DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251110002
引用格式: 张玉利, 高森, 赵全成, 等. 超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱法快速测定猪肉中 20 种激素类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(8): 330–338.
ZHANG YL, GAO S, ZHAO QC, *et al*. Rapid determination of 20 kinds of hormone drugs in pork by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(8): 330–338. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱法快速测定猪肉中 20 种激素类药物

张玉利, 高　森, 赵全成, 高　翔*
(郑州市产品质量检验检测中心, 郑州　450000)

摘　要: 目的　建立超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱法快速测定猪肉中 20 种激素类药物的检测方法。**方法**　样品经水-乙腈溶液提取, 经离心去除沉淀以及氯化钠和无水硫酸钠盐析后, 上清液(乙腈层)通过 HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱净化, 所得净化液经 Thermo Hypersil GOLD C_{18} 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)分离, 利用超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱电喷雾正离子模式, 全扫描/数据依赖型二级质谱扫描[full mass/data dependent secondary acquisition (Top N), Full MS/dd-MS^2 (Top N)]模式进行数据采集。**结果** 20 种激素类药物在各自区间范围内线性关系良好, 决定系数 $r^2 \geqslant 0.9902$, 猪肉中 20 种激素类药物的平均回收率在 36.56%~119.43%, 相对标准偏差为 0.9%~9.8%, 检出限和定量限分别为 0.1~0.5 μg/kg 和 1.0 μg/kg。**结论**　该方法具有良好的准确性和稳定性, 能够适用于猪肉中 20 种激素类药物的检测。

关键词: 超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱法; 猪肉; 激素类; 快速测定

Rapid determination of 20 kinds of hormone drugs in pork by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry

ZHANG Yu-Li, GAO Sen, ZHAO Quan-Cheng, GAO Xiang*
(*Zhengzhou Product Quality Inspection and Testing Center*, *Zhengzhou* 450000, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish a method for the rapid determination of 20 kinds of hormone drugs in pork by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods**　The samples were extracted with water-acetonitrile solution and centrifuged to discard precipitation followed by a salt partition using sodium chloride and sodium sulphate. The acetonitrile extraction solution was

收稿日期: 2025-11-10
基金项目: 河南省市场监督管理局科技计划项目(HNSCJK202592)
第一作者: 张玉利(1984—), 男, 硕士, 兽医师, 主要研究方向为兽药、饲料和畜产品质量安全检验检测。E-mail: 516984769@qq.com
***通信作者:** 高翔(1984—), 女, 硕士, 高级畜牧师, 主要研究方向为兽药、饲料和畜产品质量安全检验检测。E-mail: gaoxiang_fish@163.com

purified via solid phase extraction using an HyperSep Retain-PEP column, then separated by an Thermo Hypersil GOLD C_{18} column (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), ionized in positive ion mode, and detected by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometer with full mass/data dependent secondary acquisition (Top N) [Full MS/dd-MS^2 (Top N)] mode. **Results** The 20 kinds of hormone drugs showed good linear relationships in their respective ranges, with determination coefficients (r^2)≥0.9902. The average recoveries were 36.56%-119.43% with the relative standard deviations between 0.9% and 9.8%. The limits of detection were in the ranges of 0.1–0.5 μg/kg and the limits of quantitation were at 1.0 μg/kg. **Conclusions** This method demonstrates good accuracy and stability, making it suitable for the detection of 20 kinds of hormone drugs in pork.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry; pork; hormone drugs; rapid determination

0 引　言

激素类药物在养殖过程中能够提高饲料转化率和缩短生长周期[1−2], 曾非法应用于水产养殖, 用以提升养殖效率。随后, 其使用范围进一步扩大至畜禽养殖领域, 被用于促进动物生长、抗菌消炎以及激发机体免疫反应[3−4]。在养殖过程中, 违规或过量使用激素类药物, 可导致其在畜禽产品中存在药物残留, 对人体健康构成潜在风险。动物源性食品中的激素残留与多种健康问题密切相关, 有研究显示, 儿童性早熟以及女性乳腺和子宫癌症发病率的增高与食品中性激素的药物残留有关[5], 长期或过量摄入含有激素的食品还可能对消费者健康造成不可逆的损害, 包括引发肝功能异常、生殖系统功能障碍, 以及心血管系统和神经系统损伤等[6−7]。鉴于这些潜在的健康风险, 各国及国际组织因此对动物源性食品中的激素类药物残留制定了严格规定[8], 并加强对动物源性食品中激素残留的监控力度。根据我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》和 GB 31650.1—2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》的规定, 部分激素类药物被明确禁止用于食品动物, 另有部分虽允许使用, 但须严格遵守最大残留限量的要求。因此, 动物源性食品中激素类药物残留的检测, 已成为公共健康领域一项重要课题。

激素类药物在动物源性食品中残留的主流检测方法是液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)[5−6,8−10]。随着检测仪器设备的高速发展, 高分辨质谱的显著优势是将高效的分离能力与卓越的质量分辨率和精确度相结合, 能够对复杂基质样品中的未知化合物进行快速、高准确度的筛查与鉴定。该技术已广泛应用于药物研发[11−16]、食品安全[17−22]和环境监测[23−28]等领域。

目前, 针对动物源性食品中的药物残留, 相关研究主要集中于将高分辨质谱用于定性筛查[29−30]。本研究利用超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometer, UPLC-Q-Orbitrap HRMS), 选用全扫描/数据依赖型二级质谱[full mass/data dependent secondary acquisition (Top N), Full MS/dd-MS^2 (Top N)]模式, 通过一级全扫描结合自动触发二级扫描的方式, 对猪肉中激素类药物进行定性筛查的基础上, 进一步探索以一级母离子作为定量离子, 对筛查出的阳性药物进行定量分析, 在确保检测结果准确可靠的前提下, 优化了前处理方法, 建立猪肉中激素类药物残留的定性定量分析方法, 为今后开展动物源性食品中大规模药物筛查与同步定量分析提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

所用样品为市售冷鲜猪肉, 购于当地超市、农贸市场。

甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯, 德国 Merck 公司); 4 组共计 20 种激素类药物混合标准溶液(纯度 98.0%~99.9%、实际质量浓度 99.2~100.6 μg/mL, 天津阿尔塔科技有限公司); 氯化钠、无水硫酸钠(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Dionex UltiMate 3000 UPLC-Q-Exactive plus 超高效液相色谱-四极杆轨道阱高分辨质谱仪、Thermo Hypersil GOLD C_{18} 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)、HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱(3 cc/60 mg)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ME1002/02 电子天平(精度 0.01 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司); Milli-Q SAS 超纯水系统(美国 Millipore 公司); SIGMA-3-30K 高速冷冻离心机(德国 SIGMA 公司); HS3120 超声波清洗机(天津市恒奥科技发展有限公司); VX-III多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司); MX-S 迷你振荡器[大龙兴创实验仪器(北京)有限公司]; TTL-DCII氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司); HM6300

全自动智能均质仪(北京莱谱科技有限公司); 0.22 μm 微孔滤膜(天津市津腾实验设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

20 种激素类混合标准中间液(质量浓度为 1 μg/mL)的配制: 精密量取购买的 4 组标准溶液(100 μg/mL)各 0.1 mL 置于同一个 10 mL 容量瓶中, 甲醇稀释并定容, 摇匀备用(于–18 ℃冷冻保存)。20 种激素类标准工作液、基质标准工作液的配制(临用现配): 分别量取混合标准中间溶液适量, 分别使用流动相初始比例的溶液、空白基质提取液稀释成质量浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200 ng/mL 溶剂标准工作液和基质标准工作液。

1.3.2 样品前处理

提取步骤: 准确称取均质后的猪肉样品(5.00±0.05) g 至 50 mL 离心管中, 加入 3 mL 水, 涡旋 15 s, 加入 5 mL 乙腈, 涡旋混匀后, 高速振荡 20 min, 40 ℃超声波提取 15 min, 涡旋混匀, 10000 r/min 4 ℃离心 5 min, 上清液转移至 50 mL 离心管中, 再加入 5 mL 乙腈重复提取一次, 合并 2 次上清液并加入 1 g 氯化钠, 4 g 无水硫酸钠, 充分漩涡混合均匀, 静置 5 min, 10000 r/min 离心 5 min, 移取 3 mL 上清液(乙腈层), 待净化。

净化步骤: 依次用 3 mL 甲醇, 3 mL 水活化平衡 HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱(3 cc/60 mg), 取 1 mL 上清液过柱, 弃去; 再取 2 mL 上清液过柱, 收集滤液于 40 ℃下氮吹至近干。加入 200 μL 甲醇后涡旋 10 s, 再加入 800 μL 纯水涡旋混匀, 12000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜后上机检测。

1.3.3 色谱-质谱条件

色谱条件: Thermo Hypersil GOLD C_{18}色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相 A、B 分别为 0.1%甲酸水溶液和 0.1%甲酸乙腈溶液; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL; 流速: 0.3 mL/min。梯度洗脱程序见表 1。质谱条件: 电喷雾离子源; 喷雾电压: 3.20 kV (+); 鞘气流速: 40 arb; 辅助气流速: 5 arb; 吹扫气流速: 1 arb; 辅助气加热温度: 350 ℃; 离子传输管温度: 320 ℃; 扫描模式: Full MS/dd-MS^2 (Top N); 扫描范围: *m/z* 80~1000; 碰撞能量: 20、40、60 eV; 分辨率设置: 一级质谱 70000, 二级质谱: 17500。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

序号	时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
1	0.0	0.3	95	5
2	15.0	0.3	5	95
3	17.0	0.3	5	95
4	17.1	0.3	95	5
5	20.0	0.3	95	5

1.4 数据处理

采用 Tracefinder 3.1 软件进行数据采集, 并对扫描数据通过自建标准数据库进行检索, 与标准物质的保留时间、母离子、二级碎片进行比对, 筛查出阳性样品的条件参照 GB 31658.26—2025《食品安全国家标准 动物性食品中 127 种药物残留量的筛查 液相色谱-高分辨质谱法》应同时满足“筛查”中目标物信号响应、保留时间、一级母离子质量精度偏差及二级碎片离子质量精度偏差 3 项条件。采集的原始数据通过 Xcalibur 4.3 软件采用基质标准工作液外标法, 利用一级母离子进行定量分析(测定回收率时选用 3 个不同浓度水平对空白猪肉样品进行激素类药物加标, 每个浓度进行 6 次平行加标回收实验)。使用 WPS 2019 11.8.2、OriginPro 8.0 进行数据处理和绘图。

2 结果与分析

2.1 数据库的建立

本研究构建标准数据库时涵盖了 20 种激素类药物的中英文名称、CAS 登记号、化学分子式、色谱保留时间(retention time, RT)、加合母离子及两个或两个以上二级特征碎片离子的精确质量数。在本研究的色谱质谱条件下, 利用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 对混合标准工作溶液(100 ng/mL)在 Full MS/dd-MS^2 (Top N)模式下, 获得各药物的母离子、RT 和碎片离子等准确信息。20 种激素类药物的标准数据库信息如表 2 所示。

2.2 仪器条件优化

2.2.1 色谱条件优化

由于本研究所测的 20 种激素类药物中存在分子式、分子结构相似, 甚至同分异构体(地塞米松和倍他米松)的化合物, 它们的二级碎片离子相同或相近且 RT 接近时易相互干扰。另外, 猪肉样品基质中的杂质也会对目标物的色谱图造成影响。在 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析中, 提高目标化合物的色谱分离度, 有助于减少其在 Full MS/dd-MS^2 (Top N)模式下的漏选现象, 同时降低二级质谱中干扰碎片的影响, 从而提升定性筛查与确证的可靠性。实验中发现流动相采用乙腈为有机相时, 各激素类药物在有效的 RT 呈现色谱峰形良好且分离度较高; 当流动相中都加入甲酸时, 可显著提升目标化合物的离子化效率与信号响应, 优化后的 20 种激素类药物的提取色谱图见图 1。综合考量色谱的峰形、出峰时间及信号强度, 本研究最终使用该流动相体系(乙腈含 0.1%甲酸-水含 0.1%甲酸)。梯度洗脱程序见 1.3.3。

表 2　20 种激素类药物的标准数据库

Table 2　Standard database of 20 kinds of hormone drugs

编号	药物名称	分子式	CAS 号	母离子精确分子量	加合离子	RTs/min	典型二级碎片离子
1	可的松	$C_{21}H_{28}O_5$	53-06-5	361.20095	M+H	7.19	163.11174, 121.06479
2	倍氯米松	$C_{22}H_{29}ClO_5$	4419-39-0	409.17763	M+H	8.13	391.16706, 279.17434, 171.08044, 147.08044, 121.06479
3	甲基波尼松	$C_{22}H_{28}O_5$	1247-42-3	373.20095	M+H	7.89	355.18976, 279.17374, 171.08020, 147.08026
4	泼尼松	$C_{21}H_{26}O_5$	53-03-2	359.18530	M+H	7.07	341.17474, 237.12739, 171.08044, 147.08044
5	氢化可的松	$C_{21}H_{30}O_5$	50-23-7	363.21660	M+H	7.09	327.19547, 309.18491, 121.06479, 97.06479
6	波尼松龙	$C_{21}H_{28}O_5$	50-24-8	361.20095	M+H	7.03	343.19039, 171.08044, 147.08044, 121.06479
7	地塞米松	$C_{22}H_{29}FO_5$	50-02-2	393.20718	M+H	7.91	355.19039, 337.17982, 237.12739, 147.08044
8	倍他米松	$C_{22}H_{29}FO_5$	378-44-9	393.20718	M+H	7.81	355.19039, 279.17434, 171.08044, 147.08044
9	醋酸氟氢可的松	$C_{23}H_{31}FO_6$	514-36-3	423.21774	M+H	8.69	325.17982, 239.14304, 343.19038
10	群勃龙	$C_{18}H_{22}O_2$	10161-33-8	271.16926	M+H	8.65	253.15869, 199.11174
11	甲基睾丸酮	$C_{20}H_{30}O_2$	58-18-4	303.23186	M+H	9.98	285.22129, 267.21073, 109.06479, 97.06479
12	勃地酮	$C_{19}H_{26}O_2$	846-48-0	287.20056	M+H	8.76	269.18999, 173.09609, 135.11683, 121.06479
13	诺龙	$C_{18}H_{26}O_2$	434-22-0	275.20056	M+H	9.01	257.18999, 239.17943, 109.06479
14	司坦唑醇	$C_{21}H_{32}N_2O$	10418-03-8	329.25874	M+H	9.77	121.10118, 81.04472
15	美雄酮	$C_{20}H_{28}O_2$	72-63-9	301.21621	M+H	9.22	283.20564, 149.13248, 121.06479
16	睾丸酮	$C_{19}H_{28}O_2$	58-22-0	289.21621	M+H	9.48	109.06479, 97.06479
17	黄体酮	$C_{21}H_{30}O_2$	57-83-0	315.23186	M+H	11.76	109.06479, 97.06479
18	达那唑	$C_{22}H_{27}NO_2$	17230-88-5	338.21146	M+H	11.62	310.21597, 148.07544
19	丙酸诺龙	$C_{21}H_{30}O_3$	7207-92-3	331.22677	M+H	13.05	257.18999, 239.17943, 109.06479
20	丙酸睾丸素	$C_{22}H_{32}O_3$	57-85-2	345.24242	M+H	13.49	271.20564, 253.19508, 109.06479, 97.06479

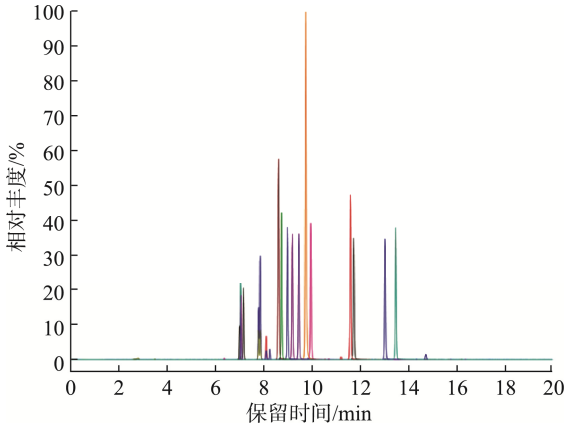


图 1　20 种激素类药物的提取色谱图

Fig.1　Extraction chromatograms of 20 kinds of hormone drugs

2.2.2　质谱条件优化

UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的电喷雾离子源选择正离子模式, 离子源参数(离子传输管温度、辅助气加热温度、辅助气流速、鞘气流速和喷雾电压)依据 UPLC 的流速和喷针位置进行设定。采用 20、40、60 eV 3 种不同的碰撞能量分别对化合物进行碎裂, 得到一张在 3 种能量下碰撞产生的碎片离子加合图, 该方式相较于单一碰撞能量能提供更加丰富的二级碎片信息, 有助于提高筛查定性的可靠性。UPLC-Q-Orbitrap HRMS 不同于三重四极杆, 无需对每个化合物优化质谱条件和碰撞能量, 因此在开发药物残留高通量筛查方法时可以显著缩短时间。离子源参数和质谱扫描参数见 1.3.3。

2.3　样品前处理条件优化

对猪肉样品分散溶剂进行考察。研究中发现, 将有机溶剂直接加入均质后的猪肉样品中提取时, 样品易发生团聚而无法分散, 不利于残留化合物的提取。而先将称好的猪肉样品中加入水后, 涡旋, 再加入有机溶剂, 样品的分散情况较好。实验表明, 在重复提取过程中, 无论是否加水分散, 对大多数目标物的提取效率均无显著影响, 结果如图 2 所示。但重复提取时加水合并两次提取液后会延长盐析的时间(需多静置 5 min)以及需增加氯化钠和无水硫酸钠使用量(1.5 g 氯化钠, 6 g 无水硫酸钠)。因此本研究使用重复提取不加水的方式对猪肉样品进行一次初始分散。

净化方式的考察。本研究中比较了只沉淀蛋白、QuEChERS 以及 HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱 3 种净化方式的除杂效果(图 3)。结果表明, 使用 HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱对猪肉样品提取液进行通过式净化, 可有效去除杂质干扰, 其净化效果优于另外两种方法。因此, 本研究采用 HyperSep Retain-PEP 固相萃取小柱

对猪肉样品进行净化。

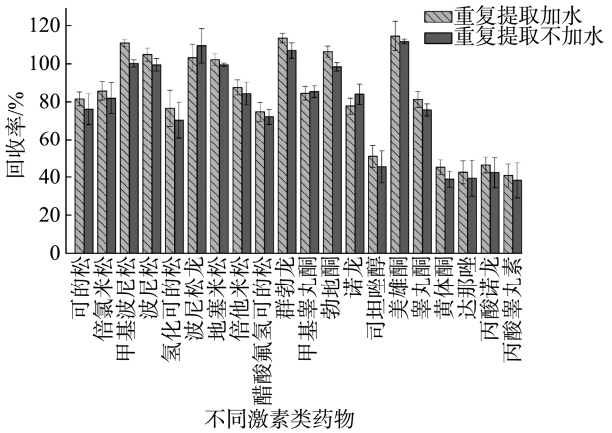
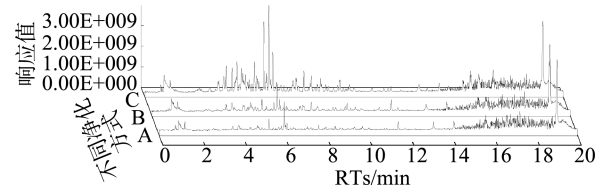


图 2 重复提取时加水分散对 20 种激素类药物回收率的影响

Fig.2 Effects of adding water dispersion during repeated extraction on the recoveries of 20 kinds of hormone drugs



注: A. 固相萃取; B. QuEChERS; C. 沉淀蛋白。

图 3 3 种净化方式效果比较

Fig.3 Comparison of the 3 kinds of purification methods

2.4 基质效应

基质效应[29]是指在进行目标化合物分析时, 样品中除目标待测物以外的其他组分(即基质)对分析信号的测定产生干扰, 导致信号增强或抑制的现象。本研究采用基质匹配标准曲线与溶剂标准曲线的斜率比值即信号抑制/增强(signal suppression/enhancement, SSE)评价基质效应。首先通过逐级稀释的方式, 分别使用流动相初始比例的溶液和空白基质提取液, 将混合标准中间液配制成浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200 ng/mL 的标准工作液及基质标准工作液, 并进行仪器分析。通过线性回归分别得到基质标准曲线与溶剂标准曲线, 进而计算 SSE, SSE>1.2 时, 表示存在基质增强效应; SSE 为 0.8~1.2 时, 表示基质效应不明显; SSE<0.8 时, 表示存在基质抑制效应。实验结果显示, 70% (14/20)的激素类药物 SSE 处于 0.8~1.2 之间, 表明基质效应不明显; 其余 30% (6/20)的激素类药物 SSE 小于 0.8, 说明存在基质抑制效应(表 3)。基质效应可能影响目标化合物准确定量, 通常使用基质匹配标准曲线法或同位素内标法进行校正。本研究涉及 20 种激素类药物, 且需考察回收率, 由于使用内标法成本较高, 不利于未来更多化合物筛查与定量, 因此选用基质标准曲线进行校正, 以减少基质效应。

2.5 方法学验证

本研究采用一级和二级质谱对 20 种激素类药物进行筛查, 并基于一级母离子开展定量分析。基质标准工作液的线性回归结果表明, 20 种激素类药物的决定系数(r^2)均不低于 0.9902, 显示出良好的线性关系。为评估方法的可行性, 选用 1、5、10 μg/kg 3 个浓度水平对空白猪肉样品进行激素类药物加标, 每个浓度进行 6 次平行加标回收实验, 并利用基质标准工作液进行定量, 结果如表 3 所示, 各药物的平均回收率介于 36.56%~119.43%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.9%~9.8%。大多数药物的平均回收率高于 50%, 黄体酮、达那唑、丙酸诺龙和丙酸睾丸素 4 种药物可能是样品前处理方法不适用, 导致加标样品回收率较低。用空白基质提取液配制不同浓度的混合标准溶液, 分别以 3 倍信噪比和 10 信噪比考察方法的检出限和定量限, 20 种激素类药物的检出限为 0.1~0.5 μg/kg, 定量限为 1.0 μg/kg, 可满足对药物残留的检测需求。20 种激素类药物的线性方程、线性范围、线性关系、平均回收率、RSDs、检出限和定量限见表 3。

表 3 20 种激素类药物的 SSEs、线性方程、线性范围、线性关系、平均回收率、RSDs、检出限和定量限

Table 3 SSEs, regression equations, linear ranges, correlation coefficients, average recoveries, RSDs, limits of detection and limits of quantitation of 20 kinds of hormone drugs in pork

编号	药物名称	SSEs	标准曲线	线性范围/(ng/mL)	线性关系(r^2)	添加水平/(μg/kg)	平均回收率/%	RSDs/%	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
1	可的松	0.89	Y=4.40814e^6+1.38313e^6 X	1~200	0.9998	1	67.16	6.7	0.5	1.0
						5	76.24	8.1		
						10	81.56	3.7		
2	倍氯米松	1.00	Y=–0.89955e^5+0.592432e^6 X	1~200	0.9999	1	85.70	4.9	0.5	1.0
						5	81.95	8.1		
						10	76.30	5.6		
3	甲基波尼松	0.89	Y=5.83374e^6+3.76464e^6 X	1~200	0.9995	1	110.82	1.9	0.2	1.0
						5	100.14	1.9		
						10	97.86	4.2		

表 3(续)

编号	药物名称	SSEs	标准曲线	线性范围/(ng/mL)	线性关系(r^2)	添加水平/(μg/kg)	平均回收率/%	RSDs/%	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
4	泼尼松	0.89	Y=3.45885e^6+1.58776e^6 X	1~200	0.9959	1	104.79	3.5	0.2	1.0
						5	104.91	5.1		
						10	99.48	3.3		
5	氢化可的松	0.90	Y=2.12031e^7+1.27828e^6 X	1~200	0.9989	1	76.30	9.8	0.5	1.0
						5	70.48	9.4		
						10	76.60	9.5		
6	波尼松龙	0.87	Y=2.446e^6+0.713442e^6 X	1~200	0.9973	1	119.43	4.9	0.1	1.0
						5	109.44	5.3		
						10	103.18	2.8		
7	地塞米松	0.92	Y=1.65963e^6+0.672471e^6 X	1~200	0.9983	1	111.53	9.7	0.1	1.0
						5	102.15	8.4		
						10	99.46	0.9		
8	倍他米松	0.84	Y=0.928832e^6+0.644356e^6 X	1~200	0.9988	1	99.81	2.6	0.1	1.0
						5	87.59	8.2		
						10	84.36	6.0		
9	醋酸氟氢可的松	0.98	Y=–1.7503e^6+1.22963e^6 X	1~200	0.9988	1	74.75	8.6	0.5	1.0
						5	73.55	6.1		
						10	72.14	3.9		
10	群勃龙	0.90	Y=2.37737e^7+5.12376e^6 X	1~200	0.9961	1	119.06	6.4	0.2	1.0
						5	113.41	3.2		
						10	106.91	4.0		
11	甲基睾丸酮	0.82	Y=1.19845e^6+3.27137e^6 X	1~200	0.9999	1	94.36	5.1	0.2	1.0
						5	84.50	3.7		
						10	85.41	3.1		
12	勃地酮	0.82	Y=1.3527e^7+3.50035e^6 X	1~200	0.9961	1	118.19	5.9	0.5	1.0
						5	106.37	2.9		
						10	98.38	2.2		
13	诺龙	0.86	Y=1.27795e^6+3.05665e^6 X	1~200	0.9997	1	48.49	9.3	0.5	1.0
						5	84.05	5.3		
						10	77.80	4.2		
14	司坦唑醇	0.27	Y=–6.29556e^6+2.82428e^6 X	1~100	0.9970	1	50.78	5.8	0.5	1.0
						5	56.57	6.6		
						10	45.27	8.4		
15	美雄酮	0.86	Y=1.23928e^7+3.20028e^6 X	1~200	0.9981	1	117.39	1.7	0.2	1.0
						5	114.55	7.7		
						10	111.63	1.3		
16	睾丸酮	0.88	Y=–0.955615e^6+3.28078e^6 X	1~200	0.9998	1	79.98	7.9	0.2	1.0
						5	81.30	6.3		
						10	75.84	3.2		
17	黄体酮	0.89	Y=–1.0348e^7+3.38161e^6 X	1~200	0.9971	1	49.42	4.8	0.5	1.0
						5	45.02	3.9		
						10	38.82	4.2		

表 3(续)

编号	药物名称	SSEs	标准曲线	线性范围/(ng/mL)	线性关系(r^2)	添加水平/(μg/kg)	平均回收率/%	RSDs/%	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
18	达那唑	0.16	Y=–1.80498e^6+0.790486e^6 X	1~50	0.9902	1	36.56	8.9	0.5	1.0
						5	39.25	9.4		
						10	42.35	6.0		
19	丙酸诺龙	0.57	Y=–6.8666e^6+2.19066e^6 X	1~100	0.9910	1	42.25	7.9	0.5	1.0
						5	46.25	4.2		
						10	45.25	8.6		
20	丙酸睾丸素	0.51	Y=–7.97268e^6+2.02211e^6 X	1~100	0.9927	1	38.25	9.2	0.5	1.0
						5	37.25	8.6		
						10	40.75	7.0		

2.6 实际样品的检测及分析

使用本研究建立的检测方法，检测了市场采购的 20 份猪肉样品中的激素类药物残留，结果显示，有 4 份样品中检出了氢化可的松，含量范围为 4.95~14.70 μg/kg，实际样品中氢化可的松的提取离子流图和碎片离子质谱图见图 4。依据 GB 31650—2019，氢化可的松允许作为外用兽药用于所有食品动物，且无需制定残留限量。该检测结果进一步表明，本研究所建立的方法适用于实际猪肉样品中 20 种激素类药物残留的检测。

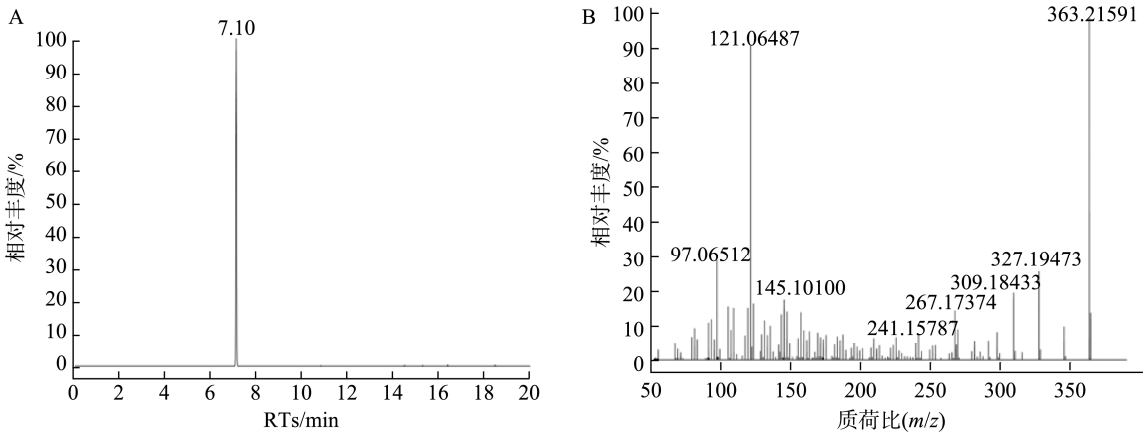


图 4 实际样品中氢化可的松的提取离子流图(A)和碎片离子质谱图(B)

Fig.4 Extracted ion chromatogram (A) and fragment ion mass spectrum (B) of hydrocortisone in the actual sample

3 结 论

本研究应用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 建立了 20 种激素类药物的标准数据库，实现了将样品与标准谱库进行比对完成筛查和确证。此外，借助高分辨质谱的高质量分辨率和精确度，对检出化合物的一级母离子进行初步定量。目前，本研究仅对猪肉中 20 种激素类药物进行定性定量分析，所涵盖的目标化合物种类相对单一，未包含其他禁用或限用药物。然而，随着研究的深入，高分辨质谱标准数据库也会不断扩展和完善，在本方法基础上进一步拓展检测药物种类，进而实现对多种残留药物的高通量筛查和定量。

综上所述，本研究成功建立了基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 用于测定猪肉中 20 种激素药物的快速检测方法。该方法充分发挥了高分辨质谱的高精确度特性，在定性筛查的基础上能同时实现定量分析，结果准确可靠，可为畜产品安全监管提供技术支撑。

参考文献

[1] 孙梅. 浅谈促合成代谢类固醇激素对人体健康的影响[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2006(4): 127–128.
SUN M. On the effect of anabolic androgenic steroids to human health [J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition), 2006(4): 127–128.

[2] 张鹏伟, 董博, 袁普卫, 等. 基于性激素治疗肌少症中西医研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(5): 184–188.
ZHANG PW, DONG B, YUAN PW, *et al*. Research progress of traditional chinese and western medicine in the treatment of sarcopenia based on sex hormones [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese

Medicine, 2023, 25(5): 184–188.

[3] 周贻兵, 毕珊, 吴玉田, 等. QuEChERS 净化-超高效液相色谱串联质谱法测定“消”字号抑菌产品中 50 种糖皮质激素[J]. 分析试验室, 2024, 43(8): 1165–1171.
ZHOU YB, BI S, WU YT, *et al*. Determination of fifty kinds of glucocorticoids in antibacterial products with “Xiao” brand by QuEChERS purification coupled with ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2024, 43(8): 1165–1171.

[4] 张丽姬, 邱小元, 黄鑫, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 8 种糖皮质激素残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(22): 211–219.
ZHNAG LJ, QIU XY, HUANG X, *et al*. Determination of 8 kinds of glucocorticoids residues in food of animal origin by QuEChERs-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(22): 211–219.

[5] 陈娟, 李永琴, 卜宁霞, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法检测牛奶中 11 种激素类药物残留[J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(8): 27–33.
CHEN J, LI YQ, BU NX, *et al*. Determination of 11 hormones residues in milk using QuEChERS by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2021, 55(8): 27–33.

[6] 徐佳. 液相色谱-串联质谱法检测鸡肉中 7 种糖皮质激素残留量[J]. 福建分析测试, 2015, 24(2): 42–47.
XU J. Determination of glucocorticoids residues in chicken tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Fujian Analysis & Testing, 2015, 24(2): 42–47.

[7] 吴嘉敏, 邓颖怡, 魏楚倩, 等. 蛋白同化雄性激素类固醇对青少年大脑功能的影响[J]. 生理学报, 2019, 71(3): 463–470.
WU JM, DENG YY, WEI CQ, *et al*. The effects of anabolic-androgenic steroids on behavioral, cognitive functions and nervous systems of adolescents [J]. Acta Physiologica Sinica, 2019, 71(3): 463–470.

[8] 连英杰, 林升航, 曾琪, 等. QuEChERS/超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法检测鸡肉中 11 种激素类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 384–392.
LIAN YJ, LIN SH, ZENG Q, *et al*. Determination of 11 hormones residues in chicken using QuEChERS sample preparation method with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2014, 5(2): 384–392.

[9] 解文斐, 樊成, 何冲, 等. 基于 UPLC-MS/MS 技术对鱼肉中糖皮质激素残留的检测方法研究[J]. 食品工业, 2025, 46(6): 329–332.
XIE WF, FAN C, HE C, *et al*. Development of a detection method for glucocorticoid residues in fish based on UPLC-MS/MS [J]. The Food Industry, 2025, 46(6): 329–332.

[10] 樊成, 解文斐, 杨秋香, 等. 基于超高效液相色谱-串联质谱的动物源性食品中多种激素残留检测方法研究[J]. 实验室检测, 2025, 3(11): 1–6.
FAN C, XIE WF, YANG QX, *et al*. Study on the detection method of multiple hormone residues in animal-derived food based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Laboratory Testing, 2025, 3(11): 1–6.

[11] KELLIE JF, KEHLER JR, SZAPACS ME. Application of high-resolution MS for development of peptide and large-molecule drug candidates [J]. Bioanalysis, 2016, 8(3): 169–177.

[12] 黄智兴, 仲伟婷, 苏诗宇, 等. 虻虫中的生物活性肽的高分辨质谱快速鉴定与生物活性预测研究[J]. 药学学报, 2025, 60(9): 2863–2875.
HUANG ZX, ZHONG WT, SU SY, *et al*. Rapid identification of bioactive peptides in tabanus by high-resolution mass spectrometry and prediction of their biological activities [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2025, 60(9): 2863–2875.

[13] 周熙, 罗辉泰, 赖晓娜, 等. 高分辨质谱技术在中药分析中的研究进展[J]. 分析测试学报, 2022, 41(9): 1410–1418.
ZHOU X, LUO HT, LAI XN, *et al*. Research progress on application of high-resolution mass spectrometry in analysis of traditional Chinese medicines [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2022, 41(9): 1410–1418.

[14] FLYNN JT, VOHRA NS. Simultaneous determination of intestinal permeability and potential drug interactions of complex mixtures using Caco-2 cells and high-resolution mass spectrometry: Studies with rauwolfia serpentina extract [J]. Chemico-Biological Interactions, 2018, 290: 37–43.

[15] HERNANDEZ F, IBANEZ M, BADE R, *et al*. Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014, 63: 140–157.

[16] CORNETT SD. 创新性高分辨质谱技术 MALDI-FTMS 在小分子药物研发中的应用[J]. 生命科学仪器, 2017, 15(4): 29–31, 14.
CORNETT SD. MALDI-FTMS emerges as a valuable new high-resolution tool for *in-vivo* AD-ME-TOX in small molecule R&D [J]. Life Science Instruments, 2017, 15(4): 29–31, 14.

[17] 苏敏, 李红丽, 白亚敏, 等. 基于液相色谱-串联高分辨质谱技术的食品中污染物检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 44–52.
SU M, LI HL, BAI YM, *et al*. Research progress on determination of pollutants in food by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 44–52.

[18] 石培育, 宋娟, 蒋锡兰, 等. 高分辨质谱非靶向筛查分析方法在食品化学危害物监测中的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(19): 317–331.
SHI PY, SONG J, JIANG XL, *et al*. Research progress on non-targeted screening methods with high resolution mass spectrometry for food chemical hazards monitoring [J]. Food Science, 2024, 45(19): 317–331.

[19] 钟俊威, 刘庆, 黄志宁, 等. 高分辨质谱技术在食品检测中的应用研究[J]. 食品安全导刊, 2024(27): 153–155, 159.
ZHONG JW, LIU Q, HUANG ZN, *et al*. Application of high-resolution mass spectrometry in food testing [J]. China Food Safety Magazine, 2024(27): 153–155, 159.

[20] 邱亚锋, 郭路遥, 雷婉婷, 等. 高分辨质谱技术在食用农产品质量安全检测中应用的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024(19): 187–189.

QIU YF, GUO LY, LEI WT, *et al*. Research progress of application of high resolution mass spectrometry in quality and safety detection of edible agricultural products [J]. China Food Safety Magazine, 2024(19): 187–189.

[21] 刘柏林, 庄美慧, 赵紫微, 等. 高分辨质谱技术在食品安全污染物高通量检测中的应用进展[J]. 安徽预防医学杂志, 2024, 30(3): 230–234, 239.
LIU BL, ZHUANG MH, ZHAO ZW, *et al*. Application progress of high resolution mass spectrometry technology in high throughput detection of food safety pollutants [J]. Anhui Journal of Preventive Medicine, 2024, 30(3): 230–234, 239.

[22] 张申平, 周静, 杜茹芸, 等. 高分辨质谱在食品农药残留检测中的研究进展[J]. 分析测试学报, 2023, 42(4): 502–509.
ZHANG SP, ZHOU J, DU RY, *et al*. Research progress on detection of pesticide residues in food by high-resolution mass spectrometry. [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(4): 502–509.

[23] GOLOVKO O, SÖRENGÅRD M, UCUN KO, *et al*. Evaluation of targeted and high-resolution mass spectrometry methods for environmental monitoring of pharmaceuticals [J]. MethodsX, 2025, 15: 103666.

[24] MARTIN LAP, SCHINKEL L, EBERHARD Y, *et al*. Suspect and nontarget screening of organic micropollutants in Swiss sewage sludge: A sationwide survey [J]. Environmental Science & Technology, 2025, 59: 7688–7698.

[25] SOPHIA K, ANDREAS T, MARIO T. Investigations into the *in vitro* metabolism of hGH and IGF-I employing stable-isotope-labelled drugs and monitoring diagnostic immonium ions by high-resolution/high-accuracy mass spectrometry [J]. Metabolites, 2022, 12(2): 146.

[26] BIJLSMA L, EMKE E, HERNANDEZ F, *et al*. Investigation of drugs of abuse and relevant metabolites in Dutch sewage water by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry [J]. Chemosphere, 2012, 89(11): 1399–1406.

[27] WANG R, YAN YN, LIU H, *et al*. Integrating data dependent and data independent non-target screening methods for monitoring emerging contaminants in the pearl river of Guangdong province, China [J]. Science of the Total Environment, 2023, 891: 164445.

[28] ANAGNOSTOPOULOU K, EVGENIDOU E, ALAMPANOS V, *et al*. High-resolution mass spectrometry approaches for screening persistent and Mobile organic compounds in wastewaters: Target analysis, suspect analysis and risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2025, 967: 178777.

[29] 刘佳, 王建凤, 高丽娟, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱技术非靶向定性筛查猪肉中 79 种药物残留[J]. 分析测试学报, 2022, 41(12): 1729–1737.
LIU J, WANG JF, GAO LJ, *et al*. Qualitative non-targeted screening of 79 drug residues in pork by ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2022, 41(12): 1729–1737.

[30] 潘晓东, 陈苘, 韩见龙. 轨道阱高分辨质谱法不同数据采集模式在猪肉兽药残留筛查中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(5): 524–527, 531.
PAN XD, CHEN Q, HAN JL. Application of different data acquisition modes of orbitrap mass spectrometry in untargeted screening for veterinary drug residue in pork meat [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2023, 33(5): 524–527, 531.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)