

动物性食品中雌激素检测方法研究进展

王慎苓¹, 连玉晶², 衣恒磊³, 刘大程⁴, 张禧庆⁵, 郑振佳^{1*}

(1. 山东农业大学食品科学与工程学院, 山东省高校食品加工技术与质量控制重点实验室, 泰安 271018;
2. 山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 济南 250100; 3. 莱阳市动物疫病预防与控制中心, 烟台
264000; 4. 莱阳市河洛镇畜牧兽医站, 烟台 264000; 5. 龙大食品集团有限公司, 烟台 265231)

摘要: 雌激素作为典型的内分泌干扰物, 可在动物体内蓄积, 并通过食物链传递进入人体, 引起发育、生殖、行为等方面的异常变化, 严重危害人体健康。鉴于雌激素的危害性以及动物性食品中的普遍存在性, 精确分析动物食品中雌激素含量可以有效评估食品安全风险, 对保障消费者的安全至关重要。因此, 建立准确检测动物性食品中雌激素的方法已成为研究热点。本研究综述了近年来国内外动物性食品中雌激素检测的主要方法, 包括高效液相色谱及质谱联用法、气相色谱质谱联用法等传统检测方法, 以及电化学法、免疫法及光谱法等新型检测方法, 并对这些方法进行对比和总结, 以期对雌激素检测方法的进一步发展提供依据和策略。

关键词: 雌激素; 动物性食品; 气相色谱-质谱联用法; 酶联免疫吸附法

Research progress of detection methods of estrogens in animal food

WANG Shen-Ling¹, LIAN Yu-Jing², YI Heng-Lei³, LIU Da-Cheng⁴, ZHANG Xi-Qing⁵,
ZHENG Zhen-Jia^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Key Laboratory of Food Processing Technology and Quality Control in Shandong Province, Taian 271018, China; 2. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 3. Laiyang Animal Disease Prevention and Control Center, Yantai 264000, China; 4. Animal Husbandry and Veterinary Station of Heluo Town, Laiyang City, Yantai 264000, China; 5. Longda Foodstuff Group Co., Ltd, Yantai 265231, China)

ABSTRACT: As a typical endocrine disruptor, estrogen can accumulate in animals and pass into the human body through the food chain, interfere with the anabolism of normal secretions in the body, and cause abnormal changes in development, reproduction, behavior, etc., which seriously endanger human health. In view of the harmfulness of estrogen and its ubiquitous presence in animal foods, accurate analysis of estrogen content in animal foods can effectively assess food safety risks, which is critical to ensuring consumer safety. Therefore, the establishment of the method for accurately detecting estrogen in animal food has become a research hotspot. This paper reviewed the main detection methods of estrogen in animal foods in recent years, including traditional detection methods such as high performance liquid chromatography and mass spectrometry, gas chromatography and mass spectrometry, and new

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1602300)、山东省高等学校青创人才引育计划、泰山产业领军人才工程高效生态农业创新类计划(LJNY201705)、烟台市重点研发计划(2018ZDCX014)、莱阳市新旧动能转换科技创新计划

Fund: Supported by National Key R&D Program (2018YFC1602300), and Incubation Program of Youth Innovation in Shandong Province, and Taishan Industry Leading Talent Project High-efficiency Ecological Agriculture Innovation Program (LJNY201705), and Yantai City Key R&D Program (2018ZDCX014), and Laiyang City New and Old Kinetic Energy Conversion Technology Innovation Plan

***通讯作者:** 郑振佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为农产品精深加工与质量控制。E-mail: zhengzhenjia@sdau.edu.cn

***Corresponding author:** ZHENG Zhen-Jia, Ph.D, Associate Professor, School of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China. E-mail: zhengzhenjia@sdau.edu.cn

detection methods such as electrochemical method, immunoassay and spectrometry, and the comparison and summary of these methods were made, in order to provide a basis and strategy for the further development of estrogen detection methods.

KEY WORDS: estrogens; animal food; gas chromatography mass spectrometry; enzyme linked immunosorbent assay

1 引言

雌激素(estrogens)是一类甾体激素(类固醇类激素),根据来源其可分为内源性雌激素和外源性雌激素^[1]。内源性雌激素主要由机体的卵巢分泌,包括雌酮、雌二醇和雌三醇等雌激素;外源性雌激素主要由生物体从外界环境中摄取得到,并与机体分泌雌激素作用相同,包括炔雌醇、己烯雌酚、双酚 A 等雌激素^[2,3]。雌激素具有促进动物生长、控制动物繁育、提高饲料转化率等作用,被广泛用于畜禽养殖业^[4]。雌激素化学稳定性高,不易降解,可在动物体内蓄积,通过食物链传递而进入人体,干扰内分泌系统,并引起发育、生殖、行为等方面的异常变化^[5-7]。许多国家已禁止在水产、畜禽养殖中使用己烯雌酚;欧盟委员会禁止使用雌激素作为促生长剂用于动物育肥^[8];我国农业部公告 250 号^[9]规定食品动物中禁止使用己烯雌酚、己烯雌酚、己烷雌酚及其盐、酯。

目前,用于检测雌激素的方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-质谱/质谱联用法(liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS)、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法、电化学法等^[10-12]。本研究对国内外检测动物食品中雌激素的传统和新型方法进行了分析和总结,针对当前快速、准确的检测需求,为研究开发灵敏度高、精确度好、抗干扰能力强的检测方法提供新的思路。

2 动物食品中雌激素的样品前处理方法

由于动物性食品中雌激素浓度较低且样品基质复杂,干扰物质多,蛋白质含量高,这些因素增加了样品前处理方法的难度,容易影响检测结果的准确性^[13-15]。因此,在色谱和/或质谱分析之前对动物性样品进行富集和纯化是非常必要的^[16]。常用的技术有固相萃取(solid phase extraction, SPE)、磁性固相萃取(magnetic solid phase extraction, MSPE)、固相微萃取、QuEChERS 等^[17-21]。近年来越来越多的新型材料如碳纳米管、分子印迹聚合物、共价有机骨架材料、金属有机框架材料被用作吸附剂用于提取目标分析物^[22-25]。

在传统样品前处理技术基础上进行改进也是样品前处理优化的研究内容之一。基于肉类样品基质成分复杂及

雌激素亲脂性的特点, Xiong 等^[26]采用 MSPE 对传统的 QuEChERS 方法进行了改进,合成了双十八烷基和 2-氨基乙基-3-氨基丙基功能化磁性介孔二氧化硅核壳纳米颗粒($C_{18}/NH_2-Fe_3O_4@mSiO_2$ MNPs)并将其用作 MSPE 吸附剂,对猪肉和鸡肉中的雌酮、雌二醇等 11 种雌激素和雌激素模拟物进行了萃取纯化,该法具有显著的水相容性和更高的萃取效率;Hu 等^[27]利用溶胶-凝胶法制备了聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)/ β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)/二乙烯苯(divinylbenzene, DVB)涂层搅拌棒,对猪肉和鸡肉中的 4 种雌激素进行了搅拌棒吸附萃取(stir bar sorptive extraction, SBSE),PDMS/ β -CD/DVB 涂层搅拌棒达到萃取平衡的时间(20 min)比 PDMS/ β -CD 涂层搅拌棒(40 min)和商用 PDMS 涂层搅拌棒(2 h)短得多,并且雌激素的萃取效率显著提高。针对乳制品中脂肪、蛋白质含量高及雌激素含量低的特点,Yuan 等^[28]开发了新型吸管尖端固相萃取设备(pipette-tip solid phase extraction, PT-SPE),制备了具有三维蓬松结构的石墨烯/MWCNT 复合纳米材料并将其作为吸附剂,该研究将石墨烯/MWCNTs 优异的吸附性能与 PT-SPE 技术操作简单的特点相结合,利用高效液相色谱-荧光检测器(high performance liquid chromatography-fluorescence detection, HPLC-FLD),建立了一种简便、快速、准确、灵敏的乳制品中雌二醇的测定方法。

3 雌激素的传统检测方法

对于基质复杂的动物源性食品来说,应用较为广泛的传统/标准检测方法主要为 HPLC、LC-MS/MS 及 GC-MS 等。

3.1 高效液相色谱及质谱联用法

采用液相色谱法在样品前处理后无需对雌激素进行衍生,可直接进行测定,分析过程易于与各种前处理方法相结合,在雌激素检测中应用广泛^[29]。Wang 等^[30]建立了液相色谱-荧光检测器(LC-FLD)测定牛奶样品中雌二醇残留的检测方法,激发波长为 280 nm,发射波长为 310 nm,该方法线性范围为 25 ~ 1000 ng/L,雌二醇检测限为 6.0 ng/L,回收率为 95.4% ~ 107.0%,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs) $\leq 3.1\%$ ($n=3$),该方法具有较高的灵敏度和精确度且回收率良好;Lu 等^[31]采用 SPE-HPLC 法对奶粉和草鱼样品中的雌激素残留进行检测,

方法的线性范围为 0.1 ~ 200 $\mu\text{g/L}$, 检测限为 0.09 ~ 0.18 $\mu\text{g/L}$, 回收率分别为 86.4% ~ 101.2% 和 86.7% ~ 99.5%, RSDs 分别为 2.8% ~ 4.0% 和 2.8% ~ 4.3%; 郭迅依等^[32]采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-diode array detector, HPLC-DAD)检测牛肉中 6 种雌激素残留, 该方法的线性范围为 2 ~ 5000 $\mu\text{g/L}$, 检测限为 0.1 ~ 0.8 $\mu\text{g/L}$, 加标回收率为 79.1% ~ 118%, RSDs 为 4.9% ~ 10.5%, 所建立方法线性范围广, 灵敏度高, 对于检测肉类样品中的雌激素具有良好应用前景。

基于雌激素的痕量水平, 为提高检测结果的灵敏度可使用串联质谱 MS/MS 的 SRM 或 MRM 模式进行检测。运用 LC-MS/MS 检测雌激素残留已得到广泛认可。Gao 等^[33]采用 LC-MS/MS 技术检测牛奶样品中的雌激素, 方法的线性范围为 0.4 ~ 40 ng/mL , 检测限为 5.1 ~ 66.7 ng/L , 回收率为 83.4% ~ 108.5%, RSDs 为 4.2% ~ 15.4%。该方法快速、简便、准确、灵敏, 适用于动物性食品中痕量、超痕量雌激素的检测; Tang 等^[34]采用高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS/MS)检测牛奶中 7 种雌激素, 该方法在 2 ~ 500 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 检测限为 0.10 ~ 0.35 $\mu\text{g/L}$, 7 种雌激素的加标回收率为 88.9% ~ 102.3%, RSDs 为 0.8% ~ 4.5%。结果表明, 该方法对牛奶等复杂基质样品中微量雌激素的定期监测是有效和可靠的; 刘素琴等^[35]建立了 SPE-UPLC-MS/MS 方法检测蜂蜜中的 6 种雌激素, 方法线性范围为 2.0 ~ 50.0 $\mu\text{g/L}$, 检测限为 0.04 ~ 0.19 $\mu\text{g/kg}$, 回收率为 78.5% ~ 112.9%, RSDs 为 0.66% ~ 8.9%。UPLC-MS/MS 方法灵敏、准确, 适用于动物性食品中痕量或超痕量雌激素的检测。

3.2 气相色谱-串联质谱法

GC-MS 分析要求目标分析物需具有一定的挥发性和热稳定性, 雌激素对热稳定, 但不易挥发, 需要对其进行衍生化处理以增加挥发性^[36]。Wolecki 等^[37]采用 GC-MS 技术测定贻贝中的雌酮等 3 种雌激素, 采用 1% 三甲基氯硅烷(trimethyl chlorosilane, TMCS)与 N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺[bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide, BSTFA] (1:1, *V:V*)吡啶溶液进行衍生化反应, 该方法检测限为 1 ~ 7 ng/g , 回收率为 90% ~ 118%, RSDs 为 0.24% ~ 9.82%。衍生化后各组分分离程度提高, 易于分析, 灵敏度提高; Matraszek-Zuchowska 等^[38]建立了 GC-MS 测定生牛乳和奶粉样品中雌激素含量的方法, 样品进行乙醚液-液萃取和 C_{18} 固相萃取纯化, 采用七氟丁酸酐(heptafluorobutyric anhydride, HFBA)进行衍生化反应, 该方法中雌激素的线性范围为 0.19 ~ 5 $\mu\text{g/L}$ ($\mu\text{g/kg}$), 检测限为 0.33 ~ 0.75 $\mu\text{g/L}$ ($\mu\text{g/kg}$), 回收率为 68.4% ~ 115.8%, RSDs 为 8.2% ~ 34.4%, 该方法已被认可, 并成功应用于商业牛奶样品中雌激素残留的筛选检测; Azzouz 等^[39]利用含 1% TMCS 的 BSTFA 作衍生试剂, 建立了测定鸡蛋和蜂蜜食品中雌激素的

GC-MS 法。该方法线性范围为 8.5 ~ 10000 ng/kg , 检测限为 2.6 ~ 3.3 ng/kg , 回收率为 90% ~ 102%, RSDs 小于 6.3%, 所建立方法基质干扰小、准确灵敏、精密度高; 王丹华等^[40]建立了 GC-MS 检测养殖虾中 5 种雌激素残留的分析方法。通过加速溶剂萃取仪进行样品前处理, 经衍生化试剂 TMCS-N-甲基-N-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(MSTFA)(1:99, *V:V*)进行衍生反应。该方法在 0.01 ~ 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈良好线性关系, 检测限为 0.09 ~ 0.14 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率为 80.6% ~ 93.9%, RSDs 为 1.67% ~ 4.72%, 该方法灵敏度与精密度高, 操作简单, 适用于检测养殖虾中雌激素残留。采用 GC-MS 方法专一性好, 灵敏度高, 检测限低, 但衍生步骤繁琐且难以控制, 反应条件也较苛刻。

4 雌激素的新型检测方法

除色谱技术外, 电化学法、免疫法、光谱法等新技术也已经开发和应用。

4.1 电化学法

电化学分析法是在给定电压下, 目标分析物在电极上进行氧化还原反应而产生电流, 采用电化学分析仪器通过测定所产生的电流从而对目标分析物进行定量分析^[41]。Özcan 等^[42]制备了半胱胺自组装金纳米粒子修饰气相二氧化硅石墨烯纳米带复合材料, 所制备电极通过显著提高氧化峰电流增强了雌二醇的电化学行为。该方法在 0.1 ~ 5.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内呈线性关系, 检测限为 0.0074 $\mu\text{mol/L}$, 回收率为 106.62% ~ 110.36%, RSDs 为 2.89%; Li 等^[43]合成了钯(Pd)修饰的 N 掺杂还原氧化石墨烯(Pd/N-RGO)用于雌二醇传感的电催化剂, 其综合了 N-RGO 薄膜的大比表面积和 Pd 纳米粒子良好的电子转移效率等优点, 传感器对雌二醇氧化具有良好的电催化活性。所建立方法线性范围为 0.1 ~ 2 和 2 ~ 400 $\mu\text{mol/L}$, 检测限为 1.8 nmol/L 。该传感器成功用于牛奶样品中雌二醇的检测, 回收率为 96.0% ~ 103.9%, RSDs 小于 5.0%; 唐录华等^[44]通过电聚合法成功制备了己烯雌酚分子印迹电化学传感器, 将其应用于纯牛奶、猪肉、鲜虾、鸡蛋等动物食品中己烯雌酚的快速检测, 该方法线性范围为 1.0×10^{-9} ~ 1.0×10^{-5} mol/L , 检测限为 3.3×10^{-10} mol/L , 加标回收率为 83.46% ~ 98.21%, RSDs 小于 3.74%, 稳定性好、快速灵敏, 具有重要应用价值。

与传统检测方法相比, 利用电化学分析法检测雌激素不需要复杂的样品前处理, 具有简便、快速、经济且灵敏度高等优点。但该方法存在难以消除动物性样品中干扰物影响的缺点。因此, 研究开发新型的电极修饰材料, 以减少或者消除干扰, 并在不同样品中验证所建立方法的通用性, 有望可以代替 GC-MS、HPLC-MS 等传统方法。

表 1 动物性食品中雌激素残留的检测方法
Table 1 Detection methods of estrogen residue in animal food

样品基质	检测方法	检测限	回收率	参考文献
牛奶	LC-FLD	6.0 ng/L	95.4% ~ 107.0%	[29]
牛肉	HPLC-DAD	0.1 ~ 0.8 μg/L	79.1% ~ 118%	[31]
牛奶	LC-MS/MS	5.1 ~ 66.7 ng/L	83.4% ~ 108.5%	[32]
牛奶	HPLC-MS/MS	0.10 ~ 0.35 μg/L	88.9% ~ 102.3%	[33]
蜂蜜	UPLC-MS/MS	0.04 ~ 0.19 μg/kg	78.5% ~ 112.9%	[34]
贻贝	GC-MS	1 ~ 7 μg/kg	90.0% ~ 118.0%	[36]
鸡蛋、蜂蜜	GC-MS	2.6 ~ 3.3 ng/kg	90.0% ~ 102.0%	[38]
虾	GC-MS	0.09 ~ 0.14 μg/kg	80.6% ~ 93.9%	[39]
牛奶	电化学法	1.8 nmol/L	96.0% ~ 103.9%	[42]
纯牛奶、猪肉、鲜虾、鸡蛋	电化学法	3.3×10^{-10} mol/L	83.5% ~ 98.2%	[43]
牛奶	ELISA	0.149 ~ 3.27 μg/L	95.0% ~ 115.2%	[44]
猪肉、鱼肉、牛奶	荧光免疫层析法	0.4684 μg/L	90.4% ~ 93.3%	[46]
牛奶	荧光免疫层析法	2.75 μg/L	88.9% ~ 103.5%	[48]
鸭肉	SERS	0.5 mg/L	83.4% ~ 133.4%	[49]

4.2 免疫法

4.2.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 是在抗体与抗原之间高特异性的免疫学反应和酶催化反应的共同作用下, 对目标分析物进行快速检测的技术。ELISA 灵敏度高、成本较低、操作简单且不需要大型仪器设备, 适用于大批量样品的现场快速检测。梁祖培等^[45]采用生物素化单克隆抗体代替常规的酶标记抗体, 结合亲和素-酶结合物, 通过放大反应信号提高方法的灵敏度, 该方法的线性检测范围为 0.149 ~ 3.27 ng/mL, 半抑制浓度 (50% inhibiting concentration, IC_{50}) 为 0.689 ng/mL, 加标回收率为 95.0% ~ 115.2%。白宇等^[46]建立了间接竞争酶联免疫法检测雌二醇含量的方法, 通过优化一抗孵育时间等参数制备得到特异性高的雌二醇单克隆抗体, 与乙炔雌二醇、雌三醇的交叉反应率分别为 0.25% 和 0.31%, 该方法线性范围为 0.202 ~ 13.281 ng/mL, IC_{50} 为 1.636 ng/mL。

酶联免疫吸附法检测动物性食品中雌激素残留的主要优点是灵敏度高、操作简便快速、成本低、不需要昂贵的仪器设备。但特异性较低, 容易发生交叉反应, 难以进行多组分的同时检测, 因此未成为雌激素标准检测方法。该方法需要继续研究开发新型酶制剂以检测多组分物质、新型重组抗原以增强免疫原性、结合其他检测技术以提高雌激素检测效率。

4.2.2 荧光免疫层析法

荧光免疫层析法是基于发光材料标记抗体或抗原的

检测方法, 在动物性食品中雌激素的检测方面得到广泛关注。李静宇^[47]将荧光胶乳粒子作为示踪物, 与抗己烯雌酚抗体共价偶联成为荧光标记抗体, 建立了荧光定量免疫层析检测平台快速检测猪肉、鱼肉、牛奶中己烯雌酚残留。该方法检测限为 0.4684 μg/L, 加标回收率为 90.39% ~ 93.25%, 与双烯雌酚、雌二醇等交叉反应率均小于 0.1%。该方法可在 15 min 内完成检测, 适合于高效快速筛选大量样品; 王瑜等^[48]以醛基修饰的上转换纳米颗粒 (UCNPs)-NaYF₄ 作为载体, 在颗粒表面标记己烯雌酚单克隆抗体, 制备得到新型荧光探针, 通过上转换免疫层析试纸检测牛奶中己烯雌酚残留, 检测限为 20.84 ng/mL, 线性范围为 25 ~ 10000 ng/mL, 加标回收率为 90.1% ~ 115.2%, RSDs < 5.0%, 样品检测时间为 15 min; 姜会聪等^[49]采用上转换发光材料偶联雌二醇单克隆抗体作为荧光信号探针建立了上转换免疫层析技术快速定量检测牛奶样品中雌二醇的方法, 该方法检测限为 2.75 ng/mL, 线性范围为 5 ~ 2000 ng/mL, 加标回收率为 88.9% ~ 103.5%, 且变异系数小于 10%, 该方法检测特异性良好、灵敏度高、检测速度快, 可在 15 min 内完成检测。

荧光免疫层析法可实现高效快速定量检测动物性食品中雌激素, 但具有容易受到食品基质干扰的缺点。目前, 该方法主要应用于病原菌和核酸类物质检测, 食品安全的现场检测方面应用较少, 可以针对现场定量、功能化、智能化的快速检测体系, 实现该方法在食品安全检测方面的广泛应用。

4.3 光谱法

表面增强拉曼光谱法 (surface-enhanced Raman scattering, SERS) 是在普通拉曼光谱和表面增强技术的基础上发展起来的新型光谱分析技术, 具有受水和荧光干扰小、稳定性强、方便快捷等特点。陶进江等^[50]采用增强基底 SERS 建立了快速测定鸭肉样品中己烯雌酚残留的方法, 最低检测浓度为 0.5 mg/L, 加标回收率为 83.4%~133.4%, 结果表明该方法可用于鸭肉中己烯雌酚残留量的快速检测; Han 等^[51]提出了一种基于表面增强拉曼散射 (surface-enhanced resonance Raman scattering, SERRS) 快速检测婴儿奶粉等样品中痕量雌激素的方法, 雌激素通过与重氮离子的偶联反应转变为偶氮染料, 显著提高了被测物的 SERRS 活性, 实现雌激素的多重检测, 该方法的检测限为 0.1 μg/kg, 与使用质谱和基于表面等离子共振的方法报告的最低值相当。该技术具有简单快速、灵敏度高、选择性好等优点, 在食品和环境安全控制中具有广阔的应用前景。

利用拉曼光谱法检测动物性食品中雌激素残留具有快速、简单、不破坏样品等优点, 将该方法与信号放大相结合, 可以有效地改善检测信号微弱和检测范围狭窄的局限性。

表 1 总结了传统色谱法与新型方法在检测动物性食品中雌激素残留方面的应用对比。

5 结论与展望

本研究对近年来国内外动物性食品中雌激素检测的主要方法进行了综述。随着各国对动物性食品中雌激素的安全性越来越重视, 目前已研究开发了多种雌激素的检测方法, 这些方法具有良好的应用前景, 为快速准确检测雌激素提供了更多的选择。电化学法与免疫法适合大批量样品快速筛选, 色谱及质谱联用法适合实验室精确定量分析, 应根据动物性食品的特点和应用需求选择合适的检测方法。目标物的分离与纯化仍需继续开发高效简便的样品前处理方法, 微量化和自动化将是未来发展趋势。随着新材料和新技术的研究和发展, 开发的雌激素新型检测方法应向操作简单、灵敏度高、稳定性好、现场分析、检测快速等方面发展。

参考文献

- [1] Wathudura PD, Kavinda T, Gunatilake SR. Determination of steroidal estrogens in food matrices: Current status and future perspectives [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2019, (28): 104–113.
- [2] Deng ZH, Li N, Jiang HL, *et al.* Pretreatment techniques and analytical methods for phenolic endocrine disrupting chemicals in food and environmental samples [J]. *Trend Anal Chem*, 2019, (119): 115592.
- [3] 朱艳琼, 韩宝三. 天然雌激素雌酮、雌二醇和雌三醇的分析检测进展 [J]. *化学世界*, 2020, 61(4): 237–244.
- [4] 杜赛, 高何刚, 王若燕, 等. 动物源食品中雌激素检测方法研究进展 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(12): 1822–1824.
- [5] Du S, Gao HG, Wang RY, *et al.* Research progress of estrogen detection methods in animal-derived foods [J]. *Chin J Hyg Inspect*, 2016, 26(12): 1822–1824.
- [6] Adeel M, Song XM, Wang YY, *et al.* Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review [J]. *Environ Int*, 2017, (99): 107–119.
- [7] Wang ZW, Yan RX, Liao SW, *et al.* In situ reduced silver nanoparticles embedded molecularly imprinted reusable sensor for selective and sensitive SERS detection of bisphenol A [J]. *Appl Surf Sci*, 2018, (457): 323–331.
- [8] Lu X, Sun JD, Sun XL. Recent advances in biosensors for the detection of estrogens in the environment and food [J]. *Trend Anal Chem*, 2020, (127): 115882.
- [9] Directive 96/22/EC Concerning the prohibition on the use in stock farming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of beta-agonists [S].
- [9] 中华人民共和国农业部公告第 250 号 [Z]. 北京: 中华人民共和国农业农村部公告, 2020.
- Announcement No. 235 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [Z]. Beijing: Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, 2002.
- [10] Razmkhah K, Sereshti H, Soltani S, *et al.* Extraction and determination of three steroid molecules in milk using functionalized magnetic carbon nanotube-based solid phase extraction coupled with HPLC [J]. *Food Anal Method*, 2018, (11): 3179–3189.
- [11] Goh SXL, Duarah A, Zhang LF, *et al.* Online solid phase extraction with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of estrogens and glucocorticoids in water [J]. *J Chromatogr A*, 2016, (1465): 9–19.
- [12] 李强, 赵炜, 蔡立鹏, 等. 气相色谱-串联质谱测定乳粉中 6 种雌激素 [J]. *乳业科学与技术*, 2013, 36(6): 18–20.
- Li Q, Zhao W, Cai LP, *et al.* Determination of six estrogen in milk powder by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Dairy Sci Technol*, 2013, 36(6): 18–20.
- [13] 张雨佳, 凌云, 张元, 等. 食品及环境样品中双酚类物质的前处理及检测方法研究进展 [J]. *色谱*, 2019, 37(12): 1268–1274.
- Zhang YJ, Ling Y, Zhang Y, *et al.* Research progress on the pretreatment and detection methods of bisphenols in food and environmental samples [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(12): 1268–1274.
- [14] 赵超群, 李樱红, 刘柱, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定奶粉中 8 种雌激素残留 [J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(2): 253–259.
- Zhao CQ, Li YH, Liu Z, *et al.* Simultaneous determination of 8 estrogen residues in milk powder by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Anal*, 2020, 40(2): 253–259.
- [15] 朱金兰, 王菁, 潘迎辉, 等. 气相色谱-串联质谱法测定水产品中己烯雌酚的含量 [J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(12): 328–330.
- Zhu JL, Wang J, Pan YH, *et al.* Determination of diethylstilbestrol in

- aquatic products by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2015, 43(12): 328–330.
- [16] 马素亚, 鹿文慧, 尤慧艳, 等. 雌二醇分子印迹聚合物的制备与应用研究进展[J]. *分析试验室*, 2019, 38(2): 242–248.
Ma SY, Lu WH, You HY, *et al.* Progress in the preparation and application of estradiol molecularly imprinted polymers [J]. *Anal Lab*, 2019, 38(2): 242–248.
- [17] 程海燕, 胡燕杰, 周诗瑾. 固相萃取-高效液相色谱法测定水产品中的乙烯雌酚残留量[J]. *食品安全导刊*, 2017, (12): 74–75.
Cheng HY, Hu YJ, Zhou SJ. Solid phase extraction-high performance liquid chromatography for the determination of residues of estradiol in aquatic products [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2017, (12): 74–75.
- [18] Li N, Wu D, Liu JC, *et al.* Magnetic covalent organic frameworks based on magnetic solid phase extraction for determination of six steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in food samples [J]. *Microchem J*, 2018, (143): 350–358.
- [19] Mei M, Yu J, Huang XJ, *et al.* Monitoring of selected estrogen mimics in complicated samples using polymeric ionic liquid-based multiple monolithic fiber solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2015, (1385): 12–19.
- [20] Lan HZ, Pan DD, Sun YY, *et al.* Thin metal organic frameworks coatings by cathodic electrodeposition for solid-phase microextraction and analysis of trace exogenous estrogens in milk [J]. *Anal Chim Acta*, 2016, (937): 53–60.
- [21] 莫紫梅, 宁芯, 陈宁周, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速检测鸡鸭肉中己烯雌酚残留[J]. *肉类研究*, 2019, 33(9): 48–52.
Mo ZM, Ning X, Chen NZ, *et al.* Quick detection of diethylstilbestrol residues in chicken and duck meat by QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Meat Res*, 2019, 33(9): 48–52.
- [22] 刘柱, 华颖, 陈万勤, 等. 氧化修饰多壁碳纳米管固相萃取-超高效液相色谱/串联质谱法同时测定牛奶中 7 种雌性激素残留[J]. *分析科学学报*, 2018, 34(1): 73–79.
Liu Z, Hua Y, Chen WQ, *et al.* Simultaneous determination of 7 estrogen residues in milk by oxidation-modified multi-walled carbon nanotubes solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Sci*, 2018, 34(1): 73–79.
- [23] 李龙飞. 己烯雌酚磁性分子印迹聚合物的制备及其在牛奶检测中的应用[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2014.
Li LF. Preparation of diethylstilbestrol magnetic molecularly imprinted polymer and its application in milk detection [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2014.
- [24] Li N, Du JJ, Wu D, *et al.* Recent advances in facile synthesis and applications of covalent organic framework materials as superior adsorbents in sample pretreatment [J]. *Trend Anal Chem*, 2018, (108): 154–166.
- [25] Gao GH, Li SJ, Li S, *et al.* A combination of computational-experimental study on metal-organic frameworks MIL-53(Al) as sorbent for simultaneous determination of estrogens and glucocorticoids in water and urine samples by dispersive micro-solid-phase extraction coupled to UPLC-MS/MS [J]. *Talanta*, 2018, (180): 358–367.
- [26] Xiong X, Li D, Du ZF, *et al.* Magnetic solid-phase extraction modified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method combined with pre-column derivatization and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of estrogens and estrogen mimics in pork and chicken samples [J]. *J Chromatogr A*, 2020, (1622): 461137.
- [27] Hu C, He M, Chen BB, *et al.* Determination of estrogens in pork and chicken samples by stir bar sorptive extraction combined with high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, (60): 10494–10500.
- [28] Yuan YN, Wang MW, Jia N, *et al.* Graphene/multi-walled carbon nanotubes as an adsorbent for pipette-tip solid-phase extraction for the determination of 17 β -estradiol in milk products [J]. *J Chromatogr A*, 2019, (1600): 73–79.
- [29] 谷晶, 权伍英. 液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中己烯雌酚的残留量[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(2): 199–201.
Gu J, Quan WY. Determination of diethylstilbestrol residues in eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Inspect*, 2016, 26(2): 199–201.
- [30] Wang L, Yan HY, Yang CL, *et al.* Synthesis of mimic molecularly imprinted ordered mesoporous silica adsorbent by thermally reversible semicovalent approach for pipette-tip solid-phase extraction-liquid chromatography fluorescence determination of estradiol in milk [J]. *J Chromatogr A*, 2016, (1456): 58–67.
- [31] Lu HZ, Xu SF. Hollow mesoporous structured molecularly imprinted polymers for highly sensitive and selective detection of estrogens from food samples [J]. *J Chromatogr A*, 2017, (1501): 10–17.
- [32] 郭迅依, 杨珍, 严付华, 等. 磁固相萃取-高效液相色谱检测牛肉样品中的游离雌激素[J]. *实用预防医学*, 2020, 27(4): 410–412.
Guo XY, Yang Z, Yan FH, *et al.* Magnetic solid phase extraction-high performance liquid chromatography detection of free estrogen in beef samples [J]. *Pract Prev Med*, 2020, 27(4): 410–412.
- [33] Gao Q, Luo D, Bai M, *et al.* Rapid determination of estrogens in milk samples based on magnetite nanoparticles/polypyrrole magnetic solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, (59): 8543–8549.
- [34] Tang JW, Wang JX, Yuan LJ, *et al.* Trace analysis of estrogens in milk samples by molecularly imprinted solid phase extraction with genistein as a dummy template molecule and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Steroids*, 2019, (145): 23–31.
- [35] 刘素琴, 刘让东, 王薇薇, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中 6 种雌激素[J]. *分析试验室*, 2019, 38(4): 470–474.
Liu SQ, Liu RD, Wang WW, *et al.* Determination of six estrogens in honey by solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Lab*, 2019, 38(4): 470–474.
- [36] 赵超敏, 古淑青, 郑江, 等. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱-质谱法测定黄油中 6 种激素的残留[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(4): 281–286, 214.
Zhao CM, Gu SQ, Zheng J, *et al.* Determination of six hormone residues in butter by gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2018, 34(4): 281–286, 214.
- [37] 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.
- [38] Matraszek-Zuchowska I, Wozniak B, Posyniak A. Determination of hormones residues in milk by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Anal Method*, 2017, (10): 727–739.
- [39] Azzouz A, Ballesteros E. Multiresidue method for the determination of pharmacologically active substances in egg and honey using a continuous solid-phase extraction system and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, (178): 63–69.
- [40] 王丹华, 陈盼盼, 王宏亮. 气质联用法检测养殖虾中的 5 种雌激素残留 [J]. *食品工业*, 2020, 41(3): 271–274.
Wang DH, Chen PP, Wang HL. Determination of five estrogen residues in farmed shrimp by GC-MS [J]. *Food Ind*, 2020, 41(3): 271–274.
- [41] 杨芮. 己烯雌酚在聚乙烯吡咯烷酮修饰碳糊电极上的电化学行为的研究 [J]. *农家参谋*, 2018, (9): 249.
Yang R. Study on the electrochemical behavior of diethylstilbestrol on polyvinylpyrrolidone modified carbon paste electrode [J]. *Nongjia Staff*, 2018, (9): 249.
- [42] Özcan A, Topcuogulları D. Voltammetric determination of 17 β -estradiol by cysteamine self-assembled gold nanoparticle modified fumed silica decorated graphene nano ribbon nanocomposite [J]. *Sensor Actuat B*, 2017, (250): 85–90.
- [43] Li JH, Jiang JB, Zhao D, *et al.* Facile synthesis of Pd/N-doped reduced graphene oxide via a moderate wet-chemical route for non-enzymatic electrochemical detection of estradiol [J]. *J Alloy Compound*, 2018, (769): 566–575.
- [44] 唐录华, 秦思楠, 高林, 等. 基于对巯基苯胺膜的高灵敏己烯雌酚印迹传感器的制备及应用 [J]. *化工进展*, 2019, 38(11): 5074–5083.
Tang LH, Qin SN, Gao L, *et al.* Preparation and application of a highly sensitive diethylstilbestrol imprinting sensor based on p-mercaptoaniline membrane [J]. *Chem Prog*, 2019, 38(11): 5074–5083.
- [45] 梁祖培, 冯观萍, 吴民富, 等. 生物素-亲和素放大酶联免疫吸附法测定牛奶中雌三醇 [J]. *广东化工*, 2018, 45(11): 72–75.
Liang ZP, Feng GP, Wu MF, *et al.* Biotin-avidin amplified enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of estriol in milk [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2018, 45(11): 72–75.
- [46] 白宇, 胡景炎, 许永鹏, 等. 雌二醇单克隆抗体制备及间接竞争 ELISA 检测方法的建立 [J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(10): 3100–3105.
Bai Y, Hu JY, Xu YP, *et al.* Preparation of estradiol monoclonal antibody and establishment of indirect competitive ELISA detection method [J]. *Chin J Anim Husband Veter Med*, 2017, 44(10): 3100–3105.
- [47] 李静宇. 荧光定量免疫层析法在己烯雌酚检测中的应用 [D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
Li JY. Application of fluorescence quantitative immunochromatography in the detection of diethylstilbestrol [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [48] 王瑜, 任舒悦, 姜会聪, 等. 上转换发光免疫层析试纸条快速定量检测己烯雌酚 [J]. *分析化学*, 2017, 45(1): 35–41.
Wang Y, Ren SY, Jiang HC, *et al.* Rapid quantitative detection of diethylstilbestrol by up-conversion luminescence immunochromatography test strips [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(1): 35–41.
- [49] 姜会聪, 任舒悦, 王瑜, 等. 上转换发光免疫层析法快速检测牛奶中雌二醇 [J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(3): 119–123.
Jiang HC, Ren SY, Wang Y, *et al.* Rapid detection of estradiol in milk by up-conversion luminescence immunochromatography [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(3): 119–123.
- [50] 陶进江, 潘桂根, 刘木华, 等. 基于表面增强拉曼光谱的鸭肉中己烯雌酚残留检测 [J]. *食品与机械*, 2019, 35(2): 82–86, 195.
Tao JJ, Pan GG, Liu MH, *et al.* Detection of diethylstilbestrol residues in duck meat based on surface enhanced Raman spectroscopy [J]. *Food Mach*, 2019, 35(2): 82–86, 195.
- [51] Han XX, Pienpinijtham P, Zhao B, *et al.* Coupling reaction-based ultrasensitive detection of phenolic estrogens using surface-enhanced resonance raman scattering [J]. *Anal Chem*, 2011, (83): 8582–8588.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



王慎苓, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全与质量控制。

E-mail: wshenling@163.com



郑振佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为农产品精深加工与质量控制。

E-mail: zhengzhenjia@sdau.edu.cn