

超高效液相色谱-串联质谱法测定鱼肉中 多种雄性激素和孕激素

李凯华^{1,2}, 肖曼^{1,2}, 张玲^{1,2*}, 张杨^{1,2}, 徐媛原^{1,2}, 林敏霞^{1,2},
张微^{1,2}, 钟仕花^{1,2}, 张兵^{1,2}

(1. 深圳市农产品质量安全检验检测中心, 深圳 518101;
2. 广东省市场监督管理局食用农产品监管重点实验室, 深圳 518101)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测鱼肉组织中 10 种雄性激素和孕激素的分析方法。**方法** 样品经乙酸铵提取, 乙酸-乙腈再提取, 无水硫酸钠吸水, QuEChERS 净化, 经 C₁₈ 柱分离后进行 UPLC-MS/MS 选择电喷雾 ESI 正离子模式多反应监测模式下定量分析。**结果** 线性范围在 0.4~8.0 μg/kg, 相关系数达到 0.99 以上, 10 种激素的检出限在 0.0100~0.200 μg/kg 之间, 方法的回收率在 77.3%~114.4% 之间, 相对标准偏差在 0.9%~10.3% 之间。**结论** 该方法简单、快速、准确, 且检出限低、回收率高, 适用于鱼肉组织中雄性激素和孕激素的测定。**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱法; 水产品; 雄性激素; 孕激素

Determination of various androgens and progesterones in fish meat by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Kai-Hua^{1,2}, XIAO Man^{1,2}, ZHANG Ling^{1,2*}, ZHANG Yang^{1,2}, XU Yuan-Yuan^{1,2},
LIN Min-Xia^{1,2}, ZHANG Wei^{1,2}, ZHONG Shi-Hua^{1,2}, ZHANG Bing^{1,2}

(1. Agricultural Product Quality Safety Inspection and Testing Center of Shenzhen, Shenzhen 518101, China;
2. Key Laboratory of Edible Agricultural Products Supervision of Guangdong Market Supervision Administration, Shenzhen 518101, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 10 male hormones and progesterone in fish tissue by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** Samples were extracted by ammonium acetate, then extracted with acetic acid and acetonitrile, and after the water absorbed by anhydrous sodium sulfate, the samples were purified by QuEChERS. After separation by C₁₈ column, UPLC-MS/MS was selected for quantitative analysis by electrospray ESI positive ion mode multi-reaction monitoring mode. **Results** The linear range of the experiment was from 0.4 μg/kg to 8.0 μg/kg, the correlation coefficients were above 0.99, the average detection limits of 10 hormones were 0.0100~0.200 μg/kg, the recovery rates of the method were between 77.3% and 114.4%, and the relative standard deviations were between 0.9% and 10.3%. **Conclusion** This method is simple, rapid and accurate, and has low detection limit and high recovery rate, which is suitable for the detection of androgens and progesterones in aquatic products.

*通讯作者: 张玲, 高级工程师, 主要研究方向为农产品质量安全监测信息与分析。E-mail: zhangling923@163.com

*Corresponding author: ZHANG Ling, Senior Engineer, Agricultural Product Quality Safety Inspection and Testing Center of Shenzhen, Agricultural Science and Technology Building, No. 1085, Xili Chagguang Road, Nanshan district, Shenzhen 518101, China. E-mail: zhangling923@163.com

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; aquatic products; androgen; progesterone

1 引言

天然雄性激素的生理学作用主要是刺激雄性附性器官发育并维持其功能, 刺激雄性附征的出现, 对新陈代谢和中枢系统也有重要作用, 同时对运动力、肌肉力量的增长、消除疲劳也有帮助, 能促进体内蛋白质合成和骨骼的生长^[1]。天然的雄性激素主要有睾酮、雄烯二酮和脱氢表雄酮等^[2]。合成类雄性激素因具有蛋白质同化作用, 可能会作为促生长剂被用于畜牧业以提高经济效益, 如提高饲料转化率, 达到促进动物生长发育、动物同期发情、同步排卵及增加体重和育肥等目的^[3]。合成类雄性激素主要有美雄酮、甲睾酮等^[4]。天然孕激素又称为促孕激素或孕酮, 具有促进雌性附性器官成熟及第 2 性征出现作用, 并维持生殖功能, 孕激素往往在雌激素作用基础上产生效用, 以孕酮为主^[5]。合成类孕激素, 可增强动物的采食量、提高饲料转化率, 可作为促生长剂, 也可促进动物同期排卵等, 常常和孕激素一起使用, 可以很快产生显著经济效益^[6,7], 对水产品生产者有很大吸引力。合成类孕激素主要有甲羟孕酮、炔诺酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮等。这些合成类激素经动物代谢会在动物源性食品中残留, 且常规的食品加工措施较难改变其数量和性质, 可通过食物链进入人体, 长期摄入含合成类激素动物食品会导致健康危害, 使机体代谢紊乱、发育异常和致癌致畸等^[8]。为保障食品安全, 欧盟明确规定禁止使用合成类激素作为养殖动物促生长剂, 美国食品药品监督管理局(Food And Drug Administration, FDA)及许多国家和机构明确规定了该类合成激素不得在动物产品中检出。我国也加强了对动物源性食品中该类合成激素残留的监控和天然激素含量的监测, 农业部公告第 250 号^[9]规定动物养殖环节禁止使用的醋酸美仑孕酮、甲基睾丸酮、群勃龙和玉米赤霉醇等类固醇激素。

目前, 国内外检测该类激素的方法主要有: 酶联免疫法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、液相色谱法(liquid chromatography, LC)、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrography, GC/MS)、液相色谱-质谱联用法(liquid chromatography coupled with mass spectrometry, LC-MS)、超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)和气相色谱/燃烧炉/同位素比值质谱法(gas chromatography/furnace/isotope ratio mass spectrometry, GC/C/IRMS)等^[10-17]。其中, 液相色谱-串联质

谱法是检测该类激素应用较广泛的方法。动物源性食品基质复杂, 文献报道的检测方法大多检测周期长, 样品前处理过程繁琐, 基质效应严重, 甚至需要衍生化处理等, 这给目标物的快速定性、准确定量检测带来较大困扰。本研究对样品前处理方法和质谱条件进行优化, 建立具有高灵敏度、高选择性的 UPLC-MS/MS 法, 以期有效避免基质效应等问题, 为水产品中雄性激素和孕激素含量或残留监控提供快速、准确可靠的定性和定量技术。

2 材料与方 法

2.1 试剂与仪器

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国默克股份公司); 乙酸铵(色谱级, $\geq 99.0\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 无水硫酸钠(分析纯, 广州化学试剂厂); 氨水(优级纯, $25\% \sim 28\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 甲酸[色谱纯 97% , 阿法埃莎(中国)化学有限公司]; 滤膜($0.22 \mu\text{m}$, 紫色, 上海安谱实验科技股份有限公司); QuEChERS 净化剂(100 mg PSA , 40 mg C_{18} , 上海安谱实验科技股份有限公司); 超纯水; $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜(津腾尼龙膜)。

美雄酮(1.0 mg/mL , 美国 Cerilliant 公司); 雄烯二酮(纯度 99.34% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 睾酮(纯度 99.28% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 甲睾酮(纯度 97.9% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 孕酮(纯度 99.56% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 甲羟孕酮(纯度 99.21% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 炔诺酮(纯度 98.0% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 17α -羟基孕酮(纯度 99.4% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 乙酸甲地孕酮(纯度 98.89% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 乙酸氯地孕酮(纯度 95.28% , 德国 DrEhrenstorfer 公司); 睾酮- 13C_2 [(100 ± 0.5) $\mu\text{g/mL}$, 美国 Cerilliant 公司]; 甲睾酮-D3[纯度(99.0 ± 0.2)%, 德国 Witega 公司]; 美仑孕酮-D3(纯度 94.4% ; 法国 First 公司); 甲羟孕酮-D3($100 \mu\text{g/mL}$, 北京 Bepure 公司); 甲地孕酮乙酸酯-D3(纯度 99.4% , 北京 Bepure 公司); 孕酮-D9(纯度 99.0% , 加拿大 C.D.N 公司); 炔诺酮- 13C_2 (纯度 98.0% , 法国 First 公司)。

Agilent 1290 超高效液相色谱仪, 配有电喷雾(ESI)离子源的 AB Sciex Triple Quad TM 5500 质谱仪(美国 AB Sciex 公司); OA-SYS 水浴氮吹仪(美国 Organomation 公司); BSA2202S-CW 型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; AS 30600BDT 超声波清洗仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); MTV-100 型多管旋涡混合仪(杭州奥盛仪器有限公司); 3-30ks 高速离心机(德国 Sigma 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品处理

(1) 制样

取鱼肉可食肌肉部分,切成不大于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的小块,充分匀浆,备用。

(2) 样品的水解和提取

准确称取匀浆鱼肉样品 2.00 g 于 50 mL 具螺旋盖聚丙烯离心管中,准确加入 100 μg/L 混合内标工作溶液 20 μL 蜗旋混合 50 s,再加入 8 mL 乙酸铵缓冲液(0.2 mol/L,用冰乙酸调节溶液 pH 值到 5.2),用多管旋涡混合仪 2500 r/min,蜗旋振荡 5 min 后,室温静置 30 min。加入 10 mL 1%乙酸-乙腈溶液,5.0 g 无水硫酸钠,蜗旋混合 1 min,以 8000 r/min 转速离心 5 min,收集上清液于另一个干净的 50 mL 具螺旋盖聚丙烯离心管中。剩余部分重新加入 10 mL 1%乙酸-乙腈溶液,蜗旋混合 1 min,以 8000 r/min 转速离心 5 min,合并 2 次提取有机相,待净化。

(3) 样品净化

一次性全部将 QuEChERS 净化剂加入上述提取液中,旋紧螺旋盖,高速蜗旋 1 min,以 8000 r/min 转速离心 5 min。吸取所有有机相溶液,于 40 °C 水浴氮吹至近干。准确加入 1.0 mL 10%乙腈-水溶液溶解残渣,蜗旋振荡溶解残留物(用多管旋涡混合仪 2000 r/min,蜗旋振荡 1 min),0.22 μm 滤膜过滤棕色玻璃进样瓶,待测。

2.2.2 仪器条件

(1) 色谱条件

色谱柱: BEH C₁₈ 色谱柱(3.0 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: A 为含 0.2%甲酸的水溶液, B 为甲醇; 流速: 0.40 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样量: 2 μL; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution programs of mobile phase

时间/min	流量/(mL/min)	A/%	B/%
0	0.4	95	5
1.00	0.4	95	5
2.00	0.4	60	40
4.00	0.4	10	90
8.00	0.4	10	90
8.10	0.4	95	5
12.0	0.4	95	5

(2) 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 电喷雾电压: 5.5 kV; 离子源温度: 550 °C; 气帘气压力: 35.0 psi; 碰撞气压力: 9 psi; 雾化器压力: 55.0 psi; 辅助加热器压力: 55.0 psi。以子母离子的保留时间和丰度比定性,以峰面积定量。定性离子对、定量离子对、锥孔电压及碰撞能量参数见表 2。

2.2.3 标准工作曲线

向已知草鱼阴性匀浆样品中分别添加浓度为 0.400、0.800、1.60、4.00、8.00 μg/L 的美雄酮、雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、炔诺酮、17α-羟基孕酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮标准工作液,按照 2.2.1 样品处理方法测定,以标准工作液质量浓度为横坐标,标准工作液响应值为纵坐标,制作标准工作曲线。

2.2.4 加标回收实验

向经过 2.2.1 处理的匀浆草鱼阴性样品中分别添加 80、160 μL 浓度为 10 μg/L 以及 80 μL 浓度为 100 μg/L 的雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、17α-羟基孕酮标准溶液(0.40、0.80、4.00 μg/kg 浓度水平),添加 20、40、100 μL 浓度为 100 μg/L 的美雄酮、炔诺酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮标准溶液(1.00、2.00、5.00 μg/kg 浓度水平),按照 2.2.1 样品处理方法测定,平行测定 6 次,并计算检出限、精密度和回收率。

3 结果与分析

3.1 标准曲线

以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标,按照 2.2.3 处理的基质添加标准溶液的浓度为横坐标,绘制标准曲线,标准曲线回归方程和相关系数(见表 3),在 0.4~8.0 μg/kg 浓度范围内线性关系良好,相关系数 r 均大于 0.99。

3.2 检出限

以空白草鱼样品为基质,做 6 个平行添加试验,雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、17α-羟基孕酮标准工作液的阳性添加浓度为 0.400 μg/kg,美雄酮、炔诺酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮阳性添加浓度为 1.00 μg/kg,按照上述样品前处理方法全过程进行预处理和测定,平行样本 $n=6$ 。根据各样本检测值计算检出限,根据 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》^[19] 确认检出限的方法,采用信噪比法评估检出限,即利用已知低浓度的分析物样品和空白样品的测量信号进行比较,确定能够可靠检出的最小的浓度,典型的可接受信噪比是 2:1 或 3:1,本次采用检出限公式为 $MDL=(3\times C)/(S/N)$,美雄酮、雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、炔诺酮、17α-羟基孕酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮检出限分别为 0.0168、0.033、0.020、0.041、0.031、0.057、0.066、0.037、0.090、0.106 μg/kg。

3.3 回收率和精密度

用空白草鱼基质样品分别对雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、17α-羟基孕酮进行 0.400、0.800、4.00 μg/kg,对美雄酮、炔诺酮、乙酸甲地孕酮、乙酸氯地孕酮进行 1.00、2.00、5.00 μg/kg 3 水平添加回收实验,每个水平取 6 个平行样,按 2.2.1 中的方法进行样品处理,供液相色谱串联质谱测定。其平均回收率和相对标准偏差结果见表 4。加标

回收率在 77.3%~114.4%之间, 相对标准偏差最大为 10.3%, 满足国标对兽药残留检测方法的要求。

3.4 实际样品检测

对于 2019 年 7 月 1 日至 30 日从本地市场采回的 10 批次的水产品样品, 共计 50 份, 主要包括草鱼、鲫鱼、福寿鱼、生鱼和鲈鱼等鲜活水产品种, 按照上述方法处理和检测, 均未检出 10 种激素。

4 讨论

4.1 优化提取净化方法

本研究采用乙腈作为提取剂, QuEChERS 净化剂进行二次净化。参照文献^[18], 用乙腈作为提取剂, 能有效提取目标物, 并使基质中蛋白质沉淀, 从而有效去除部分基质效应。QuEChERS 净化在农残、兽残得到广泛利用, 本实验用 QuEChERS 净化剂含有 100 mg PSA, 40 mg C₁₈。PSA 能去除基质中的色素和糖类物质, 而 C₁₈ 具有优秀的除脂功能。为防止基质中的水分影响, 在提取后, 加入无水硫酸钠, 有效去除提取液中的水分。

4.2 内标法优势

本实验采用内标法来进行准确定量, 相比外标法, 内标法的优势显著, 测定的结果较为准确, 由于是通过测量内标物及被测组分的峰面积的相对值来进行计算的, 因而在一定程度上消除了操作条件等的变化所引起的误差。操作过程中样品和内标是混合在一起注入色谱柱, 因此只要混合溶液中被测组分与内标的量的比值恒定, 上样体积的变化不会影响定量结果。同时内标法也有效消除了上样体积、流动相和检测器差异因素的影响。

4.3 基质效应

本实验采用了草鱼基质, 样品基质效应相对小。对于脂肪含量较高的基质, 如大西洋鲑鱼、黄鱼等, 可以考虑在提取过程中增加正己烷进行除脂净化的步骤, 以减少基质效应对检测结果产生的影响。

表 2 10 种雄性激素和孕激素及其内标物质质谱参数
Table 2 Mass spectrum parameters of 10 androgens, progesterone and their internal standard substances

待测物	质荷比(m/z)		锥孔电压/V	碰撞能量/V
	母离子	子离子		
美雄酮	301.0	149.1*	60	26
		120.7	60	26
雄烯二酮	287.2	97.0*	170	25
		109.1	170	25
睾酮	289.3	96.9*	80	30
		108.9	80	30
甲睾酮	303.5	109.1*	130	30
		97.1	130	30
孕酮	315.4	97.1*	160	27
		297.3	160	21
甲羟孕酮	345.8	123.1*	80	30
		97.1	80	30
炔诺酮	299.2	109.1*	160	35
		231.2	160	25
17a-羟基孕酮	331.3	97.0*	160	32
		109.2	160	78
乙酸甲地孕酮	385.5	267.3*	80	20
		325.6	80	20
乙酸氯地孕酮	405.3	345.2*	120	17
		309.3	120	23
睾酮-13C ₂	292.4	112.1	100	33
甲睾酮-D3	306.4	109.4	130	47
美仑孕酮-D3	399.3	339.4	50	18
甲羟孕酮-D3	348.5	126.1	80	35
甲地孕酮乙酸酯-D3	388.4	267.4	75	25
孕酮-D9	324.6	100.0	80	20
炔诺酮-13C ₂	301.3	231.3	130	25

注: 带*为定量离子。

表 3 10 种雄性激素和孕激素线性方程、相关系数和检出限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients and limits of detection of 10 kinds of androgens and progesterones

化合物	线性方程	相关系数 r	检出限/(×10 ⁻¹ μg/kg)
美雄酮	Y=1.13013X+4.46819	0.99894	1.68
雄烯二酮	Y=6.98246X+17.12821	0.99706	0.33
睾酮	Y=5.58744X+12.36995	0.99704	0.20
甲睾酮	Y=0.67816X+0.11547	0.99999	0.41
孕酮	Y=2.55885X+1.16272	0.99689	0.31
甲羟孕酮	Y=0.04400X-0.03390	0.99867	0.57
炔诺酮	Y=0.31999X+0.01116	0.99629	0.66
17a-羟基孕酮	Y=0.34006X-0.01554	0.99967	0.37
乙酸甲地孕酮	Y=0.16310X+0.00899	0.99998	0.90
乙酸氯地孕酮	Y=0.13867X+0.10787	0.99998	1.06

表 4 加标回收和精密度实验结果($n=6$)
Table 4 Standard addition recovery and precision test results($n=6$)

化合物	添加浓度/(ng/mL)	测定平均值/(ng/mL)	回收率/%	相对标准偏差/%
美雄酮	1.00	1.04	104.1	8.2
	2.00	1.99	99.4	5.6
	5.00	5.05	100.9	2.4
雄烯二酮	0.400	0.326	81.5	10.3
	0.800	0.651	81.3	7.7
	4.00	3.09	77.3	6.2
睾酮	0.400	0.383	95.8	4.1
	0.800	0.799	99.9	0.9
	4.00	3.94	98.5	1.7
甲睾酮	0.400	0.367	91.9	2.6
	0.800	0.743	92.9	4.7
	4.00	3.45	86.4	3.1
孕酮	0.400	0.350	87.6	9.1
	0.800	0.755	94.4	4.8
	4.00	3.59	89.9	5.9
甲羟孕酮	0.400	0.429	107.2	5.0
	0.800	0.901	112.6	3.4
	4.00	4.56	114.0	2.8
炔诺酮	1.00	1.13	113.0	2.6
	2.00	2.26	113.2	3.3
	5.00	5.72	114.4	2.3
17 α -羟基孕酮	0.400	0.384	95.9	9.5
	0.800	0.782	97.8	8.3
	4.00	4.32	108.0	7.4
乙酸甲地孕酮	1.00	1.05	104.9	3.3
	2.00	2.08	104.2	3.9
	5.00	5.18	103.6	1.2
乙酸氯地孕酮	1.00	0.968	96.8	1.0
	2.00	1.91	95.4	3.4
	5.00	4.79	95.8	2.8

5 结 论

本研究建立了 UPLC-MS/MS 测定鱼肉中美雄酮、雄烯二酮、睾酮、甲睾酮、孕酮、甲羟孕酮、炔诺酮、17 α -羟基孕酮、乙酸甲地孕酮和乙酸氯地孕酮共 10 种激素的方法。结果表明,该方法检出限低、回收率高且稳定、灵敏度高。通过优化实验过程及仪器参数,该方法简单、快捷、易操作,可大幅缩短检测时间和节约人力物力,能有效消除基质干扰,适用于鱼肉中 10 种激素的准确定性和定量检测。

参考文献

- [1] 贺利民, 黄显会, 方炳虎, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物肌肉组织和鸡蛋中残留的 11 种甾体激素类药物[J]. 色谱, 2008, (6): 714-719.
- [2] He LM, Huang XH, Fang BH, *et al.* Determination of 11 steroid hormones in animal muscle tissues and eggs by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, (6): 714-719.
- [3] 张昱, 余德河, 胥传来, 等. 动物源食品中激素及其代谢物残留检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 618-621.
- [4] Zhang Y, Yu DH, Xu CL, *et al.* Progress in the detection of hormone and metabolite residues in animal-derived foods [J]. *Food Sci*, 2008, 29(8): 618-621.
- [5] 徐美奕, 方富永, 蔡琼珍, 等. RIA 法检测湛江海域军曹鱼体内生长激素及类固醇激素的残留[J]. 海洋环境科学, 2008, (4): 77-79.
- [6] Xu MY, Fang FY, Cai QZ, *et al.* Detection of growth hormone and steroid hormone residues in sea fishes of zhanjiang by RIA method [J]. *Marine*

- Environ Sci, 2008, (4): 77-79.
- [4] 祝璟琳, 邹芝英, 杨弘, 等. 甲基睾酮在尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肌肉中的代谢和消除规律研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(5): 1016-1022.
- Zhu JL, Zou ZY, Yang H, *et al.* Study on the metabolism and elimination of methyl testosterone in the muscle of *Oreochromis niloticus* [J]. Ocean Lacustr, 2012, 43(5): 1016-1022.
- [5] 江洁, 林洪, 付晓婷, 等. 水产品中多种激素残留测定的高效液相色谱法[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(6): 67-71.
- Jiang J, Lin H, Fu XT, *et al.* Determination of various hormone residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. Marine Fish Res, 2007, 28(6): 67-71.
- [6] 王凌云, 李洁珍, 黎敏, 等. 高效液相色谱法测定水产品中 4 种雌激素的残留量[J]. 化学分析计量, 2005, 14(4): 38-40.
- Wang LY, Li JZ, Li M, *et al.* HPLC determination of the residues of four kinds of estrogen in aquatic products [J]. Chem Anal Measur, 2005, 14(4): 38-40.
- [7] 曾礼华, 周安国, 杨凤. 动物生长激素与肉畜生产[J]. 动物营养学报, 1999, (4): 1-8.
- Zeng LH, Zhou AG, Yang F. Animal growth hormone and meat and animal production [J]. Chin J Anim Nutr, 1999, (4): 1-8.
- [8] Maryann D, Chandra M. Tiwary, *et al.* Personal care products that contain estrogens or xenoestrogens may increase breast cancer risk [J]. Med Hypotheses, 2007, 68(4): 756-766.
- [9] 中华人民共和国农业部公告第 250 号[S].
Announcement No. 250 by the ministry of agriculture and agriculture of the People's Republic of China [S].
- [10] 陈君慧, 路勇, 冯楠, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动肌肉组织的 14 种激素[J]. 食品工业科技, 2013, 34(8): 74-79.
- Chen JH, Lu Y, Feng N, *et al.* Determination of 14 hormones in dynamic muscle tissue by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34(8): 74-79.
- [11] 班付国, 陈蕾, 宋志超, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中群勃龙残留方法研究[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(10): 46-50.
- Ban FG, Chen Q, Song ZC, *et al.* Determination of trenbolone residues in aquatic products by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Veter Med, 2010, 44(10): 46-50.
- [12] 邹红梅, 左舜宇, 黄东仁, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中雄激素和糖皮质激素残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(2): 47-52.
- Zou HM, Zuo SY, Huang DY, *et al.* Simultaneous determination of androgen and glucocorticoid residues in aquatic products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Fish Qual Standard, 2016, 6(2): 47-52.
- [13] 卢巧梅, 蔡惠坚, 童萍, 等. 液相色谱-串联质谱法分析水产品中多种激素药物残留[C]/第二届全国色谱学术报告会及仪器展览会, 2015.
- Lu QM, Cai HJ, Tong P, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of multiple hormone drug residues in aquatic products [C] // the 20th national chromatographic academic report and instrument exhibition, 2015.
- [14] 任雪冬, 刘成雁, 林雪征, 等. 液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中激素残留所遇到问题的探讨[J]. 理化检验(化学分册), 2011, 47(7): 872-876.
- Ren XD, Liu XY, Lin XZ, *et al.* Discussion on the problems in the detection of hormone residues in food of animal origin by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2011, 47(7): 872-876.
- [15] 陈慧华, 应永飞, 吴平谷, 等. 液相色谱-串联质谱同时测定动物组织中 22 种同化激素[J]. 分析化学, 2009, (2): 26-31.
- Chen HH, Ying YF, Wu PG, *et al.* Simultaneous determination of 22 anabolic hormones in animal tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2009, (2): 26-31.
- [16] 孙俐. 酶联免疫法测定动物源性食品中二苯乙炔类激素残留量[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(6): 93-97.
- Sun L. Enzyme-linked immunoassay for the determination of residues of stilbenes hormones in animal-derived foods [J]. Food Res Dev, 2008, 29(6): 93-97.
- [17] 邹龙. 气相色谱质谱联用技术对水产品中激素多残留检测的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- Zou L. Detection of multiple residues of hormones in aquatic products by gas chromatography-mass spectrometry [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008.
- [18] 李诗言, 王扬, 周凡, 等. 新型 QuEChERS 方法结合高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱法快速测定鱼肉中 14 种激素[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, (6): 59.
- Li SY, Wang Y, Zhou F, *et al.* Simultaneous determination of fourteen hormones in fish meat by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with novel QuEChERS method [J]. China Fish Qual Standard, 2016, (6): 59.
- [19] GB/T 27417-2017 合格评定 化学分析方法确认和验证指南[S].
GB/T 27417-2017 Guidelines for the validation and verification of chemical analysis methods for conformity assessment [S].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



李凯华, 检验员, 主要研究方向为水产品检测分析。

E-mail: ovein@126.com



张 玲, 高级工程师, 主要研究方向为农产品质量安全监测信息与分析。

E-mail: zhangling923@163.com