

中华人民共和国农业行业标准

《混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、
新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜的测定
高效液相色谱法》

编制说明

(公开征求意见稿)

四川威尔检测技术股份有限公司

2025年6月

目 录

一、工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等	1
1.1 任务来源	1
1.2 标准制定背景	1
1.3 工作过程	1
1.3.1 标准起草	1
1.3.2 征求意见	2
二、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	4
2.1 标准编制原则	4
2.2 主要内容	4
2.2.1 适用范围	4
2.2.2 原理	4
2.3 主要技术内容确定的依据	4
2.3.1 液相色谱条件的选择和优化	4
2.3.2 样品前处理条件的选择和优化	15
2.3.3 标准溶液稳定性考察	19
2.3.4 其他合成甜味剂的干扰考察	21
2.3.5 糖精钠标准物质恒重试验	22
2.4 方法学考察	22
2.4.1 线性范围	22
2.4.2 方法检出限和定量限	22
2.4.3 方法精密度试验	23
2.4.4 回收率试验	24
2.5 方法适用性考察	27
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	31
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况	31
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	32
未采用国际标准或国外标准。	32
六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系	32
七、重大分歧意见的处理经过和依据	32
八、涉及专利的有关说明	32
九、实施标准的要求，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	33
十、其他应当说明的事项	33

一、工作简况，包括任务来源、制定背景、起草过程等

1.1 任务来源

2023年7月，根据全国饲料工业标准化技术委员会秘书处通知，由四川威尔检测技术股份有限公司等单位申请的《饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的测定 高效液相色谱法》农业行业标准制定项目正式进入2023年农业行业标准项目库，项目编号为XMK-23037。2024年4月30日，农业农村部下发《关于下达2024年农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》（农质标函〔2024〕71号），本项目正式立项，项目编号为NYB-24292。项目承担单位为四川威尔检测技术股份有限公司，参与单位为成都大帝汉克生物科技有限公司、宜宾学院和重庆民泰新农业科技发展集团有限公司。本项目由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出，全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

1.2 标准制定背景

中华人民共和国农业部第2045号公告《饲料添加剂品种目录》“调味和诱食物质”类别中的甜味物质有糖精、糖精钙、新甲基橙皮苷二氢查耳酮、糖精钠、山梨糖醇等，农业部公告第2309号新增纽甜为调味和诱食物质之甜味物质。农业部第2045号公告附件附录一注4注明：“以一种或多种调味物质或诱食物质添加载体等复配而成的产品可称为调味剂或诱食剂，以一种或多种甜味物质添加载体等复配而成的产品可称为甜味剂”。甜味剂是由甜味物质复配而成，是允许使用的饲料添加剂。目前，甜味剂作为常用的饲料添加剂，在饲料中得到普遍使用。

GB/T 31215—2014《混合型饲料添加剂 甜味剂通用要求》对“甜味剂”定义：“以一种甜味物质添加增味剂或辅料，或两种以上（含两种）甜味物质，添加或不添加增味剂或辅料，经调配混合加工而成的均匀混合物，用以赋予、改善或提高饲料甜味”；对“甜味物质”定义：“生产甜味剂的主要原料，以赋予、改善或提高饲料甜味，包括天然甜味物质和合成甜味物质，一般配制成甜味剂后在饲料中使用”；在产品“要求”的“理化指标”项目中，明确“甜味剂产品标准中应规定主要甜味物质的分析保证值”；在“检测方法”中，对“主要甜味物质含量检测”中规定“按相关标准执行”。因此，甜味物质是甜味剂的有效成分，其分析保证值对甜味剂质量至关重要，是必须要检测的。

2025年6月，标准编制小组从国家标准化管理委员会网站“企业标准信息公共服务平台”查询混合型饲料添加剂产品企业标准，当前，我国现行有效的**混合型饲料添加剂产品企业标准共39项**，生产企业名称、产品标准编号、甜味剂含量范围、载体详见表1。当前我国混合型饲料添加剂甜味剂产品中使用最多的甜味物质为糖精钠、纽甜、新甲基橙皮苷二氢查耳酮。各生产企业使用的甜味剂产品不一，产品用糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮、纽甜中的一种、两种或三种与载体和稀释剂复配而成，其中**糖精钠含量范围为0.5%~95%**，**新甲基橙皮苷二氢查耳酮的含量范围为0.05%~3.0%**，**纽甜的含量范围为0.1%~95%**；载体包括二氧化硅、石粉、沸石粉、轻质碳酸钙、麦芽糊精、玉米淀粉、玉米芯、甜叶菊渣、葡萄糖、硫酸钠、硫酸镁、氯化钠、谷氨酸钠、柠檬酸、苹果酸、柠檬酸钠、山梨糖醇、鸟苷酸二钠、肌酐酸二钠、食品用香料等。

准确测定饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜三种甜味物质，是饲料添加剂甜味剂生产企业、饲料生产企业质量控制面临的主要问题。饲料生产企业验收饲料添加剂甜味剂产品时，因为无国家标准/行业标准检测方法，只能参考有关文献或生产企业产品标准测定饲料添加剂甜味剂产品中的甜味物质含量，由于检测方法不统一，经常与生产商、贸易商发生纠纷，亟需制定国家/行业标准检测方法，为饲料添加剂甜味剂生产企业产品质量控制、饲料生产企业合规使用饲料添加剂甜味剂提供可靠的检测标准方法，有利于饲料监管部门监管饲料添加剂甜味剂的质量安全，从源头保证饲料、养殖畜禽产品和水产品的质量安全。

表 1 我国混合型饲料添加剂甜味剂生产企业、产品标准一览表

序号	生产企业	产品名称	产品标准编号	甜味剂含量范围	载体和稀释剂
1	无锡英尔特生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/320292AAEM 06-2025	糖精钠: $\geq 10\%$ ~ 30% 纽甜: $\geq 20\%$	二氧化硅、玉米淀粉、沸石粉
2	潘可士玛(江苏)饲料添加剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/320582PJS 001-2024	糖精钠: $\geq 30\%$ ~ 50% 纽甜: $\geq 4\%$	二氧化硅、麦芽糊精
3	潘可士玛(上海)饲料添加剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q310114000159C001-2016-02	糖精钠: $\geq 20\%$ ~ 90% 纽甜: $\geq 1.3\%$ ~ 1.6%	二氧化硅、麦芽糊精
4	上海美农生物科技股份有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/0114000033C005 02-2025	糖精钠: $\geq 1\%$ ~ 95% 纽甜: $\geq 1\%$ ~ 7% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮: $\geq 0.1\%$ ~ 1.0%	二氧化硅、石粉、硫酸钠、硫酸镁、麦芽糊精、葡萄糖、氯化钠、谷氨酸钠、柠檬酸、苹果酸、柠檬酸钠、山梨糖醇、鸟苷酸二钠、肌酐酸二钠、食品用香料
5	苏州美农生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/320585MN05 01-2025	糖精钠: $\geq 20\%$ ~ 95% 纽甜: $\geq 1.0\%$ ~ 6.0% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮: $\geq 0.1\%$ ~ 1.0%	二氧化硅、硫酸钠、硫酸镁、糊精、葡萄糖、氯化钠、谷氨酸钠、柠檬酸、苹果酸、柠檬酸钠、山梨糖醇、鸟苷酸二钠、肌酐酸二钠、甜菊糖苷
6	福艾生物科技(江苏)有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/320691WBD 02-2024	糖精钠: $\geq 5\%$ ~ 95% 纽甜: $\geq 2.0\%$	二氧化硅、葡萄糖
7	福艾生物科技(江苏)有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/320691WBD 23-2025	糖精钠: $\geq 50\%$	二氧化硅、葡萄糖

序号	生产企业	产品名称	产品标准编号	甜味剂含量范围	载体和稀释剂
8	扬州博兴农生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/321001BXN 17-2024	糖精钠：≥5%~15% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.2%	甜叶菊渣、葡萄糖、二氧化硅
9	泰兴市祥林饲料添加剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/321283BTD 04-2023	糖精钠：≥10%~60%	玉米芯粉
10	潍坊丰象生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/370701WFX010 010-2023	糖精钠：≥10%~90% 纽甜：≥3.0%	二氧化硅、轻质碳酸钙
11	成都朴瑞威饲料科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q75598415 9.1-2024	糖精钠：≥5%~90%	/
12	成都大帝汉克生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/76538455 2.2-2022	糖精钠：≥0.5%~95% 纽甜：≥0.1%~10% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.05%~0.1%	二氧化硅、石粉
13	成都枫澜科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/728063397P 04-2023	糖精钠：≥20%~80% 纽甜：≥3% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.2%	二氧化硅
14	长沙美日生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/AEKU 013-2023	糖精钠：≥10%~50% 纽甜：≥0.1%~0.5% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.1%	/
15	广州天科生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/GTKSW 5303-2024	糖精钠：≥5%~80%	/

序号	生产企业	产品名称	产品标准编号	甜味剂含量范围	载体和稀释剂
16	湖南科腾生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HNKKT 012-2024	糖精钠：≥2%~75% 纽甜：≥1%~6%	/
17	山东华睿隆生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HRL 02.5-2025	糖精钠：≥10%~20% 纽甜：≥3%~6.5% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.2%	二氧化硅、葡萄糖、玉米淀粉、麦芽糊精、石粉、氯化钠、硫酸钠
18	山东华睿隆生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HRL 02.5-2025	纽甜：≥3%~6% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.2%~0.25%	二氧化硅、葡萄糖、玉米淀粉、麦芽糊精、石粉、氯化钠、硫酸钠
19	山东华睿隆生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HRL 02.3-2025	糖精钠：≥10%~80% 纽甜：≥1.3%~10%	二氧化硅、葡萄糖、玉米淀粉、麦芽糊精、石粉、氯化钠、硫酸钠
20	山东华睿隆生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HRL 02.1-2025	糖精钠：≥10%~85%	二氧化硅、葡萄糖、玉米淀粉、麦芽糊精、石粉、氯化钠、硫酸钠
21	信杰（北京）饲料调味剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/HSNG 03-2024	糖精钠：≥1%~92% 纽甜：≥0.5%~19.8%	/
22	埃特亚（广州）饲料添加剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/ITPSA 4-2021	糖精钠：≥85%~95% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.4%~0.6%	葡萄糖
23	广州科汇农牧科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QKHNM 15-2023	糖精钠：≥0.5%~95% 纽甜：≥1.0%~95%	/
24	乐达（广州）香味剂有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QLUCTA 32-2024	糖精钠：≥28%~88%	/

序号	生产企业	产品名称	产品标准编号	甜味剂含量范围	载体和稀释剂
25	四川恒瑞源生物技术开发有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMA6ALW8K3G 42-2025	糖精钠: $\geq 20\%$ ~30% 纽甜: $\geq 0.2\%$ ~1.0%	沸石粉
26	重庆市荣昌区民泰农业科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMT 32-2025	糖精钠: $\geq 70\%$ ~85% 纽甜: $\geq 2.5\%$ ~3%	/
27	重庆市荣昌区民泰农业科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QCMT 18-2024	糖精钠: $\geq 5\%$ ~20%	/
28	重庆民泰新农业科技发展集团有限公司荣昌分公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMT 17-2025	糖精钠: $\geq 20\%$ 纽甜: $\geq 0.9\%$ ~5% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮: $\geq 0.1\%$ ~0.2%	/
29	重庆民泰新农业科技发展集团有限公司荣昌分公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMT 16-2025	糖精钠: $\geq 10\%$ ~45% 纽甜: $\geq 1\%$ ~9%	/
30	重庆民泰新农业科技发展集团有限公司荣昌分公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMT 15-2025	糖精钠: $\geq 15\%$ ~80% 纽甜: $\geq 0.5\%$ ~7%	/
31	重庆民泰新农业科技发展集团有限公司荣昌分公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QMT 14-2025	糖精钠: $\geq 5\%$ ~99%	/
32	四川纳瑞希生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QQMA66GHRGXP 3-2024	糖精钠: $\geq 1\%$ ~95% 纽甜: $\geq 0.5\%$ ~4.5% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮: $\geq 0.08\%$ ~3.0%	/
33	泉州牡丹生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QQZMD 005-2024	糖精钠: $\geq 2\%$ ~40% 纽甜: $\geq 1\%$ ~7%	二氧化硅、滑石粉、氯化钠、石粉、硫酸钠、麦芽糊精、葡萄糖

序号	生产企业	产品名称	产品标准编号	甜味剂含量范围	载体和稀释剂
34	味氏（广东）生物科技股份有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/WSSW 10-2025	糖精钠： ≥1%~99% 纽甜： ≥1%~10% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.1%~0.3%	符合《饲料原料目录》
35	广东有机宝生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QYJBSW 4-2024	糖精钠： ≥5%~80%	/
36	肇庆市中余生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/ZYSW 4-2024	糖精钠： ≥5%~80%	/
37	肇庆市中余生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/ZYSW 05S-2020	糖精钠： ≥0.2%~0.9%	/
38	肇庆市中余生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	Q/ZYSW 05R-2020	糖精钠： ≥0.2%	/
39	麦仑（漳州）生物科技有限公司	混合型饲料添加剂 甜味剂	QZZMR 002-2025	糖精钠： ≥2%~95% 纽甜： ≥0.5%~5% 新甲基橙皮苷二氢查尔酮： ≥0.3%~0.5%	/

1.3 工作过程

1.3.1 标准起草

(1) 成立标准编制小组

2023年8月，四川威尔检测技术股份有限公司等接到《混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜的测定 高效液相色谱法》农业行业标准制定项目预研任务后，对该标准的具体工作进行了认真研究，确定了总体工作方案，组建了标准编制小组，制定了工作计划，落实人员与分工，详见表2。

表2 标准主要起草人员及任务分工

人员	职称	承担任务
张凤枰	教授	项目负责人，负责项目全面工作
包清彬	教授	调研、标准起草、检测数据分析
唐姣	工程师	检测方法研究
邓虹	高级工程师	检测方法研究
苏俞真	讲师	征求意见汇总处理
刘晋渝	高级工程师	样品检验、验证
余森	高级工程师	调研、样品收集、研讨、工作协调
杨梅	高级工程师	调研
侯玲玲	工程师	样品收集、标准文本和编制说明编制、修改
杜雪莉	高级工程师	标准文本和编制说明编制、修改
杨发树	高级工程师	标准文本和编制说明编制、修改
张璐	研究员	标准文本和编制说明修改
吴芳	副教授	标准文本和编制说明修改
刘张育	工程师	样品制备、收集、检验验证

(2) 技术路线和项目方案的制定

2023年8月~9月，标准编制小组成员查询和收集了国内外相关标准和文献资料，确立了标准制定指导思想，制定了标准制定技术路线和试验方案，见图1。

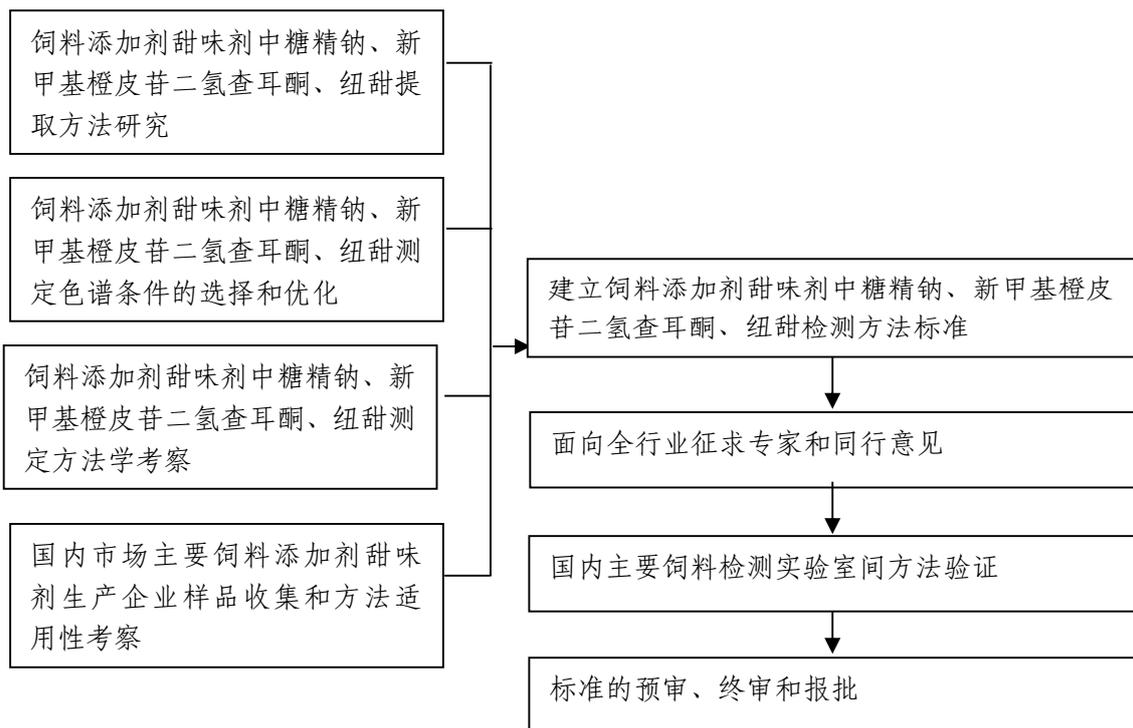


图 1 标准修订技术路线

(3) 开展检测方法研究、方法学考察和方法适用性考察

2023 年 8 月~2024 年 12 月，标准编制小组开展了色谱条件的选择和优化、提取条件的优化、方法学考察、国内市场主要厂家混合型饲料添加剂甜味剂样品收集和实际样品测定；

(4) 标准文本和编制说明征求意见稿编写、方法验证

2025 年 1 月~2025 年 4 月，标准编制小组完成标准文本和编制说明征求意见稿编写，开展方法验证工作。

1.3.2 征求意见

2025 年 3 月~4 月，标准编制小组发送给全国饲料工业标准化技术委员会相关委员，国家和省部级饲料质检机构、第三方饲料检测机构、大中型饲料企业实验室相关专家等开展定向征求意见工作。发函单位 40 个，回函单位 29 个，未回函单位 11 个；提出意见单位 29 个，无意见单位 0 个；共提出意见 143 条；采纳 120 条，部分采纳或不采纳 23 条。

标准编制小组按照专家意见和建议，补充了相关试验数据，修改、完善了标准文本和编制说明，形成标准预审稿。

1.3.3 标准审查

(1) 标准预审

2025年5月30日，全国饲料工业标准化技术委员会饲料检测方法标准化工作组组织专家对四川威尔检测技术股份有限公司等单位制定的农业行业标准《饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的测定 高效液相色谱法》（预审稿）进行了认真审查。专家组杨曙明、张丽英、齐德生、王峻、刘小敏、吴宁鹏、程林丽、郝燕娟8位专家组成。在听取起草专家汇报的基础上，专家组审查了标准文本及编制说明，提出如下修改意见：

1) 建议标准名称修改为“混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜的测定 高效液相色谱法”。

2) 第9章中增加糖精钠（ $C_6H_4CONaSO_2 \cdot 2H_2O$ ）计算公式。

3) 编制说明中补充我国主要生产企业的产品、载体和产品标准的情况，并扩大定向征求意见范围。

4) 编制说明中进一步补充糖精、糖精钙对检测结果的影响，并补充高含量纽甜加标回收试验数据。

5) 按照 GB/T 1.1—2020 和 GB/T 20001.4—2015 的要求规范标准文本及编制说明。

与会专家一致同意标准起草单位按照上述意见修改形成公开征求意见稿，报全国饲料工业标准化技术委员会秘书处。

2025年6月，标准编制小组按照专家意见和建议，补充了相关试验数据，修改、完善了标准文本和编制说明，形成标准公开征求意见稿。

二、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

2.1 标准编制原则

本标准的结构、技术要素和表达方法按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》、GB/T 20001.4—2015《标准编制规则 第4部分：试验方法标准》的规定和要求进行编写。

2.2 主要内容

2.2.1 适用范围

本标准制定的目的是满足混合型饲料添加剂甜味剂生产企业和饲料生产企业、监管部门和检验检测机构开展混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜含量测定需要，适用范围为混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜的测定。

2.2.2 原理

试样中的糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮和纽甜用甲醇水溶液提取，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

2.3 主要技术内容确定的依据

2.3.1 液相色谱条件的选择和优化

2.3.1.1 检测波长的选择

采用二极管矩阵检测器在 190 nm~400 nm 波长扫描得到糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜色谱峰的光谱图，如图 2~图 4。结果表明，糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜在波长 210 nm 有较大吸收峰，因此，**确定糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜检测波长为 210 nm。**

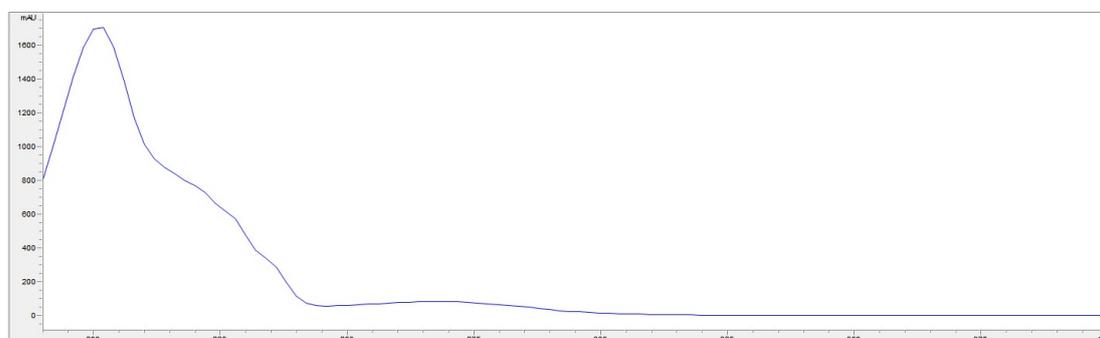


图2 糖精钠标准溶液光谱图

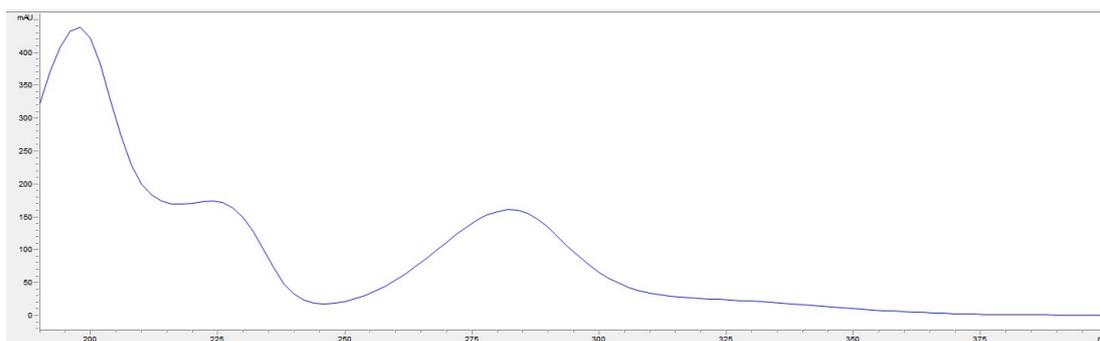


图3 新甲基橙皮苷二氢查尔酮标准溶液光谱图

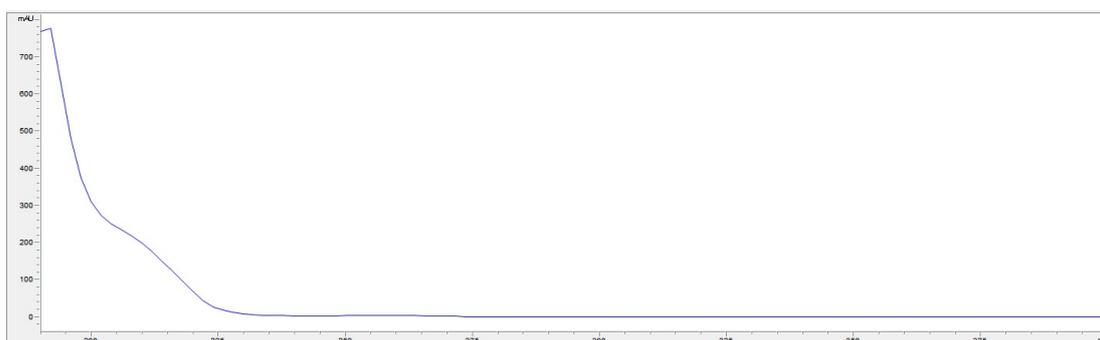


图4 纽甜标准溶液光谱图

2.3.1.2 流动相的考察

分别考察了五种流动相对目标化合物（浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ ）峰形的影响，色谱条件详见表 3，色谱图见图 5~图 9。结果表明， 3mL/L 三乙胺（ $\text{pH}=3.5$ ）溶液和 1g/L 庚烷磺酸钠+ 3mL 三乙胺（ $\text{pH}=3.5$ ）作为水相时，基线平稳，目标化合物的峰形对称，无拖尾，分离良好，可排除杂质的干扰，但 1g/L 庚烷磺酸钠+ 3mL 三乙胺（ $\text{pH}=3.5$ ）中离子对试剂庚烷磺酸钠延长色谱柱的平衡时间，且对色谱柱的损耗更大。因此，最终确定 3 mL/L 三乙胺（ $\text{pH}=3.5$ ）溶液作为流动相成分。

表 3 流动相考察试验条件

No.	流动相成分	流动相 体积比	流速 (mL/min)
流动相 1	乙腈: 水	梯度洗脱	1.0
流动相 2	乙腈: 1g/L 庚烷磺酸钠+3mL 三乙胺(pH=3.5)	梯度洗脱	1.0
流动相 3	乙腈+1g/L 庚烷磺酸钠 (pH=3.5)	梯度洗脱	1.0
流动相 4	乙腈+3mL/L 三乙胺 (pH=3.5)	梯度洗脱	1.0
流动相 5	乙腈+0.02mol/L 乙酸铵	梯度洗脱	1.0

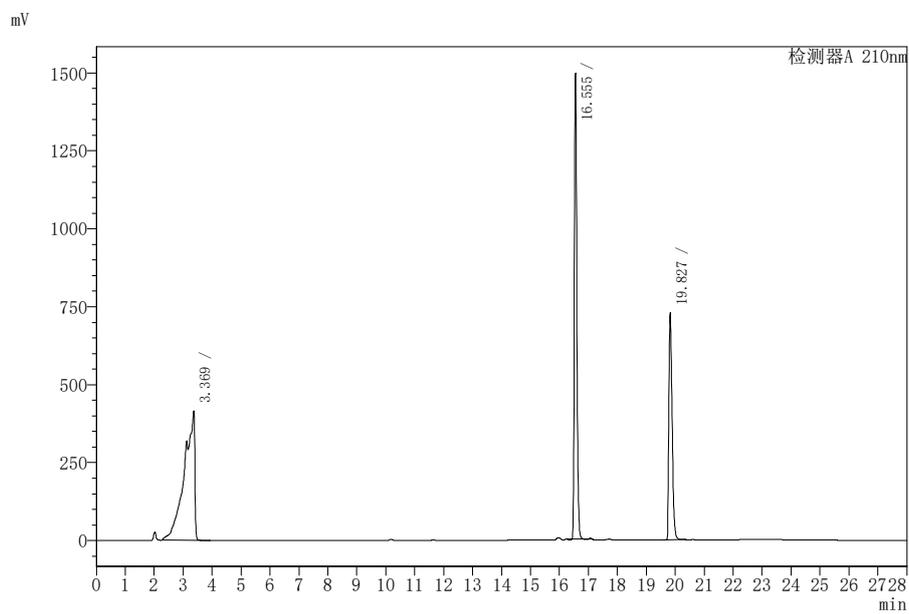


图 5 乙腈: 水作为流动相的标准溶液色谱图

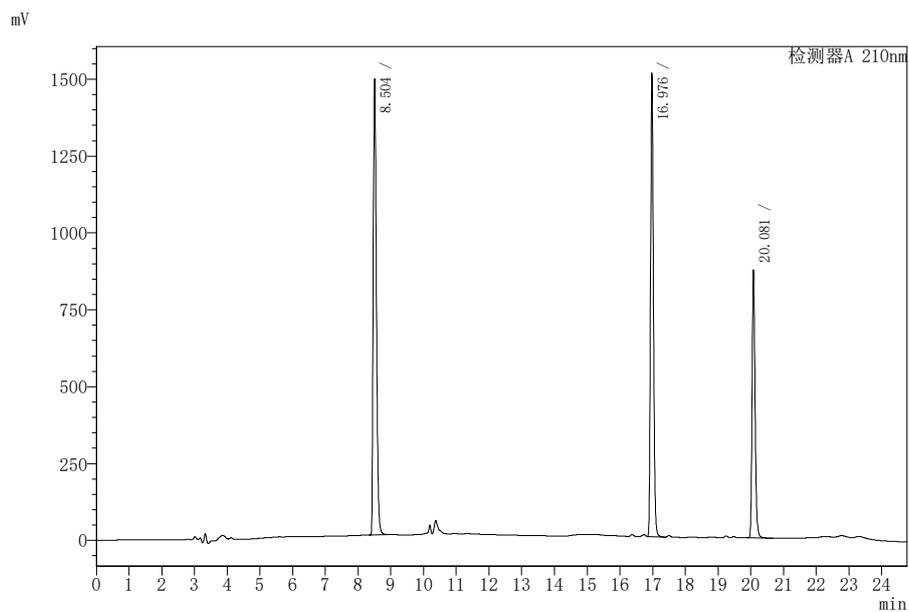


图 6 乙腈: 1g/L 庚烷磺酸钠+3mL 三乙胺 (pH=3.5) 作为流动相的标准溶液色谱图

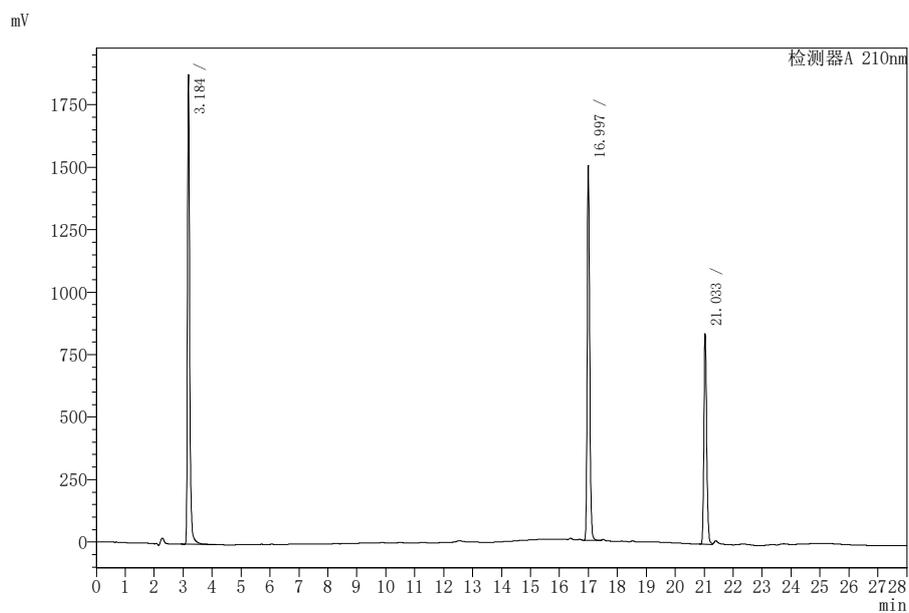


图 7 乙腈: 1g/L 庚烷磺酸钠 (pH=3.5) 作为流动相的标准溶液色谱图

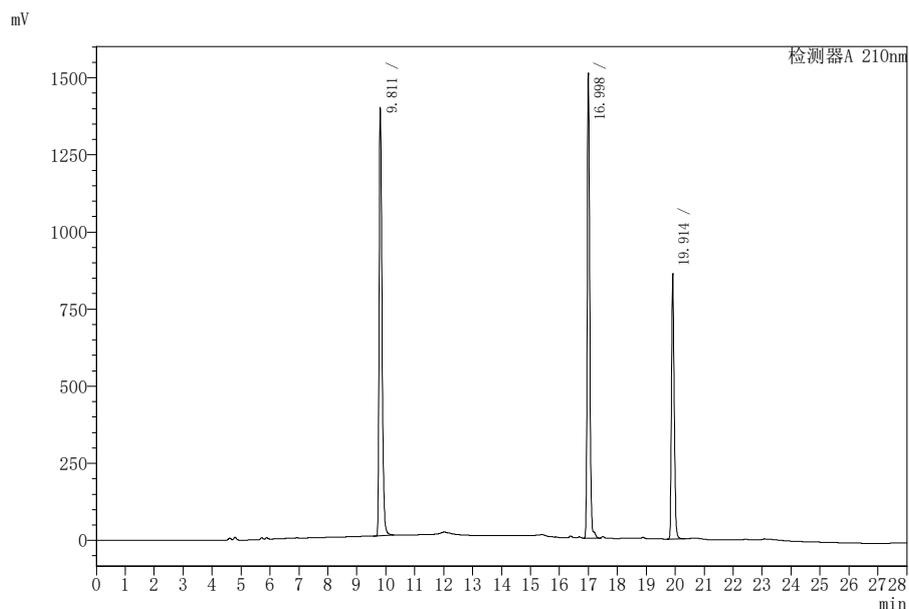


图 8 乙腈: 3mL//L 三乙胺 (pH=3.5) 作为流动相的标准溶液色谱图

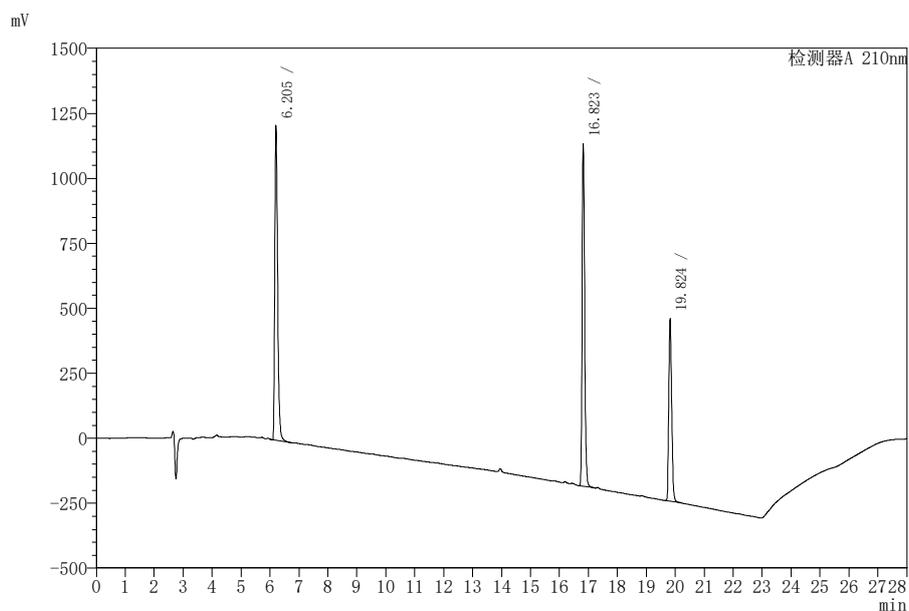


图 9 乙腈: 0.02mol/L 乙酸铵作为流动相的标准溶液色谱图

2.3.1.3 色谱柱温度的考察

色谱柱温度对溶剂的溶解能力、色谱柱的性能、流动相的粘度都有一定的影响。分别考察色谱柱温度为 25°C、30°C、35°C 和 40°C 时目标化合物 (浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的峰形和分离情况, 结果见图 10~图 13。考察结果表明, 随着色谱柱温度的升高, 目标化合物的保留时间缩短。在以上条件中, 均峰形对称, 满足实验要求, 低温有利于延长色谱柱使用寿命, 我国部分地区夏季时不易控制到 25°C。因此, 最终确定色谱柱温度为 30°C。

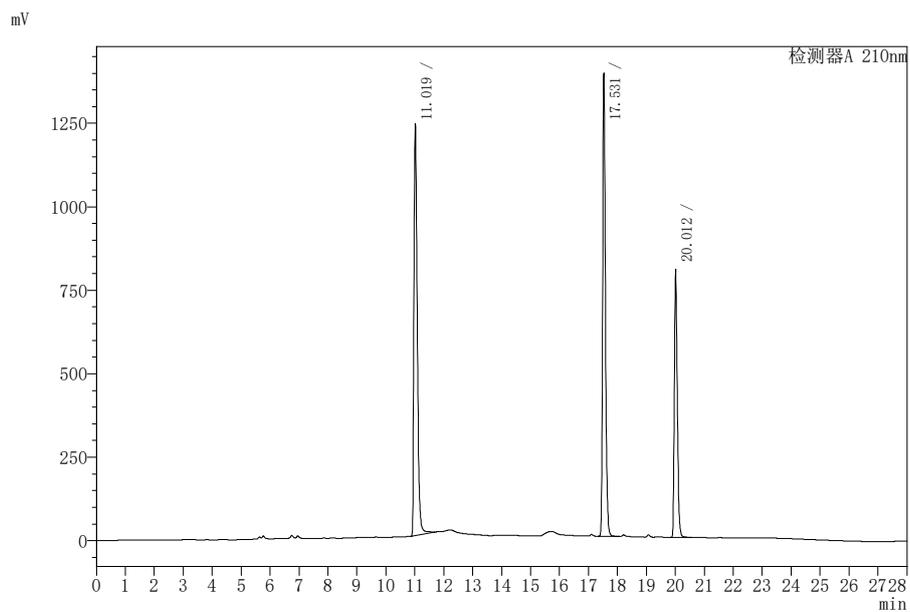


图10 柱温25°C目标化合物标准溶液色谱图

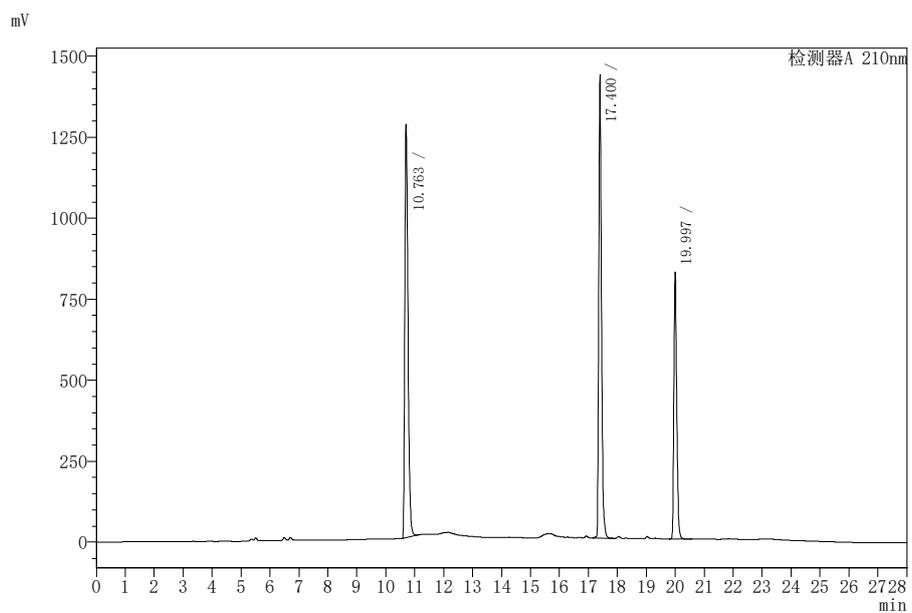


图11 柱温30°C目标化合物标准溶液色谱图

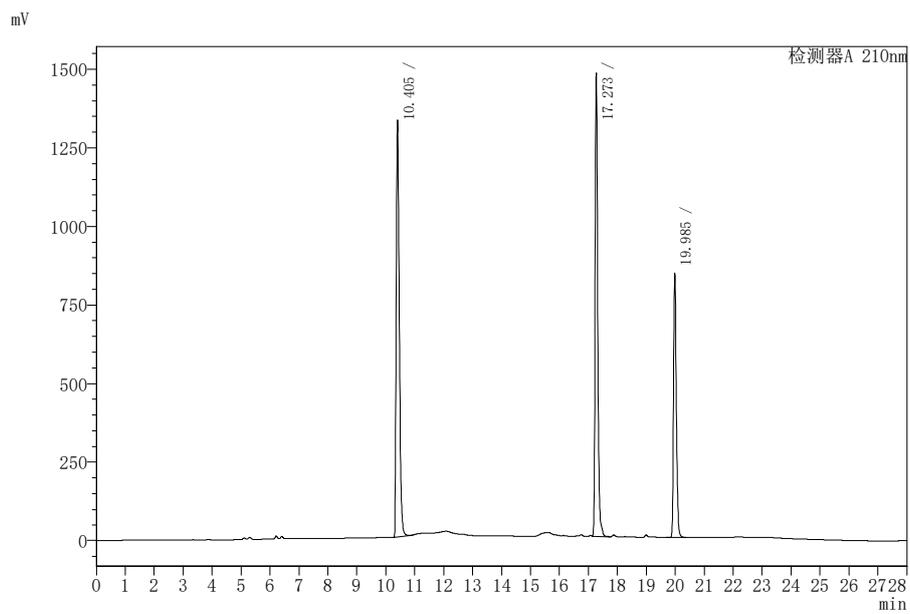


图12 柱温35°C目标化合物标准溶液色谱图

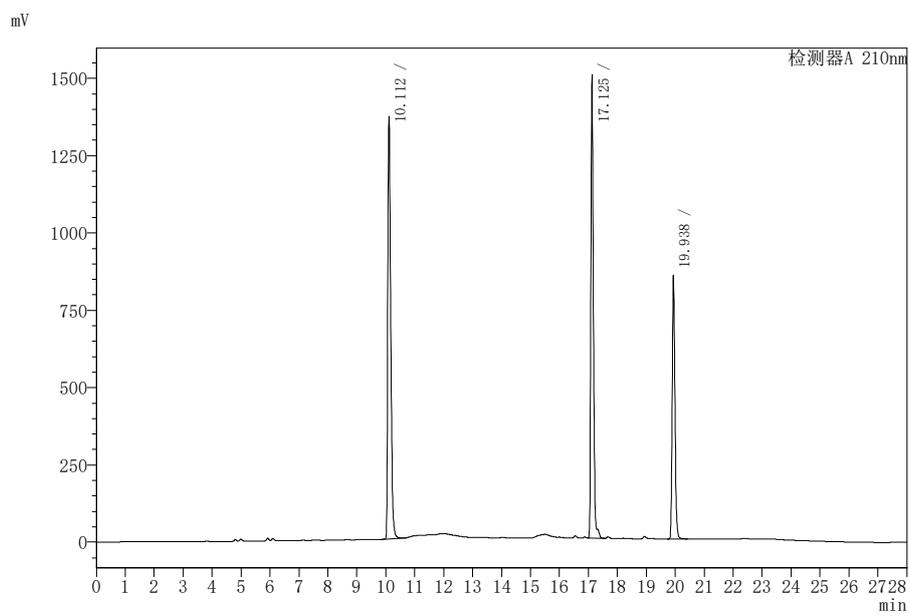


图13 柱温40°C目标化合物标准溶液色谱图

2.3.1.4 不同厂家色谱柱的考察

根据相似相溶原理，选择 C₁₈ 柱分离目标化合物。在流动相为乙腈+3 mL/L 三乙胺 (pH=3.5)，流速为 1.0 mL/min，检测波长为 210 nm，柱温为 30°C 时，分别考察 MS Technologies、Agilent 和 Thermo 的 C₁₈ 柱对目标化合物 (浓度为 100 μg/mL) 的保留情况，结果见图 14~图 16。结果表明，三个厂家 C₁₈ 色谱柱得到的目标化合物色谱峰均峰形对称，满足实验要求。因此，该方法选择 C₁₈ 柱 (柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm) 或等效色谱柱。

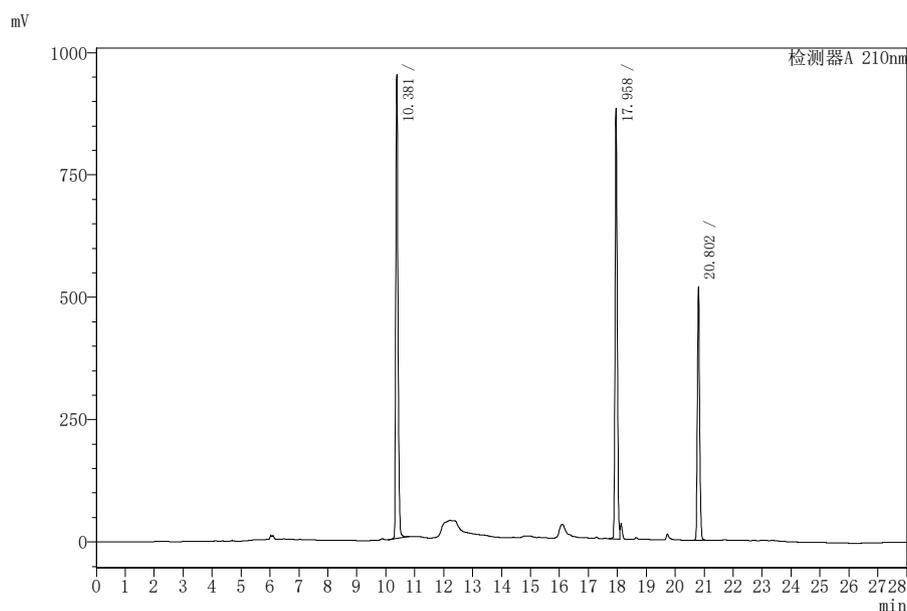


图 14 MS Technologies-C₁₈ 目标化合物标准溶液色谱图

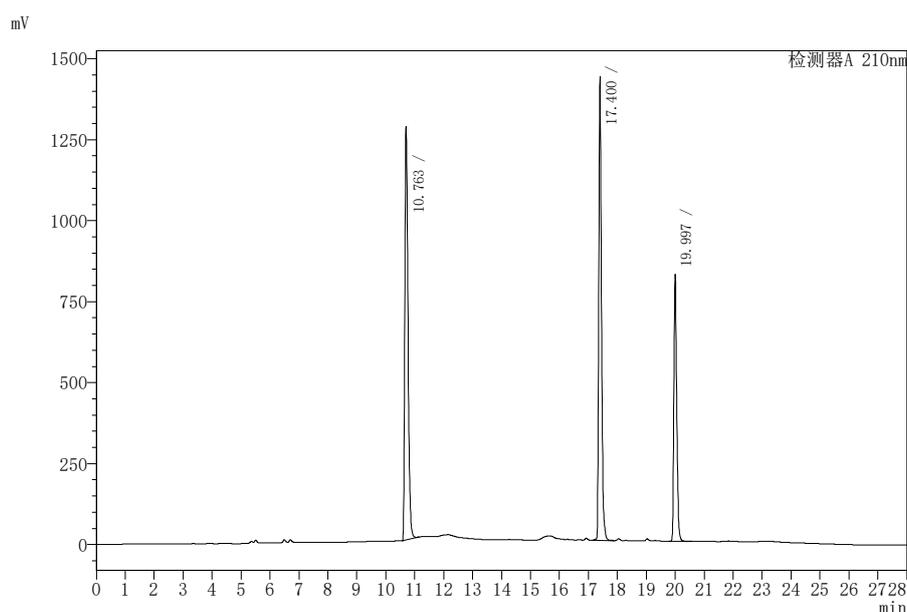


图 15 Agilent-C₁₈ 目标化合物标准溶液色谱图

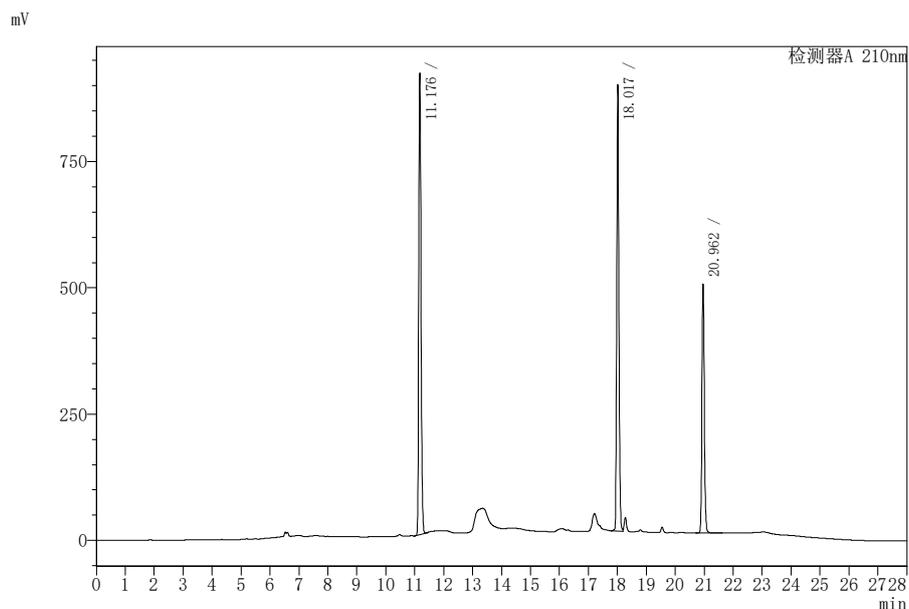


图 16 Thermo-C₁₈ 目标化合物标准溶液色谱图

2.3.1.5 色谱条件的选择性、专属性和稳定性考察

在上述色谱条件下，考察不同浓度目标化合物标准工作溶液的保留时间、峰面积的精密度和稳定性，试验结果见表 4。结果表明，0.5 μg/mL~200.0 μg/mL 等 6 种不同浓度目标化合物标准工作溶液保留时间的 RSD 值均小于 0.26%，峰面积的 RSD 值均小于 1.66%。考察了不同含量、组成的甜味剂实际样品色谱分析的选择性，色谱图见图 17~图 18。结果表明，在试验色谱条件下，实际样品中的色谱图无其他杂质峰干扰。

以上试验结果表明，在所选择的色谱条件下，目标化合物的分离度、稳定性和专属性满足定性和定量测定要求，该方法选择性、专属性和稳定性高。

表 4 色谱柱选择性、稳定性和专属性考察试验结果

糖精钠 (μg/mL)	保留时间 (min)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	10.795	10.799	10.794	10.801	10.799	10.808	0.05
5.0	10.785	10.791	10.784	10.796	10.779	10.792	0.04
10.0	10.785	10.789	10.777	10.78	10.775	10.782	0.06
50.0	10.766	10.771	10.766	10.765	10.764	10.762	0.03
100.0	10.748	10.745	10.743	10.75	10.748	10.751	0.03
200.0	10.787	10.727	10.762	10.725	10.734	10.783	0.26

糖精钠 ($\mu\text{g/mL}$)	峰面积 ($\text{mV}\cdot\text{min}$)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	20613	20057	20979	20528	20288	20834	1.66
5.0	249058	249995	249357	250210	249038	250709	0.27
10.0	474192	474706	473448	475314	473593	475250	0.17
50.0	2588729	2591634	2592471	2593271	2591026	2591533	0.06
100.0	4857684	4852096	4857268	4854977	4854797	4853883	0.04
200.0	10301790	10421108	10346965	10478326	10357506	10386647	0.60
NHDC ($\mu\text{g/mL}$)	保留时间 (min)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	17.431	17.424	17.430	17.423	17.429	17.430	0.02
5.0	17.418	17.422	17.418	17.421	17.416	17.419	0.01
10.0	17.420	17.413	17.414	17.415	17.411	17.409	0.02
50.0	17.411	17.415	17.406	17.411	17.405	17.410	0.02
100.0	17.408	17.412	17.411	17.415	17.414	17.416	0.02
200.0	17.445	17.404	17.487	17.484	17.429	17.405	0.21
NHDC ($\mu\text{g/mL}$)	峰面积 ($\text{mV}\cdot\text{min}$)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	4697	4593	4664	4733	4565	4679	1.37
5.0	85973	85137	85795	85344	85514	85433	0.36
10.0	189983	189620	190020	189729	189367	189786	0.13
50.0	1112382	1112450	1111330	1112356	1113315	1112956	0.06
100.0	2370183	2370759	2372804	2372417	2371902	2372035	0.04
200.0	4987722	4982433	4972442	4980284	4989332	4983068	0.12
纽甜 ($\mu\text{g/mL}$)	保留时间 (min)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	20.037	20.031	20.038	20.033	20.042	20.040	0.02
5.0	20.024	20.025	20.024	20.028	20.022	20.027	0.01
10.0	20.020	20.021	20.009	20.020	20.015	20.012	0.02
50.0	20.013	20.014	20.011	20.015	20.013	20.012	0.01

100.0	20.014	20.014	20.014	20.018	20.018	20.018	0.01
200.0	20.147	20.037	20.09	20.056	20.022	20.123	0.25
纽甜 ($\mu\text{g/mL}$)	峰面积 ($\text{mV}\cdot\text{min}$)						RSD (%)
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	
0.5	6881	7023	6962	6820	6936	7011	1.12
5.0	66469	66307	66442	66126	66060	65970	0.31
10.0	135725	135678	135574	135444	135380	135086	0.17
50.0	716575	716241	715894	715642	715350	715063	0.08
100.0	1453932	1452903	1453587	1452311	1451657	1450880	0.08
200.0	2907594	2901189	2899638	2902586	2897743	2904470	0.12

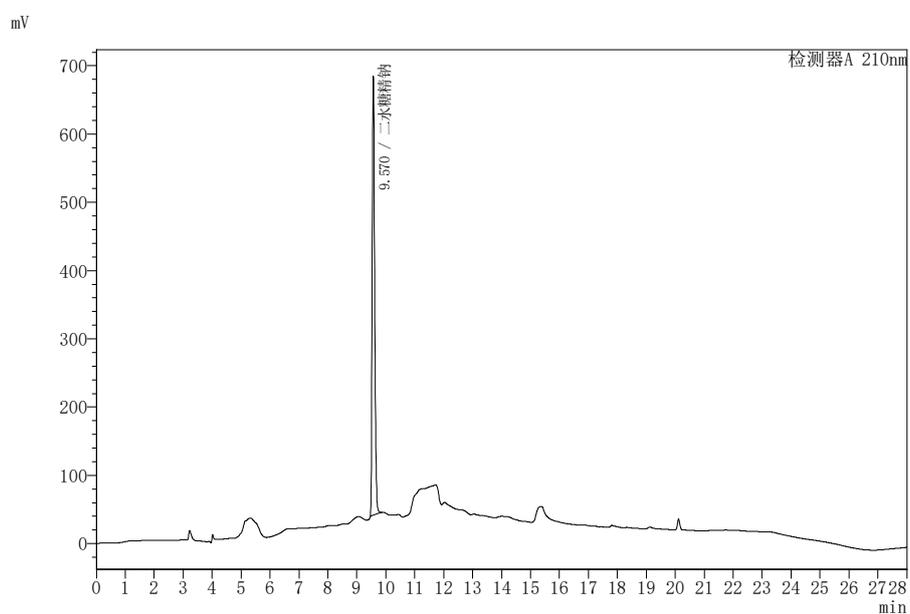


图17 甜味剂中糖精钠的色谱图

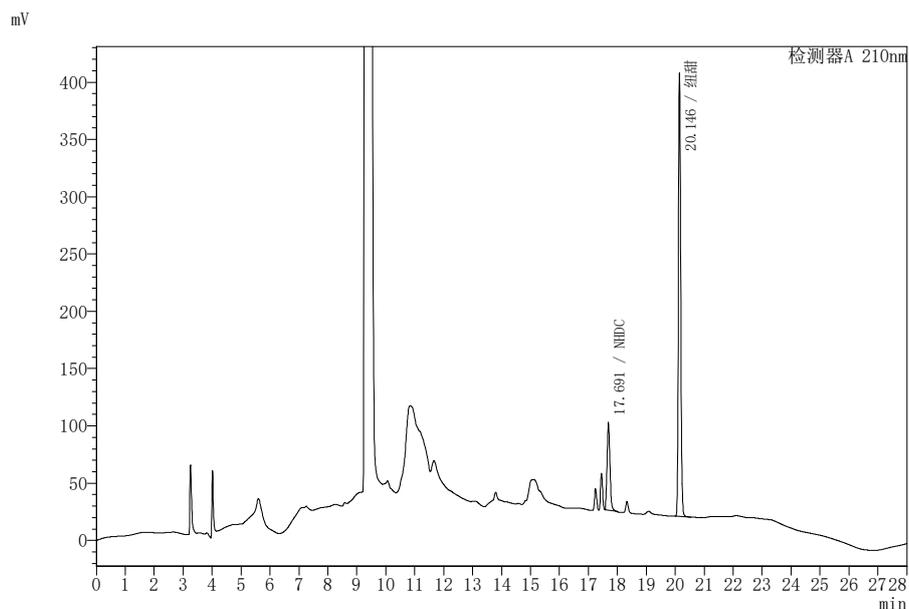


图18 甜味剂中新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜色谱图

2.3.2 样品前处理条件的选择和优化

2.3.2.1 提取溶剂的选择

经调研,目前我国主要饲料添加剂甜味剂产品绝大部分用二氧化硅、硫酸钠、葡萄糖等混合做为载体。糖精钠和纽甜易溶于水,但新甲基橙皮苷二氢查尔酮在水溶液中高含量时易析出,饲料添加剂甜味剂产品成分比较简单,产品大部分成分是甜味物质与二氧化硅等载体的混合物。因此试验选取4个不同含量甜味剂,比较水、10%、20%、30%、40%和50%甲醇溶液作为提取剂的提取效果。甜味剂超声提取、稀释,按照上述色谱条件进行液相色谱测定,结果见表5~表7。结果表明,水、10%、20%、30%、40%和50%甲醇溶液作为提取剂的提取效果基本一致,综合团体标准 TCAFFC138-2020,最终选用40%甲醇溶液作为提取溶剂。

表5 不同提取溶剂糖精钠测定结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	水	10%甲醇溶液	20%甲醇溶液	30%甲醇溶液	40%甲醇溶液	50%甲醇溶液
甜味剂①	35.9	35.7	36.4	36.3	36.2	36.4
甜味剂②	94.0	93.9	94.1	94.0	94.5	93.7
甜味剂③	21.2	20.4	21.3	21.0	21.3	21.3
甜味剂④	36.8	37.5	37.2	37.3	37.1	36.9

表 6 不同提取溶剂新甲基橙皮苷二氢查尔酮测定结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	水	10%甲醇溶液	20%甲醇溶液	30%甲醇溶液	40%甲醇溶液	50%甲醇溶液
甜味剂①	0.0918	0.0635	0.0684	0.0922	0.0930	0.0784
甜味剂②	0.171	0.223	0.254	0.252	0.250	0.262
甜味剂③	0.0846	0.0639	0.0859	0.110	0.130	0.130
甜味剂④	0.101	0.106	0.105	0.124	0.118	0.122

表 7 不同提取溶剂纽甜测定结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	水	10%甲醇溶液	20%甲醇溶液	30%甲醇溶液	40%甲醇溶液	50%甲醇溶液
甜味剂①	2.74	3.31	3.30	3.47	3.29	3.35
甜味剂②	0.584	0.580	0.587	0.605	0.586	0.597
甜味剂③	3.78	3.79	4.47	4.45	4.37	4.23
甜味剂④	3.04	3.42	3.17	3.29	3.26	3.26

2.3.2.2 提取方式的选择

选取了 4 个不同含量甜味剂, 分别称取 0.5 g 饲料添加剂甜味剂样品于 100 mL 容量瓶中, 加入 80 mL 40% 甲醇溶液, 选择提取方式为直接提取、振摇 30 min、超声 10 min、超声 20 min、超声 30 min 和超声 40 min 进行提取后, 恢复至室温后用 40% 甲醇溶液定容至刻度, 混匀后稀释, 按照上述色谱条件进行液相色谱分析, 其含量测定结果见表 8 至表 10。结果表明, 该实验中 6 种提取方式结果基本一致, 超声 20 min、30 min 的提取效果稍优于其他提取条件, 可使甜味物质充分溶出。因此, 选择超声 20 min 作为饲料添加剂甜味剂中甜味物质的提取方式。

表 8 不同提取方式糖精钠的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	直接提取	振摇 30min	超声 10min	超声 20min	超声 30min	超声 40min
甜味剂①	36.1	36.0	36.0	36.2	36.2	35.9
甜味剂②	97.8	98.2	97.8	97.5	98.3	98.1
甜味剂③	20.7	20.8	20.9	21.3	20.9	20.8
甜味剂④	36.9	36.8	36.9	37.1	36.9	37.0

表 9 不同提取方式新甲基橙皮苷二氢查尔酮的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	直接提取	振摇 30min	超声 10min	超声 20min	超声 30min	超声 40min
甜味剂①	0.100	0.104	0.104	0.0930	0.112	0.117
甜味剂②	0.249	0.261	0.270	0.250	0.254	0.256
甜味剂③	0.156	0.151	0.154	0.130	0.160	0.164
甜味剂④	0.126	0.118	0.125	0.118	0.123	0.130

表 10 不同提取方式纽甜的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)					
	直接提取	振摇 30min	超声 10min	超声 20min	超声 30min	超声 40min
甜味剂①	2.74	2.85	3.19	3.30	3.21	3.20
甜味剂②	0.596	0.601	0.615	0.586	0.607	0.609
甜味剂③	4.08	4.01	4.13	4.37	4.21	4.18
甜味剂④	3.43	3.27	3.52	3.32	3.52	3.53

2.3.2.3 称样量的选择

选取了 4 个不同含量甜味剂, 分别称取 0.2 g、0.5 g、1.0 g、2.0 g 饲料添加剂甜味剂样品于 100 mL 容量瓶中, 加入 80 mL 40% 甲醇溶液, 超声 20 min 进行提取后, 恢复至室温后用 40% 甲醇溶液定容至刻度, 混匀后稀释, 按照上述色谱条件进行液相色谱分析, 其含量测定结果见表 11~表 13。结果表明, 实验中称样量为 0.5g、1.0g、2.0g 时, 结果较稳定。因此, 该方法称样量范围为 0.5 g~2.0 g。

表 11 不同称样量糖精钠的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)			
	0.2g	0.5g	1.0g	2.0g
甜味剂①	36.0	36.2	36.2	35.9
甜味剂②	97.4	97.5	97.0	96.8
甜味剂③	21.0	21.3	20.9	20.5
甜味剂④	37.5	37.1	37.2	36.0

表 12 不同称样量新甲基橙皮苷二氢查尔酮的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)			
	0.2g	0.5g	1.0g	2.0g
甜味剂①	0.203	0.0930	0.128	0.113
甜味剂②	0.353	0.250	0.247	0.230
甜味剂③	0.256	0.130	0.151	0.138
甜味剂④	0.207	0.118	0.101	0.0902

表 13 不同称样量纽甜的考察结果 (n=3)

样品名称	含量 (%)			
	0.2g	0.5g	1.0g	2.0g
甜味剂①	3.13	3.30	3.56	3.58
甜味剂②	0.644	0.586	0.591	0.559
甜味剂③	4.06	4.37	4.36	4.48
甜味剂④	3.44	3.32	3.40	3.44

2.3.2.4 试样溶液的稳定性考察

考察提取后的试样溶液放置 0、8、16、24、32、48 小时的稳定性，考察结果见表 14。结果表明，试样溶液放置 0~48 小时峰面积变化不大，偏差均 $\leq 0.23\%$ ，证明试样溶液在 48 小时内稳定。

表 14 试样溶液稳定性考察结果 (n=3)

目标化合物	时间 (h)	峰面积 (mAU)	相对标准偏差/%
二水糖精钠	0	10204.0	0.15
	8	10207.7	
	16	10213.6	
	24	10225.3	
	32	10238.1	
	48	10194.6	
新甲基橙皮苷二氢查尔酮	0	3267.9	0.16
	8	3274.4	
	16	3283.0	
	24	3272.4	
	32	3278.2	
	48	3278.8	
纽甜	0	512991	0.23
	8	516058	
	16	513763	
	24	513587	
	32	513655	
	48	512528	

2.3.3 标准溶液稳定性考察

配制 1.0 mg/mL 的甜味剂标准储备溶液，置于 -18 °C 的冰箱中保存，每 10 天进行一次稳定性考察，连续考察 10 次，每次考察都采用临用现配的甜味剂标准溶液的响应值来计算所考察的甜味剂标准溶液含量，每次做 3 平行试验，10 次甜味剂标准溶液稳定性结果见表 15。结果表明，甜味剂标准储备溶液 90 天内较稳定，确定甜味剂标准储备溶液有效期为 3 个月。

表 15 标准溶液稳定性考察结果

序号	糖精钠检测浓度/ (μg/mL)				配置浓度/ (μg/mL)	偏差/%
	平行 1	平行 2	平行 3	平均值		
1	203.2510	202.9036	201.4948	202.5498	203.5044	0.24
2	203.2546	203.6898	202.6594	203.2013	203.5044	0.07
3	203.5569	203.5841	203.6619	203.6009	203.5044	0.02
4	202.6944	203.6139	202.0596	202.7893	203.5044	0.18
5	202.6689	203.0561	202.3369	202.6873	203.5044	0.20
6	205.3361	202.2153	201.5536	203.0350	203.5044	0.12
7	205.8093	205.8662	203.4755	205.0503	203.5044	0.38
8	202.3368	202.6698	202.8915	202.6327	203.5044	0.21
9	201.9261	202.6639	202.9982	202.5294	203.5044	0.24
10	200.6235	200.0059	198.6325	199.7540	203.5044	0.93
序号	新甲基橙皮苷二氢查尔酮检测浓度/ (μg/mL)				配置浓度/ (μg/mL)	偏差/%
	平行 1	平行 2	平行 3	平均值		
1	202.3486	202.8726	202.9814	202.7342	202.8600	0.03
2	202.1453	202.3652	201.6598	202.0568	202.8600	0.20
3	202.3351	202.6622	202.6243	202.5405	202.8600	0.08
4	201.0265	202.4623	201.5596	201.6828	202.8600	0.29
5	202.6593	202.6841	202.4411	202.5948	202.8600	0.07
6	202.1123	202.1020	201.2259	201.8134	202.8600	0.26
7	202.2800	202.1081	201.7202	202.0361	202.8600	0.20
8	201.6653	202.1121	201.1185	201.6320	202.8600	0.20
9	201.2265	201.6682	202.0645	201.6531	202.8600	0.30
10	195.3565	198.6625	202.6533	198.8908	202.8600	0.99
序号	纽甜检测浓度/ (μg/mL)				配置浓度/ (μg/mL)	偏差/%
	平行 1	平行 2	平行 3	平均值		
1	220.9464	221.5742	221.4916	221.3374	222.3816	0.24
2	221.5142	221.6235	223.5612	222.2330	222.3816	0.03
3	223.5569	221.5684	224.6211	223.2488	222.3816	0.19
4	222.5319	224.5136	221.9641	223.0032	222.3816	0.14
5	222.5316	222.6321	223.1589	222.7742	222.3816	0.19
6	223.6590	224.5124	222.8892	223.6869	222.3816	0.29
7	224.5091	224.4160	224.7732	224.5661	222.3816	0.49

8	216.5615	219.3694	218.3364	218.0891	222.3816	0.97
9	222.5135	218.6142	215.2485	218.7921	222.3816	0.81
10	204.6978	202.9546	201.6354	203.0959	222.3816	4.53

2.3.4 其他合成甜味剂的干扰考察

考察山梨糖醇、安赛蜜、阿斯巴甜和甜蜜素对糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮、纽甜出峰的干扰情况，配制浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$ 安赛蜜、阿斯巴甜、甜蜜素、糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜的混合标准溶液，上机测定后，结果见图 19 和图 20（山梨糖醇、甜蜜素该色谱条件下不出峰）。由图可知，山梨糖醇、安赛蜜、阿斯巴甜和甜蜜素对糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜出峰无干扰。

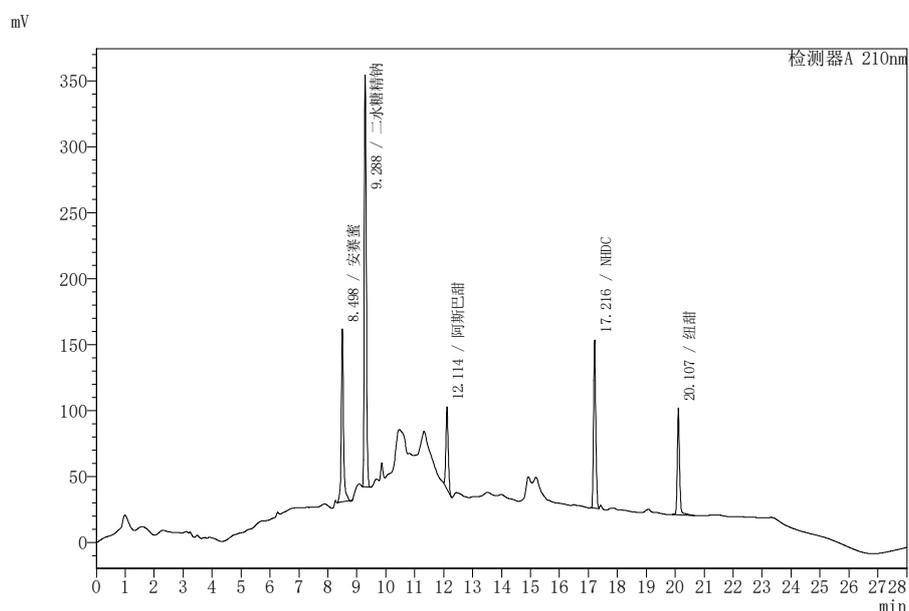


图19 安赛蜜、阿斯巴甜、甜蜜素、二水糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜标准溶液色谱图

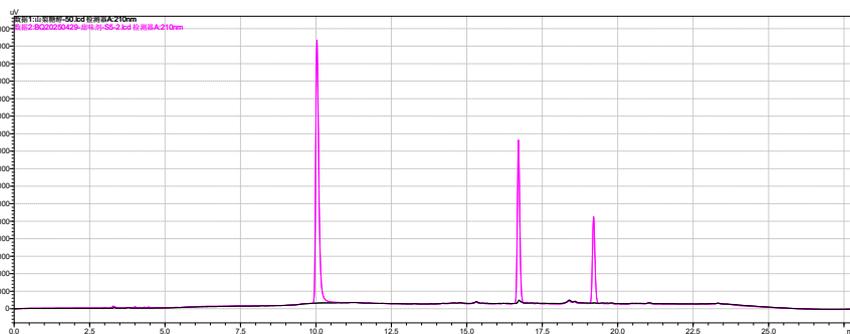


图20 山梨糖醇、二水糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜标准溶液色谱图对比

2.3.5 糖精钠标准物质恒重试验

准确移取糖精钠标准品约 5g，置于洁净干燥的称量瓶中于 120℃ 烘干恒重，于干燥器中冷却至室温称重并记录其结果，结果见表 16。结果表明，糖精钠标准物质在 120℃ 烘干 4 小时已达到恒重。

表 16 糖精钠标准物质恒重试验考察结果

时间	0h	4h	4.5h	5.0h
平行 m_1 (g)	38.8299	38.7738	28.7733	38.7734
平行 m_2 (g)	39.6035	39.5274	39.5264	39.5264
平行 m_3 (g)	38.0502	37.9809	37.9802	37.9794

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围

准确移取糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜标准储备溶液，用 40% 甲醇溶液稀释，制得浓度为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 系列标准溶液，由低浓度到高浓度供高效液相色谱仪测定。以标准溶液中被测组分的峰面积为纵坐标，以标准溶液中被测组分的浓度为横坐标绘制标准工作曲线，糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的回归方程及相关系数 (r^2) 见表 17。结果表明，糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜浓度在 0.50 $\mu\text{g/mL}$ ~ 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内，相关系数为 0.999。

表 17 糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜线性范围、线性方程及相关系数 (R^2)

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	线性方程	R^2
糖精钠	0.50 ~ 200.0	$y = 52152.8x + 63658.5$	0.9997
新甲基橙皮苷二氢查尔酮	0.50 ~ 200.0	$y = 25057.4x - 53380.7$	0.9997
纽甜	0.50 ~ 200.0	$y = 14571.1x - 8287.72$	0.9999

2.4.2 方法检出限和定量限

在本试验条件下，将标准溶液连续稀释后添加到 0.5 g 二氧化硅载体中进行加标回收实验，以 3 倍信噪比 (S/N) 作为方法的检出限，以 10 倍信噪比 (S/N) 作为方法的定量限。检出限色谱图见图 21。结合称样质量、定容体积和稀释体积，糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的方法检出限为 0.01%，定量限为 0.04%。

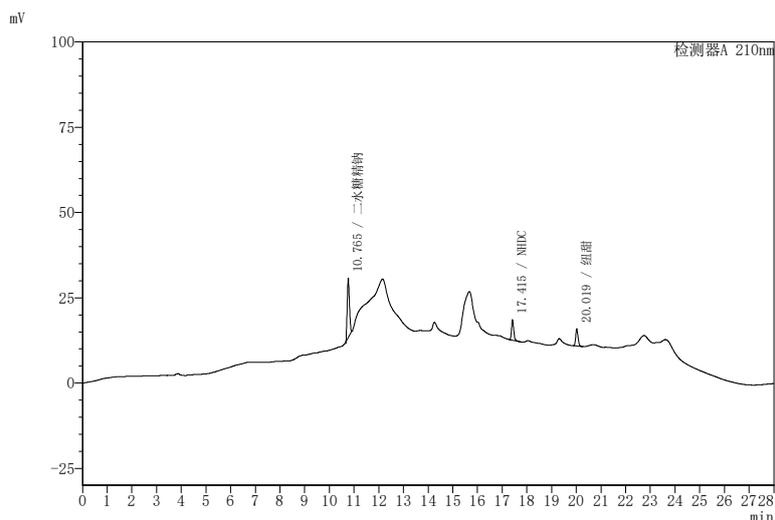


图 21 二水糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查耳酮和纽甜检出限色谱图

2.4.3 方法精密度试验

按照上述确定的试样前处理和液相色谱条件,开展了饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜测定的精密度试验,每个样品进行6平行测定,并重复3次,结果见表18~表20。结果表明,按照上述方法和条件,低含量甜味剂、中含量甜味剂和高含量甜味剂样品中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜测定结果批内、批间的相对标准偏差在0.33%~4.67%之间,均小于5%,测定结果重复性好。

表18 糖精钠方法精密度试验结果

样品	批次	糖精钠 / %						平均值 %	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
甜味剂 ①	I	35.1	34.9	36.8	35.4	35.9	36.3	35.7	2.00	1.72
	II	36.4	35.0	35.2	35.5	35.2	36.7	35.7	1.99	
	III	35.5	35.5	35.9	36.7	35.7	36.4	35.9	1.31	
甜味剂 ②	I	95.5	96.5	95.6	96.2	95.43	95.8	95.8	0.42	0.56
	II	96.3	97.0	95.2	96.4	95.5	95.8	96.0	0.69	
	III	96.7	96.2	96.2	96.0	95.9	97.1	96.3	0.48	
甜味剂 ③	I	19.9	20.2	20.3	20.0	20.6	20.9	20.3	1.81	1.64
	II	20.7	20.2	20.5	20.0	19.5	20.2	20.2	1.98	
	III	20.4	20.5	20.3	20.6	20.2	20.8	20.4	0.95	
甜味剂 ④	I	37.4	37.3	36.6	37.4	37.6	37.7	37.3	1.09	0.87
	II	37.4	37.4	36.9	37.6	37.2	37.0	37.3	0.71	
	III	37.0	37.6	37.8	37.0	37.6	37.3	37.4	0.89	

表19 新甲基橙皮苷二氢查尔酮方法精密度试验结果

样品	批次	新甲基橙皮苷二氢查尔酮 / %						平均值 %	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
甜味剂①	I	0.111	0.112	0.115	0.113	0.120	0.115	0.114	2.68	4.17
	II	0.111	0.112	0.119	0.115	0.120	0.112	0.115	3.43	
	III	0.106	0.109	0.103	0.106	0.109	0.111	0.107	2.61	
甜味剂②	I	0.224	0.226	0.221	0.230	0.225	0.216	0.224	2.22	2.43
	II	0.225	0.227	0.222	0.228	0.227	0.217	0.224	1.81	
	III	0.233	0.230	0.230	0.234	0.235	0.233	0.233	0.88	
甜味剂③	I	0.130	0.140	0.127	0.134	0.130	0.131	0.132	3.38	3.43
	II	0.130	0.142	0.128	0.133	0.130	0.131	0.132	3.85	
	III	0.137	0.123	0.130	0.129	0.130	0.133	0.131	3.55	
甜味剂④	I	0.0999	0.102	0.107	0.108	0.105	0.103	0.104	2.85	3.27
	II	0.0961	0.101	0.107	0.104	0.104	0.103	0.102	3.47	
	III	0.106	0.0987	0.0982	0.0991	0.0996	0.0998	0.100	2.71	

表20 纽甜方法精密度试验结果

样品	批次	纽甜 / %						平均值 %	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
甜味剂①	I	2.95	3.04	3.15	3.00	3.08	3.04	3.04	2.25	2.13
	II	2.90	3.00	3.09	2.99	3.04	2.95	2.99	2.25	
	III	3.06	3.14	3.07	3.05	3.07	3.04	3.07	1.20	
甜味剂②	I	0.586	0.570	0.555	0.577	0.564	0.561	0.569	1.98	2.79
	II	0.578	0.563	0.552	0.581	0.571	0.565	0.568	1.85	
	III	0.608	0.598	0.580	0.594	0.575	0.602	0.593	2.19	
甜味剂③	I	3.99	4.00	4.10	3.96	4.00	4.01	4.01	1.14	1.70
	II	4.11	4.09	3.95	3.91	3.85	3.94	3.98	2.59	
	III	4.05	4.00	4.02	4.05	4.02	3.93	4.01	1.13	
甜味剂④	I	3.43	3.43	3.47	3.47	3.45	3.45	3.45	0.54	1.31
	II	3.37	3.38	3.43	3.43	3.40	3.40	3.40	0.76	
	III	3.34	3.37	3.37	3.35	3.35	3.35	3.35	0.33	

2.4.4 回收率试验

按照上述确定的试样前处理和液相色谱条件，采用空白二氧化硅、硫酸钠和葡萄糖混合物作为载体，开展甜味剂加标回收率试验，每个样品进行5梯度加标、6平行测定，并重复3次，计算加标回收率、批内和批间相对标准偏差，结果见表21。结果表明，按照上述方法和条件，糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的平均回收率在93.0%~106%，批内相对标准偏差在0.09%~4.53%之间，批间相

对标准偏差在0.42%~4.78%之间，均小于5.0%。说明该方法对不同类型、不同含量样品、不同时间测定均有较好的精密度和准确度。

表21 回收率试验结果

加标量 (%)	测定批次	糖精钠回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
0.04	I	98.9	104	99.2	104	100	105	102	2.67	3.23
	II	96.5	101	91.5	100	100	95.6	97.4	3.71	
	III	99.9	100	103	99.3	100	102	101	1.59	
0.1	I	97.2	100	95.6	98.3	102	103	99.4	2.87	3.12
	II	108	101	101	100	101	102	102	2.86	
	III	107	105	99.8	98.7	99.9	100	102	3.34	
0.5	I	104	104	104	104	105	104	104	0.41	0.54
	II	104	104	105	103	102	104	104	0.83	
	III	104	104	104	104	104	104	104	0.27	
1.0	I	105	105	105	105	105	105	105	0.09	0.42
	II	104	106	105	105	105	106	105	0.60	
	III	106	105	106	106	105	105	105	0.13	
58.8	I	100	101	101	100	100	102	101	0.64	0.70
	II	101	100	101	101	100	101	101	0.64	
	III	100	101	100	102	100	102	101	0.91	
加标量 (%)	测定批次	新甲基橙皮苷二氢查尔酮回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内RSD (%)	批间RSD (%)
0.04	I	91.0	90.6	95.0	100	98.7	100	95.1	4.53	3.87
	II	96.1	101	97.3	100	100	99.7	99.0	1.90	
	III	99.9	105	100	100	100	104	101	2.32	
0.1	I	104	103	99.2	101	106	102	103	2.31	3.50
	II	95.3	96.8	93.7	98.4	96.3	99.1	96.6	2.06	
	III	103	98.9	105	98.2	104	100	102	2.81	
0.5	I	97.6	98.4	101	101	102	101	100	1.71	1.17
	II	102	101	102	100	100	101	101	0.95	
	III	102	101	101	101	101	101	101	0.36	
1.0	I	101	104	104	104	104	104	103	1.09	0.97
	II	102	104	102	104	104	105	103	1.17	

	III	104	104	105	104	104	104	104	0.14	
2.0	I	97.4	101	98.3	100	100	97.6	99.0	1.43	1.43
	II	99.4	102	98.3	100	100	101	100	1.14	
	III	101	98.5	96.8	98.3	97.5	100	98.6	1.51	
加标量 (%)	测定批次	纽甜回收率 (%)						平均回收率 (%)	批内 RSD (%)	批间 RSD (%)
0.04	I	100	101	103	102	100	101	101	1.21	4.78
	II	93.8	91.7	97.2	92.8	91.8	93.7	93.5	2.17	
	III	91.8	91.7	93.8	90.1	90.3	100	93.0	4.05	
0.1	I	101	105	99.0	104	107	107	104	2.94	2.47
	II	102	109	105	103	102	104	104	2.57	
	III	107	105	108	103	107	105	106	1.64	
0.5	I	102	101	101	102	102	101	101	0.54	1.03
	II	102	102	103	101	100	101	102	1.03	
	III	105	103	101	101	101	101	102	1.46	
1.0	I	102	102	104	104	104	104	103	0.81	0.90
	II	103	104	102	103	104	104	103	0.96	
	III	104	105	104	104	102	104	104	1.04	
5.0	I	99.5	103	105	103	102	101	103	1.95	2.30
	II	101	103	100	102	98.4	102	101	1.64	
	III	102	96.8	99.3	103	96.6	102	100	2.80	

2.5 方法适用性考察

从市场上收集我国主要饲料甜味剂生产企业的产品共36批次,按照上述确定的条件和方法测定糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的含量,结果见表22。结果表明,本方法的测定值与生产厂家的标示值基本一致,所建立的标准方法适用于混合型饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的测定。

表22 饲料添加剂甜味剂实际样品测定结果

样品		化合物名称	含量 / %				
编号	载体		平行 1	平行 2	平行 3	平均值	标识含量
甜味剂 1号	/	糖精钠	36.7	37.0	36.3	36.7	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	2.19	2.19	2.17	2.18	2.00
甜味剂 2号	/	糖精钠	21.5	22.3	22.5	22.1	20.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	3.81	4.02	4.03	3.95	4.00
甜味剂 3号	/	糖精钠	5.79	5.99	6.04	5.93	5.00
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	5.11	5.30	5.37	5.26	5.00
甜味剂 4号	/	糖精钠	33.0	33.7	33.8	33.5	30.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	6.61	6.73	6.76	6.70	5.00
甜味剂 5号	/	糖精钠	63.3	64.8	65.0	64.4	/
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 6号	/	糖精钠	36.7	37.4	36.6	36.8	/
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.151	0.151	0.147	0.150	/
		纽甜	4.72	4.82	4.73	4.75	/
甜味剂 7号	/	糖精钠	6.20	6.42	6.50	6.37	5.00
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	11.6	11.6	11.7	11.6	10.0

样品		化合物名称	含量 / %				
编号	载体		平行 1	平行 2	平行 3	平均值	标识含量
甜味剂 8号	二氧化硅+方解石粉	糖精钠	73.7	73.4	73.7	73.6	70.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 9号	二氧化硅+氯化钠	糖精钠	46.7	46.7	46.5	46.6	45.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 10号	二氧化硅+氯化钠	糖精钠	37.5	37.6	38.2	37.7	30.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	4.06	4.15	4.23	4.15	4.00
甜味剂 11号	二氧化硅+氯化钠	糖精钠	27.7	27.6	27.5	27.6	25.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 12号	二氧化硅+氯化钠	糖精钠	23.9	23.0	22.6	23.2	20.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.150	0.146	0.142	0.146	0.100
		纽甜	4.36	4.22	4.10	4.23	4.00
甜味剂 13号	二氧化硅	糖精钠	15.7	15.4	15.3	15.4	15.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 14号	二氧化硅	糖精钠	92.7	93.0	92.7	92.8	92.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 15号	二氧化硅	糖精钠	46.9	47.2	47.2	47.1	47.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 16号	二氧化硅	糖精钠	30.2	30.7	30.8	30.6	30.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/

样品		化合物名称	含量 / %				
编号	载体		平行 1	平行 2	平行 3	平均值	标识含量
甜味剂 17号	二氧化硅	糖精钠	90.5	90.8	90.8	90.7	90.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 18号	二氧化硅	糖精钠	10.7	10.3	10.3	10.4	10.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	1.63	1.65	1.66	1.65	1.60
甜味剂 19号	二氧化硅	糖精钠	100	100	100	100	95.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 20号	二氧化硅	糖精钠	47.7	47.0	47.2	47.3	47.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	3.13	3.11	3.08	3.11	3.00
甜味剂 21号	二氧化硅	糖精钠	10.9	11.0	10.3	10.7	10.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	5.87	6.15	5.98	6.00	6.00
甜味剂 22号	硫酸钠	糖精钠	21.0	21.0	21.0	21.0	20.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.162	0.164	0.163	0.163	0.150
		纽甜	3.98	4.04	4.03	4.01	4.00
甜味剂 23号	硫酸钠	糖精钠	37.2	37.3	36.8	37.1	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.221	0.219	0.220	0.220	0.200
		纽甜	3.25	3.22	3.23	3.23	3.00
甜味剂 24号	二氧化硅	糖精钠	41.2	41.3	40.6	41.0	40.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.408	0.406	0.395	0.403	0.400
		纽甜	4.18	4.07	4.04	4.10	4.00
甜味剂 25号	二氧化硅	糖精钠	95.5	96.0	95.9	95.8	95.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.227	0.228	0.228	0.228	0.200
		纽甜	0.564	0.571	0.568	0.567	0.500

样品		化合物名称	含量 / %				
编号	载体		平行 1	平行 2	平行 3	平均值	标识含量
甜味剂 26号	葡萄糖	糖精钠	/	/	/	/	/
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	2.35	2.34	2.33	2.34	2.00
甜味剂 27号	硫酸钠	糖精钠	35.9	35.7	35.9	35.8	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.109	0.118	0.118	0.115	0.100
		纽甜	3.21	3.19	3.21	3.20	3.00
甜味剂 28号	糖甜香 增效 剂、载 体	糖精钠	/	/	/	/	/
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	4.34	4.51	4.51	4.45	4.00
甜味剂 29号	葡萄 糖、麦 芽糊 精、山 梨糖醇	糖精钠	16.7	16.2	16.5	16.5	15.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
30号	无水葡 萄糖、 二氧化 硅	糖精钠	16.1	14.7	15.4	15.4	15.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/
甜味剂 31号	二氧化 硅	糖精钠	32.5	32.7	33.1	32.8	30.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	6.39	6.32	6.38	6.36	6.00
甜味剂 32号	葡萄糖	糖精钠	36.6	36.7	37.0	36.8	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	0.244	0.242	0.249	0.245	0.200
		纽甜	3.01	3.01	3.08	3.03	3.00
甜味剂 33号	抗结块 剂、稀 释剂	糖精钠	36.3	34.5	35.3	35.4	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	3.02	2.99	2.98	3.00	3.00
甜味剂 34号	二氧化 硅	糖精钠	38.8	37.6	37.8	38.1	35.0
		新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	4.65	4.77	4.80	4.74	4.50

样品		化合物名称	含量 / %				
编号	载体		平行 1	平行 2	平行 3	平均值	标识含量
甜味剂 35号	葡萄糖、二氧化硅	糖精钠	46.0	45.5	44.6	45.4	45.0
		新甲基橙皮苷二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	1.15	1.15	1.16	1.15	1.00
甜味剂 36号	麦芽糊精	糖精钠	90.0	92.2	92.6	91.6	90.0
		新甲基橙皮苷二氢查尔酮	/	/	/	/	/
		纽甜	/	/	/	/	/

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

准确测定饲料添加剂甜味剂中糖精钠、纽甜、新甲基橙皮苷二氢查耳酮三种甜味物质，为饲料添加剂甜味剂生产企业产品质量控制、饲料生产企业合规使用饲料添加剂甜味剂提供可靠的检测标准方法，有利于饲料监管部门监管饲料添加剂甜味剂的质量安全，从源头保证饲料、养殖畜禽产品和水产品的质量安全。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

目前，对比 ISO 等国际组织和其他国家有关饲料添加剂甜味剂中糖精钠、新甲基橙皮苷二氢查尔酮、纽甜的测定检测的标准方法、与国内同类标准技术内容对比见表 23。结果表明，本标准检测项目、适用范围、检测方法与 GB/T 23746 - 2009、NY/T 3473 - 2019 不同，检出限、定量限也不同。

表 23 与国内外同类标准技术内容的对比情况

标准编号和名称	适用范围	检测项目	检测方法	检出限和定量限
本标准 饲料添加剂甜味剂 中糖精钠、新甲基 橙皮苷二氢查尔 酮、纽甜的测定 高 效液相色谱法	混合型饲料添加剂 甜味剂	糖精钠、新甲 基橙皮苷二氢 查尔酮、纽甜	高效液相 色谱法	检出限为 0.01%， 定量限为 0.04%
GB/T 23746 - 2009 饲料级 糖精钠	饲料级 糖精钠 含量 99.0%~101.0%	糖精钠	滴定法	无
NY/T 3473 - 2019 饲料中纽甜、阿力 甜、阿斯巴甜、甜 蜜素、安赛蜜、糖 精钠的测定 液相 色谱-串联质谱法	配合饲料、浓缩饲 料、预混合饲料、 精料补充料	纽甜、阿力甜、 阿斯巴甜、甜 蜜素、安赛蜜、 糖精钠	液相色谱- 串联质谱 法	纽甜、阿力甜、阿 斯巴甜、甜蜜素、 安赛蜜检出限为 0.5 mg/kg, 定量限 为 1.0 mg/kg; 糖精 钠检出限为 2.5 mg/kg, 定量限为 5.0 mg/kg

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

未采用国际标准或国外标准。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准与现行的有关饲料法律、法规、规章和政策以及有关基础标准和强制性标准方向统一一致，相互支持，互相配合、协调一致，形成统一的有机整体。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

八、涉及专利的有关说明

本标准未明确涉及某一具体专利，但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。

九、实施标准的要求，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

(1) 首先应在实施前保证文本的充足供应，让每个使用者都能及时得到文本；

(2) 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，建议全国饲料工业标准化技术委员会组织标准起草单位通过标准培训、会议宣贯、影音文件等方式，积极开展本标准的宣贯工作。

(3) 建议本标准正式发布后，设定 6 个月的过渡期，过渡 6 个月后实施。

十、其他应当说明的事项

无。