

# 通过式固相萃取净化/高效液相色谱-串联质谱法快速测定水产品中6种麻醉剂残留

高平<sup>1</sup>, 杨曦<sup>2\*</sup>, 莫彩娜<sup>2</sup>, 陈日檬<sup>1</sup>, 曾丹丹<sup>1</sup>,  
刘唤明<sup>3\*</sup>, 洪鹏志<sup>3</sup>, 周凯<sup>1</sup>, 陈营寿<sup>1</sup>

(1. 湛江市食品药品检验所, 广东 湛江 524022; 2. 广东恒兴饲料实业股份有限公司 农业农村部华南水产与畜禽饲料重点实验室, 广东 湛江 524094; 3. 广东海洋大学 食品科技学院 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 建立了一种快速测定水产品中6种麻醉剂(普鲁卡因、利多卡因、布比卡因、丁卡因、3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐、苯佐卡因)的高效液相色谱-串联质谱分析方法。样品以水和1%甲酸乙腈提取, 提取液经PRiME HLB固相萃取柱净化, 以乙腈和0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>色谱柱(3.0 mm × 150 mm, 3.5 μm)分离, 多反应监测(MRM)正离子模式检测, 外标法定量。结果表明, 6种组分在各自质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数( $r^2$ )为0.993 8~0.998 7, 方法检出限(LOD)为1.5~6.0 μg/kg, 定量下限(LOQ)为5.0~20 μg/kg, 平均加标回收率为76.8%~110%, 相对标准偏差为4.2%~11%。该方法前处理操作简单、快速、准确、灵敏, 适用于水产品中6种麻醉剂残留的快速测定。

**关键词:** 麻醉剂; 通过式固相萃取; 水产品; 高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)

**中图分类号:** O657.63; TS201.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)09-1059-07

## Rapid Determination of Six Anesthetics Residues in Aquatic Products by High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry with Pass-through Solid Phase Extraction

GAO Ping<sup>1</sup>, YANG Xi<sup>2\*</sup>, MO Cai-na<sup>2</sup>, CHEN Ri-meng<sup>1</sup>, ZENG Dan-dan<sup>1</sup>,  
LIU Huan-ming<sup>3\*</sup>, HONG Peng-zhi<sup>3</sup>, ZHOU Kai<sup>1</sup>, CHEN Ying-shou<sup>1</sup>

(1. Zhanjiang Institute for Food and Drug Control, Zhanjiang 524022, China; 2. Key Laboratory of Aquatic, Livestock and Poultry Feed Science and Technology in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Evergreen Feed Industry Co., Ltd., Zhanjiang 524094, China; 3. Aquatic Product Processing and Safety Key Lab of Guangdong Province, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometric (HPLC - MS/MS) method was developed for the rapid determination of six anesthetics, e. g. procaine, lidocaine, bupivacaine, tetracaine, tricaine methanesulfonate (MS - 222) and benzocaine in aquatic products. The samples were extracted with water and acetonitrile containing 1.0% formic acid, and then cleaned up with a PRiME HLB pass-through solid phase extraction column. The targets were separated on a ZORBAX Eclipse XDB - C<sub>18</sub> column (3.0 mm × 150 mm, 3.5 μm) with acetonitrile - 0.1% formic acid as mobile phase by gradient elution. The analytes were determined in electrospray positive ionization (ESI<sup>+</sup>) mode under multiple reaction monitoring (MRM). Results showed that there were good linear relationships for the targets in their respective concentration ranges with correlation coefficients ( $r^2$ ) of 0.993 8 - 0.998 7. The limits of detection (LOD) and limits of quantitation

收稿日期: 2019-04-15; 修回日期: 2019-06-11

基金项目: 广东省食品药品监督管理局食品药品检验检测技术创新专项(2015ZX04); 湛江市海洋经济创新发展示范市建设项目(湛江创2017C<sub>8</sub>B<sub>1</sub>); 广东省促进经济发展专项资金海洋经济发展用途项目(GDME-2018C009); 湛江市科技计划项目(2017A02001, 2018A02001)

\* 通讯作者: 杨曦, 硕士, 工程师, 研究方向: 饲料和食品质量监督, E-mail: hxgfyx@163.com  
刘唤明, 硕士, 副教授, 研究方向: 水产品加工, E-mail: lhmgdhydx@126.com

(LOQ) were in the ranges of 1.5 – 6.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 5.0 – 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectively. Average spiked recoveries for six anesthetics were in the range of 76.8% – 110% with relative standard deviations of 4.2% – 11%. The proposed method is simple, quick, accurate and sensitive, and is suitable for the determination of six anesthetics in aquatic products.

**Key words:** anesthetics; pass-through solid phase extraction; aquatic products; high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (HPLC – MS/MS)

在水产养殖和水产品活体运输过程中,麻醉剂的合理使用可降低养殖动物在采卵、采精、采血、运输等操作过程的应激反应,减少对其伤害,提高存活率,为渔业带来诸多便利<sup>[1-2]</sup>。卡因类麻醉剂是目前应用最为广泛的渔用麻醉剂,具有麻醉效果好、操作方便、可迅速麻醉和复苏等优点<sup>[2]</sup>,但其安全性存在争议<sup>[3]</sup>。目前,世界各国对麻醉剂在食用水产品中的应用均较为谨慎。美国、欧盟、加拿大等仅允许3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐(MS-222)用作渔用麻醉剂,并且美国限定休药期为21 d<sup>[4]</sup>,加拿大则规定休药期为5 d<sup>[1]</sup>。挪威批准苯佐卡因与MS-222为渔用麻醉剂,规定其休药期均为21 d<sup>[5]</sup>。当前,我国对食用水产品使用麻醉剂的关注度不够,在渔用麻醉剂的批准使用、监管方面尚处于空白<sup>[3,6]</sup>。因此,建立一种同时测定水产品中多种卡因类麻醉剂的高效、准确、灵敏的分析方法具有实际应用意义。

目前,水产品中卡因类麻醉剂的检测方法主要有高效液相色谱法<sup>[7-10]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[11]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[12-16]</sup>等。其中,高效液相色谱法的检出限较高,不能准确定性;气相色谱-质谱法的样品前处理复杂,效率低;而液相色谱-串联质谱法的灵敏度高,抗干扰性强,已应用于卡因类麻醉剂的定量与定性确证,但用于水产品中多种麻醉剂同时测定的报道较少。此外,MS-222为三卡因(化学名为3-氨基苯甲酸乙酯)的甲基磺酸盐,而三卡因与苯佐卡因(化学名为4-氨基苯甲酸乙酯)互为同分异构体,导致MS-222与苯佐卡因的同时分离存在一定难度。而已报道的同时测定MS-222和苯佐卡因分析方法中两者的分离度则有待改进<sup>[14]</sup>。

水产品基质复杂,蛋白质、脂肪等含量较高,对样品前处理的要求较高。现有分析方法多采用固相萃取(SPE)技术净化样品<sup>[8-13,15-16]</sup>,但前处理步骤繁琐,耗时长,且影响部分目标物的回收率。PRiME HLB柱是一种新型的通过式固相萃取柱,其对动物源性食品中的蛋白质、脂肪、磷脂等具有较强的吸附作用,且操作简单快速,对目标组分的吸附少,目前已被应用于水产品中药物残留检测<sup>[17-22]</sup>,但未见其应用于水产品中卡因类麻醉剂残留测定的报道。本文以南美白对虾、石斑鱼和鳕鱼为研究对象,采用PRiME HLB柱净化,建立了测定水产品中普鲁卡因等6种卡因类麻醉剂的高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法。该方法操作简单,前处理效率高,净化效果理想,回收率较高,适用于大批量水产品中多种卡因类麻醉剂残留的测定。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

API 3200 三重四极杆串联质谱仪, 带电喷雾离子源(ESI, 美国 AB Sciex 公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); ST 16R 低速离心机(美国 Thermo Fisher 公司); AutoEVA-20Plus 全自动平行浓缩仪(睿科仪器有限公司); XS-205 电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); Milli-Q 型超纯水机(美国 Millipore 公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Thermo Fisher 公司); 甲酸(优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 氯化钠、无水硫酸镁(分析纯, 广东光华科技股份有限公司); 陶瓷均质子(美国 Agilent 公司); Oasis PRiME HLB 固相萃取柱(150 mg/3 mL, 美国 Waters 公司)。

标准品: 盐酸普鲁卡因(CAS: 51-05-8, 纯度 $\geq 99\%$ )、利多卡因(CAS: 137-58-6, 纯度 $\geq 99\%$ )、盐酸布比卡因(CAS: 14252-80-3, 纯度 $\geq 98\%$ )、盐酸丁卡因(CAS: 136-47-0, 纯度 $\geq 98\%$ )、MS-222(CAS: 886-86-2, 纯度 $\geq 97\%$ )、苯佐卡因(CAS: 94-09-7, 纯度 $\geq 99\%$ )均购自上海安谱科学仪器有限公司。

## 1.2 标准溶液的制备

标准储备溶液: 分别称取适量的6种卡因类麻醉剂标准品, 用甲醇溶解并定容, 配成质量浓度均为1 000 mg/L的单标储备液, 于-18 °C避光保存。

混合标准中间溶液: 准确移取适量的上述6种单标储备液, 用流动相稀释成适宜浓度的混合标准中间溶液, 其中普鲁卡因、利多卡因、布比卡因、丁卡因、MS-222、苯佐卡因的浓度比为4:1:2:1:2:2, 于4 °C避光保存。

基质匹配标准工作溶液: 准确移取适量的混合标准中间溶液, 用空白基质提取液稀释成系列浓度的混合标准工作溶液, 临用现配。

## 1.3 样品前处理

称取样品2 g(精确至0.01 g)于50 mL离心管中, 加入1个陶瓷均质子和2 mL超纯水, 再加入10 mL 1% 甲酸乙腈, 振荡提取10 min后, 加入1 g氯化钠和4 g无水硫酸镁, 剧烈振摇1 min, 以4 000 r/min离心10 min, 上清液待净化。

取3 mL上述提取液过Oasis PRiME HLB柱, 依靠自然重力流出, 收集全部流出液。准确移取2.0 mL过柱液, 40 °C水浴氮吹至近干后, 准确加入1.0 mL 0.1% 甲酸水溶液-乙腈(95:5, 体积比), 漩涡振荡1 min溶解残渣, 过0.22 μm微孔滤膜后待分析。

## 1.4 色谱-质谱条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(3.0 mm × 150 mm, 3.5 μm); 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10.0 μL; 流动相: A为0.1% 甲酸水溶液, B为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 5% B; 2.0~5.0 min, 5%~35% B; 5.0~10.0 min, 35% B; 10.0~15.0 min, 35%~5% B; 15.0~20.0 min, 5% B。

1.4.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 正离子模式, 多反应监测(MRM); 离子源温度: 650 °C; 电喷雾电压: 5 000 V; 气帘气压力: 103 kPa; 雾化气压力: 414 kPa; 辅助加热气压力: 517 kPa; 其他质谱参数见表1。

表1 MRM模式下6种麻醉剂的质谱参数与保留时间  
Table 1 Mass parameters and retention times of six anesthetics under MRM mode

| Compound               | Precursor ion<br>( <i>m/z</i> ) | Product ions<br>( <i>m/z</i> ) | Declustering<br>potential(V) | Collision energy<br>(V) | Retention time<br>(min) |
|------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Procaine(普鲁卡因)         | 237.5                           | 120.1*, 92.1                   | 33                           | 35.0, 51.0              | 7.58                    |
| Lidocaine(利多卡因)        | 235.2                           | 86.2*, 58.2                    | 30                           | 28.0, 59.0              | 8.65                    |
| Bupivacaine(布比卡因)      | 289.1                           | 140.2*, 84.1                   | 39                           | 30.0, 57.0              | 9.49                    |
| Tetracaine(丁卡因)        | 265.3                           | 176.2*, 72.2                   | 27                           | 21.3, 34.0              | 9.78                    |
| MS-222(3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐) | 166.0                           | 138.0*, 94.2                   | 30                           | 24.1, 27.8              | 10.79                   |
| Benzocaine(苯佐卡因)       | 166.1                           | 138.1*, 94.1                   | 40                           | 21.0, 27.0              | 12.20                   |

\* quantitative ion

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的优化

2.1.1 色谱柱的选择 由于MS-222为三卡因的甲基磺酸盐, 其母体三卡因与苯佐卡因互为同分异构体, 监测的质谱特征离子信息相同, 故其在质谱上无法分离, 在色谱柱上的有效分离是保证两者准确性与定量的前提。在“1.4.1”的流动相梯度洗脱条件下, 对比了ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(3.0 mm × 150 mm, 3.5 μm)、Atlantis T3 C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 150 mm, 3 μm)、ZORBAX SB-C<sub>18</sub>柱(2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm)和Hypersil Gold C<sub>18</sub>柱(2.1 mm × 150 mm, 5 μm)4种色谱柱对目标物的分离效果。结果显示: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱对6种目标物的分离效果较好, 色谱峰形尖锐、对称; 而采用Hypersil Gold C<sub>18</sub>柱时, MS-222与苯佐卡因的色谱峰完全重合, 利多卡因与布比卡因不能完全分离, 且普鲁卡因的峰形拖尾; 采用ZORBAX SB-C<sub>18</sub>柱时, MS-222与苯佐卡因的分离效果较差, 普鲁卡因的峰形较差; 采用Atlantis T3 C<sub>18</sub>柱时, 普鲁卡因的峰形展宽且拖尾。因此, 最终选择ZORBAX

Eclipse XDB - C<sub>18</sub> 柱为分离柱。

2.1.2 流动相的优化 考察了乙腈 - 水、乙腈 - 5 mmol/L 乙酸铵溶液、乙腈 - 0.1% 甲酸水溶液、乙腈 - 含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液 4 种流动相对目标物分离效果的影响。结果表明：以乙腈 - 水或乙腈 - 5 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相时，普鲁卡因的峰形拖尾，利多卡因和布比卡因的响应值偏低；以乙腈 - 含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相时，布比卡因的响应值偏低，MS - 222 与苯佐卡因未能完全分离；而采用乙腈 - 0.1% 甲酸水溶液为流动相时，目标物均能完全分离，峰形尖锐、对称，且灵敏度较高。6 种麻醉剂的定量离子色谱图如图 1 所示。

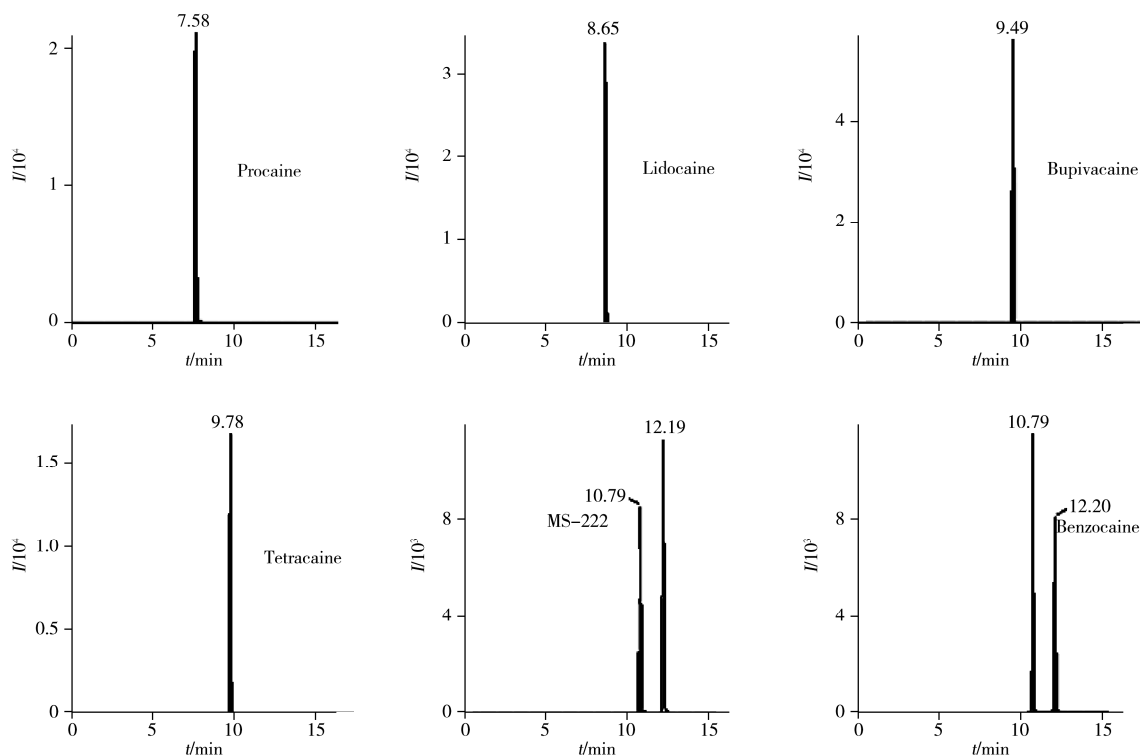


图 1 6 种麻醉剂混合标准溶液的定量离子色谱图

Fig. 1 Quantitative ion chromatograms of six anesthetics mixed standard solution

## 2.2 提取溶剂的选择

通过式固相萃取法通常以乙腈 - 水<sup>[18]</sup>、甲醇 - 水<sup>[19]</sup>、酸化乙腈 - 水<sup>[22-23]</sup>等作为提取溶剂。由于水产品的蛋白质含量高，直接加入强极性有机溶剂易使其快速变性成团，进而影响提取效果。故本研究先加入均质子和水，将样品振荡分散后再加入有机溶剂，有利于提高提取效率<sup>[6]</sup>。

实验考察了先加入 2 mL 水，再分别加入 10 mL 的甲醇、乙腈、0.1% 甲酸乙腈、1% 甲酸乙腈对 6 种麻醉剂的提取效率。结果显示，采用水和甲醇为提取剂时，样品中的蛋白质沉淀变性不完全，提取液较浑浊<sup>[24]</sup>，且目标物的回收率不理想（均低于 73%）；以水和乙腈为提取剂时，普鲁卡因、利多卡因、布比卡因、苯佐卡因等的回收率为 74%~79%；以水和 0.1% 甲酸乙腈为提取剂时，普鲁卡因的回收率为 76%，其他目标物的回收率为 81%~88%；以水和 1% 甲酸乙腈为提取剂时效果最好，6 种目标物的回收率均超过 80%，故最终选择水和 1% 甲酸乙腈为提取溶剂。

## 2.3 净化方式的选择

水产品中卡因类麻醉剂通常采用 C<sub>18</sub> 柱<sup>[12-13]</sup>、HLB 柱<sup>[8-10]</sup>、混合型阳离子交换柱 (MCX)<sup>[11,15]</sup> 等常规 SPE 柱净化。本研究初期考察了此 3 种 SPE 柱对 6 种目标物加标回收率的影响。结果表明，采用 C<sub>18</sub> 柱 (500 mg/3 mL) 时，6 种目标物的回收率均低于 60%；采用 HLB 柱 (200 mg/6 mL) 时，6 种目标物的回收率为 70%~84%；采用 MCX 柱 (60 mg/3 mL) 时，MS - 222 的回收率低于 60%，其他 5 种目标物的回收率为 72%~84%。此外，采用上述 3 种 SPE 柱净化时，需经过溶剂转换、SPE 柱活化、淋洗、洗脱、浓缩、复溶等步骤，操作复杂，且耗时长。

PRiME HLB 柱采用通过式净化模式, 小柱无需活化、淋洗和洗脱等步骤, 提取液直接过柱, 氮吹浓缩后用流动相溶解, 操作简单快速; 且可有效去除脂肪、磷脂等水产品中主要干扰杂质, 降低目标物的吸附, 保证了回收率<sup>[17-18]</sup>。在本实验中, 提取液离心后直接过柱, 收集过柱液后经浓缩、流动相复溶过滤, 整个净化过程步骤较少, 操作简捷, 净化效果较好, 6种目标物的回收率均大于70%, 并且能同时处理大批量样品。故最终采用 PRiME HLB 柱净化。

## 2.4 基质效应

采用液相色谱-串联质谱法对基质复杂的水产品进行痕量分析时, 基质效应对定量结果的影响不容忽视<sup>[25]</sup>。本文采用提取后添加法(即测定空白基质提取液添加标准溶液与纯溶剂中相同浓度目标物的响应值之比)评价基质效应(ME)<sup>[26-27]</sup>。结果表明, 6种麻醉剂在3种水产品基质(南美白对虾、石斑鱼、鳊鱼)中均存在不同程度的基质抑制效应<sup>[27-28]</sup>, ME 值为 0.582~0.851。为降低基质效应的影响, 采用空白基质匹配标准溶液绘制标准曲线法进行定量分析。

## 2.5 方法学评价

**2.5.1 标准曲线、检出限与定量下限** 以空白阴性样品(南美白对虾、石斑鱼、鳊鱼)提取液制备系列浓度的基质匹配混合标准溶液, 采用本方法进行分析。以目标物的质量浓度( $x$ ,  $\mu\text{g/L}$ )为横坐标, 以对应的定量离子峰面积( $y$ )为纵坐标绘制基质匹配标准曲线, 外标法定量。以不低于3倍的信噪比( $S/N \geq 3$ )确定方法检出限(LOD), 以  $S/N \geq 10$  确定方法定量下限(LOQ)<sup>[29]</sup>。结果表明, 6种麻醉剂在相应范围内均呈良好的线性关系, 相关系数( $r^2$ )为 0.993 8~0.998 7, LOD 为 1.5~6.0  $\mu\text{g/kg}$ , LOQ 为 5.0~20  $\mu\text{g/kg}$ (见表2)。

表2 不同基质中6种麻醉剂的线性范围、线性方程、相关系数( $r^2$ )、检出限和定量下限

Table 2 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients( $r^2$ ), LODs and LOQs of six anesthetics in different matrixes

| Compound    | Sample matrix            | Linear range<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | Linear equation            | $r^2$   | LOD<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | LOQ<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) |
|-------------|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|
| Procaine    | <i>Penaeus vannamei</i>  | 10~400                              | $y = 2\ 310.9x + 21\ 362$  | 0.996 1 | 6.0                         | 20                          |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 2\ 299.8x + 17\ 321$  | 0.996 5 | 6.0                         | 20                          |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 2\ 715.4x + 18\ 864$  | 0.996 3 | 6.0                         | 20                          |
| Lidocaine   | <i>Penaeus vannamei</i>  | 2.5~100                             | $y = 15\ 011x - 13\ 554$   | 0.996 7 | 1.5                         | 5.0                         |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 13\ 007x - 2\ 627.7$  | 0.994 1 | 1.5                         | 5.0                         |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 13\ 494x - 849.30$    | 0.993 8 | 1.5                         | 5.0                         |
| Bupivacaine | <i>Penaeus vannamei</i>  | 5.0~200                             | $y = 5\ 939.8x - 5\ 992.0$ | 0.994 3 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 6\ 294.0x + 7\ 429.1$ | 0.997 0 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 6\ 342.3x + 15\ 332$  | 0.995 4 | 3.0                         | 10                          |
| Tetracaine  | <i>Penaeus vannamei</i>  | 2.5~100                             | $y = 10\ 518x + 6\ 825.6$  | 0.998 3 | 1.5                         | 5.0                         |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 10\ 638x + 10\ 711$   | 0.998 1 | 1.5                         | 5.0                         |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 9\ 416.4x + 9\ 290.2$ | 0.997 3 | 1.5                         | 5.0                         |
| MS-222      | <i>Penaeus vannamei</i>  | 5.0~200                             | $y = 2\ 431.3x - 4\ 366.9$ | 0.997 2 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 2\ 662.9x - 1\ 412.3$ | 0.995 2 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 2\ 828.6x + 135.60$   | 0.998 7 | 3.0                         | 10                          |
| Benzocaine  | <i>Penaeus vannamei</i>  | 5.0~200                             | $y = 2\ 672.0x - 5\ 459.7$ | 0.996 3 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Epinephelus</i>       |                                     | $y = 2\ 813.3x + 1\ 031.1$ | 0.995 1 | 3.0                         | 10                          |
|             | <i>Siniperca chuatsi</i> |                                     | $y = 2\ 947.0x + 13\ 001$  | 0.994 5 | 3.0                         | 10                          |

**2.5.2 回收率与相对标准偏差** 选择南美白对虾、石斑鱼、鳊鱼的阴性样品进行加标回收实验, 每种基质分别加标1倍、2倍、10倍LOQ 3个浓度, 每个浓度设置6个平行。计算平均加标回收率和相对标准偏差(RSD), 结果见表3。结果表明, 3种基质中各目标物的回收率为76.8%~110%, RSD 为4.2%~11%。本方法准确可靠, 精密度好, 可满足水产品中卡因类麻醉剂残留的分析要求。

## 2.6 实际样品的检测

应用本方法对超市和菜市场中随机购买的20份样品(包括南美白对虾、石斑鱼、鳊鱼)进行检测, 结果显示, 所有样品均未检出待测麻醉剂。

表 3 6 种麻醉剂的平均加标回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 3 Average spiked recoveries(A. R.) and relative standard deviations(RSD) of six anesthetics( $n=6$ )

| Compound    | Spiked<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | <i>Penaeus vannamei</i> |        | <i>Epinephelus</i> |        | <i>Siniperca chuatsi</i> |        |
|-------------|---------------------------------------|-------------------------|--------|--------------------|--------|--------------------------|--------|
|             |                                       | A. R. (%)               | RSD(%) | A. R. (%)          | RSD(%) | A. R. (%)                | RSD(%) |
| Procaine    | 20                                    | 85.7                    | 6.3    | 84.4               | 7.1    | 82.5                     | 6.9    |
|             | 40                                    | 91.2                    | 5.7    | 95.3               | 5.8    | 86.6                     | 5.2    |
|             | 200                                   | 99.5                    | 4.9    | 98.3               | 5.0    | 103                      | 4.8    |
| Lidocaine   | 5                                     | 81.3                    | 7.7    | 82.6               | 6.8    | 89.1                     | 6.2    |
|             | 10                                    | 93.4                    | 5.6    | 90.5               | 5.9    | 97.6                     | 5.9    |
|             | 50                                    | 106                     | 6.0    | 110                | 4.7    | 104                      | 7.1    |
| Bupivacaine | 10                                    | 79.8                    | 7.1    | 83.7               | 6.5    | 88.4                     | 5.6    |
|             | 20                                    | 84.5                    | 6.5    | 85.2               | 7.0    | 83.0                     | 5.3    |
|             | 100                                   | 92.3                    | 5.4    | 96.3               | 5.8    | 97.8                     | 4.9    |
| Tetracaine  | 5                                     | 80.3                    | 7.5    | 81.4               | 6.2    | 80.2                     | 6.6    |
|             | 10                                    | 81.7                    | 5.8    | 85.5               | 5.0    | 88.4                     | 5.4    |
| MS-222      | 50                                    | 89.5                    | 4.7    | 87.9               | 5.2    | 87.1                     | 7.3    |
|             | 10                                    | 78.9                    | 7.9    | 76.8               | 11     | 79.9                     | 6.8    |
|             | 20                                    | 85.3                    | 8.3    | 88.4               | 5.8    | 84.6                     | 8.1    |
| Benzocaine  | 100                                   | 89.7                    | 6.1    | 87.9               | 6.0    | 87.5                     | 4.3    |
|             | 10                                    | 82.5                    | 8.4    | 85.2               | 8.1    | 80.5                     | 7.7    |
|             | 20                                    | 88.9                    | 7.9    | 93.5               | 7.6    | 93.6                     | 5.9    |
|             | 100                                   | 95.3                    | 4.2    | 98.4               | 7.3    | 101                      | 6.2    |

### 3 结 论

本文建立了通过式固相萃取净化/HPLC-MS/MS 测定 6 种卡因类麻醉剂的分析方法。在优化条件下,各目标物的检出限为 1.5~6.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量下限为 5.0~20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,平均加标回收率为 76.8%~110%,相对标准偏差为 4.2%~11%。该方法前处理操作快速、高效,检测成本较低,结果准确、灵敏,适用于大批量水产品中上述 6 种麻醉剂的快速筛查、确认与定量。

#### 参考文献:

- [1] Lü S W, Lei H T, Sun Y M. *Food Sci.* (吕书为,雷洪涛,孙远明.食品科学), **2012**, 33(1): 267-270.
- [2] Liu C L, He L, Chen S Q, Li X W, Zou J, Li D, Qi G S. *Fishery Modernization*(刘长琳,何力,陈四清,李学文,邹健,李迪,齐国山.渔业现代化), **2007**, 34(5): 21-25.
- [3] Su M M, Sun X Q, Yang C G, Peng X T, Liu H Y, Cao J J. *J. Food Saf. Qual.* (苏明明,孙兴权,杨春光,彭心婷,刘慧颖,曹际娟.食品安全质量检测学报), **2015**, 6(1): 25-29.
- [4] Popovic N T, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, Barisic J, Jadan M, Berakovic A P, Klobucar R S. *J. Appl. Ichthyol.*, **2012**, 28(4): 553-564.
- [5] Kiessling A, Johansson D, Zahl I H, Samuelsen O B. *Aquaculture*, **2009**, 286(3/4): 301-308.
- [6] Gao P, Huang H, Liu W X, Huang G F, Li Z Q, Yang J L, Chen H. *Chin. J. Food Hyg.* (高平,黄和,刘文侠,黄国方,李志清,杨嘉丽,陈焕.中国食品卫生杂志), **2016**, 28(1): 56-61.
- [7] Meinertz J R, Stehy G R, Hubert T D, Bernardy J A. *J. Chromatogr. A*, **1999**, 855(1): 255-260.
- [8] SN/T 2802-2011. Determination of Benzocaine Residues in Foodstuffs of Animal Origin for Import and Export—Liquid Chromatographic Method. Professional Standards for Entry-Exit Inspection and Quarantine of the People's Republic of China(进出口动物源性食品中苯佐卡因残留量的测定 液相色谱法.中华人民共和国出入境检验检疫行业标准).
- [9] Gao P, Chen R M, Zeng D D, Liang M, Chen Y S, Li W, Huang G F, Chen H. *Chin. J. Anal. Lab.* (高平,陈日檬,曾丹丹,梁敏,陈营寿,李蔚,黄国方,陈宏.分析实验室), **2018**, 37(1): 88-92.
- [10] Xuan K Z, Ji S F, Fu L M. *Food Ind.* (禰开智,纪少凡,符灵梅.食品工业), **2018**, 39(1): 308-311.
- [11] Liu H X, Zhang N, Yu Y, Jiang L L, Li L F, Wang Y J. *Fujian Fish.* (刘海新,张农,余颖,姜琳琳,李庐峰,王艳君.福建水产), **2013**, 35(6): 441-446.
- [12] Scherpenisse P, Bergwerff A A. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, 586(1/2): 407-410.
- [13] Zhu M, Sun W H, Xing L H, Leng K L, Miao J K, Xu Y, Jia F Q. *Chin. J. Anal. Lab.* (朱敏,孙伟红,邢丽红,冷凯良,苗均魁,许洋,贾福强.分析实验室), **2012**, 31(6): 59-62.
- [14] Li J C, Liu H, Yu M Q, Wu L D, Wang Q, Lv H Y, Ma B, Song Y. *Anal. Methods*, **2014**, 6(22): 9124-9128.
- [15] Li Y Y, Dai X H. The 3rd China Food and Agricultural Products Quality & Safety Testing Technology Exhibition & Forum, Beijing(李园园,戴相辉.第三届中国食品与农产品质量安全检测技术国际论坛暨展览会,北京), **2014**.

- [16] Li Z G, Yang H L, Wang X F, Chen P J, Ke C L, Li L D, Huang K. *Chin. Fish. Qual. Stand.* (黎智广, 杨宏亮, 王旭峰, 陈培基, 柯常亮, 李刘冬, 黄珂. 中国渔业质量与标准), **2016**, 6(1): 53-57.
- [17] Li P P, Zhang X J, Zhang S, Yan Z Y, Chen S, Fang Y, Long J. *J. Zhejiang Ocean Univ. : Nat. Sci.* (李佩佩, 张小军, 张帅, 严忠雍, 陈思, 方益, 龙举. 浙江海洋学院学报: 自然科学版), **2017**, 36(3): 228-234.
- [18] Guo M M, Li Z X, Wang Z, Pan M X, Wu H Y, Xing L H, Sun X J. *J. Instrum. Anal.* (郭萌萌, 李兆新, 王智, 潘明轩, 吴海燕, 邢丽红, 孙晓杰. 分析测试学报), **2017**, 36(3): 337-342.
- [19] Li S Y, Wang Y, Wang D N, Wu H X, Ding X Y, Cui Y W, Shen Q. *Chin. J. Chromatogr.* (李诗言, 王扬, 王鼎南, 吴洪喜, 丁雪燕, 崔益玮, 沈清. 色谱), **2017**, 35(8): 794-800.
- [20] Ke Q Q, Li S Y, Zhou F, Zheng C Y, Bei Y J, Wang D N, Wang Y. *Food Sci.* (柯庆青, 李诗言, 周凡, 郑重莺, 贝亦江, 王鼎南, 王扬. 食品科学), **2017**, 38(24): 241-246.
- [21] Wang J, Zhang X Y, Hao J, Xu B W, Chen W B. *Fine and Specialty Chemicals*(王骏, 张秀妍, 郝佳, 许炳雯, 陈文博. 精细与专用化学品), **2017**, 25(1): 41-44.
- [22] Liang J J, Xu X Y, Ding Y Q, Chen W Q, Liu Z, Luo J W. *J. Instrum. Anal.* (梁晶晶, 徐潇颖, 丁宇琦, 陈万勤, 刘柱, 罗金文. 分析测试学报), **2018**, 37(2): 224-230.
- [23] Li J, Qiu H Y, Jia Y B, Wang H Q, Li W. *J. Instrum. Anal.* (励炯, 邱红钰, 贾彦博, 王红青, 李玮. 分析测试学报), **2018**, 37(3): 307-312.
- [24] Liu H B, Yao X M, Tian Y P, Zhang L, Cai Y H, Jiang Y B, Li Y. *Chin. J. Chromatogr.* (刘洪斌, 姚喜梅, 田亚平, 张鹭, 蔡英华, 姜艳彬, 李颖. 色谱), **2018**, 36(4): 400-407.
- [25] Wang S W, Zeng G F, Liu Y P, Wang X N, Sun H B. *J. Instrum. Anal.* (王思威, 曾广丰, 刘艳萍, 王潇楠, 孙海滨. 分析测试学报), **2019**, 38(2): 201-206.
- [26] Xu W J, Wang Z G, Ding K Y, Sun J, Guo L Q. *J. Instrum. Anal.* (许文娟, 王振刚, 丁葵英, 孙军, 郭礼强. 分析测试学报), **2017**, 36(1): 54-60.
- [27] Wang L Q, Zeng Z L, Shu J H, Wang X F, He L M, Liu M, Zhang G K. *Chin. J. Anal. Chem.* (王立琦, 曾振灵, 束建花, 王旭峰, 贺利民, 刘敏, 张高奎. 分析化学), **2012**, 40(9): 1445-1449.
- [28] Stahnke H, Reemtsma T, Alder L. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(6): 2185-2192.
- [29] Cui J, Yang H S, Zhang J H, Wu G H. *South China Fisheries Science*(崔瑾, 杨洪生, 章建浩, 吴光红. 南方水产科学), **2013**, 9(3): 67-73.

(责任编辑: 丁岩)