

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定畜肉中喹乙醇和代谢物残留及其冷冻储藏稳定性研究

任龙梅\*

(乌兰察布职业学院农学与马铃薯工程系, 乌兰察布 012000)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定畜肉中喹乙醇(olaquinox, Ola)及其代谢物 3-甲基-喹噁啉-2-羧酸(3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid, MQCA)残留量的检测方法,并研究在冷冻储藏条件下畜肉中 Ola 及 MQCA 的稳定性。**方法** 采用碱性水解提取畜肉中 Ola 及 MQCA,经混合型阴离子交换固相萃取柱净化,以乙腈和 0.2%甲酸溶液为流动相,经 C<sub>18</sub> 色谱柱洗脱分离,电喷雾正离子模式电离,多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式检测,外标法定量;通过降解率,分析畜肉中 Ola 和 MQCA 在冷冻储藏条件下的稳定性。**结果** Ola 及 MQCA 在 0.5~100.0 μg/kg 范围内,质谱响应强度与其质量浓度呈良好的线性关系,相关系数( $r$ ) $\geq 0.9996$ ;检出限均为 0.1 μg/kg,定量限均为 0.5 μg/kg;加标回收率为 92.7%~98.6%,相对标准偏差为 1.2%~3.7%;Ola 及 MQCA 在-20 °C储藏 180 d 是稳定的。**结论** 该法样品前处理操作简单、准确度高、精度好,可为畜肉中 Ola 及 MQCA 残留量检测提供方法。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱法; 畜肉; 喹乙醇; 3-甲基-喹噁啉-2-羧酸

## Determination of olaquinox and its metabolite residues in meat by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and the study on their frozen storage stability

REN Long-Mei\*

(Department of Agronomy and Potato Engineering, Ulanqab Vocational College, Ulanqab 012000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of olaquinox (Ola) and its metabolite 3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid (MQCA) by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), and study the stability of Ola and MQCA in livestock meat under frozen storage conditions. **Methods** Ola and MQCA from animal meat were extracted by using alkaline hydrolysis, purified by mixed anion exchange solid phase extraction column, using acetonitrile and 0.2% formic acid solution as mobile phase, eluted and separated by C<sub>18</sub> chromatographic column, ionized by electrospray positive ion mode, detected by multiple reaction monitoring (MRM) mode, and quantified by external standard method. Storage stability of Ola and its metabolite MQCA in livestock meat under freezing conditions was also investigated. **Results** The results showed that the mass concentration of Ola and MQCA showed a good linear relationship with the mass spectrometry response value in the range from 0.5 μg/kg to 100.0 μg/kg, and the correlation coefficient ( $r$ ) were not less than 0.9996. The

\*通信作者: 任龙梅, 硕士, 讲师, 主要研究方向为食品加工、农产品加工与贮藏、食品分析与检测。E-mail: renlongmei1203@126.com

\*Corresponding author: REN Long-Mei, Master, Lecturer, Department of Agronomy and Potato Engineering, Ulanqab Vocational College, Ulanqab 012000, China. E-mail: renlongmei1203@126.com

limits of detection were 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the limits of quantitation were 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the recoveries rates were in the range from 92.7% to 98.6%, and the relative standard deviations were in the range from 1.2% to 3.7%. Ola and MQCA were stable when stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 180 days. **Conclusion** This method has the advantages of simple pretreatment, high accuracy and good precision, and can provide a method for the detection of Ola and MQCA residues in livestock meat.

**KEY WORDS:** ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; livestock meat; olaquinox; 3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid

## 0 引言

喹乙醇(olaquinox, Ola), 又名喹酰胺醇、倍育诺、快育灵等, 是一种抗菌促进生长剂<sup>[1-4]</sup>, 具有促进蛋白质同化作用、提高饲料转化率, 促进猪增重加快, 且具有优良的抗菌效果, 广泛用于猪、牛、羊、马、兔等家畜生长和抗菌治疗, 但若滥用 Ola 易造成细菌耐药性增加, 人类误食 Ola 污染的禽畜肉可能感染具耐药性的细菌, 进而危害健康<sup>[5-7]</sup>。现代毒理学研究表明, Ola 具有强的蓄积毒性、致畸作用<sup>[8-10]</sup>; 在动物体内主要代谢产物为 3-甲基-喹噁啉-2-羧酸(3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid, MQCA), 它能抑制 DNA 的合成, 对染色体畸变有影响<sup>[11-13]</sup>。欧盟已于 1998 年禁止 Ola 应用于可食性动物中; 我国农业农村部规定自 2019 年 5 月起, 停止经营、使用 Ola 原料药及各种制剂, 但一些养殖业仍存在滥用情况<sup>[14-15]</sup>。因此, 为保障消费者食用畜肉的安全性, 研究建立简便、准确、灵敏地测定畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 含量的方法, 可为畜牧养殖和畜肉质量监控提供参考。

目前, Ola 及其代谢物 MQCA 的检测方法有酶联免疫吸附法<sup>[16-18]</sup>、电化学检测法<sup>[19-20]</sup>、液相色谱法<sup>[21-22]</sup>和高效液相色谱-质谱联用法<sup>[23-26]</sup>, 其中酶联免疫吸附法灵敏度高, 容易出现假阳性结果; 荧光微球免疫层析法定量测定较为困难; 电化学分析的选择性一般较差; 液相色谱法存在基质复杂、基线较高等缺点; 高效液相色谱-质谱联用法分辨率高、灵敏度高、选择性高、杂质抗干扰能力强等优点<sup>[27-31]</sup>, 但尚未见关于肉中 Ola 和 MQCA 在冷冻储藏条件下的稳定性研究报道。Ola 及其代谢物 MQCA 的样品前处理方法主要是酶解和酸水解, 但酶解耗时长, 酸水解提取回收率较低, 且后续净化效果不佳。因此, 本研究建立了超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 残留量的检测方法, 同时研究畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 在冷冻条件下的储藏稳定性, 以为畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 残留监测提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

Ola 及其代谢物 MQCA 标准物质(纯度均大于 99%, 美国 Sigma 公司); 甲醇、乙腈、甲酸、丙酮、正己烷、乙酸乙酯(色谱纯, 美国 Tedia 公司); Protease 蛋白酶(美国 Sigma 公司); 其余试剂(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司);

猪肉、牛肉、羊肉(各 5 份): 乌兰察布四子王旗农贸市场。

### 1.2 仪器与设备

Agilent 1290-6460 triple quad 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国 Agilent 公司); 5810R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); WH-12 水浴氮吹仪(杭州佑宁仪器有限公司); ME802E 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); 5982-9120 真空固相萃取装置(美国 Agilent 公司); S10 高速匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司); Sartorius arium confort II 超纯水器(德国 Sartorius 公司); 混合型阴离子交换固相萃取柱(规格 60 mg/3 mL, 天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品前处理

##### (1) 碱水解

取新鲜或解冻的畜肉组织, 剪碎, 10000 r/min 匀浆 1 min; 准确称取 5.0 g 匀浆后的畜肉, 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 2 mol/L NaOH 溶液 20 mL, 涡旋混匀后 60  $^{\circ}\text{C}$  空气浴摇床中水解 1 h。

##### (2) 净化

水解液冷却至室温, 加入 10 mol/L 盐酸溶液将水解液 pH 值调至 1.0, 10000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 20 mL 正己烷振荡混匀, 5000 r/min 离心 10 min, 弃去正己烷, 下层液全部移入混合型阴离子交换固相萃取柱中, 待样液全部流出后, 用 10 mL 乙酸钠-甲醇溶液(19:1, V:V)淋洗离心管后过混合型阴离子交换固相萃取柱, 待溶液全部流出后, 真空抽

干 1 min。固相萃取柱依次用 6 mL 水、6 mL 1 mmol/L 氨水-甲醇溶液(4:1, V:V)和 6 mL 甲醇淋洗, 真空抽干 1 min, 用 2%甲酸乙酸乙酯溶液 3 mL 洗脱, 45 °C 氮吹近干, 准确加入 1.0 mL 初始流动相溶解残渣, 0.22 μm 微孔有机滤膜过滤, 供 UPLC-MS/MS 测定。

### 1.3.2 标准储备液配制

准确称取 Ola 及其代谢物 MQCA 标准品各 10 mg, 用乙腈溶解并定容至 100 mL, 配制成质量浓度为 100 μg/mL 的标准储备液。

### 1.3.3 液相色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-Aq (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm); 柱温 35 °C; 流速 0.3 mL/min; 进样量 10.0 μL; 流动相 A 为 0.2%甲酸溶液, 流动相 B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~0.2 min, 90%A; 0.2~4.0 min, 90%~10%A; 4.0~7.0 min, 10%~5%A; 7.0~8.0 min, 5%~90%A; 8.0~12.0 min, 90%A。

### 1.3.4 质谱条件

离子化模式: 电喷雾电离正离子模式(electron spray ionization, ESI+); 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 离子源温度: 150 °C; 毛细管电压: 3500 V; 干燥气温度: 100 °C; 干燥气流量: 15 L/min; 雾化气压力: 35 psi; 鞘气温度: 350 °C; 鞘气流量: 12 L/min。其他质谱分析参数如表 1 所示。

表 1 Ola 及其代谢物 MQCA 的质谱分析参数  
Table 1 Mass spectrometric parameters for olaquinox and its metabolites

序号	化合物	母离子	子离子(m/z)	碰撞能量/eV	碎裂电压/V
1	Ola	263.8	212.0* 177.1	28 20	80
2	MQCA	188.9	145.0* 171.0	18 12	50

注: \*定量离子。

### 1.3.5 基质效应分析

由于猪肉成分复杂, 富含大量蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质、维生素与浸出物等, 可能存在基质效应(matrix effect, ME)。为降低猪肉基质干扰, 提高测定猪肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 的 UPLC-MS/MS 方法准确性, 通过标准添加法在猪肉和流动相纯乙腈 2 种基质中添加 Ola 及其代谢物 MQCA 标准物质, 分别用本研究所建立的 UPLC-MS/MS 测定其响应值, 计算基质效应 ME 值 ( $ME=A/B \times 100\%$ , 其中 A 为猪肉中 Ola 或 MQCA 的响应值, B 为纯乙腈中 Ola 或 MQCA 的响应值)。若  $ME < 90\%$  时, 表明存在基质减弱效应; 若  $90\% < ME < 110\%$ , 表明不存在

基质效应; 若  $ME > 110\%$  时, 表明存在基质减弱或基质增强效应。

## 1.4 储藏稳定性实验

在不含 Ola 及 MQCA 的阴性空白猪肉样品中添加质量浓度 0.5、1.0、2.5 μg/kg 的目标检测物, 密封后置于 -20 °C 储藏, 在 1、7、15、30、60、90、120、180 d 等不同储藏时期进行猪肉样品中 Ola 及 MQCA 含量的检测, 分析其稳定性。

## 1.5 数据处理

每组实验重复 6 次, 结果表示为平均值, 采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 水解方式的选择

分别考察酶水解、酸水解和碱水解等水解方式对猪肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 的水解效果。结果表明: 酶水解过程温和, 但操作烦琐且耗时长(16 h 以上); 酸水解过程较温和, 但水解效率不高, 尤其是猪肉样品; MQCA 与猪肉组织主要是通过共价键结合, 采用酶水解和酸水解无法使 MQCA 从猪肉组织中完全解离; 碱水解反应较为剧烈, 能使猪肉中蛋白质有效水解, 且将 Ola 及其代谢物 MQCA 从猪肉组织中解离。故水解方式选择碱水解。

分别考察 NaOH 碱溶液浓度(0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、5.0 mol/L)、碱水解时间(15、30、45、60、90、120 min)对猪肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 的碱水解效果。结果表明: 若 NaOH 碱溶液浓度低, 碱水解过程耗时较长; 若 NaOH 碱溶液浓度高, 碱水解过程耗时短, 但水解液浓稠, 不利于后续净化; 当选用 2.0 mol/L NaOH 碱水解猪肉 60 min 时, Ola 及其代谢物 MQCA 从猪肉中有效解离, 解离度达 98.6%。故碱水解的条件为 2.0 mol/L NaOH、水解时间 60 min。

### 2.2 净化柱的选择

由于猪肉成分复杂, 碱水解液 pH 值较大, 但 Ola 及其代谢物 MQCA 呈弱酸性, 水解液需经酸化后 Ola 及其代谢物 MQCA 才能形成分子状态。考察中性氧化铝柱(AluN)、酸性氧化铝柱(AluA)、碱性氧化铝柱(AluB)、混合型阳离子柱(MCX)和混合型阴离子柱(MAX) 5 种净化柱对猪肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 的净化回收效果。结果表明: 混合型阴离子柱(MAX)对 Ola 及其代谢物 MQCA 的净化回收效果最好, 净化回收率高达 98.4%(图 1)。因此选择 MAX 作为净化柱。

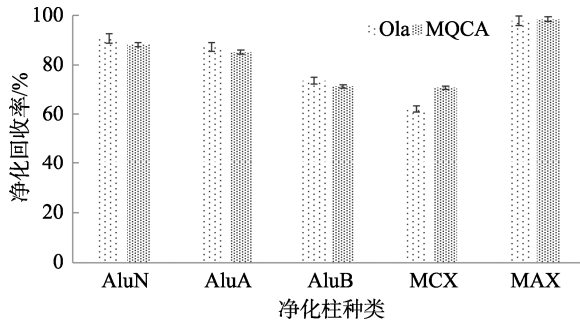


图 1 不同净化柱对 Ola 及其代谢物 MQCA 净化效果( $n=6$ )  
Fig.1 Purification effect of different purification columns on Ola and its metabolite MQCA ( $n=6$ )

### 2.3 色谱柱的选择

采用相同流动相条件,比较不同商品化色谱柱(DiKMA Endeavorsil C<sub>18</sub>、Agilent ZORBAX SB-AQ、Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>、Waters BEH C<sub>18</sub>、Shim-pack XR-ODS III C<sub>18</sub>)对 Ola 及其代谢物 MQCA 色谱响应值、分离度和重复性的影响。由表 2 可知,与 Endeavorsil C<sub>18</sub>、Waters BEH C<sub>18</sub>、Shim-pack XR-ODS III C<sub>18</sub> 色谱柱相比,采用 Agilent

ZORBAX SB-AQ C<sub>18</sub> 和 Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub> 色谱柱可有效分离 Ola 及其代谢物 MQCA,尤其是 SB-AQ C<sub>18</sub> 色谱柱中各目标物色谱峰响应值高、重复性好,这可能是由于 SB-AQ C<sub>18</sub> 色谱柱具有亲水性的表面,即使是使用 100% 的水溶液作流动相,也可以有效防止键合相的塌陷,适用于难分离的酸性和极性化合物,保留作用比传统的 C<sub>18</sub> 柱要强。故选择 SB-AQ C<sub>18</sub> 色谱柱作为分析柱。

### 2.4 流动相的选择

以 ZORBAX SB-AQ C<sub>18</sub> 色谱柱为分析柱,分析甲醇/乙腈-水、甲醇/乙腈-0.1%甲酸溶液、甲醇/乙腈-乙酸铵溶液(1.0~5.0 mmol/L)等不同流动相对畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 的分离效果及质谱响应情况。从图 2 中可知,在乙腈-0.1%甲酸溶液流动相体系下,通过梯度洗脱, Ola 及其代谢物 MQCA 的峰形尖锐且对称、保留时间适中、化合物响应值最高,而在甲醇/乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸溶液、甲醇/乙腈-乙酸铵溶液(1.0~5.0 mmol/L)等流动相体系下, Ola 及其代谢物 MQCA 的色谱峰分离度及响应重现性均较差,尤其是乙酸铵溶液会出现一定的离子抑制作用。故选择乙腈-0.1%甲酸溶液为流动相。

表 2 不同色谱柱的分离效果

Table 2 Information of separation by different chromatographic column

色谱柱	Ola 响应值/cps	MQCA 响应值/cps	分离度	重复性/%
DiKMA Endeavorsil C <sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 1.8 μm)	1.8×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	2.13	96.4
Agilent ZORBAX SB-AQ C <sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm)	5.1×10 <sup>6</sup>	4.3×10 <sup>6</sup>	2.79	97.2
Agilent Eclipse XDB C <sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm)	3.4×10 <sup>6</sup>	3.2×10 <sup>6</sup>	2.84	96.8
Waters BEH C <sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm)	4.1×10 <sup>5</sup>	4.1×10 <sup>5</sup>	2.06	90.6
Shim-pack XR-ODS III C <sub>18</sub> (150 mm×2.0 mm, 1.6 μm)	3.2×10 <sup>6</sup>	2.5×10 <sup>6</sup>	1.58	96.4

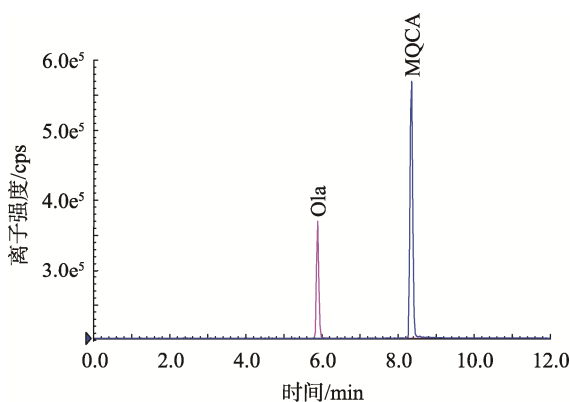


图 2 Ola 及其代谢物 MQCA 标准溶液的质谱总离子流图  
(50.0 ng/mL)  
Fig.2 Total ion chromatograms of Ola and its derivatives MQCA  
(50.0 ng/mL)

### 2.5 质谱条件的优化

将质量浓度 1.0 μg/mL 的 Ola 及其代谢物 MQCA 标准溶液不通过色谱柱直接注入 ESI 离子源中,分别在 ESI<sup>+</sup> 和 ESI<sup>-</sup> 模式下进行质谱优化,通过一级质谱扫描确定目标物的母离子,同时优化碰撞能量和碎裂电压,对选定的母离子进行子离子扫描,以丰度相对最强的碎片离子作为定量离子,以丰度相对强度次强的碎片离子作为定性离子。结果表明: Ola 及其代谢物 MQCA 在 ESI<sup>+</sup> 模式下可产生带正电荷的分子离子峰[M+H]<sup>+</sup>,且峰响应值较高,故 Ola 选择  $m/z$  263.8 作为母离子, MQCA 选择  $m/z$  188.9 作为母离子;对 Ola 及其代谢物 MQCA 的母离子[M+H]<sup>+</sup> 进行子离子扫描,经优化碰撞能量和碎裂电压,选择响应强度最高的离子对用于定量分析,选择响应强度次之的离子对用于定性分析,优化后的质谱参数见表 3。

表 3 Ola 及其代谢物 MQCA 质谱参数  
Table 3 Optimum parameters and selected fragmentations of Ola and MQCA

序号	化合物	母离子	子离子( $m/z$ )	碰撞能量 /eV	碎裂电压 /V
1	Ola	263.8	212.0* 177.1	28 20	80
2	MQCA	188.9	145.0* 171.0	18 12	50

注: \*定量离子。

## 2.6 基质效应分析

由表 4 可知, 在畜肉(牛肉、猪肉和羊肉)和流动相纯乙腈 2 种基质中分别加入质量浓度为 0.5、10.0、100.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Ola 及 MQCA 标准溶液, 经本研究所建 UPLC-MS/MS 测定, Ola 及 MQCA 的基质效应 ME 值分别在 92.3%~98.4%和 91.5%~98.6%, 即均不存在基质效应。

## 2.7 线性关系、检出限与定量限

以不含 Ola 及 MQCA 的空白畜肉为基质, 依次配制 Ola 及 MQCA 质量浓度分别为 0.5、1.0、5.0、50.0、100.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的标准溶液, 采用本研究所建立的 UPLC-MS/MS 测定, 以 Ola 和 MQCA 的质量浓度( $X$ ,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )为横坐标, 以 Ola 和 MQCA 质谱响应强度( $Y$ )为纵坐标, 绘制标准曲线; 在不含 Ola 及 MQCA 的空白畜肉基质中添加低添加量的 Ola 及 MQCA 标准品, 采用国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)规定的检出限和定量限测定方法, 以信噪比( $S/N=3$ )计算方法检出限, 以  $S/N=10$  计算方法定量限。由表 5 可知, 在 0.5~100.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  质量浓度范围内, Ola 和 MQCA 的质量浓

度与其质谱响应强度均呈良好的线性关系, 检出限均为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限均为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由此可看出, 本方法具有较高灵敏度, 满足检测的要求。

## 2.8 回收率和精密度

用牛肉、猪肉、羊肉 3 种畜肉的阴性样品做加标回收实验, Ola 及 MQCA 添加水平为 0.5、1.0、2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 每个加标水平测定 6 次。结果显示, Ola 加标回收率在 93.4%~98.6%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.2%~3.7%; MQCA 加标回收率在 92.7%~98.4%, RSD 为 1.4%~3.5%, 表明该法准确度高、精密度好。

## 2.9 实际样品的测定

运用本研究所建立的 UPLC-MS/MS 对市售的牛肉、猪肉、羊肉 3 种畜肉各 5 份随机样品进行 Ola 及其代谢物 MQCA 残留量测定。结果显示, 15 份随机抽检畜肉中, 仅 1 份猪肉检出 MQCA 残留, 检出量为 1.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。尽管农业部第 2638 号公告规定自 2019 年 5 月起停止经营、使用 Ola 原料药及各种制剂<sup>[32]</sup>, 畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 残留得到了较好控制, 但由于产品流通、使用有一定的滞后性, 且 Ola 及其代谢物 MQCA 在畜肉中吸收、代谢、转化过程均需要一定的时间, 目前所售畜肉仍可能存在 Ola 及其代谢物 MQCA 残留风险, 仍不能放松对畜肉中 Ola 及其代谢物 MQCA 残留监管。

## 2.10 Ola 及其代谢物 MQCA 在畜肉中的储藏稳定性分析

运用本研究所建立的 UPLC-MS/MS 测定畜肉中 Ola 及 MQCA 在不同储藏时间的降解率。由表 6 可知: Ola 及 MQCA 的平均降解率小于 25%, 说明 Ola 及 MQCA 在 -20  $^{\circ}\text{C}$  储藏是稳定的。

表 4 Ola 及 MQCA 在纯乙腈和畜肉中的基质效应  
Table 4 Matrix effects of Ola and MQCA in pure acetonitrile and livestock meat

样品	$ME_{\text{Ola}}/\%$			$ME_{\text{MQCA}}/\%$		
	0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
牛肉	92.3	95.4	97.9	93.1	96.2	97.4
猪肉	92.6	96.1	98.2	92.8	94.3	97.2
羊肉	93.4	96.7	98.4	91.5	96.7	98.6

表 5 回归方程、检出限和定量限  
Table 5 Regression equation, detection limit and quantification limit

化合物	线性范围/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回归方程	相关系数	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
Ola	0.5~100.0	$Y=3.83 \times 10^5 X + 2.14 \times 10^3$	0.9996	0.1	0.5
MQCA	0.5~100.0	$Y=4.63 \times 10^5 X + 1.85 \times 10^3$	0.9997	0.1	0.5

表6 不同时期畜肉中Ola及MQCA残留量及降解率  
Table 6 Residues and degradation rates of Ola and MQCA in meat at different periods

化合物	加标量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	-20 °C降解率/%							
		1 d	7 d	15 d	30 d	60 d	90 d	120 d	180 d
Ola	0.5	1.3	1.8	3.1	6.9	11.4	17.2	19.6	23.5
	1.0	1.2	1.7	2.9	5.4	10.2	15.1	17.3	21.4
	2.5	1.3	1.7	2.8	4.7	8.6	13.3	15.7	19.6
MQCA	0.5	1.6	2.3	2.8	3.4	8.2	12.7	16.1	21.8
	1.0	1.5	2.6	2.6	3.2	7.5	12.3	15.9	19.3
	2.5	1.6	2.5	2.5	3.1	7.4	11.8	15.3	18.5

### 3 结论与讨论

本研究采用碱性水解提取畜肉中Ola及其代谢物MQCA,混合型阴离子交换固相萃取柱净化,利用UPLC-MS/MS测定畜肉中Ola及其代谢物MQCA残留量,并通过降解率分析畜肉中Ola和MQCA在冷冻储藏条件下的稳定性。该法样品前处理操作简单,相对于酶联免疫吸附法、电化学检测法、液相色谱法灵敏度高、准确度高,与其他高效液相色谱-质谱联用法的文献<sup>[2,4,7,12,14,26]</sup>相比,能有效排除基质效应,且通过降解率分析畜肉中Ola和MQCA在冷冻储藏条件下的稳定性,以阐述该法应用于畜牧养殖和畜肉质量安全检测过程中对受检冻肉样品储存期的要求,提高了检测结果的准确性。

#### 参考文献

- [1] 吕勇,沈兆艳,吴世林. 不同类型植物精油替代噻乙醇对保育仔猪生长性能的影响[J]. 广东饲料, 2019, 28(6): 20-22.  
LV Y, SHEN ZY, WU SL. Effects of different plant essential oils replacing olaquinox on growth performance of piglets [J]. Guangdong Feed, 2019, 28(6): 20-22.
- [2] 张静余,杨卫军,严敏鸣. 液相色谱-串联质谱法测定水产品中噻乙醇和卡巴氧的代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3788-3793.  
ZHANG JY, YANG WJ, YAN MM. Determination of metabolite residues of olaquinox and carbamox in aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(14): 3788-3793.
- [3] 黄鸾玉,杨姝丽,韦信贤,等. 超高效液相色谱法测定水产品中噻乙醇的残留量[J]. 理化检验, 2019, 55(4): 427-431.  
HUANG LY, YANG SL, WEI XX, et al. Determination of olaquinox residue in aquatic products by ultra performance liquid chromatography [J]. Phy Test Chem Anal, 2019, 55(4): 427-431.
- [4] 刘雪红,宋平,孙进健. 超高效液相色谱-串联质谱法检测饲料中噻烯酮和噻乙醇[J]. 中国饲料, 2019, 39(3): 88-90.  
LIU XH, SONG P, SUN JJ. Determination of quinolone and olaquinox in feed by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin Feed, 2019, 39(3): 88-90.
- [5] GAO YQ, GE L, HAN Z, et al. Oral administration of olaquinox negatively affects oocytes quality and reproductive ability in female mice [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 201(9): 110826-110831.
- [6] HAN J, JIANG D, CHEN TS, et al. Simultaneous determination of olaquinox, oxytetracycline and chlorotetracycline in feeds by high

performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detection adopting online synchronous derivation and separation [J]. J Chromatogr B, 2020, 43(1152): 122253-122259.

- [7] 何悦,严华,崔凤云,等. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法测定动物肌肉组织中噻乙醇及卡巴氧代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 4989-4994.  
HE Y, YAN H, CUN FY, et al. Determination of olaquinox and carbadox metabolites in animal muscle tissue by QuEChERS-ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(15): 4989-4994.
- [8] 魏秀丽,丁新仁,李有志,等. 中兽药中非法添加物风险监测结果的探讨[J]. 中兽医医药杂志, 2019, 38(3): 63-66.  
WEI XL, DING XR, LI YZ, et al. Discussion on the risk monitoring results of illegal additives in Chinese veterinary medicines [J]. J Tradit Chin Vet Med, 2019, 38(3): 63-66.
- [9] 张江,刘扬科,张俊辉,等. 抗菌肽与噻乙醇体外抑菌效果的比较及对断奶仔猪生产性能的影响[J]. 中国饲料, 2018, 19(2): 60-64.  
ZHANG J, LIU YK, ZHANG JH, et al. Comparison of antimicrobial peptides and olaquinox in vitro antibacterial effects and their effects on the performance of weaned piglets [J]. China Feed, 2018, 19(2): 60-64.
- [10] 应寒松,钟世欢,裘钧陶,等. 高效液相色谱测定鲫鱼组织中3-甲基噻噁啉-2-羧酸和噻噁啉-2-羧酸的残留[J]. 农产品加工, 2018, 19(3): 53-54.  
YING HS, ZHONG SH, QIU JT, et al. Determination of 3-methylquinoxaline-2-carboxylic acid and quinoxaline-2-carboxylic acid residues in crucian carp tissues by high performance liquid chromatography [J]. Agric Prod Proc, 2018, 19(3): 53-54.
- [11] 金鑫,朱志英. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定畜肉中伊维菌素残留量[J]. 肉类研究, 2019, 33(11): 55-60.  
JIN X, ZHU ZY. Determination of ivermectin residues in livestock meat by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Meat Res, 2019, 33(11): 55-60.
- [12] 邹淼,蒋莹,冯静,等. 超高效液相色谱串联质谱法测定鸡蛋中噻乙醇及卡巴氧代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 6942-6946.  
ZOU M, JIANG Y, FENG J, et al. Determination of metabolites of olaquinox and carbadox in egg by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(19): 6942-6946.
- [13] BAI XY, ZHANG B, LIU M, et al. Molecularly imprinted electrochemical sensor based on polypyrrole/dopamine@graphene incorporated with surface molecularly imprinted polymers thin film for recognition of olaquinox [J]. Bioelectrochemistry, 2020, 132(4): 107398-107403.
- [14] 刘迪,韩莉,曾妮,等. 碱水解-SPE-LC-MS/MS法快速测定动物源食品中噻乙醇代谢物残留量[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 70-74.

- LIU D, HAN L, ZENG N, *et al.* Quick determination of 3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid residues in animal-derived food by alkali hydrolysis-solid phase extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Mach*, 2019, 35(11): 70–74.
- [15] PENG DP, KAVANAGH O, GAO HJ, *et al.* Surface plasmon resonance biosensor for the determination of 3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid, the marker residue of olaquinox, in swine tissues [J]. *Food Chem*, 2020, 302(1): 124623–124628.
- [16] 王敏思, 朱文博, 柳双, 等. 饲料中噻乙醇残留的免疫快速检测[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2020, 40(4): 59–63.  
WANG MS, ZHU WB, LIU S, *et al.* Rapid immunoassay of olaquinox residues in feed [J]. *J Tianjin Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2020, 40(4): 59–63.
- [17] 苏立强, 于亭亭, 姜国强, 等. 噻乙醇分子印迹聚合物的制备及其应用[J]. 分析实验室, 2020, 39(7): 806–810.  
SU LQ, YU TT, JIANG GQ, *et al.* Preparation and application of olaquinox molecularly imprinted polymer [J]. *Chin J Anal Lab*, 2020, 39(7): 806–810.
- [18] 李婷婷, 张小军, 陈雪昌, 等. 酶联免疫法快速检测水产品中噻乙醇代谢物[J]. 分析实验室, 2018, 37(8): 914–916.  
LI TT, ZHANG XJ, CHEN XC, *et al.* Determination of MQCA in aquatic products by indirect ELISA [J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(8): 914–916.
- [19] 郭建军. 噻乙醇化学发光免疫技术及时间分辨荧光免疫层析技术研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.  
GUO JJ. Study on olaquinox chemiluminescence immunoassay and time-resolved fluorescence immunochromatography [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020.
- [20] 罗媛媛, 万伟杰, 胡丽芳. 液相色谱串联质谱法测定动物源性食品中噻乙醇代谢物残留量的不确定度分析[J]. 江西农业学报, 2018, 30(6): 92–97.  
LUO YY, WAN WJ, HU LF. Uncertainty analysis of determination of olaquinox metabolite residues in animal-derived foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Jiangxi J Agric*, 2018, 30(6): 92–97.
- [21] 史艳伟, 孟丽华, 江桂英, 等. 高效液相色谱法测定渔业用水中噻乙醇代谢物残留量[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(1): 64–69.  
SHI YW, MENG LH, JIANG GY, *et al.* Determination of olaquinox metabolite residues in fishery water by high performance liquid chromatography [J]. *China Fish Qual Stand*, 2019, 9(1): 64–69.
- [22] 吴昊, 刘发全, 宋亚伟, 等. HPLC-DAD 同时检测饲料植物提取物中非法添加噻乙醇和乙酰甲噻的含量[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(24): 152–154.  
WU H, LIU FQ, SONG YW, *et al.* Determination of olaquinox and mequinox in forage plant extracts by HPLC-DAD [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2018, 46(24): 152–154.
- [23] 师真, 杨在英, 张瑞雨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测罗非鱼中噻乙醇及其衍生物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1803–1808.  
SHI Z, YANG ZY, ZHANG RY, *et al.* Determination of olaquinox and its derivatives in tilapia *mossambica* by ultra high pressure liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(6): 1803–1808.
- [24] 章安源, 章安雯, 牛华星, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测扶正解毒散剂中非法添加物噻乙醇、乙酰甲噻[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(10): 33–39.
- ZHANG AY, ZHANG AW, NIU HX, *et al.* Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for detection of olaquinox and methaquine in Fuzheng Jiedu powder [J]. *J Tradit Chin Vet Med*, 2019, 53(10): 33–39.
- [25] CHEN P, WANG LD, SONG PF, *et al.* Recovering olaquinox and decreasing COD and salt concentrations in antibiotic wastewater by multiple freeze-thaw processes and crystallization [J]. *J Clean Prod*, 2019, 225(7): 248–255.
- [26] 张静, 高玉时, 唐梦君, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉、鸡蛋中噻乙醇和卡巴氧及代谢物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 469–475.  
ZHANG J, GAO YS, TANG MJ, *et al.* Simultaneous determination of residues of carbadox, olaquinox and related metabolites in chicken and egg by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(2): 469–475.
- [27] ZHANG YB, WANG Y, SHI YF, *et al.* One step synthesis of covalent connected three-dimensional graphene/carbon nanotube for olaquinox electrochemical sensor [J]. *Electrochimica*, 2019, 87(1): 20–25.
- [28] 马晓年, 张秀清, 张瑞雨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定纯牛奶中噻乙醇及其代谢物[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(6): 602–605.  
MA XN, ZHANG XQ, ZHANG RY, *et al.* Determination of olaquinox and its metabolites in pure milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2018, 30(6): 602–605.
- [29] 程春霞, 王成梅. 高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉中噻乙醇代谢物[J]. 食品安全导刊, 2018, 11(30): 98–99.  
CHENG CX, WANG CM. Determination of olaquinox metabolites in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2018, 11(30): 98–99.
- [30] WANG HW, LIU YQ, YAO S, *et al.* Fabrication of super pure single-walled carbon nanotube electrochemical sensor and its application for picomole detection of olaquinox [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1049(2): 82–90.
- [31] XU M, YANG L. Determination of olaquinox, carbadox and cyadox in animal feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam A*, 2018, 35(7): 1257–1265.
- [32] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部第 2638 号公告 停止在食品动物中使用噻乙醇、氨苯胂酸、洛克沙肿等 3 种兽药[EB/OL]. [2018-01-11]. [http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg\\_1/gg/201801/t20180112\\_6134888.htm](http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/201801/t20180112_6134888.htm). [2021-04-14].  
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Announcement No. 2638 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China to stop the use of three veterinary drugs including olaquinox, arsine and roxarsone in food animals [EB/OL]. [2018-01-11]. [http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg\\_1/gg/201801/t20180112\\_6134888.htm](http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/201801/t20180112_6134888.htm). [2021-04-14].

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



任龙梅, 硕士, 讲师, 主要研究方向为食品加工、农产品加工与贮藏、食品分析与检测。

E-mail: renlongmei1203@126.com