

液相色谱—串联质谱测定水产品中 15 种 苯二氮卓类镇静剂的药物残留

Determination of the residues of 15 kinds of benzodiazepine sedatives in
aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry

张秋云¹

杨洪生^{1,2}

谭秀慧¹

ZHANG Qiu-yun¹

YANG Hong-sheng^{1,2}

TAN Xiu-hui¹

朱晓华^{1,2}

陈凤蔚¹

陈慧敏³

ZHU Xiao-hua^{1,2}

CHEN Feng-wei¹

CHEN Hui-min³

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017; 2. 江苏省水产质量检测中心,

江苏 南京 210017; 3. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 上海 200335)

(1. Freshwater Fishery Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210017, China;

2. Aquatic Product Quality Inspection Center of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210017, China;

3. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd., Shanghai, Jiangsu 200335, China)

摘要:目的:建立一种同时测定水产品中 15 种苯二氮卓类镇静剂类药物残留的液相色谱—串联质谱(HPLC-MS/MS)分析方法。方法:样品采用乙腈提取,上清液经固相萃取柱(Oasis PRIME HLB 柱)净化,浓缩后乙腈定容。以 1%甲酸水溶液—乙腈为流动相,在多反应监测(MRM)模式下测定,以内标法定量。结果:在 1~100 ng/mL 的质量浓度范围内 15 种苯二氮卓类镇静剂线性关系良好,相关系数均大于 0.99,方法的检出限(LOD)为 0.1~0.3 $\mu\text{g/kg}$,定量限(LOQ)为 0.3~1.0 $\mu\text{g/kg}$ 。在 3 个不同浓度加标水平下的平均回收率为 78%~125%,相对标准偏差为 1.52%~12.02%。结论:该方法前处理简单,净化效果好,灵敏度高,适用于水产品中 15 种镇静剂类药物分析的快速检测。

关键词:液相色谱—串联质谱;苯二氮卓类镇静剂;水产品;药物残留

Abstract: Objective: This study aimed to establish a method for the determination of 15 benzodiazepine sedatives in aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods:** The sample was extracted with ace-

tonitrile solvent, and the extract was purified by solid phase extraction (Oasis PRIME HLB) column. After concentration, the mobile phase was used to determine the volume. The mobile phase consisted of 1% formic acid aqueous solution and acetonitrile solvent. The method was performed in multiple reaction monitoring (MRM) mode and quantified by internal standard method. **Results:** The results showed that the linear range of 15 sedatives was 1~100 ng/mL ($R > 0.99$). The limit of detection (LOD) was 0.1~0.3 $\mu\text{g/kg}$ and the limit of quantification (LOQ) was 0.3~1.0 $\mu\text{g/kg}$. The average recoveries were 78%~125% and the relative standard deviations (RSD) were 1.52%~12.02%. **Conclusion:** The method has the advantages of simple pretreatment, good purification effect and accurate results. It is suitable for the rapid detection of 15 kinds of sedatives in aquatic products.

Keywords: liquid chromatography tandem mass spectrometry; benzodiazepine sedatives; aquatic products; drug residue

苯二氮卓类镇静剂是 1,4-苯并二氮卓类衍生物,为苯二氮卓受体激动剂,可引起中枢神经系统不同部位的抑制^[1-3]。长期服用此类药物会产生耐药性及成瘾性,突然停药还会导致戒断症状出现^[4-5]。苯二氮卓类镇静剂具有蓄积毒性,在体内吸收快,排泄慢,长期摄入后,会加重肝脏负担,导致肝功能下降,对中枢神经系统造成不良影响,引起头脑昏沉,记忆退化、运动障碍等问题^[6-9]。中国于 2002 年禁止在饲料和动物饮用水中使用硝西泮、

基金项目:江苏现代农业产业技术体系建设项目(编号:JATS[2021]368)

作者简介:张秋云,女,江苏省淡水水产研究所工程师。

通信作者:杨洪生(1979—),男,江苏省淡水水产研究所副研究员,硕士。E-mail:yhs713@163.com

收稿日期:2022-03-15 **改回日期:**2022-09-21

奥沙西洋等药物^[10]。最新发布的 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定,地西洋仅允许治疗使用,但不得检出。

目前,检测镇定剂类药物残留的主要方法有酶联免疫法(ELISA)^[11]、液相色谱法(LC)^[12-13]、气相色谱—质谱联用法(GC-MS)^[14-15]、液相色谱—串联质谱法(LC-MS/MS)^[16-18],其中气相色谱—质谱联用法、酶联免疫法和液相色谱法前处理过程复杂,耗时长,稳定性和重复性差,灵敏度低,难以满足日常检测需求,而液相色谱—串联质谱法具有灵敏度高,抗干扰性强,重现性好等特点,是目前检测镇静剂类药物最主要的检测方法。此外,内标法相对于外标法具有简化前处理过程,有效抵消基质效应等优点,是质谱法的最优选择^[19]。目前,水产品中检测常用镇静剂类药物定量定性检测主要以外标法为主,如何晓明等^[20]建立了水产品中 13 种镇静剂残留检测的液质联用法,采用外标法定量,其前处理过程采用 QuEChERS 净化,但操作较繁琐、净化效果较差,也未考虑基质效应可能对结果准确性的影响。有学者采用内标法,但是也仅仅用 1~3 种内标物,如张璇等^[18]建立了液质联用法测定水产品中 12 种镇静剂及其代谢物残留的内标法,但只用了安眠酮-D₇、盐酸氯丙嗪-D₆、地西洋-D₅ 3 种内标,具有一定的局限性。

研究拟建立一种以内标法为基础且能同时检测多种镇静剂类物质及其代谢物的方法,并对样品前处理方法和仪器分析条件进行改进和优化,以期解决基质干扰问题,为水产品中镇静剂残留监测提供方法参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

15 种镇静剂及 14 种同位素内标标准储备液(具体名称见表 1);质量浓度均为 1.0 mg/mL,美国 Cerilliant 公司;

乙腈、甲醇、氨水、乙酸乙酯和甲酸:色谱纯,德国 Merck 公司;

Waters Oasis PRIME HLB 固相萃取小柱(150 mg/3 mL)、Waters Oasis HLB 固相萃取小柱(150 mg/3 mL)、Waters C₁₈ 柱(200 mg/3 mL)、Waters CORTECS C₁₈ 液相色谱柱(3.0 mm×100 mm,2.7 μm):美国 Waters 公司;

Supelclean LC-18 固相萃取仪;德国 Merck 公司;

草鱼、南美白对虾和中华绒螯蟹等水产品:市售。

1.2 仪器与设备

三重四极杆液质联用仪:SCIEX Triple Quad™ 5500 型,美国 Sciex 公司;

高速冷冻离心机:Avanti J-26XP 型,美国 Beckman Coulter 公司;

电子天平:CP225D 型,德国 Sartorius 公司;

全自动浓缩仪:Turbo Vap LV 型,瑞典 Biotage 公司;纯水仪:Milli-Q 型,美国 Millipore 公司。

1.3 标准溶液配制

(1) 混合标准工作液:分别移取一定体积的 15 种镇定剂标准储备液用乙腈配制质量浓度均为 100 μg/L 的混合标准溶液,-18 ℃ 保存。

(2) 混合内标标准工作液:分别移取一定体积的同位素内标储备液用乙腈配制质量浓度均为 50 μg/L 的混合标准溶液,-18 ℃ 保存。

1.4 样品前处理

草鱼、南美白对虾和中华绒螯蟹分别取可食部分,充分均质后-20 ℃ 保存。

于 50 mL 聚丙烯离心管中准确称取试样 2.00 g,添加质量浓度为 50 μg/L 混合内标标准溶液 200 μL,静置 5 min,加入提取溶剂乙腈 10 mL,涡旋混匀 30 s,于常温下超声 10 min,然后 8 000 r/min 离心 10 min。准确移取 5 mL 上清液过 Waters Oasis PRIME HLB 固相萃取柱,调节流速至小于 1 滴/s,收集流出液于 10 mL 刻度离心管中,真空抽干 1 min。流出液于 50 ℃ 氮气吹至 0.5 mL 左右,用乙腈定容至 1 mL,过 0.22 μm 尼龙微孔滤膜,备用待测。

1.5 分析方法

1.5.1 色谱条件 色谱柱:Waters CORTECS C₁₈ 液相色谱柱(3.0 mm×100 mm,2.7 μm);柱温:35 ℃;进样量 1 μL;流速:400 μL/min;流动相 A:0.1% 甲酸水溶液;B:甲醇。梯度洗脱程序:0~8.00 min,95% A;8.00~12.00 min,95%~10% A;12.00~12.10 min,10%~95% A;12.10~15.00 min,95% A。

1.5.2 质谱条件 离子源:ESI 源,正离子模式;监测方式:多反应监测模式(MRM);电喷雾电压:5 500 V;离子源温度:450 ℃;气帘气:0.24 MPa;雾化气:0.38 MPa;辅助雾化气:0.38 MPa。15 种镇静剂和 14 种内标物的监测离子对、去簇电压及碰撞能量等质谱参数见表 1(其中普拉西洋对应内标为劳拉西洋-D₄)。

1.6 数据处理

采用 Origin 软件对试验数据进行处理,分析检出限、定量限、准确度、精密度及回收率。

2 结果与讨论

2.1 液质条件优化

试验所选的镇静剂均含有仲胺或者叔胺基团,属于苯二氮卓类药物,易与氢离子结合成带正电荷的准分子离子[M+H]⁺,因此在正离子模式下,采用流动注射的方式分别将质量浓度为 1 μg/mL 的地西洋等 15 种镇定剂及 14 种内标物注入质谱,对目标化合物在 *m/z* 为 200~450 的范围内进行一级质谱全扫描,获得分子离子

表 1 15 种镇静剂和 14 种内标物的监测离子对、去簇电压及碰撞能量[†]

Table 1 MS parameters for the 15 kinds of sedatives and 14 kinds of isotope internal standards

化合物	保留时 间/min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能 量/V	化合物	保留时 间/min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能 量/V
地西洋	7.24	285.1	154.1 [*]	38	90	去甲西洋	6.90	271.1	140.0 [*]	38	100
			193.1	46	90				208.2	39	100
硝西洋	6.01	282.1	236.1 [*]	35	100	去甲基氟硝西洋	5.83	300.1	198.2 [*]	55	100
			180.1	46	130				254.2	34	100
氯安定	6.10	316.1	270.1 [*]	52	90	2-羟乙基氟拉西洋	6.55	333.1	109.0 [*]	39	90
			241.0	50	90				211.2	50	90
奥沙西洋	6.54	287.1	241.1 [*]	30	80	2'-氯地西洋	7.25	319.1	154.0 [*]	40	90
			269.0	21	80				227.0	43	90
氟拉西洋	5.33	388.2	288.1 [*]	35	80	地西洋-D ₅	7.24	290.1	198.1	44	90
			315.2	34	80	硝西洋-D ₅	6.01	287.1	241.0	36	80
氟硝西洋	6.21	314.0	239.1 [*]	47	140	氯安定-D ₄	6.10	320.0	274.1	36	90
			268.2	36	120	奥沙西洋-D ₅	6.54	292.0	246.1	31	70
氯甲西洋	6.88	335.1	289.1 [*]	32	80	氟拉西洋-D ₄	5.33	392.2	319.2	34	60
			316.8	19	80	氟硝西洋-D ₇	6.21	321.1	275.1	37	120
劳拉西洋	6.55	321.0	228.9 [*]	40	100	氯甲西洋- ¹³ C ₃ D ₃	6.88	339.1	293.1	30	80
			275.0	30	100	劳拉西洋-D ₄	6.55	325.0	279.1	31	80
普拉西洋	8.04	325.1	271.1 [*]	32	80	替马西洋-D ₅	6.78	306.1	260.2	32	60
			140.1	52	80	7-氨基氟硝西洋-D ₇	4.04	291.1	138.0	38	80
替马西洋	6.78	301.1	255.1 [*]	30	80	去甲西洋-D ₅	6.90	276.0	140.1	40	80
			283.1	20	80	去甲基氟硝西洋-D ₄	5.83	304.1	258.1	36	80
7-氨基氟硝西洋	4.04	284.1	135.0 [*]	38	90	2-羟乙基氟拉西洋-D ₄	6.55	337.1	113.1	39	90
			227.2	36	90	2'-氯地西洋-D ₄	7.25	323.1	231.0	46	100

[†] * 为定量离子。

峰[M+H]⁺，且强度稳定在1×10⁶以上。以高纯氮气为碰撞气，通过优化碰撞能量和去簇电压等质谱参数，分别选取干扰少、响应值高的2个子离子作为定量离子和定性离子，其中内标化合物只选取1个离子，用于目标化合物的定量。同时，分别考察了0.1%甲酸水溶液—乙腈、0.1%甲酸水溶液—甲醇、5 mmol/L 乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)—甲醇、5 mmol/L 乙酸铵溶液(含0.1%甲酸)—乙腈4种流动相对目标化合物的灵敏度和峰型的影响。经过比较，采用0.1%甲酸水溶液—甲醇为流动相时，目标化合物的质谱响应值高，峰型更尖锐，各物质间的分离效果更好，因此选用0.1%甲酸水溶液—甲醇作为目标化合物检测的流动相，在此条件下15种镇静剂及14种内标化合物的提取离子流色谱图见图1。

2.2 样品提取剂选择

地西洋等15种镇定剂为脂溶性物质，常用的提取剂有乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂^[21-25]。研究比较了乙腈、1%甲酸—乙腈、1%氨水—乙腈、1%氨水—乙酸乙酯、1%甲酸—乙酸乙酯、乙酸乙酯6种提取剂对目标化合物提取效果的影响。由于1%氨水—乙酸乙酯、1%甲酸—

乙酸乙酯为提取溶剂时，提取液较为混浊且出现不同程度的乳化现象，分离效果差，因此在试验前期予以排除。其他4种提取剂的试验结果(如图2)表明，乙酸乙酯相对乙腈系列的提取溶剂来说，其总体回收率偏低，尤其是2'-氯地西洋和2-羟乙基氟拉西洋，其回收率仅为55.8%和60.1%；1%氨水—乙腈、1%甲酸—乙腈和乙腈作为提取溶剂时目标化合物的提取效果相差不大，考虑到地西洋等15种镇静剂的极性较弱，易溶于甲醇、乙腈等试剂，不易溶于水，而乙腈相对操作简便，因此选择乙腈作为目标化合物的提取剂。

2.3 浓缩过程优化

药物残留分析过程中常用的浓缩方法有旋转蒸发、氮吹、真空浓缩、冷冻干燥等，而氮吹由于干燥速度快、处理样品个数多、操作简单等优点而被广泛应用^[26-27]。研究以15种镇静剂标准溶液为对象，考察了不同温度下(35,40,50,60℃)氮吹对回收率的影响。由图3可知，在不同的温度进行氮吹，目标化合物的响应值有所差异，温度越高耗时越短。35℃时氯安定和氯硝西洋的回收率低于70%，60℃时温度过高，氯硝西洋和去甲基氯硝西洋

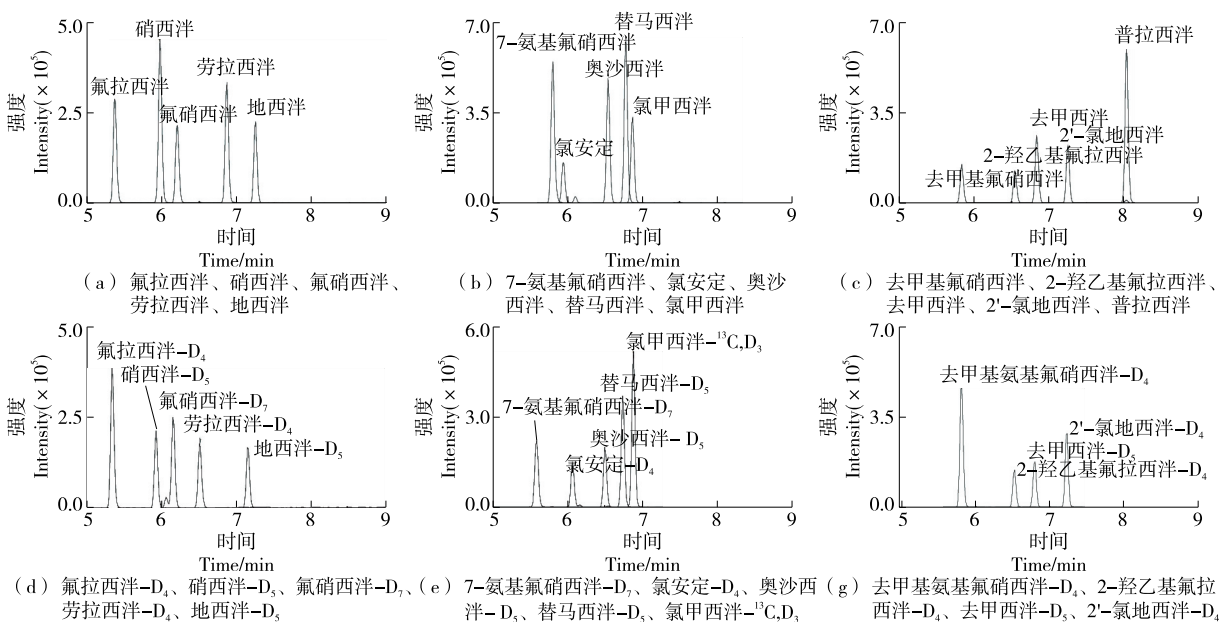
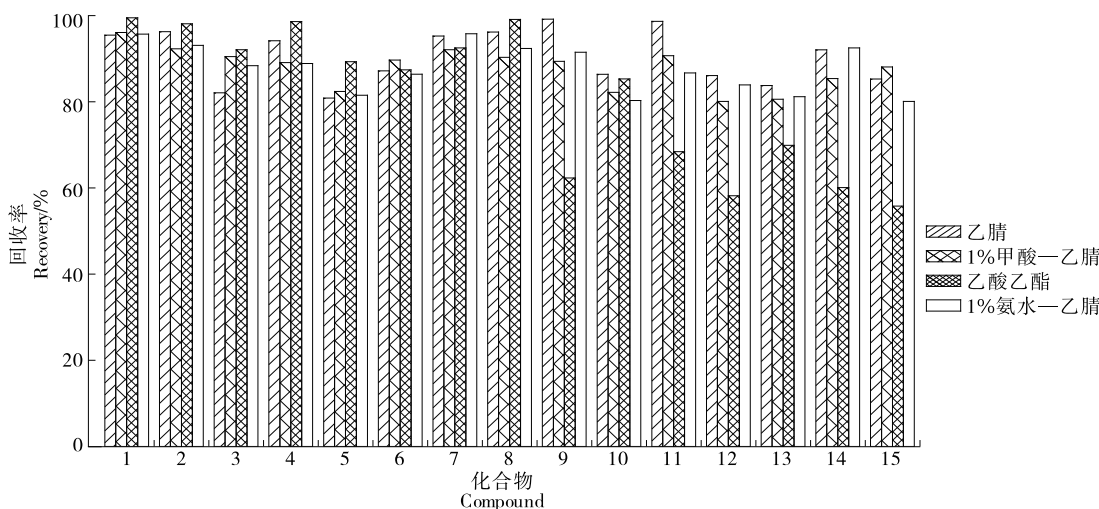


图 1 15 种镇静剂及 14 种内标化合物的提取离子流色谱图

Figure 1 Extracted ion chromatograms of the 15 kinds of sedatives and 14 kinds of isotope internal standards



1. 地西洋 2. 硝西洋 3. 氯安定 4. 奥沙西洋 5. 氟拉西洋 6. 氟硝西洋 7. 氯甲西洋 8. 劳拉西洋 9. 普拉西洋 10. 替马西洋 11. 7-氨基氟硝西洋 12. 去甲西洋 13. 去甲基氟硝西洋 14. 2-羟乙基氟拉西洋 15. 2'-氯地西洋 以草鱼为基质, 加标水平 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

图 2 不同提取剂对 15 种镇静剂的提取效果

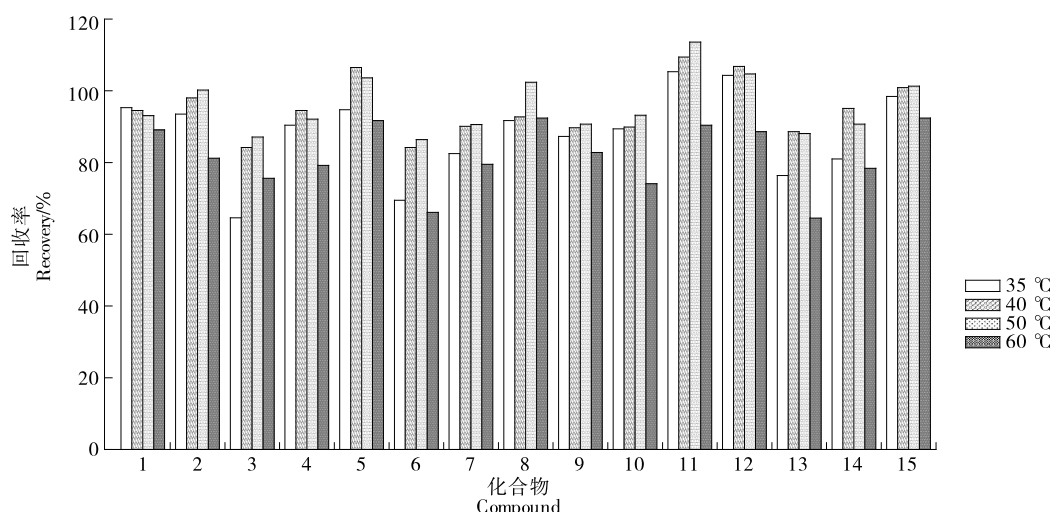
Figure 2 Effects of different extractants on the extraction of the 15 kinds of sedatives ($n=6$)

回收率低于 70%, 而且各目标物的回收率比 40 $^{\circ}\text{C}$ 和 50 $^{\circ}\text{C}$ 的显著降低, 而在 40 $^{\circ}\text{C}$ 和 50 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹各目标物的回收率均达到 70%~120%, 由于在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹耗时较长, 因此, 选择 50 $^{\circ}\text{C}$ 为适宜氮吹温度。

2.4 净化方法选择

研究考察了 Waters Oasis PRIME HLB 固相萃取柱、Waters Oasis HLB 固相萃取柱和 Waters C₁₈ 固相萃取柱对镇定制剂的净化效果。结果(图 4)表明, Waters C₁₈ 固相萃取柱净化效果较差, 劳拉西洋、奥沙西洋、2'-氯地西洋

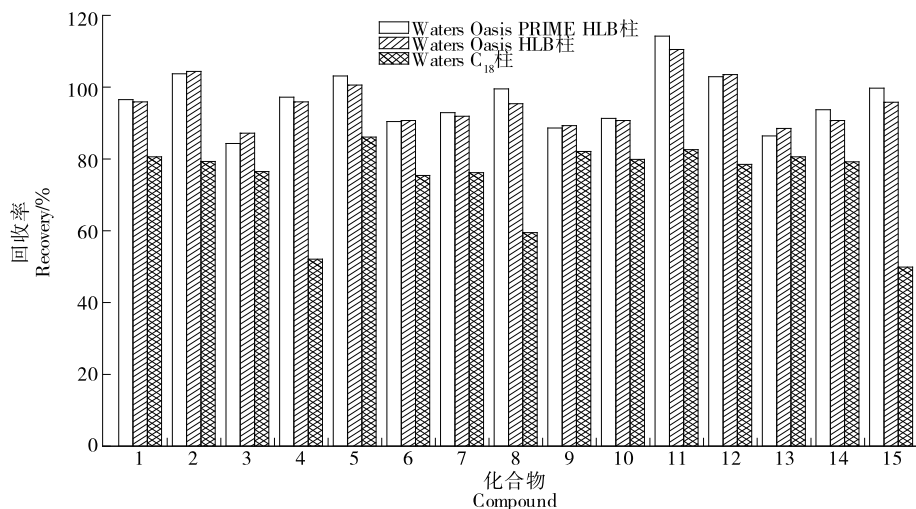
等目标化合物在 Waters C₁₈ 固相萃取柱净化后回收率低于 60%; Waters Oasis HLB 固相萃取柱和 Waters Oasis PRIME HLB 柱对目标化合物的净化效果无显著差异, 但 Waters Oasis PRIME HLB 固相萃取柱与传统的 Waters Oasis HLB 固相萃取柱相比, 省去了活化、平衡步骤, 样品提取液直接过柱, 简化了前处理过程, 同时又能有效去除 95% 以上的脂肪、磷脂等基质干扰物, 样品更加干净, 基质效应更小, 因此选择 Waters Oasis PRIME HLB 为净化小柱。



1. 地西洋 2. 硝西洋 3. 氯安定 4. 奥沙西洋 5. 氟拉西洋 6. 氟硝西洋 7. 氯甲西洋 8. 劳拉西洋 9. 普拉西洋 10. 替马西洋 11. 7-氨基氟硝西洋 12. 去甲西洋 13. 去甲基氟硝西洋 14. 2-羟乙基氟拉西洋 15. 2'-氯地西洋

图 3 氮吹温度对 15 种镇静剂回收率的影响

Figure 3 Effect of nitrogen blowing temperature on the recovery of 15 kinds of sedatives ($n=6$)



1. 地西洋 2. 硝西洋 3. 氯安定 4. 奥沙西洋 5. 氟拉西洋 6. 氟硝西洋 7. 氯甲西洋 8. 劳拉西洋 9. 普拉西洋 10. 替马西洋 11. 7-氨基氟硝西洋 12. 去甲西洋 13. 去甲基氟硝西洋 14. 2-羟乙基氟拉西洋 15. 2'-氯地西洋

图 4 不同固相萃取小柱对 15 种镇静剂的净化效果

Figure 4 Purification effects of different SPE cartridges on the 15 kinds of sedatives ($n=6$)

2.5 基质效应

由于同位素内标和待测化学物质的性质相似,因此采用同位素稀释方法,能够有效抵消基质效应。根据式(1)计算不同基质中 15 种镇静剂的基质效应(ME)^[28]。

$$M_E = \frac{K_1}{K_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

M_E ——基质效应, %;

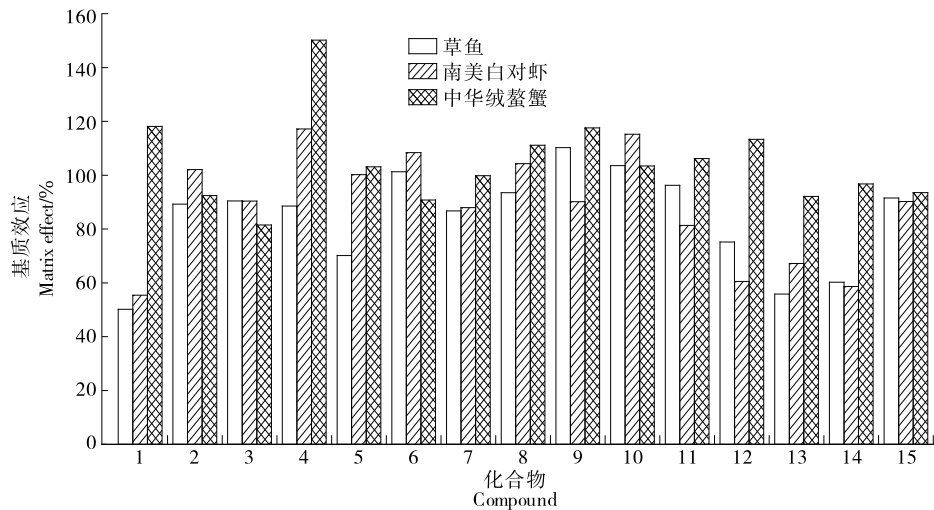
K_1 ——基质匹配标准曲线的斜率;

K_2 ——溶剂标准曲线的斜率。

ME 值为 80%~120%, 表示基质效应较弱, 即目标

化合物在纯溶剂与基质溶液中的信号强度差别不大; ME 值 < 80%, 表示有较强的基质抑制效应, 使得目标化合物信号显著减弱; ME 值 > 120%, 表示有较强的基质增强效应, 使得目标化合物信号显著增强。

如图 5 所示, 在草鱼、南美白对虾和中华绒螯蟹 3 种不同的基质中 15 种镇静剂均存在不同程度的基质效应。地西洋、硝西洋、氯甲西洋等镇静剂在草鱼、南美白对虾和中华绒螯蟹中基质抑制效应较大, 而奥沙西洋镇静剂在中华绒螯蟹基质中有明显基质增强效应。因此, 为有效降低基质效应, 采用基质标准工作液中添加内标的方法来进行定量分析, 以确保结果的准确性。



1. 地西洋 2. 硝西洋 3. 氯安定 4. 奥沙西洋 5. 氟拉西洋 6. 氟硝西洋 7. 氯甲西洋 8. 劳拉西洋 9. 普拉西洋 10. 替马西洋 11. 7-氨基氟硝西洋 12. 去甲西洋 13. 去甲基氟硝西洋 14. 2-羟乙基氟拉西洋 15. 2'-氯地西洋

图 5 15 种镇静剂外标法测定时的基质效应

Figure 5 Determination of matrix effect of the 15 kinds sedativeswith external standard method

2.6 方法的线性范围和检出限

在草鱼空白基质液中添加不同浓度的混合标准工作溶液,按 1.4 和 1.5 的条件进行测定。以各目标物质量浓度为横坐标(X),目标化合物峰面积和对应内标的峰面积比值为纵坐标(Y),绘制标准曲线。由表 2 可知,15 种镇定剂在质量浓度为 1~100 ng/mL 的范围内呈良好的线性关系,相关系数(R)均大于 0.99。以 3 倍信噪比(S/N=3)作为方法的检出限(LOD),10 倍信噪比(S/N=10)作为方法定量限(LOQ)。

2.7 方法准确度和精密度

在 2.00 g 空白样品中添加质量浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 混

合内标标准溶液 200 μL ,质量浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 的 15 种镇定剂的混合标准溶液 100,200,500 μL ,即添加水平为 5,10,25 $\mu\text{g/kg}$,每个添加水平平行测定 6 次,其加标回收率为 78%~125%,RSD 为 1.52%~12.02%,见表 3。表明该方法具有良好的准确度和精密度。

2.8 实际样品检测

利用上述检测方法对市场常见的 20 份不同类型水产品(草鱼、鲫鱼、南美白对虾、中华绒螯蟹等)进行检测,结果显示,在 1 份草鱼样品中检出地西洋含量为 0.85 $\mu\text{g/kg}$,其余样品中均未检出苯二氮卓类镇静剂。

表 2 15 种镇静剂的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear equation, correlation coefficient, detection limit and quantitation limit for the 15 kinds of sedatives

化合物	线性方程	相关系数 R	检出限/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
地西洋	$Y=0.11X+1.48\times10^{-4}$	0.998 9	0.1	0.4
硝西洋	$Y=0.11X-8.84\times10^{-3}$	0.997 4	0.1	0.4
氯安定	$Y=8.69\times10^{-3}X+7.36\times10^{-4}$	0.982 0	0.2	0.7
奥沙西洋	$Y=0.12X+1.13\times10^{-2}$	0.999 3	0.1	0.4
氟拉西洋	$Y=1.20\times10^{-2}X+3.43\times10^{-4}$	0.999 3	0.2	0.7
氟硝西洋	$Y=3.98\times10^{-2}X+2.90\times10^{-3}$	0.997 6	0.2	0.7
氯甲西洋	$Y=7.70\times10^{-2}X+1.38\times10^{-2}$	0.993 7	0.2	0.7
劳拉西洋	$Y=2.98\times10^{-2}X+5.89\times10^{-3}$	0.995 1	0.3	1.0
普拉西洋	$Y=2.54\times10^{-2}X+4.76\times10^{-3}$	0.998 8	0.3	1.0
替马西洋	$Y=8.78\times10^{-2}X+2.15\times10^{-3}$	0.998 7	0.2	0.7
7-氨基氟硝西洋	$Y=0.11X-3.668\times10^{-4}$	0.998 3	0.2	0.7
去甲西洋	$Y=0.17X-5.15\times10^{-3}$	0.995 5	0.2	0.7
去甲基氟硝西洋	$Y=3.62\times10^{-2}X+1.58\times10^{-4}$	0.999 4	0.3	1.0
2-羟乙基氟拉西洋	$Y=9.14\times10^{-2}X+1.64\times10^{-2}$	0.994 5	0.3	1.0
2'-氯地西洋	$Y=9.18\times10^{-2}X+4.69\times10^{-3}$	0.998 7	0.2	0.7

表 3 15 种镇静剂的准确度和精密度
Table 3 Recoveries and precisions of the 15 kinds of sedatives (n=6)

目标化合物	5.0 μg/kg		10.0 μg/kg		25.0 μg/kg	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
地西洋	106.13	7.40	124.72	5.46	110.63	9.06
硝西洋	96.56	6.53	95.74	5.23	98.34	2.57
氯安定	78.37	6.43	87.78	3.15	84.39	7.06
奥沙西洋	98.14	1.52	104.14	3.54	94.26	2.63
氟拉西洋	107.04	5.79	102.79	1.54	100.99	1.85
氟硝西洋	117.09	5.55	109.73	3.77	94.26	2.63
氯甲西洋	117.09	5.55	109.73	3.77	96.04	5.83
劳拉西洋	101.62	6.28	106.37	4.85	95.32	7.62
普拉西洋	110.32	6.45	105.57	5.23	108.79	4.52
替马西洋	113.55	6.18	108.65	5.59	108.35	5.52
7-氨基氟硝西洋	118.50	4.55	111.24	3.49	116.51	4.32
去甲西洋	104.41	8.81	100.85	6.45	103.44	7.61
去甲基氟硝西洋	97.64	6.13	98.46	6.13	105.23	5.37
2-羟乙基氟拉西洋	118.46	3.91	101.64	4.91	110.16	5.11
2'-氯地西洋	103.49	6.89	108.68	10.29	100.97	12.02

3 结论

研究建立了液相色谱—串联质谱法测定水产品中 15 种苯二氮卓类镇定剂的分析方法,对提取溶剂、净化条件、浓缩方式、基质效应等因素进行了优化,采用同位素稀释,有效抑制基质效应干扰,提高了试验准确性。该方法操作简单、经济、高效,方法的准确度、精密度及灵敏度均能满足日常检测要求,适用于实验室大批量水产品样品的快速测定。

参考文献

[1] ZHANG L G, WU P G, JIN Q, et al. Multi-residue analysis of sedative drugs in human plasma by ultra-high performance liquid chromatography tandem massspectrometry [J]. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2017, 1 072: 305-314.

[2] HANG L, XIN H, XIAO L Y, et al. Dissipation and rsistence of sulfonamides, quinolones and etracyclines in anaerobically digested biosolids and ompost during short-term storage under natural onditions[J]. Science of the Total Environment, 2019, 20(9): 58-66.

[3] KAUR A, SINGLA N, DHAWAN D K. Low dose X-irradiation mitigates diazepam induced depression in rat brain[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2016, 80: 82-90.

[4] AMVROSIOS O, HELEN G, ORTHODOXIA M, et al. Determination of drugs of abuse and pharmaceuticals in skeletal tissue by UHPLC-MS/MS[J]. Forensic Science International, 2018, 290: 137-145.

[5] 潘玲珍, 闫智勇, 左长英, 等. 长期使用地西洋对神经活性配体受体互相互作用信号通路的影响[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42 (5): 443-446.

PAN L Z, YAN Z Y, ZUO C Y, et al. Influence of long-term usage

of diazepam on neuroactive ligand-receptor interaction signaling pathway[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2011, 42 (5): 443-446.

[6] 张虹, 何晓明. 改良 QuEChERS 结合高效液相色谱—串联质谱法检测饲料中的 7 种镇静剂[J]. 中国饲料, 2019(19): 83-87.

ZHANG H, HE X M. Determination of seven sedatives in feed by modified QuEChERS combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Fodder, 2019, (19): 83-87.

[7] 于红燕, 刘国如, 崔玉静, 等. UHPLC-MS/MS 法同时测定人血浆中 7 种苯二氮类镇静催眠药的浓度[J]. 药学报, 2016, 51 (11): 1 765-1 769.

YU H Y, LIU G R, CUI Y J, et al. Simultaneous determination of 7 benzodiazepines in human plasma by UHPLC-MS/MS [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2016, 51(11): 1 765-1 769.

[8] 李蓉, 杨璐齐, 张鹏云, 等. 超高效液相色谱—四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查水产及水产加工品中 24 种镇静剂类药物[J]. 色谱, 2018, 36(2): 125-135.

LI R, YANG L Q, ZHANG P Y, et al. Rapid screening of 24 tranquillizer drugs in fish and fisheryproducts by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrosratic field orbitrap highresolution mass spectroscopy [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(2): 135-135.

[9] 刘培勇, 张惠, 米之金, 等. 两步液液萃取—固相萃取净化结合高效液相色谱—串联质谱法测定猪肉中 11 种磺胺类兽药残留[J]. 色谱, 2019, 37(10): 1 098-1 104.

LIU P Y, ZHANG H, MI Z J, et al. Determination of 11 sulfonamides in pork by two-step liquid-liquid extraction-solid phase extraction purification coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(10): 1 098-1 104.

- [10] 禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录: 中华人民共和国农业部公告第 176 号[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002. Catalogue of drugs prohibited from use in feed and animal drinking water: Announcement No.176 of the Ministry of agriculture of the people's Republic of China[S]. Beijing: China Quality and Standards Press, 2002.
- [11] 李桂敏, 宁保安, 白家磊, 等. 地西洋单克隆抗体的制备及其酶联免疫吸附检测方法的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(3): 956-963.
LI G M, NING B A, BAI J L, et al. Preparation of anti-diazepam monoclonal antibody and establishment of its enzyme-linked immunosorbent assay method[J]. Food Safety and Quality Detection Technology, 2014, 5(3): 956-963.
- [12] 任珊珊, 赵丹彤. GC/MS 法测定四种安眠镇静类药物含量[J]. 刑事技术, 2020, 45(5): 545-547.
REN S S, ZHAO D Z. Determination of four sedative-hypnotic drugs with GC/MS for a case of abnormal death[J]. Forensic Science and Technology, 2020, 45(5): 545-547.
- [13] 徐硕, 金鹏飞, 邝咏梅, 等. HPLC 法检测中成药及保健品中非法添加的 10 种镇静催眠类药物[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(2): 181-185.
XU S, JIN P F, KUANG Y M, et al. Simultaneous determination of 10 sedative hypnotics illegally adulterated in Chinese patent medicines and health foods by HPLC[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2019, 34(2): 181-185.
- [14] 王占良, 张建丽, 张亦农. 气相色谱—质谱联用法检测保健品中 8 种安眠镇静类药物[J]. 质谱学报, 2009, 30(5): 282-286.
WANG Z L, ZHANG J L, ZHANG Y N. Detection of eight sedative-hypnotic agents in nutriment products by GC/MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2009, 30(5): 282-286.
- [15] BOTREL B M, ABREU D C, SACZK A A, et al. Residual determination of anesthetic menthol in fishes by SDME/GC-MS[J]. Food Chemistry, 2017, 229: 674-679.
- [16] 张素玲, 徐煜烽, 王冠杰, 等. 微柱萃取与高效液相色谱联用测定镇定剂残留[J]. 杭州电子科技大学学报(自然科学版), 2019, 39(3): 73-77.
ZHANG S L, XU Y F, WANG G J, et al. Determination of sedative residues by combining micropillar extraction with high performance liquid chromatography[J]. Journal of Hangzhou Dianzi University(Natural Sciences), 2019, 39(3): 73-77.
- [17] 宿书芳, 孙立臻, 薛霞, 等. 通过式固相萃取—超高效液相色谱—串联质谱法测定水产品中地西洋[J]. 色谱, 2020, 38(7): 791-797.
SU S F, SUN L Z, XUE X, et al. Determination of diazepam in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass-through solid phase extraction[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(7): 791-797.
- [18] 张璇, 杨光昕, 孔聰, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定水产品中镇静剂及其代谢物残留[J]. 分析化学, 2021, 49(3): 460-469.
ZHANG X, YANG G X, KONG C, et al. Determination of tran-
- quilizer and Their metabolites residues in aquatic products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2021, 49(3): 460-469.
- [19] 候美玲, 董宪兵, 李红丽, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时检测畜禽肉中抗生素及镇静剂类兽药残留[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(3): 113-117.
HOU M L, DONG X B, LI H L, et al. Simultaneous determination of antibiotics and tranquilizers veterinary drugs residues in livestock and poultry mmeat by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2020, 56(3): 113-117.
- [20] 何晓明, 余鹏飞, 刘强欣, 等. 改良 QuEChERS-高效液相色谱—串联质谱法同时测定水产品中的 13 种镇静剂[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 203-209.
HE X M, YU P F, LIU Q X, et al. Simultaneous determination of 13 Sedative Residues in aquatic products by modified QuEChERS combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(24): 203-209.
- [21] 张宪臣, 李蓉, 张朋杰, 等. QUECHERS-超高效液相色谱—四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速测定水产品中 25 种药物残留[J]. 色谱, 2018, 36(2): 114-124.
ZHANG X C, LI R, ZHANG P J, et al. Rapid determination of 25 drug residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(2): 114-124.
- [22] 魏晋梅, 周围, 解迎双, 等. 快速高分辨率液相色谱—串联质谱法测定牛肉中 24 种镇静剂类兽药残留量[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 191-196.
WEI J M, ZHOU W, XIE Y S, et al. Determination of 24 sedative residues in beef by rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2016, 42(2): 191-196.
- [23] 李荣, 张亚锋, 杜辉. 液质联用法测定氯硝西泮片中的有关物质[J]. 山西医药杂志, 2017, 46(6): 707-708.
LI R, ZHANG Y F, DU H. Determination of related substances in clonazepam tablets by LC-MS[J]. Shanxi Medical Journal, 2017, 46(6): 707-708.
- [24] SMINK B E, BRANDSMA J E, DIJKHUIZEN A, et al. Quantitative analysis of 33 benzodiazepines, metabolites and benzodiazepine-like substances in whole blood by liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry[J]. J Chromatography B, 2004, 811(1): 13-20.
- [25] VILLAIN M, CONCHEIRO M, CIRIMELA V, et al. Screening method for benzodiazepines and hypnotics in hair at pg mg level by liquid chromatography-mass spectrometry mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 825(1): 72-78.

(下转第 94 页)

“600 r/min, 20 cm/s”“1 000 r/min, 5 cm/s”时, 鱼头切割断面不平整且十分粗糙, 鱼身严重缺损和撕裂, 断面感官较差。因此, 优化后的运动参数不仅功耗较低, 且其切割断面较好, 能达到工艺要求。

3 结论

利用数值分析软件 ANSYS/LS-DYNA 构建了圆盘刀切割鱼头过程仿真模型, 采用有限单元法对去头过程进行仿真分析及运动参数的优化, 并通过样机试验对仿真结果的准确性进行验证。样机试验表明当刀片转速为 850 r/min、输送速度为 14 cm/s 时鱼头切割断面平整且光滑, 断面感官较好, 去头加工效率也能得以保证。但由于建立的圆盘刀切割鱼头仿真模型虽可以对运动过程进行一定的描述, 但精度有待提升, 现有建模参数是经一定试错而来, 后续将对模型材料参数的确定进行进一步的研究。

参考文献

- [1] 李玲, 宗力, 王玖玖, 等. 大宗淡水鱼加工前处理技术和装备的研究现状及方向[J]. 渔业现代化, 2010, 37(5): 43-46, 71.
LI L, ZONG L, WANG J J, et al. Research status and development trend of massive freshwater fish pre-treatment processing technology and equipment[J]. Fishery Modernization, 2010, 37(5): 43-46, 71.
- [2] SUN Y H, LAI R S, JIN G C. Cutting part research of machine for cutting mulberry branch[J]. Advanced Materials Research, 2011, 421: 246-249.
- [3] 蒋连琼. 基于 ANSYS/LS-DYNA 的圆锯片锯切过程仿真研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013: 7-8.
JIANG L Q. Simulation study of circular saw cutting process based on ANSYS/LS-DYNA[D]. Nanning: Guangxi University, 2013: 7-8.
- [4] 龚境一. 青菜头切割装置的设计与优化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018: 20-22.
GONG J Y. Design and optimization of tumorous stem mustard cutting device[D]. Chongqing: Southwest University, 2018: 20-22.
- [5] MENG Y M, WEI J D, WEI J, et al. An ANSYS/LS-DYNA simulation and experimental study of circular saw blade cutting system of mulberry cutting machine[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2019, 157: 38-48.
- [6] 郇晓龙, 尤泳, 王德成, 等. 小型组合式王草铡切打浆机优化设

计与试验[J]. 农业机械学报, 2021, 52(3): 10.

- HUAN X L, YOU Y, WANG D C, et al. Optimization design and experiment on small cutting and beating machine of king grass[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(3): 10.
- [7] 张汉石. 苹果枝条锯切力学试验仿真与探究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020: 17-23.
ZHANG H S. Simulation and research on cutting mechanics experiment of apple branches[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020: 17-23.
- [8] 张程皓. 淡水鱼开腹去脏与切片加工机设计研究[D]. 天津: 天津农学院, 2021: 72-74.
ZHANG C H. Design of laparotomy viscera remover and slicing machine for freshwater fish[D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2021: 72-74.
- [9] 薛忠. 木薯茎秆切割力学特性与仿真分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018: 109-131.
XUE Z. Cutting mechanical characteristics and simulation analysis of cassava stalk [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018: 109-131.
- [10] 葛宜元. 试验设计方法与 Design-Expert 软件应用[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2015: 152-155.
GE Y Y. Experimental design method and application of design expert software[M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2015: 152-155.
- [11] 郝杰林. 工厂化叶菜定植盘清洗系统优化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020: 35-39.
HAO L J. Optimization study on cleaning system of leafy vegetable planting tray [D]. Chongqing: Southwest University, 2020: 35-39.
- [12] 王升力, 黄雪琴, 郭诗, 等. 响应面法优化虾壳中虾青素提取工艺的研究[J]. 陕西农业科学, 2016, 62(2): 1-5.
WANG S L, HUANG X Q, GUO S, et al. Optimization of astaxanthin extraction from shrimp shell by response surface methodology[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2016, 62(2): 1-5.
- [13] 贾娟, 王婷婷, 傅航, 等. 响应面优化超声辅助法提取杜仲叶中绿原酸的工艺研究[J]. 保鲜与加工, 2021, 21(3): 97-103.
JIA J, WANG T T, FU H, et al. Ultrasonic assisted extraction technique optimization of chlorogenic acid from eucommia ulmoides leaves by response surface methodology[J]. Storage and Process, 2021, 21(3): 97-103.
- 收[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(16): 5 755-5 759.
CHENG J, ZHAO S Z, QI N, et al. Evaluation and acceptance of concentrators used in food inspection and testing[J]. Food Safety and Quality Detection Technology, 2020, 11(16): 5 755-5 759.
- [28] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. Analytical Chemistry, 2003, 75(13): 3 019-3 030.

(上接第 67 页)

- [26] 张瑜文, 谢学立, 黄绵佳, 等. 真空浓缩法与旋转蒸发法提取青蒿素的比较[J]. 热带生物学报, 2015, 6(3): 325-328.
ZHANG Y W, XIE X L, HUANG M J, et al. Comparison of vacuum concentration and rotary evaporation methods in Aartemisinin extraction[J]. Journal of South China University of Tropical Agriculture, 2015, 6(3): 325-328.
- [27] 程甲, 赵善贞, 齐娜, 等. 食品检验检测使用浓缩仪的评价验