

# 团 体 标 准

T/CFIAS 3001—2022

---

## 饲料添加剂 L-赖氨酸硫酸盐及其发酵 副产物

Feed additive — L-Lysine sulfate and its by-products from fermentation

2022-04-13 发布

2022-05-13 实施

---

中国饲料工业协会 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。

本文件由中国饲料工业协会团体标准技术委员会提出并归口。

本文件起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量检验检测中心（北京）]、北京市兽药饲料监测中心、辽宁省农产品及兽药饲料产品检验检测院、宁夏伊品生物科技股份有限公司、陕西秦云农产品检验检测股份有限公司、上海安谱实验科技股份有限公司。

本文件主要起草人：樊霞、贾铮、姚婷、李淑艳、刘鸿鹤、杨慧杰、田静、徐思远、刘晓露、汪军明、贺习文、李园、司亮。



# 饲料添加剂 L-赖氨酸硫酸盐及其发酵副产物

## 1 范围

本文件规定了饲料添加剂 L-赖氨酸硫酸盐及其发酵副产物的技术要求、取样、试验方法、检验规则及标签、包装、运输、贮存和保质期。

本文件适用于以乳糖发酵短杆菌 (*Brevibacterium lactofermentum*) 或谷氨酸棒杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*) 为生产菌株进行好氧发酵后将培养液加热处理, 然后浓缩、干燥、造粒制得的饲料添加剂 L-赖氨酸硫酸盐及其发酵副产物。

## 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 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- GB/T 6435 饲料中水分的测定
- GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定
- 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 13080 饲料中铅的测定 原子吸收光谱法
- GB/T 14699.1 饲料 采样
- GB/T 18246 饲料中氨基酸的测定

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 技术要求

### 4.1 外观与性状

淡褐色或黄褐色颗粒; 无嗅。

### 4.2 鉴别

应符合茚三酮反应、钡盐反应和紫外可见光扫描光谱的特征。

### 4.3 技术指标

技术指标应符合表1的要求。

表1 技术指标

项 目	指 标		
	L-赖氨酸硫酸盐 ( $\geq 65.0\%$ )	L-赖氨酸硫酸盐 ( $\geq 70.0\%$ )	L-赖氨酸硫酸盐 ( $\geq 80.0\%$ )
L-赖氨酸含量 (以 $C_6H_{14}N_2O_2$ 计) /%	$\geq 51.0$	$\geq 55.0$	$\geq 63.0$
pH 值 (1%水溶液)	3.0~6.0		
水分/%	$\leq 4.0$		
铵盐 (以 $NH_4^+$ 计) /%	$\leq 1.0$		
粗灰分/%	$\leq 4.0$		
砷/(mg/kg)	$\leq 2.0$		
铅/(mg/kg)	$\leq 20$		
粒度 (1.700 mm 分析筛通过率) /%	$\geq 90$		

## 5 取样

按GB/T 14699.1的规定执行。

## 6 试验方法

### 6.1 一般规定

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯试剂和符合GB/T 6682规定的三级水,色谱用水符合GB/T 6682规定的一级水。试验中杂质测定用标准溶液、制剂及制品,在未注明其他要求时,均按GB/T 602、GB/T 603的规定制备。

### 6.2 外观与性状

取适量试样,置于洁净白色磁盘中,在自然光线下,观察其色泽和状态,并闻其气味。

### 6.3 鉴别试验

#### 6.3.1 试剂或材料

6.3.1.1 柠檬酸盐缓冲液:准确称取10.6 g柠檬酸,4.2 g氢氧化钠,溶于200 mL水中,用盐酸调节pH值至1.3,再用水定容至250 mL。

6.3.1.2 茚三酮溶液:准确称取10.0 g茚三酮、13.4 g二水氯化铜,用125 mL柠檬酸盐缓冲液(6.3.1.1)溶解,加375 mL乙二醇甲醚,并用水定容至1 000 mL。

6.3.1.3 氯化钡溶液:  $c(BaCl_2) = 50 \text{ g/L}$ 。

6.3.1.4 盐酸溶液:  $c(HCl) = 1 \text{ mol/L}$ 。

#### 6.3.2 仪器设备

6.3.2.1 离心机: 5 000 r/min 及以上。

6.3.2.2 分析天平: 感量 0.01 g、0.000 1 g。

6.3.2.3 紫外分光光度计。

### 6.3.3 试验步骤

#### 6.3.3.1 氨基酸的鉴别

称取试样 0.5 g (精确至 0.01 g), 置于 500 mL 烧杯中, 加 250 mL 水配成混悬水溶液, 以 5 000 r/min 速度离心 5 min, 取上清液 5 mL, 加入 1 mL 茚三酮溶液 (6.3.1.2), 加热 3 min 后, 加入水 20 mL 并放置 15 min, 此溶液呈现红紫色。

#### 6.3.3.2 赖氨酸的鉴别

称取试样 0.05 g (精确至 0.000 1 g), 置于 100 mL 容量瓶中, 加 70 mL 左右水, 超声溶解后定容, 用 0.22  $\mu\text{m}$  膜过滤。吸取 1 mL 茚三酮溶液 (6.3.1.2) 置于试管, 加入 1 mL 试样溶液, 摇匀, 用铝箔封好, 在 100  $^{\circ}\text{C}$  的沸水中加热 10 min, 冷却至室温, 用移液管吸取 8 mL 水, 置于试管中, 摇匀。以空白调零, 在紫外分光光度计 200 nm~600 nm 处扫描, 应在 480 nm 处有最大吸收峰。

#### 6.3.3.3 硫酸根的鉴别

称取试样 0.5 g (精确至 0.01g), 置于 100 mL 烧杯中, 加 25 mL 水配成混悬水溶液, 以 5 000 r/min 速度离心 5 min, 取上清液置于表面皿上, 加入数滴氯化钡溶液 (6.3.1.3) 生成白色沉淀, 再加入数滴盐酸溶液 (6.3.1.4), 白色沉淀不溶解。

### 6.4 L-赖氨酸含量

#### 6.4.1 原理

L-赖氨酸硫酸盐及其发酵副产物中结合态赖氨酸在 110  $^{\circ}\text{C}$ 、6 mol/L 盐酸溶液作用下水解成游离态赖氨酸, 经离子交换色谱分离和柱后衍生, 上机测定。

#### 6.4.2 试剂或材料

6.4.2.1 硝酸钠。

6.4.2.2 乙二胺四乙酸二钠。

6.4.2.3 硼酸。

6.4.2.4 邻苯二甲醛。

6.4.2.5 氢氧化钾。

6.4.2.6 2-巯基乙醇。

6.4.2.7 乙腈: 色谱纯。

6.4.2.8 甲醇: 色谱纯。

6.4.2.9 L-赖氨酸盐酸盐标准品: 纯度  $\geq 99.4\%$ 。

6.4.2.10 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/L}$ 。

6.4.2.11 盐酸溶液:  $c(\text{HCl}) = 0.02 \text{ mol/L}$ 。

6.4.2.12 氢氧化钠溶液:  $c(\text{NaOH}) = 6 \text{ mol/L}$ 。

6.4.2.13 Brij-35溶液: 准确称取 35.0 g 十二烷基聚乙二醇醚, 加入 800 mL 水 (60  $^{\circ}\text{C}$ ~70  $^{\circ}\text{C}$ ) 溶解, 静置冷却至室温后, 转移至 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。

6.4.2.14 赖氨酸标准溶液: 称取 L-赖氨酸盐酸盐标准品 (6.4.2.9) 250 mg (精确到 0.1 mg), 置于 1 000 mL 容量瓶中, 加水超声溶解, 冷却, 用水稀释至刻度, 摇匀, 此溶液为 0.2 mg/mL L-赖氨酸标准溶液; 或购置有证标准溶液。

6.4.2.15 滤膜: 0.22  $\mu\text{m}$ , 有机系。

6.4.2.16 滤膜: 0.45  $\mu\text{m}$ , 有机系。

### 6.4.3 仪器设备

6.4.3.1 分析天平：感量 0.1 mg。

6.4.3.2 氨基酸自动分析仪。

6.4.3.3 高效液相色谱仪：配备荧光检测器，柱后衍生装置。

### 6.4.4 样品

取具有代表性的样品，用四分法缩减分取 25 g 左右，粉碎并过 0.25 mm 孔径筛，充分混匀后装入磨口瓶中备用。

### 6.4.5 高效液相色谱（HPLC）法

#### 6.4.5.1 试验步骤

##### 6.4.5.1.1 试样水解液的制备

平行做两份试验。称取试样约 50 mg（精确到 0.1 mg），置于安瓿中，加 6 mol/L 盐酸溶液（6.4.2.10）10 mL，封口。将安瓿放置于 110 °C ± 1 °C 恒温干燥箱中，水解 22 h ~ 24 h。冷却，混匀，开管，转移至 50 mL 容量瓶中，定容，摇匀。

##### 6.4.5.1.2 试样溶液的制备

精确移取适量水解液（6.4.5.1.1），过 0.45 μm 滤膜，上机检测。

##### 6.4.5.1.3 色谱条件

色谱柱：阳离子交换树脂，内径 4.6 mm，长 250 mm，粒度 9 μm，pH 范围：1~14。

流动相：称取 17.0 g 硝酸钠（6.4.2.1），0.25 g 乙二胺四乙酸二钠（6.4.2.2），1.5 g 硼酸（6.4.2.3），并移取 100 mL 乙腈（6.4.2.7），置于 1 000 mL 容量瓶，加水溶解，用氢氧化钠溶液（6.4.2.12）调 pH 至 9.8，定容。

OPA 溶液：称取 0.7 g 邻苯二甲醛（6.4.2.4），用 10 mL 甲醇（6.4.2.8）溶解后加入到 1 000 mL 容量瓶中，同时加入 30 g 硼酸（6.4.2.3）、26.5 g 氢氧化钾（6.4.2.5）、2 mL 2-巯基乙醇（6.4.2.6）、2.5 mL Brij-35 溶液（6.4.2.13），用水定容至刻度。

柱温：62 °C。

流速：流动相=0.6 mL/min；OPA 溶液=0.5 mL/min。

检测器：荧光检测器（EX=338 nm，EM=425 nm）。

进样量：10 μL。

##### 6.4.5.1.4 上机测定

取赖氨酸标准溶液（6.4.2.14）和试样溶液（6.4.5.1.2）各 10 μL，按照高效液相色谱条件（6.4.5.1.3）操作，进行高效液相色谱法测定。

#### 6.4.5.2 试验数据处理

试样中 L-赖氨酸（C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）含量  $w_1$  以质量分数（%）表示，按式（1）计算：

$$w_1 = \frac{(A_2 - C_5) \times n}{A_5 \times m \times (100 - W)} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$A_2$ ——试样溶液赖氨酸峰面积值；

$A_5$ ——标准溶液赖氨酸峰面积值；

$C_5$ ——标准溶液赖氨酸浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

$n$ ——试样溶液的稀释倍数；

$w$ ——试样中水分含量，单位为质量百分数（%）；

$m$ ——试样质量，单位为毫克（mg）。



试验结果用平行测定的算术平均值表示，计算结果保留 3 位有效数字。

#### 6.4.5.3 精密度

在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 4%。

#### 6.4.6 氨基酸分析法（仲裁法）

吸取 1 mL 水解液（6.4.5.1.1）于浓缩管，置于浓缩器中，在 60 °C 条件下抽真空蒸发至近干，准确加入 0.02 mol/L 盐酸溶液（6.4.2.11）10 mL，摇匀，过 0.22 μm 滤膜。以下步骤按照 GB/T 18246 的规定执行。

#### 6.5 pH 值

平行做两份试验。称取试样 0.5 g（准确至 0.01 g），加入 30 mL 水溶解，定量转入 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。用 pH 计测定，结果精确至小数点后 1 位。

#### 6.6 水分

平行做两份试验。试样不粉碎，开封后按照 GB/T 6435 的规定执行。

#### 6.7 铵盐

##### 6.7.1 试剂或材料

6.7.1.1 氧化镁。

6.7.1.2 盐酸溶液，3 mol/L：移取 250 mL 盐酸，加水稀释至 1 000 mL，混匀。

6.7.1.3 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 100 \text{ g/L}$ 。

6.7.1.4 氯化汞饱和水溶液。

6.7.1.5 纳氏试剂：将 10 g 碘化钾溶于 10 mL 水中，边搅拌边慢慢地加入氯化汞饱和水溶液（6.7.1.4），直至生成的红色沉淀不再溶解为止。加入 30 g 氢氧化钾并溶解，再加入 1 mL 氯化汞饱和水溶液（6.7.1.4），加水至 200 mL。静置，取上层清液贮于棕色瓶中。

6.7.1.6 铵标准溶液： $c(\text{NH}_4^+) = 0.01 \text{ mg/mL}$ 。

##### 6.7.2 试验步骤

平行做两份试验。称取试样 0.20 g（精确至 0.1 mg），置于蒸馏瓶中，加水 70 mL，加 1 g 氧化镁（6.7.1.1），进行蒸馏。用 5 mL 盐酸溶液（6.7.1.2）作吸收液，冷凝管下端应浸于此液中，馏出液收集至 70 mL 左右，停止蒸馏。将馏出液用水定容至 100 mL。准确移取馏出液 1 mL，置于纳氏比色管中，加 2 mL 氢氧化钠溶液（6.7.1.3），20 mL 水，再加 1 mL 纳氏试剂（6.7.1.5），用水稀释至 50 mL，摇匀。

移取 2 mL 铵标准溶液（6.7.1.6），置于另一支纳氏比色管中，与试样溶液同时同样显色，试样溶液颜色不得深于标准溶液。

#### 6.8 粗灰分

平行做两份试验。称取试样约 2 g（准确至 0.1 mg），按照 GB/T 6438 的规定执行。

#### 6.9 砷

##### 6.9.1 试剂或材料

6.9.1.1 盐酸。

6.9.1.2 碘化钾。

6.9.1.3 无砷锌粒。

6.9.1.4 硝酸镁溶液,  $c[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2]=150 \text{ g/L}$ : 准确称取 30 g 硝酸镁, 溶于水中, 并稀释定容至 200 mL。

6.9.1.5 盐酸溶液, 3 mol/L: 移取 250 mL 盐酸, 加水稀释至 1 000 mL, 混匀。

6.9.1.6 氯化亚锡盐酸溶液: 400 g/L。一个月内有有效。

6.9.1.7 砷标准溶液: 1.0 mg/mL。

6.9.1.8 砷标准工作溶液, 1.0  $\mu\text{g/mL}$ : 准确移取 5.00 mL 砷标准溶液 (6.9.1.6), 置于 100 mL 容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 此溶液含砷 50  $\mu\text{g/mL}$ 。准确移取 50  $\mu\text{g/mL}$  砷标准溶液 2.00 mL, 置于 100 mL 容量瓶中, 加 1 mL 盐酸, 加水定容, 摇匀。此砷标准工作溶液每毫升相当于 1.0  $\mu\text{g}$  砷。

6.9.1.9 乙酸铅脱脂棉。

6.9.1.10 溴化汞试纸。

## 6.9.2 试验步骤

平行做两份试验。称取试样 1 g (精确至 0.01 g), 置于 30 mL 瓷坩埚中, 加入 5 mL 硝酸镁溶液 (6.9.1.4), 混匀, 于低温或沸水浴中蒸干, 低温碳化至无烟后, 转入高温炉于 550  $^{\circ}\text{C}$  恒温灰化 3.5 h~4 h。取出冷却, 缓慢加入 10 mL 盐酸溶液 (6.9.1.5) 溶解, 煮沸并转移至磨口锥形瓶中, 稀释至约 30 mL, 加 8 mL 盐酸 (6.9.1.1), 摇匀, 再加入 1 g 碘化钾 (6.9.1.2) 和 0.2 mL 氯化亚锡盐酸溶液 (6.9.1.6), 摇匀, 在室温下放置 10 min。加入约 4 g 无砷锌粒 (6.9.1.3), 立即装上预先装有 60~80 mm 高度的乙酸铅脱脂棉 (6.9.1.9) 和溴化汞试纸 (6.9.1.10) 的测砷管, 反应 45min。移取 2 mL 砷标准工作溶液 (6.9.1.8), 与试样溶液同时同样处理, 作为标准。

取出溴化汞试纸, 将生成的砷斑与标准砷斑进行比较, 其颜色不得深于标准。

## 6.10 铅

按照 GB/T 13080 的规定执行。

## 6.11 粒度

### 6.11.1 试验步骤

平行做两份试验。称取试样 50 g (精确至 0.01 g), 倾入 1.700 mm 分析筛上, 使用振动筛振摇 3 min ~5 min, 取筛下物称量。

### 6.11.2 试验数据处理

1.700 mm 分析筛通过率  $w_2$  以质量百分数 (%) 表示, 按式 (2) 计算:

$$w_2 = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$m_1$ ——筛下的试样质量, 单位为克 (g);

$m_2$ ——试样质量, 单位为克 (g)。

试验结果用平行测定的算术平均值表示, 计算结果准确至小数点后第一位。

## 7 检验规则

### 7.1 组批

以相同原料、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, 但每批产品不得超过 60 t。

## 7.2 出厂检验

出厂检验项目为外观与性状、L-赖氨酸含量、pH值、水分和粒度。

## 7.3 型式检验

型式检验项目为第4章的全部要求。在正常生产情况下，每半年至少进行一次型式检验，但有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 新产品投产时；
- b) 原料、设备、加工工艺有较大改变时；
- c) 产品停产3个月以上，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) 当饲料管理部门提出进行型式检验要求时。

## 7.4 判定规则

7.4.1 所验项目全部合格，判定为该批次产品合格。

7.4.2 检验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。复检结果有一项指标不符合本文件规定，即判定该批产品不合格。

7.4.3 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。

## 8 标签、包装、运输、贮存和保质期

### 8.1 标签

按照GB 10648的规定执行。

### 8.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

### 8.3 运输

在运输过程中应防潮、防日晒、防高温、防止包装破损，不应与有毒有害物质混运。

### 8.4 贮存

贮存时防止日晒、雨淋，不应与有毒有害物质混贮。

### 8.5 保质期

未开启包装的产品，在本文件规定的运输、贮存条件下，原包装自生产之日起的保质期为24个月。

