

# 中华人民共和国农业行业标准

## 饲料中五氯苯酚的测定 液相色谱-串联质谱法

### 编制说明

(公开征求意见稿)

江苏省农业科学院

2024年9月

# 目 录

一、工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等 .....	3
二、标准编制原则、主要内容及其确定依据 .....	7
2.1 编制规则 .....	7
2.2 编制依据 .....	7
2.3 主要内容及其确定依据 .....	8
2.3.1 仪器试验条件研究 .....	8
2.3.2 标准溶液稳定性研究 .....	13
2.3.3 样品前处理条件研究 .....	13
2.3.4 方法学考察 .....	21
2.4 实际样品（非添加样）的测定 .....	40
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益 .....	41
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况 .....	41
五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因 .....	42
六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系 .....	42
七、重大分歧意见的处理经过和依据 .....	42
八、涉及专利的有关说明 .....	42
十、其他应当说明的事项 .....	43
参考文献 .....	44
附件：PCP 在其它 12 种微生物型和植物提取物型混合型饲料添加剂中试验结果 .....	45

# 饲料中五氯苯酚的测定 液相色谱-串联质谱法

## 编制说明

### 一、工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等

#### （一）任务来源

根据《关于下达 2024 年农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》（农质标函〔2024〕71 号），由我单位联合相关单位承担《饲料中五氯苯酚的测定 液相色谱-串联质谱法》农业行业标准研制工作，项目编号为 NYB-24304，该标准由农业农村部畜牧兽医局提出，全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

#### （二）制定背景

五氯苯酚（Pentachlorophenol, PCP,  $C_6HCl_5O$ ），又称为五氯酚、五氯酚酸，是一种氯代酚类化合物<sup>[1]</sup>。常温下为白色结晶粉末，熔点 165~180℃，沸点 310℃，溶于稀碱溶液、乙醇、丙酮、乙醚等，几乎不溶于水，结构式见图 1。PCP 具有广谱生物杀伤性，常被用作除草剂或者杀菌剂，养殖户曾把它作为杀螺剂，用于鱼塘消杀福寿螺、钉螺，其对果树害虫、真菌、细菌等也有杀灭功能，还可作为木材防腐和农业除草剂，曾在全球广泛使用<sup>[2]</sup>。20 世纪五六十年代我国长江流域血吸虫病爆发，PCP 及其钠盐作为主要的治疗药物被广泛应用，其还可作为触杀型灭生性除草剂使用于稻田，主要用于除稗草和幼草<sup>[3]</sup>。

PCP 具有强烈的遗传毒性和生理毒性，也是环境污染物二恶英的一种前提来源<sup>[4-8]</sup>。由于 PCP 具有长期环境蓄积作用，引发人们高度重视，被多

国禁止使用<sup>[9]</sup>。2017年10月27日，世界卫生组织国际癌症研究机构将五氯苯酚列入1类致癌物清单。在《生活饮用水卫生标准》（GB 5749-2022）中，规定水中五氯苯酚的限量为0.009 mg/L。我国农业行政管理一直将五氯酚酸钠列入食品动物禁止使用的药物和化合物清单（农业农村部第250号公告）。在《新污染物治理行动方案》（国办发〔2022〕15号）中，五氯苯酚及其盐类和酯类被列为重点管控新污染物清单（2023年版）。

近年来，在国家及省级市场监督管理局的食品安全抽检中，五氯酚酸钠（以五氯苯酚计）在猪肉、猪肝、禽肉、禽蛋、水产品等检出频发。除了用PCP防腐制成的切菜砧板和环境污染所致外，受到污染的饲料也可能是一种来源途径，因为五氯酚酸钠易以水为载体广泛地扩散，对水源和土壤造成污染，经环境积累进入饲料用植物<sup>[10]</sup>。为准确溯源PCP在动物性食品中的来源，须尽快制定出台饲料中PCP的测定方法，便于分析判定动物性食品中检出PCP是养殖中违法使用所致，还是由于饲料或饮用水所致，对PCP的风险评估、溯源和检出判罚都有重大现实意义。

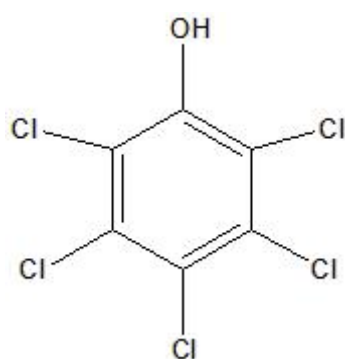


图 1 五氯苯酚分子式

欧盟于2020年发布了《Determination of pentachlorophenol (PCP) in feed materials and compound feed by LC-MS/MS》（EN17362:2020），用于测定饲料中PCP，EN17362:2020选择262.8>262.8、264.8>264.8和266.8>266.8

作为监测离子对，使用液相色谱-串联质谱法，采用内标法定量，该方法定量限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。何正和<sup>[11]</sup>等采用气相色谱-串联质谱法测定 PCP，前处理步骤复杂，定量限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国建立了相关产品中 PCP 的测定方法标准，《出口皮革及皮革制品中五氯酚残留量检测方法 第 1 部分：液相色谱-质谱/质谱法》（SN/T 0193.1-2015）适用于鞣质猪皮、牛皮、羊皮，测定下限 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，《食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》（GB 23200.92—2016）、《食品安全国家标准 动物性食品中五氯酚钠残留量的测定 气相色谱-质谱法》（GB 29708—2013）、《水产品中五氯苯酚及其钠盐残留量的测定 气相色谱法》（SC/T 3030—2006）适用于畜禽和水产品。尚未建立饲料中五氯苯酚的测定方法标准，本标准属于首次制定。

### （三）起草过程

#### 1. 成立起草小组

2023 年 1 月，根据抽检中发现的五氯苯酚问题，联合中国科学院南京地理与湖泊研究所、四川省饲料工作总站成立方法研制和起草小组，推动技术方法的建立。

#### 2. 资料收集

2023 年 2-3 月，查阅了国内外有关标准和参考文献等技术资料，选取具有代表性的参考资料作为方法研制和标准起草中的主要技术参考。

#### 3. 开展方法学研究

2023 年 4-9 月，确定标准制定技术路线、原则，方法研制小组开展了色谱条件的选择和优化、提取条件的优化、方法学考察和实际样品测定。

#### 4. 起草征求意见稿

2023年9月底，根据收集和查阅的相关资料文献以及实验测定结果，形成标准定向征求意见稿，编写标准文本内容和编制说明。

#### 5. 开展定向征求意见

2024年5月-6月，标准编制小组将定向征求意见稿发送国家和省部级饲料质检中心、全国饲料工业标准化技术委员会委员、大中型饲料企业等相关的质检机构、科研院校、企业等单位的专家征求意见，发函单位20个，回函单位20个，提出意见单位20个，收到回函意见21份，相同意见合并后形成意见80条，采纳78条，不采纳2条，详见“征求意见汇总处理表”。起草小组根据专家意见修改完善了征求意见稿，形成标准预审稿。

#### 6. 组织方法验证

2024年6-8月，委托三家有资质的检测机构，对标准中的技术指标等内容进行验证，汇总相关验证数据和确认方法有效性。

#### 7. 组织标准预审

2024年9月12日，全国饲料工业标准化技术委员会饲料检测方法标准化工作组组织专家对我单位起草的该项标准（预审稿）进行了认真审查。专家组由宋荣、任玉琴、王旭、程林丽、张凤枰、杨海锋、吴仕辉、杨曦等专家组成。

预审会专家组经综合考虑我国饲料工业发展现状、本标准在不同机构间的适用性，以及欧盟现行《Determination of pentachlorophenol (PCP) in feed materials and compound feed by LC-MS/MS》（EN17362:2020）标准方法定量限（10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ），建议将本标准定量限由5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  修改为10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

标准编制小组采纳了专家组意见，并根据其他修改意见和建议，对标准文本和编制说明进行了修改完善，形成了标准公开征求意见稿，意见和建议处理情况详见“预审意见处理汇总表”。

## 8. 公开征求意见

2024年\*\*月\*\*日-\*\*月\*\*日饲料标委会通过中国畜牧兽医信息网向社会公开征求意见，结果为对该标准\*\*\*意见。

## 9. 组织标准终审

2024年\*月\*日，全国饲料工业标准化技术委员会饲料检测方法标准化工作组组织专家对我单位起草的该项标准（送审稿）进行了认真审查。专家组由\*\*\*、\*位专家组成。标准编制小组根据终审会专家组的意见和建议，进一步补充有关数据、修改完善标准文本和编制说明，形成标准\*\*稿，送全国饲料工业标准化技术委员会秘书处审核。

# 二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

## 2.1 编制规则

本标准的结构、技术要素及表述方法是按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》以及 GB/T 20001.4—2015《标准编制规则第4部分：试验方法标准》的规定和要求编写。标准制定结合国内外检测技术发展趋势和我国饲料行业发展现状，力求做到技术上先进、经济上合理，确保方法的安全性、准确性、通用性。

## 2.2 编制依据

（1）遵循国家颁布的相关法律法规；（2）国家或行业有关标准，如《饲料中兽药及其他化学物检测试验规程》GB/T 23182—2008、《实验室

质量控制规范 食品理化检测》GB/T 27404—2008、《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》GB/T 27417-2017；（3）标准编制小组调研和实测的样品检测数据。

## 2.3 主要内容及其确定依据

经资料查询，目前五氯苯酚的检测方法有分光光度法、免疫分析法、气相色谱-串联质谱法和液相色谱-串联质谱法等<sup>[12]</sup>。五氯苯酚禁止在饲料中使用，所以饲料中其含量的测定应考虑定性和定量，为此选择目前国际上普遍采用的液相色谱-串联质谱法对其进行检测。方法确定过程分为样品提取、样品净化和样品检测等，并对具体实验条件进行优化。

### 2.3.1 仪器试验条件研究

#### 2.3.1.1 液相色谱条件的优化

##### 2.3.1.1.1 色谱柱的选择

五氯苯酚有一个苯环、一个羟基和五个氯原子，是一种疏水性化合物，C<sub>18</sub>色谱柱作为最常见的反相色谱柱，适用于疏水性化合物的分离。《食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》（GB23200.92—2016）中，使用Agilent XDB-C<sub>18</sub>（1.8μm，50 x 2.1 mm），国际标准《Determination of pentachlorophenol (PCP) in feed materials and compound feed by LC-MS/MS》（EN17362:2020）中，使用Waters Symmetry C<sub>18</sub>分离柱（5μm，3.0 mm×150 mm），《食品安全国家标准 禽蛋中五氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》（征求意见稿）标准中，使用了Waters BEH C<sub>18</sub>（50 mm×2.1 mm，1.7 μm），万译文等<sup>[13]</sup>利用高效液相色谱-串联质谱法测定渔业水体及渔业饲料中的五氯苯酚，使用了资生堂Capcell Pak



C<sub>18</sub> (MGII, 50 mm×2.1 mm, 1.9 μm)。上述资料表明, 不同厂家C<sub>18</sub>色谱柱均可实现对五氯苯酚的有效分离。本方法选择了Waters BEH C<sub>18</sub>柱 (1.7 μm, 2.1×100 mm) 作为分析柱。

定向征求意见阶段, 专家建议考察一些其它色谱柱的适用性, 明确是否能够有效分离五氯苯酚, 并补充相关色谱图。我们选取了Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>柱 (3.5 μm, 2.1 mm×150 mm)、Waters ACQUITY UPLC CSH™ C<sub>18</sub>柱 (1.7 μm, 2.1 mm×100 mm) 和Waters ACQUITY UPLC HSS T3柱 (1.8 μm, 2.1 mm×100 mm), 结果见图2。BEH C<sub>18</sub>柱 (1.7 μm, 2.1×100 mm) 和其它三种色谱柱对五氯苯酚均有良好的分离效果。

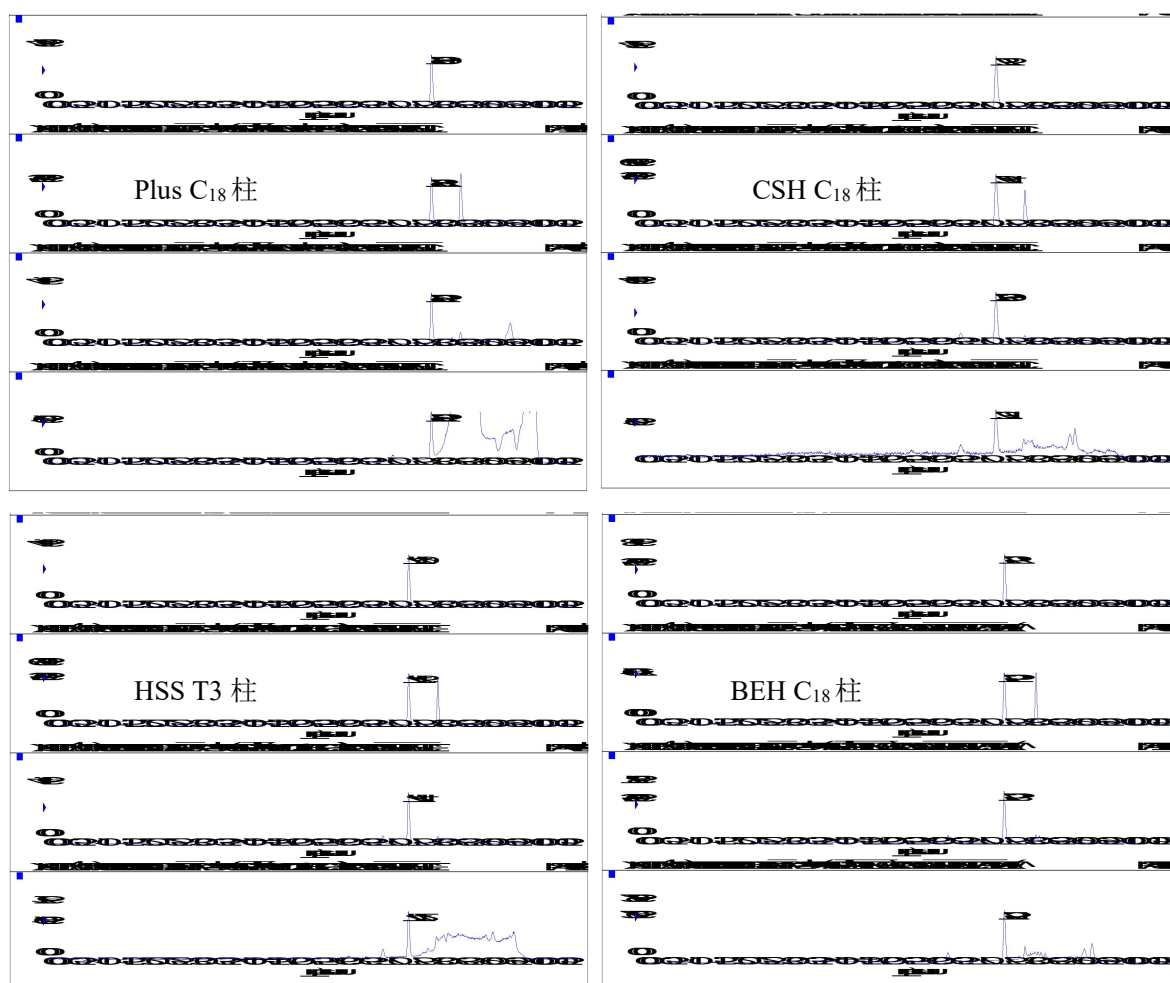


图 2 五氯苯酚在四种色谱柱分离的特征离子质量色谱图

### 2.3.1.1.2 流动相体系及洗脱程序的选择

采用BEH C<sub>18</sub> (1.7 μm, 2.1×100 mm) 色谱柱, 考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-5 mmol/mL 乙酸铵溶液和乙腈-5 mmol/mL 乙酸铵溶液四个流动相体系下五氯苯酚分离效果。结果表明, 在水相体系中添加5 mmol/mL 乙酸铵能有效改善五氯苯酚的峰形, 与甲醇构成流动相体系时, 五氯苯酚的响应值和杂峰干扰优于乙腈体系, 结果见图3。因此, 本方法采用甲醇-5 mmol/mL 乙酸铵溶液为流动相体系。

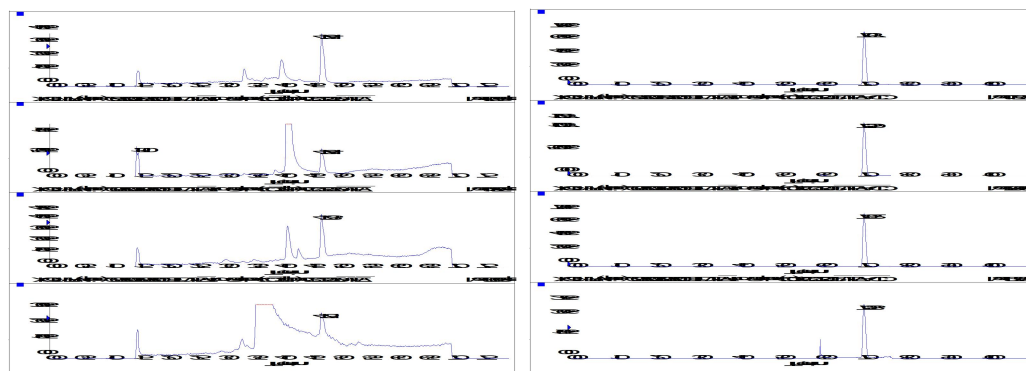


图 3 乙腈体系 (左) 与甲醇体系 (右) 对目标物的影响 (25 ng/mL)

液-质分析中流动相多采用梯度洗脱, 《食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》(GB23200.92—2016)、《食品安全国家标准 禽蛋中五氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(征求意见稿), 以及饲料中有关五氯苯酚测定的文献资料<sup>[13]</sup>, 采用梯度洗脱达到良好分离。本方法液相色谱条件如下: a) 色谱柱: C<sub>18</sub>柱, 100 mm×2.1 mm, 1.7 μm; b) 柱温: 40°C; c) 进样量: 5 μL; d) 流速: 0.3 mL/min; e) 流动相: A为5 mmol/mL 乙酸铵溶液, B为甲醇, 洗脱条件见表1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	A (%)	B (%)
0.0	0.3	85	15
0.5	0.3	85	15
2.0	0.3	50	50

7.0	0.3	5	95
8.5	0.3	5	95
8.6	0.3	85	15
11.0	0.3	85	15

梯度洗脱程序下五氯苯酚标准溶液（5 ng/mL）特征离子质量色谱图结果见图4。

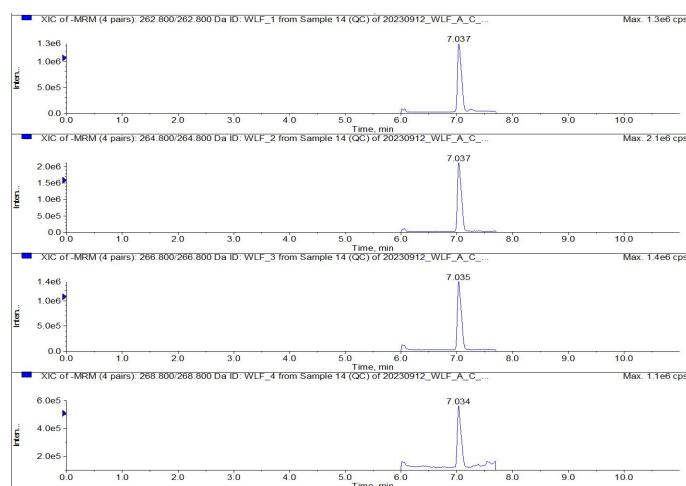


图 4 五氯苯酚标准溶液（5 ng/mL）特征离子质量色谱图

### 2.3.1.2 质谱条件的确定

五氯苯酚的苯环上连接着 1 个羟基[-OH]和 5 个氯原子[-Cl]，[-OH]容易脱落 1 个 H 原子，因此，采用 ESI 负离子模式进行分析，主要形成准分子离子峰  $[M-H]^-$ 。实验中将 20  $\mu\text{g/L}$  五氯苯酚标准溶液注入到质谱仪中，在扫描模式下获得一级和二级质谱图，结果见图 5。由于五氯苯酚结构稳定，用 ESI 进行电离碰撞碎裂时，无法在质谱中获得除氯离子以外的碎片，因此，单个母离子只能获得一个特征离子碎片，但氯离子存在  $^{35}\text{Cl}$  和  $^{37}\text{Cl}$  两种同位素，含有 5 个氯离子的五氯苯酚能够形成具有不同质量数的同位素离子峰簇。根据欧盟 EU 2021/808 指令，LC-MS/MS 法识别点数量需达到 5 个，因此，本方法选用  $m/z$  分别为 262.7、264.7、266.7 和 268.7 同位素离子峰作为监测离子，获得 4 个识别点，加上 LC 分离中的保留时间，

获得满足要求的 5 个识别点。监测离子对信息见表 2。

本研究中五氯苯酚的离子对信息与表 3 中现行的其它方法标准或文献资料报道相一致，不同方法中离子对存在少许差异是由于仪器间的性能不同引起，属于正常偏差范围。

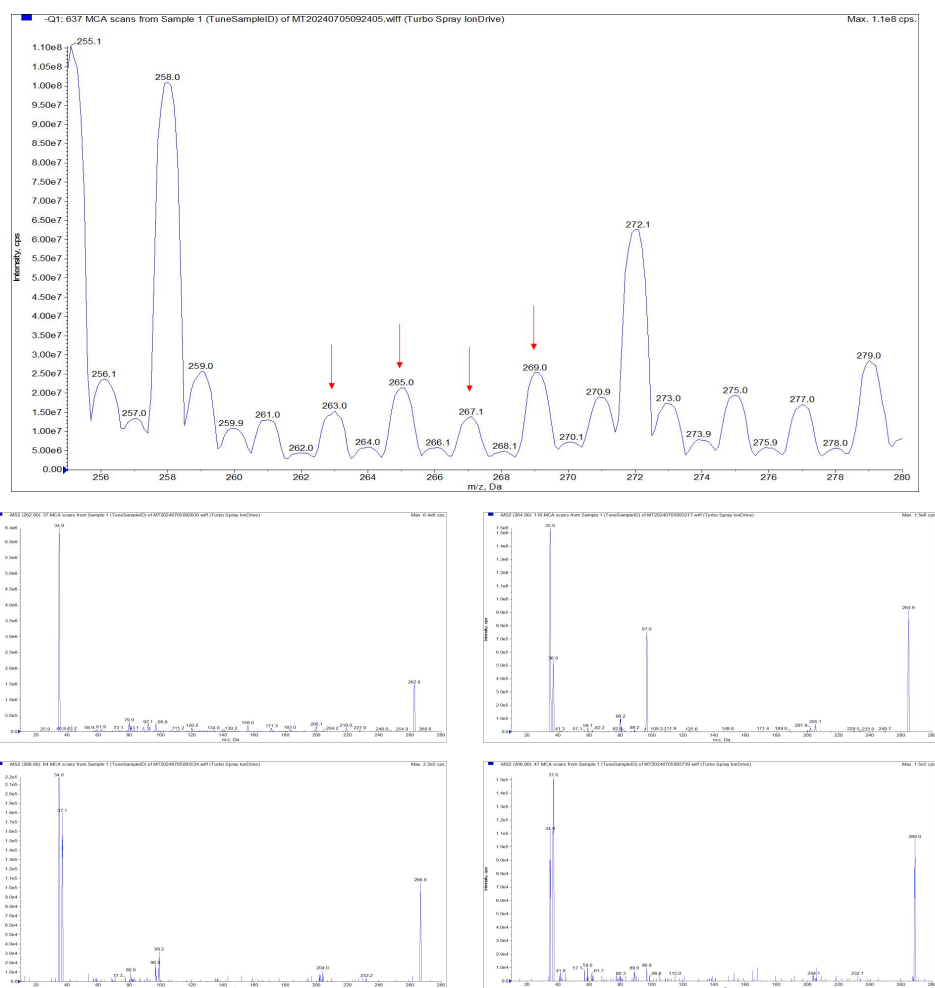


图 5 五氯苯酚的一级和二级质谱图

本研究优化后的质谱参数如下，离子源：电喷雾离子源，负离子模式；扫描方式：多反应监测模式（MRM）；离子源电压：-4.5 kV；离子源温度：650°C；气帘气：60 psi（413 kPa）；碰撞气：10 psi；雾化气：60 psi。

表 2 本方法中五氯苯酚的质谱参数

化合物	监测离子对 ( $m/z$ )	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)

五氯苯酚	262.8/262.8	-55	-10
	264.8/264.8 <sup>a</sup>	-55	-10
	266.8/266.8	-90	-10
	268.8/268.8	-85	-10
<sup>a</sup> 为定量离子。在 API 6500 plus 仪器参数。			

表 3 其它方法标准或文献资料中五氯苯酚离子对信息

化合物	《动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》 GB23200.92 - 2016	《禽蛋中五氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》（征求意见稿）	文献 <sup>[13]</sup> 《高效液相色谱串联质谱法测定渔业水体及渔业饲料中的五氯苯酚》
	监测离子对 ( <i>m/z</i> )	监测离子对 ( <i>m/z</i> )	监测离子对 ( <i>m/z</i> )
五氯苯酚	262.7>262.7	262.8>262.8	262.7>262.7
	264.7>264.7	264.8>264.8	264.7>264.7
	266.7>266.7	266.8>266.8	266.7>266.7
	268.7>268.7	268.8>268.8	268.7>268.7

### 2.3.2 标准溶液稳定性研究

在《出口皮革及皮革制品中五氯酚残留量检测方法 第1部分：液相色谱-质谱/质谱法》（SN/T 0193.1-2015）中，甲醇作为稀释溶液，五氯苯酚 1 mg/mL 标准储备溶液在 -18°C 以下冷冻保存，有效期为 12 个月；1 μg/mL 标准中间液，在 4°C 避光冷藏保存，有效期为 6 个月。《食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》（GB 23200.92—2016）中，甲醇作为稀释溶液，200 μg/mL 标准储备溶液在 -18°C 以下避光保存，有效期为 12 个月。参考现行标准中的相关标准溶液保存条件，本方法中五氯苯酚标准储备液（1 mg/mL）建议 -18°C 以下保存，有效期 12 个月；标准中间溶液（10 μg/mL）是用甲醇配制的、不含水，也建议保存在 -18°C 下，有效期 6 个月。

### 2.3.3 样品前处理条件研究

#### 2.3.3.1 提取条件的选择

称取羊精料补充料 2 g，添加五氯苯酚标准溶液使其浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。参考 GB 23200.92—2016 选取了碱性乙腈和水为组分的提取溶液，比较了 5%三乙胺、1%三乙胺、5%氨水、乙腈-水溶液 (7+3)、乙腈-水溶液 (5+5)、乙腈-水溶液 (3+7) 构成的不同提取液组合对五氯苯酚回收率的影响，确定乙腈-水 (7:3) 和 5%三乙胺的提取液组合，结果见图 6~图 7。

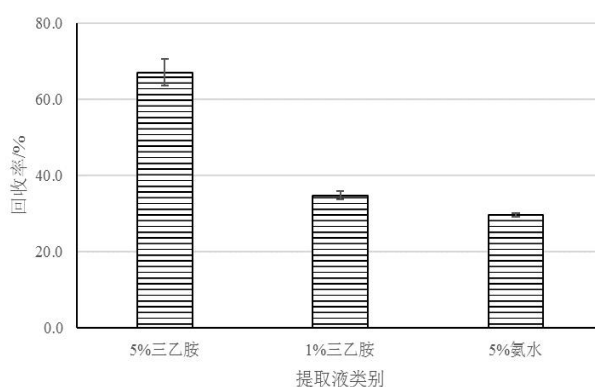


图 6 三乙胺、氨水与乙腈-水 (7:3) 组合对羊精料补充料中五氯苯酚的回收率影响

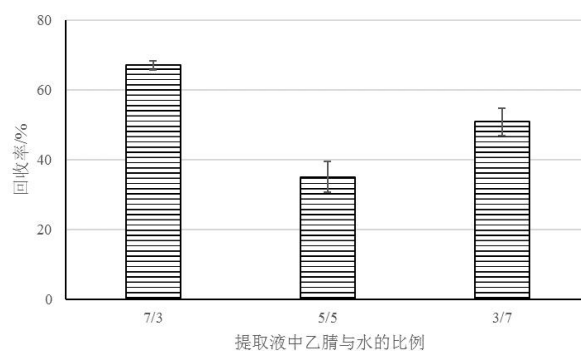


图 7 5%三乙胺与乙腈-水不同比例组合对羊精料补充料中五氯苯酚的回收率影响

五氯苯酚  $\text{pK}_a$  为 4.93，易溶于有机溶剂，微溶于水，但在碱性状态下，羟基上  $\text{H}^+$  能够被  $\text{Na}^+$  取替，使其易溶于乙腈和水。饲料富含蛋白质、脂质等物质，有机溶液不能将其溶解成分散性好的溶液，且部分五氯苯酚与饲料中羧基(-COOH)或氨基(- $\text{NH}_2$ )的物质形成结合态，因此通过碱性有机溶液可以将结合态、分子态等存在的化合物转化为易溶于水的离子态<sup>[14]</sup>。乙酸铵能够稳定溶液酸碱度，通过向确定后的提取液中加入一定浓度的乙酸铵，

比较 pH 9.0、10.0、11.0、12.0 对五氯苯酚的提取效果，结果见图 8。发现含 5%三乙胺的乙腈-0.1 mmol/mL 乙酸铵缓冲盐溶液（7+3）在 pH12.0 时，对五氯苯酚的回收影响较大，因此，提取液 pH 选择 12.0。

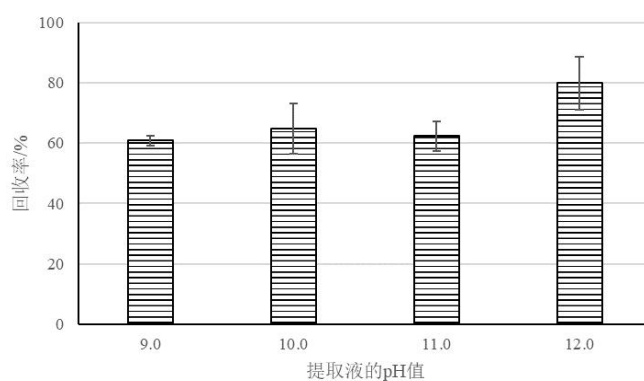


图 8 提取液在不同 pH 值下对羊精料补充料中五氯苯酚的回收率影响

同时，考察了分别超声 5、10、15 和 20 min 对羊精料补充料中五氯苯酚的提取效果，结果见图 9。结果表明，提取 10 min 后五氯苯酚回收率无明显增加。因此，为提高检测效率，将样品提取时间定为 10 min。

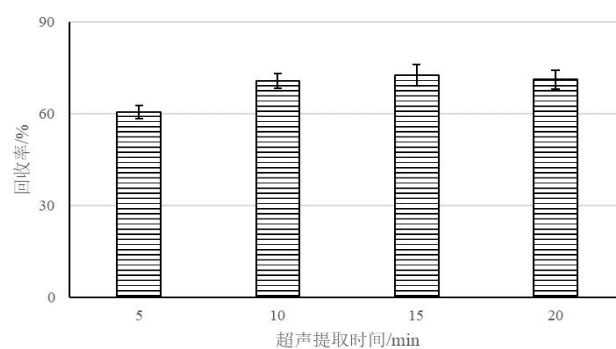


图 9 提取时间对羊精料补充料中五氯苯酚的回收率影响

考察了提取液体积和提取次数对羊精料补充料中五氯苯酚的作用效果，添加浓度同上。分别选择 10 mL、20 mL、30 mL 和 40 mL，当体积为 10 mL 时，离心后上清液较少，且回收率较低 50.1%，体积为 20 mL、30 mL、40 mL 时，可满足回收率要求，为避免提取液的浪费，选取提取液体积为

20 mL。后续实验又考察了提取次数，发现两次提取回收率 75.8%，明显高于一次的 63.1%。因此，本方法选择两次提取、提取液体积共 20 mL。

进一步考察该提取液对猪配合饲料、猪浓缩饲料和猪复合预混合饲料中五氯苯酚的提取效果，添加浓度同上，结果见表 4。五氯苯酚在上述饲料中的回收率和相对标准偏差（RSD）均满足方法标准要求。

表 4 提取条件对不同饲料中五氯苯酚的回收率影响

饲料 目标物	配合饲料		浓缩饲料		复合预混合饲料	
	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %
五氯苯酚	97.1	1.7	95.3	8.3	72.0	4.9

### 2.3.3.2 净化条件的选择

#### 2.3.3.2.1 净化方式的确定

配合饲料、精料补充料、浓缩饲料等饲料中含脂质成分，实验对比了正己烷液液萃取净化、QuEChERS 净化和固相萃取柱净化方式。结果发现五氯苯酚与正己烷相溶，易在去脂过程中损失；QuEChERS 方法可有效净化饲料样品中的杂质，但对五氯苯酚具有吸附作用，影响其回收率。鉴于上述结果，本方法拟采用固相萃取柱净化方式。

#### 2.3.3.2.2 固相萃取柱（SPE）的确定

不同 SPE 柱对五氯苯酚富集效果研究。五氯苯酚作为酸性化合物，常用 HLB、MAX 固相萃取柱，实验比较了 Oasis HLB 柱（200 mg，6 cc）、Oasis MAX 柱（150 mg，6 cc）和中性氧化铝柱（500 mg，6 cc）对净化的影响。称取羊精料补充料 2 g，提取得到空白基质溶液，添加五氯苯酚的标准溶液使其浓度为 10 μg/kg，过 MAX、中性氧化铝和 HLB 柱，初步净化



测定。结果表明，中性氧化铝净化后样品浑浊，杂质干扰较大，HLB 对五氯苯酚基本无保留，MAX 柱对五氯苯酚保留稳定，回收率在 65%以上。因此，选择 MAX 柱（150 mg，6 cc）作为净化 SPE。

### 2.3.3.2.3 MAX 柱洗脱条件的确定

在酸性条件下能洗脱 MAX 柱吸附的五氯苯酚，实验比较 3%甲酸甲醇、5%甲酸甲醇、8%甲酸甲醇和 5%甲酸乙腈的洗脱效率。发现 5%甲酸乙腈溶液洗脱效率最高，且在后续净化中，五氯苯酚在氮吹浓缩后可稳定于 5%甲酸乙腈溶液中，因此，本方法选择 5%甲酸乙腈作为 SPE 柱洗脱溶液。同时考察了洗脱体积对回收率的影响，8 mL 洗脱液即能很好洗脱目标物，当进一步提高洗脱液体积后，目标物的回收率没有明显提升，考虑到后续的洗脱液氮吹浓缩效率及环保要求，本实验选用 8 mL 洗脱液。

进一步选择猪的配合饲料、浓缩饲料和复合预混合饲料，五氯苯酚添加浓度同上，提取后过 MAX 柱净化，用 8 mL 5%甲酸乙腈洗脱测定，结果见表 5。上述饲料中五氯苯酚添加回收结果均满足方法标准要求。

表 5 净化条件对不同饲料中五氯苯酚的回收率影响

饲料	回收率 (%)					平均回收率 %	RSD %
	1	2	3	4	5		
猪配合饲料	85.4	92.0	87.7	93.0	91.1	89.8	3.5
猪浓缩饲料	91.7	87.0	94.0	92.8	89.1	90.9	3.1
猪复合预混合饲料	75.6	75.2	78.7	79.4	76.0	77.0	2.5

### 2.3.3.2.4 不同 MAX 柱对五氯苯酚净化效果研究

根据定向征求意见阶段专家建议，补充了不同 MAX 柱对五氯苯酚净化效果研究结果。取猪配合饲料 2 g，提取得到空白基质溶液，添加五氯苯酚的标准溶液使其浓度为 5 μg/kg，选取 Welchrom PSAX（150 mg，6 cc）、

Anavo MAX (150 mg, 6 cc)、Agilent Bond Elut Plexa PAX (200 mg, 6 cc)、Waters Oasis MAX (150 mg, 6 cc) 混合型阴离子 SPE 柱, 按文本方法进行提取和净化, 考察不同 MAX 柱的净化效果, 结果见表 6, 五氯苯酚在四种 MAX 柱的平均回收率分别为 71.8%、71.6%、73.5%、85.8%, RSD 为 8.5%, 其中 Oasis MAX 柱的平均回收率超 85%。四种净化柱均能满足方法标准对准确度的要求。

表 6 不同 MAX 柱对五氯苯酚回收率的影响

固相萃取柱	回收率 %				不同 SPE 柱间	
	1	2	3	平均值	平均回收率 %	RSD%
Welchrom PSAX	70.2	74.3	70.9	71.8	75.7	8.5
Anavo MAX	70.1	70.7	73.9	71.6		
Plexa PAX	71.8	73.9	75.0	73.5		
Oasis MAX	83.8	88.2	85.6	85.8		

### 2.3.3.3 氮吹浓缩条件的确定

实验比较了水浴温度 (室温、35°C、40°C、45°C、50°C)、氮气流速 (5-10 L/min、10-15 L/min、15-20 L/min、>20 L/min), 以及 5%甲酸乙腈、5%甲酸甲醇作为氮吹浓缩溶液对五氯苯酚损失的影响。称取羊精料补充料 2 g, 提取得到空白基质, 经 MAX 柱净化后, 添加五氯苯酚标准溶液使其浓度为 10 µg/kg, 经不同氮吹浓缩条件后考察目标物的损失情况, 结果见图 10~图 12。随着水浴温度的升高及氮气流速的增加, 浓缩溶液中五氯苯酚的损失显著上升, 35°C 水浴下 5~10 L/min 氮吹流速为适宜条件; 5%甲酸乙腈作为待浓缩溶液时, 五氯苯酚的损失明显低于 5%甲酸甲醇。

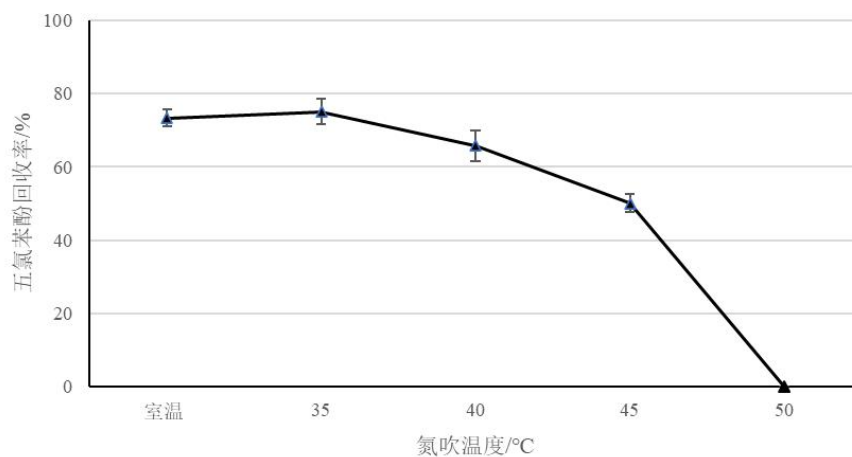


图 10 水浴温度对浓缩溶液中五氯苯酚损失的影响

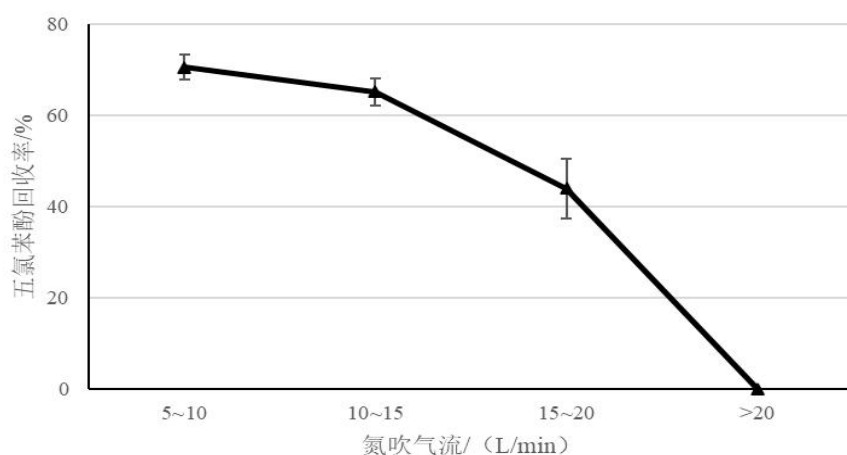


图 11 氮吹流速对浓缩溶液中五氯苯酚损失的影响

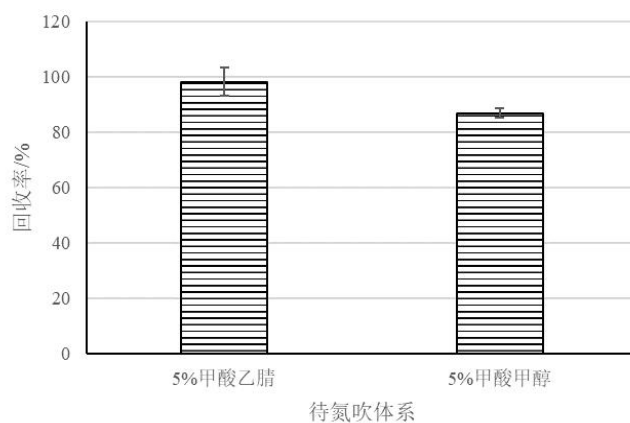


图 12 氮吹浓缩溶液对五氯苯酚损失的影响

同时考察了氮吹后剩余溶液体积对五氯苯酚损失的影响。分别取 8 mL 5%甲酸乙腈溶液（PCP 浓度为 5 ng/mL），于 35 °C 水浴氮气吹至液体剩余分别约 1 mL、0.5 mL、0.2 mL、吹干，用水或 50%乙腈溶液稀释至 2 mL，

随着氮吹溶液的减少至吹干，PCP 的损失急剧上升，当剩余溶液约 1 mL 时 PCP 损失不高于 4%，见图 13。因此，本方法选择氮吹至约 1 mL。

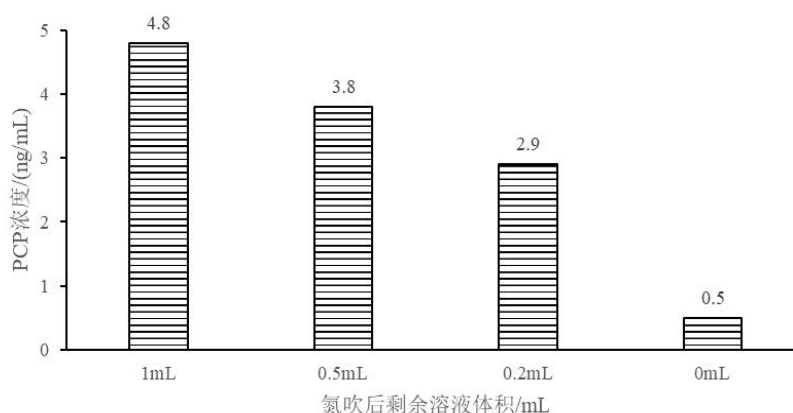


图 13 氮吹时剩余溶液体积对五氯苯酚损失的影响

### 2.3.3.4 微孔滤膜的选择

根据《食品安全国家标准 禽蛋中五氯苯酚残留量测定 液相色谱-串联质谱法》编制说明（征求意见稿），不同微孔滤膜对五氯苯酚产生吸附影响。该稿中用尼龙膜（Nylon）、聚四氟乙烯膜（PTFE）、聚醚砜膜（PES）、再生纤维素膜（RC）及复合纤维素膜（MCM），过滤 10 ng/mL 的五氯苯酚标准溶液后测定，见表 7。聚醚砜膜（PES）对五氯苯酚几乎不吸附，PTFE、RC、MCM 吸附率较低，Nylon 有吸附。因此，本方法选择 PES。

表 7 滤膜类型对五氯苯酚吸附的影响

滤膜类型	回收率%	RSD
Nylon-品牌 1	6.02	0.125
Nylon-品牌 2	5.78	0.309
PES-品牌 1	96.5	0.846
PES-品牌 2	99.2	0.694
PTFE-品牌 1	91.1	0.369
PTFE-品牌 2	91.9	.481
RC	91.9	0.692
MCM	93.2	0.821

注：数据源自《食品安全国家标准 禽蛋中五氯苯酚残留量测定 液相色谱-串联质谱法》编制说明（征求意见稿）

综合以上结果，确定了饲料中五氯苯酚的前处理方法：称取试样 2 g 于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 提取液涡旋 1 min，超声提取 10 min，期间充分摇动 2 次，以 10 000 r/min 离心 5 min，移取上清液至另一离心管，残渣重复提取 1 次，合并上清液。将 MAX 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化。取备用液全部过柱，用 5 mL 5%氨水溶液、5 mL 甲醇淋洗，抽干，用 8 mL 5%甲酸乙腈溶液洗脱，收集洗脱液，于 35 °C 水浴低速氮气流下浓缩至约 1 mL，加水稀释定容至 2 mL，涡旋混匀，用 0.22 μm 聚醚砜膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。

### 2.3.4 方法学考察

#### 2.3.4.1 基质干扰实验

为准确定量饲料中五氯苯酚，需评估基质对其测定的影响。选取猪配合饲料、猪浓缩饲料、羊精料补充料、猪复合预混合饲料、植物提取物型混合型饲料添加剂和微生物型混合型饲料添加剂，以及猪肉粉、鸡肉粉、鱼粉、菜粕、玉米、豆粕、玉米 DDGS，经前处理后得到空白基质溶液，准确移取适量标准系列溶液与空白基质溶液，混匀，配制成基质匹配标准系列工作液（3、5、10、20、50 和 100 ng/mL）。移取适量五氯苯酚标准中间溶液（10 μg/mL）于容量瓶中，用 50%乙腈溶液配制标准系列工作液（3、5、10、20、50 和 100 ng/mL）。以基质匹配标准曲线的斜率（ $A$ ）和溶剂标准曲线的斜率（ $B$ ）的比值评估基质效应（Matrix effect,  $ME$ ）， $ME=A/B$ ，若  $ME$  为 0.8~1.2，则表明基质效应不明显，结果见表 8。五氯苯酚在上述饲料中均存在一定的基质抑制效应，为消除基质效应带来的定量偏差，本研究采用基质匹配标准工作液进行定量。

表 8 饲料中的基质效应对五氯苯酚影响

饲料	基质匹配标准曲线的斜率 (A)	溶剂标准曲线的斜率 (B)	基质效应 (ME)
猪配合饲料	1.02460e6	6.3767e6	0.16
猪浓缩饲料	8.14200e5	6.3767e6	0.13
羊精料补充料	5.63566e5	6.3767e6	0.09
猪复合预混合饲料	1.43160e6	6.3767e6	0.22
猪肉粉	4.66E+06	6.24E+06	0.75
鸡肉粉	4.71E+06	6.24E+06	0.75
鱼粉	3.80E+06	6.24E+06	0.61
菜粕	1.88E+06	6.24E+06	0.30
玉米	2.37E+06	6.24E+06	0.38
豆粕	2.26E+06	6.24E+06	0.36
玉米 DDGS	1.30E+06	6.24E+06	0.21
植物提取物型混合型饲料添加剂 (黄芪、甘草、刺五加等)	2.10 E+06	6.24E+06	0.34
微生物型混合型饲料添加剂 (枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌)	1.20 E+06	6.24E+06	0.19

### 2.3.4.2 基质匹配标准曲线

用文本中方法配制基质匹配标准系列溶液,以待测物峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,求回归方程和相关系数,结果见表 9。五氯苯酚在上述浓度范围内线性良好,相关系数>0.99。

表 9 基质匹配标准曲线

饲料	线性方程	相关系数 r
猪配合饲料	$y=1.02460e6x+1.11430e6$	0.9996
鸡配合饲料	$y=3.83219e5x+2.02531e6$	0.9997
猪浓缩饲料	$y=8.14200e5x-2.83937e5$	0.9991
鸡浓缩饲料	$y=1.28151e6x+2.13235e6$	0.9995
猪复合预混合饲料	$y=1.43160e6x+1.49884e6$	0.9982
鸡复合预混合饲料	$y=8.39463e5x+2.70347e6$	0.9999
羊精料补充料	$y=5.63566e5x+8.31238e5$	0.9999
维生素预混合饲料	$y=4.43370e5x+5.03291e5$	0.9999
鱼配合饲料	$y=7.72441e5x+7.13949e5$	0.9993
猪肉粉	$y=1.60981e6x+1.18629e6$	0.9985
鸡肉粉	$y=1.83215e6x+2.28288e6$	0.9986
鱼粉	$y=1.55149e6x+2.14720e6$	0.9981

菜粕	$y=1.93581e6x+9.14405e5$	0.9979
玉米	$y=1.90661e6x+1.10508e6$	0.9998
豆粕	$y=1.81104e6x+7.49044e5$	0.9991
玉米 DDGS	$y=1.26742e6x+9.67093e5$	0.9975
植物提取物型混合型饲料添加剂（黄芪、甘草、刺五加等）	$y=2.10149e6x+1.65615e6$	0.9972
微生物型混合型饲料添加剂（枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌）	$y=1.20126e6x+1.35929e6$	0.9996

### 2.3.4.3 方法的灵敏度

选取空白饲料样品确定方法的检出限和定量限。检出限（LOD）：添加适量标准溶液于空白样品中，经提取净化处理后供液相色谱-串联质谱仪检测，依据分析物信噪比  $S/N > 3$ ，结合称样质量、提取和净化溶液体积计算，确定方法检出限为  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。定量限（LOQ）：处理同上，依据分析物的特征离子信噪比  $S/N > 10$  且满足准确度要求，确定方法定量限为  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。检出限和定量限信噪比代表性色谱图见图 14~图 15。

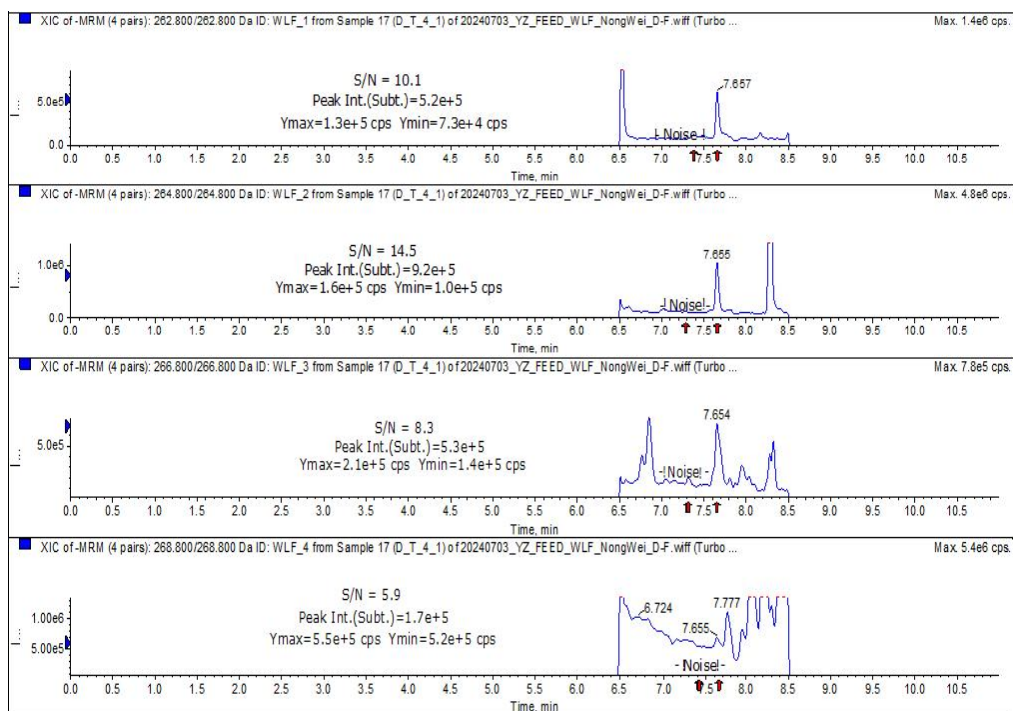


图 14 羊精料补充料检出限（ $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）的特征离子信噪比色谱图

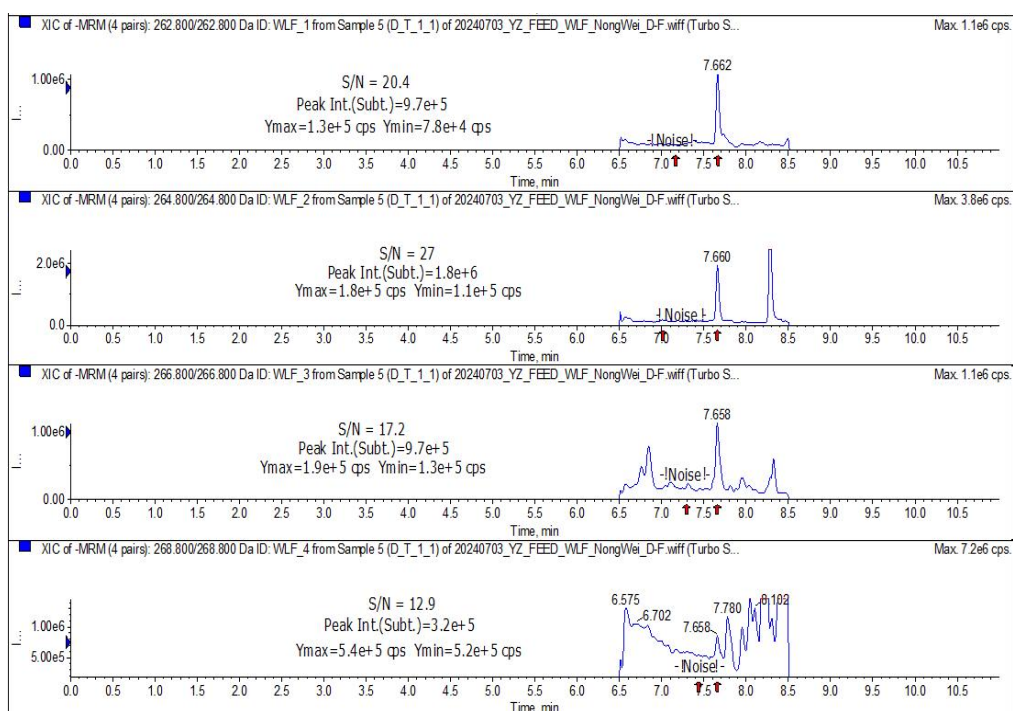


图 15 羊精料补充料定量限（5 µg/kg）的特征离子信噪比色谱图

### 2.3.4.4 方法的准确度和精密度

选用配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料、猪肉粉、鸡肉粉、鱼粉、菜粕、玉米、豆粕、玉米 DDGS、植物提取物型混合型饲料添加剂、微生物型混合型饲料添加剂分别进行加标回收试验，添加浓度包括 LOQ、2 LOQ 和 10 LOQ，每个浓度制备 6 个平行样，重复 3 批次。同时考察了浓缩饲料、精料补充料、预混合饲料在五氯苯酚高浓度（2500 或 5000 µg/kg）添加时 MAX 柱承载力，见表 10~表 11。

表 10 不同饲料中五氯苯酚添加浓度

饲料	添加浓度 µg/kg	固相萃取柱承载量
猪配合饲料	5、10、50	/
鸡配合饲料		
鱼配合饲料		
猪肉粉		
鸡肉粉		
鱼粉		
菜粕		



玉米		
豆粕		
玉米 DDGS		
植物提取物混合型饲料添加剂 (黄芪、甘草、刺五加等)		
微生物型混合型饲料添加剂 (枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌)		
猪浓缩饲料	5、10、50	2500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未出现柱过载
鸡浓缩饲料		
羊精料补充料		
猪复合预混合饲料	5、10、50	5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未出现柱过载
鸡复合预混合饲料		
维生素预混合饲料		

五氯苯酚标准溶液特征离子色谱图见图 16。猪配合饲料、猪浓缩饲料、鸡配合饲料、鸡浓缩饲料、鱼配合饲料、羊精料补充料、猪复合预混料、鸡复合预混料、维生素预混料、猪肉粉、鸡肉粉、鱼粉、菜粕、玉米、豆粕、玉米 DDGS、植物提取物混合型饲料添加剂、微生物型混合型饲料添加剂的空白图谱、5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的定量离子色谱图见图 17~图 52。

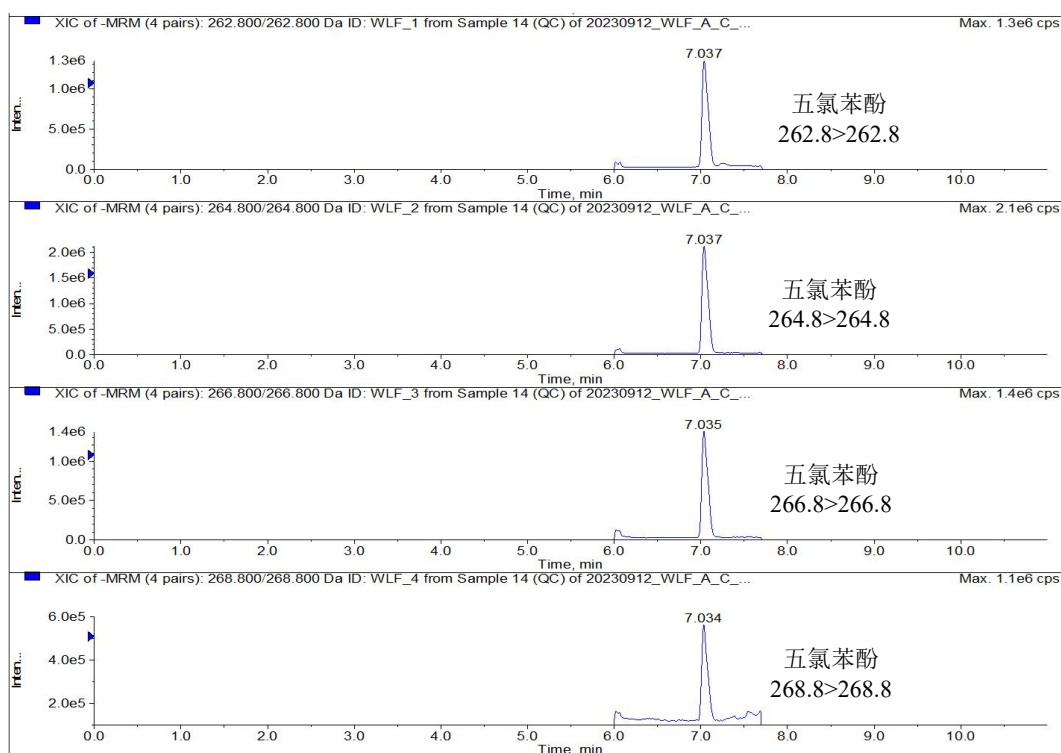


图 16 五氯苯酚标准溶液 (5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ) 特征离子色谱图

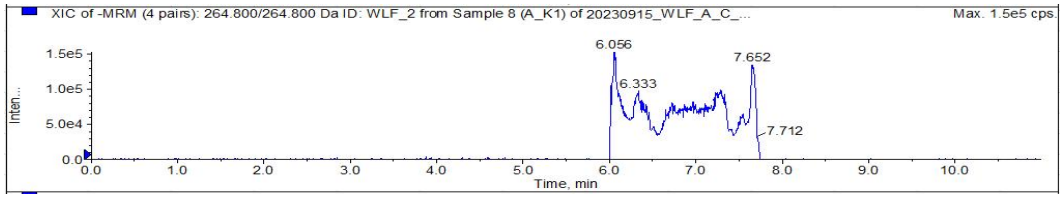


图 17 空白猪配合料五氯苯酚的定量离子色谱图

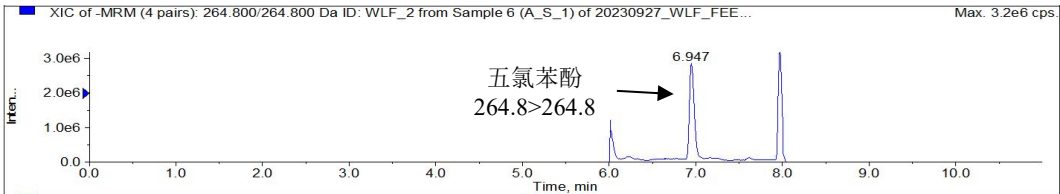


图 18 添加浓度为 5 µg/kg 猪配合料五氯苯酚的定量离子色谱图

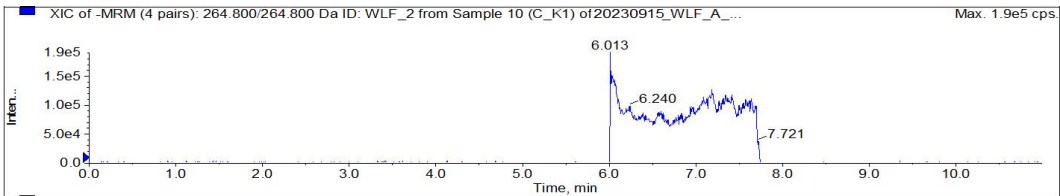


图 19 空白猪浓缩料五氯苯酚的定量离子色谱图

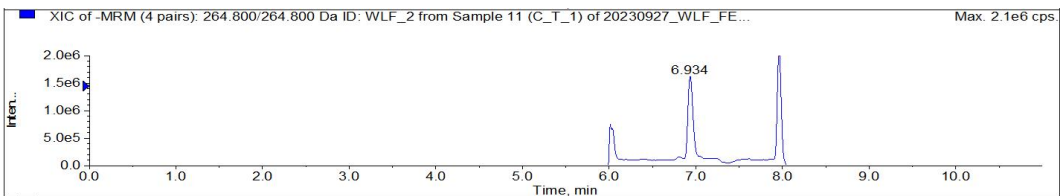


图 20 添加浓度为 5 µg/kg 猪浓缩料五氯苯酚的定量离子色谱图

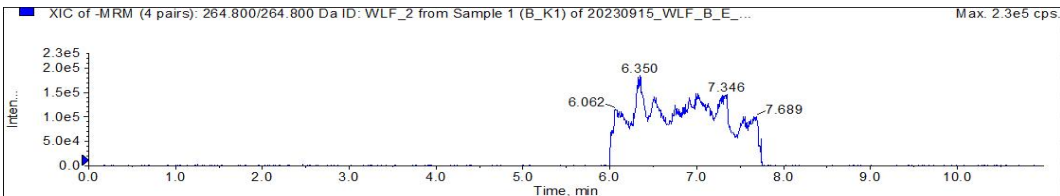


图 21 空白鸡配合料五氯苯酚的定量离子色谱图

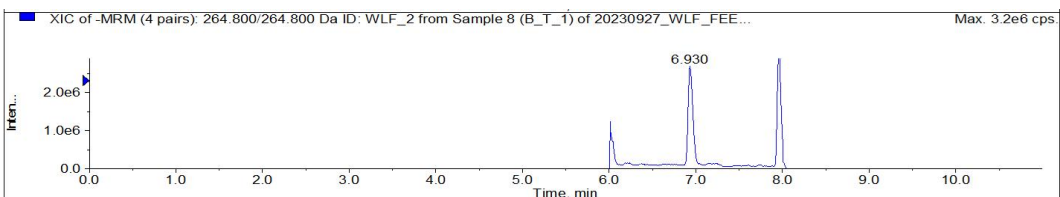


图 22 添加浓度为 5 µg/kg 鸡配合料五氯苯酚的定量离子色谱图

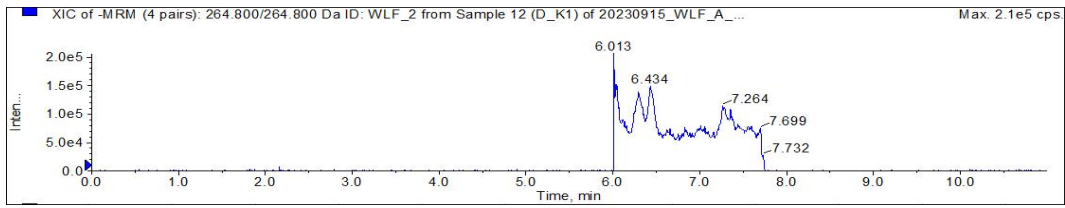


图 23 空白鸡浓缩料五氯苯酚的定量离子色谱图

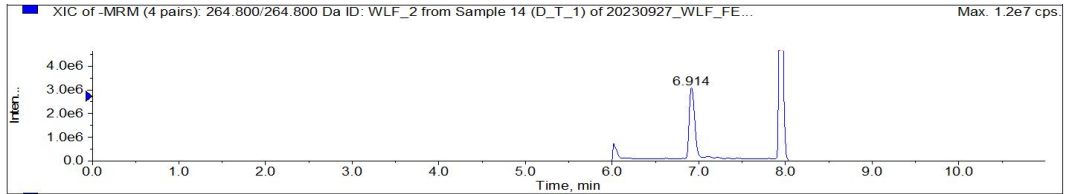


图 24 添加浓度为 5 µg/kg 鸡浓缩料五氯苯酚的定量离子色谱图

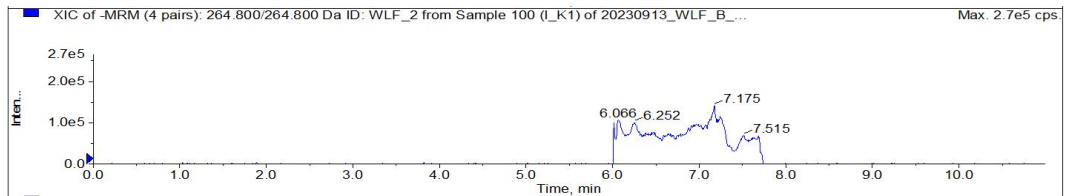


图 25 空白鱼配合料五氯苯酚的定量离子色谱图



图 26 添加浓度为 5 µg/kg 鱼配合料五氯苯酚的定量离子色谱图

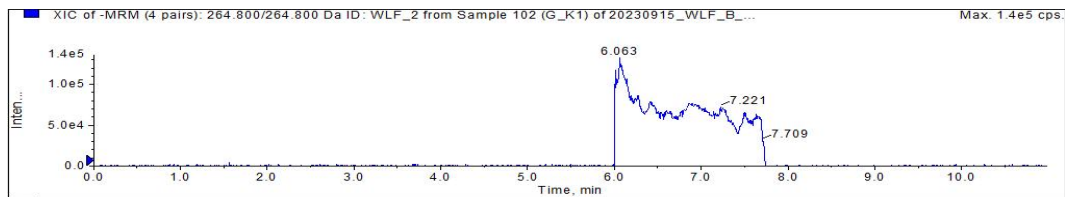


图 27 空白羊精料补充料五氯苯酚的定量离子色谱图

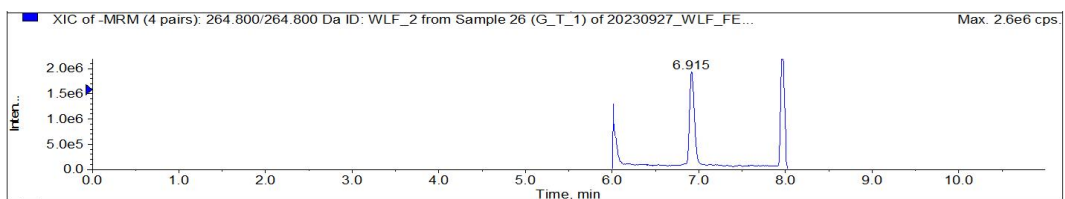


图 28 添加浓度为 5 µg/kg 羊精料补充料五氯苯酚的定量离子色谱图

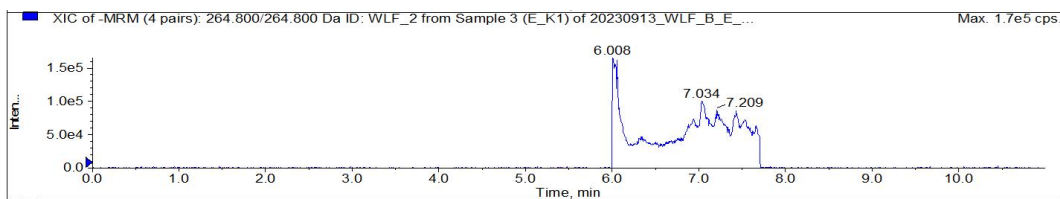


图 29 空白猪复合预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

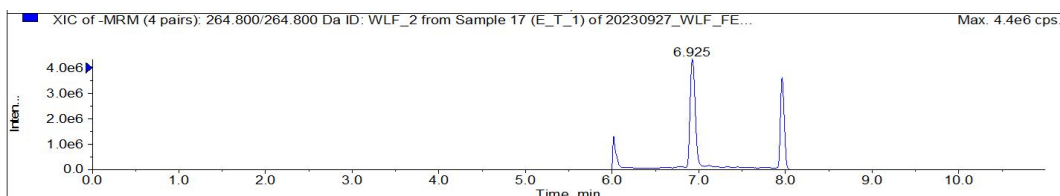


图 30 添加浓度为 5 µg/kg 猪复合预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

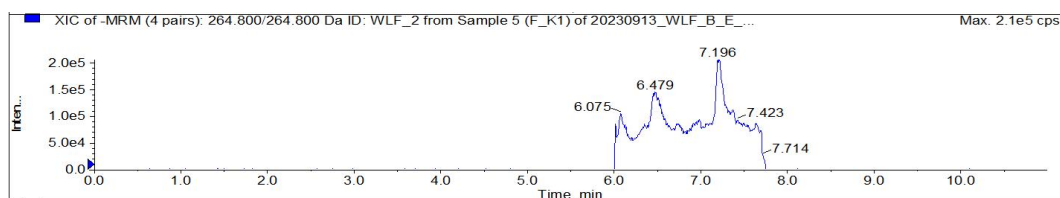


图 31 空白鸡复合预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

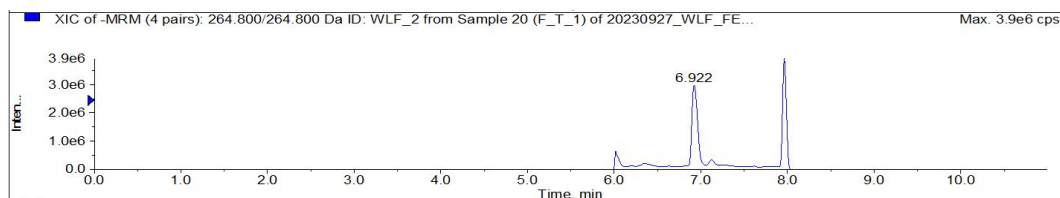


图 32 添加浓度为 5 µg/kg 鸡复合预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

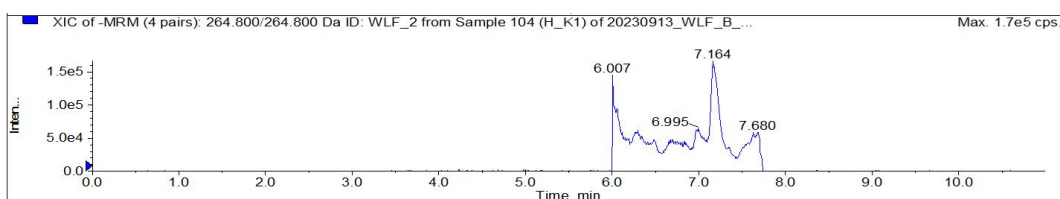


图 33 空白维生素预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

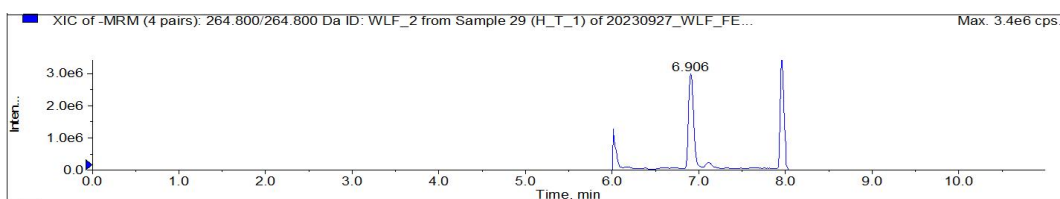


图 34 添加浓度为 5 µg/kg 维生素预混料五氯苯酚的定量离子色谱图

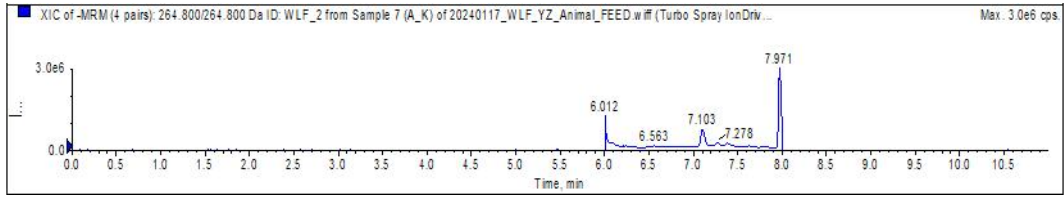


图 35 空白猪肉粉五氯苯酚的定量离子色谱图

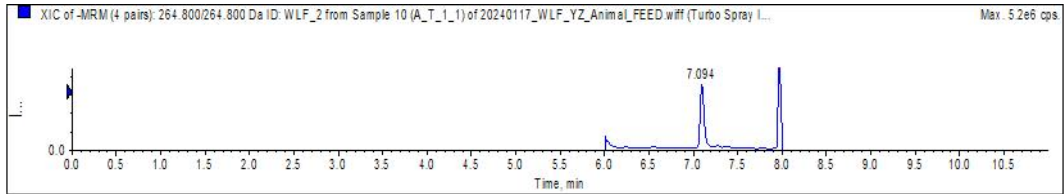


图 36 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  猪肉粉五氯苯酚的定量离子色谱图

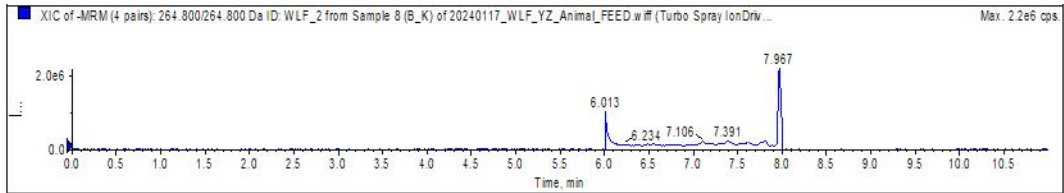


图 37 空白鸡肉粉五氯苯酚的定量离子色谱图

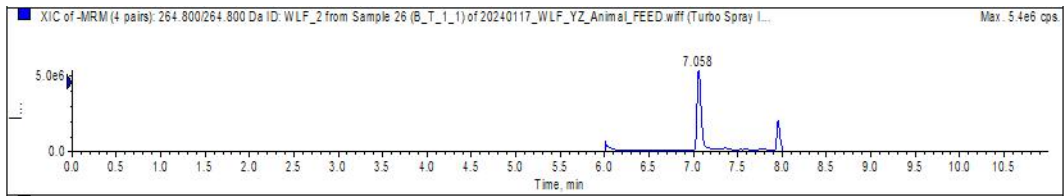


图 38 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  鸡肉粉五氯苯酚的定量离子色谱图

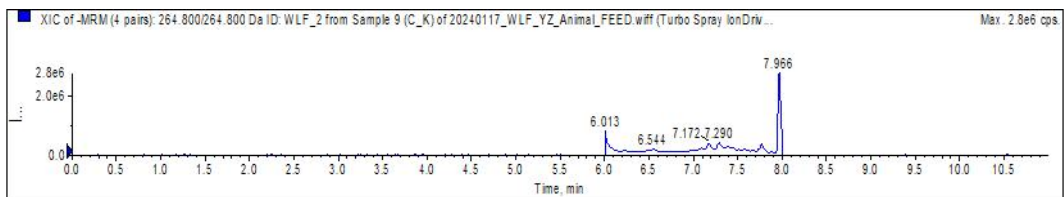


图 39 空白鱼粉五氯苯酚的定量离子色谱图

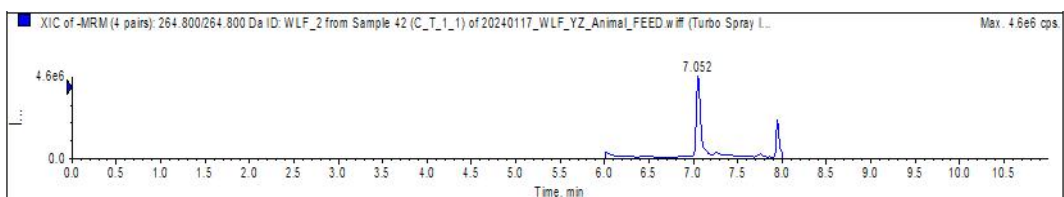


图 40 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  鱼粉五氯苯酚的定量离子色谱图

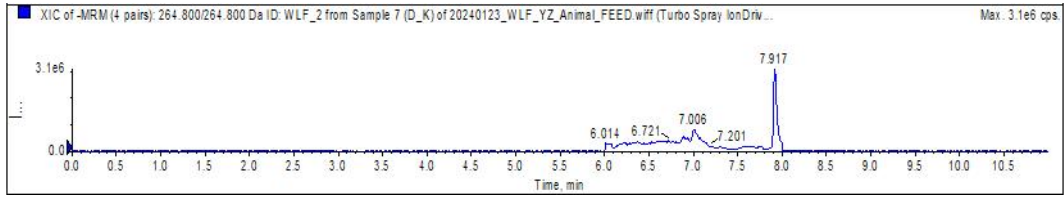


图 41 空白菜粕五氯苯酚的定量离子色谱图

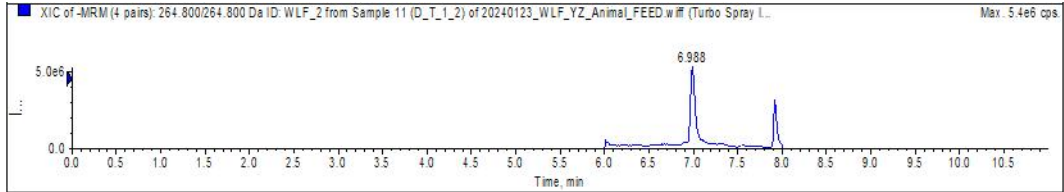


图 42 添加浓度为 5 µg/kg 菜粕五氯苯酚的定量离子色谱图

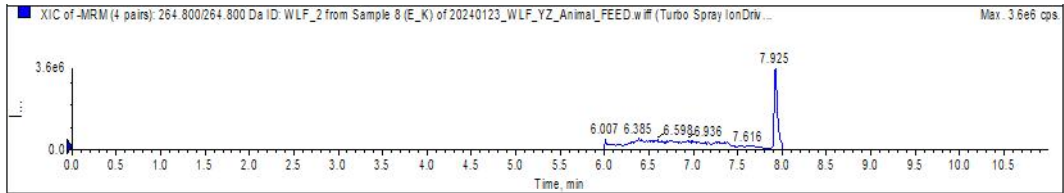


图 43 空白玉米五氯苯酚的定量离子色谱图

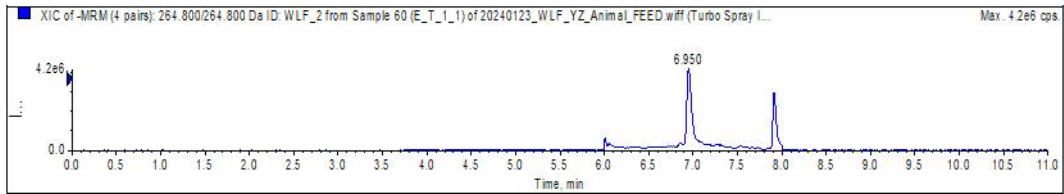


图 44 添加浓度为 5 µg/kg 玉米五氯苯酚的定量离子色谱图

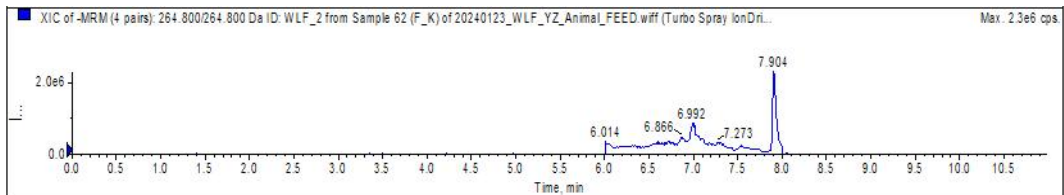


图 45 空白豆粕五氯苯酚的定量离子色谱图

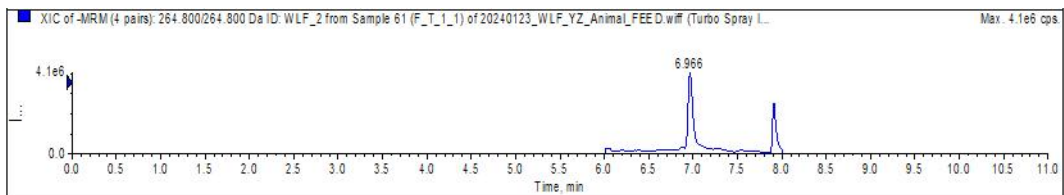


图 46 添加浓度为 5 µg/kg 豆粕五氯苯酚的定量离子色谱图



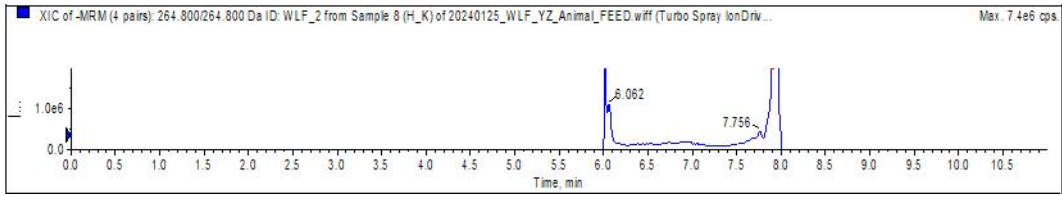


图 47 空白玉米 DDGS 五氯苯酚的定量离子色谱图

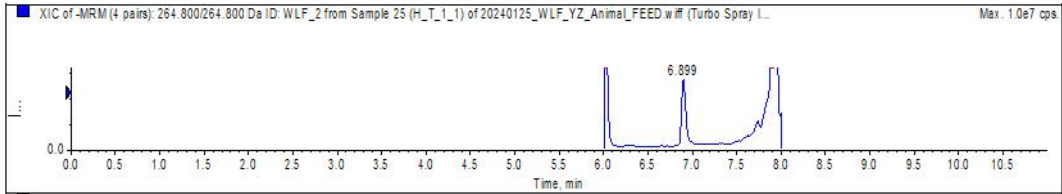


图 48 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  玉米 DDGS 五氯苯酚的定量离子色谱图

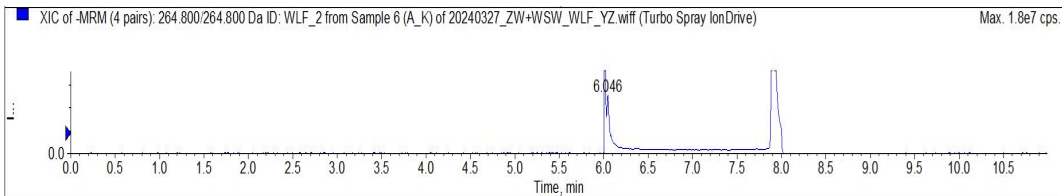


图 49 空白植物提取物型混合型饲料添加剂五氯苯酚的定量离子色谱图

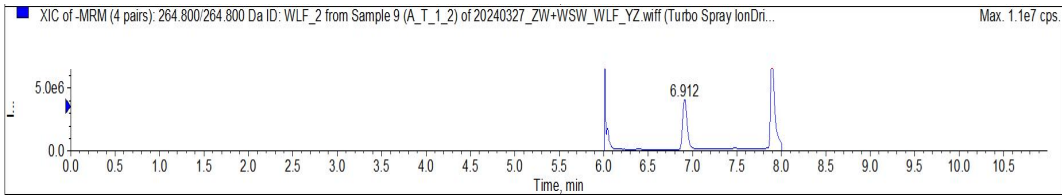


图 50 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  植物提取物型混合型饲料五氯苯酚的定量离子色谱图

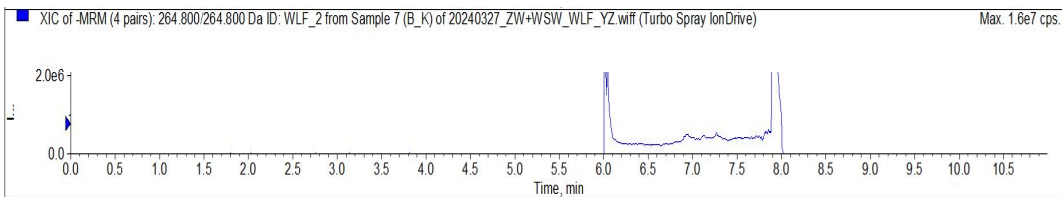


图 51 空白微生物型混合型饲料添加剂五氯苯酚的定量离子色谱图

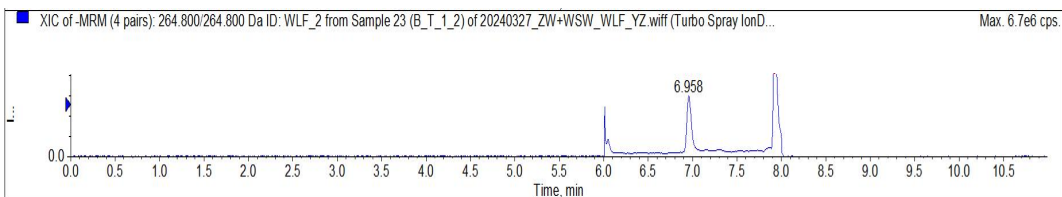


图 52 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  微生物型混合型饲料五氯苯酚的定量离子色谱图

表 11 不同饲料中五氯苯酚的回收率和精密度试验

饲料名称	添加浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平行样回收率 (%)						批内添加平 均回收率 (%)	批内 RSD (n=6,%)	批间添加平 均回收率 (%)	批间 RSD (n=18,%)
猪配合饲料	5	85.8	74.6	83.0	76.6	76.0	73.6	78.3	6.3	80.6	7.3
		87.7	87.1	87.1	85.9	76.5	87.8	85.3	5.1		
		72.3	73.8	74.4	86.4	83.6	78.9	78.2	7.4		
	10	90.0	100.1	88.0	88.3	78.1	76.8	86.9	9.9	80.0	10.0
		70.0	79.6	71.4	74.7	72.5	81.3	74.9	6.1		
		83.8	72.0	70.9	79.7	83.3	79.1	78.1	7.1		
	50	92.8	101.9	96.3	87.1	90.9	78.4	91.3	8.8	90.9	6.9
		95.2	82.3	94.0	95.1	82.4	92.1	90.2	6.9		
		94.6	93.4	97.7	91.6	84.4	85.3	91.2	5.8		
鸡配合饲料	5	90.1	84.6	78.9	79.0	97.4	93.8	87.3	8.9	82.2	9.0
		84.1	87.2	86.7	71.8	72.4	79.2	80.2	8.6		
		83.8	78.5	70.3	75.0	82.2	84.1	79.0	7.0		
	10	98.2	89.8	109.4	103.8	89.6	98.6	98.2	7.9	93.2	7.9
		81.7	88.7	94.0	81.8	99.0	94.6	90.0	7.9		
		89.0	89.2	85.9	98.5	97.8	88.4	91.4	5.8		
	50	89.1	91.9	94.2	85.7	99.2	83.9	90.7	6.2	89.5	5.9
		83.3	86.9	85.8	94.4	97.3	85.8	88.9	6.2		
		81.6	82.7	90.2	91.6	93.5	93.7	88.9	6.1		
鱼配合饲料	5	86.6	88.4	92.4	96.6	75.0	86.6	87.6	8.3	89.3	6.4
		81.7	90.3	83.8	86.4	95.9	88.3	87.7	5.7		



	10	89.8	95.1	96.6	91.8	95.7	86.6	92.6	4.2	86.8	7.6
		82.7	88.3	83.7	73.8	88.1	77.3	82.3	7.1		
		89.0	92.7	82.9	80.5	97.5	83.2	87.6	7.5		
	50	96.3	87.2	96.7	86.5	93.0	83.7	90.6	6.1	79.6	7.4
		86.7	86.7	78.8	82.4	79.8	72.5	81.2	6.6		
		70.8	85.3	74.6	81.9	76.2	86.1	79.1	7.9		
猪浓缩饲料	5	70.9	74.6	78.4	84.4	74.1	88.1	78.4	8.5	91.9	5.3
		95.4	96.6	87.0	97.0	92.2	90.4	93.1	4.2		
		86.2	89.0	89.2	87.2	96.7	95.5	90.6	4.9		
	10	96.0	98.8	82.4	90.2	86.8	96.9	91.9	7.0	86.0	10.5
		85.9	91.7	99.3	109.3	96.4	85.4	94.7	9.6		
		81.8	84.7	80.6	72.3	83.7	88.5	81.9	6.7		
	50	77.9	85.7	85.8	78.9	73.1	87.0	81.4	6.9	87.4	5.3
		87.8	84.7	81.1	84.2	88.8	83.0	84.9	3.4		
		89.4	88.6	97.4	81.6	88.1	83.0	88.0	6.4		
	2500	92.5	95.3	88.6	83.2	90.7	85.3	89.2	5.1	92.6	6.5
		92.7	84.7	90.8	100.0	90.4	107.0	94.3	8.4		
		86.4	94.3	81.5	96.0	98.3	98.6	92.5	7.6		
鸡浓缩饲料	5	93.8	92.6	88.8	88.1	92.3	90.0	90.9	2.5	92.6	12.1
		115.0	87.8	111.0	108.4	109.8	97.6	104.9	9.7		
		81.1	80.5	89.2	98.8	83.7	86.6	86.6	7.8		
	10	85.9	86.8	86.0	83.3	89.5	86.2	86.3	2.3	94.7	9.6
		109.8	102.5	101.7	109.4	104.7	97.8	104.3	4.5		
		86.6	97.9	82.9	81.4	95.4	89.2	88.9	7.5		

	50	97.5	91.4	83.5	95.4	96.3	81.1	90.9	7.7	94.7	5.3
		98.9	97.8	96.7	99.0	97.2	96.9	97.7	1.0		
		85.4	97.2	92.6	88.6	94.8	91.6	91.7	4.6		
	2500	98.6	82.0	92.1	98.1	98.3	98.3	94.6	7.0	94.6	5.5
		97.6	96.1	90.4	103.3	101.2	104.3	98.8	5.3		
		89.8	85.3	89.7	90.7	95.5	97.9	91.5	4.9		
羊精料补充料	5	89.2	96.6	93.9	91.1	97.2	93.4	93.6	3.3	92.8	7.9
		105.4	94.8	95.8	107.2	103.6	98.4	100.9	5.2		
		87.4	85.6	85.3	94.3	94.5	89.1	89.4	4.6		
	10	80.2	90.9	93.6	87.1	89.6	87.5	88.2	5.2	89.9	4.6
		91.1	87.4	87.1	86.0	96.2	90.1	89.7	4.2		
		92.5	93.4	89.8	84.9	87.3	86.3	89.0	3.9		
	50	88.7	85.0	95.7	98.4	85.3	92.6	90.9	6.1	86.5	7.1
		91.3	80.8	78.5	77.5	78.6	81.1	81.3	6.3		
		88.4	89.0	86.3	81.9	93.5	88.2	87.9	4.3		
	2500	95.2	89.4	90.9	96.5	90.2	80.1	90.4	6.4	92.6	3.8
		97.6	91.1	92.2	93.8	92.7	88.7	92.7	3.2		
		91.1	98.9	93.2	93.6	88.8	85.5	91.9	5.0		
猪复合预混合饲料	5	89.9	89.7	91.7	95.6	98.4	94.6	93.3	3.7	79.4	7.1
		72.8	72.4	76.2	86.6	88.6	86.6	80.5	9.3		
		77.0	76.9	82.9	74.5	75.7	83.6	78.4	4.9		
	10	88.5	77.4	75.4	79.2	83.7	71.9	79.4	7.5	81.2	8.8
		88.1	72.6	86.4	89.6	84.1	98.1	86.5	9.6		
		82.2	74.3	77.4	82.2	83.6	82.3	80.3	4.5		

		72.8	70.9	72.7	80.3	77.1	86.2	76.7	7.6		
	50	70.1	66.5	66.5	76.5	72.9	71.8	70.7	5.5	77.3	8.5
		84.5	85.1	81.1	84.6	81.3	71.2	81.3	6.5		
		75.7	84.8	79.1	76.9	75.6	87.3	79.9	6.2		
	5000	96.7	87.5	86.1	103.1	96.5	103.0	95.5	7.7	93.8	5.4
		96.8	92.4	89.4	91.8	90.7	89.7	91.8	2.9		
		97.4	93.0	97.3	93.5	86.3	97.1	94.1	4.6		
鸡复合预混合饲料	5	91.6	90.6	92.4	88.6	98.4	90.6	92.0	3.7	90.7	5.9
		87.7	94.8	81.6	81.8	97.4	84.2	87.9	7.7		
		93.4	96.3	82.4	94.9	91.7	94.6	92.2	5.4		
	10	99.5	96.4	97.6	94.3	91.5	97.2	96.1	2.9	92.8	4.7
		98.0	94.5	89.3	92.9	92.0	85.3	92.0	4.8		
		90.3	86.3	93.4	89.3	97.0	86.1	90.4	4.7		
	50	82.8	89.8	92.6	85.0	90.2	85.3	87.6	4.3	89.6	5.2
		86.8	96.4	91.2	91.3	90.4	82.2	89.7	5.3		
		93.1	87.4	98.0	83.1	93.8	94.0	91.6	5.9		
	5000	93.4	92.4	104.8	103.8	92.6	106.7	98.9	6.9	95.5	5.9
		93.8	93.2	93.6	86.7	93.1	101.1	93.6	4.9		
		100.4	98.9	94.6	88.9	91.2	90.8	94.1	5.0		
维生素预混合饲料	5	100.6	104.6	108.2	99.8	95.2	94.4	100.5	5.3	93.1	8.0
		81.4	93.7	93.8	90.4	88.1	80.9	88.1	6.5		
		86.2	92.2	92.3	85.3	89.8	98.1	90.7	5.2		
	10	113.9	113.0	115.3	106.5	108.1	113.0	111.6	3.1	97.4	11.9
		97.0	84.5	86.3	85.0	84.0	95.3	88.7	6.6		

		92.0	92.6	95.7	92.9	80.4	97.6	91.9	6.5		
	50	98.4	108.3	98.1	98.8	101.5	98.3	100.6	4.0	91.6	8.9
		87.0	92.4	81.4	94.1	80.4	97.1	88.7	7.8		
		81.6	91.3	87.0	82.4	86.9	84.2	85.6	4.2		
	5000	98.9	98.9	100.5	105.4	104.3	107.2	102.5	3.5	95.6	7.1
		88.0	95.0	96.3	97.8	80.5	97.8	92.6	7.5		
		94.2	91.6	92.6	94.4	86.9	89.7	91.6	3.1		
猪肉粉	5	76.1	75.2	78.4	75.8	70.5	73.1	74.8	3.7	75.7	3.8
		78.4	79.9	74.2	77.5	79.0	76.0	77.5	2.7		
		70.7	78.0	71.4	78.4	77.0	74.0	74.9	4.5		
	10	74.3	76.5	72.2	74.2	70.0	70.6	73.0	3.4	74.5	3.9
		79.3	77.8	78.9	75.6	75.9	77.8	77.5	2.0		
		71.2	71.7	75.7	71.2	75.1	73.0	73.0	2.8		
	50	71.8	71.5	72.6	75.0	72.3	76.3	73.2	2.7	75.0	3.6
		78.5	78.2	76.7	73.2	79.0	74.7	76.7	3.0		
		71.1	79.7	76.6	75.4	74.6	73.4	75.1	3.9		
鸡肉粉	5	85.9	77.3	83.3	81.9	80.3	70.6	79.9	6.7	81.0	7.0
		85.3	82.2	77.5	72.4	75.2	87.1	79.9	7.3		
		71.8	84.7	85.3	87.8	88.1	81.8	83.3	7.3		
	10	82.5	72.3	73.8	87.7	83.9	73.3	78.9	8.3	80.4	7.4
		88.5	80.0	88.2	77.2	86.5	72.5	82.1	8.1		
		80.9	77.1	88.7	81.7	78.8	73.0	80.0	6.6		
	50	86.2	89.0	82.7	86.5	76.5	80.3	83.5	5.5	80.8	6.2
		77.1	79.7	84.1	78.9	79.4	70.6	78.3	5.6		

		83.6	87.7	72.6	81.9	80.5	76.7	80.5	6.6		
鱼粉	5	89.4	88.7	88.0	90.5	92.9	94.0	90.6	2.6	87.3	5.6
		85.8	82.6	82.9	84.3	92.2	86.3	85.7	4.1		
		83.6	80.8	91.5	96.0	80.2	81.1	85.5	7.7		
	10	89.9	92.6	91.9	87.2	95.3	82.8	90.0	4.9	89.7	5.1
		93.3	88.5	91.6	90.7	85.3	80.5	88.3	5.4		
		93.3	84.2	84.9	95.3	93.1	93.9	90.8	5.4		
	50	91.5	91.8	88.4	94.8	92.2	95.3	92.3	2.7	90.6	5.5
		90.7	92.8	84.9	96.9	80.5	90.4	89.4	6.5		
		93.0	88.6	92.6	87.5	98.7	80.7	90.2	6.8		
菜粕	5	85.7	84.0	95.3	84.3	89.2	85.7	87.4	4.9	87.6	5.4
		80.8	85.0	87.9	85.3	81.5	83.1	83.9	3.2		
		97.3	95.0	88.6	89.9	87.9	91.2	91.6	4.1		
	10	87.9	92.8	80.6	85.1	89.8	95.0	88.5	5.9	88.9	6.2
		87.8	84.3	98.5	87.5	81.1	82.0	86.9	7.3		
		86.8	85.4	94.8	89.7	96.8	95.2	91.4	5.2		
	50	90.8	94.7	85.2	84.4	89.6	80.4	87.5	5.9	88.1	5.4
		92.5	85.6	81.4	84.6	88.7	82.1	85.8	4.9		
		96.6	87.2	85.8	90.4	94.0	92.3	91.0	4.5		
玉米	5	88.2	82.1	92.6	84.2	95.7	93.6	89.4	6.1	87.5	5.4
		82.2	93.5	88.2	82.3	88.0	83.5	86.3	5.2		
		83.5	86.4	82.2	94.7	87.5	87.7	87.0	5.0		
	10	80.2	87.9	94.5	98.2	98.2	85.2	90.7	8.2	90.2	6.7
		94.0	87.3	95.8	82.1	86.2	98.1	90.6	7.0		

		91.0	85.6	89.3	81.2	93.8	95.8	89.4	6.0			
	50	87.7	89.2	87.6	82.0	95.7	86.3	88.1	5.1	86.7	4.4	
		88.8	85.7	84.3	82.7	91.4	80.9	85.6	4.6			
		88.6	81.9	86.7	87.8	90.3	83.4	86.4	3.7			
豆粕	5	88.3	77.3	81.3	85.8	86.0	75.0	82.3	6.5	80.9	7.1	
			83.7	80.4	75.1	84.2	71.3	87.1	80.3			7.5
			86.0	82.0	87.4	81.6	73.1	71.6	80.3			8.2
	10		79.3	84.9	72.0	70.8	70.1	81.3	76.4	8.1	80.9	7.0
			77.1	83.9	78.8	87.7	79.9	79.5	81.2	4.8		
			85.5	80.6	88.9	83.4	84.9	88.1	85.2	3.6		
	50		83.6	88.1	70.4	82.8	70.8	88.1	80.6	10.0	78.5	8.3
			70.7	83.8	82.6	77.8	71.4	75.0	76.9	7.2		
			71.1	82.9	87.3	70.9	78.8	77.8	78.1	8.3		
玉米 DDGS	5	77.1	76.0	79.7	78.4	78.5	74.2	77.3	2.6	75.1	3.8	
			74.9	70.1	77.3	70.5	76.1	72.9	73.6			4.1
			75.6	74.7	73.8	71.4	72.5	77.9	74.3			3.1
	10		77.7	74.9	75.1	78.6	79.6	70.0	76.0	4.6	74.9	3.3
			72.9	75.1	74.2	74.6	77.7	71.8	74.4	2.7		
			74.5	77.1	73.4	72.1	75.0	74.6	74.4	2.2		
	50		75.1	79.8	80.0	72.2	75.6	79.9	77.1	4.2	75.8	3.9
			73.9	74.6	72.8	72.6	72.3	78.6	74.1	3.2		
			78.5	71.4	76.4	79.1	74.4	77.9	76.3	3.8		
植物提取 物型混合	5	81.4	88.0	78.0	77.8	76.8	71.8	79.0	6.8	80.4	7.2	
			88.7	88.1	73.9	71.9	86.7	79.2	81.4			9.2

型饲料添加剂（黄芪、甘草、刺五加等）		86.5	84.6	79.9	79.8	81.8	71.9	80.7	6.3			
	10	78.9	78.2	79.0	79.1	78.1	77.3	78.4	0.9	79.3	4.9	
		84.3	78.6	77.4	84.8	78.3	77.4	80.1	4.3			
		77.3	75.9	85.4	80.0	71.0	87.0	79.4	7.6			
	50	85.4	85.3	82.2	83.7	82.9	83.1	83.7	1.6	86.1	3.0	
		85.4	86.3	89.5	90.2	83.7	89.3	87.4	3.0			
		88.4	89.5	86.4	89.3	85.0	85.1	87.3	2.4			
	微生物型混合型饲料添加剂（枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌）	5	80.6	77.8	80.2	80.2	84.2	85.4	81.4	3.5	79.1	4.9
			73.9	75.4	79.0	85.2	80.6	82.9	79.5	5.5		
80.4			78.2	78.9	73.6	73.9	74.0	76.5	3.9			
10		85.8	88.3	87.9	89.6	85.7	89.2	87.8	1.9	87.2	2.7	
		84.0	86.3	81.8	90.6	84.7	90.4	86.3	4.1			
		85.5	86.4	86.9	89.3	87.6	89.4	87.5	1.8			
50		90.9	87.5	92.0	87.2	87.3	83.1	88.0	3.6	87.7	2.6	
		90.6	85.9	87.8	90.0	85.8	89.0	88.2	2.3			
		89.7	87.0	85.7	87.5	86.1	85.0	86.9	1.9			

结果可知，猪配合饲料、猪浓缩饲料、鸡配合饲料、鸡浓缩饲料、鱼配合饲料、羊精料补充料、猪复合预混料、鸡复合预混料、维生素预混料、猪肉粉、鸡肉粉、鱼粉、菜粕、玉米、豆粕、玉米 DDGS、植物提取物型混合型饲料添加剂、微生物型混合型饲料添加剂中五氯苯酚的添加平均回收率为 70.7%~111.6%，批内和批间的 RSD 均小于 15%，表明本方法准确度和精密度良好，适用于上述饲料类型中五氯苯酚的测定。

液相色谱串联质谱仪为高灵敏度高精密度仪器，饲料样品种类繁多，所含杂质无法准确确定，且实验前处理过程影响因素多，因此会给同一样品的检测结果造成不同程度的偏差。依据本实验检测结果的相对偏差值，参照国内相关液-质联用方法标准，最终将本标准重复性允许偏差确定为不大于 20%。

#### 2.4 实际样品（非添加样）的测定

为进一步验证方法的适用性和科学性，应用所建立的测定方法对饲料样品进行检测，包括配合饲料、精料补充料、预混合饲料、动物源和植物源饲料原料，以及植物提取物型混合型饲料添加剂和微生物型混合型饲料添加剂实际样品种类汇总表见表 12。所检样品中五氯苯酚均低于检测限。

表 12 实际样品测定种类汇总表

饲料	数量（个）	检出值（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）
鸡配合饲料	5	ND
鱼配合饲料	4	ND
猪配合饲料	4	ND
猪预混合饲料	3	ND
精料补充料	3	ND



猪肉粉	3	ND
豆粕	3	ND
植物提取物型混合型饲料添加剂	6	ND
微生物型混合型饲料添加剂	8	ND

### 三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

根据全国饲料工业标准化技术委员会规定，方法标准要求 3 家验证单位。标准编制小组委托具备 CMA 和 CATL 资质的实验室，包括江苏省兽药饲料质量检验所[农业农村部饲料质量监督检验测试中心（南京）]、广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所[农业农村部农产品及加工品质量监督检验测试中心（广州）]、江西省农业科学院农产品质量安全与标准研究所[农业农村部肉及肉制品质量监督检验测试中心]，完成本标准的验证工作。

验证结果表明，五氯苯酚在不同验证单位间监测离子对相一致，在各自浓度范围内线性良好，相关系数 $>0.99$ ；加标回收率范围、相对标准偏差与标准规定相符合；方法检出限、定量限与标准规定一致；方法灵敏度高、重复性好，适用于饲料中五氯苯酚的测定，相关数据详见验证报告。

制定、发布、实施本标准，有利于农业主管部门对饲料中五氯苯酚进行质量安全监管，保证饲料、畜禽产品和水产品的质量安全，促进我国饲料工业的高质量发展。

### 四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

欧洲标准《EN 17362: 2020 Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis - Determination of pentachlorophenol (PCP) in feedmaterials and compound feed by LC-MS/MS》，选择 262.8>262.8、264.8>264.8 和 266.8>266.8 离子对，采用高效液相色谱-串联质谱法分析五氯苯酚残留量，内标法定量，定量限为 10 µg/kg。目前，国内尚未制定饲料中五氯苯酚测定国家或行业标准，本标准属于首次制定，与 EN 17362:2020 技术内容不一样，灵敏度保持了一致。

## **五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因**

本文件未采用国际、国外标准。

## **六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系**

本文件的制定符合饲料行业相关法律、行政法规规定。与现行基础标准相衔接，遵循政策性和协调同一性的原则。本文件与现行法律法规和相关标准无重复交叉。

## **七、重大分歧意见的处理经过和依据**

本文件在制定过程中不存在重大分歧意见。

## **八、涉及专利的有关说明**

经查，未识别到与本文件技术内容有关的专利。

## **九、实施标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议**

(1) 本标准在实施前，使用者应得到有效的电子和纸质文本，保证新标准贯彻实施的基础。

(2) 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，建议全国饲料工业标准化技术委员会组织标准起草单位通过标准培训、会议宣贯、影音文件等方式，积极开展本标准的宣贯工作。

(3) 建议本标准正式发布后，设定6个月的过渡期，过渡6个月后实施。

## 十、其他应当说明的事项

本文件没有其他需要说明的事项。

附件：PCP 在其它12种微生物型和植物提取物型混合型饲料添加剂中试验结果

《饲料中五氯苯酚的测定 液相色谱-串联质谱法》制标组

联系人：魏瑞成，电话：13851890864

2024年9月18日

## 参考文献

- [1]陈彦宏,黄松,陈穗,等.五氯酚及其钠盐的样品前处理和分析检测技术研究进展[J].食品安全质量检测学报,2019,10(14):4465-4473.
- [2]李诗言,王鼎南,周凡,等.水产品中五氯酚及其钠盐的高效液相色谱串联质谱检测方法的优化[J].中国渔业质量与标准,2019,9(5):23-29.
- [3]严敏鸣,张静余,杨卫军,严凤.超高效液相色谱-串联四极杆质谱结合分散固相萃取技术测定禽蛋中五氯苯酚残留量[J].食品安全质量检测学报,2020,11(24):9130-9139.
- [4]DENG R, ZHU Y, HOU J, et al. Antagonistic toxicity of carbon nanotubes and pentachlorophenol to *Escherichia coli*: Physiological and transcriptional responses [J]. *Carbon*, 2019, 145: 658-667.
- [5]许文青,樊柏林,陈明,等.五氯苯酚和五氯苯酚钠毒性作用研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2011,25(6):596-600.
- [6]丁先锋,方丰平,石文超,等.木材中五氯苯酚的检测方法研究进展[J].化学分析计量,2020,29(1):128-131.
- [7]PISKORSKA-PLISZCZYNSKA J, STRUCINSKI P, MIKOLAJCZYK S, et al. Pentachlorophenol from an old henhouse as a dioxin source in eggs and related human exposure [J]. *Environ Pollut*, 2016, 208: 404-412.
- [8]张秀芹,王玉晶,李胤楠,邱险辉,刘涛.动物源产品中五氯酚来源探讨及危害分析[J].食品安全质量检测学报,2021,12(19):7840-7845.
- [9]齐尚忠.分光光度法测定水质中五氯酚的含量[J].山西化工,2007(04):40-41.
- [10]Yang F, Shen R, Long YM, et al. Magnetic microsphere confined ionic liquid as a novel sorbent for the determination of chlorophenols in environmental water samples by liquid chromatography [J]. *J Environ Monit*, 2011, 13(2): 440-445.
- [11]何正和,魏云计,朱臻怡等.气相色谱-串联质谱法测定饲料中五氯酚及其钠盐的研究[J].饲料研究,2021,44(14):120-122.
- [12]刘泊麟,倪玲,钟建等.五氯酚及其钠盐的样品前处理方法和残留检测技术研究进展[J].农药学报,2021,23(05):823-836.
- [13]万译文,黄向荣,伍远安,李小玲,肖维,杨霄.高效液相色谱串联质谱法测定渔业水体及渔业饲料中的五氯苯酚[J].中国饲料,2019,5:78-81.
- [14]Kobusińska ME, Lewandowski KK, Panasiuk A, Łęczyński L, Urbaniak M, Ossowski T, Niemirycz E. Precursors of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in Arctic and Antarctic marine sediments: Environmental concern in the face of climate change. *Chemosphere*. 2020 Dec;260:127605. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127605. Epub 2020 Jul 10. PMID: 32688319.

## 附件：PCP 在其它 12 种微生物型和植物提取物型混合型饲料添加剂中试验结果

根据定向征求意见时专家建议，补充了 7 种微生物型和 5 种植物提取物型混合型饲料的加标回收试验，补充试验所用饲料信息见附表 1，每种饲料的 PCP 添加浓度包括了定量限、2 倍和 10 倍定量限浓度，每个添加浓度制备 6 个平行样品，重复 3 个批次。

试验结果见附表 2，补充的 12 种微生物型和植物提取物型混合型饲料添加剂，五氯苯酚在 5、10、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$  的添加浓度平均回收率为 61.6%~113.8%，批内和批间变异系数均小于 10%。空白图谱和添加浓度 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的定量离子色谱图见附图 1~附图 24。

附表 1 其它 7 种微生物型和 5 种植物提取物型混合型饲料添加剂信息

类别	饲料名称	原料组成
微生物型混合型饲料添加剂	枯草芽孢杆菌（VI型）	枯草芽孢杆菌（载体：蒙脱石）
	枯草芽孢杆菌（II型）	枯草芽孢杆菌（载体：玉米淀粉）
	枯草芽孢杆菌（I型）	枯草芽孢杆菌、复合酶
	山楂酵母 开胃精	地衣芽孢杆菌
	地衣芽孢杆菌 II 型	地衣芽孢杆菌（辅料：过瘤胃胍基乙酸、细胞生长因子、功能性小肽、螯合微量元素、酵母培养物）
	枯草芽孢杆菌+酿酒酵母 I 型	枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、黄芪、当归、藿香、乌梅、诃子、莱菔子、党参
	枯草芽孢杆菌 I 型	枯草芽孢杆菌
植物提取物型混合型饲料添加剂	淫羊藿提取物 I 型	淫羊藿提取物（载体：当归、韭菜子、菟丝子、益母草）
	淫羊藿提取物 I 型	淫羊藿提取物（载体：石粉）
	苜蓿提取物（I 型）	苜蓿提取物、葡萄糖
	杜仲叶提取物（I 型）	杜仲叶提取物（载体：葡萄糖）
	淫羊藿提取物	淫羊藿提取物、益母草、五味子（载体：玉米淀粉）

附表 2 其它 7 种微生物型和 5 种植物提取物型混合型饲料添加剂中五氯苯酚的回收率和精密度试验

饲料名称	添加浓度 (µg/kg)	平行样回收率 (%)						批内添加平 均回收率 (%)	批内 RSD (n=6,%)	批间添加平 均回收率 (%)	批间 RSD (n=18,%)
枯草芽孢杆菌 (VI型)(载体: 蒙脱石)	5	99.6	104.0	96.0	102.9	104.3	101.3	101.4	3.1	100.1	3.0
		96.4	97.6	98.2	99.1	97.2	102.4	98.5	2.2		
		103.6	104.2	102.3	98.8	96.5	97.1	100.4	3.4		
	10	107.9	114.6	110.6	102.3	102.6	104.0	107.0	4.6	101.8	4.9
		102.3	97.3	98.1	95.9	100.8	98.8	98.8	2.4		
		100.7	99.9	100.9	95.3	97.7	103.5	99.7	2.9		
	50	95.2	103.2	103.7	95.8	96.5	103.5	99.6	4.2	99.1	3.2
		97.4	96.2	97.0	97.2	95.7	100.0	97.3	1.5		
		102.9	98.6	96.6	101.1	103.4	99.5	100.4	2.6		
枯草芽孢杆菌 (II型)(载体: 玉米淀粉)	5	82.2	96.4	92.4	85.7	94.1	93.8	90.8	6.1	89.6	4.5
		88.3	86.2	93.7	87.2	86.9	87.0	88.2	3.2		
		94.5	93.4	90.8	87.2	85.9	87.4	89.9	4.0		
	10	108.8	97.0	95.1	97.1	100.5	95.5	99.0	5.2	99.7	3.6
		97.4	102.7	102.0	102.4	104.5	97.1	101.0	3.0		
		97.3	99.7	101.5	96.6	101.4	98.7	99.2	2.1		
	50	101.2	103.6	98.3	99.7	96.6	97.5	99.5	2.6	100.2	2.6
		96.2	104.5	102.2	100.9	99.2	102.1	100.8	2.8		
		103.9	100.2	97.0	101.7	101.8	97.2	100.3	2.8		
淫羊藿提取物 I型(载体:当	5	85.2	84.2	97.6	85.3	87.8	93.2	88.9	6.0	89.9	4.4
		93.5	88.0	93.4	88.3	86.7	85.7	89.3	3.8		

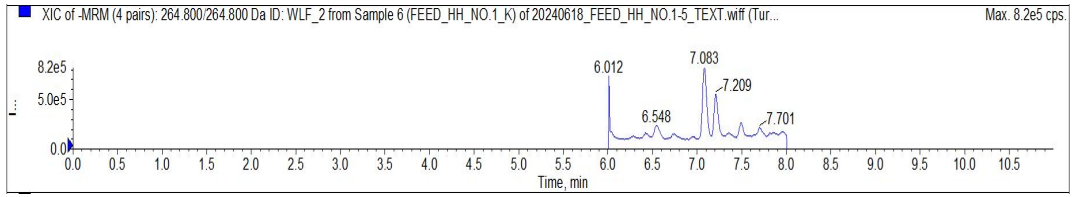
归、韭菜子、菟丝子、益母草)	10	89.6	94.7	88.4	88.7	92.7	95.0	91.5	3.3	91.6	5.0	
		98.0	88.8	103.8	88.9	89.7	94.8	94.0	6.5			
		94.6	94.5	89.1	89.3	86.9	85.9	90.1	4.2			
	50	94.1	91.4	88.6	89.3	86.2	94.0	90.6	3.5	100.0	3.1	
		102.2	107.0	102.7	101.3	95.2	95.4	100.6	4.5			
		101.2	97.5	102.5	103.9	98.5	98.1	100.3	2.6			
	淫羊藿提取物 I 型 (载体: 石粉)	5	99.3	97.8	96.8	100.4	99.1	100.6	99.0	1.5	99.1	3.9
			103.6	108.2	93.2	98.7	96.8	101.6	100.3	5.3		
			95.8	95.5	96.1	101.9	100.0	96.4	97.6	2.7		
10		101.4	96.6	96.5	103.1	96.5	102.1	99.4	3.2	100.6	4.6	
		94.9	111.4	112.9	99.6	101.2	100.9	103.5	6.9			
		98.7	99.0	104.1	99.5	97.7	96.0	99.2	2.7			
50		99.4	100.3	97.5	99.7	100.8	98.0	99.3	1.3	101.9	3.8	
		105.6	111.8	104.5	102.5	99.4	96.8	103.4	5.1			
		99.5	104.2	101.9	97.8	103.8	95.8	100.5	3.4			
枯草芽孢杆菌 (I 型) (枯草芽孢杆菌、复合酶)	5	101.1	101.3	101.7	103.7	97.8	104.8	101.7	2.4	103.7	5.6	
		108.4	119.0	115.4	101.6	102.2	103.6	108.4	6.8			
		103.3	102.3	104.3	95.1	101.9	101.0	101.3	3.2			
	10	97.4	103.0	102.2	97.5	103.5	104.4	101.3	3.0	102.5	5.8	
		113.0	117.6	112.4	100.5	97.0	103.7	107.4	7.6			
		99.7	103.1	102.2	102.9	101.9	99.0	101.5	1.7			
	50	97.2	99.8	102.2	95.2	98.0	99.9	98.7	2.5	104.3	7.4	
		116.2	119.5	117.9	108.0	106.3	114.8	113.8	4.8			
			99.7	103.9	95.8	101.0	97.6	100.8	99.8	2.8		

		97.8	98.2	101.6	97.4	98.0	103.0	99.3	2.4		
山楂酵母 开胃精 (地衣芽孢杆菌)	5	104.0	103.8	97.6	95.8	95.8	99.2	99.4	3.8	101.6	2.9
		104.1	103.2	100.9	102.2	104.3	104.3	103.2	1.3		
		102.0	98.7	103.9	103.5	100.6	104.3	102.2	2.2		
	10	106.8	102.6	103.1	103.1	100.5	104.7	103.5	2.0	101.7	2.6
		103.8	97.6	102.2	101.2	103.0	98.0	101.0	2.6		
		98.3	98.6	104.0	102.8	98.4	102.5	100.8	2.6		
	50	97.3	97.6	98.8	98.8	98.7	103.5	99.1	2.2	99.5	2.4
		99.1	102.9	101.5	98.3	98.5	97.7	99.7	2.1		
		104.9	102.3	96.5	99.9	97.0	98.3	99.8	3.3		
地衣芽孢杆菌 II型 (辅料: 过瘤胃胍基乙酸、细胞生长因子、功能性小肽、螯合微量元素、酵母培养物)	5	73.4	72.0	72.4	72.7	78.1	71.0	73.3	3.4	74.6	3.9
		76.8	76.6	78.4	77.5	74.2	74.8	76.4	2.1		
		72.8	72.8	77.9	79.5	70.5	71.3	74.1	5.0		
	10	71.1	79.0	76.9	76.8	71.4	79.5	75.8	4.8	75.2	3.7
		73.7	78.6	76.3	73.8	77.0	76.3	76.0	2.5		
		71.0	74.9	73.3	72.5	77.9	73.1	73.8	3.2		
	50	67.3	68.3	67.7	61.5	65.8	61.6	65.3	4.7	64.4	4.9
		68.7	66.6	62.3	60.8	64.8	62.4	64.3	4.7		
		60.1	60.6	68.0	65.1	60.3	66.7	63.5	5.6		
枯草芽孢杆菌 + 酿酒酵母 I型 (枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、黄芪、当归、	5	96.6	96.6	83.8	86.9	85.2	90.5	90.0	6.2	90.1	4.0
		92.0	86.6	92.5	89.0	90.0	85.9	89.3	3.0		
		89.4	89.7	90.6	92.2	89.0	94.5	90.9	2.3		
	10	97.4	107.0	91.1	97.7	97.5	96.1	97.8	5.3	99.3	4.1
		98.7	97.7	101.6	105.0	96.5	95.7	99.2	3.5		

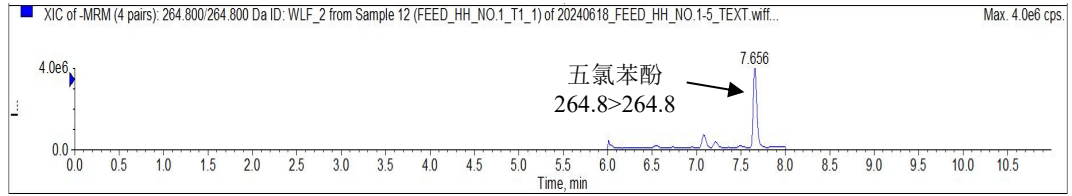


藿香、乌梅、 诃子、莱菔子、 党参)	50	104.7	101.6	104.4	95.3	98.6	100.8	100.9	3.5	99.3	3.5
		106.9	104.9	102.4	97.6	97.2	100.0	101.5	3.9		
		99.9	97.9	97.1	97.7	96.2	95.7	97.4	1.5		
		97.5	95.9	96.3	96.5	104.9	102.1	98.9	3.8		
枯草芽孢杆菌 I型(枯草芽孢 杆菌)	5	87.6	82.0	78.6	79.8	80.1	83.2	81.9	4.0	80.2	3.7
		78.8	81.5	80.7	75.0	77.0	79.0	78.7	3.0		
		79.7	82.8	77.1	76.8	81.5	82.5	80.1	3.3		
	10	85.4	83.3	91.3	89.1	87.4	90.0	87.7	3.4	88.3	2.6
		85.8	88.6	85.7	86.5	88.8	87.5	87.2	1.6		
		92.1	90.7	88.5	87.8	90.3	90.4	90.0	1.7		
	50	94.4	92.0	95.3	85.5	89.1	91.4	91.3	3.9	90.1	3.6
		91.1	90.2	86.4	94.2	88.2	92.2	90.4	3.1		
		88.3	85.1	88.3	87.3	94.6	87.9	88.6	3.6		
苜蓿提取物(I 型)(苜蓿提 取物、葡萄糖)	5	80.6	67.8	71.4	77.3	75.8	76.2	74.9	6.1	77.4	4.6
		79.2	75.4	82.9	78.1	76.8	77.2	78.3	3.4		
		77.7	80.8	79.4	76.6	78.6	81.0	79.0	2.2		
	10	72.6	73.0	65.3	63.7	72.9	64.7	68.7	6.6	67.5	6.9
		74.7	67.1	62.8	63.5	66.5	62.6	66.2	6.9		
		72.5	69.9	66.9	73.6	61.1	62.2	67.7	7.7		
	50	60.8	62.0	60.7	63.9	67.7	64.5	63.3	4.2	64.3	4.5
		63.3	64.4	67.2	67.5	68.4	66.8	66.3	3.0		
		60.8	66.6	60.5	64.3	67.6	60.7	63.4	5.1		
杜仲叶提取物 (I型)(载体:	5	63.4	65.2	70.4	64.1	74.5	62.7	66.7	7.0	65.3	5.1
		68.1	62.1	65.8	66.1	66.8	60.6	64.9	4.5		

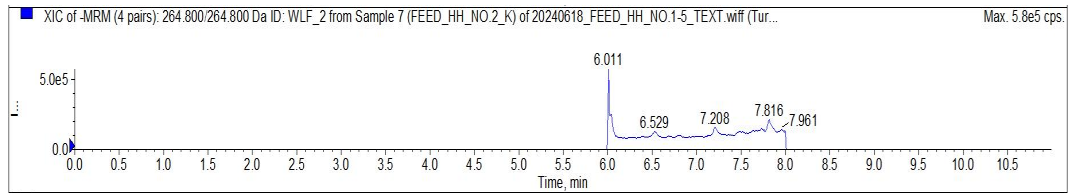
葡萄糖)		65.5	61.8	61.6	66.0	65.3	65.6	64.3	3.1			
	10	71.7	67.7	74.1	63.8	62.1	68.2	67.9	6.7	67.7	6.3	
		71.3	66.1	74.3	63.5	72.0	64.9	68.7	6.4			
		71.9	63.3	60.9	64.2	69.9	68.9	66.5	6.5			
	50	60.3	60.6	61.0	62.0	60.1	65.3	61.6	3.2	64.4	5.0	
		64.6	68.2	66.4	60.7	68.3	61.3	64.9	5.2			
		68.8	68.3	65.9	63.2	65.7	68.1	66.6	3.2			
	淫羊藿提取物 (淫羊藿提取 物、益母草、 五味子,载体: 玉米淀粉)	5	76.2	70.2	72.2	72.8	77.8	76.8	74.3	4.1	74.6	3.7
			70.8	75.5	70.7	72.9	78.8	77.6	74.4	4.6		
79.1			73.4	75.8	73.2	73.6	74.8	75.0	3.0			
10		97.4	92.1	95.5	89.0	91.3	85.3	91.8	4.7	91.0	3.1	
		91.4	92.6	87.9	91.8	91.5	89.5	90.8	1.9			
		87.7	89.9	89.9	93.8	90.9	89.8	90.3	2.2			
50		90.6	93.9	83.6	94.9	93.2	85.1	90.2	5.3	91.0	3.8	
		94.3	95.0	93.0	88.5	88.8	89.4	91.5	3.2			
		88.0	94.7	88.7	93.6	90.4	91.8	91.2	2.9			



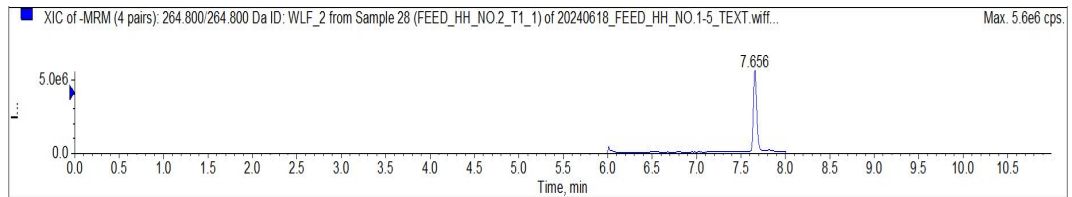
附图 1 空白枯草芽孢杆菌（VI型）五氯苯酚的定量离子色谱图



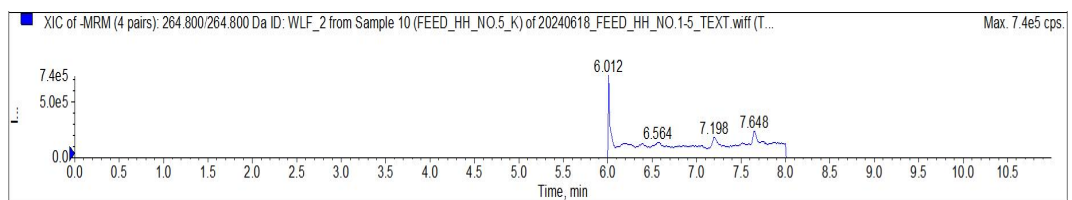
附图 2 添加浓度为 5 µg/kg 枯草芽孢杆菌（VI型）五氯苯酚的定量离子色谱图



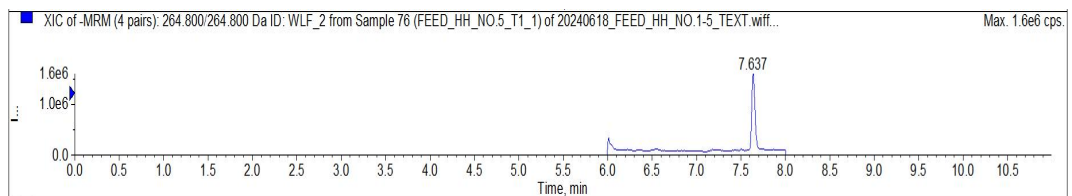
附图 3 空白枯草芽孢杆菌（II型）五氯苯酚的定量离子色谱图



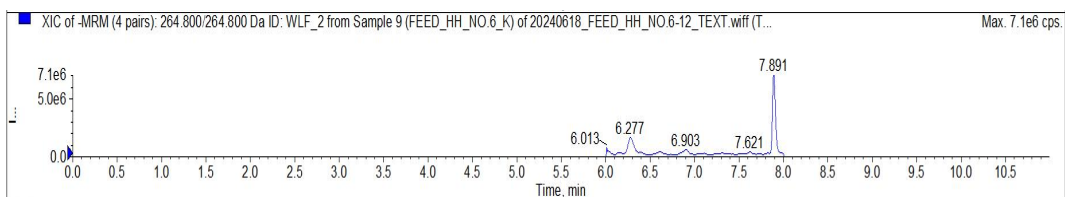
附图 4 添加浓度为 5 µg/kg 枯草芽孢杆菌（II型）五氯苯酚的定量离子色谱图



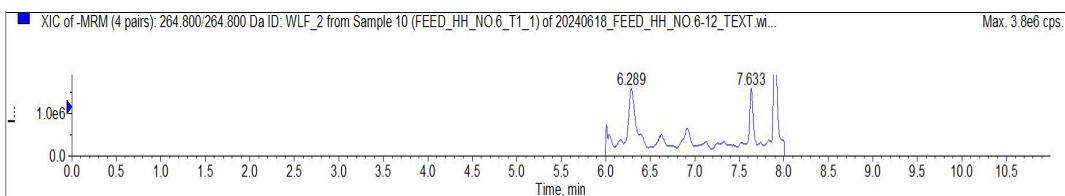
附图 5 空白枯草芽孢杆菌（I型）五氯苯酚的定量离子色谱图



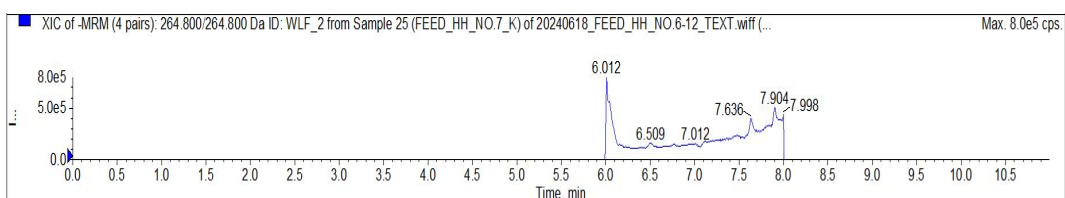
附图 6 添加浓度为 5 µg/kg 枯草芽孢杆菌（I型）五氯苯酚的定量离子色谱图



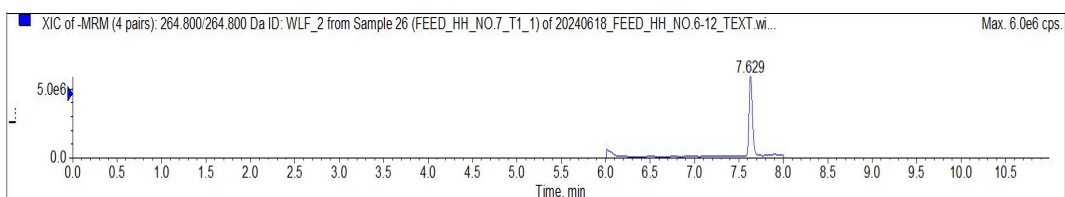
附图 7 空白山楂酵母开胃精五氯苯酚的定量离子色谱图



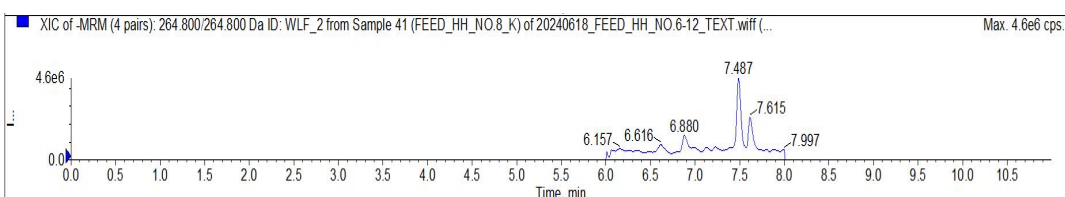
附图 8 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  山楂酵母开胃精五氯苯酚的定量离子色谱图



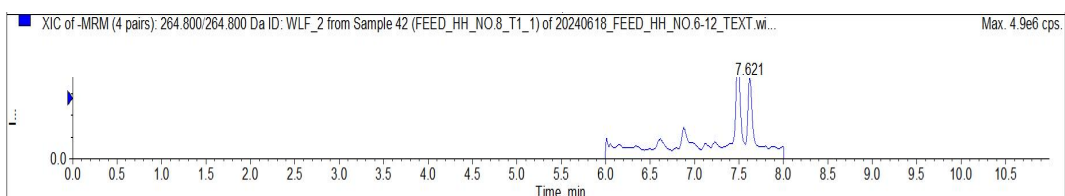
附图 9 空白地衣芽孢杆菌II型五氯苯酚的定量离子色谱图



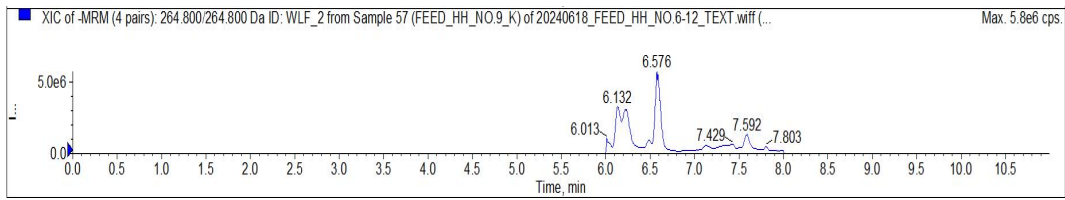
附图 10 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  地衣芽孢杆菌II型五氯苯酚的定量离子色谱图



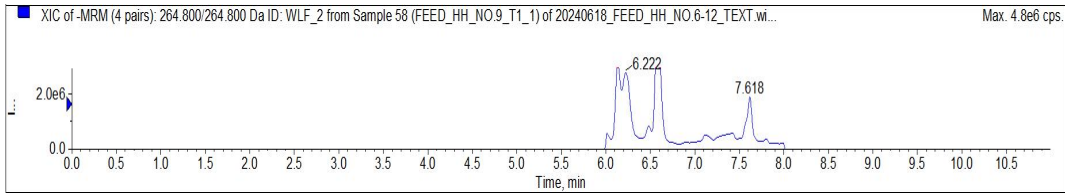
附图 11 空白枯草芽孢杆菌+酿酒酵母I型五氯苯酚的定量离子色谱图



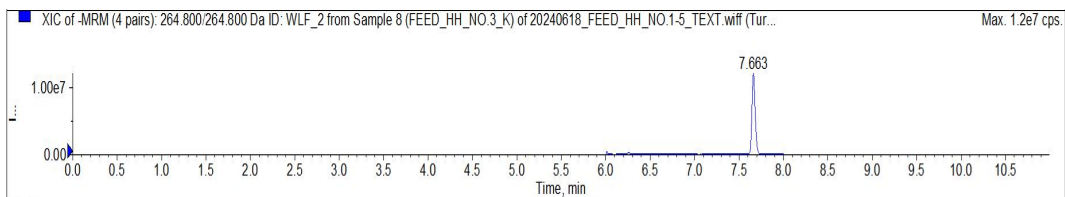
附图 12 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  枯草芽孢杆菌+酿酒酵母I型五氯苯酚的定量离子色谱图



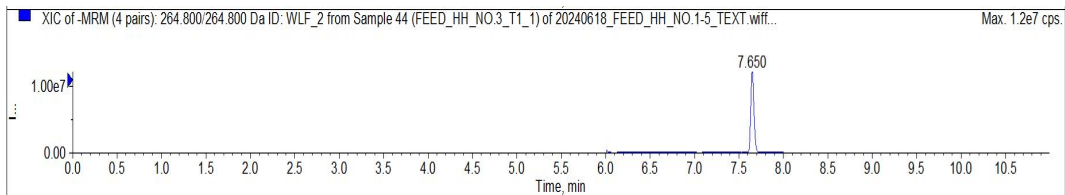
附图 13 空白枯草芽孢杆菌I型五氯苯酚的定量离子色谱图



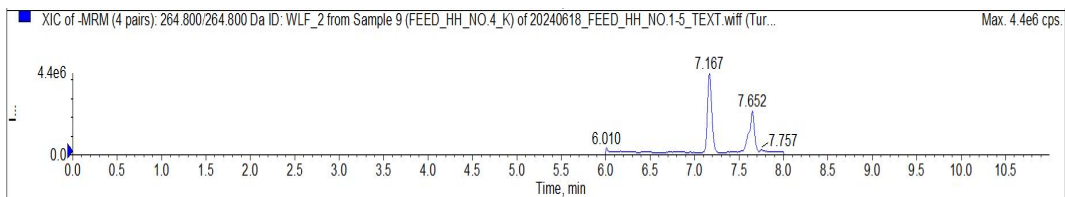
附图 14 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  枯草芽孢杆菌I型五氯苯酚的定量离子色谱图



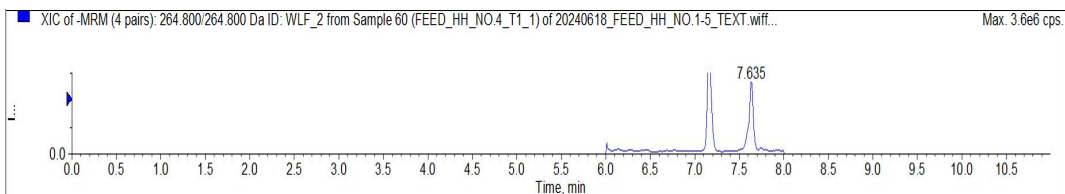
附图 15 空白淫羊藿提取物I型五氯苯酚的定量离子色谱图



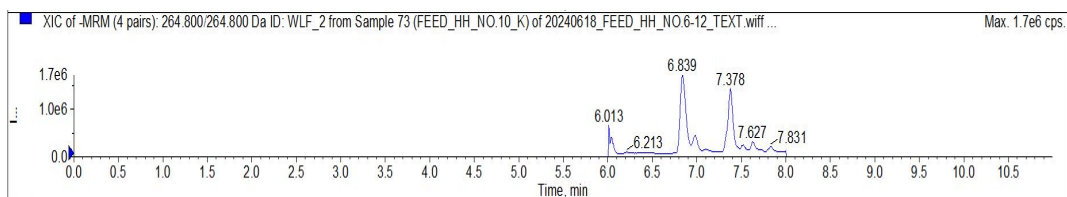
附图 16 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  淫羊藿提取物I型五氯苯酚的定量离子色谱图



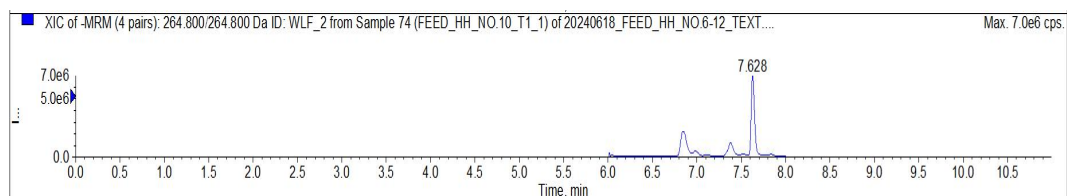
附图 17 空白淫羊藿提取物I型五氯苯酚的定量离子色谱图



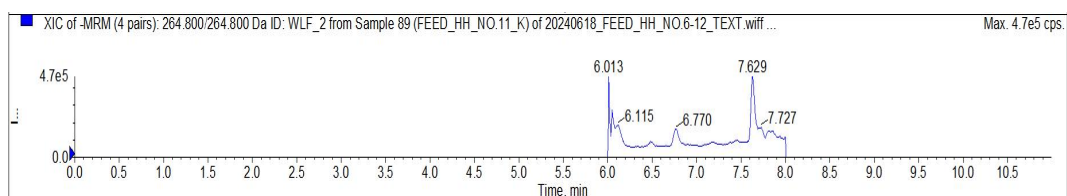
附图 18 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  淫羊藿提取物I型五氯苯酚的定量离子色谱图



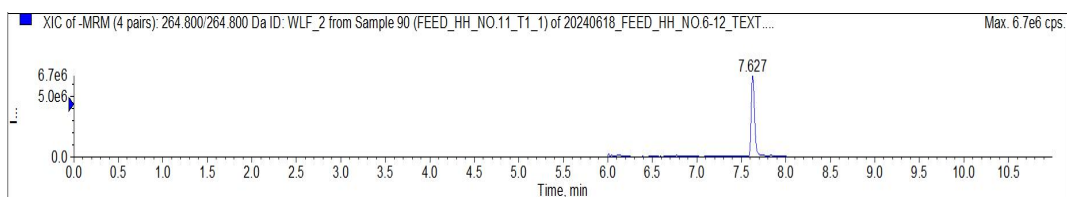
附图 19 空白苜蓿提取物 (I型) 五氯苯酚的定量离子色谱图



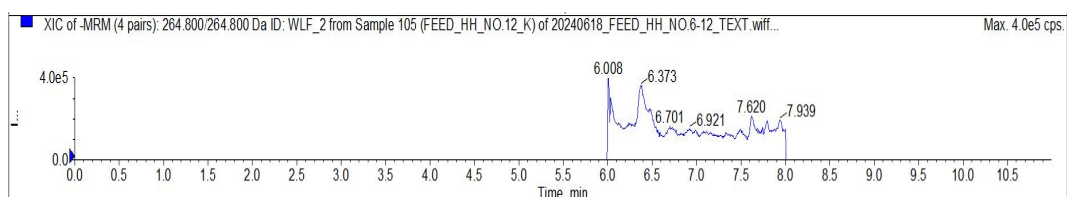
附图 20 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  苜蓿提取物 (I型) 五氯苯酚的定量离子色谱图



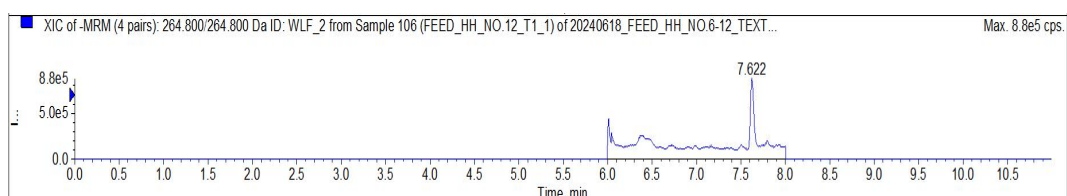
附图 21 空白杜仲叶提取物 (I型) 五氯苯酚的定量离子色谱图



附图 22 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  杜仲叶提取物 (I型) 五氯苯酚的定量离子色谱图



附图 23 空白淫羊藿提取物五氯苯酚的定量离子色谱图



附图 24 添加浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  淫羊藿提取物五氯苯酚的定量离子色谱图