

解决方案

全自动固相萃取-高效液相质谱联用测定猪肉及猪肝中的醋酸甲地孕酮/醋酸甲羟孕酮

关键词

全自动固相萃取；高效液相色谱-串联质谱；醋酸甲地孕酮/醋酸甲羟孕酮

介绍

醋酸甲地孕酮（MEGESTROL）属于17 A-羟孕酮类衍生物，是一种高效的合成孕激素。本品有明显抗雌激素作用，无雌激素或雄激素活性，无蛋白同化作用。可抑制下丘脑促性腺激素释放激素（GNRH）的释放，并作用于腺垂体，降低其对GNRH的敏感性，从而阻断垂体促性腺激素释放，产生显著的排卵抑制作用，故与炔雌醇合用作为短效避孕药。醋酸甲羟孕酮（MEDROXYPROGESTERONE 17-ACETATE）主要用于痛经、功能性闭经、功能性子宫出血、先兆流产或习惯性流产、子宫内膜异位症、治疗晚期乳腺癌、子宫内膜腺癌及肾癌等。大剂量可用作长效避孕针。



猪肉及猪肝中的醋酸甲地孕酮/醋酸甲羟孕酮残留量的测定

醋酸甲地孕酮（Megestrol）属于17 α -羟孕酮类衍生物，是一种高效的合成孕激素。本品有明显抗雌激素作用，无雌激素或雄激素活性，无蛋白同化作用。可抑制下丘脑促性腺激素释放激素（GnRH）的释放，并作用于腺垂体，降低其对GnRH的敏感性，从而阻断垂体促性腺激素释放，产生显著的排卵抑制作用，故与炔雌醇合用作为短效避孕药。醋酸甲羟孕酮（Medroxyprogesterone 17-acetate）主要用于治疗痛经、功能性闭经、功能性子宫出血、先兆流产或习惯性流产、子宫内膜异位症、治疗晚期乳腺癌、子宫内膜腺癌及肾癌等。大剂量可用作长效避孕针。

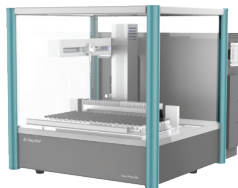
本应用文章参考《GB 31660.4-2019动物性食品中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的测定》中的方法，采用混合阳离子交换柱净化，高效液相色谱-串联质谱（HPLC-MS/MS）联用技术检测，建立了猪肉和猪肝中对醋酸甲地孕酮/醋酸甲羟孕酮高灵敏度的前处理和检测分析方法，对于两种物质的加标回收率均在70%以上，表明该方法可准确、有效地检测猪肉和猪肝中的两种孕激素。

仪器、耗材与试剂

仪器	Raykol Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪
	Raykol Auto EVA 80高通量全自动平行浓缩仪
	Raykol MPE系列高通量真空平行浓缩仪
	Raykol Auto Prep 200全自动液体样品处理工作站
耗材	混合阳离子交换柱（RayCure MCX，60mg/3mL），货号：RC-204-72855
	Agilent 1290高效液相色谱（HPLC）
试剂	乙腈（色谱纯），甲酸（色谱纯）
	0.2mol/L乙酸铵缓冲液：取乙酸铵15.4g，加水900mL使溶解，用乙酸调pH值至5.2，加水稀释至1000mL
	80%乙腈水

标准曲线配制

将1.0 μ g/mL的混合标准储备液和0.1 μ g/mL的混合内标储备液取出，于室温平衡后用AP 200全自动液体样品处理工作站配成浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μ g/L的标准工作曲线。



全自动液体样品处理工作站

A 盘

B 盘

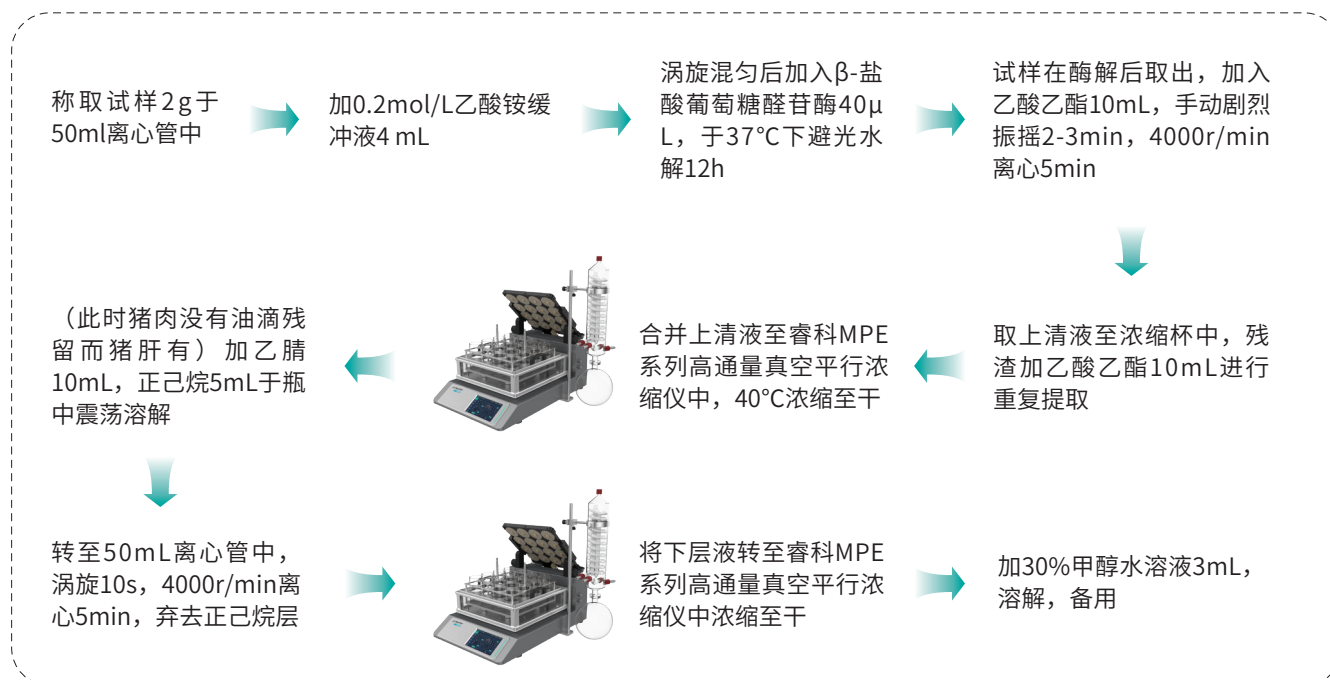
C 盘

D 盘

序号	命令	源液位	源液浓度	源液体积(mL)	目标位	目标浓度	目标体积(mL)	溶剂	洗针溶剂
1	填充管路						3.00	80%乙腈水	
2	直接稀释	A1	1000.00	1.00	A21	100.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
3	直接稀释	A21	100.00	1.00	A22	10.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
4	内标曲线	A22	10.00	1.00	A41	1.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
5	内标曲线	A22	10.00	1.00	A42	2.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
6	内标曲线	A21	100.00	1.00	A43	5.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
7	内标曲线	A21	100.00	1.00	A44	10.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
8	内标曲线	A21	100.00	1.00	A45	20.00	1.00	80%乙腈水	80%乙腈水
9	方法结束								

样品制备

猪肝及猪肉样品前处理



固相萃取净化条件

全自动固相萃取仪	Fotector Plus高通量全自动固相萃取仪
固相萃取柱	混合阳离子交换柱 (60mg/3mL)
淋洗	纯水、50%甲醇溶液
洗脱	甲醇

固相萃取净化

将混合阳离子交换柱安装在睿科Fotector Plus上，以3mL/min的速度分别用甲醇和纯水各3mL对混合阳离子交换柱进行活化，活化完成后取备用液过柱（为使固相萃取效果更好，推荐过柱速度 $\leq 2\text{mL/min}$ ，并为使上样完全，一般要多设置1mL的抽取体积），上样完成后，分别用水、50%甲醇溶液对固相萃取柱进行淋洗，氮气吹干，取甲醇5mL用2mL/min的速度将柱子中保留的目标物洗脱，收集洗脱液，转移至RayKol EVA 80氮气吹干。加入1mL80%乙腈溶液进行溶解，涡旋混匀，过滤膜备用，供LC-MS测定。

液相色谱条件

柱子	C ₁₈ 色谱柱 (Waters , 100mm×2.1mm×1.7μm)
流速	0.300 mL/min
流动相	A:乙酸铵溶液 (含0.1%甲酸) ,B:乙腈
柱温	35°C
进样体积	2μL
检测器	Agilent 6470
离子模式	ESI+
吹扫气	11 L/min
氮气温度	350°C
簇电压	4000
雾化压力	35psi
梯度洗脱	0 min 乙腈50%, 0-1.0 min 乙腈50%, 3.0-5.0 min乙腈50%, 5.5-8.0 min乙腈50%

命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
清洗样品通道	CH ₃ OH				2.8
活化	CH ₃ OH	有机废液	3	3	1.4
活化	H ₂ O	有机废液	3	3	1.4
上样		有机废液	1	4	4.5
淋洗	H ₂ O	废水	3	3	1.4
淋洗	CH ₃ OH:H ₂ O=1:1	有机废液	3	3	1.4
吹干					3
洗脱	CH ₃ OH	收集	2	5	2.9
暂停					2
气推		收集	5	5	1.6
结束					

图-1. 两种孕激素的固相萃取净化方法



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

智能化、自动化实验室整体解决方案

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 10 月版