

# 虾肉中孔雀石绿和结晶紫残留量液相色谱 - 串联质谱法测定 (Copure® ALN 中性氧化铝柱)

《GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量测定》

## 一、背景介绍

孔雀石绿和结晶紫是人工合成的三苯甲烷类化合物，都属于工业染料，因其价格低廉且具有杀菌和驱虫的效果，曾广泛应用于水产养殖中，但孔雀石绿和结晶紫及其代谢物的生物毒性较强，在生物体内长期累积会对人体造成危害。逗点生物结合自身产品优势，建立了固相萃取 - 高效液相色谱 - 质谱联用法测定虾肉中的孔雀石绿和结晶紫含量的方法，样品在提取后，经中性氧化铝柱固相萃取柱净化后，采用高效液相色谱 - 串联质谱仪测定。经验证，加标回收率范围 90-110%，RSD 值小于 5%，满足要求。

## 二、仪器条件

### 2.1 色谱条件

仪器：UPLC-MS/MS (Thermo Fisher TSQ Endura)

色谱柱：Commasil® Coreshell C18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)

流动相：A- 水 (0.1% 甲酸) B- 乙腈 (0.1% 甲酸)

洗脱方式：梯度洗脱，见表 1

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	%B	Curve
0.0	0.3	5	5
1.5	0.3	60	5
3.0	0.3	100	5
10.0	0.3	100	5
10.5	0.3	5	5
15	0.3	5	5

流速：0.3 mL/min

柱温：30 °C

进样量：10 μL

### 2.2 质谱条件

离子源：HESI 电喷雾电压：3500 V

鞘气压力：15 arb 辅气压力：1 arb

离子传输管：360 °C 辅气温度：380 °C

表 2 孔雀石绿和结晶紫离子对参数 (\* 为定量离子)

Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Collision Energy (V)	RF Lens (V)	RT/min
孔雀石绿	329	208	33	168	4.27
		313*	34		
隐性孔雀石绿	331	239*	28	151	4.27
		316	31		
孔雀石绿 -d5	334	318*	37	157	4.25
隐性孔雀石绿 -d6	337	240	29.8	139	4.25
		322.2*	19.9		
结晶紫	372	251	41	134	4.21
		356*	43		
隐性结晶紫	374	238	36	157	4.22
		358*	35		

## 三、试验步骤

### 3.1 样本提取

称取 5.00 g 已捣碎的虾肉于 50 mL 离心管中，加入 400 μL 混合内标溶液 (孔雀石绿 -d5 和隐性孔雀石绿 -d6)。加入 11 mL 乙腈，超声波震荡提取 2.0 min，2500 rpm 涡旋震荡提取 5.0 min，8000 r/min 离心 5.0 min，上清液转移至另一空 50 mL 离心管。重复提取一次，合并上清液，用乙腈定容至 25 mL，摇匀待净化。

### 3.2 样本净化

取 Copure® 中性氧化铝柱 (货号：COALN31000)，加入 5.0 mL 乙腈活化。加入上述样品待净化液 5.00 mL 后再加入 4.0 mL 乙腈进行洗涤，合并收集全部过滤液，45°C 水浴氮吹至近干。加入 1.0 mL 乙腈，超声震荡 5.0 min，加入 1.0 mL 5 mmol/L 乙酸铵，超声震荡 1.0 min，过 0.22 μm 滤膜后上机测试。

### 3.3 基质空白试验

称取空白试样，按上述步骤进行实验。

## 四、实验结果

虾肉基质中结晶紫、隐形结晶紫、孔雀石绿及其内标、隐形孔雀石绿及其内标的定量离子对提取色谱图如下所示。

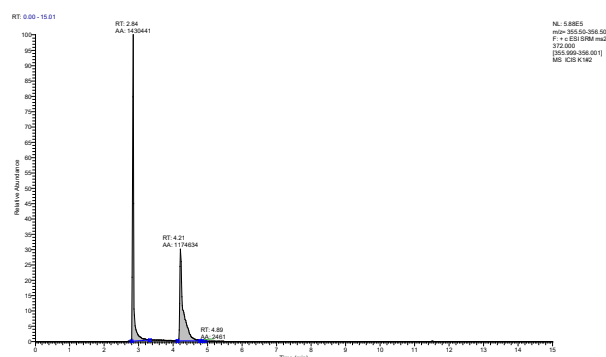
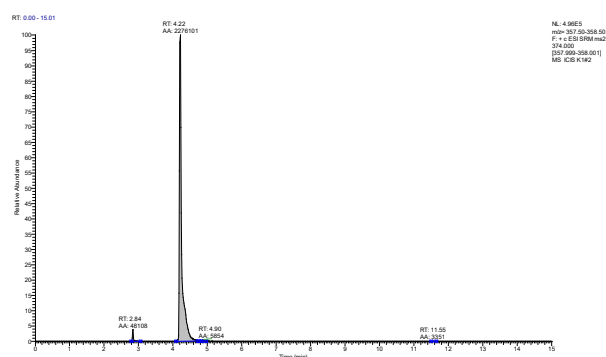


图 1 虾肉加标 (8.0 μg/kg) 中隐性结晶紫 图 2 虾肉加标 (8.0 μg/kg) 中结晶紫

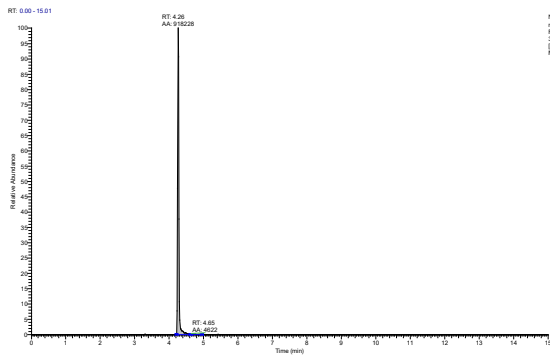


图 3 虾肉加标 (8.00 µg/kg) 中隐形孔雀石绿

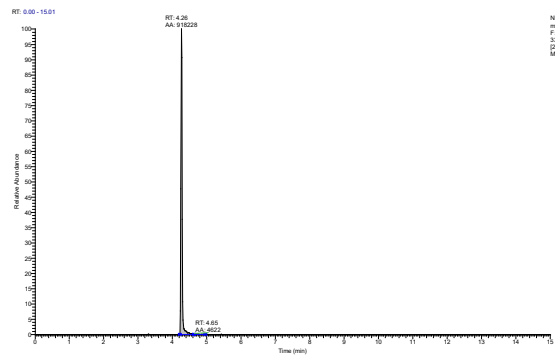


图 4 虾肉加标 (8.00 µg/kg) 中孔雀石绿

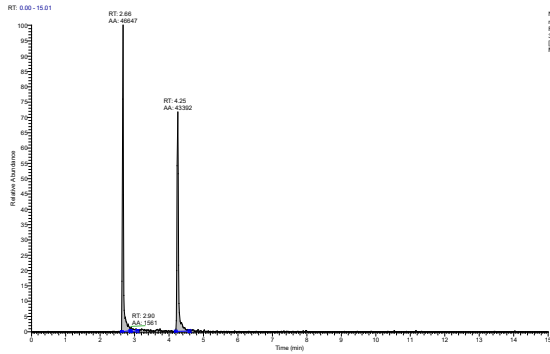


图 5 虾肉加标 (8.00 µg/kg) 中孔雀石绿-d5

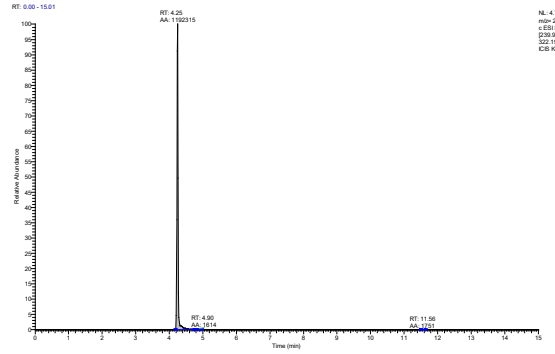


图 6 虾肉加标 (8.00 µg/kg) 中隐形孔雀石绿-d6

虾肉中孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫、隐性结晶紫加标实验回收率结果详见表 3, 回收率 90-110% 之间, 偏差值均小于 5%, 回收率和稳定性满足测试要求。

表 3 虾肉中孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫、隐性结晶紫加标回收率结果

基质	项目	加标浓度 (µg/kg)	平均回收率 (%) (n=3)	RSD (%) (n=3)
虾肉	孔雀石绿	8.00	98.4	4.74
	隐性孔雀石绿	8.00	94.5	3.06
	结晶紫	8.00	93.1	2.97
	隐性结晶紫	8.00	106	3.29

### 订购信息

货号	描述	包装
COALN31000	Copure® 中性氧化铝固相萃取柱, 1g/3mL	50 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
BN24	24 孔智能氮吹仪	1 台 / 箱
SF130-22-NL	针式过滤器, 尼龙, 直径 13mm, 孔径 0.22µm, 有机系	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒