

ICS 65.120
B 46



中华人民共和国国家标准

GB/T 8381.5—2005

GB/T 8381.5—2005

饲料中北里霉素的测定

Determination of kitasamycin in feed

中华人民共和国
国家标准
饲料中北里霉素的测定
GB/T 8381.5—2005

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.bzcb.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字
2006年1月第一版 2006年1月第一次印刷

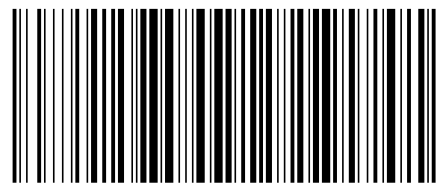
*

书号:155066·1-26926 定价 10.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 8381.5—2005

2005-09-05 发布

2006-02-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

附录 A
(规范性附录)
溶液及培养基的配置

A.1 0.9%灭菌氯化钠溶液

取氯化钠 9 g,加水使成 1000 mL,滤过,分装,100℃灭菌 30 min。

A.2 氯化钠磷酸盐缓冲液(pH7.8)

取氯化钠 10 g、磷酸氢二钾 5.59 g 与磷酸二氢钾 0.41 g,加水使成 1000 mL,滤过,分装,115℃灭菌 30 min。

A.3 50%葡萄糖溶液

取葡萄糖 50 g,加水使成 100 mL,滤过,分装,100℃灭菌 30 min。

A.4 营养琼脂培养基

胨	10 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g~20 g
肉浸液	1 000 mL

除琼脂外,混合上述成分,调节 pH 值使比最终的 pH 值略高 0.2~0.4,加入琼脂,加热溶化后滤过,调节 pH 值使灭菌后为 7.2~7.4,分装,115℃灭菌 30 min,趁热斜放使凝固成斜面。

A.5 平板培养基

胨	6 g
牛肉浸出粉	1.5 g
酵母浸出粉	6 g
葡萄糖	1 g
琼脂	15 g~20 g
水	1 000 mL

除琼脂和葡萄糖外,混合上述成分,调节 pH 值使比最终的 pH 值略高 0.2~0.4,加入琼脂,加热溶化后滤过,加葡萄糖溶解后,摇匀,调节 pH 值使灭菌后为 7.8~8.0,分装,115℃灭菌 30 min。

培养基可以采用相同成分的抗生素微生物检定培养基 II(《中华人民共和国兽药典》2000 年版一部)的干燥培养基代替,临用时,照使用说明配制和灭菌。

前 言

本标准参考了国内外有关北里霉素生产、检验等资料,根据我国饲料工业的实际情况制定。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准由辽宁省兽药饲料监察所负责起草,吉林省兽药监察所和国家饲料监督检验测试中心(北京)参加起草。

本标准主要起草人:陈莹莹、曹东、董永亮、刘雪红、曲韵坤、战石、肖勇、李广生、刘同民、杨曙明。

8.2.3 钝化液的制备

量取制备试样溶液(8.2.5)的上清液 20 mL 到 500 mL 具塞锥形瓶中,加 1 mol/L 盐酸溶液(4.13) 1 mL,摇匀,密塞,在 100℃水浴中加热 1 h,冷却至室温后,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.8~8.0,加 5 mL 甲醇,用氯化钠磷酸盐缓冲液(第 A.2 章)稀释到与试样溶液相同的浓度。

8.2.4 标准曲线的制备

8.2.4.1 标准工作溶液

量取北里霉素标准贮备液(4.15),用钝化液(8.2.3)稀释使成 0.05 u/mL、0.10 u/mL、0.20 u/mL、0.40 u/mL 浓度的标准工作溶液。以 0.10 u/mL 为参考浓度标准工作溶液。

8.2.4.2 培养

取当天制备好的双碟(8.2.2)平均分为 4 组,标准工作溶液(8.2.4.1)每一浓度为一组。每一个双碟的 6 个不锈钢小管中,间位的 3 个滴加参考浓度标准工作溶液,另外 3 个滴加该组标准工作溶液,每组滴加至少 3 个双碟,于 36℃~37℃培养 16 h~18 h。

8.2.4.3 标准曲线

测量各组参考浓度标准工作溶液和该组标准工作溶液抑菌圈数值,分别计算平均值,再计算所有双碟参考浓度标准工作溶液抑菌圈的总均值,作为修正值。各浓度组的抑菌圈数值按式(1)修正:

$$A_a = B_a - B + A \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A_a ——该浓度标准工作溶液被修正后的抑菌圈数值;

B_a ——修正值;

B ——该浓度组中参考浓度标准工作溶液所至抑菌圈读数平均值;

A ——该浓度标准工作溶液抑菌圈读数平均值。

以各组溶液浓度的对数与该组溶液被修正后的抑菌圈数值作线性回归,求出回归方程。相关系数 r 应不小于 0.99。

8.2.5 试样溶液的制备

取试样 25 g,精确至 0.01 g,于 150 mL 具塞锥形瓶中,准确加入 50 mL 甲醇-水(4.12),振摇 30 min,转移至离心管中,3000 r/min 离心 5 min,用氯化钠磷酸盐缓冲液准确稀释至适当浓度(使溶液中北里霉素的浓度在 0.05 u/mL~0.40 u/mL 之间)制成试样溶液。当天使用。

保留剩余上清液,用于制备钝化液。

8.2.6 测定

取与标准曲线同时制备的至少 3 个双碟,按标准曲线的制备方法(8.2.4)分别滴加试样溶液(8.2.5)和参考浓度标准工作溶液,与标准曲线同时操作和培养。

9 判定与结果计算

9.1 判定

——试样溶液不产生抑菌圈,判定北里霉素阴性;

——试样溶液产生抑菌圈,判定北里霉素阳性并计算含量。

9.2 结果计算

用回归方程求出标准工作溶液参考浓度对应的抑菌圈数值作为修正值,按式(1)校正试样溶液抑菌圈读数的平均值,再用回归方程求出试样溶液中北里霉素的实测浓度(c)。

试样中北里霉素的含量按式(2)计算:

$$W = \frac{c \times n}{m} \times 1\,000 \quad \dots\dots\dots (2)$$

饲料中北里霉素的测定

1 范围

本标准规定了饲料中北里霉素的测定方法。

本标准适用于浓缩饲料、配合饲料中北里霉素的鉴别和含量测定。

采用本方法鉴别北里霉素的最小含量为 2.5 mg/kg。

采用本方法测定北里霉素定量的检测限为每千克饲料中含 2500 北里霉素效价单位。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 14699.1 饲料 采样

中华人民共和国兽药典(2000 年版一部)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

北里霉素效价单位

用微生物法测定的北里霉素的生物活性单位,用 u 表示。北里霉素中所含的抗菌活性部分的质量与生物活性单位的关系为 1 mg 相当于 1000 北里霉素效价单位。

4 试剂和溶液

除非另有说明,在本分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水(或去离子水,或相当纯度的水)。

4.1 北里霉素标准品,符合《中华人民共和国兽药典》2000 年版一部的要求。

4.2 藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*),CMCC 28001。

4.3 甲醇。

4.4 乙酸乙酯。

4.5 正己烷。

4.6 硅胶 G,薄层层析用。

4.7 盐酸溶液,取市售盐酸 23.4 mL 用水稀释至 100 mL。

4.8 氢氧化钠溶液,取氢氧化钠 4 g,加水溶解并稀释到 100 mL。

4.9 展开剂 1,氯仿-甲醇,95+5。

4.10 展开剂 2,苯-丙酮,4+3。

4.11 10%硫酸乙醇溶液。

4.12 甲醇-水,1+1。

4.13 盐酸溶液, $c(\text{HCl})=1 \text{ mol/L}$ 。

4.14 北里霉素标准品溶液,称取 50 mg 北里霉素标准品(4.1),精确至 0.1 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇(4.3)溶解并稀释成浓度约为 1 mg/mL 的溶液。供薄层鉴别用。

4.15 北里霉素标准品贮备液:称取 50 mg 北里霉素标准品,精确至 0.1 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇