

超高效液相色谱-串联质谱法测定 猪肝中的17- β -雌二醇

孙佳林¹, 金瑞¹, 张晶^{2,3}, 孙小杰⁴, 高群³, 邵兵^{2,3}, 牛宇敏^{2,3*}

(1. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069; 2. 北京市疾病预防控制中心, 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013; 3. 北京市预防医学研究中心, 北京 100013; 4. SCIEX 中国, 北京 100015)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 测定猪肝中 17- β -雌二醇 (17- β -estradiol, E2) 残留量的检测方法。**方法** 猪肝样品经 β -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶酶解后用 25.0 mL 甲醇提取, 加入 2.0 g 氯化锌除脂, 用 25.0 mL 水溶液稀释后上样液过 ENVI-Carb 柱, 用 5.0 mL 甲醇淋洗, 二氯甲烷:甲醇(7:3, V:V) 洗脱后经氨基柱进一步净化, 以甲醇-0.50 mmol/L 氟化铵作为流动相, 经 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m) 色谱柱分离后, 在电喷雾负离子多反应监测扫描 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式下进行检测。**结果** E2 的线性范围为 0.01~100.00 μ g/L, 相关系数 $r^2 > 0.999$, 检出限为 7 ng/kg, 定量限为 20 ng/kg, 添加水平为 0.02、0.05 和 0.10 μ g/kg 时的平均回收率为 101.1%~106.7%, 日内精密度的为 5.1%~7.3% ($n=6$), 日间精密度的为 10.0%。应用建立的方法对 5 份猪肝样品进行测定, 所有样品均检出 E2。**结论** 该方法具有灵敏度高、操作简单快速的特点, 适用于猪肝中 E2 残留量的检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 17- β -雌二醇; 猪肝

Determination of 17- β -estradiol in pork liver by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SUN Jia-Lin¹, JIN Rui¹, ZHANG Jing^{2,3}, SUN Xiao-Jie⁴, GAO Qun³, SHAO Bing^{2,3}, NIU Yu-Min^{2,3*}

(1. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China; 3. China Research Center for Preventive Medicine, Beijing 100013, China; 4. SCIEX China, Beijing 100015, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 17- β -estradiol (E2) residues in pork liver by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The pork liver sample was hydrolyzed by β -glucosidase/aryl sulfatase and extracted with 25.0 mL methanol, and 2.0 g zinc chloride was added to remove the grease, after diluted with 25.0 mL aqueous solution, the sample solution was passed through an ENVI-Carb column and eluted with 5.0 mL methanol, after eluted with dichloromethane: Methanol (7:3, V:V), the sample was further purified by an amino column with methanol-0.50 mmol/L ammonium fluoride as the mobile phase, and the assay was conducted in an electrospray negative ion multiple reaction monitoring (MRM) mode after separation on an ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m) column. **Results** The linear range of E2 was

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1605700、2017YFC1600300)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1605700, 2017YFC1600300)

*通信作者: 牛宇敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: nym0542010@163.com

*Corresponding author: NIU Yu-Min, Ph.D, Associate Professor, Beijing Center for Disease Prevention and Control, No.16, Hepingli Middle Street, Dongcheng District, Beijing 100013, China. E-mail: nym0542010@163.com

from 0.01 to 100.00 $\mu\text{g/L}$, with the correlation coefficient $r^2 > 0.999$, the limit of detection was 7 ng/kg, and the limit of quantitation was 20 ng/kg, the average recoveries at the addition levels of 0.02, 0.05, and 0.10 $\mu\text{g/kg}$ were 101.1%–106.7%, and the intra-day precision was 5.1%–7.3% ($n=6$), and the intra-day precision was 10.0%. Five pork liver samples were determined by the established method, and E2 was detected in all samples. **Conclusion** This method is sensitive, simple and rapid, and suitable for the determination of E2 residues in pork liver.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; 17- β -estradiol; pork liver

0 引言

17- β -雌二醇(17- β -estradiol, E2)是一种广泛存在于生物体内的内源性雌激素,在人体内正常含量水平很低。E2具有强且持久的蛋白质同化作用^[1],可以促进动物生长及提高畜禽瘦肉比,曾被用于畜禽和水产养殖业中^[2]。此外,E2能增加子宫对催产素的敏感性,被用于母猪的生产过程^[3]。外源性E2在动物体内残留,不仅会对动物本身产生危害,还可以通过食物链进入人体,影响人类内分泌系统,导致不孕、糖尿病、出生缺陷和生殖功能障碍,甚至可能影响后代^[4-7]。据文献报道,高浓度E2还可以增加女性乳腺癌和男性前列腺癌的发病率^[8-9],因此动物性食品中E2的监测具有重要意义。

目前关于动物性食品中E2残留的监测主要集中在牛肉、鸡蛋和牛奶中。有文献报道,牛肉中E2含量水平为(68.53 \pm 7.51) ng/kg^[10],鸡蛋中E2含量低于160 ng/kg^[11],乳清中E2的含量水平为(178.11 \pm 36.92) ng/L^[12],牛奶中E2的含量低于48 ng/L^[13]。本课题组近期对我国6个城市300余份市售牛肉、鸡肉以及牛奶中的E2含量进行了检测,90%市售牛肉中E2的含量都低于248.9 ng/kg、90%鸡肉样品E2的浓度低于39.3 ng/kg、90%牛奶样品中E2的浓度低于39.6 ng/kg^[14],这些结果均表明E2在动物组织中含量水平较低,目前暂无动物性食品中E2残留量限定标准。猪肝富含维生素A、维生素B₁₂和叶酸等营养物质,是我国居民饮食中的一种重要动物源性食品,第五次中国总膳食研究^[15]显示11个省市的猪肝每日实际消费量在0.35~9.35 g,占总肉类消费量的2.5%。然而针对猪肝样品中E2的监测数据非常少,这可能是由于肝脏样品基质复杂,检测方法有限。

AZZOUZ 等^[16]采用气相色谱-串联质谱法对猪肝基质中的E2进行检测,检出限为2.6 ng/kg,该方法虽然灵敏度比较高,但需要经过耗时的衍生。本课题组前期采用液相色谱-电喷雾电离-串联质谱法^[17]检测了动物源性食品中的E2,检出限为300 ng/kg,无法满足猪肝样品中痕量E2的监测需求。利用丹磺酰氯可以与酚羟基反应,从而提高检测灵敏度的原理^[18-19],本课题组近期通过柱前衍生法实现了动物肌肉和牛奶中E2的高灵敏度检测,定量限可达2 ng/kg^[14]。然而,预实验发现猪肝样品采用该方法测定时,基质效应强,定量限高达150 ng/kg,不能满足检测需要。研究发现在

流动相中添加氟化铵可以显著增强类固醇激素的电离信号^[20-21]。鉴于此,本研究拟通过优化仪器条件和前处理方法,建立猪肝样品中高灵敏简便快捷的超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测方法,为动物性食品中E2的监测和安全性评价提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

17- β -雌二醇(纯度大于等于98.5%)、17- β -雌二醇-¹³C₃(E2-¹³C₃)(纯度大于等于98.0%,德国Dr. Ehrenstorfer公司);乙酸、氟化铵、甲醇、乙腈、二氯甲烷(色谱纯)、ENVI-Carb(500 mg, 6 mL)固相萃取小柱(美国Sigma-Aldrich公司);三水合乙酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);氯化锌(分析纯,百灵威科技有限公司); β -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶(瑞士Roche公司);氨基柱(500 mg, 6 mL,美国Agilent公司)。

1.2 仪器与设备

ACQUITY™ UPLC 超高效液相色谱仪、ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)(美国Waters公司);Sciex QTRAP®-6500 三重四极杆串联质谱仪(美国SCIEX公司);Milli-Q 超纯水机(美国Millipore公司);N-EVAPTM-116 氮吹仪(美国Organomation公司);Vortex-Genies 2 涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司);Mettler Toledo XPE 105 电子天平(分度值:0.01 mg,瑞士梅特勒-托利多集团)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的制备

E2 标准储备液(1 mg/mL):准确称取E2 10.0 mg(精确至0.0001 g)用甲醇溶解,转移至10 mL棕色量瓶中,并稀释至刻度,配制成质量浓度为1.0 mg/mL的E2标准储备液。-20℃以下避光保存,有效期6个月。

E2-¹³C₃ 标准储备液(1 mg/mL):准确称取E2-¹³C₃ 10.0 mg(精确至0.0001 g)用甲醇溶解,转移至10 mL棕色量瓶中,并稀释至刻度,配制成质量浓度为1.0 mg/mL的E2-¹³C₃标准储备液。-20℃以下避光保存,有效期6个月。

1.3.2 样品前处理

猪肝样品剔除筋膜后,切成小块,用绞肉机搅碎后备

用。用电子天平精确称取猪肝样品 5.0 g (± 0.05 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 50 $\mu\text{g/L}$ 的 E2- $^{13}\text{C}_3$ 内标标准工作液 50.0 μL , 涡旋混匀。加入乙酸-乙酸钠缓冲液(pH=5.2) 10.0 mL 和 β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶 100.0 μL , 涡旋 1 min, 在 37 $^\circ\text{C}$ 恒温振荡 12 h。取出后放置至室温, 加入 25.0 mL 甲醇, 超声提取 30 min, 4 $^\circ\text{C}$ 、10000 r/min 离心 10 min, 上清液转入锥形瓶, 加水 25.0 mL, 混匀后再加入 2.0 g 氯化锌, 充分溶解后 4 $^\circ\text{C}$ 、10000 r/min 离心 10 min, 得到的上清液作为提取液。

提取液以 2 mL/min 速度通过 ENVI-Carb 固相萃取柱 [使用前依次用 6.0 mL 二氯甲烷:甲醇(7:3, V:V), 6.0 mL 甲醇和 6.0 mL 水活化], 加入 5.0 mL 甲醇淋洗, 再将小柱抽干。4.0 mL 二氯甲烷:甲醇溶液(7:3, V:V)洗脱 ENVI-Carb 小柱, 洗脱液进一步通过氨基柱[使用前用 6.0 mL 二氯甲烷:甲醇溶液(7:3, V:V)活化]净化, 收集流出液, 氮气吹干, 用 1.0 mL 甲醇-水溶液(1:1, V:V)复溶, 待测。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: A: 甲醇, B: 0.5 mmol/L 氟化铵; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 $^\circ\text{C}$; 进样量: 10 μL ; 梯度洗脱程序: 起始流动相为 20% A, 保持 0.5 min, 0.5 min 内线性升高至 30% A, 1 min 内线性升高至 40% A, 1 min 内线性上升至 100% A, 保持 2 min, 回到起始流动相比例, 平衡 2 min, 等待下次进样。

1.3.4 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 负离子扫描; 检测方式: 多反应监测(multiple response monitoring, MRM); 喷雾电压: -4500 V; 脱溶剂温度: 600 $^\circ\text{C}$; 辅助气 1: 45 psi; 辅助气 2: 55 psi; 气帘气: 25 psi; 碰撞气: N_2 ; 碰撞气压力: Medium。其他参数见表 1。

表 1 E2 及 E2- $^{13}\text{C}_3$ 质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters of E2 and E2- $^{13}\text{C}_3$

化合物	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞能量/eV
E2	271.2	145.2*	-120	-50
		182.9		-50
E2- $^{13}\text{C}_3$	274.2	145.2	-120	-50

注: *定量离子(the quantitative ion)。

1.3.5 统计分析

本研究中所有质谱数据采用 Analyst Software 软件和 MultiQuant 3.0.2(美国 SCIEX 公司)进行处理, 统计分析使用 GraphPad Prism 8.0.2(美国 GraphPad 公司)进行处理。

2 结果与分析

2.1 流动相的选择

E2 在负离子模式下响应较高, E2 质量浓度为 0.10 $\mu\text{g/L}$ 时, 甲醇作为流动相时信噪比(signal to noise, S/N)比乙腈高

1.2 倍。在此基础上比较了水相为水、0.1%氨水、0.05 mmol/L 氟化铵、0.10 mmol/L 氟化铵、0.50 mmol/L 氟化铵、2.00 mmol/L 氟化铵和 5.00 mmol/L 氟化铵水溶液时的 S/N, 结果如图 1 所示。流动相为甲醇-0.50 mmol/L 氟化铵时, 标准品的 S/N 最大, 为 119.6, 增大或降低水溶液中氟化铵浓度标准品 S/N 均会下降, 因此选择甲醇-0.50 mmol/L 氟化铵为本研究的流动相。

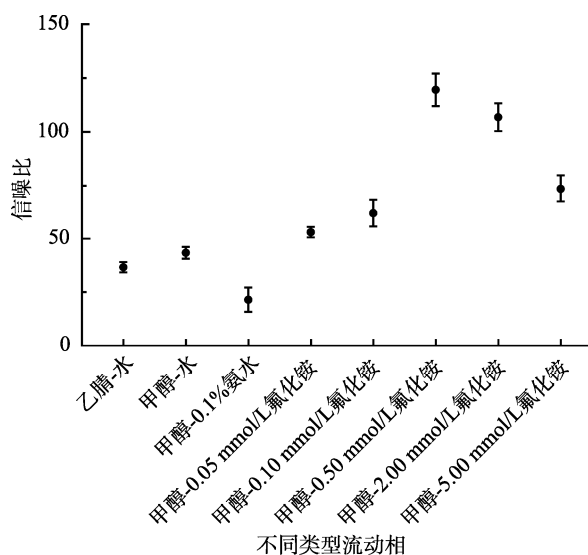


图 1 8 种不同流动相条件下的信噪比(n=3)

Fig.1 Signal to noise under 8 kinds of different flow phases (n=3)

2.2 净化方法的优化

在 UPLC-MS/MS 测定时, 基质中的杂质会影响目标化合物的电离, 基质效应是评价检测方法的重要指标之一。本研究中基质效应以目标化合物在样品基质中的响应与在纯溶剂中响应的百分比来表示。ENVI-Carb 固相萃取柱同时兼有反相吸附和阴离子交换功能, 氨基柱具有良好的除脂效果, 已被用于动物源性食品中 50 种激素的检测^[17], 采用该方法对肝脏样品进行净化后, E2 的基质效应达(47.5 \pm 0.6)%。这可能是由于猪肝中含有丰富的卵磷脂^[22], 它是两性分子, 既有磷酸、胆碱等亲水基团, 又有脂肪酸的羟基等这类疏水基团的存在, 使得其具有较强的乳化性, 难以单纯使用氨基柱去除。研究显示^[23-24], 卵磷脂可以通过与 Zn^{2+} 等二价金属离子结合, 形成共沉淀, 从而达到去除的目的。因此本研究在氨基小柱净化前加入 2.0 g 氯化锌进行除脂。除脂后的溶液澄清、过柱速度快、不发生堵塞, 基质效应改善为(72.0 \pm 0.3)%。

2.3 上样液体积的优化

提取液中有机相比比例较高, 直接上样会造成目标物在 ENVI-Carb 小柱上无法保留, 本研究优化了提取液加水

体积。分别比较了加入 50.0、25.0 和 15.0 mL 超纯水时 E2 的绝对回收率。加入 25.0 mL 超纯水时回收率为 (52.3 \pm 1.5)%, 显著高于加入 15.0 mL 超纯水时的 (35.6 \pm 1.8)%, 而加入 50.0 mL 超纯水时回收率为 (53.1 \pm 2.3)%, 此时回收率未有明显的提高, 但是过柱时间增长, 因此选择加入超纯水体积为 25.0 mL。

2.4 淋洗及洗脱液体积的优化

采用适当体积淋洗液淋洗 ENVI-Carb 柱可以有效去除杂质, 降低基质效应。本研究分别比较了 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL 的甲醇淋洗 ENVI-Carb 柱时的绝对回收率和 *S/N*。结果如表 2 所示, 淋洗液为 0.5~7.0 mL 时回收率相差不大, 淋洗液为 0.5~5.0 mL 时 *S/N* 随着淋洗液的体积增加而升高, 淋洗液体积进一步增加 *S/N* 没有明显改变, 因此选择淋洗液体积为 5.0 mL。

表 2 不同淋洗液体积下的回收率和信噪比($n=3$)
Table 2 Recovery rates and signal to noise ratios with different washing solution volumes ($n=3$)

淋洗液体积/mL	(绝对回收率 \pm SD)/%	<i>S/N</i> \pm SD
0.5	61.4 \pm 4.4	23.6 \pm 2.3
1.0	62.3 \pm 3.6	55.9 \pm 4.1
2.0	62.1 \pm 2.7	80.5 \pm 13.1
3.0	56.2 \pm 1.4	111.9 \pm 18.2
4.0	52.1 \pm 3.2	208.7 \pm 12.5
5.0	57.5 \pm 3.3	253.4 \pm 22.6
6.0	56.4 \pm 4.0	246.2 \pm 19.4
7.0	54.7 \pm 4.5	240.8 \pm 14.8

洗脱液的体积也是影响方法回收率和灵敏度的重要参数之一。洗脱液体积过少会造成目标物洗脱不完全, 洗脱液体积过多会造成过多杂质被洗脱。本研究比较了洗脱液体积为 2.0、4.0 和 6.0 mL 时 E2 的绝对回收率, 分别为 (13.3 \pm 3.2)%、

(69.6 \pm 4.1)%和(66.3 \pm 2.6)%, 洗脱液体积为 4.0 mL 时回收率最高, 且增大淋洗液体积回收率没有明显提升, 因此选择 4.0 mL 二氯甲烷:甲醇(7:3, *V/V*)溶液为洗脱液。

2.5 线性方程、检出限与定量限

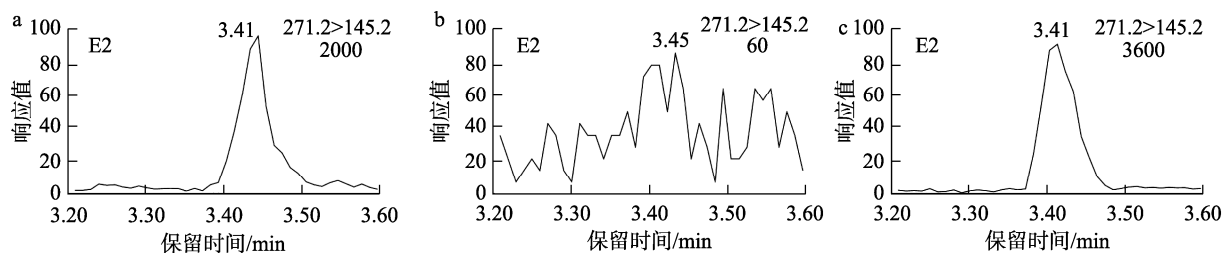
配制 E2 质量浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、1.00、5.00、10.00、50.00、100.00 $\mu\text{g/L}$, 内标 E2- $^{13}\text{C}_3$ 质量浓度为 0.50 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准溶液。经 UPLC-MS/MS 测定, 以 E2 的定量离子峰面积与 E2- $^{13}\text{C}_3$ 峰面积之比为纵坐标(*Y*), E2 的质量浓度为横坐标(*X*, $\mu\text{g/L}$), 绘制工作曲线, 内标法定量。结果表明 E2 在 0.01~100.00 $\mu\text{g/L}$ 范围内, 线性方程为 $Y=0.84924X+0.00686$, 线性相关系数 $r^2>0.999$ 。方法的灵敏度用定量限和检出限表示, 分别为空白猪肝样品中加入标准品后待测物定量离子 *S/N* ≥ 10 和 ≥ 3 的加标水平。经测定, 方法的定量限为 20 ng/kg, 检出限为 7 ng/kg。与现有的猪肝中 E2 残留量检测方法 GB/T 21981—2008 《动物源食品中激素多残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》相比, 定量限降低了 50 倍, 适用于猪肝中 E2 残留量的检测。

2.6 回收率与精密度

方法的准确性采用回收率评价, 方法的精密度以日内精密度和日间精密度评价。分别在 0.02、0.05 和 0.10 $\mu\text{g/kg}$ 加标水平下进行加标实验, 每组 6 个平行样品, 平均相对回收率分别为 106.7%、101.1%和 102.3%, 日内精密度分别为 5.1%、6.7%和 7.3%。在加标水平 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 时进行连续 5 d 加标回收实验, 日间精密度为 10.0%。说明方法具有良好的准确性和精密度。添加量为 0.02 $\mu\text{g/kg}$ 的猪肉样品和空白样品色谱图见图 2。

2.7 实际样品检测

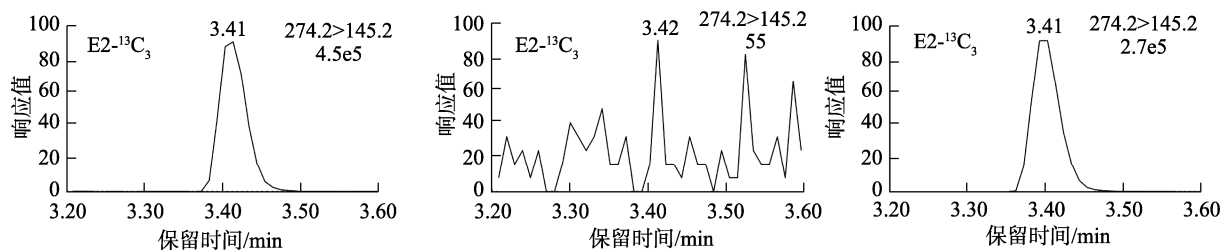
采用本研究所建立的方法, 对北京市 5 份猪肝样品进行检测。5 份猪肝样品中均检出了 E2, 4 份猪肝样品中 E2 浓度达到定量限, 检出浓度为 20.03~39.96 ng/kg, E2 及其内标 E2- $^{13}\text{C}_3$ 的色谱图见图 2c。表明本方法可用于猪肝样品中 E2 残留的定性筛查及定量测定。



注: a 为加标浓度为 0.02 $\mu\text{g/kg}$ 的标准品色谱图; b 为空白基质色谱图; c 为实际猪肝样品色谱图。

图 2 E2 和 E2- $^{13}\text{C}_3$ 色谱图

Fig.2 Chromatograms of E2 and E2- $^{13}\text{C}_3$



注: a 为加标浓度为 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标准品色谱图; b 为空白基质色谱图; c 为实际猪肝样品色谱图。

图 2(续) E2 和 E2- $^{13}\text{C}_3$ 色谱图

Fig.2 Chromatograms of E2 and E2- $^{13}\text{C}_3$

3 结论与讨论

本研究针对猪肝样品基质复杂这一特点, 通过优化液相条件、净化方法、上样液体积、淋洗液及洗脱液体积, 建立了猪肝基质中 E2 残留量检测的 UPLC-MS/MS 方法。与其他方法相比, 本方法前处理时间短、基质效应低, 无需衍生即可拥有良好的准确性和精密性, 检出限可达 7 ng/kg, 适用于猪肝样品中 E2 的定性筛查和定量分析。本方法的建立为其他动物性食品中 E2 残留检测提供了技术参考。

参考文献

- [1] 牛晋阳, 孙焕, 李莹莹. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 10 种固醇类激素残留[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 230-232.
NIU JY, SUN H, LI YY. Determination of 10 steroid hormone residues in pork by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2010, 31(4): 230-232.
- [2] 尹江伟, 刘红河, 刘祖强. 高效液相色谱-串联质谱法测定肉类食品和饲料中雌二醇和雌三醇[J]. 现代预防医学, 2010, 37(10): 1928-1930, 1933.
YIN JW, LIU HH, LIU ZQ. Determination of estradiol and estrin in meat foods and feeds by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Prev Med, 2010, 37(10): 1928-1930, 1933.
- [3] 李然, 孔德鑫. 母猪体内激素的作用及生殖激素的应用[J]. 现代畜牧科技, 2011, (6): 210.
LI R, KONG DX. The role of hormone and the application of reproductive hormone in sows [J]. Mod Anim Husb Sci Technol, 2011, (6): 210.
- [4] ALONSO-MAGDALENA P, QUESADA I, NADAL A. Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus [J]. Nat Rev Endocrinol, 2011, 7(6): 346-353.
- [5] FURST AL, HOEPKER AC, FRANCIS MB, *et al.* Quantifying hormone disruptors with an engineered bacterial biosensor [J]. ACS Cent Sci, 2017, 3(2): 110-116.
- [6] WU H, LI G, LIU S, *et al.* Monitoring the contents of six steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in chicken, fish and aquaculture pond water samples using pre-column derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction with the aid of experimental design methodology [J]. Food Chem, 2016, 192: 98-106.
- [7] SCHUG TT, JANESICK A, BLUMBERG B, *et al.* Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2011, 127(3-5): 204-215.
- [8] ELIASSEN AH, SPIEGELMAN D, XU X, *et al.* Urinary estrogens and estrogen metabolites and subsequent risk of breast cancer among premenopausal women [J]. Cancer Res, 2012, 72(3): 696-706.
- [9] ADEEL M, SONG X, WANG Y, *et al.* Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review [J]. Environ Int, 2017, 99: 107-119.
- [10] SHAHBAZI Y, MALEKINEJAD H, TAJIK H, *et al.* Determination of naturally occurring estrogenic hormones in cow's and river buffalo's meat by HPLC-FLD method [J]. J Food Drug Anal, 2016, 24: 457-463.
- [11] WANG QL, ZHANG AZ, PAN X, *et al.* Simultaneous determination of sex hormones in egg products by ZnCl_2 depositing lipid, solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2010, 678(1): 108-116.
- [12] 徐庄剑, 马亚萍, 李莉华, 等. 市售纯牛奶乳清雌二醇和孕酮含量分析[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 252-254.
XU ZJ, MA YP, LI LH, *et al.* Immuno chemiluminpmetric assay for a survery of estradiol and progesterone contents in different commercial brands of wholr milk [J]. Food Sci, 2010, 31(6): 252-254.
- [13] 袁丽君, 徐庄剑, 胡瑜, 等. 部分牛奶中雌二醇和孕酮的含量分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(2): 139-141.
YUANG LJ, XU ZJ, HU Y, *et al.* Analysis for estrigen and progesterone in whole milk [J]. Chin J Food Hyg, 2007, 19(2): 139-141.
- [14] 杨奕, 张晶, 杨蕴嘉, 等. 液相色谱-串联质谱法测定动物肌肉和牛奶中的雌二醇[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3652-3657.
YANG Y, ZHANG J, YANG YJ, *et al.* Determination of estradiol in animal muscle and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(9): 3652-3657.
- [15] 吴永宁, 赵云峰, 李敬光. 第五届中国总膳食研究[M]. 北京: 科学出版社, 2017.
WU YN, ZHAO YF, LI JG. The fifth china total diet study [M]. Beijing: Science Press, 2017.
- [16] AZZOUEZ A, SOUHAIL B, BALLESTEROS E. Determination of residual pharmaceuticals in edible animal tissues by continuous solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Talanta, 2011, 84(3): 820-828.
- [17] YANG Y, SHAO B, ZHANG J, *et al.* Determination of the residues of 50 anabolic hormones in muscle, milk and liver by very-high-pressure liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877(5-6): 489-496.

- [18] BONFOH SI, LI D, XIONG X, *et al.* Novel PEP-PAN@PSF rods extraction of EDCs in environmental water, sediment, and fish homogenate followed by pre-column derivatization and UHPLC-MS/MS detection [J]. *Talanta*, 2020, 210: 120661.
- [19] 杨娜, 王敏, 王月园, 等. 柱前衍生化-超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法测定人血清中 11 种雌激素的方法学研究[J]. *医药导报*, 2020, 39(4): 555-561.
- YANG N, WANG M, WANG YY, *et al.* Methodology study on the determination of 11 estrogens in human serum by pre-column derivatization-UPLC-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Her Med*, 2020, 39(4): 555-561.
- [20] MEZZULLO M, PELUSI C, FAZZINI A, *et al.* Female and male serum reference intervals for challenging sex and precursor steroids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2020, 197: 105-538.
- [21] HAKKINEN MR, MURTOLA T, VOUTILAINEN R, *et al.* Simultaneous analysis by LC-MS/MS of 22 ketosteroids with hydroxylamine derivatization and underivatized estradiol from human plasma, serum and prostate tissue [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 164: 642-652.
- [22] 于喆. 猪肝磷脂综合开发利用的初步研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2009.
- YU Z. The preliminary study on the comprehensive development and utilization of pork liver phospholipids [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2009.
- [23] 马萍, 陈有亮. 鸭蛋黄卵磷脂的提取与精制[J]. *食品与发酵工业*, 2006, (5): 163-165.
- MA P, CHEN YL. Extraction and reification of duck egg yolk lecithin [J]. *Food Ferment Ind*, 2006, (5): 163-165.
- [24] 米晓霞. 禽蛋及猪血浆中类固醇激素含量的检测液相色谱串联质谱法 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- MI XX. Determination of steroids in eggs and porcine plasma by liquid chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



孙佳林, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: sunjialin03@163.com



牛宇敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: nym0542010@163.com