

## 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查 和确证渔药中 86 种非法添加化学品

柯庆青, 李诗言, 王鼎南, 周 钦, 周 凡, 贝亦江, 陈小明, 王 扬\*

(浙江省水产技术推广总站, 浙江 杭州 310023)

**摘要:**建立了超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查与确证渔药中 86 种非法添加禁限用药物的方法。渔药以 80% (v/v) 乙腈水溶液进行提取, 通过稀释降低基质效应, 采用 ACQUITY PREMIER HSS T3 色谱柱进行分离, 以甲醇和 0.1% 甲酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾双喷离子源 (Dual AJS ESI) 正离子模式分析检测。建立了 86 种药物的一级精确质量数据库和二级碎片质谱库。在全扫描采集模式下, 以化合物的色谱保留时间、精确质量数、同位素分布和同位素丰度比定性; 在 Target MS/MS 采集模式下, 通过二级碎片离子的匹配进一步确证化合物, 以准分子离子峰的峰面积定量, 实现渔药样品中多目标药物的快速定性定量分析。86 种药物在各自的线性范围内均呈现良好的线性关系, 相关系数均大于 0.99, 中草药制剂和抗生素粉剂的定量限 (LOQ) 范围分别为 1~15 mg/kg 和 5~75 mg/kg, 添加回收率范围为 76.8%~112.1%, 相对标准偏差 (RSD,  $n=3$ ) 小于 11.7%。该方法快速、简便、准确、灵敏, 适用于不同种类渔药中禁限用非法添加药物的高通量筛查。将该方法应用于浙江省渔用投入品质量安全监督抽检项目中, 共筛查 60 个样品, 其中 8 种中草药制剂筛查出说明书中未明确标明的药物成分, 1 种抗生素粉剂未检出有效成分。该研究为渔药的质量安全监控提供了有效的技术手段。

**关键词:**超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 非法添加药物; 渔药; 快速筛查

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2022)06-0520-11

## Rapid screening and confirmation of 86 illegally added chemicals in fishery drugs by ultra performance liquid chromatography- quadrupole-time-of-flight mass spectrometry

KE Qingqing, LI Shiyan, WANG Dingnan, ZHOU Qin, ZHOU Fan, BEI Yijiang,  
CHEN Xiaoming, WANG Yang\*

(Zhejiang Fisheries Technical Extension Center, Hangzhou 310023, China)

**Abstract:** With the rapid expansion of fisheries, one of the most significant limitations to the sustainable development of fisheries in China is the quality and safety of fishery products owing to the abuse of fishery drugs and the use of illegal and/or restricted chemicals in fishery drugs. A range of chemicals that are potential hazards to fishery drugs were selected for screening in this study. A comprehensive analytical method was developed, based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS), for the rapid screening of 86 types of illegally added chemicals in fishery drugs. The fishery drug samples were extracted with 80% (v/v) acetonitrile aqueous solution and diluted to reduce matrix effects. The 86 target compounds were separated on an ACQUITY PREMIER HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m), with methanol and 0.1% formic acid as mobile phases, via

收稿日期: 2021-11-28

\* 通讯联系人. Tel: (0571) 85029759, E-mail: 1752315020@qq.com.

基金项目: 浙江省重点研发计划 (2021C02061); 浙江省农业重大技术协同推广计划 (2020XTTGSC01); 浙江省公益技术研究计划 (LGC19C200002, LGC20B050007).

**Foundation item:** Key Research and Development Program of Zhejiang Province (No. 2021C02061); Collaborative Extension Plan for Major Agricultural Technologies of Zhejiang Province (No. 2020XTTGSC01); Research Program for Public Welfare in Zhejiang Province (Nos. LGC19C200002, LGC20B050007).

gradient elution. The extract was directly analyzed by UPLC-Q-TOF-MS using electrospray ionization in the positive mode. The external standard method was used for quantification. In this study, the extraction reagent and purification procedure were selected to develop a simple and effective pre-treatment protocol. The effects of the chromatographic column, mobile phase, and fragmentation voltage on the separation and sensitivity of the 86 substances were evaluated to determine the optimum instrument conditions. An accurate mass database and fragment ion library were created for the rapid qualitative and quantitative analysis of the 86 illegally added chemicals in fishery drugs. The retention time, isotopic abundance and spacing, and precise mass of the principal diagnostic ion for each analyte were used for identification. The information on the fragment ions obtained from the target MS/MS profiles was compared with that from a database to ensure the accuracy of the qualitative results. The chromatographic peak area of each target analyte was used for quantification. The analytical detection was based on the retention time deviation of  $\pm 0.35$  min, accurate mass deviation of  $\pm 10 \times 10^{-6}$ , and major adduct forms, including  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$ , and  $[M+NH_4]^+$ . To evaluate the matrix effects of the 86 target chemicals at varied dilution ratios, two types of antibiotics and four types of Chinese herbal medicines were selected as typical samples. Considering the instrument tolerance as well as sensitivity and accuracy of the procedure, the recommended dilution ratios for antibiotics and Chinese herbal medicines were 50 times and 10 times, respectively. Two different types of calibration curves were prepared; one was the solvent calibration curve for antibiotics and the other was the matrix calibration curve for Chinese herbal medicines. For a given concentration, the calibration curves of the 86 target chemicals were linear with correlation coefficients of at least 0.99. The recoveries ranged from 76.8% to 112.1% with relative standard deviations (RSDs) ( $n=3$ ) of less than 11.7%. The limit of quantification (LOQ) ranges of the compounds in Chinese herbal medicines and antibiotics were 1–15 mg/kg and 5–75 mg/kg, respectively. To evaluate the screening detection limits (SDLs) of each compound, a mixed standard solution was added to a fishery drug sample at varied concentrations. The SDL ranges of the compounds in Chinese herbal medicines and antibiotics were 1–15 and 5–50 mg/kg, respectively. This approach resulted in SDLs that satisfy the actual screening requirements. Because of its rapid nature, simplicity, accuracy, and sensitivity, the method may be used in the high-throughput screening and identification of illegally added chemicals in many types of fishery drugs. This method was applied to a monitoring project for the quality and safety of fishery inputs in Zhejiang Province. Sixty fishery drug samples were evaluated, among which eight Chinese herbal medicine samples were found to contain unspecified ingredients and one antibiotic sample was found to be free of any active substances. Thus, an effective technical method to monitor the quality and safety of fishery drugs was developed.

**Key words:** ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS); illegally added chemicals; fishery drugs; rapid screening

引用本文:柯庆青,李诗言,王鼎南,周钦,周凡,贝亦江,陈小明,王扬.超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查和确证渔药中86种非法添加化学品.色谱,2022,40(6):520–530.

KE Qingqing, LI Shiyan, WANG Dingnan, ZHOU Qin, ZHOU Fan, BEI Yijiang, CHEN Xiaoming, WANG Yang. Rapid screening and confirmation of 86 illegally added chemicals in fishery drugs by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(6):520–530.

我国是水产品生产和出口大国,2019 年水产养殖总产量达 5079 万吨,占渔业总产量的 78.4%,出口总额达 206.6 亿美元,养殖量位居世界首位<sup>[1]</sup>。然而,伴随着渔业的快速发展,渔药滥用及渔药中禁限用药物非法添加引起的水产品质量安全问题已成为阻碍我国渔业健康可持续发展的最大制约因素之一。自 2004 年以来,国家和农业行政部门已经陆续发布了《无公害食品渔用药物使用准则》、250 公告、2262 公告、GB 31650-2019 等多条法规标准对渔业生产中的禁限用药物做出了相应的规定。然而长期以来,由于市场无序竞争和管理制度上的缺陷等原因,渔药市场秩序混乱,产品质量参差不齐<sup>[2-4]</sup>。具体表现为:以“非药品”的形式逃避监管;随意添加禁限用药物;中草药类产品中添加抗生素成分;为了降低成本,减少或者不添加有效成分等。这些成分不明、质量良莠不齐的渔药会产生治疗效果下降、水产品药物残留超标等问题,给养殖户带来极大的困扰,同时威胁消费者的身体健康,影响水产品的对外出口贸易。“问题渔药”已成为影响水产行业可持续发展的重要问题。2021 年农业农村部发布 1 号文件《关于加强水产养殖用投入品监管的通知》,要求加大假、劣渔药处置,连续 3 年开展渔药等投入品相关违法行为专项整治行动。

目前我国渔药中多种禁限用药物非法添加的筛查尚无相关标准,相关技术研究较少<sup>[5-8]</sup>,主要采用液相色谱法和液相色谱-串联质谱法。这些方法存在检测的渔药品种单一且筛查药物覆盖面较窄,未考察基质效应对检测灵敏度和准确度的影响等问题。近年来,超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)技术因具有高特异性、高质量分辨率、高通量、高扫描速度等优势开始在残留分析领域得到应用。国内外关于 Q-TOF/MS 多组分药物残留分析技术的研究多集中在环境、医药和食品安全等领域<sup>[9-14]</sup>,目前尚无采用 Q-TOF/MS 技术检测渔药中禁限用药物非法添加的文献报道。本研究结合水产养殖特点,有针对性地选取了渔药中可能存在风险隐患的多种禁限用药物作为筛查对象,通过稀释降低基质效应,基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术,建立了渔药中 86 种非法添加禁限用药物的快速筛查和确证的方法。本方法具有适用范围广、前处理简单高效、分析通量高、灵敏准确等优点。本方法的建立为渔药的有效监管提供了技术支撑,对保障水产品质量安全具有重要意义。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与材料

Agilent 1290-6540 液相色谱-四极杆-飞行时间质谱仪(美国安捷伦公司); Sartorius 2202S 型电子天平(德国赛多利斯有限公司); 菲恰尔 TDL-5A 离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司); Centrifuge 5427R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); 0.22 μm 聚四氟乙烯(PTFE)滤膜(美国 PALL 公司)。

86 种化合物标准物质(包括 19 种磺胺类、16 种喹诺酮类、18 种头孢类、13 种激素类、4 种硝基咪唑类、3 种四环素类、1 种苯二氮卓类、6 种大环内酯类、4 种硝基咪唑类、2 种三苯甲烷类等类别的混合标准溶液,质量浓度均为 100 mg/L)(天津阿尔塔科技有限公司),具体信息见表 1。

乙腈和甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司); 甲酸(色谱纯,美国 ROE 公司); 吸附剂 *N*-丙基乙二胺(PSA)、十八烷基键合硅胶(C<sub>18</sub>)、石墨化炭黑(GCB)(美国 Agilent 公司)。

### 1.2 标准溶液的配制

准确量取 18 种头孢类标准物质,以水-乙腈混合溶液(3:1, v/v)为溶剂,配制成 50 mg/L 的混合标准储备溶液,小体积分装于棕色试剂瓶后-80 ℃保存。准确移取 18 种头孢类混合标准储备液,水-乙腈混合溶液(3:1, v/v)为溶剂,配制成 1 mg/L 的 18 种头孢类标准中间液,现配现用。分别准确量取适量除头孢外的各类混合标准物质(即磺胺类、喹诺酮类、激素类、硝基咪唑类、四环素类、硝基咪唑类、大环内酯类、三苯甲烷类混合标准溶液及苯二氮卓类标准溶液),以甲醇为溶剂,配制 9 组 10 mg/L 的混合标准储备液,置于棕色试剂瓶中-20 ℃保存。分别准确移取适量除头孢外各类混合标准储备液,以甲醇为溶剂,配制成 68 种 1 mg/L 的混合标准中间液,置棕色试剂瓶中于-20 ℃保存。分别移取一定体积的 18 类头孢类化合物和 68 种化合物的混合标准中间液,用 10% (v/v) 乙腈水溶液进行稀释,配制成 100 μg/L 的 86 种化合物的混合标准溶液。

### 1.3 样品制备

所有渔药样品采自浙江省内各水产养殖场和渔药商店,包括抗生素粉剂和中草药制剂等,所有样品常温密封保存,待检测。

表1 86种化合物的分子式、保留时间、质量偏差、检索得分和其他质谱参数

Table 1 Formulae, retention times, mass errors, automated retrieval scores, and other MS parameters of the 86 compounds

Compound	Formula	$t_R$ / min	Precursor ion ( $m/z$ )	Fragment ions ( $m/z$ )	Mass error/ $10^{-6}$	Score
<b>Sulfonamides</b>						
Sulfadiazine (磺胺嘧啶)	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	4.546	251.05949	156.01120, 108.04430, 92.04940	-1.28	97.26
Sulfathiazole (磺胺噻唑)	$C_9H_9N_3O_2S_2$	5.091	256.02121	156.01144, 108.04450, 92.04980	-0.73	97.21
Sulfapyridine (磺胺吡啶)	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	5.369	250.06441	184.08681, 92.04960, 65.03890	-0.91	97.12
Sulfamerazine (磺胺甲基嘧啶)	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	5.814	265.07587	156.01125, 108.04459, 65.03888	-0.92	97.31
Sulfamethazine (磺胺二甲基嘧啶)	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	6.792	279.09201	186.03365, 124.08719, 92.04982	-0.56	98.76
Sulfamonomethoxine (磺胺间甲氧嘧啶)	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	7.337	281.07111	156.01157, 126.06642, 92.04983	-0.65	97.35
Sulfamethizole (磺胺甲噻二唑)	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	6.636	271.03183	156.01128, 108.04436, 92.04963	-0.90	95.09
Sulfameter (磺胺对甲氧嘧啶)	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	6.558	281.07098	156.01170, 126.06651, 92.04993	-1.10	97.08
Sulfachloropyridazine (磺胺氯吡嗪)	$C_{10}H_9ClN_4O_2S$	7.170	285.02069	156.01106, 92.04995, 65.03902	-0.93	98.85
Sulfamethoxyypyridazine (磺胺甲氧吡嗪)	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	6.936	281.07011	92.04993, 156.01170	-0.93	98.35
Sulfadoxine (磺胺邻二甲氧嘧啶)	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	7.603	311.08188	156.01164, 92.04980, 65.03902	-1.37	98.10
Sulfadimethoxine (磺胺间二甲氧嘧啶)	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	8.426	311.08188	156.07678, 92.04969, 65.03891	-1.03	96.98
Sulfamethoxazole (磺胺甲基异噁唑)	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	7.259	254.05981	156.01135, 108.04437, 92.04968	-1.07	98.41
Sulfisoxazole (磺胺二甲异噁唑)	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	7.592	268.07556	156.01135, 113.07117, 92.04985	-1.15	99.40
Sulfabenzamide (苯甲酰磺胺)	$C_{13}H_{12}N_2O_3S$	7.859	277.06448	156.01143, 92.04991, 65.03888	-1.35	98.38
Sulfaquinoxaline (磺胺喹恶琳)	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$	8.615	301.07587	108.04438, 92.04956, 65.03878	-1.02	97.12
Sulphacetamide (磺胺醋纤)	$C_8H_{10}N_2O_3S$	3.535	215.04842	156.01102, 108.04445, 92.04966	-0.92	98.69
Trimethoprim (甲氧苄氨嘧啶)	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	6.470	291.14603	123.06687, 81.04508, 68.03694	-0.49	81.21
Sulfaphenazole (磺胺苯吡唑)	$C_{15}H_{14}N_4O_2S$	8.182	315.09167	160.08691, 92.04948, 65.03879	-0.79	98.67
<b>Quinolones</b>						
Enrofloxacin (恩诺沙星)	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	7.259	360.16991	342.16180, 286.09937, 84.08111	-0.50	99.71
Norfloxacin (诺氟沙星)	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	7.025	320.14069	303.12708, 234.10332, 70.06547	-1.30	97.22
Pefloxacin (培氟沙星)	$C_{17}H_{20}FN_3O_3 \cdot CH_4SO_3$	6.914	334.14886	316.14542, 232.05943, 70.06556	-0.79	99.38
Ciprofloxacin (环丙沙星)	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	7.159	332.14063	316.14615, 231.05635	-0.49	90.10
Ofloxacin (氧氟沙星)	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	6.892	362.15140	344.14087, 261.10367, 58.06546	-0.99	98.35
Sarafloxacin (沙拉沙星)	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	7.570	386.13168	368.12033, 299.09836, 270.09607	-0.5	99.42
Enoxacin (依诺沙星)	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	6.936	321.13754	303.12589, 232.05235, 204.05697	-3.92	96.25
Lomefloxacin (洛美沙星)	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	7.370	352.14673	334.13544, 308.15662, 265.11450	-1.11	98.25
Nalidixic acid (萘啶酸)	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	9.538	233.09242	215.08206, 187.05052, 131.06062	-0.95	83.08
Oxolinic acid (恶喹酸)	$C_{13}H_{11}NO_5$	8.771	262.07141	244.06110, 216.02902, 160.03928	-1.11	84.53
Flumequin (氟甲喹)	$C_{14}H_{12}FNO_3$	9.682	262.08786	244.07687, 202.03030, 174.03494	-0.78	88.35
Danofloxacin (达氟沙星)	$C_{19}H_{20}FN_3O_3$	7.292	358.15692	340.14630, 255.05676, 82.06566	-0.65	88.45
Difloxacin (双氟沙星)	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3 \cdot HCl$	7.448	400.14807	382.13608, 299.09827, 58.06530	-0.8	99.55
Orbifloxacin (奥比沙星)	$C_{19}H_{20}F_3N_3O_3$	7.459	396.15268	352.16428, 295.10602, 267.03815	-1.00	94.54
Sparfloxacin (司帕沙星)	$C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$	7.993	393.17398	349.18417, 292.12643, 58.06548	-0.84	96.84
Fleroxacin (氟罗沙星)	$C_{17}H_{18}F_3N_3O_3$	6.659	370.13788	326.14777, 269.09048, 58.06532	-0.93	96.62
<b>Cephalosporins</b>						
Cephalexin (头孢氨苄)	$C_{16}H_{17}N_3O_4S$	6.992	348.10022	140.01656, 106.06514, 68.05019	-1.06	89.72
Cephapirin (头孢匹林钠)	$C_{17}H_{16}N_3O_6S_2Na$	5.585	424.06357	292.05737, 181.04324, 152.01637	-0.82	97.57
Cefaclor (头孢克洛)	$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$	6.603	368.04694	174.54530, 106.06565	-0.07	96.51
Cefixime (头孢克肟)	$C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$	7.337	454.04984	285.02887, 210.02115, 126.01183	-0.97	97.63
Cephadrine (头孢拉定)	$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	7.381	350.18863	191.08199, 108.08082, 91.05441	-0.32	84.89
Cefquinome (头孢喹肟)	$C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$	6.347	529.13214	134.09663, 167.02542	0.31	99.49
Cefetamet pivoxyl (头孢他美酯)	$C_{20}H_{25}N_5O_7S_2$	9.983	512.12869	398.05936, 241.03958, 57.07028	-0.36	99.58
Cefazolin (头孢唑啉)	$C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$	7.415	455.03787	323.05524, 295.06052, 156.01146	-0.63	92.67
Desacetylcefotaxime (3-去乙酰基头孢噻肟)	$C_{14}H_{15}N_5O_6S_2$	5.469	414.0545	156.02243, 126.01189, 60.04457	-0.42	99.60
Cefamandole lithium (头孢孟多锂)	$C_{18}H_{17}N_6O_5S_2Li$	8.059	463.08127	347.06961, 158.02698, 68.04770	0.78	94.31

表 1 (续)  
Table 1 (Continued)

Compound	Formula	$t_R$ /min	Precursor ion ( $m/z$ )	Fragment ions ( $m/z$ )	Mass error/ $10^{-6}$	Score
Cefminox sodium (头孢米诺钠盐)	$C_{16}H_{20}N_7NaO_7S_3$	4.635	520.07169	161.03818, 215.04808	0.68	97.37
Cefoperazone sodium (头孢哌酮钠)	$C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$	7.781	646.14758	530.13062, 290.11304, 143.08093	1.20	92.83
Cefadroxil (头孢羟氨苄)	$C_{16}H_{17}N_3O_5S$	4.680	364.09638	208.02491, 114.00074, 68.04988	-0.63	84.34
Ceftiofur (头孢噻呋)	$C_{19}H_{17}N_5O_7S_3$	8.815	524.03809	241.03912, 210.02058, 126.01196	0.28	97.01
Cefotaxime (头孢噻肟)	$C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$	7.203	456.06531	323.05579, 295.05969, 156.01146	-0.56	98.26
Ceftazidime (头孢他啶)	$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$	5.747	547.10073	396.07877, 277.02289, 167.02718	0.87	97.25
Cephalonium (头孢洛宁)	$C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$	6.114	459.07953	337.03067, 152.01624, 123.05494	0.12	99.55
Cefpirome (头孢唑肟)	$C_{22}H_{22}N_6O_5S_2$	5.558	515.11633	396.04276, 324.05823, 120.08104	0.56	98.60
<b>Hormones</b>						
Medroxyprogesterone 17-acetate (醋酸甲羟孕酮)	$C_{24}H_{34}O_4$	11.317	387.25415	285.22110, 123.08038, 97.06510	-1.18	98.99
17-Methyltestosterone (甲基睾酮)	$C_{20}H_{30}O_2$	11.205	303.23282	227.17902, 109.06502, 97.06518	-1.10	98.12
Testosteronepropionate (丙酸睾酮)	$C_{22}H_{32}O_3$	11.572	345.23514	97.06500, 109.06480	-1.14	98.62
Norgestimate (炔诺酮酯)	$C_{23}H_{31}NO_3$	11.417	370.2388	124.07552, 98.06010, 79.05455	-1.51	98.28
Norethindrone (炔诺酮)	$C_{20}H_{26}O_2$	10.872	299.20129	231.17410, 109.06481, 83.04930	-0.65	97.44
Testosterone (睾酮)	$C_{19}H_{28}O_2$	11.072	289.21695	109.06510, 97.06523	-1.00	98.57
Nortestosterone (诺龙)	$C_{18}H_{26}O_2$	10.883	275.20148	257.18985, 109.06498, 83.04929	-0.96	98.29
Trenbolone (群勃龙)	$C_{18}H_{22}O_2$	10.650	271.1701	199.11153, 107.04932, 83.04940	-4.29	97.20
D(-)-Norgestrel (甲基炔酮)	$C_{21}H_{28}O_2$	11.150	313.21692	245.19000, 109.06498, 83.04930	-1.27	98.66
Megestrol (甲地孕酮)	$C_{22}H_{30}O_3$	11.228	343.22778	267.17401, 187.11162, 97.06499	-1.27	98.20
Hydrocortisone (氢化可的松)	$C_{21}H_{30}O_5$	10.038	363.21699	327.19510, 121.06483, 97.06495	-1.09	98.59
Cortisone (可的松)	$C_{21}H_{28}O_5$	9.821	361.20181	163.11154, 121.06488, 93.07002	-1.13	98.94
Prednisone (泼尼松)	$C_{21}H_{26}O_5$	9.727	359.18607	265.15845, 171.08022, 147.08022	-0.96	98.79
<b>Nitrofurans</b>						
Nitrofurazone (呋喃西林)	$C_6H_6N_4O_4$	6.465	199.04688	182.01959, 108.03228, 54.01043	-1.33	99.73
Furazolidone (呋喃唑酮)	$C_8H_7N_3O_5$	6.558	226.04655	139.01385, 122.01112, 67.04184	-0.92	99.57
Nitrofurantoin (呋喃妥因)	$C_8H_6N_4O_5$	6.476	239.04124	103.07568, 59.04915	0.50	99.43
Furaltadone (呋喃它酮)	$C_{13}H_{16}N_4O_6$	4.153	325.11456	252.09782, 128.10684, 100.07582	-0.93	93.61
<b>Triphenylmethane</b>						
Leucomalachite green (孔雀石绿)	$C_{23}H_{26}N_2$	11.222	331.21772	313.16995, 208.11189	-0.92	99.17
Malachite green (无色孔雀石绿)	$C_{23}H_{24}N_2$	9.977	329.20185	313.16995, 208.11189	-0.52	83.43
<b>Tetracyclines</b>						
Oxytetracycline (四环素)	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	7.081	461.14818	201.05482, 426.11868	0.49	98.75
Tetracycline (土霉素)	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	6.970	445.15327	154.04965, 410.12381	0.33	91.11
Chlortetracycline (金霉素)	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$	8.059	479.11429	154.04990, 444.08395	0.52	95.27
<b>Macrolides</b>						
Erythromycin (红霉素)	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	9.749	734.46907	576.37170, 158.1160	-0.19	86.42
Roxithromycin (罗红霉素)	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	10.338	837.5318	679.43780, 494.3355	-0.41	87.31
Lincomycin (林可霉素)	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	6.281	407.2137	359.21640, 126.1274	-0.95	86.90
Clarithromycin (克拉霉素)	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	10.272	748.47689	407.22150, 126.1748	-0.66	89.30
Oleandomycin (磷酸竹桃霉素)	$C_{35}H_{64}NO_{16}P$	9.249	688.41938	544.31530, 158.1753	-0.63	84.78
Clindamycin (克林霉素)	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$	8.930	425.17987	350.22220, 174.1116	-0.89	80.87
<b>Nitroimidazoles</b>						
Dimetriazole (地美硝唑)	$C_5H_7N_3O_2$	4.414	142.05383	96.01963, 81.15461	-0.46	99.51
Dimetridazole-2-hydroxy (羟甲基甲硝咪唑)	$C_5H_7N_3O_3$	3.599	158.04874	112.06292, 140.04510	-0.32	99.81
Hydroxymetronidazole (羟基甲硝唑)	$C_6H_9N_3O_4$	2.995	188.05931	123.05501, 126.02953	-1.27	99.66
Metronidazole (甲硝唑)	$C_6H_9N_3O_3$	4.054	172.06439	111.04098, 128.04526	-0.85	98.65
<b>Benzodiazepines</b>						
Diazepam (地西洋)	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	10.855	285.07164	154.04146, 193.08847	-0.80	99.06

## 1.4 样品前处理

### 1.4.1 样品提取

准确称取粉末状渔药 100 mg(液态药物用移液枪准确移取 100  $\mu$ L)于 50 mL 离心管中,加入 2 mL 超纯水,涡旋 2 min,加入 8 mL 乙腈,40  $^{\circ}$ C 超声提取 15 min, 12 000 r/min 离心 5 min,待稀释。

### 1.4.2 稀释净化

抗生素粉剂类渔药,准确移取提取液 20  $\mu$ L,用 10% (v/v,下同)乙腈水溶液定容至 1 mL,配制成稀释倍数为 50 倍的初始稀释液;中草药制剂准确移取提取液 100  $\mu$ L,用 10% 乙腈水溶液定容至 1 mL,配制成稀释倍数为 10 倍的初始稀释液;上述稀释液均过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜,上机测试。其中抗生素粉剂上机液进样时,每个样品间隔 1 针空白溶剂进样。

## 1.5 UPLC-Q-TOF/MS 条件

### 1.5.1 色谱条件

色谱柱为 Waters ACQUITY PREMIER HSS T3 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m);流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为甲醇;流速为 0.4 mL/min;柱温为 40  $^{\circ}$ C;进样量为 2  $\mu$ L。梯度洗脱程序设定:0~1 min, 3% B; 1~5 min, 3% B~20% B; 5~10 min, 20% B~75% B; 10~10.5 min, 75% B~100% B; 10.5~14 min, 100% B; 14~14.5 min, 100% B~3% B; 14.5~15 min, 3% B。

### 1.5.2 质谱条件

离子源: Dual AJS ESI 源;扫描方式:正离子全扫描;毛细管电压:4 000 V;鞘气温度:350  $^{\circ}$ C;鞘气流速:12.0 L/min;干燥气流速:8.0 L/min;干燥气温度:325  $^{\circ}$ C;诱导解离电压:150 V。一级质谱数据采集为单极质谱全扫描模式,全扫描范围  $m/z$  50~1 000,采集速率为 2 spectra/s。二级质谱数据采集为目标离子采集模式,扫描范围  $m/z$  50~1 000,采集速率为 2 spectra/s,碰撞能量为 10、20 和 40 eV。采集数据时采用参比液(嘌呤,  $C_5H_4N_4$ ,其离子精确相对质量为 121.050 863)实时质量校准。

### 1.5.3 筛查参数

采用 Agilent Mass Hunter Workstation Software (Version B 5.00) 软件完成各化合物数据的采集与处理, Agilent Mass Hunter PCDL Manager (B 4.00) 软件完成化合物筛查数据库的建立。匹配总得分涉及质量得分、同位素强度得分、同位素间距得分、保留时间等因素,四者的权重值均 100。筛查列表以  $\pm 0.02$  Da 质量宽度提取化合物的分子离子峰。

数据库筛查以  $\pm 10 \times 10^{-6}$  ( $\pm 10$  ppm) 精确质量偏差提取化合物的分子离子峰,保留时间限定误差  $\pm 0.35$  min,离子化形式选择 +H、+NH<sub>4</sub>、+Na 模式。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱-质谱条件的优化

#### 2.1.1 色谱柱的选择

本研究考察了 ACQUITY PREMIER HSS T3 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m, 简称 T3 柱)、ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (100 mm $\times$ 3.0 mm, 1.8  $\mu$ m) 和 ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> Narrow Bore RR (100 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5  $\mu$ m) 3 种色谱柱对 86 种化合物的分离情况和检测灵敏度。结果表明,大部分化合物在 T3 柱上的灵敏度更高,尤其是头孢类药物和四环素类药物,其在 T3 柱上的响应是其他两根色谱柱上的 2~4 倍。相较于其他色谱柱, T3 柱对于部分极性较大的药物具有更强的保留能力,同时新型 PREMIER T3 柱在柱管内侧和填料之间采用了 MAX PEAK HPS 表面涂层技术,可通过减少四环素类等化合物与色谱柱表面金属离子的相互作用,改善化合物的峰形,提高检测的灵敏度。

#### 2.1.2 流动相的选择

选择 PREMIER T3 色谱柱,比较了甲醇-水体系和乙腈-水体系在梯度洗脱条件下对 86 种化合物分离效果和灵敏度的影响。结果表明,在 ESI<sup>+</sup> 模式下,流动相中加入 0.1% 的甲酸可提高目标药物的离子化效率,明显改善酸碱化合物的峰形。乙腈-水体系无法将 3 种磺胺同分异构体 ( $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ ) 中的磺胺对甲氧嘧啶和磺胺甲氧吡嗪分开,而甲醇-水体系则可以很好地将这两种化合物分开。甲醇极性更强,作为流动相对两性化合物和极性大的化合物更有优势,同时洗脱能力较弱,能够对化合物较好保留。此外,在本实验条件下,甲醇还可以显著提高头孢类(平均响应提高 3 倍)、四环素类(平均响应提高 3.5 倍)和磺胺类(平均响应提高 2 倍)等化合物的灵敏度。因此本方法选择甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相。图 1 为 3 种磺胺类药物的同分异构体 ( $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ ) 分别在乙腈-0.1% 甲酸水溶液体系和甲醇-0.1% 甲酸水溶液体系中的提取离子色谱图。图 2 为 86 种化合物混合标准溶液的提取离子色谱图,在 1.5 节条件下,14 min 内可完成 86 种化合物的分析,且目标物的峰形较好,保持了较高的检测灵敏度。

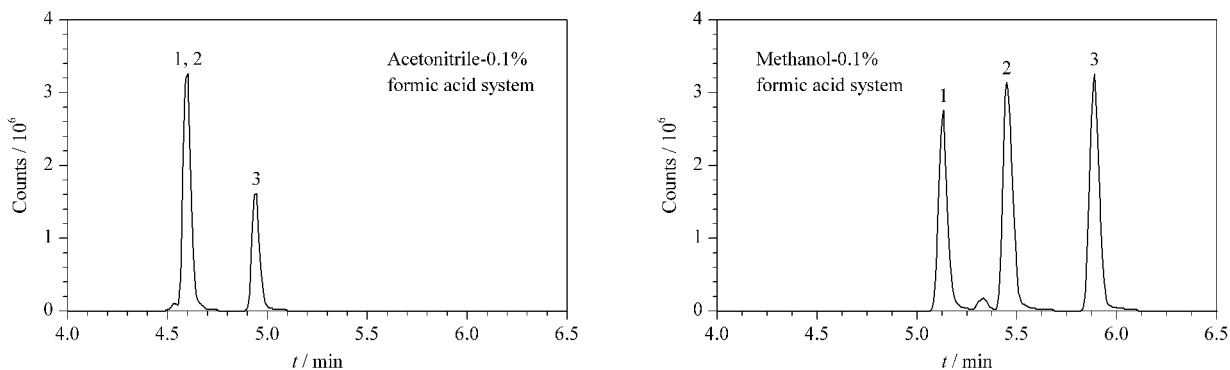


图 1 不同流动相体系下 3 种磺胺类药物同分异构体的提取离子色谱图

Fig. 1 Extracted ion chromatograms of three sulfonamide isomers using different mobile phases

An ACQUITY PREMIER HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was employed.

Peak identifications: 1. sulfameter; 2. sulfamethoxypyridazine; 3. sulfamonomethoxine.

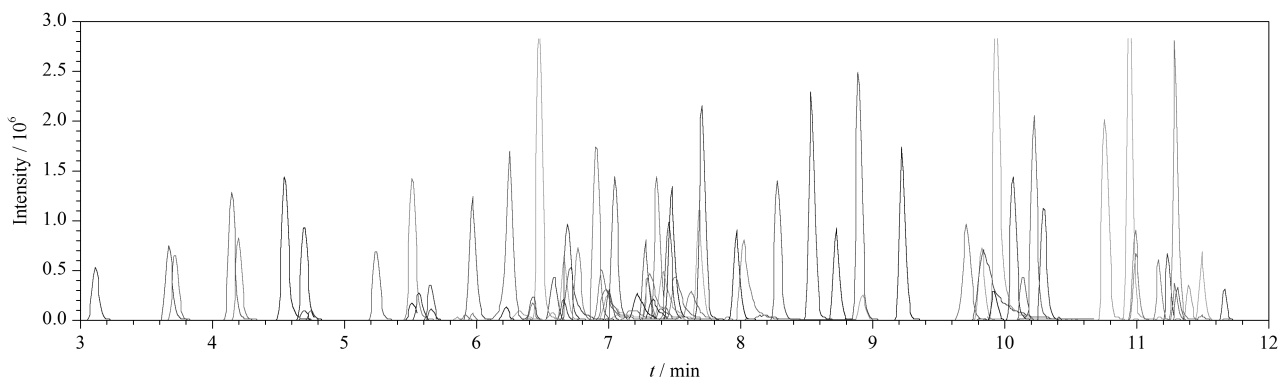


图 2 86 种化合物的提取离子流色谱图

Fig. 2 Extracted ion chromatogram of the mixed standard solution of the 86 compounds (100 μg/L)

An ACQUITY PREMIER HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was employed, with methanol and 0.1% formic acid as mobile phases for gradient elution.

### 2.1.3 质谱参数优化

飞行时间质谱仪毛细管出口区域的碰撞诱导解离电压 (Fragmentor) 能够影响离子的传输效率, Fragmentor 过低时不利于离子聚焦和传输, Fragmentor 过高时会造成离子的源内裂解, 两种情况都会对检测的灵敏度产生影响<sup>[15]</sup>。本研究分别优化了 10 类 86 种化合物的诱导解离电压在 70~210 V 时的分子离子峰响应情况。图 3 为每类化合物在不同强度诱导解离电压下的分子离子峰的平均响应强度。结果显示, 诱导解离电压为 150 V 时, 10 类 86 种化合物均能获得较高强度的响应值, 因此本实验选择诱导解离电压为 150 V。

## 2.2 筛查信息数据库建立

### 2.2.1 一级精确质量数据库的建立

化合物筛查数据库是筛查目标化合物的判定依据, 在最佳的色谱-质谱条件下, 对 86 种化合物进行 Q-TOF/MS 一级质谱全扫描分析获取信息, 分别将 86 种化合物的色谱峰对应的化合物名称、分子式、

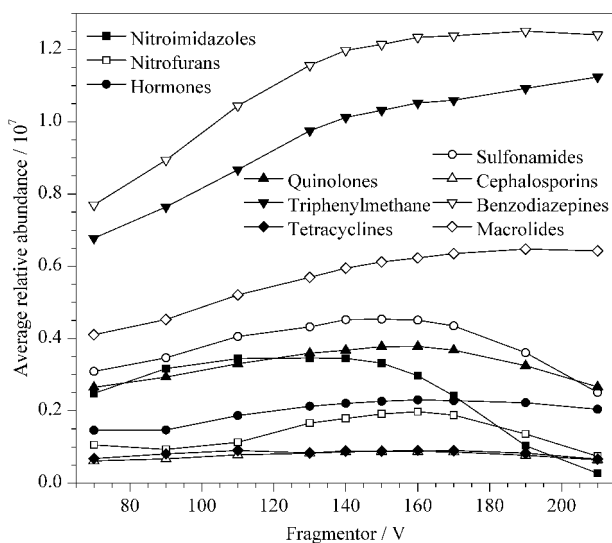


图 3 碎裂电压为 70~210 V 时 10 类化合物的平均响应强度趋势

Fig. 3 Trend of the average response intensity of 10 classes of compounds with the fragmentor response ranging from 70 to 210 V

母离子精确质量数及保留时间等信息导入 PCDL 数据库软件,得到化合物的一级精确质量数据库,用于软件初步筛查分析。

### 2.2.2 二级碎片离子质谱图数据库的建立

在 1.5 节条件下,对已获得精确质量数的母离子作不同碰撞能量(10、20、40 eV)的 Targeted MS/MS 二级质谱扫描,采集并分析所有二级碎片离子质谱图,得到 86 种化合物离子的质谱图数据库,用于精确质量数据库初筛结果的最终确认。另外,将相对丰度在 10% 以上的碎片离子作为该化合物的定性点,取定性点最多的碰撞能量作为其确证的最佳条件。86 种化合物的定性点均达到 4 个以上,满足欧盟 2002/657/EC 决议对质谱分析方法的规定<sup>[16]</sup>。UPLC-Q-TOF/MS 获得的定性位点远远高于 LC-MS/MS 的 4 个位点,从而大大降低了出现假阳性结果的概率,提高了定性结果的可信度。表 1 列出了 86 种化合物的精确质量数、保留时间、母离子和相对丰度最高的 2~3 个特征离子碎片、质量偏差和一级库检索得分等信息。

## 2.3 样品前处理条件的选择和优化

### 2.3.1 提取试剂的选择

本研究涉及激素类、磺胺类、氟喹诺酮类、硝基咪唑类、大环内酯类、头孢类、四环素类等多类化合物,化合物间化学性质差异较大,应选择合适的提取溶剂以满足所有化合物的提取需求。实验分别比较了甲醇、乙腈、80% 乙腈水溶液作为提取溶剂时的提取效果。结果如图 4 所示,纯甲醇或纯乙腈对头孢类、喹诺酮类、四环素类药物提取效果较差,80% 乙腈水溶液提取效果最佳。在 80% 乙腈水溶液中分别加入 0.2%、0.1%、0.05% 的甲酸进行考察,实验发现,甲酸的加入会增强部分头孢类、四环素类、孔雀石绿和喹诺酮类药物的响应,但磺胺类和红霉素类药物响应有较大幅度降低,尤其是红霉素。红霉素在酸性条件下不稳定、易分解<sup>[17]</sup>。提取体系存在 0.05% 甲酸时红霉素的响应比无甲酸时的响应降低 70%。综上,选择 80% 乙腈水溶液作为提取试剂。

### 2.3.2 净化方式的选择

研究比较了 C<sub>18</sub>、PSA、GCB 等 3 种吸附剂对渔药提取液的净化效果和对目标化合物回收率的影响。结果显示,GCB 能有效地去除渔药中的色素,但对喹诺酮类药物具有极强的吸附。加入 20 mg 的 GCB 时,16 种喹诺酮类化合物中有 14 种回收率低于 10%。PSA 能够去除极性干扰物质,但对四环

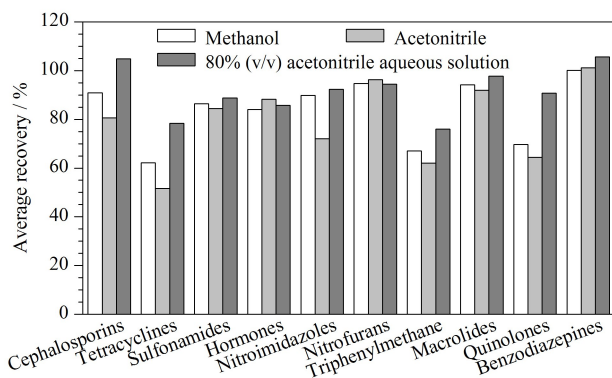


图 4 10 类化合物在不同提取体系时的平均回收率  
Fig. 4 Average recoveries of 10 classes of compounds using different extraction systems

素类、喹诺酮类和头孢类等化合物有较强的吸附。当加入 50 mg 的 PSA 时,14 种头孢类药物和 3 种四环素类药物完全被吸附,9 种喹诺酮类药物回收率低于 60%,此结果与郭海霞等<sup>[18]</sup>的实验结果一致。C<sub>18</sub> 能够吸附脂肪等强疏水性干扰物,而渔药中草药中的主要干扰物质一般为色素和有机酸。虽然 C<sub>18</sub> 对 86 种化合物均无明显吸附,但通过净化前后化合物回收率的比对发现,C<sub>18</sub> 对渔药基质无法起到较好的净化效果。渔药一般通过池塘泼洒或拌饲进行给药,若进行非法添加通常添加药物含量较高,本研究考虑采用直接稀释法以降低基质效应(ME)。

### 2.3.3 稀释倍数和基质效应评价

渔药样品经过稀释后可以减少基质效应对检测结果的干扰,但稀释倍数过高会降低分析方法的灵敏度,因此需要对渔药在不同稀释倍数下的基质效应进行考察,以确定适宜的稀释倍数。本实验中基质效应通过如下公式计算:基质效应=(基质空白溶液加标信号强度/空白溶剂加标信号强度)×100%,当计算值为 80%~120% 时,认为基质效应不明显;小于 80% 时,表明存在明显的基质抑制作用;大于 120% 时,表明存在明显的基质增强作用<sup>[19]</sup>。抗生素粉剂和中草药制剂基质差异性较大,本研究同时对这两大类渔药进行了基质效应考察。抗生素粉剂选择了 2 种常见治疗渔药为代表样品(主要成分分别为恩诺沙星和红霉素),中草药制剂选取了 4 种渔用中草药为代表样品(主要成分基本涵盖渔药中草药制剂的常见药草成分)。按照 1.4.1 节处理获取提取液,以 10% 乙腈水溶液作为稀释液,考察了上述渔药提取液在 2、5、10、20、50、100 和 200 倍稀释倍数下 86 种化合物的基质效应。



结果如图 5 所示,2 种抗生素粉剂基质干扰较小,在样品稀释倍数为 5 倍时,86 种化合物即无明显的基质效应,但此时抗生素粉剂原药上机浓度过高,会对仪器造成污染。经验证,当抗生素粉剂稀释倍数为 50 倍时,在 2  $\mu\text{L}$  进样量情况下,通过上机时样品之间间隔 1 针空白试剂进样,即可消除色谱体系中原料药残留对下个样品分析的影响。考虑到稀释倍数过高,会降低筛查灵敏度,实验中将抗生素粉剂的初始稀释倍数定为 50 倍,并通过上机时样品之间间隔空白试剂进样的方式消除针间污染,此时 86 种化合物均无明显的基质效应,直接采用试剂配制标准曲线外标法进行定量分析。4 种中草药制剂基质较为复杂,在稀释倍数较低时(如 2 倍和 5 倍),基质效应显著的化合物数量较多,如 3 号中草药制剂在稀释 5 倍时,仅有 51 种化合物的基质效应在 80%~120% 范围内,当稀释倍数增加至 10 倍时,仅有少量化合物存在明显的基质效应。在本实验中为获得较低的筛查限(SDL),将中草药制剂类渔药的初始稀释倍数定为 10 倍,并通过基质匹配标准曲线法进行定量分析,以保证检测结果的准确性。

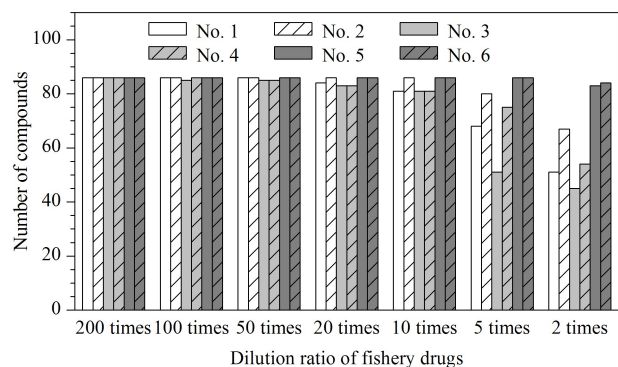


图 5 6 种渔药在不同稀释倍数下基质效应在 80%~120% 之间的化合物数量

Fig. 5 Numbers of compounds in six types of fishery drug substrates, with matrix effects ranging from 80% to 120%, using different dilution ratios

Nos. 1-4: Chinese herbal medicines; Nos. 5-6: antibiotics.

### 2.4 定性筛查与确证

实际样品经过前处理后首先通过一级质谱全扫描测定,获得的数据通过已建立的一级精确质量数据库在设定的检索参数下进行自动检索,软件根据实测离子与数据库中的精确质量偏差、保留时间、同位素分布和同位素比例 4 个因素的匹配程度进行打分,经优化,将检索得分 $\geq 80$  分的化合物,确定为疑似阳性。再利用二级质谱的碎片离子对疑似阳性样

品进一步确证。样品经二次进样测定后,将样品的二级碎片离子信息与已建立的二级碎片离子质谱图数据库中碎片离子信息进行匹配,若有两个及两个以上的主要碎片离子匹配,则可确证为非法添加的药物。

以实际样品中检测到的磺胺类药物甲氧苄氨嘧啶为例,对实际样品前处理后进行 MS 测定,获得结果通过一级质谱库进行检索,检索得分为 97 分,保留时间和同位素比例及其分布与数据库中的理论值匹配良好,质量偏差为  $0.78 \times 10^{-6}$ ,从而认为甲氧苄氨嘧啶为此渔药中疑似添加的药物。图 6a 为甲氧

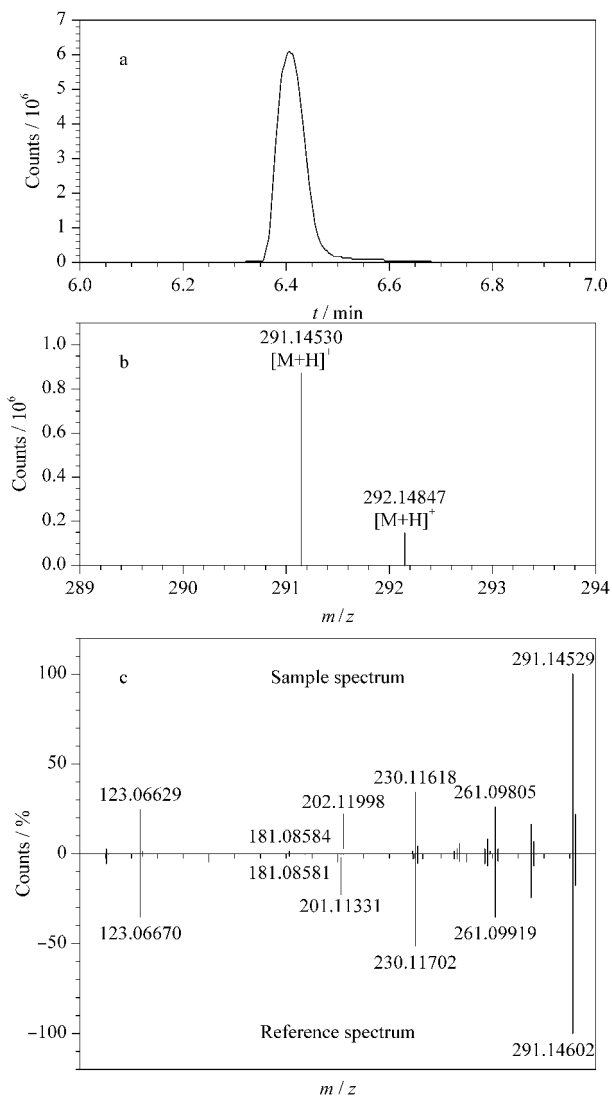


图 6 实际渔药样品中甲氧苄氨嘧啶的 (a) 提取离子色谱图、(b) 一级质谱同位素分布图、(c) 二级质谱图和数据库中的甲氧苄氨嘧啶二级质谱图

Fig. 6 (a) Extracted ion chromatogram and (b) MS profile of trimethoprim in a fishery drug sample, and (c) comparison of the MS/MS spectra of trimethoprim in the fishery drug sample and database

苜氧苄啶的一级提取离子流色谱图,图6b为一级质谱同位素分布图。将样品的二级碎片离子信息与二级库中碎片离子信息进行匹配。图6c为实际样品中甲氧苄啶和数据库中甲氧苄啶的二级质谱对比结果,可以明显看出其主要的特征碎片与谱图库均匹配良好,二级得分为90分,故确定样品中含有甲氧苄啶。

为了考察本研究所建立的筛查方法的可靠性,采用已建立的一级精确质量数据库和二级谱图库对添加了86种化合物的渔药样品进行自动检索。86种化合物均与一级精确质量数据库检索匹配良好,质量偏差均小于 $5 \times 10^{-6}$ ,检索得分均高于80。

## 2.5 方法学验证

### 2.5.1 筛查限

本实验通过逐级稀释标准溶液浓度,将能够稳定可靠地筛查出化合物的最低浓度(筛查分数 $>80$ 分)作为该化合物的筛查限<sup>[20]</sup>。中草药制剂取空白样品按1.4节将样品处理成空白基质溶液,使用空白基质溶液对标准溶液进行逐级浓度稀释;抗生素粉剂使用10%乙腈水溶液对标准溶液进行逐级浓度稀释。结果表明,中草药制剂和抗生素粉剂中86种禁限用药物非法添加的筛查限范围分别为1~15 mg/kg和5~50 mg/kg(具体数据见附表 <https://www.chrom-China.com>)。据文献<sup>[5,6]</sup>报道,渔药中禁限用药物添加浓度较高,本方法的筛查限可以满足实际检测需求。

### 2.5.2 线性范围和定量限

根据86种化合物在质谱中的响应,配制不同浓度的系列混合标准溶液,中草药制剂采用空白基质溶液配制标准溶液,抗生素粉剂采用溶剂配制标准溶液。在1.5节条件下,将系列混合标准溶液上机测定。86种化合物均以提取离子色谱图的峰面积( $y$ )为纵坐标,对应的质量浓度( $x$ ,  $\mu\text{g/L}$ )为横坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程(具体数据见附表)。结果表明,在上述两种情况下,86种化合物的标准曲线均线性关系良好,相关系数( $r^2$ )均大于0.99。

以目标化合物的信噪比等于10( $S/N=10$ )的含量,确定该化合物的定量限(LOQ)(见附表)。结果表明,中草药制剂中86种化合物的定量限范围为1~15 mg/kg,抗生素粉剂中86种化合物的定量限范围为5~75 mg/kg。当渔药中禁限用药物添加含量较高导致初次上机浓度超出方法标准曲线的线性范

围时,在1.4节所述的初始稀释倍数基础上,进一步稀释10、100、1000倍,以此类推,以10倍为数量级逐级稀释,直到待测物的上机浓度落在标准曲线的线性范围之内。其中,中草药制剂采用空白基质液稀释,抗生素粉剂采用10%乙腈水溶液稀释。通过稀释可满足实际过程中不同浓度禁限用药物添加的渔药筛查。本方法也适用于免疫调节剂、微生物制剂等其他多种渔药基质中禁限用药物的非法添加筛查,不同渔药基质筛查限略有不同。

## 2.6 回收率和精密度

采用在抗生素粉剂和中草药制剂基质中添加86种化合物标准溶液的方法进行添加回收率测定。中草药制剂中的添加浓度为20、100和150 mg/kg,抗生素粉剂中添加浓度为50、250和500 mg/kg,每个水平重复测定3次,按照1.4节前处理方法和1.5节仪器条件进行测定,筛查与定量结果表明,各药物的检出率为100%,86种化合物在两种渔药中的加标回收率为76.8%~112.1%,相对标准偏差(RSD,  $n=3$ )均小于11.7%。由此可见,本实验建立的筛查方法准确可靠,可实现渔药中86种化合物的无标准品、高选择性的快速筛查和确证。

## 2.7 实际样品检测

应用本文所建立的筛查方法对浙江省主要水产养殖投入品质量安全抽检任务中的60批次渔药样品进行禁限用药物非法添加的快速筛查检测。在60个渔药样品中,1种标注主要成分为恩诺沙星的抗菌药中未检出有效成分,8种中草药中筛查出成分表中未标注的药物成分,具体结果见表2。由此可见,目前浙江省生产环节使用的渔药存在非法添加未注明药物、质量参差不齐等不良现象。因此,渔技推广部门需要加强对养殖户科学选药的指导宣传,渔政部门应加强渔药的监管工作,有效地制约不法市场行为,倡导科学用药,保证水产品质量安全。

## 3 结论

本研究利用液相色谱-四极杆-飞行时间质谱,建立了10类共86种化合物的精确质量数据库和二级质谱图库,针对不同渔药基质,通过优化稀释倍数进行前处理,配合数据库检索,实现了一次进样、不需要标准品即可完成渔药中86种禁限用药物非法添加的全面筛查与确证。方法准确、高效,可有效避免假阳性的出现,成功应用于浙江省渔药中禁限用药物非法添加的隐患排查。

表 2 实际筛查渔用中草药制剂阳性样品结果  
Table 2 Positive screening results of Chinese herbal medicine samples

Sample	Unlisted ingredient	Contents/(mg/kg)	Mass errors/ $10^{-6}$	Scores (TOF/MS)	Scores (TOF/MS/MS)
1	enrofloxacin	3515	-1.21	96	90
2	trimethoprim	1121	0.93	96	87
3	trimethoprim, enrofloxacin	452, 289	1.12, 0.84	92, 94	91, 89
4	ofloxacin, enrofloxacin	167, 243	0.77, 0.56	89, 91	84, 90
5	trimethoprim	2278	0.97	97	91
6	sulfamethoxazole	102	1.31	93	93
7	trimethoprim	512	0.56	95	86
8	enrofloxacin	23720	-0.54	95	91

## 参考文献:

- [1] Fishery Administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fishery Statistics Yearbook 2020. Beijing: China Agriculture Press, 2020  
农业农村部渔业渔政管理局. 2020 年中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2020
- [2] Feng Y H, Niu J G, Cai L G, et al. Contemporary Aquatic, 2019(4): 86  
封永辉, 牛建功, 蔡林刚, 等. 当代水产, 2019(4): 86
- [3] Wang Y T. Contemporary Aquatic, 2019(2): 84  
王玉堂. 当代水产, 2019(2): 84
- [4] Wang Y T. China Aquatic, 2013(11): 44  
王玉堂. 中国水产, 2013(11): 44
- [5] Yan H, Liu X, Zhang H Y, et al. Chinese Journal of Food Hygiene, 2013, 25(5): 391  
严华, 刘鑫, 张海燕, 等. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(5): 391
- [6] Kong C, Zhou Z, Wang Y, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2017, 45(2): 245  
孔聪, 周哲, 汪洋, 等. 分析化学, 2017, 45(2): 245
- [7] Tan D L, Kang K, Wu S, et al. Chinese Journal of Fisheries, 2014, 27(6): 55  
覃东立, 康凯, 吴松, 等. 水产学杂志, 2014, 27(6): 55
- [8] Yang L, Zou H M, Wen Y Y, et al. Journal of Xiamen University, 2007, 42(2): 293  
杨琳, 邹红梅, 温裕云, 等. 厦门大学学报, 2007, 42(2): 293
- [9] William P, Emmanuelle V. J Chromatogr A, 2013, 1290(5): 46
- [10] Zhang Y, Liu X, Li X, et al. Food Control, 2016, 60(2): 667
- [11] Zhu W Y, Zhang X, Yang J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(9): 1002  
朱万燕, 张欣, 杨娟, 等. 色谱, 2015, 33(9): 1002
- [12] Wang X B, Li Q Y, Ran J F, et al. Food Safety and Quality Detection Technology, 2019, 10(5): 1214  
王小兵, 李启艳, 冉金凤, 等. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1214
- [13] Song W, Zhao M, Han F, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(12): 1261  
宋伟, 赵暮, 韩芳, 等. 色谱, 2018, 36(12): 1261
- [14] Tian H, Wang J Q, Zhang Y D, et al. J Chromatogr B, 2016, 1033: 172
- [15] Li S Y, Wang Y, Zhou F, et al. Chinese Fishery Quality and Standards, 2016, 6(5): 52  
李诗言, 王扬, 周凡, 等. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(5): 52
- [16] European Commission. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC Concern Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results. Official Journal of the European Commission, 2002, L221: 8
- [17] Ke Q Q, Li S Y, Zhou F, et al. Food Science, 2017, 38(24): 241  
柯庆青, 李诗言, 周凡, 等. 食品科学, 2017, 38(24): 241
- [18] Guo H X, Xiao G Y, Zhang X Q, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(12): 1242  
郭海霞, 肖桂英, 张禧庆, 等. 色谱, 2015, 33(12): 1242
- [19] Gong S S, Zhang J, Yan F, et al. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(1): 22  
贡松松, 张婧, 严凤, 等. 分析测试学报, 2019, 38(1): 22
- [20] Xie Y J, Chen H, Gai L J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(3): 301  
谢瑜杰, 陈辉, 盖丽娟, 等. 色谱, 2021, 39(3): 301