 (7:3) 洗脱, 收集流出液

复溶: 40°C 水浴氮吹至干, 用甲醇水 (1:1) 定容至 1ml, 供仪器测定。

5、注意事项

1) 加标水平: 5g 样品中分别加入 0.1mL、0.2mL 的 0.1 μ g/mL 混合标准中间液, 定容至 1mL, 因此加标水平为 2 μ g/kg, 5 μ g/kg, 最终机度数为 10ng/mL、20ng/mL。



6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱： Ultimate UHPLC XB-C18 2.1×100mm, 1.8μm

流动相： A: 0.1%甲酸水溶液； B: 甲醇

柱温： 40℃； 流速： 0.3mL/min； 进样体积： 10μL

梯度洗脱程序： 见表 1 。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	50	50
8.00	36	64
11.00	16	84
12.50	0	100
14.50	0	100
15.00	50	50
17.00	50	50

6.2 质谱条件

检测方式： 多反应监测（MRM）模式；

离子源： 电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式： 正离子扫描；

离子喷雾电压： 4500 V； 离子源温度： 500℃；



声明： 除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编： 201600

邮编： 321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

气帘气（CUR）35 psi；雾化气（GS1）55 psi；辅助气（GS2）55 psi。

其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex QTRAP 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间(msec)	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
群勃龙	271.4	199.3	50	66	24
		253.3	50	66	18
炔诺酮	299.3	109.1	50	66	27
		231.4	50	66	17
甲基炔酮	313.4	245.4	50	66	20
		108.9	50	66	26
乙酸氯地孕酮	405.4	309.6	50	66	16
		345.6	50	66	12
勃地酮-d3	290.1	121.0	50	66	22
炔诺酮-13C2	301.5	231.5	50	66	25
炔诺孕酮-d6	319.4	251.4	50	66	21
甲地孕酮乙酸酯 -d3	388.1	267.0	50	66	23

7、色谱图或者加标回收率结果



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com

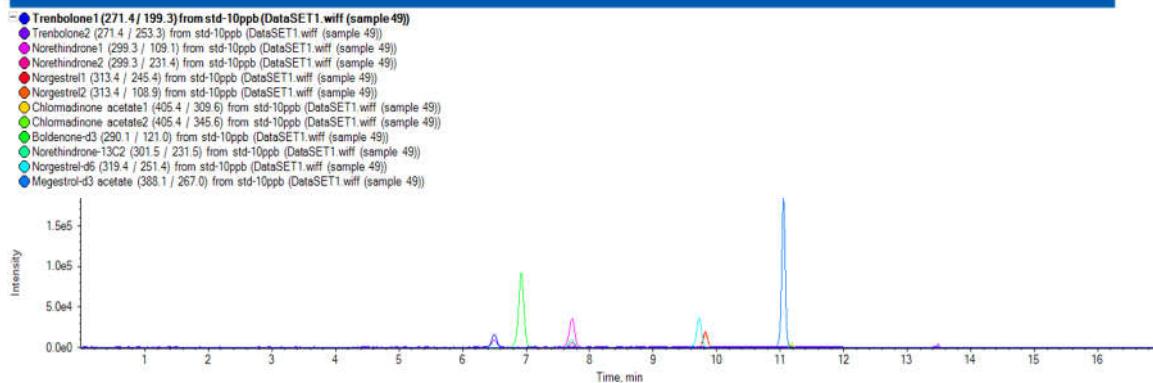


图 1. 激素标准品 10µg/L 图谱

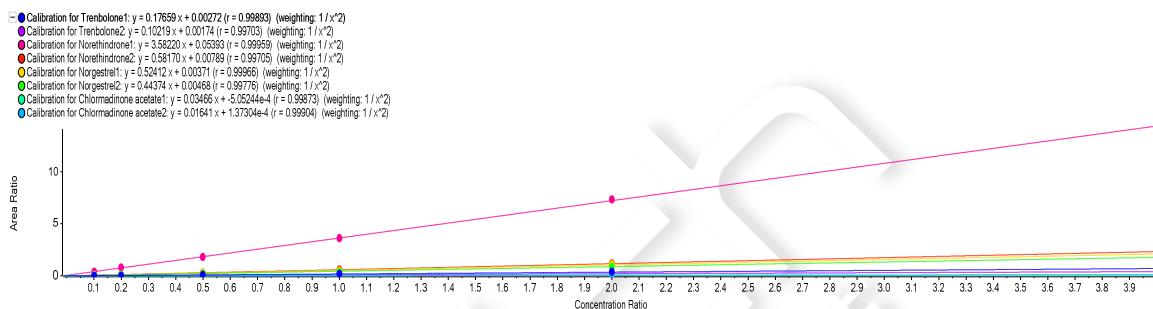


图 2. 激素标准工作液曲线

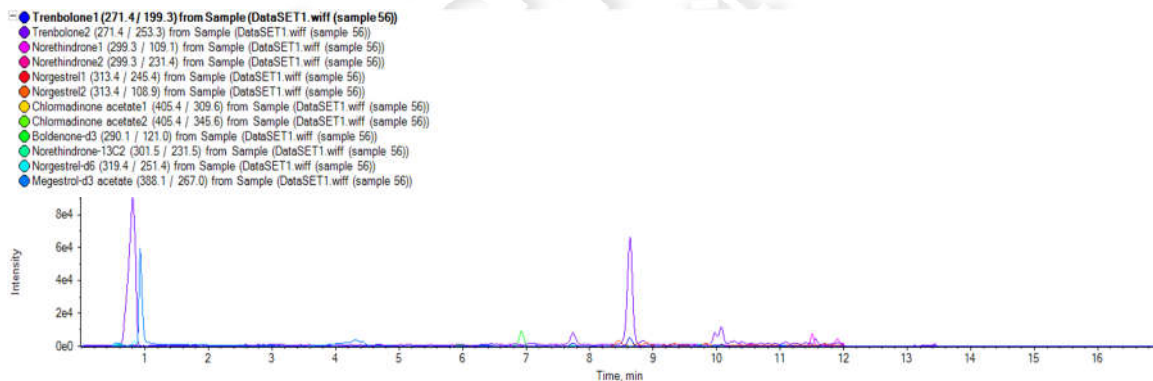


图 3. 猪肉样品空白图谱



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

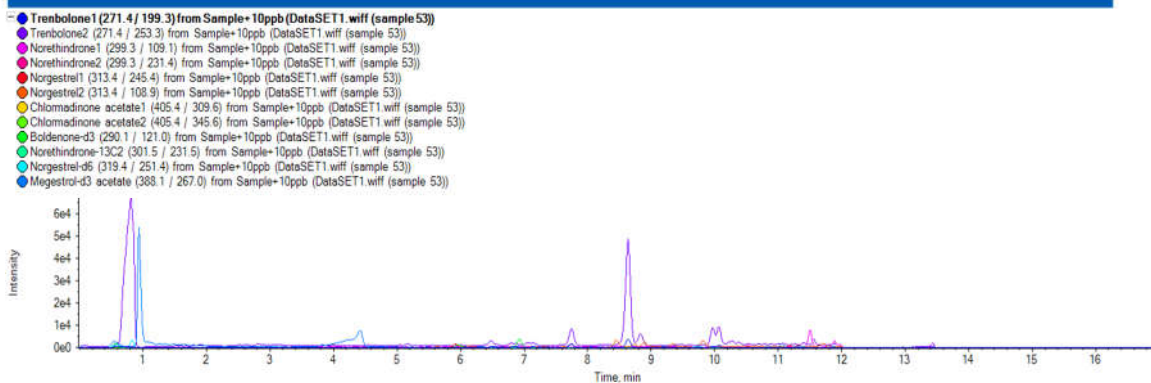


图 4. 猪肉样品加标 2 μ g/kg 图谱

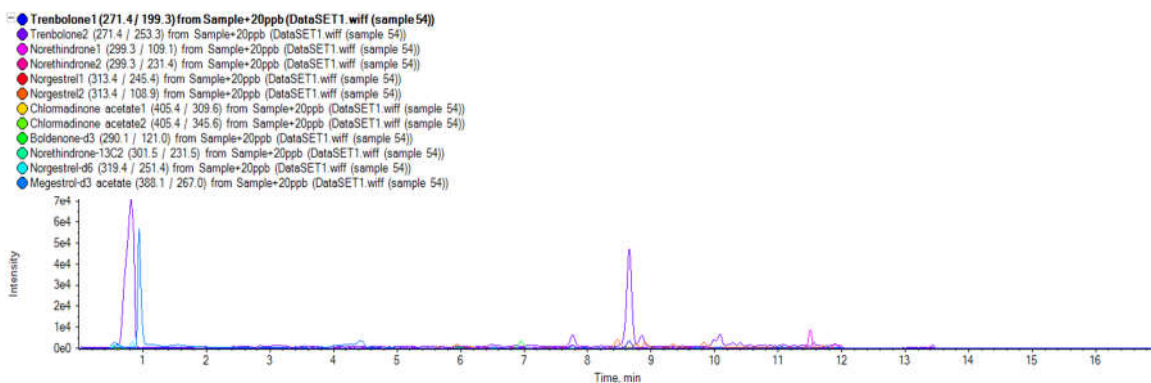


图 5. 猪肉样品加标 5 μ g/kg 图谱

表 3.加标回收率表

分类	加标水平 μ g/kg	平均回收率%	RSD % (n=6)
群勃龙	2	75.60%	0.88%
	5	70.15%	3.16%
炔诺酮	2	113.80%	2.23%
	5	104.10%	4.12%
甲基炔酮	2	88.20%	0.74%
	5	109.50%	1.39%
乙酸氯地孕酮	2	110.50%	0.59%
	5	95.70%	1.26%



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00517-20006	SPE 小柱	Welchrom® Carb,500mg/6mL,30pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 15mL, 50/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-11012	液相色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8μm, 2.1×100mm



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园,紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com