

**T/ CVDA**

**团体标准**

T/ CVDA XXXXX—XXXX

# 宠物食品蛋白质体内消化率的测定方法

Method for determining the in vivo digestibility of protein in pet food

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽药协会 发布



# 目 录

前 言 .....	2
1 范围 .....	3
2 规范性引用文件 .....	3
3 术语和定义 .....	3
3.1 宠物 .....	3
3.2 宠物食品 .....	4
3.3 消化率 .....	4
3.4 蛋白质消化率 .....	4
4 原理 .....	4
4.1 试食宠物要求 .....	4
4.2 测试条件要求 .....	4
5 试验设计 .....	5
6 分析测试项目 .....	5
6.1 试食宠物的体重和采食量 .....	5
6.2 粪便收集 .....	5
6.3 粪便状态 .....	5
6.4 氨基酸含量测定 .....	6
7 蛋白质体内消化率的计算 .....	6
8 数据处理与结果判定 .....	7
8.1 数据处理 .....	7
8.2 结果判定 .....	7
9 实验报告 .....	7
参考文献 .....	8

## 前 言

本文件按照 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》的规定起草。

请注意本文件的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。

本文件由中国兽药协会提出并归口管理。

本文件起草单位：上海宠幸宠物用品有限公司、卫仕营养科学研究院（江苏）有限公司、江苏大学。

本文件主要起草人：马海乐、段玉清、郭丽娜、李云亮、刘淑琴、王禹程、栾艺、。

## 1 范围

本标准规定宠物蛋白质体内消化率的术语和定义,并规范宠物蛋白质体内消化率测定的方法和程序,包括受试样品及处理要求、试食宠物要求、实验设计(组别和受试样品给予)、分析测试项目和试验方法、数据处理与结果判定及实验报告。

本标准适用于宠物对各种饲料原料、添加剂、宠物饲料(宠物食品)、宠物保健品和宠物营养补充剂中蛋白质体内消化率的测定。

本标准适用的宠物品种为犬、猫为主的伴侣动物。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T6682分析实验室用水规格和试验方法

GB14925实验动物环境及设施

GB19489实验室生物安全通用要求

GB/T27476.1检测实验室安全第1部分:总则

GB/T31190实验室废弃化学品收集技术规范

GB/T 35507生化用试剂测定通则 ←

GB/T 35823实验动物 动物实验通用要求 ←

GB/T 35892实验动物 福利伦理审查指南 ↔

SN/T 3509实验室样品管理指南

SN/T 3592实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南

SN/T 4835实验室生物废弃物管理要求

GB2760食品安全国家标准食品添加剂使用标准

GB13432预包装特殊膳食用食品标签通则

GB16740保健(功能)食品通用标准 ←

GB26687食品安全国家标准复配食品添加剂通则

GB28050食品安全国家标准预包装食品营养标签通则

GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差。 ←

GB/T 5009.124 食品中氨基酸的测定

GB/T 14924.10 实验动物配合饲料氨基酸的测定 色氨酸的测定 荧光分光光度法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 宠物 pet

通常指被人类喂养或管领,以陪伴人类生活的动物,成为人们的伙伴和家庭成员。宠物的种类多种多样,目前主要以犬、猫为主。养宠物的目的是为了给予主人情感上的陪伴和寄托。

### 3.2 宠物食品 pet food

指经工业化加工、制作的供宠物直接食用的产品，包括宠物配合饲料、宠物添加剂预混饲料和其他宠物饲料。专为宠物设计和制造的食品，以满足它们的营养需求和维持健康生活。这类食品通常包括以犬、猫为主的各类宠物所需的营养成分，如蛋白质、碳水化合物、脂肪、维生素和矿物质等。

### 3.3 消化率 digestibility

指饲料中被动物消化吸收的营养物质占食入营养物质的百分比。反映食物在消化道内被分解和吸收程度的一项指标，是评价食物蛋白质营养价值的生物学方法之一。

### 3.4 蛋白质消化率 protein digestibility

在消化道内被吸收的蛋白质占摄入蛋白质的百分数。是反映食物蛋白质在消化道内被分解和吸收程度的一项指标。

## 4 原理

通过测定宠物摄入的宠物食品、宠物保健品和宠物补充营养剂中各种氨基酸的含量以及其在粪便中的含量变化，计算得到该宠物产品中蛋白质的体内消化率。

### 4.1 试食宠物要求

所有评价实验应进行动物伦理审查，参照GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南进行。根据受试样品所需判定功能的要求选择适用的试验宠物。试食宠物应该按照品种遗传背景相同、年龄体重相近的一致性原则。试验前对试验宠物进行常规的免疫、驱虫处理。受试宠物应当符合纳入标准和排除标准要求，以排除可能干扰试验目的的各种因素。

#### 4.1.1 纳入标准

试食宠物无拒绝采食饮水现象，对环境适应能力强；对人没有强烈的攻击性和应激反应，能在日常接触中逐渐与人亲近，可以接受日常的测试和体检工作；无寄生虫感染、无烈性传染病及微生物感染情况。

#### 4.1.2 排除标准

同时参加其他临床研究的宠物；患有严重疾病的宠物；由于身体原因不能遵照试验要求；由于医学原因不能达到评估时间内禁食或禁饮要求；处于发情期、妊娠期、哺乳期内、月经期内的雌性犬猫，手术恢复期的犬猫。

### 4.2 测试条件要求

#### 4.2.1 测试环境要求

测试环境标准化，无噪音或无关人员干扰。

#### 4.2.2 测试样品要求

测试器皿的颜色和材质一致；对测试样品检查并编号；测试样品严格控制变量，保持单因素变量。

#### 4.2.3 测试人员要求

测试人员专业化，由同一人负责，或者多人流动严格按照测试说明参与测试并记录，测试员需戴手套注意消毒；要适当与试食宠物保持距离，避免分散试食宠物的注意力，影响测试结果；测试途中某只动物出现严重异常情况，及时处理，根据医生意见决定该动物是否继续进行测试，若动物集体出现异常，及时停止测试。

## 5 试验设计

分别选取6只品种相同、体重接近、雌雄不限且健康的成年犬、猫作为试验动物。在试验前，所有犬猫均按照正常的免疫接种程序进行预防接种。采用全封闭单独饲养方式，饲养环境维持在26~28℃的温度范围内，日夜交替，自然通风，全程自由采食和饮水。定期对饲养环境进行卫生打扫。试验分为预饲期（7天）和正式期（不少于5天）。在预饲期内，将主粮逐渐替换成待测饲料，猫每次早晚各喂30 g，犬每次早晚各喂30 g。在正式试验期内，对试受宠物进行观察，并记录相关指标。

## 6 分析测试项目

### 6.1 试食宠物的体重和采食量

试验期内记录每只宠物的总进食量，并对试食宠物的体重进行监测。

### 6.2 粪便收集

在正式试验期内，每天定时收集每只试食宠物的全部粪便，并记录其重量。随后，将新鲜的粪便样本密封，并置于冰箱中进行冷冻保存。在试验期结束后，将全部粪便烘干后，称重，粉碎，以供进一步相关指标的测试。

### 6.3 粪便评分

试验期间，每天观察试食宠物粪便情况，并对粪便进行评分，评分标准见表1。

表1 猫粪便评分表

评分	评分说明
1	“子弹样”，轻微施加压力就破碎
1.5	坚硬且干，施加压力时破碎
2	成型，捡起时不会留下痕迹
2.5	成型，表面轻度潮湿，捡起时会留下痕迹
3	潮湿，软，捡起时会留下显著痕迹
3.5	非常潮湿，仍有大致的形状
4	几乎已经不成型
4.5	液态的粪便，但仍有些黏稠性
5	完全的液态粪便

粪便的软便率和腹泻率分别按以下公式计算：

$$\text{软便率}(\%) = \frac{\text{软便次数}}{\text{阶段试验总次数}} \times 100$$

$$\text{腹泻率}(\%) = \frac{\text{腹泻次数}}{\text{阶段试验总次数}} \times 100$$

## 6.4 氨基酸含量测定

### 6.4.1 17种氨基酸的测定

受试宠物摄入试验样品及粪便中的天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸和半胱氨酸17种氨基酸的含量按 GB/T 5009.124 中相关规定执行。

### 6.4.2 色氨酸的测定

受试宠物摄入试验样品及粪便中色氨酸的测定按GB/T 14924.10中配合饲料中色氨酸测定第二法荧光分光光度法相关规定执行。

### 6.4.3 谷氨酰胺和天冬酰胺的测定

6.4.3.1 原理：谷氨酰胺和天冬酰胺可与碘苯 [二（三氟乙酰氧基）碘，BTI] 发生反应生成 L-2,4-二氨基酸（DABA），使短肽中非氮端的谷氨酰胺和天冬酰胺不被水解成谷氨酸，经酸水解后，通过氨基酸分析仪检测其中的谷氨酸含量，并与未添加 BTI 试剂样品测定的谷氨酸含量进行对比，两者差值即为谷氨酰胺/天冬酰胺含量。

6.4.3.2 试剂：BTI 乙腈-水溶液（10 mg/mL）：准确称取 1.000 g BTI，溶于 60 mL 乙腈溶液，用蒸馏水定容至 100 mL，混匀；吡啶水溶液（50 μmol/mL）：准确移取 400 μL 吡啶溶液于 100 mL 容量瓶中，用蒸馏水定容至刻度，混匀；盐酸溶液（6 mol/L）：取 500 mL 盐酸加水稀释至 1000 mL，混匀。

6.4.3.3 仪器：水解管：耐压螺盖玻璃试管或安瓿瓶、电热鼓风恒温箱或水解炉、真空干燥箱、氨基酸分析仪。

6.4.3.4 分析步骤：准确移取 400 μL 一定蛋白浓度的试样溶液于水解管中，依次加入 400 μL BTI 乙腈-水溶液和 100 μL 50 μmol/mL 吡啶溶液，混合均匀后充氮，在 50°C 真空箱内反应 4 h 后，在室温下进行真空抽干，并加入 400 μL 6mol/L HCl 溶液，真空封管后于 110°C 烘箱中水解 24 h，取出，冷却。另外，再准确移取 400 μL 上述的试样溶液于水解管中，直接加入 400 μL 6mol/L HCl 溶液，真空封管后于 110°C 烘箱中水解 24 h，取出，冷却。使用氨基酸分析仪按照相关程序对得到的水解液进行测定。

## 7 蛋白质体内消化率的计算

蛋白质体内消化率按式（1）计算：

$$P = \frac{M - F}{M} \times 100\%$$

式中：

$P$ ——宠物食品中蛋白质体内消化率（%）；

$M$ ——试受宠物摄入样品中氨基酸的含量（g/100 g）；

$F$ ——试受宠物粪便中氨基酸的含量（g/100 g）

本公式中氨基酸的含量包括天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、色氨酸、谷氨酰胺和天冬酰胺共 19 种氨基酸总含量。



## 8 数据处理与结果判定

### 8.1 数据处理

所有实验数据均应使用国家法定剂量单位。

使用数理统计软件进行统计分析，计算总实验重复数内的平均值，所有数据以平均值±标准方差表示。一般采用方差分析，但需先进行方差齐性检验，方差齐，则计算 F 值。若 F 值 $<F_{0.05}$ ，结论为各组均数间差异无显著性；若 F 值 $\geq F_{0.05}$ （即  $P\leq 0.05$ ），结论为各组均数间差异有显著性，需进一步使用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计分析。对非正态分布或方差不齐的数据需进行适当的变量转换，待满足正态分布或方差齐的要求后，用转换后的数据进行统计分析；若经变量转换仍不能达到正态分布或方差齐的目的，则改用秩和检验进行统计分析。

### 8.2 结果判定

在正式试验期内，试受宠物若出现明显体重下降、粪便软便率和腹泻率明显升高的情况，则表明测试样品不适合作为宠物食用。在试受宠物生长及粪便正常情况下，蛋白质体内消化率的判定：

- ①当蛋白质体内消化率高于 80%，认为测试样品属于高质量产品；
- ②当蛋白质体内消化率在 70%-80%之间，认为测试样品属于中等质量产品；
- ③当蛋白质体内消化率低于 70%，认为测试样品属于劣等质量产品。

## 9 实验报告

实验报告应提供试验获得的所有内容、数据及可视化信息。未纳入统计分析的数据或由于数据缺乏、丢失等无法评价的情况也应报告，并说明在各组别中的平均值及误差。所有试验样品必须留样保存，宠物饲料（食品）留样 $\geq 500\text{g}$ 。

实验报告正文至少应包括：

- a. 实验名称；
- b. 实验目的；
- c. 实验材料，至少包括实验用品、受试样品及处理方法、受试动物（包括宠物）要求；
- d. 实验方法，测试指标和方法；
- e. 结果与分析，根据数据统计结果给出平均值和标准方差、误差值及决定系数，并以可视化的数据或图和表形式体现。
- f. 结论，针对受试样品的实验结果给出判定。

此外，试验过程中涉及的所有原始数据和相关可视化图表均要存档。

### 参考文献

- GB/T6682 分析实验室用水规格和试验方法  
GB14925 实验动物环境及设施  
GB19489 实验室生物安全通用要求  
GB/T27476.1 检测实验室安全第 1 部分:总则  
GB/T31190 实验室废弃化学品收集技术规范  
GB/T 35507 生化用试剂测定通则 ←  
GB/T 35823 实验动物 动物实验通用要求 ←  
GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南 ↔  
GB2760 食品安全国家标准食品添加剂使用标准  
GB13432 预包装特殊膳食用食品标签通则  
GB16740 保健(功能)食品通用标准 ←  
GB26687 食品安全国家标准复配食品添加剂通则  
GB28050 食品安全国家标准预包装食品营养标签通则  
GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差。  
GB/T 40830-2021 猪饲料真可消化氨基酸测定技术规程 (简单 T 型瘘管法)  
GB/T 5009.124 食品中氨基酸的测定  
GB/T 14924.10 实验动物配合饲料氨基酸的测定  
SN/T 3509 实验室样品管理指南  
SN/T 3592 实验室化学药品和样品废弃物处理的标准指南  
SN/T 4835 实验室生物废弃物管理要求  
AOAC Official Method 991.29 True Protein Digestibility of Foods and Food Ingredients  
AOAC Official Method 971.09 Pepsin Digestibility of Animal Protein Feeds
-