

doi:10.12301/spxb202201022

文章编号:2095-6002(2024)02-0177-08

引用格式:刘勇军,刘洪斌,雷春娟,等.超高效液相色谱-串联质谱法快速测定动物组织中地塞米松与倍他米松药物残留[J].



食品科学技术学报,2024,42(2):177-184.

LIU Yongjun, LIU Hongbin, LEI Chunjuan, et al. Quick determination of dexamethasone and betamethasone residues in animal tissues by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(2): 177-184.

# 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定动物组织中地塞米松与倍他米松药物残留

刘勇军, 刘洪斌, 雷春娟, 侯东军, 田亚平

(中国动物疫病预防控制中心, 北京 102600)

**摘要:**在承担糖皮质激素风险监测任务时,发现2个现行有效的关于检测动物组织中糖皮质激素的国家标准(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》和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》)中的样品前处理均采用了固相萃取方法,从而导致了检测过程中过柱净化烦琐、氮吹浓缩时间长、检测成本高、生态环境不友好等诸多弊端。在经过大量实验研究及经实际工作应用检验的基础上,研究简化了动物组织中地塞米松和倍他米松残留检测中样品前处理固相萃取过柱和氮吹过程,建立了快速、准确、灵敏的动物组织(牛肝、牛肉、猪肝与猪肉)中残留的地塞米松和倍他米松的超高效液相色谱-串联质谱的同时检测方法。样品在盐析条件下经乙腈提取,正己烷脱脂,采用电喷雾多反应监测、负离子模式测定,对动物组织中地塞米松和倍他米松进行定性和定量。地塞米松和倍他米松的检出限可达 $0.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限可达 $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。在地塞米松和倍他米松的质量浓度为 $0.1\sim 50.0\ \mu\text{g}/\text{L}$ ,峰强度与质量浓度的线性关系良好( $R^2 > 0.99$ )。在地塞米松和倍他米松的 $1.0, 2.0, 5.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下,方法的平均回收率在 $83.3\%\sim 98.2\%$ 。希望该研究可为实验室大批量检测此类药物在动物组织中的残留提供一定的借鉴。

**关键词:**动物组织;糖皮质激素;地塞米松;倍他米松;残留

**中图分类号:**TS251.7

**文献标志码:**A

地塞米松(dexamethasone)和倍他米松(beta-methasone)属于糖皮质激素,是类固醇类肾上腺皮质激素,临床上应用较为广泛。地塞米松和倍他米松对炎症、过敏、休克、毒血症、自身免疫性疾病、哮喘等具有显著的治疗作用。近年来发现,该类激素也存在着很大的副作用,如降低抗感染及抗肿瘤的免疫功能、升高血糖、诱发上消化道出血等。长期使用该类激素会导致水钠潴留而增高血压、骨质疏松、胎儿畸形、流产及早产<sup>[1-4]</sup>。

在使用不当的情况下,动物组织中残留的过量倍他米松和地塞米松会对人体健康造成严重危害。我国农业农村部于2019年颁布的食品安全国家标准GB 31650—2019《食品中兽药最大残留限量》<sup>[5]</sup>对动物性食品中地塞米松和倍他米松最高残留限量(maximum residue limits, MRL)规定:倍他米松的MRL在牛、猪的肌肉中为 $0.75\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾中为 $0.75\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝中为 $2.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 、牛奶中为 $0.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ;地塞米松的MRL在牛、猪、马的肌肉中

为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾中为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝中为 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，牛奶中为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。为了实现对倍他米松和地塞米松残留的有效监控，建立对该类药物可靠、快速和行之有效的残留检测方法尤为必要。

目前我国制定的涉及地塞米松和倍他米松 2 种药物在动物性食品中残留量分析的标准有农业部 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》<sup>[6]</sup>、SN/T 2222—2008《进出口动物源性食品中糖皮质激素类兽药残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》<sup>[7]</sup>、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》<sup>[8]</sup>和 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 液相色谱-串联质谱法》<sup>[9]</sup>等。但这些标准有的仅包括两种药物中的一种 (SN/T 2222—2008 和 GB/T 21981—2008)，有的适用范围不是猪、牛相关组织 (GB/T 22957—2008)，还有的标准采用碱水解 (农业部 1031 号公告-2—2008) 进行前处理，前处理比较复杂烦琐。目前，尚无完善的应用于猪、牛可食性组织中检测这 2 种药物且前处理高效快速的相关国家标准。国内外相关研究中，对糖皮质激素残留检测方法的研究很多，但绝大多数相关研究都是采用固相萃取方法。固相萃取方法因为需要比较烦琐的过柱处理，且氮吹浓缩过程时间长、成本高，不符合生态环境友好理念。

本研究方法是在经过大量实验研究及经实际工作应用检验的基础上，简化了兽药残留前处理中烦琐的过柱和氮吹过程，样品从取样到上机在 20 min 内即可完成；同时，通过文献检索发现，在检测倍他米松和地塞米松等糖皮质激素残留时，相关标准 (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》采用碱水解、农业部 1063 号公告-1—2008《动物尿液中 9 种糖皮质激素的检测 液相色谱-串联质谱法》<sup>[10]</sup>采用酶水解) 和其他文献报道的在前处理时存在采用酶水解或碱水解方法的情况，水解时间更是超过 12 h，而本研究方法通过实际阳性样品的酶解和非酶解对比实验，发现酶解和非酶解 2 种处理方法得到的实验结果相差无几。希望本研究建立的方法可以为倍他米松和地塞米松残留检测过程中，简化样品处理提供一定的技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

地塞米松和倍他米松，标准品，德国 Dr. Ehrenstorfer 公司；甲醇、甲酸、乙腈，色谱纯，美国 Fisher 试剂公司；5982-0032 型盐包，美国安捷伦公司；0.22  $\mu\text{m}$  微孔有机滤膜，天津津腾实验设备有限公司； $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶 (酶活大于  $1 \times 10^5 \text{ U}/\text{mL}$ )，上海安谱实验科技股份有限公司。

### 1.2 仪器与设备

ACQUITY 型超高压液相色谱仪，美国 Waters 公司；Xevo TQS 型质谱仪，美国 Waters 公司；BS210S 型电子天平，北京赛多利斯天平有限公司；MILLIPORE 型超纯水仪，美国密理博公司；高速离心机、旋涡混合器，美国 Sigma 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 液相色谱与质谱条件

##### 1.3.1.1 液相色谱条件

色谱柱为 XBridge BEH  $\text{C}_{18}$  (100 mm  $\times$  2.1 mm  $\times$  2.5  $\mu\text{m}$ )；流动相的 A 相为体积分数为 0.1% 的甲酸水溶液，B 相为乙腈；流速为 0.3 mL/min，柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ，进样量为 10  $\mu\text{L}$ ，梯度洗脱条件见表 1。

表 1 UPLC 的梯度洗脱条件

Tab.1 Gradient elution conditions of UPLC

$t/\text{min}$	$\varphi(\text{A 相})/\%$	$\varphi(\text{B 相})/\%$
0	75	25
7.0	72	28
7.5	20	80
8.1	75	25
10.0	75	25

##### 1.3.1.2 质谱条件

电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI)，毛细管电压为 3.0 kV，检测方式为多反应监测负离子模式，离子源温度为 150  $^{\circ}\text{C}$ ，脱溶剂温度为 450  $^{\circ}\text{C}$ ，脱溶剂气流速为 850  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ ，锥孔反吹气流速为 150  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ ，定性、定量离子对，见表 2。

##### 1.3.2 标准溶液的配制

准确称取地塞米松和倍他米松标准品 10 mg 于 10 mL 的容量瓶中，用乙腈溶解并定容，得质量浓度为 1 mg/mL 的标准储备液，-18  $^{\circ}\text{C}$  保存。再取适量储备液用乙腈梯度稀释定容到 1 mg/L 作为工作液，

4℃冰箱保存,备用。

表2 测定地塞米松和倍他米松的MS/MS参数

Tab.2 MS/MS parameters for determination of dexamethasone and betamethasone

化合物	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	<i>U</i> (锥孔 电压)/V	<i>E</i> (碰撞 能量)/eV
地塞米松	436.9	306.7	30	30
		360.8*		20
倍他米松	436.9	306.7	30	30
		360.8*		20

\*为定量离子。

准确量取适量的地塞米松和倍他米松标准溶液,用初始流动相稀释,分别制备成0.1、1.0、5.0、10.0、50.0 μg/L的工作曲线溶液,待上机检测分析。

### 1.3.3 样品前处理方法

称取试样5 g(准确至5.00 ± 0.05 g)置于50 mL离心管中,加入3 mL水、10 mL乙腈、陶瓷均质子和5982-0032型盐包,涡旋提取3 min,低温离心5 min,取上清液5 mL,加入5 mL正己烷除脂,涡旋混合1 min,低温离心5 min,取下层清液0.5 mL加入0.5 mL初始流动相,涡旋混匀,0.22 μm微孔滤膜过滤,供UPLC-MS/MS测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件的优化

地塞米松和倍他米松为同分异构体,定性离子和定量离子均相同,若要准确定量这些化合物,必须使各色谱峰能有效地分离。本研究考察了乙腈、甲醇、体积分数为0.1%的甲酸水溶液、体积分数为0.2%的甲酸水溶液作为流动相,运用不同的梯度,在XBridge BEH C<sub>18</sub>(100 mm × 2.1 mm × 2.5 μm)色谱柱上进行色谱分离对比优化实验。

研究发现,选用甲醇作为有机相时,不能够有效地分开地塞米松和倍他米松,而选用乙腈则能使地塞米松和倍他米松很好地分离。同时,在响应方面,体积分数为0.1%的甲酸水溶液的响应要稍高于体积分数为0.2%的甲酸水溶液。因此,本研究最终选择乙腈和0.1%甲酸为流动相。优化条件下,地塞米松和倍他米松的MRM色谱见图1,由图1可知,地塞米松和倍他米松2个同分异构体得到了完全的分,基线噪音较低,峰型尖锐,且保留时间适当。

### 2.2 样品前处理条件的优化

地塞米松和倍他米松的极性较弱,在有机溶剂中的溶解度较好。目前在检测地塞米松和倍他米松残留的文献报道和标准中,大部分采用乙腈、甲醇和乙酸乙酯等有机试剂作为主要提取试剂,如农业部1031号公告-2—2008、GB/T 22957—2008、SN/T 2222—2008,龚兰等<sup>[11]</sup>、严华等<sup>[12]</sup>、李飞等<sup>[13]</sup>、叶磊海等<sup>[14]</sup>、Chen等<sup>[15]</sup>均采用乙酸乙酯,王秀云<sup>[16]</sup>、闫永欢等<sup>[17]</sup>、田海伟等<sup>[18]</sup>检测牛奶中的糖皮质激素采用乙腈作为提取试剂,杨毅青等<sup>[19]</sup>、牛晋阳等<sup>[20]</sup>采用甲醇作为提取试剂测定牛奶和鸡蛋中的地塞米松等。本研究通过比较乙腈、甲醇和乙酸乙酯3种提取试剂发现:甲醇提取液中共提取物较多,基质效应明显;乙腈能够有效沉淀基质中的蛋白质,提取液比较澄清,且响应值较高;乙酸乙酯极性较小,提取效率相对要低,实验中一般要多次富集浓缩才能提高回收率。因此,本研究最终采用乙腈作为提取溶剂。

根据兽药残留检测分析的一般流程,提取后需进行相应的净化去杂质过程,以此来提高检测灵敏度和更好地定性定量,而常用的净化手段一般有液液萃取和固相萃取方法。目前,国标方法和相关期刊文献所报道的方法一般是采用如利用Silica固相萃取柱、HLB固相萃取柱、Oasis PRIME HLB固相萃取柱进行固相萃取或QuEChERS分散固相萃取方法,来净化检测动物源性中地塞米松和倍他米松等糖皮质激素。固相萃取虽然能净化提取液,但它确实是残留检测分析中一个非常费时、费钱且会降低回收率的一个主要环节,并且还伴随着相应环节的污染。因此,如果能有效规避固相萃取环节而能达到相应的检测分析要求,无疑是残留检测分析中最好的选择。

在研究中发现,纯标准品溶液的地塞米松和倍他米松在仪器上的灵敏度响应比较好,在0.1 μg/L的低浓度下还有很好的响应。所以采用稀释的方法,能有效降低上机时溶液中的杂质含量。在结合前处理中乙腈对蛋白质的沉淀和正己烷的脱脂效果,以及盐析对提取的辅助增效和加入3 mL水对水溶性杂质去除的协同净化效果,基本上达到了利用固相萃取净化的同等效果。事实上,最终方法的回收率也验证了前处理的合理性和科学性,实现了无须固相萃取净化而高效、快速检测分析的最终目的。

考虑到一些相关文献报道糖皮质激素在动物体内以结合形式的共轭态化合物存在,所以,一些检测



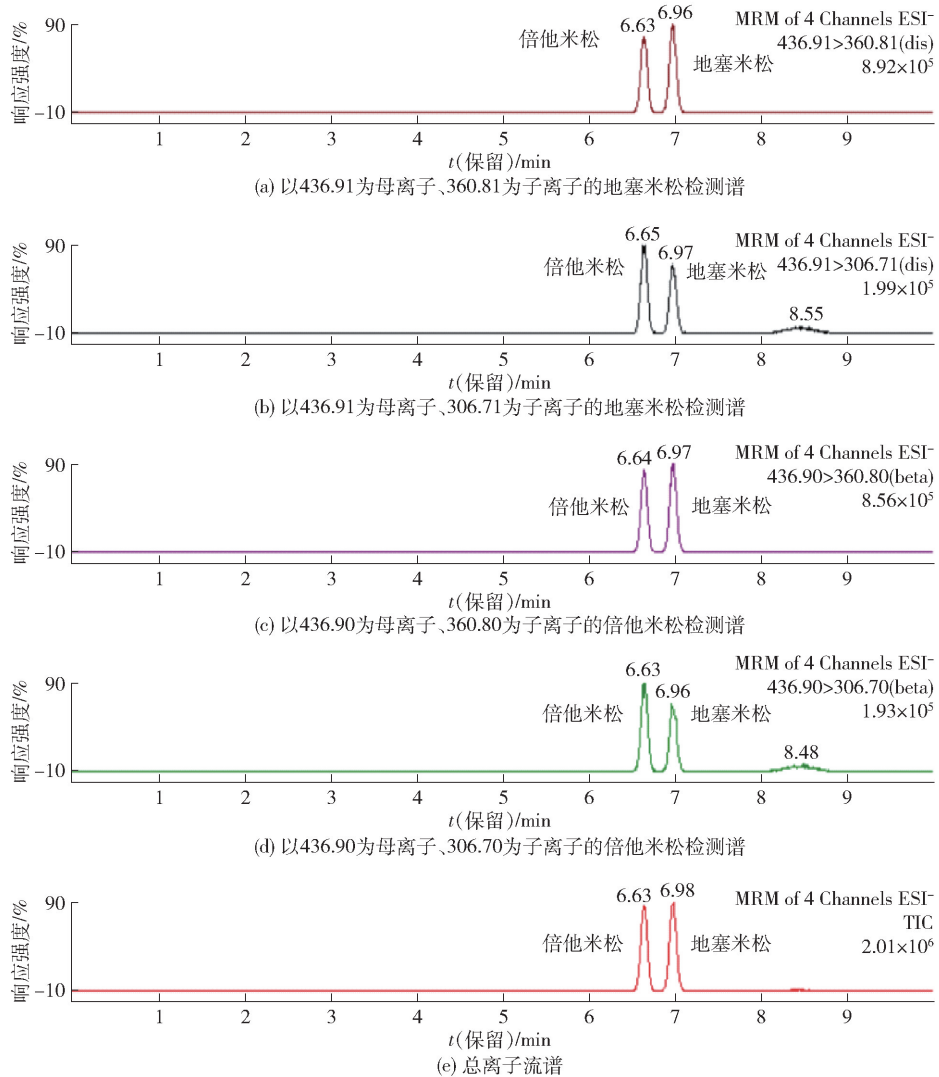


图1 优化条件下地塞米松和倍他米松的MRM色谱

Fig. 1 MRM chromatograms of dexamethasone and betamethasone under optimum conditions

糖皮质激素的方法采用酶解( $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶)或水解的方式,使结合态的目标物能游离出来,从而使检测数据能更真实地反映基质内目标物的实际残留存在情况。为了验证这种判断是否真的正确,笔者以牛肝、牛肉和猪肝、猪肉各3个实际阳性样品做了酶解和非酶解的对比实验。其中酶解实验在参照国家标准农业部1063号公告-1—2008《动物尿液中9种糖皮质激素的检测液相色谱-串联质谱法》<sup>[10]</sup>和文献[11]关于酶解部分的基础上进行。具体操作步骤:组织均质后,准确称取2g(精确至0.01g)组织试样于50mL离心管中,加入40 $\mu$ L $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶(新购且酶活有效)和5mL0.2mol/L乙酸铵缓冲液(pH=5.2),涡旋混匀,于40 $^{\circ}$ C下避光振荡6h之后,加入10mL乙腈、陶瓷均质子和5982-0032型盐包,涡旋提取3

min,后续步骤同1.5节,研究结果见表3。

对表3的数据进行数据差异显著性分析(方差分析的无重复双因素分析),得到数据分析关键参数值为 $F = 0.29204$ , $P = 0.59969$ , $F_{crit} = 4.8443$ 。同时,若根据“ $0.01 < P < 0.05$ ,表示差异显著;若 $P < 0.01$ ,则表示差异极显著;如果 $F < F_{crit}$ , $P > 0.05$ ,则表示2组数据无差异”的判定标准,可以看出,4种组织中的阳性样品在酶解和非酶解的实验中得到的分析检测结果数据差异不明显。由此可以得出结论,测定动物组织如牛肝、牛肉、猪肝和猪肉中的地塞米松和倍他米松的残留量是可以不酶解的,从而达到快速高效的检测分析目的。

## 2.3 方法学考察

### 2.3.1 线性关系和检出限、定量限

在最佳的测试条件下,使用逐级稀释配制好的

表3 酶解和非酶解阳性样品的对比分析结果

Tab. 3 Comparison test results in enzymatic hydrolysis and non-enzymatic hydrolysis of positive samples

样品类型	$w$	
	酶解	非酶解
牛肝	21.3	21.2
	15.6	15.9
	12.7	12.5
牛肉	8.6	8.5
	13.5	13.7
	9.2	9.1
猪肝	27.5	27.4
	19.6	19.5
	14.2	14.3
猪肉	6.5	6.6
	11.3	11.1
	13.7	13.6

系列标准工作曲线溶液,采用外标法进行分析定量。分别以标准溶液浓度( $x$ )与监测定量离子峰面积( $y$ )绘制标准曲线,并分别以3倍和10倍信噪比对应峰高的质量分数作为检出限和定量限,通过对实验结果分析得出:倍他米松标准曲线线性方程为 $y = 2379.6x + 301.7$ ,相关系数 $R^2 = 0.998$ ;地塞米松标准曲线线性方程为 $y = 2872.6x + 437.8$ ,相关系数 $R^2 = 0.998$ ,地塞米松和倍他米松在质量浓度 $0.1 \sim 50 \mu\text{g/L}$ 线性关系良好;方法检出限和定量限分别为 $0.5 \mu\text{g/kg}$ 和 $1.0 \mu\text{g/kg}$ 。

### 2.3.2 准确度和精密度

分别以猪肉、猪肝和牛肉、牛肝样品作为空白基质,向空白的样品中分别添加 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $5.0 \mu\text{g/kg}$  3个水平的地塞米松和倍他米松标准品,进行加标回收试验来评价方法的准确度和精密性。每个浓度水平做6个平行试验,计算加标回收率和相对标准偏差(RSD),其结果见表4。结果表明:地塞米松和倍他米松在 $1.0$ 、 $2.0$ 、 $5.0 \mu\text{g/kg}$ 添加水平下平均回收率在 $85.5\% \sim 98.2\%$ ,RSD均低于 $7\%$ 。说明本方法可以满足残留检测分析的指标参数要求。

## 3 结论

本研究建立的超高效液相色谱-串联质谱法测定动物组织中的地塞米松和倍他米松残留,选择乙

表4 组织中地塞米松和倍他米松加标回收率和相对标准偏差

Tab. 4 Recoveries and RSD of dexamethasone and betamethasone in animal tissues

基质	$w$ (添加)/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	回收率/%		RSD/%	
		地塞米松	倍他米松	地塞米松	倍他米松
猪肝	1.0	89.6	87.3	3.5	4.3
	2.0	93.3	95.1	4.1	3.9
	5.0	98.2	96.7	5.5	6.7
猪肉	1.0	86.1	85.3	3.3	4.5
	2.0	88.2	87.7	4.7	3.9
	5.0	93.9	91.6	2.8	3.7
牛肝	1.0	87.4	83.3	4.6	3.8
	2.0	88.0	91.1	5.1	3.4
	5.0	92.2	90.5	4.4	3.5
牛肉	1.0	85.5	87.8	3.6	3.7
	2.0	90.3	91.2	2.7	3.4
	5.0	92.2	93.7	3.0	3.8

腈作为提取溶剂,样品在盐析条件下经乙腈提取,采用正己烷脱脂,有效去除了样品中蛋白、脂肪等杂质的干扰。在结合地塞米松和倍他米松在超高效液相色谱-串联质谱响应好的条件下,在提取净化环节,采用萃取、稀释而无须酶解等有效手段,实现了无须固相萃取净化、氮吹浓缩等冗余过程。在比较采用国家检测标准农业部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》、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》和本研究方法测定动物组织中的地塞米松和倍他米松时,可以明显发现,本方法使得整个实验过程条件更易于控制,具有操作简便快捷、试剂消耗少而成本低、测试周期短、灵敏度高等诸多优点。同时,通过残留检测方法学考察,方法的线性范围、回收率和精密度等参数均能满足我国和欧盟的规定,方法具有较高的重现性和可操作性,能满足动物组织中地塞米松和倍他米松的定性和定量分析要求。希望该方法的建立,能有效提升地塞米松和倍他米松残留风险隐患的排查能力,同时也为国家以后重修制定地塞米松和倍他米松等糖皮质激素残留检测方法提供一种技术借鉴和参考。

### 参考文献:

- [1] HARRIS A, SECKL J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease[J]. Hormones and Be-

- havior, 2011, 59(3): 279–289.
- [2] 蒙龙, 陈永飞, 张晋萍, 等. 糖皮质激素引起的严重消化道并发症及其预防[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(5): 596–600.  
MENG L, CHEN Y F, ZHANG J P, et al. Glucocorticoid-induced gastrointestinal complications and prophylaxis [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2013, 18(5): 596–600.
- [3] SOCAS-RODRÍGUEZ B, LANKOVÁ D, URBANCOVÁ K, et al. Multiclass analytical method for the determination of natural/synthetic steroid hormones, phytoestrogens, and mycoestrogens in milk and yogurt [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(18): 4467–4477.
- [4] 冯月超, 王建凤, 侯帆, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉中 44 种食源性兴奋剂和 6 种孕激素[J]. 色谱, 2022, 40(5): 409–422.  
FENG Y C, WANG J F, HOU F, et al. Determination of 44 foodborne stimulants and 6 progestogens in meat by QuEChERS and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(5): 409–422.
- [5] 中华人民共和国农业农村部, 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品中兽药最大残留限量: GB 31650—2019 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. Maximum residue limits for veterinary drugs in foods; GB 31650—2019 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [6] 中华人民共和国农业农村部. 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: 农业部 1031 号公告-2—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Determination of glucocorticoids residues in animal products LC-MS/MS method; Ministry of Agriculture Announcement No. 1031-2—2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 进出口动物源性食品中糖皮质激素类兽药残留量检测方法液相色谱-质谱/质谱法: SN/T 2222—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Determination of glucocorticoids residues in foodstuffs of animal origin for import and export LC-MS/MS method; SN/T 2222—2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [8] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 动物源食品中激素多残留检测方法: GB/T 21981—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Determination of hormone multiresidues in foodstuff of animal origin; GB/T 21981—2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [9] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 河豚鱼、鳗鱼及烤鳗中九种糖皮质激素残留量的测定: GB/T 22957—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Determination of nine glucocorticoids residues in fugu, eel and baked eel; GB/T 22957—2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2009.
- [10] 中华人民共和国农业农村部. 中华人民共和国国家标准 动物尿液中 9 种糖皮质激素的检测 液相色谱-串联质谱法: 农业部 1063 号公告-1—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [11] 龚兰, 陈明, 魏娴, 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]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2016, 44(1): 74–80.
- [12] 严华, 云环, 刘鑫, 等. UHPLC-LTQ Orbitrap MS 测定鸡肉组织中 5 种糖皮质激素残留 [J]. 分析测试学报, 2013, 32(8): 909–914.  
YAN H, YUN H, LIU X, et al. Determination of 5 glucocorticoids residues in chicken muscle tissue by ultra high performance liquid chromatography LTQ Orbitrap mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(8): 909–914.
- [13] 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 L L, ZHANG Y, et al. LC-MS/MS determination of glucocorticoids residues in quick-frozen meat products [J]. Food Science, 2010, 31(2): 154–156.

- [14] 叶磊海, 叶佳明, 裘钧陶, 等. 液相色谱-四极杆飞行时间质谱用于快速筛查动物组织中多种激素残留的方法研究和应用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(24): 229-238.  
YE L H, YE J M, QIU J T, et al. Study and application on the method of liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry for rapid screening of multiple hormone residues in animal tissues[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(24): 229-238.
- [15] CHEN D M, TAO Y F, LIU Z Y, 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]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2010, 27(10): 1363-1371.
- [16] 王秀云. 含二氧化钛的 QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中 15 种糖皮质激素的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2022, 58(5): 581-587.  
WANG X Y. Determination of residues of 15 glucocorticoids in milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry after purification with QuEChERS containing titanium dioxide[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Chemical Analysis), 2022, 58(5): 581-587.
- [17] 闫永欢, 陈敏娜, 檀笑昕, 等. 整体柱在线净化-液相色谱-高分辨质谱法快速测定牛奶中 15 种糖皮质激素[J]. 分析实验室, 2021, 40(12): 1393-1398.  
YAN Y H, CHEN M N, TAN X X, et al. Fast determination of 15 glucocorticoids in milk by monolith column with on-line purification-liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2021, 40(12): 1393-1398.
- [18] 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 H W, FENG H B, LI J, et al. Rapid determination of 18 glucocorticoids in milk using QuEChERS coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2017, 38(12): 310-314.
- [19] 杨毅青, 王莉佳, 马增辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源基质中地塞米松的残留量[J]. 食品安全导刊, 2021(31): 93-95.  
YANG Y Q, WANG L J, MA Z H, et al. Determination of dexamethasone residues in animal matrix by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Food Safety Magazine, 2021(31): 93-95.
- [20] 牛晋阳, 时宏霞. 液质法测定猪肉中八种糖皮质激素残留[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 212-214.  
NIU J Y, SHI H X. Determination of glucocorticoid residues in pork by HPLC-MS/MS [J]. Food Science, 2010, 31(12): 212-214.

## Quick Determination of Dexamethasone and Betamethasone Residues in Animal Tissues by Ultra-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

LIU Yongjun, LIU Hongbin, LEI Chunjuan, HOU Dongjun, TIAN Yaping  
(China Animal Disease Control Center, Beijing 102600, China)

**Abstract:** When undertaking glucocorticoid risk monitoring missions, the solid phase extraction method was used in the sample pretreatment of two currently valid national standards (*Announcement 1031-2—2008 of the Ministry of Agriculture Determination of glucocorticoids residues in animal products by LC-MS/MS method* and *GB/T 21981—2008 Determination of hormone multiresidues in foodstuffs of animal origin: LC-MS/MS method*), led to drawbacks in the testing process, such as intricacies for column purification and time consuming of nitrogen blowing concentration, high testing cost and unfriendly ecological environment and so on. Therefore, on the basis of a large number of experimental studies and practical application tests, the sample pretreatment solid phase extraction through column and nitrogen blowing in

the detection of dexamethasone and betamethasone residues in animal tissues was simplified. The method for simultaneous determination of dexamethasone and betamethasone residues in animal tissues (beef liver, beef, pork liver and pork) was developed by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Samples were extracted with acetonitrile in the condition of salt fractionation and degreased by hexane. Identification and quantification of dexamethasone and betamethasone were carried out by electrospray ionization in negative mode using multiple-reaction monitoring, and the limits of detection was 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , limits of quantitation was 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . There was a good linear relationship between the peak intensity and the mass concentrations within the range of 0.1 – 50.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ , and the correlation coefficients were good ( $R^2 > 0.99$ ). The average recoveries of this method for spiked samples in the levels of 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  were in the range of 83.3% – 98.2%. The research could provide reference for the large-scale detection of residues of this type of drugs in animal tissues in laboratory.

**Keywords:** animal tissue; glucocorticoid; dexamethasone; betamethasone; residue

(责任编辑:李 宁)

---

(上接第 161 页)

typical broccoli and green broad bean aroma. Due to the limitation of preparation methods, the flavor had not yet achieved large-scale productions and literature reported that its yield was only about 8%. Using cinnamaldehyde as the raw material, dimethyl sulfoxide and oxalyl chloride as methylthiomethylation reagents, a new method of flavor  $\alpha$ -methylthiomethyl cinnamaldehyde was developed. GC-MS was used to monitor the residual amount of cinnamaldehyde in the reaction, and the impact of reaction conditions such as the reaction ratios, solvent type, reaction temperature on product yield was examined. The results showed that, with xylene as solvent, dimethyl sulfoxide and oxalyl chloride reacted first to produce an intermediate of electrophilic methyl methylenethionium salt, and then triethylamine, 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane (DABCO) and cinnamaldehyde were added to the reaction system. Under reflux conditions, the nucleophilic enol anion produced by the conjugation of DABCO and cinnamaldehyde reacted with methylenethionium salt ion.  $\alpha$ -Methylthiomethyl cinnamaldehyde was obtained after elimination of addition product, and the yield could reach 52% under the optimized conditions. The stereoconfiguration of product  $\alpha$ -methylthiomethyl cinnamaldehyde was detected by the NOE difference spectrum method of  $^1\text{H}$  NMR. The double bond in the molecule has been confirmed to be of the *E* configuration. The research is anticipated to provide valuable references for large scale production of flavor  $\alpha$ -methylthiomethyl cinnamaldehyde.

**Keywords:**  $\alpha$ -methylthiomethyl cinnamaldehyde; dimethyl sulfoxide; Baylis-Hillman reaction; sulfur-containing flavor

(责任编辑:李 宁)