

# 运动员特供食品中兴奋剂检测研究进展

李永吉, 陈燕, 王柯, 刘畅\*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

**摘要:**  $\beta_2$ -受体激动剂类( $\beta_2$ -Agonists)、合成类固醇类(anabolic steroids)、糖皮质激素类(glucocorticoid)和玉米赤霉醇类(zeranol)都有促进蛋白合成、提高肌肉含量等作用。尽管这些物质在很多国家的畜牧业养殖中都被禁止或限制使用, 但不少养殖户依旧非法滥用以提高经济效益。运动员在摄入有药物残留的食品后, 会导致兴奋剂检测呈阳性, 这无论对运动员个人还是国家, 都会造成重大损失。为杜绝食源性兴奋剂, 运动员特供食品常常需要进行上述4类项目的检测。本文主要对这4类物质的定义、作用、危害以及国内外检测方法等进行简要阐述。

**关键词:**  $\beta_2$ -受体激动剂类; 合成类固醇类; 糖皮质激素类; 玉米赤霉醇类

## Advance on detection methods of athletes' food-borne stimulant

LI Yong-Ji, CHEN Yan, WANG Ke, LIU Chang\*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT:** All of  $\beta_2$ -agonists, anabolic steroids, glucocorticoid and zeranol can promote the protein synthesis rates and enhance muscle growth. Although, 4 kinds of veterinaries were forbidden as growth promoters in livestock in some countries, they were illegally used for increasing economic profit. If foods with banned substances residues were eaten by athletes, the test would be positive. It was a huge loss for both athletes and countries. To prevent and control food-borne stimulant, all athletes' foods were detected in 4 kinds of veterinaries. In this paper, the definition, function, hazard and the technologies used for qualitative and quantitative analysis of those 4 kinds of residues were summarized.

**KEY WORDS:**  $\beta_2$ -agonists; anabolic steroids; glucocorticoid; zeranol

## 1 引言

20世纪初, 体育竞技中的耐力项目往往连续多天进行且中间并不休息, 因此, 一些公开水域游泳、自行车、长跑以及竞走项目运动员常常会服用土的宁、海洛因以及安非他明等让人兴奋的药物消除疲劳<sup>[1]</sup>。然而, 随着越来越多不良反应的发生, 政府以及体育组织开始意识到兴奋剂的使用不仅违背了公平竞争的体育精神, 对运动员的身体亦带来诸多的危害<sup>[2-4]</sup>。

1967年国际奥委会设立了医务委员会, 专门进行兴奋剂类药物的检测与控制。为了更有效地遏制兴奋剂的使用, 国际奥委会在2001年牵头成立了世界反兴奋剂机构(World Anti-Doping Agency, WADA), 加强政府与体育组织间的合作。从2004年开始, 世界反兴奋剂组织就颁布了一系列的条例用以禁止运动员使用任何兴奋剂类药物<sup>[5]</sup>, 并且每年都会更新兴奋剂禁用清单, 2016年兴奋剂禁用清单上已经包含了超过265种禁用或限用药物。时至今日, 在不断深化的反兴奋剂宣传和教育的密集、严格的兴奋剂

\*通讯作者: 刘畅, 副主任药师, 主要研究方向为食品检测与食品安全。E-mail: cible@sina.cn

\*Corresponding author: LIU Chang, Associate Chief Pharmacist, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China. E-mail: cible@sina.cn

检查下, 已经很少有运动员铤而走险。然而, 近年来运动员因食物导致的兴奋剂阳性案例却在体育赛事中屡见不鲜。在禽畜饲养过程中, 为了缩短饲养周期、增加存活率、降低成本等, 不少养殖户滥用抗生素、蛋白同化剂和激素类等药物, 使得很多动物源食品中残留较高浓度的违禁药物。在北京奥运会前夕, 当时中国男子游泳队里最优秀也是最有希望夺得奖牌的选手欧阳鲲鹏就是因为回家休假时与朋友吃了含有瘦肉精的烤串导致尿检呈阳性, 进而被终身禁赛, 在所有食源性兴奋剂中, 最难防范的就是“瘦肉精”。在实际检测中, 市场上的肉食品中克伦特罗的比例及含量大大高于运动员肉食品的安全标准, 而在肉食品中猪牛羊肉及其内脏的阳性比例要高于其他类肉食品。兴奋剂误服不仅让运动员蒙羞, 也将团队组织推上风头浪尖。因此, 杜绝食源性兴奋剂是运动员日常管理服务的重要内容之一。

动物源食品中兽药残留检测项目主要包括抗微生物、抗寄生虫、激素以及生长促进剂等, 而根据世界反兴奋剂机构制定的标准, 国家认监委在北京奥运会前夕发布奥运食品违禁药物控制检测项目主要包括 4 大类:  $\beta_2$ -受体激动剂类、合成类固醇类、糖皮质激素类和玉米赤霉醇类共 34 种, 它们的相互关系见表 1。

## 2 $\beta_2$ -受体激动剂

$\beta_2$ -受体激动剂是一类能选择性与  $\beta_2$  肾上腺素受体结合, 产生受体激动样作用药物的总称。 $\beta_2$ -受体激动剂是最早也是最常见用于治疗哮喘的药物<sup>[6]</sup>,  $\beta_2$ -受体激动剂还被广泛应用于慢性阻塞性肺病以及多种呼吸系统疾病<sup>[7,8]</sup>。研究发现, 在禽畜饲养中  $\beta_2$ -受体激动剂能够促进动物体内

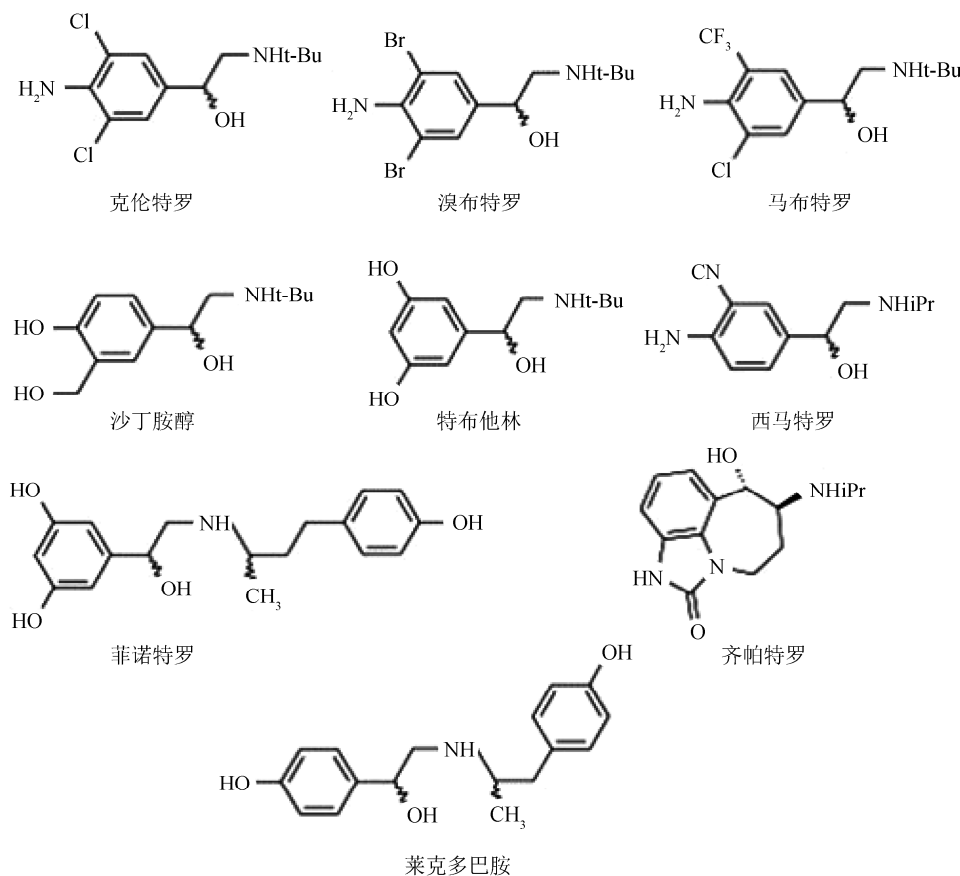
蛋白合成、减少脂肪合成和沉积和提高酮体瘦肉率<sup>[9,10]</sup>。然而高剂量的  $\beta_2$ -受体激动剂在动物体内残留会对动物本身以及食用者的健康埋下隐患。因此, 欧盟及中国都禁止在畜牧业生产中使用该类物质。

$\beta_2$ -受体激动剂是一系列以苯乙醇胺为母核, 芳环和末端氨基多取代的衍生物(图 1)。由于同系物较多且通常浓度较低, 动物源食品中残留的  $\beta_2$ -受体激动剂检测具有相当的挑战性。最初, 很多国家采用放射免疫分析法和酶联免疫分析法作为  $\beta_2$ -受体激动剂的控制方法<sup>[11,12]</sup>。但是受限于抗体的提取及其交联反应活性的影响, 放射免疫分析法和酶联免疫分析法始终不能成为法定的  $\beta_2$ -受体激动剂确证方法。近年来, 随着与表面等离子共振技术<sup>[13,14]</sup>、高效薄层色谱<sup>[15]</sup>以及亲和层析<sup>[16]</sup>等方法的联合应用, 免疫分析方法的高选择性及快速性得到了越来越多的关注。

然而相比较而言, 官方检验机构无论是筛查还是确证都倾向于选择灵敏度高、特异性强、重复性好的质谱方法。尽管与气相色谱相比, 液相色谱在  $\beta_2$ -受体激动剂分离方面更有优势, 不需要衍生化, 色谱系统使用的溶剂相容性也更好, 但直到 20 世纪 80 年代, 仍然没有开发出有效的液相色谱-质谱联用(LC-MS)系统用于日常检验, 当时气相色谱-质谱联用(GC-MS)是唯一的选择。Clare 等<sup>[17]</sup>在 1979 年就将 GC-MS 应用于特布他林检验中。2003 年 Bocca 等在牛眼中检测出克伦特罗、莱克多巴胺以及齐帕特罗等  $\beta_2$ -受体激动剂。Wang 等<sup>[18]</sup>在 2010 年使用 GC-MS 在肉、肝脏以及肾脏中成功检测出间羟异丙肾上腺素、克伦特罗、莱克多巴胺以及沙丁胺醇, 检测限低至 0.04~0.09  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。作为 GC-MS 的替代方法, LC-MS 多次被应用于尿液、血

表 1 食品中兽药残留与禁用兴奋剂检测项目  
Table 1 Tests for residues of veterinary drug and stimulant in foods

	兽残监测	兴奋剂检测
检测项目	<p>抗微生物药 抗生素: 氯霉素类、青霉素类、四环素、大环内酯类、氨基糖苷类; 抗菌药: 喹诺酮类、磺胺类、硝基呋喃类; 抗病毒药: 核苷类药物、三环胺类、焦磷酸类、蛋白酶抑制剂等。</p> <p>抗寄生虫 抗蠕虫药: 苯并咪唑类、咪唑并噻唑类、有机磷酸酯类、四氢嘧啶类、水杨酰苯胺类、阿维菌素类、哌嗪衍生物等; 抗原虫药: 聚醚类离子载体抗生素、三嗪类、二硝基类、氯羟吡啶; 杀虫药(体外驱虫剂): 有机磷化合物、拟除虫菊酯类化合物等。</p> <p>激素 性激素: 雌性激素, 如: 雌二醇、己烯雌酚、己烷雌酚、甲地孕酮、雌烯酮等; 雄性激素: 甲基睾丸酮、丙酸睾丸酮、氯睾丸酮等; 人工合成的同化激素: 乙酸去甲雄三烯醇酮(TBA)、孕激素、十六亚甲基甲地孕酮以及乙烯雌酚、乙雌酚、甲基睾丸酮、玉米赤霉醇。</p> <p>生长促进剂 生长激素: 牛生长激素(BST)和猪生长激素(PST)、甲状腺素、类甲状腺素及抗甲状腺素; 镇静剂: 氯丙嗪、安定 <math>\beta</math>-受体激动剂: 克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺</p>	<p>国家认监委发布运动员食品违禁药物控制检测项目主要包括: <math>\beta_2</math>-受体激动剂、合成类固醇类、糖皮质激素类和玉米赤霉醇类 4 大类共 34 种化合物。</p>



t-Bu: tert-butyl; iPr: isopropyl

图1 常见 $\beta_2$ -受体激动剂结构示意图

Fig. 1 Structures of selected  $\beta_2$ -agonists

浆、肝脏以及动物鸡肉等样品中 $\beta_2$ -受体激动剂的检测<sup>[19-22]</sup>。LC-MS首次用于 $\beta_2$ -受体激动剂的生物分析是在1989年, Blanchflower和Kennedy应用该方法检测牛尿中的克伦特罗残留量<sup>[23]</sup>。Kootstra等<sup>[24]</sup>则在2004年利用LC-MS在牛肉中检测出西马特罗等8种 $\beta_2$ -受体激动剂, 且经过验证该方法适用基质还包括兔肉、鸭肉、火鸡肉以及各种各样的鱼肉。随着离子阱-飞行时间串联质谱仪的诞生, LC-MS的应用范围更被进一步扩大, 检测数量和灵敏度亦是逐步提高。Sai等<sup>[25]</sup>在2012年应用高效液相色谱-线性离子阱质谱(HPLC-LIT-MS)法在猪肉、鸡肉、肝脏等动物源食品中检测出25种 $\beta$ -受体激动剂和23种 $\beta$ -受体阻断剂。

### 3 玉米赤霉醇类

玉米赤霉醇类是一类非甾体同化激素, 具有二羟基苯甲酸母核, 主要包括6种结构类似的化合物分别为: $\alpha$ -玉米赤霉烯醇、 $\beta$ -玉米赤霉烯醇、 $\alpha$ -玉米赤霉醇、 $\beta$ -玉米赤霉醇、玉米赤霉酮和玉米赤霉烯酮。玉米赤霉烯酮由镰刀霉

菌产生<sup>[26,27]</sup>, 其他5种均可由玉米赤霉酮代谢产生(图2)。玉米赤霉醇类是一种效果明显的促生长剂, 将其埋植于牛羊等动物的耳根时可以显著提高其体内生长激素和胰岛素水平, 促进蛋白合成、提高饲料转化率, 大幅增加经济效益。同样的, 运动员摄入该类物质也会有助于提高肌肉密度和强度。但实验表明, 玉米赤霉醇能够兴奋雌激素受体<sup>[28-30]</sup>, 具有明显的雌激素和蛋白同化样作用, 造成人体性机能紊乱, 并对第二性征的正常发育产生影响, 具有明显的生殖毒性, 甚至在外条件诱导下还可能致癌。因此, 我国和欧洲均明确禁止将该类物质应用到禽畜养殖业中, WADA也将其列入了兴奋剂清单中。

目前, 玉米赤霉醇类物质的检测方法主要有: 高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、薄层色谱法(TLC)、酶联免疫法(ELISA)、液相色谱-质谱法(LC-MS)和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。由于玉米赤霉醇类物质具有较强的内在荧光性, 配有荧光检测器的HPLC法具有高灵敏度、高选择性以及较高分离度, 也是目前较为常用的方法之一<sup>[31,32]</sup>。与之相对的气相色谱法(GC), 由于

酚羟基生化比较麻烦, 很少单独使用。GC-MS 也只有在比较明确的阳性样品确证中应用<sup>[33,34]</sup>。TLC 法<sup>[35]</sup>和 ELISA 法<sup>[36]</sup>灵敏度高且便捷快速, 通常作为玉米赤霉醇类物质比较可靠的筛查方法。与其他方法相比, TLC 法尽管选择性和灵敏度较差, 但是由于其操作简单, 成本较低, 在欧洲以及北美以外的国家应用依然较为广泛。ELISA 法比 HPLC 法灵敏度更高, 但是由于复杂机制中可能会有潜在的抗体交叉反应, 因此, 它的假阳性率较高。起初 LC-MS 很少被用于玉米赤霉醇类物质的检测, 直到 1987 年 Rajakylä 等宣布即使低至 ppm 级, 玉米赤霉醇类都能采用 LC-MS 法较为可靠地定性和定量。由于玉米赤霉醇类存在

两组同分异构体, 质谱分析(MS)往往需要借助 HPLC 分离才能进行检测。HPLC 分离通常采用传统的反相色谱系统, 流动相是甲醇水、乙腈水或者甲醇-乙腈水的混合溶剂, 等度或者梯度都很常见。实验者通常还会在流动相中加入乙酸胺、甲酸、乙酸或者三氟乙酸(TFA)以提高色谱系统的分离效率或者离子化效率<sup>[37-39]</sup>。Royer 等<sup>[37]</sup>发现当复溶剂的有机相比例高于流动相中有机相, 玉米赤霉醇类的保留时间重现性较差, 对比发现当两者极性接近时效果最好。Peter 等<sup>[40]</sup>在样品经过固相萃取(SPE)净化后利用 LC-MS/MS 法成功测得猪的尿液、肌肉组织以及肝脏中玉米赤霉醇类残留量。

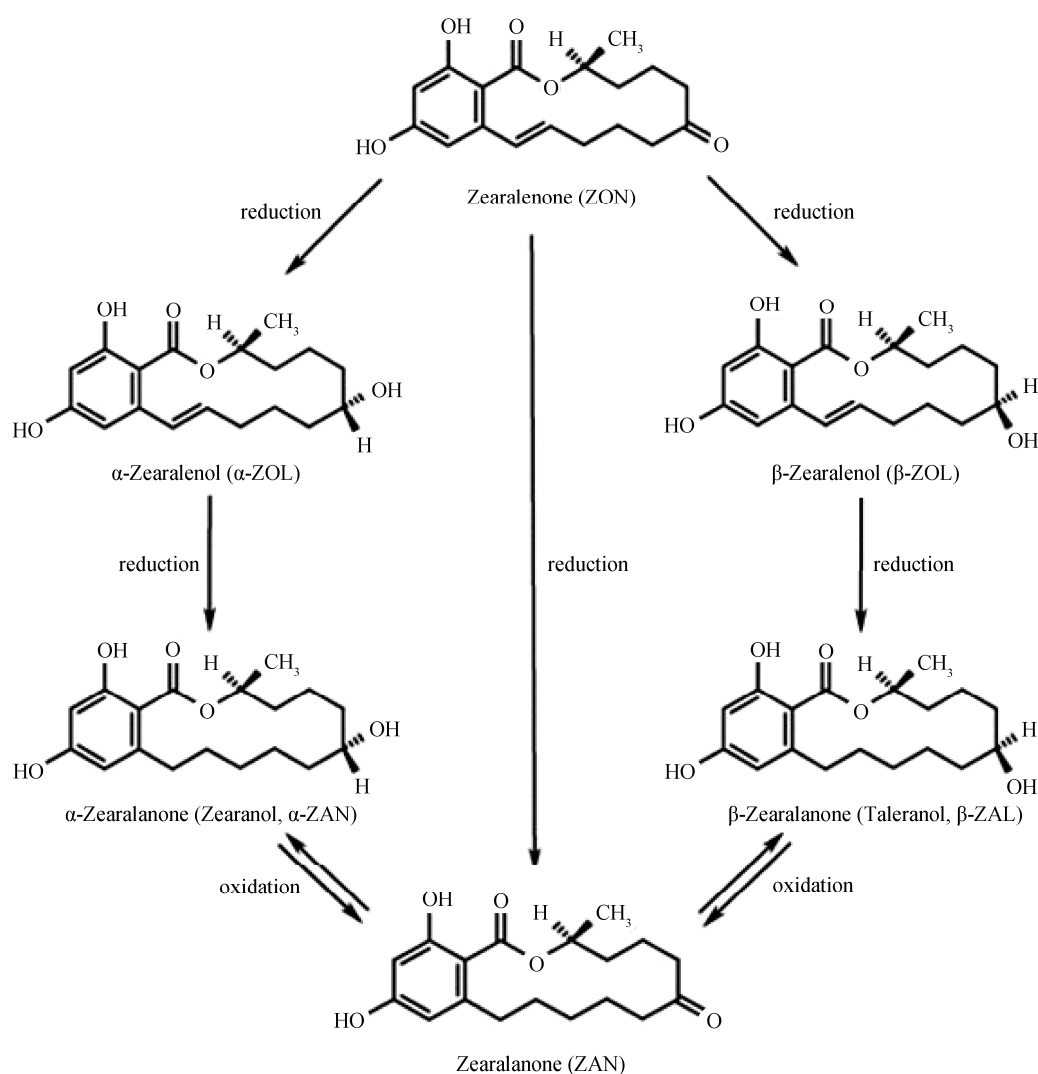


图 2 玉米赤霉醇类体内代谢转化图  
Fig. 2 *In vivo* metabolism of zearalenone

## 4 合成类固醇类

合成类固醇又称同化激素,在畜牧养殖业中通常作为一种生长促进剂使用。动物服用后能够促进体内蛋白合成,迅速增重,显著提高饲养效率,进而带来更为丰厚的经济效益。运动员使用后亦可增强肌肉,提高肌肉强度<sup>[41,42]</sup>。然而大量合成类固醇类在体内蓄积会引起血清高密度脂蛋白胆固醇减少以及严重的肝脏、心血管系统、生殖系统、神经系统毒性<sup>[43]</sup>。因此,欧盟委员会在1999年和2002年两次开会讨论研究肉制品中含有合成类固醇的危害,最终决定禁止其作为生长促进剂在畜牧养殖业中使用<sup>[44]</sup>。此外,由于其破坏了体育运动公平竞争的精神以及严重的不良反应,WADA亦将其列入了兴奋剂禁用清单中。

合成类固醇类系19碳甾体化合物,是一类与雄性激素睾酮具有相似的结构及活性的化学合成衍生物。由于生物类基质较为复杂,在样品前处理过程中实验者往往需要对样品进行净化,常用的净化方法主要包括液液萃取法(LLE)、固相微萃取法(SPME)、固液萃取法(SLE)以及固相萃取法(SPE),从已经发表的文章来看,利用上述方法处理的样品均能得到较为满意的结果。近年来又有包括冷冻过滤法<sup>[45]</sup>、液相色谱分离法<sup>[46]</sup>等新型的除脂方法以及加速溶剂萃取法(ASE)、超临界流体萃取(SFE)等提取方法相继报道<sup>[47,48]</sup>。

目前,生物样品中合成类固醇类检测方法主要包括:酶联免疫法(ELISA)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法(LC-MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。ELISA法通常用于肉制品中合成类固醇类物质的筛查,但是免疫反应由于缺乏专属性,往往需要通过其他方法进行确证。HPLC法也被用于多种肉及肉制品中合成类固醇类物质的检测,方法简单快速,但是灵敏度较低。国际奥林匹克委员会(International Olympic Committee, IOC)等国际组织通常采用GC-MS作为类固醇类物质的标准方法,该方法灵敏度高、专属性好。随着检测技术的不断发展,GC-MS方法也不断的改进和提高。Fuh等<sup>[49]</sup>使用气相色谱-线性离子阱质谱(GC-IT/MS)检测肉中合成类固醇类物质,方法定量限低至0.1~0.4 μg/kg。与GC-MS相比,LC-MS不需要衍生化,更加便捷快速,且具有更高灵敏度和专属性,近年来得到了广泛的关注。Blasco等<sup>[50]</sup>开发了一种便捷,具有高灵敏度和选择性的LC-MS/MS方法,成功检测出牛、猪以及各种禽类肉中的合成类固醇类物质。

## 5 糖皮质激素类

糖皮质激素又称“肾上腺皮质激素”,具有孕甾烷母核,含有4-烯-3-酮和17β-酮醇侧链以及糖皮质激素独有的17α-OH和11β-OH或11-羰基。糖皮质激素具有抗炎、抗

过敏等药理作用。在畜牧养殖业中使用可以引起动物蛋白沉积,从而提高饲料转化率,增加经济效益<sup>[41,51]</sup>。然而,人类如果长期食用糖皮质激素残留的食物,会带来不可估量的健康威胁。因此,欧盟等国家禁止畜牧养殖业故意使用糖皮质激素,即使作为药用亦有严格的限制规定<sup>[52,53]</sup>,WADA也将其列入了兴奋剂禁用清单中。

生物样品中糖皮质激素检测方法主要包括:薄层色谱法(TLC)<sup>[54]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[55]</sup>、气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法(LC-MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。TLC、GC和HPLC的专属性较差且灵敏度较低,很难满足痕量兽药残留分析的要求<sup>[56,57]</sup>。GC-MS具有较高的灵敏度,许多研究者利用该方法对糖皮质激素的残留进行研究。Hidalgo等<sup>[58]</sup>在2003年在负离子模式下在尿液中检测出残留的地塞米松和被他米松。与GC-MS相比,LC-MS在测定糖皮质激素时不仅不需要进行衍生化,而且还具有较高的选择性和灵敏度,因此,其逐步取代GC-MS成为糖皮质激素残留分析的主要手段。Volmer等<sup>[59]</sup>在1997年就利用LC-MS成功分离尿液中11种糖皮质激素。Draisci等<sup>[60]</sup>通过LC-MS在负离子模式下对牛肝脏中残留的地塞米松和被他米松进行检测,定量限低至1.0 μg/kg。

## 6 结论

尽管国内外都建立了一系列法律法规限制β<sub>2</sub>-受体激动剂、合成类固醇类、糖皮质激素类和玉米赤霉醇类药物的滥用,但仍有许多养殖户在饲养过程中非法添加该类药物。不仅运动员误食会导致兴奋剂阳性,对普通消费者的健康亦是伤害颇深,长远下去造成的损伤更是不可估量。因此,建立全面、简单、有效的监督手段势在必行,而这往往需要更加准确、便捷、快速的检测方法。正如上文所述,目前针对这几种违禁药物残留分析测定方法多种多样,但从监管角度来看,具有较高灵敏度和较强专属性的GC-MS和LC-MS依旧是第一选择。此外,由于其具有良好重现性,也更易于实现标准化。一般来讲,GC的分辨率要略好于LC,因此,GC-MS也是最早用于兴奋剂定性定量标准化的方法。但是GC样品的前处理比较麻烦,样品往往需要衍生化,因此,灵敏度高且前处理更为方便的LC-MS越来越多的替代GC-MS成为定性定量的首选方法。

随着检测仪器的发展,越来越多的技术将会被应用于兴奋剂检测。检测方法与酶联免疫、生物传感器、表面等离子共振技术联用,可以显著提高测定的专属性和灵敏度。此外,随着冷冻过滤法、液相色谱分离法、加速溶剂萃取法、液液萃取法、固相微萃取法、固液萃取法、固相萃取法以及超临界流体萃取等新型除脂净化的报道与发展,样品的分析步骤亦会得到进一步的简化。

## 参考文献

- [1] Bowers LD. Anti-dope testing in sport: The history and the science [J]. *The FASEB J*, 2012, 26(10): 3933–3936.
- [2] Darke S, Torok M, Duflou J. Sudden or unnatural deaths involving anabolic-androgenic steroids [J]. *J Foren Sci*, 2014, 59(4): 1025–1028.
- [3] Sagoe D, McVeigh J, Bjørnebekk A, *et al.* Polypharmacy among anabolic-androgenic steroid users: a descriptive metasynthesis [J]. *Substance Abuse Treat Prev Policy*, 2015, 10(1): 1.
- [4] Robles-Diaz M, Gonzalez-Jimenez A, Medina-Caliz I, *et al.* Distinct phenotype of hepatotoxicity associated with illicit use of anabolic androgenic steroids [J]. *Aliment Pharm Therapeut*, 2015, 41(1): 116–125.
- [5] Park JK. Governing doped bodies: The world anti-doping agency and the global culture of surveillance [J]. *Cult Stud Crit Methodol*, 2005, 5(2): 174–188.
- [6] Cheung D, Timmers MC, Zwinderman AH, *et al.* Long-term effects of a long-acting  $\beta_2$ -adrenoceptor agonist, salmeterol, on airway hyperresponsiveness in patients with mild asthma [J]. *New Engl J Med*, 1992, 327(17): 1198–1203.
- [7] Chung KF, Caramori G, Adcock IM. Inhaled corticosteroids as combination therapy with  $\beta$ -adrenergic agonists in airways disease: Present and future [J]. *Eur J Clin Pharm*, 2009, 65(9): 853–871.
- [8] Tashkin DP, Fabbri LM. Long-acting beta-agonists in the management of chronic obstructive pulmonary disease: Current and future agents [J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 1–14.
- [9] Ricks CA, Dalrymple R, Baker PK, *et al.* Use of  $\alpha$ -agonist to alter fat and muscle deposition in steers [J]. *J Anim Sci*, 1984, 59(5): 1247–1255.
- [10] Mersmann HJ. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action [J]. *J Anim Sci*, 1998, 76(1): 160–172.
- [11] Haasnoot W, Kemmers-Voncken A, Samson D. Immunofiltration as sample cleanup for the immunochemical detection of  $\beta$ -agonists in urine [J]. *Analyst*, 2002, 127(1): 87–92.
- [12] Vanoosthuyze KE, Arts CJ, Van Peteghem CH. Development of a fast and simple method for determination of  $\beta$ -agonists in urine by extraction on empore membranes and detection by a test strip immunoassay [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45(8): 3129–3137.
- [13] Traynor I, Crooks S, Bowers J, *et al.* Detection of multi- $\beta$ -agonist residues in liver matrix by use of a surface plasma resonance biosensor [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 483(1): 187–191.
- [14] Yu Q, Chen S, Taylor AD, *et al.* Detection of low-molecular-weight domoic acid using surface plasmon resonance sensor [J]. *Sensors Actuators B: Chem*, 2005, 107(1): 193–201.
- [15] Degroot JM, De-Bukanski BW, De Groof J, *et al.* Cimaterol and clenbuterol residue analysis by hplc-hptlc in liver [J]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1991, 192(5): 430–432.
- [16] Haasnoot W, Ploum M, Paulussen R, *et al.* Rapid determination of clenbuterol residues in urine by high-performance liquid chromatography with on-line automated sample processing using immunoaffinity chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1990, 519(2): 323–335.
- [17] Clare RA, Davies DS, Baillie TA. The analysis of terbutaline in biological fluids by gas chromatography electron impact mass spectrometry [J]. *Biol Mass Spectr*, 1979, 6(1): 31–37.
- [18] Wang L, Li YQ, Zhou YK, *et al.* Determination of four  $\beta_2$ -agonists in meat, liver and kidney by gc–ms with dual internal standards [J]. *Chromatogr*, 2010, 71(7–8): 737–739.
- [19] Xiu-Juan W, Feng Z, Fei D, *et al.* Simultaneous determination of 12  $\beta$ -agonists in feeds by ultra-high-performance liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1278: 82–88.
- [20] Mauro D, Ciardullo S, Civitareale C, *et al.* Development and validation of a multi-residue method for determination of 18  $\beta$ -agonists in bovine urine by UPLC/MS/MS [J]. *Microchem J*, 2014, 115: 70–77.
- [21] Juan C, Igualada C, Moragues F, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the analysis of  $\beta$ -agonists in animal feed and drinking water [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(39): 6061–6068.
- [22] Williams LD, Churchwell MI, Doerge DR. Multiresidue confirmation of  $\beta$ -agonists in bovine retina and liver using LC-ES/MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 813(1): 35–45.
- [23] Blanchflower W, Kennedy D. A rapid screening procedure for the detection and quantification of clenbuterol in bovine urine using thermospray liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Biomed Environ Mass Spectr*, 1989, 18(10): 935–936.
- [24] Kootstra P, Kuijpers C, Wubs K, *et al.* The analysis of beta-agonists in bovine muscle using molecular imprinted polymers with ion trap-LC-MS screening [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 529(1): 75–81.
- [25] Sai F, Hong M, Yunfeng Z, *et al.* Simultaneous detection of residues of 25  $\beta_2$ -agonists and 23  $\beta$ -blockers in animal foods by high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(8): 1898–1905.
- [26] Kennedy DG, Hewitt SA, McEvoy JD, *et al.* Zeranone is formed from fusarium spp. Toxins in cattle in vivo [J]. *Food Addit Contam*, 1998, 15(4): 393–400.
- [27] Zöllner P, Mayer-Helm B. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography–atmospheric pressure ionisation mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1136(2): 123–169.
- [28] Kuiper-Goodman T, Scott P, Watanabe H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone [J]. *Regul Toxicol Pharm*, 1987, 7(3): 253–306.
- [29] Joint F. Evaluation of certain food additives [R]. 24th report of the joint fao/who expert committee on food additives, 1980.
- [30] Zinedine A, Soriano J M, Molto J C, *et al.* Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(1): 1–18.
- [31] Krska R, Josephs R. The state-of-the-art in the analysis of estrogenic mycotoxins in cereals [J]. *Fresen J Anal Chem*, 2001, 369(6): 469–476.
- [32] Visconti A, Pascale M. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 815(1): 133–140.
- [33] Schwadorf K, Müller H-M. Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalenone and zearalenone in cereals by gas chromatography with ion-trap detection [J]. *J Chromatogr A*, 1992, 595(1–2): 259–267.
- [34] Marques MA, Lima LA, Bizarri CH, *et al.* Development and validation of a screening method for des, zeranol, and  $\beta$ -zearalanol in bovine urine by

- hrgc-ms and evaluation of robustness for routine survey of the brazilian herd [J]. *J Anal Toxicol*, 1998, 22(5): 367–373.
- [35] Medina M, Nagdy N. Improved thin-layer chromatographic detection of diethylstilbestrol and zeranol in plasma and tissues isolated with alumina and ion-exchange membrane columns in tandem [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1993, 614(2): 315–323.
- [36] Trucksess MW. Mycotoxins [J]. *J AOAC Int*, 1994, 77(1): 135–141.
- [37] Royer D, Humpf H-U, Guy P. Quantitative analysis of fusarium mycotoxins in maize using accelerated solvent extraction before liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam*, 2004, 21(7): 678–692.
- [38] Schneewis I, Meyer K, Engelhardt G, *et al.* Occurrence of zearalenone-4- $\beta$ -d-glucopyranoside in wheat [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(6): 1736–1738.
- [39] Joos P, Van Ryckeghem M. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of some anabolic steroids [J]. *Anal Chem*, 1999, 71(20): 4701–4710.
- [40] Zöllner P, Jodlbauer J, Kleinova M, *et al.* Concentration levels of zearalenone and its metabolites in urine, muscle tissue, and liver samples of pigs fed with mycotoxin-contaminated oats [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(9): 2494–2501.
- [41] Courtheyn D, Le Bizet B, Brambilla G, *et al.* Recent developments in the use and abuse of growth promoters [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 473(1): 71–82.
- [42] De-Brabander H, Le-Bizet B, Pinel G, *et al.* Past, present and future of mass spectrometry in the analysis of residues of banned substances in meat-producing animals [J]. *J Mass Spectr*, 2007, 42(8): 983–998.
- [43] Choi MH, Kim KR, Chung BC. Simultaneous determination of urinary androgen glucuronides by high temperature gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring [J]. *Steroids*, 2000, 65(1): 54–59.
- [44] Kaklamano G, Theodoridis G, Dabalís T. Determination of anabolic steroids in muscle tissue by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(46): 8072–8079.
- [45] Seo J, Kim H-Y, Chung BC, *et al.* Simultaneous determination of anabolic steroids and synthetic hormones in meat by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1067(1): 303–309.
- [46] Daeseleire E, Vandeputte R, Van Peteghem C. Validation of multi-residue methods for the detection of anabolic steroids by GC-MS in muscle tissues and urine samples from cattle [J]. *Analyst*, 1998, 123(12): 2595–2598.
- [47] Stolker AA, Zootjes PW, Schwillens PL, *et al.* Determination of acetyl gestagenic steroids in kidney fat by automated supercritical fluid extraction and liquid chromatography ion-trap mass spectrometry [J]. *Analyst*, 2002, 127(6): 748–754.
- [48] Hooijerink H, Van Bennekom E, Nielen M. Screening for gestagens in kidney fat using accelerated solvent extraction and liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 483(1): 51–59.
- [49] Fuh MR, Huang SY, Lin TY. Determination of residual anabolic steroid in meat by gas chromatography-ion trap-mass spectrometer [J]. *Talanta*, 2004, 64(2): 408–414.
- [50] Blasco C, Van-Poucke C, Van-Peteghem C. Analysis of meat samples for anabolic steroids residues by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1154(1): 230–239.
- [51] Istasse L, Haan Vd, Eenaeme Cv, *et al.* Effects of dexamethazone injections on performances in a pair of monocytotic cattle twins [J]. *J Anim Phys Anim Nutr (Germany, FR)*, 1989, 62(3): 150–158.
- [52] Regulation C. No. 37/2010 of 22 december 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin [J]. *Off J Eur Union L*, 2010, 15: 1–72.
- [53] Kovalik M, Thoday K, Evans H, *et al.* Short-term prednisolone therapy has minimal impact on calcium metabolism in dogs with atopic dermatitis [J]. *Vet J*, 2012, 193(2): 439–442.
- [54] Xia R. Identification of corticosteroids in traditional Chinese medicine by means of TLC method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2008, 28(3): 470–471.
- [55] Valvo L, Paris A, Savella A, *et al.* General high-performance liquid chromatographic procedures for the rapid screening of natural and synthetic corticosteroids [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1994, 12(6): 805–810.
- [56] 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(2): 329–338.
- [57] Grippa E, Santini L, Castellano G, *et al.* Simultaneous determination of hydrocortisone, dexamethasone, indomethacin, phenylbutazone and oxyphenbutazone in equine serum by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2000, 738(1): 17–25.
- [58] Hidalgo OH, Lopez MJ, Carazo EA, *et al.* Determination of dexamethasone in urine by gas chromatography with negative chemical ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2003, 788(1): 137–146.
- [59] Volmer DA, Hui JP. Rapid determination of corticosteroids in urine by combined solid phase microextraction/liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 1997, 11(17): 1926–1934.
- [60] Draisci R, Marchiafava C, Palleschi L, *et al.* Accelerated solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation of corticosteroid residues in bovine liver [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 753(2): 217–223.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



李永吉, 主要研究方向为食品检测与食品安全。

E-mail: liyongji0924@126.com



刘畅, 副主任药师, 主要研究方向为食品检测与食品安全。

E-mail: cible@sina.cn