

液相色谱串联质谱法快速检测饲料中的喹噁啉类抗生素

郭琳琳¹, 杨慧玲², 孙小杰¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

¹ SCIEX China; ² 山西省检验检测中心畜牧与水产品检验技术研究所

关键词: 饲料、喹噁啉类、抗生素、液相色谱串联质谱法

Key Words: Feeds, Quinoxalines, Antibiotics, LC-MS/MS

引言

喹噁啉类抗生素是化学合成的具有喹噁啉-1, 4- 二氧化物母核结构的化合物, 主要包括卡巴氧、喹乙醇、喹烯酮和乙酰甲喹。该类物质具有抗菌、促生长、价格便宜等优点, 被广泛用作畜禽及水产动物的饲料添加剂^[1]。但由于不正确使用, 中毒事件时有发生, 同时该类物质的残留对人体具有的潜在致癌性和产生抗药性的可能^[2]。按照《全国遏制动物源细菌耐药行动计划》部署, 为维护我国动物源性食品安全和公共卫生安全, 农业部发布了中华人民共和国农业农村部公告第194号, 决定停止生产、进口、经营、使用部分药物饲料添加剂, 自2020年7月1日起, 饲料生产企业停止生产含有包括喹噁啉类抗生素在内的促生长类药物饲料添加剂(中药类除外)的商品饲料^[3]。为了有效监管饲料中喹噁啉类抗生素的非法使用, 建立饲料中喹噁啉类抗生素的检测方法十分必要。

本实验的优势和特点:

- 快速高通量:** 饲料样品经过前处理后, 采用ESI正模式扫描, 一针6.5分钟可完成对四种喹噁啉类抗生素卡巴氧、喹乙醇、喹烯酮和乙酰甲喹的准确定性和定量;
- 灵敏度高:** 饲料基质中的四种喹噁啉类抗生素定量限均远低于目前标准中的定量限要求;
- 方法稳定性好:** 线性相关系数均大于0.995, 不同浓度下的多份质控样品的加标回收率在80%-120%范围内, RSD在0.8%-1.5%范围内;

实验方法

1. 样品前处理

1.1 样品提取

准确称取试样(配合饲料、精料补充料和浓缩饲料2.00 g, 或预混合饲料1.00 g), 以及相同质量的基质匹配空白饲料分别于50 mL聚丙烯离心管中。加入0.1%甲酸-乙腈溶液10 mL, 涡动1 min, 40°C超声10 min。9000 r/min离心15 min, 收集上清液。残渣用0.1%甲酸-乙腈10 mL重复提取一次, 混匀, 为总提取液。准确量取5.0 mL, 总提取液于10 mL试管中, 60°C氮气吹至约2 mL, 加入0.1% mol/L磷酸二氢钾溶液4 mL, 充分溶解残余物, 为备用液。

1.2 样品净化

取HLB固相萃取柱, 依次用3 mL甲醇和3 mL水活化。取备用液过柱, 依次用0.02 mol/L盐酸3 mL和5%甲醇3 mL淋洗, 挤干。用5 mL甲醇洗脱, 收集洗脱液, 60°C下氮气吹干, 加入20%乙腈溶液1 mL充分溶解, 为净化液。过0.22 μm滤膜后供上机检测^[4]。

2. 液相方法

色谱柱: Kinetex® C18 (2.1 × 50 mm, 2.6 μm)

流动相: A: 水 (0.1%甲酸)

B: 乙腈 (0.1%甲酸)

流速: 0.4 mL/min

进样量: 2 μL

洗脱程序: 梯度洗脱

Time [min]	Flow [mL/min]	B.Conc [%]	B.Curve
0.00	0.400	5.0	0
0.50	0.400	5.0	0
4.00	0.400	60.0	0
4.10	0.400	95.0	0
5.00	0.400	95.0	0
5.10	0.400	5.0	0
6.50	0.400	5.0	0

2. 质谱方法

仪器：SCIEX Triple Quad™ 仪器

扫描方式：MRM采集模式，正离子扫描

离子源：ESI源

离子源参数：

IS电压：5500 V

源温度 TEM: 550°C

气帘气 CUR: 35 psi

碰撞气 CAD: Medium

雾化气 GS1: 50 psi

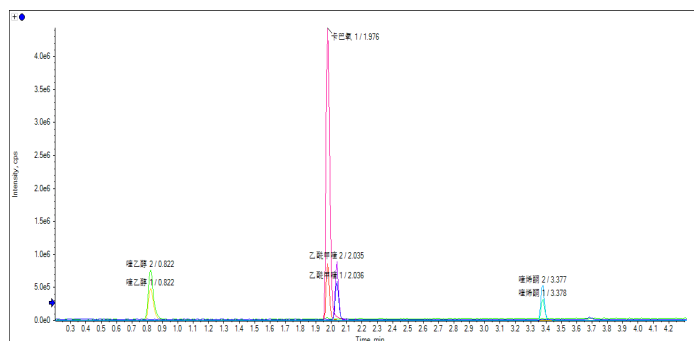
辅助气 GS2: 55 psi

离子对参数如下表所示。

Group ID	Compound ID	Q1 mass	Q3 mass	Dwell time	DP	EP	CE	CXP
乙酰甲喹	乙酰甲喹 1	219.1	160.0	60	100	10	21	10
乙酰甲喹	乙酰甲喹 2	219.1	185.0	60	100	10	31	10
卡巴氧	卡巴氧 1	263.1	231.0	60	100	10	19	10
卡巴氧	卡巴氧 2	263.1	229.0	60	100	10	26	10
喹乙醇	喹乙醇 1	264.0	212.1	60	110	10	30	10
喹乙醇	喹乙醇 2	264.0	143.0	60	110	10	45	10
喹烯酮	喹烯酮 1	307.0	197.0	60	130	10	27	10
喹烯酮	喹烯酮 2	307.0	273.0	60	130	10	28	10

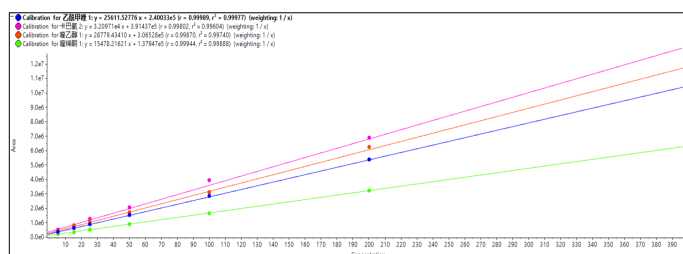
结果与讨论

1. 化合物的提取离子流图如图2所示，4种喹噁啉类抗生素的峰性良好。



2. 方法线性

该方法中，4种喹噁啉类抗生素的线性关系良好，相关系数均大于0.995，保证了不同浓度样品的定量准确性。



3. 实际样品前处理回收率和重复性

称取不含待测物组分的试样，分别添加三个浓度水平，每水平6个平行样品。充分混匀后，按照前处理方法进行处理，按照仪器条件进行测定。结果表明，不同基质分析方法的回收率为80%-120%，相对标准偏差RSD为0.8%-1.5%，这说明方法的回收率好，通用性强，可满足日常不同饲料样品中的四种喹噁啉类抗生素的检测需要。

总结

本文采用了SCIEX Triple Quad™系统，建立了快速测定饲料中的喹噁啉类抗生素的检测方法。6.5分钟完成四种喹噁啉类抗生素的定性定量测定；本实验验证了实际样品在三个浓度范围的添加回收率，结果均在80-120%，相对标准偏差为0.8-1.2%。该方法快速简便，灵敏度满足饲料中的四种喹噁啉类抗生素的检测要求。

参考文献：

- [1] 中华人民共和国农业部.中华人民共和国农业部公告第168号 饲料药物添加剂使用规范[Z].北京:中华人民共和国农业部,2012.
- [2] 粟胜兰.美国关于猪饲料中抗生素使用的新规定[J]. 中国饲料, 2017(22): 37.
- [3] 中华人民共和国农业农村部.中华人民共和国农业农村部公告第194号 发布药物饲料添加剂退出计划和相关政策[Z].北京:中华人民共和国农业农村部,2019.
- [4] 中华人民共和国农业部.中华人民共和国农业部第2086号 饲料中卡巴氧、乙酰甲喹、喹烯酮和喹乙醇的测定 液相色谱-串联质谱法[Z]. 北京:中华人民共和国农业农村部,2014.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15778-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](#)