



中华人民共和国国家标准

GB 31613.2—2021

食品安全国家标准 猪、鸡可食性组织中泰万菌素和3-乙酰泰 乐菌素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of tylvalosin and 3-acetyltylosin residues in swine and
chicken tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry
method

2021-09-16 发布

2022-02-01 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 发布
国家市场监督管理总局

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。

食品安全国家标准

猪、鸡可食性组织中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了猪、鸡可食性组织中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、鸡皮脂、肌肉、肝脏、肾脏、鸡蛋中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素残留量的测定。

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而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

试样中残留的泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素,用 50%乙腈提取,正己烷和酸性氧化铝净化,液相色谱-串联质谱测定,用基质匹配标准溶液外标法定量。

5 试剂和材料

除另有规定外,所有试剂均为分析纯,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 正己烷(C_6H_{14})。

5.1.4 无水硫酸镁(MgSO_4)。

5.1.5 氯化钠(NaCl)。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.02 mol/L 酒石酸水溶液:取酒石酸 0.3 g,加水 100 mL 使溶解。

5.2.2 0.1%甲酸水溶液:取甲酸 0.5 mL,溶于 500 mL 水中。

5.2.3 50%乙腈酒石酸溶液:取乙腈 50 mL,用 0.02 mol/L 酒石酸水溶液稀释至 100 mL,混匀,即得。

5.3 标准品

5.3.1 泰万菌素(Tylvalosin, $\text{C}_{53}\text{H}_{87}\text{NO}_{19}$, CAS 号:63409-12-1),含量 $\geq 93.0\%$ 。

5.3.2 3-乙酰泰乐菌素(3-acetyltylosin, $\text{C}_{48}\text{H}_{79}\text{NO}_{18}$, CAS 号:63409-10-9),含量 $\geq 95.0\%$ 。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 泰万菌素标准储备液(1 mg/mL):取泰万菌素对照品 10 mg,精密称定,用乙腈溶解并定容至 10 mL 棕色容量瓶,摇匀,即得。-18℃ 以下保存,有效期 6 个月。

5.4.2 3-乙酰泰乐菌素标准储备液(1 mg/mL):取3-乙酰泰乐菌素对照品10 mg,精密称定,置10 mL棕色容量瓶,用乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀即得。—18℃以下保存,有效期6个月。

5.4.3 混合标准工作液(10 μg/mL):准确吸取泰万菌素、3-乙酰泰乐菌素标准储备液各1 mL置100 mL棕色容量瓶,用乙腈稀释至刻度,摇匀,即得。—18℃以下保存,有效期3个月。

5.5 材料

5.5.1 酸性氧化铝:100目~200目。

5.5.2 微孔滤膜:尼龙,0.22 μm。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾离子源。

6.2 分析天平:感量0.01 g和感量0.000 01 g。

6.3 离心管:50 mL、10 mL。

6.4 涡旋混合器。

6.5 水平振荡器。

6.6 高速离心机:最大转速不低于8 000 r/min。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

取适量新鲜或冷藏的空白或供试样品,匀浆均质后备用。

a) 取均质的供试样品,作为供试试料;

b) 取均质的空白样品,作为空白试料;

c) 取均质的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

7.2 样品的保存

—20℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试料2 g(准确至±0.02 g)于50 mL离心管,加水5.0 mL、乙腈5.0 mL,涡旋混匀,加正己烷10 mL,振荡5 min,再加入无水硫酸镁与氯化钠各2 g,振荡5 min,8 000 r/min离心5 min,移取中间乙腈层清液于另一离心管,备用。

8.2 净化

准确移取备用液0.5 mL、0.02 mol/L酒石酸溶液0.5 mL,共1.0 mL。加酸性氧化铝0.2 g,涡旋混匀30 s,10 000 r/min离心5 min,取上层,过0.22 μm微孔滤膜,置于棕色进样瓶中,供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 基质标准曲线的制备

取空白试料2 g(准确至±0.02 g)于50 mL离心管,按8.1与8.2中步骤操作后获得空白试样的基质溶液。精密量取标准工作液适量,用空白试样基质溶液配制成浓度为0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL的系列标准工作液,上机测定。以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标、标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。若需使用单点校准,则必须配制在此标准曲线进样浓度范围(0.5 ng/mL~100 ng/mL)内的与样品溶液进样浓度最接近的基质匹配对照品溶液进行校准,标准曲线的线性相关系数应不低于0.99。

8.4 测定

8.4.1 色谱条件参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈(150 mm×2.1 mm, 3.0 μm), 或相当者;
- b) 柱温: 30 ℃;
- c) 进样量: 10 μL;
- d) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 流动相: A 为乙腈, B 为 0.1% 甲酸溶液, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	A %	B %
0	20	80
3.0	80	20
6.0	80	20
6.1	20	80
9.0	20	80

8.4.2 质谱条件参考条件

- 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;
- d) 离子源温度: 350 ℃;
- e) 雾化温度: 350 ℃;
- f) 电离电压: 3 700 V;
- g) 锥孔气流速: 300 L/h;
- h) 辅助气流速: 500 L/h;
- i) 吹扫气流速: 100 L/h;
- j) 碰撞气: 高纯氩, 200 Pa;
- k) 定性、定量离子对及对应透镜电压、碰撞能量参考值见表 2。

表 2 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的质谱参数

化合物名称	定性离子对 <i>m/z</i>	定量离子对 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
泰万菌素	1 042.6>109.1	1 042.6>109.1	185	48
	1 042.6>174.1			45
3-乙酰泰乐菌素	958.5>174.1	958.5>174.1	181	44
	958.5>814.4			32

8.5 测定法

8.5.1 定性测定

在同样测试条件下, 试样液中泰万菌素、3-乙酰泰乐菌素的保留时间与标准工作液中相应目标物的保留时间偏差在±2.5%以内, 且检测到的相对离子丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致。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最大允许误差

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

8.5.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准工作液,作单点或多点校准,按外标法以色谱峰面积定量,标准工作液及试样溶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,泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素标准溶液特征离子质量色谱图见附录 A。

8.6 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公式(1)计算。

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

式中:

- X —— 试料中泰万菌素或 3-乙酰泰乐菌素残留量的数值,单位为微克每千克(μg/kg);
- C_s —— 基质匹配标准溶液中泰万菌素或 3-乙酰泰乐菌素浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A_s —— 基质匹配标准溶液中泰万菌素或 3-乙酰泰乐菌素峰面积;
- A —— 试样溶液中泰万菌素或 3-乙酰泰乐菌素峰面积;
- V₁ —— 净化后进样溶液总体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₂ —— 乙腈提取液总体积的数值,单位为毫升(mL);
- V₃ —— 移取备用液体积的数值,单位为毫升(mL);
- m —— 试料质量的数值,单位为克(g)。

10 检测方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检测限为 2.5 μg/kg,定量限为 5 μg/kg。

10.2 准确度

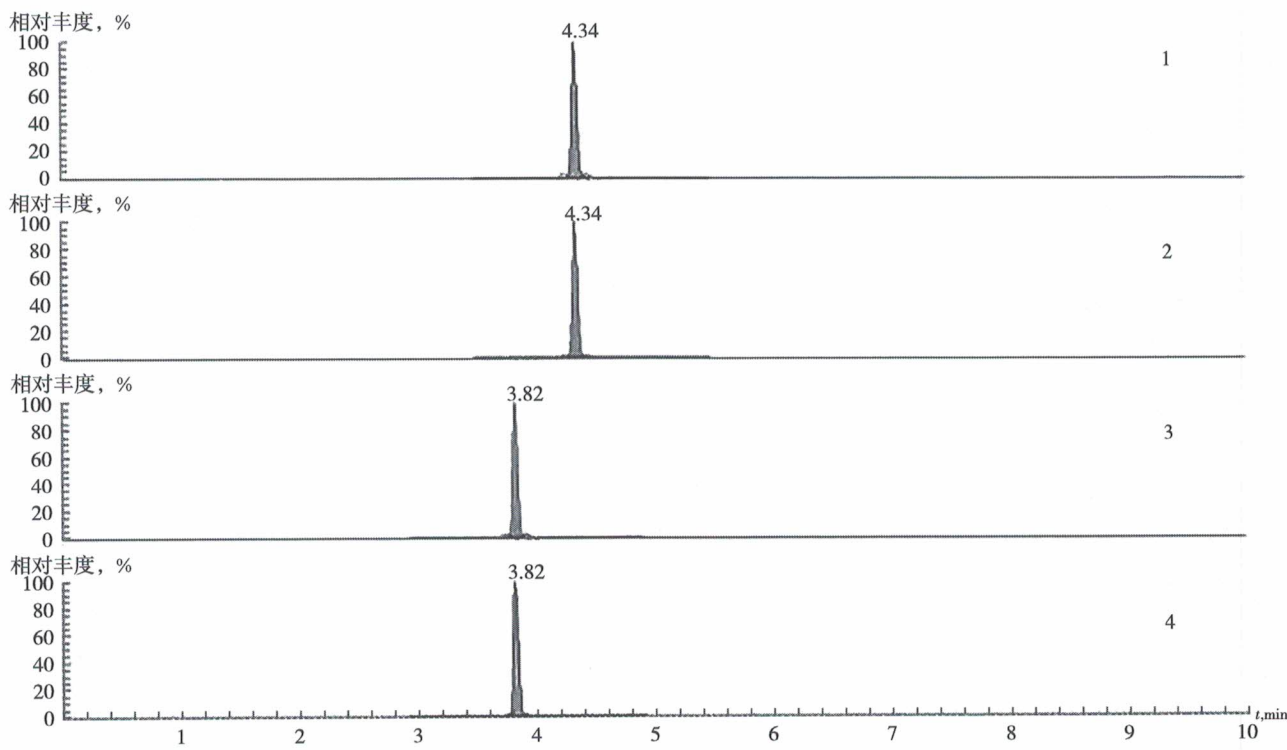
本方法在 5 μg/kg~200 μg/kg 添加浓度水平上的回收率为 60%~110%。

10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差≤15%,批间相对标准偏差≤15%。

附录 A
(资料性)
标准溶液特征离子质量色谱图

标准溶液特征离子质量色谱图见图 A.1。



- 标引序号说明:
- 1——泰万菌素特征离子质量色谱图(1 042.6>109.1);
 - 2——泰万菌素特征离子质量色谱图(1 042.6>174.1);
 - 3——3-乙酰泰乐菌素特征离子质量色谱图(958.5>174.1);
 - 4——3-乙酰泰乐菌素特征离子质量色谱图(958.5>814.4)。

图 A.1 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素标准溶液特征离子质量色谱图(0.5 ng/mL)

中 华 人 民 共 和 国

国 家 标 准

食品安全国家标准

猪、鸡可食性组织中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素
残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

GB 31613.2—2021

* * *

中国 农业 出版社 出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

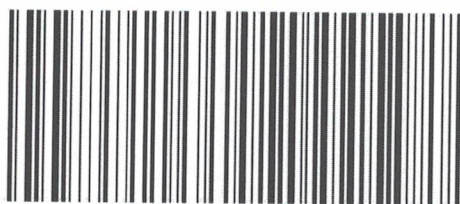
2022 年 1 月第 1 版 2022 年 1 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·8734

定价: 24.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



GB 31613.2—2021