

ICS 67.050  
X 04



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 22968—2008

## 牛奶和奶粉中伊维菌素、阿维菌素、 多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留量的 测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of ivermectin, abamectin, doramectin and eprinomectin  
residues in milk and milk powder—LC-MS-MS method

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准的附录 A、附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：林峰、吴映璇、姚仰勋、欧阳少伦、林海丹、庞国芳。

# 牛奶和奶粉中伊维菌素、阿维菌素、 多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留量的 测定 液相色谱-串联质谱法

## 1 范围

本标准规定了牛奶和奶粉中伊维菌素(ivermectin)、阿维菌素(abamectin)、多拉菌素(doramectin)和乙酰氨基阿维菌素(eprinomectin)残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于牛奶和奶粉中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留量的测定。

本标准的方法检出限:牛奶中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素均为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,奶粉中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素均为 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 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 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第1部分:总则与定义(GB/T 6379.1—2004,ISO 5725-1:1994,IDT)

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第2部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法(GB/T 6379.2—2004,ISO 5725-2:1994,IDT)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

## 3 原理

牛奶中残留的伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留用乙腈-二氯甲烷提取后,正己烷脱脂,液相色谱-串联质谱检测,外标峰面积法定量。

奶粉中残留的伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素用乙腈提取后,正己烷脱脂,样品溶液供液相色谱-串联质谱仪检测,外标峰面积法定量。

## 4 试剂和材料

除另有规定外,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 二氯甲烷。

4.3 甲醇。

4.4 正己烷,使用前以乙腈饱和。

4.5 氯化钠。

4.6 乙腈-二氯甲烷溶液(4+1):分别量取 80 mL 乙腈(4.1)、20 mL 二氯甲烷(4.2),混合均匀。

4.7 饱和氯化钠水溶液。

4.8 标准物质:伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素,纯度 $\geq 99\%$ 。

4.9 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准储备液:准确称取适量的伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素标准品(精确至 0.1 mg),用乙腈分别配制成 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准贮备液,在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存。

4.10 0.500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合标准工作液:准确吸取 0.500 mL 伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素标准储备液(4.9)至 100 mL 容量瓶中,以乙腈稀释并定容,此混合工作液的浓度为 0.500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  储存。

4.11 基质混合标准工作溶液:根据需要,吸取不同体积的混合标准工作液(4.10),用空白样品提取液配制成不同浓度的基质混合标准工作溶液,使用前配制。

4.12 滤膜:0.2  $\mu\text{m}$ 。

## 5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾电离源。

5.2 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5.3 离心机:转速大于或等于 4 000 r/min。

5.4 超声波水浴。

5.5 涡旋混匀器。

5.6 氮吹浓缩仪。

## 6 试样的制备与保存

### 6.1 牛奶

取均匀样品约 250 g 装入洁净容器作为试样,密封置  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下保存,并标明标记。

### 6.2 奶粉

取均匀样品约 250 g 装入洁净容器作为试样,密封,并标明标记。

制样操作过程中应防止样品受到污染或残留物含量发生变化。

## 7 测定步骤

### 7.1 提取

#### 7.1.1 牛奶

准确称取 2 g 样品(准确至 0.01 g),置于 25 mL 离心管中,加入 5 mL 饱和氯化钠溶液(4.7),涡旋混匀 1 min,加入 7.5 mL 乙腈-二氯甲烷混合溶液(4.6)涡旋混匀 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 50 mL 氮吹管中,离心管中再加入 7.5 mL 乙腈-二氯甲烷混合溶液,涡旋混匀 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液合并至 50 mL 氮吹管中, $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  氮气吹干。准确加入 2.00 mL 乙腈至氮吹管中,涡旋混匀 1 min,加入 3 mL 乙腈饱和正己烷(4.4),涡旋混匀 1 min,静置 30 min,取下层溶液过 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜后,供液相色谱-串联质谱测定。

#### 7.1.2 奶粉

准确称取 0.5 g 样品(准确至 0.001 g),置于 10 mL 离心管中,加入 3 mL 乙腈,超声振荡 5 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至 15 mL 带盖离心管中,残渣再用 2.0 mL 乙腈提取一次,离心后的清液合并至 15 mL 带盖离心管中,用乙腈定容至 5.0 mL 刻度,混匀,加入 3 mL 乙腈饱和正己烷(4.4),涡旋混匀 1 min,静置 30 min,取下层溶液过 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜后,供液相色谱-串联质谱测定。

### 7.2 测定条件

#### 7.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- 色谱柱: Intersil C8-3, 5  $\mu\text{m}$ , 150 mm $\times$ 4.6 mm(内径)或相当者;
- 柱温:  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 进样量: 25  $\mu\text{L}$ ;
- 流速: 0.8 mL/min;
- 流动相: 甲醇+水, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	甲醇/%	水/%
0.00	75	25
3.00	100	0
10.00	100	0
10.01	75	25
15.00	75	25

## 7.2.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- 离子源：电喷雾电离源(ESI)；
- 扫描方式：负离子扫描；
- 检测方式：多反应监测MRM；
- 雾化气、气帘气、辅助加热气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
- 定性离子对、定量离子对、采集时间、去簇电压和碰撞能量见表2。

表 2 伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素参考质谱参数

化合物名称	定性离子对( $m/z$ )	定量离子对( $m/z$ )	采集时间/ms	去簇电压/V	碰撞能量/V
伊维菌素	873.7/567.8	873.7/229.2	100	-75	-37
	873.7/229.2				-50
阿维菌素	871.7/565.2	871.7/565.2	100	-80	-40
	871.7/229.3				-54
多拉菌素	897.6/591.4	897.6/591.2	100	-70	-38
	897.6/229.0				-51
乙酰氨基阿维菌素	912.5/270.0	912.5/565.4	100	-82	-49
	912.5/565.4				-37

## 7.2.3 液相色谱-串联质谱测定

## 7.2.3.1 定性测定

每种被测组分选择1个母离子,2个以上子离子,在相同实验条件下,样品中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内;且样品谱图中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较,偏差不超过表3规定的范围,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差 %

相对离子丰度 $K$	$K > 50$	$20 < K < 50$	$10 < K < 20$	$K \leq 10$
允许最大偏差	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

## 7.2.3.2 定量测定

外标法定量:在仪器最佳工作条件下,对基质混合标准工作溶液(4.11)进样,以峰面积为纵坐标,基质混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线。用标准工作曲线对样品进行定量,样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素的标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图参见附录A中的图A.1~图A.4。伊维菌素、阿维菌素、多拉菌

素和乙酰氨基阿维菌素的添加浓度及其平均回收率的试验数据参见附录 B 中的表 B.1。

7.3 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7.4 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

8 结果计算

牛奶和奶粉中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留量的测定按式(1)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中被测组分残留量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

c——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );

V——样品溶液最终定容体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

m——样品溶液所代表最终试样的质量,单位为克( $\text{g}$ )。

计算结果应扣除空白值。

9 精密度

9.1 一般规定

本标准的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,其重复性和再现性的值以 95%的可信度来计算。

9.2 重复性

在重复性实验条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限  $r$ ,被测物的添加浓度范围及重复性方程见表 4、表 5。

表 4 添加浓度范围及重复性和再现性方程(基质为牛奶) 单位为微克每千克

化合物名称	添加浓度范围	重复性限 $r$	再现性限 $R$
伊维菌素	5~50	$r=0.332m-0.971$	$R=0.346m+0.182$
阿维菌素	5~50	$r=0.271m-0.318$	$R=0.272m+0.323$
多拉菌素	5~50	$r=0.259m-0.015$	$R=0.308m+0.599$
乙酰氨基阿维菌素	5~50	$r=0.230m+0.085$	$R=0.408m-1.24$

注:  $m$  为两次测定结果的算术平均值。

表 5 添加浓度范围及重复性和再现性方程(基质为奶粉) 单位为微克每千克

化合物名称	添加浓度范围	重复性限 $r$	再现性限 $R$
伊维菌素	40~400	$r=0.215m-0.662$	$R=0.188m-0.262$
阿维菌素	40~400	$r=0.220m+0.113$	$R=0.266m+0.333$
多拉菌素	40~400	$r=0.229m-0.122$	$R=0.196m+0.026$
乙酰氨基阿维菌素	40~400	$r=0.111m+0.437$	$R=0.147m+0.179$

注:  $m$  为两次测定结果的算术平均值。

如果差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.3 再现性

在再现性实验条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限( $R$ ),被测物的添加浓度范围及再现性方程见表 4、表 5。

附录 A  
(资料性附录)

标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图, 见图 A.1~图 A.4。

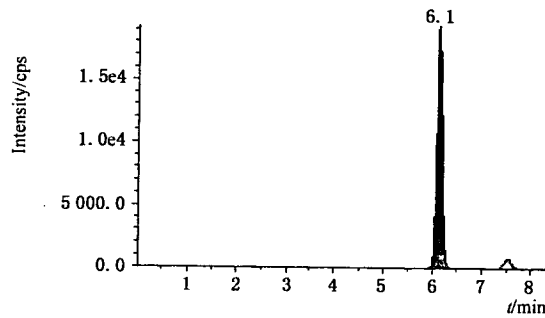


图 A.1 阿维菌素标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

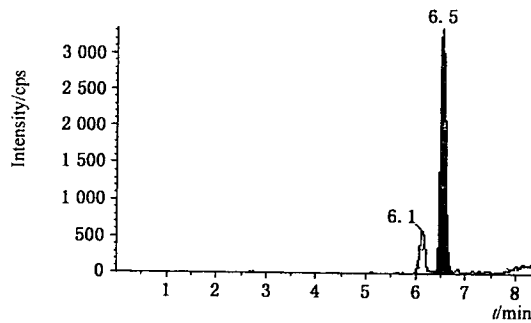


图 A.2 伊维菌素标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

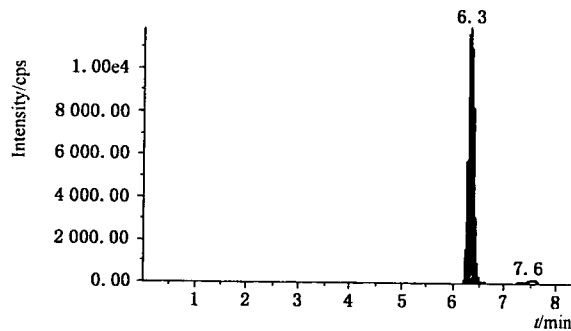


图 A.3 多拉菌素标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

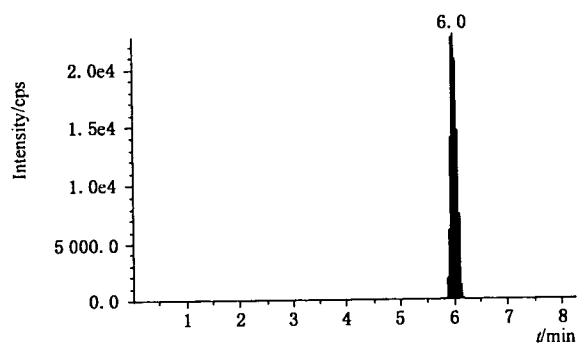


图 A.4 乙酰氨基阿维菌素标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图

**附 录 B**  
(资料性附录)  
**回 收 率**

本方法中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素的添加浓度及其平均回收率的试验数据,见表 B.1。

表 B.1 伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素、乙酰氨基阿维菌素的添加浓度及其平均回收率的试验数据

样品基质	化合物名称	添加浓度/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均回收率/%
牛奶	伊维菌素	5	100.6
		10	97.2
		20	103.0
		50	90.1
	阿维菌素	5	82.4
		10	97.2
		20	87.7
		50	88.3
	多拉菌素	5	87.6
		10	93.7
		20	98.3
		50	95.3
	乙酰氨基阿维菌素	5	84.5
		10	96.0
		20	90.2
		50	90.1
奶粉	伊维菌素	40	96.7
		80	105.0
		160	86.0
		400	86.6
	阿维菌素	40	81.8
		80	83.3
		160	84.9
		400	80.6
	多拉菌素	40	88.9
		80	89.1
		160	89.7
		400	87.3
	乙酰氨基阿维菌素	40	86.6
		80	86.7
		160	89.0
		400	85.5