国家标准

实验动物　配合饲料
氨基酸的测定

编制说明

联 系 人：王竹

联系电话：13366322019

编制单位：中国疾病预防控制中心营养与健康所

时　　间：2026 年 10 月 28 日

《实验动物　配合饲料 氨基酸的测定》编制说明

（一） 工作简况，包括任务来源、协作单位；

根据国标委发〔2026〕10 号 《国家标准委关于下达 2026 年第一批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》，由中国疾病预防控制中心营养与健康所组建队伍对《实验动物 氨基酸的测定》（GB/T 14924.10-2008）进行修订。

中国疾病预防控制中心营养与健康所与中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、北京市疾病预防控制中心、军事科学院军事医学研究院实验动物中心、北京市营养源研究所有限公司共同协作完成修订过程中的试验和文本修订工作，形成征求意见稿。

另外，北京三元种业科技有限公司检测中心、赢创（中国）投资有限公司赢创动物营养实验室（北京）、大成万达（天津）有限公司参与了方法验证。起草单位和验证单位涉及营养学研究、实验动物应用与管理、配合饲料生产加工及检测等多个领域，满足至少一家具备实验动物饲料验证资质的要求。

（二） 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据，修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比；主要工作过程、标准主要起草人及其所做的工作等；

1. 标准编制原则

1.1 以现有法律法规为依据

本方法的主要参数、公式、性能要求等主要依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则第 4 部分：化学分析方法》的要求进行编写。并且按照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范、食品理化检测》、GB/T 27417-2017 《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法学进行了考察。标准修订符合我国国情，满足实验动物配合饲料的检测需求。

1.2 弥补现有国标方法的不足

随着营养成分科学概念、强化技术、分析技术的提升，有关饲料、食品氨基酸测定方法有所改进，特别是氨基酸自动化检测色谱技术的广泛应用使检测的方便快捷性、检测目标的精准性得到了很大提高；因此需要对比相应国标、行标的发展进度提出必要的修订。

1.3　满足对实验动物配合饲料氨基酸的检测需求

随着实验动物与营养配给关系对饲养质量关注的日益提供，特别是有关氨基酸代谢与疾病关系的研究不断提升，因此实验动物配合饲料不仅需要满足蛋白质和必需氨基酸的基础配给、更要考虑通过不同的氨基酸强化配给开展特定模式动物研究。为了提高方法适用性、准确性，起草组认真梳理有关饲不同氨基酸前处理条件、色谱分离技术的发展现状，研究分析步骤的要点和细节，确保描述准确、降低歧义，遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则，建立测定方法。

2. 主要内容、确定依据及与原标准的对比

2.1 适用范围的确立

原版标准配合《实验动物 配合饲料通用要求》（GB/T 14924.3-2001），提出适用范围为“适用于实验动物小鼠、大鼠、兔、豚鼠、地鼠、犬和猴的配合饲料及其原料的测定”。随着实验动物种类的增加，2021 年后《实验动物 术语》（GB/T 39759-2021）等标准关于实验动物资源术语指出，实验动物包括小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔、犬、鸡、鸭、猪、鱼、猴、猫、树鼩、雪貂、土拨鼠、牛、羊、羊驼等；而且随着医学的发展，转基因动物或者模式动物也逐渐应用到动物实验中来。

从实验动物配合饲料的定义来看，更新版《实验动物 配合饲料通用要求》（GB 14924.1）以及《实验动物 术语》（GB/T 39759）等标准均明确指出，实验动物配合饲料是根据实验动物营养需要，将多种饲料原料和饲料添加剂按饲料配方生产的均匀混合物。配合饲料主要包括维持饲料、生长饲料、繁殖饲料；在一些特殊要求下，也会制定特殊配方或特殊工艺制作的饲料。

由此可见，原标准文本适用范围限定的实验动物品种已不能满足当前实验动配合饲料的发展需要，需在本标准中予以规范。根据氨基酸是来自蛋白质降解产

物还是来自添加的氨基酸组分，本次修订做出了方法适用性验证，证明实验动物配合饲料比普通动物饲料有更高的游离氨基酸的检测需求，因此在方法适用性验证基础上本次修订对适用范围做出了调整，**明确了 1）对实验动物配合饲料的氨基酸测定，2）对 15 中氨基酸、含硫氨基酸、色氨酸、游离氨基酸的测定。**

2.2 规范性引用文件的修订

原版标准除采用荧光分光光度法测定色氨酸外，主要引用了“GB/T 5009.124 食品中氨基酸的测定”“GB/T 15400 饲料中色氨酸测定方法 分光光度法”“GB 18246-2000 饲料中氨基酸的测定”。尽管在分析原理上存在一定的技术相似性，但随着食品和饲料品种的发展，方法的适用范围发生很大变化，而针对不同类别样品的前处理条件也有了细化调整，比如 GB/T 18246－2019《饲料中氨基酸的测定》的适用范围为“饲料原料、配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料”。由于实验动物饲料服务于科学研究和药物安全评价对配合饲料有专门的配制要求和营养要求，核心质量控制目标是营养成分精确控制与实验结果可重复性，而且已发展出纯化饲料（如 AIN-93 系列）和模型饲料（如特定氨基酸缺乏或高含量饲料）等畜禽饲料不具备的特殊饲料类型，对测定方法的适用性和前处理流程需要提出独立的技术要求，如果继续直接引用这些标准，会造成适用范围不匹配，可能会增加检测者采用不当样品前处理造成结果不当的风险。

另一方面，本标准修订后在技术条件上也有一些不同，比如色氨酸测定采用氢氧化锂水解—高效液相色谱法，在试剂、仪器和定量方式上也与原被引用标准有所不相同；针对实验动物高脂模型饲料特别在样品制备上提出了脱脂要求。《实验动物质量管理办法》（国科发财字[1997]593 号）和《实验动物管理条例》明确要求"全国执行统一的实验动物质量国家标准"，全国约 2000 余个实验动物设施、每年约 2500 万只实验动物均须依据实验动物专用标准进行饲料质量检测。综上，无论从归口管理、应用场景、检测能力要求及饲料基质适配等方面不宜直接引用原来的标准，而是针对性地细化检测过程。

因此按照分析实验室用水规格、试样制备要求、仪器检定规程和实验动物配合饲料营养成分指标要求，本次修订规范性引用文件修改为引用“GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法”“GB/T 20195 动物饲料 试样的制备”“JJG 1064 氨基酸分析仪检定规程”以及“GB/T 14924.3 实验动物 配合饲料营养成分”。

2.3 检测目标的确立

原版标准包括氨基酸和色氨酸的测定，其中氨基酸的测定方法直接“按 GB/T 18246-2000 或 GB/T 5009.124 中相关规定执行”。由于这些被引标准有所更新，更新后的 GB/T 18246-2019 中分别采用常规酸水解法、氧化酸水解法、碱水解法、酸提取法检测不同氨基酸，而 GB 5009.124-2016 仅包括酸水解法，且两个标准的酸水解法所检氨基酸组分略有不同，故如果直接引用更新后标准会造成被测目标不一致的问题，故有必要根据实验配合饲料种氨基酸的来源及测量稳定性确定适宜的方法，并确定相关的测定原理、技术参数、分析结果表述及精密度要求。

2.3.1 氨基酸组分

实验动物配合饲料中原料的蛋白质是氨基酸的主要来源，在开展动物实验中不仅需要了解氨基酸的构成，在一些特定研究中也需要了解氨基酸含量是否实验动物所需或满足研究目的。根据《实验动物 配合饲料营养成分》（GB 14924.3—2010）实验动物配合饲料中赖氨酸、蛋氨酸+胱氨酸、精氨酸、组氨酸、色氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、苏氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸的含量应满足各种实验动物生长发育及繁殖所需，因此修订后的标准按照样本前处理条件和色谱技术，应能满足 17 种氨基酸和色氨酸的定量检测需求。

2.3.2 增加游离氨基酸测定方法的必要性

随着实验动物及相关科学研究的发展，配合饲料中的氨基酸不仅来自于由原料蛋白降解的氨基酸，也会由纯化饲料、预混料、氨基酸强化带入游离氨基酸，以满足各项研究的特殊需求，比如糖尿病与氨基酸代谢组学关系的研究；通过对部分实验动物配合饲料生成机构进行调研，证实近年来生产过富含支链氨基酸、色氨酸等配合饲料的需求有所增加。因此本次标准修订决定增加游离氨基酸的测定方法，已满足动物实验需求。

2.4 样品制备

按照《实验动物 配合饲料通用要求》，实验动物配合饲料的原料应符合饲料的相关管理规定，因此样品的制备也依据“GB/T 20195 动物饲料 试样的制备”进行了规定。通常情况下实验动物饲料中脂肪含量在 3%~10%，酸水解或碱水解

可以去除大部分脂肪的干扰，不会造成对氨基酸的检测结果造成影响；但在有些特殊的动物实验中会采用高脂饲料，脂肪含量可达到30%或以上，因此也需要提醒“如样品脂肪含量过高以至影响到氨基酸测定，需称取适量已粉碎样品（不少于50 g）进行脱脂风干，记录脱脂后与脱脂前的质量比值（F），混匀后装入密闭容器中备用”。

2.5 氨基酸测定的样品前处理条件

实验动物配合饲料中的氨基酸主要来源于蛋白质的降解产物，不同的样品前处理方法主要包括酸水解法、氧化酸水解法和碱水解法，

2.5.1 蛋白源氨基酸的提取——酸水解和氧化酸水解

6 mol/L HCl 高温酸水解法是测量蛋白质水解氨基酸的经典方法，尽管检测结果中可能会包括少量游离氨基酸。根据国内和国际标准方法，用6 mol/L盐酸溶液水解22 h-24 h可以有效将蛋白质进行降解。降解后的试样经离子交换色谱可以实现17种氨基酸的有效分离，用茚三酮柱后衍生化后再由紫外检测器检测可以完成定量分析。氨基酸自动分析仪的色谱图见图1。

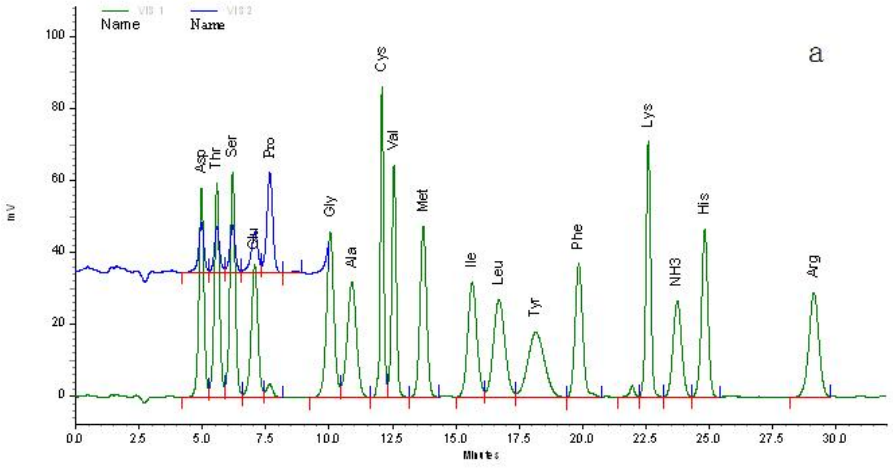


图1. 17种氨基酸标准溶液谱图

[色谱峰由左至右依次为：天门冬氨酸（Asp）、苏氨酸（Thr）、丝氨酸（Ser）、谷氨酸（Glu）、脯氨酸（Pro）、甘氨酸（Gly）、丙氨酸（Ala）、胱氨酸（Cys）、缬氨酸（Val）、蛋氨酸（Met）、异亮氨酸（Ile）、亮氨酸（Leu）、酪氨酸（Tyr）、苯丙氨酸（Phe）、赖氨酸（Lys）、组氨酸（His）、精氨酸（Arg）]

胱氨酸虽可在色谱上进行定性分析，但由于酸水解导致部分破坏，使检测结果被低估并重复性不好；同样蛋氨酸虽不像胱氨酸那样几乎完全破坏，但其检测结果也有低估可能，且 GB 14924.3—2010 规定了要计算蛋氨酸和胱氨酸之和，因此需要有在酸水解前增加有利于保护胱氨酸和蛋氨酸的预处理。甲酸氧化可以将胱氨酸和半胱氨酸转化为磺基丙氨酸、蛋氨酸转化为蛋氨酸砜，再进行高温酸水解后可以有效防止破坏（图 2）。将磺基丙氨酸、蛋氨酸砜与 17 种氨基酸配制成混合标准溶液进行色谱分析，图 3 显示各成分可以得到有效分离，实现对胱氨酸和蛋氨酸的定量分析。

由于酸水解法会造成胱氨酸、蛋氨酸的部分破坏，氧化酸水解法会造成酪氨酸的部分破坏，因此本标准必需同时采用 2 种水解方法，其中酸水解法适用于 15 种氨基酸的测定，氧化酸水解法适用于胱氨酸和蛋氨酸的测定。由于胱氨酸是 2 个半胱氨酸的二聚体，二者可以通过氧化还原互变，因此胱氨酸的测定结果会含有半胱氨酸。

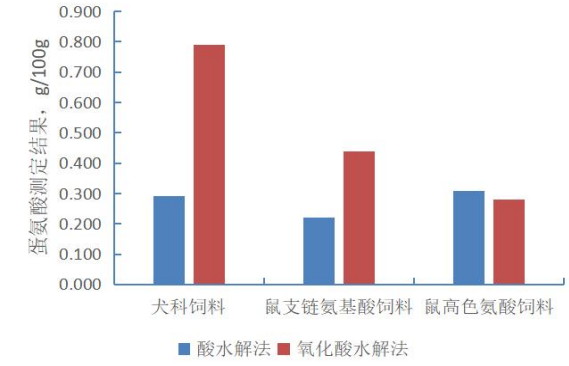


图 2 氧化酸水解法与酸水解法对蛋氨酸测量的差异性比较（n=5)

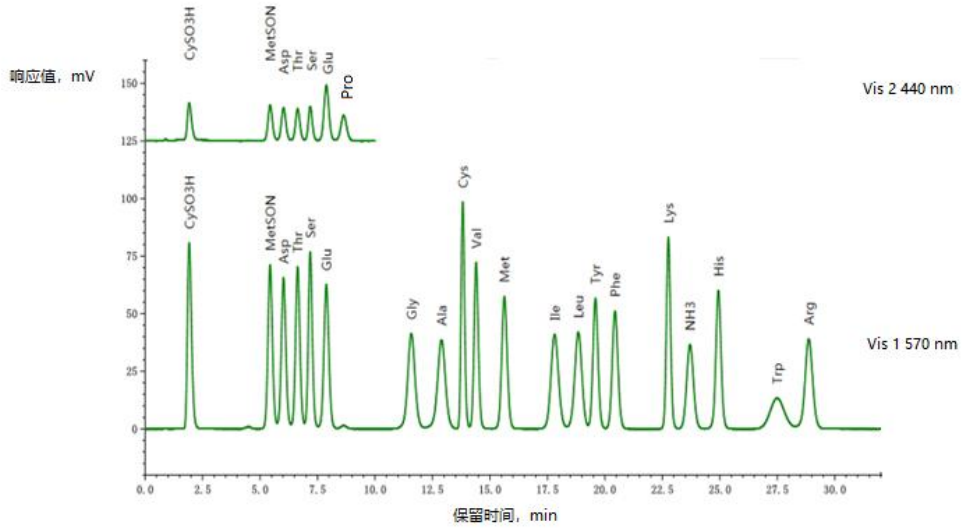
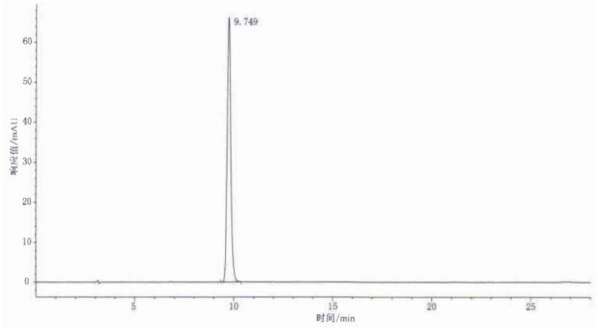


图 3.　磺基丙氨酸、蛋氨酸砜与氨基酸标准溶液（50 nmol/mL）色谱图

[色谱峰由左至右依次为：磺基丙氨酸（CySO3H）、蛋氨酸砜（MetSON）、天门冬氨酸（Asp）、苏氨酸（Thr）、丝氨酸（Ser）、谷氨酸（Glu）、脯氨酸（Pro）、甘氨酸（Gly）、丙氨酸（Ala）、胱氨酸（Cys）、缬氨酸（Val）、蛋氨酸（Met）、异亮氨酸（Ile）、亮氨酸（Leu）、酪氨酸（Tyr）、苯丙氨酸（Phe）、赖氨酸（Lys）、组氨酸（His）、精氨酸（Arg）]

2.5.2 蛋白源色氨酸的提取——碱水解

色氨酸因侧链含吲哚芳香杂环，常规 6 mol/L HCl 高温酸水解（110 ℃）会彻底破坏色氨酸，使之无法准确定量。相比较而言，吲哚环在碱性高温条件下稳定，可断开肽键释放色氨酸，因此色氨酸通常采用碱水解的方法对蛋白质进行降解再通过色谱技术进行检测，目前国内外相关方法的通用前处理条件，尤其是针对蛋白质降解产生的色氨酸因此在综合比较 AOAC 988.15 饲料色氨酸测定、ISO 13904:2005 动物饲料色氨酸的测定、NRC 实验动物营养需要量：饲料色氨酸分析、以及我国《饲料中氨基酸的测定》（GB/T 18246－2019）均是采用了这样的技术条件，色谱图及标准曲线见图 4。但是对于添加了色氨酸的样品，碱水解法可能造成添加游离氨基酸的降解，因此在反复查阅文献的基础上，以添加了色氨酸的鼠料为样本，比较了直接提取法（乙酸钠溶解）与碱水解对色氨酸检测结果的影响，图 5 证明了对于添加了色氨酸的样品而言采用直接提取法更适宜。



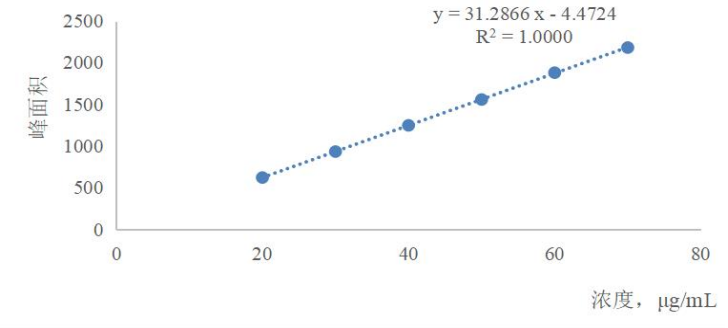


图4　色氨酸标准溶液液相色谱参考图及标准曲线

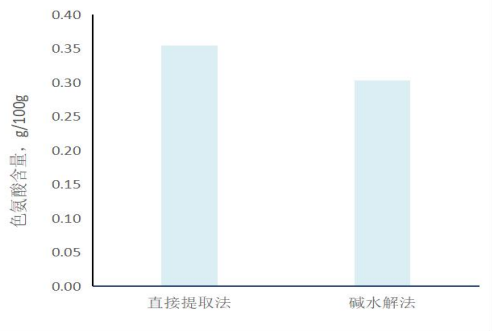


图 5 样品前处理方法对添加色氨酸的配合饲料样品检测结果的影响

2.5.4 游离氨基酸——酸提取法

由于实验动物配合饲料中氨基酸的来源不仅包括蛋白降解产物，也会包括添加的氨基酸组分，如高支链氨基酸饲料、高色氨酸饲料，因此需要掌握非蛋白降解的氨基酸含量，此种情况下无需高浓度酸水解或碱水解。为了选择最佳的提取条件，工作组对国内现行与游离氨基酸测定有关的标准进行了总结，并选择样品进行了对比试验，结果证明对于实验动物配合饲料中游离氨基酸的测定，表 1 所列 3 种前处理方法测得的结果是相近的，其中 0.1 mol/L 盐酸溶液超声提取 30 min 是相对高效的。

表 1 与游离氨基酸测定有关的现行标准

标准号	标准名称	前处理方法	测定方法
NYT 1975-2010	水溶肥料 游离氨基酸含量的测定	5%磺基水杨酸，常温 1h	氨基酸分析仪
GB/T 42957-2023	氨基酸产品和添加剂预混合饲料中赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸含量的测定	0.1M HCl，常温 30min	氨基酸分析仪
GBT30987-2020	植物中游离氨基酸的测定	水，95℃ 10min	高效液相色谱法
GB/T 8314-2013	茶 游离氨基酸总量的测定	水，95℃ 20min	分光光度仪

为了证明酸提取法对游离氨基酸测定的有效性，取添加了蛋氨酸的配合饲料，分别采用氧化酸水解法和酸提取法进行测定，证明：1）酸提取法能有效完成游离氨基酸的测定，和添加量相比，回收率≥91%；2）氧化水解法作为蛋白源蛋氨酸测定的经典方法会由于高温酸水解造成游离氨基酸的部分破坏，使检测结果降低 30%以上，回收率仅为添加量的 60%左右 （表 2），结果提示采用酸提取条件建立游离氨基酸测定的必要性。

表 2 两种试样提取方法对添加蛋氨酸配合饲料检测结果的影响（n≥3)

试样	添加量，%	前处理方法	测定值，%	回收率，%	RSD，%
样品 1	2.0	酸提取法	1.83	91.5*	2.35
	2.0	氧化水解法	1.26	52.5	10.3
样品 2	2.5	酸提取法	2.43	97.0*	0.29
	2.5	氧化水解法	1.58	63.4	12.9

*和氧化水解法比较，$P<0.05$。

2.6 方法验证

为了验证修订后方法适用性，由中国人民解放军军事医学研究院实验动物中心定制了实验动物用饲料（其基本信息见表 3），按照已建立方法进行氨基酸平行检测。

表 3 实验动物配合饲料样品基本信息

样品号	名称	生长阶段	原料来源	蛋白质含量，%	脂肪含量，%
1	犬料	繁殖料	天然原料	26.0	>5
2	豚鼠料	维持料	天然原料	17.0	<5
3	鼠纯化饲料	维持料	纯化原料	14.2	<5

4	鼠高支链氨基酸饲料	维持料	纯化原料	22.0	<5
5	鼠高色氨酸饲料	维持料	纯化原料	14.2	<5

2.6.1 标准曲线

将标准溶液配制成不同浓度后上机测定，根据峰面积与标准浓度的响应值进行线性回归分析，相关系数 *r* 均达到 0.99 或 0.999（表 4）。而通过验证单点外标法、多点外标法和内标法对样品检测结果的影响，证明结果的一致性较强，考虑到检测成本和可操作性，确定标准采用单点外标法定量检测 17 种氨基酸。色氨酸的线性回归系数见表 5，同样可见相关系数 *r* 达到 0.999。

表 4　17 种氨基酸的线性相关系数

峰面积 / 氨基酸	标准浓度，ng/mL						*r* 值
	47.62	69.48	102.62	240.04	470.86	577.14	
天门冬氨酸	222280	520555	1014064	2444967	4814594	6021758	0.9995
苏氨酸	188111	440444	838689	2053187	4021465	5041370	0.9995
丝氨酸	299494	750718	1446525	3595154	7089020	8849077	0.9996
谷氨酸	326875	702474	1290314	3037031	5763408	7076036	0.9992
脯氨酸	181354	385440	751594	1803535	3540512	4470563	0.9995
甘氨酸	396391	872824	1676737	3960628	7479958	9182281	0.9990
丙氨酸	350107	770832	1455449	3480468	6676643	8255503	0.9993
缬氨酸	290116	543441	953838	2121919	3952679	4860114	0.9991
异亮氨酸	183925	423322	814506	1955401	3778895	4728804	0.9994
亮氨酸	214457	501795	1000499	2459104	4848937	6111487	0.9995
酪氨酸	123255	295939	597243	1505452	3075319	3922007	0.9996
苯丙氨酸	165735	370390	732699	1878200	3933773	5000057	0.9997
组氨酸	171419	372546	707276	1672581	3209602	4008222	0.9993
赖氨酸	276427	560712	1060143	2485342	4772069	6047633	0.9993
精氨酸	213281	448551	857725	2042026	4003315	5028043	0.9995
胱氨酸	155790	338749	657717	1556555	2527097	3025546	0.9934
蛋氨酸	109249	253882	492583	1205556	2168976	2371374	0.9923

表 5　色氨酸的线性相关系数

峰面积 / 氨基酸	标准浓度，ng/mL					*r* 值
	26.6	51.6	102.3	203.8	256.0	
色氨酸	51801	97082	201403	390838	502311	0.9998

2.6.2 方法定量限的确定

2.6.2.1 不同基质的定量限比较

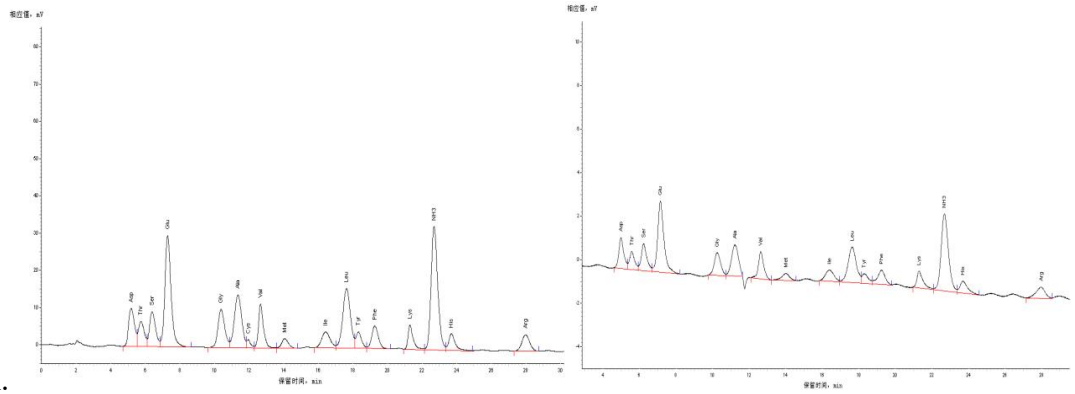
因为配合饲料普遍含有蛋白质，故为了确定方法定量限，首先通过筛选不同基质氨基酸含量选择出含量较低的乳清粉作为试样，通过优化试样前处理条件，比较了酸水解、氧化酸水解下的方法定量限。取试样最大称样量为 100 mg，水解液稀释倍数为 15 倍的条件下测定 15 种氨基酸；取试样最大称样量为 75 mg，水解液稀释倍数为 3 倍测定胱氨酸和蛋氨酸，并以仪器信噪比 10 倍的方法计算定量限，结果显示如表 6。

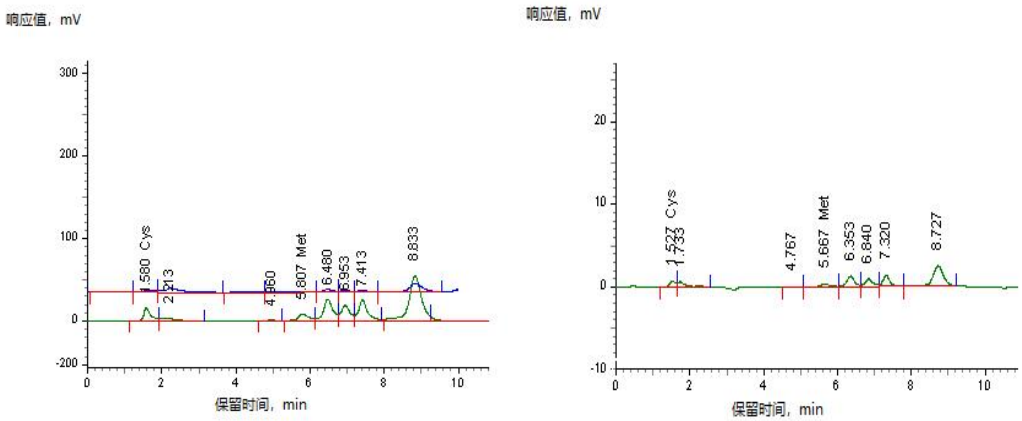
表 6　17 种氨基酸组分的定量限

氨基酸	定量限，%	氨基酸	定量限，%
天门冬氨酸	0.04	蛋氨酸	0.01
苏氨酸	0.03	异亮氨酸	0.04
丝氨酸	0.03	亮氨酸	0.04
谷氨酸	0.03	酪氨酸	0.05
脯氨酸	0.06	苯丙氨酸	0.04
甘氨酸	0.02	赖氨酸	0.04
丙氨酸	0.02	组氨酸	0.04
胱氨酸	0.01	精氨酸	0.05
缬氨酸	0.03		

为了进一步验证各氨基酸定量限数据合理性以及不同基质试样的适用性，另以蛋白水解氨基酸总量较低的玉米原料为基质，采用优化方法对各氨基酸含量进行测定，以水解液逐级稀释的方法确定定量限，玉米水解液中 15 种氨基酸逐级稀释色谱图见图 4，含硫氨基酸逐级稀释色谱图见图 6。

A.





B.

图 6　玉米水解液中逐级稀释色谱图（稀释倍数 1~10）

（A. 15 种氨基酸, B. 含硫氨基酸）

将采用不同基质确定的各氨基酸定量限进行比较，如表 7 所示，所确立的定量限在同一浓度水平，且与 ISO 13903:2005 给出的赖氨酸、蛋氨酸、胱氨酸和苏氨酸的定量限参考值（分别为 0.3 g/kg、0.25 g/kg、0.35 g/kg、0.2 g/kg）接近。考虑到不同仪器、前处理称样量及稀释倍数的影响，最终确定的定量限是合理且能达到的。

表 7　不同基质试样确立的各氨基酸组分定量限比较

氨基酸	定量限，%	
	乳清粉	玉米
天门冬氨酸	0.04	0.03
苏氨酸	0.03	0.03
丝氨酸	0.03	0.04
谷氨酸	0.03	0.02
脯氨酸	0.06	0.03
甘氨酸	0.02	0.03
丙氨酸	0.02	0.02
胱氨酸	0.01	0.01
缬氨酸	0.03	0.03
蛋氨酸	0.01	0.01
异亮氨酸	0.04	0.03
亮氨酸	0.04	0.04
酪氨酸	0.05	0.06

苯丙氨酸	0.04	0.04
赖氨酸	0.04	0.04
组氨酸	0.04	0.04
精氨酸	0.05	0.07

2.6.2.2 不同仪器定量值的比较

除了氨基酸分析仪外，高效液相色谱仪也是氨基酸检测的重要工具，为此，同样采用高效液相色谱仪对 18 种氨基酸响应值及线性范围、检出限和定量限进行了比较，对比表 7 和表 8 的数据可以看出，两种仪器确立的定量限水平相当。

表 8　高效液相色谱法确立的 18 种氨基酸标准线性范围及定量限

氨基酸	含量，ng/mL	回归方程	相关系数 r^2	LOD, %	LOQ, %
组氨酸	38.79-3879	Y = 6.53e-003X+6.95e-001	0.9999	0.003	0.01
丝氨酸	26.27-2627	Y = 9.34e-003X+9.64e-003	0.9999	0.006	0.02
精氨酸	43.55-4355	Y = 5.68e-003X-2.83e-002	0.9999	0.013	0.04
甘氨酸	18.76-1876	Y = 1.27e-002X+6.48e-002	0.9999	0.003	0.01
天门冬氨酸	33.27-3327	Y = 7.25e-003X-1.16e-001	0.9998	0.010	0.03
谷氨酸	36.78-3678	Y = 6.47e-003X-3.24e-002	0.9999	0.010	0.03
苏氨酸	29.78-2978	Y = 8.26e-003X+5.06e-003	0.9999	0.006	0.02
丙氨酸	22.27-2227	Y = 1.09e-002X-1.80e-002	0.9999	0.003	0.01
脯氨酸	28.78-2878	Y = 7.93e-003X-2.69e-003	0.9999	0.003	0.01
赖氨酸	36.54-3654	Y = 1.11e-002X-6.62e-001	0.9999	0.003	0.01
酪氨酸	45.29-4529	Y =5.49e-003X+2.25e-001	0.9999	0.003	0.01
胱氨酸	64.5-2580	Y = 7.05e-003X+7.97e-002	0.9999	0.003	0.01
蛋氨酸	37.30-3730	Y =6.67e-003X+6.35e-002	0.9999	0.003	0.01
缬氨酸	29.28-2928	Y = 8.51e-003X+2.89e-002	0.9999	0.003	0.01
异亮氨酸	32.79-3279	Y = 7.61e-003X+3.17e-003	0.9999	0.003	0.01
亮氨酸	32.79-3279	Y = 7.55e-003X+7.25e-003	0.9999	0.003	0.01
苯丙氨酸	41.29-4129	Y = 6.05e-003X+4.86e-002	0.9999	0.007	0.02
色氨酸	10.7-107	Y = 1.52e-004X-7.95e+003	0.9999	0.003	0.01

表 9 样品中氨基酸含量均值（n=6），g/100g

氨基酸	样品 1		样品 2		样品 3		样品 4		样品 5	
	平均值	RSD，%	平均值	RSD，%	平均值	RSD，%	平均值	RSD，%	平均值	RSD，%
天冬氨酸	2.297	2.4	1.689	0.3	0.980	1.3	1.059	1.8	0.825	1.0
苏氨酸	1.063	2.1	0.667	0.3	0.565	3.0	0.632	2.3	0.564	1.3
丝氨酸	1.498	1.7	0.806	1.3	0.720	2.7	0.822	2.8	0.671	0.8
甘氨酸	1.831	2.5	0.784	0.3	0.258	2.2	0.298	3.0	0.311	1.5
丙氨酸	1.512	2.2	0.852	0.2	0.398	2.5	0.438	2.3	0.351	1.6
缬氨酸	1.496	2.5	0.886	0.9	0.870	2.9	2.366	2.6	0.911	0.9
异亮氨酸	1.140	2.5	0.710	0.9	0.674	2.8	1.801	1.9	0.684	0.7
亮氨酸	2.174	1.9	1.311	1.0	1.234	2.4	3.371	2.5	1.094	0.4
苯丙氨酸	1.284	2.9	0.816	0.4	0.681	3.1	0.839	2.7	0.634	3.1
赖氨酸	1.656	2.2	0.867	0.5	1.011	2.6	1.172	2.2	0.951	0.8
精氨酸	1.813	2.4	1.053	2.3	0.424	1.0	0.535	2.2	0.452	1.2
脯氨酸	1.723	2.7	1.020	1.9	1.178	2.6	1.624	2.7	1.281	1.5
酪氨酸	0.923	3.5	0.435	3.6	0.541	1.4	0.705	3.3	0.635	1.8
组氨酸	0.603	1.5	0.412	0.5	0.361	1.0	0.406	1.7	0.349	2.2
谷氨酸	4.177	1.4	2.784	0.5	2.770	2.6	3.195	2.6	2.657	1.9
胱氨酸	0.371	6.5	0.239	3.8	0.244	5.3	0.277	7.4	0.317	7.6
蛋氨酸	0.565	7.6	0.252	4.2	0.315	4.7	0.274	6.2	0.383	8.1

2.6.3 重复性

为了验证方法精密度，工作组组织了同一实验室多次平行测定的精密度评估。表 9 列出了不同样品氨基酸，表 10 列出了添加了氨基酸的样品部分游离氨基酸检测结果，可以看出相对标准偏差（RSD）大部分能控制在 5%以下，而含量<0.5 g/100 g 的氨基酸 RSD 可能出现超过 5%的现象。因此本标准在修订时，将精密度修改为“当含量≤0.5 g/100 g 时，重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%；当含量>0.5 g/100 g 时，重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5 %”。

表 10 样品中主要添加游氨基酸含量均值（n=4），g/100g

氨基酸	样品 4		样品 5	
	平均值	RSD，%	平均值	RSD，%
缬氨酸	1.54	0.4	0.72	1.6
异亮氨酸	1.26	0.3	0.58	1.7
亮氨酸	2.36	0.4	0.92	2.9
色氨酸	0.10	0.5	0.44	0.5

2.6.4 复现性

由工作组和验证实验室共同完成的复现性实验，有效实验数为 7，平均重复数>3，按照 GB/T 6379.2 / ISO 5725-2 单因素随机效应模型进行了分析，表 11 展示了 1 个样品的复现性检验结果，可以证明 18 种氨基酸的重复性较高，RSD 基本可以控制在 5%以下；实验室间带来的检测差异略高于实验室内重复测定，复现性程度最高的是色氨酸、丙氨酸，谷氨酸、赖氨酸、组氨酸则差异略大但 RSD 基本可以控制在 15%以内。将不同饲料样品的测定结果按自由度加权合并后计算的结果相似，不再展示。

表 11 实验室间复现性检验，g/100g

氨基酸	均值 $\bar{y}$	S_r	S_L	S_R
天冬氨酸	0.9855	0.02486	0.05998	0.06493
苏氨酸	0.5564	0.01405	0.02015	0.02457
丝氨酸	0.7235	0.01984	0.02948	0.03553
谷氨酸	2.9643	0.09193	0.14934	0.17537
脯氨酸	1.2680	0.04338	0.06024	0.07423
甘氨酸	0.2628	0.00855	0.01666	0.01872
丙氨酸	0.3967	0.00877	0.01303	0.01571
胱氨酸	0.2431	0.00833	0.03585	0.03680

缬氨酸	0.8141	0.02129	0.06704	0.07034
蛋氨酸	0.3238	0.01425	0.03326	0.03618
异亮氨酸	0.6395	0.01615	0.04490	0.04772
亮氨酸	1.2318	0.03514	0.05487	0.06516
酪氨酸	0.5586	0.01886	0.07199	0.07442
苯丙氨酸	0.6475	0.02045	0.06610	0.06919
组氨酸	0.4040	0.01606	0.15033	0.15118
赖氨酸	1.0127	0.04435	0.18401	0.18928
精氨酸	0.4199	0.01395	0.01600	0.02123
色氨酸	0.1460	0.00489	0.01231	0.01324

2.6.5 准确度

由于实验动物配合饲料及其原料均会含有一定蛋白质，因此难以找到低含有样品进行加标回收实验，故通过对质控样的平行测定判定检测结果的准确性。结果证明检测结果符合质控要求（表 12）。

表 12 质控样准确度测量（n=6），g/100g

氨基酸	质控样		
	平均值	RSD，%	标示含量
His	1.21	3.5	1.222±0.089
Ser	2.62	1.8	2.69±0.35
Arg	3.88	1.8	3.72±0.31
Gly	2.22	1.7	2.22±0.15
Asp	6.01	1.2	6.0±1.2
Glu	9.75	1.2	10.2±1.4
Thr	2.06	1.6	2.02±0.11
Ala	2.25	1.3	2.28±0.16
Pro	2.64	1.7	2.71±0.23
Lys	3.27	0.3	3.2±0.25
Tyr	1.92	3.2	1.76±0.43
Cys	0.77	3.5	0.74±0.15
Met	0.58	0.3	0.69±0.13
Val	2.59	2.4	2.45±0.41
Lle	2.50	1.2	2.31±0.23
Leu	4.03	1.7	4.03±0.42
Phe	2.63	1.4	2.54±0.13
Trp	0.66	1.1	0.66±0.14

通过对比所有样品的蛋白质含量、水解后总氨基酸含量、游离氨基酸含量的水平差异（n=6），证实结果符合规律：蛋白质含量＞水解氨基酸含量＞游离氨基酸含量，见表 13。一般情况下，对于天然饲料和纯化饲料游离氨基酸仅占样品中氨基酸总量的极

小部分（如样品 1-3）；但为了精准补充氨基酸、提升蛋白利用效率等添加了氨基酸的样品（如样品 4 和 5）则游离氨基酸的比例会显著提升，因此本标准在适用范围强调了采用水解法进行前处理的方法一和方法二适用于检测蛋白水解氨基酸总量，而以提取法进行前处理的方法适用于游离氨基酸的测定，尤其是外源性添加了氨基酸的样品。

表 13 蛋白质与氨基酸含量对比，g/100g

样品	蛋白质含量	水解氨基酸含量	游离氨基酸含量
样品 1	26.00	24.03	0.80
样品 2	17.00	16.03	0.30
样品 3	14.21	13.72	0.24
样品 4	22.00	20.06	8.14
样品 5	14.18	12.66	5.55

总结：

基于以上研究，本次修订建立了 3 个方法，分别用于检测 17 种氨基酸、色氨酸和游离氨基酸，表 14 列出了和原版标准的方法对比，更新后从技术条件上与国内外相关标准接轨。标准内容确定后，按照 GB/T 1.1、GB/T 20001.4 和 GB/T 20001.10 的规定和要求对标准文本的格式进行了规范性编制。

表 14 与原版标准相比本文本的优势

检测目标	原版	修改后
氨基酸	按 GB/T 18246-2000 或 GB/T 5009.124 中相关规定执行	1. 明确酸水解法和氧化酸水解法分别用于 15 种氨基酸和含硫氨基酸的前处理 2. 纠正 GB/T 18246-2000 与 GB/T 5009.124 被检目标不对等的问题
色氨酸	第一法“按 GB/T 18246-2000 附录 A 色氨酸的测定 反相高效液相色谱法； 第二法 荧光分光光度法； 第三法 按 GB/T 15400 规定执行	1.高效液相色谱法通用性更强且灵敏度更高，试样前处理条件的调整有利于色谱分离 2.荧光分光光度法因特异性不强，故予以删除。
游离氨基酸	无	采用 0.1mol/L 盐酸溶液提取，解决添加游离氨基酸的实验动物配合饲料的检测难点。

3. 主要研究过程

3.1 前期调研情况

氨基酸是一种两性化合物，分子中既含氨基又含羧基，其特殊结构使得氨基酸既有酸性也有碱性，也为氨基酸的定量分析提供了多种方法选择。从实验动物营养的角度来

看，氨基酸是构成蛋白质的基本物质，也是生物体内不可缺少的营养成分之一，实验动物配合饲料是提供的氨基酸不仅影响实验动物的能量代谢、生长发育等生理机能，也直接影响遗传表达、疾病发生发展，从而影响实验研究结局的客观性，因此准确测定氨基酸含量是建立多组学评价基础。

在氨基酸定量分析方面，20 世纪 50 年代，以阳离子交换色谱-柱后茚三酮衍生原理对氨基酸进行的测定已有应用报道，利用氨基酸在酸性条件下形成阳离子而通过阳离子交换色谱柱进行分离，再经过茚三酮柱后衍生由紫外-可见检测器进行测定是经典的检测方法，商品化的氨基酸自动分析仪更为提升检测准确性、可靠性、高灵敏性、可重复性提供了保证。目前，包括国际公职分析化学家协会（AOAC）、欧盟标准、我国《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》和《饲料中氨基酸的测定》（GB/T 18246-2019）等均是基于氨基酸分析仪建立的标准方法（表 14）。

表 14 国际组织和各国发布有关食品和饲料中氨基酸测定标准方法汇总表

标准名称及发布时间	主要内容与区别
AOAC Official Method 994.12 Amino Acids in Feeds Performic Acid Oxidation with Acid Hydrolysis–Sodium Metabisulfite Method（1997）	原 GB/T 18246 框架参考标准，未做更新。
AOAC Official Method 988.15 Tryptophan in Foods and Food and Feed Ingredients Ion Exchange Chromatographic Method（1988）	原 GB/T 18246 参考标准，以 NaOH 作为碱解液，采用氨基酸分析仪或液相色谱仪进行测定，未做更新。
ISO 13904：2016 Animal feeding stuffs — Determination of tryptophan content	测定游离和水解色氨酸时均采用内标法，加入内标为α-甲基色以盐酸提取游离色氨酸，以八水合氢氧化钡作为水解液水解色氨酸，液相色谱法测定含量。
ISO 13903：2005 Animal feeding stuffs - Determination of amino acids content	水解过程水解液中加入 0.1%苯酚，氧化过程在过甲酸中加入苯酚。定量限取决于仪器条件，参考值为：0.3 g/kg 赖氨酸、0.25 g/kg 蛋氨酸、0.35 g/kg 胱氨酸、0.2g/kg 苏氨酸、0.035 g/kg 游离赖氨酸、0.035 g/kg 游离蛋氨酸、0.03 g/kg 游离苏氨酸。
European Union Commission Regulation (EU) No 152/2009（23p-37p）	游离氨基酸的测定以盐酸为提取液，加入磺基水杨酸沉淀除蛋白；色氨酸测定与 ISO-13904-2016 基本一致，水解过程水解液中加入 0.1%苯酚，氧化过程在过甲酸中加入苯酚。
GB 5009.124-2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定	以盐酸水解法测定除胱氨酸、色氨酸以外的 16 种氨基酸（包括蛋氨酸），规定了固体和液体样品的检出限和定量限。

2025 年 11 月-2026 年 3 月，中国疾病预防控制中心营养与健康所组织专家对《实验

动物 配合饲料 氨基酸的测定》（GB/T 14924.10-2008）标准的修订展开的前期调研并经过反复线上线下讨论，共同认为：

1）氨基酸自动分析仪仍是制定实验动物配合饲料氨基酸测定的主要方法

随着液相色谱技术的普及，采用柱前衍生-高效液相色谱检测的方法已经在氨基酸分析方面取得了迅速发展，但氨基酸柱前衍生试剂的开发成为 HPLC 法应用的限制性条件，已经开发的衍生试剂主要包括：邻苯二甲醛、异硫氰酸苯酯、6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯、丹磺酰氯、氯甲酸芴甲脂、2,4-二硝基氯苯、乙氧亚甲基丙二酸二乙酯等。为此在起草组在前期调研中对各类柱前衍生试剂进行了文献检索和确认，分别尝试了以异硫氰酸苯酯（PITC）、6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯（AQC）作为柱前衍生试剂对氨基酸组分分离及检测的实效，结果证明，尽管两种柱前衍生试剂能够测定大部分氨基酸组分，但实验结果的准确性和重复性仍有质疑（图 7）。不同液相色谱仪器公司也给出了相应的氨基酸检测方法，但一方面受到衍生试剂专利的影响，一方面受到不同实验室液相色谱仪器配置差别的影响，使 HPLC 法作为氨基酸检测的国标方法仍不够成熟。

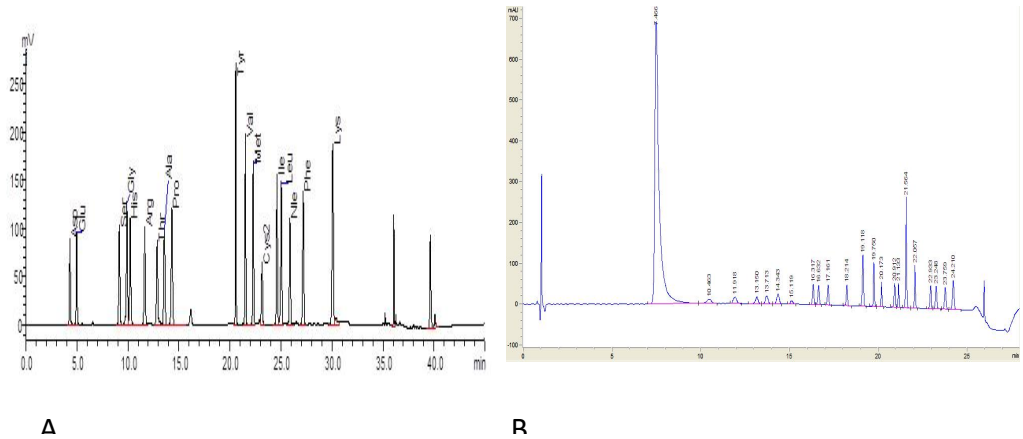


图 7 柱前衍生试剂对 HPLC 分离效果的影响

（A.PITC 柱前衍生，B. AQC 柱前衍生)

2）当前国内有关饲料和食品氨基酸检测技术日趋成熟，标准的修订重点应放在适用性验证

尽管实验动物配合饲料采用的原料、添加剂与饲料一致，但是从功能用途上，对实

验动物可重复性上却有着更高的要求，因此尽管本标准在方法原理上与食品、饲料氨基酸测定一致，但是在适用范围上、样品前处理条件上均需要适用性验证。

3.2 实验研究

2026 年 3 月-6 月，起草组针对原标准的使用情况、结合以往对饲料和食品中氨基酸测定的实战经验，初步梳理出实验动物配合氨基酸测定的基本文本，并听取了来自饲料生产企业、检测机构等方面专家的意见反馈和建议，就实验动物质量控制和专业监管要点进行了考量，综合考虑实验动物配合饲料的营养要求、检测的精度要求，以及配制过程与饲料的相似性制定了实验验证方案.

3.3 方法验证及征求意见

2026 年 7 月-9 月，中国疾病预防控制中心营养与健康所进一步组织召开工作会议，对 15 种氨基酸测定方法的原理和技术手段、含硫氨基酸检测的安全性问题、实验动物配合饲料脂肪含量对氨基酸检测精度的影响、游离氨基酸测定的必要性进行实验研究，并组织验证实验室开展方法验证。

2026 年 9 月，通过汇总验证实验数据，优化了适用范围、样品前处理方法和技术参数，形成《实验动物 配合饲料 氨基酸的测定》标准文本（初稿）和编制说明。

3.5 标准预审

4. 标准主要起草人及其所做的工作

标准编制小组成员及分工如下：1）王竹负责全面的起草工作筹备、组织及方法验证;2）贾铮、樊霞、田静主要负责 2008 年原标准发布以来应用情况的调研，梳理氨基酸相关方法的新技术研究；3）赵榕、柳静、刘婷婷、崔亚娟、邢青斌、王国栋主要负责方法技术指标的确认、比较与检验；4）柳菁青、邱业峰主要负责实验动物配合饲料的采样、质量管理、基础信息和数据核查以及方法实用性确认。

（三） 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

标准征求意见稿的技术内容经过 3 家检测机构（包括饲料行业）的试验验证，确立了所建立的关于《实验动物 配合饲料 氨基酸的测定》方法原理的合理性，检测方法的可操作性、定量分析的准确性，证明本标准试验技术能够满足实验动物配合饲料的检验

要求。

所建方法的检出限可达满足实验动物配合饲料规定的含量水平，回收率、精密度符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》和 GB/T 27417-2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》的要求。

该标准的修订符合当前实验动物配合饲料氨基酸检测的发展前景，解决了 18 种水解氨基酸和游离氨基酸的定量分析，有利于实验动物的科学研究。实验动物饲料检测须依据实验动物专用国家标准，服务于 GLP 认证、CNAS 实验动物机构认可（CNAS-RL08）及 AAALAC 国际认证，本标准的发布具有重要社会效益和经济效益。

（四） 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

本次标准修定过程中检索了国际相关标准。目前国际标准化组织动物饲料分技术委员会（ISO/TC 34/SC 10）、欧洲标准化委员会（CEN）、美国分析化学家协会（AOAC）相继出台了食品和饲料氨基酸检测相关的标准方法，没有**专门针对实验动物配合饲料的测定标准**。我国在制修订本标准时对这些国际标准给与极大关注，兼顾了标准间的协调性，特别在方法适用性上予以了充分考虑。

（五） 以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因；

无。

（六） 与有关法律、行政法规及相关标准的关系；

本标准的制定，综合考虑了与《饲料和饲料添加剂管理条例》、《饲料标签》（GB 10648-2013）、《饲料添加剂品种目录》和《饲料添加剂安全使用规范》（农业部公告第 2625 号）一致性，满足《实验动物配合饲料 营养成分》（GB/T 14924.3-2010》技术要求的充分性，确保了本标准内容与现行法规、标准和规范的协调性和相互可衔接性。

（七） 重大分歧意见的处理经过和依据；

本次标准修订过程中通过会审及函审的方式向 20 多位专家征求了意见，涉及科研院所、检验机构、（实验动物配合）饲料生产和使用机构等，共收到 20 条意见，主要问题与文本格式、内容和编制说明文字规范性有关，并无重大分歧意见。目前已对反馈意见做出修改。

（八） 涉及专利的有关说明；

无。

（九） 实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议；

本标准涉及多种维生素和矿物质检测方法的更新，为了贯彻实施本标准，建议相关职能部门组织指导，并指定科研机构对相关的人员进行技术培训与标准宣贯。

（十） 其他应当说明的事项。

无。

附件 1：

标准修订前后对比一览表

章节	内容	原版	现版
1	范围	本标准规定了实验动物配合饲料氨基酸的测定方法。 本标准适用于实验动物小鼠、大鼠、兔、豚鼠、地鼠、犬和猴的配合饲料及其原料中氨基酸的测定	本文件规定了实验动物配合饲料氨基酸的测定方法。 本文件中方法一适用于实验动物配合饲料中蛋白源17种氨基酸的测定，包括天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸（含半胱氨酸）、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸；方法二适用于实验动物配合饲料中蛋白源色氨酸的测定；方法三适用于实验动物配合饲料中18种游离氨基酸的测定。 文件中各氨基酸的定量限见附录 A.1。
2	规范性引用文件	GB/T 5009.124 食品中氨基酸的测定 GB/T 15400 饲料中色氨酸测定方法 分光光度法 GB 18246-2000 饲料中氨基酸的测定	GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法 GB/T 14924.3 实验动物 配合饲料营养成分 GB/T 20195 动物饲料 试样的制备 JJG 1064 氨基酸分析仪检定规程
3	术语和定义	/	本文件没有需要界定的术语和定义。

4	样品	/	按 GB/T 20195 要求制备，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。
5	方法 1：17 种氨基酸的测定	3.1 配合饲料中氨基酸的测定 按 GB/T 18246-2000 或 GB/T 5009.124 中相关规定执行	给出详细检测流程，包括： 原理、试剂或耗材、仪器设备、试验步骤、分析结果的表述、精密度
6	方法 1：色氨酸的测定	3.2 配合饲料中色氨酸的测定 3.2.1 第一法 高效液相色谱法 3.2.2 第二法 荧光分光光度法	采用高效液相色谱法并给出详细检测流程，包括： 原理、试剂或耗材、仪器设备、试验步骤、分析结果的表述、精密度
7	方法 3：游离氨基酸的测定	/	新增