

# 超高效液相串联质谱法测定水产品中乙酰甲喹及其代谢物

刘文静, 潘 葳\*, 吴建鸿

(福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/福建省农产品质量安全重点实验室, 福州 350003)

**摘 要:** **目的** 建立一种超高效液相串联质谱法(ultra liquid chromatography tandem mass spectrometry, ULPC-MS/MS)测定水产品中乙酰甲喹及其代谢物的方法。**方法** 组织样品经二氯甲烷/乙酸乙酯提取, 正己烷去除脂肪过滤处理后, 采用 Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱进行分离, 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水(V:V)溶液作为流动相进行梯度洗脱, 正离子扫描方式下多反应监测模式测定。**结果** 乙酰甲喹及其 5 种代谢物在 1~50 ng/mL 线性范围内线性良好, 相关系数为 0.9991~0.9996; 该方法的检出限和定量限分别为 0.03 µg/kg 和 0.1 µg/kg; 鳗鲡、青蛾、虾、蟹肌肉样品中, 乙酰甲喹及代谢物在 0.1、0.2、1.0 µg/kg 的加标水平的平均回收率为 66.6%~106.6%, 日内精密度范围为 2.1%~11.1%, 日间精密度范围为 1.3%~13.2%。**结论** 本方法稳定、准确、灵敏、快速, 能够满足水产品中乙酰甲喹及其代谢物残留分析的需求。

**关键词:** 超高效液相色谱串联质谱; 水产品; 乙酰甲喹; 代谢物

## Determination of mequindox and its metabolites in aquatic products by ultra liquid chromatography tandem mass spectrometry

LIU Wen-Jing, PAN Wei\*, WU Jian-Hong

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory of Agro-products Quality & Safety, Fuzhou 350003, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of mequindox and its metabolites in aquatic products by ultra liquid chromatography tandem mass spectrometry (ULPC-MS/MS). **Methods** The tissue samples were extracted with dichloromethane/ethyl acetate and filtered with n-hexane to remove fat, separated with Waters ACQUITY HSS T3 column by gradient elution using acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate solution +0.1% formic acid solution (V:V) as mobile phase, the contents were determined by multi-reaction monitoring mode under positive ion scanning mode. **Results** Mequindox and its 5 metabolites had good linearity in the linear range of 1–50 ng/mL, with correlation coefficients of 0.9991–0.9996, the limit of detection was 0.03 µg/kg, and the limit of quantitation was 0.1 µg/kg. In eel, moth, shrimp and crab muscle samples, the average recoveries of mequindox and its metabolites at the spiked levels of 0.1, 0.2, and 1.0 µg/kg were 66.6%–106.6%, and the daily precision range was 2.1%–11.1%, the daytime precision range was

**基金项目:** 福建省农科院农产品质量安全创新团队项目(STIT2017-1-12)、福建省属公益类科研院所基本科研专项(2018R1018-1)

**Fund:** Supported by the Technology Innovation Team of Fujian Academy of Agricultural Sciences (STIT2017-1-12), and Fujian Province Basic Research Projects for Public Service Research Institutes (2018R1018-1)

**\*通讯作者:** 潘葳, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: 870993292@qq.com

**\*Corresponding author:** Pan -Wei, Associate Professor, Institute of Quality Safety for Agro- products, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China. E-mai:870993292@qq.com

1.3%–13.2%。 **Conclusion** The method is stable, accurate, sensitive and fast, and can meet the needs of analysis of mequindox and its metabolites in aquatic products.

**KEY WORDS:** ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; aquatic products; mequindox; metabolites

## 1 引言

乙酰甲喹(mequindox), 别名痢菌净, 是中科院兰州畜牧兽医研究所合成开发的新型兽药<sup>[1,2]</sup>, 在水产养殖中主要用于防治肠炎、烂鳃、腐皮病等细菌性疾病<sup>[3-5]</sup>, 具有促进动物生长、提高饲料效率和广谱抗菌的作用, 在国内外养殖业中得到广泛的应用<sup>[6,7]</sup>。乙酰甲喹及其代谢物均属喹啉类药物, 喹啉类药物的化合物具有很强的光敏和遗传的毒性<sup>[8-10]</sup>, 在养殖过程中动物机体内残留量超标导致的中毒事件时有发生<sup>[11,12]</sup>。近年来研究发现喹啉类部分药物在动物体内代谢后能产生毒性较大的代谢物<sup>[13-15]</sup>, 会对组织造成一定的毒性损害, 进而有致癌、致畸、致突变的风险<sup>[16]</sup>, 目前各国通常将代谢产物喹恶啉-2-羧酸及 3-甲基喹恶啉-2-羧酸作为喹啉类残留分析和监控的目标物<sup>[17]</sup>。因此监控水产品中的乙酰甲喹尤其是其代谢物残留量具有重要意义。

乙酰甲喹及其代谢物成分的检测主要有高效液相色谱串联质谱法(high liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)<sup>[18]</sup>、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[19]</sup>等。目前, 水产品中乙酰甲喹研究报道主要检测目标为乙酰甲喹原药<sup>[20,21]</sup>, 而关于水产品中乙酰甲喹代谢物的研究较少, 仅见乙酰甲喹在海参<sup>[4]</sup>、刺参<sup>[7]</sup>及斑马鱼<sup>[18]</sup>中的残留物消除规律及成分分析。徐英江等<sup>[22]</sup>对水产品乙酰甲喹代谢物喹恶啉-2-羧酸、3-甲基喹恶啉-2-羧酸进行检测分析, 但已有的研究已经证实乙酰甲喹在鸡、猪、大鼠等不同动物肝微粒体中代谢物数量及种类有所不同<sup>[23]</sup>, 水产动物的代谢酶与陆地动物不尽相同, 对乙酰甲喹代谢产生的代谢物也会存在差异。因此有必要建立一种可以同时检测乙酰甲喹多种主要代谢物的检测方法。

本研究通过采用超高效液相串联质谱同时测定了鳊、鲤、虾、蟹、青蛾等水产品中乙酰甲喹及其 5 种代谢物, 方法快速、简便、灵敏度高且适用范围广, 可为水产品质量监管提供科学的技术方法与依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

实验样品及样品的来源: 美洲鳊鱼购自福建省永泰县海生源养殖场, 虾、蟹、青蛾购自福州农贸市场。

### 2.2 试剂及仪器

乙腈(质谱纯, 德国默克公司); 甲酸(色谱纯, 美国 Waters 公司); 二氯甲烷、乙酸乙酯、乙醇、正己烷(分析纯, 国药集团上海化学试剂厂); 乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{10}N_2O_3$  MEQ, 纯度  $\geq 97\%$ , 中国兽药监察所); 加氢乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{12}N_2O_3$  M1)、加氢脱一氧乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{12}N_2O_2$ , M2)、脱一氧乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{10}N_2O_2$ , M3)、脱二氧乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{10}N_2O$ , M4)、加氢脱二氧乙酰甲喹对照品( $C_{11}H_{12}N_2O$ , M10)(纯度  $\geq 97\%$ , 广州自远生物有限公司)。

UPLC H-Class 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司); FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); TDL-5-A 型低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Direct-Q@3UV 型纯水仪(中国密理博有限公司); KA-RV8 旋转蒸发器(德国 IKA 公司); AL204 型电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); 0.2  $\mu\text{m}$  有机系滤膜(天津津滕公司)。

### 2.3 液相条件与质谱条件

#### 2.3.1 色谱条件

色谱柱为 Waters ACQUITY HSS T3 柱(100.0 mm $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 流速为 250  $\mu\text{L}/\text{min}$ , 柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$ , 进样体积为 2  $\mu\text{L}$ 。流动相: 乙腈(A), 5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%(V:V)甲酸水溶液(B); 梯度洗脱程序: 0.0~2.0 min, 流动相 A 由 20%升至 70%, 2.0~3.0 min, 流动相 A 由 70%升至 95%; 3.0~5.8 min 流动相比例不变, 5.8~6.0 min 流动相 A 由 95%降至 20%, 6.0~8.0 min, 流动相比例不变。

#### 2.3.2 质谱条件

质谱分析的离子源为电喷雾正离子源(ESI+), 去溶剂气流量为 1000 L/hr, 检测方式为多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM), 离子源温度为 120  $^{\circ}\text{C}$ , 扫描方式为正离子扫描, 溶剂气温度为 500  $^{\circ}\text{C}$ , 碰撞气为氩气, 被测物母离子、子离子和碰撞能量见表 1。

### 2.4 溶液的配制

标准储备液: 精密称取乙酰甲喹标准样品及代谢产物标准品, 用乙醇溶液溶解, 并定容至 100 mL 容量瓶中, 得 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准溶液, 放进 5  $^{\circ}\text{C}$  以下冰箱内保存。

标准曲线: 取 0.05、0.10、0.50、1.00、2.00、2.50 mL 乙酰甲喹、代谢产物标准储备溶液于 100 mL 容量瓶中, 并用流动相溶液稀释系列浓度, 得到标准工作曲线 1~50 ng/mL。

表1 药物质谱参数条件  
Table 1 Parameter conditions of drug substance spectrum

化合物	母离子( $m/z$ )	子离子( $m/z$ )	碰撞能量/V	毛细管电压/V	保留时间/min
乙酰甲喹(MEQ)	219.00	143.00*	30	16	3.14
		159.90	30	12	
加氢乙酰甲喹(M1)	221.15	186.99*	30	14	2.78
		203.05	30	11	
加氢脱一氧乙酰甲喹(M2)	205.16	168.07*	30	18	3.07
		187.04	30	11	
脱一氧乙酰甲喹(M3)	203.15	158.02*	27	17	3.99
		186.04	27	14	
脱二氧乙酰甲喹(M4)	187.17	145.00*	30	26	4.44
		159.03	30	18	
加氢脱二氧乙酰甲喹(M10)	189.17	143.00	30	19	3.50
		171.05*	30	11	

注\*表示定量离子。

## 2.5 样品前处理

阳性对照组用浓度为 5  $\mu\text{g/mL}$  的乙酰甲喹药物溶液对美洲鳗鲡进行浸浴处理,用浓度为 500  $\mu\text{g/mL}$  的乙酰甲喹药物溶液对青蛾、虾、蟹进行浸浴处理,浸浴 18 h 后取可食部分,充分搅匀、混匀,于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冷冻保存。

称取样品 5 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 的塑料离心管中,加入二氯甲烷-乙酸乙酯混合提取液 20 mL,振荡器振荡并摇匀 20 min,超声提取 15 min,将上述样品 4000 r/min 离心 10 min,剩余的残渣用于混合提取液重复提取 1 次,合并提取液,旋转蒸发器中旋蒸至近干,待净化。

样品提取物加入 0.50 mL 流动相,超声溶解,移至 10 mL 具塞离心管中,加入 5 mL 正己烷旋涡混合 1 min,4000 r/min 离心 10 min,弃去上层的正己烷,下层溶液过 0.2  $\mu\text{m}$  微孔滤膜后,待上机。

除不用乙酰甲喹药物处理样品外,其余均按上述测定的条件和步骤进行做空白样品试验。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品前处理条件的优化

水产品肌肉组织主要成分为蛋白质和脂肪组成,本方法考察了二氯甲烷、乙酸乙酯、乙腈、甲醇及混合溶液作为提取溶剂的分离效果。结果表明:采用二氯甲烷+乙酸乙酯混合液比例为 3:1(V:V)时回收率最佳(图 1),因此选择二氯甲烷+乙酸乙酯混合液为提取溶剂。

### 3.2 液相方法的优化

#### 3.2.1 流动相选择

比较①乙腈-0.1%甲酸水溶液(V:V)、②甲醇-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V)、③甲醇-0.1%甲酸水溶液(V:V)和④乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V)4种流动相的洗脱效果,结果如图 2 所示,当选择流动相①和③时乙酰甲喹及代谢物响应响度较小,基质干扰严重;选择流动相②时,乙酰甲喹代谢物 M1 没有出峰,无法法定定量;选择④时,6种待测物的色谱峰型和响应强度均理想,保留时间稳定,分离度好,因此选择乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V)作为流动相。

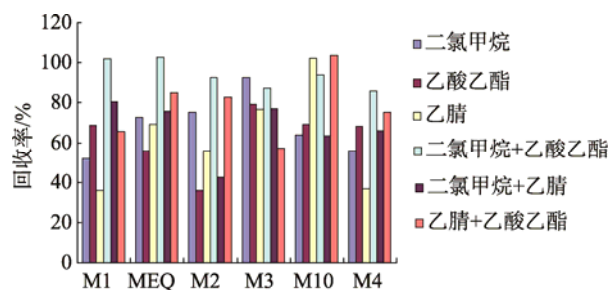


图1 不同提取溶剂对乙酰甲喹及代谢物回收率的影响

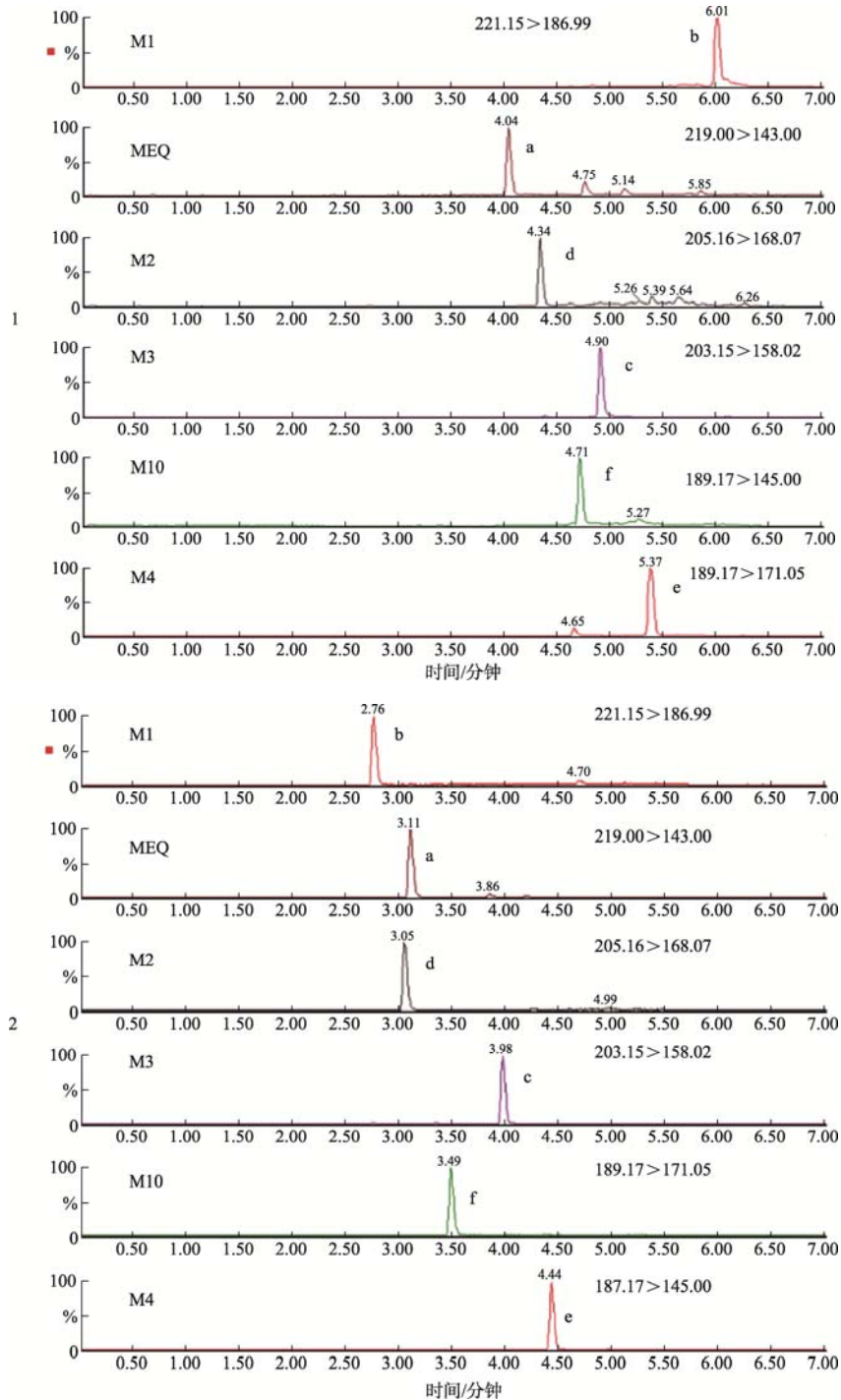
Fig.1 Effect of different reagents on recovery rate of mequindox and metabolites

#### 3.2.2 色谱柱选择

色谱柱的填料基质(硅胶颗粒、杂化颗粒、聚合物颗粒)

因其化学性质不同而会提供不同的保留与选择效果;且色谱柱填料的纯度、填料表面硅醇基残留数量,以及填料的封端技术都会影响次级作用的程度大小以及相应的色谱分离分析效果。本文比较 Waters ACQUITY HSS T3 柱和 Waters BEH Amide 柱对检测结果的影响,采用 BEH Amide 柱时, M1 没有出峰,其余

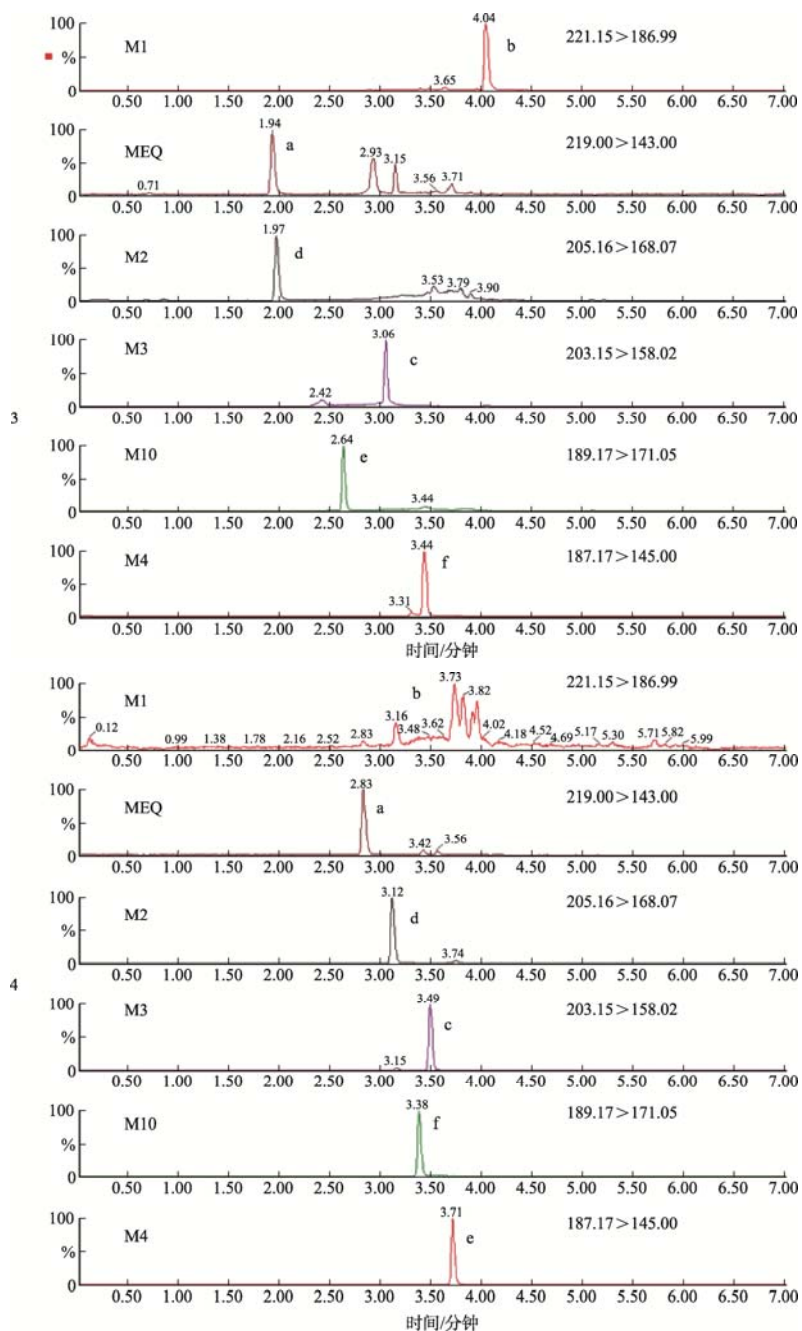
待测物检出峰形较差;采用 HSS T3 柱时 6 种待测物均表现出良好的检测效果。Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱为的硅胶基质  $C_{18}$  柱,可增强对极性分子的反相保留,减弱非极性组分保留。因此选用 HSS T3 柱,乙酰甲嗪及代谢物可以获得较高的灵敏度,峰型最佳,分离度高。



注: 1. 乙腈-0.1%甲酸水溶液(V:V); 2. 甲醇-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V); 3. 甲醇-0.1%甲酸水溶液(V:V); 4. 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V)

图 2 不同组成的流动相对离子化的影响

Fig.2 Effects of flow relative to ionization of different components



注: 1. 乙腈-0.1%甲酸水溶液(V:V); 2. 甲醇-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V); 3. 甲醇-0.1%甲酸水溶液(V:V); 4. 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液+0.1%甲酸水溶液(V:V)

续图 2 不同组成的流动相对离子化的影响

Fig.2 Effects of flow relative to ionization of different components

### 3.3 质谱方法的优化

由于水产品肌肉组织复杂, 样品基质对目标物影响较大, 本文采用正离子扫描模式, 选取 100 ng/mL 标准溶液进行全扫描, 确定母离子, 优化得到子离子, 确定最佳质谱条件。MEQ、M1、M2、M3、M4、M10 以 [M+H]<sup>+</sup> 为基峰, *m/z* 分别为 219.00、221.15、205.16、203.15、187.17、189.17, 代谢物 M1 的 *m/z* 比乙酰甲喹

大 2, 是因 M1 为乙酰甲喹侧链加氢还原代谢物; 代谢物 M2 是代谢物 M1 的去氧代谢物其 *m/z* 比 M1 小 16; 代谢物 M3 是乙酰甲喹脱一氧代谢物, 其 *m/z* 比 MEQ 小 16; 代谢物 M4 为乙酰甲喹的脱二氧代谢物, 其 *m/z* 比 MEQ 小 32; 代谢物 M10 是乙酰甲喹侧链加氢脱二氧代谢物, 其 *m/z* 比 MEQ 小 30。乙酰甲喹及其代谢物全扫质谱图见图 3, 乙酰甲喹及其代谢物分子式见图 4。

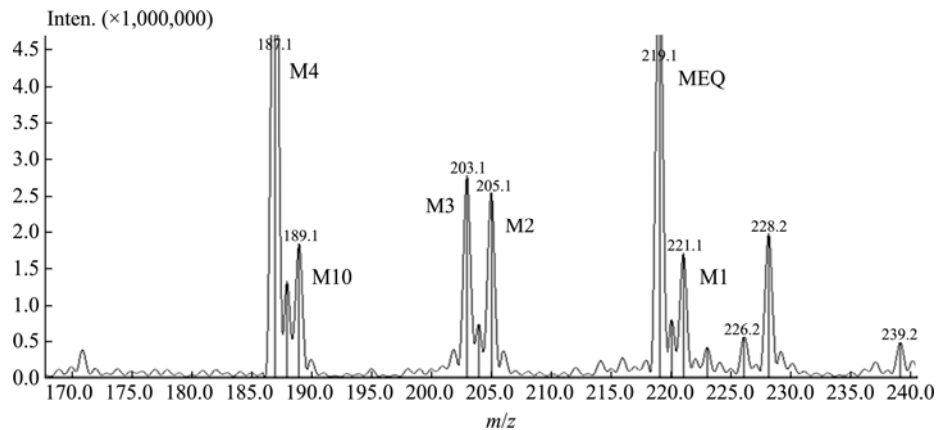


图 3 乙酰甲嗪及代谢物标准品全扫质谱图

Fig.3 Full scan MS spectra of mequindox and its metabolites standard

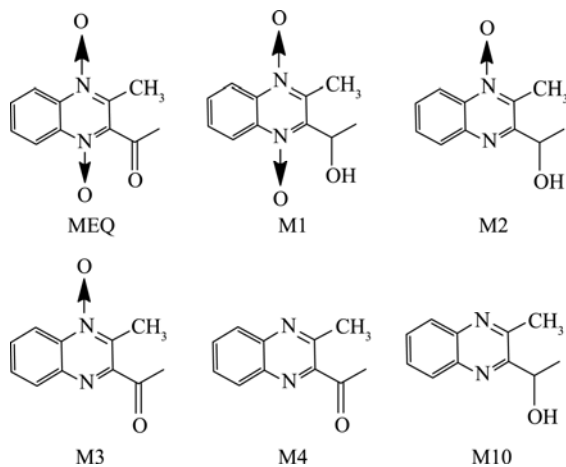


图 4 乙酰甲嗪及其代谢物分子式

Fig.4 Chemical structures of mequindox and its metabolites

### 3.4 方法的灵敏度、线性关系检出限和定量限

取乙酰甲嗪及代谢物系列标准溶液分别进行测定,以峰面积  $Y$  对乙酰甲嗪及代谢物质量浓度  $X$  进行线性回归分析,如表 2,在空白鳊鱼、虾、蟹、青蛾肌肉中添加一定浓度的标准溶液,以信噪比( $S/N \geq 3$ )确定各组分检出限(limit of detection, LOD),信噪比( $S/N \geq 10$ )确定各组分量限(limit of quantitation, LOQ),结果发现,当添加水平分别为 0.3、1.0 ng/mL 时,满足检出限

和定量限的信噪比要求,结合不同组织的称样量和最终定容体积,确定本方法乙酰甲嗪及代谢物在鳊鱼、虾、蟹、青蛾中的 LOD 为 0.03  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOQ 为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 3.5 方法回收率和精密度

选取不含乙酰甲嗪残留的美洲鳊鱼、虾、蟹、青蛾样品分别按 0.1、0.2、1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个水平浓度进行乙酰甲嗪及其代谢物的加标回收实验,计算加标回收率和相对标准偏差,回收率、日内精密度和日间精密度结果见表 3。乙酰甲嗪及其代谢物在 3 个加标水平下,美洲鳊鱼、虾、蟹、青蛾中乙酰甲嗪及其代谢物的回收率范围为 66.6%~106.6%,日内精密度(相对标准偏差, relative standard deviation, RSD)范围是 2.1%~11.1%,日间精密度 RSD 范围 1.3%~13.2%,能满足美洲鳊鱼、虾、蟹、青蛾中乙酰甲嗪及代谢物含量的测定。

### 3.6 实际样品检测

应用本方法抽样检测了超市及水产品市场的鳊鱼、虾、蟹、青蛾等 108 个样品,均未检出乙酰甲嗪及其代谢物。对水产品养殖场的样品检测发现鳊鱼乙酰甲嗪在甲嗪用药过程中原药因代谢逐渐减少,代谢物 M1、M2、M3、M10 均有少量检出;而模拟水产养殖场药物浸浴处理水产品 18 h 后,虾、蟹、青蛾等样品基质中均有少量乙酰甲嗪代谢物检出。

表 2 线性关系、检出限和定量限

Table 2 Results of regression relationship, LOD and LOQ

分析物	回归方程	线性范围/(ng/mL)	相关系数	检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
乙酰甲嗪(MEQ)	$Y=110734X-10155.9$	1~50	0.9993	0.03	0.1
加氢乙酰甲嗪(M1)	$Y=18158.8X-1448.06$	1~50	0.9995	0.03	0.1
加氢脱一氧乙酰甲嗪(M2)	$Y=26288.8X-1597.37$	1~50	0.9991	0.03	0.1
脱一氧乙酰甲嗪(M3)	$Y=56214.5X-3917.98$	1~50	0.9992	0.03	0.1
脱二氧乙酰甲嗪(M4)	$Y=89048.4X-6032.96$	1~50	0.9996	0.03	0.1
加氢脱二氧乙酰甲嗪(M10)	$Y=28268.6X-2757.73$	1~50	0.9991	0.03	0.1

表3 样品中药物的加标回收率和日内日间精密度的(n=6)  
Table 3 Recovery rates, daily and interspecific precisions of drugs in samples (n=6)

分 析 物	添加 水平 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	美洲鳎		虾		蟹		青蛾									
		日内		日间		日内		日间									
		回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%						
MEQ	0.1	73.9	8.8	85.2	7.7	69.9	9.5	75.2	8.5	79.8	7.4	85.2	8.7	68.9	6.4	75.6	7.5
	0.2	81.4	6.3	78.5	5.4	73.5	7.3	72.5	8.6	80.8	8.4	80.8	7.5	74.3	5	78.4	5.7
	1	83.9	4.9	88.7	5.2	80.5	5.5	92.5	4.2	96.3	9.2	96.5	4.7	89.9	4.1	75.4	8.5
M1	0.1	78.4	8.7	82.1	9.4	75.3	9	75.3	7.9	87.9	7.1	81.2	8.6	74.4	7.1	86.5	7.1
	0.2	85.3	7.2	90.5	6.3	83.2	6.4	91.2	8.6	93.2	8	90.2	5.3	83.7	6.4	75.4	6.3
	1	86.1	5	88.6	5.8	88.5	5.2	106.6	4.2	102.8	8.7	102.8	4.7	105.3	4.8	105.3	5.2
M2	0.1	77.3	7	75.4	9	73.6	8.4	70.5	10.2	82.8	7.9	72.8	9.7	79.3	8.4	88.4	9.9
	0.2	82.5	5.5	87.3	3.7	82.7	7	77.6	8.6	85.9	8.7	85.9	7.7	87.7	6.4	74.3	5.7
	1	87.6	3.8	91.5	3.5	68.1	4.7	88.3	6.3	92.4	9.2	98.7	6.9	98.9	4.3	103.5	5.7
M3	0.1	82.1	9.2	78.6	12.1	85.1	7.3	78.4	5.8	77.9	6.5	78.6	9	69.6	8.6	70.5	11.2
	0.2	83.6	7.4	85.4	8.4	66.8	5.6	86.9	6.4	89.5	8.9	88.5	7.6	79.9	6.7	82.6	5.7
	1	86.4	6	89.9	6.5	90.3	3.2	92.3	3.7	99.7	10	103.6	8.4	81.1	4.8	88.9	3.5
M4	0.1	79.1	9	77.2	10.2	77.2	8.5	78.6	8.5	73.3	8	75.4	9.8	66.6	11.1	70.5	13.2
	0.2	79.7	6.3	82.4	8.5	67.3	6.3	86.9	7.9	82.5	9.4	85.7	8.5	68	7.3	78.6	8.4
	1	92.3	4.8	88.9	4.2	83.6	5.4	95.3	2.5	97.1	9.9	97.4	6.8	89.8	4.1	85.4	5.1
M10	0.1	80.3	7	78.6	9.2	79.2	6.8	86.5	9	80.1	7.7	77.6	9.9	76.1	8.9	71.6	9.9
	0.2	83.5	4.9	88.7	5.2	84.6	3.4	88.9	6.5	88.3	8.4	85.4	7.6	89.7	9.3	88.7	8.4
	1	88.1	3.1	92.6	5.3	92.1	2.1	96.9	4.3	95.2	9.9	102.4	8.3	102.5	9.3	105.5	1.3

#### 4 结 论

由于代谢物的浓度很低,且其极性、离子化程度等理化性质不同,因此在进行色谱分析时需对色谱条件进行优化,从而有效改善乙酰甲喹及其代谢物色谱峰型,提高了响应强度,获得较高的灵敏度和分离度。本文通过对比色谱柱类型及优化流动相,获得了更佳检测效果。水产品中复杂的基质会影响质谱的响应值,本文采用正离子扫描模式,选取 10 ng/mL 标准溶液进行全扫描,确定了最佳定量和定性离子对,从而优化确定质谱条件。

本研究建立了水产品中乙酰甲喹及其代谢物的分析方法,实现多种乙酰甲喹代谢物残留的同时分析检测。该

方法重复性、准确性、精密度良好,美洲鳎、虾、蟹、青蛾 4 种水产品的样品在 0.1、0.2、1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个浓度添加水平上具有良好的回收率;本方法检出限为 0.03  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,远低于已公布的地方标准<sup>[24]</sup>中乙酰甲喹的测定低限 1.0 mg/kg;也低于徐英江<sup>[22]</sup>等利用高效液相色谱串联质谱测定水产品中喹烯酮、乙酰甲喹等测定测定下限(1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ),本方法与目前标准及参考文献相比,检出限更低,提取效率更高,可满足实验室大量、快速、高效的要求。

本方法的检测周期为 8 min,与高效液相色谱法相比明显缩短了时间,定性和定量更准确。超高效液相色谱串联质谱技术在对水产品的鉴别和质量控制中具有较大的应

用价值,但存在仪器价格昂贵,质谱图的解析对专业技术人员的技术要求高等不足之处。随着超高效液相色谱串联质谱技术的普及,该技术将在水产品中乙酰甲嗪及其代谢物等研究中得到广泛的应用,对更多水产品中的兽药残留检测做出更准确、更灵敏的结果。

## 参考文献

- [1] 潘葳, 刘文静. 乙酰甲嗪在美洲鳗体内药物代谢动力学及残留研究[J]. 福建农业学报, 2016, 31(10): 1028-1033.  
Pan W, Liu WJ. Pharmacokinetics and residues of mequindox in american eel [J]. Fujian J Agric Sci, 2016, 31(10): 1028-1033.
- [2] 李璐璐, 骆延波, 刘玉庆. 乙酰甲嗪和喹烯酮药动学研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(2): 98-103.  
Li LL, Luo YB, Liu YQ. Progress on pharmacokinetics for mequindox and quinocetone [J]. Chin J Antibiot, 2016, 41(2): 98-103.
- [3] 程古月, 洪璇, 郝海红, 等. 兽用喹啉类药物毒理学机制的研究进展[J]. 中国兽医学报, 2016, 36(6): 1071-1075.  
Cheng GY, Hong X, Liu HH, et al. Research progress on toxicology mechanism of quinoxins for animal [J]. Chin J Veter Sci, 2016, 36(6): 1071-1075.
- [4] 刘慧慧, 任传博, 张华威, 等. HPLC-MS/MS 法分析乙酰甲嗪在海参中的主要代谢物[J]. 质谱学报, 2015, 36(5): 417-424.  
Liu HH, Ren CB, Zhang HW, et al. Study on metabolites of mequindox in apostichopus japonicus by HPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2015, 36(5): 417-424.
- [5] 刘迎春, 司红彬, 贺利民, 等. 高效液相色谱-电喷雾离子阱飞行时间质谱法鉴定乙酰甲嗪及其代谢物[J]. 分析化学, 2010, 38(1): 82-86.  
Liu YC, Si HB, He LM, et al. Identification of mequindox and its metabolites by high performance liquid chromatography combined with ion trap-time of flight-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(1): 82-86.
- [6] 邹荣婕, 徐英江, 刘京熙, 等. 乙酰甲嗪在鲤鱼肌肉组织中的残留消除规律研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(29): 137-141.  
Zou RJ, Xu YJ, Liu JX, et al. Studies on the elimination of mequindox in *Cyprinus carpio* [J]. Chin Agric Sci Bull, 2012, 28(29): 137-141.
- [7] 刘慧慧, 徐英江, 宋向军, 等. 乙酰甲嗪在刺参幼参中的代谢及其对成品刺参食用安全性评价[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 214-219.  
Liu HH, Xu YJ, Song XJ, et al. Metabolism of mequindox in juvenile apostichopus japonicus and safety evaluation of its metabolites for consumption of adult *Apostichopus japonicus* [J]. Food Sci, 2015, 36(1): 214-219.
- [8] World Health Organization. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food [R]. Geneva: WHO, 1991.
- [9] World Health Organization. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food [R]. Geneva: WHO, 1994.
- [10] Ihsan A, Wang X, Huang XJ, et al. Acute and subchronic toxicological evaluation of mequindox in Wistar rats [J]. Regulat Toxicol Pharmacol, 2010, 57(2-3): 307-314.
- [11] Liu YM, Liu YC, Ding HZ, et al. Pharmacokinetics of mequindox and its metabolites in swine [J]. Agric Sci China, 2011, 10(12): 1968-1976.
- [12] Shan Q, Liu YM, He LM, et al. Metabolism of mequindox and its metabolites identification in chickens using LC-ITQ-Orbitrap mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2012, (881-882): 96-106.
- [13] Liu Q, Lei Z, Huang A, et al. Mechanisms of the testis toxicity induced by chronic exposure to mequindox [J]. Frontiers Pharmacol, 2017, 8: 679.
- [14] Liu Q, Lei Z, Wu Q, et al. Mequindox induced genotoxicity and carcinogenicity in mice [J]. Frontiers Pharmacol, 2018, 9: 361.
- [15] Liu Q, Lei Z, Dai M, et al. Toxic metabolites, sertoli cells and Y chromosome related genes are potentially linked to the reproductive toxicity induced by mequindox [J]. Oncotarget, 2017, 8(50): 87512-87528.
- [16] Ihsan A, Wang X, Huang XJ, et al. Acute and subchronic toxicological evaluation of mequindox in Wistar rats [J]. Regulat Toxicol Pharmacol, 2010, 57(2-3): 307-314.
- [17] FAO/WHO. Residues of some veterinary drugs in animals and foods [M]. Roma: FAO, 2004.
- [18] 毛馨, 谭海广, 初洋, 等. 乙酰甲嗪在斑马鱼中的代谢研究[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(10): 2927-2935.  
Mao X, Tan HG, Chu Y, et al. Metabolism investigation of mequindox in zebrafish [J]. Chin Anim Husband Veter Med, 2018, 45(10): 2927-2935.
- [19] 薄永恒, 李淑焕, 李有志, 等. HPLC-PDA 法测定恩诺沙星注射液非非法添加乙酰甲嗪和水杨酸[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(6): 14-20.  
Bo YH, Li SH, Li YZ, et al. Determination addition of maquindox and salicylic acid in enrofloxacin injection by HPLC [J]. Chin J Veter Drug, 2019, 53(6): 14-20.
- [20] 宫向红, 邹荣婕, 徐英江, 等. 高效液相色谱法测定水产品中乙酰甲嗪残留量[J]. 中国渔业质量与标准, 2012, 2(4): 71-75.  
Gong XH, Zou RJ, Xu YJ, et al. Determination of mequindox residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. Chin Fishery Qual Stand, 2012, 2(4): 71-75.
- [21] 邹荣婕, 徐英江, 刘京熙, 等. 乙酰甲嗪在鲤鱼肌肉组织中的残留消除规律研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(29): 137-141.  
Zou RJ, Xu YJ, Liu JQ, et al. Studies on the elimination of mequindox in *Cyprinus carpio* [J]. Chin Agric Sci Bull, 2012, 28(29): 137-141.
- [22] 徐英江, 任传博, 田秀慧, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定水产品中的卡巴氧、喹烯酮、乙酰甲嗪及其代谢物[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1133-1137.  
Xu YJ, Ren CB, Tian XH, et al. Determination of residues of carbox, quinocetone, mequindox metabolites in aquatic products by ultra high performance chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2011, 30(10): 1133-1137.
- [23] 刘兆颖. 喹啉类在大鼠、猪和鸡的比较代谢研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.  
Liu ZY. Comparative metabolism of quinoxalines in rats, swine and chicken [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [24] DB 43/T 1201-2016 饲料中乙酰甲嗪的测定 高效液相色谱法: [S].  
DB 43/T 1201-2016 Determination of maquindox in feeds-High performance liquid chromatographic method [S].

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介



刘文静, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: 411935637@qq.com



潘葳, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: 870993292@qq.com