

# 中华人民共和国国家标准

农业部 1031 号公告—4—2008

## 鸡肉和鸡肝中己烯雌酚残留检测 气相色谱—质谱法

Determination of diethylstilbestrol in chicken muscle and liver  
Gas chromatography-mass spectrometry method

132-xcp-01-0370  
1/5  
2008

2008-05-09 发布

2008-05-09 实施



中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：农业部畜禽产品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：吴银良、杨清峰、刘勇军、王海、单吉浩、蔡英华、姜艳彬、刘兴国、李艳华。

## 鸡肉和鸡肝中己烯雌酚残留检测 气相色谱-质谱法

### 1 范围

本标准规定了鸡肉和鸡肝中己烯雌酚残留量测定的气相色谱-质谱(GC-MS)方法。  
本标准适用于鸡肉和鸡肝中己烯雌酚的测定。

### 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 分析实验室用水规则和试验方法

### 3 制样

#### 3.1 样品的制备

取适量新鲜或冷冻的组织样品,绞碎并使均匀。

#### 3.2 样品的保存

-20℃冰箱中储存备用。

### 4 测定方法

#### 4.1 方法提要或原理

动物组织样品中呈结合态的己烯雌酚在乙酸铵溶液中经酶解后成游离状态,再用乙腈提取。合并提取液,利用溶剂的极性差异,加入一定量的正己烷和乙酸乙酯混合溶剂使提取液分成三层,取中间层经旋转蒸发后溶解在乙酸乙酯中,再通过碳酸钠溶液和硅胶柱进行净化处理。净化后的样品经甲基硅烷化后进行气相色谱-质谱分析。

#### 4.2 试剂和材料

除非另有说明,在分析中使用确认的分析纯试剂,水为符合 GB/T6682 规定的一级水。

4.2.1 己烯雌酚:含己烯雌酚不得少于 98.0%。

4.2.2 正己烷。

4.2.3 乙酸乙酯。

4.2.4 碳酸钠。

4.2.5 乙腈:色谱纯。

4.2.6 甲醇:色谱纯。

4.2.7 正己烷/乙酸乙酯:体积比为 85:15 和 70:30。

4.2.8 10%碳酸钠溶液:取 100 g 碳酸钠,加水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.2.9 乙酸铵溶液 0.02 mol/L:称取 1.54 g 乙酸铵,加水溶解并稀释至 800 mL 左右,调节 pH 至 5.2,定容至 1 000 mL。

4.2.10 硅胶固相萃取小柱:500 mg,3 mL,或相当者。

- 4.2.11 双三甲基硅基三氟乙酰氨(BSTFA)。
- 4.2.12 三甲基氯硅烷(TMCS):含量高于98%。
- 4.2.13  $\beta$ -盐酸葡萄糖醛苷酶芳基硫酸酯酶(Helix pomatia)。
- 4.2.14 衍生化试剂的配制:将乙腈、BSTFA、TMCS以体积比为12:8:1的比例混合,随配随用。
- 4.2.15 标准溶液的配制。
- 4.2.15.1 储备液:精确称取10 mg己烯雌酚标准品于10 mL容量瓶中,用甲醇配成浓度为1 mg/mL的标准储备液,放在4℃冰箱中冷藏保存;有效期6个月。
- 4.2.15.2 工作液:将标准品储备液用甲醇稀释为10 ng/mL~1 000 ng/mL,存放在4℃冰箱中备用。
- 4.3 仪器和设备
- 4.3.1 气相色谱-质谱联用仪(配自动进样器和EI源)。
- 4.3.2 分析天平:感量0.000 1 g。
- 4.3.3 天平:感量0.01 g。
- 4.3.4 氮吹仪。
- 4.3.5 固相萃取装置。
- 4.3.6 取液器(量程200  $\mu$ L~1 000  $\mu$ L)。
- 4.3.7 取液器(量程20  $\mu$ L~100  $\mu$ L)。
- 4.3.8 匀质器。
- 4.3.9 旋涡混合器。
- 4.3.10 离心机。
- 4.3.11 烘箱:精度为 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.12 pH计。
- 4.3.13 旋转浓缩仪。
- 4.3.14 色谱柱:HP-5 MS石英毛细管色谱柱,30 m $\times$ 0.25 mm,膜厚0.25  $\mu$ m,或相当者。

#### 4.4 测定步骤

##### 4.4.1 试料的制备

试料的制备包括:

- 取绞碎并均匀后的供试样品,作为供试试料;
- 取绞碎并均匀后的空白样品,作为空白试料;
- 取绞碎并均匀后的空白样品,添加适宜浓度的标准溶液作为空白添加试料。

##### 4.4.2 提取

称取(5 $\pm$ 0.05) g试料于50 mL离心管中,加入10 mL乙酸铵溶液,匀质1 min,加入20  $\mu$ L  $\beta$ -盐酸葡萄糖醛苷酶芳基硫酸酯酶,盖上盖子在60℃烘箱中酶解2 h。酶解后以4 000 r/min离心2 min,收集提取液于另一50 mL离心管中,然后在残渣中加入10 mL乙腈,匀质30 s,以4 000 r/min离心2 min,收集乙腈提取液,残渣再以10 mL乙腈提取,步骤同前,合并三次提取液。

##### 4.4.3 净化

在合并后的提取液中加入8 mL正己烷和2 mL乙酸乙酯,旋涡混合1 min后以4 000 r/min离心5 min,然后吸取中间层于50 mL梨形瓶中,加入5 mL正丙醇,在50℃水浴中旋转浓缩至干。

用10 mL乙酸乙酯溶解残渣,移入离心管中,加入2 mL 10%碳酸钠溶液,旋涡混合1 min,以4 000 r/min离心5 min,弃去下层水相,再加入2 mL 10%碳酸钠溶液,重复上述步骤后将乙酸乙酯移入10 mL试管中,在50℃水浴中用氮气吹干。

然后用 2 mL 正己烷和乙酸乙酯的混合溶剂(体积比为 85 : 15)溶解残渣,转移到用 5 mL 正己烷、5 mL 乙酸乙酯活化并抽干处理后的硅胶柱上,再用 5 mL 正己烷淋洗,弃去正己烷淋洗液,抽干柱子,再用 5 mL 正己烷乙酸乙酯混合溶剂(体积比为 70 : 30)洗脱,收集洗脱液,在 50℃ 水浴中用氮气吹干。

#### 4.4.4 衍生化

在 4.4.3 吹干后的样品中加入 100  $\mu$ L 衍生化试剂,振荡混合后,封口,在 60℃ 烘箱中衍生 15 min,然后在 50℃ 水浴中用氮气吹干。冷却后加入 100  $\mu$ L 甲苯,混合后进行气质分析。

#### 4.4.5 GC-MS 分析测定

载气为高纯 He,恒流 1.0 mL/min;

进样口温度:220℃;

传输线温度:280℃;

不分流进样;

进样体积:1  $\mu$ L;

色谱柱起始温度 160℃(保持 1 min)后,以 15℃/min 的升温速率升至 290℃(保持 5 min);

EI 源,EM 电压:高于调谐电压 200 V;

离子源(EI)温度:200℃;

四极杆温度:160℃;

选择离子监测:( $m/z$ )383,397,412,413。

#### 4.4.6 测定法

取试样溶液和标准溶液进样,做单点或多点校准,以峰面积积分值(顺反式己烯雌酚峰面积之和)定量。标准溶液及试样溶液中,己烯雌酚的响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱条件下,药物的出峰顺序为反式己烯雌酚和顺式己烯雌酚。标准溶液和试样溶液的色谱图见附录 A。

#### 4.4.7 空白试验

除不加试样外,同时按上述步骤操作进行空白实验。

#### 4.5 结果计算和表述

试样中己烯雌酚的残留量( $\mu$ g/kg)按式(1)计算。

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X$ ——试样中己烯雌酚残留含量,单位为微克每千克( $\mu$ g/kg);

$A$ ——样液中经衍生化己烯雌酚的峰面积;

$A_s$ ——标准工作液中经衍生化己烯雌酚的峰面积;

$C_s$ ——标准工作液中己烯雌酚的浓度,单位为微克每升( $\mu$ g/L);

$V$ ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

$m$ ——试样的取样量,单位为克(g)。

计算结果扣除空白值,保留到小数点后两位。

### 5 检测方法灵敏度、准确度和精密度

#### 5.1 灵敏度

本方法在鸡肉和鸡肝中的检测限为 1.0  $\mu$ g/kg。

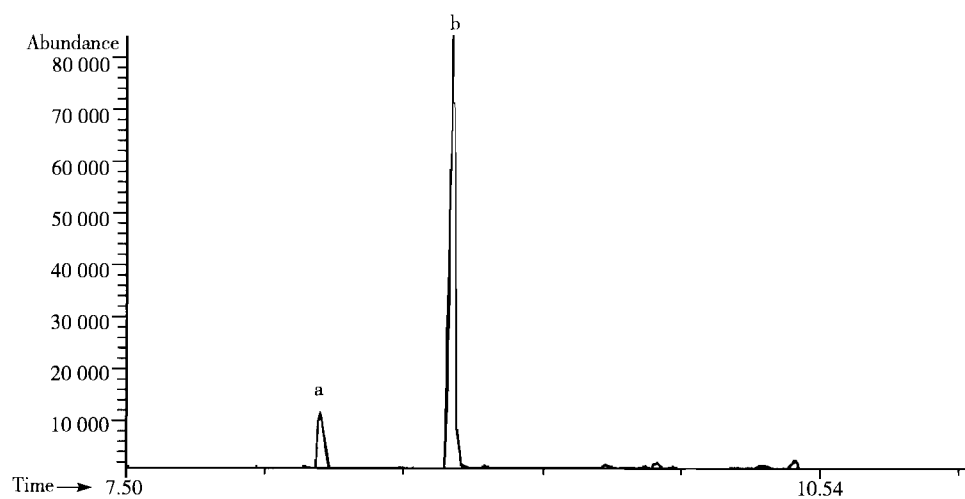
#### 5.2 准确度

本方法的回收率在 60%~120% 范围内。

### 5.3 精密度

本方法的批内变异系数  $CV \leq 15\%$ , 批间变异系数  $CV \leq 20\%$ 。

附 录 A  
(资料性附录)  
己烯雌酚色谱图



a—反式己烯雌酚衍生物；  
b—顺式己烯雌酚衍生物。

图 A. 1 己烯雌酚标准溶液的色谱图(50 ng/mL)

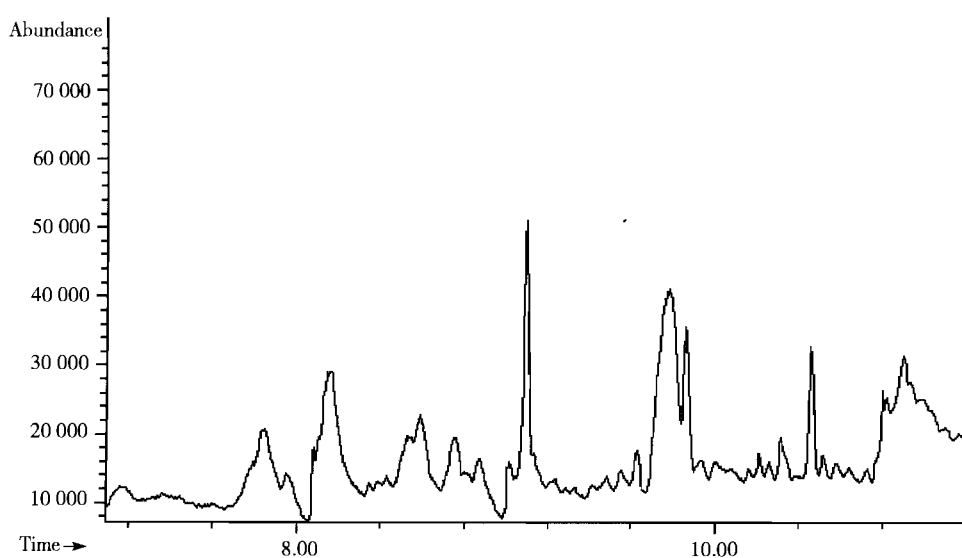


图 A. 2 鸡肉空白样品色谱图

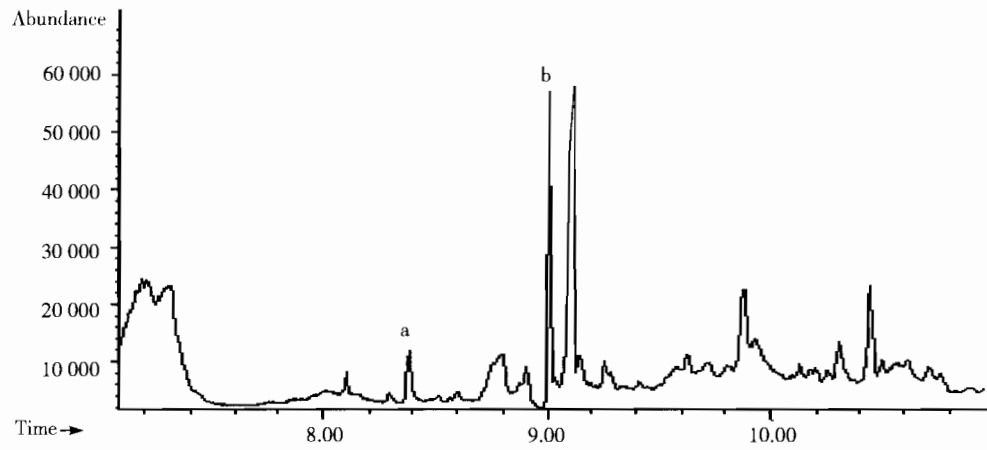


图 A. 3 鸡肉中添加己烯雌酚的色谱图(添加浓度为 1.0 µg/kg)

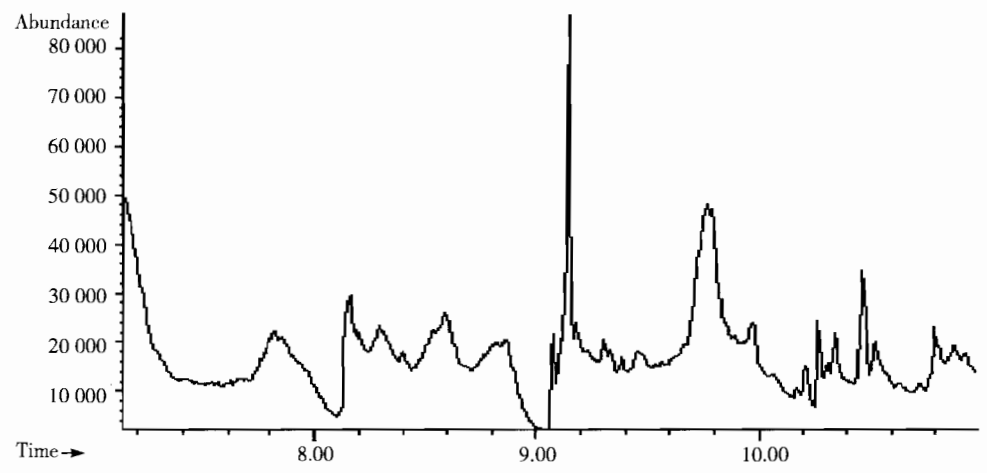


图 A. 4 鸡肝空白样品色谱图

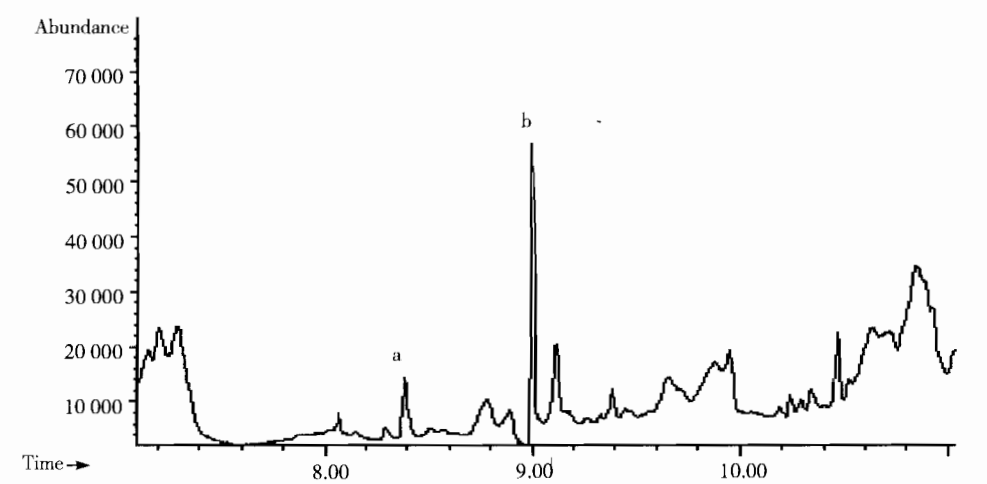


图 A. 5 鸡肝中添加己烯雌酚的色谱图(添加浓度为 1.0 µg/kg)