

中华人民共和国国家标准

《饲料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮的测定 高效液相色谱法》

编制说明

(征求意见稿)

山东省畜产品质量安全中心等

2024年1月

一、工作简况

1.1 任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2021 年第四批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发[2021] 41 号），本标准制订项目编号为 20214589-T-469，项目名称为《饲料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮的测定 高效液相色谱法》，项目承担单位为山东省畜产品质量安全中心和山东奔月生物科技股份有限公司。本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

1.2 标准制订背景

新甲基橙皮苷二氢查耳酮（Neohesperidin dihydrochalcone, NHDC），又名新橙皮苷二氢查耳酮，是一种高甜度、低热量的甜味剂，其甜度为蔗糖的 1500-1800 倍，是目前研究发现的最佳药用甜味剂和屏味剂。1994 年被欧盟批准作为食品甜味剂在食品行业中应用，在我国，2011 年新甲基橙皮苷二氢查耳酮作为一种食品用香料（合成香料）收录于 GB 2760《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》，2013 年作为饲料添加剂中的甜味物质收录于《饲料添加剂品种目录》（2013）。

新甲基橙皮苷二氢查耳酮属于黄酮类衍生物（维生素 P 类），通常认为是一种半合成的糖苷查耳酮，CAS 号为 20702-77-6，分子式为 $C_{28}H_{36}O_{15}$ 。常温下呈微黄色粉末状，无味，熔点 152-154 °C，不易溶于水，乙醚和苯，易溶于乙醇，也不易吸水至潮。化学结构见图 1。

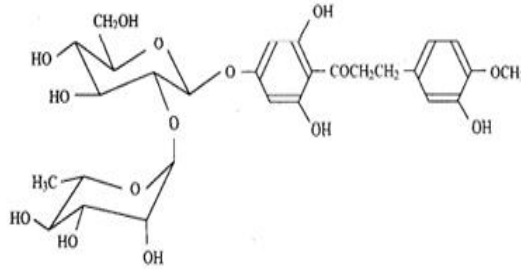


图 1 化学结构式

通常以新甲基橙皮苷为原料生产新甲基橙皮苷二氢查尔酮，首先在碱性条件下新甲基橙皮苷经开环得到新甲基橙皮苷查尔酮，再把钨碳催化氢化合成新甲基橙皮苷二氢查尔酮。由于新橙皮苷在天然植物中含量较低价格较高，因此通常将柚皮苷、橙皮苷转化为新橙皮苷再用于新甲基橙皮苷二氢查尔酮的制备。

新甲基橙皮苷二氢查尔酮作为甜味剂，多应用于饲料及食品行业。新橙皮苷二氢查尔酮作为甜味剂加入到饲料中，可使饲料口味超甜，能增大患猪食欲，明显促进其生长和降低每千克增重的饲料消耗。新橙皮苷二氢查尔酮与别的甜味剂复配使用时，尤其是与糖精复配时，能产生优良的协同作用，大大改善饲料的风味和适口性，掩盖和改善了日粮中某些成分带有的不良苦涩味，从而增进幼畜的食欲，促进生长。但是另一方面，新甲基橙皮苷二氢查尔酮长期大量使用，也会产生一定危害。欧盟规定新甲基橙皮苷二氢查尔酮作为一种食品成分，用作各种食品中的代糖产品，每日最大允许摄入量（ADI）为 5mg/kg。我国农业部第 2625 号公告《饲料添加剂安全使用规范》中明确规定其适用范围为猪，且在猪配合饲料中的最高限量不得超过 35 mg/kg。

新甲基橙皮苷二氢查尔酮的检测方法众多，不同样品中的检测方

法也存在差异,目前采用相对较多的是气相色谱法、高效液相色谱法和高效液相色谱-串联质谱法,除此之外还有毛细管区带电泳法、电化学传感法等。二氢查耳酮类物质的检测方法报道多见于食品方面,如饮料、白酒、调味品等,饲料领域研究甚少。目前尚无饲料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮检测方法的国家或行业标准,为杜绝新甲基橙皮苷二氢查耳酮超量超范围使用,加强饲料质量安全监管,亟需制定饲料中的检测方法标准。国内外有关新甲基橙皮苷二氢查耳酮含量测定方法标准见表 1。

表 1 国内外新甲基橙皮苷二氢查耳酮测定标准方法一览表

序号	标准编号	标准名称	检测方法
1	EUROPEAN PHARMACOPOEIA 9.0	Neohesperidin Dihydrochalcone	高效液相色谱法
2	GB29938-2020	食品安全国家标准 食品用香料通则	食品用合成香料,检测方法按 GB/T11539 或 GB/T11538 的规定。上述方法不适用的,按 GB/T27579 的规定
3	GB/T11538-2006	精油 毛细管柱气相色谱分析 通用法	气相色谱法
4	GB/T11539-2008	精油 填充柱气相色谱分析 通用法	气相色谱法
5	GB/T27579-2011	精油 高效液相色谱分析 通用法	高效液相色谱法
6	T/CAFFCI 38—2020	新甲基橙皮苷二氢查耳酮	高效液相色谱法

由表 1 可以看出,目前现有的检测标准中,欧洲药典采用了高效液相色谱法;食品安全国家标准中对于合成类香料的含量推荐使用气相色谱法或高效液相色谱法。根据新甲基橙皮苷二氢查耳酮的理化性质,新甲基橙皮苷二氢查耳酮是一种固态粉末香料,但由于沸点在 600℃以上,鉴于气相色谱方法的原理,采用该方法确实无法准确测

定其含量。因此，本标准建立了饲料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮测定的高效液相色谱方法，通过本次标准制订，旨在为饲料产品质量控制提供快速、准确、可靠的新甲基橙皮苷二氢查耳酮测定国家标准方法，促进我国饲料工业、畜牧业的高质量发展。

1.3 主要工作过程

1.3.1 成立标准编制小组

2022年1月，山东省畜产品质量安全中心、山东奔月生物科技股份有限公司接到国家标准制订任务后，成立了标准编制小组，落实了人员分工。

1.3.2 标准修订技术路线和方案制定

2022年初，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、饲料生产企业等新甲基橙皮苷二氢查耳酮检测仪器设备、标准方法采用情况，制定了标准制订内容和技术路线草案。2022年7月，山东省畜产品质量安全中心组织有关专家、主要起草人员召开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2）、分工、完成时限等。

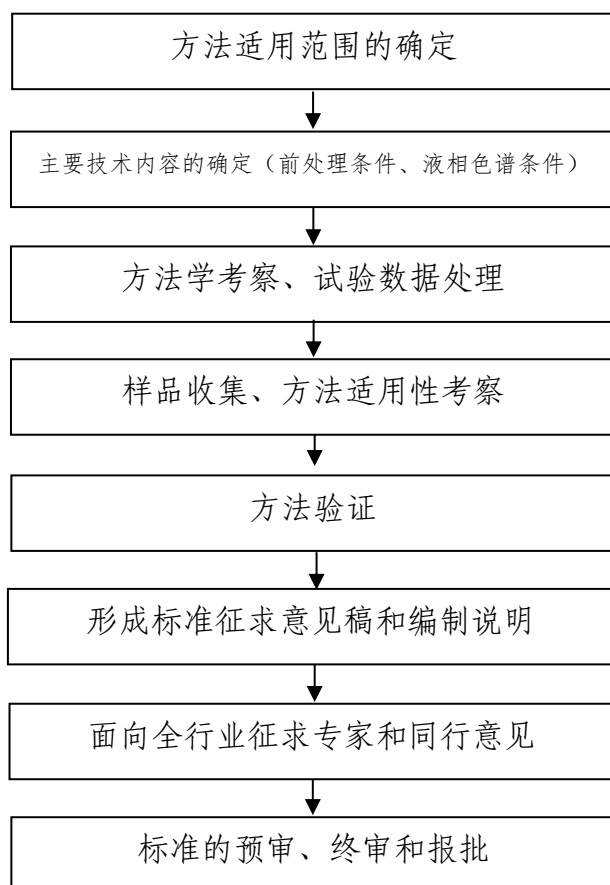


图 2 标准修订技术路线图

1.3.3 样品收集、方法学研究和实际样品检测

2022 年 8 月~2023 年 6 月，开展样品收集、方法学研究和实际样品检测。

1.3.4 编写编制说明和征求意见稿

2023 年 7 月~12 月，标准编制小组完成标准文本、编制说明定向征求意见稿编制工作。

1.3.5 定向征求意见和标准验证

2024 年 1 月~2 月，标准编制小组开展定向征求意见、3 家检测机构标准验证工作。

二、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

（一）标准编制原则

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》、GB/T 1.2—2020《标准化工作导则 第2部分：以 ISO/IEC 标准化文件为基础的标准化文件起草规则》、GB/T 20001.4—2015《标准编制规则 第4部分：试验方法标准》的规定和要求编写标准全文。查阅了国内外相关标准，结合现行标准实施情况，以保证标准的先进性和衔接性。

（二）标准主要技术内容确定的依据

1. 标准适用范围的说明

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料和精料补充料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮的测定。

2. 方法原理

用甲醇提取饲料中新甲基橙皮苷二氢查耳酮，提取液经 EMR 小柱与 PSA 固相萃取小柱净化后，高效液相色谱仪紫外检测器测定，外标法定量。

3. 方法主要参数及试验条件的确定

3.1 标准溶液保存期的确定

试验参照 GB/T 27404-2008 的要求，对新甲基橙皮苷二氢查耳酮和柚皮苷二氢查耳酮两种标准溶液的保存期进行了确认：

将 2023 年 2 月 2 日配制的浓度为 1 mg/mL 的储备液（置于 -18 °C 的冰箱中避光保存 6 个月后）与 2023 年 8 月 2 日配制的浓度为 1

mg/mL 的储备液，分别稀释成 20 µg/mL 进行测试，各重复测试 6 次，二者平均响应的相对偏差均小于 4%。因此，将此两种标准物质的储备液（1 mg/mL）在避光-18 °C 条件下保存的有效期定为 6 个月。

表 2 储备液（1 mg/mL）保存有效期实验

上机液名称	新甲基橙皮苷二氢查尔酮	柚皮苷二氢查尔酮
	平均峰面积	平均峰面积
2023 年 2 月 2 日配制的储备液稀释成的 20 µg/mL	329986	336355
2023 年 8 月 2 日配制的储备液稀释成的 20 µg/mL	338041	347241
两次结果相对偏差%	2.4	3.2

2023 年 8 月 2 日，将当日配制的浓度为 1 mg/mL 的 2 种储备液稀释配制成浓度为 20 µg/mL 的混合标准中间液，置于-18 °C 的冰箱中避光保存 2 个周。2023 年 8 月 16 日，将其与当日重新从 2 种储备液（2023 年 8 月 2 日配置）稀释配制成的浓度为 20 µg/mL 的混合标准溶液，一起上机测试，各重复 6 次，二者平均响应无显著性差异。因此，将 2 种化合物的混合标准中间液（20 µg/mL）在避光-18 °C 条件下保存的有效期定为 2 周。

表 3 中间液（20µg/mL）保存有效期试验

上机液名称	新甲基橙皮苷二氢查尔酮	柚皮苷二氢查尔酮
	平均峰面积	平均峰面积
2023 年 8 月 02 日配制的中间液 20µg/mL	326643	336412
2023 年 8 月 16 日配制的中间液 20µg/mL	331364	344161
两次结果相对标准差%	1.4	2.3

3.2 仪器条件的确定

3.2.1 紫外检测波长的确定

将两种标准物质配制成浓度为 10 mg/L 的标准溶液，使用二极管阵列检测器在 190-800 nm 范围内采集三维光谱图，比较明显的两个吸收峰为 200nm 和 282nm 左右。因为低波长区域干扰较大，排除低波长区域后，新甲基橙皮苷二氢查尔酮最大紫外吸收为 282 nm，柚皮苷二氢查尔酮最大紫外吸收为 281 nm，因此将两种物质的紫外检测波长确定为 281nm。

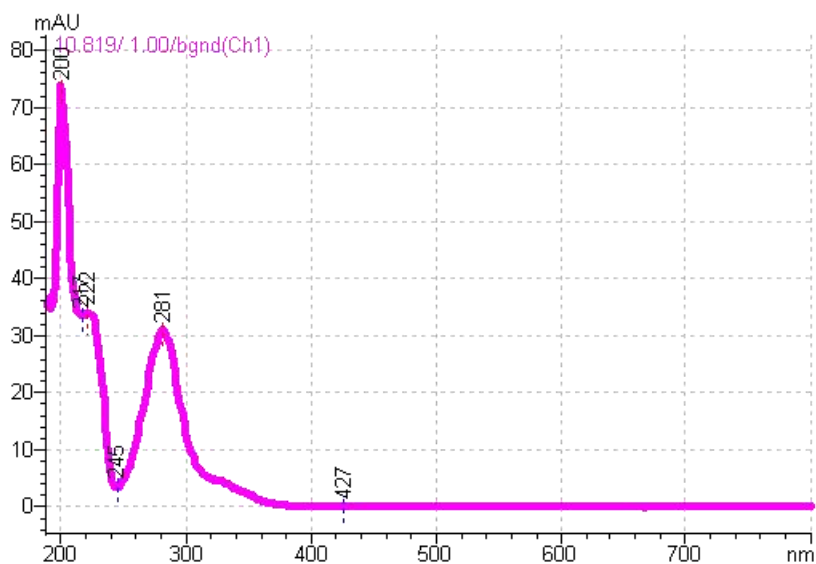


图3 新甲基橙皮苷二氢查尔酮的紫外吸收光谱图

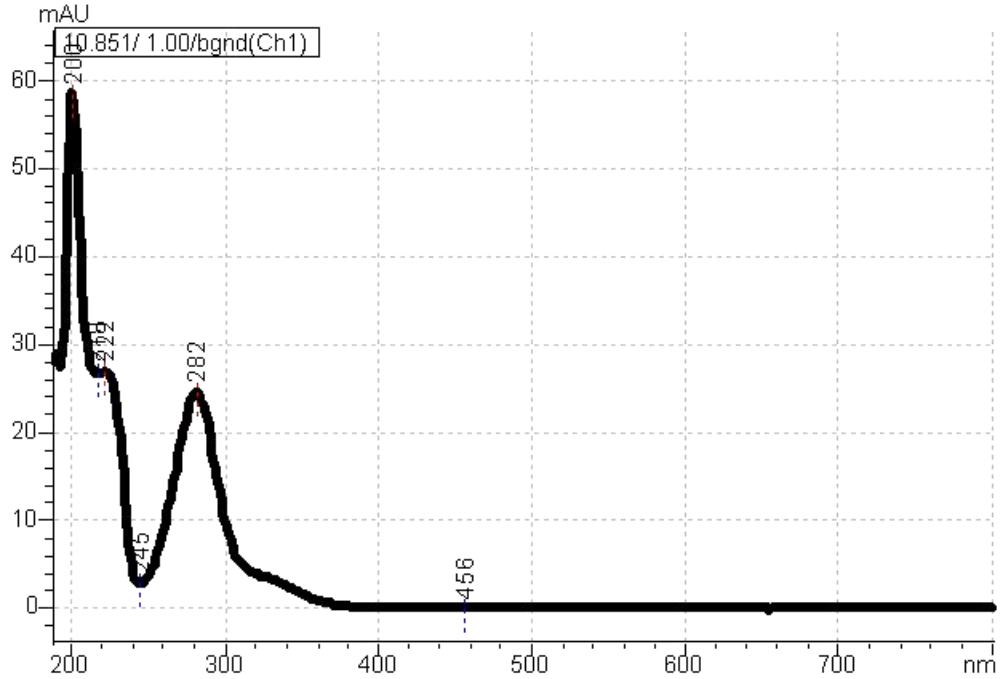


图 4 柚皮苷二氢查尔酮的紫外吸收光谱图

3.2.2 液相条件的优化

实验发现，使用普通的 C₁₈ 色谱柱分析此两种化合物，就可以获得满意的保留度与分离度，因此本方法使用 C₁₈ 色谱柱作为固定相。根据反相色谱液相常用的流动相和标准物质本身的性质，考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.2%乙酸、甲醇-0.2%磷酸四种流动相，发现四种流动相对物质的响应与分离度没有绝对的差异，从经济环保的角度，选择甲醇-水的流动相体系。

梯度洗脱与等度洗脱相比，可以使目标物获得更好的分离度并有效减少分析时间，因此本方法采用了梯度洗脱。

具体色谱条件如下：

- a) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6mm，5 μm），或相当者；
- b) 流动相：A：甲醇，B：水，梯度洗脱条件见表4；
- c) 流速：1.0 mL/min；

- d) 柱温: 40 °C ;
- e) 进样量: 10 μL。
- f) 紫外检测波长: 281 nm。

表 4 梯度洗脱程序表

时间 (min)	A %	B %
0.00	40	60
0.50	40	60
12.00	60	40
12.50	95	5
15.00	95	5
15.50	40	60
23.00	40	60

在上述确定的液相色谱条件下，两种标准溶液的色谱参见图 5。

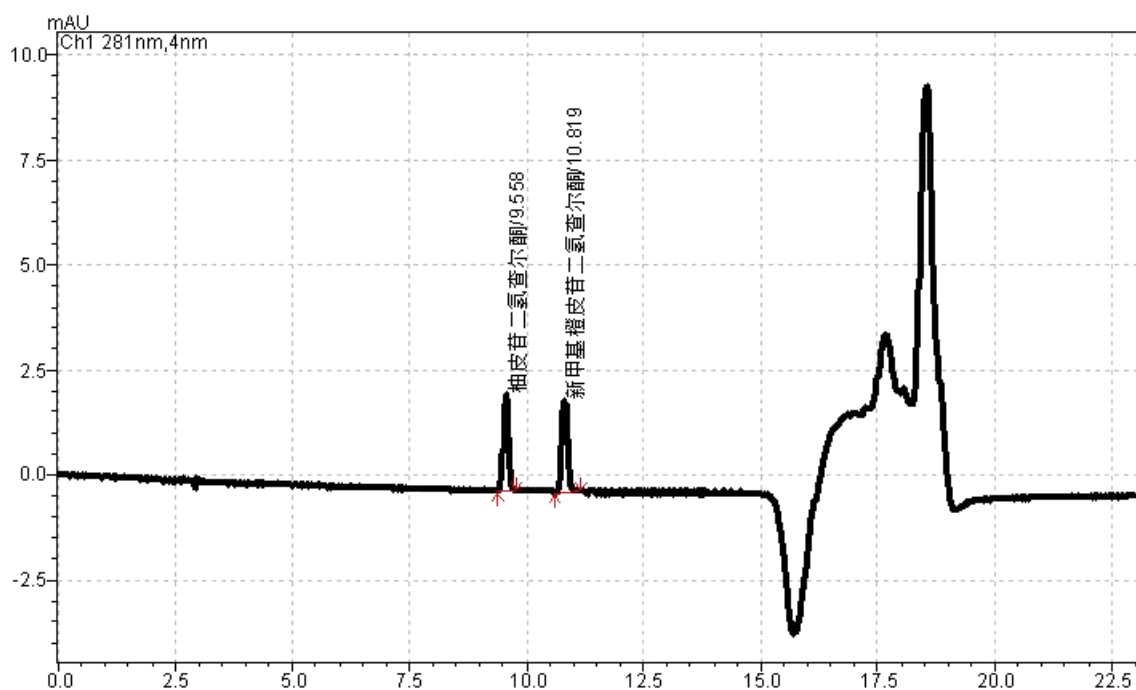


图 5 新甲基橙皮苷二氢查尔酮与柚皮苷二氢查尔酮色谱图 (1 μg/mL)

3.3 样品前处理方法的确定

3.3.1 制备与保存

按GB/T 20195 制备试样。取样品至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm孔径的分析筛充分混匀,装入密闭容器中,备用。

3.3.2 提取条件的确定

3.3.2.1 提取试剂的选择

查阅相关文献得知，此两种化合物不溶于水、酸水、碱水、乙醚等物质，易溶于甲醇、丙酮、二甲基亚砜等溶剂。二甲基亚砜粘度较大且沸点较高，难以浓缩，因此主要考察的提取试剂为甲醇、丙酮以及性质相近的乙腈三种试剂。

在三组饲料样品（各 2 g）中添加 30 mg/kg 标准物质，用三种试剂各 20 mL 分别超声提取 10 min，提取液直接过膜上机测试，计算提取效率，所得数据如下：

表 5 三种试剂提取效率

甲醇	乙腈	丙酮
95	42	66

虽然乙腈提取的样液，较甲醇和丙酮提取的样液杂质更少，但是乙腈的提取效率远低于甲醇。丙酮提取效率远低于甲醇，且提取的杂质更多。因此，将提取试剂确定为甲醇。

3.3.2.2 提取方式的选择

常用的提取方式有振荡提取，超声提取，均质提取，经验证，三种提取方式均能获得较好的提取效率，但是考虑到均质提取的操作较为复杂，振荡提取可能会存在撒漏的情况，本试验采用超声提取的方

式，同时为了防止长时间超声饲料样品会在离心管底部沉积，所以超声过程中应对离心管不时振摇。

3.3.2.3 提取次数的选择

在 2.00 g 空白样品中添加 100 mg/kg 的标液，混匀，加入 20 mL 甲醇，超声提取 20 min，离心取出上清液，标记为“第一次提取”。再往残渣中加入 20 mL 甲醇，振荡提取 20 min，离心取出上清液，标记为“第二次提取”。残渣中再加入 20 mL 甲醇，振荡提取 20 min，离心取出上清液，标记为“第三次提取”。三次提取液均过膜净化，上机检测，每次提取的回收率见表 6。

表 6 分次提取的回收率

提取次数	新甲基橙皮苷二氢查尔酮	柚皮苷二氢查尔酮
	回收率%	回收率%
第一次提取	95.37	95.02
第二次提取	4.22	4.55
第三次提取	低于检出限	低于检出限

从表 6 中可以看出，20 mL 甲醇提取一次已基本能将基质中的目标物提取完全，因此，最终确定为用甲醇 20 mL 提取一次。

3.3.2.4 净化方式的选择

通常饲料基质提取液都比较复杂，需要的净化程度比较大。样品净化常见的方式有液液分配，固相萃取柱净化等。本试验采用的提取试剂是甲醇，常见试剂中，甲醇仅与环己烷、环戊烷等不完全互溶，试验发现，这两种试剂与甲醇液液分配净化的效果非常有限，因此主要考虑用 SPE 净化的手段。

饲料样品中需要净化的杂质主要是油脂、蛋白质等，同时考虑到这两种化合物的性质，本次试验主要考察了 EMR、HLB、PSA、C₁₈ 四种净化小柱。仅使用标准溶液做添加试验验证回收率时，四种小柱的回收率均能满足要求，但是加上饲料基质，这四种小柱均不能完全去除杂质的干扰。这四种小柱中，HLB 与 C₁₈ 两种小柱的净化机理与液相上采用的 C₁₈ 色谱柱很相似，在液相色谱柱上有干扰的物质，用这两种小柱也很难净化掉。EMR 与 PSA 对于脂肪和蛋白均有很好的净化效果，但是实验时发现，单独使用一种柱子，很难满足复杂样品的净化需求，因此，本试验采用 EMR 加 PSA 两种小柱结合的净化方式。

EMR柱的使用要求是样液中至少含有20%水，但是水对于PSA柱来说是强洗脱剂且较难旋干（或者吹干），因此样液中不考虑添加水分。先用50%甲醇水活化EMR舒展基团，略微抽真空后将甲醇样液上柱，接收流出液全部旋干（或者吹干）去除所有水分，再用50%甲醇丙酮复溶过PSA净化。对于PSA柱，50%甲醇丙酮上柱目标物不会在柱子上有保留，但是复溶的甲醇丙酮溶液中甲醇比例过低，会存在不能完全溶解目标物的情况，且50%上柱直接接收的净化效果也可以满足试验需求，因此，本试验中PSA柱不做富集的目的使用。

3.3.2.5 定容试剂的选择

根据化合物的易溶于甲醇不易溶于水的性质，选择甲醇定容，但是使用纯甲醇定容，由于溶剂效应，峰前沿非常严重，加入10%的水就可以有效去除溶剂效应，因此，定容试剂选择90%甲醇溶液。

3.4 方法学验证

3.4.1 方法检出限与定量限

方法的定量限是指在保证具有一定可靠性（准确度和精密度）的前提下，分析方法能准确测定出的样品中药物的最低浓度，通常方法检测限信噪比 ≥ 3 ，定量限信噪比 ≥ 10 。

选取配合饲料、精料补充料、浓缩饲料、预混料四种空白饲料样品，添加标准溶液 0.5 mg/kg，按建立的方法处理样品，经液相色谱仪测得信噪比均大于 3；添加标准溶液 1.0 mg/kg，按建立的方法处理样品，经液相色谱仪测得信噪比均大于 10。最终确定本方法的检出限为 0.5 mg/kg，定量限为 1.0 mg/kg。配合料空白样品、配合料定量限浓度添加样品（1.0 mg/kg）的色谱图分别见图 6 和图 7。

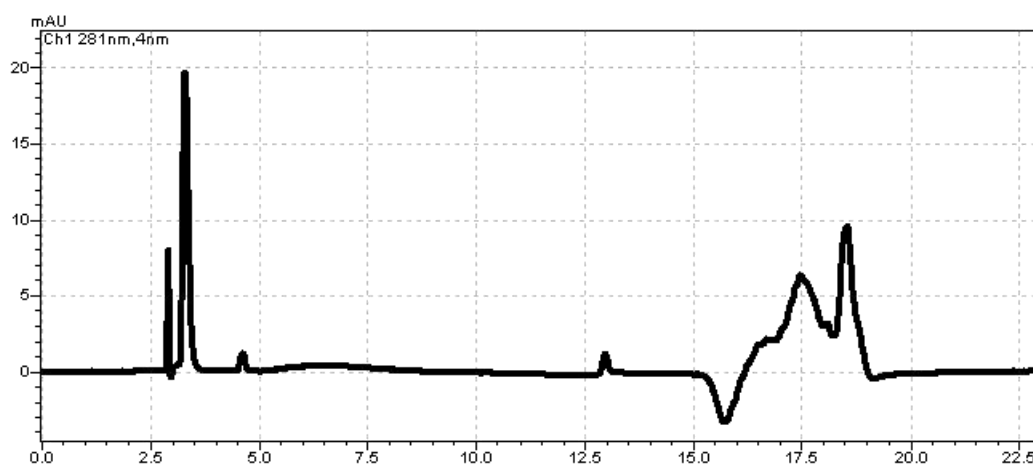


图 6 配合料空白样品色谱图

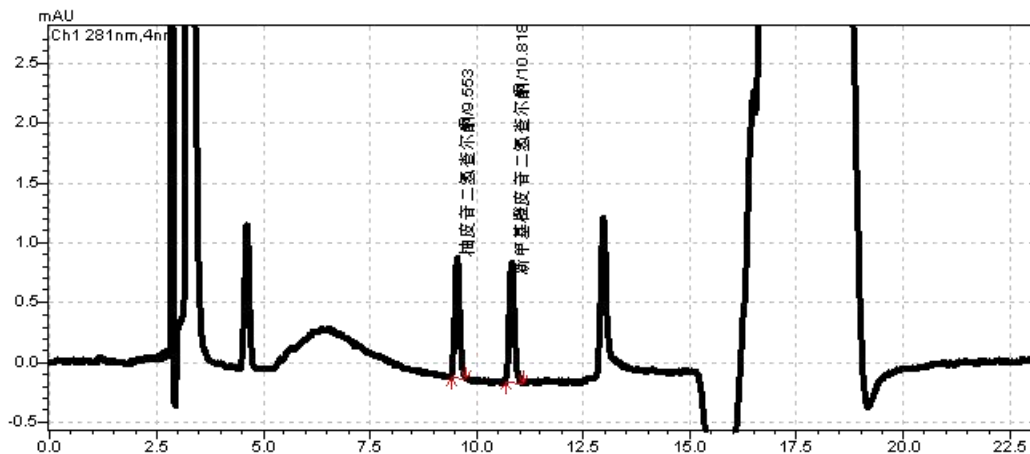


图 7 配合料定量限浓度添加样品 (1.0 mg/kg) 色谱图

3.4.2 方法的线性范围

配制混合标准工作曲线溶液，使两种物质的浓度均为 0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L，色谱峰面积为纵坐标，标准溶液的浓度为横坐标绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。两种化合物在 0.2 mg/L ~ 20.0 mg/L 的浓度范围内呈良好的线性关系。标准曲线方程和线性相关系数见表 7,标准曲线见图 8 和图 9。

表7 线性范围

目标物	线性范围/mg/L	标准曲线方程	相关系数 R ²
柚皮苷二氢查尔酮	0.0~20.0	Y=17051.7X	0.9991
新甲基橙皮苷二氢查尔酮	0.0~20.0	Y=16661X	0.9996

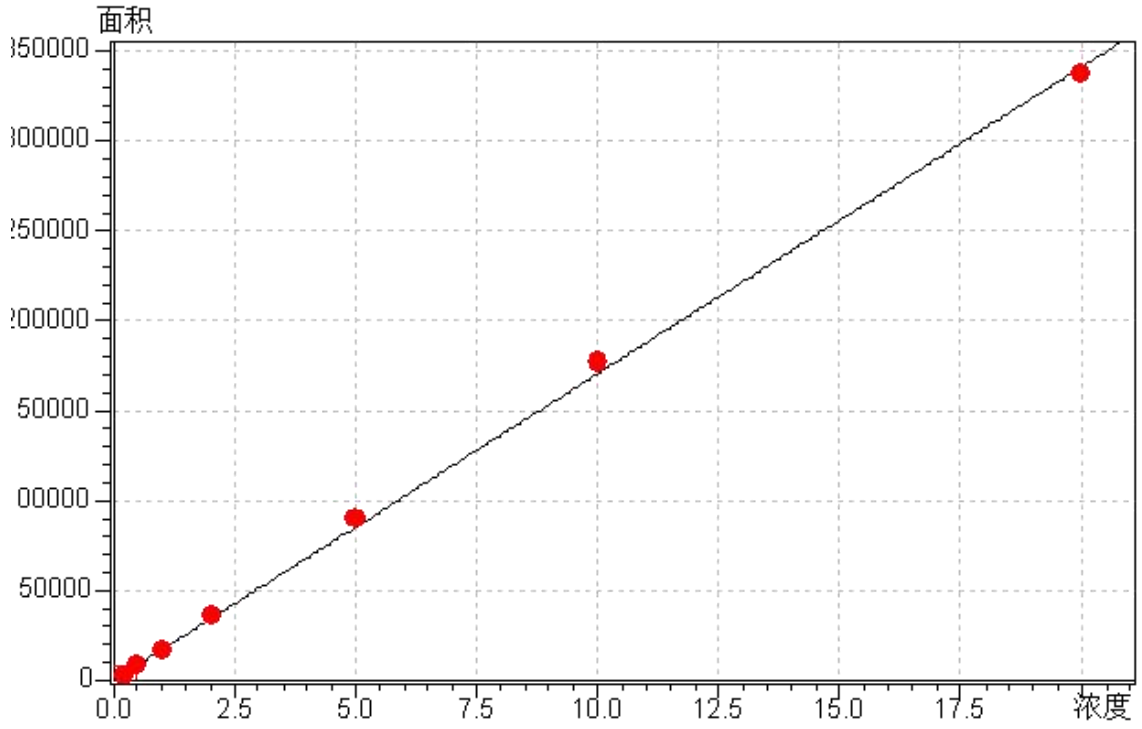


图 8 柚皮苷二氢查尔酮标准曲线

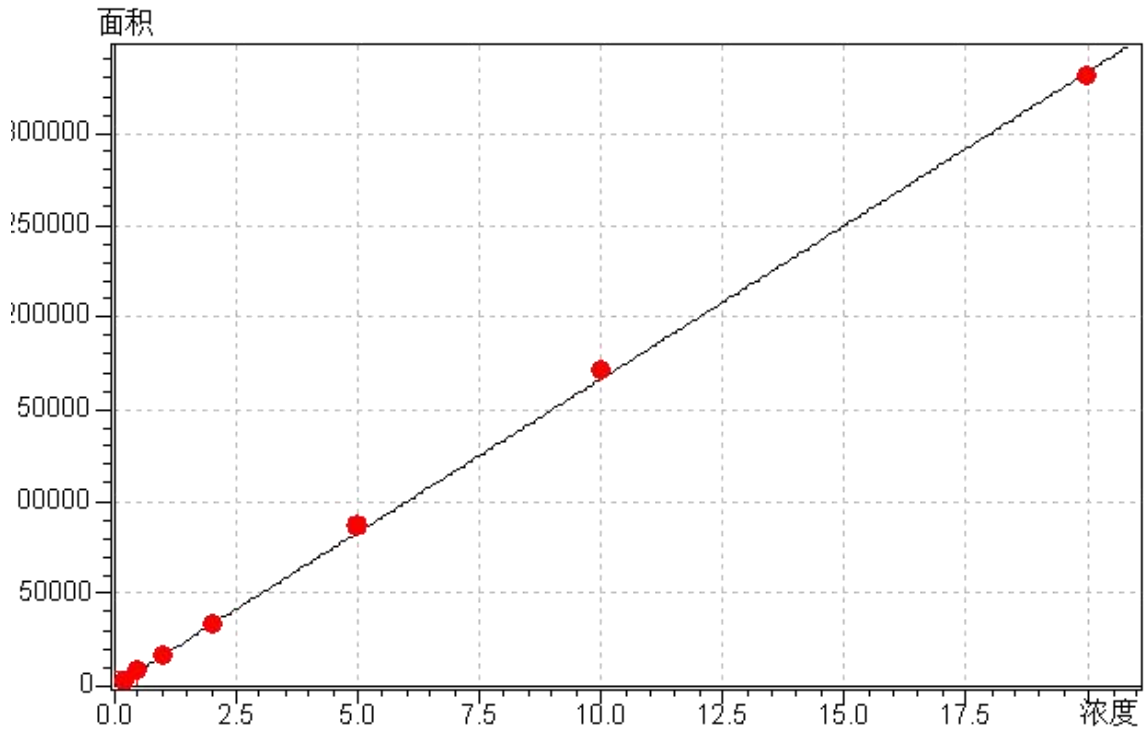


图 9 新甲基橙皮苷二氢查尔酮标准曲线

3.4.3 基质效应实验

饲料样本中某些干扰物可能对目标物存在基质效应，因此，需要评估基质对目标物测定的影响。以空白基质中标准物质的峰面积(A)和溶剂中标准物质的峰面积(B)的比值考察基质效应，基质效应(matrix effect, ME)被定义为 A/B，若 ME 在 0.80 至 1.20 范围内，表明基质效应不明显，否则存在基质抑制效应或增强效应。

本实验考察了相同浓度下不同饲料基质对新甲基橙皮苷二氢查尔酮和柚皮苷二氢查尔酮的基质效应，ME 值约等于 1，表明基质对目标化合物响应的影响可以忽略。

3.4.4 方法回收率和精密度

配合饲料、精料补充料、浓缩饲料、预混料四种空白饲料样品，分别制成添加水平为 1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、10.0 mg/kg、30.0 mg/kg 的 4 组样品，每个浓度水平平行测定 10 个，进行 3 批次实验，计算方法回收率和精密度。方法回收率与精密度数据见表 8。由表中可见，在两种化合物添加量为 1.0~30.0 mg/kg 时，回收率为 80%~110%，批内和批间 RSD 均小于 10%，具体数据见表 8。

表 8 新甲基橙皮苷二氢查尔酮项目回收率及精密度试验结果

基质	添加 浓度 μg/kg	批次	回收率%										批内数据		批间数据	
													平均 回收 率	RSD	平均 回收 率	RSD
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	%	n=10, %	%	n=30, %
中猪配合饲料	1	1	82.5	94.9	83.6	88.1	93.8	96.1	93.8	83.6	94.9	90.4	90.2	5.90	89.3	5.6
		2	90.4	84.8	88.1	84.8	87.0	89.3	84.8	97.2	89.3	85.9	88.1	4.32		
		3	83.6	88.1	96.1	83.6	84.8	97.2	98.3	92.7	84.8	85.9	89.5	6.65		
	2	1	88.1	92.7	88.1	89.3	98.3	94.9	87.0	91.5	98.3	84.8	91.3	5.15	90.0	5.0
		2	83.6	90.4	88.1	88.1	85.9	88.1	91.5	96.1	99.4	85.9	89.7	5.42		
		3	85.9	93.8	94.9	91.5	83.6	84.8	89.3	92.7	85.9	88.1	89.0	4.51		
	10	1	82.5	91.5	89.3	94.9	94.9	92.7	84.8	94.9	96.1	89.3	91.1	5.07	90.8	5.3
		2	94.9	94.9	99.4	91.5	90.4	90.4	88.1	85.9	88.1	99.4	92.3	5.10		
		3	94.9	96.1	84.8	87.0	89.3	87.0	83.6	94.9	90.4	82.5	89.0	5.54		
	30	1	90.4	82.5	84.8	91.5	94.9	94.9	87.0	88.1	88.1	98.3	90.1	5.49	90.6	4.7
		2	93.8	89.3	92.7	92.7	94.9	83.6	99.4	85.9	85.9	88.1	90.6	5.41		
		3	91.5	93.8	89.3	98.3	88.1	90.4	91.5	92.7	89.3	87.0	91.2	3.56		
小猪复合 预混料	1	1	92.7	91.5	90.4	83.6	83.6	91.5	93.8	94.9	89.3	99.4	91.1	5.30	90.9	5.6
		2	84.8	98.3	93.8	83.6	90.4	90.4	89.3	93.8	87.0	99.4	91.1	5.83		
		3	84.8	85.9	93.8	91.5	87.0	85.9	99.4	99.4	91.5	84.8	90.4	6.32		
	2	1	89.3	97.2	90.4	89.3	90.4	82.5	99.4	85.9	99.4	99.4	92.3	6.66	91.4	5.4
		2	89.3	91.5	88.1	89.3	99.4	83.6	91.5	97.2	89.3	94.9	91.4	5.09		

	10	3	87.0	85.9	89.3	91.5	91.5	98.3	91.5	85.9	88.1	94.9	90.4	4.45	91.4	5.1	
		1	96.1	93.8	84.8	92.7	84.8	90.4	97.2	98.3	94.9	84.8	91.8	5.80			
		2	90.4	91.5	87.0	94.9	92.7	88.1	99.4	99.4	88.1	85.9	91.8	5.31			
	30	3	94.9	89.3	90.4	92.7	87.0	85.9	92.7	97.2	92.7	84.8	90.7	4.43	90.8	5.6	
		1	88.1	96.1	92.7	97.2	96.1	88.1	96.1	92.7	98.3	84.8	93.0	4.93			
		2	82.5	91.5	97.2	94.9	87.0	96.1	92.7	88.1	87.0	96.1	91.3	5.40			
	乳猪浓缩料	1	3	98.3	92.7	83.6	85.9	83.6	84.8	85.9	91.5	90.4	84.8	88.1	5.54	91.3	6.0
			1	99.4	84.8	91.5	83.6	84.8	85.9	92.7	85.9	87.0	99.4	89.5	6.70		
			2	97.2	87.0	96.1	98.3	93.8	82.5	99.4	91.5	83.6	85.9	91.5	6.94		
2		3	96.1	99.4	92.7	88.1	94.9	93.8	91.5	89.3	88.1	93.8	92.8	3.91	90.5	6.1	
		1	96.1	92.7	97.2	83.6	96.1	96.1	84.8	92.7	91.5	83.6	91.4	5.96			
		2	83.6	96.1	84.8	87.0	90.4	82.5	82.5	93.8	96.1	82.5	87.9	6.46			
10		3	99.4	93.8	83.6	92.7	91.5	96.1	89.3	98.3	90.4	85.9	92.1	5.53	91.9	4.2	
		1	96.1	88.1	91.5	90.4	96.1	90.4	88.1	94.9	85.9	96.1	91.8	4.14			
		2	84.8	84.8	93.8	94.9	88.1	91.5	91.5	90.4	89.3	98.3	90.7	4.73			
30		3	96.1	90.4	97.2	96.1	91.5	90.4	94.9	90.4	87.0	97.2	93.1	3.85	91.3	5.6	
		1	97.2	97.2	93.8	91.5	99.4	92.7	88.1	93.8	83.6	91.5	92.9	4.99			
		2	82.5	85.9	92.7	83.6	99.4	88.1	91.5	85.9	89.3	98.3	89.7	6.45			
肉牛精料 补充料	1	3	90.4	88.1	93.8	90.4	83.6	98.3	91.5	99.4	90.4	88.1	91.4	5.19	88.6	5.2	
		1	82.5	97.2	85.9	83.6	83.6	90.4	85.9	82.5	91.5	94.9	87.8	6.10			
		2	92.7	87.0	89.3	98.3	90.4	97.2	89.3	83.6	84.8	89.3	90.2	5.31			
	2	3	82.5	84.8	85.9	93.8	93.8	85.9	90.4	87.0	87.0	87.0	87.8	4.25	90.3	6.0	
		1	83.6	89.3	91.5	82.5	99.4	98.3	96.1	97.2	92.7	93.8	92.4	6.33			
		2	85.9	89.3	83.6	89.3	96.1	88.1	90.4	94.9	84.8	90.4	89.3	4.51			

	3	97.2	88.1	85.9	85.9	82.5	83.6	83.6	92.7	94.9	98.3	89.3	6.70		
10	1	94.9	93.8	83.6	84.8	93.8	98.3	99.4	82.5	94.9	90.4	91.6	6.64	90.6	6.3
	2	99.4	87.0	98.3	99.4	90.4	83.6	93.8	94.9	82.5	91.5	92.1	6.78		
	3	82.5	88.1	88.1	83.6	88.1	98.3	87.0	87.0	91.5	85.9	88.0	5.01		
30	1	98.3	83.6	85.9	83.6	93.8	88.1	87.0	84.8	84.8	83.6	87.3	5.66	89.6	6.3
	2	83.6	89.3	89.3	92.7	99.4	97.2	89.3	98.3	90.4	82.5	91.2	6.35		
	3	98.3	88.1	82.5	88.1	93.8	88.1	87.0	99.4	94.9	83.6	90.4	6.51		

三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

2024年1月，标准编制小组委托xx三家单位完成本标准的复核验证工作。经试验验证，采用《饲料中新甲基橙皮苷二氢查尔酮的测定 高效液相色谱法》规定的方法测定饲料中新甲基橙皮苷二氢查尔酮方法重复性好，精密度符合标准要求，能满足配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料中新甲基橙皮苷二氢查尔酮的测定。

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

与国际、国外同类标准技术内容的对比详见表9。

表9 与国外同类标准技术内容对比

No.	标准号	标准名称	检测方法
1	EUROPEAN PHARMACOPOEIA 9.0 (欧洲药典)	Neohesperidin Dihydrochalcone	高效液相色谱法
2	本标准	饲料中新甲基橙皮苷 二氢查尔酮	高效液相色谱法

五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准无。

六、与有关法律、法规的关系

本标准的制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章等、严格执行国家强制性标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策

以及有关基础和强制性标准不矛盾。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

2024年1月~2月，本标准定向征求意见发函单位 个，回函单位 个，未回函单位 个；提出意见单位 个，无意见单位 个。共提出意见 条；采纳 条，部分采纳或不采纳 条。

本标准无重大分歧意见。

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、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个月的过渡期，过渡6个月后实施。

十、其他应当说明的事项

无。