

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.01.022

池可心, 姚卫蓉. 紫外分光光度法检测海南霉素的研究[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(1): 173-180.

CHI K X, YAO W R. Research on the detection of hainanmycin by UV spectrophotometry[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(1): 173-180.

紫外分光光度法检测 海南霉素的研究

池可心, 姚卫蓉✉

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 海南霉素钠 ($C_{47}H_{79}O_{15}Na$) 是一种广泛添加在鸡、牛羊等动物饲料中的新型一元酸聚醚类抗生素, 主要用于防治球虫病、调节生长代谢。利用海南霉素与衍生剂发生显色反应, 可以通过紫外分光光度法进行检测。结果表明, 对二甲氨基苯甲醛、香草醛两种衍生剂对海南霉素衍生后生产物分别在 595 nm、590 nm 处有最大紫外吸收, 海南霉素经香草醛衍生后检测限最低, 当衍生剂组成为 4% 香草醛 (g/100 mL)、20% 盐酸和 80% 无水乙醇时, 与海南霉素溶液按照 4 : 6 (V : V) 的比例在 90 °C 下衍生化反应 5 min, 衍生后显色效果最好, 海南霉素在 5~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内与吸光度值呈线性关系, 决定系数 R^2 为 0.993, 可用于定量检测预混剂和饲料中的海南霉素含量。在饲料中定量限为 4.8 mg/kg, 在饲料、预混剂中海南霉素回收率分别为 75%~94%、83%~101%, 可作为饲料和海南霉素钠预混剂中检测海南霉素的一种有效方法。

关键词: 海南霉素; 香草醛法; 对二甲氨基苯甲醛法; 紫外分光光度法; 海南霉素钠预混剂; 饲料

中图分类号: O657.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7561(2023)01-0173-08

网络首发时间: 2022-12-27 11:45:28

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail//11.3863.TS.20221226.1448.001.html>

Research on the Detection of Hainanmycin by UV Spectrophotometry

CHI Ke-xin, YAO Wei-rong✉

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

Abstract: Hainanmycin sodium is a new type of monobasic acid polyether antibiotics, which has been widely used in chicken, cattle and sheep and other animal feeds, and it is mainly used to prevent coccidiosis and regulate growth metabolism. The color reaction between hainanmycin and derivative can be detected by UV spectrophotometry. The results showed that the derivatives of p-dimethylaminobenzaldehyde and vanillin had the maximum UV absorption at 595 nm and 590 nm, respectively, and hainanmycin had the lowest detection limit after vanillin derivatization. When the derivative agent was composed of 4% vanillin (g/100 mL), 20% hydrochloric acid and 80% anhydrous ethanol, the derivative reaction with hainanmycin

收稿日期: 2022-05-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1602300)

Supported by: National Key Research and Development Program (No. 2018YFC1602300)

作者简介: 池可心, 女, 1997 年出生, 在读硕士生, 研究方向为食品污染物检测方法。E-mail: 3231238720@qq.com.

通讯作者: 姚卫蓉, 女, 1970 年出生, 教授, 博士, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: yaoweirongcn@jiangnan.edu.cn.

solution was carried out at 90 °C for 5 min at the volume ratio of 4 : 6 (V : V), and the color effect was the best after derivatization. Hainanmycin showed a linear relationship with the absorbance in the concentration range of 5~50 μg / mL, and the R^2 (Coefficient of determination) was 0.993. This method could quantify the hainanmycin content in the premix and feed. The limit of quantification was 4.8 mg/kg in feed, and the recoveries of hainanmycin in feed and premix were 74.5%~93.8% and 83.2%~101.3%, respectively. It can be used as an effective method for the detection of hainanmycin in feed and premix.

Key words: hainanmycin; vanillin; paradimethylaminobenz- aldehyde; ultraviolet spectrophotometry; hainanmycin sodium premix; feed

海南霉素钠 ($C_{47}H_{79}O_{15}Na$) 是一种广泛添加在鸡、牛、羊等动物饲料中的新型一元酸聚醚类抗生素, 主要用于防治球虫病^[1]、调节生长代谢^[2-3]。海南霉素的上市产品为含 1%海南霉素纯品的预混剂(球克), 《中国饲料药物添加剂使用规范》规定其预混饲料规格为 10 mg/g, 目前海南霉素用于预防球虫病的使用以 500~750 μg/g 水平混饲(以海南霉素钠预混剂计)^[4]。

目前饲料中海南霉素检测定量方法仅有液相色谱串联质谱法^[5], 海南霉素钠预混剂生产过程中检测方式仅有茴香醛衍生法-紫外分光光度法^[6], 液相色谱串联质谱检测成本高, 对研究人员操作要求高, 需要开发一种成本低、简单的方法以满足在简单条件下对海南霉素快速检测方法, 同时为海南霉素钠预混剂生产控制中提供一种简单、准确的检测方法。

海南霉素没有发光基团, 要通过分光光度法检测海南霉素, 需要通过衍生法引入发色基团。目前聚醚类药物常用的衍生剂有茴香醛^[6]、香草醛^[7]、对二甲氨基苯甲醛^[8]、2,4-二硝基苯肼(DNP)^[9], 本文前期尝试用不同衍生剂对海南霉素进行衍生化, 包括 DNP、茴香醛^[6]、香草醛、对二甲氨基苯甲醛, 发现除 DNP 外, 都能与海南霉素发生显色反应。香草醛等衍生剂一般与浓硫酸、浓盐酸配合使用, 加浓酸的目的主要是使羧基脱水、提供酸环境。香草醛浓酸显色原理是海南霉素与香草醛发生双分子缩合生成共轭双键系统, 浓酸使目标物分子中羧基脱水, 增加双键结构, 再经双键位移等反应生成共轭双键^[10-11], 如图 1 所示。本文拟利用对二甲氨基苯甲醛、香草醛衍生, 通过调节衍生剂浓度、温度、不同的酸及浓度对衍生条件进行优化, 以达到较低的检测

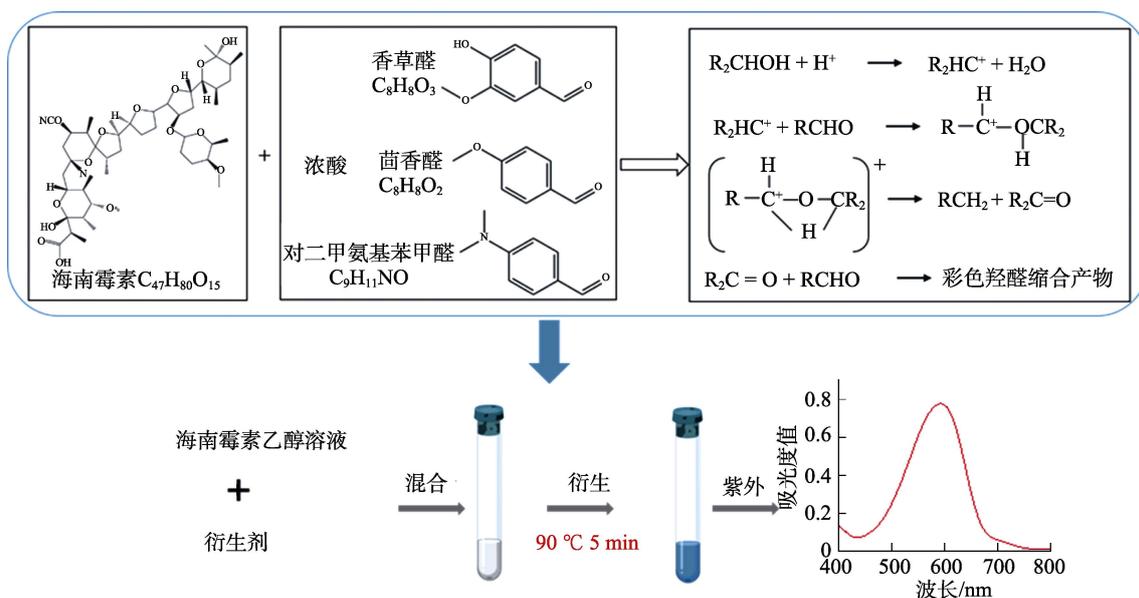


图 1 海南霉素衍生示意图

Fig. 1 Derivative diagram of hainanmycin

限, 建立一种低成本、操作简单的方法检测海南霉素, 用于快速检测饲料、海南霉素钠预混剂中海南霉素的含量。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海南霉素标准品: 中国兽医药品监察所; 海南霉素钠预混剂(含1%海南霉素): 山东胜利生物工程有限公司; 香草醛、茴香醛、对二甲氨基苯甲醛(分析级): 北京百灵威科技有限公司; 盐酸、硫酸、甲醇、乙醇(分析级): 上海国药集团有限公司; 鸡饲料, 石家庄正大饲料。

1.2 仪器与设备

小型高速粉碎机: 河北本辰科技有限公司; VORTEX-GENIE2 型 SI 可调速漩涡混合器: 美国 Scientific Industries 公司; SHZ-B 水浴恒锅: 上海晶谈仪器制造有限公司; T10 系列双光束紫外可见分光光度计: 北京普析通用仪器有限责任公司; 干式氮吹仪: 上海梓桂仪器有限公司; Thermo Scientific 台式离心机: 美国 Thermo Fisher Scientific; Milli-Q 超纯水系统: 美国 Millipore 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 对二甲氨基苯甲醛衍生剂的制备与检测

对二甲氨基苯甲醛衍生剂: 90 mL 无水乙醇, 加入 3 g 对二甲氨基苯甲醛, 超声溶解后置于冰水中, 缓缓加入 10 mL 浓硫酸, 混匀, 避光保存, 两周内有效。

称取海南霉素钠标准品用乙醇稀释至 20~200 $\mu\text{g/mL}$ 得到一系列不同浓度稀释液, 取样品溶液 0.6 mL (以无水乙醇为空白对照)、显色剂 0.4 mL 置于 10 mL 具塞试管内, 涡旋震荡 1 min 混匀, 放入 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中 5 min, 取出试管后用冷水冷却, 在 $\lambda_{\text{max}} = 600 \text{ nm}$ 处测得其吸光度值, 以海南霉素浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.2 香草醛衍生剂的制备与检测

香草醛衍生剂: 4 g 香草醛溶于 80 mL 乙醇中, 搅拌溶解, 置于冰水中, 缓缓加入 20 mL 浓盐酸, 摇匀后放置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 两周内有效。

称取海南霉素标准钠盐标准品用乙醇稀释至 5~50 $\mu\text{g/mL}$ 得到一系列不同浓度稀释液, 取样品溶液 0.6 mL (另取无水乙醇为空白对照), 置于 10 mL 具塞试管内, 加入 0.4 mL 香草醛衍生剂, 涡旋震荡 1 min 混匀, 放入 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中反应 5 min, 在 $\lambda_{\text{max}} = 590 \text{ nm}$ 处测得其吸光度值, 以海南霉素浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制标准曲线, 衍生示意如图 1。

1.4 香草醛衍生条件的优化

1.4.1 酸种类与浓度对吸光度值的影响

在反应温度 75 $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 35 min 香草醛浓度 4% (g/100 mL) 的条件下, 加入不同浓度的盐酸、硫酸配置衍生剂, 硫酸浓度分别为 2.5%、5%、10%、15%、20%, 盐酸浓度分别为 5%、10%、15%、20%、25%, 以海南霉素浓度 10 $\mu\text{g/mL}$ 按照 1.3.2 检测方法分别测得吸光度值。

1.4.2 香草醛浓度对吸光度值的影响

固定反应温度 75 $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 35 min, 以盐酸浓度 20% 配置衍生剂, 香草醛浓度分别为 1、2、4、6 g/100 mL, 以海南霉素浓度 10 $\mu\text{g/mL}$ 按照 1.3.2 检测方法分别测得吸光度值。

1.4.3 反应温度、时间对吸光度值的影响

香草醛浓度 4%, 盐酸浓度 20%, 配置衍生试剂, 量取衍生试剂液 0.4 mL 于 10 mL 具塞试管中, 加入 0.6 mL 乙醇-海南霉素标准品溶液 (海南霉素浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$), 涡旋震荡 1 min 摇匀, 分别放置 65、75、85、90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 5、15、25、35、45、55 min 后, 取出冷却至室温, 在 590 nm 处测得最大吸光度值。

1.4.4 衍生剂占反应总体积比对吸光度值的影响

香草醛浓度 4%, 盐酸浓度 20%, 配置衍生试剂, 量取衍生试剂 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.7 mL 于 10 mL 具塞试管中, 分别加入 0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.3 mL 的乙醇-海南霉素标准品溶液 (海南霉素含量均为 10 μg), 涡旋震荡 1 min 摇匀, 置 90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 5 min, 取出试管冷却至室温, 在 590 nm 处测得最大吸光度值。

1.4.5 衍生反应后产物稳定性考察

取样品溶液 0.6 mL 海南霉素 10 $\mu\text{g/mL}$ (另取乙醇为空白对照), 置于 10 mL 具塞试管内, 加

入 0.4 mL 一定浓度的香草醛 4%–盐酸 20%乙醇溶液（现用现配），涡旋震荡 1 min 混匀，放入 90 °C 恒温水浴中避光反应 5 min 后在 590 nm 处测得其吸光度值，分别在 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、12 h 时间段监测其紫外吸收变化情况，考察其衍生反应物的稳定性。

1.5 饲料中海南霉素的检测

在空白鸡饲料中加海南霉素，制得含有 5、10、50 mg/kg 海南霉素水平的样品饲。称取 2 g 鸡饲料，置于 50 mL 离心管内，加入 8 mL 乙酸乙酯，震荡提取 2 min，放入超声清洗机中，超声提取 5 min 后，用离心机 5 000 r/min 离心 5 min 后取上清，转移至烧瓶中，于 45 °C 旋转加热蒸发至近干，然后加入 2 mL 乙腈复溶，取出至离心管中，再加入 2 mL 乙腈饱和正己烷溶液震荡 1 min，用离心机在 5 000 r/min 下离心 5 min，去除正己烷层溶液，将下层溶液用氮气吹至近干，加入 0.6 mL 90%乙醇溶液复溶，转移至 10 mL 具塞量筒中，按照方法 3.2.5 进行检测，测得 590 nm 处吸光度值，用基质匹配标准曲线计算回收率。

因为饲料基质在与香草醛衍生化时会有基质干扰，需要用基质标准曲线定量。空白饲料提取净化后，用 0.6 mL 5~50 μg/mL 海南霉素标准溶液复溶，按照方法 1.3.2 进行测定绘制基质标准曲线。

1.6 预混剂中海南霉素的检测

对海南霉素钠预混剂提取溶剂进行优化，在 2 g 海南霉素钠预混剂，分别加入 10 mL 甲醇、乙醇、乙腈、乙酸乙酯、异辛烷，震荡 2 min，超声提取 5 min，取 0.5 mL 定容至 100 mL，取 100 μL 按照方法 1.3.2 进行检测。

1.7 数据分析

所有实验至少进行三次，用 SPSS 25.0 和 EXCEL 2021 对数据进行统计和分析，Origin 2021b 软件进行作图处理。

2 结果与讨论

2.1 对二甲氨基苯甲醛法

对二甲氨基苯甲醛对海南霉素衍生后，最大吸收波长在 600 nm 处，对二甲氨基苯甲醛衍生条件进行优化，包括衍生剂浓度、衍生反应温度、酸的种类及浓度等。在优化条件下结果见图 2 所示，其最低检测浓度为 20 μg/mL，海南霉素浓度在 20~200 μg/mL 与吸光度值线性拟合良好， $R^2 > 0.99$ ，但由于该方法检测限高，不能满足检测饲料中低浓度的要求，因此此方法仅能适用于检测标准品溶液和预混剂中高浓度海南霉素检测。

2.2 香草醛法

香草醛对海南霉素衍生后，最大吸收波长在 590 nm 处，对香草醛衍生条件进行优化，衍生剂浓度、温度，使用酸浓度等，如图 3 所示其最低检测浓度为 5 μg/mL，海南霉素浓度与吸光度值线性拟合均良好， R^2 大于 0.99，能满足检测饲料中低浓度的要求，此方法能适用于检测标准品溶液、饲料中常量级海南霉素检测、预混剂中高浓度海南霉素检测。

2.3 酸种类与浓度对香草醛衍生吸光度值的影响

如图 4 所示，使用不同浓度硫酸、盐酸配置香草醛衍生剂，在相同的反应条件下，香草醛衍生剂使用硫酸、盐酸的最佳浓度分别为 10%、20% 时效果最好，使用 20% 盐酸时效果优于 10% 硫酸，

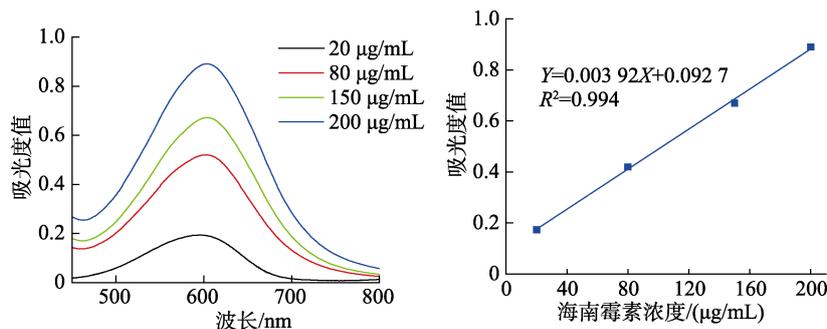


图 2 对二甲氨基苯甲醛衍生海南霉素紫外分光图和线性回归拟合图

Fig. 2 UV spectra and linear regression fitting of Hainanmycin derivatived by p-methylaminobenzaldehyde

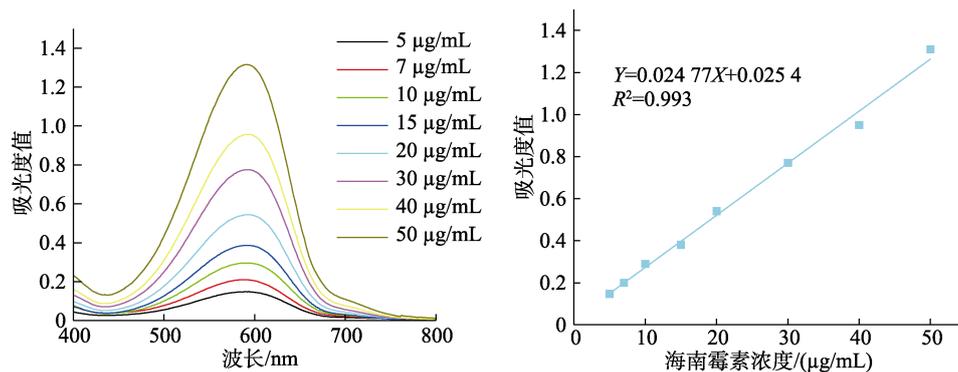


图 3 香草醛衍生海南霉素紫外分光图和线性回归拟合图

Fig. 3 UV spectra and linear regression fitting of vanillin-derived hainanmycin

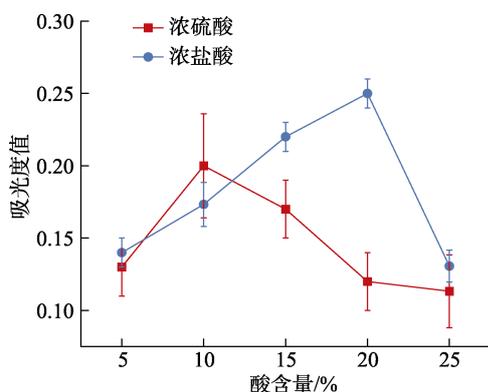


图 4 不同酸及使用浓度对海南霉素衍生化效果

Fig. 4 Effect of different acids and concentrations on derivative hainanmycin

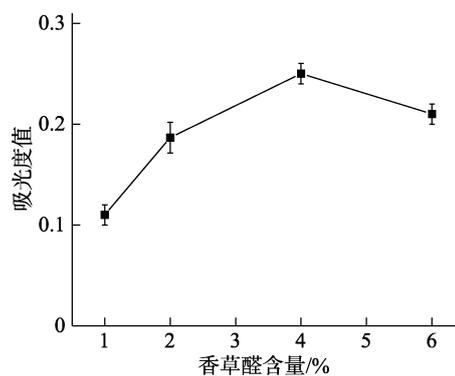


图 5 不同香草醛浓度衍生剂衍生效果

Fig. 5 Effects of different vanillin concentration derivatives on derivatization

因此, 决定使用 20% 盐酸作为香草醛衍生剂的使用酸及浓度。

2.4 香草醛浓度对香草醛衍生吸光度值的影响

在相同反应条件下, 75 °C 水浴加热 35 min, 以盐酸浓度为 20%, 香草醛浓度分别为 1、2、4、6 g/100 mL 配置不同香草醛含量的衍生剂, 结果如图 5 所示, 随着香草醛浓度的升高, 衍生效果越好, 当香草醛含量为 4% 时, 在海南霉素相同浓度下衍生产物吸光度值最高, 当再增加香草醛的含量时, 衍生效果反而变差、吸光度值下降, 因此选择香草醛含量为 4% 时配置衍生剂。

2.5 反应温度、时间对香草醛衍生吸光度值的影响

如图 6 所示, 在反应温度 65 °C 时, 吸光度值随着反应时间的增加而呈现缓慢增加的趋势; 在反应温度 75 °C 时, 吸光度值随着反应时间先增加后降低的趋势, 反应时间为 35 min 时吸光度值达到最大; 在反应温度 85 °C 时, 吸光度值随着反应时间先增加后降低的趋势, 反应时间为 15 min

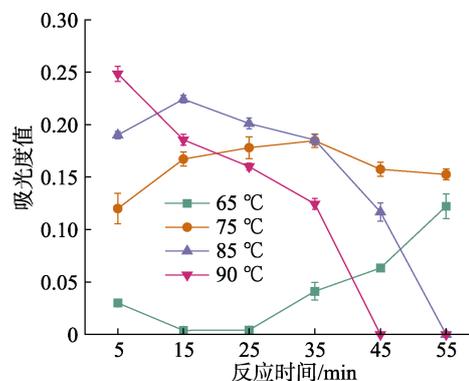


图 6 不同反应温度和反应时间对香草醛衍生海南霉素的影响

Fig. 6 Effect of different reaction temperature and time on vanillin-derived hainanmycin

时吸光度值最高; 反应温度 90 °C 时, 在 5 min 时吸光度值就达到最高, 随着反应时间延长吸光度值下降, 乙醇逐渐蒸干, 海南霉素也可能在高温下分解。因此选择温度 90 °C、时间 5 min 作为最佳反应时间和温度。

2.6 衍生剂占反应总体积比对香草醛衍生吸光度值的影响

如下图 7 所示, 控制反应总体积为 1 mL, 随

着衍生剂占反应总体积比增高,吸光度值呈现先升后降的趋势。衍生化试剂与乙醇溶液反应体积比 4:6 时,吸光度值达到最大;体积占比超过 4:6 后,吸光度值逐渐降低,可能衍生化试剂浓度过高影响其与香草醛发生缩合,导致海南霉素反应不充分,因此选择最适宜的衍生化体积比为 4:6。

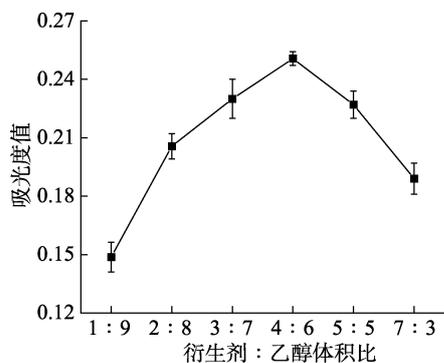


图 7 衍生剂体积与乙醇反应体积比对海南霉素衍生化影响
Fig. 7 Effect of the ratio of derivative volume to ethanol reaction volume on the derivatization of hainanmycin

2.7 香草醛衍生反应后产物稳定性考察

如图 8 所示,此显色反应很稳定,反应后产物在 1 h 内吸光度下降不足 5%,且在 12 h 内显色度都无明显变化。因此,此衍生反应生产的衍生物很稳定,能够满足检测需求。

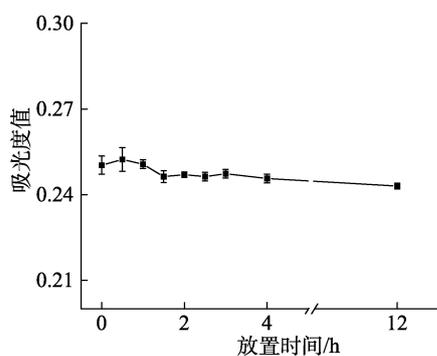


图 8 显色反应稳定性
Fig. 8 Color reaction stability

2.8 香草醛其他聚醚类抗生素衍生反应

用香草醛同样对马杜霉素、莫能菌素^[12]、盐霉素进行衍生反应(20 μg/mL),在 400~800 nm 波长扫描下,如下图 9 所示,其各自最大吸收波长分别为 464、517、522 nm,与海南霉素 590 nm 能够明显区分开来,说明香草醛衍生海南霉素的衍生产物具有可分辨的独特性。

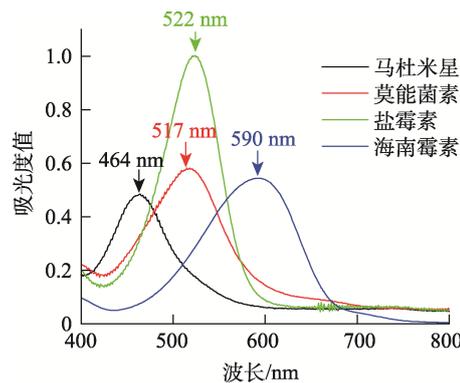


图 9 香草醛衍生不同聚醚类药物的紫外光谱图
Fig. 9 UV spectrum of vanillin derived different polyether drugs

2.9 饲料中海南霉素的提取溶剂选择

称取 2 g 鸡饲料,分别使用不同的提取试剂乙酸乙酯、乙腈、甲醇、异辛烷、90%乙腈水按照 1.5 方法进行提取净化,并用香草醛衍生剂按照方法 1.3.2 进行检测,测得 590 nm 处吸光度值,用基质匹配标准曲线计算回收率。如图 10 所示,乙酸乙酯的回收率较高,因此使用乙酸乙酯作为饲料中海南霉素的提取溶剂。

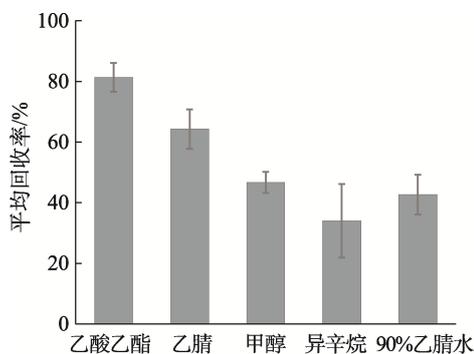


图 10 不同溶剂提取饲料中海南霉素回收率 (n=3)
Fig. 10 Recovery rate of hainanmycin from feed by different solvents (n=3)

2.10 预混剂中海南霉素的提取溶剂选择

对比甲醇、乙醇、乙腈、乙酸乙酯、异辛烷提取海南霉素钠预混剂(1%海南霉素)的回收率,结果图 11 所示,相同的条件下,甲醇的回收率最高,理论回收率高达 93.3%~100.0%,乙醇、甲醇、乙酸乙酯次之,甲醇更适用于海南霉素钠预混剂的提取,回收率最高。

2.11 方法学考察

2.11.1 饲料中海南霉素的检测

前处理按照方法 1.3.2 进行,海南霉素 5~

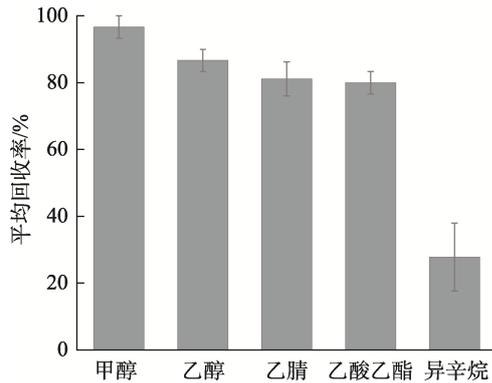


图 11 不同溶剂提取海南霉素钠预混剂回收率 (n=3)

Fig. 11 Recovery rates of hainanmycin sodium premix extracted with different solvents

50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内, 计算出饲料基质匹配标准曲线为 $y = 0.0219x + 0.0444$, $R^2 > 0.99$, 由 $3\sigma/K$ 计算出 LOD 为 1.6 $\mu\text{g}/\text{g}$, 定量限为 4.8 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。鸡饲料在 5、10、50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 海南霉素加标水平下, 每个加标水平三个平行, 回收率如表 1 所示, 在 75%~94%, 通过分析这些加标样品, 计算日内精密密度, 一天重复 3 次。日内相对标准偏差为 3.1%~11.2%, 小于 15%, 能够满足饲料中海南霉素检测需求。

表 1 饲料中海南霉素加标回收率和相对标准偏差

Table 1 The recovery and relative standard deviation of Hainanmycin in feed

饲料	海南霉素加标水平/ $\mu\text{g}/\text{g}$	回收率/%	相对标准偏差/%	日内标准偏差/%
1	5	75	6.5	11.2
	10	76	5.2	4.1
	50	80	7.3	8.5
2	5	75	7.1	10.3
	10	86	3.4	4.4
	50	88	5.1	6.7
3	5	94	8.4	7.6
	10	83	3.9	3.1
	50	85	2.7	5.8

2.11.2 市场产品的实际检测结果

由山东胜利公司提供的海南霉素钠预混剂 (1%海南霉素), 按照方法 1.6 进行提取, 按照 1.3.2 香草醛衍生法方法进行检测, 计算预混剂中海南霉素含量, 每个样品三个平行, 一天重复三次计算日内相对精密密度。结果如表 2 所示, 本方法的回收率在 83%~101%, 日内相对标准偏为

表 2 市场产品的实际检测回收率和相对标准偏差

Table 2 Recovery rate and relative standard deviation of hainanmycin %

海南霉素钠预混剂	回收率	相对标准偏差	日内标准偏差
1	101	5.2	5.6
	97		
	91		
2	90	3.4	5.7
	96		
	91		
3	94	7.3	4.7
	83		
	95		

4.7%~5.7%, 均小于 15%, 满足检测需求。

3 结论

本文通过对二甲氨基苯甲醛法、茴香醛法对海南霉素进行衍生, 能够对饲料、预混剂中海南霉素检测。同时优化了饲料和预混剂中海南霉素的提取条件, 乙酸乙酯用于饲料中提取、甲醇用于海南霉素钠预混剂提取效果较好, 香草醛衍生法在饲料和预混剂中回收率分别 75%~94%、83%~101%, 相对标准偏差分别为 2.7%~8.4%、5.2%~7.3%, 方法灵敏度高、特异性强、简单快速, 且能够与其他聚醚类抗生素与香草醛衍生后的产物区分开来 (最高吸收波长不同), 香草醛衍生后海南霉素 590 nm, 盐霉素 522 nm, 马杜霉素 464 nm, 可以作为测定饲料和海南霉素钠预混剂中海南霉素含量的一种有效手段。

参考文献:

- [1] 黄兵. 离子载体抗球虫新药——海南霉素[J]. 养禽与禽病防治, 2002, (5): 16-17.
HUNAG B. Ion carrier anticoccidial drug—Hainanmycin[J]. Poultry Husbandry and Disease Control, 2002, (5): 16-17.
- [2] 沈辰辰. 海南霉素对山羊瘤胃消化代谢与生物氢化作用的影响[D]. 南京农业大学, 2009.
SHEN C C. Effect of hainanmycin on ruminal digestive metabolism and biohydrogenation in goats[D]. Nanjing Agricultural University, 2009.
- [3] WANG Z B, XIN H S, BAO J, et al. Effects of hainanmycin or monensin supplementation on ruminal protein metabolism and populations of proteolytic bacteria in Holstein heifers[J]. Anim Feed Sci Tech, 2015, 201: 99-103.
- [4] 梁业辉, 程林丽, 别克吐尔, 等. 饲料中海南霉素研究应用

- 现状[J]. 农业科学, 2019, (10): 882-886.
- LUAN Y H, CHENG L L, BEIKE TUER A, et al. Review on Research and Application of Hainanmycin[J]. Hans Journal of Agricultural Science, 2019, (10): 882-886.
- [5] WANG Z P, SHEN J Z, LINHARDT R J, et al. Liquid to liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of hainanmycin in feed[J]. J Chromatogr B, 2017, 1046: 98-101.
- [6] 董蕾, 武济民, 周朝晖. 茴香醛比色法测定发酵液中海南霉素效价[J]. 工业微生物, 1998, (4): 37-39.
- DONG L, WU J M, ZHOU Z H. Colormetric determination of potency of hainanmycin in the fermentation broth by anisaldehyde method[J]. Industrial Microbiology, 1998, (4): 37-39.
- [7] 张凯, 任玉琴. 分光光度法测定盐霉素的含量[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(8): 14-15.
- ZHANG K, REN Y Q. Determination of salinomycin by spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2005, 39(8): 14-15.
- [8] 饲料中赛杜霉素钠的测定-柱后衍生高效液相色谱法: 农业部 2349 号公告-2-2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- Determination of semduramicin sodium in feeds-High performance liquid chromatography with post-column derivatization: Announcement No. 2349 of the Ministry of Agriculture-2-2015 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [9] DUSI G, GAMBA V. Liquid chromatography with ultraviolet detection of lasalocid, monensin, salinomycin and narasin in poultry feeds using pre-column derivatization[J]. J Chromatogr A, 1999, 835(1-2): 243-246.
- [10] 刘善宇. 酯类烟用潜香物质的合成与加香效应研究[D]. 河南农业大学, 2010.
- LIU S Y. Study on synthesis and flavoring effect of ester substances for tobacco[D]. Henan Agricultural University, 2010.
- [11] DUKE F R. Komarowski reaction[J]. Analytical Chemistry, 2002, 19(9): 661-662.
- [12] MORAN J W, MATTHEW RODEWALD J, DONOHO A L, et al. Determination of monensin in chicken tissues by liquid chromatography with postcolumn derivatization[J]. J Aoac Int, 1994, 77(4): 885-890. 完
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。