

猪肉中喹乙醇代谢物的UPLC-MS/MS测定(Copure® MAX固相萃取柱)

《GB/T 20746-2006 牛、猪肝脏和肌肉中卡巴氧、喹乙醇及代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

喹乙醇是一种具有促生长作用的药物性添加剂，具有蓄积毒性，对多数动物有明显的致畸作用，对人也有潜在的危害，因而被禁止用作饲料添加剂。喹乙醇本身并不稳定，在体内短时间内会发生代谢，其主要代谢产物 3- 甲基喹恶啉 -2- 羧酸 (MQCA) 比较稳定，是国际食品法典委员会认定的标示残留物。

逗点生物建立了猪肉中 MQCA 的液相色谱 - 串联质谱分析方法。样品经前处理提取，过 MAX 固相萃取柱净化，氮吹复溶后，上相色谱 - 串联质谱测定，内标法定量，测试结果符合标准要求。

一、样品提取

准确称取搅碎后的猪肉 5.00 g (精确至 0.01g)，置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 0.6 % 甲酸溶液，混匀后，置于 47°C 振荡水浴振摇 1 h。先加入 3 mL 1.0 mol/L Tris 溶液，混匀，再加入 0.3 mL 0.01 g/mL 蛋白酶水溶液，充分混匀后，置于 47°C 振荡水浴中酶解 16-18 h。冷却至室温，再加入 20 mL 0.3 mol/L 盐酸溶液，振荡 5 min，在 10°C 下 10000 r/min 下离心 5 min，过滤上清液，待净化。

二、样品净化 (Copure® MAX 固相萃取柱, 60mg/3 mL)

分别用 3.0 mL 甲醇、3.0 mL 水活化 MAX 萃取柱，然后将上述待净化液加入固相萃取柱中，待样液全部流出后，用 30 mL 50 mmol/L 乙酸钠 - 甲醇溶液 (19+1) 清洗离心管后过固相萃取柱，压干。然后依次用 30 mL 0.05 mol/L 乙酸钠 - 甲醇溶液 (19+1)、3×3.0 mL 甲醇、3.0 mL 水、3×3.0 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液、2×3.0 mL 甲醇 - 水溶液 (1+4)、2.0 mL 乙酸乙酯淋洗，抽干小柱。加入 3.0 mL 2% 甲酸乙酸乙酯溶液洗脱 MQCA 至玻璃氮吹管中，于 45°C 下氮气吹至近干。加入 1.0 mL 0.1% 甲酸 - 甲醇 (19+1) 溶液，涡旋复溶，0.22 μm 滤膜过滤，供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

三、仪器条件

3.1 色谱条件

仪器：UPLC-MS/MS (Thermo Fisher TSQ Endura)

色谱柱：Comasil® Coreshell AQ-C18 (2.1 mm×100 mm, 3 μm)

流动相：A: 0.1 % 甲酸水 B: 甲醇

流速：0.3 mL/min 柱温：30°C

进样量：10 μL 洗脱方式：梯度洗脱，见表 1。

表 1：梯度洗脱程序

时间 /min	A/%	B/%
0	80	20
1.0	80	20
1.1	60	40
3.0	40	60
3.1	20	80
4.0	20	80
5.5	80	20
7.0	80	20

3.2 质谱条件

离子源：HESI 电喷雾电压：3500 V

鞘气压力：40 arb 辅气压力：2 arb

离子传输管：380 °C 辅气温度：350 °C

表 2 组分名称、保留时间及特征离子一览表 (* 为定量离子)

名称	保留时间 /min	母离子	子离子
喹恶啉 -2- 羧酸 -d4	3.83	179.1	133.1*、161.0
3- 甲基 - 喹恶啉 -2- 羧酸	4.21	189.1	145.1*、171.0

四、实验结果

表 3 3- 甲基 - 喹恶啉 -2- 羧酸加标回收实验结果

名称	添加浓度 /μg/kg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
3- 甲基 - 喹恶啉 -2- 羧酸	2.0	74.1	77.5	3.78
		78.9		
		79.4		

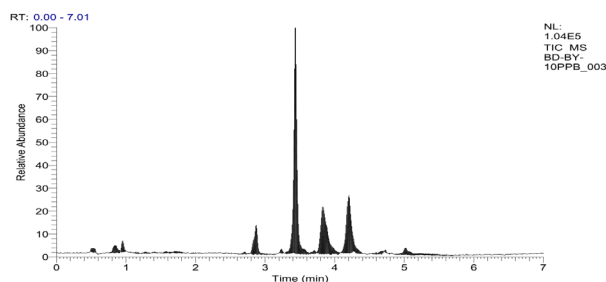


图 1 加标水平为 2.0 μg/kg 时猪肉中 3- 甲基 - 喹恶啉 -2- 羧酸总离子流图

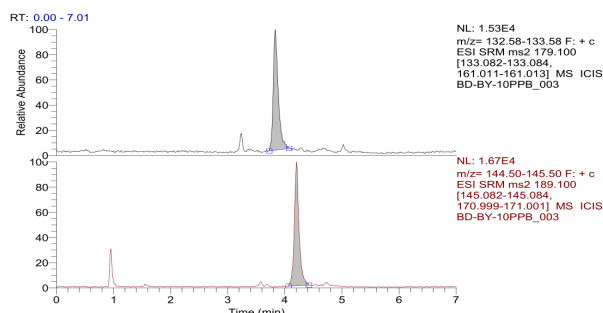


图 2 加标水平为 2.0 μg/kg 时猪肉中 3- 甲基 - 喹恶啉 -2- 羧酸提取离子色谱图

订购信息

货号	描述	包装
COMAX360	Copure® MAX 固相萃取柱, 60 mg/3 mL	50 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
MF013-22-NL	尼龙针式过滤器 直径 13 mm, 孔径 0.22 μm	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒