

# 分散固相萃取 - 液相色谱串联质谱法检测动物源性食品中地西洋残留量

朱小委

茂名市农业科技推广中心, 广东 茂名

收稿日期: 2024年1月2日; 录用日期: 2024年1月12日; 发布日期: 2024年2月20日

## 摘要

为了测定动物源性食品中地西洋残留, 采用分散固相萃取前处理方法, 采用液相色谱串联质谱法为的方法测定地西洋, 测定结果符合国家要求。线性方程为 $Y = 110356x$ ,  $r^2$ 为0.9993, 在0.05~2.00 ug/L范围内线性良好, 方法加标回收率为97.0%~97.5%, 相对标准偏差为0.33%~1.43%, 该方法操作快速、简单、灵敏度高、试剂用量少、对环境友好、回收率达到满意效果。

## 关键词

液相色谱串联质谱法, 地西洋, 残留

# Determination of Diazepam Residues in Animal Derived Foods by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

Xiaowei Zhu

Maoming Agricultural Science and Technology Promotion Center, Maoming Guangdong

Received: Jan. 2<sup>nd</sup>, 2024; accepted: Jan. 12<sup>th</sup>, 2024; published: Feb. 20<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

In order to determine the residue of diazepam in animal derived foods, a dispersion solid-phase extraction pretreatment method was used, and the method of liquid chromatography tandem

mass spectrometry was used to determine diazepam. The determination results met the national requirements. The linear equation is  $Y = 110356x$ ,  $r^2$  is 0.9993, and the linearity is good in the range of 0.05~2.00  $\mu\text{g/L}$ . The recovery rate of the method with added standard is 97.0%~97.5%, and the relative standard deviation is 0.33%~1.43%. This method is fast, simple, sensitive, has low reagent dosage, is environmentally friendly, and achieves satisfactory recovery rate.

## Keywords

Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, Diazepam, Residual

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

地西洋, 又名安定, 具有催眠作用的药物。在临床医学中是比较常用的镇静催眠和抗焦虑药物, 患者长期服用会产生强烈的耐药性和依赖性[1] [2]。然而, 一些养殖户将此药用于畜禽饲料中, 使动物少动嗜睡, 从而快速增肥, 缩短养殖时间。该类药物经过食物链传递给人继而对人体产生很大的危害, 因此对动物源性食品中地西洋药物残留检测非常必要[3] [4]。

地西洋药物已在畜禽产品、水产品中普遍有检出, 而且检出频率极高, GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》规定在动物性食品中不得检出地西洋, 农业 176 号公告规定严禁在饲料和动物饮用水中使用地西洋等精神类药物。目前地西洋的检测方法较多, 主要有气相色谱 - 串联质谱法(GC-MS) [1] [5] [6] [7]、高效液相色谱法(HPLC) [8] [9]和高效液相色谱 - 串联质谱法(HPLC-MS/MS) [10]-[16]、胶体金免疫层析法[17]等。张玉洁等利用采用气相色谱 - 微电子捕获相萃取小柱净化, 甲醇 - 水(体积比 70 + 30)洗脱, 外标法定量, 该方法均满足分析试验要求。何连军等通过型固相萃取柱为净化手段, 采用液相色谱 - 串联质谱法测定水产品中地西洋残留量; 该方法通过内标法定量, 检出限为 0.03  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 添加回收范围为 90.9%~98.3%, 相对标准偏差为 0.63%~6.68%。桑丽雅等采用胶体金免疫层析法快速检测水产品中地西洋残留量; 该方法利用免疫磁珠选择性吸附、分离水产品中地西洋残留, 操作简便, 灵敏度高, 特异性强, 稳定性好。

超高效液相色谱 - 串联质谱法(UPLC-MS/MS) [10]-[16]拥有超高效液相快速、有效的分离能力和串联质谱的精准灵敏度, 是一种快速发展的分析技术。将超高效液相色谱 - 串联质谱法与分散固相萃取技术相结合, 是目前比较流行的检测方式, 兼具两者的优点, 可以真正实现多种兽药残留的快速检测。该研究使用分散固相萃取技术进行前处理, 超高效液相色谱 - 串联质谱法为检测方法, 实现了地西洋残留的快速检测, 为分散固相萃取前处理方式在水产品领域的应用提供更强保障。当前未有各类产品地西洋残留量的限量标准, 为了快速准确定量地西洋药物在动物源食品中的残留量, 本文建立了分散固相萃取联合液相色谱串联质谱测定动物源食品中地西洋的残留的方法, 以期对动物源性食品中地西洋的检测提供数据基础。

## 2. 仪器与试剂

### 2.1. 仪器

超高效液相色谱仪(LC-40NX): 日本岛津有限公司, 三重四级杆质谱仪 LCMS-8050; 电子天平

(FA2204B): 上海民侨精密科学仪器有限公司; 高速冷冻离心机(H1650-W): 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 垂直振荡器(V12)睿科集团有限公司; 漩涡混合器(IKA vortex 4 数显型): 上海泰坦科技股份有限公司; 冰箱(BCD-218): 博西华家用电器有限公司。

## 2.2. 试剂

甲醇、乙腈、甲酸, 正己烷, 光谱纯, 购自默克; 甲酸(质谱纯)购自默克; 地西洋(含量 > 99.98%) 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。酸性氧化铝(200 目)、氯化钠均为分析纯。

## 2.3. 样品

鱼、虾、鸡、猪肉、猪肝、鸡蛋购买于市场。

## 3. 实验

### 3.1. 样品预处理

取样品可食用部分, 缩分, 切碎, 混匀, 放入捣碎机中捣碎, 装入洁净容器中密封, 于冰箱中 $-18^{\circ}\text{C}$ 以下保存, 待用。

### 3.2. 提取净化

称取 2.00 g 试样于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 加入 5 粒铅珠, 与 1500 r/min 涡旋 2 min, 然后再加入 2 g 氯化钠, 2 g 酸性氧化铝, 于 2000 r/min 涡旋 1 min, 450 r/min 垂直震荡 5 分钟后, 再继续 10000 r/min 离心 5 分钟, 取上清液加入 5 mL 正己烷涡旋 1 min, 10000 r/min 离心 5 min, 采用氮气吹扫的方法去掉正己烷, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 得到待测液。

### 3.3. 分析条件

#### 3.3.1. 液相条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18, 2.1 mm I.DX100 mmL, 2  $\mu\text{m}$ ; 柱温:  $40^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 0.4 mL/min; 进样量: 5  $\mu\text{L}$ ; 流动相: A 相 0.1% 甲酸水溶液、B 相 0.1% 甲酸甲醇溶液

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 洗脱程序见表 1。

**Table 1.** Gradient elution procedure

**表 1.** 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.10	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	Controller	Stop	

#### 3.3.2. 质谱条件

离子化模式: ESI (+); 离子源接口电压: 0.5 KV; 加热气: 空气 10.0 L/min; 雾化气: 氮气 2.0 L/min; 干燥气: 氮气 10 L/min; 碰撞气: 氩气;

源温度:  $350^{\circ}\text{C}$ ; DL 温度:  $250^{\circ}\text{C}$ ; 加热模块温度:  $400^{\circ}\text{C}$ ; 扫描方式: 多反应监测(MRM)。

驻留时间：100 ms；延迟时间：3 ms。地西洋的质谱检测参数见表 2。

**Table 2.** Mass spectrometry detection parameters of diazepam

**表 2.** 地西洋的质谱检测参数

兽药	前体离子(m/z)	产物离子(m/z)	驻留时间/ms	Q1 Pre Bais/V	碰撞能量/eV	Q3 Pre Bais/V
地西洋	258.20	154.00*	100	-13.0	-22.0	-23.0
		193.00	100	-13.0	-22.0	-23.0

\*: 为定量离子。

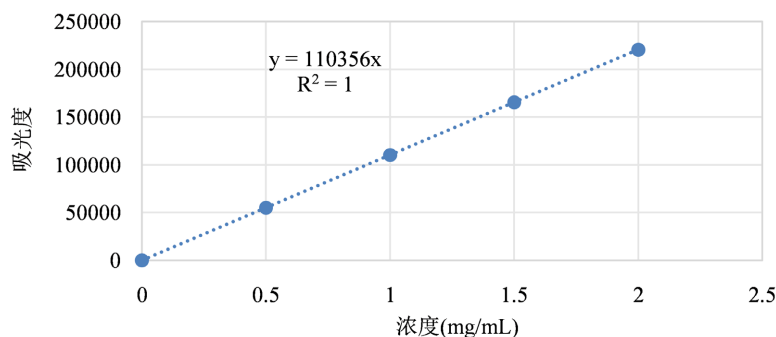
### 3.4. 标准工作液配制

地西洋标准中间液(1.0 mg/L): 用空白基质依次稀释成 0.05 µg/L、0.10 µg/L、0.50 µg/L、1.0 µg/L、2.0 µg/L 不同浓度的标准工作液。

## 4. 结果与讨论

### 4.1. 标准曲线

在选定的色谱条件和质谱参数下测定分析, 以目标物定量离子峰面积和相应定量离子峰面积之比(y)为纵坐标, 以目标物浓度(x)为横坐标, 绘制标准曲线(如图 1), 结果  $Y = 110356x$ ,  $r^2$  为 0.9993, 在 0.05~2.00 µg/L 范围内线性良好。



**Figure 1.** Diazepam standard curve

**图 1.** 地西洋标准曲线

### 4.2. 添加回收试验结果

开展加标回收实验, 分别向实验样品中添加低、中、高(0.0500、0.1000、2.00 mg/kg) 3 个水平的地西洋标准溶液, 计算回收率和相对标准偏差, 结果见表 3。

**Table 3.** Results of spiked recovery rate (n = 5)

**表 3.** 加标回收率结果(n = 5)

添加浓度(ug/kg)	平均值(ug/kg)	回收率/%	RSD/%
0.050	0.0485	97.0	0.33
0.10	0.0937	93.7	1.43
2.00	1.95	97.5	1.07

方法加标回收率为 97.0%~97.5%，相对标准偏差为 0.33%~1.43%，说明方法的准确度与精密度较好，能满足国家标准 GB/T 27404-2008《中华人民共和国国家标准实验室质量控制规范食品理化检测》中实验室质量控制规范。

## 5. 结论

本文建立了液相色谱串联质谱法测定动物源性食品中地西洋残留的方法，结果  $Y = 110356x$ ， $r^2$  为 0.9993，在 0.05~2.00  $\mu\text{g/L}$  范围内线性良好，方法加标回收率为 97.0%~97.5%，相对标准偏差为 0.33%~1.43%，该方法操作快速、简单、灵敏度高、试剂用量少、对环境友好、回收率达到满意效果。方法学验证结果表明，该方法的检出限及定量限、回收率、精密度等指标均符合要求，适合于动物源性食品中地西洋残留量的定量分析，能够为动物源性食品中地西洋残留量监管和风险评价提供有效技术支持。

## 参考文献

- [1] 马丽莎, 尹怡, 谢文平, 等. QuEChERS-气相色谱质谱法快速测定水产饲料中地西洋残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2022, 12(3): 17-23.
- [2] 李先义, 张金磊, 陈永发, 等. 高效液相色谱-串联质谱法快速测定鸡蛋中的地西洋[J]. 农产品加工, 2022(12): 43-46.
- [3] 尹文林, 姚嘉赞, 曲焕韬. 水产品中地西洋残留来源和应对措施[J]. 科学养鱼, 2022(9): 51-52.
- [4] 杨嘉丽, 林诗婷. 液相色谱-串联质谱法测定样品中地西洋残留量的不确定度分析[J]. 食品安全导刊, 2023(1): 114-117.
- [5] 汪丽萍, 李翔, 孙英, 等. 气相色谱/质谱法测定猪肉中 4 种苯二氮类镇静剂残留[J]. 分析化学, 2005, 33(7): 951-954.
- [6] 李文海, 蔺大伟, 孙红雷, 等. ASE-GC/MS 法检测血液中的常见镇静安眠类药物[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(5): 451-454.
- [7] 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.
- [8] 郭志磊, 范捷, 于洋. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定人血浆中地西洋、咪达唑仑及其代谢产物的浓度和临床应用[J]. 中国医院药学志, 2016, 36(10): 825-829.
- [9] 汤文利, 李俊玲, 刘学江. 高效液相色谱法测定浓缩饲料中地西洋的含量[J]. 饲料工业, 2004, 25(10): 50-51.
- [10] 曾军杰, 陈思, 张小军, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中的地西洋[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(12): 198-201.
- [11] 张璇, 杨光昕, 孔聪, 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.
- [12] 谭磊, 施远国, 罗燕, 等. UPLC-MS/MS 法测定猪肉中地西洋残留的研究[J]. 广东饲料, 2015, 24(9): 40-42.
- [13] 张倩勉. HPLC-MS 法测定猪肉中地西洋等 5 种禁用药物的残留量[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(25): 71-75.
- [14] 何连军, 王鼎南, 张宜明, 等. 通过型固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中的 5 种硝基咪唑和地西洋[J]. 核农学报, 2021, 35(8): 1865-1874.
- [15] 禚开智, 梁振纲, 陈文慧, 等. QuEChERS 提取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中 5 种麻醉剂的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2018, 54(12): 1405-1409.
- [16] 宿书芳, 孙立臻, 薛霞, 等. 通过固相萃取-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.
- [17] 桑丽雅, 陈笑笑, 王扬, 等. 基于免疫磁珠的胶体金免疫层析法快速检测水产品中地西洋残留[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 255-260, 284.