

水产品中甲苯咪唑及代谢物的测定 GB 31656.1-2021

1、适用范围

适用于鱼、虾和蟹可食用组织中甲苯咪唑及其代谢物氨基甲苯咪唑和羟基甲苯咪唑残留量的检测（该实验选用基质为鱼肉）

参考标准：《GB 31656.1-2021 水产品中甲苯咪唑及代谢物残留量的测定 高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：各称取甲苯咪唑、氨基甲苯咪唑、羟基甲苯咪唑 5mg，用甲醇溶解并定容至 10mL，浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ ，于 -18°C 储存。
- 2) 标准工作液：吸取 0.2mL 氨基甲苯咪唑标准储备液，0.1mL 氨基甲苯咪唑、羟基甲苯咪唑标准储备液用甲醇溶解并定容至 10mL，于 -18°C 储存。
- 3) 80%甲醇溶液：取甲醇 80mL，加水至 100mL，混匀。
- 4) 1%甲酸溶液：取甲酸 1mL，加水至 100mL，混匀。
- 5) 0.05mol/L 磷酸二氢铵-三乙胺溶液：称取 5.8g 磷酸二氢铵（加水溶解并稀释至 1000mL，加三乙胺 1mL，超声混匀。
- 6) 0.05mol/L 磷酸二氢铵缓冲液：称取 2.9g 磷酸二氢铵，用水 450 溶解，用磷酸调 pH 至 2.0 用水稀释至 500mL，超声混匀。
- 7) 5%氨化甲醇溶液：取氨水 5mL、甲醇 95mL，混匀。
- 8) 溶解液：取 N,N-二甲基甲酰胺 150mL，用 0.05mol/L 磷酸二氢铵缓冲液稀释至 500mL。



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼 邮编：201600

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 邮编：321000

Tel: 400-810-6969 E-mail: lingyuyu@welchmat.com

3、提取步骤

称取 3.0g 样品，加入 2mL 水，涡旋混匀，加入 10mL 乙酸乙酯，涡旋混匀，超声提取 5min，6000r/min 离心 5min，取乙酸乙酯层至 100mL 鸡心瓶，残渣中加入 7 乙酸乙酯重复提取两遍，合并乙酸乙酯层 40℃ 旋蒸至干，加入 3mL 80% 甲醇水，加入 3mL 正己烷，混匀，弃去正己烷层，再加入 3mL 正己烷重复操作一遍，加入 3mL 1% 甲酸水，待净化。

4、净化

SPE 小柱：P-SCX 60mg/3mL

活化：3mL 甲醇、3mL 水

上样：全部上样，弃去

淋洗：3mL 水、3mL 甲醇

洗脱：5mL 5% 氨水甲醇，40℃ 氮吹至干加入 1mL 溶解液，待测

5、注意事项

1) 加标水平：3g 样中加入 40 μ L 混合标准工作液，复溶 1mL 上机，因此甲苯咪唑、羟基甲苯咪唑加标水平为 0.067mg/kg，氨基甲苯咪唑为 0.133mg/kg，最终机度数氨基甲苯咪唑为 0.4mg/L、甲苯咪唑、羟基甲苯咪唑 0.2mg/L。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18, 4.6×250mm, 5 μ m

流动相：详见表一

流速：0.9mL/min



柱温：40℃

进样量：30 μL

波长：289nm

表一：

时间	乙腈 %	0.05mol/L 磷酸二氢铵-三 乙胺溶液 %
0	20	80
18	40	60
20	40	60
20.1	20	80
25	20	80



7、色谱图或者加标回收率结果

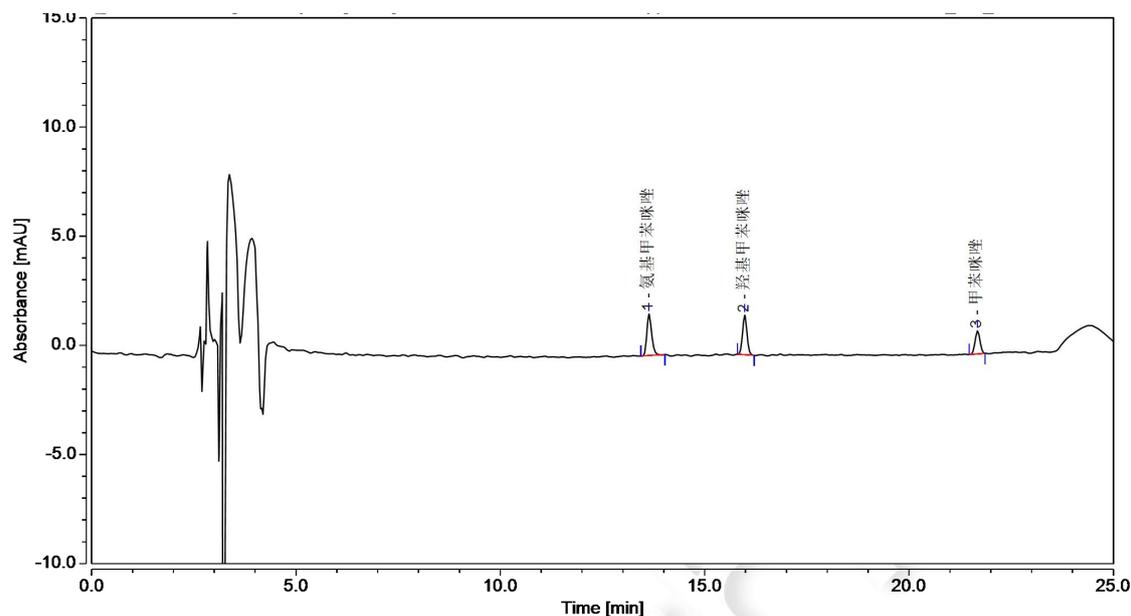


图 1. 混标图谱

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	塔板数
	min	mAU*min	mAU	%	EP	(USP)
氨基甲苯咪唑	13.635	0.2591	1.9	40.73	1.3	66704
羟基甲苯咪唑	15.98	0.2297	1.81	36.11	1.06	101805
甲苯咪唑	21.671	0.1474	1.06	23.16	1.05	151194



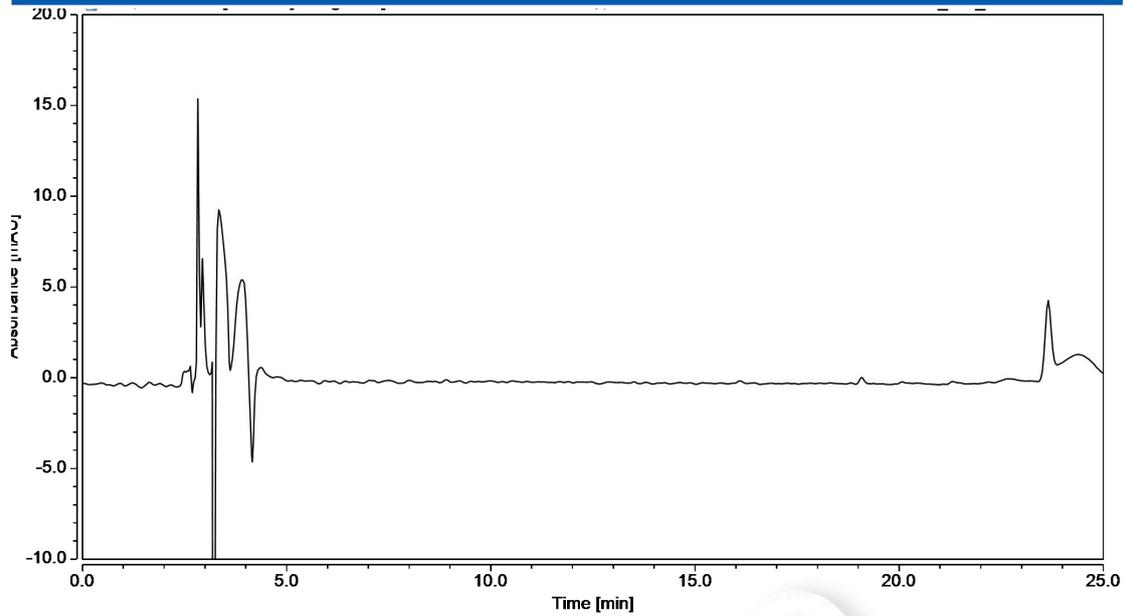


图 2. 鱼肉样品空白图谱

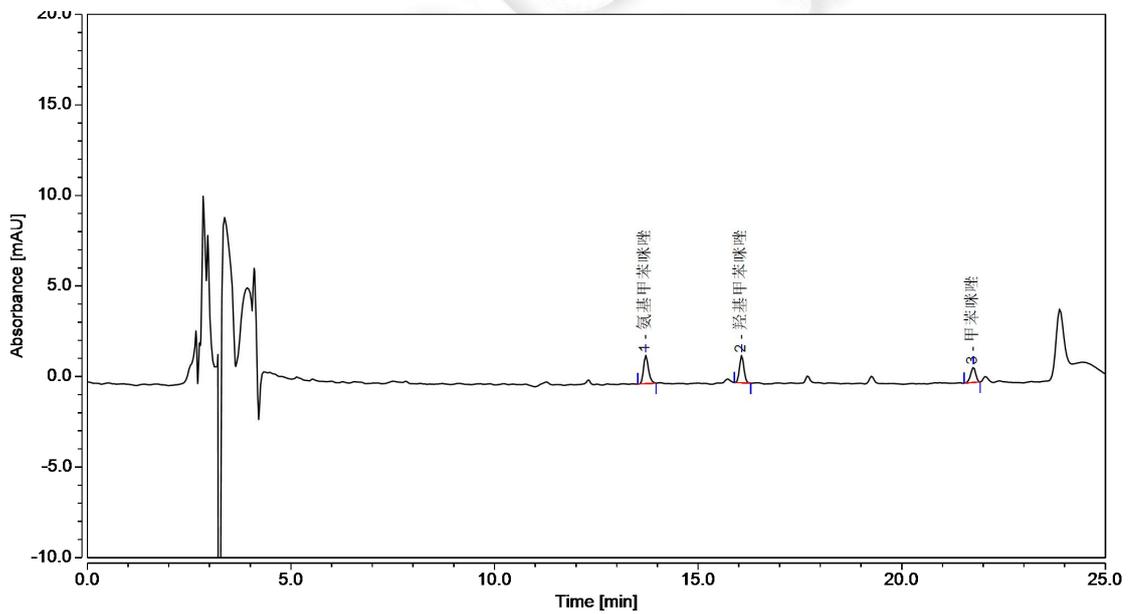


图 3. 鱼肉样加标图谱



表 1. 加标回收率表

名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD % (n=2)
氨基甲苯咪唑	0.133	86%	1.81%
羟基甲苯咪唑	0.067	83%	0.41%
甲苯咪唑		81%	2.93%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00523-20016	Welchrom® P-SCX	60mg/3mL, 50pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底, RCF12000xg, 袋装, 未灭菌, 50mL, 50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底, RCF12000xg, 袋装, 未灭菌, 15mL, 50/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	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	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
00201-31043	液相色谱柱	Ultimate® XB-C18, 4.6×250mm, 5 μm



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼 邮编：201600

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 邮编：321000

Tel: 400-810-6969 E-mail: lingyuyu@welchmat.com