中华人民共和国国家标准

《饲料中叶黄素的测定 高效液相色谱法》

编制说明

（公开征求意见稿）

广州汇标检测技术中心

华中农业大学

广州立达尔生物科技股份有限公司

2026 年 6 月

目录

一、工作简况 4
（一）任务来源 4
（二）标准修订背景 4
（三）主要工作过程 4
1、成立标准编制小组 4
2、确定标准修订技术路线 5
3、国内外标准相关标准文献资料调研 6
4、进行论证试验，确定修订方法的合理性 6
5、方法验证 6
6、标准的预审、终审和报批 7
二、标准编制原则、主要内容及其确定依据 7
（一）标准编制原则 7
1、规范性原则 7
2、先进性原则 7
3、实用性原则 7
（二）标准修订主要内容 8
1、国内外相关标准和文献资料查询情况 8
2、修订内容 9
（三）主要内容确定的依据 9
1、正相液相色谱法 9
2、反相液相色谱法 35
3、正相、反相色谱方法实际样品对比 44
三、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准 45
四、与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系 45
五、重大分歧意见的处理经过和依据 45
六、涉及专利的有关说明 45
七、作为强制性标准或推荐下标准的建议 45
八、贯彻国家标准的要求，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 46
九、与原标准关系 46
十、其他应当说明的事项 46
参考文献 47

《饲料中叶黄素的测定 高效液相色谱法》
国家标准修订的编制说明
（公开征求意见稿）

一、工作简况

（一）任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达2025年推荐性国家标准计划的通知》（国标委发[2025] 34号），本标准修订项目计划号为20253047-T-469，项目名称为《饲料中叶黄素的测定 高效液相色谱法》，项目承担单位为广州汇标检测技术中心、华中农业大学、广州立达尔生物科技股份有限公司。本标准主管部门为国家标准化管理委员会，归口单位为全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）。

（二）标准修订背景

根据《饲料添加剂品种目录（2013）》（中华人民共和国农业部公告第 2045 号），叶黄素是允许使用于养殖动物饲料中的添加剂。但现行标准已实施超过十五年，随着检测技术的进步和饲料行业的发展，该标准的局限性日益凸显，已难以适应当前饲料质量控制的实际需求。且原标准适用范围较小，本次修订将进一步拓宽适用范围。

叶黄素在饲料中主要用作着色剂，其添加量直接影响禽类皮肤、蛋黄及水产动物的色泽品质。通过本次标准修订，旨在为饲料质量控制提供快速、准确、可靠的叶黄素测定国家标准方法，促进我国饲料工业、畜牧业的高质量发展。

（三）主要工作过程

1、成立标准编制小组

2025 年 7 月，接到国家标准修订任务后，成立了标准编制小组，落实了人员分工。

表 1　标准主要起草人员和任务分工

人　员	承担任务
郝燕娟	项目主持人，负责项目的全面工作
王智民	项目协调
罗群	项目实施，方法验证及编制说明
潘浣钰	样品收集
杨雨澄	方法检测验证

2、确定标准修订技术路线

2025 年中，标准编制小组查阅了国内外有关标准文献资料，同时调研国内主要饲料质检机构、饲料生产企业等叶黄素检测仪器设备、标准方法采用情况，制定了标准修订内容和技术路线草案。2025 年 10 月 15 日召开了标准修订项目启动会，确定标准修订的主要内容、技术路线（见图 1）、分工、完成时限等。

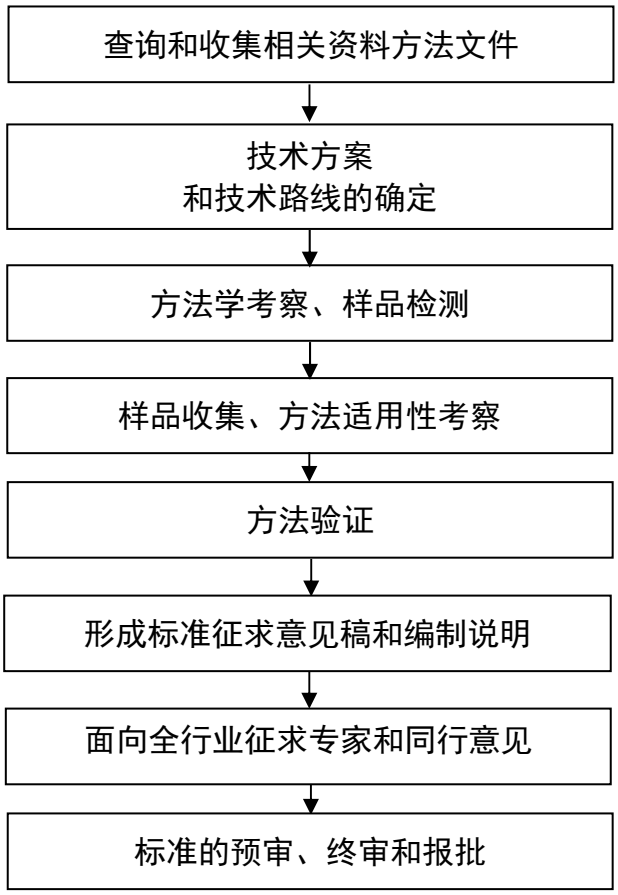

图 1 标准修订技术路线图

3、国内外标准相关标准文献资料调研

2025 年 7 月~8 月，本标准编制组成员查询和收集了国内外相关标准和文献资料，确立了建立标准的指导思想，制定了初步的实验方案。

4、进行论证试验，确定修订方法的合理性

2025 年 9 月~2026 年 3 月，在查询收集相关技术资料的基础上，依据实验方案，进行分析方法的论证实验，形成标准方法。

5、方法验证

2026 年 4 月，组织 3 家有资质的检测单位，对标准中修订的技

术指标等内容进行验证。

6、标准的预审、终审和报批

2026 年 5 月 27 日，广州汇标检测技术中心组织专家对广州汇标检测技术中心、华中农业大学、广州立达尔生物科技股份有限公司修订的国家标准《饲料中叶黄素的测定 高效液相色谱法》（预审稿）进行了认真审查。

二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则

1、规范性原则

本文件的结构、技术要素和表达方法依据《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》和《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。在标准制定过程中力求做到：技术内容的叙述正确无误；文字表达准确、简明、易懂；标准的构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑与规定。

2、先进性原则

修订后的方法更具科学性、可靠性和普遍适用性。

3、实用性原则

修订后的方法能够满足相关饲料标准和饲料质量安全监督工作

的需要，易于推广使用。

（二）标准修订主要内容

1、国内外相关标准和文献资料查询情况

经查阅，国内现行相关标准文献见表2。

表2　国内相关标准文献

标准编号	标准名称	测定方法
GB 5009.248-2016	食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定	高效液相色谱法（反相）
GB/T 21517-2008	饲料添加剂 叶黄素	高效液相色谱法（正相）
NY/T 2008-2011	万寿菊及其制品中叶黄素的测定 高效液相色谱法	高效液相色谱法（反相）
NY/T 3948-2021	植物源农产品中叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质的测定	高效液相色谱法（反相）

经查阅，国外相关标准文献见表3。

表3　国外相关标准文献

标准编号	标准名称	测定方法
ISO 23443:2020	Infant formula and adult nutritionals-Determination of β-carotene,lycopene and lutein by reversed-phase ultra-high performance liquid chormatography(RP-UHPLC)	RP-UHPLC
AOAC 970.64	Carotenes and Xanthophylls in Dried Plant Materials and Mixed-Spectrophotometric Method	Spectrophotometric Method

2、修订内容

关于叶黄素，分为反式叶黄素和顺式叶黄素，其中起主导作用的是反式叶黄素，天然叶黄素中也主要以反式叶黄素为主，但由于叶黄素的不稳定性，在生产保存等过程中，反式叶黄素会转化为顺式叶黄素，在原标准方法中，计算含量时只单独计算了反式，食品国标方法GB 5009.248-2016计算公式中，加入了叶黄素的校正系数F，现考虑反式叶黄素起主导作用，故本次修订对原计算公式保持不变。

天然叶黄素主要以酯型存在，本文件的适用范围饲料种类中，配合饲料、饲料原料中主要以酯型为主，浓缩饲料和精料补充料中则酯型和游离型均有，预混合饲料中则主要以游离型存在。

本次修订主要针对GB/T 23187-2008存在的问题，结合饲料行业实际样品检测情况进行。主要修订包括内容详见表4。

表4　修订内容对比

序号	原标准方法	修订方法
1	本标准适用于单一饲料、添加剂预混合饲料、浓缩饲料及配合饲料中叶黄素的测定。方法的定量限为0.5mg/kg。	本标准适用于单一饲料、添加剂预混合饲料、浓缩饲料、配合饲料、发酵饲料、青贮饲料及精料补充料中叶黄素的测定。方法的检出限为0.2mg/kg，定量限为0.5mg/kg。
2	“4 材料和试剂”中缺乏部分试剂明细	“5 试剂或材料”更改了了部分试剂和材料的描述
3	无定性和定量相关描述	增加定性和定量描述“8.2.3、8.2.4”
4	无附录	增加了附录A，叶黄素标准溶液图谱
5	无反相色谱法	增加了反相色谱法

（三）主要内容确定的依据

1、正相液相色谱法

1.1、标准溶液的配制

标准储备液浓度和标准工作液浓度不做更改，按照原标准方法浓度配制使用。

1.2、标准曲线和标准溶液稳定性考察

采用原标准方法配制浓度为 0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL 的叶黄素标准溶液，以原标准方法色谱条件进行检测，以峰面积和标准溶液浓度作标准曲线，得出叶黄素标准溶液在 0.5~20 μg/mL 的范围内线性相关系数大于 0.99，线性关系良好，线性方程为：Y=1.9198x-0.369，相关系数 0.9998，见图 2，标准溶液色谱图见图 3。标准储备溶液每周测定一次溶度，进行标准品保存试验，结果见图 4。以标准溶液浓度下降 5%为判断依据，根据结果显示，叶黄素标准储备溶液在-20℃可保存 1 个月，标准工作液临用现配。

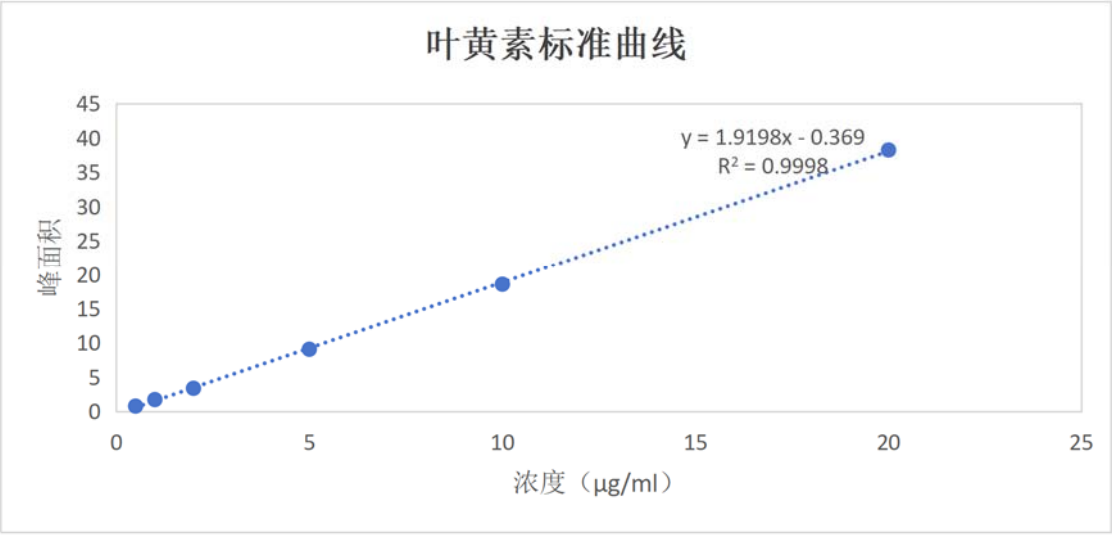

图 2　高效液相色谱法叶黄素标曲

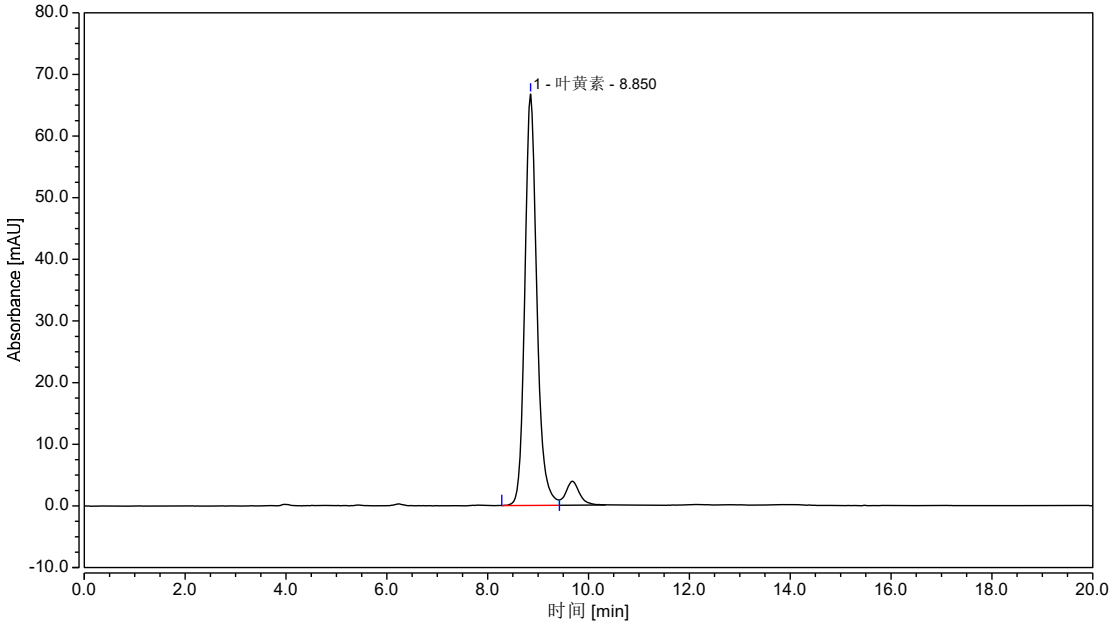

图 3　叶黄素标准溶液（10μg/ml）色谱图

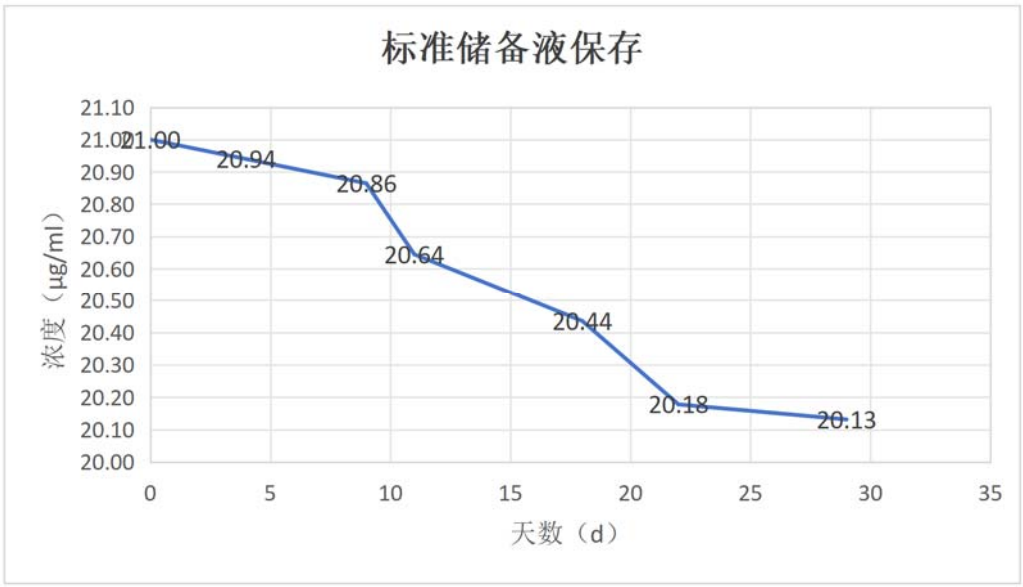

图 4　标准储备液保存

1.3、提取条件和色谱条件的确定

1.3.1、添加 BHT 考察

在原标准提取方法不变的前提下，提取过程中添加 0.1% BHT 进行考察，色谱条件不变，选取部分代表性样品进行定量检测，结果见表 5。

表 5　添加 BHT 的考察

样品	是否添加 BHT	实测值（mg/kg）
喷浆玉米皮	否	3.380
	是	3.156
玉米蛋白粉	否	53.295
	是	51.590
DDGS	否	11.784
	是	11.743
鱼配合料	否	24.321
	是	23.041
牛精料补充料	否	3.185
	是	3.153
玉米	否	14.182
	是	13.922

由上述结果可知，原色谱条件不变的情况下，提取过程中添加 BHT 并不会使得测定结果更高，因此保持原有提取条件不变。

1.3.2、加热皂化时间的考察

在原标准提取方法的基础上，对加热皂化时间进行考察，色谱条件不变，选取部分样品进行定量检测，结果见表 6。

表 6　加热皂化时间的考察

样品	加热时间（min）	实测值（mg/kg）
玉米蛋白粉	0	21.306
	10	50.547
	20	52.933
	30	51.025
鱼配合料	0	23.904
	10	25.100
	20	25.880
	30	25.148
DDGS	0	8.518
	10	9.862
	20	12.032
	30	11.614
膨化玉米粉	0	4.091
	10	4.289
	20	4.514
	30	4.427
牛精料补充料	0	3.180
	10	3.298
	20	3.308
	30	3.284

样品	加热时间（min）	实测值（mg/kg）
猪浓缩料	0	1.518
	10	1.771
	20	1.743
	30	1.735

由上述结果可知，原色谱条件不变的情况下，延长或缩短加热酯化时间无法提升提取率，因此保持原条件不变。

1.3.3、氢氧化钾浓度考察

在原标准提取方法的基础上，对氢氧化钾比例进行考察，，色谱条件不变，选取部分代表性样品进行定量检测，结果见表 7。因氢氧化钾在甲醇中浓解度并不高，试验时发现 40%以上比例的氢氧化钾无法保证全部溶解，故氢氧化钾配制最高比例为 40%。

表 7 氢氧化钾比例的考察

样品	氢氧化钾比例	实测值（mg/kg）
玉米蛋白粉	10%	34.39
	20%	42.75
	30%	46.56
	40%	56.98
鱼配合料	10%	25.16
	20%	24.65
	30%	24.47
	40%	25.72

样品	氢氧化钾比例	实测值（mg/kg）
DDGS	10%	10.50
	20%	10.61
	30%	11.35
	40%	12.48
膨化玉米粉	10%	3.08
	20%	3.06
	30%	3.15
	40%	4.67
牛精料补充料	10%	3.14
	20%	3.24
	30%	3.25
	40%	3.23
猪浓缩料	10%	1.71
	20%	1.70
	30%	1.65
	40%	1.72

由上述结果可知，原色谱条件不变的情况下，猪浓缩料、鱼配合料、牛精料补充料在10%氢氧化钾浓度时提取率已接近最大，但是玉米蛋白粉、膨化玉米粉和DDGS在40%氢氧化钾比例时提取率最高，因此保持原有提取条件不变。

1.3.4、静置时间考察

在原标准提取方法的基础上，对前后静置时间进行考察，色谱条件不变，选取部分代表性样品进行定量检测，结果见表 8。

表 8 前后静置时间的考察

样品	前后静置时间	实测值（mg/kg）
玉米蛋白粉	10min	47.902
	30min	49.427
	60min	51.497
鱼配合料	10min	22.018
	30min	25.134
	60min	25.812
DDGS	10min	10.006
	30min	10.438
	60min	12.105
膨化玉米粉	10min	3.730
	30min	4.086
	60min	4.352
牛精料补充料	10min	2.284
	30min	2.915
	60min	3.174
猪浓缩料	10min	1.578
	30min	1.474

样品	前后静置时间	实测值（mg/kg）
	60min	1.708

由上述结果可知，原色谱条件不变的情况下，更改静置时间对提取率无提升效果，因此保持原有提取条件不变。

1.4、检出限和定量限

选取部分空白饲料样品，向其中加入一定浓度的叶黄素对照品，按照原标准色谱条件方法进行测定。依据信噪比≥3 及信噪比≥10 的原则，确定了本方法叶黄素的检出限为 0.2 mg/kg，本方法叶黄素的定量限为 0.5 mg/kg。检出限及定量限图谱见图 11~14。

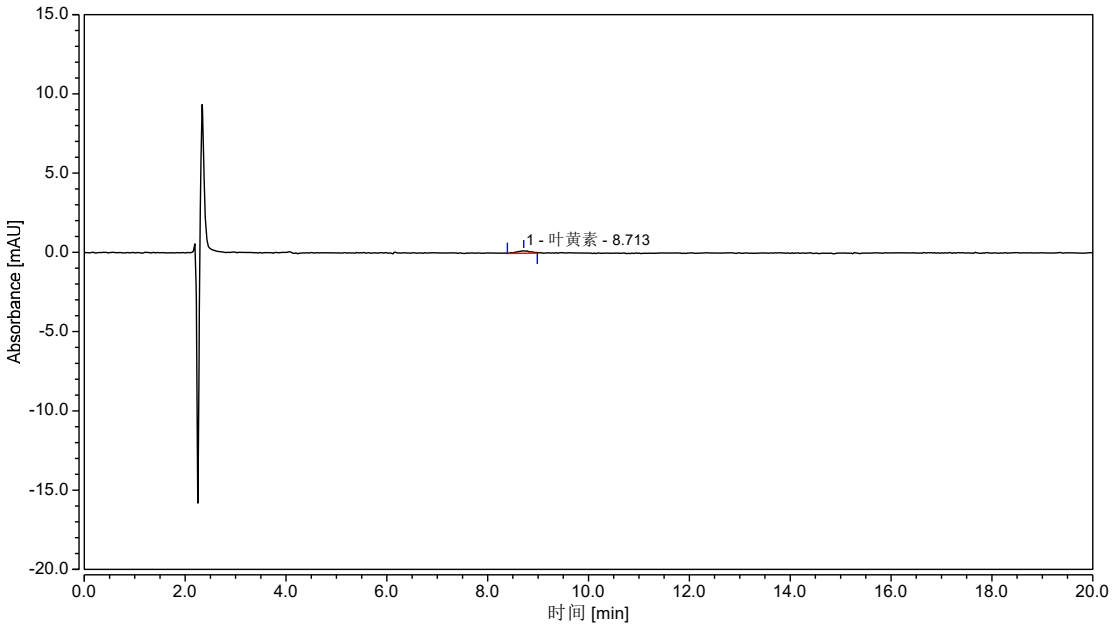

图 11　兔预混合饲料检出限图谱

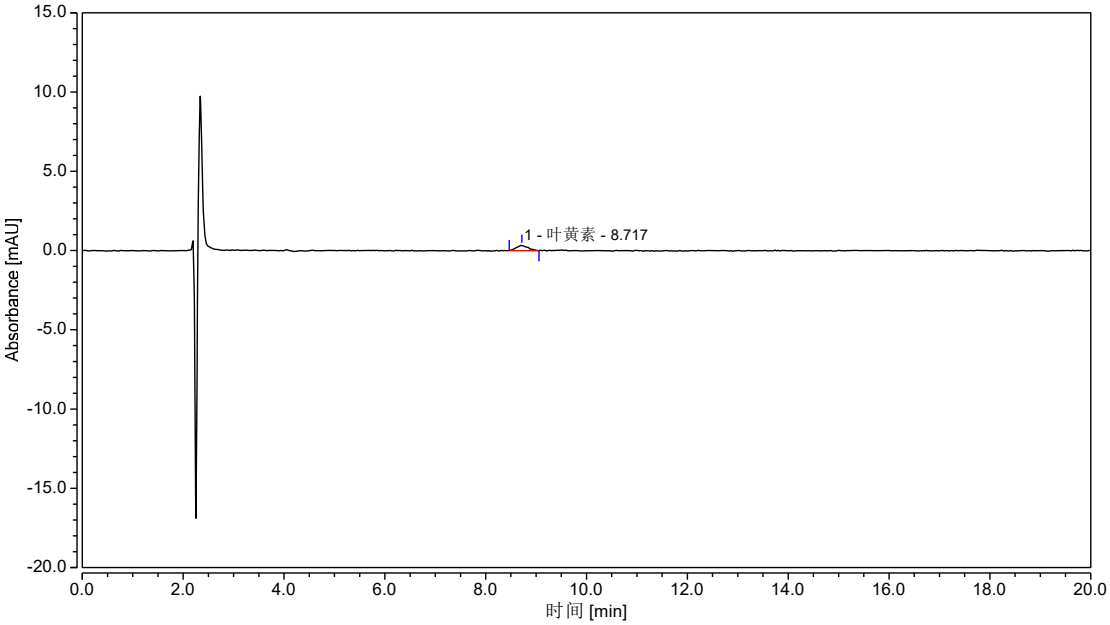

图 12　兔预混合饲料定量限图谱

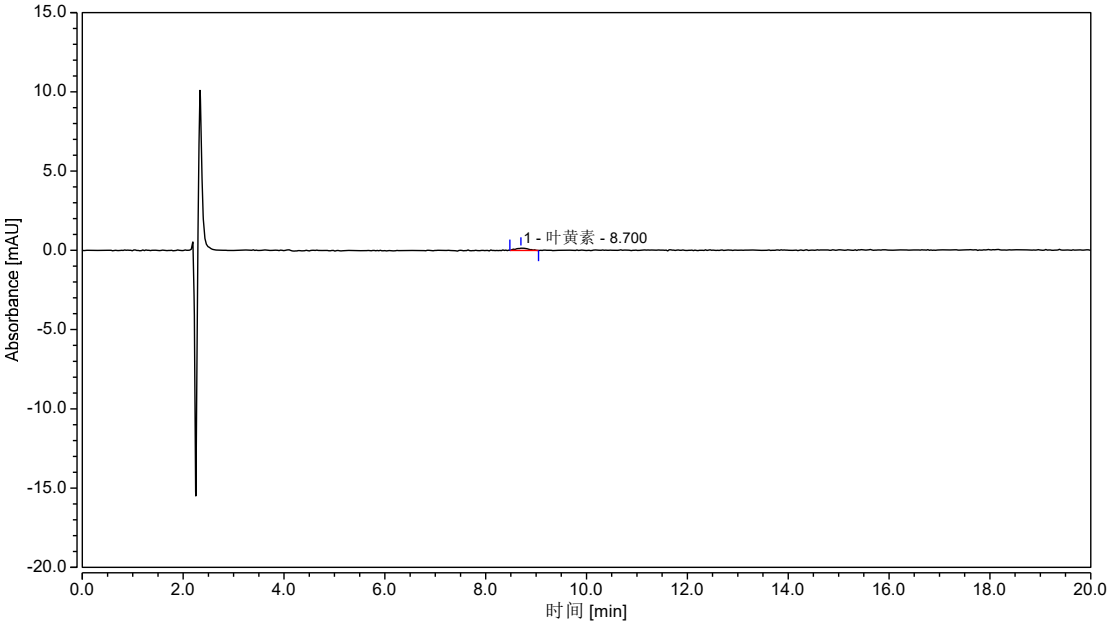

图 13　发酵饲料检出限图谱

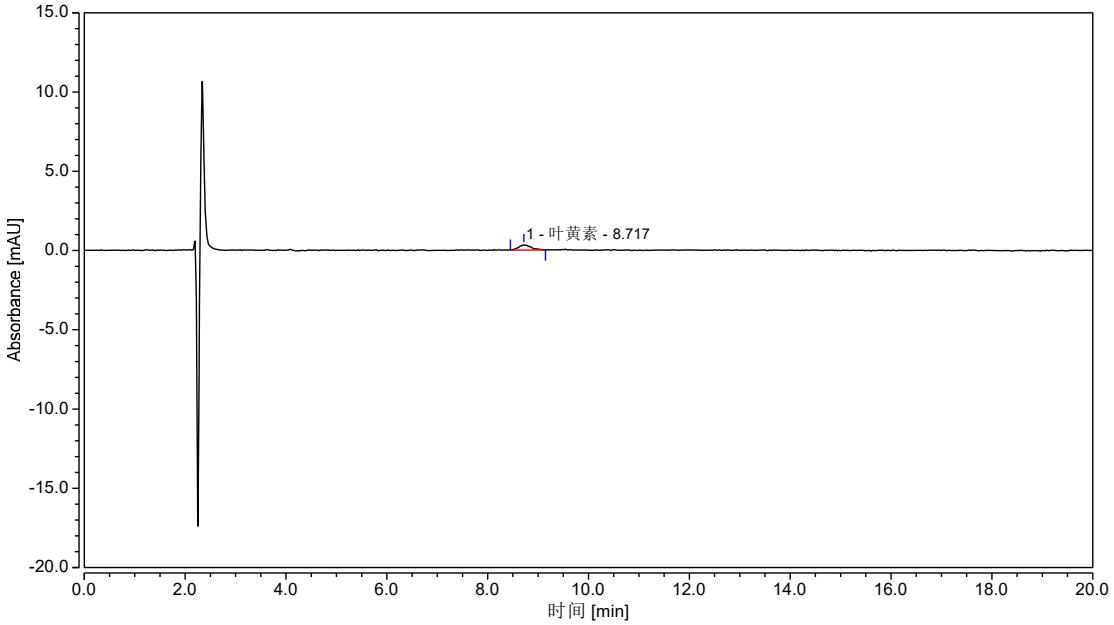

图 14　发酵饲料定量限图谱

1.5、方法准确度和精密度

为考察方法准确度和精密度，选取部分样品进行了加标回收试验。空白样品和本底值含量低的样品采用定量限的 1 倍、2 倍和 10 倍 3 个水平，本底值含量高的样品采用定量限、本底值的 0.5 倍和本底值的 1 倍三个水平，每个水平平行测定 5 份，重复 3 次，结果见表 9~表 18。在不同添加水平下，回收率范围为 85%~110%，平均回收率为 90%~105%，相对标准偏差为 2%~8%，表明本文件高效液相色谱法适用于饲料中叶黄素的测定。

表 9 玉米蛋白粉加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内 RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间 RSD（%）
5	97.13	90.38	105.00	94.77	97.45	96.95	5.48	102.23	5.57
	101.01	108.33	105.95	102.73	109.87	105.58	3.52		
	105.38	106.22	107.95	96.99	104.23	104.15	4.06		

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
25	108.87	101.93	103.74	102.21	97.88	102.93	3.85	102.35	3.87
	100.70	98.06	106.70	101.39	97.87	100.94	3.54		
	103.27	107.23	105.80	104.46	95.09	103.17	4.61		
50	102.95	95.57	106.71	95.30	94.33	98.97	5.59	102.45	4.87
	104.90	99.66	102.98	107.43	108.17	104.63	3.31		
	109.56	102.43	104.93	96.83	104.99	103.75	4.48		

表 **10** 猪浓缩料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	99.77	94.28	104.40	100.72	107.57	101.35	4.95	98.90	7.59
	87.87	91.18	86.40	90.33	100.57	91.27	6.07		
	108.60	108.29	106.21	96.50	100.88	104.10	5.05		
1	106.50	93.18	103.79	93.27	101.92	99.73	6.18	102.63	5.59
	96.29	106.63	108.28	101.32	101.96	102.90	4.61		
	109.49	102.05	109.57	108.92	96.24	105.25	5.65		
5	100.54	99.45	97.33	98.62	91.00	97.39	3.86	96.65	4.01
	99.08	96.78	90.42	92.84	93.25	94.47	3.63		
	105.47	95.15	96.02	96.61	97.19	98.09	4.28		

表 11 鱼配合料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
5	107.69	94.59	106.63	105.46	102.40	103.35	5.11	100.60	4.81
	102.70	103.94	96.15	94.20	92.65	97.93	5.20		
	101.08	101.25	104.93	96.64	98.62	100.50	3.11		
12	107.74	109.83	104.48	104.33	98.79	105.03	3.99	102.86	4.82
	106.07	101.96	104.01	93.29	102.45	101.56	4.82		
	103.90	92.06	102.40	108.13	103.49	102.00	5.85		
24	102.19	108.26	98.12	101.73	105.04	103.07	3.69	100.81	4.47
	99.16	98.67	105.64	96.26	105.94	101.13	4.34		
	99.99	92.12	96.96	97.07	105.03	98.23	4.82		

表 12 青贮饲料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
1	102.41	97.22	103.15	94.69	107.48	100.99	5.02	101.28	5.77
	90.67	104.50	96.09	108.10	98.52	99.58	6.91		
	98.22	104.44	95.67	109.42	108.68	103.29	5.96		
2.5	98.12	100.71	101.68	92.65	108.66	100.36	5.79	99.31	5.50
	103.70	91.96	96.26	97.90	94.68	96.90	4.53		
	103.52	102.49	93.12	95.42	108.75	100.66	6.31		

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
5	100.82	97.22	105.26	103.85	92.53	99.94	5.17	100.65	5.05
	95.01	105.77	93.36	99.39	99.27	98.56	4.89		
	99.04	97.35	105.85	108.87	106.13	103.45	4.81		

表 13 牛精料补充料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	104.78	95.57	105.75	97.76	109.64	102.70	5.70	100.01	6.03
	90.63	103.16	106.38	95.74	103.10	99.80	6.46		
	91.60	93.69	106.19	95.42	100.80	97.54	6.07		
1	102.49	96.05	97.98	106.95	107.85	102.26	5.13	98.67	6.26
	95.41	100.48	91.27	106.20	92.39	97.15	6.37		
	91.14	90.13	106.61	97.35	97.71	96.59	6.82		
5	101.65	107.98	96.73	97.19	101.49	101.01	4.49	99.48	4.31
	95.40	93.72	94.70	100.58	104.69	97.82	4.77		
	101.65	104.27	93.76	98.20	100.14	99.60	3.96		

表 14 麸皮加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	107.22	88.64	95.90	96.16	92.06	96.00	7.28	100.46	7.06
	96.50	108.49	105.96	109.11	100.34	104.08	5.26		
	95.02	99.41	93.87	109.77	108.40	101.29	7.33		
1	101.21	107.90	105.60	94.13	106.39	103.05	5.41	100.06	6.69
	104.49	90.40	92.67	95.65	104.54	97.55	6.79		
	108.62	95.03	106.79	97.41	90.04	99.58	7.94		
5	99.35	107.75	95.32	106.20	102.21	102.17	4.95	101.89	4.96
	91.58	104.14	98.51	102.05	105.31	100.32	5.51		
	98.93	109.94	98.19	101.26	107.66	103.20	5.14		

表 15　兔预混合饲料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	93.01	91.36	104.20	98.90	102.10	97.91	5.71	97.98	6.97
	95.79	88.40	98.28	90.20	88.07	92.15	5.01		
	96.41	107.46	101.87	108.73	104.99	103.89	4.75		
1	98.35	105.28	107.61	94.11	96.67	100.40	5.75	99.24	6.49
	90.69	91.41	107.22	96.46	96.12	96.38	6.86		
	95.01	105.75	103.50	108.73	91.70	100.94	7.19		
5	98.60	95.30	105.02	105.16	98.92	100.60	4.31	101.96	4.09

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
	96.87	102.11	105.21	108.53	104.65	103.47	4.20		
	99.70	97.11	105.04	107.37	99.78	101.80	4.17		

表 16　喷浆玉米皮加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	104.05	93.11	109.28	105.24	105.81	103.50	5.92	102.93	6.06
	96.55	108.71	89.97	106.40	103.37	101.00	7.60		
	107.44	94.91	107.91	108.27	103.00	104.31	5.43		
1	91.57	104.69	104.99	109.08	106.81	103.43	6.62	101.43	5.31
	99.74	106.14	98.63	99.37	96.93	100.16	3.51		
	105.23	97.66	105.30	103.52	91.83	100.71	5.82		
5	96.57	103.07	100.30	101.58	94.99	99.30	3.43	99.20	4.74
	99.19	92.64	95.74	93.55	94.99	95.22	2.65		
	109.53	103.11	104.87	97.55	100.27	103.07	4.42		

表 17　发酵饲料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	93.83	86.92	97.31	98.69	97.26	94.80	5.02	96.50	5.98
	98.09	101.70	92.67	105.77	102.24	100.09	4.96		
	86.16	101.26	100.06	89.02	96.51	94.60	7.09		

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
1	104.22	95.44	97.85	101.82	108.24	101.51	5.00	102.02	5.66
	104.76	97.82	90.49	104.86	109.80	101.55	7.39		
	107.83	101.92	105.50	106.24	93.51	103.00	5.56		
5	90.50	95.21	101.83	100.70	100.52	97.75	4.91	97.77	3.91
	102.09	92.71	98.61	99.66	101.36	98.89	3.76		
	100.77	97.74	94.47	92.22	98.12	96.66	3.46		

表 18　小麦加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	88.81	89.13	89.48	101.60	99.58	93.72	6.74	97.54	6.54
	107.41	105.07	104.06	100.33	94.45	102.26	4.95		
	102.96	92.75	101.56	95.57	90.37	96.64	5.66		
1	102.07	94.63	106.10	90.18	101.58	98.91	6.46	100.01	4.79
	101.23	100.59	105.35	94.99	102.52	100.94	3.76		
	95.71	104.77	104.38	94.72	101.33	100.18	4.73		
5	102.57	108.68	95.04	103.85	99.14	101.86	5.03	101.95	4.33
	110.00	104.00	103.22	101.95	97.52	103.34	4.34		
	97.44	101.87	101.34	95.99	106.60	100.65	4.14		

1.6、干扰性试验

取β-胡萝卜素、虾青素、斑蝥黄、玉米黄质和β-隐黄质五种标准品，用本方法流动相配置成标准溶液进样检测，根据出峰结果可知，

这五种物质对叶黄素出峰不会造成影响。

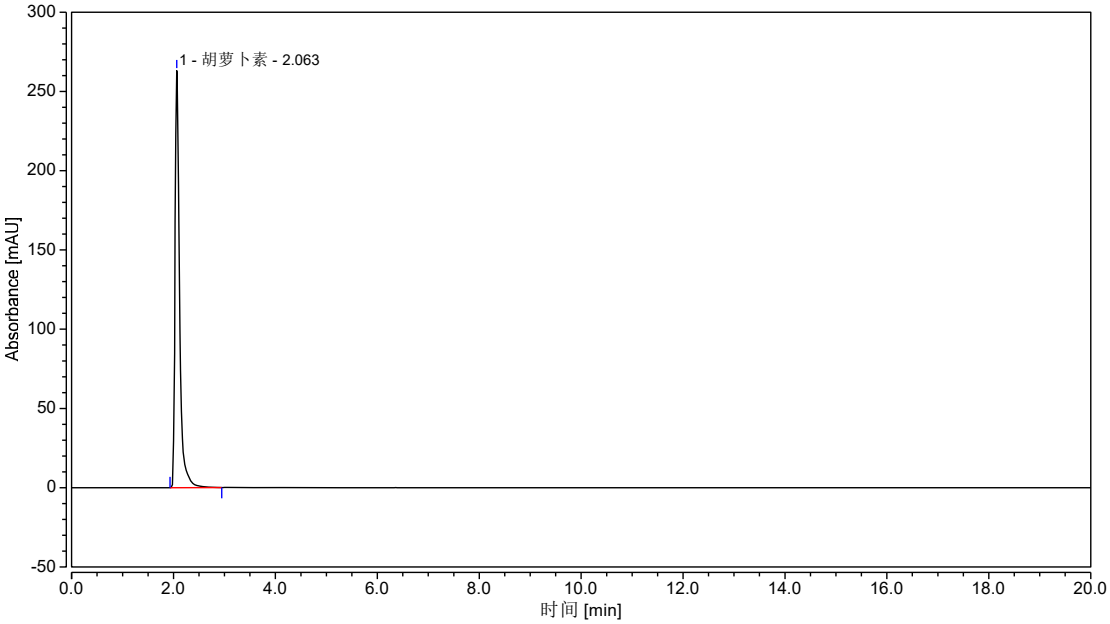

图 15　β-胡萝卜素图谱

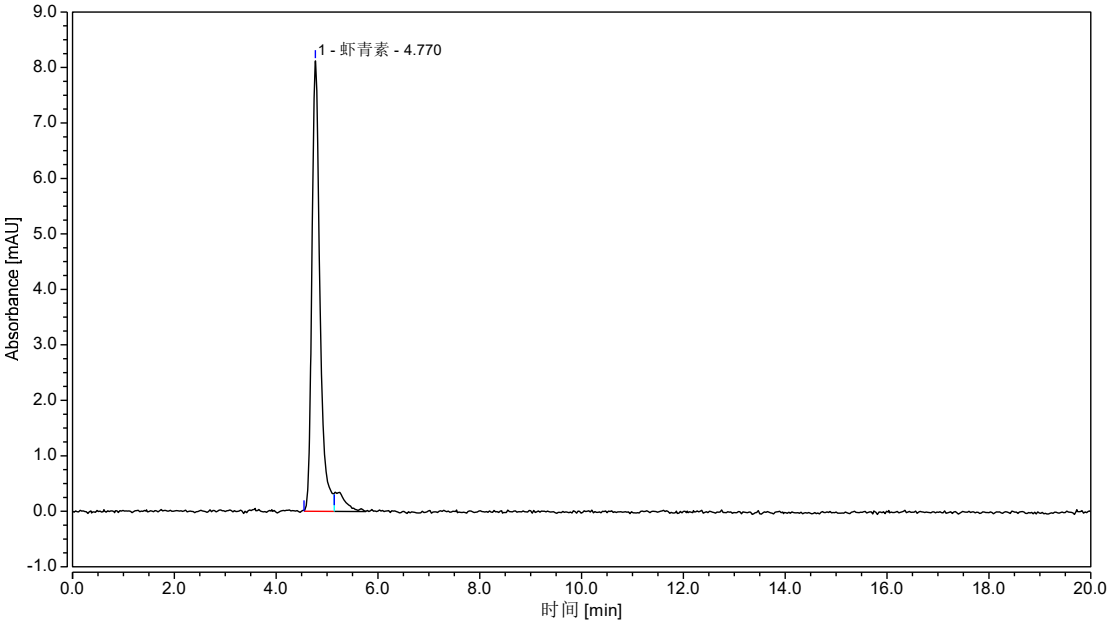

图 16　虾青素图谱

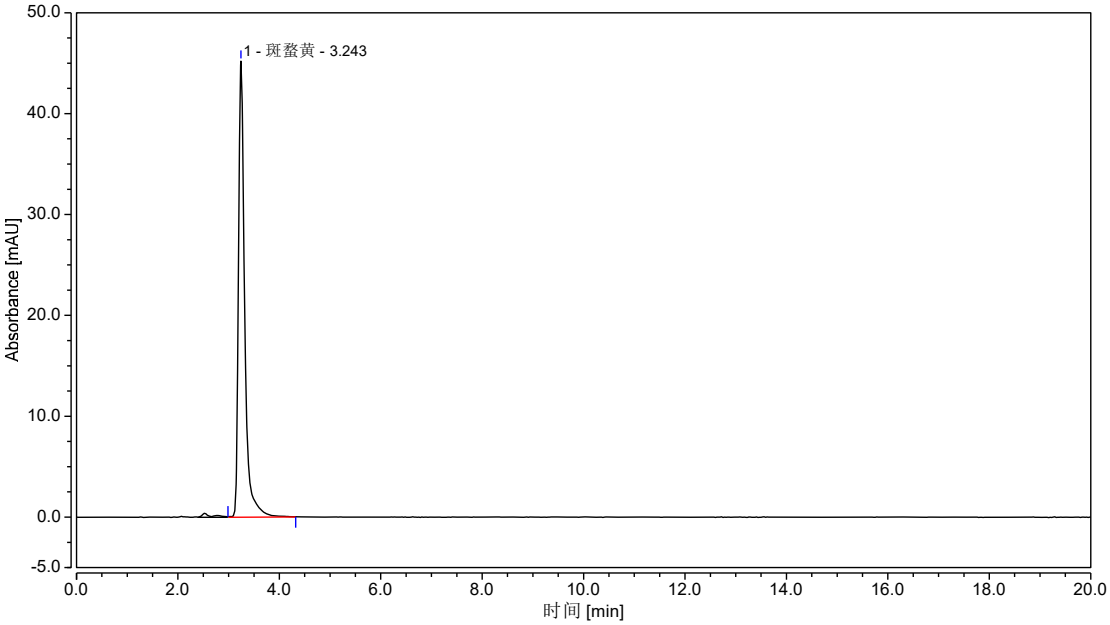

图 17　斑蝥黄图谱

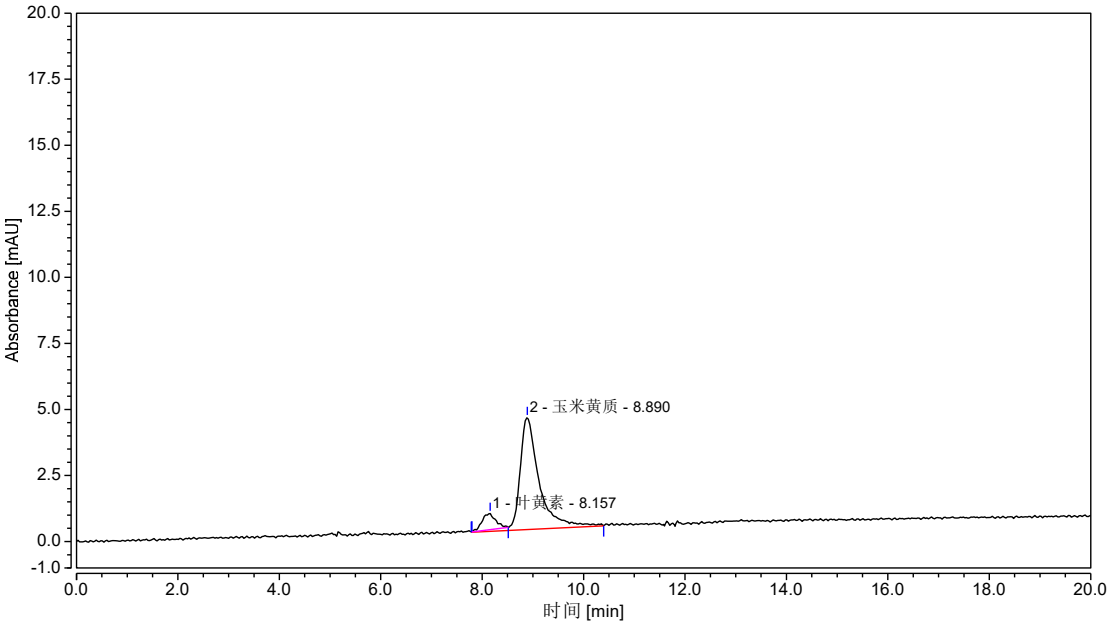

图 18　玉米黄质图谱

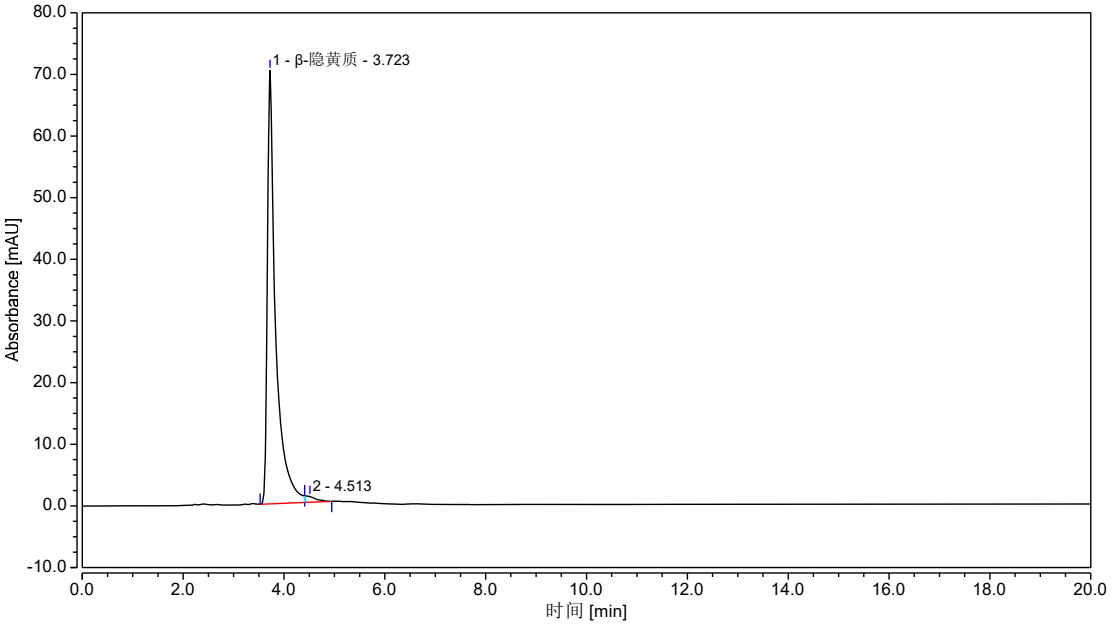

图 19　β-隐黄质图谱

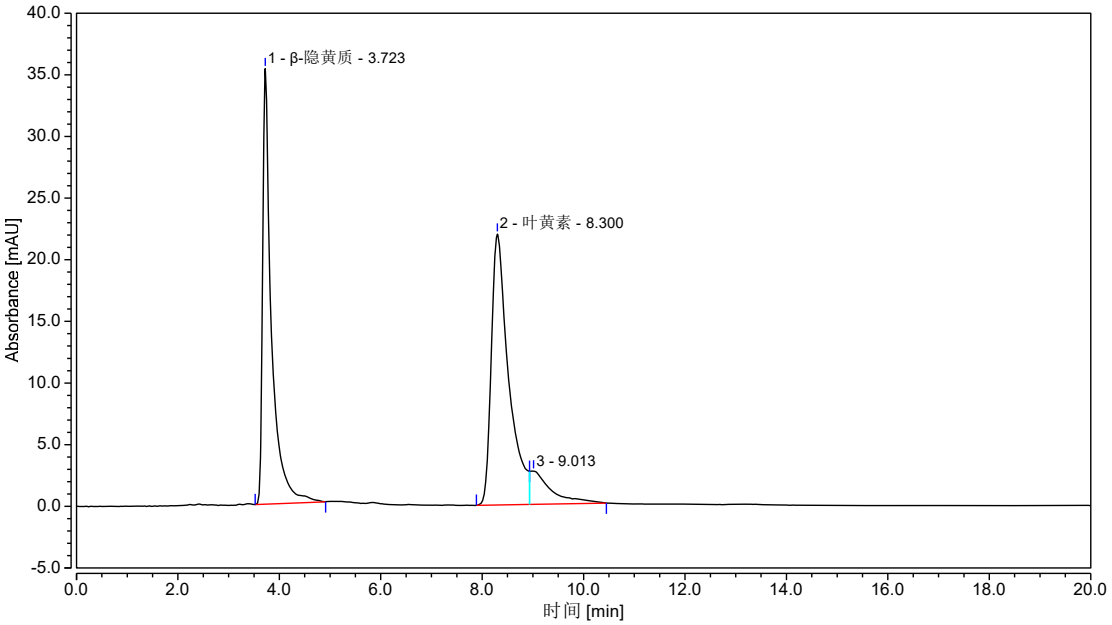

图 20　β-隐黄质和叶黄素混标图谱

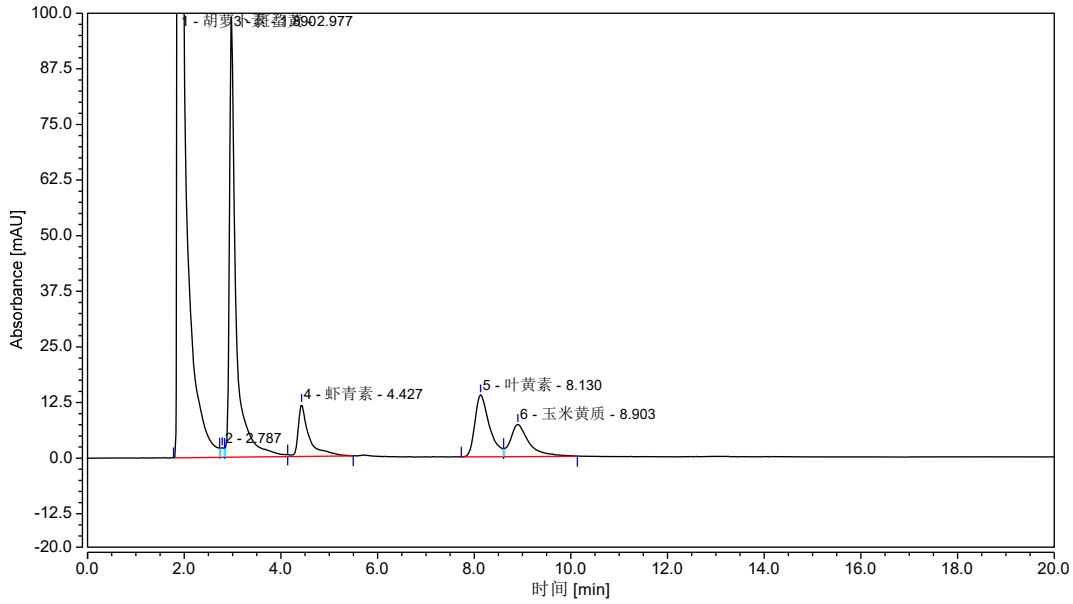

图 21　混标图谱

1.7、方法验证

按照文件中规定的方法，组织三家单位：农业农村部农产品及加工品质量检验测试中心（广州）、广东省农产品质量安全中心、广东省农科监测科技有限公司，进行方法验证。三家单位方法验证符合要求，表明三个实验室对比实验有较好的再现性。详见验证报告。

1.8、实际样品测定

对市场上的代表性样品进行收集，根据修订的标准方法测定叶黄素的含量，测定结果见表 19，结果表明，本标准方法适用于市面上常见的饲料叶黄素含量的测定。部分样品图片见图 22-图 30。

表 19　实际样品测定结果

样品名称	测定量（mg/kg）	平均值（mg/kg）	相对偏差（%）
玉米蛋白粉	50.479	51.050	1.12
	51.621		
DDGS	11.6815	11.354	2.88

样品名称	测定量（mg/kg）	平均值（mg/kg）	相对偏差（%）
	11.0267		
牛精料补充料	2.903	2.996	3.09
	3.088		
鸡配合饲料	2.119	2.209	4.10
	2.300		
菜籽粕	1.378	1.404	1.89
	1.431		
鱼配合料	21.281	21.810	2.42
	22.339		
喷浆玉米皮	1.486	1.504	1.20
	1.522		
猪浓缩料	1.592	1.542	3.21
	1.493		
青贮饲料	7.398	7.592	2.56
	7.787		
膨化玉米粉	3.849	3.730	3.20
	3.610		
玉米	14.333	14.514	1.25
	14.696		
鸡混合型饲料	481.592	488.903	1.50

样品名称	测定量（mg/kg）	平均值（mg/kg）	相对偏差（%）
	496.214		
蛋鸡预混料	202.663	196.689	3.04
	190.715		

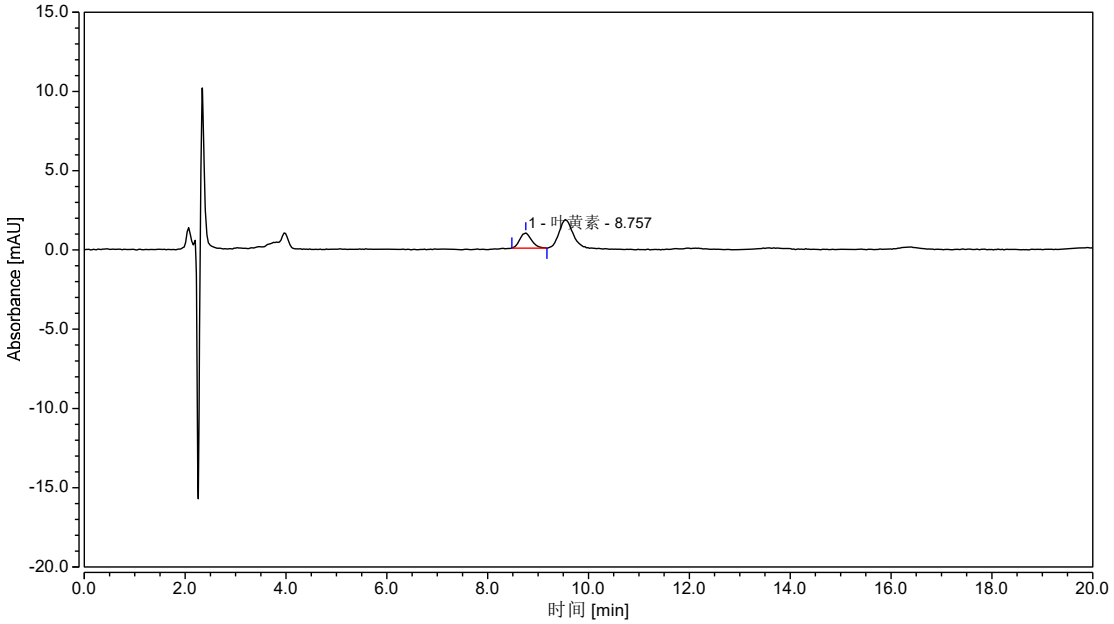

图 22　鸡配合饲料样品图谱

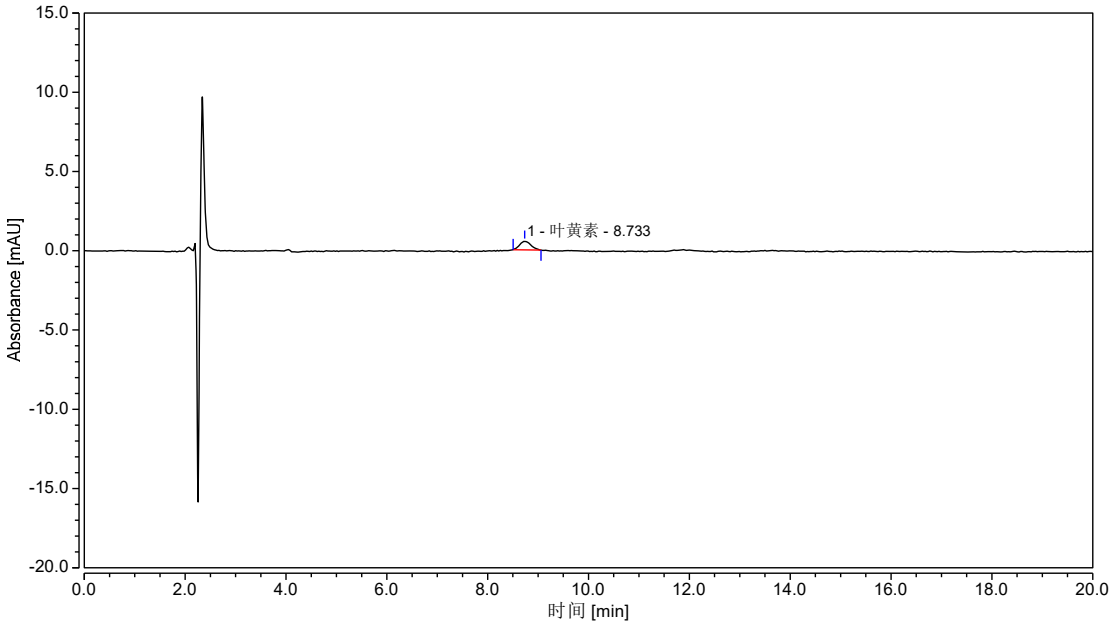

图 23　菜籽粕样品图谱

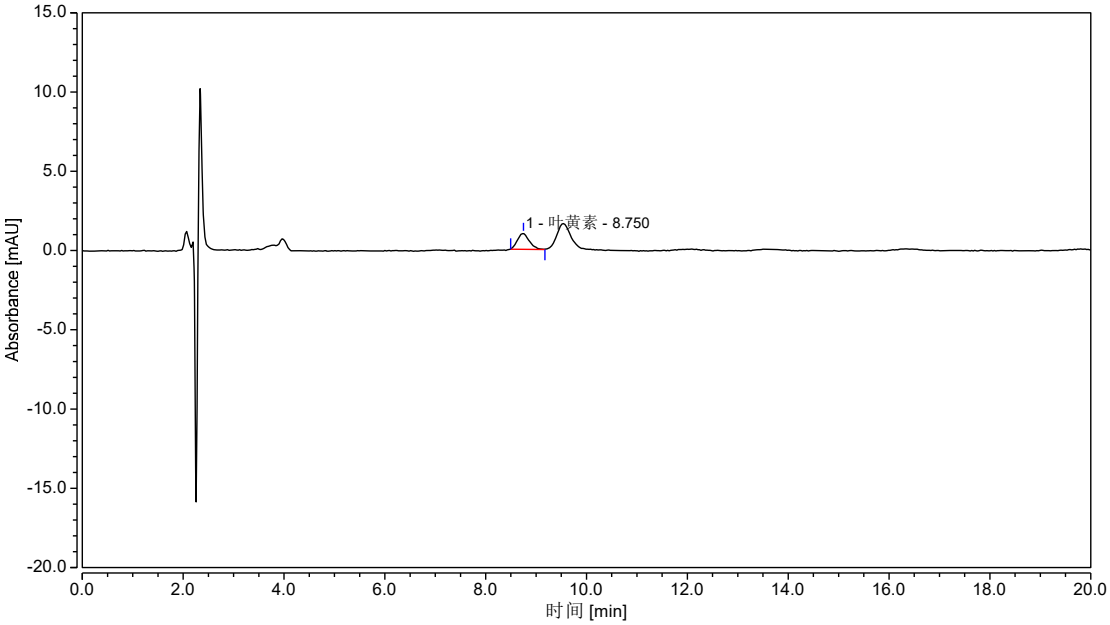

图 24　牛精料补充料样品图谱

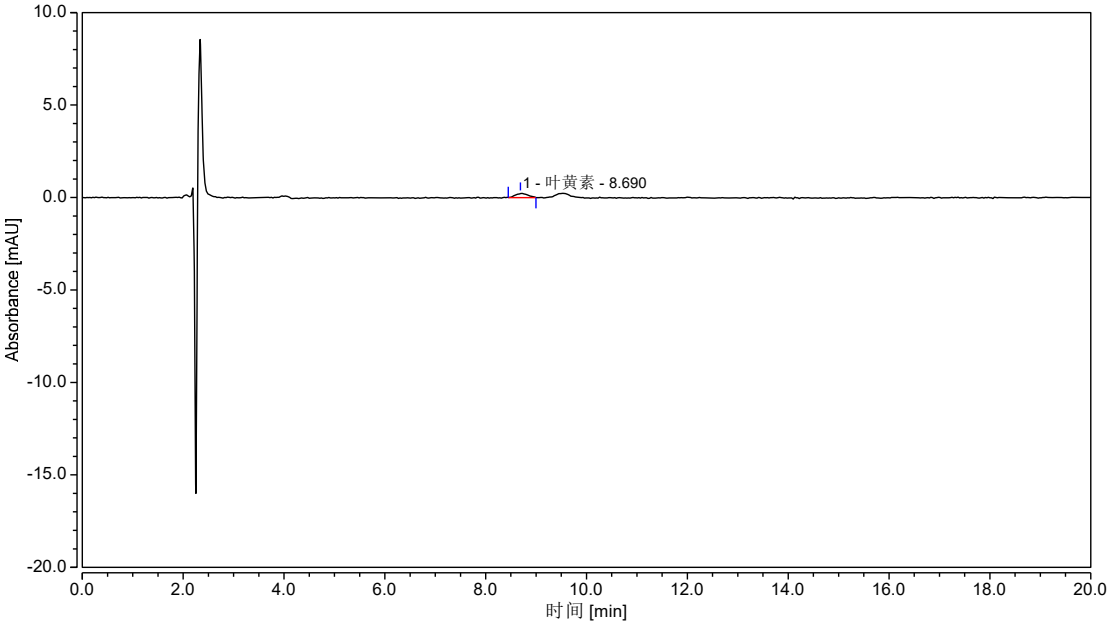

图 25　喷浆玉米皮样品图谱

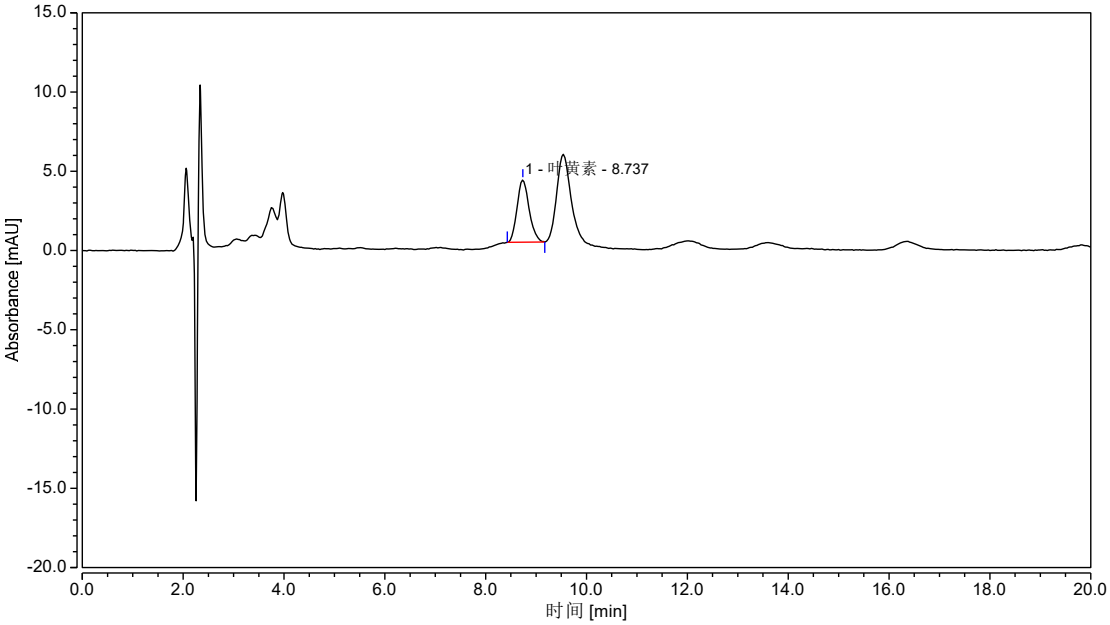

图 26　DDGS 样品图谱

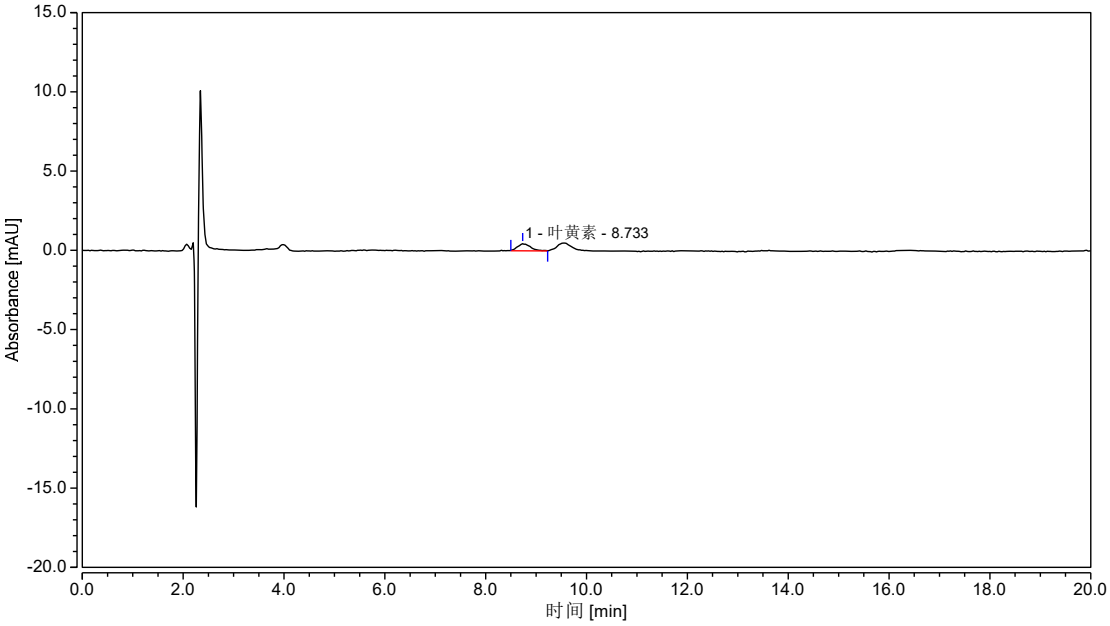

图 27　猪浓缩料样品图谱

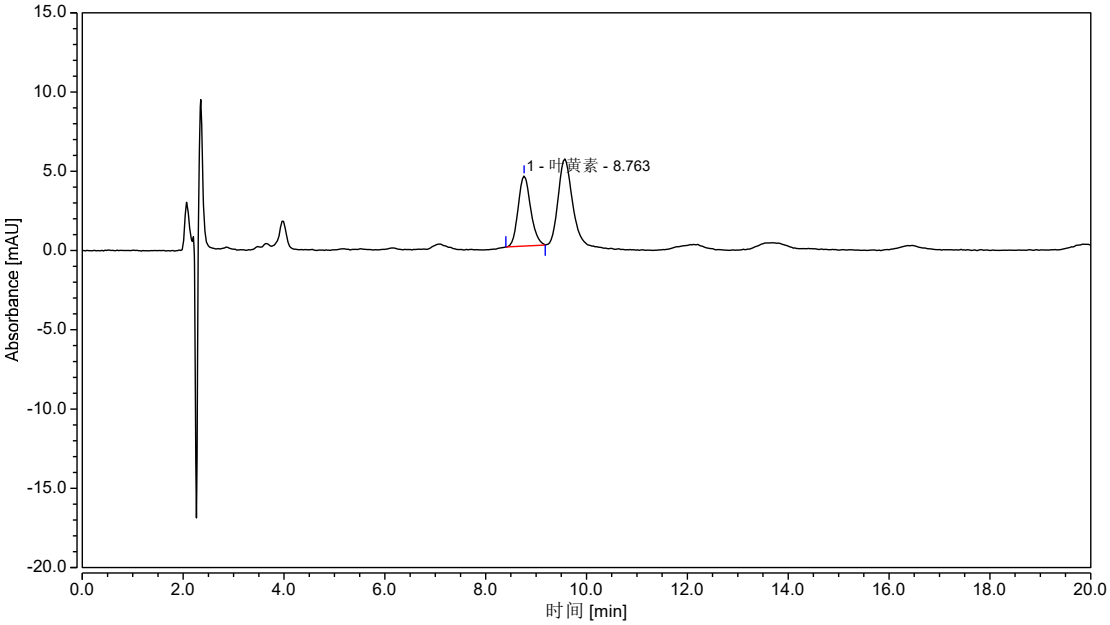

图 28　玉米蛋白粉样品图谱

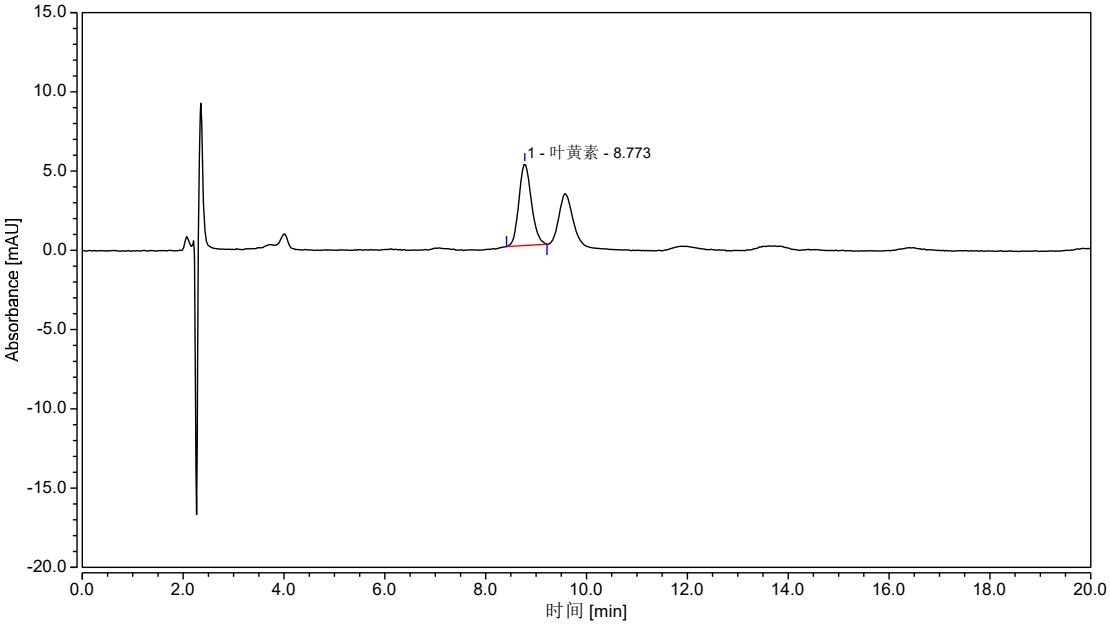

图 29　鱼配合料样品图谱

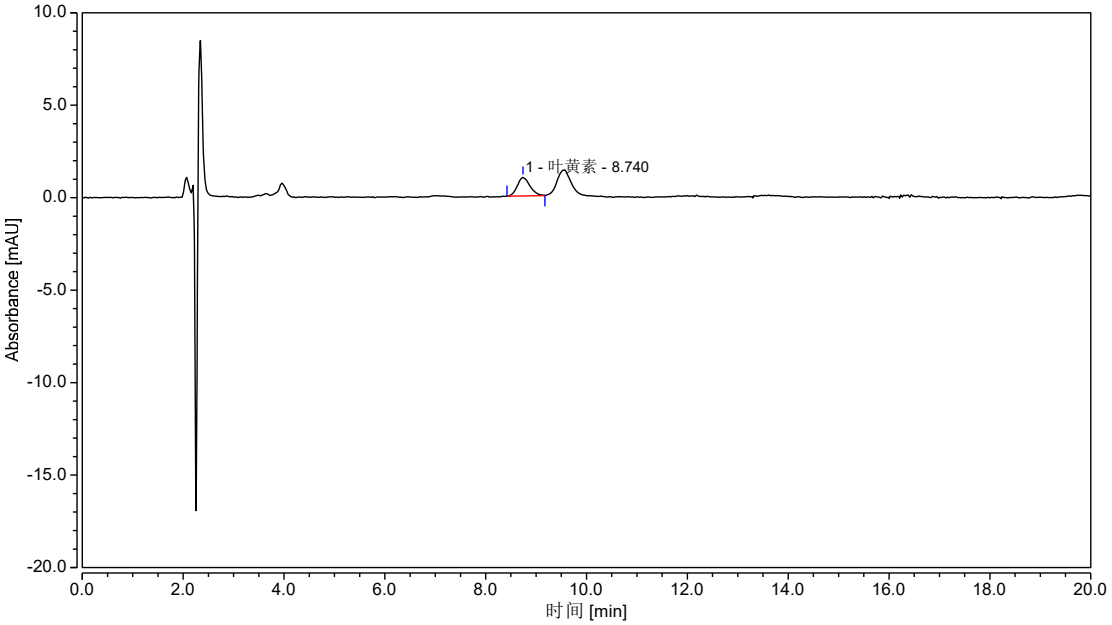

图 30　膨化玉米粉样品图谱

2、反相液相色谱法

2.1、标准曲线

采用乙醇溶解配制浓度为 0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL 的叶黄素标准溶液，参照 NY/T 3948-2021 色谱条件进行检测，以峰面积和标准溶液浓度作标准曲线，得出叶黄素标准溶液在 0.5~20 μg/mL 的范围内线性相关系数大于 0.99，线性关系良好，线性方程为：Y=54555x-18738，相关系数 0.9995，见图 31，标准溶液色谱图见图 32。

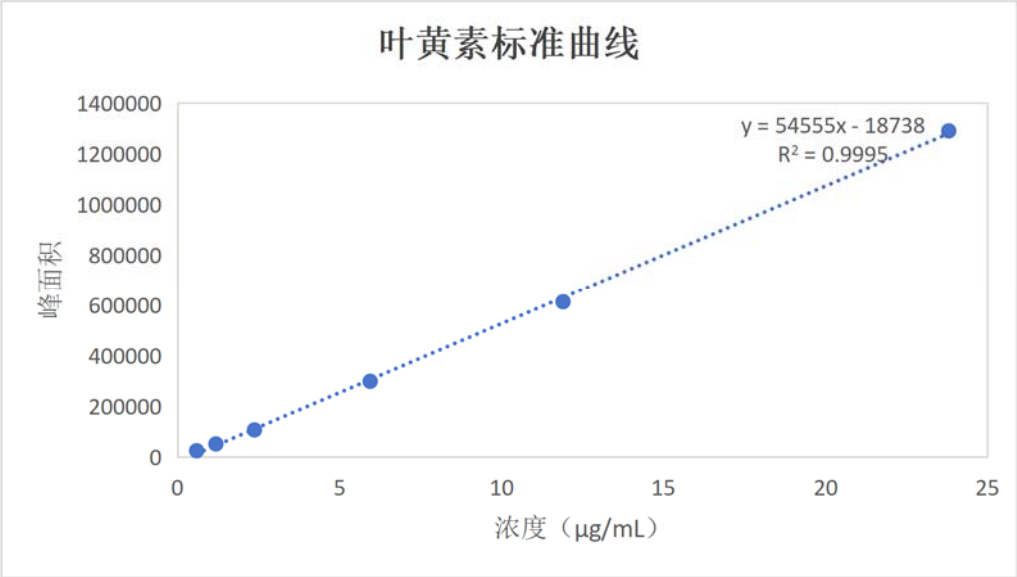

图 31　高效液相色谱法叶黄素标曲

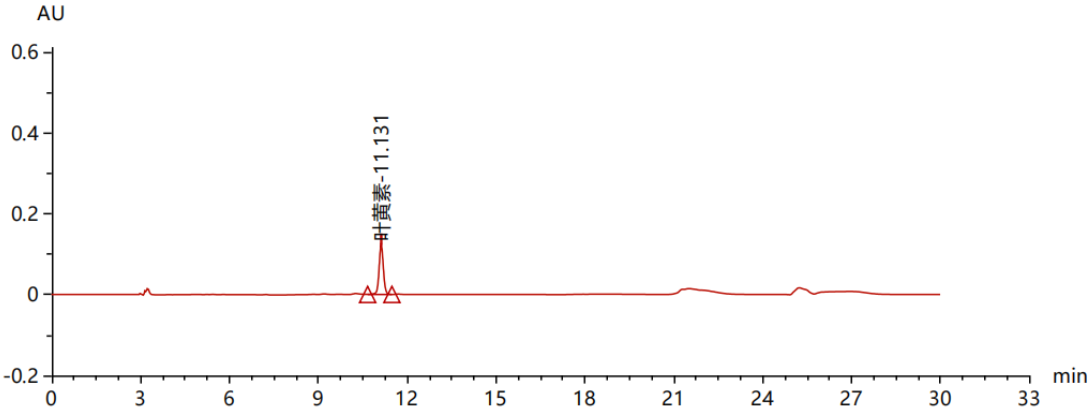

图 32　叶黄素标准溶液（20μg/ml）色谱图

2.2、提取条件和色谱条件的确定

提取条件同正相色谱法。

提取实验中，原标准方法采用浓缩后用正己烷复溶，采用正相上机检测，考虑到复溶并不是一定要用正己烷，故采用乙醇复溶，色谱条件采用《NY/T 3948-2021 植物源农产品中叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质的测定 高效液相色谱法》行业标准方法中的色谱条件上机检测。

2.3、检出限和定量限

同正相色谱法。

2.4、方法准确度和精密度

为考察方法准确度和精密度，选取部分样品进行了加标回收试验。空白样品和本底值含量低的样品采用定量限的 1 倍、2 倍和 10 倍 3 个水平，本底值含量高的样品采用定量限、本底值的 0.5 倍和本底值的 1 倍三个水平，每个水平平行测定 5 份，重复 3 次，结果见表 20~表 22。在不同添加水平下，回收率范围为 85%~110%，平均回收率为 90%~105%，相对标准偏差为 2%~7%，表明本文件高效液相色谱法适用于饲料中叶黄素的测定。

表 20 玉米蛋白粉加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
50	102.00	97.17	101.86	109.00	105.85	103.18	4.34	104.17	3.76
	107.71	99.48	105.45	107.19	106.32	105.23	3.16		
	98.87	106.63	109.00	106.18	99.89	104.11	4.29		
125	95.41	104.90	95.04	100.27	97.62	98.65	4.13	101.15	4.52
	98.57	103.13	108.04	98.33	100.90	101.79	3.93		
	95.70	109.90	105.72	101.06	102.62	103.00	5.14		
250	101.21	103.10	98.86	96.98	94.71	98.97	3.36	100.90	4.86
	97.95	105.69	103.10	92.10	105.58	100.88	5.78		
	102.87	109.70	94.60	102.19	104.91	102.85	5.32		

表 21 鱼配合料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
5	96.22	102.05	93.81	105.87	99.06	99.40	4.78	101.15	4.91
	91.86	105.17	96.96	108.05	104.54	101.32	6.60		
	102.77	99.45	100.59	102.36	108.48	102.73	3.39		
12	104.48	109.26	93.89	107.93	108.78	104.87	6.12	100.00	5.87
	96.48	92.84	93.72	100.46	102.60	97.22	4.35		
	93.74	98.15	99.21	104.00	94.53	97.93	4.20		
24	100.69	94.46	92.23	102.87	104.70	98.99	5.46	100.24	5.71
	99.89	105.79	94.33	107.46	107.29	102.95	5.56		
	104.41	96.32	93.27	106.45	93.37	98.76	6.33		

表 22 猪浓缩料加标回收率试验结果

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
0.5	99.70	87.56	101.60	87.74	93.72	94.06	6.95	96.41	6.96
	103.79	88.73	100.78	98.09	90.79	96.44	6.70		
	98.93	93.32	108.27	103.90	89.19	98.72	7.81		
1	93.56	100.42	99.93	107.77	93.77	99.09	5.90	99.90	6.23
	91.88	108.98	100.32	102.08	109.46	102.54	7.03		
	87.59	102.80	100.06	100.09	99.80	98.07	6.10		
5	104.06	105.23	98.05	93.97	99.71	100.20	4.57	95.38	5.86

添加量（mg/kg）	回收率（%）					批内平均回收率（%）	批内RSD（%）	批间平均回收率（%）	批间RSD（%）
	89.48	91.05	98.72	91.64	86.85	91.55	4.82		
	101.48	90.91	95.98	90.70	92.86	94.39	4.76		

2.5、干扰性试验

取β-胡萝卜素、玉米黄质和β-隐黄质，用本方法流动相配置成标准溶液进样检测，根据出峰结果可知，这三种物质对叶黄素出峰不会造成影响。

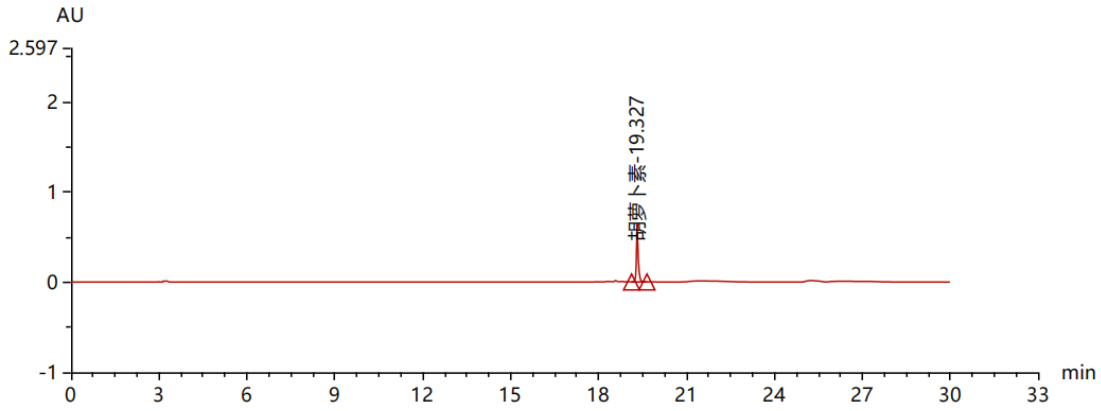

图 33　β-胡萝卜素图谱

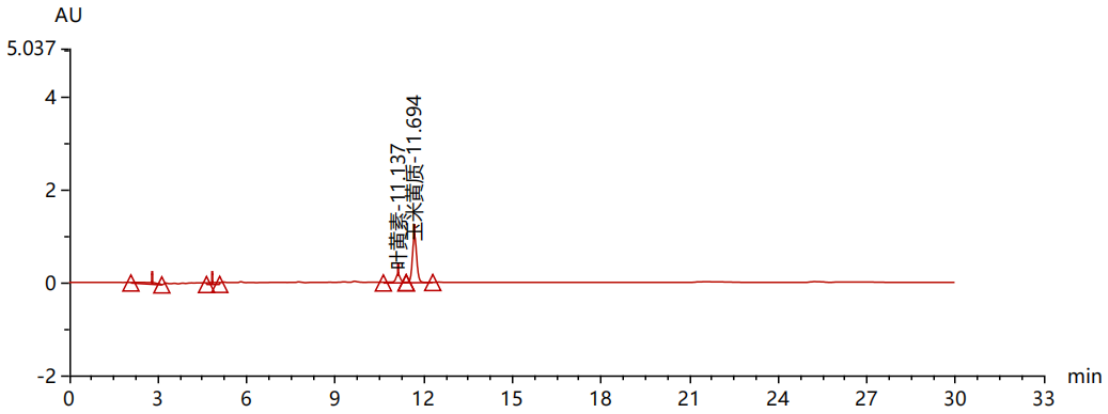

图 34　玉米黄质图谱

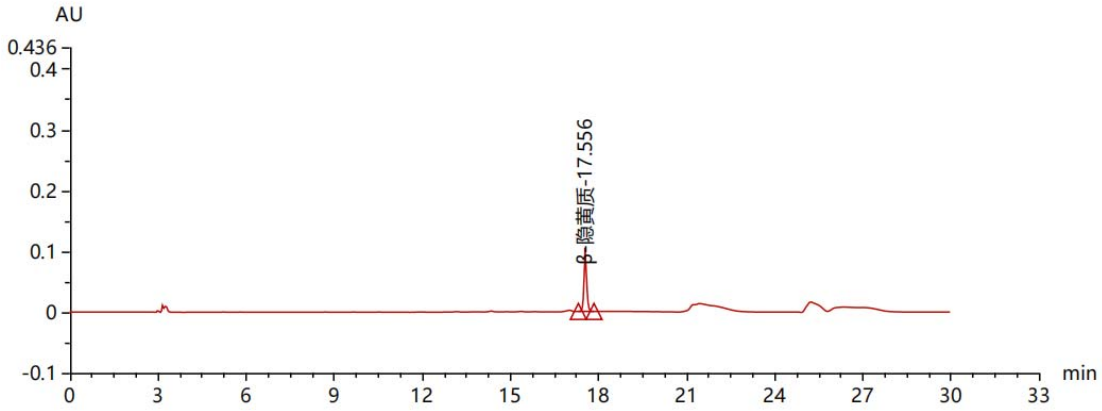

图 35　β-隐黄质图谱

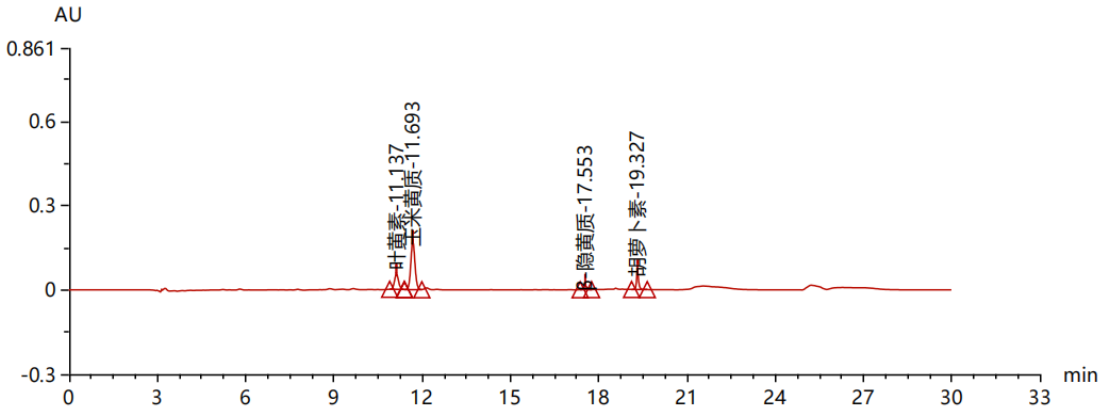

图 36　混标图谱

2.6、方法验证

按照文件中规定的方法，组织三家单位：农业农村部农产品及加工品质量检验测试中心（广州）、广东省农产品质量安全中心、广东省农科监测科技有限公司，进行方法验证。三家单位方法验证符合要求，表明三个实验室对比实验有较好的再现性。详见验证报告。

2.7、实际样品测定

对市场上的代表性样品进行收集，根据修订的标准方法测定叶黄素的含量，测定结果见表 23，结果表明，本标准方法适用于市面上常见的饲料叶黄素含量的测定。部分样品图片见图 37-图 45。

表 23　实际样品测定结果

样品名称	测定量（mg/kg）	平均值（mg/kg）	相对偏差（%）
玉米蛋白粉	231.294 225.739	228.516	1.22
DDGS	11.347 10.885	11.116	2.08
牛精料补充料	2.743 2.562	2.652	3.41
肉鸭中后期配合饲料	68.862 66.448	67.655	1.78
鱼配合料	20.491 21.085	20.788	1.43
猪浓缩料	1.337 1.404	1.370	2.44
青贮饲料	7.075 7.419	7.247	2.37
虾肝强	26.939 26.448	26.694	0.92
玉米	14.108 14.501	14.304	1.37
鸡混合型饲料添加剂	466.384 485.765	476.074	2.04

样品名称	测定量（mg/kg）	平均值（mg/kg）	相对偏差（%）
蛋鸡预混料	198.287	192.615	2.94
	186.943		

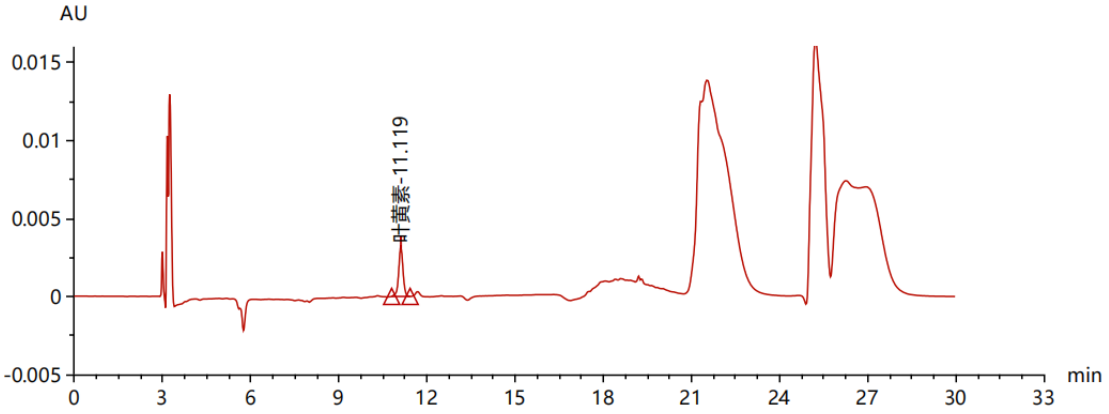

图 37　宠物罐头样品图谱

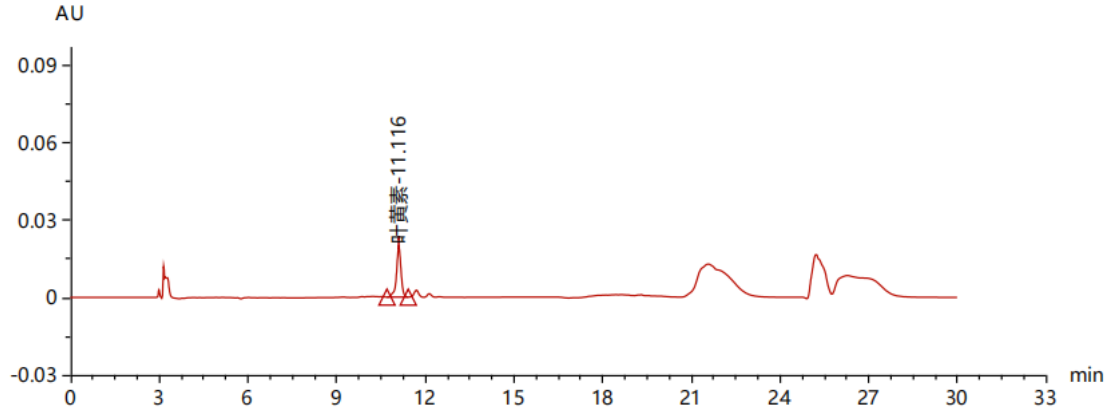

图 38　肉鸭中后期配合饲料样品图谱

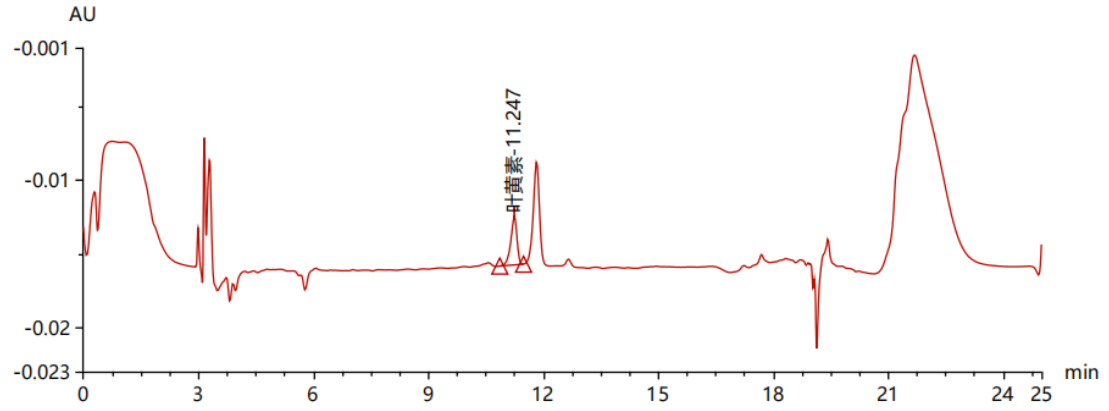

图 39　牛精料补充料样品图谱

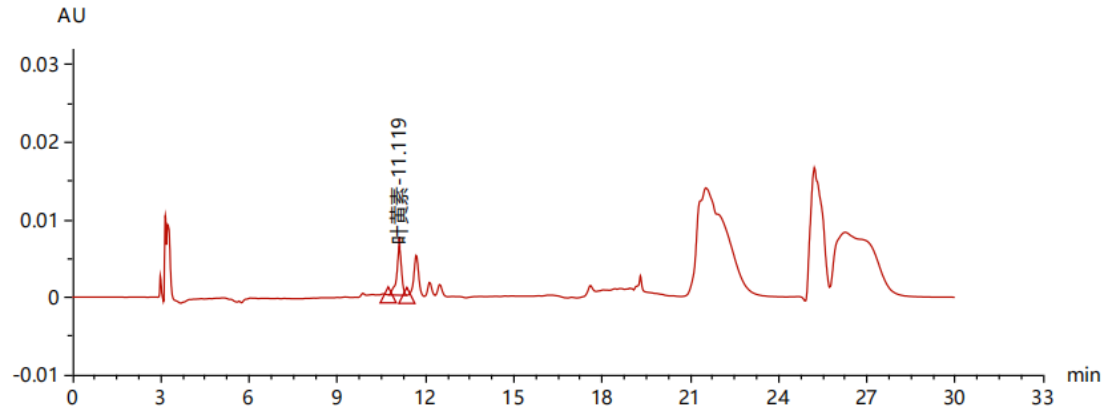

图 40　虾肝强样品图谱

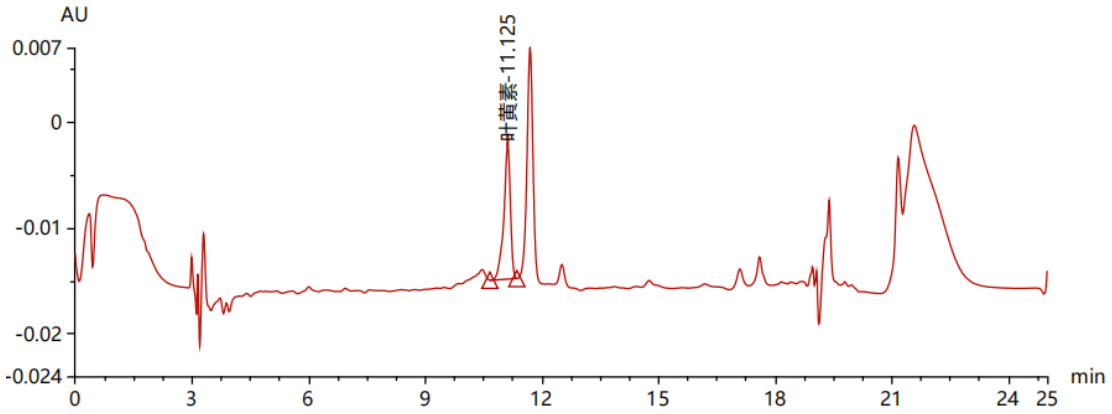

图 41　DDGS 样品图谱

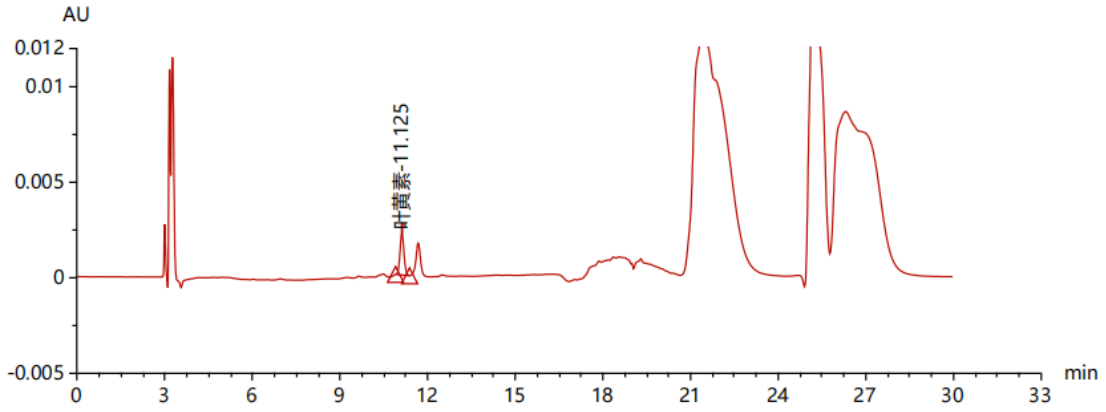

图 42　玉米样品图谱

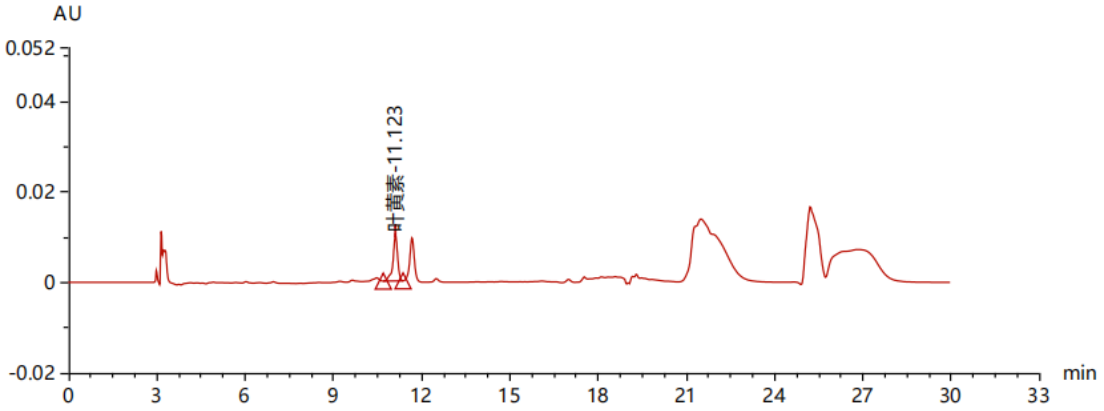

图 43　玉米蛋白粉样品图谱

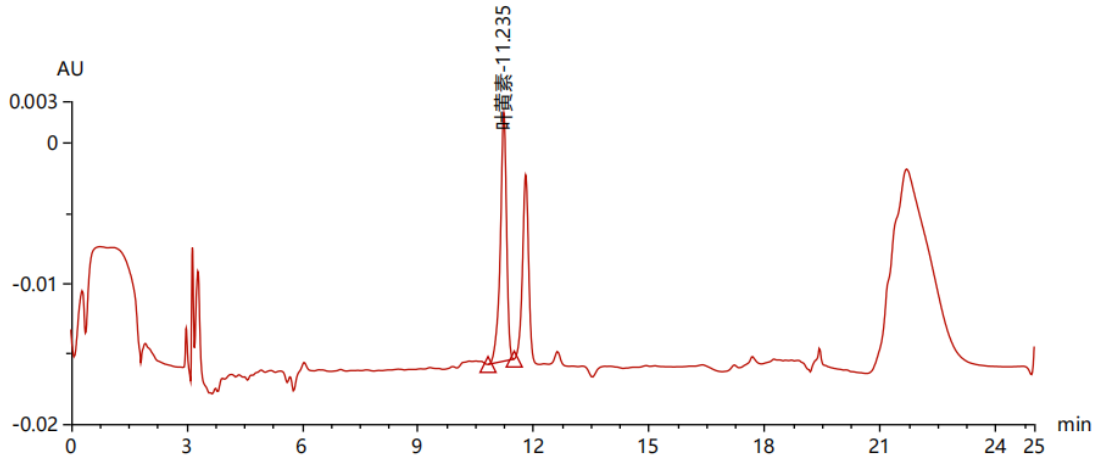

图 44　鱼配合料样品图谱

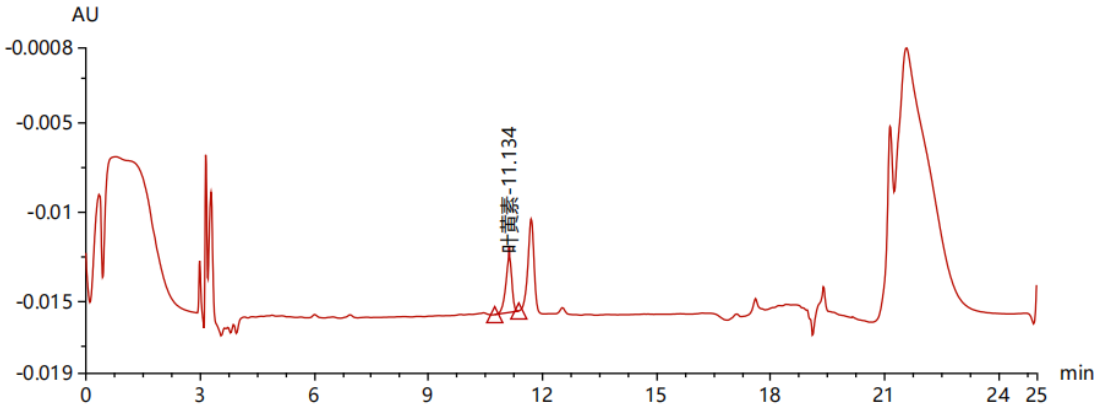

图 45　膨化玉米粉样品图谱

3、正相、反相色谱方法实际样品对比

选取部分样品进行正相色谱法和反相色谱法对比，测定结果见表 24，结果表明两种方法皆可用于测定饲料中叶黄素的含量。

表 24　方法对比结果

	正相色谱结果（mg/kg）	反相色谱结果（mg/kg）
玉米蛋白粉	228.471	230.104
玉米	14.509	14.382
肉鸭中后期配合饲料	67.573	68.219
虾肝强	26.397	27.056
猪浓缩料	1.307	1.336
牛精料补充料	2.649	2.589

三、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准

未采用国际国外标准。

四、与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系

在标准的修订过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章，严格执行强制性国家标准。与有关的各种基础标准项衔接，遵循了政策性和协同统一性的原则。

五、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在编制过程中没有重大意见分歧。2026 年 4 月，本标准定向征求意见发函单位 26 个，回函单位 21 个，未回函单位 5 个；提出意见单位 21 个，无意见单位 0 个。共提出意见 120 条；采纳 89 条，部分采纳或不采纳 31 条。

六、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。

七、作为强制性标准或推荐下标准的建议

本标准为化学分析方法标准，并不涉及国家安全、保护人体健康

和人身财产安全、环境质量要求等有关强制性地方标准或强制性条文等的八项要求之一。因此，建议将本标准作为推荐性标准颁布实施。

八、贯彻国家标准的要求，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个月过渡期，过渡6个月后实施。

九、与原标准关系

为原标准的第一次修订。

十、其他应当说明的事项

无。

参考文献

[1] GB 5009.248-2016 食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定
[2] NY/T 3948-2021 植物源农产品中叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质的测定 高效液相色谱法