



中华人民共和国国家标准

GB/T 14924.10—2008
代替 GB/T 14924.10—2001

实验动物 配合饲料 氨基酸的测定

Laboratory animal—
Determination of amino acids for formula feeds

2008-12-03 发布

2009-03-01 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

前 言

本标准自实施之日起代替 GB/T 14924.10—2001《实验动物 配合饲料 氨基酸的测定》。

本标准与 GB/T 14924.10—2001 相比主要技术差异如下：

- a) 按照 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分：化学分析方法》对原标准的文字进行了修改；
- b) 对原引用的标准进行调整；
- c) 并对原标准中的错误进行了改正。

本标准由全国实验动物标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：全国实验动物标准化技术委员会。

本标准主要起草人：张瑜、贾建斌、周瑞华、王竹、王国栋、刘源。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 14924—1994, GB/T 14924.10—2001。

实验动物 配合饲料 氨基酸的测定

1 范围

本标准规定了实验动物配合饲料中氨基酸的测定方法。

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。

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 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/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定

3 测定方法

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。

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

按 GB/T 18246—2000 附录 A“色氨酸的测定 反相高效液相色谱法”规定执行。

3.2.2 第二法 荧光分光光度法

3.2.2.1 原理

在蛋白质的碱水解液中，只有色氨酸和酪氨酸可以检测到荧光。在 pH 为 11 时，色氨酸的荧光强度比酪氨酸大 100 倍，且色氨酸与酪氨酸荧光峰相差 40 nm 以上。根据该特点，采用碱水解法处理蛋白质，然后通过测定色氨酸的天然荧光，对色氨酸进行定量分析。

3.2.2.2 试剂

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，实验用水为一级水。

3.2.2.2.1 可溶性淀粉。

3.2.2.2.2 氢氧化钠(NaOH)。

3.2.2.2.3 含可溶性淀粉的氢氧化钠溶液(5 mol/L):将 20 g 氢氧化钠用可溶性淀粉溶液(5 g/L)溶解并定容至 100 mL。临用前配制。

3.2.2.2.4 尿素溶液(4 mol/L, pH 11)。

3.2.2.2.5 盐酸溶液(1+1):1 份浓盐酸(优级纯)加 1 份重蒸馏水混合。

3.2.2.2.6 溴百里酚蓝水溶液(0.5 g/L):0.1 g 溴百里酚蓝,加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 1.6 mL 溶解,加水至 200 mL。

3.2.2.2.7 高纯氮(含量 99.99%)。

3.2.2.2.8 辛醇甲苯溶液:取 1 mL 辛醇与 99 mL 甲苯混合。

3.2.2.2.9 色氨酸标准贮备液(1.00 mg/mL):准确称取色氨酸 100.0 mg,用 0.005 mol/L 氢氧化钠

溶液溶解并定容至 100 mL。

3.2.2.2.10 色氨酸标准应用液(0.20 mg/mL):准确吸取色氨酸标准贮备液 10.0 mL 于 50 mL 容量瓶中用水稀释至刻度,使用时现配。

3.2.2.3 仪器

3.2.2.3.1 荧光分光光度计。

3.2.2.3.2 减压蒸发器。

3.2.2.3.3 聚四氟乙烯管(5 mL)。

3.2.2.4 试样处理

试样粉碎后,贮于试样瓶中备用。

3.2.2.5 分析步骤

3.2.2.5.1 试样制备:准确称取含粗蛋白质约 500 mg 的试样,置于聚四氟乙烯管中。加含可溶性淀粉的氢氧化钠溶液 1 mL,加入一滴辛醇,将试样管放在一可密封的容器内。该容器内加冰、盐降温,抽真空[1.33×10^3 Pa(10 mmHg)以下]保持 15 min,充氮气再减压,反复进行三次。将充氮减压容器密封,放入 110 °C 烘箱中,碱水解试样 22 h。试样冷却后加 0.7 mL 盐酸溶液(1+1),用重蒸馏水将试样分别洗入 25 mL 容量瓶中。用溴百里酚蓝作指示剂,调 pH 至中性,用重蒸馏水定容至刻度。

3.2.2.5.2 测定:吸取试样液 1.0 mL,于 10 mL 带塞刻度试管中,加 4 mol/L 尿素溶液(pH 11)稀释至 10 mL。于激发波长 280 nm,发射波长 360 nm 下测定荧光强度,从工作曲线上查出该试样中色氨酸的含量。

3.2.2.5.3 校准曲线的绘制:取双份聚四氟乙烯试管分别取色氨酸标准应用液 0.0 mL、0.5 mL、1.5 mL、2.0 mL,相当于色氨酸含量 0.0 mg、0.1 mg、0.3 mg、0.4 mg。按试样制备的同样步骤进行碱水解,以测出的标准系列的荧光强度为纵坐标,以色氨酸标准含量为横坐标,绘制校准曲线。

3.2.2.6 计算

按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times f}{m} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——色氨酸含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

c——从校准曲线查出的色氨酸含量,单位为毫克(mg);

f——稀释倍数;

m——试样质量,单位为克(g)。

3.2.2.7 允许偏差

在同一实验室平行测定或重复测定结果的相对标准误差不得超过 10%。

3.2.3 第三法 分光光度法

按 GB/T 15400 规定执行。