

# LC-MS/MS 测定水产品中安眠酮残留量

## LCMSMS-762

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了水产品中安眠酮测定的方法。实验结果表明，在 0.1-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 为 0.9994，曲线各浓度点准确度在 94.2%-104.4% 之间。0.4 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.12% 和 1.52%。0.2、2.5 和 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  三个不同浓度加标回收率在 89.7%-91.9% 之间，平行三份样品的相对标准偏差 (RSD%) 在 2.14%-3.63% 之间。该方法简单，稳定，准确，供相关人员参考。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 水产品 安眠酮

### 技术特点：

- ❖ 满足 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准要求，灵敏度更高。
- ❖ 使用 Shim-pack Velox C18 色谱柱，6 min 完成一针分析，简单快速。

安眠酮，又名甲喹酮，被列入第一类精神药品管控，主要作用于大脑皮层，具有镇静和催眠作用，临床上用于失眠、神经衰弱及麻醉前给药。此药物的副作用主要包括头昏嗜睡，皮疹，口、舌、四肢发麻及短暂的精神失常等，个别患者会有心悸、恶心、呕吐、全身无力等症状，过量中毒可引起呼吸抑制，长期使用本品可产生耐受性和依赖性。

近年来，随着人们生活水平的提高，对水产品的需求量逐年递增，一些不法分子在经济利益的驱动下，为达到保活、保重以及增加捕获量的目的，在水产品养殖、运输和捕捞过程中擅自在饲料中非法添加安眠酮，导致

该药物在水产品中残留，给人民群众身体健康带来安全隐患。我国农业农村部在 2020 年 1 月 6 日发布的农业农村部公告第 250 号明确规定，食品动物中禁止使用安眠酮药物。

目前安眠酮的检测方法主要有气相色谱 - 质谱联用法、光谱法、液相色谱法和超高效液相色谱 - 质谱联用法等。本文参考 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准，采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了水产品中安眠酮测定的方法，该方法简单，稳定，灵敏度高，抗假阳性能力强，供相关检测人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津在线自动前处理仪 CLAM-2030 和岛津质谱 LCMS-8050，具体配置如下：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40B X3	自动进样器：	SIL-40C X3
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 6.108
质谱检测器：	LCMS-8060NX		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm  $\times$  2.1 mm I.D., 2.7  $\mu\text{m}$ ), P/N:227-32009-03, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇

流速：0.3 mL/min 进样体积：1  $\mu\text{L}$

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$  进样器温度：15 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 50%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	50
2.00	Pumps	Pump B Conc.	95
3.00	Pumps	Pump B Conc.	95
3.10	Pumps	Pump B Conc.	50
6.00	Controller	Stop	

## 质谱条件

离子源：IonFocus (+)	D L 温度：250°C
接口电压：1 kV	加热模块温度：400°C
聚焦电压：2 kV	接口温度：400°C
雾化气流速：3.0 L/min	碰撞气：氦气
加热气流速：15.0 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
干燥气流速：3.0 L/min	MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	安眠酮	72-44-6	251.1	91.2*	-17.0	-42.0	-17.0
				132.1	-12.0	-26.0	-26.0
2	安眠酮-D7	136765-41-8	258.1	139.1	-13.0	-28.0	-27.0

注：\* 表示定量离子

### 1.3 标准品及样品制备

标准中间液：精密量取安眠酮标准溶液适量，用甲醇稀释配制浓度为 200 ng/mL 标准中间液。置 -18°C 以下避光保存。

内标工作液：精密量取安眠酮-D<sub>7</sub> 标准溶液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 200 ng/mL 内标工作液。置 -18°C 以下避光保存。

校准工作曲线：分别精密量取安眠酮标准中间液和内标工作液适量，用 50% 甲醇溶液稀释制成含同位素内标物浓度为 4 ng/mL，安眠酮浓度为 0.1 ng/mL、0.4 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的系列标准工作液。

样品制备：取试样 5 g 于 50 mL 离心管中，加内标工作液 50 μL、水 3 mL，涡旋 30 s，加正己烷 15 mL，振荡提取 3 min，超声 5 min，4500 r/min 离心 7 min，取正己烷层至 25 mL 容量瓶；残渣再加正己烷 8 mL，重复提取一次，合并正己烷提取液，并用正己烷稀释定容至刻度，备用。取硅胶固相萃取柱，依次用丙酮 5 mL、正己烷 5 mL 活化。量取备用液 10 mL 过柱，用 20% 乙醚—正己烷淋洗液 5 mL 淋洗。用 50% 乙醚—正己烷混合溶液 8 mL 洗脱，收集洗脱液，40°C 氮气吹干。准确加入 50% 甲醇溶液 1 mL 溶解残余物，用水相针式滤器过滤至进样小瓶中，上机测定。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 色谱图

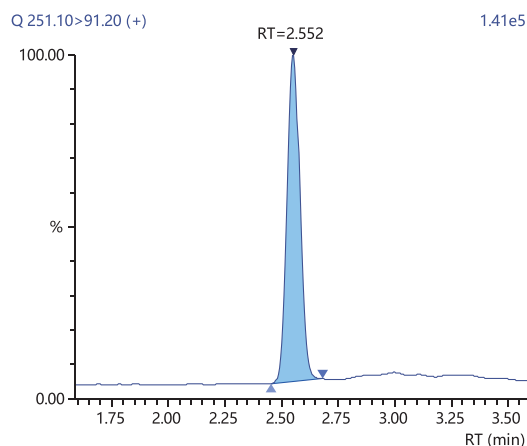


图1 安眠酮标准品溶液 MRM 色谱图 (1.0 ng/mL)

## 2.2 校准曲线结果

按照 1.3 制备 0.1、0.4、1.0、5.0、25、50、100 ng/mL 标准系列工作溶液，使用内标法拟合工作曲线，校准曲线见图 2，相关系数  $R = 0.9994$ 。各浓度点线性回归的准确度、信噪比、定量限等结果见表 3。曲线各标点准确度在 94.2%-104.4%，0.1 ng/mL 标准溶液的 S/N 为 51.42。

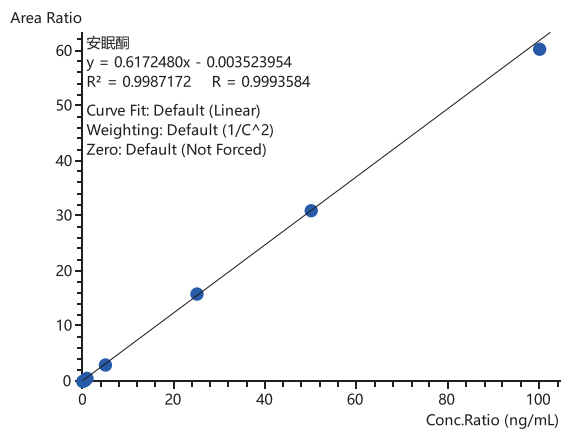


图2 安眠酮校准曲线

表3 校准曲线结果

Data#	数据文件名	保留时间	面积	浓度 (ng/mL)	标准浓度	精确度%	S/N	定量限
1	0.1ppb.lcd	2.555	53,500	0.099	0.1	98.8	51.42	0.02
2	0.4ppb.lcd	2.550	216,703	0.418	0.4	104.4	167.65	0.02
3	1ppb.lcd	2.552	553,264	1.018	1	101.8	517.66	0.02
4	5ppb.lcd	2.558	2,690,525	4.711	5	94.2	2,015.09	0.02
5	25ppb.lcd	2.558	13,641,953	25.551	25	102.2	27,791.86	0.01
6	50ppb.lcd	2.561	27,260,915	50.173	50	100.3	19,851.12	0.03
7	100ppb.lcd	2.559	49,985,970	98.206	100	98.2	56,882.11	0.02

## 2.3 重复性考察

0.4 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.12% 和 1.52%，方法精密度良好。

表 4 0.4 ng/mL 安眠酮标准溶液连续 6 针重复性结果

编号	峰面积	保留时间
1	211056	2.559
2	207665	2.553
3	210489	2.553
4	208364	2.552
5	210079	2.552
6	216703	2.550
平均值	210726	2.553
RSD%	1.52	0.12

#### 2.4 加标回收率及重复性考察

取鱼肉空白基质，按照 1.3 前处理方法，对样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 0.2、2.5 和 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5 回收率结果 (n=3)

No.	0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)
1	92.4	94.8	89.0
2	88.6	91.2	86.8
3	91.2	89.6	93.2
平均值	90.7	91.9	89.7
RSD%	2.14	2.90	3.63

## ■ 结论

本文参考 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准，使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8060NX 建立了水产品中安眠酮测定的方法。在 0.1-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 为 0.9994，曲线各浓度点准确度在 94.2%-104.4% 之间。对样品进行 0.2、2.5 和 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  三个浓度加标回收实验，回收率在 89.7%-91.9% 之间。该方法灵敏度高，准确度高，简单快速，适用于水产品中安眠酮药物的检测。

岛津应用云

