中华人民共和国农业行业标准

《饲料中杆菌肽的测定 液相色谱-串联质谱法》

编制说明

（公开征求意见稿）

目　录

一、工作简况 1
1.1 任务来源 1
1.2 制定背景 1
1.3 工作过程 2
1.4 主要起草人及所做的工作 4
二、标准编制原则、主要内容及其确定依据 4
2.1 标准编制原则 4
2.2 主要内容及其确定依据 5
2.2.1 测定组分的确定 5
2.2.2 样品前处理方法的确定 6
2.2.2.1 样品提取条件的确定 6
2.2.2.2 样品净化条件的确定 12
2.2.2.3 最终确定的前处理条件 13
2.2.3 液相色谱串联质谱法仪器条件的确定 15
2.2.3.1 质谱条件的优化 15
2.2.3.2 液相条件的选择和优化 16
2.2.4 定量方法的确定 18
2.2.5 标准溶液稳定性试验 20
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期经济效果 20
3.1 试验验证的分析 20
3.1.1 线性实验 20
3.1.2 检测限和定量限的确定 22
3.1.3 方法的回收率和重现性 25
3.1.3.1 空白样品的筛选和定义 25
3.1.3.2 本方法与 SN/T 4807-2017 方法比对 25
3.1.3.3 添加回收率实验结果 26
3.1.3.4 实际样品测定 54
3.2 综述报告 54

3.3 技术经济论证 56
3.4 预期经济效果 56
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况 56
五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准 56
六、与有关法律、法规的关系 56
七、重大分歧意见的处理经过和依据 56
八、涉及专利的有关说明 57
九、贯彻国家标准的要求和措施建议 57
十、其他应予说明的事项 57
附图 58

《饲料中杆菌肽的测定 液相色谱仪-串联质谱法》编制说明

（公开征求意见稿）

一、工作简况

1.1 任务来源

本标准制定任务来源于农业农村部农产品质量安全监管司，购买服务合同事项名称“《饲料中吉他霉素的测定　高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》等 2 项农业行业标准制修订”，合同签订时间 2020 年 8 月 12 日，编号：14202179，其中该项标准名称为《饲料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的测定　液相色谱-串联质谱法》。制标单位（宁波市农产品质量检测中心、浙江正明检测有限公司）在参考国内外有关杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽及目前饲料中药物分析方法趋势的基础上结合前期研究基础以及在我国生产中的实际情况起草本标准。

1.2 制定背景

饲料是人类的间接食品，饲料质量的好坏以及是否安全，直接影响畜禽的正常发育、健康成长，生态环境的可持续发展和人类健康。当前饲料安全及畜产品安全问题已经引起全社会的关注。而饲料中违规以及超剂量添加药物是饲料安全的隐患之一，因此有必要建立饲料中相关药物分析方法标准为饲料安全保驾护航。

杆菌肽 (bacitracin)，发现于 1943 年，是由芽孢杆菌分泌产生的多肽类抗生素，杆菌肽由 12 个氨基酸组成，含有 A、B、C、D、E、F、G 等至少 9 种组分，其中以杆菌肽 A、B_1、B_2、B_3 为主要活性组分，占杆菌肽复合物总抗菌活性的 96%。杆菌肽的抗菌谱与青霉素相似，主要用于治疗耐青霉素的葡萄球菌感染。杆菌肽具有促进动物生长、提高饲料利用率、抑制动物肠道中有害微生物生长、预防和治疗多种动物肠道疾病的作用，同时具有抗菌谱广、无残留、无休药期、不产生耐药性、无毒副作用、安全性好等特点，在国内外动物养殖和饲料生产中均已有广泛应用。杆菌肽作为饲料药物添加剂使用，主要有杆菌肽锌(bacitracin zinc)和亚甲基水杨酸杆菌肽(bacitracin methylene disalicylate)两种产品。农业部第 168 号公告《饲料药物添加剂使用规范》明确规定了“杆菌肽锌预混剂”的使用方法，规定该预混剂用于猪、鸡、牛促生长时每 1000 kg 配合饲料，猪添加 4-40 g（4 月龄以下），鸡 4-40 g (16 周龄以下），犊牛 10-100 g（3 月龄以下）、4-40 g（6 月龄以下）。2012 年农业部批准“亚甲基水杨酸杆菌肽预混剂”为新兽药产品，颁发了饲料级亚甲基水杨酸杆菌肽新兽药注册证书，为当时亚甲基水杨酸杆

菌肽在饲料中的推广应用奠定了基础，该预混剂用于肉鸡饲料中以 5-40 mg/kg 剂量进行添加。同时有文献报道当饲料中肉鸡添加杆菌肽锌 4 mg/kg，仔猪添加杆菌肽锌 50 mg/kg 时，增重方面有明显的效果。此外，在肉鸡饮水中添加 52.8-105.6 mg/L 浓度的杆菌肽锌，能有效地防治饲料中高剂量产气荚膜梭菌所造成的动物死亡和动物肝脏的病变。1955 年公开的美国专利表明，亚甲基水杨酸杆菌肽由于能在小肠的微酸性环境中溶解，比杆菌肽锌能更好地发挥其抗菌和促生长的作用。但使用该药物可能引起肾毒性，并可能有皮疹、瘙痒等不良反应。因此，我国国家标准 GB 31650-2019 规定了杆菌肽的最大残留限量，牛、猪、家禽可食组织、牛奶以及蛋中均为 500 μg/kg。同时，由于抗生素滥用所导致的细菌耐药性、耐药基因、生态环境污染，以及食品安全等问题，已经严重影响到畜牧行业健康发展，2019 年 7 月 9 日农业农村部第 194 号公告发布，标志着 12 种促生长药物饲料添加剂退出饲料产品之列（包括杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽），但畜禽治疗使用抗生素不受影响。因此在此背景下，因此为保障人类用药和食品安全，有必要建立饲料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的测定方法标准。

1.3 工作过程

本标准主要工作过程如下：

2020 年 08 月 12 日，签订合同，购买服务合同事项名称“《饲料中吉他霉素的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》等 2 项农业行业标准制修订”。编号：14202179，其中该项标准名称为《饲料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的测定　液相色谱-串联质谱法》。

2020 年 08-12 月，标准编制工作小组检索了有关饲料和食品中杆菌肽检测方法的国内外文献，发现目前仅有饲料中杆菌肽锌的分析方法报道，分析对象主要集中在动物性食品，少量为饲料；并根据当前饲料中药物分析的检测技术现状、饲料中杆菌肽制剂使用浓度和液质联用分析特点，制定了该标准分析方法试验草案，拟订工作计划和工作进度。

2021 年 01-2022 年 03 月，按照拟定的试验草案进行了饲料中杆菌肽制剂的前处理方法和仪器方法的研究，并确定了最终的前处理条件和仪器条件。并进行了线性、检测限和定量限、添加回收率等相关试验以确定方法最终是否具有可操作性和科学性。

2022 年 04-08 月，编制工作小组根据试验情况完成了该方法标准的征求意见稿和编制说明。征求意见稿的方法名称为《饲料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的测定　液

相色谱-串联质谱法》。

2022 年 09 月编制工作小组将形成的征求意见稿，以电子邮件或微信发送的方式发送到各单位专家进行了征求意见。

2022 年 11 月编制工作小组对征求到的意见共 21 份进行了整理，共 54 条意见，其中 46 条采纳，8 条不采纳。

2022 年 12 月-2023 年 3 月，由河南省兽药饲料监察所、农业农村部农产品及加工品质量安全监督检验测试中心（北京）和农业农村部农产品及加工品质量安全监督检验测试中心（杭州）三家单位对该标准进行了复核验证，验证结果良好。

2023 年 5 月 25 日，召开专家预审会，专家组就标准文本和编制说明进行了讨论，并提出修改意见，标准通过预审。提出以下修改意见：（1）建议标准名称修改为“饲料中杆菌肽的测定 液相色谱-串联质谱法”，并在编制说明中补充理由；（2）进一步核实精密度要求，并在编制说明中说明；（3）建议在编制说明中补充蛋鸡浓缩饲料和蛋鸡微量元素预混合饲料试样提取中 EDTA-2Na 溶液的数据;（4）按照 GB/T 1.1－2020、GB/T 20001.4－2015 的要求规范标准文本。

审查意见处理情况：

意见 1：建议标准名称修改为“饲料中杆菌肽的测定 液相色谱-串联质谱法”，并在编制说明中补充理由。

处理：本标准检测饲料中禁止添加的杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽两种化合物，但仪器方法最终检测的是杆菌肽，结果无法区分两种化合物，最终以杆菌肽计，为了标准的一致性和协调性，专家组建议标准名称修改为“饲料中杆菌肽的测定 液相色谱-串联质谱法”。

意见 2：进一步核实精密度要求，并在编制说明中说明。

处理：已进一步核实精密度要求，并在编制说明“3.1.3.3 添加回收率实验结果”中增加以杆菌肽 $A+B_1+B_2+B_3$ 之和计算的 RSD 值，杆菌肽 A、杆菌肽 B_1、杆菌肽 B_2 和杆菌肽 B_3 单独成分 RSD 和以杆菌肽 $A+B_1+B_2+B_3$ 之和计算的 RSD 值均小于 15%，最终确定精密度为在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 15%。

意见 3：3. 建议在编制说明中补充蛋鸡浓缩饲料和蛋鸡微量元素预混合饲料试样提取中 EDTA-2Na 溶液的数据。

处理：在编制说明中 2.2.2.2（b）图 7 中已补充蛋鸡浓缩饲料和蛋鸡微量元素预混合饲料试样提取中 EDTA-2Na 溶液的数据。

意见 4：按照 GB/T 1.1－2020、GB/T 20001.4－2015 的要求规范标准文本。

处理：已按照 GB/T 1.1－2020、GB/T 20001.4－2015 的要求规范标准文本。

2023 年 6 月-7 月，标准编制小组根据专家意见，对标准文本和编制说明进行了修改。再次发送专家审核后形成公开征求意见稿。

1.4 主要起草人及所做的工作

人员	职称	任务分工
吴银良	正高级工程师	项目负责人，方案设计，制定工作总体协调
徐　峰	工程师	试验方法研究，标准文本和编制说明编写
付　岩	副研究员	试验方法研究
朱　勇	高级农艺师	样品收集和测定
应永飞	高级畜牧师	样品收集和测定
孙梅梅	高级农艺师	试验方法研究
张　亮	工程师	试验方法的研究，试样测定
马　艳	工程师	样品收集和测定
吴市学	工程师	样品测定
王全胜	工程师	方法学验证
史西志	教授	方法学验证

二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

2.1 标准编制原则

本标准的编写制定过程中以提高测试方法的选择性、准确度、精密度、检测限和分析效率为总原则，反映科学技术的先进成果和先进经验。

在标准的制定过程中严格遵循国家有关方针、政策、法规和规章，标准的编写规则及表述按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写规则的要求》、GB/T 5009.1-2003 《食品卫生检验方法 理化部分 总则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》的要求编写。在标准制定过程中力求做到：技术内容的叙述正确无误；文字表达准确、简明、易懂；标准的构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑与规定。

2.2 主要内容及其确定依据

2.2.1 测定组分的确定

a:采用液相色谱串联质谱法测定饲料和动物性食品中杆菌肽 A 的文献和标准（GB/T 20743-2006、GB/T 22981-2008 、SN/T 4807-2017）较多，未见涉及亚甲基水杨酸杆菌肽的报道，杆菌肽锌仅有 1 篇《Extraction and analytical determination of zinc bacitracin residue in meat followed by HPLC/MS/MS》，但从其提供的图谱看，分析对象母离子为 712，即实际分析对象为杆菌肽 A。

b:利用购自 TRC 杆菌肽锌标准品和购自绿康生化股份有限公司的亚甲基水杨酸杆菌肽原药用 20%甲醇溶液配制 1 mg/L 标准溶液在 500-2000 范围进行全扫描，得到图 1 和图 2。从图中可知形成的主要离子质荷比为 712 和 705，为杆菌肽 A（分子量 1422.7）和杆菌肽 B（杆菌肽 B_1、B_2 和 B_3 分子量相同，为 1408.7）带 2 个电荷时的质荷比，未见杆菌肽锌（分子量 1486）和亚甲基水杨酸杆菌肽（分子量 1985）分子直接带电荷形成的离子。杆菌肽 A、杆菌肽 B_1、杆菌肽 B_2 和杆菌肽 B_3 购自 TOKU-E。

c:国家食品中兽药最大残留限最标准 GB 31650-2019 规定杆菌肽的残留标志物为杆菌肽 A、杆菌肽 B 和杆菌肽 C 之和。购自绿康生化股份有限公司的亚甲基水杨酸杆菌肽原药质量标准中也明确规定杆菌肽 A 不得少于 40%，杆菌肽 A+B_1+B_2+B_3 不得少于 70%。

d: 文献《高压液相色谱技术分离制备杆菌肽各组分的研究》研究表明杆菌肽相关产品中杆菌肽 A+B_1+B_2+B_3，占杆菌肽复合物总抗菌活性的 96%；目前市场上能购买到杆菌肽 A、B_1、B_2 和 B_3 标准品，无法购买到杆菌肽 C 标准品。

综上所述，采用液相色谱串联质谱法分析饲料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽，分析对象确定为杆菌肽 A、B_1、B_2 和 B_3，杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的含量用杆菌肽 A、B_1、B_2 和 B_3 含量之和表示。

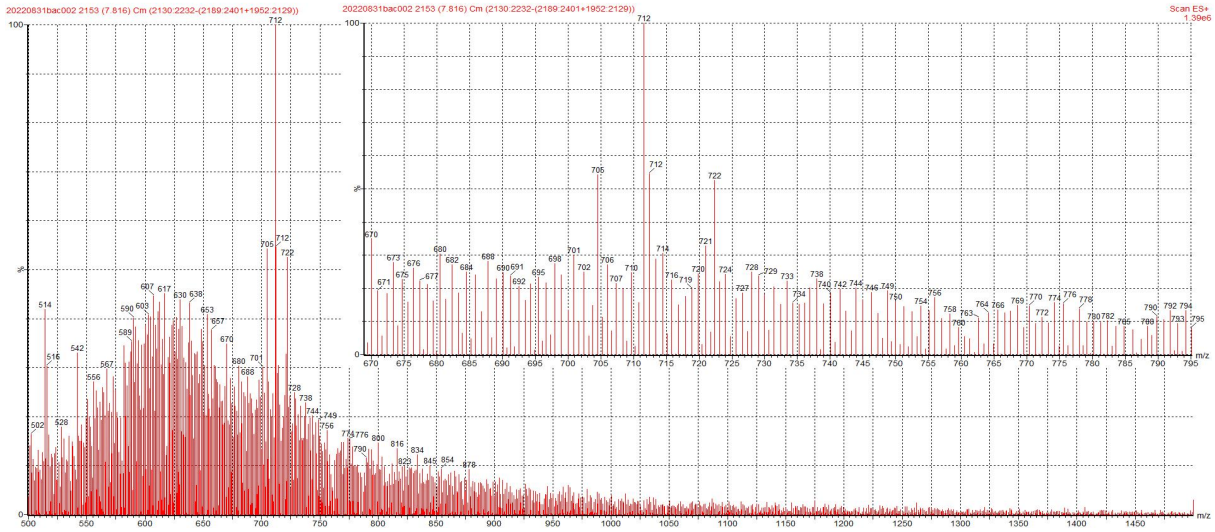


图 1 杆菌肽锌全扫质谱图

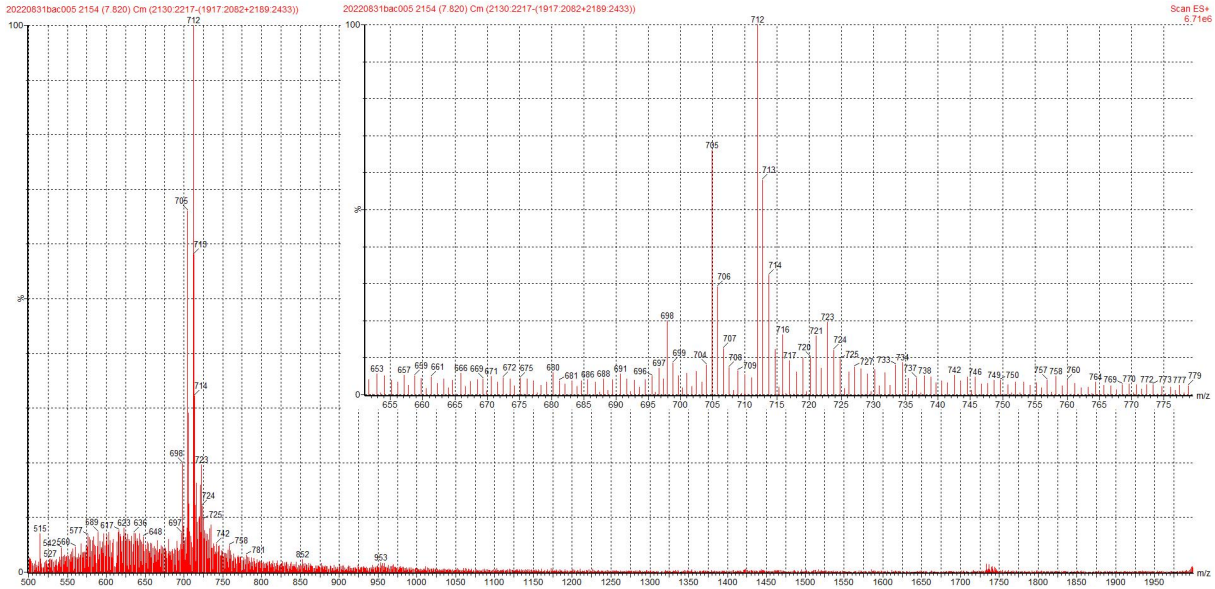


图 2 亚甲基水杨酸杆菌肽全扫质谱图

2.2.2 样品前处理方法的确定

2.2.2.1 样品提取条件的确定

a)提取溶液的选择和确定

杆菌肽易溶于水、甲醇等有机溶剂，杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽均属于杆菌肽络合物，在溶剂中的溶解度将发生改变。结合目前发表的文献提取所用溶剂情况本实验首先尝试2%甲酸水+乙腈（1+1）、甲酸乙腈、氨化乙腈、氨化甲醇及甲酸甲醇对不同饲料（鸡配合饲料、鸡浓缩饲料及鸡复合预混合饲料）的提取效率。杆菌肽混合标准溶液（BTC）、杆菌肽锌标准溶液（BZ）和亚甲基水杨酸杆菌肽原药溶液（BMD）分别进行添加回收，使实际杆菌肽A、B_1、B_2和B_3添加浓度均为1.0 mg/kg（BZ和BMD因各

组分含量不同，因此要进行多次实验）。其中饲料称样量2 g，提取液用量10 mL提取1次，振荡提取15 min，提取液进行质谱分析，同时进行空白样品试验。

2%甲酸水+乙腈（1+1）、氨化甲醇及甲酸甲醇作为提取溶剂的提取回收结果详见图3，1%甲酸乙腈和5%氨化乙腈因在不同饲料中提取回收均小于10%从而没有在图3中表示。图3结果表明，2%甲酸水+乙腈（1+1）作为提取溶剂时，杆菌肽（BTC）和杆菌肽锌（BZ）添加时提取回收率在69.2%-102%之间，亚甲基水杨酸杆菌肽（BMD）的提取回收率在36.8%-54.1%之间；1%甲酸甲醇作为提取溶剂时，杆菌肽（BTC）和杆菌肽锌（BZ）添加提取回收率在40.0%-88.1%之间，亚甲基水杨酸杆菌肽（BMD）提取回收率低于40%；5%氨化甲醇作为提取溶剂时，杆菌肽（BTC）、杆菌肽锌（BZ）和亚甲基水杨酸杆菌肽（BMD）提取回收率在66.6%-103.3%之间，其中杆菌肽（BTC）添加的提取回收率在66.6%-79.6%之间，低于杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽添加提取回收率。此外，预混合饲料的提取效率低于配合饲料和浓缩饲料。从上述结果可知，用5%氨化甲醇提取效果最佳，但回收整体上仍然较低，需要进一步对氨化提取溶液进行进一步优化以提高提取效率。

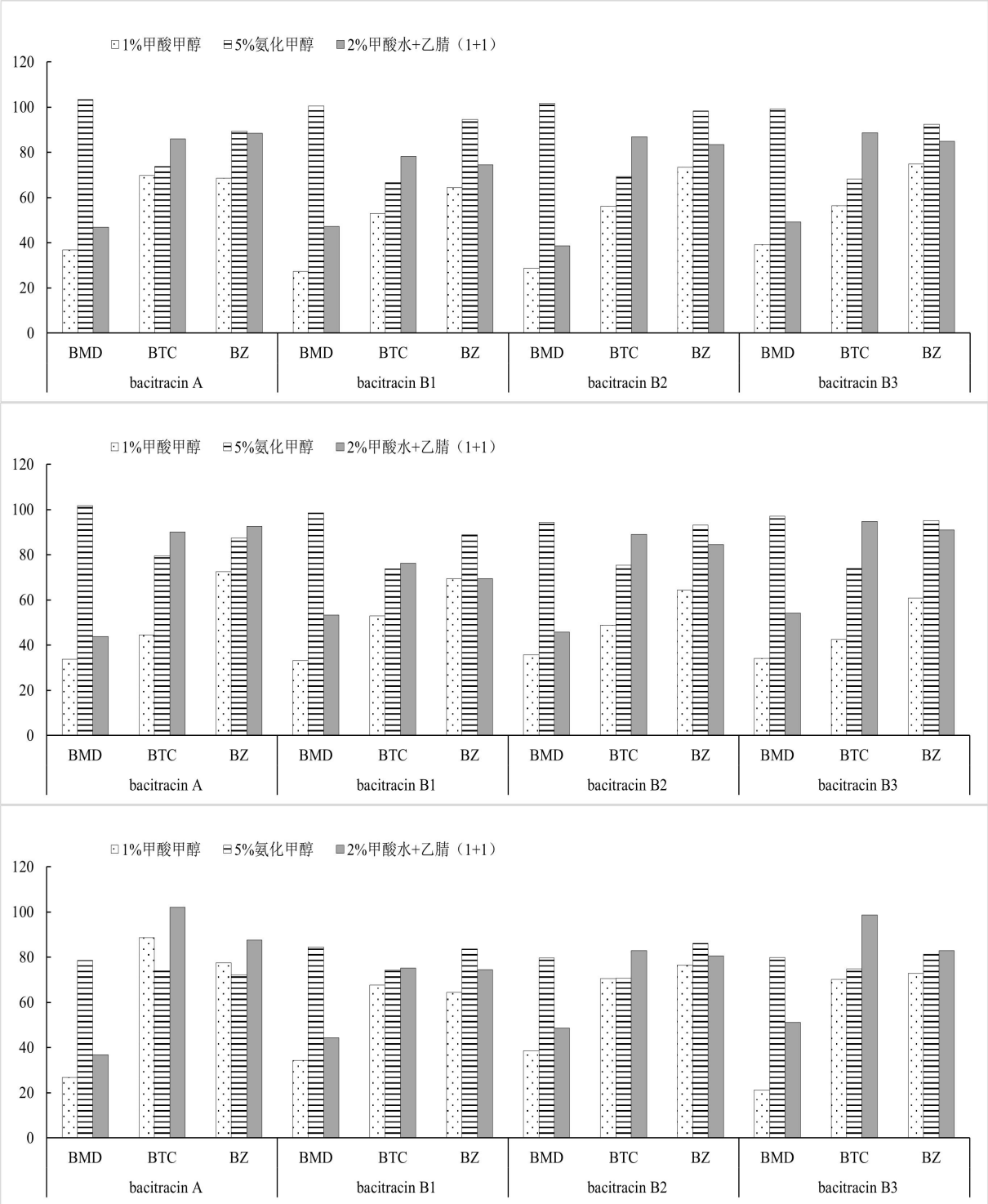


图3 鸡配合饲料、鸡浓缩饲料、鸡预混合饲料（自上而下）不同提取液下的提取回收结果

进一步比较提取溶剂5%氨水、5%氨化甲醇、10%氨水+乙腈（1+1）、10%氨水+甲醇（1+1）以及15%氨水+乙腈+甲醇（1+1+1）对不同饲料（鸡配合饲料、鸡浓缩饲料及鸡复合预混合饲料）的提取效率。添加浓度同前实验。其中饲料称样量2 g，提取溶液用量每次为10 mL均进行1次提取，振荡提取15 min，提取液进行质谱分析，同时进行空

白样品试验，结果详见图4。结果表明5%氨水对浓缩饲料和预混合饲料提取效果较差，对于预混合饲料和配合饲料而言，杆菌肽混合标准溶液（BTC）添加时，5%氨化甲醇和10%氨水+甲醇（1+1）提取溶剂提取回收低于10%氨水+乙腈（1+1）和15%氨水+乙腈+甲醇（1+1+1）。从浓缩饲料提取效率图中能直观的表明15%氨水+甲醇+乙腈（1+1+1）作为提取溶剂时，对于杆菌肽（BTC）、杆菌肽锌（BZ）和亚甲基水杨酸杆菌肽标准溶液（BMD）的添加，提取效率均为最好；且在此条件下，配合饲料和预混合饲料的提取效率均高于80%。因此，选择15%氨水+甲醇+乙腈（1+1+1）作为提取溶剂进行下一步优化。

由于15%的氨水浓度高，前处理优化过程尝试降低提取液中氨水浓度对不同饲料（鸡配合饲料、鸡浓缩饲料及鸡复合预混合饲料）的提取效率。添加回收浓度和试验方法同上所述，结果详见图5。结果表明氨水浓度对杆菌肽及杆菌肽制剂的提取回收效率影响较大，尤其是杆菌肽（BTC）添加。当氨水浓度增加到12%时，杆菌肽（BTC）、杆菌肽锌（BZ）和亚甲基水杨酸杆菌肽（BMD）的添加提取回收效率大于80%，与15%氨水+甲醇+乙腈（1+1+1）提取溶剂的回收效率无明显差异。因此，选择12%氨水+甲醇+乙腈（1+1+1）作为提取溶液进行下一步优化试验。

b)提取体积和提取次数的确定

进一步考察提取液提取体积和提取次数对提取效果的影响。添加浓度同前实验。尝试提取体积10 mL 1次提取，10 mL 2次提取，20 mL 1次提取。从图6中可知，3种提取方式下回收率差异较大的的是鸡预混合饲料，回收率范围分别为74.8%～89.9%，94.7%～113.3%，84.8%～96.4%。鸡配合饲料和鸡浓缩饲料在10 mL 2次提取和20 mL 1次提取条件下，杆菌肽（BTC）、杆菌肽锌（BZ）和亚甲基水杨酸杆菌肽（BMD）添加，回收率均较好且无明显差异。因此，最终选择10 mL 2次提取进行实验。由于振荡提取操作简单，提取回收率能够达到要求，因此选择振荡方式进行提取实验。

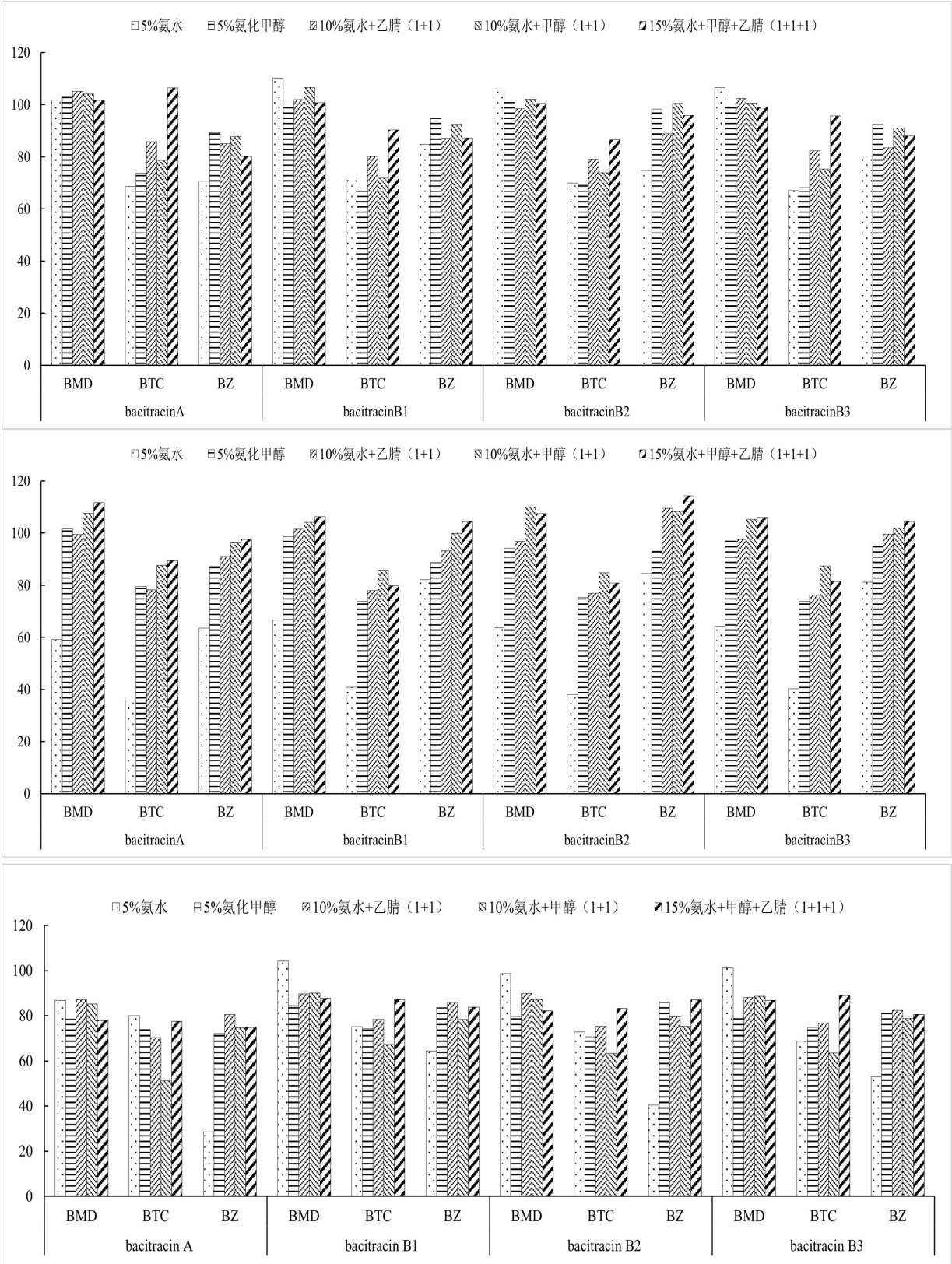


图4 鸡配合饲料、鸡浓缩饲料、鸡预混合饲料（自上而下）不同氨化提取液的提取回收结果

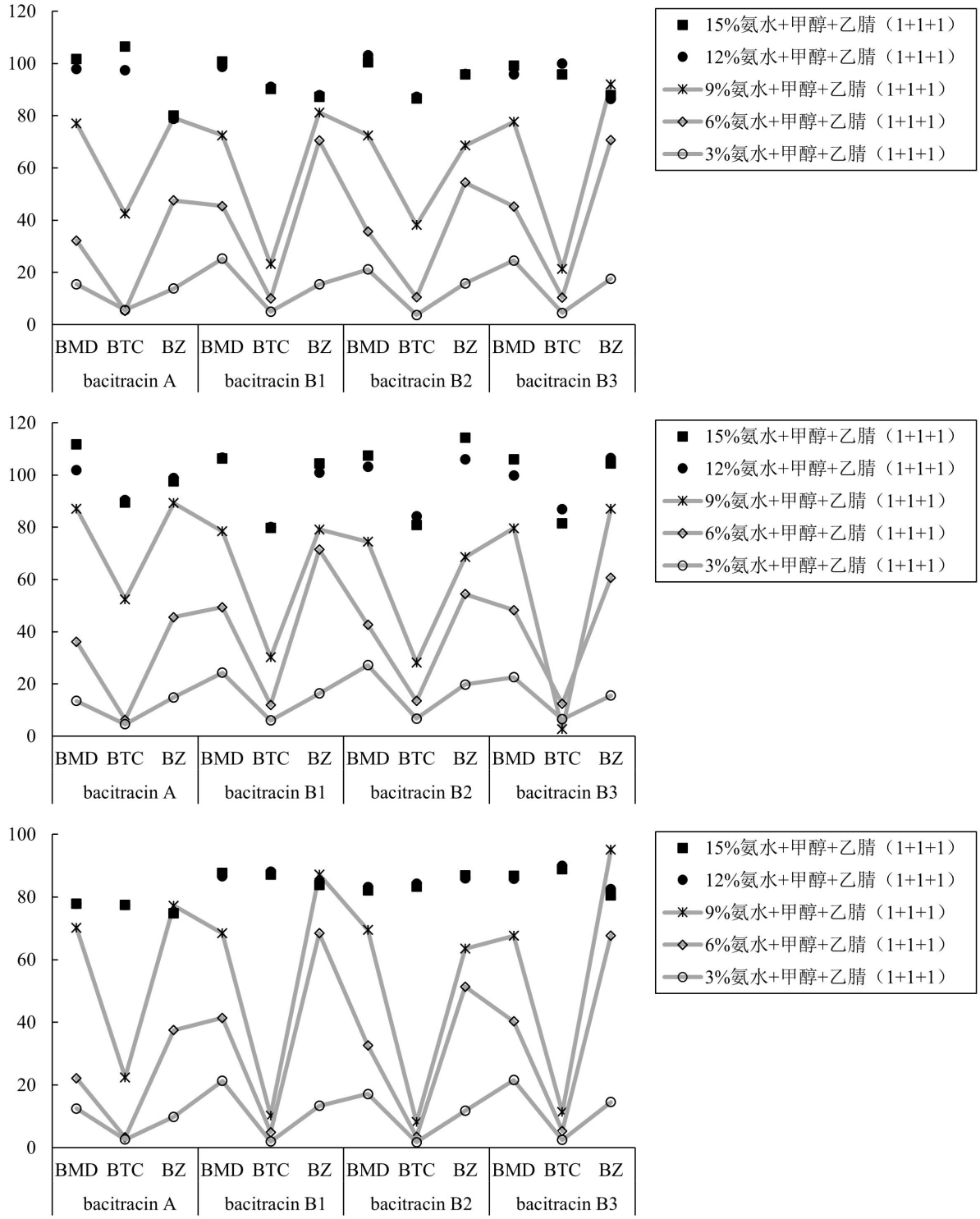


图5 不同氨水浓度下氨水溶液+甲醇+乙腈（1+1+1）作为提取剂对鸡配合饲料、浓缩饲料、预混合饲料（自上而下）中不同杆菌肽形式添加的回收结果

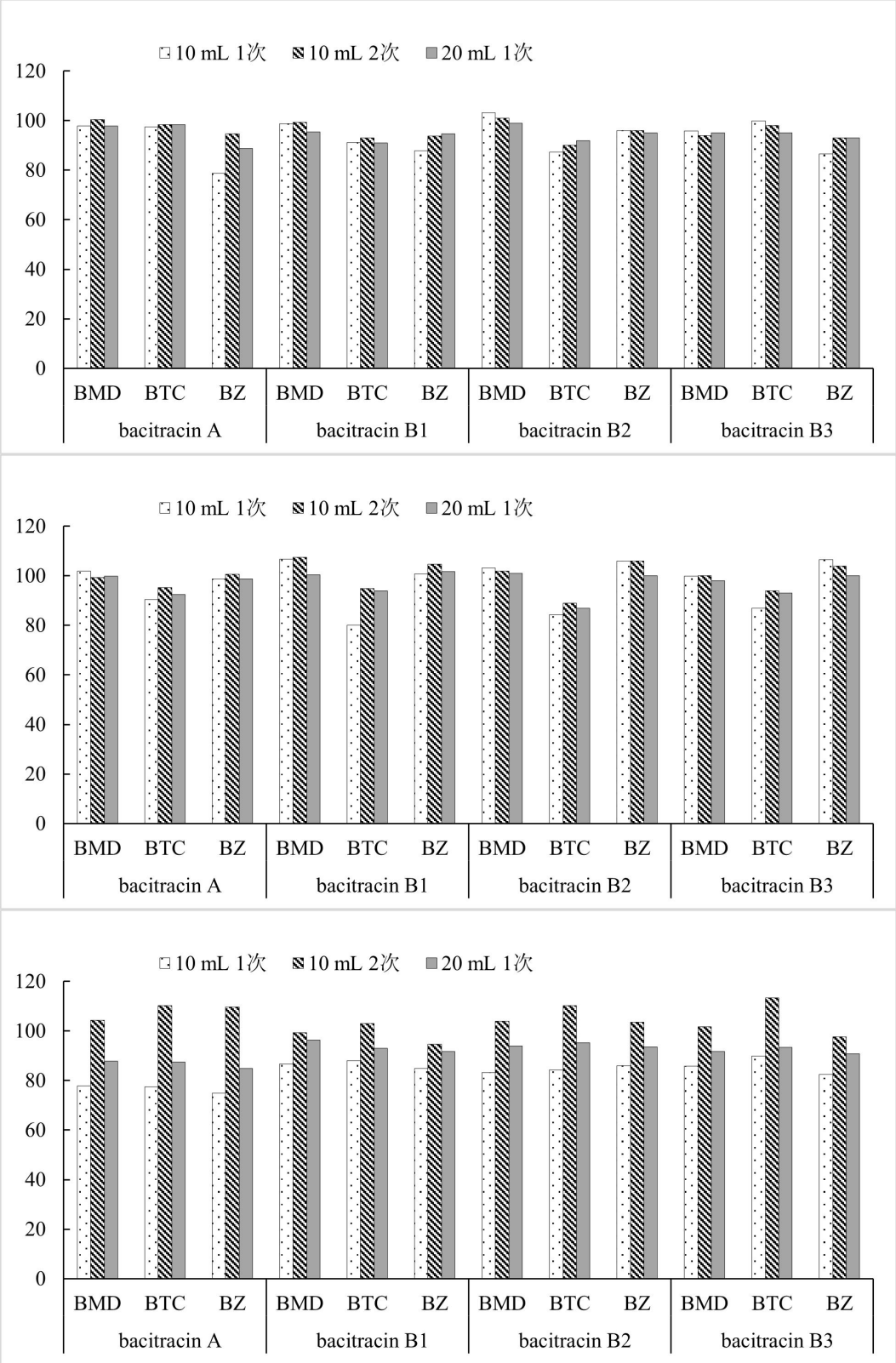


图6 12%氨水溶液+甲醇+乙腈（1+1+1）作为提取剂不同提取次数和用量下对鸡配合饲料、浓缩饲料、预混合饲料（自上而下）中不同杆菌肽形式添加的回收结果

2.2.2.2 样品净化条件的确定

a)净化方式的选择

已有杆菌肽类药物提取后净化方式主要有：QuEChERS和固相萃取净化方法，因此本实验也采用QuEChERS（PSA吸附剂规格200 mg）和固相萃取方法（HLB、C18小柱）进行了净化效果和回收的试验，其中Agilent C_{18}柱规格500 mg，6 mL，HLB柱规格为200 mg，6 mL。杆菌肽、杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽加标使提取液中杆菌肽A、B_1、B_2和B_3均为0.5 mg/L。

具体净化方法如下：

C_{18}柱净化方法：取5 mL提取液，加入15 mL纯水，混匀后过依次用5 mL甲醇，5 mL纯水活化的小柱，等提取液全部过柱后用3 mL甲醇洗脱，收集全部洗脱液后定容至10 mL，混匀，吸取0.2 mL净化液和0.8 mL超纯水混合，过滤膜后进样分析。

HLB柱净化方法：同C_{18}小柱净化方法。

PSA吸附剂净化方法：取2 mL提取液，与PSA吸附剂涡旋混合，离心后吸取0.2 mL净化液和0.8 mL超纯水混合，过滤膜后进样分析。

PSA吸附剂净化方式在不同饲料中得到的杆菌肽A、B_1、B_2和B_3回收率均高于90%。HLB小柱净化方式在洗脱液乙腈、0.1%酸化甲醇中未检测到目标化合物，当洗脱液为5%氨化甲醇时，HLB小柱5 mL洗脱液得到的净化回收率在50%左右，当洗脱液增加到10 mL，杆菌肽和杆菌肽锌添加的回收率在59%-66%之间，亚甲基水杨酸杆菌肽添加的净化回收率能达到95%。C_{18}小柱净化方式在洗脱液中检测到由杆菌肽和亚甲基水杨酸杆菌肽添加的目标化合物，回收率高于90%，未检测到由杆菌肽锌添加的目标化合物。

结合上述结果分析，杆菌肽A、B_1、B_2和B_3在HLB柱中保留过强，杆菌肽和杆菌肽锌添加的目标化合物难洗脱。PSA吸附剂净化方式由于提取液中含有33%的水，后续氮气吹干浓缩非常困难。而C_{18}小柱对杆菌肽和亚甲基水杨酸杆菌肽过柱添加回收率均高于95%，考虑到杆菌肽锌标准溶液添加无回收应该 是保留在小柱上，实验尝试选择C_{18}小柱并对其固相萃取条件进行进一步优化以改善杆菌肽锌标准溶液添加时的回收率。

b)C_{18}固相萃取净化条件的优化

对比3种标准溶液，考虑是由于金属离子锌导致保留过强。使用EDTA螯合金属离子锌，因此修改净化方法为：取5 mL提取液，加入15 mL EDTA溶液，混匀后过依次用5 mL甲醇，5 mL纯水活化的小柱，等提取液全部过柱后用3 mL甲醇洗脱，收集全部洗脱液后定容至10 mL，混匀，吸取0.2 mL净化液和0.8 mL超纯水混合，过滤膜后进样分析。结果表明将上样稀释剂纯水换成EDTA溶液，杆菌肽锌添加的净化回收率高于95%。但是，

添加亚甲基水杨酸杆菌肽的上清液在加入EDTA溶液时，发现混合溶液形成浑浊液，因此，尝试将EDTA溶液pH调到7.0，混合溶液澄清，因此最终确认加入EDTA溶液（pH 7.0）。

进一步优化EDTA溶液的体积，取5 mL鸡配合饲料提取液，分别加入5 mL、10 mL、15 mL EDTA溶液（pH 7.0），混匀后过依次用5 mL甲醇，5 mL纯水活化的C_{18}小柱，收集流出液，过滤膜后进样分析。结果详见图7。结果表明当EDTA溶液加入体积为5 mL时，杆菌肽、杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽添加上样后均有部分穿透小柱，当EDTA溶液加入体积为10 mL和15 mL时，杆菌肽、杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽添加上样后均保留在C_{18}小柱。因此，选择10 mL EDTA溶液，与5 mL提取液混匀后上柱。

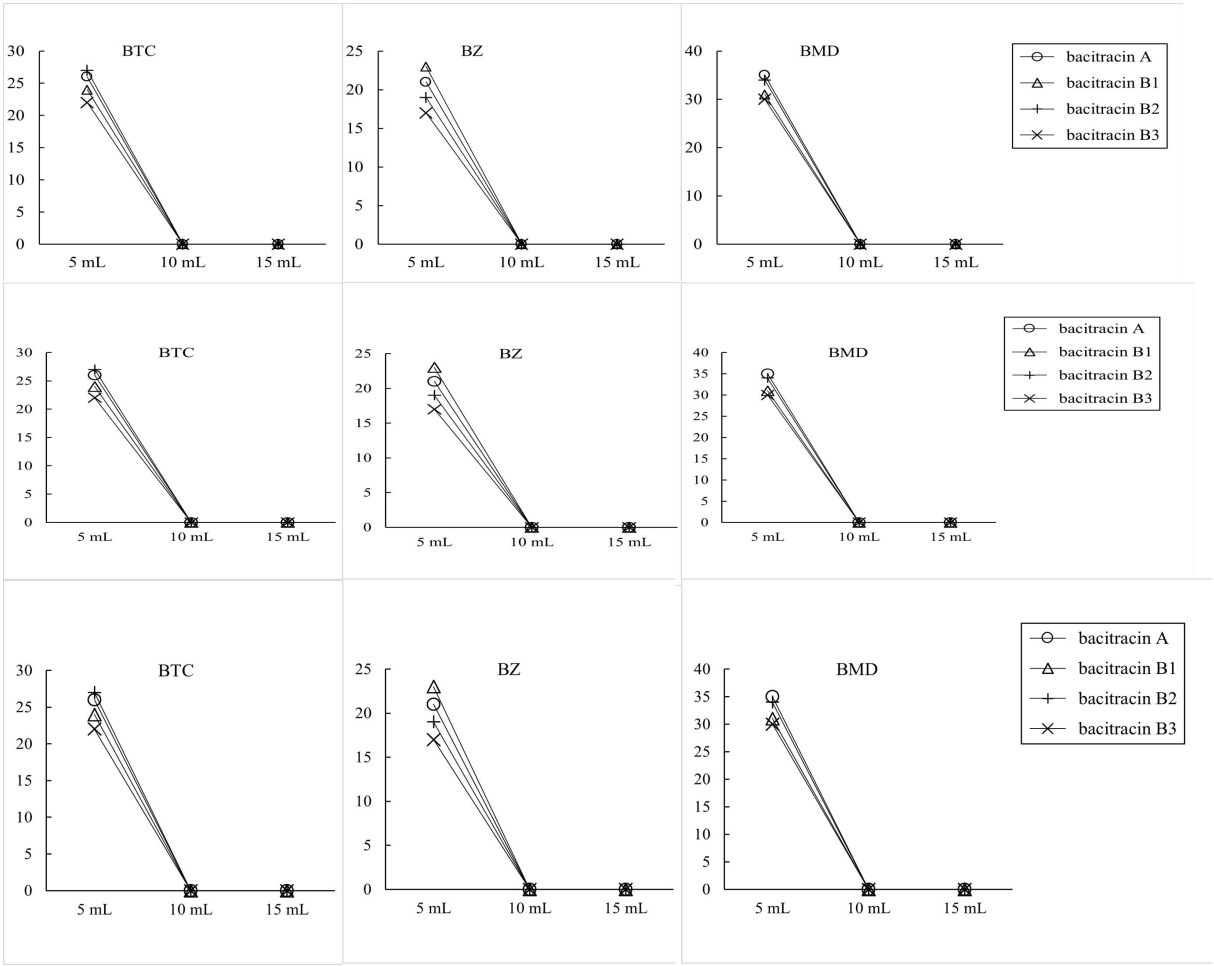


图7 蛋鸡配合饲料、蛋鸡浓缩饲料、蛋鸡微量元素预混合饲料（自上而下）提取液与不同体积EDTA溶液混合后过C_{18}柱滤出液中的回收结果

进一步对淋洗液和洗脱液进行优化，从上柱稀释溶液得出，将15%乙腈水溶液作为淋洗液，分别比较了3 mL，4 mL和5 mL，结果表明增加淋洗液15%乙腈水溶液体积，淋洗液中均未检测到目标化合物，因此确定淋洗液15%乙腈水溶液体积为3 mL。比较了洗

脱液甲醇的溶液体积1 mL，2 mL，3 mL和4 mL，图8表明随着洗脱液体积的逐渐升高，回收率升高，洗脱液体积为3 mL和4 mL时，目标化合物的回收效率无明显差异，因此确定洗脱液甲醇体积为3 mL。

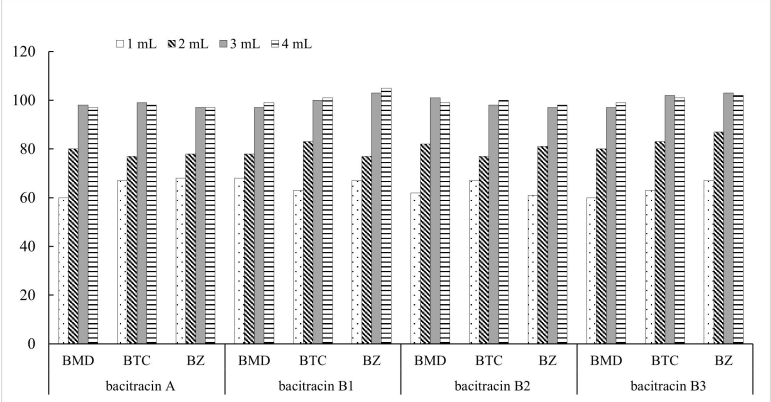


图8 鸡配合饲料不同体积甲醇作为洗脱液的回收结果

按上述净化条件，比较了不同厂家C_{18}小柱，分别为安捷伦Bond Elut C_{18} (500 mg，6 mL)，Waters C_{18}小柱（1 g，6 mL）和 Supelco C_{18}小柱（500 mg g，3 mL）。结果表明杆菌肽在不同厂家的C_{18}小柱上均能较好的保留。杆菌肽、杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽添加在不同厂家的C_{18}小柱上净化回收率均大于95%，因此最终本标准选择C18小柱作为固相萃取小柱。

2.2.2.3 最终确定的前处理条件

经上述研究确定的前处理条件如下：

称取试样2 g，准确至0.01 g，置于50 mL塑料离心管中，准确加入提取液10 mL，涡旋30s后，振荡提取15 min，9500 r/min离心3 min，移取上清液至另一离心管中，残渣再加入提取液10 mL，重复提取1次，合并上清液，准确移取5 mL上清液，加入10 mL EDTA溶液，混匀备用。

固相萃取柱依次用5 mL甲醇、5 mL水活化，取备用液过柱，用3 mL15%乙腈溶液淋洗，3 mL甲醇洗脱，收集洗脱液于10 mL离心管中，40℃下氮吹至干，准确加入1 mL20%甲醇溶液溶解残渣，涡旋混匀，用0.22 μm微孔滤膜过滤，待测。

2.2.3 液相色谱串联质谱法仪器条件的确定

2.2.3.1 质谱条件的优化

杆菌肽的化学结构式详见图9。实验采用“T”三通方式在ESI正离子模式下，流动相条件为0.1%甲酸溶液/乙腈，体积比为8:2，通过IntelliStart软件优化杆菌肽的质谱参数：

毛细管电压：3.0 KV；离子源温度：150℃；脱溶剂气温度：600℃；锥孔气流速：50 L/h；脱溶剂气流速：1000 L/h。其它条件详见表1。

表 1　杆菌肽的多反应监测（MRM）离子对、锥孔电压及碰撞能量的参考值

被测物名称	监测离子对（*m/z*）	锥孔电压（V）	碰撞能量（eV）
杆菌肽 A	712.0>227.0	60	35
	712.0>199.1[a]	60	35
杆菌肽 B_1、B_2 和 B_3	705.0>227.0	40	35
	705.0>199.3[a]	40	45
[a]为定量离子对。			

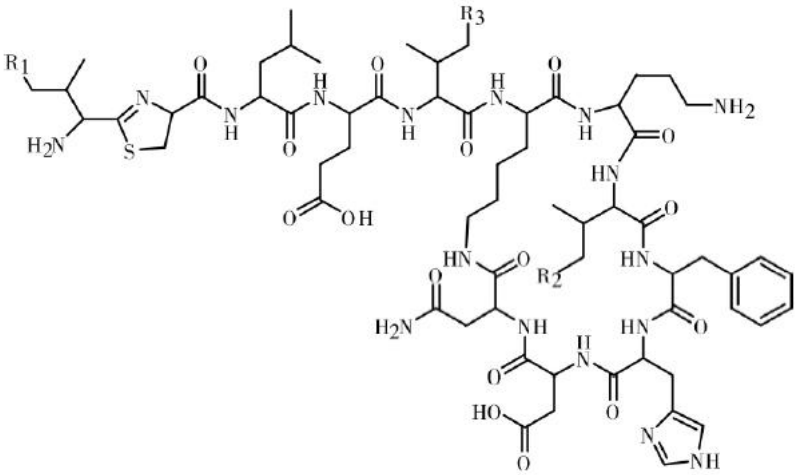


图 9　杆菌肽的化学结构式

2.2.3.2 液相色谱条件的选择和优化

a) 色谱柱的选择和确定

本研究按表 2 的梯度洗脱条件比较了 4 种色谱柱的分离效果，分别是 waters BEH C_{18} 柱 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm), waters BEH C_{18} 柱 (150 × 2.1 mm, 1.7 μm), Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} 柱 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm) 和 Waters Peptide BEH C_{18} 柱 (100 ×2.1 mm, 1.7 μm)，结果见图 10。从图中可知，杆菌肽 A、B_1、B_2 和 B_3 在四种色谱柱上峰形均较好，杆菌肽 B_1 和 B_2 在 waters BEH C_{18} 柱(100 × 2.1 mm, 1.7 μm)和 Waters Peptide BEH C_{18} 柱(100 ×2.1 mm, 1.7 μm)柱上的分离度较好，考虑到 waters BEH C_{18} 柱(100 × 2.1 mm, 1.7 μm) 较常用，因此本实验选择该柱进行下一步研究。

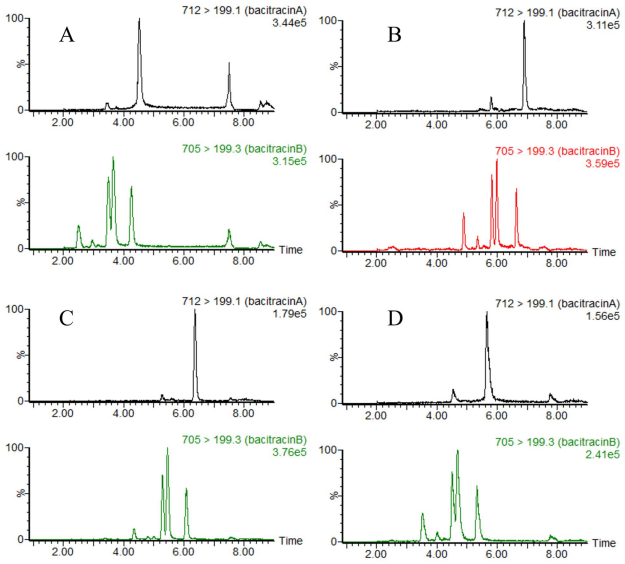


图 10 不同色谱柱对杆菌肽 A、B 的分离色谱图（A: Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18}；B: Waters BEH C_{18} 100 mm；C: Waters Peptide BEH C_{18}；D: Waters BEH C_{18} 150 mm）

b)流动相和洗脱方式的选择和确定

利用Waters BEH C_{18} (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱考察了0.1%甲酸溶液为水相与乙腈为有机相条件下等度洗脱和梯度洗脱杆菌肽各组分出峰情况。等度洗脱水相和有机相比例为70:30，梯度洗脱程序见表2（改变起始比例，中间梯度不变），流速均为0.3 min/mL，见图10。结果表明等度（图11，D）洗脱条件下，无法将杆菌肽B_1、B_2和B_3分离。梯度条件下，起始比例为80-20（图11，B）条件下，杆菌肽出峰时间适中，分离度最佳。结合起始比例，同时优化了梯度中乙腈变化的比例（图12），结果表明杆菌肽B_1、B_2和B_3结构相似，需要缓慢的梯度才能较好的分离，因此综合考虑，流动相确定为0.1%甲酸溶液与乙腈体系，起始80:20，乙腈变化梯度为0.2→6 min，20%→28%。

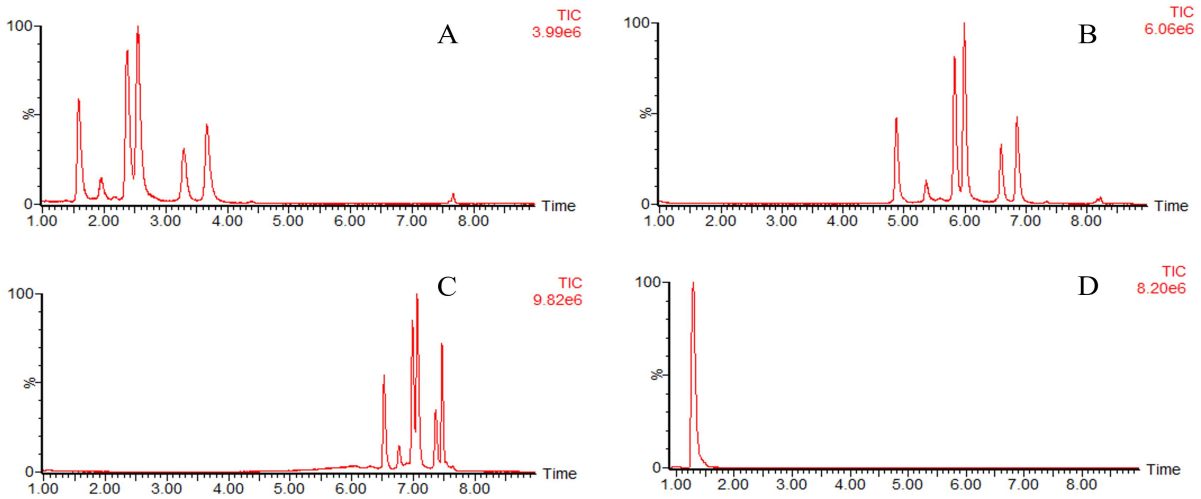


图 11 不同梯度起始比例的比较图（A:75-25；B: 80-20；C: 90-10；D: 等度 70-30）

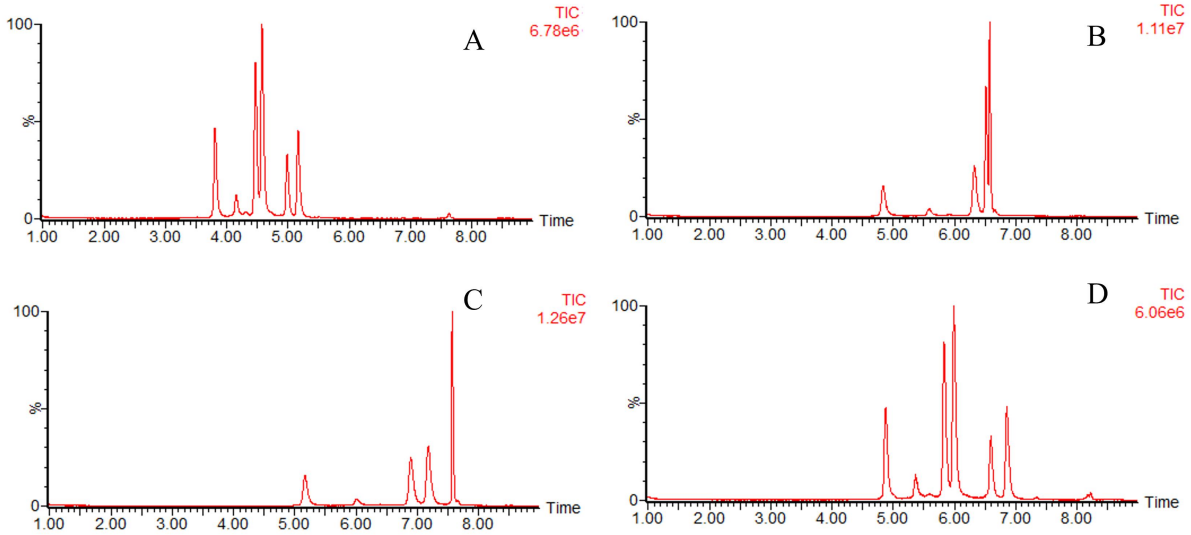


图 12　梯度程序中乙腈变化比例的比较图（A:0.2→6 min，20%→35%；B: 0.2→5 min，20%→25%；C: 0.2→6 min，20%→25%；D: 0.2→6 min，20%→28%）

表 2　梯度洗脱程序

时间（min）	流速（mL/min）	0.1%甲酸溶液（%）	乙腈（%）
0	0.3	80	20
0.2	0.3	80	20
6.0	0.3	72	28
6.1	0.3	20	80
7.0	0.3	20	80
7.1	0.3	80	20
9.0	0.3	80	20

2.2.4 定量方法的确定

为确定定量方法，实验通过比较溶剂标准曲线与基质匹配标准曲线的斜率确定样品处理后的基质效应情况（结果见表3），溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线的制备方法如下：

溶剂标准曲线：准确移取适量混合标准中间溶液（10 mg/L），用甲醇：超纯水（2:8，v/v）稀释配制浓度分别为0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L和1.0 mg/L标准系列工作溶液，进行液相色谱串联质谱分析。

基质匹配标准曲线：称取空白饲料样品，按照确定的前处理步骤处理，用混合系列标准工作溶液溶解残渣，配制浓度为0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L和1.0 mg/L的基质匹配标准系列工作溶液，进行液相色谱串联质谱分析。

通过结果可知，基质匹配外标法斜率比（基质匹配标准曲线斜率/纯溶剂标准曲线斜率）范围为0.76-3.93，表明不同饲料基质对目标化合物存在不同的基质效应。因此，综合考虑方法可靠性因素后决定液相色谱串联质谱法采用基质匹配外标法定量。

表3 不同饲料的基质匹配外标法斜率比

饲料种类	化合物	斜率比值	饲料种类	化合物	斜率比值
鸡浓缩饲料	A	2.18	鸡配合饲料	A	2.56
	B_1	1.37		B_1	1.63
	B_2	1.07		B_2	1.96
	B_3	1.69		B_3	2.03
鸡预混合饲料	A	3.00	牛浓缩饲料	A	3.93
	B_1	2.21		B_1	2.23
	B_2	1.64		B_2	2.22
	B_3	2.57		B_3	2.06
牛预混合饲料	A	2.63	牛精料补充饲料	A	1.68
	B_1	2.01		B_1	1.06
	B_2	2.25		B_2	1.11
	B_3	2.45		B_3	1.38
鸭预混合饲料	A	2.55	鱼配合饲料	A	1.19
	B_1	1.67		B_1	1.77
	B_2	2.09		B_2	0.88
	B_3	2.33		B_3	0.80
鱼预混合饲料	A	2.11	猪配合饲料	A	1.42
	B_1	1.25		B_1	1.87
	B_2	0.99		B_2	1.08
	B_3	2.21		B_3	0.76
猪浓缩饲料	A	2.09	猪预混合饲	A	1.31

	B_1	1.26	料	B_1	0.95
	B_2	1.39		B_2	0.89
	B_3	1.57		B_3	1.01

2.2.5 标准溶液稳定性试验

对杆菌肽 A、B_1、B_2 和 B_3 的标准储备液和标准中间液进行了稳定性考察，结果详见图 13。同时根据欧盟 Commission recommendation 1999/333/EC 的规定（欧盟规定测定结果与 0 d 结果相比比例为 95-105%具有稳定性）来进行判定是否稳定。

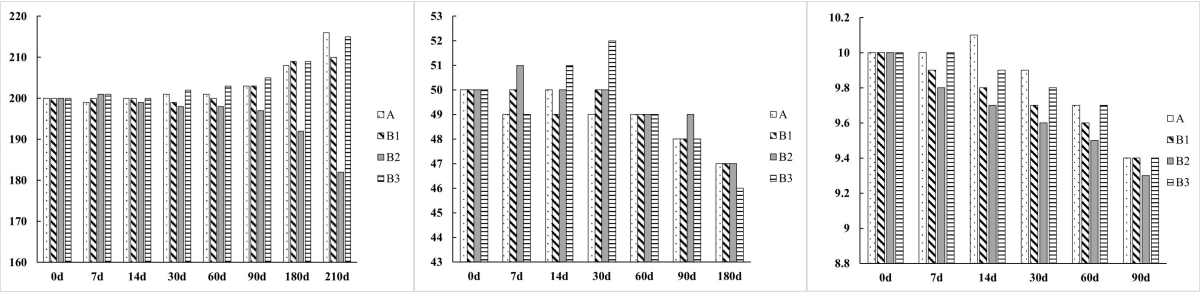


图 13　杆菌肽标准储备液（左）、混合标准储备液（中）和混合标准中间液（右）浓度随时间变化图　（*n*=2）

从图13可见，杆菌肽A，B_2和B_3标准储备液在180 d的时间内，B_1标准储备液在210 d的时间内，浓度随时间变化范围均在95-105%范围内；混合标准储备液在90 d的时间内，浓度随时间变化范围均在95-105%范围内，但在180 d时超出了该范围；混合标准中间液在60 d的时间内，浓度随时间变化范围均在95-105%范围内，但在90 d时超出了该范围；实验考虑到实验数据、经济成本，将标准储备液A，B_1，B_2和B_3有效期限确定为6个月，4种化合物混合标准储备液的有效期限确定为3个月，混合标准中间液的有效期限确定为2个月。

三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期经济效果

3.1 试验验证的分析

3.1.1 线性实验

准确移取适量混合标准中间溶液（10 mg/L），用空白基质溶液配制浓度分别为0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L和1.0 mg/L标准系列基质匹配工作溶液，进行液相色谱串联质谱分析。

以杆菌肽基质匹配标准溶液浓度为横坐标，杆菌肽定量离子对色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，所得标准曲线方程见表4，说明杆菌肽在0.01~1.0 mg/L浓度范围内线性良好，能用于杆菌肽液相色谱串联质谱定量分析。

表4 杆菌肽不同饲料中的标准曲线方程、相关系数

饲料种类	化合物	线性回归方程	相关系数 R^2
鸡浓缩饲料	A	y =938078.4x + 7229.9	0.9993
	B_1	y =659094.2x + 9061.8	0.9996
	B_2	y =651661.6x + 10260.9	0.9993
	B_3	y =583993.9x + 10134.0	0.9989
鸡配合饲料	A	y =1097400.4x + 8457.8	0.9993
	B_1	y =784842.6x + 10468.0	0.9997
	B_2	y =1195406.1x + 12694.8	0.9999
	B_3	y =701635.4x + 11361.2	0.9992
鸡预混合饲料	A	y = 1286780.5x + 9917.4	0.9993
	B_1	y =1065381.8x + 16645.2	0.9993
	B_2	y =1001267.6x + 20684.1	0.9979
	B_3	y =886343.1x + 14065.6	0.9993
牛浓缩饲料	A	y = 1686916.1x+13001.3	0.9993
	B_1	y = 1071425.5x+15415.6	0.9995
	B_2	y = 1353017.7x+27066.6	0.9981
	B_3	y = 710163.5x+13729.3	0.9984
牛预混合饲料	A	y = 1131433.7x+8720.1	0.9993
	B_1	y = 966839.4x+17200.7	0.9988
	B_2	y = 1376716.7x+20775.1	0.9994
	B_3	y = 846488.8x+13188.1	0.9993
牛精料补充饲料	A	y = 723243.0x+5574.1	0.9993
	B_1	y = 508168.7x+8464.0	0.9991
	B_2	y = 679815.0x+9518.1	0.9996
	B_3	y = 475485.9x+7744.3	0.9992

鸭预混合饲料	A	y = 1097191.1x+8456.2	0.9993
	B_1	y = 803994.2x+14955.7	0.9986
	B_2	y = 1274479.1x+17161.3	0.9997
	B_3	y = 805794.4x+16380.0	0.9980
鱼配合饲料	A	y = 509628.1x+3927.8	0.9993
	B_1	y = 852265.4x+14677.9	0.9990
	B_2	y = 537047.1x+10462.5	0.9983
	B_3	y = 277434.5x+2832.7	0.9988
鱼预混合饲料	A	y = 905683.9x+6980.2	0.9993
	B_1	y = 600237.1x+4951.4	0.9986
	B_2	y = 603672.0x+9204.2	0.9994
	B_3	y = 762726.8x+11343.7	0.9995
猪浓缩饲料	A	y = 898186.9x+6922.5	0.9993
	B_1	y = 606330.5x+10625.4	0.9989
	B_2	y = 846000.9x+14540.0	0.9990
	B_3	y = 542376.1x+10579.8	0.9983
猪配合饲料	A	y = 610193.8x+4702.9	0.9993
	B_1	y = 898610.9x+15698.4	0.9989
	B_2	y = 659564.0x+11797.5	0.9988
	B_3	y = 260901.5x+4382.1	0.9991
猪预混合饲料	A	y = 562805.2x+4337.6	0.9993
	B_1	y = 458699.1x+8737.4	0.9984
	B_2	y = 542240.4x+9214.2	0.9990
	B_3	y = 347277.5x+4921.3	0.9996

3.1.2 检测限和定量限的确定

根据欧盟2002/657/EC标准，用MS/MS对样品的确证应满足三个条件。首先用LC-MS方法所测定的所有待测样品的保留时间小于或等于外标标准样品的保留时间的±2.5%；

与基质匹配标准溶液相比，样品中待测组分的两个定性子离子的相对丰度比在许可的范围内。

各饲料基质标准溶液（0.01 mg/L）及0.05 mg/kg添加样品的定量离子对信噪比详见表5，从表中可见在响应较低的一台仪器（waters Xevo TQ-S micro）上，0.05mg/kg添加浓度下饲料中的定量离子对信噪比均大于25，且定性离子对的信噪比大于5，而在响应较高的另一台仪器（waters Xevo TQ-S）上，定量限添加浓度下所有添加样品中的定量离子对信噪比均大于101，同样定性离子对的信噪比大于20，同时经计算12种饲料中杆菌肽在0.050 mg/kg添加浓度下杆菌肽的相对离子丰度比最大偏差为12%，满足最大偏差小于20%的要求。因此，考虑到仪器之间存在的灵敏度差异，确定杆菌肽在各饲料中的定量限为0.050 mg/kg，检测限为0.02 mg/kg。

表 5 基质标准溶液和添加样品定量离子对的信噪比

饲料种类	化合物	0.010 mg/L 基质标准溶液信噪比		0.050 mg/kg 添加信噪比	
		waters Xevo TQ-S micro	waters Xevo TQ-S	waters Xevo TQ-S micro	waters Xevo TQ-S
猪配合饲料	A	22	88	51	202
	B_1	17	68	39	156
	B_2	15	60	35	138
	B_3	12	48	28	110
猪浓缩饲料	A	25	100	58	230
	B_1	24	96	55	221
	B_2	27	108	62	248
	B_3	16	64	37	147
猪预混合饲料	A	23	92	53	212
	B_1	28	112	64	258
	B_2	25	100	58	230
	B_3	16	64	37	147
鸡配合饲料	A	20	80	46	184
	B_1	18	72	41	166

	B_2	18	72	41	166
	B_3	13	52	30	120
鸡浓缩饲料	A	27	108	62	248
	B_1	21	84	48	193
	B_2	28	112	64	258
	B_3	16	64	37	147
鸡预混合饲料	A	26	104	60	239
	B_1	25	100	58	230
	B_2	27	108	62	248
	B_3	15	60	35	138
鱼配合饲料	A	30	120	69	276
	B_1	28	112	64	258
	B_2	29	116	67	267
	B_3	16	64	37	147
鱼预混合饲料	A	27	108	62	248
	B_1	25	100	58	230
	B_2	24	96	55	221
	B_3	15	60	35	138
牛预混合饲料	A	26	104	60	239
	B_1	20	80	46	184
	B_2	20	80	46	184
	B_3	13	52	30	120
牛浓缩饲料	A	27	108	62	248
	B_1	21	84	48	193
	B_2	24	96	55	221
	B_3	14	56	32	129
鸭预混合饲料	A	25	100	58	230

	B_1	21	84	48	193
	B_2	26	104	60	239
	B_3	14	56	32	129
牛精料补充料	A	19	76	44	175
	B_1	15	60	35	138
	B_2	14	56	32	129
	B_3	11	44	25	101

3.1.3 方法的回收率和重现性

3.1.3.1 空白样品的筛选和定义

所有空白样品同液相色谱法空白样品，在杆菌肽A、B_1、B_2和B_3出峰处均无明显干扰（详见附图1-12）。

3.1.3.2 本方法与 SN/T 4807-2017 方法比对

配制500 μg/L的杆菌肽A、B_1、B_2和B_3混合标准溶液，500 μg/L的杆菌肽锌标准溶液和500 μg/L的亚甲基水杨酸杆菌肽标准溶液分别用本方法和SN/T 4807-2017：进出口食用动物、饲料中杆菌肽的检测方法两种方法对杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽标准溶液中杆菌肽A、B_1、B_2和B_3含量进行了检测，结果见表6。本方法能对杆菌肽A、B_1、B_2和$B_3$4种成分进行检测，而SN/T 4807-2017方法只能检测杆菌肽A。

表6 杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽标准溶液浓度的方法比对

成分	杆菌肽化合物	本方法（μg/L）	SN/T 4807-2017（μg/L）
杆菌肽锌	A	206	207
	B_1	37.5	/
	B_2	15	/
	B_3	27.5	/
亚甲基水杨酸杆菌肽	A	270	273
	B_1	70	/
	B_2	36	/
	B_3	80	/

3.1.3.3 添加回收率实验结果

添加回收实验每批次内同一浓度做5次平行实验，进行3次重复，其中低于100 mg/kg的样品用杆菌肽单标标准溶液添加，高于等于100 mg/kg的样品分别用杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽添加（杆菌肽锌标准品含量为A为41%，B_1为7.5%，B_2为3.0%，B_3为5.5%；亚甲基水杨酸杆菌肽原药含量为A为54%，B_1为14%，B_2为7.2%，B_3为16%），回收实验中，当样品的上机液浓度超过回收率线性范围时，需根据测定浓度，用定容溶液（甲醇：纯水=20:80,v/v）进行稀释后重新测定，直至上机液浓度在标准曲线的线性范围内。具体添加浓度见表7。

表7 液相色谱串联质谱法饲料样品添加浓度汇总表

饲料种类	添加方式	总添加浓度mg/kg	4种化合物实际总添加浓度mg/kg	各化合物实际添加浓度			
				A	B_1	B_2	B_3
配合饲料、精料补充料	标准溶液添加	0.2	0.2	0.05	0.05	0.05	0.05
		0.8	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2
		8	8	2	2	2	2
	原药添加	200（杆菌肽锌）	114	82	15	6	11
		200（亚甲基水杨酸杆菌肽）	182.4	108	28	14.4	32
浓缩饲料	标准溶液添加	0.2	0.2	0.05	0.05	0.05	0.05
		0.8	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2
		8	8	2	2	2	2
	原药添加	500（杆菌肽锌）	285	205	37.5	15	27.5
		500（亚甲基水杨酸杆菌肽）	456	270	70	36	80
预混合饲料	标准溶液添加	0.2	0.2	0.05	0.05	0.05	0.05
		0.8	0.8	0.2	0.2	0.2	0.2
		8	8	2	2	2	2
	原药添加	2000（杆菌肽锌）	1140	820	150	60	110
		2000（亚甲基水杨酸杆	1824	1080	280	144	320

		菌肽）					

从回收率结果（表8～19）看出，12种饲料在0.2~2000 mg/kg总添加浓度范围内，回收率在71.1%~118.8%之间，批内平均回收率在76.5%~112.0%，批间平均回收率在80.7%~108.4%之间，批内RSD在0.7%~12.7%之间，批间RSD在1.7%~14.8%之间。由此可见回收率和精密度均在药物残留分析规定要求内，说明本方法能满足饲料中杆菌肽测定的需要。添加回收实验图谱详见附图1-12。

表8 猪配合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	71.1	77.7	79.5	80.5	83.4	78.4	5.8	80.7	5.3
			81.2	88.4	82.6	74.4	83.7	82.0	6.2		
			80	82.2	85.8	81.4	78.9	81.7	3.3		
	0.05	B_1	93.6	84.0	83.7	87.7	87.7	87.4	4.6	84.8	6.3
			81.2	71.2	87.8	83.6	82.7	81.3	7.6		
			84.3	91.0	83.6	80.2	90.1	85.9	5.3		
	0.05	B_2	95.6	90.0	91.1	87.3	89.6	90.7	3.4	89.1	5.2
			92.7	84.5	91.5	94.8	94.4	91.6	4.5		
			88.2	82.8	84.1	90	79.8	85	4.9		
	0.05	B_3	86.3	85.9	89.1	92.5	76.1	86.0	7.1	89.8	5.5
			89.7	88.1	91	93.2	93.4	91.1	2.5		
			94.9	89	97.1	92.2	88.6	92.4	4.0		
	0.2	之和计	86.7	84.4	85.9	87.0	84.2	85.6	1.3	86.1	1.7
			86.2	83.1	88.2	86.5	88.6	86.5	2.3		
			86.9	86.3	87.7	86.0	84.4	86.3	1.3		
0.8	0.2	A	86.9	78.2	79.2	77.3	82.9	80.9	4.9	81.1	5.7
			80.1	72.6	80.6	81.4	75.7	78.1	4.9		
			80.8	83.4	83.0	92.3	81.5	84.2	5.5		
	0.2	B_1	82.2	86.4	88.3	88.2	80.2	85.1	4.3	87.3	3.6
			87.2	88.7	89.6	86.6	92.6	88.9	2.6		
			88.3	86.4	91.0	85.2	88.7	87.9	2.5		

	0.2	B_2	92.9	83.8	84.1	89.7	85.7	87.2	4.5	89.6	9.3
			103.3	100	86.6	103	94.7	97.5	7.2		
			83.3	83.1	94.8	74.3	84.4	84.0	8.7		
	0.2	B_3	82.3	90.8	77.9	79.5	79.4	82.0	6.3	90.6	10.1
			78.4	95.2	95.8	92.4	91.5	90.7	7.8		
			98.9	93.6	100.8	95.8	107.4	99.3	5.3		
	0.8	之和计	86.1	84.8	82.4	83.7	82.1	83.8	1.8	87.2	3.3
			87.3	89.1	88.2	90.9	88.6	88.8	1.3		
			87.8	86.6	92.4	86.9	90.5	88.8	2.5		
8.0	2.0	A	103.1	98.6	90.4	107.4	109.9	101.9	7.6	86.2	14.8
			79.8	85.6	73.8	79.3	73.1	78.3	6.5		
			75.4	76.5	86.7	75.9	77.5	78.4	6.0		
	2.0	B_1	85.6	86.0	83.8	81.6	75.5	82.5	5.2	83.4	5.1
			86.7	82.1	85.4	88.6	86.6	85.9	2.8		
			85.7	80.6	73.9	87.6	81.4	81.8	6.5		
	2.0	B_2	76.7	87.8	89.7	84.8	83.2	84.4	5.9	86.6	6.4
			81.5	96.3	82.8	93.8	86.7	88.2	7.4		
			92.2	84.1	82.7	93.7	82.5	87.0	6.3		
	2.0	B_3	86	90.4	88.7	82.8	89.8	87.6	3.6	86.1	5
			80.7	81.1	87.7	80.5	81.7	82.3	3.7		
			89.6	83.0	93.2	85.1	91.1	88.4	4.8		
	8.0	之和计	87.9	93.2	88.2	89.2	89.6	89.6	2.1	85.7	3.8
			82.2	86.3	82.4	85.6	82.0	83.7	2.2		
			85.7	81.1	84.1	85.6	83.1	83.9	2.0		
200（杆菌肽锌）	82	A	91.1	92.6	97.2	91.5	88.7	92.2	3.4	81.8	9.9
			74.5	76.2	81.2	78.9	71.7	76.5	4.8		
			76.8	78.6	78.7	73.9	75.9	76.8	2.6		
	15	B_1	88.1	89.1	88.3	85.5	83.9	87.0	2.5	87.5	4.9
			82.8	87.4	92.9	87.2	80.2	86.1	5.6		
			82.3	93.4	94.8	90.7	86	89.4	5.9		
	6	B_2	85.4	90.6	83	84.6	78.5	84.4	5.2	90.3	7.9
			83.3	96.1	94.3	102.4	82	91.6	9.6		
			89.4	98.2	97.5	95.1	93.5	94.7	3.7		
	11	B_3	78.8	92.9	82.3	91.3	82.9	85.6	7.2	84.3	8.2
			76.2	80.9	74.1	82.1	83.6	79.4	5.1		
			80.5	95.2	97.8	82.7	83.7	88.0	9.0		

	114	之和计	89.2	92.1	93.8	90.3	87.0	90.5	2.6	83.3	7.0
			76.2	79.2	82.7	81.5	74.5	78.8	3.9		
			78.5	83.2	83.7	78.1	78.9	80.5	3.0		
200（亚甲基水杨酸杆菌肽）	108	A	97.4	93.0	99.1	101.6	113.2	100.8	7.5	95.3	10.9
			92.9	100	100.4	104.6	110.4	101.7	6.3		
			86.8	83.2	78.3	86.5	82.6	83.5	4.1		
	28	B_1	80.5	91.7	89.4	89.7	76.7	85.6	7.7	89.4	6.6
			98.8	86.9	90.4	90.0	84.6	90.2	6.0		
			93.3	99.3	90.5	90.1	88.5	92.3	4.6		
	14.4	B_2	85.9	79.0	88.1	80.5	88.2	84.4	5.1	86.6	5.2
			85.2	88.0	82.3	87.9	79.8	84.6	4.2		
			88.2	91.3	89.1	91.9	93.6	90.8	2.4		
	32	B_3	93.6	85.1	91.1	91.5	85.1	89.3	4.4	93.1	5.2
			94.5	91.2	91.1	94.7	89.4	92.2	2.5		
			95.0	103.8	98.5	94.3	97.5	97.8	3.8		
	182.4	之和计	93.2	90.3	95.3	96.3	100.7	95.2	3.6	93.3	5.1
			93.5	95.5	95.8	99.3	100.3	96.9	2.6		
			89.3	89.9	84.6	88.8	87.0	87.9	2.2		

表9 猪浓缩饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	85.5	85.6	77.1	81	82.5	82.3	4.3	82.8	4.3
			85.8	84.7	77.9	77.7	84.8	82.2	4.9		
			86.6	84.8	78.0	83.3	86.8	83.9	4.3		
	0.05	B_1	92.4	86.6	86.7	84	87.6	87.4	3.6	87.4	6.1
			87.7	82.9	90.7	78.7	82.0	84.4	5.7		
			85.2	92.7	93.9	82.1	98.5	90.5	7.4		
	0.05	B_2	88.6	94.6	92.1	82.4	89.3	89.4	5.1	90.5	4.6
			99.1	91.1	91.3	91.2	92.9	93.1	3.7		
			88.5	84.3	95.3	88.4	87.9	88.9	4.5		
	0.05	B_3	79.1	83.0	79.4	91.1	80.2	82.6	6.1	88	6.5
			92.4	90.1	90.9	91.5	85.7	90.1	2.9		

			97.6	92	84.3	94.5	88.3	91.3	5.7		
	0.2	之和计	86.4	87.5	83.8	84.6	84.9	85.4	1.6	87.2	2.4
			91.3	87.2	87.7	84.8	86.4	87.5	2.5		
			89.5	88.5	87.9	87.1	90.4	88.7	1.3		
0.8	0.2	A	89.7	92.7	89.0	86.2	90.9	89.7	2.7	88.7	5
			93.1	97.9	88.3	83.7	88.9	90.4	5.9		
			88.4	82.5	81.0	91.8	86.1	86.0	5.1		
	0.2	B_1	85.4	90.7	91.5	88.6	83.0	87.8	4.1	87.9	6.3
			83.5	74.2	86.8	88.1	85.5	83.6	6.6		
			94.0	98.4	91.0	87.0	91.5	92.4	4.5		
	0.2	B_2	98.9	97.4	96.4	90.2	86.1	93.8	5.8	92.1	6.8
			101.7	96.3	92.0	87.6	99.9	95.5	6.1		
			87.7	87.5	90.0	91.1	78.9	87	5.5		
	0.2	B_3	84	95.4	87.4	87.3	90.4	88.9	4.8	91.3	8.5
			86.6	88.5	83.4	92.3	80.1	86.2	5.4		
			96.2	97.1	99.3	90.2	111.3	98.8	7.9		
	0.8	之和计	89.5	94.1	91.1	88.1	87.6	90.1	2.6	90.0	2.0
			91.2	89.2	87.6	87.9	88.6	88.9	1.4		
			91.6	91.4	90.3	90.0	92.0	91.1	0.8		
8.0	2.0	A	100.9	101.3	108.6	91.8	99.9	100.5	5.9	91.6	9.5
			84.5	91.0	90.8	93.4	91.4	90.2	3.7		
			86.3	82.0	95.0	77.6	79.6	84.1	8.2		
	2.0	B_1	90.4	91.7	77.0	85.7	90.3	87.0	6.9	91	8.1
			86.8	89.2	84.2	84.7	90.2	87.0	3.1		
			104.5	96.4	103.5	99.2	91.5	99.0	5.4		
	2.0	B_2	93.7	91.2	102.6	100.5	107.3	99.1	6.6	93	7.1
			91.7	88.3	89.8	88.4	90.8	89.8	1.7		
			84.2	85.0	89.2	94.7	98.1	90.2	6.7		
	2.0	B_3	96.1	85.4	88.4	87.1	79.0	87.2	7.1	84.9	8.1
			75.0	73.4	85.4	85.7	76.2	79.1	7.5		
			96.2	89.8	81.9	85.0	89.3	88.4	6.1		
	8.0	之和计	95.3	92.4	94.2	91.3	94.1	93.5	1.5	90.2	3.6
			84.5	85.5	87.6	88.1	87.2	86.6	1.6		
			92.8	88.3	92.4	89.1	89.6	90.4	2.0		
500（杆菌肽锌）	205	A	89.1	90.4	98.7	94.9	96.5	93.9	4.3	91.5	5.4
			81.5	89.2	93.0	89.5	83.3	87.3	5.4		

			94.9	92.0	98.4	93.1	88.5	93.4	3.9		
	37.5	B_1	79.3	82.2	90.4	84.8	87.9	84.9	5.2	86.3	5.1
			85.3	87.4	86.4	87.4	81.9	85.7	2.7		
			94.0	79.6	87.5	87.3	93.4	88.4	6.6		
	15	B_2	91.1	87.8	96.1	90.3	91.6	91.4	3.3	89.9	7.4
			93.3	100.3	102.5	88.0	88.5	94.5	7.1		
			89.8	88.1	79.7	83.0	78.1	83.7	6.1		
	27.5	B_3	94.8	93.3	93.6	94.3	86.7	92.6	3.6	90.4	5
			84.6	83.9	98.1	88.4	89.3	88.9	6.4		
			85.4	87.0	88.6	95.3	93.3	89.9	4.7		
	285	之和计	88.5	89.5	97.0	93.3	94.2	92.5	3.4	90.7	4.2
			82.9	89.0	93.1	89.0	84.0	87.6	4.2		
			93.6	89.7	95.0	92.0	89.1	91.9	2.4		
500（亚甲基水杨酸杆菌肽）	270	A	89.3	86.2	88.4	79.2	85.2	85.6	4.6	87	4.9
			85	81.7	83.3	86.2	89.9	85.2	3.7		
			87.3	92.0	86.2	87.9	97.0	90.1	4.9		
	70	B_1	94.7	92.1	90.1	95.2	84.9	91.4	4.6	89.9	4.7
			92.1	89.1	92.0	80.4	93.4	89.4	5.9		
			84.0	91.5	92.8	86.7	89.6	88.9	4.0		
	36	B_2	84.2	80.6	86.0	88.1	86.1	85.0	3.3	85.4	4.3
			88.8	85.4	84.6	90.6	85.2	86.9	3.0		
			81.2	92.4	79.1	82.2	87.2	84.4	6.4		
	80	B_3	89.5	89.4	95.7	90.7	90.4	91.1	2.9	92.4	4.4
			85.5	87.3	92.5	100.5	95.5	92.3	6.6		
			92.4	97.7	91.3	96.5	91.6	93.9	3.2		
	456	之和计	89.8	87.2	89.8	84.4	86.1	87.5	2.4	88.3	3.1
			86.5	84.1	86.4	88.2	91.0	87.2	2.6		
			87.2	93.0	87.5	88.8	94.1	90.1	3.2		

表10 猪预混合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	97.0	95.0	93.8	88.4	87.1	92.3	4.7	87.3	5.9

			89.9	81.7	89.8	87.3	81.8	86.1	4.8		
			85.5	81.5	84.5	80.1	85.9	83.5	3.1		
	0.05	B_1	83.9	75.4	89.4	91.0	85.1	85.0	7.2	87.8	8.5
			101.6	84.0	103.5	77.0	90.6	91.4	12.4		
			87.5	86.7	87.3	89.8	84.4	87.2	2.2		
	0.05	B_2	94.7	88.7	102.1	87.9	92.9	93.3	6.1	88.2	6.4
			78.2	81.7	85.0	85.4	89.6	84.0	5.1		
			89.4	88.4	85.7	84	89.7	87.4	2.8		
	0.05	B_3	85.4	82.8	88.8	83.3	79.1	83.9	4.2	95.9	11.3
			106	105.1	88.0	97.2	99.2	99.1	7.3		
			94.9	100.7	114.2	104.9	108.4	104.6	7.0		
	0.2	之和计	90.3	85.5	93.5	87.7	86.1	88.6	3.3	89.8	2.9
			93.9	88.1	91.6	86.7	90.3	90.1	2.8		
			89.3	89.3	92.9	89.7	92.1	90.7	1.7		
0.8	0.2	A	82.2	82.5	77.2	86.9	83	82.4	4.2	86.1	6.3
			95.9	83.7	93.3	91.8	93.8	91.7	5.1		
			84.3	86.6	79.7	85.4	84.8	84.2	3.1		
	0.2	B_1	84.5	81.7	74.1	90.4	89.9	84.1	7.9	86.6	7.7
			84.8	75.9	92.2	85.3	78.3	83.3	7.7		
			91.7	92.5	96.7	89.2	91.6	92.3	3.0		
	0.2	B_2	96.6	89.2	87.8	80.1	90.5	88.9	6.6	87.5	6.2
			86.7	90.1	91.1	90.3	91.2	89.9	2.1		
			77.3	92.0	87.3	81.7	79.7	83.6	7.2		
	0.2	B_3	83.7	84.7	80.5	85.8	75.6	82.1	5.0	88.5	7.1
			92.9	92.2	93.0	85.3	84.6	89.6	4.8		
			96.0	92.7	88.4	97.4	95.1	93.9	3.7		
	0.8	之和计	86.8	84.5	79.9	85.8	84.8	84.4	2.8	87.2	3.3
			90.1	85.5	92.4	88.2	87.0	88.6	2.7		
			87.3	91.0	88.0	88.4	87.8	88.5	1.5		
8.0	2.0	A	87.4	85.8	90.3	88.6	85.7	87.6	2.2	85.9	4.5
			80.6	78.4	83.1	84.1	82.2	81.7	2.7		
			90.0	88.5	90.3	83.2	90.4	88.5	3.5		
	2.0	B_1	88.6	89.3	84.3	90.6	80.7	86.7	4.7	88.4	4.3
			90.1	87.6	88.6	93.2	85.2	88.9	3.4		
			84.4	88.3	89.3	96.1	89.9	89.6	4.7		
	2.0	B_2	91.7	81.9	81.3	89.1	80.0	84.8	6.2	89.3	6.6

			84.5	87.6	96.7	88.3	97.3	90.9	6.4		
			98.5	85.3	90.3	91.9	94.4	92.1	5.3		
	2.0	B_3	91.7	92.9	97.1	90.5	92.3	92.9	2.7	90.1	4.1
			85.8	89.5	88.3	91.1	91.2	89.2	2.5		
			86.5	82.4	93.6	91.8	86.5	88.2	5.1		
	8.0	之和计	89.9	87.5	88.3	89.7	84.7	88.0	2.1	88.4	2.3
			85.3	85.8	89.2	89.2	89.0	87.7	2.0		
			89.9	86.1	90.9	90.8	90.3	89.6	2.0		
2000（杆菌肽锌）	820	A	90.4	78.5	87.0	83.8	88.3	85.6	5.4	88.9	8.1
			92.6	83.6	80.9	82.4	82.0	84.3	5.6		
			103.9	93.9	95.3	97.3	94.1	96.9	4.3		
	150	B_1	102.5	92.2	96.2	95.7	100.1	97.3	4.1	91.7	7.5
			90.7	97.2	93.1	88.0	96.7	93.2	4.2		
			88.7	79.7	90.5	79.0	84.7	84.5	6.1		
	60	B_2	83.2	100.4	88.4	87.1	80.8	88.0	8.6	91.8	9.9
			80.3	91.6	90.0	83.7	86.8	86.5	5.3		
			107.6	89.0	105.2	101.2	101.9	101	7.1		
	110	B_3	94.4	99.5	86.8	103.4	96.5	96.1	6.5	89.8	7.7
			83.3	84.8	78.2	83.4	84.5	82.8	3.2		
			90.1	95.5	88.7	86.6	91.2	90.4	3.7		
	1140	之和计	92.0	83.5	88.3	87.4	90.2	88.3	3.2	89.5	5.5
			90.8	85.9	82.7	83.3	84.4	85.4	3.4		
			100.8	91.9	94.6	94.1	93.0	94.9	3.3		
2000（亚甲基水杨酸杆菌肽）	1080	A	90.9	89.9	80.7	89.4	89.8	88.1	4.7	88.9	5.0
			91.0	97.3	90.5	88.0	89.3	91.2	3.9		
			87.0	89.1	86.7	79.6	94.5	87.4	6.1		
	280	B_1	81.2	85.4	84.2	86.6	83.4	84.2	2.5	88.1	5.9
			96.5	87.2	97.0	95.5	85.3	92.3	6.1		
			84.0	91.0	87.7	83.6	92.3	87.7	4.5		
	144	B_2	83.7	91.1	87.2	84.9	89.6	87.3	3.5	87.9	5.6
			94.4	89.5	90.9	83.3	94.1	90.4	5.0		
			88.3	79.1	94.0	88.6	79.7	85.9	7.4		
	320	B_3	87.1	85.0	93.1	78.7	83.0	85.4	6.2	87.6	6.9
			86.4	81.3	82.5	100.7	88.7	87.9	8.8		
			89.5	95.3	83.8	84.7	94.1	89.5	5.9		
	1824	之	88.2	88.4	83.9	86.7	87.6	87.0	1.9	88.5	3.3

		和	91.3	92.3	90.1	91.0	89.0	90.7	1.2		
		计	87.1	89.7	86.9	81.8	92.9	87.7	4.2		

表11 鸡配合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	88.0	87.7	77.9	83.1	91.3	85.6	6.1	84.9	5.6
			81.3	87.1	82.7	88.4	92.4	86.4	5.2		
			89.1	78.7	85.4	82.2	77.8	82.6	5.7		
	0.05	B_1	82.6	94.2	77.7	82.2	80.2	83.4	7.6	85.7	6.6
			81.2	83.8	80.9	85.9	87.8	83.9	3.5		
			86.5	88.3	96.5	94.5	83.5	89.9	6.1		
	0.05	B_2	97.2	79.2	86.7	85.8	90.8	88.0	7.5	89.7	5.9
			99.0	85.0	88.6	92.3	95.8	92.1	6.1		
			89.2	90.2	85.6	87.0	93.7	89.1	3.5		
	0.05	B_3	83.4	83.1	81.7	81.2	79.5	81.8	2.0	88.3	6.4
			91.3	89.9	90.4	84.8	95.4	90.3	4.2		
			91.0	92.2	98.4	91.3	91.6	92.9	3.3		
	0.2	之和计	87.8	86.1	81.0	83.1	85.5	84.7	2.8	87.2	3.3
			88.2	86.5	85.7	87.9	92.9	88.2	2.8		
			89.0	87.4	91.5	88.8	86.7	88.7	1.9		
0.8	0.2	A	90.2	91.6	80.1	82.2	80.5	84.9	6.5	87.3	5.1
			83.5	91.2	95.4	90.2	90.2	90.1	4.7		
			86.0	88.6	85.2	85.4	89.8	87.0	2.4		
	0.2	B_1	86.8	83.3	88.4	80.8	77.7	83.4	5.2	87.0	6.2
			89.4	83.8	89.1	98.8	80.9	88.4	7.7		
			93.8	84.8	86.6	89.6	90.9	89.1	4.0		
	0.2	B_2	103.1	94.2	93.3	88.8	104.2	96.7	6.9	92.4	7.8
			90.4	90.2	95.5	83.4	103.7	92.7	8.1		
			89.9	86.5	96.3	82.7	83.7	87.8	6.3		
	0.2	B_3	89.9	94.4	102.1	83.2	77.7	89.5	10.6	93.0	10.2

			87.9	79.9	91.8	94.4	88.5	88.5	6.2		
			94.1	110.4	109.9	98.4	91.9	100.9	8.7		
	0.8	之和计	92.5	90.9	91.0	83.8	85.0	88.6	4.0	89.9	3.3
			87.8	86.3	93.0	91.7	90.8	89.9	2.8		
			91.0	92.6	94.5	89.0	89.1	91.2	2.3		
8.0	2.0	A	96.3	103.4	102.7	93.4	103.8	99.9	4.8	93.0	7.0
			92.0	94.2	93.3	86.2	90.4	91.2	3.5		
			93.4	84.5	88.4	89.1	83.5	87.8	4.5		
	2.0	B_1	96.7	95.1	94.8	88.6	96.6	94.4	3.5	88.9	6.0
			87.7	89.3	86.4	86.3	82.2	86.4	3.0		
			80.5	88.5	82.8	93.0	84.8	85.9	5.7		
	2.0	B_2	87.0	87.5	86.8	90.6	96.8	89.8	4.7	92.0	7.3
			77.9	93.8	82.8	93.6	95.2	88.7	8.8		
			97.9	92.5	104.2	94.8	99.1	97.7	4.6		
	2.0	B_3	82.3	97.5	86.9	95.2	102.3	92.8	8.7	89.3	8.2
			98.6	80.0	84.0	98.8	86.9	89.7	9.6		
			88.0	89.8	83.9	84.7	80.7	85.4	4.2		
	8.0	之和计	90.6	95.9	92.8	92.0	99.9	94.2	3.5	90.8	3.6
			89.1	89.3	86.6	91.2	88.7	89.0	1.7		
			90.0	88.8	89.8	90.4	87.0	89.2	1.4		
200（杆菌肽锌）	82	A	77.7	86.5	96.2	82.5	95.4	87.7	9.2	95.4	8.7
			97.5	96.8	105.7	102.3	100.6	100.6	3.6		
			104.3	89.7	96.6	93.8	105.9	98.1	7.1		
	15	B_1	94.0	85.4	86.1	83.1	79.3	85.6	6.3	85.6	5.3
			81.0	81.8	82.3	79.4	90.7	83.0	5.3		
			88.9	90.3	90.3	87.8	84.2	88.3	2.9		
	6	B_2	89.5	90.6	88.5	81.8	80.2	86.1	5.5	87.9	6.6
			82.2	79.9	79.7	90.4	89.6	84.4	6.2		
			89.1	94.2	92.8	92.6	97.9	93.3	3.4		
	11	B_3	94.1	95.2	83.9	92.4	92.7	91.7	4.9	90.9	5.4
			92.8	85.9	96.3	88.3	98.8	92.4	5.8		
			86.2	93.6	89.7	91.7	81.1	88.5	5.6		
	114	之和计	82.0	87.4	93.3	83.5	92.2	87.7	5.1	93.3	5.9
			94.1	92.9	100.3	97.3	98.5	96.6	2.8		
			99.7	90.4	94.9	92.7	100.2	95.6	4.0		
200（亚甲	108	A	85.3	87.3	86.5	78.9	84.3	84.5	3.9	85.3	5.1

基水杨酸杆菌肽）			90.2	87.3	91.2	85.4	81.7	87.1	4.4		
			92.5	77.4	82.0	87.5	81.9	84.3	6.9		
	28	B_1	81.3	88.2	81.1	85.2	78.8	82.9	4.5	83.7	4.9
			86.2	81.8	91.4	81.8	84.4	85.1	4.7		
			75.8	81.5	82.4	88.8	87.0	83.1	6.1		
	14.4	B_2	78.6	78.2	90.4	84.5	85.3	83.4	6.1	87.1	6.0
			85.2	93.4	92.8	88.1	91.4	90.2	3.9		
			81.1	91.5	94.5	84.5	87.5	87.8	6.1		
	32	B_3	93.3	94.2	100.4	89.6	89.6	93.4	4.7	87.5	7.7
			87.8	92.4	91.8	87.6	86.4	89.2	3.0		
			78.9	79.1	85.8	79.3	76.5	79.9	4.3		
	182.4	之和计	85.6	87.9	88.4	82.2	84.5	85.7	2.7	85.6	3.5
			88.8	87.8	91.5	85.4	83.7	87.4	3.1		
			86.7	79.4	83.7	86.0	82.2	83.6	3.2		

表12 鸡浓缩饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	89.5	93.0	92.1	85.7	89.8	90.0	3.2	90.8	4.7
			95.3	87.9	87.4	94.8	84.5	90.0	5.3		
			95.4	91.5	96.7	83.5	95.0	92.4	5.8		
	0.05	B_1	91.8	95.1	92.6	96.5	89.5	93.1	3.0	89.9	4.6
			92.9	82.3	87.6	92.3	91.2	89.3	4.9		
			82.9	87.5	92.3	85.2	89.3	87.4	4.1		
	0.05	B_2	81.7	86.6	88.7	98.1	84.0	87.8	7.2	87.4	7.5
			86.3	78.1	78.9	93.1	89.4	85.2	7.7		
			87.7	100.1	80.5	93.0	84.3	89.1	8.6		
	0.05	B_3	93.0	91.7	95.9	89.7	93.2	92.7	2.4	87.1	7.2
			88.3	77.8	83.9	83.4	83.0	83.3	4.5		
			94.4	91.8	82.0	78.9	78.9	85.2	8.7		
	0.2	之和计	89.0	91.6	92.3	92.5	89.1	90.9	1.7	88.8	3.6
			90.7	81.5	84.5	90.9	87.0	86.9	4.2		
			90.1	92.7	87.9	85.2	86.9	88.6	2.9		

0.8	0.2	A	86.8	96.4	82.5	84.4	98.2	89.7	8.0	95.2	8.3
			93.0	92.6	93.9	102.1	100.8	96.5	4.8		
			104.0	92.1	109.0	105.1	87.5	99.5	9.3		
	0.2	B_1	83.3	83.5	79.5	80.1	86.2	82.5	3.3	83.6	3.9
			86.8	82.1	91.0	78.9	84.6	84.7	5.4		
			81.0	86.7	82.1	83.7	85.0	83.7	2.7		
	0.2	B_2	88.6	87.4	82.6	82.2	88.9	85.9	3.8	87.3	5.4
			79.9	89.0	84.0	84.4	88.8	85.2	4.4		
			96.3	86.0	93.5	83.4	93.9	90.6	6.1		
	0.2	B_3	90.2	83.0	84.8	79.1	89.7	85.4	5.5	88.4	5.3
			89.5	94.1	92.9	90.4	95.8	92.5	2.8		
			84.9	87.0	91.2	82.1	90.7	87.2	4.4		
	0.8	之和计	87.2	87.6	82.4	81.5	90.8	85.9	4.0	88.7	3.6
			87.3	89.5	90.5	89.0	92.5	89.8	1.9		
			91.6	88.0	94.0	88.6	89.3	90.3	2.5		
8.0	2.0	A	83.0	84.7	84.6	87.0	90.9	86.1	3.6	89.8	5.0
			89.4	89.7	87.6	94.8	87.6	89.8	3.3		
			88.7	96.4	89.3	98.4	94.3	93.4	4.6		
	2.0	B_1	94.7	93.3	88.7	92.4	86.9	91.2	3.6	89.0	6.6
			88.6	92.8	93.5	87.3	92.9	91.0	3.2		
			77.3	79.7	79.5	94.7	92.3	84.7	9.6		
	2.0	B_2	89.5	76.6	87.1	86.0	87.5	85.3	5.9	86.5	5.4
			89.4	84.2	86.8	86.6	91.8	87.8	3.3		
			88.2	94.9	77.3	86.4	85.7	86.5	7.3		
	2.0	B_3	82.4	84.7	90.3	87.4	103.0	89.6	9.0	89.3	9.3
			96.1	97.9	96.3	89.5	95.9	95.2	3.4		
			82.8	85.0	79.7	96.0	72.0	83.1	10.5		
	8.0	之和计	87.4	84.8	87.7	88.2	92.1	88.0	2.7	88.7	3.7
			90.9	91.2	91.1	89.6	92.1	91.0	0.9		
			84.3	89.0	81.5	93.9	86.1	87.0	4.9		
500（杆菌肽锌）	205	A	91.3	95.5	91.4	86.1	84.3	89.7	5.0	92.8	8.4
			98.6	97.2	85.5	83.1	86.7	90.2	7.9		
			92.9	102.8	92.8	112.3	91.4	98.4	9.2		
	37.5	B_1	93.0	103.5	98.3	96.6	100.2	98.3	4.0	90.5	7.9
			77.8	85.2	90.6	91.1	84.8	85.9	6.3		
			92.0	81.1	89.3	90.1	84.3	87.4	5.1		

	15	B_2	87.9	93.7	92.1	83.8	93.7	90.2	4.8	89.2	5.7
			89.5	88.9	84.7	80.3	84.9	85.7	4.4		
			85.7	93.8	96.6	85.7	97.2	91.8	6.2		
	27.5	B_3	88.1	85.9	84.8	85.2	80.7	84.9	3.2	85.9	6.1
			80.4	81.7	79.0	86.7	82.1	82.0	3.6		
			97.4	85.7	87.7	87.5	95.9	90.8	5.9		
	285	之和计	91.0	95.5	91.7	87.3	86.5	90.4	3.6	91.6	5.8
			93.6	93.7	85.5	84.4	85.9	88.6	4.7		
			92.8	97.8	92.0	105.6	91.2	95.9	5.6		
500（亚甲基水杨酸杆菌肽）	270	A	99.5	85.2	86.1	90.1	92.3	90.7	6.3	92.1	5.3
			87.8	88.1	98.5	90.6	90.1	91.0	4.8		
			97.9	88.9	96.5	98.8	90.4	94.5	4.8		
	70	B_1	80.1	90.4	91.5	80.7	82.9	85.1	6.4	86.7	5.8
			87.5	84.7	79.8	90.4	84.9	85.5	4.6		
			82.6	90.6	86.1	94.0	95.1	89.7	5.9		
	36	B_2	84.4	87.0	90.6	94.8	85.1	88.4	4.9	93.0	5.1
			100.9	96.2	94.0	94.2	96.1	96.3	2.9		
			91.0	92.2	94.0	95.7	99.0	94.4	3.3		
	80	B_3	91.4	82.3	75.4	94.7	83.6	85.5	9.0	84.8	7.2
			80.5	89.8	95.5	83.6	86.6	87.2	6.6		
			84.8	87.0	80.5	75.0	81.7	81.8	5.6		
	456	之和计	93.9	85.6	85.4	89.8	88.8	88.7	3.5	90.0	3.1
			87.5	88.5	94.7	89.6	89.2	89.9	2.8		
			92.7	89.1	91.9	93.6	90.3	91.5	1.8		

表13 鸡预混合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	80.6	95.8	94.9	97.7	89.4	91.7	7.5	90.2	5.4
			88.8	96.4	88.6	85.4	89.6	89.8	4.5		
			90.3	90.1	93.2	83.4	88.3	89.1	4.0		
	0.05	B_1	99.8	98.6	97.2	93.2	85.0	94.7	6.3	89.1	7.0
			91.2	90.1	88.2	93.2	84.7	89.5	3.6		

			79.1	83.4	83.4	86.1	83.9	83.2	3.1		
	0.05	B_2	82.3	85.5	85.8	89.0	90.6	86.6	3.7	87.8	6.2
			86.6	88.4	82.1	79.4	90.5	85.4	5.3		
			82.7	87.3	92.4	93.7	100.8	91.4	7.5		
	0.05	B_3	99.9	96.1	94.7	82.8	94.7	93.6	6.9	86.1	8.5
			85.7	83.5	87.6	80.5	88.7	85.2	3.9		
			82.0	80.4	78.4	81.4	75.1	79.5	3.5		
	0.2	之和计	90.7	94.0	93.2	90.7	89.9	91.7	1.7	88.3	3.3
			88.1	89.6	86.6	84.6	88.4	87.5	2.0		
			83.5	85.3	86.9	86.2	87.0	85.8	1.5		
0.8	0.2	A	78.8	84.8	75.5	95.9	88.8	84.8	9.6	91.5	11.6
			94.8	104.2	106.9	111.8	93.9	102.3	7.6		
			94.4	81.8	82.7	83.8	94.8	87.5	7.4		
	0.2	B_1	77.6	85.4	93.3	91.4	88.2	87.2	7.0	86.4	7.0
			79.3	83.7	80.0	81.7	81.2	81.2	2.1		
			94.8	82.7	94.2	94.0	88.4	90.8	5.8		
	0.2	B_2	85.0	92.7	91.0	89.4	82.1	88.0	5.0	88.6	4.8
			91.1	82.2	83.3	90.1	92.0	87.7	5.3		
			87.1	92.8	83.8	94.7	91.5	90.0	4.9		
	0.2	B_3	91.4	90.7	99.6	95.2	92.6	93.9	3.9	88.0	7.7
			93.3	83.2	93.5	91.6	87.7	89.9	4.9		
			76.7	78.6	83.0	81.6	81.1	80.2	3.1		
	0.8	之和计	83.2	88.4	89.9	93.0	87.9	88.5	3.6	88.6	3.1
			89.6	88.3	90.9	93.8	88.7	90.3	2.2		
			88.3	84.0	85.9	88.5	89.0	87.1	2.2		
8.0	2.0	A	95.8	87.3	96.5	93.6	95.7	93.8	4.0	92.1	4.8
			92.5	88.6	84.6	98.6	90.1	90.9	5.7		
			96.5	94.9	91.5	89.6	85.1	91.5	4.9		
	2.0	B_1	92.1	88.8	92.4	89.2	91.1	90.7	1.8	86.8	5.5
			82.7	89.6	92.7	84.7	90.7	88.1	4.8		
			78.6	81.3	81.4	85.2	81.5	81.6	2.9		
	2.0	B_2	80.0	92.7	81.7	86.6	99.0	88.0	9.0	88.8	7.4
			95.4	87.1	93.0	95.8	77.1	89.7	8.8		
			84.1	91.8	95.5	86.4	85.2	88.6	5.5		
	2.0	B_3	104.4	92.0	107.7	96.6	95.2	99.2	6.6	91.0	9.0
			91.7	89.3	83.1	85.1	82.8	86.4	4.6		

			96.2	94.1	81.2	83.8	81.7	87.4	8.2		
	8.0	之和计	93.1	90.2	94.6	91.5	95.3	92.9	2.0	89.7	3.6
			90.6	88.7	88.4	91.1	85.2	88.8	2.3		
			88.9	90.5	87.4	86.3	83.4	87.3	2.8		
2000（杆菌肽锌）	820	A	90.6	91.0	88.0	73.5	84.4	85.5	8.4	90.6	9.0
			104.3	101.2	88.7	102.3	97.1	98.7	6.3		
			92.0	87.1	87.2	82.2	88.9	87.5	4.1		
	150	B_1	78.6	83.1	88.8	82.8	77.4	82.1	5.5	82.6	6.0
			77.1	81.1	78.5	86.3	79.0	80.4	4.5		
			92.6	84.2	90.3	79.0	80.2	85.3	7.1		
	60	B_2	81.1	93.4	90.1	88.0	85.0	87.5	5.4	88.7	4.7
			88.5	83.6	90.9	97.5	92.0	90.5	5.6		
			89.0	84.7	86.8	88.9	91.4	88.2	2.9		
	110	B_3	92.2	91.0	84.7	95.7	92.2	91.2	4.4	86.6	6.6
			79.9	84.8	85.4	86.5	90.8	85.5	4.6		
			89.6	85.4	76.9	87.3	76.1	83.1	7.4		
	1140	之和计	88.7	90.1	87.9	77.6	84.3	85.7	5.2	89.0	6.2
			97.5	96.0	87.2	98.4	93.8	94.6	4.2		
			91.7	86.4	86.6	82.6	86.7	86.8	3.3		
2000（亚甲基水杨酸杆菌肽）	1080	A	85.7	85.6	98.5	97.8	94.8	92.5	6.9	90.2	6.4
			87.8	84.8	87.3	96.9	94.6	90.3	5.8		
			95.8	86.5	91.5	83.9	81.1	87.7	6.7		
	280	B_1	85.6	97.5	95.2	91.4	91.7	92.3	4.9	87.5	6.9
			83.7	94.8	79.8	90.4	86.4	87.0	6.7		
			79.6	88.0	86.6	78.0	83.0	83.0	5.2		
	144	B_2	88.1	87.4	87.6	86.1	79.8	85.8	4.0	88.4	5.0
			93.1	86.9	89.3	88.3	99.2	91.3	5.4		
			90.6	88.3	92.5	86.4	83.1	88.2	4.1		
	320	B_3	107.2	90.6	91.5	83.3	99.9	94.5	9.7	90.1	8.6
			91.5	86.3	81.1	83.1	81.5	84.7	5.1		
			82.0	89.6	89.0	95.8	99.2	91.1	7.3		
	1824	之和计	89.6	88.4	95.9	93.4	94.0	92.3	3.0	89.6	3.7
			88.2	86.8	85.2	92.8	91.4	88.9	3.2		
			90.5	87.4	90.4	85.3	84.7	87.7	2.8		

表14 鱼配合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	85.9	90.8	90.9	87.1	87.8	88.5	2.6	86.5	4.1
			82.0	82.9	93.9	88.0	84.4	86.2	5.6		
			84.1	80.7	86.0	86.1	86.2	84.6	2.8		
	0.05	B_1	90.2	98.0	94.5	91.7	85.0	91.9	5.3	88.2	6.8
			84.7	91.0	79.3	78.1	83.6	83.3	6.1		
			96.1	83.5	92.1	84.7	90.4	89.4	5.9		
	0.05	B_2	96.3	95.4	89.1	82.6	91.5	91.0	6.1	87.8	5.1
			88.8	87.4	90.5	90.1	85.4	88.4	2.3		
			83.9	87.3	82.6	82.6	83.6	84.0	2.3		
	0.05	B_3	79.8	76.1	85.6	78.4	83.5	80.7	4.8	88.0	7.4
			95.4	85.2	89.0	94.2	94.9	91.7	4.9		
			86.8	95.1	95.6	89.0	91.7	91.6	4.1		
	0.2	之和计	88.1	90.1	90.0	85.0	87.0	88.0	2.2	87.6	1.6
			87.7	86.6	88.2	87.6	87.1	87.4	0.6		
			87.7	86.7	89.1	85.6	88.0	87.4	1.4		
0.8	0.2	A	87.9	82.1	85.5	89.8	90.8	87.2	4.0	88.2	4.9
			93.6	98.6	86.3	83.8	90.0	90.4	6.5		
			90.8	83.3	89.0	87.7	84.3	87.0	3.6		
	0.2	B_1	87.0	85.1	87.5	79.4	86.2	85.0	3.8	86.0	5.3
			85.8	90.7	87.5	74.0	86.9	85.0	7.5		
			93.0	83.4	86.9	88.4	88.5	88.1	3.9		
	0.2	B_2	90.0	83.4	96.7	86.2	90.6	89.4	5.6	89.5	6.6
			86.6	89.7	103.8	93.6	95.7	93.9	7.0		
			86.4	86.7	88.4	82.6	82.3	85.3	3.2		
	0.2	B_3	87.7	101.2	83.1	88.0	85.2	89.0	8.0	90.5	11.3
			77.6	73.2	91.0	90.1	76.7	81.7	10.1		
			99.7	100.9	97.4	97.2	108.0	100.7	4.4		
	0.8	之和计	88.2	88.0	88.2	85.9	88.2	87.7	1.0	88.6	2.3
			85.9	88.1	92.2	85.4	87.3	87.8	2.7		
			92.5	88.6	90.4	89.0	90.8	90.3	1.5		
8.0	2.0	A	95.0	100.0	104.5	106.8	95.2	100.3	5.3	92.1	7.5
			86.3	84.1	88.3	87.5	88.9	87.0	2.2		

			91.9	88.0	85.4	91.1	88.1	88.9	2.9		
	2.0	B_1	85.8	80.4	78.0	91.7	85.1	84.2	6.3	85.4	6.2
			89.5	92.9	82.6	82.5	92.5	88.0	5.8		
			75.2	85.4	90.8	84.4	83.6	83.9	6.7		
	2.0	B_2	95.9	89.2	95.3	87.4	98.5	93.3	5.1	91.7	4.5
			89.3	94.5	90.2	87.9	90.2	90.4	2.7		
			98.1	90.4	84.9	89.8	94.5	91.5	5.5		
	2.0	B_3	91.4	84.0	83.3	89.0	87.9	87.1	3.9	87.1	5.3
			86.3	82.8	84.7	76.6	85.5	83.2	4.7		
			94.7	90.8	92.5	85.9	90.4	90.9	3.6		
	8.0	之和计	92.0	88.4	90.3	93.7	91.7	91.2	1.9	89.1	2.6
			87.9	88.6	86.5	83.6	89.3	87.2	2.3		
			90.0	88.7	88.4	87.8	89.2	88.8	0.8		
200（杆菌肽锌）	82	A	92.6	93.5	91.9	94.4	95.5	93.6	1.5	92.2	4.7
			89.4	92.4	81.8	98.6	91.6	90.7	6.7		
			100.1	88.1	90.5	90.5	91.9	92.2	5.0		
	15	B_1	83.6	87.4	84.8	80.6	80.3	83.3	3.6	84.1	5.1
			81.2	86.4	91.0	81.5	77.9	83.6	6.2		
			77.3	91.3	85.4	87.8	85.2	85.4	6.1		
	6	B_2	85.6	95.2	95.2	85.7	78.9	88.1	8.0	93.4	7.3
			97.3	97.5	87.1	90.8	93.1	93.2	4.7		
			98.9	98.1	103.8	92.0	102.4	99.0	4.6		
	11	B_3	86.2	85.5	86.3	85.8	81.6	85.1	2.3	87.9	6.6
			80.0	100.2	96.9	85.1	82.0	88.9	10.2		
			90.4	89.4	96.3	85.3	87.2	89.7	4.7		
	114	之和计	90.4	92.0	90.6	91.3	91.3	91.1	0.6	90.8	2.9
			87.8	92.6	84.7	94.6	89.0	89.7	3.9		
			96.1	89.2	91.1	89.7	91.1	91.4	2.7		
200（亚甲基水杨酸杆菌肽）	108	A	108.1	90.9	96.6	88.4	108.0	98.4	9.5	95.5	7.4
			99.2	93.0	91.5	98.2	104.6	97.3	5.4		
			97.6	89.0	87.7	89.6	89.4	90.7	4.3		
	28	B_1	94.4	85.7	93.4	91.5	99.5	92.9	5.4	90.2	4.5
			88.7	83.8	85.0	91.9	87.8	87.5	3.7		
			89.5	88.5	93.4	88.5	91.6	90.3	2.4		
	14.4	B_2	86.9	86.9	90.0	79.8	82.3	85.2	4.8	85.2	4.3
			90.1	80.6	80.9	82.5	84.9	83.8	4.7		

			90.5	82.8	85.4	89.2	85.5	86.7	3.6		
	32	B_3	86.1	82.7	84.5	100.7	86.8	88.2	8.2	91.3	6.6
			95.2	86.0	89.5	96.8	90.6	91.6	4.8		
			90.4	99.3	88.7	91.7	101.2	94.3	5.9		
	182.4	之和计	100.5	88.3	93.5	90.4	100.9	94.7	5.4	93.1	4.5
			96.2	89.4	89.3	95.7	98.0	93.7	3.9		
			94.5	90.2	88.6	89.8	91.5	90.9	2.2		

表15 鱼预混合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	81.0	85.2	80.6	86.7	89.4	84.6	4.5	86.2	5.0
			85.0	91.9	91.0	89.3	88.2	89.1	3.0		
			84.9	76.7	90.0	89.7	84.0	85.0	6.4		
	0.05	B_1	92.4	92.5	86.9	91.7	79.6	88.6	6.3	87.3	6.2
			87.1	88.3	84.8	78.4	77.6	83.3	5.9		
			89.8	92.2	89.6	83.9	94.9	90.1	4.5		
	0.05	B_2	91.5	83.0	87.6	86.5	88.7	87.5	3.6	87.8	3.9
			92.7	86.6	89.8	84.6	87.1	88.2	3.6		
			90.5	84.6	81.6	89.5	92.8	87.8	5.2		
	0.05	B_3	79.6	85.5	85.4	83.4	77.7	82.3	4.3	88.1	6.5
			89.8	92.6	98.5	91.3	91.3	92.7	3.7		
			91.4	94.4	85.3	91.9	83.8	89.3	5.1		
	0.2	之和计	86.1	86.6	85.1	87.1	83.9	85.8	1.3	87.4	2.2
			88.7	89.9	91.0	85.9	86.1	88.3	2.3		
			89.2	87.0	86.6	88.8	88.9	88.1	1.2		
0.8	0.2	A	92.4	93.9	96.5	89.2	92.3	92.8	2.8	90.6	5.0
			97.3	91.0	95.0	84.5	90.5	91.7	5.4		
			89.1	92.8	81.4	84.6	88.1	87.2	5.0		
	0.2	B_1	82.9	88.3	78.7	89.2	88.5	85.5	5.4	86.0	6.1
			84.1	82.5	76.7	82.6	90.4	83.2	5.9		
			96.1	93.3	87.5	83.6	85.1	89.1	6.0		
	0.2	B_2	97.9	96.2	92.9	83.4	93.6	92.8	6.1	91.7	7.6

			103.0	86.3	92.9	96.5	98.9	95.5	6.6		
			77.7	84.4	96.2	89.5	85.7	86.7	7.9		
	0.2	B_3	96.7	95.4	96.3	90.7	88.2	93.5	4.1	93.5	9.8
			83.7	82.2	79.7	89.5	89.6	84.9	5.2		
			95.4	111.5	98.1	111.7	94.0	102.1	8.6		
	0.8	之和计	92.5	93.5	91.1	88.1	90.7	91.2	2.0	90.4	3.0
			92.0	85.5	86.1	88.3	92.4	88.9	3.2		
			89.6	95.5	90.8	92.4	88.2	91.3	2.8		
8.0	2.0	A	92.3	82.7	80.6	92.4	92.7	88.1	6.8	87.9	6.4
			86.8	90.7	98.7	86.4	94.7	91.5	5.7		
			80.0	85.2	80.7	86.9	87.2	84.0	4.1		
	2.0	B_1	85.1	81.7	86.6	80.4	88.3	84.4	3.9	88.8	4.6
			86.4	94.2	90.6	92.1	93.2	91.3	3.4		
			91.4	88.2	90.3	92.7	90.4	90.6	1.8		
	2.0	B_2	94.0	96.1	83.1	91.3	97.4	92.4	6.1	88.5	5.5
			89.4	92.0	83.9	90.2	87.7	88.6	3.5		
			83.8	86.0	85.8	81.7	85.1	84.5	2.1		
	2.0	B_3	84.0	82.5	82.3	89.8	91.7	86.1	5.1	86.1	6.0
			99.4	79.7	90.6	87.2	81.7	87.7	8.9		
			88.5	86.3	81.2	83.1	84.0	84.6	3.3		
	8.0	之和计	88.9	85.8	83.2	88.5	92.5	87.8	3.6	87.8	2.8
			90.5	89.2	91.0	89.0	89.3	89.8	0.9		
			85.9	86.4	84.5	86.1	86.7	85.9	0.9		
2000（杆菌肽锌）	820	A	99.4	90.8	88.0	98.2	84.2	92.1	7.1	91.2	9.4
			93.9	105.2	105.5	97.8	88.1	98.1	7.6		
			83.5	83.3	88.3	84.9	76.3	83.3	5.3		
	150	B_1	78.9	84.6	81.3	86.0	88.0	83.8	4.4	92.6	10.7
			93.8	89.2	89.5	95.0	83.2	90.1	5.2		
			110.4	104.8	96.4	98.7	109.5	104.0	6.0		
	60	B_2	92.9	94.1	103.0	99.1	92.8	96.4	4.7	91.4	5.5
			90.5	92.4	91.4	91.1	90.8	91.2	0.8		
			87.3	86.4	83.2	85.6	89.9	86.5	2.8		
	110	B_3	92.4	93.3	100.6	86.4	84.8	91.5	6.8	85.7	8.3
			91.8	79.6	88.3	79.9	87.5	85.4	6.4		
			85.0	75.7	73.2	84.9	82.5	80.3	6.8		
	1140	之	95.7	90.4	89.1	95.5	85.2	91.2	4.4	90.8	6.0

		和	93.5	100.0	101.0	95.4	87.5	95.5	5.1		
		计	87.4	85.6	87.6	86.8	82.0	85.9	2.4		
2000（亚甲基水杨酸杆菌肽）	1080	A	88.1	89.0	89.5	86.7	89.9	88.6	1.4	89.5	4.3
			85.9	94.7	89.6	92.6	85.0	89.6	4.7		
			81.4	94.8	92.6	88.7	94.6	90.4	6.2		
	280	B_1	90.8	96.1	88.6	86.6	87.1	89.8	4.3	86.8	4.8
			88.7	87.0	80.3	84.8	91.9	86.5	5.0		
			82.7	86.4	87.2	80.6	83.4	84.0	3.2		
	144	B_2	92.5	88.6	87.0	87.5	86.2	88.3	2.8	90.1	6.2
			98.3	77.0	86.5	87.3	87.3	87.3	8.7		
			95.4	94.0	96.1	96.6	90.9	94.6	2.4		
	320	B_3	87.8	77.3	73.3	80.3	87.2	81.2	7.7	84.5	7.2
			93.4	87.0	74.3	87.2	83.3	85.0	8.2		
			85.8	92.7	90.8	83.7	82.9	87.2	5.0		
	1824	之	88.8	88.0	86.3	85.6	88.7	87.5	1.5	88.3	2.9
		和	88.6	90.8	85.2	90.0	85.9	88.1	2.5		
		计	83.5	93.1	91.7	87.2	90.5	89.2	3.9		

表16 牛预混合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	91.9	83.9	85.1	91.9	86.9	87.9	4.3	87.0	5.2
			91.9	94.1	83.1	84.2	87.9	88.3	5.4		
			88.5	77.5	82.9	90.9	84.4	84.8	6.1		
	0.05	B_1	81.1	92.9	91.3	93.7	90.1	89.8	5.7	87.9	5.3
			85.9	82.7	84.1	85.2	87.4	85.0	2.1		
			90.8	82.4	88.0	97.5	85.7	88.9	6.4		
	0.05	B_2	86.5	86.2	84.0	85.6	98.5	88.2	6.7	88.4	6.4
			96.8	93.2	90.1	91.7	95.9	93.5	3.0		
			79.6	85.8	84.9	82.1	85.8	83.6	3.2		
	0.05	B_3	76.1	79.1	80.6	87.7	80.6	80.8	5.3	88.1	7.7
			82.2	94.6	94.9	93.4	89.5	90.9	5.9		
			89.3	91.8	98.8	91.4	91.3	92.5	3.9		

	0.2	之和计	83.9	85.5	85.3	89.7	89.0	86.7	2.6	87.9	2.5
			89.2	91.2	88.1	88.6	90.2	89.5	1.2		
			87.1	84.4	88.7	90.5	86.8	87.5	2.3		
0.8	0.2	A	90.6	89.8	88.8	84.0	89.6	88.5	3.0	88.0	4.6
			89.3	96.4	88.6	85.1	91.3	90.1	4.6		
			83.3	83.6	86.6	80.8	92.0	85.3	5.0		
	0.2	B_1	91.0	93.1	78.7	86.3	84.5	86.7	6.5	88.5	6.9
			93.4	81.4	85.6	87.2	87.2	87.0	5.0		
			92.5	102.9	92.7	90.2	81.0	91.9	8.5		
	0.2	B_2	92.6	100.8	101.4	96.0	92.8	96.7	4.4	92.4	8.2
			93.1	92.6	103.8	99.5	88.7	95.5	6.3		
			88.5	75.2	85.4	93.4	82.9	85.1	7.9		
	0.2	B_3	77.5	91.3	96.2	94.1	76.2	87.1	10.9	89.5	8.8
			90.8	80.5	77.5	99.8	89.3	87.6	10.1		
			90.8	90.5	98.2	97.6	92.7	93.9	3.9		
	0.8	之和计	87.9	93.8	91.3	90.1	85.8	89.8	3.1	89.6	2.4
			91.7	87.7	88.9	92.9	89.1	90.1	2.1		
			88.8	88.1	90.7	90.5	87.2	89.1	1.5		
8.0	2.0	A	96.8	104.4	103.0	104.5	98.2	101.4	3.6	91.4	9.6
			86.7	86.7	89.8	94.0	91.3	89.7	3.5		
			85.4	80.3	79.1	91.3	79.0	83.0	6.4		
	2.0	B_1	78.9	84.3	85.7	91.1	87.3	85.5	5.2	86.2	6.7
			92.1	86.9	89.5	86.0	99.1	90.7	5.8		
			85.0	77.2	86.4	76.6	87.4	82.5	6.3		
	2.0	B_2	86.7	88.8	90.2	91.9	84.4	88.4	3.3	91.2	5.0
			91.8	96.8	94.1	89.5	84.0	91.3	5.3		
			89.1	92.3	101.3	91.6	95.3	93.9	5.0		
	2.0	B_3	85.2	91.9	93.4	79.8	82.2	86.5	6.9	87.7	6.6
			92.2	79.2	83.1	80.0	84.9	83.9	6.2		
			93.8	95.1	93.6	89.8	91.7	92.8	2.2		
	8.0	之和计	86.9	92.4	93.1	91.8	88.0	90.4	2.8	89.1	2.3
			90.7	87.4	89.1	87.4	89.8	88.9	1.5		
			88.3	86.2	90.1	87.3	88.4	88.1	1.5		
2000（杆菌肽锌）	820	A	90.8	96.3	90.6	97.1	87.3	92.4	4.5	92.5	4.1
			96.4	89.4	97.6	92.2	93.8	93.9	3.5		
			86.4	97.1	89.5	93.6	88.9	91.1	4.6		

	150	B_1	90.3	83.4	88.2	85.7	89.4	87.4	3.2	87.2	4.7
			82.1	85.5	80.9	82.1	88.3	83.8	3.6		
			93.7	85.1	91.3	87.8	93.8	90.3	4.2		
	60	B_2	100.8	100.1	102.6	97.4	99.8	100.1	1.9	96.6	6.6
			104.0	93.4	98.7	94.6	81.3	94.4	8.9		
			90.1	89.6	102.7	91.5	101.9	95.2	6.9		
	110	B_3	73.4	90.8	86.9	77.4	85.7	82.8	8.7	86.1	8.3
			95.8	83.6	94.4	80.0	98.3	90.4	8.9		
			82.8	92.0	84.4	79.5	86.0	85.0	5.5		
	1140	之和计	89.6	94.3	90.6	93.7	88.1	91.3	2.6	91.4	2.8
			94.9	88.5	95.2	89.8	92.9	92.3	2.9		
			87.2	94.6	89.9	91.4	89.9	90.6	2.7		
2000（亚甲基水杨酸杆菌肽）	1080	A	91.7	97.2	89.4	101.6	96.9	95.4	5.1	94.2	4.9
			95.6	93.2	92.4	91.8	102.8	95.2	4.7		
			92.2	89.2	100.4	90.5	88.8	92.2	5.2		
	280	B_1	90.9	88.7	84.5	90.0	92.3	89.3	3.3	89.6	5.2
			97.9	94.6	92.1	92.3	87.4	92.8	4.1		
			85.1	80.6	85.8	86.2	94.9	86.5	6.0		
	144	B_2	87.7	84.6	85.1	73.9	82.1	82.7	6.4	89.4	8.0
			98.0	89.2	99.5	89.0	85.6	92.3	6.6		
			93.7	94.9	95.6	84.3	97.5	93.2	5.6		
	320	B_3	91.3	90.4	90.3	86.1	85.5	88.7	3.0	88.7	4.4
			93.0	93.3	83.4	80.6	93.3	88.7	7.0		
			86.5	89.8	91.4	89.5	85.4	88.5	2.8		
	1824	之和计	91.2	93.7	88.5	94.9	93.0	92.3	2.4	92.2	3.1
			95.7	93.1	91.3	89.7	97.4	93.4	3.0		
			90.2	88.4	96.2	89.2	89.8	90.8	3.1		

表17 牛浓缩饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	88.0	83.4	86.3	83.0	90.3	86.2	3.6	85.8	4.4
			88.2	83.7	90.7	89.5	79.8	86.4	5.2		

			87.6	85.3	77.5	86.5	86.8	84.8	4.9		
	0.05	B_1	88.6	85.5	82.2	87.9	80.6	85.0	4.1	86.0	5.3
			77.7	84.7	80.5	81.9	86.8	82.3	4.3		
			91.2	92.0	92.1	89.2	88.8	90.7	1.7		
	0.05	B_2	90.1	89.6	91.0	93.2	94.7	91.7	2.3	90.7	4.9
			91.3	86.9	100.9	93.0	94.7	93.4	5.5		
			84.2	91.7	84.7	90.1	84.8	87.1	4.0		
	0.05	B_3	84.7	88.6	83.1	77.8	79.9	82.8	5.1	88.6	7.1
			88.8	88.5	84.3	88.7	97.4	89.5	5.4		
			98.4	97.5	91.2	93.7	86.4	93.4	5.2		
	0.2	之和计	87.9	86.8	85.7	85.5	86.4	86.5	1.0	87.8	2.1
			86.5	86.0	89.1	88.3	89.7	87.9	1.6		
			90.4	91.6	86.4	89.9	86.7	89.0	2.3		
0.8	0.2	A	92.5	93.9	87.3	87.4	94.7	91.2	3.9	95.4	8.6
			88.9	85.2	90.7	97.7	86.3	89.8	5.5		
			106.1	105.0	107.6	98.3	109.1	105.2	4.0		
	0.2	B_1	114.6	113.3	107.4	111.3	108.1	111.0	2.8	101.8	11.4
			105.9	103.4	103.1	107.0	117.6	107.4	5.5		
			89.4	87.5	80.6	86.9	91.6	87.2	4.7		
	0.2	B_2	98.1	92.3	92.2	87.1	101.8	94.3	6.1	91.0	9.7
			105.8	92.8	98.5	95.3	93.1	97.1	5.5		
			72.5	88.4	84.2	84.3	78.7	81.6	7.6		
	0.2	B_3	91.8	87.9	91.5	87.7	81.9	88.2	4.5	90.0	8.1
			78.9	84.7	95.3	84.9	81.4	85.1	7.3		
			103.5	87.2	94.5	99.4	99.0	96.7	6.4		
	0.8	之和计	99.3	96.9	94.6	93.4	96.6	96.2	2.1	94.6	2.4
			94.9	91.5	96.9	96.2	94.6	94.8	2.0		
			92.9	92.0	91.7	92.2	94.6	92.7	1.1		
8.0	2.0	A	88.4	108.1	93.4	107.6	104.2	100.3	8.9	89.0	11.3
			83.4	84.2	87.6	85.6	82.7	84.7	2.3		
			77.8	88.0	76.5	82.1	85.0	81.9	5.9		
	2.0	B_1	90.6	88.4	90.5	84.5	82.2	87.2	4.3	87.9	5.8
			96.5	85.9	98.6	91.0	89.2	92.2	5.7		
			85.0	88.1	84.1	82.3	81.4	84.2	3.1		
	2.0	B_2	88.2	91.1	87.8	93.4	97.3	91.5	4.3	91.0	3.8
			91.6	86.7	89.6	93.5	88.3	90.0	3.0		

			94.9	88.5	96.6	91.8	86.4	91.6	4.6		
	2.0	B_3	89.0	92.2	90.2	92.6	81.4	89.1	5.1	87.6	5.8
			79.5	84.2	84.6	82.9	79.4	82.1	3.1		
			94.1	92.6	90.0	89.8	92.1	91.7	2.0		
	8.0	之和计	89.1	95.0	90.5	94.5	91.3	92.1	2.5	88.9	3.3
			87.8	85.3	90.1	88.3	84.9	87.3	2.2		
			88.0	89.3	86.8	86.5	86.2	87.4	1.3		
500（杆菌肽锌）	205	A	91.9	92.9	86.2	86.0	87.3	88.8	3.7	90.1	4.7
			83.9	94.5	89.4	92.5	85.7	89.2	5.0		
			96.1	97.9	91.9	87.1	87.5	92.1	5.3		
	37.5	B_1	103.3	101.9	102.6	103.8	111.7	104.7	3.8	107.3	3.9
			105.6	106.6	108.7	116.1	109.9	109.4	3.8		
			105.0	104.9	112.6	110.6	106.1	107.8	3.3		
	15	B_2	83.8	91.7	94.0	82.6	87.4	87.9	5.6	91.0	5.9
			92.3	103.3	87.0	95.5	91.9	94.0	6.4		
			92.3	84.3	91.6	92.2	95.3	91.2	4.5		
	27.5	B_3	96.8	75.1	82.0	83.2	86.6	84.7	9.4	87.5	8.1
			83.5	86.9	87.1	95.2	96.9	89.9	6.4		
			75.1	93.2	85.0	92.0	93.7	87.8	9.0		
	285	之和计	93.4	92.3	88.4	87.9	90.4	90.5	2.4	92.1	3.3
			87.2	95.8	91.6	96.0	90.3	92.2	3.6		
			95.0	97.7	93.9	90.9	91.0	93.7	2.7		
500（亚甲基水杨酸杆菌肽）	270	A	102.4	96.0	101.4	99.5	101.9	100.2	2.6	96.0	6.6
			101.5	94.1	99.3	103.9	99.6	99.6	3.6		
			91.4	86.7	90.4	85.6	87.3	88.3	2.8		
	70	B_1	93.9	97.9	85.5	88.6	89.2	91.0	5.4	102.9	9.6
			101.7	103.5	105.8	109.1	113.5	106.7	4.4		
			117.0	105.9	108.1	109.8	113.7	110.9	4.0		
	36	B_2	117.0	103.6	112.7	114.0	101.8	109.8	6.1	95.7	12.5
			83.7	91.8	81.6	87.7	89.3	86.8	4.7		
			92.8	83.8	101.2	91.2	83.3	90.5	8.1		
	80	B_3	96.1	93.4	83.7	95.6	85.6	90.9	6.4	93.5	9.4
			86.2	83.8	89.8	87.9	84.5	86.4	2.8		
			100.5	95.1	109.6	110.5	100.8	103.3	6.4		
	456	之和	101.1	96.4	96.7	98.3	97.1	97.9	1.8	96.6	2.7
			97.4	93.6	97.2	100.6	98.3	97.4	2.3		

		计	97.0	90.9	97.3	94.1	93.4	94.5	2.5		

表18 牛精料补充料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	92.7	81.6	87.1	92.9	82.8	87.4	6.1	86.8	5.1
			94.7	88.0	87.9	88.1	88.9	89.5	3.2		
			82.1	82.8	79.9	85.6	86.4	83.4	3.2		
	0.05	B_1	87.7	91.1	92.0	78.6	85.5	87.0	6.2	89.4	4.2
			91.1	90.7	88.8	88.9	94.2	90.7	2.4		
			93.6	91.8	90.2	89.3	87.5	90.5	2.6		
	0.05	B_2	86.5	89.0	81.8	88.4	86.0	86.3	3.3	94.3	9.8
			91.1	89.1	88.7	92.5	91.3	90.5	1.8		
			106.0	102.8	101.4	113.1	106.6	106.0	4.3		
	0.05	B_3	111.4	113.9	109.5	103.9	112.8	110.3	3.6	103.5	9.4
			109.9	109.9	103.2	114.1	106.0	108.6	3.8		
			90.4	85.5	93.1	100.5	88.8	91.7	6.1		
	0.2	之和计	94.6	93.9	92.6	91.0	91.8	92.8	1.4	93.5	2.1
			96.7	94.4	92.2	95.9	95.1	94.9	1.6		
			93.0	90.7	91.2	97.1	92.3	92.9	2.4		
0.8	0.2	A	85.7	85.9	86.6	83.7	97.5	87.9	6.3	87.0	10.5
			93.5	82.6	88.6	104.3	93.9	92.6	8.6		
			74.2	71.3	87.7	74.9	95.0	80.6	12.7		
	0.2	B_1	90.5	93.1	103.0	111.8	87.3	97.1	10.4	96.1	10.8
			85.5	83.5	93.9	86.9	81.9	86.3	5.4		
			102.4	101.1	110.6	112.2	98.0	104.9	5.9		
	0.2	B_2	101.9	109.4	97.2	94.6	87.9	98.2	8.2	90.5	9.1
			90.0	90.2	95.4	85.0	88.7	89.9	4.2		
			80.6	83.6	89.8	85.5	77.6	83.4	5.6		
	0.2	B_3	90.8	85.5	92.1	84.7	87.6	88.1	3.7	87.0	3.9
			83.7	86.3	88.4	81.9	82.1	84.5	3.3		
			86.4	86.8	86.0	93.9	88.7	88.4	3.7		
	0.8	之	92.2	93.5	94.7	93.7	90.1	92.8	1.7	90.2	3.4

		和	88.2	85.7	91.6	89.5	86.7	88.3	2.4		
		计	85.9	85.7	93.5	91.6	89.8	89.3	3.5		
8.0	2.0	A	92.4	90.6	85.3	82.5	87.3	87.6	4.5	89.4	4.5
			92.7	91.3	85.8	94.9	95.2	92.0	4.1		
			93.8	89.0	87.2	83.5	89.6	88.6	4.3		
	2.0	B_1	82.6	86.2	87.8	79.6	85.5	84.3	3.9	88.4	6.2
			90.5	89.0	84.4	85.2	89.4	87.7	3.1		
			86.3	99.4	99.8	90.0	89.8	93.1	6.6		
	2.0	B_2	83.3	90.3	96.7	87.6	95.7	90.7	6.2	97.3	7.7
			99.4	99.4	92.8	97.3	90.0	95.8	4.4		
			107.9	101.6	107.7	103.1	106.9	105.4	2.7		
	2.0	B_3	112.8	110.9	111.3	108.2	103.0	109.2	3.5	102.2	10.8
			98.3	112.8	113.5	96.3	116.3	107.4	8.7		
			93.6	83.7	99.8	84.4	88.6	90.0	7.5		
	8.0	之	92.8	94.5	95.3	89.5	92.9	93.0	2.1	94.3	2.6
		和	95.2	98.1	94.1	93.4	97.7	95.7	2.0		
		计	95.4	93.4	98.6	90.3	93.7	94.3	2.9		
200（杆菌肽锌）	82	A	82.8	90.7	81.2	98.8	104.5	91.6	11.0	90.6	8.3
			99.9	85.5	91.2	94.9	92.0	92.7	5.7		
			94.8	88.6	89.6	88.8	75.6	87.5	8.1		
	15	B_1	105.0	104.4	96.2	99.7	100.0	101.1	3.6	92.3	7.7
			92.0	88.9	82.4	87.1	88.8	87.9	4.0		
			90.4	85.5	90.2	86.7	87.0	88.0	2.5		
	6	B_2	86.8	83.8	83.3	76.0	90.9	84.2	6.5	86.8	5.2
			88.6	93.0	88.7	89.6	93.5	90.7	2.6		
			88.8	85.6	82.9	84.6	85.3	85.4	2.5		
	11	B_3	89.3	98.1	90.8	85.9	93.9	91.6	5.0	92.0	6.3
			85.6	89.2	81.3	98.8	87.2	88.4	7.4		
			99.3	96.3	100.5	91.4	92.2	95.9	4.3		
	114	之	86.6	92.9	84.2	96.5	102.2	92.5	7.1	90.8	6.0
		和	96.9	86.7	89.0	94.0	91.2	91.6	3.9		
		计	94.3	88.8	90.4	88.6	79.2	88.3	5.6		
200（亚甲基水杨酸杆菌肽）	108	A	96.5	85.5	91.6	85.4	88.0	89.4	5.3	87.2	6.3
			87.0	75.9	78.7	82.4	85.4	81.9	5.6		
			87.2	90.0	94.2	91.2	89.3	90.4	2.8		
	28	B_1	86.5	97.5	95.1	96.9	93.7	93.9	4.7	90.9	6.4

			88.8	83.3	82.5	84.6	86.8	85.2	3.0		
			84.9	94.5	94.7	100.6	92.7	93.5	6.0		
	14.4	B_2	106.8	111.9	105.3	112.7	106.6	108.7	3.1	108.4	4.5
			109.3	109.7	110.7	109.0	114.7	110.7	2.1		
			110.4	107.1	99.8	97.6	114.8	105.9	6.8		
	32	B_3	96.0	92.5	85.4	91.9	87.7	90.7	4.6	93.0	7.2
			93.5	83.7	91.1	84.9	94.3	89.5	5.5		
			103.9	90.2	96.3	94.6	108.6	98.7	7.5		
	182.4	之和计	95.7	90.7	92.1	90.5	90.3	91.9	2.2	90.5	4.5
			90.2	81.1	84.0	85.3	89.5	86.0	4.0		
			91.6	92.1	95.1	93.7	95.2	93.5	1.6		

表19 鸭预混合饲料中杆菌肽添加回收率测定结果

总添加浓度 mg/kg	实际添加浓度（mg/kg）	化合物	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内变异系数（*n*=5，%）	批间平均回收率（%）	批间变异系数（*n*=15，%）
			1	2	3	4	5				
0.2	0.05	A	93.2	90.5	91.3	94.2	81.7	90.2	5.5	87.1	4.8
			83.9	81.7	87.8	85.6	87.8	85.4	3.1		
			85.4	82.5	89.9	82.1	88.7	85.7	4.1		
	0.05	B_1	81.0	91.1	91.4	88.5	84.5	87.3	5.1	87.1	6.0
			78.4	87.9	85.0	86.3	77.9	83.1	5.6		
			91.7	88.9	85.0	96.6	91.5	90.7	4.7		
	0.05	B_2	95.2	86.9	85.3	83.1	89.6	88.0	5.3	88.0	6.1
			89.3	89.2	95.3	98.8	88.9	92.3	4.9		
			83.1	87.6	86.3	78.7	82.5	83.6	4.2		
	0.05	B_3	84.7	79.2	82.4	78.4	83.5	81.6	3.4	88.3	6.5
			93.9	87.3	94.1	86.4	92.6	90.8	4.1		
			95.2	91.9	88.9	91.6	95.4	92.6	2.9		
	0.2	之和计	88.5	86.9	87.6	86.1	84.8	86.8	1.5	87.6	1.7
			86.4	86.5	90.6	89.3	86.8	87.9	1.9		
			88.9	87.7	87.5	87.3	89.5	88.2	1.0		
0.8	0.2	A	86.4	93.0	91.5	83.0	89.4	88.6	4.5	95.7	8.5
			100.5	91.1	91.7	91.8	90.6	93.1	4.4		
			110.6	104.5	107.7	102.2	101.1	105.2	3.7		

	0.2	B_1	115.0	107.5	100.8	109.3	116.1	109.8	5.6	103.1	12.1
			108.8	105.6	108.6	118.8	118.2	112.0	5.4		
			83.1	85.8	89.7	91.4	87.2	87.4	3.7		
	0.2	B_2	85.8	91.8	88.1	88.8	82.1	87.3	4.2	88.5	4.5
			90.7	86.8	85.5	82.8	87.8	86.7	3.4		
			89.7	87.4	97.6	93.5	89.4	91.5	4.4		
	0.2	B_3	81.7	83.5	83.7	92.8	83.9	85.1	5.2	89.4	5.5
			96.4	93.0	92.4	93.8	86.7	92.5	3.8		
			84.1	95.4	91.3	89.8	92.1	90.5	4.6		
	0.8	之和计	92.2	94.0	91.0	93.5	92.9	92.7	1.1	94.2	2.2
			99.1	94.1	94.6	96.8	95.8	96.1	1.9		
			91.9	93.3	96.6	94.2	92.5	93.7	1.8		
8.0	2.0	A	97.1	96.1	92.9	89.7	94.3	94.0	3.1	88.0	7.2
			86.3	87.0	85.8	93.3	90.0	88.5	3.6		
			76.7	83.1	86.9	76.3	84.3	81.5	5.8		
	2.0	B_1	89.1	88.4	90.2	86.2	84.4	87.7	2.7	90.0	3.8
			89.8	94.7	92.7	95.1	86.4	91.7	4.0		
			92.5	88.7	95.5	88.4	87.9	90.6	3.6		
	2.0	B_2	87.4	94.9	95.1	88.9	93.2	91.9	3.9	102.9	8.6
			101.6	109.2	109.4	108.0	104.7	106.6	3.2		
			105.7	105.3	111.2	113.9	114.5	110.1	4.0		
	2.0	B_3	104.2	104.0	106.2	107.6	106.0	105.6	1.4	99.3	6.7
			87.5	88.7	98.6	102.1	101.5	95.7	7.4		
			92.0	90.6	97.2	99.5	104.2	96.7	5.7		
	8.0	之和计	94.5	95.9	96.1	93.1	94.5	94.8	1.2	95.0	2.4
			91.3	94.9	96.6	99.6	95.7	95.6	2.8		
			91.7	91.9	97.7	94.5	97.7	94.7	2.8		
2000（杆菌肽锌）	820	A	107.0	94.7	95.2	95.7	93.2	97.2	5.7	96.9	9.9
			83.4	95.5	83.2	92.8	82.3	87.4	7.1		
			109.7	107.7	105.2	97.4	110.9	106.2	5.1		
	150	B_1	96.7	79.2	93.1	87.2	84.9	88.2	7.8	93.8	6.9
			99.6	90.6	99.4	96.8	101.4	97.6	4.3		
			99.9	88.4	99.1	93.8	96.5	95.5	4.9		
	60	B_2	86.7	83.4	91.3	80.1	87.3	85.8	4.9	83.9	5.5
			78.1	82.0	83.1	86.6	90.3	84.0	5.5		
			90.7	78.0	78.5	83.1	79.7	82.0	6.4		

	110	B_3	81.5	85.6	85.6	97.1	93.4	88.6	7.2	88.7	6.0
			89.9	85.5	86.0	91.0	81.8	86.8	4.3		
			98.9	83.3	92.2	86.8	91.7	90.6	6.5		
	1140	之和计	102.1	91.2	93.8	93.9	91.8	94.6	4.1	95.0	7.1
			85.9	93.2	85.6	92.8	85.2	88.5	4.1		
			106.4	101.2	101.7	95.2	105.5	102.0	3.9		
2000（亚甲基水杨酸杆菌肽）	1080	A	91.8	84.2	84.6	90.7	89.0	88.1	4.0	90.1	4.0
			87.3	89.4	96.5	95.6	89.9	91.7	4.4		
			86.9	90.2	88.3	93.2	93.4	90.4	3.2		
	280	B_1	79.8	86.5	86.0	84.8	76.4	82.7	5.4	88.2	6.2
			92.9	94.0	87.2	90.3	95.7	92.0	3.6		
			90.4	84.3	88.9	93.5	93.2	90.1	4.1		
	144	B_2	85.2	93.5	93.0	91.2	86.4	89.8	4.3	95.5	8.2
			85.8	92.4	95.9	91.1	91.7	91.4	4.0		
			104.2	106.0	105.2	105.4	106.2	105.4	0.7		
	320	B_3	106.1	117.0	115.2	103.8	110.9	110.6	5.1	101.3	11.1
			101.3	102.6	101.4	108.3	112.7	105.3	4.8		
			86.8	86.6	95.6	92.7	78.7	88.1	7.4		
	1824	之和计	91.9	91.0	90.8	92.1	90.7	91.3	0.6	92.2	2.4
			90.5	92.7	95.9	96.7	94.9	94.1	2.4		
			88.8	89.9	91.0	94.1	91.8	91.1	2.0		

3.1.3.4 实际样品测定

为考察方法适用性，收集鸡配合饲料、猪配合饲料、鸡预混合饲料、猪预混合饲料、鸡浓缩饲料、猪浓缩饲料、牛精料补充饲料、牛浓缩饲料、鱼配合饲料、鱼浓缩饲料以及鸭配合饲料、牛复合预混合饲料等12种饲料产品，共40个。按确定的样品提取和净化方法、色谱质谱条件进行分析，均未检测到杆菌肽A、B_1、B_2和B_3。

3.2 综述报告

《饲料中杆菌肽的测定》建立了配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料和精料补充料中杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽的液相色谱串联质谱测定方法，试样中杆菌肽经氨水溶液-乙腈-甲醇提取，C_{18}固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪检测，基质匹配外标法定量。

方法开发过程中对提取条件、净化条件、液质仪器条件、定量方法等分别进行了研究，并进行了添加回收验证。结果主要内容如下：

提取条件主要对比研究了甲酸水+乙腈（1+1）、甲酸乙腈、氨化乙腈、氨化甲醇及甲酸甲醇对不同饲料中不同添加浓度下的提取效率，结果表明氨化溶液作为提取液时，回收率高于其它溶液。进一步比较提取液氨水溶液、氨化甲醇、氨水溶液+乙腈（1+1）、氨水溶液+甲醇（1+1）以及氨水溶液+乙腈+甲醇（1+1+1），结果显示氨水溶液+乙腈+甲醇（1+1+1）提取液提取效果高于其它溶液。进一步比较提取液氨水溶液中氨水浓度以及提取体积、提取次数等对提取效率的影响。结果显示，采用12%氨水+乙腈+甲醇（1+1+1）10 mL振荡提取2次，提取效率较高。

净化条件的研究中比较了QuEChERS（PSA吸附剂规格200 mg）和固相萃取方法（Prime HLB、C18和Agilent EMR小柱），对鸡配合饲料、鸡浓缩饲料及鸡复合预混合饲料的净化效果，结果表明杆菌肽A、B_1、B_2和B_3在EMR柱和Prime HLB两种通过模式净化柱中有15%左右吸附，HLB柱中保留过强，杆菌肽和杆菌肽锌添加目标化合物难洗脱。PSA吸附剂净化方式由于提取液中含有33%的水，不利后续氮气吹干。进一步研究发现，10 mL EDTA溶液（pH 7.0），与5 mL提取液混匀后通过C_{18}小柱，甲醇可以将吸附在C_{18}小柱上的杆菌肽A、B_1、B_2和B_3完全洗脱下来。杆菌肽，杆菌肽锌和亚甲基水杨酸杆菌肽3种不同的制剂均能达到较好的净化效果。

对液相色谱条件和质谱条件进行了研究，液质法中因考虑到灵敏度等因素采用了不同的梯度洗脱条件进行色谱分离，流动相为0.1%甲酸水溶液和乙腈，采用多重反应监测方式进行检测。

对于定量方法，对比了外标法、和基质匹配外标法2种定量方法。结果显示，不同饲料基质对目标化合物存在基质增强或基质减弱的影响。因此，综合考虑方法可靠性因素后决定液相色谱串联质谱法采用基质匹配外标法定量。

除此之外，在标准主要内容确定过程中，对标准溶液储藏稳定性等也进行了研究。通过稳定性试验确定了标准储备液A，B_1，B_2和B_3有效期限确定为6个月，4种化合物混合标准储备液有效期限均确定为3个月，混合标准中间液的有效期限确定为2个月。

标准主要内容确定后，首先通过添加回收试验对本方法的可靠性进行了验证。结果显示，杆菌肽A，B_1，B_2和B_3在0.01~1.0 mg/L浓度范围内线性良好，12种饲料在0.2~2000 mg/kg总添加浓度范围内，回收率在71.1%~118.8%之间，批内平均回收率在

76.5%~112.0%，批间平均回收率在80.7%~108.4%之间，批内RSD在0.7%~12.7%之间，批间RSD在1.7%~14.8%之间。说明回收率和精密度均符合分析要求。定量限和检测限分别为0.05 mg/kg和0.02 mg/kg。综合上述结果可见，本方法可靠，能满足饲料中杆菌肽测定的需要。

总之，《饲料中杆菌肽的测定》方法简便、可靠，适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料和精料补充料中添加不同形态杆菌肽产品的定性定量测定。

3.3 技术经济论证

无。

3.4 预期经济效果

为饲料中杆菌肽的合理使用和风险监控提供技术支撑。本标准对前处理过程进行了优化，可大幅度提高杆菌肽的分析效率。本标准有助于强化监管饲料中杆菌肽的违规使用，直接保证了畜禽产品的安全，保障了人民的健康，满足了人们对于“吃的健康”的需求。同时，本标准还为饲料生产者提供技术服务，保障其生产饲料符合要求，避免因不达标遭受损失，提高生产者的经济效益。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

无。

五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准

本方法标准在制定过程中，未采用国际标准。

六、与有关法律、法规的关系

在标准的制订过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章等，严格执行强制性国家标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。

目前我国已建立了食品中的杆菌肽分析方法有：《GB/T 20743-2006 猪肉、猪肝和猪肾中杆菌肽残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》《GB/T 22981-2008 牛奶和奶粉中杆菌肽残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》《NY/T 726-2003 饲料中杆菌肽锌的测定 高效液相色谱法》和《SN/T 4807-2017 进出口食用动物、饲料中杆菌肽的检测方法》，未制定饲料中杆菌肽产品的液相色谱串联质谱测定方法，因此难以满足生产上需要，因此急需要制定该标准。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

在方法研究和征求意见稿形成过程中，暂无重大分歧。

八、涉及专利的有关说明

未涉及专利。

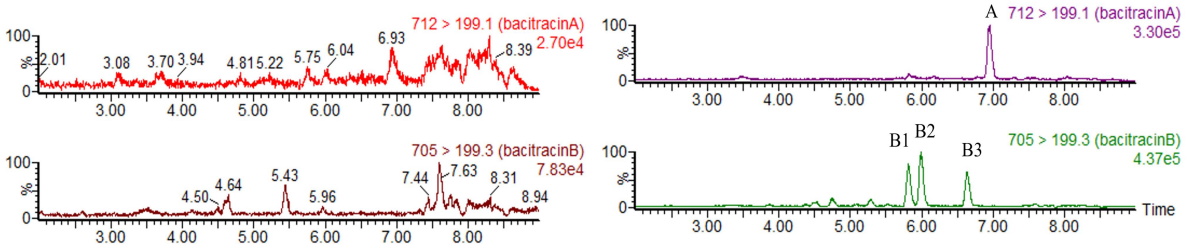
九、贯彻国家标准的要求和措施建议

待本标准颁布和实施后，建议相关部门开展该标准的技术培训工作。

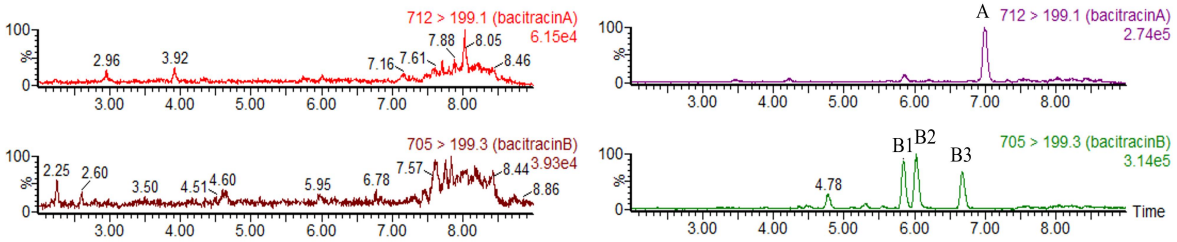
十、其他应予说明的事项

无。

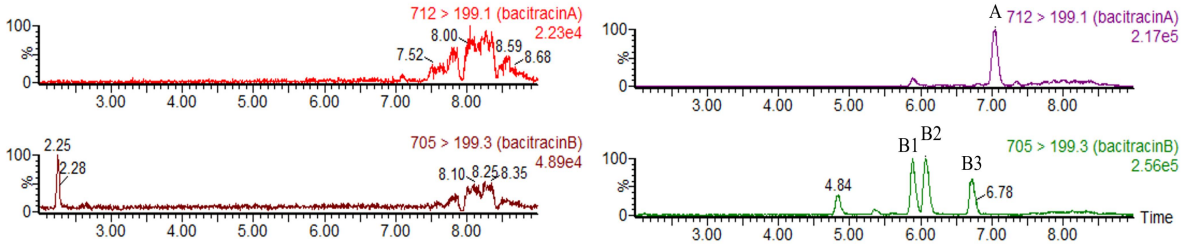
附图



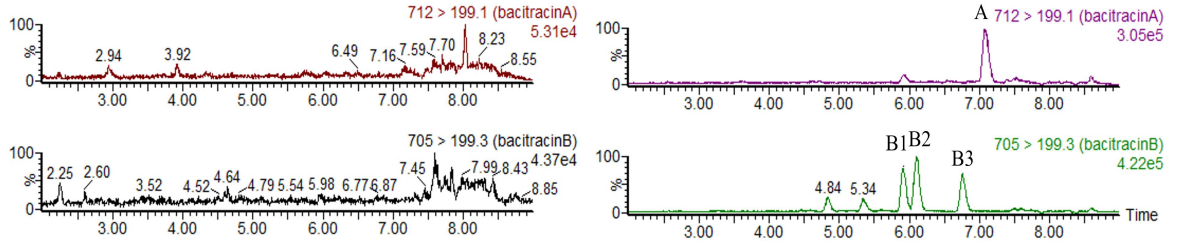
附图1　猪配合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



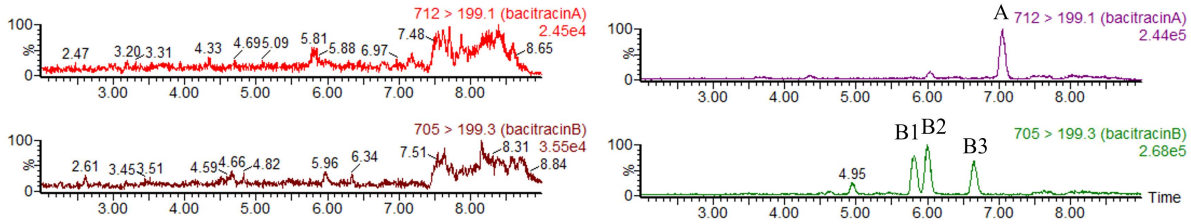
附图2　猪浓缩饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱



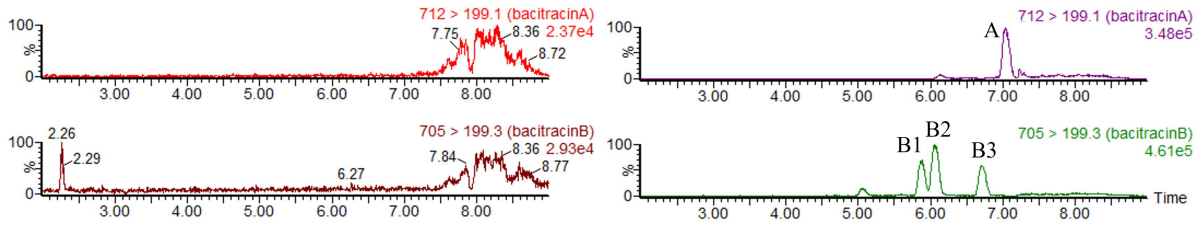
附图3　猪预混合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



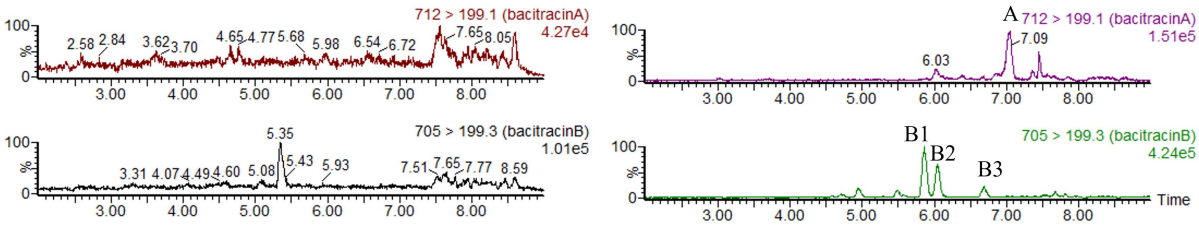
附图4　鸡配合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



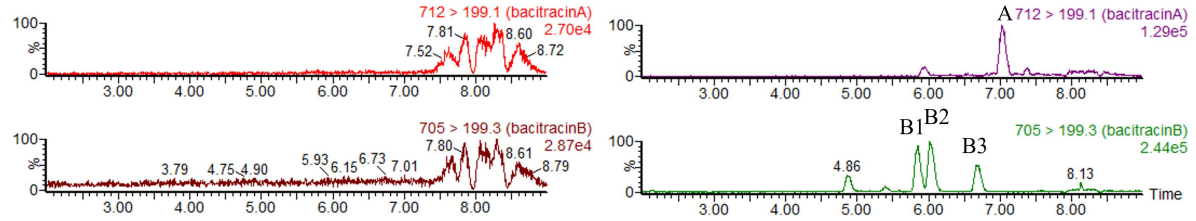
附图5　鸡浓缩饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



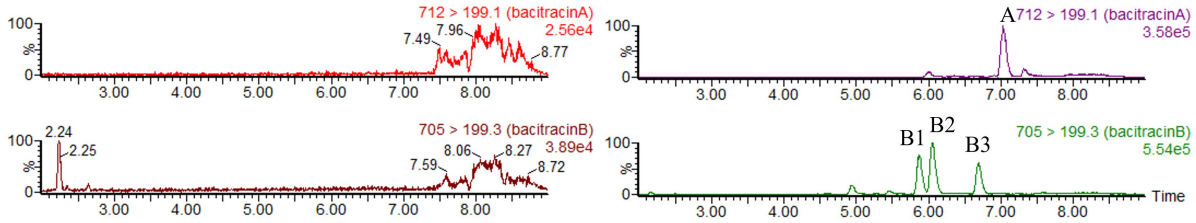
附图6 鸡预混合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



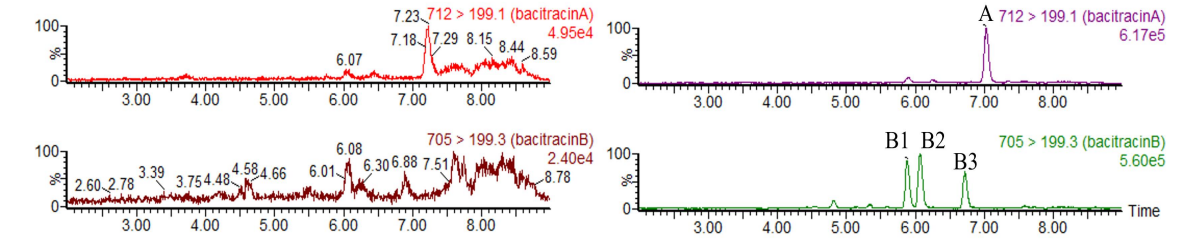
附图7 鱼配合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



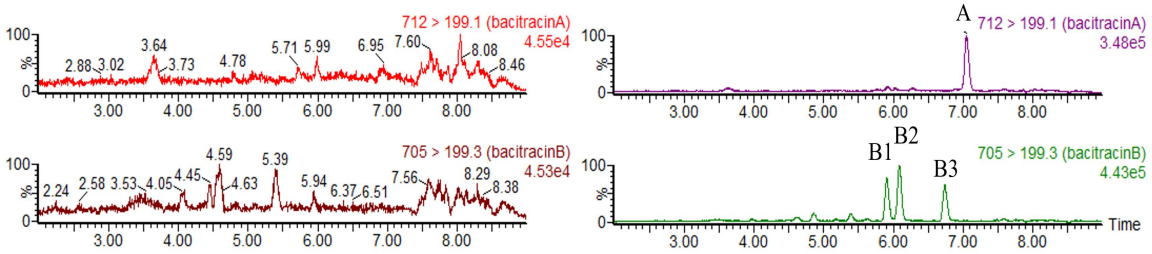
附图8 鱼预混合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



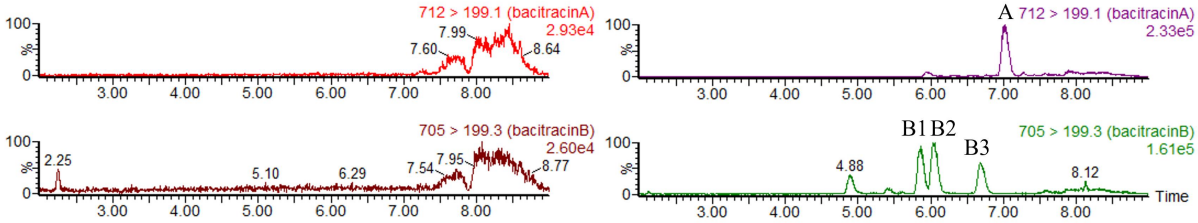
附图9 牛预混合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



附图10 牛浓缩饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



附图11 牛精料补充料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图



附图12 鸭预混合饲料空白样品(左)和添加样品（0.050 mg/kg，右）MRM色谱图