

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250418006

引用格式: 肖明昊, 袁梓洵, 李诗婷, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中 17 α -雌二醇和 17 β -雌二醇[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 67-74.

XIAO MH, YUAN ZY, LI ST, *et al.* Determination of 17 α -estradiol and 17 β -estradiol in aquatic products by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 67-74. (in Chinese with English abstract).

QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定 水产品中 17 α -雌二醇和 17 β -雌二醇

肖明昊^{1*}, 袁梓洵¹, 李诗婷¹, 梁静¹, 汪苹^{1,2}, 杨悦², 吴济舟²

(1. 国检测试控股集团京诚检测有限公司, 广州 511400; 2. 国检测试控股集团北京生态环境保护技术研究院有限公司, 北京 100024)

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇的方法。**方法** 样品经水-乙腈(2:8, *V:V*)提取, 加入 N-丙基乙二胺、C₁₈、中性氧化铝进行净化, 提取液氮吹至干, 残渣用水-乙腈(8:2, *V:V*)溶解。样液以水-乙腈(均含 5 mmol/L 氨水)为流动相, 经 C₁₈ 色谱柱分离后进行多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式的定性及定量分析, 外标法定量。**结果** 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇在质量浓度 5~200 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 相关系数分别为 0.9998 和 0.9985; 3 个加标水平的平均回收率为 66.5%~101.1%, 相对标准偏差为 0.62%~10.17%; 检出限范围为 0.85~0.90 $\mu\text{g/kg}$, 定量限范围为 2.1~2.4 $\mu\text{g/kg}$ 。**结论** 该方法操作简单快捷、灵敏准确, 适用于鱼、虾、蟹、贝等水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇的定性及定量分析。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 水产品; 雌二醇; QuEChERS

Determination of 17 α -estradiol and 17 β -estradiol in aquatic products by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XIAO Ming-Hao^{1*}, YUAN Zi-Yi¹, LI Shi-Ting¹, LIANG Jing¹, WANG Ping^{1,2},
YANG Yue², WU Ji-Zhou²

(1. China Testing Holding Group Jingcheng Testing Co., Ltd., Guangzhou 511400, China; 2. China Testing Holding Group Beijing Ecological Environmental Protection Technology Research Institute Co., Ltd., Beijing 100024, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 17 α -estradiol and 17 β -estradiol in aquatic products by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The sample was extracted with water-acetonitrile (2:8, *V:V*), purified with

收稿日期: 2025-04-18

基金项目: 2023 年度国检科研基金项目(GJ012023078)

第一作者/*通信作者: 肖明昊(1995—), 男, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 2680015211@qq.com

N-propylethylenediamine, C_{18} and neutral alumina, blown to dryness with nitrogen, and then reconstituted with water-acetonitrile (8:2, $V:V$). The sample solution was analyzed using water and acetonitrile (both containing 5 mmol/L ammonia) as mobile phase, separated by C_{18} chromatographic column, scanned and detected in multiple reaction monitoring (MRM) mode, and quantified by external standard method. **Results** The results showed that 17α -estradiol and 17β -estradiol showed a good linear relationship in the concentration ranges of 5 to 200 $\mu\text{g/L}$, and the correlation coefficients were 0.9998 and 0.9985, respectively. The average recoveries at three spiked concentration levels varied from 66.5% to 101.1% with relative standard deviations of 0.62% to 10.17%. The limit of detection was 0.85–0.90 $\mu\text{g/kg}$, and the limit of quantitation was 2.1–2.4 $\mu\text{g/kg}$. **Conclusion** This method is simple, fast, sensitive and accurate, suitable for qualitative and quantitative analysis of 17α -estradiol and 17β -estradiol in aquatic products such as fish, shrimp, crabs and shellfish.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; aquatic products; estradiol; QuEChERS

0 引言

雌二醇为机体内分泌细胞合成的雌激素中较为常见的一种,有 17α 与 17β 两种类型,二者互为立体异构体,在人体中起到调节细胞与组织的代谢活动的作用^[1-2]。雌激素对维护皮肤健康有重要作用,且雌激素是促进雌性动物第二性征发育及性器官成熟的物质,对人体心血管系统、神经系统、泌尿系统等也具有一定的保护作用^[3-4]。然而,外源雌激素,会干扰机体的正常内分泌平衡,造成机体代谢调控紊乱,过高水平的雌激素可促进生殖道癌、乳腺癌、消化道癌症等多种癌症发展,降低男性的生育能力,令儿童性发育提前以及导致部分神经系统疾病的发生^[5-7]。

为控制食品中激素残留风险,各国陆续发布有关规定。欧盟自 1988 年起禁止在动物饲养中使用生长激素,仅允许 β -雌二醇、睾酮、孕酮及其衍生物用于治疗与科研的目的。而最新的根据《欧洲联盟运行条约》以及欧洲议会和理事会的第 470/2009 号条例制定的委员会实施细则(欧盟)2024/860 明确规定 17β -雌二醇不再被允许在动物源性食品中使用。日本规定己烯雌酚在所有食品中不得检出,群勃龙乙酸酯不得在水生动物中不得检出。美国规定在动物饲料中使用的激素在使用和残留上均受到限制,而食品中的雌激素残留限量为 0.12~3 $\mu\text{g/kg}$ ^[8]。我国也早在 2002 年发布了 176 号公告禁止在畜禽水产养殖过程中使用雌二醇等雌激素。同时,在《中华人民共和国农业农村部公告第 250 号》中禁用醋酸美仑孕酮、甲基睾丸酮、群勃龙等类固醇激素,在 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中也对畜产品中烯丙孕素、醋酸氟孕酮等性激素类药物制定了残留限值。但近年来水产品存在着雌激素污染的安全隐患^[2,9-10]。一方面由于雌激素可以影响动物的性别分化并缩短其生长周期,因此非法

水产养殖户常将其添加到饲料中,以提高水产品的饲养效率,导致水产品雌激素的残留^[11-12]。另一方面,雌激素在不同的水体环境中存在不同程度的污染,由于生态链的传递,可能导致水生生物体雌激素的富集。韩诗宁等^[13]在海螺和海锥中提取检测到了雌二醇的存在,含量分别为 24.7 ng/g 和 14.2 ng/g 。马丽莎等^[8]在 2 份捕捞水产品中检出 0.58~1.13 $\mu\text{g/kg}$ 的雌二醇。卢巧梅^[14]在鲷鱼中发现含量高达 124.1 $\mu\text{g/kg}$ 的雌二醇。CHAFI 等^[15]在贻贝中检测到 470 ng/kg 的 β -雌二醇。雌激素具有化学稳定性,难以降解,可以在动物和人类组织中长期存在。而研究表明低水平的雌激素可能会使人类面临生殖系统疾病,甚至乳腺癌和卵巢癌等肿瘤的风险,而且这些物质在生物体内的浓度会随着食物链的传递而增加^[16]。因此开发一种水产品中灵敏度高,特异性强,准确性优异,成本低廉且操作简便快捷的雌激素检测方法,对于保障食品安全和民众身体健康有着重要意义。

迄今为止,已经开发了几种方法用于雌激素的分析,如免疫测定法^[17-18]、毛细管电泳^[19]、液相色谱法^[20-21]、气相色谱-质谱法^[22-23]、液相色谱-质谱法(liquid chromatograph-mass spectrometry, LC-MS)^[24-25]等。LC-MS 由于其优异的分辨率、分离能力和对雌激素的识别能力而受到广泛应用,同时 LC-MS 分析雌激素可以直接检测而无需衍生化,大大提升了检测效率。另外,由于样品基质复杂且分析物水平较低,LC-MS 检测水产品中的雌激素需要进行预处理以富集雌激素并减少杂质的干扰。传统的液体-液体萃取^[26]和固相萃取^[27-28]已被较多用于此,但这些方法通常耗时较多,且需要大量的样品和有毒有机溶剂。目前,研究人员的重点是开发一种更快、更选择性、成本更低且环境友好的预处理方法。QuEChERS 前处理方法因其具备操作简单、快捷高效、成本相对低廉等多个优点,且能够适用于多种样品基质、减少有机试剂的使用、提高实

实验室样品处理的通量, 已获得多个国际分析机构认可, 已经被广泛应用环境^[29]、食品^[30-31]、医疗^[32-33]等检测领域。目前, 测定某一类激素的超高效液相色谱-串联质谱方法已较为成熟^[34-35], 但鲜见有报道使用 QuEChERS 前处理技术结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中 17 α -雌二醇和 17 β -雌二醇的研究。本研究通过 QuEChERS 前处理技术与超高效液相色谱-串联质谱法的结合, 构建一种同时检测鱼、虾、蟹、贝等水产品中 17 α -雌二醇和 17 β -雌二醇的方法, 以缩短样品前处理流程, 并提高实验室的检测通量, 以期作为新的检测方案对水产品雌激素检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乙腈(色谱纯, 广州迪鑫多科学仪器有限公司); 氨水、无水硫酸镁(分析纯, 广州西陇精细化工技术有限公司); 十八烷基硅烷键合硅胶(ostade-cylsilane, C₁₈)、N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA)(中国 Agela Technologies 公司); 中性氧化铝(天津市光复科技发展有限公司); 17 α -雌二醇标准品(纯度 99.4%)、17 β -雌二醇标准品(纯度 98.7%)(坛墨质检科技股份有限公司); 实验用水(超纯水, 自制)。

1.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC I-Class/Xevo TQ-S micro 超高效液相色谱串联四极杆质谱联用仪、ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 超高压液相色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μ m)(美国 Waters 公司); puluerisette14 高速旋转粉碎仪(上海福里茨仪器设备有限公司); MIX-200 多管涡旋混匀仪[拓赫机电科技(上海)有限公司]; KQ-300E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); HC-3018R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); DC-24-RT 氮吹仪(海安谱实验科技股份有限公司); BSA224S 电子天平[精度 0.0001 g, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; CLXXXDIM2 超纯水器[威立雅水处理技术(UK)有限责任公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液配制

称取 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇标准品 10.0 mg, 置于 10 mL 容量瓶, 用甲醇溶解并定容至刻度, 质量浓度为 1.00 mg/mL, 0~4 $^{\circ}$ C 冷藏保存, 根据需要用水-乙腈溶液(8:2, V:V)稀释至相应浓度。

1.3.2 样品前处理

称取 5.0 g 均质后的样品于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中, 加入 10.0 mL 水-乙腈(2:8, V:V), 涡旋振荡 1 min, 超声提取 30 min, 加入 4 g 无水硫酸镁, 涡旋 1 min, 以

8000 r/min 离心 5 min, 取上清液于另一聚四氟乙烯离心管中, 加入 100 mg C₁₈、300 mg PSA 和 200 mg 中性氧化铝, 涡旋 1 min, 以 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液于 40 $^{\circ}$ C 水浴中氮吹至干, 加入 1 mL 水-乙腈(8:2, V:V), 涡旋溶解残渣, 过 0.22 μ m 微孔尼龙滤膜, 上机分析。

1.3.3 分析条件

(1)液相色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 超高压液相色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μ m); 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L; 流动相: A 相为 5 mmol/L 氨水乙腈溶液, B 相为 5 mmol/L 氨水溶液; 流速: 0.25 mL/min; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	20	80
1.00	60	40
2.00	60	40
3.00	80	20
3.50	90	10
6.50	90	10
7.00	20	80
8.00	20	80

(2)质谱条件

电离方式: 负离子电喷雾电离; 电离电压: 3.5 kV; 离子源温度: 150 $^{\circ}$ C; 锥孔反吹气流速: 300 L/h; 锥孔电压: 45 V; 脱溶剂气流速: 900 L/h; 脱溶剂气温度: 475 $^{\circ}$ C; MRM 方法: 见表 2。

表 2 质谱采集参数

Table 2 Mass spectrometry acquisition parameters

项目	保留时间 /min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /V
17 α -雌二醇	2.34	271.0	144.9*, 182.9	45	40, 40
17 β -雌二醇	2.49	271.0	144.9*, 182.9	45	40, 40

注: *定量离子。

1.4 数据处理

通过 The MassLynx™ 4.1 软件分析数据, 采用 WPS 12.1.0.21171 进行制表、绘图, 每组实验平行重复 3 次或 6 次平行。

2 结果与分析

2.1 液相色谱条件优化

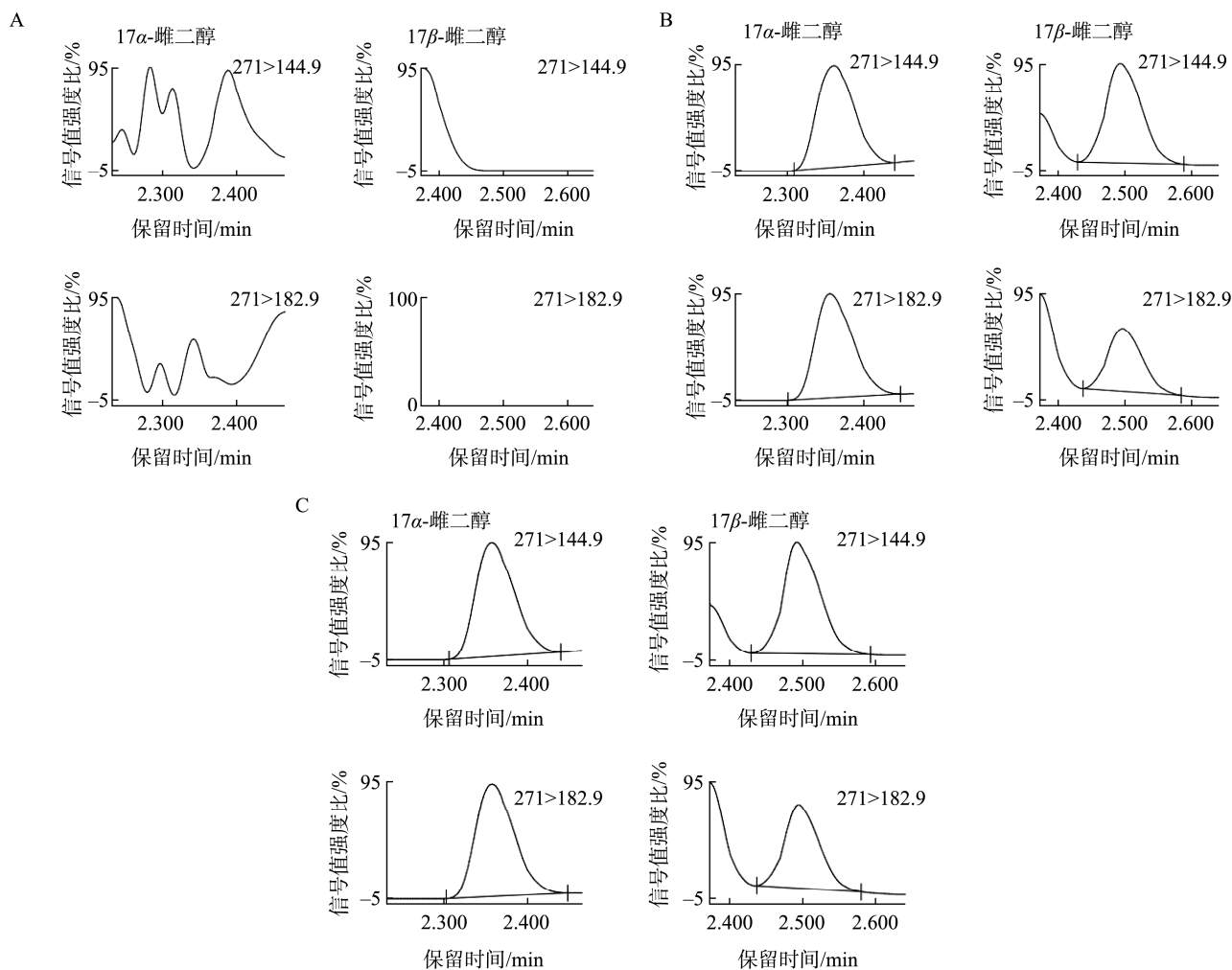
17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇互为顺反异构, 极性差异较小,

因此合适的色谱柱填料对二者的分离起主要作用,本研究比较了 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)、ACQUITY UPLC BEH C_8 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 3 种色谱柱的分离效果,其中 C_{18} 色谱柱分离效果优于 T3 色谱柱与 C_8 色谱柱,因此选择 C_{18} 色谱柱作为分析色谱柱。

为提高目标物在的仪器灵敏度,对流动相的组成进行优化,本研究比较了水-乙腈、水-乙腈(均含 2 mmol/L 氨水)、水-乙腈(均含 5 mmol/L 氨水)、水-乙腈(均含 10 mmol/L 氨水)、水-甲醇(均含 5 mmol/L 氨水)5 种流动相体系对分离效果的影响,发现水-乙腈(均含 5 mmol/L 氨水)作为流动相时两种目标物的响应最好,并且在色谱图上得到有效分离,因此本研究选择水-乙腈(均含 5 mmol/L 氨水)作为分析流动相体系。

2.2 质谱条件优化

17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇互为顺反同分异构(表 2),因此,本研究通过保留时间区分二者,避免定性歧义。本研究通过分别将质量浓度 1 mg/L 的 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇单一标准溶液利用流动注射泵分别注入离子源,对其进行全扫描,确定各自的母离子,通过优化电离电压、脱溶剂气温度、脱溶剂气流速、锥孔反吹气流速使母离子丰度及稳定性最佳,然后对每种化合物进行子离子扫描,得到碎片信息,并对二级锥孔电压和二级质谱碰撞气能量进行优化,使特征碎片离子的强度及稳定性达到要求,优化后的参数见表 2。按表 2 中的参数进行检验,空白样品、标准溶液和空白样品加标的 MRM 色谱图见图 1,结果显示,空白样品与空白样品加标色谱图上两种标准物质保留时间上未见明显干扰峰,对检测结果的定性定量无影响。因此本研究使用表 2 中的参数作为质谱分析条件。



注: A. 空白样品 MRM 色谱图; B. 标准溶液 MRM 色谱图; C. 空白样品加标 MRM 色谱图。

图 1 空白样品、标准溶液和空白样品加标的 MRM 色谱图

Fig.1 MRM chromatograms of blank sample, standard solution and blank sample spiked

2.3 提取溶剂优化

水产品富含蛋白质、脂肪及多种生物成分, 因此检测 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇时要求提取溶剂既可以充分溶解目标物也可以将其余杂质尽量分离。常用的提取溶剂有乙腈、甲醇和乙酸乙酯。本研究比较了 6 种提取溶剂: 甲醇、乙酸乙酯、乙腈、水-乙腈(1:9, V:V, 下同)、水-乙腈(2:8)、水-乙腈(3:7), 通过对比提取液的浑浊程度与样品加标回收率, 考察不同溶剂的提取效果。从提取液的浑浊度观察, 甲醇的浑浊度最高, 乙酸乙酯的浑浊度中等且颜色偏黄, 可能是溶出较多脂肪导致的颜色变化, 乙腈及不同比例的水-乙腈溶液浑浊度最低。其原因为乙腈极性范围宽, 对蛋白质、脂肪等物质有很好的沉淀效果。

从图 2 可以看出, 回收率由低到高排序为乙酸乙酯<甲醇<水-乙腈(3:7)<乙腈<水-乙腈(1:9)<水-乙腈(2:8), 这可能是由于水-乙腈(2:8)对水产品中蛋白的沉淀效果最为合适, 较其余 5 种提取溶剂解离出更多与蛋白质结合的雌激素, 从而获得更高的回收率。可能是添加一定比例的水相可以调整乙腈的极性, 使得乙腈中加入一定的水提取效率优于纯乙腈。而且从环保和成本方面考虑, 最终以水-乙腈(2:8)作为本方法的提取溶剂。因此本研究选择水-乙腈(2:8)作为后续分析的提取溶剂。

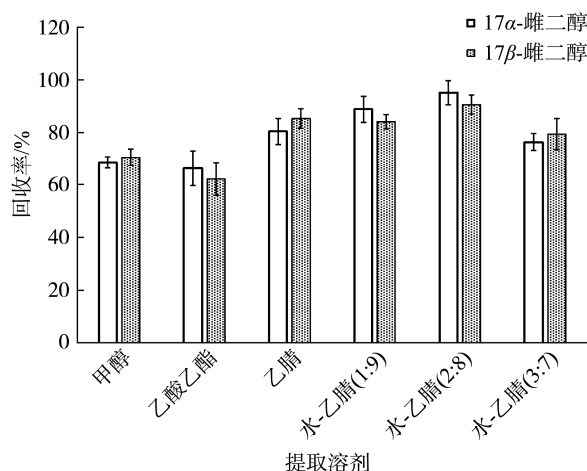


图 2 不同提取溶剂对回收率的影响($n=3$)

Fig.2 Effects of different extraction solvents on recoveries ($n=3$)

2.4 净化试剂优化

由于水产品基质较复杂, 本研究在使用水-乙腈(2:8)作为提取溶剂对样品进行提取后, 仍需要进一步对提取液净化方可上机。QuEChERS 前处理法一般使用吸附剂除去样品中的有机酸、脂类、色素和糖类物质等非目标物质。常见的吸附剂包括乙二胺-PSA、 C_{18} 、中性氧化铝等。PSA 是极性吸附剂, 对样品中的蛋白质、脂肪酸、有机酸、色素和糖类等极性物质具有一定的吸附性。 C_{18} 具有疏水性, 对脂肪等非极性物质有吸附作用。中性氧化铝可以吸附大

分子化合物。因此基于水产品的非目标物成分, 本研究研究添加不同重量的上述 3 种净化试剂对目标物回收率的影响。

C_{18} 净化吸附效果如图 3 所示。当 C_{18} 添加量为 100 mg、150 mg 时目标物回收率均大于 80%, 其中添加量为 100 mg 时回收率更好, 选择 100 mg 作为 C_{18} 的最终添加量。

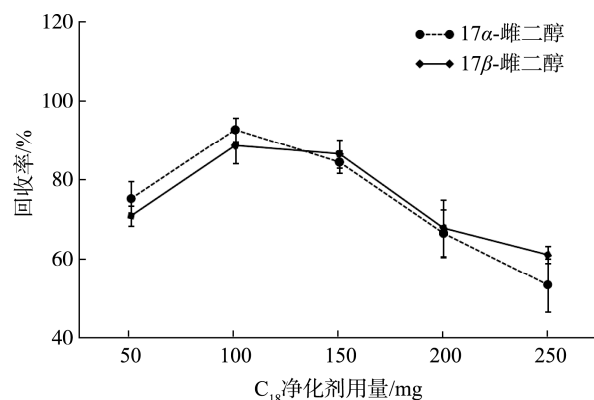


图 3 不同添加量的 C_{18} 对回收率的影响($n=3$)

Fig.3 Effects of different amounts of C_{18} on recoveries ($n=3$)

图 4 为不同添加量的 PSA 净化剂进行优化的实验结果。在 100~300 mg 范围内, 当 PSA 添加量增大时, 目标物回收率随之增大, 并在 PSA 添加量为 300 mg 时到达顶峰, 随后开始下降, 因此选择 300 mg 作为 PSA 的最终添加量。

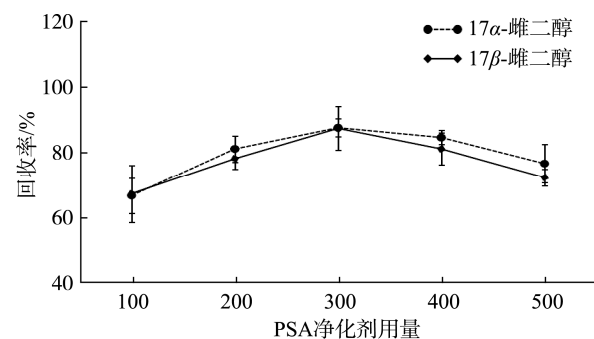


图 4 不同添加量的 PSA 对回收率的影响($n=3$)

Fig.4 Effects of different amounts of PSA on recoveries ($n=3$)

图 5 对不同中性氧化铝净化剂的用量进行探究, 如图 5 所示, 在 100~200 mg 范围内, 目标物回收率随中性氧化铝添加量增大而升高, 继续增大中性氧化铝添加量, 目标物回收率均下降, 因此选择 200 mg 作为中性氧化铝的最终添加量。综上所述, 本研究最终采用 100 mg C_{18} 、300 mg PSA 和 200 mg 中性氧化铝组合净化试剂。虽然目前研究领域出现很多新型净化材料, 如 EMR-Lipid 增强型脂质吸附剂^[36], 多孔共价有机骨架材料等^[37]。但是考虑到商业化成本, 目前的研究成本使用成熟且价格低廉的吸附剂已可以达到实际检测目的。

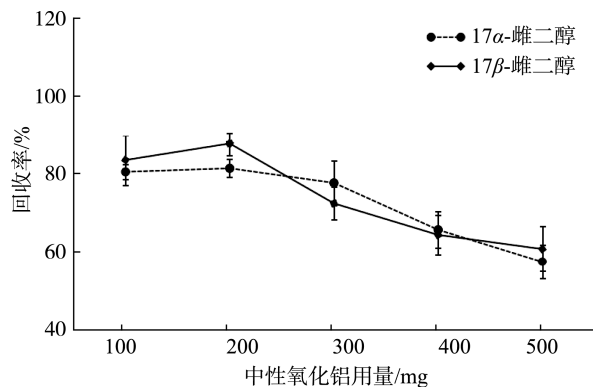


图 5 不同添加量的中性氧化铝对回收率的影响($n=3$)
Fig.5 Effects of different amounts of neutral alumina on recoveries ($n=3$)

2.5 线性范围与检出限

将两种雌二醇储备液配制成为 5~200 $\mu\text{g/L}$ 系列质量浓度的标准曲线溶液上机分析, 绘制标准曲线, 结果表明在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 的质量浓度范围内 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇的浓度与峰面积成良好的线性关系。方法检出限采用向空白样品中添加目标化合物的方法进行检测, 分别以 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)所对应被测化合物的含量作为的检出限和定量限, 计算结果见表 3, 17 α -雌二醇和 17 β -雌二醇的检出限分别为 0.85 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.90 $\mu\text{g/kg}$, 两种物质检出限均小于 1.0 $\mu\text{g/kg}$, 表明本方法灵敏度较好。

表 3 2 种化合物的回归方程、相关系数、线性范围和方法检出限

Table 3 Regression equations, correlation coefficients, linear ranges and limits of detection of 2 kinds of compounds

目标物	回归方程	相关系数(R)	线性范围/ $\mu\text{g/L}$	检出限/ $\mu\text{g/kg}$	定量限/ $\mu\text{g/kg}$
17 α -雌二醇	$Y=80.908X-108.65$	0.9998	5~200	0.85	2.1
17 β -雌二醇	$Y=119.59X+10.791$	0.9985	5~200	0.90	2.4

2.6 基质效应评价

水产品基质复杂, 即便样品在前处理过程中经过乙腈沉淀蛋白、分散固相净化, 仍可能无法消除基质效应, 使定量结果出现偏差。为了获取更加准确的检测结果, 需进行基质效应评价。如表 4 所示, 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇基质效应均在 -15%~15% 之间, 基质效应不显著。该实验结果相较于于慧娟等^[38]在水产品中使用同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定雌激素的基质效应(抑制率 20%~40%), 本研究水产品中的基质效应也为抑制效应, 但是基质效应抑制率更低。而 QuEChERS 方法对水产品中雌二醇抑制率的影响与李志明等^[39]在鸡蛋中雌二醇的基质效应规律保持一致。因此本研究采用水-乙腈(8:2)溶液配制标准曲线溶液, 可缩短检测前处理时间和降低分析成本。

表 4 2 种化合物的基质效应评价

Table 4 Evaluation of matrix effects of 2 kinds of compounds

目标物	无基质匹配标准曲线		基质匹配标准曲线		基质效应/%
	曲线斜率	相关系数(r)	曲线斜率	相关系数(r)	
17 α -雌二醇	80.908	0.9998	79.847	0.9997	-1.3
17 β -雌二醇	119.59	0.9985	113.00	0.9993	-5.5

2.7 回收率与精密度

分别在 11 种空白样品中进行 2、10、30 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平的加标回收实验, 样品前处理如 1.3.2 所述, 平行测定 6 次。在本研究所选实验条件下, 11 种水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇的回收率为 66.5%~101.1%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.62%~10.17%, 表明本方法有较好的准确度和精密度, 可满足水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇定量测定的要求。样品加标结果见表 5。

表 5 样品中 2 种化合物的回收率与 RSDs ($n=6$, %)

Table 5 Recoveries and RSDs of 2 kinds of compounds in the samples ($n=6$, %)

样品种类	2 $\mu\text{g/kg}$		10 $\mu\text{g/kg}$		30 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率	RSDs	回收率	RSDs	回收率	RSDs
鲫鱼	94.5	0.62	99.2	2.35	96.2	1.54
草鱼	69.8	7.36	79.8	5.74	79.5	6.26
鲈鱼	93.6	9.67	101.1	6.31	98.1	7.89
虾姑	66.5	1.14	72.5	2.03	73.7	3.69
对虾	67.9	10.17	74.7	6.73	75.8	6.33
罗氏虾	82.1	3.21	85.3	2.51	89.8	2.43
文蛤	69.2	3.08	71.4	1.07	76.4	3.63
白贝	73.3	1.35	75.4	4.76	74.4	2.92
蛭子	94.2	1.48	94.9	4.07	99.0	3.21
梭子蟹	92.9	3.55	99.6	5.09	94.9	2.43
青蟹	83.1	4.13	86.9	8.02	86.7	3.48

2.8 实际样品检测

依据本研究建立的测定方法, 分别对市售的鲫鱼、草鱼、鲈鱼等 11 个水产品进行检测。结果表明, 11 个样品中均未检出 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇残留。

3 结论

本研究建立了 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鱼、虾、蟹、贝等水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇的方法, 在优化实验条件下, 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇经 C_{18} 色谱柱分离后, 在 MRM 模式下进行定性及定量分析。本方法中 2 种目标物检出限均小于 1.0 $\mu\text{g/kg}$, 且能在 60 min 内完成样品前处理流程, 所用的有机溶剂较少, 具

有检测效率高和成本低廉的优点, 可为检测鱼、虾、蟹、贝等水产品中 17 α -雌二醇与 17 β -雌二醇残留提供参考。

参考文献

- [1] MISHRA P, ESFAHANI E, FERNYHOUGH P, *et al.* Effects of 17-beta estradiol on inflammation and mitochondrial function in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2025, 20: e091551.
- [2] MCGILL CJ, CHRISTENSEN A, QIAN W, *et al.* The longevity-promoting intervention 17 α -estradiol protects against aging phenotypes in APOE4 mice [J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2022, 18: e064816. (与 9 重复)
- [3] 张也, 赵长源, 高志贤, 等. 食品中常见雌激素类物质的危害分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(6): 153-159.
ZHANG Y, ZHAO CY, GAO ZX, *et al.* Hazard analysis of common estrogens in food [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(6): 153-159.
- [4] 谭礼萍, 施先平, 谢彬, 等. 雌激素对女性精神分裂症患者阴性症状及认知功能影响研究[J]. *临床医药实践*, 2025, 34(2): 106-108, 136.
TANG LP, SHI XP, XIE B, *et al.* Effect of estrogen on negative symptoms and cognitive function in female patients with schizophrenia [J]. *Clinical Medicine Practice*, 2025, 34(2): 106-108, 136.
- [5] CALAF GM, ROY D, JARA L, *et al.* Genes associated with the immune system affected by ionizing radiation and estrogen in an experimental breast cancer model [J]. *Biology*, 2024, 13(12): 1078.
- [6] GAN XN, DAI GQ, LI YH, *et al.* Intricate roles of estrogen and estrogen receptors in digestive system cancers: A systematic review [J]. *Cancer Biology & Medicine*, 2024, 21(10): 898-915.
- [7] 张东, 谭利娜, 罗淑颖, 等. 血清瘦素和雌二醇联合诊断女童性早熟的价值分析[J]. *实验与检验医学*, 2023, 41(1): 48-51.
ZHANG D, TANG LN, LUO SY, *et al.* Value analysis of serum leptin and estradiol in the diagnosis of precocious puberty in girls [J]. *Experimental and Laboratory Medicine*, 2023, 41(1): 48-51.
- [8] 马丽莎, 戴晓欣, 谢文平, 等. QuEChERS/GC-MS 法同时测定鱼、虾中的雌二醇与己烯雌酚残留[J]. *分析测试学报*, 2015, 34(1): 62-66.
MA LS, DAI XX, XIE WP, *et al.* QuEChERS/GC-MS was used to determine the residues of estradiol and diethylstilbestrol in fish and shrimp [J]. *Journal of Analysis and Testing*, 2015, 34(1): 62-66.
- [9] NOBRE CR, MORENO BB, ALVES AV, *et al.* Microplastics and 17 α -ethinylestradiol: How do different aquatic invertebrates respond to this combination of contaminants? [J]. *Toxics*, 2024, 12(5): 319.
- [10] CHÝLKOVÁ J, BARTÁČEK J, MĚCHOVÁ N, *et al.* Voltammetric determination of the total content of the most commonly occurring estrogens in water media [J]. *Molecules*, 2025, 30(3): 751.
- [11] STRECK G. Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2009, 28(6): 635-652.
- [12] TANG J, WANG J, YUAN L, *et al.* Dummy molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion for selective extraction of seven estrogens in aquatic products [J]. *Food Analytical Methods*, 2019, 12: 2241-2249.
- [13] 韩诗宁, 徐森, 郭立泉, 等. 几种水产品中雌激素的检测及其微生物降解的研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(6): 357-362.
HAN SN, XU M, GUO LQ, *et al.* Detection of estrogen in several aquatic products and its microbial degradation [J]. *Food Technology*, 2019, 44(6): 357-362.
- [14] 卢巧梅. 水产品中多种雌激素残留的质谱分析方法研究[J]. *分析测试技术与仪器*, 2016, 22(1): 1-8.
LU QM. Mass spectrometry analysis of a variety of estrogen residues in aquatic products [J]. *Analytical Testing Technology and Instruments*, 2016, 22(1): 1-8.
- [15] CHAFI S, BALLESTEROS E. A simple, efficient, eco-friendly sample preparation procedure for the simultaneous determination of hormones in meat and fish products by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Foods*, 2022, 11(19): 3095.
- [16] DU Y, YAN X, CHEN Y, *et al.* Magnetic polyimide nanosheet microspheres for trace analysis of estrogens in aqueous samples by magnetic solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2022, 1675: 463184.
- [17] JIANG ZQ, WANG JP, CUI PL. Development of a natural porcine-estrogen-receptor-based pseudo immunoassay for screening of 13 estrogens in milk and studying its recognition mechanism [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2025, 1351: 343881.
- [18] WANG Y, WANG M, ZHOU L, *et al.* Development of a competitive ELISA based on estrogen receptor and weak competitive molecule for the screening of potential estrogens in foods [J]. *Food Chemistry*, 2023, 401: 134084.
- [19] GU C, ZHANG W, ZHAO Y, *et al.* Determination of estrogen residues in milk powder by accelerated solvent extraction and capillary electrophoresis [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2022, 17(11): 221119.
- [20] ALQAHTANI SS, HUMAID DMB, ALSHAIL SH, *et al.* Development and validation of a high performance liquid chromatography/diode array detection method for estrogen determination: Application to residual analysis in meat products [J]. *Open Chemistry*, 2020, 18(1): 995-1010.
- [21] ZHOU Q, DUAN Y, XU Z, *et al.* A molecularly imprinted fiber array solid-phase microextraction strategy for simultaneous detection of multiple estrogens [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2023, 11(22): 4991-4999.
- [22] BAO Y, ZHAI Y, DI S, *et al.* Room-temperature synthesis of magnetic thiophene-based covalent organic frameworks for derivatization-assisted GC-MS analysis of estrogens in environmental waste [J]. *Microchemical Journal*, 2023, 195: 109524.
- [23] WOLECKI D, CABAN M, PAZDRO K, *et al.* Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs and natural estrogens in the mussels *Mytilus edulis* trossulus [J]. *Talanta*, 2019, 200: 316-323.
- [24] LIAO T, JIA J, TONG K, *et al.* Determination of synthetic estrogens in milk by a novel hyper-crosslinked polymer SPME coupled with HPLC-MS [J]. *Microchemical Journal*, 2022, 181: 107700.
- [25] MOUSSA F, MOKH S, DOUMIATI S, *et al.* LC-MS/MS method for the determination of hormones: Validation, application and health risk assessment in various bovine matrices [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 138: 111204.
- [26] LI Y, YIN S, YANG Y, *et al.* Sample treatment methods for the determination of phenolic environmental estrogens in foods and drinking water [J]. *Journal of AOAC International*, 2020, 103(2): 348-364.

- [27] GUEDES-ALONSO R, SOSA-FERRERA Z, SANTANA-RODRÍGUEZ JJ. Determination of steroid hormones in fish tissues by microwave-assisted extraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2017, 237: 1012–1020.
- [28] ZHANG Y, XUE X, SU S, *et al.* A multi-class, multi-residue method for detection of veterinary drugs in multiple meat using a pass-through cleanup SPE technique and UPLC-MS/MS analysis [J]. *Food Analytical Methods*, 2018, 11: 2865–2884.
- [29] SERASINGHE P, TALESKI D, NGUYEN HTK, *et al.* Development and validation of a novel method using QuEChERS and UHPLC-MS-MS for the determination of multiple emerging fungicides in surface waters [J]. *Separations*, 2024, 11(10): 279.
- [30] 刘耀楠, 葛苗秀, 章文天, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定黄瓜和苹果中7种农药残留量及其风险评估[J]. *食品安全质量检测学报*, 2025, 16(6): 141–150.
- LIU YN, GE MX, ZHANG WT, *et al.* Determination of 7 kinds of pesticide residues in *Cucumis sativus* L. and *Malus pumila* Mill. by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry and risk assessment [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2025, 16(6): 141–150.
- [31] 李心恬, 黄科, 黄刚, 等. QuEChERS dSPE EMR-Lipid-液相色谱-四极杆飞行时间质谱法定性筛查粮谷中29种真菌毒素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2025, 16(8): 76–83.
- LI XT, HUANG K, HUANG G, *et al.* Qualitative screening of 29 kinds of mycotoxins in grain by QuEChERS dSPE EMR-Lipid and liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2025, 16(8): 76–83.
- [32] LAHANE V, SINGH S, MISHRA S, *et al.* Development and validation of multiresidue analysis method for biomonitoring of pesticides and metabolites in human blood and urine by LC-QToF-MS [J]. *Talanta*, 2025, 282: 126968.
- [33] ZHANG JW, LIU JN, WANG YH, *et al.* Simultaneous determination of ten neonicotinoid insecticides and a metabolite in human whole blood by QuEChERS coupled with UPLC-Q Exactive orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography B*, 2023, 1222: 123689.
- [34] YUE CF, JIAN FW, FAN H, *et al.* Determination of 44 foodborne stimulants and 6 progestogens in meat by QuEChERS and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2022, 40(5): 409–422.
- [35] ALIREZA N, BAHRAM D, KAMAL AR, *et al.* Optimization of QuEChERS extraction of steroid hormones from infant formulae for mass spectrometric analysis [J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2021, 103(1): 1–17.
- [36] 温馨, 谭淑铎, 林庆昶, 等. QuEChERS dSPE EMR-Lipid-GC-MS/MS测定动物源性食品中205种农药及13种代谢物残留量[J]. *分析科学学报*, 2024, 40(3): 323–336.
- WEN X, TAN SH, LIN QC, *et al.* Determination of 205 pesticides and 13 metabolites residues in animal derived food by QuEChERS dSPE-EMR-Lipid-GC-MS/MS [J]. *Journal of Analytical Science*, 2024, 40(3): 323–336.
- [37] 李慧, 任耿標, 李慧娟, 等. 亚胺连接的多孔共价有机骨架材料结合固相萃取-液相色谱-串联质谱检测蜂蜜中雌激素[J]. *色谱*, 2022, 40(8): 704–711.
- LI H, REN GB, LI HJ, *et al.* Imine-linked porous covalent organic framework used for the solid-phase extraction of estrogens from honey prior to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2022, 40(8): 704–711.
- [38] 于慧娟, 张珊珊, 张晓玲, 等. 同位素稀释-液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中雌激素、孕激素和雄激素[J]. *质谱学报*, 2014, 35(2): 170–178.
- YU HJ, ZHANG SS, ZHANG XL, *et al.* Simultaneous determination of the estrogen, progesterone and androgen in aquatic products by isotope dilution-LC-MS/MS [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2014, 35(2): 170–178.
- [39] 李志梅, 胡建刚, 赵超群, 等. 通过型固相萃取-液相色谱-串联质谱法快速测定鸡蛋中五氯酚, 氟虫腈及7种雌激素[J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(20): 2437–2442.
- LI ZM, HU JG, ZHAO CQ, *et al.* Determination of pentachlorophenol, fipronil and seven estrogens in eggs by filtered solid-phase extraction and ultra high liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2023, 33(20): 2437–2442.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)