

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240607003

超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法测定 水产品中地西洋及丁香酚类化合物残留

殷雪琰*, 王洁琼, 刘 笑, 王雨晴, 吴冬梅, 翟云忠

(常州市农产品质量安全中心, 常州 213002)

摘要: **目的** 建立基于 Turboflow 在线净化结合超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法 (ultra performance liquid chromatography-electrostatic field orbital high resolution mass spectrometry, UPLC-Q Exactive MS) 测定水产品中 4 种地西洋及代谢物和 6 种丁香酚类化合物的方法。**方法** 采用 Turboflow 在线净化, Accucore™ aQ C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm) 分离, 以水-乙腈为流动相梯度洗脱, 全扫描+自动触发二级质谱的正离子扫描监测模式, 外标法定量。**结果** 地西洋及代谢物和丁香酚类化合物在 1.0~100.0 μg/L 范围内线性良好, 化合物的相关系数(r^2)均大于 0.995; 在水产品中的定量限分别为 0.5 μg/kg、2.0 μg/kg; 加标回收率为 75.3%~110.0%, 相对标准偏差小于 10%。**结论** 该方法操作简便、灵敏度高、检出限低, 适用于水产品中地西洋及丁香酚类化合物的测定。通过调查发现, 运输环节中水产品中检出地西洋和丁香酚类化合物, 亟需对水产品中镇静剂或麻醉剂残留情况开展风险监测, 加强监管以保障水产品质量安全。

关键词: 超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法; 水产品; 地西洋及代谢物; 丁香酚类化合物

Determination of diazepam and eugenol residues in aquatic products based on ultra performance liquid chromatography-electrostatic field orbital high resolution mass spectrometry

YIN Xue-Yan*, WANG Jie-Qiong, LIU Xiao, WANG Yu-Qing,
WU Dong-Mei, ZHAI Yun-Zhong

(Agricultural Products Quality Safety Center of Changzhou, Changzhou 213002, China)

ABSTRACT: Objective To establish an online purification method for the determination of 4 kinds of diazepam and their metabolites and 6 kinds of eugenol compounds from aquatic products based on Turboflow combined with ultra performance liquid chromatography-electrostatic field orbital high resolution mass spectrometry (UPLC-Q Exactive MS). **Methods** The samples were purified by on-line Turboflow. The analytes were separated on a Accucore™ aQ C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm) by gradient elution with water-acetonitrile solution as the mobile phases. The MS analysis was performed by full scan and automatic trigger secondary mass spectrometry monitoring in the positive ion mode. The external standard method was used for quantification. **Results** Diazepam,

基金项目: 常州市农业科技创新和推广示范项目(2023004)

Fund: Supported by the Agricultural Science and Technology Innovation and Extension Demonstration of Changzhou (2023004)

*通信作者: 殷雪琰, 硕士, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: 476118055@qq.com

*Corresponding author: YIN Xue-Yan, Master, Senior Agronomist, Agricultural Products Quality Safety Center of Changzhou, Changzhou 213002, China. E-mail: 476118055@qq.com

its metabolites and eugenol compounds had good linearity in the range of 1.0–100.0 $\mu\text{g/L}$, and the correlation coefficient (r^2) of the compounds was greater than 0.995. The limits of quantification in aquatic products were 0.5 $\mu\text{g/kg}$, and 2.0 $\mu\text{g/kg}$, respectively. The recoveries were 75.3%–110.0%, and the relative standard deviations were less than 10%. **Conclusion** The method has the advantages of simple operation, high sensitivity and low detection limit, and is suitable for the determination of diazepam and eugenol residues in aquatic products. Through the investigation, it is found that diazepam and eugenol compounds are detected in aquatic products during transportation, and it is urgent to carry out risk monitoring on the residues of sedatives or anesthetics in aquatic products and strengthen supervision to ensure the quality and safety of aquatic products.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-electrostatic field orbital high resolution mass spectrometry; aquatic products; diazepam and its metabolites; eugenol compounds

0 引言

地西洋俗称安定,是一种镇静剂类药物,主要用于人和动物镇静、催眠及癫痫的治疗^[1-2],人体长期服用会产生药物依赖性和耐药性。一些商贩为了降低水产品对环境的应激反应,提高存活率^[3],在养殖及运输过程中添加使用。地西洋在动物体内残留后通过食物链富集转移到人体,且残留周期长^[4],危害人体健康^[5-6]。GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定,地西洋允许作治疗用,不得在动物性食品中检出。我国规定地西洋在水产养殖过程中不得使用^[7]。

丁香酚类化合物具有麻醉、抑菌、抗氧化等多种药理作用^[8],其成本低、效果好^[9]且残留期短^[10],常被用作水产品的麻醉剂,并广泛应用于鲜活水产品的养殖、运输等领域。丁香酚作为渔用麻醉剂可以在澳大利亚、日本等国合法使用,日本等国对丁香酚作为渔用麻醉剂使用制定了相应的使用规范、残留限量标准及休药期^[11],而美国食品药品监督管理局对于丁香酚的使用有非常严格的规定,明令禁止在水产品中出现丁香酚,并将其划分为第 3 类致癌物^[12]。我国尚无明确的法规规定丁香酚类化合物可以作为水产麻醉剂使用,仅在 GB 2760—2024《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定丁香酚可作为食品级香料,但在水产品中的使用却没有明确的规定^[13]。

目前,地西洋和丁香酚类化合物常用的检测方法主要有液相色谱法^[14]、气相色谱法^[15]、液相色谱-串联质谱法^[16]和气相色谱-串联质谱法^[17]等。其中色谱法在测定复杂基质样品时,干扰物难以去除,色谱-质谱法具有前处理简单、灵敏度高、稳定性好、定性定量更准确等特点而被广泛用于痕量分析,采用气、液相色谱-串联质谱法测定地西洋^[3,18]和丁香酚类^[15-16]化合物均有相关研究报道,而采用超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法同时检测水产品中地西洋及丁香酚类化合物鲜少见报道。因此,本研究基于超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱法建立水产品中地西洋及丁香酚类化合物的检测方法,对常州

地区水产品中地西洋和丁香酚类化合物的残留开展检测,为水产养殖质量管控及产品安全监管提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Supelco 公司);地西洋、去甲西洋、奥沙西洋、替马西洋、地西洋-D5 标准溶液(质量浓度均为 100 mg/L ,纯度 > 99.3%,天津阿尔塔科技有限公司);丁香酚类化合物混合标准溶液(丁香酚、甲基丁香酚、异丁香酚、顺式-甲基异丁香酚、乙酸丁香酚酯、乙酰基异丁香酚,质量浓度 1000 $\mu\text{g/mL}$,1 mL,上海安谱试验科技股份有限公司);实验用水为超纯水。

水产品采集按照 GB/T 30891—2014《水产品抽样规范》进行,在本市市场水产运输车、垂钓塘和养殖塘共采集淡水鱼样品 114 份。

1.2 仪器与设备

Ultimate 3000 超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱仪、Turboflow 在线样品前处理设备[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];5804R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);Integral 5 纯水仪(美国 Millipore 公司);N-EVAP 氮吹仪(美国 Organomation 公司);KS501 振荡器(德国 IKA 公司);HCB1002 电子天平[精度 0.01 g,艾德姆衡器(武汉)有限公司];聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)滤膜(0.22 μm)、HLB 固相萃取柱(500 mg, 10 mL)(上海安谱试验科技股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 溶液配制

以甲醇为溶剂,将上地西洋、去甲西洋、奥沙西洋、替马西洋、地西洋-D5 标准溶液配制成质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备液,在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下储存。用 50% 甲醇水溶液将标准储备液逐级稀释成适当浓度的标准工作液使用,现配现用。

准确量取 1 mL 丁香酚类化合物混合标准溶液于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 制成质量浓度 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液。在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。用 50% 甲醇水溶液将丁香酚类标准储备液逐级稀释成适当浓度的标准工作液使用, 现配现用。

1.3.2 样品前处理

称取试样 2.00 g, 置于 50 mL 具塞离心管中, 加入 10 mL 1% 的乙酸乙腈涡旋混匀至肉完全散开, 8500 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至离心管中。将离心管中上清液置于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中氮吹至近干, 用 1 mL 50% 甲醇水溶液复溶, 涡旋混匀后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜, 收集于进样小瓶中待 Turboflow 在线净化后上机测定。

1.3.3 分析方法

(1) 在线净化条件

在线净化系统包含净化和分离两部分, 其中净化主

要在 Loading 泵中进行, 实现样品在净化柱上的净化和富集, 分离在 Eluting 泵中进行, 使净化后的化合物在分析柱上实现洗脱分离并经质谱进行分析。在线净化柱: Cyclone-P 柱($0.5\text{ mm}\times 50\text{ mm}$); 流动相 A 为 0.4% 甲酸水溶液, B 为乙腈, C 为乙腈-异丙醇-丙酮(45:45:10, V:V:V); 进样体积: 50 μL 。

(2) 液相色谱条件

色谱柱: AccucoreTM aQ C₁₈ 柱($100\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$, $2.6\text{ }\mu\text{m}$); 流动相 E 为水溶液, F 为乙腈, 柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 10 μL 。在线净化和梯度洗脱程序见表 1。

(3) 质谱条件

加热型电喷雾离子源离子源, 喷雾电压: 3500 V (+), 离子源温度: $350\text{ }^{\circ}\text{C}$, 鞘气压力: 40 arb, 辅气压力: 10 arb, 毛细管温度: $400\text{ }^{\circ}\text{C}$, 质谱数据获取模式: 全扫描+自动触发二级质谱的正离子扫描模式。

表 1 在线净化和梯度洗脱程序
Table 1 Online purification and gradient elution program

步骤	开始时间/min	步骤时长/s	Loading 泵			Eluting 泵			
			流速/(mL/min)	A/%	B/%	C/%	流速/(mL/min)	E/%	F/%
1	0.00	30	2.00	100	—	—	0.40	100	—
2	0.50	60	0.10	100	—	—	0.40	95	5
3	1.50	60	0.50	100	—	—	0.40	50	50
4	2.50	60	0.50	—	—	100	0.40	30	70
5	3.50	300	0.50	—	—	100	0.40	10	90
6	8.50	150	1.00	70	30	—	0.40	95	5
7	11.00	300	1.00	100	—	—	0.40	100	—

注: —表示无此项。

1.4 数据处理

实验重复 3 次测定, 采用 Thermo Xcalibur 4.5 软件采集数据, Thermo Trace Finder 4.1 软件进行标准曲线绘制和定量分析, 最后通过 Excel 2010 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 方法的建立及条件优化选择

2.1.1 提取剂及复溶剂的选择

地西洋及代谢产物和 6 种丁香酚的极性大小差异较大, 分别选择乙腈、甲醇、乙酸乙酯和正己烷作为提取溶剂比较提取效果。水产品中含有大量脂溶性基质, 用乙酸乙酯和正己烷提取时, 杂质较多不利于净化; 用甲醇提取时, 峰形较好但回收率偏低; 而乙腈作为提取溶剂, 可以沉淀样品中蛋白质同时基线噪音小, 峰形好且获得较好的提取效率, 因此选择乙腈作为提取溶剂。乙腈提取目标物的同时, 样品中大量的脂肪酸和磷脂类物质也被提取, 通过在线净化, 进一步去除杂质降低干扰净化提取液,

见图 1。样品氮吹后复溶分别选择乙腈、50%乙腈水溶液、甲醇、50%甲醇水溶液, 对比发现 50%甲醇水溶液复溶后峰型好, 响应高, 因此选取了 50%甲醇水溶液作为复溶液。

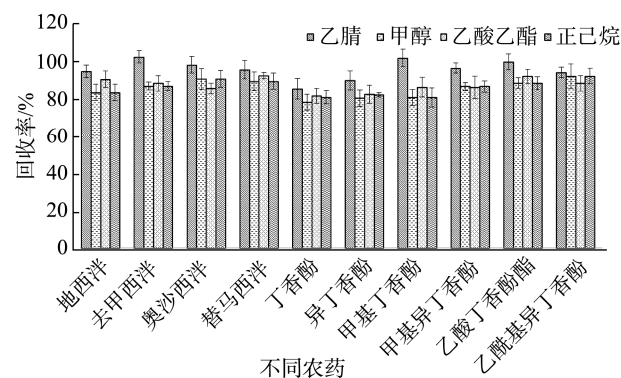


图 1 提取溶剂对 10 种目标物提取效率的影响

Fig.1 Effects of extraction solvent on the recoveries of 10 kinds of target compounds

2.1.2 液相色谱条件的优化

采用梯度洗脱模式,考察了在不同酸碱度以及缓冲盐存在条件下各化合物分离及离子化效率。流动相选用甲酸、乙酸铵缓冲液等水溶液为水相,选择甲醇与乙腈为有机相。乙腈对地西洋和丁香酚类化合物经色谱分离后信号响应和峰形均较好。甲酸的加入可明显提高大部分化合物的正离子化效率。但由于丁香酚和异丁香酚在水溶液中其苯环上羟基中的氢较易水解,致水溶液中氢离子浓度增加,溶液显弱酸性,甲酸加入反而抑制了丁香酚和异丁香酚的电离,进而影响离子化效率。综合考虑所有化合物,本研究最终采用水与乙腈作为流动相,使大部分目标物获得的峰形较好,保持了较高的检测灵敏度,同时也与在线净化处理后的样品相溶更好。经色谱条件优化后,目标化合物

提取母离子流色谱图 2。

2.1.3 质谱条件的优化

将质量浓度 100 $\mu\text{g/L}$ 的 4 种地西洋及代谢物和 6 种丁香酚类混标溶液自动进样,在全扫描+自动触发二级质谱扫描模式采集数据,可连续对洗脱化合物进行全谱扫描。结果表明,丁香酚和异丁香酚两个化合物中均含有酚羟基易丢失一个质子形成 $[\text{M}-\text{H}]^-$,在负离子模式下信号较强,另外 4 种化合物结构式中的 $\text{C}=\text{O}$ 或 $-\text{NH}_2$ 中含孤对电子,能连接 H^+ 呈正离子的形式,在正离子的模式下响应最大^[19]。地西洋及代谢物均在正离子的模式下呈较好响应。由此,确定采用全扫描+自动触发二级质谱正离子扫描模式采集数据,同时以母离子进行定量分析,实现化合物的准确定量,质谱参数详见表 2。

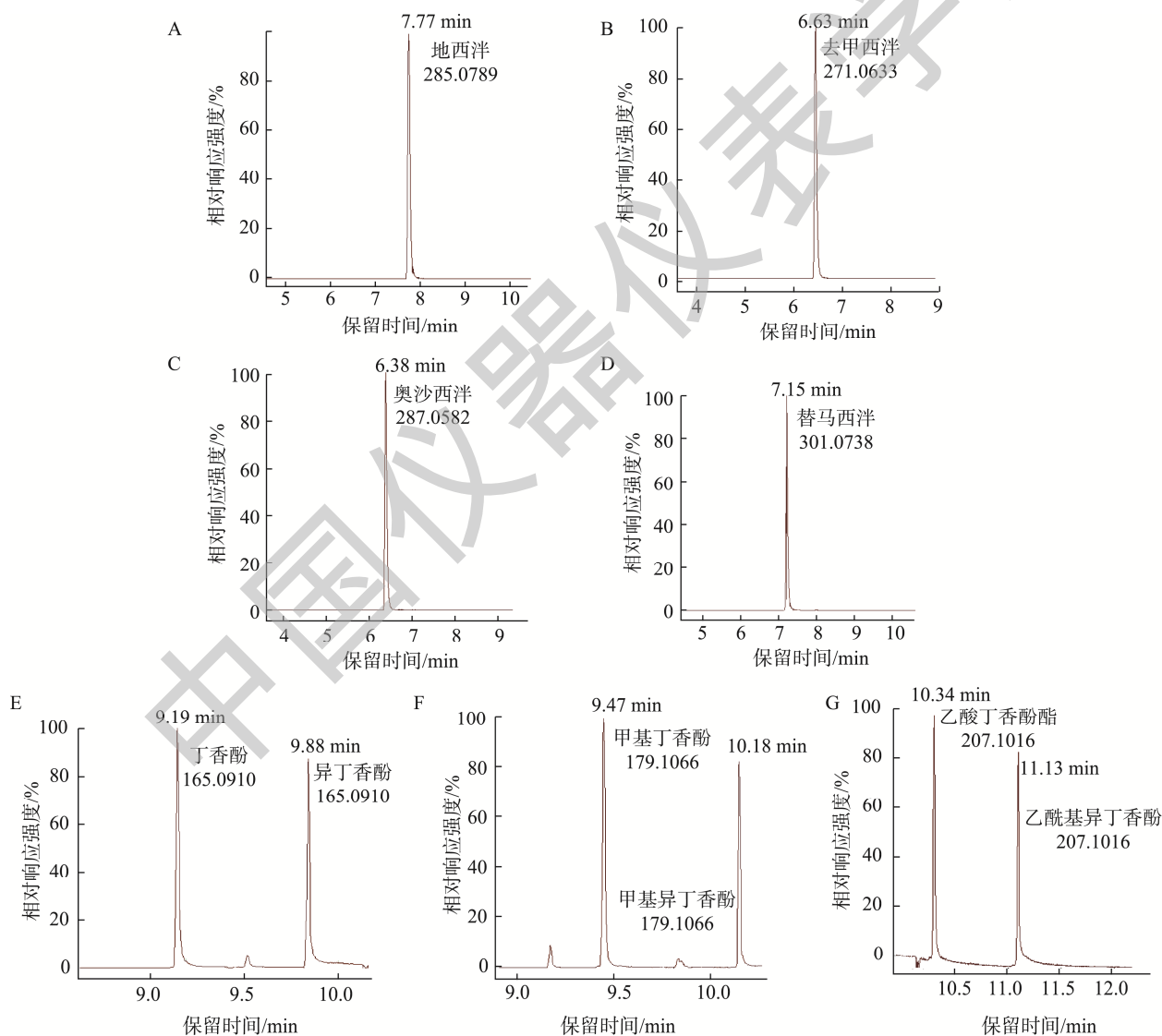


图2 目标化合物的提取母离子流图(质量浓度20 ng/mL)

Fig.2 Extracted precursor ion chromatograms of target compounds (mass concentration 20 ng/mL)

2.2 基质效应

选择鲫鱼、青虾 2 种空白样品基质溶液来测定 10 种化合物的基质效应, 考察不同基质对各化合物分析结果的影响。以基质标准曲线与溶剂标准曲线的斜率百分比评价不同提取液中目标物净化前后的基质效应, 在水产品中使目标物产生基质增强或者抑制效应主要是脂肪类的杂质。基质效应在 0.8~1.2 之间表现为基质效应不明显, 在 1.2 以上表现为基质增强效应, 0.7 以下表现为基质抑制效应^[20]。结果显示, 地西洋及代谢物在 2 种不同基质中基质效应不明显, 而丁香酚和异丁香酚表现出基质增强效应, 其余 4 种表现出基质抑制效应, 因此在样品测定中采用基质匹配标准曲线加内标校正进行定量分析, 以提高检测结果的准确性。

2.3 方法学评价

在上述确定的优化条件下, 采用相对应的基质配制 1.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度的标准溶液, 考察回收率、线性相关性、相对标准偏差、定量限等方法学指标。结果表明, 地西洋及代谢物和丁香酚类在 1.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 化合物的相关系数(r^2)均大于 0.995; 地西洋及代谢物和丁香酚类在水产品中的定量限分别为 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 、2.0 $\mu\text{g/kg}$; 对地西洋及代谢物和丁香酚类在空白水产品中分别进行 2.0、10.0 和 30.0 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平的添加回收平行测定 6 次, 10 种化合物在上述基质中的回收率为 75.3%~110.0%, 相对标准偏差小于 10%, 表明该方法具有较好的准确度和精密度, 能满足检测方法的要求, 具体结果见表 3。

表 2 地西洋及代谢物和丁香酚类化合物的质谱参数
Table 2 Mass spectrometric parameters of diazepam and its metabolites and eugenol compounds

化合物	CAS 号	分子量	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)
地西洋	439-14-5	284.74	7.77	285.0789	153.9924, 222.0643
去甲西洋	1088-11-5	270.72	6.63	271.0633	140.0269, 165.0224
奥沙西洋	604-75-1	286.72	6.38	287.0582	241.0539, 269.0489
替马西洋	3294-96-0	300.74	7.15	301.0738	255.0695, 283.0646
地西洋-D5	65854-76-4	289.74	7.72	290.1103	154.0426, 227.1476
丁香酚	97-53-0	164.20	9.19	165.0910	137.0606, 120.0817
异丁香酚	97-54-1	164.20	9.88	165.0910	105.0709, 133.0657
甲基丁香酚	93-15-2	178.23	9.47	179.1066	138.0684, 116.0028
甲基异丁香酚	93-16-3	178.23	10.18	179.1066	151.0763, 116.0029
乙酸丁香酚酯	93-28-7	206.26	10.34	207.1016	102.9712, 120.9818
乙酰基异丁香酚	93-29-8	206.26	11.13	207.1016	143.9976, 102.9712

表 3 水产品中地西洋及代谢物和丁香酚类化合物的方法学评价($n=6$)
Table 3 Methodological evaluation of diazepam, its metabolites and eugenol compounds in aquatic products ($n=6$)

产品类别	化合物	线性范围/ $(\mu\text{g/L})$	相关系数(r^2)	定量限/ $(\mu\text{g/kg})$	回收率/%	精密度/%
水产品	地西洋	1.0~100.0	0.9982	0.5	92.3~110.0	≤ 4.3
	去甲西洋		0.9994		85.7~104.2	≤ 5.6
	奥沙西洋		0.9978		83.5~105.8	≤ 6.4
	替马西洋		0.9985		78.2~92.5	≤ 5.8
	丁香酚		0.9989	2.0	75.3~90.1	≤ 7.2
	异丁香酚		0.9992		82.5~102.3	≤ 6.5
	甲基丁香酚		0.9964		77.6~95.4	≤ 6.8
	甲基异丁香酚		0.9991		84.8~93.1	≤ 4.9
	乙酸丁香酚酯		0.9989		79.5~104.5	≤ 4.5
	乙酰基异丁香酚		0.9994		80.7~98.4	≤ 6.7

2.4 实际样品检测结果分析

在运输车、垂钓塘和养殖塘共采集 114 份淡水鱼样品进行检测, 其中运输车辆采鱼样 36 份, 其中 5 个样品检出地西洋, 浓度范围 15.5~24.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 15 个样品检出丁香酚, 浓度范围 3.2~3824.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 垂钓塘鱼样 50 份, 其中 35 个样品检出地西洋, 浓度范围 0.6~4.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 均未检出丁香酚类化合物; 养殖塘鱼样 28 份, 均未检出地西洋及代谢物和丁香酚类化合物, 具体结果见表 4。

中华人民共和国农业农村部 and 公安部第 800 号公告中将地西洋列入兽用精神药品, 明确规定养殖中不得使用^[21], 检出限量值为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 运输车辆中 5 份样品, 垂钓塘 35 份样品检出地西洋, 样品中地西洋检出率 35.1%, 均超过限量标准; 日本规定丁香酚最高残留限量为 0.05 mg/kg ^[22], 美国和加拿大则禁止丁香酚作为食品添加剂或者麻醉剂使用^[23-24], 其他 5 种丁香酚类物质的限量值还未有相应的规定。我国对丁香酚类的使用及限量值尚无明确规定。根据检测结果, 丁香酚类化合物在运输

中使用的频次较高, 同时对其认知有限, 对丁香酚作为渔用麻醉剂的监管依据尚不明确, 导致存在滥用。同时在运输过程中检出地西洋, 表明运输过程有使用地西洋的可能性, 除垂钓用窝料、饵料及诱鱼剂的使用是水体和水产品中地西洋检出的重要原因外^[25], 对流通环节中地西洋和丁香酚使用情况引起重视。

2.5 与文献方法的比较

将本方法与文献报道的水产品中地西洋和丁香酚类化合物的检测方法的定量限、精密性、回收率等方面进行了比较, 结果见表 5。本研究基于 Turboflow 在线净化前处理方法, 样品提取后在线净化分析, 整个过程仅用 11 mL 有机溶剂作为提取剂, 该方法自动化程度高, 有效节约了人力和时间。对鲫鱼和青虾 2 种不同基质样品进行检测, 获得方法定量限 $\leq 2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$, 同时方法精密性和回收率均满足实际样品的检测要求。该方法具有样品处理快速简单、环境友好、净化效果好等优点, 适用于水产品中地西洋及丁香酚类化合物的检测。

表 4 不同样品中地西洋及代谢物和丁香酚类化合物的检出情况
Table 4 Detection of diazepam, its metabolites and eugenol compounds in different samples

类别	样品数量/个	检出率/%		检出浓度/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	
		地西洋及代谢物	丁香酚类化合物	地西洋及代谢物	丁香酚类化合物
运输车鱼	36	13.9	41.7	15.5~24.8	3.2~3824.0
淡水鱼					
垂钓塘鱼	50	70.0	0	0.6~4.5	ND
养殖塘鱼	28	0	0	ND	ND

注: ND 表示未检出。

表 5 与文献方法比较
Table 5 Comparison with other methods in literatures

检测方式	检测耗时/min	有机溶剂/mL	检出限	相对标准偏差/%	回收率/%	文献
分子印记电化学	150	20	$2.1027 \times 10^{-8} \text{ mol}/\text{L}$	<5	97.53~108.49	[26]
胶体金免疫层析法	38	12	0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	5.03~8.96	78.34~90.40	[27]
气相色谱-串联质谱法	20	20	15 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.2~9.2	85.4~109.4	[28]
高效液相色谱-串联质谱法	50	21	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.4~11.3	82.9~107.2	[29]
UPLC-Q Exactive MS	30	11	0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	<10	75.3~110.0	本研究

3 结论

本方法基于 Turboflow 在线净化和 UPLC-Q Exactive MS 技术, 建立水产品中地西洋及代谢产物和 6 种丁香酚类物质的同时快速测定方法。方法操作简便、灵敏度高、重现性好, 将所建立的方法用于实际样品的测定, 发现运输环节中有地西洋和丁香酚类化合物检出, 除垂钓中窝饵料的使用外^[25,30], 运输环节也存在地西洋的使用可能。同时丁香酚类化合物作为水产麻醉剂使用及限量标准尚无明确的规定, 导致目前运输及市场水产品中丁香酚类化合物

残留率较高^[31-32]。未来需对水产品中镇静剂或麻醉剂类物质残留情况开展风险评估, 制定使用规范和限量标准, 并将其纳入水产品质量安全监管范围, 保障消费者的健康。

参考文献

- [1] 严丽娟, 张洁, 潘晨松, 等. 超高效液相色谱-飞行时间质谱法高通量筛查乳制品中 20 种镇静剂[J]. 分析化学, 2013, 41(1): 31-35.
YAN LJ, ZHANG J, PAN CS, *et al.* High throughput screening of tranquilizers in dairy products using ultra performance liquid chromatography coupled to high resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(1): 31-35.

- [2] KAUR A, SINGLA N, DHAWAN DK. Low dose X-irradiation mitigates diazepam induced depression in rat brain [J]. Regul Toxicol Pharm Rtp, 2016, 80: 82–90.
- [3] 宿书芳, 孙立臻, 薛霞, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中地西洋[J]. 色谱, 2020, 38(7): 791–797.
SU SF, SUN LZ, XUE X, *et al.* Determination of diazepam in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pass-through solid phase extraction [J]. Chin J Chromatogr, 2020, 38(7): 791–797.
- [4] 白淑艳, 黄丽, 李晨辉, 等. 地西洋在鲫鱼不同组织中的残留消除规律研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(15): 71–77.
BAI SY, HUANG L, LI CH, *et al.* Study on the elimination of diazepam residues in different tissues of *Carassius auratus* [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(15): 71–77.
- [5] 杨光昕, 汤云瑜, 程逸凡, 等. 鱼饵料中地西洋含量调查及其对水产品养殖影响分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2022, 12(4): 1–9.
YANG GX, TANG YY, CHENG YF, *et al.* Investigation of diazepam content in fish bait and analysis of its impact on aquaculture [J]. Chin Fish Qual Stand, 2022, 12(4): 1–9.
- [6] 刘正富, 敖云胜, 孙东红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定淡水鱼中 DZP 含量的不确定度评定[J]. 轻工标准与质量, 2022, (3): 70–73.
LIU ZF, AO YS, SUN DH, *et al.* Evaluation of uncertainty in the determination of diazepam content in freshwater fish using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Stand Qual Light Ind, 2022, (3): 70–73.
- [7] 关于发布《水产养殖用药明白纸 2022 年 1、2 号》宣传材料的通知(农渔养函[2022]115 号)[EB/OL]. [2022-11-15]. http://www.yyj.moa.gov.cn/gzdt/202211/t20221115_6415528.htm [2024-04-12].
Notice on the release of publicity materials of *Aquaculture drug use white paper 2022 No.1 and No.2* (agriculture, fisheries and nutrition letter [2022]115) [EB/OL]. [2022-11-15]. http://www.yyj.moa.gov.cn/gzdt/202211/t20221115_6415528.htm [2024-04-12].
- [8] 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 WX, *et al.* Determination of four eugenol derivatives in aquatic products by SPE-HPLC-FLD [J]. Chin J Food Hyg, 2016, 28(1): 56–61.
- [9] IVERSEN M, FINSTAD B, MCKINLEY RS, *et al.* The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI-S (TM) and Benzoak (R) as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity [J]. Aquaculture, 2003, 221(1/4): 549–566.
- [10] KILDEA MA, ALLAN GL, KEARNEY RE. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S (TM) from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*) [J]. Aquaculture, 2004, 232(1/4): 265–277.
- [11] 柏品清, 任亚萍, 胡卉, 等. 2021—2022 年上海市浦东新区市售淡水鱼中麻醉剂的残留状况及膳食暴露风险评估[J]. 职业与健康, 2023, 39(20): 2778–2780.
BAI PQ, REN YP, HU H, *et al.* Status and dietary exposure risk assessment of anesthetic residues in commercially available Freshwater fish in Pudong New Area of Shanghai from 2021—2022 [J]. Occup Health, 2023, 39(20): 2778–2780.
- [12] KUANG XX, SU HT, LI WX, *et al.* Effects of microbial community structure and its cooccurrence on the dynamic changes of physicochemical properties and free amino acids in the Cantonese soy sauce fermentation process [J]. Food Res Int, 2022, (156): 111347.
- [13] 万素琴, 王多娇, 颜春荣, 等. 淡水产品及其暂养水中丁香酚类化合物风险研究[J]. 现代食品, 2023, 17(48): 196–199.
WANG SQ, WANG DJ, YAN CR, *et al.* Research on the risk of eugenol compounds in freshwater products and their temporary rearing water [J]. Mod Food, 2023, 17(48): 196–199.
- [14] 丁宇琦, 朱价, 梁晶晶, 等. 动物源性食品中地西洋残留量的检测方法研究[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2019, 46(3): 339–344.
DING YQ, ZHU J, LIANG JJ, *et al.* Research on methods for determination of diazepam residue in animal original food [J]. J Zhejiang Univ (Sci Ed), 2019, 46(3): 339–344.
- [15] 郑向华, 孙婷. 分散固相萃取-气相色谱法同时测定水产品中六种丁香酚类麻醉剂的残留量[J]. 食品安全导刊, 2019, (33): 68.
ZHENG XH, SUN T. Simultaneous determination of eugenol gas chromatography residues in aquatic products by dispersive solid-phase extraction [J]. China Food Saf Magaz, 2019, (33): 68.
- [16] 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 LC. Determination of eugenol residues in the plasma and muscle of tilapia by UPLC-MS/MS [J]. Chin Fish Qual Stand, 2019, 9(3): 63–68.
- [17] KE C, LIU Q, LI L, *et al.* Simultaneous determination of eugenol, isoeugenol and methyleugenol in fish fillet using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2016, (10): 1031: 189–194.
- [18] 马丽莎, 尹怡, 谢文平, 等. QuEChERS-气相色谱质谱法快速测定水产饲料中地西洋残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2022, 12(3): 17–23.
MA LS, YIN Y, XIE WP, *et al.* Fast determination of diazepam in aquatic feed by gas chromatography-mass spectrometry combined with QuEChERS [J]. Chin Fish Qual Stand, 2022, 12(3): 17–23.
- [19] 陈源. UPLC-MS/MS 同时测定水产品中 7 种丁香酚类麻醉剂残留量[J]. 食品工业, 2024, 45(1): 280–283.
CHEN Y. Determination of 7 eugenol residues in aquatic products by UPLC-MS/MS [J]. Food Ind, 2024, 45(1): 280–283.
- [20] 孟志娟, 黄云霞, 邸鹏月, 等. 快速滤过型净化法结合气相色谱-四极杆-飞行时间质谱同时筛查果蔬中 234 种农药残留[J]. 食品科学, 2020, 41(16): 272–285.
MENG ZJ, HUANG YX, DI PY, *et al.* Rapid screening of 234 pesticide residues in vegetables and fruits by multi-plug filtration cleanup method combined with gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. Food Sci, 2020, 41(16): 272–285.
- [21] 中华人民共和国农业农村部、中华人民共和国公安部公告第 800 号—关于公布兽用麻醉药品和兽用精神药品品种范围及有关管理事项的公告 [EB/OL]. [2024-07-05]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202407/t20240711_6458784.htm [2024-07-11].
Announcement No.800 of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China and the Ministry of Public Security of the People's Republic of China—Announcement on the publication of the variety range of veterinary narcotic drugs and veterinary psychotropic drugs and related control matters [EB/OL]. [2024-07-05]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202407/t20240711_6458784.htm [2024-07-11].

- [22] The Japan Food Chemical Research Foundation. Revision of MRLs of agricultural chemicals, feed additives and veterinary drugs in foods [EB/OL]. [2016-05-30]. <http://www.ffcr.or.jp/zaidan/ffcrhome.nsf/TrueMainE?OpenFrameSet> [2024-05-23].
- [23] US Food and Drug Administration. Guideline No.150, guidance for industry: Concerns related to the use of clove oil as an anesthetic for fish [EB/OL]. [2016-05-30]. <http://www.fda.gov/downloads/animalveterinary/guidancecompliancenenforcement/guidanceforindustry/ucm052520.pdf> [2024-04-12].
- [24] Canadian Council on Animal Care. Guidelines for additional information on effects of euthanasia methods on research results: Clove oil (eugenol) [EB/OL]. [2016-05-30]. http://www.ccac.ca/en/_standards/guidelines/additional/additional-information-on-effects-of-euthanasia-methods-on-research-results/clove-oil [2024-04-12].
- [25] 殷雪琰, 王洁琼, 王雨晴, 等. 常州地区水产养殖中地西洋残留检测及来源分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2024, 14(1): 1-8.
YIN XY, WANG JQ, WANG YQ, *et al.* Detection and source analysis of diazepam residues in aquaculture in Changzhou [J]. Chin Fish Qual Stand, 2024, 14(1): 1-8.
- [26] 蔡思学. 新型电化学传感器用于水产品中三种药物残留检测的研究[D]. 厦门: 集美大学, 2022.
CAI SX. Research on the detection of three drug residues in aquatic products by new electrochemical sensors [D]. Xiamen: Jimei University, 2022.
- [27] 桑丽雅, 陈笑笑, 王扬, 等. 基于免疫磁珠的胶体金免疫层析法快速检测水产品中地西洋残留[J]. 食品工业科技, 2020, 41(20): 255-260.
SANG LY, CHEN XX, WANG Y, *et al.* Rapid determination of diazepam residue in aquatic products by immunomagnetic beads-colloidal gold immuno chromatography assay [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(20): 255-260.
- [28] 张亚丽, 黄云霞, 孟志娟. 三重四级杆气质联用法测定水产品中9种麻醉剂的残留量[J]. 河北省科学院学报, 2024, 41(3): 70-78.
ZHANG YL, HUANG YX, MENG ZJ. Determination of residual levels of nine anesthetics in aquatic products by GC-MS/MS [J]. J Hebei Acad Sci, 2024, 41(3): 70-78.
- [29] 钱振杰, 何咏欣, 龚海银. 液相色谱-串联质谱法测定水产品中6种丁香酚类化合物残留量[J]. 现代食品, 2022, (21): 177-187.
QIAN ZJ, HE YX, GONG HK. Determination of six eugenol residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Food, 2022, (21): 177-187.
- [30] 王旭峰, 王强, 张英侠, 等. 固相萃取净化/超高效液相色谱-串联质谱法测定养殖环境中地西洋及其代谢物[J]. 分析测试学报, 2023, 42(3): 337-343.
WANG XF, WANG Q, ZHANG YX, *et al.* Determination of diazepam and its metabolites in aquaculture environment samples by solid phase extraction cleanup and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Inst Anal, 2023, 42(3): 337-343.
- [31] 邵曼, 姚欢, 余晓琴. 水产品及其暂养水中丁香酚类化合物风险研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3352-3357.
SHAO M, YAO H, YU XQ. Research on the risk of eugenol drug residues in aquatic products and aquaculture water [J]. Food Res Int, 2021, 12(8): 3352-3357.
- [32] 童跃聪. 水产品及其暂养水中丁香酚类化合物残留的检测与分析[J]. 现代食品, 2022, 28(22): 174-176.
TONG YC. Detection and analysis of eugenol drug residues in aquatic products and their corresponding temporary aquaculture water [J]. Mod Food, 2022, 28(22): 174-176.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)

作者简介

殷雪琰, 硕士, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全。

E-mail: 476118055@qq.com