

水产品 and 饲料中孔雀石绿和结晶紫及其代谢物残留量的测定——UPLC-MS/MS 法解决方案

孔雀石绿和结晶紫是一类三苯甲烷类染料，最先应用在纺织工艺，因其具有消毒和杀菌作用而被广泛应用于水产品的养殖过程中。由于孔雀石绿和结晶紫具有高毒、高残留和致癌、致畸、致突变等特点，当其进入生物体内，会产生具有更强危害的隐色孔雀石绿和隐色结晶紫。因此，包括中国在内的许多国家都将其列为水产养殖中的禁用药物。

目前国内外检测孔雀石绿、结晶紫的分析方法有气相色谱质谱法、高效液相色谱法和液相色谱-质谱法，同时国内检测此类药物的标准方法有《GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》、《SN/T 1768-2006 水产品中孔雀石绿和结晶紫及其代谢产物的快速测定方法》等。

方法优势：

本方法基于 QuEChERS 方法原理，采用酸化乙腈提取，QuEChERS 净化，通过 UPLC-MS/MS 检测。

- (1) 方法前处理过程简单、方便，并能同时检测孔雀石绿，无色孔雀石绿，结晶紫，无色结晶紫；
- (2) 适合水产品 and 饲料样品的检测，节省时间，降低基质效应，回收率达 80% 以上；
- (3) 本方案 4 种化合物的方法定量限均为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，同国标方法《GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》一致，可供广大分析工作者使用。

以下为详细解决方案，敬请参考！

水产品 and 饲料中孔雀石绿和结晶紫及其代谢物残留量的测定——UPLC-MS/MS 法

1、适用范围

适用于鱼、虾、贝、蟹等水产品及其饲料中孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫、

隐色孔雀石绿的测定，本方法定量限为 0.5 µg/kg。

2、提取

称 2.0 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 2.0 g 氯化钠，搅匀，加 20 mL 1% 甲酸乙腈，涡旋混合 1 min，振荡 10 min，6000 rpm 下离心 2 min，取 10 mL 上清液待净化。

3、净化——ProElut QuE 15 mL Tube - AOAC (Cat#: 64506)

- (1) 将 10 mL 提取液转移到 15 mL 净化管中，振荡 5 min，6000 rpm 下离心 2 min；
- (2) 取上清液 5 mL，40 °C 减压蒸干，用流动相重新溶解，过微孔滤膜后供 LC-MS/MS 分析。

备注：同方法制备基质匹配标准溶液。

4、分析条件

4.1 UPLC 条件：

色谱柱：LeapsilC18，100 × 2.1 mm，2.7 µm (Cat#: 86005)

流速：0.3 mL/min 进样量：5 µL 柱温：35 °C

流动相： A: 5 mmol/mL 乙酸铵 + 0.2% 乙酸 B: 乙腈 A: B=15: 85

4.2 质谱条件：

电离模式：ESI 扫描方式：正离子扫描

检测方式：多反应监测 电喷雾电压：5500 V

雾化气压力：50 psi 辅助气压力：50 psi

气帘气压力：20 psi 离子源温度：500 °C

定性离子对、定量离子对、碰撞气能量及去簇电压见下表

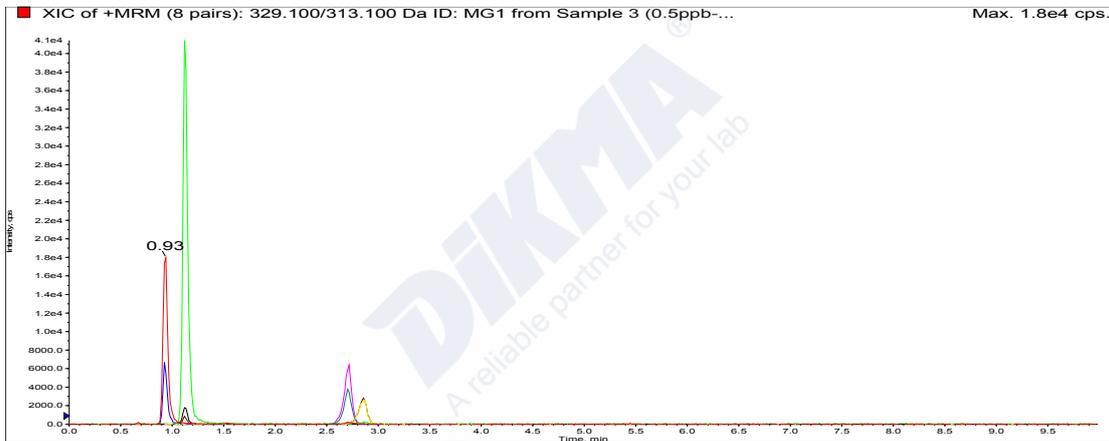
药物名称	定性离子对 (m/z) (母离子/子离子)	定量离子对 (m/z) (母离子/子离子)	碰撞气能量 /V	去簇电压 /V
孔雀石绿	329.1/313.1	329.1/313.1	46	132
	329.1/208.1		45	
隐色孔雀石绿	331.2/239.0	331.2/239.0	36	110
	331.2/316.0		28	
结晶紫	372.1/356.1	372.1/356.1	50	138

	372.1/328.1		48	
隐色结晶紫	374.1/358.2	374.2/358.2	42	117
	374.1/238.0		37	

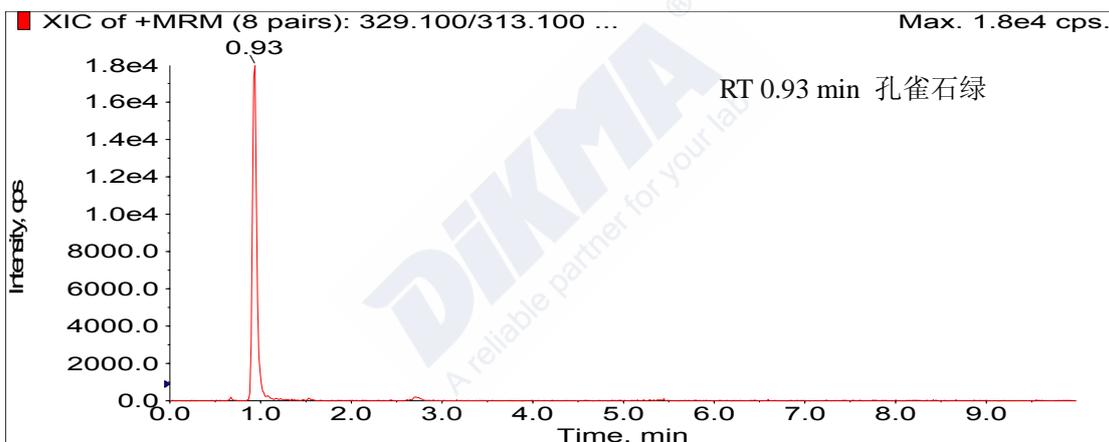
5、添加回收结果

水产品 and 饲料中孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫、隐色孔雀石绿的 LC-MS/MS 检测添加回收结果

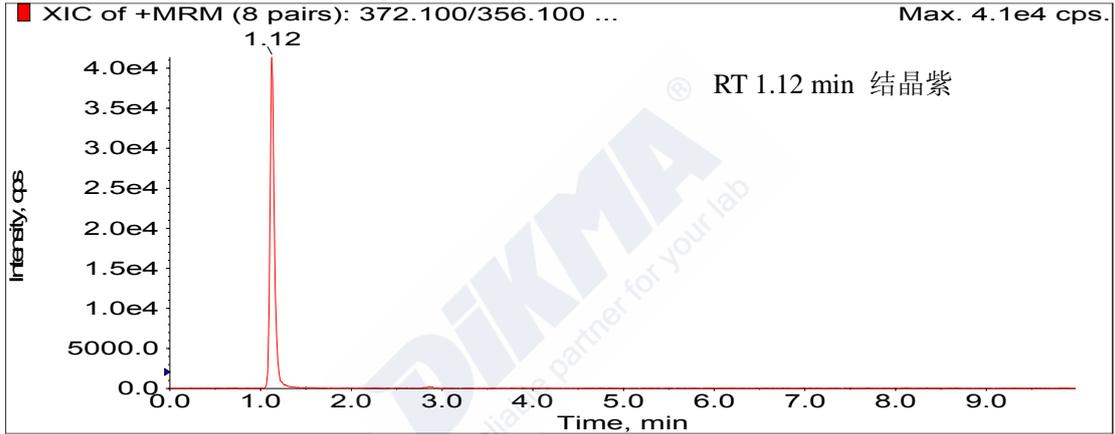
基质	添加水平(µg/kg)	孔雀石绿	结晶紫	隐色孔雀石绿	隐色结晶紫
鱼	1.0	98.80%	107.08%	89.30%	72.25%
虾	1.0	85.76%	87.60%	87.74%	104.55%
蟹	1.0	91.54%	96.15%	80.00%	90.57%
贝	1.0	97.99%	100.87%	90.14%	103.39%
饲料	1.0	102.55%	77.17%	84.50%	91.06%



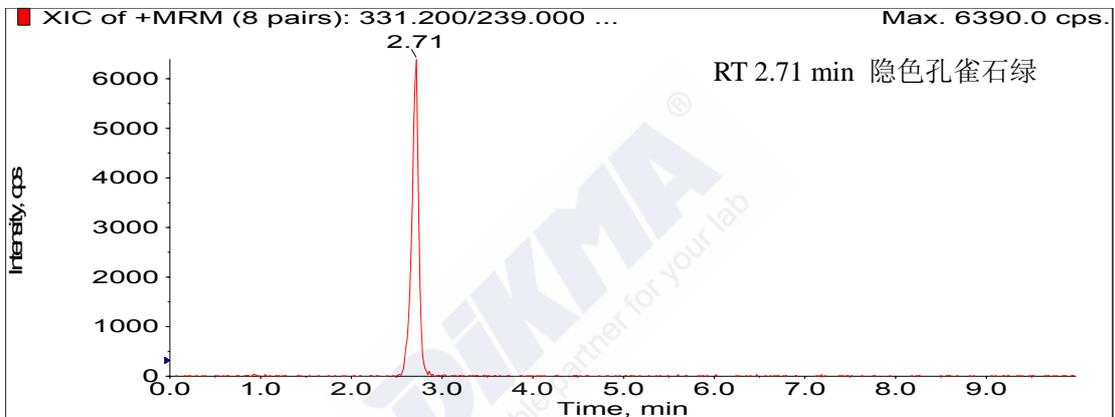
孔雀石绿、结晶紫、隐色孔雀石绿和隐色结晶紫 0.5 µg/L MRM 色谱图



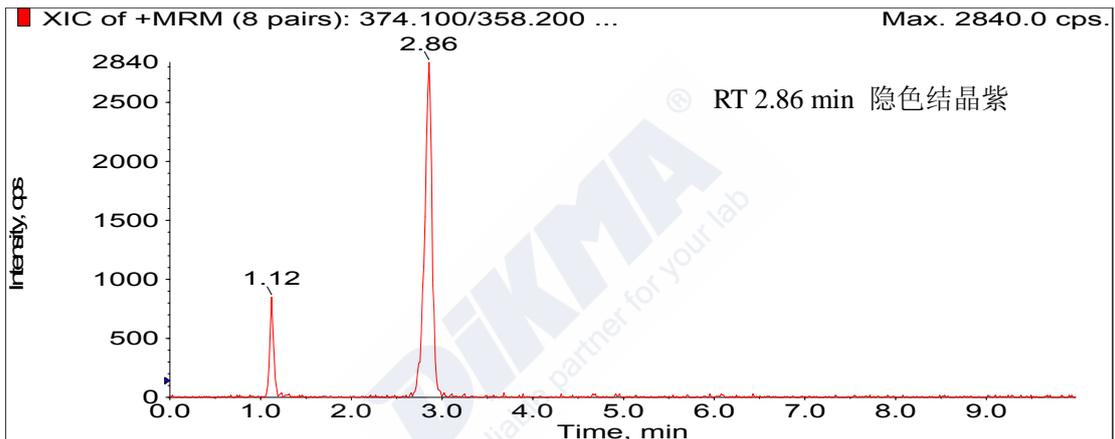
孔雀石绿 0.5 µg/L XIC 色谱图



结晶紫 0.5 µg/L XIC 色谱图



隐色孔雀石绿 0.5 µg/L XIC 色谱图



隐色结晶紫 0.5 µg/L XIC 色谱图

水产品饲料中孔雀石绿和结晶紫及其代谢物残留量的测定相关产品信息：

货号	名称	规格
样品前处理		
64506	ProElut QuE 15 mL Tube - AOAC	400mg PSA/400mg C18 /1200 mg MgSO4 50/pk
30039	FitMax 针头式过滤器 Nylon	13 mm,0.22 μm 100/pk
30040	FitMax 针头式过滤器 Nylon	13 mm,0.45 μm 100/pk
标准品		
55-46396-250MG	孔雀石绿草酸盐[2437-29-8]	250 mg
56-46364-250MG	结晶紫[548-62-9]	250 mg
50P-C14629500	隐色孔雀石绿[129-73-7]	100 mg
50P-C14629400	隐色结晶紫[1173023-92-1]	100 mg
色谱柱及保护柱		
86005	Leapsil C18 UHPLC/HPLC 兼容反相色谱柱	100 × 2.1 mm, 2.7 μm
HPLC 溶剂•缓冲盐•离子对试剂		
50101	乙腈 HPLC级	4 L
50144	甲酸 HPLC级	50 mL
50132	乙酸 HPLC级	50 mL
50138	乙酸铵 HPLC级	100 g
通用色谱产品		
52401B	瓶架/蓝色（现货）	50 孔
52401A	瓶架/白色（现货）	50 孔
1034	样品瓶（棕色/螺纹）	2 mL, 100/pk
1035	样品瓶盖/含垫（已经组装）	100/pk
H80465	HPLC 进样针	25 μL

红色产品货号#30039、#30040、#1034、#1035 火热促销中