

# DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/003—2012

---

食品安全地方标准  
生牛乳中雄激素的测定  
气相色谱-质谱法

2012 - 12 - 10 发布

2013 - 01 - 01 实施

吉林省卫生厅 发布

## 前 言

本标准的附录A为资料性附录。

本标准起草单位：国家农业深加工产品质量监督检验中心、吉林省产品质量监督检验院。

本标准起草人： 李宁、邴炜、华蕾、李刚、石金娥、刘斌、李媛媛、王庆峰、张庆波、郎乐、李滢倩、刘桂华、鲍懿、赵文荣等。

# 食品安全标准

## 生牛乳中雄激素的测定 气相色谱-质谱法

### 1 范围

本标准规定了生牛乳中睾酮、氟甲睾酮、雄烯二酮、司坦唑醇的气相色谱-质谱方法。

本标准适用于生牛乳中睾酮、氟甲睾酮、雄烯二酮、司坦唑醇的测定。

本标准方法检出限为：睾酮 0.03 mg/kg，氟甲睾酮 0.1 mg/kg，雄烯二酮 0.01 mg/kg，司坦唑醇 0.05 mg/kg。

### 2 原理

试样中雄激素经酶解后用乙酸乙酯提取，冷冻离心脱脂净化，气相色谱-质谱仪检测，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，实验用水为超纯水。

3.1 乙酸乙酯。

3.2 甲醇：色谱纯。

3.3 氯化钠。

3.4  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶溶液：4.5 U/mL  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶，14U/mL 芳香基硫酸酯酶。

3.5 乙酸。

3.6 乙酸钠。

3.7 乙酸-乙酸钠缓冲溶液：称取 43.0 g 乙酸钠，加入 22 mL 乙酸，用水溶解并定容至 1000 mL，用乙酸调节 pH 值到 5.2。

3.8 标准物质：睾酮、氟甲睾酮、雄烯二酮、司坦唑醇，纯度均 $\geq$ 95 %。

3.9 雄激素标准储备液：称取睾酮、氟甲睾酮、雄烯二酮和司坦唑醇标准品（4.8）各 50 mg（精确到 0.1 mg），用甲醇（4.2）定容至 50 mL，配成 1.0 g/L 的雄激素混合标准储备液。

3.10 雄激素标准使用液：分别吸取雄激素标准储备液（4.9），用乙酸乙酯（4.1）分别稀释并定容，配制成浓度为 0.5、1.0、10、20、50 mg/L 的标准使用液，现用现配。

### 4 仪器和设备

4.1 气相色谱-质谱仪：配有 EI 源。

4.2 旋转蒸发器。

4.3 涡旋混和器。

4.4 冷冻离心机。

4.5 超声波清洗仪。

4.6 分析天平：感量 0.1 mg。

## 5 测定步骤

### 5.1 样品的预处理

称取试样5 g（精确至0.01 g）于50 mL具塞比色管中，加入10 mL乙酸-乙酸钠缓冲溶液（4.7），涡旋混匀，再加入 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶溶液100  $\mu$ L，于37  $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C酶解12 h。取出冷却至室温后，加入5-7 g氯化钠（4.3），加入20 mL乙酸乙酯（4.1）涡旋2 min，超声30 min，静置分层后将乙酸乙酯转移至50 mL容量瓶，残渣再萃取2次，每次加入15 mL乙酸乙酯（4.1），涡旋2 min，超声30 min，合并乙酸乙酯，残渣中再加入适量乙酸乙酯（4.1）涡旋2 min，用此次涡旋后的乙酸乙酯萃取溶液定容上述50 mL容量瓶，摇匀。从容量瓶中取10 mL溶液，冷冻30 min，16000 r/min离心5 min，取1 mL经0.45  $\mu$ m滤膜过滤后待测。

### 5.2 气相色谱参考条件

- 色谱柱：用于气相色谱-质谱仪的5%聚硅氧烷毛细柱（30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m）或性能相当者；
- 载气：高纯氦气，纯度>99.999%；
- 流速：1.0 mL/min；
- 进样口温度：260  $^{\circ}$ C；
- 柱温：80  $^{\circ}$ C保持5 min，8  $^{\circ}$ C/min升至280  $^{\circ}$ C，保持25 min；
- 进样量：1.0  $\mu$ L。

### 5.3 质谱条件

溶剂延迟时间：5 min；

接口温度：280  $^{\circ}$ C；

表1 雄激素的气相色谱-质谱条件

名称	保留时间	定量离子	定性离子
雄烯二酮	26.91	286	244/229
睾酮	27.04	288	246/228
氟甲睾酮	29.65	336	279/225
司坦唑醇	31.13	328	313/257

## 5.4 测定

### 5.4.1 定性测定

进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准品一致，并在扣除背景的样品质谱图中，所选离子均出现，且所选离子丰度比与标准品的离子丰度比一致（相对丰度>50%，允许 $\pm$ 10%偏差；相对丰度>20%-50%，允许 $\pm$ 15%偏差；相对丰度>10%-20%，允许 $\pm$ 20%偏差；相对丰度 $\leq$ 10%，允许 $\pm$ 50%偏差），则可判断样品中存在这种雄激素。如果不能判断，应重新进样，或采用其他确证离子的方式或用其他灵敏度更高的分析仪器来确证。

### 5.4.2 定量测定

将标准工作溶液（4.5）分别进样，绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中的雄激素均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件下，雄激素的保留时间、标准物质及样品的色谱图参见附录A。

### 5.5 平行实验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

## 6 结果计算

气相色谱-质谱测定结果可由计算机按外标法自动计算，也可按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—试样中单体雄激素的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C—从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为毫克每毫升（mg/L）；

V—试样的终体积，单位为毫升（mL）；

m—试样质量的数值，单位为克（g）。

## 7 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的30%。

附录 A  
(资料性附录)

4 种雄激素的总离子流图 and 选择离子质谱图

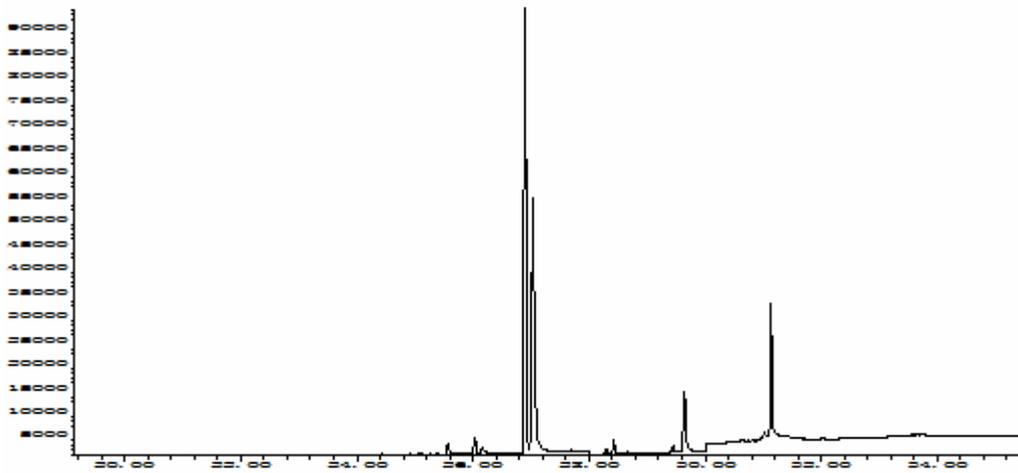


图 A.1 4 种雄激素总离子流图

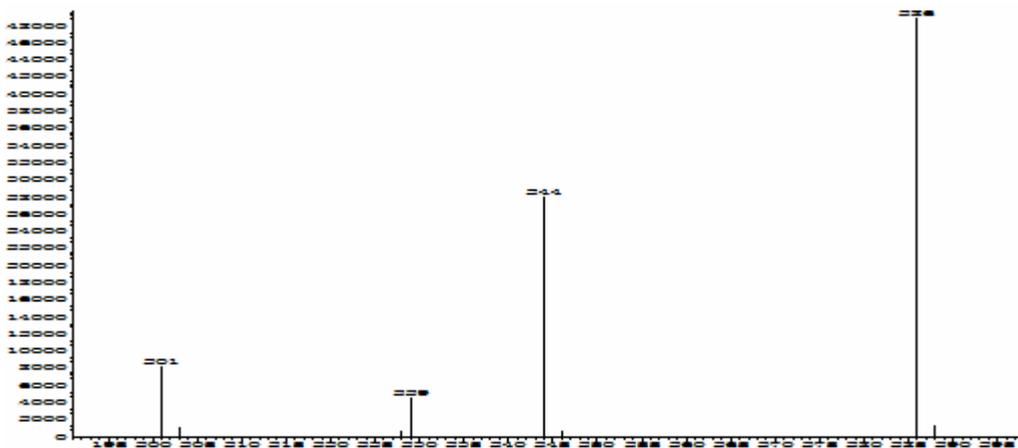


图 A.2 雄烯二酮的质谱图

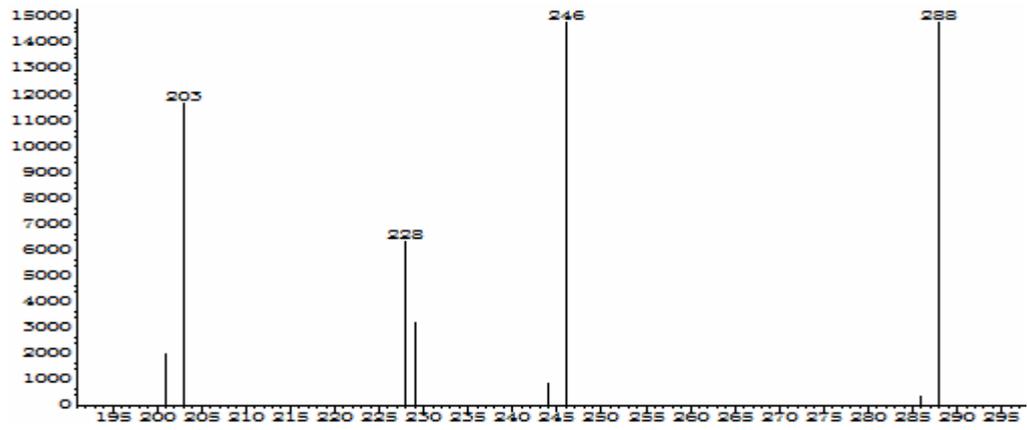


图 A.3 睾酮的质谱图

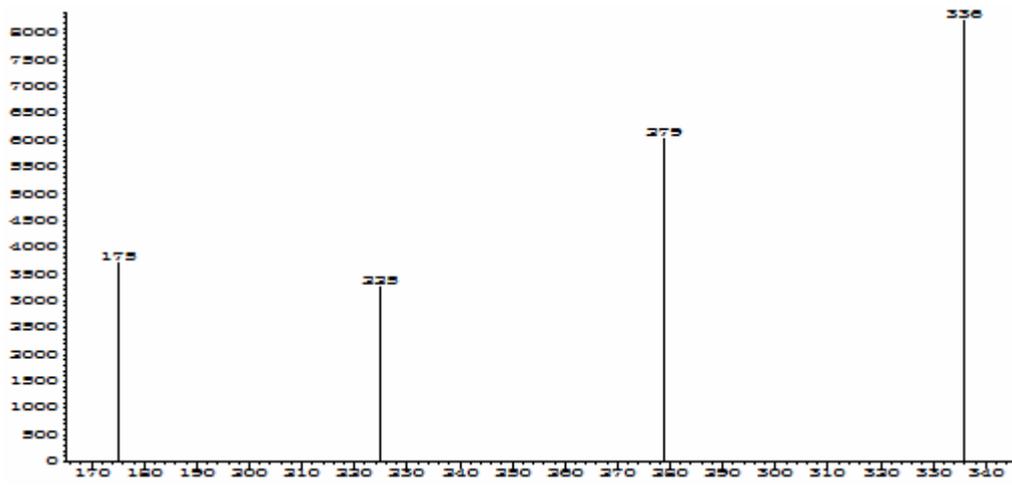


图 A.4 氟甲睾酮的质谱图

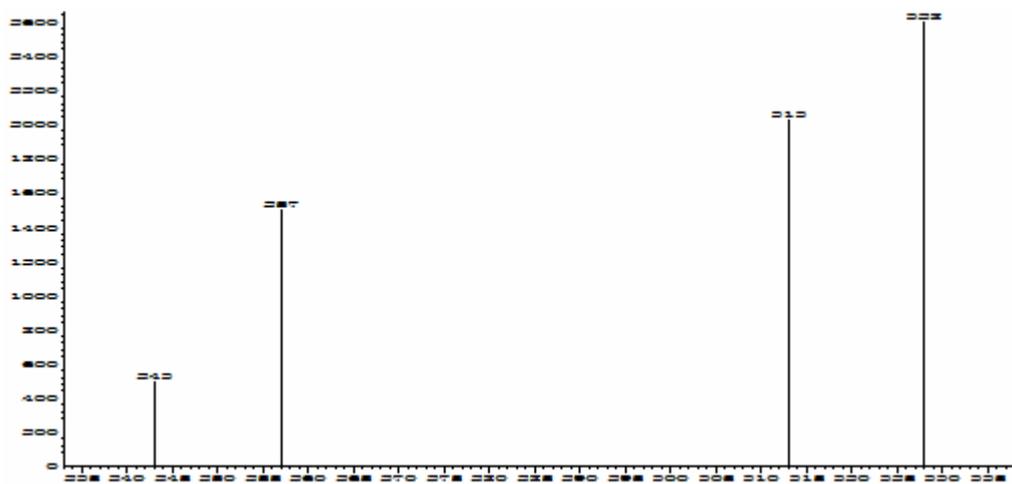


图 A.5 司坦唑醇的质谱图