

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101566574 B

(45) 授权公告日 2012. 07. 11

(21) 申请号 200810025045. 9

(22) 申请日 2008. 04. 25

(73) 专利权人 常熟理工学院

地址 215500 江苏省常熟市元和路 98 号

(72) 发明人 张根华 詹月华 张海芸 尹凡
丁建英

(74) 专利代理机构 常熟市常新专利商标事务所
321113

代理人 朱伟军

(51) Int. Cl.

G01N 21/78 (2006. 01)

G01N 30/08 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101482559 A, 2009. 07. 15,

CN 101067619 A, 2007. 11. 07, 全文.

EP 1767947 A, 2007. 03. 28, 全文.

Zhang TongQing. et al.. Determination of malachite green and leucomalachite green in aquatic water by high performance liquid

chromatography. 《Journal of Fisheries of China》. 2007, 第 31 卷 (第 5 期), 699-703.

王鹏等. 新型液相色谱-串联质谱法快速测定水产品中孔雀石绿及其隐色代谢残留物. 《华中科技大学学报(医学版)》. 2006, 第 35 卷 (第 5 期), 665-668.

谷福等. 高效液相色谱法测定水产品中结晶紫及其衍生物的残留. 《现代仪器》. 2006, (第 4 期), 35-37.

詹月华等. 水产品中孔雀石绿残留提取技术研究. 《常熟理工学院学报(自然科学)》. 2009, 第 23 卷 (第 8 期), 72-74.

审查员 周宏卉

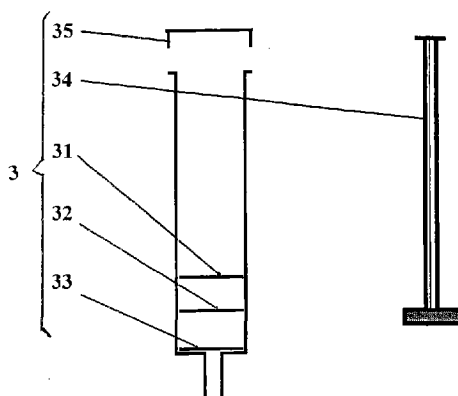
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

(54) 发明名称

水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法及其检测盒

(57) 摘要

一种水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法,属于水体及水产品中的残留物检测技术领域。其是将待测样品和提取剂 I 振荡混合均匀后,加入提取剂 II 振荡混合后静置,取上清液加入到富集柱中,观察富集柱中最下层的显色剂颜色变化,若形成绿色环带,则判断待测样品中含有孔雀石绿或无色孔雀石绿;提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸的混合液;提取剂 II 为二氧化铅和酸性氧化铝的混合物;待测样品为待检测水体样品或待检测水产品样品。优点:具有操作简单并且步骤少,不需要使用昂贵的仪器设备,能体现对现场检测的方便、灵活性。



1. 一种水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法,其特征在于其是将待测样品和提取剂 I 振荡混合均匀后,加入提取剂 II 振荡混合后静置,取上清液加入到富集柱 (3) 中,观察富集柱 (3) 中最下层的显色剂颜色变化,若形成绿色环带,则判断待测样品中含有孔雀石绿或无色孔雀石绿;

所述的提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸的混合液,其中:乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比为 1 : 1 : 1 ~ 3 : 2 : 1,而对甲苯磺酸与乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液的体积比为 1 : 10 ;

所述的提取剂 II 为二氧化铅和酸性氧化铝的混合物,二氧化铅和酸性氧化铝的质量比为 1 : 5 ~ 10 ;

所述的待测样品为待检测水体样品或待检测水产品样品 ;

所述的富集柱 (3) 包括设在富集柱柱腔中的第一、第二、第三挡板 (31、32、33) 和推杆 (34) 以及富集柱顶盖 (35),其中,第一挡板 (31) 与第二挡板 (32) 之间填充有填充物,而第二挡板 (32) 与第三挡板 (33) 之间填充有显色剂,推杆 (34) 与富集柱 (3) 的富集柱柱腔相配合,富集柱顶盖 (35) 盖配在富集柱 (3) 的顶部 ;所述的显色剂为硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂混合物,硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂的质量比为 4 : 5 : 1 ;所述的填充物为脱脂棉和无水硫酸钠。

2. 根据权利要求 1 所述的水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法,其特征在于所述的待检测水体样品与提取剂 I 的体积比为 1 : 1 ~ 5。

3. 根据权利要求 2 所述的水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法,其特征在于所述的待检测水产品样品和提取剂 II 的质量比为 5 : 1。

4. 一种如权利要求 1 所述水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法所用的检测盒,其特征在于它包括配置在盒内的提取剂 I、提取剂 II、富集柱 (3) 和孔雀石绿标品,所述的提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸混合液体,其中:乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比为 1 : 1 : 1 ~ 3 : 2 : 1,而对甲苯磺酸与乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液的体积比为 1 : 10 ;所述的提取剂 II 为二氧化铅和酸性氧化铝的混合物,二氧化铅和酸性氧化铝的质量比为 1 : 5 ;所述的富集柱 (3) 包括设在富集柱柱腔中的第一、第二、第三挡板 (31、32、33) 和推杆 (34) 以及富集柱顶盖 (35),其中,第一挡板 (31) 与第二挡板 (32) 之间填充有填充物,而第二挡板 (32) 与第三挡板 (33) 之间填充有显色剂,推杆 (34) 与富集柱 (3) 的富集柱柱腔相配合,富集柱顶盖 (35) 盖配在富集柱 (3) 的顶部 ;所述的显色剂为硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂混合物,硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂的质量比为 4 : 5 : 1 ;所述的填充物为脱脂棉和无水硫酸钠。

5. 根据权利要求 4 所述的检测盒,其特征在于所述的检测盒还包括配置在盒内的待测样品管、上清液吸管、吸耳球、取样刀和取样勺。

6. 根据权利要求 4 所述的检测盒,其特征在于所述的装填的显色剂的质量为 1 ~ 2.5g ;所述的第一、第二、第三挡板 (31、32、33) 的材料为高分子材料。

7. 根据权利要求 4 所述的检测盒,其特征在于所述的无水硫酸钠敷置在脱脂棉上,其量为 0.8 ~ 2.5g。

8. 根据权利要求 6 所述的检测盒,其特征在于所述的高分子材料为聚氯乙烯、聚氨酯或醋酸纤维素中的任意一种。

水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法及其检测盒

技术领域

[0001] 本发明属于水体及水产品中的残留物检测技术领域,具体涉及一种水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法。

背景技术

[0002] 孔雀石绿 (Malachite green, MG) 又名碱性绿、孔雀绿、苯胺绿、维多利亚绿或中国绿,是一种具有金属光泽的翠绿色结晶体,属三苯甲烷类染料,它既是杀菌剂又是染色剂,广泛应用于真丝、羊毛、皮革、棉布、麻制品和陶瓷制品等的染色。它易溶于水、乙醇和甲醇,其水溶液呈蓝绿色。孔雀石绿进入人体或动物机体后,可以通过生物转化,还原代谢成脂溶性的隐性孔雀石绿 (Leucomalachitegreen, LMG)。孔雀石绿作为一种杀菌剂、杀虫剂、消毒剂,具有价廉、易得、高效、用量少的特点,对防治各类水产动物的水霉病、鳃霉病和小瓜虫病等有较好的效果,因而被广泛用于水产养殖中。但近年来的科学研究发现:孔雀石绿及其代谢产物隐性孔雀石绿具有高残留、致癌、致畸和致突变等毒副作用。LMG 由于不溶于水,其残留毒性比 MG 更强。鉴于孔雀石绿的危害性,国际上一些发达国家如美国、日本、英国) 已宣布禁止其在经济鱼类(观赏鱼除外) 养殖过程中使用。我国也于 2002 年 5 月将孔雀石绿列入《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》,禁止用于所有食品动物。

[0003] 目前,国内外已建立的测定孔雀石绿和隐性孔雀石绿检测方法包括高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法。这几种检测方法都比较繁琐,前处理操作步骤多,耗时较长,特别是质谱法所用仪器较昂贵,无法实现快速检测,更无法实现现场检测。

[0004] 孔雀石绿和无色孔雀石绿残留对水体及水产品的危害大,严重影响了水产品的加工出口和消费,危害了消费者的身体健康,运用可以在现场进行快速检测的技术,是今后的发展方向。

发明内容

[0005] 本发明的任务在于提供一种水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法。该方法操作步骤少、检测时间短、无需借助于昂贵的仪器设备并且能进行现场检测。

[0006] 本发明的任务还在于提供一种检测盒,以保障现场检测。

[0007] 本发明的任务是以此来完成的,一种水体及水产品中孔雀石绿残留检测方法,其是将待测样品和提取剂 I 振荡混合均匀后,加入提取剂 II 振荡混合后静置,取上清液加入到富集柱中,观察富集柱中最下层的显色剂颜色变化,若形成绿色环带,则判断待测样品中含有孔雀石绿或无色孔雀石绿;

[0008] 所述的提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸的混合液,其中:乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比为 1 : 1 : 1 ~ 3 : 2 : 1,而对甲苯磺酸与乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液的体积比为 1 : 10 ;

[0009] 所述的提取剂 II 为二氧化铅和酸性氧化铝的混合物,二氧化铅和酸性氧化铝的质量比为 1 : 5 ~ 10 ;

[0010] 所述的待测样品为待检测水体样品或待检测水产品样品；

[0011] 所述的富集柱包括设在富集柱柱腔中的第一、第二、第三挡板和推杆以及富集柱顶盖,其中,第一挡板与第二挡板之间填充有填充物,而第二挡板与第三挡板之间填充有显色剂,推杆与富集柱的富集柱柱腔相配合,富集柱顶盖盖配在富集柱的顶部;所述的显色剂为硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂混合物,硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂的质量比为 4 : 5 : 1;所述的填充物为脱脂棉和无水硫酸钠。

[0012] 在本发明的一个具体的实施例中,所述的待检测水体样品与提取剂 I 的体积比为 1 : 1 ~ 5;待检测水体样品的体积和提取剂 II 的质量比为 10 : 1。

[0013] 在本发明的另一个具体的实施例中,所述的待检测水产品样品质量与提取剂 I 的体积比为 1 : 5 ~ 9;待检测水产品样品和提取剂 II 的质量比为 5 : 1。

[0014] 本发明的还一任务是这样来完成的,一种检测盒,它包括配置在盒内的提取剂 I、提取剂 II、富集柱 3 和孔雀石绿标品,所述的提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸混合液体,其中:乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比为 1 : 1 : 1 ~ 3 : 2 : 1,而对甲苯磺酸与乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液的体积比为 1 : 10;所述的提取剂 II 为二氧化铅和酸性氧化铝的混合物,二氧化铅和酸性氧化铝的质量比为 1 : 5;所述的富集柱包括设在富集柱柱腔中的第一、第二、第三挡板和推杆以及富集柱顶盖,其中,第一挡板与第二挡板之间填充有填充物,而第二挡板与第三挡板之间填充有显色剂,推杆与富集柱的富集柱柱腔相配合,富集柱顶盖盖配在富集柱的顶部;所述的显色剂为硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂混合物,硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂的质量比为 4 : 5 : 1;所述的填充物为脱脂棉和无水硫酸钠。

[0015] 在本发明的再一个具体的实施例中,所述的检测盒还包括配置在盒内的待测样品管、上清液吸管、吸耳球、取样刀和取样勺。

[0016] 在本发明的又一个具体的实施例中,所述的装填的显色剂的质量为 1 ~ 2.5g;所述的第一、第二、第三挡板的材料为高分子材料。

[0017] 在本发明的进而一个具体的实施例中,所述的无水硫酸钠敷置在脱脂棉上,其量为 0.8 ~ 2.5g。

[0018] 在本发明的又更而一个具体的实施例中,所述的高分子材料为聚氯乙烯、聚氨酯或醋酸纤维素中的任意一种。

[0019] 本发明所提供的技术方案具有操作简单并且步骤少,不需要使用昂贵的仪器设备,能体现对现场检测的方便、灵活性。

附图说明

[0020] 图 1 为本发明所述的配备于检测盒中的富集柱的一个实施例示意图。

[0021] 图 2 为本发明的检测方法示意图。

具体实施方式

[0022] 见图 1,在该图中给出了配置于检测盒中的富集柱 3 的直径为 15mm,柱体长度为 85mm,容量为 10ml,并且在柱体上有刻度。很显然,富集柱 3 的容量是不受本实施例的图示的限制的,其大小可以随着待检样品的不同而改变,其容量可以是 1mL,3mL,5mL,6mL,10mL,

20mL, 25mL, 50mL 等不同的规格, 柱体的直径和长度可以变化, 柱体的长度不能太小, 长度要求不小于 65mm, 直径不小于 3mm, 否则对富集柱 3 造成装填难。关于对富集柱 3 的装填, 申请人作如下叙述: 在富集柱 3 的柱腔最下端安装第三挡板 33, 第三挡板 33 与柱腔腔壁之间联接比较紧密, 防止所填的显色剂随提取剂流出, 在第三挡板 33 上面添加富集显色用的显色剂 1 ~ 2.5g, 然后轻敲富集柱 3 的柱体, 使得显色剂填充均匀平实; 装入第二挡板 32, 在第二挡板 32 上面装入少量的脱脂棉, 在脱脂棉之上填充无水硫酸钠 (Na_2SO_4), 轻轻敲实, 脱脂棉要填充平实, 藉以防止无水硫酸钠粉末流入到显色剂中, 无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的作用主要是吸附掉上清液中的少量水分。最后安装第一挡板 31, 防止无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 粉末倒出。在不使用状态下, 将富集柱顶盖 35 盖置在富集柱 3 上, 推杆 34 放置在检测盒中, 在检测盒中还配备有样品管、上清液吸管、吸耳球、取样品刀和取样勺以及孔雀石绿标品。

[0023] 在检测样品时, 为了控制上清液流经显色剂层的速度, 用推杆 34 从富集柱上口加压, 加快流速, 建议检测水产品时提取液 3mL 通过富集柱 3 的时间为 0.2 ~ 0.7min; 水体样品提取液 10mL 样液通过富集柱 3 的时间为 0.8 ~ 2.0min。富集柱 3 中的显色剂层在检测样品之前, 要用提取剂 I 进行活化, 活化时用的乙腈、二氯甲烷与正己烷的混合液, 乙腈、二氯甲烷与正己烷体积比 = 2 : 1 : 1。

[0024] 实施例 1 :

[0025] 水体中总孔雀石绿残留的检测。

[0026] 用提取剂 I 活化富集柱中的由硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂按重量份比为 4 : 5 : 1 所混合而成的显色剂, 装填的显色剂质量为 1g, 活化时用的乙腈、二氯甲烷与正己烷的混合液 10mL, 乙腈、二氯甲烷与正己烷体积比 = 2 : 1 : 1; 填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量为 0.8g。

[0027] 取待检测水体样品于样品管中, 加入提取剂 I 和提取剂 II, 提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸混合液体, 其中乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比为 1 : 1 : 1, 对甲苯磺酸 1.0mol/L 的溶液, 乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液与对甲苯磺酸溶液体积比 = 10 : 1; 提取剂 II 为二氧化铅 (PbO_2) 和酸性氧化铝 (pH4 ~ 4.5) 的混合物, 二氧化铅 (PbO_2) 和酸性氧化铝的质量比为 1 : 5。待检测水体样品与加入提取剂 I 的体积比为 1 : 1, 待检测水体样品的体积和提取剂 II 的质量比为 10 : 1。充分振荡 10min, 静置 5min, 待有机相和水相分层之后, 用吸管取有机相中的上清液于图 1 或图 2 所示的 50mL 富集柱 3 中;

[0028] 将样品管中的有机相上清液分次全部加入富集柱 3 中, 每次最大加液量为 10mL, 用推杆 34 从富集柱上口加压, 加快流速, 建议 10mL 样液通过柱子的时间为 1min。让样液流至与富集柱 3 最上层筛板平齐, 停止推动推杆 34。

[0029] 观察结果: 观察富集柱 3 中最下层显色剂颜色变化, 若该显色剂逐渐形成绿色环带, 可初步判断待测水体样品中含有孔雀石绿或是无色孔雀石绿。

[0030] 实施例 2 :

[0031] 仅将富集柱中装填显色剂的质量改为 1.5g; 将填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量改为 1.4g, 其余同对实施例 1 的描述。

[0032] 实施例 3 :

[0033] 仅将富集柱中装填显色剂的质量改为 2.5g; 将填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量改为 2.5g, 其余同对实施例 1 的描述。

- [0034] 实施例 4 :
- [0035] 仅将乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比改为 2 : 2 : 1,其余同对实施例 1 的描述。
- [0036] 实施例 5 :
- [0037] 仅将乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比改为 3 : 2 : 1,其余同对实施例 1 的描述。
- [0038] 实施例 6 :
- [0039] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 4.5,其余同对实施例 1 的描述。
- [0040] 实施例 7 :
- [0041] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 4.5,其余同对实施例 4 的描述。
- [0042] 实施例 8 :
- [0043] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 4.5,其余同对实施例 5 的描述。
- [0044] 实施例 9 :
- [0045] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 5,其余同对实施例 1 的描述。
- [0046] 实施例 10 :
- [0047] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 5,其余同对实施例 4 的描述。
- [0048] 实施例 11 :
- [0049] 仅将水体样品与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 5,其余同对实施例 5 的描述。
- [0050] 实施例 12 :
- [0051] 水产品中总孔雀石绿残留的检测。
- [0052] 用提取剂 I 活化富集柱中的由硅胶、中性氧化铝和 732 阳离子树脂按重量份比为 4 : 5 : 1 所混合而成的显色剂,装填的显色剂质量为 1g,活化时用的乙腈、二氯甲烷与正己烷的混合液 10mL,乙腈、二氯甲烷与正己烷体积比 = 2 : 1 : 1;填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量为 0.8g。
- [0053] 取待检测水产品样品可食部分充分绞碎后,将待检测水产品样品置于样品管中,分别加入提取剂 I 和提取剂 II,提取剂 I 为乙腈、二氯甲烷、正己烷和对甲苯磺酸混合液体,其中乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比 = 1 : 1 : 1,对甲苯磺酸 1.0mol/L 的溶液,乙腈、二氯甲烷和正己烷的混合液与对甲苯磺酸溶液体积比 = 10 : 1;提取剂 II 为二氧化铅 (PbO_2) 和酸性氧化 (pH4 ~ 4.5) 的混合物,二氧化铅 (PbO_2) 和酸性氧化铝的质量比 = 1 : 5,振摇 10min,静置 2min 后,取上清液于图 1 或图 2 所示的 10mL 的富集柱 3 中 ;
- [0054] 将样品管中的提取液分次全部加入富集柱 3 中,每次最大加液量为 3mL,按图 2 所示用推杆 34 从富集柱 3 的上口加压,加快流速,建议 3mL 样液通过柱子的时间为 0.5min。让样液流至与上层挡板平齐,停止推动推杆 34。
- [0055] 观察结果:观察富集柱 3 中最下层显色剂颜色变化,若该显色剂逐渐形成绿色环带,可初步判断样品中含有孔雀石绿。
- [0056] 实施例 13 :
- [0057] 仅将富集柱中装填显色剂的质量改为 1.5g;将填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量改为 1.4g,其余同对实施例 12 的描述。
- [0058] 实施例 14 :
- [0059] 仅将富集柱中装填显色剂的质量改为 2.5g;将填充的无水硫酸钠 (Na_2SO_4) 的质量改为 2.5g,其余同对实施例 12 的描述。

[0060] 实施例 15：

[0061] 仅将乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比改为 2 : 2 : 1,其余同对实施例 12 的描述。

[0062] 实施例 16：

[0063] 仅将乙腈、二氯甲烷与正己烷的体积比改为 3 : 2 : 1,其余同对实施例 12 的描述。

[0064] 实施例 17：

[0065] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 7,其余同对实施例 12 的描述。

[0066] 实施例 18：

[0067] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 7,其余同对实施例 15 的描述。

[0068] 实施例 19：

[0069] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 7,其余同对实施例 16 的描述。

[0070] 实施例 20：

[0071] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 9,其余同对实施例 12 的描述。

[0072] 实施例 21：

[0073] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 9,其余同对实施例 15 的描述。

[0074] 实施例 22：

[0075] 仅将待测水产品样品质量与加入提取剂 I 的体积比改为 1 : 9,其余同对实施例 16 的描述。

[0076] 由上述实施例可知,本发明方法是通过提取剂 I 将待检样品中的孔雀石绿提取出来,然后通过提取剂 II 衍生化,将无色孔雀石绿氧化成孔雀石绿,静置后,取上清液到富集柱中,通过显色剂的不断将上清液中的孔雀石绿吸附富集,使得显色剂显色。检测水产品中的孔雀石绿时,取水产品的可食用部分,检测水体样品时,直接取水样,然后通过提取剂提取衍生化之后,经富集柱吸附富集,可以直接通过富集柱中最底层的显色剂的颜色变化,判断待检测样品中是否含有孔雀石绿,如果显色剂层形成绿色环带,则说明待测样品中含有孔雀石绿或是无色孔雀石绿。

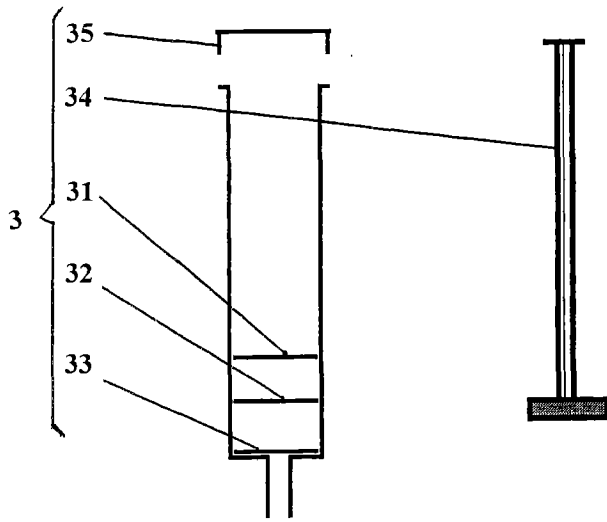


图 1

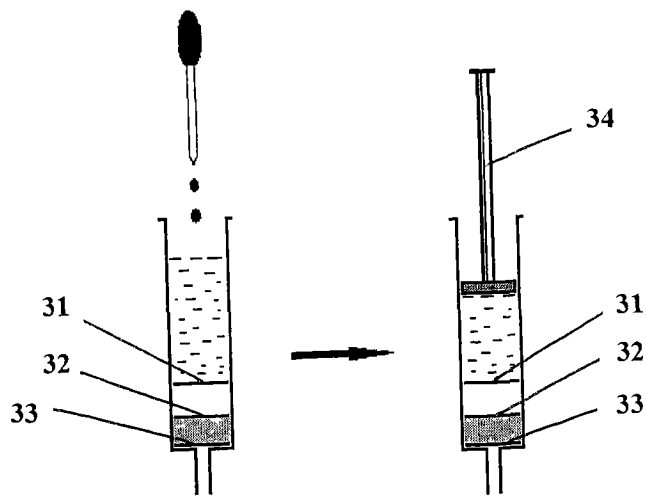


图 2