

附录 A
(资料性附录)

孔雀石绿(MG)和结晶紫(GV)混合标准的液相色谱图

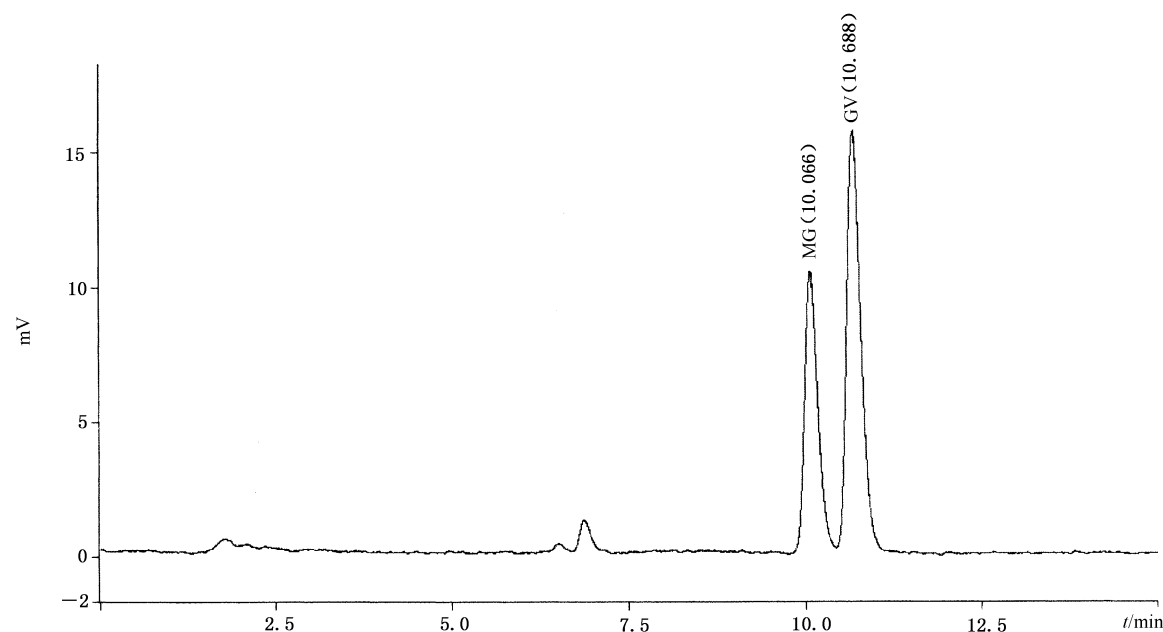


图 A.1 浓度为 0.01 μg/mL 孔雀石绿(MG)和结晶紫(GV)混合标准的液相色谱图

GB/T 20361—2006

ICS 67.120.30
B 50



中华人民共和国国家标准

GB/T 20361—2006

水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 高效液相色谱荧光检测法

Determination of malachite green and gentian violet residues in fishery products—
High performance liquid chromatography with fluorescence detector



GB/T 20361—2006

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-28119

定价: 8.00 元

2006-06-21 发布

2006-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

- 7.1.2 流动相:乙腈+乙酸铵缓冲溶液(0.125 mol/L,pH4.5)=80+20。
- 7.1.3 流速:1.3 mL/min。
- 7.1.4 柱温:35℃。
- 7.1.5 激发波长:265 nm。
- 7.1.6 发射波长:360 nm。
- 7.1.7 进样量:20 μL。

7.2 色谱分析

分别注入 20 μL 孔雀石绿和结晶紫混合标准工作溶液及样品提取液于液相色谱仪中,按上述色谱条件进行色谱分析,记录峰面积,响应值均应在仪器检测的线性范围之内。根据标准品的保留时间定性,外标法定量。标准品色谱图参见附录 A。

8 结果

8.1 计算

样品中孔雀石绿和结晶紫的残留量按式(1)计算。

$$X = \frac{A \times c_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——样品中待测组分残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c_s——待测组分标准工作液的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- A——样品中待测组分的峰面积;
- A_s——待测组分标准工作液的峰面积;
- V——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m——样品质量,单位为克(g)。

8.2 线性范围

孔雀石绿和结晶紫混合标准溶液的线性范围:0.1 ng/mL~600 ng/mL。

8.3 检出限

本方法孔雀石绿、结晶紫的检出限均为 0.5 μg/kg。

8.4 回收率

在样品中添加 0.4 μg/kg~100 μg/kg 孔雀石绿时,回收率为 70%~110%。
在样品中添加 0.4 μg/kg~100 μg/kg 结晶紫时,回收率为 70%~110%。

8.5 重复性

本方法的相对标准偏差≤15%。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
水 产 品 中 孔 雀 石 绿 和 结 晶 紫 残 留 量 的 测 定
高 效 液 相 色 谱 荧 光 检 测 法
GB/T 20361—2006
*
中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号
邮 政 编 码 :100045
网 址 www.bzcs.com
电 话 :68523946 68517548
中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷
各 地 新 华 书 店 经 销
*
开 本 880×1230 1/16 印 张 0.5 字 数 9 千 字
2006 年 9 月 第 一 版 2006 年 9 月 第 一 次 印 刷
*
书 号 :155066·1-28119 定 价 8.00 元

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换
版 权 专 有 侵 权 必 究
举 报 电 话 :(010)68533533

4.17 标准品:孔雀石绿(MG)分子式为 $[(C_{23}H_{25}N_2)(C_2HO_4)]_2C_2H_2O_4$ 、结晶紫(GV)分子式为 $C_{25}H_{29}ClN_3$,纯度大于98%。

4.18 标准储备溶液:准确称取适量的孔雀石绿、结晶紫标准品,用乙腈分别配制成100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准贮备液。

4.19 混合标准中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$):分别准确吸取1.00 mL孔雀石绿和结晶紫的标准储备溶液至100 mL容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,配制成1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间溶液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

4.20 混合标准工作溶液:根据需要,临用时准确吸取一定量的混合标准中间溶液,加入硼氢化钾溶液(4.9)0.40 mL,用乙腈准确稀释至2.00 mL,配制适当浓度的混合标准工作液。

5 仪器与设备

5.1 高效液相色谱仪:配荧光检测器。

5.2 匀浆机。

5.3 离心机:4 000 r/min。

5.4 旋涡振荡器。

5.5 固相萃取装置。

5.6 旋转蒸发仪。

6 样品制备

6.1 取样

鱼去鳞、去皮,沿背脊取肌肉部分;虾去头、壳、肠腺,取肌肉部分;蟹、甲鱼等取可食部分。样品切为不大于0.5 cm \times 0.5 cm \times 0.5 cm的小块后混合。

6.2 提取

称取5.00 g样品于50 mL离心管内,加入10 mL乙腈,10 000 r/min匀浆提取30 s,加入5 g酸性氧化铝,振荡2 min,4 000 r/min离心10 min,上清液转移至125 mL分液漏斗中,在分液漏斗中加入2 mL二甘醇,3 mL硼氢化钾溶液(4.10),振摇2 min。

另取50 mL离心管加入10 mL乙腈,洗涤匀浆机刀头10 s,洗涤液移入前一离心管中,加入3 mL硼氢化钾溶液(4.10),用玻棒捣散离心管中的沉淀并搅匀,漩涡混匀器上振荡1 min,静置20 min,4 000 r/min离心10 min,上清液并入125 mL分液漏斗中。

在50 mL离心管中继续加入1.5 mL盐酸羟胺溶液(4.11)、2.5 mL对-甲苯磺酸溶液(4.12)、5.0 mL乙酸铵缓冲溶液(4.14),振荡2 min,再加入10 mL乙腈,继续振荡2 min,4 000 r/min离心10 min,上清液并入125 mL分液漏斗中,重复上述操作一次。

在分液漏斗中加入20 mL二氯甲烷,具塞,剧烈振摇2 min,静置分层,将下层溶液转移至250 mL茄形瓶中,继续在分液漏斗中加入5 mL乙腈、10 mL二氯甲烷,振摇2 min,把全部溶液转移至50 mL离心管,4 000 r/min离心10 min,下层溶液合并至250 mL茄形瓶,45 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至近干,用2.5 mL乙腈溶解残渣。

6.3 净化

将PRS柱安装在固相萃取装置上,上端连接酸性氧化铝固相萃取柱,用5 mL乙腈活化,转移提取液到柱上,再用乙腈洗茄形瓶两次,每次2.5 mL,依次过柱,弃去酸性氧化铝柱,吹PRS柱近干,在不抽真空的情况下,加入3 mL等体积混合的乙腈和乙酸铵溶液(4.13),收集洗脱液,乙腈定容至3 mL,过0.45 μm 滤膜,供液相色谱测定。

7 测定

7.1 色谱条件

7.1.1 色谱柱:ODS- C_{18} 柱,250 mm \times 4.6 mm(内径),粒度5 μm 。

前 言

本标准的附录A为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国水产科学研究院、农业部渔业环境及水产品质量监督检验测试中心(舟山)、国家水产品质量监督检验测试中心、农业部水产品质量监督检验测试中心(上海)。

本标准主要起草人:郑斌、赵红萍、冷凯良、刘士忠、于慧娟、耿霞、陈雪昌、蔡友琼、黄冬梅、钟志、冯敬宾。