

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定鸡肉中喹乙醇代谢物残留量

LCMSMS-179

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定鸡肉中喹乙醇代谢物残留量的方法。市售鸡肉样品经提取和净化后，使用 LC-30A 液相系统进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定性和定量分析。喹乙醇代谢物在 1 μg/L~100 μg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为 0.9999；对 2 μg/L、5 μg/L 和 10 μg/L 低中高不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02 %~0.08 % 和 0.83 %~1.94 % 之间，显示仪器精密度良好。

关键词：鸡肉喹乙醇代谢物三重四极杆质谱

喹乙醇 (Olaquinox) 又称喹酰胺醇，商品名为快育灵，是 70 年代初由拜尔药厂研究合成的饲料添加剂。由于喹乙醇有中度至明显的蓄积毒性，对大多数动物有明显的致畸作用，对人也有潜在致畸形，致突变、致癌作用，因此在世界范围内都被禁止或限制用作饲料添加剂。3- 甲基喹噁啉 -2- 羧酸 (MQCA) 是喹乙醇主要代谢产物之一，在体内相对稳定，是国际食品法典委员会认定的标示残留物之一，可作为残留分析监控的目标物质。

目前，MQCA 的检测方法有试剂盒法，高效液相色谱

法和高效液相色谱 - 串联质谱联用法。试剂盒法和高效液相色谱法在使用上较为方便、快捷，但灵敏度不高，容易出现假阴性结果。液相色谱 - 串联质谱联用技术具有很高的选择性和灵敏度，适合于复杂基体中的有机物痕量分析，且准确度高。本文建立了使用岛津 LC-30A 和 LCMS-8040 联用测定鸡肉中喹乙醇代谢物的残留量的方法，供广大分析检测人员参考使用。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver.5.60 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Inertsil ODS-4 HP2.1 mm I.D.× 150 mm L., 3μm

流动相 A：含 0.1 % 甲酸的水溶液

流动相 B：甲醇

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 30 %，时间程序见表 1。

流速：0.4 mL/min

柱温：40℃

进样量：2 μL

质谱条件

离子化模式：ESI(+)

离子喷雾电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：80 msec

延迟时间：3 msec

MRM 参数：见表 2

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	30
2.80	Pumps	Pump B Conc.	95
2.81	Pumps	Pump B Conc.	30
4.50	Controller	Stop	

表2 MRM参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE	Q3 Pre Bais(V)
3-甲基喹	3-Methyl-quin			145.10*	-14	-15	-26
噁啉-2-羧酸(MQCA)	oxaline-2-carboxylic Acid	74003-63-7	189.15	143.05	-14	-16	-26
喹噁啉-2-羧酸-D4(IS)	Quinoxaline-2-carboxylic acid-D4	-	179.15	133.1	-13	-18	-23

*表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

用甲醇配制 10 mg/L 的标准中间工作溶液, 再用空白提取液稀释成 1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L 和 100 μg/L 不同浓度的标准工作液。

鸡肉样品前处理:

参考 GB/T 20746-2006 《牛、猪的肝脏和肌肉中卡巴氧和喹乙醇及代谢物残留量的测定》处理样品。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

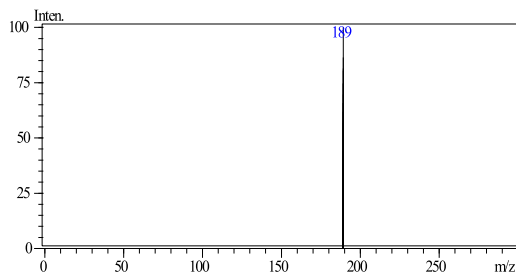


图1 MQCA 的一级质谱图

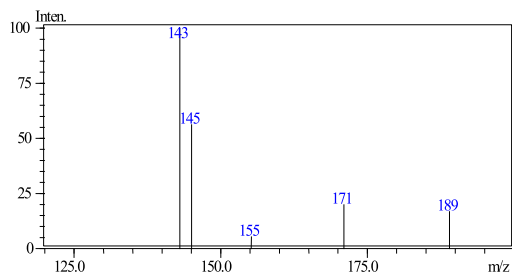


图2 MQCA 产物离子扫描图(CE值 -16 V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

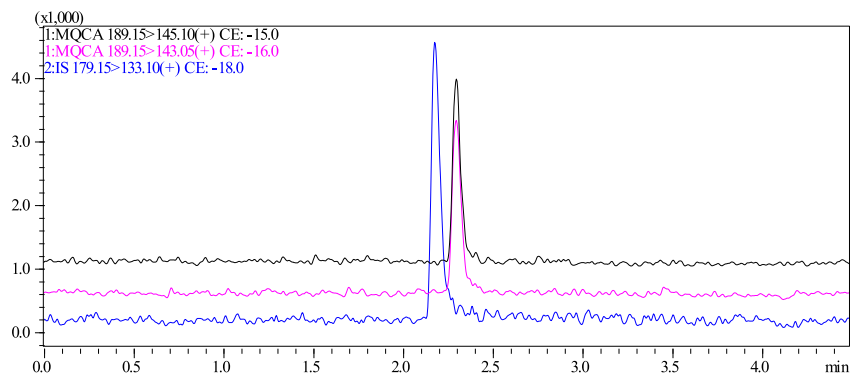


图3 MQCA标准样品的色谱图(1μg/L)

2.3 线性关系

将 1 µg/L、2 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L 和 100 µg/L 不同浓度的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，内标法定量。以浓度的比值为横坐标，峰面积的比值为纵坐标，绘制校准曲线如图 4 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (0.560453)X$ ；相关系数 $R=0.9999$ 。

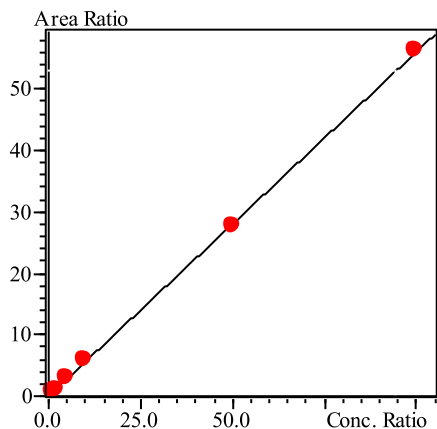


图4 MQCA的校准曲线

2.4 精密度实验

对 2 µg/L、5 µg/L 和 10 µg/L 不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02 %~0.08 % 和 0.83 %~1.94 % 之间，仪器精密度良好。

表3 MQCA 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Conc.(µg/L)	RSD % (R.T.)	RSD % (Area)
2	0.08	1.94
5	0.08	0.97
10	0.02	0.83

2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为 1 µg/L 测试样品 7 份，平行进样 7 次分析结果。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检测限和最低定量浓度，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量下限 $LOQ = 4 \times MDL$ ，结果如表 4 所示。

表4 MQCA 的检出限和定量下限

名称	标准偏差 (S)	检出限 (µg/L)	定量下限 (µg/L)
MQCA	0.062	0.19	0.78

2.6 基质加标实验

取空白鸡肉样品 5 g，加入少量喹乙醇代谢物的标准工作液，使加标浓度均为 1 µg/kg，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定喹乙醇代谢物的加标回收率。空白鸡肉的 MRM 色谱图如 5 所示，加标样品 MRM 色谱图如 6 所示，回收率为 85.7 %。

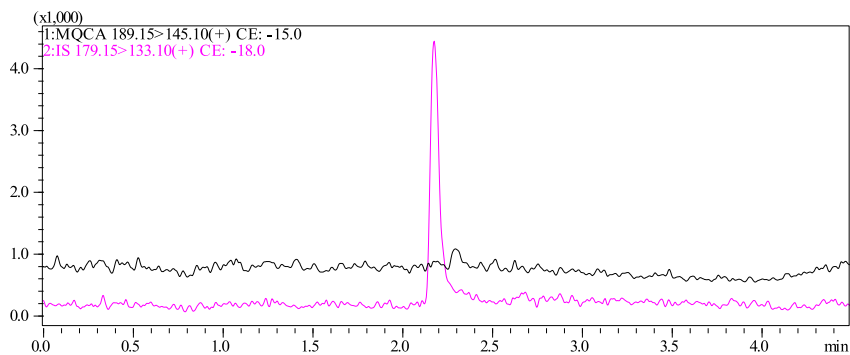


图5 空白鸡肉样品MRM色谱图

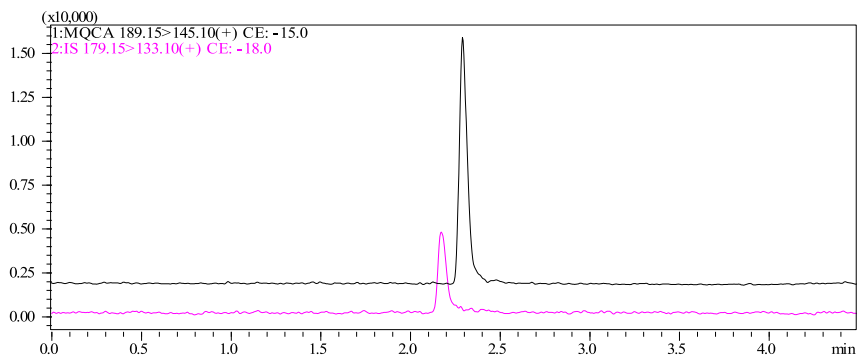


图6 1µg/kg 加标样品MRM色谱图

结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定鸡肉中喹乙醇代谢物残留的方法。鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定性和定量分析。喹乙醇代谢物在 1 µg/L~100 µg/L 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.08 % 和 1.94 % 以下。本方法操作简单，满足 GB/T 20746-2006《牛、猪的肝脏和肌肉中卡巴氧和喹乙醇及代谢物残留量的测定》定量限要求，可用于鸡肉中喹乙醇代谢物的快速高灵敏度检测。