

附件 5

NYSL

新饲料和新饲料添加剂产品标准

NYSL—1004—2022

饲料添加剂 枯草三十七肽

Feed additive—Sublancin

2022-11-03 发布

2022-11-03 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本文件按照 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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出，由全国饲料评审委员会归口。

本文件由中农颖泰林州生物科技园有限公司起草，由国家饲料质量检验检测中心（北京）复核。

文件主要起草人：郭柑彤、何涛、赵俊锋、刘扬科、吴金梅、成鹏。

饲料添加剂 枯草三十七肽

1 范围

本文件给出了枯草三十七肽的化学名称、分子式、相对分子质量和结构式。规定了饲料添加剂枯草三十七肽的技术要求、检验规则、标签、包装、运输、贮存和有效期，描述了取样和试验方法。

本文件适用于以枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* CGMCC 15404) 为生产菌种，以玉米淀粉或麦芽糊精为载体，经液体发酵、膜分离、浓缩、添加载体进行喷雾干燥生产的饲料添加剂枯草三十七肽。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法

GB/T 6435 饲料中水分的测定

GB/T 6437 饲料中总磷的测定 分光光度法

GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定

GB/T 6439 饲料中水溶性氯化物的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB 10648 饲料标签

GB/T 13079 饲料中总砷的测定

GB/T 13080 饲料中铅的测定 原子吸收光谱法

GB/T 13081 饲料中汞的测定

GB/T 13082 饲料中镉的测定方法

GB/T 13091 饲料中沙门氏菌的测定

GB/T 13092 饲料中霉菌总数测定方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 18869 饲料中大肠菌群的测定

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

GB/T 23877 饲料酸化剂中柠檬酸、富马酸和乳酸的测定 高效液相色谱法

NY/T 2071 饲料中黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮和T-2毒素的测定 液相色谱法-串联质谱法

3 术语和定义

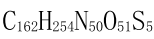
本文件没有需要界定的术语和定义。

4 化学名称、分子式、相对分子质量和结构式

4.1 化学名称

L-甘氨酸-L-亮氨酸-L-甘氨酸-L-赖氨酸-L-丙氨酸-L-α-谷氨酸-L-半胱氨酸-L-丙氨酸-L-丙氨酸-L-亮氨酸-L-色氨酸-L-亮氨酸-L-α-谷氨酸-L-半胱氨酸-L-丙氨酸-L-丝氨酸-L-甘氨酸-L-甘氨酸-L-苏氨酸-L-异亮氨酸-L-甘氨酸-L-半胱氨酸-L-甘氨酸-L-甘氨酸-L-甘氨酸-L-丙氨酸-L-缬氨酸-L-丙氨酸-L-半胱氨酸-L-α-谷氨酸-L-α-天冬氨酸-L-酪氨酸-L-精氨酸-L-α-谷氨酸-L-苯丙氨酸-L-半胱氨酸-L-精氨酸胺

4.2 分子式



4.3 相对分子质量

3879.8（按2018年国际相对原子质量）

4.4 结构式

枯草三十七肽的结构式见图1。

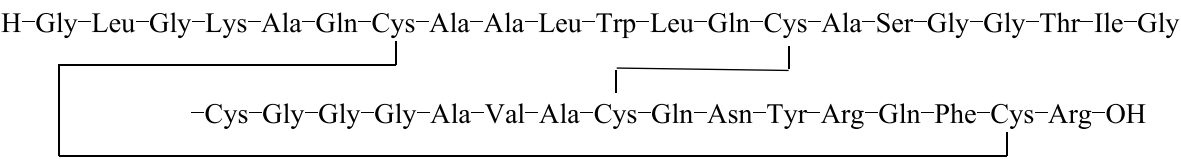


图1 枯草三十七肽的结构式

5 技术要求

5.1 外观与性状

淡黄色粉末，无明显成团结块，无异味。

5.2 技术指标

应符合表 1 中的规定。

表 1 技术指标

项目	指标
枯草三十七肽（以干基计）/%	≥1.0
水分/%	≤10.0
粒度（0.42 mm孔径试验筛通过率）/%	≥98
柠檬酸/%	≤20.0
总磷/%	≤2.0
粗灰分/%	≤25.0
水溶性氯化物（以NaCl计）/%	≤1.0
总砷（以As计）/（mg/kg）	≤2.0

铅/ (mg/kg)	≤ 5.0
汞/ (mg/kg)	≤ 0.1
镉/ (mg/kg)	≤ 0.5
黄曲霉毒素B ₁ / (μg/kg)	≤ 10.0
玉米赤霉烯酮/ (mg/kg)	≤ 0.5
霉菌总数/ (CFU/g)	$\leq 2.0 \times 10^4$
大肠菌群/ (MPN/g)	$\leq 1.0 \times 10^2$
沙门氏菌 (25 g中)	不得检出

6 取样

按 GB/T 14699.1 的规定进行。

7 试验方法

7.1 感官检验

取适量样品 (约 250 g)，在非阳光直射的情况下，观其色泽、形态，嗅其气味。

7.2 枯草三十七肽

按附录 A 规定执行。

7.3 水分

按 GB/T 6435 规定执行。

7.4 粒度

按 GB/T 5917.1 规定执行。

7.5 柠檬酸

按 GB/T 23877 规定执行。

7.6 总磷

按 GB/T 6437 规定执行。

7.7 粗灰分

按 GB/T 6438 规定执行。

7.8 水溶性氯化物

按 GB/T 6439 规定执行。

7.9 总砷

按 GB/T 13079 规定执行。

NYSL—1004—2022

7.10 铅

按 GB/T 13080 规定执行。

7.11 汞

按 GB/T 13081 规定执行。

7.12 镉

按 GB/T 13082 规定执行。

7.13 黄曲霉毒素B₁

按 NY/T 2071 规定执行。

7.14 玉米赤霉烯酮

按 NY/T 2071 规定执行。

7.15 霉菌总数

按 GB/T 13092 规定执行。

7.16 大肠菌群

按 GB/T 18869 规定执行。

7.17 沙门氏菌

按 GB/T 13091 规定执行。

8 检验规则

8.1 组批

以相同材料、相同的生产工艺、连续生产或同一班次生产的同一规格的产品为一批。

8.2 出厂检验

出厂检验项目为外观与性状、枯草三十七肽、水分、粒度、铅、总砷、镉。产品出厂前应逐批检验，检验合格并且附具合格证和使用说明书（按照附录 C 执行）方可出厂。

8.3 型式检验

型式检验项目为第 5 章规定的所有项目。在正常生产情况下，每半年至少进行一次型式检验。有下列情况之一，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) 停产三个月以上，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) 饲料行政管理部门提出检验要求时。

8.4 判定规则

8.4.1 所有项目全部合格，判定为该批次产品合格。

8.4.2 检测结果中有任何指标不符合本文件规定时，可自同批产品中重新加倍取样进行复检。复检结果仍不符合本文件规定，即判定该批产品不合格，微生物指标不得复检。

8.4.3 各项目指标的极限数值判定按 GB/T 8170 中修约值比较法执行。

9 标签、包装、运输、贮存和保质期

9.1 标签

按 GB 10648 的规定执行，标签式样见附录 D。

9.2 包装

本品采用复合铝箔袋包装，1kg/袋、5kg/袋、20kg/袋、25kg/袋（或按客户指定规格包装）。

9.3 运输

运输过程中应有遮盖物，防止日晒、雨淋、受潮，不得与有毒有害物质或其它有污染的物质混装、混运。

9.4 贮存

贮存时防止日晒、雨淋、受潮，不得与有毒有害物质或其它有污染的物质混贮。

10 保质期

未开启包装的产品，在规定的运输、贮存条件，原包装自生产之日起保质期为 24 个月。

附录 A

(规范性)

饲料添加剂枯草三十七肽中枯草三十七肽含量的测定

A.1 原理

试样中的枯草三十七肽经水提取,稀释后用高效液相色谱仪反相色谱系统分离,紫外检测器或二极管阵列检测器测定,外标法定量。

A.2 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

A.2.1 水:GB/T 6682,一级。

A.2.2 三氟乙酸:色谱纯。

A.2.3 乙腈:色谱纯。

A.2.4 流动相 A:移取 1 mL 三氟乙酸(A.2.2),加入 1 000 mL 水中,过 0.22 μm 水相滤膜,脱气 10 min,密封备用。

A.2.5 流动相 B:量取乙腈(A.2.3) 800 mL,加入 200 mL 水,混匀,再加入三氟乙酸(A.2.2) 0.85 mL 混匀,过 0.22 μm 有机相滤膜,脱气 10 min,密封备用。

A.2.6 枯草三十七肽对照品:含量 86.30% $\pm$ 0.22%。

A.2.7 枯草三十七肽标准储备溶液:准确称取枯草三十七肽对照品(A.2.6) 50 mg(精确至 0.01 mg),置于 10 mL 离心管中,加入 5 mL 水,于旋涡混合器上振荡 3 min~5 min,完全溶解后转移至 50 mL 容量瓶中,用水清洗离心管 3 次,清洗液一并移入容量瓶中,继续超声 15 min~30 min,用水定容,摇匀。该溶液枯草三十七肽浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存,有效期 7 d。

A.2.8 枯草三十七肽标准系列溶液:准确量取枯草三十七肽标准储备溶液(A.2.7)适量,用水稀释,配制成浓度分别为 62.5 $\mu\text{g/mL}$ 、125 $\mu\text{g/mL}$ 、250 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、1 000 $\mu\text{g/mL}$ 枯草三十七肽标准系列溶液,临用现配。

A.2.9 滤膜:0.22 μm ,水相和有机相。

A.3 仪器设备

A.3.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

A.3.2 分析天平:感量为 0.01 mg。

A.3.3 超声波清洗器。

A.3.4 旋涡混合器。

A.3.5 离心机:转速不低于 12 000 r/min。

A.4 样品

按 GB/T 20195 规定执行,选取有代表性的饲料样品至少 500 g,四分法缩减至 100 g,粉碎通过 0.42 mm 孔径分析筛。

A.5 试验步骤

A. 5. 1 试样溶液制备

平行做两份试验。称取试样 5 g（精确至 0.000 1 g），置于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 水，于旋涡混合器上振荡 3 min~5 min，完全溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，用水清洗离心管 3 次，清洗液一并移入容量瓶中，再超声 15 min~30 min，用水定容，摇匀。取适量溶液于离心管中，12 000 r/min 离心 2 min，用注射器吸取上清液约 2.5 mL，过 0.22 μm 滤膜，弃去前 1 mL 滤液，接取后续滤液于样品瓶中，供高效液相色谱测定。

A. 5. 2 测定

A. 5. 2. 1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C₈ 色谱柱，粒度 5 μm，内径 4.6 mm，柱长 150 mm，或性能相当者。
- b) 流动相：流动相 A：（A. 2. 4）；流动相 B：（A. 2. 5）。梯度洗脱，洗脱梯度见表 A. 1。
- c) 流速：1.0 mL/min。
- d) 柱温：22 ℃。
- e) 进样体积：20 μL。
- f) 检测波长：280 nm。

表 A. 1 流动相洗脱梯度表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	70.0	30.0
1.00	70.0	30.0
15.00	57.0	43.0
15.01	0	100.0
17.00	0	100.0
17.01	70.0	30.0
23.00	70.0	30.0

A. 5. 2. 2 标准系列溶液和试样溶液的测定

在仪器的最佳条件下，分别上机测定标准系列溶液和试样溶液。以枯草三十七肽色谱峰面积为横坐标，标准系列溶液的浓度为纵坐标，绘制标准曲线，标准曲线的相关系数不低于 0.995。枯草三十七肽的液相色谱图见附录 B。

A. 6 试验数据处理

试样中枯草三十七肽含量（以干基计）以质量分数 ω 计，数值以百分数（%）表示，按式（A. 1）计算：

$$\omega = \frac{C \times V}{m \times (1 - X)} \times 10^{-4} \dots\dots\dots (A. 1)$$

式中：
C——由标准曲线计算的试样溶液中枯草三十七肽的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；
V——试样溶液定容体积，单位为毫升（mL）；
m——试样质量，单位为克（g）；

NYSL—1004—2022

X ——试样的水分含量，单位为质量百分数（%）；

10^{-4} ——单位换算系数。

测定结果用平行测定值的算数平均值表示，计算结果保留两位有效数字。

A.7 精密度

在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差值不大于该算术平均值的 10.0%。

附录 B

(资料性)

枯草三十七肽标准溶液的高效液相色谱图

枯草三十七肽标准溶液的高效液相色谱图见图B.1。

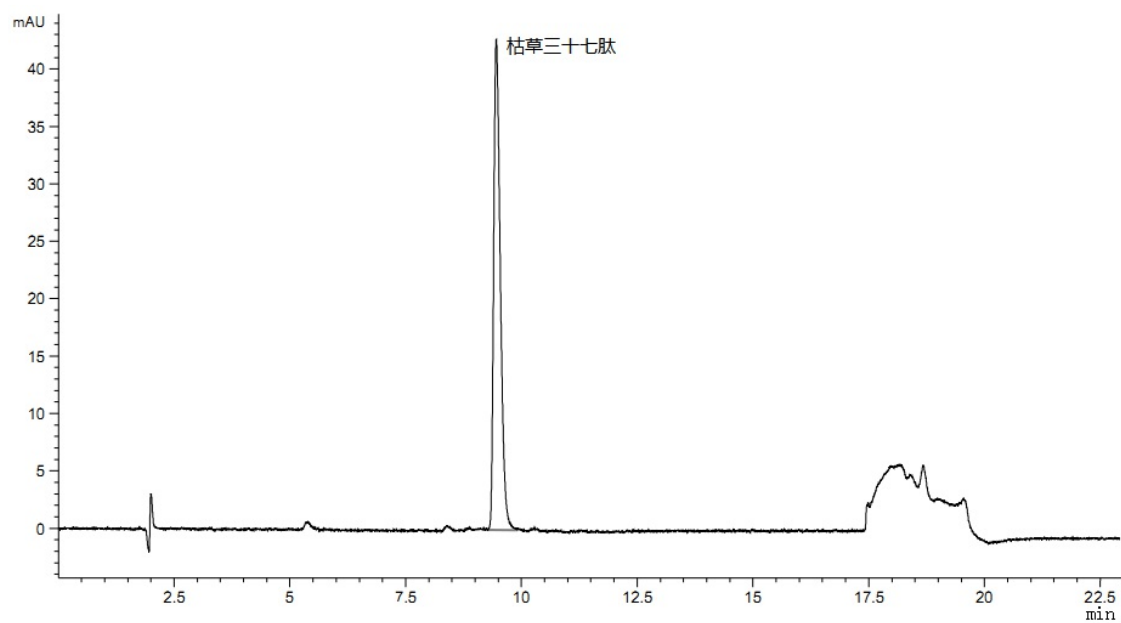


图 B. 1 枯草三十七肽标准溶液的高效液相色谱图 (125 µg/mL)

附录 C

(规范性)

产品使用说明书

【新产品证书号】

【生产许可证号】

【产品批准文号】

【执行标准】

饲料添加剂 枯草三十七肽

使用说明书

【产品名称】枯草三十七肽

【英文名称】Sublancin

【性 状】淡黄色粉末

【产品成分分析保证值】

项目	指标
枯草三十七肽（以干基计）/%	≥ 1.0
水分/%	≤ 10.0
粒度（0.42 mm孔径试验筛通过率）/%	≥ 98
柠檬酸/%	≤ 20.0
总磷/%	≤ 2.0
粗灰分/%	≤ 25.0
水溶性氯化物（以NaCl计）/%	≤ 1.0
总砷（以As计）/（mg/kg）	≤ 2.0
铅/（mg/kg）	≤ 5.0
汞/（mg/kg）	≤ 0.1
镉/（mg/kg）	≤ 0.5
黄曲霉毒素B ₁ /（μg/kg）	≤ 10.0
玉米赤霉烯酮/（mg/kg）	≤ 0.5
霉菌总数/（CFU/g）	$\leq 2.0 \times 10^4$
大肠菌群/（MPN/g）	$\leq 1.0 \times 10^2$
沙门氏菌（25 g中）	不得检出

【作用功效】可促进生长，增强机体免疫功能，改善肠粘膜形态结构和菌群组成。

【适用范围】肉鸡。

【用法与用量】在肉鸡配合饲料中推荐添加量为 1.5~6.0 mg/kg（以枯草三十七肽计）。

【净 含 量】

【保 质 期】24 个月。

【贮 运】贮存在干燥、洁净、通风的库房内，防潮、防晒、防雨淋，防止与有毒有害物质混贮混运。

【生产企业】

地址
电话
网址

邮编
传真
邮箱

附 录 D

(规范性)

产品标签

【新产品证书号】

【生产许可证号】

【产品批准文号】

【执 行 标 准】

饲料添加剂

枯草三十七肽

Sublancin

【产品名称】枯草三十七肽

【产品成分分析保证值】

项目	指标
枯草三十七肽（以干基计）/%	≥1.0
水分/%	≤10.0
粒度（0.42 mm孔径试验筛通过率）/%	≥98
柠檬酸/%	≤20.0
总磷/%	≤2.0
粗灰分/%	≤25.0
水溶性氯化物（以NaCl计）/%	≤1.0
总砷（以As计）/（mg/kg）	≤2.0
铅/（mg/kg）	≤5.0
汞/（mg/kg）	≤0.1
镉/（mg/kg）	≤0.5
黄曲霉毒素B ₁ /（μg/kg）	≤10.0
玉米赤霉烯酮/mg/kg）	≤0.5
霉菌总数/（CFU/g）	≤2.0×10 ⁴
大肠菌群/（MPN/g）	≤1.0×10 ²
沙门氏菌（25 g中）	不得检出

【有效组分】枯草三十七肽。

【作用功效】可促进生长，增强机体免疫功能，改善肠粘膜形态结构和菌群组成。

【适用范围】肉鸡。

【用法与用量】在肉鸡配合饲料中推荐添加量为 1.5～6.0 mg/kg（以枯草三十七肽计）。

【净 含 量】

【保 质 期】24 个月。

【贮 运】贮存在干燥、洁净、通风的库房内，防潮、防晒、防雨淋，防止与有毒有害物质混贮混运。

【生产企业】地址

邮编

电话

传真

【生产日期】

【生产批号】