

doi: 10.12452/j.fxcxb.25110307

改良 QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 法同时测定水产品中 14 种有机染料

张文萍, 施 贝, 陶 瑞, 徐潇颖, 梁晶晶, 王展华*

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

摘要: 建立了改良 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)测定水产品中 14 种有机染料的分析方法。样品经乙腈提取, 同时使用中性氧化铝在单步提取/净化过程中完成净化。采用 BEH C₁₈ 色谱柱, 以 10 mmol/L 乙酸铵(甲酸调至 pH 4.5±0.1)和 0.1% 甲酸乙腈为流动相进行梯度洗脱分离, 在电喷雾电离正离子模式下, 通过多反应监测模式进行检测。除孔雀石绿和隐色孔雀石绿采用内标法定量外, 其余化合物采用基质匹配外标法定量。结果表明, 14 种染料在 0.2~10 μg/L 范围内具有良好的线性关系($r^2 > 0.995$)。孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫和隐色结晶紫的检出限为 0.2 μg/kg, 定量下限为 0.5 μg/kg; 其余 10 种染料的检出限为 0.5 μg/kg, 定量下限为 1.0 μg/kg。在 3 个加标水平(1、5、10 μg/kg)下, 14 种染料的平均回收率为 72.6%~118%, 相对标准偏差(RSD)不大于 8.8%。采用该方法对 30 批市售水产品进行检测, 除 1 批样品检出亚甲基蓝(检出量为 1.10 μg/kg)外, 其余样品均未检出 14 种染料。

关键词: 有机染料; 改良 QuEChERS; UPLC-MS/MS; 水产品; 食品安全

中图分类号: O657.7; TS207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)05-1102-06

Determination of 14 Organic Dyes in Aquatic Products by Modified QuEChERS Combined with UPLC-MS/MS Method

ZHANG Wen-ping, SHI Bei, TAO Rui, XU Xiao-ying, LIANG Jing-jing, WANG Zhan-hua*

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

Abstract: An analytical method combining modified QuEChERS with UPLC-MS/MS was established for the determination of 14 organic dyes. The samples were extracted with acetonitrile, and purification was completed simultaneously using neutral aluminum oxide. Chromatographic separation was performed on an BEH C₁₈ column with a gradient elution of 10 mmol/L ammonium acetate (pH adjusted to 4.5±0.1 with formic acid) and 0.1% formic acid in acetonitrile. All compounds were detected in positive electrospray ionization mode using multiple reaction monitoring. Except for malachite green and leucomalachite green, which were quantified using the internal standard method, the remaining compounds were quantified by matrix-matched external standard method. The results showed that the 14 dyes exhibited good linear relationships in the range of 0.2–10 μg/L ($r^2 > 0.995$). The detection limits (LODs) and quantification limits (LOQs) for malachite green, leucomalachite green, crystal violet, and leucocrystal violet were 0.2 μg/kg and 0.5 μg/kg, respectively, while those for the other 10 dyes were 0.5 μg/kg and 1.0 μg/kg, respectively. At three spiked levels (1, 5, and 10 μg/kg), the average recoveries of the 14 dyes ranged from 72.6% to 118%, with relative standard deviations (RSDs) not more than 8.8%. By using this method, 30 batches of aquatic products were detected. Except for one batch detecting methylene blue (detected content: 1.10 μg/kg), none of the other samples detected the 14 dyes.

Key words: organic dyes; modified QuEChERS; UPLC-MS/MS; aquatic products; food safety

收稿日期: 2025-11-03; 修回日期: 2026-02-07

基金项目: 浙江省“尖兵领雁+X”科技计划(2025C02126)

* 通讯作者: 王展华, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: ainsn667@qq.com

网络首发日期: 2026-03-23

水产品是全球人类饮食的重要组成部分,能够提供优质蛋白质和必需营养素。然而,水产养殖业面临着由细菌、真菌和寄生虫引发的各类疾病^[1],可能导致重大经济损失。早期以孔雀石绿(MG)和结晶紫(CV)为代表的合成染料,因成本低、效果显著被广泛用于水产养殖中的疾病预防和治疗^[2]。但孔雀石绿和结晶紫及其主要代谢物隐色孔雀石绿(LMG)和隐色结晶紫(LCV)均具有高度的生物毒性^[3-4]。特别是隐色体,能够在鱼类的可食组织(如肌肉和脂肪)中长期残留,对人类健康构成显著的长期风险^[5]。因此,中国^[6]等许多国家和地区已明令禁止在水产养殖中使用 MG 和 CV。

随着对 MG 的严格禁令和常态化监测实施,其在水产品中的检出率已显著下降,这导致养殖户转而使用其他监管较宽松的染料作为替代品。乙基紫(EV)和维多利亚蓝 B(VB)及其衍生物维多利亚蓝 R(VR)和维多利亚纯蓝(VBO)等三苯甲烷类染料,具有与孔雀石绿相似的杀菌特性,可能会被用作孔雀石绿的替代品,但也存在毒理学风险^[7]。此外,噻嗪类染料,特别是亚甲基蓝(MB)的毒性较低,已成为一种广泛使用的鱼病消毒剂替代品,其在生物体内可代谢为天青 B(AB)等相关化合物,但高浓度的亚甲基蓝可使动物中毒并导致死亡^[8]。罗丹明 B(RB)和罗丹明 6G(R6G)等染料也存在滥用问题,它们被非法用作着色剂,以改善海产品(如三文鱼或大黄鱼)的外观,伪造其新鲜度或品质^[9-10]。因此,有必要关注乙基紫、维多利亚蓝 B 及其衍生物以及罗丹明 B 和 6G 等染料在水产品中的使用问题。

目前,水产品中染料的前处理通常以固相萃取或液液萃取为主,部分方法需将隐色体(LMG、LCV)转化为有色体形式以便检测,不仅引入了有害试剂,也使得操作步骤繁琐,结果的变异性增加^[7, 11];孙良娟等^[12]采用盐析萃取、正己烷液液萃取和固相萃取净化方式同时测定水产品中的 MG、LCV、MB 及代谢物等 9 种染料,虽省去了转化过程,但前处理较复杂。此外,检测对象多以 MG、CV、MB 及其代谢物为主^[13-15],对维多利亚蓝和罗丹明 B 等染料在水产品中的应用则关注较少,缺乏能够高效检测多种不同类别染料及其代谢物的高通量筛选方法。

QuEChERS 方法具有简便、高效的特点,已广泛应用于复杂基质中多种分析物的检测^[16-17],在水产品中孔雀石绿、结晶紫和亚甲基蓝等染料的检测中也有报道^[18-20]。因此,本研究采用乙腈提取和分散固相萃取(dSPE)净化相结合的方式,旨在开发一种改良的 QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)方法,用于同时测定水产品中 14 种有机染料。同时将该方法应用于 30 批实际市售样品检测,以评估市场上 14 种有机染料的污染状况。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

AB SCIEX QTRAP 6500+液相色谱-串联质谱仪(SCIEX 公司);匀浆仪(IKA 公司);XPE-205 电子天平(梅特勒公司);Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, Waters 公司);滤膜(0.22 μm, 上海安谱公司);Multifuge×1R 高速冷冻离心机(美国热电公司)。

甲醇、乙腈(色谱级, Merck 公司);甲酸(质谱级, Sigma 公司);乙酸铵(分析纯, Sigma 公司);中性氧化铝(分析纯, 上海安谱公司);超纯水由 Milli-Q 系统(美国 Millipore)制备。

孔雀石绿(MG)、隐色孔雀石绿(LMG)、结晶紫(CV)、隐色结晶紫(LCV)、乙基紫(EV)、天青 B(AB)、亚甲基蓝(MB)、新亚甲蓝(NMB)、尼罗蓝 A(NBA)、维多利亚蓝 R(VR)、维多利亚蓝 B(VB)、维多利亚纯蓝 BO(VBO)、罗丹明 B(RB)、罗丹明 6G(R6G)、孔雀石绿-D₅(MG-D₅)和隐色孔雀石绿-D₆(LMG-D₆)(纯度>90%),均购自 Sigma 公司。

1.2 标准溶液的配制

分别用乙腈配制 LMG 和 LCV 标准储备液(100 μg/mL),用甲醇配制其余染料及内标的标准储备液(100 μg/mL)。所有储备液均于-18 °C 避光保存。使用乙腈稀释储备液,配制成含有 14 种分析物的混合标准工作溶液 1(0.1 μg/mL)和溶液 2(1.0 μg/mL)。使用乙腈配制含有 MG-D₅和 LMG-D₆的混合内标工作溶液(0.1 μg/mL)。所有工作溶液均于-18 °C 保存,使用前恢复至室温。

1.3 样品处理

从本地市场采购鱼(如鲳鱼、大黄鱼、鲈鱼)和虾(基围虾、白虾、对虾等)样品。取可食肌肉组织(鱼去除鱼皮和鱼鳞,虾去除虾头和虾壳),用高速匀浆机进行匀浆后,在-18 °C 下储存。

精确称取(5.0±0.01) g匀浆样品于50 mL离心管中。加入100 μL混合内标工作溶液(0.1 μg/mL)涡旋混匀,加入6 mL乙腈和1.0 g中性氧化铝,立即涡旋振荡15 s,超声提取2 min,然后以8 000 r/min均质30 s,用2 mL乙腈冲洗均质器探头,并将冲洗液收集到同一离心管中。将离心管于4 °C以6 000 r/min离心10 min,转移上清液至10 mL容量瓶中,用乙腈定容至刻度。提取液经0.22 μm滤膜过滤后,待分析。

1.4 液相色谱—串联质谱条件

1.4.1 液相色谱条件 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 柱温: 40 °C; 流动相A: 10 mmol/L乙酸铵(用甲酸调至pH 4.5±0.1); 流动相B: 0.1%甲酸乙腈; 流速: 0.4 mL/min; 进样量: 2 μL。梯度洗脱程序: 0~1 min, 10% B; 1~2 min, 10%~40% B; 2~7 min, 40%~90% B; 7~8 min, 90%~100% B; 8~11 min, 100% B; 11~13 min, 100%~10% B。

1.4.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源,扫描方式: 正离子模式,监测模式: 多反应监测(MRM)模式,电离电压为5 500 V,离子源温度500 °C,雾化气379 kPa,辅助加热气345 kPa,气帘气276 kPa。14种染料和2种内标的优化参数见表1。

表1 14种待测物与2种内标的质谱参数
Table 1 MS parameters of 14 analytes and two isotope labeled standards

Analyte	Retention time/min	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	Declustering potential/V	Collision energy/eV
Malachite green(孔雀石绿, MG)	4.89	329.3	313.2*, 208.4	80	49, 47
Leucomalachite green(隐色孔雀石绿, LMG)	7.61	331.2	239.2*, 315.3	80	39, 37
Crystal violet(结晶紫, CV)	5.81	372.2	356.2*, 340.5	80	50, 50
Leucocrystal violet(隐色结晶紫, LCV)	7.58	374.3	358.4*, 238.3	80	39, 44
Ethyl violet(乙基紫, EV)	8.25	456.5	412.5*, 368.2	80	55, 45
Azure B(天青B, AB)	3.19	270.2	254.2*, 228.0	80	35, 36
Methylene blue(亚甲基蓝, MB)	3.38	284.2	268.1*, 252.0	80	50, 35
New methylene blue(新亚甲蓝, NMB)	4.26	312.0	283.3*, 254.3	80	35, 30
Nile blue A(尼罗蓝A, NBA)	4.41	318.0	274.0*, 260.0	80	40, 35
Victoria blue R(维多利亚蓝R, VR)	6.18	422.3	406.2*, 393.3	80	35, 40
Victoria blue B(维多利亚蓝B, VB)	6.47	470.5	454.2*, 349.2	80	35, 43
Victoria blue BO(维多利亚纯蓝BO, VBO)	7.61	478.5	433.9*, 390.2	80	60, 40
Rhodamine B(罗丹明B, RB)	5.23	443.3	399.2*, 355.0	80	60, 40
Rhodamine 6G(罗丹明6G, R6G)	5.54	443.3	415.2*, 341.2	80	45, 35
Malachite green-D ₅ (孔雀石绿-D ₅)	4.88	334.4	318.2	80	50
Leucomalachite green-D ₆ (隐色孔雀石绿-D ₆)	7.57	337.4	240.3	80	50

* quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 质谱条件的优化

选择常用的Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)对色谱条件进行优化,以实现14种分析物的色谱分离。参考现有标准和相关文献,孔雀石绿等三苯甲烷类染料在乙腈和乙酸铵中的色谱响应高于纯甲醇和甲酸水流动相,且随着乙酸铵浓度的增加,三苯甲烷类染料的出峰时间会延后,分离度变好^[21]。因此本文比较了10 mmol/L乙酸铵-0.1%甲酸乙腈、10 mmol/L乙酸铵(含0.1%甲酸水)-0.1%甲酸乙腈和10 mmol/L乙酸铵(pH 4.5±0.1,甲酸调节)-0.1%甲酸乙腈3种流动相体系的分离效果。结果表明:以10 mmol/L乙酸铵作为水相时,MB、AB、NMB和NBA不出峰或出现峰拖尾情况;以10 mmol/L乙酸铵(含0.1%甲酸水)作为水相时,MB等化合物出峰,但响应较低;而当用甲酸将乙酸铵调至pH 4.5±0.1时,上述4种化合物的峰形得到显著改善,变得尖锐而对称。色谱峰拖尾可能是由于MB、AB等染料含有的氮原子,在酸性或中性条件下会质子化形成带正电荷的阳离子,而实验使用的色谱柱硅胶基质表面可能会存在微量残留硅醇基(Si—OH)。当流动相pH值接近或高于硅醇基的pK_a时(约3.5~4.5),硅醇基解离为带负电的硅氧负离子(Si—O⁻)。带正电的染料分子会与负电位点发生强烈静电吸引(离子交换),导致洗脱迟滞,表现为色谱峰严重拖尾。当pH值调至4.5±0.1左右时,大部分硅醇基保持质子化状态(Si—OH),显著减少了Si—O⁻的数量,从而切断离子交换途径,改

善峰形。pH 值还会影响 MB 等的稳定性,在 pH 4.5±0.1 的乙酸铵溶液中,MB 及其代谢物的结构保持稳定,更有利于色谱分离^[22]。而甲酸的加入可确保 MB 等碱性化合物以质子化的形式存在,提高离子化效率^[23],从而改善其在 C₁₈ 柱上的保留并优化峰形。因此最终选择 10 mmol/L 乙酸铵(pH 4.5±0.1, 甲酸调节)和 0.1% 甲酸乙腈梯度洗脱,在此条件下,14 种染料均能很好的分离(图 1)。

2.2 前处理条件的优化

三苯甲烷类和噻嗪类染料多采用乙腈提取,这是由于水产品中通常含有大量脂肪和蛋白质,而乙腈具有沉淀蛋白的作用^[15]。因此,本文比较了乙腈、0.1% 甲酸乙腈和 0.1% 氨水乙腈 3 种溶剂的提取效果,发现当采用 0.1% 氨水乙腈或 0.1% 甲酸乙腈为提取溶剂时, CV、LCV 等的回收率偏高或偏低很多,这可能是受基质效应的影响;而采用乙腈为提取溶剂时,14 种染料的回收率在 70%~130% 之间,提取效果较优。因此,本实验最终选择乙腈作为提取溶剂。

考虑到目前主要的净化方式有 QuEChERS 方法和固相萃取法,本文分别比较了弱阳离子交换柱(CBX)和强阳离子交换柱(SCX)串联法^[7]、PRiME HLB 柱和改良 QuEChERS 法 3 种净化方法。样品依次经 CBX 和 SCX 柱后分别洗脱,合并洗脱液,采用该法可得到非常干净的提取液,但需先氮吹将乙腈提取液转换为乙酸铵缓冲液才可净化,洗脱液需浓缩后方可测定,操作繁琐耗时,且隐色体(LMG 和 LCV)的回收率非常低(<30%),这可能是其在 SPE 柱上发生了不可逆的吸附或降解所致。PRiME HLB 柱可以去除磷脂等杂质,对磷脂含量较高的水产品有很好的净化效果,但本实验中 14 种目标染料(均为碱性和极性化合物)均被完全吸附而无法洗脱。GB/T 19857-2005^[24]和 GB/T 20361-2006^[25]均采用中性 Al₂O₃ 柱作为固相萃取柱,中性氧化铝作为一种高效的净化剂,能去除极性基质成分,吸附油脂^[23],特别是磷脂和脂肪胺。本文尝试用中性氧化铝粉末作为分散吸附剂,在乙腈提取的同时加入中性氧化铝,该方法仅需 1 次提取和 1 次离心,操作简单、快速,14 种化合物的回收率良好。因此,本实验采用中性氧化铝粉末作为净化剂进行 QuEChERS 净化。

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系、检出限与定量下限 分别以鱼和虾两种空白样品作为基质,将混合标准工作溶液加入空白基质提取液中,制备 6 个浓度水平的基质匹配校准溶液。在 0.2~10 μg/L 范围内,所有染料均表现出优异的线性关系,相关系数(r^2)均大于 0.995。通过分析低浓度加标样品,以信噪比(S/N)分别为 3 和 10 时的浓度确定检出限(LOD)和定量下限(LOQ)。MG、LMG、CV 和 LCV 的检出限为 0.2 μg/kg,定量下限为 0.5 μg/kg,这 4 种染料在定量下限的回收率见表 2;其他 10 种染料的检出限为 0.5 μg/kg,定量下限为 1.0 μg/kg(表 2)。

表 2 14 种染料在鱼和虾基质中的线性关系、LOD、LOQ、回收率和相对标准偏差($n=6$)

Table 2 Linear relationships, LODs, LOQs, recoveries, and RSDs of 14 dyes in fish and shrimp samples($n=6$)

Compound	Sample	r^2	LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Spiked/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%
MG	Fish	0.996 0	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	99.7, 96.3, 112, 104	5.5, 3.3, 4.9, 4.6
	Shrimp	0.999 4	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	88.4, 80.9, 103, 92.6	2.9, 4.0, 5.6, 5.7
LMG	Fish	0.999 4	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	91.9, 93.2, 97.2, 92.5	5.3, 1.3, 3.0, 2.0
	Shrimp	0.999 7	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	91.9, 101, 97.8, 97.5	5.4, 2.9, 3.3, 0.80
CV	Fish	0.998 0	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	94.4, 89.9, 89.4, 89.3	4.2, 4.9, 5.6, 4.7
	Shrimp	0.999 5	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	101, 103, 94.2, 96.9	2.3, 5.3, 4.1, 6.0
LCV	Fish	0.999 9	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	93.5, 90.7, 89.8, 87.3	4.4, 6.6, 1.3, 4.1
	Shrimp	0.999 9	0.2	0.5	0.5, 1, 5, 10	92.7, 91.4, 89.9, 89.3	2.4, 5.0, 2.1, 2.8
EV	Fish	0.999 9	0.5	1.0	1, 5, 10	91.2, 87.0, 83.8	5.4, 4.5, 4.8
	Shrimp	0.999 3	0.5	1.0	1, 5, 10	91.6, 87.4, 86.1	5.4, 4.6, 6.3

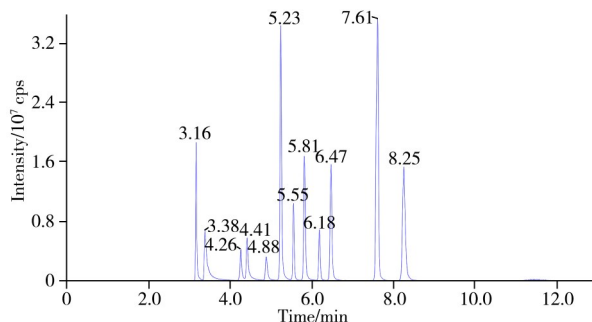


图 1 最优条件下 14 种目标化合物的总离子流(TIC)图(5 μg/L)

Fig. 1 TIC chromatogram of 14 target compounds under optimal conditions(5 μg/L)

(续表 2)

Compound	Sample	r^2	LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Spiked/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%
AB	Fish	0.998 9	0.5	1.0	1, 5, 10	84.7, 85.6, 89.0	5.5, 5.4, 4.5
	Shrimp	0.998 2	0.5	1.0	1, 5, 10	98.0, 85.3, 87.5	5.0, 2.9, 3.4
MB	Fish	0.998 1	0.5	1.0	1, 5, 10	78.3, 99.5, 76.0	5.8, 2.3, 3.9
	Shrimp	0.999 3	0.5	1.0	1, 5, 10	77.6, 91.1, 72.6	6.4, 4.5, 4.7
NMB	Fish	0.999 9	0.5	1.0	1, 5, 10	90.9, 89.5, 88.1	4.4, 3.3, 4.2
	Shrimp	0.999 5	0.5	1.0	1, 5, 10	94.2, 88.0, 87.7	3.2, 3.3, 2.0
NBA	Fish	0.999 3	0.5	1.0	1, 5, 10	88.9, 91.6, 88.8	4.2, 2.1, 5.2
	Shrimp	0.999 8	0.5	1.0	1, 5, 10	90.9, 93.3, 93.3	2.5, 2.6, 1.4
VR	Fish	0.999 8	0.5	1.0	1, 5, 10	95.2, 94.7, 89.3	5.8, 2.5, 4.0
	Shrimp	0.999 9	0.5	1.0	1, 5, 10	93.9, 101, 100	4.4, 4.8, 4.8
VB	Fish	0.999 8	0.5	1.0	1, 5, 10	85.4, 88.2, 81.3	4.8, 3.7, 4.1
	Shrimp	0.999 8	0.5	1.0	1, 5, 10	89.2, 89.2, 90.0	2.4, 3.6, 5.1
VBO	Fish	0.996 5	0.5	1.0	1, 5, 10	102, 118, 111	4.6, 3.4, 5.0
	Shrimp	0.997 1	0.5	1.0	1, 5, 10	96.1, 106, 99.5	3.5, 4.8, 6.5
RB	Fish	0.999 1	0.5	1.0	1, 5, 10	91.7, 92.3, 84.0	4.4, 2.9, 3.5
	Shrimp	0.999 3	0.5	1.0	1, 5, 10	104, 95.8, 91.5	4.9, 3.9, 5.6
R6G	Fish	0.997 2	0.5	1.0	1, 5, 10	92.6, 94.9, 88.2	8.8, 4.1, 3.5
	Shrimp	0.999 5	0.5	1.0	1, 5, 10	98.3, 96.0, 94.4	6.7, 5.8, 5.9

2.3.2 准确度与精密度 将混合标准溶液添加到空白样品中, 配制 3 个浓度水平(1、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 进行加标回收实验($n=6$), 以评估方法的准确度(回收率)和精密度(相对标准偏差, RSD)。由表 2 可见, 3 个加标水平下鱼基质中的平均回收率为 76.0%~118%, RSD 为 1.3%~8.8%; 虾基质中的平均回收率为 72.6%~106%, RSD 为 0.80%~6.7%。

2.4 实际样品测定

采用本方法检测 30 批市售水产品(15 批鱼, 15 批虾), 有 1 批样品检出染料 MB(见图 2), 检出量为 1.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 检出样品为黄颡鱼。黄颡鱼在养殖过程中极易感染细菌性出血性水肿病(俗称“红头病”)和“小瓜虫病”, MB 因其良好的渗透性和对原生动物的杀灭作用, 常被违规用作孔雀石绿的替代药物。但 MB 及其代谢物具有亲脂性, 在富含脂质的黄颡鱼体内代谢消除速率较慢, 易形成残留风险。此外, 活鱼在捕捞、分拣和运输过程中, 鱼体极易因机械损伤而感染水霉病或细菌性疾病, 在运输过程中添加 MB, 可起到防腐、保活、维持品相的目的。这种短期、低浓度的“非治疗性”使用, 可能是 MB 低浓度残留检出的主要原因。所有样品中均未检出 MG 或 LMG 残留, 表明针对孔雀石绿的严格监管和监测在遏制其使用方面是有效的。

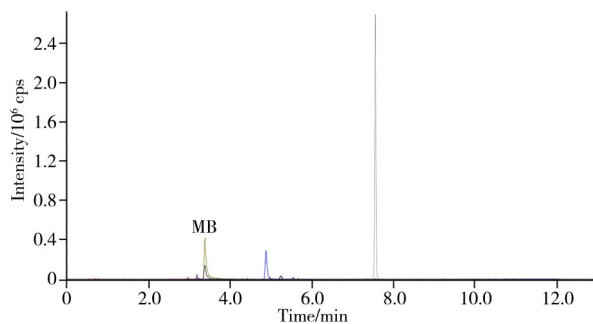


图 2 检出样品的 MRM 图

Fig. 2 MRM chromatogram of the detected sample

3 结 论

本研究建立了一种简单、快速、稳健的改良 QuEChERS/UPLC-MS/MS 方法, 用于水产品中孔雀石绿等 14 种有机染料的高通量筛查和定量分析。采用乙腈和中性氧化铝进行单步提取和净化的前处理方法, 与传统的 SPE 方法相比, 显著减少了样品制备时间和溶剂消耗。在优化实验条件下, 14 种有机染料在 0.2~10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内具有良好的线性关系, 孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫和隐色结晶紫的检出限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量下限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其余 10 种染料的检出限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量下限为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 样品加标回收率为 72.6%~118%, RSD 为 0.80~8.8%。实际样品检测表明, 水产品中存在有机染料污染的潜在风险。本方法可用于水产品中 14 种有机染料的日常检测和风险监督。

参考文献:

- [1] Imtiaz A, Shagufta I, Shabihul F S. *Front. Aquac.*, **2025**, 4: 1-28.
- [2] Shi Z, Li W T, Zhang R Y, Ou L H, Liang M J, Zhao L. *J. Food Saf. Qual.* (师真, 李文廷, 张瑞雨, 欧利华, 梁孟军, 赵丽. 食品安全质量检测学报), **2020**, 11(9): 2861-2865.

- [3] Hasan R, Hasan M M, Shathi J H, Tamam E, Ahmed A E, Haque A, Rahman Z, Islam M T, Reza M A, Biswas M S, Hoque K M F. *Toxicol. Lett.*, **2025**, 409: 61-73.
- [4] Barani A, Tajik H. *Int. J. Food Prop.*, **2017**, 20(S1): S580-S585.
- [5] Gharavi-Nakhjavani M S, Niazi A, Hosseini H, Aminzare M, Dizaji R, Tajdar-Oranj B, MirzaAlizadeh A. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **2023**, 30(17): 48911-48927.
- [6] Ministry of Agriculture. No. 250 Bulletin of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China(农业部. 中华人民共和国农业部公告第 250 号). [2019-12-27]. https://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202001/t20200106_6334375.htm.
- [7] Tim R, Claude B, Caroline G, Joris V L. *J. Chromatogr. B*, **2014**, (953/954): 92-101.
- [8] Yu W Y, Huang D M, Shi Y F, Kong C, Tian L L, Han F, Zhang Z Q. *J. Instrum. Anal.* (余玮玥, 黄冬梅, 史永富, 孔聪, 田良良, 韩峰, 张政权. 分析测试学报), **2019**, 38(1): 58-63.
- [9] Burridge L, Weis J S, Cabello F, Pizarro J, Bostick K. *Aquaculture*, **2010**, (306): 7-23.
- [10] Bhat R, Sareen S(Eds.). Guidelines for Risk Categorization of Food and Food Establishments Applicable to ASEAN Countries. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, **2011**.
- [11] Tkaczyk-Wliziło A, Mitrowska K. *Heliyon*, **2022**, 8(4): e09331.
- [12] Sun L J, Li H Q, Cai R B, Zhuang J Y, Tang Q Q, Tang Y Y, Zhong J, Huang W. *J. Instrum. Anal.* (孙良娟, 李红权, 蔡润斌, 庄姜云, 唐庆强, 唐媛媛, 钟键, 黄武. 分析测试学报), **2023**, 42(1): 89-95.
- [13] Zeng S Y, Pu H, Xia S J, Wang K. *J. Food Saf. Qual.* (曾思瑜, 蒲红, 夏苏捷, 王柯. 食品安全质量检测学报), **2018**, 9(5): 1122-1129.
- [14] Hou J B, Xie W, Zhu Z L, Zeng G N, Lü C H, He J M. *Phys. Test. Chem. Anal.: Chem. Anal.* (侯建波, 谢文, 祝泽龙, 曾淦宁, 吕春华, 何建敏. 理化检验-化学分册), **2015**, 51(3): 403-408.
- [15] Gao H G, Du S, Wang R Y, Chen L. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (高何刚, 杜赛, 王若燕, 陈理. 中国卫生检验杂志), **2021**, 31(3): 276-279.
- [16] Tang Y X, Bai Y M. *J. Instrum. Anal.* (唐亚熙, 白亚敏. 分析测试学报), **2025**, 44(5): 868-875.
- [17] Li S, Liu Y J, Jiang D, Liu M Y, Ding J, Zhao F, Liu Y, Hu X, Mao X Q, Zhao Q C. *Food Anal. Methods*, **2024**, 17(6): 797-811.
- [18] Zhu C Y, Wei J, Dong X F, Guo Z M, Liu M Y, Liang X M. *Chin. J. Chromatogr.* (朱程云, 魏杰, 董雪芳, 郭志谋, 刘名扬, 梁鑫淼. 色谱), **2014**, 32(4): 419-425.
- [19] Yuan T T, Liang J W, Zhong C L, Jiang X Y. *J. Food Saf. Qual.* (苑婷婷, 梁景文, 钟彩丽, 姜学涯. 食品安全质量检测学报), **2019**, 10(17): 5628-5635.
- [20] Gong X M, Hua M M, Wang H T, Wang B J, Ma R H. *J. Instrum. Anal.* (宫小明, 华萌萌, 王洪涛, 王炳军, 马荣桢. 分析测试学报), **2017**, 36(7): 897-901.
- [21] Liang R J, Li X J, Liang G X, Wang H, Meng L Q. *Chem. Eng. Manage.* (梁任佳, 李学劲, 梁光纤, 王华, 蒙丽琼. 化工管理), **2020**, 21(7): 40-42.
- [22] Cui J, Yang H S, Zhang J H, Wu G H. *Fish. Sci. South China* (崔瑾, 杨洪生, 章建浩, 吴光红. 南方水产科学), **2013**, 9(3): 67-73.
- [23] Wan C B, Wan J C, Luo Q H, Zhan C R. *J. Nanchang Univ.: Nat. Sci.* (万承波, 万建春, 罗秋红, 占春瑞. 南昌大学学报: 理科版), **2020**, 44(6): 579-584.
- [24] GB/T 19857-2005. Determination of Malachite Green and Crystal Violet Residues in Aquatic Product. National Standards of the People's Republic of China(水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定. 中华人民共和国国家标准).
- [25] GB/T 20361-2006. Determination of Malachite Green and Gentian Violet Residues in Fishery Products-High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector. National Standards of the People's Republic of China(水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 高效液相色谱荧光检测法. 中华人民共和国国家标准).

(责任编辑: 丁 岩)