

食品中糖皮质激素残留检测方法的研究进展

陈凤燕¹, 盘焯晖¹, 陆曼芝¹, 刘汇¹, 刘昀昀², 吴映明¹, 穆洪涛¹, 刘凤银^{1*}

(1. 广东第二师范学院生物与食品工程学院, 广州 510303; 2. 惠州市京师荟成学校理综教研组, 惠州 516100)

摘要: 糖皮质激素具有抗炎、抗过敏等疗效, 被广泛应用于动物养殖业, 若使用不当会造成动物源性食品中药物残留; 也可能被非法添加到保健食品中, 威胁人体健康。本文介绍了国内外对食品中糖皮质激素的限量标准, 综述了国内外关于糖皮质激素的检测方法, 主要有高效液相色谱法、液相色谱/质谱联用法、液相色谱-串联质谱法、高效毛细管电泳法和免疫分析方法, 讨论了各类方法的优缺点及用于糖皮质激素残留检测的适用性, 展望了食品中糖皮质激素残留检测的发展趋势, 以为食品中糖皮质激素残留检测相关研究和安全监管提供参考。

关键词: 糖皮质激素; 仪器分析法; 免疫分析方法

Research progress on the detection methods of glucocorticoids in food

CHEN Feng-Yan¹, PAN Zhuo-Hui¹, LU Man-Zhi¹, LIU Hui¹, LIU Yun-Yun²,
WU Ying-Ming¹, MU Hong-Tao¹, LIU Feng-Yin^{1*}

(1. College of Biology and Food Engineering, Guangdong Second Normal University, Guangzhou 510303, China;
2. Comprehensive Science Teaching and Research Group, Huizhou Jingshi Huicheng School, Huizhou 516100, China)

ABSTRACT: Glucocorticoids have anti-inflammatory and anti-allergic effects and are widely used in animal husbandry. Drug residues can be caused by inappropriate use of glucocorticoids. Meanwhile, glucocorticoids may also be added into health foods, threatening human health. This paper introduced the glucocorticoids limits in food at home and abroad and summarized the detection methods of glucocorticoids, including high performance liquid chromatography, liquid chromatography/mass spectrometry, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, high performance capillary electrophoresis and immunoassay, discussed the advantages and disadvantages of various methods and their applicability for the detection of glucocorticoids residues, prospected the development trend of the detection methods for glucocorticoids in food, in order to provide reference for the related research and safety supervision of glucocorticoids residue detection in food.

KEY WORDS: glucocorticoids; instrumental method; immunoassay method

基金项目: 广州市科技计划项目(202102080339)、国家级大学生创新创业训练计划项目(202014278008)、广东省科技创新战略专项资金项目(pdjh2021b0369)

Fund: Supported by the Guangzhou Science and Technology Plan Project (202102080339), the National Innovation and Entrepreneurship Training Program of Undergraduates (202014278008), and the Guangdong Science and Technology Innovation Strategy Special Fund Project (pdjh2021b0369)

***通信作者:** 刘凤银, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品安全检测新技术。E-mail: liufengyin@gdei.edu.cn

***Corresponding author:** LIU Feng-Yin, Master, Engineer, Guangdong University of Education & College of Biology and Food Engineering, No.351, Xingang Middle Road, Chigang Street, Haizhu District, Guangzhou 510303, China. E-mail: liufengyin@gdei.edu.cn

0 引言

糖皮质激素(glucocorticoid)是一种肾上腺皮质激素,在临床上具有抗炎症、抗过敏、抗毒素、抗休克及免疫抑制等多种作用^[1],主要应用于感染性疾病、心血管疾病、风湿免疫病、呼吸疾病等的治疗。糖皮质激素的分子结构中均含有环戊烷并多氢菲基母核结构,有较强的亲脂性,可溶于甲醇、乙醚、乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂^[2-5]。常用的糖皮质激素有倍他米松、地塞米松、可的松、氢化可的松、泼尼松龙等。

食品中残留糖皮质激素的途径主要有3种。其一是内源性残留。天然糖皮质激素天然存在于动物源性食品中,因糖皮质激素能提高饲料的转化率,促进畜禽非正常生长,并且具有抗炎、抗过敏等作用,被广泛用于畜牧养殖业、渔业、养蜂业^[6]。若过量使用或不遵守休药期规定,则会导致其在动物组织、奶制品、鸡蛋、鱼、蜂蜜等食品中残留,消费者长期食用这类食品会导致机体代谢调控紊乱和发育异常等^[7-8]。其二是外源性添加。我国国家市场监督管理总局于2020年发布《保健食品安全整顿工作实施方案》,明文规定不可在保健食品中非法添加药物成分。但不法分子为使其效果显著,向抗风湿类、止咳平喘类等保健食品中添加糖皮质激素,消费者在不知情的情况下长期食用,会引起内分泌失调、水肿、糖尿病、致癌等不良反应^[9-10]。其三是环境污染。随着糖皮质激素在临床上的广泛应用,

其在城市污水中的含量也随之增高,但目前城市污水处理工艺并没有将激素类物质作为主要去除目标,有相当部分的糖皮质激素未能被去除而残留于水环境中^[11-13],进入生物链循环,给人体健康带来风险。

鉴于此,国内外很多国家均对食品中糖皮质激素残留制定了限量标准。联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)和世界卫生组织(World Health Organization, WHO) CX/MRL2-2018 [maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods]规定地塞米松的主要检测对象为牛、猪、马,在肌肉、肝、肾动物组织中最大残留限量分别为1.0、2.0、1.0 μg/kg,在牛奶中为0.3 μg/L。我国GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定地塞米松的主要监测对象为牛、马、猪,在肌肉、肝、肾动物组织中最大残留限量分别为1.0、2.0、1.0 μg/kg,在牛奶中为0.3 μg/kg;规定倍他米松的主要监测对象为牛、猪,在肌肉、肝、肾动物组织中最大残留限量分别为0.75、2.0、0.75 μg/kg,在牛奶中为0.3 μg/kg。欧洲联盟(以下简称欧盟)和日本也制定了相关限量标准,详见表1、2。

本文综述了国内外关于糖皮质激素的检测方法,分析了每种方法的优缺点及用于糖皮质激素残留检测的适用性,讨论了食品中糖皮质激素残留检测的发展趋势,以期对相关研究工作提供参考。

表1 欧盟食品中糖皮质激素的限量要求
Table 1 Requirements of glucocorticoids limits in food by European Union

药物	检测对象	靶组织	最大残留限量/(μg/kg)
地塞米松	牛/猪/马	肌肉/肾	0.75
		肝	2
	牛	奶	0.3
甲基强的松龙	牛	肌肉/脂肪/肝/肾	10
		脂肪/肌肉	4
泼尼松龙	牛	肝/肾	10
		奶	6

表2 日本食品中糖皮质激素的限量要求(部分)
Table 2 Requirements of glucocorticoids limits in Japanese food (Portion)

药物	检测对象	靶组织	最大残留限量/(μg/kg 或 μg/L)
倍他米松	陆生哺乳动物	肌肉/脂肪/肝/肾	N.D.
	家禽	肌肉/脂肪/肝/肾/蛋	N.D.
	*	奶	N.D.
	蜜蜂	蜂蜜	-

表 2(续)

药物	检测对象	靶组织	最大残留限量/($\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $\mu\text{g}/\text{L}$)
地塞米松	陆生哺乳动物	肌肉/脂肪/肾	1
		肝	2
	家禽	肌肉/脂肪/肝/肾/蛋	N.D.
		*	奶
	蜜蜂	蜂蜜	-
	牛	肌肉/脂肪	4
肝/肾		10	
泼尼松龙	其他陆生哺乳动物	肌肉/脂肪/肝/肾	1
	*	奶	6
	家禽	肌肉/脂肪/肝/肾/蛋	-
	蜜蜂	蜂蜜	-
氢化可的松	*	奶	10

注: N.D.表示不得检出; *表示未给出; -表示一律标准(对于未制订最大残留限量标准或未豁免限量的农业化学品, 日本要求其在食品中的含量不超过“一律标准”, 即 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $\mu\text{g}/\text{L}$)。

1 糖皮质激素的检测方法

糖皮质激素的主要检测方法有高效液相色谱法、液相色谱/质谱联用法、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)、高效毛细管电泳法、免疫分析方法等。

1.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)是目前应用极为广泛的一种分离分析技术, 尤其适用于高沸点、热不稳定性化合物的分析。HPLC 法利用不同糖皮质激素分子在两相中分配系数的微小差异实现分离, 结合紫外检测器或光电二极管阵列检测器实现对待测样品中糖皮质激素的组成和含量分析。

欧贝丽等^[14]建立了高效液相色谱-紫外检测法(high performance liquid chromatography-ultraviolet, HPLC-UV)用于中成药及保健食品中 16 种糖皮质激素残留测定。他们基于基质与糖皮质激素的极性不同, 采用甲醇或乙醚超声提取, 经 Extend C₁₈ 色谱柱分离, 240 nm 波长下检测, 16 种糖皮质激素在 0.2~25.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 内呈线性相关, 检出限低于 0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$, 回收率除了贴膏剂为 57.2%~83.8%外, 其余剂型均在 78.5%以上。JIN 等^[15]建立了高效液相色谱-光电二极管阵列检测法(high performance liquid chromatography-photodiode array, HPLC-PDA)测定草药和保健食品中 18 种糖皮质激素的残留量, 结果显示线性范围为 5~320 mg/L , 检出限、定量限分别低于 0.051、0.128 mg/L , 回收率在 97.5%~104.2%之间。采用该方法对 14 个盲样进行了检测, 并对可疑样品采

用液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, LC-Q-TOF)进行了确证。

由于糖皮质激素的种类较多且分子结构相似度高, 导致采用 HPLC 法检测时, 实现同时完全分离的难度较大, 易出现假阳性。如在 JIN 等^[15]的研究中, 泼尼松和氢化可的松 2 种糖皮质激素色谱峰完全重叠, 当待测样品有峰与泼尼松和氢化可的松的重叠峰匹配时, 需更换另外一种流动相体系来进行定性和定量, 操作较为烦琐。但 HPLC 法有成本较低、易于操作等优点, 同时糖皮质激素添加量必须达到一定剂量才能发挥疗效, 故而 HPLC 法的灵敏度满足中成药和保健食品中糖皮质激素残留检测需求, 可作为一种初筛方法在基层药监部门和市场监督管理部门进行推广, 将筛查出的可疑样品再采用液相色谱-串联质谱法进行确证。

1.2 液相色谱/质谱联用法

液相色谱/质谱联用法(liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS)以液相色谱作为分离系统, 质谱作为检测系统, 集色谱的高效分离和质谱的定性及结构鉴定于一体, 目前已经在食品安全、药物、环境等领域得到广泛应用^[16-17]。

目前, 国内外关于 LC/MS 法检测糖皮质激素的报道不多。陈凤等^[18]采用高效液相色谱/质谱联用法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)同时检测气管类中成药中 11 种糖皮质激素残留, 检出限为 0.529~14.580 $\mu\text{g}/\text{L}$, 回收率为 90%~110%。秦昞

等^[19]建立了 LC/MS 法检测人尿中的 12 种糖皮质激素、3 种甾体和 2 种 β_2 激动剂。鉴于目标分析物主要以葡萄糖醛酸甙的形式存在于尿样中, 首先对尿样作酶解处理, 经叔丁基甲醚萃取, 采用 RP-HT-Zorbax SB-C₁₈ 柱分析, 正离子扫描模式, 结果显示 12 种糖皮质激素的检出限均低于 5 $\mu\text{g/L}$ 。倍他米松和地塞米松作为一组同分异构体, 具有相同的特征离子, 在该色谱条件下两者的出峰时间相同, 未能有效分离, 无法对两者实现定性分析。

1.3 液相色谱-串联质谱法

LC-MS/MS 法相比于 LC/MS 法能提供更多的质谱信息, 具有更高的选择性和灵敏度^[20-22], 对复杂样品基质中痕量组分的定性、定量分析具有独特优势, 也是目前报道最多的糖皮质激素检测方法。

糖皮质激素在不同类型的样品中, 有不同的存在形态。部分糖皮质激素可与组织蛋白形成共轭化合物^[23], 故动物组织样品中存在游离态和结合态两种形式。为提高提取效率, 样品前处理常采用碱水解或酶水解的方式, 使糖皮质激素从结合态中释放出来^[24-26]。我国农业部 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》, 首次发布了动物源性食品中糖皮质激素多残留检测 LC-MS/MS 法。猪、牛、羊的肝脏和肌肉等动物组织样品用碱水解后, 乙酸乙酯提取, 经固相萃取柱净化, 采用 C₁₈ 色谱柱分离, 外标法定量, 8 种糖皮质激素的检出限为 0.5~4 $\mu\text{g/kg}$, 添加回收率在 50%~120% 之间。8 种糖皮质激素类药物有效分离, 可实现同时检测。SANG 等^[27]采用酶水解的方式, 建立了牛肌肉和肝脏中糖皮质激素残留检测的 LC-MS/MS 法, 6 种糖皮质激素在肌肉和肝脏的检出限分别为 0.2~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.6~1.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

JANG 等^[28]采用酶水解法, 建立了鸡蛋中 6 种糖皮质激素残留检测的液相色谱-串联质谱法。检出限为 0.09~0.17 $\mu\text{g/kg}$, 回收率范围为 55.7%~69.8%。GOYON 等^[23]采用 LC-MS/MS 同位素稀释法测定瑞士荷斯坦牛奶中 12 种天然类固醇激素(4 种雌激素、4 种雄激素、2 种孕激素和 2 种糖皮质激素)的自然残留水平。牛奶样品用 β -葡萄糖醛酸甙酶/芳基硫酸酯酶水解, 甲醇沉淀蛋白, 经连续式固相萃取柱净化, 同位素内标法定量, 可的松和氢化可的松的定量限均为 10 ng/kg , 在 103 个牛奶样品中的平均残留量分别为 112、235 ng/kg 。田海伟等^[29]建立了牛奶中 18 种糖皮质激素残留检测的高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS), 检出限为 0.1~0.3 $\mu\text{g/kg}$, 回收率为 73.7%~98.6%。该研究未考虑到牛奶中部分糖皮质激素以结合态的形式存在, 未进行相应的水解处理。实验测定了加标回收率, 但添加回收实验中仅将糖皮质激素

与牛奶基质作短暂混合, 两者靠吸附作用结合, 容易回收, 考虑到牛奶中存在部分结合态的糖皮质激素, 故实验虽取得了较好的回收率, 但不能说明此方法在实际牛奶样品检测应用中的准确性。

目前已报道的关于鱼、蜂蜜 2 类动物源性食品中糖皮质激素的残留检测, 样品前处理步骤基本没涉及到水解步骤。我国 GB/T 22957—2008《河豚鱼、鳗鱼及烤鳗中九种糖皮质激素残留量的测定》规定了河豚鱼、鳗鱼及烤鳗中 9 种糖皮质激素残留量测定的 LC-MS/MS 法。样品用乙酸乙酯提取, 硅胶固相萃取柱净化, 检出限为 0.2~1.0 $\mu\text{g/kg}$ 。李涛等^[30]建立了超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry, UPLC-Q/Orbitrap MS)筛查草鱼中 14 种糖皮质激素的残留, 检出限为 1.3~6.0 $\mu\text{g/kg}$, 回收率为 76.9%~103.3%。李璐等^[31]结合 QuEChERS 前处理技术, 建立了同时检测蜂蜜中 41 种糖皮质激素残留的超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS), 定量限为 0.55~5.02 $\mu\text{g/kg}$, 回收率为 83.9%~111.2%。

中成药、保健食品、化妆品和动物饲料中的糖皮质激素为外源性添加, 主要以游离态的形式存在。钱叶飞等^[32]采用 UPLC-MS/MS 法对中成药及保健食品中 38 种糖皮质激素进行了定性和定量分析, 并应用于实际样品的检测。方法的检出限为 0.3~1.6 $\mu\text{g/L}$, 回收率为 80.9%~119.4%。罗辉泰等^[33]结合改进的 QuEChERS 样品前处理方法, 建立了液相色谱-高分辨飞行时间质谱同位素稀释法高通量筛查化妆品中 86 种糖皮质激素含量。该研究基于具有多重色谱保留机制的五氟苯基柱, 实现了 12 组同分异构体构型糖皮质激素的有效分离, 并在该基础上, 建立了 86 种糖皮质激素的一级精确质量数及二级碎片离子质谱图数据库, 实现了无需标准品即可完成糖皮质激素的高通量筛查和确证, 是目前已报道的能同时测定糖皮质激素种类最多的方法。张毅等^[34]采用 LC-MS/MS 法测定谷物类饲料中包含 10 种糖皮质激素在内的 41 种激素残留, 定量限为 0.123~2.72 $\mu\text{g/kg}$, 添加回收率为 70.3%~118.1%。

1.4 高效毛细管电泳法

高效毛细管电泳法(high performance capillary electrophoresis, HPCE)是以毛细管作为分离通道, 高压直流电场作为驱动力, 依据各组分淌度的差异实现分离的一种分离分析技术^[35]。HPCE 具有仪器简单、操作简便、分离效率高、成本低等优点, 但其检测灵敏度差, 常常无法满足实际检测需求。

宋莉华^[36]采用胶束电动毛细管色谱法测定地塞米松和倍他米松, 检出限分别为 2.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。江南大学化学与材料工程学院的商少明、曹玉华老师的研究团队, 结合

一些在线富集技术,提高了 HPCE 对糖皮质激素的检测灵敏度^[37-39]。陈新等^[40]采用胶束毛细管电动色谱联用场放大进样,对泼尼松的检出限由普通毛细管电泳法的 2.7 mg/L 降低至 20 $\mu\text{g/L}$;郭成方等^[41]联用大体积进样与非匀强电场扫描在线富集技术,建立了微乳毛细管电动色谱法测定化妆品中的 4 种糖皮质激素,富集倍数为 853~933 倍,检出限为 4~8 $\mu\text{g/L}$ 。

1.5 免疫分析法

基于抗原-抗体特异性识别的免疫分析技术,具有灵敏度高、特异性强、简便快速和可实现现场高通量筛查的优点,目前已经成功应用于农兽药、生物毒素、激素等小分子化学性污染物的检测,为食品安全监管工作提供了有力技术支撑^[42-45]。报道的糖皮质激素免疫检测方法有酶联免疫吸附法(enzyme-linked immune sorbent assay, ELISA)^[46-47]、免疫层析法^[48](colloidal gold immune chromate graphic assay, GICA)、荧光免疫检测方法^[49]等。

建立糖皮质激素的免疫分析方法,首要且关键的步骤是针对其结构特点,设计合适的半抗原,制备其特异性抗体。目前相关报道大多选择在糖皮质激素的 17 β 酮醇侧链上的羟基位点,用琥珀酸酐或丁二酸酐衍生出活性羧基作为半抗原。姚添淇等^[46]用丁二酸酐作为衍生剂,合成了氯化可的松半抗原与钥孔戚血蓝蛋白偶联作为免疫原,通过小鼠免疫、杂交瘤技术,获得了可以同时识别 12 种糖皮质激素的鼠单克隆抗体,具有广谱特异性。基于该抗体,建立了相应的 ELISA 方法,异源包被模式下,12 种糖皮质激素的半抑制浓度为 0.19~79.29 $\mu\text{g/L}$;牛奶样品添加回收率在 77.5%~111.3%之间。王英姿等^[47]制备了曲安奈德的特异性单克隆抗体,建立了其 ELISA 检测方法,检出限为 0.53 $\mu\text{g/L}$ 。以猪肝和猪肉作为样品基质测定加标回收率为 75%~90%;通过向鸡人工喂食曲安奈德药物获得阳性组织样品,对 6 个真实鸡组织样品进行检测,未发现假阳性或假阴性,定量值与 HPLC-MS 法的偏离度低于 38%。袁媛^[49]基于获得的地塞米松特异性兔多克隆抗体,以量子点为探针,建立了其免疫荧光检测方法。相较于传统间接竞争 ELISA 方法,对地塞米松的检出限由 2.66 $\mu\text{g/L}$ 降低至 0.32 $\mu\text{g/L}$,灵敏度提高了 7.3 倍。张王伟等^[48]采用多重上转换发光纳米微球作为探针,集合 3 种糖皮质激素广谱性抗体,研制了一种免疫层析广谱检测卡,对 28 种糖皮质激素的检出限为 0.005~1.5 $\mu\text{g/L}$,其中对地塞米松检出限由胶体金检测卡的 0.3 $\mu\text{g/L}$ 提高到 0.01 $\mu\text{g/L}$ 。同时高灵敏度使得样品前处理无需浓缩步骤,动物组织样品用等量的甲醇提取,过滤后稀释 5 倍便可直接用于检测,缩短了检测时间。该方法操作非常简单、成本低廉,尤其适用于基层现场快速筛查。

2 讨论和展望

本文重点介绍了检测糖皮质激素的高效液相色谱法、液相色谱/质谱联用法、液相色谱-串联质谱法、高效毛细管电泳法、免疫分析方法 5 种方法,每种方法各有其优缺点,针对不同的样品类型、不同的检测需求,有其相应的适用性。其中免疫分析方法的仪器要求最为简单、操作简便、灵敏度高,能满足保健食品和动物源性食品中糖皮质激素残留检测需求,但同时亦有其局限性:糖皮质激素类药物分子间结构相似度高,制备的抗体会或多或少地识别多种糖皮质激素,当待测样品中存在多种待测物,无法确定具体残留的糖皮质激素种类及其比例,适合作为一种初筛手段用于现场大批量样品筛查。HPLC 和 HPCE 法所使用的仪器设备相较于 LC-MS/MS 法,较为便宜,操作相对简单,能在有标准品时结合出峰时间实现基本定性,但也存在灵敏度较低、分离不完全和易受基质干扰等缺点,可作为一种保健食品中糖皮质激素残留检测的常规分析方法,在市场监督管理部门进行推广。LC-MS/MS 法尤其是近几年发展出的四极杆串联飞行时间质谱和四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱新式质谱,具有高准确度、高通量、高选择性、高灵敏度等优势,且抗基质干扰能力强,配合化合物数据库及谱库检索功能可以实现无标准品的大量化合物高通量筛查和确证分析,但因为设备价格昂贵,难以大范围普及,适用于作为一种确证方法,对前面方法初筛出的可能残留糖皮质激素的可疑样品进行确证检测。因此,食品中糖皮质激素的残留检测,需要检测工作人员结合实验室条件、检测需求选择合适的检测方法。

糖皮质激素是一个种类超过 86 种的庞大激素家族。在食品安全监管过程中,以防不法从业人员通过换药来逃避监管,必然要求检测方法能覆盖尽可能多的糖皮质激素;同时糖皮质激素的分子结构类似,其中涉及 12 组以上同分异构体,尤其还包括多组差向异构体(地塞米松和倍他米松以及其衍生物地塞米松醋酸酯和倍他米松醋酸酯),差向异构体之间的结构差异极小,质谱信息相似度高,这对其定性、定量检测提出了极大的挑战。糖皮质激素分子结构的相似性,为制备其广谱性抗体提供了可能,同时研究工作者可尝试结合一些新型纳米材料,建立广谱性、高灵敏度的免疫检测方法,配套一些便携式仪器设备,便于基层单位现场高通量筛查。鉴于差向异构体的分子离子、定性离子和定量离子均有相似响应^[30,50-51],MS 或 MS/MS 检测系统无法对其加以区分,这就要求在色谱系统对其实现完全分离,来实现对食品中两组差向异构体构型糖皮质激素进行定性和定量检测。具有多重色谱保留机制的 PFP 色谱柱,对结构类似化合物有更好的选择性,赵洋等^[50]、罗辉泰等^[52]采用 PFP 色谱柱,通过优化样品前处理和色谱-质谱条件,实现了化妆品中 2 组差向异构体的基线分离,

该方法可以推广到食品中糖皮质激素的残留检测。另外,目前报道的糖皮质激素检测仪器分析法,大多采用固相萃取离线预富集技术,对目标分析物进行净化富集,操作相对烦琐耗时,运用在线分离富集技术,提高分析效率,也是其重要发展方向。

参考文献

- [1] HEFNAWY M, AL MA, 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]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 201. DOI: 10.1016/J.JPBA.2021.114108
- [2] 范小龙, 吴婉琴, 黄坤, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定化妆品中糖皮质激素类药物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(1): 86-93.
FAN XL, WU WQ, HUANG K, *et al.* Rapid determination of glucocorticoids in cosmetics by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(1): 86-93.
- [3] 郭文景, 常红, 孙德智, 等. 地表水体中同时分析 18 种糖皮质激素方法的建立[J]. *环境科学*, 2015, 36(7): 2719-2726.
GUO WJ, CHANG H, SUN DZ, *et al.* Simultaneous analysis of 18 glucocorticoids in surface water [J]. *Environm Sci*, 2015, 36(7): 2719-2726.
- [4] 郭添荣, 吴文林, 张崑, 等. 基于 UHPLC-Q/Orbitrap 高分辨质谱多目标快速筛查鱼肉中 30 种蛋白同化激素及糖皮质激素[J/OL]. *食品科学*: 1-11. [2021-05-29]. <https://sso.gzlib.org.cn/interlibSSO/goto/75/+jmr9bmjh9mnds/kcms/detail/11.2206.ts.20210524.0902.026.html>
GUO TR, WU WL, ZHANG Y, *et al.* Multi-objective rapid screening of 30 protein assimilation hormones and glucocorticoids in fish based on UHPLC-Q/Orbitrap high resolution mass spectrometry [J/OL]. *Food Sci*: 1-11. [2021-05-29]. <https://sso.gzlib.org.cn/interlibSSO/goto/75/+jmr9bmjh9mnds/kcms/detail/11.2206.ts.20210524.0902.026.html>
- [5] YAN YH, AI LF, ZHANG HC, *et al.* Development an automated and high-throughput analytical platform for screening 39 glucocorticoids in animal-derived food for doping control [J]. *Microchem J*, 2021, 165. DOI: 10.1016/J.MICROC.2021.106142
- [6] HAN F, LI WW, JIN Y, *et al.* Rapid and sensitive LC-MS/MS method for simultaneous determination of three first-line oral antituberculosis drug in plasma [J]. *J Chromatogr Sci*, 2021, 59(5). DOI: 10.1093/CHROMSCI/BMAA130
- [7] 兰建丽, 粘靖祺, 杨晓波. 乳与乳制品中雌激素的分析与控制[J]. *中国乳业*, 2014, (6): 45-46.
LAN JL, NIAN JQ, YANG XB. Status analysis and control management of estrogen in milk and dairy products [J]. *Chin Dairy*, 2014, (6): 45-46.
- [8] LI XM, CHEN XM, LIU ZW, *et al.* Latex microsphere immunochromatography for quantitative detection of dexamethasone in milk and pork [J]. *Food Chem*, 2020, 345. DOI: 10.1016/J.FOOD CHEM.2020.128607
- [9] 王伟姣, 龙凌云, 姜成君, 等. 液质联用法测定保健食品中非法添加 57 种化学药的研究[J]. *中国药师*, 2020, 23(1): 155-160.
WANG WJ, LONG LY, JIANG CJ, *et al.* Rapid determination of 57 chemicals illegally added to health foods by UPLC-MS/MS [J]. *Chin Pharm*, 2020, 23(1): 155-160.
- [10] 王伟姣, 龙凌云, 姜成君, 等. UPLC-MS/MS 法测定保健食品中添加的 114 个化学药[J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(12): 2157-2170.
WANG WJ, LONG LY, JIANG CJ, *et al.* Determination of 114 chemical drugs added into health foods by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(12): 2157-2170.
- [11] MUHAMMAD AKH, MARTIN K, BEATE IE, *et al.* Effect-directed analysis of progestogens and glucocorticoids at trace concentrations in river water [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2020, 39(1). DOI: 10.1002/etc.4609
- [12] GONG J, LIN CY, XIONG XP, *et al.* Occurrence, distribution, and potential risks of environmental corticosteroids in surface waters from the Pearl River Delta, south China [J]. *Environ Pollut*, 2019, 251. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.04.110
- [13] 张晋娜. 类固醇雄激素、孕激素和糖皮质激素的环境污染特征及其生物降解转化规律[D]. 广州: 中国科学院大学(中国科学院广州地球化学研究所), 2019.
ZHANG JN. Occurrence and biotransformation of androgens, progestogens, and glucocorticoids in the environment [D]. Guangzhou: University of Chinese Academy of Sciences (Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences), 2019.
- [14] 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 BL, ZHAO JL, ZOU Y, *et al.* Simultaneous determination of 16 glucocorticoids added in Chinese patent medicine and health products by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2016, 33(9): 1178-1182.
- [15] JIN PF, LIANG XL, WU XJ, *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 Addit*, 2018, 35(1). DOI: 10.1080/19440049.2017.1400184
- [16] 董慧茹. 仪器分析 第三版[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
DONG HR. *Instrumental Analysis the Third Edition* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2016.
- [17] 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. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.12.071
- [18] 陈凤, 陈宇, 董培健. HPLC-MS 联用同时检测支气管类中成药中违禁添加的 11 种糖皮质激素[J]. *中成药*, 2014, 36(1): 102-106.
CHEN F, CHEN Y, DONG PJ. Simultaneous determination of eleven glucocorticoids in Chinese tradition medicines for bronchus by HPMC-MS [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 36(1): 102-106.
- [19] 秦咏, 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, (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, (5): 620-623.
- [20] VEROUGSTRATE N, STOVE V, VERSTRATE AG, *et al.* Quantification of eight hematological tyrosine kinase inhibitors in both plasma and whole blood by a validated LC-MS/MS method [J]. *Talanta*, 2021, 226. DOI: 10.1016/J.TALANTA.2021.122140

- [21] 刘瑞娟, 李泽运, 刘帅兵, 等. LC-MS/MS 测定人血浆中利伐沙班浓度及生物等效性研究[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021, 56(3): 302–308.
LIU RJ, LI ZY, LIU SB, *et al.* Determination of rivaroxaban in human plasma by LC-MS/MS and its application to a bioequivalence study [J]. J Zhengzhou Univ (Med Ed), 2021, 56(3): 302–308.
- [22] KIM SY, KWON NH, CHEONG JC, *et al.* LC-MS/MS method for determining picogram-level of zolpidem and its main metabolites in hair using a zirconia-based sorbent [J]. *Talanta*, 2021, 228. DOI: 10.1016/J.TALANTA.2020.122041
- [23] GOYON A, CAI JZ, KRAEHEBUEHL K, *et al.* Determination of steroid hormones in bovine milk by LC-MS/MS and their levels in Swiss Holstein cow milk [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2016, 33(5). DOI: 10.1080/19440049.2016.1175186
- [24] 李飞, 谷丽丽, 张岩, 等. 液相色谱-串联质谱法检测速冻调制肉制品中糖皮质激素类药物残留[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 154–156.
LI F, GU LL, ZHANG Y, *et al.* LC-MS/MS determination of glucocorticoids residues in quick-frozen meat products [J]. *Food Sci*, 2010, 31(2): 154–156.
- [25] CHEN DM, TAO YF, LIU ZY, *et al.* Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the quantification of glucocorticoid residues in edible tissues of swine, cattle, sheep, and chicken [J]. Taylor Francis Group, 2010, 27(10). DOI: 10.1080/19440049.2010.492530
- [26] 龚兰, 陈明, 魏娟, 等. 高效液相-电喷雾串联质谱法测定动物肌肉组织中的糖皮质激素[J]. 分析化学, 2016, 44(1): 74–80.
GONG L, CHEN M, WEI X, *et al.* Determination of glucocorticoids in muscle tissues by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Chin Anal Chem*, 2016, 44(1): 74–80.
- [27] SANG WS, HYUN WC, SEUNG WM. Simultaneous analysis of glucocorticoids in bovine muscle and liver by LC-MS/MS [J]. *Anal Sci Technol*, 2010, 23(4): 405–413.
- [28] JANG MA, MYUNG SW. Simultaneous analysis of residual glucocorticoids in egg by LC/MS/MS [J]. *Anal Sci Technol*, 2009, 22(4): 326–335.
- [29] 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 HW, FENG HB, LI J, *et al.* Rapid determination of 18 glucocorticoids in milk using QuEChERS coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2017, 38(12): 310–314.
- [30] 李涛, 杨潇, 孙桂芳, 等. QuEChERS-UPLC-Q/Orbitrap MS 法快速测定草鱼中 14 种糖皮质激素类药物残留[J]. 食品与机械, 2019, 35(12): 100–104, 162.
LI T, YANG X, SUN GF, *et al.* Rapid determination of 14 glucocorticoids in grass carp using QuEChERS coupled with UPLC-Q/Orbitrap MS [J]. *Food Mach*, 2019, 35(12): 100–104, 162.
- [31] 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 L, LI DF. Determination of 41 kinds of glucocorticoids in honey by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(2): 500–509.
- [32] 钱叶飞, 贾昌平, 鲁辉, 等. UPLC-MS-MS 快速检测中成药及保健食品中非法添加的 38 种糖皮质激素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 60–66.
QIAN YF, JIA CP, LU H, *et al.* Rapid determination of 38 glucocorticoids illegally added into Chinese patent medicines and dietary supplements by UPLC-MS-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2016, 22(10): 60–66.
- [33] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. QuEChERS-同位素稀释-液相色谱-高分辨飞行时间质谱法高通量筛查化妆品中 86 种糖皮质激素[J]. 分析化学, 2017, 45(9): 1381–1388.
LUO HT, HUANG XL, WU HQ, *et al.* QuEChERS isotope dilution liquid chromatography high resolution time of flight mass spectrometry high throughput screening for 86 glucocorticoids in cosmetics [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(9): 1381–1388.
- [34] 张毅, 蓝芳, 张峰, 等. 液相色谱-串联质谱法测定谷物类饲料中的 41 种激素[J]. 色谱, 2011, 29(6): 523–534.
ZHANG Y, LANG F, ZHANG F, *et al.* Determination of 41 hormones in cereal feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(6): 523–534.
- [35] 王峰恩, 张养东, 郑楠, 等. 奶及奶制品中糠氨酸检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(6): 2304–2312.
WANG FE, ZHANG YD, ZHENG N, *et al.* Research progress on the determination of furosine in milk and dairy products [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(6): 2304–2312.
- [36] 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 LH. Applications of high performance capillary electrophoresis in food and medicine detection [D]. Changchun: Jilin University, 2009.
- [37] 孙雪婷, 商少明, 陈秀英, 等. 微乳毛细管电泳谱电动进样-场放大堆积法检测化妆品中糖皮质激素[J]. 分析化学, 2014, 42(1): 36–40.
SUN XT, SHANG SM, CHEN XY, *et al.* Microemulsion capillary electrochromatography electrokinetic injection field amplified stacking method for the detection of glucocorticoids in cosmetics [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, 42(1): 36–40.
- [38] 郭成方. 微乳毛细管电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 CF. Development of an on-line enrichment method for the determination of glucocorticoids in cosmetics by capillary electrokinetic chromatography with microemulsion [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [39] 孙雪婷. 毛细管电色谱在线富集方法研究及在激素检测中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
SUN XT. On line enrichment method by capillary electrokinetic chromatography and its application to hormone detection [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [40] 陈新, 曹玉华. 场放大进样-胶束扫集毛细管电泳法测定痕量泼尼松[J]. 分析实验室, 2010, 29(7): 11–14.
CHEN X, CAO YH. Determination of prednisone by micellar electrokinetic chromatography using field-amplified sample stacking and sweeping micellar electrokinetic chromatographic technique [J]. *Chin J Anal Lab*, 2010, 29(7): 11–14.
- [41] 郭成方, 商少明, 刘俊康, 等. 大体积进样-非匀强电场扫集微乳毛细管电色谱法测定化妆品中糖皮质激素[J]. 分析测试学报, 2016, 35(6): 686–691.
GUO CF, SHANG SM, LIU JK, *et al.* Online determination of glucocorticoids in cosmetics by large volume sample injection-reduced

- electric field sweeping and microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(6): 686–691.
- [42] LIU X, XU ZH, HAN ZY, *et al.* A highly sensitive and dual-readout immunoassay for norfloxacin in milk based on QDs-FM@ALP-SA and click chemistry [J]. *Talanta*, 2021, 234. DOI: 10.1016/J.TALANTA.2021.122703
- [43] CAI QQ, WANAG R, QIAO ZH, *et al.* Single-digit *Salmonella* detection with the naked eye using bio-barcode immunoassay coupled with recombinase polymerase amplification and a CRISPR-Cas12a system [J]. *Analyst*, 2021. DOI: 10.1039/D1AN00717C
- [44] XIANG XR, YE QH, SHANG YT, *et al.* Quantitative detection of aflatoxin B₁ using quantum dots-based immunoassay in a recyclable gravity-driven microfluidic chip [J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 190. DOI: 10.1016/J.BIOS.2021.113394
- [45] 安静, 朱靖荣, 朱宁, 等. 化学发光免疫分析法在新疆地产动物源性食品中硝基呋喃代谢物检测的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(17): 5759–5765.
- AN J, ZHU JR, ZHU N, *et al.* Application of chemiluminescence immunoassay in detection of nitrofurans metabolites in animal-derived food in Xinjiang [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(17): 5759–5765.
- [46] 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 TQ, LAO CY, WANG SF, *et al.* Establishment of indirect competitive-enzyme linked immunosorbent assay to detect glucocorticoids: preparation of broad-spectrum monoclonal antibody [J]. *Food Sci*, 2019, 40(14): 186–191.
- [47] 王英姿, 闫剑勇, 张世伟. 基于异源包被的曲安奈德竞争酶联免疫检测方法[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(8): 263–267.
- WANG YZ, YAN JY, ZHANG SW. Development of indirect competitive ELISA for triamcinolone acetonide based on heterology coating strategy [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2020, 41(8): 263–267.
- [48] 张世伟, 姚添淇, 杨国武, 等. 一种糖皮质激素免疫层析广谱检测卡及其制备方法与应用: 中国, CN109324183A[P]. 2019-02-12.
- ZHANG SW, YAO TQ, YANG GW, *et al.* A glucocorticoid immunochromatographic broad spectrum detection card and its preparation method and application: China, CN109324183A [P]. 2019-02-12.
- [49] 袁媛. 糖皮质激素多残留免疫研究与量子点在免疫分析中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- YUAN Y. Study on multi residue immunity of glucocorticoid and application of quantum dots in immunoassay [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [50] 赵洋, 王婷, 华蕾, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中同分异构体构型糖皮质激素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(6): 1559–1564.
- ZHAO Y, WANG T, HUA L, *et al.* Determination of isomer configuration glucocorticoids in cosmetics by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(6): 1559–1564.
- [51] 包红磊, 张磊. UPLC-MS/MS 法检测抗风湿类中药制剂中非法添加的 21 种糖皮质激素类化学药物[J]. *中南药学*, 2020, 18(7): 1147–1151.
- NIE HL, ZHANG L. Detection of 21 illegally added glucocorticoids in anti-rheumatism medicine by UPLC-MS/MS [J]. *Cent South Pharm*, 2020, 18(7): 1147–1151.
- [52] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时快速测定化妆品中 81 种糖皮质激素[J]. *色谱*, 2017, 35(8): 816–825.
- LUO HT, HUANG XL, WU HQ, *et al.* Simultaneous rapid determination of 81 glucocorticoids in cosmetics by dispersive solid phase and extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(8): 816–825.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



陈凤燕, 主要研究方向为食品安全检测新技术。

E-mail: chenfy0501@163.com



刘凤银, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品安全检测新技术。

E-mail: liufengyin@gdei.edu.cn