

渔药残留检测技术比较分析及其研究进展

张 帅¹, 王晓洁^{1,2*}, 李 楠¹, 侯兰梅¹, 张恩宁³, 杨润亚¹

(1. 鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025; 2. 昊清生物科技有限公司, 烟台 264670; 3. 烟台山医院, 烟台 264000)

摘 要: 我国作为渔药生产使用的大国,存在渔药使用不规范、错用、乱用等现, 食品安全检测技术是食品质量保证和食品安全管理的重要基础。相对于其他食品的检测, 我国水产品安全检测的技术相对落后, 已建立起来的专门针对水产品质量检测的方法相对较少, 渔药残留现象日趋严重。目前应用于渔药残留的检测方法主要有色谱质谱技术、免疫分析、电化学分析、毛细管电泳和高分辨率质谱库筛查等。本文结合国内外的实际应用情况, 对以上检测技术从原理到在渔药残留检测中应用优势、不足及发展方向进行分析比较, 使其在渔药检测中有的放矢, 发挥更大的能量, 以期期为养殖企业和相关的研究检测部门, 针对不同的检测对象选择最合适的检测技术提供借鉴和帮助。

关键词: 渔药残留; 检测方法; 水产安全; 分析比较

Comparative analysis and research progress of the detection technology for fishery drug residue

ZHANG Shuai¹, WANG Xiao-Jie^{1,2*}, LI Nan¹, HOU Lan-Mei¹, ZHANG En-Ning³, YANG Run-Ya¹

(1. School of Life Sciences, Ludong University, Yantai 264025, China; 2. Yantai Hao Qing Biotechnology Co., Ltd., Yantai 264670, China; 3. Yantaishan Hospital, Yantai 264000, China)

ABSTRACT: As one of the biggest countries in terms of fish medicine production and application, China has to face the phenomenon of fish medicine being used nonstandardly, wrongly and arbitrarily, therefore, the food safety testing technology, which is a significant foundation for maintaining food quality and food safety management, is becoming more and more predominant. Compared with other food testing technologies, the aquatic production testing technologies in our country have fallen behind. Meanwhile, the established aquatic production testing technologies are relatively less. The tendency of the fish medicine residual is becoming more serious. At present, there are several methods applied in fish medicine residual testing including color mass spectrometer, immunoassay, electrochemical analysis, CE capillary electrophoresis and high-resolution mass spectrometer *etc.* Referring to domestic and foreign applied reality of the testing technologies mentioned above, this paper mainly made an analysis and comparison of the applied technologies' advantages, disadvantages and their development direction. The analysis and comparison aimed to make the testing technologies applied in reality more specially and efficiently, and also to provide technological reference and help for the breeding enterprises and relevant research testing department to choose the appropriate technologies according to various

基金项目: 烟台市科技发展计划项目(2012147、2013YD008)、山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2010NY003)

Fund: Supported by the Technology Development Program of Yantai City (2012147, 2013YD008) and Scientific Research Foundation for Outstanding Young Scientists of Shandong Province (BS2010NY003)

*通讯作者: 王晓洁, 博士, 教授, 主要研究方向为动物病害与防治。E-mail: wxj10304@126.com

*Corresponding author: WANG Xiao-Jie, Ph.D., Professor, Animal Disease Prevention and Control, Ludong University, Yantai 264025, China. E-mail: wxj10304@126.com

testing objects.

KEY WORDS: fishery drugs residue; detection method; safety of aquatic products; analysis and comparison

1 引言

药物防治是我国水产病害防治的主要措施之一^[1]。渔药残留已经对人类健康构成了直接或潜在的威胁,同时影响我国水产品的对外出口及水产养殖的可持续发展^[2]。我国的水产品渔药残留问题多年来一直存在。随着我国水产养殖集约化程度的不断提高,各种水产动物疾病均有大规模暴发。据统计,目前我国危害比较严重的水产养殖动物病害高达100多种^[3],水产动物疾病的增多,必然会增大渔民养殖用药的压力,加之用药的不规范,从而导致渔药残留现象日趋严重。目前我国常见的渔药残留有四类:消毒剂类(如五氯酚钠)、驱杀虫类(阿苯达唑、甲苯咪唑、敌百虫等)、抗微生物类(硝基呋喃类、酰胺醇类、四环素类、磺胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类等)、激素类(二苯乙烯类、类固醇类)^[4]。2006年在对多宝鱼的抽检当中,样品全部被检出含硝基呋喃类代谢物,部分样品被检出环丙沙星、氯霉素、红霉素等多种禁用渔药残留^[5]。2007年6月,美国食品药品监督管理局(FDA)称,部分从中国进口的水产品中发现了氟喹诺酮、氯霉素、硝基呋喃和恩诺沙星等抗生素、孔雀石绿和龙胆紫等禁止使用的药物,因而暂停从中国进口部分水产品^[6]。此外,世界许多国家对物源性食品中兽药的最大残留量(MRLs)做了规定,如美国食品药品监督管理局(FDA)和国际食品法典委员会(CAC)均要求最大残留量在 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级水平,这对我国的水产品出口提出了更严格的要求。我国水产品质量安全问题,已经威胁到人类的健康和养殖业的健康发展,而专业的水产品检测机构又相对较少^[7]。因此,加强企业自身的检测能力,提早检测渔药残留,从而采取相应措施,才能从根本上保证水产品安全并促进养殖业的健康发展。

基于色谱技术的检测方法准确、灵敏,但费时费力、前处理复杂、检测成本高,需要专业的技术操作,较难应用于批量检测^[8]。而免疫分析技术具有灵敏度高、快速、简单等优点,可以进行样品的批量检测,但是很难进行定量测定,而且容易有假阳性或假阴性结果的出现。针对不同的样品使用何种方法是我们想要分析比较的,以期为养殖企业和相关研究检测部门,针对不同的检测对象选择最合适的检测方法提供借鉴和帮助。

2 渔药残留检测技术的比较分析

目前能应用于食品中药物残留的检测方法主要有:色谱技术^[8](高效薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、色谱-质谱联用法等),免疫分析法(酶联免疫分析法、

荧光免疫分析法、化学发光免疫分析法、胶体金免疫测定法、免疫传感器、量子点免疫分析技术等),电化学法^[9]、毛细管电泳、高分辨率质谱库筛查。

2.1 色谱技术

色谱是一种快速、高效的分离技术,但不能对分离出的每个组分进行鉴定;质谱是一种重要的定性鉴定和结构分析的方法,具有高灵敏度、高效的定性分析能力,但没有分离能力,不能直接分析混合物。将二者结合起来的色谱-质谱联用技术,兼有色谱的高分辨率和质谱的高灵敏度,是生物样品中药物与代谢物定性定量的有效工具。

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)广泛使用了高灵敏检测器,大大提高了检测灵敏度,使其具有检测灵敏度较高、重复性好等优点。但由于动物体内成分复杂,因此样品的前处理需要谨慎,以提高检测的准确性和灵敏性。常用的样品前处理方法有液液萃取、固相萃取、浊点萃取、加速溶剂萃取、微波辅助萃取等。即便如此,由于样品的前处理需要经过提取、净化、浓缩、衍生化等复杂步骤,针对某些药物残留,HPLC法检出限仍不能达到国际上对水产品残留要求的最低限。目前,已建立HPLC检测方法的渔药残留物包括孔雀石绿($1.0\sim 500\ \mu\text{g}/\text{L}$)、磺胺类($0.01\sim 0.02\ \text{mg}/\text{kg}$)、喹乙醇($0.1060\ \mu\text{g}/\text{mL}\sim 10.60\ \mu\text{g}/\text{mL}$)、硝基呋喃($0.25\sim 2.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$)、四环素类($8\sim 4000\ \mu\text{g}/\text{L}$)、喹诺酮类($0.02\sim 2.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$)等^[10-18]。

气相色谱法(gas chromatography, GC)也是药物残留常用的检测方法,具有灵敏度高、分辨率高、分析时间短、定性分析可靠性强等优点。但是多数渔药和兽药一样,极性或者沸点偏高,需繁琐的衍生化步骤,因而限制了GC的应用^[19]。目前也有一些渔药建立起了气相色谱的检测方法,比较有代表性的检测参数有氯霉素、甲砒霉素、五氯苯酚及其钠盐、菊酯类、有机磷等。如崔晓明^[20]等用气相色谱法测定动物组织中盐酸克伦特罗残留量,最低检出限为最低检出限为 $1\ \mu\text{g}/\text{kg}$;洪振涛^[21]等对鱼、虾等动物组织样品中氯霉素的含量进行测定,用气相色谱法对氯霉素的检出限低于 $0.1\ \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $0.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$;水产品经正己烷提取,在经过净化、衍生化处理后,用气相色谱法测定五氯酚含量,五氯酚的质量浓度在 $100\ \mu\text{g}/\text{L}$ 以内与其峰面积呈线性关系^[22]。

色谱-质谱联用技术兼具定性、定量于一体。气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用技术始于20世纪五十年代后期,可同时测定样品中多种农药残留及衍生物,具有快速、微量、准确等优点。气相

色谱-质谱(GC-MS)可用于水产品中己烯雌酚、氨基甲酸酯类、氯霉素、多环芳烃、甲砒霉素等的检测。随着仪器的改进和技术的成熟,新药物残留的GC-MS检测方法不断被建立。2001年,Alaee等^[23]建立了应用GC-MS检测鱼肉中多溴联苯醚的方法,灵敏度可达0.1~4.8 pg;张秀珍^[24]等建立了同时检测水产品中辛酚、壬酚、双酚A、己烯雌酚、雌酮、17 甾雌二醇、17 α -乙炔雌二醇和雌三醇8种雌激素的GC-MS检测方法,该方法检出限为0.3~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$;覃东立等^[25]应用气相色谱-质谱法(GC-MS)对水产品中33种拟除虫菊酯进行同时测定,结果显示检测限为1.0~29.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)也逐步在生产中得到应用,其灵敏度可到ng/kg级。与高效液相色谱法、气相色谱法相比,高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)在水产品药物残留检测领域具有以下优势^[26]:①样品预处理过程简单,样品用量较少;②可同时测定多种组分,有利于实现多残留检测;③一般样品无需衍生化,简化了操作步骤;④检测灵敏度高,通常比其他检测器高10~100倍;⑤准确性高,现行水产品中药物残留检测的国家、行业标准方法有许多是高效液相色谱-串联质谱方法。目前研究涉及的残留物检测种类包括硝基咪唑代谢物(0.25~25 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、孔雀石绿及其代谢物(0.5~10.0 $\mu\text{g}/\text{L}$)、磺胺类及其增效剂(0.01~0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、固醇类残留(0.5~100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$)、苯并咪唑类(0.125~32 $\mu\text{g}/\text{g}$)、四环素类(5.0~100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$)等^[27-35]。但由于色谱-质谱仪器价格昂贵,阻碍了其推广使用。

2.2 免疫分析法

免疫分析法现已成为药物残留分析中最重要的分析技术之一。

2.2.1 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[36]

水产养殖中,酶联免疫吸附技术主要用于药物残留的检测^[37,38]。此技术经过几十年的发展,已有适于渔药残留检测的成品试剂盒,如已经产品化的磺胺类药物残留ELISA检测试剂盒、氯霉素残留ELISA检测试剂盒、喹诺酮类药物残留ELISA检测试剂盒、恩诺沙星快速检测试剂盒、硝基咪唑类检测试剂盒等。ELISA检测试剂盒特异性好、灵敏度高、结果准确、操作简单,并可以进行定量或半定量分析。但实际操作中由于渔药残留检测常取动物肌肉、内脏等组织进行,使得待测样品可能受到颜色干扰而产生假阳性或假阴性,比较适用于大批量样品的初步筛选。

2.2.2 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术(colloidal gold immunochromatography assay, GICA)是目前比较成熟,也是应用最广泛的免疫层析技术之一。其原理是以硝酸纤维

素膜为载体,利用微孔膜的毛细管作用,滴加在膜条一端的液体慢慢向另一端渗移,通过抗原抗体结合,并利用胶体金呈现颜色反应,检测抗原或抗体。竞争性免疫层析技术常用于水产品药物残留的检测。目前,已有相关文献对此进行报道,水产品中氯霉素、孔雀石绿、硝基咪唑代谢物、喹诺酮、甲基毒死蜱均可用此方法进行检测^[39,40]。目前,很多城区的质检站、水产品批发市场都建设了快速检测中心,运用商品化的胶体金免疫层析快速检测产品^[41,42]。胶体金免疫技术多为定性或半定量分析,而且此法影响因素较多:金颗粒的形状不规则或颗粒直径不均一,可导致金标扩散不完全、反应区底色过深、甚至出现假阳性;样品的添加量要相对充足,加样量过低会导致样品在试剂条上层析不充分而出现假阴性。胶体金产品使用方便、快捷,不需要专业技术人员,可用于药残检测的初筛和定性测定,但因其无法进行定量分析,大大限制了该技术的应用。在实际检测中,胶体金免疫法检出的阳性样品或有疑问的样品需要用色谱方法或色谱-质谱联用方法进行确证。

2.2.3 量子点免疫分析技术

量子点(quantum dots, QDs)是一类能在光激发后产生荧光的纳米半导体晶体材料^[43],主要是II-VI族或III-V族化合物,粒径为1~100 nm^[44]。量子点免疫分析技术是在免疫分析法中加入量子点作为示踪材料,通过量子点独特的荧光作为观测信号。利用量子点作为荧光探针,免疫标记层析法,可快速灵敏检测食品中药物残留。2009年,Chen等^[45]用量子点标记的羊抗鼠的immunoglobulin G(IgG)代替传统间接ELISA的酶标二抗,率先建立了基于量子点标记的竞争性荧光酶联免疫吸附法,实验结果显示用此法检测鸡肉中残留的恩诺沙星,灵敏度可提高10~100倍以上。近年来,研究者努力将量子点技术与免疫层析法进行结合。胡华军等^[46]在抗克伦罗特(CLE)多克隆抗体上标记量子点,并选用合适的标记物,研制出用于检测CLE的免疫层析试剂条,检测限度可达1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。Anna等^[47]利用硫代N-羟基琥珀酰亚胺和N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐的作用,将量子点与抗氯霉素单克隆抗体结合,并对实验条件进行优化,建立了牛奶中氯霉素的量子点标记免疫层析检测方法,此法同样适于水产品中氯霉素的检测。量子点免疫层析技术规避了传统免疫分析法的一些缺点,如酶免疫标记物容易失活;胶体金免疫层析在检测某些低浓度抗原或抗体样本时,胶体金的颜色很浅,很难用肉眼来判断结果。但是,量子点免疫层析技术依然不能对样品进行“定量”分析,这也是量子点免疫层析技术研究的必探之路。

2.3 电化学分析

电化学分析法可用于水产品中抗生素和违禁药物的检测。Caracia CD等^[48]应用电泳芯片脉冲安培法,对青霉素

和氨比西林进行检测, 检测限分别为 5 $\mu\text{mol/L}$ 和 350 $\mu\text{mol/L}$ 。易兰花等^[49]报道了用碳糊电极阳极吸附伏安法测定诺氟沙星的方法, 在 0.40 mol/L 的 $\text{NH}_4\text{OAc-HOAc}$ (pH4.51) 缓冲溶液中, 诺氟沙星检出限为 1.0×10^{-9} mol/L。

电化学与免疫学的结合, 为抗生素的检测提供了一种高灵敏的检测手段。Yang 等^[50]在玻碳电极表面将抗体蛋白用硅溶胶凝胶进行固定, 构建免标记的电化学阻抗分析方法, 此法可以对硝基咪唑类药抗生素氨基乙内酰胺进行高灵敏度检测, 检测限为 2 $\mu\text{g/L}$ 。另外, 该方法还能对虾、蟹等水产食品中氨基乙内酰胺进行快速、高灵敏检测。Thavarungkul 等^[51]采用在金电极表面功能化青霉素抗体的方式构建免标记电化学安培免疫分析方法, 并对新鲜牛奶中青霉素 G 进行检测, 检测限可达到 3×10^{-15} mol/L, 此检测下限已经远远低于欧盟对奶制品中青霉素 G 检测限量为 1.2×10^{-8} mol/L 的要求。与传统的仪器检测相比, 电化学方法具有仪器简单、分析速度快、检测灵敏度高优点。但是, 化学检测法容易受到其他组分的干扰, 影响电化学分析检测的特异性; 电化学与免疫学结合, 虽然能提高检测的特异性, 但抗体的生物活性的保持程度会影响电化学检测方法的稳定性和灵敏度。

2.4 毛细管电泳

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)具有以下优势: ①分离效率高, 毛细管两端可以加上高达 30 kV 的电压, 从而实现高效分离; ②分离速度快, 毛细管电泳的分析时间一般不超过 30 min, 芯片式毛细管电泳的分析速度只有数分钟甚至以秒计算; ③样品用量少, 毛细管的内径一般小于 100 μm , 进样体积可以达到纳升级别; ④毛细管电泳分离模式多, 如毛细管区带电泳、毛细管凝胶电泳、毛细管等电聚焦电泳等, 通过更换毛细管内缓冲液的种类、浓度、添加剂等条件即可实现分离模式的转变; ⑤商品化的仪器操作简单, 大部分可实现自动化。但毛细管电泳也存在某些缺点, 如灵敏度不如高效液相色谱法、选择性不高等。

目前利用毛细管电泳检测兽药残留主要包括抗生素类、合成抗菌药物、抗寄生虫类和生长促进剂等。Kowalski 等^[52]利用毛细管电泳连接紫外检测器成功分离出不同组织中的阿莫西林、强力霉素、链霉素、甲矾霉素、氟苯尼考、硝咪柳肼、恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星。张兰等^[53]通过优化电泳条件使水产品中的四环素、金霉素、土霉素、强力霉素和氯霉素在 25 min 内得到完全分离, 检测下限为 0.5~1.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 高分辨率质谱谱库筛查

近些年来, 随着我国对食品安全监管力度的加强, 一些不法分子开始使用结构略有差异但生物活性相似的新的同系物, 传统低效率的检测手段已经无法满足食品安全的新形势。随着质谱技术的发展, 通过质谱数据库的比对查

询来确认未知化合物变得相对简单易行。

现有商品化的质谱库包括美国国家标准研究所的 NIST 质谱库和 Wiley 质谱库, 目标样品经过一定的前处理后, 进行 GC-MS 分析, 再采用 NIST 数据库检索, 进行搜索比对, 系统根据质谱碎片的匹配度给出可能的定性结果。2007 年, 黎乾等^[54]基于 NIST 数据库基础的筛选和整合建立了涵盖 210 余种毒物的质谱数据库。该技术谱图覆盖面广、信息量大, 并适于不同制造商的 GC-MS 系统, 使用较为方便, 已被广泛应用食品安全领域。然而 NIST 质谱库和 Wiley 质谱库包括了很多极性化合物衍生物的谱图信息, 由于衍生步骤本身的不稳定性和局限性, 导致难挥发、强极性化合物的 GC-MS 筛查效果一直欠佳。不同公司的液相色谱-质谱仪(liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS)的质谱设计原理不同, 参数不同, 没有统一的质谱图, 因此目前还没有商品化的、统一的液相色谱质谱数据库。虽然许多仪器公司在软件开发时保留了用户自建谱库功能, 如田宏哲^[55]等建立了 50 余种农药 LC-MS/MS 质谱数据库, 通过所建立的未知组分定性方法对实际样品中的未知污染物进行快速筛选, 确认了实际样品中所残留的农药污染物。但这种筛查方法不能获得谱库中不包含的毒物信息, 容易造成遗漏, 具有很大的局限性。高分辨率质谱能够提供高准确度、高分辨率的全扫描数据, 有助于提高有毒物质筛查的准确性和特异性^[56], 可以得到化合物的元素组成和痕量成份在复杂背景中的筛查和确证。可为这类非目标化合物乃至未知物的分析提供有效的解决工具, 使分析物的种类被大大扩展。

高分辨质谱主要有飞行时间质谱(TOF-MS)、傅立叶变换离子回旋共振质谱(FTICR-MS)和静电场轨道阱质谱(Orbitrap MS)三种类型^[57]。液相色谱与高分辨质谱联用, 具有明显优势, 体现在: ①能够测定化合物精确分子量, 并且能够借助同位素离子的丰度比来推断化合物的元素组成; ②对样品的前处理要求低, 通过一级、二级谱库的筛选与匹配可对复杂基质中的痕量组分进行分析; ③对样品中多组分进行同时分析时, 不会损失灵敏度; ④无需设定待测物质的分子量信息, 能对非目标化合物进行检测。

多类药物的筛选方法在兽药残留分析中近年才逐渐兴起。Stolker 等^[58]利用 UHPLC-TOF-MS 建立了牛奶中 101 种化合物的定量筛选方法, 覆盖 12 类药物; Peters^[59]等用 HPLC-TOF-MS 方法对蛋、鱼、肉进行兽药多残留分析, 取得了理想效果, 在 4~400 $\mu\text{g/kg}$ 浓度范围内, 目标化合物的平均质量误差为 3 $\mu\text{g/g}$, 中值为 2.5 $\mu\text{g/g}$; Kaufmann^[60]等认为 UHPLC-TOF-MS 是兽药残留筛选的新手段, 并建立了检测尿液喹诺酮类、磺胺类、硝基咪唑类、头孢类、大环内酯类、苯并咪唑类、镇静剂类、四环素类以及孔雀石绿等几大类上百种药物的方法。在我国, 2012 年, 北京检验检疫局建立了 13000 种有毒有害化合物筛查谱库和 106 种重

点监测化合物的 HCD 高能质谱裂解谱库, 实际应用效果良好, 用精确质量数据库和谱图库检索的方式, 实现了不用标准品对照而完成对农药、兽药残留的快速筛查, 提高了定性鉴别的准确性。

3 渔药残留检测技术研究进展与展望

由于水产品的特殊性, 开发新技术、建立和完善水产品安全检测机制, 对保障水产品质量安全有着十分重要的意义。

色谱技术发展较早, 技术相对成熟, 目前仍是食品中药物残留的主要检测手段^[61], 具有灵敏度高、准确性好、重复性好等优点。但色谱技术不能满足水产品适时、高通量、便捷的检测要求。新型的免疫分析技术和电化学技术可以有效弥补仪器分析的缺点, 可以简便快速、批量对产品进行检测分析, 量子点标记技术可以提高检测的灵敏度, 且稳定性较好。但新型检测技术依旧不成熟, 在实际研究及应用过程中仍存在一些不足: 免疫分析检测过程中容易受到干扰而出现假阳性或假阴性; 电化学分析容易受到其他物质的干扰。

目前, 渔药残留主要是色谱技术和免疫分析相结合。随着新型功能材料、生物芯片、免疫学技术的发展, 寻求新的识别技术和生物相容性好的功能材料, 结合免疫分析技术, 进一步提高分析检测的灵敏度、特异性和稳定性; 另外, 将生物芯片技术和电化学技术相结合, 发展专门针对渔药残留的高通量检测技术。随着免疫分析技术和量子点技术的发展, 两者相结合的检测手段必将在渔药残留检测方面发挥重要作用, 进一步提高量子点抗体偶联产物的稳定性等也是量子点生物应用的重要研究方向之一。马义才^[62]等设计的量子点免疫层析试纸条定量检测系统, 利用光纤探头对试纸条进行自动扫描, 并对收集到的信号进行放大处理, 实现了样品的定量检测, 为渔药残留的快速定量分析奠定了基础。

高分辨率质谱谱库筛查是一种前景广阔的渔药残留检测技术, 能实现对位置药物的检测。目前, 还没有一个专业的、商业化的渔药质谱数据库, 渔药质谱信息大多包括在大型的综合化学数据库中, 各实验室和检验检疫局自己建立的质谱数据库大多未实现网络化。扩大筛选平台检测渔药的类别, 力争建立更加丰富、全面的渔药筛查平台是质谱谱库发展的必经之路。

参考文献

- [1] 杨先乐, 黄艳平. 我国渔药管理工作议(上), (下)[J]. 科学养鱼, 2002, (11): 41-42.
Yang XL, Huang YP. Discussion of fishery drugs administration in china (on), (next) [J]. Sci Fish Farm, 2002, (11): 41-42.
- [2] 黄艳平, 杨先乐, 温嘉, 等. 水产动物疾病控制的研究和进展[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(1): 60-66.
- [3] Hang YP, Yang XL, Zhan J, *et al.* Progress on research of disease control of aquatic animals [J]. J Shanghai Fish Univ, 2004, 13(1): 60-66.
- [3] 孟思妤, 孟长明, 陈昌福. 关于水产动物疾病防治中一些问题的思考(三)、(四)[J]. 渔业致富指南, 2009, (6): 61-62.
Meng SY, Meng CM, Chen CF. Thinking about some problems of aquatic animal disease prevention and control (Three)(Four) [J]. Fish Guide Rich, 2009, (6): 61-62.
- [4] 贺文辉. 常见渔药残留及其对人体的危害[J]. 黑龙江水产, 2012, (2): 19-21.
He WH. Common fishery drugs residue and its harm to human body [J]. Heilongjiang Fish, 2012, (2): 19-21.
- [5] 叶佳林. 多宝鱼事件的思考[J]. 中国水产, 2006, (12): 14-16.
Ye JL. Reflections on turbot events [J]. China Fish, 2006, (12): 14-16.
- [6] 任信林, 凌武海. 水产品质量安全存在问题及对策[J]. 水产养殖, 2011, 12: 48-50.
Rin XL, Ling WH. Aquatic product quality and safety problems and countermeasures [J]. J Aquac, 2011, 12: 48-50.
- [7] 李兆新, 冷凯良, 李健, 等. 我国渔药质量状况及水产品中渔药残留监控[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(2): 76-80.
Li ZX, Leng KL, Li J, *et al.* The quality of aquatic animal medicines and the supervision of medicine residues in aquatic products [J]. Marine Fish Res, 2001, 22(2): 76-80.
- [8] 唐英章. 现代食品安全检测技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
Tang YZ. Modern analysis technique of food safety [M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [9] 韩恩, 李霞, 周立娜, 等. 电化学方法在食品化学污染物快速检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(7): 1937-1941.
Han E, Li X, Zhou LN, *et al.* Recent advances on rapid detection of food chemical contaminants based on electrochemical methods [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(7): 1937-1941.
- [10] 龙洲雄, 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, 3(4): 368-370.
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]. Ptca(Part B: Chem Anal), 2010, 3(4): 368-370.
- [11] 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.
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]. Ptca (Part B: Chem Anal), 2010, 46(6): 642-644.
- [12] Gehring TA, Griffin B, Williams R, *et al.* Multiresidue determination of sulfonamides in edible catfish, shrimp and salmon tissues by high-performance liquid chromatography with post column derivatization and fluorescence detection [J]. J Chromatogr B, 2006, 840: 132-138.
- [13] Won S, Lee C, Chang H, *et al.* Monitoring of 14 sulfonamide antibiotic residues in marine products using HPLC-PDA and LC-MS/MS [J]. Food Control, 2011, 22(7): 1101-1107.
- [14] 徐维海, 林黎明, 朱校斌, 等. 水产品中14种磺胺类药物残留的HPLC法同时测定[J]. 分析测试学报[J]. 2004, 23(5): 122-124.
Xu WH, Lin LM, Zhu XB, *et al.* Simultaneous determination of 14

- sulfonamides residues in aquatic products by HPLC[J]. *J Instrum Anal*, 2004, 23(5): 122–124.
- [15] Wu Y, Yu H, Wang Y, *et al.* Development of a high-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of quinoxaline-2-carboxylic acid and methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid in animal tissues [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1146(1): 1–7.
- [16] 吕海涛, 陈峰, 姜悦. 高效液相色谱法测定四环素类抗生素中土霉素、强力霉素、四环素和金霉素[J]. *理化检验(化学分册)*, 2007, 43(1): 18–20.
- Lv HT, Chen F, Jiang Y. Determination of oxytetracycline, doxycycline, tetracycline and chlortetracycline in tetracycline antibiotics by HPLC[J]. *Ptca (Part B: Chem Anal)*, 2007, 43(1): 18–20.
- [17] 钱卓真, 苏秀华, 魏博娟, 等. 高效液相色谱法同时测定水产品中 6 种喹诺酮药物的残留[J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 185–189.
- Qian ZZ, Su XH, Wei BJ, *et al.* High performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of six quinolone residues in aquatic products [J]. *Food Sci*, 2010, 31(6): 185–189.
- [18] 王媛, 蔡友琼, 贾东芬, 等. 高效液相色谱法检测水产品中硝基呋喃类代谢物残留量[J]. *分析试验室*, 2009, 28(12): 86–90.
- Wang Y, Cai YQ, Jia DF, *et al.* Determination of nitrofurantol metabolite residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Lab*, 2009, 28(12): 86–90.
- [19] 李俊锁. 兽药残留分析研究进展[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(5): 81–87.
- Li JS. Development in analysis of veterinary drug residues[J]. *Sci Agric Sinica*, 1997, 30(5): 81–87.
- [20] 崔晓明, 谢成喜, 靳智. 固相萃取—气相色谱法测定动物组织中盐酸克伦特罗残留量[J]. *分析测试技术与仪器*, 2004, 10(3): 3–5.
- Cui XM, Xie CX, Jin Z. Determination of clenbuterol in meat sample by coupling solid phase extraction with gas chromatography [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2004, 10(3): 3–5.
- [21] 洪振涛, 张卫锋, 聂建荣, 等. 气相色谱法测定动物组织中氯霉素的残留量[J]. *中国兽药杂志*, 2006, 40(2): 14–16.
- Hong ZT, Zhang WF, Nie JR, *et al.* Determination of chloramphenicol residue in animal tissues by GC [J]. *Chin Veter Drug*, 2006, 40(2): 14–16.
- [22] 张世娟, 徐英江, 宫向红, 等. 气相色谱法测定水产品中五氯酚[J]. *理化检验(化学分册)*, 2010, 46(9): 996–999.
- Zhang SJ, Xu YJ, Gong XH, *et al.* Determination of pentachlorophenol in aquatic products by GC [J]. *Ptca (Part B: Chem Anal)*, 2010, 46(9): 996–999.
- [23] Alae M, Sergeant DB, Ikonou MG, *et al.* A gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (GC/HRMS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish [J]. *Chemosphere*, 2001, 44(6): 1489–1495.
- [24] 张秀珍, 徐英江, 宫向红, 等. 气相色谱质谱法同时测定水产品中 8 种雌激素类化合物[J]. *中国水产科学*, 2009, 16(5): 791–797.
- Zhang XZ, Xu YJ, Gong XH, *et al.* Determination of eight estrogens in aquatic products by GC-MS [J]. *Chin Fish Sci*, 2009, 16(5): 791–797.
- [25] 覃东立, 牟振波, 陈中祥, 等. 凝胶渗透色谱和气相色谱-质谱法测定水产品中 33 种拟除虫菊酯[J]. *分析试验室*, 2011, 10(9): 30–34.
- Tan DL, Mou ZB, Chen ZX, *et al.* Determination of 33 pyrethroid residues in aquatic product by gel permeation chromatography with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2011, 10(9): 30–34.
- [26] 张小军. 水产品中三类药物多残留的 HPLC 和 UPLC-MS/MS 分析方法研究[D]. 浙江: 浙江工商大学, 2012.
- Zhang XJ. Studies on HPLC and UPLC-MS/MS methods for determination of three veterinary multi-residues in aquatic products [D]. Zhejiang: Zhejiang Gongshang University, 2012.
- [27] 丁磊, 蒋俊树, 顾亮, 等. 高效液相色谱串联质谱法快速测定水产品中硝基呋喃类代谢物研究[J]. *现代农业科技*, 2010, 16(11): 336–337, 345.
- Ding L, Jiang JS, Gu L, *et al.* Study on quick determination of nitrofurantol metabolites in aquatic products by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2010, 16(11): 336–337, 345.
- [28] 余建新, 胡小钟, 林雁飞, 等. 液相色谱-串联质谱联用法测定蜂蜜及水产品中硝基呋喃类抗生素代谢物残留量[J]. *分析科学学报*, 2004, 20(4): 382–384.
- Xu JX, Hu XZ, Lin YF, *et al.* High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of the metabolites of nitrofurantol antibiotics in honey and shrimp [J]. *J Anal Sci*, 2004, 20(4): 382–384.
- [29] 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, Lin 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]. *Chin J Chromatogr*, 2007, 25(1): 66–69.
- [30] 朱万燕, 刘玉芳, 刘冰, 等. 同位素内标法测定水产品中孔雀石绿、结晶紫及其代谢产物[J]. *水产科学*, 2011, 30(12): 781–784.
- Zhu WY, Liu YF, Liu B, *et al.* Detection of malachite green, leucomalachite, green crystal violet and leucocrystal violet in fishery products by an isotope internal standard method [J]. *Fish Sci*, 2011, 30(12): 781–784.
- [31] 孙玉增, 徐英江, 刘慧慧, 等. 液相色谱-串联质谱法测定海产品中 21 种磺胺类药物残留[J]. *食品科学*, 2010, 31(2): 120–123.
- Sun YZ, Xu YJ, Liu HH, *et al.* Simultaneous determination of 21 sulfonamide residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2010, 31(2): 120–123.
- [32] 李佐卿, 倪梅林, 俞雪钧, 等. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中磺胺类和喹诺酮类药物残留[J]. *分析测试学报*, 2007, 26(4): 508–510, 514.
- Li ZQ, Ni ML, Yu XG, *et al.* Determination of residual sulfas and quinolones in aquatic products by hplc-ms/ms using deuterium reagent as internal standard [J]. *J Instrum Anal*, 2007, 26(4): 508–510, 514.
- [33] 蔡勤仁, 冯家望, 张毅, 等. 液相色谱-串联质谱结合谱库检索法同时测定猪组织中 12 种类固醇激素[J]. *色谱*, 2011, 29(8): 712–717.
- Cai QR, Feng JW, Zhang Y, *et al.* Determination of 12 steroid hormone residues in pig tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry combining with library search [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(8): 712–717.
- [34] Shaikh B, Rummel N, Giesecker C. Residue depletion of albendazole and its metabolites in the muscle tissue of large mouth and hybrid striped bass

- after oral administration [J]. *Chromatogr A*, 2009, 1216(46): 8173–8176.
- [35] 连文浩. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鳊鱼中四环素类药物残留[J]. *理化检验(化学分册)*, 2010, 46(2): 161–163.
- Lian WH. UHPLC-MS/MS determination of residual tetracycline antibiotics in eel [J]. *Ptca (Part B: Chem Anal)*, 2010, 46(2): 161–163.
- [36] 曹雪涛. 免疫学技术及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- Cao XT. Immunological technology and application [M]. Beijing: Science Press, 2010.
- [37] Kevin M, Cooper, Anthony Caddell, *et al.* Production and characterization of polyclonal antibodies to a derivative of 3-amino-2-oxazolidinone, a metabolite of the nitrofurans furazolidone [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 520: 79–86.
- [38] 瞿建宏, 马晓燕, 刘洪波, 等. 水产品中甲氧菊酯残留的 ELISA 快速检测[J]. *安全与环境学报*, 2007, 7(4): 1–5.
- Qu JH, Ma XY, Liu HB, *et al.* Quick testing of fenprothrin residues in aquatic products by ELISA [J]. *J Saf Environ*, 2007, 7(4): 1–5.
- [39] 赖年悦, 钱继银, 方凯, 等. 基于胶体金免疫层析法快速筛查水产品中的药物残留[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(26): 10817–10818.
- Lai NY, Qian JY, Fang K, *et al.* Rapid screening of drug residues in aquatic products based on colloidal gold immunochromatographic assay [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2013, 41(26): 10817–10818.
- [40] Hua X, Qian G, Yang J, *et al.* Development of an immunochromatographic assay for the rapid detection of chlorpyrifos-methyl in water samples [J]. *Bio Bioelec* 2010, 26(1): 189–194.
- [41] 钱蓓蕾, 王媛, 蔡友琼. 孔雀石绿快速检测试剂盒的比较研究以及在水产品监控中的应用[J]. *现代渔业信息*, 2011, 26(10): 19–21.
- Qian BL, Wang Y, Cai YQ. Comparative study on three quick testing boxes for malachite green and its application on monitoring [J]. *Mod Fish Inform*, 2011, 26(10): 19–21.
- [42] 张晓辉, 李余动, 孔蕾, 等. ELISA 和 GICA 快速检测水产品中氯霉素残留的比较[J]. *浙江农业学报*, 2005, 17(4): 216–218.
- Zhang XH, Li YD, Kong L, *et al.* Comparison of rapid detection of chloramphenicol residues in aquatic products on by ELSIA and GICA [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2005, 17(4): 216–218.
- [43] Resch-Genger U, Grabolle M, Cavaliere-Jaricot S, *et al.* Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels [J]. *Nat Method*, 2008, 5(9): 763–775.
- [44] 李娜, 毛永强. 量子点及其在食品安全检测中的应用[J]. *贵州农业科学*, 2011, 39(6): 231–234.
- Li N, Mao YQ. Application of quantum dots in detection of food safety [J]. *Guizhou Agric Sci*, 2011, 39(6): 231–234.
- [45] Chen JX, Xu F, Jiang HY, *et al.* A novel quantum dot based fluorimmunoassay method for detection of enrofloxacin in residue in chicken muscle tissue [J]. *Food Chem*, 2009, 113(4): 1197–1201.
- [46] 胡华军, 付涛, 张明洲, 等. CdTe/ZnSe 核壳量子点免疫层析试纸条检测克伦特罗的研究[J]. *分析化学*, 2010, 38(12): 1727–1731.
- Hu HJ, Fu T, Zhang ZM, *et al.* Development of CdTe/ZnSe core/shell quantum dots-based lateral-flow immunoassay for rapid detection of clenbuterol [J]. *Chin J Anal Chem*, 2010, 38(12): 1727–1731.
- [47] Anna NB, Nadezhda AT, Anatoly VZ, *et al.* Quantum dot-based lateral flow immunoassay for detection of chloramphenicol in milk [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(14): 4997–5000.
- [48] Garcia CD, Henry CS. Direct determination of carbohydrates, amino acids, and antibiotics by microchip electrophoresis with pulsed amperometric detection [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(18): 4778–4783.
- [49] 易兰花, 王俊芬, 黎拒难, 等. 碳糊电极阳极吸附伏安法测定环丙沙星[J]. *化学研究*, 2005, 16(1): 59–61, 75.
- Yi LH, Wang JF, Li JN, *et al.* Anodic adsorptive voltammetric determination of ciprofloxacin with a carbon paste electrode [J]. *Chem Res*, 2005, 16(1): 59–61, 75.
- [50] Jin WJ, Yang GJ, Shao HX, *et al.* A label-free impedimetric immunosensor for detection of l-aminohydroxy acid residue in food samples based on sol-gel embedding antibody [J]. *Food Control*, 2014, 39: 185–191.
- [51] Thavarungkul P, Dawan S, Kanatharana P, *et al.* Detecting penicillin G in milk with impedimetric label-free immunosensor [J]. *Biosens Bioelec*, 2007, 23(5): 688–694.
- [52] Kowalski P, Oledzka I, Lamparczyk H. Capillary electrophoresis in analysis of veterinary drugs [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 32(4-5): 937–947.
- [53] 张兰, 林子庵, 谢增鸿. 毛细管电泳用于水产品中五种抗生素的同时测定[J]. *分析测试技术与仪器*, 2004, 10(1): 18–23.
- Zhang L, Lin ZA, Xie ZH. Simultaneous determination of five residual antibiotics in seafood by capillary electrophoresis [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2004, 10(1): 18–23.
- [54] 黎乾, 戴维列, 温锦锋, 等. 信息型常见毒物质谱用户库的建立及其在毒物快速筛选上的应用[J]. *分析测试学报*, 2007, 26: 287–290, 293.
- Li Q, Dai WL, Wen JF, *et al.* A study on the method to screen the familiar toxicants automatically with GC-MS [J]. *J Instrum Anal*, 2007, 26: 287–290, 293.
- [55] 田宏哲, 周艳明, 刘文娥. 农产品中 50 余种农药 LC-MS/MS 质谱数据库的建立及应用[J]. *食品科学*, 2010, 31(04): 218–222.
- Tian HZ, Zhou YM, Liu WE. Construction and application of liquid chromatography-tandem mass spectral database of pesticides in agricultural products [J]. *Food Sci*, 2010, 31(04): 218–222.
- [56] Leandro CC, Hancock P, Fussell RJ, *et al.* Quantification and screening of pesticide residues in food by gas chromatography-exact mass time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1-2 (1166): 152–162.
- [57] 夏曦, 李晓薇, 丁双阳, 等. 液相色谱-高分辨质谱在兽药残留分析中应用进展[J]. *质谱学报*, 2011, 32(6): 333–340.
- Xia XD, Li XW, Ding SY, *et al.* Advances on Application of Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry in Veterinary Drug Residues Analysis [J]. *J Chin Mass Spec Soc*, 2011, 32(6): 333–340.
- [58] Stolker AMM, Rutgers P, Oosterink E, *et al.* Oosterink, comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC-ToF-MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 391(6): 2309–2322.
- [59] Peters RJ, Bolck YJ, Rutgers P, *et al.* Multi-residue screening of veterinary drugs in egg, fish and meat using high-resolution liquid chromatography accurate mass time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(46): 8206–8216.
- [60] Kaufmann A, Butcher P, Maden K, *et al.* Ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry

(UPLC-TOF): A novel tool for multiresidue screening of veterinary drugs in urine [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 586(1-2): 13-21.

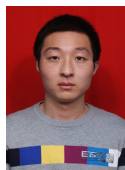
[61] Chang Q, Feng T, Song S, *et al.* Analysis of eight pyrethroids in water samples by liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet combined with gas chromatography [J]. *Microchim Acta*, 2010, 171(3-4): 241-247.

[62] 马义才, 候飞, 王春英. 量子点免疫层析试纸条定量检测系统的设计 [J]. *成都工业学院学报*, 2013, 16(4): 10-13.

Ma YC, Hou F, Wang CY. Design of quantitative system for quantum dot immunochromatography strip [J]. *J Chengdu Technol Univ*, 2013, 16(4): 10-13.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



张 帅, 硕士, 主要研究方向为动物病害防治。

E-mail: zhangshuai624@163.com



王晓洁, 教授, 博士, 主要研究方向为动物病害与防治。

E-mail: wxj10304@126.com