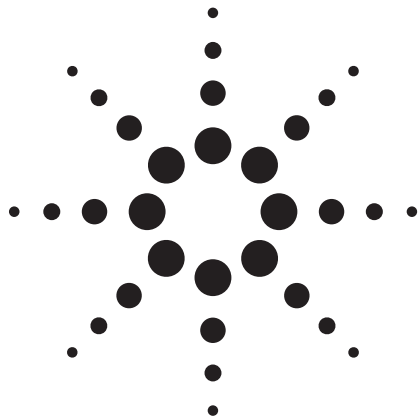


# 用 LC-(ESI-)-MS/MS 测定水中亚 ppt 浓度的雌素酮-3-硫酸酯



## 应用摘要

环境

### 作者

Emmanuelle Bichon, Soazig Elaudais, and Bruno Le Bizec  
Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les  
Aliments (LABERCA)  
USC INRA 2013  
École Nationale Vétérinaire de Nantes (ENVN)  
BP 50707  
44307 Nantes Cedex 3, France

### 摘要

使用固相萃取 (SPE) 和液相色谱/串联质谱 (LC-MS/MS), 以负电喷雾模式分析亚 ppt 浓度 (<ng/L) 的雌素酮-3-硫酸酯

### 前言

现今, 水体环境中存在的类固醇以及它们对水中有机体的正常内分泌功能的影响受到人们的关注, 已有研究表明, 污染区域的鸟类、爬行动物、和哺乳动物出现了内分泌-生殖系统的变异。

现在有许多多化学品被证明是内分泌干扰物, 其中天然和合成雌激素在极低浓度 (ng/L 水平) 就表现出有害作用, 如今在环境水体中有效地控制它们已经成为可能, 这要感谢文献中发表的许多分析方法, 雌二醇 (E2)、雌素酮 (E1)、雌三醇 (E3) 和乙炔雌二醇 (EE2) 的测定就是实例。因为雌素酮-3-硫酸酯 (E1S) 在环境中的稳定性好, 它也应该是其中的一员, 但是目前为止很少有文章涉及这一外源化合物的分析。

本文探讨了水中雌素酮-3-硫酸酯分析方法的进展。鉴定是按照 2002/657/EC 决议, 即使是超痕迹量浓度 (< 1 ng/L), 也要明确地证明类固醇的存在。

### 实验部分

#### 样品制备步骤

1. 加 10 ng 内标 (去氢睾酮硫酸酯-d3)
2. 如果需要, 用 0.45  $\mu$ m 玻璃纤维滤膜过滤水样
3. 加水样到 MM4 固相萃取 (SPE) 小柱上 (1 g, 6 mL) (Interchim, France)
4. 用 12 mL MeOH/NH<sub>4</sub>OH (98:2, v/v) 洗脱化合物
5. 蒸干萃取物
6. 把萃取物制备成 50  $\mu$ L MeOH/H<sub>2</sub>O (80:20, v/v) 溶液

#### 校准曲线

往六份校准样品中加 0, 1, 2, 3, 4 和 5 ng/L (ppt) 标样, 用上述样品制备方法进行萃取。



Agilent Technologies

## LC-MS/MS 测定 (负电喷雾模式)

**LC:** Agilent 1200  
**色谱柱:** Gemini (50 mm x 2 mm, 3 µm) C18 110 A  
(Phenomenex)/Agilent 等同柱:  
Extend-C18 3.5 µm, 2.1 x 50 mm  
(p/n 735700-902)  
**柱温:** 40 °C  
**流动相:** A: 乙酸铵缓冲溶液 25 mM, pH9.2  
B: 乙腈(ACN)  
**流速:** 0.3 mL/min

表 1. 洗脱梯度

| 时间 (min) | %B  |
|----------|-----|
| 0        | 5   |
| 0.5      | 5   |
| 15.5     | 100 |
| 18.5     | 100 |
| 21       | 5   |
| 26       | 5   |

进样量 10 µL

**MS:** Agilent 6410 LC/MS 三重串联四极杆  
**电离:** ESI (-)  
**毛细管电压:** 3500 V  
**喷雾器压力:** 40 psi  
**干燥气流速:** 13 L/min  
**气体温度:** 275 °C

## MS/MS 参数

表 2. MS/MS 参数

| 分子             | 母离子   | MS1<br>分辨率 | 子离子   | MS2<br>分辨率 | 驻留时间 | 碎裂电压 | 碰撞能量 |
|----------------|-------|------------|-------|------------|------|------|------|
| 去氢睾酮硫酸酯 -d3    | 368.3 | 宽          | 353.3 | 最宽         | 200  | 120  | 15   |
| 雌素酮 -3- 硫酸酯 T1 | 349.2 | 宽          | 269.2 | 最宽         | 300  | 200  | 35   |
| 雌素酮 -3- 硫酸酯 T2 | 349.2 | 宽          | 145.2 | 最宽         | 300  | 200  | 60   |

## 结果和讨论

### 分析性能

按照 2002/657/EC 决议在低于 ppt 浓度下评估这一方法的性能, 把不同来源 (地表水或地下水) 的水样做空白样, 做出五条加标样品 (1, 2, 3, 4 和 5ppt 雌素酮 -3- 硫酸酯) 的校准曲线, 所有这些样品都按照前面叙述的方法进行样品制备。用两个检测信号 [多反应监测模式 (MRM) 离子对] 来检测雌素酮 -3- 硫酸酯, 用一个信号监测去氢睾酮硫酸酯 -d3, 图 1 显示检测信号有高特异性, 而且线性度也很好。

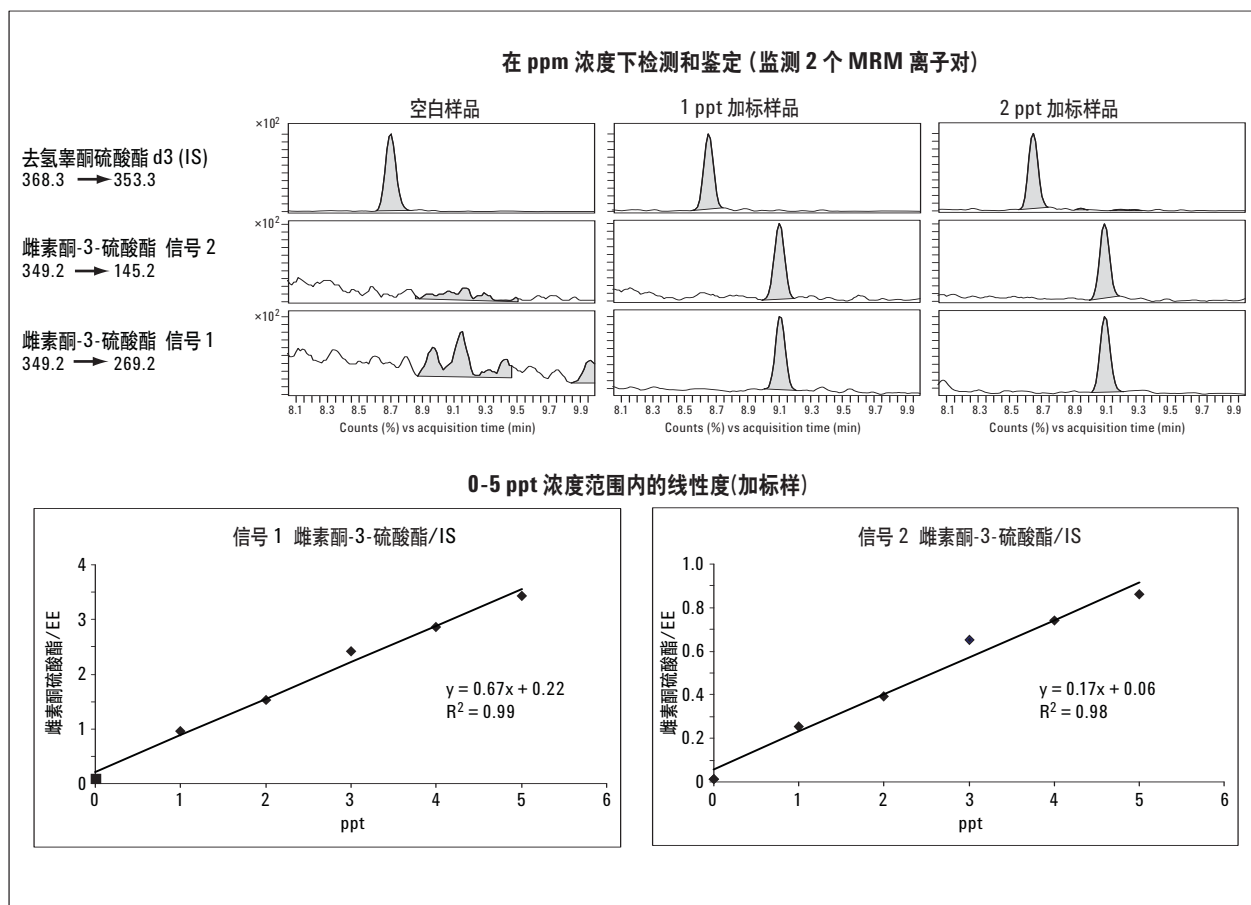


图1. 该方法主要参数 (特异性、灵敏度、和线性度) 的图示

### 验证参数

表 3 显示对每个离子对的线性度 (5 个不同的校准曲线), 重现性 (5 种不同水样中的 5 种不同浓度—1,2,3,4,5ppt), 判断限 (CC $\alpha$ ) 和检测能力 (CC $\beta$ ) 的测量。

表3. 验证参数

| 雌素酮-3-硫酸酯     | 线性 (5 条校准曲线 R <sup>2</sup> 的范围) | 重现性 (n=25)<br>(5 个测试浓度中<br>每一个浓度的<br>重现性) |                                     |      |
|---------------|---------------------------------|---|-------------------------------------|------|
|               |                                 | CC $\alpha$<br>(ng.L <sup>-1</sup> )      | CC $\beta$<br>(ng.L <sup>-1</sup> ) |      |
| 349.2 → 145.2 | 0.954 – 0.977                   | 6.8 – 22.6 %                              | 0.08                                | 0.15 |
| 349.2 → 269.2 | 0.976 – 0.991                   | 3.9 – 17.2 %                              | 0.10                                | 0.53 |

### 未知样品的分析

图2显示使用所开发的方法分析一批地表水和地下水样品得到的结果。这一结果确认这一新方法是有效的, 并验证了它的灵敏度和特异性。

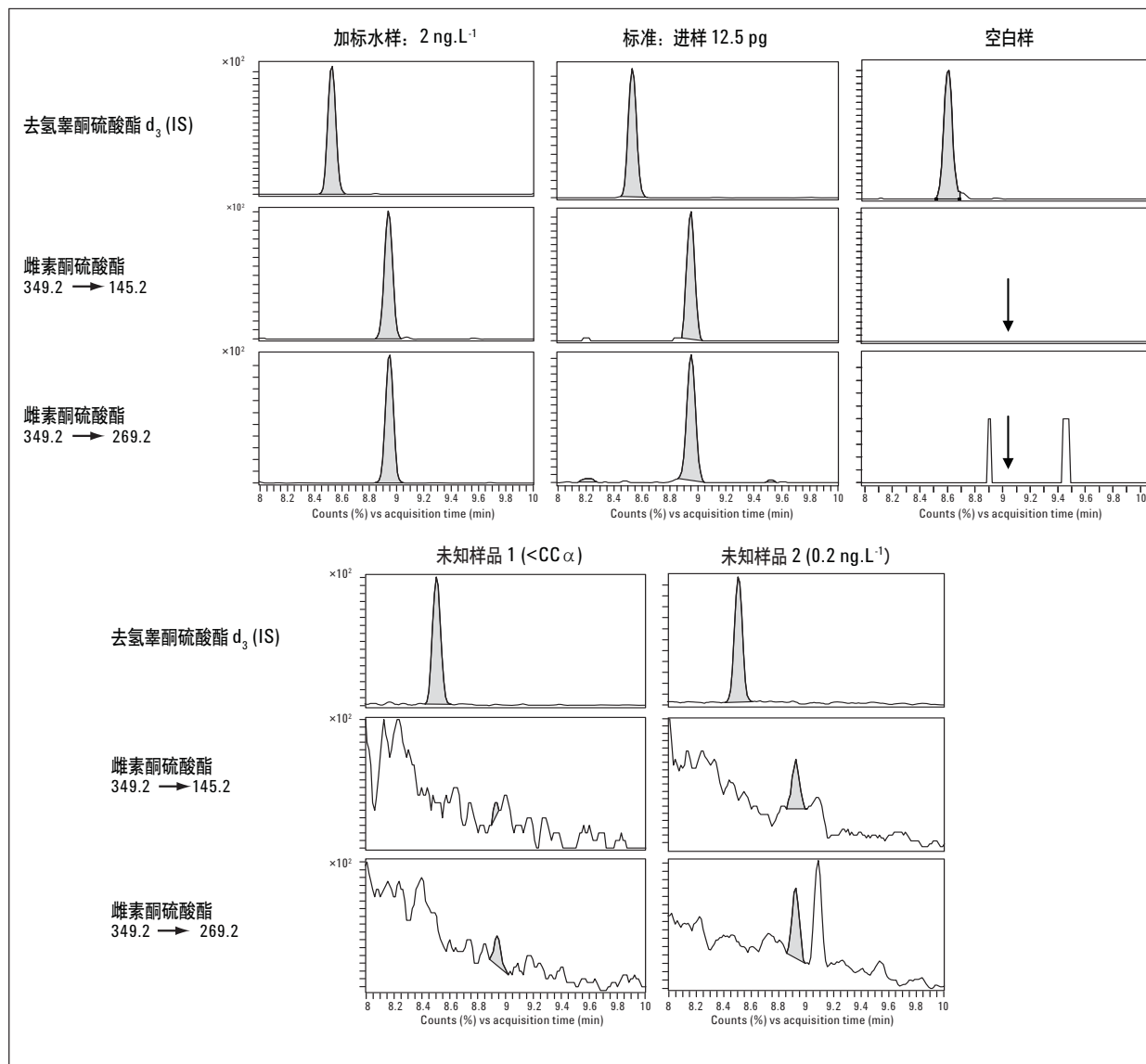


图2. 常规分析系列得到的典型 MRM 色谱图(包括加标样, 标准样, 空白样和两个未知水样)

## 结论

这一开发的方法针对雌素酮-3-硫酸酯, 结合选择性固相萃取(SPE)样品制备和特异的 LC-MS/MS 检测 (Phenomenex 公司的 Gemini 色谱柱, 安捷伦公司的 Agilent 6410 LC-MS/MS 系统)。按照 2002/657/EC 的标准, 认定即使是超痕迹量的浓度 ( $< 1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 也可以明确地证明类固醇的存在。

## 如需详细信息

如需获得有关这一应用的更详细的信息, 您也可以与安捷伦公司联系。注: Lea Bonnington, European Field Support Centre, Hewlett-Packard Strasse 8, 76337 Waldbronn, Germany.

如需详细了解有关我们产品和服务的信息请访问我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)。

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息、说明和规格, 如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦公司, 2008

中国印刷  
2008年6月24日  
5989-8480CHCN



Agilent Technologies