

附件7

《水质 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的测定 高效液
相色谱法（征求意见稿）》

编制说明

《水质 阿维菌素B_{1a}和阿维菌素B_{1b}的测定 高效液相色谱法》

标准编制组

二〇二三年五月

项目名称：水质 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的测定 高效液相色谱法

项目统一编号：2012-45

承担单位：江苏省南京环境监测中心

编制组主要成员：胡恩宇、杨丽莉、王美飞、吴丽娟、尹明明、

杨 超、戴 维

环境标准研究所技术管理负责人：李旭华、余若祯

生态环境监测司项目负责人：楚宝临

目 录

1	项目背景.....	1
1.1	任务来源.....	1
1.2	工作过程.....	1
2	标准制修订的必要性分析.....	2
2.1	阿维菌素的环境危害.....	2
2.2	相关生态环境标准和环境管理工作的需要.....	3
3	国内外相关分析方法研究.....	4
3.1	主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究.....	4
3.2	国内相关分析方法研究.....	7
3.3	国内相关文献分析方法研究.....	10
3.4	本标准方法与国内外方法的关系.....	14
4	标准制修订的基本原则和技术路线.....	14
4.1	标准制修订的基本原则.....	14
4.2	标准制修订的技术路线.....	15
5	方法研究报告.....	17
5.1	方法研究的目标.....	17
5.2	方法原理.....	17
5.3	试剂和材料.....	17
5.4	仪器和设备.....	19
5.5	样品.....	20
5.6	分析步骤.....	22
5.7	结果计算与表示.....	37
5.8	质量保证和质量控制.....	38
5.9	注意事项.....	38
6	方法比对.....	39
7	方法验证.....	39
7.1	方法验证方案.....	39
7.2	方法验证过程.....	42
8	与开题报告的差异说明.....	43
9	征求意见稿技术审查会情况说明.....	44
10	标准实施建议.....	44
11	参考文献.....	45
	附件 方法验证报告.....	48

《水质 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的测定 高效液相色谱法（征求意见稿）》编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

2012年5月，原环境保护部办公厅公布了《关于开展2012年度国家环境保护标准制修订项目计划的通知》（环办函〔2012〕503号），下达了《水质 阿维菌素的测定 液相色谱法》国家环境保护标准制订计划，由江苏省南京环境监测中心（原南京市环境监测中心站）承担该标准的制订工作，项目统一编号为2012-45。

1.2 工作过程

1.2.1 成立编制组

江苏省南京环境监测中心在接到《水质 阿维菌素的测定 液相色谱法》国家环境保护标准制订任务下达后，成立编制组，完成了任务书和合同书的填报。编制组成员包括主持或参加过多项环境保护监测方法标准制修订工作的同志和现正从事液相色谱分析的技术骨干。

1.2.2 查询国内外相关标准和资料调研

编制组成员根据《国家环境保护标准制修订工作管理办法》（原国家环境保护总局公告2006年第41号）和《国家环境保护标准项目任务书》的总体任务要求，查询国内外标准和相关文献资料，在此基础上拟定标准方法制订的基本原则和技术路线，制订方法试验方案并进行试验，根据试验结果进行标准草案的编制。

1.2.3 编写开题论证报告

在对国内外相关标准和分析方法进行充分调研的基础上开展方法试验，研究了样品预处理方法，优化了色谱条件，干扰及消除，标准溶液和实际样品的保存，阿维菌素在水相和固相中的分布等，确立方法技术路线，编写开题论证报告和标准草案，提出方法验证方案。

1.2.4 召开标准开题论证会

2013年12月13日，原环境保护部环境监测司在北京组织召开了《水质 阿维菌素的测定 液相色谱法》开题论证会，论证委员会听取了标准主编单位所作的标准开题论证报告和标准草案内容介绍，经质询、讨论，通过了项目的开题论证，并提出以下修改意见：

（1）按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010），《环境保护标准出版技术指南》（HJ 565-2010）的要求开展实验、验证，编制标准文本。

（2）通过市售阿维菌素产品和生产企业排放废水中阿维菌素主要种类确定本标准的目标物、目标物净化条件和色谱分离条件。

(3) 根据排放限量和方法选择性要求选用荧光检测器。

(4) 选择地表水、有代表性的生产企业排放废水开展验证，浓度范围涵盖方法测定下限至工业废水处理前的浓度。

1.2.5 方法验证

2017年按照原《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)要求，选择有资质的6家实验室开展方法检出限、地表水和工业废水实际样品验证，6家实验室分别为：河北省生态环境监测中心、江苏省镇江环境监测中心、江苏省扬州环境监测中心、江苏省泰州环境监测中心、江苏省苏力环境科技有限责任公司和江苏新锐环境监测有限公司。2020年底，阶段性结题汇报会专家建议扩大水质适用范围，2021年编制组根据《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168-2020)，补充了地下水、海水和生活污水实验室内方法验证，2021年8月~2021年11月组织原6家验证实验室进行地下水、海水和生活污水方法验证，形成《水质 阿维菌素的测定 液相色谱法》方法验证报告，编制完成方法标准征求意见稿和编制说明。

1.2.6 召开征求意见稿会前集中审议会

2023年3月16日~17日，生态环境部生态环境监测司组织召开了标准征求意见稿集中审查会，专家组审查针对本标准提出如下审查意见：

- (1) 中英文名称不匹配，建议在液相色谱前加上“高效”；
- (2) 核实海水样品是否需要再加盐析步骤；
- (3) 确认目标物与排放标准中控制指标的相关性。
- (4) 对应标准文本修改内容同步修改编制说明。

编制组方法开发、验证单位方法验证时均使用高效液相色谱仪，高效液相色谱仪普及率高，方法易推广，按照专家意见，将标准名称变更为《水质 阿维菌素的测定 高效液相色谱法》。海水样品不需要盐析步骤，相关说明见5.6.2.1中(3)盐析效应。补充了目标物与排放标准中控制指标相关性说明，内容见§5.1方法研究的目标。

1.2.7 召开征求意见稿技术审议会

2023年3月24日，生态环境部生态环境监测司组织召开了标准征求意见稿技术审查会(视频会)，专家组审查针对本标准提出如下审查意见：

(1) 建议标准名称修改为《水质 阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}的测定 高效液相色谱法》。

(2) 按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168-2020)和环境保护标准编制出版技术指南(HJ 565-2010)对标准文本和编制说明进行编辑性修改。

2 标准制修订的必要性分析

2.1 阿维菌素的环境危害

2.1.1 阿维菌素的基本理化性质

阿维菌素，英文名称Avermectins，也叫爱福丁、7051杀虫素、虫螨光、绿菜宝，CAS号71751-41-2，由日本北里大学大村智等和美国Merck公司首先开发一类具有杀虫、杀螨、杀线虫活性的十六元大环内酯化合物，由链霉菌中灰色链霉菌（*Streptomyces avermitilis*）发酵产生。阿维菌素根据取代基不同有8个组分，主要有4种：A_{1a}、A_{2a}、B_{1a}和B_{2a}，总含量≥80%。目前市售阿维菌素农药主要成分为Avermectin B_{1a}和Avermectin B_{1b}，其中Avermectin B_{1a}不低于90%、Avermectin B_{1b}不超过5%，以Avermectin B_{1a}的含量来标定。化学式分别为：C₄₈H₇₂O₁₄(B_{1a})和C₄₇H₇₀O₁₄(B_{1b})，分子量分别为：873.09（阿维菌素B_{1a}）和859.06（阿维菌素B_{1b}）。

阿维菌素原药为白色或黄白色结晶粉末，比重1.16，熔点155℃~157℃，蒸气压 2×10^{-7} Pa，21℃时水中溶解度为7.8 μg/L，常温下不易分解，25℃时，pH值6~9的溶液中无分解现象。市售常见制剂为1.8%阿维菌素乳油，外观呈浅褐色液体，常温贮存可稳定2 a以上。

2.1.2 阿维菌素的来源及污染途径

阿维菌素农药是目前国内大吨位的生物农药品种之一，在我国的害虫防治体系中占有较重要地位。作为甲胺磷等高毒有机磷农药的替代品，广泛用于蔬菜、果树、棉花、花卉等种植，在水稻螟虫和稻纵的防治方面表现优异，在农药施用中喷洒飘移可能进入环境水体。目前我国生产阿维菌素原药的企业有十几家，生产企业废水排放至环境水体中，对环境造成潜在污染风险。阿维菌素大量生产和使用会对环境产生一定的影响，有必要建立相关规范和监测分析方法，对阿维菌素排放进行有效控制，对环境水体中的阿维菌素实行有效监控。

2.1.3 阿维菌素的环境危害

按照世界卫生组织5级分类标准和中国农药毒性分级标准，阿维菌素属高毒杀虫剂。阿维菌素原药大鼠急性经口LD₅₀为10 mg/kg，小鼠急性经口LD₅₀为13 mg/kg，兔急性经皮LD₅₀>2000 mg/kg，大鼠急性经皮LD₅₀>380 mg/kg，大鼠急性吸入LC₅₀>5.7 mg/L。对水生生物高毒，鲢鱼96 h LC₅₀为3.6 μg/L，蓝鳃翻车鱼96 h LC₅₀ 9.6 μg/L。对蜜蜂高毒，经口LD₅₀为0.009 μg/头，接触LD₅₀为0.002 μg/头，残留在叶面的LT₅₀为4 h，4 h以后残留在叶面的药剂对蜜蜂低毒。对鸟类低毒，鹌鹑急性经口LD₅₀>2000 mg/kg，野鸭急性经口LD₅₀为86.4 mg/kg。制剂大鼠急性经口LD₅₀为650 mg/kg，兔急性经皮LD₅₀>2000 mg/kg。大鼠急性吸入LC₅₀为1.1 mg/L。阿维菌素对眼睛和皮肤有刺激作用，对人的急性毒性为高毒，无致癌、致突变可能性；对环境生物而言，阿维菌素对鸟类毒性中等，对蜜蜂和水生生物毒性很高，对鱼类、虾、蟹均为剧毒；对叶片有很强的渗透作用。

2.2 相关生态环境标准和环境管理工作的需要

世界卫生组织《Guide for Drinking-water Quality》（FOURTH EDITION 2011）、美国EPA《Drinking Water Standards and Health Advisories》（2012）、日本饮用水水质标准（2004）指标不包括阿维菌素。

美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值为0.15 $\mu\text{g/L}$ ；美国制订的专门针对农药工业的污水排放标准中没有包含阿维菌素。

欧盟 European Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption (1998) 农药总量 (包括有机杀虫剂、有机除草剂、有机杀菌剂等产品及其代谢副产物) 限值0.1 $\mu\text{g/L}$ 。

目前我国水质环境质量标准《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)、《地下水质量标准》(GB/T 14848-2017)、《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2022)、《城市供水水质标准》(CJ/T 206-2005)等均不包含阿维菌素。2003年原国家环境保护总局启动农药工业污染物排放标准的制定工作,划分了生物类、有机磷类、菊酯类、有机硫类、苯氧羧酸类、磺酰胺类、酰胺类、有机氯类、氨基甲酸酯类、杂环类等十项水污染物排放标准工作,阿维菌素属于生物类农药,2008年《生物类农药工业水污染物排放标准》(征求意见稿)中,指出阿维菌素的有效成分为阿维菌素 B_1 ,由阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 组成,征求意见稿对阿维菌素排放限值做了规定,其中现有阿维菌素原药生产企业排放限值为1 $\mu\text{g/L}$,新建阿维菌素原药生产企业及水污染物特别排放限值为0.5 $\mu\text{g/L}$ 。2013年原环境保护部下发的《关于开展2013年度国家环境保护标准项目实施工作的通知》(环函办〔2013〕154号),明确了“农药工业水污染物排放标准”整合制定任务,十项农药类水污染物排放标准整合为《农药工业水污染物排放标准》,该标准2017年第一次公开征求意见稿中,农药活性成分中包括阿维菌素,排放浓度限值为0.001 mg/L ,基准排水量为1000 m^3/t 原药;2022年二次征求意见稿,在“农药活性成分污染物排放限值”表中去除了阿维菌素及其排放限值,“基准排水量”改为“单位产品基准排水量”,阿维菌素单位产品基准排水量为700 m^3/t 原药。

目前我国尚无水质阿维菌素相关分析方法标准,虽然农药工业水污染排放标准中对阿维菌素排放浓度不做规定,但由于其属于高毒农药,对水环境生物安全有危害,尤其是对鱼类等,制订水质阿维菌素标准分析方法,可以为制定环境水体生态质量标准做技术储备,为应对突发污染事故、保障水体安全提供相应的技术支撑。

3 国内外相关分析方法研究

3.1 主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究

检索国际标准化组织(ISO)、美国环境保护署(EPA)、欧盟标准化委员会(EN)、日本工业标准(JIS)的相关资料,国外尚无水质中阿维菌素的分析方法标准。国外阿维菌素检测文献报道多见于食品分析,检测方法以液相色谱-紫外检测器^[1,2]、液相色谱-衍生化-荧光检测器^[3]、液相色谱-串联质谱法^[4-13]较为常见,也有采用酶联免疫吸附测定^[14]。国外相关文献^[1-14]见表1。

表 1 国外阿维菌素文献方法汇总

文献	分析物	样品基质	前处理方式	分析仪器	回收率 (%)	精密度	检出限
Florez D H, Teixeira R A, Silva R, et al. Pipette-tip solid-phase extraction using polypyrrole as efficient adsorbent for extraction of avermectins and milbemycins in milk	阿维菌素、诱抗素 1b、诱抗素 1a、乙酰氨基阿维菌素、伊维菌素、莫西菌素	牛奶	PT-MIP-SPE	HPLC-UV	Around100	/	/
Teixeira RA, Flores A, Hernando D, et al. Pipette-tip solid-phase extraction using poly(1- vinylimidazole- co-trimethylolpropane trimethacrylate) as a new molecularly imprinted polymer in the determination of avermectins and milbemycins in fruit juice and water samples	乙酰氨基阿维菌素、诱抗素、莫西菌素	水, 水果	PT-MIP-SPE	HPLC-UV	88.19~110.54	0.59%~3.82%	/
KOLAR K,KULAR,ERZJEN N K Degadation of abamectin and doramectin in sheep face using HPLC with fluorescence detection	阿维菌素、多拉菌素	动物组织	/	HPLC-FLA	/	/	/
Silva G R D, Lima J A, Souza L F D, et al. Multiresidue method for identification and quantification of avermectins, benzimidazoles and nitroimidazoles residues in bovine muscle tissue by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) using a QuEChERS approach	阿维菌素	牛肌肉组织	QuEChERS	UPLC-MS/MS	Satisfactory	/	0.007 µg/kg~66.715 µg/kg
Tao Y F, Yu G, Chen D M, et al. Determination of 17 macrolide antibiotics and avermectins residues in meat with accelerated solvent extraction by liquid chromatography- tandem mass spectrometry	阿维菌素	动物组织	乙腈甲醇加速溶剂萃取	HPLC-MS/MS	>75	/	/
You X, Gao L, Qin D, et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers by atom transfer radical polymerization for the rapid extraction of avermectin from fish samples	阿维菌素	鱼肉	MIP 修饰的磁性多壁碳纳米管萃取	UPLC-MS/MS	84.2~97.0	1.7%~2.9%	/
Jiang YB, Shan JH, Zou N, et al. Analysis of sulfonamides, tilmicosin and avermectins residues in typical animal matrices with multi- plug filtration cleanup by liquid chromatography- tandem mass spectrometry detection	阿维菌素	牛、山羊、猪肉及其肾脏、牛奶	正己烷脱脂, SPA 和 C ₁₈ 修饰的磁性多壁碳纳米管萃取	HPLC-MS/MS	82~107	<15%	0.01 mg/kg~0.1 mg/kg

文献	分析物	样品基质	前处理方式	分析仪器	回收率 (%)	精密度	检出限
deOliveira F, Rodrigues C, Rath S. On-line solid-phase extraction- ultra high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry for the determination of avermectins and milbemycin in soils	阿维菌素、诱抗素, 多拉菌素, 埃普利诺菌素、莫西菌素	土壤	在线 SPE	HPLC-MS/MS	74~89	<19%	0.08 ng/g
Rubies A, Antkowiak S, Granados M, et al. Determination of avermectins: a QuEChERS approach to the analysis of food samples	阿维菌素	食品	QuEChERS	HPLC-MS/MS	/	/	1.5 µg/kg
Li X, Zhang Y, Ai L F, et al. Determination of five avermectins in bovine liver by on-line solid-phase extraction with hydrophobic monolithic column coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer	阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素, 埃普利诺菌素	牛肝	在线 SPE	HPLC-MS/MS	77.4~98.4	4.46%~8.03%	2.02 µg/kg
Li X, Wang M M, Zheng G Y, et al. Fast and Online Determination of Five Avermectin Residues in Foodstuffs of Plant and Animal	阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素, 埃普利诺菌素	牛肝	在线 SPE	HPLC-MS/MS	77.4~98.4	4.46%~8.03%	2.02 µg/kg
Origin Using Reusable Polymeric Monolithic Extractor Coupled with LC-MS/MS	阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素, 埃普利诺菌素	食品	在线 SPE	HPLC-MS/MS	71.8~101.3	<8.94%	1.5 µg/kg
Park J, Choi J, Abdelaty A M, et al. Development of an extraction method for the determination of avermectins in soil using supercritical CO ₂ modified with ethanol and liquid chromatography- tandem mass spectrometry	莫西菌素, 伊维菌素、多拉菌素	土壤	乙醇改进的 CO ₂ 超流体临界萃取	HPLC-MS/MS	82.5~96.2	2.1%~7.9%	5 µg/kg

3.2 国内相关分析方法研究

国内尚无水质阿维菌素分析方法标准。已颁布的阿维菌素分析标准在食品检测领域。

《食品安全国家标准 水果和蔬菜中阿维菌素残留量的测定 液相色谱法》(GB 23200.19-2016)^[16]试样中阿维菌素用丙酮提取, C₁₈柱净化, 甲醇洗脱, 紫外检测器检测, 取样量 20 g 时, 测定下限为 0.01 mg/kg; 《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 免疫亲和-液相色谱法》(GB/T 21321-2007)^[17]试样中阿维菌素用甲醇提取, C₁₈柱净化, 免疫亲和色谱柱分析, 柱后衍生荧光检测器分析, 测定下限 0.01 mg/kg; 《食品安全国家标准 牛奶中阿维菌素类药物多残留的测定 高效液相色谱法》(GB 29696-2013)^[18]和《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》(农业部 781 号公告-5-2006)^[19]中, 试样用乙腈提取浓缩, 前者采用 C₁₈净化, 后者用碱性氧化铝柱净化, 与 *N*-甲基咪唑-乙酸酐衍生化后, 用液相色谱-荧光检测器检测; 《牛肝和牛肉中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 20748-2006)^[20]、《食品安全国家标准 食品中阿维菌素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》(GB 23200.20-2016)^[21]、《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 21320-2007)^[22]均采用液相色谱-串联质谱法分析食品中阿维菌素, 前处理方法相对简化, 串联质谱检测提高了灵敏度。动物源、食品样品与水质样品基体类型不同, 前处理方法与水质样品差异较大。国内阿维菌素相关标准方法^[16-22]见表 2。

表 2 国内阿维菌素标准分析方法汇总

序号	名称	适用范围	样品保存条件	标准溶液保存	取样量	提取溶剂	净化方式	是否衍生	色谱柱/流动相	检测器类型	测定下限	对应浓度
1	《食品安全国家标准 水果和蔬菜中阿维菌素残留量的测定 液相色谱法》(GB 23200.19-2016)	水果及蔬菜	-18 ℃	阿维菌素标准品纯度≥96%；储备液：1000 mg/L，未规定保存期，标准工作液根据需要稀释成适当浓度，每周配制一次。	20 g	丙酮	C ₁₈ 柱，甲醇洗脱。	否	ODS-C ₁₈ 4.6 mm×150 mm； 甲醇：水=90:10	紫外 245 nm	0.01 mg/kg	200 μg/L
2	《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 免疫亲和-液相色谱法》(GB/T 21321-2007)	牛肝脏和牛肌肉组织	-20 ℃	100 mg/L，-20 ℃保存6个月；1 mg/L 4 ℃保存3个月。	1 g	甲醇	免疫亲和色谱柱	N-甲基咪唑-乙酸酐于96 ℃衍生100 min	C ₁₈ 4.6 mm×250 mm； 甲醇:水=97:3	荧光 激发波长 365 nm； 发射波长 475 nm	1 μg/kg	0.4 μg/L (定容体积 2.5 ml)
3	《食品安全国家标准 牛奶中阿维菌素类药物多残留的测定 高效液相色谱法》(GB 29696-2013)	牛奶	-20 ℃	100 mg/L、10 mg/L，2 ℃~8 ℃，保存6个月；衍生试剂现配现用	5 g	乙腈	C ₁₈ 柱，异辛烷洗涤，乙腈洗脱	N-甲基咪唑-三氟乙酸酐常温衍生30 min	Symmetry C ₁₈ 250 mm×150 mm，5 μm； 乙腈:水=90:10	荧光， 波长同上	1 μg/kg	5 μg/L
4	《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》(农业部 781 号公告-5-2006)	猪和鸡肌肉、肝脏、肾脏和脂肪组织	-20 ℃，6个月	100 mg/L，-20 ℃保存3个月。	2.0 g	乙腈	Sep pak AluminB 500 mg/6 ml	N-甲基咪唑-三氟乙酸酐常温衍生	Nova-Pac C ₁₈ 3.9 mm×150 mm； 甲醇:水=92:8	荧光， 波长同上	1 μg/kg	2 μg/L
5	《食品安全国家标准 食品中阿维菌素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》(GB 23200.20-2016)	食品(大米、大蒜、菠菜、牛肉、羊肉、羊)	大米等：0 ℃~4 ℃；牛肉等：-18 ℃	阿维菌素标准品纯度>87%；储备液：阿维菌素 B _{1a} 100 mg/L，-18 ℃；中间	5 g	乙腈	大米等：中性氧化铝柱，乙腈洗脱； 食醋、蜂	否	C ₁₈ 柱，2.1 mm×150 mm，5 μm； 乙腈:0.1%乙酸水溶液	串联质谱仪	0,005 mg/kg	25 μg/L

序号	名称	适用范围	样品保存条件	标准溶液保存	取样量	提取溶剂	净化方式	是否衍生	色谱柱/流动相	检测器类型	测定下限	对应浓度
		肉、食醋、蜂蜜等)		液: 1 mg/L, -4 °C; 使用液: 浓度根据需要配制 4 °C, 未规定有效期。			蜜: C ₁₈ 柱, 乙腈洗脱		=70:30			
6	《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 21320-2007)	牛肝脏和牛肌肉	-20 °C	100 mg/L, -20 °C保存 6 个月, 1 mg/L, 4 °C保存 3 个月。	2.5 g	乙腈	先 C ₁₈ 柱, 后 C ₈ SPE 柱	否	C ₁₈ 3.9 mm×150 mm 乙腈:水:甲酸=95:5:0.1	串联质谱	1.5 µg/kg	7.5 µg/L, 定容体积 0.5 ml

3.3 国内相关文献分析方法研究

国内文献分析阿维菌素的报道,一般用液相色谱分离,紫外检测器^[24]、柱前衍生-荧光检测器^[25-29]或串联质谱^[30-34]测定,研究各种食品中阿维菌素的检测较多。紫外法适合浓度较高的样品,张伟等^[24]用分散液相微萃取-丙酮提取水中阿维菌素,紫外法测定,检出限 0.4 mg/L。衍生-荧光法可以提高方法灵敏度,文献报道阿维菌素多采用三氟乙酸酐(TFAA)-*N*-甲基咪唑(NMIM)法进行柱前衍生。周海明^[25]等用乙腈提取水中阿维菌素,采用三氟乙酸酐-*N*-甲基咪唑柱前衍生, C₁₈柱分离,荧光检测器测定,检出限 1 μg/L;罗成玉^[27]等用乙腈提取果蔬和茶叶中阿维菌素,果蔬用碱性氧化铝柱净化,茶叶用碳黑氨基柱(即石墨化碳黑和氨基复合柱)净化,乙腈洗脱,用三氟乙酸酐-*N*-甲基咪唑柱前衍生, C₁₈柱分离,荧光检测器测定,检出限 4 μg/kg。液相色谱-串联质谱测定水质阿维菌素的报道中,何书海^[30]等研究直接进样-UPLC/MS/MS法测定环境水样中阿维菌素,检出限 0.02 μg/L;李再兴^[31]等比较了 C₁₈、C₈和 HLB 柱对制药废水的平均回收率, HLB 柱回收率最高,达 96.7%,水样取样体积 1 L,超快速液相色谱-串联质谱法 MRM 模式测定,检出限 0.05 μg/L。

综上,阿维菌素测定技术路线相对集中,研究内容大多侧重在不同样品类型的提取、净化和提高检测速度等方面。国内食品中阿维菌素分析标准中,液相色谱-柱前衍生-荧光法测定下限对应的上机浓度在 2 μg/L^[19]~5 μg/L^[18]之间。文献报道分析水质样品中阿维菌素,液相色谱-串联质谱法测定下限最低,在 0.02 μg/L^[30]~0.05 μg/L^[31]之间;液相色谱-柱前衍生-荧光法测定下限次之,在 1 μg/L^[25];液相色谱-紫外法测定下限最高,为 0.4 mg/L^[24]。国内食品、废水等介质中阿维菌素分析方法^[24-34]相关研究内容汇总见表 3。

表 3 国内阿维菌素分析方法相关文献汇总

序号	名称	适用范围	样品保存条件	标准溶液保存	取样量	提取溶剂	净化方式	是否衍生	色谱柱/流动相	检测器类型	测定下限	测定下限上机浓度
1	张伟,张鑫,张欣达,等. 分散液相微萃取-高效液相色谱联用测定水中阿维菌素残留	水	/	/		丙酮	分散液相微萃取	否	Eclipse plus C ₁₈ , 100 mm×4.6 mm, 3.5 μm; 甲醇:水=80:20	紫外	0.4 mg/L	/
2	周海明,姚方. 高效液相色谱-荧光(HPLC-FD)检测土壤和水中阿维菌素及其代谢产物残留量研究	土壤、水样	/	/	30 ml	乙腈	/	N-甲基咪唑-三氟乙酸酐	C ₁₈ , 2.1 mm×150 mm, 乙腈:水=95:5	荧光	1 μg/L	/
3	谢显传,张少华等. 柱前衍生高效液相色谱法测定果蔬产品阿维菌素及其有毒代谢物的残留量	果蔬	/	/	20 g	乙腈	/	同上	Waters C ₁₈ , 4.6 mm×150 mm, 5 μm, 乙腈:水=95:5	荧光	1 μg/kg	1 μg/L
4	罗成玉,查玉兵等. 高效液相色谱荧光检测法测定植物性食品中阿维菌素类药物	果蔬、茶叶	/	/	/	乙腈	果蔬: 碱性氧化铝柱; 茶叶: 碳黑氨基柱。均用乙腈洗脱直接收集	同上	Symmetry C ₁₈ , 2.1 mm×150 mm, 5 μm; 甲醇:水=95:5	荧光	4 μg/kg	4 μg/L
5	傅强,杨仁斌等. 阿维菌素及甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的三氟乙酰胺衍生化产物稳定性研究	蔬菜	/	衍生化后-20℃, 5 d	20 g	丙酮:水=7:3	/	同上	ODS-SP, 4.6 mm×150 mm, 5 μm; 甲醇:水=99:1	荧光	1 μg/kg	1 μg/L

序号	名称	适用范围	样品保存条件	标准溶液保存	取样量	提取溶剂	净化方式	是否衍生	色谱柱/流动相	检测器类型	测定下限	测定下限上机浓度
6	张玉洁,李丹,李倩,等. 奶及奶粉中4种阿维菌素类药物残留检测高效液相色谱法	奶及奶粉	/	-20℃保存, 1 mg/ml: 6 m 10 µg/ml: 3 m 1 µg/ml: 3 m	0.5 g~ 5 g	20%乙醇乙腈溶液	C ₁₈ 柱	同上	C ₁₈ , 250 mm × 4.6mm, 粒径 5µm; 乙腈: 水=90:10	荧光	牛奶、羊奶: 5 g 称样量, 0.5 µg/kg; 奶粉: 0.5 g 称样量, 5 µg/kg	2.5 µg/L
7	何书海,曹小聪等. 直接进样-超高效液相色谱-三重四级杆质谱法快速测定环境水样中阿维菌素残留量	环境水样	/	/	直接进样	/	/	/	C ₁₈ , 2.1 mm × 150 mm 甲醇: 水梯度洗脱	串联质谱	0.02 µg/L	/
8	李再兴,左剑恶等. 超快速液相色谱-串联质谱法测定制药废水中阿维菌素的研究	制药废水	4℃	/	10 ml~ 100 ml	/	HLB柱, 1 g/6 ml	否	C ₁₈ , 2.1 mm × 150 mm 甲醇:水 梯度洗脱	串联质谱	0.05 µg/L	/
9	林志惠,李慧珍,游静. 高效液相色谱-串联质谱法检测水体沉积物中阿维菌素的残留量	水体中沉积物	-20℃ 避光保存	/	5 g	正己烷: 丙酮混合溶液 (1:1)	自装 300 mg PSA、300 mg GCB 和 1 g 无水硫酸钠小柱	否	Thermo-C ₁₈ , 2.1 mm × 50 mm, 1.9 µm; 乙腈: pH 4.0 乙酸-乙酸铵: 水溶液	串联质谱	0.72 ng/g (干重)	3.6 µg/L
10	刘永涛,余琳雪,王桢月,等. 改良的 QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱同时测定水产品中7种阿维菌素类药物残留	水产品	-20℃ 保存	/	5 g	0.2%氨水乙腈	C ₁₈ 粉和无水硫酸镁	否	Varian Pursuit ULTRA C ₈ 柱, 100 mm × 2.0 mm, 2.8 µm; 0.1% (v/v) 甲酸乙腈: 0.1% (v/v) 甲酸水溶液 (含 5 mmol/L 乙酸	串联质谱	5 µg/kg	25 µg/L

序号	名称	适用范围	样品保存条件	标准溶液保存	取样量	提取溶剂	净化方式	是否衍生	色谱柱/流动相	检测器类型	测定下限	测定下限上机浓度
									铵)			
11	王亦琳,叶妮,尹晖,等. 液相色谱-串联质谱法 检测牛奶中4种阿维菌 素类药物残留量的研究	牛奶	/	/	2 g	乙腈	C ₁₈ 柱	否	BEH C ₁₈ , 50 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 0.1% 甲酸水溶液: 0.1% 甲酸乙腈 溶液	串联质谱	0.5 μg/kg	1.0 μg/L

3.4 本标准方法与国内外方法的关系

查阅到的方法和文献，水质阿维菌素的前处理方法有液液萃取法^[25]和固相萃取法^[31]；净化采用固相萃取柱^[27]；分析方法包括液相色谱-紫外检测器法、液相色谱-柱前衍生-荧光法和液相色谱-串联质谱法^[31]。

编制组开展试验，比较了液液萃取法和固相萃取法的回收率，液液萃取法优化了萃取溶剂、萃取溶剂体积、萃取次数、盐析效应等方面；固相萃取法试验了阿维菌素在水相和悬浮物中的分布。

净化固相萃取柱的筛选，参考了罗成玉^[27]文章中的石墨化碳黑柱、李再兴^[31]文章中的C₁₈柱和HLB柱。

液相色谱-衍生法分析阿维菌素，多用C₁₈色谱柱分离，荧光检测器检测。本标准色谱柱类型、流动相类型、衍生化方法试剂、荧光检测器、荧光检测波长参考《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 免疫亲和-液相色谱法》（GB/T 21321-2007）、《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》（农业部 781 号公告-5-2006）和《食品安全国家标准 牛奶中阿维菌素类药物多残留的测定 高效液相色谱法》（GB 29696-2013）。流动相比例、流速为试验优化结果。

荧光检测器使用也较为广泛，只对产生荧光的物质有响应，相较于紫外检测器，选择性高，抗干扰能力较强，基于方便、易操作、易推广的原则，本标准初步方案前处理比较液液萃取法和固相萃取法、分析方法选用液相色谱-荧光检测器法。标准溶液保存期限、液相流动相相比等方法参数为试验优化结果。

4 标准制修订的基本原则和技术路线

4.1 标准制修订的基本原则

（1）按照《国家生态环境标准制修订工作规则》（国环法规〔2020〕4号）和《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）制定本标准，确保制订后的标准重点突出、内容准确、数据真实、通俗易懂、方法可操作性强。

（2）方法的检出限和测定范围满足相关生态环境标准和生态环境工作的要求。

目前我国尚无阿维菌素相关生态环境质量标准。《农药工业水污染物排放标准》（二次征求意见稿）“农药活性成分污染物排放限值”表中不包括阿维菌素，只对阿维菌素单位产品基准排水量做了规定，为700 m³/t原药。虽然农药工业水污染排放标准中对阿维菌素排放浓度不做规定，但由于其属于高毒农药，对水环境生物安全有危害，尤其是对鱼类等，制订水质阿维菌素标准分析方法，可以为制定环境水体生态质量标准做技术储备，为应对突发污染事故、保障水体安全提供相应的技术支撑。

（3）方法准确可靠，满足各项方法特性指标的要求。

通过实验室内以及有资质的6家实验室间地表水、地下水、海水、生活污水、工业废水实际样品的验证，确保本标准方法采用的分析技术和规定的各项技术指标准确可靠。

（4）方法具有普遍适用性，易于推广使用。

液液萃取和固相萃取法是水样富集的常用方法，固相萃取法较难应用于含悬浮物较多

的水样，与固相萃取法相比，液液萃取法操作简单，耗时短，成本低；商品化的自动液液萃取仪可同时处理数个水样，其价格低于自动固相萃取仪。阿维菌素是大环内酯类化合物，通常用高效液相色谱法分离，紫外或荧光检测法测定。高效液相色谱仪在我国环境监测系统应用较广泛，常见的检测器有紫外检测器、荧光检测器、串联质谱检测器等。质谱检测器价格、使用和维护成本高，对使用人员的专业技术要求也较高；与荧光和质谱检测器相比，紫外检测器的灵敏度相对较低；阿维菌素可以与衍生化试剂反应，产生荧光衍生物，用荧光检测器检测可提高方法灵敏度，不同荧光衍生物有各自特定的激发和发射波长，因此荧光检测器具有良好的选择性，其成本较低，使用维护简单，在我国生态环境监测系统配备率较高。本标准拟采用液液萃取-液相色谱-荧光法测定水中阿维菌素，前处理方法和分析仪器成熟，能适合我国大部分监测机构的监测能力和实际情况，亦可适应我国生态环境监测技术和环境管理发展需要，具有广泛的适用性和可行性。

4.2 标准制修订的技术路线

本项目是新制订标准，主要结合我国仪器设备现状和标准要求，建立液液萃取-液相色谱-荧光法测定水中阿维菌素。

编制组查阅国内外相关标准及文献资料，开展实验室内研究，优化各项检测条件，所采用的试剂和仪器普遍、易得，确保本方法从样品采集、保存、前处理和测定过程操作简便，最终形成方法验证方案，通过 6 家实验室进行验证，统计确定检出限、测定下限、精密密度、正确度等技术特性指标及质量保证和质量控制内容，形成先进性、适用性、可操作性和实用性强的标准方法。技术路线图见图 1。

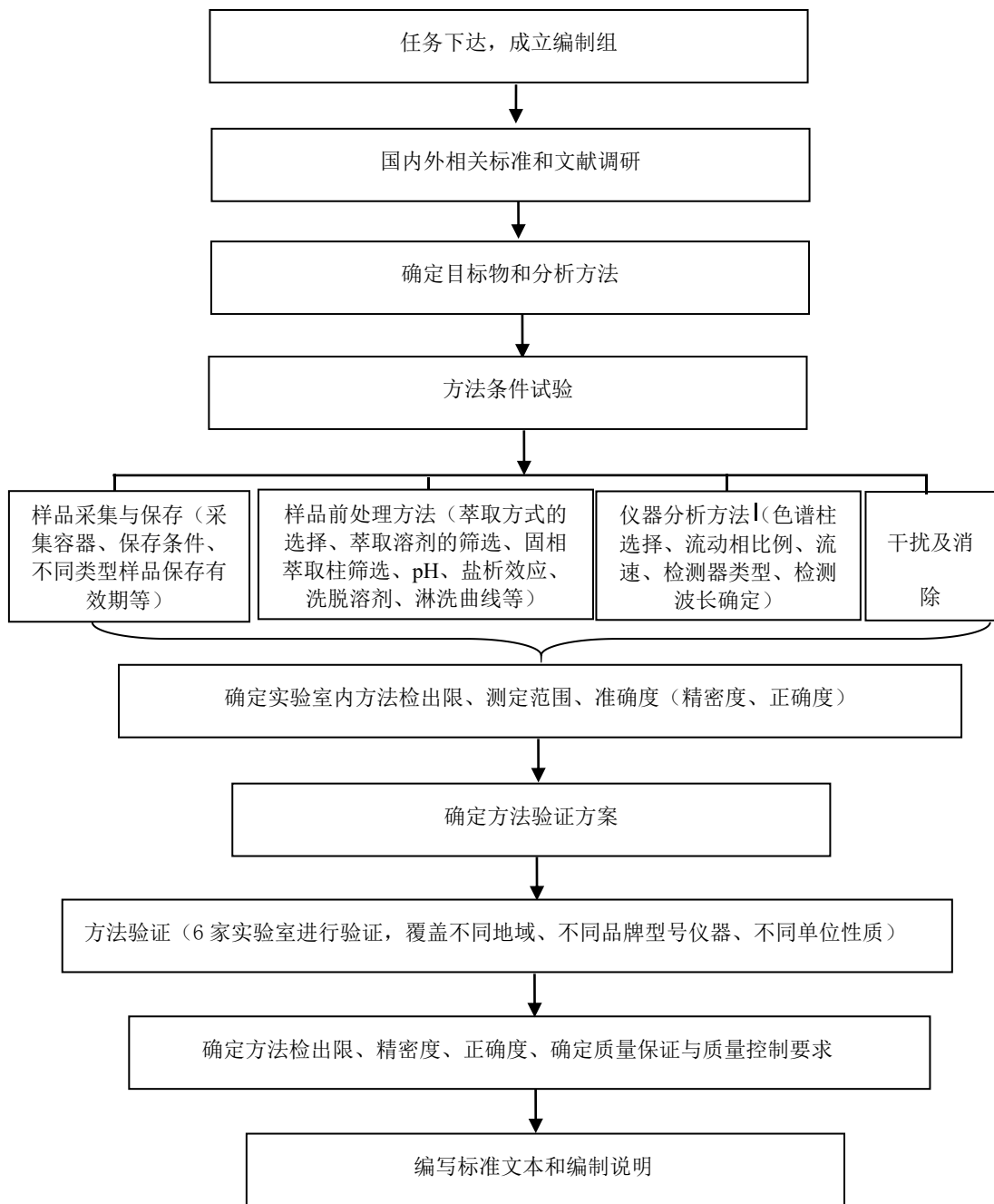


图 1 本标准制订技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

阿维菌素为生物发酵类（阿维菌素链霉菌发酵）农药，有 8 种组分，其生产工艺发酵产物以阿维菌素 B_{1a} 为主产品，产品质量以阿维菌素 B_{1a} 和 B_{1b} 含量作为有效成分评价，同时控制阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的比例。《阿维菌素原药》（GB/T 19336-2017）^[35] 中对原料药阿维菌素 B_{1a} 与阿维菌素 B_{1b} 2 种主要的组分进行了如下规定：阿维菌素原药中阿维菌素（B_{1a}+B_{1b}）质量分数≥92.0%，阿维菌素 B_{1a} 与 B_{1b} 的比值≥10%，该标准对阿维菌素其余组分未做规定。市售的阿维菌素标准物质，有些标明组分名称，另外一些仅写做“阿维菌素”，没有特别注明异构体，其主要成分为阿维菌素 B_{1a}。

为明确本标准的研究目标，开题论证专家要求，通过市售阿维菌素产品和生产企业排放废水中阿维菌素主要种类确定本标准的目标物。编制组测定了市售阿维菌素原药产品和阿维菌素生产企业处理前车间废水，经与阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 标准物质液相色谱保留时间对照，市售阿维菌素原药主成分为阿维菌素 B_{1a}，含量 95.4%，阿维菌素 B_{1b} 有检出，含量 4.1%，阿维菌素 B_{1b} 含量低于阿维菌素 B_{1a} 1 个数量级；阿维菌素企业处理前废水中阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 均有检出，分别为 0.302 mg/L 和 0.042 mg/L。

在我国已发布的分析标准方法中，绝大多数以“阿维菌素”表示，测定的是阿维菌素 B_{1a}，在《食品安全国家标准 食品中阿维菌素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》（GB 23200.20-2016）明确了标准品为阿维菌素 B_{1a}，并规定阿维菌素以阿维菌素 B_{1a} 计。

虽然国内分析标准方法目标物均为阿维菌素 B_{1a} 1 种目标物，但 2008 年《生物类农药工业水污染物排放标准》（征求意见稿）编制说明中明确阿维菌素的有效成分为阿维菌素 B₁，由阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 组成；《阿维菌素原药》（GB/T 19336-2017）关于阿维菌素原药的规定，也包括了阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 2 种组分。本标准目标物考虑了阿维菌素原药标准规定的目标物和《生物类农药工业水污染物排放标准》（征求意见稿）中阿维菌素的有效成分，结合工业废水检出情况，确定为阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b}，既是阿维菌素产品主要成分，也包括了目前阿维菌素相关标准的全部目标物，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的质量浓度分别计算，为环境质量和排放标准的制定做技术储备。本标准建立地表水、地下水、生活污水、工业废水和海水中阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的高效液相色谱法，并通过实际样品验证适用性。

我国暂无阿维菌素生态环境质量和废水排放标准，美国 EPA 自来水风险筛选值 0.15 μg/L，本标准检出限应低于该标准，确保能满足监控排放和以后环境风险筛选的要求。

5.2 方法原理

水样中阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 经二氯甲烷和乙酸乙酯混合溶剂萃取，提取液经净化后浓缩至干，在 *N*-甲基咪唑存在下与三氟乙酸酐衍生化反应生成荧光物质，经高效液相色谱分离，用荧光检测器检测。根据保留时间定性，外标法定量。

5.3 试剂和材料

标准研究过程中的主要试剂除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯化学试剂，实验用水为不含目标物的二次蒸馏水或用纯水设备制备的水。

5.3.1 乙酸乙酯 ($C_4H_8O_2$)：色谱纯。

5.3.2 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

5.3.3 二氯甲烷 (CH_2Cl_2)：色谱纯。

5.3.4 乙腈 (CH_3CN)：色谱纯。

5.3.5 盐酸： $\rho=1.18\text{ g/ml}$ ， $w\in[36.0\%, 38.0\%]$ 。

5.3.6 盐酸溶液。

量取 100 ml 盐酸 (5.3.5)，缓慢加入到 100 ml 实验用水中，混匀。

5.3.7 氢氧化钠 ($NaOH$)。

5.3.8 氢氧化钠溶液： $\rho(NaOH)=0.4\text{ g/ml}$ 。

称取 40 g 氢氧化钠 (5.3.7) 溶于 100 ml 实验用水中。

5.3.9 氯化钠 ($NaCl$)。在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。

5.3.10 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)。在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。

5.3.11 *N*-甲基咪唑 ($C_4H_6N_2$)。

5.3.12 三氟乙酸酐 ($C_4F_6O_3$)。

5.3.13 阿维菌素 B_{1a} ($C_{48}H_{72}O_{14}$)：纯度 $\geq 98\%$ 。

5.3.14 阿维菌素 B_{1b} ($C_{47}H_{70}O_{14}$)：纯度 $\geq 90\%$ 。

5.3.15 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂。

用二氯甲烷 (5.3.3) 和乙酸乙酯 (5.3.1) 按 3:1 的体积比混合。

5.3.16 衍生化试剂 I：用 *N*-甲基咪唑 (5.3.11) 和乙腈 (5.3.4) 按 1:1 的体积比混合，临用现配。

5.3.17 衍生化试剂 II：用三氟乙酸酐 (5.3.12) 和乙腈 (5.3.4) 按 1:2 的体积比混合，临用现配。

5.3.18 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 标准贮备液： $\rho=1000\text{ mg/L}$ 。

准确称取 1 mg 阿维菌素 B_{1a} (5.3.13) 和 1 mg 阿维菌素 B_{1b} (5.3.14)，用乙腈 (5.3.4) 溶解定容至 1 ml 容量瓶，-18 °C 避光保存，保存期 1 a。可单独配制，也可配成混合标准贮备液或购买阿维菌素 B_{1a}、阿维菌素 B_{1b} 有证标准溶液，参照产品说明书保存。

目前市售阿维菌素标准溶液有些以“阿维菌素”表示，未注明主要成分是何种异构体，编制组用购置的阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 纯品配成标准溶液后，与市售阿维菌素标准溶液保留时间对照，发现市售阿维菌素标准溶液为主要组分阿维菌素 B_{1a}，因此，在购买阿维菌素标准溶液时需注意明确说明阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b}。阿维菌素 B_{1a} 纯品容易获得，阿维菌素 B_{1b} 由于合成、提纯难度大，不同生产商产品纯度差异明显，从 30% 几到 90% 不等。

编制组购置阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 纯品，证书要求保存条件为 -18 °C \pm 4 °C。以乙腈做溶剂，配制浓度为 1000 mg/L 的阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 混合标准贮备液，于-

18 °C 保存，每隔 4 个月，取一定体积的贮备液用乙腈逐级稀释成校准曲线最高点浓度 1.00 mg/L，紫外检测器 245 nm 波长测定，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 响应峰面积结果见表 4，12 个月内峰面积相对标准偏差 3% 以内，阿维菌素混合贮备液在 -18 °C 可以稳定 1 a，因此标准规定阿维菌素标准贮备液 -18 °C 保存，保存期 1 a。

表 4 1000 mg/L 阿维菌素混合标准贮备液 -18 °C 保存稳定性试验结果

序号	贮备液浓度 (mg/L)	稀释后上机浓度 (mg/L)	保存时间	峰面积	
				阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
1	1000	1.00	配制当日	30447	29857
2			4 个月	29554	30504
3			8 个月	30097	29712
4			12 个月	29831	29041
均值				29982	29779
RSD (%)				1.3	2.1

5.3.19 阿维菌素 B_{1a} 阿维菌素 B_{1b} 混合标准使用液： $\rho=10.0$ mg/L。用乙腈（5.3.4）稀释阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 标准贮备液（5.3.18），-18 °C 避光保存，保存期 1 a。

用乙腈稀释标准贮备液（5.3.18），配制浓度为 10.0 mg/L 的标准使用液，配制后于 -18 °C 冷冻保存，每隔 2 个月，取一定体积的混合标准使用液，用乙腈稀释成校准曲线最高点浓度 1.00 mg/L 后测定，紫外检测器 245 nm 波长测定，峰面积见表 5（贮备液和使用液的保存试验，使用不同厂家高效液相色谱仪测定，相同浓度进样的峰面积不同），1 a 内，峰面积相对偏差在 5% 以内，比较稳定，因此规定 10 mg/L 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 混合标准使用液 -18 °C 避光保存，保存期 1 a。

表 5 10.0 mg/L 阿维菌素混合标准使用液 -18 °C 保存稳定性试验结果

序号	使用液浓度 (mg/L)	稀释后上机浓度 (mg/L)	保存时间	峰面积	
				阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
1	10.0	1.00	配制当日	112807	108523
2			2 个月	111580	115132
3			4 个月	112174	116527
4			6 个月	103626	110148
5			8 个月	104438	110652
6			10 个月	114536	105689
7			12 个月	104702	107444
均值				109123	100129
RSD (%)				4.3	4.0

5.3.20 净化柱：500 mg/6 ml，填料为石墨化碳黑，或其他等效净化柱。

5.3.21 滤膜：孔径 0.45 μ m，聚四氟乙烯或其他等效材质。

5.4 仪器和设备

5.4.1 采样瓶：500 ml 具塞棕色玻璃瓶。采样瓶体积主要考虑样品分析、实验室平行和基

体加标3项实验共计需要300 ml水样，因此选用500 ml规格。

5.4.2 高效液相色谱仪：具荧光检测器。

5.4.3 色谱柱：填料粒径为5 μm ，柱长15 cm，内径4.6 mm的 C_{18} 反相色谱柱，或其他等效的色谱柱。

5.4.4 浓缩装置：氮吹浓缩仪或其他性能相当的浓缩装置。

5.4.5 涡旋混合器。

5.4.6 分液漏斗：250 ml，玻璃材质。

5.4.7 离心管：尖底具塞玻璃离心管，5 ml。

5.4.8 一般实验室常用仪器和设备。

5.5 样品

5.5.1 样品采集

按照GB 17378.3、HJ 91.1、HJ 91.2、HJ 164和HJ 442.3的相关规定采集和运输样品。用采样瓶（5.4.1）采集样品。

5.5.2 样品保存

编制组在纯水中加入阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 混合标准溶液，水中加标浓度0.1 $\mu\text{g/L}$ ，分别用盐酸溶液（5.3.6）和氢氧化钠溶液（5.3.8）调节pH值成2、5、7、9和12，调节后立即测定，比较不同pH值条件下的回收率，结果见表6。阿维菌素在酸性和碱性条件下都会发生降解，pH值在2和12时，回收率均低于60%，在pH值在5~9范围内回收率在90%以上，因此规定如实际水样pH值不在5~9范围，用盐酸溶液（5.3.6）或氢氧化钠溶液（5.3.8）调节pH值至5~9。

表6 不同pH值对阿维菌素稳定性的影响（回收率，%）

化合物	pH值				
	2	5	7	9	12
阿维菌素 B_{1a}	57.3	91.5	95.9	97.2	43.7
阿维菌素 B_{1b}	56.5	93.6	95.1	92.8	39.2

阿维菌素具有光不稳定性，需要避光保存，编制组将地表水、地下水、污水处理厂生活污水、海水和阿维菌素生产企业工业废水置于棕色玻璃瓶中，地表水、地下水、生活污水和海水中阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 均未检出，加标0.1 $\mu\text{g/L}$ 后测定，加标浓度略低于美国EPA自来水风险筛选值0.15 $\mu\text{g/L}$ ；工业废水中阿维菌素 B_{1a} 有检出直接测定，阿维菌素 B_{1b} 未检出，工业废水加标0.1 $\mu\text{g/L}$ 后测定，工业废水中阿维菌素 B_{1b} 加标浓度是编制组实验室内检出限10倍。水样于4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏，每2 d测定1次，结果见表7~表11。避光于4 $^{\circ}\text{C}$ 左右冷藏保存，地表水、地下水、生活污水和海水6 d内响应变化在10%以内，工业废水4 d内响应变化在10%以内，综合考虑地表水和工业废水样品的稳定性，确定样品采集后，调节pH值至在5~9之间，于4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏、避光可保存4 d。

表 7 地表水（长江南京段江水）样品保存试验结果

保存期限	阿维菌素B _{1a}		阿维菌素B _{1b}	
	响应值	回收率（%）	响应值	回收率（%）
0 d	10714	105	10298	97.4
2 d	10708	105	10441	98.7
4 d	10441	102	10413	98.5
6 d	9767	95.7	9978	94.4
8 d	9028	88.5	9019	85.3

表 8 地下水（南京例行监测点井水）样品保存试验结果

保存期限	阿维菌素B _{1a}		阿维菌素B _{1b}	
	响应值	回收率（%）	响应值	回收率（%）
0 d	9891	97	10775	102
2 d	10558	103	10596	100
4 d	10376	102	10185	96.3
6 d	9653	94.6	9719	91.9
8 d	8904	87.3	8847	83.7

表 9 生活污水（城北污水处理厂）样品保存试验结果

保存期限	阿维菌素B _{1a}		阿维菌素B _{1b}	
	响应值	回收率（%）	响应值	回收率（%）
0 d	9742	95.5	9785	92.5
2 d	9992	97.9	10528	100
4 d	9600	94.1	9950	94.1
6 d	9345	91.6	9876	93.4
8 d	8530	83.6	8507	80.4

表 10 海水（连云港近海）样品保存试验结果

保存期限	阿维菌素B _{1a}		阿维菌素B _{1b}	
	响应值	回收率（%）	响应值	回收率（%）
0 d	9535	93.4	9783	92.5
2 d	10023	98.2	9919	93.8
4 d	9725	95.3	9892	93.5
6 d	9435	92.5	9679	91.5
8 d	8566	84.0	8658	81.9

表 11 工业废水（石家庄某阿维菌素生产企业）样品保存试验结果

保存期限	阿维菌素B _{1a}		阿维菌素B _{1b}	
	响应值	回收率（%）	响应值	回收率（%）
0 d	436965	100	10059	95.1
2 d	429278	98.2	9959	94.2
4 d	400978	91.8	9539	90.2
6 d	384001	87.9	9145	86.5
8 d	374987	85.8	7791	73.7

5.6 分析步骤

5.6.1 仪器参考条件

5.6.1.1 检测器的选择

阿维菌素属于大环大分子化合物，常用高效液相色谱分离，紫外检测器、荧光检测器或质谱检测器分析。阿维菌素分子中的共轭二烯结构，在波长 240 nm~250 nm 有紫外吸收，编制组在 245 nm 波长下，紫外检测器直接测定，以 3 倍信噪比计算，仪器检出限 0.1 mg/L，李再兴^[31]等测定制药废水处理出水中阿维菌素浓度在 0.127 μg/L~0.231 μg/L 之间，若用紫外检测器检测废水中阿维菌素，需将水样浓缩千倍以上方可定量，浓缩倍数大，样品基体中的杂质也被富集，容易干扰测定，不利于痕量分析；有食品等检测标准中，将阿维菌素与 *N*-甲基咪唑和三氟乙酸酐衍生反应，用荧光检测器测定，灵敏度优于紫外检测器。经实验室内初步试验，衍生后直接进样仪器检出限 0.5 μg/L，荧光检测器灵敏度、抗干扰性优于紫外检测器，配备荧光检测器的高效液相色谱在环境领域检测机构已较为普遍，确定采用荧光检测法的技术路线，通过了开题论证专家评审。

5.6.1.2 检测波长

使用荧光检测器，《动物源食品中阿维菌素类残留量药物的测定 免疫亲和-液相色谱法》（GB/T 21321-2007）和《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》（农业部 781 号公告-5-2006）阿维菌素荧光检测条件，激发波长 365 nm，发射波长 475 nm。编制组对检测波长进行了验证：固定激发波长 365 nm，扫描得到的阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 最大发射波长为 475 nm；固定发射波长 475 nm，扫描得到的最大激发波长为 365 nm，扫描结果与参考标准方法一致，本标准中阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 激发波长 365 nm，发射波长 475 nm。

5.6.1.3 色谱柱及流动相

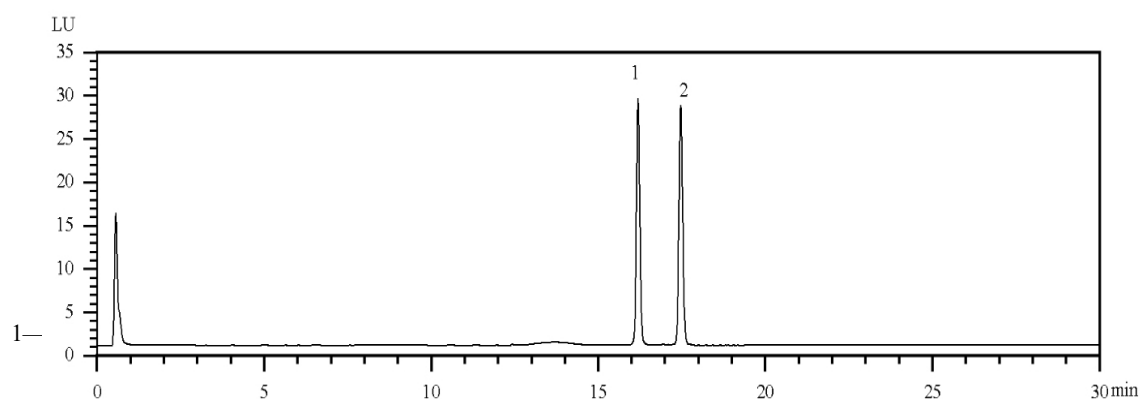
反相液相色谱常用流动相有甲醇和乙腈等，阿维菌素衍生后溶液中存在过量的衍生试剂三氟乙酸酐，需要加入甲醇去除，现行的食品中阿维菌素检测标准方法^[16-17,19]和参考文献^[24,27-28,30,31,33]中阿维菌素测定以甲醇/水作为流动相，为避免增加溶剂种类可能造成液相色谱溶剂效应，参考其他行业分析标准和文献，本标准选用甲醇/水为流动相。C₁₈ 柱是反相液相色谱常用色谱柱，普及率高，上述参考资料除《动物源食品中阿维菌素类药物残留量

的测定《免疫亲和-液相色谱法》(GB/T 21321-2007)外,多选用 C₁₈柱作为分离柱,编制组用 C₁₈柱(柱长 15 cm,内径 4.6 mm,填料粒径 5 μm),分离效果可达到要求。

本标准目标物阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b},文献中液相色谱多采用等度方式分离,编制组比较了甲醇-水体积比分别为 95:5、90:10 和 85:15 时的分离效果。衍生后有杂质峰与阿维菌素 B_{1b}保留时间接近,甲醇比例高时,两者分离度较差,影响目标物定量,调整流动相比,甲醇-水体积比 90:10,流速 1.0 ml/min 时,可实现基线分离,再降低甲醇比例,分离度不再改善,但保留时间增加。

柱温影响目标物保留时间,柱温低保留时间较长,柱温 30 °C,阿维菌素 B_{1b}和阿维菌素 B_{1a}保留时间分别为 21.34 min 和 22.18 min;柱温 40 °C,阿维菌素 B_{1b}和阿维菌素 B_{1a}保留时间缩短至 16.21 min 和 17.53 min,再升高柱温可能对色谱柱寿命产生一定的影响,综合分离度、分析时间等因素,色谱参考条件如下:

色谱柱:填料粒径为 5 μm,柱长 15 cm,内径 4.6 mm 的 C₁₈反相色谱柱或其他性能相近的色谱柱;流动相:甲醇-水,以体积比 90:10 混合;柱温:40 °C;流速:1.0 ml/min;荧光检测器:激发波长 365 nm,发射波长 475 nm。阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}标准液相色谱图见图 2。不同厂家、同一厂家不同型号 C₁₈色谱柱之间存在差异,可根据实际情况调整色谱条件。



1——阿维菌素B_{1b}; 2——阿维菌素B_{1a}。

图2 阿维菌素B_{1a}和阿维菌素B_{1b}标准液相色谱图 ($\rho=100 \mu\text{g/L}$)

5.6.1.4 进样体积

不同厂家、不同型号的液相色谱仪配置不同,普通液相色谱仪进样体积最高可达上百微升,超高效液相色谱则在几微升至十几微升之间,范围差别大。方法验证发现,不同仪器厂商仪器灵敏度有差异,6家验证单位进样体积20 μl,检出限最大值0.03 μg/L,测定下限0.12 μg/L低于美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值0.15 μg/L,本标准推荐进样体积为20 μl。考虑到实际工作中各使用单位仪器使用年限、维护保养程度等不同,仪器性能存在差别,实际进样体积可根据仪器灵敏度调整。

5.6.2 样品预处理

5.6.2.1 水样的富集

(1) 富集方式

水样中目标物常用的富集方式有液液萃取法和固相萃取法等。固相萃取法有机溶剂用量少、可实现自动化，但含悬浮物量较多的水样容易堵塞固相萃取柱，需过滤后方可上样，若悬浮物对目标物吸附能力强，还需提取悬浮物中目标物，水体目标物总量为两相中的总和。编制组先考察了地表水和废水中悬浮物对阿维菌素的吸附情况。

在实际地表水样品（水样悬浮物浓度123 mg/L）中加标1 µg/L，水样经0.45 µm滤膜过滤后用HLB固相萃取柱富集，平行测定6次，计算测定回收率，结果见表12，过滤后阿维菌素平均回收率低于60%。

表 12 加标水样过滤后测定结果

化合物	浓度 (µg/L)						平均回收率 (%)	相对偏差 (%)
	1	2	3	4	5	6		
阿维菌素 B _{1a}	57.5	66.7	43.2	58.9	64.7	55.1	57.7	15
阿维菌素 B _{1b}	56.4	68.1	42.3	60.7	63.4	54.0	57.5	16

在实际工业废水（悬浮物浓度485 mg/L）中加入500 ng阿维菌素混合标准溶液，水样摇匀后过滤，将过滤所得悬浮物用二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂（体积比3:1）超声浸提20 min，浓缩至1 ml后测定，滤膜上截留的阿维菌素B_{1a}和阿维菌素B_{1b}分别为221 ng和214 ng，水中悬浮物对阿维菌素的吸附率超过40%。用固相萃取法富集悬浮物含量高的水样，需事先过滤水样并提取过滤所得悬浮物，合并后计算水样中的阿维菌素浓度，操作较繁琐；液液萃取用有机溶剂直接萃取水样，悬浮物中目标物一并被萃取，更具操作实用性，因此采用液液萃取法富集水样中的阿维菌素。

(2) 液液萃取溶剂

编制组用紫外检测法（避免衍生化步骤对回收率产生影响）比较了乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯-正己烷混合溶剂（体积比 1:1）、乙腈等有机溶剂液液萃取的回收率。移取 5 µl 阿维菌素标准贮备溶液（5.3.18）于 100 ml 实验室用水中，水中阿维菌素浓度为 50 µg/L，除乙腈用量 70 ml（萃取后加入过量氯化钠盐析分层）外，其余有机溶剂用量均为 20 ml，有机相经无水硫酸钠脱水，用氮吹仪浓缩至全干，甲醇溶解定容至 1 ml 后，紫外检测器 245 nm 波长下检测，不同溶剂的萃取回收率结果见图 3。

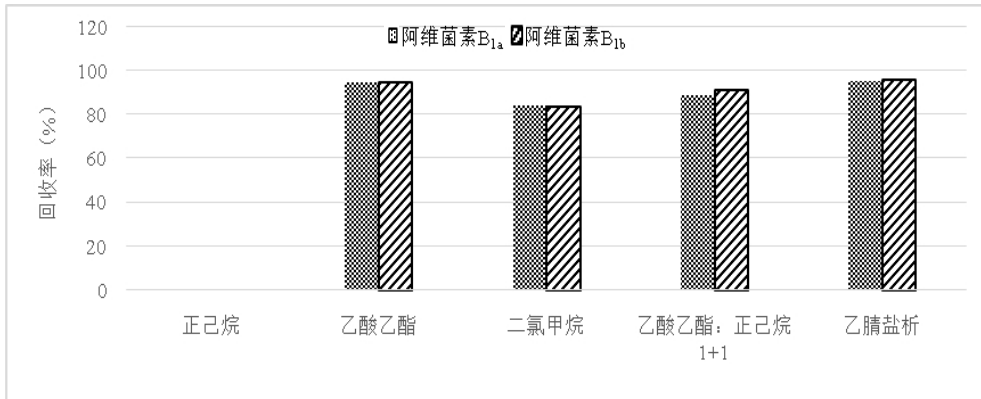


图 3 不同溶剂萃取效果

非极性溶剂萃取效果较差，随着溶剂的极性增强，萃取回收率提高。正己烷对水中阿维菌素几乎无回收，二氯甲烷、乙酸乙酯-正己烷混合溶剂（体积比 1:1）的回收率分别为 84.2%和 89.3%，乙酸乙酯和乙腈的提取效率相当，回收率在 95%左右。乙腈极性大，用乙腈提取水中目标物，乙腈用量大，需加入大量盐，才能实现乙腈与水相的分层，乙腈毒性也较大。相比而言，乙酸乙酯毒性小，用量 20 ml 即可达到较好的提取效果，但乙酸乙酯沸点较高（77 °C），浓缩耗费的时间较长，二氯甲烷沸点（39.7 °C）较低，编制组将二氯甲烷与乙酸乙酯按不同比例混合，优化最佳比例，目的是既能保证回收率，又能缩短浓缩时间，提高工作效率。

编制组比较了二氯甲烷和乙酸乙酯体积比分别为 1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、9:1 的萃取回收率，分别用 20 ml 上述溶剂，对 100 ml 加标浓度为 50 μg/L 的水样进行萃取，萃取浓缩后，溶剂转换成甲醇，紫外检测器 245 nm 波长测定，回收率结果见图 4。二氯甲烷中加入乙酸乙酯后回收率有所提高，二氯甲烷和乙酸乙酯体积比 2:1 和 3:1 时效果最好，回收率 97%以上，再增加乙酸乙酯比例，回收率虽然也在 90%以上，但浓缩时间延长，最终确定萃取溶剂为二氯甲烷和乙酸乙酯体积比为 3:1 的混合溶剂。

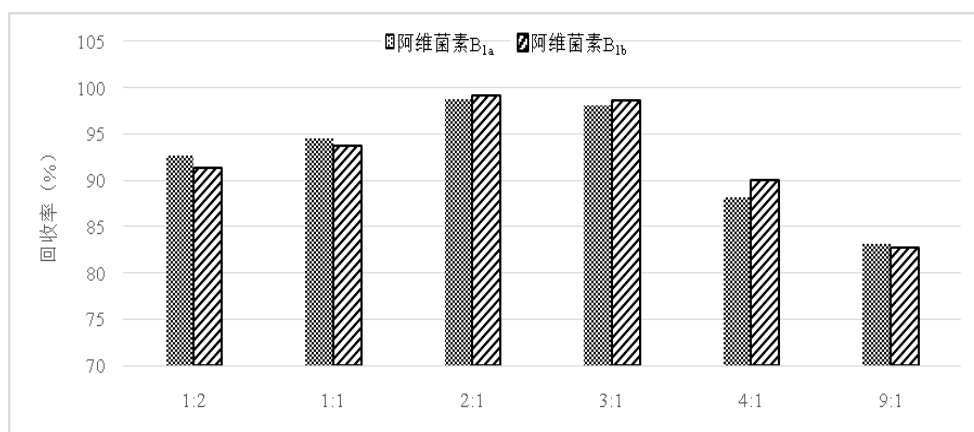


图 4 不同比例二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂萃取回收率结果

(3) 盐析效应

在液液萃取时加入溶解性盐可改变目标物在两相的分配比，促使水中有机物进入有机相，常用的盐有氯化钠等。编制组在 100 ml 加标浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的水样中分别加入 0 g、1 g、2 g、3 g、4 g、5 g、6 g、7 g、8 g 氯化钠，用 20 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂（体积比 3:1）萃取，紫外检测器 245 nm 波长检测，回收率见图 5。加入氯化钠有利于提高萃取回收率，加入 6 g 以上回收率都能达到 90% 以上，因此确定 100 ml 水样中加入 6 g 氯化钠。海水盐分基体较为复杂，含盐量一般在 3% 左右^[36]，编制组和验证单位海水精密度和准确度试验未加入氯化钠，精密度相对偏差在 2.0%~15%，回收率在 79.6%~102% 之间，满足分析要求，因此标准说明海水可不加氯化钠。

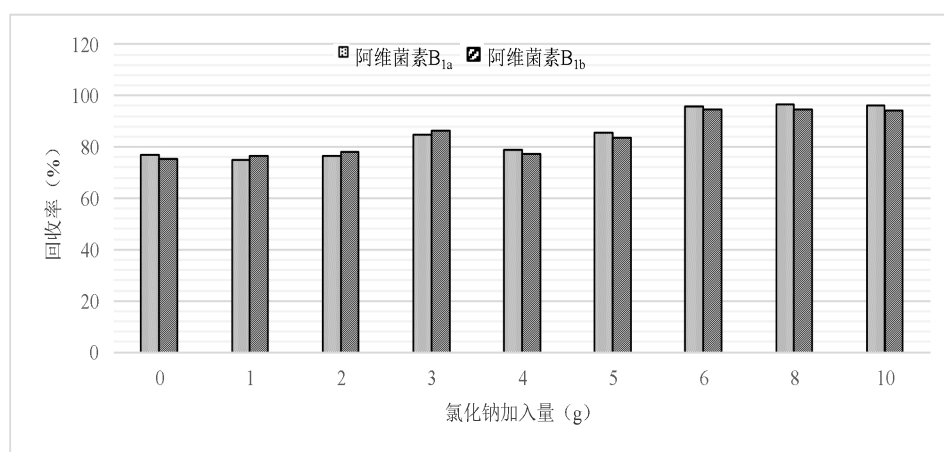


图 5 不同氯化钠加入量的回收率

(4) 萃取次数

增加萃取次数有利于提高萃取效率，比较了 20 ml 混合溶剂对 100 ml 浓度为 1 $\mu\text{g/L}$ 加标水样萃取 1 次和 2 次的回收率，结果见表 13。在不加氯化钠的情况下，需要萃取 2 次回收率才能达到 95% 以上，加入 6 g 氯化钠后 20 ml 混合溶剂萃取 1 次的回收率即可达 95% 以上。最终确定的萃取方法：100 ml 水样，加入 6 g 氯化钠，用 20 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）萃取 1 次。

表 13 不同萃取次数回收率测定结果

化合物	回收率 (%)			
	0 g 氯化钠		6 g 氯化钠	
	1 次	2 次	1 次	2 次
阿维菌素 B _{1a}	74.2	95.7	95.8	95.5
阿维菌素 B _{1b}	75.9	95.2	95.7	95.6

5.6.2.2 浓缩温度和时间

提取液浓缩至干的过程可能造成目标物的损失，编制组比较了不同浓缩温度的回收率。于 100 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）中加入 0.1 mg 阿维菌素，用氮吹仪分别于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、40 $^{\circ}\text{C}$ 、50 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 浓缩至全干并保持氮气吹扫 30 min，加入 1 ml 甲醇溶解，用紫外检测器 245 nm 波长直接测定，结果见表 14。回收率在 100%~107% 之间，浓

缩吹干阿维菌素不会损失，原因是阿维菌素为十六环内酯化合物，分子量大，熔点较高，性质较为稳定。确定提取液于 60 °C 以下浓缩至干。

表 14 不同浓缩温度回收率测定结果

温度	回收率 (%)	
	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}
30 °C	100	103
40 °C	104	107
50 °C	102	101
60 °C	101	104

5.6.2.3 净化

(1) 净化柱

液液萃取后的提取液中可能存在干扰物质，选择净化柱净化，比较了 C₁₈、HLB、弗洛里硅土和石墨化碳黑填料的净化效果。净化柱先用 6 ml 甲醇活化，再用 6 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）冲洗，待柱上填料暴露于空气前，将 6 ml 浓度为 1 µg/ml 阿维菌素的溶液上样，收集流出液，用 5 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）淋洗，收集全部流出液，浓缩至干，用 1 ml 甲醇溶解后测定，回收率结果见图 6，其中 HLB 柱、石墨化碳黑柱回收率均在 95% 以上；C₁₈ 柱回收率略低，在 88.7% 左右；弗洛里硅土柱回收率最低，在 2% 以下。

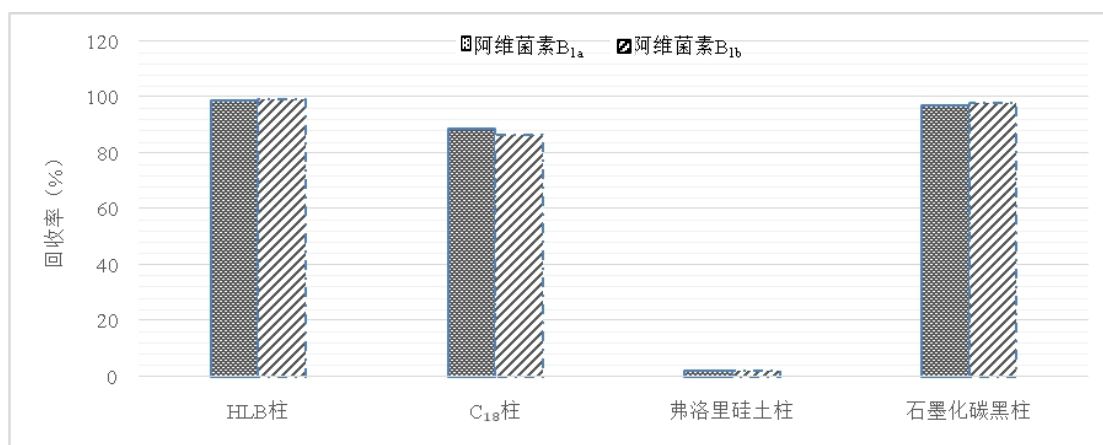


图 6 阿维菌素经不同净化柱净化的回收率

本标准用荧光法测定阿维菌素，化合物如果不含荧光吸收官能团则不会被检测，能起到一定的抗干扰作用，但多环芳烃等常见有荧光响应污染物可能对测定产生干扰，编制组将浓度为 500 µg/L 的 16 种多环芳烃混合标准溶液，用荧光检测器在阿维菌素测定波长条件下分析，发现有明显响应，因此将多环芳烃做为干扰物对固相萃取柱净化效果进行试验。于 1 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）中加入 16 种混合多环芳烃溶液，加标量 500 ng，1 ml 溶剂中多环芳烃浓度 500 µg/L，直接上 HLB 柱和石墨化碳黑柱净化，再用

6 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯溶剂（体积比 3:1）洗脱，合并全部流出液，浓缩至干，衍生后用甲醇定容至 1 ml，荧光检测器在阿维菌素荧光测定条件下分析，多环芳烃经石墨化碳黑柱净化前后的液相色谱图见图 7，多环芳烃经过石墨化碳黑柱后基本无回收，表明在上述条件下多环芳烃被保留在石墨化碳黑柱上；多环芳烃经 HLB 柱净化前后的液相色谱图见图 8，多环芳烃在 HLB 柱上可与阿维菌素同时被洗脱，洗脱效率 95%以上，HLB 柱对多环芳烃无法起到净化效果。选择石墨化碳黑柱作为净化柱，推荐规格 500 mg/6 ml，固相萃取柱规格可以根据实际样品情况选择。

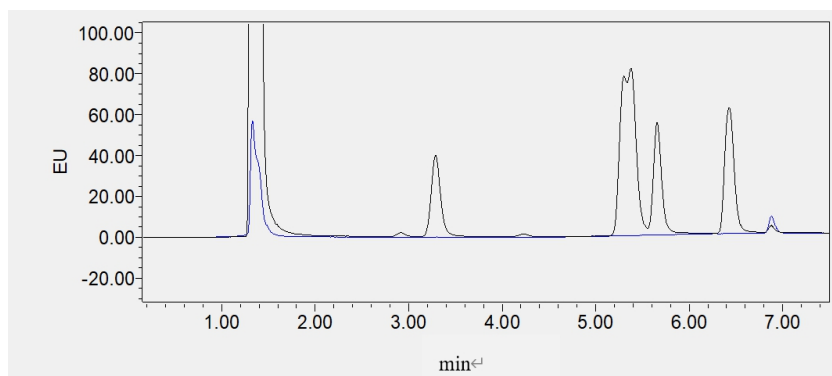


图 7 多环芳烃经石墨化碳黑柱净化前后液相色谱图

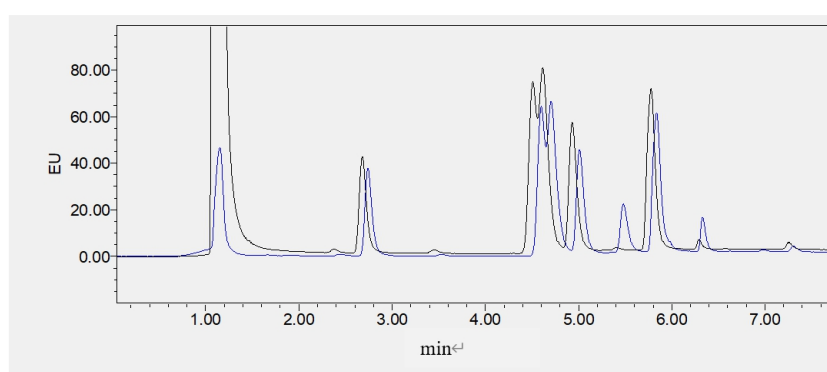


图 8 多环芳烃经 HLB 柱净化前后色谱图

(2) 洗脱溶剂用量

根据淋洗流出曲线实验确定淋洗溶剂用量，将 2 ml 200 $\mu\text{g/L}$ 阿维菌素混合标准溶液经过石墨化碳黑柱，用二氯甲烷-乙酸乙酯（体积比 3:1）洗脱，每流出 1 ml 收集 1 次，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 分段收集回收率见图 9。前 5 ml 总回收率已经在 95% 以上，因此确定淋洗液体积 5 ml。

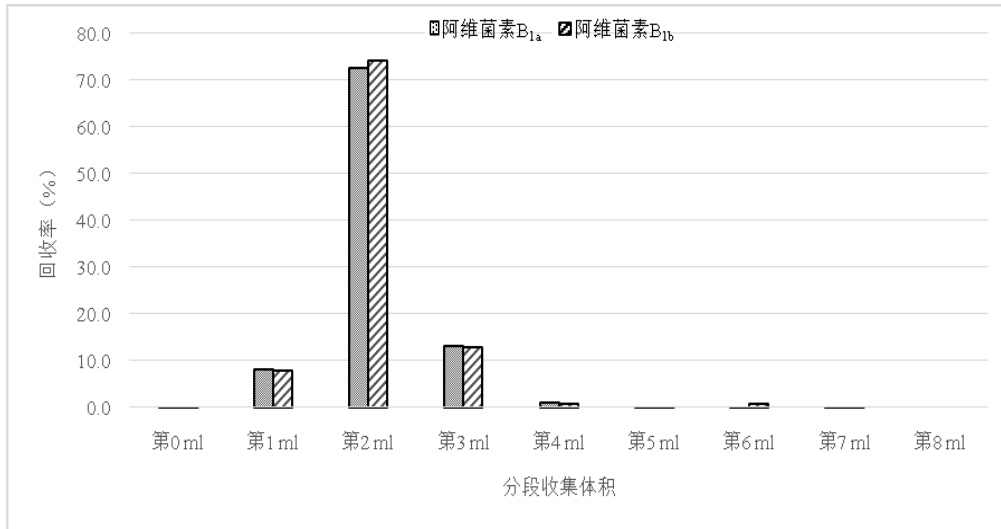


图9 阿维菌素在石墨化碳黑净化柱淋洗流出曲线

5.6.2.4 衍生化

阿维菌素在*N*-甲基咪唑存在下与三氟乙酸酐发生衍生化反应，生成荧光物质，反应完成后，加入甲醇去除过量的三氟乙酸酐，衍生产物经液相色谱柱分离，荧光检测器测定。参考食品类标准《食品安全国家标准 牛奶中阿维菌素类药物多残留的测定 高效液相色谱法》（GB 29696-2013），将*N*-甲基咪唑和乙腈按照1:1体积比配成衍生化试剂I（5.3.16），将三氟乙酸酐和乙腈按照1:2体积比配成衍生化试剂II（5.3.17）。

向离心管中加入100 μl衍生化试剂I（5.3.16），于涡旋混合器（5.4.5）上涡旋30 s溶解残留物，加入150 μl衍生化试剂II（5.3.17），加盖于涡旋混合器（5.4.5）上涡旋10 s，静置反应20 min，加入750 μl甲醇（5.3.3），静置30 min以上，过0.45 μm滤膜（5.3.21）进样分析。

三氟乙酸酐容易吸水失效，建议现用现配。编制组对可能影响衍生化反应的因素进行试验，最终确定最佳衍生化条件。

（1）衍生容器密闭性

衍生试剂三氟乙酸酐容易吸水，相关食品检测标准和参考文献中报道衍生化反应在密闭容器中衍生化反应，编制组分别在敞口氮吹仪浓缩管和具塞离心管中加入0.1 μg阿维菌素，按上述方法进行衍生化反应后测定，比较敞口和密闭容器中衍生化反应的稳定性，结果见表15，敞口氮吹仪浓缩管中产物峰面积小于密闭离心管中反应产物峰面积，平行性较差；在密闭离心管中的反应产物峰面积波动明显减小，3次平行测定峰面积相对偏差在3%以内，因此应在密闭条件下进行衍生化反应。浓缩装置配套浓缩管如不密闭，需先将提取液浓缩至约1 ml，转移至5 ml具塞离心管中，用2 ml左右二氯甲烷清洗浓缩管，合并全部有机相至具塞离心管，浓缩至全干待衍生化。如浓缩管具塞，则提取液或净化收集的溶液可以直接浓缩至干，无需转移至离心管。

表 15 敞口和密闭衍生容器衍生效果比较

化合物	氮吹仪浓缩（敞口衍生）				具塞玻璃离心管（密闭衍生）			
	峰面积	峰面积	峰面积	RSD (%)	峰面积	峰面积	峰面积	RSD (%)
阿维菌素 B _{1b}	1473369	767844	2029657	44.4	4911398	4763640	4794778	2.2
阿维菌素 B _{1a}	1338182	708293	1639081	38.7	3839111	3845873	3857249	0.7

(2) 衍生反应时间

在离心管中加入0.1 μg阿维菌素，按上述方法加入衍生试剂后放置，间隔一段时间后测定，考察衍生反应时间的影响，结果见表16。结果显示衍生反应20 min后峰面积趋于稳定，因此规定衍生反应时间20 min。

表 16 不同衍生反应时间响应值

化合物	峰面积			
	5 min	10 min	20 min	30 min
阿维菌素 B _{1b}	6222642	6450714	6996034	6963633
阿维菌素 B _{1a}	5540787	5655625	6150663	6195236

(3) 衍生反应温度

编制组比较了室温（10 °C）和恒温 40 °C条件下衍生后的峰面积响应值，平行测定 3 次，结果见表 17。温度提高，峰面积响应值变化不明显，因此可在室温下进行反应，无需专门控制反应温度。

表 17 不同衍生反应温度响应值

化合物	温度	第 1 次	第 2 次	第 3 次	均值	RSD (%)
阿维菌素 B _{1b}	室温 10 °C	17356	17322	17196	17291	0.5
	恒温 40 °C	18937	18775	18524	18745	1.1
阿维菌素 B _{1a}	室温 10 °C	17109	17176	17052	17142	0.4
	恒温 40 °C	18698	18487	18289	18592	1.1

(4) 加入甲醇衍生物转化时间

在衍生化反应完成后，加入甲醇去除过量的三氟乙酸酐，试验发现加入甲醇后立刻测定的峰面积小于放置一段时间后测定的峰面积。谢显传^[37]等研究报道，阿维菌素在衍生反应后存在一个含4'-三氟乙酰基的荧光衍生物（酯式），当它遇水或醇类等含羟基物质时极不稳定，酯键发生断裂转化为稳定的醇式结构，即阿维菌素酯式衍生物在甲醇存在下，经过一段时间，转化为更稳定的醇式结构衍生物。编制组比较了校准曲线最高点浓度1 mg/L衍生化后，加入甲醇放置不同时间的色谱峰面积，结果见表18。加入甲醇30 min后峰面积

响应趋于稳定，与谢显传研究结论相似。标准规定衍生后加入甲醇放置30 min以上测定。

表 18 加入甲醇后放置不同时间后衍生物响应值

化合物	峰面积				
	10 min	20 min	30 min	60 min	90 min
阿维菌素 B _{1b}	12788210	18554585	20016244	20867215	20027511
阿维菌素 B _{1a}	11230011	17640014	18286732	18281696	18332223

(4) 衍生后溶液保存

傅强^[28]等研究阿维菌素衍生后的样品于4 °C下冷藏保存，在2 d内衍生化产物保持稳定，在-20 °C下冷冻保存，5 d内衍生化产物保持稳定。编制组购置的阿维菌素纯品生产商推荐在-18 °C保存。编制组将不同浓度的阿维菌素衍生物在-18 °C保存，每隔一段时间测定一次，结果见表19和表20。不同化合物不同浓度下的保存效果有差异，阿维菌素B_{1a}7 d内回收率90%以上；阿维菌素B_{1b}3 d内回收率90%以上，之后呈下降趋势，第7 d时，5 µg/L回收率降至67.6%，标准规定阿维菌素衍生后溶液在-18 °C可保存3 d。

最终确定的衍生化操作步骤为：加入100 µl 衍生化试剂I（5.3.16），涡旋30 s溶解，加入150 µl衍生化试剂II（5.3.17），加盖涡旋混合，反应20 min后加入750 µl甲醇，涡旋混合，静置30 min以上，过0.45 µm有机相滤膜后进样分析。衍生后如不能立刻分析，于-18 °C保存，3 d内完成分析。

表 19 阿维菌素 B_{1b} 衍生后溶液保存试验结果

保存时间	5 µg/L		10 µg/L		20 µg/L		50 µg/L		200 µg/L		400 µg/L		1000 µg/L	
	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)
0 d	117024	100	216645	100	406927	100	899397	100	3798047	100	8550493	100	21556228	100
1 d	111141	95.0	218948	101	404305	99.4	884750	98.4	3816827	100	8529586	99.8	21603680	100
2 d	106546	91.0	204106	94.2	467713	115	887293	98.7	3672719	96.7	8116927	94.9	20857067	96.8
3 d	105514	90.2	192022	88.6	372779	91.6	791488	88.0	3759562	99.0	8135146	95.1	19777763	91.7
6 d	99989	85.4	180104	83.1	356967	87.7	774765	86.1	3633666	95.7	7915989	92.6	20498426	95.1
7 d	79120	67.6	165786	76.5	343133	84.3	753144	83.7	3273560	86.2	7460974	87.3	19079320	88.5

表 20 阿维菌素 B_{1a} 衍生后溶液保存试验结果

保存时间	5µg/L		10 µg/L		20 µg/L		50 µg/L		200 µg/L		400 µg/L		1000 µg/L	
	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)	峰面积	回收率 (%)
0 d	101368	100	189610	100	365564	100	817270	100	3556930	100	8001030	100	20320410	100
1 d	101917	101	198366	105	372470	102	809652	99.1	3563835	100	7976583	99.7	20280169	99.8
2 d	95045	93.8	206590	109	351539	96.2	821447	101	3416600	96.1	7708945	96.3	19517154	96.0
3 d	91414	90.2	182919	96.5	350047	95.8	782549	95.8	3479171	97.8	7611707	95.1	19934980	98.1
6 d	91981	90.7	180689	95.3	352296	96.4	779253	95.3	3356615	94.4	7409303	92.6	19148658	94.2
7 d	91256	90.0	173700	91.6	352032	96.3	753469	92.2	3339557	93.9	7526363	94.1	19453947	95.7

5.6.2.5 取样体积

编制组直接配制 5 µg/L 阿维菌素标准溶液，衍生化后进样 20 µl，信噪比 43:1，可以准确定量，取样体积以 100 ml 计，预估测定下限 0.05 µg/L，相应的检出限 0.02 µg/L 左右，低于 EPA 自来水中阿维菌素筛选阈值 0.15 µg/L 近 1 个数量级，初步确定取样体积 100 ml。经 6 家验证实验室验证，取样体积 100 ml，进样 20 µl，检出限最高值 0.03 µg/L，测定下限 0.12 µg/L，测定下限低于 EPA 自来水中阿维菌素筛选阈值，最终确定取样体积 100 ml，视水样实际情况，取样量可适当减少。

5.6.3 校准曲线

本方法测定的是阿维菌素衍生物，校准曲线绘制按照衍生步骤进行。校准曲线最低点参考浓度在测定下限附近。按照本方法检出限 0.03 µg/L，测定下限 0.12 µg/L，以 100 ml 水样定容至 1 ml 计算，测定下限对应的上机浓度为 12 µg/L，本标准校准曲线最低点参考浓度 20.0 µg/L，是测定下限对应上机浓度的 1.67 倍。具体绘制步骤为：准确移取一定体积的阿维菌素标准使用液（5.3.19）于具塞离心管中，60 °C 以下浓缩至干，按照 5.6.2.4 最终确定的步骤衍生化，制备至少 5 个浓度点的标准系列，目标物的质量浓度分别为 20.0 µg/L、100 µg/L、200 µg/L、500 µg/L 和 1000 µg/L（此为参考浓度），由低浓度到高浓度依次进样，以目标物浓度为横坐标，响应峰面积或峰高为纵坐标，建立校准曲线。实验室内阿维菌素 B_{1a} 的回归方程为 $y=9760x-2567$ ，相关系数 $r=0.9995$ ；阿维菌素 B_{1b} 的回归方程为 $y=9549x+4708$ ，相关系数 $r=0.9992$ 。

5.6.4 检出限和测定下限试验

编制组于 2013 年进行实验室内检出限试验。按照样品分析全部过程进行空白试验，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 均未检出，检出限试验在 100 ml 水中加标 0.05 µg/L 后测定，加标浓度为估计检出限值 2~5 倍，测定 7 次，计算标准偏差，用公式： $MDL = S \times t_{(n-1,0.99)}$ （连续分析 7 个样品，在 99% 的置信区间， $t_{6,0.99} = 3.143$ ）进行计算，其中： $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度为 99%、自由度为 $n-1$ 时的 t 值； n 为重复分析的样品数，测定下限为 4 倍检出限。阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 检出限 0.01 µg/L，测定下限 0.04 µg/L，结果见表 21。《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）实施后，按照标准要求，对检出限结果重新进行合理性判断。标准规定目标物为多组分的分析方法，至少有 50% 的被分析物样品浓度在 3~5 倍计算出的方法检出限范围内，同时至少 90% 的被分析物样品浓度在 1~10 倍计算出的方法检出限的范围内，其余不多于 10% 的被分析物样品浓度不应超过 20 倍计算出的方法检出限。检出限试验结果，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 测定浓度均值 0.05 µg/L，计算所得方法检出限 0.01 µg/L，测定浓度是计算所得方法检出限的 5 倍，满足“分析物样品浓度在 3~5 倍计算所得方法检出限范围内”的要求。

仪器检出限：进样 20 µl，3 倍信噪比对应的阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 上机浓度 0.5 µg/L，取样体积以 100 ml 计，阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 仪器检出限为 0.005 µg/L。

方法检出限取仪器检出限和空白加标计算所得检出限的较大值 0.01 µg/L，测定下限为 4 倍检出限 0.04 µg/L。

表 21 检出限和测定下限

平行样编号	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.0494	0.0544
	2	0.0493	0.0483
	3	0.0456	0.0476
	4	0.0530	0.0469
	5	0.0500	0.0477
	6	0.0510	0.0528
	7	0.0533	0.0498
平均值 ($\mu\text{g/L}$)	0.050	0.050	
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)	0.003	0.003	
<i>t</i> 值	3.143	3.143	
计算的方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	0.01	0.01	
仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)	0.005	0.005	
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	0.01	0.01	
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)	0.04	0.04	

5.6.5 方法精密度试验

编制组分析地表水、地下水、海水和生活污水实际水样，阿维菌素未检出，在地表水、地下水、海水和生活污水实际水样中加标验证方法精密度，其中地表水为长江南京段江水，地下水为南京例行监测点井水，海水为江苏连云港近海例行监测点海水，生活污水为南京城北污水处理厂出水。地表水低浓度加标和地下水加标浓度 $0.05 \mu\text{g/L}$ ，略高于编制组测定下限（ $0.04 \mu\text{g/L}$ ），是美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值 $0.15 \mu\text{g/L}$ 的三分之一；地表水中浓度加标 $0.20 \mu\text{g/L}$ ，接近美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值 $0.15 \mu\text{g/L}$ ；地表水高浓度加标和生活污水加标 $1.00 \mu\text{g/L}$ ，加标浓度参考了原《生物类农药工业水污染物排放标准（征求意见稿）》现有企业排放限值 $1 \mu\text{g/L}$ 。海水加标浓度 $0.20 \mu\text{g/L}$ ，接近美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值 $0.15 \mu\text{g/L}$ 。工业废水为石家庄某阿维菌素生产企业废水，阿维菌素B_{1a}有检出，浓度 $0.17 \mu\text{g/L}$ ，阿维菌素B_{1b}未检出，工业废水也采取实际水样加标验证方法精密度，低浓度加标 $1.00 \mu\text{g/L}$ ，高浓度加标 $10.0 \mu\text{g/L}$ ，废水低浓度加标浓度参考了原《生物类农药工业水污染物排放标准（征求意见稿）》现有企业排放限值 $1 \mu\text{g/L}$ ，高浓度加标为低浓度加标10倍。每种样品平行测定6次，计算相对标准偏差统计方法的精密度，结果见表22~表24。

地表水相对标准偏差为3.1%~9.1%，地下水相对标准偏差为8.7%~13%，海水相对标准偏差为3.1%~5.7%，生活污水相对标准偏差为3.9%~7.7%，工业废水相对标准偏差为1.7%~7.0%。

表 22 地表水和地下水加标样品精密度测定结果

平行样编号		化合物							
		阿维菌素 B _{1b}				阿维菌素 B _{1a}			
		地表水加标			地下水加标	地表水加标			地下水加标
		0.05 µg/L	0.20 µg/L	1.00 µg/L	0.05 µg/L	0.05 µg/L	0.20 µg/L	1.00 µg/L	0.05 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.049	0.195	0.933	0.052	0.054	0.180	1.03	0.057
	2	0.049	0.179	0.926	0.040	0.048	0.186	0.931	0.049
	3	0.046	0.187	0.941	0.057	0.048	0.191	1.00	0.054
	4	0.057	0.177	0.991	0.043	0.047	0.181	1.04	0.047
	5	0.050	0.191	0.884	0.047	0.043	0.195	0.842	0.050
	6	0.057	0.206	0.990	0.045	0.045	0.185	1.03	0.046
平均值 (µg/L)		0.051	0.189	0.944	0.047	0.047	0.186	0.979	0.050
标准偏差 (µg/L)		0.005	0.011	0.041	0.006	0.004	0.006	0.078	0.004
相对标准偏差 (%)		9.1	5.7	4.3	13	8.4	3.1	8.0	8.7

表 23 海水和生活污水加标样品精密度测定结果

平行样编号		化合物			
		阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
		海水加标 0.20 µg/L	生活污水加标 1.00 µg/L	海水加标 0.20 µg/L	生活污水 加标 1.00 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.195	0.871	0.180	0.858
	2	0.179	0.872	0.186	0.884
	3	0.187	0.921	0.191	0.904
	4	0.177	0.951	0.181	0.953
	5	0.191	0.864	0.195	0.896
	6	0.206	0.910	0.185	0.752
平均值 (µg/L)		0.189	0.898	0.186	0.874
标准偏差 (µg/L)		0.011	0.035	0.006	0.068
相对标准偏差 (%)		5.7	3.9	3.1	7.7

表 24 工业废水加标样品精密度测定结果

平行样编号		化合物			
		阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
		加标 1.00 µg/L	加标 10.0 µg/L	加标 1.00 µg/L	加标 10.0 µg/L
测定结果 (µg/L)	本底值	ND	ND	0.170	0.170
	1	0.835	7.77	1.02	7.82
	2	0.756	8.78	0.991	8.79
	3	0.742	7.64	0.970	7.73
	4	0.746	7.65	0.981	7.66

平行样编号		化合物			
		阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
		加标 1.00 µg/L	加标 10.0 µg/L	加标 1.00 µg/L	加标 10.0 µg/L
	5	0.852	7.75	0.985	8.79
	6	0.851	7.15	0.982	8.78
平均值 (µg/L)		0.797	7.79	0.988	8.26
标准偏差 (µg/L)		0.054	0.535	0.017	0.577
相对标准偏差 (%)		6.8	6.9	1.7	7.0

5.6.6 方法正确度试验

正确度验证实际样品测定同精密度验证，每种类型水样平行测定 6 次，分别计算各类型样品的加标回收率，结果见表 25~表 27。地表水加标回收率在 93.2%~102%，地下水加标回收率在 92.0%~98.0%，海水回收率加标在 93.0%~94.5%，生活污水加标回收率在 87.5%~87.8%，工业废水加标回收率在 77.9%~81.8%。

表 25 地表水样品加标正确度测定结果

平行样编号		化合物					
		阿维菌素 B _{1b}			阿维菌素 B _{1a}		
		样品 1	样品 2	样品 3	样品 1	样品 2	样品 3
测定结果 (µg/L)	本底值	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1	0.049	0.195	0.933	0.054	0.180	1.03
	2	0.049	0.179	0.926	0.048	0.186	0.93
	3	0.046	0.187	0.941	0.048	0.191	1.00
	4	0.057	0.177	0.991	0.047	0.181	1.04
	5	0.050	0.191	0.884	0.043	0.195	0.842
	6	0.057	0.206	0.990	0.045	0.185	1.03
平均值 (µg/L)		0.051	0.189	0.944	0.048	0.186	0.979
加标量 (µg/L)		0.05	0.20	1.00	0.05	0.20	1.00
加标回收率 (%)		102	94.6	94.4	95.0	93.2	97.9

表 26 地下水和海水样品加标正确度测定结果

平行样编号		化合物			
		阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
		地下水加标样	海水加标样	地下水加标样	海水加标样
测定结果 (µg/L)	本底值	ND	ND	ND	ND
	1	0.052	0.195	0.057	0.180
	2	0.040	0.179	0.049	0.186
	3	0.057	0.187	0.054	0.191
	4	0.033	0.177	0.037	0.181
	5	0.047	0.191	0.050	0.195
	6	0.045	0.206	0.046	0.185
平均值 (µg/L)		0.046	0.189	0.049	0.186

平行样编号	化合物			
	阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
	地下水加标样	海水加标样	地下水加标样	海水加标样
加标量 (μg/L)	0.05	0.20	0.05	0.20
加标回收率 (%)	92.0	94.5	98.0	93.0

表 27 生活污水和生产企业工业废水样品加标正确度测定结果

平行样编号		化合物					
		阿维菌素 B _{1b}			阿维菌素 B _{1a}		
		生活污水	生产企业 废水加标 1	生产企业 废水加标 2	生活污水	生产企业 废水加标 1	生产企业 废水加标 2
测定结果 (μg/L)	本底值	ND	ND	ND	ND	0.170	0.170
	1	0.871	0.835	7.77	0.858	1.02	7.82
	2	0.872	0.756	8.78	0.884	0.991	8.79
	3	0.921	0.742	7.64	0.904	0.970	7.73
	4	0.951	0.746	7.65	0.953	0.981	7.66
	5	0.864	0.852	7.75	0.896	0.985	8.79
	6	0.910	0.851	7.15	0.752	0.982	8.78
平均值 (μg/L)		0.898	0.797	7.79	0.875	0.988	8.26
加标量 (μg/L)		1.00	1.00	10.0	1.00	1.00	10.0
加标回收率 (%)		89.8	79.7	77.9	87.5	81.8	80.9

本标准最终确定的分析步骤为：取 100 ml 水样，加入 6 g 氯化钠（5.3.9），用 20 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂（5.3.15）振荡萃取，静置分层，有机相经无水硫酸钠（5.3.10）除水后收集至浓缩管中，如不需净化，用浓缩装置浓缩至 1 ml 左右，转移至具塞离心管（5.4.7）中，浓缩至干；如需净化，则用浓缩装置浓缩至 2 ml 左右，用 6 ml 甲醇活化净化柱（5.3.20），再用 6 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂（5.3.15）冲洗，弃去有机相，待净化柱（5.3.20）填料暴露于空气前，将提取液转移至已经活化过的石墨化碳黑净化柱（5.3.20）上，自然流出，收集流出液，用 5 ml 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶剂（5.3.15）淋洗净化柱，收集全部流出液，用浓缩装置浓缩至 1 ml 左右，转移至离心管中，浓缩至干。如浓缩管具塞，则提取液或净化收集的溶液可直接浓缩至干，无需转移至离心管。在离心管中加入 100 μl 衍生试剂 I（5.3.16），涡旋 30 s 溶解，加入 150 μl 衍生试剂 II（5.3.17），加盖涡旋混合 10 s，反应 20 min 后加入 750 μl 甲醇，涡旋混合 10 s，静置 30 min 以上，过 0.45 μm 有机相滤膜后（5.3.21）进样分析。衍生后如不能立刻分析，-18 °C 保存，3 d 内完成分析。

5.7 结果计算与表示

5.7.1 定性分析

根据样品中目标物与校准系列中目标物的保留时间进行定性。

在本标准推荐的色谱参考条件下，目标物的标准色谱图见 5.6.1.3 图 5-1。

5.7.2 结果计算

根据目标物的峰面积，采用外标法定量。

按式（1）计算样品中阿维菌素的质量浓度。

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \times D \quad (1)$$

式中： ρ ——样品中目标物的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 ——由校准曲线计算所得的目标物质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

V_1 ——试样的定容体积， ml ；

V ——取样体积， ml ；

D ——试样的稀释倍数。

5.7.3 结果表示

测定结果最多保留 3 位有效数字，小数点后位数最多与方法检出限一致。

5.8 质量保证和质量控制

5.8.1 校准曲线及核查

每批次样品分析前应分析校准曲线。校准曲线至少需要 5 个浓度点，6 家方法验证单位校准曲线相关系数均在 0.995 以上，标准规定线性相关系数应 ≥ 0.995 ，否则应查找原因并重新绘制校准曲线。

若样品连续分析超过 24 h，则每 24 h 分析 1 次校准曲线中间浓度点，测定结果与标准值的相对误差应在 $\pm 20\%$ 以内，否则应重新建立校准曲线。

5.8.2 空白控制

每批样品至少分析 1 个全程序空白和实验室空白，目标物的浓度应低于方法检出限。

5.8.3 平行样

每 20 个样品或每批次样品（少于 20 个）分析 1 个平行样品。

根据 6 家实验室的地表水、地下水、海水、生活污水、工业废水样品加标实验结果进行统计，测定结果大于方法测定下限的化合物，以 6 次平行测定结果最大值和最小值计算平行样相对偏差，相对偏差最大值 21%，标准规定平行样测定结果的相对偏差应在 $\pm 30\%$ 以内，否则查找原因并重新分析。

5.8.4 基体加标

每 20 个样品或每批次样品（少于 20 个）应测定 1 个基体加标样。统计编制组和 6 家方法验证全部实验室结果，实际样品加标回收率在 69.6%~120%之间，标准规定基体加标回收率应在 60%~130%之间。

5.9 注意事项

三氟乙酸酐容易吸水失效，开瓶后注意密闭保存。

6 方法比对

目前暂无与本标准测定目标物相同的现行标准，未开展方法比对工作。

7 方法验证

7.1 方法验证方案

7.1.1 验证实验室和验证人员

调研实验室在半挥发性有机物分析方面的能力，选择 6 家有资质方法验证实验室，分别为：1. 河北省生态环境监测中心，2. 江苏省镇江环境监测中心，3. 江苏省扬州环境监测中心，4. 江苏省泰州环境监测中心，5. 江苏省苏力环境科技有限责任公司，6. 江苏新锐环境监测有限公司。验证实验室和人员信息见表 28。各验证实验室具备本标准测定所需仪器设备，包含应用较为广泛的仪器品牌，实验室配备的仪器设备情况见表 29；验证使用主要试剂及溶剂见表 30。

表 28 参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况

验证单位	姓名	性别	年龄	职务或职称	所学专业	从事相关分析工作年限
河北省生态环境监测中心	冯媛	女	39	高级工程师	应用化学	12年
	杨丽丽	女	38	高级工程师	环境与土地规划工程	14年
	赵鑫	女	36	工程师	环境科学	12年
江苏省镇江环境监测中心	董铮	男	43	高级工程师	化工工艺	13年
	李双双	女	38	高级工程师	有机合成	6年
江苏省扬州环境监测中心	冷俊	男	37	高级工程师	分析化学	11年
江苏省泰州环境监测中心	翟有朋	男	37	高级工程师	环境科学	10年
	毛慧	女	37	高级工程师	物理化学	12年
	张颖	女	34	工程师	有机化学	8年
	张永兵	男	41	高级工程师	环境科学	8年
江苏省苏力环境科技有限责任公司	丁曦宁	女	40	高级工程师	环境工程	20年
江苏新锐环境监测有限公司	戴玄吏	男	47	高级工程师	环境科学	19年
	那晶晶	女	35	中级工程师	分析化学	9年
	孙志军	男	25	助理工程师	海洋资源与环境	2年
	夏飞	男	25	助理工程师	资源环境科学	2年
	朱程	男	27	助理工程师	应用化学	5年

表 29 方法验证实验室使用仪器情况

验证单位	仪器名称	规格型号	出厂编号	性能状况
河北省生态环境监测中心	液相色谱仪	Agilent 1260	DEAB802706	良好
江苏省镇江环境监测中心	液相色谱仪	Agilent 1200	DE60556810	良好
江苏省扬州环境监测中心	液相色谱仪	岛津 SCL-10AVP	C21014317837	良好
江苏省泰州环境监测中心	液相色谱仪	Waters 2695	G03SM7826M	良好
江苏省苏力环境科技有限责任公司	液相色谱仪	岛津 Essential LC-16	L20495404225	良好
江苏新锐环境监测有限公司	液相色谱仪	Agilent 1260	DE64256505	良好

表 30 方法验证实验室使用试剂及溶剂情况

名称	生产厂家、规格	纯化处理方法	验证单位
甲醇	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	河北省生态环境监测中心
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却后，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却后，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	天地色谱纯	无。	江苏省镇江环境监测中心
氯化钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却后，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	无。	

名称	生产厂家、规格	纯化处理方法	验证单位
无水硫酸钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	江苏省扬州环境监测中心
甲醇	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	江苏省泰州环境监测中心
甲醇	天地色谱纯	无。	
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	江苏省苏力环境科技有限责任公司
甲醇	天地色谱纯	无。	
氯化钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	无。	
无水硫酸钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	江苏新锐环境监测有限公司
甲醇	天地色谱纯	无。	
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地 色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h, 冷却后, 贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	

7.1.2 方法验证方案

2017年组织有资质的6家实验室进行方法验证,分别为:河北省生态环境监测中心、江苏省镇江环境监测中心、江苏省扬州环境监测中心、江苏省泰州环境监测中心、江苏省苏力环境科技有限责任公司和江苏新锐环境监测有限公司,验证方法检出限和实际样品,实际样品类型为地表水和工业废水。2020年底,阶段性结题汇报会专家意见,建议扩大水质适用范围。2021年编制组根据《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168-2020),补充地下水、海水和生活污水方法验证方案,于2021年8月~2021年11月组织原6家验证实验室补充方法验证。

7.1.2.1 方法检出限

按照样品分析的全部步骤,对浓度值为估计方法检出限值3~5倍的空白加标样品进行7次平行测定,计算7次测定的标准偏差 S ,参考GB/T 6379,剔除离群值后,检出限 $MDL = S \times t_{(n-1,0.99)}$,其中: $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度为99%、自由度为 $n-1$ 时的 t 值, n 为重复分析的样品数。 $t_{6,0.99}=3.143$,分析物样品浓度应在3~5倍计算所得方法检出限范围内,否则要调整浓度重新分析,直至比值在3~5倍之间。

7.1.2.2 测定下限

以4倍方法检出限为测定下限。

7.1.2.3 方法精密度

6家验证实验室各自采集本地区地表水、地下水和生活污水非统一实际样品；海水由编制组采集统一实际样品；阿维菌素工业废水保存期4 d，各验证实验室开展验证的时间较难统一，在保存期内完成统一工业废水实际样品的运输和验证工作存在难度，因此阿维菌素生产企业废水由编制组在不同时间采集，工业废水是非统一实际样品。地表水、地下水、生活污水和海水一般难以获得有检出的实际样品，采取实际样品基体加标进行验证。地表水、地下水加标浓度0.20 µg/L，加标浓度接近美国EPA自来水中阿维菌素筛选阈值0.15 µg/L；海水和生活污水加标浓度1.00 µg/L，加标浓度参考原《生物类农药工业水污染物排放标准》（征求意见稿）现有企业排放限值1 µg/L。工业废水低浓度加标2.00 µg/L，加标浓度接近原《生物类农药工业水污染物排放标准》（征求意见稿）现有企业排放限值；工业废水高浓度加标6.00 µg/L。每种类型水样平行测定6次，分别计算各类型样品测定的平均值、标准偏差、相对标准偏差。

7.1.2.4 方法正确度

正确度验证实际样品测定同精密度验证，每种类型水样平行测定6次，分别计算各类型样品的加标回收率。

7.2 方法验证过程

筛选有资质的验证单位，向验证单位提供方法验证草案、方法验证作业指导书、标准草案、标准物质、验证报告格式，对参加验证的技术人员讲解要点，开展方法验证前，参与验证的人员均熟悉方法原理、操作步骤，方法验证过程所用试剂和材料、仪器和设备符合方法要求。

7.2.1 方法验证数据的取舍

（1）编制在进行方法验证报告数据统计时，异常值的检验和处理按照GB/T 6379.6-2009标准进行，在统计分析时未发现异常值，所有数据全部采用，未进行取舍。

（2）方法精密度和正确度统计结果能满足方法特性指标要求。详细结果见附1《方法验证报告》。

7.2.2 方法验证结论

7.2.2.1 检出限及测定下限

2017年6家验证实验室根据各自仪器灵敏度，在空白水样中加标进行检出限验证，加标浓度在0.05 µg/L~0.10 µg/L之间，为估计检出限值的2~5倍，测定7次，计算标准偏差，检出限公式： $MDL = S \times t_{(n-1,0.99)}$ （连续分析7个样品，在99%的置信区间， $t_{6,0.99} = 3.143$ ）计算，其中： $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度为99%、自由度为 $n-1$ 时的 t 值； n 为重复分析的样品数，测定下限为4倍检出限。6家验证实验室空白加标计算所得检出限在0.01 µg/L~0.03 µg/L之间。《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）实施后，6家验证实验室按照标准要求，对检出限结果重新进行合理性判断。标准规定目标物为多组分的分析方法，至少有50%的被分析物样品浓度在3~5倍计算出的方法检出限范围内，同时至少90%的被

分析物样品浓度在1~10倍计算出的方法检出限的范围内，其余不多于10%的被分析物样品浓度不应超过20倍计算出的方法检出限。6家验证实验室测定浓度与计算所得方法检出限的比值均在3~5之间，满足“分析物样品浓度在3~5倍计算所得方法检出限范围内”的要求。

仪器检出限：进样 20 μl ，取样体积以 100 ml 计，6 家阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 仪器检出限在 0.005 $\mu\text{g/L}$ ~0.02 $\mu\text{g/L}$ 之间。

方法检出限取 6 家验证实验室仪器检出限和空白加标计算所得检出限的最大值 0.03 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 4 倍检出限 0.12 $\mu\text{g/L}$ 。方法检出限低于美国 EPA 自来水中阿维菌素筛选阈值 0.15 $\mu\text{g/L}$ 。

7.2.2.2 准确度

(1) 精密度

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度分别为 0.20 $\mu\text{g/L}$ 、0.20 $\mu\text{g/L}$ 和 1.00 $\mu\text{g/L}$ 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定，实验室内相对标准偏差范围分别为：3.9%~12%、3.6%~14%和 3.6%~15%。

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 测定浓度范围为 0.02 $\mu\text{g/L}$ ~2.03 $\mu\text{g/L}$ ，加标浓度分别为 2.00 $\mu\text{g/L}$ 、6.00 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水实际样品进行了 6 次重复测定，实验室内相对标准偏差范围分别为：2.2%~11%、4.0%~17%。

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度为 1.00 $\mu\text{g/L}$ 的海水统一实际样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差范围为 2.0%~15%；实验室间相对标准偏差为 4.1%~4.3%；重复性限为 0.21 $\mu\text{g/L}$ ~0.22 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限为 0.28 $\mu\text{g/L}$ ~0.29 $\mu\text{g/L}$ 。

(2) 正确度

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度分别为 0.20 $\mu\text{g/L}$ 、0.20 $\mu\text{g/L}$ 和 1.00 $\mu\text{g/L}$ 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定，加标回收率范围分别为：72.5%~105%、78.5%~97.0%和 69.6%~117%。

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 测定浓度范围为 0.02 $\mu\text{g/L}$ ~2.03 $\mu\text{g/L}$ ，加标浓度分别为 2.00 $\mu\text{g/L}$ 、6.00 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水实际样品进行了 6 次重复测定，加标回收率范围分别为：74.5%~99.6%、71.0%~104%。

6 家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度为 1.00 $\mu\text{g/L}$ 的海水统一实际样品进行了 6 次重复测定：加标回收率为 79.6%~102%；加标回收率最终值为 88.6% \pm 15.1%~90.2% \pm 13.6%。

8 与开题报告的差异说明

开题论证确定的方法验证样品类别为“地表水、有代表性的生产企业排放废水”，实际验证的水样类型除地表水和工业废水外，根据《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）要求，补充了地下水、海水和生活污水，验证结果表明本方法可适用于上述全部水质类型。

9 标准征求意见稿技术审查情况

2023年3月24日，生态环境部生态环境监测司组织召开了标准征求意见稿技术审查会（视频会），专家组审查针对本标准提出如下审查意见：

（1）建议标准名称修改为《水质 阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 的测定 高效液相色谱法》。

（2）按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）和环境保护标准编制出版技术指南（HJ 565-2010）对标准文本和编制说明进行编辑性修改。

标准编制组按照专家组意见对标准文本和编制说明进行了完善修改。

10 标准实施建议

无。

11 参考文献

- [1] Florez D H, Teixeira R A, Silva R, et al. Pipette-tip solid-phase extraction using polypyrrole as efficient adsorbent for extraction of avermectins and milbemycins in milk [J]. *Anal Bioanal Chem*,2018,410(14):3361-3374.
- [2] Teixeira RA, Flores A, Hernando D, et al. Pipette-tip solid-phase extraction using poly(1-vinylimidazole- co- trimethylolpropane trimethacrylate) as a new molecularly imprinted polymer in the determination of avermectins and milbemycins in fruit juice and water samples [J]. *Food Chem*,2018,262:86-93.
- [3] KOLAR K,KULAR,ERZJEN N K Degadation of abamectin and doramectin in sheep face using HPLC with fluorescence detection [J].*Biomed Chromatography*,2004,18:117-124.
- [4] Silva G R D, Lima J A, Souza L F D, et al. Multiresidue method for identification and quantification of avermectins, benzimidazoles and nitroimidazoles residues in bovine muscle tissue by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) using a QuEChERS approach [J]. *Talanta*,2017,171:307-320.
- [5] Tao Y F, Yu G, Chen D M, et al. Determination of 17 macrolide antibiotics and avermectins residues in meat with accelerated solvent extraction by liquid chromatography- tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogram B Analyst Technol Biomed Life Sci*, 2012,897:64-71.
- [6] You X, Gao L, Qin D, et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers by atom transfer radical polymerization for the rapid extraction of avermectin from fish samples [J]. *J Sep Sci*,2017,40(2):424-430.
- [7] Jiang YB, Shan JH, Zou N, et al. Analysis of sulfonamides, tilmicosin and avermectins residues in typical animal matrices with multi- plug filtration cleanup by liquid chromatography- tandem mass spectrometry detection [J]. *J Chromatogram B Analyst Technol Biomed Life Sci*,2017,1053:27-33.
- [8] deOliveira F, Rodrigues C, Rath S. On-line solid-phase extraction- ultra high performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry for the determination of avermectins and milbemycin in soils [J]. *J ChromatogrA*,2016,1471:118-125.
- [9] Rubies A, Antkowiak S, Granados M, et al. Determination of avermectins: a QuEChERS approach to the analysis of food samples [J]. *Food Chem*,2015,181:57-63.
- [10] Li X, Zhang Y, Ai L F, et al. Determination of five avermectins in bovine liver by on- line solid- phase extraction with hydrophobic monolithic column coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogram*, 2015,33(6):590-596.
- [11] Li X, Wang M M, Zheng G Y, et al. Fast and Online Determination of Five Avermectin Residues in Foodstuffs of Plant and Animal
- [12] Origin Using Reusable Polymeric Monolithic Extractor Coupled with LC-MS/MS [J]. *JAgric Food Chem*,2015,63(16):4096-4103.

- [13] Park J, Choi J, Abdelaty A M, et al. Development of an extraction method for the determination of avermectins in soil using supercritical CO₂ modified with ethanol and liquid chromatography- tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci,201336(1):148-155.
- [14] Wang C, Wang Z, Jiang W, et al. A monoclonal antibody- based ELISA for multiresidue determination of avermectins in milk [J]. Molecules,2012,17(6):7401-7414.
- [15] 熊巍,陶晓秋,张海燕.环境和食品中阿维菌素类药物残留量检测方法研究进展[J].中国农学通报,2021,37(30):111-120.
- [16] 《食品安全国家标准 水果和蔬菜中阿维菌素残留量的测定 液相色谱法》(GB 23200.19-2016) .
- [17] 《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 免疫亲和-液相色谱法》(GB/T 21321-2007) .
- [18] 《食品安全国家标准 牛奶中阿维菌素类药物多残留的测定 高效液相色谱法》(GB 29696-2013)
- [19] 《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》(农业部 781 号公告-5-2006) .
- [20] 《牛肝和牛肉中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 20748-2006) .
- [21] 《食品安全国家标准 食品中阿维菌素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》(GB 23200.20-2016) .
- [22] 《动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 21320-2007) .
- [23] 《生物类农药工业水污染物排放标准》(征求意见稿)附录 A.
- [24] 张伟,张鑫,张欣达,张超,金天明. 分散液相微萃取-高效液相色谱联用测定水中阿维菌素残留[J].黑龙江畜牧兽医,2016(07):279-281.
- [25] 周海明,姚芳.高效液相色谱-荧光(HPLC-FD)检测土壤和水中阿维菌素及其代谢产物残留量研究.安徽农业科学[J],2011,39(26):16037-16038,16039.
- [26] 谢显传,张少华等. 柱前衍生高效液相色谱法测定果蔬产品阿维菌素及其有毒代谢物的残留量.中国农业科学[J]. 2005,11:2254-2260.
- [27] 罗成玉,查玉兵等. 高效液相色谱荧光检测法测定植物性食品中阿维菌素类药物.分析仪器[J].2012,3:31-35.
- [28] 傅强,杨仁斌等. 阿维菌素及甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的三氟乙酰胺衍生化产物稳定性研究.农药学报[J]. 2013,15(6):708-712.
- [29] 张玉洁,李丹,李倩,王鹤佳. 奶及奶粉中 4 种阿维菌素类药物残留检测高效液相色谱法[J]. 中国兽医杂志,2017,53(04):88-91.
- [30] 何书海,曹小聪等. 直接进样-超高效液相色谱-三重四级杆质谱法快速测定环境水样中阿维菌素残留量.农药[J]. 2019,58(10):741-744.
- [31] 李再兴,左剑恶等. 超快速液相色谱-串联质谱法测定制药废水中阿维菌素的研究.环境科学学报[J].2011,31(9):1974-1978.

- [32] 林志惠,李慧珍,游静. 高效液相色谱-串联质谱法检测水体沉积物中阿维菌素的残留量[J]. 分析测试学报,2013,32(08):923-928.
- [33] 刘永涛,余琳雪,王桢月,杨秋红,董靖,杨移斌,艾晓辉. 改良的 QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱同时测定水产品中 7 种阿维菌素类药物残留[J]. 色谱,2017,35(12):1276-1285.
- [34] 王亦琳,叶妮,尹晖,孙雷,王鹤佳. 液相色谱-串联质谱法检测牛奶中 4 种阿维菌素类药物残留量的研究[J]. 中国兽药杂志,2016,50(08):33-38.
- [35] 《阿维菌素原药》(GB/T 19336-2017) .
- [36] 李惠萍. 溯源海水[J]. 海洋世界,1999(09):18-19.
- [37] 谢显传,张少华,王冬生,皇甫伟国,杨挺,何新华. 阿维菌素荧光衍生反应影响因子的研究[J]. 分析化学,2006(12):1745-1748.

附件

方法验证报告

方法名称：水质 阿维菌素B_{1a}和阿维菌素B_{1b}的测定 高效液相色谱法

项目承担单位：江苏省南京环境监测中心

验证单位：河北省生态环境监测中心、江苏省镇江环境监测中心、
江苏省扬州环境监测中心、江苏省泰州环境监测中心、
江苏省苏力环境科技有限责任公司、江苏新锐环境监测有限公
司

项目负责人及职称：胡恩宇（高级工程师）

通讯地址及电话：南京市建邺区中和路 98 号 电话：18951651550

报告编写人及职称：胡恩宇（高级工程师）

报告日期：2022 年 3 月 15 日

1 原始测试数据

1.1 实验室基本情况

2017年按照原《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)规定,组织6家有资质的实验室开展检出限、地表水和工业废水方法验证。《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2020)实施后,2021年8月~2021年11月组织原6家验证实验室进行地下水、海水和生活污水方法验证,完成仪器检出限实验,对检出限结果重新进行合理性判断。参加验证的实验室及人员基本情况、仪器使用情况及试剂使用情况见表1-1、表1-2和表1-3,分别为编号1为河北省生态环境监测中心、编号2为江苏省镇江环境监测中心、编号3为江苏省扬州环境监测中心、编号4为江苏省泰州环境监测中心、编号5为江苏省苏力环境科技有限责任公司、编号6为江苏新锐环境监测有限公司。

表 1-1 参加验证的人员情况登记表

验证单位	姓名	性别	年龄	职务或职称	所学专业	从事相关分析工作年限
河北省生态环境监测中心	冯 媛	女	39	高级工程师	应用化学	12年
	杨丽丽	女	38	高级工程师	环境与土地规划工程	14年
	赵 鑫	女	36	工程师	环境科学	12年
江苏省镇江环境监测中心	董 铮	男	43	高级工程师	化工工艺	13年
江苏省扬州环境监测中心	冷 俊	男	37	高级工程师	分析化学	11年
江苏省泰州环境监测中心	翟有朋	男	37	高级工程师	环境科学	10年
	毛 慧	女	37	高级工程师	物理化学	12年
	张 颖	女	34	工程师	有机化学	8年
	张永兵	男	41	高级工程师	环境科学	8年
江苏省苏力环境科技有限责任公司	丁曦宁	女	40	高级工程师	环境工程	20年
江苏新锐环境监测有限公司	戴玄吏	男	47	高级工程师	环境科学	19年
	那晶晶	女	35	中级工程师	分析化学	9年
	孙志军	男	25	助理工程师	海洋资源与环境	2年
	夏 飞	男	25	助理工程师	资源环境科学	2年
	朱 程	男	27	助理工程师	应用化学	5年

表 1-2 使用仪器情况登记表

实验室编号	验证单位	仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况
1	河北省生态环境监测中心	液相色谱仪	Agilent 1260	DEAB802706	良好
2	江苏省镇江环境监测中心	液相色谱仪	Agilent 1200	DE60556810	良好
3	江苏省扬州环境监测中心	液相色谱仪	岛津 SCL-10AVP	C21014317837	良好
4	江苏省泰州环境监测中心	液相色谱仪	Waters 2695	G03SM7826M	良好

5	江苏省苏力环境科技有限责任公司	液相色谱仪	岛津 Essential LC-16	L20495404225	良好
6	江苏新锐环境监测有限公司	液相色谱仪	Agilent 1260	DE64256505	良好

表 1-3 使用试剂及溶剂登记表

名称	生产厂家、规格	纯化处理方法	验证单位
甲醇	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	河北省生态环境监测中心
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	天地色谱纯	无。	江苏省镇江环境监测中心
氯化钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	无。	
无水硫酸钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	江苏省扬州环境监测中心
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	德国默克股份有限公司 色谱纯	无。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	天地色谱纯	无。	江苏省泰州环境监测中心
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	天地色谱纯	无。	江苏省苏力环境科技有限责任公司
氯化钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
乙腈	天地色谱纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
无水硫酸钠	南京化学试剂厂	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
甲醇	天地色谱纯	无。	江苏新锐环境监测有限公司
氯化钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	

名称	生产厂家、规格	纯化处理方法	验证单位
		保存。	
乙腈	天地色谱纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	
无水硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司 分析纯	在 400 °C 下烘烤 4 h，冷却至室温，贮于磨口玻璃瓶中密封保存。	

1.2 方法检出限、测定下限测试数据

2017年6家验证实验室根据各自仪器灵敏度，在空白水样中加标进行检出限验证，加标浓度在0.05 µg/L~0.10 µg/L之间，为估计检出限值的2~5倍，测定7次，计算标准偏差，检出限用公式： $MDL = S \times t_{(n-1,0.99)}$ （连续分析7个样品，在99%的置信区间， $t_{6,0.99} = 3.143$ ）计算，其中： $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度为99%、自由度为 $n-1$ 时的 t 值； n 为重复分析的样品数，测定下限为4倍检出限。6家验证实验室空白加标计算所得检出限在0.01 µg/L~0.03 µg/L之间。《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）实施后，6家验证实验室按照标准要求，对检出限结果重新进行合理性判断。

6家实验室检出限、测定下限数据表见表 1-4~表 1-9。

表 1-4 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.10 μg/L）

验证单位：河北省生态环境监测中心

测试日期：2017. 6. 21

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 (μg/L)	1	0.092	0.085
	2	0.086	0.101
	3	0.108	0.096
	4	0.093	0.084
	5	0.090	0.089
	6	0.103	0.095
	7	0.096	0.080
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		0.096	0.090
标准偏差 S_i (μg/L)		0.008	0.008
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 (μg/L)		0.03	0.03
仪器检出限 (μg/L)		0.02	0.02
方法检出限 (μg/L)		0.03	0.03
测定下限 (μg/L)		0.12	0.12

表 1-5 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.05 μg/L）

验证单位：江苏省镇江环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 (μg/L)	1	0.048	0.046
	2	0.046	0.042
	3	0.051	0.049
	4	0.043	0.041
	5	0.041	0.040
	6	0.044	0.043
	7	0.041	0.040
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		0.045	0.043
标准偏差 S_i (μg/L)		0.004	0.003
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
仪器检出限 (μg/L)		0.01	0.01
方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
测定下限 (μg/L)		0.04	0.04

表 1-6 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.05 μg/L）

验证单位：江苏省扬州市环境监测中心

测试日期：2017.5.27

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 (μg/L)	1	0.051	0.051
	2	0.048	0.047
	3	0.047	0.051
	4	0.048	0.051
	5	0.049	0.049
	6	0.056	0.052
	7	0.052	0.052
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		0.050	0.050
标准偏差 S_i (μg/L)		0.003	0.002
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
仪器检出限 (μg/L)		0.005	0.005
方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
测定下限 (μg/L)		0.04	0.04

表 1-7 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.05 μg/L）

验证单位：江苏省泰州市环境监测中心

测试日期：2017.6.22

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 (μg/L)	1	0.040	0.040
	2	0.042	0.040
	3	0.045	0.041
	4	0.043	0.043
	5	0.045	0.045
	6	0.040	0.042
	7	0.043	0.046
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		0.042	0.042
标准偏差 S_i (μg/L)		0.002	0.002
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
仪器检出限 (μg/L)		0.005	0.005
方法检出限 (μg/L)		0.01	0.01
测定下限 (μg/L)		0.04	0.04

表 1-8 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.10 $\mu\text{g/L}$ ）

验证单位：江苏省苏力环境科技有限责任公司

测试日期：2017. 6. 26

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.083	0.082
	2	0.079	0.078
	3	0.093	0.093
	4	0.094	0.092
	5	0.101	0.099
	6	0.096	0.095
	7	0.092	0.091
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)		0.091	0.090
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)		0.007	0.007
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.03	0.03
仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.02	0.02
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.03	0.03
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.12	0.12

表 1-9 方法检出限、测定下限测试数据表（添加浓度 0.05 $\mu\text{g/L}$ ）

验证单位：江苏新锐环境监测有限公司

测试日期：2017. 5. 27

平行样编号		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.046	0.051
	2	0.049	0.052
	3	0.052	0.048
	4	0.053	0.05
	5	0.045	0.047
	6	0.049	0.051
	7	0.048	0.043
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)		0.049	0.049
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)		0.003	0.003
t 值		3.143	3.143
计算的方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.01	0.02
仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.02	0.02
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.02	0.02
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.08	0.08

1.3 方法精密度测试数据

6家验证实验室各自采集本地区地表水、地下水和生活污水非统一实际样品；海水由编制组采集统一实际样品；阿维菌素生产企业废水由编制组在不同时间采集。地表水、地下水加标浓度 0.20 $\mu\text{g/L}$ ；海水和生活污水加标浓度 1.00 $\mu\text{g/L}$ ；工业废水低浓度加标 2.00 $\mu\text{g/L}$ ，高浓度加标 6.00 $\mu\text{g/L}$ 。每种类型水样平行测定 6 次，分别计算各类型样品测定的平均值、标准偏差、相对标准偏差。

6家实验室地表水、地下水、海水、生活污水和工业废水加标精密度验证数据见表 1-10~表 1-21。

表 1-10 精密度测试数据

验证单位：河北省生态环境监测中心

测试日期：2017. 6. 21~6. 30、2021. 9. 2~9. 17

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果 (μg/L)	1	ND	0.204	ND	0.200	ND	0.847	ND	0.868	0.053	1.58	0.081	5.79
	2	ND	0.195	ND	0.150	ND	0.943	ND	0.838	0.053	1.68	0.081	5.48
	3	ND	0.206	ND	0.194	ND	0.976	ND	0.793	0.053	1.90	0.081	5.94
	4	ND	0.200	ND	0.173	ND	0.768	ND	0.828	0.053	1.64	0.081	5.42
	5	ND	0.195	ND	0.180	ND	0.836	ND	0.873	0.053	1.87	0.081	5.93
	6	ND	0.185	ND	0.172	ND	0.823	ND	0.823	0.053	1.70	0.081	5.18
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.198	/	0.178	/	0.866	/	0.837	0.053	1.73	0.081	5.63
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.008	/	0.018	/	0.078	/	0.030	/	0.128	/	0.309
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	3.9	/	10	/	9.1	/	3.6	/	7.4	/	5.5

表 1-11 精密度测试数据

验证单位：河北省生态环境监测中心

测试日期：2017. 6. 21~6. 30、2021. 9. 2~9. 17

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果 (μg/L)	1	ND	0.200	ND	0.227	ND	0.870	ND	0.873	0.211	1.70	0.173	5.35
	2	ND	0.191	ND	0.150	ND	0.938	ND	0.898	0.211	1.75	0.173	5.24
	3	ND	0.222	ND	0.195	ND	0.992	ND	0.798	0.211	1.87	0.173	6.08
	4	ND	0.204	ND	0.187	ND	0.747	ND	0.883	0.211	1.91	0.173	5.56
	5	ND	0.210	ND	0.199	ND	0.822	ND	0.888	0.211	2.02	0.173	5.50
	6	ND	0.187	ND	0.183	ND	0.812	ND	0.888	0.211	1.84	0.173	4.76
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.202	/	0.190	/	0.863	/	0.871	0.211	1.85	0.173	5.41
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.013	/	0.025	/	0.090	/	0.037	/	0.115	/	0.432
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	6.3	/	14	/	11	/	4.2	/	6.2	/	8.0

表 1-12 精密度测试数据

验证单位：江苏省镇江环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 26、2021. 9. 7~9. 15

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果 (µg/L)	1	ND	0.225	ND	0.192	ND	0.965	ND	0.770	2.02	3.59	0.050	5.82
	2	ND	0.217	ND	0.186	ND	1.02	ND	0.611	2.02	3.40	0.050	6.77
	3	ND	0.196	ND	0.180	ND	0.985	ND	0.748	2.02	3.61	0.050	5.75
	4	ND	0.208	ND	0.195	ND	0.993	ND	0.618	2.02	3.39	0.050	5.79
	5	ND	0.211	ND	0.177	ND	1.11	ND	0.700	2.02	3.50	0.050	6.75
	6	ND	0.188	ND	0.194	ND	1.07	ND	0.726	2.02	3.58	0.050	6.98
平均值 \bar{x}_i (µg/L)		/	0.208	/	0.187	/	1.02	/	0.696	2.02	3.51	0.050	6.31
标准偏差 S_i (µg/L)		/	0.014	/	0.008	/	0.056	/	0.067	/	0.098	/	0.580
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	6.5	/	4.0	/	5.4	/	9.6	/	2.8	/	9.2

表 1-13 精密度测试数据

验证单位：江苏省镇江环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 26、2021. 9. 7~9. 15

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果 (µg/L)	1	ND	0.223	ND	0.196	ND	0.978	ND	0.803	2.03	3.60	0.281	5.89
	2	ND	0.219	ND	0.194	ND	0.997	ND	0.723	2.03	3.45	0.281	6.10
	3	ND	0.200	ND	0.195	ND	0.978	ND	0.851	2.03	3.71	0.281	5.35
	4	ND	0.210	ND	0.211	ND	0.983	ND	0.711	2.03	3.45	0.281	5.99
	5	ND	0.206	ND	0.176	ND	1.09	ND	0.671	2.03	3.53	0.281	6.17
	6	ND	0.192	ND	0.193	ND	1.05	ND	0.751	2.03	3.62	0.281	6.33
平均值 \bar{x}_i (µg/L)		/	0.208	/	0.194	/	1.01	/	0.752	2.03	3.56	0.281	5.97
标准偏差 S_i (µg/L)		/	0.012	/	0.011	/	0.047	/	0.066	/	0.103	/	0.340
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	5.6	/	5.7	/	4.6	/	8.7	/	2.9	/	5.7

表 1-14 精密度测试数据

验证单位：江苏省扬州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 25~6. 29、2021. 11. 16~11. 26

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果 (μg/L)	1	ND	0.175	ND	0.184	ND	0.828	ND	1.23	0.062	2.07	0.052	5.23
	2	ND	0.164	ND	0.173	ND	0.864	ND	1.17	0.062	1.98	0.052	5.81
	3	ND	0.170	ND	0.155	ND	0.874	ND	1.13	0.062	2.09	0.052	5.01
	4	ND	0.154	ND	0.161	ND	0.856	ND	1.10	0.062	2.05	0.052	5.35
	5	ND	0.170	ND	0.168	ND	0.842	ND	1.06	0.062	1.86	0.052	5.30
	6	ND	0.176	ND	0.167	ND	0.832	ND	1.22	0.062	1.93	0.052	5.02
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.168	/	0.168	/	0.849	/	1.15	0.062	2.00	0.052	5.29
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.008	/	0.010	/	0.018	/	0.067	/	0.090	/	0.294
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	4.9	/	6.0	/	2.2	/	5.9	/	4.5	/	5.6

表 1-15 精密度测试数据

验证单位：江苏省扬州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 25~6. 29、2021. 11. 16~11. 26

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.180	ND	0.170	ND	0.783	ND	1.22	0.057	2.12	0.333	4.83
	2	ND	0.171	ND	0.164	ND	0.796	ND	1.15	0.057	2.01	0.333	5.37
	3	ND	0.174	ND	0.143	ND	0.821	ND	1.15	0.057	2.08	0.333	5.00
	4	ND	0.158	ND	0.154	ND	0.801	ND	1.13	0.057	2.12	0.333	5.10
	5	ND	0.174	ND	0.158	ND	0.774	ND	1.12	0.057	1.95	0.333	4.89
	6	ND	0.185	ND	0.155	ND	0.800	ND	1.23	0.057	2.03	0.333	5.04
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.157	/	0.796	/	1.170	0.057	2.05	0.333	4.79
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.009	/	0.009	/	0.016	/	0.047	/	0.067	/	0.19
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	5.3	/	5.9	/	2.0	/	4.0	/	3.3	/	4.0

表 1-16 精密度测试数据

验证单位：江苏省泰州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 30 、 2021. 10. 18~10. 27

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.156	ND	0.151	ND	0.851	ND	0.725	0.021	1.72	0.132	5.65
	2	ND	0.171	ND	0.173	ND	0.842	ND	0.790	0.021	1.71	0.132	5.19
	3	ND	0.183	ND	0.171	ND	0.936	ND	0.844	0.021	1.89	0.132	5.43
	4	ND	0.158	ND	0.168	ND	0.792	ND	0.701	0.021	1.61	0.132	6.03
	5	ND	0.165	ND	0.177	ND	0.865	ND	0.763	0.021	1.75	0.132	5.10
	6	ND	0.167	ND	0.182	ND	0.892	ND	0.747	0.021	1.81	0.132	4.88
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.167	/	0.170	/	0.863	/	0.762	0.021	1.75	0.232	5.38
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.010	/	0.011	/	0.049	/	0.050	/	0.097	/	0.416
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	5.8	/	6.3	/	5.6	/	6.6	/	5.6	/	7.7

表 1-17 精密度测试数据

验证单位：江苏省泰州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 30、2021. 10. 18~10. 27

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.162	ND	0.186	ND	0.911	ND	0.815	0.202	2.04	0.641	5.19
	2	ND	0.184	ND	0.153	ND	0.901	ND	0.912	0.202	1.93	0.641	4.92
	3	ND	0.191	ND	0.155	ND	0.799	ND	0.755	0.202	1.78	0.641	5.00
	4	ND	0.163	ND	0.182	ND	0.847	ND	0.715	0.202	1.91	0.641	5.32
	5	ND	0.175	ND	0.165	ND	0.866	ND	0.775	0.202	1.95	0.641	4.70
	6	ND	0.171	ND	0.195	ND	0.764	ND	0.815	0.202	1.73	0.641	4.28
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.173	/	0.848	/	0.798	0.202	1.89	0.641	4.90
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.012	/	0.018	/	0.057	/	0.068	/	0.117	/	0.372
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	6.6	/	11	/	6.8	/	8.5	/	6.2	/	7.6

表 1-18 精密度测试数据

验证单位：江苏省苏力环境科技有限责任公司

测试日期：2017. 6. 25~6. 30、2021. 11. 19~11. 29

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.157	ND	0.174	ND	0.835	ND	1.08	0.172	2.05	0.071	5.23
	2	ND	0.153	ND	0.181	ND	1.00	ND	0.921	0.172	2.16	0.071	6.38
	3	ND	0.144	ND	0.186	ND	1.12	ND	0.868	0.172	1.84	0.071	6.82
	4	ND	0.140	ND	0.209	ND	1.02	ND	1.09	0.172	1.63	0.071	5.91
	5	ND	0.135	ND	0.164	ND	0.753	ND	0.827	0.172	1.77	0.071	6.84
	6	ND	0.143	ND	0.190	ND	0.958	ND	0.987	0.172	2.05	0.071	6.11
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.145	/	0.184	/	0.948	/	0.963	0.172	1.92	0.071	6.21
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.008	/	0.015	/	0.134	/	0.110	/	0.202	/	0.610
相对标准偏差 RSD _i (%)		/	5.7	/	8.3	/	15	/	12	/	11	/	9.8

表 1-19 精密度测试数据

验证单位：江苏省苏力环境科技有限责任公司

测试日期：2017. 6. 25~6. 30、2021. 11. 19~11. 29

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.170	ND	0.159	ND	0.805	ND	1.20	0.214	2.01	0.542	4.79
	2	ND	0.159	ND	0.184	ND	0.999	ND	0.928	0.214	2.01	0.542	5.99
	3	ND	0.136	ND	0.195	ND	1.10	ND	0.842	0.214	1.89	0.542	6.19
	4	ND	0.133	ND	0.190	ND	0.952	ND	1.11	0.214	1.58	0.542	5.44
	5	ND	0.129	ND	0.167	ND	0.796	ND	0.837	0.214	1.80	0.542	6.21
	6	ND	0.157	ND	0.173	ND	0.965	ND	1.05	0.214	1.89	0.542	5.81
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.147	/	0.178	/	0.936	/	0.994	0.214	1.86	0.542	5.74
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.017	/	0.014	/	0.116	/	0.148	/	0.159	/	0.544
相对标准偏差 RSD _i (%)		/	12	/	7.8	/	13	/	15	/	8.6	/	9.5

表 1-20 精密度测试数据

验证单位：江苏新锐环境监测有限公司

测试日期：2017.6.1~6.7、2021.9.9~9.27

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.183	ND	0.174	ND	0.847	ND	0.891	0.017	1.62	0.111	4.73
	2	ND	0.178	ND	0.168	ND	0.943	ND	0.891	0.017	1.65	0.111	6.44
	3	ND	0.179	ND	0.159	ND	0.976	ND	0.854	0.017	1.65	0.111	4.99
	4	ND	0.168	ND	0.166	ND	0.768	ND	0.787	0.017	1.70	0.111	4.38
	5	ND	0.169	ND	0.175	ND	0.836	ND	0.975	0.017	1.66	0.111	4.94
	6	ND	0.166	ND	0.165	ND	0.823	ND	0.806	0.017	1.59	0.111	6.33
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.167	/	0.866	/	0.867	0.017	1.65	0.111	5.30
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.007	/	0.006	/	0.078	/	0.068	/	0.036	/	0.87
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	4.0	/	3.6	/	9.1	/	7.8	/	2.2	/	17

表 1-21 精密度测试数据

验证单位：江苏新锐环境监测有限公司

测试日期：2017.6.1~6.7、2021.9.9~9.27

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.181	ND	0.175	ND	0.870	ND	0.842	0.046	1.63	0.672	5.24
	2	ND	0.177	ND	0.180	ND	0.938	ND	0.829	0.046	1.66	0.672	5.84
	3	ND	0.177	ND	0.160	ND	0.992	ND	0.841	0.046	1.64	0.672	5.08
	4	ND	0.165	ND	0.177	ND	0.747	ND	0.796	0.046	1.70	0.672	5.49
	5	ND	0.168	ND	0.178	ND	0.822	ND	0.924	0.046	1.72	0.672	6.52
	6	ND	0.164	ND	0.178	ND	0.812	ND	0.781	0.046	1.61	0.672	6.16
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.172	/	0.174	/	0.863	/	0.835	0.046	1.66	0.672	5.72
标准偏差 S_i (μg/L)		/	0.007	/	0.007	/	0.090	/	0.050	/	0.043	/	0.554
相对标准偏差 RSD_i (%)		/	4.2	/	4.2	/	11	/	6.0	/	2.6	/	9.7

1.4 方法正确度测试数据

正确度验证实际样品测定同精密度验证，每种类型水样平行测定 6 次，分别计算各类型样品的加标回收率。6 家实验室地表水、地下水、海水、生活污水和工业废水加标正确度验证数据见表 1-22~表 1-33。

表 1-22 正确度测试数据

验证单位：河北省生态环境监测中心

测试日期：2017. 6. 21~6. 30、2021. 9. 2~9. 17

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.204	ND	0.200	ND	0.847	ND	0.868	0.053	1.58	0.081	5.79
	2	ND	0.195	ND	0.150	ND	0.943	ND	0.838	0.053	1.68	0.081	5.48
	3	ND	0.206	ND	0.194	ND	0.976	ND	0.793	0.053	1.90	0.081	5.94
	4	ND	0.200	ND	0.173	ND	0.768	ND	0.828	0.053	1.64	0.081	5.42
	5	ND	0.195	ND	0.180	ND	0.836	ND	0.873	0.053	1.87	0.081	5.93
	6	ND	0.185	ND	0.172	ND	0.823	ND	0.823	0.053	1.70	0.081	5.18
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.198	/	0.178	/	0.866	/	0.837	0.053	1.73	0.081	5.62
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	98.8	/	89.0	/	86.6	/	83.7	/	83.8	/	92.3

表 1-23 正确度测试数据

验证单位：河北省生态环境监测中心

测试日期：2017. 6. 21~6. 30、2021. 9. 2~9. 17

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.200	ND	0.227	ND	0.870	ND	0.873	0.211	1.70	0.173	5.35
	2	ND	0.191	ND	0.150	ND	0.938	ND	0.898	0.211	1.75	0.173	5.24
	3	ND	0.222	ND	0.195	ND	0.992	ND	0.798	0.211	1.87	0.173	6.08
	4	ND	0.204	ND	0.187	ND	0.747	ND	0.883	0.211	1.91	0.173	5.56
	5	ND	0.210	ND	0.199	ND	0.822	ND	0.888	0.211	2.02	0.173	5.50
	6	ND	0.187	ND	0.183	ND	0.812	ND	0.888	0.211	1.84	0.173	4.76
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.202	/	0.190	/	0.864	/	0.871	0.211	1.85	0.173	5.41
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	101	/	95.0	/	86.4	/	87.1	/	81.9	/	87.3

表 1-24 正确度测试数据

验证单位：江苏省镇江环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 26、2021. 9. 7~9. 15

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.225	ND	0.192	ND	0.965	ND	0.770	2.02	3.59	0.050	5.82
	2	ND	0.217	ND	0.186	ND	1.02	ND	0.611	2.02	3.40	0.050	6.77
	3	ND	0.196	ND	0.180	ND	0.985	ND	0.748	2.02	3.61	0.050	5.75
	4	ND	0.208	ND	0.195	ND	0.993	ND	0.618	2.02	3.39	0.050	5.79
	5	ND	0.211	ND	0.177	ND	1.11	ND	0.700	2.02	3.50	0.050	6.75
	6	ND	0.188	ND	0.194	ND	1.07	ND	0.726	2.02	3.58	0.050	6.98
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.208	/	0.187	/	1.02	/	0.696	2.02	3.51	0.050	6.31
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	105	/	93.7	/	102	/	69.6	/	74.5	/	104

表 1-25 正确度测试数据

验证单位：江苏省镇江环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 26、2021. 9. 7~9. 15

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.223	ND	0.196	ND	0.978	ND	0.803	2.03	3.60	0.281	5.89
	2	ND	0.219	ND	0.194	ND	0.997	ND	0.723	2.03	3.45	0.281	6.10
	3	ND	0.200	ND	0.195	ND	0.978	ND	0.851	2.03	3.71	0.281	5.35
	4	ND	0.210	ND	0.211	ND	0.983	ND	0.711	2.03	3.45	0.281	5.99
	5	ND	0.206	ND	0.176	ND	1.09	ND	0.671	2.03	3.53	0.281	6.17
	6	ND	0.192	ND	0.193	ND	1.05	ND	0.751	2.03	3.62	0.281	6.33
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.208	/	0.194	/	1.01	/	0.752	2.03	3.56	0.281	5.97
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	105	/	97.0	/	101	/	75.2	/	89.0	/	94.8

表 1-26 正确度测试数据

验证单位：江苏省扬州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 25~6. 29、2021. 11. 16~11. 26

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.175	ND	0.184	ND	0.828	ND	1.23	0.062	2.07	0.052	5.23
	2	ND	0.164	ND	0.173	ND	0.864	ND	1.17	0.062	1.98	0.052	5.81
	3	ND	0.170	ND	0.155	ND	0.874	ND	1.13	0.062	2.09	0.052	5.01
	4	ND	0.154	ND	0.161	ND	0.856	ND	1.10	0.062	2.05	0.052	5.35
	5	ND	0.170	ND	0.168	ND	0.842	ND	1.06	0.062	1.86	0.052	5.30
	6	ND	0.176	ND	0.167	ND	0.832	ND	1.22	0.062	1.93	0.052	5.02
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.168	/	0.168	/	0.849	/	1.15	0.062	2.00	0.052	5.29
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	84.0	/	84.0	/	84.9	/	115	/	96.9	/	87.3

表 1-27 正确度测试数据

验证单位：江苏省扬州环境监测中心站

测试日期：2017. 6. 25~6. 29、2021. 11. 16~11. 26

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.180	ND	0.170	ND	0.783	ND	1.22	0.057	2.12	0.333	4.83
	2	ND	0.171	ND	0.164	ND	0.796	ND	1.15	0.057	2.01	0.333	5.37
	3	ND	0.174	ND	0.143	ND	0.821	ND	1.15	0.057	2.08	0.333	5.00
	4	ND	0.158	ND	0.154	ND	0.801	ND	1.13	0.057	2.12	0.333	5.10
	5	ND	0.174	ND	0.158	ND	0.774	ND	1.12	0.057	1.95	0.333	4.89
	6	ND	0.185	ND	0.155	ND	0.800	ND	1.23	0.057	2.03	0.333	5.04
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.157	/	0.796	/	1.170	0.057	2.05	0.333	4.79
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	87.0	/	78.5	/	79.6	/	117	/	99.6	/	74.3

表 1-28 正确度测试数据

验证单位：江苏省泰州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 30、2021. 11. 19~11. 29

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.156	ND	0.151	ND	0.851	ND	0.725	0.021	1.72	0.132	5.65
	2	ND	0.171	ND	0.173	ND	0.842	ND	0.790	0.021	1.71	0.132	5.19
	3	ND	0.183	ND	0.171	ND	0.936	ND	0.844	0.021	1.89	0.132	5.43
	4	ND	0.158	ND	0.168	ND	0.792	ND	0.701	0.021	1.61	0.132	6.03
	5	ND	0.165	ND	0.177	ND	0.865	ND	0.763	0.021	1.75	0.132	5.10
	6	ND	0.167	ND	0.182	ND	0.892	ND	0.747	0.021	1.81	0.132	4.88
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.167	/	0.170	/	0.863	/	0.762	0.021	1.75	0.232	5.38
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	83.5	/	85.0	/	86.3	/	76.2	/	87.5	/	87.4

表 1-29 正确度测试数据

验证单位：江苏省泰州环境监测中心

测试日期：2017. 6. 22~6. 30、2021. 10. 18~10. 27

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.162	ND	0.186	ND	0.911	ND	0.815	0.202	2.04	0.641	5.19
	2	ND	0.184	ND	0.153	ND	0.901	ND	0.912	0.202	1.93	0.641	4.92
	3	ND	0.191	ND	0.155	ND	0.799	ND	0.755	0.202	1.78	0.641	5.00
	4	ND	0.163	ND	0.182	ND	0.847	ND	0.715	0.202	1.91	0.641	5.32
	5	ND	0.175	ND	0.165	ND	0.866	ND	0.775	0.202	1.95	0.641	4.70
	6	ND	0.171	ND	0.195	ND	0.764	ND	0.815	0.202	1.73	0.641	4.28
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.173	/	0.848	/	0.798	0.202	1.89	0.641	4.90
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	87.0	/	86.5	/	84.8	/	79.8	/	94.5	/	71.0

表 1-30 正确度测试数据

验证单位：江苏省苏力环境科技有限责任公司

测试日期：2017. 6. 25~6. 30、2021. 12. 2~12. 14

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.157	ND	0.174	ND	0.835	ND	1.08	0.172	2.05	0.071	5.23
	2	ND	0.153	ND	0.181	ND	1.00	ND	0.921	0.172	2.16	0.071	6.38
	3	ND	0.144	ND	0.186	ND	1.12	ND	0.868	0.172	1.84	0.071	6.82
	4	ND	0.140	ND	0.209	ND	1.022	ND	1.09	0.172	1.63	0.071	5.91
	5	ND	0.135	ND	0.164	ND	0.753	ND	0.827	0.172	1.77	0.071	6.84
	6	ND	0.143	ND	0.190	ND	0.958	ND	0.987	0.172	2.05	0.071	6.11
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.145	/	0.184	/	0.948	/	0.963	0.172	1.92	0.071	6.21
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	72.5	/	92.0	/	94.8	/	96.3	/	87.4	/	102

表 1-31 正确度测试数据

验证单位：江苏省苏力环境科技有限责任公司

测试日期：2017. 6. 25~6. 30、2021. 12. 2~12. 14

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.170	ND	0.159	ND	0.805	ND	1.20	0.214	2.01	0.542	4.79
	2	ND	0.159	ND	0.184	ND	0.999	ND	0.928	0.214	2.01	0.542	5.99
	3	ND	0.136	ND	0.195	ND	1.10	ND	0.842	0.214	1.89	0.542	6.19
	4	ND	0.133	ND	0.190	ND	0.952	ND	1.11	0.214	1.58	0.542	5.44
	5	ND	0.129	ND	0.167	ND	0.796	ND	0.837	0.214	1.80	0.542	6.21
	6	ND	0.157	ND	0.173	ND	0.965	ND	1.05	0.214	1.89	0.542	5.81
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.147	/	0.178	/	0.936	/	0.994	0.214	1.86	0.542	5.74
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	73.5	/	89.0	/	93.6	/	99.4	/	82.3	/	86.6

表 1-32 正确度测试数据

验证单位：江苏新锐环境监测有限公司

测试日期：2017.6.1~6.7、2021.9.9~9.27

样品类型		阿维菌素 B _{1b}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.183	ND	0.174	ND	0.847	ND	0.891	0.017	1.62	0.111	4.73
	2	ND	0.178	ND	0.168	ND	0.943	ND	0.891	0.017	1.65	0.111	6.44
	3	ND	0.179	ND	0.159	ND	0.976	ND	0.854	0.017	1.65	0.111	4.99
	4	ND	0.168	ND	0.166	ND	0.768	ND	0.787	0.017	1.70	0.111	4.38
	5	ND	0.169	ND	0.175	ND	0.836	ND	0.975	0.017	1.66	0.111	4.94
	6	ND	0.166	ND	0.165	ND	0.823	ND	0.806	0.017	1.59	0.111	6.33
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.174	/	0.167	/	0.866	/	0.867	0.017	1.65	0.111	5.30
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	87.0	/	83.5	/	86.6	/	86.7	/	82.5	/	86.5

表 1-33 正确度测试数据

验证单位：江苏新锐环境监测有限公司

测试日期：2017.6.1~6.7、2021.9.9~9.27

样品类型		阿维菌素 B _{1a}											
		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水 1		工业废水 2	
		原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样	原样	加标样
测定结果	1	ND	0.181	ND	0.175	ND	0.870	ND	0.842	0.046	1.63	0.672	5.24
	2	ND	0.177	ND	0.180	ND	0.938	ND	0.829	0.046	1.66	0.672	5.84
	3	ND	0.177	ND	0.160	ND	0.992	ND	0.841	0.046	1.64	0.672	5.08
	4	ND	0.165	ND	0.177	ND	0.747	ND	0.796	0.046	1.70	0.672	5.49
	5	ND	0.168	ND	0.178	ND	0.822	ND	0.924	0.046	1.72	0.672	6.52
	6	ND	0.164	ND	0.178	ND	0.812	ND	0.781	0.046	1.61	0.672	6.16
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		/	0.172	/	0.174	/	0.863	/	0.835	0.046	1.66	0.672	5.72
加标量 μ (μg/L)		/	0.20	/	0.20	/	1.00	/	1.00	/	2.00	/	6.00
加标回收率 P_i (%)		/	86.0	/	87.0	/	86.3	/	83.5	/	83.0	/	84.1

2 方法验证数据汇总

2.1 校准曲线汇总

对6家实验室按照方法验证方案测定目标物的校准曲线数据进行汇总，见表1-34。统计结果显示，6家实验室校准曲线相关系数 ≥ 0.995 。

表 1-34 校准曲线汇总表

实验室序号	阿维菌素 B _{1b}		阿维菌素 B _{1a}	
	回归方程	<i>r</i>	回归方程	<i>r</i>
1	$y = 0.0101x - 0.0013$	0.9997	$y = 0.0830x + 0.0051$	0.9998
2	$y = 231x + 1.473$	0.9998	$y = 255x + 2.41$	0.9998
3	$y = 7669x - 5902$	0.9995	$y = 9516x - 3660$	0.9997
4	$y = 8649x + 759$	0.9999	$y = 8962x + 3978$	0.9999
5	$y = 45881x - 24925$	0.9985	$y = 44286x - 11207$	0.9990
6	$y = 0.0163x - 0.0014$	0.9999	$y = 0.0183x - 0.0015$	0.9999

2.2 方法检出限、测定下限汇总

方法检出限和测定下限汇总见表1-35。

表 1-35 方法检出限、测定下限汇总表

空白加标计算检出限 (μg/L)	阿维菌素 B _{1b}						方法检出限 (μg/L)	测定下限 (μg/L)
	1	2	3	4	5	6		
	0.03	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.03	0.12
仪器检出限 (μg/L)	0.02	0.01	0.005	0.005	0.02	0.02		
空白加标计算检出限 (μg/L)	阿维菌素 B _{1a}						方法检出限 (μg/L)	测定下限 (μg/L)
	1	2	3	4	5	6		
	0.03	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.03	0.12
仪器检出限 (μg/L)	0.02	0.01	0.005	0.005	0.02	0.02		

小结：6家验证实验室测定浓度与计算所得方法检出限的比值均在3~5之间，满足“分析物样品浓度在3~5倍计算所得方法检出限范围内”的要求。方法检出限取6家验证实验室仪器检出限和空白加标计算所得检出限的最大值，当取样体积100 ml，定容体积1 ml，进样体积20 μl时，阿维菌素B_{1a}和阿维菌素B_{1b}的方法检出限为0.03 μg/L，测定下限为0.12 μg/L。

2.3 方法精密度汇总

6家实验室地表水、地下水、海水、生活污水、工业废水加标精密度汇总表见表1-36、表1-37。选择6家实验室精密度验证数据每组6次数据中差值最大的作为平行样计算相对偏差，统计结果见表1-38。

表 1-36 阿维菌素 B_{1b} 加标测试数据精密度汇总表

实验室号	阿维菌素 B _{1b}																	
	地表水 (加标 0.20 μg/L)			地下水 (加标 0.20 μg/L)			海水 (加标 1.00 μg/L)			生活污水 (加标 1.00 μg/L)			工业废水 1 (加标 2.00 μg/L)			工业废水 2 (加标 6.00 μg/L)		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i
1	0.198	0.008	3.9	0.178	0.018	10	0.866	0.078	9.1	0.837	0.030	3.6	1.73	0.128	7.4	5.63	0.309	5.5
2	0.208	0.014	6.5	0.187	0.008	4.0	1.02	0.056	5.4	0.696	0.067	9.6	3.51	0.098	2.8	6.31	0.580	9.2
3	0.168	0.008	4.9	0.168	0.010	6.0	0.849	0.018	2.2	0.713	0.042	5.9	2.00	0.090	4.5	5.29	0.294	5.6
4	0.167	0.010	5.8	0.170	0.011	6.3	0.863	0.049	5.6	0.762	0.050	6.6	1.75	0.097	5.6	5.38	0.416	7.7
5	0.145	0.008	5.7	0.184	0.015	8.3	0.948	0.134	15	0.963	0.110	12	1.92	0.202	11	6.21	0.610	9.8
6	0.174	0.007	4.0	0.167	0.006	3.6	0.866	0.078	9.1	0.867	0.068	7.8	1.65	0.036	2.2	5.30	0.870	17
\bar{x} (μg/L)	/			/			0.903			/			/			/		
S' (μg/L)	/			/			0.069			/			/			/		
RSD' (%)	/			/			7.7			/			/			/		
r (μg/L)	/			/			0.22			/			/			/		
R (μg/L)	/			/			0.28			/			/			/		

表 1-37 阿维菌素 B_{1a} 加标测试数据精密度汇总表

实验室号	阿维菌素 B _{1a}																	
	地表水 (加标 0.20 μg/L)			地下水 (加标 0.20 μg/L)			海水 (加标 1.00 μg/L)			生活污水 (加标 1.00 μg/L)			工业废水 1 (加标 2.00 μg/L)			工业废水 2 (加标 6.00 μg/L)		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i
1	0.202	0.013	6.3	0.190	0.025	14	0.863	0.090	11	0.871	0.037	4.2	1.85	0.115	6.2	5.41	0.432	8.0
2	0.208	0.012	5.6	0.194	0.011	5.7	1.01	0.047	4.6	0.752	0.066	8.7	3.56	0.103	2.9	5.97	0.340	5.7
3	0.174	0.009	5.3	0.157	0.009	5.9	0.796	0.016	2.0	0.725	0.029	4.0	2.05	0.067	3.3	4.79	0.19	4.0
4	0.174	0.012	6.6	0.173	0.018	11	0.848	0.057	6.8	0.798	0.068	8.5	1.89	0.117	6.2	4.90	0.372	7.6
5	0.147	0.017	12	0.178	0.014	7.8	0.936	0.116	13	0.994	0.148	15	1.86	0.159	8.6	5.74	0.544	9.5
6	0.172	0.007	4.2	0.174	0.007	4.2	0.863	0.090	11	0.835	0.050	6.0	1.66	0.043	2.6	5.72	0.554	9.7
\bar{x} (μg/L)	/			/			0.886			/			/			/		
S' (μg/L)	/			/			0.076			/			/			/		
RSD' (%)	/			/			8.6			/			/			/		
r (μg/L)	/			/			0.21			/			/			/		
R (μg/L)	/			/			0.29			/			/			/		

表 1-38 平行测定精密度汇总表

实验室编号		地表水		地下水		海水		生活污水		工业废水		工业废水	
		阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
1	最小值 (μg/L)	0.185	0.187	0.150	0.150	0.768	0.747	0.793	0.798	1.58	1.70	5.18	4.76
	最大值 (μg/L)	0.206	0.222	0.200	0.227	0.976	0.992	0.873	0.898	1.90	2.02	5.94	6.08
	相对偏差 (%)	5.4	8.6	15	21	12	15	4.8	5.9	9.1	8.7	6.8	13
2	最小值 (μg/L)	0.188	0.192	0.177	0.176	0.965	0.978	0.611	0.671	3.39	3.45	5.75	5.35
	最大值 (μg/L)	0.225	0.223	0.195	0.211	1.11	1.09	0.770	0.851	3.61	3.71	6.98	6.33
	相对偏差 (%)	9.0	7.5	4.8	9.0	7.0	5.4	12	12	3.1	3.6	9.7	8.4
3	最小值 (μg/L)	0.154	0.158	0.155	0.143	0.828	0.774	1.06	1.12	1.86	1.95	5.01	4.83
	最大值 (μg/L)	0.176	0.185	0.184	0.170	0.874	0.821	1.23	1.23	2.09	2.12	5.81	5.37
	相对偏差 (%)	6.7	7.9	8.6	8.6	2.7	2.9	7.4	4.7	5.8	4.2	7.4	5.4
4	最小值 (μg/L)	0.156	0.162	0.151	0.153	0.792	0.764	0.701	0.715	1.61	1.73	4.88	4.28
	最大值 (μg/L)	0.183	0.191	0.182	0.195	0.936	0.911	0.844	0.912	1.89	2.04	6.03	5.32
	相对偏差 (%)	8.0	8.2	9.3	13	8.3	8.7	9.2	13	8.2	8.4	11	11
5	最小值 (μg/L)	0.135	0.129	0.164	0.159	0.753	0.796	0.827	0.837	1.63	1.58	5.23	4.79
	最大值 (μg/L)	0.157	0.170	0.209	0.195	1.12	1.10	1.09	1.20	2.16	2.01	6.84	6.21
	相对偏差 (%)	7.5	14	12	9.9	20	16	14	18	15	12	14	13
6	最小值 (μg/L)	0.166	0.164	0.159	0.160	0.768	0.747	0.787	0.781	1.59	1.61	4.38	5.08
	最大值 (μg/L)	0.183	0.181	0.175	0.180	0.976	0.992	0.975	0.924	1.70	1.72	6.44	6.52
	相对偏差 (%)	4.9	4.9	4.8	5.9	12	15	11	8.4	3.3	3.4	20	13
相对偏差最大值 (%)				21									

小结：

6家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度分别为 0.20 μg/L、0.20 μg/L 和 1.00 μg/L 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定，实验室内相对标准偏差范围分别为：3.9%~12%、3.6%~14%和 3.6%~15%。

6家实验室对测定浓度范围为 0.02 μg/L~2.03 μg/L，加标浓度分别为 2.00 μg/L、6.00 μg/L 的工业废水实际样品进行了 6 次重复测定，实验室内相对标准偏差范围分别为：2.2%~11%、4.0%~17%。

6家实验室对阿维菌素 B_{1a} 和阿维菌素 B_{1b} 加标浓度为 1.00 μg/L 的海水统一实际样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对偏差范围为 2.0%~15%；实验室间相对偏差为 4.1%~4.3%；重复性限为 0.21 μg/L~0.22 μg/L，再现性限为 0.28 μg/L~0.29 μg/L。

6家实验室平行样相对偏差最大值 21%。

2.4 方法正确度汇总

6家验证实验室加标样品回收率测试汇总数据见表 1-39。

表 1-39 加标测试数据正确度汇总表

实验室号	地表水 (加标 0.20 μg/L)		地下水 (加标 0.20 μg/L)		海水 (加标 1.00 μg/L)		生活污水 (加标 1.00 μg/L)		工业废水 1 (加标 2.00 μg/L)		工业废水 2 (加标 6.00 μg/L)	
	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}	阿维菌素 B _{1b}	阿维菌素 B _{1a}
1	98.9	101	89.0	95.0	86.6	86.4	83.7	87.1	83.8	81.9	92.3	87.3
2	105	105	93.7	97.0	102	101	69.6	75.2	74.5	89.0	104	94.8
3	84.0	87.0	84.0	78.5	84.9	79.6	115	117	96.9	99.6	87.3	74.3
4	83.5	87.0	85.0	86.5	86.3	84.8	76.2	79.8	87.5	94.5	87.4	71.0
5	72.5	73.5	92.0	89.0	94.8	93.6	96.3	99.4	87.4	82.3	102	86.6
6	87.0	86.0	83.5	87.0	86.6	86.3	86.7	83.5	82.5	83.0	86.5	84.1
\bar{P} (%)	88.5	89.9	87.9	88.8	90.2	88.6	87.9	90.3	85.4	88.4	93.3	83.0
$S_{\bar{P}}$ (%)	11.7	11.4	4.4	6.6	6.8	7.5	16.1	15.4	7.4	7.4	7.8	8.8

小结:

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度分别为 0.20 µg/L、0.20 µg/L 和 1.00 µg/L 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定, 加标回收率范围分别为: 72.5%~105%、78.5%~97.0%和 69.6%~117%。

6家实验室对测定浓度范围为 0.02 µg/L~2.03 µg/L, 加标浓度分别为 2.00 µg/L、6.00 µg/L 的工业废水实际样品进行了 6 次重复测定, 加标回收率范围分别为: 74.5%~99.6%、71.0%~104%。

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度为 1.00 µg/L 的海水统一实际样品进行了 6 次重复测定: 加标回收率为 79.6%~102%; 加标回收率最终值为 88.6%±15.0%~90.2%±13.6%。

3 方法验证结论

3.1 验证数据统计情况

编制组在进行方法验证报告数据统计时, 异常值的检验和处理按照 GB/T 6379.6-2009 标准进行, 在统计分析时未发现异常值, 所有数据全部采用, 未进行取舍。

3.2 方法检出限和测定下限

当取样体积为 100 ml, 定容体积为 1 ml, 进样体积 20 µl 时, 阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}的方法检出限为 0.03 µg/L, 测定下限为 0.12 µg/L。

3.3 精密度

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度分别为 0.20 µg/L、0.20 µg/L 和 1.00 µg/L 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定, 实验室内相对标准偏差范围分别为: 3.9%~12%、3.6%~14%和 3.6%~15%。

6家实验室对测定浓度范围为 0.02 µg/L~2.03 µg/L, 加标浓度分别为 2.00 µg/L、6.00 µg/L 的工业废水实际样品进行了 6 次重复测定, 实验室内相对标准偏差范围分别为: 2.2%~11%、4.0%~17%。

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度为 1.00 µg/L 的海水统一实际样品进行了 6 次重复测定: 实验室内相对标准偏差范围为 2.0%~15%; 实验室间相对偏差为 4.1%~4.3%; 重复性限为 0.21 µg/L~0.22 µg/L, 再现性限为 0.28 µg/L~0.29 µg/L。

6家实验室平行样相对偏差最大值 21%。

3.3 正确度

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度分别为 0.20 µg/L、0.20 µg/L 和 1.00 µg/L 的地表水、地下水、生活污水实际样品进行了 6 次重复测定, 加标回收率范围分别为: 72.5%~105%、78.5%~97.0%和 69.6%~117%。

6家实验室对测定浓度范围为0.02 μg/L~2.03 μg/L, 加标浓度分别为2.00 μg/L、6.00 μg/L的工业废水实际样品进行了6次重复测定, 加标回收率范围分别为: 74.5%~99.6%、71.0%~104%。

6家实验室对阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}加标浓度为1.00 μg/L的海水统一实际样品进行了6次重复测定: 加标回收率为79.6%~102%; 加标回收率最终值为88.6%±15.0%~90.2%±13.6%。

3.4 校准曲线相关系数

6家实验室目标物校准曲线相关系数均≥0.995。

3.5 平行样相对偏差

6家实验室平行测定结果相对偏差最大值21%, 本标准规定平行样测定结果的相对偏差应在±30%以内。

3.6 基体加标回收率

6家实验室基体加标回收率在69.6%~120%之间, 本标准规定基体加标回收率范围60%~130%。

3.7 整体结论

阿维菌素 B_{1a}和阿维菌素 B_{1b}的方法检出限0.03 μg/L, 测定下限0.12 μg/L, 测定下限低于美国EPA自来水中阿维菌素的筛选阈值, 满足工作需要。方法各项特性指标及质控指标均达到了预期要求。