

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250219002

引用格式: 屠瑞莹, 陈东, 刘伟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鱼类中孔雀石绿、结晶紫及其隐色代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(14): 57-63.

TU RY, CHEN D, LIU W, *et al.* Rapid determination of the residues of malachite green, crystal violet and their leuco metabolites in fish by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(14): 57-63. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鱼类中孔雀石绿、结晶紫及其隐色代谢物残留量

屠瑞莹, 陈东, 刘伟, 范赛*, 赵榕*

(北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要: **目的** 建立固相萃取技术(solid-phase extraction, SPE)结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定鱼类中孔雀石绿、结晶紫、隐色孔雀石绿、隐色结晶紫的方法。**方法** 样品经乙腈沉淀蛋白并萃取后, 过 HMR-Lipid SPE 柱通过式净化。以乙腈和乙酸铵溶液为流动相梯度洗脱, 采用 BEH shield C₁₈ 色谱柱分离, 电喷雾离子源正离子模式进行多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描, 内标法定量。**结果** 4种目标化合物的线性范围在 0.20~10.00 ng/mL, 相关系数(*r*)大于 0.999, 检出限为 0.05 μg/kg。3个加标水平下(2、5、10 μg/kg)的回收率为 80.1%~105.2%, 相对标准偏差为 1.2%~14.3%。**结论** 本方法灵敏、快速、准确, 适用于鱼类中孔雀石绿、结晶紫及其的隐色代谢物的检测, 可为鱼类的质量检测及市场监管提供技术支撑。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 孔雀石绿; 结晶紫; 隐色孔雀石绿; 隐色结晶紫; 鱼类

Rapid determination of the residues of malachite green, crystal violet and their leuco metabolites in fish by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

TU Rui-Ying, CHEN Dong, LIU Wei, FAN Sai*, ZHAO Rong*

(Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of malachite green, crystal violet, leucomalachite green and leuco crystal violet in fish by solid-phase extraction (SPE) combine with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The sample was subjected to protein precipitation and extraction with acetonitrile, followed by pass-through purification using an HMR-Lipid SPE column. The analytes were then separated by the BEH shield C₁₈ chromatographic column using a mobile phase

收稿日期: 2025-02-19

第一作者: 屠瑞莹(1990—), 女, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 471429441@qq.com

*通信作者: 范赛(1982—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: fansai@163.com

赵榕(1969—), 女, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为食品理化。E-mail: lxyue@yeah.net

gradient with acetonitrile and ammonium acetate. The positive ion mode of the electrospray ionization source was used for multiple reaction monitoring (MRM) scanning, and the internal standard method was used for quantification.

Results The linear ranges of the 4 kinds of target analytes were 0.20–10.00 ng/mL, with correlation coefficient (r) more than 0.999. The limit of detection was 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries at 3 spiking levels (2, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) were 80.1%–105.2%, and the relative standard deviations were 1.2%–14.3%. **Conclusion** The method is rapid, sensitive and accurate, and is suitable for the determination of malachite green, crystal violet and their leuco metabolites in fish. It can provide support for quality control and market supervision.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; malachite green; crystal violet; leucomalachite green; leuco crystal violet; fish

0 引言

孔雀石绿和结晶紫都属于三苯甲烷类化合物、最初作为染料应用于纺织工业, 后来因其具有杀菌性和消毒性被应用于水产养殖业中^[1-2], 用于预防和治疗养殖水产中的细菌、真菌感染, 以及养殖和运输环境的消毒^[3-5]。然而, 随着研究的深入, 其潜在危害逐渐被揭示^[6]。孔雀石绿和结晶紫被鱼类吸收后会代谢转化为隐色孔雀石绿和隐色结晶紫, 这些代谢物具有亲脂性, 易积聚在鱼的脂肪组织^[7], 进而通过食物链被人体吸收^[8]。有研究表明, 孔雀石绿、结晶紫及其代谢产物都具有潜在的致突变、致癌性, 威胁人体健康, 其残留物还会污染养殖水系^[9-10]。因此, 许多国家将孔雀石绿和结晶紫列为水产养殖禁用药物^[11], 我国早在 2002 年就将孔雀石绿定为禁用渔药, 并将其列入了第一批“食品动物禁用的兽药及其他化合物清单”^[12-13]。

尽管有明确的禁令, 但由于孔雀石绿和结晶紫价格低廉且杀菌效果显著, 水产养殖中的非法添加仍时有发生, 屡禁不止。据市场监管部门的抽检数据显示, 淡水鱼是水产品中不合格率较高的品类, 孔雀石绿的检出情况时有发生^[6, 12, 14]。这一现状凸显了加强水产品中孔雀石绿和结晶紫残留检测的紧迫性和重要性。

目前, 水产品中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物的检测方法主要有酶联免疫吸附法、高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法等, 其中液相色谱-串联质谱法凭借其高灵敏度的优势, 应用最为广泛^[4, 15-16]。由于鱼类的样品基质复杂, 需要通过前处理过程去除样品中的磷脂和脂肪以降低目标化合物的干扰, 固相萃取(solid-phase extraction, SPE)是液相色谱-串联质谱技术最常使用的前处理方法^[12, 17-18]。传统 SPE 技术需要提取、净化、浓缩等步骤, 试剂消耗量大、前处理时间长。研究报道和预实验结果均表明孔雀石绿和结晶紫对光照、氧气、温度敏感, 在复杂的前处理过程中易发生降解^[19-22]。以 GB/T 19857—2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》为例, 其采用的中性氧化铝柱虽然可以实现目标物分离, 但基于极性相互作用的分离机制, 难以有效去除鱼类样品中的大量脂质杂质, 且净化后

需要浓缩, 导致前处理时间较长。

针对上述问题, 本研究选用的 HMR-Lipid SPE 柱能高效从复杂基质中选择性吸附去除磷脂和脂肪, 同时采用通过式净化方式, 省去了活化、平衡、淋洗等过程, 提高了净化效率。并且在去除脂质干扰物的同时, 不会对目标化合物产生吸附。因此, 本研究优化了前处理方法, 采用 HMR-Lipid SPE 柱进行净化, 以超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定, 同时检测孔雀石绿、结晶紫、隐色孔雀石绿和隐色结晶紫。研究成果有望为水产品质量安全监测提供更有效的技术手段, 保障消费者的健康。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验购买鱼类样品购于北京市内各水产市场。取鱼肉样品约 200 g, 切碎后用匀浆机匀浆, 制得试样, 备用。

乙腈(色谱纯, 北京 Dikma 公司); 乙酸铵(纯度为 98%, 美国 Sigma Aldrich 公司); 氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

标准品: 孔雀石绿(纯度>99.9%, CAS 号: 2437-29-8)、隐色孔雀石绿(纯度>97.3%, CAS 号: 129-73-7)、结晶紫(纯度>93.0%, CAS 号 548-62-9)、隐色结晶紫(纯度>99.8%, CAS 号: 603-48-5)、孔雀石绿-d5(纯度>98.4%, CAS 号: 1258668-21-1)、隐色孔雀石绿-d6(纯度>99.8%, CAS 号: 1173021-13-0)(中国 TMstandard 公司); 结晶紫-d6 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CAS 号: 1266676-01-0)、隐色结晶紫-d6 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CAS 号: 1173023-92-1)(天津 First Standard 公司)。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱三重四极杆串联质谱联用仪[Xevo TQ-S 质谱仪, 配 Acquity 型液相色谱仪]、BEH shield C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); JA2003 天平(感量 0.0001 g, 上海精科天平公司); 318K 冷冻高速离心机(美国 Sigma 公司); MS3 振荡器(德国 Ika 公司); 8011S 组织匀浆机(美国 Waring 公司); KH 250DE 超声

波清洗器(昆山禾创公司); HMR-Lipid SPE 柱(300 mg, 3 mL, 北京 ANAVO 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

精确称取标准品各 0.0100 g, 分别用乙腈溶解并定容至 10 mL, 质量浓度为 1000 mg/L, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。实验前根据需要, 用乙腈将标准储备溶液配制为适当浓度的标准使用液。

1.3.2 样品前处理

称取 5 g(精确至 0.1 g)均匀样品到 50 mL 离心管中, 准确加入 500 μL 混合内标工作液(100 ng/mL), 加入 5 mL 超纯水, 涡旋提取 1 min, 再加入 20 mL 乙腈, 涡旋 1 min, 振荡提取 5 min。之后加入 2 g 氯化钠盐析分层, 以 10000 r/min 速度 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min。

准确量取 4 mL 乙腈层上清液, 加入到 HMR-Lipid SPE 柱中。收集流出液, 取 1 mL 加入至棕色进样瓶中待 UPLC-MS/MS 分析。

1.3.3 仪器条件

UPLC 条件为: BEH shield C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm); 流动相: 乙腈(A)、5 mmol/L 乙酸铵水溶液(B); 梯度洗脱程序见表 1; 流速: 0.30 mL/min; 进样体积: 5 μL 。

表 1 流动相的梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0	25	75
4.0	100	0
5.0	100	0
5.2	25	75

MS 条件为: 离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)正离子模式 ESI(+); 扫描方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 3.19 kV; 离子源温度: $150\text{ }^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂温度: $500\text{ }^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气流量: 1000 L/h; 雾化气、气帘气、辅助加热气由氮气发生器产生或使用高纯氮气, 碰撞气均为高纯氩气; 定性离子对、定量离子对, 锥孔电压及碰撞能量见表 2。

1.4 数据处理

所有数据均表示为 3 次平行实验的平均值, 运用 WPS 表格(11.8.2)计算数据, 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的确定

孔雀石绿、结晶紫及其代谢物均为碱性化合物, 使用 BEH shield C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm)分离效果较好, 峰拖尾情况改善^[22-25], 能够在 6 min 内完成化合物

的分离。本研究选用 1.7 μm 更小的填料内径, 分离度更好, 峰型更尖锐。

表 2 孔雀石绿等化合物的主要 MS 参数
Table 2 Main MS parameters of compounds such as malachite green

名称	保留时间 /min	母离子	锥孔电压 /V	子离子	碰撞电压 /eV
孔雀石绿	3.4	329.3	50	208.2	32
				313.3*	32
隐色孔雀石绿	4.5	331.3	66	239.3*	28
				316.3	20
孔雀石绿-d5	3.4	334.2	44	318.1*	34
隐色孔雀石绿-d6	4.5	337.1	58	240.1*	28
				340.2	60
结晶紫	4.2	372.1	30	356.1*	40
				342	55
隐色结晶紫	4.6	374.1	25	358.2*	38
				358.1*	38
结晶紫-d6	4.2	378.2	78	358.1*	38
隐色结晶紫-d6	4.6	380.2	18	258.6*	28

注: *为定量离子对。

且乙腈作为流动相, 相比甲醇极性更高, 色谱峰强度更高、分离效果更好^[22,26]。待测化合物正离子模式扫描, 选择乙酸铵作为缓冲溶液, 可以调节 pH 并促进化合物的电离, 提高灵敏度^[23,26]。本研究比较了 5 mmol/L 乙酸铵溶液和含 0.1%甲酸的 2 mmol/L 乙酸铵溶液作为流动相。结果表明添加甲酸后虽然隐色孔雀石绿和隐色结晶紫的色谱峰强度有所增高, 但杂质峰的响应更高。5 mmol/L 乙酸铵溶液的峰型更好, 且孔雀石绿和结晶紫的色谱峰强度更高。综合考虑, 选择 25%乙腈, 75% 5 mmol/L 乙酸铵溶液作为初始流动相, 基线稳定且干扰较少, 化合物可以有效分离, 能够达到快速检测的目的。4 种化合物及内标的 MRM 离子流图见图 1。

2.2 前处理条件的优化

前处理过程比较了 HMR-Lipid SPE 柱和 HLB-P/HMR-Lipid SPE 柱 2 种新型通过式净化柱。这 2 种 SPE 柱均为动物性样品设计, 可高效去除脂肪、磷脂等杂质。由于 2 种 SPE 柱都适合乙腈提取液上样, 因此本研究进一步比较了 100%乙腈和 80%乙腈提取液的上柱净化效果, 其中 100%乙腈提取液通过加入氯化钠盐析分层制备。为评估方法的可靠性, 本研究还比较了 GB/T 19857—2005 采用的中性氧化铝柱, 严格按照操作流程进行前处理, 各方法的回收率数据见图 2。结果表明, 100%乙腈提取液通过 HMR-Lipid SPE 柱的净化效果更好, 基质干扰更少, 与文献[27]报道一致, 因此选择 HMR-Lipid SPE 柱作为样品的净化柱。

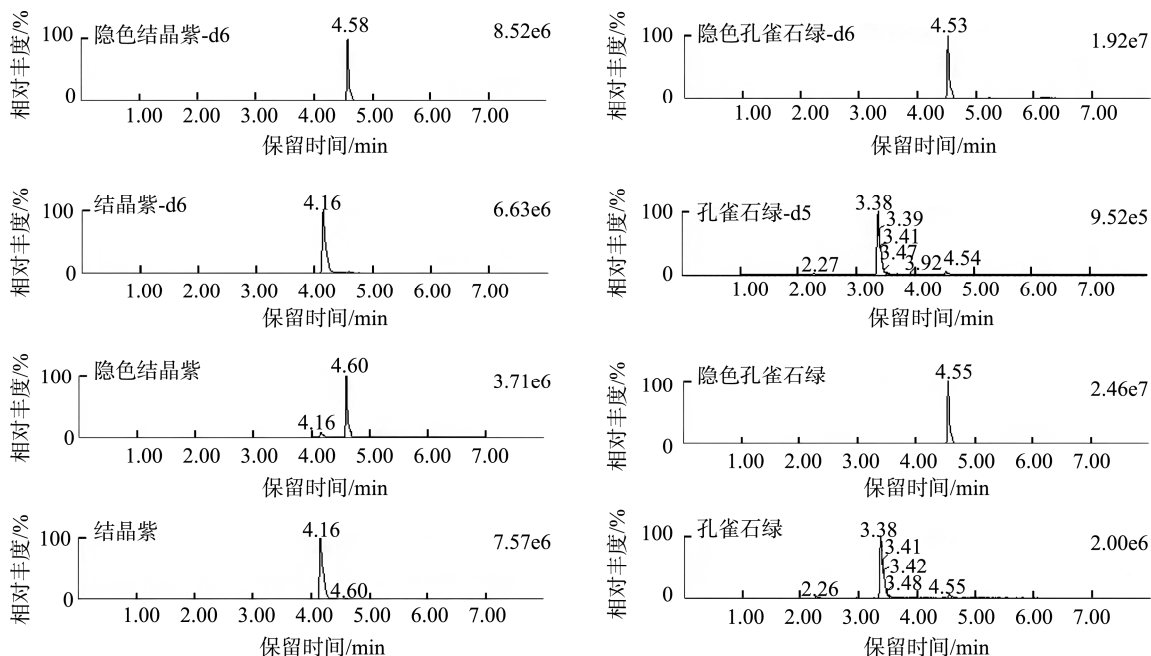
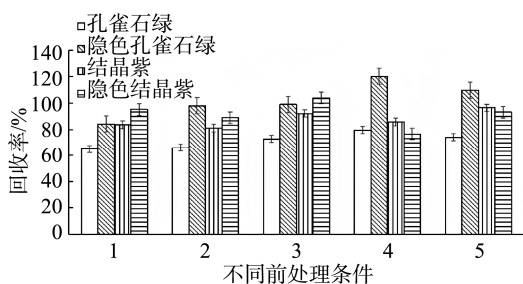


图 1 目标化合物及同位素内标的色谱图

Fig.1 Chromatogram of target compounds and internal standard



注: 1 为 HLB-P/HMR-Lipid SPE 柱 100%乙腈提取液上柱; 2 为 HLB-P/HMR-Lipid SPE 柱 80%乙腈提取液上柱; 3 为 HMR-Lipid SPE 柱 100%乙腈提取液上柱; 4 为 HMR-Lipid SPE 柱 80%乙腈提取液上柱; 5 为中性氧化铝柱。

图 2 不同前处理方法回收率

Fig.2 Recovery rates of different pretreatment methods

2.3 基质效应、线性范围和检出限

ESI 源质谱分析过程中, 复杂基质中共萃取组分间的电离竞争效应会引发显著的基质效应, 导致目标离子信号出现抑制或增强现象, 进而影响定量分析的准确性。降低基质效应的常用策略主要包括同位素内标校正法和基质匹配标准曲线校正法。前者通过同位素标记物与目标分析物相似的物理化学性质, 补偿电离效率的波动; 后者则通过使用空白样品制备校准曲线, 模拟实际样品的基质环境。本方法综合运用上述两种校正策略: 选用阴性鱼肉样品按照 1.3.1 步骤制备基质匹配的标准曲线, 同时采用同位素内标校正, 能有效减少基质效应的影响。

以各目标化合物质量浓度为横坐标(X , ng/mL), 目标

化合物与对应内标物峰面积比值为纵坐标(Y), 分别绘制标准工作曲线方程, 在 0.20~10.00 ng/mL 线性关系良好, 相关系数(r)均大于 0.999。用空白样品做加标实验, 以信噪比(S/N)为 3 确定检出限, 以信噪比(S/N)大于 10 的浓度确定定量限, 4 种目标化合物检出限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 见表 3。与 GB/T 19857—2005 方法的检出限相比(0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 本方法的检出限更低, 具有更好的灵敏度。

表 3 目标化合物的曲线方程、相关系数和检出限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients and limits of detection of the target compounds

目标物	曲线方程	相关系数 (r)	检出限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)
孔雀石绿	$Y=0.761147X+0.00498503$	0.999	0.05	0.20
隐色孔雀石绿	$Y=0.590031X+0.00077132$	0.999	0.05	0.20
结晶紫	$Y=1.27175X+0.0313064$	0.999	0.05	0.20
隐色结晶紫	$Y=0.712982X+0.0157429$	0.999	0.05	0.20

2.4 回收率和精密度

在空白样品中分别添加浓度为 2、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的混合标准溶液, 每个浓度水平进行 6 次平行测定, 计算回收率。4 种目标化合物的回收率范围为 80.1%~105.2%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)范围为 1.2%~14.3%, 结果见表 4。表明本方法具有良好的回收率和精密度。

表 4 4 种目标物的回收率和 RSDs ($n=6$)
Table 4 Recoveries and RSDs of the 4 kinds of target compounds ($n=6$)

目标物	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$		5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%
孔雀石绿	95.4	4.0	92.4	4.4	93.2	5.8
隐色孔雀石绿	84.8	6.2	80.1	1.4	83.2	1.2
结晶紫	105.2	8.1	100.5	4.2	98.5	3.1
隐色结晶紫	82.6	7.7	92.3	14.1	94.0	14.3

2.5 实际样品测定

采用本研究建立的方法对北京市随机采购的 40 件鱼肉样品进行检测, 均未检出孔雀石绿和结晶紫及其代谢物。

3 讨论

孔雀石绿、结晶紫及其代谢产物在光照、氧气和高温等条件下容易发生去甲基化和氧化降解等反应^[22,28], 因此研究过程中应注意避光, 超声过程中要注意水温不能太高。本研究中, 乙腈对于 HMR-Lipid SPE 柱净化和液相目标化合物分离都有较好的效果, 但是根据前期实验研究和文献报道^[19], 目标化合物溶解在乙腈中易发生降解, 因此需要尽量缩短前处理时间。

将本方法与 GB/T 19857—2005 比较, 本方法无需淋洗、浓缩等步骤, 不仅简化了前处理过程, 还提高了灵敏度与准确度, 检出限(0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$)远低于国家标准方法(0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。将本方法与文献中的方法进行比较, 结果如表 5 所示, 本方法的检出限及回收率与列表文献方法相当或者更优, 且能够同时检测 4 种孔雀石绿类物质, 样品前处理所需的有机试剂更少(20 mL), 前处理时间更短(12 min)。

表 5 本方法与其他方法比较
Table 5 Comparison of this proposed method with other methods

样品量	目标物	检测方法	提取方式 (净化材料规格)	前处理 时间/min	试剂 消耗量/mL	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%	参考 文献
鱼肉样品 2.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	S-MGCN (15 mg)	25	5	0.075	88.80~105.90	[12]
鱼肉样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫	UPLC-MS/MS	QuEChERS (1100 mg)	27	10	0.500	99.71~112.86	[18]
鱼虾样品 2.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫	UPLC-MS/MS	QuEChERS (100 mg)	65	9	0.320~0.440	90.70~119.70	[21]
鱼肉样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	SPE	40	36	0.030	84.30~100.70	[22]
水产样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫	UPLC-MS/MS	SPE	34	37	0.500	61.50~119.00	[24]
鱼肉样品 0.5 g	隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	OA-MNBs (6 mg)	40	25	0.100	71.20~112.60	[29]
鱼肉样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	HPLC-UV	MMIPs (50 mg)	167	21	0.500~0.600	88.90~102.00	[30]
鱼肉样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	QuEChERS (500 mg)	43	17	1.000	68.40~77.00	[31]
鱼虾样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	QuEChERS (140 mg)	1080	51	0.100~0.200	70.00~120.00	[32]
鱼肉样品 2.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿	UPLC-MS/MS	dSPE+SPE	30	12	0.450~0.490	98.30~103.10	[33]
鱼肉样品 5.0 g	孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫	UPLC-MS/MS	SPE	12	20	0.05	80.1~105.2	本方法

注: HPLC-UV: 高效液相色谱法-紫外检测器(high performance liquid chromatography-ultraviolet detector); S-MGCN: 磺酸化磁性氮化碳(sulfonated magnetic graphite carbon nitride); OA-MNBs: 油酸包裹的磁性纳米微珠(oleic acid coated magnetic nanobeads); MMIPs: 磁性分子印迹聚合物(magnetic molecularly imprinted polymer); dSPE: 分散固相萃取(dispersive solid phase extraction)。

4 结 论

本研究采用鱼肉样品,用乙腈萃取后一次性通过 HMR-Lipid SPE 柱,相比传统方法省略了活化、淋洗和洗脱等步骤,且收集的流出液无需浓缩即可直接上机测定,试剂消耗和提取过程都有效减少,能够在短时间内实现大批样品处理。本方法优化了前处理条件,并通过检出限、线性、准确度、精密度和实际样品测定,验证了方法的可行性。本方法可以快速、高效地对鱼类中的孔雀石绿、结晶紫及其隐色代谢物进行定性、定量分析,为孔雀石绿、结晶紫、隐色孔雀石绿和隐色结晶紫这类兽药残留监测提供了技术支持。

参考文献

- VILHENA AOD, LIMA KMM, DE-AZEVEDO LFC, *et al.* The synthetic dye malachite green found in food induces cytotoxicity and genotoxicity in four different mammalian cell lines from distinct tissuesw [J]. *Toxicology Research*, 2023(12): 693–701.
- 朱宽正, 王鹏, 林雁飞, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中孔雀石绿、结晶紫以及它们的隐色代谢物残留[J]. *色谱*, 2007, 25(1): 66–69.
ZHU KZ, WANG P, LIN YF, *et al.* Simultaneous determination of residues of malachite green, crystal violet and their leuco metabolites in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2007, 25(1): 66–69.
- SHEN YX, XIONG W, WANG QQ, *et al.* Combining portable mass spectrometer with bamboo stir bar sorptive extraction for the on-site detection of malachite green, crystal violet and their metabolites in fishes [J]. *Journal of Chromatography A*, 2022(1681): 456–463.
- 赵丹. 利用高效液相色谱-串联质谱法同时测定养殖鱼中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物残留量[J]. *食品安全导刊*, 2022(1): 90–93.
ZHAO D. Simultaneous determination of malachite green, crystal violet and their metabolite residues in cultured fish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *China Food Safety Magazine*, 2022(1): 90–93.
- 李佩仪, 孙蒙蒙, 秦海洋, 等. 基于新型离子液体凝胶一步式快速富集孔雀石绿[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(11): 214–221.
LI PY, SUN MM, QIN HY, *et al.* One-step rapid enrichment of malachite green based on novel ionic liquid gels [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(11): 214–221.
- 王胜, 孙言凤, 肖永华, 等. 2011—2020年W市市售水产品中4种违禁渔药污染状况及暴露风险评估[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 24(12): 9612–9618.
WANG S, SUN YF, XIAO YH, *et al.* Pollution status and exposure risk assessment of 4 kinds of prohibited fishery drugs in aquatic products sold in W city from 2011 to 2020 [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 24(12): 9612–9618.
- XIAO X, CHEN C, DENG JW, *et al.* Analysis of trace malachite green, crystal violet, and their metabolites in zebrafish by surface-coated probe nano-electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2020, 217(1): 121064.
- KWAN PP, EANERJEE S, SHARIFF M, *et al.* Persistence of malachite green and leucomalachite green in red tilapia (*Oreochromis hybrid*) exposed to different treatment regimens [J]. *Food Control*, 2020(108): 106866–106872.
- STAMMATI A, NEBBIA C, ANGELIS ID, *et al.* Effects of malachite green (MG) and its major metabolite, leucomalachite green (LMG), in two human cell lines [J]. *Toxicology in Vitro*, 2005(19): 853–858.
- HASHIMOTO JC, PASCHOAL JAR, DE-QUEIROZ JF, *et al.* Considerations on the use of malachite green in aquaculture and analytical aspects of determining the residues in fish: A review [J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2021(20): 273–294.
- CAO JY, LIU BL, TAO ZH, *et al.* *Escherichia coli*-polydopamine coated stir bar sorptive extraction combing with portable mass spectrometer for rapid and simultaneous detection of triphenylmethane residues in fishes [J]. *Microchemical Journal*, 2024(202): 110771–110777.
- 孟二琼, 念琪循, 李峰, 等. 磺酸化磁性氮化碳固相萃取-超高液相色谱-串联质谱法检测淡水鱼中孔雀石绿和隐色孔雀石绿[J]. *色谱*, 2023, 41(8): 673–682.
MENG ERQ, NIAN QX, LI F, *et al.* Sulfonated magnetic graphite carbon nitride solid-phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for screening malachite green and leucomalachite green in freshwater fish [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2023, 41(8): 673–682.
- 农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公共第 250 号[EB/OL]. (2019-12-27) [2020-01-06]. http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/202001/t20200106_6334375.htm
Ministry of Agriculture and Rural Affairs. No.250 bulletin of the ministry of Agriculture and Rural Affairs of People's Republic of China [EB/OL]. (2019-12-27) [2020-01-06]. http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/202001/t20200106_6334375.htm
- 王胜, 肖三华, 唐非. 武汉市市售水产品中氯霉素、孔雀石绿与结晶紫污染状况[J]. *公共卫生与预防医学*, 2018, 29(4): 101–103.
WANG S, XIAO SH, TANG F. Pollution status of chloramphenicol, malachite green and crystal violet in water products sold in Wuhan [J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2018, 29(4): 101–103.
- 华正罡, 冯静, 伊萍, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定淡水鱼中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(22): 3238–3240.
HUA ZG, FENG J, YI P, *et al.* Determination of malachite green, crystal violet and their metabolite residues in freshwater fish by UPLC-MS/MS [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2014, 24(22): 3238–3240.
- 李周敏, 汤迪朋, 陈炳丰, 等. 水产品中孔雀石绿检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 2984–2990.
LI ZM, TANG DP, CHEN BF, *et al.* Research progress on the detection methods of malachite green in aquatic products [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(8): 2984–2990.
- 王兴益, 陈彦龙, 肖小华, 等. 水产品中有害物质分析样品前处理技术研究进展[J]. *色谱*, 2021, 39(1): 34–35.
WANG XY, CHEN YL, XIAO XH, *et al.* Recent advances in sample preparation technologies for analysis of harmful substances in aquatic products [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(1): 34–35.
- 师真, 李文廷, 张瑞雨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测鱼类中

- 孔雀石绿、结晶紫及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2862–2865.
- SHI Z, LI WT, ZHANG RY, *et al.* Detection of malachite green, crystal violet and its metabolites in fish by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(9): 2862–2865.
- [19] 马瑞欣, 孔雀石绿和隐色孔雀石绿溶液稳定性探讨[J]. 河北渔业, 2023(3): 17–20.
- MA RX. Exploration of the stability of malachite green and leucomalachite green solutions [J]. Hebei Fisheries, 2023(3): 17–20.
- [20] SRIVASTAVA S, SINHA R, ROY D. Toxicological effects of malachite green [J]. Aquatic Toxicology, 2004(6): 319–329.
- [21] ROCHA DG, DE-SOUZA LF, LANA MAG, *et al.* Validation of an UHPLC-MS/MS method for the determination of malachite green, leucomalachite green, crystal violet, and leuco crystal violet in shrimp, fish, and salmon muscle using a modified QuEChERS Approach [J]. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2021, 32(4): 722–732.
- [22] 田秀慧, 于召强, 陈玮, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水产苗种中孔雀石绿及其代谢物隐色孔雀石绿[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 171–177.
- TIAN XH, YU SQ, CHEN W, *et al.* Determination of malachite green and its metabolite leucomalachite green in aquatic fingerlings by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS) [J]. Food Science, 2013, 34(12): 171–177.
- [23] 杨盈悦, 朱羽庄, 梅光明, 等. 渔业养殖水体中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物残留量的检测方法研究[J]. 浙江大学学报(理学版), 2021, 48(4): 461–469.
- YANG YY, ZHU YZ, MEI GM, *et al.* Determination of malachite green, crystal violet and their metabolites in aquaculture water [J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2021, 48(4): 461–469.
- [24] 万承波, 万建春, 罗秋红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中三苯甲烷类染料和氯霉素类药物的残留量[J]. 南昌大学学报(理科版), 2020, 44(6): 579–592.
- WAN CB, WAN JC, LUO QH, *et al.* Simultaneous determination of triphenylmethane dyes and chloramphenicols residues in aquatic products by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2020, 44(6): 579–592.
- [25] 侯建波, 谢文, 祝泽龙, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中三苯甲烷类与噻嗪类染料及其代谢产物[J]. 理化检验-化学分册, 2015, 51(3): 403–408.
- HOU JB, XIE W, ZHU ZL, *et al.* Determination of triphenylmethane, thiazide and their metabolites residues in aquatic products by LC-MS/MS [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2015, 51(3): 403–408.
- [26] 高晓敏, 王璐钢, 马智玲, 等. 快速滤过型净化法结合超高效液相色谱-串联质谱同时检测水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(24): 249–255.
- GAO XM, WANG JG, MA ZL, *et al.* Simultaneous determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products by multi-plug filtration cleanup method combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(24): 249–255.
- [27] 邹森, 冯静, 韩晓鸥, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中 23 种全氟和多氟烷基化合物的含量[J/OL]. 理化检验-化学分册, 2024-08-05. DOI: 10.11973/lhgy-hx240066
- ZHOU M, FENG J, HAN XOU, *et al.* Determination of 23 perfluorinated and polyfluoroalkyl compounds in fish by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2024-08-05. DOI: 10.11973/lhgy-hx240066
- [28] DONG JX, LI ZF, WANG Y, *et al.* Generation of functional single-chain fragment variable from hybridoma and development of chemiluminescence enzyme immunoassay for determination of total malachite green in tilapia fish [J]. Food Chemistry, 2021(337): 127780–127785.
- [29] GUO L, ZHANG JW, WEI H, *et al.* Nanobeads-based rapid magnetic solid phase extraction of trace amounts of leuco-malachite green in Chinese major carps [J]. Talanta, 2012(97): 336–342.
- [30] 李永贤, 古小莉, 王旭峰, 等. 孔雀石绿磁性印迹聚合物的制备及其分离应用研究[J]. 分析实验室, 2017, 36(10): 1178–1183.
- LI YX, GU XL, WANG XF, *et al.* Preparation of malachite green magnetic molecularly imprinted polymers [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(10): 1178–1183.
- [31] 苏敏, 吴彦蕾, 邓惠玲, 等. QuEChERS-LC-MS/MS 法快速检测鱼肉中 54 种兽药残留[J]. 食品与发酵科技, 2023, 59(6): 135–141.
- SU M, WU YL, DENG HL, *et al.* Rapid Determination of 54 veterinary drug residues in fish by QuEChERS-LC-MS/MS [J]. Food and Fermentation Science and Technology, 2023, 59(6): 135–141.
- [32] 陈兴连, 林涛, 刘兴勇, 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定鱼和虾中多类禁、限用兽药残留[J]. 色谱, 2020, 38(5): 538–546.
- CHEN XL, LIN T, LIU XY. Rapid determination of multiple prohibited and restricted veterinary drug residues in fish and shrimp by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(5): 538–546.
- [33] MITROWSKA K, KIJEWSKA L, CIANNETTI LL, *et al.* A simple and sensitive method for the determination of methylene blue and its analogues in fish muscle using UPLC-MS/MS [J]. Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure and Risk Assessment, 2023, 40(5): 641–654.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)