

# 液相色谱飞行时间质谱联用仪测定孔雀石绿

朱辉, 黄保

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

**摘要:** 利用 ESI-TOF 测试孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫的最低检出限为 1ug/L, 它们信噪比都大于 3, 已达到水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 (GB/T 19857-2005)最低法定检测标准 (2ug/kg) 多次测定, 数据重复性良好, 操作简便。

**关键词:** 孔雀石绿;检出限

电喷雾电离源 (ESI) 是目前实验室中稳定性最好、应用较为成熟的离子源, 同时利用注射泵的连续进样也便于针对某个目标离子进行仪器测试参数的调试优化, 因此后面农残药物测试实验先利用标准品对仪器测试参数进行优化后, 建立相应的仪器方法后, 再进行其他离子源的搭建和测试, 可以减少后续的调试工作量和提高目标峰的灵敏度。

## 1 测试条件

### 1.1 实验样品

采用的标品为孔雀石绿类标准品信息和孔雀石绿相关标准信息如下两表所示:

表一 氯霉素标准品测试信息

序号	样品	分子式	分子量	CAS	检测离子 (+)	特征峰 (m/z)	来源
1	孔雀石绿	C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub>	364.17061	569-64-2	[M-Cl] <sup>+</sup>	329.20177	安诺提供
2	隐性孔雀石绿	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub>	330.20959	129-73-7	[M+H] <sup>+</sup>	331.21742	安诺提供
3	结晶紫	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub>	407.21281	548-62-9	[M-Cl] <sup>+</sup>	372.24396	安诺提供
4	隐性结晶紫	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub>	373.25179	603-48-5	[M+H] <sup>+</sup>	374.25961	安诺提供

表二 氯霉素在食品安全国家标准中的测试方法

标准	检测限	定量限
水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 (GB/T 19857-2005)	2ug/kg	/

### 1.2 实验仪器

ESI-TOF-9(L); 注射泵: LAP01-2A;

### 1.3 实验条件

微量注射泵流速：5ul/min

电离模式：ESI+，电压：4000V

雾化气气压：0.3MPa

进样口温度：240°C

## 2 实验方法

### 2.1 标品配制

100 $\mu$ g/L 的孔雀石绿溶液：取 1mL 的 1mg/L 孔雀石绿溶液到 10mL 容量瓶中，再乙腈定容至刻度。

1 $\mu$ g/L 的孔雀石绿溶液：移取 20 $\mu$ L 的 100 $\mu$ g/L 孔雀石绿溶液和 1980 $\mu$ L 的乙腈混匀即可。

100 $\mu$ g/L 的隐性孔雀石绿溶液：取 1mL 的 1mg/L 隐性孔雀石绿溶液到 10mL 容量瓶中，再乙腈定容至刻度。

1 $\mu$ g/L 的隐性孔雀石绿溶液：移取 20 $\mu$ L 的 100 $\mu$ g/L 隐性孔雀石绿溶液和 1980 $\mu$ L 的乙腈混匀即可。

100 $\mu$ g/L 的结晶紫溶液：取 1mL 的 1mg/L 结晶紫溶液到 10mL 容量瓶中，再乙腈定容至刻度。

1 $\mu$ g/L 的结晶紫溶液：移取 20 $\mu$ L 的 100 $\mu$ g/L 结晶紫溶液和 1980 $\mu$ L 的乙腈混匀即可。

100 $\mu$ g/L 的隐性结晶紫溶液：取 1mL 的 1mg/L 隐性结晶紫溶液到 10mL 容量瓶中，再乙腈定容至刻度。

1 $\mu$ g/L 的隐性结晶紫溶液：移取 20 $\mu$ L 的 100 $\mu$ g/L 隐性结晶紫溶液和 1980 $\mu$ L 的乙腈混匀即可。

### 2.2 具体操作方法

分别用 500 $\mu$ L 的平头进样针取 100 $\mu$ g/L 和 1 $\mu$ g/L 的孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 100 $\mu$ g/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 0.1 $\mu$ g/L 的标品测试液质谱信号和乙腈空白的噪音，并记录实验结果。

## 3 实验结果

### 3.1 100ug/L 和 1ug/L 的孔雀石绿实验结果

结果如下图 1 所示，浓度为 100 $\mu$ g/L 的孔雀石绿乙腈溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg，其检测到的特征离子峰主要为 329.1948。

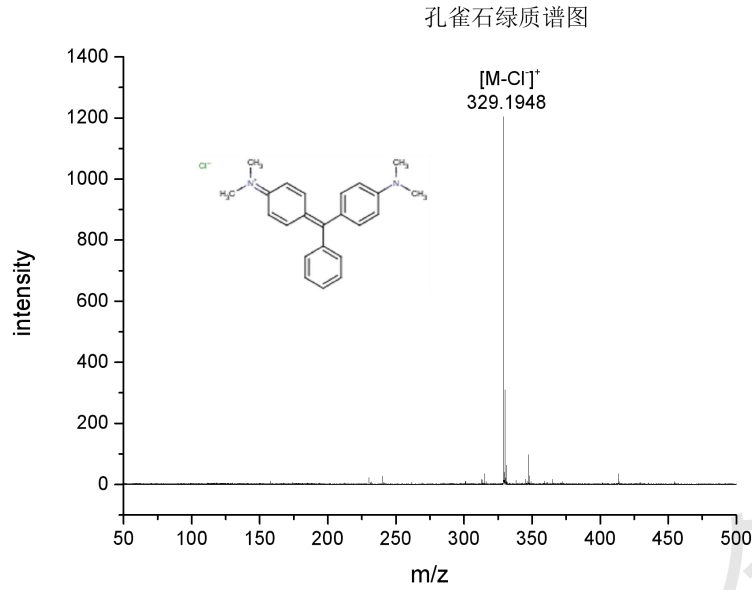


图 1 100ug/L 孔雀石绿质谱图

如下图 2 所示，浓度为  $1\mu\text{g/L}$  的孔雀石绿乙腈溶液以  $5\mu\text{l/min}$  速率进样单秒对应的质量为  $83\text{fg}$ ，其检测到质谱信号强度约为 18，乙腈空白噪音约为 5，信噪比  $S/N$  为  $>3$ 。

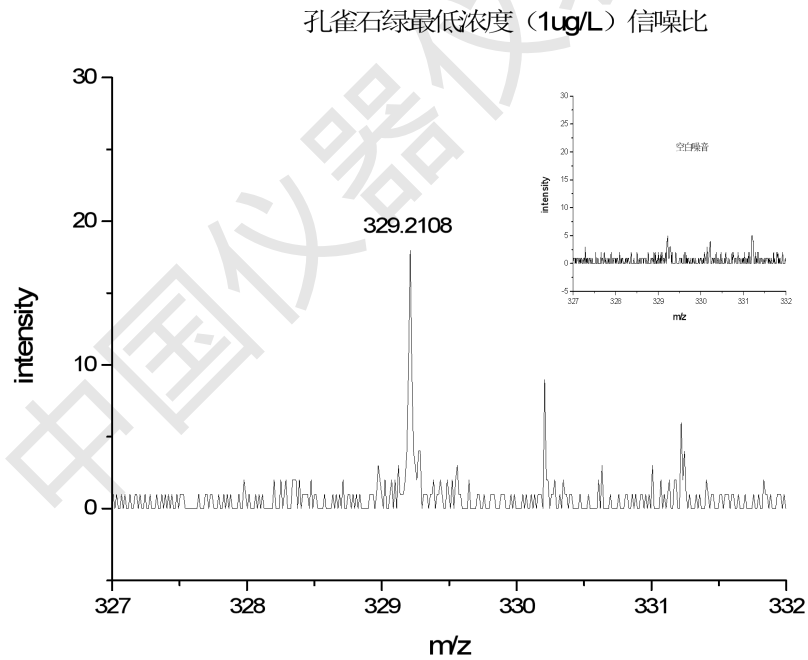


图 2  $1\mu\text{g/L}$  孔雀石绿乙腈溶液信噪比

### 3.2 $100\mu\text{g/L}$ 和 $1\mu\text{g/L}$ 的隐性孔雀石绿实验结果

1) 结果如下图 3 所示，浓度为  $100\mu\text{g/L}$  的隐性孔雀石绿乙腈溶液以  $5\mu\text{l/min}$  速率进样单秒对应的质量为  $8.3\text{pg}$ ，其检测到的特征离子峰主要为  $331.2144$ ，同时也存在孔雀石绿特征峰。

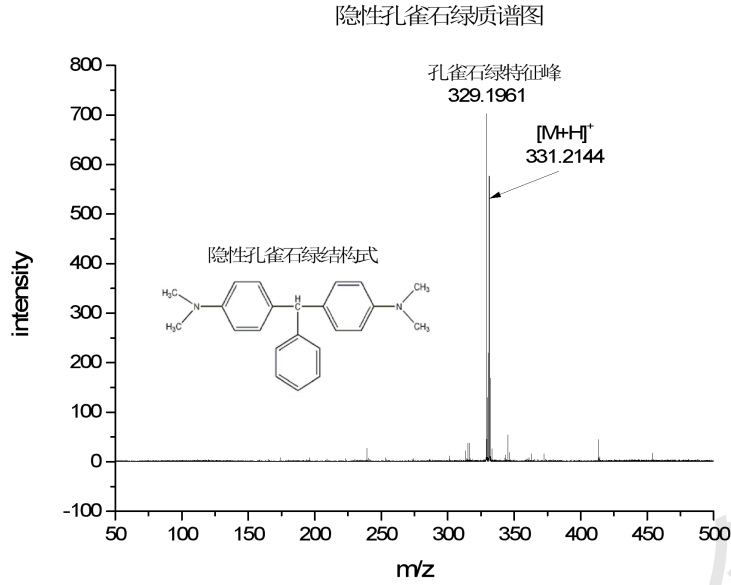


图 3 100µg/L 隐性孔雀石绿的质谱图

如下图 4 所示，浓度为 1µg/L 的隐性孔雀石绿乙腈溶液以 5µl/min 速率进样单秒对应的质量为 83fg，其检测到质谱信号强度约为 19，乙腈空白噪音约为 4，信噪比 S/N 为 >3。

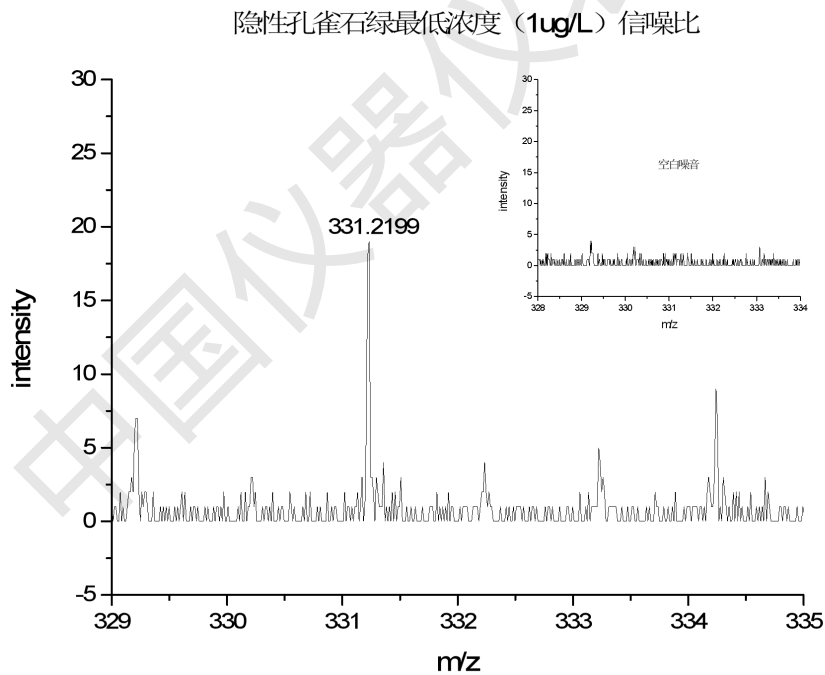


图 4 1µg/L 隐性孔雀石绿乙腈溶液信噪比

### 3.3 100µg/L 和 1µg/L 的结晶紫实验结果

结果如下图 5 所示，浓度为 100µg/L 的结晶紫乙腈溶液以 5µl/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg，其检测到的特征离子峰主要为 372.2374。

结晶紫质谱图

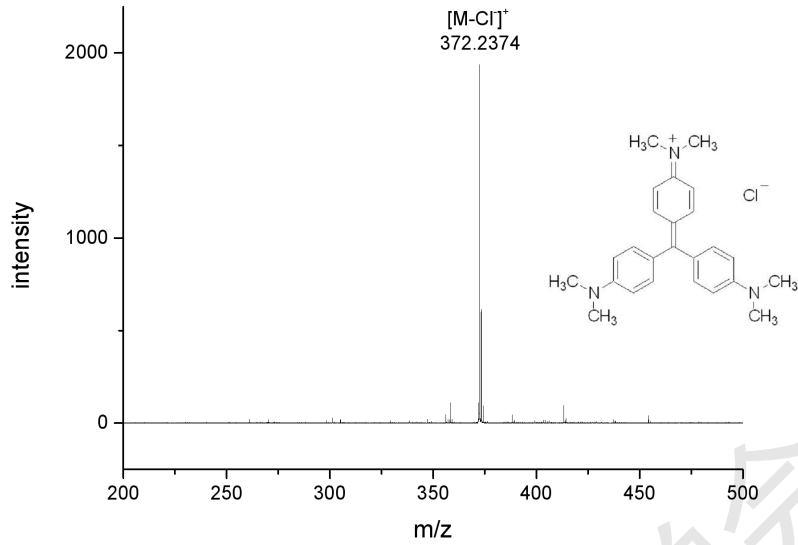


图 5 100µg/L 结晶紫的质谱图

如下图 6 所示，浓度为 1µg/L 的结晶紫乙腈溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 83fg，其检测到质谱信号强度约为 18，乙腈空白噪音约为 4，信噪比 S/N 为 >3。

结晶紫最低浓度 (1µg/L) 信噪比

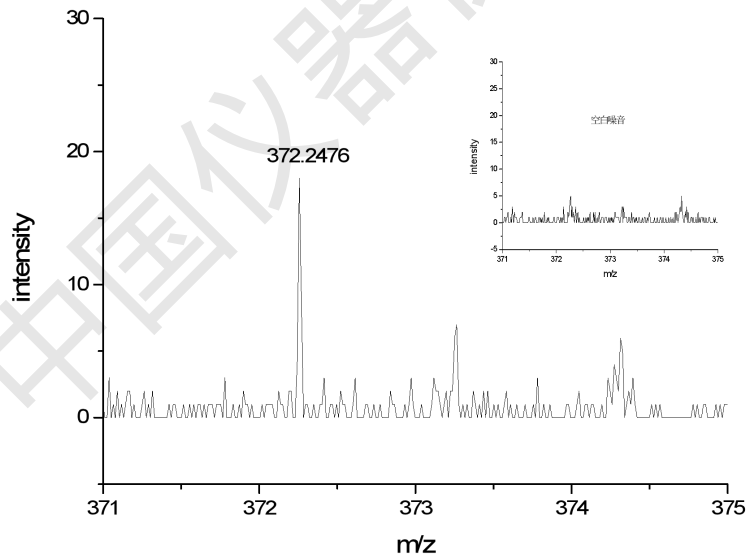


图 6 1µg/L 结晶紫乙腈溶液信噪比

### 3.4 100µg/L 和 1µg/L 的隐性结晶紫实验结果

结果如下图 7 所示，浓度为 100µg/L 的隐性结晶紫乙腈溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg，其检测到的特征离子峰主要为 374.2574，同时也存在结晶紫特征峰。

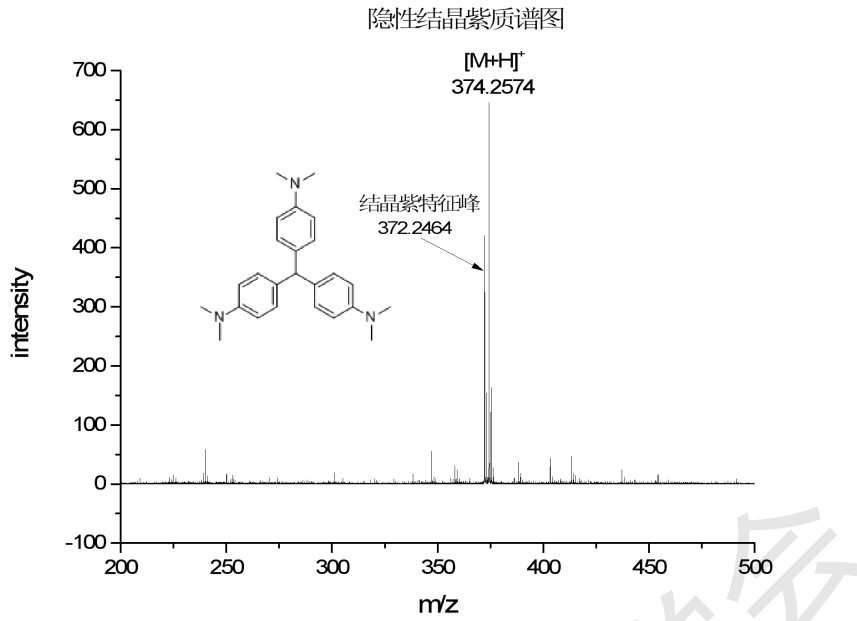


图 7 100µg/L 隐性结晶紫的质谱图

如下图 8 所示，浓度为 1µg/L 的隐性结晶紫乙腈溶液以 5µl/min 速率进样单秒对应的质量为 83fg，其检测到质谱信号强度约为 17，乙腈空白噪音约为 4，信噪比 S/N 为 >3。

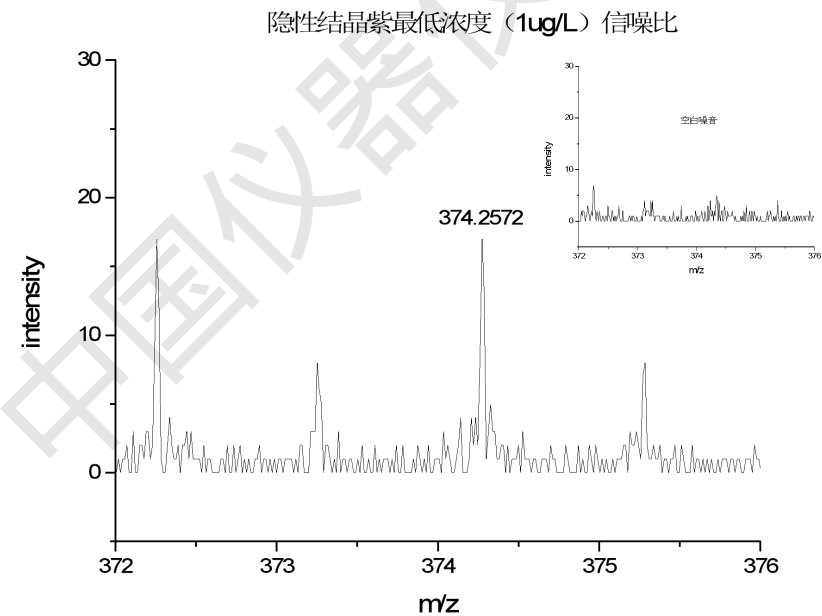


图 8 1µg/L 隐性结晶紫乙腈溶液信噪比

## 4 测试结论

通过 ESI-TOF 测试孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫的最低检出限为 1µg/L，它们信噪比都大于 3，已达到水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定（GB/T

19857-2005)最低法定检测标准 (2ug/kg)。

隐性孔雀石绿和隐性结晶紫溶液存在不稳定性,在一定条件下会转化成孔雀石绿和结晶紫,转化率不高(约10%),但在TOF上转化率较高,已接近目标峰高。原因待安诺那边对提供过来的标品进行重新评估。

## 附录

1.水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 (GB/T 19857-2005)

2.ESI-TOF-9(L)正离子模式电压参数

Capillary	Focus	Out plate	Sk1	DCQ UP	DCQ	DCQ	DCQ
110	100	78	24	-12	-11.5	-10	-11.5
OUT	LENS UP	LENS	脉冲 1	脉冲 2	Com2	脉冲频	脉冲宽
5	4	4	950	-950	24	10000	8
Skimmer2	Skimmer2	Grid	B-plate	focus	Acce	Mcp	ESI
11	直流	-48.4	1143.5	-525	-4000	-2300	4000
质谱口温	RFQ 频率	MIR 频	RFQ	MIR 峰峰	RFQ 偏	MIR_B	MIR_E
240°C	1.4M	700K	700	180	14.5	65	56