

# 通过式固相萃取结合 UPLC-MS/MS 同时检测水产品中麻醉剂及其代谢物残留

王展华, 梁晶晶, 施贝, 朱蕾颖, 张翀宇, 陈万勤\* [浙江省食品药品检验研究院, 国家市场监管重点实验室(功能食品质量与安全领域), 浙江省市场局重点实验室(保健品质量安全重点实验室), 杭州 310052]

**摘要:** 目的 建立通过式固相萃取净化-超高效液相色谱串联质谱技术同时检测水产品中多种麻醉剂及其代谢物的方法。方法 样品均质后, 使用 80% 乙腈水溶液提取, 使用 ProElt PLS-A 通过式固相萃取柱进行通过式净化。以 0.1% 甲酸水和 0.1% 甲酸乙腈为流动相按比例进行梯度洗脱, 使用正离子模式。采用质谱多重反应监测模式, 空白基质绘制标准曲线定量。结果 14 种麻醉剂及其代谢物中, 麻醉剂在 1~50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  内呈现良好的线性关系, 代谢物在 10~500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  内均呈现良好的线性关系, 相关系数均 >0.99, 其中麻醉剂药物检出限为 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 代谢物检出限为 5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 麻醉剂药物定量下限为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 代谢物定量下限为 10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。方法高、中、低浓度加样回收率为 62.48%~116.5%, RSDs 均 <10%。结论 该方法操作流程简便, 结果准确可靠, 可用于水产品中麻醉剂及其代谢物的检测。

**关键词:** 通过式固相萃取; 超高效液相色谱-串联质谱法; 麻醉剂; 代谢物

中图分类号: R927.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)16-2282-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230278

引用本文: 王展华, 梁晶晶, 施贝, 等. 通过式固相萃取结合 UPLC-MS/MS 同时检测水产品中麻醉剂及其代谢物残留[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2282-2287.

## Simultaneous Determination of Anesthetics and Metabolites in Aquatic Products by UPLC-MS/MS Coupled with Pass-through Solid Phase Extraction

WANG Zhanhua, LIANG Jingjing, SHI Bei, ZHU Leiying, ZHANG Chongyu, CHEN Wanqin\* (Zhejiang Institute of Food and Drug Control, Key Laboratory of Functional Food Nutrition and Quality Safety for State Market Regulation, Key Laboratory of Health Food Quality Safety of Provincial Market Regulation, Hangzhou 310052, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an analytical method for the simultaneous determination of multiple anesthetics and their metabolites in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass-through solid phase extraction purification. **METHODS** After homogenization, the samples were extracted by 80% acetonitrile aqueous solution, and purified by ProElt PLS-A pass-through solid phase extraction column. The extract was determined by positive ion mode with mobile phase of 0.1% formic acid water and 0.1% formic acid acetonitrile in the separation by programmed gradient. Multiple reaction monitoring mode was used to draw standard curves with the matrix-matched method. **RESULTS** The calibration curves of the 14 anesthetics showed good linearity in the concentration range of 1–50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and their metabolites showed good linearity in the concentration range of 10–500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , with the correlation coefficients >0.99. The limits of detection were 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  in anesthetics and 5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  in their metabolites. The lower limits of quantification were 1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  in anesthetics and 10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  in their metabolites. The recoveries at high, medium and low concentrations ranged from 62.48% to 116.5% with RSDs <10%. **CONCLUSION** The method is simple and can be used for the accurate detection of anesthetics and their metabolites in aquatic products with high reliabilities.

**KEYWORDS:** pass-through solid phase extraction; UPLC-MS/MS; anesthetics; metabolites

鱼类的育种手术<sup>[1]</sup>、养殖、运输及售卖过程中, 使用麻醉剂药物可抑制鱼虾类动物中枢神经系统反应, 降低其应激反应<sup>[2]</sup>, 以减少损伤, 提高生存率<sup>[3]</sup>, 保证水产品质量。卡因类麻醉剂在渔业作业中应用最为广泛, 具有操作便捷, 麻醉时间长、

效果好, 复苏时间短<sup>[4]</sup>等优点, 但麻醉剂的广泛应用也带来了安全隐患<sup>[5]</sup>。目前世界上各国对于麻醉剂在水产品中的使用仍持谨慎态度, 并设定了休药期和限量值<sup>[6]</sup>。例如美国规定间氨基苯甲酸乙酯甲磷酸盐(MS-222)的最高残留限量应 <1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,

基金项目: 浙江省基础公益研究计划(LGC20C200001, LGF21B050001)

作者简介: 王展华, 男, 硕士, 工程师 E-mail: ainsn667@qq.com

\*通信作者: 陈万勤, 男, 硕士, 高级工程师 E-mail:

wanqin\_chen@163.com

·2282· Chin J Mod Appl Pharm, 2023 August, Vol.40 No.16

中国现代应用药学 2023 年 8 月第 40 卷第 16 期

规定的休药期为 21 d<sup>[7]</sup>。相比之下,中国对于滥用麻醉剂的监管相对薄弱,使用者多以经验确定使用量,在没有足够的休药期下将水产品上市,麻醉剂通过鱼体中的残留而被人体摄入,造成人体中药物蓄积<sup>[8-9]</sup>。因此,研究水产品中麻醉剂药物的高通量高效检测方法尤为必要。

目前检测麻醉剂药物的主要仪器方法有液相色谱法<sup>[10]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[11]</sup>、气相色谱法<sup>[12]</sup>、气相色谱-串联质谱法<sup>[13]</sup>等。其中液相色谱法检出限较高,无法进行痕量检测;气相色谱及气相色谱-串联质谱法需对样品进行前处理,其前处理过程较为繁琐;而液相色谱-串联质谱法灵敏高效,能有效分离待测物进行定性定量检测。

液相色谱-质谱联用法检测动物源性药物残留时,吸附-洗脱式固相萃取是目前应用最广泛的样品净化技术。固相萃取通常使用水相提取溶液,净化需经过固相萃取柱活化、上样、淋洗、洗脱等步骤。由于动物源样品的水相提取液中含有游离脂肪和蛋白质等大分子物质,在上样、淋洗、洗脱步骤中极易堵塞固相萃取柱,导致实验时间延长和样品回收率不稳定。通过式固相萃取是一种新型的固相萃取技术,在直接上样、接收的同时又能够有效保证去除基质干扰,有效地解决了常规吸附-洗脱式固相萃取步骤繁琐,耗时长的问题。

本研究选取水产品中具有代表性的鱼虾类水产品为研究基质,建立通过式固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时测定水产品中 14 种麻醉剂药物残留的方法。该方法能够满足日常监督抽检中水产品中 14 种麻醉剂药物快速检测的需要,同时对水产品中麻醉剂药物残留检测标准制定和更新具有重要的借鉴意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Shimadzu LC-30A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); SCIEX Triple Quad 5500+-QTRAP Activated 质谱仪(美国 ABSciex 公司); Milli-Q 超纯水仪(德国默克密理博公司); LYNX 6000 超高速离心机(美国热电公司,离心半径:122 mm); XPE205 分析天平(瑞士梅特勒公司); MultiReax 多通道旋涡混合器(德国 Heidolph 公司)。

乙腈、甲醇均为质谱纯,购自德国 Merck 公司;甲酸(质谱纯,美国 Sigma Aldrich 公司);实验用水为 Milli-Q 超纯水;其余试剂均为分析纯。

对照品:辛可卡因(批号:987470;纯度:97.8%)、苯佐卡因(批号:G977036;纯度:99.6%)、MS-222(批号:168982;纯度:99.9%)、丁卡因(批号:G138489;纯度:99.9%)均购自 Dr. Ehrenstorfer;氯普鲁卡因(批号:3-JLW-79-1;纯度:100.0%)、布比卡因(批号:1-ABY-158-1;纯度:98.0%)均购自 Toronto Research Chemicals;对氨基苯甲酸(批号:24910005;纯度:100.0%)、间氨基苯甲酸(批号:4616G005;纯度:99.0%)均购自上海安谱实验科技股份有限公司;盐酸罗哌卡因(批号:100866-201302;纯度:94.5%)、盐酸普鲁卡因(批号:100424-201603;纯度:99.2%)、盐酸利多卡因(批号:100341-201403;纯度:93.4%)均购自中国食品药品检定研究院;对乙酰氨基苯甲酸(批号:364AH-J13;纯度:99.0%)、丙胺卡因(批号:3SRKC-HF;纯度:98%)均购自日本东京化成工业株式会社;盐酸普鲁卡因胺(批号:C11020271;纯度:99%)购自上海麦克林生化科技有限公司。

分析样品:水产样品购于省内各级农贸市场。

### 1.2 方法

**1.2.1 对照品溶液的配制** 麻醉剂药物对照品储备液的配制:准确称取 14 种麻醉剂药物及其代谢物 10 mg 分别置于 100 mL 量瓶中,用乙腈溶解后定容,配成 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的麻醉剂药物对照品储备液。

麻醉剂药物混合对照品中间液的配制:分别准确量取 MS-222、苯佐卡因、普鲁卡因、氯普鲁卡因、普鲁卡因胺、利多卡因、丁卡因、辛可卡因、布比卡因、丙胺卡因、罗哌卡因对照品储备液(100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )各 0.10 mL,间氨基苯甲酸、对氨基苯甲酸、对乙酰氨基苯甲酸对照品储备液(100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )各 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,制成麻醉剂浓度均为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  和代谢物浓度均为 10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品中间液。

麻醉剂药物混合对照品工作液的配制:精密量取麻醉剂药物混合中间液 1 mL,置于 10 mL 量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,制成麻醉剂浓度均为 100  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  和代谢物浓度均为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品工作液。

**1.2.2 样品前处理** 精密称取 5 g 均质后的试样于 50 mL 离心管中,加入乙腈-水(8:2)20.0 mL,超声提取 10 min 后,于 MultiReax 多通道旋涡混

合器中涡旋提取 30 min, 6 000 r·min<sup>-1</sup> 高速离心 20 min, 取 4.0 mL 上清液过 ProElut PLS-A 固相萃取柱后, 用 2 mL 乙腈-水(8:2)淋洗, 收集全部流出液。将全部流出液 45 °C 下氮吹近干, 1.0 mL 乙腈-水混合溶液(9:1)复溶, 复溶液使用 0.22 PTFE 过滤头过滤至进样瓶, 待测。

**1.2.3 超高效液相色谱-串联质谱条件** 岛津 LC-30AD 超高效液相色谱系统串联 AB Qtrap5500 三重四级杆质谱仪, 包括二元泵, 在线脱气, 自动进样器; ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 柱温: 35 °C; 流动相: 0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B); 梯度洗脱(0~2.00 min, 10%B; 2.0~5.0 min, 10%→25%B; 5.0~9.0 min, 25%→95%B; 9.0~11.0 min, 95%B; 11.10 min, 10%B, 平衡 3 min)。流速: 0.35 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量: 2 μL。

离子源: TurboV 电喷雾离子源; 电离方式: 正离子; 雾化电压: 5 500 V; 离子源温度: 500 °C; 雾化气压力: 40 psi; 辅助加热气压力: 40 psi; 碰撞室入口电压: 10 V; 碰撞室出口电压: 13 V; 碰撞电压、去簇电压、定性离子对、定量离子对及化合物分子量见表 1。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的优化

**2.1.1 分离色谱柱的选择** 选择 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)和 Waters ACQUITY UPLC BEH-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)进行分离实验。在选用色谱柱时, 确保目标化合物有效分离是化合物准确定量性的前提<sup>[14]</sup>。因 MS-222 母体与苯佐卡因为同分异构体, 使用 Waters ACQUITY UPLC BEH-C<sub>18</sub> 色谱柱进行分离时, MS-222 与苯佐卡因的分离效果较差。而使用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱可以使 2 种同分异构体有效分离且峰形良好, 响应较高。且 ACQUITY UPLC HSS T3 属于端基封尾的色谱柱, 可以改善峰形, 耐受 pH 也更广。因此, 本研究最终选择 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱作为分离柱。

**2.1.2 液相色谱条件的优化** 现有液相色谱检测麻醉剂类药物的研究方法中均采用了甲醇乙腈为有机相, 0.1%甲酸水为水相。对比了甲醇+0.1%甲酸水和乙腈+0.1%甲酸水, 发现由于甲醇极性弱于

乙腈, 故相较于乙腈, 使用甲醇为流动相检测总时长大于乙腈。而在有机相为乙腈的情况下, 各物质保留时间合适, 分离度良好。因此, 本实验使用乙腈为流动相, 并进一步对梯度洗脱条件进行了优化, 待测目标物均良好分离。

### 2.2 质谱条件的选择

麻醉剂及其代谢物类药物适合在电喷雾离子源的正离子模式下进行检测, 使用 100 μg·L<sup>-1</sup> 的麻醉剂及其代谢物类药物中间液, 使用 Analysis 软件在正离子模式扫描下, 根据相应物质的分子量确定一级质谱的扫描范围, 分别进行一级质谱扫描找到母离子, 进行二级质谱扫描确定出 2~3 个响应较高且干扰较小的作为子离子<sup>[15]</sup>, 最后通过多反应检测扫描优化相应质谱参数。优化结果见表 1。

表 1 14 种麻醉剂及其代谢物的质谱参数  
Tab. 1 MS parameters of 14 anesthetics and metabolites

序号	分析物	离子对 <i>m/z</i>	去簇电压/ V	碰撞能量/ eV
1	MS-222	166.0/138.1*	60	22
		166.0/94.0	60	30
2	间氨基苯甲酸	138.1/77.0*	85	29
		138.1/65.1	85	34
3	苯佐卡因	166.1/138.2*	60	18
		166.1/94.3	60	24
4	对氨基苯甲酸	138.1/77.1*	60	30
		138.1/94.0	60	19
5	对乙酰氨基苯甲酸	180.1/94.1*	70	24
		180.1/138.1	70	19
6	普鲁卡因	237.1/100.1*	45	21
		237.1/164.1	45	21
7	氯普鲁卡因	271.2/100.1*	46	21
		271.2/154.2	46	39
8	普鲁卡因胺	236.1/163.1*	45	25
		236.1/120.20	45	42
9	利多卡因	235.2/86.1*	40	23
		235.2/58.2	40	53
10	丁卡因	265.1/176.2*	62	24
		265.1/72.1	62	45
11	辛可卡因	344.2/271.3*	75	30
		344.2/215.1	75	41
12	布比卡因	289.1/140.1*	60	28
		289.1/98.0	60	54
13	丙胺卡因	221.2/86.1*	40	20
		221.2/136.1	40	27
14	罗哌卡因	275.1/126.2*	60	27
		275.1/84.1	60	60

注: \*定量离子。

Note: \*quantitative ion.

### 2.3 净化方式的优化

本研究选取了 ProElut PLS-A(200 mg, 6 mL) 和 Waters prime HLB(200 mg, 6mL)、Agilent Captiva EMR-Lipid(300 mg, 3 mL)、ProElut PLS (200 mg, 6 mL) 4 种固相萃取柱进行了比较。其中 ProElut PLS 固相萃取柱是亲水亲脂平衡固相萃取柱, 采用的是吸附-洗脱模式的净化, 在实际试验中发现样品容易堵塞固相萃取柱, 导致实验时间较长; 另外 3 种采用直接通过模式, 无吸附系统过程, 缩短了实验时间。使用 ProElut PLS 固相萃取柱对 2 种水产品样品进行净化的回收率普遍低于通过式固相萃取柱的样品, 而另外 3 种通过式固相萃取柱的效果相似。其中 ProElut PLS-A (200 mg, 6 mL) 价格低于另外 2 种固相萃取柱, 从经济角度考虑, 本研究使用 ProElut PLS-A 固相萃取柱对样品进行净化。

### 2.4 样品提取溶剂的选择

麻醉剂类药物为极性物质, 常用的甲醇、乙腈对其均有较好的提取效果。与甲醇相比, 乙腈可以有效地沉淀蛋白质<sup>[16]</sup>, 且乙腈对糖类和脂肪的溶解度低于甲醇, 故采用乙腈为提取溶剂。使用浓度<60%乙腈水溶液时无法使蛋白质完全变性, 使用纯乙腈时, 样品外部蛋白质快速变性, 产生包裹效应, 使组织内部的药物无法被充分提取<sup>[17]</sup>。经综合考虑, 本研究采用 80%乙腈水溶液作为提取溶剂。

### 2.5 基质效应

使用 UPLC-MS/MS 痕量检测基质复杂的样品时, 会产生基质效应影响实验结果准确性<sup>[18]</sup>。本研究采取提取后添加法<sup>[19]</sup>进行基质效应评价, 即空白基质中目标化合物峰面积(A)与纯溶剂中同浓度的目标化合物峰面积(B)之比。实验结果表明净化过的样品依然存在基质效应, 目前消除基质效应的方法有同位素稀释和基质标准曲线 2 种方法, 在本研究中使用基质标准曲线的方法来消除基质效应。

### 2.6 检出限、定量限和线性范围考察

本研究选取 2 种水产品基质对方法的线性关系与检出限进行研究, 结果见表 2~3。14 种麻醉剂类药物在 1~50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  内呈现良好的线性关系, 代谢物在 10~500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  内呈现良好的线性关系, 相关系数均>0.99。麻醉剂药物检出限为 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 代谢物检出限为 5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 麻醉剂药物定量下限为 1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 代谢物定量下限为 10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

表 2 龙利鱼中 14 种麻醉剂及其代谢物的线性关系

Tab. 2 Linear relationships of 14 anesthetics and metabolites in flounder fish

目标化合物	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	回归方程	$R^2$
MS-222	1~50	$y=29\ 104.639\ 52x+2\ 375.645\ 30$	0.999 5
苯佐卡因	1~50	$y=6.286\ 17\times 10^4x+4\ 509.648\ 87$	0.999 6
普鲁卡因	1~50	$y=7.065\ 91\times 10^4x+811.637\ 85$	0.999 7
氯普鲁卡因	1~50	$y=5.950\ 70\times 10^4x-6\ 771.603\ 62$	0.999 5
普鲁卡因胺	1~50	$y=1.332\ 11\times 10^5x-16\ 176.319\ 24$	0.999 8
利多卡因	1~50	$y=1.736\ 91\times 10^5x+2\ 925.713\ 29$	0.999 9
丁卡因	1~50	$y=1.241\ 41\times 10^5x$	0.999 7
辛可卡因	1~50	$y=1.743\ 73\times 10^5x+3\ 815.644\ 96$	0.999 2
布比卡因	1~50	$y=2.279\ 81\times 10^5x+899.138\ 43$	0.999 2
丙胺卡因	1~50	$y=1.073\ 37\times 10^5x-1\ 284.829\ 27$	0.999 6
罗哌卡因	1~50	$y=2.353\ 07\times 10^5x+1\ 557.411\ 61$	0.999 3
间氨基苯甲酸	10~500	$y=5\ 901.633\ 13x+5\ 894.089\ 02$	0.999 4
对氨基苯甲酸	10~500	$y=8\ 025.426\ 96x+5\ 691.544\ 80$	0.999 5
对乙酰氨基苯甲酸	10~500	$y=12\ 600.861\ 75x+6\ 330.754\ 58$	0.999 5

表 3 白虾中 14 种麻醉剂及其代谢物的线性关系

Tab. 3 Linear relationships of 14 anesthetics and metabolites in white shrimp

目标化合物	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	回归方程	$R^2$
MS-222	1~50	$y=25953.396\ 16x+3454.157\ 00$	0.999 5
苯佐卡因	1~50	$y=5.633\ 57\times 10^4x+2644.615\ 62$	0.999 6
普鲁卡因	1~50	$y=6.675\ 62\times 10^4x+6786.986\ 18$	0.999 4
氯普鲁卡因	1~50	$y=5.440\ 63\times 10^4x+3475.929\ 03$	0.999 5
普鲁卡因胺	1~50	$y=1.265\ 25\times 10^5x+12221.777\ 01$	0.999 1
利多卡因	1~50	$y=1.622\ 07\times 10^5x+20209.624\ 53$	0.999 5
丁卡因	1~50	$y=1.073\ 64\times 10^5x+3.174\ 09e4$	0.998 7
辛可卡因	1~50	$y=1.530\ 25\times 10^5x+4.894\ 35e4$	0.998 3
布比卡因	1~50	$y=2.210\ 22\times 10^5x+29591.327\ 40$	0.998 8
丙胺卡因	1~50	$y=9.974\ 52\times 10^4x+11185.919\ 83$	0.999 7
罗哌卡因	1~50	$y=2.162\ 04\times 10^5x+27366.945\ 60$	0.999 1
间氨基苯甲酸	10~500	$y=6\ 106.347\ 84x+6918.273\ 79$	0.998 8
对氨基苯甲酸	10~500	$y=8\ 440.460\ 35x+4215.220\ 82$	0.999 5
对乙酰氨基苯甲酸	10~500	$y=11\ 903.944\ 04x+1741.811\ 06$	0.999 7

### 2.7 回收率试验

分别选取了 3 个浓度水平对 2 种水产品样品进行加样回收试验, 每个浓度水平测定 6 次, 计算加样回收率和 RSD 值, 结果见表 4~7, 14 种麻醉剂类药物及其代谢物在龙利鱼和白虾基质中的回收率为 62.48%~116.5%, RSD(n=6)均< 10%, 表明该方法稳定可靠。

表 4 龙利鱼基质 11 种麻醉剂的加样回收率(n=6)

Tab. 4 Spiked recoveries of 11 anesthetics in flounder fish (n=6) %

目标化合物	1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
MS-222	67.95	6.7	93.10	2.6	97.93	1.9
苯佐卡因	68.83	4.1	92.77	2.3	91.30	2.0
普鲁卡因	68.47	4.1	93.89	2.4	96.41	2.6
氯普鲁卡因	70.85	8.2	92.88	1.8	93.07	2.0
普鲁卡因胺	76.90	1.4	93.51	1.7	92.99	2.1
利多卡因	65.11	3.0	94.43	1.6	92.84	1.5
丁卡因	63.96	2.4	91.98	1.5	81.12	1.8
辛可卡因	62.48	2.6	98.12	1.6	83.96	2.7
布比卡因	66.23	4.7	98.39	1.2	89.01	1.9
丙胺卡因	68.94	1.9	95.40	1.9	92.89	1.3
罗哌卡因	65.98	4.5	94.25	0.7	89.37	1.7

表 5 龙利鱼基质 3 种麻醉剂代谢物的加样回收率(n=6)

Tab. 5 Spiked recoveries of 3 metabolites in flounder fish (n=6) %

目标化合物	10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
间氨基苯甲酸	81.38	2.8	95.16	1.3	98.05	2.7
对氨基苯甲酸	83.15	3.7	94.73	1.2	97.70	1.7
对乙酰氨基苯甲酸	73.18	2.1	92.94	1.0	94.62	1.7

表 6 白虾基质 11 种麻醉剂的加样回收率(n=6)

Tab. 6 Spiked recoveries of 11 anesthetics in white shrimp (n=6) %

目标化合物	1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
MS-222	69.04	6.8	102.8	1.3	113.0	1.4
苯佐卡因	67.58	2.5	102.6	1.4	111.2	1.2
普鲁卡因	75.28	3.3	109.1	1.3	116.5	1.2
氯普鲁卡因	75.68	2.4	106.1	1.6	112.4	1.6
普鲁卡因胺	79.76	2.6	109.2	0.9	111.4	0.8
利多卡因	64.61	2.9	108.6	1.0	112.1	1.2
丁卡因	63.23	4.1	107.8	3.0	103.5	0.8
辛可卡因	62.75	4.1	108.6	1.1	99.4	1.0
布比卡因	69.28	3.5	110.0	0.5	102.1	0.8
丙胺卡因	63.32	3.2	106.1	1.9	108.7	3.4
罗哌卡因	63.56	4.6	111.0	1.4	109.9	0.9

表 7 白虾基质 3 种麻醉剂代谢物的加样回收率(n=6)

Tab. 7 Spiked recoveries of 3 metabolites in white shrimp (n=6) %

目标化合物	10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
间氨基苯甲酸	84.67	2.8	94.63	1.3	101.1	2.7
对氨基苯甲酸	86.99	3.7	95.60	1.2	100.7	1.7
对乙酰氨基苯甲酸	86.47	2.1	92.51	1.0	100.1	1.7

## 2.8 样品测定结果

使用本研究方法对市场上采购淡水鱼 70 批次, 覆盖鳊鱼、草鱼、包头鱼、鲢鱼、鲫鱼、黑鱼、白条、鲤鱼 9 个品种, 其中 1 批次草鱼检出苯佐卡因和对乙酰氨基苯甲酸, 检出值分别为苯佐卡因  $15.6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  和乙酰氨基苯甲酸  $1.04 \times 10^3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 超出方法定量限 15.6 倍和 104 倍, 其余样品均未检出。

## 3 讨论

苯佐卡因是一种人工合成的局部麻醉药, 对乙酰氨基苯甲酸为其代谢产物。该药物起效快, 药效稳定且维持时间较长, 适合在鲜活水产品远距离运输中应用。目前挪威等少数国家允许苯佐卡因用于水产品的运输, 但 FDA 通报苯佐卡因产品可致高铁血红蛋白血症, 所以挪威等国的监管机构对休药期有严格要求, 必须经过 21 d 休药期后方可用于销售。目前中国并未允许苯佐卡因等麻醉剂用于鲜活水产品运输, 在鲜活水产品运输中违法使用麻醉剂, 同时不经过足够的休药期即上市销售, 对消费者的健康产生一定风险。

本研究建立了同时检测水产品中 14 种麻醉剂药物的 UPLC-MS/MS 方法, 对 70 批次水产样品中麻醉剂残留进行测定。本方法前处理简便快速, 选用国产 ProElt PLS-A 固相萃取柱, 在保证净化效果的同时降低了检测成本。该方法准确可靠, 可用于大批量水产品中 14 种麻醉剂的快速筛查、确认与定量。

## REFERENCES

- [1] SHI F, SHOU D, JIN M C, et al. Dispersive solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography for determination of seven anesthetics in aquatic products[J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2022, 40(2): 139-147.
- [2] LI J C, ZHANG J, LIU Y. Optimization of solid-phase-extraction cleanup and validation of quantitative determination of eugenol in fish samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407(21): 6563-6568.
- [3] BECKER A G, PARODI T V, HELDWEIN C G, et al. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*[J]. Fish Physiol Biochem, 2012, 38(3): 789-796.
- [4] LIU C L, HE L, CHEN S Q, et al. Review of fish anesthesia research[J]. Fish Mod(渔业现代化), 2007, 34(5): 21-25.
- [5] SU M M, SUN X Q, YANG C G, et al. Progress of the research and application of fish anesthetics MS-222 and eugenol in fresh seafoods transportation[J]. J Food Saf &

- Qual(食品安全质量检测学报), 2015, 6(1): 25-29.
- [6] WANG C X, XIONG G Q, BAI C, et al. Research progress of detection methods and residual safety evaluation of fish sedatives[J]. J Food Saf Qual(食品安全质量检测学报), 2018, 9(1): 51-56.
- [7] WAGNER E, ARNDT R, HILTON B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide[J]. Aquaculture, 2002, 211(1/2/3/4): 353-366.
- [8] FU Y Y, XU S L. Analysis on the application research status of three kinds of fishery anesthetics[J]. China Food Saf Mag(食品安全导刊), 2019(9): 148-150.
- [9] GHANAWI J, SAOUD G, ZAKHER C, et al. Clove oil as an anaesthetic for Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*[J]. Aquac Res, 2019, 50(12): 3628-3632.
- [10] NOCHETTO C B, REIMSCHUESSEL R, GIESEKER C, et al. Determination of tricaine residues in fish by liquid chromatography[J]. J AOAC Int, 2009, 92(4): 1241-1247.
- [11] SCHERPENISSE P, BERGWERFF A A. Determination of residues of tricaine in fish using liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2007, 586(1/2): 407-410.
- [12] HE H J. A molecularly imprinted solid-phase extraction technologies of eugenol in aquatic products the use of narcotics detection[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2016.
- [13] LIU H X, ZHANG N, YU Y, et al. Studies on detecting MS-222 residues in fish meat by GC-MS[J]. J Fujian Fish(福建水产), 2013, 35(6): 441-447.
- [14] GAO P, YANG X, MO C N, et al. Rapid determination of six anesthetics residues in aquatic products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass-through solid phase extraction[J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2019, 38(9): 1059-1065.
- [15] JING Y, HE M T, GUO S Y, et al. Determination of 21 sedative-hypnotic drugs in health foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Port Sci Technol(中国口岸科学技术), 2021, 3(8): 22-34.
- [16] SONG Z T. Studies on the residues and metabolism of typical antibiotics in chicken feathers and tissues[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [17] ZHANG Y Q, MENG X L, FAN G Y, et al. Simultaneous determination of 64 pesticide residues in shellfish by accelerated solvent extraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2020, 38(6): 687-694.
- [18] WANG S W, ZENG G F, LIU Y P, et al. Determination of thiacloprid, spirotetramat and its metabolites residues in Litchi and Longan by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2019, 38(2): 201-206.
- [19] XU W J, WANG Z G, DING K Y, et al. Detection of matrix effects of 17 carbamate pesticides in 5 vegetables by QuEChERS/LC-MS/MS method[J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2017, 36(1): 54-60.

收稿日期: 2023-02-09  
(本文责编: 沈倩)