

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中7种糖皮质激素类兴奋剂药物残留

姚晓庆^{1,2},穆姝夷^{1,2},李秀英^{1,2},梁志森^{1,2*}

(1. 广州检验检测认证集团有限公司,广东广州 511447;2. 国家加工食品质量检验检测中心(广东),广东广州 511447)

摘要: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)测定食品中7种糖皮质激素类兴奋剂药物残留的分析方法。样品经乙腈涡旋提取,加入无水硫酸镁、氯化钠、柠檬酸钠和柠檬酸氢二钠盐析,提取液经N-丙基乙二胺(primary-secondary amine, PSA)吸附净化后,采用Accucore Biphenyl(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)色谱柱分离,以0.1%甲酸水-0.1%甲酸乙腈为流动相梯度洗脱,电喷雾离子源正离子(electron spray ionization⁺, ESI⁺)模式扫描,多反应监测模式(multiple response monitoring, MRM)检测,外标法定量。7种糖皮质激素在0.1~100 μg/L浓度范围内相关系数均大于0.999,线性关系良好,在低中高浓度水平的加标回收率为78.1%~118.5%,精密度为0.6%~14.7%。该方法适用于没有现行检测标准的7种糖皮质激素在食品中残留量的测定。

关键词:QuEChERS;糖皮质激素;兴奋剂;超高效液相色谱-串联质谱法;兽药残留

Determination of Seven Glucocorticoid Residues of Stimulants in Food by QuEChERS Coupled with Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YAO Xiaoqing^{1,2}, MU Shuyi^{1,2}, LI Xiuying^{1,2}, LIANG Zhisen^{1,2*}

(1. Guangzhou Inspection and Testing Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511447, Guangdong, China;
2. National Quality Inspection and Testing Center for Processed Food(Guangdong), Guangzhou 511447, Guangdong, China)

Abstract: This paper aimed to establish a method for determining seven glucocorticoid residues of stimulants in food by using QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The samples were extracted by acetonitrile vortex and salted out with anhydrous magnesium sulfate, sodium chloride, sodium citrate, and disodium hydrogen citrate. Then, the extraction solution was purified by primary-secondary amine (PSA). The samples were separated by Accucore Biphenyl (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm) chromatographic column, eluted with 0.1% formic acid-water solution and 0.1% formic acid-acetonitrile solution as mobile phase, then scanned by electron spray ionization in positive mode, and detected by multiple response monitoring (MRM). The samples were quantified by an external standard method. The correlation coefficients of seven glucocorticoids were over 0.999 in the range of 0.1–100 μg/L and had good linear relationships. The recoveries of seven glucocorticoids were 78.1%–118.5% at low, medium, and high concentrations, and the precisions were 0.6%–14.7%. This method was suitable for the determination of seven glucocorticoid residues that were not clarified in existing standards in food.

Key words: QuEChERS; glucocorticoids; stimulant; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; veterinary drug residues

引文格式:

姚晓庆,穆姝夷,李秀英,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中7种糖皮质激素类兴奋剂药物残

基金项目:中国认证认可协会科技计划项目(2022CCAAKY10)

作者简介:姚晓庆(1982—),女(汉),高级工程师,硕士,研究方向:食品质量安全检测及标准化。

*通信作者:梁志森(1989—),男(汉),高级工程师,博士,研究方向:食品分析与检测技术。

留[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(8):211-217.

YAO Xiaoqing, MU Shuyi, LI Xiuying, et al. Determination of Seven Glucocorticoid Residues of Stimulants in Food by QuEChERS Coupled with Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Food Research and Development, 2025, 46(8):211-217.

糖皮质激素是机体内极为重要的调节分子, 它对机体的发育、生长、代谢以及免疫功能起着重要调节作用, 是临幊上使用最为广泛且有效的抗炎和免疫抑制剂, 也是食品中兴奋剂残留的主要来源之一^[1-5], 这些残留的药物给运动员们带来了食源性兴奋剂的潜在风险。

世界反兴奋剂机构(World Anti-Doping Agency, WADA)发布的《世界反兴奋剂条例》中的禁用清单明确规定了九大类具有镇静、抑制或掩蔽功能的禁用药物, 包括16种糖皮质激素。欧盟、日本以及国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)都制定了食品中部分糖皮质激素残留的限量标准^[6-7]; GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》指出地塞米松在牛、猪、马的肌肉、肝、肾以及牛奶中的最大残留限量分别为肌肉1.0 μg/kg, 肝2.0 μg/kg, 肾1.0 μg/kg, 牛奶0.3 μg/kg。目前, 我国相关的检测标准有农业部1031号公告—2—2008《动物源性食品中糖皮质激素类药物多残留检测 液相色谱-串联质谱法》、GB/T 21981—2008《动物源性食品中激素多残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》等, 但对比WADA禁用清单中列出的糖皮质激素类兴奋剂, 现有检测标准覆盖面不全, 尚未制定如地夫可特、氟尼缩松、氟氢缩松、泼尼卡酯、哈西奈德、安西奈德、地索奈德等物质在食品中的限量和检测标准。因此建立食品中糖皮质激素类兴奋剂药物残留的方法尤为重要, 不仅能为体育赛事食品安全保障提供技术支持, 而且能降低食源性兴奋剂残留的风险。

糖皮质激素的主要检测方法有酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法^[8]、高效毛细管电泳(high performance capillary electrophoresis, HPCE)法^[9-10]、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法^[11-12]、超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱(ultra-high performance liquid chromatography - quadrupole - time - of - flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF MS)法^[13]、超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with high resolution time-of-flight mass spectrometry, UPLC/HRTOF MS)法^[14-15]、液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(liquid chromatography quadrupole electrostatic field orbital trap high solution mass spectrometry, LC-Q Orbitrap HRMS)法^[16]、液相色谱-串

联质谱法^[17-21]等。ELISA法操作简单快速、灵敏度高, 但易出现假阳性, 需要采用液相色谱-串联质谱法进行确证; HPCE法操作简便、成本较低, 但灵敏度低、易受基质干扰、不能满足实际检测需求; HPLC法很难实现分子结构相似糖皮质激素的完全分离, 且会受基质影响出现假阳性; UPLC-Q-TOF MS、UPLC/HRTOF MS和LC-Q Orbitrap HRMS分辨率更高、采集速率快, 适用于高通量筛选检测痕量物质, 但仪器价格昂贵, 不能大范围普及使用; 超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)法具有灵敏度高、选择性好、定性定量准确的优点, 能同时检测多种目标化合物, 适用于复杂基质中的痕量物质分析。为了降低基质干扰、保证仪器的稳定性, 需要选择净化效果良好的前处理方法。传统的固相萃取前处理方法过程复杂、操作费时, QuEChERS法具有快速、操作简单、成本低廉的优势, 能同时净化多种化合物, 溶剂使用量少、回收率和准确度较好, 已成为广泛使用的样品前处理方法^[22-27]。QuEChERS法的净化剂有较大的选择和探究空间, 通过改变净化剂的配比可有效降低基质效应且不会对目标化合物产生明显吸附^[28-29], QuEChERS结合UPLC-MS/MS法高效省时、普适性强, 能够有效解决食品基质复杂的问题, 满足食品中糖皮质激素类兴奋剂的检测需求。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

地夫可特(纯度99.6%)、氟尼缩松(纯度99.1%)、哈西奈德(纯度99.5%)、地索奈德(纯度98.3%)标准品: 上海安谱实验科技股份有限公司; 氟氢缩松(纯度99.85%)、泼尼卡酯(纯度99.3%)、安西奈德(纯度98.9%)标准品: 德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司; 乙腈、甲醇(均为色谱纯): 德国默克公司; 乙酸乙酯、乙醚、正己烷、氯化钠(均为分析纯): 广州化学试剂厂; 甲酸(色谱纯): 美国Sigma公司; QuEChERS盐包A(6 g无水硫酸镁+1.5 g醋酸钠)、QuEChERS盐包B(4 g无水硫酸镁+1 g氯化钠+1 g柠檬酸钠+0.5 g柠檬酸氢二钠)、QuEChERS净化管A[900 mg无水硫酸镁+150 mg N-丙基乙二胺(primary-secondary amine, PSA)]、QuEChERS净化管C(1 200 mg无水硫酸镁+400 mg PSA+400 mg C₁₈)、陶瓷均质子: 美国Agilent公司; QuECh-

ERS 净化管 B(900 mg 无水硫酸镁+150 mg PSA): 广州太玮生物科技有限公司; 0.22 μm 有机系滤膜: 天津津腾实验设备有限公司; Accucore C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)、Accucore Biphenyl 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm)、Accucore PFP 色谱柱(100 mm×3.0 mm, 2.6 μm): 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

猪肉、牛奶、牛肉、鸡肉、猪肾、鱼肉、鸡蛋、蜂蜜和蛋白粉: 市售。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-质谱联用仪(Triple Quad 5500+): 美国 AB SCIEX 公司; MS3 数显型漩涡混合器: 德国 IKA 公司; Direct Pure UP10 型超纯水机: 中国重庆艾科浦科技有限公司; KDC-1044 型低速离心机: 安徽中科中佳科学仪器有限公司; Tnc5200 样品粉碎机: 美国 Vitamix 公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制

分别称取 10 mg 7 种糖皮质激素(地夫可特、氟尼缩松、哈西奈德、地索奈德、氟氢缩松、泼尼卡酯、安西奈德)标准品于 10 mL 容量瓶中, 加入甲醇溶解并定容至刻度, 配制成 1 000 mg/L 的标准储备液; 分别移取各糖皮质激素标准储备液 100.0 μL 至 10 mL 容量瓶, 用甲醇稀释定容至刻度, 得到浓度为 10.0 mg/L 的 7 种糖皮质激素混合标准中间液, 保存温度为 -18 °C 以下。

将上述 7 种糖皮质激素混合标准中间液按比例用乙腈稀释成混合标准工作液, 浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0、100.0 μg/L, 现用现配。

1.3.2 样品前处理

取猪肉、牛肉、鸡肉、猪肾、鱼肉、鸡蛋、牛奶、蜂蜜和蛋白粉样品可食部分, 固体和半固体样品均质, 液体样品摇匀, 液体样品称取 10 g、肉类样品称取 5 g、固体粉末样品称取 1 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 塑料离心管中, 并加入一颗陶瓷均质子, 肉类样品加入 5 mL 水, 固体粉末样品加入 10 mL 水, 涡旋混匀。加入 20 mL 乙腈, 涡旋振荡 5 min, 加入 QuEChERS 盐包, 涡旋振荡 5 min, 于 3 500 r/min 离心 2 min。移取上清液 6 mL 至 QuEChERS 净化管, 涡旋 5 min, 静置 5 min 后取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜待测。

1.3.3 液相色谱条件

色谱柱: Accucore Biphenyl 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 柱温: 30 °C; 流动相: A 相为 0.1% 甲酸水, B 相为 0.1% 甲酸乙腈; 流速: 0.3 mL/min; 进样体积: 10 μL; 梯度洗脱程序见表 1。

1.3.4 质谱条件

电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI), 正离子模式扫描, 多反应监测模式(multiple response monitoring, MRM)检测; 离子源电压 5 500 V; 离子源温度

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	0.1% 甲酸水/%	0.1% 甲酸乙腈/%
0.0	95	5
6.0	15	85
6.5	15	85
7.0	95	5
7.5	95	5

550 °C; 7 种糖皮质激素的扫描离子对、去簇电压、碰撞电压等质谱参数见表 2。

表 2 7 种糖皮质激素的质谱参数

Table 2 Mass spectrum parameters for seven glucocorticoids

化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞电压/V
地夫可特	442.2	141.9*, 123.9	100	40, 40
氟尼缩松	435.2	321.2*, 391.0	100	20, 16
氟氢缩松	437.2	361.0*, 285.2	100	26, 30
泼尼卡酯	489.2	380.9*, 114.8	100	13, 25
哈西奈德	455.2	121.0*, 104.9	100	38, 63
安西奈德	503.2	338.9*, 321.0	100	22, 23
地索奈德	417.2	323.3*, 225.1	100	17, 30

注: *为定量离子。

1.4 数据处理

利用液相色谱-串联质谱仪软件(SCIEX Analyst Software 1.7.1)和 WPS 2019 软件对试验数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 前处理条件优化

2.1.1 提取条件优化

由于糖皮质激素易溶于有机溶剂^[15], 提取溶剂选择乙腈、甲醇、乙酸乙酯、乙醚、正己烷对比效果, 回收率结果见图 1。

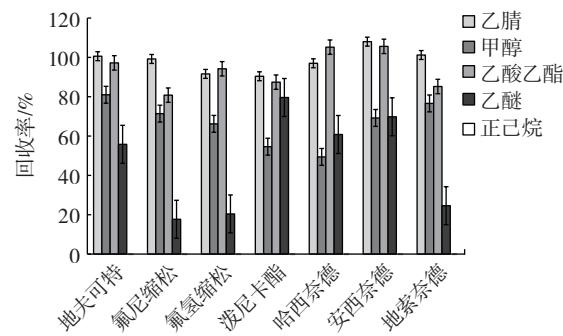


图 1 不同提取溶剂对回收率的影响

Fig.1 Effect of different solvents on recovery

由图 1 可知, 用乙腈提取时 7 种目标物的回收率为 90.4%~108%, 提取效果最好, 且乙腈提取的蛋白质、脂肪等杂质较少, 能够降低基质干扰; 乙酸乙酯提取的回收率为 80.8%~106%, 但涡旋提取时样品呈团

状,检测阳性样品时可能会有目标物被包裹导致萃取效果下降;甲醇提取时容易乳化,甲醇与乙醚的提取回收率均低于80%,正己烷几乎未提取出目标物。

乙腈中加入适量甲酸有利于沉淀蛋白提高萃取效率^[20],试验配制了0.1%~2.0%(体积分数)的甲酸乙腈溶液以及纯乙腈对比提取效果,结果如图2所示。

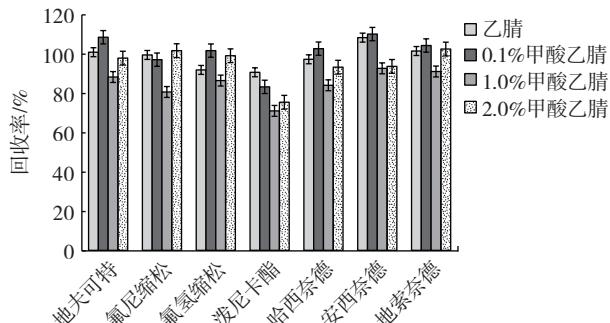


图2 不同浓度酸化乙腈对回收率的影响

Fig.2 Effect of acidified acetonitrile at different concentrations on recovery

由图2可知,乙腈和0.1%甲酸乙腈提取效果接近,且乙腈对7种糖皮质激素的回收率比较平均,2.0%甲酸乙腈的回收率较低,1.0%甲酸乙腈的回收率最低。从试验现象来看,不同体积分数甲酸乙腈对蛋白质的沉淀效果都较好,提取液都呈澄清状态,结合操作便利性考虑最终选择乙腈作为提取溶剂。

牛奶、饮料样品含有较多水分,可以直接加提取溶剂提取,而肉类样品直接加入乙腈提取会使表面蛋白快速变性,导致分散性变差,试验对比了肉类样品不加水直接萃取和加水混匀后萃取的效果,结果如图3所示。

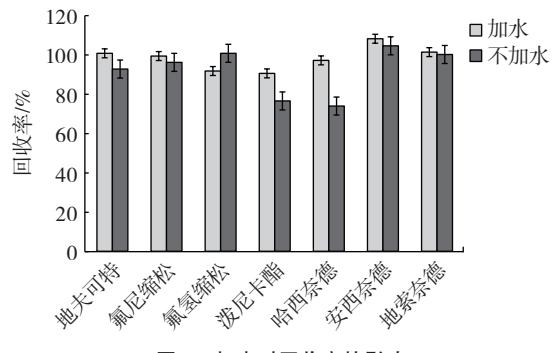


图3 加水对回收率的影响

Fig.3 Effect of water addition on recovery

由图3可知,肉类样品加入适量超纯水涡旋混匀后的分散性更好,下层呈细腻流体状,回收率也比较稳定,不加水萃取时个别物质回收率偏低,最终确定采用肉类样品加入5 mL水、固体粉末样品加入10 mL水溶解后再加乙腈萃取的条件。

2.1.2 盐析条件优化

试验对不同盐析方式进行了比较,包括氯化钠、QuEChERS盐包A(6 g无水硫酸镁+1.5 g醋酸钠)、

QuEChERS盐包B(4 g无水硫酸镁+1 g氯化钠+1 g柠檬酸钠+0.5 g柠檬酸氢二钠),结果见图4。

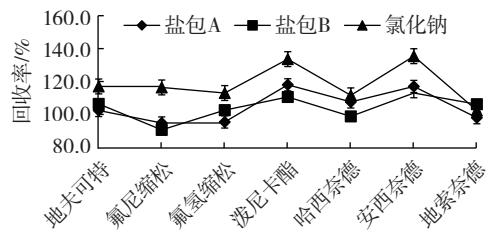


图4 盐析方式对回收率的影响

Fig.4 Effect of salting-out method on recovery

由图4可知,加氯化钠盐析的回收率偏高,而两种配方的盐包提取效果接近,盐包B的回收率更接近100%,最终确定盐析条件为4 g无水硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠和0.5 g柠檬酸氢二钠。

2.1.3 净化条件优化

QuEChERS法常用净化剂有十八烷基键合硅胶(octadecylsilane,C₁₈)、PSA、石墨化炭黑(graphitized carbon black,GCB)。C₁₈主要去除样品中的脂肪、甾醇和其他非极性干扰物;PSA主要去除柠檬酸共萃取物、脂肪酸、色素和极性干扰物;GCB主要去除色素,用于颜色深的样品。根据本研究的基质特性,需要去除的杂质主要为脂肪、蛋白质,因此选取了包含C₁₈和PSA的净化管作为对比条件。

试验对比不同品牌、不同净化材料配比的净化管以及正己烷除脂的净化效果,净化管A、B为不同品牌、相同配比,包含900 mg无水硫酸镁和150 mg PSA,净化管C包含1 200 mg无水硫酸镁、400 mg PSA和400 mg C₁₈,结果见图5。

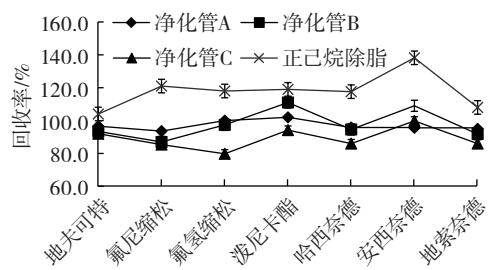


图5 不同净化条件对回收率的影响

Fig.5 Effect of different clean-up conditions on recovery

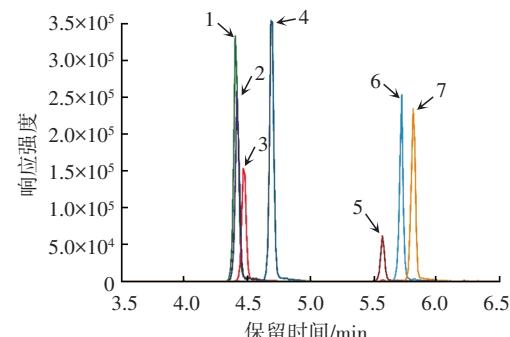
净化管A、B均有良好的净化效果和回收率,两个品牌没有差异,而净化管C对不同基质各物质的回收率不稳定,正己烷除脂的回收率偏高,因此选择900 mg无水硫酸镁和150 mg PSA作为净化剂。

2.2 仪器条件优化

2.2.1 色谱柱选择

试验对比了Accucore C₁₈(100 mm×2.1 mm,2.6 μm)、Accucore Biphenyl(100 mm×2.1 mm,2.6 μm)、Accucore PFP(100 mm×3.0 mm,2.6 μm)3种键合相的色谱柱在

同一洗脱程序下的分离效果,发现使用 Biphenyl 色谱柱时 7 种糖皮质激素的保留时间提前,且分离效果和峰形优于其他两种色谱柱,因此选择 Biphenyl 色谱柱进行分离,7 种糖皮质激素的总离子流色谱图见图 6。



1. 地索奈德;2. 氟尼缩松;3. 氟氢缩松;4. 地夫可特;5. 哈西奈德;
6. 安西奈德;7. 泼尼卡酯。

图 6 7 种糖皮质激素总离子流色谱图

Fig.6 Total ion chromatogram of seven glucocorticoids

2.2.2 质谱参数确定

分别将浓度为 1 mg/L 的糖皮质激素标准液以 7 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速注入质谱仪,进行正离子模式和负离子模式全扫描。发现在正离子模式下的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 离子峰响应强度更高,因此确定扫描模式,并确定各化合物的母离子和子离子,选择响应强度更高的子离子作为定量离子。使用 MRM 模式优化去簇电压和碰撞电压等参数,使仪器灵敏度处于最佳状态。

2.3 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是指色谱分离时共流出的物质与目标物竞争电离对信号的影响,表现为基质增强或基质抑制。当基质效应影响大时会降低方法的灵敏度和定量的准确性,应考虑使用基质标准溶液进行校正。将基质标准点峰面积(S_1)与溶剂标准点 ME(M_E , %)峰面积(S_2)相比增加或减少的百分比用来衡量基质效应,计算公式为 $M_E = (S_1/S_2 - 1) \times 100^{[30-31]}$ 。

表 4 不同样品的回收率和精密度

Table 4 Recoveries and precisions of different samples

化合物	添加水平/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	猪肉		牛奶		牛肉		鸡肉		猪肾		鱼肉		鸡蛋		蜂蜜		蛋白粉	
		回收率/%	精密度/%																
地夫可特	20	95.9	5.1	100.1	3.6	88.8	2.6	95.5	6.0	92.8	5.1	96.7	4.8	100.6	3.1	99.7	6.2	95.4	9.5
	50	92.7	1.9	95.7	3.3	85.6	2.3	96.1	1.4	88.4	2.0	105.3	3.9	100.1	3.0	102.8	3.9	93.7	9.1
	200	97.7	1.7	97.9	2.0	89.0	4.5	94.1	2.6	91.2	0.6	100.4	2.4	101.0	1.7	102.8	1.6	104.8	5.2
氟尼缩松	20	95.6	8.8	96.0	2.6	100.7	4.7	97.2	6.5	98.1	4.4	89.4	7.7	98.8	3.0	97.7	2.6	107.3	3.8
	50	99.1	2.9	93.3	1.6	98.8	2.1	97.9	3.1	95.7	4.0	95.7	5.2	96.1	2.8	97.1	2.3	93.0	10.1
	200	96.7	2.7	97.6	3.2	97.4	3.1	99.0	3.3	97.1	4.0	96.3	1.8	96.8	3.5	98.0	1.9	101.0	4.8
氟氢缩松	20	94.9	6.4	96.5	4.9	98.0	2.2	92.8	2.0	98.9	2.6	97.3	5.0	97.6	5.0	92.0	6.5	100.3	8.2
	50	98.0	7.0	100	3.9	105	4.5	100.4	5.1	93.2	7.1	94.7	6.1	99.0	3.9	98.4	3.7	98.0	4.0
	200	95.6	3.0	97.0	1.2	103	1.7	96.2	3.1	101.0	2.4	102.0	3.1	100.4	3.6	100.3	2.8	104.9	14.7
泼尼卡酯	20	94.5	5.0	90.6	10.1	87.3	6.9	90.7	4.9	78.1	1.8	109.1	2.0	116.0	5.6	100.7	4.8	92.5	10.7
	50	101	6.3	95.7	4.4	89.2	3.3	105.5	3.8	88.5	5.0	106.4	9.7	118.5	10.9	101.5	7.2	91.0	6.3
	200	102	5.5	105.3	3.8	100.3	2.5	107.7	8.3	90.2	3.5	99.9	3.5	115.3	4.5	105.2	7.2	108.3	3.5

选择牛奶、猪肉、鸡蛋等加标回收试验的 9 种不同基质,经前处理获得的空白基质溶液与溶剂分别配制浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标准点进样分析。结果表明,地夫可特的 ME 值为 0%~8.37%,存在微弱的基质增强效应;其他 6 种糖皮质激素在以上几种基质中均存在基质抑制效应,但 ME 的绝对值<20%,基质效应不明显。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性范围与检出限

选取猪肉空白基质,配制浓度范围 0.1~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 7 种糖皮质激素混合标准工作液,在优化后的仪器条件下进行分析。以浓度为横坐标($X, \mu\text{g}/\text{L}$),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线并得到线性回归方程,7 种糖皮质激素的相关系数(r)均大于 0.999,在该浓度范围内线性良好。以 3 倍信噪比($S/N=3$)和 10 倍信噪比($S/N=10$)响应对应的浓度确定检出限(limits of detection, LODs)和定量限(limits of quantity, LOQs),结果见表 3。

表 3 7 种糖皮质激素的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients, LODs, and LOQs for seven glucocorticoids

化合物	线性方程	相关系数	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
地夫可特	$Y=22300X+149$	1.000 0	0.480	1.60
氟尼缩松	$Y=23200X+30.1$	0.999 4	0.556	1.85
氟氢缩松	$Y=9980X+197$	1.000 0	0.926	3.09
泼尼卡酯	$Y=23900X-1290$	0.999 7	0.229	0.762
哈西奈德	$Y=4320X+2400$	0.999 2	2.14	7.13
安西奈德	$Y=17200X+963$	0.999 8	0.415	1.38
地索奈德	$Y=33400X-46.8$	0.999 1	0.307	1.02

2.4.2 方法回收率和精密度

按优化后的前处理方法和仪器条件,在不同基质中添加 3 个浓度水平的 7 种糖皮质激素标准物质进行加标回收试验,每个水平重复测试 6 次,计算平均回收率和精密度,结果见表 4。

续表4 不同样品的回收率和精密度

Continue table 4 Recoveries and precisions of different samples

化合物	添加水平/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	猪肉		牛奶		牛肉		鸡肉		猪肾		鱼肉		鸡蛋		蜂蜜		蛋白粉	
		回收率/%	精密度/%																
哈西奈德	20	94.5	9.7	91.7	11.2	89.9	7.7	94.5	9.1	88.8	6.1	88.7	6.8	83.2	11.9	86.0	4.8	104.9	6.9
安西奈德	50	94.5	9.3	84.5	4.6	86.5	5.2	92.1	10.4	83.3	2.5	91.7	4.8	91.2	5.5	90.0	3.7	83.8	3.6
	200	93.1	6.0	87.3	4.5	89.0	5.6	93.0	2.8	87.7	6.2	89.3	2.6	92.9	3.7	91.4	6.5	98.2	4.2
地索奈德	20	91.3	9.0	94.7	3.9	87.4	9.0	97.6	5.9	79.9	9.6	94.5	5.0	109.4	6.7	96.2	1.4	93.6	12.9
	50	105.5	4.4	97.4	6.1	96.3	9.6	101.7	2.4	79.6	5.4	100.7	7.3	105.5	4.4	109.2	6.6	102.2	6.9
奈德	200	109.6	6.6	99.2	6.1	85.2	7.5	98.7	3.3	85.0	2.3	100.8	6.3	109.0	2.1	102.9	6.4	117.8	2.6
	20	82.2	6.8	92.3	3.9	89.0	6.2	91.5	6.8	83.9	7.1	80.8	5.9	89.2	1.8	87.0	3.5	92.5	9.2
奈德	50	88.9	4.0	87.3	3.2	87.9	3.4	88.0	4.9	88.7	3.0	88.9	3.0	92.9	2.4	92.4	1.1	88.1	6.4
	200	89.4	2.5	87.8	2.2	88.1	3.4	88.8	1.3	87.9	3.3	83.5	1.8	86.3	3.1	92.7	1.6	93.0	6.2

2.5 实际样品测定

采用本研究建立的方法对采购的50批次样品进行检测,包括猪肉、牛肉、鸡肉、牛奶、鸡蛋、鱼肉,均未检出本方法包含的7种糖皮质激素。

3 结论

本研究建立了QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中7种糖皮质激素兴奋剂类药物残留的分析方法。通过优化前处理条件和色谱条件,实现了世界反兴奋剂组织禁用、但国内没有检测标准的7种糖皮质激素在动物源性食品中的提取、净化和分离,操作简单省时,并具有良好的回收率和精密度,可以为相关研究提供参考。糖皮质激素包括大量结构相似、药理作用相似的衍生物,因此扩大检测方法覆盖目标物范围具有重要意义,也是糖皮质激素检测技术研究的重要发展方向。

参考文献:

- BECKER D E. Basic and clinical pharmacology of glucocorticosteroids[J]. Anesthesia Progress, 2013, 60(1): 25-31, 32.
- HARRIS A, SECKL J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease[J]. Hormones and Behavior, 2011, 59(3): 279-289.
- 李雅琼,耿健强,穆同娜,等.基于我国动物性食品中禁限用兽药使用规定的食源性兴奋剂种类浅析[J].食品科学,2022,43(13): 319-326.
- LI Yaqiong, GENG Jianqiang, MU Tongna, et al. Analysis of food-derived doping based on the regulations on the use of veterinary drugs in animal-derived foods in China[J]. Food Science, 2022, 43(13): 319-326.
- HEFNAWY M, AL-MAJED A, ALRABIAH H, et al. Rapid and sensitive LC-MS/MS method for the enantioanalysis of verapamil in rat plasma using superficially porous silica isopropyl-cyclofructan 6 chiral stationary phase after SPE: Application to a stereoselective pharmacokinetic study[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2021, 201: 114108.
- MITRE - AGUILAR I B, MORENO - MITRE D, MELENDEZ - ZAJGLA J, et al. The role of glucocorticoids in breast cancer therapy [J]. Current Oncology, 2022, 30(1): 298-314.
- 陈晋元,贺兆源,卢阳,等.中国与美国、日本、欧盟和国际食品法典委员会关于禽类产品中兽药最大残留限量标准的对比[J].江苏农业学报,2021,37(3): 754-762.
- CHEN Jinyuan, HE Zhaoyuan, LU Yang, et al. Comparison of the standards about the maximum residue limit of veterinary drugs in poultry products between China and USA, Japan, European Union and Codex Alimentarius Commission[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2021, 37(3): 754-762.
- 刘忠莹,王小平,朱敏敏,等.国内外牛肉中兽药残留限量对比及国内相应检测标准研究进展[J].肉类研究,2023,37(6): 65-73.
- LIU Zhongying, WANG Xiaoping, ZHU Minmin, et al. Comparison of veterinary drug residue limits in beef in China and abroad and a review of Chinese testing standards[J]. Meat Research, 2023, 37(6): 65-73.
- 姚添淇,劳翠瑜,王士峰,等.糖皮质激素广谱特异性单克隆抗体的制备及其ic-ELISA方法的建立[J].食品科学,2019,40(14): 186-191.
- YAO Tianqi, LAO Cuiyu, WANG Shifeng, et al. Establishment of indirect competitive-enzyme linked immunosorbent assay to detect glucocorticoids: Preparation of broad - spectrum monoclonal antibody[J]. Food Science, 2019, 40(14): 186-191.
- 宋莉华.高效毛细管电泳法在食品和药品检测中的应用[D].长春:吉林大学,2009.
- SONG Lihua. Application of high performance capillary electrophoresis in food and drug detection[D]. Changchun: Jilin University, 2009.
- 郭成方.微乳毛细管电动色谱测定化妆品中糖皮质激素的在线富集方法的研究[D].无锡:江南大学,2016.
- GUO Chengfang. On-line preconcentration methods research of microemulsion capillary electrophoresis determine glucocorticoids in cosmetics[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- JIN P F, LIANG X L, WU X J, et al. Screening and quantification of 18 glucocorticoid adulterants from herbal pharmaceuticals and health foods by HPLC and confirmed by LC - Q - TOF - MS/MS[J]. Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2018, 35(1): 10-19.
- 欧贝丽,赵佳丽,邹燕,等.HPLC同时测定中成药及保健品中添加的16种糖皮质激素[J].中国现代应用药学,2016,33(9): 1178-1182.
- OU Beili, ZHAO Jiali, ZOU Yan, et al. Simultaneous determination of 16 glucocorticoids added in Chinese patent medicine and health products by HPLC[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2016, 33(9): 1178-1182.
- 严祖浩,李晓薇,夏曦.牛奶中69种兽药残留的超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱快速筛查[J].分析测试学报,2023,42(10): 1309-1318.
- YAN Zuhao, LI Xiaowei, XIA Xi. Rapid screening of 69 veterinary drug residues in milk by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(10): 1309-1318.
- 张秋云,杨洪生,沈美芳,等.超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱法快速筛查草鱼中39种糖皮质激素残留[J].食品安全质量检测学报,2023,14(10): 1309-1318.

- 量检测学报, 2020, 11(15): 5007-5012.
- ZHANG Qiyun, YANG Hongsheng, SHEN Meifang, et al. Rapid screening of 39 kinds of glucocorticoids in *Ctenopharyngodon idellus* using ultra performance liquid chromatography coupled with high resolution time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(15): 5007-5012.
- [15] YAN Y H, AI L F, ZHANG H C, et al. Development an automated and high-throughput analytical platform for screening 39 glucocorticoids in animal-derived food for doping control[J]. Microchemical Journal, 2021, 165: 106142.
- [16] 全凯旋, 常巧英, 谢瑜杰, 等. 一步式 QuEChERS 结合液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱同时筛查与分析生牛乳中 153 种兽药残留[J]. 分析测试学报, 2023, 42(10): 1279-1290.
- TONG Kaixuan, CHANG Qiaoying, XIE Yujie, et al. Simultaneous screening and analysis of 153 veterinary drug residues in raw milk by one - step QuEChERS combined with liquid chromatography quadrupole electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(10): 1279-1290.
- [17] 刘学芝, 赵英莲, 马跃, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉、鸡蛋、牛奶中 9 种食源性兴奋剂类药物残留[J]. 色谱, 2022, 40(2): 148-155.
- LIU Xuezhi, ZHAO Yinglian, MA Yue, et al. Determination of nine food-borne stimulant drug residues in pork, egg, and milk by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(2): 148-155.
- [18] 张海超, 王敬, 洪灯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 46 种食源性兴奋剂残留量[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 338-345.
- ZHANG Haichao, WANG Jing, HONG Deng, et al. Simultaneous determination of 46 foodborne stimulant drug residues in animal-derived foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2022, 43(14): 338-345.
- [19] 马俊美, 范素芳, 李强, 等. 超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱检测猪肉和牛肉中 30 种食源性兴奋剂类药物残留[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 276-285.
- MA Junmei, FAN Sufang, LI Qiang, et al. Determination of 30 food-borne stimulant drug residues in pork and beef using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. Food Science, 2021, 42(14): 276-285.
- [20] 田海伟, 冯浩彬, 李晋, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法快速测定牛奶中 18 种糖皮质激素类药物残留[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 310-314.
- TIAN Haiwei, FENG Haobin, LI Jin, et al. Rapid determination of 18 glucocorticoids in milk using QuEChERS coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2017, 38(12): 310-314.
- [21] 王宁, 阿斯喀·夏热甫汉, 李艳美, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物尿液中 14 种喹诺酮类和 8 种糖皮质类兽药残留[J]. 分析科学学报, 2023, 39(4): 417-423.
- WANG Ning, XIAREFUHAN Asika, LI Yanmei, et al. Simultaneous determination of 14 quinolones and 8 glucocorticoids in animal urine by QuEChERS-HPLC-MS/MS[J]. Journal of Analytical Science, 2023, 39(4): 417-423.
- [22] 冯月超, 王建凤, 乔祎娜, 等. 基于滤过型净化的液相色谱-串联质谱法测定畜禽肉中 89 种兽药残留[J]. 分析试验室, 2024, 43(6): 841-849.
- FENG Yuechao, WANG Jianfeng, QIAO Wein, et al. Determination of 89 kinds of veterinary drugs in livestock and poultry meat by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on pass-through solid phase extraction purification [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2024, 43(6): 841-849.
- [23] 梁静文. 化妆品中 10 种糖皮质激素的液质检测方法[J]. 广州化
工, 2022, 50(24): 112-114.
- LIANG Jingwen. Determination of 10 glucocorticoids in cosmetics by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2022, 50(24): 112-114.
- [24] PAOLETTI F, SDOGATI S, BAROLA C, et al. Development and validation of a multiclass confirmatory method for the determination of over 60 antibiotics in eggs using liquid-chromatography high-resolution mass spectrometry[J]. Food Control, 2021, 127: 108109.
- [25] 赵天珍, 宋长江, 何国成, 等. 通过式固相萃取柱/超高效液相色谱-串联质谱法快速检测饲料中 8 种糖皮质激素[J]. 现代畜牧兽医, 2023(11): 10-15.
- ZHAO Tianzhen, SONG Changjiang, HE Guocheng, et al. Fast determination of eight glucocorticoids in feed by ultra high performance liquid chromatography-mass spectrometry with pass-through solid phase column[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2023(11): 10-15.
- [26] 蒋定之, 辛丽娜, 谭喜梅, 等. PRIME HLB 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定鸡蛋中 48 种兽药残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(22): 259-266.
- JIANG Dingzhi, XIN Lina, TAN Xime, et al. PRIME HLB solid-phase extraction procedure combined with high liquid chromatography-tandem mass spectrometry for multi-residue determination of 48 veterinary drugs in eggs[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(22): 259-266.
- [27] 王秀云. 含二氧化钛的 QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中 15 种糖皮质激素的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2022, 58(5): 581-587.
- WANG Xiuyun. Determination of residues of 15 glucocorticoids in milk by ultra - high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry after purification with QuEChERS containing titanium dioxide[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2022, 58(5): 581-587.
- [28] 李璐, 李丹凤. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中 41 种糖皮质激素[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 500-509.
- LI Lu, LI Danfeng. Determination of 41 kinds of glucocorticoids in honey by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(2): 500-509.
- [29] 周贻兵, 毕珊, 吴玉田, 等. QuEChERS 净化-超高效液相色谱串联质谱法测定“消”字号抑菌产品中 50 种糖皮质激素[J]. 分析试验室, 2024, 43(8): 1165-1171.
- ZHOU Yibing, BI Shan, WU Yutian, et al. Determination of fifty kinds of glucocorticoids in antibacterial products with "Xiao" brand by QuEChERS purification coupled with ultra high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2024, 43(8): 1165-1171.
- [30] 陈玉珍, 梁志森, 曾广丰, 等. 气相色谱-四极杆/飞行时间质谱法同时测定茶叶中 10 种香料化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(23): 9043-9049.
- CHEN Yuzhen, LIANG Zhisen, ZENG Guangfeng, et al. Simultaneous determination of 10 kinds of fragrance compounds in tea by gas chromatography - high resolution quadrupole time - of - flight mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(23): 9043-9049.
- [31] 梁志森, 陈玉珍, 周朗君. 超高效液相色谱-串联质谱法快速同时检测茶叶中 7 种香料[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 51-57.
- LIANG Zhisen, CHEN Yuzhen, ZHOU Langjun. An UHPLC - MS/MS method for rapid analysis of tea for the potential presence of illegally added flavorings[J]. Food & Machinery, 2020, 36(11): 51-57.