

## 采用睿科 Fotector Plus 全自动固相萃取技术同时测定水产品中

## 7 种局部麻醉剂药物残留

**摘要:** 曾查获一起用麻醉剂麻醉活鱼以求提高存活率的案件。目前,国内外对水产品局部麻醉剂测定比较少。本文采用 Fotector Plus SPE 净化,在 HPLC-MS 以正离子模式下检测,建立水产品中 7 种局部麻醉剂(苯佐卡因、利多卡因、丁卡因、辛可卡因、普鲁卡因、普鲁卡因胺、氯普鲁卡因)测试的一种新方案。7 种局部麻醉剂在 0.1~10 µg/L 范围内均呈良好的线性关系,相关系数均大于 0.99;在 1.0 µg/Kg 和 5.0 µg/Kg 2 个浓度加标水平下的平均回收率为 73%~94% 之间,相对标准偏差(RSD %,n=4)为 2.11~6.09 之间。满足水产品中局部麻醉剂的检测需要。

## 1 前言

由于鱼在长距离运输过程中,应激反应强烈会受到不同程度的损伤,甚至导致死亡的现象,影响水产品销量。为了提高鱼的成活率及商业价值,国内外采用非化学麻醉和化学麻醉使鱼在运输过程中麻醉。

目前,国内外研究者对于渔用麻醉剂的作用机制、使用方法、影响药效的因素、血液成分和鱼的应激性关系等研究较多,对麻醉剂的安全性、反复麻醉对鱼类的危害性,残留麻醉剂对人体的风险和影响等则研究较少。近年来麻醉剂种类和应用规模剧增,特别是随着人们生活水平的提高对于动物产品的需求日益增加,对麻醉剂的检测分析呼声越来越亮。为此,本文应用全自动固相萃取仪来完成水产品净化,实现净化过程(活化,上样,淋洗,洗脱,浓缩)自动化,且减少人为操作带来的误差,是未来检测技

术的发展方向。

## 2 试验部分

### 2.1 仪器与试剂

睿科 Fotector Plus 全自动固相萃取仪, Agilent1260 高效液相色谱仪, Agilent 6410 四级杆质谱仪。MCX 固相萃取柱(Waters 60mg/3mL), 甲醇、甲酸、正己烷、乙腈均为色谱纯(Sigma, 美国), 氨水、三氯乙酸为分析纯(国药, 上海), 超纯水(Merck Millipore Aquelix 5, 德国)。

麻醉剂固体标准品(山西食品药检所提供)。将上述混标组分以甲醇为溶剂配制成 100mg/L 的混标储备液,置于-20℃冰箱保存。

### 2.2 仪器条件

色谱条件: Fortis Xi C18 柱(1.7µm x2.1mm x 50 mm), 柱温: 30℃; 流动相: A 为 0.1% 甲酸水, B 为甲醇, 流动相梯度洗脱程序见表 1。流速量为 0.2ml/min, 进样量为 10 µL。

表 1 梯度洗脱程序

时间 / min	A / %	B / %
0.00	75	25
2.00	75	25
2.01	20	80
6.00	20	80
6.01	75	25
11.0	75	25

质谱条件: 电喷雾离子源(ESI), 正离子模式, 电喷雾电压: 4000V; 离子源温度: 350℃; 雾化器压力: 25psi; 气窗气流速: 10L/min; 驻留时间: 20min。

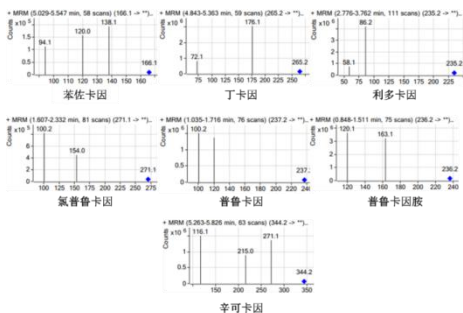


图 1 局部麻醉剂的二级质谱图

### 2.3 样品制备

称取 2.0g 鱼肉样品（准确至 0.01g）于离心管中，加入一定量标准品，振荡 1min；加入 8mL 三氯乙酸，2mL 乙腈，振荡提取 1min，超声 10min，1000r/min 离心 5min，转移上层清液至分液漏斗中，加入 5mL 乙腈饱和正己烷溶液，下层溶液待净化。

### 2.4 净化

用 3mL 甲醇、5mL1%三氯乙酸分别活化 MCX 固相萃取柱，上样完成后，再用 3mL1%三氯乙酸和 3mL1%甲酸甲醇淋洗固相萃取柱，弃去淋洗液；再用一定量 5%氨水甲醇洗脱，收集洗脱液。浓缩至干，用 20%甲醇水定容至 1mL 溶解残留物，经 0.22 $\mu$ m 滤膜过滤后，供高效液相色谱-串联质谱测定。

仪器运行程序如下：

No	Command	Solvent	Output	Push speed	Volume	Time
1	Sample path wa...	CH3OH	Waste1	20	5	0.3
2	Syringe washing	CH3OH	Waste1	20	2	0.1
3	Condition	CH3OH	Waste1	1	3	3
4	Condition	C2HF3O2	Waste2	2	5	2.5
5	Sample loading		Waste2	1	10	10
6	Vials washing	C2HF3O2	Waste2	60	2	0
7	Rinse	C2HF3O2	Waste2	2	3	1.5
8	Air push		Waste1	20	5	0.3
9	Rinse	1%NH4OH-CH3OH	Waste2	2	3	1.5
10	Air push		Waste2	20	5	0.3
11	Dry				5	
12	Syringe washing	5%NH3-CH3OH	Waste1	20	3	0.2
13	Elute	5%NH3-CH3OH	Waste1	1	6	6
14	End					

### 2.5 检出限、精密度、回收率

为了消除因基质而带来的离子抑制对定量测定的影响，需用空白样品提取液来配制所使用的一系列标准工作溶液，绘制标准曲线进行定量。7 种麻醉剂在低浓度范围

0.1-10 $\mu$ g/L 线性良好，可以满足定量分析的需要。在空白鱼肉样品中添加不同含量的 2 个水平 7 种麻醉剂的混合标准溶液，按照 2.3 步骤进行加标回收率实验。每个添加浓度平行重复 4 次操作，测定精密度，结果见表 2。

表 2 方法的回收率和相对标准偏差

名称	加标水平 / $\mu$ g.Kg <sup>-1</sup>	平均回收率 /%	RDS/% (n=4)
苯佐卡因	1	77.68	2.38
	5	81.93	5.02
丁卡因	1	75.52	4.19
	5	76.18	2.11
利多卡因	1	86.69	5.28
	5	75.66	4.81
氯普鲁卡因	1	76.41	6.09
	5	83.66	5.23
普鲁卡因	1	80.78	4.31
	5	88.43	3.43
普鲁卡因胺	1	89.89	4.21
	5	93.60	6.07
辛可卡因	1	80.04	5.69
	5	73.82	2.45

由表 2 可以看出，7 种麻醉剂在 1 $\mu$ g/Kg~5 $\mu$ g/Kg 浓度范围之内，加标回收率在 73%~94%之间。相对标准偏差 RSD(%) 在 2.11~6.09 之间。方法的准确度和精密度均符合残留分析的要求。添加水平为 5 $\mu$ g/Kg 的鱼肉样品色谱图 5。对鱼肉样品中 7 种麻醉剂残留量检测方法的检出限均为 1 $\mu$ g/Kg，满足检测水产品需要。

### 3 结论

3.1 从表 2 可以看出，应用全自动固相仪，能够满足水产品中 7 种局部麻醉剂在 1 $\mu$ g/Kg~5 $\mu$ g/Kg 浓度范围的净化，回收率在 73%~94%之间，相对标准偏差 RSD(%) 在 2.11~6.09 之间。

3.2 全自动固相萃取仪，提高工作效率，实现边净化边前处理样品过程；减少溶剂用量，减少有机溶剂对工作人员的伤害，减少人为

造成的误差。

3.3 全自动固相萃取仪，扩大使用范围，不需要非常有经验的人员对样品进行净化，只要把方法导入仪器，可自动运行，保证样品的平行性；避免因手动固相萃取上样、洗脱流速不一致的现象。