

中华人民共和国国家标准

饲料添加剂 L-缬氨酸

编制说明

中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所
国家饲料质量监督检验中心（北京）

中华人民共和国国家标准

饲料添加剂 L-缬氨酸

编制说明

一、标准制定背景及任务来源

根据全国饲料工业标准化技术委员会制修订国家标准计划，中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心（北京）]承担了主持制定国标“饲料添加剂 L-缬氨酸”的任务，项目计划编号为 **20140217-Q-469**。

缬氨酸是组成蛋白质的 20 种氨基酸之一，化学名称为 L-2-氨基-3-甲基丁酸，属于支链氨基酸，也是人体必需的 8 种氨基酸和生糖氨基酸，动物体自身不能合成，必须从日粮中摄取才能满足其营养需要。畜牧养殖产业在环保要求日益严格的背景下，对养殖氮、磷排放也提出更高要求，原料的高效利用势在必行，低蛋白日粮是未来的发展趋势，开发低蛋白日粮必须要考虑氨基酸平衡，单体氨基酸使用可有效调节日粮中氨基酸平衡，继赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、色氨酸之后，缬氨酸将成为饲料中下一个限制性氨基酸的添加品种。

缬氨酸除了可以更好平衡饲料中氨基酸构成外，其也具有功能性作用，缬氨酸占骨骼肌蛋白质必需氨基酸的 40%，与肌肉合成有密切关系，是乳腺中氧化速率最高的氨基酸，用于维持乳腺的生理功能，在哺乳母猪料中，缬氨酸限制性排序更靠前。目前，缬氨酸主要在乳仔猪料和哺乳母猪料中添加。

国内市场缬氨酸生产厂家主要有希杰（沈阳）生物科技有限公司、肇东星湖生物科技有限公司、新疆阜丰生物科技有限公司、上海梅花生物科技集团股份有限公司等。缬氨酸以医药级和食品级居多，饲料级需求占 10-20%左右。近两年，随着饲料市场技术进步和饲料产品不断细分，饲料养殖一体化企业规模扩大，尤其是生猪养殖一体化快速发展，缬氨酸应用价值挖掘不断深入，为商业化应用发展提供了空间。

2017 年中国饲用氨基酸产量 235 万吨，比 2016 年增长 40.8 万吨，其中赖氨酸增长 24.5 万吨，苏氨酸增长 7.2 万吨，蛋氨酸增长 8.8 万吨，2017 年中国饲用氨基酸产量占全球份额 47%，发酵氨基酸量价齐增。2009 年缬氨酸开始在饲料中使用，据业内估算，2015 年中国缬氨酸消费量在 460 吨左右，2016 年、2017 年分别是 1700 吨和 3000 吨，每年国内需求的增长速度超过 50%，需求空间巨大。

希杰公司生产的缬氨酸目前已得到了市场的广泛应用和认可，目前在国内已开发数百家大中型企业在配方中外源添加缬氨酸。希杰公司生产的缬氨酸产品也远销海外。目前，希杰公司的饲料级缬氨酸的年生产能力为 20000 吨，实际生产 12000 吨，已达到 60%满产。随着市场的技术进步和低蛋白日粮应用技术的成功应用，该产能会很快满产甚至有扩产需求。

肇东星湖近两年缬氨酸产量约为 500 吨，内销 90%，主要用作饲料添加剂，外销占 10%，用作饲料添加剂或药物中间体。

新疆阜丰 2016、2017 年缬氨酸产能为 3000 吨/年，主要出口秘鲁，美国、俄罗斯，巴基斯坦，哥伦比亚，危地马拉，巴西，台湾等国家和地区。

上海梅花 2016 年、2017 年饲料级缬氨酸年生产量为 474 吨、2598 吨，销售量为 472 吨和 2543 吨。

目前缬氨酸质量标准还没有相应的国家标准支撑，行业标准的建立，对于规范产品质量，加强市场监管，引导行业的发展方向，都具有非常重要的意义。

二、主要工作过程

2015 年接到制标任务后，查阅了国内外相关资料，并对饲料添加剂缬氨酸在国内外生产销售情况进行调研，根据缬氨酸生产工艺，物理化学性质，对各项技术指标要求，主含量检测方法，检验规则等进行论证，形成标准制定可行性方案。

2016 年至 2017 年，主要完成了各项技术指标、主含量检验方法的实验工作。2018 年 2 月 5 日在北京，主持单位在北京召开缬氨酸征求意见稿研讨会，组织四家生产企业，对征求意见稿技术内容逐条讨论，并与希杰（沈阳）生物科技有限公司、辽宁省兽药饲料畜产品质量安全检测中心共同完成实验验证工作，修改了征求意见稿。

2018 年 10 月，在中国农业科学院饲料研究所、北京市饲料兽药监察所进行标准验证工作。

2019 年 6 月 19 日，邀请主要生产企业的质检技术人员和相关专家在北京召开了标准制定的研讨会，完成了产品标准各项指标及主含量检测方法的研究工作，提出了修改意见，起草了标准标准的征求意见稿和编制说明。

三、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

（一）标准制定遵循的基本原则

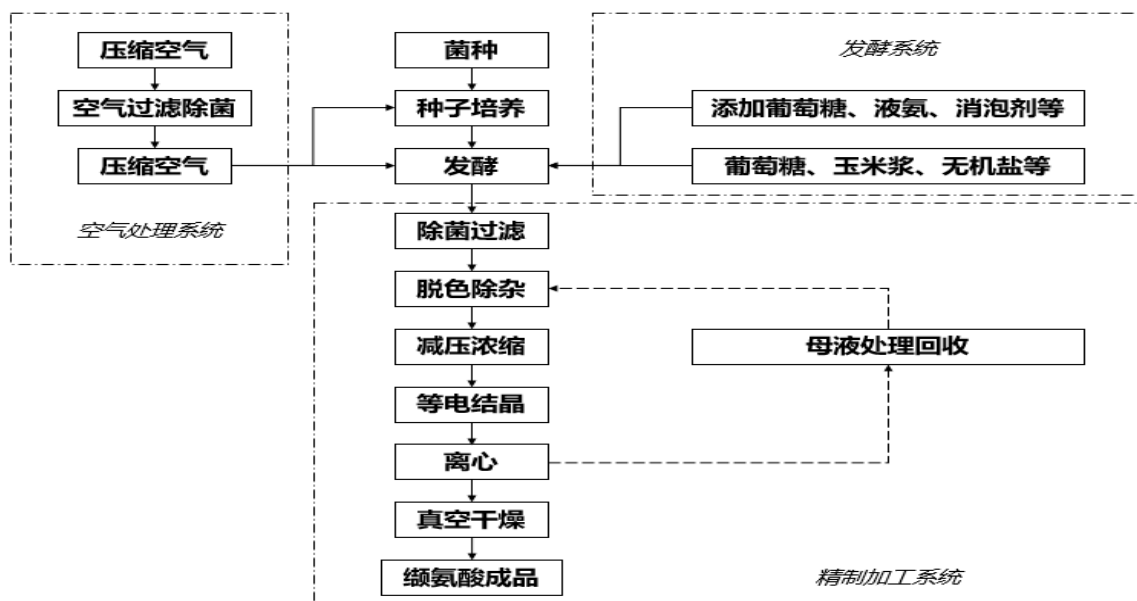
在《饲料添加剂品种目录（2013）》（农业部第 2045 号公告）中缬氨酸被列为氨

基酸类添加剂，允许在养殖动物中使用。缬氨酸的各项技术指标的确定及主含量检测方法严格遵循科学依据，与国际水平接轨，依据中国药典、美国药典、欧洲药典、英国药典、食品化学法典、EI 国际期刊《化学与医药研究》等文献中的规定及提供的检测方法，同时考虑企业质量标准；文本编写，遵循“GB/T 1.1-2009 标准化工作导则 第一部分：标准的结构和编写”，“GB/T 20001.4-2015 标准编写规则 第四部分：试验方法标准”，“GB/T 20001.10-2014 标准编写规则 第 10 部分：产品标准”等技术文件的要求编写。

（二）生产工艺

缬氨酸天然食物来源包括谷物、奶制品、香菇、蘑菇、花生、大豆、鱼和肉类等，生产工艺有化学合成法、提取法、发酵法及酶法，化学合成法如用异丁醛作原料，异丁醛与氨生成氨基异丁醇，再与氰化氢合成氨基异丁腈，然后水解得到缬氨酸，特点是生产成本低，反应复杂，步骤多，且有许多副产物。提取法是从蛋白质水解液中提取 L-缬氨酸。酶法产量较高，副产物少，提取工艺简单，缺点是原料成本高，酶较易失活，技术难点在于筛选高效催化酶，提高酶的重复利用率。微生物发酵法工艺成熟，原料成本低，以淀粉、糖质为主要原料，利用谷氨酸棒杆菌等为菌株，用葡萄糖、尿素、无机盐等做培养基，经发酵、提取、干燥制成。目前在国内市场，做为饲料添加剂缬氨酸，生产工艺都是发酵法。

缬氨酸生产流程图：



（三）主要内容提出和确定的论据

在中国药典，美国药典、英国药典、食品化学法典（Food Chemicals Codex）中，对缬氨酸的性状，化学名称、技术要求，检测方法等都有规定，见表一，现行企业标准中对缬氨酸的性状，化学名称、技术要求，检测方法等的规定，见表二。

表一 各国药典、法典对缬氨酸质量标准的规定

技术指标	中国药典	美国药典	食品化学法典	英国药典
化学名称	L-2-氨基-3-甲基丁酸	L-2-氨基-3-甲基丁酸	L-2-氨基-3-甲基丁酸	(S)-2-氨基-3-甲基丁酸
含量(以 C ₅ H ₁₁ NO ₂ 计), %	≥98.5(按干燥品计算)	98.5-101.0(干基)	98.5-101.0(干基)	98.5-101.0(干基)
性状	白色结晶或结晶性粉末, 无臭, 在水中溶解, 在乙醇中几乎不溶。	白色或类白色晶体粉末或浅 色晶体, 可溶于水, 微溶于 乙醇。	白色晶体粉末, 可以溶于水, 几乎不溶于乙醇和酯。	白色或类白色晶体粉末或浅 色晶体, 可溶解于水, 微溶于乙醇。
比旋度	+26.6° ~ +28.8°	+ 26.6°~ + 28.8°	+26.6° ~ +28.9°	+26.5° ~ +29.0°
pH 值	5.5~6.5(1g 加水 20mL)	5.5-7.0	5.5-7.0(1:20 水溶液)	
氯化物/%	<0.02	<0.05	—	<0.02
硫酸盐/%	<0.03	<0.03	—	<0.03
铵盐/%	<0.02	—	—	<0.02
干燥失重/%	<0.2	<0.3	<0.3	<0.5
炽灼残渣/%	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
重金属(以 pb 计) / (mg/kg)	<10	<15	<5	<10
砷/ (mg/kg)	<1	—	—	—
铁离子/ (mg/kg)	<10	<30	—	<10
细菌内毒素	<20EU/g	—	—	—
检测方法	0.1mol/L 高氯酸溶液, 电位滴定。	0.1mol/L 高氯酸溶液 电位滴定。	0.1mol/L 高氯酸溶 液滴定至绿色, 或蓝 色完全消失(结晶紫)。	用 0.1 摩尔高氯酸滴定, 至 颜色由棕黄色变为绿色为滴 定终点(α-萘酚苯基甲醇)。

表二 企业标准对缬氨酸质量标准的规定

技术指标	企业一	企业二	企业三
化学名称	L-2-氨基-3-甲基丁酸	L-2-氨基-3-甲基丁酸	2-氨基-3-甲基丁酸
含量（以 C ₅ H ₁₁ NO ₂ 计），%	≥98.0(按干燥品计算)	≥98.5(以干基计)	≥98.0(以干基计)
性状	白色或灰白色结晶性粉末。	白色黄色或棕黄色结晶性粉末,无臭,味微甜而后苦,在水中溶解,在乙醇中几乎不溶。	白色晶体粉末,可以溶于水,几乎不溶于乙醇和酯。
比旋度	+26.0° ~ +29.0°	—	+26.0° ~ +29.0°
pH 值	4.0~7.0(5g 加水 100mL)	—	4.0-7.0(1:20 水溶液)
氯化物/%	—	—	—
硫酸盐/%	—	—	—
铵盐/%	—	—	—
干燥失重/%	≤1.5	≤2	≤1.0
灼烧残渣/%	≤0.5	≤1	<1.0
重金属（以 pb 计）/（mg/kg）	<10.0	≤20	≤15.0
砷（以 As 计）/（mg/kg）	≤1.0	≤2	≤1.0
铁离子/（mg/kg）	—	—	—
细菌内毒素	—	—	—
检测方法	1) 0.1mol/L 高氯酸溶液电位滴定。 2) HPLC 方法	0.1mol/L 高氯酸溶液电位滴定。	0.1mol/L 高氯酸溶液, 电位滴定。

参考以上质量标准要求, 根据实际样品的检测结果, 对缬氨酸技术指标的规定见表三。

表三 缬氨酸技术指标

项目	指标
含量（以干基计），%	98.0-102
干燥失重/（%）	≤ 1.0
灼烧残渣/（%）	≤ 0.5
比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ [（°）·m ² /kg]	+26.0~+29.0
pH	4.0~7.0
重金属（以 Pb 计）/（mg/kg）	≤ 15
砷 /（mg/kg）	≤ 2.0

（四）技术内容说明

1. 缬氨酸的鉴别实验

综合考察文献资料、现行企业质量标准，缬氨酸的鉴别，考虑到方法的适用性、我们验证了三种鉴别方法：茚三酮试验、红外光谱法、比旋光度鉴别。

实验所用试剂、溶液的配置和仪器设备见文本。

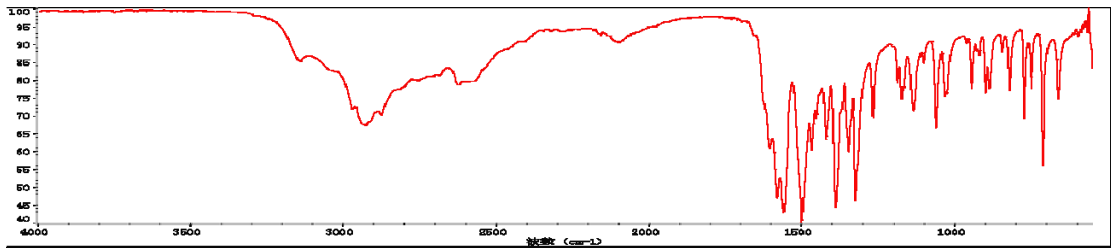
1.1 茚三酮试验

称取试样 0.1 g，溶于 100 mL 水中，取该溶液 5 mL，加 1 mL 茚三酮溶液，置沸水浴中，反应 15 min 时溶液开始显蓝色，继续加热至溶液呈蓝紫色。

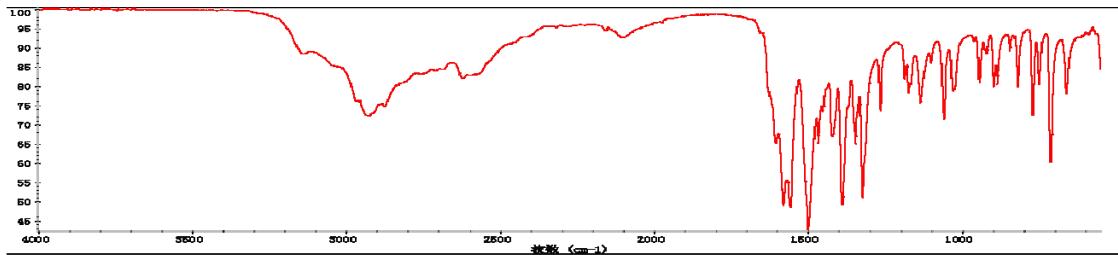
1.2 红外光谱法

称取试样适量，加溴化钾研磨均匀，压片，在 $4000\text{ cm}^{-1}\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 内录制试样和对照品的红外光谱图。试样的红外吸收图谱应与对照品的图谱一致（对照品图谱见图一，样品图谱见图二、图三、图四、图五）。

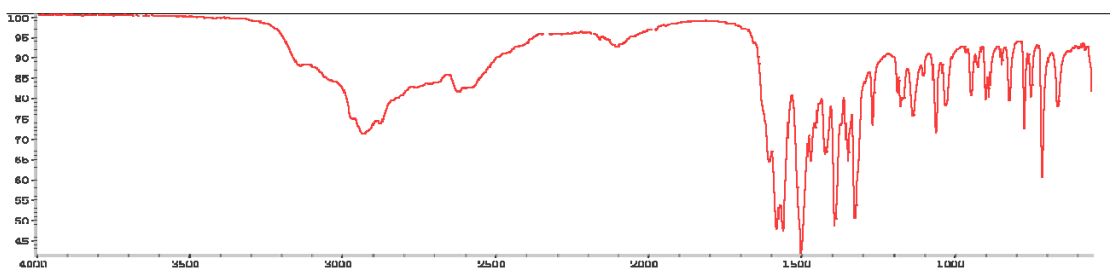
图一 缬氨酸标准品红外吸收图谱



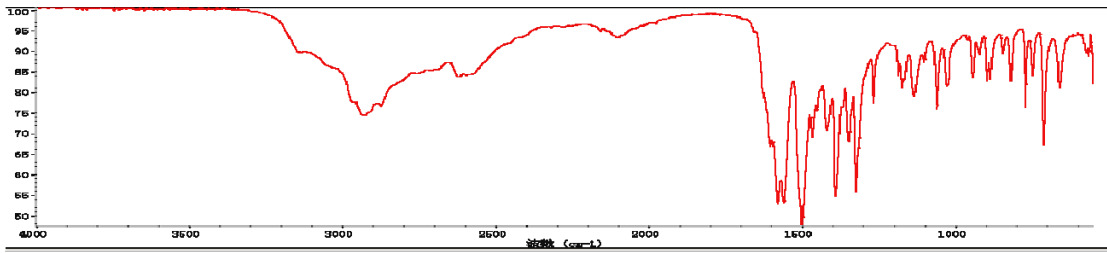
图二 缬氨酸样品 1 红外吸收图谱



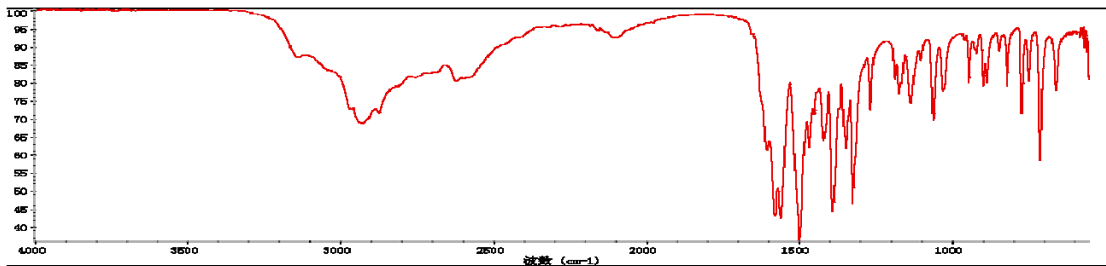
图三 缬氨酸样品 2 红外吸收图谱



图四 缬氨酸样品 3 红外吸收图谱



图五 缬氨酸样品 4 红外吸收图谱



以上不同生产企业缬氨酸样品红外图谱与缬氨酸对照品的红外图谱一致。

1.3 比旋光度法

试样在 105℃干燥至恒重，称取干燥试样约 4g（精确至 0.0001g），用 6.0 mol/L 盐酸溶解，并定容至 50 mL 容量瓶中。调节溶液温度至 20℃，中速定性滤纸过滤，滤液用旋光仪测定旋光度，检测结果见表四。

缬氨酸在 20℃下，对钠光谱 D 线（569.2nm）的比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ 按式(1)计算：

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{lc} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

α — 试样溶液的旋光度，单位为度（°）；

l — 旋光管的长度，单位为分米（dm）；

c — 溶液中缬氨酸的浓度，单位为克每 100 毫升（g/100 mL）。

表四 比旋光度检测结果

产品代码	比旋光度（°）
X1	+27.49
	+27.56
P2	+27.71

	+27.65
M3	+27.53
	+27.49
C4	+27.87
	+27.81

不同生产企业缬氨酸比旋光度检测结果均在+26.0° ~+29.0° 范围内、参考文献及企业质量标准，在标准中规定比旋光度范围为+26.0° ~+29.0° 。

2. 缬氨酸主含量检测方法

文献资料报道，缬氨酸含量检测方法有高氯酸电位滴定，高氯酸滴定，高效液相色谱法，中国药典、美国药典、企业标准都是采用电位滴定法，食品化学法典、英国药典采用高氯酸滴定；EI 国际期刊《化学与医药研究》文献中，缬氨酸含量检测方法采用高效液相色谱法，本标准中将电位滴定、高氯酸滴定作为主含量检测方法。

2.1 原理

试样用无水甲酸和冰醋酸溶解，按照电位滴定法，用高氯酸滴定溶液滴定，以高氯酸标准滴定溶液消耗的体积代入公式，计算缬氨酸含量。

实验所用试剂、溶液的配制和仪器设备见文本。

2.4 试样溶液的制备

称取约 0.1 g（精确到 0.0001 g）干燥至恒重的试样于干燥的 100mL 烧杯中，加 1.0 mL 无水甲酸使其完全溶解，再加入 50 mL 冰醋酸，涡旋混匀，将电极插入溶液中，调节搅拌速度至溶液充分涡旋，用高氯酸标准滴定溶液滴定至终点。或选用指示剂，加 α -萘酚苯基甲醇指示液 3 滴，用高氯酸标准滴定溶液滴定，溶液由黄色变为黄绿色为终点，同时做空白试验。

不同企业产品电位滴定缬氨酸含量检测结果见表五，同一批次重复六次检测结果见表六，高氯酸滴定缬氨酸含量检测结果见表七，同一批次重复六次检测结果见表八。

2.5 试验数据处理

缬氨酸（C₅H₁₁N₂O₂）含量 ω_1 以质量分数表示，按式（2）计算：

$$\omega_1 = \frac{c \times (v - v_0) \times 117.15}{m \times 1000} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

式中：

C ——高氯酸标准滴定溶液浓度, 单位为摩尔每升, mol/L;

V ——滴定试样消耗高氯酸标准滴定溶液体积, 单位为毫升, mL;

V_0 ——空白试验消耗高氯酸标准滴定溶液体积, 单位为毫升, mL;

M ——试样质量, 单位为克, g;

117.15 ——缬氨酸摩尔质量, g/mol。

表五 电位滴定检测结果

产品代码	缬氨酸含量 (%)	平均含量 (%)	绝对相差 (%)
X1	100.10	100.33	0.46
	100.56		
X2	100.27	100.20	0.13
	100.14		
P1	100.71	100.76	0.11
	100.82		
P2	100.74	100.56	0.37
	100.37		
M1	99.84	99.78	0.13
	99.71		
M2	99.62	99.77	0.27
	99.89		
C1	99.90	100.08	0.37
	100.27		
C2	100.16	100.08	0.17
	99.99		

表六 同一批次重复六次检测结果

样品	1	2	3	4	5	6	平均含量	RSD
含量	100.0	100.0	99.9	99.8	100.0	99.5	99.9	0.20

根据以上实验数据, 四家企业每家两个批次产品, 缬氨酸含量检测结果在 98.0~

101.5 %范围内,两次平行测定结果绝对值之差不大于 0.5 %, 同一批次重复六次检测标准偏差不大于 0.2 %。

表七 高氯酸滴定检测结果

产品代码	缬氨酸含量 (%)	平均含量 (%)	绝对相差 (%)
X1	99.95	99.76	0.39
	99.56		
X2	99.72	99.49	0.46
	99.26		
P1	98.90	98.78	0.24
	98.66		
P2	99.12	99.20	0.16
	99.28		
M1	99.87	99.78	0.18
	99.69		
M2	99.39	99.55	0.32
	99.71		
C1	99.77	99.52	0.50
	99.27		
C2	98.96	99.16	0.40
	99.39		

表八 同一批次重复六次检测结果

样品	1	2	3	4	5	6	平均含量	RSD
含量	100.0	99.2	99.8	99.5	99.3	99.4	99.5	0.31

根据以上实验数据, 四家企业每家两个批次产品, 缬氨酸含量检测结果在 98.0~101.5 %范围内, 两次平行测定结果绝对值之差不大于 0.5%, 同一批次重复六次检测标准偏差不大于 0.31%。

3. 干燥失重的测定

按照 GB/T 6435-2014 饲料中水分的测定中 8.1 的规定执行，检测结果均不大于 0.3 %，见表九，参考药典和企标中的规定，该项指标定为 $\leq 1.0\%$ 。

表九 干燥失重测定结果

产品代码	干燥失重 (%)	平均值 (%)	绝对相差 (%)
X	0.03	0.05	0.04
	0.07		
P	0.13	0.16	0.07
	0.20		
M	0.25	0.25	0
	0.25		
C	0.09	0.10	0.01
	0.10		

4. 灼烧残渣的测定

按照 GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定方法，测定灼烧残渣指标，检测结果见表十。

表十 灼烧残渣测定结果

样品号	灼烧残渣含量 (%)	灼烧残渣平均含量 (%)	绝对相差 (%)
X	0.04	0.04	0.01
	0.03		
P	0.02	0.04	0.03
	0.05		
M	0.00	0.02	0.04
	0.04		
C	0.03	0.04	0.01
	0.04		

灼烧残渣检测结果均不大于 0.1%，参考文献和企标要求，在标准中规定灼烧残渣不大于 0.5%。

5. 比旋度的测定

同 1.3 比旋光度法。

6. pH 值的测定

称取试样 5.0 g, 加 100 mL 水溶解摇匀, 作为测试溶液, 用 pH 计测定试样溶液的 pH 值, 待数据稳定, 记录结果, 结果精确至 0.1, 见表十一。

表十一 pH 值测定结果

产品代码	pH
X1	5.55
	5.56
P2	5.97
	5.79
M3	5.24
	5.24
C4	5.02
	5.03

根据以上检测结果, 5%的缬氨酸水溶液 pH 值均在 4.0~7.0 范围内, 在标准中规定 pH 值为 4.0~7.0。

7. 砷的测定

准确称取试样 1 g(准确至 0.0002 g), 按照 GB/T 13079-2006 中 5 银盐法 5.4.1.3 干灰化法制备试液, 并按该标准规定的任一方法进行砷测定, 检测结果见表十二。

表十二 砷检测结果

产品代码	砷 (mg/kg)
X1	<0.04
	<0.04
P2	<0.04
	<0.04
M3	<0.04
	<0.04
C4	<0.04

	<0.04
--	-------

砷的测定结果均不大于 0.04 mg/kg，在标准中规定砷不大于 2.0 mg/kg。

8. 重金属的测定

按照标准文本中规定的测定重金属的检测方法,对收集到的企业产品做了重金属的测定，均不大于 10 mg/kg，重金属的检测结果见表十三。

表十三 重金属测定结果

生产企业	样品批号	重金属 (mg/kg)
企业一	1	<10
	2	<10
	3	<10
企业二	1	<10
	2	<10
	3	<10
企业三	1	<10
	2	<10
	3	<10
企业四	1	<10
	2	<10
	3	<10

参考各国药典及企标中的规定，将重金属指标规定为不大于 15 mg/kg。

9. 保质期

由于各生产企业产品保质期不同，因此标准中规定未开启包装的产品，在规定的运输、贮存条件下，产品保质期与标签中标明的保质期一致。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度

在标准中，各项技术指标的规定及主含量检测方法综合考虑食品化学法典、中国药典、美国药典、英国药典、欧洲药典及国内外企业质量标准的规定，干燥失重、灼烧残渣、比旋光度、pH 值、砷、重金属指标的检测方法参照现行国标方法检测，标准达到国内外同类标准水平。

五、与现行法律法规和强制性标准的关系

本标准的制定符合现行法律法规和强制性国家标准的要求。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

标准制定初期，收集调研国内外相关信息资料，组织主要生产企业技术专家对标准内容的制定，进行了详细研讨，形成统一制定方案。

七、标准作为强制性或推荐性的建议

饲料添加剂的安全直接关系到动物产品的安全性，关系到饲料工业的健康发展，对进一步规范饲料添加剂的生产、销售和使用具有重要意义，建议该标准作为强制性国家标准执行，建议标准第一章、第四章、第七章为强制性的，其余为推荐性的。

八、贯彻国家标准的要求和措施建议

本标准发布后，应及时组织宣贯培训及应用推广，关注收集标准实施后各方意见，有效指导饲料添加剂缬氨酸的生产，进一步提升饲料产品质量。

九、废止现行有关标准的建议

无现行标准。

十、其他应予说明的事项

农业部第 2045 号公告《饲料添加剂品种目录（2013）》中，规定缬氨酸为允许使用的氨基酸类饲料添加剂，缬氨酸（valine）化学名称为 2-氨基-3-甲基丁酸，属于支链氨基酸，目前用于动物饲料添加剂的缬氨酸产品全部为 L 型，L-缬氨酸（L-valine）是由微生物发酵产生的天然物质，可以被动物直接利用。而 D-缬氨酸（D-valine）是一种化工中间体，用作药物原料及药物中间体，还用于合成甜味剂阿拉坦。据欧盟官方公报消息，2019 年 7 月 31 日，欧盟委员会发布法规（EU）2019/1289 号条例，根据欧洲议会和理事会法规（EC）No 1831/2003，批准由谷氨酸棒杆菌 KCCM 11201P（*Corynebacterium glutamicum* KCCM 11201P）生产的 L-缬氨酸（L-valine）作为动物饲料添加剂用于所有动物物种。

实际做为饲料添加剂使用的是 L-缬氨酸，文献资料中也是规定 L-缬氨酸质量要求，因此建议标准名称变更为“饲料添加剂 L-缬氨酸”。

参考资料：美国食品化学法典（FCC）第 5 版、美国药典（USP）第 35 版、英国药典（BP）2012 版、欧洲药典、中国药典（CP）2015 版。