

动物源性食品中喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 残留量的测定 液相 色谱-串联质谱法

Determination of quinocetone and its metabolites 1-DQCT, BDQCT and MQCA residues in animal-derived foods—Liquid chromatography tandem mass spectrometry

2019 - 12 - 24 发布

2020 - 01 - 24 实施

山东省市场监督管理局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由山东省畜牧兽医局提出并组织实施。

本标准由山东省畜牧业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：青岛农业大学。

本标准主要起草人：郝智慧、曲少奇、黄亭亭、曲丽华、孙京新。

动物源性食品中喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了动物源性食品中喹烯酮药物及代谢物1-DQCT、BDQCT、MQCA残留量测定的液相色谱—串联质谱法。

本标准适用于猪肝、猪肉、猪心和鸡蛋中的喹烯酮药物及代谢物1-DQCT、BDQCT、MQCA残留量的测定。本方法的检出限均为1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限均为2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

采用乙酸乙酯溶液提取样品中喹烯酮及代谢物1-DQCT、BDQCT、MQCA，提取液经固相萃取小柱净化，滤膜过滤后用液相色谱-串联质谱法进行测定，外标法定量。

4 试剂或材料

除非另有规定，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

- 4.1 水：GB/T 6682，一级。
- 4.2 乙酸乙酯。
- 4.3 乙腈：色谱纯。
- 4.4 甲醇：色谱纯。
- 4.5 二甲基亚砜：色谱纯。
- 4.6 甲酸：色谱纯。
- 4.7 0.1%甲酸水溶液：准确吸取0.5 mL甲酸（4.6），加水（4.1）稀释至500 mL，混匀。
- 4.8 0.1%甲酸乙腈溶液：准确吸取0.5 mL甲酸（4.6），加乙腈（4.3）稀释至500 mL，混匀。
- 4.9 20%甲醇溶液：准确量取200 mL甲醇（4.4），加水（4.1）稀释至1 000 mL，混匀。
- 4.10 洗脱液：准确吸取20 mL 0.1%甲酸水溶液（4.7），加乙腈（4.3）稀释至1 000 mL，混匀。
- 4.11 0.1%甲酸乙腈溶液：0.1%甲酸水溶液（4.7）+0.1%甲酸乙腈溶液（4.8）=7+3。
- 4.12 喹烯酮（QCT）对照品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.13 3-甲基喹噁啉-2-羧酸（MQCA）对照品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.14 N1-脱氧喹烯酮（1-DQCT）对照品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.15 脱二氧喹烯酮（BDQCT）对照品：纯度 $\geq 98.0\%$ 。

- 4.16 标准储备溶液：分别称取喹烯酮对照品（4.12）、MQCA对照品（4.13）、1-DQCT对照品（4.14）、BDQCT对照品（4.15）10 mg，置10 mL棕色容量瓶中，加入1 mL的二甲基亚砜（4.5）溶解后，用乙腈（4.3）定容至刻度，配制成浓度均为1 mg/mL的标准储备溶液，-20 °C冰箱保存，有效期为3个月。
- 4.17 混合标准中间溶液：准确吸取喹烯酮及1-DQCT、BDQCT、MQCA标准储备溶液（4.16）各1 mL置于10 mL容量瓶中，加乙腈（4.3）稀释至10 mL，配制成浓度为100 μg/mL的混合标准工作溶液。
- 4.18 基质混合标准工作溶液系列：准确称取5份空白试样（2.0 g，精确至0.001 g）于50 mL聚丙烯离心管中，根据需要分别加入相应体积的混合标准中间溶液（4.17），配制成2.5 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL的基质混合标准工作溶液系列，然后按7.1和7.2操作，供液相色谱—串联质谱仪分析。
- 4.19 C₁₈固相萃取柱：250 mg/3 mL，或其它性能类似的小柱。
- 4.20 微孔滤膜：0.22 μm有机系过滤膜。

5 仪器设备

- 5.1 液相色谱—串联质谱仪（HPLC-MS-MS）：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 分析天平：感量0.001 g和0.01 mg各一台。
- 5.3 均质器：转速不低于20 000 r/min。
- 5.4 氮气吹干仪。
- 5.5 色谱柱：C₁₈，2.1×100 mm，1.8 μm，或其它性能类似的柱子。
- 5.6 离心机：转速不低于10 000 r/min。
- 5.7 旋涡混合器。
- 5.8 旋转蒸发仪。

6 样品

6.1 试样的制备

取均质后的供试样品，作为供试试样。

取均质后的空白样品，作为空白试样。

取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准溶液，作为空白添加试样。

6.2 试样的保存

-18 °C以下保存。

7 试验步骤

7.1 提取

平行做两份实验，称取试样2 g（精确至0.001 g），置于50 mL聚丙烯离心管中，准确加入乙酸乙酯（4.2）10 mL，均质提取1 min后，于10 000 r/min离心10 min，取上清液，置另一干净的50 mL聚丙烯离心管中。残渣准确加入10 mL乙酸乙酯（4.2）重复提取一次，离心后合并上清液，将上清液于旋转蒸发仪中50 °C水浴，蒸发至近干。准确加入2 mL 20 %甲醇溶液（4.9）溶解，涡旋混合30 s，待净化。

7.2 净化

C₁₈固相萃取柱(4.19)依次用3 mL甲醇(4.4)、3 mL水(4.1)预洗活化。将提取液转移至已活化好的C₁₈固相萃取柱(4.19)上,保持流速为1滴/s,加入3 mL水(4.1)淋洗,3 mL洗脱液(4.10)洗脱,收集洗脱液于5.0 mL离心管中,40 °C氮气吹干。残渣用1.00 mL含0.1 %甲酸乙腈溶液(4.11)溶解,用微孔滤膜(4.20)过滤,取滤液作为HPLC-MS-MS供试品溶液,采用外标法计算药物含量。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件:

- 色谱柱: C₁₈, 2.1×100 mm, 1.8 μm, 或其它性能类似的柱子;
- 流动相: 0.1 %甲酸水溶液(4.7, A相), 乙腈(4.3, B相);
- 流速: 0.3 mL/min;
- 进样量: 5 μL;
- 柱温: 30 °C;
- 流动相及梯度洗脱条件见表1。

表1 流动相及梯度洗脱条件

时间 (min)	A 相 (%)	B 相 (%)
0.0	95	5
2.0	60	40
3.0	60	40
4.0	0	100
7.0	0	100
8.0	95	5
9.0	95	5

7.3.2 质谱参考条件:

- 离子源及扫描方式: 电喷雾正离子扫描 (ESI+);
- 毛细管电压: 3 kV;
- 离子源温度: 110 °C;
- 脱溶剂气 (N₂) 温度: 320 °C;
- 脱溶剂气 (N₂) 流速: 550 L/h;
- 监测方式: 多反应监测 (MRM);
- 喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 的特征离子对、碰撞能量和锥孔电压见表2。

表2 特征离子对、碰撞能量和锥孔电压

序号	化合物	母离子	子离子	碰撞能量/eV	锥孔电压/V
1	喹烯酮	307	273	15	24
2	1-DQCT	189	143	10	15
3	BDQCT	291	159	10	20
4	MQCA	275	143	10	20

7.3.3 定性测定。通过试样色谱图的保留时间与相应标准品的保留时间、各色谱峰的特征离子与相应浓度标准溶液各色谱峰的特征离子相对照定性。试样与标准品保留时间的相对偏差在±2.5 %之内; 试样特征离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超过表3的规定, 则可判断试样中存在相应的目标化合物。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度, %	>50	>20 至 50	>10 至 20	≤10
允许相对偏差, %	±20	±25	±30	±50

7.3.4 定量测定。对基质标准工作溶液进样，以峰面积为纵坐标、基质标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品采用外标法进行定量，样品溶液中喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 的响应值应在仪器测定的线性范围内。喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 溶液的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 A。

8 试验数据处理

供试试样中喹烯酮及1-DQCT、BDQCT、MQCA残留量以质量分数 ω ，单位以纳克每千克表示（ng/g），按式(1)计算：

$$\omega = \frac{A_1 \times C \times V}{A_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

A_1 ——试样溶液中喹烯酮及1-DQCT、BDQCT、MQCA峰面积；

A_2 ——标准溶液中喹烯酮及1-DQCT、BDQCT、MQCA峰面积；

C ——标准溶液中喹烯酮及1-DQCT、BDQCT、MQCA浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——溶解残渣的液体体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

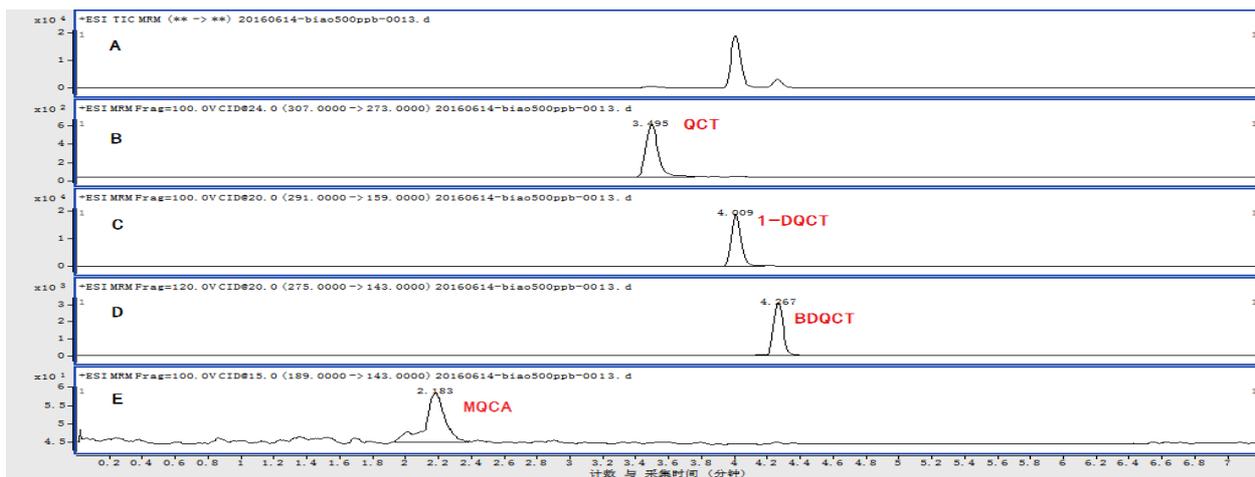
9 精密度

在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值，不大于该平均值的15 %。

附录 A
(资料性附录)

喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 混合标准工作液的 MRM 色谱图

喹烯酮药物及代谢物 1-DQCT、BDQCT、MQCA 混合标准工作液的 MRM 色谱图见图 A.1。



图A.1 混合标准溶液色谱图 (20 µg/L) 的多反映监测 (MRM) 色谱图

附相关产品：

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
C18 液相色谱柱	ACQUITY UPLC HSS C18 SB 100A 1.8um 2.0 × 100mm	1 支	186004119
C18 固相萃取柱	KEPNO LC-C18 SPE 250 mg/3 mL	50 支/盒	SC-57308
有机微孔过滤膜	Nylon 50mm × 0.22um	100 片/盒	SC-TJ0002
液相微量注射器	5 uL 51mm/22#/0.028" LC 平头	1 支	001301
分析型色谱柱温箱	室温+5-80℃	1 台	XD-1
半微量电子分析天平	60g/0.01mg	1 台	QUINTIX65-1CN
电子分析天平	200g/1mg	1 台	JA203N
漩涡混合器	点动/连续 (固定转速 2800rpm)	1 台	XW-18DL
台式高速离心机	最高转速 12000rpm(转/分), 48 × 0.5mL	1 台	TGL-16GB

旋转蒸发仪	自动升降, 0.5-2L	1 台	RE-52AA
数显高速均质机	输出功率: 200W; 转速: 300-23000r/min	1 台	FJ200-S
氮气吹干仪	24 孔, 气体流量 0-10L/min, 干式铝块	1 台	FN-24A
