

动物源性食品中糖皮质类激素残留检测 技术的研究进展

马立利, 刘艳*, 贾丽, 冯月超, 范筱京

(北京市理化分析测试中心, 北京市食品安全分析测试工程技术研究中心, 北京 100089)

摘要: 近年来, 食品中激素的残留引起了社会的广泛关注。糖皮质类激素能提高饲料转化率, 促进畜禽生长, 常用于畜牧生产中。然而动物生长过程中过量使用这些激素, 会导致激素在动物源性食品中的残留, 影响人类健康。本文介绍了糖皮质类激素及其对人类的危害, 总结了动物源性食品中糖皮质类激素的检测方法, 包括利用振荡提取、超声提取、固相萃取、液液分配、加压溶剂萃取等提取和净化方法, 以及采用气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法分析检测糖皮质类激素的研究进展。

关键词: 糖皮质类激素; 动物源性食品; 检测技术

Progress in determination of glucocorticoid hormones residues in animal derived food

MA Li-Li, LIU Yan*, JIA Li, FENG Yue-Chao, FAN Xiao-Jing

(Beijing Engineering Research Center of Food Safety Analysis, Beijing Center for Physical and Chemical Analysis, Beijing 100089, China)

ABSTRACT: In recent years, hormone residues in food have aroused a widespread concern in society. Glucocorticoid hormones can improve the feed conversion rate and promote animal growth, which is commonly used in livestock production. However, excessive use of these hormones in animal growth process had led to hormone residues in animal derived food, which could affect human health. The paper introduced glucocorticoid hormones and their harms to human, as well as analytical methods of glucocorticoid hormones in animal derived samples including pretreatment methods (shaking extraction, ultrasonic extraction, solid phase extraction, liquid-liquid partition, pressurized solvent extraction) and detection methods (gas chromatography, liquid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-mass spectrometry).

KEY WORDS: glucocorticoid hormones; animal derived food; detection technique

1 引言

随着人民生活水平的不断提高, 人们对动物源

性食品的需求也从最初的数量需求转向质量需求, 而且更加注重食品本身的安全。动物源性食品安全既关系到广大人民群众的身体健

基金项目: 北京市优秀人才计划(2011D002022000005)

Fund: Supported by Training Programme Foundation for the Beijing Municipal Excellent Talents (2011D002022000005)

*通讯作者: 刘艳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测技术。E-mail: xgly36@163.com

*Corresponding author: LIU Yan, Research Associate, Beijing Center for Physical and Chemical Analysis, No.27, West Third Ring Road, Haidian District, Beijing 100089, China. E-mail: xgly36@163.com

济社会的稳定^[1]。动物源性食品易腐败,易被各种致病微生物污染。饲料、兽药、环境中一些重金属元素、残留物质、致癌物质也很容易富集在畜禽体内,导致人食用动物产品后发病、中毒,甚至影响到人类的遗传变异^[2]。有文献^[3]表明,残留于动物源性食品中的激素一旦通过食物进入人体,就会明显影响人体激素平衡,将会对人体健康特别是婴幼儿和青少年的健康造成严重危害;有的会致癌、致畸,有的则会引起机体的水、电解质、蛋白质、脂肪和糖的代谢紊乱等。因此,加强对动物源性食品的安全监管和监测是保证人民食用安全的大事。本文介绍了动物源性食品中糖皮质激素残留的危害,并主要对其残留分析检测方法进行了综述。

2 糖皮质激素及其危害

2.1 糖皮质激素

糖皮质激素为类固醇类化合物,由肾上腺皮质分泌,与机体的生命活动有着重要关系^[4]。它具有调节糖代谢,促进蛋白质转化为糖,提升血糖浓度,调节水盐代谢等作用^[5,6]。常见的糖皮质激素有氢化可的松、醋酸可的松、泼尼松龙、泼尼松、甲基强的松龙、地塞米松、倍他米松、曲安西龙、曲安奈德、倍氯米松、氟氢可的松等^[7]。

1949年,亨奇将可的松应用于临床,取得了显著疗效,为肾上腺皮质激素用于治疗提供了依据;糖皮质激素也因此被引进临床医学领域,挽救了许多人的生命。亨奇因此于1950年获得诺贝尔医学奖^[8,9]。

大剂量糖皮质激素作为药物使用,可对抗各种原因(物理、化学、生物、免疫等)引起的炎症,减轻炎症初期红、肿、热、痛的症状,延缓炎症后期肉芽组织生成,防止瘢痕形成;同时还具有抗过敏、抗毒素、抗休克和抑制免疫反应等作用,故临床上得以广泛应用^[4,8,10-15]。

糖皮质激素在临床上用于风湿性及类风湿性关节炎、镇咳平喘、皮炎和某些感染类疾病的综合治疗时,因使用不当可能会产生不良反应,需要患者根据病情在医师的指导下使用^[16]。

2.2 糖皮质激素的危害

从体外大量摄入糖皮质激素会造成体内激素的比例失调、糖代谢和无机盐代谢紊乱,可能会引起

肥胖、多毛、血糖升高、高血压、骨质疏松、胎儿畸形缺陷及流产等不良症状^[4]。长期食用糖皮质激素会引起机体的糖、蛋白质、脂肪及水电解质等一系列物质代谢紊乱,破坏机体的防卫系统,抑制免疫反应能力,抑制生长素分泌并造成负氮平衡,因而可引起一系列的并发症,可直接危及人的生命^[7]。

由于糖皮质激素在临床上可用于很多疾病的治疗,一些制假者利用中药所含成分复杂、质量标准不完善的缺点,在纯中药制剂中非法添加微量的糖皮质激素,对消费者的健康造成危害^[17]。

参加体育比赛时,大量摄入糖皮质激素会影响运动员的身体状态,违背体育比赛公平竞争的原则,所以此类药物属于国际奥委会和世界反兴奋剂委员会禁用的兴奋剂中的一大类^[5,18]。

糖皮质激素对人体的炎症抑制作用很明显,并可抑制纤维细胞增生,减少5-羟色胺形成,因此对皮肤具有一定的嫩白作用。如果化妆品中含有这类物质,皮肤就会对激素产生依赖,而且很难摆脱。长期使用此类激素则会发生皮肤变薄、毛细血管扩张、毛囊萎缩的症状;一旦停用,皮肤就会发红、发痒,出现红斑、丘疹、脱屑等不良反应^[19-22]。

由于糖皮质激素能提高饲料转化率,促进畜禽生长,因而常用于畜牧生产中^[23]。然而动物生长过程中过量使用这些激素则会导致激素在动物源性食品中的残留,影响人类健康。因此,不同国家对动物源性食品中糖皮质激素的最大残留量都做了规定^[24]。

我国农业部2002年235号公告-《动物性食品中兽药最高残留限量》规定,牛的肌肉、肝脏和肾脏中的地塞米松最大残留量与猪、马的相同,分别为0.75、2、0.75 μg/kg;牛和猪的肌肉、肝脏和肾脏中的倍他米松最大残留量相同,分别为0.75、2、0.75 μg/kg;牛奶中地塞米松和倍他米松的最大残留量均为0.3 μg/kg;氢化可的松仅作外用,未指定残留限量。

糖皮质激素作为生长调节剂已被欧盟禁止使用;作为医疗注射,地塞米松、倍他米松、强的松龙允许添加,但在人类食用的牛奶和组织中规定了限量^[25]。欧盟规定:地塞米松和倍他米松在牛、猪的肌肉和肾脏中的最大残留量为0.75 μg/kg,肝脏中的最大残留量为2 μg/kg,牛奶中的最大残留量为0.3 μg/kg;甲基泼尼松龙醋酸酯在牛的肌肉、脂肪、肝脏、肾脏中的限量均为10 μg/kg,牛奶中为2 μg/kg;氢化可的松在所有产食动物中仅作外用;泼尼松龙

在牛的肌肉、肝脏、肾脏和牛奶中的最大残留量分别为 4、10、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[23,24]。

鉴于各国对糖皮质类激素残留的重视, 如不能很好地控制此类激素的使用, 不但会对人类健康构成严重威胁, 而且畜禽产品的出口贸易也会面临重重困难^[7]。

3 动物源性食品中糖皮质类激素的检测技术

糖皮质类激素的动物源性样品主要包括血浆、血清、奶等液体样品, 以及肌肉、脂肪、肾脏、肝脏组织等半固体样品。生物样品中的激素残留水平低($\text{ng}/\text{kg}\sim\mu\text{g}/\text{kg}$), 内源性干扰物质多, 检测工作极具挑战性, 并且不同的样品具有不同的前处理和分析方法^[7]。

3.1 样品的前处理

动物源性试样中脂肪和蛋白质等杂质是主要的干扰物质。在前处理过程中, 加入缓冲溶液和甲醇, 或只用乙腈, 或甲醇(乙腈)和水^[26]提取可以去除部分蛋白质, 正己烷可以去除部分脂肪等杂质^[7,24]。糖皮质类激素属于脂溶性激素, 都是环戊烷多氢菲衍生物。此类化合物具有较强的非极性, 在反相的固相萃取柱上有较强的非极性保留作用, 可使用 C_{18} 、 C_8 、聚苯乙烯类型的高分子填料柱(如 HLB)等进行样品的浓缩, 此时部分动物油脂等非极性杂质能够保留在萃取柱上, 再利用正相的固相萃取柱如硅胶柱、氨基柱、氰基柱、氧化铝柱等进行净化, 可以实现糖皮质类激素的有效富集^[5]。

3.1.1 液体样品的前处理方法

动物源性食品中的液体样品主要包括牛奶和血浆等。随着提取和净化技术的不断发展, 动物源性样品的前处理方法有很大的改善。最初, 液体样品的前处理选用振荡及传统的液液萃取技术。例如, Krzeninski 等^[27]于 1972 年用乙酸乙酯提取牛奶中的甲基强的松龙, 再用乙腈、正己烷、水、二氯甲烷等溶剂多次液液分配除去不同极性的杂质。Alivneife 等^[28]用 NaOH 溶液和二氯甲烷振荡提取狗血中的可的松和地塞米松, 二氯甲烷层吹干后用流动相定容上机检测。

20 世纪末, 固相萃取技术逐渐普及, C_{18} 和 HLB 固相萃取柱被引入到动物源性食品中糖皮质类激素的分析中。

Prasad 等^[29]比较了用固相萃取方法和传统的液液萃取净化方法来检测猪血中的醋酸泼尼松、泼尼松、泼尼松龙、可的松和氢化可的松。固相萃取方法是用 C_{18} 柱净化, 乙腈洗脱后吹干, 再用二氯甲烷定容; 液液萃取方法是用二氯甲烷和乙醚的混合溶液提取, NaOH 溶液净化, 无水硫酸钠干燥, 二氯甲烷定容后进样。结果表明, 液液萃取方法的回收率略高于固相萃取方法, 但是液液萃取方法作比较麻烦, 且消耗溶剂较多。

Delahaut 等^[30]取牛奶样品, 离心除脂, 脱脂乳用水稀释, 过 C_{18} 固相萃取柱后再用免疫亲和柱进一步净化, 之后衍生化。

Brambilla 等^[31]用醋酸盐缓冲溶液提取牛血中的氟米松, 用 C_{18} 柱净化, 甲醇洗脱, 氮气吹干后, 用醋酸盐缓冲溶液溶解, 叔丁基甲基醚再次净化。崔晓亮等^[24]同样用醋酸盐缓冲溶液和一定比例的甲醇超声提取牛奶中 12 种糖皮质类激素, 去除部分蛋白质, 然后用正己烷脱脂, 依次经 HLB 柱、硅胶柱和氨基柱浓缩、净化。祝伟霞等^[32]利用乙腈提取奶粉中待测组分, 提取液经冷冻离心后, 采取相似的净化方法, 即用正己烷除脂, 再经 HLB 柱、氨基柱净化。

邓泮等^[33]测定家兔血浆中的倍他米松, 先用乙醚-正己烷溶液提取, 之后离心、上层溶剂吹干, 残留物中加入流动相溶解后用 LC-MS/MS 分析。前处理过程中未使用固相萃取柱净化, 该方法同样具有选择性好、灵敏度高的特点。

除此以外, 还有在前处理过程中引入酶解的步骤。张毅等^[34]利用分散固相萃取净化与液相色谱串联质谱法建立了牛奶中 8 类禁用药物残留的分析方法, 其中包括 7 种糖皮质类激素。样品以 β -葡萄糖醛基酶-芳基硫酸酯酶在乙酸铵缓冲溶液中酶解, 用氯化乙腈和酸化乙腈各提取一次, 提取液用 C_{18} 、PSA(N-丙基乙二胺)、无水硫酸镁混合吸附剂净化。Tolgyesi 等^[35]用 pH 5.2 乙酸钠溶液提取牛奶中的糖皮质类激素, 加 β -葡萄糖醛基酶于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下酶解反应 16 h, 再用乙腈提取, 25 $^{\circ}\text{C}$ 离心除去油脂, 上层转移, 氮吹近干, 用 5% 乙酸水溶液溶解, 过 MCX 固相萃取柱, 丙酮洗脱, 氮吹至干, 以甲醇和水的混合溶液定容, 过膜后上机检测。

3.1.2 半固体样品的前处理方法

动物源性食品中的半固体样品主要有肌肉、肝脏、肾脏组织等, 由于这些组织中含有大量的葡萄

糖苷酸甾合物和少量的硫酸甾合物, 通常需要酶解后再提取和测定糖皮质类激素。一般先将样品用水或适当的缓冲溶液如醋酸盐等匀质、简单预处理后, 加入 β -葡萄糖醛甾酶或蛋白酶酶解。酶解反应速度一般较慢, 处理样品通常需要的时间较长, 短的也至少要2 h, 有的需要过夜甚至15~16 h; 酶解过程中可以适当提高温度以加快反应速率^[7]。酶解后, 通常用有机溶剂将目标物从水溶液中提取出来后再用固相萃取柱(如 C_{18} 、HLB)或液液分配的方法净化。

Antignac 等^[36]用甲醇和醋酸盐的缓冲溶液提取牛肉中的糖皮质类激素。以氟氢可的松为内标, 加入 *Helix pomatia* 于 52 °C 下酶解反应 15 h, 之后用 C_{18} 和正相硅胶柱净化。

Van den hauwe^[25]以异氟泼尼松为内标, 检测了牛的毛发、肌肉、肾中泼尼松、泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、氟米松、甲基强的松龙、曲安西龙、曲安奈德、倍氯米松、氟氢可的松共 10 种糖皮质类激素。肌肉样品中加入异氟泼尼松内标、Tris-HCl 溶液(三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液)和蛋白酶在 60 °C 下酶解反应 2 h, 之后用甲醇提取, 蒸干后用乙醇溶解残渣, 加水过 C_{18} 小柱; 肾脏样品与其类似处理, 只是改为加醋酸钠缓冲溶液后用 *Helix pomatia* 酶解。作者比较了肾脏样品中地塞米松和倍他米松的含量, 经过酶解步骤后, 倍他米松的含量是 7.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 不经过酶解, 倍他米松含量是 5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 地塞米松没有明显区别, 经过酶解和不经过酶解的含量分别为 5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

崔晓亮等^[37]建立了猪肉、猪肝、猪肾、牛奶和鸡蛋中 16 种糖皮质类激素的分析方法。样品用乙酸钠-乙酸缓冲溶液提取后, 加入 β -葡萄糖醛甾酶-磷酸酯酶溶液酶解过夜, 甲醇提取, 正己烷除油后稀释, 以石墨化碳黑(graphitized carbon blacks, GCB)和氨基固相萃取柱浓缩、净化。

我国出入境检验检疫行业标准 SN/T 2222-2008^[38]中规定了进出口动物源性食品中曲安西龙、泼尼松龙、氢化可的松、泼尼松、地塞米松、氟米松、曲安奈德残留量的液相色谱-质谱检测方法。样品中加入甲醇、醋酸盐缓冲溶液、 β -盐酸葡萄糖醛甾酶-芳基硫酸酯酶, 37 °C 下培养 16 h, 乙酸乙酯萃取, 过无水硫酸钠柱后浓缩至近干。醋酸盐缓冲溶液溶解残渣后过 HLB 柱, 甲醇洗脱。

Croesa 等^[39]测定了牛肝中的 12 种糖皮质类激素,

先加醋酸盐缓冲溶液和超纯水提取, 60 °C 下酶解 2 h, 再加去离子水、甲醇和磷酸溶液提取, 离心, 加入乙醚利用液液分配的方法净化, 之后用碳酸盐溶液进一步除去杂质, 浓缩后用乙醇和超纯水溶解, 过 C_{18} 固相萃取小柱, 乙酸乙酯洗脱, 40 °C 下氮气吹干后用流动相定容。该文献比较了两种酶提取物-*Helix pomatia* 和 *Keyhole Limpet*; 当选用 *Helix pomatia* 时, 泼尼松龙目标峰前有杂质干扰; 对比乙酸乙酯、乙腈和甲醇, 选用乙腈洗脱时基线背景比较高, 甲醇的重复性较差。

李存等^[23]建立了同位素稀释高压液相色谱-质谱法测定猪肝中地塞米松和倍他米松残留量的分析方法。样品经 β -葡萄糖醛甾酶-芳基硫酸酯酶于 40 °C 烘箱中酶解 2 h, 之后用乙腈提取, 正己烷、乙酸乙酯除脂净化, 再经 C_{18} 固相萃取柱和碳酸钠溶液液液萃取净化, 氮气吹干后用流动相(乙腈和 0.5% 甲酸水溶液)溶解, 进高压液相色谱串联质谱分析。

Dusi^[40]等用乙酸铵溶液超声提取肝脏中的 9 种糖皮质类激素, 冰乙酸调节 pH 至 5.0, β -葡萄糖醛甾酶-芳基硫酸酯酶酶解, 离心, 提取液转移, 乙腈和乙酸铵溶液再次提取, 合并, 离心后取一半过 HLB 固相萃取柱, 乙酸乙酯洗脱, 氮气吹干后用乙腈和 0.1% 乙酸溶液定容。

Tolgyesi 等^[41]同时测定了牛组织中的 8 种糖皮质类激素, 取样品后加入醋酸盐缓冲溶液、*Helix pomatia*, 于 37 °C 下酶解过夜, 再用不同 pH 值的溶液提取, 用不同的酸性、中性、碱性固相萃取柱净化, 根据萃取柱的性质选用不同的淋洗、洗脱和定容溶剂。结果表明: 系统 pH 值与基质效应有较大关系, 中性条件比酸性条件和碱性条件的基质效应明显。牛肉中酸性条件最好; 肝脏样品中, 酸性和碱性条件下没有明显区别; 肾脏样品中, 碱性条件略好于酸性条件。

此外, 一些不经过酶解步骤的前处理方法也被用于半固体样品中糖皮质类激素的提取和净化。

Shearan 等^[42]以甲基强的松龙为内标检测了牛的不同组织(肌肉、肾脏、肝脏、脂肪)中的地塞米松, 加 NaOH 溶液提取后, 肌肉、肾脏、肝脏样品用乙酸乙酯再次提取, 脂肪样品用乙醚再次提取, 之后用 C_{18} 固相萃取柱净化, 采用高压液相色谱分析。

侯亚莉等^[43]在碱性条件下利用乙酸乙酯提取牛肉样品中的地塞米松、倍他米松和倍氯米松药物残留, 正己烷脱脂后, 用 MCX 固相萃取小柱净化, 之后进

液相色谱-质谱联用仪分析。李建中等^[5]同样用乙酸乙酯提取, 之后改用 HLB 柱净化猪肉样品中的泼尼松、泼尼松龙、氢化可的松、可的松、甲基泼尼松、倍氯米松、地塞米松、倍他米松、氟氢可的松 9 种糖皮质类激素。当添加水平为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 准确度和灵敏度良好。

徐锦忠^[44]和齐士林^[45]用有机溶剂(前者用乙腈, 后者用乙酸乙酯)提取、正己烷净化的方法分别建立了鸡肉和鸡蛋、猪肉中的几种糖皮质类激素的液相色谱-质谱检测方法。

罗辉泰等^[46]利用 QuEChERS 方法建立了鱼肉中 30 种激素类及氯霉素类药物残留的液相色谱-串联质谱检测方法, 其中包括地塞米松、倍他米松、泼尼松等 8 种糖皮质类激素。首先用水和乙腈提取, 加入 QuEChERS 盐析剂分层, 无水硫酸镁、中性氧化铝、PSA 净化, 之后浓缩上机测定。

近几年来, 加速溶剂萃取被引进到残留样品前处理过程中。加速溶剂萃取也称为加压溶剂萃取, 是在较高的温度和压力下用有机溶剂萃取固体或半固体的自动化提取技术。

Draisci 等^[47]选用牛肝为研究基质, 以氟米松为内标, 正己烷为脱脂溶剂, 正己烷-乙酸乙酯(体积比为 1:1)为提取溶剂, 利用加速溶剂萃取技术成功地提取了样品中地塞米松及其差向异构体—倍他米松。

Chen 等^[48]利用加压溶剂萃取-液质联用的方法检测了猪、牛、羊可食性组织中的 8 种糖皮质类激素(地塞米松、倍他米松、泼尼松、泼尼松龙、甲基强的松龙、倍氯米松、氢化可的松、氟尼缩松), 比较了乙酸乙酯、乙腈、甲醇和正己烷-乙酸乙酯(体积比为 1:1)的提取效率, 最后选用正己烷-乙酸乙酯作提取溶剂。同时, 他们优化了提取的温度(50 $^{\circ}\text{C}$)、压力(1000 psi)、次数(2 次)、时间(5 min)。

样品前处理的方法除与样品状态有关, 与所选的检测仪器也有关。当选用气相色谱法或气相色谱-质谱联用的方法分析糖皮质类激素时, 需要将目标物衍生化后再用仪器测定。例如, 要分析泼尼松龙、氟泼尼松龙、曲安西龙和倍他米松的残留, 需要在室温用 N,O-二(三甲基硅烷)乙酰胺、三甲基硅烷咪唑和三甲基氯硅烷的混合物对分析物硅烷化处理^[24]。

McLaughlin 等^[49]利用 3 个连接在一起的不同柱之间的柱切换技术对牛组织中的地塞米松进行了净化和浓缩。样品首先通过苯基硅胶柱, 初步分离后进

入硅胶柱浓缩, 再用强的洗脱溶剂洗脱过氰基丙基硅胶柱, 这样地塞米松就可以从牛的组织中分离出来。洗脱溶剂用氮气吹干后加醋酸钠溶液和甲醇的混合物、丙酮净化, 之后加入 N,O-二(三甲基硅烷)乙酰胺和吡啶在 90 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 100 min, 最后用环己烷定容, 再用气相色谱-质谱联用仪检测。

Hartmann 和 Steinhart^[26]用甲醇和水提取牛肉中的类固醇激素, 之后用正己烷除脂肪, 浓缩后过 C_8 固相小柱, 极性较大的可的松和氢化可的松等用甲醇和水的混合溶液洗脱, 氮气吹干后, 用水饱和的乙酸乙酯超声溶解, 再过硅胶柱, 流出液吹干。用内标的甲醇溶液溶解后将甲醇蒸发, 加入 N-甲基-N-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺、三甲基碘硅烷、1,4-二硫丁四醇的混合物衍生化, 所得溶液直接进气相色谱-质谱联用仪检测。

Delahaut 等^[30]用醋酸盐缓冲溶液提取牛肝中的糖皮质类激素, Helix pomatia 酶解后用乙腈提取, 正己烷、二氯甲烷净化, 萃取液吹干后用乙醇定容, 之后加水溶解过 C_{18} 萃取柱、免疫亲和柱净化, 衍生化, 进样分析。

丁罡斗^[50]用气相色谱-离子阱-质谱法测定猪肉组织中的氢化泼尼松和甲基氢化泼尼松。样品加入醋酸-醋酸钠缓冲溶液、酶解汁(含 β -葡萄糖苷酶)提取, 之后加入乙腈并振荡, 离心后将上清液转移至另一离心管内, 再加入正己烷、二氯甲烷轻微振荡, 离心后移取中间层至比色管内并用氮气吹干。乙醇溶解残渣, 再加入水混匀, 过 C_{18} 柱净化, 乙酸乙酯洗脱, 收集洗脱液并用氮气吹干。乙腈复溶残渣, 加酸性 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液反应, 再加入 10%碳酸钠溶液、去离子水、二氯甲烷超声提取体系中的目标物。将下层有机相转移, 氮气吹干, 加乙酸乙酯定容。

3.2 糖皮质类激素的分析方法

样品经过必要的提取和净化步骤后, 糖皮质类激素化合物可以用液相色谱、气相色谱、液相色谱-质谱、气相色谱-质谱等方法进行分析。气相色谱法和高压液相色谱法的灵敏度较低, 特异性差, 不适用于痕量兽药残留分析的要求^[24,51]。气相色谱-质谱测定时具有较高的灵敏度, 但由于类固醇激素的挥发性不够, 通常需要进行适当的衍生化反应才适用于气相色谱技术。此类激素结构中具有多个羟基和羰基, 在测定时可以进行硅烷化、酰化和腈化等衍生化过程^[32,52]。液相色

谱-质谱法不仅具有较高灵敏度,而且不需要衍生化,可以直接测定,还能很好地对分析物进行定性确认,提高了分析样品的工作效率;由于各种糖皮质类激素的化学性质相似,很难在短时间内同时分离出十多种糖皮质类激素化合物,而使用超高压液相色谱-质谱法则可以提高色谱的分辨率及分析通量^[24],目前已成为分析糖皮质类激素残留的主要手段。Krone^[53]等比较了利用液相色谱-质谱(LC-MS/MS)检测器和气相色谱-质谱(GC-MS)检测器分析类固醇激素的优缺点。GC-MS与LC-MS/MS相比,需要衍生化,耗费时间较长,且只有进样步骤能够自动化;LC-MS/MS不如GC-MS的分辨率高,且目标物在柱子上的保留时间较短。GC-MS可以很好地分离差向异构体,而LC-MS/MS分离差向异构体比较困难。

3.2.1 气相色谱法和气相色谱-质谱法

早期用于糖皮质类激素的气相色谱分析方法使用OV-17275 cm柱、电子捕获检测器,检测的是糖皮质类激素的三甲基硅烷(TMS)的衍生物^[54]。McLaughlin等^[49]用气相色谱-质谱法选择离子扫描模式检测了牛肉和肝脏中的地塞米松。而Delahaut^[30]等使用氯铬酸吡啶衍生化,采用化学电离源检测牛奶、牛肝和牛尿、牛粪中的5种糖皮质类激素,LOQ为0.5 μg/kg。Hartmann^[26]则利用电子轰击电离源在选择离子模式下检测牛肉中的类固醇激素,同样取得良好的回收率。丁罡斗^[50]经全扫描色谱图和标准谱库确认氢化泼尼松和甲基氢化泼尼松是甾环结构上3位和11位的羟基被氧化,生成羰基甾类衍生物。选用离子阱质谱电子轰击电离源、二级质谱扫描模式,每种药物选择1个母离子、2个定性离子;两种目标物在猪肉组织中的LOQ为2 μg/kg。

3.2.2 液相色谱法和液相色谱-质谱法

在过去十几年的时间里,糖皮质类激素的检测通常选用配有紫外检测器的液相色谱,反相色谱和正相色谱都可以用来检测血浆中的地塞米松^[41,55-57],其紫外检测波长为254 nm。Alivneife等^[28]使用超高压液相色谱正相系统紫外检测器在254 nm波长下以氢化可的松为内标检测狗血中的可的松和地塞米松,流动相为二氯甲烷、甲醇和0.4%冰乙酸,采用峰高定量。Prasad等^[29]同样使用正相系统在254 nm波长处以地塞米松为内标检测猪血中的醋酸泼尼松、泼尼松、泼尼松龙、可的松和氢化可的松,流动相为二氯甲烷、水饱和的二氯甲烷、四氢呋喃、甲醇和冰醋酸

的混合溶液,峰面积定量分析。Krzeninski等^[27]选用甲醇和水(体积比为3:1)为流动相,以高压液相色谱紫外检测器在254 nm处使用峰高定量检测了牛奶中甲基强的松龙。Shearan等^[42]利用反相高压液相色谱分析了牛组织中的地塞米松,采用紫外检测器在254 nm处分析,选用C₁₈色谱柱,以水、乙腈和三乙胺(72:28:0.02, v/v/v)为流动相,峰高定量。

此后,液相色谱-质谱技术迅速发展,使用的色谱柱包括C₁₈柱、Hypercarb柱、Hypersil ODS C₁₈柱和Zorbax TMS柱等,流动相一般为水-甲醇、水-乙腈,或在流动相中加入一定浓度的醋酸铵、甲酸或乙酸等,而质谱大多选用离子阱和四极杆质谱,离子源一般为电喷雾电离源源(electrospray ionization, ESI)或大气压化学电离源(atmospheric pressure chemical ionization, APCI),根据目标物的性质和质谱响应选用正离子或负离子模式检测。

选用甲醇或乙腈与甲酸水溶液为流动相、采用负离子扫描模式时,一般以[M+HCOO]⁻为母离子,[M-H]⁻和[M-H-CH₂O]⁻为特征离子。例如,崔晓亮等^[24]采用超高压液相色谱-串联电喷雾四极杆质谱在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下测定了牛奶中12种糖皮质类激素的残留,流动相为甲醇和0.1%甲酸溶液,[M+CH₃COO]⁻为母离子,[M-H]⁻、[M-H-CH₂O]⁻为特征离子。Chen等^[48]选用选择反应监测模式(selective reaction monitoring, SRM),流动相为乙腈和0.2%甲酸溶液,母离子为[M+HCOO]⁻,特征离子为[M-H]⁻、[M-H-CH₂O]⁻,成功建立了可食性肉组织中的糖皮质类激素的分析方法。徐锦忠等^[44]以甲醇和0.1%甲酸水溶液为流动相,经C₁₈柱分离后,在SRM进样方式下,母离子选用[M+HCOO]⁻,由于质谱中很容易失去所加的甲酸形成分子离子峰,而且通常分子离子峰的强度均最大,为了避免假阳性检测结果,作者选择了3个碎片离子进行定性确认。李存等^[23]以乙腈、水、0.5%甲酸混合溶液为流动相,以MRM为进样方式,分析猪肝中地塞米松和倍他米松的含量。由于二者互为差向异构体,利用特殊的色谱柱Hypercarb C₁₈将其分离,以[M+HCOO]⁻为分子离子峰,两种目标物添加浓度均为0.75、1.5和2.0 μg/kg时回收率良好。

Van den hauwe^[25,58]采用正离子模式检测时,以[M+H]⁺为母离子,溶剂标样有较高的响应值。而基质标样在浓度小于1 μg/kg时,11种糖皮质类激素只有

地塞米松、倍他米松和曲安奈德能够检测到。所以选用ESI负离子扫描模式,流动相为乙腈和水(含0.3%甲酸)。由于流动相中含有甲酸,除了曲安西龙以 $[M-H]^-$ 为母离子,其他均以 $[M+HCOO]^-$ 为母离子;提高锥孔电压,大部分物质以 $[M-H-CH_2O]^-$ 为母离子,结构不同会失去 H_2O 、 CH_4 、 HF 或 HCl 等。同时选用Hypercarb色谱柱区分倍他米松和地塞米松差向异构体化合物。

还有些检测系统选用挥发性盐和有机溶剂为流动相。例如,Draisici等^[47]以乙腈、5 mmol/L乙酸铵和甲酸溶液为流动相,以APCI负离子模式、 $[M-H-CH_2O]^-$ 为母离子检测牛肝脏中的倍他米松和地塞米松。Brambilla等^[31]选用高压液相色谱和液相色谱-质谱联用仪,以地塞米松为内标对比检测牛血中的氟米松。其中液相色谱用甲醇和水为流动相,紫外检测器在240 nm紫外波长处分析;液相色谱-质谱联用仪以甲醇和1 mmol/L甲酸铵为流动相,大气压电离源(atmospheric pressure ionization, API)负离子模式检测,以 $[M-H-CH_2O]^-$ 为母离子。液相色谱的LOD为15 ng/mL,液相色谱-质谱联用仪的LOD为30 pg/mL。

崔晓亮等^[37]比较了甲醇/乙腈和甲酸水溶液(含量为0.05%~0.3%)为流动相时糖皮质类激素的响应值,证明了选用甲醇和0.1%甲酸水溶液时负离子模式下16种糖皮质类激素的响应值最高。

Croesa等^[39]选用乙腈和0.2%乙酸为流动相,在负离子模式下, $[M+CH_3COO]^-$ 为分子离子峰,地塞米松、倍氯米松等也是以 $[M-H]^-$ 和 $[M-H-CH_2O]^-$ 为特征离子来定量分析牛肝中的糖皮质类激素。Dusi等^[40]采用0.1%乙酸和乙腈为流动相,ESI负离子模式下以 $[M+CH_3COO]^-$ 为母离子,每种目标物另外选取3个子离子。Antignac等^[36]利用 C_{18} 色谱柱,以甲醇和0.5%乙酸溶液为流动相,同样选择 $[M+CH_3COO]^-$ 为母离子, $[M-H]^-$ 和 $[M-H-CH_2O]^-$ 为特征离子。

李建中等^[5]以流动相(乙腈和水的混合溶液)为定容液,在ESI源负离子模式下,猪肉样品中的7种糖皮质类激素化合物也形成 $[M-H+HCOOH]^-$ 形式的分子离子峰。

选用正离子模式检测时,一般以甲醇(乙腈)与甲酸水溶液或挥发性盐为流动相,选择 $[M+H]^+$ 为母离子。侯亚莉等^[43]测定牛肉中的地塞米松、倍他米松和倍氯米松,选用ESI正离子模式,流动相为含0.1%甲酸的乙腈和含0.1%甲酸的水溶液,地塞米松和倍

他米松以 $[M+H-HF]^+$ 为特征离子,倍氯米松以 $[M+H-HCl]^+$ 为特征离子。邓洋等^[33]选用正离子模式,乙腈、5 mmol/L醋酸铵、甲酸(体积比为80:20:0.1)为流动相,分析了家兔血浆中倍他米松的含量。其中以 $[M+H]^+$ 为母离子, $[M+H-HF]^+$ 和 $[M+H-HF-H_2O]^+$ 为定量离子。

齐士林^[45]采用液相色谱-电喷雾串联四级杆质谱法在正离子模式下检测猪肉中地塞米松、倍他米松和倍氯米松的残留。作者比较了乙腈和水、甲酸溶液、乙酸铵溶液等多种流动相,最后确定为乙腈和0.1%甲酸溶液。为了分离倍他米松和地塞米松,采用了梯度洗脱的方式。三种化合物的分子离子峰均为 $[M+H]^+$ 型。地塞米松和倍他米松选用 $[M+H-HF]^+$ 为定量离子,倍氯米松以 $[M+H-H_2O]^+$ 为定量离子。

祝伟霞等^[32]以乙腈和0.1%甲酸为流动相检测婴幼儿配方奶粉中的激素(包括17种糖皮质类激素),色谱柱为普通硅胶基质的 C_{18} 柱。文献比较了APCI和ESI两种电离方式,发现它们在测定激素时离子化效率相同。以 $[M+H]^+$ 为母离子,39种激素定量限为0.02~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,分别以LOQ、1.5倍LOQ、2倍LOQ进行添加回收实验,结果符合要求。

4 讨论

目前,液相色谱-质谱法因其高灵敏度和选择性而常用于动物源性食品中糖皮质类激素的检测。但主要用于测定已知的目标化合物,对于未知激素的筛选和鉴定能力还较低。飞行时间质谱等技术的发展为食品中高风险物质的筛查提供了有力的分析工具。

检测技术作为保障食品安全的支撑技术之一,尽管它的发展很重要,但保障食品安全一定要从源头抓起,要避免食品中激素残留对我们和子孙后代的危害,需要做的工作还很多,包括以下几点:

首先,各主管部门要完善相关法规,加大执法力度,从种植、养殖环节进行源头治理。在畜牧生产实践中规范用药,建立药物残留监控体系,建立责任追究制度,制定违规的相应处罚手段。

其次,加强食品安全知识的宣传,提倡消费者到正规市场购买畜禽肉及其制品,同时为消费者提供监督的渠道。

第三,加强动物源性食品中糖皮质类激素对人体健康影响的研究,制定科学合理的限量标准,确保动物源性食品的食用安全和人类健康。

参考文献

- [1] 万春和, 林红华, 彭春香, 等. 目前我国动物源性食品存在的主要问题[J]. 福建畜牧兽医, 2011, 33(3): 27-29.
Wan CH, Lin HH, Peng CX, *et al.* The main problems of animal derived food in China [J]. Fujian J Anim Husb Vet Med, 2011, 33(3): 27-29.
- [2] 陈胜. 浅谈我国动物源性食品安全现状及对策分析[J]. 中国科技博览, 2010, 32: 615.
Chen S. Safety situation in China and countermeasures on animal derived food [J]. China Sci Technol Rev, 2010, 32: 615.
- [3] 徐锐锋, 张庆合. 食品中激素与人体健康[J]. 中国计量, 2010, (10): 70-73.
XU RF, Zhang QH. Hormones in food and human health [J]. China Metrol, 2010, (10): 70-73.
- [4] 张雅军, 李晓东. 液相色谱串联质谱鉴别7种糖皮质激素的方法研究[J]. 分析测试学报, 2007, 26(9): 67-68.
Zhang YJ, Li XD. Studies on identification of seven glucocorticoids by HPLC-MS/MS [J]. J Instrum Anal, 2007, 26(9): 67-68.
- [5] 李建中, 金琦芸, Lee YS. 动物性食品中糖皮质激素类兴奋剂的含量测试[J]. 生物技术世界, 2008, 8: 32-34.
Li JZ, Jin QY, Lee YS. Test of glucocorticoids content in animal derived food [J]. Biotech World, 2008, 8: 32-34.
- [6] Gentili A. LC-MS methods for analyzing anti-inflammatory drugs in animal-food products[J]. Trend Anal Chem, 2007, 26(6): 595-608.
- [7] 崔晓亮, 邵兵, 涂晓明. 动物源性食品中糖皮质激素残留检测技术进展[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1492-1496.
Cui XL, Shao B, Tu XM. The progress of determination of glucocorticoids residues in animal derived food [J]. Chin J Pharm Anal, 2007, 27(9): 1492-1496.
- [8] Stahn C, Lowenberg M, Hommes D W, *et al.* Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists[J]. Moll Cell Endocrinol, 2007, 275: 71-78.
- [9] 杨天爽, 杨锋. 糖皮质激素副作用及其预防[J]. 中国药业, 1995, 7: 41.
Yang TS, Yang F. Side effects and prevention of glucocorticoids [J]. China Pharm, 1995, 7: 41.
- [10] Earla R, Boddu SHS, Cholkar KJ, *et al.* Development and validation of a fast and sensitive bioanalytical method for the quantitative determination of glucocorticoids-Quantitative measurement of dexamethasone in rabbit ocular matrices by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed, 2010, 52: 525-533.
- [11] Frerichs VA, Tornatore KM. Determination of the glucocorticoids prednisone, prednisolone, dexamethasone, and cortisol in human serum using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2004, 802: 329-338.
- [12] Callejas SL, Biddlecombe RA, Jones AE, *et al.* Determination of the glucocorticoid fluticasone propionate in plasma by automated solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 1998, 718: 243-250.
- [13] Gerbeth K, Meins J, Kirste S, *et al.* Determination of major boswellic acids in plasma by high-pressure liquid chromatography/mass spectrometry[J]. J Pharmaceut Biomed, 2011, 56: 998-1005.
- [14] Raul JS, Cirimele V, Ludes B, *et al.* Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair [J]. Clin Biochem, 2004, 37: 1105-1111.
- [15] Krishnaswami S, Mollmann H, Derendorf H, *et al.* A sensitive LC-MS/MS method for the quantification of fluticasone propionate in human plasma [J]. J Pharmaceut Biomed, 2000, 22: 123-129.
- [16] 吴小红, 李焕德. 高效液相色谱法-二极管阵列检测器同时分析测定中成药及保健品中非法添加的9种糖皮质激素[J]. 中南药学, 2009, 7(5): 324-327.
Wu XH, Li HD. Simultaneous determination of 9 glucocorticosteroids by HPLC-DAD [J]. Central South Pharm, 2009, 7(5): 324-327.
- [17] 夏瑞, 车宝泉, 张喆. 液相色谱-质谱法同时鉴别中药制剂中的15种糖皮质激素[J]. 色谱, 2007, 25(6): 926-929.
Xia R, Che BQ, Zhang Z. Simultaneous identification of fifteen glucocorticoids in Chinese traditional medicine preparations by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2007, 25(6): 926-929.
- [18] 秦旻, 张建丽, 王小兵, 等. 高效液相色谱/质谱法检测人尿中的糖皮质激素及其它兴奋剂[J]. 中国运动医学杂志, 2007, 26(5): 620-623.
Qin Y, Zhang JL, Wang XB, *et al.* Analysis of glucocorticosteroids and some other dope agents in human urine by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Sports Med, 2007, 26(5): 620-623.
- [19] 吴大南, 郑和辉, 王萍, 等. 超高效液相色谱法检测化妆品中8种糖皮质激素[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 197-198.
Wu DN, Zheng HH, Wang P, *et al.* Determination of 8 glucocorticosteroids in cosmetics by ultra performance liquid chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(2): 197-198.
- [20] 乔建军, 方红. 正确外用糖皮质激素[J]. 国际皮肤性病杂志, 2009, 35(6): 359-360.
Qiao JJ, Fang H. Rational use of topical corticosteroids [J]. Int J Dermatol Venereol, 2009, 35(6): 359-360.
- [21] Callen J, Chamlin S, Eichenfield L F, *et al.* A systematic review of the safety of topical therapies for atopic dermatitis [J]. Br J Dermatol, 2007, 156(2): 203-221.
- [22] Nam YS, Kwon IK, Lee Y, *et al.* Quantitative monitoring of corticosteroids in cosmetic products manufactured in Korea using

- LC-MS/MS [J]. *Forensic Sci Int*, 2012, 220: e23–e28.
- [23] 李存, 吴银良, 杨挺. 同位素稀释高效液相色谱串联质谱法测定猪肝中地塞米松和倍他米松残留量[J]. *分析化学研究简报*, 2010, 38(2): 271–274.
- Li C, Wu YL, Yang T. Simultaneous determination of dexamethasone and betamethasone in swine liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with isotope dilution [J]. *Chin J Anal Chem*, 2010, 38(2): 271–274.
- [24] 崔晓亮, 邵兵, 赵榕, 等. 超高效液相色谱-串联电喷雾四极杆质谱法同时测定牛奶中 12 种糖皮质激素的残留[J]. *色谱*, 2006, 24(3): 213–217.
- Cui XL, Shao B, Zhao R, *et al.* Simultaneous determination of twelve glucocorticoids residues in milk by ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2006, 24(3): 213–217.
- [25] Van den hauwe O, Dumoulin F, Elliott C, *et al.* Detection of synthetic glucocorticoid residues in cattle tissue and hair samples after a single dose administration using LC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 817: 215–223.
- [26] Hartmann S, Steinhart H. Simultaneous determination of anabolic and catabolic steroid hormones in meat by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 704: 105–117.
- [27] Krzeninski LF, Cox BL, Perrel PN, *et al.* Determination of methylprednisolone (medrol) residues in milk by high-pressure liquid chromatography [J]. *J Agr Food Chem*, 1972, 20(5): 970–972.
- [28] Alvinerie M, Toutain PL. Simultaneous determination of corticosterone, hydrocortisone, and dexamethasone in dog plasma using high performance liquid chromatography [J]. *J Pharm Sci*, 1982, 71(7): 816–818.
- [29] Prasad VK, Ho B, Haneke C. Simultaneous determination of prednisolone acetate, prednisolone, prednisone, cortisone and hydrocortisone in swine plasma using solid-phase and liquid-liquid extraction techniques [J]. *J Chromatogr*, 1986, 378: 305–316.
- [30] Delahaut P, Jacquemin P, Colemonts Y, *et al.* Quantitative determination of several synthetic corticosteroids by gas chromatography-mass spectrometry after purification by immunoaffinity chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 1997, 696(2): 203–215.
- [31] Brambilla G, Buiarelli F, Cartoni GP, *et al.* Determination of flumethasone in calf urine and serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 755: 265–278.
- [32] 祝伟霞, 刘亚凤, 袁萍, 等. 液相色谱-串联质谱法快速测定婴幼儿配方奶粉中 39 种激素残留量[J]. *色谱*, 2010, 28(11): 1031–1037.
- Zhu WX, Liu YF, Yuan P, *et al.* Quick determination of 39 hormones residues in infant formula by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(11): 1031–1037.
- [33] 邓洋, 陈笑艳, 戴晓健, 等. 液相色谱-串联质谱法测定家兔血浆中倍他米松[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29(3): 326–330.
- Deng B, Chen XY, Dai XJ, *et al.* Liquid chromatography/tandem mass spectrometry in determination of betamethasone concentration in rabbit plasma [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2008, 29(3): 326–330.
- [34] 张毅, 岳振峰, 蓝芳, 等. 分散固相萃取净化与液相色谱/串联质谱法测定牛奶中 8 类禁用药物残留[J]. *分析化学研究简报*, 2012, 40(5): 724–729.
- Zhang Y, Yue ZF, Lan F, *et al.* Determination of 8 species of banned drugs in bovine milk by using QuEChERS cleanup approach and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2012, 40(5): 724–729.
- [35] Tolgyesi A, Tolgyesi L, Sharma VK, *et al.* Simultaneous determination of eight corticosteroids in bovine tissues using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2010, 53: 919–928.
- [36] Antignac JP, Bizec BL, Manteau F, *et al.* Multi-residue extraction purification procedure for corticosteroids in biological samples for efficient control of their misuse in livestock production [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 757(1): 11–19.
- [37] 崔晓亮. 超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法测定动物源性食品和尿液中糖皮质激素残留[D]. 天津大学, 2006.
- Cui X L. Determination of glucocorticoids residues in animal derived food and urine by ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [D]. Tianjin University, 2006.
- [38] SN/T 2222-2008 进出口动物源性食品中糖皮质激素类兽药残留量的检测方法[S].
- SN/T 2222-2008 Determination of glucocorticosteroids residues in foodstuffs of animal origin for import and export- LC/MS/MS method [S].
- [39] Croes K, Goeyens L, Baeyens W, *et al.* Optimization and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MSⁿ) method for analysis of corticosteroids in bovine liver: Evaluation of Keyhole Limpet β -glucuronidase/sulfatase enzyme extract [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877: 635–644.
- [40] Dusi G, Gasparini M, Curatolo M, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of nine corticosteroid residues in bovine liver samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 700: 49–57.
- [41] Tolgyesi A, Sharma VK, Fekete S, *et al.* Simultaneous determination of eight corticosteroids in bovine tissues using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 906: 75–84.

- [42] Shearan P, Keeffe MO, Smyth MR. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of dexamethasone in bovine tissues [J]. *Analyst*, 1991, 116(2): 1365–1368.
- [43] 侯亚莉, 徐飞, 李海燕, 等. 液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法同时测定牛肉中地塞米松、倍他米松和倍氯米松残留[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(1): 127–131.
Hou YL, Xu F, Li HY, *et al.* Simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone and beclomethasone in bovine muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Chin Agr Sci Bull*, 2008, 24(1): 127–131.
- [44] 徐锦忠, 张晓燕, 丁涛, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测鸡肉和鸡蛋中合成类固醇激素和糖皮质激素[J]. *分析化学研究报告*, 2009, 37(3): 341–346.
Xu JZ, Zhang XY, Ding T. Determination of anabolic steroid and glucocorticoid hormones in chicken and egg using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2009, 37(3): 341–346.
- [45] 齐士林. 糖皮质激素与吩噻嗪类药物的超高压液相色谱质谱联用分析与药物代谢研究[D]. 厦门大学, 2009.
Qi SL. The studies on analysis of glucocorticoids and phenothiazines by ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry and their metabolites [D]. Xiamen University, 2009.
- [46] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. QuEChERS/液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中30种激素类及氯霉素类药物残留[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(12): 1329–1337.
Luo HT, Huang XL, Wu HQ, *et al.* Simultaneous determination of 30 hormones and chloramphenicols residues in fish using QuEChERS sample preparation and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(12): 1329–1337.
- [47] Draisci R, Marchiava C, Palleschia L, *et al.* Accelerated solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation of corticosteroid residues in bovine liver [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 753: 217–223.
- [48] Chen DM, Tao YF, Liu ZY, *et al.* Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pressurized liquid extraction for determination of glucocorticoid residues in edible tissues [J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879: 174–180.
- [49] McLaughlin LG, Henion JD. Determination of dexamethasone in bovine tissues by coupled-column normal-phase high performance liquid chromatography and capillary gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr*, 1990, 529: 1–19.
- [50] 丁罡斗. 兽药及持久性有机污染物残留分析方法研究[D]. 内蒙古农业大学, 2008.
Ding GD. Study on the analysis method of residue of veterinary medicine and persistent organic pollution [D]. Inner Mongolia Agricultural University, 2008.
- [51] Frerichs VA, Tornatore KM. Determination of the glucocorticoids prednisone, prednisolone, dexamethasone, and cortisol in human serum using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 802: 329–338.
- [52] Glowka FK, Karazniewicz M, Lipnicka E. RP-HPLC method with fluorescence detection for determination of small quantities of triamcinolone in plasma in presence of endogenous steroids after derivatization with 9-anthroyl nitrile; pharmacokinetic studies[J]. *J Chromatogr B*, 2006, 839: 54–61.
- [53] Krone N, Hughes BA, Lavery GG, *et al.* Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) [J]. *J Steroid Biochem*, 2010, 121: 496–504.
- [54] Krzeminski LF, Cox BL, Hagg DD. Residue determination of 9 alpha-fluoroprednisolone acetate and its metabolite 9 alpha-fluoroprednisolone in bovine tissues [J]. *J Agr Food Chem*, 1974, 22: 882.
- [55] Cham BE, Sadowski B, O'Hagan JM, *et al.* High performance liquid chromatographic assay of dexamethasone in plasma tissue [J]. *Ther Drug Monit*, 1980, 2(4): 373–377.
- [56] Plezia PM, Berens PL. Liquid-chromatographic assay of dexamethasone in plasma [J]. *Clin Chem*, 1985, 31: 1870.
- [57] Derendorf H, Rohdewald P, Hochhaus G, *et al.* HPLC determination of glucocorticoid alcohols, their phosphates and hydrocortisone in aqueous solutions and biological fluids [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1986, 4(2): 197–206.
- [58] Van den hauwe O, Dumoulin F, Antignac JP, *et al.* Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of 11 glucocorticoid residues and an optimization of enzymatic hydrolysis conditions in bovine liver [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 473: 127–134.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



马立利, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品分析。
E-mail: malili14@163.com



刘艳, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测技术。
E-mail: xgly36@163.com