

水产品中孔雀石绿和结晶紫残留检测技术的 研究进展

刘名扬^{1,2*}, 肖珊珊¹, 于兵¹, 杨春光¹, 赵景红¹, 金雁¹, 朱程云²

(1. 辽宁出入境检验检疫局, 大连 116001; 2. 大连交通大学环境与化工学院, 大连 116028)

摘要: 三苯甲烷类染料孔雀石绿和结晶紫因具有抗菌等活性, 常被违法用于水产养殖业。但孔雀石绿、结晶紫及其代谢产物隐性孔雀石绿、隐性结晶紫均具有致癌性, 所以水产品中这4种碱性染料的残留检测是食品安全分析的重要问题之一。本文就孔雀石绿、结晶紫及其代谢物的化学性质、危害性、使用状况、现有的前处理方法和仪器分析方法等进行了综述。由于水产品基质复杂, 样品前处理尤为重要。基于固相萃取技术、QuEChERS技术的高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法等方法, 适合于水产品中孔雀石绿和结晶紫及其代谢物的快速同时检测, 在实际检测中得到广泛应用。同位素稀释质谱法和混合模式色谱法等新型检测技术与新型净化材料将是检测孔雀石绿和结晶紫的发展新方向。

关键词: 水产品; 孔雀石绿; 隐性孔雀石绿; 结晶紫; 隐性结晶紫; 检测技术

Research progress of the residue determination of triphenylmethane dyes in aquatic product

LIU Ming-Yang^{1,2*}, XIAO Shan-Shan¹, YU Bing¹, YANG Chun-Guang¹,
ZHAO Jing-Hong¹, JIN Yan¹, ZHU Cheng-Yun²

(1. Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China;

2. College of Environment and Chemical Engineering, Dalian Jiaotong University, Dalian 116028, China)

ABSTRACT: Triphenylmethane dyes malachite green (MG) and crystal violet (CV) have been used as antimicrobial, antiparasitic and antiseptic agents in aquaculture. However, MG and CV as well as their metabolites leucomalachite green (LMG) and leucocrystal violet (LCV) are potential mutagen and carcinogen. In this paper, chemical properties, harmfulness, utilization, pretreatment methods and instrument analysis method of MG, CV and their metabolites were reviewed. Considering the complexity of aquatic products, sample pretreatment was significant for improving matrix interference and increasing detection sensitivity. Combined with solid phase extraction technology and QuEChERS technology, high performance liquid chromatography method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry method were suitable for the rapid determination of MG, CV and their metabolites in aquatic products. The new detection technologies, such as isotope dilution mass spectrometry and mixed-mode chromatography, and new materials, would be the new direction of the detection of MG and CV.

KEY WORDS: aquatic product; malachite green; leucomalachite green; crystal violet; leucocrystal violet; analysis technology

*通讯作者: 刘名扬, 博士, 研究员, 主要研究方向为化学仪器分析。E-mail: liumy@mail.tsinghua.edu.cn.

*Corresponding author: LIU Ming-Yang, PhD, Research Fellow, Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, 60 Changjiang East Road, Dalian 116001, Liaoning Province, China. E-mail: liumy@mail.tsinghua.edu.cn

1 引言

兽药残留是指在动物源食品中, 兽药、包括其代谢产物和与兽药相关的杂质在动物源食品内残留的现象^[1]。在动物源食品中导致兽药残留量超标的兽药主要有抗生素(包括 β -内酰胺类、氨基糖苷类、四环素类、大环内酯类等)、喹啉类、磺胺类、抗寄生虫类和激素类药物等。食物中的兽药残留不但对人类健康造成危害, 导致中毒、致癌、致畸、致突变, 还可以造成环境的污染。同时, 还会严重影响我国动物源产品的出口贸易, 进而影响我国在国际贸易中的形象和地位。为保护人类健康, 美国、欧盟、中国、韩国、日本等国家和组织都已对各种兽药在动物组织中的最高残留限量(maximum residue limits, MRLs)制定了相应的标准, 同时还不断对此类标准进行补充和完善。兽药残留的检测对象包括药物原型、药物在动物体内的代谢物和与药物所伴生的相关杂质等。

孔雀石绿(malachite green, MG)和结晶紫(crystal violet, CV)是人工合成的三苯甲烷类碱性工业染料, 曾经被用作抗菌药在水产养殖业中广泛使用, 而国内外对其残留的检测研究日益受到关注。1990年起, 国内外研究者陆续研究发现, 孔雀石绿和隐色孔雀石绿在水产品和环境中残留时间长, 其化学官能团“三苯甲烷(triphenylmethane)”被确认有高毒、高残留、致癌、致畸、致突变(三致)等毒副作用, 同时, 含有孔雀石绿和结晶紫的废水排放会污染水环境。美国、加拿大、日本、欧美等国家或组织都将其列为水产养殖禁用兽药, 我国于2002年5月将孔雀石绿列为禁用兽药。

但由于孔雀石绿和结晶紫的抗菌效果好、价格低廉, 对其毒副作用的宣传力度不够等原因, 在水产养殖中仍有违规的情况, 这对人们身体健康和我国鱼类等水产品的出口贸易产生了不良的影响^[1-5]。2001年以来, 我国水产品出口因孔雀石绿超标致使出口屡屡受阻, 2006年上海市场的多宝鱼和香港市场的桂花鱼相继检出孔雀石绿, 引起轰动。因此, 鱼类等水产品中孔雀石绿和结晶紫残留检测具有十分重要的意义。

2 研究现状

2.1 研究背景

孔雀石绿(MG)化学名为四甲基代二氨基三苯甲烷, 别名中国绿、苯胺绿, 分子式为 $C_{23}H_{25}ClN_2$, 结构式见图1-A。MG为具有金属光泽的绿色晶体, 易溶于水, 在工业中用于丝绸、皮革和纸张的染色剂, 也可用作生物染色剂; 同时MG具有杀菌作用。MG可以多种形式存在, 主要以草酸盐或盐酸盐的形式存在。结晶紫(CV)又称六甲基紫, 分子式为 $C_{25}H_{30}ClN_3$, 结构式见图1-C。CV为暗绿色粉末或带有青铜色光泽的片状晶体, 溶于水, 用作酸碱指示剂、生物染色剂、工业染色剂, 具有杀菌作用。自1936年以来, 许多国家就将MG和CV作为杀虫剂和杀菌剂广泛用于水产养殖业中, 用来杀灭体外寄生虫和鱼卵中的霉菌。在我国曾经被用于欧洲鳗、甲鱼、河蟹、罗非鱼等病虫害防治, 可治疗鱼类或鱼卵的寄生虫、真菌或细菌感染, 常用于受寄生虫影响的淡水养殖中, 对海产动物具有高毒性、高残留等不良反应。

MG和CV进入水生动物体内后, 迅速代谢成脂溶性的隐色孔雀石绿^[6](leucomalachite green, LMG)和隐色结晶紫^[7](leucocrystal violet, LCV), 并在组织中蓄积, 因此在水产品中检测到的残留物主要是隐色孔雀石绿和隐色结晶紫。如MG在鲫鱼体内大约10d能消除, 而LMG在30d时仍有 $17.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的残留^[8]。CV在鳗鲡体内用药后336h即检测不到, 而LCV用药3h后即可检测到, 第56天时仍有 $19.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7]。两种代谢产物与MG和CV相似, 同样含有三苯甲烷基团, 具有“三致”作用。由于脂溶性好、动物组织中残留时间长, LMG和LCV对人体危害更大, 检测MG、CV时应同时检测LMG和LCV, 能更准确的反应药物残留情况。欧盟法案2002/675/EC规定^[9], 动物源性食品中孔雀石绿和无色孔雀石绿残留总量限制为 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.2 样品的提取与净化技术

由于鱼类等水产品中基质的复杂性, 降低或消除基质干扰等样品前处理手段是改善检测灵敏度的重要研究领

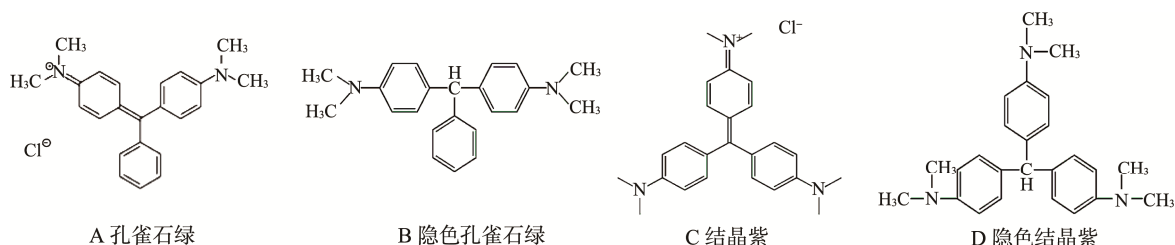


图1 孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫和隐色结晶紫结构式

Fig. 1 Chemical structures of malachite green, leucomalachite green, crystal violet and leucocrystal violet
A: malachite green; B: leucomalachite green; C: crystal violet; D: leucocrystal violet

域之一。目前, 关于样品的前处理报道^[10-15]有很多。液液萃取是一种传统的提取方法, 该方法具有操作简单、但是有机溶剂消耗量较大、净化时针对性较差, 往往与其他净化手段相结合。Stubbings 等^[16]采用 10 mL 柠檬酸缓冲液(pH 4.0)与 50 mL 乙腈均质提取鱼组织, 分离上清液, 经氯化钠和二氯甲烷净化后减压浓缩, 乙腈-乙酸(95:5)溶解残渣, 过强阳离子交换柱(strong cation exchanger, SCX)净化。液液微萃取技术用于水体中痕量 MG 的检测也有报道^[17]。

固相萃取法(solid phase extraction, SPE)具有回收率和富集倍数高、有机溶剂用量少、对环境友好、无相分离操作、易于收集组分、能处理小体积试样、操作简单和易于实现自动化等优点, 在农兽药残留分析中有着广泛的应用, 多变的填料结合适当的溶液条件, 适用于不同化学性质的农兽药提取和净化。Chen 等^[11]采用 3 mL 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(pH 3.0)与 25 mL 乙腈处理 5 g 鲟鱼组织, 同时加入 1 mol/L 对甲苯磺酸溶液和 1 mg/mL 四甲基苯二胺溶液各 100 μ L, 涡旋提取, 再加入氯化钠分离, 取乙腈层过混合阳离子交换柱(mixed-mode cation exchanger, MCX)净化。缓冲盐-乙腈溶剂体系与对甲苯磺酸共同作用, 促进蛋白质变性从而释放出 LC、CV 及其代谢物, 四甲基苯二胺则防止待测物去甲基化。邓建朝等^[18]将水样中的孔雀石绿用硼氢化钾还原为隐色孔雀石绿, 通过 MCX 固相萃取柱富集、净化后用 0.25 mol/L 乙酸铵-甲醇溶液洗脱, 供测定。

分子印迹技术(molecular imprinted technique, MIT)是为获得在空间结构和结合位点上某一分子完全匹配的聚合物的实验制备技术, 是结合高分子化学、生物学等学科发展起来的一门边缘学科。1942 年 Dickey 首次提出“分子印迹”概念, 直到 1972 年分子印迹聚合物首次人工合成后, 这项技术才逐渐为人们认识, 并与近十年内得到飞速发展。分子印迹聚合物(molecular imprinted polymer, MIP)可在分子水平上对物质进行选择识别, 类似于酶和底物、抗体和抗原的关系, 对特定分子具有特异的选择性, 且具有生物活性物质无法比拟的稳定性, 对加热、有机溶剂及强酸强碱等稳定等优点。分子印迹固相萃取(molecularly imprinted solid phase extraction, MISPE)已成为固相萃取研究的热点之一。Lian 等^[19]采用孔雀石绿作为模板分子、甲基丙烯酸为功能单体、二甲基丙烯酸乙二醇酯为交联单体, 合成分子印迹聚合物, 反应物加入 2,2-偶氮异丁腈后放入液氮中使之固化。生成的聚合物粉碎过筛, 用丙酮洗净, 以 5%乙酸的甲醇溶液洗脱去除净聚合物中的孔雀石绿分子, 甲醇清洗后于室温真空干燥, 即可装填制成 SPE 柱。使用前依次用水和甲醇预洗, 上样后甲醇-水(70 : 30)淋洗, 5%乙酸甲醇溶液洗脱。实验分析了海水和海产品中的孔雀石绿。Li 等^[20]采用同样的材料合成了孔雀石绿分子印迹聚合物, 分析了自来水、鱼塘水和观赏鱼池水中的孔雀石绿、隐色孔雀石绿和结晶紫成分。分子印迹固相萃取极大提高

了固相萃取的选择性, 简化了样品前处理, 但该技术仍不完善, 如其容量不够大、富集倍数不够高; 识别能力受上样溶剂的影响较大, 在水溶液中选择性较差; 结合位点的非均一性和低的传质效率阻碍萃取效率和选择性的提高; 分子印迹萃取剂的种类有限, 好多体系研究的是标准溶液等^[21], 该技术在实际应用中受到限制。

QuEChERS 是“快速(quick)、简单(easy)、廉价(cheap)、高效(effective)、耐受(rugged)、安全(safe)”这几组词的首字母组合。QuEChERS 技术是一种兼具上述特性且已被普遍认同的一种样品前处理技术。QuEChERS 技术目前常用于疏水性农药残留检测以及兽药残留检测的前处理制备^[22-25]。QuEChERS 方法可简单归纳为 4 步: ①单一的乙腈缓冲液浸提样品; ②加入 $MgSO_4$ 等盐类除水, 乙腈层分离; ③加入乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)等吸附剂除杂; ④分离上清液进行气相色谱(GC)、气质联用(GC-MS)、液相色谱(LC)和液质联用(LC-MS)检测分析。Zhu 等^[26]对比发现, 使用经典 QuEChERS 提取孔雀石绿、结晶紫及其代谢物时, 以常规的 C_{18} 和 C_{18} 混合 PSA 作吸附剂条件下, 4 种待测物的回收率范围分别为 73.6%~87.7%和 40.6%~83.7%, C_{18} 对待测物仍存在吸附现象。针对这一现象, 研制出一种新型的 C_{18} 强阴离子交换材料作为 QuEChERS 法的吸附, MG 与 CV 的回收率由 86.8%和 84.8%提升至 101.4% 和 102.2%, LMG 与 LCV 回收率也略有提高。鱼组织中四种化合物的回收率范围为 88.6%~110.6%。

免疫亲和色谱(immunoaffinity chromatography, IAC)是利用生物体内存在的抗原、抗体之间高度特异性的亲和力进行分离的方法, 可从复杂的样品中提取目标化合物。Xie 等^[27]采用乙腈-乙酸铵缓冲液提取鱼组织中的 MG、CV 及其代谢物, 在二氯二苯基苯醌的氧化作用下 LMG 和 LCV 转化成有色的 MG 和 CV, 加入磷酸盐缓冲液稀释后, 过免疫亲和固相萃取柱净化。SPE 柱依次用水和乙腈淋洗, 氯化铵溶液(0.1 mol/L, pH 4.5)洗脱。该方法在鱼组织中 0.5~10.0 ng/g 添加水平的回收率为 71.6%~96.8%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 5.1%~12.3%。

现行 MG 与 CV 检测的相关标准, 多是液液萃取与固相萃取相结合, 通常采用盐酸羟胺和对-甲苯磺酸辅助、乙腈-乙酸铵缓冲液提取, 二氯甲烷萃取, 酸性氧化铝小柱或中性氧化铝小柱净化^[28-31]。对于加工水产品, 为提高净化效果, 中性氧化铝小柱与阳离子交换柱串接使用^[29]。也有标准采用试剂盒法提取, 商品化的提取剂使提取过程变得更加简单、快速、易于操作^[32]。

2.3 仪器分析方法的进展

水产品中 MG、CV、LMG 和 LCV 等染料分析的方法多种多样, 按照分离检测的原理, 大致可以分为理化分析方法和生物化学方法, 这两大类方法又包含了许多具体的

分析方法^[33]。

Xu 等^[34]采用直接竞争酶联免疫法(direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay, dc-ELISA)测定水产品中的 MG、CVL、LMG 和 LCV4 种化合物在 0.15~0.45 ng/mL 范围内线性关系良好,在鱼肉组织中的检出限均为 0.37 μg/kg, 0.5 μg/kg 和 2.0 μg/kg 水平的平均回收率分别为 74.6%和 87.5%。Shen 等^[35]采用间接竞争酶联免疫吸附法(indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay, ic-ELISA)测定鱼肉中的亮绿、孔雀石绿和结晶紫,线性范围为 1.83~200.00 ng/mL,平均回收率为 74.9%~110.4%。酶联免疫吸附法等生物学方法需要对样品进行衍生修饰等步骤,过程较为繁琐。因此,理化分析方法占分析方法的绝大多数。目前,电化学法^[36]、电化学发光法^[37]、毛细管电泳法^[38]均有报道用于鱼类等水产品中染料的检测,但针对多残留检测,应用最广泛、最有效的分析方法还是高效液相色谱法^[16,17,26,28-31,39-42]以及高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS)^[11,18,26,29,30,32,43-45]。

MG 与 CV 的 HPLC 法检测都采用紫外检测器或荧光检测器,这取决于 MG 与 CV 的形态。有的方法是使用氧化剂将提取液中的 LMG 和 LCV 氧化成有紫外吸收的 MG 和 CV^[27],或柱后加 PbO₂ 氧化^[29-31],紫外检测器 618 nm(MG)、588 nm(CV)检测,或单波长 588 nm 检测。实验研究显示,柱后 PbO₂ 氧化效率大于 99.3%,几乎不会影响 LMG 的测定^[40]。此类方法 MG、CV、LMG、LCV 检测限(limit of detection, LOD)一般为 2 μg/kg,最低可分别达 0.15、0.1、0.18 和 0.14 μg/kg^[27]。有的方法在提取过程中将 MG 和 CV 用还原剂硼氢化钾还原为具有荧光的 LMG 和 LCV,荧光检测器检测,激发波长 265 nm,发射波长 360 nm^[18,28,41-46],其 MG 向 LMG 转化率可达 99%以上^[42,46]。此类方法 LOD 通常为 0.5 μg/kg。

高效液相色谱法-串联质谱法灵敏度高、专属性强,常用于 MG、CV 及其代谢物的液相色谱法、酶联免疫法的验证方法。

3 展 望

为应对现代分离分析越来越严苛的要求,人们对于 HPLC 自身的研究与改进也从未间断,其中发展色谱分离材料是分离科学研究的重要课题之一。其中混合模式色谱(mixed-mode chromatography, MMC)所代表的混合模式材料在对复杂样品进行分离选择时,表现了出较强的优势。MMC 是一类同时应用多种作用力使溶质在固定相上进行保留和分离的色谱模式,其最突出的特点就是在一次分离检测过程中,具有两种或两者以上的分离机制同时作用,同时可以依据样品的多个特性进行分离,因而样品的分离选择性可以显著提高^[47,48]。MMC 类型有多种多样,其中在固定相上键合上不同功能基团的色谱材料具有较好的分离

效果和重复性,将几种正交性较好的色谱模式进行混合,目前主要有如下几种混合色谱模式:反相和离子交换(reversed-phase liquid chromatography/ion-exchange chromatography, RPLC/IEC)、亲水和离子交换(hydrophilic interaction chromatography/ion-exchange chromatography, HILIC/IEC)、反相和亲水(reversed-phase liquid chromatography/ hydrophilic interaction chromatography, RPLC/HILIC)混合模式^[47,48]。

随着国内外水产品中 MG、CV、LMG 和 LCV 等碱性染料检测研究工作的发展,QuEChERS 等样品前处理技术日益受到关注,同位素稀释质谱法测定孔雀石绿工业碱性染料等新技术也引起了重视^[49],混合模式色谱在碱性染料检测中的应用也成为一个新的研究方向^[48]。新型 QuEChERS 样品前处理材料及混合模式色谱分离材料在实际样品检测中有待于推广。

参考文献

- [1] Arroyo D, Ortiz MC, Sarabia LA, *et al.* Determination and identification, according to European Union Decision 2002/657/EC, of malachite green and its metabolite in fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using an optimized extraction procedure and three-way calibration [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(29): 5472-5482.
- [2] Zhang Z, Zhou K, Bu YQ, *et al.* Determination of malachite green and crystal violet in environmental water using temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. *Anal Meth*, 2012, 4: 429-433.
- [3] Ascari J, Drac S, Santos FA, *et al.* Validation of an LC-MS/MS method for malachite green (MG), leucomalachite green (LMG), crystal violet (CV) and leucocrystal violet (LCV) residues in fish and shrimp [J]. *Food Addit Contam*, 2012, 29(4): 602-608.
- [4] Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM, *et al.* Multiresidue method for the triphenylmethane dyes in fish: Malachite green, crystal (gentian) violet, and brilliant green [J]. *Anal Chem Acta*, 2009, 637(1/2): 279-289.
- [5] Lee JB, Kim HY, Jang YM, *et al.* Determination of malachite green and crystal violet in processed fish products [J]. *Food Addit Contam*, 2010, 27(7): 953-961.
- [6] 翟毓秀, 郭莹莹, 耿霞, 等. 孔雀石绿的代谢机理及生物毒性研究进展 [J]. *中国海洋大学学报*, 2007, 37(1): 27-32.
Zhai YX, Guo YY, Geng X, *et al.* Advances in studies on metabolic mechanism and bio-toxicity of malachite green [J]. *Period Ocean Univ China*, 2007, 37(1): 27-32.
- [7] 蔡春平, 林岗, 刘正才, 等. 结晶紫在鳗鲡组织中的代谢和消除规律研究 [J]. *中国兽药杂志*, 2007, 41(4): 15-18.
Cai CP, Lin G, Liu ZC, *et al.* Studies on the metabolism and depletion principles of crystal violet in eel tissues [J]. *Chin J Vet Drug*, 2007, 41(4): 15-18.
- [8] 邱绪建, 林洪, 王联珠, 等. 孔雀石绿及其代谢物无色孔雀石绿在鲫鱼肌肉中的代谢规律 [J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2006, 36(5): 745-748.
Qiu XJ, Lin H, Wang LZ, *et al.* Study on metabolism of malachite green in crucian (*Carassius auratus*) muscle [J]. *Period Ocean Univ China*, 2006,

- 36(5): 745–748.
- [9] Commission Decision 2002/267/EC. Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results [S]. The Commission of European Communities, 2002.
- [10] Gomez Perez ML, Romero-Gonzalez R, Martinez Vidal JL, *et al.* Analysis of veterinary drug residues in cheese by ultra-high-performance LC coupled to triple quadrupole MS/MS [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36: 1223–1230.
- [11] Chen G, Miao S. HPLC determination and MS confirmation of malachite green, gentian violet, and their leuco metabolite residues in channel catfish muscle [J]. *J Agr Food Chem*, 2010, 58: 7109–7114.
- [12] Tarbin JA, Chan D, Stubbings G, *et al.* Multiresidue determination of triarylmethane and phenothiazine dyes in fish tissues by LC-MS/MS [J]. *Anal Chem Acta*, 2008, 625: 188–194.
- [13] An L, Deng J, Zhou L, *et al.* Simultaneous spectrophotometric determination of trace amount of malachite green and crystal violet in water after cloud point extraction using partial least squares regression [J]. *J Hazardous Materials*, 2010, 175: 883–888.
- [14] Tsai CH, Lin JD, Lin CH, *et al.* Optimization of the separation of malachite green in water by capillary electrophoresis Raman spectroscopy (CE-RS) based on the stacking and sweeping modes [J]. *Talanta*, 2007, 72: 368–372.
- [15] Hurtaud-Pessel D, Couedor P, Verdon E. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of dye residues in aquaculture products: development and validation [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 1632–1645.
- [16] Stubbings G, Tarbin J, Cooper A, *et al.* A multi-residue cation-exchange clean up procedure for basic drugs in produce of animal origin [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 547: 262–268.
- [17] Maleki R, Farhadi K, Nikkhahi Y. Trace determination of malachite green in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection [J]. *Int J Environ Anal Chem*, 2012, 92(9): 1026–1035.
- [18] 邓建朝, 李来好, 杨贤庆, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定水体中的孔雀石绿[J]. *食品科学*, 2012, 33(14): 150–153.
Deng JC, Li LH, Yang XQ, *et al.* Determination of malachite green in water using solid phase extraction-high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Food Sci*, 2012, 33(14): 150–153.
- [19] Lian ZR, Wang JT. Molecularly imprinted polymer for selective extraction of malachite green from seawater and seafood coupled with high-performance liquid chromatographic determination method [J]. *Mar Pollut Bull*, 2012, 64: 2656–2662.
- [20] Li YH, Yang T, Qi XL, *et al.* Development of a group selective molecularly imprinted polymers based solid phase extraction of malachite green from fish water and fish feed samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 624: 317–325.
- [21] 蔡亚岐, 牟世芬. 分子印迹固相萃取及其应用[J]. *分析测试学报*, 2005, 24(5): 116–121.
Cai YQ, Mou SF. Advances in molecularly imprinted solid phase extraction. *Journal of instrumental analysis* [J]. *J Instrum Anal*, 2005, 24(5): 116–121.
- [22] Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, *et al.* Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 2548–2560.
- [23] Lee SW, Choi JH, Cho SK, *et al.* Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 4366–4377.
- [24] 王伟, 石志红, 康健, 等. 改进的 QuEChERS 结合 LC-MS/MS 同时测定蜂蜜中的 60 中兽药残留[J]. *分析实验室*, 2013, 32(4): 82–88.
Wang W, Shi Z, Kang J, *et al.* Simultaneous determination of 60 multi-residues of veterinary drugs in honey by modified QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2013, 32: 82–88.
- [25] Brondi SHG, De Souza GB, Nogueira ARA, *et al.* Development and validation of the QuEChERS method for determination of veterinary drug residues in buffalo milk and meat [J]. *Quim Nova*, 2013, 36(1): 153–158.
- [26] Zhu CY, Wei J, Dong XF, *et al.* Fast analysis of malachite green, leucomalachite green, crystal violet and leucocrystal violet in fish tissue based on a modified QuEChERS procedure [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(4): 419–425.
- [27] Xie J, Peng T, Chen DD, *et al.* Determination of malachite green, crystal violet and their leuco-metabolites in fish by HPLC-VIS detection after immunoaffinity column clean-up [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 913: 123–128.
- [28] GB/T 20361-2006 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[S].
GB/T 20361-2006 Determination of malachite green and gentian violet residues in fishery products-High performance liquid chromatography with fluorescence detector [S].
- [29] GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定[S].
GB/T 19857-2005 Determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic product [S].
- [30] NY/T 1756-2012 饲料中孔雀石绿的测定[S].
NY/T 1756-2012 Determination of malachite green in feeds [S].
- [31] SC/T 3021-2004 水产品中孔雀石绿残留量的测定-液相色谱法[S].
SC/T 3021-2004 Determination of malachite green residues in fishery products-High performance of liquid chromatography [S].
- [32] SN/T 1768-2006 水产品中孔雀石绿和结晶紫及其代谢物的快速测定方法[S].
SN/T 1768-2006 Determination of malachite, crystal violet and the corresponding leuco compounds in the aquatic products [S].
- [33] 熊春兰, 郭平, 占春瑞, 等. 高效液相色谱-串联质谱同时测定水产品中 8 类 38 种兽药残留[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2): 193–198.
Xiong CL, Guo P, Zhan CR, *et al.* Simultaneous determination of 8 kinds of 38 veterinary drug residues in aquatic products by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(2): 193–198.
- [34] Xu HY, Chen XL, Guo L, *et al.* Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of total malachite green and crystal violet residues in fishery products [J]. *Int J Environ Anal Chem*, 2013, 93(9): 959–969.
- [35] Shen YD, Deng XF, Xu ZL, *et al.* Simultaneous determination of malachite green, brilliant green and crystal violet in grass carp tissues by a broad-specificity indirect competitive enzyme-linked immunosorbent

- assay [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 707(1/2): 148–154.
- [36] Yi HC, Qu WY, Huang WS, *et al.* Electrochemical determination of malachite green using a multi-wall carbon nanotube modified glassy carbon electrode [J]. *Microchim Acta*, 2008, 160, 291–296.
- [37] Guo ZY, Gai PP, Hao TT, *et al.* Determination of malachite green residues in fish using a highly sensitive electrochemiluminescence method combined with molecularly imprinted solid phase extraction [J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59: 5257–5262.
- [38] Jiang TF, Lv ZH, Cui XY, *et al.* Analysis malachite green, gentian violet and their leuco metabolites in catfish and carp by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *J Food Drug Anal*, 2012, 20: 94–100.
- [39] 龙洲熊, 万春花, 胡海山, 等. 高效液相色谱快速测定水产品中孔雀石绿、结晶紫及其无色产物的残留量[J]. *理化检验: 化学分册*, 2010, 46: 368–370, 373.
- Long ZX, Wan CH, Hu HS, *et al.* Rapid HPLC determination of residues of malachite green crystal violet and their leuco-products in aquatic products [J]. *Phys Test Chem Anal: Chem*, 2010, 46: 368–370, 373.
- [40] 陈永平, 张素青, 李春青, 等. 高效液相色谱法测定水产品中孔雀石绿残留量方法的改进[J]. *动物医学进展*, 2011, 32(11): 80–84.
- Chen YP, Zhang SQ, Li CQ, *et al.* Improving method of determination of residual amounts of malachite green in fishery products by high performance liquid chromatography [J]. *Prog Vet Med*, 2011, 32: 80–84.
- [41] 王静, 杨洪生, 张美琴, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定水产品中孔雀石绿代谢物残留量[J]. *理化检验: 化学分册*, 2010, 46(6): 642–644, 647.
- Wang J, Yang HS, Zhang MQ, *et al.* Determination of residual amounts of malachite green and its metabolite in aquatic products by high performance liquid chromatography with fluorescence detector [J]. *Phys Test Chem Anal: Chem*, 2010, 46(6): 642–644, 647.
- [42] 孙满义, 杨贤庆, 李来好, 等. 养殖水体中孔雀石绿高效液相荧光检测法的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 513–516.
- Sun MY, Yang XQ, Li LH, *et al.* Study on determination of malachite green in aquatic water by HPLC with fluorescence detector [J]. *Food Sci*, 2008, 29(8): 513–516.
- [43] Halme K, Lindfors E, Peltonen K. *et al.* Determination of malachite green residues in rainbow trout muscle with liquid chromatography and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam*, 2004, 21(7): 641–648.
- [44] Bergwerff AA, Scherpenisse P. Determination of residues of malachite green in aquatic animals [J]. *J Chromatogr B*, 2003, 788: 351–359.
- [45] Tao YF, Chen DM, Chao XQ, *et al.* Simultaneous determination of malachite green, gentian violet and their leuco-metabolites in shrimp and salmon by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with accelerated solvent extraction and auto solid-phase clean-up [J]. *Food Control*, 2011, 22: 1246–1252.
- [46] 杨贤庆, 孙满义, 李来好, 等. 水产品中孔雀石绿高效液相荧光检测法的改良研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 526–529.
- Yang XQ, Sun MY, Li LH, *et al.* Improvement on determination of malachite green in fishery products by HPLC with fluorescence detector [J]. *Food Sci*, 2008, 29(8): 526–529.
- [47] 蔡晓明. 基于混合模式色谱的多肽与代谢小分子分离分析和制备方法研究[D]. 大连: 中国科学院大连化学物理研究所, 2011.
- Cai XM. Separation analysis and preparation method of peptide and small metabolism molecules based on mixed-mode chromatography [D]. Dalian: Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, 2011.
- [48] 朱程云. 混合模式色谱在碱性染料和酸性抗生素分离中的应用[D]. 大连: 大连交通大学, 2014.
- Zhu CY. Application of mixed-mode chromatography on the separation of basic dyes and acidic antibiotics [D]. Dalian: Dalian Jiaotong University, 2014.
- [49] 汤桦, 陈大舟, 张庆合, 等. 同位素稀释质谱法测定三文鱼中的孔雀石绿[J]. *化学通报*, 2008, 6: 408–414.
- Tang H, Chen DZ, Zhang QH, *et al.* Confirmatory analysis of malachite by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chemistry*, 2008, 6: 408–414.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



刘名扬, 研究员, 主要研究方向化学仪器分析。
E-mail: liumy@mail.tsinghua.edu.cn