

进出口水产品中亚甲基蓝残留量检测方法

SN/T 1974-2007

1、适用范围

本标准规定了水产品中亚甲基蓝残留量测定的高效液相色谱检测方法。

本标准适用于鱼、虾及其制品中亚甲基蓝残留的测定和确证。（本实验样品为龙利鱼）

参考标准：《SN 1974-2007 进出口水产品中亚甲基蓝残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法和高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 对甲苯磺酸溶液(1.0mol/L): 称取 4.3g 一水对甲苯磺酸, 并用水稀释至 25mL。
- 2) 乙酸钠缓冲溶液: (0.1mol/L, pH=4.5): 称取 1.64g 无水乙酸钠溶解于 200mL 水中, 用冰乙酸调 pH 至 4.5。
- 3) 20%二甘醇溶液: 量取 100mL 二甘醇和 400mL 水, 混匀。
- 4) 10%甲醇溶液: 量取 10mL 甲醇和 90mL 水, 混匀。
- 5) 30%甲醇溶液: 量取 30mL 甲醇和 70mL 水, 混匀。
- 6) 0.1%甲酸水: 量取 1mL 甲酸, 加水定容至 1000mL, 混匀。
- 7) 亚甲基蓝标准储备液: 称取 1mg 亚甲基蓝, 用 30%甲醇溶液定容至 10mL, 配制成 100 μ g/mL 的标准储备液。
- 8) 亚甲基蓝标准工作液: 吸取 100 μ L 标准储备液, 用 30%甲醇溶液定容至 10mL, 配制成 1 μ g/mL 的标准工作液。



3、提取步骤

样品前处理：将样品经搅拌机搅碎，冷藏保存，备用

准确称取 5 g 鱼肉试样（精确至 0.01g）于 50 mL 离心管中，加入 5g 中性氧化铝，再依次加入 1mL 对甲苯磺酸溶液、4mL 乙酸钠缓冲溶液，涡旋 1min。加入 8mL 乙腈，10000r/min 均质 2min，4000r/min 离心 5min，将上清液转移到另一个 50mL 离心管中，再加入 4mL 乙腈重复提取残渣一次，合并上清液。然后在上清液中加入 8mL 二甘醇溶液，10mL 二氯甲烷，涡旋 1min，4000r/min 离心 5min，收集下层有机层于浓缩瓶中，在 40℃下减压旋转蒸发至近干，加入 6mL 乙腈溶解残渣，待净化。

4、净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® Alumina-N 小柱，规格：500mg/3mL。

活化：3mL 乙腈，弃去；

上样：待净化液全部上样，收集；

淋洗：2mL 乙腈，收集；

洗脱：4mL 甲醇，收集；

浓缩：40℃氮吹至近干后用 10%甲醇溶液定容至 1mL，过 0.22μm 微孔滤膜，供上机检测。

5、注意事项

- 1) 加标水平：5g 样品中加入 25μL 1μg/mL 标准工作液，定容至 1mL，因此加标水平为 5μg/kg，最终机度数为 0.025μg/mL。
- 2) 前处理中的 6mL 乙腈分三次润洗浓缩瓶后进行上样。



3) 本实验标准品溶液用鱼肉基质溶液进行配置。

6、色谱条件

6.1 高效液相色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18 4.6×150mm, 5μm

洗脱程序：梯度洗脱，0min 时，甲醇与 0.1%甲酸水体积比为 10:90；7min 时，甲醇与 0.1%甲酸体积比为 95:5；9min 时，甲醇与 0.1%甲酸体积比为 95:5；12min 时，甲醇与 0.1%甲酸体积比为 10:90；15min 时，甲醇与 0.1%甲酸体积比为 10:90。

流速：0.5mL/min

柱温：30℃

进样量：50μL

检测波长：655nm

7、色谱图或者加标回收率结果

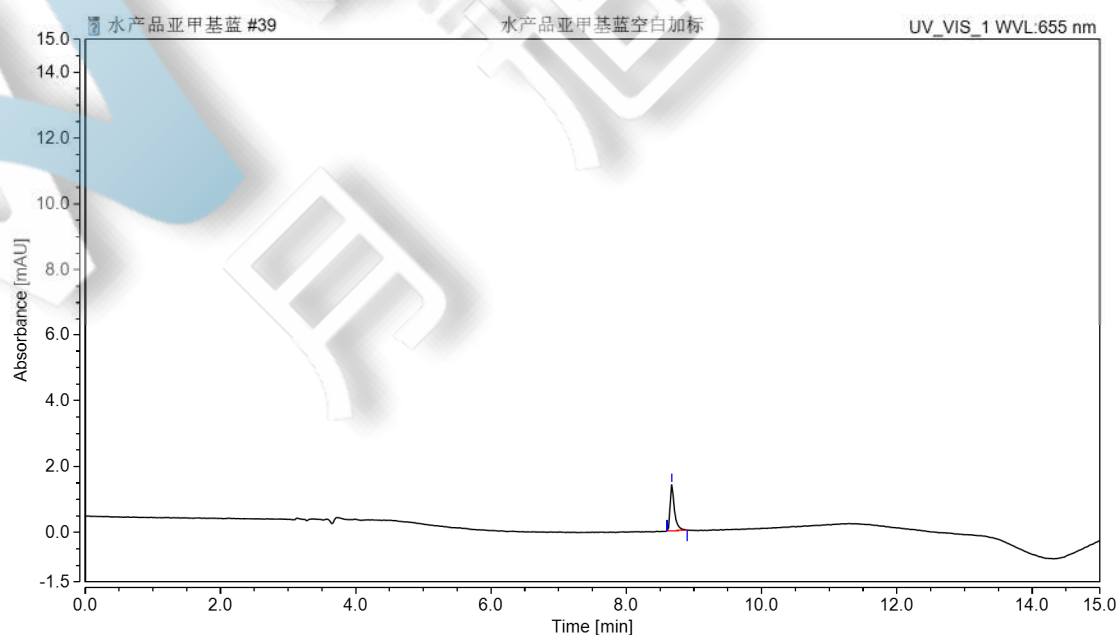


图 1. 亚甲基蓝空白加标 0.025 μ g/mL 图谱

表 1、出峰情况

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	分离度	塔板数
	min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)
亚甲基蓝	8.672	0.1039	1.40	100.00	1.74	n.a.	108040

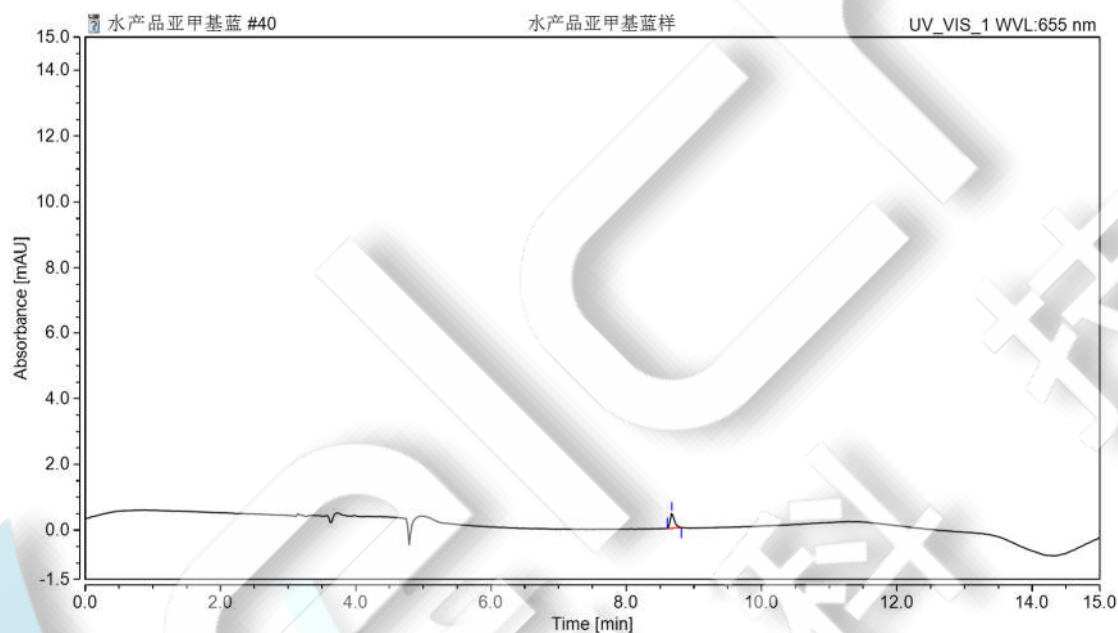


图 2. 鱼肉样品空白图谱

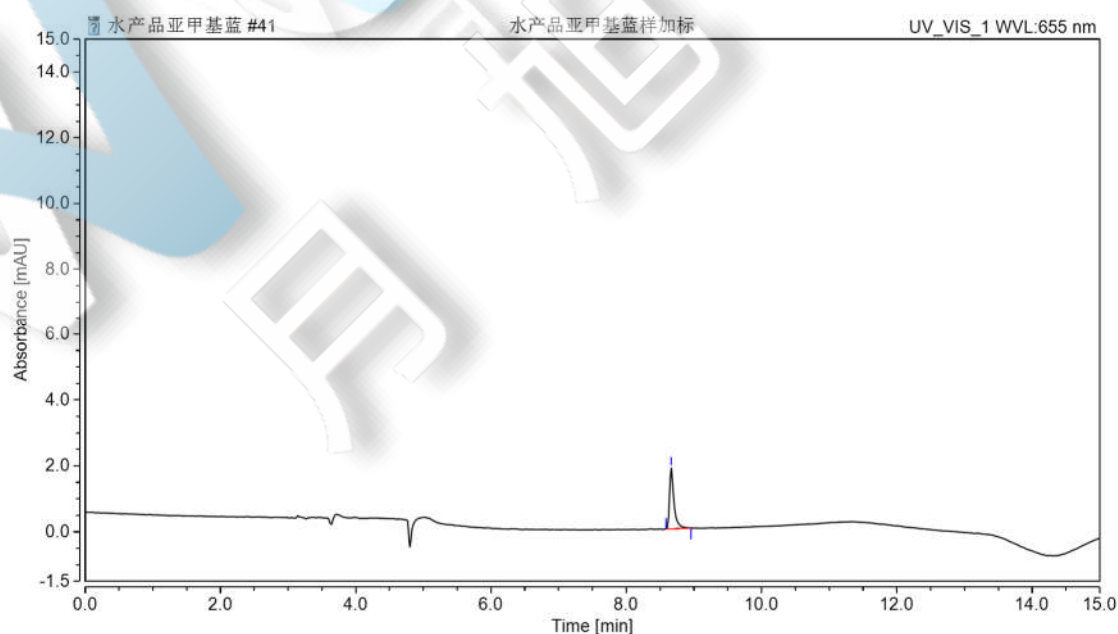


图 3. 鱼肉样品加标 0.005mg/kg 图谱

表 2、加标回收率表

物质	加标水平	平均回收率	RSD 值 (n=2)
亚甲基蓝	0.005mg/kg	103.08%	1.78%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00518-20005	SPE 小柱	Welchrom® Alumina-N,500mg/3mL, 50pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	Welchrom® 离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00824-31001	固相萃取装置	Welch 固相萃取装置, 12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	Welchrom® 预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	Welchrom® 2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31041	液相分析柱	Ultimate® XB-C18, 4.6×150mm, 5μm
00802-02201	针头式过滤器	Welchrom® 进口 NY,13mm*0.22μm,100pk

