

水中的6种雌激素和酚类环境激素的测定解决方案

关键词

HPLC/MS/MS; 雌激素; 酚类环境激素; Fotector Plus; ASPE Ultra 06; AutoEVA-60

介绍

环境激素Environmental Endocrine是指外因性干扰生物体内分泌的化学物质, 这些物质可模拟体内的天然荷尔蒙, 与荷尔蒙的受体结合, 影响本来身体内荷尔蒙的量, 以及使身体产生对体内荷尔蒙的过度作用; 或直接刺激, 或抑制内分泌系统, 使内分泌系统失调, 进而阻碍生殖、发育等机能, 甚至有引发恶性肿瘤与生物绝种的危害。

环境激素对人体的危害主要表现在以下几点: 一是由于食物、饮水中大量存在环境激素物质, 正在造成男人的精子减少, 雄性退化, 乃至男性不育症的高发。二是导致怀孕胎儿的致畸。经科学家研究发现, 育龄妇女长期受环境激素的污染, 会使受孕胎儿畸形的可能性大大增加, 使胎儿的五官、肢体或性器官的局部畸形。三是干扰和降低人体免疫机能。导致神经系统功能障碍、智力低下, 严重的还会引发某些癌症。

睿科建立了针对水中6种雌激素与酚类环境激素的固相萃取方法, 使用HPLC/MS/MS进行检测, 6种目标物标准曲线R大于0.995, 检出限为0.52-0.85ng/L, 测定下限为2.08-3.41 ng/L, 精密度测试相对标准偏差范围为2.4-9.6%, 准确度测试相对误差范围为1.6-17.7%, 地表水样品加标回收率范围为84.0-113.6%, 废水样品加标回收率范围为86.5-118.4%, 能够满足水中雌激素的检测下限以及质量控制的要求。

1. 仪器和耗材

Raykol Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪

Raykol ASPE Ultra 06 全自动固相萃取仪

Raykol AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪

高效液相色谱 (HPLC) Agilent 1260 质谱检测器 (MS) Agilent 6410

HLB 固相萃取柱 (RayCure HLB, 60 mg/3 mL, RC-204-36473)

甲醇, 乙腈, 乙酸乙酯 (TEDIA 色谱纯); 氨水, 甲酸, 硫代硫酸钠 (分析纯)

6 种雌激素与酚类环境激素混合标准品

内标双酚 A-D16、内标壬基酚-D8

2. 样品前处理

样品采集前需添加硫代硫酸钠 (80 mg/L) 以去除水中余氯的影响。添加甲酸, 调节最终 pH 为 2-3, 在加入适量的内标物, 使得最终富集浓缩液中内标



图7. Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪

物的浓度 (按 100%回收率计算) 与标准系列中添加的内标物浓度一致。

首先分别用洗脱溶液、甲醇和超纯水活化固相萃取小柱, 再将经前处理后的水样, 通过富集柱。样品富集完毕后用氮气将富集柱吹干后, 用 10% 甲醇水进行淋洗, 然后用 5.0 mL 乙酸乙酯: 甲醇=9:1 洗脱。用氮吹仪将其吹至近干, 用 1+1 甲醇水 (体积比, 含 10% 氨水) 定容至 1.00 mL, 供液相色谱-串联质谱分析使用。

2.1 固相萃取富集条件

全自动固相萃取仪	Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪/ASPE Ultra 06全自动固相萃取仪
固相萃取柱	HLB (RayCure, 60 mg/3 mL)
活化	10%甲醇/乙酸乙酯, 甲醇, 水
淋洗	10%甲醇/水
洗脱	10%甲醇/乙酸乙酯

No	Step	Source	Output	Flow rate (mL/min)	Volume (mL)	Time (min)
1	Condition	10%meth-Et...	Waste2	3	5	2.1
2	Condition	CH3OH	Waste2	2	5	2.9
3	Condition	H2O	Waste1	3	5	2.1
4	Load Large-Volume Sample	SAM13-18	Waste1	8	1100	174.5
5	Rinse	H2O	Waste1	10	10	1.6
6	Air Push		Waste1	60	20	1.6
7	Dry					5
8	Rinse Syringe	CH3OH		30	2	0.4
9	Rinse Syringe	10%meth-Et...		30	3	0.5
10	Elute	10%meth-Et...	Collect	1	7	7.5
11	Air Push		Waste2	10	5	1.1
12	End					
13						

图8. Fotector Plus运行程序

2.2 液质检测条件

柱子	Waters XBridge BEH HILIC 1.7 μm × 21 × 50mm
流速	0.200 mL/min
流动相	A: Water B: acetonitrile
柱温	40° C
进样体积	10 μL
检测器	Agilent 6410
离子模式	ESI-
吹扫气	11 L/min
氮气温度	300° C

表1. 洗脱梯度

Time (min)	%A	%B
0.00	95	5
1.00	95	5
6.00	10	90
11.00	10	90
11.01	95	5
16.00	95	5

离子源温度	300℃
簇电压	4000
雾化压力	35psi

2.3 MRM 参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	保留时间 (min)	碎裂电压 (v)	碰撞能量 (ev)	回归方程	相关系数 (R ²)	线性范围 μg/L
炔雌醇	295.2	159.0	7.647	170	40	Y=0.2837078*x-1.832454E-004	R=0.9976	2~50
	295.2*	145.1*		170	44			
雌酮	269.2	159.2	6.643	170	32	Y=2.366781*x+0.041850	R=0.9996	2~50
	269.2*	145.1*		170	42			
雌二醇	271.2	182.9	7.920	180	40	Y=0.433003*x+0.0019996	R=0.9966	2~50
	271.2*	145.0*		180	40			
雌三醇	287.2	171.0	9.729	180	40	Y=0.465063*x-0.001618	R=0.9977	2~50
	287.2*	145.0*		180	48			
辛基酚	205.1	119.0	10.112	140	32	Y=1.841091*x-0.033162	R=0.9989	2~50
	205.1*	105.9*		140	18			
壬基酚	219.0	119.0	7.835	140	34	Y=1.338263*x-0.023662	R=0.9962	2~50
	219.0*	105.9*		140	20			
双酚 A-D16	241.2*	223.3*	10.183	130	18			
	241.2	142.1		130	26			
NP D8	227.2*	112.0*	7.572	132	21			
	227.2	125.8		132	30			

*代表定量离子

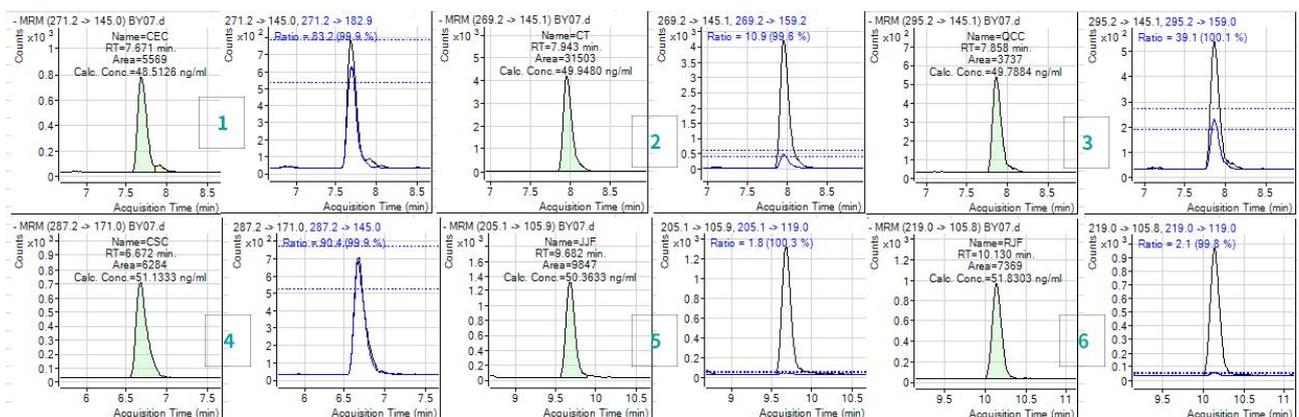


图 9.各组分 MRM-1 雌二醇； 2 雌酮； 3 炔雌醇； 4 雌三醇 5； 辛基酚； 6 壬基酚

3. 结果与讨论

向水中加入适量标准使用液，使用 Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪进行固相萃取，浓缩

液转溶后使用 LC-MS/MS 检测，内标法定量，5 ng/L 加标经过内标法定量后，检出含量在 4.42 ~5.63 ng/L 之间，RSD 在 5.3~9.6 之间，20 ng/L 加标经过内标法定量后，检出含量在 18.6~22.5 ng/L 之

间，RSD 在 3.2~9.8 之间，40 ng/L 加标经过内标法定量后，检出含量在 37.6~43.2 ng/L 之间，RSD 在 2.4~7.5 之间，七个平行样加标回收率、RSD 如

表 2 所示

表. 2 6 种环境激素加标回收率以及平行性 (n=7)

项目	5ng/L 加标		20ng/L 加标		40ng/L 加标	
	Avg.	RSD	Avg.	RSD	Avg.	RSD
炔雌醇	4.54	9.1	19.7	8.1	38.3	7.2
雌酮	4.75	6.9	21.0	9.6	41.1	2.4
雌二醇	4.42	9.6	22.0	3.2	37.6	4.6
雌三醇	5.63	8.5	19.2	9.8	37.6	7.5
辛基酚	4.69	5.4	22.5	9.2	43.2	7.2
壬基酚	5.36	5.3	18.6	2.7	38.1	7.5

4. 解决方案的优势

Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪能同步进行 6 个样品处理，自动连续处理 60 个样品，从活化、上样、淋洗到洗脱等多种基础命令全部实现自动化，大大提高了仪器精度和可靠性，保证了

回收率。

ASPE Ultra 06 全自动固相萃取仪集活化，富集，洗脱，浓缩一步到位，方便省事。

AutoEVA-60 全自动平行浓缩仪可自动完成对样品的快速，平行浓缩。



全自动固相萃取仪
净化



全自动固相萃取仪
净化



全自动平行浓缩仪
浓缩



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

自动化样品前处理解决方案领先供应商

网址: www.raykol.com

电话: 400-885-1816

邮箱: info@raykol.com



本文中的信息、说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2020年5月版