

中华人民共和国国家标准

饲料中游离棉酚的测定方法

GB 13086—91

Method for determination of free gossypol in feeds

本标准参照采用国际标准 ISO 6866—1985《动物饲料中游离的和总棉酚的测定方法》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了饲料中游离棉酚的测定方法。

本标准适用于棉籽粉、棉籽饼(粕)和含有这些物质的配合饲料(包括混合饲料)中游离棉酚的测定。

2 原理

在3-氨基-1-丙醇存在下用异丙醇与正己烷的混合溶剂提取游离棉酚,用苯胺使棉酚转化为苯胺棉酚,在最大吸收波长440 nm处进行比色测定。

3 试剂和溶液

除特殊规定外,本标准所用试剂均为分析纯,水为蒸馏水或相应纯度的水。

3.1 异丙醇($(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$,HG 3—1167)。

3.2 正己烷。

3.3 冰乙酸(GB 676)。

3.4 苯胺($\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$,GB 691):如果测定的空白试验吸收值超过0.022时,在苯胺中加入锌粉进行蒸馏,弃去开始和最后的10%蒸馏部分,放入棕色的玻璃瓶内贮存在(0~4℃)冰箱中,该试剂可稳定几个月。

3.5 3-氨基-1-丙醇($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)。

3.6 异丙醇-正己烷混合溶剂:6:4(V/V)。

3.7 溶剂A:量取约500 mL异丙醇、正己烷混合溶剂(3.6)、2 mL3-氨基-1-丙醇(3.5)、8 mL冰乙酸(3.3)和50 mL水于1 000 mL的容量瓶中,再用异丙醇-正己烷混合溶剂(3.6)定容至刻度。

4 仪器、设备

4.1 分光光度计:有10 mm比色池,可在440 nm处测量吸光度。

4.2 振荡器:振荡频率120~130次/min(往复)。

4.3 恒温水浴。

4.4 具塞三角烧瓶:100、250 mL。

4.5 容量瓶:25 mL(棕色)。

4.6 吸量管:1、3、10 mL。

4.7 移液管:10、50 mL。

4.8 漏斗:直径50 mm。

国家技术监督局1991-07-16批准

1992-04-01实施

4.9 表玻璃:直径60 mm。

5 试样制备

采集具有代表性的棉籽饼样品,至少2 kg,四分法缩分至约250 g,磨碎,过2.8 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器,防止试样变质,低温保存备用。

6 测定步骤

6.1 称取1~2 g 试样(精确到0.001 g),置于250 mL 具塞三角烧瓶(4.4)中,加入20粒玻璃珠,用移液管(4.7)准确加入50 mL 溶剂 A(3.7),塞紧瓶塞,放入振荡器(4.2)内振荡1 h(每分钟120次左右)。用干燥的定量滤纸过滤,过滤时在漏斗(4.8)上加盖一表玻璃(4.9)以减少溶剂挥发,弃去最初几滴滤液,收集滤液于100 mL 具塞三角烧瓶(4.4)中。

6.2 用吸量管(4.6)吸取等量双份滤液5~10 mL(每份约含50~100 μg 的棉酚)分别至两个25 mL 棕色容量瓶(4.5)a 和 b 中,如果需要,用溶剂 A(3.7)补充至10 mL。

6.3 用异丙醇-正己烷混合溶剂(3.6)稀释瓶 a 至刻度,摇匀,该溶液用作试样测定液的参比溶液。

6.4 用移液管(4.7)吸取2份10 mL 的溶剂 A(3.7)分别至两个25 mL 棕色容量瓶(4.5) a_0 和 b_0 中。

6.5 用异丙醇-正己烷混合溶剂(3.6)补充瓶 a_0 至刻度,摇匀,该溶液用作空白测定液的参比溶液。

6.6 加2.0 mL 苯胺(3.4)于容量瓶 b 和 b_0 中,在沸水浴(4.3)上加热30 min 显色。

6.7 冷却至室温,用异丙醇-正己烷混合溶剂(3.6)定容,摇匀并静置1 h。

6.8 用10 mm 比色池,在波长440 nm 处,用分光光度计(4.1)以 a_0 为参比溶液测定空白测定液 b_0 的吸光度,以 a 为参比溶液测定试样测定液 b 的吸光度,从试样测定液的吸光度值中减去空白测定液的吸光度值,得到校正吸光度 A。

7 测定结果

7.1 计算公式

$$X = \frac{A \times 1\,250 \times 1\,000}{a \times m \times V} = \frac{A \times 1.25}{amV} \times 10^6$$

式中: X —— 游离棉酚含量,mg/kg;

A —— 校正吸光度;

m —— 试样质量,g;

V —— 测定用滤液的体积,mL;

a —— 质量吸收系数,游离棉酚为62.5 $\text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{L}$ 。

7.2 结果表示

每个试样取2个平行样进行测定,以其算术平均值为结果。

结果表示到20 mg/kg。

7.3 重复性

同一分析者对同一试样同时或快速连续地进行两次测定,所得结果之间的差值:

在游离棉酚含量小于500 mg/kg 时,不得超过平均值的15%;

在游离棉酚含量大于500 mg/kg 而小于750 mg/kg 时,不得超过75 mg/kg;

在游离棉酚含量超过750 mg/kg 时,不得超过平均值的10%。

附加说明：

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出。

本标准由中国农业科学院畜牧研究所负责起草。

本标准主要起草人姜云侠、李建凡、高振川。