

实验技术与方法

分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法快速同时测定淡水鱼中
7种渔用麻醉剂和2种镇静剂周华¹, 黄琴¹, 吴香伦¹, 雷美康², 刘青³(1. 衢州市疾病预防控制中心, 浙江衢州 324000; 2. 衢州海关综合技术服务中心, 浙江衢州 324003;
3. SCIEX China, 上海 200335)

摘要:目的 建立一种简单、快速的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)联用同时测定淡水鱼样品中7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的检测方法。方法 样品用乙腈提取后经C₁₈和PSA吸附杂质,离心并用水稀释后,分别在正/负离子模式下进样检测,以同位素内标法结合基质匹配曲线进行定量。结果 7种渔用麻醉剂和2种镇静剂在0.5~50 μg/L浓度范围内线性良好(其中MS-222为0.05~5.0 μg/L),相关系数不低于0.999,检出限为0.02~0.4 μg/kg(S/N=3),低中高三个加标水平的加标回收率为87.0%~117.3%,相对标准偏差为2.5%~8.2%。结论 本方法操作简便、快速、定性能力强、定量结果准确可靠,适用于淡水鱼样品中7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的检测。

关键词:液相色谱-串联质谱;分散固相萃取;淡水鱼;渔用麻醉剂;镇静剂

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)04-0522-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.04.006

Rapid and simultaneous determination of 7 kinds of fishery anesthetics and 2 kinds of sedatives in freshwater fish by dispersive solid phase extraction liquid chromatography-mass spectrometryZHOU Hua¹, HUANG Qin¹, WU Xianglun¹, LEI Meikang², LIU Qing³(1. Quzhou Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Quzhou 324000, China; 2. The Comprehensive Technology and Service Center of Quzhou Customs, Zhejiang Quzhou 324003, China;
3. SCIEX China, Shanghai 200335, China)

Abstract: Objective A simple and rapid method for the simultaneous determination of 7 kinds of fishery anesthetics and 2 kinds of sedatives in freshwater fish was developed using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** The fish sample was adsorbed with C₁₈ and PSA after extracted with acetonitrile, then centrifuged and diluted with water, detected in the positive / negative ion mode. Quantitative analysis was carried out by isotope internal standard method with matrix calibration curve. **Results** Under the optimized conditions, good linearities for 7 kinds of fishery anesthetics and 2 kinds of sedatives were obtained in the range of 0.5-50 μg/L (MS-222 was 0.05-5.0 μg/L) with the correlation coefficients (*r*) higher than 0.999. The limits of detection were 0.02-0.4 μg/kg (S/N=3). Recoveries at three spiked levels ranged from 87.0% to 117.3%. And the relative standard deviations was 2.5%-8.2%. **Conclusion** This method was simple, sensitive and selective, which could be applied to the rapid qualitative and quantitative analysis of the 7 kinds of fishery anesthetics and 2 kinds of sedatives in freshwater fish.

Key words: Liquid chromatography tandem mass spectrometry; dispersive solid phase extraction; freshwater fish; fishery anesthetics; sedative

淡水鱼在长时间运输过程中可能会造成鱼的

存活率下降,而渔用麻醉剂具有镇静的作用,可以不同程度地抑制鱼脑的感觉中枢,减少应激活动,从而提高运输存活率。常见的渔用麻醉剂和镇静剂主要有MS-222(化学名为间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)、丁香酚类^[1]、地西洋和奥沙西洋等。MS-222被人体摄入后会出现过敏反应和造血紊乱,可能致癌^[2];甲基丁香酚为基因性致癌物质2B类,丁香酚为第三类致癌物质^[3];地西洋和奥沙西洋可能引起

收稿日期:2022-03-08

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目青年创新人才支持计划(2022RC290)

作者简介:周华 男 主任技师 研究方向为理化检验

E-mail:20811962@qq.com

通信作者:雷美康 男 高级工程师 研究方向为食品质量安全

E-mail:leimeikang@163.com

人体疲乏嗜睡、精神混乱等症状。

目前渔用麻醉剂和镇静剂主要分析方法有气相色谱法^[4]和气相色谱-质谱联用法^[5]、液相色谱法^[6]、液相色谱-串联质谱法^[7-8]等,气相色谱、气相色谱-质谱法及液相色谱法分析鱼肉中麻醉剂残留存在灵敏度低、同时测定物质少和干扰物质较多等问题。液相色谱-串联质谱法灵敏度高、选择性好,适合复杂基质中痕量组分的检测,利用串联四极杆复合线性离子阱(Ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole-linear ion trap, UPLC-QTRAP)技术,采用多反应监测-信息依赖式采集-增强子离子扫描[Multiple reaction monitoring-conditional trigger (IDA Criteria)-enhanced product ion scan, MRM-IDA-EPI]模式扫描,可同时得到相应的二级全扫描质谱图,通过质谱库检索可提高定性结果的可靠性^[9]。

淡水鱼样品前处理方法主要有液液萃取法、固相萃取法^[10-11]、分散固相萃取(Dispersive solid phase extraction, DSPE)法^[12-13]等,液液萃取振荡提取操作较繁琐,使用有机溶剂多,目前已较少使用。相对于固相萃取复杂的过柱及浓缩步骤,分散固相萃取法只需要快速简单的试验操作,且成本低、净化效果好。

本试验通过吸附条件试验,选取了C₁₈和PSA为净化剂进行分散固相萃取,结合液相色谱-串联质谱法,对淡水鱼样品中7种渔用麻醉剂和2种镇静剂进行定性定量分析。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

30AD 超高效液相色谱仪(日本岛津), 5500QTRAP 串联四极杆线性离子阱质谱仪(美国 AB SCIEX), 高速冷冻离心机, 涡旋振荡器, 旋涡混合器, 数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司), Gradient A10 Mill-Q 超纯水仪(法国 Milli-pore)。

甲醇(HPLC级)、乙腈(HPLC级)、氨水(HPLC级)、甲酸(色谱级); HC-C₁₈(40~63 nm)、GCB(粒度为100~400目)均购自上海安谱公司; PSA(40~63 nm)购自天津博纳艾杰尔公司; 多壁碳纳米管(外径20~30 nm, 长度10~30 μm)、石墨化多壁碳纳米管(外径20~30 nm, 长度10~30 μm)均购自江苏碳丰公司; 丁香酚6种混合标准溶液(1 000 μg/mL)购自北京曼哈格公司; 丁香酚-D₃(95%)购自加拿大 TRC; 奥沙西洋-D₅(100 μg/mL)购自天津 First Standard 公司; 地西洋(1 000 μg/mL)、奥沙西洋(100 μg/mL)、地西洋-D₅(100 μg/mL)、MS-222(99.5%)均购自江苏坛墨公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制

各标准品用乙腈稀释配制成10 μg/mL混合中间液(MS-222的浓度为1 μg/mL), -20℃冰箱中保存, 使用时用50%乙腈逐级稀释至使用浓度。各内标物用乙腈稀释至10 μg/mL, 为内标使用混合溶液。

1.2.2 样品前处理

取淡水鱼的可食用部分, 使用组织捣碎机将样品进行充分处理。准确称取5.00 g(精确至0.01 g)已处理好的样品, 置于50 mL塑料离心管中, 加入20 μL内标混合溶液, 加入10 mL乙腈, 盖紧塑料旋塞, 振荡提取5 min, 以12 000 r/min的速度离心5 min, 准确吸取2 mL上清液置于10 mL塑料离心管中(预先加入30 mg C₁₈和20 mg PSA), 涡旋振荡3 min, 然后以12 000 r/min的速度离心5 min(温度为4℃), 吸取0.5 mL上清液, 加水0.5 mL, 涡旋混匀, 过0.22 μm微孔滤膜, 滤液待测定。

1.2.3 LC-MS/MS条件

液相条件: Shim-pack GIST C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 柱流速: 0.3 mL/min, 柱温: 40℃, 进样体积: 10 μL; 流动相: A: 0.025%氨水(负离子模式)/0.1%甲酸水(正离子模式), B: 甲醇, 梯度洗脱程序, 负离子模式: 0~0.5 min, 25%B; 0.5~1.5 min, 25%B~30%B; 1.5~7 min, 30%B~70%B; 7~7.5 min, 70%B~90%B; 7.5~8 min, 90%B; 8~8.5 min, 90%B~25%B。正离子模式: 0~0.5 min, 25%B; 0.5~1.5 min, 25%B; 1.5~5.5 min, 25%B~90%B; 5.5~6 min, 90%B; 6~7 min, 90%B~50%B; 7~8 min, 50%B~25%B。

质谱条件: 电喷雾电离正/负离子模式。扫描模式: 多反应监测(MRM)联合相关信息扫描(IDA)与增强离子扫描(EPI); 电晕针电流(NC): -3.0 mA(负离子模式)/3.0 mA(正离子模式); 离子电压: -4 500 V(负离子模式)/5 500 V(正离子模式), 离子源温度(TEM): 550℃; 气帘气(CUR): 35 psi; 碰撞气(CAD): Medium; 雾化气(GS1): 55 psi; 辅助加热气(GS2): 55 psi。其他质谱参数: 母离子如表1所示。

2 结果

2.1 质谱条件的优化和扫描模式的选择

用乙腈水(1:1, V/V)配成50 μg/L单个标准溶液, 用蠕动泵对仪器进行针泵进样, 分别在ESI负离子和正离子模式下, 进行一级质谱扫描, 确定其准分子离子峰。丁香酚与异丁香酚较易失去一个质

表1 7种渔用麻醉剂和2种镇静剂及3种内标的质谱分析参数

Table 1 Mass spectrometric analysis parameters of 7 fishery anesthetics, 2 sedatives and 3 internal standards

| 化合物 | 保留时间/min | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | 去簇电压/V | 碰撞能量/eV | 内标物 |
|----------------------|----------|--------------|---------------------------|---------|---------|----------------------|
| 丁香酚 | 6.79 | 162.9 | 148.0 [*] /121.0 | -51/-51 | -16/-34 | D ₃ -丁香酚 |
| 异丁香酚 | 6.98 | 162.9 | 148.0 [*] | -51 | -16 | D ₃ -丁香酚 |
| D ₃ -丁香酚 | 6.76 | 166.0 | 148.0 [*] /121.0 | -78/-78 | -18/-40 | — |
| 甲基丁香酚 | 5.62 | 179.0 | 138.0 [*] /129.0 | 96/120 | 21/29 | D ₅ -地西洋 |
| 甲基异丁香酚 | 5.72 | 179.0 | 164.1 [*] | 105 | 21 | D ₅ -地西洋 |
| 乙酸丁香酚酯 | 5.55 | 207.2 | 189.1 [*] /165.0 | 138/114 | 12/10 | D ₅ -地西洋 |
| 乙酰基异丁香酚 | 5.64 | 207.0 | 165.0 [*] /137.0 | 114/128 | 10/24 | D ₅ -地西洋 |
| MS-222 | 3.47 | 166.0 | 138.0 [*] /94.0 | 108/105 | 24/30 | D ₅ -奥沙西洋 |
| 地西洋 | 5.55 | 285.2 | 193.2 [*] /153.7 | 196/176 | 46/40 | D ₅ -地西洋 |
| D ₅ -地西洋 | 5.53 | 290.0 | 198.1 [*] /227.2 | 195/188 | 47/38 | — |
| 奥沙西洋 | 5.14 | 287.2 | 241.1 [*] /268.9 | 124/124 | 34/24 | D ₅ -奥沙西洋 |
| D ₅ -奥沙西洋 | 5.12 | 292.1 | 246.2 [*] /274.3 | 190/190 | 34/25 | — |

注:^{*}为定量离子

子得到母离子 m/z 163 [M-H]⁻, 并且容易形成稳定且强度高的脱甲基[M-H-CH₃]二级离子, 但丁香酚与异丁香酚的母离子和二级离子均相同, 因此需要通过优化色谱条件将这2个同分异构体完全分离, 才能准确进行定性定量分析。

其余7种化合物采用正离子模式, 均可得到稳定的加氢峰母离子[M+H]⁺, 再对母离子进行二级质谱扫描, 选择丰度较高的2种碎片离子作为定性与定量特征离子(异丁香酚和甲基异丁香酚只能选出1个碎片离子), 然后通过优化, 为各离子对选择最佳的去簇电压和碰撞能量。

采用MRM-IDA-EPI模式, 一次进样, 不仅可得到高灵敏度的MRM定量结果, 还可同时得到相应的二级全扫描质谱图(EPI), 利用已经建立好的谱库进行检索, 可准确对样品中待测物进行定性确认。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 色谱柱的选择

试验选择ACQUITY UPLC BEH C₁₈、ZORBAX Eclipse Plus C₁₈柱和Shim-pack GIST C₁₈色谱柱, 以甲醇-水作为流动相进行梯度洗脱优化试验。结果发现, 这3种色谱柱对正离子的待测物都能有效分离, 使用ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱, 丁香酚和异丁香酚不能得到有效分离, 而ZORBAX Eclipse Plus C₁₈柱和Shim-pack GIST C₁₈色谱柱分离效果好, 能将丁香酚同分异构体达到基线分离, 且峰形较好, ZORBAX Eclipse Plus C₁₈和Shim-pack GIST C₁₈适宜pH值范围分别为3~9和1~10。因此选择适用范围更广的Shim-pack GIST C₁₈色谱柱作为分析柱。

2.2.2 流动相的优化

分别选择乙腈水和甲醇水作为流动相, 比较其分离效果, 结果发现乙腈由于洗脱能力太强, 难以

实现目标物的分离, 而甲醇水的分离效果好。此外, 流动相的pH值以及离子强度的大小可能对目标物响应有影响, 于是对比水相中添加0.1%甲酸、0.05%氨水和2 mmol/L乙酸铵对目标峰的分离度、峰形和灵敏度的影响。结果显示, 负离子模式下, 流动相中加入0.1%甲酸, 丁香酚和异丁香酚则完全被抑制, 而加入2 mmol/L乙酸铵, 目标物灵敏度也会降低, 加入0.05%氨水, 灵敏度可以提高数倍, 但两种丁香酚的分离度大受影响, 通过降低氨水浓度和优化梯度洗脱程序、进样体积和流速等参数, 最终确定水相为0.025%氨水, 得到目标物色谱峰分离度高、灵敏好。而在正离子模式下, 水相加入0.1%甲酸时, 灵敏度获得数倍的增加, 故正离子模式确定下水相为0.1%甲酸水溶液。7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的MRM图谱见图1。

2.3 提取溶剂的选择

试验比较了乙腈、丙酮、乙酸乙酯、甲醇对淡水鱼中7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的提取效果, 结果发现, 使用乙腈和甲醇为溶剂时回收率更高, 而乙腈对蛋白的沉淀作用较强, 提取后溶液更为澄清, 故综合考虑选择乙腈作为本试验的提取溶剂。称取5.00 g样品, 在提取时加入2 g氯化钠, 结果发现异丁香酚和甲基异丁香酚提取效率明显下降, 而其他化合物提取效率无明显变化。由于淡水鱼中含有一定量脂肪, 因此也考察了加入2 mL正己烷去除脂肪, 考察该步骤对待测物提取的影响。结果发现, 正己烷除脂对待测物的回收率影响不大, 但会增加操作, 因此本试验选用乙腈对淡水鱼样品进行提取。

2.4 固相分散吸附剂的选择

试验考察了3种常用分散固相萃取吸附剂和2种碳纳米管对分析结果的影响, 其中包括PSA、C₁₈、石墨化炭黑(GCB)、长壁碳纳米管(MWCNTs)和

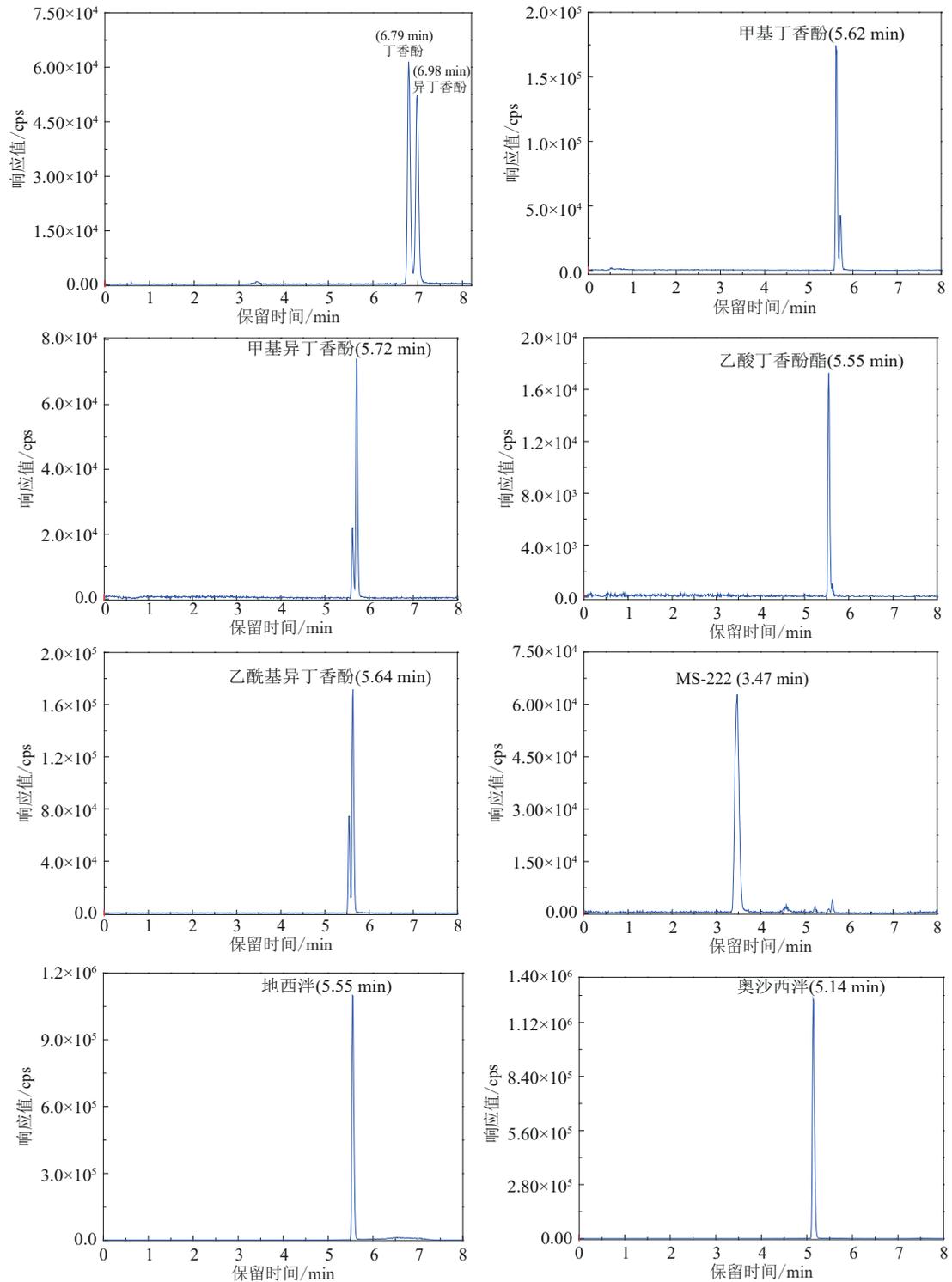


图1 7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的MRM图谱

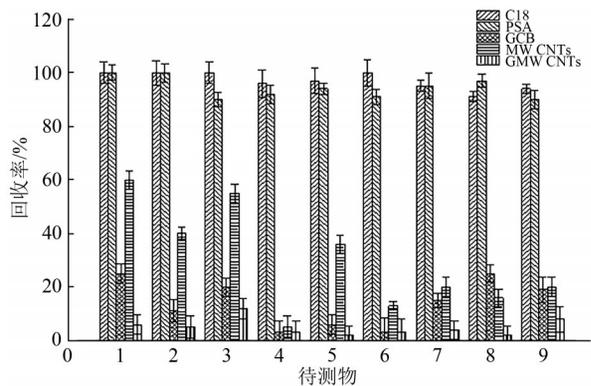
Figure 1 MRM spectra of 7 fishery anesthetics and 2 sedatives

石墨化长壁碳纳米管(GMWCNTs)等吸附剂,分别称取5种吸附剂各40 mg于5个10 mL试管中,分别加入2 mL空白样品提取液(已加入20 μ L浓度均为1.0 μ g/mL的混合标准使用溶液),平行测定3组,以平均回收率考察不同吸附剂对目标物的吸附效果,如图2所示。试验结果显示PSA和 C_{18} 对目标物吸附较少,GCB、MWCNTs和GMWCNTs都具有很强的吸附,GMWCNTs的吸附作用最强。根

据吸附试验结果,选用PSA和 C_{18} 作为吸附剂除去杂质后进行检测。PSA作为一种弱的离子交换剂,可用于除去基质中的极性有机酸、脂肪酸、糖类物质; C_{18} 可用于除去基质中的非极性化合物。

2.5 固相分散吸附剂的用量

吸附剂用量过少,不能有效除去杂质;用量过多,目标物可能会被吸附而损失。试验发现, C_{18} 用量为40 mg时,对MS-222有较强的吸附,而PSA对



注:1:丁香酚;2:异丁香酚;3:甲基丁香酚;4:甲基异丁香酚;5:乙酸丁香酚酯;6:乙酰基异丁香酚;7:MS-222;8:地西洋;9:奥沙西洋
图2 不同吸附材料对九种目标物回收率的比较

Figure 2 Comparison of recovery rates of nine target substances with different adsorption materials

除两个丁香酚以外的7种目标物都有一定吸附,因此按C₁₈用量分成20和30 mg两组,对PSA的用量(10~50 mg)进行了考察。结果发现,当PSA的用量增加到30 mg时,各目标物的回收率有所降低,见图3。故最终选择30 mg C₁₈和20 mg PSA作为固相分散吸附剂。

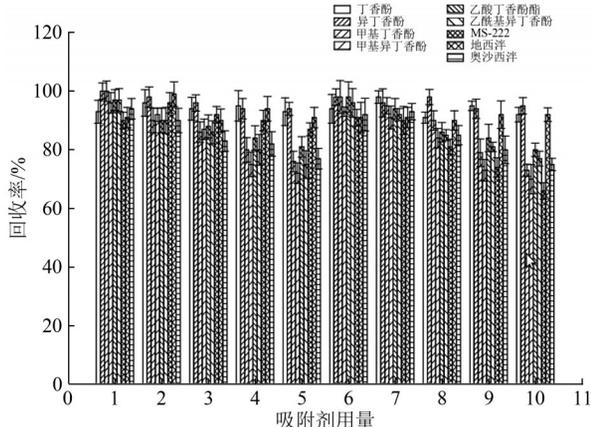
2.6 进样液溶剂效应

试验发现,当定容液为乙腈时,溶剂效应增强,多数目标物出现前伸峰等形态改变,用超纯水稀释1倍后各物质峰形对称,并且一定程度上减少基质效应。故最终选择50%乙腈水作为进样液溶剂。

2.7 方法学试验结果

2.7.1 方法基质效应、线性范围

以阴性草鱼为基质,得到空白基质溶液,分别加入混合标准中间液配制成质量浓度为0.5、1、2、5、10、20、50 μg/L (MS-222为0.05、0.1、0.2、0.5、1、2.5 μg/L)的基质标准溶液,并与同质量浓度的标准溶液(50%乙腈配制)一起上机测试,标准溶液曲线的斜率为b₁,基质曲线的斜率为b₂,基质效应/%=b₂/b₁×100。测得各物质的基质效应分别为:丁香酚



注:C₁₈用量/PSA用量:1:20 mg/10 mg;2:20 mg/20 mg;3:20 mg/30 mg;4:20 mg/40 mg;5:20 mg/50 mg;6:30 mg/10 mg;7:30 mg/20 mg;8:30 mg/30 mg;9:30 mg/40 mg;10:30 mg/50 mg

图3 C₁₈和PSA用量对九种目标物回收率的比较

Figure 3 Comparison of C₁₈ and PSA dosage on recovery of nine target substances

103.9%、异丁香酚89.3%、甲基丁香酚85.4%、乙酸丁香酚酯85.1%、甲基异丁香酚116.6%、乙酰基异丁香酚114.4%、MS-22292.5%、地西洋94.9%、奥沙西洋101.4%。由于甲基丁香酚和乙酸丁香酚酯有较强的基质减弱效应,甲基异丁香酚和乙酰基异丁香酚有较强的基质增强效应,因此,本试验采用基质曲线进行定量计算。7种渔用麻醉剂和2种镇静剂在0.5~50 μg/L浓度范围内线性良好(其中MS-222为0.05~5.0 μg/L),相关系数不低于0.999。

2.7.2 方法的回收率和精密度

对空白草鱼样品进行加标,并进行回收率和精密度试验,分别添加高中低三组浓度(分别为4、20和80 μg/kg,其中MS-222为0.4、2.0和8.0 μg/kg)的标准溶液,混匀,放置30 min后再按样品前处理方法进行操作,平行测定6组,平均回收率和精密度结果见表2。加标回收率范围分别在87.0%~117.3%之间,相对标准偏差(RSD)为2.5%~8.2%。

表2 7种渔用麻醉剂和2种镇静剂的方法学参数(n=6)

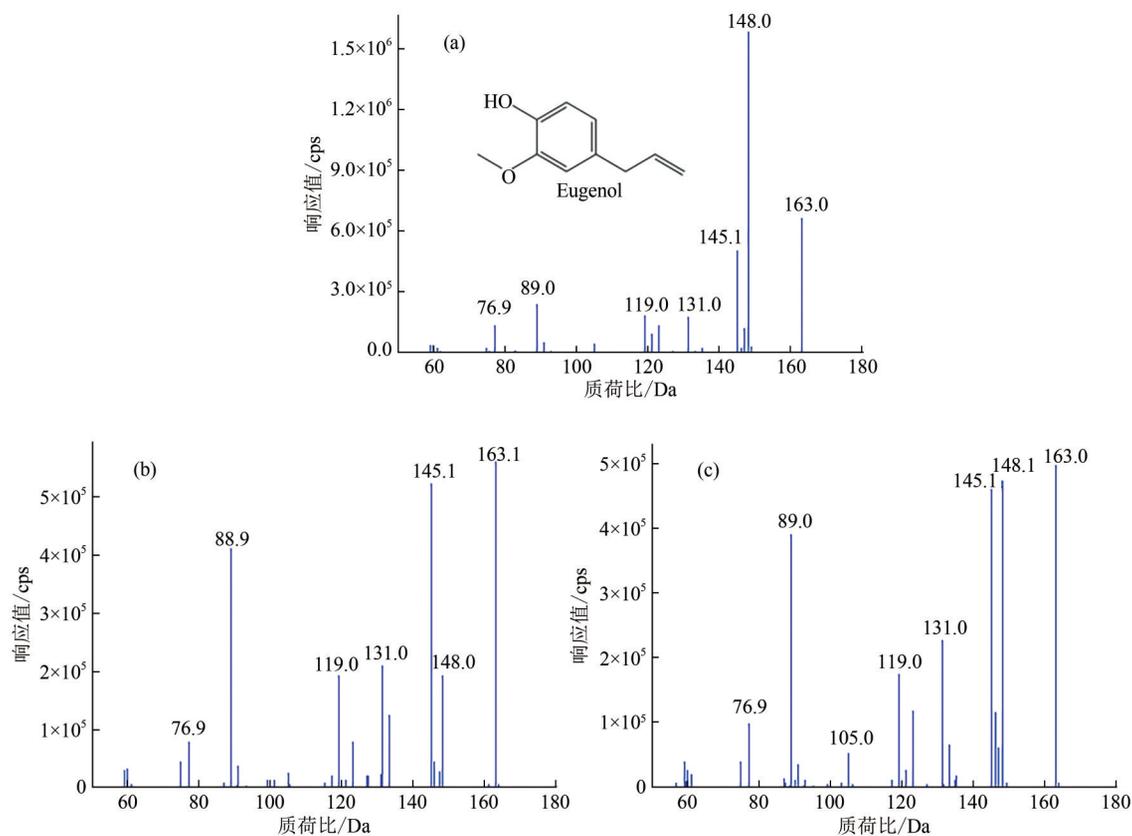
Table 2 Methodological parameters of 7 fishery anesthetics and 2 sedatives (n=6)

| 化合物 | 线性方程 | 相关系数 r | 回收率(RSD)/% | | | LOD/(μg/kg) | LOQ/(μg/kg) |
|---------|-----------------------|---------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | | | 4 μg/kg | 20 μg/kg | 80 μg/kg | | |
| 丁香酚 | Y=0.042 83X+0.077 66 | 0.999 1 | 109.2(5.9) | 105.3(6.3) | 102.3(3.0) | 0.03 | 0.09 |
| 异丁香酚 | Y=0.007 58X+0.001 99 | 0.999 3 | 96.0(4.4) | 99.4(2.5) | 94.1(3.7) | 0.06 | 0.30 |
| 甲基丁香酚 | Y=0.007 58X+0.001 99 | 0.999 4 | 107.3(6.9) | 101.2(3.7) | 95.5(4.5) | 0.08 | 0.40 |
| 甲基异丁香酚 | Y=0.003 04X+0.000 603 | 0.999 5 | 94.0(4.8) | 102.2(2.5) | 96.3(5.2) | 0.25 | 0.75 |
| 乙酸丁香酚酯 | Y=0.000 704X+0.000 15 | 0.999 0 | 112.5(5.9) | 109.6(4.7) | 105.3(6.2) | 0.40 | 1.20 |
| 乙酰基异丁香酚 | Y=0.007 20X+0.000 33 | 0.999 6 | 87.0(6.8) | 100.5(4.0) | 107.6(8.2) | 0.13 | 0.39 |
| MS-222 | Y=0.006 85X+0.001 22 | 0.999 1 | 108.5(5.7) | 117.3(4.2) | 105.6(3.5) | 0.02 | 0.06 |
| 地西洋 | Y=0.047 95X+0.009 89 | 0.999 8 | 92.3(4.8) | 97.5(4.0) | 97.2(3.1) | 0.06 | 0.18 |
| 奥沙西洋 | Y=0.070 28X+0.005 75 | 0.999 8 | 95.5(3.6) | 94.6(3.5) | 98.9(4.3) | 0.06 | 0.18 |

2.8 实际样品检测

采集市售淡水鱼样品 15 份(包括草鱼、黑鱼、鳊鱼、鲈鱼、鲫鱼、鳙鱼等)进行测定,结果除丁香酚外,其他 6 种渔用麻醉剂和 2 种镇静剂均未检出。丁香酚共检出 5 份(包括草鱼 2 份,黑鱼、鲈鱼和鳊

鱼各 1 份),检出率为 33.3%,含量范围为 3.8~21.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。经 MRM 扫描的疑似阳性样品,根据 IDA-EPI 模式扫描的定性分析图谱与标准谱库(自建)的匹配度比较进一步定性确认。图 4 是丁香酚的 IDA-EPI 模式扫描图谱。



注:a:标准溶液;b:阳性样品;c:空白加标样品

图 4 丁香酚的 IDA-EPI 模式扫描图谱

Figure 4 IDA-EPI mode scanning spectrum of eugenol

3 小结

以 C_{18} 和 PSA 作为分散固相萃取吸附剂,通过考察色谱条件、提取液种类、吸附剂种类、吸附剂用量、进样液溶剂及样品基质效应等因素对分析结果的影响,建立了分散固相萃取结合液相色谱-串联质谱法测定水产品中 7 种渔用麻醉剂和 2 种镇静剂残留,并对建立的方法进行了验证,将该法应用于鳊鱼、草鱼和鲤鱼等样品中 7 种渔用麻醉剂和 2 种镇静剂残留量的检测分析。结果表明,该方法简便、快速、定性能力强、准确可靠,适用于淡水鱼样品中 7 种渔用麻醉剂和 2 种镇静剂的同时检测。

参考文献

- [1] 苏明明,孙兴权,杨春光,等.渔用麻醉剂 MS-222、丁香酚在鲜活水产品运输中的应用及检测方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2015,6(1):25-29.
- SU M M, SUN X Q, YANG C G, et al. Progress of the research

and application of fish anesthetics MS-222 and eugenol in fresh seafoods transportation [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(1): 25-29.

- [2] CHAMBEL J, PINHO R, SOUSA R T, et al. The efficacy of MS-222 as anaesthetic agent in four freshwater aquarium fish species[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(7): 1582-1589.
- [3] National Toxicology Program. NTP toxicology and carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS NO. 93-15-2) in F344/N rats and $\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$ mice (gavage studies) [J]. National Toxicology Program Technical Report Series, 2000, 491: 1-412.
- [4] SAYDMOHAMMED M, PAL A K. Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 2009, 298(1-2): 162-167.
- [5] 余颖.气相色谱-质谱法测定鱼肉中丁香酚的残留[J].福州大学学报:自然科学版,2015,43(2):266-270.
- YU Y. Determination of eugenol residue in fish meat by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Fuzhou University: Natural Science Edition, 2015, 43(2): 266-270.
- [6] 陈焕,黄和,高平,等.高效液相色谱法测定水产品中丁香酚类麻醉剂的残留量[J].食品与发酵工业,2014,40(12):

- 156-160.
- CHEN H, HUANG H, GAO P, et al. Determination of clove phenol drug residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(12): 156-160.
- [7] 倪峥飞, 顾晔, 冯永巍, 等. UPLC-MS/MS同时测定水产品中4种丁香酚类麻醉剂残留量[J]. 质谱学报, 2018, 39(4): 451-458.
- NI Z F, GU Y, FENG Y W, et al. Simultaneous determination of 4 eugenol derivatives anesthetics residues in aquatic products by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2018, 39(4): 451-458.
- [8] 刘平, 辛爽英, 范赛, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测鱼肉中5种渔用麻醉剂残留[J]. 卫生研究, 2019, 48(4): 640-645, 650.
- LIU P, XIN S Y, FAN S, et al. Determination of 5 kinds of fish anesthetics residues in fish by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Hygiene Research, 2019, 48(4): 640-645, 650.
- [9] 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 Q R, FENG J W, ZHANG Y, et al. Determination of 12 steroid hormone residues in pig tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry combining with library search [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, 29(8): 712-717.
- [10] 高平, 黄和, 刘文侠, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定水产品中4种丁香酚类化合物[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 56-61.
- GAO P, HUANG H, LIU W X, et al. Determination of four eugenol derivatives in aquatic products by SPE-HPLC-FLD [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2016, 28(1): 56-61.
- [11] 林丽聪. 超高效液相色谱-串联质谱法测定罗非鱼血浆和肌肉中的丁香酚残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(3): 63-68.
- LIN L C. Determination of eugenol residues in the plasma and muscle of tilapia by UPLC-MS/MS [J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2019, 9(3): 63-68.
- [12] 石芳, 寿旦, 金米聪, 等. 分散固相萃取-高效液相色谱法测定水产品中7种麻醉剂[J]. 色谱, 2022, 40(2): 139-147.
- SHI F, SHOU D, JIN M C, et al. Dispersive solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography for determination of seven anesthetics in aquatic products [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(2): 139-147.
- [13] 宋伟, 赵暮雨, 韩芳, 等. 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法测定克氏螯虾中39种兽药残留[J]. 色谱, 2018, 36(12): 1261-1268.
- SONG W, ZHAO M Y, HAN F, et al. Determination of 39 veterinary drug residues in *Procambarus clarkii* by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(12): 1261-1268.