

## 前 言

本标准的全部技术内容为推荐性的。

本标准从 GB 14924—1994《实验动物 全价营养饲料》中分离出来,形成独立的标准。

本标准规定了实验动物配合饲料中三种色氨酸的测定方法:第一法 高效液相法;第二法 荧光分光光度法;第三法 分光光度法。第一法为仲裁法。

本标准及其配套标准自实施之日起,代替 GB 14924—1994。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:张瑜、周瑞华、贾建斌、王国栋、刘素梅、郑陶、刘秀梅。

本标准由国家科学技术部委托技术归口单位中国实验动物学会负责解释。

本标准于 1994 年 1 月首次发布。

# 中华人民共和国国家标准

## 实验动物 配合饲料 氨基酸的测定

GB/T 14924.10—2001

Laboratory animals—Formula feeds  
—Determination of amino acids

代替 GB 14924—1994

### 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 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 14965—1994 食物中氨基酸的测定方法

GB/T 15400—1994 饲料中色氨酸的测定方法 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、GB/T 14965 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 色氨酸的测定

按 GB/T 15400—1994 中的规定执行。

##### 3.2.2 第二法 荧光分光光度法

###### 3.2.2.1 原理

饲料中蛋白质在酸水解过程中,其色氨酸极易被水解。本法用碱水解蛋白质直接测定色氨酸的天然荧光。在蛋白质水解液中,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,且两种氨基酸的荧光峰相差 40 nm 以上。根据该特点,可在有大量酪氨酸存在下,检测色氨酸的含量。

###### 3.2.2.2 试剂

3.2.2.2.1 氢氧化钠溶液(5 mol/L):将 20 g 氢氧化钠用 0.5%可溶性淀粉溶解并定容至 100 mL,临用前配制。

3.2.2.2.2 尿素溶液(4 mol/L):调 pH 到 11。

3.2.2.2.3 50%盐酸:1 份浓盐酸(优级纯)加 1 份重蒸水。

3.2.2.2.4 溴百里酚蓝水溶液(0.5 g/L):0.1 g 溴百里酚蓝指示剂,加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2001-08-29 批准

2002-05-01 实施

1.6 mL,配成终浓度为 0.5 g/L 的水溶液。

3.2.2.2.5 高纯氮(含量 99.99%)。

3.2.2.2.6 辛醇甲苯溶液:含 1%辛醇。

3.2.2.2.7 色氨酸标准贮备液(1 mg/mL):准确称取色氨酸 100 mg,用 0.005 mol/L 氢氧化钠溶液溶解并定容至 100 mL。

3.2.2.2.8 色氨酸标准应用液(0.2 mg/mL):准确吸取色氨酸标准贮备液 10 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

荧光分光光度计、减压蒸发器、聚四氟乙烯管(5 mL)。

### 3.2.2.4 样品处理

植物性样品粉碎后,贮于样品瓶中备用。

### 3.2.2.5 分析步骤

3.2.2.5.1 样品制备:准确称取含粗蛋白质约 5 mg 的样品,置于聚四氟乙烯管中。加含可溶性淀粉 5 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL,加入一滴辛醇,将样品管放在一容器内。该容器外加冰、盐降温,抽真空 1.3 kPa(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℃ 烘箱中,碱水解样品 22 h。样品冷却后加(1:1)盐酸 0.7 mL,用重馏水将样品分别洗入 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:吸取样品液 1 mL,于 10 mL 带塞刻度试管中,加 4 mol/L 尿素溶液(pH11)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,从标准曲线上查出该样品中色氨酸的含量。

3.2.2.5.3 标准曲线的绘制:取双份聚四氟乙烯试管分别取色氨酸标准应用液 0.0,0.5,1.5,2.0 mL,相当于色氨酸含量 0.0,0.1,0.3,0.4 mg。按样品制备的同样步骤进行碱水解(3.3.1.5.1),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,绘制标准曲线。

### 3.2.2.6 计算

见式(1)。

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

式中: X——色氨酸含量,mg/100 g;

c——从标准曲线查色氨酸含量,mg;

f——稀释倍数;

m——样品质量,g。

### 3.2.2.7 允许差

室内重复测定相对标准偏差≤10%。

### 3.2.3 第三法 分光光度法

按 GB/T 15400 规定执行。