

## 检测分析

DOI:10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.2025020041-05

# QuEChERS-液相色谱-串联质谱法 测定鸡蛋中9种糖皮质激素

刘薇<sup>1</sup>, 白富宇<sup>1,2</sup>, 毋婷<sup>3</sup>, 李复煌<sup>4</sup>, 邢福国<sup>1</sup>, 单吉浩<sup>1\*</sup>

(1.中国农业科学院农产品加工研究所,北京 100193;2.乌审旗市场监督管理局  
乌审旗食品药品检验检测中心,内蒙古鄂尔多斯 017300;3.新疆生产建设兵团  
畜牧兽医工作总站,新疆乌鲁木齐 831400;4.北京市畜牧总站,北京 100012)

[摘要] 本实验旨在建立基于高效液相色谱-串联质谱法结合 QuEChERS 快速前处理,对鸡蛋中9种糖皮质激素(GCS)进行快速定量测定的方法。样品经乙腈-水提取后,QuEChERS 法萃取,EMR 柱净化,C<sub>18</sub> 色谱柱分离,电喷雾离子源(ESI)正离子模式下采用多反应监测(MRM)进行检测,基质匹配外标法定量。结果表明:9种糖皮质激素在0.5~50 μg/L 浓度内线性关系良好( $R^2>0.999$ ),检测限(LOD)为0.05~0.08 μg/kg,定量限(LOQ)为0.15~0.25 μg/kg,加标回收率为80.6%~101.9%,相对标准偏差(RSD)为2.6%~9.7%( $n=6$ )。该方法具有准确灵敏、前处理简便快捷、回收率稳定等优点,可用于大批量样本分析,为风险监测提供参考。

[关键词] QuEChERS;高效液相色谱-串联质谱法;鸡蛋;兽药残留;糖皮质激素

[中图分类号] S816.17

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-3314(2026)03-0144-06

糖皮质激素(GCS)是一种肾上腺皮质激素,也是应用最广泛、最有效的抗炎和免疫抑制剂,具有抗炎、抗过敏、解毒、抗休克和免疫抑制等多种作用(陈凤燕,2021)。但是,近年来由于片面追求提高饲料转化率、促进畜禽生长等原因而违规使用和滥用糖皮质激素的情况(孙灵灵,2023;王俊菊,2021),导致其在鸡蛋等畜禽产品中残留超标而严重影响人体健康(王文杰,2023;许琳,2017;代娟,2010)。

液相色谱-串联质谱法作为测定动物源性食品中痕量兽药残留最常用的重要方法,具有灵敏度高、选择性和特异性好的特点(林海依,2023;黄

婷,2022)。但在已有的动物源性食品中糖皮质激素的检测方法具有步骤过多、过程复杂、操作耗时、有机溶剂消耗量大、固相萃取小柱易堵塞、提取种类单一等诸多不足(李文香,2023;程晓宏,2022;刘畅,2019)。而 QuEChERS 前处理方法具有操作快速简单、效率高、所用试剂量少、经济环保、对操作人员影响小、可靠安全等优点(秦立得,2020)。因此,本研究基于高效液相色谱-串联质谱法,结合 QuEChERS 前处理方法,旨在建立一种鸡蛋中常见的9种糖皮质激素快速定量检测方法,为畜禽产品中快速检测兽药残留分析和风险监测提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 主要仪器与材料 高效液相色谱三重四级杆质谱仪(美国 AB Sciex 公司,Sciex/Exion LC-QTRAP 6500+型);全自动智能均质器(北京安信汇康科技有限公司,AX2000A 系列);电子天平

基金项目:农业农村部畜禽屠宰质量安全风险监测项目(农办牧[2024]10号)

作者简介:刘薇,硕士,研究方向为畜产品加工与质量安全检测,E-mail:liuwei15810421732@163.com

\* 通讯作者:单吉浩,高级工程师,从事畜禽产品质量安全、营养品质等检测技术研究,E-mail:shanjihao2007@163.com

(上海诺萱科学仪器有限公司,BSA6202S型);高速冷冻离心机(日本HITACHI公司,CR30NX型);多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司,TARGIN VX-III型);微量振荡器(德国IKA公司,MS 3 digital型);氮吹仪(上海标卓科技仪器有限公司,TTL-DCII型);全自动纯水机(美国Millipore公司,Milli-Q型);EMR小柱(300 mg/3 mL,美国Agilent公司);ACQUITY UPLC CSH C<sub>18</sub>色谱柱(美国Waters公司)。

1.2 主要试剂 泼尼松(Prednisone)、泼尼松龙(Prednisolone)、氢化可的松(Hydrocortisone)、氟氢可的松(Fludrocortisone)、甲基泼尼松(Meprednisone)、甲基泼尼松龙(Methylprednisolone)、地塞米松(Dexamethasone)、倍他米松(Betamethasone)、倍氯米松(Beclomethasone),纯度均大于98.0%,标准品购于天津阿尔塔科技有限公司;甲醇(质谱纯,美国Fisher Chemical公司);乙腈(质谱纯,法国cleman公司);甲酸(色谱纯,上海阿拉丁试剂有限公司);硫酸钠、氯化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.3 标准品的配制

1.3.1 单标准储备液的配制 分别准确吸取适量的100.0 μg/mL单标母液(泼尼松、泼尼松龙、氢化可的松、氟氢可的松、甲基泼尼松、甲基泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、倍氯米松)于9个10 mL容量瓶中,依次用甲醇准确稀释定容配制成10.0 μg/mL单标标准储备液。

1.3.2 混合标准储备液的配制 分别准确吸取适量已配制好的单标储备液于10 mL容量瓶中,用乙腈水(20:80, V/V)溶液准确稀释配制成1.0 μg/mL混合标准储备液。

1.3.3 基质混合标准工作溶液配制 取不含9种糖皮质激素药物鸡蛋组织样品,按前处理方法制得空白基质溶液,准确吸取适量的混合标准储备液,再用空白基质稀释得0.5、1、5、10、50 μg/L不同浓度的标准工作液。

### 1.4 前处理

1.4.1 样品的制备 取供试鸡蛋样品均质,作为供试样品;取空白鸡蛋样品均质,作为空白样品。

供试鸡蛋购置于市场,待分析。

1.4.2 样品前处理 称取5 g(精确至±0.01 g)待测样品于50 mL具塞离心管中。加入10 mL乙腈水(80:20, V/V),涡旋振荡5 min。加入4 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和1 g NaCl,涡旋混匀1 min后,8000 r/min离心10 min。取上清液4 mL过EMR小柱,重力自流,收集全部洗脱液,于40 °C下氮气吹至近干,加入乙腈-水(20:80, V/V)定容至0.50 mL。过0.22 μm滤膜,待LC-MS/MS测定。

### 1.5 仪器条件

1.5.1 高效液相色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC CSH C<sub>18</sub>柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);流动相:0.1%甲酸水溶液(A)和0.1%甲酸乙腈(B);流速:0.25 mL/min;柱温:30 °C;进样体积:10 μL;梯度洗脱程序:0~2 min, 25%~26%B;2~4 min, 26%~28%B;4~6 min, 28%~30%B;6~9 min, 30%B;9~12 min, 30%~50%B;12~12.5 min, 50%~25%B;12.5~15 min, 25%B。

1.5.2 质谱条件 电喷雾正离子源模式(ESI<sup>+</sup>);多重反应监测(MRM)模式采集;碰撞气(CAD):Medium;气帘气(CUR):35 psi;离子化电压(IS):5500 V;温度(TEM):500 °C;雾化气(GS1):50 psi;辅助气(GS2):50 psi;碰撞室入口电压(EP):10 V;碰撞室出口电压(CXP):12 V;其他质谱参数见表1。

## 2 结果与讨论

### 2.1 QuEChERS前处理优化

2.1.1 提取溶剂 实验比较了甲醇、乙腈、甲醇-水和乙腈-水等不同提取溶剂的提取效果,结果发现乙腈-水组合是最佳的提取溶剂。一是乙腈对大多数兽药残留提取效果较好;二是与其他有机溶剂相比,通过盐析能较容易实现有机相与水相的分离;三是乙腈能够较好地使蛋白质凝聚变性从而沉降蛋白;四是用乙腈提取样品时,提取液基质效应较低。实验比较了在3 μg/kg添加水平下9种糖皮质激素的回收率,分别用100%乙腈、90%乙腈-水、80%乙腈-水提取,依次用10%乙腈-水、20%乙腈-水、30%乙腈-水定容。由表2可知,使用80%乙腈-水溶剂时提取效果最佳;在此

表 1 9种糖皮质激素类药物的主要质谱参数

序号	化合物名称	质荷比/(m/z)		去簇电压/V	碰撞能/V
		母离子	子离子		
1	泼尼松	359.2	341.1*, 147.1	55, 55	17, 38
2	泼尼松龙	361.2	343.2*, 147.2	80, 80	16, 34
3	甲基泼尼松	373.2	337.1*, 309.1	60, 60	20, 18
4	甲基泼尼松龙	375.3	357.3*, 339.2	66, 66	16, 16
5	氢化可的松	363.3	121.1*, 327.2	70, 70	33, 23
6	氟氢可的松	381.2	239.0*, 325.0	80, 80	35, 31
7	地塞米松	393.3	355.1*, 147.1	55, 55	19, 30
8	倍他米松	393.3	355.1*, 147.1	55, 55	19, 30
9	倍氯米松	409.2	391.2*, 279.3	55, 55	17, 29

注: \* 定量离子对。

表 2 不同比例乙腈(%)–水提取和定容条件下的回收率

化合物名称	乙腈(%)–水比例								
	100–10	100–20	100–30	90–10	90–20	90–30	80–10	80–20	80–30
泼尼松	77.1	81.5	76.3	68.9	87.7	91.4	94.4	99.1	99.4
泼尼松龙	70.9	88.2	71.6	62.2	86.5	77.2	89.7	99.5	98.6
甲基泼尼松	68.9	81.8	76.3	67.2	83.5	90.1	89.1	102.7	99.5
甲基泼尼松龙	57.9	66.5	67.7	60.6	80.7	76.3	86.6	92.3	94.8
氢化可的松	69.7	79.8	74.8	63.5	85.2	83.6	84.5	97.1	92.3
氟氢可的松	67.7	80.5	76.2	63.8	84.3	84.1	80.9	101.1	96.8
地塞米松	66.6	83.6	67.1	63.7	86.1	83.6	82.4	97.5	96.9
倍他米松	61.3	73.4	76.9	59.2	72.5	82.2	84.8	100.6	97.4
倍氯米松	55.1	66.3	83.6	52.4	77.3	97.1	75.3	97.9	96.8

条件下,使用 20%–水和 30%乙腈–水作为定容溶剂时回收率无显著差异,为减少有机试剂使用量,从而选择 20%乙腈–水作为定容的溶剂。

2.1.2 萃取盐包 QuEChERS 法提取样品时,通常在提取时加入盐,通过盐析作用降低目标物残留在水相中的溶解度,从而增大有机相中目标物含量,促进水相和有机相的分离,并减少有机相中水的含量。实验比较了在 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  添加水平下 9 种糖皮质

激素在不同比例的无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ – $\text{NaCl}$  为主要成分的萃取盐包条件下的回收率。由表 3 可知,使用 4 g 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  和 1 g  $\text{NaCl}$  混合萃取盐包效果较好。

2.1.3 萃取小柱 实验比较了 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度的 9 种糖皮质激素基质标准溶液通过相同规格的三种萃取柱 HLB、EMR 和  $\text{C}_{18}$ , 根据表 4 的回收率可知,使用 EMR 的操作步骤简单,回收率效果最好。

表 3 不同比例无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ – $\text{NaCl}$ (g)萃取盐包条件下的回收率

化合物名称	无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ – $\text{NaCl}$ (g)萃取盐包比例								
	3–0.5	3–1	3–1.5	4–0.5	4–1	4–1.5	5–0.5	5–1	5–1.5
泼尼松	81.0	82.5	79.2	91.7	96.3	94.6	78.7	88.5	81.8
泼尼松龙	80.8	83.1	81.5	87.0	97.2	92.9	82.9	87.6	77.6
甲基泼尼松	78.9	84.8	77.3	87.9	97.0	92.1	77.2	86.2	80.3
甲基泼尼松龙	77.8	76.5	77.6	85.5	95.0	88.0	80.0	84.2	79.5
氢化可的松	79.6	79.7	79.8	82.5	96.8	92.1	83.6	87.9	82.8
氟氢可的松	77.6	80.4	81.2	81.8	102.3	95.4	83.8	86.0	83.7
地塞米松	76.6	81.6	77.1	80.2	97.0	90.4	83.1	88.3	80.5
倍他米松	71.2	77.4	76.2	82.7	101.7	92.9	79.4	82.3	80.0
倍氯米松	75.1	76.3	81.6	75.2	93.6	88.2	72.0	82.6	77.3

表4 不同萃取柱净化效果的回收率 %

化合物名称	萃取柱名称		
	HLB	EMR	C <sub>18</sub>
泼尼松	93.7	98.8	87.7
泼尼松龙	94.2	97.6	88.4
甲基泼尼松	91.9	98.1	89.1
甲基泼尼松龙	89.7	101.5	87.8
氢化可的松	90.2	95.8	86.6
氟氢可的松	90.1	97.7	88.2
地塞米松	91.4	96.2	85.8
倍他米松	93.3	99.1	86.1
倍氯米松	89.5	93.9	84.3

2.2 基质效应 空白样品经相同的前处理后用乙腈水(20:80, V/V)溶解,分别稀释标准工作液(1 mg/L),配制标准曲线。经评价,在鸡蛋基质中9种糖皮质激素基质效应因子(MF)值在0.838~1.096,无明显基质效应,说明经过EMR净化小

柱后能够得到较好的净化效果,避免基质效应的出现。

2.3 液相色谱与质谱条件的优化 实验研究比较了水、0.1%甲酸-水、乙腈、0.1%甲酸-乙腈四种不同情况的有机相,以不同流动相组合时待测目标物的色谱峰形和灵敏度进行比较。结果表明,以0.1%甲酸-水和0.1%甲酸-乙腈为流动相时,9种糖皮质激素的色谱峰形较好并且灵敏度较高。

实验研究比较了柱温为25、30、35、40℃条件下目标待测物的色谱峰的分离情况。结果表明,柱温为30℃时,9种糖皮质激素的分离度较好。

在正离子MRM模式下优化去簇电压和碰撞能量获得最佳仪器条件后的9种糖皮质激素标准溶液(0.2 μg/L)定量离子色谱图如图1所示。

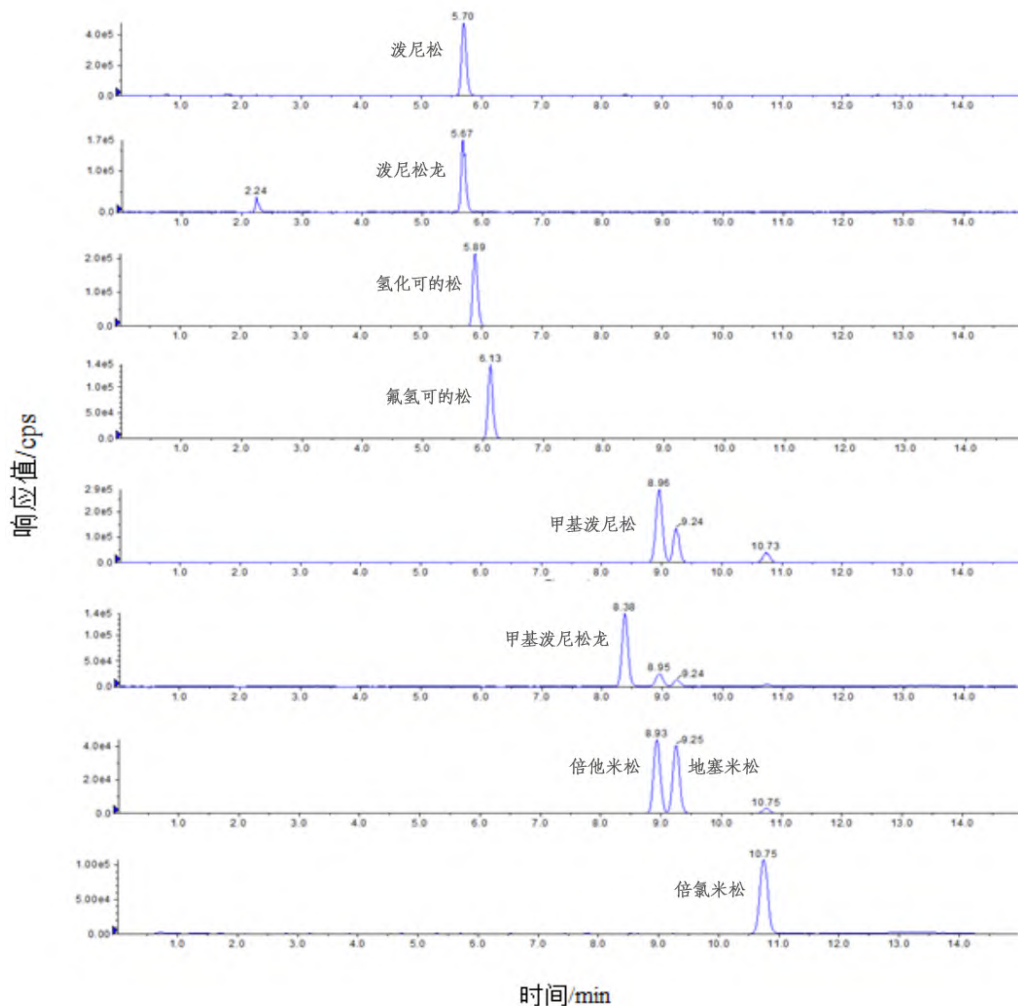


图1 9种糖皮质激素定量离子色谱图

2.4 标准曲线及检出限、定量限 采用基质匹配标准曲线,外标法定量。在优化后的色谱、质谱条件下,9种糖皮质激素在0.5~50 μg/L浓度内线性关系良好。由表5可知,标准曲线相关系数均大于0.999;9种糖皮质激素在鸡蛋中的检出限为0.05~0.08 μg/kg,定量限为0.15~0.25 μg/kg。

表5 鸡蛋基质中9种糖皮质激素的线性、检出限和定量限

化合物名称	线性关系	R <sup>2</sup>	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
泼尼松	Y=122322X+182.13305	0.99912	0.07	0.20
泼尼松龙	Y=36484X+51.42356	0.99946	0.08	0.25
甲基泼尼松	Y=105000X+22.66440	0.99912	0.05	0.15
甲基泼尼松龙	Y=454814X+20.87053	0.99958	0.08	0.25
氢化可的松	Y=56936.7X+6.20709	0.99910	0.05	0.15
氟氢可的松	Y=37123.7X+191.55310	0.99900	0.08	0.25
地塞米松	Y=14646.64013X+195.87162	0.99944	0.07	0.20
倍他米松	Y=14652.67099X+156.41875	0.99950	0.05	0.15
倍氯米松	Y=46180.9X+36.30681	0.99904	0.07	0.20

2.5 加标回收率和精密度 由于在GB31650-2019中尚没有规定9种糖皮质激素在鸡蛋中的最大残留限量(MRL),因此本研究分别在空白鸡蛋中配制定量限(0.15 μg/kg)、2倍定量限(0.3 μg/kg)和10倍定量限(1.5 μg/kg)三种浓度进行加标回收实验,平行测定6次,结果如表6所示。由表6可知,在鸡蛋基质中9种糖皮质激素的平均回收率为80.6%~101.9%,相对标准偏差(RSDs)为2.6%~9.7%。

表6 鸡蛋中9种糖皮质激素的添加回收率和精密度(n=6)

化合物名称	0.15 μg/kg		0.30 μg/kg		1.50 μg/kg		%
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	
泼尼松	83.0	7.6	88.2	5.1	96.9	4.2	
泼尼松龙	85.7	8.0	93.2	5.0	99.3	3.3	
甲基泼尼松	86.3	6.9	91.3	6.2	97.8	2.6	
甲基泼尼松龙	90.6	6.8	94.0	5.7	101.9	3.9	
氢化可的松	88.7	4.7	93.5	4.1	100.7	4.2	
氟氢可的松	87.2	5.1	92.3	4.4	97.2	4.2	
地塞米松	85.3	8.9	91.2	7.9	99.4	5.3	
倍他米松	88.5	6.6	93.2	5.1	100.1	4.5	
倍氯米松	80.6	9.7	87.2	6.7	95.1	5.4	

2.6 实际样品分析 在不同的北京市农贸市场中随机选取20份市售鸡蛋样品进行测定,在其中的3份鸡蛋中检出含有氢化可的松,其含量在0.57~3.39 μg/kg,其余样品未检出。

### 3 结论

本实验研究建立了一种在鸡蛋基质中QuEChERS萃取-液相色谱-串联质谱法测定9种糖皮质激素的方法,基质匹配外标法定量,具有简便快捷、灵敏度高、回收率高等优点,可为鸡蛋等畜禽产品质量安全工作中的大批量样本的风险监测提供参考。

### 参考文献

- [1] 陈凤燕,盘焯晖,陆曼芝,等.食品中糖皮质激素残留检测方法的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(19):7541~7548.
- [2] 程晓宏,杨清华,杨娟,等.QuEChERS技术在食品安全中的应用进展[J].食品工业,2022,43(2):264~269.
- [3] 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.
- [4] 黄婷,谭磊,何玉榆,等.液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中糖皮质激素类药物残留[J].国外畜牧学(猪与禽),2022,42(6):107~110.
- [5] 刘畅,孙安敏.QuEChERS方法在食品非法添加物检测中的应用[J].农业科学研究,2019,40(2):46~51,56.
- [6] 林海依.食品中农兽药残留检测技术研究[J].食品安全导刊,2023,3:148~150.
- [7] 李文香,武侠均,崔沙沙,等.QuEChERS技术在兽药残留检测中的应用[J].北方牧业,2023,4:15~16.
- [8] 秦立得,赵思俊,宋翠平.QuEChERS法在兽药残留检测中的应用

- 优化与应用[J].中国动物检疫,2020,37(12):98~107.
- [9] 孙灵儿,袁文菊,孙留霞,等.动物源性食品中兽药残留现状及应对措施[J].现代农村科技,2023,2:8.
- [10] 王俊菊,史艳艳,侯慧文.我国动物性食品中兽药残留的现状、问题及对策[J].中国动物保健,2021,23(3):5,7.
- [11] 王文杰,曾科维.兽药残留的危害及其防范措施[J].畜禽业,2023,34(2):32~34.
- [12] 许琳.正确看待养殖业中抗生素的使用[J].养禽与禽病防治,2017,7:40~43.

## Simultaneous determination of 9 glucocorticoids in eggs by QuEChERS–liquid chromatography–tandem mass spectrometry

LIU Wei<sup>1</sup>, BAI Fuyu<sup>1,2</sup>, WU Ting<sup>3</sup>, LI Fuhuang<sup>4</sup>, XING Fuguo<sup>1</sup>, SHAN Jihao<sup>1\*</sup>

(1.Institute of Food Science and Technology of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

2.Wushenqi Food & Drugs Testing Center of Administration For Market Regulation of Wushenqi, Erdos, Inner Mongolia 017300, China; 3.Animal Husbandry and Veterinary General Station, Xinjiang Production and Construction Corps, Urumqi, Xinjiang 831400, China; 4.Beijing General Station of Animal Husbandry Service, Beijing 100012, China)

**[Abstract]** A high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS) method based on the combination of QuEChERS rapid pretreatment was established for the rapid quantitative determination of nine glucocorticoids in eggs. The samples were extracted with acetonitrile–water, extracted by QuEChERS, cleaned–up on an EMR column, separated on a C<sub>18</sub> column, and detected by multiple reaction monitoring (MRM) in the positive ion mode of an electrospray ionization source (ESI), and quantified by matrix–matched external standard method. The nine glucocorticoids showed good linearity in the concentration range of 0.5 ~ 50 μg/L ( $R^2 > 0.999$ ), with the limits of detection (LOD) of 0.05 ~ 0.08 μg/kg, the limits of quantification (LOQ) of 0.15 ~ 0.25 μg/kg, and the recoveries of the spiked glucocorticoids ranged from 80.6% to 101.9%, and the relative standard deviations (RSDs) were from 2.6% to 9.7% ( $n=6$ ). The method had the advantages of accuracy and sensitivity, simple and fast pretreatment, and stable recovery, which could be used for the analysis of large–volume samples and provide reference for risk monitoring.

**[Key words]** QuEChERS; high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry; egg; veterinary drug residues; glucocorticoid