



中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

饲料添加剂 D-生物素

Feed additive—D-biotin

××××-××-××发布

××××-××-××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

前 言

本标准的第 1 章、第 4 章和第 6 章为强制性的,其余为推荐性的。

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位:浙江省兽药饲料监察所、浙江医药股份有限公司、浙江新和成股份有限公司、浙江圣达生物药业股份有限公司。

本标准主要起草人:任玉琴、裘丞军、朱聪英、黄娟、张晓丽、吴望君、张厚胜、张利英、杨金枢、张伟江、陈伶俐、梅娜。

饲料添加剂 D-生物素

1 范围

本标准规定了饲料添加剂 D-生物素的要求、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存和保质期。本标准适用于以烯酮或苯烯酸为原料,经化学合成制得的饲料添加剂 D-生物素。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件,凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB 4806.6 食品安全国家标准 食品接触用塑料树脂

GB/T 6040—2002 红外光谱分析方法通则

GB/T 6678—2003 化工产品采样总则

GB/T 6679—2003 固体化工产品采样通则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 10648 饲料标签

GB/T 13079—2006 饲料中总砷的测定

GB/T 21781 化学品的熔点及熔融范围试验方法 毛细管法

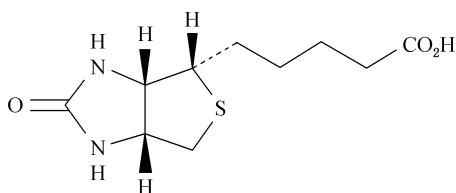
3 化学名称、分子式、相对分子质量和结构式

化学名称:5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-氧代六氢-1*H*-噻吩并[3,4-*d*]咪唑-4-基]戊酸

分子式: $C_{10}H_{16}N_2O_3S$

相对分子质量:244.31(按 2016 年国际相对原子质量)

结构式:



4 要求

4.1 外观和性状

本品为白色或类白色的结晶或结晶性粉末。在稀碱溶液中溶解,在稀酸溶液中略溶,在水、乙醇中极微溶解,在乙腈、丙酮和三氯甲烷中几乎不溶。

4.2 技术指标

技术指标应符合表 1 要求。

表 1 技术指标

项 目	指 标
D-生物素含量(C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S,以干基计)/%	97.5~101.0
干燥失重/%	≤0.5
比旋光度/[(°) · dm ² /kg]	+89.0~+93.0
熔点/°C	229~232
杂质/%	单个杂质≤1.0,杂质总量≤2.0
溶液澄清度	通过试验
炽灼残渣/%	≤0.1
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg)	≤10
总砷(以 As 计)/(mg/kg)	≤2

5 试验方法

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯;色谱分析中所用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规定,其他分析用水应符合 GB/T 6682 中三级水的规定;试剂和溶液制备应符合 GB/T 603 的规定。

5.1 外观检验

取试样适量,置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下观察其色泽和形态。

5.2 鉴别

5.2.1 试剂或材料

5.2.1.1 3%溴水。

5.2.1.2 D-生物素对照品:纯度≥99.0%。

5.2.2 仪器设备

5.2.2.1 分析天平:感量为 0.1 mg。

5.2.2.2 红外光谱仪。

5.2.3 鉴别试验

5.2.3.1 按 GB/T 6040—2002 中规定的方法测试,采用溴化钾压片法制备样品,试样的红外光吸收图谱应与 D-生物素对照品的图谱一致。D-生物素对照品红外光吸收图谱参见图 A.1。

5.2.3.2 取试样约 40 mg,加水 20 mL,搅拌,制成饱和溶液,滴加 3%溴水(5.2.1.1)0.1 mL,溴水即出现褪色。

5.2.3.3 在含量测定(5.6)中记录的色谱图中,试样溶液主峰的保留时间应与标准溶液 D-生物素主峰的

保留时间一致。

5.3 干燥失重

5.3.1 仪器设备

5.3.1.1 电热恒温干燥箱。

5.3.1.2 分析天平:感量为 0.1 mg。

5.3.2 试验步骤

取试样约 2 g(精确到 0.1 mg),置已干燥至恒重的称量皿中,在 105 °C 干燥 4 h,取出,冷却至室温,精密称定。

5.3.3 试验数据处理

干燥失重 w_1 ,以质量分数表示,数值以 % 计,按式(1)计算:

$$w_1 = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

m_1 ——干燥前试样和称量皿的质量,单位为克(g);

m_0 ——干燥后试样和称量皿的质量,单位为克(g);

m_2 ——试样质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留至小数点后一位。

5.4 比旋光度

5.4.1 仪器设备

5.4.1.1 旋光仪。

5.4.1.2 分析天平:感量为 0.1 mg。

5.4.2 试剂或材料

NaOH 溶液(0.1 mol/L):称取氢氧化钠 4 g,用水溶解并稀释至 1 L。

5.4.3 试验步骤

5.4.3.1 试样溶液制备

称取 105 °C 干燥 4 h 后冷却的试样约 2 g(精确到 0.1 mg),置 100 mL 容量瓶中,加 NaOH 溶液(5.4.2)溶解,在 20 °C ± 0.5 °C 下定容至刻度,摇匀。

5.4.3.2 测定步骤

在 20 °C ± 0.5 °C 下,将测定管用 NaOH 溶液(5.4.2)冲洗数次,再缓缓注入 NaOH 溶液(5.4.2)(注意不要产生气泡),置于旋光仪内校正零点,同法将试样溶液(5.4.3.1)置于测定管中,置旋光仪内检测读取,即为旋光度,使偏振光向右旋转者为右旋,以“+”符号表示;使偏振光向左旋转者为左旋,以“-”符号表示。重复读取 3 次,准确至 0.01°,取平均值。

5.4.4 试验数据处理

D-生物素在 20 °C、钠光谱的 D 线(589.3 nm)的比旋光度 α_m 按式(2)计算:

$$\alpha_m(20\text{ }^\circ\text{C}, D) = \frac{100\alpha}{l\rho} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

α ——测得的旋光度,单位为度($^\circ$);

l ——旋光管的长度,单位为分米(dm);

ρ ——每 100 mL 测试溶液中 D-生物素的质量浓度,单位为克每毫升(g/mL)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留至小数点后一位。

5.5 熔点

5.5.1 仪器设备

熔点仪。

5.5.2 试验步骤

取 105 $^\circ\text{C}$ 干燥 4 h 后冷却的试样适量,按 GB/T 21781 测定。

5.6 含量测定

5.6.1 原理

试样在乙腈溶液中溶解后,用高效液相色谱仪分离,紫外检测器或二极管阵列检测器检测,按外标法以峰面积定量。

5.6.2 试剂或材料

5.6.2.1 乙腈(色谱纯)。

5.6.2.2 D-生物素对照品:纯度 $\geq 99.0\%$ 。

5.6.2.3 稀释液:乙腈+水=1+4。

5.6.2.4 缓冲溶液:称取一水合高氯酸钠 1 g,加 500 mL 水溶解,再加 1 mL 磷酸,用水稀释至 1 000 mL。

5.6.2.5 标准溶液:称取 D-生物素对照品约 40 mg(精确到 0.01 mg),置于 200 mL 容量瓶中,加稀释液(5.6.2.3)约 180 mL,50 $^\circ\text{C}$ 超声 5 min 使溶解,冷却,用稀释液(5.6.2.3)稀释至刻度,摇匀,用滤膜(5.6.2.6)过滤,供高效液相色谱仪分析。

5.6.2.6 滤膜(水系,0.45 μm)。

5.6.3 仪器设备

5.6.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg。

5.6.3.2 高效液相色谱仪,带紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.6.4 试验步骤

5.6.4.1 试样溶液制备

称取 105 $^\circ\text{C}$ 干燥 4 h 后冷却的试样约 40 mg(精确至 0.01 mg),置于 200 mL 容量瓶中,加稀释液(5.6.2.3)适量,50 $^\circ\text{C}$ 超声 5 min 使溶解,冷却,用稀释液(5.6.2.3)稀释至刻度,摇匀,用滤膜(5.6.2.6)过滤,供高效液相色谱仪分析。

5.6.4.2 液相色谱参考条件

色谱柱: C₁₈柱, 柱长 150 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm 或性能相当者;

流动相: 乙腈+缓冲溶液(5.6.2.4)=8.5+91.5;

流速: 1.2 mL/min;

检测波长: 210 nm;

进样量: 20 μL。

5.6.4.3 测定

取标准溶液(5.6.2.5)和试样溶液(5.6.4.1), 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算。标准溶液色谱图参见图 B.1。

5.6.5 试验数据处理

含量 w_2 , 以质量分数表示, 数值以%计, 按式(3)计算:

$$w_2 = \frac{A_2 \times \rho_1}{A_1 \times \rho_2} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

A_2 ——试样溶液色谱分析得到的 D-生物素主峰面积;

ρ_1 ——标准溶液中 D-生物素的质量浓度, 单位为毫克每毫升(mg/mL);

A_1 ——标准溶液色谱分析得到的 D-生物素主峰面积;

ρ_2 ——试样溶液中 D-生物素的质量浓度, 单位为毫克每毫升(mg/mL)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示, 计算结果保留至小数点后一位。

5.6.6 精密度

在同一实验室, 由同一操作者使用相同设备, 按相同的测试方法, 并在短时间内对同一被测对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 2%, 以大于这两个测定值的算术平均值的 2% 的情况不超过 5% 为前提。

5.7 杂质

取试样溶液(5.6.4.1), 照液相色谱参考条件(5.6.4.2)测定, 记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。试样溶液色谱图中如有杂质峰(扣除溶剂峰), 按峰面积归一化法计算, 最大单个杂质不得大于 1.0%, 杂质总量不得大于 2.0%。

5.8 溶液澄清度

取试样 0.25 g(精确到 1 mg), 加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(5.4.2)25 mL 使溶解, 溶液应澄清无色。

5.9 炽灼残渣

5.9.1 试剂或材料

警示——硫酸是强腐蚀性液, 操作者需戴防护眼镜、手套, 以防灼伤。

硫酸。

5.9.2 仪器设备

5.9.2.1 分析天平: 感量为 0.1 mg。

5.9.2.2 高温炉。

5.9.3 试验步骤

称取试样约 2 g(精确到 0.1 mg),置已炽灼至恒重的坩埚中,缓缓炽灼至完全炭化,放冷。加硫酸 0.5 mL~1 mL 使湿润,低温加热至硫酸蒸气除尽后,在 550 °C 炽灼 3 h,取出,移至干燥器内,冷却至室温,精密称定。保留炽灼残渣,用于重金属的测定。

5.9.4 试验数据处理

炽灼残渣 w_3 ,以质量分数表示,数值以%计,按式(4)计算:

$$w_3 = \frac{m_3 - m_4}{m_5} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

m_3 ——灰化后残渣和坩埚的质量,单位为克(g);

m_4 ——坩埚的质量,单位为克(g);

m_5 ——试样质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留至小数点后一位。

5.10 重金属

5.10.1 试剂或材料

警示——氢氧化钠溶液是强腐蚀液,操作者需戴防护眼镜、手套,以防灼伤。

5.10.1.1 盐酸。

5.10.1.2 硝酸。

5.10.1.3 氢氧化钠溶液:40 g/L。

5.10.1.4 氨水溶液(10 %):按 GB/T 603 制备。

5.10.1.5 盐酸溶液 I:取盐酸 63 mL,加水至 100 mL,摇匀。

5.10.1.6 盐酸溶液 II:取盐酸 18 mL,加水至 100 mL,摇匀。

5.10.1.7 硫代乙酰胺溶液:取硫代乙酰胺 4 g,加水使溶解成 100 mL,置冰箱中冷藏保存。临用前取 1.0 mL 及混合液[由氢氧化钠溶液(5.10.1.3)15 mL、水 5.0 mL 及丙三醇 20 mL 组成]5.0 mL,置水浴上加热 20s,混匀,冷却,立即使用。

5.10.1.8 醋酸盐缓冲液(pH 3.5):取醋酸铵 25 g,加水 25 mL 溶解,加盐酸溶液 I (5.10.1.5)38 mL,用盐酸溶液 II (5.10.1.6)或氨水溶液(5.10.1.4)调节 pH 至 3.5(电位法指示),用水稀释至 100 mL,摇匀。

5.10.1.9 铅标准溶液:1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。5.10.1.10 铅标准工作液:精密量取铅标准溶液(5.10.1.9)2 mL,置 200 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀(每 1 mL 相当于 10 μg 的 Pb)。

5.10.1.11 酚酞指示液:按 GB/T 603 制备。

5.10.2 试验步骤

5.10.2.1 试样溶液制备

取试验步骤 5.9.3 中得出的炽灼残渣,加硝酸(5.10.1.2)0.5 mL,蒸干至氧化氮蒸气除尽,放冷。加盐酸(5.10.1.1)2.0 mL,置水浴上蒸干后加水 15 mL,滴加氨水溶液(5.10.1.4)至对酚酞指示液(5.10.1.11)显微红色,再加醋酸盐缓冲液(5.10.1.8)2.0 mL,微热溶解后,移置纳氏比色管,加水稀释至 25 mL,作为乙管。

5.10.2.2 标准溶液制备

另取制备试样溶液的试剂,置坩埚中蒸干后,加醋酸盐缓冲液(5.10.1.8)2.0 mL与水15 mL,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加铅标准工作液(5.10.1.10)2.00 mL,再用水稀释至25 mL,作为甲管。

5.10.3 结果判定

在甲、乙两管中分别加硫代乙酰胺溶液(5.10.1.7)各2.0 mL,摇匀,放置2 min,同置白纸上,自上向下透视,观察比较甲管与乙管的颜色,如乙管所显颜色未深于甲管,则判定重金属(以Pb计) ≤ 10 mg/kg。

5.11 总砷

称取试样约2 g(精确至0.1 mg),按GB/T 13079—2006中5.4.1.3处理,银盐法测定。

6 检验规则

6.1 采样方法

按GB/T 6678—2003、GB/T 6679—2003执行。

6.2 组批

以相同原辅料,相同生产工艺,连续生产或同一班次生产的均匀一致的产品,每批产品不超过1 000 kg为一个生产批次。

6.3 出厂检验

第4章所列项目中,外观、含量、杂质、干燥失重、比旋度、熔点、溶液澄清度为出厂检验项目。

6.4 型式检验

型式检验项目为第4章规定的所有项目,在正常生产情况下,每半年至少进行1次型式检验。在有下情况之一时,亦应进行型式检验:

- a) 产品定型投产时;
- b) 生产工艺、配方或主要原料来源有较大改变,可能影响产品质量时;
- c) 停产3个月以上,重新恢复生产时;
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时;
- e) 饲料管理部门提出检验要求时。

6.5 判定规则

有任何指标不符合本标准规定的要求时,可以从双倍量的包装中抽取样品进行复检,复检结果即使有一项指标不符合标准要求,则判该批产品不合格。

7 标签、包装、运输和贮存

7.1 标签

按GB 10648执行。

7.2 包装

本品装于适宜的容器中,采用密闭包装,包装材料应无毒无害,符合 GB 4806.6 的要求。

7.3 运输

本品在运输过程中应防止包装破损,不得与有毒有害物质混运。

7.4 贮存

本品应贮存在室温下通风、干燥处,禁止与有毒有害物质混贮。

8 保质期

未开启的原包装产品在规定的运输、贮存条件下,自产品生产之日起保质期为 36 个月。

附录 A
(资料性附录)

D-生物素对照品红外光吸收图谱

D-生物素对照品红外光吸收图谱见图 A.1。

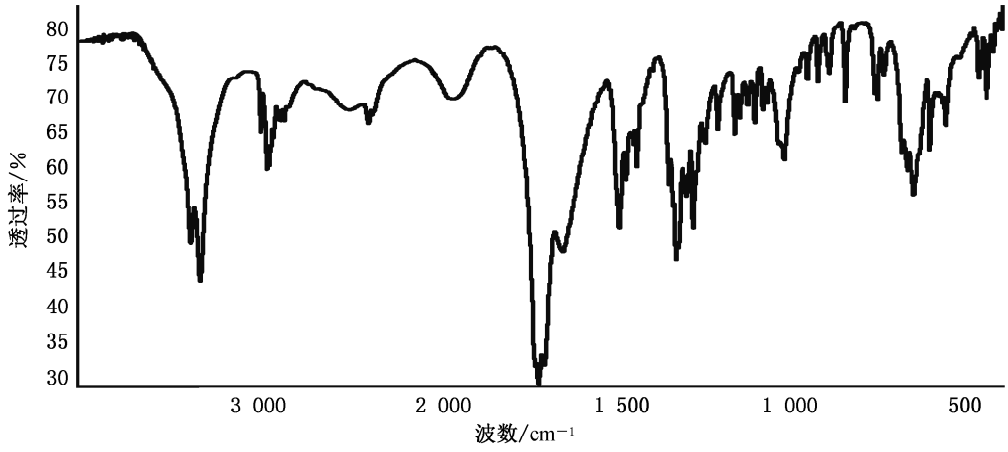


图 A.1 D-生物素对照品的红外光吸收图谱(溴化钾压片)

附录 B

(资料性附录)

D-生物素标准溶液色谱图

D-生物素标准溶液色谱图见图 B.1。

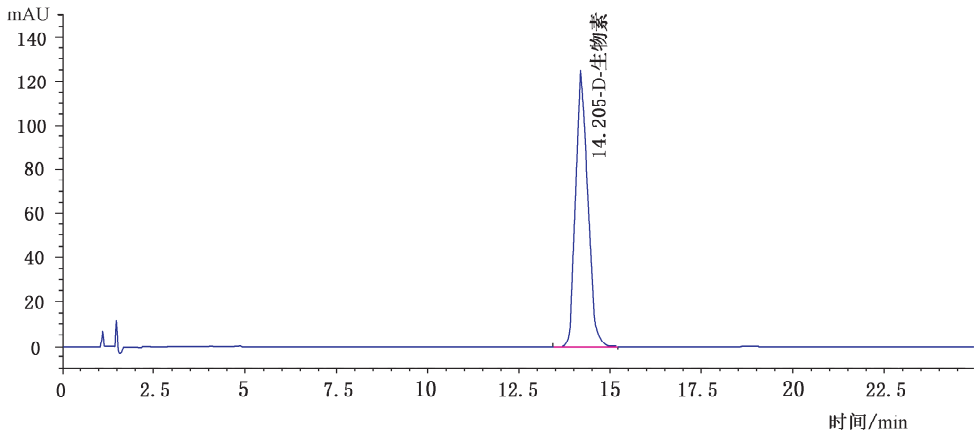


图 B.1 D-生物素标准溶液(0.2 mg/mL)色谱图