

中华人民共和国农业行业标准

《饲料中 15 种抗球虫药物的测定  
液相色谱-串联质谱法》

# 编制说明

(公开征求意见稿)

上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所

上海市兽药饲料检测所

上海科立特农产品检测技术服务有限公司

二〇二四年七月

**项目名称：**《饲料中 15 种抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》

**农业行业标准项目计划编号：** NYB-21234

**承担单位：**上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所、上海市兽药

饲料检测所、上海科立特农产品检测技术服务有限公司

**编制组主要成员：**司文帅、曹莹、王守英、严凤、郭灿、宋一清、白冰、黄士

新、黄志英、杨海锋、陈磊、王博、张婧、吴剑平

# 目 录

一、标准制定背景及任务来源 .....	1
1.1 标准制定背景 .....	1
1.2 任务来源 .....	8
二、主要工作过程 .....	8
2.1 成立标准编制小组 .....	8
2.2 查询国内外相关标准和文献资料 .....	8
2.3 确定标准制定技术路线、制定原则 .....	8
2.4 进行论证实验，确定方法主要试验技术内容制定的合理性 .....	9
2.5 编写标准征求意见稿 .....	9
2.6 编写标准预审稿 .....	9
2.7 组织方法验证 .....	9
2.8 组织专家进行标准预审 .....	9
三、标准编制原则和主要技术内容确定的依据 .....	10
3.1 标准编制原则 .....	10
3.2 主要技术内容确定的依据 .....	10
四、标准主要试验技术制定与验证 .....	11
4.1 仪器条件的确定 .....	11
4.1.1 色谱柱的选择 .....	11
4.1.2 流动相的确定 .....	13
4.1.3 质谱条件的确定 .....	14
4.2 样品前处理方法的确定 .....	15
4.2.1 提取溶剂的选择 .....	15
4.2.2 提取液体积的选择 .....	16
4.2.3 净化方法的选择 .....	16
4.2.4 不同品牌固相萃取小柱的比较 .....	19
4.2.5 实验步骤的确定 .....	20
4.2.5.1 样品 .....	20
4.2.5.2 提取 .....	20
4.2.5.3 净化 .....	20
4.2.6 标准储备溶液稳定性试验 .....	20
4.2.7 标准中间溶液稳定性试验 .....	21
4.3 方法技术指标的论证 .....	21
4.3.1 线性范围 .....	21
4.3.2 方法准确度和精密度 .....	25
4.3.3 方法检出限和定量限 .....	35
4.3.4 样品基质效应考察 .....	44

4.3.5 实际样品测定 .....	45
4.3.6 结论 .....	45
五、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 .....	45
六、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况 .....	46
七、以国际标准为基础的起草情况 .....	46
八、与有关法律、行政法规及相关标准的关系 .....	46
九、重大分歧意见的处理经过和依据 .....	47
十、涉及专利的有关说明 .....	47
十一、实施标准的要求和措施建议 .....	47
十二、其他应予说明的事项 .....	47

# 《饲料中 15 种抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》农 业行业标准制定的编制说明

## 一、标准制定背景及任务来源

### 1.1 标准制定背景

球虫病是由一种或多种艾美耳属球虫寄生于宿主的肠粘膜上皮细胞或肾脏而引起的一种急性流行性原虫病，分布广泛，发生普遍，危害十分严重。温暖潮湿的环境给球虫的繁殖提供了有利条件，更容易爆发球虫病。通过破坏宿主肠上皮细胞完整性，球虫病会导致家禽肠道损伤、腹泻和采食量降低，甚至死亡，影响日增重和饲料转化率，进而造成生产效率下降和经济效益损失。为防治球虫病，2020年4月19日中华人民共和国农业农村部发布了第246号公告，其中附件3-金霉素预混剂等15个兽药产品质量标准和说明书范本和附件4-拉沙洛西钠预混剂等5个进口兽药产品质量标准和标签、说明书样稿中规定了二硝托胺、甲基盐霉素、莫能菌素预混剂等抗球虫药物的使用，其中共有抗球虫药物组分14种（见表1），用于治疗鸡、兔球虫病，促进鸡、兔生长。

表1 农业农村部246号公告—14种抗球虫药物名称、准用家禽及允许用量

序号	中文名称	英文名称	准用家禽	饲料中用量 (mg/kg)	《中华人民共和国兽 药典》2020年版一部 (页码)
1.	磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	鸡	142	474
2.	海南霉素	Hainanmycin	鸡	5-7.5	/
3.	盐酸氯苯胍	Robenidine	鸡	300-600	264
			兔	1000-1500	265
4.	盐霉素	Salinomycin	鸡	60	270
5.	甲基盐霉素	Narasin	肉鸡	600-800	进口兽药
6.	莫能菌素	Monensin	鸡	90-110	进口兽药
7.	拉沙洛西钠	Lasalocid	肉鸡	75-125	进口兽药
8.	马杜霉素	Maduramicin	鸡	500	36

		ammonium			
9.	氯羟吡啶	Clopidol	鸡	500	402
			兔	800	402
10.	氨丙啉	Amprolium	鸡	500	260
11.	尼卡巴嗪	Nicarbazin	鸡	100-125	进口兽药
12.	地克珠利	Diclazuril	禽、兔	1	94
13.	乙氧酰胺苯甲酯	Ethopabate	鸡	120	/
14.	二硝托胺	Dinitolmide	鸡	500	12

磺胺喹噁啉属于磺胺类抗球虫药，用于畜禽球虫病，能够影响细菌核蛋白合成，从而抑制细菌和球虫的生长繁殖。本品对雏鸡有毒性，不宜长时间使用。磺胺喹噁啉为治疗球虫病的专用磺胺类药物。对鸡的巨型、布氏和堆型艾美耳球虫作用最强，对柔嫩和毒害艾美耳球虫作用较弱，需用较高剂量才能见效。常与氨丙啉或二甲氧苄啶合用，以增强药效。磺胺喹噁啉的作用峰期在第2代裂殖体（球虫感染第3~4天），不影响禽产生球虫免疫力。有一定的抑菌活性，可预防球虫病的继发感染。主要用于治疗鸡、火鸡的球虫病，对家兔、羔羊、犊牛球虫病也有效。与其他磺胺类药物之间容易产生交叉耐药性。

二硝托胺属于抗球虫药，可在商品饲料和养殖过程中使用，蛋鸡产蛋期禁用，停药过早，常致球虫病复发，因此肉鸡宜连续应用。二硝托胺抗球虫的活性作用峰期是在感染后第3天，且对卵囊的孢子形成亦有作用。主要用于治疗鸡、火鸡和兔球虫病。使用推荐剂量不影响鸡对球虫产生免疫力，故适用于蛋鸡和肉用种鸡。有报道，连用本品6天，仅对球虫表现抑制作用，如果长期应用则对球虫有杀灭作用。鸡内服二硝托胺后，在体内迅速代谢，停药24小时后肌肉的残留量即低于100 μg/kg。

马度米星铵（马杜霉素）为一价单糖苷离子载体抗球虫药，抗球虫广谱。对鸡的毒害、巨型、柔嫩、堆型、布氏、变位等艾美耳球虫有高效，而且对其他聚醚类抗球虫药耐药的虫株也有效。马度米星能干扰球虫生活史的早期阶段，即球虫发育的子孢子期和第一代裂殖体，不仅能抑制球虫生长，且能杀灭球虫。马度米星铵给鸡混饲（5 mg/kg 饲料），在肝、肾、肌肉、皮肤、脂肪等组织中的消除半衰期约24小时。

盐酸氯苯胍对鸡的柔嫩、毒害、布氏、巨型、堆型及和缓艾美耳球虫等有良效，且对其他抗球虫药产生耐药性的球虫仍有效。主要抑制球虫第一代裂殖体的生殖，对第二代裂殖体亦有作用，其作用峰期在感染后的第3天。对兔的各种球虫也有效。本品的作用机理是干扰虫体胞浆中的内质网，影响虫体蛋白质代谢，使内质网和高尔基体肿胀、

氧化磷酸化反应和 ATP 被抑制。球虫对本品易产生耐药性。鸡内服后，在体内代谢为对氯甲苯等 9 种代谢产物。一次给药后，24 小时排出的量占给药剂量的 82%，6 天后排出 99%。

盐酸氨丙啉对鸡的各种球虫均有作用，其中对柔嫩与堆型艾美耳球虫的作用最强，对毒害、布氏、巨型、和缓艾美耳球虫的作用较弱。主要作用于球虫第 1 代裂殖体，阻止其形成裂殖子，作用峰期在感染后的第 3 天。此外，对有性繁殖阶段和子孢子亦有抑制作用。可用于预防和治疗球虫病。盐酸氨丙啉与磺胺喹噁啉或乙氧酰胺苯甲酯合用，可扩大抗球虫范围，增强疗效。盐酸氨丙啉对犊牛、羔羊艾美耳球虫亦有效。本品为广谱抗球虫药，其作用机理是因为氨丙啉的化学结构与硫胺素相似，可竞争性地抑制球虫对硫胺素（维生素 B1）的摄取，从而阻碍虫体细胞内的糖代谢过程，抑制了球虫的发育。乙氧酰胺苯甲酯对氨丙啉、磺胺喹噁啉的抗球虫活性有增效作用。其作用机理与抗菌增效剂相似，能阻断球虫四氢叶酸的合成。乙氧酰胺苯甲酯对巨型和布氏艾美耳球虫及其他小肠球虫具有较强的作用，从而弥补了氨丙啉对这些球虫作用不强的缺点，而乙氧酰胺苯甲酯对柔嫩艾美耳球虫缺乏活性的缺点亦可为氨丙啉的作用特点所补偿，这是乙氧酰胺苯甲酯不能单独应用而多与氨丙啉合用的主要原因。作用峰期在球虫生活史周期（感染后）的第 4 天。

海南霉素属于聚醚类抗球虫药，具有广谱抗球虫作用，对鸡的柔嫩、毒害、堆型、巨型、和缓艾美耳球虫等有高效。海南霉素是中国科学院药物研究所研制的一种原创性防治鸡球虫病的专用药物，是我国唯一的原创性抗球虫药，也是国内外离子载体类抗球虫新药。海南霉素分子式为  $C_{47}H_{80}O_{15}$ ，分子量为 885，暂无 CAS 号。海南霉素能与碱性金属阳离子形成盐，其游离酸的溶解度与盐类相同，通常以其钠盐使用，目前有关其药动学和残留消除方面研究资料较少，其属聚醚类抗生素分子，结构特征含多个环状醚键，在直链碳骨架上连成多个四氢呋喃、四氢吡喃等含氧杂环，分子一端有 1 个羧基，在结晶状态分子两端可借助氢键相连成环状构型，具有离子载体性质，可形成多种金属盐，常以钠盐形式存在，微溶或不溶于水，易溶于低级醇、乙酸乙酯、四氯化碳等，在中性或碱性环境中稳定，其游离酸稳定性较差。农业农村部公告第 197 号-4-2019《饲料中海南霉素的测定 液相色谱-串联质谱法》适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中海南霉素含量的测定。海南霉素的检出限为 0.02 mg/kg，定量限为 0.05 mg/kg。

氯羟吡啶对鸡的柔嫩、毒害、布氏、巨型、堆型、和缓和早熟艾美耳球虫等有效，特别是对柔嫩艾美耳球虫作用最强，对兔球虫亦有一定的效果。氯羟吡啶对球虫的作用峰期是子孢子期，即感染后第 1 天，主要对其产生抑制作用。在用药后 60 日内，可使子孢子在肠上皮细胞内不能发育。因此，必须在雏鸡感染球虫前或感染同时给药，才能充分发挥抗球虫作用。氯羟吡啶适用于预防用药，对球虫病治疗无意义。本品能抑制鸡

对球虫产生免疫力，过早停药易导致球虫病暴发。球虫对氯羟吡啶易产生耐药性。氯羟吡啶以 125 mg/kg 混饲，停药后 2 日，鸡组织中的残留量降至 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以下。对于笼养鸡，停药 5 日后，组织残留量低于 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。但平养鸡停药 5 日后，组织残留量仍可达到约 600  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，这是由于氯羟吡啶经粪便排出留在垫草中，使鸡再度摄入所致。

地克珠利为三嗪类广谱抗球虫药，主要抑制子孢子和裂殖体增殖，对球虫的活性峰期在子孢子和第一代裂殖体（即球虫生命周期的最初 2 天）。具有杀球虫作用，对球虫发育的各个阶段均有效。对鸡的柔嫩、堆型、毒害、布氏、巨型等艾美耳球虫，鸭和兔的球虫均有良好的效果。地克珠利给鸡混饲后，少部分被消化道吸收，但因为用量小，吸收总量很少，所以组织中药物残留少。以 1 mg/kg 剂量混饲，于最后一次给药后第 7 天，测得鸡组织中的平均残留量低于 0.063 mg/kg。地克珠利毒性小，对畜禽都很安全。本品长期用药易诱导耐药性产生，故应交替用药或短期使用。本品作用时间短，停药 2 日后作用基本消失。

盐霉素为聚醚类离子载体抗球虫药，其杀球虫作用机理是通过干扰球虫细胞内  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  的正常渗透，使大量的  $\text{Na}^+$  进入细胞内。为了平衡渗透压，大量的水分进入球虫细胞，引起肿胀而死亡。对鸡的毒害、柔嫩、巨型、和缓、堆型、布氏等艾美耳属球虫均有作用，尤其对巨型及布氏艾美耳球虫效果最强。对鸡球虫的子孢子、第一、二代裂殖子均有明显作用。鸡内服盐霉素在胃肠道吸收很少。在肝、胃、小肠内含量较高，其他组织中含量极微。进入体内的药物，在肝脏内迅速代谢，并由小肠分泌经粪便排出体外。给药后 48 小时内排出量占给药剂量的 94.6%，72 小时超过 97%。

莫能菌素是 1967 年首先从肉桂地链霉菌(*Streptomyces cinamgensis*)发酵液中分离到的一种聚醚类抗生素，主要成分包括莫能菌素 A 与莫能菌素 B，其中前者为其主要活性成分，莫能菌素拥有卓越的抗球虫效果，具有抗虫谱广、作用方式独特、耐药性形成缓慢等特点，是畜禽球虫病防治中最重要的防治药物，其销量占现今抗球虫药市场的 80%。莫能菌素为单价离子载体类广谱抗球虫药。对鸡的毒害、柔嫩、巨型、变位、堆型、布氏艾美耳球虫等均有很好的杀灭效果。对火鸡腺艾美耳球虫和火鸡艾美耳球虫、鹌鹑的分散和莱泰艾美耳球虫、羔羊雅氏、阿撒地艾美耳球虫亦有效。莫能菌素的作用峰期是在球虫生活周期的最初二日，对子孢子及第一代裂殖体都有抑制作用。其杀球虫作用机理是通过干扰球虫细胞内  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  的正常渗透，使大量的  $\text{Na}^+$  和水份进入细胞内，引起肿胀而死亡。重要的是，莫能菌素还可以显著改善反刍动物的营养物质利用率等，所以已被广泛用于促生长饲料添加剂。目前，莫能菌素已成为绿色、安全、高效的抗球虫药而被广泛应用于医药、农业等领域，具有广阔的发展前景。NY/T 725-2003《饲料中莫能菌素的测定高效液相色谱法》标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中莫能菌素含量的测定，方法检测限为 5 mg/kg。

拉沙洛西钠为畜禽专用聚醚类抗生素类抗球虫药。拉沙洛西钠与二价金属离子形成络合物，干扰球虫体内正常离子的平衡和转运，从而起到抑制球虫的效果。拉沙洛菌素钠亦为广谱高效抗球虫药，除对堆型艾美耳球虫作用稍差外，对鸡柔嫩、毒害、巨型、和缓等艾美耳球虫的抗球虫效应，甚至超过莫能菌素和盐霉素。据人工接种球虫试验表明，75-110 mg/kg 饲料浓度，除对肠道病变作用较 125 mg/kg 饲料浓度稍差外，其增重率及饲料报酬均明显优于后者。此外拉沙洛菌素对水禽、火鸡球虫病也有明显效果。拉沙洛菌素另一优点是可以与包括泰妙菌素在内的其他促生长剂并用，而且其增重效应优于单独用药。

甲基盐霉素属单价聚醚类离子载体抗球虫药。甲基盐霉素其抗球虫效应与盐霉素大致相同，能维持畜禽消化道中菌群的平衡。甲基盐霉素对肉鸡的堆型、布氏、巨型、毒害艾美耳球虫的预防效果有明显差异，通常 40 mg/kg 药料浓度，即对堆型、巨型艾美耳球虫产生良好效果。毒害艾美耳球虫需用 60 mg/kg 药料浓度才能有效；而布氏艾美耳球虫必须用 80 mg/kg 药料浓度才能发挥药效。

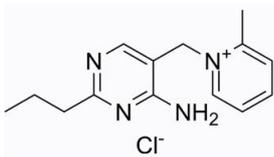
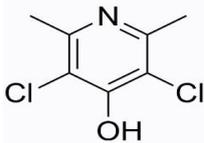
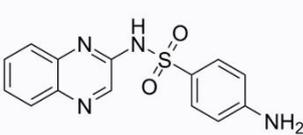
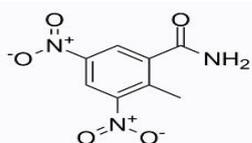
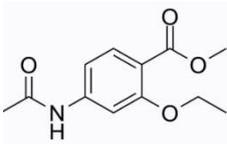
尼卡巴嗪为 4,4-二硝基均二苯脲与 2-羟基-4,6-二甲基嘧啶复合物。为黄色或黄绿色粉末；无臭，稍具异味。本品在二甲基甲酰胺中微溶，在水、乙醇、乙酸乙酯、氯仿、乙醚中不溶。用于预防鸡和火鸡球虫病。尼卡巴嗪对鸡的多种艾美耳球虫均有良好的防治效果。主要抑制球虫第二个无性增殖期裂殖体的生长繁殖，作用峰期是感染后第 4 天。GB/T 19423-2020《饲料中尼卡巴嗪的测定》，本文件描述了饲料中尼卡巴嗪的高效液相色谱和液相色谱-串联质谱测定方法，适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中尼卡巴嗪的测定，高效液相色谱法中配合饲料、浓缩饲料的检出限为 0.5 mg/kg，定量限为 1 mg/kg，添加剂预混合饲料的检出限为 1 mg/kg，定量限为 2 mg/kg；液相色谱-串联质谱法的检出限为 0.02 mg/kg，定量限为 0.05 mg/kg。

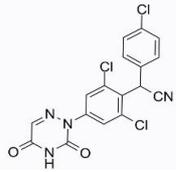
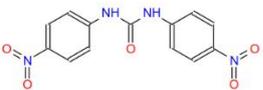
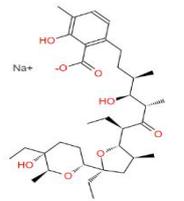
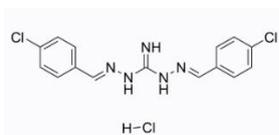
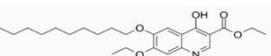
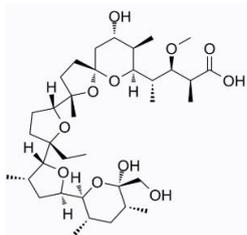
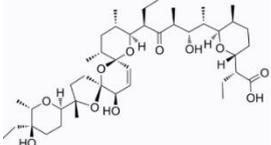
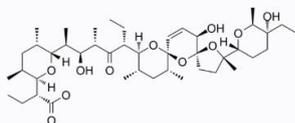
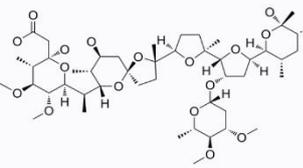
癸氧喹酯在《中华人民共和国兽药典》2020 年版一部 214 页，明确其类别为抗球虫药。癸氧喹酯在球虫的无性繁殖阶段发挥作用，进入球虫孢子细胞后，通过干扰 DNA 合成而阻止其发育，在球虫生活史的早期即开始发挥作用，从而避免家禽肠道遭受损害。该药物吸收快，在 1 小时内即可达到抗球虫的有效浓度，3 天后浓度达到高峰水平。

目前药物防治球虫病是最常见的手段，即以在饲料中长期添加预防剂量的抗球虫药物为主，球虫病发病后的治疗为辅。而抗球虫药物长期不合理、不规范的使用不仅会使球虫耐药性增强，降低药物防控效果，也会在家禽的肉、蛋或其他组织中产生药物残留，并通过食物链的传递最终进入人体内，进而对人体健康造成一定危害。因此，世界上大多数国家和地区对抗球虫药物的使用进行严格监控，并规定了最大残留限量，美国和欧盟分别规定鸡肉中盐酸氯苯胍最高残留限量为 0.1 mg/kg 和 0.2 mg/kg。为了更好规范饲料中抗球虫药的用法用量，目前已有测定单一组分的标准且多为高效液相法，例如：NY/T 725-2003《饲料中莫能菌素的测定 高效液相色谱法》、GB/T 8381.11-2005《饲料

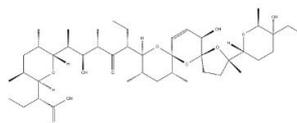
中盐酸氨丙啉的测定 高效液相色谱法》、GB/T 20196-2006《饲料中盐霉素的测定》、农业部 783 号公告-5-2006《饲料中二硝托胺的测定 高效液相色谱法》、GB/T 22262-2008《饲料中氯羟吡啶的测定 高效液相色谱法》、GB/T 23873-2009《饲料中马杜霉素铵的测定》、农业部 1862 号公告-5-2012《饲料中地克珠利的测定 液相色谱-串联质谱法》、农业农村部公告第 316 号-6-2020《饲料中乙氧酰胺苯甲酯的测定 高效液相色谱法》、GB/T 19423-2020《饲料中尼卡巴嗪的测定》；农业部 1862 号公告-4-2012《饲料中 5 种聚醚类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》是现有的唯一的同时测定 5 种抗球虫药的方法，但 5 种抗球虫药同属于聚醚类药物，不能适用于多类抗球虫药物的检测，不能满足日常饲料安全监管需求。因此开展制定定量、定性更加准确的液相色谱串联质谱法，适用于浓缩饲料、配合饲料、添加剂预混合饲料、精料补充料和混合型饲料添加剂中氨丙啉、氯羟吡啶、磺胺喹噁啉、二硝托胺、乙氧酰胺苯甲酯、地克珠利、尼卡巴嗪、拉沙洛西钠、盐酸氯苯胍、癸氧喹酯、莫能菌素、盐霉素、甲基盐霉素、马杜霉素、海南霉素 15 种抗球虫药物（表 2）的检测，对于全面监管饲料产品质量安全和指导饲料中抗球虫药物的使用规范具有重要意义。

表 2 15 种抗球虫药物化学基本信息

编号	化合物名称	分子式	结构式	分子量	CAS 号
1	氨丙啉 (Amprolium)	$C_{14}H_{19}ClN_4$		278.78	121-25-5
2	氯羟吡啶 (Clopidol)	$C_7H_7Cl_2NO$		192.04	2971-90-6
3	磺胺喹噁啉 (Sulfaquinoxaline)	$C_{14}H_{12}N_4O_2S$		300.34	59-40-5
4	二硝托胺 (Dinitolmide)	$C_8H_7N_3O_5$		225.16	148-01-6
5	乙氧酰胺苯甲酯 (Ethopabate)	$C_{12}H_{15}NO_4$		237.25	59-06-3

6	地克珠利 (Diclazuril)	$C_{17}H_9C_3N_4O_2$		407.64	101831-37-2
7	尼卡巴嗪 (Nicarbazin)	$C_{13}H_{10}N_4O_5$		302.24	587-90-6
8	拉沙洛西钠 (Lasalocid sodium)	$C_{34}H_{53}NaO_8$		612.77	25999-20-6
9	盐酸氯苯胍 (Robenidine hydrochloride)	$C_{15}H_{14}Cl_3N_5$		370.66	25875-50-7
10	癸氧喹酯 (Decoquinatate)	$C_{24}H_{35}NO_5$		417.54	18507-89-6
11	莫能菌素 (Monensin)	$C_{36}H_{62}O_{11}$		670.87	17090-79-8
12	盐霉素 (Salinomycin)	$C_{42}H_{70}O_{11}$		750.50	53003-10-4
13	甲基盐霉素 (Narasin)	$C_{43}H_{72}O_{11}$		764.50	55134-13-9
14	马杜霉素 (Maduramicin ammonium)	$C_{47}H_{83}NO_{17}$		934.16	84878-61-5

15

海南霉素  
(Hainanmycin) $C_{47}H_{79}O_{15}Na$ 

906.50

/

本团队研究人员具有动物源性食品和饲料中兽药残留标准方法开发和饲料中非法添加物筛查工作经历。因此针对饲料基质的前处理方法开发的难点和关键点具有较好的研究基础。本标准在保证方法灵敏度的基础上，对前处理方法进行简单、易操作的探索，结合高效液相色谱串联质谱法，建立饲料中抗球虫药物高效、准确、稳定的测定方法。

## 1.2 任务来源

农业农村部农产品质量安全监管司《关于下达 2021 年第一批农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》（农质标函<2021>76 号），由上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所联合上海市兽药饲料检测所、上海科立特农产品检测技术服务有限公司共同承担《饲料中抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》（NYB-21234）标准的制定工作。

## 二、主要工作过程

### 2.1 成立标准编制小组

本标准在项目任务下达之前，由上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所、上海市兽药饲料检测所和上海科立特农产品检测技术服务有限公司对该标准的具体工作进行了认真研究，确定了总体工作方案，并组建了标准起草小组。

### 2.2 查询国内外相关标准和文献资料

2020 年 11 月~12 月，本标准编制小组成员查询和收集了国内外相关标准和文献资料，确立了标准制订的指导思想，形成了开题报告和标准草案，并制定了初步的实验方案。

### 2.3 确定标准制定技术路线、制定原则

2021 年 12 月，上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所召开了标准开题论证会，会上标准编制组介绍了对国内外相关分析方法的研究，标准制定的技术路线和技术难点，以及拟开展的主要工作内容等。

## 2.4 进行论证实验，确定方法主要试验技术内容制定的合理性

2021年1月~2021年12月，在查询、收集国内外相关标准、文献和技术资料的基础上，在参照国际和国外先进标准的基础上，以液相色谱-串联质谱（HPLC-MS/MS）为手段，建立仪器分析方法；探索高效的提取方法并进行条件的优化，确定最佳的检测方法的主要内容。2022年1月~2022年12月对检测方法的检出限、回收率以及变异系数等指标对该方法的灵敏度、准确性、精确度、线性范围等参数进行评价。

## 2.5 编写标准征求意见稿

2023年1月~2023年12月，工作组对标准草案进行了多次讨论研究，根据有关专家意见，对标准内容进行了补充完善，在此基础上，编写完成了《饲料中抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》标准文本及编制说明征求意见稿。

## 2.6 编写标准预审稿

2024年1月~2024年7月，根据各行业标准制修订专家针对征求意见稿反馈的意见，对标准文本及编制说明进行了修改完善，在此基础上，编写完成了《饲料中抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》标准文本及编制说明预审稿。

## 2.7 组织方法验证

2024年6月~2024年7月，组织3家科研和检测单位，对本研究方法的准确性和精确度等进行评价。农业农村部食品质量监督检验测试中心（上海）、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、江苏省畜产品质量检验测试中心3家单位对本检测方法进行不同实验室间的验证工作。方法评价内容与结果详见本编制说明附录，结果表明本标准建立的检测方法可用于饲料中抗球虫药物的测定。

## 2.8 组织专家进行标准预审

2024年8月2日，上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所组织专家对上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所、上海市兽药饲料检测所、上海科立特农产品检测技术服务有限公司起草的农业行业标准《饲料中抗球虫药物的测定 液相色谱-串联质谱法》（预审稿）进行了认真审查。专家组由樊霞、杨曙明、曲志娜、张丽英、李云、吴宁鹏、吴银良、张凤枰组成。专家组在听取起草组成员汇报的基础上，审查了标准文本及编制说明的预审稿。经审查，提出以下修改意见：

（1）建议结合农业农村部公告第246号和《中国兽药典》确定抗球虫药物的数量，并修改标准名称。

**答复 1:** 确定研究对象由 21 种抗球虫药物缩减至 15 种抗球虫药物，包括农业农村部公告第 246 号涉及的 14 种抗球虫药和《中国兽药典》涉及的 1 种抗球虫药，并已修改标准名称及相关研制内容。

(2) 建议考察适用范围中增加混合型饲料添加剂的可能性。

**答复 2:** 经实验室试验验证，可以在标准适用范围中增加混合型饲料添加剂。

(3) 建议统一方法中抗球虫药物的检出限和定量限。

**答复 3:** 已结合实际灵敏度和方法学要求，将检出限和定量限统一为 0.05 mg/kg 和 0.10 mg/kg。

(4) 按照 GB/T 1.1—2020、GB/T 20001.4—2015 的要求规范标准文本及编制说明。

**答复 4:** 已按要求将标准文本和编制说明进行修改。

与会专家一致同意标准起草单位按照上述意见修改形成公开征求意见稿，报全国饲料工业标准化技术委员会秘书处。

### 三、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

#### 3.1 标准编制原则

(1) 在编制过程中，起草单位查阅了国内外有关文献资料，参考了其他行业部门制定的类似的标准方法，如农业部 1862 号公告-4-2012《饲料中 5 种聚醚类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》、SN/T 3144-2011《出口动物源食品中抗球虫药物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》、NY/T 4360-2023《饲料中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素的测定 液相色谱-串联质谱法》等。本着严格遵循科学依据，与国际水平接轨，并且准确、实用的原则，完成了检测方法标准的研究工作，起草了标准的征求意见稿和编制说明。本标准的主要参数、公式、性能要求等主要依据为：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》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》。

(2) 制定后的方法性能够满足相关饲料标准和质量安全监管工作需要。

(3) 制定后的方法性具科学性、可靠及普遍适用，易于推广使用。

#### 3.2 主要技术内容确定的依据

与国内外相关标准的对比情况：

目前国内外关于抗球虫药的研究和标准方法主要集中在测定单一组分的标准且多为高效液相法，例如：GB/T 20196-2006《饲料中盐霉素的测定》，方法最低检出限为

1.25 mg/kg；农业部 783 号公告-5-2006《饲料中二硝托胺的测定 高效液相色谱法》中二硝托胺的定量限为 1.0 mg/kg；GB/T 22262-2008《饲料中氯羟吡啶的测定 高效液相色谱法》定量限为 1.0 mg/kg；GB/T 23873-2009《饲料中马杜霉素铵的测定》定量限为 1.0 mg/kg；GB/T 19423-2020《饲料中尼卡巴嗪的测定》含液相色谱法和液相色谱-串联质谱法，定量限分别为 1.0 mg/kg 和 0.05 mg/kg；农业部 1862 号公告-4-2012《饲料中 5 种聚醚类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》是现有的唯一的同时测定 5 种抗球虫药的方法，但 5 种抗球虫药同属于聚醚类药物，不能适用于多类抗球虫药物的检测，不能满足日常饲料安全监管需求。因此开展制定定量、定性更加准确的液相色谱串联质谱法，用于测定于不同饲料基质中多种类的抗球虫药物残留对于全面监管饲料产品质量安全和指导饲料中抗球虫药物的使用规范具有重要意义。

## 四、标准主要试验技术制定与验证

本标准的主要技术内容（包括技术要求和试验方法）说明如下：

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的一级水。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

试样的制备均按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的饲料样品，用四分法缩减取约 200 g，按照 GB/T 20195 制备样品，粉碎后过 0.425 mm 孔径的分析筛，混匀，装入磨口瓶中，备用。

### 4.1 仪器条件的确定

液相色谱-串联质谱方法的灵敏性高，定性、定量准确，故选用高效液相色谱-串联质谱法进行系列优化。

#### 4.1.1 色谱柱的选择

高效液相色谱-串联质谱相较于普通的液相色谱-串联质谱具有分离速度快、灵敏度高特点，本实验基于高效液相色谱串联质谱仪器进行方法开发，在方法研制过程中，在相同流动相和梯度洗脱条件下，对 3 种适合高效液相色谱的色谱柱 Aglient EC-C<sub>18</sub>（100 mm×3.0 mm，粒径 2.7 μm），Aglient SB-C<sub>18</sub>（50 mm×3.0 mm，粒径 2.7 μm）以及 Waters HSS-T3（100 mm×3.0 mm，粒径 1.8 μm）进行比较。经实验发现，虽然磺胺喹噁啉和地克珠利等抗球虫药物在 HSS-T3 色谱柱上响应值较高，但也出现几种药物响应值过低或无法出峰的情况，如海南霉素和二硝托胺。与 EC-C<sub>18</sub> 相比，盐霉素、甲基盐霉素等药物在 SB-C<sub>18</sub> 色谱柱上灵敏度较低（见图 1，图 2）。考虑到本标准需要同时检测 15 种目标化合物，本实验确定 EC-C<sub>18</sub> 色谱柱作为最优条件。

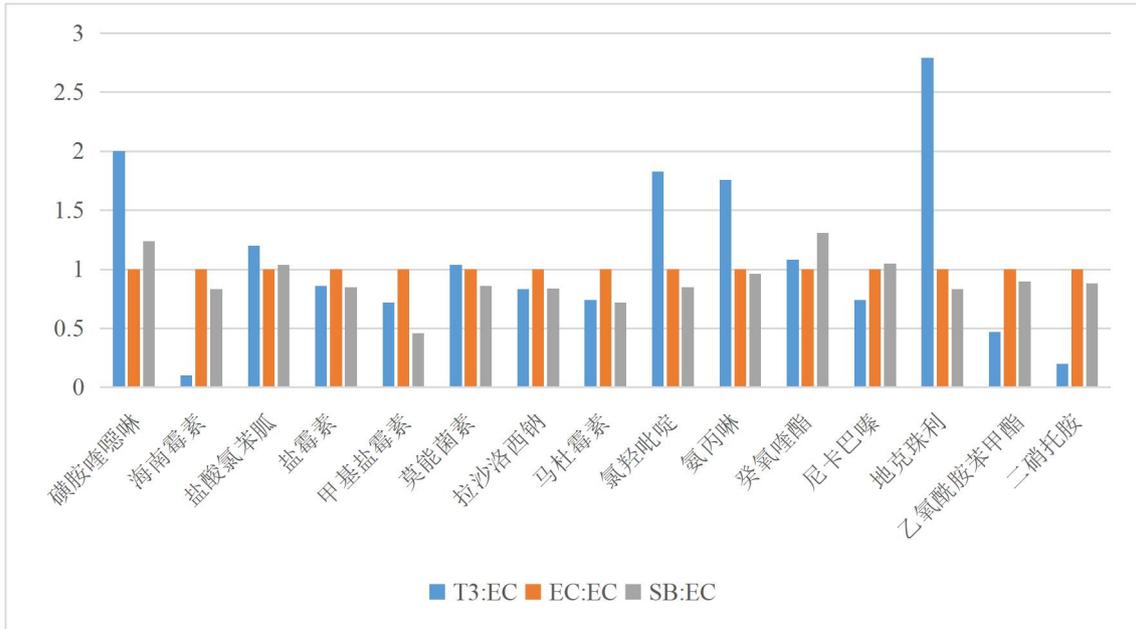
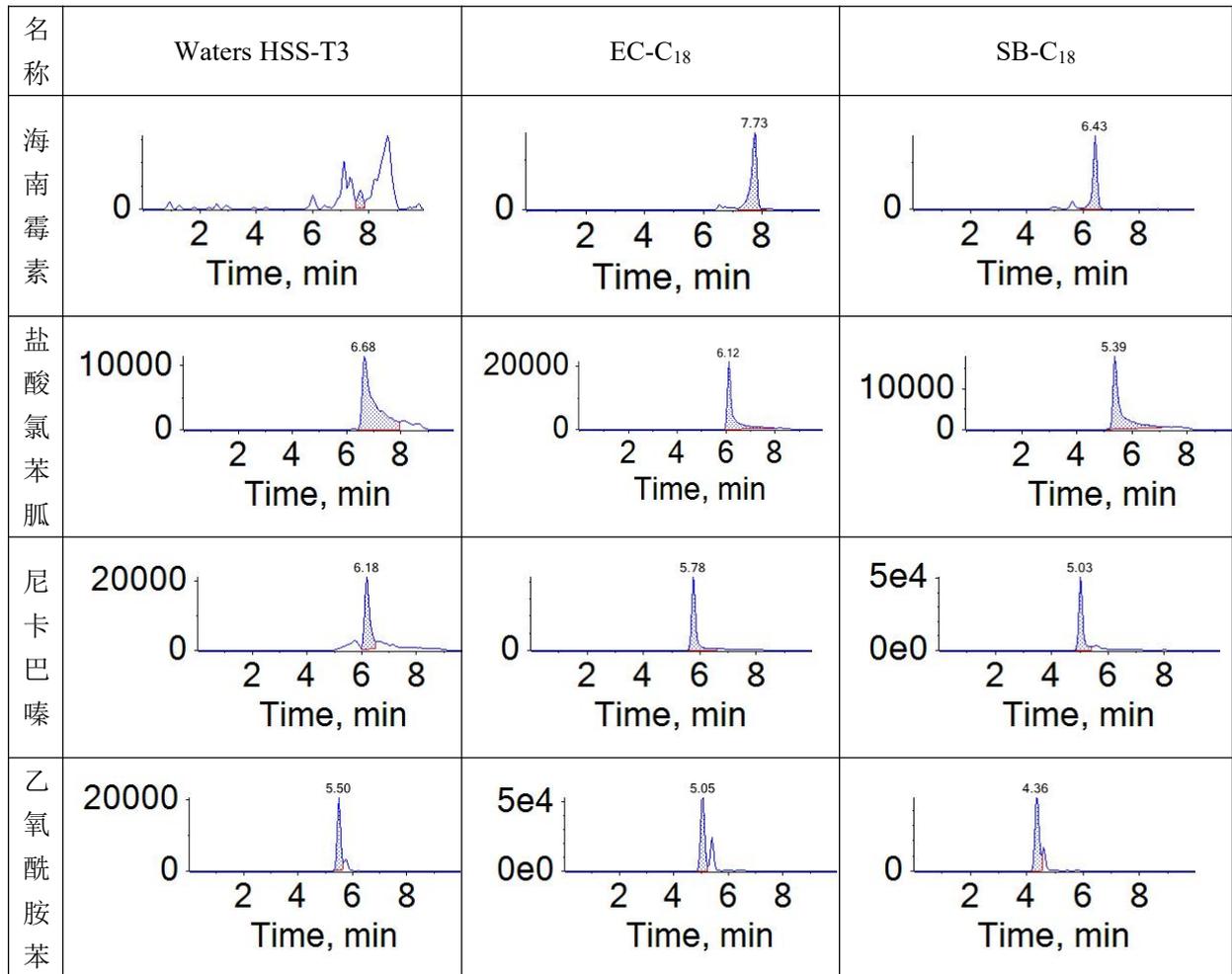


图 1 待测物在不同色谱柱分离下的相对峰面积（以与 EC-C<sub>18</sub> 色谱柱比值计，5 μg/L）



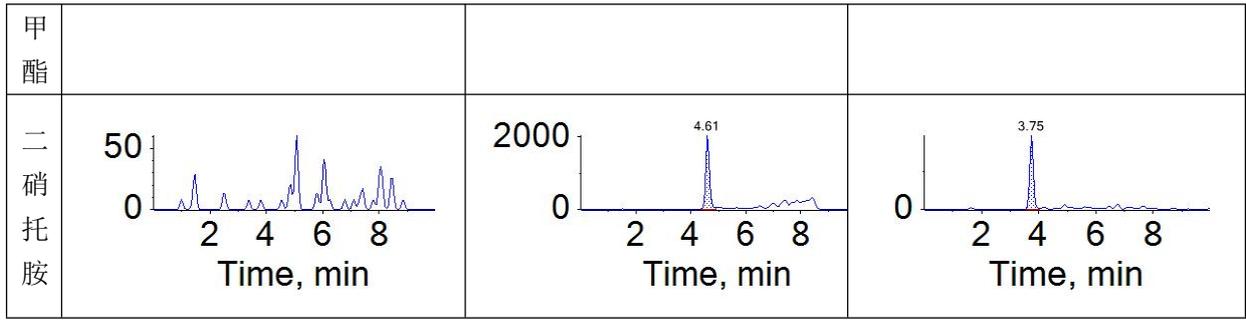


图2 不同色谱柱下抗球虫药物的MRM谱图

#### 4.1.2 流动相的确定

电喷雾质谱的离子化是在溶液状态中电离，因此流动相的组成会影响目标化合物的分离和离子化效率，从而影响到目标化合物的灵敏度。流动相选择中，本实验考察了不同流动相体系进行梯度洗脱对15种抗球虫药物的检测灵敏度和出峰情况。结果发现流动相选用乙腈和5 mmol/L 乙酸铵时，海南霉素、拉沙洛西钠和氯羟吡啶出现峰型较宽、峰拖尾且对称性较差、灵敏度下降等情况（图3），其余化合物未出现峰展宽、峰拖尾等情况。因此，实验选择有机相：甲醇和水相：5 mmol/L 乙酸铵水溶液，作为最终流动相。

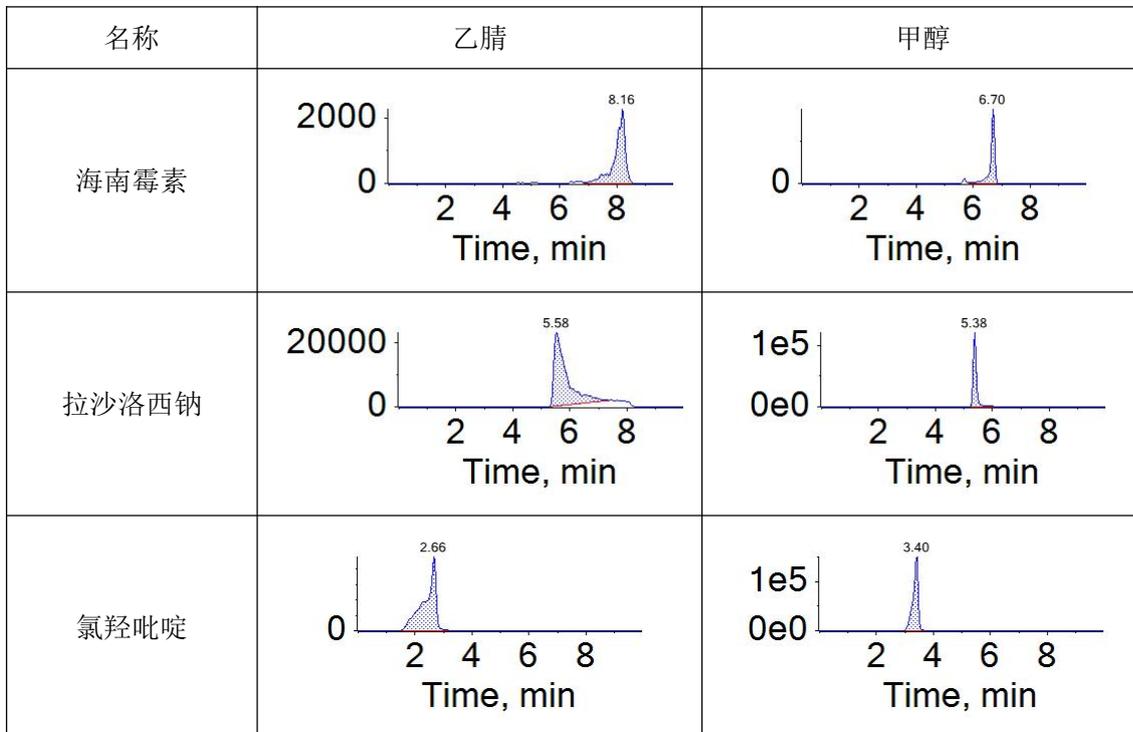


图3 不同有机相条件下抗球虫药物的MRM谱图

### 4.1.3 质谱条件的确定

监测离子对是串联质谱仪定性、定量的必要参数，因仪器型号不同而略有改变。我们在优化后的流动相条件下，将离子源参数调谐至最优。最优离子源参数为电压：4500 v(+/-)，离子源温度：350 °C，气帘气 30 psi，碰撞气 7 psi，所用所有气体均为氮气发生器生成。在全扫描采集模式下，对比正、负离子模式下 15 种抗球虫药物的响应，结果表明，11 种抗球虫药物的正离子模式灵敏度更高（其中盐霉素、甲基盐霉素、莫能菌素、马杜霉素 4 种为+NH<sub>4</sub>，其余 7 种为+H），4 种抗球虫药物在负离子模式下的灵敏度更高。因此，试验选取了电喷雾正负离子模式相结合作为电离模式。在 MS/MS 模式下，以[M+H]<sup>+</sup>离子、[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>或[M-H]<sup>-</sup>为母离子得到二级碎片离子的全扫描质谱图，选择丰度相对高和相对分子质量较大的碎片离子，在 MRM 模式下优化碰撞能量和去簇电压等，以化合物的特征碎片离子的灵敏度达到最大时的碰撞能量和去簇电压为最佳参数，最终质谱具体参数见表 3。

表 3 多反应监测离子对、去簇电压及碰撞能量的参考值

被测物名称	监测离子对 <i>m/z</i>	去簇电压 V	碰撞能量 eV	电离方式
氨丙啉	243.0>150.0*	46	15	(ESI <sup>+</sup> )
	243.0>94.0		15	
氯羟吡啶	192.0>101.0*	51	35	(ESI <sup>+</sup> )
	192.0>87.0		39	
磺胺喹噁啉	301.1>156.1*	80	24	(ESI <sup>+</sup> )
	301.1>108.0		36	
二硝托胺	224.0>181.0*	-55	-15	(ESI <sup>-</sup> )
	224.0>77.0		-30	
乙氧酰胺苯甲酯	235.8>191.8*	-86	-27	(ESI <sup>-</sup> )
	235.8>133.6		-37	
地克珠利	404.9>334.0*	-15	-30	(ESI <sup>-</sup> )
	404.9>335.0		-30	
尼卡巴嗪	301.0>136.8*	-82	-21	(ESI <sup>-</sup> )
	301.0>106.5		-42	
拉沙洛西钠	613.0>377.0*	50	48	(ESI <sup>+</sup> )
	613.0>359.0		48	
盐酸氯苯胍	334.1>155.0*	85	30	(ESI <sup>+</sup> )
	334.1>138.1		32	
癸氧喹酯	418.0>372.0*	80	25	(ESI <sup>+</sup> )
	418.0>204.0		35	
莫能菌素	688.0>635.0*	76	21	(ESI <sup>+</sup> )

	688.0>461.0		33	
盐霉素	768.4>733.3*	61	25	(ESI <sup>+</sup> )
	768.4>715.2		33	
甲基盐霉素	782.4>747.3*	106	27	(ESI <sup>+</sup> )
	782.4>729.3		31	
马杜霉素	934.4>629.3*	36	35	(ESI <sup>+</sup> )
	934.4>647.3		25	
海南霉素	907.5>845.5*	75	34	(ESI <sup>+</sup> )
	907.5>863.4		31	
*为定量离子				

## 4.2 样品前处理方法的确定

### 4.2.1 提取溶剂的选择

本实验检测的 15 种抗球虫药物性质差异较大，要确保每种目标化合物提取的稳定性，对提取剂的选择带来了一定的挑战。甲醇易萃取样品基质中的色素并引入极性杂质，也对极性较弱的聚醚类抗球虫药物提取率较低。同时，考虑到样品基质中存在一定量的脂肪，若选择极性较弱的提取剂易引入脂类弱极性杂质，综合以上考虑，本研究在选用乙腈作为主要提取剂的基础上，对比纯乙腈、0.1%甲酸-乙腈、0.5%甲酸-乙腈和 0.1%甲酸-75%乙腈水溶液的提取回收率。实验结果表明，0.1%甲酸-75%乙腈水溶液提取效率较为理想，回收率为 78%-112%（图 4）。

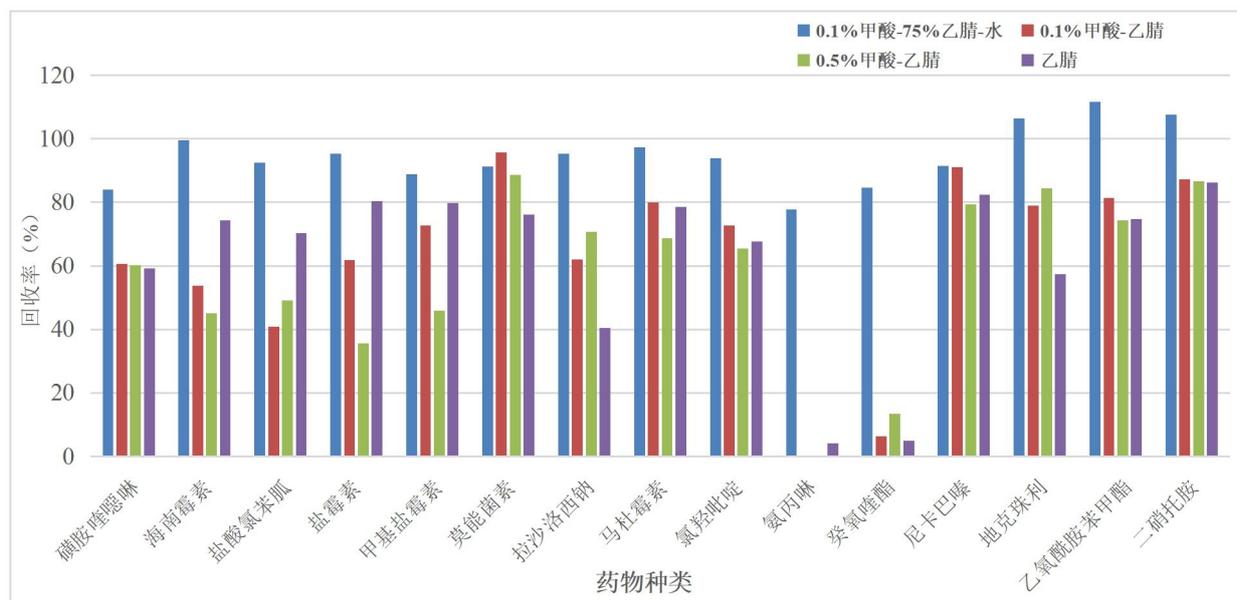


图 4 不同提取剂对目标物的提取回收率

## 4.2.2 提取液体积的选择

为了评估不同体积提取剂对目标物质提取效果的影响，我们进行了如下实验：选取了五种不同体积的提取剂，分别为 10 mL、14 mL、16 mL、20 mL，并对 10 mL 体积的提取剂进行了两次提取。各体积的提取剂的提取回收率结果如图 5 所示。结果表明，使用 10 mL 体积提取剂时，部分药物的回收率偏低，例如乙氧酰胺苯甲酯和二硝托胺的回收率仅为 63%。相较于 14 mL 和 16 mL 的提取剂，20 mL 的提取剂对乙氧酰胺苯甲酯和二硝托胺 2 种药物有更高的回收率，因此选取一次 20 mL 作为最终的提取体积（图 5）。

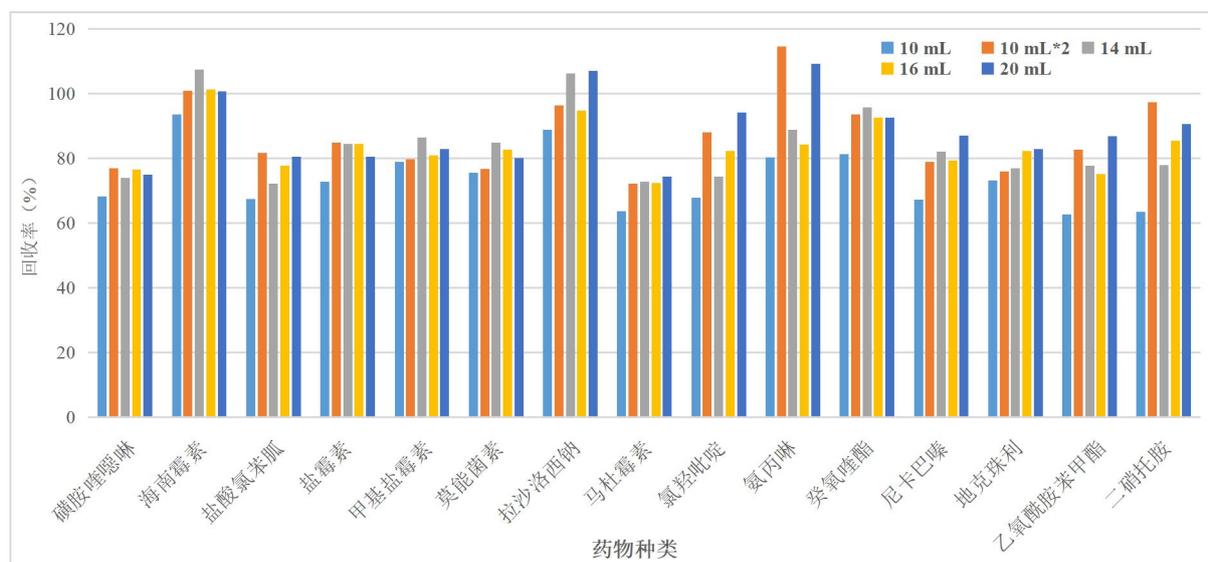


图 5 不同体积提取剂的药物回收率

## 4.2.3 净化方法的选择

基于检测工作者对快速前处理方法的广泛需求，本研究系统评估了三类净化方案的效果，包括固相萃取法（方法 1、方法 2）、QuEChERS 基质分散固相萃取法（方法 3-5），以及不进行净化（方法 6）。研究的评价指标为基质效应和添加回收率。实验中统一选择了预混料作为饲料基质。具体实验方法如下：

1. 方法 1：固相萃取小柱净化（MCX）
2. 方法 2：通过式亲水-亲脂平衡型固相萃取小柱净化（HLB, 150 mg/6 mL）

将 5 mL 上清液加载到 HLB 通过式固相萃取小柱中，收集流出液，直接通过微孔滤膜进行过滤。

3. 方法 3：PSA+C<sub>18</sub>+GCB 分散固相萃取净化

将 2 mL 样品加入含 25 mg PSA、25 mg C<sub>18</sub> 和 5 mg GCB 的离心管中，进行涡旋混合 1 分钟后离心，取上清液并通过微孔滤膜进行过滤。

#### 4. 方法 4: PSA+C<sub>18</sub>分散固相萃取净化

将 2 mL 样品加入含 50 mg PSA 和 50 mg C<sub>18</sub> 的离心管中, 进行涡旋混合 1 分钟后离心, 取上清液并通过微孔滤膜进行过滤。

#### 5. 方法 5: 正己烷去脂后 PSA+C<sub>18</sub>分散固相萃取净化

将 2 mL 上清液与 2 mL 乙腈饱和正己烷混合, 涡旋混合 30 秒后离心, 取上清液加入含 50 mg PSA 和 50 mg C<sub>18</sub> 的离心管中, 进行涡旋混合 1 分钟后离心, 取上清液并通过微孔滤膜进行过滤。

#### 6. 方法 6: 无净化 (no cleanup)

直接通过微孔滤膜进行过滤并进行分析。

实验结果显示, 采用传统的固相萃取 (MCX 小柱) 方法 (方法 1), 13 种化合物的回收率低于 60%, 无法满足分析方法的定量要求 (图 6); 我们进一步尝试了通过式固相萃取小柱 (方法 2) 和 QuEChERS 基质分散固相萃取法 (方法 3-5); 基质效应控制在±20%以内的化合物数量分别为: 方法 2 中为 7 种, 方法 3 为 5 种, 方法 4 为 4 种, 方法 5 为 4 种, 方法 6 为 4 种 (见图 7)。但对比回收率发现, HLB 通过式小柱对海南霉素的回收率低于 60% (图 8)。因此后续对不同规格的 HLB 通过式小柱 (60 mg/3 mL 和 150 mg/6 mL) 进一步对比, 60 mg/3 mL 能保证海南霉素的回收率高于 60% (图 9), 且 60 mg/3 mL 与 150 mg/6 mL 的净化效果相似 (图 10)。而乙腈 1: 1 稀释法虽然可以保证化合物的回收效率与未净化一致, 但不利于低灵敏度的化合物达到更低要求的检出限, 且基质效应太强。综合考虑, 本次实验采用 60 mg/3 mL HLB 通过式小柱的净化方式。

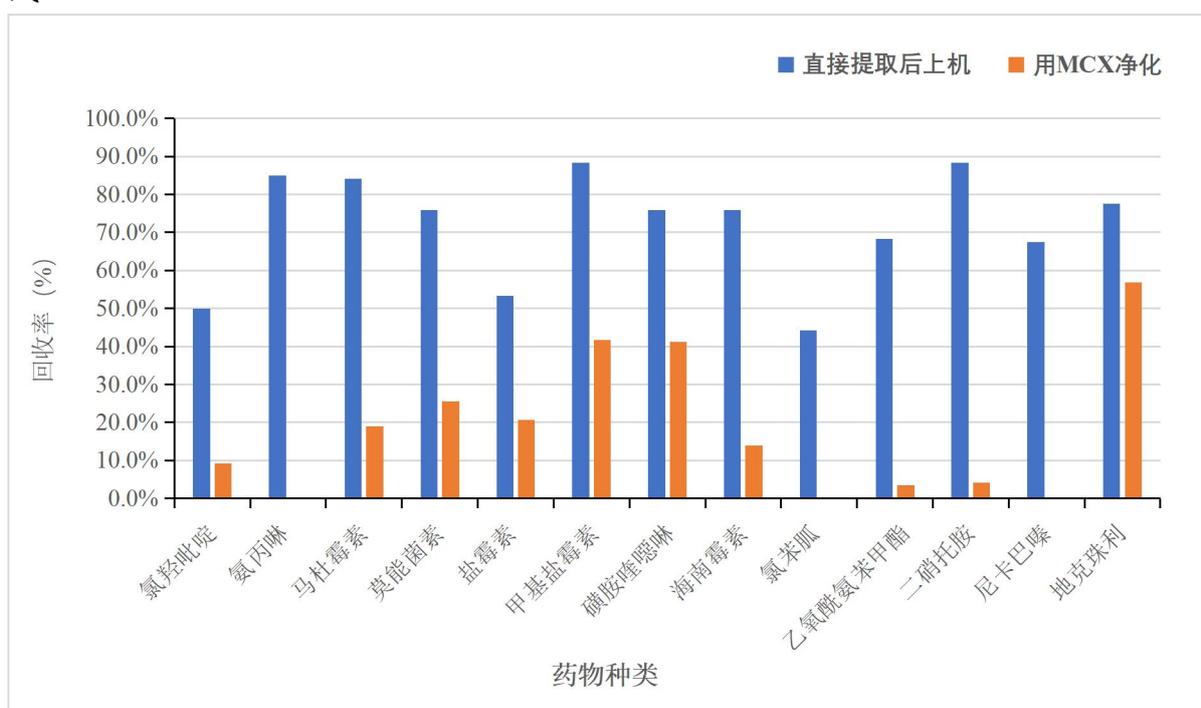


图 6 MCX 小柱净化后回收率低于 60% 的 13 种药物

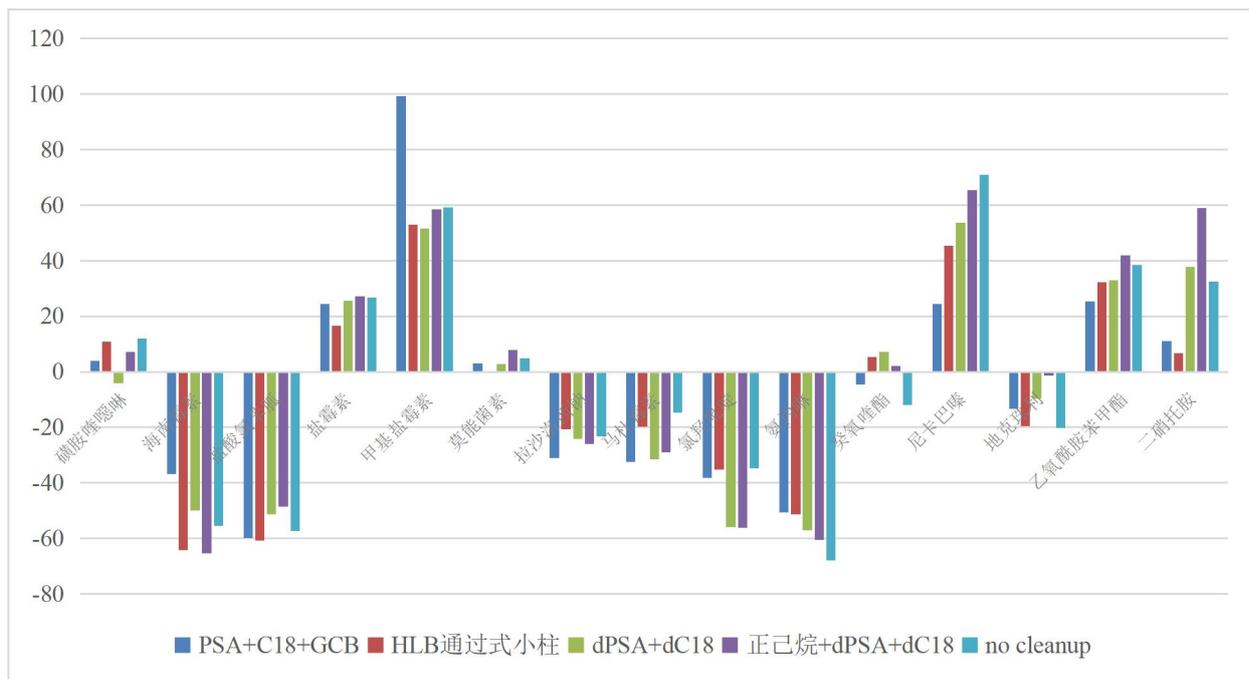


图 7 不同净化方法的基质效应

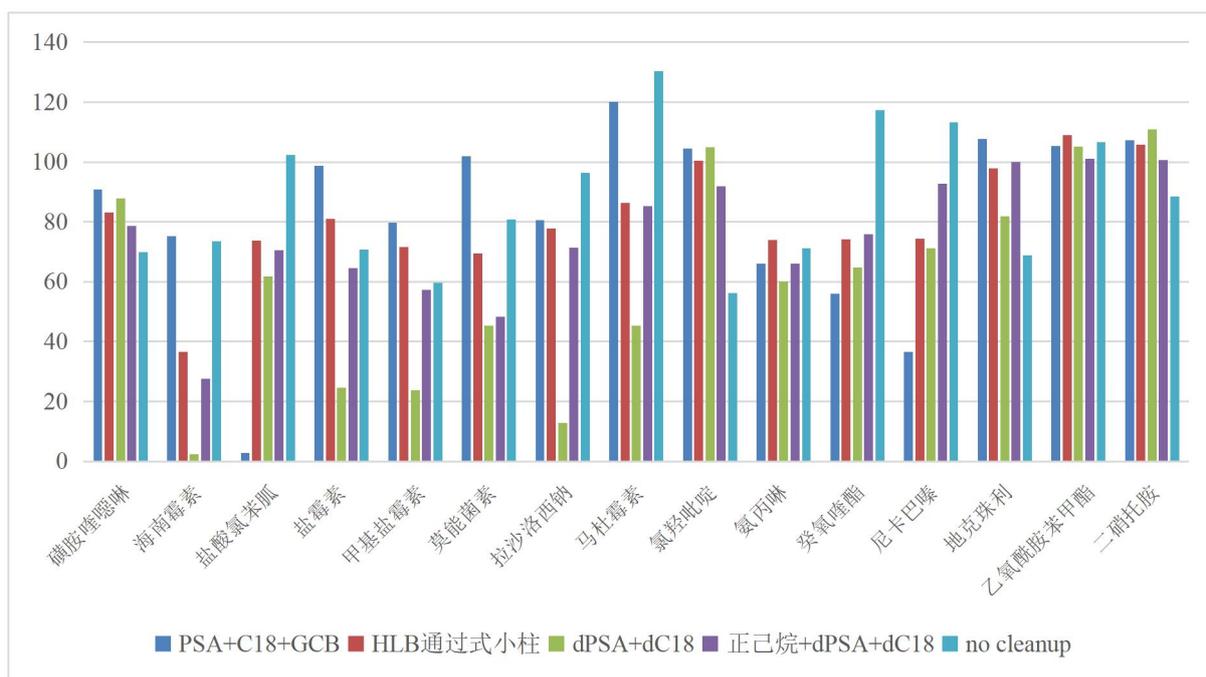


图 8 不同净化方法的回收率（添加浓度：0.5 mg/kg）

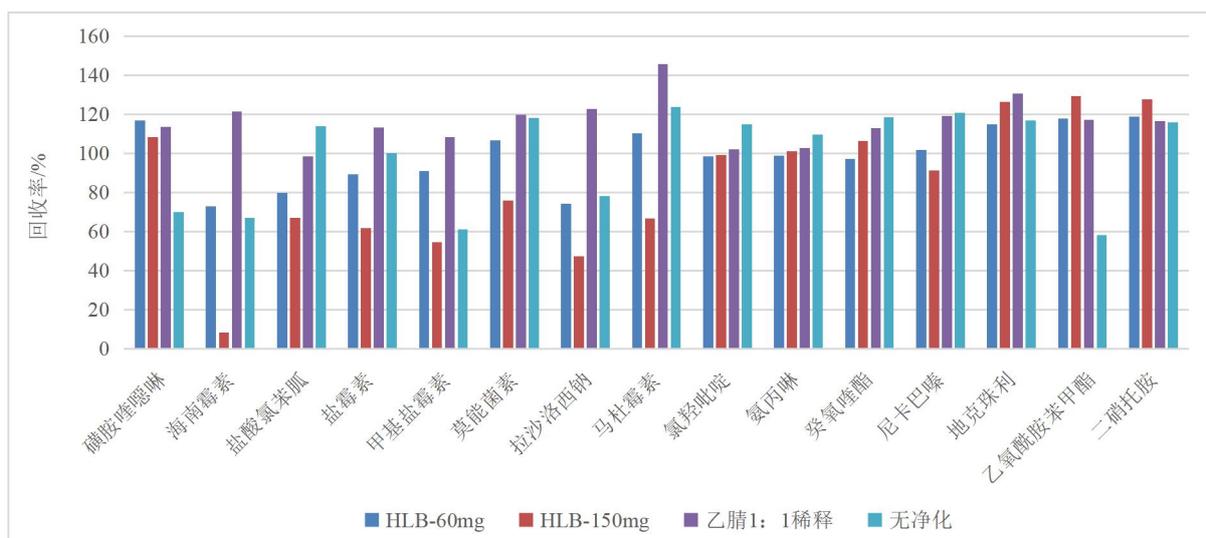


图9 60 mg/3 mL 与 150 mg/6 mLHLB 小柱回收率对比（添加浓度 0.5 mg/kg）



图10 不同净化方法基质效应对比

#### 4.2.4 不同品牌固相萃取小柱的比较

比较了不同厂家（waters: HLB; 安谱: CNW）固相萃取小柱对目标物的净化效果，实验结果显示，两种品牌的固相萃取小柱在保证相似的净化效果下，对目标物均有较好的回收效果（图 11），进一步验证了该方法的普遍适用性。

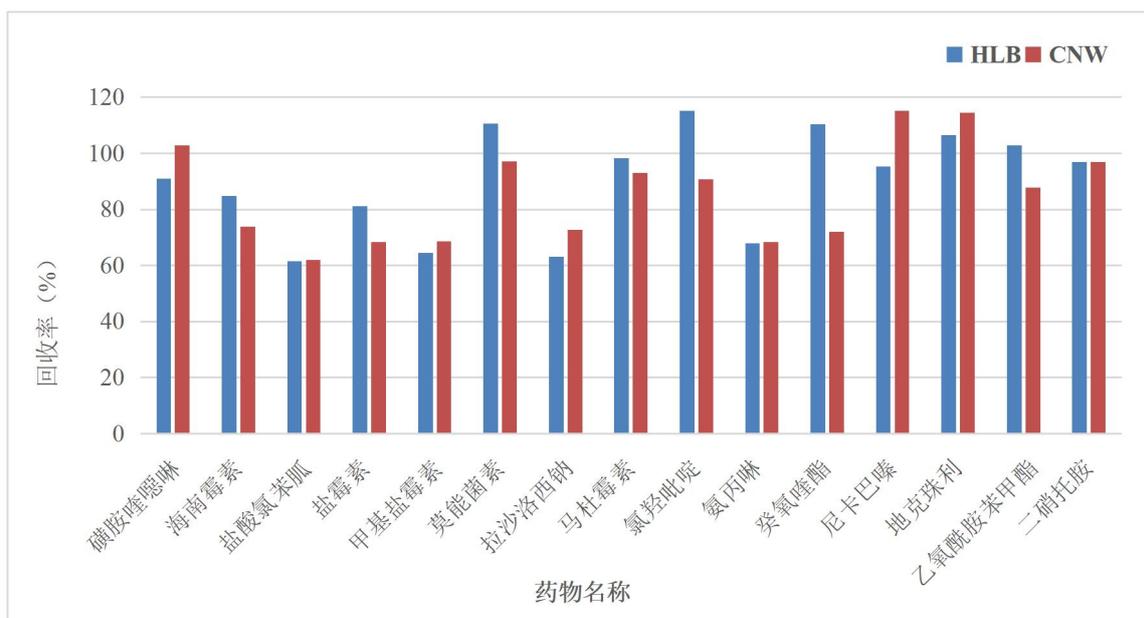


图 11 目标物经 HLB、CNW 小柱净化后的回收率

## 4.2.5 实验步骤的确定

### 4.2.5.1 样品

按 GB/T 20195 的规定制备试样，至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛，充分混匀，装入密闭容器中，备用。选取与待测样品类型相同，均匀一致，且在待测物保留时间处仪器响应值小于方法定量限 30% 的饲料样品，作为基质空白样品。

### 4.2.5.2 提取

平行做 2 份试验。称取试样 2 g（精确至 0.01 g），置于 50 mL 离心管中，准确加入 20 mL 甲酸-乙腈溶液，涡旋 10 min，超声提取 10 min，5000 r/min 离心 5 min，移取上清液，备用。

### 4.2.5.3 净化

取固相萃取小柱，准确移取 3.0 mL 备用液过柱，保持过柱流速 1~2 mL/min，收集流出液，加水 1:1 稀释，过 0.22 μm 微孔滤膜（5.12），待测。

## 4.2.6 标准储备溶液稳定性试验

取 15 种抗球虫药物标准储备液适量，分别在配制标准储备溶液的 0 天，6 个月，12 个月配制 15 种抗球虫药物混合标准中间溶液，再稀释至 50 μg/L 的工作液，在仪器调试至最佳状态后供液相串联质谱仪测定，测得 0 天，6 个月，12 个月峰面积的比值偏差在 25% 以内，结果见图 12。

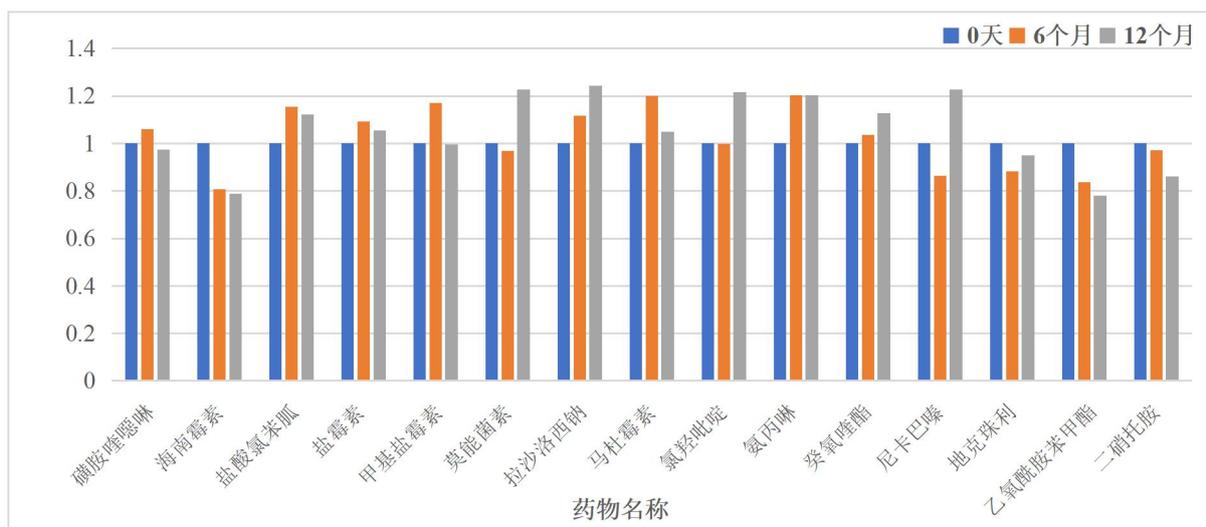


图 12 不同天数标准储备液的峰面积变化 (以不同储藏天数/0 天时的峰面积比值计)

#### 4.2.7 标准中间溶液稳定性试验

分别在配制标准中间溶液的 0 天, 1 个月, 3 个月, 6 个月取 15 种抗球虫药物的混合标准中间溶液稀释至 50  $\mu\text{g/L}$ , 在仪器调试至最佳状态后供液相串联质谱仪测定, 测得 0-3 个月峰面积的比值偏差在 25% 以内, 结果见图 13。

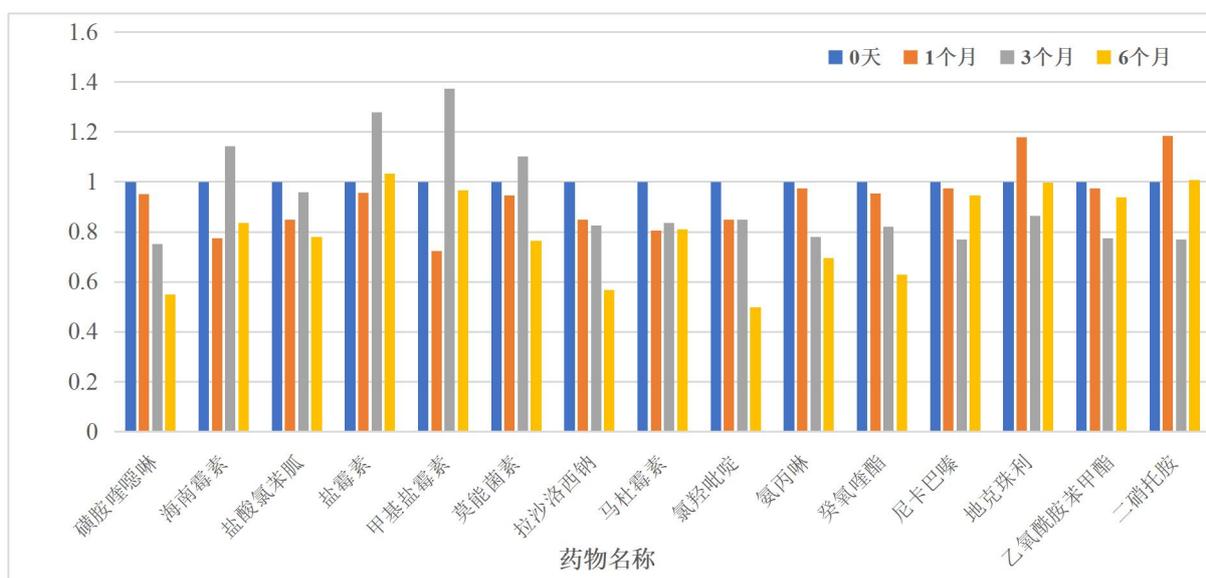


图 13 不同天数标准中间液的峰面积变化 (以不同储藏天数/0 天时的峰面积比值计)

### 4.3 方法技术指标的论证

#### 4.3.1 线性范围

本方法可采用基质匹配标准品多点定量。标准曲线的配置: 取基质空白试样, 按标准文本中“8.1”和“8.2”处理得到空白基质溶液。准确移取混合标准系列工作溶液各

100  $\mu$ L 分别置于 1.5 mL 进样瓶，用氮气吹干，准确加入 1 mL 空白基质溶液，混匀，配制浓度为 2 ng/L、5 ng/L、20 ng/L、50 ng/L、100 ng/L、200 ng/L、500 ng/L 的基质匹配标准系列溶液，待测。线性实验结果见表 4-表 8。如超过线性范围，应将试样和基质空白样品净化得到的溶液用混合提取溶液作同比例稀释后，从标准文本“8.3”步骤重新测定。单点校准定量时，试样溶液中待测物的峰面积与基质匹配标准溶液的峰面积相差不超过 30%，15 种抗球虫药物在配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中的基质匹配标准曲线线性实验结果见表 4-8。

表 4 15 种抗球虫药物基质匹配标准曲线线性实验结果（浓缩饲料）

化合物	回归方程	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 mg/L
磺胺喹噁啉	$y = 6.46231e^6x + 7.50718e^4$	0.9986	0.002-0.5
海南霉素	$y = 2.75941e^5x + 242.51560$	0.9917	0.002-0.5
盐酸氯苯胍	$y = 1.01009e^7x + 13983.88413$	0.9916	0.002-0.5
盐霉素	$y = 1.22463e^6x - 719.21637$	0.9908	0.002-0.5
甲基盐霉素	$y = 4.05988e^6x + 2648.01476$	0.9991	0.002-0.5
莫能菌素	$y = 1.91636e^6x + 9278.28706$	0.9982	0.002-0.5
拉沙洛西钠	$y = 2.14670e^7x + 23863.49676$	0.9967	0.002-0.5
马杜霉素	$y = 1.17647e^6x + 1922.73271$	0.9951	0.002-0.5
氯羟吡啶	$y = 2.84817e^7x + 18733.26481$	0.9998	0.002-0.5
氨丙啉	$y = 1.67615e^7x + 16130.20534$	0.9984	0.002-0.5
癸氧喹酯	$y = 1.93944e^8x + 2.42483e^5$	0.9953	0.002-0.5
尼卡巴嗪	$y = 1.55996e^8x + 2.19626e^5$	0.9906	0.002-0.5
地克珠利	$y = 7.80706e^6x + 9512.09779$	0.9974	0.002-0.5
乙氧酰胺苯甲酯	$y = 9.89140e^6x + 4.16148e^4$	0.9988	0.002-0.5
二硝托胺	$y = 3.47941e^6x + 12640.06478$	0.9997	0.002-0.5

表 5 15 种抗球虫药物基质匹配标准曲线线性实验结果（配合饲料）

化合物	回归方程	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 mg/L
磺胺喹噁啉	$y = 1.52430e^7x + 10888.23235$	0.9993	0.002-0.5
海南霉素	$y = 8.74132e^6x + 14443.53306$	0.9954	0.002-0.5

盐酸氯苯胍	$y = 2.02638e^7 x + 5160.04137$	0.9993	0.002-0.5
盐霉素	$y = 5.68937e^7 x - 7897.45958$	0.9990	0.002-0.5
甲基盐霉素	$y = 4.63445e^7 x + 24257.63729$	0.9976	0.002-0.5
莫能菌素	$y = 3.22135e^6 x + 1078.32596$	0.9994	0.002-0.5
拉沙洛西钠	$y = 5.34656e^6 x + 7534.15062$	0.9988	0.002-0.5
马杜霉素	$y = 8.45129e^6 x + 13257.87857$	0.9973	0.002-0.5
氯羟吡啶	$y = 2.47290e^7 x + 18883.74063$	0.9993	0.002-0.5
氨丙啉	$y = 7.81082e^7 x + 3.49255e^4$	0.9996	0.002-0.5
癸氧喹酯	$y = 3.53330e^7 x + 4.01843e^4$	0.9972	0.002-0.5
尼卡巴嗪	$y = 1.15683e^8 x + 1.50721e^5$	0.9965	0.002-0.5
地克珠利	$y = 1.74285e^7 x + 12104.09182$	0.9973	0.002-0.5
乙氧酰胺苯甲酯	$y = 4.76813e^7 x + 9682.23388$	0.9999	0.002-0.5
二硝托胺	$y = 9.51847e^6 x + 10186.13006$	0.9989	0.002-0.5

表 6 15 种抗球虫药物基质匹配标准曲线线性实验结果（添加剂预混合饲料）

化合物	回归方程	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 mg/L
磺胺喹噁啉	$y = 2.59933e^7 x + 20142.44986$	0.9997	0.002-0.5
海南霉素	$y = 2.47469e^5 x - 154.71489$	0.9952	0.002-0.5
盐酸氯苯胍	$y = 3.79605e^7 x + 3.75949e^4$	0.9960	0.002-0.5
盐霉素	$y = 1.78286e^7 x + 14247.09100$	0.9927	0.002-0.5
甲基盐霉素	$y = 9.41493e^6 x + 4682.74439$	0.9987	0.002-0.5
莫能菌素	$y = 4.01485e^6 x + 3748.35033$	0.9974	0.002-0.5
拉沙洛西钠	$y = 3.69369e^7 x + 4.32163e^4$	0.9944	0.002-0.5
马杜霉素	$y = 1.10218e^6 x + 1893.09094$	0.9902	0.002-0.5
氯羟吡啶	$y = 5.45304e^7 x + 5760.88093$	0.9986	0.002-0.5
氨丙啉	$y = 7.58502e^7 x + 1.29720e^5$	0.9901	0.002-0.5
癸氧喹酯	$y = 3.12753e^8 x + 7.35732e^5$	0.9907	0.002-0.5
尼卡巴嗪	$y = 1.22685e^8 x + 1.82205e^5$	0.9934	0.002-0.5

地克珠利	$y = 9.45288e^6 x + 3191.81064$	0.9980	0.002-0.5
乙氧酰胺苯甲酯	$y = 2.23626e^7 x + 19130.11492$	0.9983	0.002-0.5
二硝托胺	$y = 7.39476e^6 x + 5910.34634$	0.9979	0.002-0.5

表 7 15 种抗球虫药物基质匹配标准曲线线性实验结果（精料补充料）

化合物	回归方程	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 mg/L
磺胺喹噁啉	$y = 1.30280e^7 x + 5.52788e4$	0.9997	0.002-0.5
海南霉素	$y = 3.30858e^6 x + 341.75818$	0.9910	0.002-0.5
盐酸氯苯胍	$y = 2.40933e^7 x + 6852.93756$	0.9999	0.002-0.5
盐霉素	$y = 1.61035e^7 x + 10957.90616$	0.9993	0.002-0.5
甲基盐霉素	$y = 1.24339e^7 x + 23577.70160$	0.9947	0.002-0.5
莫能菌素	$y = 4.53159e^6 x + 3871.30416$	0.9990	0.002-0.5
拉沙洛西钠	$y = 3.28207e^7 x + 3.18834e4$	0.9935	0.002-0.5
马杜霉素	$y = 1.66684e^6 x + 1077.27357$	0.9965	0.002-0.5
氯羟吡啶	$y = 1.79399e^7 x + 10817.87058$	0.9995	0.002-0.5
氨丙啉	$y = 3.11763e^7 x + 5.69435e^4$	0.9903	0.002-0.5
癸氧喹酯	$y = 2.50277e^8 x + 3.36951e^4$	0.9971	0.002-0.5
尼卡巴嗪	$y = 1.00399e^8 x + 6.79847e^4$	0.9993	0.002-0.5
地克珠利	$y = 7.03160e^6 x + 9553.21690$	0.9955	0.002-0.5
乙氧酰胺苯甲酯	$y = 8.03199e^6 x + 7010.64363$	0.9998	0.002-0.5
二硝托胺	$y = 2.20867e^6 x + 7094.20530$	0.9994	0.002-0.5

表 8 15 种抗球虫药物基质匹配标准曲线线性实验结果（混合型饲料添加剂）

化合物	回归方程	相关系数 (R <sup>2</sup> )	线性范围 mg/L
磺胺喹噁啉	$y = 6.16793e^5 x + 48.81075$	0.9974	0.002-0.5
海南霉素	$y = 5.72006e^6 x + 17797.35859$	0.9919	0.002-0.5
盐酸氯苯胍	$y = 1.40829e^7 x + 1861.75576$	0.9971	0.002-0.5
盐霉素	$y = 2.34481e^7 x + 20367.39217$	0.9920	0.002-0.5

甲基盐霉素	$y = 1.52027e^7 x + 25798.43697$	0.9951	0.002-0.5
莫能菌素	$y = 7.61934e^6 x + 3855.61750$	0.9984	0.002-0.5
拉沙洛西钠	$y = 1.64007e^6 x + 3224.48391$	0.9931	0.002-0.5
马杜霉素	$y = 9.38859e^6 x + 9662.73168$	0.9976	0.002-0.5
氯羟吡啶	$y = 1.00676e^6 x + 517.91724$	0.9970	0.002-0.5
氨丙啉	$y = 2.93291e^6 x - 1543.20665$	0.9909	0.002-0.5
癸氧喹酯	$y = 1.25704e^7 x + 4547.64406$	0.9990	0.002-0.5
尼卡巴嗪	$y = 4.04044e^7 x + 2.21587e5$	0.9904	0.002-0.5
地克珠利	$y = 5.59265e^6 x - 12975.48255$	0.9998	0.002-0.5
乙氧酰胺苯甲酯	$y = 1.00602e^7 x - 5268.33385$	0.9999	0.002-0.5
二硝托胺	$y = 1.36863e^6 x + 22616.31292$	0.9959	0.002-0.5

### 4.3.2 方法准确度和精密度

在确定样品预处理方法后，选择配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂做为测试对象，添加 15 种抗球虫药物进行加标回收率实验，考察方法的准确度和精密度。本方法测检出限 0.05 mg/kg，定量限为 0.10 mg/kg，我们计划开展 0.10 mg/kg、0.20 mg/kg、1.0 mg/kg 和 10 mg/kg 4 个水平的添加回收试验。每批次内同一浓度做 6 次平行实验，共重复 3 批次。

实验结果表明，不同饲料中 15 种各浓度抗球虫药物的批内回收率在 60.0%~120.0% 之间，批内 RSD 在 1.2%~9.9% 之间（表 9-13）；批间回收率在 75.7%~106.8% 之间，批间 RSD 在 3.8~12.9% 之间（表 14）。结果均符合 GB/T 23182-2008 《饲料中兽药及其他化学物检测试验规程》相应要求。说明该方法测定 15 种抗球虫药物具有较好的准确度和精密度，方法稳定性良好。

表 9 浓缩饲料中 15 种抗球虫药物的批内加标回收率和精密度

组分	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)						平均回收 率 (%)	批内 RSD(%)
		1	2	3	4	5	6		
磺胺喹噁啉	0.1	85.3	100.0	89.4	101.3	108.4	96.5	96.8	8.7
	0.2	96.9	95.2	91.8	104.6	99.2	95.9	97.3	4.4
	1	104.5	93.5	96.0	87.7	95.2	103.6	96.8	6.6
	10	84.4	80.5	94.0	94.9	96.8	96.8	91.2	7.7
海南霉素	0.1	88.1	91.9	81.8	78.2	79.8	85.3	84.2	6.2
	0.2	95.6	118.0	110.7	118.7	110.8	100.5	109.1	8.5

	1	108.2	116.6	116.8	119.5	104.1	102.8	111.3	6.5
	10	68.4	70.8	72.4	79.6	80.5	82.1	75.6	7.6
	0.1	109.7	97.3	105.4	116.5	96.2	109.8	105.8	7.4
盐酸氯苯胍	0.2	101.4	98.5	106.6	103.1	98.4	96.3	100.7	3.7
	1	98.1	94.0	92.0	89.1	91.1	95.0	93.2	3.4
	10	93.0	79.6	79.6	99.7	89.2	84.4	87.6	9.1
	0.1	91.7	91.7	83.1	80.5	76.1	78.3	83.6	8.0
盐霉素	0.2	75.6	89.0	74.8	85.6	88.3	93.6	84.5	9.0
	1	83.4	77.1	91.1	79.8	91.3	81.1	84.0	7.1
	10	66.8	74.0	70.0	71.6	65.2	64.4	68.7	5.5
	0.1	86.1	75.6	72.7	70.8	73.5	75.3	75.7	7.1
甲基盐霉素	0.2	74.5	81.4	82.9	92.6	76.8	81.3	81.6	7.7
	1	89.0	86.5	89.9	94.2	83.5	103.7	91.1	7.8
	10	84.5	80.5	74.0	78.8	84.5	78.0	80.1	5.1
	0.1	84.0	82.4	72.7	76.6	71.5	73.5	76.8	6.9
莫能菌素	0.2	88.5	75.1	75.5	93.7	78.8	77.9	81.6	9.4
	1	99.8	84.3	84.5	92.8	102.4	83.1	91.2	9.3
	10	85.3	89.2	80.5	96.8	78.6	77.7	84.7	8.7
	0.1	104.8	100.0	100.2	85.7	81.8	98.7	95.2	9.7
拉沙洛西钠	0.2	112.9	119.2	112.8	115.1	119.9	114.8	115.8	2.7
	1	95.6	88.2	84.0	102.5	88.8	85.2	90.7	7.8
	10	72.4	72.4	67.6	82.1	70.0	74.0	73.1	6.8
	0.1	72.6	75.5	76.9	73.0	84.0	74.9	76.2	5.5
马杜霉素	0.2	97.0	114.6	100.8	94.3	95.4	114.4	102.8	9.1
	1	89.1	92.8	94.4	83.5	99.7	93.6	92.2	5.9
	10	81.5	94.9	85.3	85.3	79.6	94.0	86.8	7.3
	0.1	76.8	75.3	75.4	71.9	83.1	83.4	77.7	6.0
氯羟吡啶	0.2	76.9	85.3	92.6	88.8	86.6	85.6	86.0	6.0
	1	81.3	79.8	79.6	78.6	78.0	86.5	80.6	3.8
	10	86.3	89.2	90.1	83.4	90.1	92.0	88.5	3.5
	0.1	66.0	67.0	65.0	60.7	65.7	68.1	65.4	3.9
氨丙啉	0.2	63.1	65.7	65.3	61.7	65.0	68.2	64.8	3.5
	1	70.1	68.0	66.9	65.4	67.2	70.7	68.1	3.0
	10	100.7	89.2	85.3	82.5	84.4	87.2	88.2	7.4
	0.1	103.2	94.9	100.8	84.5	91.6	87.9	93.8	7.8
癸氧喹酯	0.2	115.2	113.9	108.7	113.8	111.5	115.7	113.1	2.3
	1	104.9	88.3	91.9	100.0	98.8	83.2	94.5	8.6
	10	70.8	76.0	67.6	77.2	74.8	78.8	74.2	5.7
	0.1	94.5	96.9	95.7	87.4	93.5	92.3	93.4	3.6
尼卡巴嗪	0.2	116.7	108.1	112.1	108.9	112.8	113.1	112.0	2.8
	1	92.8	85.7	95.3	106.7	103.0	99.7	97.2	7.8

	10	81.5	82.5	98.8	79.6	86.3	98.8	87.9	9.9
	0.1	93.1	75.7	75.7	73.0	78.2	80.1	79.3	9.1
地克珠利	0.2	96.2	82.3	86.1	82.8	86.0	80.1	85.6	6.6
	1	85.8	76.9	75.9	76.9	90.3	85.2	81.8	7.4
	10	96.8	82.5	85.3	82.5	96.8	90.1	89.0	7.5
乙氧酰胺苯甲酯	0.1	89.9	94.6	80.5	104.6	86.8	100.8	92.9	9.7
	0.2	91.4	90.6	90.6	95.1	95.1	84.4	91.2	4.3
	1	88.2	86.6	78.2	79.2	89.7	87.4	84.9	5.8
	10	92.0	89.2	97.8	80.5	90.1	88.2	89.6	6.3
二硝托胺	0.1	79.6	83.6	91.2	93.1	88.8	80.9	86.2	6.5
	0.2	93.1	92.0	103.8	81.7	100.9	99.1	95.1	8.4
	1	82.0	85.7	85.1	80.0	86.4	92.3	85.3	5.0
	10	84.4	83.4	80.5	80.5	80.5	94.9	84.0	6.6

表 10 配合饲料中 15 种抗球虫药物的批内加标回收率和精密度

组分	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)						平均回收 率 (%)	批内 RSD(%)
		1	2	3	4	5	6		
磺胺喹噁啉	0.1	87.1	89.9	78.7	77.8	87.5	97.9	86.5	8.6
	0.2	92.0	92.8	97.6	96.6	93.7	90.1	93.8	3.0
	1	93.4	89.7	91.0	97.8	95.5	95.0	93.7	3.2
	10	94.0	91.1	78.6	91.1	83.4	81.5	86.6	7.2
海南霉素	0.1	95.3	94.1	84.3	88.5	80.2	75.0	86.2	9.2
	0.2	76.8	72.3	67.9	68.3	74.6	72.3	72.0	4.8
	1	74.4	72.8	71.6	68.8	63.1	76.4	71.2	6.6
	10	67.6	79.6	66.0	66.0	68.4	72.4	70.0	7.5
盐酸氯苯胍	0.1	78.7	85.7	93.7	91.3	91.8	87.0	88.0	6.2
	0.2	90.1	84.9	95.0	81.9	91.5	82.8	87.7	6.0
	1	76.8	75.6	81.0	85.1	93.0	89.4	83.5	8.3
	10	73.2	78.0	68.4	84.5	70.0	79.6	75.6	8.2
盐霉素	0.1	89.2	95.1	108.5	89.6	107.7	104.3	99.1	9.0
	0.2	102.1	97.4	94.3	95.4	109.7	98.7	99.6	5.7
	1	113.8	91.0	90.3	104.8	90.9	99.8	98.4	9.7
	10	69.2	77.2	66.0	82.9	74.0	82.1	75.2	9.1
甲基盐霉素	0.1	88.4	92.8	75.2	72.5	87.7	79.3	82.7	9.8
	0.2	83.1	98.3	84.4	102.0	81.5	89.1	89.7	9.5
	1	92.4	94.8	104.1	91.6	93.0	93.0	94.8	4.9
	10	77.2	72.4	74.0	65.2	64.4	67.6	70.1	7.4
莫能菌素	0.1	85.3	100.8	86.8	92.5	103.4	102.8	95.3	8.6
	0.2	102.6	96.6	96.6	97.3	91.3	101.8	97.7	4.2
	1	95.3	94.5	100.4	97.0	95.9	95.0	96.4	2.2

	10	82.9	64.4	73.2	82.9	74.8	80.5	76.5	9.4
	0.1	76.3	62.6	79.0	77.5	69.5	65.3	71.7	9.6
拉沙洛西钠	0.2	83.0	67.4	76.2	64.1	68.7	76.7	72.7	9.8
	1	82.0	73.9	84.3	76.8	92.6	92.6	83.7	9.3
	10	70.0	67.6	82.1	81.3	74.0	74.8	75.0	7.8
	0.1	78.2	94.7	86.4	96.0	103.6	94.4	92.2	9.5
马杜霉素	0.2	112.6	118.0	105.0	117.1	116.3	111.2	113.4	4.3
	1	112.2	119.7	111.3	117.7	113.4	110.2	114.1	3.3
	10	71.0	65.0	67.0	72.3	63.3	62.1	66.8	6.2
	0.1	76.2	82.9	89.7	81.1	82.1	87.1	83.2	5.7
氯羟吡啶	0.2	89.4	90.6	89.6	84.3	82.0	88.1	87.3	3.9
	1	86.6	85.7	85.7	83.5	92.2	88.2	87.0	3.4
	10	87.2	92.0	76.7	89.2	95.9	80.5	86.9	8.3
	0.1	96.3	98.5	95.6	92.6	87.8	91.2	93.7	4.2
氨丙啉	0.2	106.6	103.2	100.5	92.4	88.3	99.4	98.4	6.9
	1	96.2	89.6	95.1	90.8	91.4	95.4	93.1	3.0
	10	91.1	81.5	89.2	95.9	95.9	94.0	91.3	6.0
	0.1	74.6	75.9	73.6	69.8	73.3	79.1	74.4	4.1
癸氧喹酯	0.2	108.6	101.5	97.4	91.9	88.6	88.8	96.1	8.2
	1	78.0	91.7	101.1	94.2	93.7	94.6	92.2	8.3
	10	71.6	73.2	64.4	68.4	68.4	73.2	69.9	4.9
	0.1	105.3	101.0	82.9	93.5	103.2	108.8	99.1	9.5
尼卡巴嗪	0.2	117.1	104.4	108.9	110.6	107.2	115.0	110.5	4.3
	1	104.4	104.7	103.2	110.9	112.0	104.1	106.6	3.6
	10	97.7	100.7	88.2	100.7	80.5	96.8	94.1	8.6
	0.1	87.4	89.9	81.3	102.6	84.5	90.9	89.4	8.2
地克珠利	0.2	107.5	103.9	95.0	105.2	112.3	98.4	103.7	6.0
	1	99.2	90.4	105.4	99.9	115.5	91.1	100.3	9.4
	10	86.3	97.8	88.2	78.6	79.6	80.7	85.2	8.5
	0.1	98.3	97.8	103.7	108.2	109.4	114.8	105.4	6.3
乙氧酰胺苯甲酯	0.2	114.7	108.3	108.5	99.3	98.8	104.0	105.6	5.8
	1	107.7	107.1	114.7	106.5	107.8	109.8	108.9	2.8
	10	80.5	92.0	96.8	97.8	98.8	89.2	92.5	7.5
	0.1	97.1	88.6	101.4	87.1	106.5	110.5	98.5	9.6
二硝托胺	0.2	116.3	116.2	115.8	108.4	112.1	114.8	113.9	2.7
	1	106.3	103.2	110.8	105.1	115.3	112.9	108.9	4.4
	10	80.5	93.0	94.0	78.6	93.0	81.5	86.8	8.4

表 11 添加剂预混合饲料中 15 种抗球虫药物的批内加标回收率和精密度

组分	添加水平	回收率 (%)			平均回收	批内
----	------	---------	--	--	------	----

	(mg/kg)	1	2	3	4	5	6	率 (%)	RSD(%)
磺胺喹噁啉	0.1	73.6	87.6	90.1	96.3	93.2	94.8	89.3	9.3
	0.2	96.8	96.8	95.3	80.5	79.6	96.8	91.0	9.3
	1	100.7	97.8	98.8	79.6	94.0	94.9	94.3	8.1
	10	93.4	88.6	95.2	96.4	94.2	93.6	93.6	2.9
海南霉素	0.1	92.0	88.2	85.3	91.1	80.5	94.9	88.7	5.8
	0.2	81.5	81.5	80.5	81.5	96.8	95.9	86.3	9.1
	1	97.1	97.7	95.8	97.2	100.2	96.5	97.4	1.6
	10	93.0	89.2	86.3	90.1	90.4	82.5	88.6	4.2
盐酸氯苯胍	0.1	88.2	83.4	81.5	94.0	93.0	99.7	90.0	7.7
	0.2	99.7	95.9	90.1	81.5	88.2	87.2	90.4	7.2
	1	84.2	77.4	82.3	94.9	96.8	82.3	86.3	9.0
	10	100.7	82.3	92.9	83.3	99.7	92.9	92.0	8.5
盐霉素	0.1	85.3	108.8	103.6	102.5	91.0	108.8	100.0	9.7
	0.2	87.1	100.4	108.4	87.1	105.5	93.9	97.1	9.4
	1	89.1	90.0	97.8	105.5	93.9	100.7	96.2	6.6
	10	92.3	112.7	107.7	112.9	109.6	114.0	108.2	7.5
甲基盐霉素	0.1	99.7	103.6	90.0	91.0	106.5	107.5	99.7	7.6
	0.2	96.8	104.5	93.9	99.7	96.8	99.7	98.6	3.7
	1	87.3	90.2	99.1	96.7	105.4	87.8	94.4	7.6
	10	98.7	89.9	90.9	98.7	94.8	100.7	95.6	4.7
莫能菌素	0.1	95.8	89.9	90.9	102.6	91.9	88.0	93.2	5.7
	0.2	97.8	94.0	93.0	90.1	89.2	79.6	90.6	6.8
	1	95.8	97.8	94.8	101.7	102.6	99.7	98.7	3.2
	10	97.8	89.9	95.8	100.7	92.9	91.9	94.8	4.2
拉沙洛西钠	0.1	80.4	72.9	77.9	68.3	84.6	76.9	76.8	7.4
	0.2	86.4	89.9	80.1	83.7	80.1	75.7	82.7	6.1
	1	86.4	81.0	72.1	87.3	81.0	75.7	80.6	7.3
	10	86.6	88.3	93.6	91.2	93.9	90.4	90.7	3.2
马杜霉素	0.1	88.0	98.7	91.9	90.9	92.9	89.0	91.9	4.1
	0.2	89.0	95.8	94.8	96.8	95.8	95.8	94.7	3.0
	1	89.5	94.1	89.1	93.5	91.6	91.8	91.6	2.2
	10	101.3	101.3	95.5	100.3	87.8	95.5	96.9	5.4
氯羟吡啶	0.1	100.3	96.4	100.3	95.5	101.3	101.3	99.2	2.6
	0.2	76.4	70.0	78.0	64.4	66.8	64.4	70.0	8.5
	1	72.7	89.5	82.4	89.5	76.2	72.6	80.5	9.7
	10	81.5	82.4	87.7	85.0	85.9	70.9	82.2	7.3
氨丙啉	0.1	87.6	76.5	77.8	77.4	90.9	74.7	80.8	8.3
	0.2	75.3	79.7	77.1	75.3	77.9	81.5	77.8	3.2
	1	85.9	73.5	85.0	71.7	77.1	77.9	78.5	7.4
	10	74.8	66.1	77.7	68.5	77.1	78.5	73.8	7.1

	0.1	78.5	86.3	69.0	84.6	71.6	79.4	78.2	8.8
癸氧喹酯	0.2	73.3	81.1	84.6	70.8	82.8	81.1	78.9	7.0
	1	79.4	79.5	70.6	78.2	76.5	79.9	77.4	4.6
	10	87.7	71.7	74.4	74.4	77.9	77.1	77.2	7.2
尼卡巴嗪	0.1	73.5	78.8	76.2	83.3	89.5	86.8	81.3	7.7
	0.2	94.9	79.7	98.8	80.5	81.5	94.0	88.2	9.7
	1	90.1	88.3	90.1	76.7	82.1	74.0	83.6	8.4
地克珠利	10	73.1	76.7	79.4	86.5	81.2	88.3	80.9	7.1
	0.1	88.1	92.8	89.1	85.9	83.0	70.2	84.9	9.3
	0.2	80.3	83.9	90.1	87.4	72.3	72.3	81.0	9.3
乙氧酰胺苯甲酯	1	78.5	85.6	73.1	81.2	86.5	77.6	80.4	6.3
	10	75.3	81.3	87.0	86.4	92.0	88.9	85.2	7.0
	0.1	80.3	75.8	75.8	83.9	83.0	86.5	80.9	5.4
二硝托胺	0.2	74.9	80.3	79.4	90.1	87.4	78.5	81.8	7.1
	1	79.8	74.1	74.6	74.8	82.1	70.5	76.0	5.5
	10	76.7	83.0	78.5	74.9	75.8	86.5	79.2	5.8
二硝托胺	0.1	76.7	86.5	71.4	81.2	91.0	85.6	82.1	8.7
	0.2	76.7	90.1	77.7	94.0	77.7	76.7	82.2	9.5
	1	78.5	77.6	83.9	85.6	75.8	79.4	80.1	4.7
	10	77.6	79.4	79.4	89.2	78.5	86.5	81.8	5.9

表 12 精料补充料中 15 种抗球虫药物的批内加标回收率和精密度

组分	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)						平均回收 率 (%)	批内 RSD(%)
		1	2	3	4	5	6		
磺胺喹噁啉	0.1	107.7	99.0	105.8	113.9	111.5	106.9	107.5	4.8
	0.2	115.5	112.8	110.7	105.9	113.6	108.1	111.1	3.2
	1	113.3	109.4	106.1	99.7	106.9	108.4	107.3	4.2
	10	93.0	94.0	89.2	83.4	91.1	80.5	88.5	6.1
海南霉素	0.1	104.0	110.4	110.1	115.3	109.6	111.6	110.2	3.3
	0.2	110.4	118.6	117.4	112.7	117.0	119.7	116.0	3.1
	1	115.8	112.3	116.8	100.7	95.4	117.3	109.7	8.5
盐酸氯苯胍	10	79.7	99.7	80.7	86.3	90.1	95.9	88.7	9.1
	0.1	83.8	101.3	83.0	93.4	100.6	84.5	91.1	9.3
	0.2	84.9	85.2	79.4	80.3	85.0	78.5	82.2	3.8
	1	97.7	95.7	91.8	87.6	96.3	93.5	93.8	3.9
盐霉素	10	64.4	78.8	75.6	68.4	72.1	65.2	70.8	8.2
	0.1	112.8	106.7	94.7	98.3	97.8	86.7	99.5	9.2
	0.2	82.7	99.9	82.7	82.3	88.3	85.2	86.9	7.8
	1	83.7	91.5	72.3	81.2	73.0	73.8	79.3	9.6
	10	78.6	80.5	94.0	83.4	94.0	79.6	85.0	8.4

	0.1	89.7	98.1	105.4	97.7	93.8	86.8	95.3	7.0
甲基盐霉素	0.2	81.3	71.7	72.1	67.0	75.2	85.8	75.5	9.1
	1	68.7	77.6	76.3	75.2	69.2	70.0	72.8	5.4
	10	84.4	84.4	94.9	81.5	94.9	84.4	87.4	6.8
莫能菌素	0.1	86.4	86.6	75.6	75.0	86.3	70.0	80.0	9.2
	0.2	76.4	80.6	74.3	74.8	80.9	67.5	75.8	6.5
	1	72.7	73.0	70.6	65.8	68.2	64.7	69.2	5.1
拉沙洛西钠	10	89.2	94.0	79.6	80.5	83.4	77.7	84.1	7.5
	0.1	75.4	72.8	74.7	89.0	87.2	76.0	79.2	8.9
	0.2	94.9	77.9	90.8	92.1	80.4	93.2	88.2	8.2
马杜霉素	1	74.0	81.4	80.6	86.6	90.7	92.8	84.4	8.3
	10	87.8	94.9	77.7	76.7	78.6	85.3	83.5	8.6
	0.1	92.4	77.8	72.4	73.4	79.4	78.0	78.9	9.1
氯羟吡啶	0.2	87.7	78.3	92.0	80.2	76.1	80.4	82.5	7.4
	1	75.8	73.3	77.5	76.4	93.0	86.7	80.5	9.5
	10	89.2	82.5	93.0	97.8	84.4	96.8	90.6	7.0
氨丙啉	0.1	73.2	76.8	94.0	83.3	75.6	78.9	80.3	9.4
	0.2	91.8	97.5	89.4	96.6	86.1	102.0	93.9	6.2
	1	102.9	97.4	98.8	98.0	98.8	96.9	98.8	2.2
癸氧喹酯	10	86.3	86.3	94.0	95.9	85.3	76.7	87.4	7.9
	0.1	66.9	80.7	72.4	78.3	71.7	64.2	72.4	8.8
	0.2	67.0	64.0	61.9	69.9	67.5	65.6	66.0	4.3
尼卡巴嗪	1	74.3	72.9	69.4	73.7	72.9	70.9	72.4	2.6
	10	97.8	78.6	82.5	100.7	90.7	89.2	89.9	9.5
	0.1	95.9	99.5	97.7	96.9	91.1	81.5	93.8	7.1
地克珠利	0.2	106.8	110.1	117.5	111.1	111.6	114.0	111.9	3.2
	1	102.2	111.9	114.0	111.0	115.0	113.3	111.2	4.2
	10	83.4	98.8	79.6	89.2	76.7	87.2	85.8	9.2
乙氧酰胺苯甲酯	0.1	94.6	104.3	105.4	107.8	104.8	98.8	102.6	4.8
	0.2	108.5	100.9	109.5	106.7	107.2	101.8	105.8	3.4
	1	108.9	107.3	117.6	107.6	111.9	116.4	111.6	4.0
二硝托胺	10	89.6	85.3	91.1	100.7	100.7	80.5	91.3	8.9
	0.1	100.4	108.5	99.9	101.2	105.5	109.3	104.1	4.0
	0.2	109.5	95.2	99.5	94.1	92.3	90.9	96.9	7.0
甲酯	1	85.7	99.4	94.1	84.2	79.1	83.8	87.7	8.6
	10	81.5	91.1	76.7	83.4	87.2	86.3	84.4	5.9
	0.1	88.1	112.0	88.3	105.0	102.6	103.6	99.9	9.7
二硝托胺	0.2	115.1	112.3	108.5	102.8	97.5	110.7	107.8	6.1
	1	115.7	106.9	100.9	100.8	100.6	102.6	104.6	5.7
	10	81.5	82.5	81.5	96.8	93.0	81.5	86.1	8.0
0.1	92.9	100.5	106.7	87.7	99.0	88.5	95.9	7.8	

0.2	118.6	105.8	108.7	110.4	113.9	98.6	109.3	6.3
1	106.4	103.1	101.0	95.9	94.0	100.5	100.2	4.6
10	86.3	84.4	100.7	89.2	85.3	81.5	87.9	7.7

表 13 混合型饲料添加剂中 15 种抗球虫药物的批内加标回收率和精密度

组分	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)						平均回收 率 (%)	批内 RSD(%)
		1	2	3	4	5	6		
磺胺喹噁啉	0.1	89.2	92.0	79.6	81.5	96.8	94.0	88.9	7.8
	0.2	87.2	76.7	91.1	85.3	90.1	98.8	88.2	8.3
	1	92.0	93.0	87.2	80.5	83.4	88.2	87.4	5.5
	10	82.5	97.8	79.6	83.4	77.7	82.5	83.9	8.5
海南霉素	0.1	64.4	65.2	75.6	70.8	76.4	80.5	72.2	9.0
	0.2	70.0	79.6	81.3	81.3	71.6	83.7	77.9	7.3
	1	78.8	65.2	64.4	77.2	75.6	71.6	72.1	8.6
	10	60.3	62.1	70.4	60.5	64.8	66.7	64.1	6.2
盐酸氯苯胍	0.1	74.4	87.5	71.7	83.1	75.2	85.7	79.6	8.3
	0.2	84.0	83.1	88.4	84.9	81.4	86.6	84.7	3.0
	1	88.4	89.2	80.0	91.9	84.0	75.2	84.8	7.4
	10	80.5	80.1	80.5	82.5	83.4	86.3	82.2	2.9
盐霉素	0.1	78.8	70.0	70.0	76.4	70.0	70.8	72.7	5.4
	0.2	91.0	73.2	78.0	80.5	84.4	78.0	80.9	7.6
	1	66.8	74.8	79.6	70.0	82.9	73.2	74.6	8.0
	10	83.7	75.2	69.2	83.7	84.5	79.6	79.3	7.7
甲基盐霉素	0.1	86.3	95.9	83.4	93.0	80.5	78.6	86.3	8.0
	0.2	98.8	81.5	79.6	79.6	82.5	81.5	83.9	8.8
	1	80.5	99.7	91.1	80.5	92.0	95.9	90.0	8.8
	10	94.9	87.2	77.7	87.2	98.8	93.0	89.8	8.3
莫能菌素	0.1	91.3	90.4	100.7	90.4	105.3	97.9	96.0	6.5
	0.2	110.9	93.2	110.0	110.9	95.1	95.1	102.5	8.7
	1	99.7	106.5	103.7	110.0	87.6	89.8	99.6	9.1
	10	113.7	91.3	98.5	115.6	98.5	105.3	103.8	9.2
拉沙洛西钠	0.1	92.0	79.6	82.5	92.0	81.5	99.7	87.9	9.0
	0.2	83.4	83.4	93.0	83.4	92.0	86.3	86.9	5.2
	1	96.8	87.2	82.5	94.9	96.8	91.1	91.6	6.3
	10	87.2	90.1	80.5	89.2	84.4	82.5	85.7	4.5
马杜霉素	0.1	93.9	88.2	98.8	92.0	95.9	80.5	91.6	7.1
	0.2	92.0	99.7	95.9	97.8	84.4	92.0	93.6	5.8
	1	84.4	99.7	87.2	95.9	90.1	87.2	90.8	6.5
	10	93.0	82.5	89.2	93.0	100.7	89.2	91.3	6.6
氯羟吡啶	0.1	105.5	105.5	111.3	103.6	108.4	111.3	107.6	3.0

	0.2	98.7	107.5	110.4	115.2	114.2	103.6	108.3	5.9
	1	113.3	97.8	113.3	109.4	104.5	113.3	108.6	5.8
	10	98.7	107.5	108.4	104.5	96.8	103.6	103.3	4.5
氨丙啉	0.1	69.4	69.4	77.2	81.1	70.4	71.4	73.2	6.7
	0.2	79.2	79.2	81.1	79.2	76.2	69.4	77.4	5.4
	1	75.3	81.1	71.4	70.4	78.2	83.1	76.6	6.7
	10	72.3	73.3	69.4	82.1	76.2	71.4	74.1	6.1
癸氧喹酯	0.1	79.6	94.9	87.2	83.4	94.9	99.7	90.0	8.6
	0.2	82.5	88.2	84.4	88.2	90.1	100.7	89.0	7.2
	1	95.9	92.0	89.2	89.2	98.8	88.2	92.2	4.6
	10	95.9	81.5	79.6	96.8	89.2	95.9	89.8	8.6
尼卡巴嗪	0.1	101.3	99.3	100.3	102.2	106.1	107.0	102.7	3.1
	0.2	109.9	96.4	103.2	102.2	96.4	97.4	100.9	5.3
	1	101.3	106.1	110.9	104.1	101.3	100.3	104.0	3.9
	10	109.9	97.4	99.3	97.4	96.4	109.9	101.7	6.3
地克珠利	0.1	103.0	96.2	102.0	94.3	87.6	102.0	97.5	6.2
	0.2	89.5	102.0	109.7	90.5	103.0	106.8	100.3	8.4
	1	99.1	89.5	105.9	87.6	100.1	92.4	95.8	7.4
	10	89.5	89.5	95.3	93.4	98.2	87.6	92.3	4.4
乙氧酰胺苯甲酯	0.1	95.2	99.1	96.2	94.3	84.5	95.2	94.1	5.3
	0.2	85.5	87.5	93.3	91.4	96.2	100.1	92.3	5.9
	1	84.5	98.2	98.2	89.4	88.4	93.3	92.0	6.0
	10	99.1	83.6	85.5	85.5	93.3	84.5	88.6	7.0
二硝托胺	0.1	88.7	84.8	91.5	89.6	92.5	88.7	89.3	3.0
	0.2	91.5	102.0	87.7	86.7	84.8	91.5	90.7	6.8
	1	92.5	99.1	92.5	86.7	101.0	92.5	94.1	5.5
	10	88.7	89.6	97.2	88.7	101.0	88.7	92.3	5.9

表 14 添加剂预混合饲料中 15 种抗球虫药物的批间加标回收率和精密度

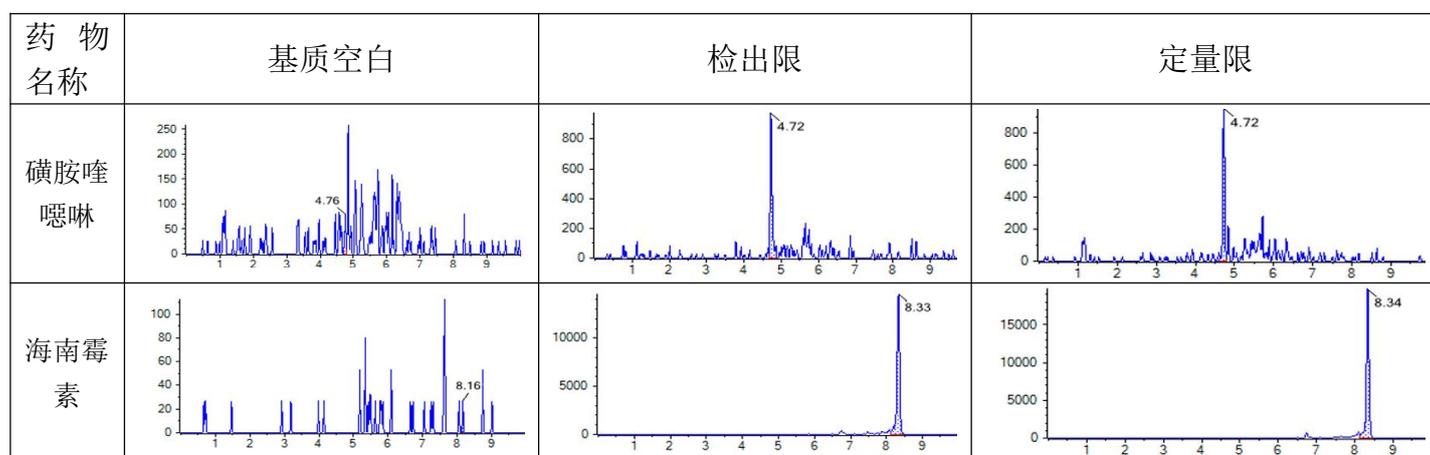
组分	添加水平 (mg/kg)	平均回收率(%)			RSD(%)			批间平均回收率 (%)	批间 RSD(%)
		批次 1	批次 2	批次 3	批次 1	批次 2	批次 3		
磺胺喹噁啉	0.1	88.9	84.2	92.0	10.2	5.1	3.4	88.4	7.4
	0.2	93.6	86.1	94.6	2.9	8.5	3.4	91.4	6.6
	1	97.4	87.6	92.0	1.6	8.7	10.0	92.3	8.4
	10	90.4	93.1	84.2	7.2	7.1	4.4	89.2	7.4
海南霉素	0.1	105.0	97.9	99.2	12.9	8.4	6.3	100.7	9.7
	0.2	108.2	102.1	102.5	7.5	6.1	3.4	104.3	6.3
	1	94.4	91.7	95.8	7.6	4.3	2.9	94.0	5.3
	10	90.6	92.7	95.6	6.8	4.7	4.5	93.0	5.6
盐酸氯苯胍	0.1	76.8	83.3	84.9	7.4	6.1	7.0	81.7	7.8

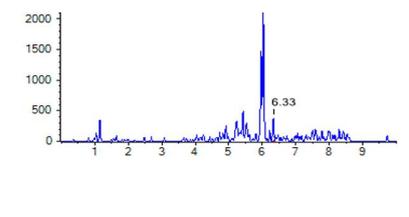
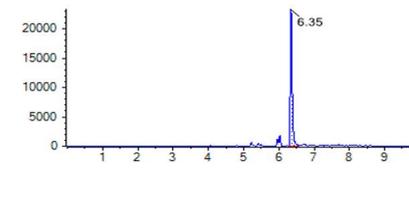
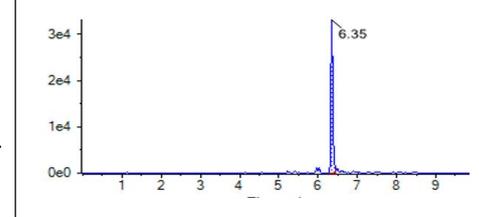
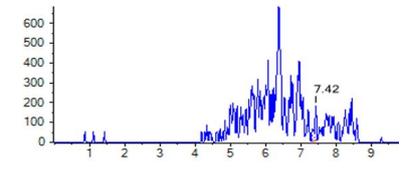
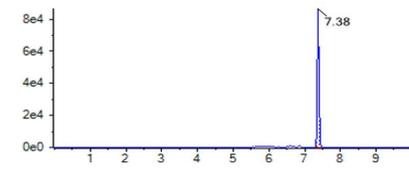
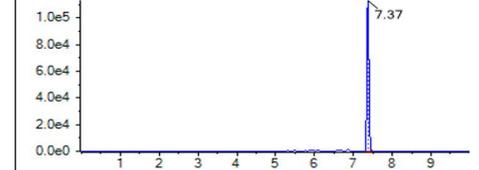
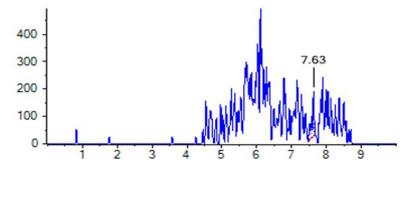
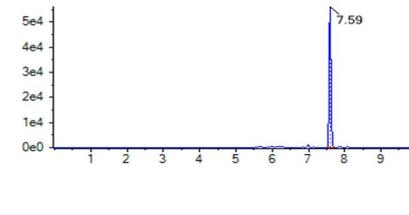
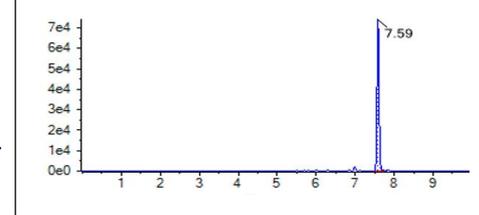
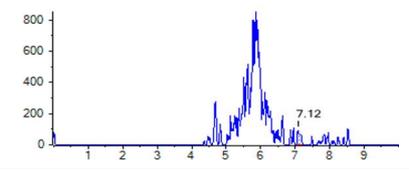
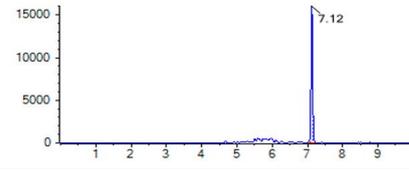
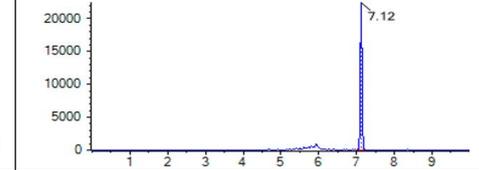
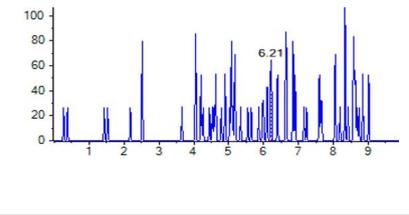
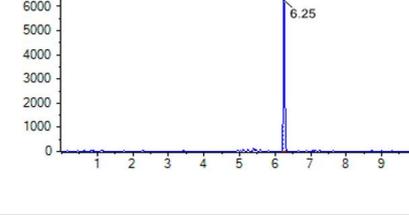
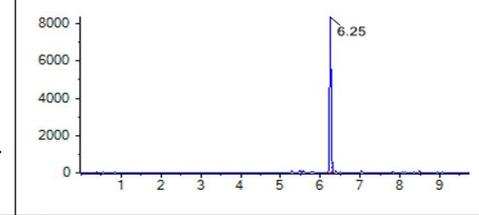
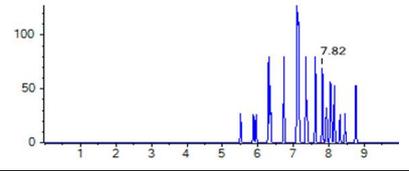
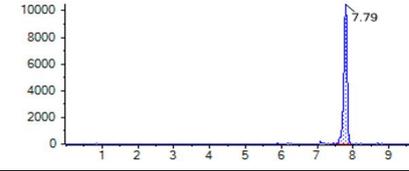
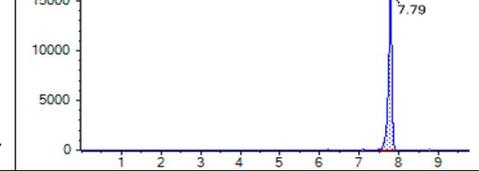
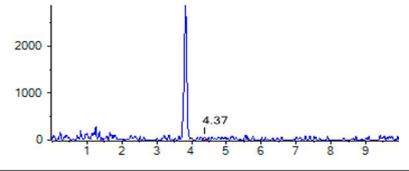
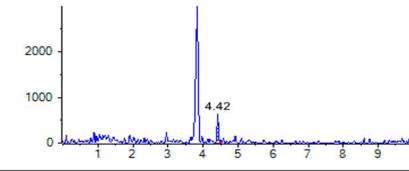
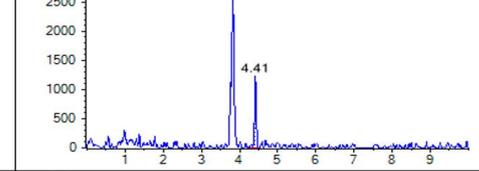
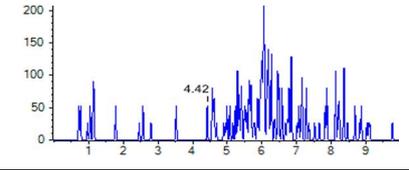
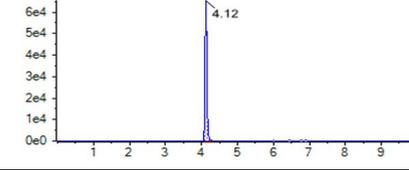
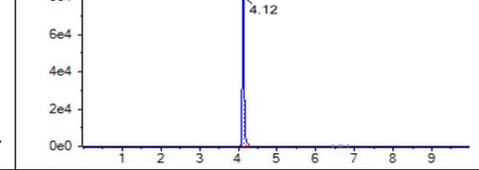
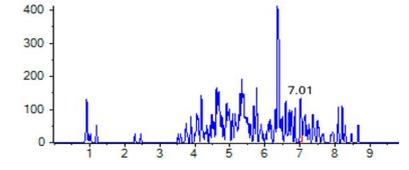
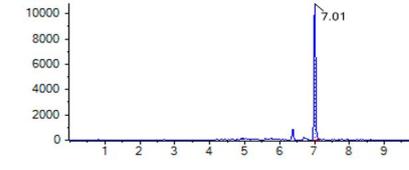
	0.2	90.7	96.6	96.0	3.2	5.7	4.9	94.4	5.3
	1	91.6	93.2	94.5	2.2	3.7	4.9	93.1	3.8
	10	70.0	81.2	80.6	8.5	6.1	8.4	77.3	10.0
盐霉素	0.1	81.0	86.5	80.7	11.3	4.7	7.5	82.7	8.3
	0.2	73.8	78.5	77.5	7.1	6.7	7.4	76.6	7.2
	1	77.4	78.5	79.3	4.6	9.4	7.1	78.4	6.9
	10	87.7	79.5	84.0	10.5	6.1	6.3	83.8	8.6
甲基盐霉素	0.1	84.9	75.4	82.5	9.3	8.5	5.0	80.9	9.0
	0.2	85.2	87.1	84.4	7.0	5.7	8.5	85.6	6.9
	1	77.7	82.5	85.6	12.1	8.6	9.3	81.9	10.3
	10	82.2	77.2	79.8	9.5	9.3	10.3	79.7	9.5
莫能菌素	0.1	89.7	88.8	87.0	14.8	5.5	5.1	88.5	9.2
	0.2	80.0	86.7	88.2	5.9	4.6	6.0	84.9	6.8
	1	82.5	78.9	80.1	12.9	6.9	6.8	80.5	9.0
	10	73.6	80.0	77.4	10.9	8.9	5.6	77.0	8.9
拉沙洛西钠	0.1	113.4	89.8	91.3	3.5	8.6	7.5	98.2	12.9
	0.2	111.6	91.0	91.6	4.8	7.5	9.2	98.1	12.1
	1	113.9	90.2	96.6	2.6	8.9	4.3	100.2	11.4
	10	85.2	88.0	84.3	10.8	6.6	6.0	85.8	7.8
马杜霉素	0.1	77.2	71.5	78.4	13.3	8.0	8.6	75.7	10.6
	0.2	91.9	84.7	89.1	12.3	6.8	3.7	88.5	8.8
	1	89.9	81.4	80.2	7.2	8.5	6.8	83.8	8.8
	10	89.6	82.0	86.9	7.9	6.7	7.5	86.2	7.9
氯羟吡啶	0.1	115.3	100.5	97.4	2.5	8.5	6.4	104.4	9.6
	0.2	111.7	91.2	98.1	2.6	8.0	9.2	100.3	10.9
	1	102.1	98.4	95.7	1.6	10.2	10.2	98.7	8.2
	10	90.1	88.5	83.9	6.7	7.6	5.7	87.5	7.1
氨丙啉	0.1	81.3	84.8	83.8	10.5	8.8	9.6	83.3	9.2
	0.2	103.3	98.4	98.7	10.4	9.6	6.8	100.1	8.9
	1	114.0	102.1	99.0	2.6	5.8	8.7	105.0	8.5
	10	88.1	95.6	94.2	6.1	5.9	5.5	92.6	6.6
癸氧喹酯	0.1	100.1	85.2	89.2	11.2	5.2	6.1	91.5	10.6
	0.2	110.6	98.4	99.2	5.8	6.4	8.0	102.7	8.5
	1	98.7	101.9	99.2	7.8	10.3	7.8	99.9	8.3
	10	87.1	96.9	88.5	9.2	4.1	3.2	90.8	7.4
尼卡巴嗪	0.1	109.5	104.3	99.5	3.7	6.9	7.4	104.4	7.0
	0.2	112.3	104.7	101.4	5.9	10.9	9.8	106.1	9.5
	1	115.1	101.8	98.2	1.2	7.8	7.4	105.0	9.1
	10	89.7	78.1	79.2	10.6	9.3	7.3	82.3	10.9
地克珠利	0.1	114.5	106.0	99.8	4.0	7.9	7.8	106.8	8.5
	0.2	113.6	104.4	97.7	1.8	8.1	10.5	105.2	9.4

	1	113.2	98.7	98.1	4.3	10.4	9.0	103.3	10.3
	10	87.9	78.5	81.5	8.0	10.1	7.1	82.6	9.3
	0.1	110.1	105.0	105.2	7.9	8.1	8.0	106.7	7.8
乙氧酰胺苯甲酯	0.2	114.7	104.7	96.9	2.4	11.1	9.9	105.4	10.6
	1	111.6	96.8	98.5	3.4	7.6	5.9	102.3	8.5
	10	85.7	80.7	82.3	7.4	7.8	12.1	82.9	9.1
	0.1	109.1	102.8	100.3	8.4	6.7	6.8	104.1	7.9
二硝托胺	0.2	111.6	99.7	101.1	3.5	7.5	11.3	104.1	9.1
	1	106.7	99.2	97.2	1.4	5.6	8.9	101.0	6.9
	10	88.1	79.9	76.6	10.2	5.8	10.6	81.5	10.6

### 4.3.3 方法检出限和定量限

取空白配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂 2.0 g，分别添加适量的标准混合工作液，按标准文本进行前处理，每个浓度 3 个平行。通过计算信噪比，并综合考虑不同实验室的仪器性能、样品基质的复杂性、同类现行标准等方面确定配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中氨丙啉、氯羟吡啶、磺胺喹噁啉、二硝托胺、乙氧酰胺苯甲酯、地克珠利、尼卡巴嗪、拉沙洛西钠、盐酸氯苯胍、癸氧喹酯、莫能菌素、盐霉素、甲基盐霉素、马杜霉素、海南霉素的检出限为 0.05 mg/kg，定量限为 0.10 mg/kg。在方法检出限水平，15 种化合物信噪比 S/N(Peak to Peak)均>3，在定量限水平信噪比 S/N(Peak to Peak)均>10，15 种抗球虫药物在配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂的检出限和定量限图谱分别见图 14-17。



盐酸氯苯胍			
盐霉素			
甲基盐霉素			
莫能菌素			
拉沙洛西钠			
马杜霉素			
氯羟吡啶			
氨丙啉			
癸氧喹酯			

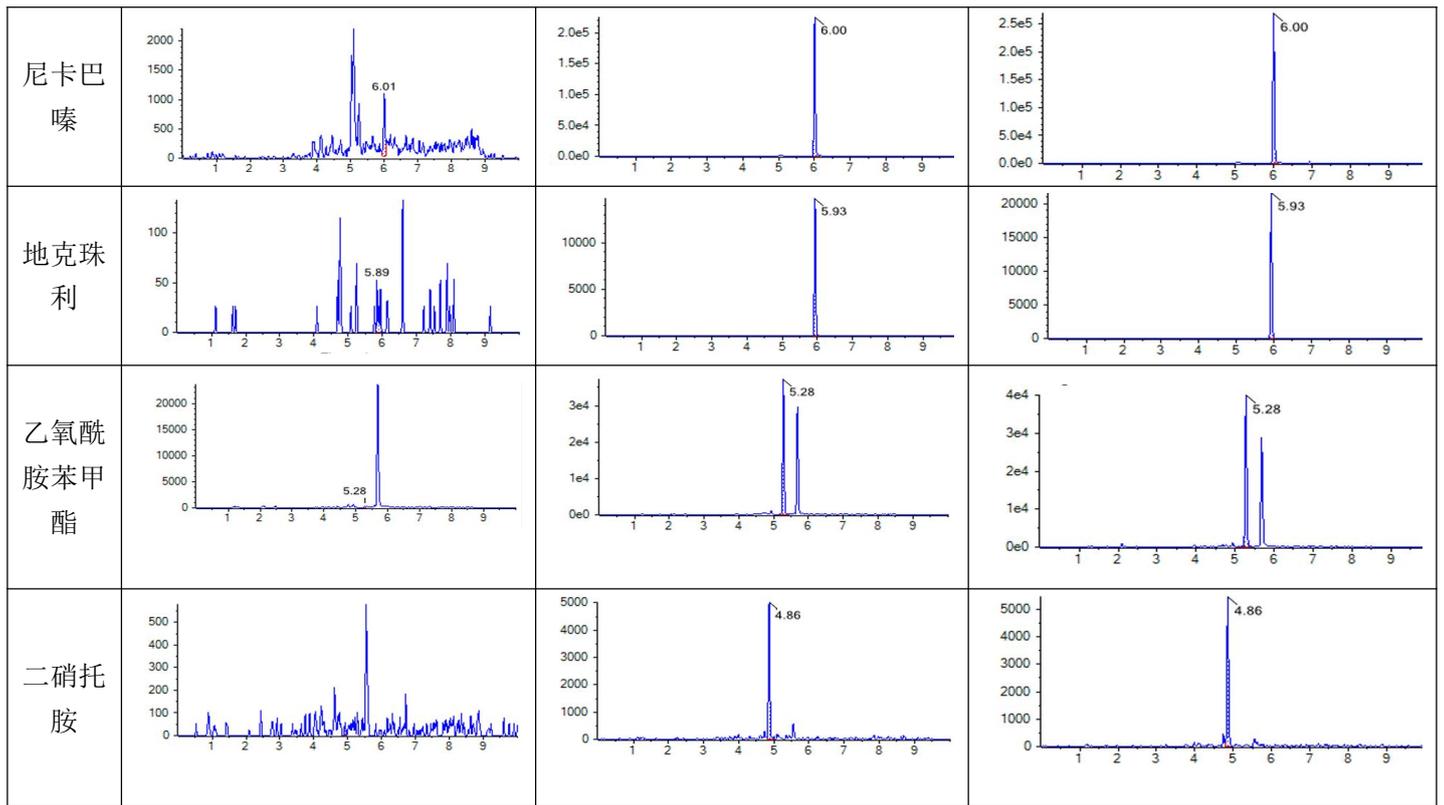
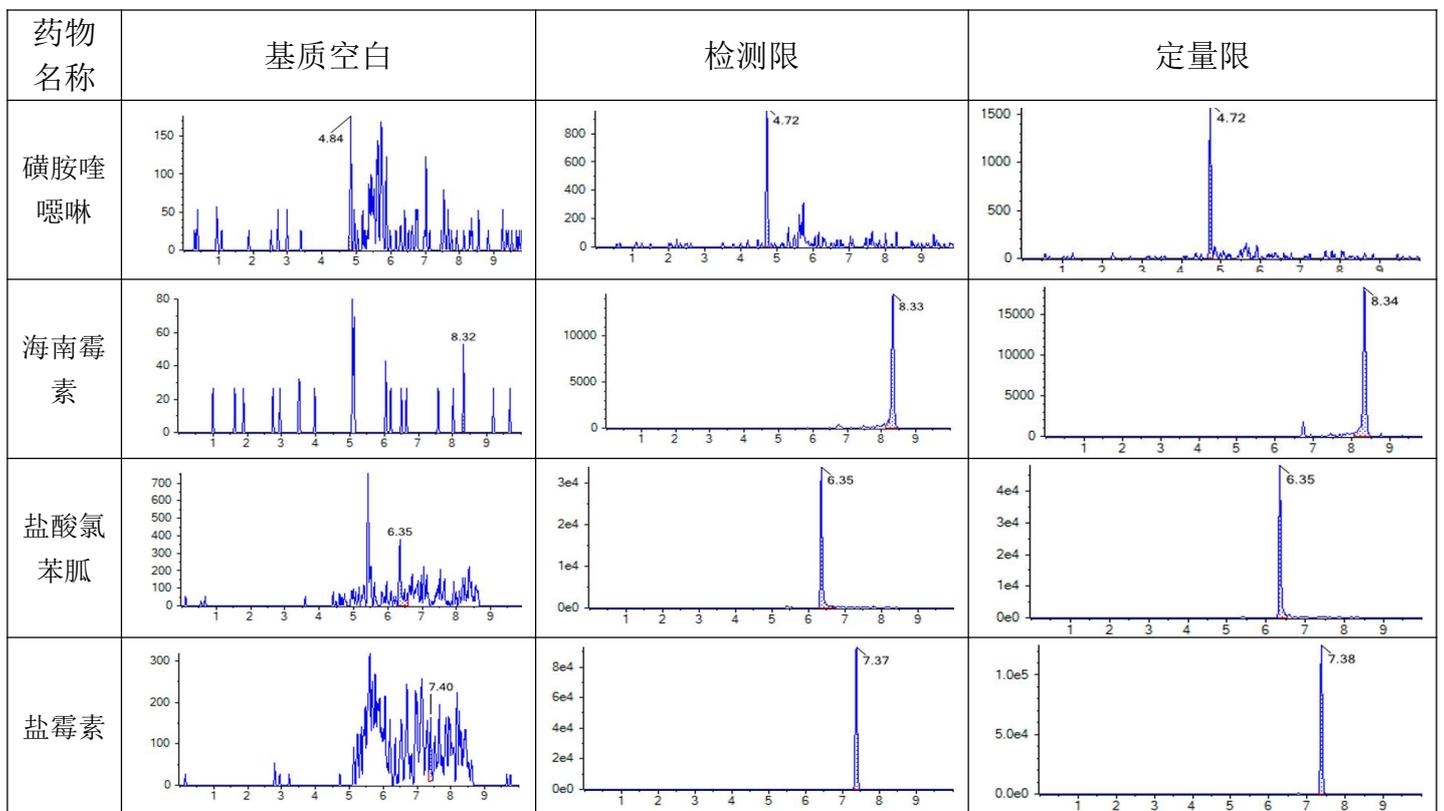
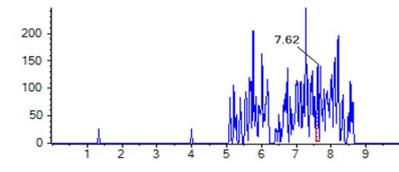
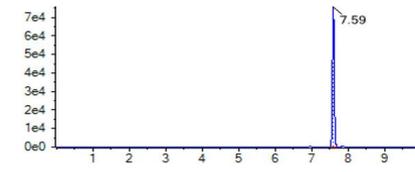
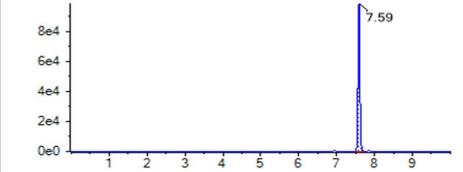
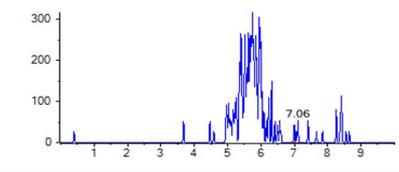
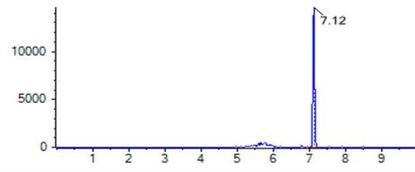
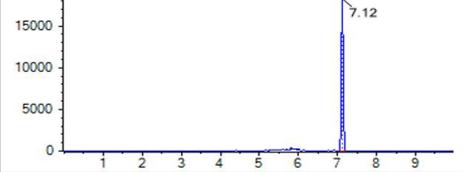
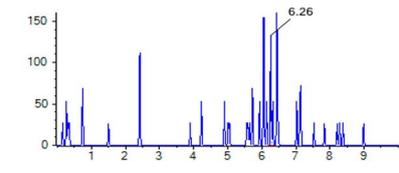
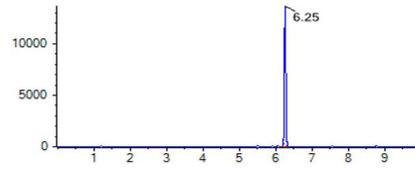
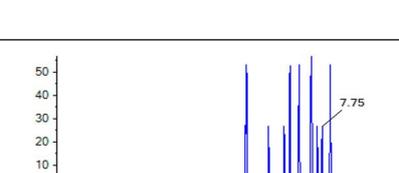
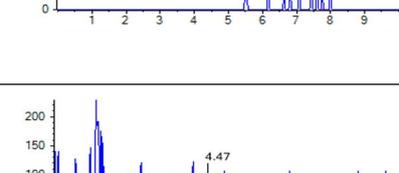
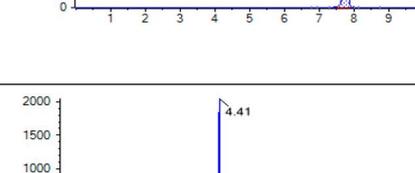
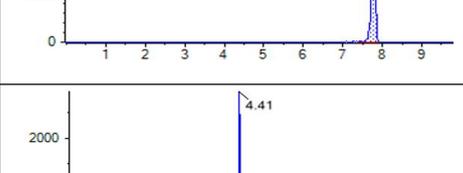
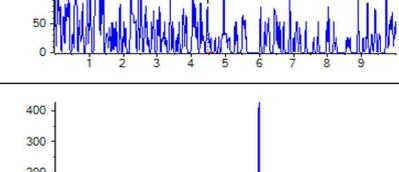
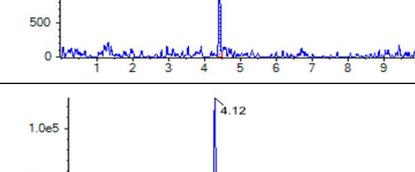
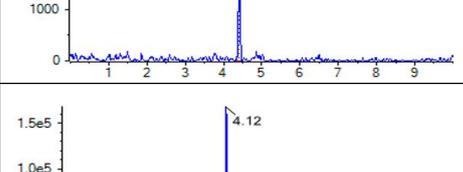
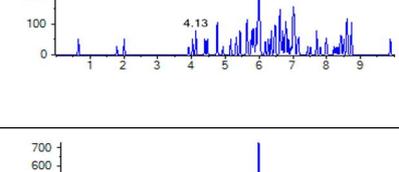
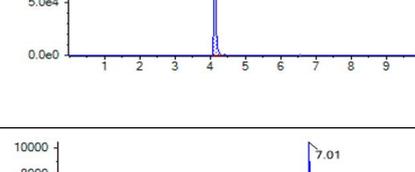
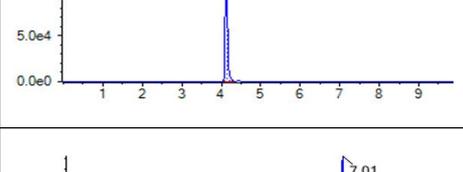
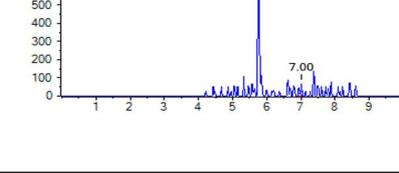
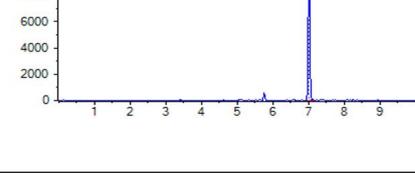
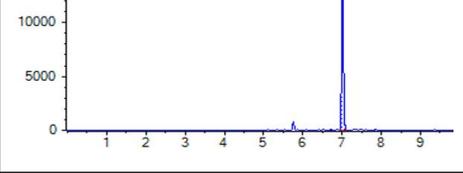
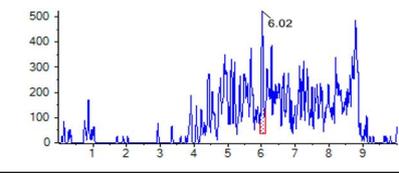
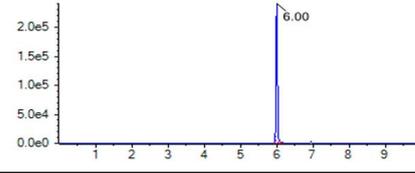
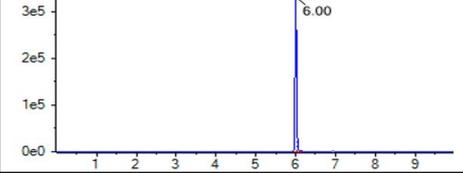


图 14 15 种抗球虫药物在精料补充料中的检出限和定量限图谱



甲基盐 霉素			
莫能菌 素			
拉沙洛 西钠			
马杜霉 素			
氯羟吡 啶			
氨丙啉			
癸氧喹 酯			
尼卡巴 嗪			
地克珠 利			

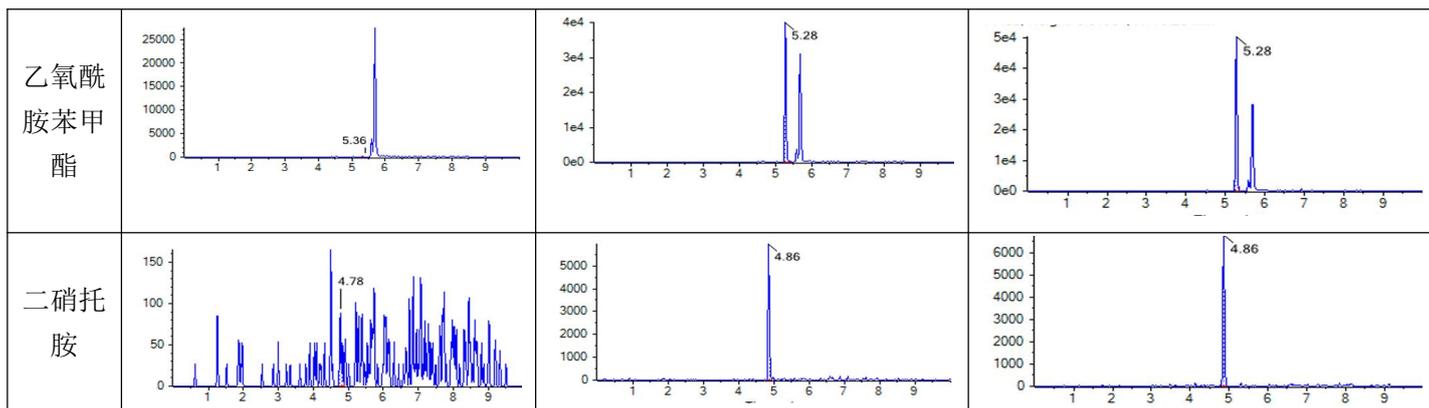
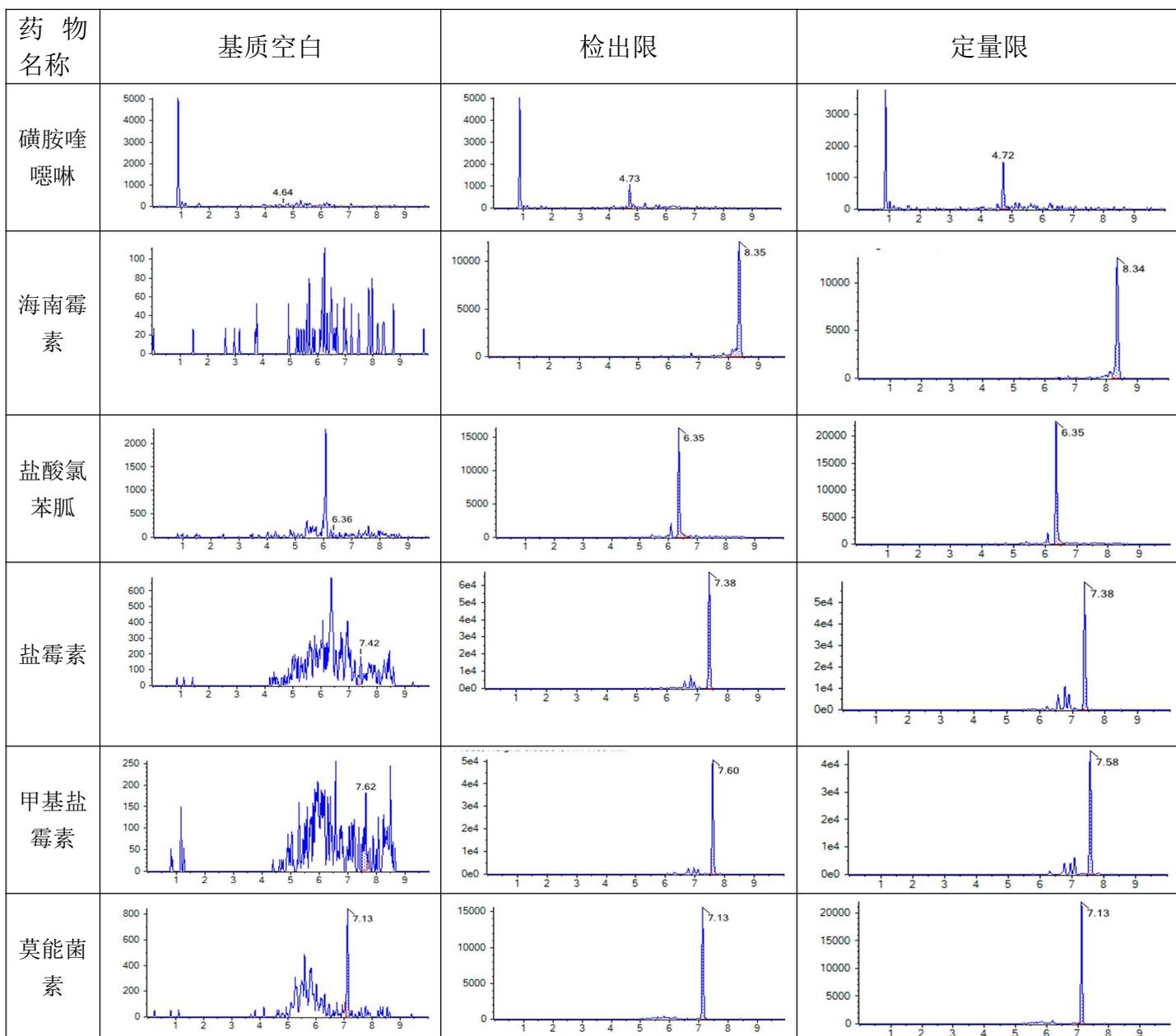


图 15 15 种抗球虫药物在添加剂预混合饲料中的检出限和定量限图谱



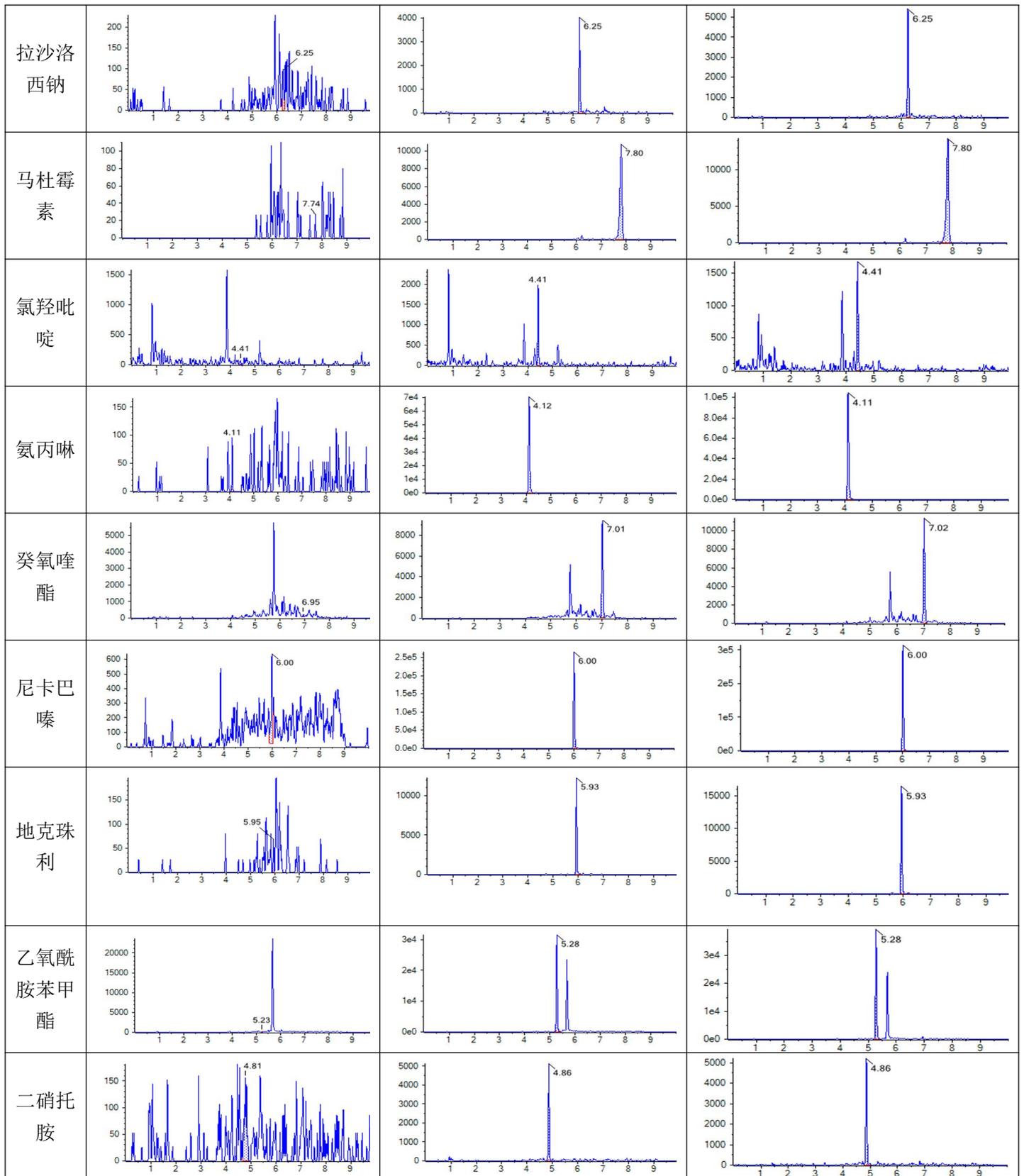
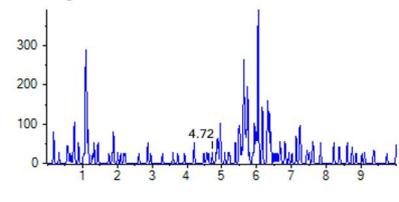
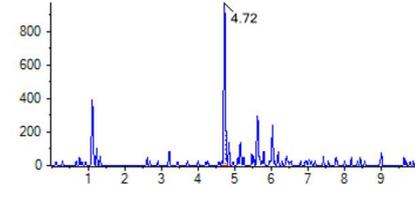
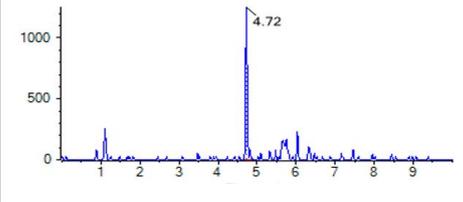
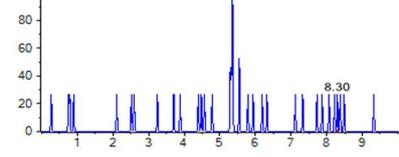
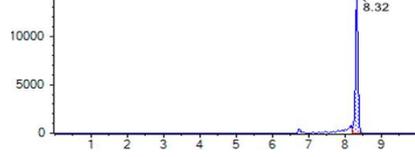
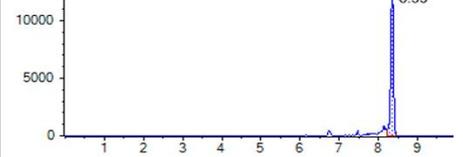
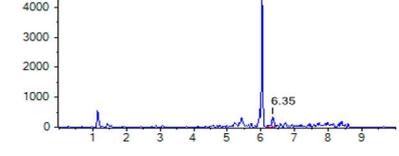
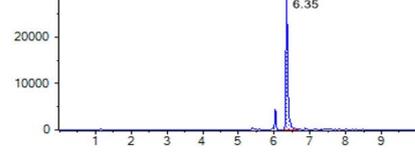
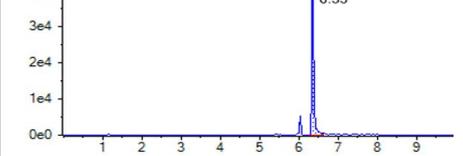
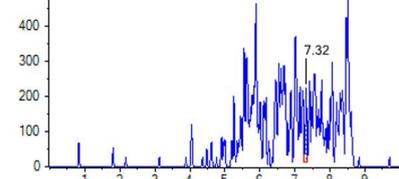
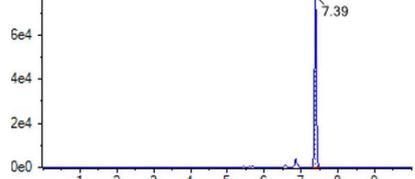
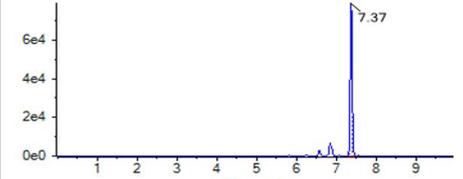
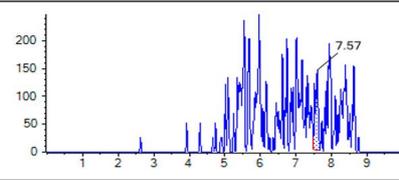
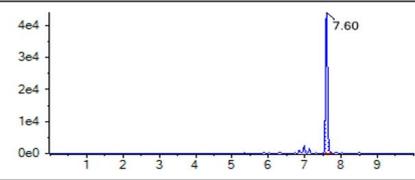
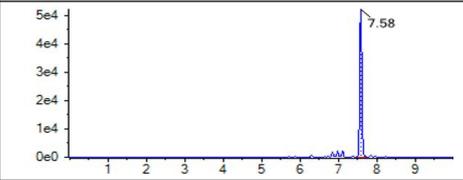
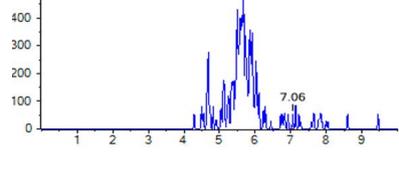
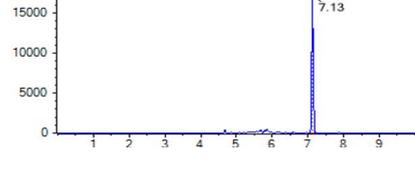
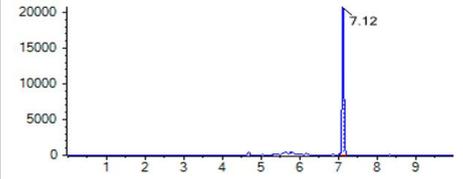
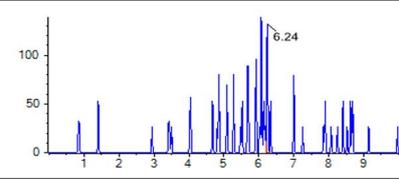
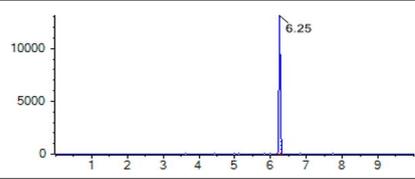
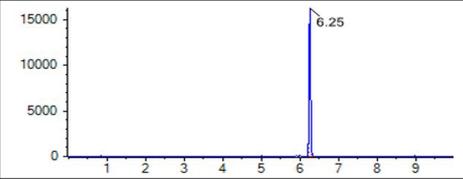
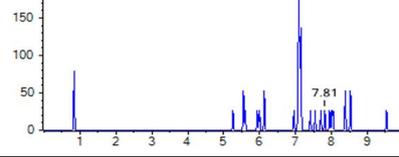
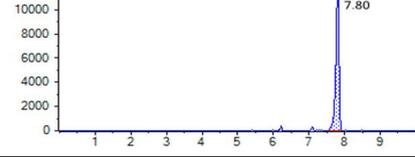
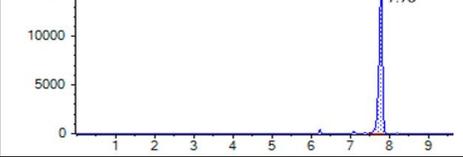
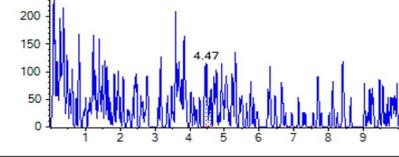
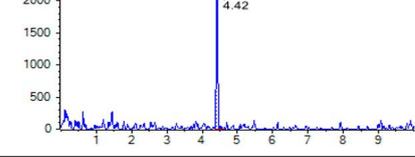
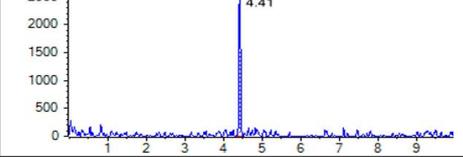


图 16 15 种抗球虫药物在浓缩饲料中的检出限和定量限图谱

药物名称	基质空白	检出限	定量限
拉沙洛西钠	6.25	6.25	6.25
马杜霉素	7.74	7.80	7.80
氯羟吡啶	4.41	4.41	4.41
氨丙啉	4.11	4.12	4.11
癸氧喹酯	6.95	7.01	7.02
尼卡巴嗪	6.00	6.00	6.00
地克珠利	5.95	5.93	5.93
乙氧酰胺苯甲酯	5.23	5.28	5.28
二硝托胺	4.81	4.86	4.86

磺胺嘧啶			
海南霉素			
盐酸氯苯胍			
盐霉素			
甲基盐霉素			
莫能菌素			
拉沙洛西钠			
马杜霉素			
氯羟吡啶			

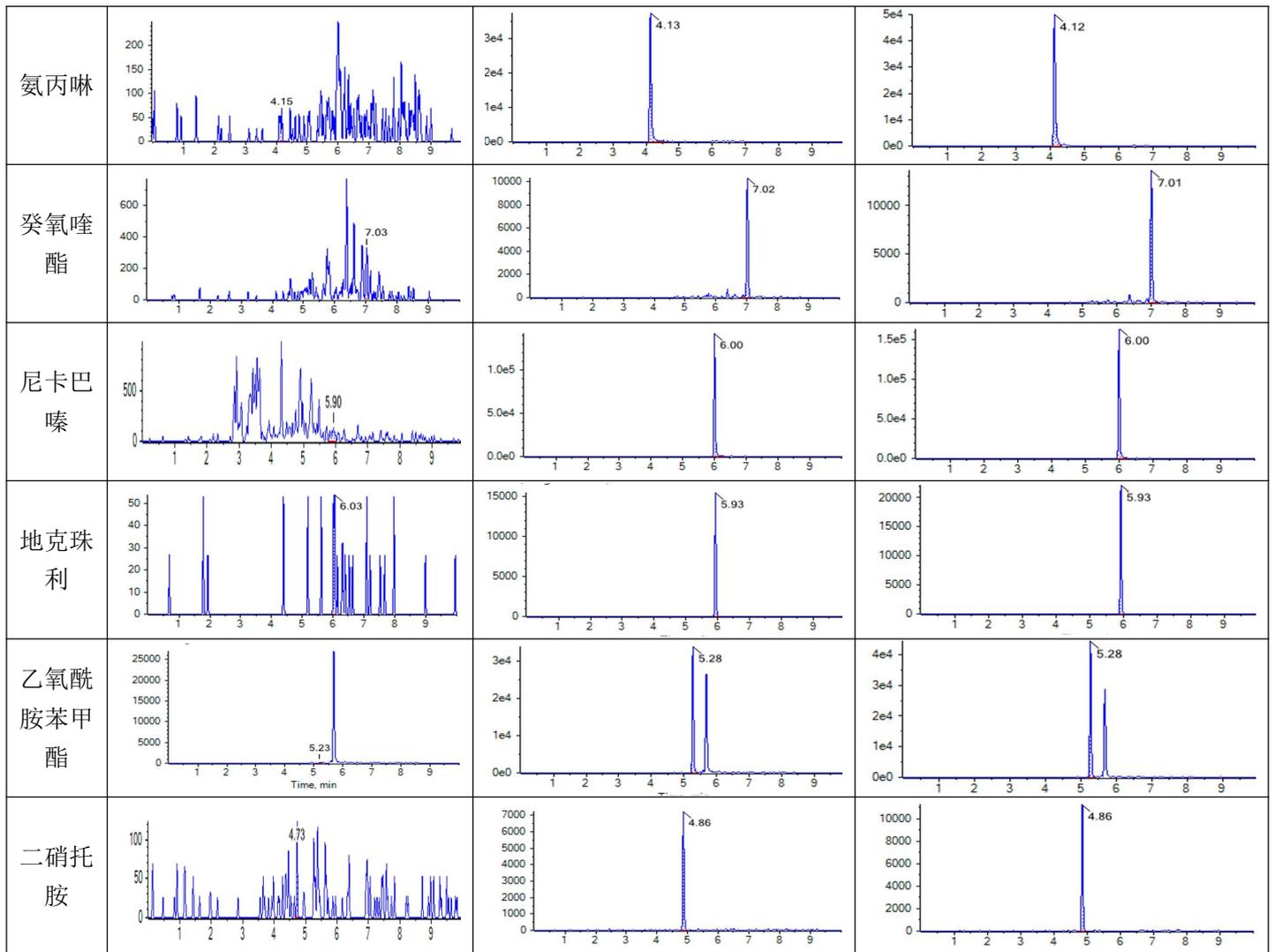
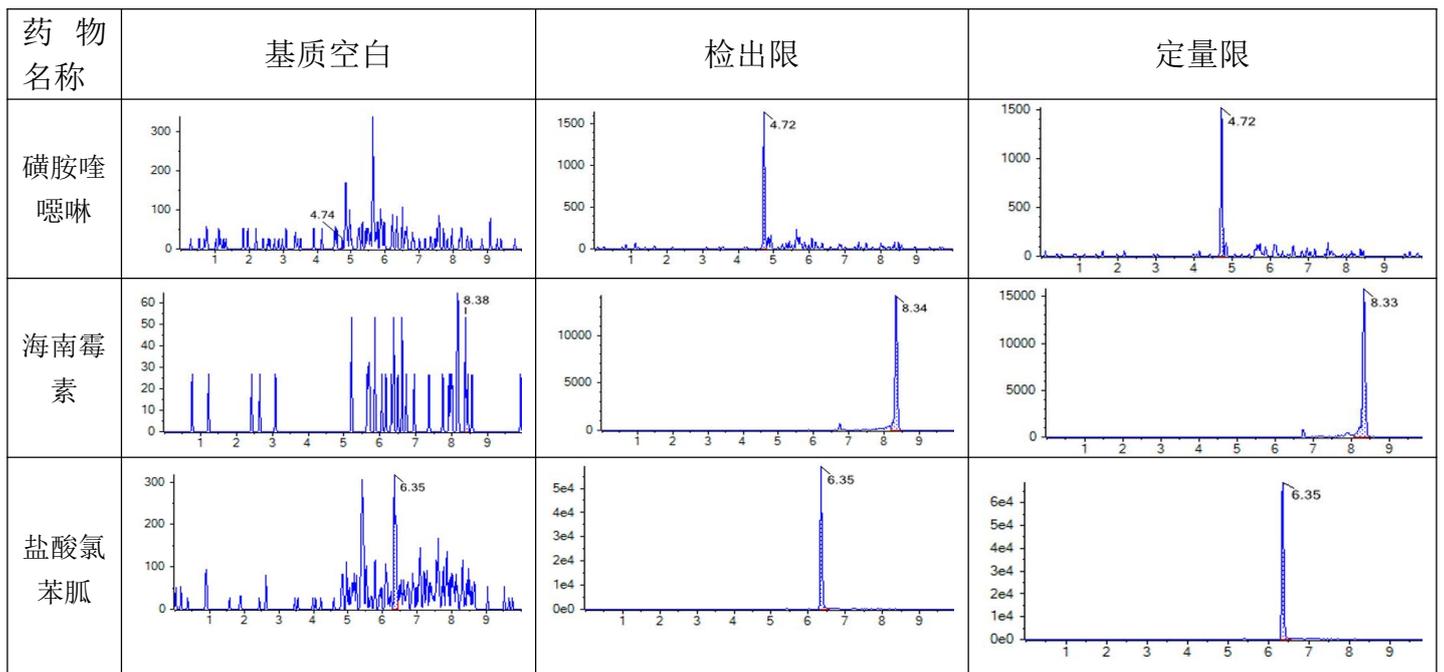
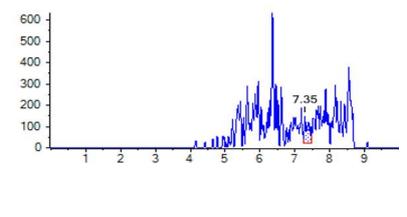
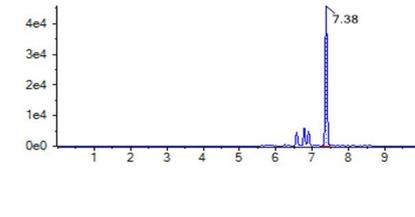
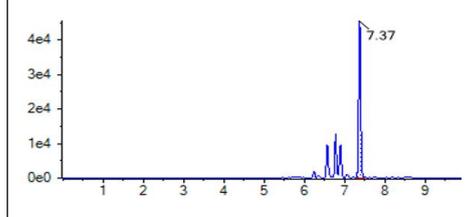
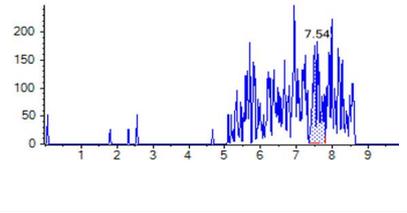
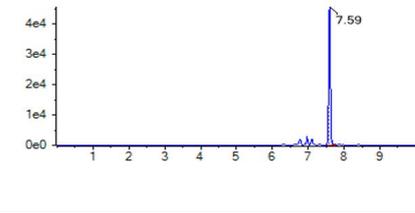
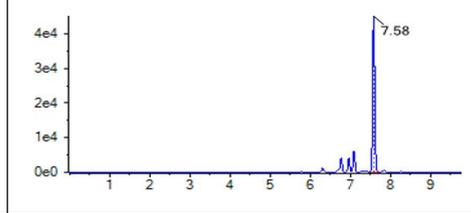
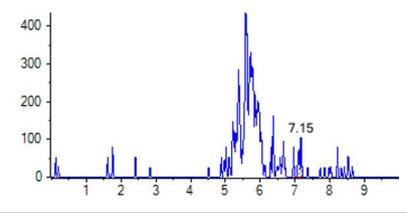
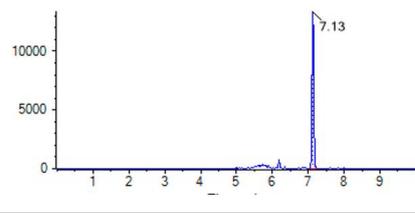
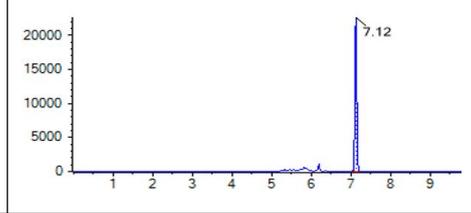
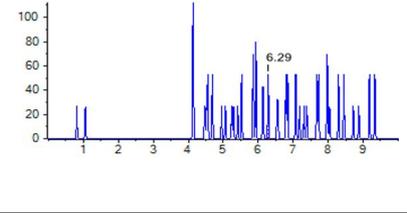
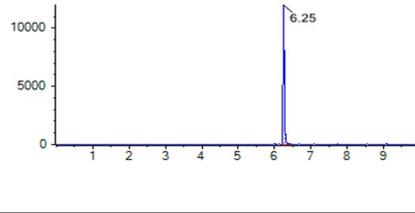
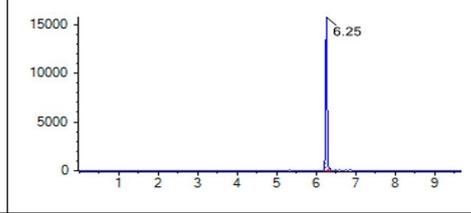
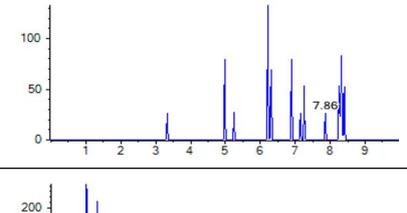
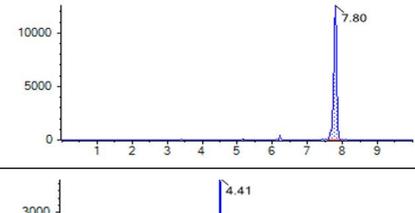
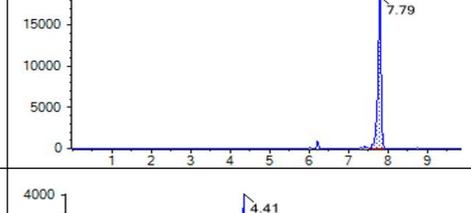
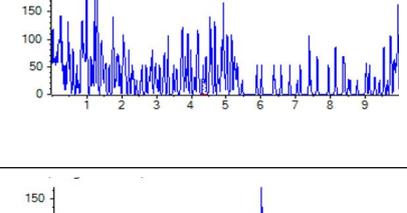
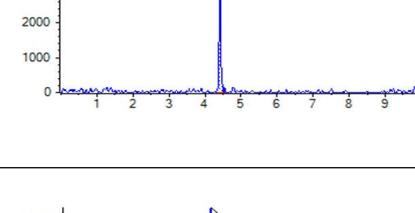
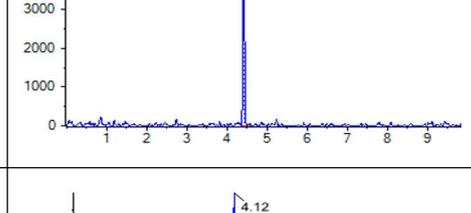
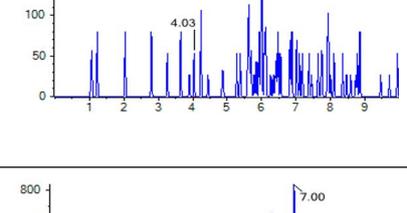
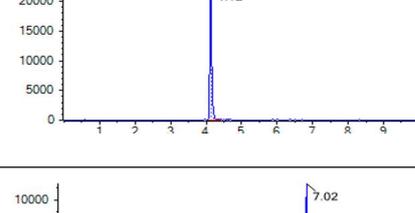
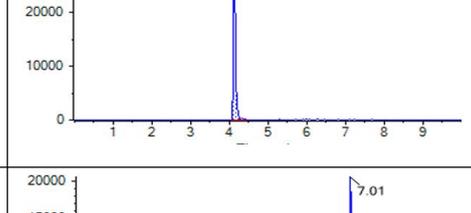
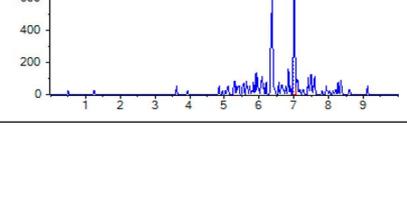
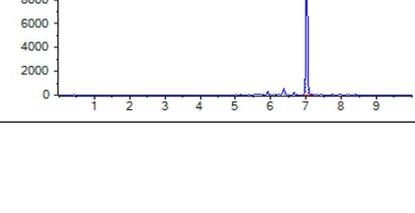
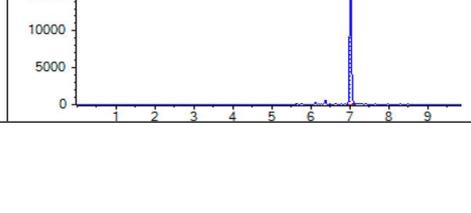


图 17 15 种抗球虫药物在配合饲料中的检出限和定量限图谱



盐霉素			
甲基盐霉素			
莫能菌素			
拉沙洛西钠			
马杜霉素			
氯羟吡啶			
氨丙啉			
癸氧喹酯			

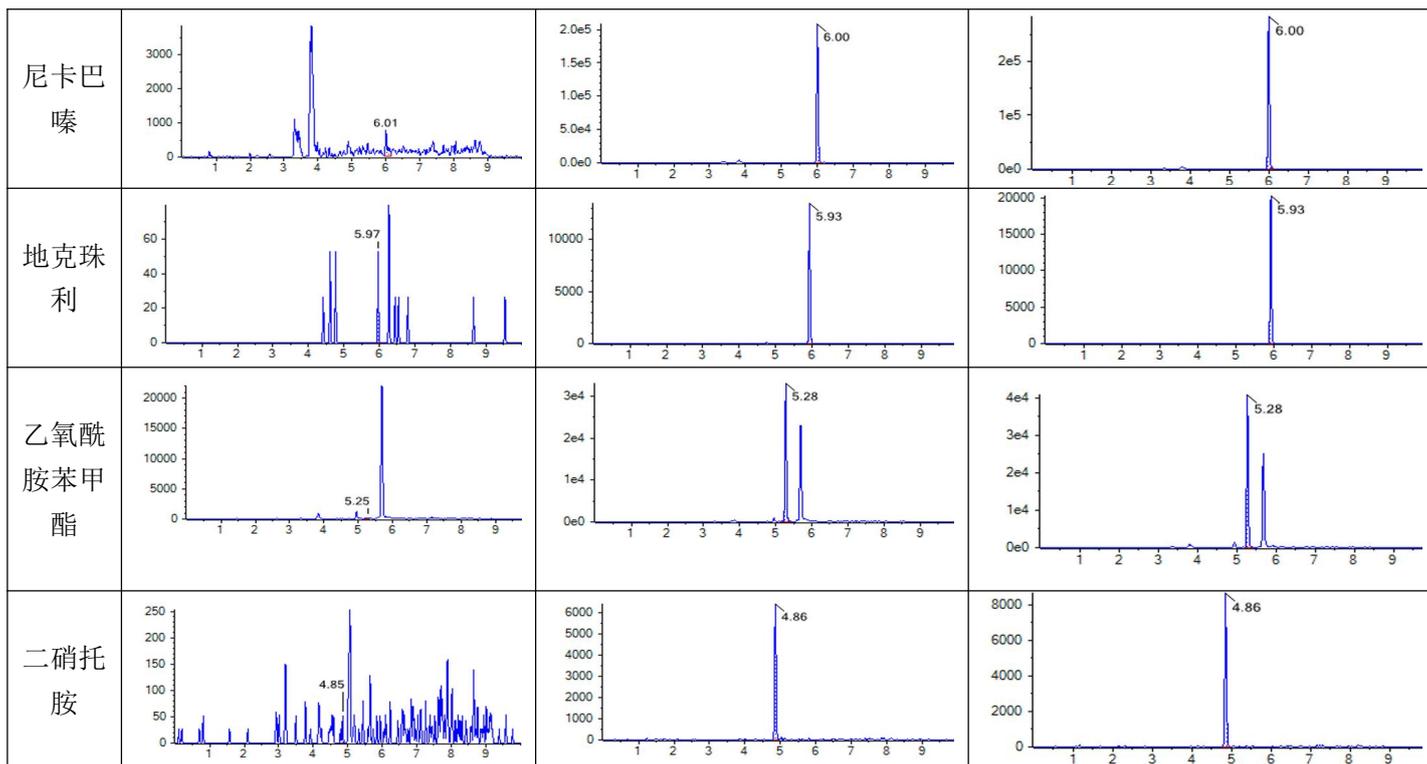


图 18 15 种抗球虫药物在混合型饲料添加剂中的检出限和定量限图谱

#### 4.3.4 样品基质效应考察

选择配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂，按照方法的前处理步骤处理后添加混合标准中间液，配制成进样浓度为 0.1 mg/L 的基质添加样品，测得响应值 B。用流动相配制的同浓度的标准品溶液，测得响应值 A。通过基质效应计算公式  $ME\% = (\text{峰面积 B} / \text{峰面积 A} - 1) \times 100\%$  得，+ 为基质增强效应，- 为基质抑制效应。该方法中基质效应为 -97.68%~79.29%（表 15）。表明基质对目标物检测具有较强抑制或增强作用，因此在实际检测的过程中，实验选择基质匹配外标法进行定量。

表 15 15 种抗球虫药物的基质效应

药物名称	浓缩饲料	配合饲料	添加剂预混合饲料	精料补充料	混合型饲料添加剂
磺胺喹噁啉	-70.28%	-41.93%	13.72%	-61.5%	-25.1%
海南霉素	-92.44%	10.82%	-92.67%	18.8%	-37.8%
盐酸氯苯胍	-84.91%	-30.12%	-26.05%	-23.5%	-4.2%
盐霉素	-97.68%	-51.9%	-44.50%	-3.6%	-57.5%
甲基盐霉素	-85.20%	-25.0%	-62.53%	13.2%	-55.0%
莫能菌素	-87.28%	-44.96%	-71.79%	-33.0%	-46.2%
拉沙洛西钠	-21.85%	-28.10%	79.29%	-7.0%	-56.7%
马杜霉素	-73.99%	-31.04%	-63.13%	-16.7%	-9.3%
氯羟基吡啶	-56.43%	-33.06%	-17.83%	-75.8%	-37.7%

氨丙啉	-88.85%	55.67%	-47.76%	-43.1%	-54.8%
癸氧喹酯	-36.52%	-68.35%	1.02%	-30.1%	15.5%
尼卡巴嗪	0.48%	16.93%	-20.51%	14.2%	-10.0%
地克珠利	-17.07%	-18.27%	-0.25%	-44.2%	18.9%
乙氧酰胺苯甲酯	-63.52%	-55.42%	-18.51%	-50.0%	-19.9%
二硝托胺	-56.48%	-41.33%	-2.31%	-42.0%	-6.5%

#### 4.3.5 实际样品测定

从产地和市场抽检的样品中选取配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂样品各 20 个批次进行测试,除表中所列出检出药物外(表 16),其余饲料样品中抗球虫药物含量均在检出限以下。

表 16 100 批次饲料的实际测定结果

饲料类型	检出药物	含量 (mg/kg)
配合饲料	地克珠利	0.90
	莫能菌素	15.66
	盐霉素	0.90
添加剂预混合饲料	二硝托胺	1.35
浓缩饲料	盐霉素	19.70
精料补充料	氯羟吡啶	0.23
混合型饲料添加剂	氨丙啉	2.87

#### 4.3.6 结论

本标准方法学评价结果均符合 GB/T 23182-2008 《饲料中兽药及其他化学物检测试验规程》相应要求。本方法适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中氨丙啉、氯羟吡啶、磺胺喹噁啉、二硝托胺、乙氧酰胺苯甲酯、地克珠利、尼卡巴嗪、拉沙洛西钠、盐酸氯苯胍、癸氧喹酯、莫能菌素、盐霉素、甲基盐霉素、马杜霉素、海南霉素 15 种抗球虫药物的测定。

### 五、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

本标准在制定过程中,由农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心以及江苏省畜产品质量检验测试中心三家单位进行了复核试验。试验结果显示,复核试验的平均回收率均在 60%~120%范围内,批内和批

间的变异系数均小于 15%。此外，标准所规定的线性范围、检测限和定量限均与标准文本相符。

本标准建立了一种用于饲料中 15 种抗球虫药物测定的液相色谱-串联质谱（LC-MS/MS）方法。标准详细规定了适用范围、检测条件、提取净化等步骤，并且具有较高的灵敏度、准确度和精密度。该标准的制定和实施将显著提升饲料产品的安全性，强化饲料质量控制，提高相关农畜产品的安全水平，并为国家饲料质量安全监控提供有力的技术支撑，推动饲料工业和畜牧业的绿色可持续发展。

## 六、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

目前我国饲料中有关 15 种抗球虫的标准有：NY/T 725-2003《饲料中莫能菌素的测定 高效液相色谱法》、NY/T 4426-2023《饲料中二硝托胺的测定》、NY/T 724-2022《饲料中拉沙洛西钠的测定 高效液相色谱法》、GB/T 8381.11-2005《饲料中盐酸氨丙啉的测定 高效液相色谱法》、GB/T 20196-2006《饲料中盐霉素的测定》、GB/T 8381.10-2005《饲料中磺胺喹啉的测定 高效液相色谱法》、农业部 783 号公告-5-2006《饲料中二硝托胺的测定 高效液相色谱法》、GB/T 22262-2008《饲料中氯羟吡啶的测定 高效液相色谱法》、GB/T 23873-2009《饲料中马杜霉素铵的测定》、农业部 1862 号公告-5-2012《饲料中地克珠利的测定 液相色谱-串联质谱法》、农业农村部公告第 316 号-2-2020《饲料中盐酸氯苯胍的测定 高效液相色谱法》、农业农村部公告第 316 号-6-2020《饲料中乙氧酰胺苯甲酯的测定 高效液相色谱法》、农业农村部公告第 197 号-4-2019《饲料中海南霉素的测定 液相色谱-串联质谱法》、GB/T 19423-2020《饲料中尼卡巴嗪的测定》；农业部 1862 号公告-4-2012《饲料中 5 种聚醚类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》、DB34/T 4206-2022《饲料中癸氧喹酯的测定 高效液相色谱法》等，以上方法可供行业人员进行检测与监管。起草组收集了国内相关行业标准，并结合国内外相关文献资料和产品申请材料中的相关内容，对上述标准、文献进行分析和总结的基础上，通过实验室试验研究，完成了标准文本的起草。

## 七、以国际标准为基础的起草情况

本标准未采用国内外标准，不涉及采标内容。

## 八、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

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。本方法与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调统一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

## 九、重大分歧意见的处理经过和依据

标准在制定过程中，标准编制组收集调研了国内外相关信息资料，组织行业内各位专家对标准内容的制定，进行了详细研讨，并达成统一制定方案。无重大分歧意见。

## 十、涉及专利的有关说明

未识别到与本标准技术内容有关的专利。

## 十一、实施标准的要求和措施建议

(1) 首先应在实施前保证文本的充足供应，让每个使用者都能及时得到文本。这是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。

(3) 实施的过渡期宜定为 6 个月。

## 十二、其他应予说明的事项

无。