



# 中华人民共和国国家标准

GB 29687—2013

---

## 食品安全国家标准

### 水产品中阿苯达唑及其代谢物多残留的测定 高效液相色谱法

Determination of Albendazole and metabolites residues in aquatic products by  
High Performance Liquid Chromatographic method

(电子版仅供参考，以标准正式出版物为准)

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

---

中华人民共和国农业部

发布

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

# 目 次

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 目 次.....                          | I  |
| 前 言.....                          | II |
| 水产品中阿苯达唑及其代谢物多残留的测定 高效液相色谱法 ..... | 1  |
| 1 范围.....                         | 1  |
| 2 规范性引用文件.....                    | 1  |
| 3 原理.....                         | 1  |
| 4 试剂和材料.....                      | 1  |
| 5 仪器与设备.....                      | 2  |
| 6 样品的制备与保存.....                   | 3  |
| 6.1 样品的制备.....                    | 3  |
| 6.2 样品的保存.....                    | 3  |
| 7 测定步骤.....                       | 3  |
| 7.1 虾、蟹类样品.....                   | 3  |
| 7.2 鱼类样品.....                     | 4  |
| 7.3 测定.....                       | 4  |
| 7.4 空白试验.....                     | 5  |
| 8 结果计算和表述.....                    | 5  |
| 9 方法灵敏度、准确度和精密度.....              | 6  |
| 9.1 灵敏度.....                      | 6  |
| 9.2 准确度.....                      | 6  |
| 9.3 精密度.....                      | 6  |
| 附录 A.....                         | 7  |

## 前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准系国内首次发布的国家标准。

# 水产品中阿苯达唑及其代谢物多残留的测定

## 高效液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了水产品中阿苯达唑及代谢物（2-氨基阿苯达唑砜、阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜）残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于水产品中阿苯达唑及代谢物（2-氨基阿苯达唑砜、阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜）残留量的测定。

### 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 1.1-2000 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SC/T 3016 水产品抽样方法

### 3 原理

试料中残留的阿苯达唑及代谢物，用乙酸乙酯提取，正己烷除脂，乙酸乙酯反萃取，高效液相色谱-荧光检测器测定，外标法定量。

### 4 试剂和材料

以下所用试剂，除特别注明外均为分析纯试剂，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

- 4.1 盐酸 2-氨基阿苯达唑砜、阿苯达唑亚砜、阿苯达唑砜和阿苯达唑对照品：含量 $\geq 99\%$ 。
- 4.2 正己烷：色谱纯。
- 4.3 乙腈：色谱纯。
- 4.4 甲醇：色谱纯。
- 4.5 乙酸乙酯：色谱纯。

- 4.6 二氯甲烷：色谱纯。
- 4.7 磷酸
- 4.8 十二水磷酸氢二钠
- 4.9 庚烷磺酸钠：色谱纯。
- 4.10 乙酸铵
- 4.11 20%甲醇溶液：取甲醇 80 mL，用水溶解并稀释至 100 mL。
- 4.12 0.05 mol/L 乙酸铵溶液：取乙酸铵 3.85 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 4.13 0.04 mol/L 庚烷磺酸钠-磷酸溶液：取磷酸 2.7 mL，加水混匀，加庚烷磺酸钠 8.08 g，用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 4.14 3%磷酸溶液：取磷酸 1.75 mL，用水溶解并稀释至 100 mL。
- 4.15 0.02 mol/L 磷酸氢二钠溶液：取磷酸氢二钠 0.716 g，用水溶解并稀释至 100 mL，用 3% 磷酸溶液调节 pH 至 8.5，现配现用。
- 4.16 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  阿苯达唑、阿苯达唑亚砷、阿苯达唑砷和 2-氨基阿苯达唑砷标准贮备液：精密称取阿苯达唑、阿苯达唑砷和阿苯达唑亚砷各 10 mg 以及盐酸 2-氨基阿苯达唑砷 11.5 mg，分别于 100 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准贮备液。 $-18^{\circ}\text{C}$  以下避光保存，有效期 3 个月。
- 4.17 混合标准工作液：分别精密量取 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  2-氨基阿苯达唑砷、阿苯达唑亚砷、阿苯达唑砷和阿苯达唑标准储备液适量，于同一量瓶中，用 80% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度，配制成浓度分别为 2-氨基阿苯达唑砷 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、阿苯达唑亚砷 2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、阿苯达唑砷 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以及阿苯达唑 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合标准工作液。 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$  避光保存，有效期 1 个月。

## 5 仪器与设备

- 5.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。
- 5.2 分析天平：感量 0.000 01 g。
- 5.3 天平：感量 0.01 g。
- 5.4 均质机
- 5.5 离心机
- 5.6 旋转蒸发器
- 5.7 氮吹仪
- 5.8 梨形瓶：100 mL。

5.9 滤膜：有机相，0.45  $\mu\text{m}$ 。

## 6 试料的制备与保存

### 6.1 试料的制备

取适量新鲜或冷冻的鱼，去鳞、去皮，沿脊背取肌肉；虾，去头、去壳，取肌肉部分。绞碎，并使均质。

——取均质后的供试样品，作为供试试料。

——取均质后的空白样品，作为空白试料。

——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。

### 6.2 试料的保存

-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

## 7 测定步骤

### 7.1 虾、蟹类

#### 7.1.1 提取

称取试料 ( $2\pm 0.02$ ) g，于50 mL离心管中，加乙酸乙酯15 mL，均质30 s，振荡5 min，4 000 r/min 离心10 min，取上清液于100 mL 梨形瓶中，残渣备用。另取一50 mL离心管，加乙酸乙酯15 mL，清洗均质机30 s，洗涤液于残渣中，振荡5 min，4 000 r/min 离心10 min，上清液合并至100 mL 梨形瓶中，于35 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至干，用20%甲醇溶液1.0 mL溶解残渣。

#### 7.1.2 除脂

将上述溶液移入10 mL离心管中，再向梨形瓶中加入正己烷1 mL，洗涤，正己烷转入离心管中，振荡1 min，4 000 r/min 离心5 min，弃正己烷层液，再加入正己烷1 mL，重复操作两次，取下层液备用。

#### 7.1.3 净化

备用液中加入0.04 mol/L磷酸1 mL，混匀，加二氯甲烷1.5 mL，混合1 min，4 000 r/min 离心5 min，取二氯甲烷液于10 mL 离心管中，再加二氯甲烷1.5 mL，重复提取两次，合并三次二氯甲烷液于10 mL 离心管中，于35 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干；用0.02 mol/L 磷酸氢二钠溶液1.0 mL溶解残余物，加乙酸乙酯2 mL，混合1 min，4 000 r/min 离心5 min，将乙酸乙酯液移入另一10mL离心管中，再向磷酸氢二钠溶液中加乙

酸乙酯2 mL，重复提取两次，合并三次乙酸乙酯液，于40℃氮气吹干，用20%甲醇-水1.0 mL溶解残留物，滤膜过滤，供液相色谱测定。

#### 7.1.4 基质匹配标准溶液的制备

称取5份空白试料（ $2\pm 0.02$ ）g，于50 mL离心管中，分别加入混合标准工作液0、10、25、100和200  $\mu\text{L}$ ，混匀，按提取、除脂、净化步骤操作，基质标准溶液浓度分别为：2-氨基阿苯达唑砒0、0.01、0.025、0.1和0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑亚砒0、0.02、0.05、0.2和0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑砒0、0.002、0.005、0.02、和0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑0、0.05、0.125、0.5和1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

## 7.2 鱼类

### 7.2.1 提取

称取试料（ $2\pm 0.02$ ）g，于50 mL离心管中，加乙酸乙酯15 mL，均质30s，震荡提取5 min，4 000 r/min 离心10 min，取上清液于100 mL 梨形瓶中，残渣备用。另取一50 mL 离心管加乙酸乙酯15 mL，清洗均质机30 s，将此液倒入上述残渣中震荡提取5 min，4 000 r/min 离心10 min，上清液合并至100 mL 梨形瓶中，于35℃减压旋转蒸发至干，加入20%甲醇溶液1.0 mL溶解残渣。

### 7.2.2 除脂

将上述溶液移入10 mL离心管中，再向梨形瓶中加入正己烷1 mL，洗涤，正己烷转入离心管，震荡1 min，4 000 r/min 离心5 min，去除正己烷层，再加入正己烷1 mL，依法重复操作两次。下层溶液过0.45  $\mu\text{m}$  有机相滤膜，供液相色谱测定。

### 7.2.3 混合基质标准溶液的制备

称取5份空白试料（ $2\pm 0.02$ ）g，于50 mL离心管中，分别加混合标准工作液10、25、100和200  $\mu\text{L}$ ，混匀，按提取、除脂步骤操作，基质标准溶液浓度分别为：2-氨基阿苯达唑砒0、0.01、0.025、0.1和0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑亚砒0、0.02、0.05、0.2和0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑砒0、0.002、0.005、0.02、和0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，阿苯达唑0、0.05、0.125、0.5和1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

## 7.3 测定

### 7.3.1 色谱条件

色谱柱：C<sub>18</sub>（150 mm×4.6 mm，粒径 5  $\mu\text{m}$ ），或相当者。

检测波长：激发波长：290 nm，发射波长：320 nm。

柱温：30 ℃。

流速：1.0 mL/min。

进样量：30  $\mu$ L。

流动相：梯度程序（表1）。

表1 流动相梯度洗脱程序

| 时 间<br>min | 乙 腈<br>% | 甲 醇<br>% | 0.05 mol/L 乙酸铵<br>% |
|------------|----------|----------|---------------------|
| 0.00       | 10       | 8        | 82                  |
| 30.0       | 40       | 17       | 43                  |
| 32.0       | 50       | 20       | 30                  |
| 40.0       | 50       | 20       | 30                  |
| 40.1       | 10       | 8        | 82                  |
| 45.0       | 10       | 8        | 82                  |

### 7.3.2 测定法

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，按外标法，以峰面积计算。标准溶液及试样溶液中阿苯达唑、阿苯达唑砒、阿苯达唑亚砒和2-氨基阿苯达唑砒响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下，标准溶液和空白组织添加试样溶液的高效液相色谱图分别见附录A。

### 7.4 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的步骤进行平行操作。

## 8 结果计算和表述

试料中阿苯达唑及代谢物残留量 ( $\mu$ g/kg)：按下计算。

$$X = \frac{C_s \times A \times V \times 1000}{A_s \times m}$$

式中：

$X$ — 供试试料中相应的阿苯达唑及代谢物残留量， $\mu$ g/kg；

$C_s$ — 基质标准溶液中相应的阿苯达唑及代谢物标准溶液浓度， $\mu$ g/mL；

$A$ — 试样溶液中相应的阿苯达唑及代谢物峰面积；

$A_s$ — 基质标准溶液中相应的阿苯达唑及代谢物标准溶液的峰面积；

$V$ — 样品定容体积，mL；

$m$ — 供试试料质量，g。

注：计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

## 9 方法灵敏度、准确度和精密度

### 9.1 灵敏度

本方法检测限：阿苯达唑为10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，2-氨基阿苯达唑砒为2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，阿苯达唑亚砒为5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，阿苯达唑砒为0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本方法定量限：阿苯达唑为25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，2-氨基阿苯达唑砒为5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，阿苯达唑亚砒为10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，阿苯达唑砒为1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 9.2 准确度

本方法阿苯达唑在25~500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2-氨基阿苯达唑砒在5~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、阿苯达唑亚砒在10~200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以及阿苯达唑砒在1~20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为70%~110%。

### 9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附录 A  
(资料性附录)

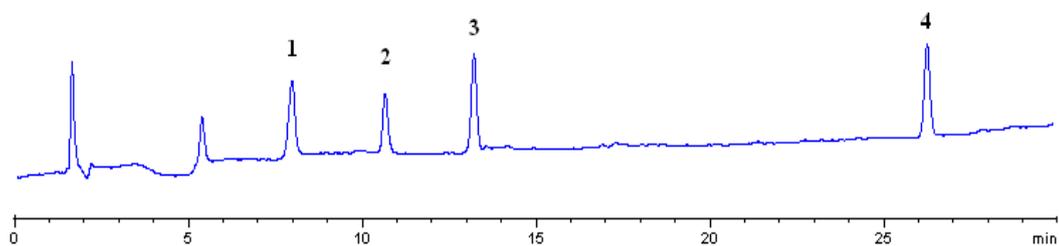


图 A.1 阿苯达唑及其代谢物混合标准溶液色谱图  
(阿苯达唑 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2-氨基阿苯达唑砒 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、阿苯达唑亚砒 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和阿苯达唑砒 0.0024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

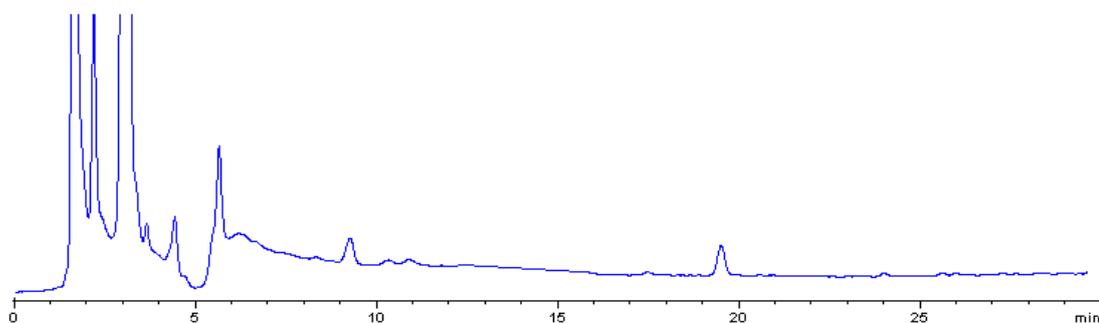


图 A.2 鲫肌肉组织空白试样色谱图

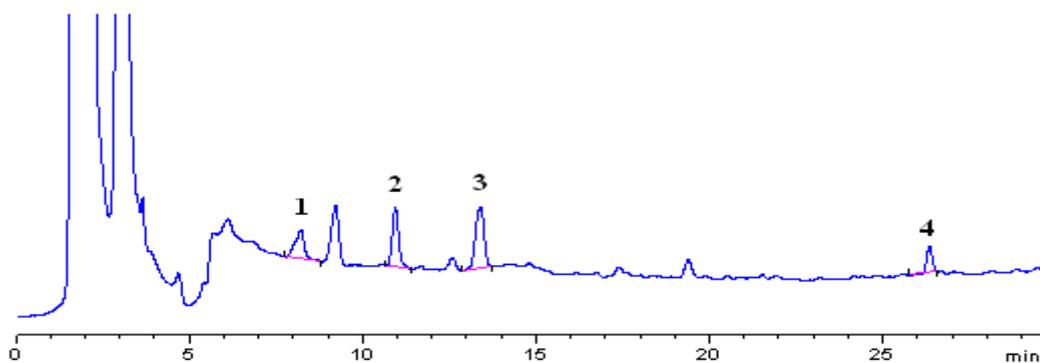


图 A.3 鲫肌肉组织空白添加阿苯达唑及其代谢物试样色谱图  
(阿苯达唑 62.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2-氨基阿苯达唑 12.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、阿苯达唑亚砒 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、阿苯达唑砒 2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

注：1—2-氨基阿苯达唑砒；  
2—阿苯达唑亚砒；  
3—阿苯达唑砒；  
4—阿苯达唑。