

LC-MS/MS 检测鸡蛋中卡巴氧和喹乙醇的代谢物残留量

LCMSMS-887

摘要：本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定鸡蛋中卡巴氧和喹乙醇代谢物 (QCA 和 MQCA) 残留量的方法。QCA 和 MQCA 在 1 ng/mL~40 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上；2 ng/mL 和 20 ng/mL 混合标准溶液重复测定 6 次，各目标物的保留时间和峰面积的 RSD 值分别在 0.08%~0.13% 和 2.55%~4.91% 之间，仪器精密度良好；加标浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，各目标物回收率在 87.6 %~102.6% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于鸡蛋中 QCA 和 MQCA 的准确定量检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 鸡蛋 卡巴氧 喹乙醇 QCA MQCA

技术特点：

- ❖ 本方法检测 QCA 和 MQCA 的定量限分别为 2.55 和 1.70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，低于标准要求的 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，灵敏度高。
- ❖ 相较于标准中 10 μL 的进样体积，本方案仅需 4 μL 进样即可实现高灵敏度分析，并且可减少对仪器的污染。

卡巴氧和喹乙醇均属于喹噁啉类抗菌促生长药物，由于其价格低廉、抗菌效果好且可以显著提高动物的生长发育，因此曾在养殖业广泛使用。

据报道，卡巴氧和喹乙醇具有潜在的致癌、致畸和致突变性，它们的代谢物也会带来健康隐患。因此，许多国家将卡巴氧和喹乙醇列为对食用动物的禁用药物。《中华人民共和国农业部公告 第 2638 号》和《中华人民共和国农业农村部公告 第 250 号》分别明确规定了食用动物中禁止使用喹乙醇和卡巴氧。

卡巴氧和喹乙醇在动物体内代谢速度较快，其

主要代谢产物分别为喹噁啉 -2- 羧酸 (QCA) 和 3-甲基 - 喹噁啉 -2- 羧酸 (MQCA)，代谢产物在动物体内滞留时间较长，常通过检测其代谢产物来确定是否使用了该类药物。

本文参照食品安全国家标准《禽蛋中卡巴氧和喹乙醇的代谢物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法 (征求意见稿)》，建立了鸡蛋中 QCA 和 MQCA 的检测方法。该方法快速、简单、灵敏度高，可实现对鸡蛋中 QCA 和 MQCA 的有效检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	SCL-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机：	DGU-40S		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	Shim-pack GISS (100 mm×.2.1 mm I.D, 1.9 μm)		
	岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02		
流动相：	A 相 -0.1% 甲酸水溶液, B 相 - 甲醇		
柱温：	30°C	流速：	0.4 mL/min
洗脱方式：	梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 10%,	进样体积：	4 μL
	时间程序见表 1		

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	70
4.10	Pumps	Pump B Conc.	100
5.00	Pumps	Pump B Conc.	100
5.10	Pumps	Pump B Conc.	10
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI, 正离子模式	DL 管温度：150°C
接口温度：200°C	加热模块温度：400°C
雾化气：氮气 3.0 L/min	加热气：空气 10 L/min
干燥气：氮气 10 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

No	化合物	化学分子式	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	QCA	C ₉ H ₅ N ₂ O ₂	879-65-2	175.1	129.1*	-12.0	-15.0	-23.0
					102.0	-11.0	-31.0	-18.0
2	MQCA	C ₁₀ H ₈ N ₂ O ₂	74003-63-7	189.1	145.1*	-13.0	-12.0	-14.0
					143.1	-13.0	-14.0	-25.0
3	QCA-D4	C ₉ HD ₄ N ₂ O ₂	-	179.1	106.1*	-12.0	-33.0	-18.0
					133.1	-12.0	-16.0	-23.0
4	MQCA-D4	C ₁₀ H ₄ D ₄ N ₂ O ₂	-	193.2	149.2*	-14.0	-14.0	-26.0
					147.2	-15.0	-15.0	-27.0

* 表示定量离子

■ 样品前处理

2.1 提取

称取试料 5 g (精确至 ±0.05 g) 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加 200 ng/mL 混合内标工作液 50 μL 和 10% 偏磷酸 -20% 乙腈溶液 6 mL, 涡旋混匀 1 min, 超声 10 min, 8000 r/min 离心 5 min, 转移上清液至另一个 50 mL 离心管中, 残渣再用 10% 偏磷酸 -20% 乙腈溶液 6 mL 重新提取一次, 合并上清液。

在上清液中加入叔丁基甲醚 10 mL, 涡旋混合 1 min, 4500 r/min 离心 5 min, 转移上层有机相至另一个 50 mL 离心管中, 叔丁基甲醚 10 mL 重复提取一次, 合并上层有机相。加入 10 mL 磷酸盐缓冲液, 涡旋 2 min, 4500 r/min 离心 5 min, 弃去上层有机相, 下层磷酸盐缓冲液备用。

2.2 净化

混合型强阴离子交换固相萃取小柱 (60 mg, 3 mL) 依次用甲醇和水各 3 mL 活化, 取备用液过柱, 依次用 0.05 mol/L NaOH 溶液和甲醇各 3 mL 淋洗, 抽干。用洗脱液 (2% 甲酸甲醇溶液) 6 mL 洗脱, 洗脱液于 40°C 水浴氮气吹干。用 1 mL 的 0.1% 甲酸 - 甲醇溶液溶解残留物, 涡旋混匀, 滤膜过滤待测。

■ 结果与讨论

3.1 色谱图

1 ng/mL QCA 和 MQCA 及其内标的 MRM 色谱图如图 1 所示，色谱峰分离良好，通道无干扰。

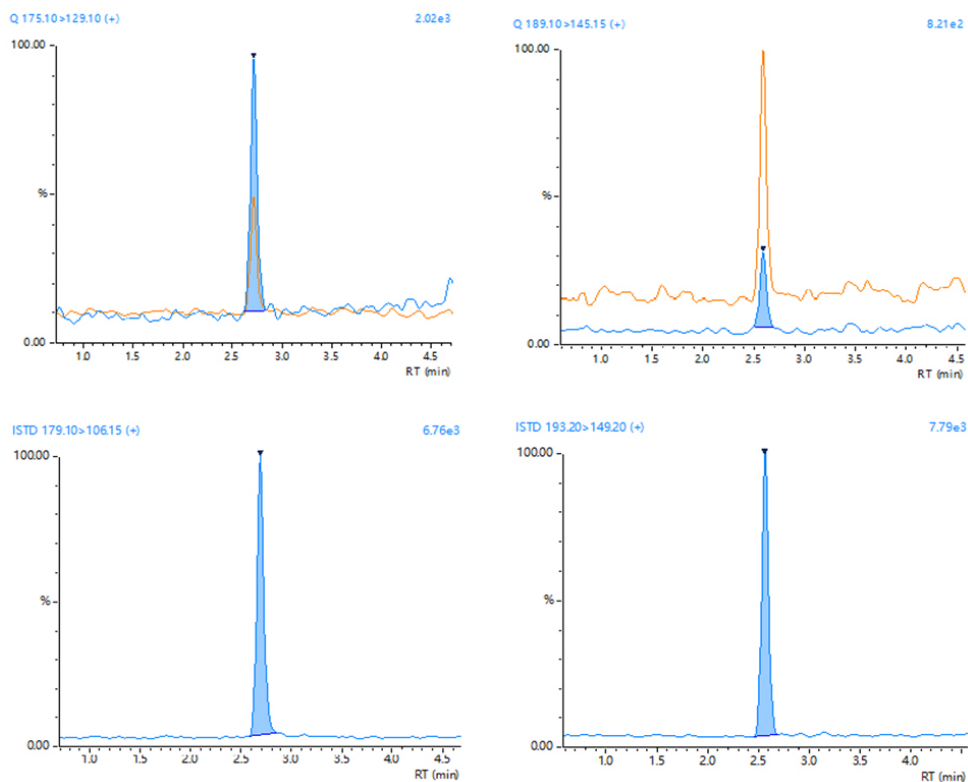


图 1 MRM 色谱图 (上左: QCA; 上右: MQCA; 下左: QCA-D4; 下右: MQCA-D4)

3.2 校准曲线和检出限

精密量取适量混合标准工作液及混合内标标准工作液，用初始流动相稀释配制成浓度为 1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL 和 40 ng/mL 的标准溶液（内标均为 10 ng/mL），进样分析。以定量离子色谱峰面积与对应内标峰面积之比为纵坐标，标准溶液浓度比为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

根据 0.5 ng/mL 标准样品数据，以 10 倍信噪比计算 QCA 和 MQCA 的定量限，其结果如表 3 所示。

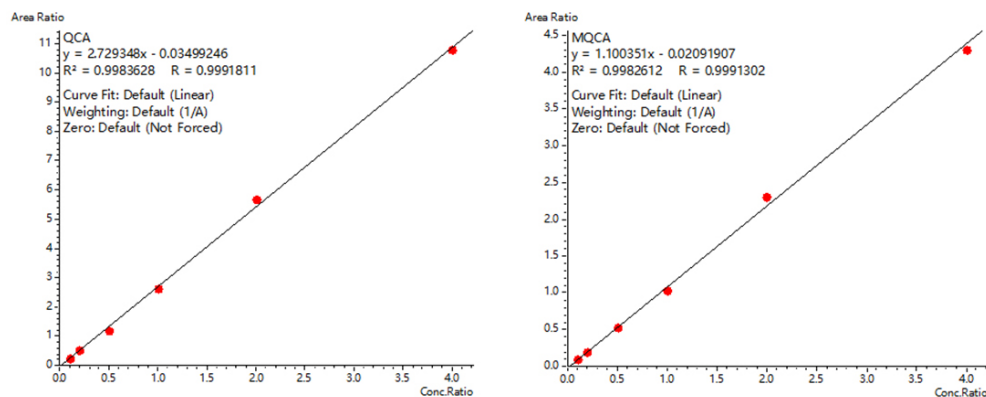


图 2 标准曲线

表 3 校准曲线及定量限

No	化合物	校准曲线	相关系数 (R)	准确度 (%)	仪器定量限 (ng/L)	方法定量限 (µg/kg)
1	QCA	$Y = (2.7293)X - (0.0349)$	0.9991	90.2~106.5	0.51	2.55
2	MQCA	$Y = (1.1003)X - (0.0209)$	0.9991	94.7~105.9	0.34	1.70

3.3 重复性实验

取 2 ng/mL 和 20 ng/mL 标准溶液，各自连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4 QCA 和 MQCA 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	化合物	2 ng/mL, RSD(%)		20 ng/mL, RSD(%)	
		R.T	Area	R.T	Area
1	QCA	0.12	4.74	0.08	3.32
2	MQCA	0.13	4.91	0.08	2.55

3.4 加标回收率

取未检出 QCA 和 MQCA 的鸡蛋 5 g，加入混标工作液，使加标浓度为 2 µg/kg，样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定 QCA 和 MQCA 的加标回收率，平行测定 3 次，其回收率在 87.6%~102.6% 之间，具体结果见表 5。

表 5 QCA 和 MQCA 回收率结果 (n=3)

No.	化合物	加标浓度 2 µg/kg	
		回收率 (%)	RSD(%)
1	QCA	87.6	3.96
2	MQCA	102.6	4.00

■ 结论

参照食品安全国家标准《禽蛋中卡巴氧和喹乙醇的代谢物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法（征求意见稿）》，建立了鸡蛋中 QCA 和 MQCA 的检测方法。QCA 和 MQCA 在 1 ng/mL~40 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。加标浓度为 2 µg/kg 的样品，回收率在 87.6%~102.6% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于鸡蛋中 QCA 和 MQCA 的准确检测。

岛津应用云

