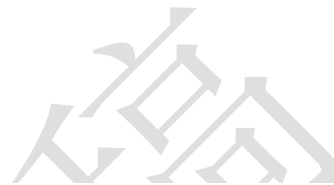


ICS XXX



中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××



食品安全国家标准

禽蛋中阿维菌素类药物多残留的测定

液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—

Determination of avermectins residues in eggs by Liquid

chromatography-tandem mass spectrometry

××××—××发布

××××—××实施

中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件系首次发布。

征求意见稿

食品安全国家标准

禽蛋中阿维菌素类药物多残留的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了禽蛋中阿维菌素类药物残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋和鹌鹑蛋中阿维菌素B1a、22,23-二氢阿维菌素B1a、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素B1a和莫昔克丁残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中残留的阿维菌素类药物经酸化乙腈提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配标准溶液外标法定量。

5 试剂与材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.2 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.1.3 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）：色谱纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 1%甲酸乙腈溶液：取甲酸10 mL，用乙腈稀释至1000 mL，混匀。

5.2.2 0.1%甲酸乙腈溶液：取甲酸1 mL，用乙腈稀释至1000 mL，混匀。

5.2.3 含10 mmol/L乙酸铵的0.1%甲酸水溶液：取乙酸铵0.77 g，用适量水溶解后，加入甲酸1 mL，用水稀释至1000 mL，混匀。

5.2.4 50%乙腈溶液：取乙腈500 mL，用水稀释至1000 mL，混匀。

5.3 标准品

阿维菌素B1a、22,23-二氢阿维菌素B1a、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素B1a、莫昔克丁，含量均 $\geq 95\%$ ，具体见附录A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液（100 µg/mL）：取各阿维菌素类标准品约10 mg，精密称定，于100 mL容量瓶中，用乙腈适量溶解并稀释至刻度，配制成浓度为100 µg/mL标准储备液，-20 °C以下保存，有效期3个月。

5.4.2 混合标准中间液（10 µg/mL）：准确量取各阿维菌素类药物的标准储备液1 mL，于10 mL容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为10 µg/mL的混合标准中间液，2-8 °C避光保存，有效期1个月。

5.4.3 混合标准工作液（1 µg/mL）：准确量取1 mL混合标准中间液，于10 mL容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为1 µg/mL的混合标准工作液，现用现配。

5.5 材料

5.5.1 固相萃取小柱：PRiME HLB固相萃取小柱（3 mL/150 mg），或相当者。

5.5.2 微孔尼龙滤膜：0.22 µm。

5.5.3 盐析包：含4 g氯化钠和1 g无水硫酸镁。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.000 01 g。

6.3 离心机：转速不低于 4000 r/min。

6.4 组织匀浆机。

6.5 涡旋混合器。

6.6 振荡器。

6.7 氮吹仪。

6.8 固相萃取装置。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

取适量新鲜的空白或供试禽蛋样品，洗净去壳后放入组织匀浆机中充分均质。

a) 取均质后的供试样品，作为供试试料；

b) 取均质后的空白样品，作为空白试料；

c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

-20 °C以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料 5 g（准确至±0.05 g），于 50 mL 离心管中，加入 5 mL 纯水并涡旋混合 30 s 后，加入 10 mL 1%甲酸乙腈溶液，振荡提取 15 min 后，加入盐析包，剧烈涡旋混合 1 min 后，4000 r/min 离心 10 min，取上清液作为备用液。

8.2 净化

取备用液过固相萃取小柱，用 1 mL 乙腈淋洗固相萃取小柱，收集流出液和淋洗液，于 40 °C 氮气吹干。残留物用 1 mL 50%乙腈溶液溶解，涡旋混匀，0.22 µm 滤膜滤过，供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液适量，用经提取净化后的空白样品溶液稀释配制浓度为 0.1 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L、100 µg/L 和 250 µg/L 的系列基质匹配标准溶液，过 0.22 µm 滤膜，

供液相色谱-串联质谱测定。以定量离子对峰面积为纵坐标，基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算线性方程及回归系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈柱（100 mm×2.1 mm，1.7 μm），或相当者；
- b) 色谱柱温度：40 °C；
- c) 流动相：A为0.1%甲酸乙腈溶液，B为含10 mmol/L乙酸铵的0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱程序见表1；

表1 梯度洗脱程序

时间 min	A %	B %
0	50	50
1.0	50	50
4.0	90	10
8.0	90	10
8.5	50	50
10	50	50

d) 流速：0.4 mL/min；

e) 进样量：5 μL。

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- d) 电离电压：5.5 kV；
- e) 离子源温度：450 °C；
- f) 雾化气压力：50 psi；
- g) 辅助气压力：50 psi；
- h) 气帘气压力：30 psi；
- i) 定性、定量离子对及碰撞能量、去簇电压参考值见表2。

表2 定性、定量离子对及碰撞能量、去簇电压参考值

化合物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV	去簇电压 V
阿维菌素 B _{1a}	890.5>567.4	890.5>567.4	20	120
	890.5>305.1		32	120
22,23-二氢阿维菌素 B _{1a}	892.6>569.5	892.6>569.5	21	120
	892.6>307.2		33	120
多拉菌素	916.7>593.2	916.7>593.2	20	120
	916.7>331.4		32	120
乙酰氨基阿维菌素 B _{1a}	914.5>186.1	914.5>186.1	23	160
	914.5>330.0		20	160
莫昔克丁	640.4>528.3	640.4>528.3	13	120
	640.4>498.1		17	120

8.4.3 定性测定

在同样测试条件下,试样液中阿维菌素类药物的保留时间与基质匹配标准溶液中相应目标物的保留时间偏差在±2.5%之内,且试样液中的相对离子丰度,应当与浓度相当的基质匹配标准溶液的相对丰度一致。其允许偏差应符合表3的要求。

表3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的最大偏差	±20	±25	±30	±50

8.4.4 定量测定

取试样溶液和相应的基质匹配标准溶液,作单点或多点校准,按外标法以色谱峰面积定量,标准工作液及试样液中的目标物响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下,鸡蛋中阿维菌素类药物的总离子流色谱图见附录B。

8.5 空白试验

取空白试料,除不加标准溶液外,采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中待测药物的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

$$X = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中阿维菌素类药物残留量的数值,单位为微克每千克(μg/kg);
- C_s —— 基质匹配标准溶液中阿维菌素类药物浓度的数值,单位为微克每升(μg/L);
- A —— 试样溶液中阿维菌素类药物的色谱峰面积;
- A_s —— 基质匹配标准溶液中阿维菌素类药物的色谱峰面积;
- V₁ —— 提取用乙腈总体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₂ —— 移取备用液体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₃ —— 试样最终定容体积的数值,单位为毫升(mL);
- m —— 供试试样质量的数值,单位为克(g)。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检测限为0.2 μg/kg,定量限为莫昔克丁1 μg/kg,阿维菌素B1a、22,23-二氢阿维菌素B1a、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素B1a为0.5 μg/kg。

10.2 准确度

本方法在0.5 μg/kg~200 μg/kg添加浓度水平上的回收率为70%~120%。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差≤15%,批间相对标准偏差≤20%。

附录 A

(资料性)

阿维菌素类药物的中英文通用名称、CAS 号、化学分子式及相对分子质量

阿维菌素类药物的中英文通用名称、CAS 号、化学分子式及相对分子质量见表 A.1。

表 A.1 阿维菌素类药物的中英文通用名称、CAS 号、化学分子式及相对分子质量

中文通用名称	英文通用名称	CAS 号	化学分子式	相对分子质量
阿维菌素 B _{1a}	Abamectin B _{1a}	65195-55-3	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	872.49
22,23-二氢阿维菌素 B _{1a}	22,23-dihydro-avermectin B _{1a}	71827-03-7	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	874.51
多拉菌素	Doramectin	117704-25-3	C ₅₀ H ₇₄ O ₁₄	898.51
乙酰氨基阿维菌素 B _{1a}	Eprinomectin B _{1a}	133305-88-1	C ₅₀ H ₇₅ NO ₁₄	913.52
莫昔克丁	Moxidectin	113507-06-5	C ₃₇ H ₅₃ NO ₈	639.38

附录 B

(资料性)

鸡蛋中阿维菌素类药物的液相色谱-串联质谱总离子流色谱图

鸡蛋中阿维菌素类药物的液相色谱-串联质谱总离子流色谱图见图 B.1。

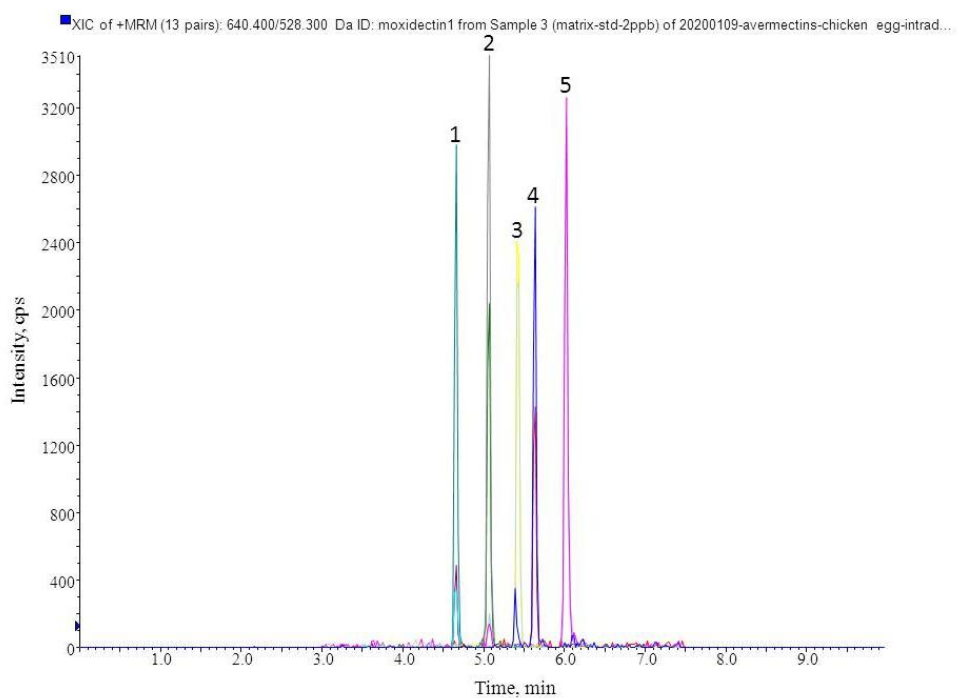


图 B.1 鸡蛋中阿维菌素类药物的液相色谱-串联质谱总离子流色谱图 (2 $\mu\text{g/L}$)。1. 乙酰氨基阿维菌素 B_{1a}；2.阿维菌素 B_{1a}；3. 多拉菌素；4. 莫昔克丁；5. 22,23-二氢阿维菌素 B_{1a}。