

超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和淋巴肉中前列腺素E₂含量

汪薇, 吴婉琴, 江丰*, 朱晓玲, 张莉

(湖北省食品质量监督检验研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北武汉 430075)

摘要: 该文建立了基于超高效液相色谱-串联质谱测定猪肉和淋巴肉中前列腺素E₂含量的方法。猪肉及淋巴肉样品经乙腈提取, 乙腈饱和的正己烷除脂, HLB固相萃取柱净化, 洗脱液于45℃下用氮气吹至近干, φ=50%乙腈水(含0.2%甲酸)溶液复溶后测定。以0.1%甲酸溶液和乙腈为流动相, 采用C₁₈色谱柱分离, 负离子模式进行多反应监测。猪肉及其制品中前列腺素E₂的检测限为10 μg/kg, 定量限为20 μg/kg。方法中前列腺素E₂回收率在90%~120%范围内, 精密度小于15.0%, 方法的准确度和精密度均满足定量分析的要求。利用所建立的方法测定实际样本, 非淋巴肉样本中前列腺素E₂的本底值低于定量限, 淋巴肉样本中前列腺素E₂的含量范围为20.7~101.0 μg/kg, 通过测定样本中前列腺素E₂的含量可作为鉴别淋巴肉的一种辅助手段。该方法准确度高, 可推广性强, 为打击淋巴肉违法使用提供有力的技术支持。

关键词: 前列腺素E₂; 淋巴肉; 猪肉及其制品; 质谱

文章编号: 1673-9078(2024)07-276-285

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.7.0830

Determination of Prostaglandin E₂ in Pork and Lymph Nodes by Ultra-Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

WANG Wei, WU Wanqin, JIANG Feng*, ZHU Xiaoling, ZHANG Li

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food for State Market Regulation, Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

Abstract: A method was developed for the determination of prostaglandin E₂ in pork and lymph nodes based on ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Samples were extracted with acetonitrile, defatted with acetonitrile-saturated *n*-hexane, cleaned up by HLB solid-phase extraction columns, and the eluates were blown to near-dryness with nitrogen at 45 °C and determined by re-solubilizing in a 50% acetonitrile solution containing 0.2% formic acid. The separation was conducted on a C₁₈ column with 0.1% formic acid solution and acetonitrile as mobile phases,

引文格式:

汪薇, 吴婉琴, 江丰, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和淋巴肉中前列腺素E₂含量[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 276-285.

WANG Wei, WU Wanqin, JIANG Feng, et al. Determination of prostaglandin E₂ in pork and lymph nodes by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 276-285.

收稿日期: 2023-07-11

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2021MK070); 国家重点研发计划(2018YFC1602303)。

作者简介: 汪薇(1989-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品分析, E-mail: wangwei_hbqt@163.com

通讯作者: 江丰(1985-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品分析, E-mail: 349136833@qq.com

and the multiple reaction monitoring was performed in negative ion mode. The limit of detection for prostaglandin E₂ in pork and its products was 10 μg/kg, and the limit of quantification was 20 μg/kg. The recoveries of prostaglandin E₂ in the method were in the range of 90~120%, and the precision was below 15.0%. The accuracy and precision of the method met the requirements for quantitative analysis. The values of prostaglandin E₂ in non-lymph node samples were below the limit of quantification using the established method, and the range of prostaglandin E₂ in lymph node samples was 20.7~101.0 μg/kg. By determining the amount of prostaglandin E₂ in a sample, it can be used as an aid in identifying lymph nodes. This method is highly accurate and generalizable, and it provides strong technical support for combating the illegal use of lymph nodes.

Key words: prostaglandin E₂; lymph nodes; pork and its products; mass spectrometry

猪肉是蛋白质的重要来源之一,其质量一直备受消费者关注^[1]。淋巴结被认为是食源性致病菌、病毒、激素和其他毒素的潜在来源,食用后可扰乱人体正常的内分泌代谢,引起人畜共患病^[2,3]。《中华人民共和国动物防疫法》等法律明令禁止含有甲状腺、肾上腺和病变淋巴腺的肉类流向市场。因此,淋巴结分布较集中的组织,如咽后和颈部浅表(俗称“淋巴肉”),将在猪胴体离开屠宰场之前被切除^[4]。然而,一些不法商贩为降低生产成本,将淋巴肉以低价碎肉、边角料的名义偷偷出售,或加工成馅料,经绞碎后,很难从外观和味道上辨别淋巴肉^[5],严重危害了人民群众的身体健康和生命安全,引起社会的高度关注。

前列腺素 E₂ (Prostaglandin E₂, PGE₂) 是一种极其重要的脂质代谢产物,由细胞膜磷脂释放的游离花生四烯酸经过级联酶促反应代谢合成^[6]。前列腺素的合成是由细胞膜上的刺激触发的,这些刺激可能具有生理、药理或病理性质,尤其是有害刺激时被释放,通过旁分泌或自分泌的方式与靶细胞上的特异受体结合发挥作用^[7]。前列腺素含量与炎症呈显著正相关^[6-8]。本实验室前期通过食品组学技术发现前列腺素 E₂ 在淋巴结和可食用猪肉中的含量具有显著差异,可作为鉴别淋巴肉的特征指标。目前,前列腺素的检测方法主要有高效液相色谱法与荧光或紫外联用技术 (HPLC-AFS/UV)^[9]、液相色谱-质谱联用 (LC-MS/MS)^[10]、气相色谱-质谱联用 (GC-MS/MS)^[11]、酶免疫测定法和放射免疫测定法^[12]。HPLC-UV、GC/MS 和免疫分析的特异性、灵敏度较低,且需要衍生化。LC-MS/MS 方法快速、灵敏,适用于前列腺素的定量分析。Enzler 等^[10]采用 LC-MS/MS 法测定人血浆中 6-酮前列腺素 F_{1α} 及其代谢产物。任兴权等^[13]建立了洋葱中 5 种前列腺素的液相色谱-串联质谱检测方法。但当前方法仍存在基质效应强,目标物与基质无法有效分离,方法特异性差等问题,不适用于猪肉

等油脂、蛋白质含量较高的复杂基质,对于猪肉及“淋巴肉”中前列腺素 E₂ 定量分析目前还未有报道。

本文拟建立猪肉和淋巴肉中前列腺素 E₂ 的 UPLC-MS/MS 定量分析方法,分别对前列腺素 E₂ 质谱参数和液相色谱条件进行优化,分析不同提取溶剂和净化方式对前列腺素 E₂ 回收率的影响,对所建方法进行方法学考察,并将其应用于实际样品中,为淋巴肉鉴别提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

前列腺素 E₂ (CAS 号: 363-24-6) 及内标前列腺素 E₂-d₄ (CAS 号: 34210-10-1), 均购于阿尔塔科技有限公司 (天津), 纯度均 ≥98%; 乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯, 其余为分析纯, 购于国药集团化学试剂有限公司。固相萃取柱 HLB, 200 mg/6 mL, 上海安谱实验科技股份有限公司; 0.22 μm 有机相微孔滤膜, 上海安谱实验科技股份有限公司; 猪淋巴肉样本由定点屠宰场提供, 猪肉、香肠、肉馅、炸肉丸等样品购于农贸市场。

1.2 仪器与设备

Triple Quad 5500 三重四级杆质谱仪, 美国 AB SCIEX 公司; Nexera LC-40 X3 超高效液相色谱仪, 岛津仪器 (苏州) 有限公司; ME2002E/02 天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; Trayster digital 翻转式混匀器, 德国艾卡公司; N-EVAP 112 氮吹仪, 美国 Organomation 公司; CLT55 离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

称取前列腺素 E₂ 标准品和前列腺素 E₂-d₄ 标准

品, 分别用乙腈-甲醇溶液(1:1, *V/V*)配制成标准储备液和内标储备液。分别准确移取前列腺素 E₂ 和内标前列腺素 E₂-d₄ 储备液适量, 用乙腈水(1:1, *V/V*, 含 0.2% 甲酸)溶液稀释, 配制成前列腺素 E₂ 质量浓度为 10、20、50、100、200 和 500 ng/mL 的标准系列工作液, 内标前列腺素 E₂-d₄ 质量浓度为 50 ng/mL, 标准系列工作液现用现配。

1.3.2 样品制备与前处理

取具有代表性的样品 500 g, 用组织粉碎机粉碎, 混匀。装入洁净的盛样容器内, 密封并标明标记。将试样于 -18 °C 冷冻保存。称取试样 2.0 g (精确至 0.01 g) 置于 50 mL 具塞塑料离心管中, 加入 100 离心内标储备液 (1.0 μg/mL) 和 1 mL 水, 涡旋 1 min, 再加入 10 mL 乙腈, 涡旋 15 min 后, 4 000 r/min 离心 5 min。取上清液加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡旋 1 min 后, 4 000 r/min 离心 5 min, 取下层溶液, 于 45 °C 下用氮气吹至近干, 加入 2 mL 甲醇, 涡旋 1 min 溶解残渣, 再加入 6 mL 水, 待净化。

固相萃取柱 HLB 小柱, 预先依次用 6 mL 甲醇和 6 mL 水活化, 取全部上样液上样, 控制流量约 1 mL/min, 用 6 mL 30% 甲醇水溶液 (*V/V*) 淋洗, 弃去全部流出液, 减压抽干 5 min, 再用 6 mL 甲醇洗脱, 洗脱液于 45 °C 下用氮气吹至近干, 加入 2 mL 乙腈水(1:1, *V/V*, 含 0.2% 甲酸)溶液, 涡旋 1 min 溶解残渣, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 滤液供超高效液相色谱-串联质谱仪测定。

1.3.3 液相色谱条件

色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液, B 为乙腈, 梯度洗脱程序: 0~5 min, 30% B, 5~8 min, 35% B, 8~11 min, 95% B, 11~14 min, 保持 95% B, 14~14.1 min, 30% B, 14.1~17 min, 30% B。流速: 0.3 mL/min; 柱温: 50 °C; 进样量: 3 μL。

1.3.4 质谱条件

离子源: 电喷雾 (ESI) 离子源; 扫描方式: 负离子扫描; 检测方式: 多反应监测 (MRM); 喷雾电压: 4 500 V; 离子化温度: 550 °C; 辅助气 1: 55 psi; 辅助气 2: 55 psi; 气帘气: 35 psi。定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能量见表 1。

1.4 方法学评价

方法学评价包括线性范围、基质效应、检出

限 (Limit of Detection, LOD)、定量限 (Limit of Quantification, LOQ)、准确度和精密度。以信噪比 (S/N) ≥ 3 时的最低浓度作为检出限。在空白基质中加入低浓度的分析物, 以准确度和精密度均符合要求的最低浓度作为定量限。分别用溶剂、猪肉基质溶液、香肠基质溶液、肉馅基质溶液配制标准曲线进行 UPLC-MS/MS 分析, 通过计算基质标准曲线斜率和标准溶液曲线斜率之比来评价基质效应 (Matrix Effect, ME)。取猪肉、香肠、肉馅样品, 分别添加三个浓度水平的标准溶液 (LOQ、5 倍 LOQ、10 倍 LOQ), 按样品方法处理, 每个加标水平重复 6 次, 计算回收率表示方法的准确度, 以相对标准偏差 (Relative Standard Deviations, RSDs) 评价方法的精密度。

表 1 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

Table 1 Qualitative and quantitative ion and mass spectrometry parameters of the compounds

序号	名称	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	去簇电 压/V	碰撞能 量/eV
1	前列腺素 E ₂	351.3	189.1*	100	24
			271.4	100	23
2	前列腺素 E ₂ -d ₄	355.1	275.2	100	24

注: * 为定量离子。

1.5 数据处理

试验重复 3 次, 通过 Analyst 软件采集质谱数据, MultiQuant 软件进行各化合物的定性和定量分析。应用 SAS 9.0 和 GraphPad Prism 5 软件对实验数据进行统计分析和绘图。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

利用三重四级杆质谱采集前列腺素 E₂ 一级和二级质谱图, 前列腺素 E₂ 呈弱酸性、易失去质子^[4], 在负离子模式下有较好响应, 形成 [M-H]⁻ 峰 (*m/z* 351.3)。当碰撞能量 (Collision Energy, CE) 由 10 eV 增加到 30 eV, [M-H]⁻ 形成稳定的碎片, 特征碎片离子为 174.9、189.0、233.0、271.1、315.1、333.2。因此在建立超高效液相色谱串联质谱 (UPLC-MS/MS) 的前列腺素 E₂ 定量方法时, 选择负离子模式 (ESI⁻) 扫描, 多反应监测 (MRM) 质谱方法进行数据采集, 前列腺素 E₂ 定量离子对为 351.3/189.1, 定性离子对为 351.3/271.4。以前列腺

素 E₂-d₄ 作为内标，其离子对为 355.1/275.2。试验还对去簇电压及碰撞能量等参数进行了优化，结果见图 1。

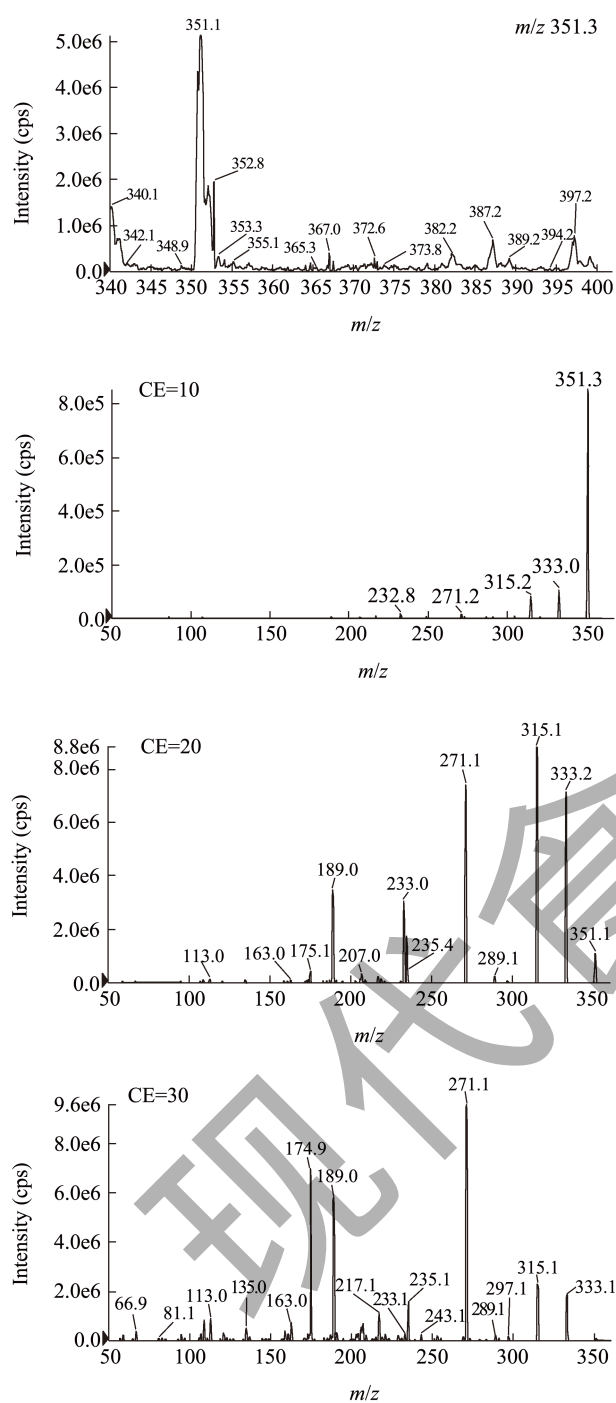


图 1 前列腺素 E₂ 在不同碰撞能量下的质谱图

Fig.1 Mass spectra of prostaglandin E₂ at different collision energies

2.2 色谱条件的优化

比较前列腺素 E₂ 在水 - 乙腈、0.1% 甲酸水 - 乙腈、5 mmol/L 乙酸铵水 - 乙腈等不同流动相下的

色谱行为。相同浓度的前列腺素 E₂ 在乙腈 - 0.1% 甲酸水流动相体系中的色谱峰峰型优于乙腈 - 水体系。前列腺素 E₂ 易脱氢，需要在流动相中加酸，0.1% 甲酸水溶液明显改善了前列腺素 E₂ 的拖尾现象，且峰型对称。由于是负离子模式，甲酸溶液抑制前列腺素 E₂ 电离，响应值略低。以 5 mmol/L 乙酸铵溶液 - 乙腈作为流动相时，前列腺素 E₂ 的响应值降低，且在连续进样过程中前列腺素 E₂ 的保留时间不稳定。综合考虑选择 0.1% 甲酸水溶液 - 乙腈作为流动相。

比较了不同类型色谱柱对前列腺素 E₂ 的分离效果，如图 2 所示，考察了 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、ACQUITY UPLC HSS T₃ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 两种型号色谱柱对前列腺素 E₂ 的分离情况。在 T₃ 色谱柱条件下，前列腺素 E₂ 与基质中干扰物不能有效分离，C₁₈ 柱的分离效果较好，因此选择 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)。

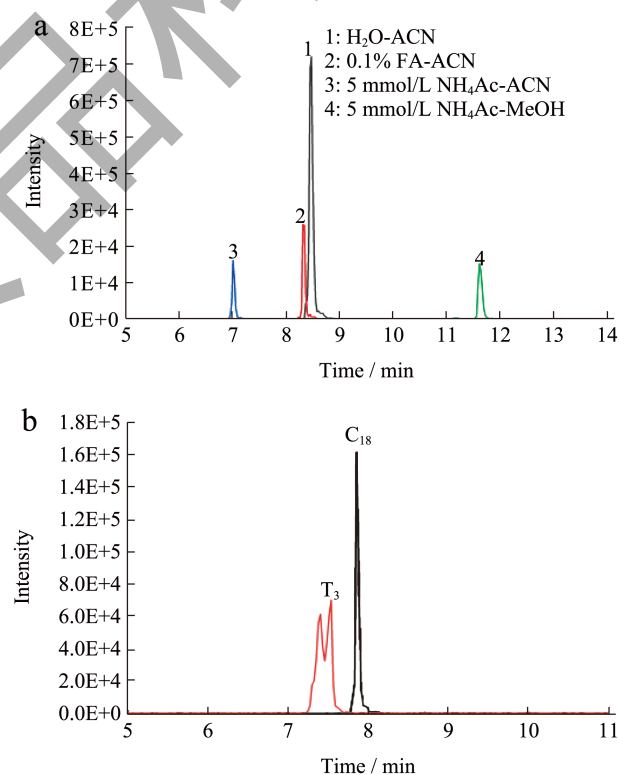


图 2 不同色谱条件下前列腺素 E₂ 的提取离子流图

Fig.2 TIC of prostaglandin E₂ under different chromatographic conditions

注：(a) 流动相优化；(b) 色谱柱优化。

选择合适色谱柱的同时也比较不同洗脱梯度对前列腺素 E₂ 的分离效果，综合考虑选择 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)，A 为

0.1% 甲酸水溶液, B 为乙腈, 梯度洗脱程序为: 初始 B 为 30%; 0~5 min, B 保持 30%; 5~8 min, B 由 30% 变化至 35%; 8~11 min, B 由 35% 变化至 95%; 11~14 min, B 保持 95%; 14~14.1 min, B 由 95% 变化至 30%; 14.1~17 min, B 保持 30%。前列腺素 E₂ 峰型好, 无拖尾, 可以较好地分离目标化合物和杂质干扰物, 定性定量分析更准确 (图 3)。

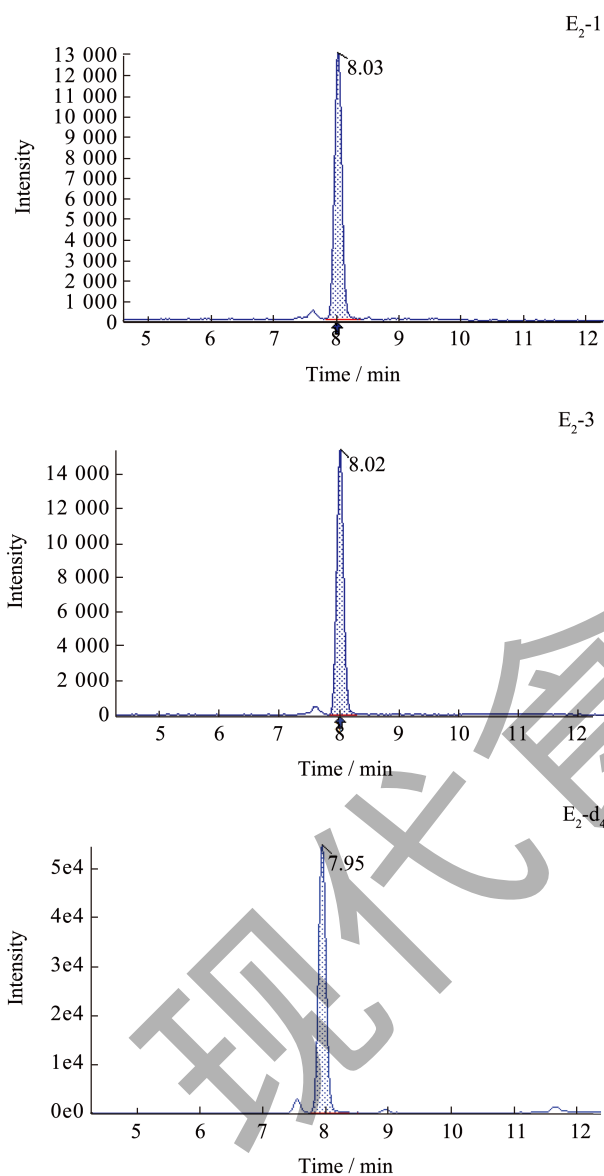


图 3 前列腺素 E₂ 标准溶液 (100 ng/mL) 和前列腺素 E₂-d₄ 标准溶液 (50 ng/mL) 多反应监测 (MRM) 色谱图

Fig. 3 Multi-reaction monitoring (MRM) chromatograms of prostaglandin E₂ (100 ng/mL) and prostaglandin E₂-d₄ (50 ng/mL) standard solutions

2.3 样品提取溶剂的优化

提取溶剂是影响目标化合物回收率的重要因

素^[15]。前列腺素 E₂ 易溶于氯仿、乙酸乙酯、甲醇、无水乙醇等有机溶剂, 微溶于水^[16]。以猪肉作为基质, 加入标准溶液, 考察不同提取溶剂 (甲醇、乙腈、乙酸乙酯、80% 甲醇水、甲醇/二氯甲烷) 对基质中前列腺素 E₂ 的提取效率, 如图 4 所示。

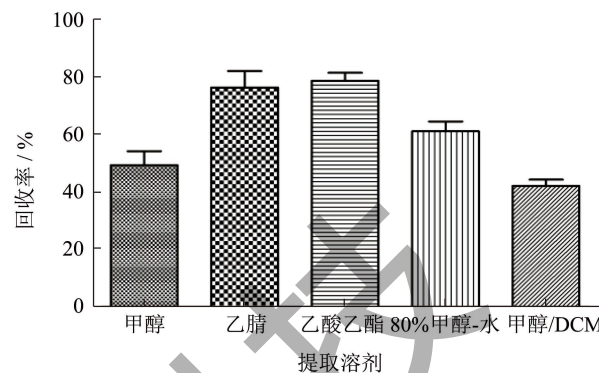


图 4 不同提取溶剂对前列腺素 E₂ 回收率的影响

Fig.4 Effects of different extraction solvents on recovery of prostaglandin E₂

结果表明, 乙酸乙酯对前列腺素 E₂ 的回收率最高, 其次为乙腈, 甲醇最低。但通过对比图谱发现, 样品经乙酸乙酯提取后, 色谱图中杂质干扰峰较甲醇和乙腈高, 目标化合物的分离度较差, 故选择回收率较高且色谱峰中杂质干扰相对较低的乙腈作为提取溶剂。

2.4 样品净化方式的优化

食品尤其是动物源性食品基质复杂, 在使用液相色谱-串联质谱法进行定量测定时, 基质通常会产生干扰作用, 通常采用液-液萃取净化、固相萃取净化 (Solid Phase Extraction, SPE)、QuEChERS 等净化方式来降低脂类、蛋白质等物质带来的干扰, 减少基质效应的影响, 提高检测结果的准确性^[17-19]。

猪肉含有大量脂肪, 对前列腺素 E₂ 的测定有严重干扰。如图 5 所示, 样品经上述提取溶剂处理后, 分别用乙腈饱和的正己烷进行脱脂和不脱脂处理。由于基质中脂肪含量较高, 增加脱脂操作可以提高前列腺素 E₂ 的回收率, 乙腈饱和的正己烷可以去除样本中脂肪等对目标化合物的干扰。同时, 出于对仪器保护, 选择脱脂处理, 即样品经乙腈提取后, 采用乙腈饱和的正己烷脱脂。

前列腺素 E₂ 有一个羧基, 呈弱酸性, 考虑选择通用型和离子交换 SPE 柱净化。在相同的提取条

件下, 比较 LC-C₁₈ (碳含量 11%)、SC-C₁₈ (碳含量 17%)、HLB、Si 硅胶柱和离子交换固相萃取柱 MAX 的净化效果。通过比较不同固相萃取柱试验结果, 使用 LC-C₁₈ 和 HLB 柱净化时, 前列腺素 E₂ 能较好的保留和洗脱, 同时去除磷脂、蛋白等杂质, 回收率依次为 108.2%、102.6%, 与硅胶键合 LC-C₁₈ 柱相比较, HLB 小柱对 pH 耐受性更好, 更稳定。MAX 是一种硅胶键合季铵基团的阴离子交换柱, 理论上可以静电吸附目标物的羧基, 对酸性化合物具有一定的选择性和较强的保留能力^[20]。MAX 柱能有效地将目标物从猪肉基质中置换出来, 去除猪肉中蛋白质、油脂等对前列腺素 E₂ 质谱信号的干扰, 前列腺素 E₂ 回收率为 112.8%。但由于前列腺素 E₂ 对 pH 值较敏感^[21,22], 该净化方式下前列腺素 E₂ 回收率不稳定。前列腺素 E₂ 在 SC-C₁₈ 和 Si 硅胶固相萃取柱上回收率低, 仅为 3.82% 和 0.11%, 这可能是由于前列腺素 E₂ 为中等极性化合物, 在含量碳高的 SC-C₁₈ 柱和 Si 柱上保留太强, 不易被甲醇洗脱下来, 因此回收率低。本试验选择用乙腈饱和的正己烷除脂结合 HLB 固相萃取柱净化样品。

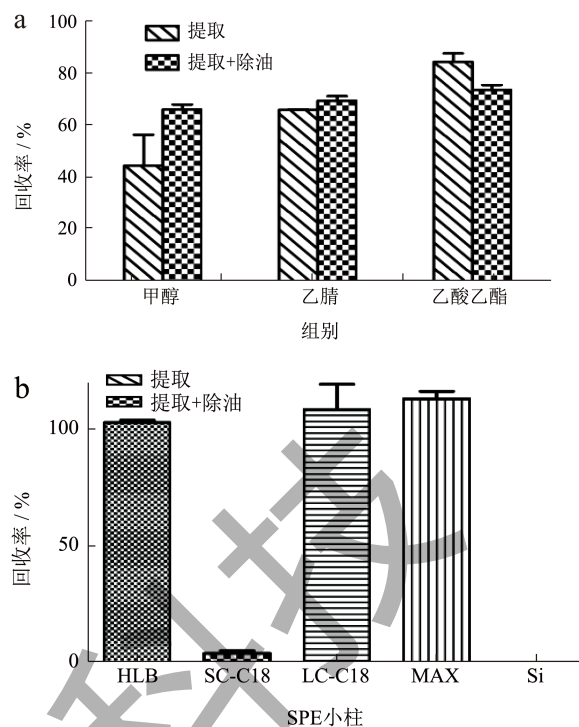


图5 液-液萃取和 SPE 柱净化对前列腺素 E₂ 回收率的影响

Fig.5 Effects of liquid-liquid extraction and SPE column purification on recovery of prostaglandin E₂

注: (a) 液-液萃取; (b) SPE 柱净化。

表 2 不同基质中前列腺素 E₂ 的加标回收结果

Table 2 Recovery results of prostaglandin E₂ in different substrates

基质	加标量/(μg/kg)	质量浓度/(ng/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
	20	18.910	94.6	96.4	3.25
		18.713	93.6		
		19.105	95.5		
		18.838	94.2		
		20.137	100.7		
		20.016	100.1		
		108.751	108.8		
猪肉 (本底值: 未检出)	100	106.753	106.8	107.2	2.24
		105.197	105.2		
		103.804	103.8		
		109.887	109.9		
		109.073	109.1		
		222.927	111.5		
		222.838	111.4		
	200	221.412	110.7	109.3	1.99
		215.197	107.6		
		215.533	107.8		
		213.189	106.6		

续表 2

基质	加标量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	质量浓度/(ng/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
香肠(本底值: 未检出)	20	19.856	99.3	94.8	7.74
		20.103	100.5		
		17.042	85.2		
		17.112	85.6		
		19.742	98.7		
		19.941	99.7		
	100	103.379	103.4	103.6	2.16
		102.561	102.6		
		101.847	101.8		
		102.876	102.9		
		102.725	102.7		
		108.021	108.0		
200	219.912	110.0	109.9	1.97	
	219.342	109.7			
	222.717	111.4			
	211.762	105.9			
	224.225	112.1			
	220.494	110.2			
肉馅(本底值: 未检出)	20	20.543	102.7	103.6	2.36
		20.583	102.9		
		21.194	106.0		
		21.076	105.4		
		19.884	99.4		
		21.031	105.2		
100	121.540	121.5	119.1	1.86	
	119.028	119.0			
	115.154	115.2			
	120.094	120.1			
	120.268	120.3			
	118.319	118.3			
200	234.104	117.1	113.6	2.02	
	225.739	112.9			
	220.447	110.2			
	229.268	114.6			
	228.722	114.4			
	225.411	112.7			

2.5 方法学考察

一般来说,当ME在0.8~1.2之间时表明基质效应在可接受范围内,在实际检测中可以忽略基质效应^[23]。猪肉、香肠和肉馅的ME分别为1.57、1.52和1.55,表明样品基质对前列腺素E₂存在明显的基质增强效应,需通过内标校正将基质效应控制在可接受范围内。

前列腺素E₂在10~500 ng/mL质量浓度范围内线性关系良好,相关系数(R²)大于0.995。根据信噪比(S/N)和最低浓度加标的结果,本方法的检出限为0.15 μg/kg,定量限为0.50 μg/kg。利用所建立的方法测定实际样本,非淋巴肉样本中前列腺素E₂的含量范围为0.60~8.48 μg/kg,淋巴肉样本中前列腺素E₂的含量范围为20.7~101.0 μg/kg。前列腺素在正常猪肉中存在本底值,而在淋巴结中其含量特异性升高,通过测定样本中前列腺素E₂的含量可鉴别淋巴肉。考虑到本方法的目的是建立一种快速、高效、准确的“淋巴肉”标志物的检测方法,为打击淋巴肉违法使用行为提供有力的技术支撑,只需要定量限能满足淋巴肉鉴别的即可,方法检出限及定量限于灵敏可能导致淋巴肉鉴别的假阳性结果。基于此,猪肉及其制品中前列腺素E₂的检出限为10 μg/kg,定量限为20 μg/kg。

取猪肉、香肠、肉馅样品,分别添加三个浓度水平的标准溶液(LOQ、5倍LOQ、10倍LOQ),按样品处理方法进行处理,每个加标水平进行6次重复实验,回收率结果见表2。三个添加水平回收率在94.8%~119.1%,RSDs在1.86%~7.74%。前列腺素E₂的回收率和精密度均符合GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》的要求,可用于猪肉及其制品中前列腺素E₂的测定。

2.6 真实样本分析

经稽查和市场调研发现,目前一些商贩以低价“碎肉”或“边角肉”的名义在偷偷售卖“淋巴肉”,售价4元/斤,仅为猪腿肉价格的三分之一。分别在农贸市场购买了猪肉6批次,香肠4批次,肉馅4批次,炸肉丸2批次及淋巴肉等样品,按所建立的方法测定,结果如表3所示。

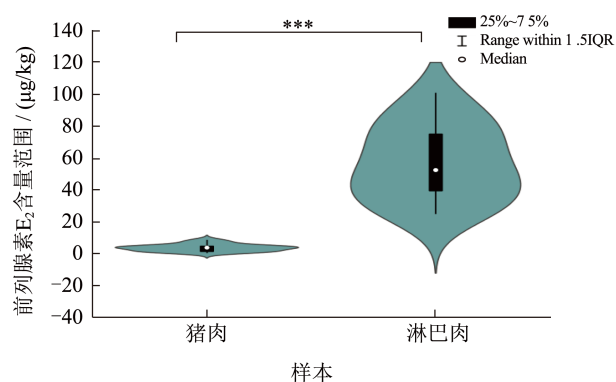
采用液相色谱-质谱法对猪肉和淋巴肉中前列腺素E₂进行了检测分析,非淋巴肉样本中前列腺素E₂的本底值低于定量限,淋巴肉样本中前列腺素E₂的含量范围为20.7~101.0 μg/kg,二者具有显著性差

异(图6),通过测定样本中前列腺素E₂的含量可作为鉴别淋巴肉的一种辅助手段。当样本中前列腺素E₂含量超过20 μg/kg,表示该样本存在淋巴肉掺假的食品安全隐患,相关部门应高度重视,识别和研判风险源,及时采取食品安全防控措施,保障人民群众身体健康和生命安全。

表3 真实样本检测

Table 3 Analysis of real market samples

来源	样品名	含量/(μg/kg)	
猪肉	ZR-YP1	未检出	
	ZR-YP2	未检出	
	ZR-YP3	未检出	
	ZR-YP4	未检出	
	ZR-YP5	未检出	
	ZR-YP6	未检出	
香肠	XC-YP1	未检出	
	XC-YP2	未检出	
	XC-YP3	未检出	
	XC-YP4	未检出	
肉馅	RX-YP1	62.8	RX-YP1 和 RX-YP2 为含淋巴肉样本
	RX-YP2	31.0	
	RX-YP3	未检出	
	RX-YP4	未检出	
炸丸子	WANZI-YP1	未检出	
	WANZI-YP2	未检出	
淋巴肉	LINBA-YP1	22.6	
	LINBA-YP2	20.7	
	LINBA-YP3	21.6	
	LINBA-YP4	25.1	
	LINBA-YP5	21.5	
	LINBA-YP6	21.3	
	LINBA-YP7	52.5	
	LINBA-YP8	83.6	检出含量: 20.7~101.0 μg/kg
	LINBA-YP9	39.5	
	LINBA-YP10	27.8	
	LINBA-YP11	84.8	
	LINBA-YP12	46.1	
	LINBA-YP13	101.0	
	LINBA-YP14	66.9	
	LINBA-YP15	46.3	
	LINBA-YP16	75.0	

图6 前列腺素 E₂ 在不同样本中的含量差异Fig.6 The content difference of prostaglandin E₂ in different samples

3 结论

在本研究中，建立了猪肉及其制品和淋巴肉中前列腺素 E₂ 的 UPLC-MS/MS 检测方法。在 10~500 ng/mL 浓度范围内，前列腺素 E₂ 标准溶液浓度与峰面积呈良好的线性关系，相关系数 R^2 大于 0.995。方法中前列腺素 E₂ 回收率在 90%~120% 范围内，精密度为均小于 15.0%，准确度和精密度均满足定量分析的要求。该方法为打击淋巴肉违法使用提供有力的技术支撑，促进了肉制品产业的高质量发展。

参考文献

[1] LEBRET B, ČANDEK-POTOKAR M. Review: Pork quality attributes from farm to fork. Part I. Carcass and fresh meat [J]. *Animal*, 2022, 16: 100402.

[2] GRISPOLDI L, KARAMA M, HADJICHARALAMBOUS C, et al. Bovine lymph nodes as a source of *Escherichia coli* contamination of the meat [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 331: 108715.

[3] LI M, MALLADI S, HURD H S, et al. *Salmonella* spp. in lymph nodes of fed and cull cattle: Relative assessment of risk to ground beef [J]. *Food Control*, 2015, 50: 423-434.

[4] 白常贵. 生猪屠宰检疫中的淋巴结检验 [J]. *四川畜牧兽医*, 2023, 394: 49-50.

[5] JIANG H, RU Y, CHEN Q, et al. Near-infrared hyperspectral imaging for detection and visualization of offal adulteration in ground pork [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 249: 119307.

[6] INNES J K, CALDER P C. Omega-6 fatty acids and inflammation [J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2018, 132: 41-48.

[7] BURNS J L, NAKAMURA M T, MA D W L. Differentiating

the biological effects of linoleic acid from arachidonic acid in health and disease [J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2018, 135: 1-4.

[8] HUANG Z A, SCOTLAND K B, LI Y, et al. Determination of urinary prostaglandin E₂ as a potential biomarker of ureteral stent associated inflammation [J]. *Journal of Chromatography B*, 2020, 1145: 122107.

[9] HSU B Y, TSAO C Y, CHIOU T K, et al. HPLC determination for prostaglandins from seaweed *Gracilaria gigas* [J]. *Food Control*, 2007, 18(6): 639-645.

[10] ENZLER M, SCHIPP S, NICOLAS L B, et al. Determination of 6-keto prostaglandin F_{1α} and its metabolites in human plasma by LC-MS/MS [J]. *Journal of Chromatography B*, 2012, 901: 67-71.

[11] TSIKAS D, SUCHY M T, T DTER K, et al. Utilizing immunoaffinity chromatography (IAC) cross-reactivity in GC-MS/MS exemplified at the measurement of prostaglandin E₁ in human plasma using prostaglandin E₂-specific IAC columns [J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1021: 101-107.

[12] CHU X, AGEISHI Y, NISHIMURA K, et al. Development of enzyme-linked immunosorbent assay for 8-iso-prostaglandin F_{2α}, a biomarker of oxidative stress *in vivo*, and its application to the quantification in aged rats [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2009, 50(5): 911-916.

[13] 任兴权, 周丽, 张海霞, 等. 液相色谱-串联质谱测定洋葱中的五种前列腺素 [J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(16): 276-282.

[14] PALLA A R, RAVICHANDRAN M, WANG Y X, et al. Inhibition of prostaglandin-degrading enzyme 15-PGDH rejuvenates aged muscle mass and strength [J]. *Science*, 2021, 371(6528): eabc8059.

[15] XU T, HU C, XUAN Q, et al. Recent advances in analytical strategies for mass spectrometry-based lipidomics [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1137: 156-169.

[16] OLIVEIRA G M, DION SIO T J, WECKWERTH G M, et al. Detection and quantification of prostaglandin E₂ in saliva by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using microextraction by packed sorbent [J]. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2022, 163: 106672.

[17] WATHUDURA P D, KAVINDA T, GUNATILAKE S R. Determination of steroidal estrogens in food matrices: current status and future perspectives [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2019, 28: 104-113.

[18] ZHAO H, ZHAO Z, LI X, et al. Development of rapid low temperature assistant modified QuEChERS method for simultaneous determination of 107 pesticides and relevant metabolites in animal lipid [J]. *Food Chemistry*, 2022, 395: 133606.

[19] SUSEELA M N L, VISWANADH M K, MEHATA A K,

- et al. Advances in solid-phase extraction techniques: Role of nanosorbents for the enrichment of antibiotics for analytical quantification [J]. *Journal of Chromatography A*, 2023, 1695: 463937.
- [20] JIANG H, LIU Y, WANG C, et al. Decoloration and alkaloid enrichment of *Dactylicapnos scandens* extracts based on the use of strong anion-exchange resins in tandem with strong cation-exchange silica-based materials [J]. *Journal of Chromatography B*, 2023, 1218: 123637.
- [21] ZHU Q F, ZHANG Z, LIU P, et al. Analysis of liposoluble carboxylic acids metabolome in human serum by stable isotope labeling coupled with liquid chromatography–mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1460: 100-109.
- [22] XIAO Y, FU X, PATTENGAL P, et al. A sensitive LC-MS/MS method for the quantification of urinary 8-iso-prostaglandin F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}) including pediatric reference interval [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2016, 460: 128-134.
- [23] LU X, DOU P, XIE X, et al. Development of a novel analytical method for inflammation and immunity-related metabolites in serum based on liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2021, 234: 122631.

现代食品科技