

LC-MS/MS 法测定水产品中丁香酚和三卡因两种渔用麻醉剂

LCMSMS-1082

摘要： 本文使用岛津液相色谱三重四极杆质谱仪，建立了水产品中丁香酚和三卡因两种组分的测定方法。样品采用乙腈提取上机，丁香酚采用内标法定量、三卡因采用外标法定量。在指定的条件下，两种组分线性良好，检出限分别为 0.05 和 0.5 ng/mL。分别进行低、中、高浓度的加标回收测试，回收率为 82.2~103.7%，重复性为 1.46~3.97%。本方法快速、有效，可用于水产品中丁香酚和三卡因两种组分的测定。

关键词： 三重四极杆 液质联用仪 水产品 渔用麻醉剂

技术特点：

- ❖ 可应对《国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》水产品中渔用麻醉剂的测定
- ❖ 使用 LabSolutions Insight 软件，可实现内外标同时分析的功能

水产渔用麻醉剂虽能减少水产运输、捕捞时的应激反应，但其滥用或残留会带来多重危害。对人体而言，部分麻醉剂如丁香酚、MS-222 等，若在水产品中残留超标，可能引发胃肠道不适、神经系统紊乱，长期摄入甚至存在致癌风险。对生态环境来说，过量麻醉剂随养殖废水排放后，会破坏水体微生物平衡，抑制水生生物繁殖，威胁水生态系统稳定。

水产品中渔用麻醉剂的检测方法有液相色谱法、

气相色谱 - 质谱联用法、液相色谱 - 质谱联用法等。其中，液相色谱 - 质谱联用法由于灵敏度高的优势，是目前水产渔用麻醉剂主要的分析仪器。2023 年《国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》，规定了水产品中渔用麻醉剂的标准操作规程。

本文参照该标准操作规程，使用 LCMS-8050 建立了水产品中丁香酚和 MS-222 两种常用麻醉剂的测定方法。方法快速、有效，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-40lite	脱气机：	DGU-40A _{5R}
输液泵：	LC-40D XS×2	自动进样器：	SIL-40C XS
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.128

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	ZORBAX Eclipse C18 柱 (150 mm x 3.0 mm I.D., 1.8 μm)		
流动相：	A- 水； B- 甲醇		
流速：	0.3 mL/min	柱温：	40°C
进样体积：	10 μL		
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相初始浓度为 25%，时间程序见表 1。		

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pump	B.Conc	25
1.50	Pump	B.Conc	60
3.50	Pump	B.Conc	60
5.00	Pump	B.Conc	95
7.00	Pump	B.Conc	95
7.10	Pump	B.Conc	25
10.00	Control	Stop	25

质谱条件

离子化模式：ESI 正负同时扫描 接口电压：4 kV, -3 kV
 雾化气流速：3.0 L/min 接口温度：300 °C
 加热模块温度：400 °C 干燥气流速：10 L/min
 D L 温度：150 °C 加热气流速：10 L/min
 M R M 参数：见表 2 扫描模式：多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	名称	保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	三卡因 (MS-222)	3.572	166.10	138.20*	-12	-19	-30
				94.30	-11	-20	-30
				77.20	-12	-27	-30
2	丁香酚	4.784	163.30	148.30*	11	15	27
				121.20	17	20	18
3	丁香酚 -D3	4.753	166.30	148.30*	19	16	26
				121.30	11	16	26

* 代表定量离子对。

1.3 标准品及样品制备

混合标准工作溶液：按照《2023 年国家水平污染物和有害因素风险监测工作手册》第八章水产品中渔用麻醉剂测定的标准操作程序，配制混合标准中间液（10 µg/mL）。

基质标准曲线工作溶液：以空白基质为溶剂配制标准工作溶液，其中 MS-222 的浓度为 0.1、1.0、10.0、20.0、50.0、100 µg/L；丁香酚的浓度为 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100 µg/L。

样品前处理：准确称取混匀样品 5 g（精确至 0.01g）于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入浓度为 10.0 µg/mL 的丁香酚 -d3 内标溶液 25 µL，混匀静置 20 min。加入 4 mL 纯水，涡旋振荡混均后，加入乙腈溶液 16 mL，振荡 3 min，超声 30 min，10000 r/min 离心 5 min，取上清液待净化。

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

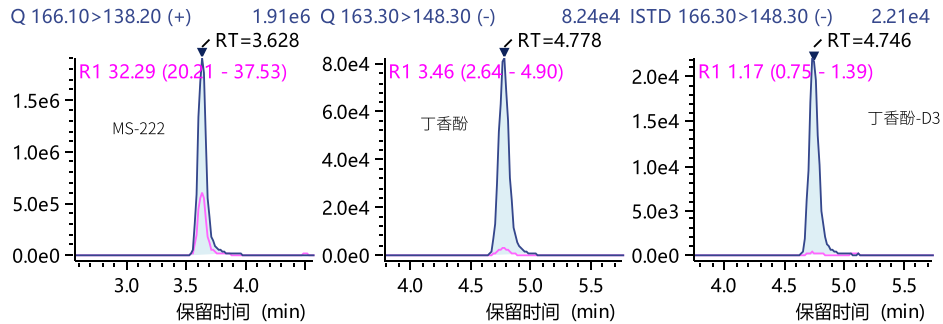


图 1 各化合物 MRM 色谱图 (MS-222: 20 µg/L, 丁香酚: 50 µg/L)

2.2 校准曲线

采用内外标同时分析模式，在指定线性范围建立校准曲线，结果如表 3 所示。2 种组分在指定浓度范围内线性良好，相关系数大于 0.999。本方法中两种物质分别用到了内标法和外标法，定量处理较为麻烦。LabSolutions Insight 软件可实现不同化合物内、外标同时处理，简化了本实验数据处理流程。

表 3 化合物校准曲线信息

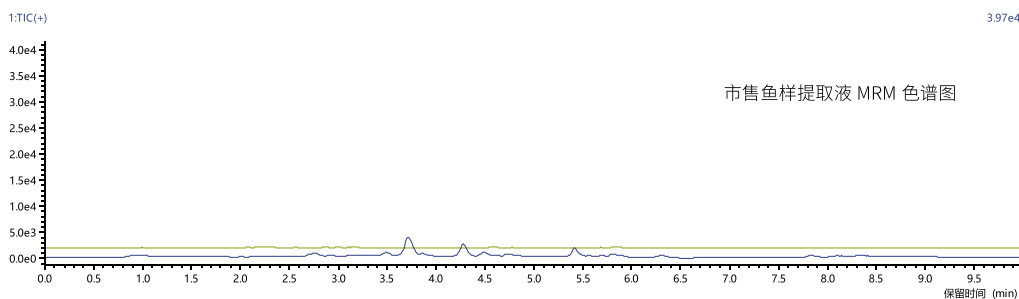
序号	化合物	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r^2	检出限 (ng/mL)
1	MS-222	0.1~20	0.999	0.05
2	丁香酚	1~200	0.999	0.5

#	化合物	定量方法
1	MS-222	绝对校准曲线法
2	丁香酚	内标法
3	丁香酚-D3	内标法

图 2 LabSolutions Insight 内外标同时处理设置界面

2.3 样品和加标回收测试

按照 1.2 中的分析条件和 1.3 中前处理方法对市售鱼样进行分析和加标回收测试，结果如图 3 所示。分别进行不同浓度的加标回收测试，平行 6 次，回收率为 82.2~103.7%，重复性为 1.46~3.97%。



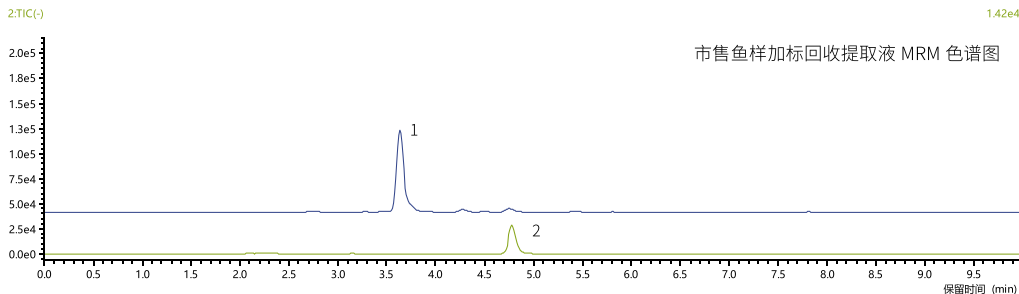


图 3 样品和加标回收样品 MRM 色谱图 (1:MS-222;2: 丁香酚)

表 4 化合物加标回收信息 (n=6)

序号	化合物	样品浓度 (mg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
1	MS-222	N.D.	0.5	82.2	3.52
			10	86.1	3.97
			100	98.1	2.31
2	丁香酚	N.D.	5	84.2	1.46
			50	97.0	2.15
			100	103.7	1.51

结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，建立了水产品中两种渔用麻醉剂的测定方法；各组分在指定浓度范围内，相关系数大于 0.999，线性范围、重复性、回收率的考察均满足 2023 年《国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》要求；可用于水产品中丁香酚和三卡因两种渔用麻醉剂的日常风险监控。

岛津应用云

