

doi: 10.12452/j.fxcxb.26071701

超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱 法测定水产品中5种新型镇静类药物

徐潇颖, 毛思浩, 赵超群, 王知坚, 梁晶晶*

(国家市场监督管理总局重点实验室(功能食品质量与安全), 浙江省市场监管保健食品质量安全重点实验室, 浙江省食品药品检验研究院, 浙江 杭州 310052)

摘要:建立了水产品中莱博雷生等5种新型镇静类药物的通过式固相萃取/超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱(UPLC-Q-Trap/MS)检测方法。样品采用1.0%甲酸乙腈溶液提取,均质后离心,提取液经通过式固相萃取小柱Captiva EMR-lipid净化。选用微纯HSS T3(2.1×100 mm, 1.8 μm)色谱柱,柱温35℃,流动相为0.1%甲酸水溶液-乙腈,梯度洗脱。UPLC-Q-Trap/MS采用电喷雾正离子模式,多反应监测-信息关联采集-增强子离子(MRM-IDA-EPI)扫描方式,可在高灵敏度检测条件下同步完成二级质谱谱库检索,进一步提高定性判定准确度。5种待测物在0.2-10 ng/mL质量浓度区间内线性关系良好,相关系数(r)大于0.99,检出限和定量限分别为0.15 μg/kg和0.5 μg/kg。在4种水产品基质中进行3个浓度水平的加标实验,平均加标回收率为81.2%~108.9%,日内变异系数(CV)为0.8%~3.4%,日间CV为1.3~4.7%。该方法灵敏度高、适用性强、操作简单,适用于不同水产品基质中新型镇静剂类药物残留,为监管提供技术支持。

关键词: 莱博雷生; 新型镇静类药物; 通过式固相萃取; 超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱
中图分类号: O657.31; X832 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-11

Determination of Five Novel Sedative Drugs in Aquatic Products by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Triple Quadrupole Linear Ion Trap Mass Spectrometry

XU Xiao-ying, MAO Si-hao, ZHAO Chao-qun, WANG Zhi-jian, LIANG Jing-jing*

(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Zhejiang Provincial Key Laboratory for Market Regulation and Health Food Quality and Safety, Key Laboratory of Quality and Safety of Functional Food, State Administration for Market Regulation, Hangzhou 310052, China)

Abstract: An analytical method based on pass-through solid-phase extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry (UPLC-Q-Trap/MS) was developed for the determination of residues of five novel sedative drugs, including lemborexant in aquatic products. Briefly, samples were extracted with acetonitrile containing 1.0% formic acid, homogenized and then centrifuged. The supernatant extract was purified on Captiva EMR-lipid pass-through solid-phase extraction cartridges. Chromatographic separation was implemented on Micropure HSS T3 column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) maintained at 35 °C with gradient elution using 0.1% aqueous formic acid and acetonitrile as mobile phases. UPLC-Q-Trap/MS in positive electrospray ionization (ESI) mode was employed, with the scanning mode of multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion (MRM-IDA-EPI). High-sensitivity quantitative analysis was accomplished together with secondary mass spectral library matching, which greatly improved the accuracy of qualitative identification. The five target compounds exhibited favorable linearity within their respective concentration range of 0.2-10 ng/mL, with correlation coefficients (r) exceeding 0.99. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.15 μg/kg and 0.5 μg/kg, respectively. Forti-

收稿日期: 2026-07-17; 修回日期: 2026-09-11

基金项目: 浙江省“尖兵领雁+X”科技计划(2025C02126); 市场监管总局科技计划项目(2023MK058)

* 通讯作者: 梁晶晶, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品质量安全控制, E-mail: 316902448@qq.com

fied recovery experiments at three spiked levels were performed in four aquatic product matrices. The average recoveries were in the range of 81.2% – 108.9%, while the intra-day CV ranged from 0.8% to 3.4%, and the inter-day CV was 1.3%–4.7%. This method possesses high sensitivity, wide applicability and convenient operation, which is applicable to the routine detection of novel sedative residues in diverse aquatic product matrices and can provide reliable technical support for food safety supervision.

Key words: lemborexant; novel sedative drugs; pass-through solid-phase extraction; ultra-high performance liquid chromatography–triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry (UPLC–Q–Trap/MS)

水产品作为国民膳食结构中优质动物蛋白、不饱和脂肪酸及微量元素的核心供给源,其质量安全水平直接关系公众身体健康与食品产业高质量发展。当前我国鲜活水产产销流通体系日趋完善,跨区域长途调运、暂养销售已成为行业主流经营模式,但鱼、虾等水生生物对外界环境变化高度敏感,在高密度装载、水温波动、水体溶氧不足等条件下都会产生应激反应,严重影响水产品商品品相与经济效益^[1-2]。为有效控制活体运输损耗、降低养殖流通成本,少数经营主体存在违规使用镇静类药物的行为,致使违禁药物残留风险持续攀升,成为现阶段水产品质量安全管控的新型隐患。

目前水产品违规添加筛查重点多集中于地西洋等传统苯二氮卓类镇静剂^[3],该类药物管控严格、溯源便捷,监管打击力度持续加大,农业农村部2019年发布的GB 31650–2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》已明确禁止其在水产养殖、运输全流程使用,水产品中不得检出该类违禁药物残留^[4]。莱博雷生 (Lemborexant)、苏沃雷生 (Suvorexant)、奈莫雷生 (Nemorexant)、沃诺雷生 (Vornorexant) 及阿莫伦特 (Almorexant) 为新一代镇静催眠药物,其化学结构式见图1。其中莱博雷生^[5-7]、苏沃雷生^[6, 8]、沃诺雷生^[9]、奈莫雷生^[10]均为双重食欲素受体拮抗剂,阿莫伦特为褪黑素受体激动剂^[11-12],二者均依托非 γ -氨基丁酸 (GABA) 神经通路发挥镇静、安神、抗应激作用,区别于传统镇静药剂型,具有镇静效果温和、应激抑制能力强、隐蔽性极强的特点。该类药物可以通过鳃部、体表吸收进入机体,有效降低水生生物活跃度、缓解运输应激,极易成为传统违禁镇静剂的替代性非法添加物,潜在食品安全风险突出。同时,该类药物目前均为医用处方药物,未被批准用于水产养殖及流通环节,其残留会通过膳食途径在人体蓄积,长期微量摄入易引发头晕嗜睡、反应迟钝、神经调节紊乱等不良反应,对儿童、孕妇等特殊人群健康危害更为显著^[13]。

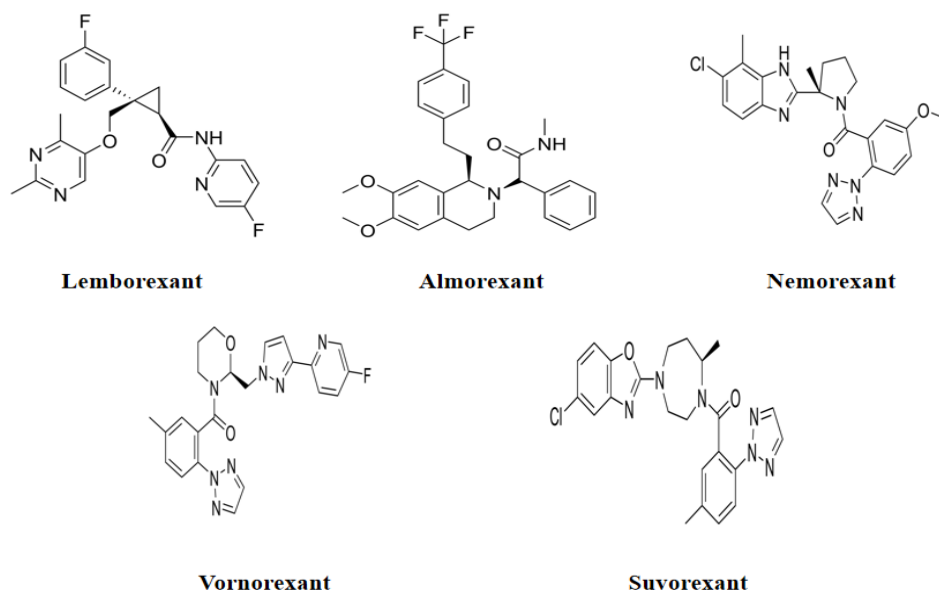


图1 莱博雷生等5种镇静剂的化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of five sedatives including lemborexant

现阶段国内外针对水产品镇静剂残留的检测方法,主要覆盖苯二氮卓类^[14]、卡因类及丁香酚类^[15]等传统药剂,检测体系相对成熟且已有国标及补充检验方法支撑。相较于传统镇静剂的研究报道,莱博雷生、苏沃雷生、奈莫雷生、沃诺雷生、阿莫伦特 5 种新型镇静药物的残留分析研究仍处于起步阶段,相关检测技术报道极为有限。目前已有的少量研究集中于医药领域,主要针对人体血浆、血清、药物片剂等基质,检测目的多为临床血药浓度监测、药物制剂含量测定及药代动力学研究,尚未系统开展复杂水产品基质中多组分同步残留检测技术研究^[16-18]。

水产品基质组成复杂,鱼肉、虾蟹组织富含磷脂、不饱和脂肪酸、可溶性蛋白与色素杂质,对该类弱碱性、中高脂溶性新型镇静药物存在极强的离子抑制效应,制约痕量新型镇静药物的精准检测^[1, 14-15]。超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱(UPLC-Q-Trap/MS)检测技术具备三重四极杆准确定量与线性离子阱结构确证双重优势^[19-22],多反应监测(MRM)模式可特异性筛选目标物特征离子,排除大部分非特异性色谱杂峰干扰;增强子离子扫描(EPI)模式可富集获取完整的二级碎片离子指纹图谱,通过结构匹配实现杂质与目标物的精准区分,可避免复杂水产基质干扰导致假阳性的情况。

本研究基于通过式固相萃取净化技术,针对性去除水产基质中脂质等核心干扰杂质,进一步优化色谱梯度洗脱程序,降低基质杂质对目标化合物的干扰,依托 UPLC-Q-Trap-MS 高抗干扰、高准确度的优势,建立水产品中莱博雷生、苏沃雷生、奈莫雷生、沃诺雷生、阿莫伦特 5 种新型镇静药物的同步、精准、稳定检测的方法,有效填补该类新型非苯二氮卓类镇静药物的检测技术空白,为水产品质量安全风险监测与执法监管提供可靠技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

AB Sciex Qtrap 6500+型超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱仪(美国 AB 公司);KQ-500DE 超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);XPE 205 电子天平(瑞士 METTLER 公司,精度 0.01 mg);Multi-Prep 快速匀浆仪(美国 Pro Scientific 公司);Multifuge X1R 离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);超纯水机(美国 Millipore 公司);QT-1 涡旋振荡器(上海琪特分析仪器有限公司);20 位固相萃取装置(美国 Waters 公司)。

莱博雷生、苏沃雷生、奈莫雷生、沃诺雷生、阿莫伦特 5 种标准品(纯度大于 95%,天津阿尔塔科技有限公司);乙腈、甲醇、甲酸、乙酸铵(色谱纯,美国 Merck 公司);Oasis PRiME HLB 固相萃取柱(6 mL/200 mg,美国 Waters 公司);Dikma PLS-A 固相萃取柱(6 mL/200 mg,北京迪科马科技有限公司);Captiva EMR-lipid 固相萃取柱(6 mL/600 mg,美国 Agilent 公司);ProElut PMR 除脂专用柱(6 mL/600 mg,北京迪科马科技有限公司);0.22 μm 的亲水性聚四氟乙烯(PTFE-Q,美国 Agilent 公司)滤膜;Milli-Q 超纯水器制超纯水;本研究中的鱼类、蛙类、虾类等 40 批次水产品均购自杭州市农批市场。

1.2 标准溶液配制

精确称取 5 种标准品适量,用甲醇溶液分别制成储备液(200 $\mu\text{g/mL}$),储备液于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

分别精密移取 5 种标准储备液适量,置于同一容量瓶中,采用 80% 甲醇水溶液稀释定容,配制质量浓度 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准使用液,于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光贮存;依照相同稀释方式配制 100 ng/mL 混合标准工作溶液。

1.3 样品前处理

取鱼类、蛙类、虾类等水产品的可食肌肉部分,切碎混匀并充分匀浆,制成试样备用。准确称取 5.0 g(精确到 0.01 g)试样于 50 mL 具盖的聚丙烯离心管中,加入 25 mL 含 1.0% 甲酸的乙腈溶液后,于快速匀浆仪中,以 5000 r/min 均质提取 2 min,随后超声振荡提取 10 min。而后在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,以 8000 r/min 的转速离心 5 min,准确移取 5.0 mL 上清液过 Captiva EMR-lipid 固相萃取柱,收集滤液,在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴下氮气吹至近干,加入复溶液 80% 甲醇水溶液定容至 1.00 mL,用涡旋振荡器涡旋振荡 1 min,再经 PTFE-Q 滤膜过滤至进样小瓶中待测。

1.4 分析条件

色谱柱：微纯 HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)；柱温：35 °C；流动相：A-0.1% 甲酸水溶液，B-乙腈；流速：0.3 mL/min；进样量：2 μL。梯度洗脱程序：0~2.0 min, 30%B；2.0~3.0 min, 30%~95%B；3.0~5.5 min, 95%B；5.5~5.6 min, 95%~30%B；5.6~8.0 min, 30%B。

电喷雾正离子 (ESI+) 模式下，多反应监测-信息关联采集-增强子离子扫描 (MRM-IDA-EPI) 监测方式；离子源电压：5500 V；离子源温度：500 °C；雾化脱溶剂气压：55 psi；辅助加热气压：55 psi；气帘气压：35 psi；碰撞气能量等级：High；驻留时间：20 ms。莱博雷生、苏沃雷生、奈莫雷生、沃诺雷生、阿莫伦特的保留时间、监测离子对、碰撞能量等 MRM 质谱参数详见表 1。EPI 模式下线性离子阱质谱参数：碰撞能量 (CE)：35 eV，碰撞能散 (CES)：15 eV。

表 1 MRM 模式下莱博雷生等 5 种镇静剂的质谱条件

Table 1 MRM MS parameters of five sedatives, including lemborexant

No.	Compound	t_R / min	Parent ion (m/z)	Daughter ions (m/z)	CE/V	DP/V
1	Lemborexant	4.06	411.2	287.2*	28	80
				175.1	40	80
2	Suvorexant	4.41	451.2	186.2*	35	80
				104.1	70	80
3	Nemorexant	3.99	451.3	202.0*	40	80
				233.2	40	80
4	Vornorexant	4.04	448.2	186.1*	50	80
				285.1	30	80
5	Almorexant	4.03	513.2	365.3	35	80
				454.3	33	80

CE: collision energy; DP: Declustering Potential; * quantitative ion.

1.5 数据处理

前处理条件优化阶段每组设置 3 份平行样品开展测定；方法学验证试验中每个加标水平采用 6 份平行样品；实际样品检测则执行双平行样测定。质谱原始数据由 Analyst® 软件完成采集，获取的数据借助 MultiQuant 3.0.2 软件完成峰处理与定量分析；后续数据统计运算与图表绘制分别使用 WPS Office 12.1.0 及 Origin 10.10 软件实现。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相条件选择 莱博雷生等 5 种化合物在正离子条件下信号响应更优。试验考察 6 种流动相体系对色谱峰响应的影响，体系包含乙腈-水、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液、甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-5 mmol/L 乙酸铵溶液，所得结果见图 2。采用 6 种不同流动相时，均能获得较好的峰形，但在乙腈-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液时各化合物的响应较高，核心原因在于甲酸提供的弱酸性环境可促进目标化合物碱性基团充分质子化，大幅提升正离子模式下的电离效率，有效增强质谱响应信号；乙酸铵缓冲体系可稳定流动相 pH 值，改善化合物电离稳定性，降低基质离子抑制效应，进一步提升检测灵敏度。同时，乙腈相较于甲醇洗脱能力更强、体系黏度更低，可有效降低色谱柱柱压，减少系统背景噪音，兼顾分离度与响应灵敏度。在此基础上，进一步对比两种优选体系发现：相较于乙腈-5 mmol/L 乙酸铵溶液，乙腈-0.1% 甲酸水溶液体系中莱博雷生、苏沃雷生、沃诺雷生的质谱响应强度更高。鉴于苏沃雷生本身定性、定量离子响应偏低，是制约整体方法灵敏度的关键组分，采用甲酸酸性体系可有效提升其信号强度、降低检出限，更利于实现五种化合物的同步灵敏检测。综上，本研究最终确定乙腈-0.1% 甲酸水溶液为最优流动相体

2.1.2 色谱柱考察 在确定色谱条件的基础上，考察莱博雷生等 5 种化合物在不同色谱柱上的适用性。考察了 5 款色谱柱：微纯 HSS T3 (2.1×100 mm, 1.8 μm)、Waters CORTECS UPLC C₁₈ (2.1×100 mm, 1.6 μm)、Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD (2.1×100 mm, 1.8 μm)、月旭 Ultimate UHPLC AQ-C₁₈ (2.1×100 mm, 1.8 μm)、Waters BEH C₁₈ (2.1×100 mm, 1.7 μm)，五款不同品牌、填料的 C₁₈ 柱，均

能获得对称性良好的色谱峰，结果见图 3。从分离度来看，月旭 Ultimate UHPLC AQ-C₁₈ 柱子对 5 种化合物有较好的分离效果，除沃诺雷生和莱博雷生保留时间一致外，其余三个化合物均能实现基线分离。受色谱柱填料极性、孔径及保留机制差异影响，各目标化合物在不同色谱柱体系中的出峰时间存在区别，进而导致质谱响应强度产生差异。微纯 HSS T3 色谱柱可对五种目标化合物形成稳定良好的色谱保留，在完全一致的流动相、仪器参数与进样浓度条件下，五种目标化合物的质谱响应强度整体最优，具体结果见图 4。主要是由于莱博雷生等五种化合物均为含极性官能团的碱性小分子，微纯 HSS T3 色谱柱采用极性改性填料，亲水保留能力更强，可有效提升极性小分子的色谱保留稳定性，减少色谱峰扩散与拖尾。

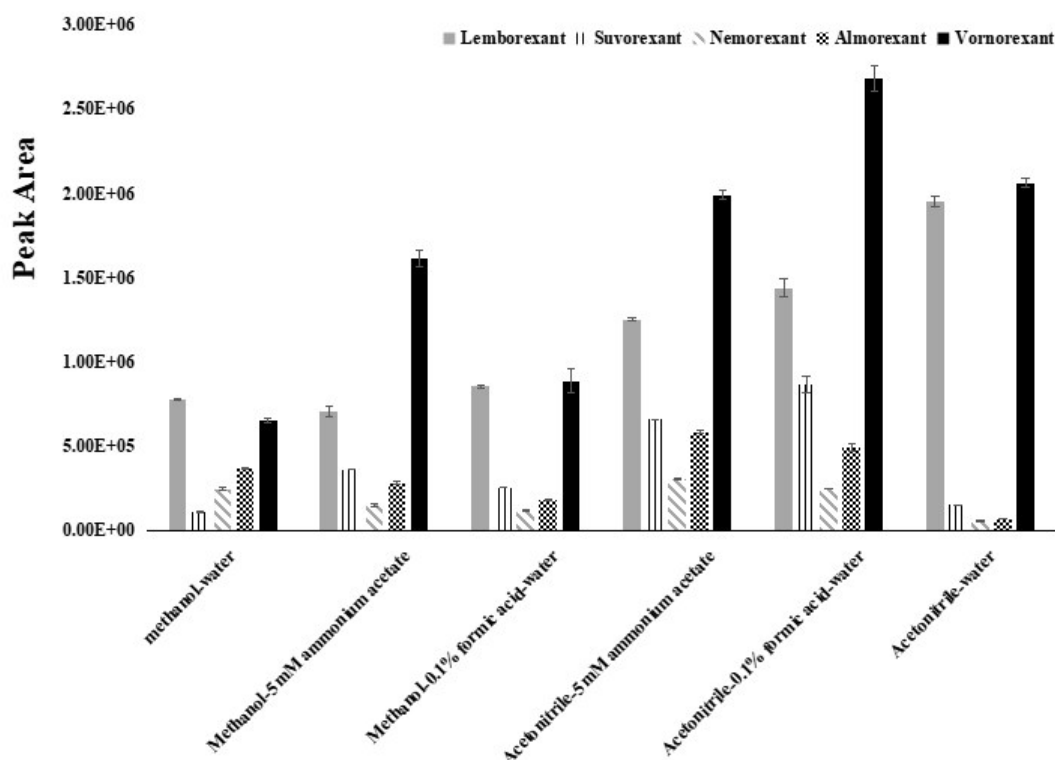


图2 不同流动相条件下的莱博雷生等 5 种化合物的峰面积 (10 ng/mL)

Fig. 2 Peak areas of five compounds (lemborexant included) under different mobile phase conditions (10 ng/mL)

2.2 质谱条件优化

配制各组单标溶液进行质谱参数优化，莱博雷生等 5 种化合物在正离子模式响应更优。一级质谱以准分子离子作为母离子，二级全扫描筛选两组干扰小、响应优良的特征碎片离子，选取高响应碎片作为定量离子；优化去簇电压与碰撞能量，确定最终 MRM 监测参数。同步对 EPI 模式的碰撞能量与碰撞能散进行优化。基于上述质谱条件，采用 MRM-IDA-EPI 扫描模式，设置 IDA 触发阈值为 5000 cps，在 20、35、50 V 碰撞能量下对混合标准溶液（浓度 10 ng/mL）进行扫描，得到各目标物的二级质谱图（见图 5），并建立 EPI 谱库；当采集的信号强度超过 IDA 触发阈值时，系统自动切换到离子阱模式并采集 EPI 碎片质谱，经谱库检索获得匹配结果，其中拟合度（Fit 值）表示可疑样品谱图与标准品谱图的相似程度，反向拟合度（RevFit 值）则为标准品谱图与可疑样品谱图的匹配评分，范围为 0 至 100 分，数值越高表明该化合物存在的可能性越大^[23]。在黄鳝空白基质中，添加 5 种目标化合物至检出限（LOD）水平制备加标阳性样品，5 种物质的 Fit 值和 RevFit 值均大于 75，纯度因子（Purity）平均值为 66.57，谱图匹配程度良好，结合保留时间和丰度比，能进一步证实样品中存在 5 种药物的可能性。

2.3 样品前处理条件的优化

2.3.1 提取条件优化

莱博雷生等 5 种化合物均为弱碱性小分子化合物，水溶性弱，有机相提取效果更优。水产品蛋白质、脂肪含量较高，以乙酸乙酯为提取溶剂时，大量脂溶性杂质易被同步提取，增

加净化难度,影响样品定量检测的准确性^[24]。王旭峰^[3]等人使用甲醇作为提取溶剂时,也存在提取出的杂质较多,后续净化难度大的问题。本研究在阴性黄鳝基质中加入莱博雷生等5种化合物(浓度为5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$),分别以1.0%甲酸乙腈溶液、1.0%氨水乙腈溶液、乙腈作为提取溶剂,按1.3前处理操作(不使用净化柱净化),以回收率作为考察指标,结果如图6。不同酸碱度的乙腈对莱博雷生等5种化合物的提取效率影响较大,1.0%甲酸-乙腈的绝对回收率为11.4%–31.9%优于乙腈(绝对回收率为4.2%–28.2%)和1.0%氨水-乙腈(绝对回收率为0.8%–6.8%)。总体而言,1.0%甲酸乙腈对这五种化合物的提取效果均为最佳,主要是由于莱博雷生等5种化合物属于弱碱性药物,在1.0%氨水乙腈的碱性体系中以游离疏水形式存在,易与基质蛋白结合而难以提取,回收率偏低;中性乙腈仅能萃取少量游离态目标物,提取能力有限;1.0%甲酸乙腈的酸性环境可使弱碱性药物质子化,利于从蛋白上解吸,同时促使蛋白变性沉淀释放待测物,提取效率最佳。因此,最终选择1.0%甲酸乙腈作为提取溶剂。

2.3.2 净化条件优化 通过式固相萃取净化具有前处理简单、快速、通量高的优点^[25–27],本研究比较了Oasis PRiME HLB、Dikma PLS-A、Captiva EMR-lipid、ProElut PMR固相萃取小柱对目标物的净化效果。选取阴性黄鳝样品,加入莱博雷生等5种化合物(浓度为5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)按照1.3样品前处理步骤进行操作,使用上述4种通过式固相萃取小柱进行样品净化,同时制备未经净化小柱的样品溶液作为对照组,以净化后测得含量与未净化样品含量的比值对小柱的净化效果进行评价。结果见图7, Captiva EMR-lipid与ProElut PMR两款小柱比值较高,尤以Captiva EMR-lipid最为突出,除莱博雷生外。其余4种化合物的比值在121.0%–184.2%,主要是由于这两款脂类专用净化柱可强力去除黄鳝基质中的油脂、磷脂,大幅减弱离子抑制的基质效应,最终呈现比值较高的现象。Dikma PLS-A小柱对应数值整体偏低,对碱性目标化合物存在吸附截留,造成待测物流失;综合对比, Captiva EMR-lipid固相萃取小柱可有效去除磷脂等基质杂质,同时对弱碱性雷生类药物吸附作用微弱,故本实验选用该小柱进行样品净化。

2.4 基质效应考察

由于水产品成分较为复杂,基质提取液经通过式固相萃取柱净化后,仍需考虑不同基质对目标物产生的基质效应(ME)。本研究采用绝对基质效应^[28]进行评估,将黄鳝、胖头鱼、对虾、牛蛙四种阴性基质按照分析方法的前处理流程制备为空白基质提取液,配制基质匹配标准曲线。同时使用纯溶剂配制相同的纯溶剂标准曲线作为对照,每个浓度点进行3次平行测定,以平均响应值对浓度分别绘制2条标准曲线,通过基质标准曲线的斜率与溶剂标准曲线的斜率的比值作为基质因子(MF)^[28]。一般认为MF在80%~120%可以接受^[29–30]。结果如表2所示,不同化合物在不同水产基质中的基质效应差异显著。莱博雷生在四种基质中均呈抑制作用,其中对虾基质抑制极强,MF仅为33.6%,黄鳝、胖头鱼抑制程度中等,牛蛙基质抑制相对最弱;苏沃雷生在全部分基质中均呈现基质增强效应,尤其在对虾基质中MF高达440.5%。奈莫雷生除对虾基质外,其余MF均在可接受范围内;沃诺雷生在四种基质中均为弱至中等程度增强。阿莫伦特在黄鳝、对虾基质表现为增强效应,在胖头鱼与牛蛙基质则为轻微抑制。整体来看,对虾基质对目标物的基质效应最为极端;黄鳝、胖头鱼在莱博雷生、奈莫雷生、沃诺雷生、阿莫伦特的MF均在可接受范围内。为消除基质效应对定量结果的偏差,本方法后续采用基质匹配标准曲线进行校正,以保障不同基质样品检测结果的准确度。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围、检出限、定量限 取空白样品按照1.3进行前处理,得到空白基质溶液,准确吸取一定量的混合标准溶液,用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.2、0.5、1.0、2.0、5.0和10 ng/mL 的系列基质匹配标准溶液,于UPLC-Q-Trap-MS进行检测。以各目标化合物的质量浓度为横坐标,以定量离子的峰面积响应值为纵坐标,绘制基质匹配标准工作曲线。标准曲线回归方程和相关系数如表3所示。本实验选取4种具有代表性的水产品阴性样品,通过标准添加法开展检出限(LOD)和定量限(LOQ)考察。以定量离子的信噪比为判定依据,将信噪比 $S/N \geq 3$ 对应的加标浓度确定为LOD,将信噪比 $S/N \geq 10$ 对应的加标浓度确定为LOQ。结果表明,5种目标物的线性关系良好,相关系数(r)均大于0.99;检出限为0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,结果见表3。

2.5.2 回收率与精密度 以黄鳝、胖头鱼、对虾及牛蛙的阴性样品作为试验空白基质,向基质中加

入不同浓度的混合标准工作溶液, 配制成 1 倍 LOQ、2 倍 LOQ、10 倍 LOQ 三个加标浓度的试验样品, 每个加标浓度设置 6 份平行试样, 并同步开展空白基质对照试验。全部试样参照 1.3 节前处理方法处理后进行仪器检测。4 种水产品基质中 5 种待测组分的平均回收率为 81.2%~108.9%。日内变异系数 (CV) 为 0.8%~3.4%, 日间 CV 为 1.3~4.7% (见表 4)。莱博雷生等 5 种镇静类药物的回收率和相对标准偏差满足相应的检测要求, 表明该方法具有良好的准确度和精密度。

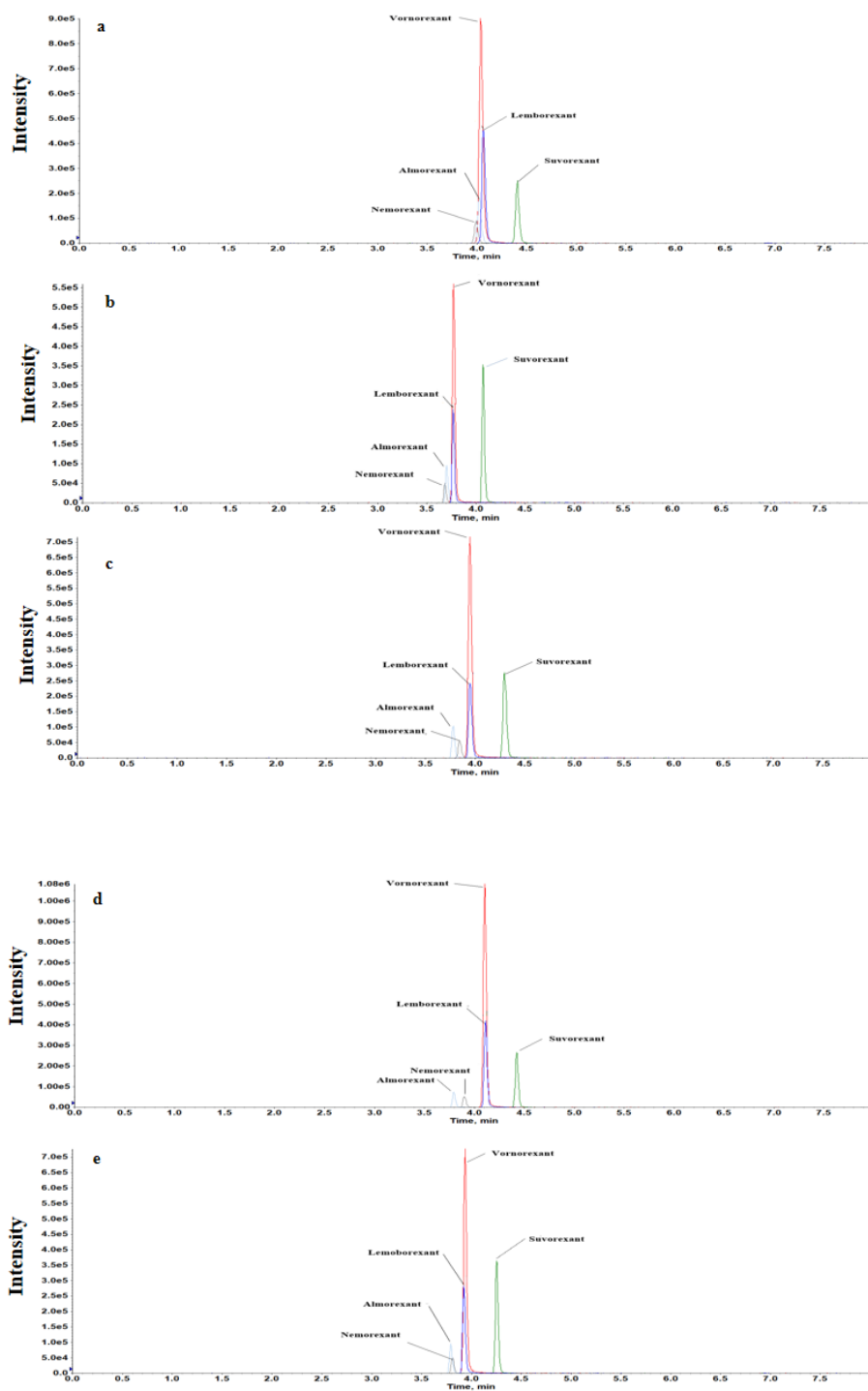


图3 不同色谱柱条件下的总离子流图 (a. 微纯 HSS T3; b. Waters CORTECS UPLC C₁₈; c. Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD; d. 月旭 Ultimate UHPLC AQ-C₁₈; e. Waters BEH C₁₈)

Fig. 3 Total ion current chromatograms under different chromatographic column conditions

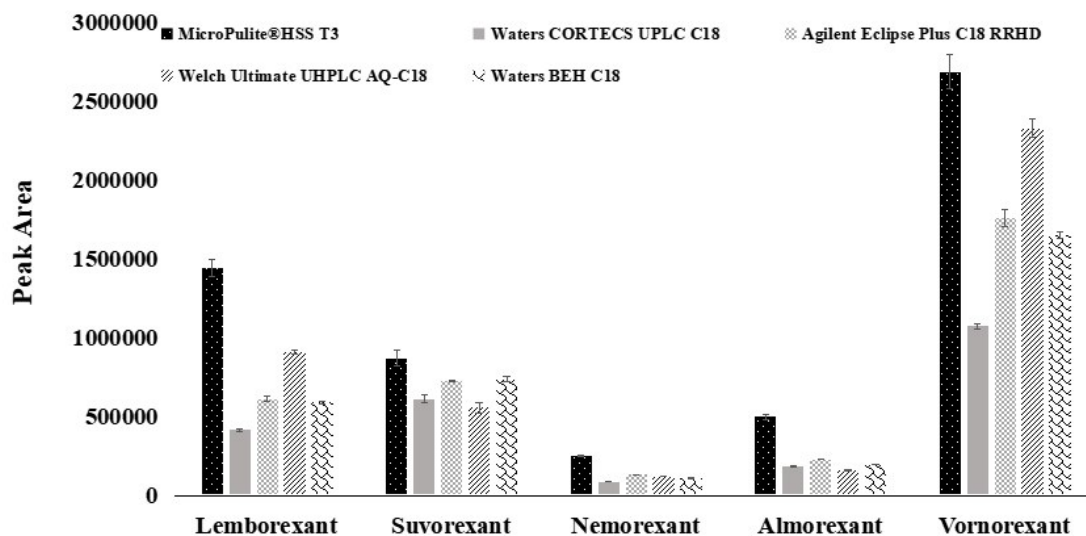


图4 不同色谱柱下的莱博雷生等5种化合物的峰面积 (10 ng/mL)

Fig. 4 Peak areas of five target analytes (lemborexant included) using different columns (10 ng/mL)

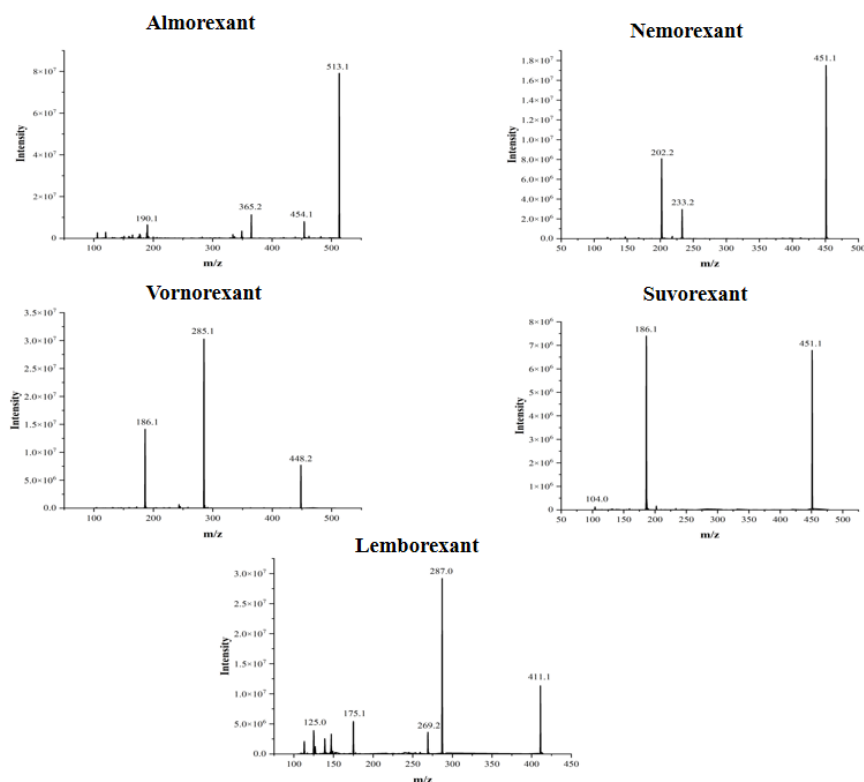


图5 莱博雷生等镇静剂的增强子离子扫描二级质谱图

Fig. 5 EPI secondary mass spectra of sedatives including lemborexant

2.6 实际样品测定

采用所建立的方法对40批次水产品中莱博雷生等5种镇静剂进行检测, 暂未检出上述5种化合物, 但目前普通食品中已检出了莱博雷生^[31]、沃诺雷生, 说明此类新型镇静类非法添加剂已存在食品掺加风险。本次抽检水产品暂无阳性结果, 反映现阶段水产养殖环节违规添加该类镇静药物的情况暂不普遍, 但仍不可忽视潜在安全隐患。

3 结论

本研究建立超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱联用技术, 实现水产品中莱博雷生

等 5 种镇静剂的同步检测。该类新药上市时间短、监管溯源难度大，痕量残留检测难度高。样品经 1.0% 甲酸乙腈水提取、Captiva EMR-lipid 固相萃取除脂净化，一次进样即可实现高灵敏定量与 EPI 谱库定性核验，有效解决新型镇静剂筛查“假阳性”的问题，兼具操作简便、检出限低的优势。本方法针对性解决新型镇静药物的检测难点，可为水产领域新型违禁添加物风险监测提供可行方案，也为后续同类新药残留检测体系搭建提供参考依据。

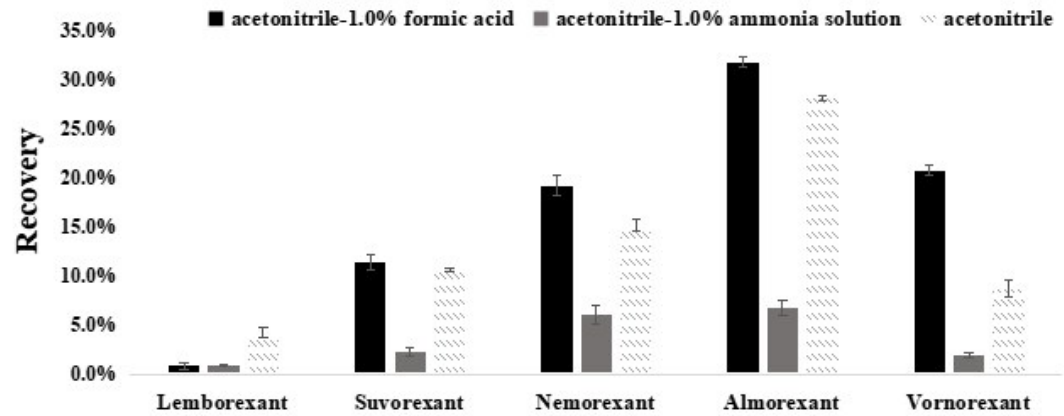


图 6 不同酸碱度乙腈对黄鳝基质中 5 种化合物的回收率影响

Fig. 6 Influence of the pH of acetonitrile on recoveries of five analytes in the monopterus albus l matrix

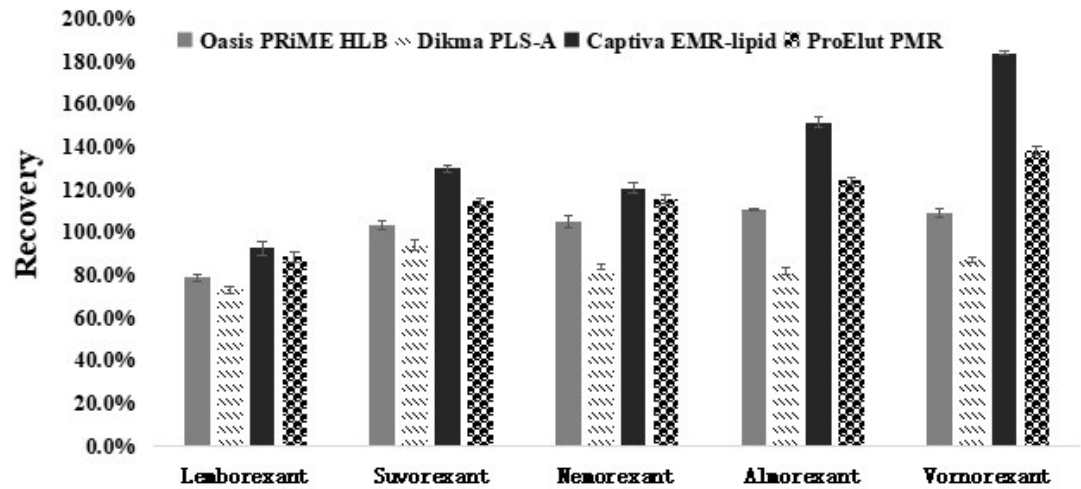


图 7 不同净化柱对目标物回收率的影响 (n = 3)

Fig. 7 Influence of various SPE cartridges on target recoveries (n=3)

表 2 不同基质中莱博雷生等 5 种化合物的基质效应 (n=3)

Table 2 Matrix effects of five compounds in various aquatic matrices (n=3)

Compound	Matrix Factor (MF) (%)			
	Monopterus albus	Hypophthalmichthys nobilis	Pacific white shrimp	American bullfrog
Lemborexant	81. 7%	82. 3%	33. 6%	91. 4%
Suvorexant	158. 8%	168. 3%	440. 5%	196. 8%
Nemorexant	95. 8%	108. 8%	128. 8%	113. 6%
Vornorexant	119. 2%	106. 1%	133. 6%	130. 3%
Almorexant	112. 1%	88. 6%	155. 6%	88. 9%

表3 5种目标物的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear equations, coefficients of correlation, LODs and LOQs of five target substances

Compound	Matrix	Linear range/ (ng/mL)	Linear regression equation	Correlation coefficient	LOD/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Lemborexant	Monopterus albus	0.2–10	$y=6.99754e5x+25164.9$	0.99948	0.15	0.50
	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>		$y=7.26244e5x+1.3798e5$	0.99847		
	Pacific white shrimp		$y=2.96498e5x-1393.047$	0.99940		
	American bullfrog		$y=8.06546e5x+25478$	0.99896		
Suvorexant	Monopterus albus	0.2–10	$y=5.32838e5x+8499.39$	0.99912	0.15	0.50
	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>		$y=5.64714e5x+3.6498e4$	0.99911		
	Pacific white shrimp		$y=1.47805e6x-1.48026e5$	0.99882		
	American bullfrog		$y=6.60343e5x-18158$	0.99944		
Nemorexant	Monopterus albus	0.2–10	$y=7.20950e5x+23667.45$	0.99864	0.15	0.50
	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>		$y=8.18782e5x+3.0684e4$	0.99861		
	Pacific white shrimp		$y=9.69293e5x-1.12488e5$	0.99956		
	American bullfrog		$y=8.54905e5x-6415.9$	0.99937		
Vornorexant	Monopterus albus	0.2–10	$y=1.48445e6x+18232.23$	0.99984	0.15	0.50
	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>		$y=1.32130e6x+2.791e5$	0.99956		
	Pacific white shrimp		$y=1.66378e6x-2.19138e5$	0.99997		
	American bullfrog		$y=1.62268e6x-5.88319e4$	0.99875		
Almorexan	Monopterus albus	0.2–10	$y=4.98536e5x+28288.35$	0.99990	0.15	0.50
	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>		$y=3.94026e5x+27628.5$	0.99667		
	Pacific white shrimp		$y=6.91991e5x-7.17597e4$	0.99660		
	American bullfrog		$y=3.95360e5x+11484.6$	0.99874		

表4 四种基质中5种镇静剂的回收率和RSD (n=6)

Table 4 Recoveries and RSDs of five sedatives in four matrices (n=6)

Compound	Added/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Monopterus albus			<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>			Pacific white shrimp			American bullfrog		
		Average recovery/%	intra-d ay CV/%	inter-d ay CV/%	Average recovery/%	intra-d ay CV/%	inter-d ay CV/%	Average recovery/%	intra-d ay CV/%	inter-d ay CV/%	Average recovery/%	intra-d ay CV/%	inter-d ay CV/%
Lemborexant	0.50	98.6	1.3	2.1	86.8	1.4	3.1	96.4	3.1	4.0	86.0	0.8	3.1
	1.0	99.4	0.9	1.3	85.1	2.0	2.9	94.4	2.6	3.7	81.2	1.6	2.0
	5.0	90.3	2.1	1.7	90.7	1.8	3.6	94.3	1.7	2.6	88.1	1.4	2.6
Suvorexant	0.50	88.8	1.1	1.9	88.0	2.1	4.1	95.8	2.1	3.0	93.8	2.5	3.0
	1.0	88.9	2.7	2.9	100.8	1.3	3.6	90.4	1.6	4.7	107.9	1.3	3.1
	5.0	94.5	1.0	2.6	86.9	1.7	3.0	98.2	2.3	3.9	100.2	2.7	3.7
Nemorexant	0.50	104.6	2.3	3.1	86.4	2.0	1.9	104.2	1.8	3.0	87.8	1.9	2.9
	1.0	100.8	1.5	2.1	91.5	1.6	2.7	106.1	2.9	3.6	83.7	2.0	1.9
	5.0	95.9	0.9	1.6	97.9	3.4	3.9	97.1	3.1	4.0	86.9	2.9	3.0
Vornorexant	0.50	87.6	1.0	2.1	82.4	1.2	1.9	94.6	2.6	4.7	99.2	1.6	2.1
	1.0	88.4	2.3	2.9	87.8	3.1	3.5	107.3	1.9	3.8	102.3	2.7	3.0
	5.0	94.4	1.9	3.1	91.5	1.8	2.6	105.2	2.4	3.6	97.6	1.6	2.1
Almorexan	0.50	100.8	2.4	1.8	89.6	2.0	3.4	103.6	1.5	3.4	84.8	2.4	3.0
	1.0	108.9	1.5	2.5	85.7	1.9	3.0	106.1	2.3	3.9	83.8	2.7	3.7
	5.0	99.8	0.8	1.9	89.2	1.7	3.6	92.0	2.9	3.0	83.5	1.9	2.2

参考文献:

- [1] Zheng H J, Li L, Huang K. Chin. J. Fish. (郑皓洁, 李玲, 黄珂. 水产学杂志), **2025**, 38 (01): 102–108.
- [2] Li Q, Mu S H, Han G, Liu H, Wu L D, Xu Y Y, Li J C. Chin. Agric. Sci. Bull. (李芹, 穆树荷, 韩刚, 刘欢, 吴立冬, 许玉艳, 李晋成. 中国农学通报), **2021**, 37 (12): 86–91.
- [3] Wang X F, Wang Q, Zhang Y X, Huang K. J. Instrum. Anal. (王旭峰, 王强, 张英侠, 黄珂. 分析测试学报), **2023**, 42 (7): 833–840.
- [4] GB 31650–2019. Maximum Residue Limits for Veterinary Drugs in Foods. National Standards of the People's Republic of China (食品中兽药最大残留限量, 中华人民共和国国家标准).
- [5] Xue T, Wu X, Li J X, Chen S J, Wang Z L, Tan X, Wang Z, Zhang J G. Sleep Med Rev, **2022**, 61: 101573.
- [6] Sun X L, H X, Jin P F. Clin. Med. J. (孙雪林, 胡欣, 金鹏飞. 临床药物治疗杂志), **2025**, 23 (07): 19–24.
- [7] Han A W, Burroughs C R, Falgoust E P, Hasoon J, Hunt G, Kakazu J, Lee T, Kaye A M, Kaye A D, Suvorexant L G. Health Psychol. Res., **2022**, 10 (5): 67898.

- [8] Mogavero M P, Silvani A, Lanza G, DelRosso L M, Ferini-Strambi L, Ferri R. *Nat Sci Sleep*, **2023**, 15: 17-38.
- [9] Kishi T, Nishida M, Koebis M, Taninaga T, Muarmoto K, Kubota N, Moline M, Sakuma K, Okuya M, Nomura I, Iwata N. *Neuropsychopharmacol. Rep.*, **2021**, 41 (4): 450-458.
- [10] Uchimura M, Kambe D, Hasegawa S, Imadera Y, Yamasaki H, Uchimura N. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **2021**, 24 (12), 947-956.
- [11] Hao X, Huang L, Yu F, Fen Y F. *Clin. Med. J.* (郝旭, 黄琳, 于锋, 封宇飞. 临床药物治疗杂志), **2023**, 21 (07): 6-10.
- [12] Dayot S, Speisky D, Couvelard A, Bourgoin P, Gratio V, Cros J, Rebours V, Nicole P, Voisin T, Couvineau A. *Oncotarget*, **2018**, 9 (6), 6952-6967.
- [13] Chen Y Y, Cao H, Gao S Z, Tang C Y. *Drugs & Clin.* (陈洋洋, 曹辉, 高舒展, 汤春艳. 现代药物与临床), **2025**, 40 (03): 756-761.
- [14] Zhang Y H, Yu B L, Ying Y, Zhang B. *J. Food Saf. Qual.* (张杨韩, 宇博林, 英扬, 张兵. 食品安全质量检测学报), **2025**, 16 (13): 60-66.
- [15] Tang Y X, Bai Y M. *J. Instrum. Anal.* (唐韵熙, 白亚敏. 分析测试学报), **2025**, 44 (05): 868-875.
- [16] Deng Q Y, Ye H Y, He S Y, Ni C F, Wu M, Zheng S Q, Liang C. *J. Forensic Med.* (邓乾亚, 叶海英, 何思阳, 倪春芳, 吴敏, 郑水庆, 梁晨. 法医学杂志), **2024**, 40 (04): 408-410.
- [17] Guo S R, Xu W F, Xu S, Zhang S S, Xu P F. *Cent. South Pharm.* (郭思瑞, 徐文峰, 徐硕, 张闪闪, 金鹏飞. 中南药学), **2023**, 21 (03): 763-766.
- [18] Lu L C, Wang H Y, Liu H Y, Song R, Wang J, Wu J F, Zhang G H, Luan Y J. *Chin. J. Anal. Chem.* (路林超, 王海燕, 刘海燕, 宋蕊, 王婕, 武继锋, 张广华, 栾玉静. 分析化学), **2026**, 54 (01): 125-131.
- [19] Fan L L, Chen M Q, Wang H B, Yang Q H. *Chin. J. Chromatogr.* (樊磊磊, 陈茂钦, 王海波, 杨秋红. 色谱), **2025**, 43 (10): 1100-1108.
- [20] Meng Y, Wang J, Zhu X H, Gen M B, Yang Z, Shen M F. *Food Sci.* (孟勇, 王静, 朱晓华, 耿雪冰, 杨总, 沈美芳. 食品科学), **2020**, 41 (04): 313-318.
- [21] MU S H, WANG C Y, LIU H, Han G, Wu L D, Li J C. *Biomed. Chromatogr.*, **2021**, 35 (10): e5176.
- [22] Mu S H, Fen T W, Liu H, Sun H W., Li J C. *Phys. Test. Chem. Anal. Part B: Chem. Anal.* (穆树荷, 封腾望, 刘欢, 孙慧武, 李晋成. 理化检验-化学分册), **2023**, 59 (05): 561-568.
- [23] CHEN L, Yang Q L, SUN J. *Food Sci. Technol.* (陈琳, 杨巧玲, 孙晶. 食品科技), **2026**, 51 (06): 301-308.
- [24] Yang X, Wan Z W, Huang H W, Suo W W, Xiao W, Li X L. *Chin. J. Chromatogr.* (杨霄, 万译文, 黄华伟, 索纹纹, 肖维, 李小玲. 色谱), **2022**, 40 (7): 625-633.
- [25] Wang Q Q, Ju Z J, Jiang C F, Zhang Y, Wu S, Li J, Chu K. *Chin. J. Chromatogr.* (王倩倩, 鞠中杰, 姜成菲, 张燕, 吴帅, 李晶, 初坤. 色谱), **2025**, 43 (08): 904-914.
- [26] Ma L S, Yin Y, Li J W, Zheng G M, Li L C, Zhao C, Zhou H. *Chin. J. Anal. Lab.* (马丽莎, 尹怡, 林嘉薇, 郑光明, 李丽春, 赵成, 周豪. 分析试验室), **2025**, 44 (10): 1555-1560.
- [27] Liu C, Li J J, Wu X Y, Chen Y Q, Shi P Y, Song J, Dai Q. *Food Sci.* (刘川, 李佳佳, 吴雪莹, 陈燕秋, 石培育, 宋娟, 戴琴. 食品科学), **2024**, 45 (04): 289-299.
- [28] Shan G, Xu D M, Yang F. *Chin. J. Anal. Lab.* (单耕, 徐敦明, 杨方. 分析试验室), (2026-06-18) [2026-06-24].
- [29] Rodriguez S, Garcia M, Perez J, Lopez M I, Ruiz M A. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2022**, 414 (28): 8541-8553.
- [30] Liu S Q, Wang Q, Zhao M, Zhang L, Chen H. *Food Sci.*, **2023**, 44 (16): 312-319.
- [31] Quzhou Food and Drug Inspection Institute. China Patent (衢州市食品药品检验研究院. 中国专利), CN120334428A. 2025-07-18.

(责任编辑: 丁 岩)