畜禽肉中食源性兴奋剂和孕激素的测定
液相色谱-串联质谱法

编制说明

目录

1 工作简况 4
1.1 标准制定的任务来源 4
1.2 主要工作过程 4
1.3 标准起草单位和编制组成员 4
2 标准制定的必要性和预期效果 5
2.1 标准编制的必要性 5
2.2 标准编制的预期效果 7
3 标准制定的原则和依据 7
4 主要技术内容的论据 7
5 主要内容和主要试验 7
5.1 试验试剂与材料 8
5.1.1 目标化合物和内标标准物质 8
5.1.2 主要试剂 10
5.2 仪器与设备 10
5.3 标准溶液的配制 11
5.3.1 标准储备液的配制 11
5.3.2 混合标准储备液的配制 11
5.3.3 外标混合标准中间液的配制 12
5.3.4 内标混合标准中间液的配制 12
5.3.5 标准工作曲线的配制 12
5.4 试验样品的处理 12
5.4.1 提取 12
5.4.2 净化 13
5.4.3 空白试验 13
5.4.4 基质空白提取液 13

5.5 仪器分析条件.....13
5.5.1 液相色谱条件.....13
5.5.2 质谱条件.....13
5.6 结果与结论.....15
5.6.1 仪器条件选择.....15
5.6.2 提取溶剂的选择.....21
5.6.3 提取溶剂酸度的考察.....21
5.6.4 净化剂的选择.....22
5.6.5 复溶溶剂的选择.....23
5.6.6 对应内标物的选择.....23
5.6.7 基质效应的考察.....23
5.6.8 方法线性与灵敏度.....24
5.6.9 方法准确度和精密度.....24
5.6.10 与国标方法比对.....34
5.7 实际样品的测定.....35
5.8 实验室间验证结果.....36
6 采用国际标准的程度与水平的简要说明.....49
7 标准涉及的专利及相关知识产权说明.....49
8 重大意见分歧的处理经过和依据.....49
9 与现行法律法规和强制性标准的关系.....49
参考文献.....51

1 工作简况

1.1 标准制定的任务来源

为保障冬奥食品安全，特别是对畜禽肉供应保障提供技术支撑,北京市科学技术研究院分析测试研究所（北京市理化分析测试中心）（原北京市理化分析测试中心，以下简称“分析测试所”）申报的北京市市级财政项目《创新工程-预研究-冬奥食品安全检测技术储备及在食品供应基地保障中的应用》（项目编号：PXM2020_178305_000007）获得立项批复，项目执行期为2020年1月到2020年12月。

1.2 主要工作过程

2023 年 2 月立项申请书提交至北京预防医学会；3 月 27 日，参加了北京预防医学会团体标准立项论证会，学术委员会专家听取了立项报告，审阅了相关申报材料，经质询和讨论，学术委员会建议将立项标准名称改为“畜禽肉中食源性兴奋剂和孕激素检测 液相色谱-串联质谱法”，并一致同意通过了该课题的立项评审。本项目按照以下技术路线开展工作，见图 1。

2020年1月至2021年5月，课题组经过大量的实验研究，完成了“畜禽肉中食源性兴奋剂和孕激素检测 液相色谱-串联质谱法”的方法开发，2023年6月到8月，组织了2家食品检验检测机构对该方法进行了验证，在此基础上进行了数据的汇总和分析整理工作，并编写完成了本项目的技术报告和团标草案。

1.3 标准起草单位和编制组成员

本团体标准由分析测试所项目研究团队起草，起草人冯月超（副研究员）、刘艳（研究员）、王建凤（高级工程师），编制组成员还包括北京市疾病预防控制中心的郭巧珍（副研究员）、姚凯（助理研究员）、张晶（研究员），北京市延庆区疾病预防控制中心林强（副研究员）、李晶晶（副主任技师）、苏东霞（副主任技师。）

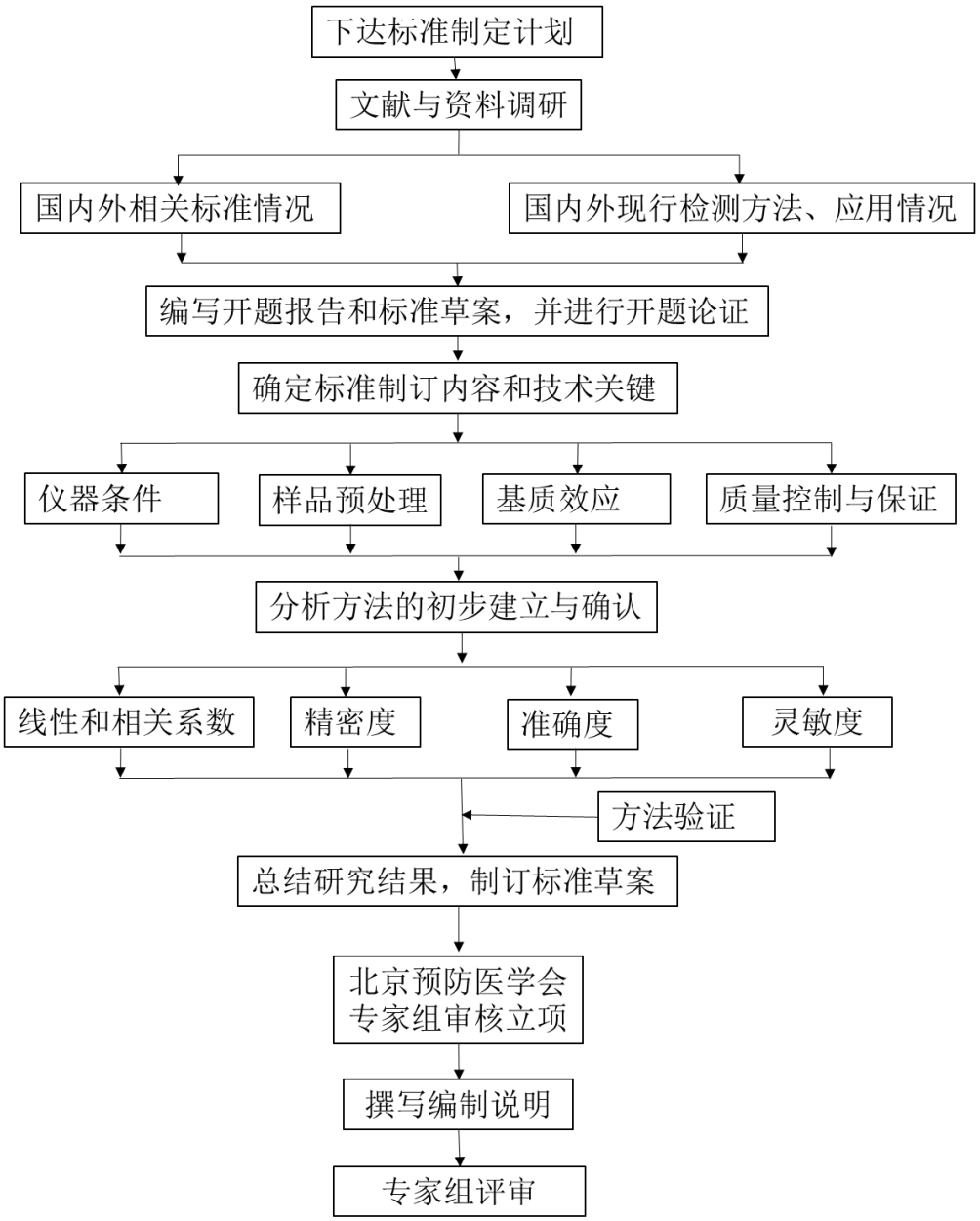


图 1 技术路线图

2 标准制定的必要性和预期效果

2.1 标准编制的必要性

食源性兴奋剂是指来源于食品中的兴奋剂，包括一般性食品及保健食品中从生产到加工过程中天然存在或故意添加而残留的兴奋剂成分。世界反兴奋剂机构（WADA）发布的《2021 年禁用清单》中明确规定β_2-激动剂、蛋白同化制剂、糖皮质激素类、利尿剂等兴奋剂为运动员禁、限用物质。由于食物种类非常多，而且从农田到餐桌供

应链条长，食源性兴奋剂的防范难度较大，运动员因食物导致的兴奋剂阳性案例在体育赛事中屡见不鲜。孕激素如孕酮等是食品中天然存在的激素，一些合成类孕激素已经被我国明令禁止，《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单（农业农村部公告第 250 号）》（2019 年 12 月）中规定禁止使用醋酸美仑孕酮。为了保障大型体育赛事的成功举办，防止违禁物质污染食物，评估食品中食源性兴奋剂等激素的风险，建立高通量、快速、准确的食源性兴奋剂等激素的检测方法非常有必要。

食源性兴奋剂等激素物质检测方法主要有色谱-质谱法、酶联免疫法、生物芯片等技术，目前色谱-质谱因为其准确度高、灵敏度高、检测通量高等优势是食源性兴奋剂等激素的主要检测手段。然而食源性兴奋剂检测依然面临较大挑战， 主要有以下几点：（1）同类物质极性差异太大，采用同一种检测方法难以获得较好的回收率。如：比如苯丙酸诺龙的极性较弱，导致样品处理中因为脱脂过程而有较大损失。（2）食源性兴奋剂检出限要求低，通常为痕量甚至是超痕量，且食品基质复杂，基质效应显著，样品前处理步骤繁琐。目前传统的固相萃取和溶剂萃取等前处理过程复杂，使检测周期较长，无法体现该仪器的优势，近年发展的滤过型净化柱法则存在成本高的问题。QuEChERS 方法在食源性兴奋剂和孕激素检测的研究，多数是仅针对单一种类的物质进行检测，畜禽肉中高通量多残留同时检测的研究较少。经文献调研，目前关于畜禽肉中兴奋剂和孕激素检测方法的相关现行有效国家标准主要有以下 7 个：

（1）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

（2）农业部1031号公告-1-2008 动物源性食品中11种激素残留检测液相色谱-串联质谱法

（3）SN/T 1980-2007 进出口动物源性食品中孕激素类药物残留量的检测方法高效液相色谱-质谱/质谱法

（4）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

（5）SN/T 4744-2017 进出口食用动物性激素残留量的测定液相色谱-质谱/质谱法

（6）GB 31658.25-2022 食品安全国家标准动物性食品中10种利尿药残留量的测定液相色谱-串联质谱法

（7）GB 31658.22-2022 食品安全国家标准动物性食品中β-受体激动剂残留量的

测定液相色谱-串联质谱法

其中，农业部1031号公告-1-2008只检测了孕激素和蛋白同化激素共11种，GB/T 21981-2008规定了动物源食品中50种激素的测定方法，但该方法过程繁琐，需要将样品过两种净化柱，耗时较长，需要18种内标物，检测成本较高。其他5个标准是只针对某一类别进行检测，覆盖范围窄，因此亟待开发一种高通量食源性兴奋剂检测方法。

2.2 标准编制的预期效果

本项目在充分调研畜牧生产用药基础上，结合 WADA 的《禁用清单国际标准》，以及国内相关法规，以β_2-兴奋剂、β-阻断剂、利尿剂、蛋白同化激素、糖皮质激素、孕激素共六大类化合物为研究对象，结合 QuEChERS 样品前处理技术，完成了《畜禽肉中食源性兴奋剂和孕激素的测定 液相色谱-串联质谱法》团体标准草案征，该方法前处理简便、结果准确可靠，检出限能够满足我国法规的限量要求，一次检测能够同时测定 45 个化合物，实现了高通量和高效率，该标准方法能够为大型体育赛事运动员的肉类食品安全检测的技术支持，弥补现有国标的不足。

3 标准制定的原则和依据

在实施过程中，本项目组按照《实验室质量控制规范食品理化检测》（GB/T 27404-2008）对方法学进行了考察，并选择食品检测机构对该方法进行了验证。兼顾国内监测分析实际情况，确保本标准的先进性、可操作性和实用性。

（1）先进性：其准确度、精密度和灵敏度达到国外同类方法的同等水平。

（2）可操作性：符合我国目前检测仪器设备和试剂、材料的供应条件。

（3）实用性：符合检测从业人员的技术水平，能被国内分析实验室所使用并达到所规定的要求。

4 主要技术内容的论据

无

5 主要内容和主要试验

5.1 试验试剂与材料

5.1.1 目标化合物和内标标准物质

45 种目标化合物标准品和 9 种同位素内标标准品名称、纯度或者含量、CAS 号、具体供应来源见表 1。

表 1 被测化合物及对应 9 种内标的名称、CAS 号、供应来源、纯度/浓度

序号	目标化合物	英文名称	CAS	供应商	纯度/浓度
1.	克伦特罗	Clenbuterol	21898-19-1	Dr. Ehrenstorfer	99.3%
2.	妥布特罗	Tulobuterol	41570-61-0	Toronto Research Chemicals	97.0%
3.	班布特罗	Bambuterol	81732-46-9	Dr. Ehrenstorfer	98.6%
4.	克伦丙罗	Clenproperol	38339-11-6	Dr. Ehrenstorfer	98.0%
5.	喷布特罗	Penbuterol	28163-36-2	WITEGA Laboratorien Berlin-Adlershof GmbH	99.7%
6.	克伦塞罗	Clencyclohexerol	1435934-75-0	WITEGA Laboratorien Berlin-Adlershof GmbH	99.8%
7.	马布特罗	Mabuterol	54240-36-7	Dr. Ehrenstorfer	90.6%
8.	溴布特罗	Brombuterol	41937-02-4	WITEGA Laboratorien Berlin-Adlershof GmbH	99.5%
9.	西马特罗	Cimaterol	54239-37-1	Toronto Research Chemicals	98.0%
10.	氯丙那林	Clorprenaline	6933-90-0	Dr. Ehrenstorfer	98.0%
11.	奥西那林	Metaproterenol	5874-97-5	Dr. Ehrenstorfer	99.2%
12.	沙丁胺醇	Salbutamol	18559-94-9	Dr. Ehrenstorfer	99.9%
13.	齐帕特罗	Zilpaterol	119520-06-8	WITEGA Laboratorien Berlin-Adlershof GmbH	99.6%
14.	莱克多巴胺	Ractopamine	90274-24-1	Stanford Analytical Chemicals Inc.	95.8%
15.	沙美特罗	Salmeterol	89365-50-4	Dr. Ehrenstorfe	99.4%
16.	阿替洛尔	Atenolol	29122-68-7	Dr. Ehrenstorfer	99.0%
17.	普萘洛尔	Propranolol	318-98-9	Dr. Ehrenstorfer	99.6%
18.	美托洛尔	Metoprolol	56392-17-7	Dr. Ehrenstorfer	98.0%

19.	氨苯喋啶	Triamterene	396-01-0	Toronto Research Chemicals	98.0%
20.	螺内酯	Spironolactone	1952-1-7	Stanford Analytical Chemicals Inc.	99.5%
21.	坎利酮	Canrenone	976-71-6	Toronto Research Chemicals	98.0%
22.	睾酮	Testosterone	58-22-0	Dr. Ehrenstorfer	99.3%
23.	诺龙	Nortestosterone	434-22-0	Dr. Ehrenstorfer	96.7%
24.	去氢甲睾酮	Methandienone	72-63-9	Stanford Analytical Chemicals Inc.	99.3%
25.	勃地酮	Boldenone	846-48-0	Dr. Ehrenstorfer	98.8%
26.	群勃龙	Trenbolone	10161-33-8	Dr. Ehrenstorfer	96.3%
27.	雄烯二酮	4-Androstene-3	63-5-8	Toronto Research Chemicals	99.7%
28.	脱氢表雄酮	Prasterone	53-43-0	Dr. Ehrenstorfer	99.3%
29.	甲基睾酮	Methyltestosterone	58-18-4	Dr. Ehrenstorfer	97.7%
30.	美睾酮	Mesterolone	1424-00-6	A Chemtek Inc.	99.0%
31.	美雄诺龙	Mestanolone	521-11-9	Dr. Ehrenstorfer	97.8%
32.	司坦唑醇	Stanozolol	10418-03-8	Dr. Ehrenstorfer	99.9%
33.	地塞米松	Dexamethasone	50-02-2	Dr. Ehrenstorfer	99.2%
34.	氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	Dr. Ehrenstorfer	99.3%
35.	波尼松龙	Prednisolone	50-24-8	Dr. Ehrenstorfer	99.8%
36.	可的松	Cortisone	53-06-5	Dr. Ehrenstorfer	99.1%
37.	波尼松	Prednisone	53-03-2	Dr. Ehrenstorfer	99.8%
38.	醋酸氟轻松	Fluocinolone Acetonide	67-73-2	Toronto Research Chemicals	98.0%
39.	氟氢可的松	Fludrocortison	127-31-1	Toronto Research Chemicals	99.3%
40.	倍氯米松	Beclomethasone	4419-39-0	Toronto Research Chemicals	99.3%

41.	孕酮	Progesterone	57-83-0	Dr. Ehrenstorfer	99.7%
42.	醋酸美伦孕酮	Melengestrol acetate	2919-66-6	Dr. Ehrenstorfer	99.0%
43.	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone acetate	71-58-9	Dr. Ehrenstorfer	99.2%
44.	17α-羟孕酮	17α-Hydroxyprogesterone	604-09-1	Dr. Ehrenstorfer	99.2%
45.	甲地孕酮	Megestrol	3562-63-8	Dr. Ehrenstorfer	99.4%
I-1	克伦特罗-D_9	Clenbuterol-D_9	129138-58-5	Stanford Analytical Chemicals Inc.	99.7%
I-2	莱克多巴胺-D_5	Ractopamine-D_5	90274-24-1	A Chemtek Inc.	95.0%
I-3	沙丁胺醇-D_3	Salbutamol-D_3	1219798-60-3	A Chemtek Inc.	98.5%
I-4	去甲乌药碱-D_4	Methyltestosterone-D_3	2249814-83-1	First Standard	100μg/mL
I-5	睾酮-D_3	Testosterone- D_3	77546-39-5	Toronto Research Chemicals	100μg/mL
I-6	勃地酮-D_3	Boldenone-D_3	361432-76-0	A Chemtek Inc.	99.2%
I-7	孕酮-D_9	Progesterone- D_9	15775-74-3	Toronto Research Chemicals	95.0%
I-8	氢化可的松-D_3	Hydrocortisone-D_3	115699-92-8	A Chemtek Inc.	10μg/mL
I-9	地塞米松-D_5	Dexamethasone-D_5	358731-91-6	Toronto Research Chemicals	98.0%

5.1.2 主要试剂

甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）、甲酸（优级纯）、乙酸（优级纯）均购于美国 Fisher Scientific 有限公司。无水硫酸镁、氯化钠、中性氧化铝（100-200 目）购自国药集团试剂公司；N-丙基乙二胺键合固相吸附材料（PSA，40-60μm）、十八烷基键合硅胶吸附材料（C_{18}，40-60μm）、氨基吸附剂（NH_2，40-60μm）均购于博纳艾杰尔有限公司；实验室用水由 Milli-Q 超纯水净化处理系统制备。

5.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪、Xevo TQ-S 四级杆串联质谱仪，美国

WATERS；高速冷冻离心机：GR22GIII，日本 HITACHI；氮吹仪：N-EVAP^{TM}112，配备 OA-SYS^{TM}水浴加热装置，美国 Organomation；多管涡旋混匀仪：MS200，杭州瑞诚仪器有限公司；涡旋混合器：vortex-genie 2，美国 scientificindustries；数控超声波清洗器：KQ-500DE，昆山市超声仪器有限公司；纯水仪：Milli-Q Integral 5，德国默克公司。

5.3 标准溶液的配制

5.3.1 标准储备液的配制

准确称取标准品适量（相当于活性成分 10mg），用甲醇溶解并定容于 10mL，配置成浓度为 1.0mg/mL 的标准储备液。

5.3.2 混合标准储备液的配制

依据化合物的类别将被测物分成 7 组，用甲醇配置成 7 个混合标准储备液，根据仪器的响应值，确定混合标准储备液中各物质的浓度，具体见表 3。所有标准溶液均在-20 ℃冷冻避光储存。

表 2 目标化合物及内标物混合标准储备液和中间液的分组和浓度

序号	化合物	储备液浓度(μg/mL)	中间液浓度(μg/mL)	组别	序号	化合物	储备液浓度(μg/mL)	中间液浓度(μg/mL)	组别
1	克伦特罗	1	100	组 1	28	脱氢表雄酮	2	200	组 4
2	妥布特罗	1	100	组 1	29	甲基睾酮	2	200	组 4
3	班布特罗	1	100	组 1	30	美睾酮	8	200	组 4
4	克伦丙罗	2	200	组 1	31	美雄诺龙	2	200	组 4
5	喷布特罗	1	100	组 1	32	司坦唑醇	2	200	组 4
6	克伦塞罗	1	100	组 1	33	地塞米松	4	400	组 3
7	马布特罗	2	200	组 1	34	氢化可的松	4	400	组 5
8	溴布特罗	1	100	组 1	35	波尼松龙	4	400	组 5
9	西马特罗	2	200	组 1	36	可的松	4	400	组 5
10	氯丙那林	1	100	组 1	37	波尼松	4	400	组 5
11	奥西那林	1	100	组 1	38	醋酸氟轻松	4	400	组 5
12	沙丁胺醇	1	100	组 1	39	氟氢可的松	4	400	组 5
13	齐帕特罗	1	100	组 1	40	倍氯米松	4	400	组 5
14	莱克多巴胺	1	100	组 1	41	孕酮	2	200	组 6

序号	化合物	储备液浓度(μg/mL)	中间液浓度(μg/mL)	组别	序号	化合物	储备液浓度(μg/mL)	中间液浓度(μg/mL)	组别
15	沙美特罗	1	100	组 1	42	醋酸美伦孕酮	2	200	组 6
16	阿替洛尔	1	100	组 2	43	醋酸甲羟孕酮	2	200	组 6
17	普萘洛尔	1	100	组 2	44	17α-羟孕酮	2	200	组 6
18	美托洛尔	1	100	组 2	45	甲地孕酮	2	200	组 6
19	氨苯喋啶	2	200	组 3	I-1	克伦特罗-D_9	1	100	组 7
20	螺内酯	2	200	组 3	I-2	莱克多巴胺-D_5	1	100	组 7
21	坎利酮	2	200	组 3	I-3	沙丁胺醇- D_3	1	100	组 7
22	睾酮	2	200	组 4	I-4	甲基睾酮-D_3	2	200	组 7
23	诺龙	2	200	组 4	I-5	睾酮- D_3	2	200	组 7
24	去氢甲睾酮	2	200	组 4	I-6	勃地酮- D_3	2	200	组 7
25	勃地酮	2	200	组 4	I-7	孕酮- D_9	2	200	组 7
26	群勃龙	2	200	组 4	I-8	氢化可的松-D_3	4	400	组 7
27	雄烯二酮	2	200	组 4	I-9	地塞米松-D_5	4	400	组 7

5.3.3 外标混合标准中间液的配制

临用前分别取上述 1-6 组混合标准储备液 1mL，用甲醇定容于 10mL 容量瓶，配置成外标混合中间液。

5.3.4 内标混合标准中间液的配制

取组 7 混合标准储备液 1mL，用甲醇定容于 10mL，配置成内标混合中间液。

5.3.5 标准工作曲线的配制

移取一定量外标混合标准中间液用基质空白提取液逐级稀释，并向其中添加等量的内标中间液工作液。

5.4 试验样品的处理

5.4.1 提取

以鸡肉为基质，准确称取粉碎均质后的鸡肉样品 5.0 g 于 50 mL 螺盖离心管中，加入 40μL 内标混合中间液，加入 5 mL 超纯水，涡旋 10s 后，准确加入 20 mL 含 0.5% 乙酸的乙腈溶液，振荡提取 15 min，加入 1.0 g 氯化钠和 4.0 g 无水硫酸镁，快速混匀，

继续振荡 10 min，8000 r/min 离心 5 min。

5.4.2 净化

移取上清液 10 mL 于另一事先装入 PSA 165 mg 、 C_{18} 165 mg 、中性氧化铝 165 mg、900 mg 无水硫酸镁的螺盖离心管中，振荡混匀 10 min，8000 r/min 离心 5 min。准确移取上清液 5 mL，置于氮吹仪上 45 ℃ 吹干，加入 1.0 mL 甲醇/水（含 0.1%甲酸和 5mmol/L 乙酸铵）1/9（v/v），涡旋复溶，用 0.22 μm 微孔滤膜过滤，待上机测定。

5.4.3 空白试验

不称取试样，按上述步骤做空白实验。

5.4.4 基质空白提取液

称取不含被测物的阴性鸡肉样品 5.0 g，不加内标，按照上述方法进行前处理，得到空白基质提取液，用于配制标准工作曲线。

5.5 仪器分析条件

5.5.1 液相色谱条件

色谱柱：Waters Acquity BEH C_{18} 反相液相色谱柱（2.1 mm×10 mm, 1.7 μm）；柱温：30℃；进样量：5 μL。

流动相：A 为含 0.1%甲酸-5mmol/L 乙酸铵水溶液，B 甲醇，梯度洗脱见表 3。

表 3 HPLC 梯度洗脱条件

时间（min）	A（%）	B（%）	流速（mL/min）
0	95	5	0.3
0.5	95	5	0.3
1.0	90	10	0.3
6.0	30	70	0.3
8.0	20	80	0.3
9.0	0	100	0.3
10.0	0	100	0.3
10.1	95	5	0.3
12.0	95	5	0.3

5.5.2 质谱条件

电离源：电喷雾正离子模式（ESI+）；检测方式：多重反应监测（MRM）；毛

细管电压：0.5 kV；锥孔电压：30V；脱溶剂气流速度：650 L/h；脱溶剂气温度：450 ℃；锥孔气流速：150 L/h。其它主要参数等见表 4。

表 4 目标分析物及 9 种内标的保留时间及主要质谱参数

编号	目标化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	定量离子（m/z）（碰撞能）	定性离子（m/z）（碰撞能）	碎裂电压 (V)
1.	克伦特罗	4.56	277.4	132.1 (26)	203.1 (14)	34
2.	妥布特罗	4.97	228.4	172.2 (10)	154.1 (16)	18
3.	班布特罗	5.12	368.7	72.2 (34)	294.4 (20)	18
4.	克伦丙罗	2.83	263.3	203.1 (16)	168.1 (26)	26
5.	喷布特罗	7.31	292.5	236.3 (14)	74.2 (20)	72
6.	克伦塞罗	3.81	319.4	203.1 (20)	81.1 (26)	36
7.	马布特罗	5.02	311.4	217.2 (24)	237.2 (14)	20
8.	溴布特罗	4.96	367.4	132.3 (46)	293.1 (18)	26
9.	西马特罗	2.64	220.4	160.2 (14)	143.2 (24)	18
10.	氯丙那林	4.51	214.3	154.2 (16)	118.9 (26)	18
11.	奥西那林	2.20	212.3	152.1 (16)	125.2 (20)	22
12.	沙丁胺醇	2.86	240.4	148.2 (16)	166.2 (12)	16
13.	齐帕特罗	2.82	262.4	185.2 (24)	202.2 (18)	18
14.	莱克多巴胺	4.21	302.5	107.2 (26)	164.2 (14)	26
15.	沙美特罗	7.31	416.7	91.2 (38)	380.6 (18)	25
16.	阿替洛尔	2.87	267.4	145.2 (26)	74.2 (22)	20
17.	普萘洛尔	5.94	260.4	183.2 (18)	116.2 (16)	18
18.	美托洛尔	4.75	268.5	72.1 (18)	116.2 (18)	18
19.	氨苯喋啶	4.43	254.4	141.1(44)	104.2(38)	16
20.	螺内酯	7.10	341.5	107.2(26)	91.1(48)	48
21.	坎利酮	7.11	341.5	107.2 (28)	91.1 (52)	58
22.	睾酮	7.49	289.5	97.1 (20)	109.2 (22)	48
23.	诺龙	7.20	275.5	109.2 (28)	239.3 (16)	2
24.	去氢甲睾酮	7.31	301.5	121.1 (26)	149.2 (14)	26
25.	勃地酮	7.06	287.5	121.1 (26)	135.2 (14)	30
26.	群勃龙	6.98	271.4	199.2 (22)	165.3 (44)	62
27.	雄烯二酮	7.19	287.5	97.2 (20)	109.2 (24)	34

编号	目标化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	定量离子（m/z）（碰撞能）	定性离子（m/z）（碰撞能）	碎裂电压 (V)
28.	脱氢表雄酮	7.49	289.5	253.3 (10)	213.3 (18)	6
29.	甲基睾酮	7.75	303.6	97.1 (26)	109.2 (24)	32
30.	美睾酮	8.33	305.5	269.4 (16)	95.6 (32)	15
31.	美雄诺龙	8.45	305.6	269.4 (14)	105.2 (20)	10
32.	司坦唑醇	8.33	329.6	81.1 (38)	95.1 (38)	16
33.	地塞米松	6.78	393.5	373.4 (8)	355.3 (10)	12
34.	氢化可的松	6.42	363.5	121.1 (22)	105.1 (44)	44
35.	波尼松龙	6.42	361.5	325.4 (8)	307.4 (10)	24
36.	可的松	6.19	361.6	163.2 (24)	121.2 (36)	18
37.	波尼松	6.11	359.5	147.1 (26)	313.4 (12)	28
38.	醋酸氟轻松	6.82	453.5	121.2 (28)	433.4 (8)	16
39.	氟氢可的松	6.34	381.5	239.3 (24)	91.2 (58)	38
40.	倍氯米松	6.81	409.5	373.4 (8)	121.2 (42)	6
41.	孕酮	8.40	315.5	97.1 (20)	109.2 (22)	12
42.	醋酸美伦孕酮	8.30	397.2	279.2 (22)	337.1 (14)	2
43.	醋酸甲羟孕酮	8.25	387.2	123.0 (32)	327.2 (14)	2
44.	17α-羟孕酮	7.58	331.2	97.0(26)	109.2(30)	4
45.	甲地孕酮	7.87	343.1	187.1(26)	325.1(18)	2
I-1	克伦特罗-D_9	4.54	286.4	204.1 (16)	133.0 (28)	6
I-2	莱克多巴胺-D_5	4.19	307.5	165.2 (14)	111.1 (32)	14
I-3	沙丁胺醇-D_3	2.85	243.5	151.2 (16)	169.2 (12)	32
I-4	去甲乌药碱-D_4	3.28	276.5	108.3（20）	164.3（18）	18
I-5	睾酮-D_3	7.49	292.5	97.2 (24)	109.1 (20)	90
I-6	勃地酮-D_3	7.05	290.6	121.2 (22)	138.1 (12)	12
I-7	孕酮-D_9	8.35	324.6	100.1 (20)	113.2 (24)	26
I-8	氢化可的松-D_3	6.42	366.6	121.2 (22)	330.4 (14)	16
I-9	地塞米松-D_5	6.78	398.6	378.5 (8)	360.4 (10)	12

5.6 结果与结论

5.6.1 仪器条件选择

5.6.1.1 质谱条件优化

试验分别采用 100 ng/mL 单一标准溶液，进样注入离子源，进行一级质谱全扫描，在最佳碎裂电压下确认目标化合物的母离子（*m/z*）值，然后进行二级质谱优化，通过优化碰撞能量，对母离子碎裂的碎片离子进行全扫描，选取响应最强与次强的碎片离子作为定量和定性离子。

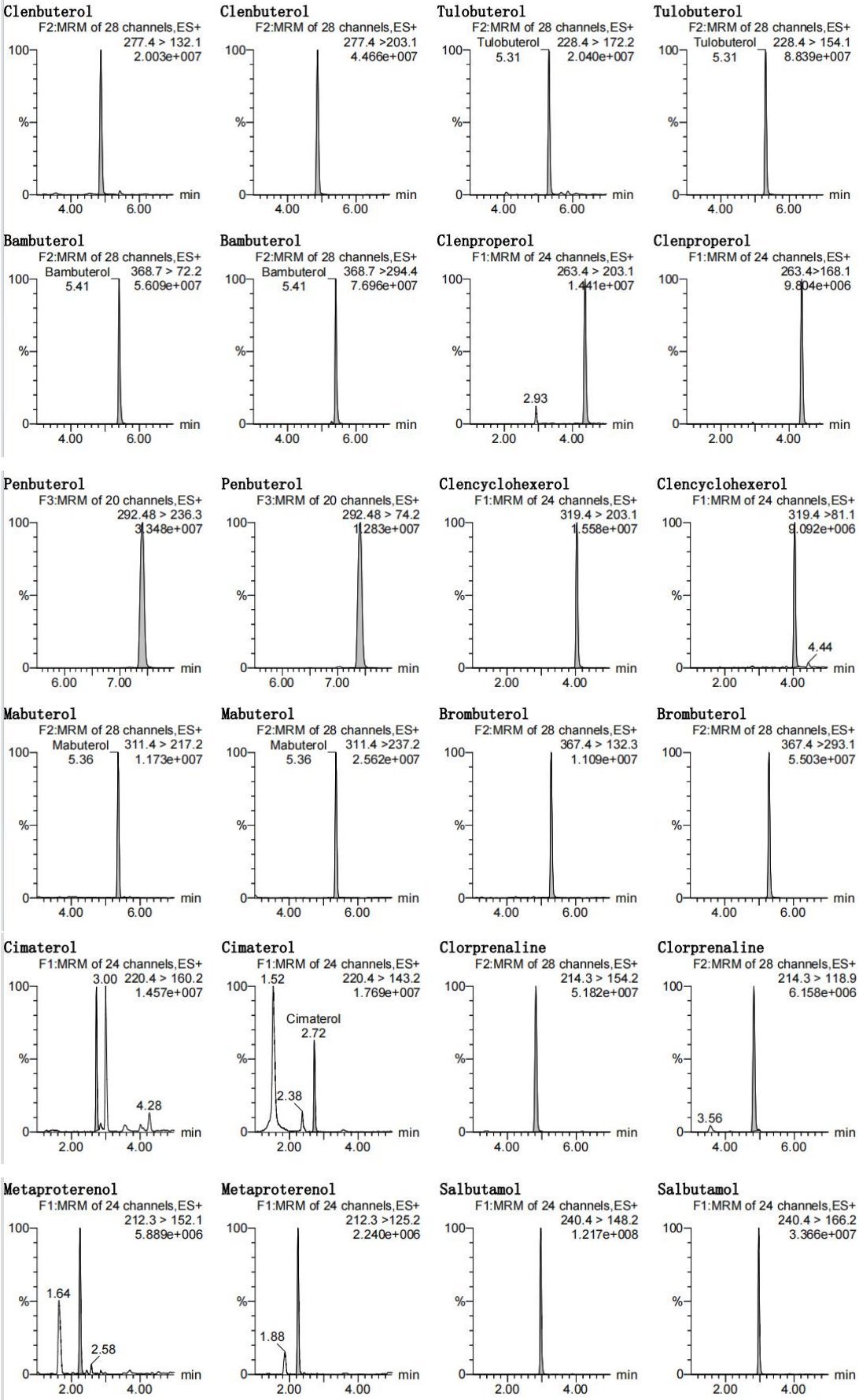
本试验被测物在正离子模式监测下具有较强的信号值大部分被测物可获得较高丰度的$[M+H]^+$ 的准分子离子峰，但是螺内酯由于在高温源内易脱去乙酰基巯基，得到 341.5 的准分子离子峰。该峰其信稳定，可作为螺内酯的一级质谱信号，且二级特征离子信号重现性好，可满足监测要求，因此，本试验条件优化时将 *m/z* 为 341.5 作为母离子。

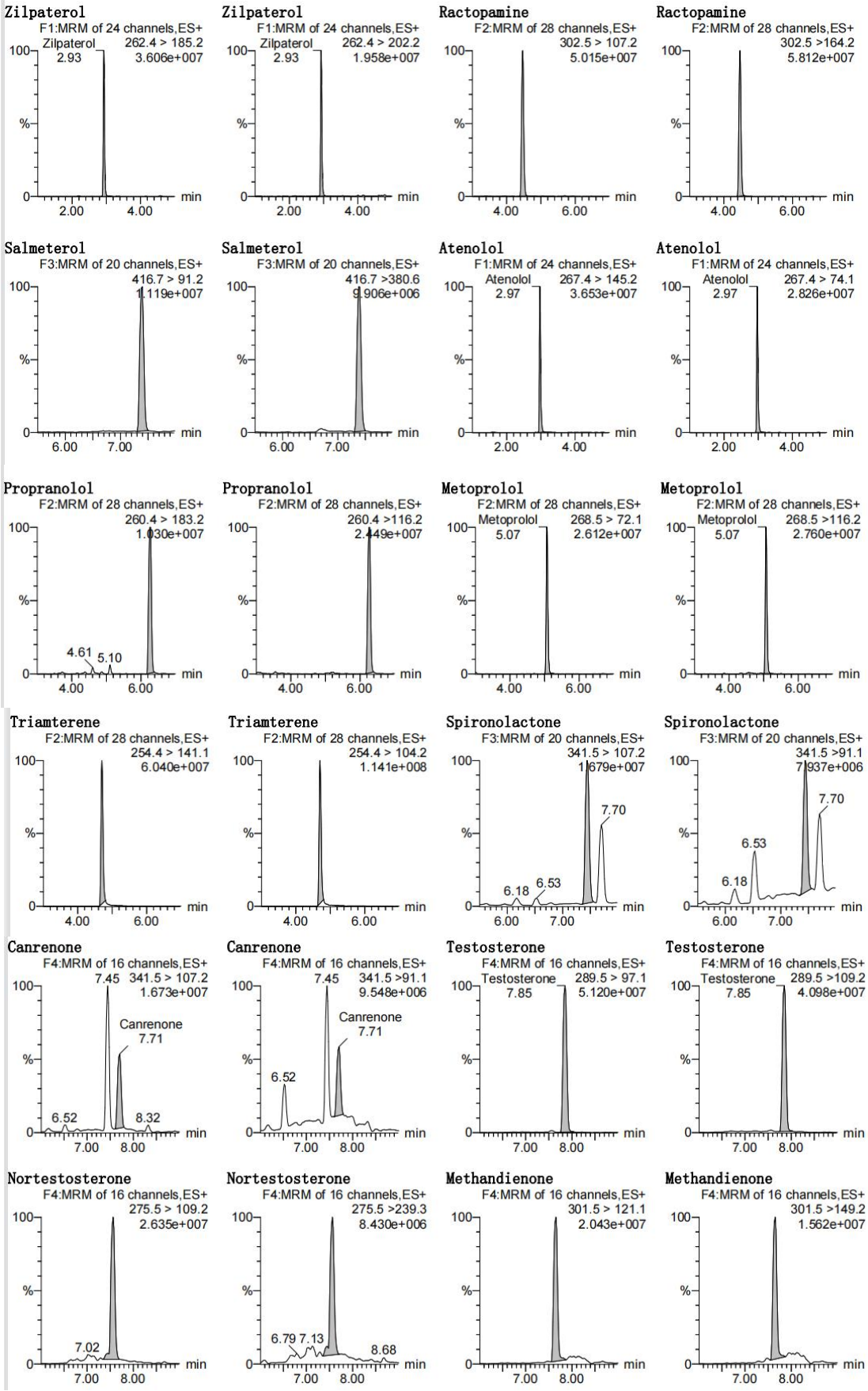
5.6.1.2 色谱条件优化

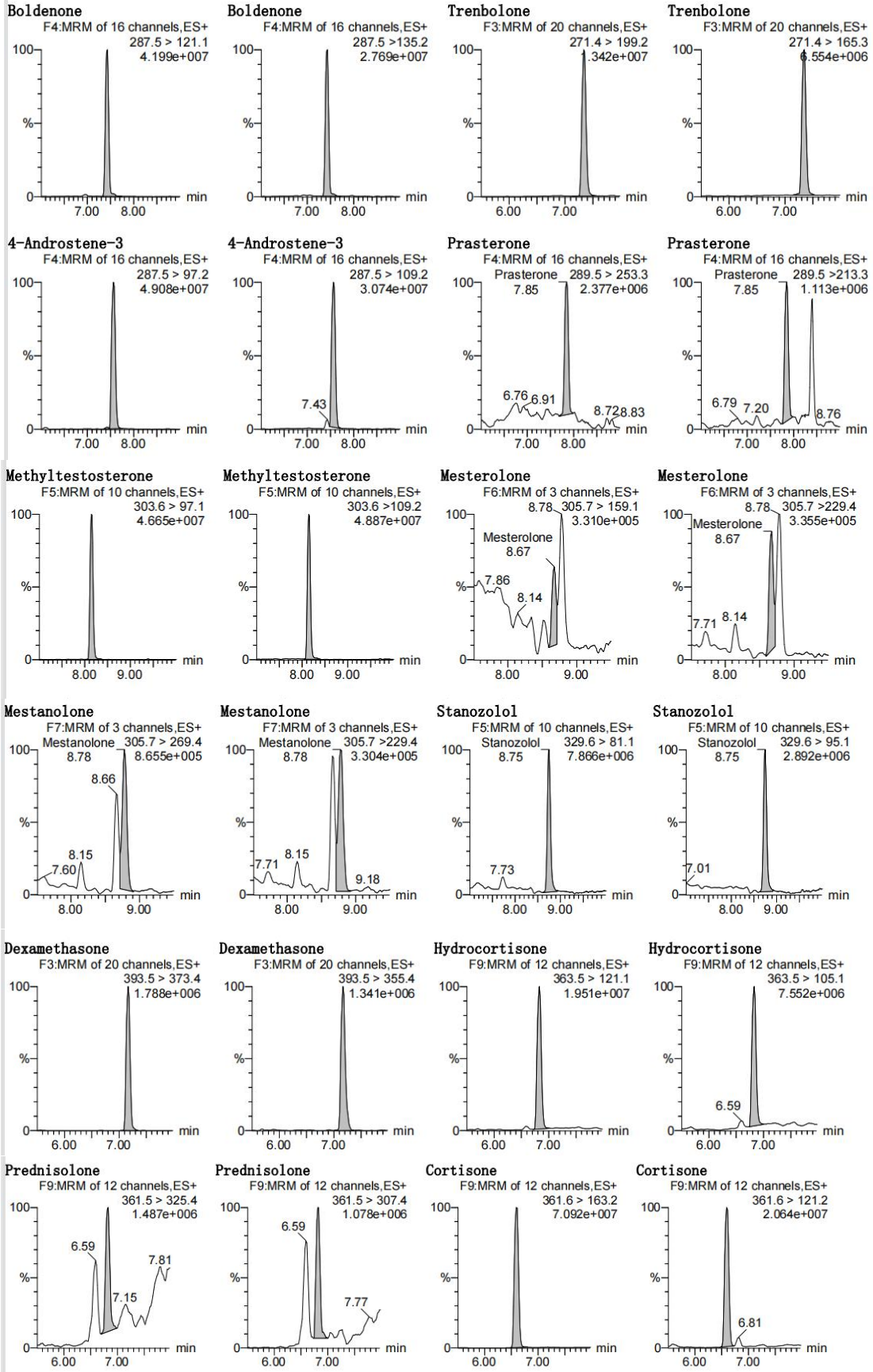
选择合适的流动相对改善化合物的峰形和提高分离度有至关重要的作用。本试验对流动相、梯度洗脱等色谱条件进行调试优化，以实现理想的分离效果。试验先后采用乙腈-水、乙腈-水（含 0.1%甲酸）、甲醇-水、甲醇-水（含 0.1%甲酸）、甲醇-水（含 0.1%甲酸和 5mmol 乙酸铵）、乙腈-水（含 0.1%甲酸和 5mmol 乙酸铵）进行梯度洗脱，发现当水相中含有甲酸时，能够明显提高β-兴奋剂、糖皮质激素、蛋白同化制剂类化合物组分在离子源中的离子化效率，加入甲酸使化合物结合质子带正电荷，在 ESI+模式下很容易得到准分子离子，在改善峰形之余，提高了分离效果，而甲酸溶液中再加入乙酸铵能够使峰信号明显增强。有机相为乙腈时，较早出峰的β-兴奋剂类化合物在浓度高时峰形有分叉现象，因此选择甲醇-水（含 0.1%甲酸和 5mmol 乙酸铵）溶液作为最优流动相。

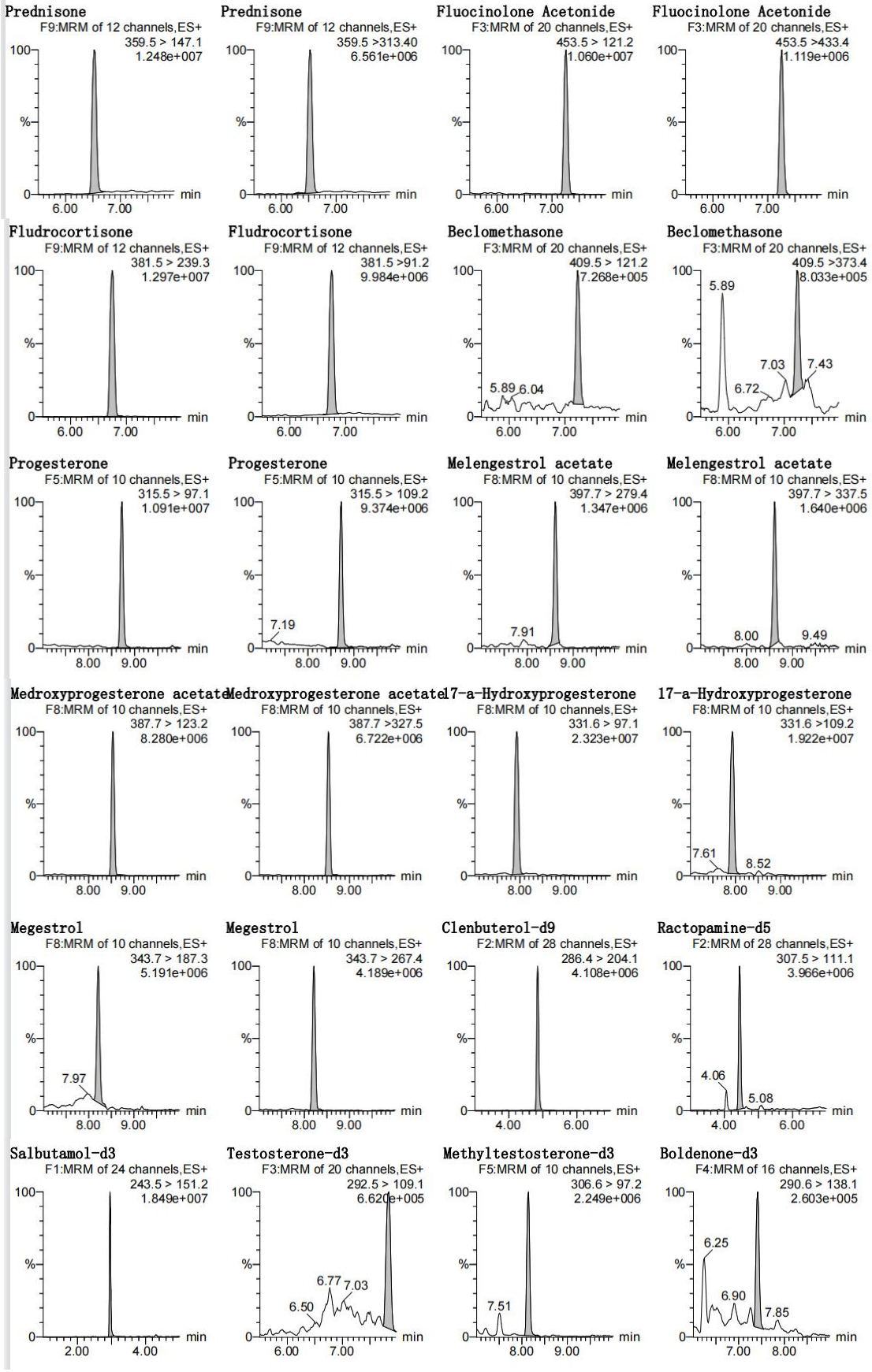
本试验考察了 5cm 和 10cm 的色谱柱，发现 5cm 无法将分异构体美睾酮（Mesterolone）和美雄诺龙（Mestanolone）的色谱峰分离，最终选择 10cm 的色谱柱。在本实验条件下，被测物中的二对具有相同子粒子和母离子的同分异构体（美雄诺龙和美睾酮、勃地酮和雄烯二酮）和同系物（螺内酯和砍利酮）的色谱峰均能够完全分离。

为了提高采用负离子扫描的 3 种化合物的检测灵敏度，试验采用单独乙腈-水体系对其进行分离，在 ESI-离子化模式下获得较高丰度的母离子，同时可以得到较好的峰形和灵敏度，被测物的选择 MRM 图见图 3。


Clenbuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
277.4 > 132.1
2.003e+007
Clenbuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
277.4 >203.1
4.466e+007
Tulobuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Tulobuterol 228.4 > 172.2
5.31 2.040e+007
Tulobuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Tulobuterol 228.4 > 154.1
5.31 8.839e+007
Bambuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Bambuterol 368.7 > 72.2
5.41 5.609e+007
Bambuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Bambuterol 368.7 >294.4
5.41 7.696e+007
Clenproperol
F1:MRM of 24 channels,ES+
263.4 > 203.1
1.441e+007
2.93
Clenproperol
F1:MRM of 24 channels,ES+
263.4>168.1
9.804e+006
Penbuterol
F3:MRM of 20 channels,ES+
292.48 > 236.3
3.348e+007
Penbuterol
F3:MRM of 20 channels,ES+
292.48 > 74.2
1.283e+007
Clencyclohexerol
F1:MRM of 24 channels,ES+
319.4 > 203.1
1.558e+007
Clencyclohexerol
F1:MRM of 24 channels,ES+
319.4 >81.1
9.092e+006
4.44
Mabuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Mabuterol 311.4 > 217.2
5.36 1.173e+007
Mabuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Mabuterol 311.4 >237.2
5.36 2.562e+007
Brombuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
367.4 > 132.3
1.109e+007
Brombuterol
F2:MRM of 28 channels,ES+
367.4 >293.1
5.503e+007
Cimaterol
F1:MRM of 24 channels,ES+
3.00 220.4 > 160.2
1.457e+007
4.28
Cimaterol
F1:MRM of 24 channels,ES+
1.52 220.4 > 143.2
1.769e+007
Cimaterol
2.72
2.38
Clorprenaline
F2:MRM of 28 channels,ES+
214.3 > 154.2
5.182e+007
Clorprenaline
F2:MRM of 28 channels,ES+
214.3 > 118.9
6.158e+006
3.56
Metaproterenol
F1:MRM of 24 channels,ES+
212.3 > 152.1
5.889e+006
1.64
2.58
Metaproterenol
F1:MRM of 24 channels,ES+
212.3 >125.2
2.240e+006
1.88
Salbutamol
F1:MRM of 24 channels,ES+
240.4 > 148.2
1.217e+008
Salbutamol
F1:MRM of 24 channels,ES+
240.4 > 166.2
3.366e+007
100
%
0
min
4.00
6.00
2.00
7.00


Zilpaterol
F1:MRM of 24 channels,ES+
Zilpaterol 262.4 > 185.2
2.93 3.606e+007
Zilpaterol
F1:MRM of 24 channels,ES+
Zilpaterol 262.4 > 202.2
2.93 1.958e+007
Ractopamine
F2:MRM of 28 channels,ES+
302.5 > 107.2
5.015e+007
Ractopamine
F2:MRM of 28 channels,ES+
302.5 >164.2
5.812e+007
Salmeterol
F3:MRM of 20 channels,ES+
416.7 > 91.2
1.119e+007
Salmeterol
F3:MRM of 20 channels,ES+
416.7 >380.6
9.906e+006
Atenolol
F1:MRM of 24 channels,ES+
Atenolol 267.4 > 145.2
2.97 3.653e+007
Atenolol
F1:MRM of 24 channels,ES+
Atenolol 267.4 > 74.1
2.97 2.826e+007
Propranolol
F2:MRM of 28 channels,ES+
260.4 > 183.2
1.030e+007
4.61 5.10
Propranolol
F2:MRM of 28 channels,ES+
260.4 >116.2
2.449e+007
Metoprolol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Metoprolol 268.5 > 72.1
5.07 2.612e+007
Metoprolol
F2:MRM of 28 channels,ES+
Metoprolol 268.5 >116.2
5.07 2.760e+007
Triamterene
F2:MRM of 28 channels,ES+
254.4 > 141.1
6.040e+007
Triamterene
F2:MRM of 28 channels,ES+
254.4 > 104.2
1.141e+008
Spironolactone
F3:MRM of 20 channels,ES+
341.5 > 107.2
1.679e+007
7.70
6.18 6.53
Spironolactone
F3:MRM of 20 channels,ES+
341.5 >91.1
7.937e+006
7.70
6.53
6.18
Canrenone
F4:MRM of 16 channels,ES+
7.45 341.5 > 107.2
1.673e+007
Canrenone
7.71
6.52 8.32
Canrenone
F4:MRM of 16 channels,ES+
7.45 341.5 >91.1
9.548e+006
Canrenone
7.71
6.52
Testosterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
Testosterone 289.5 > 97.1
7.85 5.120e+007
Testosterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
Testosterone 289.5 >109.2
7.85 4.098e+007
Nortestosterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
275.5 > 109.2
2.635e+007
7.02
Nortestosterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
275.5 >239.3
8.430e+006
6.79 7.13 8.68
Methandienone
F4:MRM of 16 channels,ES+
301.5 > 121.1
2.043e+007
Methandienone
F4:MRM of 16 channels,ES+
301.5 >149.2
1.562e+007
100
%
0
min
2.00
4.00
6.00
7.00
8.00


Boldenone
F4:MRM of 16 channels,ES+
287.5 > 121.1
4.199e+007
Boldenone
F4:MRM of 16 channels,ES+
287.5 >135.2
2.769e+007
Trenbolone
F3:MRM of 20 channels,ES+
271.4 > 199.2
Trenbolone
F3:MRM of 20 channels,ES+
271.4 > 165.3
4-Androstene-3
F4:MRM of 16 channels,ES+
287.5 > 97.2
4.908e+007
4-Androstene-3
F4:MRM of 16 channels,ES+
287.5 > 109.2
3.074e+007
7.43
Prasterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
Prasterone 289.5 > 253.3
7.85
2.377e+006
6.76 6.91 8.72 8.83
Prasterone
F4:MRM of 16 channels,ES+
Prasterone 289.5 >213.3
7.85
1.113e+006
6.79 7.20 8.76
Methyltestosterone
F5:MRM of 10 channels,ES+
303.6 > 97.1
4.665e+007
Methyltestosterone
F5:MRM of 10 channels,ES+
303.6 >109.2
4.887e+007
Mesterolone
F6:MRM of 3 channels,ES+
8.78 305.7 > 159.1
3.310e+005
Mesterolone
8.67
7.86
8.14
Mesterolone
F6:MRM of 3 channels,ES+
8.78 305.7 >229.4
3.355e+005
Mesterolone
8.67
7.71 8.14
Mestanolone
F7:MRM of 3 channels,ES+
Mestanolone 305.7 > 269.4
8.78
8.655e+005
8.66
8.15
7.60
Mestanolone
F7:MRM of 3 channels,ES+
Mestanolone 305.7 >229.4
8.78
3.304e+005
7.71 8.15 9.18
Stanozolol
F5:MRM of 10 channels,ES+
Stanozolol 329.6 > 81.1
8.75
7.866e+006
7.73
Stanozolol
F5:MRM of 10 channels,ES+
Stanozolol 329.6 > 95.1
8.75
2.892e+006
7.01
Dexamethasone
F3:MRM of 20 channels,ES+
393.5 > 373.4
1.788e+006
Dexamethasone
F3:MRM of 20 channels,ES+
393.5 > 355.4
1.341e+006
Hydrocortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
363.5 > 121.1
1.951e+007
Hydrocortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
363.5 > 105.1
7.552e+006
6.59
Prednisolone
F9:MRM of 12 channels,ES+
361.5 > 325.4
1.487e+006
6.59 7.15 7.81
Prednisolone
F9:MRM of 12 channels,ES+
361.5 > 307.4
1.078e+006
6.59 7.77
Cortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
361.6 > 163.2
7.092e+007
Cortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
361.6 > 121.2
2.064e+007
6.81
min


Prednisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
359.5 > 147.1
1.248e+007
Prednisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
359.5 >313.40
6.561e+006
Fluocinolone Acetonide
F3:MRM of 20 channels,ES+
453.5 > 121.2
1.060e+007
Fluocinolone Acetonide
F3:MRM of 20 channels,ES+
453.5 >433.4
1.119e+006
Fludrocortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
381.5 > 239.3
1.297e+007
Fludrocortisone
F9:MRM of 12 channels,ES+
381.5 >91.2
9.984e+006
Beclomethasone
F3:MRM of 20 channels,ES+
409.5 > 121.2
7.268e+005
5.89 6.04
Beclomethasone
F3:MRM of 20 channels,ES+
409.5 >373.4
8.033e+005
5.89
7.03
7.43
6.72
Progesterone
F5:MRM of 10 channels,ES+
315.5 > 97.1
1.091e+007
Progesterone
F5:MRM of 10 channels,ES+
315.5 > 109.2
9.374e+006
7.19
Melengestrol acetate
F8:MRM of 10 channels,ES+
397.7 > 279.4
1.347e+006
7.91
Melengestrol acetate
F8:MRM of 10 channels,ES+
397.7 > 337.5
1.640e+006
8.00
9.49
Medroxyprogesterone acetate
F8:MRM of 10 channels,ES+
387.7 > 123.2
8.280e+006
Medroxyprogesterone acetate
F8:MRM of 10 channels,ES+
387.7 >327.5
6.722e+006
17-a-Hydroxyprogesterone
F8:MRM of 10 channels,ES+
331.6 > 97.1
2.323e+007
17-a-Hydroxyprogesterone
F8:MRM of 10 channels,ES+
331.6 >109.2
1.922e+007
7.61
8.52
Megestrol
F8:MRM of 10 channels,ES+
343.7 > 187.3
5.191e+006
7.97
Megestrol
F8:MRM of 10 channels,ES+
343.7 > 267.4
4.189e+006
Clenbuterol-d9
F2:MRM of 28 channels,ES+
286.4 > 204.1
4.108e+006
Ractopamine-d5
F2:MRM of 28 channels,ES+
307.5 > 111.1
3.966e+006
4.06
5.08
Salbutamol-d3
F1:MRM of 24 channels,ES+
243.5 > 151.2
1.849e+007
Testosterone-d3
F3:MRM of 20 channels,ES+
292.5 > 109.1
6.620e+005
6.77
7.03
6.50
Methyltestosterone-d3
F5:MRM of 10 channels,ES+
306.6 > 97.2
2.249e+006
7.51
Boldenone-d3
F4:MRM of 16 channels,ES+
290.6 > 138.1
2.603e+005
6.25
6.90
7.85
min

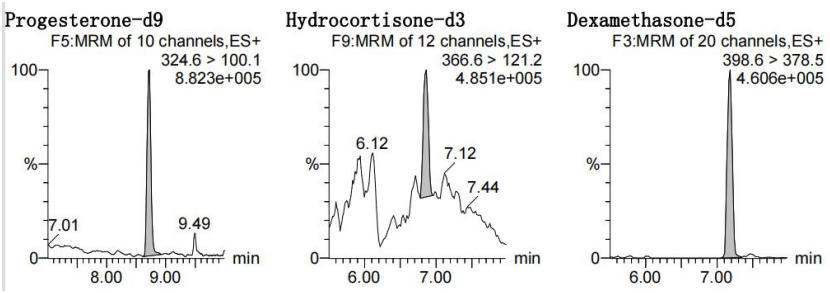


图 2 基质标的 MRM 色谱图

5.6.2 提取溶剂的选择

乙腈作为提取溶剂，能够使样品中的蛋白质变性沉淀，从而去除蛋白质对样品分析的影响。鉴于不同溶剂对不同化合物的提取效果不同，本试验还考察了两种复提取（即使用两种溶剂同时提取）的方式：

①乙腈（含 0.5%乙酸）+5%甲醇；

②乙腈（含 0.5%乙酸）+10%甲醇；

③乙腈（含 0.5%乙酸）+20%甲醇；

④乙腈（含 0.5%乙酸）+50%甲醇；

⑤甲醇（含 0.5%乙酸）。

通过试验比较发现，与单一提取溶剂乙腈（含 0.5%乙酸）相比，在乙腈（含 0.5%乙酸）加入不同比例的甲醇溶液，采用复提取方式对β_2-激动剂，β-阻断剂、蛋白同化激素、利尿剂的提取效果相当；但对糖皮质激素类化合物，提取溶剂中混入甲醇，其提取效率明显下降，仅有 32%的糖皮质激素类化合物提取回收在 60-120%范围内。同时，随着甲醇在乙腈体系中的比例增大，其蛋白沉淀效果越来越差，在样品前处理-氮吹浓缩过程中可以看到有明显的白色脂类析出，复溶后过滤膜压力大，且溶液混浊。综合以上因素，本试验仅采用乙腈（含 0.5%乙酸）作为提取溶剂。

5.6.3 提取溶剂酸度的考察

基于绝大多数目标物均带有酸性基团，采用酸溶液提取更有利于化合物的溶出，本试验分别考察了乙腈中含 0.1%、0.5%、1.0%、2.0%乙酸的提取效果，结果见图 3，β_2-激动剂、β-阻断剂类、蛋白同化激素在酸度超过 0.5%时，有基质干扰，回收率有降低的趋势；糖皮质激素、孕酮和利尿剂对提取液中乙酸的比例不敏感。当采用含 0.5%乙酸的乙腈溶液作为取溶剂时，所有被测物的回收率均大于 50%，确定为最优

提取剂。

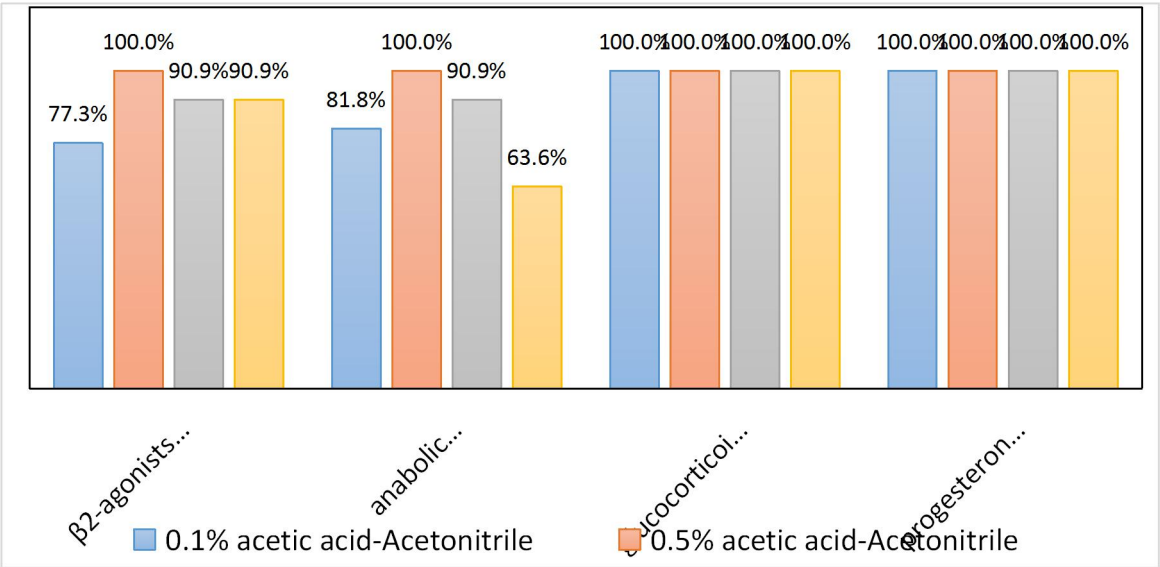


图 3 采用不同含量乙酸的乙腈做提取液时回收率大于 50%的化合物个数占该类化合物总个数的百分比

5.6.4 净化剂的选择

本试验对 QuEChERS 方法中常用的 4 种吸附剂（PSA、C_{18}、NH_2、中性氧化铝）单独及组合使用的净化效果和吸附作用进行了考察。

单独采用 NH_2 时，大约有 45%的化合物回收率比使用其他 3 种净化剂时低，且基线噪声较大，干扰峰多，表明 NH_2 对被测物有吸附作用，净化效果不理想；PSA、C_{18} 和中性氧化铝对目标化合物的吸附相对较小，提取回收良好，无明显杂质峰干扰。

进一步采用以下 4 种组合方案：①PSA 250 mg + C_{18} 250 mg；②PSA 250 mg +中性氧化铝 250 mg；③C_{18} 250 mg +中性氧化铝 250 mg；④ PSA 165 mg + C_{18} 165 mg + 中性氧化铝 165 mg, 考察鸡肉基质中的加标回收率,见图 4。结果表明，采用净化剂组合①时β_2-兴奋剂类回收率最高，但蛋白同化激素、糖皮质激素和孕激素的回收率低；采用组合②或③时，蛋白同化激素和糖皮质激素收率较高，但对β_2-兴奋剂类和孕激素回收率不理想；组合④ PSA+C_{18}+Al_2O_3 三种复配时，糖皮质激素的回收率较高，且被测物回收率低于 20%的最少。

综合以上多重因素，本试验最终采用组合④作为最终净化剂。其中 PSA 可以去除肉中的脂肪酸类和糖类干扰，C_{18} 则对脂肪和非极性化合物的吸附效果比较明显，中性氧化铝容易吸附杂环类、芳香烃和有机胺等富电化合物，三种联合使用达到净化的目的，最终上机溶液为澄清透明溶液。

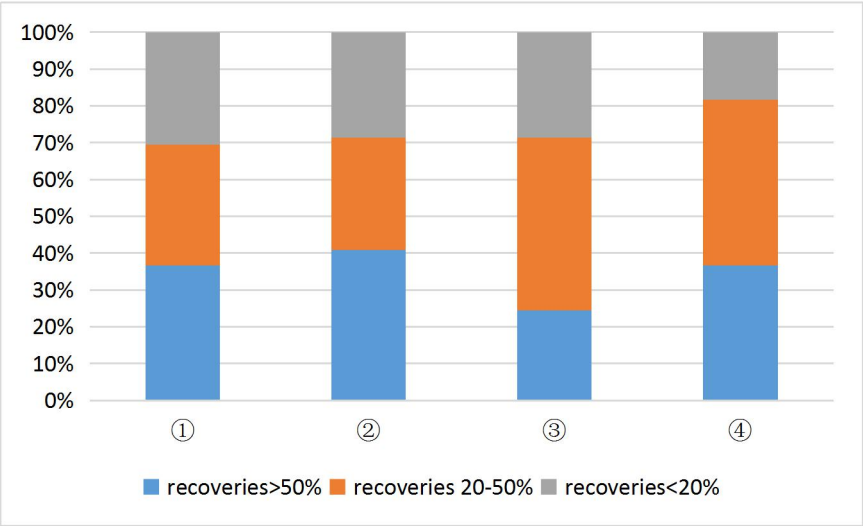


图 4 采用不同净化条件时不同回收率范围的目标物个数占被测物总个数的比例图

5.6.5 复溶溶剂的选择

根据流动相和各目标化合物的溶解性能，考察了三种复溶溶剂：①乙腈/水（含 0.1%甲酸）（1/9，v/v）；②甲醇/水（含 0.1%甲酸）（1/9，v/v）；③甲醇/水（含 0.1%甲酸和 5 mmol/L 乙酸铵）（1/9，v/v）。通过比较发现，当采用溶剂①稀释标准溶液或样品时，会出现明显峰分叉现象，而采用②时则峰形很好，由于使用的流动相中有 0.1%甲酸和 5 mmol/L 乙酸铵水溶液，又考察了溶剂③，结果发现溶剂②和③没有明显差别，最终采用溶剂③作为复溶溶剂。

5.6.6 对应内标物的选择

稳定同位素内标稀释定量的方法需要针对每一个目标分析物选择其特定匹配的同位素化合物进行校正。但由于所建方法中目标分析物种类众多、某些化合物的同位素内标无法获得等原因，实际情况下很难做到目标分析物与其内标逐一对应。鉴于这种情况，本试验对 9 种内标化合物与外标的匹配进行了选择。以色谱保留时间相近、结构类似、回收率接近为原则，对其选择最为合适的同位素类似物，见表 5。

5.6.7 基质效应的考察

为了评价基质效应，本研究采用基质标准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率的比值考察了目标物在基质中的信号增强或抑制的程度 (signal suppression/enhancement, SSE)。SSE 值 80%~120% 之间表明基质效应影响不大，当其高于 120% 时显示基质增强效应，当其低于 80% 时显示基质抑制效应，见表 5。检测发现，美托洛尔、倍氯米松有比较明显的基质抑制效应，有 10 种化合物有基质增强效应，其余 33 种化合

物无显著影响。为了消除基质的影响，本实验采用基质空白提取液稀释标准溶液配制标准曲线。

5.6.8 方法线性与灵敏度

用基质空白液对标准溶液逐级稀释，配置成标准系列工作液。注入质谱仪后记录峰面积值，以被测物定量离子对的峰面积与内标定量离子对峰面积比为纵坐标（y），以被测物的浓度（x，ng/mL）为横坐标绘制标准工作曲线。在试验线性浓度范围内，所有目标分析物线性拟合良好，线性相关系数（R^2）均大于 0.99。

方法灵敏度以检出限（Limit of Detection, LOD）和定量限（Limit of Quantitation, LOQ）来衡量。制备不同浓度的添加样品，采用本方法测定后，以定性离子对的 3 倍信号噪声比（$S/N = 3$）对应的定量浓度作为检出限，10 倍信号噪声比（$S/N = 10$）对应的定量浓度作为定量限，具体结果见表 5。

5.6.9 方法准确度和精密度

方法准确度由回收率来评价，在进行添加回收实验中，加标量过大或过小均会对回收率的结果产生较大的影响，参照 GB/T 27404-2008，对回收率试验的添加水平规定，对于禁用物质，回收率应在方法定量限、两倍方法定量限和十倍方法定量限进行三水平试验，本项目中被测物绝大多数为禁用物质，因此本试验的添加浓度按照上述三个加标水平进行。分别向鸡肉中加入一定浓度的标准溶液，采用本方法检测后计算回收率和相对标准偏差（RSD），并同时测定相应的基质空白样品，结果见表 6。鸡肉的加标回收率范围 63.3% ~ 116.7%，精密度范围 1.7% ~ 17.9%。满足 GB/T 27404-2008 对回收率和精密度的要求。

表 5　被测物的线性范围、相关系数（R^2）、检出限（LOD）、定量限（LOQ）及对应内标化合物

序号	目标化合物	内标物	SSE 值	线性范围(μg/L)	线性方程	相关系数（R^2）	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)
1	克伦特罗	克伦特罗-D_9	97%	0.1~20	y=1.259x+0.0982	0.9994	0.03	0.1
2	妥布特罗	克伦特罗-D_9	109%	0.1~20	y=1.008x+0.0127	0.9992	0.03	0.1
3	班布特罗	克伦特罗-D_9	148%	0.1~20	y=0.415x-0.0548	0.9995	0.03	0.1
4	克伦丙罗	克伦特罗-D_9	108%	0.2~20	y=0.725x+0.0577	0.9992	0.07	0.2
5	喷布特罗	克伦特罗-D_9	129%	0.1~10	y=4.360x+0.259	0.9961	0.03	0.1
6	克伦塞罗	克伦特罗-D_9	80%	0.1~20	y=1.324x+0.132	0.9985	0.03	0.1
7	马布特罗	克伦特罗-D_9	108%	0.2~20	y=0.116x+0.00952	0.9991	0.07	0.2
8	溴布特罗	克伦特罗-D_9	124%	0.1~20	y=0.137x-0.00338	0.9993	0.03	0.1
9	西马特罗	克伦特罗-D_9	117%	0.2~20	y=1.042x+0.0599	0.9996	0.07	0.2
10	氯丙那林	克伦特罗-D_9	177%	0.1~20	y=0.752x+0.0253	0.9997	0.03	0.1
11	奥西那林	克伦特罗-D_9	103%	0.1~20	y=2.046 x-0.0725	0.9993	0.03	0.1
12	沙丁胺醇	沙丁胺醇-D_3	105%	0.1~10	y=0.432x+0.0494	0.9971	0.03	0.1
13	齐帕特罗	沙丁胺醇-D_3	85%	0.1~20	y=0.921x+0.163	0.9975	0.03	0.1
14	莱克多巴胺	莱克多巴胺-D_5	92%	0.1~20	y=1.121x+0.390	0.9989	0.03	0.1
15	沙美特罗	莱克多巴胺-D_5	133%	0.1~20	y=0.339x-0.0420	0.9980	0.03	0.1
16	阿替洛尔	克伦特罗-D9	127%	0.1~20	y=1.789x+0.333	0.9959	0.03	0.1

序号	目标化合物	内标物	SSE 值	线性范围(μg/L)	线性方程	相关系数（R^2）	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)
17	普萘洛尔	克伦特罗-D9	87%	0.1~20	y=1.761x+0.0714	0.9996	0.03	0.1
18	美托洛尔	克伦特罗-D9	75%	0.1~20	y=1.137x+0.0171	0.9999	0.03	0.1
19	氨苯喋啶	莱克多巴胺-D_5	108%	0.2~50	y=0.998x+1.474	0.9993	0.07	0.2
20	螺内酯	勃地酮-D_3	104%	0.2~50	y=0.980x+0.112	0.9992	0.07	0.2
21	坎利酮	睾酮-D_3	99%	0.2~50	y=0.0116x+0.0023	0.9972	0.07	0.2
22	睾酮	睾酮-D_3	98%	0.2~50	y=0.0428x+0.0098	0.9966	0.07	0.2
23	诺龙	睾酮-D_3	106%	0.2~50	y=0.0158x+0.0105	0.9963	0.07	0.2
24	去氢甲睾酮	睾酮-D_3	95%	0.2~50	y=0.022x+0.0111	0.9951	0.07	0.2
25	勃地酮	勃地酮-D_3	85%	0.2~50	y=3.571x+0.923	0.9971	0.07	0.2
26	群勃龙	勃地酮-D_3	112%	0.2~50	y=2.423x+1.230	0.9951	0.07	0.2
27	雄烯二酮	勃地酮-D_3	99%	0.2~50	y=0.642x+0.0248	0.9995	0.07	0.2
28	脱氢表雄酮	勃地酮-D_3	123%	0.2~50	y=0.135x+0.175	0.9982	0.07	0.2
29	甲基睾酮	甲基睾酮-D_3	90%	0.2~50	y=0.737x+0.175	0.9957	0.07	0.2
30	美睾酮	甲基睾酮-D_3	173%	0.2~50	y=0.0284+0.0152	0.9966	0.25	0.8
31	美雄诺龙	甲基睾酮-D_3	95%	0.2~50	y=0.0274x-0.0303	0.9957	0.07	0.2
32	司坦唑醇	孕酮-D_9	103%	0.2~50	y=1.858x-0.138	0.9987	0.07	0.2
33	地塞米松	地塞米松-D_5	94%	0.5~200	y=2.269x+0.170	0.9995	0.16	0.4

序号	目标化合物	内标物	SSE 值	线性范围(μg/L)	线性方程	相关系数（R^2）	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)
34	氢化可的松	氢化可的松-D_3	99%	0.5~100	y=0.630x+0.044	0.9991	0.16	0.4
35	波尼松龙	氢化可的松-D_3	85%	0.5~200	y=0.131x+0.0.038	0.9964	0.16	0.4
36	可的松	氢化可的松-D_3	82%	0.5~100	y=0.894x+0.056	0.9986	0.16	0.4
37	波尼松	氢化可的松-D_3	91%	0.5~100	y=0.272x-0.00203	0.9996	0.16	0.4
38	醋酸氟轻松	氢化可的松-D_3	80%	0.5~100	y=0.446x+0.0587	0.9934	0.16	0.4
39	氟氢可的松	氢化可的松-D_3	81%	0.5~100	y=0.218x-0.00661	0.9999	0.16	0.4
40	倍氯米松	氢化可的松-D_3	60%	0.5~100	y=0.0535x+0.0115	0.9992	0.16	0.4
41	孕酮	孕酮-D_9	89%	0.2~50	y=0.556x+0.0887	0.9983	0.07	0.2
42	醋酸美伦孕酮	孕酮-D_9	123%	0.2~50	y=0.0538x+0.0016	0.9998	0.07	0.2
43	醋酸甲羟孕酮	孕酮-D_9	123%	0.2~50	y=0.0671x-0.0176	0.9987	0.07	0.2
44	17α-羟孕酮	睾酮-D_3	107%	0.2~50	y=0.158x-0.0587	0.9940	0.07	0.2
45	甲地孕酮	甲基睾酮-D_3	118%	0.2~50	y=0.0298x+0.0062	0.9976	0.07	0.2

表 6 鸡肉加标测定结果、回收率、相对标准偏差（*n*=6）

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
克伦特罗	0.1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.08	0.10	98.7	9.8
	0.2	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	92.7	1.8
	0.4	0.38	0.43	0.38	0.45	0.43	0.44	0.42	104.7	7.3
妥布特罗	0.1	0.09	0.09	0.10	0.09	0.10	0.10	0.09	93.3	7.0
	0.2	0.19	0.22	0.21	0.18	0.22	0.22	0.21	102.7	8.8
	0.4	0.36	0.44	0.33	0.42	0.33	0.41	0.38	95.3	12.9
班布特罗	0.1	0.11	0.12	0.11	0.12	0.12	0.11	0.12	116.0	3.8
	0.2	0.22	0.23	0.23	0.22	0.23	0.22	0.23	113.3	2.9
	0.4	0.35	0.38	0.32	0.38	0.32	0.35	0.35	87.7	7.7
克伦丙罗	0.2	0.16	0.18	0.19	0.14	0.16	0.14	0.16	81.3	11.5
	0.4	0.32	0.38	0.34	0.38	0.41	0.38	0.37	92.0	8.5
	0.8	0.87	0.81	0.87	0.80	0.87	0.80	0.84	104.7	4.5
喷布特罗	0.1	0.10	0.11	0.10	0.10	0.12	0.10	0.11	106.7	7.7
	0.2	0.16	0.17	0.16	0.18	0.17	0.18	0.17	84.0	4.3
	0.4	0.28	0.34	0.26	0.30	0.26	0.34	0.30	74.7	11.8
克伦塞罗	0.1	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	0.11	0.12	116.0	3.8
	0.2	0.22	0.20	0.20	0.22	0.22	0.20	0.21	104.7	5.1
	0.4	0.42	0.42	0.46	0.42	0.46	0.43	0.43	108.7	4.8
马布特罗	0.2	0.22	0.19	0.20	0.19	0.23	0.21	0.21	103.3	7.5
	0.4	0.42	0.45	0.44	0.44	0.42	0.46	0.44	109.0	3.8
	0.8	0.83	0.92	0.80	0.93	0.83	0.90	0.87	108.5	6.2
溴布特罗	0.1	0.11	0.10	0.10	0.11	0.10	0.10	0.11	105.3	5.7
	0.2	0.22	0.19	0.18	0.22	0.21	0.19	0.20	102.0	8.5

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
	0.4	0.42	0.42	0.43	0.44	0.39	0.44	0.42	105.7	4.4
西马特罗	0.2	0.16	0.21	0.21	0.20	0.16	0.23	0.19	97.3	14.9
	0.4	0.43	0.42	0.42	0.42	0.44	0.42	0.42	106.0	2.4
	0.8	0.73	0.78	0.80	0.80	0.77	0.73	0.77	96.0	4.3
氯丙那林	0.1	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	114.7	3.6
	0.2	0.23	0.23	0.24	0.22	0.23	0.24	0.23	116.7	2.6
	0.4	0.38	0.41	0.35	0.41	0.36	0.38	0.38	95.7	6.1
奥西那林	0.1	0.08	0.08	0.08	0.07	0.06	0.07	0.07	73.3	12.8
	0.2	0.14	0.16	0.13	0.14	0.15	0.14	0.14	71.3	8.3
	0.4	0.24	0.25	0.24	0.24	0.25	0.30	0.25	63.3	9.9
沙丁胺醇	0.1	0.09	0.09	0.10	0.09	0.09	0.10	0.09	90.7	4.6
	0.2	0.20	0.19	0.20	0.19	0.20	0.19	0.20	98.0	2.2
	0.4	0.40	0.42	0.41	0.45	0.39	0.44	0.42	104.3	5.3
齐帕特罗	0.1	0.06	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	65.3	5.0
	0.2	0.14	0.13	0.14	0.13	0.14	0.13	0.13	66.0	3.3
	0.4	0.30	0.29	0.28	0.30	0.27	0.30	0.29	72.7	4.5
莱克多巴胺	0.1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	100.0	4.4
	0.2	0.19	0.21	0.22	0.22	0.22	0.22	0.21	106.0	5.2
	0.4	0.41	0.42	0.42	0.43	0.42	0.45	0.42	106.0	3.4
沙美特罗	0.1	0.10	0.08	0.07	0.09	0.10	0.09	0.09	86.7	10.8
	0.2	0.15	0.14	0.14	0.16	0.14	0.16	0.15	74.7	6.5
	0.4	0.27	0.32	0.27	0.31	0.27	0.30	0.29	73.0	7.7
阿替洛尔	0.1	0.09	0.10	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	90.7	4.6
	0.2	0.16	0.16	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	77.3	2.7
	0.4	0.27	0.26	0.25	0.26	0.25	0.27	0.26	65.3	4.2

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
普萘洛尔	0.1	0.11	0.12	0.12	0.11	0.12	0.11	0.12	116.0	3.8
	0.2	0.20	0.19	0.20	0.19	0.18	0.20	0.19	97.3	3.4
	0.4	0.30	0.33	0.27	0.34	0.29	0.34	0.31	78.0	9.9
美托洛尔	0.1	0.12	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	116.0	3.8
	0.2	0.21	0.22	0.22	0.21	0.22	0.22	0.21	107.3	2.8
	0.4	0.37	0.38	0.36	0.38	0.34	0.35	0.36	90.7	3.6
氨苯喋啶	0.2	0.19	0.18	0.18	0.19	0.19	0.18	0.19	94.0	2.3
	0.4	0.31	0.31	0.31	0.30	0.32	0.30	0.31	77.7	1.9
	0.8	0.62	0.69	0.67	0.70	0.70	0.71	0.68	85.5	4.8
螺内酯	0.2	0.17	0.16	0.21	0.18	0.18	0.20	0.18	92.0	9.9
	0.4	0.36	0.39	0.42	0.38	0.36	0.43	0.39	98.0	7.9
	0.8	0.83	0.86	0.88	0.82	0.83	0.82	0.84	105.2	3.0
坎利酮	0.2	0.19	0.21	0.22	0.21	0.18	0.19	0.20	99.3	7.4
	0.4	0.32	0.37	0.38	0.32	0.38	0.38	0.36	89.3	8.2
	0.8	0.70	0.73	0.74	0.73	0.70	0.77	0.73	90.8	3.5
睾酮	0.2	0.16	0.14	0.16	0.13	0.13	0.14	0.14	71.3	10.3
	0.4	0.34	0.38	0.34	0.35	0.31	0.34	0.35	86.3	5.9
	0.8	0.84	0.74	0.75	0.80	0.77	0.78	0.78	97.5	4.8
诺龙	0.2	0.20	0.18	0.22	0.17	0.18	0.20	0.19	95.3	9.4
	0.4	0.39	0.40	0.33	0.41	0.38	0.37	0.38	95.0	7.6
	0.8	0.70	0.68	0.71	0.77	0.71	0.74	0.72	90.0	4.3
去氢甲睾酮	0.2	0.22	0.21	0.22	0.22	0.19	0.18	0.21	104.0	8.1
	0.4	0.43	0.47	0.39	0.43	0.38	0.41	0.42	104.7	8.2
	0.8	0.92	0.90	0.86	0.94	0.92	0.82	0.90	112.0	4.9
勃地酮	0.2	0.16	0.21	0.18	0.18	0.15	0.18	0.18	88.7	11.2

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
	0.4	0.34	0.34	0.42	0.34	0.34	0.32	0.35	87.0	9.8
	0.8	0.84	0.92	0.88	0.77	0.81	0.84	0.84	105.3	6.3
群勃龙	0.2	0.18	0.20	0.18	0.19	0.19	0.20	0.19	94.7	5.8
	0.4	0.39	0.38	0.43	0.38	0.39	0.42	0.40	99.7	6.0
	0.8	0.87	0.91	0.90	0.89	0.82	0.87	0.88	109.7	3.4
雄烯二酮	0.2	0.18	0.20	0.20	0.22	0.21	0.20	0.20	101.3	6.4
	0.4	0.47	0.42	0.45	0.39	0.46	0.34	0.42	105.3	11.9
	0.8	0.94	0.93	0.97	0.92	0.92	0.90	0.93	116.0	2.6
脱氢表雄酮	0.2	0.18	0.23	0.22	0.24	0.24	0.21	0.22	110.0	10.0
	0.4	0.39	0.46	0.46	0.43	0.46	0.38	0.43	108.3	8.6
	0.8	0.85	0.85	0.85	0.83	0.86	0.87	0.85	106.5	1.7
甲基睾酮	0.2	0.14	0.14	0.16	0.17	0.16	0.15	0.15	76.7	7.7
	0.4	0.38	0.38	0.36	0.35	0.41	0.41	0.38	95.3	6.2
	0.8	0.75	0.81	0.88	0.86	0.74	0.80	0.81	101.0	6.9
美睾酮	0.8	0.52	0.56	0.51	0.48	0.47	0.58	0.52	65.0	8.0
	2	1.59	1.47	1.50	1.50	1.37	1.47	1.48	74.1	4.8
	4	2.55	2.70	2.62	2.67	2.74	2.62	2.65	66.3	2.5
美雄诺龙	0.2	0.19	0.22	0.22	0.23	0.23	0.22	0.22	110.0	6.8
	0.4	0.44	0.36	0.42	0.46	0.47	0.38	0.42	105.7	10.9
	0.8	0.81	0.72	0.73	0.70	0.65	0.69	0.72	89.5	7.4
司坦唑醇	0.2	0.16	0.16	0.22	0.21	0.18	0.21	0.19	94.0	13.7
	0.4	0.34	0.41	0.36	0.42	0.38	0.35	0.38	94.3	8.5
	0.8	0.87	0.73	0.85	0.86	0.77	0.86	0.82	102.7	7.1
地塞米松	0.4	0.57	0.46	0.41	0.46	0.46	0.40	0.46	115.3	13.0
	0.8	0.85	0.77	0.73	0.82	0.81	0.83	0.80	100.0	5.5

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
	1.6	1.72	1.50	1.43	1.37	1.44	1.54	1.50	93.8	8.2
氢化可的松	0.4	0.32	0.30	0.34	0.29	0.32	0.34	0.32	79.7	7.3
	0.8	0.65	0.73	0.74	0.78	0.80	0.80	0.75	93.7	7.8
	1.6	1.36	1.39	1.28	1.39	1.30	1.38	1.35	84.5	3.6
波尼松龙	0.4	0.24	0.28	0.33	0.29	0.26	0.34	0.29	72.3	12.8
	0.8	0.58	0.61	0.62	0.58	0.58	0.67	0.61	76.0	5.9
	1.6	1.82	1.71	1.45	1.63	1.70	1.47	1.63	101.8	8.8
可的松	0.4	0.41	0.44	0.43	0.43	0.44	0.44	0.43	108.0	2.9
	0.8	0.59	0.89	0.62	0.67	0.74	0.62	0.69	86.0	16.1
	1.6	1.59	1.43	1.35	1.59	1.40	1.48	1.47	92.2	6.8
波尼松	0.4	0.34	0.31	0.38	0.38	0.36	0.39	0.36	89.7	8.3
	0.8	0.53	0.66	0.60	0.63	0.57	0.56	0.59	73.8	8.1
	1.6	1.46	1.53	1.46	1.49	1.59	1.41	1.49	93.1	4.3
醋酸氟轻松	0.4	0.32	0.38	0.44	0.39	0.40	0.38	0.39	96.7	10.0
	0.8	0.61	0.71	0.61	0.67	0.63	0.63	0.64	80.5	6.3
	1.6	1.39	1.48	1.34	1.32	1.30	1.40	1.37	85.7	4.9
氟氢可的松	0.4	0.40	0.39	0.44	0.41	0.41	0.42	0.41	103.0	4.2
	0.8	0.65	0.76	0.72	0.78	0.78	0.66	0.73	90.7	8.0
	1.6	1.62	1.50	1.39	1.56	1.42	1.46	1.49	93.3	5.6
倍氯米松	0.4	0.34	0.33	0.36	0.39	0.38	0.32	0.35	88.0	8.1
	0.8	0.84	0.79	0.81	0.72	0.73	0.76	0.77	96.8	6.1
	1.6	1.32	1.83	1.30	1.55	1.44	1.38	1.47	91.8	13.6
孕酮	0.2	0.19	0.21	0.20	0.18	0.16	0.16	0.18	92.0	11.0
	0.4	0.34	0.33	0.30	0.32	0.33	0.35	0.33	82.0	6.0
	0.8	0.71	0.71	0.77	0.70	0.62	0.66	0.70	87.2	7.0

化合物	加标水平 (μg/kg)	重复数						平均值 (μg/kg)	回收率（%）	RSD（%）
		1	2	3	4	5	6			
醋酸美伦孕酮	0.2	0.23	0.21	0.22	0.17	0.20	0.18	0.20	100.7	12.7
	0.4	0.47	0.40	0.41	0.42	0.40	0.50	0.43	108.3	9.4
	0.8	0.90	0.76	0.77	0.82	0.93	0.81	0.83	104.0	8.4
醋酸甲羟孕酮	0.2	0.22	0.23	0.28	0.20	0.23	0.22	0.23	115.3	11.7
	0.4	0.37	0.30	0.26	0.29	0.40	0.39	0.33	83.7	17.9
	0.8	0.91	0.83	0.93	0.94	0.87	0.93	0.90	112.8	4.7
17α-羟孕酮	0.2	0.23	0.18	0.19	0.23	0.18	0.19	0.20	100.7	12.2
	0.4	0.44	0.47	0.47	0.47	0.38	0.43	0.44	111.0	8.5
	0.8	0.87	0.70	0.82	0.88	0.74	0.78	0.80	100.0	8.9
甲地孕酮	0.2	0.22	0.22	0.23	0.17	0.21	0.22	0.21	106.7	11.0
	0.4	0.45	0.47	0.40	0.42	0.38	0.38	0.41	103.7	9.4
	0.8	0.84	0.68	0.73	0.70	0.79	0.77	0.75	94.0	7.9

5.6.10 与国标方法比对

按照本方法测定了 9 个肉样品，并采用国家标准方法《GB/T21981-2008 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》对检测结果进行验证，结果见表 7。

检测结果显示，有 3 种物质被检出，其余被测物未检出。检出的化合物分别为氢化可的松、可的松、雄烯二酮。9 个样品中除鸡肉和鸭肉未检出被测物外，其余六个样品均有检出。

氢化可的松、可的松、雄烯二酮均为内源性激素，另外国家标准 GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》规定，可的松在马牛猪羊兽药中允许使用，氢化可的松可用于所有食用动物，均不需要指定残留限量。

用国标方法验证了 20 个与本研究一致的化合物：群勃龙、勃地酮、诺龙、雄烯二酮、美雄酮、睾酮、脱氢表雄酮（普拉雄酮）、甲睾酮、康力龙、美睾酮、美雄诺龙、17α-羟孕酮、孕酮、醋酸甲羟孕酮、波尼松、可的松、氢化可的松、波尼松龙、地塞米松、倍氯米松。结果检出 6 个样品中氢化可的松和可的松。

表 7 肉类样品采用本方法检测结果及国标法验证结果

样品名称	本方法检测结果（μg/kg）			国标方法检测结果（μg/kg）		
	氢化可的松	可的松	雄烯二酮	氢化可的松	可的松	雄烯二酮
前尖（猪肉）	4.90	1.71	-	5.21	1.71	-
瘦肉（猪肉）	16.4	7.74	-	18.4	8.07	-
后尖（猪肉）	5.60	0.96	-	6.71	1.38	-
鸡胸	-	-	-	-	-	-
鸡翅中	-	-	-	-	-	-
鸭肉	-	-	-	-	-	-
牛腿肉	5.96	0.42	-	6.32	0.45	-
牛腱子	3.80	1.28	0.26	3.44	1.11	-
牛腩	5.76	2.36	-	5.74	1.99	-
定量限（μg/kg）	0.4	0.4	0.2	0.4	0.4	0.4

注：表中“-”代表低于定量限。

为了比对氢化可的松和可的松的 12 组检测数据，计算本方法所得结果（C_1）与国标方法所得结果（C_2）的差值（*d* 值），采用 t 检验进行统计学分析，选择α=5%显

著性水平作为判断标准，当 n=6 时，查 t 分布双侧临界值表 $t_{(0.05,\ n-1)}$=2.571，而表 8 中计算得到 $t_{氢化可的松}$=1.62，$t_{可的松}$=0.33，均小于 2.571，说明两组结果数据没有显著差异，两种方法具有良好的一致性。本方法的定量限低于或等于国标方法定量限，而国标方法过程繁琐，消耗试剂耗材多，方法测定时间长，因此本方法优于国标方法。

表 8 两种方法差值的统计学分析

样品名称	*d* 值（$d = C_1 - C_2$）	
	氢化可的松	可的松
猪肉 1	-0.31	0
猪肉 2	-2.00	-0.33
猪肉 3	-1.11	-0.42
牛肉 1	-0.36	-0.03
牛肉 2	0.36	0.17
牛肉 3	0.02	0.37
差值平均值（$\bar{d}$）	-0.57	-0.04
差值标准差（S_{di}）	0.86	0.30
差值平均标准差（$S_{\bar{d}} = S_{di}/\sqrt{n}$）	0.35	0.12
t 值（$t = \lvert \bar{d} \rvert / S_{\bar{d}}$）	1.62	0.33

5.7 实际样品的测定

采用本方法检测了 12 个牛肉样品，结果检出 4 个化合物，结果见表 9。由于这批牛肉均为从牛场采集的已知来源的肉样品，该养殖场并未在饲料中投入激素等兴奋剂类物质，可认为所测得的四种兴奋剂均为内源性兴奋剂。其中氢化可的松的含量变化范围较大 3.3~22.6 μg/kg。

表 9 牛肉样品的检测结果

样品名称	检测结果 (μg/kg)			
	氢化可的松	可的松	雄烯二酮	睾酮
牛腿肉 1 号牛	15.4	2.0	-	0.8
牛腿肉 2 号牛	22.6	1.5	-	-
牛腿肉 3 号牛	22.2	2.0	-	-

牛腿肉 4 号牛	19.8	1.8	-	1.3
牛腿肉 5 号牛	19.8	1.4	-	1.5
牛腿肉 6 号牛	3.3	-	-	-
牛腿肉 7 号牛	3.3	-	-	-
牛腿肉 8 号牛	5.5	-	-	-
牛腿肉 9 号牛	7.6	-	-	-
牛腿肉 10 号牛	7.6	1.6	-	-
霖肉（牛）	13.9	1.6	1.2	0.6
牛前部肉	3.8	2.1	0.7	0.6

5.8 实验室间验证结果

本标准邀请了 2 家食品检验检测机构对所建立的方法进行了实验室间方法验证，2 家参与验证的机构分别为北京市疾病预防控制中心（A）和北京市延庆区疾病预防控制中心（B）。验证结果如下。

以鸡肉为基质，实验室 A 验证结果见表 10，加标回收率范围是 62.0%~118.7%，相对标准偏差范围是 2.8%~19.6%（*n*=6）；实验室 B 的结果见表 11，加标回收率范围是 64.0~119.3%，精密度范围是 2.5~19.0（*n*=6）。

两家单位的定量限与理化测试所的定量限一致，且在定量限浓度均做了加标回收实验，回收率和精密度均能够满足检测要求。

表 10 实验室 A 的验证结果

化合物	加标水平 (μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限 (μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
1. 克伦特罗	0.1	0.08	0.10	0.08	0.09	0.08	0.09	0.09	10.8	86.7	0.1
	0.2	0.19	0.17	0.21	0.16	0.17	0.16	0.18	11.1	88.0	
	0.4	0.40	0.44	0.42	0.53	0.42	0.53	0.46	12.6	114.0	
2. 妥布特罗	0.1	0.11	0.10	0.11	0.11	0.10	0.10	0.11	7.5	105.3	0.1
	0.2	0.19	0.18	0.18	0.18	0.20	0.17	0.18	6.6	90.7	
	0.4	0.37	0.42	0.39	0.51	0.38	0.50	0.43	14.7	107.3	
3. 班布特罗	0.1	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.11	0.12	2.8	118.7	0.1
	0.2	0.24	0.22	0.23	0.22	0.23	0.22	0.23	4.3	113.3	
	0.4	0.42	0.41	0.35	0.49	0.35	0.47	0.42	13.9	104.0	
4. 克伦丙罗	0.2	0.18	0.15	0.17	0.18	0.17	0.18	0.17	7.5	86.7	0.2
	0.4	0.43	0.38	0.42	0.37	0.42	0.34	0.39	8.6	98.3	
	0.8	0.76	0.74	0.74	0.89	0.72	0.90	0.79	10.1	98.8	
5. 喷布特罗	0.1	0.10	0.10	0.11	0.10	0.10	0.09	0.10	8.4	100.0	0.1
	0.2	0.14	0.14	0.12	0.12	0.12	0.14	0.13	9.2	65.3	
	0.4	0.29	0.34	0.26	0.36	0.27	0.38	0.32	15.8	79.7	
6. 克伦塞罗	0.1	0.10	0.10	0.12	0.11	0.14	0.10	0.11	16.3	112.0	0.1
	0.2	0.20	0.22	0.23	0.18	0.23	0.19	0.21	9.8	104.7	
	0.4	0.42	0.38	0.40	0.44	0.40	0.45	0.41	6.0	103.7	
7. 马布特罗	0.2	0.21	0.22	0.17	0.21	0.21	0.22	0.20	8.9	102.0	0.2
	0.4	0.42	0.40	0.40	0.34	0.37	0.40	0.39	7.6	96.7	
	0.8	0.86	0.88	0.83	0.92	0.82	0.94	0.88	5.7	109.5	
8. 溴布特罗	0.1	0.10	0.06	0.09	0.09	0.06	0.09	0.08	16.9	81.3	0.1
	0.2	0.17	0.17	0.14	0.15	0.18	0.18	0.17	9.8	83.3	

化合物	加标水平 (μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限 (μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.4	0.42	0.44	0.40	0.46	0.35	0.42	0.42	9.2	104.0	
9. 西马特罗	0.2	0.20	0.21	0.22	0.19	0.21	0.24	0.21	7.8	105.3	0.2
	0.4	0.43	0.38	0.41	0.42	0.43	0.41	0.41	5.1	103.3	
	0.8	0.69	0.78	0.81	0.82	0.82	0.84	0.79	6.8	99.0	
10. 氯丙那林	0.1	0.12	0.11	0.11	0.12	0.11	0.12	0.12	3.8	116.0	0.1
	0.2	0.22	0.21	0.19	0.20	0.21	0.21	0.21	4.0	102.7	
	0.4	0.38	0.41	0.34	0.46	0.35	0.45	0.40	12.3	100.0	
11. 奥西那林	0.1	0.08	0.07	0.06	0.06	0.09	0.06	0.07	14.1	72.0	0.1
	0.2	0.14	0.13	0.13	0.14	0.12	0.14	0.13	6.4	66.0	
	0.4	0.24	0.24	0.22	0.27	0.22	0.29	0.25	10.6	62.0	
12. 沙丁胺醇	0.1	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	5.3	96.0	0.1
	0.2	0.20	0.19	0.19	0.18	0.19	0.17	0.19	6.5	93.3	
	0.4	0.40	0.42	0.39	0.51	0.39	0.50	0.44	12.4	109.0	
13. 齐帕特罗	0.1	0.07	0.08	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	8.5	70.7	0.1
	0.2	0.15	0.14	0.15	0.13	0.12	0.13	0.14	9.8	68.0	
	0.4	0.29	0.30	0.27	0.34	0.27	0.34	0.30	9.8	75.0	
14. 莱克多巴胺	0.1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.09	0.10	8.4	100.0	0.1
	0.2	0.21	0.20	0.20	0.19	0.21	0.18	0.20	4.7	99.3	
	0.4	0.40	0.44	0.42	0.48	0.43	0.48	0.44	7.2	110.7	
15. 沙美特罗	0.1	0.10	0.12	0.11	0.10	0.10	0.10	0.11	8.9	105.3	0.1
	0.2	0.18	0.17	0.14	0.15	0.12	0.14	0.15	14.4	74.0	
	0.4	0.26	0.32	0.28	0.38	0.26	0.40	0.32	19.6	79.3	
16. 阿替洛尔	0.1	0.11	0.10	0.09	0.08	0.10	0.09	0.09	12.4	94.7	0.1
	0.2	0.16	0.15	0.14	0.14	0.16	0.15	0.15	4.7	76.0	
	0.4	0.27	0.28	0.25	0.37	0.25	0.35	0.29	17.8	73.7	

化合物	加标水平 (μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限 (μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
17. 普萘洛尔	0.1	0.10	0.10	0.10	0.09	0.10	0.10	0.10	6.2	97.3	0.1
	0.2	0.14	0.12	0.12	0.13	0.12	0.14	0.13	7.9	64.0	
	0.4	0.28	0.34	0.29	0.40	0.30	0.43	0.34	18.8	84.7	
18. 美托洛尔	0.1	0.13	0.11	0.10	0.11	0.11	0.10	0.11	7.8	112.0	0.1
	0.2	0.21	0.22	0.20	0.19	0.19	0.19	0.20	6.4	100.7	
	0.4	0.38	0.41	0.37	0.46	0.37	0.47	0.41	11.7	102.3	
19. 氨苯喋啶	0.2	0.19	0.18	0.14	0.14	0.14	0.17	0.16	15.5	80.0	0.2
	0.4	0.27	0.25	0.28	0.26	0.29	0.27	0.27	5.1	67.7	
	0.8	0.60	0.67	0.64	0.82	0.66	0.74	0.69	11.4	86.0	
20. 螺内酯	0.2	0.19	0.18	0.17	0.18	0.20	0.18	0.18	6.1	92.0	0.2
	0.4	0.34	0.40	0.34	0.35	0.37	0.38	0.37	6.3	91.3	
	0.8	0.75	0.74	0.73	0.78	0.80	0.84	0.77	5.3	96.7	
21. 坎利酮	0.2	0.15	0.18	0.16	0.20	0.18	0.18	0.18	10.0	88.0	0.2
	0.4	0.36	0.34	0.33	0.34	0.33	0.37	0.34	4.9	86.0	
	0.8	0.68	0.60	0.62	0.71	0.70	0.66	0.66	6.7	83.0	
22. 睾酮	0.2	0.19	0.22	0.21	0.23	0.22	0.22	0.21	6.4	107.3	0.2
	0.4	0.32	0.42	0.41	0.42	0.45	0.41	0.40	10.7	100.7	
	0.8	0.69	0.74	0.71	0.70	0.74	0.74	0.72	3.3	89.8	
23. 诺龙	0.2	0.19	0.19	0.20	0.23	0.21	0.22	0.21	7.5	103.3	0.2
	0.4	0.33	0.32	0.34	0.36	0.32	0.36	0.34	5.5	84.3	
	0.8	0.58	0.58	0.55	0.67	0.59	0.66	0.61	8.3	75.7	
24. 去氢甲睾酮	0.2	0.24	0.21	0.19	0.28	0.21	0.23	0.23	13.9	113.3	0.2
	0.4	0.47	0.45	0.42	0.37	0.48	0.42	0.43	9.7	108.3	
	0.8	0.63	0.86	0.79	0.85	0.74	0.82	0.78	10.8	97.8	
25. 勃地酮	0.2	0.16	0.16	0.17	0.14	0.17	0.15	0.16	7.7	78.7	0.2

化合物	加标水平 (μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限 (μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.4	0.41	0.35	0.38	0.36	0.43	0.34	0.38	9.1	95.0	
	0.8	0.78	0.80	0.74	0.90	0.78	0.90	0.82	8.4	102.3	
26. 群勃龙	0.2	0.15	0.16	0.16	0.17	0.18	0.14	0.16	7.1	80.0	0.2
	0.4	0.34	0.38	0.41	0.37	0.42	0.34	0.37	9.2	93.3	
	0.8	0.77	0.76	0.66	0.80	0.69	0.86	0.75	9.7	94.3	
27. 雄烯二酮	0.2	0.12	0.14	0.15	0.12	0.14	0.09	0.13	18.0	63.3	0.2
	0.4	0.39	0.27	0.34	0.32	0.38	0.33	0.34	13.1	84.7	
	0.8	0.76	0.65	0.66	0.86	0.77	0.82	0.75	11.2	93.8	
28. 脱氢表雄酮	0.2	0.23	0.19	0.20	0.18	0.16	0.15	0.19	15.8	92.7	0.2
	0.4	0.44	0.42	0.34	0.36	0.46	0.41	0.40	11.5	100.7	
	0.8	0.74	0.86	0.72	0.83	0.78	0.86	0.80	7.8	99.7	
29. 甲基睾酮	0.2	0.17	0.16	0.21	0.16	0.14	0.14	0.16	15.4	81.3	0.2
	0.4	0.34	0.33	0.32	0.29	0.33	0.30	0.32	5.7	79.3	
	0.8	0.81	0.79	0.86	0.92	0.69	0.90	0.83	10.3	103.7	
30. 美睾酮	0.8	0.84	0.90	0.88	0.74	0.79	0.89	0.84	7.3	105.0	0.8
	2	1.80	2.33	2.29	2.11	1.86	2.18	2.09	10.5	104.7	
	4	3.66	2.79	3.29	3.13	3.02	3.18	3.18	9.2	79.5	
31. 美雄诺龙	0.2	0.18	0.22	0.20	0.16	0.22	0.22	0.20	12.8	99.3	0.2
	0.4	0.29	0.26	0.24	0.29	0.25	0.23	0.26	9.3	65.0	
	0.8	0.70	0.62	0.70	0.82	0.66	0.78	0.71	10.3	89.0	
32. 司坦唑醇	0.2	0.22	0.22	0.21	0.24	0.24	0.23	0.23	6.1	112.7	0.2
	0.4	0.42	0.41	0.43	0.38	0.45	0.42	0.42	5.2	104.7	
	0.8	0.86	0.89	0.83	0.74	0.83	0.78	0.82	6.4	103.0	
33. 地塞米松	0.4	0.23	0.34	0.26	0.25	0.29	0.28	0.27	13.2	68.7	0.4
	0.8	0.78	0.82	0.82	0.54	0.80	0.79	0.76	14.1	95.0	

化合物	加标水平 (μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限 (μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	1.6	1.43	1.68	1.70	1.74	1.62	1.54	1.62	7.2	101.2	
34. 氢化可的松	0.4	0.27	0.26	0.26	0.27	0.25	0.35	0.28	13.6	69.3	0.4
	0.8	0.65	0.49	0.50	0.50	0.36	0.50	0.50	18.3	62.5	
	1.6	1.29	1.18	1.40	1.58	1.46	1.33	1.37	10.0	85.8	
35. 波尼松龙	0.4	0.34	0.30	0.29	0.34	0.34	0.37	0.33	9.1	81.7	0.4
	0.8	0.85	0.82	0.86	0.84	0.78	0.86	0.83	3.9	104.2	
	1.6	1.30	1.55	1.42	1.46	1.58	1.48	1.47	6.7	91.7	
36. 可的松	0.4	0.45	0.42	0.37	0.34	0.50	0.39	0.41	13.5	102.7	0.4
	0.8	0.74	0.90	0.90	0.71	0.74	0.93	0.82	12.4	102.5	
	1.6	1.81	1.71	1.74	1.75	1.68	1.68	1.73	2.8	108.0	
37. 波尼松	0.4	0.37	0.34	0.29	0.30	0.42	0.35	0.35	13.3	86.3	0.4
	0.8	0.62	0.81	0.86	0.72	0.71	0.87	0.76	12.9	95.5	
	1.6	1.81	1.69	1.53	1.65	1.65	1.50	1.64	6.9	102.3	
38. 醋酸氟轻松	0.4	0.29	0.34	0.29	0.25	0.26	0.29	0.29	10.4	71.3	0.4
	0.8	0.61	0.56	0.56	0.54	0.56	0.62	0.57	5.2	71.8	
	1.6	1.62	1.34	1.36	1.03	1.17	1.26	1.30	15.4	81.1	
39. 氟氢可的松	0.4	0.31	0.28	0.26	0.25	0.31	0.25	0.28	10.6	69.3	0.4
	0.8	0.77	0.88	0.66	0.67	0.69	0.87	0.76	13.1	94.7	
	1.6	1.68	1.53	1.66	1.30	1.30	1.36	1.47	11.9	91.9	
40. 倍氯米松	0.4	0.30	0.33	0.33	0.35	0.38	0.37	0.34	8.7	85.3	0.4
	0.8	0.67	0.66	0.62	0.65	0.62	0.63	0.64	3.5	80.3	
	1.6	1.78	1.47	1.72	1.46	1.50	1.34	1.55	11.0	96.7	
41. 孕酮	0.2	0.21	0.21	0.22	0.24	0.19	0.20	0.21	7.8	105.3	0.2
	0.4	0.38	0.43	0.42	0.39	0.41	0.38	0.40	5.3	100.3	
	0.8	0.74	0.78	0.66	0.83	0.69	0.78	0.75	8.5	93.3	

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
42. 醋酸美伦孕酮	0.2	0.17	0.23	0.18	0.23	0.23	0.24	0.21	15.1	106.7	0.2
	0.4	0.44	0.42	0.37	0.45	0.40	0.38	0.41	8.0	102.0	
	0.8	0.58	0.62	0.63	0.66	0.70	0.69	0.65	7.2	80.8	
43. 醋酸甲羟孕酮	0.2	0.22	0.21	0.26	0.18	0.25	0.21	0.22	14.2	110.7	0.2
	0.4	0.46	0.44	0.47	0.38	0.43	0.38	0.43	9.5	106.3	
	0.8	0.94	0.91	0.87	0.86	0.95	0.90	0.91	3.8	113.3	
44. 17α-羟孕酮	0.2	0.21	0.18	0.22	0.22	0.16	0.18	0.19	12.9	97.3	0.2
	0.4	0.34	0.41	0.37	0.30	0.44	0.36	0.37	13.2	92.3	
	0.8	0.63	0.76	0.58	0.74	0.79	0.77	0.71	12.2	88.8	
45. 甲地孕酮	0.2	0.20	0.18	0.22	0.19	0.19	0.22	0.20	6.7	100.0	0.2
	0.4	0.46	0.42	0.33	0.32	0.42	0.39	0.39	14.5	97.7	
	0.8	0.87	0.74	0.73	0.76	0.93	0.94	0.83	11.9	103.5	

表 11 实验室 B 的验证结果

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
1. 克伦特罗	0.1	0.11	0.11	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11	7.7	106.7	0.1
	0.2	0.21	0.19	0.22	0.20	0.21	0.22	0.21	4.5	103.3	
	0.4	0.42	0.43	0.48	0.44	0.47	0.45	0.45	5.0	112.3	
2. 妥布特罗	0.1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	4.4	100.0	0.1
	0.2	0.19	0.18	0.19	0.18	0.20	0.19	0.19	3.2	95.3	
	0.4	0.34	0.38	0.35	0.44	0.40	0.42	0.39	9.6	97.0	
3. 班布特罗	0.1	0.12	0.12	0.10	0.11	0.11	0.12	0.11	8.3	113.3	0.1
	0.2	0.24	0.21	0.22	0.20	0.22	0.20	0.22	7.4	108.0	
	0.4	0.37	0.36	0.34	0.44	0.38	0.46	0.39	12.6	98.0	
4. 克伦丙罗	0.2	0.19	0.21	0.20	0.19	0.22	0.19	0.20	5.1	100.0	0.2
	0.4	0.38	0.32	0.42	0.37	0.42	0.38	0.38	9.9	95.0	
	0.8	0.80	0.79	0.77	0.87	0.86	0.80	0.81	4.9	101.8	
5. 喷布特罗	0.1	0.08	0.09	0.10	0.08	0.10	0.08	0.09	11.5	88.0	0.1
	0.2	0.16	0.14	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	13.2	65.3	
	0.4	0.28	0.34	0.28	0.38	0.32	0.38	0.33	13.7	82.7	
6. 克伦塞罗	0.1	0.08	0.10	0.12	0.08	0.12	0.09	0.10	19.0	97.3	0.1
	0.2	0.19	0.21	0.24	0.18	0.22	0.18	0.20	10.7	102.0	
	0.4	0.42	0.36	0.42	0.41	0.46	0.38	0.41	8.7	102.3	
7. 马布特罗	0.2	0.21	0.22	0.19	0.17	0.21	0.18	0.19	10.0	97.3	0.2
	0.4	0.38	0.32	0.37	0.36	0.42	0.46	0.38	12.6	96.0	
	0.8	0.80	0.90	0.74	0.90	0.87	0.94	0.86	8.5	107.3	
8. 溴布特罗	0.1	0.11	0.10	0.10	0.07	0.09	0.07	0.09	18.2	90.7	0.1

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.2	0.20	0.20	0.19	0.17	0.18	0.19	0.19	7.0	94.0	
	0.4	0.38	0.42	0.34	0.45	0.42	0.46	0.41	10.2	103.0	
9. 西马特罗	0.2	0.23	0.22	0.21	0.22	0.18	0.18	0.21	10.8	103.3	0.2
	0.4	0.39	0.43	0.47	0.44	0.45	0.40	0.43	7.0	107.7	
	0.8	0.71	0.71	0.72	0.82	0.83	0.76	0.76	7.3	95.0	
10. 氯丙那林	0.1	0.11	0.12	0.11	0.12	0.11	0.11	0.11	3.6	114.7	0.1
	0.2	0.20	0.22	0.20	0.20	0.22	0.20	0.21	4.0	102.7	
	0.4	0.38	0.39	0.37	0.46	0.42	0.45	0.41	8.7	103.0	
11. 奥西那林	0.1	0.12	0.10	0.11	0.11	0.10	0.11	0.11	9.1	108.0	0.1
	0.2	0.15	0.21	0.18	0.19	0.19	0.17	0.18	11.0	90.7	
	0.4	0.28	0.27	0.23	0.29	0.26	0.30	0.27	8.3	68.0	
12. 沙丁胺醇	0.1	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.09	4.4	93.3	0.1
	0.2	0.19	0.20	0.18	0.17	0.19	0.18	0.19	6.4	92.7	
	0.4	0.40	0.44	0.41	0.47	0.42	0.48	0.44	7.8	109.0	
13. 齐帕特罗	0.1	0.07	0.06	0.08	0.06	0.07	0.06	0.07	9.4	69.3	0.1
	0.2	0.14	0.13	0.12	0.12	0.14	0.13	0.13	5.6	64.0	
	0.4	0.29	0.31	0.28	0.38	0.29	0.38	0.32	14.6	80.3	
14. 莱克多巴胺	0.1	0.10	0.11	0.11	0.10	0.11	0.10	0.11	7.5	105.3	0.1
	0.2	0.21	0.21	0.22	0.20	0.22	0.17	0.21	10.1	102.7	
	0.4	0.45	0.44	0.42	0.51	0.43	0.50	0.46	7.9	114.7	
15. 沙美特罗	0.1	0.10	0.13	0.11	0.11	0.12	0.10	0.11	11.6	110.7	0.1
	0.2	0.16	0.15	0.13	0.14	0.14	0.13	0.14	9.4	70.0	
	0.4	0.33	0.34	0.30	0.45	0.29	0.43	0.36	18.8	89.3	
16. 阿替洛尔	0.1	0.10	0.07	0.07	0.08	0.09	0.08	0.08	11.5	81.3	0.1

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.2	0.13	0.14	0.15	0.14	0.15	0.14	0.14	7.0	70.0	
	0.4	0.26	0.25	0.24	0.32	0.28	0.31	0.28	12.3	69.0	
17. 普萘洛尔	0.1	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	6.7	100.0	0.1
	0.2	0.16	0.16	0.13	0.14	0.13	0.14	0.14	10.3	71.3	
	0.4	0.33	0.33	0.30	0.44	0.28	0.40	0.35	17.6	86.7	
18. 美托洛尔	0.1	0.09	0.12	0.11	0.11	0.11	0.12	0.11	10.6	110.7	0.1
	0.2	0.22	0.20	0.22	0.21	0.20	0.21	0.21	4.5	104.7	
	0.4	0.36	0.38	0.38	0.43	0.39	0.45	0.40	8.6	99.7	
19. 氨苯喋啶	0.2	0.14	0.12	0.13	0.14	0.13	0.15	0.14	9.1	68.0	0.2
	0.4	0.24	0.24	0.29	0.26	0.27	0.26	0.26	7.2	65.0	
	0.8	0.62	0.64	0.62	0.69	0.62	0.68	0.64	5.0	80.5	
20. 螺内酯	0.2	0.18	0.16	0.18	0.19	0.20	0.21	0.19	9.6	92.7	0.2
	0.4	0.48	0.35	0.34	0.34	0.34	0.33	0.36	15.8	91.0	
	0.8	0.66	0.78	0.78	0.70	0.78	0.70	0.73	6.8	91.5	
21. 坎利酮	0.2	0.22	0.18	0.22	0.22	0.21	0.22	0.21	7.4	106.7	0.2
	0.4	0.31	0.32	0.32	0.29	0.36	0.30	0.32	8.0	79.0	
	0.8	0.66	0.83	0.77	0.74	0.67	0.66	0.72	9.6	90.5	
22. 睾酮	0.2	0.17	0.17	0.18	0.15	0.16	0.16	0.17	6.6	82.7	0.2
	0.4	0.30	0.30	0.35	0.38	0.34	0.39	0.34	11.7	85.7	
	0.8	0.67	0.74	0.66	0.73	0.69	0.72	0.70	4.4	87.7	
23. 诺龙	0.2	0.15	0.18	0.14	0.14	0.17	0.15	0.15	9.6	77.3	0.2
	0.4	0.27	0.30	0.35	0.32	0.27	0.28	0.30	10.7	74.7	
	0.8	0.74	0.78	0.86	0.72	0.80	0.78	0.78	6.5	97.5	
24. 去氢甲睾酮	0.2	0.24	0.23	0.23	0.20	0.17	0.21	0.21	12.7	106.7	0.2

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.4	0.47	0.39	0.44	0.44	0.40	0.50	0.44	9.6	110.3	
	0.8	0.90	0.75	0.89	0.86	0.74	0.85	0.83	8.5	104.0	
25. 勃地酮	0.2	0.15	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	7.0	88.0	0.2
	0.4	0.44	0.35	0.42	0.41	0.40	0.38	0.40	7.7	100.3	
	0.8	0.83	0.86	0.87	0.90	0.87	0.80	0.86	4.0	107.0	
26. 群勃龙	0.2	0.17	0.18	0.18	0.14	0.14	0.14	0.16	11.4	78.7	0.2
	0.4	0.37	0.34	0.37	0.40	0.42	0.35	0.37	8.0	93.3	
	0.8	0.81	0.90	0.76	0.91	0.75	1.00	0.85	11.4	106.8	
27. 雄烯二酮	0.2	0.18	0.21	0.22	0.17	0.21	0.21	0.20	9.3	99.3	0.2
	0.4	0.44	0.46	0.46	0.47	0.45	0.42	0.45	3.8	112.7	
	0.8	0.89	0.94	0.94	0.94	0.89	0.94	0.92	2.8	115.2	
28. 脱氢表雄酮	0.2	0.18	0.19	0.18	0.22	0.20	0.22	0.20	9.3	99.3	0.2
	0.4	0.32	0.30	0.27	0.42	0.39	0.35	0.34	16.4	85.3	
	0.8	0.61	0.65	0.58	0.67	0.66	0.75	0.65	9.3	81.7	
29. 甲基睾酮	0.2	0.15	0.16	0.13	0.12	0.13	0.12	0.13	12.7	67.3	0.2
	0.4	0.33	0.33	0.32	0.32	0.32	0.30	0.32	3.7	79.7	
	0.8	0.74	0.78	0.74	0.86	0.79	0.83	0.79	6.0	98.7	
30. 美睾酮	0.8	0.55	0.57	0.53	0.56	0.51	0.51	0.54	4.6	67.3	0.8
	2	1.66	1.91	1.60	1.90	1.90	1.68	1.77	8.0	88.7	
	4	3.08	3.19	3.12	3.65	3.53	3.08	3.27	7.6	81.9	
31. 美雄诺龙	0.2	0.27	0.28	0.20	0.22	0.26	0.19	0.24	16.1	119.3	0.2
	0.4	0.35	0.35	0.37	0.42	0.34	0.37	0.37	7.1	91.7	
	0.8	0.63	0.66	0.59	0.71	0.70	0.63	0.65	6.8	81.7	
32. 司坦唑醇	0.2	0.19	0.17	0.22	0.20	0.23	0.26	0.21	14.9	106.0	0.2

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.4	0.34	0.39	0.38	0.38	0.36	0.42	0.38	7.3	95.0	
	0.8	0.79	0.74	0.68	0.75	0.70	0.72	0.73	5.4	91.5	
33. 地塞米松	0.4	0.25	0.29	0.28	0.26	0.30	0.22	0.27	10.2	66.7	0.4
	0.8	0.63	0.66	0.51	0.62	0.62	0.62	0.61	8.5	76.5	
	1.6	1.26	1.34	1.19	1.37	1.45	1.46	1.35	7.7	84.1	
34. 氢化可的松	0.4	0.25	0.32	0.34	0.35	0.31	0.41	0.33	16.0	82.7	0.4
	0.8	0.66	0.62	0.55	0.72	0.54	0.54	0.61	12.0	75.7	
	1.6	1.50	1.72	1.66	1.67	1.70	1.64	1.65	4.7	103.2	
35. 波尼松龙	0.4	0.45	0.35	0.42	0.34	0.35	0.39	0.38	11.7	96.0	0.4
	0.8	0.67	0.72	0.70	0.66	0.68	0.73	0.69	4.1	86.7	
	1.6	1.47	1.47	1.50	1.54	1.42	1.50	1.48	2.5	92.7	
36. 可的松	0.4	0.42	0.44	0.42	0.47	0.37	0.46	0.43	8.6	108.0	0.4
	0.8	0.58	0.80	0.73	0.89	0.79	0.86	0.77	14.4	96.7	
	1.6	1.70	1.75	1.83	1.80	1.80	1.60	1.75	4.9	109.2	
37. 波尼松	0.4	0.38	0.36	0.32	0.33	0.39	0.44	0.37	12.0	92.3	0.4
	0.8	0.66	0.82	0.78	0.78	0.71	0.85	0.76	9.1	95.5	
	1.6	1.54	1.57	1.50	1.65	1.46	1.48	1.53	4.5	95.8	
38. 醋酸氟轻松	0.4	0.26	0.26	0.34	0.29	0.37	0.34	0.31	15.0	77.3	0.4
	0.8	0.49	0.50	0.52	0.56	0.58	0.66	0.55	11.7	69.2	
	1.6	1.77	1.90	1.90	1.79	1.64	1.58	1.76	7.5	110.2	
39. 氟氢可的松	0.4	0.46	0.38	0.45	0.46	0.36	0.42	0.42	10.1	105.0	0.4
	0.8	0.58	0.61	0.62	0.64	0.62	0.58	0.61	4.3	75.8	
	1.6	1.84	1.82	1.76	1.89	1.83	1.53	1.78	7.3	111.1	
40. 倍氯米松	0.4	0.26	0.31	0.24	0.25	0.26	0.26	0.27	9.4	66.3	0.4

化合物	加标水平(μg/kg)	测定结果(μg/kg)							RSD（%）	回收率（%）	定量限(μg/kg)
		1	2	3	4	5	6	平均值			
	0.8	0.54	0.58	0.50	0.51	0.57	0.53	0.54	5.8	67.3	
	1.6	1.14	1.11	1.17	1.07	1.13	1.08	1.12	3.2	69.8	
41. 孕酮	0.2	0.21	0.18	0.22	0.18	0.21	0.27	0.21	16.1	106.0	0.2
	0.4	0.36	0.34	0.30	0.30	0.26	0.32	0.31	12.0	78.0	
	0.8	0.82	0.87	0.74	0.89	0.73	0.88	0.82	8.9	102.7	
42. 醋酸美伦孕酮	0.2	0.22	0.18	0.18	0.20	0.18	0.20	0.19	8.9	97.3	0.2
	0.4	0.45	0.34	0.41	0.31	0.36	0.46	0.39	15.9	97.0	
	0.8	0.62	0.68	0.62	0.70	0.71	0.63	0.66	6.4	82.7	
43. 醋酸甲羟孕酮	0.2	0.20	0.18	0.18	0.18	0.20	0.15	0.18	10.0	90.0	0.2
	0.4	0.34	0.35	0.42	0.39	0.40	0.33	0.37	9.9	92.7	
	0.8	0.88	0.90	0.94	0.93	0.90	0.86	0.90	3.3	112.7	
44. 17α-羟孕酮	0.2	0.12	0.14	0.17	0.14	0.16	0.17	0.15	13.6	74.0	0.2
	0.4	0.29	0.36	0.39	0.34	0.32	0.40	0.35	12.3	87.3	
	0.8	0.82	0.91	0.82	0.90	0.84	0.89	0.87	4.7	108.2	
45. 甲地孕酮	0.2	0.19	0.24	0.20	0.22	0.22	0.23	0.22	8.5	108.7	0.2
	0.4	0.40	0.26	0.36	0.42	0.33	0.40	0.36	17.1	90.3	
	0.8	0.72	0.79	0.73	0.83	0.81	0.86	0.79	7.0	98.7	

6 采用国际标准的程度与水平的简要说明

无

7 标准涉及的专利及相关知识产权说明

本标准涉及一个发明专利，该专利已通过初审，专利名称“一种同时测定畜禽肉中多种食源性兴奋剂含量的方法”，申请号：202111178328.9，全体发明人：刘艳，冯月超，王建凤，张春梅，马立利，侯帆。

8 重大意见分歧的处理经过和依据

无

9 与现行法律法规和强制性标准的关系

《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》（GB 31650-2019）规定地塞米松在肌肉中的最大残留限量为 1.0μg/kg，本方法定量限为 0.4μg/kg；规定氟轻松、氢化可的松、黄体酮允许用于食品动物，但不需要制定残留限量的兽药。《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单 (农业农村部公告第 250 号) 》（2019 年 12 月）中规定禁止使用醋酸美仑孕酮、甲基睾酮、群勃龙。

国家体育总局反兴奋剂中心于 2021 年 11 月发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》（体反兴奋剂字〔2021〕584 号），附录“建议检测的各类药物名单”中推荐了 60 种兴奋剂，本方法能够检测其中的 30 种，本方法检出限均比该名单中参考检出限低，见表 12。

表 12 《体育局反兴奋剂字[2021]584 食源性兴奋剂防控工作指南清单》中附录“建议检测的各类药物名单”及本方法的检出限

药物名	控制限量	参考检验方法*	参考检出限**（μg/kg）	本方法检出限 (μg/kg)
1. 克仑特罗	不得检出	SN/T1924-2011《进出口动物源食品中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的测定液相色谱-质谱/质谱法》	0.05	0.03

2. 沙丁胺醇	不得检出	农业部 1025 号公告-18-2008《动物源性食品中β-受体激动剂残留检测液相色谱-串联质谱法》	0.25	0.03
3. 莱克多巴胺	不得检出		0.25	0.03
4. 妥布特罗	不得检出		0.25	0.03
5. 喷布特罗	不得检出		0.25	0.03
6. 西马特罗	不得检出		0.25	0.07
7. 沙美特罗	不得检出	自研方法	0.5	0.03
8. 克仑丙罗	不得检出	自研方法	0.2	0.07
9. 普萘洛尔	不得检出	SN/T2624-2010 《动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法液相色谱-质谱/质谱法》	0.5	0.03
10. 阿替洛尔	不得检出	自研方法	1.0	0.03
11. 美托洛尔	不得检出	自研方法	0.5	0.03
12. 美雄酮（去氢甲睾酮）	不得检出	农业部 1031 号公告-1-2008《动物源性食品中 11 种激素残留检测液相色谱-串联质谱法》	0.1	0.07
13. 司坦唑醇	不得检出		0.1	0.07
14. 甲基睾酮	不得检出		0.1	0.07
15. 诺龙	不得检出		0.5	0.07
16. 勃地酮	不得检出		0.4	0.07
17. 群勃龙	不得检出		0.5	0.07
18. 睾酮	≤2 μg/kg		1.0	0.07
19. 脱氢表雄酮	≤2 μg/kg	GB/T21981-2008《动物源食品中激素多残留检测方法液相色谱-质谱/质谱法》	2.0	0.2
20. 齐帕特罗	不得检出	SN/T2624-2010《动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法液相色谱-质谱/质谱法》	0.5	0.03
21. 泼尼松	不得检出	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/T21981-2008 《动物源食品中激素多残留检测方法液相色谱-质谱/质谱法》	0.5	0.2
22. 泼尼松龙	不得检出		0.5	0.2
23. 地塞米松	不得检出		0.5	0.2
24. 氟氢可的松	不得检出		1.0	0.2
25. 倍氯米松	不得检出		1.0	0.2
26. 氢化可的松	≤30 μg/kg		2.0	0.2
27. 可的松	≤30 μg/kg		0.4	0.2
28. 坎利酮	不得检出	自研方法	5.0	0.2
29. 螺内酯	不得检出		5.0	0.2
30. 氨苯蝶啶	不得检出		5.0	0.2

注：（1）*参考检验方法仅供参考，实验室也可选用类似或优于参考检验方法的自研方法。（2）**参考检出限仅供参考。

参考文献

1. Prohibited List (effective 1 January 2021)[S]，World Anti-Doping Agency，international standard

2. GB 31650-2019 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量[S], 中华人民共和国国家标准

3. 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[S], 中华人民共和国国家标准

4.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)

5.张再永, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和牛肉中 9 种类固醇激素[J]. 肉类研究, 2020, 34(7)

6.冯月超，等. 超高效液相色谱-质谱联用法检测鱼肉中 23 种性激素残留量[J]，食品安全质量检测学报，2018, 9(16)

7.李凯华，等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鱼肉中多种雄性激素和孕激素[J]，食品安全质量检测学报，2020, 11(15)

8.崔秀栋，肉类食品中激素残留的检测技术[J]，现代畜牧科技，2020,70(10)

9.徐伟，等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测猪肉中 125 种兽药残留[J]，天津农业科学，2020,26(2)

10.杨兆甜，等. 高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉中多兽药残留[J]，食品与生物技术学报，2020, 39(7)

11. 贝峰，等. QuEChERS-液相色谱串联质谱仪检测猪肉中 102 种农兽药残留及非法添加物方法的研究[J]，山东畜牧兽医，2020, 41(2)

12. 晏利芝，等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中β-受体激动剂、喹诺酮类和磺胺类兽药残留量[J]，分析试验室，2011, 30(1)

13. 王洪利, 等. 食源性兴奋剂防控与运动员饮食安全管理研究[J]. 辽宁体育科技, 2013, 35(6)

14. 张贻豪, 等. 膳食补充剂中蛋白同化雄性类固醇检测研究进展[J],中国运动医学杂志, 2021,40(1)

15. Abir Khaled, Varoon Singh, JanuszPawliszyn. Comparison of Solid-Phase Microextraction to Solvent Extraction and QuEChERS for Quantitative Analysis of Veterinary Drug Residues in Chicken and Beef Matrices[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(46)

16.吴平谷, 等. 同时检测动物肌肉中 26 种β2-兴奋剂和激素残留[J], 分析化学,2008, 36(11)

17. 徐锦忠，等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测鸡肉和鸡蛋中合成类固醇类激素和糖皮质激素[J]，分析化学，2009, 37(3)

18.高洁，等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定猪肉中 52 种同化激素[J]，中国卫生检验杂志，2018, 28(12)

19. 李笑曼, 等. 国内外食源性兴奋剂误服事件分析与法规标准现状[J]. 食品科学，2019，40(21)

20. 徐成钢, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定牛肉中 18 种β-受体兴奋剂[J]，食品研究与开发, 2016, 37(4)
21. 吴敏，等. 超高效液相色谱-串联质谱测定猪肉中地塞米松、倍他米松和倍氯米松[J]，理化检验(化学分册). 2010,46(11)
22. 刘萍，等. 人血浆中螺内酯及其代谢物坎利酮的 LC-MS 测定[J]，中国医药工业杂志，2008, 39(11)
23. 薛颖，等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和猪肉中利尿剂残留量[J]，食品工业科技，2021, 42(3)
24. 杨旺火，高效液相色谱串联质谱法测定饲料中 8 种利尿剂药物[J]．粮食与饲料工业，2019(4)
25. 许文佳，等. HPLC-MS/MS 法同时测定育发化妆品中的 13 种违禁成分[J]，药物分析杂志. 2019,39(08)
26. Chung, Stephen W. C. Lam, Chi-Ho .Development of a 15-class multiresidue method for analyzing 78 hydrophilic and hydrophobic veterinary drugs in milk, egg and meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical methods. 2015,7(16)
27. 方从容,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 125 种兽药残留[J], 色谱, 2018,36(11)
28. Jian Zhou，Jiao-Jiao Xu，Jin-Mi Cong，ect. Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk[J]. Journal of chromatography,A, 2018,1532(12)
29. Desmarchelier，Aurelien，Fan，Kaili， etc. Determination of 105 antibiotic, anti-inflammatory, antiparasitic agents and tranquilizers by LC-MS/MS based on an acidic QuEChERS-like extraction[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2018,35(4)
30. 莫迎，等. 多壁碳纳米管 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中兽药多残留[J]，食品安全质量检测学报，2019,10(16)
31. 张家华,，等. 猪肉和鸡肉中 11 种同化激素残留超高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. 动物医学进展, 2021,42(4)
32. 严慧, 等. 液相色谱-串联质谱法测定头发中 10 种蛋白同化激素[J].分析化学,2007,7(35)
33. Ping Luo，Xiaohong Liu，Fang Kong. etc.Simultaneous determination of 169 veterinary drugs in chicken eggs with EMR-Lipid clean-up using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Analytical Methods,2019,12(11)
34. Ping Luo, Xiaohong Liu, Fang Kong, etc.Multi-residue determination of 325 pesticides in chicken eggs with EMR-Lipid clean-up by UHPLC–MS/MS and GC–MS/MS[J], Chromatographia, 2020,83(4)
35. 申惠敏. 动物组织中β-兴奋剂类药物残留检测方法研究进展[J]，中国畜牧兽医文摘，2017, 33(7)
36. Musatadi, M，Gonzalez-Gaya, B，Irazola, M，etc.Multi-Target Analysis and Suspect Screening of

Xenobiotics in Milk by UHPLC-HRMS/MS[J]. Separations 2021, 8(2)
37. 食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单 (农业农村部公告第 250 号)[S]，2019 年 12 月 27 日发布
38. 曹玉萍, 等. 液相色谱串联质谱法检测马尿中 32 种蛋白同化激素[J],中国运动医学杂志, 2015, 34(4):394-397
39. 齐鹤鸣 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛肉中 18 种食源性兴奋剂类药物残留[J]，色谱，2018, 36(7)
40.陈晶燕 等. HPLC-MS/MS 法同时测定鸡肉中 40 种糖皮质激素和 9 种非甾体抗炎药物残留[J]，质谱学报，2019,2(40)
41.刘宏程, 等. 基质固相分散-超高效液相色谱-质谱检测器测定牛奶中 9 种类固醇激素残留[J], 2015,33(11)
42. 孙利东, 等. 高效液相色谱．串联质谱法测定牛奶和鸡肉中 4 种激素本底值[J]. 2017,38(22)
43. 庄玥, 等. 快速检测动物源食品中 63 种激素残留[J], 分析实验室, 2019, 38(1):65-71
44. 马俊美，等. 超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱检测猪肉和牛肉中 30 种食源性兴奋剂类药物残留[J]，食品科学. 2021,42(14)
45. AOAC Official Method 2007.01-2007. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate[S]. 2007
46. 范赛，等. 液相色谱一三级质谱法分析尿液中 β_2-受体激动剂及 β-受体阻断剂多组分残留[J]，分析化学，2011，39(8)
47. 刘佳，等. 反相液相色谱-串联质谱法检测猪肝中 26 种 β_2-受体激动剂类药物残留[J].分析化学, 2014,42(10)
48. 王守英，等. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物尿液中 23 种 β-受体激动剂[J]. 食品安全质量检测学报,2021,12(14)
49. 动物源性食品中 11 种激素残留检测液相色谱-串联质谱法[S]. 中华人民共和国国家标准.农业部 1031 号公告-1-2008
50. World Anti-Doping Agency (WADA). Prohibited list 2021[S]. https://www.wada-ama.org/sites/default/ files/resources/files/2021list_en.pdf.
51. 周博, 等. 动物源性样品中盐酸克伦特罗分析测试技术研究进展[J]，标准科学,2019(10)
52. 李永吉, 等. 运动员特供食品中兴奋剂检测研究进展[J]，食品安全质量检测学报,2016, 7(7)
53. 孙健, 等. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法定性筛查中药材熊胆粉中 169 种兽药残留[J]，药学学报，2020,55(1)
54. 张莹, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定斑马鱼中多种激素生物标志物[J]，环境化学, 2021,40(4)
55. 张立佳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛乳中 21 种β-兴奋剂[J]，乳业科学与技术,

2020,43(3)
56. Dan Chen, Qing Xua, Yuepeng Lu, et al. The QuEChERS method coupled with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of diuretics in animal-derived foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2021,101
57. Tan Xin-Tong, Li Zeng-Mei, Deng Li-Gang , et al. Analysis of 13 kinds of steroid hormones in raw milk using modified QuEChERS method combined with UPLC-QTOF-MS[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2016, 15(9)
58. 陈晓鹏, 等. QuEChERS-UPLC-MS_MS 同时测定牛奶和奶粉中 42 种类固醇激素[J]. 食品科学, 2018,39(8)
59. Angela Tartaglia, Francesca D'Ambrosio, Piera Ramundo,et al.Innovative approach to increase sensibility and selectivity in analytical chemistry: QuEChERS method[J]. Reviews in Separation Sciences, 2020, 2 (1)