



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3025—2006

水产品中甲醛的测定

Determination of formaldehyde in aquatic products

2006-01-26 发布

2006-04-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准附录 A、附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部渔业局提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：周德庆、马敬军、李晓川、翟毓秀、王联珠。

水产品中甲醛的测定

1 范围

本标准规定了水产品中甲醛含量的测定方法:定性方法、分光光度法、高效液相色谱法。

本标准适用于水产品中甲醛含量的定性筛选和定量测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 5009.1 食品卫生检验方法 理化部分总则

3 定性筛选方法

3.1 原理

利用水溶液中游离的甲醛与某些化学试剂的特异性反应,形成特定的颜色进行鉴别。

3.2 仪器

3.2.1 组织捣碎机

3.2.2 10 mL 纳氏比色管

3.3 试剂

3.3.1 下列所用试剂均为分析纯,所用化学试剂应符合 GB/T 602 要求。实验用水应符合 GB/T 6682 的要求。

3.3.2 1%间苯三酚溶液:称取固体间苯三酚 1 g,溶于 100 mL 12%氢氧化钠溶液中。此溶液临用时现配。

3.3.3 4%盐酸苯肼溶液。此溶液临用时现配。

3.3.4 盐酸溶液(1+9):量取盐酸 100 mL,加到 900 mL 的水中。

3.3.5 5%亚硝酸亚铁氰化钠溶液。此溶液临用时现配。

3.3.6 10%氢氧化钾溶液。

3.4 操作步骤

3.4.1 取样

3.4.1.1 鲜活水产品

鲜活水产品取肌肉等可食部分测定。鱼类去头、去鳞,取背部和腹部肌肉;虾去头、去壳、去肠腺后取肉;贝类去壳后取肉;蟹类去壳、去性腺和肝脏后取肉。

3.4.1.2 冷冻水产品

冷冻水产品经半解冻直接取样,不可用水清洗。

3.4.1.3 水发水产品

水发水产品可取其水发溶液直接测定。或将样品沥水后,取可食部分测定。

3.4.1.4 干制水产品

干制水产品取肌肉等可食部分测定。

3.4.2 试样的制备

可直接取用水发水产品的水发溶液,进行定性筛选实验。将取得的样品用组织捣碎机捣碎,称取10 g于三角瓶中,加入20 mL蒸馏水,震荡30 min,离心后取上清液作为制备液进行定性测定。

3.4.3 测定

3.4.3.1 间苯三酚法

- a) 取样品制备液5 mL于10 mL纳氏比色管中,然后加入1 mL 1%间苯三酚溶液,2 min内观察颜色变化。溶液若呈橙红色,则有甲醛存在,且甲醛含量较高;溶液若呈浅红色,则含有甲醛,且含量较低;溶液若无颜色变化,甲醛未检出。
- b) 该方法操作时显色时间短,应在2 min内观察颜色的变化。水发鱿鱼、水发虾仁等样品的制备液因带浅红色,不适合此法。

3.4.3.2 亚硝基亚铁氰化钠法

- a) 取样品制备溶液5 mL于10 mL纳氏比色管中,然后加入1 mL 4%盐酸苯肼,3滴~5滴新配的5%亚硝基亚铁氰化钠溶液,再加入3滴~5滴10%氢氧化钾溶液,5 min内观察颜色变化。溶液若呈蓝色或灰蓝色,说明有甲醛,且甲醛含量高;溶液若呈浅蓝色,说明有甲醛,且甲醛含量低;溶液若呈淡黄色,甲醛未检出。
- b) 该方法显色时间短,应5 min内观察颜色的变化。

3.4.3.3 以上两种方法中任何一种方法都可作为甲醛的定性测定方法,必要时两种方法同时使用。

4 定量测定方法

4.1 分光光度法

4.1.1 原理

水产品中的甲醛在磷酸介质中经水蒸气加热蒸馏,冷凝后经水溶液吸收,蒸馏液与乙酰丙酮反应,生成黄色的二乙酰基二氢二甲基吡啶,用分光光度计在413 nm处比色定量,甲醛分光光度计吸收光谱见附录A。

4.1.2 仪器

4.1.2.1 分光光度计:波长范围为360 nm~800 nm。

4.1.2.2 圆底烧瓶:1 000 mL/2 000 mL、250 mL;容量瓶:200 mL;纳氏比色管:20 mL。

4.1.2.3 调温电热套或电炉。

4.1.2.4 组织捣碎机。

4.1.2.5 蒸馏液冷凝、接收装置。

4.1.3 试剂

4.1.3.1 磷酸溶液(1+9):取100 mL磷酸,加到900 mL的水溶液,混匀。

4.1.3.2 乙酰丙酮溶液:称取乙酸铵25 g,溶于100 mL蒸馏水中,加冰乙酸3 mL和乙酰丙酮0.4 mL,混匀,贮存于棕色瓶,在2℃~8℃冰箱内可保存一个月。

4.1.3.3 0.1 mol/L碘溶液:称取40 g碘化钾,溶于25 mL水中,加入12.7 g碘,待碘完全溶解后,加水定容至1 000 mL,移入棕色瓶中,暗处贮存。

4.1.3.4 1 mol/L氢氧化钠溶液。

4.1.3.5 硫酸溶液(1+9)。

4.1.3.6 0.1 mol/L硫代硫酸钠标准溶液:按GB/T 5009.1中规定的方法标定。

4.1.3.7 0.5%淀粉溶液:此液应当日配置。

4.1.3.8 甲醛标准贮备溶液:吸取 0.3 mL 含量为 36%~38% 甲醛溶液于 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,为甲醛标准贮备溶液,冷藏保存两周。按本标准 4.1.5.1 条规定的碘量法标定。

4.1.3.9 甲醛标准溶液(5 μg/mL):根据甲醛标准贮备液的浓度,精密吸取适量于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,配置甲醛标准溶液(5 μg/mL),混匀备用,此液应当日配置。

4.1.4 样品处理

将按 3.4.1 要求取得样品,用组织捣碎机捣碎,混合均匀后称取 10.00 g 于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 20 mL 蒸馏水,用玻璃棒搅拌混匀,浸泡 30 min 后加 10 mL 磷酸(1+9)溶液后立即通入水蒸气蒸馏。接收管下口事先插入盛有 20 mL 蒸馏水且置于冰浴的蒸馏液接收装置中。收集蒸馏液至 200 mL,同时做空白对照实验。

4.1.5 操作方法

4.1.5.1 甲醛标准贮备溶液的标定

精密吸取 4.1.3.8 制备的溶液 10.00 mL,置于 250 mL 碘量瓶中,加入 25.00 mL 0.1 mol/L 碘溶液,7.50 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液,放置 15 min;再加入 10.00 mL(1+9)硫酸,放置 15 min;用浓度为 0.1 mol/L 的硫代硫酸钠标准溶液滴定,当滴至淡黄色时,加入 1.00 mL 0.5% 淀粉指示剂,继续滴定至蓝色消失,记录所用硫代硫酸钠体积(V_1) mL。同时用水作试剂空白滴定,记录空白滴定所用硫代硫酸钠体积(V_0) mL。

甲醛标准贮备液的浓度用式(1)计算:

$$X_1 = \frac{(V_0 - V_1) \times C \times 15 \times 1\,000}{10} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_1 ——甲醛标准贮备溶液中甲醛的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V_0 ——空白滴定消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积数,单位为毫升(mL);

V_1 ——滴定甲醛消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积数,单位为毫升(mL);

C ——硫代硫酸钠溶液准确的摩尔浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

15 ——1 mL 1 mol/L 碘相当甲醛的量,单位为毫克(mg);

10 ——所用甲醛标准贮备溶液的体积,单位为毫升(mL)。

4.1.5.2 标准曲线的绘制

精密吸取 5 μg/mL 甲醛标准液 0 mL、2.0 mL、4.0 mL、6.0 mL、8.0 mL、10.0 mL 于 20 mL 纳氏比色管中,加水至 10 mL;加入 1 mL 乙酰丙酮溶液,混合均匀,置沸水浴中加热 10 min,取出用水冷却至室温;以空白液为参比,于波长 413 nm 处,以 1 cm 比色皿进行比色,测定吸光度,绘制标准曲线。

4.1.5.3 样品测定

根据样品蒸馏液中甲醛浓度高低,吸取蒸馏液 1 mL~10 mL,补充蒸馏水至 10 mL,测定过程同 4.1.5.2,记录吸光度。每个样品应作两个平行测定,以其算术平均值为分析结果。

4.1.6 结果计算

试样中甲醛的含量按式(2)计算,计算结果保留两位小数。

$$X_2 = \frac{C_2 \times 10}{m_2 \times V_2} \times 200 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_2 ——水产品中甲醛含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C_2 ——查曲线结果,单位为微克每毫升(μg/mL);

10 ——显色溶液的总体积,单位为毫升(mL);

m_2 ——样品质量,单位为克(g);

V_2 ——样品测定取蒸馏液的体积,单位为毫升(mL);

200——蒸馏液总体积,单位为毫升(mL)。

4.1.7 回收率

回收率 $\geq 60\%$ 。

4.1.8 检出限

样品中甲醛的检出限为 0.50 mg/kg。

4.1.9 精密度

在重复性条件下获得两次独立测定结果:

样品中甲醛含量 ≤ 5 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 10\%$;

样品中甲醛含量 > 5 mg/kg 时,相对偏差 $\leq 5\%$ 。

4.2 高效液相色谱法

4.2.1 原理

甲醛在酸性条件下与 2,4-二硝基苯肼在 60℃ 水浴衍生化生成 2,4-二硝基苯腙,经二氯甲烷反复分离提取后,经无水硫酸钠脱水,水浴蒸干,甲醇溶解残渣。ODS- C_{18} 柱分离,紫外检测器 338 nm 检测,以保留时间定性,根据峰面积定量,测定甲醛含量,甲醛溶液高效液相色谱图见附录 B。

4.2.2 仪器

4.2.2.1 高效液相色谱,附紫外检测器。

4.2.2.2 高速离心机。

4.2.2.3 10 mm $\times$ 150 mm 具塞玻璃层析柱。

4.2.2.4 恒温水浴锅。

4.2.2.5 旋涡混合器。

4.2.2.6 移液器:1 mL;微量进样器:20 μ l;5 mL 具塞比色管。

4.2.2.7 0.22 μ m 滤膜。

4.2.3 试剂

4.2.3.1 甲醇:色谱纯,经过滤、脱气后使用。

4.2.3.2 二氯甲烷。

4.2.3.3 2,4-二硝基苯肼溶液:称取 100 mg 2,4-二硝基苯肼溶解于 24 mL 浓盐酸中,加水定容至 100 mL。

4.2.3.4 甲醛标准贮备溶液:配制及标定见本标准 4.1.3.8 条,临用时稀释至 20 μ g/mL。

4.2.3.5 无水硫酸钠:经 550℃ 高温灼烧,干燥器中贮存冷却后使用。

4.2.4 测定步骤

4.2.4.1 样品处理

取 4.1.4 制备水蒸气蒸馏液 0.1 mL~1.0 mL,置于 5 mL 具塞比色管中,补充蒸馏水至 1.0 mL,加入 0.2 mL 2,4-二硝基苯肼溶液,置 60℃ 水浴 15 min,然后在流水中快速冷却,加入 2 mL 二氯甲烷,旋涡混合器震荡萃取 1 min,3 000 r/min,离心 2 min,取上清液再用 1 mL 二氯甲烷萃取两次,合并 3 次萃取的下层黄色溶液,将萃取液经无水硫酸钠柱脱水,60℃ 水浴蒸干,放冷,取 1.0 mL 色谱纯甲醇溶解残渣,经孔径 0.22 μ m 滤膜过滤后做液相色谱分析用。

4.2.4.2 色谱条件

4.2.4.2.1 色谱柱:ODS- C_{18} 柱,5 μ m,4.6 mm $\times$ 250 mm。

4.2.4.2.2 色谱柱温度:40℃。

4.2.4.2.3 流动相:甲醇+水(60+40),0.5 mL/min。

4.2.4.2.4 检测器波长:338 nm。

4.2.4.3 标准曲线的绘制

分别取 20 μg/mL 的甲醛应用液 0.0 mL, 0.1 mL, 0.25 mL, 0.5 mL, 0.75 mL, 1.0 mL (相当于 0 μg, 2 μg, 5 μg, 10 μg, 15 μg, 20 μg) 于 5 mL 具塞比色管中, 加蒸馏水至 1.0 mL, 按 4.2.4.1 处理后取 20 μL 进样。根据出现时间定性(5.1 min), 峰面积定量, 每个浓度做两次, 取平均值, 用峰面积与甲醛含量做图, 绘制标准曲线。取样品处理液 20 μL 注入液相色谱测得积分面积后从标准曲线查出相应的浓度。

4.2.5 结果计算

样品中甲醛的含量按式(3)计算, 计算结果保留两位小数。

$$X_3 = \frac{C_3}{M_3 \times V_3} \times 200 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X_3 ——水产品中甲醛含量, 单位为毫克每千克(mg/kg);

C_3 ——查曲线结果, 单位为微克每毫升(μg/mL);

M_3 ——样品质量, 单位为克(g);

V_3 ——样品测定取蒸馏液的体积, 单位为毫升(mL);

200 ——蒸馏液总体积, 单位为毫升(mL)。

4.2.6 回收率

样品蒸馏液中添加甲醛标准溶液计算得到的回收率>90%。

4.2.7 精密度

在重复性条件下获得两次独立测定结果:

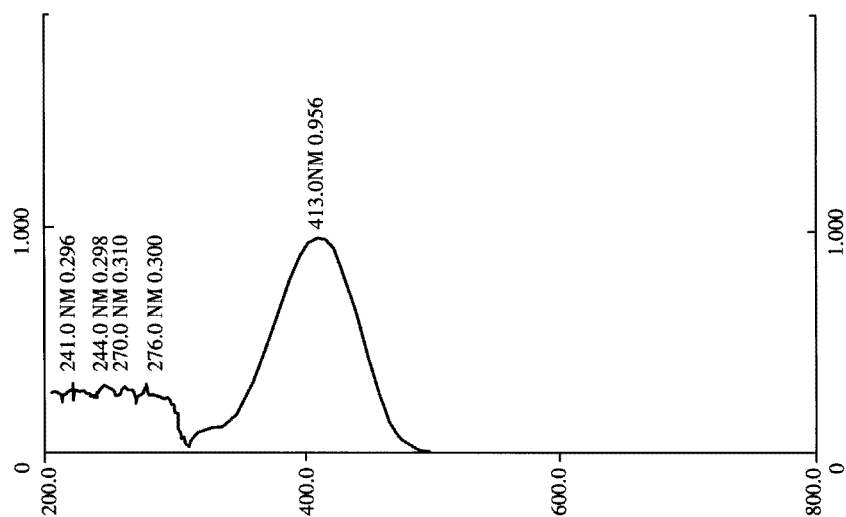
当样品中甲醛含量≤5 mg/kg 时, 相对偏差≤10%;

当样品中甲醛含量>5 mg/kg 时, 相对偏差≤5%。

4.2.8 检出限

样品中甲醛的检出限为 0.20 mg/kg。

附 录 A
(资料性附录)
甲醛分光光度计吸收光谱扫描图



附 录 B
(资料性附录)
甲醛标准溶液高效液相色谱图

