DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251023005
引用格式: 彭露湫, 李婷, 黄文, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉和牛肉中地塞米松、倍他米松、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(4): 135–142.
PENG LQ, LI T, HUANG W, *et al*. Simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine residues in pork and beef by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(4): 135–142. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉和牛肉中地塞米松、倍他米松、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量

彭露湫, 李 婷, 黄 文, 马 骞, 黄 微*
(汉中市食品药品监督检验检测中心, 汉中 723000)

摘 要: 目的 建立高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉和牛肉中地塞米松、倍他米松、氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的方法。**方法** 样品采用乙腈提取, 通过 QuEChERS 净化方式, 使用 BEH-C_{18} 柱分离, 以乙腈和一级水作为流动相进行梯度洗脱, 在正负离子同时扫描下采用多反应监测, 进行外标法的定性定量分析。**结果** 地塞米松、倍他米松、氟苯尼考和氟苯尼考胺在 0.2~100.0 ng/mL 质量浓度下线性关系良好, 相关系数大于 0.9990, 回收率在 85.1%~107.5%之间。地塞米松的检出限(limits of detection, LODs)为 0.44~0.48 μg/kg, 定量限(limits of quantitation, LOQs)为 1.45~1.58 μg/kg; 倍他米松的 LODs 为 0.46~0.51 μg/kg, LOQs 为 1.52~1.68 μg/kg; 氟苯尼考的 LODs 为 0.47~0.58 μg/kg, LOQs 为 1.55~1.91 μg/kg; 氟苯尼考胺的 LODs 为 0.40~0.45 μg/kg, LOQs 为 1.32~1.49 μg/kg。**结论** 该方法对参数测定准确, 具有较好的回收率和精密度, 同时前处理操作简单便捷, 满足日常猪肉和牛肉中地塞米松、倍他米松、氟苯尼考及氟苯尼考胺的同时筛查和定性定量检测, 可为日常风险评估提供参考价值。

关键词: 地塞米松; 倍他米松; 氟苯尼考; 氟苯尼考胺; 高效液相色谱-串联质谱法; 猪肉; 牛肉

Simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine residues in pork and beef by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

PENG Lu-Qiu, LI Ting, HUANG Wen, MA Qian, HUANG Wei*
(*Hanzhong Food and Drug Supervision and Inspection Center*, *Hanzhong* 723000, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine residues in pork and beef by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with acetonitrile and purified using the QuEChERS method. Separation was performed on a BEH-C_{18} column with acetonitrile and ultrapure water as the mobile phase for gradient elution. Qualitative and quantitative analysis was conducted via multiple

收稿日期: 2025-10-23
第一作者: 彭露湫(1999—), 女, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: 814975050@qq.com
***通信作者:** 黄微(1987—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: huangwei9950@163.com

reaction monitoring under both positive and negative ion scanning modes using the external standard method. **Results** Dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine exhibited excellent linearity within the mass concentration range of 0.2–100.0 ng/mL, with correlation coefficients exceeding 0.9990. The recovery rates ranged from 85.1% to 107.5%. The limits of detection (LODs) for dexamethasone were 0.44–0.48 μg/kg and the limits of quantitation (LOQs) were 1.45–1.58 μg/kg. For betamethasone, the LODs were 0.46–0.51 μg/kg and the LOQs were 1.52–1.68 μg/kg. For florfenicol, the LODs were 0.47–0.58 μg/kg and LOQs were 1.55–1.91 μg/kg. For florfenicol amine, the LODs were 0.40–0.45 μg/kg and the LOQs were 1.32–1.49 μg/kg. **Conclusion** This method demonstrates accurate parameter determination, with excellent recovery rates, high precision, and a simple, convenient pretreatment process. It meets the requirements for simultaneous screening and qualitative and quantitative detection of dexamethasone, betamethasone, florfenicol and florfenicol amine residues in pork and beef, thereby providing a reliable tool for routine risk assessment.

KEY WORDS: dexamethasone; betamethasone; florfenicol; florfenicol amine; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pork; beef

0 引 言

地塞米松(dexamethasone, DXM)作为人工合成类的糖皮质激素, 具有强大的抗炎、抗过敏、免疫抑制和休克的作用[1−2], 通常在畜禽肉养殖过程中被使用。然而过量或不当使用该类药物会导致其在动物性食品中残留, 对消费者健康构成威胁, 引起肥胖、高血压、骨质疏松等疾病[3−4], 属于严格管控的兽用处方药。由于 DXM 和倍他米松(betamethasone, BMT)在甾体母核的相同位置上具有完全一致的官能团[5], 唯一区别在于 C_{16} 位置上甲基的方向, DXM 是 α-构型, BMT 是 β-构型[3], 这一差异也是检测方法中区分二者的基础。从方法上看, 由于激素的非挥发性, 利用气相色谱-串联质谱法测定需进一步衍生, 前处理烦琐费时[4,6−7]; 而液相色谱法特异性和灵敏度较低, 且难以将 DXM 和 BMT 这对同分异构体分开[8]; 利用液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定已成为测定糖皮质激素最有效的仪器[9], 2025 版食品安全监督抽检实施细则中对于畜禽肉中糖皮质激素类药物现行有效的国家标准如农业部 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》同样也为 LC-MS/MS。

氟苯尼考(florfenicol, FF)是第 3 代氯霉素抗生素产品, 具有抗菌谱广、高效、价格低等特点[10], 被广泛应用于牲畜饲养、家禽养殖中预防和治疗疾病[11−12]。然而, 研究表明 FF 具有胚胎毒性和耐药性[13], 长期摄入也会对人体造成危害[14]。氟苯尼考胺(florfenicol amine, FFA)是 FF 在动物体内的主要代谢产物, 其性质更稳定、半衰期更长, 在可食性组织中残留时间更长[15]。根据 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》, 我国农业农村部明确规定动物体内 FF 的残留量以 FF 与 FFA 之和计[16]。常用检测方法包括酶联免疫法、液相色谱法、气相色谱-质谱法和 LC-MS/MS[17], 而高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)具有灵敏度高、无需衍生等优点, 成为检测 FF 残留的首选[18−20]。

然而, 尽管已有多种 HPLC-MS/MS 方法分别用于测定糖皮质激素或酰胺醇类药物[1−3,10−11], 能同时覆盖这两类理化性质差异较大的化合物及其代谢物的方法仍鲜有报道。现有方法通常需要针对不同类别药物建立独立的前处理流程[21], 或未能解决 DXM 与 BMT 同分异构体的色谱分离问题[22], 或未将 FF 的主要代谢物 FFA 纳入检测体系[16,23]。鉴于DXM因其成本低廉而在养殖环节中滥用风险更高, 且FF的残留限量需以其与代谢物之和计量的监管要求, 开发一种能同时快速、准确测定畜肉中 DXM、BMT、FF 及 FFA 残留的方法, 对提升检测效率和监管精准性具有重要意义。为此, 本研究建立了一种基于 QuEChERS 前处理与 HPLC-MS/MS 检测的集成分析方法, 以期通过单一实验流程实现上述 4 类目标物的同步测定, 满足日常畜禽产品中相关药物残留的高通量筛查与准确定量需求。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪肉、牛肉等样品均采购于当地农贸市场。

标准品: FF 标准溶液、FFA 标准溶液、DXM 标准溶液、BMT 标准溶液(质量浓度均为 100 ng/mL, 坛墨质检科技股份有限公司); N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA, 天津领航实验设备股份有限公司); 中性氧化铝(neutral alumina, Alumina-N, 分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 无水硫酸镁($MgSO_4$, 分析纯, 上海国药化学试剂有限公司); 甲醇、乙腈、乙酸乙酯(色谱纯, 成都市诺尔施科技有限责任公司); 甲酸(色谱纯, 西亚试剂有限公

司); 氨水、氢氧化钠、氯化钠(分析纯, 成都科隆化学品有限公司); 正己烷、丙酮(分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2　仪器与设备

API-4500 高效液相色谱-串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); BCA3202-1S 分析天平[精度 0.01 mg, 赛多利斯(上海)贸易有限公司]; RN413 均质粉碎机(德国艾卡仪器设备有限公司); H1850 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); VORTEX-5 涡旋振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); KQ-500D 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MFV-24 氮吹仪(得泰仪器科技有限公司); Agilent Poroshell 120 CS-C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm, 美国 Agilent 公司)、Waters ACQUITY UPLC BEH-C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司); Silica 硅胶固相萃取柱(500 mg/6 mL)、HLB 亲水亲脂共平衡性固相萃取柱(500 mg/6 mL)、C_{18} 固相萃取柱(1 g/6 mL)(上海月旭科技股份有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　标准溶液的配制

分别移取 FF、FFA, DXM、BMT 标准溶液各 100 μL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 得到 1 μg/mL 的混合标准使用液, –20 ℃保存备用。

1.3.2　样品处理

样品提取: 将样品(猪肉、牛肉)匀浆后, 精确称取样品(2.00±0.01) g 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 10 mL 提取液涡旋混匀 30 s, 超声提取 20 min, 8000 r/min 冷冻(–4 ℃)离心 5 min, 收集提取液。残渣中继续加入 10 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液混匀, 再加入提取液重复提取一次, 将两次提取液合并。

样品净化: (1)液液萃取净化。向提取液中加入 10 mL 4%氯化钠饱和的正己烷, 涡旋振荡 5 min 后以 8000 r/min 离心 5 min, 弃去上层正己烷层, 并用 4%氯化钠饱和的正己烷重复脱脂一次。净化液在 45 ℃氮气吹干。

(2) HLB 固相萃取柱。将上述提取液 45 ℃氮气吹干, 用 5 mL 乙腈-氨水(乙腈:氨水:水=5:3:92, *V*:*V*:*V*)溶解残渣, 涡旋混匀待净化。净化前, 先用甲醇、水各 6 mL 活化小柱, 随后待净化液全部过柱, 6 mL 乙腈-氨水溶液淋洗, 抽干; 最后用 6 mL 乙酸乙酯-甲醇溶液(6:4, *V*:*V*)洗脱, 收集洗脱液, 45 ℃氮气吹干。

(3)硅胶固相萃取柱。按上述提取液溶剂置换方法利用 1 mL 乙酸乙酯和 5 mL 正己烷溶解残渣, 涡旋混匀。净化前, 先用 6 mL 正己烷活化小柱, 将所有待净化液过柱, 6 mL 正己烷淋洗, 抽干; 最后用 6 mL 正己烷-丙酮溶液(6:4, *V*:*V*)洗脱, 收集洗脱液, 45 ℃氮气吹干。

(4) C_{18} 固相萃取柱。按上述提取液溶剂置换方法利用水-乙腈(95:5, *V*:*V*) 6 mL 溶解残渣, 涡旋混匀。净化前, 分别用 6 mL 甲醇、水活化小柱, 将待净化液过柱, 6 mL 水溶液淋洗, 抽干; 最后用 6 mL 甲醇-乙酸乙酯溶液(5:5, *V*:*V*)洗脱, 收集洗脱液, 45 ℃氮气吹干。

(5) QuEChERS。在提取液中加入 1 g PSA、1 g $MgSO_4$、1 g Alumina-N, 涡旋混匀 5 min, 8000 r/min 离心 10 min, 取 10 mL 上清液于 15 mL 离心管中, 45 ℃氮气吹干。

样品复溶上机: 利用上述 5 种净化方式处理后的样品残渣中加入 1 mL 20%乙腈水溶液涡旋混匀, 8000 r/min 离心 5 min, 过 0.22 μm 有机滤膜到进样瓶中, HPLC-MS/MS 仪待测。

1.3.3　仪器条件

色谱条件: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH-C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 柱温: 40 ℃; 进样量: 10 μL; 流速: 0.3 mL/min; 流动相: A 相 0.1%甲酸水; B 相乙腈; 梯度洗脱: 0~1.0 min, 90% A; 1.0~3.0 min, 90%~75% A; 3.0~7.0 min, 75%~65% A; 7.0~10.0 min, 60% A; 10.0~10.1 min, 60%~90% A; 10.1~14.0 min, 90% A。

质谱条件: 离子源类型: 电喷雾离子源(elecyrospray ionization source, ESI); 扫描方式: 正负离子同时扫描; 检测方式: 多反应监测; 正离子模式: 气帘气 30 MPa, 碰撞气 8 MPa, 离子源温度 550 ℃, 离子化电压 5.5 kV, 雾化气 50 psi, 辅助加热器 55 psi; 负离子模式: 气帘气 30 MPa, 碰撞气 9 MPa, 离子源温度 550 ℃, 离子化电压–4.5 kV, 雾化气 50 psi, 辅助加热器 55 psi。其余质谱参数见表 1。

表 1　化合物质谱参数表

Table 1　Mass spectrometry parameters of compounds

化合物	扫描模式	保留时间/min	前体离子(*m*/*z*)	产物离子(*m*/*z*)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
FFA	ESI+	4.18	248	230*	50	16
				130	50	30
FF	ESI-	5.67	356	336*	–80	–10
				185	–80	–16
BMT		7.95	437	361*	–60	–22
				391	–60	–22
DXM		8.05	437	361*	–60	–22
				391	–60	–22

注: *表示为定量离子。

1.4 数据处理

采用 AB SCIEX 公司 SCIEX OS 3.x 数据处理软件处理分析实验结果，以及生成谱图信息。本研究中回收率的测定分析根据实验方法情况选择 3 组或 6 组平行实验，数据结果均以平均值表示，并计算其相对标准偏差；使用 Microsoft Office 2019 (19127.20302)进行表格绘制，总离子流色谱图利用 Origin 2024 版本进行绘制，回收率数据分析图采用 GraphPad. Prism 10 进行绘制，回收率的显著性分析使用 SPSS 25 软件，数据之间的差异使用 Duncan 法进行单因素方差分析，P<0.05 被认为是具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 实验条件优化

2.1.1 色谱柱及流动相选择

表 2 展示了 5 种不同流动相及洗脱程序，包括使用的 2 根不同型号的色谱柱。DXM 和 BMT 这对同分异构体只能通过流动相以及色谱柱的筛选将其分开，前期也通过查阅文献试验了部分条件[3,8]，图 1 为各洗脱程序对应的化合物色谱图。图 1A~1C 均使用 Agilent Poroshell 120 CS-C_{18} 色谱柱进行洗脱，A 与 B 在等度洗脱时均满足 DXM 和 BMT 的分离，且响应强度较高，但 FFA 出峰过于靠前可能会存在溶剂干扰；图 1C 的梯度洗脱条件下 4 种化合物分离较差，尤其是 DXM 和 BMT 没有分开，这可能与化合物在色谱柱中保留情况有关。图 1D~1E 使用了 Waters ACQUITY UPLC BEH-C_{18} 色谱柱，均能满足化合物分离，而使用图 1E 的方法能有效避免溶剂效应，化合物峰形良好，分离度高且响应均达到 6 次方及以上，故选择 E 作为最终液相条件。

2.1.2 提取条件优化

以猪肉为基质，加标量为5.0 μg/kg，分析了6种不同提取溶剂：甲醇、乙腈、乙酸乙酯、3%氨化甲醇、3%氨化乙腈、3%氨化乙酸乙酯对4种化合物的回收率影响，如图2所示。结果表明，添加一定浓度的氨水对化合提取有一定影响[24]，除极少数结果外均存在显著性差异(P<0.05)。纯乙腈和3%氨化乙腈提取下4种化合物回收率普遍较高，乙腈与甲醇和3%氨化甲醇提取下的4种化合物均存在显著性差异(P<0.05)，这也说明甲醇溶剂对于这4种化合物提取效率明显低于乙腈溶剂。利用甲醇溶剂提取中化合物色谱峰响应不高，这可能与甲醇提取共提物较多有关，基质效应影响质谱中化合物电离程度[25–26]；利用乙酸乙酯溶剂提取时，FFA 与纯乙腈提取效率无统计学显著差异(P>0.05)，但 DXM 和 BMT 由于极性较弱提取率较低，需通过多次富集进行操作；乙腈作为提取溶剂对于化合物的回收率均在80%以上，虽然3%氨化乙腈与纯乙腈对 BMT 和 FFA 的提取效率无统计学显著差异(P>0.05)，但基于简化流程、减少刺激性试剂使用、降低实验成本与风险的原则，且氨水具有强挥发性和刺激性，因此本研究采用纯乙腈溶液作为提取溶剂，而乙腈对脂肪具有较低溶解度，利于沉淀蛋白质等属性也使得化合物色谱峰响应较高[27]。

2.1.3 净化方式优化

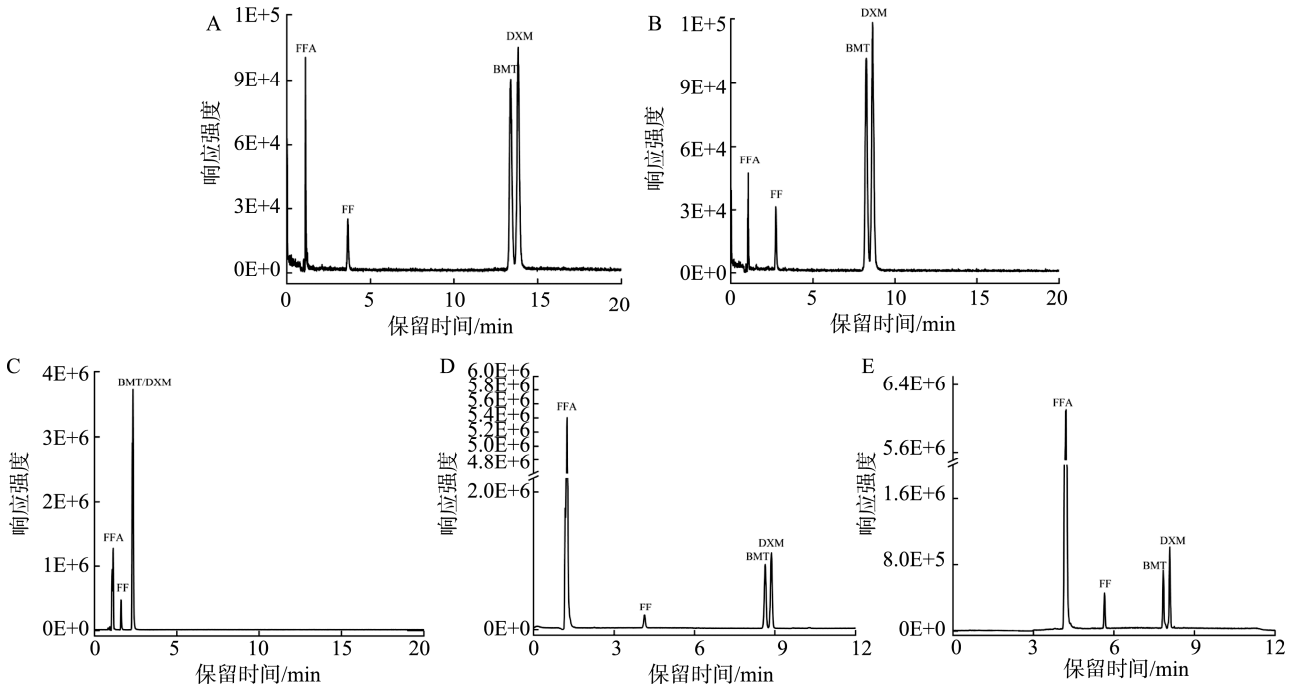
分别采用不同净化小柱(Silica 柱、HLB 柱、C_{18} 柱)、QuEChERS 以及液液萃取对猪肉基质的加标样品进行净化处理，如图 3 所示。在利用不同萃取小柱对样品进行净化后，FF 在 Silica 柱净化下，与其余两种小柱净化后存在显著性差异(P<0.05)，除此以外其余化合物在不同小柱下均无显著性差异(P>0.05)，这与小柱本身填料选择有很大关系[28]，除 FFA 外，净化小柱对化合物的回收率显著低于其他两种方式(P<0.05)；4 种化合物回收率在 60%~80%之间，分析可能与前处理操作过程中淋洗过度将目标物洗掉、洗脱强度不够使目标物未能洗下来，亦或是氮吹过干导致目标物没能完全复溶。固相萃取技术是最常见的净化手段，但其操作烦琐费时，目标物在不同小柱中表现出的差异较大。

本研究采用的 QuEChERS 吸附剂配比(PSA:$MgSO_4$:Alumina-N=1:1:1，$w/w/w$)参考了针对动物源性基质的经典方案[29]，并通过预实验验证了其对目标化合物的吸附损失可接受且净化效果良好。在比较 QuEChERS 和液液萃取对回收率的影响时，DXM 和 BMT 在两种净化方式下无显著性差异(P>0.05)，而 FF 和 FFA 在两种净化方式下则表现出明显的统计学显著性(P<0.05)。QuEChERS 和液液萃取时

表 2 HPLC 条件

Table 2 Conditions of HPLC

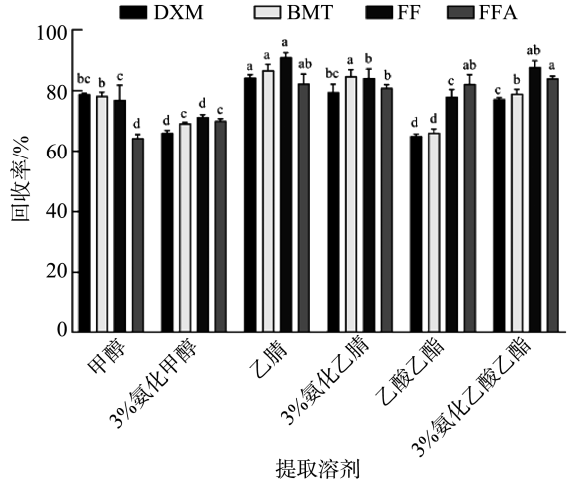
色谱柱	流动相	流速/(mL/min)	柱温/℃	洗脱程序	序号
Agilent Poroshell 120 CS-C_{18} 色谱柱	A: 0.2%甲酸水溶液; B: 0.2%甲酸乙腈溶液	0.2	40	等度洗脱: 20 min, A:B=72.5:27.5 (V:V)	A
		0.3		等度洗脱: 20 min, A:B=70:30 (V:V)	B
		0.3		梯度洗脱: 0~6.0 min, 90%~10% A; 6.0~10.0 min, 10% A; 10.0~12.0 min, 10%~90% A; 12.0~14.0 min, 90% A	C
Waters ACQUITY UPLC BEH-C_{18} 色谱柱	A: 0.1%甲酸水; B: 乙腈	0.3		梯度洗脱: 0~8.0 min, 75%~65% A; 8.0~9.0 min, 65%~20% A; 9.0~10.0 min, 20%~75% A; 10.0~12.0 min, 75% A	D
		0.3		梯度洗脱: 0~1.0 min, 90% A; 1.0~3.0 min, 90%~75% A; 3.0~7.0 min, 75%~65% A; 7.0~10.0 min, 60% A; 10.0~10.1 min, 60%~90% A; 10.1~14.0 min, 90% A	E



注: 图 A~E 对应表 2 中的洗脱条件。

图 1　不同液相色谱条件下的总离子流色谱图

Fig.1　Total ion current chromatograms under different liquid chromatography conditions



注: 不同小写字母表示同一化合物在不同条件下差异显著 (P<0.05), 下图同。

图 2　不同提取溶剂下化合物回收率

Fig.2　Recovery rates of compounds under different extraction solvents

DXM、BMT 以及 FF 均表现出较高的回收率, 在 80%以上; 但对于 FFA 的回收率表现出极大差异, 在实验过程中明显发现液液萃取对 FFA 影响较大, 正离子模式下杂质峰较多, 难以区分目标物, 因此对于在液液萃取下的 FFA 尤其是低浓度时, 数据结果易出现假阳性。而利用 QuEChERS 净化时快速高效、成 本低廉、操作简便且净化有效[29–30], 4 种化合物回收率普遍很高, 具有很强的灵活性和适应性。综上考虑目标化合物回收率及实验操作性, 最终选择采用

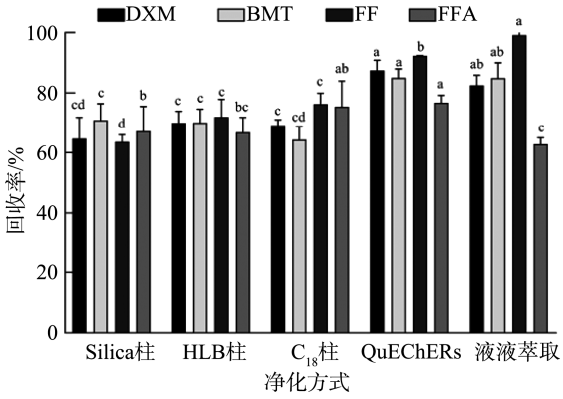


图 3　不同净化方式下化合物回收率

Fig.3　Recovery rates of compounds under different purification methods

QuEChERS 净化方式处理。

2.2　方法学验证

2.2.1　线性范围、检出限和定量限

用 20%乙腈水溶液配制质量浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/mL 的 FF、FFA、DXM 和 BMT 标准曲线, 以质量浓度为横坐标(X, ng/mL), 峰面积为纵坐标(Y), 得到线性及相关系数。FF 的回归方程为: Y=2.24×10^6X–6.04×10^4, r^2=0.99969; FFA 的回归方程为: Y=7.23×10^4X–3.80×10^2, r^2=0.99975; BMT 的回归方程为: Y=1.01×10^5X–5.89×10^2, r^2=0.99938; DXM 的回归方程为: Y=1.41×10^5X–7.48×10^2, r^2=0.99906, 曲线线性关系良好。

以信噪比为 3 (*S*/*N*=3)计算检出限(limits of detection, LODs), 信噪比为 10 (*S*/*N*=10)计算定量限(limits of quantitation, LOQs)。表 3 展示了在猪肉、牛肉中各参数的 LODs 和 LOQs。结果显示, FF 的 LODs 为 0.47~0.58 μg/kg, LOQs 为 1.55~1.91 μg/kg; FFA 的 LODs 为 0.40~0.45 μg/kg, LOQs 为 1.32~1.49 μg/kg; BMT 的 LODs 为 0.46~0.51 μg/kg, LOQs 为 1.52~1.68 μg/kg; DXM 的 LODs 为 0.44~0.48 μg/kg, LOQs 为 1.45~1.58 μg/kg, 满足实验要求。

2.2.2 准确度和精密度

为进一步验证方案的可行性, 以禽肉(猪肉和牛肉)为基质, 向其中添加含量分别为 1、4、20 μg/kg 的 4 种化合物, 平行测定 6 次, 计算平均加标回收率、相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)等, 结果见表 3。由表 3 可知, 4 种化合物在 3 个添加水平下的回收率在 85.1%~107.5%之间之间, RSDs 为 0.4%~9.4%之间。结果表明, 该方法的准确度和精密度良好, 各项指标均符合 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》的相关要求, 表明该方法准确度和精密度良好, 适用于猪肉和牛肉中这 4 种化合物的残留检测。

2.3 与现有方法的比较

为凸显本方法的优势, 将其与近期文献中报道的测定畜肉中相关化合物的方法进行比较(表 4)。本研究开发的 HPLC-MS/MS 方法创新性地实现了对糖皮质类(DXM、BMT)与酰胺醇类(FF、FFA)两大类、4 种抗生素的同时高灵敏检测。方法通过优化 QuEChERS 前处理步骤, 在约 60 min 内完成对猪肉、牛肉等高干扰基质的有效净化, 回收率稳定(85.1%~107.5%), 灵敏度突出(LODs 0.4~0.6 μg/kg), 严于国家标准, 通过表 4 直观展示本方法在灵敏度、效率和综合性(同时检测类别多)方面的优势。

表 3 不同基质样品中化合物的加标回收率、相对标准偏差、LODs 和 LOQs 结果(*n*=6)

Table 3 Results of spiked recovery, relative standard deviation, LODs and LOQs of compounds in different matrix samples (*n*=6)

化合物	添加量/(μg/kg)	猪肉				牛肉			
		回收率/%	RSDs/%	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)
FFA	1	89.3	8.1	0.45	1.49	87.3	8.7	0.40	1.32
	4	97.2	2.7			92.6	6.1		
	20	94.7	5.3			105.8	3.9		
FF	1	95.2	1.9	0.58	1.91	98.1	9.2	0.47	1.55
	4	90.9	6.8			89.7	0.4		
	20	107.5	3.5			101.4	4.7		
BMT	1	86.4	9.4	0.46	1.52	104.2	7.5	0.51	1.68
	4	99.3	0.6			93.5	4.6		
	20	103.6	4.2			85.1	2.8		
DXM	1	91.8	7.9	0.44	1.45	97.5	0.7	0.48	1.58
	4	88.5	1.2			88.2	1.1		
	20	96.9	5.8			85.6	3.5		

注: RSD 为相对标准偏差(relative standard deviation)。

表 4 本方法与文献方法性能对比

Table 4 Comparison of method performance between this work and literature methods

分析方法	目标化合物	基质	前处理时间/min	平均回收率/%	LODs/(μg/kg)	年份	文献
HPLC-MS/MS(盐包)	DXM, BMT	牛肝/牛肉/猪肝/猪肉	<30	83~98	0.5~1.0	2024	[1]
HPLC-MS/MS (QuEChERS)	DXM, BMT	猪肝/鸡肉/鸡蛋	70±5	79~106	2.7~4.4	2025	[3]
HPLC-MS/MS (QuEChERS)	FF, FFA	卤鸡腿/腊猪肉/牛肉干	>60	85~99	0.5~1.0	2024	[14]
胶体金免疫层析法	DXM, FF	猪肉	<30	ND	1.0~50.0	2025	[21]
HPLC-MS/MS (液液萃取)	FFA	猪肉/鸡肉	>60	94~113	0.2	2025	[24]
本研究方法	DXM, BMT, FF, FFA	猪肉/牛肉	60±5	85.1~107.5	0.4~0.6		

注: ND 表示未检测或未提供数据。

2.4　实际样品分析

取市售的 20 份样品, 经样品前处理后测定, 对其中 5 份进行加标(加标量为 10.0 μg/kg)进行质量把控。5 份加标样品中 4 种化合物回收率在 86.1%~110.9%之间, 其余 15 份样品中均为未检出, 检测结果稳定可靠。

3　讨论与结论

3.1　本方法的适用范围与局限性分析

本研究选择猪肉和牛肉作为验证基质, 因其消费广泛且在成分上具有一定代表性差异。然而, 值得注意的是, 本研究的验证未涵盖如羊肉等其他常见畜肉。不同肉类的脂肪、蛋白质及色素含量差异可能导致不同的基质效应。因此, 在将本方法应用于其他基质前, 建议进行必要的验证实验, 本研究的普适性有待在更广泛的畜肉基质中进行进一步验证, 这也是下一步研究的重点。

3.2　结　论

本研究采用乙腈作为提取溶剂, QuEChERS 净化方式, 结合 HPLC-MS/MS 仪, 建立了两种主要畜肉中同时检测 DXM、BMT、FF 和 FFA 的方法。值得注意的是, 方法区分了 DXM 和 BMT 这对同分异构, 避免了检测环节的阳性误差; 且满足 FF 含量以 FF 和 FFA 含量之和计的测定需求。该方法对参数测定准确, 具有较好的回收率和精密度, 同时前处理操作简单便捷, 满足日常主要肉制品中 DXM、BMT、FF 和 FFA 的同时筛查和定性定量检测, 可为日常风险评估提供重要参考价值。

参考文献

[1] 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 YJ, LIU HB, LEI CJ, *et al*. Rapid 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.

[2] CHEN H, WANG W, LIU Y, *et al*. Aggregation-induced emission materials for fluorescence analysis: Recent progress in rapid detection of pesticide and veterinary drug residues [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2026, 548(P1): 217194.

[3] 谢蔓莉, 褚能明, 杨晓霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽产品中倍他米松和地塞米松的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(12): 224–230.
XIE ML, CHU NM, YANG XX, *et al*. Determination of betamethasone and dexamethasone residues in livestock and poultry products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(12): 224–230.

[4] 冯慧慧, 杨亚琴, 余明霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱同位素内标法测定畜禽肉中地塞米松残留量[J]. 现代食品, 2024, 30(19): 186–191, 204.
FENG HH, YANG YQ, YU MX, *et al*. Determination of dexamethasone residue in livestock and poultry meat by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with isotope internal standard [J]. Modern Food, 2024, 30(19): 186–191, 204.

[5] MALONE EM, ELLIOTT CT, KENNEDY DG, *et al.* Screening and quantitative confirmatory method for the analysis of glucocorticoids in bovine milk using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Aoac International, 2010, 93(5): 1656–1665.

[6] HENDRICKSON OD, ZVEREVA EA, SHANIN IA, *et al*. Development of a multicomponent immunochromatographic test system for the detection of fluoroquinolone and amphenicol antibiotics in dairy products [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(8): 3834–3842.

[7] 代娟, 陆家海. 动物源性食品中糖皮质激素残留检测方法的研究进展[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(3): 428–432.
DAI J, LU JH. Research progress on detection methods of glucocorticoid residues in animal-derived foods [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2010, 30(3): 428–432.

[8] MANE SS, DEARDEN VD, LEE WK. Identifying and quantifying relative concentrations of epimers in mixtures via cyclic ion mobility mass spectrometry: Dexamethasone and betamethasone as a case study [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2024. DOI:10.1021/JASMS.4C00258

[9] DONG MC, YAN FT, ZHAO YL, *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, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2010, 27(10): 1363–1371.

[10] LIU M, LI S, CHEN Y, *et al.* A fluorescence switching immunochromatographic strip mediated by Co_3O_4/gold nanoclusters for the simultaneous detection of florfenicol and florfenicol amine [J]. Food Chemistry, 2025, 489144972.

[11] 徐舒然. 液相色谱-串联质谱法测定乳品中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量[J]. 食品安全导刊, 2024(27): 51–53.
XU SR. Determination of florfenicol and florfenicol amine residues in dairy products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Food Safety Magazine, 2024(27): 51–53.

[12] LEHOTAY J, MAÏWENN LF, ALAN LR, *et al*. Stability study of selected veterinary drug residues spiked into extracts from different food commodities [J]. Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2023, 40(9): 21–20.

[13] 郑炜玲. 气相色谱法测定草鱼中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考与氟苯尼考胺残留量[J]. 食品安全导刊, 2024(36): 28–30.
ZHENG WL. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine residues in grass carp by gas chromatography [J]. China Food Safety Magazine, 2024(36): 28–30.

[14] 刘迪, 王会霞, 黄坤, 等. 同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定肉制品中氟苯尼考及代谢物氟苯尼考胺残留[J]. 中南农业科技, 2024, 45(7):

58–62.
LIU D, WANG HX, HUANG K, *et al*. Determination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine residues in meat products by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of South-Central Agricultural Science and Technology, 2024, 45(7): 58–62.

[15] 张婧, 吴剑平, 王博, 等. 液相色谱-串联质谱法同时快速检测鸡蛋中的氟苯尼考及其代谢物残留[J]. 化学研究与应用, 2024, 36(9): 2210–2216.
ZHANG J, WU JP, WANG B, *et al*. Simultaneous and rapid determination of florfenicol and its metabolite residues in eggs by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Chemical Research and Application, 2024, 36(9): 2210–2216.

[16] 李晓丽, 吴振洲, 史莹, 等. 高效液相-串联质谱法检测饲料中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考及其代谢产物氟苯尼考胺残留[J]. 中国饲料, 2024(23): 263–268.
LI XL, WU ZZ, SHI Y, *et al*. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and its metabolite florfenicol amine residues in feed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Feed, 2024(23): 263–268.

[17] SHIROMA SL, QUEIROZ NC, JONSSON MC, *et al*. Extraction strategies for simultaneous determination of florfenicol and florfenicol amine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle: Quantification by LC-MS/MS [J]. Food Analytical Methods, 2020, 13(2): 291–302.

[18] 雷美康, 候建波, 彭芳, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定蜂蜡中氯霉素、甲砜氯霉素、氟苯尼考和其代谢产物氟苯尼考胺残留[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 241–246.
LEI MK, HOU JB, PEMG F, *et al*. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and its metabolite florfenicol amine residues in beeswax by solid-phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(17): 241–246.

[19] 刁志祥, 王波, 张培杨, 等. 加速溶剂萃取/超高效液相色谱-荧光法检测鸽蛋和鹌鹑蛋中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留[J]. 福建农业学报, 2019, 34(11): 1315–1322.
DIAO ZX, WANG B, ZHANG PY, *et al*. Determination of florfenicol and florfenicol amine residues in pigeon eggs and quail eggs by accelerated solvent extraction/ultra performance liquid chromatography-fluorescence detection method [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2019, 34(11): 1315–1322.

[20] SAITO SS, SHIONO K, NARUSHIM J, *et al*. Determination of total florfenicol residues as florfenicol amine in bovine tissues and eel by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using external calibration [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 110937–110944. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.01.018

[21] 泮秋立, 刘建华, 张鸿雁, 等. 同时快速检测猪肉中 7 种兽药残留的前处理方法研究[J]. 食品与生物技术学报, 2025, 44(3): 153–165.
PAN QL, LIU JH, ZHANG HY, *et al.* Study on pretreatment method for simultaneous and rapid detection of seven veterinary drug residues in pork [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2025, 44(3): 153–165.

[22] YANG L, SUN L, FAN L, *et al*. A method for the simultaneous determination of 68 veterinary drug residues in foods for special medical purposes using ultra-high-performance liquid chromatography-triple-time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 145107806–145107806.

[23] YOUNG SP, RA YK, JI SL, *et al*. Simultaneous detection of residues of 34 beta-lactam antibiotics in livestock and fish samples through liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science and Biotechnology, 2023, 33(6): 1467–1486.

[24] 王哲, 殷海艳, 方宣启. 基于液相色谱-串联质谱法的农产品中氟苯尼考胺的检测方法优化[J]. 食品安全导刊, 2025(15): 77–81.
WANG Z, YIN HY, FANG XQ. Optimization of detection method for florfenicol amine in agricultural products based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Food Safety Magazine, 2025(15): 77–81.

[25] WANG J, WANG Y, BAI R, *et al*. Comprehensive overview of the extraction and quantification of veterinary drug residues in animal-derived foods using liquid chromatography–mass spectrometry [J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 136: 104285.

[26] CHEN X, GAO H, YANG Y, *et al*. A critical review of sample preparation and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of multi-class antibiotics in animal-derived foods [J]. Food Control, 2022, 138: 108989.

[27] SMITH A, JOHNSON B, DAVIS C. The role of acetonitrile as a protein precipitant and lipid-friendly solvent in the sample preparation of veterinary drug residues from fatty foods: A comprehensive review [J]. Journal of Chromatography A, 2023, 1705: 464216.

[28] WANG X, PENG H, WEI G, *et al*. QuEChERS combined with emulsification-demulsification clean-up for simultaneous determination of pesticide and veterinary drug residues in eggs by UPLC-MS/MS [J]. Microchemical Journal, 2025, 214114116–214114116.

[29] QI Z, CONG CY, MA LL, *et al*. Research progress of applications for nano-materials in improved QuEChERS method [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 21–20. DOI: 10.1080/10408398.2023.2225613.

[30] 邵丽, 董耀, 王晓, 等. QuEChERS 高效液相色谱-串联质谱法快速测定鸡肉中 36 种兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(14): 5561–5567.
SHAO L, DONG Y, WANG X, *et al*. Rapid determination of 36 kinds of veterinary drug residues in chicken by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(14): 5561–5567.

(责任编辑: 冯东慧 安香玉)