

猪肉中喹乙醇代谢物的测定

SGLC-LC/MS-014

摘要：建立了猪肉中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的测定方法。采用岛津的 WondaSep MAX 固相萃取小柱对猪肉样品进行净化，Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离，串联质谱检测分析。对空白样品 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 4 份样品考察回收率和 RSD，结果显示，0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的加标回收率为 78.80%-83.74%，RSD 为 2.48%，回收率高，重现性好。该方法适用于猪肉中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的测定。

关键词：喹乙醇代谢物 猪肉 WondaSep MAX LC-MSMS

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

仪器配置：Shimadzu LC-30A 与 LCMS-8050 联用系统；

色谱柱：Shim-pack GIST C18, 50 \times 2.1 mm, 2 μ (P/N: 227-30001-02)；

固相萃取小柱：WondaSep MAX 60 mg/3mL (P/N: 5010-81941)；

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 分析条件

UHPLC 条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18, 50 \times 2.1 mm, 2 μm (P/N: 227-30001-02)

流 速：0.4 mL/min

进样量：5 μL

柱 温：40 $^{\circ}\text{C}$

流动相： A: 0.1%甲酸水 B: 乙腈

梯度洗脱程序如下：

时间 (Min)	0	2.5	2.51	3	3.01	4
A (%)	95	60	5	5	95	95
B (%)	5	40	95	95	5	5

质谱条件

离子化模式：ESI，正离子扫描

扫描模式：多反应监测(MRM)

碰撞气：氩气

加热气：氮气 10 L/min

雾化气：氮气 3 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

接口温度：300℃

DL 温度：250 ℃

加热模块温度：400 ℃

3-甲基喹噁啉-2-羧酸 MRM 参数见下表

药物名称	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias	CE	Q3 Pre Bias
3-甲基喹噁啉-2-羧酸	189.10	145.25*	-10.0	-15.0	-13.0
	189.10	143.20	-10.0	-17.0	-29.0

*定量离子对

1.3 样品前处理

1.3.1 样品提取

称取 2.0 g 猪肉样品于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 0.6% 甲酸水溶液，手动振摇混匀 1 min，置于 50℃ 振荡 1 h，加入 3 mL 1.0 mol/L 的 Tris 碱溶液，混匀，加入 3 mL 0.01g/mL 蛋白酶水溶液，充分混匀，置于 50℃ 振荡 16 h，加入 17 mL 0.3 mol/L 盐酸溶液，超声 10 min，8000 r/min 离心 5 min，取 15 mL 上清液待净化。流程图见下图 1。

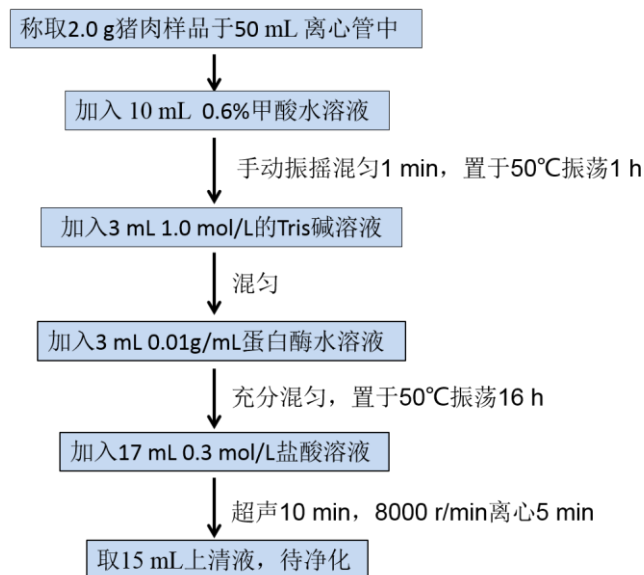


图 1 样品提取流程图

1.3.2 样品净化

WondaSep MAX 60 mg/3 mL

3 mL 甲醇、3 mL 水活化，弃去流出液；15 mL 待净化液上样，弃去流出液；5 mL 水、3 mL 甲醇清洗，弃去流出液；3 mL 2%甲酸乙酸乙酯洗脱，收集流出液；35℃氮吹至干，加 70% 甲醇水定容至 1 mL，过 0.22 μm 微孔滤膜，供 LC-MS/MS 分析。流程图见下图 2。

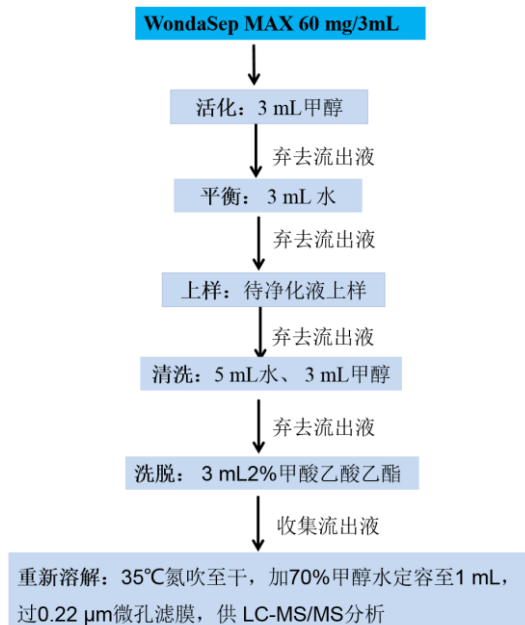


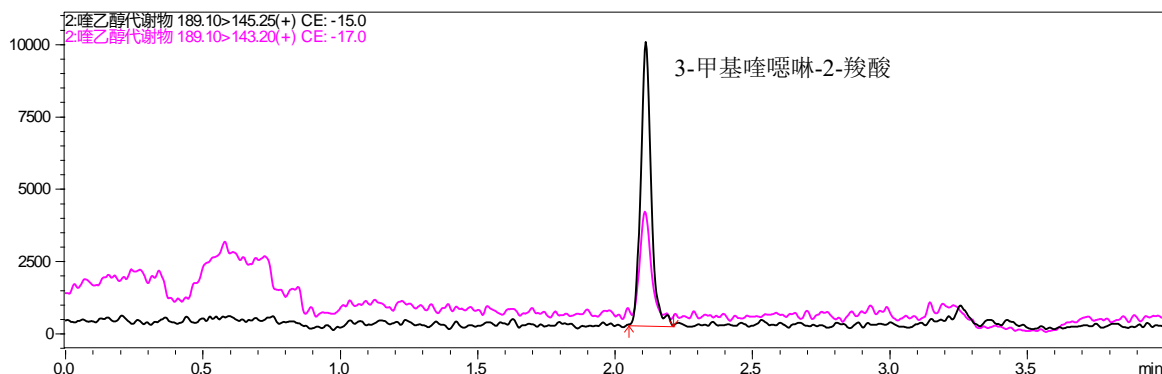
图 2 样品净化流程图

1.4 标准曲线的绘制

取空白样品，按上述 1.3.1 和 1.3.2 处理，使用空白基质配制浓度分别为 0.1 μg/L、0.2 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L 和 100 μg/L 的标准样品。

2. 结果及讨论

2.1 标准品的 MRM 色谱图



3-甲基喹噁啉-2-羧酸标准溶液的 MRM 色谱图 (0.5 μg/L)

2.2 线性范围

取空白溶液配制混合作液，得到 0.1 μg/L、0.2 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L 和 100 μg/L 不同浓度的样品，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，如图 2 所示。线性方程、相关系数、线性范围见表 1。

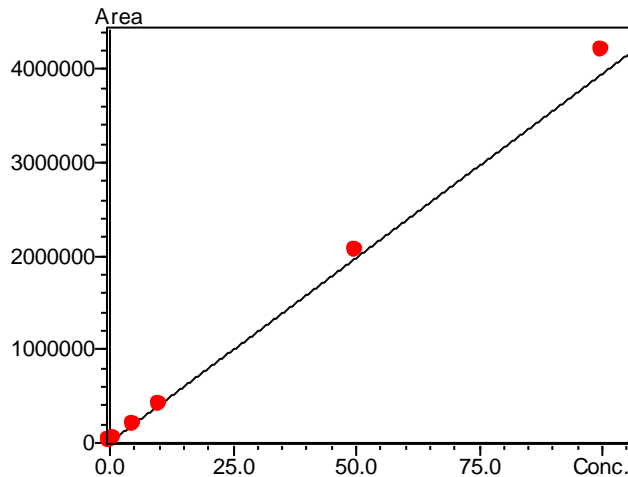


图 2 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的标准曲线

表 2 校准曲线、线性范围、相关系数

兽药	线性范围 (μg/kg)	标准曲线	相关系数 R	准确度(%)
3-甲基喹噁啉-2-羧酸	0.1-100	$Y = 39435.8X + 8137.69$	0.9980	91.3-106.1

2.2 猪肉中 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的 LC-MS/MS 检测添加回收结果

将猪肉空白样品进行 0.5 μg/kg 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 4 份样品考察回收率和 RSD，具体结果如下：加标回收率为 78.80%-83.74%，RSD 为 2.48%。

添加水平	实验结果	
0.5 μg/kg	回收率 (%)	81.32
		78.80
		83.74
		81.16
	平均回收率 (%)	81.25
	RSD (%)	2.48

3. 结论

综上，本方案采用岛津的 WondaSep MAX 固相萃取小柱对猪肉样品进行净化，Shim-pack GIST C18

色谱柱进行分离，采用岛津串联质谱 LCMS-8050 检测分析，建立了猪肉样品中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的检测方法，该方法回收率高、重现性好，适用于猪肉样品中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的测定。