

禽蛋中阿维菌素类药物残留量的测定

液相色谱—串联质谱法 GB 31659.13-2025

1、适用范围

本文件规定了禽蛋中阿维菌素类药物残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。(本实验样品采用鸡蛋)

本文件适用于禽蛋中阿维菌素 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。

参考标准：《GB 31659.13-2025 食品安全国家标准 禽蛋中阿维菌素类药物残留量的测定》

2、溶液的配制

- 1) 1%甲酸乙腈溶液：取甲酸 10 mL，用乙腈稀释至 1000 mL，混匀。
- 2) 0.1%甲酸乙腈溶液：取甲酸 1 mL，用乙腈稀释至 1000 mL，混匀。
- 3) 含 10 mmol/L 乙酸铵的 0.1%甲酸水溶液：取乙酸铵 0.77 g，用适量水充分溶解，加入甲酸 1 mL 后，加水稀释至 1000 mL，混匀，现用现配。
- 4) 50%乙腈水溶液：取乙腈 500 mL，加水稀释至 1000 mL，混匀。
- 5) 10 µg/mL 混合标准工作液：精密量取浓度为 100 µg/mL 的阿维菌素类药物混合标准储备液 0.1 mL，用乙腈稀释至 1 mL，配制成浓度为 10 µg/mL 的混合标准工作液，4 °C 避光保存，有效期 1 个月。
- 6) 1 µg/mL 混合标准工作液：精密量取 10 µg/mL 混合标准工作液 0.1 mL，用乙腈稀释至 1 mL，配制成浓度为 1 µg/mL 的混合标准工作液，现用现配。

3、提取

称取鸡蛋试料(5 ± 0.05) g 于 50 mL 离心管中，加入纯水 5 mL 并涡旋混合 30 s 后，准确加入 1%甲酸乙腈溶液 10 mL，振荡 15 min。加入 4 g 氯化钠和 1 g 无水硫酸镁，涡旋 1 min，4000 r/min 离心 10 min，取上层乙腈相，备用。

4、净化

SPE: HLB/BRP 150 mg/3 mL

上样: 备用液 2 mL 过柱, 流速控制为每秒 1 滴, 收集流出液。

淋洗: 1 mL 乙腈淋洗固相萃取小柱, 合并流出液和淋洗液。

浓缩与复溶: 40 °C 水浴下氮吹干, 用 50%乙腈水溶液 1 mL 溶解残留物, 超声 1 min, 过 0.22 μm 微孔尼龙滤膜, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平: 鸡蛋: 5 g 样中加入 250 μL 1 μg/mL 混合标准工作液, 因此加标水平为 50 μg/kg。最终机度数为 50 ng/mL。

6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱: Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μm, 2.1×100 mm

流动相: A: 含 10 mmol/L 乙酸铵的 0.1%甲酸水溶液, B: 0.1%甲酸乙腈溶液;

柱温: 40 °C;

流速: 0.4 mL/min;

进样体积: 2 μL;

梯度洗脱程序: 见表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	50	50
1.00	50	50
4.00	10	90
8.00	10	90
8.50	50	50
13.00	50	50

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源(ESI)；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测(MRM)模式；

离子喷雾电压：5500 V；

离子源温度：300℃；

气帘气(CUR)10 psi；雾化气(GS1)55 psi；辅助气(GS2)50 psi。

其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式(MRM)参数

化合物	母离子（m/z）	子离子（m/z）	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
阿维菌素 B1a	890.5	567.4*	5	17
		305.1		31
22，23-二氢阿维菌素 B1a	892.6	569.5*	7	21
		307.2		35
多拉菌素	916.7	331.4*	120	32
		593.2		20
乙酰氨基阿维菌素 B1a	914.5	186.1*	137	23
		330.1		19
莫昔克丁	640.4	528.3*	61	13
		498.1		16
* 为定量离子。				

7、色谱图或者加标回收率结果

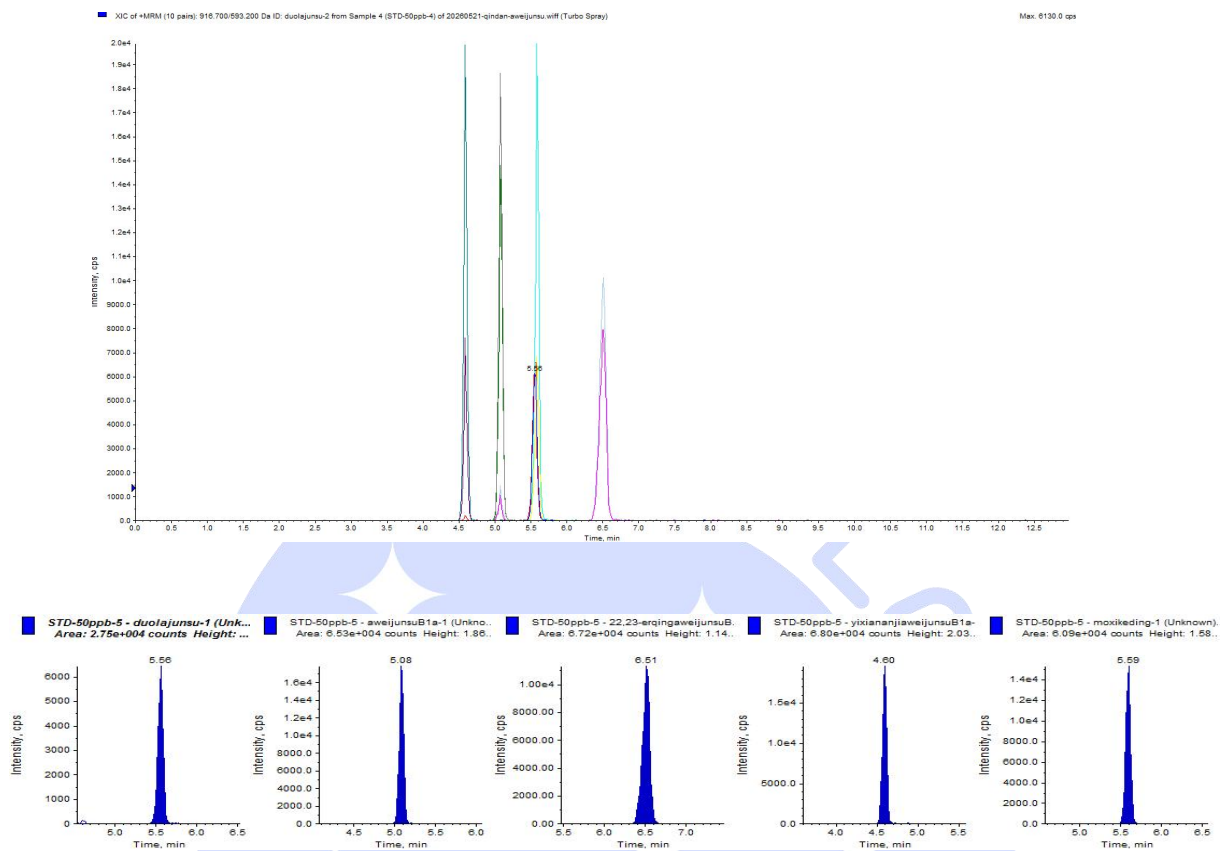


图 1. 混合对照溶液 50 ng/mL 图谱

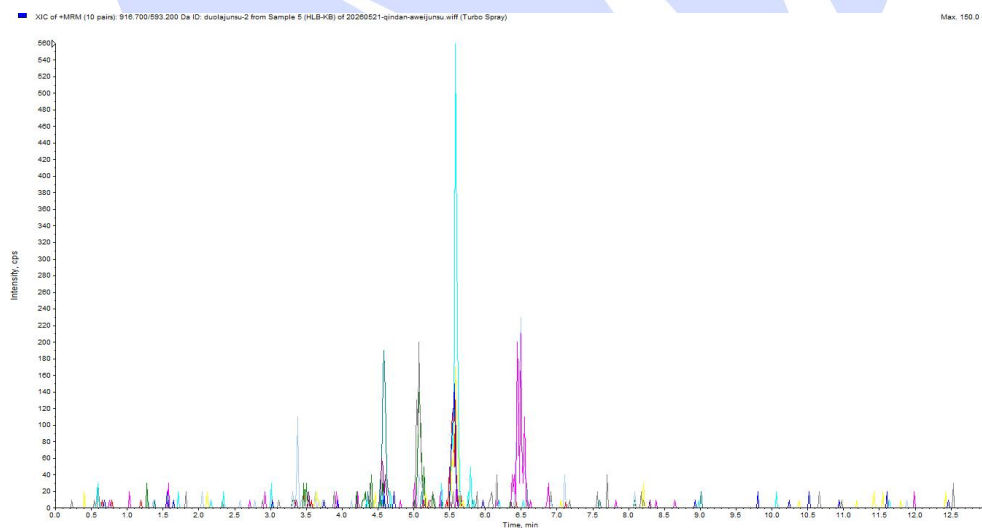


图 2 鸡蛋样品空白图谱(HLB)

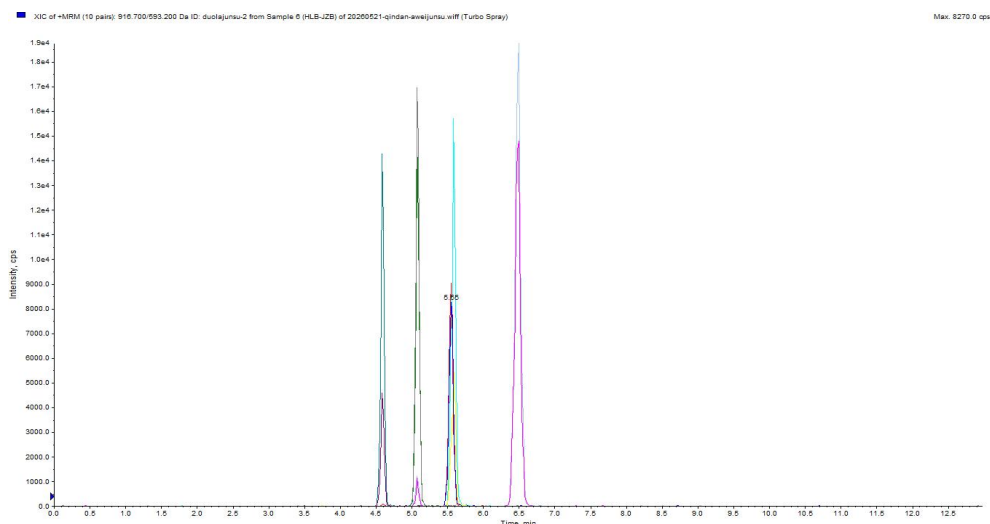


图3 鸡蛋样品基质标 50 $\mu\text{g/kg}$ 图谱(HLB)

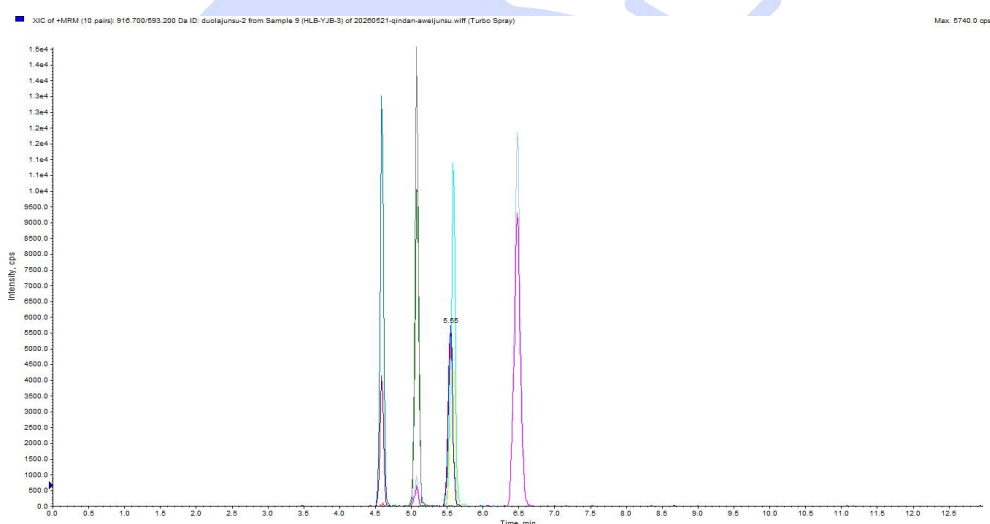


图4 鸡蛋样品样加标 50 $\mu\text{g/kg}$ 图谱(HLB)

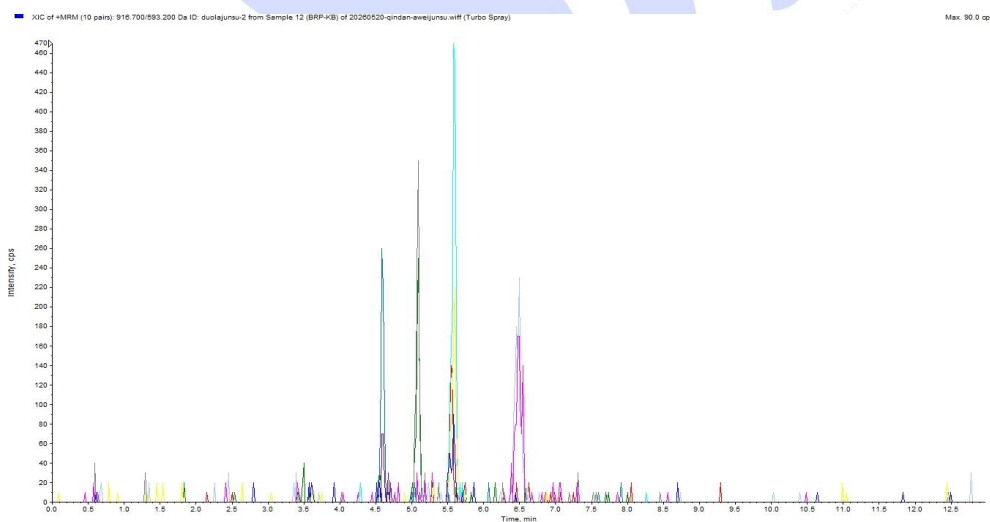


图5 鸡蛋样品空白图谱(BRP)

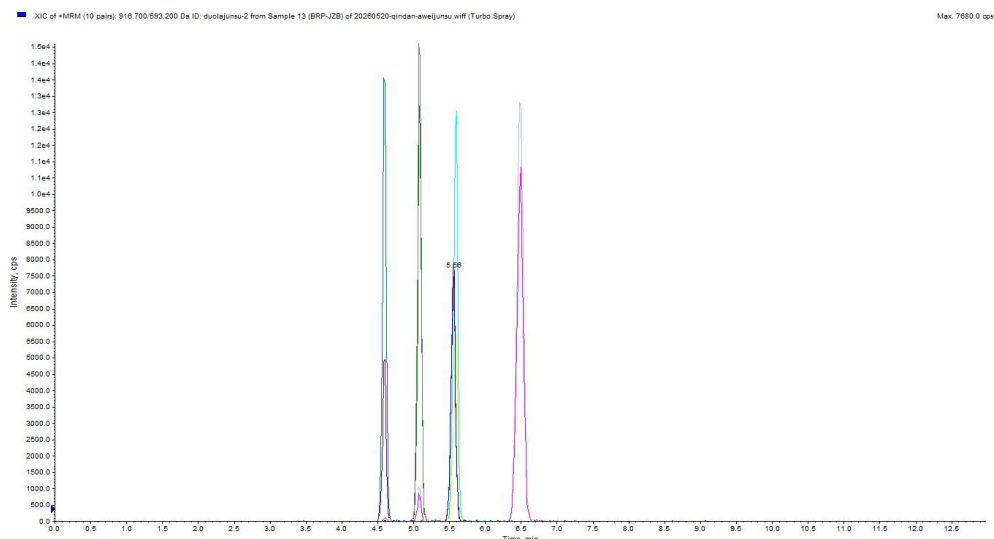


图 6 鸡蛋样品基质标 50 µg/kg 图谱(BRP)

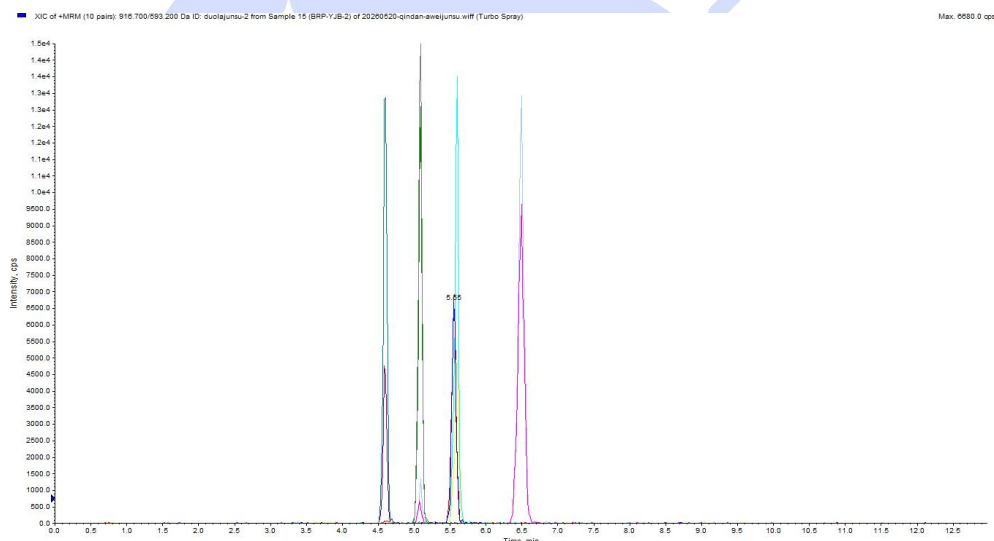


图 7 鸡蛋样品样加标 50 µg/kg 图谱(BRP)

表 3. 加标回收率表(加标水平为 50 µg/kg)

基质	鸡蛋			
SPE	HLB(150 mg/3 mL)		BRP(150 mg/3 mL)	
物质	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
多拉菌素	73.11%	8.15%	88.70%	5.01%
阿维菌素 B1a	83.23%	4.79%	96.00%	3.74%
22, 23-二氢阿维菌素 B1a	70.35%	6.70%	85.01%	5.38%

乙酰氨基阿维菌素 B1a	85.55%	8.83%	94.79%	0.87%
莫昔克丁	78.17%	9.39%	87.70%	6.75%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
DP1618-1	离心管	50mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
DP1639-1	离心管	15mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
00821-39191	盖子+垫片	白色特氟龙/红色硅胶隔垫,9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm, 100/pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口进样瓶 带书写处 9-425 11.6*32mm 新包装 一级水解玻璃, 100/pk
00589-20003	Welchrom SPE 柱	HLB,150mg/3ml,50/pk
00522-20003	Welchrom SPE 柱	BRP,150mg/3ml,50/pk
00201-11012	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18,1.8 μ m,2.1 $\times$ 100mm