



中华人民共和国国家标准

GB/T 19371—2025

代替 GB/T 19371.2—2007

饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定 高效液相色谱法

Determination of methionine hydroxy analogue in feeds—
High-performance liquid chromatography

2025-08-29 发布

2026-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 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。

本文件代替 GB/T 19371.2—2007《饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定 高效液相色谱法》。与 GB/T 19371.2—2007 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 适用范围增加了精料补充料和混合型饲料添加剂(见第 1 章)；
- b) 更改了流动相为甲酸乙腈溶液(见 5.4, 2007 年版的 4.5)；
- c) 更改了标准品的要求及相关规定(见 5.8, 2007 年版的 4.6)；
- d) 增加了标准系列溶液要求(见 5.9)；
- e) 删除了采样, 更改了样品制备(见第 7 章, 2007 年版的第 6 章)；
- f) 删除了羟基蛋氨酸钙的计算公式(见 2007 年版的第 8 章)；
- g) 更改了精密度要求(见第 10 章, 2007 年版的第 9 章)。

请注意本文件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。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)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、通威农业发展有限公司、陕西秦云农产品检验检测股份有限公司、山东新和成氨基酸有限公司。

本文件主要起草人：索德成、樊霞、张凤枰、冯玉超、刘妩妍、卢加文、王建波、肖志明、张璐、伍宏凯、贺习文、陈效儒、赵娟、汪军明。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2004 年首次发布为 GB/T 19371.2—2003, 2007 年第一次修订；
- 本次为第二次修订。



饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了饲料中蛋氨酸羟基类似物的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中蛋氨酸羟基类似物和/或蛋氨酸羟基类似物钙盐(以蛋氨酸羟基类似物计)的测定。

本文件中配合饲料、浓缩饲料、精料补充料的定量限为 0.03%，添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂的定量限为 0.1%。

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 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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中蛋氨酸羟基类似物用乙腈溶液提取，氢氧化钾溶液水解，高效液相色谱测定，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级水。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 甲酸乙腈溶液：移取甲酸 0.5 mL、乙腈 50 mL，加入 950 mL 水，混匀，超声脱气。

5.5 10%乙腈溶液：量取乙腈 100 mL、水 900 mL，混匀。

5.6 50%磷酸溶液：量取磷酸 100 mL、水 100 mL，混匀。

5.7 50%氢氧化钾溶液：称取氢氧化钾 50 g，加入 100 mL 水溶解，混匀。

5.8 1 mg/mL 标准储备溶液(以蛋氨酸羟基类似物计)：称取适量(精确至 0.000 1 g)蛋氨酸羟基类似物钙(CAS 号：4857-44-7，纯度大于 98%)标准品于 100 mL 容量瓶中，用 10%乙腈溶液(5.5)溶解、定容，混匀；或称取适量(精确至 0.000 1 g)蛋氨酸羟基类似物(CAS 号：583-91-5，纯度大于 88%)，于

100 mL 容量瓶中,用 10%乙腈溶液(5.5)溶解、定容,混匀。—18℃以下保存,有效期 6 个月。或使用标准物质。

注:若需要,采用 GB 7300.103 测定蛋氨酸羟基类似物含量校正标准储备溶液。

5.9 标准系列溶液:分别准确移取适量标准储备溶液(5.8),用 10%乙腈溶液(5.5)稀释、定容,混匀,配制成质量浓度分别为 5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 、80 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。临用现配。

5.10 微孔滤膜:0.45 μm ,有机系。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 分析天平:精度为 0.01 g 和 0.000 1 g。

6.3 离心机:转速不低于 8 000 r/min。

6.4 旋涡振荡器。

6.5 超声波清洗器。

6.6 往返式振荡器。

7 样品

按 GB/T 20195 制备样品,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。

8 试验步骤

8.1 提取

8.1.1 配合饲料、浓缩饲料、精料补充料

平行做两份试验。称取试样 5 g(精确至 0.000 1 g),置于 150 mL 具塞三角瓶中,准确加入 50 mL 10%乙腈溶液(5.5),漩涡混合 30 s,置于振荡器上剧烈振荡 30 min,8 000 r/min 离心 5 min。取上清液备用。

8.1.2 添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂

平行做两份试验。称取试样 2 g(精确至 0.000 1 g),置于 150 mL 具塞三角瓶中,准确加入 100 mL 10%乙腈溶液(5.5),漩涡混合 30 s,置于振荡器上剧烈振荡 30 min,8 000 r/min 离心 5 min。取上清液备用。

8.2 水解

准确移取备用液(8.1)和标准系列溶液(5.9)5 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,准确加入 0.1 mL 50%氢氧化钾溶液(5.7),振摇至少 10 s,准确加入 0.2 mL 50%磷酸溶液(5.6),振摇至少 10 s,8 000 r/min 离心 5 min,上清液过微孔滤膜(5.10),待测。

8.3 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C₁₈, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5.0 μm, 或性能相当者;
- b) 流动相: 甲酸乙腈溶液(5.4);
- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 检测波长: 210 nm;
- e) 柱温: 30 ℃;
- f) 进样量: 20 μL。

8.4 测定

8.4.1 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下, 分别取标准系列工作溶液(8.2)和试样溶液(8.2)上机测定。蛋氨酸羟基类似物标准溶液的液相色谱图见附录 A。

8.4.2 定性

以保留时间定性, 试样溶液中蛋氨酸羟基类似物的保留时间应与标准系列溶液(质量浓度相当)中蛋氨酸羟基类似物的保留时间一致, 其相对偏差在±2.5%之内。

8.4.3 定量

以标准系列溶液中蛋氨酸羟基类似物的质量浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其相关系数应不低于 0.99。试样溶液中待测物的质量浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围, 应将备用液(8.1)用 10% 乙腈溶液(5.5)稀释、水解, 重新测定。单点校准定量时, 试样溶液中待测物的质量浓度与标准溶液质量浓度相差不超过 30%。

9 试验数据处理

试样中蛋氨酸羟基类似物含量以质量分数 w 计, 数值以%表示。多点校准按公式(1)计算; 单点校准按公式(2)计算。

$$w = \frac{\rho \times V \times f \times 10^6}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中蛋氨酸羟基类似物的质量浓度, 单位为微克每毫升(μg/mL);
 - V ——试样提取溶液总体积, 单位为毫升(mL);
 - f ——超出线性范围后试样溶液的稀释倍数;
 - m ——试样质量, 单位为克(g)。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V \times f \times 10^6}{A_s \times m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

- 式中:
- A ——蛋氨酸羟基类似物待测物色谱峰面积;
 - ρ_s ——标准溶液中蛋氨酸羟基类似物的质量浓度, 单位为微克每毫升(μg/mL);
 - V ——试样提取溶液总体积, 单位为毫升(mL);
 - f ——试样溶液的稀释倍数;

A_s ——标准溶液氨基酸羟基类似物色谱峰面积；

m ——试样质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

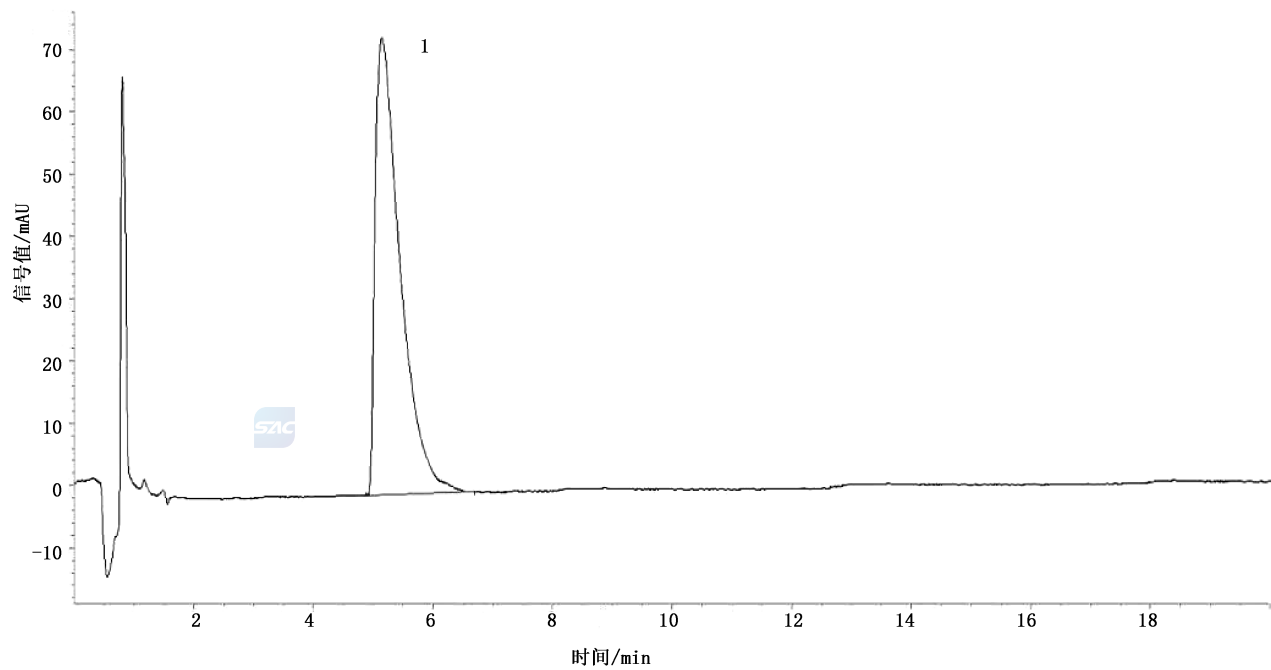
10 精密度

在重复性条件下,2 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 10%。

附 录 A
(资料性)

蛋氨酸羟基类似物标准溶液的液相色谱图

蛋氨酸羟基类似物标准溶液的液相色谱图见图 A.1。



标引序号说明：
1——蛋氨酸羟基类似物。

图 A.1 蛋氨酸羟基类似物标准溶液(40 μg/mL)液相色谱图

参 考 文 献

- [1] GB 7300.103 饲料添加剂 第1部分:氨基酸、氨基酸盐及其类似物 蛋氨酸羟基类似物
-

