

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.11.09

液相色谱-串联质谱法检测猪肉中 20 种违禁药物残留的研究

怀文辉, 李 建, 倪香艳, 张晶晶, 魏紫嫣, 李文辉, 赵 莹, 孙志文*

(北京市兽药监察所, 北京 102600)

[收稿日期] 2017-12-27 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 11-0059-09 [中图分类号] S859.84

[摘 要] 建立了猪肉中违禁药物(糖皮质激素、性激素、 β 2-肾上腺素受体激动剂、玉米赤霉烯酮 4 类)同时测定的高效液相色谱-串联质谱方法。试样经盐酸水解, 乙酸乙酯提取, 低温冷冻去除脂类, 亲水亲脂平衡固相萃取柱净化。采用 C18 反相色谱柱分离, 以乙腈+水为流动相梯度洗脱, 分别在电喷雾离子源正、负离子模式下以多反应监测模式(MRM)分段扫描同时检测, 基质匹配内标法定量。结果表明, 20 种违禁药物在相应的浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.99; 该方法在猪肉中的检测限(LOD, $S/N=3$)和定量限(LOQ, $S/N=10$)分别为 0.5、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在 0.5~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平下, 平均回收率为 63.9%~117%, 批内变异系数 1.9%~9.1%, 批间变异系数 4.9%~13.1%。该方法简单、快速、准确, 适用于猪肉中多类违禁药物的残留检测。

[关键词] 高效液相色谱-串联质谱法; 违禁药物; 残留检测

Multi-class Residue Analysis of 20 Illicit Drugs in Pork by High Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

HUAI Wen-hui, LI Jian, NI Xiang-yan, ZHANG Jing-jing, WEI Zi-yan, LI Wen-hui, ZHAO Ying, SUN Zhi-wen*

(Beijing Institute of Veterinary Drugs Control, Beijing 102600, China)

Corresponding author: SUN Zhi-wen, E-mail: sunzw673@163.com

Abstract: A simultaneous multi-class analysis method for illicit drugs (glucocorticoid hormones, sex hormones, β -agonists, zearalenone) in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was established. The samples were hydrolyzed by dilute hydrochloric acid, extracted by ethyl acetate and cryogenically frozen to remove most lipids followed by clean-up with hydrophilic lipophilic balance SPE. The quantification and confirmation of the 20 analytes were performed by LC-MS/MS with electro-spray ionization (ESI) interface in multiple reaction monitoring (MRM) mode. Matrix matching internal standard method was hired for quantitative analysis. The results showed that 20 illicit drugs were linear in the corresponding concentration range, and the correlation coefficient was greater than 0.99. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs)

基金项目: 北京市科学技术委员会北京市科技重大专项(D171100002017004)

作者简介: 怀文辉, 博士, 从事兽药残留检测技术研究。

通讯作者: 孙志文。E-mail: sunzw673@163.com

were 0.2~0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.5~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The spiked recoveries at three levels were from 63.9% to 117%. The repeatability and the within-laboratory reproducibility were from 1.9% to 9.1% and from 4.9% to 13.1%, respectively. The method is simple, rapid, accurate and suitable for simultaneous residue detection of multi-class illicit drugs in pork.

Key words: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; illicit drugs; residue analysis

动物产品中的违禁药物主要包括糖皮质激素、肾上腺激素、性激素及 β 肾上腺素受体激动剂等,因其具有缩短动物生长周期的作用而常被用于养殖生产中^[1]。该类药物具有致突变、致畸形、致癌的潜在危害^[2]。研究指出,儿童性早熟、妇女乳腺癌和子宫癌发病率的上升与动物源性食品中性激素摄入有关^[3]。农业部相关公告曾明确规定^[2],孕激素、性激素、同化激素及化学合成类激素等在动物性食品中不得检出,在体育比赛中为不得使用的违禁药物。目前,违禁药物残留检测方法主要有酶联免疫法^[4]、液相色谱法^[5]、气相色谱-质谱法^[6]及液相色谱-串联质谱法^[7-8]等。酶联免疫法具有较高灵敏度,但容易出现假阳性结果^[2];HPLC 法抗干扰能力较差,且灵敏度不能满足痕量残留检测的要求;GC-MS 法样品衍生化前处理繁琐耗时。LC-MS/MS 方法由于无需对样品进行衍生化处理,并具有抗干扰能力强、定性能力强、灵敏度高等优点,是该类药物残留检测的发展方向。但目前尚无同时检测多类违禁药物残留的高通量检测方法,现有的 LC-MS/MS 检测方法通常仅针对单类药物的残留检测,检测效率低,成本较高,难以满足不断增加的监管检测任务的要求。

本研究将样品酸水解,以乙酸乙酯提取猪肉中的违禁药物,并以低温冷冻后离心结合固相萃取的方法除脂,建立了猪肉中 20 种违禁药物残留同时测定的高效液相色谱-串联质谱方法,具有快速、准确的优点,可显著提高违禁药物多残留检测效率。

1 材料

1.1 仪器 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司,Xevo TQ-S);电子分析天平(北京赛多利斯有限公司);旋转蒸发仪(上海爱明仪器有限公司);冷冻离心机(美国 Sigma 公司);氮吹仪(美

国 Caliper 公司);Oasis Prime HLB 固相萃取柱(6 mL, 200 mg)、固相萃取柱装置(美国 Waters 公司)。

1.2 试剂 克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、喷布特罗、西马特罗、甲基睾酮、丙酸睾酮、大力补、群勃龙、睾酮、黄体酮、氟氢可的松、氢化可的松、泼尼松、泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、倍氯米松、玉米赤霉烯酮(Dr. Ehrenstorfer 公司),纯度 $\geq 98.0\%$ 。甲醇、氨水、甲酸、乙腈、乙酸铵、甲酸铵、氢氧化钠、硫酸镁(国药集团)。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 标准储备液的配制 精密称取 10 mg 克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、喷布特罗、西马特罗、甲基睾酮、丙酸睾酮、大力补、群勃龙、睾酮、黄体酮、氟氢可的松、氢化可的松、泼尼松、泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、倍氯米松、玉米赤霉酮、玉米赤霉烯酮、睾酮-D3、黄体酮-D9、玉米赤霉烯酮-D4、玉米赤霉醇-D5、地塞米松-D5、氟氢可的松-D5、克仑特罗-D9、莱克多巴胺-D5、沙丁胺醇-D3,分别置于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 0.1 mg/mL 标准贮备液。 -20°C 避光保存。克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、喷布特罗、西马特罗、甲基睾酮、丙酸睾酮、大力补、群勃龙、睾酮、黄体酮、氟氢可的松、氢化可的松、泼尼松、泼尼松龙、地塞米松、倍他米松、倍氯米松标准储备液有效期 6 个月。玉米赤霉酮、玉米赤霉烯酮标准贮备液有效期 3 个月。

2.1.2 标准工作液的配制 精密量取 0.1 mg/mL 标准储备液各 1.0 mL,于 100 mL 棕色容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作液。精密量取 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作液 0.5 mL,

于10 mL棕色容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,配制
成浓度为0.05 μg/mL的混合标准工作液。

2.2 样品前处理

2.2.1 样品的提取 准确称取(5±0.05) g 试样于
50 mL离心管中,加入内标工作液0.1 mL,0.1 mol/L
盐酸2 mL,涡旋混匀后50℃超声波处理20 min。
以10 mol/L氢氧化钠溶液调节pH 10.0。加入乙酸
乙酯20 mL,振荡10 min。-20℃冷冻30 min。
5000 r/min离心10 min。上清转移至鸡心瓶。下
层用乙酸乙酯20 mL如上重复提取1次,离心,合
并上清。40℃旋转蒸发至干。加入乙腈氨水溶液
(氨水:乙腈:水,3:5:92)5 mL溶解残渣,备用。

2.2.2 样品的净化 Oasis Prime HLB固相萃取柱
(6 mL, 200 mg)依次用甲醇、水各6 mL活化,取全
部备用液过柱,用乙腈氨水溶液(氨水:乙腈:水,
3:5:92)6 mL淋洗,抽干。以洗脱液(乙酸乙
酯:甲醇,6:4)6 mL洗脱,收集洗脱液,40℃下氮
气吹干。加入样品复溶液(乙腈:10 mmol/L 甲酸
铵溶液,5:95)0.5 mL溶解残余物,-20℃冷冻
30 min。15000 r/min离心5 min,上清液过0.22 μm
滤膜,供高效液相色谱-串联质谱仪测定。

2.3 仪器测定条件

2.3.1 液相色谱条件 Waters Acquity BEH C18反
相色谱柱(规格50 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相
A:水,流动相B:乙腈;流速:0.25 mL/min;进样量:
10 μL,柱温40℃。梯度洗脱条件见表1。结果表
明该色谱条件分离药物效果良好(图1、图2)。

表1 色谱梯度洗脱条件

Tab 1 Program of gradient elution

时间/min	A/%	B/%
0.00	10.0	90.0
1.00	10.0	90.0
3.50	90.0	10.0
4.00	90.0	10.0
5.00	10.0	90.0

2.3.2 质谱测定条件

2.3.2.1 正离子扫描模式 离子源:电喷雾(ESI)

离子源;检测方式:多反应监测;电离电压:2.0 kV;
雾化温度:450℃;锥孔气流速:150 L/h;雾化气流
速:700 L/h。母离子、子离子质谱参数见表2。结
果表明,在该条件下各药物质谱响应灵敏度较高。

2.3.2.2 负离子扫描模式 离子源:电喷雾(ESI)
离子源;检测方式:多反应监测;电离电压:2.0 kV;
雾化温度:450℃;锥孔气流速:150 L/h;雾化气流
速:700 L/h。母离子、子离子质谱参数见表2。结
果表明,在该条件下各药物质谱响应灵敏度较高。

2.4 线性关系考察 取空白样品,加入适量内标,
经提取和净化后,添加系列标准溶液,制得浓度为
1、2、5、10、100 μg/kg的基质匹配标准溶液,40℃
氮气吹干。残余物以样品复溶液0.5 mL溶解,
-20℃放置30 min。15000 r/min高速离心5 min,
取上清过0.22 μm滤膜,供高效液相色谱-串联质
谱仪测定。以特征离子质量色谱峰面积与相应内
特征离子质量色谱峰面积之比为纵坐标,标准溶液
浓度为横坐标,绘制基质匹配标准曲线。结果见
表3、表4。表明本方法在1~100 μg/kg浓度范围
内线性关系良好。

2.5 准确度和精密度考察 准确称取空白样品
(5±0.05) g于50 mL离心管,准确加入浓度为
0.05 μg/mL的混合标准工作液适量,配制成添加
浓度分别为0.5、5、10 μg/kg的样品,充分混匀。按
照2.2~2.4项方法进行测定,每个浓度设5个平
行,连续做3 d,计算添加回收率、批内变异系数和
批间变异系数,结果见表5。方法的回收率在
63.9%~117%范围内。批内变异系数1.9%~9.1%,
批间变异系数4.9%~13.1%。表明方法准确度高,
精密度较好。

2.6 检出限和定量限的确定 准确称取空白样
品,分别准确加入适量混合标准工作液,配制成不
同浓度的添加样品。按照2.2~2.4项方法进行测
定,根据色谱峰对峰的响应值比值,信噪比(S/N)
等于3时的药物浓度确定为方法检出限,信噪比等
于10时的药物浓度确定为方法定量限。结果表
明,本文建立的检测方法的检出限为0.5 μg/kg,定
量限为1.0 μg/kg。

2.7 样本检测结果 采用本方法对本地屠宰加工企业、养殖厂、大型批发市场猪产品开展样品违禁药物检测。完成 40 个猪肉样品的检测。氢化可的松和黄体酮有少量检出,浓度较低。

表 2 药物 MRM 参数
Tab 2 Mass parameters of 20 banned drugs

化合物名称	离子源	定性定量 离子对	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV	化合物名称	离子源	定性定量 离子对	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
克伦特罗	ESI ⁺	277.1/202.8 [*] 277.1/258.9	28	15 11	氢化可的松	ESI ⁻	407.0/331.0 [*] 407.0/361.0	30	18 12
沙丁胺醇	ESI ⁺	240.1/147.7 [*] 240.1/221.9	24	18 10	氟轻可的松	ESI ⁻	467.0/349.0 467.0/421.0 [*]	45	24 10
莱克多巴胺	ESI ⁺	302.3/106.7 302.3/163.8 [*]	28	30 15	泼尼松	ESI ⁻	403.0/327.0 [*] 403.0/357.0	30	18 14
西马特罗	ESI ⁺	220.2/160.2 220.2/201.9 [*]	30	16 10	泼尼松龙	ESI ⁻	405.0/329.0 [*] 405.0/359.0	30	18 14
特步他林	ESI ⁺	226.1/125.1 226.1/152.1 [*]	32	24 16	地塞米松	ESI ⁻	437.0/361.0 [*] 437.0/391.0	40	20 10
喷布特罗	ESI ⁺	292.3/201.1 292.3/236.2 [*]	32	20 15	倍他米松	ESI ⁻	437.0/361.0 [*] 437.0/391.0	40	22 12
群勃龙	ESI ⁺	271.2/199.2 [*] 271.2/253.2	35	28 24	倍氯米松	ESI ⁻	453.3/377.2 [*] 453.3/407.2	35	16 12
睾酮	ESI ⁺	289.1/96.9 [*] 289.1/109.0	44	20 26	玉米赤霉 烯酮	ESI ⁻	317.0/175.0 [*] 317.0/273.0	40	30 16
甲基睾酮	ESI ⁺	303.1/96.9 [*] 303.1/109.0	42	26 26					
黄体酮	ESI ⁺	315.2/97.0 [*] 315.2/109.0	20	20 25					
丙酸睾酮	ESI ⁺	345.2/97.0 [*] 345.2/109.0	40	20 25					
大力补	ESI ⁺	301.0/120.9 [*] 301.0/149.0	40	24 16					

^{*} 定量离子对

表 3 药物标准曲线回归方程及相关系数(r^2) (ESI⁺)
Tab 3 Regression equations, correlation coefficients of the banned drugs(r^2) (ESI⁺)

药物名称	回归方程	相关系数(r^2)
克伦特罗	$y = 34379x - 17685$	0.9998
沙丁胺醇	$y = 14056x - 12586$	0.9995
莱克多巴胺	$y = 59872x - 70604$	0.9989
西马特罗	$y = 156972x - 240820$	0.9987
特步他林	$y = 119910x - 215352$	0.9986
喷布特罗	$y = 557122x - 960740$	0.9992
群勃龙	$y = 25488x - 73464$	0.9983
睾酮	$y = 25320x - 42841$	0.9979
甲基睾酮	$y = 14737x + 23002$	0.9987
黄体酮	$y = 52983x - 16469$	0.9975
丙酸睾酮	$y = 65443x - 208304$	0.9901
大力补	$y = 6275.6x + 2320.7$	0.9997

表 4 药物标准曲线回归方程及相关系数(r^2) (ESI⁻)

Tab 4 Regression equations, correlation coefficients of the banned drugs(r^2) (ESI⁻)

药物名称	线性方程	相关系数(r^2)
氢化可的松	$y = 12357x + 5416.4$	0.9998
氟轻可的松	$y = 5037.2x + 842.31$	0.9989
泼尼松	$y = 24189x + 10375$	0.9996
泼尼松龙	$y = 6157.7x + 3545.2$	0.9995
地塞米松	$y = 11223x - 10295$	0.9992
倍他米松	$y = 94456x + 84145$	0.9998
倍氯米松	$y = 31834x + 1929$	0.9997
玉米赤霉烯酮	$y = 8565x + 4439.5$	0.9992

表 5 猪肉添加样品检测准确度及精密度

Tab 5 Recoveries and RSDs of the banned drugs spiked in porcine muscle samples

药物名称	添加浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加回收率 /%	批内变异 系数($n=5$)	批间变异 系数($n=3$)	药物名称	添加浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加回收率 /%	批内变异 系数($n=5$)	批间变异 系数($n=3$)
克伦特罗	0.5	96.8	3.9	8.6	氢化可的松	0.5	98.7	5.2	9.3
	5	95.9	4.6	7.2		5	98.9	5.4	10.4
	10	102	4.1	9.2		10	99.1	5.9	11.4
沙丁胺醇	0.5	98.1	4.0	8.4	氟轻可的松	0.5	89.2	3.8	7.0
	5	99.1	3.5	7.4		5	92.2	6.4	13.1
	10	99.5	3.4	7.7		10	91.9	2.1	10.7
莱克多巴胺	0.5	98.9	3.8	5.3	泼尼松	0.5	79.1	7.2	11.4
	5	99.3	4.2	6.9		5	78.9	4.8	13.1
	10	99.3	3.9	5.2		10	79.9	5.2	8.9
西马特罗	0.5	87.1	4.8	8.0	泼尼松龙	0.5	81.0	4.4	7.1
	5	85.9	4.1	8.9		5	79.9	6.2	9.4
	10	88.9	4.6	5.7		10	80.8	3.9	8.7
特步他林	0.5	78.2	4.1	11.1	地塞米松	0.5	97.9	5.3	12.0
	5	73.9	6.9	9.3		5	98.9	3.3	8.9
	10	76.1	5.4	7.6		10	99.7	4.5	9.7
喷布特罗	0.5	108	5.1	9.8	倍他米松	0.5	96.9	5.2	7.7
	5	112	3.2	12.2		5	99.1	3.2	8.1
	10	117	8.3	10.7		10	99.7	2.4	6.0
群勃龙	0.5	63.9	6.1	8.3	倍氯米松	0.5	82.2	2.9	5.9
	5	65.4	7.7	10.4		5	81.8	3.4	7.1
	10	65.1	4.5	12.0		10	83.2	5.1	9.4
睾酮	0.5	98.8	4.2	8.3	玉米赤霉 烯酮	0.5	73.3	3.1	7.0
	5	98.9	7.9	5.2		5	74.2	3.8	5.6
	10	103	4.6	7.1		10	74.8	4.2	8.3

续表

药物名称	添加浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加回收率/%	批内变异系数($n=5$)	批间变异系数($n=3$)
甲基睾酮	0.5	78.9	3.2	6.8
	5	76.9	1.9	4.9
	10	77.2	9.1	12.4
黄体酮	0.5	97.3	6.6	7.2
	5	99.2	5.3	6.4
	10	99.0	3.9	8.5
丙酸睾酮	0.5	103	5.1	10.2
	5	114	4.2	7.4
	10	96.3	2.8	8.2
大力补	0.5	69.2	3.9	9.2
	5	73.1	2.8	7.9
	10	72.9	6.6	8.3

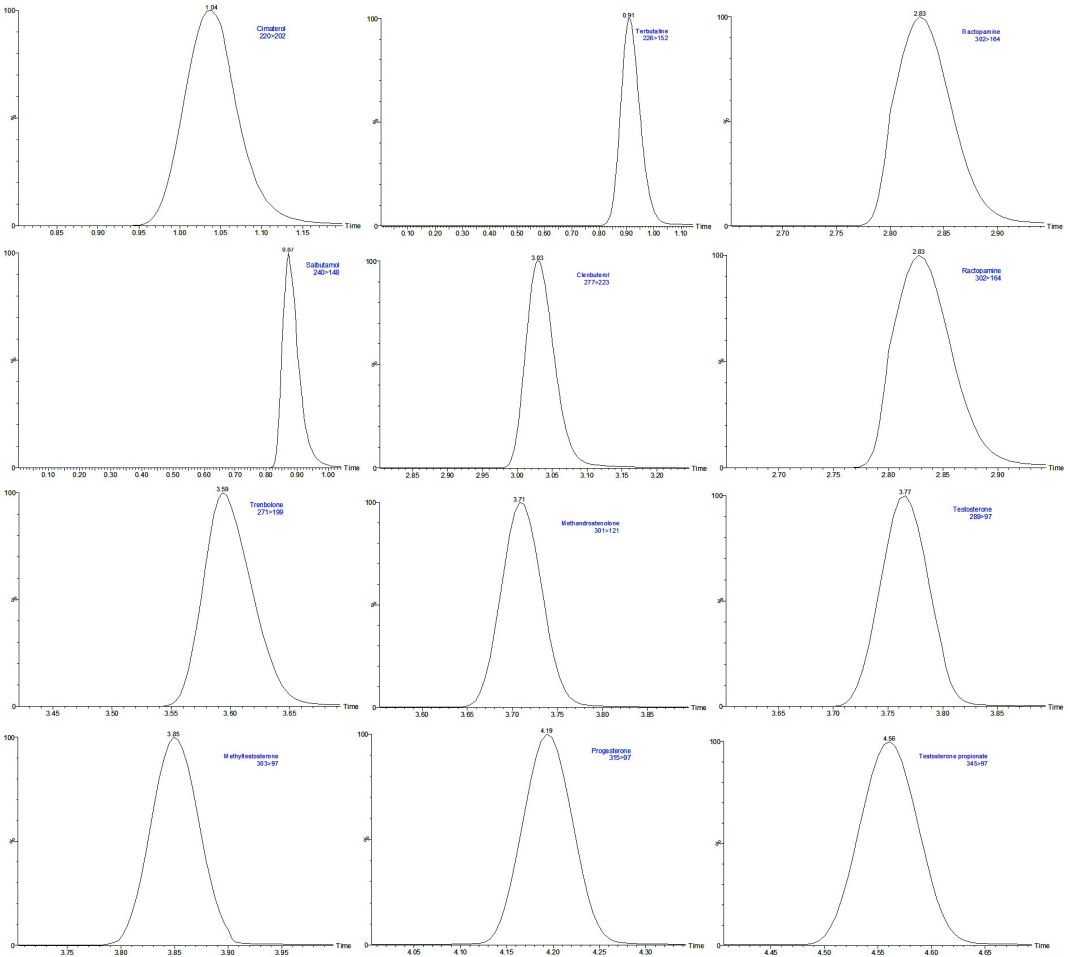


图 1 药物混合标准溶液提取离子色谱图 (ESI⁺) (1.0 ng/mL)

Fig 1 Extracted ion chromatograms of the illicit drugs (ESI⁺) (1.0 ng/mL)

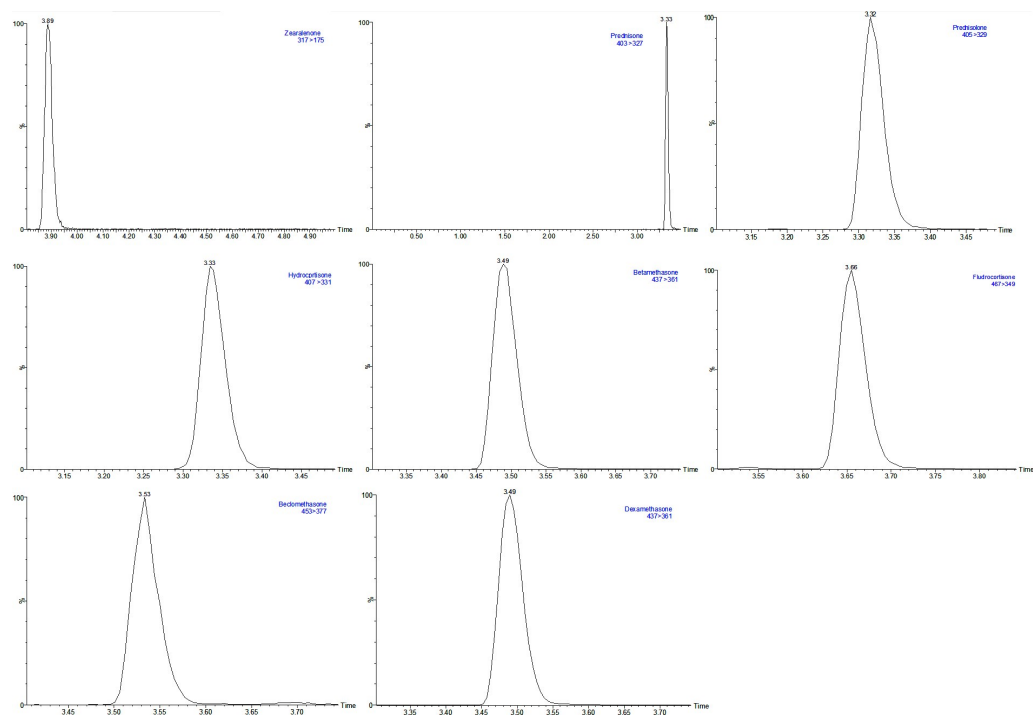


图 2 药物混合标准溶液提取离子色谱图(ESI⁻) (1.0 ng/mL)

Fig 2 Extracted ion chromatograms of the illicit drugs(ESI⁻) (1.0 ng/mL)

3 讨论与分析

3.1 提取方法的选择 违禁药物脂溶性通常较强,可溶于甲醇、乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂,易溶于三氯甲烷,但三氯甲烷毒性较大,很少选用。相关研究指出^[9-10],乙酸乙酯和乙腈的提取效果较好。考虑到提取过程中杂质干扰和回收率测定,乙腈提取易使样品结团,乙酸乙酯提取则不易结团,振荡混匀效果好,且浓缩过程中耗时短,因此,选用乙酸乙酯为前处理提取试剂。

3.2 净化方法的选择 样品杂质主要为蛋白质、脂类及极性小分子成分。本文建立的方法是同时检测多类药物残留,提取和检测仪器方法原理存在差异,因此,尽量减低基质效应是方法要解决的关键问题。蛋白质和极性小分子成分可通过有机试剂去除^[11]。脂类对检测响应有较大干扰作用,常用去脂方法是正己烷萃取,但药物中同化激素类药物脂溶性强,正己烷除脂会造成部分检测目标药物的损失。根据相关报道^[12-13],采用低温冷冻的方法可以有效去除脂类,本文在前处理阶段采用了低温除脂方法。由于部分药物如 β -受体激动剂等

带有含氮极性基团,有一定的水溶性,为使药物提取充分,在提取液中加入适量氨水以保证得到理想的回收率。为进一步净化,采用了 Prime HLB 固相萃取柱,该固相萃取柱为新型净化产品,能有效去除磷脂等杂质,并取得较好的净化效果。

3.3 仪器方法的优化 违禁药物的分离多采用 C18 反相色谱柱^[10,14-15]。本研究采用 C18 反相色谱柱分离,以乙腈+水(含 10 mmol/L 甲酸铵)作为流动相,梯度洗脱。结果表明以乙腈+水(含 10 mmol/L 甲酸铵)为流动相,检测药物有良好的色谱分离效果。同时流动相中加入低浓度挥发性的甲酸铵,可兼顾正离子和负离子模式的质谱响应,色谱峰峰形较优。由于该类药物化学结构有较大差异,导致其对流动相、流速、色谱柱等的响应和灵敏度不同,甚至会出现离子抑制或者增强效应,所以需要考虑兼顾多数化合物的情况,同时进行适当的分段采集分组,以达到满意的效果^[10,16]。质谱响应类型分别适于正离子模式和负离子模式下检测。本研究建立的方法,前处理过程通用于两种离子化模式药物的提取,样品液可同时满足正离子模

式和负离子模式下的仪器测定。

3.4 样本的测定 采用本文建立方法完成 40 个猪肉样品的检测。氢化可的松和黄体酮有少量检出, 浓度较低, 应为内源性来源。根据我国农业部 235 号公告等法规要求, 该类药物不得检出。本研究目的是探索建立猪肉中糖皮质激素类、性激素类、 β -受体激动剂类、玉米赤霉醇类药物残留同时检测方法。为全面了解违禁药物的在猪肉中的残留情况, 还需要增加采样环节、采样地区以及扩大采样量, 进行更多样本的检测。

4 结 论

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱技术建立了猪肉样品中多类违禁药物残留的快速筛查方法, 对前处理条件、净化方式、色谱和质谱条件等进行了优化, 并进行了方法学考察。结果表明, 该方法快速、灵敏、准确且稳定; 适用于动物性产品中不同离子模式多类违禁药物残留同时分析检测的要求, 可显著提高违禁药物的检测效率。

参考文献:

- [1] 孟霞, 谢世红, 谢世涛, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定黄鳝肌肉组织中 6 种激素残留[J]. 分析科学学报, 2015, 31(2): 208-212.
Meng X, Xie S H, Xu J H, *et al.* Simultaneous determination of six hormones in muscle tissues of *Monopterus albus* using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Analytical science, 2015, 31(2): 208-212.
- [2] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. QuEChERS/液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中 30 种激素类及氯霉素类药物残留[J]. 分析测试学报, 2011, 30(12): 1329-1337.
Luo H T, Huan X L, Wu H Q, *et al.* Determination of Cefotaxime residue in poultry egg by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Fng Xi Ce Shi Xue Bao (Journal of Instrumental Analysis), 2010, 29(8): 772-776.
- [3] 张爱芝, 王全林, 沈坚, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼制品中残留的 7 种性激素[J]. 色谱, 2010, 28(2): 190-196.
Zhang A Z, Wang Q L, Shen J, *et al.* Simultaneous determination of seven sex hormones in fish products using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2010, 28(2): 190-196.
- [4] 谭慧, 麦琦. 酶联免疫分析法测定水产品中氯霉素残留量

[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(7): 1649-1650.

Tan H, Mai Q. Determination of chloramphenicol residues in aquatic products by enzyme immunoassay[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2010, 20(7): 1649-1650.

- [5] 王水良, 王平, 王趁义. 固相萃取-高效液相色谱法测定马尾松组织中内源激素[J]. 分析科学学报, 2010, 26(5): 547-550.

Wang S L, Wang P, Wang C Y. Determination of endogenous hormones in *Pinus massoniana* lamb using solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. Journal of Analytical Science, 2010, 26(5): 547-550.

- [6] 林维宣, 董伟峰, 陈溪, 等. 气相色谱-质谱法同时检测动物组织中多种激素类兽药的残留量[J]. 色谱, 2009, 27(3): 294-298.

Lin W X, Dong W F, Chen X, *et al.* Determination of hormone multi-residues in animal tissues by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2009, 27(3): 294-298.

- [7] P Regal, B I Vázquez, C M Franco, *et al.* Quantitative LC-MS/MS method for the sensitive and simultaneous determination of natural hormones in bovine serum[J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2009, 877(24): 2457.

- [8] M M Kushnir, A L Rockwood, W L Roberts, *et al.* Liquid chromatography tandem mass spectrometry for analysis of steroids in clinical laboratories [J]. Clinical Biochemistry, 2011, 44(1): 77-88.

- [9] 陈君慧, 路勇, 冯楠, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物肌肉组织中的 14 种激素[J]. 食品工业科技, 2013, 34(8): 74-79.

Chen J H, Lu Y, Feng N, *et al.* Determination of fourteen hormones in animal muscle tissues using ultra-perform liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(8): 74-79.

- [10] 张学亮, 罗云敬, 路勇, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱法同时测定牛肉与牛奶中 20 种性激素残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(4): 388-394.

Zhang X L, Luo Y J, Lu Y, *et al.* Simultaneous Determination of 20 kinds of hormones residues in beef and milk by ultra-high performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Fenxi Ceshi Xuebao (Journal of Instrumental Analysis), 2015, 34(4): 388-394.

- [11] 孙利东, 许秀丽, 袁飞, 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]. 食品科学, 2017, 38(22): 291-297.

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.11.10

犬椎间盘病治疗中常用抗炎药物合理应用研究

张 荣, 陈 武*

(北京农学院兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206)

[收稿日期] 2018-05-03 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 11-0067-05 [中图分类号] S859.796

[摘 要] 犬椎间盘病(IVDD)继发性损伤中的炎症反应过程复杂,临床中如何选用相应药物成为了治疗难点。目前临床常用的两大类用于椎间盘病抗炎治疗的药物包括甾体类与非甾体类抗炎药(NSAIDs),它们的使用一直以来存在很大的争议。了解它们各自的药理特性十分重要,本文结合这两大类药物作用机制及疗效研究展开对二者的合理用药分析,以期为临床 IVDD 抗炎药物的选用提供参考。

[关键词] 犬;椎间盘病;抗炎疗法;糖皮质激素;非甾体类抗炎药

Analysis of Rational Use of Commonly Used Anti-inflammatory Drugs in Clinic for Canine Intervertebral Disc Disease

ZHANG Rong, CHEN Wu*

(Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Corresponding author: CHEN Wu, E-mail: tcvmchenwu@hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金 31372473;18 科技创新服务能力建设-中关村开发实验室项目(5075227115/064)

作者简介: 张 荣,执业兽医师,硕士生,从事小动物临床中西医结合方向研究。

通讯作者: 陈 武。E-mail:tcvmchenwu@hotmail.com

- Sun L D, Xu X L, Yuan F, *et al.* High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of background values of 4 hormones in milk and chick[J]. Food Science, 2017, 38(22):291-297.
- [12] Jungju Seo, Hye-Young Kim, Bong Chul Chung, *et al.* Simultaneous determination of anabolic steroids and synthetic hormones in meat by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2005, (1067): 303-309.
- [13] Jie Xie, Tao Peng, Ailing Zhu, *et al.* Multi-residue analysis of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in dairy products by liquid chromatography - tandem mass spectrometry using low-temperature cleanup and solid phase extraction[J]. Journal of Chromatography A, 2015, (1012): 19-29.
- [14] 康海宁, 欧阳姗, 林 黎, 等. 液相色谱-串联质谱法检测动物肝肾组织中 3 种雌激素[J]. 色谱, 2012, 30(10): 986-990.
- Kang H N, Ou Y S, Lin L, *et al.* Determination of three estrogens in animal liver and kidney tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(10): 986-990.
- [15] Ana Masi, Maria Morales Suarez-Varela, Agustin Llopis-Gonzalez, *et al.* Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review[J]. Analytica Chimica Acta, 2016(936): 40-61.
- [16] Goyon A, Cai J Z, Kraehenbuehl K, *et al.* Determination of steroid hormones in bovine milk by LC-MS/MS and their levels in Swiss Holstein cow milk[J]. Food Additives and Contaminants: Part A, 2016, 33(5): 804-816.

(编辑:侯向辉)